

微生物学革命

资料汇编

第五集

中国科学院微生物研究所汇编

科学出版社

微 生 物 学 革 命
資 料 汇 编
第 五 集

中国科学院微生物研究所汇编

(内部資料・注意保存)

科 学 出 版 社

1 9 7 0

内 容 简 介

《微生物学革命》资料汇编第五集收集了农业微生物方面的八篇文章,有:“鲁保一号”菌剂的深层培养、利用玉米浸泡废水深层培养青虫菌、苏云金杆菌抗噬菌体菌株的选育、马铃薯秋播留种是防止退化的有效途径、马铃薯春播喷药留种防止马铃薯退化、纯种“中曲”、“新曲”发酵饲料、草曲发酵饲料喂鸡的初步效果等。

本书可供广大从事农业微生物工作的贫下中农、科技人员、革命干部和知识青年参考。

《微生物学革命》资料汇编 第五集

(只限国内发行)

中国科学院微生物研究所汇编

*

科学出版社出版

北京朝阳门内大街 137 号

北京市书刊出版业营业许可证出字第 061 号

中国科学院印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

*

1970 年 8 月第 一 版 开本: 787 × 1092 1/32

1970 年 8 月第一次印刷 印张: 1 3/4

印数: 0001—45,000 字数: 38,000

统一书号: 13031 · 2391

本社书号: 3629 · 13—9

定 价: 0.16 元

毛主席语录

备战、备荒、为人民。

为什么人的問題，是一个根本的問題，原則的問題。

革命就是解放生产力，革命就是促进生产力的发展。

提高警惕，保卫祖国。

目 录

“鲁保一号”菌剂的深层培养·····	
·····山东省济宁市化工实验厂	(1)
·····山东省农业科学院	
利用玉米浸泡废水深层培养青虫菌·····	
·····哈尔滨市化工轻工研究所	(8)
·····哈尔滨市淀粉糖厂	
苏云金杆菌抗噬菌体菌株的选育·····	
·····中国科学院微生物研究所	(19)
马铃薯秋播留种是防止退化的有效途径·····	
·····山西省农业科学院大同作物研究所	(28)
·····革 命 委 员 会	
马铃薯春播喷药留种防止马铃薯退化·····	
·····山西省农业科学院大同作物研究所	(35)
·····革 命 委 员 会	
纯种“中曲”·····浙江省衢州酒厂革命委员会	(41)
“新曲”发酵饲料·····河南省辉县百泉农科所	(45)
草曲发酵饲料喂鸡的初步效果·····	
·····河北省国营汉沽农场五·七干校	(47)
简 讯	
淮阴专区召开“鲁保一号”防治大豆菟丝子会议	
·····江苏省淮阴专区农科所	(50)
玉林县推广花生根瘤菌拌种·····	
·····广西省壮族自治区玉林县农药厂	(51)
玉林专区推广活性干酵母粉发酵猪饲料·····	
·····广西省壮族自治区玉林专区食杂服务站	(52)

毛 主 席 语 录

人們为着要在自然界里得到自由，
就要用自然科学来了解自然，克服自然
和改造自然，从自然里得到自由。

“鲁保一号”菌剂的深层培养

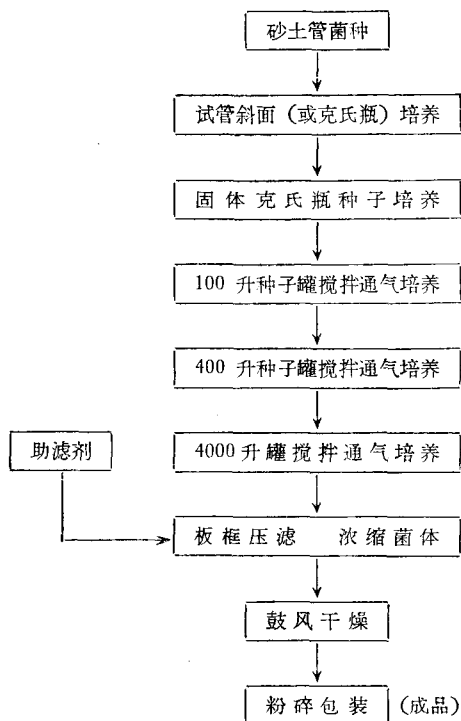
山东省济宁市化工实验厂

山东省农业科学院

遵循伟大领袖毛主席关于“破除迷信，解放思想”“独立自主、自力更生”的伟大教导，经过反复试验，终于找到用“鲁保一号”菌剂防治大豆菟丝子的生物防治方法。几年来，田间防治示范达万余亩，防治效率在70—95%以上，增产十分显著，深受广大贫下中农欢迎。“鲁保一号”的发现、试制和使用，是战无不胜的毛泽东思想的胜利！是毛主席革命路线的胜利！

本文仅把“鲁保一号”菌剂深层培养生产的中间试验加以总结，供同志们参考。

一、試驗工艺流程



二、工艺条件简述

1. 菌种

“鲁保一号”菌属于真菌中的半知菌类黑盘孢目毛炭疽菌属 (*Gloeosporium* sp.), 在培养基上, 分子孢子产生于菌丝侧生的小梗上, 或生于分生孢子盘中丛集的小梗上, 纺锤形至杆形, 无色单细胞, 单生于小梗上, 成熟后与小梗分离, 堆聚到小梗末端侧旁, 然后小梗重新生出一个孢子, 从而有时可以看到

孢子聚成头状的结构。孢子大小为 $10.6—31.6 \times 2.9—5.6$ 微米,在适温时遇水萌芽,从顶端生出芽管,并形成圆形暗色附着孢,培养 24 小时后菌丝分枝,36 小时扩展形成放射状,48 小时菌落呈桔红色的类粘孢团,4—5 天菌落产生黑色分生孢子盘。菌生长适宜温度为 $25—30^{\circ}\text{C}$,在 50°C ,经过 10 分钟即死亡。孢子对低温抵抗力强。菌种繁殖的最适温度为 28°C ,相对湿度为 95—100%。

“鲁保一号”菌经室内多次移植传代有退化现象,表现为分生孢子不整齐,形态和培养性状改变,致病力降低等。不断地通过菟丝子分离纯化,选择良种并妥善保存,可以使菌种保持原有性状。

经试验,菌种保存可采用两种方法:①沙土管保存¹⁾;②菟丝子种保存:在小试管内加菟丝子种子 1 克,水 1 毫升,塞上棉塞高压灭菌,接种, 28°C 培养 4 天,转入冰箱内保存备用。长时间保存用沙土管法。

2. 斜面种子培养

培养基 土豆 20%,蔗糖 1.7—2.0%,琼脂 18—20 克,水 1000 毫升。

接种和培养 沙土管种子移至斜面,在 28°C 培养 4—5 天,转入冰箱,保存备用。

质量规格 菌苔厚而均匀,桔红色,孢子整齐,无杂菌。

3. 克氏瓶种子固体培养

培养基 麸皮 77.5%,地瓜面(山芋面) 10%,玉米浆 5%,硫酸铵 1%,花生饼粉 5%,氯化钠 1%,火碱 0.5%,加水 1 比 1(重量比体积),pH 6.5。

每个 250 毫升克氏瓶装培养基 40 克(湿重)。

1) 《微生物学革命》资料汇编第二集 105 页。

接种和培养 用7—10毫升无菌水把斜面种子洗下，倒入克氏瓶内（每瓶接1支），于27—28℃培养4—6天。培养期中每天摇动一次。

质量规格 基物松散发红，瓶壁有肉红色粘液，孢子整齐，湿菌剂含孢子量15—19亿/克，无杂菌。

4. 100升一级种子罐培养

培养基 花生饼粉2%，淀粉2%，饴糖3%，葡萄糖1%，玉米浆3%，硫酸铵0.3%，蛋白胨0.1%，碳酸钙0.4%，磷酸氢二钾0.1%，硫酸镁0.03%，豆油0.3%。

培养条件 每罐接种1个克氏瓶培养种子，在 $28 \pm 1^\circ\text{C}$ 培养40—48小时，罐压为0.5—0.8公斤/厘米²，通气量为1:0.5（体积:体积/分），搅拌速度为300转/分。

质量规格 培养液为桔红色，有肉红色沉淀物，含菌量3—6亿/毫升，孢子整齐，无杂菌。

5. 400升罐二级种子培养

培养基 除把花生饼粉改为黄豆饼粉外，其他成分和配比与一级种子罐的培养基完全相同。

培养条件 接种量为20%，在 $28 \pm 1^\circ\text{C}$ 培养20—24小时，罐压0.5—0.9公斤/厘米²，每分钟通气量1:0.5—0.7（体积:体积），搅拌速度为280转/分。

质量规格 同一级种子罐培养。

6. 4000升罐发酵

培养基 地瓜面4%，花生饼粉2%，饴糖2%，玉米浆4%，硫酸铵1%，磷酸氢二钾0.02%，硫酸镁0.03%，碳酸钙0.4%，豆油0.3%。

培养条件 接种量为10%，在 $28 \pm 1^\circ\text{C}$ 下培养24小时，罐压为0.5—1.0公斤/厘米²，每分钟通气量为1:1（体积:体积）。

质量规格 发酵液含残糖和残氮很少,含菌量 6—8 亿/毫升,孢子整齐。

7. 过滤、干燥、粉碎和包装

将发酵好的发酵液加入助滤剂碳酸钙,使最终浓度达 1%,搅拌半小时,混合均匀后用板框压滤。滤渣含水份 65—75%,95% 以上的孢子萌芽。滤渣在 30—35℃ 鼓风箱内放 18—24 小时即可干燥,然后粉碎并包装。成品含水量 6.5—11.6%,孢子萌芽率 80% 左右。

三、工艺条件试验

1. 液体和固体培养种子的比较

液体培养 培养基:花生饼粉 2%,淀粉 2%,饴糖 3%,玉米浆 4%,硫酸铵 1%,硫酸镁 0.03%,磷酸氢二钾 0.1%,碳酸钙为 0.4%,水 1000 毫升。每 500 毫升三角瓶装 70 毫升培养基,然后灭菌、接种,在 28℃ 于旋转式摇床上培养 72 小时,转速为 300 转/分。培养结果,含菌量达 3—6 亿/毫升。

固体培养 培养基和培养条件与克氏瓶固体种子培养相同。培养结果,含菌量为 15—19 亿/克。

将液体和固体培养的种子分别接种到 100 升罐内发酵培

表 1 固体与液体培养的种子在 100 升罐内发酵结果的比较

项 目 培养方法	每 罐 接 种 量	发 酵 结 果 (含 菌 量)
固体培养种子	一克氏瓶(用无菌水洗下接种)约相当 600—700 亿菌	4—6.3 亿/毫升
液体培养种子	4—5 个三角瓶 约相当 1050—2100 亿菌	3.5 亿/毫升

养 48 小时,结果(表 1)指出,固体培养的种子比液体培养的种子在下一步发酵中生长繁殖快,表现较好。

2. 搅拌叶数和速度对发酵的影响

在 100 升罐内进行了试验,结果(表 2)指出,对“鲁保一号”菌发酵来说,两层搅拌叶和 300 转/分的速度较好。在一层搅拌叶和 300 转/分的速度时,菌体发育不良,产孢子少。

表 2 搅拌叶数和速度对发酵的影响

罐 批 号	搅 拌 叶 数	搅 拌 速 度 (转/分)	菌 数 (亿/毫升)	
			40 小时	46 小时
103-1	2	300	5.50	6.30
102-4	1	300	1.47	2.50
102-9	1	300	1.75	2.05
103-9	2	400	4.20	5.00
103-10	2	400	4.95	—
102-11	1	400	3.95	—
101-10	1	400	3.30	—
101-12	1	400	3.00	4.30

3. 4000 升罐发酵结果

用上述 4000 升罐的培养基及培养条件,培养 24—28 小时,发酵液含菌量 6—8 亿/毫升,成品含菌量 60—80 亿/克,孢子萌芽率达 80—90 % 以上,达到生产要求。

4. 糖、氮、磷对菌体生长繁殖的影响

采用适宜的条件用 4000 升罐发酵,每 4 小时测定一次糖、氮、磷的含量,结果(表 3)指出,发酵 12—18 小时,营养较为丰富,菌体健壮,繁殖迅速,发酵中期营养虽然减少,但菌的生长繁殖仍在进行。发酵 24 小时以后,菌体衰老开始自溶,

菌数下降, pH 回升。

表 3 发酵中菌的生长繁殖与糖、氮、磷含量的关系

生长阶段	培养时间 (小时)	菌体变化	总糖 (%)	氨基氮 (毫克/毫升)	可溶磷 (毫克/毫升)	pH	培养结果 (菌量亿/毫升)
接种前			5.600	2.772	0.276		
1	0—4	孢子萌芽, 芽管伸长	3.600	2.016	0.102	6.00	0.725
2	4—12	菌丝大量生长, 少数菌丝生长孢子	3.080	1.848	0.020	5.60	2.100
3	12—18	菌丝形成孢子	1.040	1.176	0.007	4.95	3.300
4	18—20	孢子成熟	0.880	0.868	0	4.92	5.350
5	20—24	孢子伸长再形成孢子	0.640	0.812	0	5.00	7.900
6	24 以后	菌体开始自溶, 孢子停止增长	—	—	—	—	7.550

四、結論和問題

1. 作为 100 升种子罐的种子固体培养的比液体培养的好。
2. 在 100 升种子罐中, 两层搅拌叶, 300 转/分的转速比一层搅拌叶和每分钟 300 转或 400 转的转速好。
3. “鲁保一号”菌采用三级发酵液体生产是可以达到生产和使用要求的。
4. 菌种退化问题应进一步研究。
5. 由于“鲁保一号”菌的孢子对 40℃ 以上高温抵抗力弱, 贮存问题需进一步探索。

利用玉米浸泡废水深层培养青虫菌

哈尔滨市化工轻工研究所

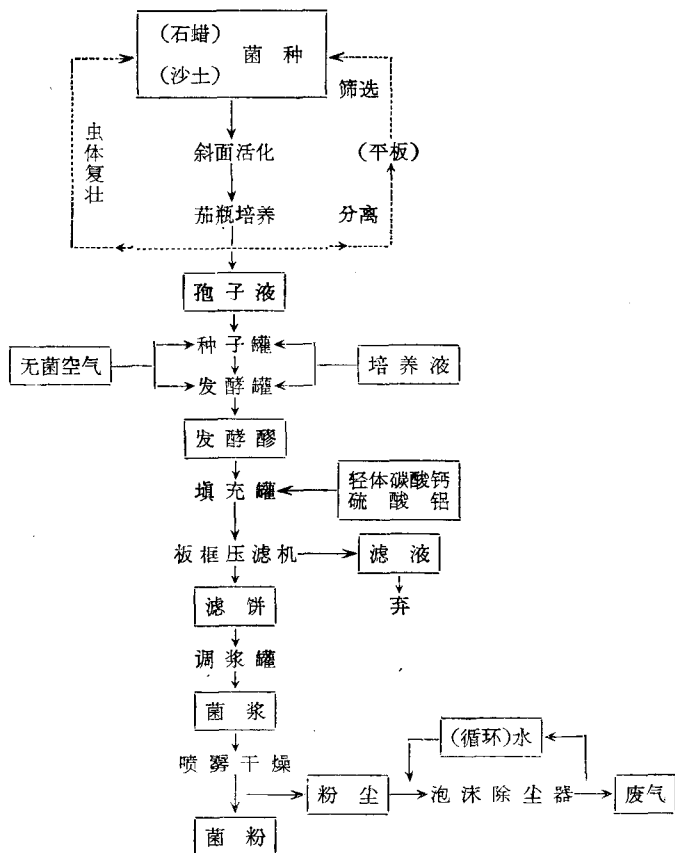
哈尔滨市淀粉糖厂

伟大领袖毛主席亲自发动和领导的无产阶级文化大革命，是使我国社会生产力发展的一个强大推动力。杀虫剂等农药的研究和生产也和其他科学技术一样，在文化大革命中得到很快发展。

青虫菌是一种新型的细菌杀虫剂，能防治农、林业及果树等方面多种主要害虫，使用安全，对作物无害，且生产原料价廉易得，因而成为受欢迎的农药新品种。

遵照毛主席“**备战、备荒、为人民**”的伟大战略方针，和**各行各业都要支援农业，勤俭建国**的伟大教导，我们利用废物，就地取材，开展了利用玉米浸泡废水培养青虫菌的试验研究。在实验过程中，我们以毛泽东思想为指南，实行工人、科技人员和革命干部三结合，批判了刘少奇的反革命修正主义科技路线和资本主义办企业方向，树立了科研为无产阶级政治服务，科学研究、试验和生产相结合的观点，因而在较短的时间内将淀粉工业的大量废水——玉米浸泡水，利用于培养青虫菌得到成功。

工艺流程及条件



（一）菌种保藏

1. 沙土管保藏 选择培养成熟的良好斜面菌种，制成悬液，接种于经处理的无菌沙土管中，真空抽干密封，于 4℃ 冰

箱保存备用。

2. 石蜡法 选择培养成熟的良好斜面菌种，注入无菌液体石蜡浸埋，密封，4℃ 冰箱贮存备用。

(二) 茄瓶菌种制备

1. 培养基 牛肉膏 0.3%，蛋白胨 1%，琼脂 2%，pH7.0—7.2(消毒后)。

2. 活化 将保藏的菌种接种于茄瓶内，在 30℃ 培养 54—58 小时，无杂菌，健壮，即可用作菌种。

3. 茄瓶菌种制备 将活化好的菌种划线接种于茄瓶斜面上，30℃ 培养 54—58 小时，若质量合格，则贮于冰箱备用。

(三) 种子罐培养

1. 培养液 玉米浸泡水(为发酵罐培养液百分数的 2/3)，豆饼粉 0.5%，豆油 0.1%，自来水，pH 为 7.2—7.6(灭菌前)。

2. 培养条件 罐温 $30 \pm 1^\circ\text{C}$ ，罐压 0.3—0.5 公斤/厘米²，通风量约为 1:1 (体积:体积/分)，搅拌速度 200 转/分，培养时间 6—8 小时。

(四) 发酵罐培养

1. 培养液	玉米浸泡水	} 配至含氮 0.25 % 糖/氮 = 2—4
	豆饼粉 1 %	
	自来水	
	硫酸镁	0.03 %
	碳酸钙	0.1 %
	硫酸铵	0.03 %
	豆油	0.1 %

pH 7.5—8.0 (灭菌前)

2. 培养条件 罐温 $30 \pm 1^\circ\text{C}$, 罐压 0.3—0.5 公斤/厘米², 通风量 1:0.84 (体积/体积/分), 搅拌为 180 转/分。

3. 采收标准 芽孢和伴孢晶体全部明显形成, 并即将脱落, 一般为培养 18 小时。平板活孢子数达 20 亿/毫升以上。

(五) 填充

培养好后放罐采收, 然后按发酵液体积加轻体碳酸钙 3%, 用硫酸铝调 pH6.8—7.0, 充分搅拌均匀。

(六) 过滤

按滤浆体积计算上滤布数量, 使板框容量在 80—100 升/米²。过滤初压 0.3 公斤/厘米², 逐渐加压, 最终达到 2.5 公斤/厘米²。吹干压力为 2.5—3.0 公斤/厘米²。过滤过程中不断搅拌。

(七) 调浆

将菌浆调至波美度 20—23。

(八) 喷雾干燥

风喷嘴压力为 2.2—2.4 公斤/厘米², 菌浆喷嘴压力为 0.3—1.0 公斤/厘米², 空气进口温度要求 120—130 $^\circ\text{C}$, 出口温度不低于 75 $^\circ\text{C}$ 。

(九) 收粉包装

用塑料或纸的袋子包装。

試驗和結果

(一) 原料的选择

取离心机废水(淀粉糖厂用离心机分离淀粉浆而流出的废水)、淀粉黄浆、玉米浸泡废水及废糖蜜,分别加入适量蛋白胨,在相同条件下培养试验十余次,表1列出了其中一次的结果。

表1 不同原料培养青虫菌之比較

编号	配 方	营 养 成 分		出瓶细菌数 $\times 10^8/\text{ml}$	生长周期	形 态
		总糖%	总氮%			
1	淀粉黄浆 100 ml } 蛋白胨 1.223g }	0.10	0.197	24.8	—	芽孢形成晚
2	离心废水 100ml } 蛋白胨 1.255g }	0.30	0.201	23.2	—	芽孢不齐、晚
4	糖蜜 1.6 g } 蛋白胨 1.14g } 水 100ml	0.42	0.169	14.9	28小时	菌形不齐
7	玉米水 100%	0.60	0.235	27.8	28小时	比较正常
对照	牛肉膏 0.3% } 蛋白胨 1% } 麦芽糖 1% }	0.90	0.170	30.1	24小时	整齐

结果指出,玉米浸泡水可以培养青虫菌,并且比其他三种都好。离心废水和淀粉黄浆虽然也可以培养青虫菌,但本身养分太少,需添加更多的蛋白胨,所以不用它。

为了充分利用玉米浸泡水的营养成份,我们对玉米浸泡水的成份作了较全面的分析(表2、图1)。氨基酸的分析用双相纸层析法。分析证明,玉米浸泡水中,含有足以使细菌生长繁殖的糖和氮,以及钙、镁、铁、磷等元素。