

# 快中子及其与氯化锂复合处理土霉菌的初步结果\*

吴振昌

(杭州第二制药厂, 浙江)

快中子诱变抗菌素生产菌, 已有文献报道<sup>[1-2]</sup>。但有关快中子与氯化锂复合处理土霉素生产菌 (*Streptomyces rimosus*) 以提高土霉素产量的文献资料, 尚未见报道。我们于 1974 年底在上海科技大学 402 组\*\*协作下, 开展了这一工作, 初步得到较为满意的结果。现将初步实验结果介绍如下。

## 材料与方 法

### 一、出发菌株

出发菌株为土霉素生产菌  $\frac{2}{-2492}$ 、 $\frac{6}{-2346}$ 、 $\frac{12}{-2642}$  等。

### 二、培养基

斜面培养基成份(%)：麸皮 5, 琼脂 2, 深井水配制。

平板培养基成份(%)：淀粉 3, 酵母粉 0.4, 硫酸铵 0.4, 碳酸钙 0.4, 氯化钠 0.5, 琼脂 2, 深井水配制。

摇瓶种子培养基成份(%)：淀粉 1.5, 糊精 1.5, 花生饼粉 1, 酵母粉 0.2, 硫酸铵 0.4, 碳酸钙 0.4, 磷酸二氢钾 0.03, 氯化钠 0.5, 深井水配制。

摇瓶发酵培养基成份(%)：淀粉 6, 麦芽糖 2, 花生饼粉 3, 酵母粉 0.2, 碳酸钙 0.8, 硫酸铵 0.9, 磷酸二氢钾 0.03, 氯化钠 0.3, 深井水配制, 每只摇瓶加豆油 14 滴。

### 三、培养条件

斜面在 36.5°C 培养 3—6 天; 分离平板在 36.5°C 培养 6—8 天; 摇瓶种子与发酵均在 30°C, 200 转/分左右旋转式床振荡培养。种龄为 22 小时左右, 接种到发酵瓶, 接种量 7.5%, 发酵周期 162 小时左右。

### 四、发酵单位测定

用氯化高铁显色, 光电比色法测定。

### 五、诱变方法

#### (一) 快中子处理

土霉菌孢子悬浮液 1—3 毫升注入 10 毫升的灭菌安瓿管中, 熔封安瓿管口, 待处理。而后用辐射通量为  $1.2 \times 10^{12}$  个快中子/厘米<sup>2</sup> [距离: 5 厘米, 时间: 4 小时 45 分钟, 中子能量: 14Mev (百万电子伏)] 处理此

\* 参加实验工作的还有沈淑贞、张柳云同志。

\*\* 上海科技大学 402 组同志帮助做了快中子辐射的工作。

孢子悬液,放置过夜,再稀释分离。

## (二) 快中子与氯化锂复合处理

上述快中子处理后的孢子悬液,放置过夜,然后在含有1%氯化锂的平板培养基上稀释分离。

# 实验结果

## 一、快中子对土霉素生产菌的致死与形态变异作用

表1说明快中子对土霉素生产菌有一定的致死作用,而且有一定的形态诱变作用。从突变率来看,快中子对土霉素生产菌的形态诱变率(2%)比自然变异率(0.34%)要强。

表1 快中子处理后土霉素生产菌<sup>12</sup>2642的死亡率、存活率与突变率

处理方法	死亡率(%)	存活率(%)	突变率*(%)
自然分离	—	100	0.34
快中子处理	69	31	2

\* 突变菌株以无色菌落为标记。

表3 快中子及其与氯化锂复合处理土霉素生产菌<sup>2</sup>2492及<sup>6</sup>2346二菌株的初步结果

菌株	突变频率(%) 处理方法	产量分布(%)				
		70—80	80—90	90—100	100—110	110—120
<sup>2</sup> 2492	快中子处理	4.4	8.7	21.7	56.5	8.7
	快中子+1%氯化锂平板	15	55	15	15	—
<sup>6</sup> 2346	快中子处理	—	16	60	24	—
	快中子+1%氯化锂平板	10.3	75.8	6.9	6.9	—

注:表2与表3系三株土霉菌菌株经快中子一次处理后的实验结果。

表3中快中子处理土霉素生产菌<sup>2</sup>2492及<sup>6</sup>2346的结果,进一步说明了快中子处理土霉素生产菌对提高土霉素产量有较好的效果。但随出发菌株不同,对快中子的敏感性也不同,如快中子处理菌株<sup>2</sup>2492,产量在110—120%的菌株占8.7%,而菌株<sup>6</sup>2346经快中子处理后产量在此幅度分布的菌株却没有。

从快中子与氯化锂复合处理土霉素生产菌<sup>2</sup>2492及<sup>6</sup>2346的结果看,快中子与氯化锂复合处理土霉素生产菌不如快中子单一处理的效果好。表3中菌株

## 二、快中子对土霉菌产土霉素的诱变作用

初步认为快中子处理土霉菌产量正变的频率比自然分离的高,而且高产量突变频率的分布比自然分离的幅度要宽。相反从产量负变的频率来看,快中子处理后却比较低,说明快中子处理土霉素生产菌<sup>12</sup>2642比自然分离的效果好(见表2)。

表2 快中子对土霉素生产菌<sup>12</sup>2642产土霉素的诱变作用

突变频率(%) 处理方法	产量分布(%)			
	80—90	90—100	100—110	110—120
自然分离	13.3	43.3	43.2	—
快中子处理	—	25	62.5	12.5

注:筛选菌株的产量以出发菌株的产量为100%作对照计算。挑选的菌落形态为正常型。

## 三、快中子及其与氯化锂复合处理土霉素生产菌的结果

<sup>2</sup>2492与<sup>6</sup>2346经快中子与氯化锂复合处理后,产量负变的频率分布比快中子单一处理的幅度要宽,并且频率较高;而提高产量的频率分布较快中子单一处理的幅度要窄,并且频率较低。

## 讨 论

用快中子[辐射通量为 $1.2 \times 10^{12}$ 个快中子/厘米<sup>2</sup>,中子能量为14 Mev(百万电子伏)]处理土霉素生产菌<sup>2</sup>2492、<sup>6</sup>2346及<sup>12</sup>2642三个菌株的初步结果,认为快中子对土霉素生产菌有一定的致死作用,并有一定的形态诱变作用。从突变率来看,快中子对土霉菌的形态诱变作用(2%)比自然变异(0.34%)的要强。

从上述实验结果看出,为提高菌株的土霉素产量,用快中子处理土霉素产生菌<sup>12</sup>-2642比自然分离的效果好(见表2)。快中子对<sup>2</sup>-2492与<sup>12</sup>-2642二菌株均有相近的诱变效果,说明这一处理方法有较好的重复性(见表2,3)。而快中子单一处理土霉素<sup>2</sup>-2492及<sup>6</sup>-2346比快中子与氯化锂复合处理的效果好,这说明快中子处理土霉素产生菌有较好的效果,且加深了我们对氯化锂诱变作用的认识<sup>[3]</sup>,有进一步研究的必要。

选用的出发菌株不同,对快中子处理的敏感性也不同,如快中子对<sup>2</sup>-2492处理后产量在110—120%的菌株占8.7%,而<sup>6</sup>-2346在此频率分布的菌株却没有。

我们的实验表明,在土霉菌目前已达到较高发酵单位的情况下,用一种诱变因子处理菌种,能如快中子那样初筛提高产量10—20%且有较高的频率(8.7—12.5%)是不多的。在快中子处理中,曾得到斜面生

长3天比一般菌株提前2天收获的高产菌株(其在摇瓶中8次发酵的平均结果,产土霉素的能力比对照者提高4%以上。),该菌株投产后具有种子生长与发酵代谢较快和高产的特点。说明快中子处理土霉素产生菌也能改变菌种的生长和代谢等特性。

有人认为<sup>[1]</sup>快中子处理会使菌株的染色体断裂而发生易位、倒位或缺失等结构变化,会使突变体的遗传分析复杂化,从而指出这在其它诱变剂无效时是可供考虑的最后手段。从实验结果看,我们初步认为快中子有较好的诱变效果,作为微生物育种提高抗菌素产量的手段,是值得尝试与进一步摸索的。

和其它诱变剂作用一样,快中子处理菌株后也有产量变异的回复现象,这是否与染色体断裂后的修复作用有关,须进一步探讨。

## 参 考 文 献

- [1] Alikhanian, S. I.: *Adv. Appl. Microbiol.*, 4, 1962.
- [2] Norris, J. R. Ribbons, D. W.: *Methods in Microbiology* Vol. 3A:435, 1970.
- [3] 吴振昌:微生物育种学术讨论会文集(研究报告),第107页,科学出版社,1975年。