

# 读书报告

程利娇  
2018.08.04





# The Open Microbiology Journal

Content list available at: [www.benthamopen.com/TOMICROJ/](http://www.benthamopen.com/TOMICROJ/)

DOI: 10.2174/1874285801812010154



## RESEARCH ARTICLE

# Using Cellulolytic Nitrogen Fixing Bacterium, *Azomonas agilis* for Effective Degradation of Agricultural Residues

Zaw K. Latt<sup>1</sup>, San S. Yu<sup>1</sup>, Ei P. Kyaw<sup>1</sup>, Tin M. Lynn<sup>\*1</sup>, May T. Nwe<sup>1</sup>, Wai W. Mon<sup>1</sup> and Kyaw N. Aye<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Biotechnology Research Department, Ministry of Education, Kyaukse, Mandalay Division, 100301, Myanmar

<sup>2</sup>Department of Chemical Engineering, Yangon Technological University, Yangon, Myanmar

Received: February 15, 2018

Revised: May 07, 2018

Accepted: May 10, 2018

利用纤维素分解固氮菌 *Azomonas agilis*, 有效降解农业废弃物的研究

# 目录

**01**

Introduction

**02**

Materials and  
methods

**03**

Results and  
discussion

**04**

Conclusions



**01**

# Introduction



# Introduction



**氮**是构成蛋白质、核酸等物质的主要成分,对茎叶的生长和果实的发育有重要作用,是与产量最密切的营养元素。



# Introduction



## 氮肥利用率低的主要原因:

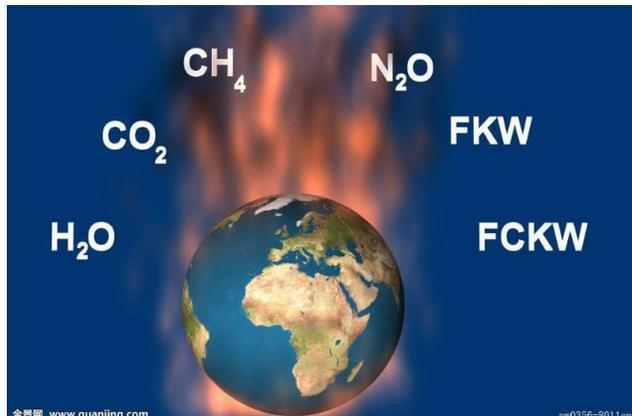
硝态氮肥在土壤中不被吸附保存, 容易被雨水或灌溉水淋失;  
或在土壤中进行反硝化作用而变成气态氮挥发掉;



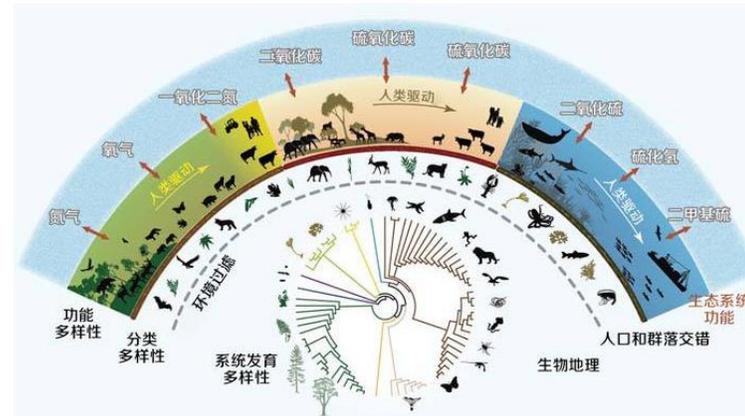
# Introduction



土壤退化



温室效应



生物多样性衰减

氮肥使用量的不断增长，严重扰乱了全球的生物地球化学循环，并对人类健康产生了巨大的影响。



# Introduction



- 📷 **缅甸伊洛瓦底三角洲(Irrawaddy, Myanmar)**是最重要的水稻种植区, 被称为“缅甸粮仓”。水稻种植区目前盐度逐年升高。
- 📷 据研究显示: 一些微生物, 特别是有价值的细菌和真菌, 可以增强植物在逆境条件下的性能, 提高产量 (Evelin H *et al*, 2009) 。



# Introduction



如何变废为宝?

微生物



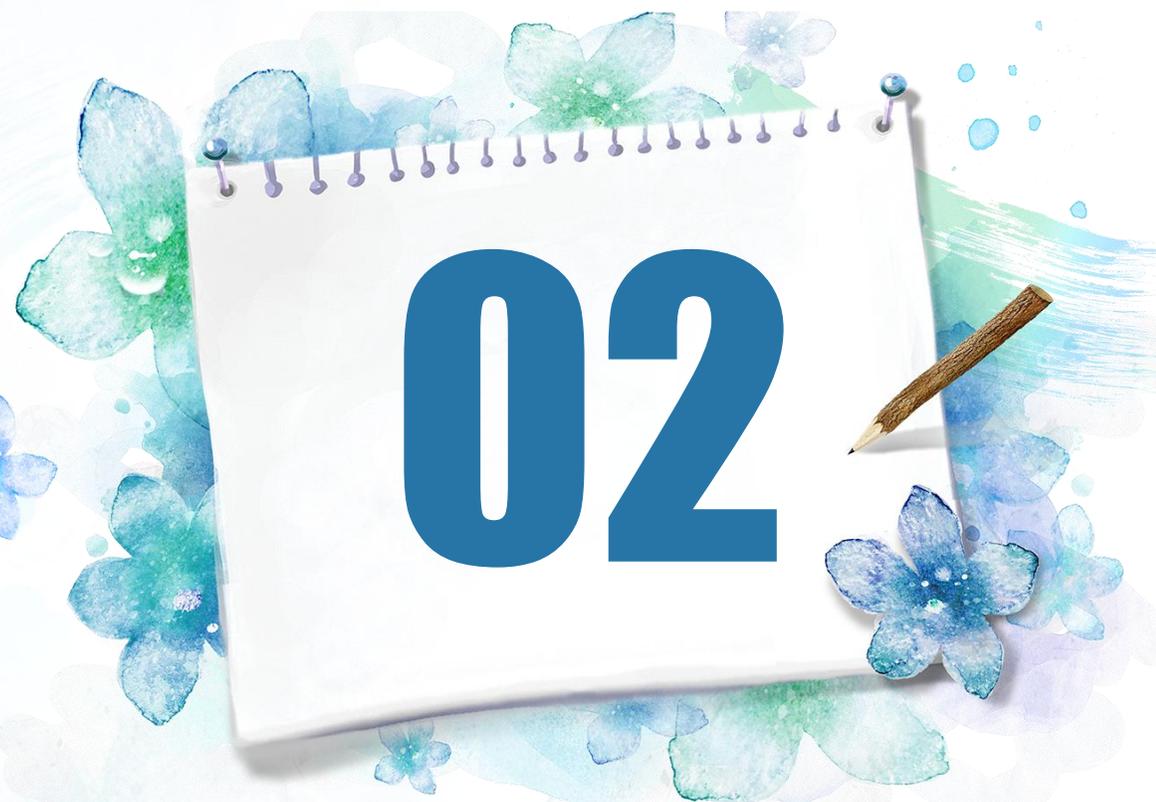
# 本研究



**研究方法：** 筛选分离得到菌株；不同条件下的固氮活性；表型特征；纤维素酶活性；部分纤维素农业废弃物的利用。

## **研究目的及意义：**

获得一株具有良好的纤维素降解能力和固氮活性的候选菌株；  
通过菌株的纤维素酶活对各种农业残留物进行分解，利用其固氮活性提高土壤肥力，以期应用于缅甸农业。



**02**

# Materials and methods



# Materials and methods



## 1、菌株的分离:

**样点:** Irrawaddy, Myanmar: 根际土壤、腐朽的稻草下的土壤。

**分离培养基:** Glucose Nitrogen Free Mineral Medium 葡萄糖无氮矿物培养基 (GNFMM)。

## 2、固氮活性的筛选及检测:

**初筛:** 酸碱指示剂法: 含0.7% 葡萄糖的GNFMM; 溴胸腺嘧啶蓝(BTB)为指示剂。

**检测:** 胺试剂盒: VISCOLOR Alpha Ammonium reagent, MACHEREY-NAGEL

Gmb H & Co. KG, Germany。





# Materials and methods



- 3、16S rDNA测序鉴定分离菌株
- 4、菌株表型分析：生理生化实验
- 5、不同碳源对氨积累的影响
- 6、NaCl 对氨积累的影响
- 7、纤维素酶活测定
- 8、菌株对不同农业废弃物降解能力检测



**03**

# Results and discussion



# 1、分离菌株的表型特征

氮单胞菌属：固氮菌 *Azomonas agilis*, 99.34%

*A. agilis*: 具有运动能力的革兰氏阴性细菌，在水中发现并具有固定大气氮的能力，为典型氮单胞菌属的菌株。

有研究显示：该菌株具有一定的耐盐性，对碘乙酸盐( $1\mu\text{M}$ )的抗性高达1.0%，因此可能有能力生活在有机物和矿盐浓度相对较高的受污染水中(Martin D *et al*, 2009); 对镉污染水具有一定的生物修复能力(You KM *et al*, 2004)。

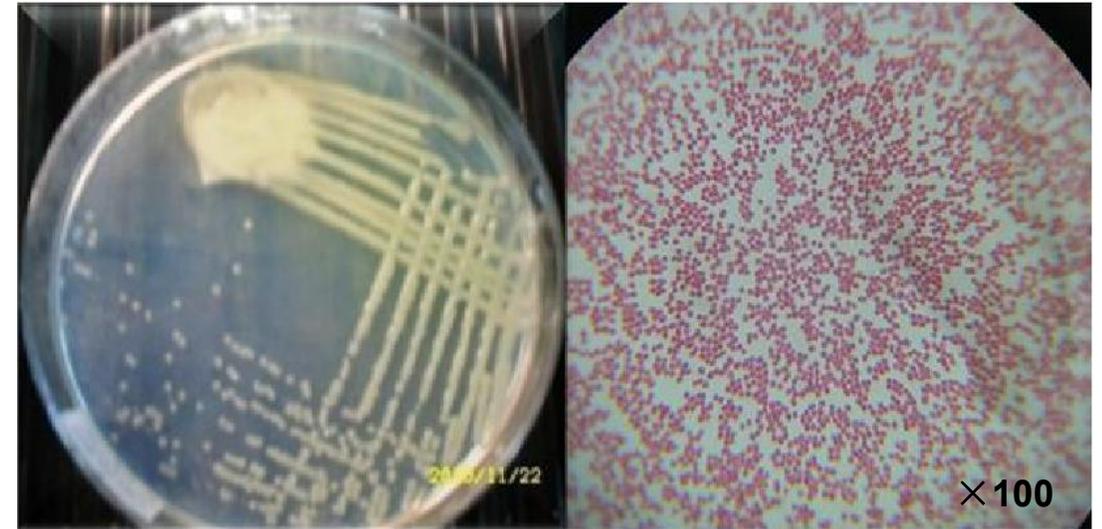




Table 1. Phenotypic characteristics of *A. agilis*.

| Characteristics                                                                            |   |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|---|
| TSI                                                                                        | + |
| Motility                                                                                   | + |
| Citrate utilization                                                                        | + |
| Indole                                                                                     | + |
| Methyl Red                                                                                 | + |
| Voges Proskauer (VP)                                                                       | - |
| Starch hydrolysis                                                                          | + |
| Gelatin liquification                                                                      | + |
| Enzyme Production                                                                          |   |
| Catalase                                                                                   | + |
| Urease                                                                                     | + |
| Cellulase                                                                                  | + |
| Growth at/ with                                                                            |   |
| NaCl, 3%-12%                                                                               | + |
| Utilization of sugar<br>Glucose, sucrose, fructose, arabinose,<br>cellulose, CMC, mannitol | + |
| Susceptible to                                                                             |   |
| Kanamycin (30 µg)                                                                          | - |
| Streptomycin (25 µg)                                                                       | - |
| Resistance to                                                                              |   |
| Ampicillin (30 µg)                                                                         | + |
| Chloramphenicol (10 µg)                                                                    | + |

酶活

NaCl耐受

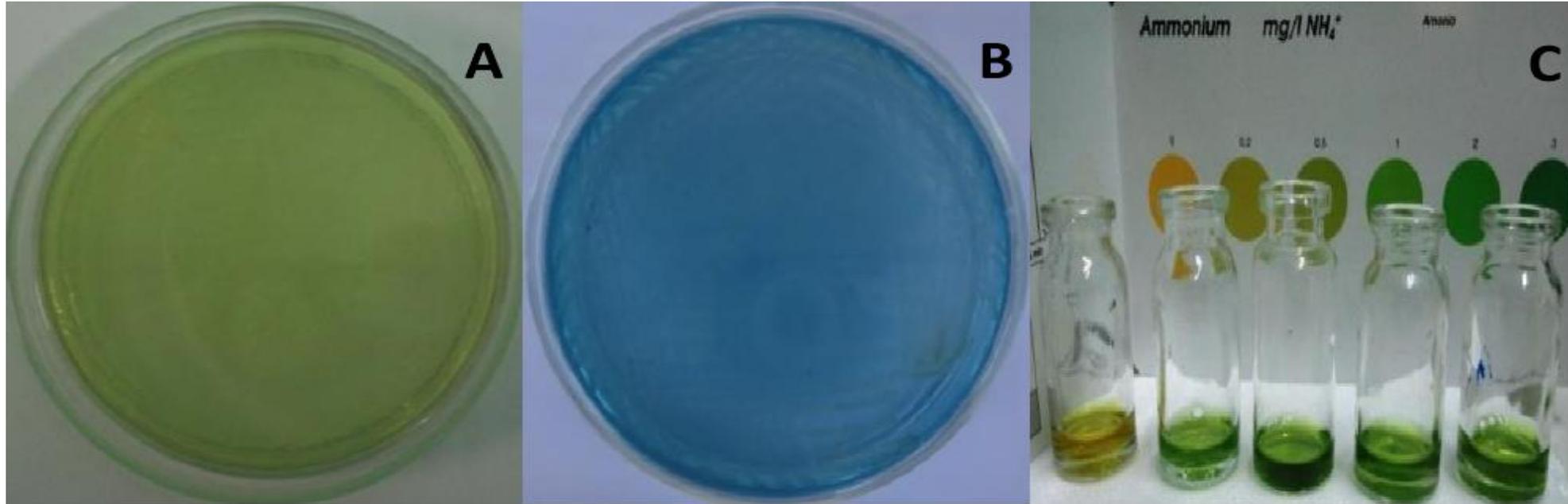
糖

抗敏

TSI – Triple Sugar Iron test, V oges Proskauer- VP test



## 2、固氮能力的检测



**初筛：** *A. agilis*在GNFMM平板培养一周后，颜色由绿色变蓝色。

**优点：** 简单方便的筛选具有固氮活性的菌株。

**氨浓度检测：** 黄色为对照，加入*A. agilis*培养液的上清液后显色，氨浓度  $\geq 3$  ppm。



### 3、不同碳源对氨积累的影响

| Carbon Sources | <i>Azomonas agilis</i>                                      |                                                   |
|----------------|-------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
|                | Estimated Ammonium concentration by Ammonium test kit (ppm) | Ammonium concentration by Indophenol Method (ppm) |
| Fructose       | > 3                                                         | 11.893                                            |
| Glucose        | 2-3                                                         | 4.691                                             |
| Sucrose        | > 3                                                         | 14.665                                            |
| Mannitol       | 3                                                           | 7.518                                             |
| Cellulose      | 2                                                           | 3.109                                             |
| CMC            | 1                                                           | 1.914                                             |
| Arabinose      | -                                                           | 0.326                                             |

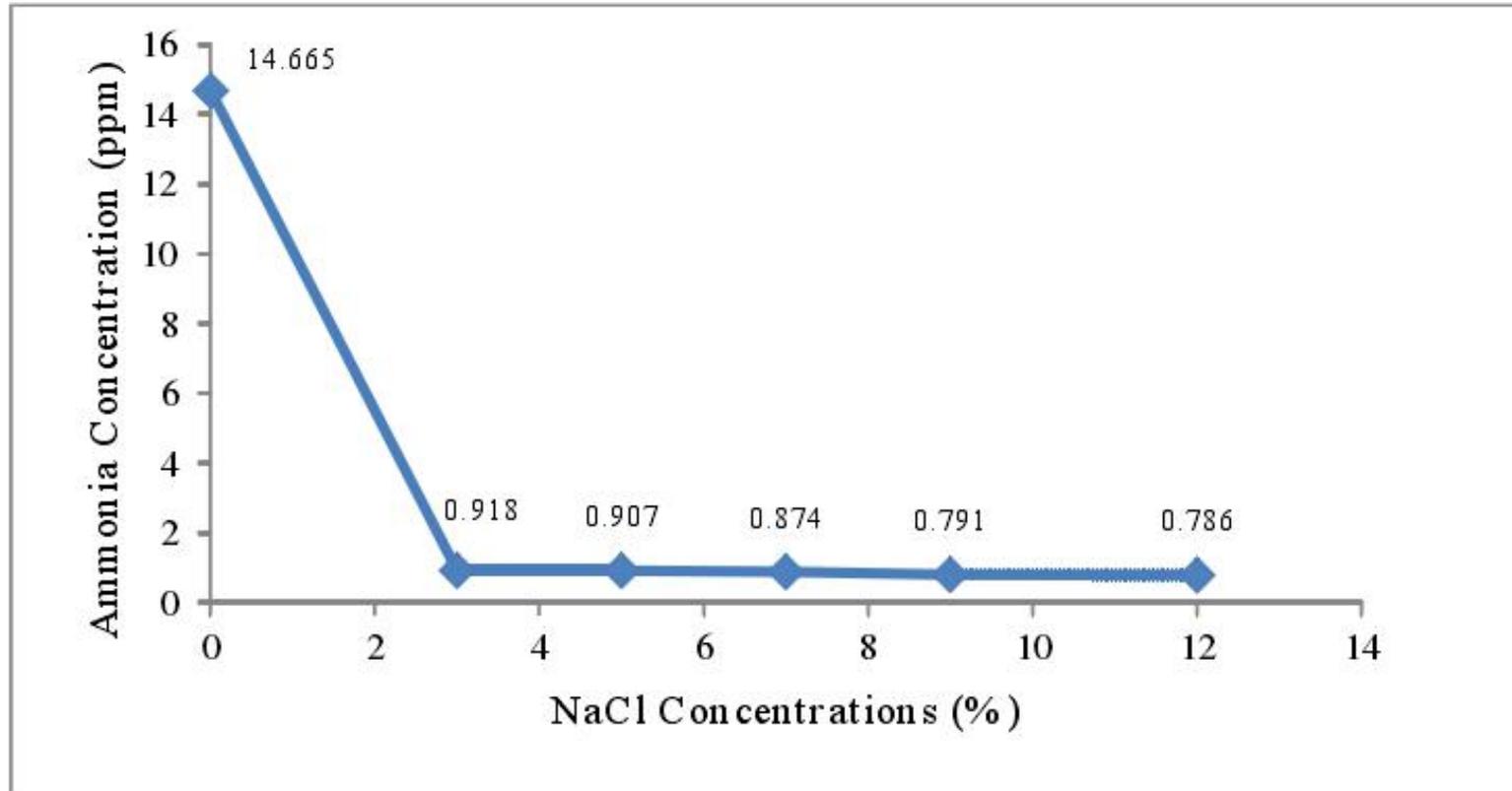
*A. agilis* 在GNFMM中的氨积累量依赖于碳源种类;

蔗糖、果糖、葡萄糖为植物根系分泌物中的主要糖 (Grayston SJ *et al*,1996)。



## 4、NaCl 对氨积累的影响

采用3%、5%、7%、9%和12%的NaCl对 *A. agilis* 的生长和氨积累进行检测。



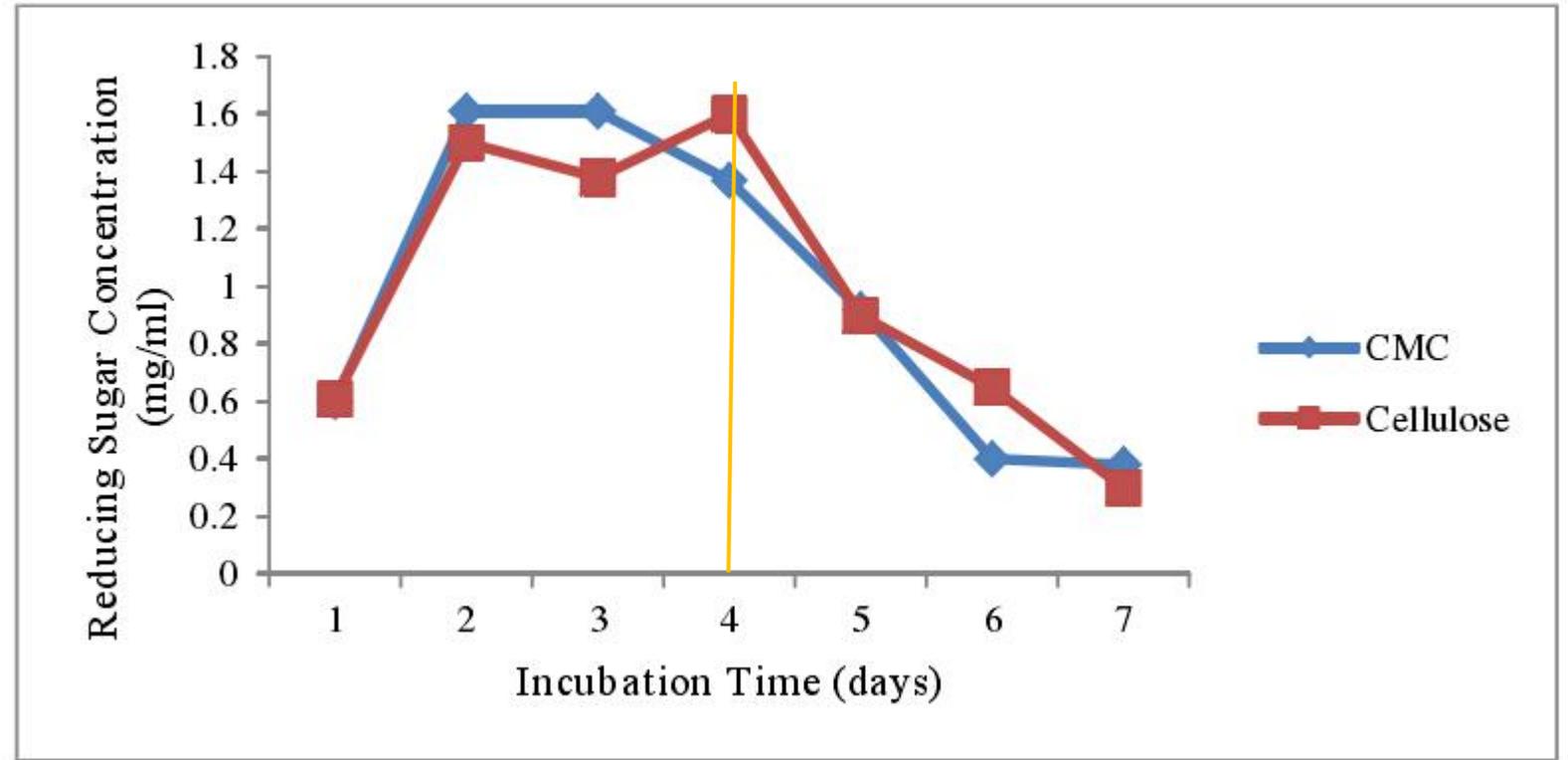
*A. agilis*可以在3%~12%的范围内生长;

氨积累量对NaCl的耐受范围为 0-3%。



## 5、纤维素酶活检测

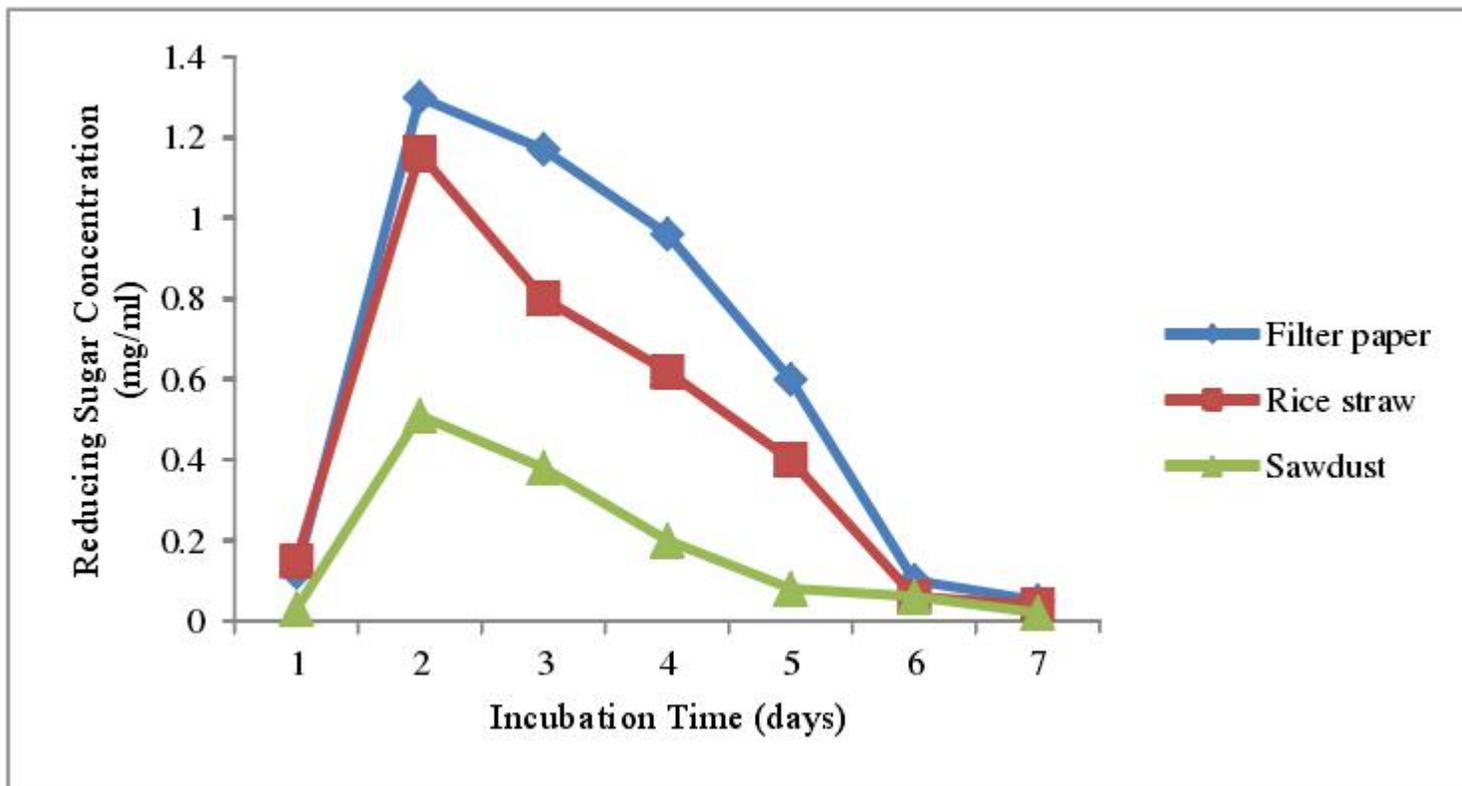
纤维素酶水解纤维素，产生纤维二糖，葡萄糖等还原糖，能将3,5-二硝基水杨酸中的硝基还原成橙黄色的氨基化合物，利用比色法测定其还原物生成量来表示酶的活力。



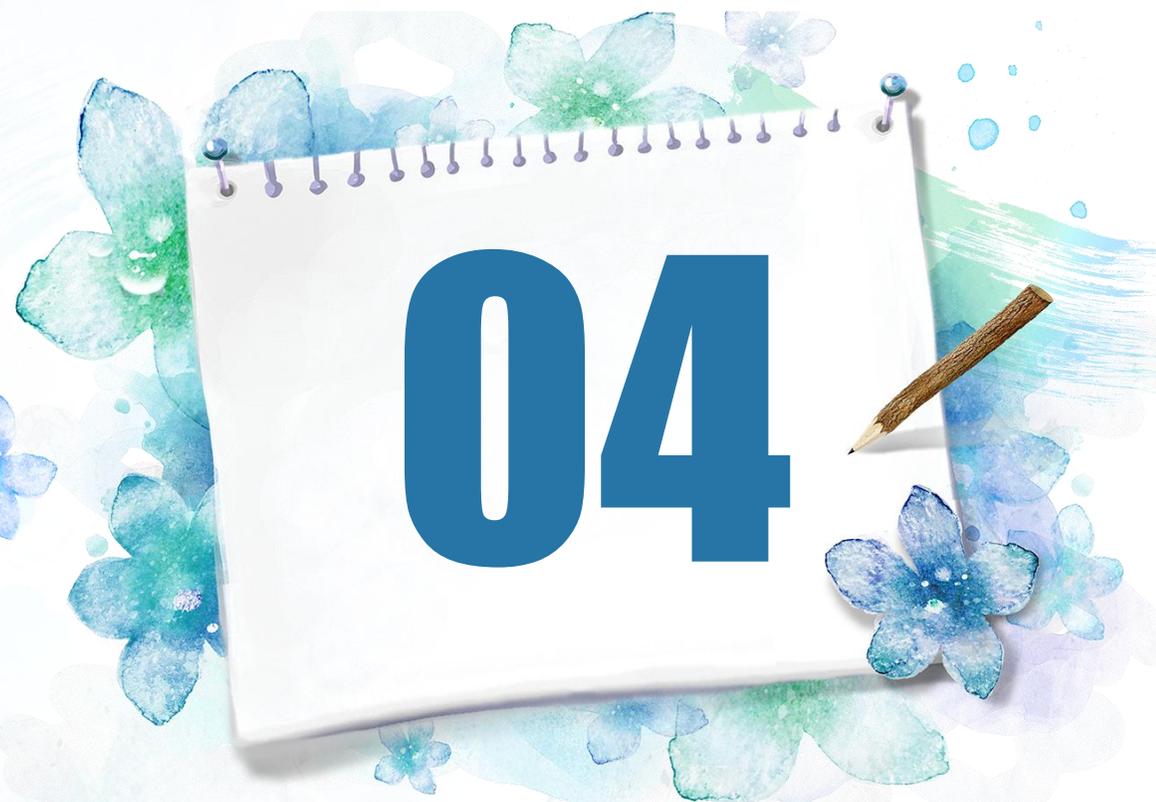
以0.2% 的纤维素和羧甲基纤维素钠(CMC)为底物进行测定。



## 6、*A. agilis*对不同农业废弃物降解能力检测



在三种不同底物中，*A. agilis*对滤纸和稻草的降解能力较高，对木屑降解能力较低。



**04**

# Conclusions



# Conclusions



通过酸碱指示剂法筛选和铵试剂盒检测*A. agilis*的固氮活性;



在含纤维素和CMC的GNFMM培养基上检测*A. agilis*的纤维素降解活性。



该菌可利用多种碳源，但固氮活性也取决于碳源种类；  
在含蔗糖的GNFMM培养基中，氨积累量最高。



*A. agilis* 的生长受NaCl浓度的影响，且随着NaCl浓度的增加，固氮活性降低。



# Conclusions

分离到的固氮菌 *Azomonas agilis* 具有很高的应用潜力，可作为降解部分农业废弃物的有效菌株。

然而，这种细菌应用于受盐度影响（或高盐）的土壤并不合适，如缅甸伊洛瓦底三角洲地区；为了成为农业应用的优良候选菌株，需进一步进行重复试验和其它重要的农学性状研究，以期更好的为缅甸农业做出贡献。

A watercolor illustration featuring a spiral-bound notebook with a white cover. The notebook is the central focus, with the words "THANK YOU" written in large, bold, black, sans-serif capital letters on its page. Below this, the Chinese text "敬请各位老师批评指正" is written in a smaller, black, sans-serif font. A wooden pencil lies diagonally across the bottom right corner of the notebook page. The background is a soft, artistic watercolor wash in shades of light blue, teal, and pale green, decorated with various watercolor flowers and leaves in similar colors. The overall style is gentle and appreciative.

THANK YOU

敬请各位老师批评指正