

产淀粉酶菌的筛选和诱变

doi:10.3969/j.issn.1674-7100.2019.03.005

徐 鸿 陈启明 汤建新
杨 莲 曾晓希

湖南工业大学
生命科学与化学学院
湖南 株洲 412007

摘 要: 淀粉酶在造纸工业中被广泛利用, 淀粉酶的需求量越来越大, 获得高产淀粉酶菌株是解决该问题的重要途径。采用透明圈法筛选获得3株产淀粉酶的细菌, 并对它们进行紫外光和超声波诱变研究, 探究其产淀粉酶的最佳诱变条件。实验结果显示, 菌株紫外光诱变的适宜照射时间为30 s, 最佳照射距离为15 cm, C1菌和S菌的诱变效果较好, 在此条件下的比透明圈都为3.00。超声波诱变的适宜时间为20 min, C1菌和S菌的比透明圈都为2.50。研究表明, 紫外光和超声波诱变都能提高产酶量, 紫外光诱变的效果较超声波诱变更稳定, 超声波诱变后的产酶量低于紫外光诱变。

关键词: 产淀粉酶菌; 紫外光; 超声波; 诱变

中图分类号: Q939.97 **文献标志码:** A

文章编号: 1674-7100(2019)03-0030-07

引文格式: 徐 鸿, 陈启明, 汤建新, 等. 产淀粉酶菌的筛选和诱变[J]. 包装学报, 2019, 11(3): 30-36.

1 研究背景

随着现代社会的发展, 人们的环保意识逐渐增强, 生物酶在造纸工业中的应用越发受到关注。其中, 淀粉酶作为一种工业类用生物酶, 其多样性和催化效果不断得到重视。淀粉酶在自然界中广泛分布, 几乎所有的植物、动物和微生物都含有淀粉酶^[1-3]。它是研究较多、生产较早、应用较广、产量较大的酶。其产量占酶总产量的50%以上^[4-5]。淀粉酶在造纸工业中可用于纸张脱墨, 与化学脱墨相比能大大降低废水污染; 可用于降低淀粉胶液黏度, 从而降低成本、减少环境污染; 可用于提高二次纤维的回收利用等^[6-8]。

利用微生物产淀粉酶具有工艺简单、成本低、环境友好等优点, 但产量较低。目前, 国内外提高淀粉酶产量的方法主要有: 1) 利用基因工程的方法, 如温赛^[9]等将中温 α -淀粉酶基因在芽孢杆菌中进行重组表达, 与原始菌株相比产量提高70%, 但此方法存在不稳定、操作复杂等诸多问题。2) 利用诱变的方法, 如张家磊^[10]在高温地区筛选耐高温产淀粉酶的菌株并对其诱变提高产量, 诱变具有突变率高、时间短、简单等优点。

在工业化生产中, 经济而有效的方法便是通过诱变选育, 利用各种诱变方法对野生型菌株进行诱变。诱变分为物理诱变和化学诱变, 而最常见的物

收稿日期: 2019-01-13

基金项目: 国家科技支撑计划基金资助项目(2015BAD05B02), 湖南省科技计划基金资助重点项目(2016NK2096), 湖南省自然科学基金资助项目(2018JJ2090), 长沙市科技计划基金资助重点项目(kh1601106), 湖南省教育厅科学研究基金资助项目(15C0412), 2018年株洲市社会发展及民生支撑基金资助项目(201861006)

作者简介: 徐 鸿(1996-), 男, 湖南衡阳人, 湖南工业大学硕士生, 主要研究方向为应用微生物,

E-mail: 1801282480@qq.com

通信作者: 曾晓希(1972-), 女, 湖南娄底人, 湖南工业大学教授, 主要从事环境微生物方面的教学与研究,

E-mail: zengxiaoxi2003@163.com

理诱变就是紫外光诱变和超声波诱变。紫外光诱变和超声波诱变因诱变成功率高,已成为工业化诱变的首要选择^[11-16]。

本文采用透明圈法筛选获得产淀粉酶的细菌,并对其进行紫外光和超声波诱变研究,探究其产淀粉酶的最佳诱变条件,从而达到提高淀粉酶产量的目的。

2 试验材料与方法

2.1 实验试剂及仪器

1) 主要试剂

琼脂、氯化钠、可溶性淀粉、蛋白胨、蒸馏水、无菌水、生理盐水、质量分数为1%的淀粉溶液,均为国药集团化学试剂有限公司生产;碘液,湖南汇虹试剂有限公司生产;牛肉膏,南京茂捷微生物科技有限公司生产。

2) 主要仪器

培养皿、试管、试管架、涂布棒、玻璃棒、滴管、移液枪、枪头、锡箔纸、10 mL离心管、直尺、量筒,均为生工生物(上海)工程股份有限公司生产;MLS-3781L-PC高压灭菌锅,松下电器研究开发有限公司生产;HH-2恒温培养箱,天津市欧诺仪器仪表有限公司生产;79-1磁力搅拌器、磁力搅拌子,金坛市中大仪器厂生产;3K30低速离心机,德国西格玛离心机公司生产;SW-CT-2D超净工作台,苏州净化设备有限公司生产;KQ3200DE超声波处理机,昆山市超声仪器有限公司生产。

2.2 产淀粉酶菌的筛选与诱变方法

实验样本为湖南工业大学校园内的土壤。采用淀粉培养基培养,通过透明圈筛选产淀粉酶的菌株。

采用的诱变方法为物理诱变方法,即紫外光诱变和超声波诱变。在2种不同的诱变方法下,改变影响诱变的条件,完成诱变之后,根据诱变处理后的菌种涂布于平板上产生的透明圈大小进行筛选。

紫外光诱变是经典的物理诱变方法,紫外光对产淀粉酶菌有诱变作用。在以往的实验中,一般采用15 W或者30 W的紫外灯进行诱变,照射的距离一般为20~30 cm,但对于不同的菌种照射时间不同,一般为1~3 min,且死亡率应控制在50%~88%之间^[17]。本次实验,所采用的紫外灯功率为20 W。

超声波作为诱变剂,已经被研究证明对工业微生物易产生生物学效应,而影响超声波生物学效应的主要因素有3种,分别为:时间、功率和频率。本次试

验的固定诱变频率为25 kHz,固定诱变功率为220 W,变化量为时间和菌种的浓度^[18]。

2.3 检测方法

2.3.1 比透明圈

在固体培养基中渗入溶解性差、可被特定菌利用的营养成分,造成浑浊、不透明的培养基背景,经过一定时间培养后,在菌落周围将形成透明圈,透明圈的大小反映菌落利用此物质的能力^[19]。测量比透明圈时,选取的菌液稀释度为 10^{-8} ,与对照组(未进行诱变的淀粉酶菌株)同时37℃下培养24 h,24 h后滴加碘液,用直尺测量菌落与透明圈的直径,计算其比透明圈,然后互相比对透明圈的大小。

2.3.2 致死率与正突变率

诱变具有致死和诱变两方面的效应,测定致死率需要将诱变后的菌液涂布培养后进行计数,以未经过诱变的菌液(除未经诱变处理外,其他条件相同)涂布培养相同时间进行计数做对照。设未处理平板菌落数为 x ,处理平板菌落数为 y ,则诱变致死率的计算公式为

$$\text{致死率} = \frac{x-y}{x} \times 100\%。$$

诱变剂诱变的结果分为正诱变和负诱变两方面的效果,而在实验中,正诱变才是所需要的突变结果。所以,在进行诱变实验时,需要计量有效诱变的比例,即正突变率。设基本菌落数为 m ,性状提高的菌落数为 n ,则正突变率计算公式为

$$\text{正突变率} = \frac{n}{m} \times 100\%。$$

3 结果与讨论

3.1 菌种初筛和纯化

初步筛选选取了2个区域的土样,包括菜园和食堂附近,分别标记为C和S。纯化后的菌种复筛时又筛选出形态特征较为明显的3种菌,标记为:菜园菌种(C_1)、菜园菌种(C_2)、食堂菌种(S),以下皆用简称表示。

将初筛所得的产淀粉酶菌落经复筛后再次划线,37℃恒温培养24 h后,得到纯化菌落。在长出菌落的平板上加入碘液,可观察到明显的透明圈,如图1所示。这些纯化菌将其周围培养基中的淀粉分解,导致碘液在其周围不产生显色反应,透明圈的大小显示其产淀粉酶的能力。

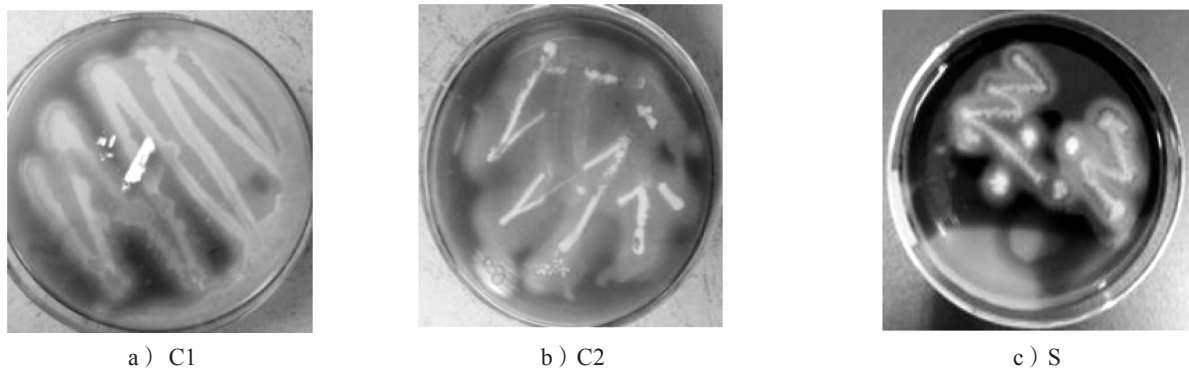


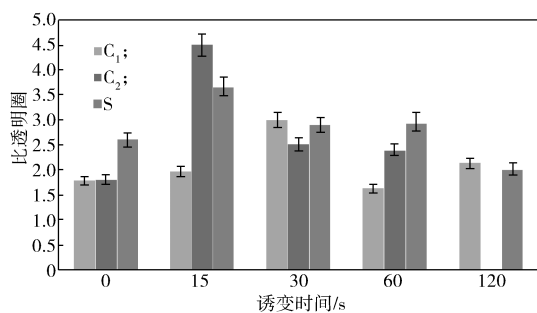
图1 菌株产生的透明圈

Fig. 1 The transparent circles of strains

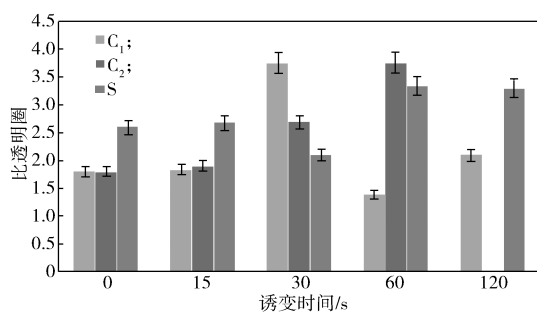
3.2 紫外光诱变

3.2.1 比透明圈

紫外光诱变后菌种在恒温培养箱培养 48 h, 用直尺测量透明圈与菌落的大小, 计算其比值, 得到比透明圈。比透明圈与紫外光诱变时间的关系如图 2 所示, 其中图 2a、2b 的紫外光照射距离分别为 15、30 cm。



a) 照射距离为 15 cm



b) 照射距离为 30 cm

图2 产淀粉酶菌经紫外光诱变前后的比透明圈

Fig. 2 Specific transparent circle before and after mutagenesis of amylase producing bacteria

由图 2a 可知: 对于 C₁ 菌, 当诱变时间为 30 s 时, 比透明圈最大为 3; 当诱变时间为 60 s 时, 比透明圈比未诱变时的小; 当诱变时间为 120 s 时, 比透明圈明显增大。由此可见 C₁ 菌对紫外光的适用能力

较强。对于 C₂ 菌, 当诱变时间为 15 s 时, 比透明圈最大为 4.50; 当诱变时间为 120 s 时, 菌落未长出; 该菌经诱变后的总体趋势是属于正诱变范围。对于 S 菌, 当诱变时间为 15 s 时, 其比透明圈最大为 3.67; 紫外光诱变 60 s 之后, 呈现负诱变的趋势。

由图 2b 可知: 当诱变时间为 15 s 时, 菌并未发生明显诱变, 可能由于紫外光照射距离较长, 导致诱变强度减弱, 短时间内不能引起诱变。对于 C₁ 菌, 当诱变时间为 30 s 时, 比透明圈最大为 3.75; 对于 C₂ 菌, 当诱变时间为 60 s 时, 比透明圈最大为 3.76; 对于 S 菌, 当诱变时间为 60 s 时, 比透明圈最大为 3.35。C₂ 菌与 S 菌诱变结果稳定性较好, 但 2 种菌的最大比透明圈小于照射距离为 15 cm 时的情形; C₁ 菌的最大比透明圈虽然大于照射距离为 15 cm 时的情形, 但诱变结果稳定性极差。

紫外光诱变产淀粉酶菌的方法, 是一种比较实用的诱变方法, 部分菌落经紫外光诱变后, 其酶活力会明显增高, 但每种菌的最佳诱变条件各不相同。上述实验结果表明: C₁ 菌最佳诱变条件为紫外光照射距离为 30 cm, 照射时间为 30 s, 此时的比透明圈为 3.75。C₂ 菌最佳诱变条件为紫外光照射距离为 15 cm, 照射时间为 15 s, 此时的比透明圈为 4.50。S 菌最佳诱变条件为紫外光照射距离为 15 cm, 照射时间为 15 s, 此时的比透明圈为 3.67。

3.2.2 致死率及正突变率

菌种 DNA 可吸收的紫外光光谱为 260 nm, 能诱发菌种突变的有效波长范围为 200~300 nm, 其中最有效的波长为 253.7 nm^[17]。本文主要对紫外光照射距离为 15 cm 的结果进行分析与讨论, 因为在紫外光照射距离为 30 cm 时, 由于诱变时间的改变, 菌种致死率最低高达 81.23%, 且正突变率明显比照射距离为

15 cm 的小, 根据优选原则, 排除这一距离因素。

1) 致死率

3 种菌的致死率与紫外光诱变时间的关系如图 3 所示。

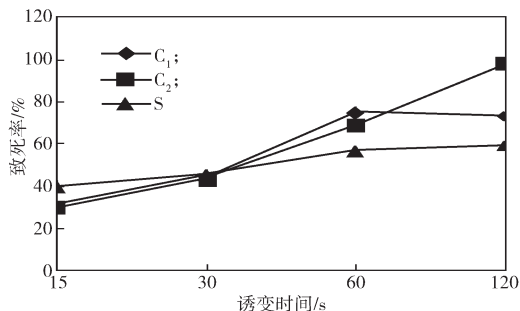


图 3 菌的致死率与诱变时间的关系

Fig. 3 Relationship between lethal rate of bacteria and mutagenesis time

从图 3 可以看出: 对于 C₂ 菌, 随着紫外光照射时间的增加, 菌种的致死率持续增加; 当诱变时间为 120 s 时, 致死率高达 90% 以上。对比图 2a 可知该菌在 120 s 时几乎死完。主要原因是随着紫外光照射时间的增加, 菌体中胞嘧啶和尿嘧啶之间的水合作用增加, DNA 链之间的断裂增加, 嘧啶二聚体的形成也增加, 这导致 DNA 复制障碍或不能正常复制, 进而使 DNA 生产异常, 严重的情况下导致菌体死亡^[20]。对于 C₁ 菌, 其最高致死率为 81.25%; 当诱变时间在 30~60 s 时, 致死率陡然上升, 可能是由于菌株浓度适宜, 可以充分被紫外光照射, 活菌直接吸收大量紫外光辐射的能量, 导致致死率增加; 当诱变时间大于 60 s 后, 菌种致死率趋于平稳, 这也再次证明了 C₁ 菌对紫外光诱变的适用能力。刘雅琴等^[21] 做紫外光诱变产淀粉酶菌时, 使用的诱变时间梯度是 30, 60, 90, 120, 150, 180 s, 产淀粉酶菌在紫外光照射为 120 s 时, 致死率趋于平稳, 最高致死率为 93.00%, 其致死率与诱变时间的关系与 C₁ 菌相似。对于 S 菌, 在实验时间段内其致死率一直较低, 这表明对该菌种紫外光照射时间可适当延长, 以增加突变率。由此可见, 不同菌的致死率各不相同, 可根据每种菌的特性适当调整诱变条件。

2) 正突变率

3 种菌的正突变率与紫外光诱变时间的关系如图 4 所示。

从图 4 可以看出: C₁ 菌与 S 菌的正突变率变化趋势大致相同, 即先随着紫外光照射时间的增加而增

加, 从 30 s 后开始下降, 且在 30~60 s 之间下降最快。对于 C₂ 菌, 诱变时间在 60 s 以前, 正突变率先降低后上升; 诱变时间在 60 s 之后, 正突变率开始急剧下降至 0。可能由于 C₂ 菌在诱变时间为 60 s 之后的致死率快速增加, 大部分菌体死亡, 因此菌株的正突变率也相应减少。

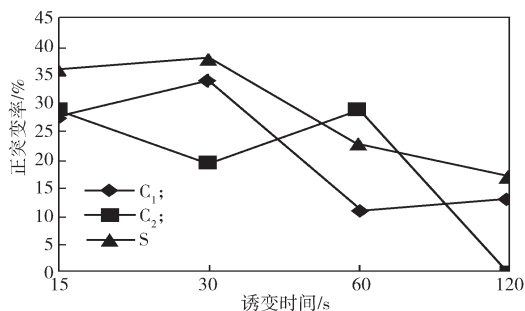


图 4 菌的正突变率与诱变时间的关系

Fig. 4 Relationship between positive mutation rate of bacteria and mutagenesis time

结合图 3 与图 4 可知: 对于 C₁ 菌与 S 菌, 当诱变时间在 60 s 之前, 致死率都呈先上升后下降的趋势, 正突变率呈现为 0~30 s 内上升, 30~60 s 内快速下降的趋势; 当诱变时间在 60 s 之后, 正突变率下降更低。因此, C₁ 菌与 S 菌的最佳照射时间为 30 s。对于 C₂ 菌, 致死率一直增加, 正突变率变化不稳定, 不能确定其最佳照射时间。从图 2a 紫外光诱变时比透明圈的变化结果也可以看出, C₂ 菌的比透明圈虽然较大, 但其变化极不稳定, 不易操作。

3.3 超声波诱变

3.3.1 比透明圈

菌种经超声波诱变后, 比透明圈与诱变时间的关系如图 5 所示。

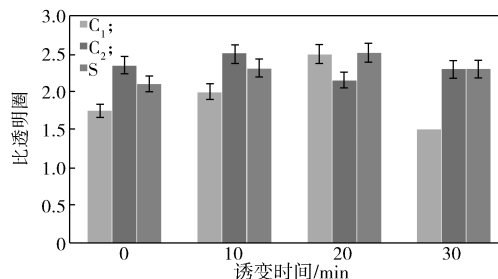


图 5 产淀粉酶菌经超声波诱变前后的比透明圈

Fig. 5 Specific transparent circle before and after ultrasonic mutagenesis of amylase producing bacteria

由图 5 可以看出: 对于 C₁ 菌, 当诱变时间为 10 min 和 20 min 时, 比透明圈均大于诱变前的, 并在

诱变时间为 20 min 时达到最大为 2.50; 当诱变时间为 30 min 时, 比透明圈小于诱变前的。对于 C_2 菌, 当诱变时间为 10 min 时, 比透明圈达到最大为 2.51; 当诱变时间为 20 min 和 30 min 时, 比透明圈小于未诱变时的, 但变化不大。对于 S 菌, 诱变后的比透明圈均大于诱变前的; 当诱变时间为 20 min 时, 比透明圈达到最大为 2.50; 当诱变时间为 30 min 时, 比透明圈有所下降, 可能是由于超声波诱变时间过长, 使菌生长环境温度上升, 部分菌已致死^[22-23]。

由图 5 还可以看出, 超声波诱变前后, C_1 和 S 菌比透明圈的变化趋势一致, 诱变结果都较稳定, 但 C_2 菌诱变结果不稳定。因此, 可以选取最佳超声波诱变时间为 20 min。

3.3.2 致死率和正突变率

探究 3 种菌的致死率和正突变率与超声波诱变时间的关系时, 选取的诱变时间分别为 0, 10, 20, 30 min, 菌液稀释度均为 10^{-8} , 其结果如表 1 所示。

表 1 超声波诱变后菌的致死率及正突变率
Table 1 Mortality and positive mutation rate of bacteria after ultrasonic mutagenesis %

诱变时间 / min	C_1 菌		C_2 菌		S 菌	
	致死率	正突变率	致死率	正突变率	致死率	正突变率
10	50.00	23.81	51.16	33.33	53.03	38.71
20	52.38	65.00	58.14	55.56	74.24	41.18
30	61.90	25.00	65.12	26.67	81.81	25.00

由表 1 可知: 诱变时间在前 20 min 内, 3 种菌的致死率和正突变率都呈现上升趋势, 当诱变时间为 20 min 时, 3 种菌的正突变率都达到最大。继续延长超声波诱变时间, 其正突变率开始下降, 而致死率持续上升。其原因是, 随着超声波诱变时间的增加, 细菌中突变基因的数量增加, 在合适的基因突变范围内, 正突变率升高; 但当诱变时间过长, 对细胞的损伤较大, 细胞不能维持正常的新陈代谢, 从而导致菌的大量死亡。

4 结论

以产淀粉酶菌为研究对象, 分别用紫外光照射、超声波处理 2 种物理方法, 进行单因素诱变研究。结果表明: 紫外光诱变最佳条件为照射时间 30 s, 照射距离 15 cm。在此条件下 C_1 菌和 S 菌的诱变效果最佳, 比透明圈都为 3.00; C_1 菌的致死率和正突变率分别为 43.75% 和 33.33%; S 菌的致死率和正突变

率分别为 44.83% 和 37.50%。超声波诱变的最佳时间为 20 min。在此条件下 C_1 菌和 S 菌的诱变效果最佳, 比透明圈值都为 2.50; C_1 菌的致死率和正突变率分别为 52.38% 和 65.00%; S 菌的致死率和正突变率分别为 74.24% 和 41.18%。由研究结果可知, 2 种诱变方法都可行, 超声波诱变的结果较稳定, 而紫外光诱变的诱变结果不太稳定, 但超声波诱变后的产酶量低于紫外光诱变。

参考文献:

- [1] 王磊, 陈宇飞, 杨柳. 产淀粉酶芽孢杆菌的分离和鉴定 [J]. 食品研究与开发, 2017, 38(6): 175-178. WANG Lei, CHEN Yufei, YANG Liu. Isolation and Identification of Amylase-Producing Bacillus[J]. Food Research and Development, 2017, 38(6): 175-178.
- [2] 徐琛. 产淀粉酶芽孢杆菌的筛选和分离 [J]. 齐鲁师范学院学报, 2011, 26(5): 144-146. XU Chen. The Screening and Isolation of Bacillus Strains Producing Amylase[J]. Journal of Qilu Normal University, 2011, 26(5): 144-146.
- [3] 陈燕, 刘盾, 陈玄阳, 等. 一株产 α -淀粉酶芽孢杆菌的分离与鉴定 [J]. 山东化工, 2018(24): 75-77. CHEN Yan, LIU Dun, CHEN Xuanyang, et al. Screening & Identification of α -Amylase-Producing Bacillus sp.[J]. Shandong Chemical Industry, 2018(24): 75-77.
- [4] 王鑫昕, 耿霄, 吴子龙, 等. 丛台酒大曲中高产淀粉酶细菌的分离和鉴定 [J]. 酿酒科技, 2017(1): 30-32. WANG Xinxin, GENG Xiao, WU Zilong, et al. Isolation and Identification of a Bacteria Strain with High Yield of Amylase from Congtai Daqu[J]. Liquor-Making Science & Technology, 2017(1): 30-32.
- [5] 赵丰丽, 吴奔, 张昌志, 等. 罗汉果内生菌及其周边土壤中产 α -淀粉酶菌株的筛选 [J]. 食品科学技术学报, 2017, 35(3): 61-65. ZHAO Fengli, WU Ben, ZHANG Changzhi, et al. Screening of α -Amylase Producing Strains from Endophytic Bacteria in Siraitia Grosvenorii and Its Surrounding Soil[J]. Journal of Food Science and Technology, 2017, 35(3): 61-65.
- [6] 于红, 李宗全, 秦梦华, 等. 淀粉酶用于混合办公废纸脱墨的初步研究 [J]. 中国造纸学报, 2002, 17(2): 46-48. YU Hong, LI Zongquan, QIN Menghua, et al. Research of Enzymatic Deinking of MOW with

- Amylase[J] Transactions of China Pulp and Paper, 2002, 17(2): 46-48.
- [7] 冯桂平, 田中粟, 李 翠. α -淀粉酶在轻型纸表面施胶中的应用[J]. 中华纸业, 2012, 33(4): 76-77.
FENG Guiping, TIAN Zhongsu, LI Cui. The Application of α -Amylase in Surface Sizing of Light Weight Paper[J]. China Pulp, 2012, 33(4): 76-77.
- [8] 黄金锋, 卢玉栋, 翁景峥, 等. 淀粉酶提高废纸箱二次纤维的磨浆效果[J]. 造纸化学品, 2011, 23(1): 29-31.
HUANG Jingfeng, LU Yudong, WENG Jingzheng, et al. Improving Refining Effect of Old Carton Secondary Fibers by Amylase[J]. Paper Chemicals, 2011, 23(1): 29-31.
- [9] 温 赛, 杨建国, 王凤寰, 等. 中温 α -淀粉酶基因在枯草芽孢杆菌中的整合及高效表达[J]. 北京化工大学学报(自然科学版), 2015, 42(4): 78-82.
WEN Sai, YANG Jianguo, WANG Fenghuan, et al. High-Level Expression of Mesophilic α -Amylase in Bacillus Subtilis by Chromosomal Integration[J] Journal of Beijing University of Chemical Technology (Natural Science), 2015, 42(4): 78-82.
- [10] 张家磊. 产耐高温淀粉酶菌株的筛选及离子束诱变研究[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2008.
ZHANG Jialei. Screening of Thermostable Amylase-Producing Strain and Ion Beam Mutation Breeding[D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2008.
- [11] 文 狄, 褚丹维, 罗绍娇, 等. 土壤中产高活性淀粉酶细菌的分离与纯化[J]. 安徽农业科学, 2018, 46(27): 6-9.
WEN Di, CHU Danwei, LUO Shaojiao, et al. Isolation and Purification of Bacteria Producing Highly Active Amylase in Soil[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2018, 46(27): 6-9.
- [12] 雷晓燕. 土壤中淀粉酶产生菌的筛选及产酶条件优化[J]. 沈阳化工大学学报, 2010, 24(3): 203-208.
LEI Xiaoyan. Screening of Bacterium Producing Amylase from the Soil and Optimization of the Condition for Enzyme Production[J] Journal of Shenyang University of Chemical Technology, 2010, 24(3): 203-208.
- [13] 钱泽栋, 张佑红, 卢育兵, 等. 纳豆菌的分离筛选与鉴定[J]. 化学与生物工程, 2018, 35(8): 41-44.
QIAN Zedong, ZHANG Youhong, LU Yubing, et al. Isolation, Screening, and Identification of Bacillus Natto[J]. Chemistry & Bioengineering, 2018, 35(8): 41-44.
- [14] 饶甜甜, 郭虹雯, 赵惠茹, 等. 紫外诱变及高温驯化联用筛选耐高温嗜酸乳杆菌[J]. 中国食品学报, 2018, 18(9): 129-135.
- RAO Tiantian, GUO Hongwen, ZHAO Huiru, et al. Screening of Thermotolerant Lactobacillus Acidophilus Strain by UV Mutation and High Temperature Acclimation[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2018, 18(9): 129-135.
- [15] 史 君, 李晓秀. 紫外诱变法提高枯草芽孢杆菌抗菌物质产量[J]. 沈阳药科大学学报, 2017, 34(12): 1084-1087.
SHI Jun, LI Xiaoxiu. Improvement of the Production of Antimicrobial Substances from Bacillus Subtilis by UV Induced Mutation[J]. Journal of Shenyang Pharmaceutical University, 2017, 34(12): 1084-1087.
- [16] 张 旭, 张惠文, 徐明恺, 等. 超声波诱变选育乳链菌肽(Nisin)高产菌株[J]. 生物技术, 2009, 19(6): 20-22.
ZHANG Xu, ZHANG Huiwen, XU Mingkai, et al. Screening of a Strain with High Yield of Producing Nisin by Ultrasonic[J]. Biotechnology, 2009, 19(6): 20-22.
- [17] 虞 龙, 姚驰亚, 吴晓菲, 等. 低能氮离子注入和紫外线复合诱变选育高产酿酒酵母[J]. 辐射研究与辐射工艺学报, 2017, 35(2): 44-49.
YU Long, YAO Chiya, WU Xiaofei, et al. Mutation Breeding of Ethanol-Producing Yeast Saccharomyces Cerevisiae by Low-Energy Nitrogen Ion Implantation and UV Rays[J]. Journal of Radiation Research and Radiation Processing, 2017, 35(2): 44-49.
- [18] 杨胜利, 王金宇, 杨海麟, 等. 超声波对红曲菌的诱变筛选及发酵过程在线处理[J]. 微生物学通报, 2004, 31(1): 45-49.
YANG Shengli, WANG Jinyu, YANG Hailin, et al. The Ultrasonic Screening of Monascus Sp. Mutants and The Treatment with on Line Ultrasonic During Fermentation[J]. Microbiology, 2004, 31(1): 45-49.
- [19] 陈 玲, 涂国全. 透明圈法筛选柚苷酶高产菌株[J]. 江西科学, 2007, 25(1): 27-29.
CHEN Ling, TU Guoquan. Screening of High Naringinase-Producing Strains with A Method of Transparent Circle[J]. Jiangxi Science, 2007, 25(1): 27-29.
- [20] 沈齐英, 刘 录, 申林波. 紫外诱变选育高效降酚微生物[J]. 环境科学与技术, 2004, 27(1): 82-84.
SHEN Qiying, LIU Lu, SHEN Linbo. Breed of Phenol-Degrading Microorganism with Uviolized Induced Mutation[J]. Environmental Science and Technology, 2004, 27(1): 82-84.
- [21] 刘雅琴, 陈海魁, 孔令全. α -淀粉酶产生菌的分离筛选与诱变选育[J]. 畜牧与饲料科学, 2010, 31(9): 1-3.

- LIU Yaqin, CHEN Haikui, KONG Lingquan. Separation and Mutagenesis of Alpha-Amylase Producing Bacillus[J]. *Animal Husbandry and Feed Science*, 2010, 31(9): 1-3.
- [22] 陈号, 陆雯, 虞婷, 等. 淀粉酶高产菌株的诱变选育[J]. *农业科学研究*, 2010, 31(1): 26-28.
- CHEN Hao, LU Wen, YU Ting, et al. Screening of High-Yield Strain for Amylase by Induced Mutation[J]. *Journal of Agricultural Sciences*, 2010, 31(1): 26-28.
- [23] 廖先清, 周荣华, 刘芳, 等. 常压室温等离子体(ARTP)诱变快速选育对亚洲玉米螟高毒的苏云金芽孢杆菌突变株[J]. *湖北农业科学*, 2018, 57(21): 123-126.
- LIAO Xianqing, ZHOU Ronghua, LIU Fang, et al. Rapid Mutation Breeding of Highly Toxic Bacillus Thuringiensis Strain Against Asian Corn Borer by Atmospheric and Room Temperature Plasma[J]. *Hubei Agricultural Sciences*, 2018, 57(21): 123-126.

(责任编辑: 邓光辉)

Screening and Mutagenesis of Amylase Producing Bacteria

XU Hong, CHEN Qiming, TANG Jianxin, YANG Lian, ZENG Xiaoxi

(College of Life Sciences and Chemistry, Hunan University of Technology, Zhuzhou Hunan 412007, China)

Abstract: Amylase is widely used in paper industry and the demand for amylase has been increasing, high-yield amylase strains could be mutagenized and screened to solve this problem. Three strains of amylase-producing bacteria were screened by transparent circle method from soils. In order to enhance the production of amylase, they were mutagenized by ultraviolet light and ultrasonic. The result showed that the proper time of these strains exposed to ultraviolet light was 30 s and the suitable distance was about 15 cm. Among these three strains, strain C1 and S were better mutagenized and their transparent circles were up to 3.00 under the above condition. The proper time for ultrasonic mutagenesis was 20 min, the transparent circles of strain C1 and S were up to 2.50 under this condition. It could be concluded that both ultraviolet light and ultrasonic mutagenesis could improve the production of amylase. The effect of ultraviolet light mutagenesis was more stable than ultrasonic mutagenesis while the production of amylase after ultraviolet light mutagenesis was higher than that of ultrasonic mutagenesis.

Keywords: amylase-producing bacteria; ultraviolet light; ultrasonic; mutagenesis