

香魏蘑菌丝培养特性及生长曲线的测定

暴增海, 程敏, 马桂珍

(淮海工学院 食品工程学院, 江苏 连云港 222005)

摘要:以菌丝球的干重与培养时间作生长曲线, 通过液体培养法培养, 研究菌丝生长与培养时间的关系。结果表明: 香魏蘑菌丝在 0~5 d 生长缓慢, 菌丝处于适应环境的阶段, 而从第 5~7 天生长较快, 是一个快速生长期, 在第 7 天之后菌丝基本达到稳定; 香魏蘑菌丝体在 PDA 平板上菌丝粗壮、整齐、洁白, 多气生菌丝, 呈放射状, 生长旺盛, 菌丝浓密, 液体发酵培养形成的菌丝球细密, 且菌丝球界面清晰, 同时上清液透亮。

关键词: 香魏蘑; 菌丝; 菌丝球; 培养特性; 生长曲线

中图分类号: S 646.1⁺9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2010)12-0187-03

香魏蘑隶属担子菌亚门伞菌目侧耳科, 又称香魏菇, 是以香平菇一株四倍体侧耳(*Pleurotus* sp.)和阿魏蘑(*Pleurotus ferulae* Lanz)通过种或变种间有性杂交选育的新菇种^[1]。香魏蘑菌柄洁白, 质地脆嫩, 菌盖浅灰色至深灰色, 兼有阿魏蘑的甜美风味和平菇的较强抗逆性, 具有良好的经济价值, 其肉质幼嫩滑爽, 味道清甜鲜美, 口感极佳, 而且具有很高的营养价值, 具独特的药物功效, 常食具有增强人体免疫功能, 对胃肝内脏十分有益, 对高血压、高血脂有较好疗效。因此, 香魏蘑具有良好的开发前景。

林汝楷等先后对液体培养以及栽培技术进行了研究^[2-3], 但对香魏蘑菌丝培养特性以及生长曲线的研究尚未见报道。为此现对该方面的相关测定进行研究, 以期对香魏蘑的进一步开发提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 试验菌株 香魏蘑由华中农业大学引进, 在该院微生物研究室保存。

1.1.2 试剂及药品 马铃薯, 琼脂, 葡萄糖, 麸皮, 琼脂等。

1.1.3 试验用具 培养皿, 接种钩, 酒精灯, pH 试纸, 漏斗, 试管, 试管架, 小烧杯, 滴管, 量筒, 三角瓶等。

1.1.4 主要试验设备 全自动立式电热压力蒸汽灭菌器, 单人双面净化工作台(SW-cj-1F), 全温振荡培养箱(HZQ-F160), 精密电子天平(YP2003N), 生化培养箱

(SPX-250B), 高速冷冻离心机(CR22G), 电热恒温水浴锅(HW-SY)等。

1.1.5 培养基及其配方 PDA 培养基: 马铃薯 200 g, 麸皮 20 g, 葡萄糖 20 g, 琼脂 20 g, 水 1 000 mL, pH 自然。PD 培养液: 马铃薯 200 g, 麸皮 20 g, 葡萄糖 20 g, 水 1 000 mL, pH 自然。

1.2 试验方法

1.2.1 培养基的制备 PDA 培养基的制备: 马铃薯洗净去皮, 切成薄片, 称取 200 g。并称取 20 g 麸皮加自来水 1 000 mL 放入铝锅内置于电磁炉上, 加热煮沸 20~30 min 至马铃薯酥而不烂的程度。用 8 层纱布过滤取其滤液。在滤液中加入琼脂 15~20 g, 加入葡萄糖 20 g, 用小火加热, 并用玻璃棒不断搅拌, 直至琼脂全部溶化, 最后定容至 1 000 mL。将培养基分装入若干 500 mL 三角瓶中, 每瓶装 200 mL。分装完毕, 塞棉塞, 并包报纸 2 层, 线绳扎紧, 灭菌后备用。PD 培养液的制备: 马铃薯洗净去皮, 切成薄片, 称取 200 g。并称取麸皮 20 g 加自来水 1 000 mL 放入铝锅内置于电磁炉上, 加热煮沸 20~30 min 至马铃薯酥而不烂的程度。用 8 层纱布过滤取其滤液。在滤液中加入葡萄糖 20 g, 用小火加热, 并用玻璃棒不断搅拌, 直至葡萄糖全部溶化, 最后定容至 1 000 mL。将培养基分装入若干 250 mL 三角瓶中, 每瓶装 80 mL。分装完毕, 扎上纱布, 并包报纸 2 层, 线绳扎紧, 灭菌后备用。

1.2.2 菌种的活化 在超净工作台中, 挑取少许香魏蘑菌种转接对待接种的 PDA 培养基斜面上并固定。置生化培养箱, 25℃培养。6 d 以后, 即可使用。

1.2.3 菌丝培养特性的观察 将香魏蘑菌株分别接种在 PDA 固体平板上恒温(25℃)培养、不同 pH 值 PD 培养液中恒温振荡(25℃, 250 r/min)培养, 每天进行观察^[4], 记录相关特征。

第一作者简介: 暴增海(1962-), 男, 河北沧州人, 硕士, 教授, 现主要从事食用菌生理研究工作。

基金项目: 农业部都市农业(南方)重点实验室开放基金资助项目(09UA001)。

收稿日期: 2010-03-19

1.2.4 香魏蘑菌丝生长曲线的绘制 配制PDA 培养基分装到 15 个 250 mL 的三角瓶中, 每瓶 50 mL, 于高压灭菌锅中 121℃灭菌 30 min, 冷却至室温。在超净工作台中, 采用严格的无菌操作技术, 采用平板菌种用打孔器打取大小相同的菌丝块实施接种。静置 2 d 后放 25℃, 250 r/min 的摇床培养, 从 0 d 开始每天相同时间取出 1 瓶, 离心、洗涤、再离心得菌丝, 先称湿重, 再倒入已干燥平皿中于 80℃恒温干燥箱中干燥至恒重后称得菌丝干重^[9]。以培养时间为横坐标, 菌丝干重为纵坐标, 绘制香魏蘑菌丝生长曲线。

2 结果与分析

2.1 香魏蘑菌丝培养特性的观察

将香魏蘑菌株接种在相应的培养基上, 恒温培养, 每天进行观察, 观察结果见图 1、2。图 1、2 的香魏蘑菌丝为 25℃恒温培养所得, 从中可以看到 香魏蘑菌丝白色, 平展, 生长整齐, 菌落平坦均匀。气生菌丝量中等, 可以看到接种的琼脂块附近绒毛变得更细长, 有些成絮状, 有不太明显的同心轮纹, 呈放射状, 生长比较旺盛, 菌丝比较浓密。香魏蘑菌丝呈丝状, 交织在一起。

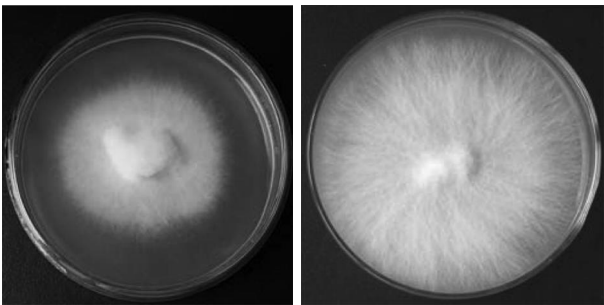


图 1 3/4 平皿的香魏蘑照片 图 2 长满平皿的香魏蘑照片

2.2 香魏蘑菌丝球形态观察

不同pH 值 PD 培养液中恒温振荡(25℃, 250 r/min)培养。随着培养时间的不同和培养液 pH 的不同, 香魏蘑的菌丝球形态产生各方面的差异, 见图 3~7。

图 3、6 均为培养液 pH 为 8.5 的香魏蘑菌丝球形态, 其菌丝球呈现刺突状, 图 3 为培养时间 12 d 的发酵液, 图 6 为培养时间 13 d 的发酵液, 2 个图中菌丝球比较而言, 图 6 中菌丝球相对多一点。图 4 为培养了 14 d 的发酵液, 此时形成的菌丝球细密, 上清液透亮, 菌丝球充满液体, 且菌丝球界面清晰。图 5 为同批接种的不同



图 3 pH 8.5 的发酵液菌丝球 图 4 pH 自然的发酵液中的菌丝球 图 5 不同 pH 的发酵液中菌丝球的不同形态 图 6 pH 8.5 的香魏蘑菌丝球 图 7 培养时间相同的不同 pH 的发酵液中菌丝球形态

pH 的发酵液, 香魏蘑在 2 种 pH 条件下生长均很旺盛, 菌丝球表面均较光滑, 比较而言左边 pH 自然的三角瓶中菌丝球多而稍小发酵液颜色较浅; 右边 pH 为 8.5 的三角瓶中的菌丝球稍大而发酵液颜色较深。图 7 也是如此, 最右边 pH 为 3.8 的菌丝球生长很少, 个体小, 且发酵液颜色最浅。说明 pH 值对菌丝球的形成结果具有重要的影响。

2.3 香魏蘑菌丝生长曲线测定

为了解香魏蘑在液体培养中菌丝生长的速率和趋势变化, 连续测定了 15 d 内发酵液中所长菌丝的湿重和干重, 结果见表 1。表 1 中显示了 14 d 以内的发酵液经离心洗涤后得到香魏蘑菌丝体的湿重和干燥至恒重后的干重, 其中菌丝湿重变化规律不明显, 存在几个数据较大的数值, 离心后的菌丝体中还含有没处理完全的水分, 且每天的处理程度不一致, 不能用来作成生长曲线。

表 1 不同培养时间下菌丝湿重和干重		
培养天数/d	湿重/g	干重/g
0	3.733	0.035
1	1.365	0.044
2	2.053	0.060
3	1.571	0.037
4	2.279	0.061
5	2.162	0.075
6	4.886	0.127
7	6.407	0.192
8	5.324	0.170
9	6.098	0.219
10	4.706	0.197
11	2.938	0.196
12	3.293	0.222
13	3.658	0.223
14	4.035	0.231

在所得干重中, 干重总体趋势较明显, 但也存在个别数据出现不同程度的波动, 如第 3 天干重较小, 其菌丝丝

长较缓慢,可能是因为所接种的菌丝不是生长比较旺盛的部分或接种的菌丝块的大小存在差异等原因造成的。经过 15 d 的香魏蘑生长和每天湿重干重的测定,并以菌丝培养天数为横坐标,以菌丝干重为纵坐标绘制菌丝生长曲线,如图 8。

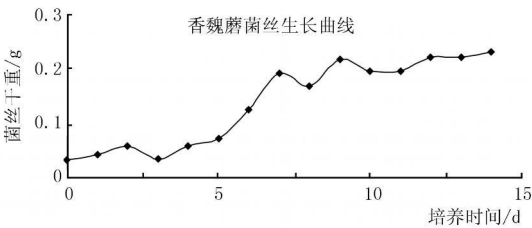


图 8 香魏蘑菌丝生长曲线

图 8 中显示香魏蘑菌丝在 0~5 d 之间生长缓慢,表示菌丝处于适应环境的阶段,而从第 5 天到第 7 天生长较快,是一个快速生长期,但与细菌的对数生长期有区别,在第 7 天之后菌丝基本达到稳定,与营养物质被消耗有关。整个曲线的形式与细菌的生长曲线也有差异,它没有形成明显的 S 形,而显示出其增长的速率。

3 结论与讨论

香魏蘑菌丝体在 PDA 平板上菌丝粗壮、整齐,洁白,多气生菌丝,呈放射状,生长旺盛,菌丝浓密,交织在一起。何华奇等(2003)对大球盖菇进行了菌丝形态的显微观察^[7],认为食用菌菌丝在固体培养基上呈放射状,致密交织,菌丝具有锁状联合。

液体培养形成的菌丝球细密,且菌丝球界面清晰,同时上清液透亮。蔡德华等(2003)在猴头的深层培养过程中,还研究了溶氧量(DO)的问题,认为在单位时间内向发酵罐中通入等量无菌空气的情况下,随着培养时间的延长,基质中的 DO 趋于变小,培养至 144 h 时,便控制在 12%左右不再变化,这表明食用菌在液体培养中,菌丝球的形成受到多种环境因素的影响和制约^[8]。

通过液体培养法培养,以菌丝球的干重与培养时间作生长曲线。结果显示,香魏蘑菌株在第 4 天以前生长较缓慢,而在第 5 天开始生长较快。真菌生长曲线也可以采用其它方法,杨典洱等(2005)采用以时间为横坐标,吸光值为纵坐标获得了真菌 *Fusarium solani* 的生长曲线^[9]。表明真菌生长曲线的获得,可依据真菌的不同种类而采用不同的试验方法。

参考文献

[1] 林汝榕,陈忠纯.香魏菇高产优质栽培技术[J].食用菌,2000(2):25.
[2] 严泽湘,严新涛.香魏菇栽培技术[J].四川农业科技,2003(1):21.
[3] 丁湖广.珍稀菇品香魏蘑特性及栽培技术[J].食用菌,2007(7):21.
[4] 高珠清.香魏蘑的特征特性与栽培技术[J].福建农业科技,2003(2):18-19.
[5] 高珠清.香魏蘑覆土高产栽培技术[J].长江蔬菜,2002(11):27.
[6] 暴增海,邱传庆,孙文博,等.香魏蘑胞外多糖液体培养基的优化[J].食用菌,2009(3):12-13.
[7] 何华奇,曹晖,潘迎捷.大球盖菇菌株形态学观察[J].安徽技术师范学院学报,2003,17(4):327-329.
[8] 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.
[9] 杨典洱,林晓怡,向本琼,等.脱乙酰壳多糖抑制真菌生长的构效关系[J].化学学报,2005,63(18):1661-1665.

The Cultural Characteristics of Hongwei Mushroom,
Mycelium and the Measure of Growth Curve

BAO Zeng-hai, CHENG Min, MA Gui-zhen

(Food Engineering Department, Huaihai Institute of Technology, Lianyungang, Jiangsu 222005)

Abstract: Based on the growth curve of the mycelium's dry weight and culture time, and the cultivation of the liquid culture means, we study the relationship between the mycelium growth and the culture time. The results showed that Hong Wei mushroom mycelium grows slowly between 0~5 days at the stage of adaptation to the environment. While from 5 to 7 days, which was a fast growth period, it grows very fast, and then 7 days later, mycelium grows basically stable. When the mycelium grows on the PAD plate, it will be sturdy, clean, white, and more aerial hyphae, and take on the shape of radiation. Meanwhile, it will be vigorous, dense and intertwined; the mycelial pellets, cultivated by the liquid fermentation, were fine and dense, and the interface of the pallets was clear. At the same time, the supernatant was translucent.

Key words: Hongwei mushroom; mycelium; mycelial pellets; cultural characteristics; growth