

平板培养制作菌丝液用于白灵菇菌丝球液体培养的研究

戴明勋, 张秀省, 蔡连捷

(聊城大学 农学院 山东 聊城 252000)

摘要: 利用菌丝平板培养制作菌丝液用于白灵菇菌丝球液体培养, 研究了液体培养的最佳接种浓度和菌丝液的制作方法。结果表明: 菌丝平板培养制作菌丝液用于白灵菇菌丝球液体培养能显著增加接种点, 提高培养速度; 菌丝液浓度 $1.40 \text{ cm}^2/\text{mL}$ 接种, 100 mL 培养液菌球数量达 440 个远远高于传统接种方法; 菌丝液浓度大于 $1.40 \text{ cm}^2/\text{mL}$ 时, 白灵菇菌丝球的干重均处于较高水平, 因此, 菌丝液接种培养白灵菇菌丝球 $1.40 \text{ cm}^2/\text{mL}$ 为最佳浓度。

关键词: 菌丝液; 液体培养; 白灵菇

中图分类号: S 646.1⁺9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2010)16-0192-02

利用摇瓶进行真菌菌丝球液体培养的常用接种方法是, 将斜面培养菌丝连同培养基切成小块, 转入液体培养基, 在液体培养基表面漂浮培养 24 h 后, 再进行震荡培养^[1,4-7]。这种方法的缺点: 一是从斜面培养物上切下的菌丝块大小、菌龄不一致; 二是接种点较少, 培养速度慢, 一个菌种块只能作为一个接种点, 如果接入过多菌丝块会喧宾夺主影响培养效果; 三是菌球过大, 菌球内部菌丝因缺氧死亡自溶且菌球内部固体培养基影响后续试验结果。

现以白灵菇为试材, 采用三角瓶制作平板培养基培养白灵菇菌丝, 研究液体培养的最佳接种浓度和菌丝液的制作方法。

1 材料与方法

1.1 试验材料

菌种白灵菇 10 号, 北京市农林科学院提供。

1.2 培养基配方

1.2.1 PDA 培养基 马铃薯 200 g, 葡萄糖 20 g, 琼脂 20 g, 水 1 000 mL。

1.2.2 液体培养基 马铃薯 200 g, 葡萄糖 20 g, 水 1 000 mL。

1.3 试验方法

1.3.1 液体培养基的制作 按照液体培养基的配方, 配制液体培养基 2 100 mL, 然后分别装入 21 个 500 mL 的

三角瓶, 每瓶装入 100 mL; 三角瓶用 8 层纱布封口, 单层报纸扎口, 121°C 、 0.015 MPa 灭菌 30 min。

1.3.2 菌丝液制备 配制 500 mL PDA 培养基, 平均装入 6 个 500 mL 三角瓶(最大内径 11 cm), 灭菌制成平板, 平板上表面在最大内径处。无菌操作条件下, 在平板中央一点接种, 培养 12 d 菌丝长满整个平面即可。取 7 个 250 mL 三角瓶, 第 1 个三角瓶装入 100 mL 蒸馏水和一定量的玻璃球, 玻璃球约占液体的一半, 另外 6 个三角瓶分别装入蒸馏水 30 mL, 用锡箔纸封口, 加双层报纸扎口, 高压灭菌。在无菌操作条件下, 用接种铲刮下 6 个平板表面菌丝, 放入第 1 个三角瓶内, 在摇床上用 200 r/min 处理 1 h, 将菌丝磨成小段用于接种, 其菌丝液浓度计做 $2.85 \text{ cm}^2/\text{mL}$ (菌丝总表面积/蒸馏水总体积)。

1.3.3 接种、培养 取 3 个灭菌的装有液体培养基三角瓶, 每瓶接入浓度为 $2.85 \text{ cm}^2/\text{mL}$ 菌丝液 10 mL, 3 个三角瓶分别记作 1-1、1-2、1-3; 将剩余 70 mL 浓度为 $2.85 \text{ cm}^2/\text{mL}$ 菌丝液, 加入 30 mL 灭菌水, 混合均匀, 其菌丝液浓度为 $2.00 \text{ cm}^2/\text{mL}$, 在另外 3 个装有液体培养基三角瓶分别接入该浓度液体菌种 10 mL, 3 个三角瓶分别记作 2-1、2-2、2-3; 采用上述方法将菌丝液分别稀释成 1.40 、 0.98 、 0.69 、 0.48 、 $0.34 \text{ cm}^2/\text{mL}$, 每个浓度接种 3 瓶, 分别记作 3-1、3-2、3-3; 4-1、4-2、4-3; 5-1、5-2、5-3; 6-1、6-2、6-3; 7-1、7-2、7-3。将接种后的三角瓶以 8 层纱布封口, 外用 1 层报纸扎口, 置于全温振荡培养箱中, 在 140 r/min, 25°C 条件下, 培养 6 d^[2,3]。

1.3.4 菌丝球清洗、干燥、称重 培养液分别用 200 目尼龙滤布过滤得菌丝球, 菌丝球转移到烧杯中, 加入

第一作者简介: 戴明勋(1963-), 男, 山东冠县人, 本科, 副教授, 现主要从事食用菌教学与科研工作。E-mail: daimingxun@lccu.edu.cn。

收稿日期: 2010-04-27

200 mL 双蒸水, 超声清洗 15 min 离心除水 (4 000 r/min, 15 min), 冷冻干燥 48 h 称重。

1.3.5 菌球数量计量 每个三角瓶摇匀后取 5 mL 培养液倒在培养皿上摊平, 计查菌球数量。

2 结果与分析

2.1 菌丝液浓度对菌丝球干重的影响

对表 1 不同菌丝液浓度下菌丝球干重的测量结果进行方差分析, 结果见表 2。

表 1 不同菌丝液浓度下菌丝球干重的测量结果

菌丝液浓度 / cm ² · mL ⁻¹	6 d 菌丝球干重/ g			均重/ g
	重复 1	重复 2	重复 3	
2.85	0.1345	0.1268	0.1340	0.1348
2.00	0.1299	0.1355	0.1342	0.1332
1.40	0.1377	0.1362	0.1375	0.1371
0.98	0.1006	0.0881	0.1038	0.0975
0.69	0.0803	0.0826	0.0837	0.0824
0.48	0.0962	0.0933	0.0942	0.0946
0.34	0.0603	0.0570	0.0569	0.0575

表 2 不同菌丝液浓度下白灵菇菌丝球干重的方差分析

变异来源	自由度	平方和	均方值	F 值	差别显著性
因子: 接种量	6	0.0163	0.002717	194.07	**
试验误差	14	0.0002	0.000014		
总和	20	0.0165			

由表 2 可看出, 不同菌丝液浓度之间差异显著, 即不同菌丝液浓度对白灵菇菌丝球的干重具有显著的影响。进一步作多重比较, 结果见表 3。

表 3 不同菌丝液浓度对白灵菇菌丝球干重影响的多重分析

菌种浓度 / cm ² · mL ⁻¹	菌丝球均重 / g	按 5% 显著 性分级	按 1% 显著 性分级
2.85	0.137	a	A
2.00	0.133	a	A
1.40	0.132	a	A
0.98	0.097	b	B
0.69	0.095	b	B
0.48	0.082	c	C
0.34	0.058	d	D

由表 3 可知, 在 5% 和 1% 的水平上, 菌丝液浓度 2.85、2.00、1.40 cm²/mL, 与菌丝液浓度 0.98、0.69、0.48、0.34 cm²/mL, 菌球干重差异显著, 亦即当菌丝液浓度为 2.85、2.00、1.40 cm²/mL 时, 白灵菇菌丝球的干重处于较高水平, 结合考虑其它因素 选择菌丝液浓度相对较小的 1.40 cm²/mL 作为最佳接种量。

2.2 菌丝液浓度对菌球数量的影响

由表 4 可看出, 菌丝球数量与菌丝液浓度呈正相

关, 即使最低浓度 0.34 cm²/mL, 其 5 mL 培养液菌丝球数量也达到 4.33 个, 远远高于传统接种方法; 而最佳菌丝液浓度 1.40 cm²/mL 接种, 5 mL 培养液菌球数量达到 22 个, 100 mL 培养液菌球数量达 440 个; 此种接种方法培养的菌丝球无死芯、无硬芯、活性强、均匀一致。

表 4 不同菌丝液浓度接种对菌丝球数量的影响

液体菌种浓度 / cm ² · mL ⁻¹	6 d 5 mL 菌丝球数量			均值
	重复 1	重复 2	重复 3	
2.85	31	33	29	31.00
2.00	25	27	25	25.67
1.40	22	21	23	22.00
0.98	14	16	14	14.67
0.69	11	13	12	12.00
0.48	7	9	8	8.00
0.34	5	4	4	4.33

3 结论与讨论

菌丝平板培养制作菌丝液用于白灵菇菌丝球液体培养能显著增加接种点, 提高培养速度; 菌丝液浓度 1.40 cm²/mL 接种, 100 mL 培养液菌球数量达 440 个, 远远高于传统接种方法; 菌丝液浓度大于 1.40 cm²/mL 时, 白灵菇菌丝球的干重均处于较高水平, 采用 1.40 cm²/mL 菌丝液接种培养白灵菇菌丝球, 既节约菌种又能提高培养效率。

在实验室条件下利用摇瓶快速培养食用菌菌丝球, 采用平板培养制作菌丝液接种液体培养基, 菌丝球无死芯、硬芯、活性强、均匀一致, 为后续研究打下一个良好的基础。利用三角瓶制作平板, 尽管会造成培养基的浪费, 但因三角瓶口小、底深, 能大大减少操作过程中的污染, 避免研究失败。其它菌种进行液体培养时, 其接种量可因菌种而异进行探索。

参考文献

[1] 许广波, 傅伟杰, 曹丽 等. 猪苓菌丝体液体培养基配方的筛选研究初报 [J]. 吉林农业大学学报, 2002, 24(2): 64-65.
[2] 董洪新, 刘进杰, 王凯. 白灵菇液体发酵条件研究初报 [J]. 生物技术通报 2004 5(1): 48-51.
[3] 黄清荣, 杨立红, 姜华 等. 白平菇深层培养条件研究 [J]. 浙江农业科学, 2003(5): 234-236.
[4] 杨小方, 薛璟, 徐广忠 等. 马勃液体培养条件的研究 [J]. 包装与食品机械 2009 27(5): 107-110.
[5] 王彦红, 曲佳伟. 磁处理水对白灵菇液体培养的影响 [J]. 牡丹江师范学院学报 2009(3): 17-18.
[6] 秦秀丽. 香菇液体培养的工艺研究 [J]. 北方园艺 2009(6): 227-229.
[7] 王谦, 张亚从, 赵谦. 外激素对液体培养条件下大球盖菇菌丝生长的影响 [J]. 中国食用菌, 2009, 28(5): 32-33.