

灵芝菌糠提取液对灵芝菌丝体生长的化感效应

马红梅, 樊 荣

(琼州学院 生物科学与技术学院, 海南 三亚 572022)

摘 要:以灵芝为试材,为探究灵芝菌糠提取液对灵芝菌丝体生长的影响,分别制备菌糠的水提取液和醇提取液,并将2种提取液分别配置成40%、60%、80%和100%4种体积百分比浓度后加入等量的马铃薯综合培养基中培养灵芝菌丝体,记录菌丝萌发天数、菌落直径与菌丝干重,并计算其化感效应值(RI)。结果表明:菌糠不同体积浓度的水提取液均对灵芝菌丝体有抑制作用,当浓度为60%时,菌落直径与对照比最短,菌丝干重最小,其化感效应值最大,分别为-0.156和-0.289;不同体积百分比浓度的菌糠醇提取液则对菌丝的生长均起促进作用,当浓度达到60%时,菌落直径与对照相比最大,菌丝干重最大,其化感效应值最大,分别为0.311和0.483。综合比较,菌糠水提取液能抑制灵芝菌丝体的生长,但抑制作用不强;菌糠醇提取液能促进灵芝菌丝的生长,且化感作用效果比水提取更强。

关键词:灵芝;菌糠;化感效应

中图分类号:S 567.3⁺1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)15-0136-04

灵芝(*Ganoderma lucidum*)属非褶菌目灵芝科灵芝属,又称灵芝草、神芝、芝草、仙草、瑞草,具备很高的药用价值,对增强人体免疫力、调节血糖、控制血压、辅助肿瘤放化疗、保肝护肝、促进睡眠等方面均具有显著疗效^[1]。医学证明赤灵芝、紫芝、云芝药用价值最高^[2]。在全国最大的原始森林长白山和海南自然保护区最适宜生长。但是由于多年来人类的过度采摘,野生灵芝的存量越来越少。20世纪70年代以来,人工栽培灵芝产业开始兴起。目前灵芝多采用农用下脚料进行菌丝培养后再进行覆土栽培。但灵芝覆土连续栽培后其产量会下降,病害加重,采取常规的管理也不能恢复灵芝的产量和品质,这种现象被称为灵芝的连作障碍^[3]。

连作障碍与化感作用是密切相关的一个概念,连作加重了化感物质在植物根际区的积聚,改变了土壤微环境,尤其是植物残体与病原微生物的代谢产物对植物有致毒作用,并连同植物根系分泌物分泌的自毒物质一起影响植株代谢,对植物生长造成很大的影响,最后导致化感作用的发生。化感作用指一种微生物或植物向周围环境中释放一些化学物质从而对自身和周围其它

有机体包括植物、微生物和动物的生长和发育的化学生态学现象^[4]。已有的研究表明,引起作物连作障碍的因素多与化感作用有关,既涉及作物的自毒作用^[5-6],又涉及根际环境中植物残体和病原微生物产生的毒素物质、土传病虫害以及土壤理化状况的改变等^[7]。灵芝虽没有作物的根,其栽培的基质却与作物的根有相似的作用,因此研究灵芝的连作与化感物质是否在其中的积聚很有必要。

该研究通过探究灵芝菌糠提取液对灵芝自身菌丝体的作用,了解灵芝与菌糠间的化感效应,为消除灵芝连作障碍、保持灵芝种植业持续稳定发展提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试菌株来自琼州学院实验室编号4-2灵芝。

栽培灵芝用过的菌糠配方为:椰糠77%、麸皮20%、蔗糖1%、石膏粉1%、过磷酸钙1%。

1.2 试验方法

1.2.1 菌糠水提取液的配制 取适量灵芝栽培过的菌糠,四分法将试样削减至8g,加水100mL,在80℃条件下浸泡140min,浸泡后用8层纱布过滤,加水定容至100mL。在水提取液中加入蒸馏水分别配制40%、60%、80%和100%4种浓度。

1.2.2 菌糠醇提取液的配制 取一定量的灵芝菌糠,用四分法将试样缩减至8g,加无水乙醇100mL,浸泡过

第一作者简介:马红梅(1976-),女,硕士,副教授,现主要从事应用微生物及食用菌等教学与科研工作。E-mail:mahongmei612@163.com.

基金项目:海南省自然科学基金资助项目(314082)。

收稿日期:2015-05-18

夜,将上清液旋转蒸发,回收乙醇再浸泡菌糠过夜,重复2次,得到菌糠醇提取物,在菌糠醇提取物中加入蒸馏水将之分别配制成40%、60%、80%和100% 4种浓度。

1.2.3 水提取液对灵芝菌丝长势的影响 将接种灵芝菌丝后的平板代倒置培养箱中培养,并每隔12 h观测菌丝生长状态,待菌丝萌发后,通过十字交叉法计算菌落最终的直径,并收集菌丝烘干后测其生物量。

1.2.4 醇提取液对灵芝菌丝长势的影响 将菌糠醇提取液培养基中接种灵芝菌丝后倒置培养箱中培养,每隔12 h观测菌丝生长状态,待菌丝萌发后,通过十字交叉法计算菌落最终的直径,并收集菌丝烘干后测其生物量。

1.2.5 菌糠提取液对灵芝菌丝生长的化感效应 把制好的4种不同浓度的水提取液(40%、60%、80%、100%)和醇提取液各取10 mL,分别加入到等量的马铃薯综合培养基中摇匀,制成4种不同浓度的培养基,接种活化的灵芝菌丝,倒置平板置于温度为28℃、湿度为76.5%培养箱中培养。每12 h观察菌丝的生长状况,记录菌丝的萌发时间;菌丝萌发后,每24 h观察菌丝生长,第10天后用十字交叉法测量菌落直径,每个浓度做3个重复取均值;菌丝停止生长后,用纱布滤出培养基保留菌丝并烘干,测量菌丝干重,以马铃薯综合培养基中不添加灵芝水提取液和醇提取液为对照(CK)。

1.3 数据分析

按照Williamson提供的方法计算化感作用大小-化感作用效应指数(Response Indices, RI)^[8],其中 C 和 T 分别代表对照值和处理值。

$$RI = \begin{cases} 1 - C/T, & T \geq C; \\ T/C - 1, & T < C. \end{cases}$$

当 $RI > 0$ 时表现为促进作用, $RI < 0$ 时为抑制作用, RI 绝对值等于作用强度。采用WPS表格对数据进行作图分析。

2 结果与分析

2.1 水提取液对灵芝菌丝长势的影响

由表1可知,水提取液的处理组中菌丝的萌发天数在3.0~3.5 d,而对照组菌丝萌发时间为2.5 d,不同体积分数的灵芝水提取液菌丝的萌发速度都比对照快,平

表3

菌糠提取液对灵芝菌丝生长的化感效应

Table 3 Allelopathy of extract of residue on mycelium growth of *Ganoderma lucidum*

浓度 Concentration/%	水提取液 Water extracts		醇提取液 Anhydrous alcohol extracts	
	菌落直径 RI	菌丝干重 RI	菌落直径 RI	菌丝干重 RI
	RI of colony diameter	RI of dry weight of mycelium	RI of colony diameter	RI of dry weight of mycelium
0(CK)	0	0	0	0
40	-0.100	-0.173	0.279	0.444
60	-0.156	-0.289	0.311	0.483
80	-0.100	-0.192	0.244	0.318
100	-0.067	-0.115	0.279	0.464

均比对照快0.8 d,可见水提液能促使菌丝提前萌发,但水提液培养的灵芝菌落最终直径却都比对照小,与对照相比,当浓度体积分数为60%时,菌落直径仅有7.6 cm,比对照小1.4 cm,平均直径比对照约小1.0 cm;菌丝干重分布在0.37~0.46 g,平均干重小于对照组菌丝干重,当浓度体积分数为60%时,菌丝的干重最小,从菌丝长势可知,菌丝在此浓度下,不仅长势慢,菌落也比较薄。

表1 水提取液对灵芝菌丝生长的影响

Table 1 Influence of water extracts of residue to mycelium growth of *Ganoderma lucidum*

浓度 Concentration/%	萌发天数 Germination day/d	菌落直径 Colony diameter/cm	菌丝干重 Dry weight of mycelium/g
0(CK)	2.5	9.0	0.52
40	3.0	8.1	0.43
60	3.5	7.6	0.37
80	3.5	8.1	0.42
100	3.5	8.4	0.46

2.2 醇提取液对灵芝菌丝长势的影响

由表2可知,加入醇提液的一组中萌发时间均为4 d,作为对照只加入无水乙醇的萌发时间为8 d。可见加入醇提取液后萌发时间明显快于对照组。在无水乙醇提取液一组中,所测得菌落直径大小在4.1~4.5 cm,而只加入无水乙醇的对照中菌落的直径仅3.1 cm。由此可见醇提取液促进了菌丝的生长,当浓度为60%时,菌落直径达到4.5 cm,当浓度为40%和100%时,菌落直径为4.3 cm;在醇提取液中菌丝干重分布在0.22~0.29 g,菌丝干重均大于对照组,当浓度达到80%时菌丝干重与对照组相差最小。

表2 醇提取液对灵芝菌丝生长的影响

Table 2 Influence of anhydrous alcohol extracts of resident to mycelium growth of *Ganoderma lucidum*

浓度 Concentration/%	萌发天数 Germination day/d	菌落直径 Colony diameter/cm	菌丝干重 Dry weight of mycelium/g
0(CK)	8	3.1	0.15
40	4	4.3	0.27
60	4	4.5	0.29
80	4	4.1	0.22
100	4	4.3	0.28

2.3 菌糠提取液对灵芝菌丝生长的化感效应

由表3可知,不同浓度的水提取液对灵芝菌丝的化

感作用指数为负值,表现为抑制作用,菌落直径与菌丝干重呈正相关,当浓度达到 60%时,对菌丝的长势化感效应强度为-0.156,表明该浓度下菌丝的生长速度最慢,对菌落厚度的化感效应强度为-0.289,表明菌落最薄;不同浓度的醇提取液对灵芝菌丝化感作用指数为正值,表现为促进作用,其作用强度大于水提液的抑制强度。当浓度达到 60%时,对菌丝的长势化感效应强度为 0.311,表明该浓度下菌丝的生长速度最快,对菌落的厚度的化感效应强度为 0.483,表明菌落最厚。

3 结论与讨论

灵芝菌糠是灵芝菌丝培养和栽培的基质,是菌类培养料在培养菌丝和子实体之后遗留下来的废渣料,其中不仅含有较多的纤维素、半纤维素和木质素类物质,而且还含有丰富的菌丝残体蛋白、脂肪、氨基酸、矿物质以及菌丝体的次生代谢产物^[9]。菌糠中含有的大量化感物质会促进或抑制以其为栽培料的食用菌菌丝体和子实体的生长和发育^[10]。且菌糠对不同食用菌的化感作用在表现与作用程度上也各不相同。

已有的食用菌菌糠研究多集中在一种食用菌菌糠对其它食用菌菌丝的作用^[11-12],而对栽培菌自身的影响不多见,这可能与研究的菌以袋栽为主有关。食用菌栽培从栽培形式来分,可分为袋栽和覆土棚栽,袋栽不涉及连作的问题,因此研究者更多关注的是菌糠的再利用问题,而食用菌覆土栽培与一般作物的栽培有很相似的连作障碍的问题,灵芝袋栽的产量很低,普遍采用覆土栽培,但其连作障碍的现象比一般的作物更严重。引起灵芝连作障碍的原因大致有几个方面:①灵芝栽培料后的菌糠中的有效成分对灵芝的化感效应,②灵芝菌丝体生长阶段菌丝的自毒作用,③灵芝子实体对灵芝菌体的自毒作用,④灵芝栽培土壤中的微生物种群的变化引起的连作障碍^[13],灵芝的自毒作用另有文章报导,该研究仅探讨了灵芝栽培后的菌糠对灵芝生长的影响。

该研究结果表明,灵芝菌糠的不同提取液对灵芝的影响不一样,灵芝栽培菌糠水提取液对灵芝菌丝体有抑制作用,这与张国广等^[14]的研究结果一致,当浓度为

60%时抑制作用最大,这很可能是培养灵芝的栽培基质中含有灵芝菌丝生长的次生代谢产物亦或基质被菌丝利用过程中产生的降解物,这些物质又会释放至栽培的土壤中,进而对灵芝的连作产生影响;研究结果还表明,菌糠的醇提取液对灵芝菌丝体的生长有促进作用,当浓度为 60%时促进作用最大,利用其可促进灵芝菌丝生长作用达到改良菌糠的目的,以促进灵芝的增产并倡导菌糠的再利用。

参考文献

- [1] 卯晓兰. 我国常见食用菌药用菌名称[J]. 中国食用菌, 2002, 21(4): 25-26.
- [2] 应建浙,卯晓兰,马启明,等. 中国药用真菌图鉴[M]. 北京:北京科学出版社,1987.
- [3] 马红梅. 灵芝连作障碍的土壤微生态研究[J]. 山东农业大学学报(自然科学版), 2013, 44(4): 539-542.
- [4] ARTINEIR TOLEDO M V. Root exudates of zeas ways and production of auxins, gibberellins and cytokinins by azotobacter chroococcum[J]. Plant and Soil, 1990, 110: 149-152.
- [5] SINGH H P, BATISH D R, KOHLI R K. Autotoxicity: Concept, organisms and ecological significance[J]. Crit Rev Plant Sci, 1999, 18(6): 757-772.
- [6] YOUNG C C. Autointoxication in root exudates of *Asparagus officinalis* L[J]. Plant and Soil, 1984, 82: 247-253.
- [7] YU J Q, DU Y S. Soil-sickness problem in the sustainable development for the protected production of vegetables[J]. Journal of Shenyang Agricultural University, 2000, 31(1): 124-126.
- [8] WILLIAMSON G B. Bioassays for allelopathy measuring treatment responses with independent control[J]. Journal of Chemical Ecology, 1988, 14(1): 181-187.
- [9] 李俐俐,刘天学. 平菇菌糠提取液对 5 种食用菌菌丝生长的影响[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(2): 430-432.
- [10] 赵桂云,马怀良. 平菇菌糠提取液对 4 种食用菌菌丝生长的影响[J]. 北方园艺, 2010(22): 170-171.
- [11] 龚振杰,赵桂云. 木耳菌糠袋栽平菇技术[J]. 北方园艺, 2009(3): 214-215.
- [12] 梁明勤,海建平,陈世昌,等. 杏鲍菇菌糠对鸡腿菇菌丝生长和产量的影响[J]. 河南农业科学, 2012, 41(10): 118-121.
- [13] 马红梅,李小兵,符浩,等. 灵芝连作障碍的土壤微生物种群特性及其生物防治初探[J]. 河南农业科学, 2014, 43(3): 53-58.
- [14] 张国广,王丽霞,占凌云,等. 杏鲍菇菌糠提取液对 4 种食用菌菌丝生长影响[J]. 中国食用菌, 2009, 28(5): 19-20, 23.

Allelopathy of Extract of Residue of *Ganoderma lucidum* on Hyphal Growth of *Ganoderma lucidum*

MA Hongmei, FAN Rong

(College of Bioscience and Technology, Qiongzhou College, Sanya, Hainan 572022)

Abstract: Taking *Ganoderma lucidum* as test material, in order to study the response indices of residue of *Ganoderma lucidum* on *ganoderma lucidum* mycelium themselves, two kinds of extraction of water and anhydrous alcohol of four

不同配比苹果果渣栽培秀珍菇试验

杜 萍¹, 刘海荣², 郭金玲², 杨晓华²

(1. 黑龙江农业经济职业学院, 黑龙江 牡丹江 157041; 2. 黑龙江省农业科学院 牡丹江分院, 黑龙江 牡丹江 157041)

摘 要:以秀珍菇为试材, 采用不同比例的苹果果渣替代木屑, 以熟料袋栽方式进行秀珍菇栽培试验。对不同配方的菌丝生长速度、生物学效率、投入产出比和经济效益等指标进行统计分析。结果表明: 若将各配方污染菌包成本包含在内, 以总产量为评价指标, 则配方 G3(苹果果渣 60%、木屑 20%、麦麸 18%、石膏 1%、石灰 2.5%、料水比 1:1.9) 的净利润和投入产出比(1:2.37)最高, 栽培成本比对照(G0)降低 17.93%, 经济效益提高 7.40%; 若不考虑污染菌包的成本, 以单袋产量为评价指标, 则配方 G3 的生物学效率最高(76.27%)、栽培成本比全木屑降低 39%以上, 经济效益比对照提高 3.37%; 综合评价, 配方 G3 为苹果渣栽培秀珍菇的最适配方, 其替代木屑的最大用量为 60%。

关键词:苹果果渣; 秀珍菇; 生物学效率; 投入产出比; 经济效益

中图分类号:S 646 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)15-0139-04

秀珍菇(*Pleurotus geesteranus*)在分类学上隶属于担子菌门(Basidiomycota)、层菌纲(Hymenomycetes)、伞菌目(Agaricales)、侧耳科(Pleurotaceae)、侧耳属(*Pleurotus*), 又称环柄侧耳、白环柄侧耳, 是凤尾菇的未成熟子实体。是近几年国际市场上新开发的一种营养价值极高的珍稀食用菌^[1]。秀珍菇肉质脆嫩、纤维含量少, 口感极佳, 不仅营养丰富, 而且味道鲜美, 深受消费者青睐。

目前, 我国的苹果产销量已跃居世界第一位, 苹果加工业的发展方兴未艾^[2]。然而, 苹果压制成汁的过程中产生大量的果渣, 主要有果浆、果核、果皮等, 加之生产季节集中, 现在还没有得到很好的利用, 造成饲料资

源的巨大浪费和严重的环境污染。一般每加工 1 000 kg 苹果, 可产生鲜果渣 400~500 kg, 烘干可得 120~135 kg 干果渣^[3]。近年来, 随着食用菌栽培品种的增加和栽培规模的不断扩大, 加之封山育林政策的开展, 木腐型食用菌栽培原料短缺现象日趋严重。该研究利用苹果果渣对秀珍菇进行了栽培试验, 以探讨用苹果渣替代木屑栽培秀珍菇的可行性, 并确定其添加的最适用量。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验所用秀珍菇母种于 2011 年引自华中农业大学食用菌研究所。

原种培养基配方: 麦粒 98%, 石膏 1%, 碳酸钙 1%, 含水量 60%, pH 自然。接种后于 25℃恒温培养 25 d 左右。

1.2 试验方法

试验从 2013 年 3 月 9 日至 8 月 29 日在黑龙江农业

第一作者简介:杜萍(1982-), 女, 博士, 副教授, 现主要从事食药菌栽培育种及遗传多样性等研究工作。E-mail:duping7374@163.com

收稿日期:2015-05-18

different gradient volume percentage concentrations of 40%, 60%, 80% and 100% were prepared respectively and joined in PDA media to culture *Ganoderma lucidum* mycelia. Response indices (RI) were calculated by doing statistical analysis. The results showed that water extract of residue inhibited the hyphal growth of *Ganoderma lucidum*. Colony diameters of different concentration treatments were shorter and the dry biomass were lighter than controls. The RIs on the diameters and biomass were -0.159 and -0.289 respectively with the 60% treatment of water extract. It was also found that anhydrous ethanol extracts with different concentration treatments of residue of *Ganoderma lucidum* promoted the hyphal growth of *Ganoderma lucidum*. The RIs on the diameters and biomass were 0.311 and 0.483, respectively with the 60% treatment of anhydrous ethanol extract. It was concluded that the inhibitory effect of water extracts of residue of *Ganoderma lucidum* was weak, however, the promotion effect of anhydrous ethanol extracts was stronger and RIs were higher than the corresponding treatments of water extract.

Keywords: *Ganoderma lucidum*; resident of *Ganoderma lucidum*; allelopathy