

黄伞菌种培养基配方筛选研究

田景花, 杨旭, 李明, 李守勉

(河北农业大学 园艺学院, 河北 保定 071001)

摘 要:选用 9 种母种培养基配方和 11 种原种培养基配方, 研究了不同的菌种培养基对黄伞菌丝生长的影响; 经过预备试验, 观测黄伞菌丝的生长情况, 以期筛选适合黄伞生长的母种和原种培养基配方。结果表明: 不同配方的母种、原种培养基上菌丝生长存在显著差异, 黄伞菌丝生长要求较低的氮浓度和较高的碳氮比。其中最适黄伞菌丝生长的母种培养基为配方 2 和配方 4, 在生产上, 配方 2、4、1 均可选用。适合黄伞菌丝生长的原种培养基为配方 1、5、6。其中, 配方 1 为麦粒培养基, 成本较高, 其中的菌丝老化较快, 在生产上急需菌种时可选用。最适合生产上推广的原种培养基为配方 5, 不仅原材料来源广泛, 成本较低, 而且菌丝生长速度快, 老化慢, 较耐贮存。

关键词:黄伞; 菌丝生长速度; 母种培养基; 原种培养基

中图分类号:S 646.1⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)02-0137-04

黄伞(*Pholiota adiposa* (Fr.) Quél.) 属球盖菇科鳞伞属真菌^[1], 又名黄柳菇、多脂鳞伞、柳蘑、黄蘑、柳松菇、柳树菌等。黄伞子实体色泽鲜艳, 菇质脆嫩, 营养丰富, 食之黏滑爽口, 味道鲜美, 风味独特。黄伞还具有很高的保健和药用价值, 越来越受到人们的重视^[2]。研究表明, 黄伞子实体和菌丝体中粗蛋白、粗纤维和灰分的含量较高, 粗脂肪含量较低, 含有多种维生素、矿物质及氨基酸、多糖、麦角固醇等多种生物活性物质^[3-4]。黄伞中所含的多糖、核酸等活性物质具有调节机体免疫力、抗肿瘤、降血脂、抗菌、抗氧化、抗衰老等生物活性^[2,5-9]。是一种食药兼优、具有较高商品价值和推广前景的大型真菌。

黄伞是近年来河北省政府大力发展的珍稀食用菌

种类之一。由于黄伞栽培时间尚短, 生产规模较小, 技术仍不完善, 远不能满足市场需求。目前, 关于黄伞的研究大多集中在其营养、保健药用价值和液体发酵等方面, 而有关黄伞育种和栽培技术方面研究较少, 尤其是黄伞各级菌种培养基配方的研究鲜见报道。该试验旨在通过对黄伞母种、原种培养基配方进行比较研究, 筛选出适合黄伞生产上使用的各级菌种培养基配方, 从而推动黄伞栽培业的健康、持续发展。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试菌株为“黄伞 1 号”, 引自北京市农林科学院。

1.2 试验方法

1.2.1 母种培养基配制 以生产上常用的母种培养基原料为试材, 通过预备试验, 共设计 9 种母种培养基配方(表 1)。其中, 配方 2~9 需要加入磷酸二氢钾 3 g, 硫酸镁 1.5 g, 维生素 B₁ 10 mg。采用直径 90 mm 的培养皿制作平板培养基。

1.2.2 原种培养基配制 以北方常见的棉籽壳、木屑、麦

第一作者简介:田景花(1969-), 女, 河北石家庄人, 博士, 副教授, 现主要从事食用菌栽培及育种的教学与科研工作。E-mail: yytjh@hebau.edu.cn.

基金项目:河北省科学技术厅资助项目(08220201D)。

收稿日期:2012-09-17

Abstract: Using *Bacillus licheniformis* as the preservation material, the biological preservation of *Lilium casa blanca* were studied. Through the morphological index testing, the best preservation concentrations were fermentation liquid of 0.25% and metabolic liquid of 0.25%. The contents of anthocyanin and MDA, SOD activity were assessed, the results showed that the preservation liquid could increase the content of anthocyanin, as well as inhibiting the decrease of SOD activity and the increase of MDA content. TEM observation indicated that the duct of stem cut of lily cut-flower treated by the preservation liquid of *Bacillus licheniformis* was more complete than that of controls, which was beneficial to the nutrition and water supplies of cut-flower.

Key words: *Bacillus licheniformis*; *Lilium casa blanca*; cut flowers; biological preservation

粒作为培养基主料,根据预备试验和原料不同的碳、氮含量^[10-11](表2),按不同碳氮比(C/N)设计11种原种培养基配方(表3)。除了麦粒外,其它培养基原料的料水比均为1:1.35。试验采用规格为750 mL的原种瓶。

表1 母种培养基配方

Table 1 The formula compositions of stock culture mediums

g/1 000mL

培养基 配方 Formula	马铃薯 Potato	胡萝卜 Carrot	木屑 Sawdust	棉籽壳 Cottonseed hull	麸皮 Wheat bran	蛋白胨 Peptone	葡萄糖 Glucose	琼脂 Agar
1	200						20	20
2	200					2	20	20
3	100	100				2	20	20
4	100		100		50	2	20	20
5	100		100		50	5	20	20
6	100		100		50	10	20	20
7	100			100	50	2	20	20
8	100			100	50	5	20	20
9	100			100	50	10	20	20

1.2.3 母种培养基的制备及菌丝生长情况观测 常规方法制备母种培养基。每个培养皿加入30 mL培养基,每处理5次重复,用双层报纸包好。高压灭菌,冷却后接种,接种量为边长4 mm的正方形菌种块,置于培养皿

表3

原种培养基配方

Table 3

The formula compositions of pre-culture spawn mediums

%

培养基配方 Formula	麦粒 Wheat grain	木屑 Sawdust	棉籽壳 Cottonseed hull	麸皮 Wheat bran	玉米粉 Corn flour	白糖 Sugar	石膏 Gypsum	含碳量 Carbon content	含氮量 Nitrogen content	碳氮比 C/N	干料重 Material weight/g·瓶 ⁻¹
1	98						2	41.45	1.91	21.7:1	250
2	40	47		10		1	2	44.93	1.05	42.9:1	175
3	40		47	10		1	2	45.50	1.95	23.3:1	175
4		82		15		1	2	47.45	0.41	115.2:1	135
5		77		20		1	2	47.23	0.52	91.4:1	135
6		72		25		1	2	47.01	0.62	75.6:1	135
7		41	41	15		1	2	47.95	1.20	39.9:1	135
8			87	10		1	2	48.74	1.99	24.5:1	135
9			82	15		1	2	48.45	1.99	24.3:1	135
10			77	20		1	2	48.17	2.00	24.0:1	135
11			82	10	5	1	2	48.77	2.00	24.4:1	135

1.3 数据分析

利用DPS 7.05软件中的Duncan's新复极差测验对所得数据进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 母种培养基上菌丝的生长情况

黄伞菌丝在9种母种培养基上均能生长,而且菌落圆整,边缘整齐,但菌丝形态、生长速度和生长势差异较大,观测结果见表4。从表4可以看出,各配方间菌丝的

中央。于24℃恒温培养箱中培养,观察、记录菌丝生长情况及菌丝长满培养皿的时间。

表2 培养料的碳、氮含量及碳氮比

Table 2 Carbon content, nitrogen content, and carbon nitrogen ratio of cultivation materials

培养料 Cultivation material	含碳量 Carbon content/%	含氮量 Nitrogen content/%	碳氮比 C/N
木屑 Sawdust	49.18	0.10	491.8
棉籽壳 Cottonseed hull	50.40	2.03	24.83
麦粒 Wheat grain	42.30	1.95	21.69
麸皮 Wheat bran	44.70	2.20	20.32
玉米粉 Corn flour	50.92	2.28	22.33

1.2.4 原种培养基的制备及菌丝生长情况观测 原种培养基配方1、2、3中的麦粒需进行预处理:将麦粒用冷水浸泡12 h后水煮,开锅后小火再煮20 min左右,使麦粒充分煮透,胀而不破,切开后无白心。之后用水冲洗、冷却,沥干表面水分。配方1中直接将石膏拌入麦粒,即可装瓶,装至瓶肩处。配方2、3中,把预处理好的麦粒加入拌好的其它培养料中装瓶。其余配方按照常规方法拌料、装瓶,均装至瓶肩处。高压灭菌,冷却后接种,每支母种接4瓶原种。于21℃下培养,观察、记录菌丝封住料面的时间以及长满原种瓶的时间。

生长速度、生长势和菌丝形态差异明显。配方1~4的4种培养基上菌丝粗壮,长势旺盛,其中配方2和4培养基上菌丝的生长速度最快,均极显著快于PDA培养基(配方1)。其次是配方5和配方7,但极显著慢于PDA培养基。配方9和配方8培养基上菌丝生长速度最慢,菌丝绒毛状,生长势差,气生菌丝多。对各母种配方的组成成份分析表明,黄伞菌丝生长需要较低的氮浓度,每1 000 mL培养基中蛋白胨用量不超过2 g为宜,过高会抑制黄伞菌丝生长,菌丝变得细弱,呈绒毛状,生长势

变差;另外,黄伞菌丝分解木质素能力较强,在以木屑为原料的母种培养基上,菌丝生长速度、生长势和菌丝形态优于以棉籽壳为原料的母种培养基。

表4 不同母种培养基上黄伞菌丝的生长情况及差异显著性分析(SSR法)

Table 4 The mycelia growth status on different stock culture mediums and differences significant analysis

配方 Formula	菌丝生长速度 Mycelia growth rate/mm · d ⁻¹	差异显著性 Significance of difference		菌丝生长势 Mycelia growth potential	菌丝形态 Mycelia morphology
		0.05	0.01		
1	3.717	b	B	+++	菌丝粗壮,气生菌丝较少
2	3.783	a	A	+++	菌丝粗壮,气生菌丝较少
3	3.733	b	AB	+++	菌丝粗壮,气生菌丝较少
4	3.767	a	A	+++	菌丝粗壮,气生菌丝较少
5	3.617	c	C	++	菌丝绒毛状,气生菌丝较多
6	3.450	e	E	++	菌丝绒毛状,气生菌丝较多
7	3.517	d	D	++	菌丝绒毛状,气生菌丝较多
8	3.017	f	F	+	菌丝绒毛状,气生菌丝多
9	2.750	g	G	+	菌丝绒毛状,气生菌丝多

注:“+++”表示菌丝生长势强,“++”表示菌丝生长势一般,“+”表示菌丝生长势弱。

Note:“+++” indicates the strong mycelia growth potential,“++” indicates the middling mycelia growth potential,“+” indicates the weak mycelia growth potential.

2.2 原种培养基上菌丝的生长情况

由表5可以看出,黄伞菌丝在11种原种培养基上均能生长,但生长速度存在显著差异。菌丝在配方1(麦粒培养基)中生长速度最快,无论是菌丝封住料面的时间还是满瓶时间,均极显著快于其它培养基;但菌丝满瓶后老化速度也快,于常温下保存10d后培养料就明显干缩。其次是以木屑为主料的配方5和配方6,菌丝长势良好,生长速度快,满瓶时间极显著短于其它8种配方。而以棉籽皮为主料或主料之一的培养基上菌丝生长普遍较慢(配方3、7~11),其中以配方8生长速度最慢。分析各原种培养基配方的组成及C/N比值表明,麦粒培养基适合黄伞菌丝生长;黄伞菌丝分解木质素能力

表5 不同原种培养基上黄伞菌丝的生长情况及差异显著性分析(SSR法)

Table 5 The mycelia growth status on different pre-culture spawn mediums and differences significant analysis

配方 Formula	封住料面时间 Time sealed surface/d	差异显著性 Significance of difference		满瓶时间 Time overgrown bottle/d	差异显著性 Significance of difference	
		0.05	0.01		0.05	0.01
1	16.50	f	F	30.00	g	G
2	20.50	d	DE	37.70	e	E
3	20.75	d	D	44.17	b	B
4	21.50	c	C	37.81	e	E
5	21.50	c	C	35.17	f	F
6	20.00	e	E	35.50	f	F
7	22.00	c	C	40.33	c	C
8	26.25	a	A	45.50	a	A
9	21.50	c	C	39.33	d	D
10	20.75	d	D	37.97	e	E
11	24.50	b	B	40.67	c	C

强,在以木屑为主料的原种培养基上,菌丝生长速度快;黄伞菌丝在较低的氮浓度(0.4%~0.6%)和较高的碳氮比(75:1~92:1)下生长良好,碳氮比过高、过低均不利于菌丝生长。菌丝封住料面的时间会影响菌种培养早期的污染率,料面封住越慢,污染率越高。由表5可以看出,在麦粒培养基和麸皮含量高的培养基上,接种初期菌丝吃料快(配方1、2、3、6、10),封住料面的时间显著短于麸皮含量低的培养基;以麸皮含量最低的配方8和配方11封住料面所用时间最长;配方11中添加5%玉米面代替麸皮,菌丝生长不良,封住料面时间和满瓶时间均极显著长于只用麸皮的配方9和配方10。

3 结论与讨论

3.1 黄伞菌丝生长适宜的碳、氮源及碳氮比

碳源、氮源是食用菌生长必需的营养物质;碳氮比是食用菌生长重要的限制性因子,一般来说,食用菌在营养生长阶段,C/N以(16~24):1为好^[16]。有关黄伞菌丝生长适宜的碳、氮源及碳氮比,目前主要是利用液体培养基研究了常见水溶性碳氮源对黄伞菌丝生长的影响,各研究结论存在差异。多数研究认为,葡萄糖、麦芽糖作为碳源效果较好^[12-14],适宜的氮源为蛋白胨、麸皮滤液、牛肉膏等^[13-15],最适宜的碳氮比是40:1^[14],高于多数食用菌种类。该研究表明,黄伞母种培养基中加入葡萄糖和蛋白胨等作为碳源、氮源,菌丝生长良好;适宜黄伞菌丝生长的母种培养基配方1、2、3、4中,蛋白胨含量均不高于2g/1000mL,蛋白胨含量超过5g/1000mL时菌丝生长受到显著抑制。可见,黄伞菌丝适宜较低的氮浓度,要求较大的碳氮比。原种培养基中菌丝的生长情况也证明了这一点,以木屑为主料的配方中,C/N为(75~92):1的培养基上的菌丝生长速度极显著快于C/N较小的棉籽壳培养基、混合培养基以及C/N过大的木屑培养基。麦粒培养基(配方1)C/N小,但菌丝生长速度最快,可能与它的碳源成分和透气性有关。麦粒中的碳源主要是淀粉,容易被菌丝分解、吸收利用;麦粒间孔隙较大,透气性好,也有利于黄伞菌丝生长。麸皮是黄伞原种培养基中的优质辅料,麸皮含量高时,显著促进菌丝生长,不仅封住料面快,而且满瓶时间也快于麸皮含量低的(配方6和5快于配方4,配方10快于配方9和8),这可能与麸皮中的营养成分容易被黄伞菌丝分解、吸收有关。而添加玉米粉作辅料的效果较差,玉米粉本身又容易感染杂菌而霉变,所以在黄伞原种生产中不建议添加玉米粉。棉籽壳是我国北方食用菌生长上常用的原料。该研究发现,以棉籽壳为主料的母种、原种培养基上黄伞菌丝生长普遍较慢,而且母种菌丝生长不良,可能与棉籽壳的碳氮比等有关,具体原因尚不清楚。也有研究表明,生产上以棉籽壳或与木屑以一定

的比例混合作为主料,黄伞产量较高^[17-18],说明黄伞菌丝的生长速度与产量可能不存在显著相关性。黄伞生产最适宜的栽培料配方有待进一步研究。

3.2 黄伞菌丝生长适宜的母种、原种培养基配方

从菌丝的生长速度和生长势综合表现来看,棉籽壳不适合用于黄伞母种的制备;每1 000 mL母种培养基中蛋白胨的用量不宜超过2 g;生产上最适宜的黄伞母种培养基为配方2和配方4;而配方1(PDA培养基),组成成分简单,成本低,黄伞菌丝生长良好,生产上也可选用。原种培养基中,配方1、配方5和配方6培养基上的菌丝长势良好,生长速度快。由于原种用种量大,很难冷藏保存,因此,生产上选择原种培养基配方,既要考虑到菌丝生长速度和生长势,又要考虑到制种原料的来源、成本以及菌种的耐贮性。麦粒菌种(配方1)成本较高,老化速度快,可以在时间紧迫、急需菌种时选用,长满后要尽快用完^[19]。而氮源过多,培养料抗杂菌能力差,容易污染^[16]。配方5与配方6培养基中的菌丝长势和菌丝满瓶时间差异不显著,原材料来源广泛,菌种老化慢,较耐贮存(常温下,存放15~20 d培养基无明显萎缩),但配方6中麸皮用量为25%,比配方5高5%,含氮量高0.1%,不仅增加了成本,而且污染率会提高,因此,生产上大量生长黄伞原种时,培养基以配方5最适宜。

参考文献

- [1] 常明昌. 食用菌栽培学[M]. 北京:中国农业出版社,2003:27-31.
- [2] 聂永心. 黄伞子实体多糖的分离纯化、结构鉴定及生物活性的研究[D]. 泰安:山东农业大学,2011.
- [3] 惠丰立,魏明卉,刘征. 黄伞子实体营养成分分析[J]. 食用菌学报,2003,10(4):20-23.

- [4] 惠丰立,杜敏华,魏明卉,等. 黄伞深层发酵菌丝体与子实体营养成分的分析比较[J]. 食品与发酵工业,2004,30(4):52-54.
- [5] 黄清荣,辛晓林,钟旭生,等. 黄伞菌丝体多糖提取及其抗疲劳活性的研究[J]. 食品研究与开发,2005,26(6):6-9.
- [6] 李德海,王志强,孙常雁,等. 黄伞子实体多糖的初步纯化及降血脂研究[J]. 食品科学,2010,31(9):268-271.
- [7] 胡清秀,宫春宇,闫梅霞. 黄伞及黄伞多糖体外抗氧化作用的研究[J]. 中南林业科技大学学报,2007,27(6):58-62.
- [8] Deng P, Zhang G Q, Zhou B, et al. Extraction and in vitro antioxidant activity of intracellular polysaccharide by *Pholiota adiposa* SX-02[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2011, 111:50-54.
- [9] Basaran D. Antimicrobial activity of the macrofungus *Pholiota adiposa* [J]. Fitoterapia, 2004, 75:395-397.
- [10] 班立桐,韩志强,黄亮. 不同碳氮比培养料对杏鲍菇农艺性状的影响[J]. 北方园艺,2010(8):201-203.
- [11] 王爱仙. 不同碳氮比配方上杏鲍菇菌丝生长观察[J]. 食用菌,2011(2):31-32.
- [12] 李荣春,付子艳,李信. 黄伞菌丝营养特性研究[J]. 食用菌学报,2001,8(1):19-23.
- [13] 惠丰立,魏明卉,刘征. 黄伞菌丝深层发酵培养基的优化[J]. 中国食用菌,2004,23(3):48-49.
- [14] 黄清荣,杨立红,刘书涛,等. 黄伞液体培养碳氮源的优选[J]. 吉林农业大学学报,2003,25(6):611-614.
- [15] 贾永. 黄伞液体深层发酵培养的营养特性研究[J]. 食用菌,2010(5):18-19.
- [16] 王贺祥. 食用菌栽培学[M]. 北京:中国农业出版社,2008:42.
- [17] 刘靖宇,梁志英,常明昌,等. 珍稀食药食用菌黄伞生产工艺研究[J]. 食用菌学报,2006,13(2):81-84.
- [18] 潘保华,李彩萍,朱生伟,等. 黄伞培养料配方的筛选及出菇技术的优化试验[J]. 食用菌,2004(2):22-23.
- [19] 田景花,李明,王俊玲,等. 杏鲍菇菌种培养基配方筛选研究[J]. 河北农业大学学报,2004,27(2):25-28.

The Selection of Spawn Culture Medium Formulas for *Pholiota adiposa*

TIAN Jing-hua, YANG Xu, LI Ming, LI Shou-mian

(College of Horticulture, Hebei Agricultural University, Baoding, Hebei 071001)

Abstract: In order to obtain optimum stock and pre-culture spawn culture medium formulas of *Pholiota adiposa*, the effects of different culture mediums on mycelia growth of *Pholiota adiposa* were studied. After preliminary experiment, 9 stock culture medium formulas and 11 pre-culture spawn medium formulas were used to observe the mycelia growth status. The results showed that there were significant differences of the mycelia growth rate and growth potential on different culture mediums. The mycelia growth of *Pholiota adiposa* need lower nitrogen content and higher carbon nitrogen ratio of cultivation materials. The optimal stock culture mediums were formulas 2 and 4. Each of formulas 2, 4 and 1 could be used for *Pholiota adiposa* cultivation. The pre-culture spawn mediums suitable for *Pholiota adiposa* mycelia growth were formulas 1, 5 and 6. Formula 1 of wheat grain medium cost higher, and mycelia grown in it aged faster than in other mediums. The wheat grain medium could be used when spawn production was pressed for time. The optimum selection of pre-culture spawn medium was formula 5 for *Pholiota adiposa* cultivation. The mycelia grew fast and aged slowly in it, while it had the advantages of abundant raw material and reasonable prices.

Key words: *Pholiota adiposa*; mycelia growth rate; stock culture medium; pre-culture spawn medium