

咖啡壳生产“虎奶菇”菌种研究

张传利¹, 桂雪梅², 王喜¹, 周洋³, 杨发军¹, 赵维峰¹

(1. 云南农业大学 热带作物学院, 云南 普洱 665000; 2. 普洱市种子管理站, 云南 普洱 665000;

3. 普洱市淞茂医药有限公司, 云南 普洱 665000)

摘要:为拓宽云南热区咖啡主产地可再生资源咖啡壳资源利用途径,探讨咖啡壳制作“虎奶菇”菌种的可能性,为云南热区利用咖啡壳资源制作“虎奶菇”等珍稀食用菌菌种提供科学依据。以“虎奶菇 1 号”菌种为研究对象,采用单、双、三因素试验设计,以菌丝生长情况及菌种使用效果为评价指标,筛选以咖啡壳作为主要原料生产“虎奶菇”菌种的培养基。结果表明:“虎奶菇”菌丝在 9 种不同配方的培养基上均能正常生长,其中筛选出配方④(即咖啡壳刨花麸皮培养基:咖啡壳 40%、刨花 40%、麸皮 18%、石膏 1%、石灰 1%)、配方⑦(即咖啡壳刨花棉籽壳培养基:咖啡壳 40%、刨花 40%、棉籽壳 18%、石膏 1%、石灰 1%)和配方⑨(即咖啡壳棉籽壳麸皮培养基:咖啡壳 40%、棉籽壳 40%、麸皮 18%、石膏 1%、石灰 1%)为该试验条件下的最优配方,综合评价指标与对照相差不大。经合理搭配,咖啡壳作为“虎奶菇”菌种生产原料是可行的。

关键词:云南热区;“虎奶菇”;咖啡壳;菌种;培养基

中图分类号:S 646.1⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)07-0128-04

咖啡(coffee)是我国热带和亚热带地区主要的热带作物和经济园艺作物之一,也成为我国热带作物产品中的主要贸易产品之一^[1]。云南咖啡产业由于独特的资源优势和作为特色优势产业发展,近年来发展迅速,产业规模不断扩大,目前已成为中国唯一的优质咖啡原料基地,咖啡种植面积和咖啡产量均居全国第一。据云南省咖啡行业协会的调研数据显示,截至 2012 年,云南咖啡种植面积约 8.67 万 hm²,投产面积约 4.67 万 hm²,总生产咖啡豆(米)约 9.2 万 t^[2-4]。在生产咖啡豆(米)的过程中会有咖啡果肉、种壳、咖啡渣、内果皮和粘液等主要副产品。据测算,仅 2012 年底,将产生约 40.32 万 t 咖啡副产品,其中咖啡壳约 2.30 万 t^[3]。目前,这些咖啡副产品除少部分用作牲畜饲料、有机肥料、燃料、获取沼气、酿造咖啡酒、提取咖啡油、酒精和作为生物吸附剂等方面的研究外^[5-7],绝大部分往往当作废弃物搁置在咖啡地或加工厂附近或丢弃,这些副产品的不合理利用将对环境造成严重污染和资源的大量浪费。咖啡壳含有丰富的有机营养物质和矿质养分,咖啡壳纤维成分中的木质化程度高于稻草^[3-4];同时,从咖啡壳的营养组成和

质地看,咖啡壳适合于多种微生物的生长,如与其它传统食用菌生产原料棉籽壳、木屑等原料混合搭配可以为食用菌菌丝提供稳定而丰富的碳、氮源,完全可以满足食用菌生长发育的需要。目前,咖啡副产品在食用菌生产上的应用研究尚处于初始阶段,相关的报道较少,张传利等^[8-9]在白参菌的栽培料中添加一定量的咖啡壳进行栽培试验以及利用咖啡壳作为彩云菇和姬松茸栽培的主料在咖啡园进行复合栽培,均取得了成功,但鲜见利用咖啡壳生产食用菌菌种、特别是珍稀名贵食用菌“虎奶菇”菌种的报道。为了进一步探索咖啡壳在食用菌生产上的利用价值,提高咖啡副产品的利用率,更好地拓宽咖啡副产品资源开发利用途径,课题组开展了以咖啡壳为主要材料生产珍稀名贵“虎奶菇”菌种培养基的设计和筛选工作,旨在为科学合理利用咖啡壳资源在“虎奶菇”菌种生产中的应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

试验地位于普洱市思茅区思茅镇,海拔 1 302 m,属亚热带季风气候,年均降雨量 1 535.4 mm;年均气温 17.7℃,最高气温 35.7℃,最低气温 3.4℃;年均日照 2 159.7 h;年无霜期 352 d,光热气充足。不同菌种使用效果试验采用大棚覆土出菇模式。

1.2 试验材料

供试菌种为“虎奶菇 1 号”,引自江西抚州金山食用

第一作者简介:张传利(1981-),男,硕士,讲师,现主要从事生物技术方面的教学与科研工作。E-mail:zhchuanli00@163.com.

基金项目:云南省教育厅资助项目(2012ZL31C);云南农业大学热带作物学院科研资助项目(2014KY011)。

收稿日期:2014-11-18

菌研究所。

供试培养基:母种培养基采用马铃薯麸皮综合培养基^[8];原种培养基采用刨花木屑麸皮培养基^[9]。

1.3 试验方法

1.3.1 栽培种培养基配方设计 根据咖啡壳、刨花、棉籽壳和麸皮的理化性质和营养成分情况。以普遍采用的生产“虎奶菇”菌种棉籽壳麸皮培养基为对照,采用单因素(单一咖啡壳)、双因素(咖啡壳与其它任一种原料)、三因素(咖啡壳与其它任2种原料)方法,主要设计了9种培养基配方,具体配方见表1。

表1 不同培养基配方

配方	咖啡壳	棉籽壳	刨花	麸皮	石灰	石膏
Formula	Coffee shell	Cotton seed hull	Wood shavings	Wheat bran	Lime	Plaster stone
①	98	—	—	—	1	1
②	80	—	—	18	1	1
③	50	—	30	18	1	1
④	40	—	40	18	1	1
⑤	49	—	49	—	1	1
⑥	50	18	30	—	1	1
⑦	40	18	40	—	1	1
⑧	50	30	—	18	1	1
⑨	40	40	—	18	1	1
CK		80	—	18	1	1

注:“—”表示培养基配方中无该物质。

Note:“—” shows that no the material in the culture medium formula.

1.3.2 菌种制作 根据各配方比例分别称取各种原料,采用12 cm×24 cm×0.04 cm的聚乙烯塑料袋,每袋装干料0.20 kg左右,每个配方重复5袋。常规方法拌料、装袋,含水量控制在65%左右,pH 7.5左右。在0.135 MPa下灭菌,2.5 h,冷却后接种,培养箱中(31±1)℃避光培养。

1.3.3 咖啡壳及对照菌种的栽培效果试验 按“棉籽壳64%、木屑20%、麸皮12%、石灰2%、石膏2%、含水量60%~65%、pH 7.5左右”配方配制栽培袋,按常规方法拌料、装袋,装入14 cm×28 cm×0.05 cm的聚丙烯塑料袋,每袋装干料0.33 kg左右,各菌种配方重复5袋,在0.135 MPa下灭菌3 h,灭菌冷却后接入各配方咖啡壳菌种,(31±1)℃避光培养。

表2

不同培养基配方对“虎奶菇”菌丝生长的影响

Table 2

Effect of different medium formula on mycelial growth of *P. tuber*

配方 Formula	菌丝生长速度 Mycelial growth rate/(mm·d ⁻¹)				差异显著性 Significant difference		菌丝长势 Mycelial growth vigor	
	重复1 Repetition 1	重复2 Repetition 2	重复3 Repetition 3	平均值 Mean value	0.05	0.01	密度 Density	色泽长势 Color and growth vigor
CK	3.10	3.10	3.10	3.10	a	A	+++++	洁白、粗壮、旺盛
④	3.07	3.10	3.10	3.09	ab	A	++++	洁白、粗壮、旺盛
③	3.08	3.10	3.06	3.08	abc	A	+++	白、粗壮、较旺
⑦	3.05	3.10	3.01	3.05	abc	A	+++++	洁白、粗壮、旺盛
⑨	3.04	3.05	3.05	3.04	abc	A	+++++	洁白、粗壮、旺盛
⑤	3.09	3.01	3.02	3.04	abc	A	+++	白、粗壮、较旺
⑥	3.02	3.01	3.07	3.03	bc	A	+++	白、粗壮、较旺
②	3.07	3.01	3.02	3.03	bc	A	++	浅白色、生长一般
⑧	2.99	3.05	3.02	3.02	c	A	+++++	洁白、粗壮、旺盛
①	2.24	2.24	2.29	2.25	d	B	+	灰白色、生长较弱

注:“+”表示菌丝浓密程度,“+”越多,表示菌丝越浓密。下同。

Note:“+” means the thickness of mycelia, and the more “+”, the thicker. The same below.

1.4 项目测定

每个重复随机选取无污染的3袋观察记录各培养基配方“虎奶菇”菌丝的生长情况,测量菌丝生长速度及菌丝生长势和密度(分别将不同处理的菌丝生长情况相互比较,用“+”号表示菌丝密度和生长势强弱)、菌丝日均生长速率(mm/d)=菌丝生长量(mm)/培养天数(d)、每袋产量及每个重复的平均产量与每个重复平均转化率。

1.5 数据分析

试验数据采用 Excel 2003 软件进行分析。

2 结果与分析

2.1 不同培养基配方对“虎奶菇”菌丝生长情况的影响

由表2可知,“虎奶菇”菌丝在9个培养基内均可生长,而且对照组生长情况正常,表明试验所用的培养条件是适宜的。9个培养基配方和对照组比较存在一定差异。在9个供试配方中,菌丝在④、⑦、⑨、⑧培养基上生长洁白浓密旺盛,与对照组基本一致;在③、⑤、⑥培养基上生长次之,比对照组略差;在②培养基上生长一般,比对照组差;在①培养基上生长最弱,菌丝灰白细弱、稀疏,存在明显的退菌现象。“虎奶菇”菌丝在9个含不同配比咖啡壳配方培养基中的生长速度均慢于棉籽壳麸皮培养基(CK),其中在④培养基上生长最快,日平均生长速度为3.09 mm/d,比CK的慢0.01 mm/d;在①培养基上生长最慢,日平均生长速度为2.25 mm/d,比CK的慢0.85 mm/d。根据公式[(处理数值-对照数值)/对照数值×100%]计算得^[10]:培养基配方①~⑨中,“虎奶菇”菌丝日平均生长速度较CK的依次分别慢27.42%、2.26%、0.645%、0.323%、1.94%、2.26%、1.61%、2.58%、1.94%。方差分析结果表明,在9个培养基配方中只有配方①培养基上菌丝日平均生长速度极显著慢于CK,且极显著慢于其它8个配方,除配方①外的其它8个配方间及与CK间均差异极不显著;CK培养基上菌丝日平均生长速度除显著快于配方⑥、②、⑧、①外,与其它5个配方差异不显著。

2.2 不同配方菌种对“虎奶菇”菌丝生长情况的影响

由表 3 可知,9 个不同配方菌种接入常规培养基后“虎奶菇”菌丝均能正常生长,但长势和生长速度有一定差异。与对照相比,在接入的 9 个配方菌种中除配方菌种①和②中菌丝生长较弱、稀疏,比对照差异略大外,其它配方菌种中“虎奶菇”菌丝长势浓白粗壮、生长良好,与对照中长势基本一致,差异不大。接入的 9 个配方菌种中的“虎奶菇”菌丝的日生长速度均慢于 CK 配方菌种,其中在配方菌种④培养基上生长最快,日平均生长速度为 4.68 mm/d,比 CK 的慢 0.11 mm/d;在配方菌种①培养基上生长最慢,日平均生长速度为 3.13 mm/d,

比 CK 的慢 1.66 mm/d。根据公式[(处理数值-对照数值)/对照数值×100%]计算得^[10]:培养基配方①~⑨中,“虎奶菇”菌丝日平均生长速度较 CK 的依次分别慢 34.66%、16.28%、4.80%、2.30%、6.47%、9.19%、4.80%、17.95%、5.85%。方差分析结果表明,对照配方菌种中的“虎奶菇”菌丝日生长速度除与配方菌种④差异不显著外,均显著快于其它 8 个配方菌种,其中对照配方菌种和配方菌种④均极显著快于配方菌种⑤、⑥、②、⑧、①,配方菌种④、③、⑦、⑨间差异不显著;配方菌种①均极显著慢于对照配方菌种和其它 8 个配方菌种。

表 3

不同配方菌种对“虎奶菇”菌丝生长的影响

Table 3

Effect of different formula strain on mycelial growth of *P. tuber*

配方 Formula	菌丝生长速度 Mycelial growth rate/(mm·d ⁻¹)				差异显著性 Significant difference		菌丝长势 Mycelial growth vigor	
	重复 1 Repetition 1	重复 2 Repetition 2	重复 3 Repetition 3	平均值 Mean value	0.05	0.01	密度 Density	色泽长势 Color and growth vigor
CK	4.83	4.95	4.59	4.79	a	A	++++	洁白、粗壮、旺盛
④	4.73	4.59	4.73	4.68	ab	AB	++++	洁白、粗壮、旺盛
③	4.56	4.57	4.56	4.56	bc	ABC	++++	洁白、粗壮、较旺
⑦	4.53	4.54	4.60	4.56	bc	ABC	++++	洁白、粗壮、旺盛
⑨	4.50	4.49	4.54	4.51	bc	ABC	++++	洁白、粗壮、旺盛
⑤	4.02	4.04	3.98	4.48	c	BC	+++	白、生长良好
⑥	4.26	4.30	4.48	4.35	c	C	++++	洁白、粗壮、较旺
②	3.97	3.97	3.97	4.01	d	D	++	白、生长一般
⑧	4.47	4.53	4.45	3.93	d	D	++++	洁白、粗壮、较旺
①	3.12	3.10	3.16	3.13	e	E	++	灰白色、生长一般

2.3 不同配方菌种培养基对“虎奶菇”产量的影响

由表 4 可知,设计的 9 种配方菌种在同一种培养料中的平均产量和生物学转化率均低于对照配方菌种,其中配方菌种①的每袋平均产量最低为 90.67 g,对应的生物学转化率也最低为 27.2%;配方菌种⑨的每袋平均产量最高为 225.33 g,对应的转化率也最高为 67.6%。对

试验数据进行方差分析的结果表明,与对照相比,9 个配方菌种与对照的“虎奶菇”产量和转化率均呈差异极显著,配方菌种①均与其它配方菌种和对照配方菌种的“虎奶菇”产量和转化率呈差异极显著,但配方菌种⑨、⑧、④、⑦、⑥、③间的“虎奶菇”产量和转化率均差异不显著。

表 4

不同菌种培养基对“虎奶菇”产量的影响

Table 4

Effect of different medium formula strain on the yield of *P. tuber*

配方 Formula	每袋产量 Yield/g				生物学效率 Biological efficiency/%	差异显著性 Significant difference	
	重复 1 Repetition 1	重复 2 Repetition 2	重复 3 Repetition 3	平均值 Mean value		0.05	0.01
CK	245	249	256	250.00	75.0	a	A
⑨	220	221	235	225.33	67.6	b	B
⑧	218	221	233	224.00	67.2	b	B
④	213	216	219	216.00	64.8	b	B
⑦	220	221	235	215.00	64.5	b	B
⑥	198	225	217	213.33	64.0	b	B
③	202	219	206	209.00	62.7	b	B
⑤	143	148	153	148.00	44.4	c	C
②	137	148	148	144.33	43.3	c	C
①	85	99	88	90.67	27.2	d	D

3 结论与讨论

咖啡壳中含有较丰富的蛋白质、纤维素、半纤维素、木质素、矿物质元素和其它一些物质^[2-3],这些物质能为食用菌生长发育所需提供一定的碳源、氮源养分。理论上和试验都证明,在珍稀名贵食药菌“虎奶菇”菌种生

产中添加一定量的云南热区特色产业中咖啡产业和林业产业的加工后的副产品咖啡壳和刨花是可行的,这为云南热区咖啡副产品资源的开发利用拓展了新途径,也为珍稀食用菌菌种生产寻找到了生产成本相对廉价的原料基质,是一种经济的资源节约型、环境友好型的生

产方式,应大力提倡和发展。

该试验以生产上产用的棉籽壳麸皮培养基为对照依据,精心设计9种培养基配方,综合“虎奶菇”在含咖啡壳原料的各配方培养基和各配方菌种在栽培料上的菌丝长势、菌丝生长速度情况以及各配方菌种对“虎奶菇”产量的表现等因素,结合与对照的方差分析的试验结果,筛选出配方④(即咖啡壳刨花麸皮培养基:咖啡壳40%、刨花40%、麸皮18%、石膏1%、石灰1%)、配方⑦(即咖啡壳刨花棉籽壳培养基:咖啡壳40%、刨花40%、棉籽壳18%、石膏1%、石灰1%)和配方⑨(即咖啡壳棉籽壳麸皮培养基:咖啡壳40%、棉籽壳40%、麸皮18%、石膏1%、石灰1%)为该试验条件下的最优配方。此外,咖啡壳和刨花是云南热区优势特色产业的副产品,原料丰富,价格相对低廉。因此,在食用菌生产中使用的常规原料价格上涨的局面下,各地区选择含咖啡壳和刨花含量相对较高的配方④和配方⑦进行菌种生产,可减低生产成本。

试验结果表明,虽然咖啡壳可以作为食用菌生产的原料,但在上述配方①培养基不论在菌丝长势、菌丝日生长速度还是该配方菌种在常规培养料上的生长势和产量表现与对照培养基和其它8种配方培养基均为极显著差异,这至少说明单一咖啡壳作为主要的碳源提供者效果不是很理想,需要和其它原料混合搭配才能更好地为虎奶菌菌丝的生长发育供给营养物质。该试验从

咖啡壳、刨花、棉籽壳、麸皮4种营养物质只进行了有关单因素(单一咖啡壳)、双因素(咖啡壳与其它任一种原料)、三因素(咖啡壳与其它任2种原料)的随机试验设计,同时含有不同配比的4种物质的三因素三水平的正交实验设计的搭配效果的研究情况,尚有待进一步研究。

参考文献

- [1] 莫丽珍,闫林,董云萍.小粒种咖啡高产优质栽培技术图解[M].昆明:云南人民出版社,2012.
- [2] 余见.咖啡副产品综合利用研究[J].热带作物译丛,1983(2):54-58.
- [3] 张京文,黄家雄,吕玉兰,等.咖啡废弃物利用研究初探[C].第十六届中国科协年会一分17精品咖啡豆认证与公平交易及庄园标准化国际论文集,2014-05-24.
- [4] 张传利,李学俊,杨发军,等.用咖啡壳在咖啡园复合栽培彩云菇研究与综合效益分析[J].热带农业科学,2014,34(1):22-26,53.
- [5] 董云萍.咖啡高产栽培技术[M].北京:中国农业出版社,2009.
- [6] 杨雄飞.国外咖啡科技资料汇编[M]//成翠兰,译.用咖啡废弃物生产有价值的堆肥.Indian Coffee,1996:7-8.景洪:云南省热带作物科学研究所,1987.
- [7] 农业部南亚办.全国热带亚热带作物生产情况[M].北京:农业部南亚办,2013.
- [8] 张传利,杨发军,桂雪梅,等.普洱地区白参菌栽培试验[J].热带农业科技,2010,33(2):19-22.
- [9] 张传利,杜华波,杨发军,等.咖啡与草腐型食用菌复合高效周年栽培模式研究[J].热带农业科技,2014,37(2):7-10.
- [10] 杜爱玲,侯军,王林生,等.甘薯渣在食用菌制种及栽培上的应用[J].食用菌学报,2003,10(2):36-40.

Study on the *Pleurotus tuber* Regium Strains Cultured in Coffee Shell

ZHANG Chuan-li¹, GUI Xue-mei², WANG Xi¹, ZHOU Yang³, YANG Fa-jun¹, ZHAO Wei-feng¹

(1. College of Tropical Crops, Yunnan Agricultural University, Pu'er, Yunnan 665000; 2. Yunnan Pu'er Seeds Management Station, Pu'er, Yunnan 665000; 3. Pu'er Songmao Pharmaceutica Company, Pu'er, Yunnan 665000)

Abstract: In order to broaden the renewable coffee shell resource utilization way in Yunnan tropical, the possibility of production of *Pleurotus tuber* Regium strain by means of coffee shell as the basic medium was experimented so as to provide scientific references for producing *Pleurotus tuber* Regium strain of rare edible fungi with coffee shell in Yunnan tropical region. With *pleurotus tuber* as research object, single, double, three factors experiment was conducted, the indicators of mycelia growth and using effect of *Pleurotus tuber* Regium was synthetically evaluated for the selection of the coffee shell as main raw materials its medium. The results showed that the *Pleurotus tuber* Regium mycelia could be normal growth on nine different formula of culture medium, including selected formula ④ (namely coffee shell bran medium; coffee shell 40%, wood shaving 40%, wheat bran 18%, 1% gypsum, 1% lime), formula ⑦ (namely coffee shell shavings cotton seed hull medium; coffee shell 40%, wood shaving 40%, cotton seed hull 18%, 1% gypsum, 1% lime) and formula ⑨ (namely coffee shell cotton seed hull bran medium; coffee shell 40%, the cotton seed hull 40%, wheat bran 18%, 1% gypsum, 1% lime) for the test under the condition of the optimal formula and comprehensive evaluation index and contrast. The reasonable collocation, coffee shell as raw materials for the *Pleurotus tuber* Regium strains producing was feasible.

Keywords: Yunnan tropical region; *Pleurotus tuber* Regium; coffee shell; strains; medium