

经验交流

斜面法与橡皮塞法保藏丝状真菌的效果

李世贵 顾金刚 郭好礼

(中国农业科学院土壤肥料研究所 北京 100081)

摘要: 对利用斜面法和橡皮塞法保藏某些丝状真菌的效果进行了试验, 共保藏丝状真菌 29 属, 69 种, 128 株。保藏时间 2~17a, 通过斜面转接, 其存活率达 89.8%。存活的菌株仍维持其原有特性。试验结果表明: 利用斜面法与橡皮塞法保藏某些丝状真菌是简便可行的。

关键词: 斜面保藏, 橡皮塞保藏, 丝状真菌, 效果

中图分类号: Q93-336 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2002) 04-0118-03

THE EFFECT OF PRESERVATION MYCELIAL FUNGUS
BY THE METHODS OF SLANT AND RUBBER PLUG

LI Shi - Gui GU Jin - Gang GUO Hao - Li

(Agricultural Culture Collection of China, Soils and Fertilizers Institute, CAAS, Beijing 100081)

Abstract: This paper has reported the effect of preservation mycelial fungus by the methods of slant and rubber plug. The mycelial fungus preserved include 29 genera, 69 species, 128 strains. The preservation time is from 2 years to 17 years. By slant inoculation, their survival conditions are still good keep their original characters. The result shows that it is simple and effective preserving some mycelial fungus by the methods of slant and rubber plug.

Key words: Slant preservation, Rubber plug preservation, Mycelial fungus, Effect

菌种保藏是一项重要的科技基础性工作。目前国际上公认的较理想的菌种保藏方法是液氮超低温保藏和冷冻干燥保藏, 但这两种方法保藏菌种都需要一定的设备, 而且液氮来源有限, 费用高, 所以还不能普及推广应用。一些中小企业和科研单位的实验室不可能都采用冷冻干燥、液氮等较先进的保藏方法, 而斜面法和橡皮塞法等常规菌种保藏方法则比较简便、易行, 不需要特别的设备^[1]。并且, 前人也用斜面法和橡皮塞法等常规菌种保藏方法进行过细菌、酵母菌、部分丝状真菌与担子菌的保藏效果试验, 取得了良好的效果^[2,3]。本试验在利用冷冻干燥、液氮等较先进菌种保藏方法进行菌种保藏的同时, 对利用斜面法和橡皮塞法保藏某些丝状真菌的效果进行了研究, 为微生物资源的常规保藏提供了科学的依据, 为现代分子生物学研究所需微生物资源的供应提供了有力的保障。

1 材料

1.1 菌种

供试丝状真菌菌种来源于中国农业微生物菌种保藏管理中心 (ACCC) 库藏菌种。具体菌种名称见表 1、表 2。

1.2 斜面培养基

马铃薯葡萄糖琼脂 (PDA) 培养基^[4]。

2 方法

2.1 斜面保藏法

将菌种接种在斜面培养基上, 在适温下培养至生长良好后, 置 4℃ 保藏。

2.2 橡皮塞保藏法

将菌种接种在斜面培养基上, 在适温下培养至生长良好后, 用灭菌的橡皮塞换下棉塞, 置 4℃ 保藏。

3 结果

3.1 斜面法保藏丝状真菌的效果

用斜面法共保藏丝状真菌 15 属, 30 种, 47 株。保藏时间从 2a 到 13a 不等。结果见表 1 所示。

表 1 斜面法保藏丝状真菌的效果

菌种名称	株数	存活时间(a)	存活情况	菌种名称	株数	保藏时间(a)	存活情况
<i>Alternaria mali</i>	1	2	+	<i>Metarhizium majarosporae</i>	1	2	+
<i>Aspergillus ficuum</i>	1	2	+	<i>M. pingshaense</i>	1	4	+
<i>A. flavus</i>	1	8	+	<i>Metarhizium. sp.</i>	2	2	+
<i>A. foetidus</i>	1	8	+	<i>Monascus anka</i>	4	6	+
<i>A. niger</i>	6	8	+	<i>M. purpureus</i>	1	8	+
<i>A. oryzae</i>	2	10	+	<i>Myrothecium sp.</i>	1	7	-
<i>A. usamii</i>	4	6	+	<i>Neurospora sp.</i>	1	3	+
<i>Aureobasidium pullulans</i>	1	8	+	<i>Papulospora sapidus</i>	1	6	+
<i>Beauveria bassiana</i>	1	13	+	<i>Sporotrichum thermophile</i>	1	6	+
<i>Cochliobolus heterostrophus</i>	1	7	+	<i>Trichoderma atroviride</i>	1	6	+
<i>C. sativus</i>	1	7	-	<i>T. citrinoviride</i>	1	6	+
<i>Fusarium moniliforme</i>	2	8	+	<i>T. konigii</i>	1	9	+
<i>F. oxysporum</i>	2	8	+	<i>T. longibrachiatum</i>	1	6	+
<i>F. solani var. martii</i>	1	8	-	<i>T. viride</i>	2	8	+
<i>Gaeumannomyces graminis</i>	1	10	-	<i>Verticillium albo-atrum</i>	2	7	-

注: “+”为存活的菌株, “-”为未存活的菌株

3.2 橡皮塞法保藏丝状真菌的效果

用橡皮塞法共保藏丝状真菌 25 属, 52 种, 81 株。保藏时间从 7a 到 17a 不等, 结果见表 2 所示。

表 2 橡皮塞法保藏丝状真菌的效果

菌种名称	株数	保藏时间(a)	存活情况	菌种名称	株数	保藏时间(a)	存活情况
<i>Alternaria bokarui</i>	2	8	+	<i>Metarhizium anisopliae</i>	5	16	+
<i>A. longipes</i>	2	8	+	<i>M. cylindrospora</i>	1	13	+
<i>Aspergillus awamori</i>	1	9	+	<i>M. flavoviride</i>	2	9	+
<i>A. foetidus</i>	1	8	+	<i>M. guizhouense</i>	1	15	+
<i>A. niger</i>	6	16	+	<i>M. iadini</i>	1	15	+
<i>A. oryzae</i>	1	9	+	<i>M. majarosporae</i>	1	9	+
<i>A. tubingensis</i>	1	9	+	<i>Metarhizium. sp.</i>	2	17	+
<i>Aureobasidium pullulans</i>	1	8	+	<i>Monascus anka</i>	2	8	+
<i>Beauveria bassiana</i>	7	17	+	<i>Myrothecium verrucaria</i>	1	9	+
<i>Cephalosporium acremonium</i>	1	15	+	<i>Paecilomyces variotii</i>	2	9	+
<i>Cephalosporium. sp.</i>	1	9	+	<i>Penicillium sp.</i>	2	8	+
<i>Cephalothecium roseum</i>	1	8	+	<i>Pyricularia oryzae</i>	2	8	+
<i>Ceratocystis fimbriata</i>	1	14	+	<i>Rhizopus arrhizus</i>	1	8	-
<i>Cochliobolus heterostrophus</i>	1	14	+	<i>R. chinensis</i>	1	7	+

续下页表格

续表2

<i>Colletotrichum agaves</i>	1	8	+	<i>R. cohnii</i>	1	8	-
<i>C. gloeosporioides</i>	1	7	-	<i>R. japonicus</i>	1	7	+
<i>C. hibiscipollacci</i>	1	7	+	<i>R. nigricans</i>	1	8	-
<i>C. lagenarium</i>	1	9	+	<i>R. oryzae</i>	1	10	-
<i>C. panacicola</i>	1	9	+	<i>Rhizopus. sp.</i>	1	10	-
<i>Corticium sasakii</i>	1	8	+	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	1	8	+
<i>Fusarium moniliforme</i>	2	8	+	<i>Scopulariopsis sp</i>	1	7	+
<i>F. oxysporum</i>	1	8	+	<i>Trichoderma konigii</i>	1	8	+
<i>Gloeosporium album</i>	1	15	+	<i>Trichoderma. sp.</i>	2	16	+
<i>Gloeosporium sp.</i>	1	8	+	<i>T. viride</i>	1	14	+
<i>Clomerella cingulata</i>	2	15	+	<i>Valsa mali</i>	1	14	+
<i>gossypii</i>	1	14	-	<i>Verticillium dahliae</i>	2	9	+

注：“+”为存活的菌株，“-”为未存活的菌株

综上所述，用斜面法和橡皮塞法保藏丝状真菌共29属，69种，128株。保藏时间从2a到17a不等，通过斜面转接，其中115株存活，13株未存活，存活率达89.8%。并且，存活的菌株仍维持其原有特性。试验结果表明：斜面法与橡皮塞法是常规保藏某些丝状真菌的简便、可行的方法。

4 讨论

利用斜面法和橡皮塞法保藏某些丝状真菌，保藏时间可达17a，说明用这两种常规方法进行菌种保藏是有效的。并且从以上结果可以看出橡皮塞法保藏的时间明显长于斜面法保藏的时间，从而可以得出橡皮塞法保藏优于斜面法保藏的结论。只不过要证明该结论的正确性，还需作进一步的研究。

在进行菌种保藏时，同一菌株每种保藏方法的每一批，都多于1试管的保藏。在转接时，即使存活的菌株并非每一试管都能成活，说明用以上两种方法保藏某些丝状真菌并非能100%有效。这一点，在以前发表的文章中已有类似的论述^[5]。并且同一试管中不同培养基部位，存活情况也不一样。另外，在检测的7株根霉中，经过一段时间的保藏后有5株失活，失活率超过70%，这一现象说明它们不适于用此两种方法进行较长期的保藏。这就要求我们必须明确斜面法和橡皮塞法等常规菌种保藏方法只是对现代微生物资源长期保存技术的补充，在采用以上两种方法进行菌种保藏的同时，必须并用其它菌种保藏方法来保藏同一菌株，而且都必须定期转接，以确保其存活。

不同的菌株，在哪个生长时期即菌龄适于进行菌种保藏的规律仍有待于进一步研究。即使同一菌株，在什么时候适于进行保藏，在技术上仍有一定的关键问题需进一步探讨。

参考文献

- [1] 中国科学院微生物研究所. 菌种保藏手册. 北京: 科学出版社, 1980.
- [2] 宋明芝, 张树人, 李选成. 微生物学通报, 1982, 9(3): 141~142.
- [3] 覃秀英. 微生物学通报, 1982, 9(2): 89~90.
- [4] 中国农业菌种目录. 北京: 中国农业科技出版社, 1991.
- [5] 黄河, 徐大雅. 真菌学报, 1993, 12(1): 48~53.