

WEISHENGWU  
BAOCUN FA

〔日〕根井外喜男编 金连缘译

# 微生物保存法

上海科学技术出版社

封面设计 蒋文立

**微生物保存法**

[日] 根井外喜男 编

金 连 缘 译

上海科学技术出版社出版

(上海瑞金二路450号)

新华书店上海发行所发行 江苏扬中印刷厂印刷

开本 850×1156 1/32 印张 16.125 字数 419,000

1982年9月第1版 1982年9月第1次印刷

印数 1—6,200

统一书号: 13119·942 定价: (科五) 2.35 元

## 内 容 简 介

本书由日本微生物学界六名权威人士共同执笔，详尽地介绍了微生物的各种保存方法，是一本较好的工具书。

本书分总论和各论：总论介绍微生物各种保存法的要点和具体操作；各论 20 章，以近年来发展很快的冷冻法和冷冻干燥法为中心，分别介绍各种微生物——动物病毒、植物病毒、噬菌体、医学病原细菌、兽医学病原细菌、植物病原细菌、非病原需氧菌、厌氧菌、放线菌、支原体、病原螺旋体、立克次氏体、病原真菌、酵母菌、丝状菌、微小藻类、病原原生动物——的保存方法和所需培养基、分散剂的组成和配制以及各国保存效果一览和参考文献。

本书可供农、林、兽医、水产、发酵工业、医药卫生、动植物学等各个领域从事微生物学工作的研究人员、技术人员和有关高等院校师生参考。

# 目 录

## I 总 论

### 微生物的保存法

(森地敏树, 山里一英, 铃木正敏, 高野光男, 根井外喜男)

|     |                     |    |
|-----|---------------------|----|
| 1   | 保存菌种的目的 .....       | 1  |
| 2   | 传代培养保存法 .....       | 2  |
| 3   | 液体石蜡覆盖保存法 .....     | 3  |
| 4   | 载体保存法 .....         | 5  |
| 4-1 | 土壤保存法 .....         | 5  |
| 4-2 | 砂土保存法 .....         | 6  |
| 4-3 | 硅胶保存法 .....         | 7  |
| 4-4 | 磁珠保存法 .....         | 8  |
| 4-5 | 纸垫片保存法(滤纸保存法) ..... | 8  |
| 5   | 悬液保存法 .....         | 9  |
| 5-1 | 蒸馏水保存法 .....        | 9  |
| 5-2 | 糖液保存法 .....         | 12 |
| 5-3 | 其他悬液保存法 .....       | 12 |
| 6   | 寄主保存法 .....         | 12 |
| 7   | 冷冻保存法 .....         | 12 |
| 7-1 | 一般注意事项 .....        | 12 |
| 7-2 | 低温冰箱保存法 .....       | 14 |
| 7-3 | 干冰保存法 .....         | 15 |
| 7-4 | 液氮保存法 .....         | 15 |
| 8   | 冷冻干燥保存法 .....       | 19 |
| 8-1 | 冷冻干燥法的原理和适用范围 ..... | 19 |
| 8-2 | 冷冻干燥保存概要 .....      | 21 |
| 8-3 | 冷冻干燥前的培养条件 .....    | 24 |
| 8-4 | 菌株号码等的标记 .....      | 25 |
| 8-5 | 安瓿的准备 .....         | 25 |

|                                 |    |
|---------------------------------|----|
| 8-6 添加保护剂(制备分散剂) .....          | 27 |
| 8-7 制备菌液 .....                  | 29 |
| 8-8 菌液分装安瓿的方法 .....             | 30 |
| 8-9 预冷 .....                    | 31 |
| 8-10 干燥 .....                   | 34 |
| 8-11 二次干燥 .....                 | 41 |
| 8-12 熔封 .....                   | 42 |
| 8-13 保存条件 .....                 | 46 |
| 8-14 安瓿的启封 .....                | 46 |
| 8-15 复水 .....                   | 47 |
| 8-16 主要的测定仪器 .....              | 47 |
| 8-17 含水量的测定法 .....              | 50 |
| 8-18 保存效果的短期鉴定法 .....           | 52 |
| 8-19 防止突变 .....                 | 53 |
| 8-20 病原微生物冷冻干燥时应注意的事项 .....     | 56 |
| 8-21 冷冻干燥有困难的微生物及其对策 .....      | 57 |
| 9 冷冻干燥以外的干燥保存法 .....            | 58 |
| 9-1 常压干燥保存法(风干保存法) .....        | 58 |
| 9-2 Stamp 干燥保存法(明胶片干燥保存法) ..... | 59 |
| 9-3 菌片封袋干燥保存法 .....             | 60 |
| 9-4 Sordelli 干燥保存法 .....        | 61 |
| 9-5 L-干燥保存法(真空干燥保存法) .....      | 63 |
| 文 献 .....                       | 76 |

## II 各 论

### 1 动物病毒的保存法

(赤尾赖幸)

|                  |    |
|------------------|----|
| 1 前 言 .....      | 84 |
| 2 低温保存法 .....    | 88 |
| 3 冷冻保存法 .....    | 88 |
| 4 冷冻干燥保存法 .....  | 90 |
| 5 各群病毒的保存法 ..... | 91 |
| 文 献 .....        | 98 |

## 2 植物病毒的保存法

(脇本哲)

|                        |     |
|------------------------|-----|
| 1 前 言 .....            | 99  |
| 1-1 保存的预先处理 .....      | 100 |
| 1-2 与保存有关的因素 .....     | 100 |
| 2 冷冻保存法 .....          | 100 |
| 3 干燥保存法 .....          | 101 |
| 4 冷冻干燥保存法 .....        | 101 |
| 4-1 寄主植物的种类 .....      | 102 |
| 4-2 实际操作 .....         | 102 |
| 4-3 分散剂 .....          | 102 |
| 植物病毒的保存方法和保存效果一览 ..... | 103 |
| 文 献 .....              | 118 |

## 3 噬菌体的保存法

(飯島貞二)

|                       |     |
|-----------------------|-----|
| 1 前 言 .....           | 119 |
| 1-1 一般注意事项 .....      | 119 |
| 1-2 噬菌体悬液的制备 .....    | 119 |
| 2 低温保存法 .....         | 120 |
| 3 冷冻保存法 .....         | 121 |
| 4 液氮保存法 .....         | 121 |
| 5 冷冻干燥保存法 .....       | 122 |
| 6 L-干燥保存法 .....       | 122 |
| 7 其他保存法 .....         | 123 |
| 噬菌体的保存方法和保存效果一览 ..... | 123 |
| 文 献 .....             | 126 |

## 4 病原细菌的保存法(I)

——医学领域

(三輪谷俊夫, 田中吉紀)

|                     |     |
|---------------------|-----|
| 1 前 言 .....         | 127 |
| 1-1 病原细菌的保存目的 ..... | 127 |
| 1-2 菌株保存法 .....     | 128 |
| 2 传代培养保存法 .....     | 128 |

|     |                                                |     |
|-----|------------------------------------------------|-----|
| 3   | 冷冻保存法 .....                                    | 129 |
| 4   | 冷冻干燥保存法 .....                                  | 129 |
| 4-1 | 细菌悬液的准备 .....                                  | 130 |
| 4-2 | 安瓿的灭菌和冷冻干燥 .....                               | 131 |
| 4-3 | 冷冻干燥样品的保存 .....                                | 132 |
| 4-4 | 冷冻干燥样品的复原 .....                                | 132 |
| 4-5 | 复水液 .....                                      | 133 |
| 4-6 | 在冷冻干燥保存法中存在的问题 .....                           | 134 |
| 5   | Stamp 氏明胶片干燥保存法 .....                          | 134 |
| 5-1 | 培养菌 .....                                      | 134 |
| 5-2 | 分散剂 .....                                      | 134 |
| 5-3 | 石蜡滤纸 .....                                     | 135 |
| 5-4 | 干燥法 .....                                      | 135 |
| 5-5 | 保存法 .....                                      | 136 |
| 5-6 | 保存菌的复原 .....                                   | 137 |
| 5-7 | 其他注意事项 .....                                   | 137 |
|     | 培养基的组成和配制法 .....                               | 138 |
|     | 分散剂(保护剂)的配制 .....                              | 150 |
|     | 病原细菌的保存方法和保存效果一览 .....                         | 153 |
|     | 文 献 .....                                      | 157 |
|     | [附记] 东京大学医学科学研究所关于病原细菌冷冻保存和冷<br>冻干燥保存的实例 (帖佐浩) |     |
| 1   | 传代培养基 .....                                    | 158 |
| 2   | 分散剂(保护剂)的配制 .....                              | 159 |
|     | 冷冻保存和冷冻干燥保存的实验成绩 .....                         | 160 |

## 5 病原细菌的保存法(II)

——兽医学领域

(柚木弘之)

|   |               |     |
|---|---------------|-----|
| 1 | 前 言 .....     | 162 |
| 2 | 传代培养保存法 ..... | 163 |
| 3 | 冷冻保存法 .....   | 163 |
| 4 | 冷冻干燥保存法 ..... | 163 |

|                             |               |
|-----------------------------|---------------|
| 4-1 菌悬液的制备 .....            | 164           |
| 4-2 保护剂和保存温度 .....          | 164           |
| 4-3 冷冻干燥菌株的变异 .....         | 164           |
| 4-4 冷冻干燥菌株的复原 .....         | 165           |
| 5 明胶片干燥保存法 .....            | 165           |
| 培养基的组成和配制 .....             | 165           |
| 分散剂(保护剂)的组成 .....           | 170           |
| 兽医学领域内病原细菌的保存法和保存效果一览 ..... | 170           |
| 文 献 .....                   | 173           |
| <b>6 植物病原细菌的保存法</b> .....   | <b>(脇本哲)</b>  |
| 1 前 言 .....                 | 174           |
| 2 传代培养保存法 .....             | 175           |
| 3 液体石蜡覆盖保存法 .....           | 175           |
| 4 土壤保存法 .....               | 176           |
| 5 水液保存法 .....               | 176           |
| 6 冷冻保存法 .....               | 177           |
| 7 冷冻干燥保存法 .....             | 177           |
| 培养基的组成和配制 .....             | 178           |
| 分散剂(保护剂)的组成 .....           | 181           |
| 植物病原细菌的保存法和保存效果一览 .....     | 182           |
| 文 献 .....                   | 188           |
| <b>7 非病原需氧性细菌的保存法</b> ..... | <b>(山里一英)</b> |
| 1 前 言 .....                 | 190           |
| 2 传代培养保存法 .....             | 190           |
| 2-1 琼脂斜面培养基密封保存法 .....      | 191           |
| 2-2 软琼脂法 .....              | 192           |
| 3 液体石蜡覆盖保存法 .....           | 192           |
| 4 土壤保存法 .....               | 193           |
| 4-1 芽孢杆菌芽孢的土壤保存法 .....      | 194           |
| 4-2 根瘤菌孢囊的土壤保存法 .....       | 194           |

|      |                                                                         |     |
|------|-------------------------------------------------------------------------|-----|
| 5    | 硅酸胶保存法 .....                                                            | 194 |
| 6    | 磁珠保存法 .....                                                             | 195 |
| 7    | 悬液保存法 .....                                                             | 196 |
| 8    | 冷冻保存法 .....                                                             | 196 |
| 9    | 冷冻干燥保存法 .....                                                           | 198 |
| 10   | Sordelli 氏干燥保存法 .....                                                   | 201 |
| 11   | L-干燥保存法 .....                                                           | 201 |
| 12   | 其他干燥保存法 .....                                                           | 201 |
| 12-1 | Stamp 氏干燥保存法 .....                                                      | 202 |
| 12-2 | Kerr 氏干燥保存法 .....                                                       | 202 |
| 12-3 | 常压干燥保存法(风干保存法) .....                                                    | 202 |
| 12-4 | Brown 氏干燥保存法 .....                                                      | 203 |
| 12-5 | 袋装尼龙薄膜片 (Disc-in-bag) 干燥保存法 .....                                       | 203 |
|      | 培养基的组成和配制 .....                                                         | 203 |
|      | 分散剂(保护剂)的组成和配制法 .....                                                   | 236 |
|      | 非病原需氧性细菌的保存法和保存效果一览 .....                                               | 239 |
|      | 文 献 .....                                                               | 253 |
| 8    | 厌氧菌的保存法 (鈴木祥一郎, 上野一惠)                                                   |     |
| 1    | 前 言 .....                                                               | 257 |
| 2    | 传代培养保存法 .....                                                           | 258 |
| 3    | 液体石蜡覆盖保存法 .....                                                         | 259 |
| 4    | PRAS (Pre-Reduced Anaerobically Sterilized<br>预先还原无氧灭菌的)培养基的传代培养法 ..... | 259 |
| 5    | 冷冻保存法 .....                                                             | 260 |
| 5-1  | 去纤维羊血保存法 .....                                                          | 260 |
| 5-2  | 脱脂乳保存法 .....                                                            | 261 |
| 6    | 冷冻干燥保存法 .....                                                           | 262 |
| 7    | 明胶片干燥保存法 .....                                                          | 263 |
|      | 培养基的组成和配制法 .....                                                        | 263 |
|      | 厌氧菌的保存法和保存效果一览 .....                                                    | 274 |

|                                           |     |
|-------------------------------------------|-----|
| 文    献 .....                              | 282 |
| <b>9 放线菌的保存法</b> (清野昭雄)                   |     |
| 1 前    言 .....                            | 283 |
| 1-1 需氧性和兼性厌氧放线菌的保存 .....                  | 283 |
| 1-2 生产菌株的保存 .....                         | 284 |
| 1-3 遗传标志的保存 .....                         | 285 |
| 1-4 放线菌类各属的保存 .....                       | 285 |
| 2 传代培养保存法 .....                           | 285 |
| 2-1 维持培养基 .....                           | 285 |
| 2-2 放线菌类用琼脂培养基一览 .....                    | 288 |
| 3 液体石蜡覆盖保存法 .....                         | 288 |
| 4 土壤保存法 .....                             | 288 |
| 5 干曲保存法 .....                             | 289 |
| 6 冷冻保存法 .....                             | 289 |
| 6-1 厌氧性放线菌类的冷冻保存法 .....                   | 289 |
| 6-2 液氮保存法 .....                           | 289 |
| 7 冷冻干燥保存法 .....                           | 290 |
| 培养基的组成和配制法 .....                          | 290 |
| 分散剂(保护剂)的组成 .....                         | 297 |
| 放线菌的保存法和保存效果一览 .....                      | 298 |
| 文    献 .....                              | 301 |
| <b>10 支原体(Mycoplasma)的保存法</b> (柚木弘之, 帖佐浩) |     |
| 1 前    言 .....                            | 303 |
| 2 冷冻保存法 .....                             | 303 |
| 2-1 菌悬液的配制法 .....                         | 304 |
| 2-2 支原体的菌量测定 .....                        | 305 |
| 2-3 保护剂和保存温度 .....                        | 305 |
| 3 冷冻干燥保存法 .....                           | 305 |
| 3-1 菌悬液的配制法 .....                         | 306 |
| 3-2 保护剂 .....                             | 306 |
| 3-3 冷冻干燥菌株的保存 .....                       | 306 |

|                                          |       |
|------------------------------------------|-------|
| 3-4 冷冻和冷冻干燥菌株的变异 .....                   | 306   |
| 3-5 冷冻干燥菌的复原 .....                       | 307   |
| 培养基的组成和配制法 .....                         | 307   |
| 分散剂(保护剂)的组成 .....                        | 314   |
| 支原体的保存法和保存效果一览 .....                     | 314   |
| 文    献 .....                             | 318   |
| <b>11 病原螺旋体的保存法</b> .....                | (梁川良) |
| 1 前    言 .....                           | 319   |
| 2 钩端螺旋体 ( <i>Leptospira</i> ) 的保存法 ..... | 319   |
| 2-1 传代培养保存法 .....                        | 319   |
| 2-2 冷冻保存法 .....                          | 320   |
| 2-3 冷冻干燥保存法 .....                        | 320   |
| 3 密螺旋体 ( <i>Treponema</i> ) 的保存法 .....   | 321   |
| 3-1 传代培养保存法 .....                        | 321   |
| 3-2 冷冻保存法 .....                          | 322   |
| 3-3 冷冻干燥保存法 .....                        | 322   |
| 4 疏螺旋体 ( <i>Borrelia</i> ) 的保存法 .....    | 323   |
| 4-1 传代培养保存法 .....                        | 323   |
| 4-2 冷冻保存法 .....                          | 323   |
| 4-3 冷冻干燥保存法 .....                        | 324   |
| 培养基、分散剂的组成和配制法 .....                     | 324   |
| 文    献 .....                             | 329   |
| <b>12 立克次氏体的保存法</b> .....                | (关户亮) |
| 1 前    言 .....                           | 331   |
| 2 冷冻保存法 .....                            | 332   |
| 3 冷冻干燥保存法 .....                          | 333   |
| 3-1 材料 .....                             | 333   |
| 3-2 分散剂 .....                            | 333   |
| 3-3 应用 .....                             | 333   |
| 立克次氏体保存法一览 .....                         | 334   |
| 文    献 .....                             | 335   |

## 13 病原真菌的保存法

(岩田和夫)

|                            |     |
|----------------------------|-----|
| 1 前 言 .....                | 336 |
| 2 传代培养保存法 .....            | 337 |
| 2-1 真菌保存用培养基 .....         | 337 |
| 2-2 传代间隔 .....             | 338 |
| 2-3 保存场所应具备的条件 .....       | 338 |
| 2-4 移植时应注意的事项 .....        | 339 |
| 3 矿油覆盖保存法(液体石蜡覆盖保存法) ..... | 340 |
| 4 土壤或砂基保存法 .....           | 341 |
| 5 蒸馏水保存法 .....             | 341 |
| 6 冷冻保存法 .....              | 342 |
| 7 冷冻干燥保存法 .....            | 342 |
| 8 防止变异应注意的事项 .....         | 343 |
| 9 在保存中防止污染的方法 .....        | 344 |
| 文 献 .....                  | 345 |

## 14 酵母菌的保存法

(高田信男)

|                               |     |
|-------------------------------|-----|
| 1 前 言 .....                   | 346 |
| 2 传代培养保存法 .....               | 346 |
| 3 液体石蜡覆盖保存法(矿油覆盖保存法) .....    | 347 |
| 4 土壤保存法 .....                 | 348 |
| 5 蒸馏水保存法 .....                | 349 |
| 6 冷冻保存法 .....                 | 349 |
| 6-1 冷冻前的培养条件 .....            | 349 |
| 6-2 冷冻和融解速度 .....             | 351 |
| 7 冷冻干燥保存法 .....               | 352 |
| 7-1 冷冻干燥的分散剂(保护剂) .....       | 353 |
| 7-2 冷冻干燥前的各种条件 .....          | 353 |
| 7-3 冷冻和干燥条件以及冷冻干燥后的保存条件 ..... | 355 |
| 8 其他干燥保存法 .....               | 355 |
| 9 适合于酵母菌长期保存的保存法 .....        | 355 |

|                           |     |
|---------------------------|-----|
| 培养基、分散剂(保护剂)的组成和配制法 ..... | 356 |
| 酵母菌的保存法和保存效果一览 .....      | 357 |
| 文 献 .....                 | 361 |

## 15 丝状菌的保存法(I)

——曲霉属、青霉属和孢子囊菌类、藻菌类

(阿部重雄)

|                                     |     |
|-------------------------------------|-----|
| 1 前 言 .....                         | 363 |
| 2 传代培养保存法 .....                     | 363 |
| 3 矿油覆盖保存法(液体石蜡覆盖保存法) .....          | 363 |
| 4 土壤保存法 .....                       | 364 |
| 5 硅胶保存法 .....                       | 364 |
| 6 冰箱保存法 .....                       | 364 |
| 7 液氮保存法 .....                       | 365 |
| 8 冷冻干燥保存法 .....                     | 365 |
| 9 其他干燥保存法 .....                     | 365 |
| 培养基的组成和配制法 .....                    | 366 |
| 保护剂(分散剂)的组成 .....                   | 369 |
| 曲霉、青霉和子囊菌类、藻菌类的保存法、保存效果<br>一览 ..... | 369 |
| 文 献 .....                           | 391 |

## 16 丝状菌的保存法(II)

——担子菌类和半知菌类

(横山竜夫)

|                          |     |
|--------------------------|-----|
| 1 前 言 .....              | 394 |
| 2 担子菌类的保存法 .....         | 394 |
| 3 半知菌类的保存法 .....         | 397 |
| 3-1 传代培养保存法 .....        | 397 |
| 3-2 液体石蜡覆盖保存法 .....      | 398 |
| 3-3 土壤保存法 .....          | 398 |
| 3-4 硅胶保存法 .....          | 398 |
| 3-5 风干保存法(自然干燥保存法) ..... | 399 |

|                                       |     |
|---------------------------------------|-----|
| 3-6 冷冻保存法 .....                       | 399 |
| 3-7 液氮保存法 .....                       | 400 |
| 3-8 冷冻干燥保存法 .....                     | 400 |
| 3-9 L-干燥保存法 .....                     | 400 |
| 培养基的组成和配制法 .....                      | 401 |
| 保护剂(分散剂)的组成 .....                     | 409 |
| 担子菌类和半知菌类的保存法和保存效果一览 .....            | 410 |
| 文 献 .....                             | 431 |
| <b>17 微小藻类的保存法(I)</b>                 |     |
| ——微小藻类的传代保存法                          |     |
| (市村輝宜, 伊藤忠夫)                          |     |
| 1 前 言 .....                           | 436 |
| 2 传代培养保存法 .....                       | 436 |
| 2-1 藻株的性状 .....                       | 437 |
| 2-2 维持培养基 .....                       | 438 |
| 2-3 培养条件和保存条件 .....                   | 438 |
| 2-4 移植间隔 .....                        | 439 |
| 2-5 讨论 .....                          | 439 |
| 维持培养基的组成 .....                        | 439 |
| 东京大学应用微生物研究所微小藻类系统保存株和保<br>存法一览 ..... | 450 |
| 文 献 .....                             | 462 |
| <b>18 微小藻类的保存法(II)</b>                |     |
| ——微小藻类的冷冻和冷冻干燥保存法                     |     |
| (都留信也)                                |     |
| 1 前 言 .....                           | 464 |
| 2 冷冻干燥保存法 .....                       | 464 |
| 3 冷冻保存法 .....                         | 466 |
| 微小藻类的保存法和保存效果一览 .....                 | 468 |
| 文 献 .....                             | 471 |

## 19 病原原生动物的保存法

(常松之典)

|                                           |     |
|-------------------------------------------|-----|
| 1 前 言 .....                               | 472 |
| 2 锥体虫属 ( <i>Trypanosoma</i> ) 的冷冻保存 ..... | 474 |
| 3 利什曼虫属 ( <i>Leishmania</i> ) 的冷冻保存 ..... | 475 |
| 4 毛滴虫属 ( <i>Trichomonas</i> ) 的冷冻保存 ..... | 475 |
| 5 内变形虫属 ( <i>Entamoeba</i> ) 的冷冻保存 .....  | 476 |
| 6 疟原虫属 ( <i>Plasmodium</i> ) 的冷冻保存 .....  | 477 |
| 7 弓型属 ( <i>Toxoplasma</i> ) 的冷冻保存 .....   | 478 |
| 病原原生动物的保存法和保存效果一览 .....                   | 478 |
| 文 献 .....                                 | 485 |

## 20 非病原原生动物的保存法

(松坂理夫)

|                          |     |
|--------------------------|-----|
| 1 前 言 .....              | 487 |
| 2 冷冻保存法 .....            | 487 |
| 非病原原生动物的保存法和保存效果一览 ..... | 488 |
| 文 献 .....                | 489 |
| 微生物学名索引 .....            | 490 |

# I 总 论

## 微生物的保存法

### 1 保存菌种的目的

以微生物为对象的研究工作，具体使用的研究材料是属于某一类型的微生物，也就是菌种。

每个菌种都具有不同的特性。因此，不论所进行的是基础研究、应用研究，或病原微生物的研究，除非使用同一菌种，否则就不能获得同样的实验结果。在微生物学的领域内，只有研究报告和所使用的菌种二者齐备，才能重现同一实验结果。因此，在研究工作告一段落之后，为了便于其他研究人员或后一代的研究人员进行复试，必须把这个菌种保存下来。也就是说，菌种的保存，是微生物学的基础，是一项很重要的工作。

某一菌株，本身包含着过去研究中已阐明的知识，既能当做鉴定分离株的对照株，又能用来验证研究结果，此外，还能用于生产某些有用物质。同时，必须记住，它的有些性状当前尚属未知，今后随着研究的进展才会弄清楚。我们只要不断参考有关某一菌株所积累的知识见解，就能不费力地引出新的见解。

为了做到这一点，仅仅把菌株的生命保存下来是不够的，还必须使菌株的遗传性状从分离时或实验开始时就一直保持不变。微生物的特性在保藏过程中容易发生变化，甚至往往在从事一系列研究工作进行实验的过程中就会失去重现这种实验结果的可能性。关于这一点不仅保管和出售多种菌种的菌种保存或生产单位要注意，以少数特定菌种为对象的研究人员也必须予以重视。菌种的保存，不仅要在研究结束时，采取适当措施，就是在取得菌种

开始进行研究时, 也须采取适当的措施。这项工作看起来没有多大困难, 但实际做起来却是很麻烦的, 既要细心注意, 也要不断地采取适当措施。

本书所论述范围, 包括从病毒到原虫的各种微生物。即病毒、噬菌体、各种细菌、放线菌、真菌、立克次氏体、螺旋体、酵母、丝状菌、微小藻类和原虫(请参阅各论)。

微生物, 必须以活的状态保存, 否则是没有意义的。而且, 如上所述, 微生物的世代时期一般是短促的, 在传代过程中还容易发生变异。因此, 就有必要选择能够长期稳定的保存方法<sup>79)</sup>。由于微生物种类不同, 保藏的难易亦有不同, 有的比较容易, 有的非常困难。

本书在总论中首先论述过去常见的基本的微生物保存法, 然后比较详细地论述冷冻法和干燥法。在各论中分别介绍各种微生物适宜的保存方法。

## 2 传代培养保存法

传代培养是使用微生物的单位都要采用的基本保存法。关于传代培养的培养基组成和配制, 将在各论中加以叙述。有些微生物经过冷冻、干燥处理就会死亡。目前, 必须依靠传代培养来保存的菌种为数众多。这种情况将在各论中予以叙述。传代培养的菌种, 最好每株培养两个试管以上<sup>63, 73)</sup> (参考各论 13)。

培养基的浓度不宜过高。特别是碳水化合物的浓度, 在可能的范围内应尽量降低, 这样做对保藏的益处较多。营养丰富的培养基不一定最适宜于保存。同时, 培养的温度也应该加以注意。如长谷川指出<sup>44)</sup>, 从保存的角度来看, 以繁殖速度最快或代谢产物浓度最高的生长最适温度进行培养, 是有些问题的。如以稍低于生长最适温度进行培养, 效果较好<sup>10)</sup>。如产酸的菌种, 在传代培养的培养基中增加少量碳酸钙为宜<sup>44)</sup>。

用斜面、穿刺或其他适当方法培养的传代菌种, 一般地说, 需要保藏在 5°C 左右的冰箱里<sup>28, 79, 85)</sup>。但保存的适当温度因微生物