激光诱变筛选木霉菌株及木聚糖酶发酵条件优化

刘真真[1]　茅文俊[1]　朱 虹[1]　朱融融[1]　孙晓宇[1]　姚思德[2]　汪世龙[1]

[1]（同济大学生命科学与技术学院　上海 200092）

[2]（中国科学院上海应用物理研究所　上海 201800）

摘要　本实验利用激光这一高效诱变手段，对野生菌株绿色木霉 Tr-02 进行辐照诱变，通过两轮的定向筛选，最终得到一株高产木聚糖酶的菌株。对突变株进行发酵条件优化，结果表明，以 0.5%麸皮为碳源，0.5%蛋白胨为氮源，0.1%Tween-80 作为产酶促进剂，培养基初始 pH 值为 5.0，瓶装量 100mL，接种两环，28℃，180 r/min 培养 48h，木聚糖酶活力达到 281.21U·mL^{-1}，较之相同条件出发菌株木聚糖酶活力增长 31.83%。

关键词　激光，绿色木霉，木聚糖酶，发酵

中国分类号　Q631，Q345+1，Q343.1+3，Q815

木聚糖（Xylan）是植物半纤维素的重要组分，占植物中碳水化合物总量的 1/3，是继纤维素之后含量第二丰富的可再生资源。木聚糖酶可将木聚糖降解成低聚木糖和木糖；木聚糖酶可参与水解农业有机废料生产酒精；也可用于纸浆漂白，减少漂白剂的用量和废液的污染以及在饲料工业中提高牲畜对饲料的利用率等[1,2]。然而国内外关于木聚糖酶的研究开展较迟，酶活普遍较低，木聚糖酶作为工业酶制剂在我国尚未大规模生产，因而大大限制了此类酶的实际应用。激光诱变育种技术始于 20 世纪 60 年代，实践证明是一种行之有效的诱变手段[3]。张智维等[4]用 He-Ne 激光诱变筛选酵母，其啤酒中双乙酰产量比原菌株下降 30%。

本实验以绿色木霉 Tr-02 为出发菌株，激光诱变筛选得到 7 株高产木聚糖酶菌株，并对酶活最高的 5 号诱变菌进行发酵条件优化，为进一步菌种选育、酶制剂的工业应用以及诱变机理的研究奠定基础。

1　材料与方法

1.1　材料

1.1.1 出发菌株　绿色木霉（*Trichoderma viride*）Tr-02，本实验室保存。

1.1.2 激光器　诱变用激光器为四倍频的 Nd：掺钕的钇铝石榴石固体激光器（Neodymium：Yttrium aluminum garnet，YAG），（同济大学生命科学与技术学院），输出激光波长 266nm，脉宽 3～6ns，单脉冲能量 40mJ。

1.1.3 玉米芯粗木聚糖　玉米芯粉碎，沸水持续煮沸 4h，过滤弃滤液，5%NaOH 按固液比 1∶10 于 70℃浸提 24h，滤液用乙酸调节 pH 值至 4.5～5.0，加入 2 倍体积乙醇，于 4℃放置 5h 以上，5000r/min 离心 30min，所得沉淀用无水乙醇洗涤 2 次，50℃烘干后粉碎即得粗提水不溶性玉米芯粗木聚糖。

1.1.4 培养基　斜面培养基：马铃薯葡萄糖琼脂（Potato dextrose agar，PDA）培养基：马铃薯 200g，去皮切为小块，加水 1000mL，煮沸 30min 后纱布过滤，补水至 1000mL，加葡萄糖 20g，琼脂 20g，自然 pH 值，121℃高压灭菌 20min。

粗筛培养基（g·L^{-1}）：玉米芯粗提木聚糖 20.0，蛋白胨 10.0，尿素 10.0，琼脂 20.0，mandels 营养液调制，pH 自然，121℃高压灭菌 20min。

复筛培养基：麸皮 2%，蛋白胨 1%，尿素 1%，Tween-80 0.1%，mandels 营养液调制，121℃高压灭菌 20min。

1.2　实验方法

1.2.1 激光辐照孢子存活率测定　取绿色木霉 Tr-02 单孢子液，10000r/min 离心 1min，无菌水洗涤 3 次后调整孢子浓度至 10^6～10^7·mL^{-1}，取 100μL 于无菌石英激光辐照样品池，分别照射 0s、20s、40s、

国家自然科学基金（30570376）、上海市教委科技创新项目（08ZZ21）、基础重点项目（06JC14068）资助

第一作者：刘真真，女，1983 年 8 月出生，2006 年毕业于河北农业大学生命科学学院，生物科学专业，现为同济大学生命科学与技术学院在读硕士研究生，研究方向为微生物学、发酵与酶工程

通讯联系人：汪世龙

收稿日期：初稿 2008-06-18，修回 2008-07-11

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

60s、120s、180s、240s、300s，每个处理5个重复。向样品池中加入900μL无菌水将孢子液洗下，适当稀释后涂PDA平板，72h后计数各个平板中单菌落数量，计算孢子存活率。

1.2.2 激光辐照质粒DNA　取小抽质粒10μL（浓度为18.7mg·mL^{-1}），超纯水稀释100倍待用。每次取100μL稀释后质粒溶液于无菌石英激光辐照样品池，266nm波长激光分别辐照0s、40s，1min、2min、5min、10min、15min；辐照后用1%琼脂糖凝胶进行电泳（TAE Buffer，5V/cm，50min），拍照。

1.2.3 粗筛方法　将激光辐照后的孢子液适当稀释后均匀涂布于粗筛培养基平板，72h后挑取透明圈明显、生长茁壮的单菌落作为第一轮筛选菌株。

1.2.4 复筛方法　将粗筛出的菌株转接入PDA斜面培养，28℃培养5d，待孢子成熟饱满后，取两环孢子接入复筛培养基摇瓶发酵，48h后测定木聚糖酶活性。

1.2.5 粗酶液制备　发酵液经4层纱布过滤，4℃，5000r/min离心15min，上层清液即为粗酶液，低温保存。

1.2.6 木聚糖酶活测定方法　pH4.8的柠檬酸缓冲液配制1%木聚糖溶液，取1.5mL上述溶液，加入粗酶液0.5mL（用0.05mol/L、pH4.8的柠檬酸缓冲液适当稀释），50℃水浴保温15min后加3mL DNS，沸水浴10min后立即放入冷水中冷却，蒸馏水定容至10mL，摇匀，以灭活酶液作对照，540nm波长下比色，测定OD值。查标准曲线，计算酶活力。酶活力定义：每分钟每毫升发酵液在50℃条件下降解标准木聚糖成1μmol木糖的酶量为1U。

2 结果与分析

2.1 266nm激光辐照绿色木霉Tr-02的剂量效应曲线

孢子存活率依时间作图（见图1），建立效应曲线。

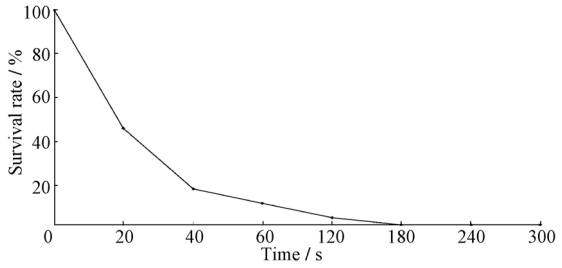

Fig.1 The survival rate of spores to 266nm laser irradiation

实验测得：266nm激光对木霉孢子有很大的损伤，存活率随照射时间的增加而显著减小，呈明确的剂量效应关系。辐照20s时，孢子存活率已经低于50%，40s时致死率达到80%以上。初步估算，本实验中激光的半致死时间约为18s左右。配合定向筛选，可以期望获得所需特定性状的菌株。

2.2 266nm激光辐照质粒DNA

激光辐照使得四种核苷酸中尤其是鸟苷酸最容易被氧化，产生二聚体，导致DNA结构破坏，质粒超螺旋DNA由于单链和双链断裂分别形成开环式（OC）和线性形式（LI），从而在凝胶中形成超螺旋、开环、线性三条带。从图2中可以看出，随着激光辐照时间增加，各种形态的DNA数量均逐渐减少。

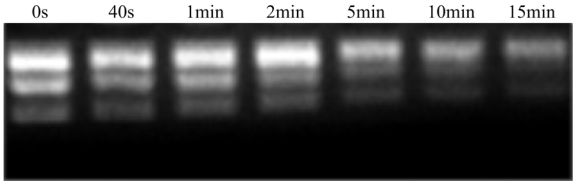

Fig.2 Damage of plasmid DNA to 266nm laser irradiation

2.3 诱变时间的确定

激光是一种在微生物遗传育种领域极有价值的诱变手段，提高辐射诱变效率的分子基础，在于最大程度地提高DNA分子的损伤，同时最大程度地降低细胞的死亡率[5-9]。综合孢子存活率和质粒DNA损伤，确定激光辐照的时间为40s，此时孢子存活率较高，且DNA有明显损伤。

2.4 筛选结果

激光辐照40s的孢子液，均匀涂布于筛选平板，从生长出的上百个单菌落中挑选10株透明圈明显，生长最茁壮的单菌落保存，并进行摇瓶复筛，结果见表1。

Table 1 Screening result of *Trichoderma viride Tr-02* irradiated by laser

Mutant strain No.	Relative xylanase activity / %	Mutant strain No.	Relative xylanase activity / %
1	111.33	6	120.40
2	86.59	7	105.16
3	110.84	8	78.82
4	98.21	9	101.27
5	132.86	10	116.98

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 1 表明，本实验中激光 40s 辐照是一种有效的诱变方法，通过观察透明圈和生长状态，可以高效率地定向筛选具有优良变异的孢子。其中 5 号诱变菌株相对于出发菌株酶活提高了 30%以上。

2.5　5 号诱变菌株遗传稳定性

诱变菌株虽然具有优良特性，但较易发生回复突变，造成优良性状的丢失。用于工业生产的优秀菌株，不但要求高产，还要求具有很好的遗传稳定性。筛选出的 5 号菌株 PDA 斜面传 10 代，第一代酶活设定为 100%，测定每一代的相对酶活，结果见表 2。

Table 2　Xylanase activity of 10 generations of No. 5 mutant strain

Generation No.	Relative xylanase activity / %	Generation No.	Relative xylanase activity / %
1	100.00	6	104.43
2	102.50	7	100.86
3	107.00	8	106.99
4	106.50	9	100.84
5	103.45	10	101.90

国内外普遍认为激光辐照机体时可以产生短时光照活化效应，使核仁器抑制解除而被活化，并使 DNA、RNA 和蛋白质系统活性提高, 核糖体上蛋白质合成作用活性增强，使机体内的生物合成增强，特别是三羧酸酶和细胞色素氧化酶活性提高，从而提高细胞利用氧的能力并增强细胞合成 ATP 的能力[10] 。

本实验中这种短期的效应再加上外在的筛选条件，可能使得许多第一代诱变菌株合成木聚糖酶的能力大大提高，而后其高产优势便丧失殆尽；应用于工业生产的优秀菌株生产性能必须十分稳定，这就需要激光作用于 DNA，产生永久变异，虽然部分菌株可能发生回复突变，但可以通过优化保存条件和定时复壮来最大限度降低菌种退化的问题。本实验中筛选的 5 号突变株虽然代与代之间存在差异，但传代 10 次后依然保存着很高的酶活，表明遗传稳定性很好。

2.6　不同碳源对产酶的影响

以蛋白胨 1%，尿素 1%，Tween-80 0.1%，瓶装量 50mL，自然 pH 值为基础，分别加入不同种类碳源，碳源总浓度均为 2%，28℃，180r/min 培养 48h 后测定酶活，结果见表 3。

Table 3　Impact of different types of carbon source on xylanase production

Carbon source	Corncob	Corncob and bran	Corncob and glucose	Wheat straw	Bran
Relative xylanase activity / %	88.72	95.03	92.63	94.37	100.00

实验表明，5 号突变菌对单一麸皮利用率最好，对小麦秸秆的利用率最差。

微生物木聚糖酶属于诱导酶，合适的诱导底物是木聚糖酶高效生产的关键。很多碳源可以诱导微生物细胞产生木聚糖酶，其中诱导性较高的是各种木聚糖含量较高的农作物废弃物，而不合适的碳源不仅影响菌体的生长，而且严重影响产物积累。本实验中由于玉米芯水溶性差，被菌丝体产生的少量木聚糖酶分解为菌丝可以利用的单糖或低聚糖的速度较慢，不能满足菌丝体代谢所需，因此菌丝体被迫产生了更多的木聚糖酶分泌到细胞外，以期得到更多的可以利用的单糖或低聚糖，这样菌丝体因“饥饿”就诱导产生更多的木聚糖酶[11]。

2.7　碳源添加量对产酶的影响

以蛋白胨 1%，尿素 1%，Tween-80 0.1%，瓶装量 50mL，自然 pH 值为基础，分别加入不同浓度麸皮，28℃，180r/min 培养 48h 后测定酶活，结果见表 4。

Table 4　Impact of carbon concentration on xylanase production

Carbon concentration / %	0.2	0.4	0.5	1.0	2.0	5.0	10.0	15.0
Relative xylanase activity / %	42.19	46.67	100.00	37.39	25.39	17.68	17.30	7.5

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

实验表明该菌发酵所需最佳碳源浓度为0.5%，过少碳源不能满足菌体生长，过多碳源促使菌体过多生长，反而抑制了产酶。

2.8 不同氮源对产酶的影响

以麸皮0.5%，Tween-80 0.1%，瓶装量50mL，自然pH值为基础，添加不同种类氮源，氮源总浓度均为2%，28℃，180r/min培养48h后测定酶活，结果见表5。

氮源不仅是生物生长的必要因素，也同时影响着发酵终点pH值。有机氮源被分解利用可使发酵液pH升高，无机铵盐被分解利用则使发酵液pH下降。实验表明，该菌对无机氮$(NH_4)_2SO_4$的利用率最差，对有机氮蛋白胨利用率最高，可能蛋白胨中含有丰富的蛋白质和氨基酸，可以在较快的时间内被菌体吸收。

Table 5 Impact of different types of nitrogen source on xylanase production

Nitrogen source	Peptone	$(NH_4)_2SO_4$	Peptone and $(NH_4)_2SO_4$	Peptone and urea
Relative xylanase activity / %	100.00	21.94	75.83	91.97

2.9 氮源添加量对产酶的影响

以麸皮0.5%，Tween80 0.1%，瓶装量50mL，自然pH值为基础，分别加入不同浓度的蛋白胨，28℃，180r/min培养48h后测定酶活，结果见表6。

氮源添加量在木聚糖酶发酵中有着重要的影响，氮源不足容易影响菌丝体生长，氮源过高容易导致不适碳氮比，使菌体疯狂生长，过度消耗能源，产物积累势必减少。实验表明该菌发酵所需最佳碳源浓度为0.5%。

Table 6 Impact of nitrogen concentration on xylanase production

Nitrogen concentration / %	0.2	0.4	0.5	1.0	1.5	2	5
Relative xylanase activity / %	10.63	20.21	100.00	83.15	70.18	54.35	23.13

2.10 发酵起始pH值对产酶的影响

以麸皮0.5%，蛋白胨0.5%，Tween-80 0.1%，瓶装量50mL为基础，用浓盐酸和10%NaOH调解节pH分别为3、4、5、6、7、8、9，28℃，180r/min培养48h后测定酶活，结果见表7。

培养基初始pH值影响了菌丝的生长，菌丝的生长状态又与菌丝产酶密切相关。自然pH值（pH=5）是最佳条件，微酸性条件下菌体可以充分生长并分泌酶，碱性条件下则抑制生长和产酶。

Table 7 Impact of initial medium pH on xylanase production

Initial medium pH	3	4	5	6	7	8	9
Relative xylanase activity / %	14.69	67.68	100.00	66.99	41.74	40.79	33.93

2.11 瓶装量对产酶的影响

以麸皮0.5%，蛋白胨0.5%，Tween-80 0.1%，自然pH值为基础，分别设定不同瓶装量，28℃，180r/min培养48h后测定酶活，结果见表8。

瓶装量主要影响氧气溶解量。该菌发酵的最佳瓶装量为100mL，培养基体积过小使得菌体生长不足，体积过大导致菌体过量生长，发酵瓶不能提供足够的氧气，不利于菌体代谢。

Table 8 Impact of medium volume on xylanase production

Medium volume /mL	25	50	100	150
Relative xylanase activity / %	69.79	79.80	100.00	53.47

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2.12　接种方式对产酶的影响

以麸皮 0.5%，蛋白胨 0.5%，Tween-80 0.1%，瓶装量 50mL，自然 pH 值为基础，分别设定不同接种方式：1mL、2ml 浓度为 10^{6-7}/mL 的单孢子液、斜面孢子块（面积 0.5cm^2）、两环孢子，28℃，180r/min 培养 48h 后测定酶活，结果见表 9。

斜面孢子块和直接挑取两环孢子都是快速有效的接种方法，但是挑取孢子更加简便，容易操作，不易污染，因此是首选的接种方式。

Table 9　Impact of vaccination method on xylanase production

Vaccination method	Spores block	1mL spores	2mL spores	Two ring spores
Relative xylanase activity / %	100.00	67.53	78.46	98.47

2.13　表面活性剂对产酶的影响

以麸皮 0.5%，蛋白胨 0.5%，瓶装量 50mL，自然 pH 值为基础，除对照组不加任何表面活性剂外，其余 4 组分别加入体积比为 0.1%的不同种类表面活性剂，28℃，180r/min 培养 48h 后测定酶活，结果见表 10。

非离子表面活性剂 Tween-80 是该菌最好的产酶促进剂，可能是 Tween-80 改变了细胞膜的通透性而促进了木聚糖酶的分泌。Nemec 等[12]在研究黑曲霉生产果胶酶时发现，添加 0.1% Tween-80 到黑曲霉生产果胶酶的培养基中时，果胶酶分泌量提高了 70%；当培养基中存在 Tween-80 时，黑曲霉细胞膜中的甾醇酯和三酰基甘油含量增加。Tween-80 的疏水部分油酸主要参与合成了磷脂和糖脂，而磷脂是细胞膜的主要成分，显然 Tween-80 影响了细胞膜的组成和结构，从而提高了黑曲霉果胶酶的分泌。木聚糖酶和果胶酶同属于碳水化合物水解酶类，可以推测，添加 Tween-80 促进木聚糖酶分泌的机理与之相同，但是，Tween-80 浓度需适量，高浓度的 Tween-80，一方面会破坏细胞膜；另一方面也会使蛋白质降解和变性。

Table 10　Impact of surfactant on xylanase production

Surfactant	CK	Marj-59	TritonX-100	Tween-20	Tween-80
Relative xylanase activity / %	100.00	96.86	96.85	91.66	112.53

2.14　正交试验优化 5 号诱变菌株产酶发酵条件

正交表设计如表 11，试验结果如表 12，极差分 N 析见表 13，方差分析见表 14。

根据极差分析，各因素的主次顺序为 D> A> C> B，实验条件选取 $A_2B_2C_1D_4$ 为最优，以此条件（蛋白胨 0.5%，麸皮 0.5%，Tween-80 0.1%，瓶装量 100mL）发酵 48h，诱变菌株的最高木聚糖酶活产量可以达到 280.9U/mL。

通过方差分析可知，因子 D 即瓶装量和因子 A 即蛋白胨浓度对菌株产酶的影响高度显著，因子 B 即麸皮浓度对产酶影响显著，因子 C 即 Tween-80 的浓度对产酶无显著影响。

Table 11　The orthogonal design of four factors and four levels

Level	A	B	C	D
	Nitrogen concentration / %	Carbon concentration / %	Tween-80 concentration / %	Medium volume / mL
1	0.2	0.2	0.1	25
2	0.5	0.5	0.5	50
3	1.0	1.0	1.0	75
4	2	2	1.5	100

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

Table 12 Result of orthogonal experiment of No.5 mutant strain

Experiment No.	A	B	C	D	Average xylanase activity / U•mL^{-1}
1	0.2	0.2	0.1	25	91.56
2	0.2	0.5	0.5	50	66.65
3	0.2	1.0	1.0	75	39.86
4	0.2	2.0	1.5	100	39.54
5	0.5	0.2	0.5	75	168.00
6	0.5	0.5	0.1	100	280.92
7	0.5	1.0	1.5	25	59.89
8	0.5	2.0	1.0	50	112.02
9	1.0	0.2	1.0	100	196.91
10	1.0	0.5	1.5	75	61.81
11	1.0	1.0	0.1	50	237.25
12	1.0	2.0	0.5	25	118.40
13	2.0	0.2	1.5	50	102.02
14	2.0	0.5	1.0	25	65.02
15	2.0	1.0	0.5	100	222.17
16	2.0	2.0	0.1	75	193.40

Table 13 Range analysis of orthogonal experiment of No.5 mutant strain

	A	B	C	D
Ⅰ	237.61	558.48	649.27	334.85
Ⅱ	620.82	575.74	676.56	619.28
Ⅲ	614.37	716.21	699.24	620.12
Ⅳ	582.60	525.83	325.73	802.02
Ⅰ/4	59.40	139.62	162.32	83.71
Ⅱ/4	155.21	143.93	169.14	154.82
Ⅲ/4	153.59	179.05	174.81	155.03
Ⅳ/4	145.65	131.46	81.43	200.50
R	95.80	47.60	93.38	116.79

Table 14 Variance analysis of orthogonal experiment of No.5 mutant strain

Variance source	SS	*MS*	F	F0.05 (3,3)	Fα0.01 (3,3)	Significance
A	547102.34	182367.45	90.74			**
B	112951.39	37650.46	18.73			*
C	494691.86	16489.95	8.20	9.28	29.46	—
D	595995.08	198665.03	98.86			**
Se	6029.56	2009.85	—			—

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2.15　出发菌株和诱变菌株的产酶历程

以蛋白胨 0.5%，麸皮 0.5%，Tween-80 0.1%，瓶装量 100mL，自然 pH 值为基础，每 24h 测定酶活，结果见表 15。

上表表明，诱变菌株 48h 酶活达到最高，为 281.21U·mL^{-1}，相同发酵条件下出发菌株酶活为 213.31U·mL^{-1}，酶活提高 31.83%。

Table 15　Xylanase activity of original and mutant strains

Time / d	Xylanase activity of original strain / U·mL^{-1}	Xylanase activity of mutant strain / U·mL^{-1}
1	68.41	78.47
2	213.31	281.21
3	196.42	228.82
4	124.27	130.59
5	91.82	113.46
6	74.37	80.99
7	71.52	79.75

3　结论

用 266nmNd:YAG 激光辐照野生绿色木霉 Tr-02 单孢子 40s，得到 7 株高产木聚糖酶菌株，对酶活最高的 5 号诱变菌进行发酵条件优化，木聚糖酶酶活达到 281.21U·mL^{-1}，相同发酵条件下野生菌株酶活为 213.31U·mL^{-1}，酶活提高 31.83%。实验证明：266nm 激光是一种极为有效的诱变手段，结合定向筛选方法，可以得到所需性状的诱变种，为菌种选育和激光诱变机理的研究奠定基础。

参考文献

1　Beg Q K, Kapoor M, Mahajan L, *et al*. Appl Microbiol biotechnol, 2001, **56**: 326-338

2　胡沂淮, 邵蔚蓝. 生命的化学, 2002, **22**(3): 281-285
HU Yihuai, SHAO Weilan. Chemistry of Life, 2002, **22**(3): 281-285

3　李万云, 李韬. 新疆农业科学, 2006, **43**(S1): 57-60
LI Wanyun, Li Tao. Xinjiang Agricu Sci, 2006, **43**(S1): 57-60

4　张智维, 王旭, 刘金平. 激光技术, 2005, **29**(5): 541-542
ZHANG Zhiwei, WANG Xu, LIU Jinping. Laser Technology, 2005, **29**(5): 541-542

5　HU W H, Chen Y W, LI S L, *et al*. Acta Laser Biology Sinica, 1999, **8**(1): 66-69

6　ZHAO Y S, ZHENG H, WU J. Acta Laser Biology Sinica, 1999, **8**(3): 205-208

7　LI H M, HUANG R Q. Acta Photonica Sinica, 2001, **30**(11): 1381-1383

8　ZHAO Y S. Laser Biology, 1994, **3**(1): 34-37

9　CHEN W L, LUO H F, ZHANG X L. Acta Photonica Sinica, 2000, **29**(4): 380-384

10　陈云琳, 刘晓娟, 闻建平. 生物物理学报, 2003, **19**(4): 353-358
CHEN Yunlin, LIU Xiaojuan, WEN Jianping. Acta Biophy Sin, 2003, **19**(4): 353-358

11　邹永龙, 桑月婵, 彭建新, 等. 植物学报, 1999, **41**(11), 1212-1216
ZOU Yonglong, SANG Yuechan, PENG JianXin, *et al*. Acta Bot Sin, 1999, **41**(11): 1212-1216

12　Nemec, Jernejc K. Applied Biochemistry and Biotechnology. 2002, **101**(3): 229-238

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

Selection of *Trichoderma viride strains* irritated by laser and optimization of the xylanase fermentation

LIU Zhenzhen[1] MAO Wenjun [1] ZHU Hong[1] ZHU Rongrong [1]
SUN Xiaoyu[1] YAO Side[2] WANG Shilong[1]

[1] *(School of Life Science and Technology, Tongji University, Shanghai 200092, China)*

[2] *(Shanghai Institute of Applied Physics, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201800, China)*

ABSTRACT A mutation of wild strain *Trichoderma Viride* Tr-02 irradiated by laser was studied in this paper. A high xylanase-producing strain was obtained by two steps oriental screening finally. The results show that an optimization condition of the xylanase fermentation is as following: 0.5% corncob as the carbon source, 0.5% peptone as the nitrogen source, 0.1% Tween-80 as a enzyme-promoting agent, initial medium pH to 5.0, medium volume to 100mL, vaccinated two rings of spores, 28℃, 180 r/min, fermented 48h. The xylanase activity of the mutant reaches 281.21U/mL and is 31.83% higher than that of the original strain under the same conditions.

KEYWORDS Laser, *Trichoderma viride*, Xylanase, Fermentation

CLC Q631, Q345+1, Q343.1+3, Q815

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net