

朴菇菌丝球液体培养的研究

黄文芳 赵小娟 李国盛

(华南师范大学生物系,广州)

摘要 本文报道在不同的液体培养基深层培养朴菇 [*Flammulina velutipes* (Fr.) Sing.] 菌丝球的生长情况和培养液中氨基酸、糖含量以及 pH 值的变化,为开发液体培养朴菇菌种提供一定的参考价值。

关键词 朴菇;培养基;菌丝球;液体培养

朴菇 [*Flammulina velutipes* (Fr.) Sing.], 又名金针菇。它含有较高的赖氨酸,对促进儿童生长发育和增进智力有一定的效果^[1]。目前栽培朴菇,一般都采取固体培养法^[2,3]。作者进行了液体培养朴菇菌丝球的一些实验,现报道如下。

材料和方法

(一) 菌种

朴菇菌种 8201, 来自福建省三明真菌研究所。

(二) 培养基制备

1. 玉米粉培养基(%): 玉米粉 2, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.075, $KH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ 0.15, 葡萄糖 2, pH 5.2。

2. 豆饼粉培养基(%): 豆饼粉 2, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.075, $KH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ 0.15, 葡萄糖 2, pH 5.3。

3. 蛋白胨培养基(%): 蛋白胨 2, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.075, $KH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ 0.15, 葡萄糖 2, pH 5.2。

4. 酵母蛋白胨培养基(%): 酵母膏 1.5, 蛋白胨 1.5, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.075, $KH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ 0.15, 葡萄糖 2, pH 5.2。

(三) 液体菌种的制作

采用酵母蛋白胨培养基培养。500ml 的三角锥瓶装 120ml 培养液,经 $1kg/cm^2$ 高压蒸汽灭菌 30 分钟。无菌操作接种 3—4 块指甲大小的斜面菌种,置于 THZ-82 型恒温摇床上,24—26℃ 下,140—150r/min, 培养 4 天作为液体菌种。

(四) 液体发酵培养

采用 1000ml 三角锥瓶,每瓶装入 400ml 培养液,经 $1kg/cm^2$ 高压蒸汽灭菌 30 分钟。无菌操作每瓶接入 15ml 液体菌种。置于 HZ-81 型摇床上,24—26℃ 下,140—150r/min, 培养 7 天。

(五) 测定方法

1. 含糖量测定: 菌液含糖量采用 3, 5-二硝基水杨酸比色定糖法测定。721 型分光光度计测定 OD 值。

2. 菌丝球干重的测定: 培养液于 2500r/min 离心 10 分钟,取菌丝球于 105℃ 下烘干至恒重。

3. 菌丝球数目的测定: 取 1—2ml 培养液于培养皿中,在菌落计数器下计算菌丝球数目

4. 菌液的氨基酸分析: 经过离心的上清液,采用日立 835-50 氨基酸自动分析仪进行氨基酸分析。

结 果

(一) 不同培养基中,朴菇菌丝球生长情况的比较

朴菇菌丝球在不同的培养基中,经过振荡培养七天后的结果如表 1。从总体看,豆饼粉培养基比较适合于朴菇菌丝球生长。主要表现在生长速度快,菌丝球数量多,大小比较均匀。菌液具有朴菇特有的香味,清晰透明。在蛋白胨培养基以及酵母蛋白胨培养基中,朴菇菌丝球的生长量与豆饼粉中差不多,但菌丝球较大,且不均匀,少数菌丝球呈黑色,使整个培养液的颜色由原来的棕色变为棕黑色,香味不浓。在玉

表 1 朴菇菌丝球在不同培养基中生长情况比较

培养基	菌丝球数(个/ml)	菌丝球大小 (mm)	菌丝球干重(g/100ml)	色、香、味
玉米粉	218	0.5-3.0	0.608	菌丝球为白色,无特殊香味,菌液为淡棕色
豆饼粉	484	0.5-2.0	1.094	菌丝球白色,有金针菇特殊香味,菌液为棕色
蛋白胨	53	1.0-3.0	1.062	菌丝球灰白色为多,极少数为黑色,香味淡,菌液棕黑色
酵母蛋白胨	42	1.0-4.0	1.025	菌球灰白色,少数为黑色,无香味,菌液为棕黑色

振荡培养 7 天,下同

米粉培养基中,朴菇菌丝球生长较差。

(二) 朴菇菌丝球在不同培养基中对糖的利用

朴菇菌丝球在不同的培养基中,对糖的利用不尽相同(如表 2)。本试验结果表明,玉米粉培养基中,菌丝球对糖的利用率最低,这与其生长差是相一致的。其它三种培养基中,菌丝球对糖的利用率都在 60% 以上,最高的可达 80.95%。这与它们的生长较好、生物量较高是一致的。所以,菌丝球对糖物质利用得多,它所合成的生物量也多。

表 2 朴菇菌丝球在不同的培养基中对糖的利用

培养基	培养液含糖量 (mg/ml)	培养后菌液含糖量(mg/ml)	糖的利用率 (%)
玉米粉	24.00	19.16	20.17
豆饼粉	25.00	6.10	75.59
蛋白胨	21.00	6.55	68.83
酵母蛋白胨	21.00	4.00	80.95

(三) 培养朴菇菌丝球前后培养液 pH 值的变化

四种液体培养基培养朴菇菌丝球七天后, pH 值都下降(如表 3)。从表 3 中可知,朴菇菌丝球在酵母蛋白胨培养基中产生含酸物质较多,而在玉米粉培养基中产酸物质较少。

(四) 在豆饼粉培养基中培养朴菇菌丝球后,培养液中的氨基酸含量的变化

选取豆饼粉培养基原液和培养后的菌液,在日立 835-50 氨基酸自动分析仪进行氨基酸分析。结果如表 4。从表 4 可知,除甲硫氨酸、

表 3 培养液 pH 的变化

培养基	培养前	培养后	ΔpH
玉米粉	5.2	4.5	-0.7
豆饼粉	5.3	4.2	-1.1
蛋白胨	5.2	3.4	-1.8
酵母蛋白胨	5.2	3.0	-2.2

精氨酸及天冬氨酸有所下降外,其它 13 种氨基酸都比原液高。其中,增加最多的是亮氨酸,达 62 倍之多。据统计,培养后的菌液中的总氨基酸含量比原液增加一倍多。必需氨基酸 (Met. Thr. Ile. Leu. Phe. Lys. Val) 的含量为 13.014mg/100ml, 占总氨基酸含量的 42.29%, 比原培养液的必需氨基酸含量高 7 倍多。

讨 论

1. 从本实验结果来看,豆饼粉培养基比较适合于朴菇菌丝球的生长。朴菇菌丝球生长速度较快,大小均匀,利用糖的效率较高。这可能与豆饼粉的营养物质成分及含量适合于朴菇生长有关。

2. 液体培养朴菇菌丝球,能产生大量的有机酸等代谢物质。四种液体培养基培养朴菇菌丝球后都使 pH 值下降,变化最大的是酵母蛋白胨培养基,培养后比培养前下降了 2.2。这是由于产生有机酸物质的缘故。是由哪几种有机酸物质引起 pH 下降,有待于进一步分析。

3. 朴菇菌丝球培养后,提高了菌液的氨基酸含量。从分析豆饼粉培养基培养朴菇前后的氨基酸种类和含量,发现培养液的氨基酸总量

表 4 豆饼粉培养基培养补菇菌丝球前后氨基酸含量的变化

氨基酸种类	培养原液含量 (mg/100ml)	培养后菌球含量 (mg/100ml)	氨基酸相对增加倍数
甲硫氨酸 (Met)	0.168	—	—
精氨酸 (Arg)	5.996	4.969	-0.171
天冬氨酸 (Asp)	1.823	1.123	-0.384
苏氨酸 (Thr)	0.122	1.889	+14.484
丝氨酸 (Ser)	0.350	1.136	+2.246
谷氨酸 (Glu)	1.061	2.030	+0.913
甘氨酸 (Gly)	0.217	0.389	+0.793
丙氨酸 (Ala)	0.563	0.951	+0.689
胱氨酸 (Cys)	0.502	1.068	+1.127
异亮氨酸 (Ile)	0.116	0.983	+7.474
亮氨酸 (Leu)	0.044	2.813	+62.932
酪氨酸 (Tyr)	0.869	2.666	+2.068
苯丙氨酸 (Phe)	0.571	2.948	+4.163
赖氨酸 (Lys)	0.328	2.620	+6.988
组氨酸 (His)	0.299	0.977	+2.268
缬氨酸 (Val)	0.249	1.761	+6.072
NH ₃	0.398	2.453	+1.732
总量	14.176	30.777	+1.171

注: 色氨酸未测定。

增加了一倍多,必需氨基酸增加了 7 倍。增加最多的是亮氨酸,达 62 倍之多。从这一结果表明补菇菌丝球在合成蛋白质和氨基酸时,把一部分的氨基酸分泌到菌体外,从而提高了菌液中的氨基酸含量。

参 考 文 献

- [1] 倪宗耀等: 专业户种菇技术, 中国林业出版社, 1985。
- [2] 姜逢后等: 食用菌生物学及栽培技术, 中国林业出版社, 1984。
- [3] 上海市农业科学院食用菌研究所: 食用菌栽培技术, 农业出版社, 1983。