

生淀粉糖化酶菌种黑曲霉 S-1 的激光选育

方善康

(山东大学微生物系)

刘恩泉 侯学元 孙渝明

(山东大学光学系)

Mutagenesis and selection of raw starch glucoamylase-producing strains of aspergillus niger S-1 by laser irradiation

Fang Shankang

(Department of Microbiology, Shandong University, Jinan)

Liu Enquan, Hou Xueyuan, Sun Yuming

(Department of Optics, Shandong University, Jinan)

Abstract: In view of spectrographic analysis for DNA, a good laser mutagenic effect have been obtained by irradiation with two wavelengths ($\lambda_1=260$ nm, $\lambda_2=266$ nm) from Datachrom-5000 tunable dye laser and mutant also have been selected. The enzymatic activity of raw starch glucoamylase is increased to 27% in average and the maximum is 43%.

一、引言

采用诱变剂对微生物进行诱变育种,能使产量成百上千倍增加。目前诱变剂种类虽然很多,但常用的却为数有限。而且,经过长期累积处理的菌种,再用相同诱变剂诱变,常出现饱和现象,处理效果往往不够理想。最近几年来激光在农业上的应用已取得了一些成果。通过激光照射,可诱发作物产生遗传变异,从而促进种子发芽,缩短成熟期,增强抵抗病虫害的能力,提高了产量。微生物优良菌种的研究工作始于70年代,文献尚不多见,大多数利用氮分子激光($\lambda=337.1$ nm)和 CO_2 激光($\lambda=10.6$ μm)进行处理^[1,2]。鉴于细胞DNA的光谱吸收曲线峰值,我们采用 $\lambda_1=260$ nm和 $\lambda_2=266$ nm两种波长的激光对生淀粉糖化酶进行诱变育种,取得较好的诱变效果。

二、材料与方 法

2.1 辐照光源 可调谐染料激光器(Datachrom-5000型)输出两种波长($\lambda_1=260$ nm, $\lambda_2=266$ nm),光斑直径 $\phi 17$ mm左右。

2.2 出发菌株 黑曲霉 S-1 (*Aspergillus niger* S-1)。

2.3 培养基

(1) 分离培养基:马铃薯葡萄糖琼脂^[3]。

(2) 制曲培养基:麸皮:谷糠:稻壳=5:3:2; 固体料:水=1:1。

2.4 孢子悬液制备:取成熟的出发菌株黑曲霉 S-1 的分生孢子,用无菌生理盐水制成孢子悬液,置于盛有细小玻璃珠的无菌三角瓶内。充分振摇,使孢子分散开,再用 G-5-2 玻璃砂芯漏斗过滤,滤去菌丝体及成团孢子,取滤液并调节成浓度为 $10^6 \sim 10^7$ /ml 的孢子悬液。然后将孢子悬液分别装入内径为15 mm 的平底指管内,每管0.5 ml,液层厚度小于2 mm。

2.5 酶活测定 生淀粉糖化酶活性测定参照 Ueda 等人的方法进行^[4]。

三、结 果

3.1 激光辐照黑曲霉的致死率

用波长 $\lambda_2=266$ nm 的激光,分别以0.15 mJ、5 mJ 和 10 mJ 的能量辐照黑曲霉 S-1 的分生孢子,其致死率与辐照时间的关系如图 1、2。

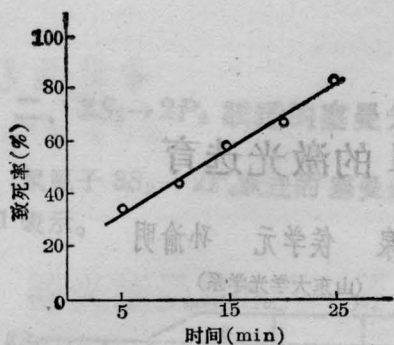


图1 0.15 mJ 激光对菌的致死率($\lambda_2=266$ nm)

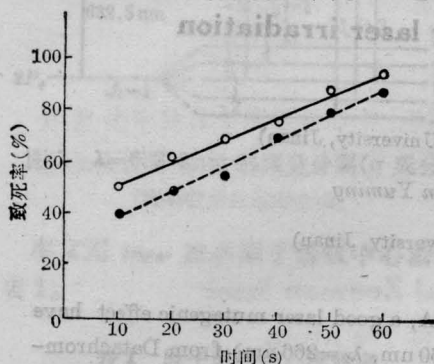


图2 激光能量与菌致死率的关系($\lambda_2=266$ nm)

实线: 10 mJ; 虚线: 5 mJ

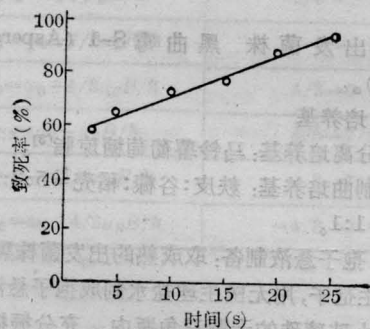


图3 10 mJ 激光与菌致死率的关系($\lambda_1=260$ nm)

由图1、2可见,用同一波长($\lambda_2=266$ nm)的激光辐照菌种,其致死率随激光能量和辐照时间的增加而增高。从图1中还可看出,采用0.15 mJ能量激光辐照菌种,虽然时间延长到25分钟,但由于辐照能量太低,其致死率也只能达到80%左右。

3.2 用 $\lambda_1=260$ nm, 能量为10 mJ的激光辐照黑曲霉S-1分生孢子,其致死率如图3所示

图3与图2表明,用相同功率的激光辐照同一株菌种时,致死率与辐照波长有密切关系。 $\lambda_1=260$ nm的激光对菌的致死率明显高于 $\lambda_2=266$ nm的致死率,证实了细胞DNA的吸收峰在260 nm附近。

3.3 波长 $\lambda_1=260$ nm, 能量为10 mJ的激光,

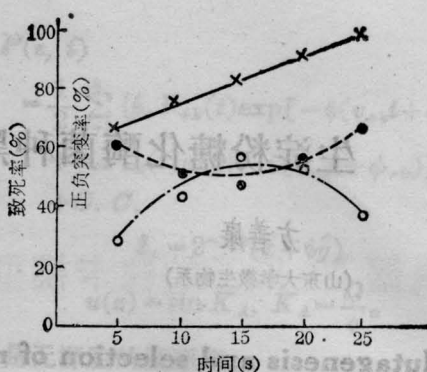


图4 致死率与正负突变率的关系

(辐照波长 $\lambda_1=260$ nm)

实线: 致死率; 点划线, 正突变率; 虚线: 负突变率

以不同时间辐照黑曲霉S-1的分生孢子,得到致死率与正、负突变率的关系如图4所示。从图4可见,致死率在70~80%时,得到最高正突变率为50~60%。

3.4 激光诱变效果

采用波长 $\lambda_1=260$ nm激光辐照后,分离到40余株菌种,经筛选后得到6株较好的变异菌株,与出发菌株S-1进行了生淀粉糖化酶活性的比较,结果酶活性平均提高27%,最高达43%,见表1。

表1 激光诱变效果($\lambda_1=260$ nm)

菌种	生淀粉糖化酶活性		
	比色读数 (OD值)	酶活单位	提高 (%)
出发菌株 S-1	0.85	60	
变异菌株			
1	1.25	86	43
2	1.05	73	22
3	1.08	76	27
4	1.02	72	20
5	0.95	67	12
6	1.05	73	22

参考文献

- 1 生化微生物专业. 中山大学学报(自然科学版), 1977; 4: 64~71
- 2 李荣生等编著, 微生物防治害虫, 北京: 科学出版社, 1983.
- 3 中国菌种目录(第一版), 北京: 轻工业出版社, 1983: 405
- 4 Hiroshi Matsuoka et al. J. Fermentation Technology, 1982; 60 (6): 599

(收稿日期: 1987年3月12日)