

杀螟杆菌噬菌体快速测定试验

广东省从化县微生物农药厂

杀螟杆菌工业生产中经常碰到噬菌体的危害,而目前一般沿用的噬菌体检查方法要经过8小时才看出结果。因此,找出一种快速而准确的检查方法是非常必要的。尽早尽快地确定茄瓶种子、种子罐菌液中是否污染了噬菌体,是保障发酵罐正常生产的有效措施。我厂在1975年上半年通过对指示菌的提前培养,发育到对数期时,滴入检定样品,可在2—3小时内确定有无噬菌体污染。以后又对影响噬菌斑呈现时间的其它因素:培养温度、噬菌体浓度及培养基厚度等进行了试验,现把试验情况小结如下:

一、指示菌菌龄与噬菌斑呈现时间的关系

以对噬菌体较敏感的菌种54号(广东省微生物所编号)作指示菌,用接种针挑菌苔一环于1毫升的无菌水中混匀成菌悬液,然后倒入灭菌的平皿内,再加入冷却至50℃的培养基(牛肉膏0.3%,葡萄糖0.3%,蛋白胨1%,琼脂2%)15毫升,充分摇匀。然后用已确

定有噬菌体的菌液,从0时开始(指示菌倒平皿后开始培养计算),每隔2小时取出平皿,在平皿上点滴噬菌体液一次。每次点滴后随即放入35℃温箱培养。观察并记录噬菌斑呈现时间(见下表)。

指示菌菌龄与噬菌斑呈现时间的关系

呈 现 时 间 试验次数	菌 龄 (时)					
	0	2	4	6	8	10
1	8	6	4	3	2	2
2	7	5	3	2	2	2
3	6	4	4	2	2	2

注:记录的呈现时间均为噬菌斑初显,可确定噬菌体已感染。

从表中可看出,指示菌不经提前培养(0时)时,须8小时后才出现噬菌斑,而指示菌提前培养6—10小时

点滴噬菌体, 2 小时后就可呈现噬菌斑。

二、培养基厚度、噬菌体浓度、培养温度与噬菌斑呈现时间的关系

本试验应用正交试验设计进行, 综合考察上述三个因素对噬菌斑呈现的影响。

(一) 试验设计

因素与水平: 取三个因素, 每个因素定两个水平。即: ①培养基厚度(培养基数量): 5 毫升, 15 毫升。②噬菌体浓度: 带噬菌体发酵液原液, 原液稀释 3 倍。③培养温度: 25℃, 35℃。

(二) 试验方法

以杀螟杆菌长沙种作指示菌, 用一支盛有 6 毫升无菌水的试管挑入 6 环菌苔, 充分搅匀, 用吸管吸此菌悬液至各平皿中, 每个平皿 1 毫升菌悬液, 然后按试验设计中的各处理的要求移入培养基, 再在每个平皿背

后用特种铅笔划为三区, 区一为菌龄 0 时区, 区二为菌龄 2 小时区, 区三为菌龄 4 小时区。然后按上述菌龄时间, 根据各处理的要求, 点滴不同浓度的噬菌体液, 放在不同温度培养至 6 个小时, 检查噬菌斑呈现时间, 并根据呈现时间与噬菌体明显程度作直观分析。

直观分析中可明显看出: 平皿培养基厚度和噬菌体浓度对于噬菌斑呈现时间及明显程度的关系很大, 最快出现噬菌斑的条件是培养基 5 毫升、噬菌体的高浓度、培养温度 35℃ 的环境, 我们又以这个条件进行了两次重复, 均能在两小时明显呈现噬菌斑。

三、小 结

通过提早 6—8 小时培养指示菌, 可以在滴进检定液两小时就可以检查出噬菌斑。一般在种子罐接种的同时便倒平皿培养指示菌, 到种子罐发酵 4—6 小时后采样检查, 两小时后就可以确定种子罐是否已污染噬菌体, 也就可以决定种子液能否打入发酵罐。此外, 也可以采取一次倒指示菌平皿一批, 存放于冰箱, 用时提前放温箱培养。此法十分方便。