

国外菌种保藏概况

国外情况介绍

陶 天 申

(武汉微生物农药厂)

近二十年来,随着人类对微生物资源的进一步开发和基础理论工作的加强,菌种保藏已成为一个重要的问题。许多国家都建立了专门的菌种保藏机构,现将国外的近况介绍如下。

1962年8月,在加拿大渥太华开过一次菌种保藏的国际会议,到会的有二十几个国家和地区的代表,讨论了菌库组织与管理问题,报告了某些类群微生物保藏的技术问题。

1968年在日本东京召开了第一届国际菌种保藏会议。到会代表介绍了有关菌种保藏的组织,保藏方法和经验。同时还就某些微生物的分类和鉴定问题作了学术报告和讨论。为了加强国际合作与情报交流,菌种保藏世界联盟曾确认澳大利亚昆斯兰大学微生物系为菌种保藏情报中心,有关菌种保藏事宜可向该系查询。

一些国家菌种保藏概况

1. 美国典型菌种菌库(ATCC):参加 ATCC 的有美国各生物学科的学会。菌库设在马里兰州的罗克斯维尔。1967年保藏的菌株 14,000 株,其中细菌 6,500 株,真菌 4,000 株,动物病毒 400 株,植物病毒 20 株,原生动物 50 个培养物。藻 45 株,动物细胞系(Animal cell lines) 85 株。主要保藏方法是冷藏法和冻干法。

2. 荷兰的巴恩菌库(CBS):这个菌库建于二十世纪初,是国际上比较有名的菌种保藏机构。1906年发表第一个目录时有近 80 个培养体,1968年1月成为荷兰皇家科学院的一个研究所。巴恩菌库分为两处,一处是在巴恩,保藏有丝状真菌 12,000 株,放线菌 700 株。另一处设在德尔福特技术大学内,保藏有酵母 3,000 余株,该库主要保藏方法是矿物油法。除了保藏菌种以外,该库还广泛地进行真菌(包括酵母在内)分类学的研究,并为欧洲和世界其他地区作

菌种鉴定。

3. 英国的典型菌种菌库和工业、海洋细菌菌库:英国的这三个菌库主要保藏细菌,保藏方法主要是冻干法。其中英国典型培养菌库(NCTC)最初建于李斯特学院,1949年迁往伦敦中央公共卫生实验室。该库现在保藏的是与医学和兽医学有关的细菌,共 3,000 余株,分属于 300 种,70 个属。此外还保藏有沙门氏杆菌的 362 个血清型。这个菌库还有一个分支机构研究用电子计算机鉴定细菌,主要目的是研究细菌快速鉴定方法,以便为医疗单位的送检标本迅速提供准确的鉴定,此外,还开展一些基础理论研究工作。

设在苏格兰阿伯丁(Aberdeen)托雷研究站内的工业细菌菌库(NCIB)现保藏有近 2,000 株细菌,其中 10—15% 是著名的工业用细菌,目前还十分注意遗传学上的重要菌种。

海洋菌库现有细菌 1,600 株以上,也包括与淡水鱼类有关的微生物,因此实际上可以说是一个保藏水生细菌的菌库。

4. 美国北方地区研究室菌库(NRRL):这个菌库历史比较悠久,几经变迁,现设在伊利诺州的皮奥利亚。该库现保存有霉菌 3,000 余株,酵母 9,500 余株。细菌 4,500 余株。该库将微生物按四大类(真菌、酵母、细菌、放线菌)各设分部,由于这四类微生物在保藏上各有其特点,因此,各分部在工作上有一定的独立性。

5. 日本菌种保藏联合会(JFCC):于 1951 年建立。由东京大学应用微生物研究所等十一个单位组成。每年 5 月份举行一次例会,并根据需要举行不定期的会议。参加日本联合菌库的各单位根据其业务活动的范围保存其菌种。

6. 苏联菌库:苏联菌库于 1958 年建立,设在莫斯科苏联科学院微生物所内,其建库目的

是为了永久保藏菌种。主要为微生物的分类和鉴定服务,而各种医科和工农业有关菌种则由各业务单位自行保存。1968年该库保存有各类微生物 4,500 株,分属于 250 属,1,200 个种,其保藏方法主要是矿物油法和琼脂营养斜面定期移植法。

菌种保藏方法

根据保藏规模大小及微生物类型的差别,不同保藏单位可以根据情况选择不同的方法。

1. 琼脂斜面法: 若某个保藏菌株经常需要移植,或在短时间内可能需要的菌株,琼脂斜面法是最方便的保存方法。

琼脂斜面可存放在室温(15—22℃)下,最好存放在冰箱中(4℃左右)。

移植菌的间隔时间,也根据菌种的特性而定,如果在室温下,对于大部分普通霉菌可以半年移植菌一次,细菌则以三个月移植一次为好,有些娇弱的种需要几周甚至几天移植一次。

2. 干燥法: 简单的干燥法是把微生物菌体混于灭菌的干燥沙土中,管口加棉塞,或予以熔封,这种方法特别适用于保藏有孢子的微生物。灭菌的硅胶片、纸片、瓷球等和其它类似物也可象灭菌的沙土一样用来保藏菌种。

许多细菌对干燥很敏感,如奈氏球菌(*Neisseria*)、弧菌(*Vibrio*)和极毛杆菌(*Pseudomonas* spp.)等,它们不适用于干燥法保存。

3. 矿物油法: 将灭过菌的矿物油灌注入已生长好的琼脂斜面菌种,可以成功地保藏许多类型的微生物,自1914年法国人 Lumiere 等介绍了这一方法以来,世界各国先后采用。荷兰的巴恩菌库有一个专门存放大量油管的处所称为油管保存处。值得注意的是,许多不适于冷冻、干燥保藏的真菌,如某些毛霉科菌类用此法可长期保持它们的活性。

4. 冷冻法: 冷冻降低了代谢速率,在低温下可以长期保存各种类型的微生物。但是,有些细菌不适于低温,必须在较高温度下才能保存,如淋病奈氏球菌(*Neisseria gonorrhoeae*)和嗜血杆菌(*Haemophilus* sp.)就必须保持在37℃下,

不断移植保存。

普通冰箱(4℃): 营养琼脂斜面、沙土管,冻干安瓿都以放在这一条件下为宜。

低温保藏: 在-20℃保藏真菌是成功的。但是在0—30℃范围内都有可能出现水与电解质的共晶混合物(低共熔混合物),这就会损害菌体的存活性。

超低温: 把菌种保存在液态氮超低温冰箱下(-150—-196℃)可以保存细菌、病毒、真菌、藻类和原生动物。这是近年来国际上发展起来的一项新技术。在液态氮低温下,从理论上来说,菌种不发生遗传性变化,而又能保持存活。当然,该假说有待进一步证明。

5. 冻干法: 1921年,Swift报道了冻干保藏细菌,以后此法逐渐发展为各大菌库的常规方法。保存细菌一般可达十年左右,保存真菌效果亦好。但是有不少报道指出不长孢子或长孢子稀少的真菌菌株用冻干法保存不好。冻干菌种一般都以真空熔封的安瓿瓶形式保存或寄送。当取菌时,启开真空安瓿瓶如不小心,常易引起污染。

6. Sordelli 法: 这是阿根廷学者 Sordelli 所用的方法,因而得名。实际上也是一种冻干法。该法适用于小型实验室里保存少量菌株。这个方法是将盛有菌体的指形管放入大套管中,套管底部加少量干燥剂,然后在真空下干燥并熔封。阿根廷布宜诺斯艾利斯大学菌库自1939年以来,已用此法保存了约三千株细菌、真菌和酵母。

7. 液态干燥法: 澳大利亚伯斯皇家医院的 Annear 多年的工作表明,菌体在保温条件下,直接抽空干燥,即在恒温液态条件下干燥,可以保存许多细菌、病毒。这一方法成功的保藏了许多难保藏的菌种。用冻干法保存不好,而用液态干燥法保存得好的菌种有活跃固氮菌(*Azotobacter agilis*)、橙黄纤维粘菌(*Cytophaga aurantiaca*)等。弧菌(*Vibrio* spp.)虽然也可以用冻干法保存,但液态干燥法的成活率比冻干法高100倍。