

# 用砂土管法保存“九二〇”菌种的实验\*

薛延玲

(北京市房山县良乡人民公社四街大队科技组)

在农村中土法生产“九二〇”用的菌种,由于生产队没有冰箱设备不易保存,尤其在夏季气温较高时,菌种更易发生退化。这样就给在基层生产队开展“九二〇”的生产和实验带来了困难。据资料上记载生产“九二〇”用的菌种系菌丝型,其保存方法不外有两种,一是在培养基上连续传代,二是矿物油保藏法,此两法都要把菌种放在较低温度的环境中<sup>[1,2]</sup>,至于“九二〇”菌丝型的菌种应用砂土管法保存,尚未见到有人介绍。我们为了使生产用的“九二〇”菌种保持其原有特性,不使其合成赤霉素的能力降低,并能在常温条件下长期活存,以便在农村中开展“九二〇”的科学实验活动,破除迷信应用砂土管法保存“九二〇”菌种,下面即介绍经过两年保存的实验结果。

## 一、材料和方法

### (一)材料

#### 1. “九二〇”菌种

北农大株 菌号3.2835

苏白株 菌号3.752

上海株(4303) 菌号3.2879

均系取自中国科学院微生物学研究所。

#### 2. 培养基

(1) 土豆白糖琼脂斜面: 系将土豆去皮切成小块,按每20克加水100毫升,煮沸30分钟后,用双层纱布过滤,将滤液加水到100毫升,再加入2克白糖和2.5克琼脂,煮溶后分装试管,分装量为放成斜面其高度为试管的1/3,然后塞好棉塞,15磅30分钟灭菌,放成斜面备用。

(2) 固体发酵培养基: 其成分为玉米面1/3,麦麸1/3,糠1/3,水按1:11加入,拌匀后分装于500毫升广口罐头瓶内,每瓶装料到2/3高度,用双层牛皮纸扎好瓶口,15磅30分钟灭菌备用。

(3) 砂土: 取自河滩的细砂,用井水浸泡洗涤三次,干后用药用纱布除去大颗粒,取用筛下的细砂。

### (二)方法

#### 1. 砂土管菌种的制造和干燥保存法

(1) 砂土的处理: 将筛好的细砂土先放在铁盒内在煤火炉上烧灼30分钟,以除掉可能没洗掉的有机物质,待凉后把砂土装入1.0×15.0厘米的小试管,每管装砂2—3克,塞上松紧适当的棉塞,然后将此砂土管15磅30分钟灭菌,灭菌后把砂土管放在火炉的炉台上烤干待用。

(2) 菌种的培养和菌丝体的收集: 将“九二〇”菌种接种在土豆白糖琼脂斜面上,培养在26—28℃的环境中,经72小时培养,斜面上布满洁白绒毛状菌苔而无杂菌生长者,选做菌种用。在无菌操作下,用接种环刮下菌苔,要注意不要把琼脂刮下来,每只砂土管刮入两个斜面,用接种环把刮入的菌丝和砂土搅匀,塞好棉塞后,再把此砂土管放在40—50℃环境中放置一小时,以烘去剩余水分。

(3) 砂土管菌种的保存: 将制好的砂土管菌种,立即放入装有无水氯化钙的瓶子内,用蜡密封瓶口,放在室温保存,到冬季则移到无火的房子内。

2. 砂土管菌种的检查法 把保存在室温的“九二〇”砂土管菌种,每隔一年检查一次,检查指标有三点:

(1) 将保存的菌种接种在土豆白糖琼脂斜面培养基上,经培养观察其是否存活;

(2) 肉眼观察菌落特点,显微镜检查菌丝特点,以比较其和干燥保存前是否生长一致;

(3) 把斜面培养生长好的菌苔刮入发酵瓶中,培养15天,出料后将产品烘干,用萤光法测定“九二〇”的含量,以检查其合成“九二〇”的能力是否降低。

## 二、实验结果

### (一)砂土管法保存“九二〇”菌种生长特点的观察结果

把保存在室温条件下的“九二〇”砂土管菌种,保存一年和二年后,用接种环按无菌操作自砂土管中挑取砂粒,接种于土豆白糖琼脂斜面上,于26—28℃培养,观察其生长情况,结果见表1。

从表1结果可以看出,“九二〇”菌种经砂土管法

\* 本实验的“九二〇”含量测定系北京市农业科学研究所新技术室所做,谨致谢意。

表 1 砂土管法保存“九二〇”菌种的生长情况

观察项目 生长特点 保存时间	培养不同时间肉眼观察结果			培养 72 小时显微镜检查结果
	培养 24 小时	培养 48 小时	培养 72 小时	
砂土管法保存前原菌种	可见生长	形成白色绒毛状菌落	白色菌苔布满斜面	菌丝为管状、有分隔、分枝、无孢子
保存一年	可见生长	形成白色绒毛状菌落	白色菌苔布满斜面	菌丝为管状、有分隔、分枝、无孢子
保存二年	可见生长	形成白色绒毛状菌落	白色菌苔布满斜面	菌丝为管状、有分隔、分枝、无孢子

保存二年后未见死亡，肉眼观察和镜检均和干燥保存前的原菌种相同，未见发生变异。

### (二)砂土管法干燥保存“九二〇”菌种对合成赤霉素有影响的观察结果

我们将经砂土管法干燥保存的“九二〇”菌种，在保存到一年和二年时，均曾取出接种土豆白糖琼脂斜面，经 26—28℃ 培养 72 小时后，把肉眼观察白色菌苔布满斜面而无杂菌生长者，按每只斜面倒入无菌水 5—8 毫升，用接种环刮下菌苔，每只斜面菌种接种二个发酵罐头瓶，拌匀后放 24—28℃ 环境中培养 15 天，出料烘干，然后用荧光法测“九二〇”的含量，其结果见表 2。

表 2 经砂土管法保存的“九二〇”菌种合成赤霉素的结果

菌株	保存时间 含量(克/公斤)	保存前 原菌种	保存时间	
			一年	二年
北 农 大		3.9	3.57	3.6
苏 白		3.3	3.47	3.17
上 海 (4303)		未试验	未试验	1.42

表 2 结果说明，经砂土管法干燥保存“九二〇”菌种，虽将其存放在室温条件下，二年后对赤霉素的合成也没有明显的影响。

## 三、讨 论

1. 用砂土管法保存“九二〇”菌种，我们是从两方面受到启发的，首先土法生产出的“九二〇”产品，从制度上就严格规定要灭活后才能使用，以免造成它对水稻等农作物的危害，这说明它不那么容易死亡；其次资料上记载受赤霉菌危害的植株，潜伏在组织内的菌丝，

活力可长达三年<sup>[4]</sup>。据此，我们考虑到用砂土管法保存“九二〇”菌种，使其处于休眠状态，必然会和其它微生物一样能较长时间的存活，而不易发生变异。实践结果证明，该菌在砂土管中干燥保存，在室温条件下至少存活二年，说明其具有一般微生物的特性。

2. 应该指出，我们对于检查“九二〇”原菌种和砂土管干燥保存后的菌种合成赤霉素能力的实验中，不是在同一条件下进行的，因为每隔一年才能做另一次实验，虽条件尽可能求于一致，但还是会有一些出入的。但从实践结果看，其生长特性一致，赤霉素的合成能力也没有降低的趋势，可以说经过两年的砂土管干燥保存后，该菌种没有发生退化。所以我们认为“九二〇”菌种是可以采用砂土管干燥保存法。

## 总 结

我们应用砂土管法干燥保存“九二〇”菌种，在室温条件下存放两年，通过复活接种、生长特性检查以及赤霉素合成能力等实验，证明被保存的菌种未发生死亡，也未出现退化现象。因此我们认为在农村生产队条件下，用砂土管法干燥保存“九二〇”菌种，对土法生产“九二〇”工作有着实用意义。至于该菌种在砂土管中存放于室温条件下，其存活时间究竟能至几年，我们仍在继续观察中。

## 参 考 资 料

- [1] 北京农业大学赤霉素厂编：赤霉素的应用和生产，16—17 页，化学工业出版社，1970 年 6 月。
- [2] 北京市农业科学研究所：“九二〇”农药的土法生产和应用，11—12 页，1970 年 5 月。
- [3] 中国科学院植物研究所、遗传研究所“九二〇”编写小组汇编：“九二〇”农药技术资料汇编，第一集，11—12 页，科学出版社，1970 年 11 月。
- [4] 余永年：“九二〇”（赤霉素）和赤霉菌，微生物学革命资料汇编，第六集，37—46 页，科学出版社，1970 年 9 月。