

链霉菌 5102 的 固 体 发 酵

华中农学院微生物教研组

(武 汉)

我组在寻找农用抗菌素过程中, 1972 年分离到一株能抑制多种植物病原真菌的链霉菌, 编号为 5102, 定名为吸水链霉菌应城变种 (*Streptomyces hygroscopicus* var. *yingchengensis* Yan et Ruan n. var.)⁽¹⁾。几年来, 通过室内和小区试验证明, 链霉菌 5102 所产生的抗菌素 (农抗 5102) 对防治水稻纹枯病、水稻小球菌核病、小麦赤霉病、玉米小斑病、棉花立枯病和炭疽病等有较好的效果。在成功地研究农抗 5102 土法生产的基础上, 为进一步降低成本, 提高效价, 经过反复试验, 初步掌握了固体发酵过程中的一

些主要条件, 使其效价提高了 1—2 倍。现将试验结果报告如下:

一、不同固体培养基成份与效价的关系

250 毫升三角瓶中装 50 克干料, 灭菌后各瓶中定量接入 5102 孢子悬液, 在 35℃ 条件下培养 10 天后测定效价 (生物测定)。选用的各种培养基成份分别为 (%): 1. 碎米 100; 2. 碎米 98、酵母粉 2; 3. 碎米 70、玉米粉 20、谷壳 10; 4. 碎米 60、谷壳 40; 5. 米粉 40、麸皮 30、谷壳 30; 6. 米粉 20、玉米粉 40、谷壳 40。其中以

表 1 不同培养温度对发酵单位的影响

培养时间 (天)	30℃		35℃		40℃		45℃	
	培养特征	效价(单位/克干重)	培养特征	效价(单位/克干重)	培养特征	效价(单位/克干重)	培养特征	效价(单位/克干重)
5	全部米粒长有气生菌丝,呈白色,底部有淡黄色水份渗出	1,000	表层米粒有白色气生菌丝,其余米粒皆呈土黄色	1,650	表层米粒有少数呈白色气生菌丝,其余米粒呈茶褐色	1,700	全部无气生菌丝米粒呈棕红色	175
10	气生菌丝转变为鼠灰色	1,200	同上	10,000	同上	18,500	同上	1,000

用第 3 种培养基获得的效价较高。

二、培养温度与发酵单位的关系

试验采用第 3 种培养基,料水比为 1:1,定量装入 500 毫升三角瓶中。灭菌后,接种链霉菌 5102 孢子悬液,分别在 30、35、40 及 45℃ 的温箱内培养 5 天及 10 天后观察培养特征及测定效价。

试验结果指出(表 1),培养温度是土法生产中决定农抗 5102 效价高低的重要条件。在 30℃ 条件下,菌丝体生长旺盛,不仅有大量气生菌丝,而且有鼠灰色的孢子丝和成熟的孢子,但是效价很低;在 35℃ 和 40℃ 条件下,仅在培养物表层中间部分长有一些气生菌丝,大部分则为基内菌丝,使米粒呈土黄色或茶褐色,而效价很高,在 45℃ 情况下,菌丝体生长很少,效价也低。因此,要获得高效价必须保证 35—40℃ 的培养温度。

三、培养基含水量与农抗 5102 效价的关系

试验采用第三种培养基,但料水比例不同,

分别为: 1:0.4, 1:0.6, 1:0.8, 1:1, 1:1.2, 1:1.4, 1:1.6。在 35℃ 培养 10 天后测定效价。试验结果表明:培养基中水份过多会影响通透性,菌丝体的生长受到抑制;水份过少,不能满足菌丝体生长的需要。培养基中必须有 100—120% 的水份才能获得较高效价。

四、钙离子对农抗 5102 效价影响

试验证明,发酵培养基中加入含有 Ca 离子的化合物,如 CaCO₃ 或 Ca(OH)₂, 对农抗 5102 的效价有极其明显的影响(表 2)。加入 1% 的

表 2 钙离子对 5102 效价的影响

培养基	处 理	培养特征	效价(单位/克干重)
碎 米70%	加 CaCO ₃ (1%)	全部米粒长有气生菌丝,随着培养时间由白变成灰色	500
玉米粉20%	加Ca(OH) ₂ (1%)	同上	500
谷 壳10%	对 照	表层米粒有白色气生菌丝,其余米粒皆呈土黄色	6,000

表 3 培养时间与抗菌素效价的关系

培 养 情 况		培 养 时 间 (天)							
		2	4	6	8	10	12	14	16
培 养 前	培养基干料重(克)	50	50	50	50	50	50	50	50
	水份(克)	50	50	50	50	50	50	50	50
培 养 后	发酵物干重(克)	49.7	38.9	33.7	27.8	22.6	21.8	20.9	20.6
	水份(克)	51.4	59.6	63.7	68.7	73.0	73.4	74.2	74.3
	效价(单位/克干重)	200	2000	4000	7500	11000	15000	12000	12000
	折合每克干料的抗菌素含量(单位)	198.8	1556.0	2690.0	4170.0	4972.0	6540.0	5001.0	4944.0

CaCO_3 或 $\text{Ca}(\text{OH})_2$, 菌丝体生长旺盛, 并能形成大量孢子, 但是对农抗 5102 的效价却有明显抑制作用。其效价仅为不加 CaCO_3 或 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 时的 1/10。因此, 在土法生产中, 固体发酵培养基不宜用 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 等调节 pH 值, 也不能加入含有 Ca 离子的化合物。

五、培养时间与农抗 5102 效价的关系

试验采用第 3 种培养基, 料水比例为 1:1, 定量装入 500 毫升三角瓶中, 灭菌后, 接入链霉菌 5102 孢子悬液, 在 35°C 中培养, 每隔二天取出两瓶培养物, 混合均匀后测定水份和效价。

从表 3 中可看出, 固体发酵时间以 8—12

天为最适宜。培养时间太短, 菌丝体正在旺盛生长, 效价不高; 培养时间太长并不能再提高效率, 却影响生产周转率。

根据以上试验结果, 我们进行了大量生产试验。当采用第 3 种培养基成份, 料水比例为 1:1—1:2 时, 自然 pH, 并严格控制 $35\text{—}40^\circ\text{C}$ 的培养温度, 培养 8—12 天左右, 链霉菌 5102 所产抗菌素的效价全可以稳定在 12,000 单位/克干培养物, 最高可达 25,000 单位/克干重培养物。

参 考 文 献

- [1] 华中农学院微生物教研组: 微生物学报, 18: 23—26, 1978。