

茶树菇母种培养基最适碳氮比及碳源、氮源筛选

孙荟林, 李明, 李守勉, 田景花

(河北农业大学园艺学院, 河北 保定 071001)

摘要:以茶树菇 2511 菌株为试材,通过比较菌丝生长速度以及菌丝生物量,研究了 14 种不同 C/N 培养基以及 8 种不同碳源物质、11 种氮源物质对茶树菇菌丝生长的影响,旨在筛选出母种阶段适宜茶树菇菌丝生长的最适 C/N 培养基及最适碳源和氮源物质。结果表明:最适 C/N 为 27 : 1~33 : 1,最适碳源物质为葡萄糖,其次为蔗糖;最适氮源物质为酵母浸粉。

关键词:茶树菇; 碳氮比; 碳源物质; 氮源物质; 筛选

中图分类号:S 646.906.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)14-0148-04

茶树菇(*Agrocybe aegerita*)隶属担子菌门,伞菌纲,伞菌目,粪伞科,田头菇属^[1],子实体味道鲜美,香气浓郁,口感极佳,是一种集营养、保健和食疗于一身的珍稀食用菌种类。目前,茶树菇商业化生产在江西、福建、浙江等省已形成一定规模^[1],但产品仍供不应求,市场潜力巨大。据研究报道,栽培料 C/N 不同对食用菌菌丝生长及子实体形成影响较大^[2]。碳、氮含量及 C/N 不仅影响食用菌菌丝生长速度及生长势,而且与头潮菇原基形成的早晚、数量及子实体品质均有较大关系^[3]。有关食用菌 C/N 的研究很多,但对茶树菇培养基质 C/N 的研究却少有报道。该试验通过研究不同 C/N 的母种培养基对茶树菇菌丝生长的影响,旨在筛选出茶树菇菌丝生长的最适 C/N,并以此为依据筛选出母种阶段最适碳源和氮源物质,为茶树菇生产提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试菌株为 2511,由河北绿健食用菌科技开发有限公司提供。

供试母种培养基配方:棉籽壳 100 g,马铃薯(去皮)100 g,麸皮 50 g,葡萄糖 20 g,琼脂 20 g,KH₂PO₄ 3 g,MgSO₄ 1.5 g,维生素 B₁ 20 mg,蛋白胨 2 g,水 1 000 mL,pH 自然。

1.2 试验方法

1.2.1 母种培养基最适 C/N 筛选试验 1) 试验设计:

第一作者简介:孙荟林(1988-),女,河北涞源人,硕士研究生,现主要从事食用菌等研究工作。E-mail:653511085@qq.com

责任作者:李明(1961-),男,河北故城人,本科,教授,硕士生导师,现主要从事食用菌等研究工作。E-mail:yyliming@hebau.edu.cn

基金项目:河北省现代农业产业技术体系食用菌创新团队资助项目。

收稿日期:2016-04-05

以葡萄糖为碳源物质,酵母浸粉为氮源物质,调节酵母浸粉添加量(g·L⁻¹)为 11.43、10.00、8.57、7.14、5.71、5.00、4.29、3.79、3.46、3.17、2.86、2.29、1.91、1.43,配置成不同 C/N 的培养基,分别为 10 : 1、11 : 1、13 : 1、16 : 1、20 : 1、23 : 1、27 : 1、30 : 1、33 : 1、36 : 1、40 : 1、50 : 1、60 : 1、80 : 1。2)不同 C/N 固体母种培养基比较试验:将设计的 14 种培养基配方按常规母种培养基制作方法进行配制,分装到直径为 9 cm 的培养皿中,培养基用量为每皿 30 mL,每个处理设置 3 次重复,0.11~0.12 MPa 灭菌 40 min,冷凉后接种。分别将同步活化的母种用打孔器取直径 10 mm、厚 4 mm 的菌丝圆片接于培养皿中央,置于 25 ℃条件下恒温培养。采用划线法每隔 2 d 标记 1 次菌落直径,当任意一个配方培养基菌丝长满培养皿时,结束培养。记录菌丝生长时间,测量菌落直径,计算菌丝生长速度,观察菌丝长势,并进行显著性测验。菌丝生长速度(mm·d⁻¹)=菌落半径(mm)/生长天数(d)。3)不同 C/N 液体母种培养基比较试验:将设计的 14 种培养基配方,制作时不加琼脂,分装到容量为 100 mL 的三角瓶(每瓶 30 mL)中,培养基灭菌、接种及培养方法同上,当菌落长满三角瓶时,取出菌落,用滤纸吸干培养基,烘干并称重,进行显著性测验。

1.2.2 母种阶段最适碳源物质和氮源物质的筛选试验

1)供试培养基。碳源筛选试验基础培养基:酵母浸粉 4.3 g,琼脂 18 g,蒸馏水 1 000 mL,pH 自然。氮源筛选试验基础培养基:葡萄糖 20 g,琼脂 18 g,蒸馏水 1 000 mL,pH 自然。2)供试碳源。单糖:葡萄糖、果糖、半乳糖、阿拉伯糖;双糖:蔗糖、麦芽糖、乳糖;多糖:可溶性淀粉。3)供试氮源。氨基酸:谷氨酰胺、亮氨酸、苯丙氨酸;无机氮:硫酸铵、磷酸二氢铵、氯化铵、尿素;复合氮:蛋白胨、麦芽浸粉、酵母浸粉、牛肉膏。所有试验培养基分别通过调节各供试碳源物质和氮源物质的添加量调节基础

培养基 C/N 为 27 : 1, 培养基的制作、灭菌、接种、培养及处理方法同 1.2.1。

2 结果与分析

2.1 母种培养基最适 C/N 筛选

不同 C/N 处理间菌丝长势、菌丝生长速度及菌丝生物量的试验结果如表 1、图 1 和图 2 所示。茶树菇菌丝在不同 C/N 培养基上均能生长, 但生长存在差异。如图 1 所示, C/N 为 10 : 1~27 : 1 时, 菌丝生长速度逐渐增加, C/N 达到 27 : 1 时菌丝生长速度最快; 之后菌丝生长速度逐渐下降。差异显著性分析结果表明, C/N 为 27 : 1~33 : 1 时, 菌丝生长速度无显著差异, 但均明显快于其它处理。由图 2、表 1 可以看出, C/N 为 10 : 1~20 : 1 时, 菌丝表现为洁白浓密, 菌丝长势最好, 菌丝生物量最大, 各处理间差异不显著, 但均显著高于其它处理。C/N 为 23 : 1~36 : 1 时, 菌丝白且浓密, 菌丝长势好, 菌丝生物量中等。C/N 为 40 : 1~60 : 1 时, 菌丝较白, 较浓密, 菌丝长势较差, 菌丝生物量较少。C/N 为 80 : 1 时, 菌丝表现为灰白、稀疏, 菌丝长势弱, 菌丝生物量最少。

表 1 不同 C/N 对茶树菇菌丝长势的影响

Table 1 Effect of different C/N medium on the mycelium vigour of *Agrocybe aegerita*

碳氮比 Carbon nitrogen ratio	菌丝颜色 Mycelium color	菌丝浓密程度 Degree of mycelial thick
10 : 1	洁白	++++
11 : 1	洁白	++++
13 : 1	洁白	+++++
16 : 1	洁白	+++++
20 : 1	洁白	+++
23 : 1	白	+++
27 : 1	白	+++
30 : 1	白	+++
33 : 1	白	+++
36 : 1	白	+++
40 : 1	较白	++
50 : 1	较白	++
60 : 1	较白	+
80 : 1	灰白	+

注: +稀疏; ++较浓密; +++浓密; ++++最浓密。下同。

Note: + sparse; ++ dense; +++ denser; ++++ the densest. The same below.

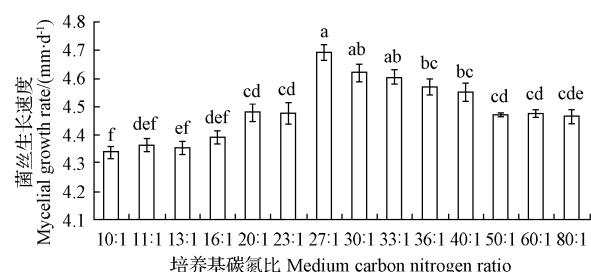


图 1 不同 C/N 对茶树菇菌丝生长速度的影响

Fig. 1 Effect of different C/N medium on mycelial growth rate of *Agrocybe aegerita*

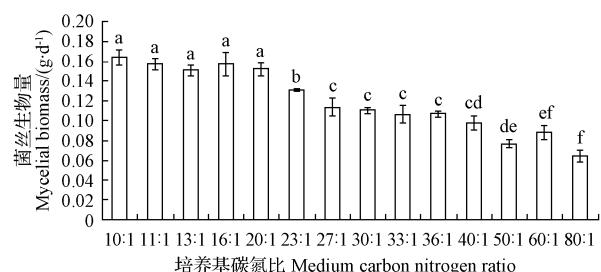


图 2 不同 C/N 对茶树菇菌丝生物量的影响

Fig. 2 Effect of different C/N medium on mycelial biomass of *Agrocybe aegerita*

综合母种阶段茶树菇菌丝生长速度、生长势及生物量的结果, 茶树菇母种阶段最适 C/N 为 27 : 1~33 : 1, 表现为菌丝洁白浓密, 长势均匀, 长速最快, 菌丝生物量中等。

2.2 母种阶段最适碳源物质的筛选

不同碳源物质对茶树菇菌丝的生长情况的影响见图 3 和表 2。茶树菇菌丝在以单糖、双糖和多糖为碳源的培养基上均可生长, 但菌丝生长情况有所差异。从菌丝生长速度来看, 以蔗糖为碳源时, 菌丝生长速度最快, 其次为葡萄糖和半乳糖, 但三者间差异不显著; 以乳糖为碳源的培养基, 菌丝生长速度最慢。在不同碳源培养基上菌丝生长速度由快到慢为: 蔗糖 > 葡萄糖 > 半乳糖 > 麦芽糖 > 可溶性淀粉 > 阿拉伯糖 > 果糖 > 乳糖。从菌丝长势来看, 以葡萄糖为碳源时, 培养基菌丝长势最好, 表现为菌丝洁白浓密且边缘整齐; 以蔗糖和可溶性淀粉

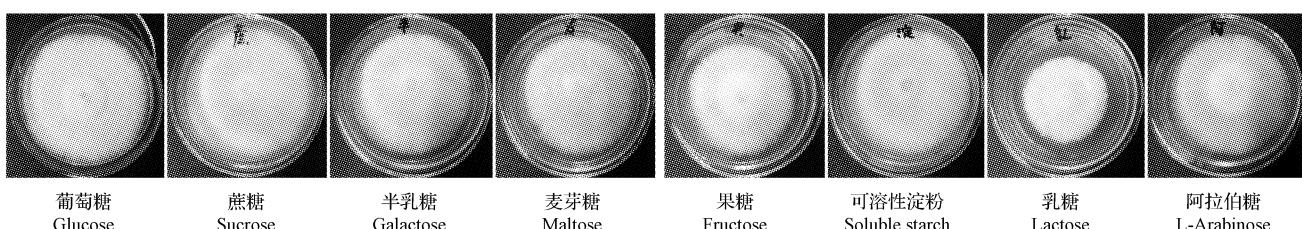


图 3 不同碳源物质对茶树菇菌丝生长的影响

Fig. 3 Effect of different carbon source material on the mycelial growth of *Agrocybe aegerita*

为碳源时,菌丝长势较好,表现为菌丝洁白、较浓密且边缘整齐;以乳糖为碳源的培养基时,菌丝长势最差,表现

为边缘不整齐。综合来看,茶树菇母种阶段最适碳源物质为葡萄糖,其次为蔗糖。

表 2

不同碳源物质对茶树菇菌丝生长的影响

Table 2

Effect of different carbon source material on the mycelial growth of *Agrocybe aegerita*

碳源 Carbon source	菌丝生长速度 Mycelial growth rate/(mm·d ⁻¹)	长势情况 Growth situation
蔗糖 Sucrose	4.58a	洁白, +++, 边缘整齐
葡萄糖 Glucose	4.53ab	洁白, +++, 边缘整齐
半乳糖 Galactose	4.46ab	洁白, ++, 边缘整齐
麦芽糖 Maltose	4.38bc	洁白, ++, 边缘整齐
可溶性淀粉 Soluble starch	4.27c	洁白, +++, 边缘整齐
阿拉伯糖 L-Arabinose	4.25c	洁白, ++, 边缘整齐
果糖 Fructose	3.83d	洁白, ++, 边缘整齐
乳糖 Lactose	2.99e	洁白, +++, 边缘不整齐

注:小写字母表示 0.05 水平的差异显著性。下同。

Note: Small letters indicates significant difference at P=0.05 level. The same below.

2.3 母种阶段最适氮源物质的筛选

不同氮源物质对茶树菇菌丝生长情况的影响见图 4 和表 3。茶树菇菌丝在以氨基酸、有机氮、无机氮为氮源的培养基上均可生长,但菌丝生长情况不同。从菌丝生长速度来看,复合氮源培养基菌丝生长速度均显著快于有机氮、无机氮源培养基,酵母浸粉和麦芽浸粉培养基菌丝生长速度最快,其次为牛肉膏、蛋白胨培养基。在不同氮源培养基上菌丝生长速度由快到慢为:酵母浸粉>麦芽浸粉>牛肉膏>蛋白胨>谷氨酰胺=尿素>亮氨酸>磷酸二氢铵>苯丙氨酸>氯化铵>硫酸铵。

表 3

母种阶段不同氮源物质对茶树菇菌丝生长的影响

Table 3

Effect of different nitrogen source material on the mycelial growth of *Agrocybe aegerita*

氮源 Nitrogen source	菌丝生长速度 Mycelial growth rate/(mm·d ⁻¹)	长势情况 Growth situation
酵母浸粉 Yeast extract powder	4.53a	洁白, +++, 边缘整齐
麦芽浸粉 Malt extract powder	4.36a	白, +++, 边缘整齐
牛肉膏 Beef extract	3.97b	白, +++, 边缘整齐
蛋白胨 Peptone	3.89b	灰白, +, 边缘整齐
谷氨酰胺 Glutamine	3.61c	灰白, +, 边缘整齐
尿素 Carbamide	3.61c	白, ++, 边缘整齐
亮氨酸 Leucine	3.55c	灰白, +, 边缘整齐
磷酸二氢铵 NH ₄ H ₂ PO ₄	2.14d	白++, 边缘不整齐呈羽毛状
苯丙氨酸 L-Phenylalanine	2.09d	灰白, +, 边缘整齐
氯化铵 NH ₄ Cl	1.97d	白++, 边缘不整齐呈羽毛状
硫酸铵 (NH ₄) ₂ SO ₄	1.94d	白++, 边缘不整齐呈羽毛状

3 讨论

C/N一般指培养基质中碳元素与氮元素的比值(C/N)^[4],在食用菌制种与栽培过程中,培养基 C/N 是一个很重要的参考指标,而适宜的碳源和氮源物质更容易被菌丝分解利用。在适宜的碳氮比条件下,适宜的碳源物质和氮源物质可使菌丝生长良好。而菌丝生长阶段最适碳氮比研究对子实体生长也具有重要的指导作用。冯改静等^[3]研究了不同碳氮比栽培料对猴头菌菌丝及子实体生长的影响,猴头菌菌丝在碳氮比为 28:1~38:1 的培养基质上菌丝生长最好,栽培阶段发现,碳

从菌丝长势来看,酵母浸粉培养基菌丝长势最好,表现为菌丝洁白浓密且边缘整齐;其次为麦芽浸粉和牛肉膏培养基,表现为菌丝白、较浓密且边缘整齐;磷酸二氢铵、氯化铵和硫酸铵培养基,菌丝长势最差,表现为菌丝边缘不整齐且呈羽毛状,三者明显不适宜作为茶树菇母种培养基的氮源物质,表现为菌丝生长速度慢,菌丝边缘不整齐,呈现出羽毛状。氨基酸类氮源物质中,菌丝生长速度较慢,菌丝灰白稀疏。综上,适宜茶树菇母种阶段菌丝生长的最适氮源物质为酵母浸粉、其次为麦芽浸粉。

氮比为 38:1 时,生物学效率也最高。卢伟等^[5]研究了不同碳氮比培养料对金针菇生长发育的影响,培养料 25:1~60:1 碳氮比范围内,金针菇的菌丝生长速度和培养料的碳氮比成正比,培养料的碳氮比为 25:1~40:1 时,金针菇产量、效益随着碳氮比的升高而增加,碳氮比为 40:1 时,生物学效率达最高峰。张宇^[6]研究了不同碳氮比栽培料对秀珍菇菌丝及子实体生长的影响,发现栽培料碳氮比为 67:1~69:1 时,秀珍菇菌丝生长最好,当碳氮比达到 69:1 时生物学效率达最高峰。该试验研究得出茶树菇菌丝生长最适 C/N 为 27:1~33:1,郑永标等^[7]试验得出的 C/N 为 32.16 时,茶树菇

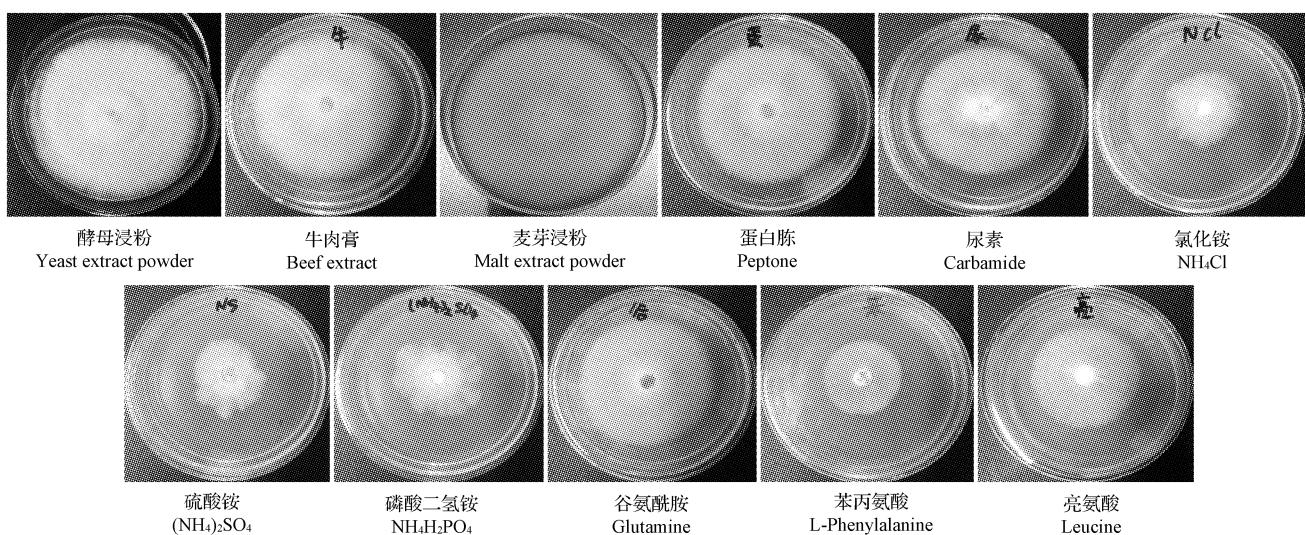


图 4 不同氮源物质对茶树菇菌丝生长的影响

Fig. 4 Effect of different nitrogen source material on the mycelial growth of *Agrocybe aegerita*

的生物学效率最高,与以上研究结果一致。

王丽英等^[8]研究了茶树菇母种阶段对不同碳氮营养源的利用,结果表明,茶树菇菌丝生长的最适碳源是可溶性淀粉,其次是蔗糖、葡萄糖;最适氮源是蛋白胨,其次是酵母膏、麸皮。其研究与该试验结果有差异,可能是由于各碳源、氮源物质用量标准不同造成的,王丽英等^[8]是对等量的碳源物质和氮源物质进行的研究,该试验是在相同碳氮比条件下进行的最适碳、氮源物质筛选。

参考文献

[1] 魏云辉,熊中良,胡中娥.茶树菇反季节栽培品种比较和出菇方式试验[J].江西农业学报,2008,20(1):84-85.

[2] 刘云,傅微,刘连,等.不同配方的培养料对秀珍菇生长的影响[J].湖南农业科学,2009(1):27-28,32.

[3] 冯改静,李守勉,李明,等.不同碳氮比栽培料对猴头菌菌丝及子实体生长的影响[J].华北农学报,2007,22(增刊):131-135.

[4] 张长恺.碳氮比与食用菌菌丝的生长繁殖[J].食用菌,1988(1):17-19.

[5] 卢伟,陶鸿,董伟,等.不同碳氮比的培养料对金针菇产量及营养品质影响研究[J].中国农学通报,2010,26(14):238-242.

[6] 张宇.不同碳氮比栽培料对秀珍菇菌丝及子实体生长的影响[J].北方园艺,2013(3):152-154.

[7] 郑永标,林新坚,雷锦桂,等.培养料 pH 值和碳氮比对茶薪菇生物学效率的影响[J].福建农业科技,2001(3):20.

[8] 王丽英,王文治.茶树菇对不同碳氮营养源的利用[J].天津农业科学,2006,12(1):50-51.

Screening of Optimal Carbon-Nitrogen Ratio,Carbon Source Material and Nitrogen Source Material of the Mother Stage of *Agrocybe aegerita*

SUN Huilin, LI Ming, LI Shoumian, TIAN Jinghua

(College of Horticulture, Agricultural University of Hebei, Baoding, Hebei 071001)

Abstract: In order to select the most suitable C/N culture medium, as well as the carbon and nitrogen source material for the mycelial growth of *Agrocybe aegerita*, the effect of the cultivation characteristics about the strains 2511 mycelial growth with 14 kinds of C/N culture medium as well as 8 kinds of carbon source material and 11 kinds of nitrogen source material by the method of the comparison about the mycelial growth rate and biomass were studied. The results showed that the most suitable C/N culture medium was from 27 : 1 to 33 : 1, the most suitable carbon source material was dextrose, the second was sucrose, the most suitable nitrogen source material was yeast extract powder.

Keywords: *Agrocybe aegerita*; carbon-nitrogen ratio; carbon source; nitrogen source; screening