

用于海水养殖水脱氮的反硝化细菌的诱变及筛选

吕玉珊¹, 齐树亭¹, 王晓宇¹, 石玉新¹, 李芳芳¹, 高长虹²

(1. 河北工业大学 海水资源高效利用化工技术教育部工程研究中心 天津 300130; 2. 河北工业大学 研究生院, 天津 300130)

摘要: 以实验室中已有的反硝化菌株作为出发菌株, 对这株自然菌株进行氯化锂和紫外线照射诱变, 得到 2 株硝酸盐还原率高且亚硝酸盐积累量低的突变体 L02 与 Z06。在培养基中硝酸盐起始含量为 1 mmol/L, 静置培养的条件下, 这 2 株突变株对硝酸盐的还原率均能达到 95%以上; 摇床条件下培养, 其还原率也能达到 94%以上, 且对亚硝酸盐的积累率均为 0。经过 5 次传代实验, L02 与 Z06 菌株对硝酸盐的还原率始终保持在 95%以上, 说明其遗传性能稳定。

关键词: 反硝化细菌; 诱变; 紫外线; 氯化锂; 硝酸盐还原率

中图分类号: S917.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2011)11-0035-06

海水养殖池塘中, 硝酸盐和亚硝酸盐浓度是衡量养殖水质优劣的一个重要指标。硝酸盐和亚硝酸盐超标, 不仅会对养殖主体造成伤害, 而且会促使藻类大量繁殖, 造成水华, 进一步使水体环境恶化。池塘中亚硝酸盐可以氧化鱼虾体内的亚铁血红蛋白, 使其成为高铁血红蛋白, 丧失运输氧气的的能力, 研究发现当亚硝酸盐浓度达到(0.09±0.03)mg/L 时会诱发草鱼出血病^[1]。反硝化作用是将硝酸盐或亚硝酸盐被还原成 N₂O 或 N₂ 的过程。反硝化细菌通过反硝化作用能彻底降低养殖水体中的硝酸盐和亚硝酸盐的含量。细菌反硝化过程包括 4 个还原步骤, 分别由硝酸还原酶、亚硝酸还原酶、一氧化氮还原酶和一氧化二氮还原酶催化完成, 即: NO₃⁻ → NO₂⁻ → N₂O → N₂。传统理论认为反硝化细菌在有氧条件下不能将硝酸盐或亚硝酸盐彻底还原成 N₂, 但是近年来, 好氧反硝化细菌的发现打破了这一传统的理论观点, 好氧反硝化细菌能在有氧气存在的条件下, 把硝酸盐还原成氮气^[2-4]。

多数自然筛选出来的反硝化细菌菌株, 反硝化速率很低, 而且亚硝酸盐的积累率很高。对自然菌株进行人工诱变处理, 可以改变原始菌株的硝酸还原酶及亚硝酸还原酶的活性, 得到高效诱变菌株。DNA 和 RNA 的嘌呤和嘧啶有很强的紫外光吸收能力, 最大的吸收峰在 260 nm, 因此波长 260 nm 的紫外辐射是最有效的诱变剂。紫外辐射可以引起碱基转换、颠换、移码突变或缺失, 从而引发基因突变^[5]。而氯

化锂是一种重要的无机诱变剂, 作为转录阻滞剂参与蛋白质的合成, 通过顺式作用元件作用于 DNA, 使之形成基因增强子或者启动多拷贝基因, 从而产生诱变效应^[6]。

本实验室筛选出一株好氧反硝化细菌, 采用紫外照射和氯化锂诱变的方法, 对这株菌进行诱变处理, 使原始菌株的硝酸还原酶、亚硝酸还原酶的酶活性得到激发、抑制或改变, 以达到提高菌株还原硝酸盐的能力^[7], 希望为诱变育种研究提供微生物学依据, 并得到能高效还原硝酸盐的菌株, 为研制净化养殖水体的微生态制剂提供优良菌种。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌种

出发菌株是本实验室筛得的一株反硝化细菌。

1.1.2 培养基

人工海水: NaCl 27.4037 g, KCl 0.7627 g, MgCl₂ 6.7816 g, MgSO₄ 4.4243 g, 加蒸馏水至 1 L。盐度为 3.5‰。

牛肉膏蛋白胨培养基: 牛肉膏 3 g, 蛋白胨 10 g,

收稿日期: 2010-07-14; 修回日期: 2010-12-08

基金项目: 河北省石家庄市农业厅水产养殖水生物调控及修复技术与示范(090129-01A)

作者简介: 吕玉珊(1985-), 女, 山东德州人, 在读研究生, 主要从事用于海水养殖池塘净水处理的微生态制剂研究, 电话: 18905342511, E-mail: yushanyt@163.com

人工海水 1 L。

BTB 固体培养基: KNO_3 1 g, KH_2PO_4 1 g, KH_2PO_4 1 g, FeCl_2 0.5 g, CaCl_2 0.2 g, MgSO_4 1 g, 琥珀酸钠 8.5 g, 溴百里酚蓝(1%溶于酒精)1 mL, pH 7.0~7.3。高温灭菌 20 min。

反硝化培养基: KNO_3 0.101 g, KH_2PO_4 0.5 g, Na_2HPO_4 2.6 g, 酒石酸钾钠 20 g, 加入人工海水到 1L。高温灭菌 20 min。

1.1.3 分析方法

亚硝酸盐的含量用重氮偶氮法测定, 硝酸盐的含量锌镉还原法测定^[8]。

1.2 诱变方法及诱变剂量的确定

1.2.1 菌悬液的制备

将反硝化菌株接种到牛肉膏蛋白胨液体培养基中, 28℃, 160 r/min 培养 12 h, 然后将得到的培养基进行离心, 弃上清, 用灭菌的人工海水洗涤两次, 用灭菌的人工海水将得到的菌体稀释, 调整菌体浓度为 10^9 cfu/mL, 即制成诱变用的菌悬液。

1.2.2 紫外线诱变

在密闭的紫外诱变箱中, 30 W 的紫外灯预热 20 min, 取菌悬液 10 mL, 放于 9 cm 的带有搅拌子的培养皿中, 置于距离紫外灯 30 cm 处, 进行诱变处理^[9], 诱变剂量为 5、10、15、20、40、60 s。将诱变后的菌液按梯度稀释法稀释 6 个梯度, 取 10^{-5} 和 10^{-6} 两个梯度的稀释菌液 100 μL , 涂布到反硝化细菌富集固体培养基上, 用黑布将培养皿包裹起来, 28℃避光培养 3 d。一切操作在红灯下进行。以未经照射的菌悬液梯度稀释涂布作为对照。计算致死率。

1.2.3 氯化锂诱变

将菌悬液稀释 6 个梯度, 用移液枪取 10^{-5} 和 10^{-6} 两个梯度的稀释菌液 100 μL , 涂布在含有氯化锂的平板上, 氯化锂浓度梯度设为 0、0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%、0.6%^[10], 28℃避光培养 3 d。计算致死率。

1.3 高效突变菌株的筛选

1.3.1 突变菌株的初筛和复筛

将得到的突变株用牙签点种到 BTB 固体培养基上, 28℃条件下培养, 进行初筛。反硝化细菌通过反硝化作用将 NO_3^- 还原成 N_2 或 N_2O 而释放到空气中, 使培养基的 pH 值升高^[11]。溴百里酚蓝是一种产碱指示剂, pH 值变大, 培养基会变蓝^[12]。选择蓝色圈直径/菌落直径大于出发菌株的诱变菌株作为正突变株,

统计正突变率。将直径比最大且形态不同的菌株接种到牛肉膏蛋白胨固体培养基中进行扩大培养, 28℃培养箱中静置培养 24 h 后, 将菌液放入离心管中, 在 3 500 r/min 的离心机中离心 15 min, 弃去上清, 用灭菌的人工海水洗涤得到的菌体两次, 将菌体转移到盛有灭菌人工海水的三角瓶中, 震荡均匀, 制成菌悬液。用移液枪将菌悬液按体积分数 5% 的接种量接种到装有 100 mL 反硝化液体培养基的 250 mL 三角瓶中, 每株菌做 3 个平行, 以出发菌株作为对比, 在 28℃培养箱中静置培养, 24 h 后, 用无菌移液枪吸取 1 mL 培养基, 测定 NO_3^- -N 和 NO_2^- -N 的含量, 以 NO_3^- -N 的去除率和 NO_2^- -N 的积累量来评价反硝化细菌的还原硝酸盐的能力。选择 NO_3^- -N 和 NO_2^- -N 的含量均低于出发菌株的菌株作为优良突变株。

1.3.2 遗传稳定性实验

选择硝酸盐还原率高且亚硝酸盐积累量低的诱变菌株进行传代培养, 连续传代 5 次, 并将每一代菌株接入反硝化液体培养基中进行培养, 24 h 后测定 NO_3^- -N 和 NO_2^- -N 的含量, 每株菌做 3 个平行。比较每一代的结果是否有差异性, 选择传代稳定的菌株作为变异高效菌株, 并保藏菌株。

1.3.3 增加溶氧对突变株还原硝酸盐效率的影响

将筛选得到的具有传代稳定性的突变株接种到牛肉膏蛋白胨液体培养基中进行扩大培养, 24 h 后, 离心取菌体制成菌悬液。将菌悬液按体积分数 5% 的接种量接种到反硝化培养基中, 在 150 r/min 摇床条件下培养, 培养温度为 28℃, 每隔 6 h 测定其亚硝酸盐和硝酸盐的含量, 计算反硝化细菌的还原硝酸盐的效率, 并与出发菌株做对比。

2 结果分析

2.1 诱变条件的确定

2.1.1 紫外诱变剂量的确定

诱变剂量是 0、5、10、15、20、40、60 s 时, 10^{-6} 梯度下的菌悬液涂布在平板上生长得到菌株的数目平均为 109、82、62、36、12、4 和 0 株, 其中正突变株的数目平均为 0、3、6、21、9、1 和 0 株, 致死率与正突变率如图 1 所示。由图 1 可以看出, 随着诱变时间的延长, 反硝化细菌的致死率增加, 诱变剂量为 20 s 时, 致死率为 89.1%, 当诱变剂量在 40 s 时, 反硝化细菌的致死率达到 99.2%, 经验可知, 致死率达到 70%~80% 的时候, 此时正突变的几率较高, 有利于突变株的进一步筛选^[13]。由图 1 可以看出, 当紫

外照射时间为 20 s 时,致死率为 89%, 正突变率达到最高为 75%, 故本实验确定紫外诱变剂量为 20 s。

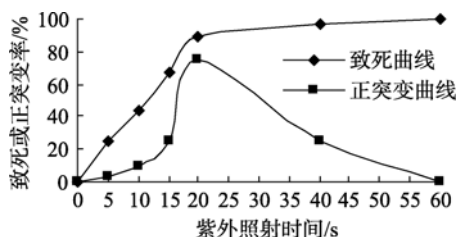


图 1 反硝化细菌紫外线诱变致死曲线及正突变曲线

Fig. 1 The death curve and mutation rate of UV-induced denitrifying bacteria

2.1.2 氯化锂诱变剂量的确定

氯化锂的浓度为 0、0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%、0.6% 时, 10^{-6} 梯度下的菌悬液涂布在平板上生长得到的菌株数目平均为 336、141、132、92、62、22 和 0 株, 其中正突变株的数目平均是 0、23、27、48、57、11 和 0 株, 致死率及正突变率的变化曲线如图 2 所示。随着氯化锂浓度的增加, 反硝化细菌的致死率增加, 当氯化锂浓度达到 0.4% 时, 致死率达到 81.25%, 正突变率最高, 达到 92%, 所以本实验选择氯化锂的诱变浓度为 0.4%。

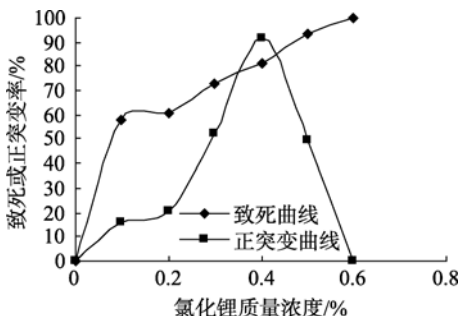


图 2 反硝化细菌氯化锂诱变致死曲线及正突变曲线

Fig. 2 The death curve and mutation rate of denitrifying bacteria induced by lithium chloride

2.2 突变株的复筛

将反硝化细菌在选择的诱变条件下分别进行紫外和氯化锂诱变, 经过 3 d 的培养后, 将诱变得到的菌株转接到 BTB 培养基上进行初步筛选。通过初筛, 通过紫外诱变得到 40 株正突变菌株, 通过氯化锂诱变得到 166 株正突变菌株。因得到的菌株数目庞大, 故选择蓝色圈直径/菌落直径最大的菌株作为初筛得到的优良突变株, 通过氯化锂诱变和紫外诱变各得到 7 株突变株。

将突变株接种到反硝化细菌培养基上, 24 h 后测定其培养基中 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 的含量, 如表 1 所示。空白培养基中 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 的含量约为 1 mmol/L, $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 的含量为 0 mol/L。

由表 1 可见 Z02、Z04、Z05 和 Z07 突变株的硝态氮降解率均低于出发菌株, 说明这 4 株菌的遗传性能很不稳定, 很快进行了回复突变。其他菌株的硝态氮还原能力均高于出发菌株。由表中可以看出, L02 和 L04 的硝酸盐降解率达到 100%, 并且没有亚硝酸盐的积累。Z01 和 Z06 菌株硝酸盐的降解率达到 99.2%, 没有亚硝酸盐的积累。所以选取这 4 株菌作为高效诱变菌株, 保藏菌株。

2.3 遗传稳定性实验

将筛选出的 L02、L04、Z01 和 Z06 菌株在牛肉膏蛋白胨固体培养基上进行传代培养, 并且对每一代反硝化细菌进行硝态氮降解率和亚硝态氮积累率的测定(表 2)。

用 SPSS17.0 统计学软件分析每株菌每一代之间的硝酸盐还原率是否有显著差异。选择配对样本 T 检验的方法。设差异水平 $\alpha = 0.05$ 即 $P < 0.05$ 为差异显著。经检验, 只有 L02 与 Z06 两株突变株每一代之间的硝酸盐还原率没有显著差异。而且亚硝酸盐的积累率始终为 0, 说明 L02 与 Z06 这两株菌的硝酸盐还原酶和亚硝酸盐还原酶活性一直很高, 并且遗传稳定。可以作为处理养殖废水的优良菌种。而 L04 与 Z01 两株菌的每代之间的硝酸盐还原率差异显著, 由此得出这两株菌的稳定性较差, 不适合作为优良菌种。

2.4 增加溶氧对突变株脱氮效率的影响

L02 与 Z06 两种突变株和出发菌株在摇床条件下培养, 发现 3 株菌均没有亚硝酸盐的积累。3 株菌培养基中 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 的还原率变化如图 3 所示, 由图 3 中可以看出: L02 与 Z06 在 24 h 后, 培养基中硝酸盐的含量分别为 $(0.051 \pm 0.003) \text{mmol/L}$ 和 $(0.059 \pm 0.002) \text{mmol/L}$, 对硝酸盐的还原率大约为 95% 和 94% 左右, 而出发菌株的培养基中, 硝酸盐的含量为 $(0.228 \pm 0.002) \text{mmol/L}$, 对硝酸盐的还原率仅为 77.2%。由此可以得出结论, 得到的 L02 与 Z06 突变株对硝酸盐的还原率受氧气含量的影响很小, 这两株突变株能作为处理海水养殖废水的优良菌株。

3 讨论

自然界中筛选出的反硝化细菌, 反硝化能力参

表 1 突变菌株 NO_3^- -N 的还原率和 NO_2^- -N 的积累率统计 ($\bar{x} \pm \sigma$)

Tab. 1 Mutant NO_3^- -N reduction rate and NO_2^- -N accumulation rate ($\bar{x} \pm \sigma$)

菌株编号	NO_3^- -N 的含量 (mmol/L)	NO_2^- -N 的含量 (mmol/L)	NO_3^- -N 的还原率 (%)	NO_2^- -N 的积累率 (%)
出发菌株	0.271 ± 0.003	0.302 ± 0.008	42.7 ± 1.1	30.2 ± 0.8
L ¹ 01	0	0.217 ± 0.003	78.3 ± 0.3	21.7 ± 0.3
L ¹ 02	0	0	100	0
L ¹ 03	0.093 ± 0.004	0	90.7 ± 0.4	0
L ¹ 04	0	0	100	0
L ¹ 05	0.217 ± 0.004	0	78.3 ± 0.4	0
L ¹ 06	0.466 ± 0.006	0	53.4 ± 0.6	0
L ¹ 07	0	0.057 ± 0.003	94.3 ± 0.3	5.7 ± 0.3
Z ² 01	0.008 ± 0.001	0	99.2 ± 0.1	0
Z ² 02	0.281 ± 0.003	0.352 ± 0.004	36.7 ± 0.7	35.2 ± 0.4
Z ² 03	0.031 ± 0.003	0.024 ± 0.002	94.5 ± 0.5	2.4 ± 0.2
Z ² 04	0.546 ± 0.008	0.220 ± 0.004	23.4 ± 1.2	22.0 ± 0.4
Z ² 05	0.339 ± 0.002	0.253 ± 0.004	40.8 ± 0.6	25.3 ± 0.4
Z ² 06	0.008 ± 0.002	0	99.2 ± 0.2	0
Z ² 07	0.304 ± 0.007	0.237 ± 0.007	45.9 ± 0.7	23.7 ± 0.7

注: 上角 1. 氯化锂诱变得到的菌株; 上角 2. 紫外诱变得到的菌株

表 2 诱变菌株传代每代的 NO_3^- -N 的还原率及 NO_2^- -N 的积累率 ($\bar{x} \pm \sigma$)

Tab. 2 The NO_3^- -N reduction rate and NO_2^- -N accumulation rate of various generation of the mutant strains ($\bar{x} \pm \sigma$)

传代次数	L02		L04		Z01		Z06	
	NO_3^- -N 的还原率(%)	NO_2^- -N 的积累率(%)	NO_3^- -N 的还原率(%)	NO_2^- -N 的积累率(%)	NO_3^- -N 的还原率(%)	NO_2^- -N 的积累率(%)	NO_3^- -N 的还原率(%)	NO_2^- -N 的积累率(%)
I	98.23±1.27 ^a	0	97.07±0.20 ^a	0	83.60±1.02 ^a	0	96.57±0.50 ^a	0
II	97.17±0.87 ^a	0	82.33±0.82 ^b	0	76.83±0.34 ^b	0	95.63±0.91 ^a	0
III	96.03±2.61 ^a	0	77.77±0.49 ^a	0	78.83±0.71 ^a	0	97.73±1.61 ^a	0
IV	96.70±0.36 ^a	0	79.47±1.25 ^a	0	79.63±0.78 ^b	0	96.67±0.34 ^a	0
V	96.97±1.45 ^a	0	78.03±0.12 ^a	0	75.09±0.67 ^a	0	98.00±0.65 ^a	0

注: 不同小写字母间差异显著 ($P < 0.05$), 相同字母表示差异不显著 ($P > 0.05$)

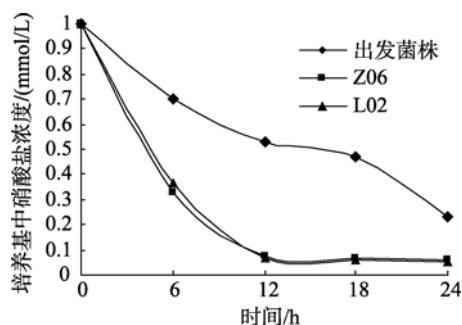


图 3 L02、Z06 及出发菌株在摇床条件下培养基中硝酸盐浓度的变化

Fig. 3 Variations of nitrate contents in the media of L02, Z06 and the original strain

差不齐, 如朱月棋等^[14]从土壤中分离得到一株好氧反硝化细菌, 在厌氧条件下对硝酸盐的去除率可达到 99.98%, 但是在好氧条件下对硝酸盐的去除率下降至 60.16%。李永勇等^[15]从土壤中分离出的好氧反硝化细菌硝酸盐氮的去除率分别为 33%和 97%。李秀婷等^[11]在活性污泥中筛选出 11 株好氧反硝化细菌, 其中 10 株以上硝酸盐的去除率为 50%以上, 7 株超过 60%。为了提高反硝化细菌的还原硝酸盐的能力, 得到优良菌种, 制成高效的微生态制剂, 用于降解养殖废水中的硝酸盐, 可以采取人工诱变的方法对自然菌株进行诱变筛选, 得到理想的菌种。

人工诱变育种是指用物理或者化学方法改变生物的遗传特性,再通过适当的筛选方法筛选出优良菌种。最常用的诱变方法是用紫外线照射和化学试剂诱变。用于诱变的化学试剂一般是一些高致癌的物质。所以寻找一种低毒高效的化学诱变剂对于诱变育种有重要意义。氯化锂是一种无机诱变剂,价格便宜并且毒性很低。一般将氯化锂和紫外线照射结合起来对菌体进行诱变处理。孙嘉龙等^[16]对红曲菌(*Monascus purpureus*)株进行复合诱变得到高产菌株的产量是出发菌株的3.3倍。本研究通过氯化锂和紫外诱变两种诱变手段分别处理实验室已有的反硝化菌株,都能得到正突变菌株。

由于诱变得到的菌株数量众多,寻找一种有效的初筛方法是很有必要的。反硝化菌株在还原硝酸盐的时候,由于硝酸根离子的减少,会使培养基中的pH值升高。BTB培养基中含有一种pH值指示剂—溴百里酚蓝,当pH值在7.0~7.3时候是呈现蓝色,随着pH值增加蓝色逐渐变深。将诱变后的菌株点种到BTB培养基上,培养一段时间后,在菌株的周围会出现蓝色晕圈。以蓝色晕圈直径与菌落直径比值为判断依据,比值越大,说明对硝酸盐去除率越大,从而初步筛选出反硝化速率高的菌株,减少了复筛的工作量。

突变菌株要进行传代实验,以检验它们的遗传稳定性。有的突变菌株会进行回复突变,其高效的反硝化性能会丧失。本研究复筛得到4株突变株,对突变株进行传代培养后发现,L04第一代和第二代,第二代和第三代之间的硝酸盐还原率有显著差异,说明L04菌株的遗传稳定性很差,硝酸盐还原率逐代降低,硝酸盐还原酶的活性随着传代次数的增加而递减,第三代和第四代,第四代和第五代之间硝酸盐还原率差异不显著,硝酸盐还原率降低到一定程度后,不再降低,硝酸盐还原率比较稳定。说明L04菌株进行回复突变,回复到诱变前的菌株。而Z01菌株每一代之间的硝酸盐还原率都有显著差异,且随着传代次数的增加,硝酸盐还原率是降低的,说明Z01菌株的遗传稳定性也很差,不适合作为优良菌株。

经过传代,得到两株反硝化细菌突变体L02和Z06,在24h内,对硝酸盐的去除率能达到95%以上,在好氧条件下对硝酸盐的去除率也能达到94%,比出发菌株的反硝化性能明显提高了,而且在反硝化过程中没有亚硝酸盐的积累,说明经过诱变使得这

两株突变体的硝酸盐还原酶和亚硝酸盐还原酶的活性有了较大程度的提高。

最优菌株不能靠一轮诱变筛选得到,想得到能用于高产且遗传稳定的工业菌株,应该对得到的优势菌株再进行诱变筛选。该研究的后续研究准备采用氯化锂和紫外诱变复合处理得到的高效菌株。

参考文献:

- [1] 王鸿泰,胡德高.池塘中亚硝酸盐对草鱼种的毒害与防治[J].水产学报,1989,13(3):207-213.
- [2] Huang H K, Tseng S K. Nitrate reduction by *Citrobacter diversus* under aerobic environment[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2001, 55(1): 90-94.
- [3] 李平,张山,刘德利.细菌好氧反硝化研究进展[J].微生物学杂志,2005,25(1):60-65.
- [4] Frette L, Gejlsbjerg B, Westermann P. Aerobic denitrifiers isolated from an alternating activated sludge system [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 1997, 24: 363-370.
- [5] 施巧琴,吴松刚.工业微生物育种学[M].北京:科学出版社,2003.78-98.
- [6] 李颐平.抗生素菌种选育的理论和技巧[M].北京:中国医药出版社,1992.45.
- [7] 李永智,汪苹,王磊.好氧反硝化细菌的物理诱变育种研究[J].北京工商大学学报(自然科学版),2009,27(3):5-8.
- [8] 中国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会.海洋监测规范(第四部分)[M].北京:标准出版社,2007.113-117.
- [9] 卢庭婷,李涛,梁智群.水稻稻瘟病拮抗链霉素的诱变选育[J].西南农业学报,2007,20(4):571-580.
- [10] 苟丽霞,安德荣,刘双发,等.瑞拉菌素产生菌RL-2的诱变育种[J].微生物学通报,2009,36(8):1212-1216.
- [11] 李秀婷,高明阳,吕跃钢,等.好氧反硝化细菌的筛选及其反硝化特性研究[J].食品科技,2009,34(1):6-9.
- [12] 何伟,王薇,王洁,等.一株好氧反硝化细菌的分离鉴定及其混合应用特性研究[J].生态与农村环境学报,2009,25(2):88-93.
- [13] 郭继平,马莺.紫外诱变选育米曲霉高产蛋白酶菌株

- [J]. 微生物学通报, 2007, 34(2): 246-250.
- [14] 朱月琪, 卫晋波, 曾国驱, 等. 一株好氧反硝化菌的分离及特性研究[J]. 微生物学通报, 2009, 36(4): 616-619.
- [15] 李永勇, 罗泽娇, 毛绪美, 等. 好氧反硝化细菌的筛选及反硝化效率测定[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(6): 2191-2193.
- [16] 孙嘉龙, 邹晓, 刘爱英, 等. 高产 Monacolin K 红曲菌株的复合诱变选育[J]. 菌物学报, 2007, 26(4): 507-516.

Screening of efficient denitrobacteria induced by ultraviolet irradiation and lithium chloride

LÜ Yu-shan¹, QI Shu-ting¹, WANG Xiao-yu¹, SHI Yu-xin¹, LI Fang-fang¹, GAO Chang-hong²

(1. Hebei University of Technology, Engineering Research Center of Seawater Utilization Technology of Ministry of Education of China, Tianjin 300130, China; 2. Hebei University of Technology, Graduate School, Tianjin 300130, China)

Received: Jul., 14, 2010

Key words: denitrobacteria; mutagenesis; ultraviolet rays; lithium chloride; nitrate reduction rate

Abstract: The denitrifying strains in our laboratory, which were used as the starting strains, were treated with ultraviolet and lithium chloride to induce mutation. Two mutants L02 and Z06 were obtained, which had high ability of nitrate reduction and low nitrite accumulation. When the two mutants were statically cultured in medium, with 1mmol/L nitrate, the nitrate reduction rates of two mutant strains reached 95%; while cultured under shaking conditions, the reduction rates were 94%, and the contents of nitrite in the medium were still 0. After five passages of experiments, the nitrate reduction rates of strains L02 and Z06 still maintained above 95%, which indicated stable genetic performance.

(本文编辑: 谭雪静)