

竹荪菌丝体增殖与培养基 pH 值的关系

裴致达 陈连庆

(中国林业科学研究院亚热带林业研究所)

摘 要

对生长在不同 pH 值液体培养基中的竹荪菌丝体增殖情况进行研究, 结果表明: 在 pH 值 4.1—5.1 的条件下, 菌丝体增殖最快, 对 C、N、P 等营养元素的吸收、利用水平最高。

关键词 竹荪; 菌丝体; pH 值; 增殖

竹荪 (*Dictyophora indusiata* (Vent. ex pers.) Fischer) 是世界上著名的珍贵食用菌, 是我国传统的出口商品。它的营养价值、药用价值和经济价值已为越来越多的人所了解。野生竹荪的数量极其有限, 且采集不易, 产量很低。为了适应国内外市场对竹荪的迫切需要, 近年来我所科研人员进行了野生竹荪引种驯化工作, 已获成功。

在发展竹荪生产过程中, 制备各级纯菌种是首要问题。常规的固体培养制备原种、生产种的方式耗工多, 生长周期长, 这远不能适应竹荪生产发展的需求。为了加速菌丝体的增殖, 缩短培养时间, 我们对二级菌丝的培养方法进行了新的探索。1987年初对竹荪菌丝采用液体培养并对竹荪菌丝在不同 pH 值溶液中的生长特性进行观察研究, 现简报如下。

一、材料和方法

1. 供试菌种 亚林86109。

2. 培养基 亚林PLA。

3. 培养液 pH 值的调整 用 10% NaOH、1% NaOH 和 1% HCl 调节培养液的 pH, 分别配制成 pH 值为 3.0、3.5、3.8、4.1、4.4、4.7、5.1、5.5、6.0 九个梯度的培养液。各取 100ml 分别置于 250ml 三角瓶中, (重复三次) 经 $1.05\text{kg}/\text{cm}^2$ 高压灭菌 15 分钟。

4. 接种培养 在无菌条件下, 取液体竹荪菌丝 5ml 接种于盛有培养液的三角瓶中, 每瓶接种竹荪菌丝重量为 0.0016g 左右 (折为干重)。接种后放在 HSZ-1 型弧型往返生物液体培养振荡台上, 振荡培养 20 天。

5. 菌丝重量测定 将菌丝培养液在中速滤纸上过滤。菌丝用蒸馏水漂洗3次, 风干, 放入铝盒, 在 60 ± 1 °C条件下烘干称重。

6. pH值测定 取25ml培养液置于小烧杯中, 用SPM-10型数字式pH计进行测定。

7. 氮的测定 用康维皿扩散法测定培养液中剩余氮的含量。

8. 糖的测定 用蒽酮比色法, 在722型光栅分光光度计上测定培养液中剩余糖, 再换算成碳含量。

9. 磷的测定 以抗坏血酸还原, 钼兰比色法, 在722型光栅分光光度计上测定培养液中剩余磷的含量。

10. 镁、锰的测定 用原子吸收分光光度法在WFX-1A型原子吸收分光光度计上测定培养液中剩余镁、锰的含量。

二、结果和讨论

(一) 培养液pH值变化情况

1. 培养液pH值在高压灭菌后的变化 调节pH值后的培养液经高压灭菌后, 测定其pH值的变化, 结果见表1。看出在pH值3.0—4.7范围内的培养液, 灭菌后与初始pH对照有所升高, 升高幅度是0.02—0.09; pH5.1—6.0培养液灭菌后pH值是减小的趋势, 减小的幅度是-0.02—-0.04。考虑到所用酸度计读数分辨为0.01pH, 准确度为 $\leq \pm 0.02$ pH, 因此, 可以说灭菌前后培养液pH变化不大, 故本试验仍以培养液初始pH值为基本酸度。

另外, 在本试验的预备试验中, 曾配制了pH6.5—8.0的几个梯度的培养液。经高压灭菌后, pH值 ≥ 7.0 的培养液均产生了沉淀物, 颜色呈黄棕色。这是由于在碱性高温条件下, 培养液中一些物质发生化学反应所致。这种培养液已不适于菌丝的培养, 事实上经培养后也一直没有新的菌丝体长出, 原来接种的菌丝也产生了自溶。

2. 二十天后培养液pH值的变化 培养20天后, 九个梯度培养液的pH值与初始pH值对照均是下降趋势, 结果见表1。笔者分析, 这是由于本试验所用培养液是以铵态氮做为菌丝体生长的氮源, 随着 NH_4^+ 被吸收利用, 使培养液酸性有所增加, pH值下降。此外, 菌丝体在增殖过程中的代谢产物也会引起酸度的变化。结合下面将要提到的, 不同pH值培养液中菌丝体增殖情况, 也能看出: 细胞本身对外界pH反应在一定范围内具有调节作用, 使其朝着适合于本身生存的条件变化。从变化幅度看, pH3.0—4.7的培养液下降幅度较小是0.1—0.3pH值。pH5.1—6.0培养液下降了0.5—0.8pH。见表1。

pH6.5和6.8的培养液, 在竹荪菌丝的培养过程中溶液颜色逐渐加深呈黄棕色, 有沉淀发生。虽然有一定数量的菌丝增殖, 在正式试验中还是将其舍去, 以pH值6.0作为本试验培

表 1 培养液 pH 值变化

初 始 pH值	灭 菌 后 pH值	Δ pH	20 天 后 pH值	Δ pH
3.00	3.05	+0.05	2.90	-0.10
3.50	3.59	+0.09	3.30	-0.20
3.80	3.89	+0.09	3.60	-0.20
4.10	4.15	+0.05	3.90	-0.20
4.40	4.42	+0.02	4.20	-0.20
4.70	4.72	+0.02	4.40	-0.30
5.10	5.06	-0.04	4.35	-0.55
5.50	5.47	-0.03	4.70	-0.80
6.00	5.98	-0.02	5.20	-0.80

养液的上限。

(二) 菌丝体增殖情况

接种后培养4日，接入的菌丝体即开始增长，数日后菌丝球逐渐增大，数目增多，悬浮于培养液中。在显微镜下观察，菌丝球为菌丝体密集交织而成，形似绒球，色白，直径2—8mm。菌丝体无色透明，宽度为10μ左右，细胞内充满细胞质，其间有较多的气泡。液体培养的菌丝比斜面培养的菌丝具有更多的锁状联合。

培养20天后，测定菌丝体重量(以每升培养液中含有菌丝干重克数表示)。由图1可看出，适合于竹荪菌丝体生长的pH范围很宽，但在pH为4.1—5.1的酸度条件下生长较好，尤以pH4.7的条件为最。

(三) 培养液中营养成分的消耗

碳源、氮源和各种矿质营养是菌丝体生长重要的营养来源。接种后培养20天测定营养液几种主要营养元素剩余量(见表2)，并分析菌丝体重量与营养元素的回归关系(见表3)。看出在pH4.1—5.5范围内培养液中剩余的氮、磷含量较低，碳剩余量在pH3.8—5.5范围内低于其它pH值营养液的含量。氮、磷、碳、镁等含量都是以pH值4.7时最低，它们的消耗与菌丝体的增殖情况是一致的。表明竹荪菌丝体对各种营养物质的吸收、利用是随营养液pH的变化而不同。从回归分析看出菌丝体增殖与其对氮、碳、磷的利用呈极显著相关。

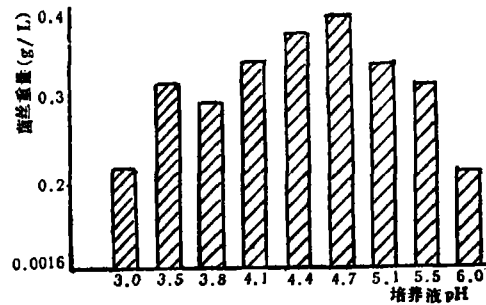


图1 菌丝体在不同pH值培养液中增殖量

表2 培养液中几种元素剩余量

pH	3.0	3.5	3.8	4.1	4.4	4.7	5.1	5.5	6.0
N(g/l)	0.1348	0.1258	0.1303	0.1228	0.1228	0.1150	0.1213	0.1250	0.1294
P(g/l)	0.229	0.229	0.229	0.225	0.220	0.220	0.220	0.222	0.233
C(g/l)	3.185	3.032	2.879	2.879	2.730	2.730	2.879	2.879	3.021
Mg(g/l)	0.055	0.053	0.045	0.043	0.041	0.038	0.039	0.041	0.041
Mn(ppm)	1.14	1.07	1.03	0.964	0.964	0.985	1.00	1.035	1.00
菌丝重(g/l)	0.2199	0.3255	0.3040	0.3486	0.3819	0.3986	0.3482	0.3221	0.2193

表3 菌丝体重量(X)与培养液中剩余营养元素的回归关系

剩余营养元素	r	理论回归方程	r _{0.01}	r _{0.05}
N	-0.8857***	y = 0.151 - 0.080 x	0.735	0.602
P	-0.8063***	y = 0.246 - 0.066 x	0.735	0.602
C	-0.8178***	y = 3.555 - 2.016 x	0.735	0.602
Mg	-0.5225	y = 0.059 - 0.049 x	0.735	0.602
Mn	-0.6372	y = 1.202 - 0.568 x	0.735	0.602

三、小 结

液体培养竹荪菌丝体，营养液pH值是影响其增殖的重要因素。在pH值3.0—6.0范围内，菌丝体均能正常生长，在pH4.1—5.1条件下增殖较快，尤以pH4.7时为最。

不同的pH对菌丝体营养物质的吸收和利用有较显著的影响。在pH4.1—5.1条件下，营养物质利用率最高，菌丝体的增殖与氮、

碳、磷等营养关系极为密切。

影响竹荪菌丝增殖的因素很多，pH 是其中之一，其它单因子和综合因子对竹荪菌丝体增殖的试验正在进行。

参 考 文 献

- [1] 陈连庆, 1985, 短裙竹荪室内栽培试验, 林业科技通讯, (5)。
- [2] 陈连庆, 1986, 竹荪室外生料畦栽试验, 林业科技通讯, (1)。
- [3] 扬庆尧, 1985, 食用菌生物学基础, 上海科学技术出版社。
- [4] 潘瑞炽、董愚得, 1982, 植物生理学, 人民教育出版社。
- [5] 林芳灿、刘治根, 1986, 食用菌生产指南, 湖北科学技术出版社。
- [6] 中国土壤学会农业化学专业委员会, 1984, 土壤农业化学分析方法, 科学出版社。

THE GROWTH AND MULTIPLICATION OF *DICTYOPHORA INDUSIATA* MYCELIA WITH RELATION TO PH VALUES OF MEDIA

Pei Zhida

Chen Lianqing

(The Research Institute of Subtropical Forestry CAF)

Abstract

The circumstance that myceliums of *Dictyophora indusiata* grew and incubated in liquid media with different pH values were presented in the paper. The most quickly growing and multiplication of the myceliums and the highest levels of absorption and utilization on the nutrient elements such as C, N, P etc, under the conditions of pH 4.1—5.1 were proposed.

Key words: *Dictyophora indusiata*, mycelia, pH value, growth and multiplication