

不同 pH 值和培养基对桑黄菌丝生长的影响

姜明¹, 刘岩², 王伟功³, 赵桂云¹

(1. 牡丹江师范学院 生物系, 黑龙江 牡丹江 157012; 2. 穆棱市第一中学, 黑龙江 穆棱 157500; 3. 大庆市三十五中, 黑龙江 大庆 163515)

摘要:研究了不同培养基以及不同 pH 值对桑黄菌丝生长的影响。结果表明:桑黄菌丝生长的最佳液体培养基配方为 C₀:淀粉 18 g, 葡萄糖 12 g, 酵母粉 1.2 g, KH₂PO₄ 1.2 g, MgSO₄ 0.6 g; 最佳一级培养基配方为 E₁:酵母粉 1 g, 蔗糖 4 g, 琼脂 3 g; 最佳二级培养基配方为 C₂:木屑 60%, 棉籽壳 18%, 麸皮 20%, 石膏 1%, 蔗糖 1%; 最适 pH 为 7.5。

关键词:桑黄; pH; 培养基

中图分类号:S 646.1⁺41 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2010)08-0192-03

桑黄 *Phellinus igniarius* (L. ex Fr) 属担子菌亚门层菌纲多孔菌科针层孔菌属^[1], 寄生于杨、柳、桦、栎、松等树木之上。中医认为桑黄性甘平、味苦、味辛、归肝, 有化痰之功, 用于治疗血崩、血淋、脱肛泻血、闭经、脾虚泄泻等^[2]。桑黄的主要活性成分有多糖、黄酮和香豆素类等。桑黄多糖能有效抑制癌细胞的生长和防止其转移, 可以说桑黄多糖是化学方法抗癌的理想药物。但由于桑黄子实体非常稀少, 难以满足人们的需求, 现针对影响桑黄菌丝的生长条件进行了研究, 给桑黄菌丝的大量培养提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

桑黄菌种(购置于黑龙江省应用微生物研究所); 试剂:葡萄糖、磷酸二氢钾、硫酸镁、酵母粉等购于专业商店; 豆饼粉、麦麸、玉米粉、黄豆芽、米糠等购于农贸市场; 木屑、稻草等购于农家。

1.2 试验方法

1.2.1 菌种的制备 将购置的菌种以无菌操作法接在 PDA 斜面培养基上, 在 26℃ 的恒温箱中培养一周即可。

1.2.2 液体培养基的配制 试验共设 5 种液体培养基, 分别记做 A₀、B₀、C₀、D₀、E₀, 各配方成分如下: A₀: 玉米粉 12 g, 葡萄糖 12 g, KH₂PO₄ 0.9 g, MgSO₄ 0.45 g; B₀: 葡萄糖 12 g, 蛋白胨 1.2 g, KH₂PO₄ 0.36 g; C₀: 淀粉 18 g, 葡萄糖 12 g, 酵母粉 1.2 g, KH₂PO₄ 1.2 g, MgSO₄ 0.6 g; D₀: 豆饼粉 9 g, 葡萄糖 12 g, 玉米粉 6 g, 酵母粉 1.2 g, KH₂PO₄ 0.12 g, MgSO₄ 0.6 g; E₀: 麦麸 30 g, 葡萄糖

12 g, 蛋白胨 1.2 g, 酵母粉 1.2 g, KH₂PO₄ 0.9 g, MgSO₄ 0.45 g。在培养基配制过程中, 先将各配方中的麦麸、豆饼粉和玉米粉加水煮沸 20 min, 然后过滤(淀粉则先调成糊), 取滤液再逐一加入其它成分, 注意 1 种成分溶解后再加入另 1 种。每种配方配制 600 mL。之后, 将不同的培养基各平均分装在 5 支锥形瓶中, 用塑料薄膜封口^[3], 121℃ 下灭菌 30 min。

1.2.3 一级培养基的配制 试验共设 5 种一级培养基配方, 分别记做 A₁、B₁、C₁、D₁、E₁, 各配方成分如下: A₁: PDA 培养基: 马铃薯 40 g, 葡萄糖 4 g, 琼脂 3 g, 麸皮 6 g; 马铃薯去皮, 切成块, 与麸皮一同煮沸 20 min, 然后纱布过滤, 再加入糖及琼脂, 融化后补充水至 200 mL, 将其分装在 15 支试管中, 加棉塞封口; B₁: 黄豆芽 100 g, 葡萄糖 4 g, 琼脂 4 g。先将黄豆芽加水煮沸 20 min, 然后过滤, 取滤液加入其它成分, 其它同上; C₁: 木屑 40 g, 米糠 20 g, 麦芽糖 4 g, 硫酸铵 0.2 g, 琼脂 4 g。将木屑和米糠加水煮沸 20 min, 然后过滤, 其它同上; D₁: 小米 40 g, 葡萄糖 4 g, 麦麸 1 g, KH₂PO₄ 0.3 g, MgSO₄ 0.1 g, 琼脂 3.6 g。将小米加水煮沸 20 min, 然后过滤, 其它同上; E₁: 酵母粉 1 g, 蔗糖 4 g, 琼脂 3 g。将上述物质逐一加入到 200 mL 热水中, 待琼脂融化后分装, 塞塞, 封口^[4]。121℃ 下灭菌 30 min。

1.2.4 二级培养基的配制 试验设 5 种二级培养基, 每种培养基重 3 kg, 分别记做 A₂、B₂、C₂、D₂、E₂, 各配方如下: A₂: 木屑 60%, 稻草 18%, 麸皮 20%, 石膏 1%, 蔗糖 1%; B₂: 木屑 60%, 豆秸 18%, 麸皮 20%, 石膏 1%, 蔗糖 1%; C₂: 木屑 60%, 棉籽壳 18%, 麸皮 20%, 石膏 1%, 蔗糖 1%; D₂: 木屑 60%, 玉米芯 18%, 麸皮 20%, 石膏 1%, 蔗糖 1%; E₂: 木屑 78%, 麸皮 20%, 石膏 1%, 蔗糖 1%。将稻草剪成 1 cm 长, 豆秸和玉米芯粉碎, 用热水浸软, 加入其它材料混匀, 将含水量调到 60%~65%, 即用手握料手缝间有水渗出但不下滴。每配方装 8 袋, 121℃ 条件下

第一作者简介:姜明(1982-), 女, 硕士, 讲师, 现从事微生物的教学工作。E-mail:swxjml@126.com。

通讯作者:赵桂云(1951-), 女, 本科, 教授, 现从事食用菌栽培的教学工作。E-mail:zhaoguiyun588@163.com。

收稿日期:2009-11-20

灭菌 2 h。

1.2.5 不同 pH 值的培养基的配制 配制 1 000 mL PDA 培养基,分装在 100 mL 锥形瓶中,装 10 瓶,取其中 6 瓶(另外 4 瓶备用),用 3.5% 盐酸和 3.8% 氢氧化钠将 pH 值分别调成 5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5,再将不同 pH 的培养基分装入 8 支试管中,整个过程要求动作迅速,以防止培养基凝固。121 °C 下灭菌 30 min。

1.2.6 接种 将制备好的菌种以无菌操作法接入到已灭菌的培养基中,接种时注意接入到每瓶(支、袋)培养基中的菌种量一致。固体培养基接种时菌种要放置在培养基中央位置,注意菌种要集中在一处。

1.2.7 培养 将接种完的液体培养基放入到 26 °C 的恒温震荡培养箱中先静置 24 h,然后进行震荡培养,转速为 150 r/min。将接种完的一级培养基、二级培养基以及不同 pH 值的 PDA 培养基放入恒温箱中,温度为 26 °C。一级培养基与不同 pH 值的 PDA 培养基 4 d 后在菌丝生长的前端用记号笔在试管壁上画线,放入恒温箱中培养 3 d,在菌丝生长的前端画线。二级培养基 8 d 后在菌丝生长的前端用记号笔在塑料袋上画线,放入恒温箱中培养 4 d,在菌丝生长的前端画线。

2 结果与分析

2.1 液体培养基对桑黄菌丝生长量的影响

菌丝在液体培养基中经 5 d 震荡培养后,将液体培养物(浅黄色或褐色的菌丝球)用纱布过滤得到桑黄菌丝,将其放在铺有塑料薄膜的培养皿中,在 42 °C 的恒温箱中干燥,待菌丝完全干燥后进行称重和统计(见表 1)。

表 1 液体培养基对桑黄菌丝生长量的影响

配方	1	2	3	4	5	X_i	X_i^2	$\sum_{i=1}^n X_i^2$	\bar{X}
A ₀	0.378	0.344	0.644	0.363	0.378	2.107	4.439	0.951	0.421
B ₀	0.327	0.155	0.265	0.165	0.159	1.062	1.128	0.250	0.212
C ₀	0.960	1.309	0.870	1.014	0.806	4.959	24.592	5.070	0.992
D ₀	0.185	0.288	0.228	0.220	0.500	1.421	2.019	0.467	0.284
E ₀	0.746	0.733	0.649	0.720	0.762	3.610	13.032	2.614	0.722
总和						13.159	45.210	9.352	2.629

从表 1 可以看出,不同的培养基培养的菌丝重量不同,C₀ > E₀ > A₀ > D₀ > B₀,初步确定 C₀ 为最佳液体培养基。应用统计学的单因素方差分析表明(见表 2),不同的培养基成分对桑黄菌丝的产量有很大的影响。

表 2 不同培养基间单因素方差分析

变差来源	平方和	自由度	均方	F
培养基间	2.116	4	0.529	40.692 **
误差	0.310	20	0.013	
总和	2.426	24		

注: ** = 0.01, F_{4,20,0.05} = 2.87, F_{4,20,0.01} = 4.43, F > F_{4,20,0.01}。

从表 3 中可以看出 C₀ 对 E₀ 差异不显著,但 C₀ 对 B₀、D₀、A₀ 均为差异极显著,说明 C₀ 是适合桑黄菌丝生长的最佳液体培养基。

表 3 各培养基间多重比较

	5	4	3	2
1	$\bar{x}_1 - \bar{x}_5 = 0.660^{**}$	$\bar{x}_1 - \bar{x}_4 = 0.588^{**}$	$\bar{x}_1 - \bar{x}_3 = 0.451^{**}$	$\bar{x}_1 - \bar{x}_2 = 0.150$
2	$\bar{x}_2 - \bar{x}_5 = 0.510^{**}$	$\bar{x}_2 - \bar{x}_4 = 0.438^{**}$	$\bar{x}_2 - \bar{x}_3 = 0.301^*$	
3	$\bar{x}_3 - \bar{x}_5 = 0.209^{**}$	$\bar{x}_3 - \bar{x}_4 = 0.137$		
4	$\bar{x}_4 - \bar{x}_5 = 0.072$			

2.2 一级培养基对桑黄菌丝生长长度的影响

从表 4 可以看出,不同的一级培养基培养的桑黄菌丝在相同时间内菌丝生长长度是不同的,即 E₁ > C₁ > B₁ > A₁ > D₁。初步确定 E₁ 为最佳一级培养基。

表 4 一级培养基对桑黄菌丝生长长度的影响

配方	1	2	3	4	5	X_i	X_i^2	$\sum_{i=1}^n X_i^2$	\bar{X}
A ₁	8.25	7.64	9.09	8.33	8.92	42.50	1806.26	362.55	8.50
B ₁	10.40	8.88	9.08	7.10	10.05	45.51	2071.16	420.87	9.10
C ₁	11.28	9.74	10.30	11.82	10.10	53.24	2834.50	569.92	10.65
D ₁	4.75	5.10	4.39	3.92	5.03	23.19	537.78	108.51	4.64
E ₁	12.14	11.45	13.53	12.04	14.90	64.06	4103.68	828.51	12.81
总和						228.50	11353.37	2290.36	45.70

2.3 二级培养基对桑黄菌丝生长的影响

从表 5 可以看出,不同的二级培养基培养的桑黄菌丝在相同时间内菌丝生长长度是不同的,即 C₂ > B₂ > D₂ > E₂ > A₂。初步确定 C₂ 为最佳二级培养基。

表 5 二级培养基对桑黄菌丝生长的影响

配方	1	2	3	4	5	X_i	X_i^2	$\sum_{i=1}^n X_i^2$	\bar{X}
A ₂	12.74	12.76	14.96	10.50	12.10	63.06	3976.56	805.59	12.61
B ₂	20.86	18.70	17.72	18.72	17.90	93.90	8817.21	1769.68	18.78
C ₂	18.40	22.06	18.78	20.20	21.45	100.89	10178.79	2046.03	20.18
D ₂	18.48	18.40	17.06	17.48	18.10	89.52	8013.83	1604.27	17.90
E ₂	18.04	19.40	14.90	15.05	14.47	81.86	6710.06	1359.70	16.37
总和						429.23	37696.45	7585.27	85.84

2.4 不同 pH 值培养基对桑黄菌丝生长的影响

从表 6 可以看出,不同 pH 值的 PDA 培养基中桑黄菌丝在相同时间内菌丝生长长度是不同的,即 7.5 > 7.0 > 6.5 > 6.0 > 5.5 > 5.0。初步确定 pH 7.5 为最适 pH。

表 6 不同 pH 值培养基对桑黄菌丝生长的影响

pH	1	2	3	4	5	6	X_i	X_i^2	$\sum_{i=1}^n X_i^2$	\bar{X}
5.0	4.01	4.35	4.50	3.15	4.21	3.30	23.52	553.19	93.79	3.92
5.5	4.28	5.20	5.16	4.20	5.22	5.36	29.42	865.54	145.60	4.90
6.0	5.23	5.69	4.59	5.15	4.46	5.90	31.02	962.24	162.03	5.17
6.5	5.94	6.18	6.03	5.68	6.15	5.54	35.52	1261.67	210.61	5.92
7.0	6.12	6.89	6.80	7.13	7.49	6.33	40.76	1661.38	278.17	6.79
7.5	8.90	9.11	11.86	9.45	9.05	10.14	58.51	3423.42	576.88	9.75
总和							218.75	8727.44	1467.08	36.45

3 结论

通过对影响桑黄菌丝生长的液体培养基、一级培养基、二级培养基和 pH 值的试验结果统计分析,单因素方差分析及多重比较。结果表明,桑黄菌丝生长的最佳液体培养基配方为 C₀: 淀粉 18 g,葡萄糖 12 g,酵母粉 1.2 g, KH₂PO₄ 1.2 g, MgSO₄ 0.6 g; 最佳一级培养基配方

平菇长速、长相与酯酶同工酶、可溶性蛋白含量关系的探究

刘贵巧, 米青荣, 黄慧敏

(河北工程大学 农学院, 河北 邯郸 056002)

摘要: 试验对 9 个平菇菌株进行了菌丝长速、长相、酯酶同工酶、可溶性蛋白的测定。结果表明: 9 个菌株中同名的 2 个菌株, 其中之一已经出现了退化, 菌丝长速减缓、可溶性蛋白含量降低, 接种到同一培养基上的 3 个重复之间长相存在差异, 但酯酶同工酶酶谱没有变化。同时发现不同的平菇品种间其菌丝长相、长速、可溶性蛋白含量、酯酶同工酶酶谱存在差异, 长速较快的品种, 有可溶性蛋白含量较高、酯酶同工酶酶带数量相对较多的趋势。

关键词: 平菇; 长速; 长相; 酯酶同工酶; 可溶性蛋白

中图分类号: S 646.1⁺4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2010)08-0194-03

近年来, 食用菌菌种退化现象时有发生, 轻者造成减产, 重者绝收, 给食用菌生产带来了极大的负面影响, 因此及早发现退化菌株是食用菌菌种生产的首要任务。试验通过探究平菇品种长速、长相、酯酶的酶带及可溶性蛋白含量之间的关系, 旨在探讨其代谢的内在联系,

为由菌种长相及早发现菌种退化奠定基础。

1 材料与方法

1.1 供试菌株

1 号(平菇 518)、2 号(黑平 04)、3 号(平菇 615) 购于某食用菌公司。4 号(抗病 2 号)、5 号(美 D28)、6 号(平菇 615)、7 号(特抗黑平)、8 号(超级 100)、9 号(夏抗 8 号) 购于另一家食用菌公司。

1.2 主要仪器设备

冰箱、离心机、电泳仪、电泳槽、研钵、电子天平、紫外分光光度计、恒温水浴锅等。

第一作者简介: 刘贵巧(1969-), 女, 河北邢台人, 硕士, 副教授, 现主要从事微生物与食用菌的教学与科研工作。E-mail: keli1966@sina.com。

收稿日期: 2009-11-20

为 E₁: 酵母粉 1 g, 蔗糖 4 g, 琼脂 3 g; 最佳二级培养基配方为 C₂: 木屑 60%, 棉籽壳 18%, 麸皮 20%, 石膏 1%, 蔗糖 1%; 最适 pH 7.5。

参考文献

[1] 国家卫生部和国家中医药管理局. 中华本草[M]. 1 卷, 上海: 上海科学技术出版社, 1999.

海科学技术出版社, 1999.

[2] 刘波. 中国药用真菌[M]. 太原: 山西人民出版社, 1974: 71-72.

[3] 赵桂云, 律凤霞, 龚振杰. 鸡腿菇液体培养基配方筛选[J]. 食用菌, 2004, 26(6): 15-16.

[4] 桂馨, 敬化. 食用菌栽培制种实用技术[M]. 中国食用菌专业协会, 1988: 83-100.

Effect of Different pH Values and Culture Medium on Mycelial Growth of *Phellinus*

JIANG Ming¹, LIU Yan², WANG Wei-gong³, ZHAO Gui-yun¹

(1. Biology Department, Mudanjiang Teachers College, Mudanjiang, Heilongjiang 157012; 2. No. 1 Middle School of Muling, Muling, Heilongjiang 157500; 3. 35th Secondary School of Daqing, Daqing, Heilongjiang 163515)

Abstract: The effect of different mediums and different pH on the mycelial growth of *Phellinus*. The results showed that the best liquid medium was C₀: Starch 18 g, Glucose 12 g, Yeast 1.2 g, K₂HPO₄ 1.2 g, MgSO₄ 0.6 g; the best first-degree medium was E₁: Yeast 1 g, Sucrose 4 g, Agar 3 g; the best second-degree medium was C₂: sawdust 60%, Cotton seed hull 18%, bran 20%, gypsum 1%, sucrose 1%; the best pH 7.5.

Key words: *Phellinus*; pH; formula