

金针菇液体菌种培养液配方筛选试验

高淑敏

(青海省农林科学院 野生植物研究所食用菌研究室 青海 西宁 810016)

摘要:为适应高海拔气候条件下金针菇规模化栽培生产,以青海省农林科学院野生植物研究所选育的金针1号菌株为试材,研究了5种培养基配方对金针菇菌种生长的影响。结果表明:2号培养基配方(玉米粉5%、麸皮1%、酵母粉0.5%、葡萄糖2%、 KH_2PO_4 0.1%、 MgSO_4 0.05%、 CaCO_3 0.2%、维生素 B_1 1 mg),在25℃、180 r/min的培养条件下,恒温培养6~7 d,培养出的金针菇液体菌种菌液清亮、颜色浅黄、菇香味浓、菌球直径小、密度大,接种栽培袋后,多点上下同时发菌,发菌速度快,菌龄一致,与对照固体菌种接种后发菌时间对比缩短18 d。

关键词:金针菇;液体菌种;培养液筛选

中图分类号:S 646.1⁺5 文献标识码:A 文章编号:1001-0009(2011)12-0154-03

为适应高海拔气候下金针菇规模化栽培生产,采用液体菌种是实现大规模栽培或工厂化栽培生产的关键因素。传统固体菌种生产工艺一般是由试管母种扩繁成二级种、三级种,生产周期长、污染率高、成本高、需大量人工等,管理过程繁杂。液体菌种具有生产周期短、接种便利、菌丝分散性好、萌发点多、生长快、成品率高等优点,已成为食用菌菌种及食用菌规模化和工厂化生产的发展趋势。液体菌种生产的关键技术是培养液,是菌丝生长发育的营养源,因此,对青海省制种中较常用的金针菇几种液体培养液进行筛选试验,以期高寒区金针菇液体菌种生产提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

金针菇菌种为青海省农林科学院野生植物研究所选育的金针1号,试验用葡萄糖、蛋白胨、酵母粉、 KH_2PO_4 、 MgSO_4 等均采用化学分析试剂。

1.2 试验方法

液体培养液的配制:配方1:葡萄糖20%、马铃薯20%、蛋白胨0.2%、 MgSO_4 0.05%;配方2:玉米粉5%、麸皮1%、酵母粉0.5%、葡萄糖2%、 KH_2PO_4 0.1%、 MgSO_4 0.05%、 CaCO_3 0.2%、维生素 B_1 1 mg;配方3:葡萄糖2%、蛋白胨1%、 KH_2PO_4 0.1%、 MgSO_4 0.05%;配方4:葡萄糖3%、玉米粉1%、 CaCO_3 (石灰)0.2%、 KH_2PO_4 0.1%、 MgSO_4 0.05%、pH自然;配方5:马铃薯15%、玉米粉3%、葡萄糖0.5%、 KH_2PO_4 0.02%、 MgSO_4 0.05%、 CaCO_3 0.2%。

菌种活化:斜面培养基(PDA综合培养基)在PDA培养基基础上另加 MgSO_4 0.5 g、 KH_2PO_4 1 g、维生素B 110 mg。将金针1号试管斜面母种在PDA综合斜面培养基上活化1次,25℃恒温条件下培养8 d满管后待用。

1.2.1 液体菌种生物学特性测定 根据金针1号菌丝体的生物学特性制定出5种一级液体摇瓶培养基配方并进行常规发酵试验探讨。通过对5种一级液体摇瓶培养基配方中金针菇菌丝体生物量(干重)、菌丝球密度、菌丝球直径及培养基菌种培养前后pH值等综合指标进行测定。测定方法:菌丝球密度计数法:移取1 mL培养液稀释到10 mL,均匀后取1 mL置于平皿中,皿下衬黑色背景纸计数。菌丝球干重法:取100 mL培养液,经80目筛网过滤、洗涤至水变清后。把菌丝球置于恒重过的定性滤纸之上,置于干燥箱60℃烘至恒重后称重;pH值测定:采用pH计测定。

1.2.2 液体培养液碳氮源添加种类筛选 不同碳源对菌丝体生长的影响:采用300 mL摇瓶装入100 mL在筛选出来的基础培养基(蛋白胨、 KH_2PO_4 0.1%、 MgSO_4 0.05%、维生素 B_1 1 mg)中分别加入2%的葡萄糖、蔗糖、可溶性淀粉、玉米粉4种碳源的液体培养基,在1.2 kg/cm²压力下灭菌30 min,冷却后接入3块约0.5 cm²斜面菌种块,每处理3次重复,静置24 h,然后在25℃温度下进行振荡培养,摇床转速为180 r/min条件下培养8 d后,分别测定菌丝生长量。不同氮源对菌丝体生长的影响:在基础培养基(葡萄糖2.0%、 KH_2PO_4 0.1%、 MgSO_4 0.05%、维生素 B_1 1 mg)中分别加入2%的蛋白胨、尿素、麸皮3种氮源,处理培养条件与氮源试验相同,培养8 d后分别测定菌丝生长量。

1.2.3 液体与固体菌种制种对比 将试验筛选出的液体菌种和固体原种分别接种麦粒及棉籽壳栽培种,液体菌种每瓶接种量为10~15 mL,固体菌种接种量

作者简介:高淑敏(1957-),女,本科,副研究员,现主要从事食用菌研发工作。E-mail: qhgshumin@163.com.

基金项目:青海省星火计划资助项目(2007EA870010)。

收稿日期:2011-03-28

为每瓶原种接 25 瓶栽培种, 为常规接种量。接种后观察菌丝体萌发时间、生长速度及菌种满瓶时间。

2 结果与分析

2.1 液体菌种生物学特性测定

由表 1 可知, 2 号液体培养基菌丝球干重平均为 2.0 g/ 100mL, 其次为 4 号培养基, 1.87 g/ 100mL, 菌丝球小、密度高。5 号、3 号、1 号培养基菌丝球干重平均为 1.39、1.04 和 0.79 g/ 100mL, 经测定各培养基培养前 pH 6.5 ~ 7.0 接种培养后培养液 pH 为 6.0 ~ 6.5。

表 1 金针菇液体菌种菌丝体生物量测定

处 理	菌丝球干重/ g°(100mL)⁻¹				菌丝球生长情况
	I	II	III	平均	
1	0.837	0.763	0.789	0.79	菌丝球小, 密度中等
2	2.10	1.92	1.98	2.0	菌丝球小, 密度高
3	1.117	1.02	0.985	1.04	菌丝球大, 密度中等
4	1.807	1.924	1.867	1.87	菌丝球小, 密度高
5	1.4539	1.396	1.327	1.39	菌丝球大, 密度高

由表 2 可知, 2 号培养基配方在 25℃培养温度条件下, 恒温培养 7 ~ 8 d 时间, 培养出的金针菇液体菌种菌液清亮、颜色浅黄、菇香味浓、菌球直径为 1.05 mm、密度为 127.67 个/ mL。综合生物技术指标分别高于其余 4 种培养液。

表 2 金针菇液体培养基不同配方菌球指标测定及 pH 值变化

菌株	菌丝球干重	菌球直径	菌球密度	初始	结束
	/ g°(100mL)⁻¹	/ mm	/ 个°mL⁻¹	pH 值	pH 值
1	0.79	1.25	52	7	6.5
2	2.0	1.05	127.67	6.5	6
3	1.04	1.70	47.67	6.5	6.
4	1.87	1.05	98.67	6.6	6
5	1.39	2.10	72	6.5	6

2.2 金针菇液体菌种氮、碳源添加试验

由表 3、4 可看出, 金针 1 号菌株在葡萄糖、蔗糖等 4 种碳源培养基中都可以生长。

其中, 以可溶性淀粉和玉米粉作培养液碳源时菌丝干重分别为 0.0162、0.0153 g/ mL, 葡萄糖和蔗糖为 0.0102、0.0098 g/ mL; 金针 1 号对氮源利用试验结果表明, 金针菇菌丝体对有机氮的利用效果较好, 麸皮为氮源菌丝干重为 0.0157 g/ mL, 菌丝球中等, 菌液清亮, 密度大, 菌丝生长快; 蛋白胨为氮源, 菌丝干重为 0.0139 g/ mL, 菌丝球较大, 菌液清, 密度大, 菌丝生长较快; 尿素作为氮源时菌丝干重为 0.0072 g/ mL, 菌丝球较小, 菌液较清, 密度小, 菌丝生长较慢。表明麸皮作为金针 1 号培养基的氮源, 其氮源利用率适宜。

表 3 不同碳源对金针 1 号菌丝体生长的影响

碳源	菌丝干重/ g°mL⁻¹	菌丝生长情况
葡萄糖	0.0102	菌丝生长慢, 菌丝球较小, 菌液清, 密度低
玉米粉	0.0153	菌丝生长快, 菌丝球中等, 菌液清亮, 密度大
蔗糖	0.0098	菌丝生长慢, 菌丝球小, 菌液较混, 密度低
可溶性淀粉	0.0162	菌丝生长快, 菌丝球大, 菌液清亮, 密度大

表 4 不同氮源对金针 1 号菌丝体生长的影响

氮源	菌丝干重/ g°mL⁻¹	菌丝生长情况
蛋白胨	0.0139	菌丝生长较快, 菌丝球较大, 菌液清, 密度大
尿素	0.0072	菌丝生长较慢, 菌丝球较小, 菌液较清, 密度小
麸皮	0.0157	菌丝生长快, 菌丝球中等, 菌液清亮, 密度大

金针菇菌株在液体菌种基础培养液中以玉米粉为主要碳源、麸皮作为氮源的培养液, 其菌液清亮、颜色浅黄、菇香味浓、菌球直径小、密度大。

2.3 液体与固体菌种制种对比

由表 5 可知, 采用 2 号液体和固体原种分别制作麦粒及棉籽壳栽培种, 液体菌种每袋接种量 10 ~ 15 mL, 固体菌种接种量为每瓶原种接 25 瓶栽培种, 为常规接种量。采用金针菇液体菌种接种制作麦粒、棉籽壳栽培种, 接种后萌发时间以液体菌种接麦粒培养基后菌丝体恢复生长并萌发时间最快为 24 h, 菌种发满瓶时间为 7 d 和 12 d, 比同期固体菌种发菌满瓶时间 25、30 d 缩短发菌时间均为 18 d, 麦粒和棉籽壳菌种发菌时间分别节省 357%、250%, 并且菌龄一致, 菌丝健壮, 生长速度快及生命力旺盛等。

表 5 金针菇液体与固体菌种接种栽培袋各项指标测定结果

处 理		萌发时间 / h	发菌时间 / d	菌丝体密度	减少发菌时间/ d
液体	麦粒	24	7	浓密	18
	棉籽壳	30	12	浓密	18
固体	麦粒	48	25	浓密	—
	棉籽壳	72	30	较浓密	—

3 结论

通过对 5 种金针菇液体培养基的筛选, 2 号培养基配方(玉米粉 5%、麸皮 1%、酵母粉 0.5%、葡萄糖 2%、KH₂PO₄ 0.1%、MgSO₄ 0.05%、CaCO₃ 0.2%、维生素 B₁ 1 mg)在 25℃培养温度条件下, 恒温培养 6 ~ 7 d 时间, 培养出的金针菇液体菌种菌液清亮、颜色浅黄、菇香味浓、菌球直径小、密度大。采用金针菇 2 号液体菌种制作麦粒和棉籽壳栽培种, 表现出 24 h 菌丝体恢复生长, 并且多点上下同时发菌, 发菌速度快, 菌龄一致, 与对照固体菌种接种后发菌时间对比缩短 18 d。该项筛选试验结果为高寒区域金针菇液体菌种生产提供了科学及实用依据。

参考文献

[1] 陈示瑜, 陈惠. 菇菌栽培手册[M]. 北京: 科学技术出版社, 2003: 504.
[2] 陶文沂, 敖宗华, 许泓瑜, 等. 药食用真菌生物技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007.
[4] 姚献华, 马瑞霞, 魏志华, 等. 白色金针菇液体菌种培养技术初步研究[J]. 河南农业科学, 2005, 6(2): 69.
[5] 闫长伟, 陈合, 陈宜鼎. 金针菇液体菌种筛选及培养条件的研究[J]. 中国食用菌, 2003, 22(1): 35.

硒对松口蘑深层发酵的作用研究

王晓光, 辛树权, 赵骥民

(长春师范学院 生命科学院 吉林 长春 130032)

摘要:以松口蘑为材料,在发酵培养基中添加不同浓度的硒,测定分析了松口蘑菌丝体的生物量、多糖含量、硒的积累量。结果表明:0~40 $\mu\text{g/mL}$ 的硒浓度对松口蘑菌丝体的生物量和多糖含量的增加都有促进作用,且随着浓度的增高促进作用加强,40 $\mu\text{g/mL}$ 以上的硒浓度有抑制作用,随着浓度的增高抑制作用增强;硒浓度在 0~50 $\mu\text{g/mL}$ 时,硒在菌丝体中的积累量随着硒浓度的增加而增加,当硒浓度超过 50 $\mu\text{g/mL}$ 时,硒在菌丝体中的积累量开始下降。

关键词: 硒;松口蘑;深层发酵

中图分类号: S 646.1⁺5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2011)12-0156-03

硒(Se)是人体必需的微量元素之一,参与人体许多生理代谢过程,缺硒会导致多种疾病^[1]。世界上有 40 多个国家土壤中缺硒,我国有 72% 的地区属于缺硒地区,且自然界中硒常以无机盐形式存在,不利于人体吸收^[2]。近年来,国内外研究发现,真菌的菌丝体具有较强的富集硒的能力,能将无机硒结合到生物大分子上,转化为有机硒多糖和硒蛋白,从而有利于人体吸收,并使之成为对人类较为理想的富硒保健品^[3]。

松口蘑是一种珍贵的野生食用菌,被称之为食用

菌之王。松口蘑菇体肥厚,鲜香宜人,具有香味独特、营养丰富、强身驱虫、止痛理气、化痰、抗癌等功效^[4]。由于松口蘑是与赤松等共生的菌根真菌,在很多共生理方面的问题没有探明之前,还难以像其它食用菌那样进行人工栽培^[5]。试验分析证明,松口蘑菌丝体的营养价值、保健功能、香气成分等十分近似于子实体。以松口蘑菌丝体为媒介,采用深层发酵工艺培养菌丝体来富集和转化硒,进行保健食品和饮品加工是松口蘑研究和开发的方向。但是,硒属于微量元素,硒在被松口蘑菌丝体富集和转化的同时,过量的硒浓度可能对松口蘑菌丝体生长和菌丝体中的成分积累起到阻碍作用。为了探讨硒在松口蘑菌丝体中的富集和硒对菌丝体生长影响之间的关系,研究了不同硒浓度对深层培养的松口蘑菌丝体生长、胞外多糖、胞内多糖及菌丝中硒积累量的影响,以期开发富硒松口蘑保健食品和饮品提供依据。

第一作者简介: 王晓光(1958-),女,教授,现主要从事细胞及遗传学的教学工作。E-mail: zhaogroup @126.com.

基金项目: 吉林省科技厅资助项目(20100255)。

收稿日期: 2011-04-01

Screening Test on Recipes of Liquid Spawn Culture Solution of *Flammulina velutipes* (Fr.) Sing.

GAO Shu-min

(Research Center of Edible Mushroom, Institute of Wild Plants Qinghai Academy of Agriculture and Forestry, Xining, Qinghai 810016)

Abstract: In order to meet the climatic conditions at high altitude scale cultivation of mushroom production to wild plants in Qinghai Academy of Agriculture and Forestry Research Institute of the lily No. 1 breeding strains used to study the five kinds of culture medium on the growth of mushroom spawn impact. The results showed that 2 culture medium(5% corn flour, wheat bran, 1%, yeast powder 0.5%, glucose 2%, KH_2PO_4 0.1%, MgSO_4 0.05%, CaCO_3 0.2%, vitamin B₁ 1 mg), 25 °C, 180 r/min of the culture conditions, incubation 6~7 d, out of the mushroom liquid spawn cultivation broth clear, color yellow, mushroom flavor, pellet diameter is small, density, planting bags after inoculation, up and down at the same time made more bacteria, fungi fat fast bacteria consistent with age, and the control of solid fat bacteria after inoculation compared to shorten the time 18 d.

Key words: Mushroom; liquid strain; culture medium screening.