

DOI:10.11937/bfyy.201518043

## 甘肃甘南高海拔地区侧耳属 菌株生产性能评价 II

王 龙, 秦 鹏, 赵 玉 卉, 郭 瑞

(甘肃省科学院 生物研究所, 甘肃 兰州 730000)

**摘 要:**以 5 个不同侧耳属菌株为研究对象,在其试管菌丝生长阶段,采用不同高低温处理培养,以期培养出耐高温、耐干燥的优良菌种,同时对比分析了同一菌株不同型在甘肃甘南高海拔地区的生产性能。结果表明:5 个不同侧耳属菌株(PG 型)在菌丝体生长阶段短时间内均能忍受 50℃ 左右的高温,经恢复生长后的 PGS 型菌株菌丝(变温培养后)较 PG 型菌株生命力更加旺盛;在当地高温栽培季节(每年 7—8 月),PGS 型菌株显示出了较强的耐高温和抗干燥的能力,其现蕾期和采收期较 PG 型菌株均至少提前 3 d,且子实体朵型紧凑,叶片肥厚,韧性较强;PGS 型菌株生物转化率比 PG 型菌株至少高出 5% 左右。

**关键词:**甘肃;高海拔地区;侧耳属;生产性能

**中图分类号:**S 646(242) **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)18-0162-04

食用菌的品种选育是依据其遗传原理并通过自然选种、杂交育种和诱变育种等方法改变其遗传物质,进

**第一作者简介:**王龙(1981-),男,甘肃兰州人,博士,助理研究员,现主要从事食用菌资源利用与开发等研究工作。E-mail: wanglong-0106@163.com.

**责任作者:**赵玉卉(1982-),女,甘肃武威人,硕士,助理研究员,现主要从事食用菌等研究工作。E-mail: yuhuizhao51@163.com.

**基金项目:**甘肃省科学院应用研究与开发资助项目(2012JK-04)。

**收稿日期:**2015-05-26

而培育出新品种的过程<sup>[1]</sup>。自然选种是获得食用菌优良菌种较为简单且有效的方法之一。因为在自然界中,由于环境条件的不同,食用菌菌种的生长发育也随之改变,其生长特性必然趋向于为适应当地生态地理条件的新品种<sup>[2]</sup>。同时,食用菌作为以收获子实体为主的高等真菌,其形态特征、培养特性、农艺性状等是其品系特性信息库的基础,也是菌种真实性检验、菌种纯度和菌种质量的关键指标<sup>[3]</sup>。该试验在甘肃甘南高海拔地区,以 5 种不同侧耳属菌株为试验对象,对其试管菌丝生长

### Optimization of Liquid Culture Mediums of *Auricularia auricular* Strain Collected From Qinba Mountains by Response Surface Methodology

QIAN Xueting<sup>1</sup>, CHEN Wenqiang<sup>1,2</sup>, DENG Baiwan<sup>1,2</sup>, PENG Hao<sup>1,2</sup>, XIE Xiuchao<sup>1,2</sup>, CHEN Yan<sup>1</sup>

(1. School of Biological Science and Engineering, Shaanxi University of Technology, Hanzhong, Shaanxi 723000; 2. Shaanxi Engineering Research Center of Edible and Medicated Fungi, Hanzhong, Shaanxi 723001)

**Abstract:** Taking *Auricularia auricular* 'Shennong A8' collected from Qinba Mountains as materials, on the base of single factor experiments, the liquid culture medium of *Auricularia auricular* strain was optimized by Box-Behnken design. The results showed that the best carbon source was glucose and the best nitrogen source was beef powder, and the concentration of glucose, beef powder and  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  were the influential parameters on the mycelial biomass. And the best liquid culture medium was achieved and listed as follows: 2.16% glucose, 0.48% beef powder, 15% potato, 0.33%  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0.1%  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ . Under the optimal conditions, the mycelial biomass of *Auricularia auricular* was 11.37 g/L, compared with the theoretical value 11.11 g/L, the relative error was 2.34%. So the response surface method is effective and feasible for the optimization of liquid culture mediums of *Auricularia auricular* strain.

**Keywords:** *Auricularia auricular*; mycelial biomass; culture mediums; Box-Behnken design

阶段,采用不同高低温处理进行培养,以期培养和筛选出耐高温,耐干燥的优良菌种,以提高菌种的菌丝体生长阶段适应当地(甘肃甘南藏族自治州合作市)气候温差大等特殊条件的耐力。此外,为了检验筛选耐温优势新菌种的可靠性,用同一出发母株作对照比较,进行两两配对并进行生产性能评价,现将试验结果报道如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验地概况

甘肃甘南藏族自治州合作市地处青藏高原的东南端,甘肃、青海、四川省的交界处,位于东经 100°44'45"~104°45'30",北纬 33°06'30"~35°32'35"。全市总面积 267 0 km<sup>2</sup>,其中草场面积 164 5 km<sup>2</sup>,耕地面积 102 km<sup>2</sup>,林地面积 133 km<sup>2</sup>,城区面积 11.4 km<sup>2</sup>。该地区属高寒湿润类型,冷季长,暖季短,年均气温-0.5~3.5℃,极端最高气温 38℃,极端最低气温-23℃。年均降水量 545 mm,集中于每年 7—9 月。合作地区平均无霜期 48 d,主要自然灾害为霜冻、寒潮、强降温、大雪、冰雹和秋季洪涝等。全年日照充足,太阳能利用率高。地表径流深 200~350 mm,年蒸发量 1 222 mm<sup>[4-5]</sup>。

### 1.2 试验材料

供试菌株“江都 109 号”、“杂优号”引自四川省农业科学院;“杂交 17 号”、“抗 1 号”引自山东莱阳食用菌研究所;“园林 802 号”引自华中农业大学。上述菌种现均保藏在甘肃省科学院生物研究所食用菌技术开发研究室。5 种不同菌种栽培种植后,经子实体组织分离再培养并分别依次编号(表 1)。

一级种培养基:马铃薯 200.0 g,葡萄糖 20.0 g,琼脂 20.0 g,麦粒汁 1 000.0 mL。二级种培养基:麦粒 95.5%,石膏 2.0%,糖 1.0%,MgSO<sub>4</sub> 0.5%,KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.0%。三级种培养基:棉籽壳 97.7%,石灰粉 2.0%,KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.2%,MgSO<sub>4</sub> 0.1%,料水质量比 1.00:1.25。

表 1 材料及编号

Table 1 The experimental material and serial number

菌株 The strains of <i>Pleurotus</i> spp.	编号 Serial number
“江都 109 号”“Jiangdu 109”	PG <sub>1</sub>
“杂交 17 号”“Zajiao 17”	PG <sub>2</sub>
“园林 802 号”“Yuanlin 802”	PG <sub>3</sub>
“抗 1 号”“Kang 1”	PG <sub>4</sub>
“杂优号”“Zayou”	PG <sub>5</sub>

### 1.3 试验方法

1.3.1 菌丝变温培养试验 经子实体组织分离再培养获得的菌株 PG<sub>1</sub>、PG<sub>2</sub>、PG<sub>3</sub>、PG<sub>4</sub>、PG<sub>5</sub> 分别接种于一级种(试管)培养基上,每个菌株 10 支重复,于 20℃恒温静置培养至菌丝长满试管。将长满菌丝的试管分别于不同温度条件进行培养:1)40℃培养 12 h,20℃培养 12 h,连续重复 3 d;2)45℃培养 12 h,20℃培养 12 h,连续重复 3 d;

3)50℃培养 4 h,20℃培养 20 h,连续重复 3 d;4)55℃培养 2 h,20℃培养 22 h,连续重复 3 d。视 20℃时菌丝不能再恢复生长为耐温极限<sup>[6]</sup>。

1.3.2 菌丝生长形态比较 5 种不同菌株(PG<sub>1</sub>、PG<sub>2</sub>、PG<sub>3</sub>、PG<sub>4</sub>、PG<sub>5</sub>)经变温培养试验后,与变温培养筛选出的 5 种新菌株(PGS<sub>1</sub>、PGS<sub>2</sub>、PGS<sub>3</sub>、PGS<sub>4</sub>、PGS<sub>5</sub>)进行对比试验,各菌株平行试验 5 支,同期接种菌丝,20℃恢复菌丝生长 1 d 后记录菌丝生长量,以其平均值示出<sup>[7]</sup>。

### 1.4 项目测定

1.4.1 菌丝生长率 5 种侧耳属菌株(PG<sub>1</sub>、PG<sub>2</sub>、PG<sub>3</sub>、PG<sub>4</sub>、PG<sub>5</sub>)与 5 种经变温试验筛选出的菌株(PGS<sub>1</sub>、PGS<sub>2</sub>、PGS<sub>3</sub>、PGS<sub>4</sub>、PGS<sub>5</sub>)分别采用实验室内聚乙烯食用菌袋栽培种植,每个菌株各制备出菇 10 袋,共计 100 袋,选择当地夏季高温时间(2014 年 7—8 月)进行制备。无菌条件下,在装有棉籽壳培养料 888.9 g(干料)的两端各接入 30 颗麦粒原种,20℃无光培养,以菌丝长满培养料面来评估菌丝生长<sup>[8]</sup>。

1.4.2 菌丝生产性能 聚乙烯食用菌袋两端培养料菌丝扭结出针头状菇后,调湿度为 80%,温度自然,散射光培养,菌盖微卷前采收子实体,随机测量子实体的商品性状。试验共收 2 潮菇,测定各试验组的子实体产量,换算成接种时单位培养料重(g)所产子实体重(g),并推算出转化率<sup>[9]</sup>。生物转化率(%)=单位子实体产量(g)/单位棉籽壳皮干料量(g)×100。

## 2 结果与分析

### 2.1 各菌株菌丝生长耐温分析

由图 1 可知,5 种菌株菌丝体生长阶段耐高温力度都较强,均可达到 50℃,其中“杂交 17 号”(PG<sub>2</sub>)、“园林 802 号”(PG<sub>3</sub>)和“抗 1 号”(PG<sub>4</sub>)可以忍受 55℃的高温继而再萌发,表明此 5 种菌株都属于高温型真菌,尤以“杂交 17 号”(PG<sub>2</sub>)、“园林 802 号”(PG<sub>3</sub>)和“抗 1 号”(PG<sub>4</sub>)突出。

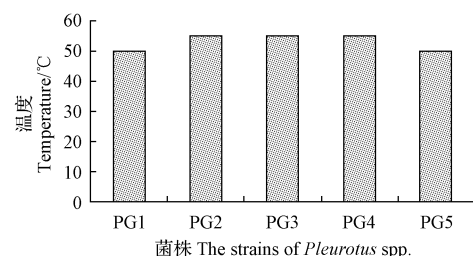


图 1 5 个侧耳属菌株菌丝生长耐温试验

Fig. 1 The mycelium temperature resistance of 5 strains of *Pleurotus* spp.

### 2.2 各菌株菌丝生长形态比较

5 种 PG 型侧耳属菌株(PG<sub>1</sub>、PG<sub>2</sub>、PG<sub>3</sub>、PG<sub>4</sub>、PG<sub>5</sub>)

与变温培养筛选出的 5 种 PGS 型 (PGS<sub>1</sub>、PGS<sub>2</sub>、PGS<sub>3</sub>、PGS<sub>4</sub>、PGS<sub>5</sub>) 菌株进行菌丝体生长对比试验, 由图 2 可知, 2 类菌种在一级种培养基上均能正常生长, 且长势良好, 菌丝形态均为白色、绒状; 经过变温培养筛选的 5 种

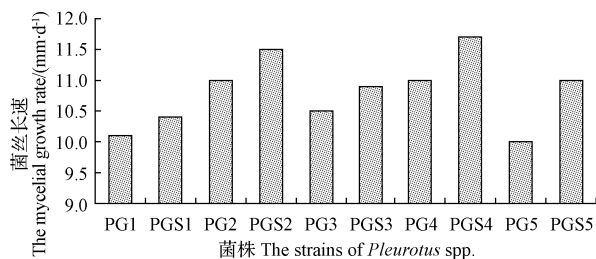


图 2 5 种侧耳属菌株 (PG) 与变温培养筛选菌株 (PGS) 菌丝生长比较

Fig. 2 The mycelial growth comparison of 5 strains of *Pleurotus* spp. both PG and PGS

PGS 型菌株菌丝体长速略优于 PG 型菌种。

### 2.3 各菌株菌丝生长率

由表 2 可知, 5 种 PG 型菌株 (PG<sub>1</sub>、PG<sub>2</sub>、PG<sub>3</sub>、PG<sub>4</sub>、PG<sub>5</sub>) 与 5 种 PGS 型菌株 (PGS<sub>1</sub>、PGS<sub>2</sub>、PGS<sub>3</sub>、PGS<sub>4</sub>、PGS<sub>5</sub>) 菌丝体在栽培培养料中生长均正常, 且菌丝洁白, 粗壮。菌丝生长较快的有 PGS<sub>1</sub>、PGS<sub>3</sub> 和 PGS<sub>4</sub>, 长势较慢的为 PGS<sub>5</sub>。试验各菌株接种培养料 3 d 后开始发料, PG<sub>2</sub> 和 PGS<sub>2</sub> 的现蕾期和采收期均早于其它菌株; 2 类菌种中, PGS 型菌株比 PG 型菌株的现蕾期和采收期均提前 3 d 左右, 说明根据甘肃甘南高海拔地 7—8 月中下旬的气候特点, 经过耐温培养的菌种显示出了较抗高温性和抗干燥性的特点。各菌株菌丝长满聚乙烯食用菌袋后, 放入日光温室, 在试验地 7 月中下旬至 8 月中下旬日间温度可达 38℃, 各菌株现蕾期也各不相同, 为 1~13 d, 采收期为 3~8 d。

表 2 各试验菌株在培养料中菌丝生长比较

Table 2 The comparison of mycelial growth of *Pleurotus* spp. in compost

菌种 Strains	菌丝长势 Hypha growth	菌丝颜色 Hypha colour	日均长势 Daily growing /mm	封顶 Capping /d	接种日期 Inoculating date /年-月-日	出袋日期 Appearing date /年-月-日	现蕾日期 Budding date /年-月-日	采收日期 Harvesting date /年-月-日
PG <sub>1</sub>	++	浓密、洁白 Turbidity, pure white	5.6	25		2014-07-15	2014-07-26	2014-07-31
PGS <sub>1</sub>	+++	浓密、粗、洁白 Turbidity, thick, pure white	5.8	24		2014-07-14	2014-07-23	2014-07-28
PG <sub>2</sub>	++	浓密、洁白 Turbidity, pure white	5.3	26		2014-07-16	2014-07-19	2014-07-27
PGS <sub>2</sub>	+++	浓密、粗、洁白 Turbidity, thick, pure white	5.6	25		2014-07-15	2014-07-16	2014-07-22
PG <sub>3</sub>	++	浓密、洁白 Turbidity, Pure white	5.3	26		2014-07-16	2014-07-26	2014-07-31
PGS <sub>3</sub>	++	浓密、洁白 Turbidity, pure white	5.8	24	2014-06-20	2014-07-14	2014-07-23	2014-07-28
PG <sub>4</sub>	++	浓密、洁白 Turbidity, Pure white	5.0	28		2014-07-18	2014-07-29	2014-07-31
PGS <sub>4</sub>	+++	浓密、粗、洁白 Turbidity, thick, pure white	5.8	26		2014-07-16	2014-07-26	2014-07-28
PG <sub>5</sub>	+	浓密、洁白 Turbidity, pure white	4.6	30		2014-07-20	2014-07-28	2014-07-31
PGS <sub>5</sub>	++	浓密、洁白 Turbidity, pure white	5.2	27		2014-07-17	2014-07-24	2014-07-27

注: +++ 表示菌丝长势快, 密、齐; ++ 表示菌丝长势稍慢, 略密、略齐; + 表示菌丝长势一般, 疏、乱。

Note: +++ means Hypha growth is fast, turbidity and neat; ++ means Hypha growth is slight fast, slight turbidity and slight neat; + means Hypha growth is common, sparse and confused.

### 2.4 各菌株子实体商品性状与生物转化率比较

从表 3 可以看出, 在日光温室内, PG 型菌株的出菇

温度都在 2~31℃, PGS 型菌株可以在环境温度 36℃ 时出菇, 说明 PGS 型菌株具有较好的抗高温性。同时, 灰

表 3 各菌株的子实体商品性状及其生物转化率

Table 3 The character and biological efficiency of fruit body of *Pleurotus* spp.

菌种 Strains	出菇温度 Temperature /℃	菇色 Colour	韧性 Toughness	菌盖直径 Cap diameter /cm	菌盖厚 Cap thickness /cm	一潮菇转化率 The conversion of the first fruit body/%	二潮菇转化率 The conversion of the second fruit body/%	总转化率 Total conversion /%
PG <sub>1</sub>	2~30	白色 White	较强 Relatively strong	7.10	1.00	44.43	36.56	80.99
PGS <sub>1</sub>	2~36	白色 White	较强 Relatively strong	7.10	1.10	45.00	42.75	87.75
PG <sub>2</sub>	2~31	浅灰 Simple pale	较强 Relatively strong	7.20	1.10	39.93	40.50	80.43
PGS <sub>2</sub>	2~36	浅灰白 Simple pale	较强 Relatively strong	7.52	1.20	54.36	31.50	85.86
PG <sub>3</sub>	2~31	白色 White	较强 Relatively strong	6.80	1.00	34.31	47.25	81.56
PGS <sub>3</sub>	2~36	白色 White	较强 Relatively strong	6.90	1.10	46.13	39.93	86.06
PG <sub>4</sub>	2~31	黑灰白 Black pale	强 Strong	8.10	1.22	38.25	44.43	82.68
PGS <sub>4</sub>	2~36	黑灰白 Black pale	强 Strong	8.10	1.20	45.00	43.87	88.87
PG <sub>5</sub>	2~30	灰黑 Gray black	强 Strong	8.30	1.80	40.50	41.06	81.56
PGS <sub>5</sub>	2~36	灰黑 Gray black	强 Strong	8.60	1.80	45.00	41.06	86.06

黑色菇 PG<sub>4</sub>、PGS<sub>4</sub> 和 PG<sub>5</sub>、PGS<sub>5</sub> 的韧性较其它菇的要强,且总体盖大肥厚,品质较好。从生物转化率的情况来看,PGS 型菌株子实体采收大多集中在第一潮菇,PG 型菌株子实体采收大多集中在第二潮菇,且 PGS 型菌株子实体产量高于 PG 型菌株子实体产量;PG 型菌株和 PGS 型菌株的生物转化率均为第一潮菇高于第二潮菇,且 PGS 型菌株生物转化率(≈45%)高于 PG 型菌株(≈40%)。主要集中在第一潮子实体菌株的有 PGS<sub>2</sub>、PGS<sub>3</sub>、PGS<sub>4</sub>、PGS<sub>5</sub>,主要集中在第二潮子实体菌株的有 PG<sub>3</sub>、PG<sub>4</sub>。各菌株的总生物转化率均大于 80%。

### 3 讨论与结论

该试验结果表明,5 种 PG 型侧耳属菌株(PG<sub>1</sub>、PG<sub>2</sub>、PG<sub>3</sub>、PG<sub>4</sub>、PG<sub>5</sub>)在菌丝体生长阶段短时间内均能忍受 50℃ 左右的高温,在常温下仍能恢复其菌丝正常生长,菌丝恢复时所需的温度不尽相同(2~20℃)。试验还发现,经恢复生长后的 PGS 型菌株(PGS<sub>1</sub>、PGS<sub>2</sub>、PGS<sub>3</sub>、PGS<sub>4</sub>、PGS<sub>5</sub>)菌丝体一经转移到新鲜培养基上,则菌丝生命力更加旺盛,菌丝生长较快且菌轮整齐。在甘南高海拔地区高温季节的栽培时间内(2014 年 7—8 月),PGS 型菌株显示出了较强的耐高温和抗干燥的能力,其现蕾期和采收期较 PG 型菌株均至少提前 3 d,且子实体朵型紧凑,叶片肥厚,韧性较强;就其生物转化率而讲,

PGS 型菌株子实体产量比 PG 型菌株子实体产量至少高出 5 个百分点。

该研究菌株经过了子实体无性组织培养再生菌种,再生菌种又经过菌丝变温培养筛选,又再次进行了栽培试验。所筛选的菌株合格,质量可靠,该菌种保持了原菌株适应西北自然环境、产量高、抗逆性强、商品经济性状好的优点,又具有了耐高温、耐干燥性的特点,并且在一定程度上缩短了菌丝生长发育期,提高了其生物学效率。

### 参考文献

- [1] 黄毅. 食用菌栽培[M]. 3 版. 北京:北京高等教育出版社,2007.
- [2] 王贺祥. 食用菌栽培学[M]. 北京:中国农业大学出版社,2004.
- [3] 图力古尔,李玉. 我国侧耳属真菌的种类资源及其生态地理分布[J]. 中国食用菌,2001,20(5):8-10.
- [4] 李明军. 甘南藏族自治州合作市农业发展问题及对策建议[J]. 中国集体经济,2015(7):10,26.
- [5] 王录仓,李巍,王生荣. 高寒草地畜牧业产业化的障碍与实现路径-以甘南州合作市为例[J]. 草业科学,2012,29(11):1791-1797.
- [6] 谢放,张生香,陈景津,等. 恒温和变温培养对羊肚菌菌丝生长及菌核形成影响的比较研究[J]. 中国野生植物资源,2010,29(3):37-40,61.
- [7] 赵桂云,暴纪春,张晶,等. 十四种食用菌菌丝体形态观察[J]. 食用菌,2007,29(2):14-15.
- [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.
- [9] 刘明香,林忠宁,陈敏健,等. 茶枝屑代料栽培对灵芝生物转化率和质量的影响[J]. 福建农业学报,2011,26(5):742-746.

## Appraisalment on Productive Performance of *Pleurotus* spp. at High Altitude Region of Gannan in Gansu Province II

WANG Long, QIN Peng, ZHAO Yuhui, GUO Rui

(Institute of Biology, Gansu Academy of Science, Lanzhou, Gansu 730000)

**Abstract:** Taking five kinds of different *Pleurotus* spp. as the research objects at mycelium stages in tube, treated with variance high-low temperature, to cultivating anti-high temperature and anti-drought excellent strains, meanwhile compared and analyzed productive performance of same *Pleurotus* spp. with different type from high altitude region of Gannan in Gansu Province. The results showed that in mycelium stages, PG strains could still grow about 50℃ in short time. After recovering, the vitality of PGS strains was more exuberant than PG strains'. In the local hot season (July-August in every year), PGS strains showed a strong ability at anti-high temperature and anti-drought, the bud-stages and harvest-stages of PGS strains advanced three days at least, and the fruit bodies of PGS strains were more compacter, thicker and stronger. The biotransformation rate of PGS strains were 5% higher than PG strains'.

**Keywords:** Gansu Province; high altitude region; *Pleurotus* spp.; productive performance