

平菇栽培基质中污染菌的分离及其对平菇菌丝生长的影响

李玉中, 王彤, 滕涛, 王芳宇, 何丽芳

(衡阳师范学院 生命科学系, 湖南 衡阳 421008)

摘要:从衡阳市蘑菇生产厂房采集正在出菇(但出菇较差)的平菇培养基质, 带回实验室经分离、纯化和保存, 根据菌落、菌丝、孢子、细胞的形态进行初步鉴定, 并在 PDA 平板上用分离纯化菌株与平菇菌丝进行了对峙接种试验, 观察污染菌对平菇菌丝生长的影响。结果表明: 平菇培养共分离获得 8 个菌株, 编号分别为 PoD1~PoD8, 经形态初步鉴定, PoD1、PoD2 和 PoD3 分别为黄色单胞菌属(*Flavimonas*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)和假单胞菌属(*Pseudomonas*), PoD4 和 PoD5 为红酵母属(*Rhodotorula*)的 2 个种, PoD6 为裂殖酵母属(*Schizosaccharomyces*), 酵母菌 PoD7 和 PoD8 分别为好食脉孢菌(*Neurospora sitophila*)和灰绿曲霉(*Aspergillus glaucus*)。对峙接种结果显示, 丝状真菌对平菇菌丝生长的抑制效果最明显, 其次为细菌, 分离的酵母菌对平菇菌丝生长的影响最小。

关键词:平菇; 栽培基质; 污染菌; 分离

中图分类号:S 646.1⁺4 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)23-0155-04

平菇(*Pleurotus ostreatus*)属白蘑科侧耳属糙皮侧耳的子实体, 原名侧耳, 其营养物质丰富^[1], 且具有一定的药用价值, 市场销量大; 又因其栽培容易^[2]、周期短、产量高、效益好等优点, 现已成为我国栽培量最大的食用菌之一。尽管平菇的生长周期较短, 但也需要 2~3 个月的时间, 在菌丝生长过程中, 容易受到其它菌的污染^[3-4]。因此, 探寻影响菌丝生长的种类, 寻找防治的方法, 减少生产损失, 提高平菇质量和品质是十分必要的。现对平菇栽培过程中的污染菌进行分离、纯化和形态鉴定, 以初步探究污染菌对平菇菌丝生长的影响, 为平菇生产中污染菌的防治提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为正在出菇(但出菇较差)的平菇培养料。牛肉膏蛋白胨培养基: 牛肉膏 3 g, 蛋白胨 10 g, 琼脂 16 g, 水 1 000 mL, pH 7.0~7.2; 用于细菌的培养和分离; 马铃薯培养基(简称 PDA): 马铃薯 200 g, 蔗糖(或

葡萄糖)20 g, 琼脂 15~20 g, 水 1 000 mL, pH 自然, 用于真菌培养; 真菌分离培养基: PDA 中加入 0.01% 的硫酸链霉素和 0.005% 的青霉素; 以上培养基的具体配制参考方中达^[5]的方法。革兰氏染剂参考周德庆^[6]的方法。

1.2 试验方法

1.2.1 样品的采集 从衡阳市周边平菇种植户采集正在出菇的培养料样本, 采集时, 从出菇菌袋的中间和两端各取 5 g 并混匀为 1 个样, 每户随机取 3 个样, 共选 5 个种植点。将其装入无菌塑料中带回实验室备用。分 2 次取样, 共采集 30 份。

1.2.2 污染菌的分离、纯化及保存 细菌: 挑取少量采集的平菇培养基置于无菌水培养皿中, 捣碎后摇匀, 用接种环蘸取液体, 在牛肉膏蛋白胨平板上稀释划线, 分离污染菌。30℃培养 2~3 d 观察生长状况, 根据菌落的形态特征及颜色, 挑选优势菌种, 用接种环挑取单菌落, 在新的牛肉膏蛋白胨平板上划线, 接种完毕且贴上标签, 30℃培养 2 d 观察纯化效果, 直至同一皿内菌落一致。挑取单菌落置于斜面培养基划线, 30℃培养 3 d, 转入 4℃冰箱保存。真菌: 用接种针挑取少许采集的带有平菇菌丝的培养基接种到 PDA 平板上, 每皿接种 3 个点, 25℃培养 3 d 观察菌落生长情况, 并用接种针挑取单一菌落的边缘菌丝于新的 PDA 平板的中央, 25℃培养 5~7 d, 将其转接斜面, 25℃培养至长满斜面, 置于 4℃冰箱保存。

第一作者简介:李玉中(1978-), 男, 山东聊城人, 博士, 副教授, 现主要从事微生物及植物病害生物防治等教学与科研工作。E-mail: yzl_2002@163.com.

基金项目:衡阳市科技局科技发展计划资助项目(2011KN12); 衡阳师范学院大学生研究性学习和创新性实验计划资助项目(CX1316)。

收稿日期:2013-09-09

1.2.3 污染菌的形态鉴定 根据纯化菌株的菌落和显微形态特征,真菌鉴定参考魏景超^[7]的《真菌鉴定手册》和戴芳澜的《中国真菌总汇》^[8]的描述进行鉴定,细菌通过革兰氏染色法^[9]观察细菌形态,并参考《常见细菌系统鉴定手册》^[10]和《伯杰细菌鉴定手册》(第8版)^[9]的描述进行鉴定。

1.2.4 平菇菌丝与污染菌对峙接种 将活化的平菇菌丝接种于PDA培养基(皿底直径的1/3或1/4处)上,(25±1)℃培养3 d,直到长出菌落为止,在培养皿的另一旁接种分离菌,(25±1)℃继续培养3 d,记录观察菌落生长情况。

表 1

平菇培养基中分离的微生物

Table 1

Microorganisms separated from culture medium of *Pleurotus ostreatus*

编号	名称	菌落形态	显微形态
PoD1	黄色单胞菌属 (<i>Flavimonas</i> sp.)	菌落呈黄色,单菌落通常圆形,底部隆起,光滑,有光泽,全缘	细胞为杆状,两端钝圆,大小(0.4~0.7) μm×(0.7~1.8) μm,革兰氏染色呈阴性
PoD2	枯草芽孢杆菌 (<i>Bacillus subtilis</i>)	菌落表面粗糙不透明,微隆起,污白色,边缘不整	单细胞(0.7~0.8) μm×(2~3) μm,着色均匀,革兰氏阳性菌,芽孢(0.6~0.9) μm×(1.0~1.5) μm,椭圆至柱状,位于菌体中央或稍偏
PoD3	假单胞菌属 (<i>Pseudomonas</i> sp.)	菌落呈褐色,光滑,在光线的照射下,有荧光出现,有刺鼻的气味,继续培养,整个培养基都出现褐色	直或微弯的杆菌,不呈螺旋菌,(0.5~1.0) μm×(1.5~3.0) μm;革兰氏阴性,不产芽孢
PoD4	红酵母属 (<i>Rhodolorula</i> sp.)	菌落呈橘红色,光滑,圆形,继续培养,菌落的颜色不变	细胞球状,直径3~6 μm,多边芽殖,无假菌丝
PoD5	红酵母属 (<i>Rhodolorula</i> sp.)	菌落圆形、凸起、有粘性,不透明,白色到奶酪色,有时是微黄色	细胞球形,直径3~5 μm,着色不均匀,多边芽殖,细胞外面有明显的一层荚膜
PoD6	裂殖酵母 (<i>Schizosaccharomyces</i> sp.)	在固体培养基上菌落呈白色,凸起,光滑,有种酒香味	直杆状,(4.0~9.0) μm×(2.0~3.0) μm,分裂生殖,形成子囊
PoD7	好食脉孢菌 (<i>Neurospora sitophila</i>)	菌落前期呈白色,后期逐渐变成褐色至黑色,菌丝发达	子囊壳表生或埋于基物内,有毛,褐至黑色,直径200~300 μm;子囊孢子椭圆形,有纵纹,褐褐色至墨绿色,(20~26) μm×(10~15) μm
PoD8	灰绿曲霉 (<i>Aspergillus glaucus</i>)	平坦,质地绒状兼絮状,分生孢子结构较多,分生孢子面灰绿色,反面橘黄色	分生孢子梗(140~700) μm×(4.8~11.0) μm,顶囊近球形,小者棒形,13~41 μm,产孢结构单层,分生孢子球形或近球形,4.2~6.0 μm

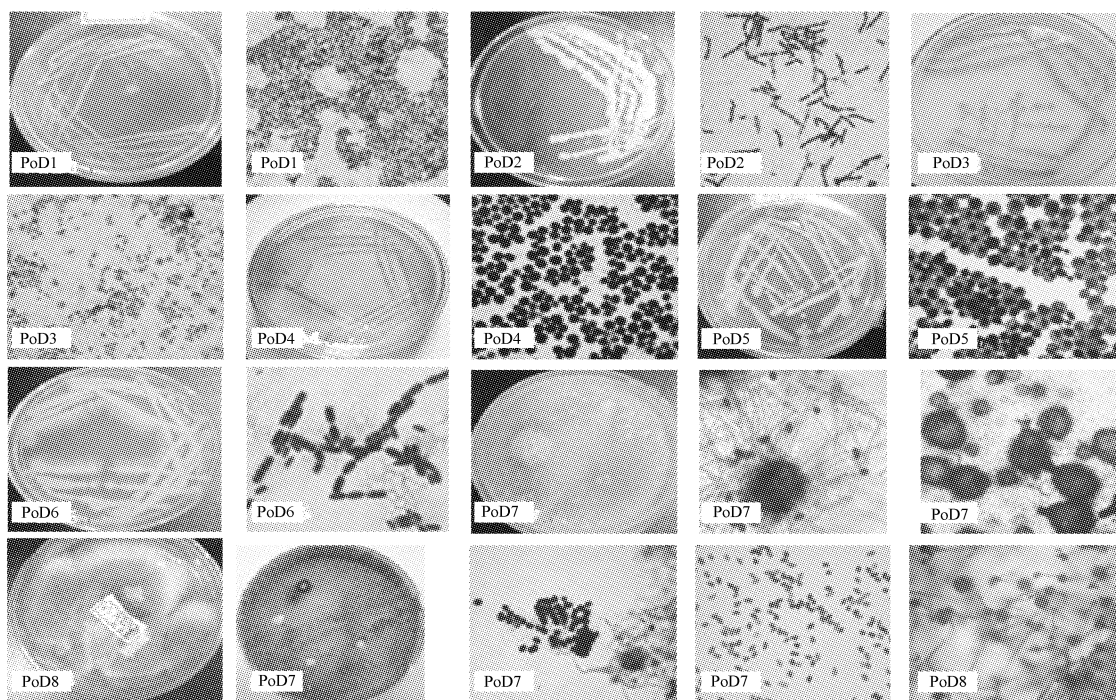


图 1 平菇培养基分离菌株的菌落及显微形态观察

Fig. 1 Colony and microscopic morphology of coexistence-microorganism from culture medium of *Pleurotus ostreatus*

2.2 污染菌对平菇菌丝生长的影响

分离菌株与平菇对峙接种试验结果表明, PoD7 和 PoD8 对平菇菌丝生长的抑制作用最明显, 接种 PoD8 的皿内几乎看不到平菇菌丝, 其抑制效果最明显, PoD7 仅在平菇的接种点看到有平菇菌丝; 其次是接种 PoD3 皿

中的平菇菌落相对较小; 再次是 PoD1、PoD2 和 PoD4 的平菇菌落小, 对菌丝有一定的抑制作用。接种 PoD5 和 PoD6 的平菇菌丝生长最快, 其菌落在所有处理中相对较大, 其中 PoD5 处理的平菇菌丝可在 PoD5 和 PoD6 菌落上生长, 二者对平菇菌丝生长的影响最小(图 2)。

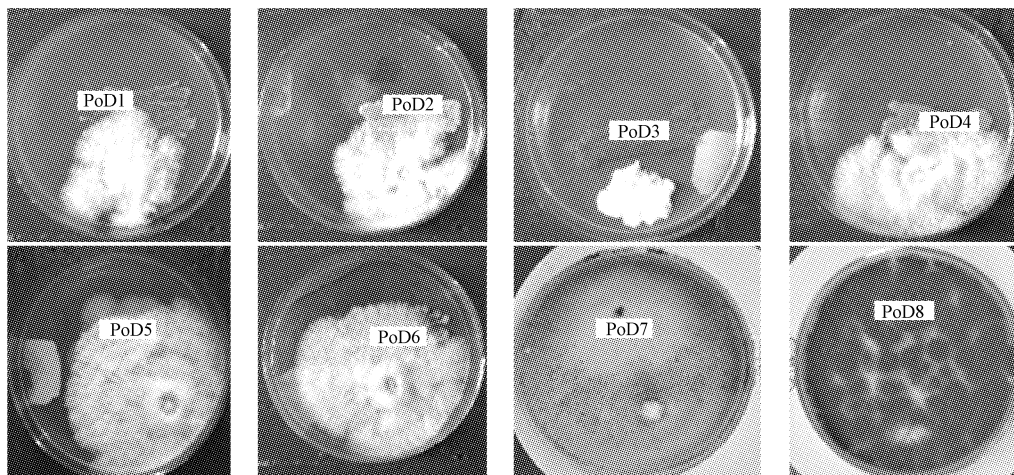


图 2 分离菌对平菇菌丝生长的影响

Fig. 2 Effect of separated strains on hypha growth of *Pleurorus ostreatus*

3 结论与讨论

该试验从平菇培养料中分离到 8 个菌株, 经形态初步鉴定, 分属黄色单胞菌属、枯草芽孢杆菌、假单胞菌属、红酵母菌属、裂殖酵母属、好食脉孢菌和灰绿曲霉。而徐耀波等^[4]报道的平菇培养料中分离到的菌主要为青霉属、曲霉属、木霉属、根霉属等, 这主要是因为所分离的材料不同, 该试验所用材料为正在出菇的培养料, 而徐耀波等^[4]用的是完全污染的培养料, 该试验中也分离到了曲霉属的灰绿曲霉, 并证实其对平菇生长有显著的抑制效果。该试验分离到了好食脉孢菌且对平菇生长具有明显的抑制效果, 这与吴小平等^[12]的报道一致。但从平菇的培养基中分离到黄色单胞菌属、枯草芽孢杆菌、假单胞菌属、红酵母属和裂殖酵母等的结果, 鲜见报道。这可能与所取材料和分离所用培养基有关。

污染菌对平菇菌丝生长的影响菌株间有明显差异, 霉菌的影响最大, 酵母的影响最小。该试验中分离到的细菌和酵母的种类相对较多, 但考虑平菇生长时培养基质中的营养成分和污染菌对平菇生长的效果, 其影响平菇生长的最主要的污染菌还是丝状真菌。由此看来, 平菇栽培过程中污染菌的防治重点应是丝状真菌。

参考文献

- [1] Del Toro G V, Vega R C, Garin-aguiar M E, et al. Biological quality of proteins from three strains of *Pleurotus* spp. [J]. Food Chemistry, 2006, 94 (4): 494-497.
- [2] 李玉中, 李星潘, 杨芳, 等. 稻草栽培平菇培养基配方的研究[J]. 衡阳师范学院学报, 2011, 32(3): 116-118.
- [3] 李小叶, 田兰英, 薛强, 等. 食用菌病害及其预防[J]. 食用菌, 1999 (1): 26-28.
- [4] 徐耀波, 谭小琴, 文成敬. 平菇培养料中的污染真菌调查[J]. 食用菌, 2005(5): 48-49.
- [5] 方中达. 植物研究方法[M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 1988: 25-30.
- [6] 周德庆. 微生物学实验教程[M]. 2 版. 北京: 高等教育出版社, 2006: 29-33.
- [7] 魏景超. 真菌鉴定手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1979.
- [8] 戴芳澜. 中国真菌总汇[M]. 北京: 科学出版社, 1979: 306.
- [9] 布坎南 R E, 吉本斯 N E. 伯杰细菌鉴定手册[M]. 8 版. 北京: 科学出版社, 1984.
- [10] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 2001: 142-246.
- [11] 赵庆新. 棉籽壳培养基组织培养平菇的研究[J]. 中国食用菌, 1998 (3): 29.
- [12] 吴小平, 彭建升, 谢宝贵, 等. 食用菌污染菌脉孢菌的生物防治[J]. 中国食用菌, 2009, 28(2): 51-53, 62.

Separation of Contaminating Microorganism from Culture Medium of *Pleurotus ostreatus* and Its Effect on Hypha Growth of *P. ostreatus*

LI Yu-zhong, WANG Tong, TENG Tao, WANG Fang-yu, HE Li-fang

(Department of Life Sciences, Hengyang Normal College, Hengyang, Hunan 421008)

植物生长调节剂对平菇菌丝生长的影响

李 辉, 张志强, 田 昊

(河北衡水学院 生命科学系, 河北 衡水 053000)

摘 要:以平菇为试材, 将其接种到添加了不同浓度的吲哚丁酸、 α -萘乙酸、赤霉素、三十烷醇、6-BA、催菇丰的 PDA 培养基上, 通过测量菌落半径来研究不同培养基对平菇菌丝生长速度的影响。结果表明: 植物生长调节剂对平菇菌丝的生长都有促进作用; 同一种植物生长调节剂在低浓度时, 其促进作用随植物生长调节剂浓度的增加而增强; 但当浓度增加到一定值后, 其促进作用随浓度的增加减弱; 若浓度进一步增加, 则促进作用又随浓度的增加而增强; 由此可见, 植物生长调节剂对真菌和植物的促进作用规律基本是一致的。

关键词:平菇; 植物生长调节剂; 浓度; 生长速度

中图分类号:S 646.1⁺4 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)23-0158-03

半个世纪以来, 植物生长调节剂的研究、生产及应用获得了迅速的发展^[1]。近年来, 植物生长调节剂被广泛应用于食用菌的科研和生产, 研究表明, 植物生长调节剂可以促进食用菌菌丝和子实体的生长, 但使用后是否具有促进作用以及效果是否明显, 还与生长调节剂的种类、使用浓度等因素有关^[2]。该试验选取具有代表性的 6 种植物生长调节剂: 吲哚丁酸、 α -萘乙酸、赤霉素、三十烷醇、6-BA、催菇丰进行平菇栽培试验, 以选取最有效的生长调节剂及最佳使用浓度, 并为平菇工厂化生产提供可靠的技术参数。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试菌种为“平菇 2026”; 供试培养基为 CPDA 培养基和 PDA 培养基。

第一作者简介:李辉(1984-), 女, 河北衡水人, 硕士研究生, 现主要从事微生物等研究工作。E-mail: lflihui@163.com.

收稿日期:2013-09-16

1.2 试验方法

1.2.1 菌种活化 将菌种接到 CPDA 培养基上进行活化, 25℃培养 10 d。

1.2.2 植物生长调节剂溶液的配制 吲哚丁酸、 α -萘乙酸、赤霉素、三十烷醇、6-BA 先用少量无水乙醇进行溶解, 再加双蒸水进行稀释; 催菇丰直接用双蒸水溶解。将配好的植物生长调节剂溶液放入冰箱, 备用。

1.2.3 培养基的制备 将植物生长调节剂加到灭过菌的 PDA 培养基中, 催菇丰浓度分别为 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 $\mu\text{g/mL}$; α -萘乙酸和赤霉素浓度分别为 1.0、3.0、5.0、7.0、9.0 $\mu\text{g/mL}$; 三十烷醇和 6-BA 浓度分别为 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 $\mu\text{g/mL}$; 吲哚乙酸浓度为 1.0、5.0、10.0、15.0、20.0 $\mu\text{g/mL}$ 。培养第 3 天, 开始测量记录菌落半径, 并计算其生长速度。菌丝的生长速度(mm/d) = 菌落半径(mm) / 菌丝生长天数(d)。

2 结果与分析

2.1 催菇丰对平菇菌丝生长的影响

从图 1 和图 2 可以看出, 低浓度的催菇丰对平菇菌

Abstract: Culture medium of *Pleurotus ostreatus* were collected from mushroom production plant in Hengyang area and took back to the laboratory to deal. The strains, separated from the medium, were purified and identified by colony and microscopic morphology. Then mycelium of each one separated strains and *P. ostreatus* were inoculated on the same PDA flat to study the effects of isolated strains on the growth of *P. ostreatus*. The results showed that eight strains, numbered PoD1~PoD8 were isolated and identified by morphology, PoD1, PoD2 and PoD3 were *Flavimonas* sp., *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas* sp. respectively; PoD4 and PoD5 were *Rhodolorula* spp., PoD6 was *Schizosaccharomyces* sp.; PoD7 and PoD8 were *Neurospora sitophila* and *Aspergillus glaucus* respectively. The results of confrontation inoculation showed that moulds had significant inhibition effect on the growth of *P. ostreatus*, then the bacteria had a certain inhibition effect, the last were yeasts.

Key words: *Pleurotus ostreatus*; culture medium; contaminating microorganism; separation