

四种食药真菌菌种扩繁培养基筛选

柳焕章, 卢月霞, 郑素月

(河北工程大学 农学院, 河北 邯郸 056038)

摘要:以灵芝、猴头、黄伞、真姬菇为供菌种,研究了8种母种培养基和8种原种(栽培种)培养基对4种食用菌菌丝生长速度和长势的影响。结果表明:母种培养基配方中,灵芝在PDA综合培养基中速长和长势较好,猴头为PDA培养基或PDA加富培养基,真姬菇为PDA加富培养基,黄伞为5号配方;原种(栽培种)培养基中,灵芝适宜的培养基为木屑合成培养基(栽培种培养基)或麦粒培养基(原种培养基),猴头和黄伞为木屑合成培养基,真姬菇为麦粒培养基。

关键词:灵芝;猴头;真姬菇;黄伞;培养基;筛选

中图分类号:S 646 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2014)17-0145-03

各种食用菌在野生状态下生长在特定的环境和基质中,在人工驯化和选育过程中其某些性状包括对营养基质的适应性也会发生变化。因此,在研究和应用某些食用菌种类或同一种类的不同品种时,依据其对营养

不同要求以及培养目的,选择各自适用的培养基才能达到预期的效果^[1]。菌种的扩大繁殖是开展对食用菌研究和应用各项工作的基础,菌种培养基的筛选是其中的关键步骤之一。目前有关各种食用菌菌种制作培养基的资料较多,但在某一地区针对当地特有资源条件,对某种食用菌或特定品种尤其新品种的菌种扩繁培养基的筛选报道较少。该试验针对冀中南地区资源特点,对灵芝、猴头、真姬菇、黄伞的母种、原种(栽培种)若干培养基配方进行试验,初步筛选出适合供试菌种的优良配方。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试菌种 灵芝(日本赤灵芝)、猴头(苏猴 19)、

第一作者简介:柳焕章(1963-),男,本科,副教授,现主要从事食用菌教学与科研工作。E-mail: huanzhangliu2008@163.com.

责任作者:郑素月(1969-),女,博士,教授,现主要从事食用菌新品种选育与菌种生产技术研究工作。E-mail: zhengsuyue@sina.com.

基金项目:河北省现代农业产业技术体系食用菌产业创新团队建设专项资助项目。

收稿日期:2014-05-04

[4] 陶明煊,王玮,王晓炜,等. 真姬菇营养成分生物活性物质分析及其多糖清除自由基活性研究[J]. 食品科学,2007,28(8):404-407.

[5] 石健林,林中麟,林雷通,等. 烟秆替代部分棉籽壳作培养基栽培真姬菇的效果[J]. 中国烟草学报,2011,17(2):59-62.

[6] 程继红,冯志勇,高君辉. 米糠添加量对真姬菇产量和品质的影响

[J]. 食用菌学报,2004,11(1):42-45.

[7] Fidanza M A, Sanford D L, Beyer D M, et al. Analysis of fresh mushroom compost[J]. Hort Technology, 2010, 20(2):449-453.

[8] 刘天翔,陈世昌,高玉千,等. 刺芹侧耳菌糠及其提取液对糙皮侧耳生长的影响[J]. 食用菌学报 2012, 19(1):47-50.

Comparative Study on Cultivation of *Hypsizygus marmoreus* with Corn Stover and Spent Mushroom Substrate

WENG Liang, ZHANG Ke, CHEN Yun, YIN Peng-yun

(Department of Food and Nutrition Engineering, Jiangsu Food and Pharmaceutical Professional Technology College, Huaian, Jiangsu 223003)

Abstract: Used *Hypsizygus marmoreus* as material, based on corn stover and spent mushroom substrate as culture substrate, and with cottenseed hull as contral; comparison of *Hypsizygus marmoreus* mycelium growth rate, output and nutrition fact in the composts with two different formulas were studied. The results showed that corn stover was better materials for *Hypsizygus marmoreus* than spent mushroom substrate, but with lower economic benefits than spent mushroom substrate. The output, fat content and polysaccharide content of *Hypsizygus marmoreus* based on corn stover and spent mushroom substrate was lower than contral absolutely with better economic benefits.

Keywords: corn stover; spent mushroom substrate; *Hypsizygus marmoreus*

真姬菇(纯白蟹味菇)、黄伞。猴头、黄伞由中国农业科学院提供;灵芝、真姬菇购自北京吉草园科技有限公司。

1.1.2 试验仪器 高压蒸汽灭菌器、超净工作台、恒温干燥箱、恒温培养箱、电磁炉、不锈钢锅、分装漏斗、系列打孔器、培养皿、试管和各种试剂等。

1.2 试验方法

1.2.1 母种培养基配方 PDA 培养基:马铃薯 20%、葡萄糖 2%、琼脂 2%、pH 自然^[2];PDA 加富培养基:马铃薯 20%、葡萄糖 2%、蛋白胨 1%、琼脂 2%、pH 自然;PDA 综合培养基:马铃薯 20%、葡萄糖 2%、蛋白胨 0.5%、磷酸二氢钾 0.2%、硫酸镁 0.15%、维生素 B₁ 0.001%、琼脂 2%、pH 自然;马铃薯 20%、葡萄糖 2%、蛋白胨 0.5%、酵母膏 0.1%、琼脂 2%、pH 自然^[2-3];马铃薯 20%、木屑 5%、葡萄糖 2%、磷酸二氢钾 0.2%、硫酸镁 0.1%、琼脂 2%、pH 自然^[2];马铃薯 20%、红糖 2%、酵母粉 0.2%、磷酸二氢钾 0.15%、硫酸镁 0.05%、琼脂 2%、pH 自然;MGYA 培养基:麦芽糖 2%、蛋白胨 0.1%、酵母膏 0.2%、琼脂 2%、pH 自然^[4];玉米粉 4%、麦芽糖 1%、葡萄糖 1%、琼脂 2%、pH 自然。

1.2.2 原种、栽培种培养基配方 谷粒培养基:谷粒 98%、蔗糖 1%、石膏粉 1%、pH 自然;麦粒培养基:麦粒 98%、蔗糖 1%、石膏粉 1%、pH 自然;通用木屑培养基:阔叶木屑 78%、麦麸 20%、蔗糖 1%、石膏粉 1%、料水比 1:(1.3~1.4)、pH 自然^[5];木屑合成培养基:阔叶木屑 98%、蔗糖 1%、尿素 0.4%、石膏粉 0.4%、碳酸钙 0.4%、磷酸二氢钾 0.2%、硫酸镁 0.05%、料水比 1:1.3、pH 自然;棉籽壳麦麸培养基:棉籽壳 90%、麦麸 8%、蔗糖 1%、石膏粉 1%、料水比 1:(1.2~1.3)、pH 自然^[6];棉籽壳合成培养基:棉籽壳 98%、蔗糖 1%、石膏粉 1%、另加尿素 0.1%、磷酸二氢钾 0.1%、硫酸镁 0.05%、料水比 1:(1.2~1.3)、pH 自然;玉米芯麦麸培养基:玉米芯 78%、麦麸 20%、蔗糖 1%、石膏粉 1%、料水比 1:(1.5~1.6)、pH 自然;树叶培养基:阔叶树叶 90%、麦麸 8%、蔗糖 1%、石膏粉 1%、料水比 1:(1.3~1.4)、pH 自然。

1.2.3 母种培养基制作与培养 母种 1~4 号、6~7 号培养基按常规方法配制、灭菌、倒平板;5 号培养基制作时,将木屑和去皮切块的马铃薯按比例放入盛水的锅中,煮沸 25 min,过滤取汁,补足水量,加入琼脂加热溶解后再加入其余成分溶解,分装灭菌倒平板;8 号培养基制作时,先用少量的冷水将玉米粉调成糊状倒入煮沸的水中,边倒边搅拌,煮沸 1 min 左右停火止沸,加入琼脂继续加热溶解后再加入其余成分溶解,分装灭菌倒平板。预先将 4 种供试母种菌丝平板活化后,用 6 mm 无菌打孔器沿菌落边缘内侧接连打孔,取菌饼接种到试验处理平板的中央,25℃ 恒温培养。

1.2.4 原种、栽培种培养基制作与培养 1 号和 2 号培养基制作时,先将谷粒和麦粒分别用清水浸泡 12 h 和 16 h,至籽粒吸足水分但未萌芽,捞出置锅中,加 2 倍量水,分别煮沸 10 min(谷粒)和 15 min(麦粒),然后按加水量的 2% 加入蔗糖,继续煮沸 5 min,熄火后放置 20 min

左右,从锅中捞出置于筛子或纱布中控出多余水分,最后将谷粒和麦粒分别放入较大的盆中散开,按比例加入石膏粉,拌匀后分装灭菌;3~7 号培养基的制作按常规方法进行。为了便于观测和减少试验误差,该试验采用大试管(25 mm×200 mm)为容器,分装各种培养基的高度(140 mm)和松紧度力求一致。高压蒸汽灭菌(121℃)1 h 备用。将 4 种供试食用菌菌种分别在 PDA 平板中央活化培养,选用菌落扩展均匀、菌丝生长良好一致的活化平板,用 8 mm 无菌打孔器沿菌落边缘内侧接连打孔 24 个以上,然后挑取菌饼接种到试管培养基表面的中央(注意同一菌种的试验处理试管要使用来自同一活化平板的菌饼),接种后 25℃ 恒温培养。各处理重复 3 次。

1.3 项目测定

母种培养后隔天观测记录菌落直径(十字法)和菌丝生长状态(浓密度、气生菌丝和色泽),直至长满平板;原种培养菌饼萌发后每隔 2 d 观测记录菌丝体吃料速度和生长状态,直至长满试管。

1.4 数据分析

采用 SPSS 统计分析软件进行单因子方差分析^[7]。

2 结果与分析

2.1 母种培养基试验结果

4 个供试菌种在 8 种平板培养基上的菌落平均生长速率(用最后 1 次观测每个处理的 3 个重复的平均直径与培养日数之比表示)和菌丝长势(浓密度、气生菌丝和色泽)见表 1。由表 1 可知,灵芝的 8 个配方中以配方 3 生长速率最高,显著高于其它各处理($P<0.05$),且长势最好。同样,猴头配方 1 和配方 2 差异不显著,二者显著高于其它处理($P<0.05$);真姬菇配方中,1、4、6、7 号培养基菌丝长速较快,显著高于其它几个处理,但从长势上看,2 号和 3 号培养基菌丝浓密、旺盛,综合考虑,2 号培养基对真姬菇最适;黄伞从菌丝长速来看,配方 5 号到 8 号生长速度差异不显著,与其余各组差异显著,但从菌丝长势来看,1、2、3 和 5 号培养基菌丝带有黄伞特有的黄色色素,而 4 号、6~8 号培养基没有黄色色素,综合黄伞菌丝长速和长势,5 号培养基为最适(图 1)。

表 1 供试种类在不同母种培养基上的平均生长速率和长势

Table 1 Growth rate and potential of mycelia in different mother culture medium

配方	种类							
	灵芝		猴头		真姬菇		黄伞	
1	7.94bc	+++	6.56a	+++++	6.50ab	++	5.46c	+++
2	9.31b	+++	6.63a	+++++	5.81c	+++++	4.23e	+++
3	10.80a	+++++	5.54b	+++	5.15e	+++++	5.17cd	+++
4	7.13cd	++	4.42c	++	6.54ab	++	4.88d	+
5	6.00d	+	5.50b	+++	6.04c	+	6.08b	+++++
6	8.06bc	+++	5.29b	++	6.62a	+++	6.29ab	++
7	7.06cd	++	2.22d	+	6.31ba	+++	6.46ab	++
8	6.71cd	+	2.83d	+	5.35d	+	6.62a	++

注:每个处理所对应的单元格中左侧的数据代表菌落的平均生长速率(mm/d),右侧的符号+、++、+++、+++++分别代表菌丝长势为较差、一般、较好、最好。

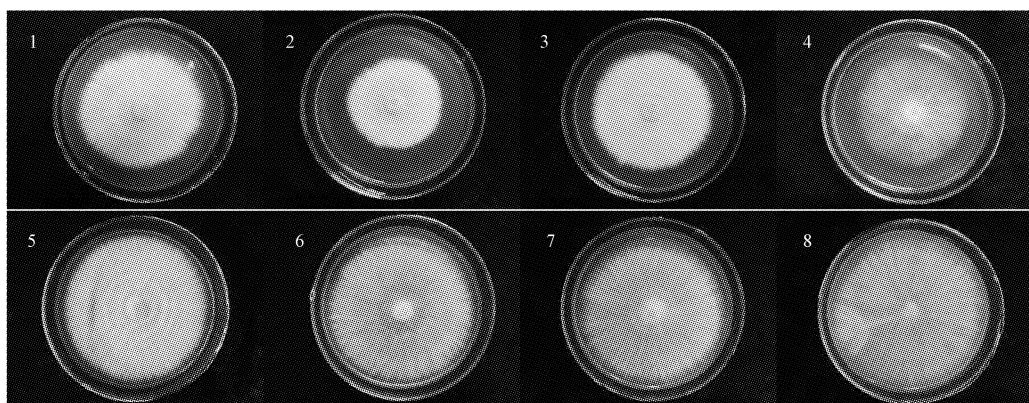


图1 不同培养基对黄伞菌丝生长的影响

Fig. 1 The influence of different culture mediums on the growth of *Pholiota adiposa*

2.2 原种(栽培种)培养基试验结果

4个供试菌种在8种原种、栽培种试管培养基上的平均生长速率(用每个处理3次重复的平均日生长距离表示)见表2。各处理生长势差异不明显,未列出。

表2 供试菌种在不同原种(栽培种)培养基中的平均生长速率

Table 2 Growth rate on different mother culture (original species) mediums

种类	配方							
	1	2	3	4	5	6	7	8
灵芝	4.08b	5.55a	3.99b	5.60a	3.18c	3.38c	3.19c	1.35d
猴头	2.45d	3.83b	3.76b	4.77a	3.31c	3.81b	2.59d	1.38e
真姬菇	1.53c	2.38a	1.22d	2.20b	1.18d	1.09d	1.28d	0.00e
黄伞	2.15ab	2.05bc	1.98c	2.26a	1.48d	1.49d	1.49d	0.00e

单因子方差分析结果表明,灵芝不同配方中,配方2和4差异不显著,与其余各组差异显著($P < 0.05$);猴头不同配方中,配方4表现较好,生长速度均显著高于其它配方($P < 0.05$);真姬菇配方2表现最好,与其它各组差异显著($P < 0.05$);黄伞不同配方中,综合长速和长势,以配方4表现最好。

3 结论

4个供试种类在8种母种培养基上的生长速率和长势存在一定差距,从菌丝长速及长势方面综合考虑,灵芝宜选用配方3号培养基,猴头宜选用1号或2号培养基,真姬菇宜选用2号培养基,黄伞宜选用5号培养基;4个供试菌种在8种原种(栽培种)培养基上的生长速率差异明显,综合菌丝长速和长势,灵芝宜选用4号(栽培种培养基)或2号(原种培养基)培养基,猴头和黄伞宜选用4号培养基,真姬菇宜选用2号培养基。

参考文献

- [1] 陈天寿. 微生物培养基的制造与应用[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995:1.
- [2] 陈士瑜, 陈惠. 食用菌栽培手册[M]. 北京: 科学技术文献出版社, 2003: 545.
- [3] 陈士瑜. 食用菌生产大全[M]. 北京: 农业出版社, 1988:63.
- [4] 王玉, 李政, 班立桐, 等. 猴头菇液体菌种培养基配方的研究[J]. 北方园艺, 2011(09):202-204.
- [5] 王贺祥. 食用菌栽培学[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2008:322.
- [6] 袁学军, 李艳丽, 陈永敢, 等. 野生灵芝菌种培养基筛选的研究[J]. 中国食用菌, 2012, 31(4):24-26.
- [7] 卢纹岱. SPSS 统计分析(4版)[M]. 北京: 电子工业出版社, 2010: 220.

Screening of Culture Medium of Four Different Edible-medicinal Fungi

LIU Huan-zhang, LU Yue-xia, ZHENG Su-yue

(College of Agriculture, Hebei University of Engineering, Handan, Hebei 056038)

Abstract: Used *Ganoderma lucidum*, *Hericiu m erinaceus*, *Hypsizygus marmoreus* and *Pholiota adiposa* as test materials, growth rate and potential of mycelia of four different edible-medicinal fungi were tested in eight different mother culture mediums and eight different original species (cultivated species) culture mediums respectively. The results showed that mycelium growth rate was very significant in the tested culture medium. In the mother culture medium, the PDA comprehensive medium was the best to *Ganoderma lucidum*, the PDA medium or PDA enrichment medium was the best to *Hericiu m erinaceus*, PDA enrichment medium was the best to *Hypsizygus marmoreus*, the formula 5 was the best to *Pholiota adiposa*. In the original species (cultivated species) culture medium, the formula 2 (original species culture medium) or 4 (cultivated species culture medium) were the best to *Ganoderma lucidum*, the formula 4 was the best to *Hericiu m erinaceus* and *Pholiota adiposa*, the formula 2 was the best to *Hypsizygus marmoreus*.

Keywords: *Ganoderma lucidum*; *Hericiu m erinaceus*; *Hypsizygus marmoreus*; *Pholiota adiposa*; culture medium; screening