

一株发光细菌新变种的分离和鉴定*

李振高 万焕楣 朱韵芬

(中国科学院南京土壤研究所, 南京)

关于生物发光的研究, 国外早有报道^[1,2], 近年来一些国家仍在进行发光细菌的分类鉴定及其应用的研究^[3,4]。1974年4月, 我们从猪后蹄上分离到一株发光细菌, 编号736。经鉴定, 该菌株在形态、生理及培养特征上与明亮发光杆菌 (*Photobacterium phosphoreum*) 基本相似, 但有所不同, 我们认为是明亮发光杆菌的新变种, 故定名为明亮发光杆菌盐城变种 (*Photobacterium phosphoreum* var. *yanchengensis*, 以下简称736号菌) 本文仅就该菌的分离与鉴定结果报告于下。

材料与方 法

一、标本来源

江苏省盐城县岗中人民公社社员家中的发光猪蹄。

二、培养基

曾选择六种培养基进行试验, 以略加修改的 Birjerinck 培养基较为合适^[5], 即: 蛋白胨1克, 丙三醇1克, 氯化钠3克, 琼脂1.8克, 鱼汤100毫升 (取海鱼500克切块, 加水1000毫升, 在50℃下保持1小时, 然后煮沸30分钟, 纱布过滤), pH 7.2。

三、菌种分离

在猪蹄的第三指掌骨附近的内收肌上取米粒大小的发光材料接种于上述培养基平板上, 在25℃下培养1天左右, 在暗室中挑取少许发光菌落, 转入斜面, 多次纯化后获得纯培养物。

四、菌种鉴定

根据伯杰氏 (Bergey) 的细菌分类系统^[6,7], 并参考 Красильников 的细菌分类法^[8]进行。

五、抗菌谱

培养液用纸片法进行测定。

结果与讨论

一、形态特征

该菌细胞较大, 呈杆状 (图1), 两端钝圆,

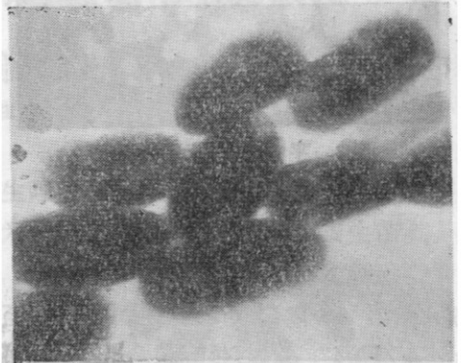


图1 明亮发光杆菌盐城变种的细胞形态
(电镜照片 10,000×)

大小为 $1-1.2 \times 2.3-4.0$ 微米, 没有芽孢和荚膜。单个或成对; 细胞内含有折光颗粒。革兰氏阴性, 鞭毛染色及在电镜下观察均未见有鞭毛; 穿刺培养及在相差显微镜下悬滴检查也未发现有运动能力。

二、培养性状

* 本文承樊庆笙先生和郝文英同志审阅; 曹正邦同志参加部分工作; 黄金生同志拍摄电镜照片。

表1 736号菌与明亮发光杆菌的比较

特征	明亮发光杆菌	736 菌
细胞大小 (微米)	球状或杆状 0.5—1×1.2—2.5	杆状, 1—1.2 ×2.3—400
运动性	不运动或缓慢运动, 偶尔 有单鞭毛, 电镜下未见鞭 毛	不运动, 电镜 下未见鞭毛
氧化酶	—	阴性
与氧的关系	好氧, 兼性厌氧	好氧, 兼性厌氧
肉汤培养基	轻度混浊, 有薄膜	轻度混浊, 有薄膜
琼脂斜面	浅灰白色薄层	不生长
发酵: 葡萄糖	产酸产气	产酸产气
麦芽糖	产酸产气	产酸产气
半乳糖	产酸产气	产酸产气
果糖	产酸产气	产酸产气
乳糖	不产酸和气	产酸产气
甘露糖	—	不产酸和气
丙三醇	—	不产酸和气
丁二醇	产气	不产酸和气
水解: 淀粉	阳性	阳性
油脂	—	阴性
明胶液化	缓慢或不液化	不液化
M. R. 试验	阳性	阳性
VP 试验	阳性	阳性
吲哚试验	阴性	阴性
产氨试验	阳性	阳性
硝酸盐还原	阳性	阳性
石蕊牛奶	—	微酸
链霉素反应	敏感	不敏感
发光颜色	淡蓝绿色	蓝绿色
37℃	不生长	不生长

该菌在鱼汤琼脂平板上菌落圆形, 在暗处可见蓝绿色荧光(图2)。边缘整齐, 表面光滑, 有光泽, 粘稠, 菌苔灰白色到微黄色。培养较久的菌落中间微凹, 逐渐变为黄棕色至浅褐色, 失去发光。随着菌落向外生长, 老化部分也逐渐扩大, 仅有菌落外圈发光, 几天以后丧失发光。在明胶平板上菌落小, 发光强而且持续时间长。在葡萄糖、天门冬素等不同培养基上, 有时细胞出现多形态(图3)。在猪肉汤或牛肉汤琼脂上生长和发光微弱。在普通营养琼脂上不生长, 即使加入葡萄糖或麦芽糖也不生长。在肉汤培养液中生长有轻度混浊。在酸性马铃薯块上不生长, 用磷酸钠中和后, 有薄的浅褐色生长物。好氧, 在微氧下仍能生长发光。

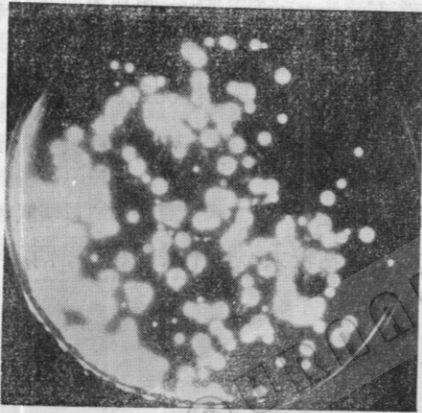


图2 平板上的发光菌落(在暗室中利用菌体发出的荧光拍摄)



图3 不同条件下生长的细胞形态(电镜照片 5,000×)

三、生理特性

生理生化试验结果与明亮发光杆菌比较(见表1), 主要区别是: 736 杆菌的细胞较大,

内含折光颗粒, 在普通琼脂斜面上不生长, 发酵乳糖产酸产气, 发酵丁二醇不产酸和气, 对链霉素不敏感等。故定名为明亮发光杆菌盐城变种。

不同温度、pH 和含盐量对该菌生长的影响: 该菌在 5—30℃ 范围内均能生长, 尤以 15—20℃ 生长发育最好; 1℃ 以下和 35℃ 以上则不生长。pH5.5—9.0 范围内均能生长, 最适 pH 为 7.0—7.5。该菌生长的耐盐度为 0.5—4.0%, 含 3% 氯化钠时生长最适, 过高或没有氯化钠均不能生长。说明该菌属于发光杆菌属中的咸水型。

四、拮抗性

选用 20 多种动植物病原菌进行拮抗试验, 结果表明该菌对水稻纹枯病菌 (*Pellicularia sasakii*) 水稻白叶枯病菌 (*Xanthomonas oryzae*)、

水稻小粒菌核病菌 (*Sclerotium orizidcola*)、水稻小黑菌核病菌 (*Helminthosporium sigmoideum*)、小麦赤霉病菌 (*Gibberella zeae*)、小麦根腐病菌 (*Helminthosporium sativum*)、棉花枯萎病菌 (*Fusarium oxysporum*)、棉花红腐病菌 (*Fusarium* spp.)、油菜菌核病菌 (*Sclerotinia sclerotiorum*)、烟草赤星病菌 (*Alternaria alternata*)、番茄青枯病菌 (*Pseudomonas solanasearum*)、柑桔炭疽病菌 (*Colletotrichum gloeosporioides*)、柑桔树脂病菌 (*Diaporthe citri*)、枯草杆菌 (*Bacillus subtilis*)、腊状芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*)、犁状芽孢杆菌 (*Bacillus mycoides*)、马铃薯芽孢杆菌 (*Bacillus solaniperda*)、白假丝酵母50 (*Candida albicans* 50)、金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)、藤黄八叠球菌 (*Sarcina lutea*)、大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 都未发现抑制作用, 仅对棉花红粉病菌 (*Trichothecium roseum*)、有明显抑制作用, 抑菌圈直径为 3—4.5 厘米。该菌的

应用价值尚待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Harvey, E. N.: *Bioluminescence*, Academic Press, New York, 1952, pp. 1—5.
- [2] 中村浩: «荧光微生物», 岩波書店, 1945, p. 197.
- [3] Чумакова, Р. И., Б. Ф. Ванюшин, Н. А., Кокурина и др.: *Микробиол.*, 41 (4):613—620, 1972.
- [4] Tehan, Y. A., A. C. M. Chiou and P. B. New et al.: *Microbial Ecology*, 3(4): 327—332, 1977.
- [5] 宫路蕙二: «应用菌学», 岩波書店, 1958, p. 160—161.
- [6] Breed, R. S., E. G. D. Murray and R. Nathan R. Smith: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 7th ed., Bailliere, Tindall and Cox, Ltd. London, 1957, pp. 193—197.
- [7] Buchanan, R. E. and N. E. Gibbons: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 8th ed., The Williams and Wilkins Company, Baltimore, 1974, pp. 349—352.
- [8] Красильников, Н. А.: *Определитель Бактерий и Актиномицетов*, 阎逊初译: «细菌和放线菌的鉴定», 第一版, 科学出版社, 北京, 1958 年第 591—595 页。