

蜜环菌菌种及配方的筛选

任思竹, 郭亚萍, 张国庆, 陈青君, 张晶华, 赵 晶

(北京农学院 植物科技学院, 北京 102206)

摘 要:以 8 个蜜环菌菌种为试材, 研究比较了 8 个蜜环菌菌种在 7 种培养基配方上接种效果。结果表明: 8 个菌种在以栎皮煮水加 PDA 的配方中萌发时间最短, 平均为 4.3 d; 在 PDA 和栎皮煮水加 PDA 配方上平均满皿时间最短, 为 24.1 d 和 23.7 d; 在麦芽汁半固体和混合培养基上菌索干重最大, 平均为 0.1600 g 和 0.1680 g。在各种培养基上以 M7 菌株长势最好, 菌索干重最大。

关键词:蜜环菌; 菌种; 培养基; 生物量

中图分类号:Q 949.329⁺.81 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)18-0145-03

蜜环菌 (*Armillaria mellea*) 属担子菌亚门 (Basidiomycotina)、伞菌目 (Agaricales)、白蘑科 (Tricholomataceae)、蜜环菌属 (*Armillaria* (Fr.) Staude)。蜜环菌子实体味道鲜美, 营养丰富, 菌丝、菌索、菌核均可入药, 是一种著名的食药两用真菌^[1]。在长期的生物演化过程中, 蜜环菌黑色、类似线绳的菌索侵入天麻块茎或猪苓菌核后被消化利用, 成为天麻或猪苓唯一的营养源^[2-4]。

在自然条件下, 蜜环菌主要靠树木或枯枝落叶及土壤基质获取碳源、氮源、无机盐及维生素等营养物质。在人工培养基上不同的菌株表现出不同的生长特性^[5], 在中国, 蜜环菌的种类繁多, 分布广泛, 用于天麻的蜜环菌种类的报道很多^[6], 在猪苓产区使用的蜜环菌通常与天麻相同, 蜜环菌的质量决定着天麻和猪苓的产量。筛选优良的蜜环菌菌株和配方是生产蜜环菌优质菌种的基础。该试验对国内几个主要的蜜环菌品种采用不同的配方对其进行了比较观察, 以期筛选出适合蜜环菌生长的最佳配方。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试菌种“蜜三明”由福建三明真菌研究所提供, AM8 由湖北嘉鱼县环宇食用菌研究所提供, AM7 由贵

州习酒食用菌研究所提供, AM1 由韩国提供, AM6 由华中农大菌种中心提供, “蜜 A9”由四川绵阳市食用菌研究所提供, “宁强 A9-1”由陕西洋强县真菌研究所提供, “蜜-2”由陕西洋县提供。

1.2 试验方法

培养基配方: ①PDA 综合: 马铃薯 200 g、葡萄糖 20 g、琼脂 15 g、磷酸二氢钾 3 g、硫酸镁 1.5 g、维生素 B₁ 微量。②PDA 综合+蛋白胨 5 g。③PDA 综合+牛肉膏 5 g。④PDA 综合+栎皮水 100 g(水煮)。⑤麦芽汁半固体培养基: 麦芽汁 150 mL、琼脂 15 g、葡萄糖 20 g、蛋白胨 5 g。⑥GPC 半固体: 葡萄糖 20 g、蛋白胨 5 g、玉米粉 10 g(取浸出液)、琼脂 15 g。⑦混合培养基: 马铃薯 100 g、木屑 50 g、麸皮 50 g、玉米粉 50 g、葡萄糖 20 g、蛋白胨 5 g、磷酸二氢钾 2 g、硫酸镁 1 g、维生素 B₁ 微量、琼脂 15 g。

将 8 个菌种分别接种于上述 7 种不同配方的培养基皿中部, 每个菌株在不同配方培养基上接种 10 个皿, 置于 25℃ 培养箱中进行黑暗恒温培养。记录各种不同的菌株在同一种培养基中的萌发时间、长势、菌索伸长情况以及长满时间等参数。菌索干重在试验观察结束时冲洗并烘干称重。

2 结果与分析

2.1 不同菌种在不同配方培养基上萌发时间的比较

由表 1 可知, 不同菌株在 7 种母种培养基配方中的萌发时间不同, 平均萌发速度由快到慢依次为 AM7 > AM8 > “蜜 2” > “蜜三明” > AM1 > AM6 > “蜜 A9” > “宁强 A9-1”。以 AM7 菌株为例, 菌丝在 PDA 综合+栎皮水的萌发天数最短, 在培养基 PDA 综合+蛋白胨、PDA 综合+牛肉膏、麦芽汁半固体、综合斜面培养基、GPC 培养基中的萌发时间差异不显著, 菌丝在 PDA 培养基中

第一作者简介:任思竹(1981-), 男, 吉林长春人, 硕士研究生, 现主要从事药用菌栽培和育种等研究工作。E-mail: rensizhu@hotmail.com.

责任作者:陈青君(1963-), 女, 博士, 教授, 硕士生导师, 现主要从事药用菌栽培和育种等研究工作。E-mail: cqj@sohu.com.

基金项目:北京市教委农业综合服务基地建设林下经济资助项目(PXM2013014207000053)。

收稿日期:2013-06-24

的生长速度慢于在其它培养基中的萌发速度。不同菌株在同一配方中萌发天数存在差异,在栎皮水中萌发的

时间最短,为 4.3 d,而在其它各种培养基中萌发的平均时间延长为 6.4~7.5 d。

表 1

不同菌种在不同培养基上萌发时间

d

| | PDA 综合 | PDA 综合+蛋白胨 | PDA 综合+牛肉膏 | PDA 综合+栎皮水 | 麦芽汁半固体 | GPC 半固体 | 混合斜面培养 | 均值 |
|-----------|--------|------------|------------|------------|--------|---------|--------|-----|
| “蜜三明” | 7.5 | 7.4 | 7.3 | 3.1 | 5.6 | 5.0 | 8.3 | 6.3 |
| AM8 | 3.3 | 3.5 | 3.4 | 3.3 | 2.6 | 3.6 | 3.4 | 3.3 |
| AM7 | 3.2 | 2.5 | 2.6 | 2.3 | 2.5 | 2.5 | 2.4 | 2.6 |
| AM1 | 6.5 | 6.4 | 6.3 | 5.5 | 7.4 | 7.2 | 5.3 | 6.4 |
| AM6 | 7.4 | 7.2 | 7.1 | 4.4 | 7.5 | 4.6 | 7.5 | 6.5 |
| “蜜 A9” | 10.5 | 11.3 | 8.1 | 3.2 | 5.3 | 10.2 | 7.3 | 8.0 |
| “宁强 A9-1” | 10.5 | 8.5 | 12.5 | 5.5 | 8.6 | 11.5 | 8.5 | 9.4 |
| “蜜-2” | 3.5 | 5.2 | 4.1 | 3.1 | 5.4 | 5.2 | 5.2 | 4.5 |
| 均值 | 7.5 | 7.4 | 7.3 | 4.3 | 6.4 | 7.1 | 6.8 | — |

2.2 不同菌种在不同培养基上满皿时间的比较

从表 2 可以看出,各菌株在 7 种配方培养基中均可生长,但生长速度却有不同。满皿时间递增顺序依次为培养基 AM7>AM8>“蜜三明”>“蜜 2”>AM1>“蜜 A9”>AM6>“宁强 A9-1”。其中,AM7、AM8、“蜜三明”、“蜜 2”之间平均差异不大,但以 AM7 菌株生长最快,满皿时间最短。AM1、“蜜 A9”满皿天数接近,迟于

上述 4 种菌株,但快于 AM6、“宁强 A9-1”。在麦芽汁半固体培养基中,AM7 的满皿时间最短,仅为 16.4 d。同一菌株在各配方中的时间也有不同,PDA 综合、PDA 综合+蛋白胨、PDA 综合+牛肉膏、PDA 综合+栎皮水、麦芽汁半固体几种菌株长满时间大致相同,最多相差不超过 1 d。8 个菌种在混合斜面培养基、GPC 培养基上满皿时间过长,不适于应用。

表 2

不同菌种在不同培养基上满皿时间

d

| | PDA 综合 | PDA 综合+蛋白胨 | PDA 综合+牛肉膏 | PDA 综合+栎皮水 | 麦芽汁半固体 | GPC 半固体 | 混合斜面培养 | 均值 |
|-----------|--------|------------|------------|------------|--------|---------|--------|------|
| “蜜三明” | 26.5 | 24.2 | 21.2 | 21.2 | 20.1 | 25.3 | 23.2 | 23.1 |
| AM8 | 17.8 | 18.1 | 17.4 | 17.3 | 18.6 | 33.9 | 31.5 | 22.1 |
| AM7 | 17.5 | 19.4 | 17.2 | 17.9 | 16.4 | 34.3 | 31.2 | 22.0 |
| AM1 | 29.2 | 28.2 | 25.1 | 23.2 | 23.1 | 34.5 | 34.2 | 28.2 |
| AM6 | 25.1 | 30.3 | 33.1 | 34.1 | 34.2 | 34.3 | 34.4 | 32.2 |
| “蜜 A9” | 25.2 | 34.1 | 31.1 | 25.2 | 30.4 | 29.5 | 25.0 | 28.6 |
| “宁强 A9-1” | 34.4 | 34.2 | 34.2 | 31.3 | 32.8 | 34.5 | 34.2 | 33.7 |
| “蜜-2” | 17.2 | 25.5 | 20.2 | 19.3 | 30.3 | 34.2 | 25.1 | 24.5 |
| 均值 | 24.1 | 26.8 | 24.9 | 23.7 | 25.7 | 32.6 | 29.9 | — |

2.3 不同菌种在不同配方培养基上的形态特征

在选定的 7 种培养基中培养,8 个菌株的形态特征不尽相同。从菌索密度、菌索边缘整齐度、菌索颜色、菌索生长势方面观察蜜环菌的生长状况。从表 3 可以看

出,AM7 在培养基麦芽汁中菌索密度最大、边缘最整齐、颜色为红褐色、长势最粗壮有力,PDA 综合+蛋白胨、混合斜面培养次之,栎皮水、牛肉膏居中,在综合 PDA 和 GPC 半固体培养基上长势最差。

表 3

AM7 在不同培养基上的生长特征

| | PDA 综合 | PDA 综合+蛋白胨 | PDA 综合+牛肉膏 | PDA 综合+栎皮水 | 麦芽汁半固体 | GPC 半固体 | 混合斜面培养 |
|-------|--------|------------|------------|------------|--------|---------|--------|
| 菌索密度 | + | ++++ | +++ | +++ | +++++ | ++ | ++++ |
| 边缘整齐度 | 整齐 | 较整齐 | 较整齐 | 整齐 | 整齐 | 整齐 | 整齐 |
| 菌索颜色 | 黑褐色 | 红褐色 | 浅褐色 | 红褐色 | 红褐色 | 浅褐色 | 红褐色 |
| 菌索生长势 | ++ | ++++ | +++ | +++ | +++++ | ++ | ++++ |

2.4 不同菌种在不同配方培养基上的菌索干重

通过菌索生物量的多少,可以较为清晰、明了的反

映出菌种活性。从表 4 可以看出,AM7、AM8 在 7 个配方中干重较高,平均菌索干重为 0.1420、0.1440 g,明显

强于“蜜三明”、AM1、AM6 等其它 6 个菌株。各菌株在麦芽汁半固体培养基和混合培养基平均菌索生物量最重,平均为 0.1600、0.1680 g,表明这 2 种配方比较适合密环菌生长。

表 4 不同培养基上不同菌株的平均菌索干重 g

| | PDA 综合 | PDA 综合+蛋白胨 | PDA 综合+牛肉膏 | PDA 综合+栎皮水 | 麦芽汁半固体 | GPC 半固体 | 混合斜面培养 | 均值 |
|-----------|--------|------------|------------|------------|--------|---------|--------|--------|
| “蜜三明” | 0.1053 | 0.1066 | 0.1348 | 0.0954 | 0.1588 | 0.1109 | 0.1123 | 0.1173 |
| AM8 | 0.1145 | 0.1235 | 0.1368 | 0.0974 | 0.2036 | 0.1175 | 0.2013 | 0.1421 |
| AM7 | 0.1238 | 0.129 | 0.1649 | 0.0983 | 0.1823 | 0.1137 | 0.1960 | 0.1440 |
| AM1 | 0.0845 | 0.0935 | 0.1345 | 0.0933 | 0.1611 | 0.1004 | 0.1869 | 0.1220 |
| AM6 | 0.0955 | 0.1022 | 0.1354 | 0.0927 | 0.1521 | 0.0669 | 0.1097 | 0.1077 |
| “蜜 A9” | 0.0854 | 0.0874 | 0.1064 | 0.0886 | 0.1606 | 0.0673 | 0.1804 | 0.1108 |
| “宁强 A9-1” | 0.1011 | 0.1028 | 0.0973 | 0.0791 | 0.1379 | 0.073 | 0.1843 | 0.1107 |
| “蜜-2” | 0.0942 | 0.0841 | 0.1331 | 0.1022 | 0.1239 | 0.0894 | 0.1772 | 0.1149 |
| 均值 | 0.1005 | 0.1039 | 0.1304 | 0.0934 | 0.1600 | 0.0923 | 0.1680 | — |

3 结论与讨论

优良的蜜环菌菌株表现为萌发快、菌索长势强壮,满皿时间短,菌索生长茂密、生物量大。该试验结果表明,在同一培养基上 AM7 表现突出,AM8 虽然菌索生物量多但满皿时间很长,生长速度慢,其它菌株表现一般。

关于蜜环菌的配方,程显好等^[7]认为在以甘露醇为碳源制成的培养基上生长最好,而刘天贵等^[8]认为蜜环菌最易利用的碳源为葡萄糖。该试验结果表明,8 个菌株均在以葡萄糖为碳源并添加了麦芽汁的配方上生长最好,菌索最健壮,满皿时间最短,说明麦芽汁对蜜环菌生长非常有利,可以在母种制作时添加。培养蜜环菌的目的是为了伴栽天麻和猪苓,而蜜环菌菌种质量和培养基的优劣,也直接影响到天麻和猪苓接菌状况及产量效果,其最终对天麻和猪苓产量的影响有待进一步研究。

参考文献

[1] 贺伟,秦国夫,沈瑞祥. 大兴安岭和长白山地区蜜环菌生物种的研究[J]. 真菌学报,1996,15(1):9-16.
[2] 郭顺星,徐锦堂. 蜜环菌菌索发育的研究[J]. 真菌学报,1992,11(4):308-313.
[3] 王贺,王震宇,张福铤,等. 天麻大型细胞消化蜜环菌过程中溶酶体小泡的作用[J]. 植物学报,1992,34(6):405-409.
[4] 兰进,徐锦堂,李京淑,等. 蜜环菌和天麻共生营养关系的放射性自显影研究[J]. 真菌学报,1994,13(3):219-222.
[5] 熊鹰,姜邻,唐利民. 蜜环菌母种培养基筛选试验[J]. 中国食用菌,2004,23(5):25-26.
[6] 赵俊,赵杰. 中国蜜环菌的种类及其在天麻栽培中的应用[J]. 食用菌学报,2007,14(1):67-72.
[7] 程显好,郭顺星. 蜜环菌固体培养特性[J]. 中国医学科学院学报,2006,28(4):553-557.
[8] 刘天贵,胡尚勤. 一株新蜜环菌生理生化及营养条件的研究[J]. 重庆师范学院学报,2000,17(3):38-43.

Screening on Species and Formulation of *Armillaria mellea* Strains

REN Si-zhu, GUO Ya-ping, ZHANG Guo-qing, CHEN Qing-jun, ZHANG Jing-hua, ZHAO Jing
(College of Plant Science and Technology, Beijing Agricultural University, Beijing 102206)

Abstract: Taking eight *Armillaria mellea* strains as test material, the effect of the inoculated were cultured on seven media for best cultural media screening. The results showed that a modified PDA medium with oak tree bark extracts was the best germination medium for all the 8 strains, with an average time of 4.3 d. The strains colonized all the petri dishes on PDA and the modified PDA media with the average time of 24.1 and 23.7 d, respectively. On the other hand, the best cultural media for rhizomorph production were malt extract sub-solid medium and mixture medium, with rhizomorph weight of 0.1600 g and 0.1680 g. Based on growth rate and rhizomorph weight, the best cultural strain was M7.

Key words: *Armillaria mellea*; strains; medium; biomass