

# 大球盖菇液体母种制备培养基碳氮源的优化

王升厚<sup>1</sup>, 李玉双<sup>2</sup>

(1. 沈阳师范大学 特种菌业研究所, 辽宁 沈阳 110034 2. 沈阳大学 沈阳环境工程重点实验室, 辽宁 沈阳 110044)

**摘要:**以菌丝体生物量为指标, 对大球盖菇液体菌种培养基中碳氮营养源进行了优化。结果表明, 最佳液体发酵培养基配方为: 葡萄糖 30 g/L, 酵母膏 4 g/L, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2 g/L, MgSO<sub>4</sub> 1 g/L; 培养条件为初始 pH 值 6.5, 25℃培养 6 d。栽培试验结果表明, 接种液体菌种的栽培袋的发菌时间平均比接种固体菌种缩短 17 d。

**关键词:** 大球盖菇; 液体菌种; 碳源; 氮源; 菌丝体生物量

**中图分类号:** S 646.1<sup>+</sup>9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2008)05-0219-03

大球盖菇(*Stropharia rugoso annulata*)属伞菌目, 球盖菇科, 球盖菇属, 又名皱环球盖菇, 酒红色球盖菇等, 是联合国粮农组织(FAO)向发展中国家推荐的新菇种, 也是国际菇类交易市场上的十大品种之一<sup>[1]</sup>。大球盖菇鲜菇色泽艳丽, 肉质脆嫩, 口感爽滑; 干菇气味清香, 味道鲜美柔和, 其子实体富含对人体健康有益的各种糖类、矿物质元素、必需氨基酸、维生素等, 具有预防冠心病、抗肿瘤等药用价值<sup>[1]</sup>, 深受消费者的青睐, 市场前景广阔。

我国自于 20 世纪 80 年代引种试栽以来, 由于其栽培方法简便、原材料易得、周期短、效益高, 已引起广大菇农的兴趣<sup>[2]</sup>。但是由于大球盖菇的固体菌种制作周期较长(其母种生长周期一般为 15~25 d, 原种的生长周期一般为 2~3 个月)往往造成较高的污染率, 尤其在高温高湿的南方, 有时污染率竟高达 50%以上, 导致制种成本过高, 从而影响推广。而液体制种具有生长快速、菌龄整齐、接种方便等诸多优点, 可以弥补固体菌种的缺点, 其工业化是菇类生产的重要途径之一<sup>[1]</sup>。目前关于大球盖菇菌种的固体菌种研究较多<sup>[3-6]</sup>, 而对其液体菌种的研究报道很少。现采用菌丝体生物量(干重)对比评价法对大球盖菇液体制种条件进行了优化, 旨在获得能够降低生产成本、缩短生长周期、提高菌种质量的液体培养基配方, 为大球盖菇的产业化推广提供理论依据和技术支持。

**第一作者简介:** 王升厚(1963-), 男, 高级实验师, 主要从事食用菌遗传育种、病虫害药物防治和珍稀菌类产业化开发工作。  
**基金项目:** 沈阳市科技局计划资助项目(1032048-3-03)。  
**收稿日期:** 2008-01-30

## 参考文献

[1] 杨新美. 食用菌栽培学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995.  
[2] 林杰. 双孢蘑菇二次发酵的技术关键[J]. 江苏食用菌, 1992(5): 4-5.  
[3] 维德 P J C. 现代蘑菇栽培学[M]. 福建省轻工业研究所, 译. 轻工业出版社, 1987.

[4] 李峰, 陈万先. 用玉米秸秆种植双孢蘑菇新技术[J]. 食用菌, 2001(1): 17.  
[5] 梁枝荣, 张清文, 周志强. 玉米秸秆栽培双孢蘑菇高新技术[J]. 中国食用菌, 2002, 21(3): 11-13.

# Effects of Different Culture Materials on the Sporocarp Quality of *Agricus Bisporus*

HOU Yong-xia<sup>1,2</sup>, HE Li-li<sup>2</sup>

(1. Key Laboratory of Environmental Engineering, Shenyang University, Shenyang Liaoning 110044, China; 2. Horticulture Academy, Shenyang Agricultural University, Shenyang Liaoning 110161, China)

**Abstract:** By using the culture materials of straw (CK), corn cores, corn canes and grain sorghums shells, this paper studied the effects of different culture materials on the sporocarp quality of *Agricus bisporus*. The results showed that the shape difference of *Agricus bisporus* cultured by different materials was not obvious, nutritional content of fruiting bodies: CK> grain sorghum shells> corn cores> corn canes.

**Key words:** *Agaricus bisporus*; Culture material; Quality

## 1 材料与方法

### 1.1 供试菌株

大球盖菇 H-2, 来源于沈阳师范大学特种菌业研究所菌种资源库。

### 1.2 供试培养基

基础培养基: 葡萄糖 20 g、蛋白胨 3 g、酵母膏 2 g、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$  2 g/L、 $\text{MgSO}_4$  1 g/L、水 1 000 mL。

### 1.3 试验方法

**1.3.1 碳源试验** 改变基础培养基中的葡萄糖用量, 研究碳源用量对大球盖菇菌丝体生长的影响。共设 6 个处理, 培养基中葡萄糖浓度分别为: 0 g/L (G0)、10 g/L (G1)、15 g/L (G2)、20 g/L (G3)、30 g/L (G4)、40 g/L (G5)。

**1.3.2 氮源试验** 以配方葡萄糖 20 g、蛋白胨或酵母膏、磷酸二氢钾 2 g、硫酸镁 1 g、水 1 000 mL 为基础培养基, 分别改变其中的蛋白胨或酵母膏用量, 研究不同氮源及其用量对大球盖菇菌丝体生长的影响。蛋白胨用量试验共设 8 个处理, 培养基中蛋白胨浓度分别为: 0 g/L (P0)、0.5 g/L (P1)、1 g/L (P2)、2 g/L (P3)、4 g/L (P4)、6 g/L (P5)、8 g/L (P6)、10 g/L (P7); 酵母膏用量试验共设 6 个处理, 培养基中蛋白胨的浓度分别为: 0 g/L (Y0)、1 g/L (Y1)、2 g/L (Y2)、4 g/L (Y3)、6 g/L (Y4)、8 g/L (Y5)。

### 1.4 接种培养

将冰箱保存的大球盖菇转接在基础培养基上进行活化, 作为种源。按 1.3 配制各种液体培养基, 分装入 250 mL 三角瓶中, 80 mL/瓶, 121℃灭菌 1 h, 接种大球盖菇, 25℃恒温培养 1 d 后再放入振荡器中, 160 rpm, 25℃恒温培养 6 d。每个处理 3 个重复。

### 1.5 菌丝体生物量测定

将培养液用已称重的滤纸过滤, 用蒸馏水冲洗菌丝体球 3 次, 然后放入表面皿中, 于 80℃烘至恒重, 电子天平称重(精确至 0.0001)<sup>[8]</sup>, 计算菌丝体生物量。

### 1.6 栽培试验

以获得的最佳培养基配方分别制备液体和固体培养基(固体培养基中添加 20 g/L 的琼脂), 分别制作液体和固体母种, 按常规方法操作, 25℃培养, 记录菌丝体生长情况。液体菌种培养期为 6 d, 然后测定菌丝体生物量, 方法同上。以棉籽壳 50%、玉米芯 30%、麦麸 10%、玉米面 6%、石膏 2%、石灰 2%, 料:水=1:1.5 制作栽培料, 栽培袋规格为 17 cm×34 cm×0.04 cm, 按常规方法装袋、灭菌、冷却、接种。液体母种按 10 mL/袋接种, 固体母种按 1.5 cm 见方的菌块/袋接种, 每个处理 20 个重复, 25℃培养, 观察、记录菌丝体生长情况。

## 2 结果与分析

### 2.1 碳源对大球盖菇菌丝体生长的影响

不同葡萄糖用量, 培养 7 d 后菌丝体的生物量测定结果如图 1 所示。由图 1 可以看出: 首先, 随着培养液中葡萄糖浓度的增加, 大球盖菇菌丝体生物量呈极显著上升 ( $P < 0.01$ ) 趋势; 当葡萄糖用量为 30 g/L 时达到最大值, 为 2.9521 g/L, 为不加葡萄糖处理的 4.93 倍; 而后, 随着葡萄糖用量的进一步提高, 菌丝体生物量则明显降低。由此可见, 液体培养时葡萄糖的最佳浓度为 30 g/L。另外, 在不添加葡萄糖的处理中, 大球盖菇菌体仍能生长, 该结果与闫培生等人<sup>[9]</sup>的研究结果不同。这可能是由于闫培生等研究中是以  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  作为唯一氮源, 而研究是以蛋白胨作为唯一氮源, 虽然在常规培养基中, 蛋白胨主要提供氮源, 但由于其含有机碳, 因而在碳源缺乏的情况下, 蛋白胨也能够为大球盖菇的生长提供一定的碳元素。

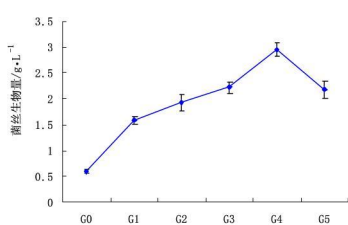


图 1 葡萄糖浓度对大球盖菇菌丝体生长量的影响

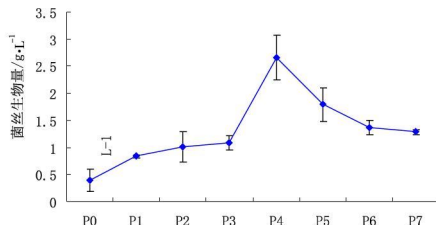


图 2 蛋白胨浓度对大球盖菇菌丝体生长量的影响

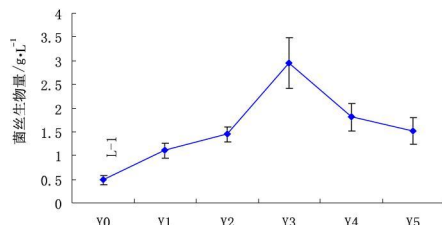


图 3 酵母膏浓度对大球盖菇菌丝体生长量的影响

### 2.2 氮源对大球盖菇菌丝体生长的影响

**2.2.1 蛋白胨对大球盖菇菌丝体生长量的影响** 不同蛋白胨用量下, 培养 6 d 后菌丝体的生物量测定结果见图 2。由图 2 可以看出, 随着培养液中蛋白胨含量的增大, 菌丝体生物量呈现出先升高而后降低的趋势。当蛋

白胨用量为 4 g/L 时, 菌丝体生物量高达 2.6569 g/L, 约为对照处理的 6.64 倍。在无氮源的情况下, 大球盖菇菌丝体也能生长, 但长势较弱, 该结果与闫培生等<sup>[9]</sup>的研究结果基本一致。

**2.2.2 酵母膏对大球盖菇菌丝体生长量的影响** 不同

酵母膏用量下, 培养 7 d 后, 菌丝体生物量测定结果如图 3 所示。由图 3 可以看出, 菌丝体生物量随酵母膏用量的变化趋势与蛋白胨相似。当培养液中酵母膏浓度在 4 g/L 以下时, 菌丝体生物量随酵母膏的浓度增大而升高; 当酵母膏浓度为 4 g/L 时达到最高, 菌丝体的生物量为 2.9483 g/L; 而后随着酵母膏的用量进一步增大, 菌丝体生物量呈显著下降 ( $P<0.05$ ) 趋势。

2.2.3 种源状态对栽培袋生长的影响 采用最佳配方进行液体菌种制备, 6 d 后, 菌球密度较大、直径较小、长势均一, 菌丝体平均生物量达到了 3.0463 g/L, 产量高于其它处理; 而固体菌种平均满管时间为 18 d。在栽培袋生产中, 接液体母种组菌丝体满袋时间为 18~23 d, 平均 20 d 而接固体母种组, 满袋时间为 42~48 d, 平均 45 d。结果表明, 采用液体菌种可使大球盖菇母种生产周期缩短 12 d 左右, 而栽培袋生产周期可以缩短 17 d 左右, 具有很好的应用潜力。

3 讨论

传统菌种生产工艺, 一般为一级试管母种→二级原种→三级栽培袋, 而液体菌种则没有明确的级别界定, 也就是说液体菌种既可以作为母种接原种, 也可以作为原种直接生产栽培种, 简化了生产工艺, 从而大大缩短了生产周期。液体菌种接种面积大、萌发点多、抗杂性强, 且可避免由于多次转接而引起的菌种退化问题。目前, 平菇、香菇、杏鲍菇等多种食用菌液体接种技术已获得成功并已进行了应用推广<sup>[7, 10]</sup>, 但对大球盖菇的液体菌种制备技术研究仍处于起步阶段<sup>[11]</sup>。

结果表明, 以葡萄糖作为碳源, 最佳用量为 30 g/L; 虽然蛋白胨和酵母膏均可作为氮源, 但使用酵母膏时获得了更大的菌丝体生物量, 酵母膏的最适用量为 4 g/L。栽培试验结果表明, 使用液体菌种作为种源可以显著提

高栽培种的发菌速度。

4 结论

研究获得的大球盖菇最佳培养基配方为: 葡萄糖 30 g/L, 酵母膏 4 g/L,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  2 g/L,  $\text{MgSO}_4$  1 g/L, 水 1 000 mL。采用该配方液体培养 7 d 即可获得菌丝体生物量高、菌球密度较大、直径较小的优质液体菌种。与传统的固体母种制备相比, 该方法可使母种生产周期缩短 12 d 左右, 由于其可以作为原种直接用于栽培袋接种, 因而比传统的菌种生产工艺至少要节省 55% 的发菌时间, 从而大大缩短了大球盖菇的生产周期, 这为大球盖菇产业化开发提供了技术保障。

参考文献

[ 1 ] 倪同良. 我国食用菌资源状况及生产对策 [ J ]. 中国食用菌, 2000, 20 (4): 2-3.  
[ 2 ] 俞志纯. 皱环球盖菇人工栽培技术关键 [ J ]. 食用菌, 1996(6): 29.  
[ 3 ] 颜淑婉. 大球盖菇的生物学特性 [ J ]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2002 31(3): 401-403.  
[ 4 ] 熊鹰, 吕智敏. 大球盖菇菌种培养基筛选试验 [ J ]. 西南农业学报 2004, 17(6): 802-804.  
[ 5 ] 吴祖峰, 关卫娟. 杏鲍菇、大球盖菇、灰树花母种培养基适生配方筛选 [ J ]. 北方园艺, 2007(3): 201-203.  
[ 6 ] 余冬芳, 樊卫国, 徐彦军, 等. 大球盖菇栽培技术研究进展 [ J ]. 种子, 2007, 26(1): 84-87.  
[ 7 ] 陆建明, 张锡凤. 食用菌液体菌种制备的研究进展 [ J ]. 中国食用菌 2003(6): 15-17.  
[ 8 ] 郝冬霞. 细胞生长测定方法与研究进展 [ J ]. 微生物学通报, 2002, 28 (6): 82-85.  
[ 9 ] 闫培生, 李桂舫, 蒋家慧, 等. 大球盖菇菌丝体生长的营养需求及环境条件 [ J ]. 食用菌学报 2001, 8(1): 5-9.  
[ 10 ] 王健, 徐成生. 应用液体发酵技术规模化生产食用菌菌种 [ J ]. 广西园艺 2007, 18(4): 20-22.  
[ 11 ] 李正鹏, 吴萍, 陆晓民. 大球盖菇液体菌种培养条件研究 [ J ]. 中国林副特产, 2006(4): 12-14.

The Optimization of Carbonaceous Compounds and Nitrogenous Substances for Liquid Culture Media of *Stropharia Rugoso Annulata*

WANG Sheng-hou<sup>1</sup>, LI Yu-shuang<sup>2</sup>

(1. Institute of Special Edible Fungi, Shenyang Normal University, Shenyang, Liaoning 110034, China; 2. Shenyang Key Laboratory of Environmental Engineering, Shenyang University, Shenyang, Liaoning 110044, China)

**Abstract:** Based on the indexes of mycelial bioyields (dry weight), effects of carbonaceous compounds and nitrogenous substances on the growth of *Stropharia rugoso annulata* were researched. Results suggested that the optimum compositions of liquid fermentation medium should include glucose (30 g/L), yeasts exact (4 g/L),  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (2 g/L),  $\text{MgSO}_4$  (1 g/L). The culture conditions were initial pH 6.5, culture temperature 25℃, culture time 6 days. Afterward, the cultivation was designed to contrast the liquid spawn and the solid spawn. Results showed that the samples which were inoculated liquid spawns overgrew 17 days earlier than those of solid spawns.

**Key words:** *Stropharia rugoso annulata*; Liquid spawn; Carbonaceous compounds; Nitrogenous substances; Mycelial bioyields