

技术与方法

快速筛选聚乙烯醇降解菌的简便方法

王银善

(中国科学院武汉病毒研究所, 武汉 430071)

摘要 本文介绍的快速筛选聚乙烯醇(PVA)降解菌的简便方法是, 将待测样品分别点种在PVA作碳源制备的固体平板上, 30℃培养3天后, 加显色剂观察: 呈现无色透明斑者为阳性菌; 呈现蓝绿色者为阴性菌。

关键词 降解菌; 聚乙烯醇; 透明斑

聚乙烯醇(Polyvinyl alcohol, 简称PVA)是一种人工合成的水溶性的普通微生物难降解的大分子有机化合物。化工和印染等行业对含此类物质的废水治理极为重视。但筛选用于生化法降解PVA的菌株, 常常需要花费较长的时间。已报道的研究结果表明^[1,2], 把降解PVA的微生物接种在以PVA为碳源的平板上培养时, 会产生并释放出PVA降解酶。该酶可以通过渗透、扩散等途径专一地与菌落周围的PVA作用, 并使其由大分子转化成小分子, 进而转化为羧酸类物质^[3]。根据这一事实, 参照Finley法^[4]测定PVA的原理, PVA和碘作用时, 如有硼酸存在会产生颜色反应, 建立了一种快速筛选PVA降解菌的简便方法。

材料与方方法

供试菌种: 假单胞菌(*Pseudomonas* sp.) No66^[5]、黄杆菌(*Flavobacterium* sp.) P3-2^[6]和共生细菌SB₁^[2]〔由假单胞菌(*Pseudomonas* sp.) SB₁和产碱杆菌(*Alcaligenes* sp.) SB₁组成〕(作阳性菌株)均由本实验室保存。

培养平板制备: 按文献[2]配制以PVA为碳源的固体培养基, pH7.2, 0.55kg/cm²灭菌, 倒平板(内径约9cm, 培养基厚度2mm左右), 待凝固后备用。

显色试剂配制与使用: 该试剂由两种溶液组成: 1. 4% (W/V) 硼酸溶液; 2. 碘-碘化钾溶液: 将2.5g碘化钾置100ml棕色容量瓶中, 加蒸馏水溶解, 再加入0.65g碘, 用水定容

至刻度。使用时, 分别取I和II液15ml、3ml, 混匀。每一平板倾此混合液6—8ml, 置室温(避光)让其与培养基中的PVA充分反应, 20分钟后弃去残留液进行观察, 平板的颜色一般呈蓝绿色, 而在生长产生PVA降解酶的菌落周围则呈现无色透明斑。

结果与讨论

在已制备好的平板上点种供试菌种: 假单胞菌No66、黄杆菌P3-2和共生细菌SB₁(相互保持一定间隔), 30℃培养2—3天后, 经显色检测, 仅发现点种共生细菌SB₁位置上显现无色透明斑, 而点种其它菌位置上则为蓝绿色(见图1)。这表明仅共生细菌SB₁有降解PVA的性能。

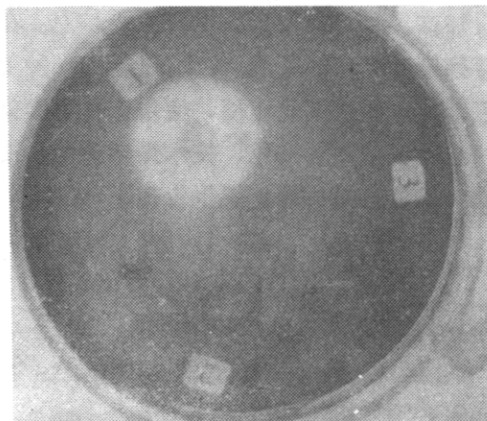


图1 透明斑法筛选菌种图示

1. 共生细菌SB₁ 2. 假单胞菌No66

为证实该试验方法的可靠性,将上述三种供试菌分别接种到含PVA为碳源的液体培养基中,用常规的振荡法培养3—4天,检测其PVA含量变化。结果表明(表1),假单胞菌No66和黄杆菌P3-2降解PVA的百分率为零,而共生细菌SB₁则为95%。这证明,两种方法给出的结果是一致的;本文介绍的快速筛选降解PVA菌株的方法是简便可信的。

表1 3种细菌降解PVA的摇瓶试验

菌种名称	生长情况*	PVA降解(%)**
假单胞菌 No66	+	0
黄杆菌 P3-2	+	0
共生细菌 SB ₁	+++	95

* +: 生长; +++: 生长很好

** 用 Finley 法测 A_{690nm} 消光值

综上所述不难看出,本法所具有的操作简便、条件易满足、每次筛选样品多和结果可以肉眼判断等优点,对于缩短选育周期、提高工作效率和降低成本消耗等方面是有益的。

参考文献

1. Suzuki T et al.: *Agric. Biol. Chem.*, **37** (4): 747—756, 1973.
2. 王银善等: *环境科学学报*, **11** (2): 236—241, 1991.
3. Sakai K et al.: *Agric. Biol. Chem.*, **49** (3): 827—833, 1985.
4. Finley J H: *Anal. Chem.*, **33**: 1925, 1991.
5. 王银善等: *环境科学学报*, **7** (1): 107—113, 1987.
6. 王银善等: *环境科学学报*, **5** (3): 315—321, 1985.

(1992-07-18 收稿)