

Sherlock MIS 系统应用于土壤细菌鉴定的研究*

吴愉萍 徐建明[†] 汪海珍 胡宝兰 吴建军

(浙江大学土水资源与环境研究所, 杭州 310029)

摘要 以 10 种已知菌株为例,对 Sherlock 微生物鉴定系统(Sherlock MIS)的细菌鉴定准确性及培养基、活化时间和取样区域等因素对鉴定结果的影响进行了研究。结果表明该系统对 TSBA 培养基培养的细菌的鉴定准确率很高,除苏云金杆菌外其他菌株均鉴定到种的水平;但选用牛肉膏蛋白胨培养基培养细菌后,系统对供试菌株鉴定效果不理想。不同活化处理中所有样品的鉴定结果均正确,但以菌种活化 2 次后的 SI 值(相似指数)更高;取菌在二区或是三区则对鉴定结果影响不大。

关键词 Sherlock MIS;细菌鉴定;磷脂脂肪酸

中图分类号 Q938.1

文献标识码 A

微生物是土壤最重要的生物体,能够降解土壤中的有机污染物或驱动土壤有机污染物的代谢过程。历经几十年的研究和发展,人们已从有机物污染的土壤中筛选和分离出了许多专性的降解菌,并通过降解基因的克隆、表达调控等现代分子生物学技术构建了各种基因工程菌,已在去除土壤环境中的有机污染物发挥了很重要的作用^[1~4]。因此,在研究污染土壤的生物修复或寻求高效的污染物削减的新原理和新技术等领域中,快速准确鉴定污染物的降解菌种类是一项最根本和具有特殊意义的工作。

传统菌株鉴定方法大多是操作步骤复杂、比较费时且成本较高等^[5],因而微生物鉴定自动化系统的开发和运用得到了越来越广泛的关注。Sherlock Microbial Identification System (MIS) 就是一套由美国 MIDI 公司开发成功的微生物鉴定自动化系统,该系统操作安全、简单、快速,实验成本也相对较低。它主要根据不同种类微生物细胞膜中磷脂脂肪酸(Phospholipid fatty acid, PLFA)的类型和含量具有种的特异性、指示性和遗传稳定性等特殊性能对微生物进行全自动鉴定和分析,该系统备有图谱识别软件和迄今为止微生物鉴定系统中最大的数据库资源,包括嗜氧菌 1 100 余种,厌氧菌 800 余种,酵母菌和放线菌约 300 种,共计超过 2 200 种^[6]。但 Sher-

lock MIS 系统主要用于医学、防疫学或出入境检验检疫等领域的特别研究,在土壤、农业、环境科学等领域的应用尚很少涉及。Piotrowska-Seget 等运用该系统鉴定了重金属污染土壤中的耐性菌^[7]。Oka 等对该系统在鉴定土壤或根际微生物中的效果也予以了肯定^[8]。但是,有关阐述 Sherlock MIS 系统在微生物鉴定条件方面的文献还未见详细报道,而且该系统在我国土壤微生物鉴定中的应用几乎空白。为此,本文运用 Sherlock MIS 微生物鉴定系统,探讨了该系统对细菌鉴定的准确性以及培养基、活化时间和取样区域等因素对鉴定结果的影响,试图为 Sherlock 微生物鉴定系统广泛应用于我国土壤和环境科学领域的研究提供理论和技术依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 仪器设备 安捷伦 6 890N 气相色谱、Sherlock MIS 系统、旋转式混合振荡仪、水浴锅、XW-80A 旋涡混合器、10 ml 带聚四氟乙烯塞的玻璃瓶等。所有的玻璃器皿均需在马福炉中 400 °C 烘烤 1 h。

1.1.2 测试菌株 供试的 10 种已知菌株来自浙江大学环境与资源学院保存的菌株,于土壤、污泥等环境样品中分离筛选获得并经传统方法鉴定。Sher-

* 国家杰出青年科学基金项目(40425007)、国家自然科学基金项目(40371062)和国家重点基础研究发展计划 973 项目(2005CB121104)资助

[†] 通讯作者, Tel. 0571 - 86971955; E-mail: jmxu@zju.edu.cn

作者简介:吴愉萍(1981~),女,浙江遂昌人,博士研究生,主要从事有机污染修复方面的研究

收稿日期:2005 - 11 - 30;收到修改稿日期:2006 - 02 - 27

lock 系统检测结果与已知结果一致时认为鉴定正确,不一致时认为鉴定有误。

1.1.3 培养基 普通细菌培养基——牛肉膏蛋白胨培养基:加热混合溶解牛肉膏 3 g、蛋白胨 5 g、氯化钠 3 g、琼脂 18 g 和 1 L 去离子水制成。

MIDI 推荐培养基——TSBA 培养基:加热混合溶解 30 g 胰蛋白胨大豆肉汤 (Trypticase soy broth, TSB)、15 g 琼脂 (Granulated agar) 和 1 L 去离子水制成。其中 TSB 和 Granulated agar 购于 Fisher 公司。

1.1.4 试剂 所有有机试剂均为 HPLC 级,购于 Sigma 公司,无机试剂均为优级纯。

皂化试剂:混合 150 ml 水和 150 ml 甲醇,加入 45 g NaOH,同时搅拌至完全溶解。

甲基化试剂:325 ml 6 mol L⁻¹ 的盐酸加入到 275 ml 甲醇中,混合均匀。

萃取试剂:加 200 ml 甲基叔丁基醚到 200 ml 正己烷中,混合均匀。

碱洗液:在 900 ml 去离子水中加入 10.8 g NaOH,搅拌至完全溶解。

饱和 NaCl 溶液:在 100 ml 去离子水中加入 40 g NaCl。

1.2 实验方法

试验方法主要参照 MIDI 操作手册^[6],即在培养基上 28℃ 恒温培养细菌 24 h 后取菌,通过提取和分离细菌细胞膜中的磷脂脂肪酸 (PLFA),甲基化后进行气相色谱鉴定分析。具体如下:

1.2.1 细菌的培养 在含 TSBA 培养基的培养皿和含牛肉膏蛋白胨培养基的培养皿上按照四区划线法分别接种 4 保存的菌株,28℃ 恒温培养箱中培养 24 h。随机选取部分 TSBA 培养基上培养的菌株,转接到另一含 TSBA 培养基的培养皿中,28℃ 再培养 24 h,用于比较活化处理时间长短对鉴定结果的影响。

1.2.2 菌株的获取 按照 MIDI 推荐的方法,三区取样获取的菌株脂肪酸最具代表性。因此用普通接种环获取已培养好的三区菌株约 40 mg 到 10 ml 带聚四氟乙烯塞的玻璃瓶中。另在含 TSBA 培养基的培养皿上,随机选取部分菌株,二区和三区分别取样,分析取样区域不同对鉴定结果的影响。

1.2.3 皂化 在取好菌株样的玻璃瓶中加入 1.0 ml 的皂化试剂,盖好盖子,旋涡振荡 5~10 s,于 100℃ 的沸水浴中加热 5 min,稍冷却后振荡 5~10 s,再将玻璃瓶放入水浴中继续加热 25 min,然后冷却至室温。

1.2.4 甲基化 每个玻璃瓶中加入甲基化试剂 2.0 ml,盖紧盖子旋涡振荡后,放入 80℃ 水浴加热 10 min,再将玻璃瓶冷却至室温。

1.2.5 萃取 往玻璃瓶中加入 1.25 ml 萃取试剂,玻璃瓶盖紧盖子在旋转式混合振荡仪上温和振荡 10 min 后,打开盖子,取出每个样品的下层相并丢弃,保留上层有机相。

1.2.6 基本洗涤 每个玻璃瓶中加入 3.0 ml 碱洗液,盖紧盖子后在旋转式混合振荡仪上温和旋转振荡 5 min。静置几分钟,若两相界面不清楚,加数滴饱和 NaCl 溶液使两层液面的接口更清楚。

1.2.7 分析 吸取上层有机相于 GC 样品瓶中,在安捷伦 6890N 气相色谱测定。检测器为氢火焰离子检测器 (FID),色谱柱为:Agilent 19091B-102 (25.0 m × 200 μm × 0.33 μm),采用分流/不分流进样。气相色谱各参数由 MIDI Sherlock 程序 (MIDI, Inc. Newark, DE) 设置调用。

2 结果与讨论

2.1 MIDI Sherlock 系统的细菌鉴定效果

MIDI 操作手册指明,当鉴定结果第一选择的相似指数 (Similarity Index, SI) 在 0.500 以上,且第一选择和第二选择的 SI 差值大于 0.100,则可以认为鉴定成功,鉴定结果为第一选择所列的菌种名。若 SI 值在 0.300 到 0.500 之间,且第一选择和第二选择的 SI 差值大于 0.100,则表明第一选择与第二选择分开,鉴定可能成功,但是第一选择所列的菌种为非典型的菌株。当 SI 值小于 0.300 时,则认为该菌株不存在于数据库中,但软件会给出一个最相关的菌株。表 1 为按照 MIDI 推荐方法操作的细菌鉴定结果,供试菌种鉴定的第一选择 SI 值范围在 0.525~0.956 之间 (平均值为 0.769),而且第一选择和第二选择 SI 差值达到 0.124 以上。由此可见,第一选择所列的菌种名作为鉴定结果是比较可靠的,表明利用 MIDI Sherlock 系统鉴定分析细菌种类的效果很好。在所鉴定的 10 个菌株中,除苏云金杆菌 (*Bacillus thuringiensis*) 外 MIDI 鉴定出来的菌株均与已知菌株相符合,且有些结果达到了亚种或是变种的水平。如球形芽孢杆菌 (*Bacillus sphaericus*) 第一选择和第二选择的结果都是球形芽孢杆菌,且第一选择的 SI 值高达 0.956,第一选择与第二选择只是亚种水平不同。而枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) 鉴定结果虽是第二选择的结果为枯草芽孢杆菌,但第一选择结

果 *Bacillus atrophaeus* 是枯草芽孢杆菌黑色变种,事实上在种的水平上该鉴定结果也正确。另据文献报道, Biolog 系统对于芽孢杆菌鉴定到种的准确率很

低^[9], 而本试验结果表明 MIDI 系统鉴定芽孢杆菌的效果很好, 具有明显的优势。

另外, 本试验中对苏云金杆菌和蜡样芽孢杆菌

表 1 MIDI 推荐方法的细菌鉴定结果

Table 1 Identification of bacteria based on the MIDI Operating Manual

供试菌株 Used strains	来源 Source	鉴定结果菌名 Identification	SI ¹⁾	准确鉴定(是/否) Matched (yes or no)	
				属 Genus	种 Species
枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i>	土壤 Soil	<i>Bacillus atrophaeus</i>	0.768	是 Yes	是 Yes
短小芽孢杆菌 <i>B. pumilus</i>	土壤 Soil	<i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup A <i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A	0.809 0.490	是 Yes	是 Yes
球形芽孢杆菌 <i>B. sphaericus</i>	土壤 Soil	<i>Bacillus sphaericus</i> GC subgroup D <i>Bacillus sphaericus</i> GC subgroup E	0.956 0.704	是 Yes	是 Yes
蜡样芽孢杆菌 <i>B. cereus</i>	土壤 Soil	<i>Bacillus cereus</i> GC subgroup A <i>Bacillus thuringiensis kustakii</i> <i>Bacillus thuringiensis israelensis</i>	0.806 0.647 0.632	是 Yes	是 Yes
蜡样芽孢杆菌霉状变种 <i>B. cereus</i> var <i>mycooides</i>	土壤 Soil	<i>Bacillus mycooides</i> GC subgroup A (<i>Bacillus cereus</i> group) <i>Bacillus cereus</i> GC subgroup A	0.525 0.344	是 Yes	是 Yes
苏云金杆菌 <i>B. thuringiensis</i>	土壤 Soil	<i>Bacillus cereus</i> GC subgroup A <i>Bacillus cereus</i> GC subgroup B <i>Bacillus thuringiensis kustakii</i>	0.697 0.573 0.507	是 Yes	否 No
霉状芽孢杆菌 <i>B. mycooids</i>	土壤 Soil	<i>Bacillus mycooides</i> GC subgroup B (<i>Bacillus cereus</i> group)	0.841	是 Yes	是 Yes
巨大芽孢杆菌 <i>B. megaterium</i>	土壤 Soil	<i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A <i>Kurthia gibsonii</i>	0.674 0.490	是 Yes	是 Yes
科氏葡萄球菌 <i>Staphylococcus cohnii</i>	土壤 Soil	<i>Staphylococcus cohnii</i> GC subgroup A <i>Staphylococcus simulans</i> GC subgroup A	0.719 0.459	是 Yes	是 Yes
类产碱假单胞菌 <i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i>	污泥 Sludge	<i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i> <i>Pseudomonas oleovorans</i> <i>Pseudomonas mendocina/ straminea</i> <i>Pseudomonas stutzeri</i> (<i>P. pefectomarina</i>) <i>Chryseomonas luteola</i> (<i>Pseudomonas</i> VE1)	0.883 0.695 0.650 0.613 0.564	是 Yes	是 Yes

1) SI:相似指数 Similarity Index

的鉴定区分比较困难。苏云金杆菌的鉴定结果第一选择与第二选择均为蜡样芽孢杆菌 (*Bacillus cereus* GC subgroup A), 未达到种的水平, 第三选择结果才为苏云金杆菌, 但第三选择与第二选择蜡样芽孢杆

菌的 SI 值相差 0.073, 也即表明第三选择与第二选择的鉴定结果没有明显区别, 而蜡样芽孢杆菌的第一选择鉴定结果虽准确, 但第二选择与第三选择的鉴定结果却分别是苏云金杆菌的两个亚种, 其 SI 值

为 0.647 和 0.632。但经过高倍显微镜的观察,苏云金杆菌和蜡样芽孢杆菌的形态区分明显。原因可能是苏云金杆菌和蜡样芽孢杆菌的 PLFA 的组成和含量等比较相似而使得 MIDI Sherlock 微生物鉴定系统难以区分。

2.2 培养基对细菌鉴定结果的影响

由于 TSBA 培养基价格较为昂贵,因此,考虑是否能用普通的牛肉膏蛋白胨细菌培养基来代替。试验中对用牛肉膏蛋白胨培养基培养的九种细菌(科氏葡萄球菌除外)进行了鉴定分析,结果见表 2。比较表 1 和表 2 可知,MIDI Sherlock 系统对 TSBA 培养基培养的细菌的鉴定效果要大于牛肉膏蛋白胨培养基。牛肉膏蛋白胨培养基培养的 9 种细菌的鉴定结果在菌株属水平的准确性尚可以,但到菌株种的水平上只有枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*)、蜡样芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*) 和类产碱假单胞菌 (*Pseudomonas pseudoalcaligenes*) 的鉴定结果与已知结果一

致,但与表 1 相比它们的 SI 值比较低。蜡样芽孢杆菌霉状变种 (*Bacillus cereus* var *mycooides*) 能够鉴定到种的水平,但不能鉴定到变种水平;霉状芽孢杆菌 (*Bacillus mycooides*) 鉴定结果的第一选择 SI 值为 0.386,在 0.300 到 0.500 之间,仅仅是可能鉴定成功;而短小芽孢杆菌、球形芽孢杆菌和巨大芽孢杆菌的鉴定结果只是出现在第二选择或第三选择之中,第一选择鉴定结果均有误。由此可见,不同培养基对细菌鉴定结果有明显的影响。这可能与 MIDI Sherlock 系统中微生物数据库是创建于指定培养基培养的微生物直接有关,牛肉膏蛋白胨培养基的化学成分不同于 TSBA 培养基,它含有牛肉中的磷脂以及牛肉里其他微生物细胞中的磷脂成分,这些成分会引起脂肪酸的描绘定量上出现偏移而干扰菌种鉴定中脂肪酸图谱分析,影响鉴定结果。因此,建议以后利用 MIDI Sherlock 系统鉴定细菌时应选用 TSBA 培养基培养细菌。

表 2 牛肉膏蛋白胨培养基培养的细菌 MIDI 鉴定结果

Table 2 Identification of bacteria incubated in beef peptone agar (BPA)

供试菌株 Used strains	鉴定结果菌名 Identification	SI ¹⁾	准确鉴定(是/否/可能) Matched (yes/no/possible)	
			属 Genus	种 Species
枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	0.792	是	是
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillus laevolacticus</i>	0.476	Yes	Yes
短小芽孢杆菌 <i>B. pumilus</i>	<i>Bacillus licheniformis</i>	0.448	可能	否
	<i>Kurthia sibirica</i>	0.421	Possible	No
	<i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup B	0.304		
球形芽孢杆菌 <i>B. sphaericus</i>	<i>Kurthia sibirica</i>	0.622	否	否
	<i>Bacillus sphaericus</i> GC subgroup D	0.515	No	No
蜡样芽孢杆菌 <i>B. cereus</i>	<i>Bacillus cereus</i> GC subgroup A	0.675	是	是
			Yes	Yes
蜡样芽孢杆菌霉状变种 <i>B. cereus</i> var <i>mycooides</i>	<i>Bacillus cereus</i> GC subgroup A	0.531	是	是
			Yes	Yes
苏云金杆菌 <i>B. thuringiensis</i>	<i>Bacillus cereus</i> GC subgroup A	0.493	可能	否
	<i>Bacillus cereus</i> GC subgroup B	0.374	Possible	No
霉状芽孢杆菌 <i>B. mycooides</i>	<i>Bacillus mycooides</i> GC subgroup B (<i>Bacillus cereus</i> group)	0.386	可能	可能
	<i>Bacillus cereus</i> GC subgroup A	0.237	Possible	Possible
巨大芽孢杆菌 <i>B. megaterium</i>	<i>Brevibacillus reuszeri</i>	0.657	否	否
	<i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A	0.42	No	No
	<i>Arthrobacter viscosus</i>	0.409		
类产碱假单胞菌 <i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i>	<i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i>	0.714	是	是
	<i>Pseudomonas mendocina/straminea</i>	0.621	Yes	Yes
	<i>Pseudomonas stutzeri</i> (<i>P. perfectomarina</i>)	0.463		
	<i>Chryseomonas luteola</i> (<i>Pseudomonas VE1</i>)	0.446		

1) SI:相似指数 Similarity Index

2.3 活化处理时间对细菌鉴定结果的影响

本试验对 4 保存的菌株直接转接到 TSBA 培养基上培养 24 h(活化 1 次)及在此基础上再次转接到 TSBA 培养基上培养 24 h(活化 2 次)的细菌鉴定结果进行了研究,结果发现不同活化处理中所有样品的鉴定结果均正确,且鉴定成功(第一选择的 $SI > 0.500$,且第一选择和第二选择的 SI 值之差大于

0.100)。但由表 3 可见,同一菌株活化处理 2 次后的第一选择鉴定结果 SI 值均高于活化处理 1 次的 SI 值。方差分析结果进一步表明,两个活化处理中第一选择鉴定结果 SI 值的差异达到了显著水平 ($F = 14.22, p = 0.02$)。也即表明,4 保存的菌株直接转接到 TSBA 培养基上培养 24 h 后其活性可能没有完全被激发,但尚未影响到鉴定结果的准确性,不

表 3 活化处理对细菌鉴定结果的影响

Table 3 Effect of activating treatment on bacterial identification

供试菌株 Used strains	第一选择鉴定结果菌名 Identification in the first choice	$SI^{1)}$	
		活化 2 次 Activated twice	活化 1 次 Activated once
短小芽孢杆菌 <i>Bacillus pumilus</i>	<i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup A	0.926	0.809
球形芽孢杆菌 <i>B. sphaericus</i>	<i>Bacillus sphaericus</i> GC subgroup D	0.956	0.818
巨大芽孢杆菌 <i>B. megaterium</i>	<i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A	0.900	0.674
科氏葡萄球菌 <i>Staphylococcus cohnii</i>	<i>Staphylococcus cohnii cohnii</i> GC subgroup A	0.771	0.719
类产碱假单胞菌 <i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i>	<i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i>	0.943	0.883

1) SI :相似指数 Similarity Index

过活化处理 2 次后能够得到更好的鉴定结果。

2.4 取样区域对细菌鉴定结果的影响

在相同的培养温度和培养时间下,不同的菌株生长状况不同,有时可能会出现三区生长的菌株较少,菌量不能达到分析鉴定要求的情况。因而,本试验中随机选择三种菌株,进行二区和三区分别取样分析,比较不同取样区域菌株对鉴定结果的影响。研究发现二区与三区第一选择鉴定结果一致,二区与三区第一选择的 SI 值范围分别为 0.728 ~ 0.806 和 0.697 ~ 0.900,且方差分析结果表明两个不同区域的 SI 值几乎没有差别 ($F = 0.001, p = 0.97$)。因此,选择二区或三区取样对于鉴定结果影响不大,在三区菌株不够分析的前提下可以考虑选用二区菌株进行分析。

3 结论

本文应用 MIDI Sherlock 系统对环境微生物自动鉴定的方法及效果进行了探讨,结果表明选用 TSBA 培养基培养待鉴定菌株以及对菌株进行 2 次活化处理,能够得到很好的鉴定结果,有些供试菌株可以鉴定到亚种或变种水平。取样区域则对鉴定结果准确性影响不大。该系统准确率高、操作简单、方法安全快捷,可以在种的水平上鉴定土壤等环境中分离纯

化得到的细菌。

参考文献

- [1] Zhang X H, Zhang G S, Zhang Z, et al. Isolation and characterization of a dichlorvos-degrading strain DDV-1 of *Ochrobactrum sp.*. *Pedosphere*, 2006, 16(1): 64 ~ 71
- [2] 吕萍萍,王慧,施汉昌,等. 基因工程菌强化芳香化合物的处理工艺. *中国环境科学*, 2003, 23(1): 12 ~ 15. Lu P P, Wang H, Shi H C, et al. The treatment technique for augmentation of aromatic compounds by genetic bacterial strains (In Chinese). *China Environmental Science*, 2003, 23(1): 12 ~ 15
- [3] 王学东,欧晓明,王慧利,等. 除草剂咪唑烟酸在土壤中的微生物降解研究. *土壤学报*, 2004, 41(1): 156 ~ 159. Wang X D, Ou X M, Wang H L, et al. Study on degradation of imzapyr by microorganism in soil (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2004, 41(1): 156 ~ 159
- [4] 徐向阳,任艳红,黄绚,等. 典型有机污染物微生物降解及其分子生物学机理的研究进展. *浙江大学学报(农业与生命科学版)*, 2004, 30(6): 684 ~ 689. Xu X Y, Ren Y H, Huang X, et al. Advanced on microbial biodegradation of chlorinated aromatics and their molecular mechanism (In Chinese). *Journal of Zhejiang University (Agric. & Life Sci.)*, 2004, 30(6): 684 ~ 689
- [5] 唐晓敏,高志贤. 基因芯片快速检测常见水中致病菌的初步应用研究. *解放军预防医学杂志*, 2003, 21(2): 94 ~ 96. Tang X M, Gao Z X. Preliminary application of gene chip to rapid detection of common pathogens in water (In Chinese). *J. Prev. Med. Chin. PLA*, 2003, 21(2): 94 ~ 96

- [6] Sherlock Microbial Identification System, Version 4.5, MIS Operating Manual. Newark, DE: MIDI, Inc., 2002
- [7] Piotrowska-Seget Z., Cycon M., Kozdroj J. Metal-tolerant bacteria occurring in heavily polluted soil and mine spoil. *Applied Soil Ecology*, 2005, 28: 237 ~ 246
- [8] Oka N., Hartel P.G., Finlay-Moore O., *et al.* Misidentification of soil bacteria by fatty acid methyl ester (FAME) and Biolog analyses. *Biol. Fertil. Soils*, 2000, 32: 256 ~ 258
- [9] 谢家仪, 王永力. BIOLOG 细菌自动鉴定系统的应用与研究. *微生物学通报*, 1996, 23(5): 264 ~ 267. Xie J. Y., Wang Y. L. Application and study of the Biolog automated bacterial identification system (In Chinese). *Microbiology*, 1996, 23(5): 264 ~ 267

APPLICATION OF SHERLOCK MIS IN IDENTIFICATION OF SOIL BACTERIA

Wu Yuping Xu Jianming[†] Wang Haizhen Hu Baolan Wu Jianjun

(*Institute of Soil and Water Resources and Environmental Science, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China*)

Abstract Ten known strains of bacteria were used to study validity of the Sherlock Microbial Identification System (Sherlock MIS) in identification of soil bacteria. Results show that Sherlock MIS is accurate in identifying all the bacteria, incubated in TSBA (Trypticase soy broth agar), except *Bacillus thuringiensis*, whereas it is not so ideal, when the bacteria are incubated in BPA (beef peptone agar). A better result can be obtained when the conserved bacteria are activated twice or for 48 hours than for 24 hours. No difference is found in identification between bacteria sampled from quadrant 3 and quadrant 2.

Key words Sherlock MIS; Bacterial identification; Phospholipid fatty acid (PLFA)