

草菇菌丝体液体培养条件的优化研究

金卫根

(东华理工大学 生物系, 江西 抚州 344000)

摘要:以米糠为主要原料配制草菇菌丝体液体培养基, 研究了不同米糠培养基、pH、接种量、温度和无机盐对草菇菌丝体生长的影响。结果表明: 适合草菇菌丝体生长的最佳培养基配方为米糠 2.0%、米糠水解液 1.0%、 KH_2PO_4 0.25%、 CaCl_2 0.25%; 适宜工艺为: 发酵时间 4 d 装液量 50 mL 于 250 mL 三角瓶, 发酵温度 33℃, 接种量为 10%, 起始 pH 为 7.00。

关键词:草菇; 菌丝体; 米糠培养基; 液体培养; 优化

中图分类号:S 646.1⁺3 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2011)07-0154-03

草菇(*Volvariella volvacea* (Bull.: Fr.) Sing.) 属担子菌亚门层菌纲伞菌目光柄菇科苞脚菇属真菌, 别名美味草菇、美味苞脚菇、兰花菇、秆菇、麻菇及中国菇等, 是热带和亚热带高温多雨地区的腐生真菌, 其肉质细嫩, 鲜美可口, 具有很大的开发利用价值^[1]。现以米糠为主要原料配制培养基, 比较不同米糠培养基、pH、接种量、温度和无机盐对草菇菌丝体生长的影响, 并对其培养条件进行优化, 以获得草菇菌丝体生长的最佳培养基配方和发酵工艺条件, 为充分利用米糠资源进行草菇工业化液体发酵培养和草菇菌丝体深加工奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试菌株: 草菇 V₅₃₁ 菌株由东华理工大学食用菌研究中心提供。

培养基: ①母种培养基: 土豆 20%, 葡萄糖 2%, KH_2PO_4 0.3%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.15%, 琼脂 1.0%, 酵母粉 0.1%, pH 7.5, 121℃灭菌 25 min。②米糠培养基: a、米糠 2.0%, 米糠水解液 1.0%; b、米糠 2.0%; c、米糠 1.5%, 葡萄糖 0.5%, pH 7.5, 121℃灭菌 25 min。③pH 梯度米糠培养基: KH_2PO_4 0.3%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.25%, 米糠水解液 1.0%, 米糠 2.0%, 分别配成 pH 为 6.00、6.50、7.00、7.50、8.00、8.50 的溶液, 121℃灭菌 25 min。④无机盐米糠培养基: 米糠 2.0%, 米糠水解液 1.0%, KH_2PO_4 0.25%, 分别加入 0.25% 的 CaCl_2 、 NH_4Cl 、 ZnSO_4 、 $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, 配制成 4 种不同的无机盐米糠培养基, 121℃灭菌 25 min。

作者简介: 金卫根(1962-), 男, 江西丰城人, 教授, 现主要从事菌物学教学与研究工作。E-mail: jwgeigen@163.com。

基金项目: 江西省教育厅科研资助项目(赣教技字[2006]216号)。

收稿日期: 2011-01-18

1.2 试验方法

1.2.1 母种制作 在无菌条件下接入 1.0 cm² 草菇 V₅₃₁ 斜面母种 1 块至 500 mL 母种培养基中, 分装于 8 个 250 mL 三角瓶中, 33℃恒温培养箱中震荡培养 72 h。

1.2.2 米糠培养基的筛选 将制作好的草菇 V₅₃₁ 母种接种到已灭菌好的 3 种米糠培养基中, 每种培养基各接种 3 瓶, 接种量均为 5.0%, 培养温度为 33℃、转速为 150 r/min, 培养 4 d 后抽滤。

1.2.3 不同 pH 对草菇菌丝体生长的影响 取上述 pH 梯度米糠培养基, 在无菌条件下将每个梯度的培养基分装 3 瓶, 每瓶装液量为 50 mL/250 mL, 接种量均为 5.0%。接种后放入恒温震荡摇床中培养, 培养温度为 33℃, 转速 150 r/min, 培养 4 d 后抽滤。

1.2.4 不同接种量对草菇菌丝体生长的影响 按接种量为 1.0%、5.0%、10.0%、15.0%、20.0% 分别接种到确定好的米糠培养基中, 置恒温震荡摇床中培养, 温度 33℃, 转速 150 r/min, 培养 4 d 后抽滤。

1.2.5 不同温度对草菇菌丝体生长的影响 按 5.0% 的接种量接种到确定好的米糠培养基中, 置恒温震荡摇床中培养, 培养温度分别设置为 24、27、30、33、36 和 39℃, 转速 150 r/min, 培养 4 d 后抽滤。

1.2.6 不同无机盐对草菇菌丝体生长的影响 按确定好的接种量分别接种到 4 种不同的无机盐米糠培养基中, 置恒温震荡摇床中培养, 温度 33℃, 转速 150 r/min, 培养 4 d 后抽滤。

1.2.7 菌丝体干重的测定 取液体培养 4 d 后的菌丝体, 用蒸馏水冲洗 3 次后抽滤, 将抽滤好的菌丝体置于 65℃的烘箱烘干至恒重, 用电子天平称其重量。

2 结果与分析

2.1 不同米糠培养基对草菇菌丝体生长的影响

由表 1 可知, 不同米糠培养基对草菇菌丝体生长的

影响有差异,以米糠培养基 a 的效果最好,其菌丝分布均匀、透明,菌球大小一致,菌丝体生物量最大。原因可能是米糠中丰富的营养物质(包括矿物质、维生素、纤维素等)经盐酸水解后才能被菌体有效利用,所以认为含米糠水解液的培养基适合草菇菌丝体生长,这与张萍等认为的草菇在含农副产品水解液的培养基中普遍生长较好的结论一致^[2]。

表 1 米糠培养基对草菇菌丝体生长的影响				
米糠培养基	50 mL 菌丝体干重/g			均值
	1	2	3	
a	0.4524	0.4321	0.4964	0.4603
b	0.3301	0.3132	0.3905	0.3446
c	0.2562	0.2736	0.2409	0.2569

2.2 不同 pH 对草菇菌丝体生长的影响

由表 2 可知,随着培养基起始 pH 值的增加,菌丝体生物量逐渐增加,当培养基起始 pH 值达到 7.00 时菌丝体生物量最大,说明在一定 pH 值范围内(即弱酸性范围内),pH 值的变化与菌丝体产量呈正比关系^[3]。而后随培养基起始 pH 值的继续升高,菌丝体生物量逐渐降低,故认为草菇菌丝体生长适宜的 pH 值为 7.00。

表 2 不同 pH 对草菇菌丝体生长的影响					
起始 pH	终末 pH	50 mL 菌丝体干重/g			均值
		1	2	3	
6.00	5.73	0.5409	0.5100	0.5216	0.5242
6.50	6.19	0.5830	0.6317	0.6537	0.6228
7.00	6.74	0.7455	0.7366	0.7050	0.7290
7.50	7.13	0.6017	0.6391	0.5914	0.6107
8.00	7.11	0.4528	0.4019	0.4684	0.4410
8.50	7.25	0.4129	0.4331	0.3957	0.4139

2.3 不同接种量对草菇菌丝体生长的影响

由表 3 可知,随着接种量的增加,菌丝体生物量相应增加,当接种量为 10% 时菌丝体生物量最大,之后随着接种量增加菌丝体生物量反而下降,尤其是当接种量超过 15% 时菌丝体生物量下降明显,这一研究结果对草菇菌丝体的工业化生产有指导意义。因为就大多数食用菌而言,接种量大,菌丝体生物量就大,而草菇却有其特殊性。

表 3 不同接种量对草菇菌丝体生长的影响					
接种量/%	1	5	10	15	20
50 mL 菌丝体干重/g	0.3231	0.4502	0.6820	0.6231	0.5361

2.4 不同温度对草菇菌丝体生长的影响

由表 4 可知,随着培养温度的上升,菌丝体生物量逐渐增加,当培养温度达到 30℃ 时菌丝体生物量增加明显,当培养温度为 33℃ 时菌丝体生物量最大。之后,随

培养温度继续升高,菌丝体生物量反而下降,因而认为 33℃ 是草菇菌丝体生长的最适温度。

表 4 不同温度对草菇菌丝体生长的影响						
培养温度/℃	24	27	30	33	36	39
50 mL 菌丝体干重/g	0.2223	0.2936	0.4860	0.5203	0.3692	0.3004

2.5 无机盐对草菇菌丝体生长的影响

根据目前对食用菌液体培养条件的研究,普遍认为 KH_2PO_4 是重要的无机盐,对菌丝体生物量的影响最大^[2,4-7]。故此,该试验设计将 KH_2PO_4 作为培养基的必需成分,另外再比较 CaCl_2 、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 NH_4Cl 、 ZnSO_4 、 $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ 等 5 种无机盐对草菇菌丝体生长的影响,由表 5 可知,在含有 CaCl_2 的培养基中草菇菌丝体生长最好,其生物量最大,这一结果与传统经验不同,传统作法均是 将 KH_2PO_4 和 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 搭配,共同作为食用菌培养基的无机盐成分。

表 5 不同无机盐对草菇菌丝体生长的影响					
无机盐	CaCl_2	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	NH_4Cl	$\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$	ZnSO_4
50 mL 菌丝体干重/g	0.6473	0.5682	0.5004	0.3932	0.2769

3 结论

米糠作为营养丰富、开发潜力大的农副产品,目前主要是当作饲料或饲料原料,其利用效率低、浪费大。如何更好地开发利用米糠资源,已经成为当前农业科学研究的热点。该试验以米糠和米糠水解液作为草菇菌丝体生长的培养基,为米糠资源的科学开发利用奠定了基础。结果表明,适合草菇菌丝体生长的最佳培养基配方为米糠 2.0%、米糠水解液 1.0%、 KH_2PO_4 0.25%、 CaCl_2 0.25%。适宜工艺为:发酵时间 4 d,装液量 50 mL 于 250 mL 三角瓶,发酵温度 33℃,接种量为 10%,起始 pH 为 7.00。

参考文献

[1] 杨国良,韩继刚,朱宝成,等.草菇无公害生产技术[M].北京:中国农业出版社,2003:1-19.
[2] 张萍,牛磊,王爱云,等.草菇菌丝体深层培养条件研究[J].河南农业科学,2005(11):79-81.
[3] 曹娟云,任桂梅,张雪.羊肚菌液体培养菌丝体产量与培养液 pH 值的关系[J].江苏农业科学,2007(4):176-177.
[4] 姚献华,马瑞霞,魏志华.白色金针菇 F81 液体菌种培养技术初步研究[J].河南农业科学,2005(6):69-70.
[5] 金卫根,吴瑞娟.毛头鬼伞液体培养条件试验[J].食用菌,2008(4):12-14.
[6] 孟雪,邹莉,李纯.松口蘑菌丝体培养特性初步研究[J].河南农业科学,2007(5):84-87.

十五味中草药醇提液的抗真菌活性研究

袁贵英, 姬长新, 焦 镭, 朱维军

(河南农业职业学院, 河南 郑州 451450)

摘要: 选择 藿香、麻黄、艾叶等 15 味中草药的乙醇提取液, 利用滤纸片扩散法测试其对果蔬贮藏保鲜中常见的灰霉菌、青霉菌、毛霉菌及酵母菌 4 种真菌的抑菌作用, 并将筛选出的 5 味中草药醇提液进行 1:1:1 配伍, 测定其复配液对供试菌种的抑菌作用, 同时对其稳定性进行初步研究。结果表明: 15 味中草药中, 藿香、紫丹参、厚朴、苦参、迷迭香 5 种醇提取液抗真菌效果较好; 确定了 DZM (藿香、紫丹参、迷迭香)、ZHK (紫丹参、厚朴、苦参)、HKM (厚朴、苦参、迷迭香) 组合是抗真菌效果较好的复配液。

关键词: 中草药; 醇提液; 抗真菌活性; 复配; 稳定性

中图分类号: S 567.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2011)07-0156-04

我国拥有丰富的天然植物中草药资源, 从植物资源中寻找抗菌活性物质是目前研究开发安全、低毒、低残留的新型防腐剂杀菌剂的重要途径之一^[1]。许多中草药都具有抗菌、杀菌作用^[2-4]。但目前, 有关中草药抗真菌方面的研究仍不多, 特别是中草药抗菌稳定性方面研究更少。因此, 该试验在查阅有关资料的基础上, 筛选了 15 味中草药, 以果蔬贮藏保鲜中常见的灰霉菌、青霉菌、毛霉菌及酵母菌 4 种病原真菌为供试菌种, 进行抗菌活性研究, 并对其复配液稳定性进行了研究, 从而为中草药提取物应用于果蔬采后保鲜防腐和天然植物防腐剂的开发和应用提供一定的理论基础和依据。

第一作者简介: 袁贵英(1972-), 女, 硕士, 讲师, 现主要从事食品营养与检验的教学与研究工作。

收稿日期: 2011-01-18

1 材料与方法

1.1 试验材料

中草药: 丁香、麻黄、艾叶、鱼腥草、厚朴、百部、黄柏、苦参、银杏叶、紫丹参、大青叶、黄芩、野菊花、乌梅、迷迭香, 均购于郑州向民医药超市。

供试菌种: 假丝酵母, 毛霉菌, 桔青霉, 灰霉, 均由河南农业职业学院微生物实验室提供。

营养琼脂培养基: 蛋白胨 10 g, 琼脂 20 g, 氯化钠 5 g, 牛肉膏 3 g, 加水定容至 1 000 mL, pH 值调整为 7.2~7.4, 121℃灭菌 30 min, 备用。

马铃薯培养基: 马铃薯去皮并切成小块, 称 200 g, 加 800 mL 水煮沸 30 min 后过滤, 滤液中添加 20 g 琼脂和 20 g 蔗糖, 待溶化后补充水定容至 1 000 mL, 121℃灭菌 30 min, 备用。

其它试验所用试剂均为分析纯, 由河南农业职业学院

Optimization of Straw Mushroom Mycelium Culture Conditions

JIN Wei-gen

(Department of Biology, East China Institute of Technology, Fuzhou Jiangxi 344000)

Abstract: Taking the rice bran as the primary material to configuration straw mushroom mycelium liquid media, the effect of different rice bran culture medium, the pH, the vaccination quantity, the temperature and the inorganic salt the influence which grows to the straw mushroom mycelium were studied. The results indicated that the best culture medium formula which the straw mushroom mycelium grows were 2.0% rice bran, rice bran hydrolysis fluid 1.0%, KH_2PO_4 0.25%, CaCl_2 0.25%. The suitable craft was fermentation time 4 day, installs liquid volume 50 mL in the 250 mL triangle bottle, the fermentation temperature 33℃, the vaccination quantity was 10%, the outset pH was 7.0.

Key words: straw mushroom; mycelium; medium with rice bran; miquid culture; optimization