

# 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;

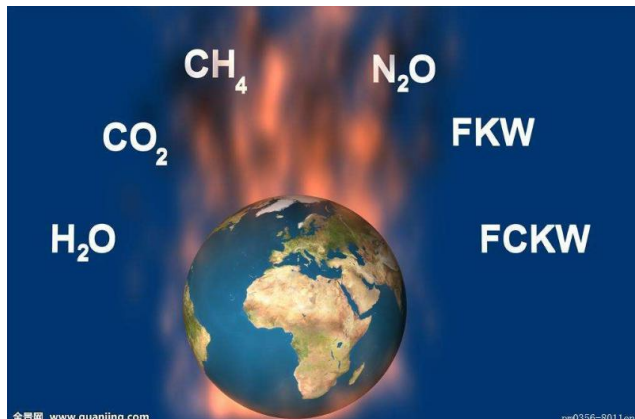




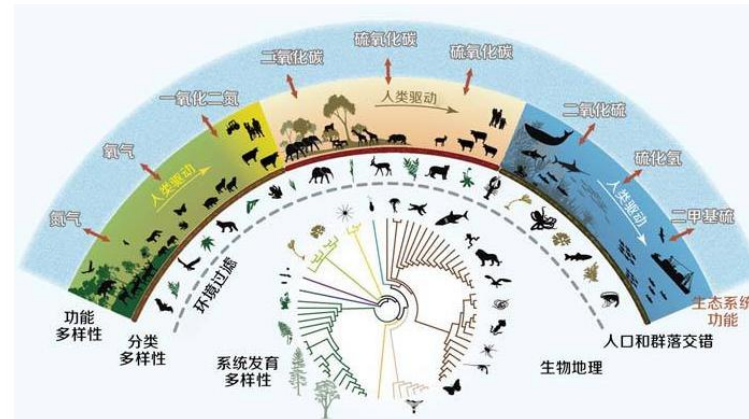
# Introduction



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



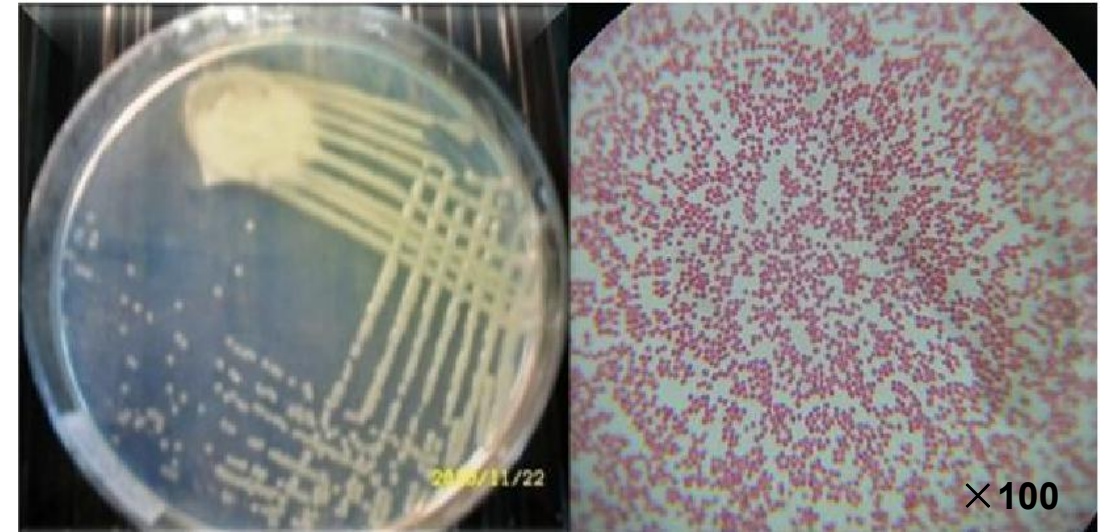


# 1、分离菌株的表型特征

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 Glucose, sucrose, fructose, arabinose, 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

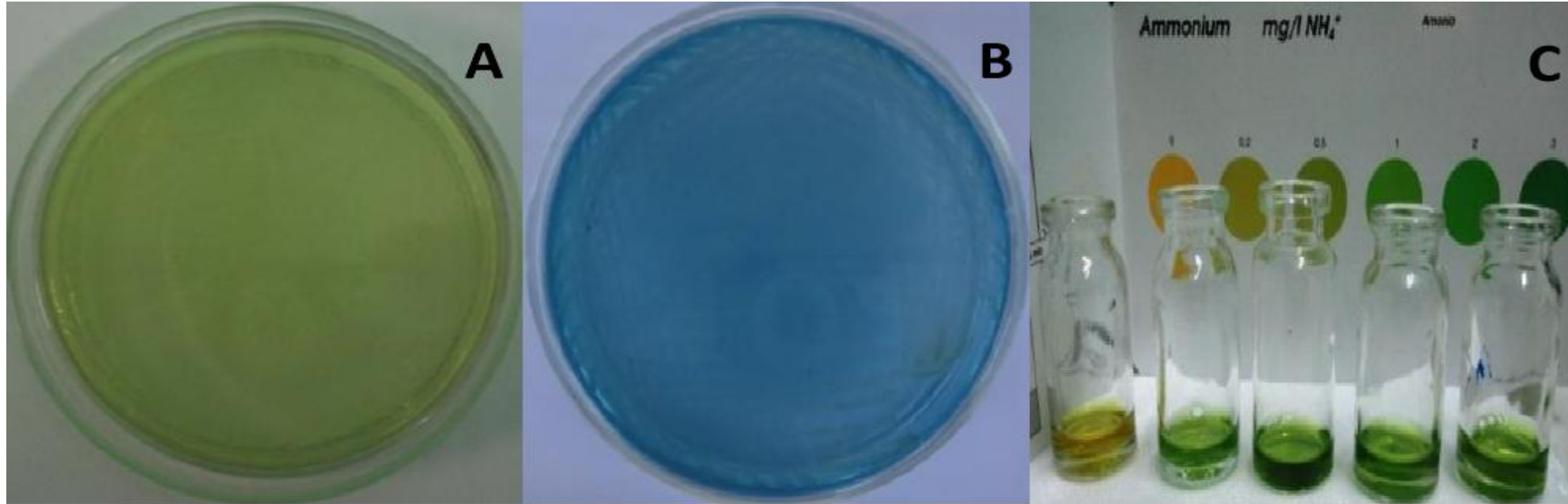
抗敏

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;

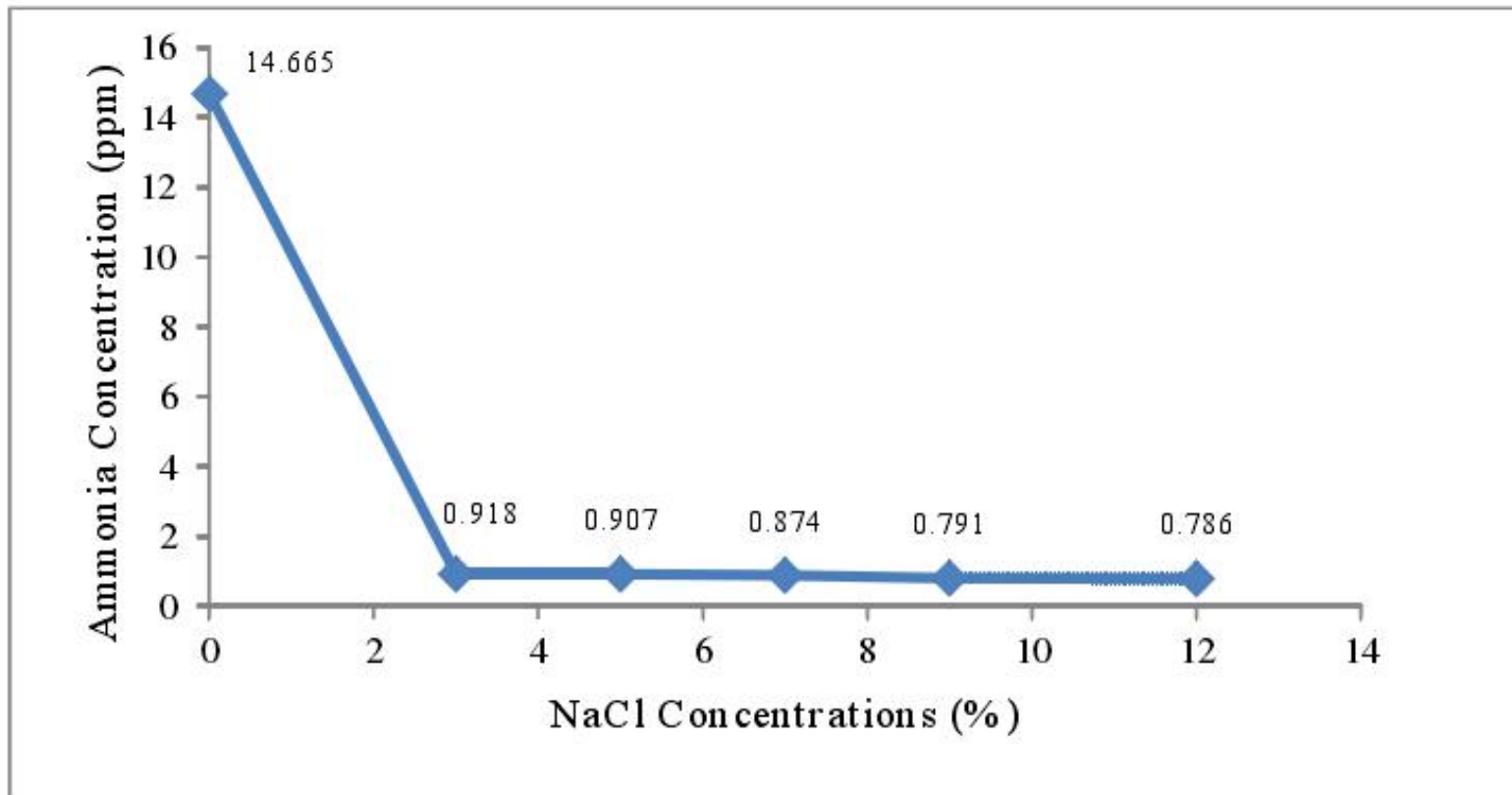
蔗糖、果糖、葡萄糖为植物根系分泌物中的主要糖 (Grayston SJ *et al*,1996)。





## 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。



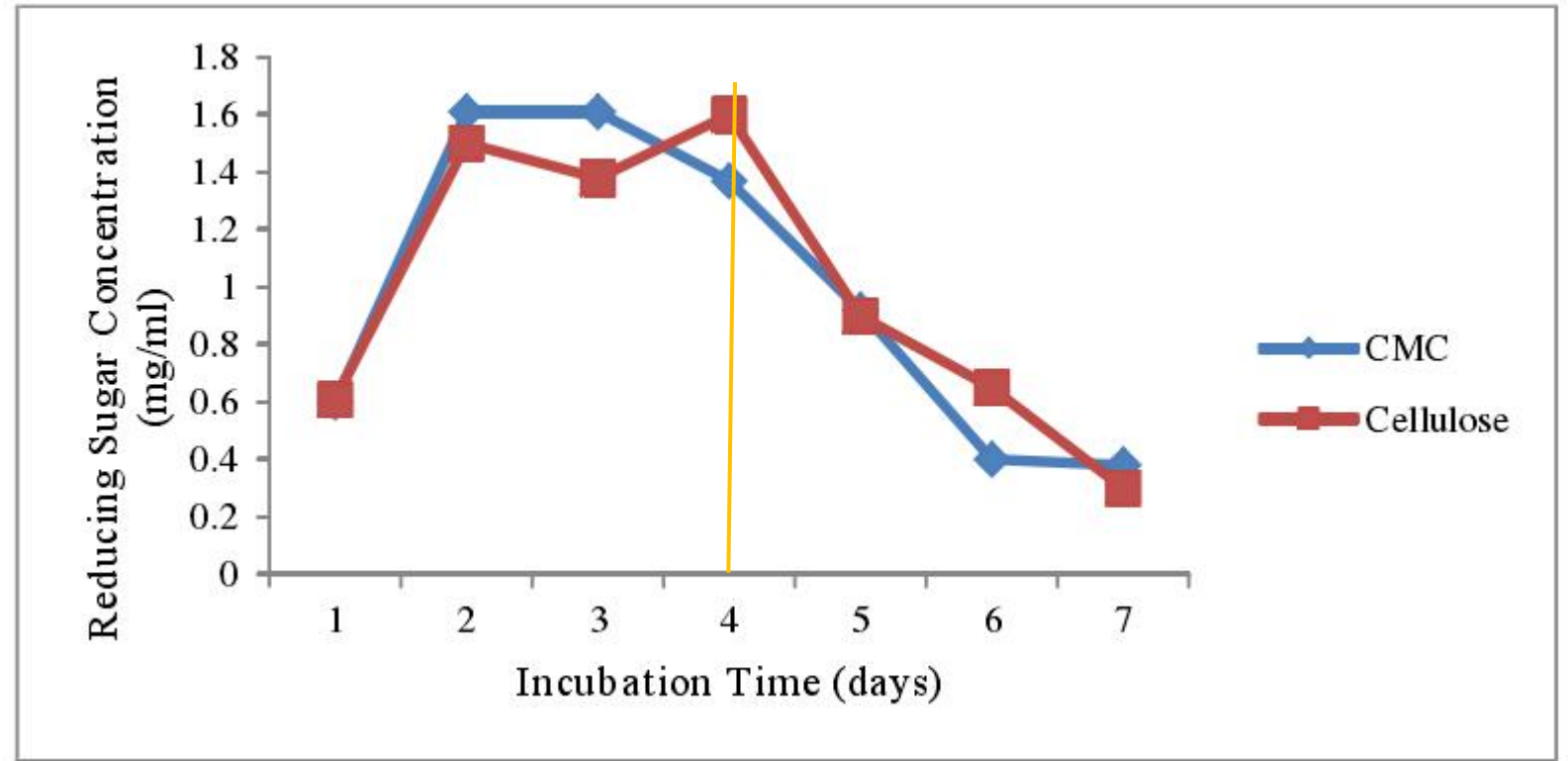
*A. agilis*可以在3%~12%的范围内生长;

氨积累量对NaCl的耐受范围为 0-3%。



## 5、纤维素酶活检测

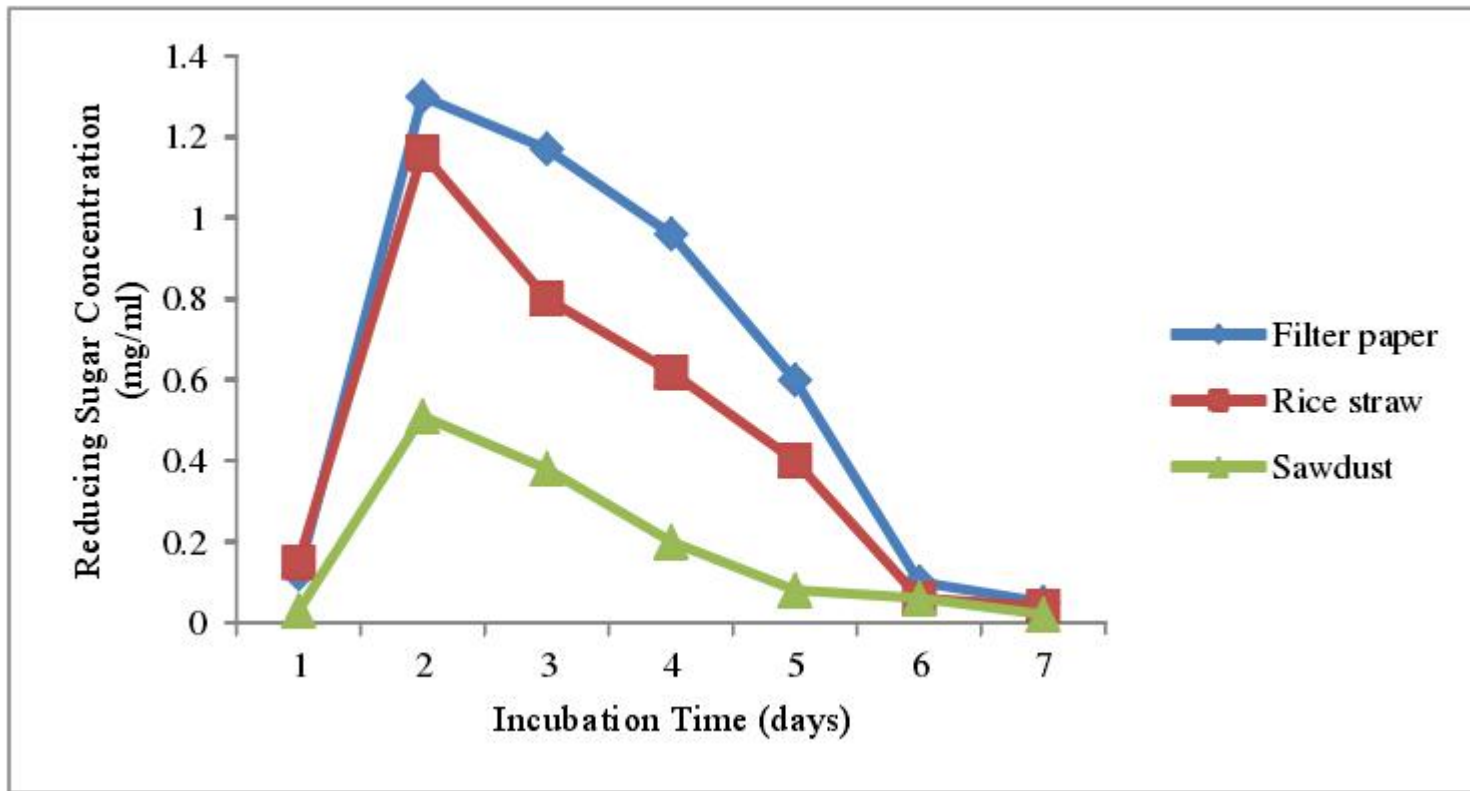
纤维素酶水解纤维素，产生纤维二糖，葡萄糖等还原糖，能将3,5-二硝基水杨酸中的硝基还原成橙黄色的氨基化合物，利用比色法测定其还原物生成量来表示酶的活力。



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 of a spiral notebook with a white cover and purple spiral binding. The notebook is open to a page with the text 'THANK YOU' and '敬请各位老师批评指正'. A wooden pencil lies on the page. The background is a soft watercolor wash of light blue and green, decorated with various blue and green flowers and leaves.

THANK YOU

敬请各位老师批评指正