

DOI:10.11937/bfyy.201618036

青海互助北山林场羊肚菌菌核培养条件的优化

张 晓 宇, 周 勇 辉, 吕 婷, 胥 芮, 刘 玉 萍, 苏 旭

(青海师范大学 生命与地理科学学院, 青藏高原药用动植物资源重点实验室, 青海省自然地理与环境过程重点实验室, 青藏高原环境与资源教育部重点实验室, 青海 西宁 810008)

摘 要:以青海互助北山林场羊肚菌为试材,采用单因素变量法,研究不同的碳源、氮源、温度、pH 对青海互助北山林场羊肚菌菌核数量及长势变化的影响。结果表明:当培养温度为 22 ℃ 或 26 ℃,pH 介于 6~7,并且分别以可溶性淀粉和硝酸钾为碳源和氮源培养基时,基面菌核和气生菌核数量最多,长势最好,说明上述培养条件是羊肚菌人工培养的最佳组合。

关键词:青海;羊肚菌;菌核;菌丝体;人工培养

中图分类号:S 646.703.6 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2016)18-0146-03

羊肚菌(*Morchella vulgaris*)属子囊菌亚门(Ascomycotina)盘菌纲(Discomycetes)盘菌目(Pezizales)羊肚菌科(Morchellaceae)羊肚菌属(*Morchella*)的一类大型野生食用菌^[1]。在我国主要分布于青海、新疆、甘肃、西藏及云南等地,绝大多数生长于阔叶林地上及路旁,单生或群生^[2]。羊肚菌不仅营养丰富、味道鲜美,而且具有补肾、壮阳、补脑、提神益肠胃等功效,是治疗消化不良、痰多气短的良好中药,具有独特的保健作用^[3]。故其本身的营养价值及药理功效均受到广泛关注,是人工栽培的首选植物。

目前,国内外学者对羊肚菌进行了系列研究^[4-7],并取得一定成效,但对青海省羊肚菌的研究较少^[8-9],尤其是对其菌核培养条件的探讨迄今尚鲜见报道。现以青海互助北山林场产羊肚菌菌核为试验材料,研究其在不同碳源、氮源、温度、pH 培养条件下的数量和生长变化情况,旨在为今后羊肚菌的人工栽培提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试羊肚菌(*Morchella vulgaris*)采自青海互助北山

林场,在实验室对羊肚菌进行组织分离获得菌丝体,并通过菌株筛选得到优良菌株 Y2。

平板菌种培养基:菊芋 200 g,葡萄糖 20 g,琼脂 18 g,磷酸二氢钾 1.0 g,硫酸镁 0.5 g,水 1 000 mL,pH 自然。

碳源培养基:硝酸钾 0.2%,琼脂 1.8%,磷酸二氢钾 0.1%,硫酸镁 0.05%,pH 自然,在此基础培养基中分别加入浓度为 2.0%的不同碳源(可溶性淀粉、葡萄糖、麦芽糖、蔗糖、果糖、甘露醇、山梨糖)。

氮源培养基:琼脂 1.8%,磷酸二氢钾 0.1%,硫酸镁 0.05%,pH 自然,在此基础培养基中分别加入浓度为 0.05%的不同氮源(蛋白胨、酵母膏、黄豆粉、尿素、硝酸钾、氯化铵、柠檬酸铵)。

合成培养基:葡萄糖 2.0%,硝酸钾 0.1%,琼脂 1.8%,pH 自然。

1.2 试验方法

1.2.1 不同碳源对羊肚菌产生菌核的培养 将筛选的 Y2 菌种接种于不同碳源(可溶性淀粉、葡萄糖、麦芽糖、蔗糖、果糖、甘露醇、山梨糖)培养基中培养,观察菌核产生的时间、密度、数量(含基面菌核和气生菌核)。

1.2.2 不同氮源对羊肚菌产生菌核的培养 将筛选的 Y2 菌种接种于不同氮源(蛋白胨、酵母膏、黄豆粉、尿素、硝酸钾、氯化铵、柠檬酸铵)培养基中培养,观察菌核产生的时间、密度、数量(含基面菌核和气生菌核)。

1.2.3 不同温度对羊肚菌产生菌核的培养 将筛选的 Y2 菌种接种在平板培养基上,分别在 10、14、18、22、26、30、34、38 ℃ 恒温下培养,观察菌核产生的时间、密度和数量(含基面菌核和气生菌核)。

第一作者简介:张晓宇(1992-),女,山西大同人,硕士研究生,研究方向为青藏高原植物资源的开发和利用。E-mail:zhangxiaoyu0918@163.com.

责任作者:苏旭(1980-),男,山东鄄城人,博士,教授,研究方向为资源植物学。E-mail:xusu8527972@126.com.

基金项目:青藏高原药用动植物资源重点实验室资助项目(2015-Z-Y06);青海师范大学 2015 年度本科生科技创新资助项目(2015-12,2015-13)。

收稿日期:2016-04-26

1.2.4 不同 pH 对羊肚菌产生菌核的培养 将经过灭菌的平板培养基在无菌条件下用 1% 的盐酸和 1% 的氢氧化钠将 pH 分别调节为 3、4、5、6、7、8、9, 接种后于 24 ℃ 恒温下培养, 观察菌核产生的时间、密度、数量(含基面菌核和气生菌核)。

2 结果与分析

2.1 不同碳源对羊肚菌产生菌核的影响

由表 1 可知, 当以可溶性淀粉作为培养基时, 羊肚菌的基面菌核和气生菌核数量、长势相对较好; 而当以甘露醇或山梨糖作为培养基时, 基面菌核和气生菌核的长势较差并且数量也较少。此外, 研究还发现随着羊肚菌菌核培养时间的增加, 培养基表面的菌丝逐渐形成毡状或片状菌核, 菌核颜色发生由淡黄色→棕色→深棕色的变化; 气生菌丝颜色则发生乳白色→深棕色→棕色的改变。

2.2 不同氮源对羊肚菌产生菌核的影响

由表 2 可知, 以硝酸钾为培养基, 其基面菌核和气生菌核的数量最多而且长势也最好; 而当以氯化铵或柠檬酸铵为培养基时, 羊肚菌产生的菌核极少或不产生菌核。此外, 研究还发现随着羊肚菌菌核培养时间的增加, 培养基表面的菌丝逐渐形成毡状或片状菌核, 菌核颜色发生由淡黄色→棕色→深棕色的变化; 气生菌丝颜

表 1 不同碳源对羊肚菌产生菌核的影响

Table 1 The effect of different carbon resources on production of sclerotium

碳源 Carbon source	基面菌核 Base sclerotium			气生菌核 Aerial sclerotium		
	长势 Growth	形成天数 Time /d	菌核数量 No. of sclerotium	长势 Growth	形成天数 Time /d	菌核数量 No. of sclerotium
可溶性淀粉 Soluble starch	++++	6	很多 Most	++	8	多 Many
葡萄糖 Glucose	+++	7	很多 Most	+	8	较多 More
麦芽糖 Maltose	+++	7	较多 More	+	8	少 Little
蔗糖 Sucrose	+++	7	多 Many	++	9	较多 More
果糖 Fructose	+++	8	较多 More	+	7	少 Little
甘露醇 Mannitol	++	7	少 Little	+	7	较少 Less
山梨糖 Sorbose	+	7	少 Little	+	8	较少 Less

色则发生乳白色→深棕色→棕色的改变。

2.2 不同温度对羊肚菌产生菌核的影响

表 3 表明, 在 10~30 ℃ 范围内, 其均能产生菌核。温度不同, 菌核的长势、数量及形成天数也不同, 当培养温度为 26 ℃ 时, 羊肚菌基面菌核和气生菌核的数量最多, 长势也最好; 在 10~26 ℃, 随着培养温度的升高, 羊肚菌菌丝产生的菌核数量持续增多, 长势不断增强, 形成天数逐渐减少; 但当温度超过 30 ℃ 时, 羊肚菌菌丝产生的菌核数量减少, 长势较差, 尤其是当温度超过 34 ℃ 时, 不形成菌核。

表 2 不同氮源对羊肚菌产生菌核的影响

Table 2 The effect of different nitrogen resources on production of sclerotium

氮源 Nitrogen source	基面菌核 Base sclerotium			气生菌核 Aerial sclerotium		
	长势 Growth	形成天数 Time/d	菌核数量 No. of sclerotium	长势 Growth	形成天数 Time/d	菌核数量 No. of sclerotium
硝酸钾 KNO ₃	++++	8	很多 Most	+++	9	很多 Most
蛋白胨 Peptone	+++	7	较多 More	++	8	多 Many
酵母膏 Yeast extract	+++	6	较多 More	++	8	多 Many
黄豆粉 Bean flour	++	8	多 Many	+	8	多 Many
尿素 Urea	+	9	少 Little	+	6	少 Little
氯化铵 NH ₄ Cl	—	*	—	—	*	—
柠檬酸 Ammonium citrate	—	*	—	—	*	—

注: * 表示培养 15 d 后, 不产生菌核, 下同。

Note: * shows it doesn't produce sclerotium after training 15 days. The same below.

表 3 不同温度对羊肚菌菌核的影响

Table 3 The effect of different temperatures on production of sclerotium

温度 Temperature/℃	基面菌核 Base sclerotium			气生菌核 Aerial sclerotium		
	长势 Growth	形成天数 Time/d	菌核数量 No. of sclerotium	长势 Growth	形成天数 Time/d	菌核数量 No. of sclerotium
10	+	8	少 Little	+	9	少 Little
14	++	7	多 Many	++	8	多 Many
18	+++	6	多 Many	++	7	多 Many
22	++++	6	很多 Most	+++	7	很多 Most
26	++++	6	很多 Most	++++	6	很多 Most
30	+	5	少 Little	+	5	少 Little
34	—	*	—	*	*	—
38	—	*	—	*	*	—

2.3 不同 pH 对羊肚菌产生菌核的影响

表 4 表明, 羊肚菌菌丝 pH 在 5~8 范围内可以正常

生长; 当 pH 在 4 以下时, 羊肚菌菌丝不产生菌核; 当 pH 在 6~7 范围内时, 其基面菌核和气生菌核的数量最多、

表 4 不同 pH 对羊肚菌产生菌核的影响

Table 4 The effect of different values of pH on production of sclerotium

pH	基面菌核 Base sclerotium			气生菌核 Aerial sclerotium		
	长势 Growth	形成天数 Time/d	菌核数量 No. of sclerotium	长势 Growth	形成天数 Time/d	菌核数量 No. of sclerotium
3	—	*	—	—	*	—
4	—	*	—	—	*	—
5	+	*	—	+	*	—
6	++	7	多 Many	++	8	多 Many
7	+++	6	很多 Most	++++	7	很多 Most
8	+	*	—	+	*	—
9	—	*	—	+	*	—

长势旺盛,并且形成菌核的天数相对较短。

3 讨论

羊肚菌菌核是由菌丝凝聚粘附所形成的一种休眠体,也是糖类和脂类等营养物质的贮藏体。何培新等^[10]研究了 cAMP 对粗柄羊肚菌菌丝生长和菌核发生的影响,并且测定了不同菌核发育阶段培养物胞内 cAMP 的浓度,发现在一定浓度范围内,cAMP 对粗柄羊肚菌菌丝的生长影响不显著,但对菌核的发生具有显著抑制作用;任爱梅等^[11]通过不同培养基对羊肚菌菌丝生长及菌核形成影响的研究表明,在保证菌丝正常生长情况下,培养基内无机盐浓度越高则越利于菌核的形成。此外,谢放等^[12]研究则发现,羊肚菌菌核的产生时间与培养温度没有显著的相关性,但其数量却与温度具有直接关系,25℃是产生菌核的最优温度。上述研究结果与该试验羊肚菌菌核培养的最适条件基本一致,只是在温度和培养基对菌核长势的影响上稍有不同,该试验中青海互

助北山林场羊肚菌菌核对温度的敏感度较高,22℃/26℃是菌核产生和数量增长的最佳温度。总之,随着羊肚菌的营养保健功效逐步被发掘,其市场需求极为迫切,当前它的批量生产迫在眉睫。该研究通过对羊肚菌菌核最适生长环境的初探可为有效解决菌核培养时间的技术难题提供基础性试验数据,同时其也为今后实现羊肚菌的人工栽培提供一定的理论参考。

参考文献

- [1] 束云,刘长喜,李连达. 中国已获批准的保健食品现状分析[J]. 中国食品卫生杂志,2006,18(5):401-405.
- [2] 孙伟范. 国内外功能食品产业的比较[J]. 食品科学,2009,30(19):356-359.
- [3] 葛士顺,张海信,李涛,等. 谈羊肚菌对人体的生理学功效及其在运动保健中的作用[J]. 科技信息,2011(16):424-427.
- [4] 杜习慧,赵琪,杨祝良. 羊肚菌的多样性、演化历史及栽培研究进展[J]. 菌物研究,2014,33(2):183-197.
- [5] 李华,包海鹰,李玉. 羊肚菌研究进展[J]. 菌物研究,2004,2(4):53-60.
- [6] 赵琪,康平德,戚淑威,等. 羊肚菌资源现状及可持续利用对策[J]. 西南农业学报,2010,23(1):266-269.
- [7] 吴素蕊,侯波,郭相,等. 黑脉羊肚菌营养成分分析比较[J]. 食品科技,2011,36(7):65-67.
- [8] 郭璟,谢占玲. 青海不同地区羊肚菌中矿物元素含量的测定及分析[J]. 食用菌,2015(3):58-59.
- [9] 谢占玲,牛小莹,叶成玉. 青海高原祁连山羊肚菌生态特性[J]. 食用菌,2001(4):3-4.
- [10] 何培新,黄丽娜,刘伟,等. 环腺苷酸(cAMP)对粗柄羊肚菌菌丝生长和菌核发生的影响[J]. 菌物研究,2015,13(3):155-159.
- [11] 任爱梅,李建宏,谢放,等. 不同培养基对羊肚菌菌丝生长及菌核形成的影响[J]. 江苏农业科学,2013,41(11):270-272.
- [12] 谢放,张生香,陈京津,等. 恒温 and 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):37-61.

Optimization of Culture Conditions for *Morchella vulgaris* Sclerotium From Huzhu' Beishan Forest in Qinghai Province

ZHANG Xiaoyu, ZHOU Yonghui, LYU Ting, XU Rui, LIU Yuping, SU Xu

(College of Geography and Life Science, Qinghai Normal University/Key Laboratory of Medicinal Plant and Animal Resources the Qinghai-Tibetan Plateau in Qinghai Province/Key Laboratory of Physical Geography and Environmental Process in Qinghai Province/Key Laboratory of Education Ministry of Environments and Resources in the Qinghai-Tibetan Plateau, Xining, Qinghai 810008)

Abstract: Taking *Morchella vulgaris* of Huzhu' Beishan Forest in Qinghai Province as experimental material, the effect of different conditions such as carbon and nitrogen sources, temperature, pH on growing and number of *Morchella vulgaris* sclerotium was studied by using single factor variable method. The results showed that there were lots of datum sclerotium and aerial sclerotium and their growing was the best when the temperature was 22℃ or 26℃, pH was 6—7, soluble starch and KNO₃ were regarded as carbon source and nitrogen source, respectively. Otherwise, the above culture condition should be the optimal choice.

Keywords: Qinghai Province; *Morchella vulgaris*; sclerotium; mycelium; artificial culture