

极端环境中甲烷氧化细菌的分离和特性

郑 坚 赵树杰 吴衍庸

(中国科学院成都生物研究所,成都)

从乙醇浓度高达 6—7%, pH 低至 3—4 的厌氧曲酒发酵醅中,分离到一株专性甲烷氧化细菌 854-1。该菌仅依赖于甲烷好氧生长,在普通牛肉膏平板和以甲醇作为唯一碳源和能源的培养基中均不能生长。细胞革兰氏染色反应阴性,菌体游动,极生单根鞭毛。幼龄菌杆状,不同培养时期可出现椭圆,短杆至长杆状不同细胞形态。菌体常多个粘在一起而难以分开,亦有单生,成对,链状以及不典型的玫瑰花结排列。电镜观察,细胞外有大量粘液物质,老龄菌体内还含有大量的脂粒。细胞超薄切片观察,幼龄细胞内具有典型的 I 型甲烷氧化菌内膜系统。854-1 在无机盐液体培养基试管中,主要以致密的菌膜形式出现,并产生非水溶性棕红色色素。平板菌落第五天开始出现,圆形,全缘,扁平,粘稠易挑起,菌落先无色,后渐变棕色,色素在平板上不扩散,菌落直径 3—4 mm。

854-1 的最适生长温度为 34—36℃,最适生长 pH 为 7.1。对生长因子无绝对需要。在所试验过的葡萄糖,乙酸等二十多种作为唯一碳、能源的有机物中均不能生长。能利用硝酸盐,铵盐作为氮源。在严格的厌氧条件下不能

生长。对卡那霉素,链霉素,四环素敏感,但对放线菌酮 (100 $\mu\text{g/ml}$) 和丙酸钠 (0.2%) 不敏感。气相色谱分析结果表明,854-1 发酵液中有甲醇积累。854-1 细胞色素氧化酶和过氧化氢酶阳性,用 Rank 氧电极测定,其甲烷单加氧酶阳性。854-1 能氧化丙烯生成环氧丙烷。

与报道的其它甲烷氧化菌相比,854-1 主要有三个明显特性。一是细胞个体较大,幼龄菌可达 $1.6 \times 4.1 \mu\text{m}$,这在甲烷氧化菌中是不多见的。甲基单胞菌属的菌体细胞,一般在 $0.4-1.1 \times 0.8-1.5 \mu\text{m}$ 左右。第二,854-1 对醇的耐受能力很强,Whittenbery 等报道的一百多株甲烷氧化菌,大多数在万分之一浓度的甲醇,或 2.2 ppm 乙醇中均难以生长,而 854-1 对甲醇和乙醇的耐受量分别达到 2% 和 0.5%。此外,854-1 在 45℃ 温度下生长良好,这一特性在 I 型甲烷氧化菌中也是不多见的。而生长温度是甲烷氧化菌种水平上较重要的鉴定指标。Романовская 等甚至将生长温度作为重要的分类检索特征。初步的分类鉴定结果表明,854-1 不同于已知的甲烷氧化菌。