

真姬菇、鸡汁菇和蛹虫草培养特性的观察与生长量的测定

暴增海, 贾超艳, 江倩倩, 张丽娟, 石桐磊

(淮海工学院 食品工程学院, 江苏 连云港 222005)

摘要:以真姬菇、鸡汁菇和蛹虫草为试材,采用固体培养和液体培养相结合的方法,研究了真姬菇、鸡汁菇和蛹虫草的菌丝、菌丝球的培养特性,测定了生长量等指标。结果表明:菌丝随培养时间的推进有密度和颜色的变化;菌丝球随培养时间的推进可分为不同时期。

关键词:真姬菇;鸡汁菇;蛹虫草;培养特性;液体发酵

中图分类号:S 646 **文献标识码:**A **文章编号:**1001—0009(2012)23—0162—03

随着食用菌产业的快速发展,越来越多的人们加入了食用菌的栽培和研究当中。与此同时,人们对食用菌菌种及栽培技术的要求也越来越高,而对食用菌相关生物特性的了解是其它研究的前提。很多学者已经对食用菌的相关生物特性进行了研究^[1-3]。

现采用固体培养和液体培养相结合的方法,对真姬菇、鸡汁菇和蛹虫草的菌丝、菌丝球以及生长量等培养特性进行研究,以期为3种菌类的相关研究和应用提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试菌株真姬菇、鸡汁菇和蛹虫草斜面菌种1支,由华中农业大学引进。固体培养基:马铃薯200 g,葡萄糖20 g,麸皮10 g,琼脂20 g,水1 000 mL, pH自然。液体培养基:马铃薯200 g,葡萄糖20 g,麸皮10 g,水1 000 mL, pH自然。

1.2 试验方法

1.2.1 培养基的配制 固体培养基的制备:选择质量较好的马铃薯洗净去皮,切成薄片,称取200 g。精确称量麸皮10 g,将称量好的马铃薯片和麸皮一起放入铝锅内,加适量水后置于电磁炉上,加热煮沸20~30 min至马铃薯酥而不烂的程度。用8层纱布过滤取其滤液。在滤液中加入琼脂20 g,葡萄糖20 g,用小火加热以免葡萄糖高温下分解,加热过程中不断用玻璃棒搅拌,直至琼脂全部溶化,最后加水定容至1 000 mL。再用纱布过滤1次,将培养基用漏斗分装入若干500 mL三角瓶中,

每瓶装200 mL。分装完毕,塞上棉塞,包报纸2层,用线绳扎紧,灭菌后备用。平板PDA培养基的制备:平板PDA培养基的制备同上,在超净工作台上分装,先将平面皿、酒精灯等用具放超净工作台上紫外灯灭菌30 min,然后将溶化的培养基放工作台上稍作冷却,再用酒精清洁手,并标记平面皿,待培养基冷至约50℃,每皿倒入约20 mL培养基,水平放置,使培养基平铺,待培养基凝固后,收起。然后分别接种真姬菇、鸡汁菇、蛹虫草菌种,以观察菌丝体培养特性。液体培养液的制备:选择质量较好的马铃薯洗净去皮,切成薄片,称取200 g。精确称量麸皮10 g,将称量好的马铃薯片和麸皮一起放入铝锅内,加适量水后置于电磁炉上,加热煮沸20~30 min至马铃薯酥而不烂的程度。用8层纱布过滤取其滤液。在滤液中加入葡萄糖20 g,小火加热,不断用玻璃棒搅拌,直至葡萄糖全部溶化,最后加水定容至1 000 mL。再用纱布过滤1次,将培养基用漏斗分装入若干250 mL三角瓶中,每瓶装80 mL。根据试验要求设置不同pH,3次重复。分装完毕,塞上纱布,包报纸2层,用线绳扎紧,灭菌。然后分别接种真姬菇、鸡汁菇和蛹虫草菌种,以观察不同pH情况下菌丝球的培养特性。

1.2.2 真姬菇、鸡汁菇、蛹虫草菌丝生长量的测定 配液体培养基,分装至不同的250 mL三角瓶中,每瓶装液量为50 mL(或500 mL三角瓶,每瓶装液量为150 mL)用8层纱布作瓶塞,并用报纸包好,121℃灭菌30 min,灭好菌后贴上标签,标明日期、菌种名称。无菌条件下,用直径8 mm打孔器在培养有真姬菇、鸡汁菇和蛹虫草的平皿中打孔,再用接种针烧灼灭菌后伸入平皿中,挑取打下的菌饼,每瓶培养基中接入1块。置28℃全温振荡培养箱以150 r/min的转速摇床发酵。每天取2瓶测菌丝生物量。具体方法为:先将发酵液以8 000 r/min的

第一作者简介:暴增海(1962-),男,硕士,教授,现主要从事食用菌液体发酵等研究工作。E-mail:baozh2008@yahoo.cn.

收稿日期:2012—07—20

速度离心 10 min,然后用蒸馏水洗涤,再离心,如此重复 2~3 次,倒掉上清液,然后将固体(菌丝)倒入已知干重平皿中,再将装有菌丝的平皿放入 80℃ 恒温烘箱中干燥至恒重,用此重量减去平皿干重即为菌丝干重^[5-7]。将 2 瓶菌丝生物量取平均值即为该天的菌丝生物量。

2 结果与分析

2.1 真姬菇培养特性

2.1.1 菌丝培养特性 将真姬菇菌株接种在 PDA 平板,28℃ 恒温培养,定时观察并记录。由图 1 可知,真姬菇菌丝洁白浓密,粗壮整齐,呈棉毛状,边缘为绒毛状,气生菌丝旺盛,菌丝成熟后颜色变灰暗。

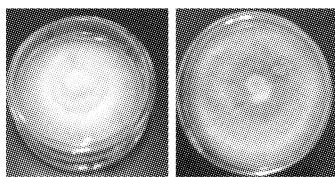


图 1 真姬菇菌丝培养情况
(左:菌丝长满全皿;右:菌丝成熟变灰)

2.1.2 不同 pH 值下菌丝球的形态 由图 2 可知,真姬菇在不同 pH 值的培养基中菌丝的生长情况不同,在中性时菌丝体生长最好,偏碱性时菌丝体生长较好,而在酸性情况下菌丝生长不理想,菌丝球也较少。



图 2 真姬菇不同 pH 下的液体培养情况
(左:pH 3.8;中:pH 自然;右:pH 8.0)

2.1.3 生长量的测定 由表 1 可知,真姬菇在 3 d 以前生长较缓慢,而在 4 d 后开始生长较快,到 14 d 时生长量最大,12~14 d 时处于稳定期,此后生长便开始下降。

表 1 3 种食用菌菌丝干重随时间的变化结果 g/L

培养时间 /d	真姬菇	食用菌种类 鸡汁菇	蛹虫草
1	0.40	0.41	0.72
2	0.36	0.46	0.76
3	0.46	0.57	0.94
4	3.92	0.58	1.30
5	1.04	0.77	2.68
6	1.64	1.32	3.78
7	2.14	2.15	6.24
8	2.52	3.44	7.96
9	2.64	4.01	10.52
10	2.96	4.36	12.04
11	3.24	4.66	12.36
12	3.86	3.48	12.42
13	4.24	3.72	12.58
14	4.30	4.01	12.08
15	4.18	3.90	11.08

2.2 鸡汁菇培养特性

2.2.1 菌丝培养特性 将鸡汁菇菌株接种在 PDA 平板上,28℃ 恒温培养,定时观察并记录。由图 3 可知,鸡汁菇菌丝体在倒有 PDA 培养基的培养皿上,长满平皿后菌丝体洁白浓密、生长旺盛,培养物表面无分泌物,平板培养菌落圆形,菌丝呈羽绒状匍匐生长,无菌膜形成,呈放射状蔓延,菌丝不分泌色素,不产生菌皮。在生长后期反面变成淡黄色,最终出现干缩、黄化、老化。对于这一现象推测,可能是由于鸡汁菇在培养后期产生了粉孢子。鸡汁菇的粉孢子主要是由气生菌丝产生的。在显微镜下观察菌落时发现,培养基表面菌丝很少产生粉孢子。

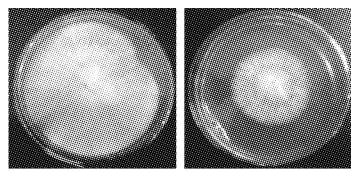


图 3 鸡汁菇菌丝培养情况(左:全皿;右:半皿)

2.2.2 不同 pH 值下菌丝球的形态 对液态鸡汁菇的菌丝球不同 pH 值下生长形态进行了观察研究。从图 4 可以看出,鸡汁菇在 pH 自然的情况下长势最好,形成的菌球较多,满满的分布于整个培养液中。pH 3.8 时,形成的菌球数少;而 pH 8.0 时,菌球数虽多,但菌液浑浊。

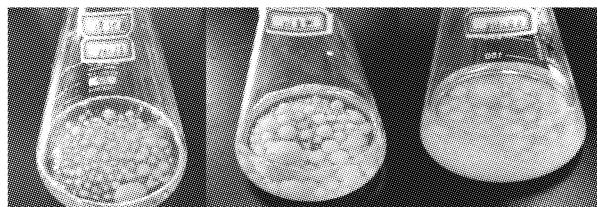


图 4 鸡汁菇不同 pH 条件下发酵 9 d 后的菌丝球形态
(左:pH 3.8;中:pH 自然;右:pH 8.0)

2.2.3 生长量的测定 由表 1 可知,鸡汁菇的迟缓期较长,约 4~5 d,在这期间菌丝生长缓慢,从第 6 天开始,菌丝大量生长,在第 11 天左右达到最大生物量,稳定期不明显;然后菌丝生物量很快便大量减少,进入衰亡期。

2.3 蛹虫草培养特性

2.3.1 菌丝的培养特性 蛀虫草菌丝体在 PDA 平板上,菌落呈圆形,边缘不圆整,呈放射状蔓延,菌丝体为洁白色有光泽丝状,气生菌丝稀疏,较不发达,先端生长较整齐,绒毛状,粗细均匀,并且贴着培养基生长,菌丝不分泌色素、不产生菌皮(图 5)。

2.3.2 不同 pH 值下菌丝球的形态 蛀虫草在不同的 pH 值的培养基中菌丝的生长情况不同,在中性或偏碱性时菌丝球生长较好,呈悬浮的大米状的,颗粒较大,培养液粘稠性较大,而在酸性情况下菌丝球生长较不好,也是呈悬浮状的,但颗粒较小,粘稠性也较小(图 6)。

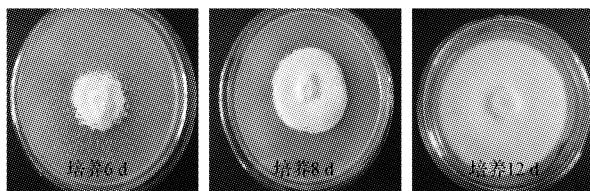


图 5 虫草菌丝培养情况

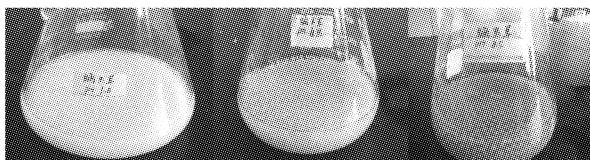


图 6 虫草不同 pH 下的液体培养情况

2.3.3 菌丝生长量的测定 由表 1 可知, 虫草菌丝体的干重, 在 1~3 d 期间偏低, 在 4~10 d 处于高峰期, 在 11~13 d 处于稳定期, 在第 14 天及其之后虫草菌丝体就开始衰亡。

3 结论

3.1 真姬菇

真姬菇菌丝体在 PDA 斜面试管上菌丝洁白浓密, 粗壮整齐, 边缘为绒毛状, 气生菌丝旺盛且爬壁能力强, 菌丝成熟后颜色变灰。28℃下, 9 d 长满斜面, 12 d 长满平皿。液体培养真姬菇在 3 d 以前生长较缓慢, 而在 4 d 后开始生长较快, 到 14 d 时生长量最大, 12~14 d 时处于稳定期, 此后生长便开始下降。

3.2 鸡汁菇

鸡汁菇菌丝体洁白浓密、生长旺健, 培养物表面无分泌物, 菌丝洁白、粗壮, 平板培养菌落圆形, 菌丝呈羽绒状匍匐生长, 无菌膜形成, 呈放射状蔓延, 并且贴着培养基生长, 菌丝不分泌色素, 不产生菌皮。但在生长后期, 它会产生淡黄色的粉孢子, 该粉孢子主要是由气生菌丝产生的。鸡汁菇发酵 5 d 的种子液, 菌丝球细密, 菌球刺突比较清晰明显, 上清液透亮, 菌丝球均匀分布在

培养液中。发酵 8 d 的发酵液中, 菌球变大, 并且充满整个培养液。同时, 第 5 天的种子液为米黄色, 而第 8 天的种子液颜色加深。鸡汁菇的迟缓期较长, 约 4~5 d, 在这期间菌丝生长缓慢, 为迟缓期, 从第 6 天开始, 菌丝大量生长, 在第 11 天左右达到最大生物量, 稳定期不明显; 然后菌丝生物量很快便大量减少, 进入衰亡期。

3.3 虫草

虫草菌丝体菌落呈圆形, 边缘不圆整, 呈放射状蔓延, 菌丝体洁白色有光泽丝状, 气生菌丝稀疏, 较不发达, 先端生长较整齐, 绒毛状, 粗细均匀, 并且贴着培养基生长, 菌丝不分泌色素、不产生菌皮。虫草在中性或偏碱性时菌丝球生长较好, 呈悬浮的大米状的, 颗粒较大, 培养液粘稠性较大, 而在酸性情况下菌丝球生长较不好, 虽呈悬浮状, 但颗粒较小, 粘稠性也较小。虫草菌丝体在液体培养时, 虫草菌丝体的干重在 1~3 d 期间偏低, 在 4~10 d 处于高峰期, 在 11~13 d 处于稳定期, 在第 14 天及其之后虫草菌丝体就开始衰亡。

该试验结果还表明, 真姬菇、鸡汁菇、虫草菌丝球形态和密度在 pH 自然时最为理想, 因此液体发酵应选择自然 pH, 不必调节。

参考文献

- [1] 王耀松, 邢增涛, 冯志勇, 等. 真姬菇营养成分的分析与测定[J]. 菌物研究, 2006(4):33-37.
- [2] 范世华. 介绍几种珍稀食用菌[J]. 中国农村小康科技, 2000(8): 17-18.
- [3] 马晓华, 连宾. 几种常见食用菌清除羟基自由基能力的研究[J]. 食品与发业, 2005, 31(10):24-28.
- [4] 刘成荣, 邓百万. 两种真姬菇摇瓶发酵产生菌丝体及胞外多糖研究[J]. 中国农学通报, 2008, 24(9):288-292.
- [5] 李文艺. 不同培养基对松乳菇菌丝生长的影响[J]. 食用菌, 2004(4): 10-11.
- [6] 秦建春, 李晓明, 张鞍灵, 等. 虫草发酵液抗菌活性初步研究[J]. 西北植物学报, 2006, 26(2):402-406.
- [7] 陈晋安, 黄浩, 郑忠辉, 等. 虫草液体发酵条件的研究[J]. 集美大学学报(自然科学版), 2001, 6(3):219-223.

Cultivation Characteristics and Growth of *Hypsizygus marmoreus*, *Jizhigu* and *Cordyceps militaris*

BAO Zeng-hai, JIA Chao-yan, JIANG Qian-qian, ZHANG Li-juan, SHI Tong-lei

(School of Food Engineering, Huaihai Institute of Technology, Lianyungang, Jiangsu 222005)

Abstract: Taking *Hypsizygus marmoreus*, *Jizhigu* and *Cordyceps militaris* pellets of edible mushrooms as material, the cultivation characteristics, such as mycelial and mycelia pellet and the detection of growth using solid and liquid medium were studied in this paper. The results showed that the densities and colors changed with cultivation time and different decades of mycelia pellet's growth could be found with cultivation time.

Key words: *Hypsizygus marmoreus*; *Jizhigu*; *Cordyceps militaris*; cultivation characteristics; liquid fermentation