

## 技术与方法

## 温泉高温菌菌种保藏方法的比较\*

和致宁 陈俊英 彭 谦

(云南省微生物研究所,昆明)

**摘要** 本文报道用砂土管、冻干安瓿、薄膜和矿油斜面四种保藏方法,分别在室温和冰箱(4℃左右)两种温度条件下保藏温泉高温菌菌种的效果。共保藏 419 株(其中芽孢菌 392 株,非芽孢菌 27 株),保藏期为 4—7 年。结果表明,对于高温菌(特别是嗜热性芽孢杆菌)而言,用砂土管和矿油斜面在室温条件下保藏是经济简便行之有效的方法之一。

**关键词** 温泉;高温菌;保藏方法

菌种保藏在微生物资源的开发利用以及科学研究过程中均具有十分重要的意义。常温菌的菌种保藏已有许多成熟的方法和经验,但高温菌的菌种保藏至今未见具体报道,现将我们的研究结果报道如下。

## 材 料 与 方 法

## (一) 菌种

均为本实验室从云南温泉中分离得到。

## (二) 保藏方法

砂土管、安瓿冻干和矿油斜面均按常规方法<sup>[1]</sup>制作。矿油斜面保藏所用培养基为 1<sup>#</sup>、7<sup>#</sup> 和 PPY 等数种。薄膜保藏:将玻璃纸剪为 1 × 5cm,分别放入聚乙烯袋中,用电烙铁封口,再放入牛皮纸袋中,封口。用 <sup>60</sup>Co 照射(剂量为 2 × 10<sup>5</sup>r)灭菌,待用。浸泡菌悬液后沥干,转入无菌试管中,在无菌室中凉干,放入聚乙烯袋中、封口,装入牛皮纸袋,封口。将制备好的砂土管、安瓿、薄膜菌种等分别放入干燥器中,置室温(年平均为 14.7℃)和冰箱保藏。

## (三) 培养基与检查

1<sup>#</sup>培养基组成(W/V,%):氯化钠 0.3,酵母膏 0.4,复合胺 0.8,琼脂 2.5。

7<sup>#</sup>培养基的组成:在 2<sup>#</sup>培养基中加入 0.1%(W/V)酵母膏,0.1%(W/V)胰蛋白胨,琼

脂 2.5%(W/V)。

2<sup>#</sup>培养基的配制:浓缩液的组成(每升无离子水中含):氮川三醋酸 1.00g, NaCl 0.08g, KNO<sub>3</sub> 1.03g, NaNO<sub>3</sub> 6.89g, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1.10g,微量元素液 5.00ml, FeCl<sub>3</sub> 溶液 10.00ml, CaSO<sub>4</sub> · 2H<sub>2</sub>O 0.60g, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 1.00g。冰箱保存备用。使用时用无离子水 10 倍稀释,调 pH 即可。

PPY 培养基:马铃薯浸汁 40ml 加水至 100ml,再加入蛋白胨 0.5g,酵母膏 0.1g,琼脂 2.5g。

## (四) 检查方法

将各种保藏的菌株分别接种于上述斜面培养基,于 55℃ 培养 2—3 天,检查生长情况。

## 结 果 与 讨 论

419 株温泉高温菌(其中芽孢菌 392 株,非芽孢菌 27 株),用四种保藏方法,在室温(昆明年平均气温 14.7℃)和冰箱(4℃左右)保藏 4—7 年,结果分述如下:

1. 冰箱保藏的效果:表 1 结果表明,用砂土管、冻干、薄膜三种保藏方法,在冰箱内保藏

\* 国家自然科学基金资助项目;在全国首届极端环境微生物学学术会议上报告过。  
马俊同志曾参加部份工作。

6—7 年,存活率为 98.42—100%。

2. 室温保藏的效果: 表 2 结果表明, 室温保藏存活率为 68.75—100%, 平均 91.62%, 其中芽孢菌存活率为 100%。

表 1 温泉高温菌种冰箱保藏的效果

保藏方法	保藏菌株数			保藏期	效果	
	芽孢菌	非芽孢菌	合计		存活数	%
砂土管	115	12	127	7 年	127	100
	77	0	77	6 年	77	100
冻干	115	12	127	7 年	125	98.42
薄层	110	12	122	7 年	122	100

在所有的保藏方式中, 冻干安瓿保藏的存活率最低(98.42%; 68.75%); 这可能与冻干时真空度低, 冻干速度慢有关, 其它原因有待查明。

综合以上结果可以看出, 冰箱保藏的效果略优于室温保藏。可是就砂土管和矿油斜面两

表 2 温泉高温菌种室温保藏的效果

保藏方法	保藏菌株数			保藏期	效果	
	芽孢菌	非芽孢菌	合计		存活数	%
砂土管	115	13	128	7 年	125	97.66
	77	0	77	6 年	77	100
冻干	115	13	128	7 年	88	68.75
矿油	115	13	128	7 年	123	96.06
	77	0	77	6 年	77	100
斜面	200	14	214	4 年	199	92.99

种方法而言, 冰箱保藏和室温保藏保存效果差异不大。因此认为, 对于高温菌(特别是嗜热性芽孢杆菌)而言, 用砂土管和矿油斜面在室温下保藏也是经济简便行之有效的方法之一。

## 参 考 文 献

1. 中国科学院微生物所《菌种保藏手册》编著组: 菌种保藏手册, 科学出版社, 第 610—656 页, 1980。