

棕色蘑菇菌丝液体培养基的优化

陈帅君¹, 黄亮¹, 王玉¹, 班立桐¹, 孙茜²

(1. 天津农学院 农学与资源环境学院, 天津 300384; 2. 天津金三农农业科技开发有限公司, 天津 300385)

摘要:以棕色蘑菇 MC441 为试材, 从 5 种发酵培养基中选择出最适合棕色蘑菇菌丝生长的麸皮培养基作为初始发酵培养基, 并采用 $L_9(3^4)$ 正交实验对该培养基进行了优化, 为棕色蘑菇产业化应用提供参考依据。结果表明: 发酵培养基为麸皮 120 g/L、葡萄糖 15 g/L、蛋白胨 2.0 g/L。在最适条件下, 棕色蘑菇的菌丝量提高到 17.39 g/L。

关键词:棕色蘑菇; 液体菌种; 培养基优化; 菌丝干重

中图分类号:S 646.1⁺1 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2015)08-0150-03

棕色蘑菇 (*Agaricus brunnescens* Peck) 属担子菌纲 (Basidiomycotina) 伞菌目 (Agaricales) 蘑菇科 (Agaricaceae) 蘑菇属 (*Agaricus*)^[1], 是蘑菇中的珍稀类品种, 别名白蘑菇、洋菇, 俗称棕蘑, 也称波希美亚种, 是英国的代表种^[2]。

棕色蘑菇营养丰富、味道鲜美, 且具有良好的药用价值。棕色蘑菇子实体的氨基酸总量可达 22.08%, 尤其富含人体必需的谷氨酸及缬氨酸等, 享有“植物肉”之称^[3]。棕色蘑菇还含有丰富的铁、钾、钙等矿质元素。还含有硫氨酸、核黄素、烟酸、抗坏血酸等多种维生素及酶类。由于含有较高的不饱和脂肪酸, 故多食用蘑菇对降低血脂有明显作用, 用蘑菇罐头加工预煮液制成的药物对医治迁延性肝炎、慢性肝炎、肝肿大、早期肝硬化等均有显著疗效^[4]。

食用菌的营养菌丝与子实体含有相近的功效物质, 深层发酵可得大量菌丝体, 且周期短, 还能产生大量的多糖^[5], 便于工业化大生产和自动化控制, 亦可人为添加营养强化剂, 从中得到某种中间产物。现对棕色蘑菇液体发酵培养基进行了筛选及优化, 以期对棕色蘑菇进一步的产业化应用提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试菌种 供试棕色蘑菇 MC441, 保藏于天津农学院农业微生物实验室。

1.1.2 培养基 1) 斜面培养基(PDA): 马铃薯 200 g, 葡萄糖 20 g, 水 1 000 mL。2) 种子培养基: 马铃薯 200 g/L, 葡

萄糖 20 g/L, 蛋白胨 2 g/L, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 2 g/L, KH_2PO_4 1 g/L, 维生素 B1 0.01 g/L, pH 自然。3) 基础发酵培养基: PDA 培养基: 马铃薯 200 g/L, 葡萄糖 20 g/L。麦粒培养基: 麦粒 200 g/L, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 1.5 g/L, KH_2PO_4 1 g/L, 蛋白胨 2 g/L。草炭土培养基: 草炭土 600 g/L, 麦粒 100 g/L, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 1.5 g/L, KH_2PO_4 1 g/L, 蛋白胨 2 g/L, 葡萄糖 20 g/L。玉米粉培养基: 玉米粉 40 g/L, 葡萄糖 20 g/L, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 1 g/L, KH_2PO_4 1 g/L, 蛋白胨 1 g/L。麸皮培养基: 麸皮 100 g/L, 葡萄糖 20 g/L, 蛋白胨 2 g/L, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 1.5 g/L, KH_2PO_4 1 g/L, pH 自然。

1.2 试验方法

1.2.1 种子液的制备 将新鲜斜面菌种 (4℃ 保存^[6]) 切成小块, 每块 0.5 cm²。取 3~5 块接至种子培养基 (100 mL/250mL 三角瓶) 中, 每个瓶中接入 5 块。放置于摇床中, 25℃ 下 150 r/min 培养 5 d。

1.2.2 发酵培养 以 8%(v/v) 接种量将种子转接于新鲜的发酵培养基 (100 mL/250mL 三角瓶) 中, 25℃ 下 150 r/min 培养 7 d。培养基成分根据试验方案逐次改变。

1.2.3 最适培养基的正交实验设计 以麸皮、葡萄糖、蛋白胨为试验因素, 设计 $L_9(3^4)$ 正交实验 (表 1), 以菌丝体干重为指标, 每组 2 次重复。

表 1 碳、氮源正交实验设计

水平	因素		
	A 麸皮	B 葡萄糖	C 蛋白胨
1	80	15	1.5
2	100	20	2.0
3	120	25	2.5

1.3 项目测定

菌丝体干重采用细胞干重法^[7]测定: 取发酵液, 3 000 r/min 离心 15 min, 收集菌丝体, 并用蒸馏水洗涤 2 次后, 将菌丝体放在已干燥好的培养皿中, 置于 80℃ 下烘至恒重, 称量。

第一作者简介:陈帅君(1982-), 女, 硕士, 讲师, 现主要从事生物技术及相关工作。E-mail: chenshuaijun@163.com。

责任作者:班立桐(1972-), 男, 教授, 现主要从事食用菌栽培等研究工作。E-mail: banlitong@126.com。

基金项目:天津市科技支撑资助项目 (12ZCZDNC00200)。

收稿日期:2015-01-16

2 结果与分析

2.1 初始发酵培养基的确定

采用 5 种基础发酵培养基进行棕色蘑菇菌丝培养 7 d 后,所得菌丝量见表 2。

由表 2 可以看出,在相同培养条件下,不同培养基对棕色蘑菇的生长状况有一定的影响,其中草炭土培养基培养的棕色蘑菇的菌丝干重最多,可能是草炭土中含有较多适合于棕色蘑菇生长的微量元素。在实际操作过程中,草炭土培养基的制作比较繁琐,发酵结束后的菌丝球较之其它配方有土的颜色,且土质进入到菌丝球内会导致菌丝干重偏大,故采用菌丝生长较好的麸皮培养基进行下一步的优化。

表 2 不同培养基条件获得的棕色蘑菇菌丝干重

培养基类别	菌丝干重/(g·L ⁻¹)
PDA 培养基	2.21
麦粒培养基	3.16
草炭土培养基	4.98
玉米粉培养基	3.69
麸皮培养基	4.53

2.2 菌丝生长培养基的优化

由表 3 可知,极差值大小比较后 C>A>B,说明蛋白胨对棕色蘑菇生长影响最大,其次是麸皮和葡萄糖。并通过以上的分析,得出最优水平组合为 A₃B₁C₂。即培养基各组分:麸皮 120 g/L,葡萄糖 15 g/L,蛋白胨 2.0 g/L。

表 3 正交设计组合配方下的棕色蘑菇菌丝干重

因素	A 麸皮	B 葡萄糖	C 蛋白胨	菌丝干重 /(g·L ⁻¹)
1	1	1	1	8.13
2	1	2	2	8.70
3	1	3	3	8.90
4	2	1	2	9.71
5	2	2	3	5.73
6	2	3	1	6.34
7	3	1	3	7.84
8	3	2	1	9.02
9	3	3	2	9.13
T ₁	25.73	25.68	23.49	
T ₂	21.78	23.45	27.54	
T ₃	25.99	24.37	22.47	
X ₁	8.58	8.56	7.83	
X ₂	7.26	7.82	9.18	
X ₃	8.66	8.12	7.49	
R	1.40	0.74	1.69	

注: T_i 为各因素同一水平试验指标(菌丝干重)之和, X_i 为各因素同一水平试验指标的平均数, R 为各因素的极差。

由表 4 可知,所有的因素对棕色蘑菇的产量影响均不显著,说明各个处理之间没有差异,在实际生产中如需考虑节约原料成本,可选择低水平的配方组合。

表 4 正交实验设计方差分析

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	显著性
A	3.71	2	1.86	0.76	
B	0.84	2	0.42	0.17	
C	4.79	2	2.40	0.98	
误差	4.90	2	2.45		

2.3 菌丝最优培养基的验证试验

通过以上的分析,得出最优水平组合为 A₃B₁C₂,而

正交实验中并没有包括此组合,以该组合与正交表中的 A₂B₁C₂ 作比较试验。验证试验结果表明,组合 A₃B₁C₂ 培养基条件下棕色蘑菇的菌丝干重平均值达到 17.39 g/L,而组合 A₂B₁C₂ 培养基条件下棕色蘑菇的菌丝干重平均值为 10.12 g/L。可见,通过正交实验获得的优化培养基可较好的提高棕色蘑菇的菌丝量,为未优化前的 3.84 倍。

3 讨论与结论

棕色蘑菇是白色双孢蘑菇的野生品种,其菌盖为自然棕色,菌柄白色,肉质致密、紧实。与传统栽培的白色双孢蘑菇品种相比,其子实体的营养、口感和香味更接近于野生口蘑,该品种表面色泽浅棕色至深棕色,不会因褐变引起商品质量下降,又无需使用化学护色、漂白剂处理等,从而保证了食品的营养和安全^[2,8]。棕色蘑菇最大的优点在于可以作为鲜售产品投放市场,比双孢蘑菇更耐贮,一般可在冰箱中置放 7~10 d 不开伞、不变质,是一个很好的商业品种。且棕色蘑菇具有低温出菇的特性,这可解决目前我国中北部地区 12—3 月冬季蘑菇休眠、无鲜菇上市的问题,大大丰富了市场上蘑菇的种类,是值得推广的草腐生菌品种。

目前关于棕色蘑菇的研究较少,液体培养的研究目前仅有天津农学院农业微生物教研室涉及,前期研究^[9]中选用菜园土作为棕色蘑菇培养基的主要基质成分,在实际操作中先将菜园土用沸水溶解其中有效物质,然后过滤后加入到培养基质内,会有少量土质残存于培养基质中,在今后的发酵罐放大培养时有可能对发酵过程有不利影响。该试验通过菌丝体干重作为考察指标,得出最适棕色蘑菇生长的发酵培养基为麸皮 120 g/L,葡萄糖 15 g/L,蛋白胨 2.0 g/L, MgSO₄ · 7H₂O 1.5 g/L, KH₂PO₄ 1 g/L, pH 自然。通过培养基的优化,棕色蘑菇的产量可提高到 17.39 g/L,为未优化前的 3.84 倍。该试验获得的培养基配方具有配制简单,产菌丝量多的优点,可进行工厂化菌种生产的主要配方进行推广。

参考文献

- [1] 宋金佛,华秀红,林金盛,等. 棕色蘑菇主要特性及营养成分分析[J]. 食用菌学报,2007,14(2):86-90.
- [2] 章忠梅,董庆富,章钢明,等. 棕色蘑菇栽培特性研究[J]. 浙江农业科学,2007(3):285-287.
- [3] 杨红澎,班立桐,黄亮. 双孢蘑菇和棕色蘑菇氨基酸的对比分析[J]. 2013(5):84-86.
- [4] 林杰. 棕色蘑菇栽培技术[J]. 福建农业,2007(3):18.
- [5] Jia L E, Shunzhen H U, Mei X U. Optimisation of submerged culture conditions for the production of mycelial biomass and exopolysaccharide by *Pleurotus nebroidensis* [J]. Annals of Microbiology, 2007, 57(3):389-393.
- [6] Mary T, Friel, Aiden J. et al. Production of a liquid inoculum/spawn of *Agaricus bisporus*[J]. Biotechnology Letters, 2000, 22:351-354.
- [7] 蔺银鼎,马宏艳. 竹荪液体培养基基础优化配方筛选及培养基营养变化特性的研究[J]. 食用菌学报,2007(4):18-24.

DOI:10.11937/bfyy.201508040

喜马拉雅紫茉莉对干旱的生理生态响应

代松家¹, 魏晶晶¹, 兰小中²

(1. 西藏大学农牧学院, 西藏高原生态研究所, 西藏 林芝 860000;

2. 西藏大学农牧学院, 西南大学药用植物联合研发中心, 西藏 林芝 860000)

摘要:以喜马拉雅紫茉莉1年生成年苗为试材,采用盆栽试验和自然干燥的方法,研究了喜马拉雅紫茉莉对土壤干旱胁迫的生理生态响应过程。结果表明:随着干旱程度的加剧,喜马拉雅紫茉莉叶片相对含水量(LRWC)及叶绿素(Chl)含量在中轻度干旱胁迫下变化幅度不大,在土壤含水量为8.88%~9.58%(28 d)时,开始发生显著变化;脯氨酸和可溶性糖的含量随土壤相对含水量降低而增加;喜马拉雅紫茉莉通过SOD和POD的协同作用以清除体内氧自由基,达到适应和抵御干旱逆境的目的,并且POD活性作用大于SOD活性作用。喜马拉雅紫茉莉可通过渗透调节、抗氧化酶活性升高等途径增强对干旱环境的耐受性和适应性;喜马拉雅紫茉莉有较强的抗旱性,干旱胁迫28 d(土壤含水量10%左右)为耐受极限。

关键词:喜马拉雅紫茉莉;干旱胁迫;渗透调节;保护酶;膜脂质过氧化

中图分类号:S 685.16 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)08-0152-05

藏药“五根”之一喜马拉雅紫茉莉(*Mirabilis himalaica* (Edegw.) Heim.)藏文音译:哇智^[1],属双子叶植物纲紫

茉莉科(Nyctaginaceae)紫茉莉属(*Mirabilis*)植物喜马拉雅紫茉莉的干燥根^[2-3],产于西藏东部和四川西北部,印度有分布。多年生草本,高30~80 cm,茎粗壮、直立、多分枝,叶对生、卵状心形或卵状披针形,花紫色,果实椭圆形或卵形,黑色,长约5 mm,具棱,以根入药,生于海拔2 800~3 400 m的山坡草丛、荒地边或灌丛林地^[4]。喜马拉雅紫茉莉具有温肾、益肾滋补、生肌、利尿、排石等功效^[5-7],是藏药十五味儿茶丸、巴桑母酥油丸、二十五味鬼臼丸、热巴罗布膏等剂型的主要原料之一,资源紧

第一作者简介:代松家(1983-),男,硕士研究生,研究方向为高原(高山)植物生理生态。E-mail:daisongjia@163.com.

责任作者:兰小中(1973-),男,硕士,教授,研究方向为药用植物资源及药用植物生理与分子生物学。E-mail:lanxiaozhong@163.com.

基金项目:西藏自治区中藏药资源普查资助项目(20120716-540000)。

收稿日期:2014-11-10

[8] 华秀红,宋金佛,刘超.棕色蘑菇的栽培特性[J].中国食用菌,2008,27(1):25-26.

[9] 王玉,李政,黄亮,等.棕色蘑菇液体菌种培养基和培养条件的优化[J].中国酿造,2011(9):138-140.

The Optimization of Liquid Medium for Mycelium Culture of *Agaricus brunnescens*

CHEN Shuai-jun¹, HUANG Liang¹, WANG Yu¹, BAN Li-tong¹, SUN Qian²

(1. College of Agronomy and Resources Environmental, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300384; 2. Tianjin Jinsannong Agricultural Technology Development Co. Ltd., Tianjin 300385)

Abstract: Taking *Agaricus brunnescens* MC441 as test materials, the most suitable culture medium for *Agaricus brunnescens* to maximize mycelia growth as the initial fermentation medium has been chosen from five fermentation medium. L₉ (3⁴) orthogonal experiment was applied to optimize, to provide reference for *Agaricus brunnescens* commercial process. The results showed that determine the fermentation medium was: bran 120 g/L, glucose 15 g/L, peptone 2.0 g/L. The mycelial dry weight of *A. brunnescens* amounted to 17.39 g/L with the optimum condition.

Keywords: *Agaricus brunnescens*; liquid spawn; optimal medium; mycelial dry weight