

# 茶树菇组织分离母种及培养基的筛选

高 小 朋, 贺 晓 龙, 任 桂 梅, 宋 立 直, 张 佳 媛

(延安大学 生命科学学院, 陕西 延安 716000)

**摘 要:**利用茶树菇 4 个不同部位、2 种分离方法进行母种组织分离, 从 8 种培养基中筛选茶树菇母种的最适培养基。结果表明: 选用菌盖与菌柄相接处、采用直接分离法得到的菌丝体长速最快、长势最好, 麸皮煮汁配制的综合培养基为茶树菇母种生产较理想的培养基。

**关键词:**茶树菇; 母种; 组织分离; 培养基

**中图分类号:**S 646.1<sup>+</sup>9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)10-0149-03

茶树菇 [*Agrocybe cylindracea* (DC. :Fr) R. Maire] 属伞菌目 (Agaricales) 粪锈伞科 (Bolbitiaceae) 田头菇属 (*Agrocybe*)<sup>[1]</sup>, 又名柱状田头菇、杨树菇等, 是一种集营养、保健、理疗于一身的食疗两用珍稀食用菌<sup>[2]</sup>。子实体含有钾、钠、锌、锡等 10 余种矿物质和 8 种人体必需的氨基酸。因茶树菇具有栽培容易、市场广阔的特点, 已成为高效农业项目之一, 被国家科技部列为“全国万村致富”项目<sup>[3]</sup>。而目前对于茶树菇的组织分离及培养基筛选却鲜有报道, 并且在延安地区茶树菇很少栽培, 市场潜力巨大, 具有很高的开发利用价值。现研究较优的茶树菇组织分离方法, 为茶树菇栽培提供优质的母种和培养基, 既为茶树菇研究填补空白, 也为延安地区茶树菇栽培奠定一定的基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验用茶树菇购于延安农贸市场; 培养基材料: 马铃薯、棉籽壳、麸皮、木屑、绿豆、麦粒、胡萝卜等, 均由延安大学食用菌实验室提供。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 培养基的配制** 常规方法制备 PDA 培养基; 纯化复壮培养基的制备: 按照 A、B、C、D、E、F、G、H 的配方, 常规制备培养基, 具体配方见表 1。液体培养基的配制: 常规制备液体培养基, 配方为: 马铃薯 200.0 g、葡萄糖 20.0 g、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 3.0 g、MgSO<sub>4</sub> 1.5 g、VB<sub>1</sub> 0.01 g、水 1 000 mL。

表 1 纯化复壮培养基配方

培养基编号	配方/g · L <sup>-1</sup>						
	主料	葡萄糖	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	蛋白胨	MgSO <sub>4</sub>	VB <sub>1</sub>	琼脂
A	马铃薯 200	20.0	3.0	0	1.5	0.01	18.0
B	棉籽壳 200	20.0	3.0	0	1.5	0.01	18.0
C	麸皮 200	20.0	3.0	0	1.5	0.01	18.0
D	木屑 200	20.0	3.0	0	1.5	0.01	18.0
E	绿豆 200	20.0	3.0	0	1.5	0.01	18.0
F	麦粒 200	20.0	3.0	0	1.5	0.01	18.0
G	0	20.0	0	20.0	0	0	20.0
H	马铃薯、胡萝卜各 20	20.0	0	0	0	0	18.0

注: A: PDA 综合培养基; B: 棉籽壳煮汁配制综合培养基; C: 麸皮煮汁配制综合培养基; D: 木屑煮汁配制的综合培养基; E: 绿豆煮汁配制的综合培养基; F: 麦粒煮汁配制的综合培养基; G: 葡萄糖蛋白胨培养基; H: 胡萝卜马铃薯培养基。

**第一作者简介:**高小鹏(1976-), 男, 陕西洛川人, 硕士, 讲师, 现主要从事资源与环境微生物学研究工作。E-mail: gaixiaopengyd@163.com。

**责任作者:**任桂梅(1955-), 女, 陕西清涧人, 教授, 现主要从事食用菌栽培学研究工作。

**基金项目:**延安大学大学生科技创新训练计划资助项目(D2010-144)。

**收稿日期:**2011-02-24

**1.2.2 组织分离** 表面消毒后分离: 无菌操作, 取茶树菇放入 0.1% 的升汞中 1 min, 无菌水冲洗 2~3 次, 用无菌滤纸吸干残水, 分别将菌盖、菌盖和菌柄相接处、菌柄中部、菌柄基部等 4 个不同部位切割成黄豆粒大小的组织块, 无菌操作接入 PDA 培养基中, 每一部位的组织块分别接 6 管, 25℃、黑暗培养, 每天定时观察, 记录各组织块在不同培养基上的定植萌发及菌丝生长情况。直接分离: 具体的分离方法参照文献<sup>[4]</sup>。即取新鲜茶树菇, 无菌操作, 用无菌镊子直接夹取菌盖、菌盖与菌柄相接

处、菌柄中部、菌柄基部 4 个部位黄豆粒大小的内部组织块,无菌操作接入 PDA 培养基中,每一部位的组织块分别接管,25℃ 下黑暗培养,每天定时观察,记录不同组织块在不同培养基内的定植萌发及菌丝生长情况。纯化复壮:将组织分离得到的菌丝体分别挑取尖端菌丝接种到 PDA 综合培养基上进行纯化,然后依次分别接入到培养基 A、B、C、D、E、F、G、H 上进行复壮<sup>[5]</sup>。

1.2.3 茶树菇不同部位菌丝体生长能力比较试验 固体培养:无菌操作,取纯化复壮后的各部位菌丝体,接入 PDA 综合培养基,接种块大小为 0.5 cm<sup>3</sup>,每个部位做 3 次重复,25℃ 恒温培养,观察记录菌丝长速、长势。液体培养:无菌操作,取纯化复壮后的各部位菌丝体,接入液体培养基,25℃、150 r/min<sup>[6]</sup>、培养 8 d,3 次重复。肉眼估测菌丝球直径和密度、测量菌丝体干重来衡量菌丝体的生长情况。

1.2.4 母种培养基的筛选试验 取试验获得的生长最好的菌丝体分别等量接入 A、B、C、D、E、F、G、H 共 8 种培养基中,每种培养基共接 3 管,25℃、避光培养,每天观察记录其生长状况以及生长速度,3 次重复。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同方法组织分离结果

由表 2 可知,直接分离和用升汞进行表面消毒后分离相比,直接分离的成活率高、污染少,其原因可能是升汞消毒时,升汞渗入到菇体内,使蛋白质和酶变性,影响了组织块的萌发;另外,升汞消毒虽能杀死菇体表面的杂菌或冲去杂菌孢子,但冲洗过程中也可能使菇体表面的杂菌及其孢子一起渗入到菇体内,从而人为地造成污染,且冲洗时间越长,污染越严重<sup>[7]</sup>。

表 2 不同消毒方法进行组织分离结果

组织分离方式	接种/个	污染/个	未萌发/个	成活率/%
消毒后分离	24	13	2	37.5
直接分离	24	11	1	50

### 2.2 不同部位菌丝体生长能力比较试验

2.2.1 在固体培养基上各部位的菌丝生长情况 从表 3 可知,菌盖与柄交界处、菌柄中部菌丝长速快,菌丝品质好,整齐、纯白、浓密;菌柄基部菌丝长速较慢,长势一般;菌盖部位菌丝长速与菌柄中部接近,但长势较差。对表 3 的结果进行单因素方差分析,得出  $F=35.63$ ,说明茶树菇各组织部位菌丝生长差异极显著<sup>[8]</sup>。由表 4 多重比较结果可知,菌盖与菌柄交界处的菌丝与其它 3 个部位菌丝长速差异极显著,长势也最好,菌柄中部与菌柄基部和菌盖部位的菌丝长速差异显著。因此选择菌盖与柄相接处作为茶树菇组织分离中的最佳部位。

表 3 不同部位菌丝体在固体培养基上的生长

菌丝来源	菌丝长速/mm·d <sup>-1</sup>	菌丝长势
菌盖	9.67	++
盖、柄交界处	11.00	++++
菌柄中部	10.17	++++
菌柄基部	9.73	+++

注:++++表示菌丝生长整齐、纯白、浓密;+++表示菌丝生长不齐、纯白、较密;++表示菌丝生长不齐、白、较稀疏。表 6 同。

表 4 不同部位的菌丝体生长情况多重比较

菌丝来源	X	X <sub>4</sub>	X <sub>3</sub>	X <sub>2</sub>
盖、柄交界处	11.00	1.33**	1.27**	0.83**
菌柄中部	10.17	0.50*	0.44*	
菌柄基部	9.73	0.06		
菌盖	9.67			

注:\*\*表示差异极显著,\*表示差异显著。

2.2.2 在液体培养基中各部位菌丝生长情况 菌丝在液体培养中的生长情况,是由菌丝球直径、密度和菌丝干重共同决定的,结果见表 5。由表 5 可知,菌盖与菌柄相接处的菌丝在液体培养基中生长最好,菌丝球密度、直径最大、菌丝干重最重,菌柄中部菌丝生长次之;菌柄基部菌丝生长较差;菌盖处菌丝生长最差,与各部位菌丝在固体培养基上的生长情况相同。

表 5 不同部位菌丝体在液体培养中的生长情况

菌丝来源	菌丝干重/mg	菌丝长势
菌盖	68.0	菌丝球密度大、直径较大
菌盖与菌柄相接	70.6	菌丝球密度大、直径大
菌柄中部	54.2	菌丝球密度较小、直径小
菌柄基部	66.9	菌丝球密度小、直径小

### 2.3 母种培养基的筛选试验

取从菌盖与菌柄相接处分离得到的菌丝体,等量接种到 8 种培养基上,对菌丝体在 8 种培养基上的日长速进行单因素方差分析,得  $F=17.16557$ ,可见茶树菇母种菌丝的长速在 8 种培养基上存在着极显著差异。多重比较<sup>[8]</sup>结果见表 7。由表 6、7 可知,H 培养基与其它培养基存在极显著差异,但是菌丝徒长,长势极差,不适合做母种培养基;而培养基 G 与培养基 B、E、F 存在极显著性差异,与 A 培养基存在显著差异,C 培养基与 B、E、F 培养基也存在极显著性差异,在这 2 种培养基上菌丝纯白、浓密、整齐,长势好、生长较快,适合做母种培养基。其中培养基 G 最优,C 次之,由于培养基 G 是葡萄糖蛋白胨培养基,代价较高,考虑到生产成本,因此,选择培养基 C 作为最佳母种培养基。

表 6 母种培养基筛选结果

培养基	平均长速/mm·d <sup>-1</sup>	菌丝长势
A	9.20	+++
B	8.67	+++
C	9.80	++++
D	9.43	+++
E	8.43	++++
F	8.50	+++
G	10.03	++++
H	11.10	++

表 7 8 种母种培养基多重比较结果

培养基	X	X-E	X-F	X-B	X-A	X-D	X-C	X-G
H	11.10	2.67**	2.60**	2.43**	1.90**	1.67**	1.30**	1.07**
G	10.03	1.60**	1.53**	1.36**	0.83*	0.60	0.23	
C	9.80	1.37**	1.30**	1.13**	0.60	0.37		
D	9.43	1.00**	0.93*	0.76*	0.23			
A	9.20	0.77*	0.70*	0.53				
B	8.67	0.24	0.17					
F	8.50	0.07						
E	8.43							

注:MS=0.144167

### 3 结论与讨论

#### 3.1 不同方法对组织分离的影响

子实体不消毒直接进行组织分离的效果明显优于用升汞消毒的效果,其成活率较高、污染率较低。主要原因可能是由于升汞中的汞离子使蛋白质变性造成组织块萌发困难,或冲洗过程造成污染。该试验结果表明,茶树菇进行组织分离时,不能用简单表面消毒的子实体进行分离,而应该直接用内部无菌组织进行分离,或者采用先表面消毒、再接种中间无菌组织的方法。

#### 3.2 不同组织部位对菌丝体生长的影响

在相同的液体和固体培养基中,菌盖与菌柄相接处都是最适合做母种组织分离的材料,可以得到长速快、长势好的母种。原因可能与茶树菇的各部位组织结构有关。光镜下观察,发现中上部和中部的菌丝多而密集、细胞排列有规律,因而再生能力强;菌柄下部,细胞

多数已泡囊化,菌丝扭结成束,细胞壁增厚,因此,再生能力很弱<sup>[9]</sup>。

#### 3.3 不同培养基对茶树菇菌丝长速的影响

茶树菇菌丝长速最快的培养基是胡萝卜、马铃薯培养基,与其它培养基相比,胡萝卜中含有加速菌丝生长的物质可促进菌丝的生长<sup>[10]</sup>。而最适培养基为葡萄糖、蛋白胨培养基,其次是麸皮煮汁培养基,此结果和王丽英等<sup>[11]</sup>的观点一致。

#### 参考文献

- [1] 常明昌. 食用菌栽培学[M]. 北京:中国农业出版社,2003:302.
- [2] 茶树菇的食疗功效[J]. 药物与人,2008(6):64.
- [3] 付同薪. 茶树菇发展前景广[J]. 河南科技,2007,24:10.
- [4] 张功,侯枝莲,嵯峨. 三种菇子实体不同部位组织分离培养菌丝生长研究[J]. 中国食用菌,2001(2):64-67.
- [5] 周君强. 食用菌菌种复壮四法[J]. 吉林农业,2007(3):38.
- [6] 陈少英. 茶树菇液体培养条件的研究[J]. 湖北师范学院学报(自然科学版),2004(2):69-70.
- [7] 刘进杰,王淑芳,卜庆梅,等. 四种食用菌子实体不同部位组织分离菌丝长势对比[J]. 烟台职业学院学报,2006(2):62-65.
- [8] 杜荣寿. 生物统计学[M]. 北京:高等教育出版社,2003:263-269.
- [9] 宋锡全,郎红梅. 金针菇组织分离研究[J]. 遵义师范学院学报,2001(3):30-32.
- [10] 汤天成. 胡萝卜液能促进菌丝生长[J]. 专业户,1993(5):16-19.
- [11] 王丽英,王文治. 茶树菇对不同碳氮营养源的利用[J]. 天津农业科学,2006(1):50-51.

## The Tissue Isolation and Selection Stock Culture Medium of *Agrocybe cylindracea*

GAO Xiao-peng, HE Xiao-long, REN Gui-mei, SONG Li-zhi, ZHANG Jia-yuan  
(College of Life Science, Yan'an University, Yan'an, Shaanxi 716000)

**Abstract:** Four parts of *Agrocybe cylindracea* fruit body, two methods was used to isolate stock culture, and choosed the most appropriate to stock culture of *Agrocybe cylindracea* from 8 kinds of medium in the experimence. The results showed that, the mycelium was best that come from joining of pileus and stipe by direct separation, and the bran juice medium was more appropriate.

**Key words:** *Agrocybe cylindracea*; stock culture; tissue isolation; medium

## 水仙花栽培基本知识

水仙花是中国十大传统名花之一,也是国际公认的名贵花卉,分布在我国、日本及朝鲜。我国浙江、福建、台湾等地均有野生。生于沿海丘陵和冲积平原地区,性喜温暖、湿润,又要排水良好。以疏松肥沃、土层深厚的冲积沙壤土为最宜,pH 5.0~7.5 均宜生长。喜阳光充足,蔽荫场所栽种常叶茂而不开花。

有夏季休眠习性,6 月上、中旬地上部枯萎进入休眠期,11 月开始萌发生长,次年 3 月开花。它不用土,只要在盆中放几粒石子,再放些水,就可以绽放出美丽的花朵。

在家里种植水仙也很简单,养水仙有 2 种方法,一种是将它雕刻成不同的形状,另一种是自然生长,为了让水仙在春节期间开花,要掌握好浸泡的时间,水仙花一般浸泡 45 d 左右就可开花,水只要浸到球茎的下部就可以,如果根部着不到水,可以用些棉花铺在根部,以利于水份的吸收,每天换 1 次水。