

真姬菇母种培养基的筛选研究

吴韶菊

(临沂师范学院 生命科学学院 山东 临沂 276005)

摘 要:分别以 PDA 培养基和玉米粉培养基为基本培养基,通过改变培养基中各成分的含量并确定真姬菇菌丝体生长需要的最适碳源物质和适宜氮量,测定真姬菇的生长状况。结果表明:适于真姬菇菌丝体生长的最适培养基为:玉米粉 20 g 葡萄糖 20 g,琼脂 20 g, MgSO₄ 1 g, KH₂PO₄ 1 g, 蛋白胨 1 g。

关键词:真姬菇;培养基;筛选

中图分类号: S 646.1⁺9 文献标识码: B 文章编号: 1001—0009(2010)05—0181—03

真姬菇(*Hypsizygus marmoreus* (PK) Sing.) 为担子菌亚门伞菌目白蘑科玉蕈属^[1],又名蟹味菇、玉蕈、假松茸、斑玉蕈、灵芝菇等,是北温带一种品质优良的食用菌^[2]。其形态美观、肉质脆嫩、口感颇佳、因味道鲜美,似螃蟹而得名。在日本有“香在松口蘑,味在玉蕈”之称。

因真姬菇具有相当高的营养价值和药用价值,市场需求量在日益增加,我国虽已掌握了真姬菇常规栽培技术,但仍处于研究发展阶段,而筛选出适合真姬菇子实体生长的最适培养基,是降低生长成本,提高菌种质量、产量的直接途径。现通过配制不同的培养基,筛选出最适合真姬菇子实体生长的培养基配方。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 试验菌株 真姬菇的子实体,购于超市。挑取真姬菇子实体中豆粒大小的组织块,接种于 PDA 培养基上,至于恒温箱内(25℃)培养,制作出菌种。分离母种的方法:选取菌盖直径在 2~3 cm 以内,镜检担子已经膨大,但还未产生孢子的优质种菇,挑取豆粒大小的菌柄与菌盖交界处的菌肉移入 PDA 培养基试管斜面。培养温度为 25℃,待菌丝长满即可。

1.1.2 试验仪器 超净工作台、高压灭菌锅、电子天平、电热恒温培养箱等。

1.1.3 培养基配方 I PDA 培养基:改变 PDA 培养基中的碳源及其含量。分 A、B、C 3 组,分别测定不同马铃薯含量、葡萄糖含量和蔗糖含量对菌丝体生长的影响。II 玉米粉培养基:改变玉米粉培养基中的葡萄糖和蛋白

胨的含量,与对照组进行比较,测定其是否可作为氮源和碳源,然后通过改变玉米粉含量,测定不同含量的玉米粉对菌丝体生长的影响。III PDA 富氮培养基:通过改变蛋白胨的含量,测定 PDA 培养基上不同氮源含量对菌丝体生长的影响。3 种培养基配方分别见表 1、2、3。

表 1 优化 PDA 培养基 g ° L ⁻¹				
编号	马铃薯	葡萄糖	琼脂	蔗糖
CK	200	20	10	0
A ₁	100	20	10	0
A ₂	150	20	10	0
A ₃	250	20	10	0
A ₄	300	20	10	0
B ₁	200	0	10	0
B ₂	200	4	10	0
B ₃	200	12	10	0
B ₄	200	28	10	0
B ₅	200	36	10	0
C ₁	200	0	10	12
C ₂	200	0	10	20
C ₃	200	0	10	28
C ₄	200	0	10	36

表 2 优化玉米粉培养基 g ° L ⁻¹						
编号	玉米粉	葡萄糖	琼脂	MgSO ₄	KH ₂ PO ₄	蛋白胨
1	20	20	20	1	1	1
2	20	0	20	1	1	1
3	20	20	20	1	1	0
4	10	20	20	1	1	1
5	40	20	20	1	1	1

表 3 优化 PDA 富氮培养基 g ° L ⁻¹				
编号	马铃薯	蛋白胨	葡萄糖	琼脂
1	200	1.6	20	20
2	200	3.2	20	20
3	200	4.8	20	20
4	200	6.4	20	20

1.1.4 培养基的配制 PDA 培养基按常规方法配制后,分装 10~15 mL 于试管中,包扎灭菌后摆好试管斜面待接种用。测试培养基配制方法:按不同比例的碳

作者简介:吴韶菊(1977-),女,硕士,助教,现主要从事微生物学方面的研究工作。
收稿日期:2009-11-19

源、氮源配制培养基。富氮培养基配制方法与 PDA 培养基相同,在加葡萄糖的同时加入蛋白胨。

1.2 接种培养

挑取少量培养基与菌丝分别接入培养基 I、II、III 中。每组 3 次重复,25℃培养。

1.3 观察与统计

菌丝生长量测定:用直尺测量培养适当的菌丝体直径,用 cm 表示。菌丝生长速度:在菌丝生长旺盛期连续 3 d 取样,求出每天的菌丝生长速度,单位:cm/d。菌落生长量指标:++++菌落整齐,菌丝多,浓白;+++整齐,较多,浓白;++较整齐,较多,白色;+不整齐,菌丝生长势弱。

2 结果与分析

2.1 不同马铃薯含量 PDA 培养基对菌丝体生长影响

由表 4 可知标准 PDA 中、A₁ 菌落较大、整齐,菌丝较多、浓白,说明前期马铃薯的含量对菌丝体的影响不明显;后期以 PDA 为最好,含量较低的 A₁、A₂ 生长较慢,含量超过 200 g/L 生长速度也下降。说明马铃薯的含量对真姬菇菌丝体生长有影响,标准 PDA 培养基是最适培养基。从菌落密度上不能分辨出马铃薯对菌丝生长的影响。

表 4 不同马铃薯含量 PDA 培养基对菌丝体生长的影响

培养基	菌丝直径/cm			生长速度 /cm·d ⁻¹	菌丝密度
	1	2	3		
A ₁	2.15	2.35	2.45	0.10	+++
A ₂	0.9	1.45	2.225	0.44	+
CK	1.6	2.75	3.05	0.48	+++
A ₃	0.9	1.65	2.2	0.43	+
A ₄	0.65	0.8	1	0.12	+

2.2 不同葡萄糖浓度 PDA 培养基对菌丝体生长影响

由表 5 可知,前期与马铃薯含量相同的情况下,B₁、B₃、B₄ 中的菌落长得整齐,菌丝较多,浓白且菌丝密度大,说明前期葡萄糖对菌丝体生长影响不大,马铃薯可以提供菌丝体生长所必需的碳源;后期 B₂、B₃ 生长速度快,但 B₂ 中葡萄糖的含量低,菌落长得不整齐,菌丝生长势弱。B₃ 中葡萄糖的含量高,菌落长得整齐、较多、浓白,说明后期葡萄糖为菌丝体生长提供碳源。但是后期

表 5 不同葡萄糖浓度 PDA 培养基对菌丝体生长影响

培养基	菌丝直径/cm			生长速度 /cm·d ⁻¹	菌丝密度
	1	2	3		
B ₁	3.200	3.650	3.725	0.18	++++
B ₂	1.850	2.025	3.200	0.45	+
B ₃	1.850	2.525	3.525	0.56	+++
CK	1.6	2.75	3.05	0.48	+++
B ₄	1.775	2.075	2.950	0.39	+++
B ₅	2.425	2.675	2.850	0.14	++

B₅ 葡萄糖含量过大为 36 g/L,速度反而降低,说明葡萄糖提供的碳源浓度过高或过低都能影响真姬菇菌丝体的生长。优化葡萄糖 B₃ 培养基是最适培养基。

2.3 不同蔗糖浓度 PDA 培养基对菌丝体生长的影响

由表 6 可知,前期真姬菇在标准 PDA 培养基上的菌丝长得最好,菌落整齐且菌丝较多、浓白,证明由马铃薯提供碳源。后期 C₃ 长的速度最快,但与标准 PDA 相比,不仅菌落密度小而且菌丝很细。C₁、C₂ 的菌丝长得比较慢且菌落不整齐,菌丝较少。真姬菇在 C₄ 培养基上不生长,说明碳源由马铃薯提供。蔗糖提供的碳源不易被利用,含量过大达 36 g/L,反而抑制菌丝体的生长,使其不能正常生长。标准 PDA 培养基是最适宜的培养基。

表 6 不同蔗糖浓度 PDA 对菌丝体生长的影响

培养基	菌丝直径/cm			生长速度 /cm·d ⁻¹	菌丝密度
	1	2	3		
CK	1.6	2.75	3.05	0.48	+++
C ₁	1.3	1.425	1.675	0.13	+
C ₂	0.4	0.75	1.2	0.27	++
C ₃	2.025	2.6	3.625	0.53	+
C ₄	0	0	0	0.00	-

2.4 不同浓度优化玉米粉培养基对菌丝体生长的影响

由表 7 可知,优化玉米粉培养基 1 和 2(后简称优 1、优 2 等)的比较中:优 2 中没有添加葡萄糖,但真姬菇的菌丝体仍能正常生长,生成的菌落大小几乎相同,但是菌丝密度不如优 1 大,证明玉米粉提供的碳源可以使真姬菇菌丝体正常生长,而且后期生长速度几乎相同。证明优化玉米培养基的碳源主要由玉米粉提供。优 1、优 4 和优 5 的比较中,可以看到所有培养基中的菌落生长密度大,菌落整齐,菌丝浓密且浓白,但是优 4 和优 5 培养基的后期生长速度缓慢,证明玉米粉为菌丝生长提供主要的能源,20 g/L 为真姬菇菌丝体生长的最适含量。优 1 和优 3 进行比较,优 3 的菌落不整齐,而且菌丝生长势弱,说明了蛋白胨也为菌丝生长提供能源物质,仅靠玉米粉提供的氮源不能使真姬菇的菌丝正常生长。由以上比较可得,优 1 是最适培养基。

表 7 不同浓度玉米粉培养基对菌丝体生长的影响

培养基	菌丝直径/cm			生长速度 /cm·d ⁻¹	菌丝密度
	1	2	3		
1	2.85	5.35	6.85	1.33	++++
2	3.45	6.25	6.8	1.12	++
3	0.35	0.4	0.825	0.16	+
4	3	4.225	4.775	0.59	++++
5	3.45	3.925	4.075	0.21	++++

2.5 不同浓度优化 PDA 富氮培养基对菌丝体的影响

优化 PDA 富氮培养基可以明显比较出不同氮源对菌丝生长的影响,氮源是真菌生长的重要营养物质之

一。优 1 和优 3 培养基的菌落长得整齐, 菌丝较多且浓白。优 2 培养基的菌落较整齐, 菌丝较多且白色。优 4 培养基的菌落最大, 长势最好, 菌落浓白且密度最大。而且后期菌丝生长速度最快, 证明氮源很重要。浓度越高菌落生长越好。足够的氮源和合适的碳、氮比会促进菌丝的生长。添加适量的氮源可以使菌丝浓密浓白, 长速快。优化 PDA 富氮培养基 4 是最适培养基(见表 8)。

表 8 不同浓度的 PDA 富氮培养基对真姬菇菌丝体生长的影响

培养基	菌丝直径/ cm			生长速度 / cm · d ⁻¹	菌丝密度
	1	2	3		
1	3.55	4.3	6.05	0.83	+++
2	3.45	3.8	4.1	0.22	++
3	2.45	3.5	3.725	0.425	+++
4	3.7	4.725	5.9	0.73	++++

2.6 组间比较

由表 9 可知, 前期, 优 1 培养基、PDA 富氮培养基 4 的菌丝长得最好, 菌落最整齐, 且菌丝浓白, 密度最大; B₃、CK 的菌落整齐, 菌丝密度大, 菌丝洁白; 后期, 优 1 的生长速度最快, 菌落最大, PDA 富氮培养基 4 次之, B₃ 生长速度与 CK 差别不大, 速度缓慢。优 1 培养基是最好的培养基, 其成分玉米粉 20 g、葡萄糖 20 g、蛋白胨 1 g、硫酸镁 1 g、磷酸二氢钾 1 g、琼脂 20 g 是最适合真姬菇生长的营养成分。

表 9 不同培养基对真姬菇菌丝体生长的影响

培养基	CK	优化玉米粉培养基 1	PDA 富氮培养基 4	B ₃
菌丝生长				
速度/ cm · d ⁻¹	0.48	1.33	0.73	0.56
菌丝密度	+++	++++	++++	+++

3 结论与讨论

真姬菇菌丝在不同的培养基上的生长情况有显著

的差异水平, 马铃薯、葡萄糖、蔗糖的配方比较, 即为碳源的比较。试验结果表明, 最佳的碳源为葡萄糖, 马铃薯次之, 蔗糖最差。原因在于葡萄糖是单糖, 菌体可以直接利用而不用分解, 故最容易被吸收, 因而最适合菌体的生长, 蔗糖是双糖, 需要蔗糖酶分解成单糖后才可以被利用, 因而生长比较慢; 而马铃薯中主要是多糖, 另外还有少量的其它糖类, 种类多, 虽然在此类培养基中菌丝体生长较葡萄糖中的慢, 但是比在蔗糖中的快。

在优化玉米粉培养基中生长最快, 菌丝最早出现, 菌落整齐; 优化 PDA 富氮培养基次之; PDA 培养基最慢, 且菌落不整齐。因此, 优化玉米粉培养基为最适培养基, 培养基上的菌丝生长速度以及生长密度最佳, 证明了玉米粉不仅可以提供碳源还可以提供氮源。微生物在生长过程中需要某些无机盐和微量元素作为其生理活性作用的调节物质。在优化玉米粉培养基中除了真姬菇菌丝生长必须具备的碳源和氮源, 还添加了少量微量元素, 如钾离子、镁离子等, 但该试验中未涉及微量元素的比较, 有待进一步研究。优化 PDA 富氮培养基证明了添加适量的氮源可以使菌丝浓密浓白, 长速快。

在组间比较, 优化玉米粉培养基 1 前期时菌丝长得最好, 菌落最整齐, 且菌丝浓白, 密度最大; 后期时生长速度最快。证明优化玉米粉培养基 1 是最适合真姬菇生长的培养基。其成分玉米粉 20 g、葡萄糖 20 g、蛋白胨 1 g、MgSO₄ 1 g、KH₂PO₄ 1 g、琼脂 20 g, 是最适合真姬菇生长的营养成分。

参考文献

[1] 黄年来. 中国大型真菌原色图鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998: 95.
[2] 杨新美. 食用菌栽培学[M]. 北京: 农业出版社, 1986.

Screening of the Optimum Medium for Stock Spawn of *Hypsizigus marmoreus*

WU Shao-ju

(Biotechnology College, Linyi Normal University, Linyi, Shandong 276005)

Abstract: Took the PDA and the maize meal culture medium as the basic culture medium, through the change different carbon source and the nitrogen source, the test was suitable the carbon source material and the nitrogen source quantity which the *Hypsizigus marmoreus* mycelium growth needs. The result indicated that which was suitable for the *Hypsizigus marmoreus* mycelium to grow most was the maize meal culture medium 1, ingredient: maize meal 20 g, glucose 20 g, agar-agar 20 g, magnesium sulfate 1 g, potassium dihydrogen phosphate 1 g, protein peptone 1 g.

Key words: *Hypsizigus marmoreus*; culture medium; screening