

菌种的麦粒保存法*

梁宗琦 陈月碧 刘爱英

(贵州农学院微生物学教研组)

我国长期以来民间就有用麦麸保存某些霉菌(如根霉、曲霉等)的习惯。国内菌种保藏机构曾用麦片成功地保存了一些放线菌达4年。但用灭菌小麦粒培养保存放线菌、细菌、酵母和不形成孢子的霉菌则国内未见报道。我们于1970年开始设计试验了这种简便易行、不需贵重设备,可于室温下保存菌种的“麦粒保存法”。经过三年的保存,效果良好。此后,我们试验保存了一些代表性菌株,证明此法是可行的。

材料和方法

一、麦粒菌种管的制备

(一) 麦粒的处理

将未发霉的完好小麦粒用清水淘洗干净,麦粒内部为粉状,有明显硬心。在21.5℃水温下浸泡5小时。麦粒含水量为23%左右。浸泡后的麦粒冲洗几次,晾干或用干净纱布拭去麦粒表面的水份,分装试管(装量约为管长的1/4—1/3),塞上棉塞。

(二) 灭菌及接种

将麦粒试管于1.0公斤/厘米²条件下灭菌1小时,取出时趁热将麦粒摇散。麦粒灭菌后外形稍鼓胀,不破皮。冷却后用无菌滴管接入黄豆大小菌液一滴(约0.2毫升),摇匀。

(三) 培养与保存

接种后置于欲保存菌的适温下培养,当大多数麦粒的表面出现稀疏的菌丝或孢子时终止培养。将培养好的菌种管置于通风避光和干燥的地方保存。

二、菌种活力的测定

分别将麦粒保存的不同菌种从菌种管中取

20粒,置于适合该菌的培养基上于适温下培养。细菌1—2天、真菌2—3天、放线菌3天以后,在麦粒周围肉眼可见到菌的生长视为成活程度高;若菌的生长时间延迟,或需多种培养基选择培养,就意味着保存菌的成活程度下降。

结 果

1. 用麦粒保存的曲霉等17个霉菌菌株,其中,棉花枯萎病菌在豆芽汁琼脂上五天后仅有50%成活;球孢白僵菌在豆芽汁琼脂上7天后只有15%存活,在PDA上无生长,而在葡萄糖、酵母膏、蛋白胨琼脂上5天后则有100%的麦粒菌种存活。其余15个菌株经保存1—4年后仍具很强的生活力。它们在接种后两天肉眼可见菌生长的麦粒数即达100%,并很快在麦粒周围形成明显可见的菌落。

2. 在5个放线菌菌株中,麦粒保存4年半后,除灰色产色放线菌4.892只有一半存活外,其余4个菌株均超过或相当于同期砂管保存的成活率。其中,尤以春雷霉素产生菌,小金色放线菌更为突出(表1)。用砂管保存该菌,一年左右就难以移活。而用麦粒保存经4年半后仍100%成活,并在菌落生长速度,色素产生和孢子形成等方面都很正常。

3. 麦粒保存一年后的9株芽孢杆菌2天时成活率为100%。

4. 在10株酵母中除产朊酵母丧失活力外,其余9株均有很高的存活率(表2)。

* 纤维素酶活性由我院植物生理组体细胞杂交科研组代测。

表 1 霉菌及放线菌麦粒保存结果

菌株	保存时间(周)	成活程度(%)	
		2—3天	5天以后
米曲霉 3.863	216	100	
黑曲霉 3.324	216	100	
黑曲霉 3.315	216	100	
黑曲霉 3.3170	216	100	
木霉 EA ₃ 867	48	100	
木霉 3.3032	216	100	
“920”产生菌 3.2879	216	100	
“920”产生菌 3.0108	327	50	70
桔青霉 3.2788	216	100	
尊林青霉 3.2920	216	100	
白僵菌 3.2055			100
华根霉 3.2746	80	100	
根霉 3.866	48	100	
毛霉	80	100	
棉枯萎病菌	216		50
灵芝 5.65	216	100	
蘑菇	68	100	
5406	216	100	
G ₄	216	100	
灭瘟素产生菌 4.892	216	40	
庆丰霉素产生菌 730	216		100
春雷霉素产生菌 4.020	216		100

讨 论

麦粒保存法不需要贵重设备，适宜于日常工作和基层单位采用。实验证明控制好麦粒的含水量，是麦粒菌种保存能否获得成功的关键。在具体操作过程中，影响麦粒含水量的主要环节是浸泡。浸泡 5 小时左右的麦粒水份含量较

表 2 细菌及酵母菌麦粒保存结果

微生物名称	保存时间(周)	成活程度(%) 2—3天
有机磷细菌	48	100
无机磷细菌 823	48	100
枯草杆菌 1.210	48	100
枯草杆菌 1.140	48	100
苏芸金杆菌 1.500	48	100
杀螟杆菌 723	48	100
杀螟杆菌 28 号	48	100
青虫菌 1.16	48	100
硅酸盐细菌 1.300	48	100
生香酵母	48	100
葡萄酒酵母 2.109	48	100
热带假丝酵母 2.637	48	100
啤酒酵母 2.399	48	100
酵母 8 号	48	100
皮状丝孢酵母 2.571	48	100
南洋酵母 2.201	48	100
啤酒酵母 2.604	48	100
产朊酵母 2.281	48	0
啤酒酵母 2.241	48	90

为合适。这种麦粒在培养 36—96 小时只有稀疏菌丝生长，在保存期间菌丝不再生长或仅有微弱生长。经解剖观察只在麦皮和糊粉层内有菌丝，麦粒中心部分菌丝很少。这样，可能是由于麦皮的保护作用及麦粒内部水、养分有限制的供给，使菌体处于休眠状态，从而达到长期保存的目的。浸泡 7 小时以上，因麦粒含水量过多，培养期间菌的生长很旺盛，2—3 天就长满了密集的菌丝，保存效果较差。而浸泡两小时，含水量不足的麦粒，菌生长很差，甚至不生长，保存效果也很不理想。