

DOI:10.11937/bfyy.201512035

# 香菇液体发酵培养基的优化研究

魏雅冬, 王广慧, 郭海滨, 李贺, 李艳芳

(绥化学院 农业与水利工程学院, 黑龙江 绥化 152061)

**摘要:**以香菇为试材,在 26℃、120 r/min 的恒温摇床中震荡培养,以菌丝生物量为检测指标,通过单因素试验和正交实验,研究了供试菌株液体发酵最佳培养基配方。结果表明:最佳配方为麦麸 100%,玉米粉 2%、磷酸二氢钾 0.10%、硫酸镁 0.20%。

**关键词:**香菇;液体发酵;培养基优化

**中图分类号:**Q 943.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)12-0136-03

香菇属担子菌门、层菌纲、伞菌目、侧耳科、香菇属,别称香蕈、香菌等,是世界著名食用菌之一<sup>[1]</sup>。它不仅肉质肥厚脆嫩,香气独特,而且具有很高的药用和保健价值。目前国内外香菇生产普遍采用固体代料栽培,其生产周期长,工艺繁琐,需投入大量的人力、物力。我国对香菇液态发酵工艺的研究虽有报道,但对其发酵条件的研究大多停留在单因素试验方面<sup>[2]</sup>。液体培养具有生产周期短,菌丝生长快,短时间能够得到大量的菌丝体和代谢产物,并适于工厂化生产等特点,可以利用其菌丝体及发酵液生产保健品和提取有效成分,是发展香菇生产的一条崭新途径<sup>[3]</sup>。进行香菇液体发酵生产最关键的是所用的液体培养基配方是否优良,它直接决定着香菇菌丝体的生长和代谢产物的形成,而目前这方面的研究还很少。为此,对香菇液体摇瓶培养过程中培养基配方进行优化研究,旨在为香菇液体发酵生产提供借鉴和理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试香菇菌株由绥化学院食用菌研究所提供。

试剂:可溶性淀粉、玉米粉、麦麸、蛋白胨、牛肉膏、琼脂粉、硫酸镁、磷酸二氢钾、马铃薯等。

仪器:恒温摇床、高压蒸汽灭菌锅、电子天平、烧杯、量筒、三角瓶等。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 PDA 斜面培养基的制备与菌种活化

**第一作者简介:**魏雅冬(1978-),女,黑龙江绥化人,硕士,讲师,现主要从事微生物学和食用菌的教学与科研工作。E-mail:yadong1231@sina.com.

**基金项目:**绥化学院科学技术研究资助项目(K1401007);绥化学院新农村研究资助项目(SXK120304)。

**收稿日期:**2015-03-18

面培养基的制备:马铃薯 200 g,去皮和芽眼,切成薄厚均匀的片状,在 1 000 mL 蒸馏水中煮沸约 10 min,然后过滤,加入葡萄糖 20 g,琼脂粉 20 g 煮沸,分装到试管中,115℃灭菌 20 min,灭菌结束后摆斜面,备用。在超净工作台中,无菌操作,将大小香菇母种转接到上述制备好的 PDA 斜面培养基中,26℃条件下培养 7 d。挑取菌丝健壮、洁白、无污染的斜面菌种备用。

**1.2.2 种子培养基的配制及摇瓶种子的制备** 种子培养基的配制:按照培养基配方可溶性淀粉 5%、磷酸二氢钾 1%、硫酸镁 0.15%、酵母膏 0.1%进行配制,121℃灭菌 30 min,备用。摇瓶种子的制备:在上述制备好的种子培养基中,无菌操作接入已活化的备用斜面,每个三角瓶内接入大小一致的菌块 4 块,用已灭菌的 8 层纱布包扎封口。置于 26℃、120 r/min 的恒温摇床中震荡培养 7 d。培养液无异味、澄清、含有大致均匀一致的菌丝球,即可作为摇瓶种子。

**1.2.3 液体发酵培养基中碳、氮源的初步筛选** 在碳源和氮源的供试培养基中,分别加入不同的碳、氮源进行单因素试验。用无菌吸管吸取 5 mL 上述制备好的摇瓶种子,接种于已制备好的液体发酵培养基内,置于 26℃、120 r/min 的恒温摇床中震荡培养 7 d。供试碳源为玉米粉、麦芽糖、葡萄糖、蔗糖;供试氮源为麦麸(浸提液)、蛋白胨、酵母膏和硝酸铵。以菌丝生物量为检测指标,每处理设 3 个水平,每个水平做 3 次重复,见表 1、2。

表 1 不同碳源水平

Table 1	Different carbon source levels				%
水平	玉米粉	麦芽糖	葡萄糖	蔗糖	
Level	Corn flour	Maltose	Glucose	Sucrose	
1	2	1	1	1	
2	4	2	2	2	
3	6	3	3	3	

表 2 不同氮源的水平

Table 2 Different nitrogen levels %

水平 Level	麦麸 Wheat bran	蛋白胨 Peptone	酵母膏 Yeast cream	硝酸铵 Ammonium nitrate
1	40	2	2	1
2	70	4	4	2
3	100	6	6	3

1.2.4 香菇液体发酵培养基最佳配方的优化筛选 根据碳、氮源初筛结果,用选出的最佳碳源和氮源以及硫酸镁和磷酸氢二钾为研究因素,设计  $L_9(3^4)$  正交实验(表 3),配制 9 种培养基,用无菌吸管吸取 5 mL 上述制备好的摇瓶种子,接种于已制备好的液体发酵培养基内,置于 26℃、120 r/min 的恒温摇床中震荡培养 7 d。以菌丝生物量为检测指标,3 次重复,结果取平均值。

表 3 正交实验因素及水平

Table 3 Factors and levels of orthogonal test %

水平 Level	A 麦麸 Wheat bran	B 玉米粉 Corn flour	C 磷酸二氢钾 potassium dihydrogen phosphate	D 硫酸镁 Magnesium sulfate
1	40	1	0.10	0.10
2	70	2	0.15	0.15
3	100	3	0.20	0.20

1.3 项目测定

菌丝体生物量的测定:将液体发酵正常的摇瓶培养物于 4 000 r/min 离心 10 min,沉淀物烘干,称重。

2 结果与分析

2.1 碳源对供试香菇菌丝生物量的影响

由图 1 可知,4 种供试香菇可利用的碳源中,玉米粉对香菇菌丝生物量的影响最大,在同样的培养条件下,生物量最高可达 1.221 g/100mL,原因是玉米粉属于天然的碳源,除含有主要碳源外,还含有其它辅助因子。其次是蔗糖,虽属于二糖,但是可以被香菇很好的利用,所以该试验所选用的碳源为玉米粉,其次是蔗糖。

表 4

$L_9(3^4)$  正交实验结果

Table 4 The results of orthogonal experiment  $L_9(3^4)$

序号 Serial number	A 麦麸 Wheat bran	B 玉米粉 Corn flour	C 磷酸二氢钾 Potassium dihydrogen phosphate	D 硫酸镁 Magnesium sulfate	菌丝干重 Dry weight of the mycelium /(g • (100mL) <sup>-1</sup> )
1	1	1	1	1	0.4016
2	1	2	2	2	0.5210
3	1	3	3	3	0.6512
4	2	1	2	3	1.6662
5	2	2	3	1	1.9421
6	2	3	1	2	2.1174
7	3	1	3	2	2.0319
8	3	2	1	3	2.8473
9	3	3	2	1	2.1017
$K_1$	1.5738	4.0997	5.3663	4.4454	
$K_2$	5.7257	5.3104	4.2889	4.6703	
$K_3$	6.9809	4.8703	4.6252	5.1647	
R	5.4071	1.2107	1.0774	0.7193	

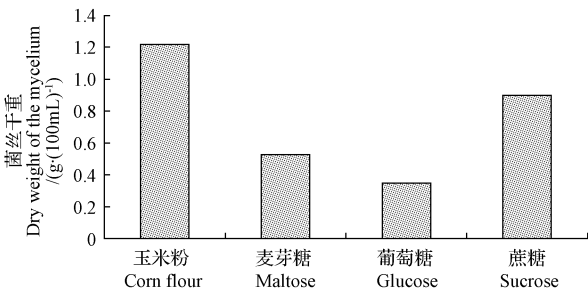


图 1 不同碳源对香菇菌丝生物量的影响

Fig. 1 Effect of different carbon sources on the mycelial biomass of mushroom

2.2 氮源对供试香菇菌丝生物量的影响

由图 2 可知,4 种可利用的氮源中,有机氮源麦麸对香菇菌丝的生物量影响最大,其次是蛋白胨和酵母膏,说明该香菇菌种对有机氮源吸收代谢比较好。而对无机氮源硝酸铵利用效果不佳。考虑经济方面原因,该试验选择麦麸为最佳氮源。

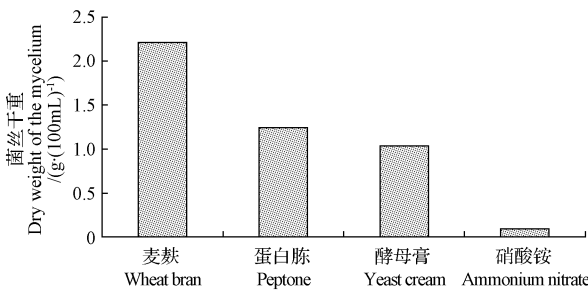


图 2 氮源对供试香菇菌丝生物量的影响

Fig. 2 Effect of different nitrogen sources on the mycelial biomass of mushroom

2.3 香菇液体发酵培养基最佳培养基配方的确定

由表 4 可知,直观分析配方以  $A_3B_2C_1D_3$  组合时,香菇菌丝生物量最高为 2.8473 g/100mL。从极差分析结

果可以看出,对香菇菌丝生长影响较大的成分是麦麸和玉米粉,培养基最佳组合配方为  $A_3B_2C_1D_3$ ,即麦麸 100%,玉米粉 2%、磷酸二氢钾为 0.10%、硫酸镁为 0.20%。即在配制培养基时,用所需量的麦麸进行熬煮,然后取其浸提液作为母液,再加入其它成分。

### 3 结论

该研究通过单因素试验,筛选出适合香菇液体培养的主要营养成分,玉米粉为最佳碳源,麦麸为最佳氮源。各种营养成分对香菇菌丝生长的作用是综合性的,用单一的碳源或氮源来确定培养基配方是不全面的。为进一步确定适合香菇液体发酵的最适营养成分,经正交实验,最终确定液体发酵最佳培养基配方为:麦麸 100%、玉米粉 2%、磷酸二氢钾为 0.10%、硫酸镁为 0.20%。该

研究结果可以为香菇的液体发酵培养提供一定的理论依据。

该研究中所选的玉米粉和麦麸均为天然有机物质,其中除了提供主要的营养外,还含有其它一些辅助因子,这些因子对香菇的生长也会起到一定的促进作用。碳氮源取材比较方便,物美价廉,便于大规模工业化发酵生产。

### 参考文献

- [1] 王相刚. 蕈菌学[M]. 北京:中国林业出版社,2010:245-267.
- [2] 蔺银鼎,马艳宏,张福元,等. 蒜液体培养基优化配方筛选及培养基营养变化特性的研究[J]. 食用菌学报,2000,7(4):18-24.
- [3] 陈文强,邓百万,张娟. 猪苓液体培养基筛选研究[J]. 氨基酸和生物资源,2002,24(3):23-24.

## Study on Optimization of Mushrooms Liquid Fermentation Medium

WEI Ya-dong, WANG Guang-hui, GUO Hai-bin, LI He, LI Yan-fang

(College of Agriculture and Water Conservancy Engineering, Suihua University, Suihua, Heilongjiang 152061)

**Abstract:** Taking mushroom as experimental materials, cultured at 26℃, 120 r/m thermostatic shaker, mycelial biomass was selected detection index, was determined the optimal test strain liquid fermentation medium formula by the univariate test and orthogonal test. The results showed that the best medium formula were wheat bran 100%, corn flour 2%, potassium dihydrogen phosphate 0.1%, and magnesium 0.2%.

**Keywords:** mushroom; fermentation; medium optimization

## 防治黄瓜黑星病技术

### 知识窗

黄瓜黑星病,异名:黄瓜疮痂病,是黄瓜的一种毁灭性病害。叶片发病的症状是有黄色晕圈;瓜条发病是瓜条弯曲、畸形。该病严重影响黄瓜的产量和质量,减产可达 50%以上,甚至绝收。其主要防治方法如下:

1) 温汤或药剂浸种。55~60℃ 恒温浸种 15 min,或 50%多菌灵可湿性粉剂 500 倍液浸种 20 min 后冲净再催芽,或用 0.3%的 50%多菌灵可湿性粉剂拌种,均可取得良好的杀菌效果。

2) 覆盖地膜。采用滴灌等节水技术,轮作倒茬,重病棚应与非瓜类作物进行轮作。

3) 熏蒸消毒。温室、塑料棚定植前 10 d,每 100 m<sup>3</sup> 空间用硫磺粉 0.25 kg,锯末 0.5 kg 混合后分放数处,点燃后密闭大棚,熏 1 夜。

4) 加强大棚温湿度管理。定植后至结瓜期控制浇水十分重要。保护地栽培,尽可能采用生态防治,尤其要注意温湿度管理,采用放风排湿,控制灌水等措施降低棚内湿度,减少叶面结露,抑制病菌萌发和侵入,白天控温 28~30℃,夜间 15℃,相对湿度低于 90%。中温低湿棚平均温度 21~25℃,或控制大棚湿度高于 90%不超过 8 h,可减轻发病。

5) 用粉尘法或烟雾法于发病初期开始用喷粉器喷撒 10%多百粉尘剂,或 5%防黑星粉尘剂每次施用 1 kg/667m<sup>2</sup>,或 45%百菌清烟剂每次施用 200 g/667m<sup>2</sup>,连续防治 3~4 次。

6) 棚室或露地发病初期喷施 50%多菌灵可湿性粉剂 800 倍液加 70%代森锰锌可湿性粉剂 800 倍液,或 80%敌菌丹可湿性粉剂 500 倍液,喷施药液 60~65 L/667m<sup>2</sup>,每隔 7~10 d 喷施 1 次,连续防治 3~4 次。

(源自:明溪农业信息网)