

噬菌体对国内谷氨酸生产菌的鉴别

戈宝榛 王家驹 朱素娟 司禪东

(中国科学院上海植物生理研究所噬菌体组, 上海 200032)

提 要

利用噬菌体的宿主专一性, 对收集的国内用于生产的谷氨酸生产菌进行鉴别。发现一株 7338 菌株对 T6-13 噬菌体敏感, 而对 7338 的噬菌体不敏感。根据上述事实, 工厂中为防止噬菌体侵袭, 轮换使用不同菌株时, 提出要了解菌株对不同噬菌体的敏感性, 以免感染造成巨大经济损失。

关键词: 噬菌体 谷氨酸产生菌 用噬菌体鉴别

目前国内谷氨酸产生菌有几个菌系, 如钝齿棒状杆菌 (*Corynebacterium crenatum* AS 1,542)^[1] 和其变异株 B₀ 及相似于钝齿棒状杆菌的 T6-13, 还有北京棒状杆菌 (*Corynebacterium pekinense* AS 1,229)^[2] 及其变异株 7338^[3] 和黄色短杆菌 (*Brevibacterium flavum* 672 及 2305)。因噬菌体的专一性, 不同菌系在生产上的应用, 有利于防止单一菌系因噬菌体严重污染造成损失, 可降低环境中原有噬菌体的密度, 或当某一菌株因噬菌体污染不能继续用于生产时, 有另一菌系替换, 避免生产被迫停顿。

如果所使用菌株对噬菌体敏感性不清楚, 就难以达到这一目的, 因此菌系的鉴别, 在生产上是十分重要的, 以防止由于不同菌株使用过程中产生混淆, 避免不必要的损失。利用噬菌体的专一性鉴别不同谷氨酸生产菌株方法简单、准确, 我们对目前用于生产的不同菌株进行了收集, 并用噬菌体作了鉴别, 发现有错乱现象, 现将结果报道如下。

材 料 和 方 法

一、菌株和噬菌体:

钝齿棒状杆菌 AS 1,542、北京棒状杆菌 AS 1,299 和噬菌体 A3, 黄色短杆菌噬菌体 C139 系北京中国科学院微生物研究所贾益兴教授惠赠。菌株 T6-13、北京棒状杆菌突变株 7338 I、7338 II、钝齿棒状杆菌突变株 B₀ 等收集于江苏省几个味精厂。菌株 T6-13 的噬菌体系本实验室从全国 13 个省 39 个味精厂环境采样分离^[4], 北京棒状杆菌噬菌体 ϕ P-1 为上海地区分离, T6-13 抗噬菌体株 3-9、3-39、4-210 系本实验室选育^[5]。菌株 2305、672 系本实验室保藏。

二、培养基 见文献^[4]。三、噬菌体敏感性检查方法 见文献^[6]。

本文于 1990 年 8 月 11 日收到, 1991 年元月 21 日修回。

结 果

一、噬菌体宿主域检查

将收集到的不同的谷氨酸产生菌株 1,542、B₀、T6-13、1,299、7338 I、7338 II、2305、672 菌液铺平板,用不同菌系噬菌体作裂解检查,其结果如表 1 所示。表明噬菌体具有专一性,北京棒状杆菌噬菌体 A₀和 ϕ p-1 只对北京棒状杆菌 1,299 及其突变株 7338 I 呈现裂解,类似钝齿棒状杆菌 T6-13 的噬菌体 ϕ G-15 除对 T6-13 菌裂解外,只对钝齿棒状杆菌 1,542 及其突变株 B₀ 裂解,黄色短杆菌体 G139 只对 2305 和 672 裂解。发现 7338 II 能被 T6-13 的噬菌体 ϕ G-15 裂解,相同于文献^[7]的报道结果,而不能被噬菌体 A₀ 和 ϕ p-1 裂解。

二、菌株 T6-13 及其抗噬菌体突变株 3-9、3-39、4-210 和 7338 II 菌株对不同 T6-13 的噬菌体裂解比较

为了进一步比较菌株 T6-13、7338 II 的异同,我们将分离到并已从血清学、噬菌体 DNA 酶切电泳图鉴别各为不同的 T6-13 部分噬菌体作裂解反应比较,结果见表 2,表明北京棒状杆菌 1,299 和突变株 7338 I 对噬菌体敏感性相同,而 7338 II 和 T6-13 对噬菌体敏感性无异。但 T6-13 的抗噬菌体突变株 3-9、3-39、4-210 不被 ϕ p-1 裂解,对 T6-13 的噬菌体敏感性不一,从对不同噬菌体敏感性表明 7338 II 不同于亲株 1,299, 而和 T6-13 相一致。

三、菌株 T6-13、1,299、7338 I、7338 II 的比较

从噬菌体裂解谱上比较 7338 II 和 T6-13 相同,是变异所致,还是 T6-13 系菌株。我们作了部分生理特性检查,结果列于表 3,表明其它生理特性相似,唯有甲基红反应结果如表 3 所示,7338 II、T6-13、1,542 为阳性,而其他为阴性。因此 7338 II 和 T6-13 相同,而 7338 I 和 1,299 相同,即 7338 II 并非为 1,299 菌株的衍生株。目前国内一些味精厂保藏的 7338 菌株,可能有一些是我们收集的 7338 II 类型的菌株,因此当菌株 T6-13 由于生产环境受噬菌体严重污染,出现不正常发酵,用 7338 II 替换生产,必然导致 T6-13 相同的后果。其原因并不是因为噬菌体易变,而是替换的菌株有错乱现象所造成的结果。

讨 论

噬菌体用于菌株的分析,在医学微生物中普遍应用。有利于噬菌体对宿主的专一性作为确定某一类致病菌的诊断噬菌体。也有因使用噬菌体可将同类菌株区分为更精细的型别的能力,作为菌株的噬菌体分型,以追踪传染源。噬菌体作为区别不同菌系的方法,操作简便、可靠。用于发酵工业生产菌中不同菌系的鉴别,也必然有一定意义。我们在对谷氨酸生产厂调研噬菌体危害及其防治措施过程中了解到噬菌体突变的问题,以致使替换菌株也迅速受到侵袭,对此现象作了研究。噬菌体的突变在自然界是存在的,但生物还有其保守的一面,很难想象在 1—2 周内,噬菌体致成对一菌株敏感而造成严

表 1 噬菌体的宿主谱
Tab.1 The host range of phages

菌株 Strain	噬 菌 体 Phages			
	φP-1/1,299	A3/1,299	φG-15/T6-13	C139/2305
1,542	-	-	+	-
B9	-	-	+	-
T6-13	-	-	+	-
1,299	+	+	-	-
7338I	+	+	-	-
7338II	-	-	+	-
2305	-	-	-	+
672	-	-	-	+

注: “+” 裂解 “-” 不裂解
Note, lysis no lysis

表 2 不同的T6-13噬菌体对菌株T6-13和7338II裂解比较
Tab.2 Comparison between strain T6-13 and 7338II lysis by different phages of strain Y6-13

菌株 Strain	噬 菌 体 Phages									
	φG-1	φG-8	φG-9	φG-12	φG-15	φG-20	φG-24c	φG-25	φG-31	φP-1
T6-13	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1,299	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
7338I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
7338II	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3-9	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-
3-39	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-
4-210	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

注: “+” 裂解 “-” 不裂解
Note, lysis no lysis

表 3 菌株的生理特性
Tab.3 Physiological characteristics of strains

试验项目 Test item	菌株 Strains				
	1,299	7338 I	7338 II	T6-13	1,542
硝酸盐还原反应 Nitrate reduction	+	+	+	+	+
甲基红反应 MR reaction	-	-	+	+	+
V-P 试验 V-P test	-	-	-	-	-
明胶液化 Gelatin Liquefaction	-	-	-	-	-
过氧化氢生成 Hydrogen peroxide	+	+	+	+	+
硫化氢生成 H ₂ S production	-	-	-	-	-

注: “+” 阳性反应 “-” 阴性反应
Note, positive negative

重污染,使替换菌株也无济无事。从收集菌株 7338 II 鉴别表明,该菌株并非是 1.299 的衍生株,它对噬菌体的敏感性和对甲基红的反应都相同于 T6-13,因此当 T6-13 污染噬菌体,使生产不正常时,7338 II 菌株作为替换菌株的结果必然和 T6-13 相同,并非噬菌体的突变所致。所以国内谷氨酸生产厂家之间菌种交流时,对得到的生产菌株作简易的鉴别,区别其菌系是必要的,以免使用替换株时得不到应有的效果,而利用噬菌体的专一性进行鉴别的方法是方便可行的。

参 考 文 献

- [1] 陈琦、李玲阁, 1975, 微生物学报, 15(2): 119—124。
- [2] 陈琦等, 1973, 微生物学报, 13(1): 1—6。
- [3] 上海嘉定县马陆公社综合厂、上海味精厂, 1976—1977, 微生物学通报, 3—4: 17。
- [4] 王家训等, 1990, 工业微生物, 20(4): 6—9。
- [5] 戈宝祯等, 1990, 工业微生物, 20(5): 1—6。
- [6] 朱素娟等, 病毒学报, (待发表)。
- [7] 葛宗民、丁达明, 1978, 病毒学报, 3(1): 76。

Identification of Glutamic Acid Producing Strains by Phages

Ce Bao-zhen Wang Jia-xun Zhu Su-juan Si Zhi-dong

(Laboratory of Bacteriophage, Shanghai Institute of Plant
Physiology, Academia Sinica, Shanghai 200032)

Glutamic acid producing strains collected from factories were identified by the host specificity of phage. For the 7338 strain, one was sensitive to the phages of T6-13 strain and insensitive to 7338 strain phages. In order to prevent the invading by the phage, factories took turn to use different strains. According to the evidence presented here, it is suggested that the strain must be known in their sensitivity to the different phages so as to avoid infection.

Key words, Phage Glutamic acid producing strain Identify
by phages