

茯苓纯菌种的培育方法

福建省三明地区真菌试验站

用纯菌种来种植茯苓是目前茯苓生产中一项比较先进的技术措施。它的优点很多,其中最主要的是:防止种苓衰老和退化;可以大量生产种苓,满足社队扩大生产的需要;节省种苓,便于运输,降低生产成本。

茯苓纯菌种的培养方法并不复杂,为了适应茯苓生产的需要,现作如下介绍。

种苓的选择

“好种出好苗”。种苓质量的好坏,关系到今后培养出来的菌种的生活力强弱及产量的高低。因此,一定要按下列要求,严格地进行选择。

一、选择好的品系

茯苓的品系很多,如云苓(云南产)、皖苓(安徽产)、鄂苓(湖北产)、建苓(福建产)。不管那一个品系,它们的优良性状都不是一下子形成的,而是长期自然选择和人工选择的结果。特别是已被栽培的品系,它们的优良性状是从它们开始驯化时就积累而形成的,只有选择好品系,才能培养出好的菌种。

二、选择好的种苓

作为种苓的要求是:菌核个大、质坚、皮红(薄)、肉白、浆多。其中个大是主要的。因为个大,常是种苓生活力旺盛的标志。只有好的种苓加上好的生活条件,才能长出大的茯苓(菌核)来。但种苓太大,个体已衰老,分离后常不结苓,也应注意。

三、种苓的评选

在茯苓采挖季节,选择若干符合上述要求的种苓,进行再次比较,从中选出更好的种苓来进行分离。分离要及时,出土后一般不超过15天,防止久置干燥或长霉影响菌种的生活力。

母种的分离和培养

第一次用种苓组织(即菌核组织)或孢子分离出来的菌种,通常称为茯苓母种。

一、培养基的制备

可以用来分离和培养茯苓母种的培养基种类很

多,常用的是马铃薯葡萄糖琼脂培养基,其成份为:马铃薯 200—250 克,葡萄糖 20 克,琼脂 20 克,水 1000 毫升, pH 5.6—6.7。

在上述培养基中,如果加入少许的酵母粉、蛋白胨或尿素,可使菌丝体生长更加旺盛。培养基配制好后,1 公斤/厘米²高压灭菌 30 分钟。

二、分离方法

(一) 菌核组织分离法

此法就是利用茯苓菌核中的菌丝体在培养基上生长发育成纯菌丝体。

1. 种苓表面的无菌处理,可用无菌水把种苓表皮冲洗数次,再用纱布揩干。也可用 70% 的酒精擦洗种苓表皮。

2. 种苓的剖开:把种苓放在无菌箱中,用无菌刀把种苓剖开,剖种苓的小刀,用酒精灯火焰灼热灭菌。

3. 接种:用灭菌的接种针,从种苓中央,刮取黄豆大的一块菌核组织(苓块),接种在试管培养基上。接种时要迅速、准确。必须把苓块放到试管的基部,以利长出菌丝的移植。

为了防止母种多次移植而使生活力降低。分离母种时,必须尽可能多接几管,一般接一百管左右。

用茯苓组织来分离菌种,虽然很简便,但是这种分离方法,所得到的后代都是无性繁殖后代。这种无性繁殖后代在条件优良时不易退化,但条件较差时,就很容易衰老、退化。为此,我们必须用孢子来获得茯苓有性繁殖的后代。

(二) 孢子分离法

1. 茯苓子实体的生成:茯苓露土或采挖后不久,菌核的表皮就会长出一种大小不一的蜂窝状子实体。这种子实体就是茯苓有性繁殖器官。一个手掌大的茯苓子实体,大约可以产生 200 亿个担孢子。

在气温 24—26℃,空气湿度 70—85% 时,孢子就大量扩散出来。

2. 孢子的采集:孢子极微小,只有芝麻体积的 1/800 大,掉落,很容易被风吹远。为此,接种时可以采用如下几种方法:

(1) 空中捕捉法:把试管的棉塞拔开,使管口对准孢子云,迅速捕捉,使孢子落在试管中的培养基上。

(2) 附着法: 把培养皿倒翻过来, 使上升的孢子附着在培养皿内的培养基上, 把培养皿盖好, 进行培养。待长出菌丝后, 连琼脂一起, 移入斜面试管培养。

(3) 玻片采集法: 将灭菌的玻璃片置于茯苓菌核上, 使上升的孢子落满玻璃片呈白粉状, 然后从玻璃片上挑取少量孢子, 接种在培养基上。

(4) 贴附法: 用无菌解剖刀把茯苓子实体表面切去, 再切取一小块子实体, 贴附在试管内的培养基上方, 待孢子掉落, 挑取落于琼脂培养基表面的茯苓孢子, 移入另管中培养。

三、培养

接种后的试管, 在 28—32℃ 培养 2—3 天就可以看到孢子或茯苓块长出菌丝体来, 这就是茯苓纯菌种(母种)。

在培养过程中, 如果发现杂菌污染者应淘汰。母种若不及时使用, 应放在 4℃ 左右的冰箱中保存。

原种的培养

按照上述的方法, 我们就可以培养出茯苓的母种来。但这种母种, 数量少, 不能直接用于生产上。为此, 必须把母种进行扩大培养。扩大培养的母种, 通常称为原种。

一、培养基

组份(%): 松木屑 75—77, 米糠(或麸皮) 20, 蔗糖(红糖或白糖) 2—4, 石膏粉 1, 水适量。

制做方法: 将石膏粉、松木屑、米糠拌匀, 蔗糖溶于水。料水比 1:1—1.5, 充分搅拌, 使培养料含水量在 60—65% (即手握培养料指间有水痕为度)。然后, 分装于菌种瓶中, 压实, 中央插一个达瓶底的洞, 然后塞上棉塞, 1.5 公斤/厘米² 灭菌 45—60 分钟(或常压蒸汽灭菌 6—10 小时)。灭菌后, 冷却备用。

因木屑细而养料容易很快耗完, 会使原种生活力降低, 为防止这一点, 可将木屑改为 1 厘米³ 的小木块。其培养基成份(%)如下: 小木块(松木) 65, 松木屑 11, 米糠 22, 红糖 1, 石膏粉 1。

二、接种

在无菌室内, 用接种针挑取一块母种, 接种在原种培养基上。为了使菌种迅速生长, 接种量可以大一些, 一般一支母种试管接 3—5 瓶为宜。

三、培养

接种后, 将瓶子置 28—32℃ 培养, 约 20—30 天菌

丝就可以长满全瓶。在培养过程中, 应注意观察, 发现长有杂菌的瓶子应淘汰。

四、原种的保存

原种长满瓶后, 应立刻扩大为栽培种, 否则一旦营养耗光, 菌丝就会衰亡。

在个别情况下, 原种长满后可以保存一段时间, 以备将来使用。但原种必须保存在干燥、冷凉和清洁的地方, 防止原种长霉、衰老和发生病虫害。

栽培种的培养

原种经过扩大之后通常就称为栽培种。

一、木屑菌种

(一) 培养基成份(%)

松木屑 69.5—72.0, 米糠或麸皮 25, 过磷酸钙 1, 蔗糖 3—5, 石膏粉 1.0—1.5, 尿素 0.4, pH 6—7。

(二) 制作方法

先将蔗糖、尿素溶在水里, 松木屑、石膏粉、米糠、过磷酸钙拌均匀后, 再将糖水和在里面, 使含水量达 60% 左右, 即手握见两指间有水痕即可。

二、种木菌种

(一) 培养基成份(%)

松木片(长 10—12 厘米, 宽 2—4 厘米, 厚 0.5—1 厘米) 66, 松木屑 10, 米糠 21, 石膏粉 1, 蔗糖 2, pH 6—7。

(二) 制作方法

1. 先把蔗糖溶解在全部用水量的 2/3 的水里, 倒入锅中, 再把干木片放在锅里煮 30 分钟, 煮时注意搅动, 使木片吸足糖水。然后装入菌种瓶中, 每瓶约 16—20 片。

2. 把米糠、松木屑、石膏粉一起和匀, 再把煮过木片的糖水拌在一起, 装入上述瓶中木片周围及表面(约 1—2 厘米厚)塞上棉塞, 包上牛皮纸, 1.5 公斤/厘米² 灭菌 1 小时(或常压灭菌 6 小时)。木屑菌种培养基灭菌方法与此相同。

(三) 接种

无菌操作挑取原种一块(约花生米大), 接种到培养基, 置 28—32℃ 培养 20—30 天, 菌丝长满后即可接种到段木或树桩上。