

# 木霉选育的研究

中国科学院成都生物研究所纤维素酶组  
(成都)

木霉是一种纤维素分解菌，它在工农业生产上的应用日益广泛<sup>[1,2]</sup>。但在使用中发现，经

过多次转接后它的分解纤维素活性有明显的退化现象。鉴于这种情况,我们对纤维素酶产生菌木霉 408-2, 82-43, 4030, 333 等菌株采用单菌分离和在培养基中添加化学物质等方法进行选育。现将结果报道如下。

## 材 料 和 方 法

### 一、菌株

木霉 408-2, 82-43, 4030, 333。

### 二、培养基

1. 琼脂斜面培养基;甘露糖培养基(在马铃薯培养基中加入 1.5% 甘露糖);马铃薯培养基;麸皮纸浆培养基<sup>[3]</sup>;纤维素粉培养基<sup>[4]</sup>。

2. 琼脂平皿培养基: 在马铃薯培养基中加入 0.2% 去氧胆酸钠。

3. 蔗渣麸皮培养基<sup>[3]</sup>。

### 三、方法

1. 单菌分离法: 把退化菌株接种于纸浆斜面培养基上培养 4—5 天,取分生孢子用琼脂平皿培养基分离。在平皿中挑取单个菌落接入三角瓶内蔗渣麸皮培养基培养 5 天,测其酶活<sup>[3]</sup>。取上述酶活力高的菌株,重复纯化数次。

2. 培养基中添加化学物质: (1) 添加甘露糖: 把纯化了菌分别接种于甘露糖斜面培养基和麸皮纸浆斜面培养基上,培养后转入上述蔗渣麸皮培养基中培养,测其酶活<sup>[3]</sup>。(2) 甲醛涂抹平皿: 将试验菌株分别接种于甘露糖斜面培养基上培养,至长出白色菌丝后切一块带菌丝的培养基移于准备好的平皿中培养到菌丝达

2 厘米时,在无菌条件下分别用 0.5%, 1%, 1.5% 甲醛溶液涂抹平皿上新长出的菌丝一次,培养 2 天后再在长出的新菌丝上用甲醛涂抹,如此重复 2—3 次。(3) 苯甲醇处理: 苯甲醇浓度及处理方法同甲醛法,或采用苯甲醇和紫外线联合处理。具体做法是把用与甲醛处理相同的方法处理好的平皿放入装有 30 瓦紫外灯的无菌箱内,与灯距 33 厘米处理照射 20 分钟,避光培养 1—2 天,取菌落边沿长出的新菌丝接入三角瓶中培养,测其酶活力<sup>[3]</sup>。

3. 培养基质的选择: 将试验菌株分别接入含葡萄糖、纤维素粉、马铃薯三种不同斜面培养基中培养 7 天,观察生长情况和测定酶活力。

## 实 验 结 果

### 一、单菌分离

退化菌株 408-2, 82-43, 经单菌分离后,酶活力恢复到原菌株的水平,结果见表 1。

表 1 单菌分离后不同菌株的酶活力变化

菌株号	菌 株	平均 CMC 酶活 (毫克/毫升)	平均滤纸酶活 (毫克/毫升)
408-2	退化菌株	79	4.5
	单菌分离菌株	105	10.5
82-43	退化菌株	76	4.5
	单菌分离菌株	100	8.5

### 二、培养基中添加化学物质的效果

1. 甘露糖: 在斜面培养基中添加甘露糖,对 408-2, 82-43 菌产酶活力提高有明显效果,结果见表 2。

表 2 甘露糖对不同菌株产酶活力的影响

平均结果 菌株编号和测定指标		处 理			
		退化菌株	单菌分离菌株	加甘露糖 (转接一次)	加甘露糖 (转接二次)
408-2	CMC 酶活力(毫克/毫升)	93.33	112	127.33	137
	滤纸酶活力(毫克/毫升)	7.84	7.99	8.66	8.36
82-43	CMC 酶活力(毫克/毫升)	60	112	129	132
	滤纸酶活力(毫克/毫升)	5.5	7.45	12	11

2. 甲醛: 把经纯化的菌株与加甲醛后的菌株进行比较, 结果见表 3。

表 3 用甲醛处理对产酶活的影响

菌株号	处 理	平均 CMC 酶活 (毫克/毫升)	平均滤纸酶活 (毫克/毫升)
408-2	经纯化的菌株	102	9.3
	0.5% 甲醛	112	9.13
	1% 甲醛	114	10.05
	1.5% 甲醛	127	9.75
82-43	经纯化的菌株	96	7.29
	1.5% 甲醛	128	8.65

结果表明, CMC 酶活力在一定范围内, 随甲醛处理的浓度提高而增加。

3. 苯甲醇: 在用苯甲醇和苯甲醇-紫外线联合处理时, 木霉产酶活力有所提高, 结果见表 4。

表 4 苯甲醇和苯甲醇-紫外线处理对木霉产酶活力的影响

菌株号	处 理	平均 CMC 酶活 (毫克/毫升)	平均滤纸酶活 (毫克/毫升)
408-2	经纯化的菌株	102	9.30
	苯甲醇 0.5%	112	9.35
	苯甲醇 1.5% - 紫外线	126	10.40
82-43	经纯化的菌株	96	7.29
	苯甲醇 0.5%	113.6	7.70
	苯甲醇 0.5% - 紫外线	127	8.80
	苯甲醇 1% - 紫外线	116	8.40
	苯甲醇 1.5% - 紫外线	125.3	8.10

### 三、培养基对菌株酶活的影响

我们将 4030 菌株和 333 菌株分别接种在纤维素粉、马铃薯、葡萄糖三种不同的斜面培养基上, 其产酶和生长情况见表 5。

表 5 的结果表明, 4030 号菌株适合在纤维素粉培养基上培养, 而 333 号菌在马铃薯斜面培养基上生长较好。

## 讨 论

菌株 408-2, 82-43 虽经过连续选育, 但仍

表 5 不同菌株在三种培养基上生长和产酶情况

菌株号	培养基名称	生长情况	平均 CMC 酶活 (毫克/毫升)	平均滤纸酶活 (毫克/毫升)
4030	葡萄糖	菌丝多, 孢子少	89.9	7.74
	马铃薯	孢子较上者稍多	102	7.61
	纤维素粉	孢子较上二者多	124	8.16
333	葡萄糖	菌丝多, 孢子少	83.5	9.08
	纤维素粉	菌丝和孢子都少	90	8.52
	马铃薯	孢子较上两种多	101	9.25

不能克服突变型的遗传不稳定性。我们的试验说明, 群体发生退化的同时还存在着未退化的部分, 这个未退化的部分由于经过了环境的选择而更具有生命力。

在培养基方面, 根据 Mandels 和 Reese 报道<sup>[5,6]</sup>, 若把纤维素酶的诱导剂天然纤维素用量加到 1% 以上, 同时降低通气量以仅次于适合生长的温度培养, 保持最低限度的营养条件和一定的微量元素要求, 此时培养的微生物, 其代谢缓慢, 但纤维素酶的产量却提高了。

当木霉菌株生长在纸浆麸皮斜面培养基上时, 虽然培养基中也有纤维素酶的诱导物纸浆纤维的存在, 但是由于麸皮浸液的营养丰富, 木霉在此斜面上生长不需分解纤维素做营养, 而可以直接吸收麸皮浸液中的营养物质。因此产生的纤维素酶越来越少, 生长逐渐变差。

试验中发现, 加甘露糖的培养基用来培养木霉, 转接至第三次时, 产酶活力下降, 这可能和麸皮浸液的作用相似。

### 参 考 文 献

- [1] 张荣生等: 微生物学通报, 1(2): 4-8, 1974.
- [2] 北京市日用化学工厂, 中国科学院微生物研究所: 微生物学通报, 4(1): 23-25, 1977.
- [3] 四川生物所: 遗传学报, 2(2): 127-163, 1975.
- [4] 中山大学生物系生化微生物专业纤维素酶组: 中山大学学报, (4): 64-71, 1977.
- [5] Mandels, M. and E. T. Reese: *J. Bact.*, 73: 269, 1957.
- [6] Mandels, M. and E. T. Reese: *J. Bact.*, 79: 816, 1960.