

# 棕榈疫霉 (*Phytophthora palmivora*) 用于测定 23-16 抗生素效价的方法

林永年 孟祐成 徐 容\*

(中国农业科学院原子能利用研究所, 北京)

23-16 抗生素对多种植物病原真菌具有不同程度的抑制作用。但是, 该抗生素产生菌在发酵过程中产生多组分的抗生素。其中组分 C 对橡胶树割面条溃疡病菌棕榈疫霉尤为敏感。因此用该菌作检定菌测得的效价, 可以反映发酵液中多组分抗生素对橡胶条溃疡病的防治效果。但是棕榈疫霉的游动孢子用于测定还受到某些因素限制, 菌丝体悬液混入培养基中接种也难以制得生长均匀的平板。因此我们设计了以下特殊方法。

## 一、棕榈疫霉的培养及测定平板的制备

### (一) 培养基

玉米粉葡萄糖琼脂: 20 克玉米粉放适量水置沸水浴中隔水煮 1 小时, 用双层纱布过滤, 取其滤液, 加葡萄糖 20 克, 琼脂(先洗净, 或融化后热过滤) 15 克, 加水至 1000 毫升。分装三角瓶中, 15 磅 30 分钟灭菌。

土豆汁葡萄糖琼脂: 200 克土豆去皮煮汁取其滤液, 加 15 克琼脂融化后热过滤, 再加葡萄糖 200 克, 加水至 1000 毫升。分装三角瓶中, 15 磅 30 分钟灭菌。

### (二) 菌种培养

在 9 厘米直径的培养皿中加入 15 毫升玉米粉葡萄糖琼脂培养基, 凝固后, 由试管斜面中挑取棕榈疫霉菌种接种在培养皿中央, 置 28℃ 培养 3—4 天, 待菌丝长满全皿时备接种用。

### (三) 测定平板的制备

取 9 厘米直径的培养皿一副, 注入 8 毫升玉米粉葡萄糖琼脂培养基。凝固后、用 6 毫米灭菌打孔器从上述长好菌种的培养皿中切取圆形菌苔, 用灭菌镊子移至培养皿中央, 菌苔向下。一次可准备数十副培养皿。置 28℃ 培养 3—4 天, 菌丝体均匀平整地呈放射状布满全皿, 备用。在室温下放置 7 天, 不影响测定效果。

## 二、23-16 抗生素效价的测定

取测定平板 3—5 副, 由平板中央原接种菌处各注入 8 毫升融化并冷却至 45—55℃ 的土豆汁葡萄糖琼脂培养基, 使其覆盖原长好的菌丝体, 并均匀平整。15—20 分钟后每个培养皿中放置 4 个不锈钢圈, 滴入 23-16 抗生素标准液和待测样品, 置 28℃ 培养。24 小时后可见清晰规则的抑菌圈。测量抑菌圈的直径。将样品抑菌圈直径的平均值与标准品抑菌圈直径, 以及标准曲线中心点抑菌圈直径进行校正, 然后查标准曲线, 得出的效价值乘上稀释倍数, 即为待测样品的效价。

标准曲线的制作, 应选择一定范围下的各点浓度, 并确定适宜的中心浓度, 用上述测定平板测定抑菌圈直径。测定平板也可用于二剂量法测定样品效价。

\* 本工作承尹莘耘教授亲切指导。