

液氮超低温冻结保藏酵母菌十年的检测报告

贾建华

(中国科学院微生物研究所普通微生物保藏管理中心 北京 100080)

摘要 采用液氮超低温冻结保藏酵母菌 48 属 129 种 1630 株,保藏十年后检测其存活率为 96.5%。

关键词 液氮超低温冻结保藏, 酵母菌, 存活率

分类号 Q93.336

酵母菌液氮超低温冻结保藏的方法国外文献有过报道。在 1991 年微生物通报也曾载有 28 属 84 种 296 株酵母菌 3 年半全部存活的报告^[1]。本文报道 48 属 129 种 1630 株酵母菌通过液氮超低温冻结保藏十年存活率为 96.5% 的结果。

1 材料与方法

1.1 菌种

48 属 129 种 1630 株。

1997-04-02 收稿

1.2 培养基

12Brix 麦芽汁琼脂斜面。

1.3 保护剂

10% 甘油 (G) 指菌悬液最终浓度, 分别装入安瓿瓶中每瓶 1ml。

1.4 细胞悬液

于 28℃ 培养 3~5 天 (不同菌株培养时间不同) 的细胞, 分别悬浮于装有保护剂的安瓿中。

1.5 冻结和融化

冻结: 控制降温速度 1℃ / min, 由室温将安瓿中悬液冻到 -40℃, 然后将安瓿放入液氮超低温生物罐中气相 -160℃ ~ -170℃ 左右保存。

融化: 从液氮生物储罐中取出保存菌种, 立即在 40℃ 水浴中融化。

1.6 培养

用接种环将经过冷冻保藏而融化的菌悬液接种于麦芽汁斜面上, 25℃ 培养 3~5 天, 观察记录生长情况。

2 结果与讨论

本文所检测的 48 属 129 种 1630 株酵母菌是经过十年液态氮超低温冻结保藏, 其存活率为 96.5% (见表 1)。其中有 57 株未存活, 从失活的属种看阿舒多囊霉 (*Crebrothecium ashbyii*) 1 属 1 种 3 株全部失活。此菌除继代保存外其它保存方法长期保存均不理想, 关于它的保藏方法还有待于进一步研究。另外在 57 株失活的菌株中地霉属 (*Geotrichum*) 有 37 株未活, 占失活菌株 60% 左右, 这一现象引起了我们的注意, 并对这些菌株做了进一步的保藏方法试验。

综上所述液氮超低温冻结保藏法对于酵母菌的长期保藏是一个有效的好方法。对于有生理活性的菌株在冻结保藏后仍保持着其活性, 这点在以前发表的文章中已有论述^[2~7]。对于未存活的菌株在今后还需要做进一步实验, 其结果将再做报道。

表1 48属, 129种, 1630株酵母菌经液氮超低温冻结保藏10年的结果

菌 名	测定株数	存活株数
<i>Aciculiconidium aculeatum</i>	1	1
<i>Ambrosiozyma platypodis</i>	1	1
<i>Arthroascus javanensis</i>	2	2
<i>Ashbya gossypii</i>	2	2
<i>Bullera alba</i> var. <i>lactis</i>	1	1
<i>B. deryi</i>	1	1
<i>B. oryzae</i>	1	1
<i>B. pseudoalba</i>	1	1
<i>B. sinensis</i>	1	1
<i>Candida albicans</i>	2	2
<i>C. famata</i>	2	2
<i>C. guilliermondii</i>	2	2
<i>C. inoispicua</i>	1	1
<i>C. krusei</i>	1	1
<i>C. lambica</i>	1	1
<i>C. macedoniensis</i>	1	1
<i>C. parapsilosis</i>	3	3
<i>C. pseudotropicalis</i>	1	1
<i>C. rugosa</i>	12	12
<i>C. solani</i>	1	1
<i>C. sp.</i>	11	7
<i>C. tropicalis</i>	14	14
<i>C. utilis</i>	5	5
<i>C. vini</i>	1	1
<i>Citeromyces matritensis</i>	3	3
<i>Clavispora lusitanae</i>	2	2
<i>Crebrothecium ashbyii</i>	3	0
<i>Cryptococcus laurentii</i>	2	2
<i>C. neoformans</i>	1	1
<i>Debaryomyces hansenii</i>	5	5
<i>D. polymorphus</i>	1	1
<i>D. pseudopolymorphus</i>	1	1
<i>Endomyces decipiens</i>	1	1
<i>Filobasidiella neoformans</i>	2	2
<i>Filobasidium capsuligenum</i>	1	1
<i>F. uniguttulatum</i>	2	2
<i>Geotrichum candidum</i>	9	4
<i>G. ludwigii</i>	1	1
<i>G. robustum</i>	1	1
<i>G. sp.</i>	48	18
<i>G. suaveolens</i>	1	0

(续表)

菌 名	测定株数	存活株数	菌 名	测定株数	存活株数
<i>Guilliermondella selenospora</i>	1	1	<i>R. glutinis</i>	8	6
<i>Hanseniaspora uvarum</i>	1	1	<i>R. lactosa</i>	1	1
<i>H. valbyensis</i>	1	1	<i>R. marina</i>	1	1
<i>Hansenula anomala</i>	31	31	<i>R. minuta</i>	4	4
<i>H. arabitoligenes</i>	1	1	<i>R. rubra</i>	15	15
<i>H. beckii</i>	1	1	<i>R. sinensis</i>	1	1
<i>H. bimundalis</i>	2	2	<i>R. sp.</i>	2	2
<i>H. capsulata</i>	1	1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	228	228
<i>H. jadianii</i>	2	2	<i>S. exiguus</i>	2	2
<i>H. minuta</i>	1	1	<i>S. sp.</i>	26	17
<i>H. mrakii</i>	1	1	<i>S. unisporus</i>	1	1
<i>H. petersonii</i>	1	1	<i>Saccharomycodes ludwigii</i>	3	3
<i>H. saturnus</i>	2	2	<i>S. sinenses</i>	1	1
<i>H. silvicola</i>	1	1	<i>Saccharomycopsis capsularis</i>	1	1
<i>H. subpelliculosa</i>	8	8	<i>S. fibuligera</i>	7	7
<i>H. wingei</i>	1	1	<i>S. lipolytica</i>	15	15
<i>Issatchenkia scutulata</i>	1	1	<i>Schizoblastosporion starkeyi</i>	1	1
<i>Kloeckera apiculata</i>	4	4	<i>henricii</i>		
<i>Kluyveromyces lactis</i>	1	1	<i>Schizosaccharomyces japonicus</i>	5	5
<i>K. marxianus</i>	2	2	<i>S. malidevorans</i>	2	2
<i>K. polysporus</i>	1	1	<i>S. octosporus</i>	4	4
<i>K. thermotolerans</i>	1	1	<i>S. pombe</i>	16	16
<i>K. vanudenii</i>	1	1	<i>Sporidiobolus johnsonii</i>	1	1
<i>Leucosporidium scottii</i>	3	3	<i>S. ruinenii</i>	1	1
<i>Lipomyces starkeyi</i>	3	2	<i>Sporobolomyces holsaticus</i>	1	1
<i>Lodderomyces elongisporus</i>	2	2	<i>S. odoratus</i>	1	1
<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	3	3	<i>S. roseus</i>	3	3
<i>M. zobellii</i>	1	1	<i>S. salmonicolor</i>	2	2
<i>Nadsonia elongata</i>	1	1	<i>Sporopachydermia cereana</i>	1	1
<i>N. fulvescens</i>	3	3	<i>Stephanoascus ciferrii</i>	1	1
<i>Pachysolen tannophilus</i>	2	2	<i>Sterigmatomyces halophilus</i>	2	2
<i>Pachytichospora transvaalensis</i>	1	1	<i>Sympodiomyces parvus</i>	1	1
<i>Phaffia rhodozyma</i>	1	1	<i>Torulaspora delbrueckii</i>	8	8
<i>Pichia burtonii</i>	3	3	<i>Trichosporon capitatum</i>	1	1
<i>P. farinosa</i>	5	5	<i>T. cutaneum</i>	4	2
<i>P. membranaefaciens</i>	5	5	<i>Trigonopsis variabilis</i>	2	2
<i>P. ohmeri</i>	1	1	<i>Wickerhamia fluorescens</i>	2	2
<i>P. rhodanensis</i>	1	1	<i>Wickerhamiella domercqii</i>	1	1
<i>P. wickerhamii</i>	1	1	<i>Zygosaccharomyces bailii</i>	2	2
<i>Rhodospiridium sphaerocarpum</i>	2	2	<i>Z. bisporus</i>	1	1
<i>R. toruloides</i>	2	2	<i>Z. microellipsoides</i>	1	1
<i>Rhodotorula aurantiaca</i>	1	1	<i>Z. rouxii</i>	9	9

参 考 文 献

- [1] 贾建华,元伟. 微生物学通报,1991,18(1): 41~44.
- [2] 李钟庆,元伟. 真菌学报,1984,3(3): 178~187.
- [3] 朱丽钊,李钟庆. 真菌学报,1987,6(1): 46~50.
- [4] 谢玉梅,从兆海. 真菌学报,1987,6(1): 51~57.
- [5] 马廷生. 微生物学报,1986,26(2): 164~169.

[6] 周玉瑶,李钟庆. 微生物学论文集,北京: 科学出版社, 1985,45~51.

[7] Kozaburo Minkata and Isao Banno. Preservation of Yeast Cultures by Freezong at -80°C , Japanese Journal of Freezing and Drying, 1986, Vol.32, 58~63.