

野生桦褐孔菌菌株 JS-1 驯化栽培研究

冀 宏^{1,2,3}, 陈文杰², 马允莉⁴, 韩 韬², 霍 红²

(1. 常熟理工学院 江苏 常熟 215500; 2. 河北省微生物研究所, 河北 保定 071051; 3. 天津大学 天津 300072 4. 河北农业大学 河北 保定 071051)

摘 要: 采用以棉籽皮或阔叶木屑为主料的混合培养基实现桦褐孔菌菌株 JS-1 的人工栽培。预结实试验证明了人工栽培桦褐孔菌具有可行性; 研究了菌丝体由营养生长转为生殖生长的条件选择与控制, 证明采用 V 配方, 在温差 10℃ 条件下, 经过菌丝体后熟期和转色可形成菌核; 且菌核在 20~25℃ 范围内生长良好; 发现控制通气是关键技术环节, 菌株 JS-1 菌核形成和生长具有“限氧”的特性, 氧气充足反不利于菌核生长。上述条件下, 以棉籽皮为主料, 一茬菇生物学效率可达到 47% 左右, 干品得率 8%。

关键词: 桦褐孔菌; 人工栽培; 后熟期; 转色; 限氧生长
中图分类号: S 646.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001—0009(2009)02—0229—04

桦褐孔菌, 又称斜纤孔菌, 俗称白桦茸, 属担子菌亚门、层菌纲、多孔菌目、多孔菌科、褐孔菌属 *Phaeoporus*。其拉丁名常以 *Inotus obliquus* (Ach. ex Pers.) Pilat = *Phaeoporus obliquus* (Ach. ex Pers.) J. Schrot^[1] 出现; 中文名为“蕾苔”; 英文俗名: Birch mushroom, 俄罗斯民间称其为“Chaga”。Kukulyanslaya 等人对天然的和人工培育的桦褐孔菌产生的色素的理化性质进行了研究, 并做了比较^[3]; 我国学者陈艳秋等对桦褐孔菌菌丝生长营养条件及液体培养条件进行了研究报道^[4,9]; 据报道关于桦褐孔菌人工栽培目前仅仅取得有限的成功^[9]。该课题组分离获得了一株野生桦褐孔菌稳定性菌株 JS-1, 在考察了该菌株的营养生理与生物学特性(相关内容另有报道)基础上, 研究了菌丝体由营养生长转为生殖生长的过程和条件的选择与控制, 借鉴蕈菌人工驯化的基本方法和栽培模式^[7,8] 培育出桦褐孔菌菌核, 初步确立了人工栽培的技术模式。

1 材料与方法

1.1 供试菌株

桦褐孔菌菌株 JS-1。2002 年采自俄罗斯西伯利亚地区阿尔泰州境内的野生桦褐孔菌菌核分离获得, 并经中国科学院微生物研究所检测鉴定为桦褐孔菌 (*Inotus obliquus*)。经平皿均一性检测和斜面继代培养试验证实, 该菌株具有良好的遗传均一性和稳定性, 菌丝生长无锁状联合。该菌株目前已被中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心受理收藏, 入册编号: CGM-

CC No. 1535。
1.2 培养基配方
1.2.1 加富 PDA 培养基 马铃薯 100 g, 麸皮 50 g, 葡萄糖 20 g, 琼脂 15 g, 水 1 000 mL, pH 自然。
1.2.2 液体培养基 葡萄糖 1.0%, 酵母膏 0.5%, 硫酸镁 0.1%, 磷酸二氢钾 0.1%, 维生素 B₁ 2 mg/100mL, pH 自然。
1.2.3 供试栽培培养基 I. 木屑 98%; II. 棉籽皮 98%; III 木屑 83%, 麸皮 15%; IV. 木屑 44%, 棉籽皮 44%, 麸皮 10%; V. 棉籽壳 88%, 麸皮 10%。以上配方, 均加 1% 石膏, 1% 石灰, pH 自然, 料水比 1 : 1.35。
1.3 驯化栽培试验
1.3.1 结实预备性试验 I. 将菌丝已满管的加富 PDA 斜面置于不同温度环境 培养观察。II. 将培养好的桦褐孔菌发酵醪液在不同温度条件静置, 培养观察。
1.3.2 驯化试验 考虑到桦褐孔菌菌丝生长较为缓慢的特点, 确定“二级培养”的栽培工艺: 斜面母种→栽培原种→栽培料袋→发菌管理→出菇管理。
1.3.3 培养料配方试验 基于桦褐孔菌的营养生理需求和生于活立木的特点, 同时考虑到原料是否易得的因素, 选择以木屑和棉籽壳为主料, 辅以麸皮、石膏等配料。经初筛, 选择 1.2.3 为基础供试配方作进一步筛选。
1.3.4 培养料水分试验 分别设置料 : 水 = 1 : 1、1 : 1.2、1 : 1.3、1 : 1.4, 制备栽培培养基, 用 750 mL 罐头瓶装料, 灭菌, 接种, 每组处理 20 瓶, 观察菌丝生长情况, 重复 3 次, 结果取平均值。
1.3.5 出菇温度试验 同 1.3.4 方法制备栽培培养基 每瓶装干料 200 g; 灭菌, 接种, 菌丝满瓶后, 将出菇瓶分别置于 5、10、15、20、25、30、35、40℃ 环境中, 每组处理 20 瓶, 观察菌核发生情况, 重复 3 次, 结果取平均值。

第一作者简介: 冀宏(1969-), 男, 在读博士, 研究员, 现从事微生物学及食药菌学教学与科研工作。E-mail: jiahong8848@126.com。
基金项目: 河北省科技厅国际科技合作资助项目(04395501D)。
收稿日期: 2008-09-17

1.3.6 温差刺激试验 发满菌的出菇料袋(聚丙烯袋, 350 g 干料), 在 25℃(上限温度)的条件下, 设置 5、10、15℃等梯次不同的温差环境, 以恒温(温差 0℃)为对照, 观察出菇结实, 每组处理 10 袋, 重复 3 次, 数据统计结果为平均值。

1.3.7 光照对出菇的影响 将成熟的出菇料袋分别放置在 50、300、1 000、1 500 lx 光照条件下, 每个处理 20 袋, 观察菌核形成与生长, 重复 3 次, 结果取平均值。

1.3.8 转色与后熟期管理 在固体培养基上成熟的桦褐孔菌菌丝体会分泌色素, 色素沉淀造成出菇料袋变色, 观察不同转色程度与菌核形成的相关性; 从菌丝长满出菇袋到开始转色为营养菌丝体“后熟期”, 观察其与菌核形成的关系。

1.3.9 需氧试验 生物学特性研究表明桦褐孔菌具有“限氧”生长的特性(另有报道), 驯化栽培中通过设置下列试验组, 考察这一特性对菌核发生的作用与影响: I. 出菇料袋(瓶)按常规模式, 通过打开袋口, 诱导生成菌核; II. 出菇料袋(瓶)始终处于封闭状态, 进行出菇; III 将菌核正在生长的出菇料袋(瓶)打开或划口通气, 观察菌核生长。

1.4 扩大(中试)栽培试验

为验证驯化栽培试验, 进行了中试, 分别在河北廊

坊、平泉和保定市开展了桦褐孔菌扩大栽培试验, 根据驯化栽培工艺流程, 放大栽培规模, 总投料量 6 000 kg。经过菌种扩繁、转接出菇棒、发菌培养、后熟期、转色、出菇管理, 观察菌核生成和生物学效率。

2 结果与分析

2.1 预结实试验

方法 1.3.1 试验显示, 在 15~20℃的自然环境下, 桦褐孔菌试管斜面下端生成灰褐色菌蕾, 并逐渐长大(见图 1); 而摇瓶中菌丝体静置 2 周后, 表层菌丝形成扭结, 3 周后菌核形成, 菌孔产生(菌核体积较小, 菌孔初期白色, 后期褐色)(见图 2)。将上述试验中菌蕾(块)组织回接空白试管斜面培养, 菌丝体显微形态观察和顽顽试验均显示为桦褐孔菌菌丝体, 说明, 在人工控制的适宜条件下, 可以促使桦褐孔菌的生成, 人工栽培桦褐孔菌具有可行性。

2.2 出菇培养基配方试验

根据方法 1.3.3 进行出菇试验, 将各处理组置 20℃培养, 观察菌丝生长情况。结果见表 1, 显示 V 号配方菌丝粗壮、吃料快、发菌期短、结实早, 表现最优, 将其确定为桦褐孔菌袋料栽培配方。

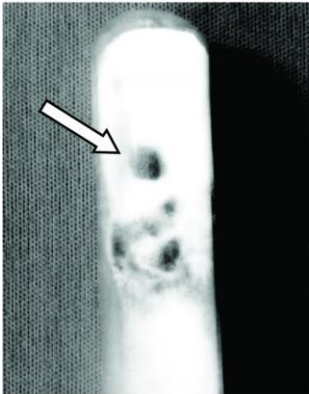


图1 试管斜面中的菌核

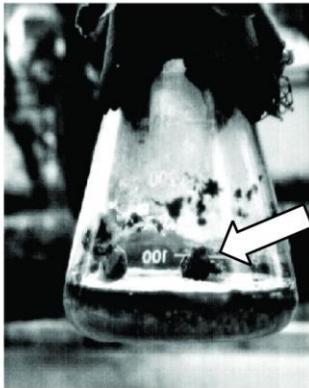


图2 三角摇瓶中的菌核

表 1 出菇培养基配方试验

处理	菌丝长势	吃料天数/ d	满菌天数/ d	现蕾天数/ d
I	稀、细	10	52	不结实
II	较浓、细	8	48	110
III	较浓、较细	7	41	95
IV	较浓、较细	8	39	90
V	浓、粗	6	35	86

2.3 出菇培养料含水量与菌丝生长的关系

根据方法 1.3.4 得试验结果表 2 可以看出采用 V 号配方制备出菇培养基, 在不计原料固有含水量的条件下, 料水比以 1 : 1.3(含水量 57%)左右为宜。

2.4 菌核发生与温度的关系

表 2 培养料含水量与菌丝生长的关系

料 : 水	1 : 1	1 : 1.2	1 : 1.3	1 : 1.4
生长速率/ mm · d ⁻¹	2.53	2.93	3.42	3.05
菌丝密度	++	+++	++++	+++

注: +++++、++++、+++ 分别表示菌丝浓密、密、较稀疏

根据方法 1.3.5 得试验结果表 3, 桦褐孔菌菌丝扭结现蕾(出菇)的温度范围为 15~25℃, 最适温度 25℃; 温度低于 10℃或高于 30℃, 菌丝体难以扭结现蕾。菌核形成以后, 在 5~35℃内均能够生长, 最适温度 20~25℃。35℃以上会生成“针状”畸形菇。另外观察发现,

菌核的发生(菌丝扭结)必须经过变温刺激。

表 3 菌核发生与温度的关系								
温度/℃	5	10	15	20	25	30	35	40
现蕾天数/d	-	-	60	49	37	-	-	-
菌核长势	+	++	+++	++++	+++++	+++++	++++	畸形

注 1.+++++,++++,+++,++,+ 分别表示菌核发育健壮、良好、正常、较差、差 2. 现蕾天数自菌丝满瓶后开始计算。

2.5 变温与结实的关系

温差试验结果(表 4)显示桦褐孔菌变温结实特明显,温差越大,现蕾越早。恒温不结实。温差控制在 10℃以上为好。

表 4 变温与结实的关系				
变温温差/℃	5	10	15	0(CK)
现蕾天数/d	57	50	42	不结实

注 现蕾天数自菌丝满袋后开始计算。

2.6 转色与菌丝后熟期对结实的影响

桦褐孔菌菌丝体营养生长后期会分泌黄褐色色素,色素沉淀造成培养基变色,这既是菌丝营养生长成熟的标志,也是菌丝体健壮的表现。在试验中发现,转色与否及转色程度直接影响桦褐孔菌结实能力及菌核质量,试验证明(见表 5),转色以黄褐色略带光泽为最佳。转色是桦褐孔菌生理生长的自然过程,这一阶段约需要经历 15~20 d。试验观察转色后的出菇棒抗性和保水性显著提高,不易发生病理及生理性病害;培养料水分亦不易散失,常温放置 180 d 不干瘪,不腐败。从菌丝满袋到进入转色阶段有约 20~25 d 的时期,这一时期表层菌丝体由丰盈洁白逐渐变得干缩暗淡,整个菌棒也略显收缩,不仔细观察菌棒外观没有明显变化,称这一阶段为“后熟期”。试验发现,在这一阶段菌棒极易感染杂菌和招受各种病害的侵害,因此应尽量选择洁净,恒温的环境安全度过“后熟期”。这也是保证栽培成功的关键环节。

表 5 转色对结实的影响(变温刺激现蕾, 25℃培养)				
转色程度	黄色	褐色	黄褐色	无转色
现蕾天数/d	22	15	10	无菇蕾
菌核长势	++	+++	++++	无菌核

注 1.++++,+++,,+++,+ 分别表示菌核发育健壮、正常、差 2. 现蕾天数自菌瓶转色后开始计算。

2.7 光照对结实的影响

由表 6 可知,光照对出菇影响较为显著,一定的散射光利于菌核的形成和生长,但随着光照增强,菌核个体变小,形状趋于畸形。考虑菌核品质和生长速度出菇阶段光照强度以 300~500 lx 为宜。

表 6 光照对结实的影响(25℃,变温刺激)				
光照强度/lx	50	300	1 000	1 500
现蕾天数	20	16	10	12
菌核形状	个体中,圆实 长速慢	个体大,坚实 长速较快	个体小,质疏 长速快	个体小,畸形 长速缓慢

注 现蕾天数自菌瓶转色后开始计算。

2.8 通风对菌核的影响

在营养生长阶段桦褐孔菌 JS-1 具有“限氧”生长的生物学特征,菌丝生长喜“微氧”环境。在栽培试验中发现:I. 打开口的出菇棒(瓶)不现蕾,不结实;II. 封闭状态的出菇棒(瓶)反而能正常结实和生长;III 如果将菌核正在生长的出菇棒(瓶)打开或划口通气,菌核便开始变得僵硬,干裂并停止生长。且多次试验结果都验证了这种现象,它说明桦褐孔菌菌核的形成和生长同样具有“限氧”的特性,在这方面桦褐孔菌与其他栽培品种存在较明显差异。根据这一特性,栽培桦褐孔菌时,应采取“扎口出菇”的方法。

2.9 扩大(中试)栽培试验

原种培养基:棉籽壳 83%,麸皮 15%,石灰 1%,石膏 1%,料水比 1:1.3, pH 自然。

出菇料棒配方如下:棉籽壳 88%,麸皮 10%,石灰 1%,石膏 1%,料水比 1:1.3, pH 自然。

选用 17 cm×22 cm 聚丙烯料袋装料。考虑到桦褐孔菌的厌氧特性和防止因菌核胀破料袋而影响生长,是用“双套袋”法装料,即装料时在内袋外再套一层 18 cm×25 cm 聚丙烯料袋;每袋装干料 400 g;打孔,塑料绳扎口。0.12~0.15 Mpa, 1.5 h, 高压灭菌。采用一端接种,每瓶原种转接料袋 20~25 袋。发菌管理在菌种培养室内,20℃恒温培养,控制光照强度 100 lx 左右;定期检验发菌情况,剔除污染菌袋。菌袋发满转入塑料大棚进行出菇管理;料袋层架式排放;按要求控制适宜的后熟期、转色、温度、光照和通风等条件。桦褐孔菌为多年生品种,在适宜的条件下不断生长,人工栽培应控制在菌核 5~10 cm,或者子实层形成菌管、培养料开始收缩变软时采收。栽培工艺见图 3,综合结果见表 7,人工栽培菌核见图 4、图 5。

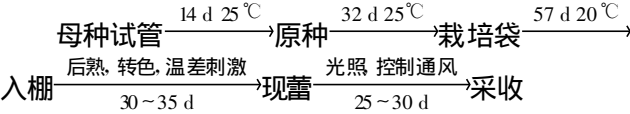


图 3 人工栽培工艺流程(生产周期 160~170 d)

表 7 扩大(中试)栽培试验结果

吃料天数/d	满袋天数/d	现蕾天数/d	平均单产	生物学效率/%
6	57	86	188(鲜)	47(鲜)
			32(干)	8(干)

注:产量以一潮菇计算。

3 分析与讨论

3.1 以棉籽皮或阔叶木屑为主料的固体培养基可满足桦褐孔菌菌株 JS-1 对营养生长的要求,控制适宜参数可以诱使营养生长向生殖生长转化,产生菌核。此过程需要经过菌丝体后熟、转色等生理阶段,并且提供温差刺激。以棉籽皮为主料,一茬菇生物学效率可达到 47%左

右, 干品得率 8%, 生产周期 160~170 d。

3.2 菌株 JS-1 菌核形成和生长需有“限氧”的条件, 菌核生长管理中不需开袋通气, 氧气充足反不利于菌核发生与生长, 此特性是影响桦褐孔菌菌核形成的重要因素。

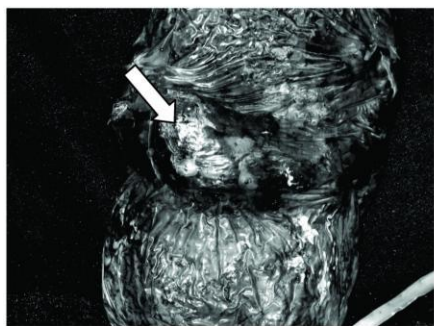


图4 生长中的菌核

3.3 虽然探讨了人工栽培的条件和模式, 但并非最优方法, 尚需进一步优化; 此外, 桦褐孔菌人工培养期限与有效物质成分含量之间的相关性也需作进一步比较研究, 以便为开发和利用提供依据。

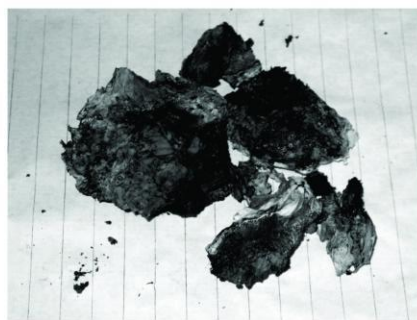


图5 人工栽培菌核

参考文献

- [1] 黄年来. 俄罗斯神秘的民间药用真菌——桦褐孔菌[J]. 中国食用菌, 2002, 21(4): 7-8.
- [2] 卯晓岚. 中国大型真菌[M]. 郑州: 河南科学技术出版社 2000: 1-719.
- [3] 陈艳秋, 李玉, 周丽洁. 桦褐孔菌菌丝液体培养条件的研究[J]. 吉林农业大学学报, 2006, 28(4): 358-360.
- [4] 梁清乐, 王秋颖, 樊锦燕, 等. 桦褐孔菌的研究概况[J]. 中草药, 2005, 36(4): 623-625.
- [5] 张立秋, 陈艳秋. 不同碳、氮源及无机盐对桦褐孔菌菌丝培养特性的

影响[J]. 延边大学农学报, 2006, 2(1): 41-45.

- [6] 汪麟, 李育岳, 汪虹. 食用菌栽培手册[M]. 北京: 金盾出版社 2001: 1-428.
- [7] Kukulyanskaya T A, Kurchenko N V, Kurchenko V P, et al. Physico-chemical properties of melanins produced by the sterile form of *Inonotus obliquus* (“chagi”) in natural and cultivated fungus[J]. Appl Biochem Microbiol 2002, 38(1): 58-61.
- [8] Chang S T, Miles P G. Edible Mushroom and Their Cultivation[M]. USA: CRC Press, 1989.

Study on Domestication and Cultivation of Wild *Inonotus obliquus* Strain JS-1

Ji Hong^{1,2,3}, CHEN Wen-jie², MA Yun-li³, HAN Tao², HUO Hong²

(1. Changshu Institute of Technology, Changshu, Jiangsu 215500, China; 2. Hebei Institute of Microbiology, Baoding, Hebei 071051, China; 3. Tianjin University, Tianjin 300072, China; 4. Hebei Agriculture University, Baoding, Hebei 071051, China)

Abstract: A strain of wild *Inonotus obliquus* JS-1 was artificially cultivated on compound substrates whose main component is cottonseed hull or saw dust from wide-leaf trees. Conditions promoting the switch from vegetative growth to reproduction were studied. Fruiting test demonstrated that JS-1 can form fruit bodies under artificial cultivation conditions. When substrate formula was applied, fruit bodies formed after mycelia underwent the stages of after-mature-periods and coloring and was stimulated with temperature fluctuation of 10 °C. Fruit bodies can grow at 20~25 °C. Ventilation was the key condition that should be strictly controlled because formation and growth of fruit body require oxygen limitation. High oxygen content will inhibit the growth of fruit body. In our conditions, biological efficiency of one flush of fruiting can reach 47% and the dry product rate was 8%.

Key words: *Inonotus obliquus*; Artificial cultivation; After-mature-periods; Coloring; Oxygen limitation growth