

# 野生泡囊侧耳的鉴定及其驯化栽培

李 蝶, 吴 浩, 李 红 玉, 雷 雨 霞, 刘 斌

(广西大学 农学院, 应用微生物研究所, 广西 南宁 530003)

**摘 要:**以采自广西大学校园内泡囊侧耳为试材, 对其进行形态特征、培养特征、ITS 序列 (Gene Bank 登录号为: KJ868811) 等鉴定, 并进行生物学特性研究, 并利用棉籽壳、玉米芯、木糠、甘蔗渣、桑枝屑为主料进行栽培试验, 以期今后的品种使用者提供栽培方面的参考数据。结果表明: 确定该菌株为泡囊侧耳 *Pleurotus cystidiosus*; 在 5 种供试碳源中, 泡囊侧耳的菌丝利用淀粉最好; 在 6 种供试氮源中, 发现利用酵母粉最佳; 泡囊侧耳的菌丝能在碳氮比 10:1~60:1 范围内生长, 但以 40:1 为最好; 最适 pH 7.0; 最适生长温度范围为 25.0~30.0℃, 其中以 27.5℃ 为最佳; 以木糠为主料时其生物学效率最高可达到 43.33%, 单菇重为 79.51 g/袋。

**关键词:**泡囊侧耳; ITS; 生物学特性; 栽培

**中图分类号:**S 646.1<sup>+</sup>4 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)04-0143-04

泡囊侧耳 (*Pleurotus cystidiosus*) 其在分类学上隶属于真菌门、担子菌亚门、层菌纲、伞菌目、侧耳科、侧耳属。

**第一作者简介:**李蝶(1989-), 女, 硕士, 现主要从事食用菌栽培等研究工作。E-mail: 385726147@qq.com

**责任作者:**刘斌(1966-), 男, 博士, 教授, 现主要从事食用菌及植物保护等研究工作。E-mail: liubin@gxu.edu.cn

**基金项目:**广西科学研究与技术开发计划资助项目(桂科攻 1222012-1B); 国家食用菌产业技术体系广西创新团队建设专项资助项目。

**收稿日期:**2014-11-19

又名泡囊状侧耳、台湾平菇、鲍鱼菇、栎侧耳、裂皮侧耳、高温平菇、盖囊菇<sup>[1]</sup>。泡囊侧耳是食、药兼用的珍稀食用菌之一<sup>[2]</sup>, 是一种高温季节发生的珍稀菌类, 是适宜春末、夏季及初秋栽培的新品种<sup>[3]</sup>, 是我国近年推广的一种高温型侧耳<sup>[4]</sup>。泡囊侧耳菇体形态优美, 色泽诱人, 肉质肥厚, 菌柄粗壮, 质脆味美, 营养丰富<sup>[5]</sup>。泡囊侧耳蛋白质含量高于大部分蔬菜, 富含维生素及矿物质。泡囊侧耳原产于印第安纳的红枫。台湾栽培的鲍鱼菇曾被报道为侧耳属的一个新种 *Pleurotus abalones*, 后被处理为泡囊侧耳的异名。该研究所用泡囊侧耳采集

[5] 王菲, 栾云峰, 刘长江, 等. 响应面分析法优化微波辅助提取软枣猕猴桃黄酮[J]. 食品研究与开发, 2010, 31(9): 6-11.

[6] 何书美, 刘敬兰. 茶叶中总黄酮含量测定方法的研究[J]. 分析化学研究简报, 2007, 35(9): 1365-1368.

[7] Yen G C, Chen H Y. Antioxidant activity of various tea extracts in reaction to their antimutagenicity [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1995, 43(1): 27-32.

[8] Winterbourn C C, Sutton H C. Hydroxyl radical production from hydrogen peroxide and enzymatically generated paraquat radicals: catalytic requirements and oxygen dependence [J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 1984, 235(1): 116-126.

[9] Shimada K, Fujikawa K, Yahara K T. Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1992, 40(6): 945-948.

## Extraction of Flavonoids from *Actinidia arguta* and Its Antioxidant Activity *in vitro*

WEN Gang, LIU Hai-yan, YANG Mei

(School of Environmental and Biological Engineering, Jilin Institute of Chemical Technology, Jilin, Jilin 132022)

**Abstract:** Taking *Actinidia arguta* as test material, ultrasonic assisted extraction method was used to study the ethanol concentration, solid-liquid ratio, extraction temperature, extraction time, ultrasonic power and other factors affecting flavonoid extraction efficiency of *Actinidia arguta*. After purification the flavonoids was used for investigated antioxidant activity *in vitro*. The results showed the appropriate extracted conditions were chosen as follows: ethanol concentration was 70% (V/V), solid-liquid ratio was 1:8 g/mL, extraction temperature was 70℃, extraction time was 5 min, and ultrasonic power was 300 W. *Actinidia arguta* flavonoid showed a good DPPH free radical scavenging activity, and it also had hydroxyl radicals and superoxide anion free radical scavenging ability.

**Keywords:** *Actinidia arguta*; flavonoids; extraction; antioxidant

于广西大学校园内,其子实体中等至大型,菌盖直径 4~25 cm,表皮干燥,幼时灰色,后渐至浅黄色,有明显的黄色边缘。菌褶延生,有许多横脉,奶油色。菌柄中实,质地致密,偏心生,一般长 4~8 cm,粗 1~3 cm,幼时浅灰色,后渐至深灰色,菌柄与菌盖交界处的菌褶呈浅黄色,子实体肉质肥厚,口感脆嫩并有浓郁的清香气味。采用组织分离方法对其进行分离培养,菌丝体生长时容易形成黑色孢梗束,是其无性分生孢子。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试菌株为泡囊侧耳菌株由广西大学农学院应用微生物所分离、保存和提供。

基础培养基:葡萄糖 20 g、蛋白胨 2 g、磷酸二氢钾 0.5 g、硫酸镁 0.5 g、氯化钙 0.5 g、维生素 B<sub>1</sub> 10 mg、琼脂 18 g、蒸馏水 1 000 mL。加富 PDA 培养基的配制按照吕作舟<sup>[6]</sup>的方法。

### 1.2 试验方法

1.2.1 菌种培养 取试管种铲取 0.5 cm×0.5 cm 的菌块接种于 PDA 平板,在 28℃ 恒温培养箱内暗光培养,待菌丝将近长满平板后使用。

1.2.2 栽培配方 ①棉籽壳 80%,麦麸 18%,石膏 1%,石灰 1%;②玉米芯 73%,麦麸 20%,玉米粉 5%,石膏 1%,蔗糖 1%;③木糠 68%,麦麸 25%,玉米粉 5%,石膏 1%,蔗糖 1%;④甘蔗渣 60%,棉籽壳 20%,麦麸 16%,石膏 1%,石灰 2%;⑤桑枝屑 30%,棉籽壳 48%,麦麸 20%,石膏 1%,蔗糖 1%;调节含水量为 65%,用 15 cm×26 cm 聚丙烯塑料袋装料并进行高压灭菌,液体菌种接种量为 10%。菌丝体满袋后统一进行出菇管理,菇房温度维持在 28℃ 左右。

1.2.3 泡囊侧耳总 DNA 的提取 DNA 提取方法参考孙立夫等<sup>[7]</sup>和许峰等<sup>[8]</sup>的改进 CTAB 法提取。

1.2.4 PCR 扩增及序列测定 ITS 片段参照 White 等<sup>[9]</sup>,选用引物 ITS1 和 ITS4,引物由华大基因合成,具体引物如下:ITS1:5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'; ITS4:5'-TCCGTCCGCTTATTGATATGC-3'。

1.2.5 碳源试验 以基础培养基中 20 g 葡萄糖的含碳量为标准,分别用蔗糖、麦芽糖、乳糖、淀粉来代替供试基础培养基中与 20 g 葡萄糖相等含碳量的葡萄糖,每个处理 10 次重复,28℃ 恒温箱暗光培养,待菌丝萌发后,用十字交叉法每隔 5 d 测量 1 次菌丝生长量,并记录生长情况。菌丝生长速度(mm/d)=(平均菌落直径-5)/菌丝生长时间。

1.2.6 氮源试验 用酵母粉、硝酸铵、硫酸铵、硝酸钾、尿素来替代基础培养基内与 2 g 蛋白胨相等含氮量的蛋白胨来进行培养,培养及测量方法同上。

1.2.7 碳氮源比试验 在供试基础培养基内分别添加不同重量的蛋白胨,使培养基的碳氮源比分别为 10:1、20:1、30:1、40:1、50:1、60:1,培养及测量方法同上。

1.2.8 温度筛选试验 用上述试验最适碳源和氮源替换加富 PDA 中的碳源、氮源,并调整碳氮源比为上述最适碳氮源比,配成 PDY 培养基(培养基中含碳量与 20 g 葡萄糖含碳量相等,马铃薯中含碳氮量忽略不计),分别在 15、20、25、27.5、30、35、40℃ 条件下培养,测量方法同上。

1.2.9 pH 值筛选试验 配制 PDY 培养基分别调节 pH 值为 4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0,置于上述最适温度下培养,测量方法同上。

1.2.10 子实体农艺性状观测及产量比较 在 5 个试验组中随机各抽取 25 包,当菌丝覆盖料面后,沿菌丝生长点进行划线,10 d 后再进行划线,测量 2 条线间的距离,计算菌丝生长速度<sup>[10]</sup>,并记录其出菇情况,并按照第一潮菇的产量进行统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 ITS 测序结果分析

该研究所测得泡囊侧耳 ITS 序列的 GenBank 登录号为:KJ868811,将测的序列提交至 NCBI 进行 Blast 比对分析,比对结果显示该菌株为泡囊侧耳 *Pleurotus cystidiosus*。

### 2.2 碳源对泡囊侧耳菌丝生长的影响

碳元素是构成菌体成分的主要元素,是细胞内储藏物质和生成各种代谢产物的骨架,也是微生物生长过程中的主要能源来源。从表 1 可以看出,不同碳源的培养基对泡囊侧耳菌丝生长有较明显影响。菌丝生长由快到慢的氮源依次为淀粉、麦芽糖、蔗糖、乳糖、葡萄糖。

表 1 碳源对泡囊侧耳菌丝生长的影响

Table 1 Effect of carbon sources on mycelia growth of *Pleurotus cystidiosus*

碳源	日生长量	差异显著性		菌丝长势
Carbon	Growth rate	Significance of difference		Mycelia growth
source	/(mm·d <sup>-1</sup> )	0.05	0.01	vigor
淀粉	2.87	a	A	++
麦芽糖	2.28	ab	A	++
蔗糖	2.14	ab	A	+++
乳糖	1.87	b	A	+
葡萄糖	1.77	b	A	+

注:表中数字为 5 次重复的平均数。不同大写字母表示 1% 显著水平,小写字母表示 5% 显著水平;+、++、+++ 分别表示菌丝长势稀疏、一般、健壮,下同。

Note: The number in the table are the mean of 5 time observation; values in the same column with different letter are significantly different (level of significance is 5% for letters in lowercase, and 1% for those in capital letter); +, weakly; ++, ordinarily; +++, vigorous, similarly hereinafter.

### 2.3 氮源对泡囊侧耳菌丝生长的影响

氮源是食用菌合成核酸、蛋白质和酶类的主要原

料,对生长发育有重要作用。由表 2 可以看出,泡囊侧耳菌丝在不同氮源培养基上菌丝长势具有显著差异。菌丝生长速度由快到慢依次为酵母粉、蛋白胨、硫酸铵、硝酸钾、硝酸铵、尿素。

表 2 氮源对泡囊侧耳菌丝生长的影响

Table 2 Effect of nitrogen sources on mycelia growth of *Pleurotus cystidiosus*

氮源 Nitrogen source	日生长量 Growth rate /(mm·d <sup>-1</sup> )	差异显著性 Significance of difference		菌丝长势 Mycelia growth vigor
		0.05	0.01	
酵母粉	2.99	a	A	+++
蛋白胨	1.77	b	B	++
硫酸铵	0.66	c	C	+
硝酸钾	0.55	c	C	+
硝酸铵	0.53	c	C	+
尿素	0.45	c	C	+

2.4 碳氮源比对泡囊侧耳菌丝生长的影响

由表 3 可以看出,不同碳氮源比对菌丝生长有明显影响。泡囊侧耳菌丝在碳源氮源比 10:1~60:1 范围均能生长,但以 40:1 为最佳,菌丝生长快,浓密洁白。碳源氮源比在 10:1、20:1、30:1、50:1、60:1 时菌丝生长缓慢且稀疏。因此菌丝生长最适碳氮比为 40:1。

表 3 碳氮源比对泡囊侧耳菌丝生长的影响

Table 3 Effect of carbon-nitrogen ratio on mycelia growth of *Pleurotus cystidiosus*

碳氮源比 C:N	日生长量 Growth rate /(mm·d <sup>-1</sup> )	差异显著性 Significance of difference		菌丝长势 Mycelia growth vigor
		0.05	0.01	
40:1	3.28	a	A	+++
50:1	2.77	b	A	++
30:1	2.07	c	B	+
20:1	1.97	c	B	+
60:1	1.97	c	B	+
10:1	1.79	c	B	+

2.5 温度对泡囊侧耳菌丝生长的影响

温度是影响食用菌生长发育的重要因子,不同的食用菌有着不同的极限温度和适宜温度。由图 1 可以看出,温度对泡囊侧耳菌丝生长有明显的影

响。在 25.0~30.0℃ 菌丝致密洁白,生长速度快。该试验选取的最适温度为 27.5℃。

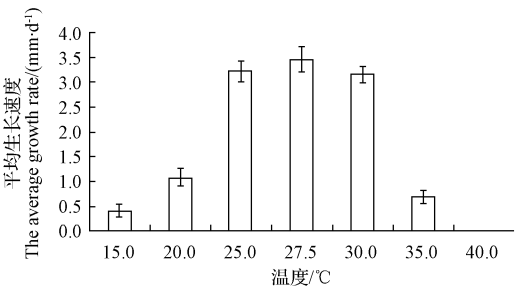


图 1 温度对泡囊侧耳菌丝生长的影响

Fig. 1 Effect of temperature on mycelia growth of *Pleurotus cystidiosus*

2.6 pH 值对泡囊侧耳菌丝体生长的影响

培养基的 pH 值是影响细胞通透性、酶活性及代谢活动的重要因素。由图 2 可以看出,pH 值的变化对泡囊侧耳的生长有明显的影

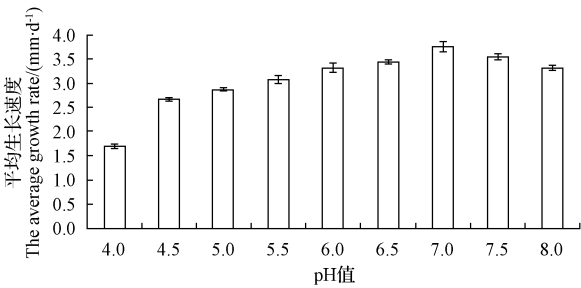


图 2 pH 值对泡囊侧耳菌丝生长的影响

Fig. 2 Effect of pH value on mycelial growth of *Pleurotus cystidiosus*

2.7 泡囊侧耳农艺性状分析

由表 4 可以看出,配方④的菌丝生长速度最快为 4.03 mm/d,生物转化率为 40.44%,单菇重为 85.97 g/袋。配方③的生物学转化率最高为 43.33%。配方②的平均单菇重最高,达到了 96.07 g/袋。配方①的生物转化率最低为 21.36%。

表 4 泡囊侧耳农艺性状分析

Table 4 Analysis of agronomic traits in *Pleurotus cystidiosus*

配方 Formula	第一潮单菇重 First wave weight of fruit body/g	转化率 Biological efficiency /%	菌盖直径 Pileus diameter /mm	菌盖厚度 Pileus thickness /mm	菌柄长度 Prosthecae length /mm	菌柄直径 Prosthecae diameter /mm	菌丝平均生长速度 Mycelia growth rate /(mm·d <sup>-1</sup> )
①	82.23	21.36	58.02~91.78	9.19~12.54	42.06~51.86	16.15~20.97	2.47
②	96.07	39.39	57.91~91.14	9.00~10.91	41.14~60.26	14.66~23.13	2.58
③	79.51	43.33	61.05~96.86	9.19~10.90	39.34~65.55	14.80~24.45	3.16
④	85.97	40.44	56.38~97.84	9.13~13.34	43.77~69.49	14.51~22.38	4.03
⑤	67.89	27.20	56.93~92.91	9.35~12.95	41.28~62.25	13.64~22.58	2.15

## 3 讨论与结论

ITS 序列具有进化快、稳定性强、测序方便等特点,已经广泛的应用于真菌分类研究<sup>[11-12]</sup>,同样适用于食用菌菌种鉴定、亲缘关系研究、同物异名菌株的辨别。该试验对供试菌株进行分子鉴定和生物学特性研究,结果表明,该野生泡囊侧耳为泡囊侧耳(*Pleurotus cystidiosus*),其最适碳源为淀粉;最适氮源为酵母粉;最适碳氮源比为 40:1;最适 pH 7.0;最适生长温度范围为 25.0~30.0℃,以 27.5℃ 时生长最佳,当温度在 40.0℃ 以上时不能生长。以 5 种培养料进行栽培试验表明,以木糠为主料时其生物学效率较高可达到 43.33%,菌丝生长速度为 3.16 mm/d,单菇重为 79.51 g/袋。以棉籽壳为主料时生物学转化率比较低为 21.36%。

根据该研究成果,尤其是培养料不同组合进行泡囊侧耳栽培研究,筛选出泡囊侧耳最适栽培配方。该研究的泡囊侧耳在 5 种培养料上其子实体菇型、菇质有较大差异。例如以棉籽壳为主料栽培泡囊侧耳,子实体朵型较小,菇质韧性较小,而桑枝屑为主料栽培泡囊侧耳,子实体菇质较硬,这可能与培养料的营养成分有关。因此,应该对不同原料栽培泡囊侧耳的营养成分进行分析,研究培养料成分与子实体成分之间的相关性。

## 参考文献

- [1] 万鲁长,黄春燕,张柏松,等.北方大棚鲍鱼菇标准化栽培技术[J].食用菌,2005,27(6):31-32.
- [2] 黄春燕,万鲁长,单洪涛,等.不同营养条件对鲍鱼侧耳菌丝生长的影响[J].山东科学,2006,19(6):6-11.
- [3] 王德源,刘可春,党立,等.利用果树枝条木屑栽培鲍鱼菇技术[J].陕西农业科学,2007(3):174-175.
- [4] 徐瑞雅,齐志广,贾耐兵,等.食用菌最佳母种培养基的筛选[J].河北农业科学,2007,11(1):23-24,45.
- [5] 阮晓东,阮周玺,李月桂,等.鲍鱼菇代料栽培技术[J].食药菌,2012,20(6):362-363.
- [6] 吕作舟.食用菌栽培学[M].北京:高等教育出版社,2006:414-417.
- [7] 孙立夫,张艳华,裴克全.一种高效提取真菌总 DNA 的方法[J].菌物学报,2009,28(2):299-302.
- [8] 许峰,刘宇,王守现,等.一种适于 PCR 反应的快速提取食用菌基因组 DNA 的方法[J].生物技术,2011,21(1):43-44.
- [9] White T J, Bruns T, Lee S. Analysis of phylogenetic relationships by amplification and direct sequencing of ribosomal RNA genes[M]//Inniss M A. PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. New York: Academic,1990:315-322.
- [10] 张玉铎,徐凯,张东雷,等.九个耐高温平菇品种比较试验[J].北方园艺,2012(12):182-183.
- [11] 侯丽冰,贺伟,刘小勇,等.我国几种松干锈菌亲缘关系的 ITS 序列分析[J].北京林业大学学报,2002,24(5):175-182.
- [12] 徐学锋,李安政,程水明,等.亚洲香菇 *Lentinula edodes* 系统发育学地位的重新评估与遗传多样性分析[J].自然科学进展,2005,15(10):1204-1210.

## Domestication and Cultivation of Wild *Pleurotus Cystidiosus* and Its Molecular Identification

LI Die, WU Hao, LI Hong-yu, LEI Yu-xia, LIU Bin

(Applied Microbiology Institute, Agricultural College, Guangxi University, Nanning, Guangxi 530003)

**Abstract:** Taking *Pleurotus cystidiosus* as material, through morphology characteristics, culture characteristics, ITS sequence (Gene Bank accession number: KJ868811) and other identification to determine the strain of *Pleurotus cystidiosus*. To study its biological characteristics. Cultivation test was conducted by using cotton seed hull, corn cobs, saw dust, sugarcane bagasse which was abundant in Guangxi as substrate, to select formula of substrate suitable for Guangxi. The results showed that, in five kinds of the tested carbon sources, *Pleurotus cystidiosus* mycelium had better effect by using starch; In six kinds of selected nitrogen source, it was the best by using yeast powder; *Pleurotus cystidiosus* mycelia could grow in the carbon nitrogen ratio 10:1—60:1 range, but the 40:1 was the best; the optimum growth temperature range were 25.0℃ and 30.0℃, with 27.5℃ was the best; the optimal pH 7.0. The cultivation experiment results showed that with the saw dust as main ingredient in its biological efficiency could reach 43.33%, the highest mushroom weight was 79.51 g/bag.

**Keywords:** *Pleurotus cystidiosus*; ITS; biological characteristics; cultivation