

以椰子壳为主碳源的巨大口蘑原种培养基优化

马紫英¹, 夏 斌², 倪 焱¹, 魏要武¹, 聂 健¹, 莫美华¹

(1. 华南农业大学 食品学院, 广东 广州 510642; 2. 华南农业大学 科技处, 广东 广州 510642)

摘 要:以巨大口蘑为试材,采用均匀设计法优化原种培养基配方,用数理统计软件 DPS 对试验结果进行二次多项式逐步回归分析,系统研究了蔗渣、棉籽壳、椰子壳、麸皮、石灰、轻质碳酸钙、硫酸镁、磷酸二氢钾 8 种成分对巨大口蘑菌丝生长速度和高度的影响。结果表明:原种培养基最优配方为蔗渣 14.80%、棉籽壳 42.44%、椰子壳 35.80%、麸皮 3.60%、石灰 2.86%、轻质碳酸钙 0.20%、硫酸镁 0.20%、磷酸二氢钾 0.10%,在此条件下巨大口蘑生长速度为 1.32 cm/d,显著高于筛选试验中最优配方 3 的生长速度 0.36 cm/d。

关键词:椰子壳;巨大口蘑;培养基;均匀设计

中图分类号:S 646 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)13-0142-04

巨大口蘑属于担子菌亚门,层菌纲,伞菌目,口蘑科,口蘑属,又名洛巴伊口蘑、大白口蘑,商品名有金福菇(台湾)、洛巴口蘑(香港)、仁王占地(日本)等^[1],是一种野生珍稀食用菌。巨大口蘑菇体硕大,菌肉肥嫩,口感极佳,含有丰富的多糖、粗蛋白、粗纤维、矿质元素等,营养价值很高^[2],且有抗肿瘤、抗氧化、抑制高血压、抑制细菌、真菌、艾滋病毒、延缓衰老、提高机体免疫力等多种功效,是一种理想的保健食品^[3-8]。

巨大口蘑栽培料来源较为丰富,可以利用木屑、稻草、棉籽壳等,菌丝在棉籽壳、甘蔗渣等多种天然有机物培养料上生长良好,但是在木屑培养基上生长不良^[9]。在培养料中添加一定量的麦麸、米糠、玉米粉、黄豆粉可补充氮源和维生素。目前我国主要以棉籽壳和蔗渣为巨大口蘑的培养材料^[10-13],但是棉籽壳的产地主要在北方地区,售价在 1 000~3 000 元/t,运输到适合巨大口蘑生长的南方地区还需要很高的运输成本。再加上巨大口蘑为高温菇,喜高温高湿的环境,主产于热带地区,需要 20℃ 以上的气温才能出菇,子实体最适生长温度为 25~33℃,空气湿度为 85%~95%,即使在广州这样的亚热带地区也只能在 4~10 月期间出菇^[14-15]。而海南省属于海洋性热带季风气候,年平均温度在 22~26℃,

1 月份,大部分地区平均温度仍在 19℃ 以上;最热的 7 月平均温度在 28~32℃,全年气候条件均适合巨大口蘑的生长^[16]。椰子是海南的一个重要经济作物,种植面积约为 3.9 万 hm²,产量为 2.3 亿个,每年都会产生大量的废弃物,如加工过程中的副产物椰子水、椰衣、椰壳和椰子粕等^[17]。其中椰子壳含有大量的纤维素、木质素等物质,可以作为食用菌生长的碳素营养物质^[18]。曾经有人研究了用圆叶决明、菜籽皮、草坪草、金针菇菌渣等^[19-23]部分代替棉籽壳栽培巨大口蘑,获得了很好的效果。因此,该试验研究了椰子壳作为巨大口蘑原种培养料的可行性,以期发掘椰子壳利用的新途径,为巨大口蘑的栽培寻求新的培养料资源。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试巨大口蘑(*Tricholoma giganteum*)由华南农业大学食品学院实验室保藏。

PDA 培养基:去皮马铃薯 200 g,蔗糖 15 g,琼脂 18 g,水 1 000 mL,于 121℃、0.12 MPa 压力下灭菌 30 min。

1.2 试验方法

1.2.1 培养基制备 称取 200 g 马铃薯,洗净去皮切碎,加水约 1 000 mL 煮沸 0.5 h 或高压蒸煮 20 min,纱布过滤取汁,加入蔗糖 15 g,琼脂 18 g,充分溶解后调好 pH,最后定容到 1 L,趁热分装到三角瓶中,121℃ 高压蒸汽灭菌 30 min 左右后取出,冷却后贮存备用。

1.2.2 菌种活化扩大 在超净工作台上,将融化的 PDA 培养基倒入灭菌后的培养皿中,待培养基冷却凝固后,用接种钩挑取菌落前端的菌丝块,放于培养皿中间,密封后倒置于恒温培养箱中培养。待菌丝萌发后,重复以上步骤,传代培养 2~3 次即活化扩大完成。

1.2.3 原种培养基优化试验设计 选取蔗渣 X₁、棉籽

第一作者简介:马紫英(1988-),女,硕士研究生,研究方向为食用菌学。E-mail:ziyingss@163.com。

责任作者:莫美华(1966-),女,博士,副教授,硕士生导师,研究方向为食用真菌学。E-mail:mindymo@163.com。

基金项目:国家星火计划资助项目(2012GA780042,2013GA780040);广东省省部产学研资助项目(2012B091100302);广东省农业技术推广专项资助项目(201201138);广州市花都区产学研结合专项资助项目(HD13CXY-010)。

收稿日期:2014-03-19

壳 X_2 、椰子壳 X_3 、麸皮 X_4 、石灰 X_5 、轻质碳酸钙 X_6 、硫酸镁 X_7 、磷酸二氢钾 X_8 为参试因素,每个因素设 10 个水平(表 1)。采用 $U_{10}(10^8)$ 均匀设计表(表 2)安排原种培养基配方筛选试验方案(表 3)^[24]。

表 1 参试因子

基质	用量/g									
蔗渣 X_1	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90
棉籽壳 X_2	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90
椰子壳 X_3	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90
麸皮 X_4	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
石灰 X_5	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Ca_2CO_3 X_6	0	0.05	0.10	0.15	0.20	0.25	0.30	0.35	0.40	0.45
$MgSO_4$ X_7	0	0.05	0.10	0.15	0.20	0.25	0.30	0.35	0.40	0.45
KH_2PO_4 X_8	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9

1.2.4 原种培养基制备方法 按照表 2 试验方案中各因素含量称量蔗渣、棉籽壳、椰子壳、麸皮、石灰,混合,加水拌匀,使水分含量约为 60%~65%,培养料发酵 21 d,

表 2 $U_{10}(10^8)$ 均匀设计

配方	因素水平/g								
	蔗渣 X_1	棉籽壳 X_2	椰子壳 X_3	麸皮 X_4	石灰 X_5	Ca_2CO_3 X_6	$MgSO_4$ X_7	KH_2PO_4 X_8	
1	0	10	20	3	4	0.30	0.40	0.9	
2	10	30	50	7	9	0.10	0.30	0.8	
3	20	50	80	0	3	0.45	0.20	0.7	
4	30	70	0	4	8	0.25	0.10	0.6	
5	40	90	30	8	2	0.05	0	0.5	
6	50	0	60	1	7	0.40	0.45	0.4	
7	60	20	90	5	1	0.20	0.35	0.3	
8	70	40	10	9	6	0	0.25	0.2	
9	80	60	40	2	0	0.35	0.15	0.1	
10	90	80	70	6	5	0.15	0.05	0	

表 3 原种培养基优化结果

配方	各基质用量/g								不同培养时间 菌丝深度/cm		
	蔗渣 X_1	棉籽壳 X_2	椰子壳 X_3	麸皮 X_4	石灰 X_5	Ca_2CO_3 X_6	$MgSO_4$ X_7	KH_2PO_4 X_8	12 d	17 d	22 d
1	0	10	20	3	4	0.30	0.40	0.9	0	0	0
2	10	30	50	7	9	0.10	0.30	0.8	1.63	4.43	7.15
3	20	50	80	0	3	0.45	0.20	0.7	2.00	5.21	7.80
4	30	70	0	4	8	0.25	0.10	0.6	1.94	4.83	7.51
5	40	90	30	8	2	0.05	0	0.5	2.69	4.98	7.35
6	50	0	60	1	7	0.40	0.45	0.4	0	0	0
7	60	20	90	5	1	0.20	0.35	0.3	2.90	4.63	6.52
8	70	40	10	9	6	0	0.25	0.2	2.86	5.67	7.40
9	80	60	40	2	0	0.35	0.15	0.1	2.43	5.40	7.48
10	90	80	70	6	5	0.15	0.05	0	0	0	0

由表 4 可知,方程中各回归项的显著水平均小于 0.01,这说明蔗渣 X_1 与磷酸二氢钾 X_8 、棉籽壳 X_2 与硫酸镁 X_7 、棉籽壳 X_2 与磷酸二氢钾 X_8 、椰子壳 X_3 与石灰 X_5 、椰子壳 X_3 与磷酸二氢钾 X_8 、石灰 X_5 与硫酸镁 X_7 、轻质碳酸钙 X_6 与硫酸镁 X_7 、轻质碳酸钙 X_6 与磷酸二氢钾 X_8 的交互作用对菌丝生长速度的影响也很大,全部达到极显著水平。

每 5 d 要进行一次翻料以保证发酵均匀,并使含水量维持在 60%左右。发酵完毕后,再按表 2 试验方案中各因素含量称量轻质碳酸钙、硫酸镁、磷酸二氢钾,混合拌匀并保持水分含量约为 60%。将培养料装在相同规格的玻璃瓶里,用 8 层纱布和 2 层报纸封口,并用橡皮筋捆绑好。每个处理 3 次重复,于 121℃、0.12 MPa 下灭菌 2 h,隔天同样条件灭菌 2 h,重复 3 次。用内径为 12 mm 的打孔器在经扩大化的菌丝平板上打孔,将菌丝块接种于经灭菌冷却后的培养基中,封口,于 30℃ 恒温培养箱中培养。每 5 d 观察一次菌丝生长情况,测量菌丝生长深度,直到其中一个处理的菌丝长满瓶,停止测量。

1.3 数据分析

采用 DPS v 8.01 数理统计软件对 22 d 的结果进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 回归方程的建立

根据表 3 结果,采用 DPS 数理统计软件对 22 d 的结果进行统计分析,得到回归方程如下: $Y = -0.645316401 + 0.03871946289X_1X_8 + 0.6250312485X_2X_7 + 0.17253259558X_2X_8 - 0.006086017324X_3X_5 + 0.03603516039X_3X_8 + 0.11549320833X_5X_7 + 32.85893991X_6X_7 - 28.508061348X_6X_8$ 。对回归方程进行检验,得到相关系数检验值 $R=1.0000$,由此可知,菌丝生长速度与回归方程中试验因素的含量之间有着密切的相关性;其显著性检验值 $F=62499.9062509965$,显著水平 $P=0.0031<0.01$,故回归方程达到 0.01 极显著水平,说明方程可信度高。

由表 5 可知,样本观察值和拟合值的最大拟合误差仅为 0.0003,进一步说明回归方程能够拟合实际情况。

2.2 模拟统计寻优

通过对回归方程的模拟,可以得到以椰子壳为主要碳源的巨大口蘑原种培养基最优配方为蔗渣 14.80%、棉籽壳 42.44%、椰子壳 35.80%、麸皮 3.60%、石灰 2.86%、轻质碳酸钙 0.20%、硫酸镁 0.20%、磷酸二氢钾

表 4 各回归项检验结果

	偏相关	t 值	p 值	差异显著性
$r(y, X_1 X_8) =$	1.0000	791.1974	0.0001	* *
$r(y, X_2 X_7) =$	1.0000	6 505.2649	0.0001	* *
$r(y, X_2 X_8) =$	1.0000	4 267.9161	0.0001	* *
$r(y, X_3 X_5) =$	-1.0000	2 812.2544	0.0001	* *
$r(y, X_3 X_8) =$	1.0000	1 526.9761	0.0001	* *
$r(y, X_5 X_7) =$	1.0000	415.5932	0.0001	* *
$r(y, X_6 X_7) =$	1.0000	2 038.0460	0.0001	* *
$r(y, X_6 X_8) =$	-1.0000	4 306.3363	0.0001	* *

表 5 样本观察值与拟合值

样本	观察值	拟合值	拟合误差
1	0.0000	0.0000	-0.0000
2	7.1500	7.1502	-0.0002
3	7.8000	7.7998	0.0002
4	7.6930	7.6933	-0.0003
5	7.3500	7.3499	0.0001
6	0.0000	-0.0001	0.0001
7	6.5170	6.5173	-0.0003
8	7.4000	7.3997	0.0003
9	7.1380	7.1379	0.0001
10	0.0000	0.0000	-0.0000

0.10%，在此条件下巨大口蘑生长速度为 1.32 cm/d，显著高于筛选试验中最优配方 3 的生长速度 0.36 cm/d。

3 结论与讨论

采用均匀设计法进行巨大口蘑原种培养基优化，从回归方程中可以看出，菌丝生长速度与回归方程中试验因素的含量之间有着密切的相关性，均达到极显著的水平；蔗渣、棉籽壳、椰子壳、麸皮、石灰、轻质碳酸钙、硫酸镁、磷酸二氢钾之间的交互作用对菌丝生长速度的影响也很大，全部达到极显著水平。原种培养基最优配方为蔗渣 14.80%、棉籽壳 42.44%、椰子壳 35.80%、麸皮 3.60%、石灰 2.86%、轻质碳酸钙 0.20%、硫酸镁 0.20%、磷酸二氢钾 0.10%。

该试验主要以菌丝生长深度为评价依据，培养料所含水分是食用菌所需水分的重要来源，所以培养料的含水量对菌丝的生长速度影响较大。一般来说，培养料的适宜含水量为 60% 左右。在试验中应使各配方的含水量保持一致，在培养过程中注意控制空气的相对湿度。由于含水量和松紧度的一致性试验成功的关键之一，应该严格把握各配方培养料的含水量和松紧度的一致性。

从巨大口蘑原种最优培养基配方及比例可以看出，可以利用农副产品和工业下脚料的合理配比来加快菌丝的生长速度，不但可以变废为宝，改善生态环境，还可以为巨大口蘑菌种培养及其栽培的进一步研究提供科

学根据，同时，由于海南得天独厚的气候条件以及大量的栽培料来源，在海南地区推广栽培巨大口蘑是经济可行的。

参考文献

- [1] 黄年来. 适合热带地区栽培的珍稀菇——巨大口蘑[J]. 食用菌, 2001(5):12-13.
- [2] 王元忠, 汤洪敏, 虞泓, 等. 巨大口蘑子实体营养成分分析[J]. 食用菌学报, 2005, 12(2): 24-26.
- [3] Liu F, Ooi V E C, Xing L, et al. Antitumor mechanism of polysaccharide-protein complex from the culture filtrate of *Tricholoma lobayense*[J]. Mycosystema, 1999, 19(3): 396-400.
- [4] Mau J L, Lin H C, Song S F. Antioxidant properties of several specialty mushrooms[J]. Food Research International, 2002, 35(6): 519-526.
- [5] Hyoung Lee D, Ho Kim J, Sik Park J, et al. Isolation and characterization of a novel angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptide derived from the edible mushroom *Tricholoma giganteum* [J]. Peptides, 2004, 25(4): 621-627.
- [6] Wang H X, Ng T B. Purification of a novel low-molecular-mass laccase with HIV-1 reverse transcriptase inhibitory activity from the mushroom *Tricholoma giganteum*[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2004, 315(2): 450-454.
- [7] Guo Y, Wang H, Ng T B. Isolation of trichogin, an antifungal protein from fresh fruiting bodies of the edible mushroom *Tricholoma giganteum*[J]. Peptides, 2005, 26(4): 575-580.
- [8] 莫美华, 张倩勉. 巨大口蘑子实体抽提物抑菌活性研究[J]. 食品工业科技, 2009, 21(5): 151-153.
- [9] 刘雪琼, 邱华峰. 金福菇培养料配方比较试验[J]. 中国园艺文摘, 2010(11): 34.
- [10] 李志生. 巨大口蘑及其栽培技术[J]. 食用菌, 2007(4): 63-64.
- [11] 何志强, 岑延新. 金福菇夏季栽培技术[J]. 食用菌, 2009(4): 49.
- [12] 黄建春, 蒋其根, 陈珏. 大棚栽培金福菇技术[J]. 食用菌, 2010(5): 46-47.
- [13] 孙育红, 刘雪琼, 邱华峰. 林下栽培金福菇新技术[J]. 食用菌, 2012(5): 32-33.
- [14] 肖兴, 陈清乐, 陈春, 等. 培养条件对巨大口蘑菌丝生长的影响[J]. 食用菌学报, 2008, 15(3): 35-38.
- [15] 黎金锋, 覃培升. 野生巨大口蘑生物学特性研究[J]. 中国食用菌, 2008, 27(3): 43-45.
- [16] 唐少霞, 赵志忠, 毕华, 等. 海南岛气候资源特征及其开发利用[J]. 海南师范大学学报, 2008, 21(3): 343-346.
- [17] 郑侃, 梁栋, 张喜瑞. 椰子废弃物综合利用现状与分析[J]. 广东农业科学, 2013(5): 175-177.
- [18] 覃宝山, 覃勇荣. 新型培养料栽培食用菌研究的现状及展望[J]. 中国农学通报, 2010, 26(16): 223-228.
- [19] 罗涛, 江枝和, 翁伯琦. 不同用量圆叶决明栽培巨大口蘑对其产量与氨基酸含量的影响[J]. 中国生态农业学报, 2005, 13(3): 65-68.
- [20] 王元忠, 李涛, 罗颖坤. 用菜籽皮作培养料栽培巨大口蘑的研究[J]. 西部林业科学, 2006, 35(1): 87-89.
- [21] 劳有德, 韦文添, 岑志坚. 草坪草栽培金福菇高产技术[J]. 蔬菜, 2009(6): 12-13.
- [22] 毛小伟, 周建林. 金针菇菌糠栽培金福菇关键技术[J]. 食用菌, 2012(3): 46.
- [23] 韩建东, 宫志远, 任海霞. 利用金针菇工厂化生产的菌渣栽培洛伊大口蘑[J]. 食用菌学报, 2011, 18(3): 39-41.
- [24] 方开泰. 均匀设计与均匀设计表[M]. 北京: 科学出版社, 1994: 24.

补肾益寿胶囊药渣栽培杏鲍菇和姬菇的研究

刘达玉¹, 王慧超², 郑林用³, 谭永忠², 李宗堂⁴, 陈今朝²

(1. 成都大学 生物工程产业学院, 四川 成都 610106; 2. 长江师范学院 生命科学与技术学院, 重庆 408100;

3. 四川省农业科学院, 四川 成都 610066; 4. 成都裕珍菌业有限公司, 四川 成都 611733)

摘要:以补肾益寿胶囊药渣、棉籽壳为主要原料栽培杏鲍菇、姬菇,并测定了杏鲍菇、姬菇的主要成分,以期筛选最适栽培配方。结果表明:杏鲍菇最适栽培配方的质量百分数为53%药渣、30%棉籽壳、10%麦麸、3.2%玉米粉、1.8%过磷酸钙、1.5%石膏、0.5%尿素、2%石灰,生物学效率为59.64%,投入产出比为1:4.0;姬菇最适栽培配方的质量百分数为68%药渣、15%棉籽壳、10%麦麸、3.2%玉米粉、1.8%过磷酸钙、1.5%石膏、0.5%尿素、2%石灰,生物学效率为74.82%,投入产出比为1:3.7。杏鲍菇的主要成分为粗蛋白17.34%、粗脂肪1.52%、粗纤维8.15%、灰分5.36%;姬菇的主要成分为粗蛋白20.18%、粗脂肪1.05%、粗纤维8.36%、灰分5.23%。

关键词:杏鲍菇;姬菇;补肾益寿胶囊药渣;栽培;成分分析

中图分类号:S 646 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)13-0145-04

近年来,随着中药产业的发展,大量药渣被丢弃,既造成资源浪费,又污染了环境^[1]。为解决此问题,人们

以多种药渣为原料进行了食用菌的栽培研究^[1-6]。但利用补肾益寿胶囊药渣(成分详见参考文献[6])栽培杏鲍菇、姬菇的研究尚鲜见报道。杏鲍菇(*Pleurotus eryngii*)是一种个体硕大、口感极佳的优质食用菌^[5],具有抗癌、降血脂、润肠胃、美容的功效及增强人体免疫力的功能^[7]。姬菇(*Pleurotus cornucopiae*)是一种肉质幼嫩、细腻,味道鲜美的食用菌,倍受消费者青睐^[8]。杏鲍菇、姬菇一般采用棉籽壳、木屑、玉米芯、稻草、甘蔗渣、各种作物秸秆和工业废料等作为主要栽培原料^[9-10]。将补肾益寿胶囊药渣经摊晒干燥、粉碎后作为杏鲍菇、姬菇的栽

第一作者简介:刘达玉(1964-),男,硕士,教授,研究方向为食品与发酵。E-mail:liudy1014@163.com.

责任作者:陈今朝(1964-),男,硕士,教授,研究方向为菌物学与微生物发酵。E-mail:335092248@qq.com.

基金项目:成都市八大产业资助项目(成财教 2013265);重庆市自然科学基金资助项目(CSTC2012JJA80026);重庆市教委科技计划资助项目(KJ131306)。

收稿日期:2014-03-13

Optimization of Culture Medium for Second-Class Spawn of *Tricholoma giganteum* Using Coconut Shell as Main Carbon Source

MA Zi-ying¹, XIA Bin², NI Yan¹, WEI Yao-wu¹, NIE Jian¹, MO Mei-hua¹

(1. College of Food Science, South China Agriculture University, Guangzhou, Guangdong 510642; 2. Science and Technology Department, South China Agriculture University, Guangzhou, Guangdong 510642)

Abstract: Taking *Tricholoma giganteum* as cultivation material, uniform design method was used to optimize the formula of culture medium for second-class spawn, quadratic polynomial step regression analysis method was employed for analyzing the experiment results. Eight components of bagasse, cotton seed hull, coconut shell, bran, lime, light Calcium carbonate, MgSO₄, KH₂PO₄ were analyzed for the major characters including rate of mycelial growth and length of mycelial. The results showed that the optimum formula was bagasse 14.80%, cotton seed hull 42.44%, coconut shell 35.80%, bran 3.60%, lime 2.86%, light CaSO₄ 0.20%, MgSO₄ 0.20%, KH₂PO₄ 0.10%. Under this condition, the growth speed of *Tricholoma giganteum* was 1.32 cm/d and it was significantly faster than the growth speed of formula 3 (0.36 cm/d) in the screening experiments.

Key words: coconut shell; *Tricholoma giganteum*; culture medium; uniform design