

不同氮源对高温逆境胁迫后平菇菌丝体生长的影响

林辰壹^{1,2}, 曹艳¹, 马海¹, 张萌¹, 王娜¹

(1. 新疆农业大学 林学与园艺学院, 新疆 乌鲁木齐 830052; 2. 新疆农业大学 设施农业研究所, 新疆 乌鲁木齐 830052)

摘要:以平菇品种“816”为试材, 采用平板培养法, 研究了 18 种氮源对高温胁迫后菌丝体恢复生长过程中对氮源选择性利用的特征, 为优良菌株保护和提纯复壮提供重要的指导。结果表明: PDA 加富培养基以及天然氮源中的豌豆、有机氮源中的牛肉膏、酵母膏和蛋白胨配方对菌丝均有不同程度的促进恢复生长的作用。氮源物质对高温胁迫后的菌丝体恢复生长作用存在极显著差异, 一定的氮源对提高平菇耐热能力和高温胁迫后菌丝体恢复生长具有促进作用。

关键词:平菇; 高温胁迫; PDA 加富培养基; 豌豆; 牛肉膏

中图分类号:S 646.1⁺4 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)13-0145-04

平菇(*Pleurotus ostreatus*)由于含有他汀类药物中的洛伐他汀, 被认为具有降低胆固醇功效^[1], 同时, 平菇含有的平菇素(蛋白糖)和酸性多糖体等生理活性物质对癌细胞有较强的抑制作用, 对增进人体健康、延年益寿有独特的功效, 被认为是继双孢菇之后的世界第二大食、药用大型经济真菌, 与其它食用菌相比具有栽培原料广泛、生物学效率高、生长周期短、抗杂菌能力强等优势^[2-3]。在新疆的南北疆地区广泛采用平菇设施栽培技术, 然而生产季节中存在由于环境温度高严重抑制生长、降低品质及产量等问题。氮源是食用菌营养生长和生殖生长阶段必不可少的营养物质之一, 是合成氨基

酸、蛋白质、几丁质和一些维生素等的必不可少的原料^[4], 还影响平菇菌丝生长和子实体的形成^[5], 该研究针对平菇反季节生产存在的高温逆境易导致发生热害这一问题, 以新疆平菇生产栽培品种“816”为研究对象, 探讨逆境条件下的氮源选择性利用的改变与高温逆境伤害的关系, 掌握高温伤害后平菇菌丝体的氮代谢变化特点, 对优良菌株保护和提纯复壮具有重要的指导意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试菌种平菇“816”由新疆农业科学院植保所提供。

1.2 试验方法

采用平板培养法, 研究供试含氮营养源对菌丝生长的影响。将菌种转接到 PDA 加富平板培养基上, 25℃ 黑暗条件下恒温活化培养 7 d, 将已活化的菌丝体转接

第一作者简介:林辰壹(1965-), 女, 教授, 硕士生导师, 现主要从事食用菌资源开发利用等研究工作。E-mail: 470542558@qq.com.

基金项目:新疆维吾尔自治区“十二五”重大专项资助项目(201130104-2-2); 国家级大学生创新创业训练计划资助项目(201310758020)。

收稿日期:2015-03-19

Appraisalment on Productive Performance of *Pleurotus* spp. at High Altitude Region of Gannan in Gansu Province

WANG Long, QIN Peng, ZHAO Yuhui, GUO Rui

(Institute of Biology, Gansu Academy of Science, Lanzhou, Gansu 730000)

Abstract: Taking *Pleurotus* spp. as test material, the productive performance discrepancy of stoch culture and isolated culture of five strains of *Pleurotus* spp. was researched at high altitude region of Gannan in Gansu province. The results showed that the growth velocity of two cultures, which were cultured in test tube, was not discrepancy. The antagonistic phenomenon did not appear when two cultures were confronted cultured. The shape and yield of fruit body from isolated culture were better.

Keywords: Gansu province; high altitude region; *Pleurotus* spp.; productive performance

到含有营养液的试管中,放置于 35℃ 水浴中黑暗条件下高温胁迫处理 36 h^[6]。

将上述经过高温胁迫处理的菌丝体分别接种到 CK (无氮培养基)、CK1(PDA 加富培养基)、天然氮源(豌豆、黄豆、蚕豆、黑豆、麸皮)、氨基酸类氮源(谷氨酰胺、天门冬氨酸、甘氨酸、甲硫氨酸)、有机氮源(蛋白胨、牛肉膏、尿素、酵母膏)以及无机氮源(硝酸铵、硫酸铵、硝酸钾、氯化铵、草酸铵)不同的培养基上,其中不同种类的氮源含量以蛋白胨的含氮量为标准,称取与 2 g 蛋白胨相等含氮量的不同氮源于培养基中^[7]。

不同配方培养基的用量为 20 mL/皿,置于 25℃ 黑暗条件下恒温培养 8 d,70%~75%空气相对湿度,每处理重复 5 次。

1.3 项目测定

每天观测并记录菌丝生长量,统计并计算总平均生长量(GT,mm),平均生长速率(SGT,mm/d),最大日生长量及出现时间(G_{\max} ,mm/d),达到 50%总生长量所需的生长天数(G_{50} ,d)^[8]。

1.4 数据分析

试验数据采用平均值±标准差表示,采用 DPS 7.05

表 1 不同氮源对高温 35℃ 胁迫后菌丝体恢复生长的影响

Table 1 Effect of different nitrogen sources on the mycelial growth of *Pleurotus ostreatus* after 35℃ stressed

| 配方性质 Nitrogen character | 氮源种类 Nitrogen sources | 总平均生长量 GT /mm | 平均生长速率 SGT /(mm·d ⁻¹) | 最大日生长量/出现时间 G_{\max} /(mm/d) | 达到 50%的生长量所需 生长天数 G_{50} /d |
|---------------------------------------|--------------------------|------------------|--------------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|
| 天然氮源 Natural nitrogen sources | 黑豆 Black soybean | 60.75±4.93 de DE | 7.60±0.61 de DE | 10.42/2 | 4~5 |
| | 黄豆 Soybean | 65.44±1.33 cd CD | 8.18±0.16cd CD | 14.14/6 | 5~6 |
| | 蚕豆 Broad bean | 49.78±1.91 fg FG | 6.22±0.23 fg FG | 8.65/8 | 4~5 |
| | 豌豆 Pea | 80.44±0.75 a A | 10.06±0.09 a A | 14.56/2 | 3~4 |
| | 麸皮 Bran | 62.93±1.32 d CDE | 7.87±0.17 d CDE | 11.27/4 | 4~5 |
| 氨基酸类氮源 Amino acid nitrogen sources | 谷氨酰胺 Glutamine | 43.54±2.93 g G | 5.44±0.37 g G | 8.89/7 | 5 |
| | 甘氨酸 Glycine | 60.64±7.57 de DE | 7.58±0.95 de DE | 8.78/2 | 4~5 |
| | 天门冬氨酸 Aspartate | 48.30±1.58 fg FG | 6.04±0.20 fg FG | 7.28/2 | 4~5 |
| | 甲硫氨酸 Methionine | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 有机氮源 Organic nitrogen sources | 蛋白胨 Peptone | 70.10±3.44 bc BC | 8.76±0.43 bc BC | 12.07/6 | 4~5 |
| | 尿素 Urea | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 牛肉膏 Beef-extract paste | 79.81±0.51 a A | 9.98±0.07 a A | 12.99/4 | 3~4 |
| | 酵母膏 Yeast-extract paste | 75.83±1.17 ab AB | 9.48±0.15 ab AB | 13.86/6 | 4~5 |
| 无机氮源 Inorganic nitrogen sources | 硝酸铵 Ammonium nitrate | 60.98±3.12 de DE | 7.62±0.39 de DE | 10.63/7 | 4~5 |
| | 氯化铵 Ammonium chloride | 50.46±8.53 f FG | 6.31±1.07 f FG | 7.60/8 | 4 |
| | 草酸铵 Ammonium oxalate | 13.74±1.39 h H | 1.72±0.18 h H | 3.14/5 | 5 |
| | 硫酸铵 Ammonium sulfate | 50.85±2.54 f FG | 6.35±0.32 f FG | 9.72/2 | 4 |
| | 硝酸钾 Potassium nitrate | 43.37±5.42 g G | 5.42±0.68 g G | 7.22/7 | 4 |
| 对照 CK | CK | 54.70±7.07 ef EF | 6.84±0.88 ef EF | 10.67/3 | 4 |
| | CK1 | 79.62±0.56 a A | 9.95±0.07 a A | 15.28/5 | 4~5 |

2.1 天然氮源对高温胁迫后菌丝恢复生长的作用

供试的 5 种天然氮源对高温胁迫后菌丝恢复生长的影响达到极显著差异水平($P<0.01$),平均总生长量在 49.78~80.44 mm,平均生长速率 6.22~10.06 mm/d,

软件进行差异显著性分析。

2 结果与分析

经过高温胁迫处理后,菌丝体不同程度受到高温的影响,经过不同氮源处理的配方上菌丝体表现出恢复生长能力的差异,在菌丝体的总平均生长量,平均生长速率,最大日生长量及出现时间和达到 50%总生长量所需的平均生长天数上存在不同程度的差异。

由表 1 可知,菌丝体在无氮培养基(CK)上平均总生长量为 54.70 mm,平均生长速率为 6.84 mm/d,第 3 天达到 10.67 mm 最大日生长量,4 d 达到 50%总生长量,菌落无生长圈、无结,显微观察未见锁状联合,菌丝体纤细。菌丝体在 PDA 加富培养基(CK1)平均总生长量为 79.62 mm,平均生长速率为 9.95 mm/d,第 5 天达到 15.28 mm 的最大日生长量,4~5 d 达到 50%总生长量,菌落有生长圈、结、吐水现象,显微观察可见锁状联合,菌丝体粗。经过高温处理后菌丝在甲硫氨酸配方和尿素配方中的菌丝体不能恢复生长,而其它配方中存在不同程度的恢复生长能力,恢复生长过程中菌丝体均为白色,菌落形态均为中央隆起,菌丝体都存在不同程度的干缩现象。

第 2~8 天达到 8.65~14.56 mm 最大日生长量,第 3~6 天达到 50%总生长量。与 CK 和 CK1 相比,豌豆配方下菌丝恢复生长能力最强,平均总生长量为 80.44 mm,平均生长速率为 10.06 mm/d,菌丝体第 2 天达到最大日生

长量 14.56 mm,第 3~4 天达到 50%总生长量,菌落存在生长圈。黄豆和麸皮配方次之,黄豆配方下恢复生长的菌丝体较粗,分枝较少。而当以黑豆和蚕豆为氮源时,与无氮配方(CK)无显著性差异,尤其蚕豆配方下,总生长量和平均生长速率均低于 CK 配方, G_{max} 滞后了 5 d。

2.2 氨基酸氮源对高温胁迫后菌丝恢复生长的作用

供试的 4 种氨基酸氮源对高温胁迫后菌丝恢复生长的影响达到极显著差异水平($P<0.01$),平均总生长量在 0~60.64 mm,平均生长速率 0~7.58 mm/d,第 2~7 天达到 7.28~8.89 mm 最大日生长量,第 4~5 天达到 50%总生长量。甘氨酸配方下菌丝恢复生长能力最强,平均总生长量为 60.64 mm,平均生长速率为 7.58 mm/d,菌丝体第 2 天达到最大生长量 8.78 mm,第 4~5 天达到 50%总生长量,菌落形态特征与 CK1 配方一致,存在生长圈和菌丝体纽结,菌丝体分枝较少。天门冬氨酸和谷氨酰胺配方次之,其中天门冬氨酸配方下恢复生长的菌丝体第 2 天达到最大生长量 7.28 mm,有生长圈,与甘氨酸配方相比谷氨酰胺配方下恢复生长的菌丝体分枝较多, G_{max} 滞后了 5 d,GT 是甘氨酸配方的 72%、CK 配方的 80%、CK1 配方的 55%,生长慢且生长量最低。而当以甲硫氨酸为氮源时无生长现象,与各处理间达极显著差异。总体而言,4 种氨基酸氮源的平均总生长量和平均生长速率不及 CK 配方,说明单一的氨基酸氮源对高温胁迫后菌丝恢复生长的作用差。

2.3 有机氮源对高温胁迫后菌丝恢复生长的作用

供试的 4 种有机氮源对高温胁迫后菌丝恢复生长的影响达到极显著差异水平($P<0.01$),平均总生长量在 0~79.81 mm,平均生长速率 0~9.98 mm/d,第 4~6 天达到 12.07~13.86 mm 最大日生长量,第 3~5 天达到 50%总生长量。牛肉膏、酵母膏和蛋白胨配方下对菌丝恢复生长均有较强的促进作用,平均总生长量分别为 79.81、75.83、70.10 mm,平均生长速率分别为 9.98、9.48、8.76 mm/d。牛肉膏配方下生长的菌丝体第 4 天达到最大日生长量 12.99 mm,第 3~4 天达到 50%总生长量。菌丝恢复生长过程中,在这 3 种有机氮源配方上均存在生长圈、菌丝体纽结和菌丝爬壁,其中蛋白胨和牛肉膏配方下恢复生长的菌丝体较粗。而尿素配方下菌丝体无恢复生长能力,菌丝体无生长现象,与 CK 相比进一步说明,尿素对高温胁迫后的菌丝体生长起到了抑制作用。

2.4 无机氮源对高温胁迫后菌丝恢复生长的作用

供试的 5 种无机氮源对高温胁迫后菌丝恢复生长的影响达到极显著差异水平($P<0.01$),平均总生长量

在 13.74~60.98 mm,平均生长速率 1.72~7.62 mm/d,第 2~8 天达到 3.14~10.63 mm 最大日生长量,第 4~5 天达到 50%总生长量。硝酸铵配方下菌丝恢复生长能力最强,平均总生长量为 60.98 mm,平均生长速率为 7.62 mm/d,菌丝体第 7 天达到最大生长量 10.63 mm,第 4~5 天达到 50%总生长量,菌丝体存在纽结现象。硫酸铵和氯化铵配方次之,其中硫酸铵配方下平均生长速率为 6.35 mm/d,菌丝体第 2 天达到最大生长量 9.72 mm。而当以硝酸钾和草酸铵为氮源时,菌丝恢复生长能力较弱,生长慢且生长量低,平均总生长量分别只是硝酸铵配方的 71.12%和 22.53%、CK1 配方的 54.47%和 17.25%,与 CK 相比 5 种无机氮源对高温胁迫后菌丝恢复生长的作用均为达到显著性差异,菌丝恢复生长的过程中均未出现生长圈和锁状联合,其中硝酸钾和草酸铵还存在抑制作用。

基于方差分析结果,综合比较供试的 20 种配方试验结果的菌落形态特征和菌丝体生长特征可以看出,牛肉膏、PDA 加富培养基(CK1)、酵母膏和豌豆培养基配方对菌丝体高温胁迫后的促进恢复生长的作用能力最强,其中牛肉膏恢复生长能力与 CK1 配方下菌丝体生长能力一致。该研究供试的天然氮源和有机氮源对高温胁迫后菌丝体恢复生长的能力普遍强于氨基酸氮源和无机氮源。

3 讨论与结论

食用菌无论营养生长阶段还是生殖生长阶段都要求有适宜生长的温度范围,过高或过低温度都会抑制其生长,大多数食用菌菌丝体耐低温而不耐高温,尤其生长期间的高温成为限制食用菌生产的主要环境影响因子^[9-11],同时氮源供应不足不仅会影响菌丝体的生物量,而且还会影响其它生物活性物质的合成。平菇研究集中在不同温度或不同氮源的单因素水平对其生长的影响^[5,11-16],高低温逆境胁迫后与氮源利用的互作特性、氮源的选择性利用特征的变化目前没有报道。一般认为中低温型的平菇菌丝体在 15℃ 时生长较快,低于 3℃ 或高于 35℃ 以上生长极为缓慢^[11-12],当采用 35℃ 高温胁迫处理中低温型品种平菇“816”菌丝体后发现,高温引起了平菇的氮代谢特征和生长发育的变化,出现了可利用氮源种类的改变,天然氮源中的豌豆、有机氮源中的牛肉膏和酵母膏和半合成培养基的 PDA 加富培养基(CK1)对高温胁迫后菌丝体恢复生长的促进作用极显著,而天然氮源中的蚕豆、供试的 4 种氨基酸氮源和 5 种无机氮源对高温胁迫后菌丝体恢复生长的促进作用不显著,其中氨基酸氮源中的甲硫氨酸、有机氮源中的尿素对高温胁迫后菌丝体恢复生长存在抑制作用,菌丝体完全不能

利用并无生长现象。同时,高温胁迫后菌落不能形成正常的生长圈,大多数菌丝体不能正常形成锁状联合,这些菌丝体形态特征的变化将进一步影响了生长发育。

25℃培养条件下蛋白胨、酵母粉^[13]、酵母膏^[14]、天冬素^[5]、麸皮^[15]是平菇菌丝体生长较适宜的氮源,并且还可以利用尿素和硫酸铵^[16],存在较广泛的氮源适应性。该研究发现,高温胁迫后的平菇“816”菌丝体在供试的18种氮源中的16种氮源上都有不同程度的恢复生长能力,某种程度上反映了平菇对高温胁迫具有一定的耐受性,具有较强的恢复生长的能力,但也反映出高温胁迫后平菇广泛的氮源适应性发生了改变。在平菇逆境胁迫条件下生长的研究中发现,水杨酸对增强平菇菌丝体对碱和冷的适应性起到了一定作用,而对平菇菌丝体的抗酸性和抗热性无增强效果^[17],该研究发现高温逆境下氮源选择性利用特征改变对平菇高温胁迫后菌丝体恢复生长的作用,为今后进一步开展抗热机制的研究奠定了一定基础。高温逆境条件下平菇对氮源的选择性利用的变化特征的研究结果为有效防止菌种退化提高菌种质量以及平菇抗逆育种亲本材料的筛选奠定了理论基础。

参考文献

- [1] Gunde-Cimerman N, Cimerman A. *Pleurotus* fruiting bodies contain the inhibitor of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase-lovastatin[J]. *Experimental Mycology*, 1995, 19(1): 1-6.
- [2] 杨曙湘. 食用菌栽培原理与技术[M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 1991.
- [3] Sanchez C. Cultivation of *Pleurotus ostreatus* and other edible mushrooms [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2010, 85(5): 1321-1337.
- [4] 顾芳红, 殷红, 马劲. 碳、氮源对猪苓菌丝生长与胞外多糖含量的影响[J]. *西北大学学报(自然科学版)*, 2001(5): 437-440.
- [5] 殷红. 氮源浓度对平菇菌丝生长和子实体形成的影响[J]. *西北植物学报(自然科学版)*, 1995, 15(6): 91-94.
- [6] Mahmud M A, Ohmura M. Effects of cultural conditions on high temperature tolerance of *Lentinula edodes* mycelia [J]. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 2008, 11(3): 342-350.
- [7] 贺新生, 侯大斌, 何培新, 等. 野生草菌生物学特性与栽培技术[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2007.
- [8] 刘森, 林辰壹, 阿依买木·沙吾提, 等. 新疆阿瓦提多脂鳞伞对不同碳氮比的利用能力[J]. *中国食用菌*, 2014, 33(4): 45-47.
- [9] 决超, 杨函君, 方庆. 高温胁迫对平菇子实体脯氨酸积累的影响[J]. *安徽农业科学*, 2012, 40(36): 17453-17454.
- [10] Sridevi N, Srilakshmi C, Singh S. Comparative studies on growth parameters and physio-chemical analysis of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus florida* [J]. *Asian Journal of Plant Science and Research*, 2013, 3(1): 163-169.
- [11] Zharare G E, Kabanda S M, Poku J Z. Effects of temperature and hydrogen peroxide on mycelial growth of eight *Pleurotus* strains[J]. *Scientia Horticulturae*, 2010, 125: 95-102.
- [12] 杨新美. 中国食用菌栽培学[M]. 北京: 农业出版社, 1988.
- [13] 薛春梅, 刘婷婷, 迟秀娟, 等. 碳源和氮源对平菇(PH06)菌丝生长的影响[J]. *佳木斯大学学报*, 2012, 30(3): 478-480.
- [14] Nwokoye A I, Kuforiji O O, Oni P I. Studies on mycelial growth requirements of *Pleurotus ostreatus* (fr.) Singer [J]. *International Journal of Basic and Applied Sciences*, 2013, 10(2): 70-88.
- [15] 黄清荣, 辛晓林, 杨立红, 等. 白平菇液体培养碳、氮源及无机盐的优选[J]. *吉林农业大学学报*, 2003, 25(4): 382-384.
- [16] 王升厚, 赵洪新, 高颖, 等. 化肥氮源对平菇、香菇菌丝生长的影响[J]. *沈阳师范学院学报(自然科学版)*, 1998(1): 61-64.
- [17] 饶毅萍, 李开伟, 余桂洲, 等. 水杨酸对平菇菌丝体抗逆生长的影响[J]. *广东农业科学*, 2010(9): 56-57.

Effect of Different Nitrogen Source on Mycelial Growth of *Pleurotus ostreatus* After Stressed Under High Temperature

LIN Chenyi^{1,2}, CAO Yan¹, MA Hai¹, ZHANG Meng¹, WANG Na¹

(1. College of Forestry and Horticulture, Xinjiang Agricultural University, Urumqi, Xinjiang 830052; 2. Institute of Controlled Environment Agriculture, Xinjiang Agricultural University, Urumqi, Xinjiang 830052)

Abstract: Taking *Pleurotus ostreatus* as test material, the cultivar ‘816’ of *Pleurotus ostreatus* was evaluated the mycelia growth after being stressed with high temperature with medium of different nitrogen sources. The results showed that enriched potato dextrose agar (PDA), pea, beef extract, yeast extract and peptone medium performed better in rejuvenating mycelia growth. This study clarified the significantly differences in the rejuvenated ability of mycelia growth when different kinds of nitrogen sources were supplied after stressed by high temperature. It was proved that the nitrogenous substances could improve the tolerant to high temperature definitely.

Keywords: *Pleurotus ostreatus*; high temperature stress; enrich PDA medium; pea; beef extract