

大球盖菇部分生物学特性研究

暴增海¹, 邱传庆², 王增池³, 马桂珍¹, 周 洁¹

(1. 淮海工学院 食品工程学院 江苏 连云港 220052; 2. 河北省肥乡第一中学 河北 邯郸 057550 3. 沧州职业技术学院 河北 沧州 061001)

摘 要: 对大球盖菇对黑曲霉菌、青霉菌、木霉菌和粘帚霉菌的抗耐性进行研究。结果表明: 大球盖菇对黑曲霉菌、木霉菌、粘帚霉菌抗性较强, 形成了拮抗线, 对青霉菌的忍耐性较强。并对其机理进行了分析。通过矿质元素和葛藤粉对大球盖菇菌丝产量的影响进行了试验, 表明矿质元素铁、铜、钼、锌对大球盖菇菌丝体的生长有明显的促进作用, 而钴、钒对菌丝的生长作用较少; 不同的浓度的葛藤粉对大球盖菇菌丝体的生长有不同的促进作用, 其中培养基中葛藤粉浓度为 80 g/L 时, 对大球盖菇菌丝体的生长促进作用达到最大。

关键词: 大球盖菇; 霉菌; 抗耐性; 液体发酵; 菌丝体; 矿质元素

中图分类号: S 646.1⁺9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2009)01-0217-03

大球盖菇(*Stropharia rugosoannulata*) 别名皱球盖菇, 属于担子菌门, 层菌纲, 伞菌目, 球盖菇科, 球盖菇属^[1], 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。是目前国内具有很好发展前景的珍稀食用菌之一^[2]。为了更好地开发这一珍稀食用菌资源, 对其部分生物学特性进行了研究。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌种 大球盖菇(*S. rugosoannulata*)引自江苏省农科院, 由微生物研究室提供。霉菌菌种: 青霉(*Penicillium* sp.), 黑曲霉(*Aspergillus niger*), 木霉(*Trichoderma* sp.); 粘帚霉菌(*Gliocladium* sp.)由微生物研究室保藏。

1.1.2 供试培养基 PDA 培养基、PD 培养液。

1.1.3 供试元素 分析纯的 NH_4VO_3 、 MoO_3 、 $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、 CuSO_4 、 FeSO_4 和 ZnSO_4 等。

1.1.4 供试葛藤粉 购自超市, 连云港某生产商生产。

1.2 方法

1.2.1 大球盖菇和几种污染菌的相互作用的测定 将灭菌的 PDA 培养基加热融化至 50℃左右, 于超净工作台上, 每平皿加入 15 mL 培养基制成平板, 将大球盖菇菌种接种在平板中央, 于 25℃下培养 5 d 左右, 然后用直径为 8 mm 的无菌打孔器沿菌落边缘处打孔, 将打下的大球盖菇菌饼接种在经灭菌冷却的平皿平板上, 每皿定点接入 4 块圆形菌饼, 菌丝面朝上。为保证接种均匀准

确, 接种前先用记号笔画圈定位。然后将接种好的培养皿置于 25℃下培养 3 d, 至接种块周围形成各自的菌落。将培养皿取出, 无菌条件下在平板中心位置(预先在皿底划点定位)接入食用菌常见污染菌[青霉菌(*Penicillium* sp.), 黑曲霉(*A. niger*), 木霉(*Trichoderma* sp.)和粘帚菌(*Gliocladium* sp.)], 每处理设 3 个重复。继续在 25℃恒温生化培养箱中培养, 每天观察比较大球盖菇菌丝的生长情况和抗、耐污染菌的能力并划出等级分, 最后进行综合评价^[3]。

1.2.2 不同矿质元素及葛粉对球盖菇菌丝体生长影响的测定 可分 3 个阶段进行。①种子培养: 用直径 8 mm 的无菌打孔器沿大球盖菇菌落边缘处打孔, 将打下的大球盖菇菌饼接种于灭菌后的 250 mL 三角瓶(每瓶装液量 50 mL)PD 培养液中, 每瓶接 8 块。接种后置于温度 25℃, 转速 180 r/min 的全温振荡培养箱中培养约 5~7 d, 直至培养液中悬浮的菌丝球呈小米粒般大小。②发酵培养: 将配好的 PD 培养液以每瓶 50 mL 的量装入 250 mL 的三角瓶中, 分别在装有 PD 培养液中加入 0.1 mL 浓度均为 3% 的 NH_4VO_3 、 MoO_3 、 $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、 CuSO_4 、 FeSO_4 、 ZnSO_4 溶液, 每种做 3 个重复, 并且设置 3 个加入 0.1 mL 无菌水的 PD 培养液为对照组。灭菌后的试验组和对照组均以 10% 的接种量接入种子液, 进行二级恒温摇瓶培养。培养温度设为 25℃, 摇床转速设为 180 r/min, 培养 7 d。制备含有葛藤粉浓度分别为 20、40、60、80、100 g/L 的 PD 培养液, 分别取 50 mL 装入 250 mL 的三角瓶中, 每种葛藤粉浓度设置 3 次重复, 以不加入葛藤粉的 PD 培养液作为对照, 3 次重复。试验组和对照组均以 10% 的接种量接入种子培养液, 进行二级摇瓶培养, 培养温度设为 25℃, 摇床转速设为 180 r/min, 培养 7 d。③菌丝球干重测定: 将发酵培养了 7 d

第一作者简介: 暴增海(1962-), 男, 硕士, 教授, 现主要从事微生物学的教学和科研工作。E-mail: baozh2008@yahoo.cn.
收稿日期: 2008-09-22

的三角瓶从全温振荡培养箱中取出,用循环水式真空泵进行抽滤。将抽滤好的菌丝球连同滤纸一同置于电热恒温鼓风干燥箱中烘干至恒重,用电子分析天平称重。菌丝干重=菌丝和滤纸的总重-滤纸的重量^[4]。

2 结果与分析

2.1 大球盖菇对 4 种污染霉菌的抗耐性

2.1.1 大球盖菇对黑曲霉菌(*A. niger*)抗耐性 接种黑曲霉菌 2 d 时,黑曲霉菌初形成,菌落呈灰白色,绒状,随后绒状菌丝上形成黑色的颗粒状霉层,起初霉层较薄,随后不断变厚。大球盖菇菌丝和黑曲霉菌两者菌落间有拮抗现象,当两者菌丝接近时,靠大球盖菇菌丝边缘一侧形成一条明显的约 1 mm 的空白带,而靠黑曲霉菌一侧同样形成一条 1 mm 左右的带,该带呈灰白色,其上面没有黑色的颗粒状霉层。将培养皿反过来观察,在黑曲霉菌与大球盖菇接近处,明显观察大球盖菇菌丝由于受到黑曲霉菌的污染而变黄萎缩。

2.1.2 大球盖菇对青霉菌(*Penicillium* sp.)的抗耐性 在培养了 3 d 的大球盖菇菌丝的培养皿中央接种青霉菌,起初的 2~3 d 长出灰白色的青霉菌菌丝,生长比较缓慢,随后灰白色菌落上出现淡绿色粉状分生孢子,淡绿色不断加深成为深绿色,粉状层不断加厚,局限生长。受青霉菌污染的地方,菌丝生长受到一定的抑制,生长缓慢,但两者之间不存在拮抗现象,大球盖菇菌丝在培养皿中可以覆盖青霉菌的菌落。

2.1.3 大球盖菇对木霉菌(*Trichoderrna* sp.)的抗耐性 在培养了 3 d 的大球盖菇菌丝的培养皿中央接种木霉菌,木霉菌感染球盖菇菌丝,初期长出白色浓密的菌丝,3 d 后,白色菌落上出现淡绿色的粉状分生孢子,随着培养时间的加长淡绿色的粉状加厚,大球盖菇菌丝由于受到木霉菌的侵染,在与木霉菌靠近的一侧菌丝生长缓慢

并受到抑制。大球盖菇菌丝与木霉菌两者菌落间有明显的拮抗现象。两菌落相接处形成一条明显的空白带。随着时间的推移空白带略成为橙黄色界限。

2.1.4 大球盖菇对粘帚霉菌(*Gliocladium* sp.)的抗耐性 在培养了 3 d 的大球盖菇菌丝的培养皿中央接上粘帚霉菌,粘帚霉菌生长较为缓慢,4 d 后长出白色细丝状的菌丝,对大球盖菇的菌丝有较强的抑制作用。两菌落间有明显的拮抗作用,当两菌丝接近时,相接处形成明显的约 2 mm 的空白带,并且空白带呈透明状。

2.1.5 综合评价 按大球盖菇菌丝抗、耐污染菌的能力并划出等级分,从而评价上述 4 种污染霉菌与大球盖菇菌丝间的相互作用。根据影响程度列表 1。由表 1 可知,大球盖菇对杂菌具有一定的抗御能力。在平皿培养试验中,25℃条件下,在大球盖菇菌丝具有一定的生长势后,对青霉菌(*Penicillium* sp.)具有一定的耐性,对黑曲霉菌(*A. niger*),粘帚霉菌(*Gliocladium* sp.),木霉菌(*Trichoderrna* sp.)具有一定的抗性。青霉菌(*Penicillium* sp.)能以较浓的密度延伸到球盖菇菌丝边缘,两者相互衔接。在球盖菇与黑曲霉菌(*A. niger*),粘帚霉菌(*Gliocladium* sp.),木霉菌(*Trichoderrna* sp.)的平皿实验中,均出现了不同颜色的界限,这些可能是大球盖菇产生的抗菌素和污染霉菌产生的毒素相互作用的明显表现。

表 1 大球盖菇菌丝与 4 种污染霉菌的抗耐性

污染菌种	影响程度	评分
青霉菌(<i>Penicillium</i> sp.)	无拮抗作用,球盖菇菌丝能覆盖青霉菌落生长	3
黑曲霉菌(<i>A. niger</i>)	拮抗作用一般,两菌落间的界限不甚明显	2
木霉菌(<i>Trichoderrna</i> sp.)	拮抗作用较强,两菌落间的界限较明显	3
粘帚霉菌(<i>Gliocladium</i> sp.)	拮抗作用强,两菌落间的界限明显	4

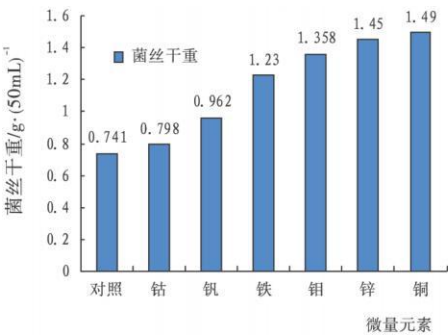


图 1 微量元素对菌丝干重的影响

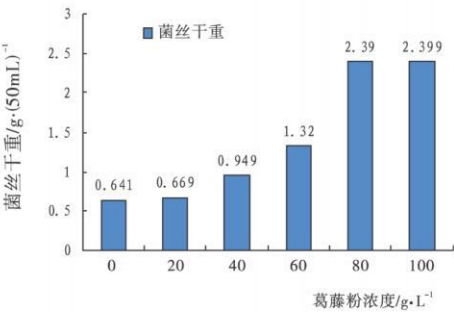


图 2 葛藤粉对菌丝干重的影响

2.2 矿质元素对大球盖菇菌丝体生长的影响

由图 1 可知,矿质元素钴和钒对大球盖菇菌丝体产量的提高相对作用不大,与对照组相比分别提高了

7.69%和29.82%。矿质元素铁、钼、锌、铜则对大球盖菇菌丝体的生长有促进作用,且该 5 种矿质元素使大球盖菇菌丝体的产量与对照组相比分别提高了 65.99%、

83.17%、95.68%和101.08%，其中矿质元素铜对球盖菇菌丝体产量的提高相对作用最大，其次依次是锌、钼、铁。

2.3 葛藤粉对大球盖菇菌丝体产量的影响

由图2可知，在PD培养液中葛藤粉浓度为20~100 g/L的浓度范围内，大球盖菇菌丝体的产量随着PD培养液中葛藤粉浓度的增大而提高。PD培养液中葛藤粉浓度在20、40、60、80和100 g/L时，大球盖菇菌丝体的产量与对照组相比分别提高了4.37%、48.05%、100.59%、272.85%和274.26%。可见，葛藤粉对大球盖菇菌丝体产量的提高的作用极其重大。

3 结果与讨论

在平皿培养试验中，恒温25℃条件下，在大球盖菇菌丝具有一定的生长势后，对青霉菌(*Penicillium* sp.)具有一定的耐性。青霉菌(*Penicillium* sp.)菌丝能以较浓的密度延伸到大球盖菇菌丝边缘，两者相互衔接。在大球盖菇菌丝与污染霉菌菌丝接触部位均有不同程度的大球盖菇的菌丝发黄萎缩的现象。对黑曲霉菌(*Aspergillus niger*)、粘帚霉菌(*Gliocladium* sp.)、木霉菌(*Trichoderma* sp.)具有一定的抗性。在大球盖菇菌丝与黑曲霉菌(*A. niger*)、粘帚霉菌(*Gliocladium* sp.)、木霉菌(*Trichoderma* sp.)靠近处，均出现了不同颜色的界限。

在大球盖菇菌丝体的生长过程中矿质元素铁、钼、锌、铜对其有较大的促进作用，而矿质元素钴、钒对其生

长的促进作用相对比较小。而闫培生等报道Mg²⁺对大球盖菇菌丝生长有微弱的抑制作用；Ca²⁺则有显著的抑制作用；Fe²⁺却无影响^[5]。这与该试验的结论存在不同，究其原因，可能由于矿质元素浓度的差异所致，尚需进一步研究。

在培养基中加入浓度在80 g/L左右的葛藤粉，既有利于球盖菇菌丝体产量的极大提高又不至于造成葛藤粉的浪费，可使其达到最佳的利用。葛藤粉之所以能对大球盖菇菌丝体产生促进作用的关键在于葛藤粉中富含淀粉、蛋白质、多糖和铁、锌、硒等多种微量元素和10多种氨基酸，而这些营养物质也是球盖菇菌丝在生长过程中所需要的。值得指出的是，在实际大球盖菇栽培中应使用葛藤加工后的下脚料来做培养料，做到物尽其用。

参考文献

[1] Hawksworth D L, Kirk B C, Pegler D N, et al. Dictionary of the fungi [M]. VIII. CABL, 1996: 35-37.
[2] 黄年来. 大球盖菇的分类地位和特征特性[J]. 食用菌, 1995, 17(6): 11.
[3] 暴增海, 马桂珍. 不同鸡腿蘑品种对霉菌抗耐能力的测定与分析[J]. 中国食用菌, 2002, 21(2): 12-13.
[4] 蔡德华, 董洪新, 肖长生, 等. 猴头菌液体发酵的环境条件试验[J]. 湖北农业科学, 2003(3): 78-80.
[5] 闫培生, 李桂舫. 大球盖菇菌丝生长营养需求及环境条件[J]. 食用菌学报, 2001, 8(1): 5-9.

A Study on Part of Biological Characteristics of *Stropharia Rugoso-annulata*

BAO Zeng-hai¹, QIU Chuan-qing², WANG Zeng-chi³, MA Gui-zhen¹, ZHOU Jie¹

(1. College of Food Technology, Huaihai Institute of Technology, Lianyungang, Jiangsu 222005, China; 2. The First Senior School in Feixiang, Handan, Hebei 057550, China; 3. Cangzhou Vocational college of Technology, Cangzhou, Hebei 061001, China)

Abstract: In this paper, the resistance and tolerance of its mycelial to *Aspergillus niger*, *Penicillium* sp., *Trichoderma* sp., *Gliocladium* sp. were also studied, and *Stropharia rugoso annulata* possessed the resistance and tolerance only after it formed growth potential. The results showed that the resistance of *Stropharia rugoso annulata* to *Aspergillus niger*, *Trichoderma* sp. and *Gliocladium* sp. was stronger than the others, and it become antagonistic line; the tolerance of *Stropharia rugoso annulata* to *Penicillium* sp. was stronger, and these mechanisms of resistance and tolerance were analyzed. The appropriate fermentation conditions and the effect of mineral elements and the different concentration of *Pueraria Lobata* powder on the the mycelial growth for *Stropharia rugoso annulata* in submerged culture with shake flask were studied, the results showed that the suitable culture condition were as follows: Mineral elements such as iron, copper, molybdenum and zinc had markedly positive effect on the mycelial growth, but cobalt and vanadium had no obvious effect; the different concentrations of *Pueraria Lobata* powder in culture had different effects on the mycelial growth, when the concentrations of *Pueraria Lobata* powder reached to 80 gram per liter, we got the maximum mycelial.

Key words: *Stropharia rugoso annulata*; Mold; Resistant and tolerance; Liquid fermentation; Mycelial; Mineral elements