

金毛鳞伞液体基质与培养条件优化研究

赵义涛, 鲁 丽, 唐玉琴

(吉林农业科技学院, 吉林 吉林 132101)

摘 要:以金毛鳞伞一级菌种为试材,在单因素试验基础上进行正交实验设计,对金毛鳞伞液体基质与培养条件进行了优化研究。结果表明:金毛鳞伞最适培养基组合为可溶性淀粉 2.0%、蛋白胨 0.5%、 K_2HPO_4 0.3%、 $MgSO_4$ 0.3%;金毛鳞伞的最适液体培养条件为温度 26℃、摇床转速 150 r/min、pH 为 6.0、接种量 15%。

关键词:金毛鳞伞;液体基质;培养条件

中图分类号:S 646 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)11-0143-03

金毛鳞伞(*Pholiota attrivella*)属担子菌亚门层菌纲伞菌目球盖菇科鳞伞属^[1-2]极为珍贵的野生食用菌,其营养丰富、味道鲜美,同时还具有很好的药用价值^[3]。野生金毛鳞伞主要分布于黑龙江、云南、新疆、吉林等地,目前其野生菌种的驯化已取得良好进展^[4-5],但关于其液体培养工艺几乎尚未涉及。现以金毛鳞伞一级菌种为试材,对金毛鳞伞的液体培养工艺进行优化研究,以期满足工厂化生产对液体菌种的需求,从而开发珍稀食用菌新品种,满足人们对日益提高的生活水平的需求,推动该野生食用菌的综合开发和利用。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试金毛鳞伞菌种为斜面一级菌种,由吉林农业科技学院食用菌研究所提供。 KNO_3 、 NH_4Cl 、 $(NH_4)_2SO_4$ 、酵母浸膏、蛋白胨、葡萄糖、蔗糖、乳糖、果糖、可溶性淀粉、 K_2HPO_4 、 $MgSO_4$ 等均由吉林农业科技学院微生物实验室提供。SW-CJ-1F 超净工作台(上海博讯实业有限公司),ZXSD-1270 全自动生化培养箱(上海智城分析仪器制造有限公司),LDZX-50KBS 立式灭菌锅(上海申安仪器有限公司),BSA-124S-CW 电子天平(北京赛多利斯天平有限公司)等均来自于吉林农业科技学院微生物实

验室。

1.2 试验方法

1.2.1 液体基质单因素试验 以菌丝体的生物量为测定指标,采用单因素试验确定不同氮源、碳源、矿质元素对金毛鳞伞菌丝生长的影响。不同氮源及浓度对金毛鳞伞菌丝生长的影响:以 2%葡萄糖作为碳源,分别探讨不同浓度的酵母浸膏、蛋白胨、 NH_4Cl 、 $(NH_4)_2SO_4$ 、 KNO_3 对金毛鳞伞菌丝生长的影响。不同碳源及浓度对金毛鳞伞菌丝生长的影响:以 0.4%蛋白胨为氮源,分别探讨不同浓度的葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、果糖、可溶性淀粉对金毛鳞伞菌丝生长的影响。不同矿质元素及浓度对金毛鳞伞菌丝生长的影响:在 0.4%蛋白胨、2.0%可溶性淀粉的基质中,分别探讨不同浓度 K_2HPO_4 、 $MgSO_4$ 对金毛鳞伞菌丝生长的影响。

1.2.2 培养条件优化研究 根据单因素试验结果,采用 $L_9(3^4)$ 正交实验优化金毛鳞伞最适基质组合,实验设计见表 1。

表 1 正交实验因素与水平 g/L

水平	因素			
	A 可溶性淀粉	B 蛋白胨	C K_2HPO_4	D $MgSO_4$
1	1.5	0.3	0.1	0.2
2	2.0	0.4	0.2	0.3
3	2.5	0.5	0.3	0.4

2 结果与分析

2.1 液体基质单因素试验

2.1.1 不同氮源及浓度对金毛鳞伞菌丝生长的影响

由表 2 可知,金毛鳞伞菌丝在有机氮源酵母浸膏、蛋白胨基质中生长较好,生物量分别为 9.42 g/L 和 10.85 g/L;在 3 种无机氮源基质中生长较差,生物量均不足 7.0 g/L。蛋白胨为最佳氮源。

第一作者简介:赵义涛(1963-),男,汉族,吉林德惠人,硕士,教授,现主要从事植物营养的教学与科研工作。E-mail:335673084@QQ.com.

责任作者:唐玉琴(1964-),女,吉林德惠人,硕士,教授,现主要从事食用菌的教学与科研工作。

基金项目:吉林省教育厅“十二五”科学技术研究资助项目(吉教科合字[2011]第 267 号);吉林省教育厅大学生创新研究资助项目。

收稿日期:2012-01-17

表 2 不同氮源及其浓度对
金毛鳞伞菌丝生物量的影响

浓度/%	酵母浸膏	蛋白胨	NH ₄ Cl	(NH ₄) ₂ SO ₄	KNO ₃
0.2	6.74	7.53	2.33	4.42	5.82
0.3	7.35	9.90	3.21	5.65	6.72
0.4	8.89	10.85	3.51	5.18	4.77
0.5	9.42	8.75	4.31	5.96	3.95
0.6	7.67	8.42	3.58	4.20	3.67

2.1.2 不同碳源及浓度对金毛鳞伞菌丝生长的影响

由表 3 可知,金毛鳞伞菌丝在葡萄糖和可溶性淀粉基质中生长较好,其中葡萄糖 2.0%、可溶性淀粉 2.0% 时生物量分别为 9.84 g/L 和 10.37 g/L;在其它 3 种碳源基质中生长较差。如果考虑规模化生产成本等综合因素,则可溶性淀粉为最佳碳源。

表 3 不同碳源及其浓度对
金毛鳞伞菌丝生物量的影响

浓度/%	葡萄糖	蔗糖	麦芽糖	果糖	可溶性淀粉
1.0	6.52	6.02	5.81	7.21	8.44
1.5	7.64	7.31	7.36	6.32	9.95
2.0	9.84	7.40	7.36	7.71	10.37
2.5	9.56	7.54	7.41	8.66	9.41
3.0	8.98	6.87	6.42	6.21	8.15

2.1.3 不同矿质元素及浓度对金毛鳞伞菌丝生长的影响 由表 4、5 可知,金毛鳞伞菌丝在 0.2% K₂HPO₄、0.3% MgSO₄ 的基质中生长的最好,生物量为 9.66 g/L 和 9.88 g/L。

表 4 不同浓度 K₂HPO₄ 对
金毛鳞伞菌丝生长的影响

浓度/%	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
菌丝生物量 /g·L ⁻¹	8.47	9.66	9.63	7.55	6.76

表 5 不同浓度 MgSO₄ 对
金毛鳞伞菌丝生长的影响

浓度/%	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
菌丝生物量 /g·L ⁻¹	7.54	8.14	9.88	8.65	6.76

2.2 正交实验优化金毛鳞伞最适基质组合

由表 6 可知,不同因素对金毛鳞伞菌丝生物量影响的顺序由大到小为可溶性淀粉>蛋白胨>K₂HPO₄>MgSO₄。最佳组合为 A₂B₃C₃D₂,即可溶性淀粉 2.0%、蛋白胨 0.5%、K₂HPO₄ 0.3%、MgSO₄ 0.3%。但该组合未出现在正交表中,以该组合做验证试验,菌丝生物量达 10.08 g/L,表明其为最佳组合。

2.3 金毛鳞伞液体培养条件的优化

2.3.1 不同温度对金毛鳞伞菌丝生长的影响 在装有 80 mL 液体基质的 250 mL 培养瓶中接入 10% 的液体菌种,分别置于 20、22、24、26、28、30℃ 温度下培养。由表 7 可知,温度对菌丝生物量影响较大,在 20~26℃ 范围内,

随着温度升高菌丝生物量增加,26℃ 时生物量达到最高值 10.76 g/L,温度继续升高则生物量减少。

表 6 正交实验结果

组合	因素				菌丝生物量/g·L ⁻¹
	A	B	C	D	
1	A ₁	B ₁	C ₁	D ₁	5.72
2	A ₁	B ₂	C ₂	D ₂	6.58
3	A ₁	B ₃	C ₃	D ₃	7.96
4	A ₂	B ₁	C ₂	D ₃	8.42
5	A ₂	B ₂	C ₃	D ₁	9.56
6	A ₂	B ₃	C ₁	D ₂	10.03
7	A ₃	B ₁	C ₃	D ₂	9.24
8	A ₃	B ₂	C ₁	D ₃	7.63
9	A ₃	B ₃	C ₂	D ₁	8.65
K _{1j}	6.75	7.79	7.82	7.98	
K _{2j}	9.25	7.92	7.88	8.64	
K _{3j}	8.52	8.90	8.92	8.00	
R	2.68	1.12	1.10	0.66	

表 7 温度对金毛鳞伞菌丝生长的影响

温度/℃	20	22	24	26	28	30
菌丝生物量 /g·L ⁻¹	7.15	7.22	9.78	10.76	9.38	7.96

2.3.2 不同接种量对金毛鳞伞菌丝生长的影响 在装有 80 mL 液体基质的 250 mL 培养瓶中分别接入 5%、10%、15%、20%、25% 的一级液体菌种,26℃ 下培养。由表 8 可知,接种量在 5%~15% 范围内菌丝生物量随接种量加大而增加,接种量为 15% 时生物量达到最高值 10.17%,接种量继续加大则菌丝生物量降低。

表 8 接种量对金毛鳞伞菌丝生长量的影响

接种量/%	5	10	15	20	25
菌丝生物量 /g·L ⁻¹	7.65	8.45	10.17	9.54	8.87

2.3.3 摇床转速对金毛鳞伞生长的影响 在装有 80 mL 液体基质的 250 mL 培养瓶中接入 15% 的一级液体菌种,将其分别置于 90、120、150、180、210、240 r/min 的转速和 26℃ 下培养。由表 9 可知,在 90~150 r/min 范围内随转速加快菌丝生物量增加,当转速达 150 r/min 时菌丝生物量达到最高值 11.88 g/L,转速继续加快则菌丝生物量降低。

表 9 摇床转速对金毛鳞伞菌丝生长的影响

摇床转速/r·min ⁻¹	90	120	150	180	210	240
菌丝生物量/g·L ⁻¹	9.76	10.92	11.88	11.22	9.56	6.84

2.3.4 基质 pH 对金毛鳞伞生长的影响 将装入三角瓶中的液体基质的 pH 分别调至 5.0、6.0、6.5、7.0、8.0,然后灭菌、接入 15% 的液体菌种,置于 26℃ 和 150 r/min 的转速下培养。由表 10 可知,基质初始 pH 在 5.0~6.0 范围内随 pH 升高菌丝生物量增加,pH 达到 6.0 时菌丝生物量达最高值为 10.30 g/L,继续调高 pH 则菌丝生物量降低。

表 10 基质 pH 对金毛鳞伞菌丝生长的影响

pH	5.0	6.0	6.5	7.0	8.0
菌丝生物量 /g·L ⁻¹	9.28	10.30	10.22	7.86	6.40

3 结论

金毛鳞伞液体培养不仅与菌种的基因等内在因素有关,也与培养基组成及培养条件等外在因素有关。综合试验结果,金毛鳞伞液体培养的碳源以可溶性淀粉较为合适,氮源以蛋白胨为宜。通过金毛鳞伞液体培养试验,筛出金毛鳞伞液体培养的最适基质组合为:可溶性淀粉 2.0%,蛋白胨 0.5%,K₂HPO₄ 0.3%,MgSO₄ 0.3%。

选择合适的培养条件是液体培养的另一关键因素。通过对金毛鳞伞液体培养条件的控制,特别是对温度、

酸碱度等重要培养条件的控制,可以大大提高液体培养的水平。综合考虑,金毛鳞伞培养的最适培养条件为:培养温度 26℃,接种量 15%,摇床转速 150 r/min,培养基初始 pH 6.0。

参考文献

- [1] 图力古尔,田恩静,王欢. 中国的球盖菇科(一)鳞伞属[J]. 菌物研究, 2005(3):5-54.
- [2] 卯晓岚. 中国大型真菌[M]. 河南科学技术出版社,1999:231-235.
- [3] 杨雪,曹哲明,刘吉开. 金毛鳞伞的分离、鉴定及营养特性的初探[J]. 食用菌,2003(2):11-12.
- [4] 黄年来. 中国大型真菌原色图鉴[M]. 北京:中国农业出版社,1998:176-177.
- [5] 王华. 鳞伞属真菌个体发育研究[J]. 吉林农业大学学报,2006,5(2):43-46.
- [6] 唐玉琴,李长田,赵义涛. 食用菌生产技术[M]. 化学工业出版社, 2008:28-68.

Study on Optimization of Liquid Medium and Culture Condition of *Pholiota aurivella*

ZHAO Yi-tao, LU Li, TANG Yu-qin

(Jilin Agricultural and Technology College, Jilin, Jilin 132101)

Abstract: Taking the first class inoculums of *Pholiota aurivella* as material, the optimization of liquid medium and culture condition of *Pholiota aurivella* were studied by orthogonal experiment based on the single factor test. The results showed that the most suitable culture medium combination were as follows: 2.0% glucose, peptone 0.5%, K₂HPO₄ 0.3%, MgSO₄ 0.3%; the most suitable liquid culture condition was temperature 26℃, shaking speed 150 r/min, pH 6.0, 15% inoculation amount.

Key words: *Pholiota attrivella*; liquid medium; culture condition

食品有色彩吃法要科学 (三)

白色食品:蛋白质和钙质的丰富源泉

通常来说,白色食品如豆腐、牛奶、奶酪等还是钙质丰富的食物,所以,营养学家建议平时经常吃一些白色食物能让我们的骨骼更健康。另外,是蛋白质排列组合的细微差别决定了一个身体与另一个身体间的不同,而白色食品,如各种蛋类以及牛奶制品等都是富含蛋白质的优秀食品代表。而人们经常吃的白米,则是富含碳水化合物的食品代表,它是饮食金字塔坚实根基的一部分,更是身体不可或缺的能量之源。

黄色食物:维生素 C 的天然源泉

提起黄色食物,我们在第一时间里想起的一定是柠檬,这枚嫩黄色的果子以它芳香怡人的气息和极高的维生素 C 含量而倍受青睐。除柠檬外,大部分橙类水果也都有类似的功效,因为维生素 C 是最好的抗氧化剂,具有延缓皮肤衰老的功能,黄色食物如玉米和香蕉等还是很好的垃圾清理剂,因为玉米和香蕉有强化消化系统与肝脏的功能,同时还能清除血液中的毒素。而且,黄色食物能让人精神集中,所以,建议在精神涣散的夜晚,喝一杯甘菊茶就能让思维重新进入状态。