

# 用平板透明圈法测定细菌的苕麻脱胶活力

郝利民

吴惠如

(株洲苕麻纺织研究所)

(湖南省轻工业研究所, 长沙)

经过多年摸索, 我们认为平板透明圈法对于测定细菌的苕麻脱胶活力, 是一种较为快速和简便的方法, 现将该方法介绍如下。

## 一、原理

把细菌培养在含果胶的平板培养基上, 细菌若产生细胞外的果胶酶, 则其菌落周围在用碘液处理平板后, 即出现清晰的透明圈。如果平板培养基的厚度均匀, 则透明圈的直径和菌落直径比值的平方与该菌落的脱胶力大小成正比。据此可以测定细菌的苕麻脱胶活力。

## 二、方法

### (一) 培养基

1. 斜面培养基(%): 豆饼粉2(先在水中搅匀, 调pH至3—4, 煮沸水解30分钟, 再调pH至7.0), 葡萄糖2, 硫酸镁0.05, 磷酸二氢钾0.05, 琼脂2。

2. 测定培养基(%): 果胶(BDH)0.5, 酵母膏0.5, 葡萄糖1, 硫酸镁0.1, 磷酸铵0.2。用0.2M pH8 磷酸缓冲液和蒸馏水的等体积混合液配制。

3. 摇瓶培养基: 同斜面培养基, 但不加琼脂。250毫升三角瓶装40毫升。

以上培养基均以1公斤/厘米<sup>2</sup>蒸汽灭菌30分钟。

### (二) 沉淀显色液

0.5克碘和1克碘化钾溶于100毫升蒸馏水中, 备用。

### (三) 待测菌的准备

将各类待测菌液稀释至每毫升约含100个菌体, 将此稀释液(基础浓度菌液)涂布平板测定培养基。或用摇瓶培养基将待测菌在38℃振荡培养(300转/分, 旋转式)24小时, 再将此培养液稀释成上述浓度。亦可将待测菌涂布在平板培养基上使之长成单菌落备用。

### (四) 测定操作

在水平的操作台上, 将10毫升3%的水琼脂倒入直径9厘米的培养皿中作底层, 凝固后加入10毫升测定培养基。待琼脂凝固且表面无冷凝水后, 取0.1毫升待测菌稀释液加在平板上, 用刮棒刮匀, 或直接用接种针点种约10个单菌落。38℃培养24小时后, 加入2毫升沉淀显色液, 有果胶分解力的菌落周围即出现清晰的透明圈。用卡尺量透明圈直径。果胶分解力强的菌落应在2小时内转移到斜面培养基上。

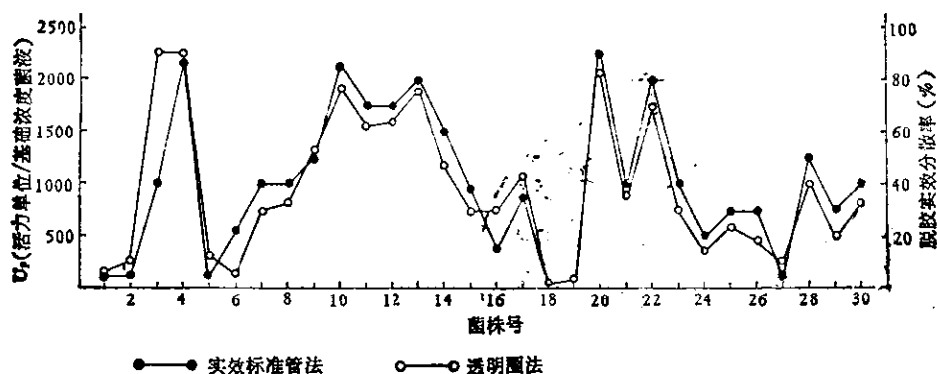


图1 透明圈法及实效标准管法测定细菌脱胶活力结果的比较

### (五) 脱胶活力的计算

将在 38℃, 24 小时于测定培养基上长出 1 平方毫米面积的单个菌落, 降解 1 平方毫米面积的培养基中的底物定为 1 个脱胶活力单位, 则上述待测稀释液的脱胶活力 ( $U_p$ ) 为:

$$U_p = \left(\frac{D}{d}\right)^2 \times 100$$

其中  $D$  为透明圈直径 (毫米)、 $d$  为菌落直径 (毫米), 100 为稀释液中的细菌数目。

### 三、方法的准确性

#### (一) 与实效标准管法的比较

实效标准管法是测定苧麻脱胶程度的一种常用方法。具体做法是: 在 50 毫升比色管中放入不同比例的 1 厘米长完全脱胶纤维和未脱胶的麻纤维, 总重量 0.5 克, 加水 50 毫升, 摇匀制成标准管。完全脱胶的单纤维在其中所占百分率表示脱胶实效分散率。另取摇瓶培养液 5 毫升, 加入装有 0.5 克 1 厘米长的苧麻的 50 毫升比色管中, 置 55℃ 水浴 30 分钟后, 加水至 50 毫升, 用力摇动使纤维分散, 与标准管比较。

将透明圈法与实效标准管法对 30 株待测菌的脱胶活力进行平行测定, 结果见图 1, 由图 1 可知, 其趋势基本是一致的。

#### (二) 方法的可重复性

表 1 用透明圈法对  $N_2-16$  菌株脱胶活力的平行测定结果

菌落编号	1	2	3	4	5	6
菌落直径 (毫米)	2.5	3.0	2.6	2.7	2.5	2.6
透明圈直径 (毫米)	12	15	13	13	12	12
脱胶活力 (单位)	2300	2500	2500	2165	2300	2120

在测定培养基上用接种针点种  $N_2-16$  (高能电子诱变株) 的 6 个菌落, 测定它们的脱胶活力, 结果见表 1。由表中可见此方法可重复性较好。我们用透明圈法从 2500 多株诱变菌株中选出脱胶活力在 2200 单位左右的 95 株菌, 用实效标准管法测定的活力, 纤维分散率也都在 90% 左右, 也说明透明圈法的准确性。

### 四、讨论

1. 用果胶作为底物测定脱胶活力, 既有利于诱导细菌果胶酶, 而半纤维素酶对它也有作用, 因此用透明圈法测定结果与实效标准管法基本上一致。

2. Jayasankar 等<sup>[1]</sup> 和 Hankin 等<sup>[2]</sup> 曾报道过与我们的方法类似的方法。经过摸索, 我们用碘液代替了他们所用的十六烷基三甲基胺作沉淀显色液。由图 2 可知, 结果基本一致, 而透明圈更加清晰。

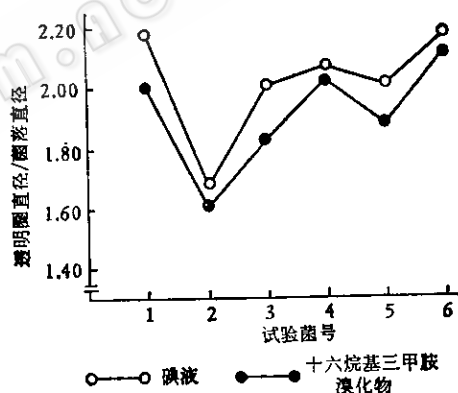


图 2 两种沉淀剂所得结果比较

### 参 考 文 献

- [1] Jayasankar, N. P. and P. H. Graham: *Can. J. Microbiol.*, 16: 1023, 1969.
- [2] Hankin, L. et al.: *Appl. Microbiol.*, 22: 205, 1971.

### 《真菌学报》征稿启事

真菌学报是真菌学的综合性刊物。本刊贯彻理论与实践相结合, 百家争鸣的方针, 反映我国真菌学 (包括粘菌、地衣) 研究情况。主要报道基础理论研究和应用方面的成果, 包括形态、分类、生理、生化、生态、遗传和工业、农业、医学等方面的研究报告以及简报、综述等。

真菌学报为季刊, 定于 1982 年 8 月创刊, 国内外公开发刊。欢迎投稿。

来稿请寄: 北京中关村中国科学院微生物研究所内, 真菌学报编辑部