

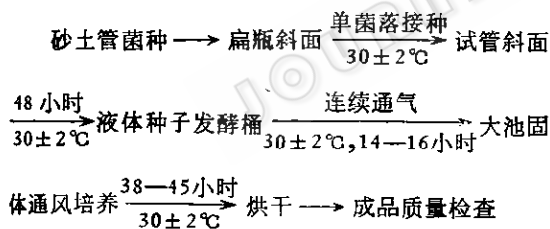
“140”杀虫菌的大池通风培养法*

湖北省安陆县微生物实验站

按:“140”芽孢杆菌是湖北省微生物研究所虫生菌组从棉花小造桥虫上分离到的一株杀虫菌。1976年10月湖北省科委在湖北省安陆县召开过该菌的鉴定会。实践证明该菌对多种农、林、果、蔬害虫具有较好的毒杀作用。鉴定会指出:该菌无鞭毛,不运动,无H抗原,区别于苏芸金杆菌各变种,定名为苏芸金杆菌无鞭毛变种。该菌在全国十个省市进行了大面积应用试验。下面两篇文章,介绍该菌的土法生产,供参考交流。

1973年以来,我县在生产微生物农药的过程中,采用二级发酵桶深层通气培养与三级固体培养基通风培养配套工艺,大量生产“140”细菌杀虫剂。发酵1500余批,生产“140”制剂12万余斤,在我县农林害虫防治方面发挥了积极作用。1976年在114000亩水稻防治面积中,对其中2万亩有重点的进行了药效调查,对稻苞虫、稻纵卷叶螟、稻螟蛉、稻叶蝉、稻飞虱等5种主要防治对象,取得了较好的防治效果,杀虫率达70—90%,使虫害对农业造成的损失减轻20%。现将“140”菌的大池通风培养方法介绍如下。

工 艺 过 程



一、菌 种

(一) 培养基配制

蛋白胨1%,牛肉膏0.3%,琼脂2%,上述成分煮沸后,调pH 7.0—7.2,装入扁瓶(大墨水瓶),经1.1公斤/厘米²蒸汽灭菌30分钟,摆成斜面。

(二) 接种培养

从砂土管菌种中挑出少许含菌砂粒,接于扁瓶斜面上,长出单个菌落后,挑取典型菌落接于斜面上,32℃培养3天。

二、液体种子通气培养

(一) 培养基

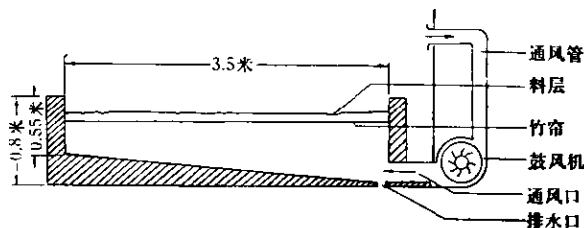
- 1.培养基成分(%):豆饼粉1.5,麸皮5,碳酸钙0.1,硫酸镁0.03,硫酸铵0.03, pH 8.0。
- 2.将配好的培养基装于发酵桶中,装量约占容量的50—60%,1.1公斤/厘米²蒸汽灭菌40—60分钟。

(二) 设备和装置

- 1.发酵桶:桶高45厘米,直径40厘米,用白铁皮制成,每桶装料40斤。
- 2.空气压缩机一台,储气量为0.14米³,可同时供给6个发酵桶通气。
- 3.空气消毒和过滤系统:由盛有0.5%高锰酸钾溶液和0.2%氯化汞溶液的两个瓶子组成空气消毒系统;由大小两个空气过滤器组成空气过滤系统。

(三) 接种与培养

从扁瓶斜面上刮下孢子制成孢子悬浮液,80℃水浴处理20分钟,然后接入发酵桶,在30±2℃条件下通气培养14—16小时。



通风培养池纵剖面图

* 本工作得到湖北省微生物研究所的大力支持和帮助。

三、固体培养基大池通风培养

(一) 培养池的规格

培养池长3.5米,宽2.0米,高0.8米,底面成一斜坡,最浅处为0.55米(见图),每次可装料300斤。

(二) 培养基的配比(%)

麸皮40,豆饼粉10,谷壳10,糠10,细土30。再加入少量石灰粉,为干料重的2—3%。干料与水的重量比为1:0.6。pH为10—11,灭菌后pH下降至7.0—7.5。

(三) 接种与培养

1. 接种:接种前将培养室、室内大池、竹帘及接种用的铁铲等冲洗干净,再用2%来苏尔液消毒。最后将培养室用福尔马林熏蒸过夜。接种铲、纱布等应预先与固体培养基一起在大灶中灭菌(100℃维持2小时),培养基凉至30—40℃时进行接种。接种量:固体培养基与种子液的重重量比为1:0.7—0.8。接过种的固体培养基拌匀后均匀摊放在培养池内垫好纱布的竹帘上,其厚度为10厘米左右,盖上纱布或报纸。

2. 培养:前期(0—8小时)室温应保持在30℃左右。8—15小时料温逐渐升至32—35℃,此时用鼓风机从帘子下部开始鼓风通气。15—24小时料温升至35—45℃,这时必须鼓风通气降温,必要时可翻动培养料1—2次,使料温不得超过35℃,35小时后,菌体生长基本完成,可继续鼓风降低湿度,促进早熟,抑制霉菌污染。这时提高室温至32—35℃更有利于孢子形成。38—45小时后,大部菌体形成孢子囊,约有10—15%的晶体脱落,便可出料进行烘干。

(四) 产品后处理

出池后的半成品在50—55℃下抽风烘干,根据需

要可用药物粉碎机粉碎,然后用塑料袋包装。

(五) 质量检查

1. 活孢子计数:按常规平板稀释法进行。

2. 生物毒力测定:将不同稀释度的产品悬浮液涂于菜叶上并晾干,饲喂2—4龄菜青虫,定期检查死亡率。

合格产品的标准:无霉菌污染、不酸、不潮、活孢子计数在50亿/克以上。产品稀释500倍,饲喂3龄菜青虫,48小时内死亡率在80%以上。

几点体会

1. 噬菌体和杂菌污染的防治是发酵中的关键问题之一。菌种传接代数过多,噬菌体的危害严重出现。因此,我们采用单菌落传接是一个有效的措施。

液体培养的杂菌污染,主要是细菌中的球菌和短杆菌,其次是霉菌。为了排除杂菌污染,必须做到:培养液彻底灭菌,过滤器中的填充料不要受潮,操作要求严格,发酵过程中不要出现负压回气现象。

大池固体培养容易污染的有霉菌、细菌中的球菌、杆菌等,主要来源于空气。我们采取的主要措施是:①固体培养基灭菌保持在100℃2小时,铺料厚度不能超过15厘米。②严格把好液体种子关。③培养室内空气消毒要彻底。④加大接种量,造成培养菌的生长优势。

经过不断改进管理方法,液体发酵成功率为89%,大池固体培养基本上批批成功,每批仅有菌数多少的差异。

2. 大池通风发酵法比浅盘培养法的生产效率可提高3—4倍,节约人力物力。成本相当于工业产品的10%。实践证明,大池通风发酵法是适于农村在短时间内大批量生产杀虫剂的较好方法。