

担子菌菌丝体的液体保藏及其产生乙醇的研究*

刘凤春 郭砚翠 梁锦基

(黑龙江省应用微生物研究所, 哈尔滨)

为寻找一种既不破损细胞, 又不需要复杂设备的简易保藏方法, 我们曾介绍过担子菌菌丝体的保藏方法^[1]。为完善这一方法, 又设计了液体保藏法, 并根据 Lemek^[2] 将蘑菇分为生乙醇和生乙醇两类的见解, 探索了保藏菌株产生乙醇与菌丝体存活的关系, 现报告如下。

材料与方 法

菌种: 见结果中表 1、2 所列。

营养液(%) : 马铃薯浸汁 20, 葡萄糖 2, KH_2PO_4 0.3, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.15, 硫胺素微量。

培养基: 麦麸浸液葡萄糖琼脂或综合马铃薯琼脂^[3]。

保藏方法: 150 × 10mm 试管装 5ml 营养液或生理盐水, 1kg 30min 蒸汽灭菌后, 从斜面上取豆粒大小的菌块, 或液体培养的菌丝球, 盛入管内。用胶塞代替棉塞, 常温(四季波动范围 8—32℃)下保藏。

存活检查: 将保藏的菌块或菌丝球移到麦麸浸液葡萄糖琼脂或综合马铃薯琼脂培养基上, 26—28℃ 培养后, 记录其存活情况。

分析方法: 取保藏试管中的液体, 用 Chrom-1 型气相色谱分析仪测定乙醇含量。另取 1.5ml 营养液, 加 1.5ml 氯仿, 振荡 5 分钟, 静置

* 本文曾由中国科学院微生物研究所李钟庆审阅: 麻玉荣、王雅茹参加部分实验工作。

表 1 36 株担子菌液体保藏存活及乙醇检测结果

菌株号及菌名 保藏液 菌丝体或菌块 保藏时间(A)	营 养 液				生理盐水
	菌 丝 体 球		菌 块		菌 块
	33	42	33	42	33
紫芝 (<i>Ganoderma japonicum</i>) 5.69	+++ (0.53)*	+++	+++ (0.53)	+++	-(0)
灵芝 (<i>G. lucidum</i>) 5.65	+++ (0.47)	+++	+++ (0)	+++	-(0)
灵芝 5.75	+++ (0.96)	+++	+++ (0.97)	+++	-(0)
灵芝 5.02	+++ (0.39)	+++	+++ (1.6)	+++	+++ (0)
薄盖灵芝 (<i>G. capense</i>) 5.71	+++	+++	+++ (0.5)	+++	+++ (0)
茯苓 (<i>Poria cocos</i>) 5.78	+++ (1.5)	+++	+++ (0)	+++	+++ (0)
茯苓 5.137	+++ (1.45)	+++	+++ (1.44)	+++	/(0)
木耳 (<i>Auricularia auricula</i>) 5.138	+++	++	++	+++	-
木耳 5.90	+++	+++	+++	+++	+++
木耳 5.05	+++	+++	+++	+++	+++
木耳 5.016	+++	+++	+++	+++	+++
木耳 5.017	+++	+++	++	+++	+++
木耳 5.018	+++	+++	+++	+++	+++
木耳 5.020	+++	-	+	+++	-
木耳 5.021	+++	+++	+++	+++	+++
蘑菇 (<i>Agaricus campestris</i>) 5.133	+(0)	-	++ (0.14)	-	++ (0)
蘑菇 5.145	+(0)	-	+(< 0.1)	++	+(0.1)
二孢蘑菇 (<i>A. bisporus</i>) 5.01	-(< 0.1)	-	-(0)	-	/(0)
香菇 (<i>Lentinus edodes</i>) 5.87	+++ (0.43)	+++	+++ (0.14)	+++	-(< 0.1)
香菇 5.04	+++ (0.57)	+++	+++ (0.30)	+++	+++ (0)
香菇 5.010	+++ (0.46)	+++	+++ (0.27)	+++	-(0.3)
篱边粘褶菌 (<i>Gloeophyotum saebiarium</i>) 5.100	+++ (1.19)	+++	+++ (1.3)	+++	-(< 0.1)
篱边粘褶菌 5.101	+++ (0)	+++	+++ (0.99)	+++	-(0)
密粘褶菌 (<i>G. trabeum</i>) 5.98	-(0.76)	+++	+++ (1.08)	+++	+++ (0)
小皮伞 (<i>Marasmius</i> sp.) 5.152	+++ (1.18)	+++	+++ (1.07)	+++	-(0.22)
安络小皮伞 (<i>M. androsaceus</i>) 5.022	+++ (1.12)	+++	+++ (0.88)	++	+++ (0)
发光假密环菌 (<i>Armillariella tabescens</i>) 5.92	+	++	+(0.76)	++	/(0)
发光假密环菌 5.03	++	+	++ (1.6)	+	++ (0)
毛柄金钱菌 (<i>Collybia velutipes</i>) 5.07	+++ (1.25)	+++	+++ (1.26)	+++	+++ (0)
侧耳 (<i>Pleurotus</i> sp.) 5.08	-(< 0.1)	-	-(0.26)	+++	/(0)
美味侧耳 (<i>P. sapidus</i>) 5.013	-(< 0.1)	+++	-(< 0.1)	-	+++ (0)
金顶侧耳 (<i>P. citrinopileatus</i>) 5.014	-(0.41)	+++	+++ (0.21)	+++	+++ (0)
银耳 (<i>Tremella luciformis</i>) 5.09	+(0.11)	-	+++ (0.24)	+++	+++ (0)
猴头菌 (<i>Hericium erinaceus</i>) 5.011	+++ (0.1)	+++	+++ (< 0.1)	+++	-(0)
毛柄金钱菌 5.012	+++ (1.12)	+++	+++ (0.75)	+++	+++ (0)
紫晶口蘑 (<i>Tricholoma sordidum</i>) 5.015	+++ (0.52)	+++	+++ (0.36)	污染	+++ (0)

* +++, ++, +, - 分别表示菌丝体生长良好、一般、较差和未生长; 括号内表示乙醇含量百分数 (V/V)。

1 昼夜,再振荡 5 分钟,然后用滴管取下层 1ml 以红外分光光度计检测甾体化合物。

结果与讨论

一、菌株的存活情况

36 株担子菌的液体保藏结果总结于表 1。

营养液保藏 33 个月和 42 个月后,液面多形成厚膜,菌丝沿管壁向上生长。经培养试验表明,保藏 33 个月后,菌丝体球存活 89.2%,菌块存活 91.9%;42 个月后,菌丝体球存活 83.9%,菌块存活 88.9%。生理盐水保藏菌块 33 个月,有 70% 存活,而保藏菌丝体球 39 个月后仍存活。

由于本文介绍的液体保藏法无需贵重设备,菌丝体球的存活时间与用菌块法保藏相比,后者效果似更好,这样,可以省去培养菌丝体球的步骤。从乙醇测定情况看,保藏菌块与菌丝体球亦无明显差别。

二、菌株在保藏过程中生成乙醇的情况

36 株液体保藏的担子菌在保藏过程中产生乙醇的情况亦见表 1。虽然有担子菌产生乙醇的报道^[4,5],但将担子菌分成产生和不产生乙醇两类的观点仍有人持异议。还有人认为在常温保藏过程中,担子菌会由于自身产生的乙醇毒害致死^[2]。为此我们进行了乙醇含量检测,在保藏过程中未见由于乙醇毒害致死的情况。相反,由表 1 来看,不产乙醇的菌株反而易死亡,其原因可能是由于活化菌株时一些条件影响所致。Lemcke 所称乙醇会使担子菌自身被毒死,可能与乙醇形成量较多有关,我们用营养液常温保藏,担子菌所形成的乙醇量未达致使菌株中毒死亡的水平。

由表 2 可见,同属中不同种的产生乙醇量

大致相同,而不同属中,乙醇产生量不同,可分为四类。即几乎不产生乙醇的及乙醇生成量在 0.1—0.5%、0.5—1.0% 和 1.0% 以上的。在所测定的 36 株担子菌中,乙醇生成量在 0.1% 以下者占 36.1%,生成量在 0.5% 以上者占 41.7%,生成量在 0.1—0.5% 之间者占 22.2%。

表 2 几属担子菌在保藏液中产生乙醇量的范围

乙醇生成范围	担子菌属名
<0.1%	木耳属、蘑菇属、猴头属
0.1—0.5%	香菇属、侧耳属、口蘑属
0.5—1.0%	灵芝属
>1.0%	伏苓属、长根菇属、粘杆菌属、密环菌属

三、关于发光假密环菌的根状菌索

以营养液保藏发光假密环菌 5.92 菌株,发现其根状菌索不易退化,而用冰箱保藏的该菌株,根状菌索移种 9 次即不再出现。

四、液体保藏对形成子实体的影响

检测了液体保藏的 6 株木耳菌形成子实体的能力,结果表明,和用生理盐水保藏菌丝体球的方法^[1]一样,用营养液保藏菌丝体块,也不影响其形成子实体的能力。

参 考 文 献

- [1] 黑龙江省应用微生物研究所菌种保藏研究室:微生物学通报, 5(4): 35, 1978。
- [2] Lemke, G.: Beobachtungen bei der Kuhlagerung von Kornerbrut, *Mushroom Science VII*, Proceedings of the Second Scientific Symposium and the Seventh International Congress on Mushroom Science, Hamburg, Wageningen, Centre for Agricultural Publishing and Documentation, 1969, pp. 543.
- [3] 刘凤春等:食用菌, 1: 13, 1981。
- [4] Nord, F. F. et al.: *Arch. Biochem.*, 9: 419—437, 1946.
- [5] D. Perlman: *Am. J. Bot.*, 37: 237—241, 1950.