

# 白地霉在液体培养基中連續传代所起的形态变化

楊廉婉 张树政

(中国科学院微生物研究所,北京)

我们在进行白地霉 (*Geotrichum candidum* Link 2.361) 代謝的研究中,通常采用液体培养基在搖床上培养以获得菌体。原始菌种保存在麦芽汁固体斜面上。在大量培养之前,由此固体斜面接入液体培养基,搖床培养 12 小时作为种子。但以后因需经常培养,为方便起见就不再由固体斜面移接而直接由液体培养物制备种子。这样经过在液体中长期传代,引起了白地霉形态上的变化,肉眼即可看出培养物变得稀薄,粒极细小,经过显微镜观察,发现由固体接入液体培养 12 小时的主要为菌絲体(图 1)。而在液体中长期传代菌种,培养 12 小时则主要为节孢子(图 2D),为了进一步探讨其原因,我们进行了以下实验。

形态的变化是否是在液体中连续传代引起的,还是有其他原因?我们考虑到保存菌种所用的固体斜面是麦芽汁培养基,而液体培养基则比较贫乏(主要是葡萄糖及无机盐)。因此,培养基成分也可能有一定的影响。所以采用了三种培养基,各制成液体和固体进行传代试验。所用培养基成分如下:

培养基 1. 葡萄糖, 1 克;  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 0.5 克;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0.5 克;  $\text{MgSO}_4$ , 0.1 克; 酵母汁, 0.2 克; 加自来水至 100 毫升。

培养基 2. 同上,但除去  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 加 1 克蛋白胨。

培养基 3. 麦芽汁, 10 波林。

另外在以上培养基中各加 1.5% 洋菜作成固体斜面培养基。

液体培养方法为在 500 毫升锥形瓶中加入液体培养基 45 毫升。灭菌后接入液体培养的种子 5 毫升,在 30℃ 旋转搖床上(190 转/分)培养 12 小时。以此为种子再同样培养,即每 12 小时移接 1 次,称为 1 代。另外,在斜面上也是 12 小时移接 1 次。

在液体培养基中连续传代的结果指出确能引起形态上的变化。尤其在含蛋白胨的培养基 2 中

变化较快,移接 8 代之后即大部分成为节孢子。在培养基 1 中移接 25 代,在麦芽汁(培养基 3)中移接 33 代均形成大量的节孢子。而在三种固体斜面上移接 60 代后,再接到液体培养基中培养 12 小时,均主要是菌絲体。因此,可知这种变化主要是液体培养方式引起的。而不是培养基成分引起的。仅在不同的液体培养基中变化速度稍有不同。

以上变化只是在培养 12 小时观察到的结果。白地霉的正常生长情况是先生长菌絲。成熟后菌絲断裂为节孢子。那么在液体中传代所发生的影响究竟有多大呢?是否仅在于加速菌絲的断裂,有无可能影响到它的生长方式,以至使菌絲阶段表现不明显呢?为了查明这种情况,我们检查了在不同时间生长的菌体形态。培养 3 小时可看到由节孢子发芽形成短菌絲(图 2A),6 小时为长菌絲(图 2B),9 小时则看到很多节孢子(图 2C),12 小时则主要为节孢子(图 2D)。在 3 种液体培养基中传代的菌体情况均相同。由此结果可知,白地霉仍具有完整的生长周期。液体传代只是加速了节孢子的形成。

表 1 固体和液体传代方式对菌体干重的影响

培养时间 (小时)	培养基	菌种传代 方式	菌体干重 (毫克/50毫升)	液体较固 体减少%
6	1	固	156.7	
6	1	液	101.6	35.1
6	2	固	253.3	
6	2	液	226.6	10.5
6	3	固	156.6	
6	3	液	131.6	15.9
12	1	固	258.3	
12	1	液	223.3	13.9
12	2	固	416.6	
12	2	液	380.0	8.7
12	3	固	336.6	
12	3	液	260.0	22.7

在生产白地霉时通常是收获菌丝，而不希望它变成节孢子。液体中传代会加速菌丝的断裂，这样对生产是不利的，但在菌丝断裂之前仍出现菌丝阶段。如果能提前收获菌丝，则生产周期缩短，对生产又是有利的。究竟是否有利，要看收获的菌丝量的多少，因此我们测定了不同时间的菌

体干重，结果见表 1。

很明显，在液体中经过传代的菌种比在固体上传代的菌种的菌体干重为低。这对生产是不利的，因此，应将菌种保存在固体培养基上，每次由固体移接制备种子培养物较好。



图 1 由固体斜面接入液体(培养基 1)培养 12 小时。

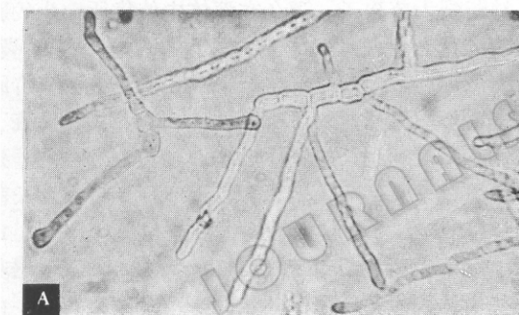


图 2 白地霉在液体(培养基 1)中，传代 60 代后，不同培养时间的形态变化。

A. 培养 3 小时； B. 培养 6 小时； C. 培养 9 小时； D. 培养 12 小时。