

+++++  
技术与方法  
+++++

## 一种纤维素分解菌鉴别培养基

叶姜瑜

(西南师范大学生命科学系 重庆 630715)

**摘要** 一种新的鉴别性纤维素刚果红培养基, 含酸洗纤维素为唯一碳源和染料刚果红, 产纤维素酶菌株在其上形成浓郁红色水解圈, 明显区别于其它微生物类群, 方便纤维素分解菌的筛选和计数。

**关键词** 纤维素刚果红培养基, 纤维素分解菌, 水解圈

微生物水解纤维素为葡萄糖的可能性, 具有巨大吸引力和现实意义。纤维素分解菌的筛选主要有纤维素选择培养基<sup>[1]</sup>、滤纸底物和纤维素天青培养基<sup>[2]</sup>等选择和分离的方法, 这些方法不甚经济。改进的方法有如 Smith 的半固体纤维素天青试管法<sup>[3]</sup>和《P-N》法<sup>[4]</sup>等。Teather 和 Wood 等曾观察到刚果红染料对鉴定多糖水解物是有效的, 认为染料同水解的多糖形成了一个清晰可见、有浓郁色泽的复合物, 且认为水解圈大小同酶活高低有一定的数量关系<sup>[5]</sup>。Hendricks 等则进一步发展成为一个鉴别性培养基用于各种纤维素分解菌数目测定<sup>[6]</sup>。在此基础上, 我们经过多次试验, 摸索出适用于一般实验室的配方和初步估计酶活高低的方法, 扼要报道如下。

### 1 纤维素刚果红培养基的配制

配方中含  $K_2HPO_4$ , 0.50g,  $MgSO_4$ , 0.25g, 纤维素粉 1.88g, 刚果红 0.20g, 琼脂 14.00g, 明胶 2.00g, 土壤浸汁 100ml, 水 900ml, pH 值为 7.0。配制前应对纤维素粉和琼脂进行预处理, 除去药品可能存在的其它碳源, 使纤维素成为唯一碳源。纤维素应加 1N HCl 浸泡 12h, 然后蒸馏水洗多次至 pH 值中性, 烘干备用。培养基配制方法同常规。

### 2 产纤维酶菌株的特征和识别

纤维素是由葡萄糖残基以  $\beta$ -1, 4 糖苷键

连接而成的线状大分子物质, 纤维素水解酶能够水解此糖苷键使其变成纤维二糖和葡萄糖。水解后的糖类同刚果红染料可形成红色沉淀(图 1), 颜色浓郁、厚重, 所以此水解圈在菌落生长过程中便逐渐清晰可见, 不易发生错误识别。在纤维素刚果红培养基上, 凡能形成红色水解圈的菌落即是能产纤维素酶的菌株。在实验中我们发现, 即使是低酶活菌株也能形成清晰的红色水解圈, 具有明显的可识别性。

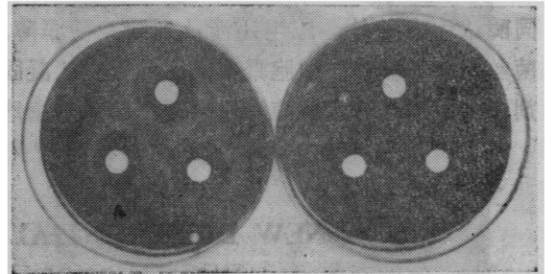


图 1 酶水解纤维素后同刚果红染料形成红色沉淀  
左: 含纤维酶滤纸片; 右: 对照

### 3 非纤维分解菌的干扰

在对样本(如土壤)分离筛选纤维分解菌时, 也发现少数不形成红色水解圈的小菌落生长在纤维素刚果红琼脂上<sup>[7]</sup>。此可能有两方面的原因: 其一是一同药品纯度、纤维素或琼脂洗涤不彻底有关。我们曾作过用不酸洗纤维素代替酸洗纤维素作材料配制培养基, 对同一土壤

悬液进行计数时发现不形成红色水解圈的小菌落数,前者明显多于后者。其二可能是更主要的原因,纤维素酶的释放造成多糖的水解,使得土壤悬液中一些不能分泌纤维素酶的菌株受益长成微小菌落。这种现象在久置的培养基中越发突出。针对此种现象在对纤维分解菌计数时可有一固定水解圈的方法:对已长好菌落的平板滴加 1mol/L HCl 数滴,红色水解圈沉淀顿时变为深蓝色,结果仍然清晰,但抑制了酶的活性和其它微生物的生长。

#### 4 纤维素刚果红培养基潜在价值

除了用于识别产纤维酶菌株外,纤维素刚果红培养基还可初步判定酶活性高低。产酶愈多,水解圈愈大,产酶越快,水解圈出现越早。根据水解圈沉淀大小、出现早迟便可粗略估计菌株产酶情况<sup>[8]</sup>,以免一一筛选,浪费时间和精力。Teather 等认为对数酶浓度和水解带直径有一种直接关系<sup>[6]</sup>,但我们认为这一点显然不是绝对的。这主要由于各种类型分泌纤维酶的微生物本身差异就较大,水解圈大小除了同酶浓度有关外,应当还涉及到细胞壁厚薄、菌丝粗细和疏密、细胞聚集成团的程度、凝固剂多少而引起的水解酶渗透过快慢、菌落与菌落

之间相互位置和产物或分泌物抑制等因素,因此不能过分强调这些圈大小的增加同产酶量或酶活性的正比关系。

总体而言,纤维素刚果红培养基在对纤维分解菌进行准确识别方面,明显优于传统的其它培养基,还可用于粗略估计产酶情况,减少工作量和筛选的盲目性,是值得推荐的一种鉴别性培养基。

#### 参 考 文 献

- [1] 程光胜,李玲阁,张启先等译. 微生物学实验法. 北京: 科学出版社, 1981, 324~341.
- [2] 张宗玉,童坦君,龚秋明译. 细胞外酶. 北京: 科学出版社, 1988, 65.
- [3] Smith RE. *Applied and Environmental Microbiology*, 1977, 33 (4): 980~981.
- [4] 薛茂杰,刘德明,马惠昌等. 环境化学. 1985 专辑: 61~66.
- [5] Teather R M, Wood PJ. *Applied and Environmental Microbiology*, 1982, 43 (4): 777~780.
- [6] Hendricks C W, Doyle J D, Hugley B. *Applied and Environmental Microbiology*, 1995, 61 (5): 2016~2019.
- [7] 叶姜瑜. 西南师范大学学报(自然科学版). 1996, 21 (6): 617~621.
- [8] 郭杰炎,蔡武城. 微生物酶. 北京: 科学出版社, 1986, 76~164.

## A NEW DIFFERENTIAL MEDIUM FOR CELLULOSE DECOMPOSING MICROORGANISMS

Ye Jiangyu

(Department of Life Science, Southwest China Normal University, Chongqing 630715)

**Abstract** Cellulose-Congo red agar is a new differential medium containing cellulose which is to be the only carbon source and dye congo red. The colonies of cellulose decomposing microorganisms, having secreted cellulase, are surrounded by some distinct red zones in the medium and can be easily distinguished from colonies of other types of microorganisms. We can conveniently use this medium to sieve and denumerate cellulose decomposing microorganisms.

**Key words** Cellulose-Congo red medium, cellulose decomposing microorganisms, zone of hydrolysis