

土壤中产高活性淀粉酶细菌的分离与纯化

文狄, 褚丹维, 罗绍娇, 丁淑金, 蒙帮明 (贵州省都匀市黔南民族师范学院生物科学与农学院, 贵州都匀 558000)

摘要 [目的]从土壤中分离纯化产高活性淀粉酶细菌,并研究其产酶条件。[方法]利用淀粉水解圈平板筛选法,从都匀市23份不同地点的土样中分离并筛选到一株产胞外淀粉酶的菌株Z₃,其水解圈/菌落直径比达5.50;通过形态学、染色等方法,结合16S rDNA序列的比对鉴定该菌株为蜡状芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)。并对Z₃菌株产酶条件进行了研究。[结果]Z₃菌株在1.0%淀粉的碳源、1.0%酵母膏+1.0%牛肉膏的氮源、0.2%的CaCl₂·2H₂O、30 mL装液量于250 mL摇瓶中的溶氧量,pH为7.0,培养温度为37℃的条件下,产酶能力最强。此外,Z₃菌株所产淀粉酶的酶学分析显示,其最适酶反应pH为8.0,最适反应温度为39℃。[结论]该菌株是产淀粉酶较好的材料,具有一定的应用前景。

关键词 淀粉酶;水解圈;酶活力;产酶条件

中图分类号 S154.3 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2018)27-0006-04

Isolation and Purification of Bacteria Producing Highly Active Amylase in Soil

WEN Di, CHU Dan-wei, LUO Shao-jiao et al (College of Biological Science and Agriculture, Qiannan Normal University for Nationalities, Duyun, Guizhou 558000)

Abstract [Objective] Bacteria producing highly active amylase in soil was isolated and purified, and enzyme production conditions were studied. [Method] Using starch hydrolysis circle model, a amylase-producing strain Z₃ was screened from 23 soil samples in Duyun. The hydrolysis circle/colony diameter ratio were 5.50; Z₃ was identified as *Bacillus cereus* strain by the morphological observation, staining and 16S rDNA sequences alignment analysis. [Result] The optimum carbon source, nitrogen source, concentration of CaCl₂·2H₂O, dissolved oxygen, pH and temperature was 1% starch, 1% yeast extract+1% beef extract, 0.2% CaCl₂·2H₂O, adding 30 mL medium into 250 mL flask, pH 7.0 and 37℃ respectively. Besides, the enzymatic analysis of Z₃ amylase showed that its optimum pH and temperature was 8.0 and 39℃ respectively. [Conclusion] This study showed that Z₃ strain was a good amylase-producing material for the further industrial utilization.

Key words Amylase; Hydrolysis circle; Enzyme activity; Condition of enzyme production

淀粉酶是一类具有生物催化功能并且可以分解淀粉分子的生物酶。淀粉酶广泛存在于动植物体以及各类微生物中,并且淀粉酶种类繁多,实用性强,可应用于日常的工农业生产、废料的处理和微生态制剂等领域^[1]。随着科技的进步和生活水平的提高,社会生产对于淀粉酶的需求日益增加,因此在淀粉酶生产的各个过程中,选择适合的能产生高活性淀粉酶的菌株是我们进行淀粉酶生产的关键^[2]。该研究从土壤中分离纯化出能产生高活性淀粉酶的菌株,并从不同碳源、氮源、溶氧量、CaCl₂·2H₂O浓度、温度和pH等方面对其产酶条件进行研究,通过对菌株产生的淀粉酶的酶学条件进行分析和整理,以期获得更经济、实用性更强的高活力淀粉酶^[3]。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 土样采集。采取校园内绿化草坪、花坛、小树林、实验楼后山、都匀市郊外、菜园、河边等不同生境的土样共23份,量取5~10 cm深土层土壤,置于4℃的冰箱保存,作为筛选菌株的材料备用。

1.1.2 培养基。

(1)天然培养基:牛肉膏5 g/L,蛋白胨10 g/L,氯化钠5 g/L,琼脂粉15~20 g/L,可溶性淀粉10 g/L,蒸馏水

1 000 mL,pH 7.0~7.2(用1 mol/L盐酸或氢氧化钠调节),121℃灭菌30 min。

(2)分离平板培养基:可溶性淀粉4 g/L,酵母膏5 g/L,蛋白胨5 g/L,NaCl 5 g/L,KH₂PO₄ 1 g/L,琼脂12 g/L,蒸馏水1 000 mL,pH 6.0,121℃灭菌30 min。

(3)种子培养基:可溶性淀粉10 g/L,酵母膏5 g/L,蛋白胨5 g/L,KH₂PO₄ 2 g/L,水1 000 mL,pH 6.0,121℃灭菌30 min。

(4)产酶液体培养基:可溶性淀粉10 g/L,酵母膏10 g/L,蛋白胨10 g/L,氯化钠5 g/L,KH₂PO₄ 2 g/L,CaCl₂·2H₂O质量分数为0.05%,MgSO₄·7H₂O质量分数为0.05%,FeSO₄·7H₂O质量分数为0.05%,蒸馏水1 000 mL,pH 7.0,121℃灭菌30 min。

(5)碘液:碘1 g,碘化钾2 g,加蒸馏水定容至300 mL。

(6)柠檬酸缓冲液,pH 6.0。

1.1.3 试验试剂。试剂均为市售分析纯生化试剂。

1.1.4 试验仪器。自动压力蒸汽灭菌器(厦门致微仪器有限公司);电热恒温干燥箱使用说明书(北京科伟永兴仪器有限公司);S系列超净工作台(适用:VS-840K、VS-840K-U、VS-13000L、VS-1300L-U、HS-840、HS-840-U、HS1300、HS-1300-U。北京安泰空气技术有限公司);ZXDP系列曲线控制恒温培养箱(上海智城分析仪器制造有限公司);电冰箱(青岛海尔股份有限公司);HC-2517高速离心机(安徽中科科学仪器有限公司)冰箱。

1.2 试验方法

1.2.1 菌种筛选。初筛:称量5 g土样,放入装有45 mL无菌水的三角瓶里,摇床20 min使土样分散均匀,静置5 min

基金项目 国家级“大学生创新创业计划”(201610670040),贵州省教育厅普通高等学校创新团队项目(黔教合人才团队字[2015]68),黔南民族师范学院一流培育学科建设项目(2017年生物学学科),贵州省教育厅本科教学工程项目(黔教高发(2015)337号)。

作者简介 文狄(1985-),女,湖南湘乡人,副教授,博士,从事昆虫发育与遗传研究。

收稿日期 2018-05-12;**修回日期** 2018-05-18

后再进行浓度梯度稀释,分别用移液枪量取 10^{-5} 、 10^{-6} 、 10^{-7} 浓度下的土样稀释液 1 mL 于灭菌平板上^[4-5],并用玻璃涂布棒涂布均匀,凝固后置于 37 ℃ 恒温培养箱中培养 24 h。菌体生长后滴加碘液,若有透明圈出现,表明淀粉被水解,即该菌株能产生胞外淀粉酶。

纯化:挑选有明显水解圈的细菌,在牛肉膏蛋白胨培养基中划线分离,37 ℃ 培养 24 h;重复上述操作,直至产生单菌落。

复筛:将纯化后的菌株转接到试管斜面,37 ℃ 培养 24 h 分别再点种到分离培养基上培养,菌体长成后再滴加碘液并比较水解圈大小,挑选水解圈直径(D)与菌落直径(d)比值大于 2.5 的 6 株形态较好的菌落作为该试验的出发菌株,并记录二者比值的大小。

1.2.2 淀粉酶活力测定。发酵液在 37 ℃、180 r/min 培养 24 h,5 000 r/min 离心 10 min 后,取上清液即为粗酶液。

取 5 mL 0.5% 可溶性淀粉溶液,37 ℃ 水浴 10 min,再加入 0.5 mL 适当稀释的粗酶液,混匀,37 ℃ 准确反应 10 min 后冰浴中终止反应。与碘液作用显色后测定在 660 nm 波长时的吸光度(A)值。测定结果根据淀粉标准曲线换算成淀粉浓度,以所测定条件下的最高活力为 1,其他样品用最高活力校正为相对酶活力^[6]。

1.2.3 菌种鉴定。根据《伯杰细菌鉴定手册》鉴定细胞形态。细菌分子学鉴定利用 16S rDNA 的序列比对,首先提取细菌总 DNA^[7],用 16S rDNA 通用引物 F:5'-AGAGTTT-GATCCTGGCTCAG-3'和 R:5'-GGTACCTTGTTACGACTT-3'/PCR 扩增^[3];PCR 扩增条件为 95 ℃ 预变性 5 min,94 ℃ 变性 1 min,55 ℃ 退火 1 min,72 ℃ 延伸 2 min,循环 29 次。扩增产物经 DNA 纯化回收后,送上海生工生物工程股份有限公司测序。将 16S rDNA 测序结果在 NCBI 上进行 Blast,分析序列相似性,鉴定菌株种类。

1.2.4 不同碳源对菌株产酶的影响。取出发菌株活化后接入种子培养基中培养 24 h,再按 1% 接种量接种到不同碳源配制的产酶培养基中,37 ℃、180 r/min 培养 24 h,取粗酶液离心并测酶活,以确定最适碳源。

1.2.5 不同氮源对菌株产酶的影响。取出发菌株活化后接入种子培养基中培养 24 h,再按 1% 接种量接种种子到不同氮源配制的产酶培养基中,37 ℃、180 r/min 培养 24 h,取粗酶液离心并测酶活以确定最适氮源^[8]。

1.2.6 培养基最适发酵 pH 的确定。取出发菌株活化后接入种子培养基中培养 24 h,再按 1% 接种量接种种子到 pH 为 4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0、8.5、9.0、9.5 和 10.0 的产酶培养基中,37 ℃、180 r/min 培养 24 h,取粗酶液离心并测酶活以确定最适初始 pH^[8]。

1.2.7 最适培养温度的确定。取出发菌株活化后接入种子培养基中培养 24 h,再按 1% 接种量接种种子到产酶培养基中,分别在 27、29、31、33、35、37、39、41、43、45 和 47 ℃ 下培养 24 h,取粗酶液离心并测酶活,以确定最适初始 pH。

1.2.8 培养基溶氧量对菌株产酶的影响。取出发菌株活化后接入种子培养基中培养 24 h,再按 1% 接种量接种种子到

产酶培养基中,分别装入培养基 20、25、30、35、40、45 和 50 mL 于 250 mL 三角瓶,37 ℃、180 r/min 培养 24 h,取粗酶液离心并测酶活以确定最适溶氧量^[8]。

1.2.9 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 浓度对菌株产酶的影响。向产酶培养基中加入质量浓度依次为 0%、0.2%、0.4%、0.6%、0.8% 和 1.0% 的 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$,37 ℃、180 r/min 培养 24 h,取粗酶液离心并测酶活以确定最适 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 浓度。

1.2.10 酶反应最适 pH 的确定。用 pH 为 4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0、8.5、9.0、9.5 和 10.0 的柠檬酸缓冲溶液配制可溶性淀粉溶液,取粗酶液离心并在不同 pH 条件下测酶活,以确定酶反应的最适 pH^[8]。

1.2.11 酶反应最适温度的确定。取在已优化条件下培养获得的粗酶液离心,在 27、29、31、33、35、37、39、41、43、45 和 47 ℃ 不同温度下测酶活,以确定酶反应的最适温度。

2 结果与分析

2.1 产胞外淀粉酶的初筛 从所有土样中共筛选到 44 株能水解淀粉的细菌,在筛选平板上均能产生明显的水解圈,分别将这 44 株细菌编号 $Z_1 \sim Z_{44}$,并接种到斜面试管培养后低温保存^[8]。其中 Z_3 菌株在平板上产生的水解圈如图 1 所示。

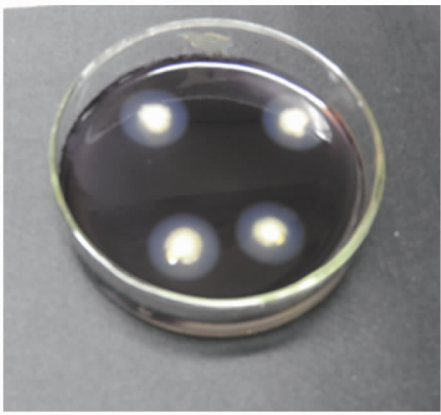


图 1 细菌产生的水解圈

Fig.1 Starch-hydrolysis circle produced by bacteria

2.2 产胞外淀粉酶的复筛 将所有纯化后的菌种分别点种培养,再向菌落上喷洒碘液,比较水解圈的大小,挑取水解圈直径(D)与菌落直径(d)比值大于 2.50 的 6 株菌株(表 1)进行 3 次点种培养,选择直径比最大的 Z_3 菌株作为出发菌株^[9]。菌株在平板上产生的水解圈如图 1 所示。

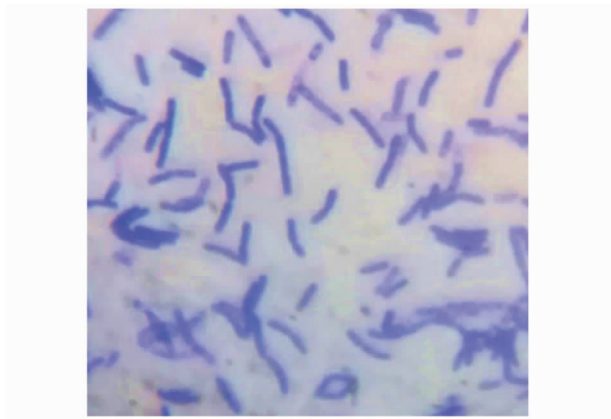
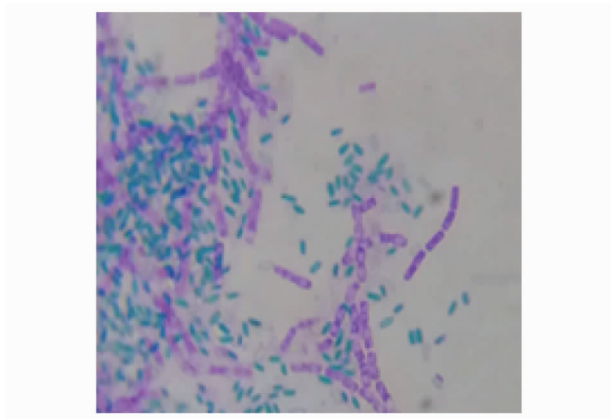
表 1 $Z_1 \sim Z_6$ 菌株透明圈/菌落直径比

Table 1 The diameter ratio of $Z_1 \sim Z_6$ hydrolysis circle to colony

编号 No.	水解圈直径 Hydrolytic circle D//cm	菌落直径 Colony diameter d//cm	D/d
Z_1	1.85	0.53	3.49
Z_2	1.90	0.53	3.58
Z_3	1.10	0.20	5.50
Z_4	1.93	0.70	2.76
Z_5	2.30	0.87	2.64
Z_6	2.00	0.77	2.60

2.3 Z_3 菌株的鉴定

2.3.1 Z_3 菌株的形态学鉴定。 Z_3 菌株革兰氏阳性,细胞呈杆状,无荚膜,有明显的芽孢(图 2、3)。

图2 Z₃ 革兰氏染色Fig.2 Gram staining of Z₃图3 Z₃ 芽孢染色Fig.3 Spore staining of Z₃

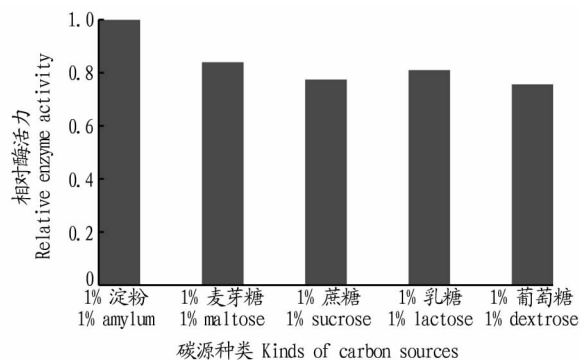
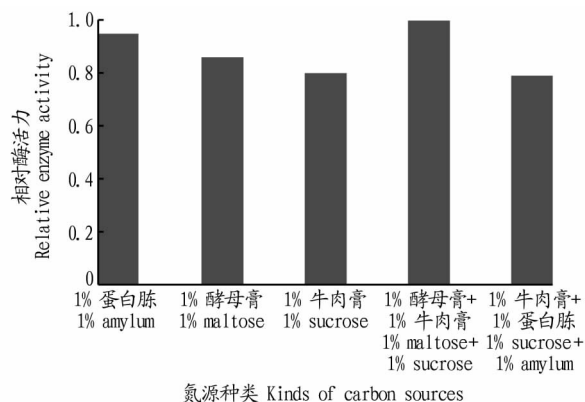
2.3.2 Z₃ 菌株的分子学鉴定。16S rDNA 序列是细菌鉴定的重要指标,利用 PCR 扩增 Z₃ 菌株的 16S rDNA 序列,并用 NCBI 的 Blast 进行核苷酸同源性比对,结果表明 Z₃ 菌株为蜡状芽胞杆菌(*Bacillus cereus*)。

2.4 液体发酵培养基的优化 为优化发酵条件,对 Z₃ 菌株的发酵培养基碳源、氮源的种类、发酵培养基的初始 pH、发酵温度、溶氧量和 Ca²⁺ 进行考察,以确定 Z₃ 菌株的最佳产酶条件。

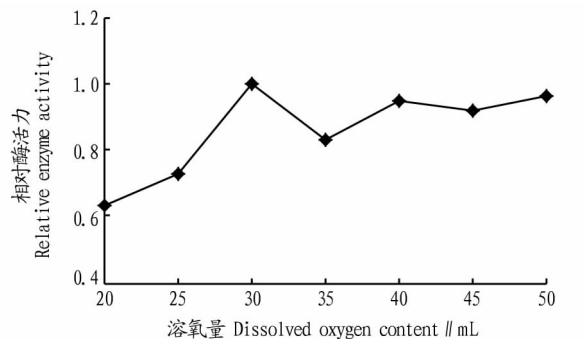
2.4.1 碳源对 Z₃ 菌株产酶的影响。以 1%蛋白胨为氮源,用不同碳源配制产酶液体培养基培养菌株 Z₃, 37 ℃、180 r/min 培养 24 h,取粗酶液离心并测酶活。结果如图 4 所示,以质量分数为 1%的可溶性淀粉作为碳源时,Z₃ 菌株酶活力最高,定义为 1,相对酶活从高到低,依次是 1%麦芽糖、1%乳糖、1%蔗糖、1%葡萄糖,相对酶活分别为 0.84、0.81、0.78、0.76。

2.4.2 氮源对 Z₃ 菌株产酶的影响。以 1%可溶性淀粉为碳源,用不同氮源配制产酶液体培养基培养菌株 Z₃, 37 ℃、180 r/min 培养 24 h,取粗酶液离心并测酶活^[9]。结果如图 5 所示,以 1%酵母膏+1%牛肉膏作为氮源时菌株 Z₃ 酶活力最高。

2.4.3 溶氧量对 Z₃ 菌株产酶的影响。在不同的溶氧条件

图4 不同碳源对 Z₃ 菌株产酶的影响Fig.4 Effect of different carbon sources on amylase production of Z₃图5 不同氮源对 Z₃ 菌株产酶的影响Fig.5 Effect of different nitrogen sources on amylase production of Z₃

下培养 Z₃ 菌株, 37 ℃、180 r/min 培养 24 h,取粗酶液离心并测定不同溶氧条件下的酶活。结果如图 6 所示, 250 mL 摇瓶中装液量为 30 mL 时为最佳溶氧量,其后依次为装液量为 50、40、45、35、25、20 mL。整体趋势为随着装液量的增加,单位体积的粗酶液相对酶活力逐渐增大,当装液量达到 30 mL/250 mL 时酶活力达到峰值,然后稍有下降,并趋于平稳。

图6 不同溶氧量对 Z₃ 菌株产酶的影响Fig.6 Effect of dissolved oxygen concentration on Z₃ amylase production

2.4.4 CaCl₂ · 2H₂O 浓度对 Z₃ 菌株产酶的影响。向产酶培养基中加入不同质量浓度的 CaCl₂ · 2H₂O,对 Z₃ 菌株进行发酵产酶试验,然后进行粗酶液酶活测定。结果图 7 所示,随

着 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 浓度的增加, Z_3 菌株产酶相对活力逐渐升高, 到达峰值之后, 稍有下降, 其后趋于稳定, 其中当 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 浓度为 0.2% 时, 单位体积粗酶液相对酶活最高, 其后依次是 0.6%、0.4%、1.0%、0.8%、0%, 其相对酶活分别为 0.87、0.82、0.81、0.77、0.61。

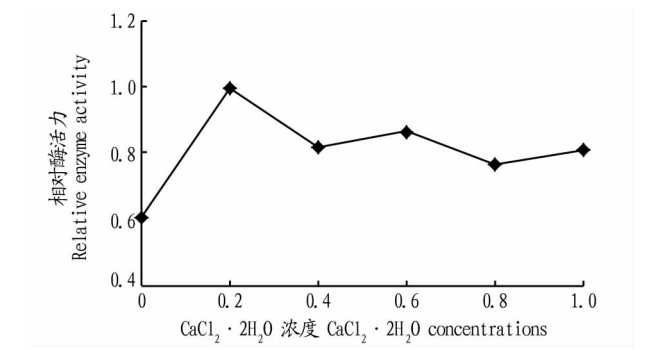


图 7 不同 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 浓度对 Z_3 菌株产酶的影响

Fig.7 Effect of different $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ concentrations on Z_3 amylase production

2.4.5 培养基初始 pH 对 Z_3 菌株产酶的影响。将已优化的产酶培养基 pH 设置为 4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0、8.5、9.0、9.5、10.0, 接种 Z_3 菌株, 37 ℃、180 r/min 培养 24 h, 测定以上 pH 情况下 Z_3 菌株产淀粉酶的相对酶活力, 结果如图 8 所示。当 pH 范围从 4.0 逐渐增大到 7.0 时, Z_3 菌株粗酶液相对酶活力逐渐增加; 当 pH 达到 7.0 时, 相对酶活力达到峰值; 当 pH 继续增加, 从 7.0 到 10.0 时, Z_3 菌株粗酶液相对酶活力逐渐降低。以上数据表明, Z_3 菌株发酵最佳 pH 为 7.0, 呈中性。

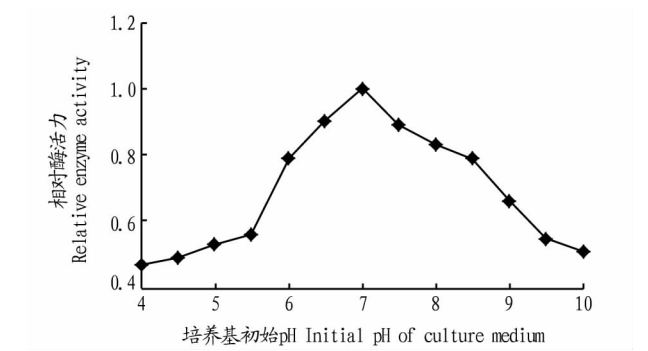


图 8 培养基 pH 对 Z_3 菌株产酶的影响

Fig. 8 Effect of culture medium pH on Z_3 amylase production

2.4.6 培养温度对 Z_3 菌株产酶的影响。将 Z_3 菌株置于 27、29、31、33、35、37、39、41、43、45 和 47 ℃ 温度下培养, 180 r/min 培养 24 h, 测定不同温度培养条件下 Z_3 菌株粗酶液的酶活力, 结果如图 9 所示。当温度从 27 ℃ 上升到 37 ℃ 时, Z_3 菌株粗酶液的相对酶活力逐渐增强; 培养温度在 37 ℃, Z_3 菌株粗酶液的相对酶活力最高。当温度从 37 ℃ 继续上升到 47 ℃ 时, Z_3 菌株粗酶液的相对酶活力逐渐减小; 试验数据表明, Z_3 菌株发酵最适温度为 37 ℃。

2.5 Z_3 菌株所产淀粉酶的酶学性质

2.5.1 酶反应的最适 pH。将 Z_3 菌株在产酶培养基中, 37 ℃、180 r/min 培养 24 h, 再用 pH 为 4.0、4.5、5.0、5.5、

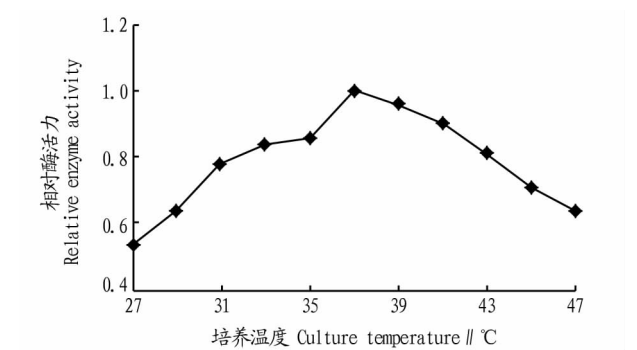


图 9 培养温度对 Z_3 菌株产酶的影响

Fig. 9 Effect of culture temperature on Z_3 amylase production

6.0、6.5、7.0、7.5、8.0、8.5、9.0、9.5、10.0 的柠檬酸缓冲液配制可溶性淀粉溶液, 取粗酶液离心并测相对酶活。结果如图 10 所示, 当酶反应的 pH 在 4.0 到 8.0 范围内, 随 pH 的升高, 相对酶活力逐渐增强; 在 pH 为 8.0 时, Z_3 菌株淀粉酶相对酶活力达到峰值; 当酶反应的 pH 在 8.0~10.0 范围内, 随 pH 的继续上升, 相对酶活力逐渐减弱; 以上数据表明, Z_3 菌株所产淀粉酶为偏碱性淀粉酶。

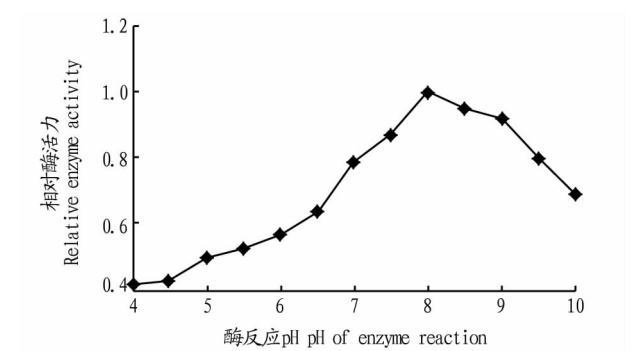


图 10 酶反应的最适 pH

Fig. 10 Optimum pH of Z_3 amylase

2.5.2 酶反应的最适温度。将 Z_3 菌株在 37 ℃、180 r/min 培养 24 h, 分别在 27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47 ℃ 不同温度下测菌株 Z_3 所产胞外淀粉酶的相对酶活力。结果如图 11 所示, 在 27~39 ℃ 时, 随反应温度的升高, 相对酶活逐渐增强; 当反应温度在 39 ℃ 时, 相对酶活最高; 在 39~47 ℃ 时, 随反应温度的升高, 相对酶活力逐渐减弱。数据表明, Z_3 所产胞外淀粉酶最佳反应温度为 39 ℃。

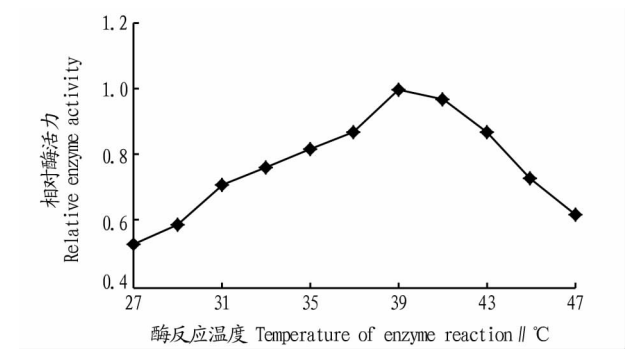


图 11 酶反应的最适温度测定

Fig. 11 Optimum temperature of Z_3 amylase

表 4 不同品种农艺性状比较

Table 4 Comparison of economical characters of different varieties

品种(系)名 Variety(line) name	株高 Plant height cm	茎粗 Stem width mm	工艺长 Process length cm	分枝数 Branching number 个	蒴果数 Capsule number 个	出苗密度 Seedling density 株/m ²	单株干茎重 Individual stem weight g
华亚 3 号 Huaya 3	90.3	2.196	67.9	5.6	22.3	1 956	2.45
中亚麻 2 号 Zhongyama 2 (CK)	98.0	1.828	85.8	4.2	12.8	2 044	2.58

4 栽培要点

4.1 适时播种 北方 4 月下旬—5 月上旬均可播种。根据耕作制度,采种田应尽量适当早播,采麻田可适当晚播,有利于提高原茎产量。播深 2.0~3.0 cm。

4.2 合理密植 北方春播保苗 1 600~1 800 株/m²。南方繁种田保苗 1 200~1 500 株/m²。

4.3 科学施肥 华亚 3 号抗倒性强,对氮肥要求不严,可施尿素 105~150 kg/hm²,磷肥 225 kg/hm²,钾肥 150 kg/hm²。磷钾肥可作基肥一次施用。

4.4 合理轮作 亚麻不宜长期连作,应轮作,前茬玉米、大豆、马铃薯皆可。

4.5 适宜区域 华亚 3 号适应区域较广,适合在黑龙江、安徽、云南等省区种植。

参考文献

[1] 田英华,刘晓兰,郑喜群,等. 亚麻脱胶与纤维抑菌性能的关系[J]. 高师理科学刊,2016,36(12):36-38.

[2] 杨雪艳,聂开立,林凤,等. 亚麻籽功能成分的综合提取工艺研究[J]. 中国油脂,2017,42(1):116-120,124.

[3] 邓波,门小明,朱冬荣,等. 亚麻籽和鱼油对蛋鸡蛋黄 n-3 多不饱和脂肪酸含量与肝脏脂肪酸代谢的影响[J]. 动物营养学报,2017,29(8):2751-2761.

[4] ZOU X G,CHEN X L,HU J N,et al. Comparisons of proximate compositions, fatty acids profile and micronutrients between fiber and oil flaxseeds

(*Linum usitatissimum* L.) [J]. Journal of food composition & analysis, 2017,62:168-176.

[5] 左洋. 亚麻籽环肽分离纯化及其与金属离子相互作用研究[D]. 广州:暨南大学,2015.

[6] 康庆华. 亚麻种植实用技术[M]. 北京:中国农业科学技术出版社,2017.

[7] 赵德宝,关凤芝,路颖,等. “十五—十一五”黑亚系列优异创新种质简介[J]. 中国麻业科学,2012,34(4):196-198.

[8] 李秋芝,姜颖,夏尊民,等. 双亚系列亚麻品种特征特性的综合评价[J]. 农业与技术,2017,37(17):22-23,32.

[9] 王玉富,邱财生,龙松华,等. 中国纤维亚麻生产现状与研究进展及建议[J]. 中国麻业科学,2013,35(4):214-218.

[10] 康庆华,宋喜霞,于莹,等. 亚麻新品种华亚 1 号的选育[J]. 中国麻业科学,2018,40(2):49-52.

[11] 王玉富,邱财生,JAN SZOPA,等. 纤维亚麻新品种中亚麻 4 号选育过程及栽培技术[J]. 现代农业科技,2016(24):40-41,45.

[12] 郝冬梅,邱财生,王世发,等. 亚麻新品种中亚麻 5 号的选育[J]. 中国麻业科学,2017,39(6):273-277.

[13] 张丽丽,乔海明,曲志华,等. 油用亚麻新品种坝选三号的选育[J]. 中国麻业科学,2017,39(4):180-182.

[14] 张辉,贾霄云,张立华,等. 我国油用亚麻产业现状及发展对策[J]. 内蒙古农业科技,2009(4):6-8,115.

[15] 曹秀霞,张炜. 宁夏胡麻生产现状及发展趋势[J]. 安徽农学通报,2009,15(23):87-88,104.

[16] 高俊山,陈强,郭宝庆,等. 内蒙古中西部地区胡麻生产发展状况[J]. 内蒙古农业科技,2010(5):105-106.

[17] 元新梯. 山西胡麻产业现状及发展对策[J]. 中国农技推广,2012,28(5):7-8.

[18] 高凤云,张辉,贾霄云,等. 丰产、优质、抗病亚麻新品种“内亚九号”的选育[J]. 中国麻业科学,2017,39(6):283-287.

(上接第 9 页)

3 结论与讨论

该研究通过淀粉水解圈平板筛选法,从都匀市不同地点采集到 23 份土样中,分离到 44 株产胞外淀粉酶的细菌,并通过复筛从 6 株水解圈/菌落直径比相对较大的菌株中筛选得到一株产淀粉酶活力较高的菌株 Z₃,其水解圈/菌落直径比达 5.5。通过检测相对酶活力,对 Z₃ 菌株产酶条件进行研究,结果显示:培养基 Z₃ 菌株产酶最适碳源为 1.0%淀粉;氮源为 1.0%酵母膏+1.0%牛肉膏;最适溶氧量为 250 mL 摇瓶装 30 mL 培养基;最适 CaCl₂ · 2H₂O 浓度为 0.2%的 CaCl₂ · 2H₂O;最佳培养基 pH 为 7.0;培养最佳温度为 37 ℃。此外,该研究还对菌株 Z₃ 所产淀粉酶的酶学性质进行初步研究,数据显示其最适酶反应 pH 为 8.0,但在 pH 10.0 的强碱性环境仍具有相对较高的酶活;其最适酶反应温度为 39 ℃,且在 27~47 ℃的较宽温度条件下均具有一定酶活,表明 Z₃ 菌株所产淀粉酶为偏碱性且适温性较广,可以作为工业生产进一

步开发利用。

参考文献

[1] 文萱,朱丽云. 响应面法优化菌株产淀粉酶培养条件的研究[J]. 江西师范大学学报(自然科学版),2011,35(1):45-49.

[2] 易征璇,赵彤,师旋,等. 高温淀粉酶高产菌株筛选及产酶条件优化[J]. 现代农业科技,2014(7):240-243.

[3] 陈约慧,陈颖聪,刘冬冬,等. 一株高产淀粉酶的解淀粉芽胞杆菌的分离鉴定及其产酶条件优化[J]. 中国微生态学杂志,2011,23(6):505-515.

[4] 王鑫昕,耿霄,吴子龙,等. 从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.

[5] 吕晓龙. 海参养殖水体病原微生物生物治理技术研究[D]. 大连:大连海事大学,2012.

[6] 代先祝. 低营养物质浓度培养基分离淀粉酶分泌细菌及其特性的初步研究[J]. 酿酒科技,2011(11):26-29.

[7] 陈源源,牛丹丹,王正祥. 一种快速鉴定细菌的方法[J]. 食品与发酵工业,2007,33(5):29-31.

[8] 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.

[9] 孙佑赫,周开艳,熊智. 一株产 α-淀粉酶细菌的分离、鉴定及酶学性质初步研究[J]. 华北农学报,2012,27(S1):250-253.