

蒙古口蘑菌丝的室内优化培养研究

忻龙祚, 金亚征, 苗文静

(河北北方学院, 河北 张家口 075061)

摘 要:以蒙古口蘑子实体为试材,在分离获得菌丝的基础上,研究了不同培养基配方与培养条件对蒙古口蘑菌丝生长速度和形态特征的影响。结果表明:蒙古口蘑菌丝生长势在附加干发酵牛粪和草炭土的 PDA 培养基上优于普通 PDA 培养基;原种菌丝在 14℃ 时生长表现最佳,菌丝平均生长速度达 1.33 mm/d,随着温度升高,菌丝生长速度逐渐降低,至 26℃ 时降至 0.98 mm/d,在 0.05 水平差异显著。

关键词:蒙古口蘑;菌丝;培养基;温度

中图分类号:S 646.1⁺5 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)11-0140-03

蒙古口蘑(*Tricholoma mongolicum* Imai.)属伞菌科菌类,又名白口蘑、白蘑,是口蘑中的极品和代表品种。是我国北方草原出产的著名野生食用菌,属“口蘑类”中的珍品,畅销于国内外市场^[1]。主要分布于河北、内蒙古、黑龙江、吉林、辽宁草原地区^[2]。由于草场严重超载放牧,干旱沙化严重及人为过度采摘,适合口蘑生长的原生生态环境受到不同程度的破坏,资源越来越有限。蒙古口蘑是一种濒危珍稀的食用菌,极具保护与开发价值^[3-4]。20 世纪 80 年代以来,国内外的学者对蒙古口蘑的生态习性及其人工栽培进行了相关研究,但进展都不大,主要是由于在人工栽培条件下,虽菌丝成活,子实体却不易形成,导致如此宝贵的野生资源难以有效利用,造成自然资源的浪费^[5]。现以野生蒙古口蘑子实体为试材,分离获得菌丝以后,研究了不同培养基及培养条件对其菌丝生长速度和形态特征的影响,以期对蒙古口蘑人工栽培提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试蒙古口蘑试管菌种由河北北方学院食用菌实验室提供,母种于 2008 年 8 月 30 日在内蒙古锡林郭勒盟辉腾河国营储草站采集野生蒙古口蘑子实体分离获得。供试培养基:母种接种培养基 1(牛粪草炭培养基):干牛粪 100 g,草炭土 50 g,琼脂粉 20 g,葡萄糖 15 g,水 1 000 mL,pH 自然。母种接种培养基 2(PDA 综合培养基):马铃薯 200 g,葡萄糖 20 g,琼脂粉 20 g,磷酸二氢

钾 3 g,硫酸镁 1.5 g,维生素 B 1 粒,水 1 000 mL,pH 自然;原种培养基(麦粒综合):草炭土 1%,牛粪 6%,石灰 2%,石膏 1%,磷肥 1%,碳酸钙 0.5%,磷酸二氢钾 0.1%,硫酸镁 0.05%。

1.2 试验方法

1.2.1 母种培养基的制作、接种与培养 母种培养基 1 的制作:称干发酵牛粪 100 g、草炭土 50 g,分别用 2 层纱布包裹,置于锅中,加少量水提前浸泡 1~2 h,加水 1 000 mL,煮 30 min。然后用 4 层纱布过滤,取滤液,向滤液中加入琼脂粉 20 g,继续煮沸至琼脂完全融化,加葡萄糖 20 g,补水至 1 000 mL。趁热分装于试管(20 cm)中,装至试管长度的 1/5~1/4,擦净管口,塞上棉塞,高压 121℃ 灭菌 30 min。灭菌后,摆放斜面,使培养基前端蔓延至 1/2 试管长度处,待培养基凝固后,在无菌箱内接种,将接好的试管种放在 24℃ 的恒温培养箱中培养。每天通风 20 min,每隔 3~5 d 记录生长速度及长势等^[6]。母种培养基 2 的制作:称去皮、切片的马铃薯 200 g,置于锅中,加水 1 000 mL,煮至薯片软而不烂。然后用 4 层纱布过滤,取滤液,其余操作同母种培养基 1 的制作。

1.2.2 原种培养基的制作、接种与培养 发酵牛粪麦粒混合培养基的制作:先用石灰水浸泡麦粒 12 h,然后用水煮沸约 15 min,并不断搅动。煮至麦粒保持完整,但捏开后没有“白心”时,捞出,用清水冲洗,晾干表水,使含水量约为 60%。将熟麦粒与其它配料混匀,石灰调节 pH 至 7~9,即可装瓶。装料前将 250 mL 的输液瓶清洗干净,控干水,装麦粒培养基时,要轻轻震动瓶子让瓶内培养基下沉压实,装料高度不要超过瓶高的 3/4,使瓶内培养基上下一致,用中间塞了棉花的橡皮塞封口后,立式高压灭菌锅 126℃ 灭菌 2 h^[6-7]。接种:将灭过菌的料

第一作者简介:忻龙祚(1968-),男,硕士,副教授,现主要从事食用菌方面的研究工作。E-mail:nkxxlz@163.com。

基金项目:国家星火计划资助项目(2001EA620015)。

收稿日期:2012-01-31

瓶,接种工具(酒精灯、接种锄、标签、记录笔等)及无杂菌污染的优质蒙古口蘑母种一同放入接种箱内消毒 30 min。母种接原种时,其无菌操作要求与母种的转接相同。用接种锄将母种斜面先端弃去,其余切成约3 mm长的菌块,每瓶接入 3 块,盖好瓶塞^[8],进行培养。培养:该试验后续培养温度设 4 个处理分别为:10、14、21、26℃,每个处理设 5 个重复;将原种从 1 依次编至 20 号,1~5 号于 10℃,6~10 号于 14℃,11~15 号于 21℃,16~20 号于 26℃进行培养。每天通风 30 min,湿度控制在 60%~70%。自 2010 年 9 月 14 日接种开始,每隔 5 d 观察记录 1 次,对菌丝体的颜色、形状、密度、长势、长度(每个瓶上取 5 个点,做好标记并测量长度,取其平均值)分别进行观察,做好记录。

2 结果与分析

2.1 不同培养基对母种菌丝生长的影响

2.1.1 对菌丝形态的影响 由表 1 可知,菌丝形状在 2 种培养基上均为绒毛状,而菌丝色泽、菌苔长度、菌丝密度及菌丝长势等性状指标在不同培养基上表现不同。母种培养基 1 菌丝色泽前后表现一致,菌丝洁白光亮,母种培养基 2 后期的菌丝光泽度稍差。母种培养基 1 的菌丝密度及菌丝长势也明显优于母种培养基 2。

表 1 菌丝在不同母种培养基上的形态特征

Table 1 Morphological characteristics of mycelium on different mediums

日期 /年-月-日	母种培养基 1(牛粪草炭)				母种培养基 2(PDA)			
	颜色	形状	密度	长势	颜色	形状	密度	长势
2010-6-11	洁白	绒毛状	+++	##	洁白	绒毛状	++	#
2010-6-16	洁白	绒毛状	+++	##	洁白	绒毛状	++	#
2010-6-21	洁白	绒毛状	+++	##	洁白	绒毛状	++	#
2010-6-26	洁白	绒毛状	+++	##	白	绒毛状	++	#
2010-7-1	洁白	绒毛状	+++	##	白	绒毛状	++	#
2010-7-6	白	绒毛状	+++	##	白	绒毛状	++	#

注:++表示菌丝较致密,+++表示菌丝很致密;#表示菌丝长势一般,##表示菌丝长势较强。

2.1.2 母种接种不同培养基上菌丝斜面的生长速度
菌苔长度在整个生长期在不同培养基上增长高峰期

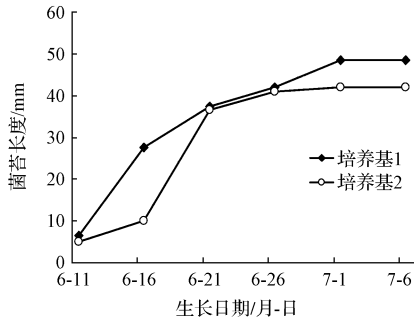


图 1 蒙古口蘑菌丝斜面生长速度

Fig. 1 Slant growth rate of mycelium of *T. mongolicum*

存在差异(图 1),母种培养基 1 是从 6 月 11~16 日增加幅度最大,即 6.5~27.5 mm,而母种培养基 2 菌苔长度增加幅度最为明显的阶段是 6 月 16~21 日,即 10.0~36.5 mm,且 7 月 6 日菌苔长度母种培养基 1 比母种培养基 2 高 6.5 mm。但菌丝斜面生长速度在 2 种培养基上的趋势基本一致,均为前期生长快后期减缓,且在 7 月 1 日菌丝在 2 种培养基上菌苔长度达到最大,菌丝停长。

2.2 不同温度条件对原种菌丝形态特征的影响

2.2.1 形态特征观察 由表 2 可以看出,原种菌丝颜色在 26℃条件下表现较差,其余 3 种温度条件下洁白。密度及长势在 14℃下表现最优,10℃和 21℃表现居中,26℃条件表现最差。

表 2 原种菌丝不同温度条件下形态特征

Table 2 Morphological characteristics of mycelium at different temperatures

温度/℃	编号	菌丝形态			
		颜色	密度	形状	长势
10	1	洁白	+++	绒毛状	##
	2	洁白	++	绒毛状	###
	3	洁白	+++	绒毛状	##
	4	洁白	++	绒毛状	##
	5	洁白	++	绒毛状	##
14	6	洁白	+++	绒毛状	###
	7	洁白	+++	绒毛状	###
	8	洁白	+++	绒毛状	###
	9	洁白	+++	绒毛状	##
	10	洁白	+++	绒毛状	###
21	11	洁白	++	绒毛状	##
	12	洁白	++	绒毛状	###
	13	洁白	++	绒毛状	###
	14	洁白	++	绒毛状	##
	15	洁白	++	绒毛状	##
26	16	白	++	绒毛状	#
	17	白	+	绒毛状	#
	18	白	+	绒毛状	#
	19	白	+	绒毛状	#
	20	白	+	绒毛状	#

注:++表示菌丝不致密,++表示菌丝比较致密,+++表示菌丝很致密;#表示菌丝长势一般,##表示菌丝长势较强,###表示菌丝长势很强。

2.2.2 菌丝在不同温度下的平均生长速度 由图 2 可以看出,原种菌丝平均生长速度在 14℃时表现最佳,菌丝平均生长速度达 1.33 mm/d,随着温度升高,菌丝生长速度逐渐降低,至 26℃时降至 0.98 mm/d,在 0.05 水平差异显著。

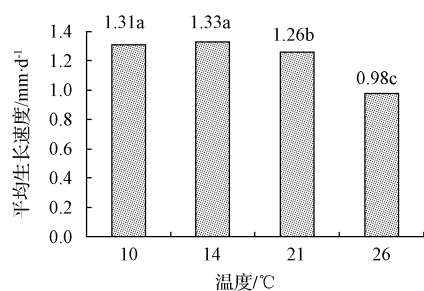


图2 原种菌丝不同温度条件下平均生长速度

Fig. 2 Average growth rate of mycelium at different temperatures

3 结论与讨论

该试验结果表明,蒙古口蘑室内优化培养基采用牛粪草炭培养基菌丝形态及菌丝生长速度都优于PDA培养基。蒙古口蘑原种菌丝在 $(14\pm 2)^{\circ}\text{C}$ 温度下培养,菌丝洁白,密致,长势强,生长速度比较快,平均生长速度达1.33 mm/d,随着温度升高,菌丝生长速度逐渐降低,至26°C时降至0.98 mm/d,在0.05水平差异显著。

课题组从1997年至今,连续10 a到天然蒙古口蘑主产区内蒙古自治区的锡林浩特市灰腾梁一带草原,观察自然状态下蒙古口蘑子实体形成至发育成熟情况,并对当地有采蘑菇经验的牧民进行走访。蒙古口蘑属于典型的草腐生食用菌,子实体个体较大,天然野生蒙古口蘑有特殊的地域性,生长在草原上土质肥沃(牲畜粪便、天然牧草腐烂后腐殖质积累较多)牧草茂盛的地方,对营养条件要求较高。虽然其菌丝能在普通的PDA综合培养基上生长,但长势很弱,在PDA综合培养基内加

入发酵牛粪和草炭土提取液,使培养基营养成分更加丰富,进一步满足蒙古口蘑菌丝的营养需求,从而促进了菌丝生长。但该复合型培养基的营养成分有待分析测定,对培养基配方进一步筛选优化。锡林浩特市最热月份在7月,月平均气温在16~27°C之间,气温变化剧烈,冷暖悬殊甚大。与生长在同一生态区的其它口蘑(黑片、褐口蘑等6、7月份出菇)相比较生长周期较长。锡林浩特市灰腾梁一带草原自然状态下,蒙古口蘑子实体形成至发育成熟一般在每年的在8月底至9月上旬,而且野生产量有大小年之分(第1年多则第2年少),此时该地区的温度在20°C以下,夜间甚至降到0°C以下,开始有冰凌形成。由此分析认为蒙古口蘑生长发育对低温生态环境适应。该试验还需要进一步反复试验,以期找出其最适生长温度。

参考文献

- [1] 黄年来. 中国食用菌百科[M]. 北京:中国农业出版社,1993.
- [2] 刘培贵,宋刚. “口蘑”研究札记[J]. 云南植物研究,1993,15(2):149-154.
- [3] 赵吉,邵玉琴. 草原蒙古口蘑蘑菇圈的特殊生态现象观察[J]. 中国食用菌,2001,21(6):25-26.
- [4] 洪蔚. 蒙古口蘑:消失踪影的野生菌[N]. 科学时报,2008-819.
- [5] 渠志臻. 蒙古口蘑菌丝营养生理特性及培养条件研究[D]. 呼和浩特:内蒙古农业大学,2010.
- [6] 吕作舟. 食用菌栽培学[M]. 北京:高等教育出版社,2006.
- [7] 田绍义,杨发茂. 蒙古口蘑驯化栽培成功[J]. 真菌学报,1992,11(2):146-149.
- [8] 王贺祥. 食用菌学[M]. 北京:中国农业大学出版社,2004.
- [9] 吴恩奇,图力古尔. 蘑菇凝集素及其研究进展[J]. 菌物研究,2006(4):69-76.

Study on Optimization of Mycelia Culture of Mongolia Mushroom from Indoor

XIN Long-zuo, JIN Ya-zheng, MIAO Wen-jing
(Hebei North University, Zhangjiakou, Hebei 075061)

Abstract: Taking the explant of Mongolia mushroom as material, the effect of formula of medium and culture condition on mycelial growth rate and morphological characteristics on Mongolia mushroom from indoor at different treatments were studied based on enrichment culture. The results showed that PDA medium with dry fermented cowdung and turfy soil was superior to normal PDA medium on mycelial growth vigor, and the temperature 14°C was the best point for stock mycelium, on which the average growth rate of mycelium could reach 1.33 mm/d. But the growth rate began to gradually decreased to 0.98 mm/d with temperature increased to 26°C, and it was significant at 0.05 level.

Key words: Mongolia mushroom; mycelium; medium; temperature