

海洋细菌 S-12-86 的产溶菌酶条件

张琇^{1,2}, 王跃军¹, 孙谧¹, 王清印¹, 刘均忠¹

(1. 中国水产科学研究院 黄海水产研究所, 山东 青岛 266071; 2. 中国海洋大学 海洋生命学院, 山东 青岛 266003)

摘要:从中国东海海域底泥中筛选获得一株产溶菌酶的海洋细菌 S-12-86, 采用摇瓶发酵的方式, 分别从培养基组分与发酵条件两个方面对海洋细菌 S-12-86 产酶的影响进行研究。结果表明, 菌株 S-12-86 能够利用麦芽糖、淀粉、甘油和葡萄糖作为碳源, 不能利用蔗糖与甘露醇; 能够利用牛肉膏、酵母膏、蛋白胨和硫酸铵作为氮源, 其中牛肉膏效果最佳, 而硝酸钾、氯化铵和尿素几乎不能被利用; Zn^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Cu^{2+} 对菌株 S-12-86 的生长和产酶均有抑制作用; Fe^{2+} 对菌体生长无明显影响, 但明显抑制菌体产酶; Na^+ 、 K^+ 对菌体的生长和产酶无明显影响; Ca^{2+} 对菌体生长有促进作用; Mg^{2+} 对菌体生长和产酶均有促进作用。菌株 S-12-86 最适发酵条件为: 培养温度 30 ℃、接种体积比 4.0%、装液量体积比 10.0%、产酶高峰在发酵开始后 24 h。与白色链霉菌 *G(Streptomyces albus G)*、灰色链霉菌 P-51(*S. griseus* P-51)、枯草芽孢杆菌 77(*Bacillus subtilis* 77)等产溶菌酶微生物的产酶条件相比较, 菌株 S-12-86 具有易培养、产酶量较高、生产成本较低等优点。因此, 菌株 S-12-86 有较大的生产开发潜力。[中国水产科学, 2007, 14(3): 425—429]

关键词: 细菌 S-12-86; 溶菌酶; 发酵

中图分类号: Q932; Q938.8

文献标识码: A

文章编号: 1005—8737—(2007)03—0425—05

溶菌酶(Lysozyme)广泛分布于各种生物组织及其分泌物中, 属于天然的抗菌、抗病毒活性物质^[1]。与化学杀菌剂、抑制剂不同, 溶菌酶属于无毒蛋白质, 是一种天然的高安全性食品防腐剂^[2-3], 在医药^[4-5]和生物工程研究领域^[6]也得到了广泛应用。由于商品溶菌酶多为蛋清溶菌酶, 其抑菌谱较窄, 仅对大多数革兰氏阳性菌有抑制作用, 从而限制了其应用范围。国内外研究人员已对多种来源的溶菌酶展开了广泛的研究, 其中对微生物溶菌酶的研究尤为重视, 并努力从微生物中筛选出抑菌谱更为广泛的溶菌酶^[2]。

本课题组从东海海域底泥中筛选得到一株能够产溶菌酶的菌株(编号为 S-12-86)。该菌株细胞呈杆状, 两端钝圆, 大小为 $(0.6 \sim 0.8) \mu\text{m} \times (2.0 \sim 5.0) \mu\text{m}$, 以周生鞭毛运动, 无荚膜, 该菌株革兰氏染色幼龄为阳性, 老龄可变, 偶尔能观察到椭圆形的芽孢, 芽孢囊无明显膨大, 严格好氧。通过对菌株 S-12-86 形态学特征、培养特征、生理生化特征以及 16S rDNA 序列进行的多项分类研究, 发现该菌株具有典型的短芽孢杆菌属的形态学特征, 16S rDNA 序列与短芽孢杆菌属的部分菌株序列同源性为

93%~98%^[7]。该菌产生的溶菌酶在低温下具有较高活性, 对革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌以及真菌等均有抑制作用^[8]。本研究对菌株 S-12-86 的产酶条件进行探讨, 并将之与其他来源的微生物溶菌酶产生菌的产酶条件进行比较, 以分析菌株 S-12-86 放大生产的可行性。

1 材料与方法

1.1 菌种与培养

菌株 S-12-86, 由本实验室分离保存; 溶壁微球菌购自 Sigma 公司。种子培养基(10.00 g/L 胰蛋白胨, 3.00 g/L 牛肉浸出粉, 5.00 g/L NaCl, pH 值为 7.0)。从斜面挑取 2 环菌, 接入盛有 3 mL 种子培养基的试管中, 在 30 ℃, 摇床转速为 250 r/min 恒温振荡培养 18 h 后按照一定的接种量转入摇瓶中, 在 30 ℃, 250 r/min 培养 18 h。

1.2 主要试剂和仪器

实验用牛肉膏(北京双旋)、蛋白胨(OXOID)、琼脂(国产)、无机盐类与其他生化试剂均为国产分析纯; 实验用仪器包括 722 型光栅分光光度计, HTACHI20PR-52D 高速冷冻离心机, SC5-

收稿日期: 2006—10—13; 修订日期: 2006—12—10。

基金项目: 国家 863 引导项目(2003AA001028)。

作者简介: 张琇(1977—), 男, 博士生, 主要从事海洋微生物酶与细胞工程的研究。E-mail: zhangxiu101@yahoo.com.cn

通讯作者: 孙谧(1962—), 研究员。E-mail: sunmi@ysfri.ac.cn

24SHAKER 恒温培养摇床, SW-GJ-IB 标准超净工作台, LKB 型恒温水浴等。

1.3 菌株 S-12-86 溶菌酶活性与菌体数量的测定

参照文献[9], 采用打孔法测定菌株 S-12-86 溶菌酶的活性, 即在内径为 90 mm 的玻璃平板内, 盛有 20 mL 液体琼脂培养基(含有 0.002 g 溶壁微球菌粉), 冷凝后, 用内径为 7 mm 的打空器在琼脂平板上打孔, 弃去孔内琼脂块, 每孔加入未知浓度的待测样品 20 μ L, 在 30 $^{\circ}$ C 恒温培养 24 h, 观察并记录抑菌圈的直径(mm)。通过不同浓度标准溶菌酶样品所呈现的抑菌圈直径, 绘制标准曲线。然后, 根据标准曲线的回归方程, 换算出测试样品的溶菌酶活力单位($U \cdot mL^{-1}$)。取少量菌液, 用无菌水稀释 10 倍, 测定其在 550 nm 处的光吸收值, 以测定菌体数量。

1.4 菌株 S-12-86 产溶菌酶条件的筛选

1.4.1 碳源筛选 分别用葡萄糖、麦芽糖、蔗糖、淀粉、甘油和甘露醇作为碳源物质, 按照质量浓度为 20.00 g/L 的添加量配制培养基, 设不添加碳源物质为对照, 进行摇瓶发酵, 30 $^{\circ}$ C, 250 r/min, 发酵培养 24 h 后, 取样测定酶活力($U \cdot mL^{-1}$)。

1.4.2 氮源筛选 分别用牛肉膏、酵母膏、蛋白胨、硫酸铵、硝酸钾、氯化铵和尿素作为氮源物质, 添加量为 10.00 g/L 进行摇瓶发酵, 设不添加氮源物质为对照组, 30 $^{\circ}$ C, 250 r/min, 发酵培养 24 h 后, 取样测定酶活力($U \cdot mL^{-1}$)。

1.4.3 金属离子筛选 参照文献[10], 在培养基中, 分别加入浓度为 0.001 mol/L 的 NaCl、KCl、CaCl₂、MgSO₄、FeSO₄、ZnCl₂ 和 CuSO₄, 设不添加金属离子为对照组, 30 $^{\circ}$ C, 250 r/min, 发酵培养 24 h 后, 取样测定酶活力($U \cdot mL^{-1}$)。

1.4.4 最适起始 pH 值筛选 将培养基的起始 pH 值调至 5.0、5.5、6.0、7.0、8.0 和 9.0, 接种菌体, 30 $^{\circ}$ C, 250 r/min, 培养 24 h 后, 测定酶活力($U \cdot mL^{-1}$)。

1.4.5 最适接种量筛选 在含 25 mL 液体培养基的三角瓶中分别按体积比 1.0%、2.0%、4.0%、5.0%、6.0%、8.0%、10.0% 和 12.0% 的接种量接入菌种, 置于 30 $^{\circ}$ C 恒温摇床中, 250 r/min, 培养 24 h, 测定酶活力($U \cdot mL^{-1}$)。

1.4.6 最适装液量筛选 在 100 mL 三角瓶中分别加入 15 mL、25 mL、35 mL、45 mL、55 mL 和 65 mL 培养基, 接种后, 30 $^{\circ}$ C, 250 r/min 摇培发酵 24 h 后, 取样测定酶活力($U \cdot mL^{-1}$)。

1.4.7 最适培养温度筛选 分别在 20 $^{\circ}$ C、25 $^{\circ}$ C、28 $^{\circ}$ C、30 $^{\circ}$ C、32 $^{\circ}$ C 与 35 $^{\circ}$ C 温度下, 接种后, 250 r/min, 发酵培养 24 h 后, 取样测定酶活力($U \cdot mL^{-1}$)。

以上每组(1.4.1~1.4.7)实验重复 3 次, 依次从每一组实验中筛选出最适条件。

1.4.8 生长曲线与产酶曲线的测定 将菌株 S-12-86 培养 50 h, 每隔 3 h 取样测定在 550 nm 处的光吸收值 OD₅₅₀ 与酶活力。以横坐标为培养时间, 纵坐标为酶活力, 次纵坐标为菌体在 550 nm 处吸光值 OD₅₅₀, 绘制菌体的生长曲线与产酶曲线。

1.5 菌株 S-12-86 与其他产溶菌酶微生物产酶条件的比较

将菌株 S-12-86 与文献[2]中已报道的产溶菌酶微生物(如白色链霉菌 G、灰色链霉菌 P-51、枯草芽孢杆菌 77 等)的产酶条件进行比较。

1.6 数据处理

实验数据用平均值 $\pm$ 标准差($\bar{X} \pm SD$)表示, 使用 Excel 中的 *t* 检验分析数据差异显著性, 显著性水平 *P* 设为 0.05。

2 结果与分析

2.1 碳源对产酶的影响

由图 1 可见, 麦芽糖、淀粉、甘油和葡萄糖均可被菌 S-12-86 利用, 而蔗糖与甘露醇则不易被利用, 其中麦芽糖明显优于淀粉、甘油、葡萄糖。

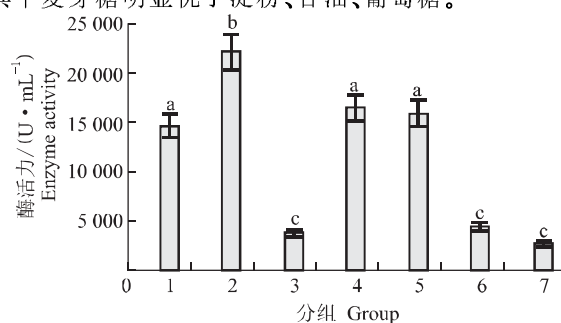


图 1 碳源对产酶的影响

注: 不同字母表示其数据差异显著($P < 0.05$)。

1. 葡萄糖; 2. 麦芽糖; 3. 蔗糖; 4. 淀粉;
5. 甘油; 6. 甘露醇; 7. 对照组

Fig. 1 Effects of carbon sources on enzyme production

Note: Values with different letters mean significant difference($P < 0.05$).

1: Glucose, 2: Maltose, 3: Sucrose, 4: Starch,
5: Glycerol, 6: Mannitol, 7: Control group.

2.2 氮源对产酶的影响

由图 2 可见,牛肉膏、酵母膏、蛋白胨和硫酸铵均可被菌 S-12-86 利用,其中牛肉膏效果最佳,蛋白胨、酵母膏、硫酸铵次之。硝酸钾、氯化铵与尿素不能被利用。

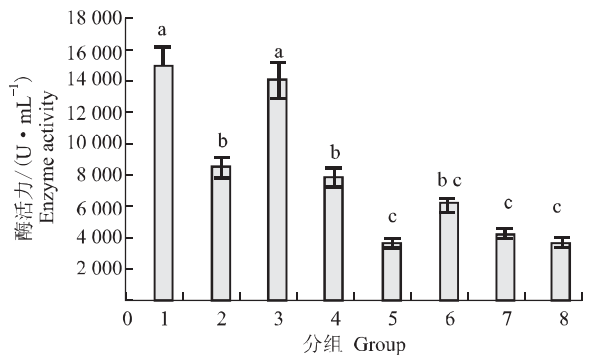


图 2 氮源对产酶的影响
1. 牛肉膏;2. 酵母膏;3. 蛋白胨;4. 硫酸铵;
5. 硝酸钾;6. 氯化铵;7. 尿素;8. 对照组
Fig. 2 Effects of nitrogen sources on enzyme production
1:Beef extract;2:Yeast extract;3:Tryptone;
4:Ammonium sulfate;5:Potassium nitrate;
6:Ammonium Chloride;7:Urea;8:Control group

2.3 金属离子对产酶的影响

由表 1 可见,Zn²⁺、Mn²⁺和 Cu²⁺对 S 菌的生长和产酶作用均有抑制作用,Fe²⁺对菌体繁殖无明显影响,但也明显抑制菌体产酶。Na⁺和 K⁺对菌体的生长和产酶无明显影响。Ca²⁺和 Mg²⁺对菌体生长有明显促进作用,对产酶略有促进作用。

2.4 培养基起始 pH 值、接种量、装液量与培养温度对产酶的影响

实验结果表明,培养及起始 pH 值为 8.0 时,最适合菌体生长繁殖与产酶。菌株 S-12-86 属于好氧

菌,随着装液量的增加,菌体生长明显呈现出下降趋势,在 250 mL 的摇瓶中装 25 mL 的培养基为宜,即装液量体积比为 10%。不同的温度对产酶量和活性影响很大,在 20~28 ℃ 范围内菌体生长量随温度的升高而增大,产酶量在 30 ℃ 最高。

2.5 生长曲线与产酶曲线的测定

由图 3 可见,菌株 S-12-86 培养 20 h 就达到了对数生长稳定期;在培养 24 h,达到产酶高峰。

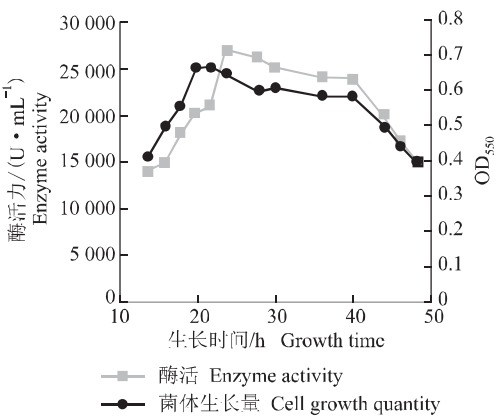


图 3 生长曲线与产酶曲线的测定
Fig. 3 Curves of cell growth and enzyme production

2.6 菌株 S-12-86 与其他微生物溶菌酶产生菌培养条件的比较

由表 2 可见,微生物溶菌酶生产菌的培养条件具有一定的相似性,最适氮源物质大多为胨类物质,最适碳源物质为葡萄糖或淀粉,最适产酶 pH 值在 6~8 之间,最适产酶温度大多数在 30 ℃ 左右,需要搅拌通风培养。但是,菌株 S-12-86 的培养条件与其他溶菌酶产生菌相比,培养基成分的用量较少,主要营养组分较为廉价,产酶周期较短,生产成本较低。

表 1 不同金属离子对发酵的影响									
Tab. 1 Effects of different metal ions on fermentation									
n=3; $\bar{x} \pm SD$									
项目 Item	NaCl	KCl	CaCl ₂	MgSO ₄	FeSO ₄	MnSO ₄	ZnCl ₂	CuSO ₄	Control
酶活/(U · mL ⁻¹)	20 119.00	20 687.00	21 774.00	23 433.00					20 651.60
Enzyme activity	±1 320.00 ^a	±1 533.00 ^a	±1 750.00 ^a	±2 180.00 ^a	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b	±1 100.00 ^a
OD ₅₅₀	0.36	0.35	0.55	0.77	0.38	0.09	0.06	0.05	0.36
	±0.02 ^a	±0.01 ^a	±0.01 ^b	±0.02 ^c	±0.02 ^a	±0.01 ^d	±0.01 ^d	±0.02 ^d	±0.02 ^a

注:同行数据上标字母不同者表示之间存在显著性差异(P<0.05).
Note: Values with different supscripts in the same lane show significant difference(P<0.05).

表 2 菌株 S-12-86 与其他微生物溶菌酶产生菌培养条件的比较

Tab. 2 Comparison of culture conditions of Strain S-12-86 with those of lysozyme produced by other microorganism

菌株 Strain	培养基组分 Ingredients in culture medium	培养条件 Culture conditions	参考文献 Reference
白色链霉菌 G <i>Streptomyces albus</i> G	10.00 g/L 蛋白胨, 1.00 g/L KH_2PO_4 , 1.00 g/L $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 5.00 g/L KCl , 2.00 g/L NaNO_2	28~30 °C 通风搅拌培养 3 d	[2]
灰色链霉菌 <i>Streptomyces griseus</i>	羽毛水解物, 酪蛋白	30 °C 通风搅拌培养 68~70 h	[2]
灰色链霉菌 H-402 <i>Streptomyces griseus</i> H-402	5.00 g/L 葡萄糖, 5.00 g/L 酪蛋白氨基酸, 5.00 g/L NaCl , 2.00 g/L KH_2PO_4 , 1 g/L $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.02 g/L $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.05 g/L CaCl_2 pH7.0	30 °C 表面培养 7 d	[2]
灰色链霉菌 S-35 <i>Streptomyces griseus</i> S-35	20.00 g/L 糊精, 75.00 g/L 大豆提取, 60.00 g/L K_2HPO_4 , 0.20 g/L KCl , 0.02 g/L $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	37 °C 通风搅拌培养 22 h	[2]
球孢链霉菌 1829 <i>Streptomyces globisporus</i> 1829	20.00 g/L 糊精, 5.00 g/L 大豆乳, 2.00 g/L 蛋白胨, 1.00 g/L NaCl , 5.00 g/L $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, 1.00 g/L $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 2.00 g/L KH_2PO_4 , 0.20 g/L CaCl_2 , pH 7.5	30 °C 通风搅拌培养 3 d	[2]
灰色链霉菌 P-51 <i>Streptomyces griseus</i> P-51	含有 1.00 g/L 乳糖的肉汤培养基 pH6.0	32 °C 通风搅拌培养 30 h	[2]
表皮葡萄球菌 K-6-W1 <i>Staphylococcus epidermis</i> K-6-W1	2.00 g/L 葡萄糖, 13.60 g/L 胰蛋白胨, 2.40 g/L 植物蛋白胨, 4.00 g/L NaCl , 2.00 g/L K_2HPO_4 , pH 7.3	37 °C 通风搅拌培养 24 h	[2]
枯草芽孢杆菌 77 <i>Bacillus subtilis</i> 77	70.00 g/L 大豆提取物, 25.00 g/L 葡萄糖, 10.00 g/L $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	30 °C 通风搅拌培养 26 h	[2]
枯草芽孢杆菌 25 <i>Bacillus subtilis</i> 25	20.00 g/L 蛋白胨, 10.00 g/L 牛肉膏, 3.00 g/L NaCl , pH 6.0	30 °C 通风搅拌培养 30 h	[2]
菌株 S-12-86 Strain S-12-86	10.00 g/L 葡萄糖, 5.00 g/L 蛋白胨, 5.00 g/L MgSO_4 , 2.00 g/L CaCl_2 , pH 8.0	30 °C 通风搅拌培养 24 h	[2]

3 讨论

碳是机体生长的能源物质,而氮是组成核酸和蛋白质的重要元素,因此,碳与氮对微生物的生长发育有着重要的作用^[10]。本实验结果表明,麦芽糖、淀粉、甘油和葡萄糖均适合于产酶菌 S-12-86 生长,但从生产成本上考虑,选择葡萄糖作为碳源为宜;菌株 S-12-86 对有机氮源物质的利用明显强于对无机氮源物质的利用(图 2),这可能与有机氮源物中含有促进菌体生长与产酶的因子有关。该菌对有机氮源的嗜好与大多数其他产溶菌酶的微生物较为相似(表 2)。

Ca^{2+} 与 Mg^{2+} 均能促进微生物产酶,通常 Ca^{2+} 在参与细胞膜通透性的调节中起重要作用,对细菌细胞壁的稳定性方面也起着关键作用;而 Mg^{2+} 在细胞内是一些关键酶的激活剂,起着稳定核糖体、细胞膜和核酸的作用^[11]。从本实验结果可以看出, Ca^{2+} 对该

菌体生长有明显地促进作用,对产酶影响不大,而 Mg^{2+} 对该菌的生长和产酶均有明显地促进作用。

环境中的 pH 对微生物生命活动的影响很大,主要作用是:通过引起细胞膜电荷的变化而影响微生物对营养物质的吸收;影响代谢过程中酶的活性;以及改变营养物离子化程度及有害物质的毒性^[10]。本实验结果表明,起始 pH 对菌株 S-12-86 的生长和产酶均有较为明显地影响,pH 为 8.0 时最适合菌体生长繁殖与产酶。

在生产上,菌种接种量较大可以缩短种子生长的迟滞期,能够明显地缩短细菌的培养时间,但是接种量过大,不但不能缩短种子的培养时间,又会带入过多代谢废物,反而影响培养物的生长;接种量过小,会使迟滞期过长而影响种子的繁殖^[12]。本实验结果表明,菌株 S-12-86 产酶的最佳接种量为 4% (体积比)。菌 S-12-86 是一株好氧菌,随着装液量

的增加,菌体生长量明显呈现出下降趋势。在 250 mL 的摇瓶中装 25 mL 的培养基为宜。装液量过多过少都不利于菌 S-12-86 的生长和产酶。

微生物的生命活动是由一系列极其复杂的物理化学反应组成,而这些反应只有在一定温度范围才能正常进行^[10]。因此,培养温度是影响微生物生长的最重要环境因素之一。本实验结果表明,菌 S-12-86 生长和产酶最适温度为 30 ℃。

通过单因素筛选与正交实验分析,初步确定了菌株 S-12-86 产酶条件:培养基组分为 10.00 g/L 葡萄糖,5.00 g/L 蛋白胨,5.00 g/L MgSO_4 ,2.00 g/L CaCl_2 ,起始 pH 值为 8.0;发酵条件:培养温度为 30 ℃、接种量为 4.0%、装液量为 10.0%、产酶高峰为菌体发酵 24 h,酶活性为 25 000.0 U · mL⁻¹ 左右。与白色链霉菌 G、灰色链霉菌 P-51、枯草芽孢杆菌 77 等产溶菌酶微生物的产酶条件相比较,菌株 S-12-86 所需营养条件简单,发酵工艺条件容易控制,生产成本低,有着明显地开发潜力。

参考文献:

- [1] Nattress F M, Yost C K, Baker L P. Evaluation of the ability of lysozyme and nisin to control meat spoilage bacteria[J]. Int J Food Microbiol, 2001, 70(1-2): 111-119.
- [2] 船津胜, 鹤大典. 溶菌酶[M]. 济南: 山东科学技术出版社, 1982.
- [3] 唐洁, 车振明. 天然微生物抗菌防腐剂及其在食品工业上的应用[J]. 食品研究与开发, 2006, 27(3): 171-173.
- [4] 孙怀昌, 于锋, 苏建华, 等. 人溶菌酶基因治疗奶牛乳腺炎的初步研究[J]. 畜牧兽医学报, 2004, 35(2): 227-232.
- [5] 吕秋军, 卞广兴. 抗感染新药重组人溶菌酶的临床前评价[J]. 中国新药杂志, 2006, 15(17): 1 436-1 437.
- [6] 张琇, 孙谦, 王清印, 等. 海洋低温蛋白酶生产菌 YS-9412-130 原生质体的制备与再生[J]. 中国水产科学, 2006, 13(1): 106-111.
- [7] 杨向科. 海洋细菌 S-12-86 的多相分类鉴定及其多产溶菌酶的性质和应用研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2005.
- [8] 邹艳丽, 孙谦, 王跃军, 等. 海洋微生物溶菌酶的纯化与性质研究[J]. 生物工程学报, 2005, 21(3): 420-424.
- [9] Timothy D L, Donald D O. Purification and Characterization of lysozyme from hemolymph of *Heliothis virescens* larvae [J]. Biochem Biophys Res Communic, 1996, 220: 502-508.
- [10] 张青, 葛菁萍. 微生物学[M]. 北京: 科学技术出版社, 2004.
- [11] 杨汝德. 现代工业微生物学[M]. 广州: 华南理工大学出版社, 2000.
- [12] 钱铭镛. 发酵工程优化控制[M]. 江苏: 江苏科学出版社, 1998.
- [1] Nattress F M, Yost C K, Baker L P. Evaluation of the ability of lysozyme and nisin to control meat spoilage bacteria[J]. Int

Screening condition for lysozyme production of marine bacteria S-12-86

ZHANG Xiu^{1,2}, SUN Mi¹, WANG Qing-yin¹, WANG Yue-jun¹, LIU Jun-zhong¹

(1. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China; 2. College of Marine Life Science, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: A marine strain S-12-86 was obtained from the sea mud sample collected from the East China Sea which could produce lysozyme. Marine strain S-12-86 could utilize maltose, starch, glycerol and glucose as carbon sources but couldn't use mannitol or sucrose; it also could utilize beef extract, yeast extract, tryptone and ammonium sulfate as nitrogen sources, not potassium nitrate, ammonium chloride, or urea. Beef extract was the best carbon source. Zn^{2+} , Mn^{2+} and Cu^{2+} inhibited the growth or enzyme production of the strain. Fe^{2+} had no effect on the growth of the strain, but inhibited the enzyme production. Na^{+} and K^{+} had no effect on the growth or enzyme production. Ca^{2+} had little effect on the enzyme production but promoted the growth of the strain obviously. Mg^{2+} had good effect on both growth and enzyme production of the strain. The optimum fermentation conditions for S-12-86 strain were 24 h incubation, 30 ℃ incubation, inoculum's level 4%(V/V), volume ratio 10%(V/V) and initial pH 8.0. Comparing the culture conditions of strain S-12-86 with those of *Streptomyces albus* G, *Streptomyces griseus* P-51, *Bacillus subtilis* 77, et al, strain S-12-86 was easily cultured with low production cost. So, strain S-12-86 had the potential used at large scale in practice. [Journal of Fishery Sciences of China, 2007, 14(3): 425-429]

Key words: Strain S-12-86; lysozyme; fermentation

Corresponding author: SUN Mi. E-mail: sunmi@ysfri.ac.cn