

杏鲍菇液体菌种的制备研究

刘冠卉, 屠洁, 张久成, 贾玉龙

(江苏科技大学 生物与环境工程学院, 江苏 镇江 212018)

摘要: 对杏鲍菇液体培养基的碳氮源进行筛选, 表明杏鲍菇科杏 2 号菌株最适碳、氮源均为麦麸皮。采用单因素试验对杏鲍菇液体菌种的摇床培养条件进行研究。结果表明: 以 100/250 mL 装液量, 10% 接种量, 30℃ 下 180 rpm 转速培养 6 d, 菌丝生物量最大。采用该液体菌种栽培杏鲍菇, 菌丝满袋时间缩短 12 d。

关键词: 杏鲍菇; 液体菌种; 生物量

中图分类号: S 646.1⁺9 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2009)11-0230-03

杏鲍菇又名“刺芹侧耳”, 是一种菌肉肥厚、质地脆嫩、口感鲜美的食用菌。近年来的研究表明, 杏鲍菇含 18 种氨基酸和多种维生素, 营养丰富, 且具有提高免疫力、降血脂、润肠胃等保健功效^[1]。因此深受消费者欢迎, 种植面积逐年增大。传统的固体菌种生产因劳动强度大、生产周期长而不能适应现今的市场需求。由于液

体菌种生产具有发菌快, 菌龄一致, 菌种成本低, 接种简便等优点而越来越受到人们的重视。该试验对杏鲍菇液体菌种的碳、氮源, 摇床培养条件进行了研究, 旨在为杏鲍菇液体菌种应用与推广提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 菌株

杏鲍菇科杏 2 号, 由江苏省农科院提供。

1.2 菌种培养基

1.2.1 斜面及平板培养基 PDA 培养基。

1.2.2 一级种子培养基 葡萄糖 3%、蛋白胨 0.2%、磷酸二氢钾 0.05%、硫酸镁 0.05%、VB₁ 10 mg/L、酵母浸汁 0.5%、琼脂 0.4%, 调 pH 至 7.5。

第一作者简介: 刘冠卉(1976-), 男, 江苏镇江人, 硕士, 讲师, 现从事农产品加工的教学研究工作。E-mail: zhenjianglgh@yahoo.com.cn。

收稿日期: 2009-06-10

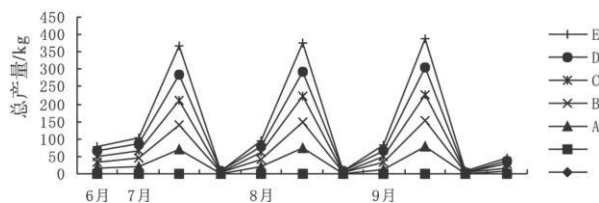


图2 不同设施产量变化

一般来说, 双孢菇产量规律是随着出菇潮次推移, 产量呈下降趋势。但是从图 3 中可看出只有半地下式地槽从 6~9 月份, 产量呈递减状态, 而其它 3 种设施, 在温度最高的 7 月份, 产量均低于随后 8 月份的产量, 这表明只有半地下式地槽夏季出菇产量不受外界高温的影响。

5 小结

北方窑洞虽然保温效果较好, 但是由于通风不畅, 排湿困难, 加之透光性差, 洞内易滋生病虫害, 菇体个小、色浓, 商品率低, 不适宜种植双孢菇。其它 4 种设施基本都能满足双孢菇越夏栽培。半地下式地槽与简易棚产量差异达显著水平。

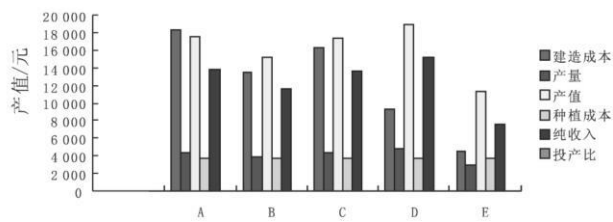


图3 5种设施产值比较

同时采用半地下式地槽栽培双孢菇, 几乎不受夏季炎热气候影响, 出菇最高温度在 20℃ 以下, 产品品质好, 病虫害少, 产量高, 投产比达到 1:5.1, 而且这种设施建造成本低, 当年投资, 当年收回所有成本, 净收入近 6 000 元。

参考文献

- [1] 常涛, 邱中华. 西北型节能日光温室的设计研究与示范[M]. 中国农业工程学会第七次会员代表大会论文集, 2004.
- [2] 李宏伟, 宋文正. 元蘑简易棚栽培方法技术要点[J]. 中国林副特产, 2006(4): 59-61.

1.3 试验方法

1.3.1 杏鲍菇液体菌种的制备 从活化的PDA 培养基种上取 3 块 0.5 cm² 的菌块, 接入 250 mL 三角瓶中, 28℃、180 rpm 培养 5 d, 制得液体一级种子。然后按 10%接种量将一级种子接入液体菌种培养基中, 合适条件下培养, 制得杏鲍菇液体菌种。

1.3.2 菌丝生物量的测定 取 100 mL 摇瓶培养物, 用蒸馏水清洗, 真空抽滤, 重复 2 次。而后收集菌丝体, 60℃下烘干至恒重, 电子天平称重。

1.3.3 碳源的选择 选取葡萄糖 2%、蔗糖 2%、玉米粉 4%、土豆 20%、麸皮 10%分别作为碳源, 另外加入硫酸镁 0.3%、磷酸二氢钾 0.15%、蛋白胨 0.05%、琼脂 0.1%。在 250 mL 三角瓶中装入 100 mL 培养基, 灭菌后接入 10 mL 一级种子, 28℃下 180 rpm 振荡培养 5 d, 测量生物量。每个处理重复 3 次。

1.3.4 氮源的选择 选取蛋白胨 0.6%、硫酸铵 0.6%、牛肉膏 0.6%、酵母汁 0.3%、麦麸皮 10%作为氮源, 另外加入硫酸镁 0.3%、磷酸二氢钾 0.15%、琼脂 0.1%、蔗糖 0.5%、玉米粉 4%。操作同上。

1.3.5 液体菌种培养条件的确定 采用 250 mL 三角瓶振荡培养, 设置不同的装液量、培养温度、培养时间、摇床转速, 测量其生物量。每个处理重复 3 次。

2 结果与分析

2.1 不同碳源对菌丝生长的影响

由表 1 可知, 当以麦麸皮作为碳源时菌丝生物量明显高于其他 4 组。同时, 观察发现当麦麸皮做为碳源时, 液体培养基中菌丝球整齐均一, 而其它组则出现菌丝球大小不一的现象。由此确定麦麸皮为 5 种待选碳源中的最优碳源。

表 1 不同碳源对菌丝生物量的影响

碳源	生物量 /g	Duncans 多重比较		菌丝球形态
		0.05	0.01	
麦麸皮	0.967±0.021	a	A	++++
葡萄糖	0.468±0.050	b	B	++
马铃薯	0.415±0.024	bc	B	++
玉米粉	0.347±0.059	c	BC	++++
蔗糖	0.243±0.056	d	C	++

2.2 不同氮源对菌丝生长的影响

由表 2 可知, 该菌株对氮源的利用能力依次为麦麸皮、蛋白胨、酵母汁、牛肉膏、硫酸铵。观察发现, 以麦麸皮、蛋白胨、酵母汁为氮源时菌丝球整齐均一。利用硫酸铵作氮源时, 菌丝球长势最差, 大小不一。

综合原料来源、成本、菌丝生物量, 选取麦麸皮同时作为杏鲍菇培养基的碳源和氮源。同时, 为了使菌种能迅速生长, 添加了 0.4%的葡萄糖作速效碳源。由此, 杏鲍菇液体菌种培养基为麦麸皮 10%、葡萄糖 0.4%、硫酸镁 0.3%、磷酸二氢钾 0.15%、琼脂 0.1%, pH 自然。以

下均以此培养基寻求最佳培养条件。

表 2 不同氮源对菌丝生物量的影响

碳源	生物量 /g	Duncans 多重比较		菌丝球形态
		0.05	0.01	
麦麸皮	1.223±0.005	a	A	++++
蛋白胨	1.084±0.095	ab	AB	++++
酵母汁	0.956±0.090	b	B	++++
牛肉膏	0.751±0.110	c	C	+++
硫酸铵	0.480±0.041	d	D	++

2.3 不同装液量对菌丝生长的影响

设置不同装液量水平, 接种量 10%, 28℃, 180 rpm 培养 5 d, 测量菌丝生物量。装液量与摇瓶中的溶解氧量直接相关。装液量过大, 液面接触的空气面积小, 单位体积的液体溶氧量就小, 对菌丝生长不利。由图 1 可知, 当装液量在 80~100 mL 时, 菌丝生物量较大。考虑到生产时需要使用大量的液体菌种, 因此选用装液量为 100 mL。装液量为 140 mL 时生物量小幅上扬, 可能是因为装液量过大导致菌丝体爬壁生长。此现象同孟艳琼^[2]的研究一致。

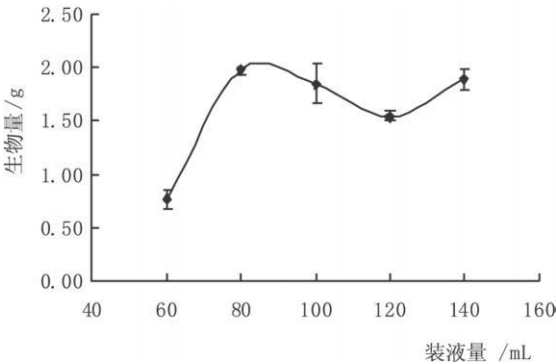


图 1 不同装液量对菌丝生物量的影响

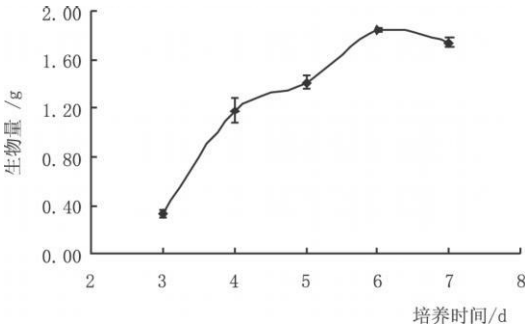


图 2 不同培养时间对菌丝生物量的影响

2.4 不同培养时间对菌丝生长的影响

装液量 100 mL, 接种量 10%, 28℃下 180 rpm 培养不同天数, 测量菌丝生物量。由图 2 可知, 杏鲍菇培养至第 6 天时菌丝生物量达最大值。第 7 天时, 生物量下降, 这可能是因为培养后期的营养物质比例失调, 且代谢

产物累积, 导致菌种开始发生自溶。

2.5 不同培养温度对菌丝生长的影响

装液量 100 mL, 接种量 10%, 不同温度180 rpm 培养 5 d。测量菌丝生物量。结果如图 3 所示, 当培养温度为 30℃时, 菌丝生物量最高, 这与马立芝的研究结果一致^[3]。在 36℃时菌种死亡。

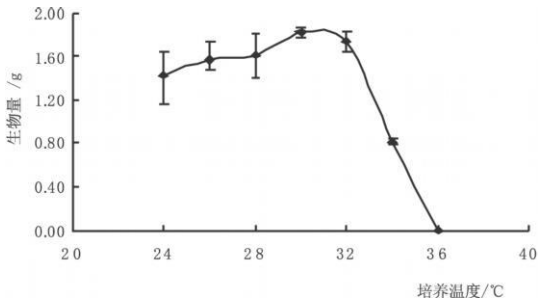


图 3 不同培养温度对菌丝生物量的影响

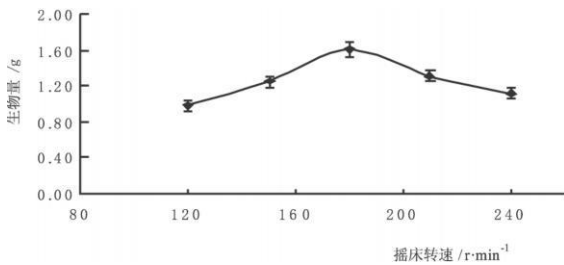


图 4 不同转速对菌丝生物量的影响

2.6 不同摇床转速对菌丝生长的影响

装液量 100 mL, 接种量 10%, 30℃下用不同转速培养 6 d, 测量生物量。结果如图 4 所示, 菌丝生物量先随转速的提高而上升, 至 180 rpm 时生物量最高, 然后下降。这可能是由于随着转速的增大培养基内溶解氧增多, 促进了菌丝生长。而当转速超过 180 rpm 时菌丝生物量下降可能是由于培养基内剪切力过大, 菌丝球形成

受到了抑制。

表 3 不同菌种对菌丝满袋时间的影响

菌种	菌丝满袋时间/d
液体菌种	34±1
固体菌种	46±3

2.7 不同栽培菌种对菌丝满袋时间的影响

以木屑 85%、麸皮 10%、玉米粉 3%、石灰 1%、石膏 1%作为杏鲍菇栽培料, 每袋 1 300 g。分别采用制备的液体菌种和传统的固体菌种 2 种方式生产。菌丝满袋时间如表 3 所示, 液体菌种能节省约 12 d 时间。

3 结论

对杏鲍菇液体培养的碳、氮源做了筛选, 表明当麦麸皮分别作为碳源和氮源时, 液体培养物中菌丝生物量均为最高。麦麸皮中纤维占 31.3%, 淀粉占 30.1%, 蛋白质占 15.8%^[4], 因此完全能满足杏鲍菇菌丝体生长的营养需求。此外麸皮还含有较为丰富的 VB₁、VB₆ 等维生素和 Mg、P、Fe 等矿物质^[5], 对菌体生长也有促进作用。以麦麸皮 10%、葡萄糖 0.4%、硫酸镁 0.3%、磷酸二氢钾 0.15%、琼脂 0.1%作为杏鲍菇液体菌种培养基, 当装液量 100 mL, 接种量 10%, 30℃下用 180 rpm 转速培养 6 d, 菌丝生物量达最大, 适合作为生产用的液体菌种。用此液体菌种接入杏鲍菇杂木屑栽培料中 34 d 菌丝满袋, 比固体菌种满袋时间缩短 12 d。

参考文献

[1] 暴增海, 马桂珍. 杏鲍菇多糖和营养成分的研究现状[J]. 北方园艺 2007(6): 239-240.
[2] 孟艳琼, 宋敏, 彭凡, 等. 杏鲍菇深层发酵工艺的研究[J]. 安徽农业大学学报, 2003, 30(3): 337-341.
[3] 马立芝, 袁建平, 高振江. 杏鲍菇液体菌种培养条件的研究[J]. 食用菌, 2005(3): 19-21.
[4] 李书国, 李雪梅, 刘妍春, 等. 麦胚与麦麸保健食品的研制开发[J]. 粮油食品科技 2004, 12(5): 22.
[5] 王菁莎, 刘景彬. 小麦麸皮在食品中的开发应用[J]. 纤维素科学与技术, 2005 13(3): 61-62.

A Study on The Preparation of Liquid Spawn of *Pleurotus eryngii*

LIU Guan-hui, TU Jie, ZHANG Jiu-cheng, JIA Yu-long

(College of Biology and Environment Engineering, Jiangsu University of Science and Technology, Zhenjiang Jiangsu 212018, China)

Abstract: The carbon and ni.trogen sources of liquid medium were investigated. The optimal carbon and nitrogen sources of *Pleurotus eryngii* Kexin-2 were both bran. Though the single factor experiments, the suitable were obtained. When inoculum size of 10% (v/v), liquid volume in flask of 100 mL, and cultivation at 30℃ for 6 d by 180 rpm rotation speed, the biomass of mycelium reached the maximum. The time of mycelial growth to full bag were decreased 12 days.

Key words: *Pleurotus enyngii*; Liquid spaw n; Biomass