

冰冻低温处理“5406”菌种的复壮

上海市农业科学院土肥植保所菌肥组

“5406”菌种传代过多就发生退化现象。我们使用冰冻低温处理“5406”，淘汰不耐低温生命力弱的菌株，挑选耐低温生命力旺盛的单个菌落，并测定其特性，使“5406”保持优良特性。

冰冻低温处理的方法

取“5406”斜面菌苔一环于100毫升无菌水中(内有玻璃珠)，充分振荡分散，再稀释100倍，分装试管，每支试管装10毫升，该试管放在盛有不同低温剂的保温瓶中(低温剂的配方见附录)，再把保温瓶放在大冰箱中。

经4、7、14天冰冻处理后，将孢子悬浮液进行琼脂平板单菌落培养。即每一培养皿内加入0.2毫升孢子悬浮液，再用无菌玻璃棒推刮均匀，将培养皿倒放，于28℃条件下培养，每日观察菌落出现和生长情况，并测定孢子数，计算致死率，取致死率在80%以上的处理。

一周后挑取茶色露珠多、粉红色明显、长得丰满厚实、单菌落，接种于固体斜面，然后培养二级饼土母剂，注意观察“5406”生长情况和进行菌种特性的测定。

冰冻处理的效果

“5406”孢子经-10℃、-20℃、-30℃冰冻处理5—7天之后，大多数的孢子在低温下失去了活力，致死率可达80%以上，两周之后，致死率达90%以上。

据我们观察，经-10℃至-30℃冰冻处理的“5406”菌种，比原菌种生长发育快。在一级斜面上2天发白、3天转红，且分泌大量露珠，冰片香味亦浓；二级母剂和三级堆肥均比原菌种的生长繁殖速度快23天左右，母剂和菌肥的质量都比原来有所提高。

冰冻处理的“5406”菌种，它的单菌落比对照(将

相同浓度的孢子悬浮液置于室温下)大，孢子数亦多。

从二级饼土母剂的铵态氮和速效磷的测定来看，冰冻处理的菌种分解养分的能力比对照都有所提高，据测定：-10℃处理的菌种铵态氮比对照增加52.1%，速效磷比对照增加14.1%；-30℃处理的菌种铵态氮比对照增加5.1%，速效磷比对照增加9.9%(见表1、2)。

表1 二级母剂速效磷测定结果

处 理	速效磷 (P_2O_5 %)	增 加 (%)
-10℃	0.324	14.1
-30℃	0.312	9.9
对 照	0.284	

表2 二级母剂氮态氮测定结果

处 理	氮态氮(毫克/100克)	增 加 (%)
-10℃	51.1	52.1
-30℃	35.3	5.1
对 照	33.6	

低温剂的配方中，冰和食盐(3:1)混合可达-20℃左右，此种配方比较经济简便，一般处理5—7天即可。在北方则可利用自然低温条件进行处理，但处理的时间还应进一步摸索。挑选的菌种应进一步做好拮抗、激素、养分转化及生长情况等测定，相互比较，选较好的菌株，力求保持或提高原菌种具有的特性。

附 录

低温剂配方：

配 比	可达到的温度
100克冰(雪)+30克氯化钾	-10.9℃
100克冰(雪)+25克氯化铵	-15.4℃
100克冰(雪)+45克硝酸铵	-16.7℃
100克冰(雪)+50克硝酸钠	-17.7℃
100克冰(雪)+33克氯化钠	-21.3℃