

袖珍菇液体培养基的筛选

吴 韶 菊

(临沂大学 生命科学院, 山东 临沂 276005)

摘 要:以袖珍菇菌种为试材,选用玉米粉培养基做基本培养基,通过改变其中的微量元素含量,测定袖珍菇每天的菌丝生长记录和菌落的观察,以及最后菌量的干重量,获得最适培养条件。结果表明:最适培养基为玉米粉 4%、葡萄糖 2%、蛋白胨 0.1%、 KH_2PO_4 1%、 MgSO_4 0.54%。

关键词:袖珍菇;液体培养基;菌丝;菌球

中图分类号:S 646.7 文献标识码:A 文章编号:1001-0009(2011)15-0215-02

黄白侧耳(*Pluribus cornucopias*)属真菌门担子菌纲伞菌目侧耳科侧耳属^[1],又名袖珍菇、环柄斗菇、小平菇、姬菇。其营养高、热量低,外形美观、质地脆嫩,富含蛋白质、多糖、脂肪、维生素和微量元素,具较高食用和药用价值^[2]。

袖珍菇培养基一般选用麦麸、豆秸、杂木屑、玉米芯等^[3]。菌种培养多采用三级制种方式,即母种、原种和栽培种。如采用液体培养方式生产菌种,生产周期短、成本低,并可减少杂菌污染的机会,对袖珍菇的栽培、生产非常有益。试验对袖珍菇液体菌种制作方式进行探索从而优化筛选培养基。

1 材料与方法

1.1 试验材料

袖珍菇菌种,由临沂大学遗传学实验室选育。仪器:恒温培养箱,超净工作台,干燥箱,高压灭菌锅,电子天平。药品与试剂: KH_2PO_4 、 MgSO_4 。供试培养基:以周信华的培养基为基础培养基^[4],以 MgSO_4 、 KH_2PO_4 为变量做正交实验。 MgSO_4 、 KH_2PO_4 的添加比例见表 1。共 25 个配方。恒温摇床培养,180 r/min、培养温度 24~26℃,培养时间 8 d。培养基的配制:称取 160 g 玉米粉放入 4 000 mL 水中煮沸,并用玻璃棒不断搅拌,然后用 4 层纱布过滤,取其滤液,加入 80 g 葡萄糖,4 g 蛋白胨,补水至 4 000 mL,后分装于 25 个 250 mL 的锥形瓶中,再向各瓶中加入不同量的 KH_2PO_4 和 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 。配制好的培养基 121℃ 灭菌 20 min。

1.2 试验方法

挑取少量菌丝分别接入液体培养基中,保证接种量一致。后置于恒温摇床内培养,培养温度 (25±1)℃,转速为 180 r/min。

从摇床培养 2 d 开始观察菌丝球的发生情况;培

养至 8 d 观察菌丝球的发生量、培养基的利用情况。对培养 8 d 的菌丝球进行镜检,观察菌丝球的结构;对最佳培养基进行菌丝球大小的测定。方法是随机选取 10 个菌丝球,纵向紧密排列在载玻片上,然后用直尺测量其长度和宽度,重复取样测量 5 次。用干重法测菌丝生长量:过滤纱布在 70℃ 干燥箱内烘干至恒重,分析天平称重。用 4 层纱布过滤培养液,然后再用蒸馏水冲洗菌丝球 3 次,纱布与菌丝球一起放于 70℃ 干燥箱内烘干至恒重,用分析天平称干重。菌球生长量=纱布与菌球重-纱布重。

表 1 玉米粉培养基的配方

KH_2PO_4 浓度 / %	MgSO_4 浓度 / %				
	0	0.27	0.54	0.81	1
0	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	A ₅
0.27	B ₁	B ₂	B ₃	B ₄	B ₅
0.54	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅
0.81	D ₁	D ₂	D ₃	D ₄	D ₅
1	E ₁	E ₂	E ₃	E ₄	E ₅

2 结果与分析

2.1 菌丝球的形成

摇床培养 3 d 开始出现菌丝球。先出现菌丝球的培养基为 C₅、D₅ 和 B₅。袖珍菇的菌丝球扭结不紧密,形态呈不规则状。培养 8 d 后,D₄ 中的菌丝球最多,菌丝球体积较大,培养液最澄清,但菌丝球大小不均匀,而 D₃ 中的菌丝球大小比较均匀,但数目较少,菌丝球的量也较少;A₄、D₁ 中的菌丝球很多,但是体积较小,大小不均匀,培养液也很澄清,A₁、A₂、A₃、B₅、B₁、C₁、C₄、C₅、D₂、E₂、E₃ 中的菌丝球数目都不多,菌丝球体积较小,大小不均匀,培养液混浊;A₅、B₂、B₃、B₄、C₂、C₃、D₅、E₁、E₅ 中菌种没有生长(表 2)。对形成菌丝体较多的培养瓶的菌丝球进行菌丝球干重测定,结果表明,A₄ 1.1251 g,D₄ 1.1290 g,D₄ 培养基的产量最高。

2.2 菌丝球的大小

取样测定 D₄ 培养基中 10 个菌丝球大小,随机取样重复测量 5 次。由表 3 可知,5 次平均测定结果的偏差很小,菌丝球的长度 0.8 cm,宽度 0.38 cm。说明 D₄ 培养基较适宜菌丝球的生长,试验的重现性较强。

作者简介:吴韶菊(1977-),女,硕士,讲师,现主要从事微生物学及遗传学的教学和科研工作。E-mail:shaokuwu@163.com。

收稿日期:2011-05-04

表2 测试培养基中菌丝球形成状况

培养基	菌丝球量	菌丝球状况	培养液状况	菌丝干重/g
A ₁	++	体积较小,大小不均	较混	0.6652
A ₂	++	体积较小,大小不均	较混	0.8771
A ₃	++	体积较小,大小不均	较混	0.9589
A ₄	+++	体积较小,大小不均	较混	1.1251
A ₅	-	-	混浊	-
B ₁	+	体积较小,大小均匀	混浊	-
B ₂	-	-	混浊	-
B ₃	-	-	混浊	-
B ₄	-	-	混浊	-
B ₅	++	体积较小,大小不均	较混	0.6638
C ₁	++	体积较小,大小不均	较混	0.5642
C ₂	-	-	混浊	-
C ₃	-	-	混浊	-
C ₄	++	体积较小,大小不均	较混	0.7796
C ₅	++	体积较小,大小不均	较混	0.4454
D ₁	+++	体积较小,大小均匀	较澄	0.9756
D ₂	++	体积较小,大小不均	较混	0.8989
D ₃	++++	体积较大,大小均匀	较澄	0.8180
D ₄	+++++	体积较大,大小不均	澄清	1.1290
D ₅	-	-	混浊	-
E ₁	-	-	混浊	-
E ₂	++	体积较小,大小不均	较混	0.5033
E ₃	++	体积较小,大小不均	较混	0.8946
E ₄	+	-	混浊	0.3864
E ₅	-	-	混浊	-

表3 袖珍菇菌丝球大小

分组	菌丝球个数	长度/cm	宽度/cm
1	10	0.9	0.4
2	10	0.7	0.3
3	10	0.8	0.5
4	10	0.7	0.4
5	10	0.9	0.3
平均单个菌球大小		0.8	0.38

3 结论

以菌丝球的大小、干重等几个指标来衡量最优培养基,D₃号培养基中生长的有些菌丝球体积相对比较大,培养基的颜色略微澄清,D₄号培养基中的菌丝球较小,但是分布较均匀,培养基的颜色澄清但是整体菌丝球大小不均匀。其它几种瓶中的菌丝球体积比较小,培养基的颜色混浊。由于D₄中菌丝球的干重最重,菌丝球长得也比较好,所以,在综合比较下D₄号培养基为最佳的袖珍菇液体培养基。

4 讨论

为了研究微量元素钾和镁对袖珍菇生长的影响,通过对25组玉米培养基进行筛选,获得了袖珍菇菌丝

球生长最好的玉米培养基条件,即浓度为0.81%的KH₂PO₄和MgSO₄的玉米培养基。

在人工培养条件下,袖珍菇从培养基中吸收所需物质。因此,人工培养基应尽量提供袖珍菇所需全部物质。用天然物质作培养基,由于天然生物产物本身含有自身所需的营养物质,一般来说,可以基本保证食用菌的生长发育对各种物质的需求。但是,其它生物产物中的各种物质含量并不一定能够满足使用菌的生长发育需求,因此,半合成培养基的合成具有重要的意义。

玉米粉是常见的产量较多的农产品,价格低廉,耐贮存,适于作培养基。但是,玉米粉中的营养物质含量对袖珍菇的菌丝体生长还不是很适宜,在其中添加袖珍菇菌丝生长发育所需的K、Mg、P、S能够提供充足的无机营养。

从A培养基可看出,在一定浓度范围内,添加MgSO₄对袖珍菇的菌丝球形成与生长有促进作用,但当MgSO₄的浓度达到1%时,会对菌丝球的形成产生抑制,MgSO₄则有毒害作用。从仅添加KH₂PO₄的培养基的培养结果看,一定浓度范围内,在玉米培养基中添加KH₂PO₄对菌丝球也有促进作用,但当KH₂PO₄的浓度达到1%时,菌丝球的形成受到抑制,对袖珍菇的菌丝生长有毒害作用。

MgSO₄和KH₂PO₄在的混合添加培养基中有相互协调作用,在培养基中MgSO₄的浓度达到1%时,低浓度的KH₂PO₄对MgSO₄的单盐毒害有缓解作用;同样也表现在当KH₂PO₄对袖珍菇有单盐毒害作用(浓度为1%)时,低浓度的MgSO₄对KH₂PO₄的单盐毒害有缓解作用。但在中间浓度中,有不出出现菌丝球的培养基出现,究竟是培养基不适宜菌丝生长发育,还是因为菌种或接种过程中出现问题,有待于进一步进行探索。

参考文献

- [1] 冯志勇,王志强,郭力刚,等.袖珍菇生物学特性研究[J].食用菌学报,2003,10(3):11-16.
- [2] 刘启先.珍稀食用菌袖珍菇袋料栽培试验研究[J].安徽农业科学,2004,32(3):498.
- [3] 丁湖广.袖珍菇特性及高产优质栽培技术[J].北京农业,2003(10):14.
- [4] 周信华,王扬军,陈若霞.袖珍菇、平菇、香菇液体菌种培养基与培养方式试验[J].宁波农业科技,2006(2):4-6.

Screening of the *Pleurotus cornucopiae* Liquid Medium

WU Shao-ju

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

Abstract: The corn meal medium was used by the experiment. *Pleurotus cornucopiae* grew best in which medium by changing the content of the trace elements. According to the daily record of mycelia growth and colony observation, and dry weight of the amount of bacteria, we could draw that *Pleurotus cornucopiae* growth was impacted by trace elements in the medium. The results showed that optimal medium was Maize Meal 4% Glucose 2%, Peptone 0.1%, 1% KH₂PO₄, 0.54% MgSO₄.

Key words: *Pleurotus cornucopiae*; screening liquid; medium; mycelium