

DOI:10.11937/bfyy.201710031

蘑菇科三种大型真菌最佳培养条件

王术荣, 郭富宽, 常明昌

(山西农业大学 食品科学与工程学院, 山西 太谷 030801)

摘 要:以粉褶白环蘑、大根白环蘑、大肥蘑菇为试材,将菌种利用不同碳源、氮源、无机盐、pH 和温度培养,明确 3 种蘑菇菌丝生长的培养特性和最佳培养条件。结果表明:3 种蘑菇的最适氮源均为酵母膏,最适无机盐均为磷酸盐,对麦芽糖、蔗糖、可溶性淀粉等多糖碳源有不同的喜好,对 pH 要求虽不同,但主要喜中性或弱酸性;最适温度 25~30 ℃。该研究为蘑菇类食用菌栽培驯化提供了参考依据。

关键词:粉褶白环蘑;大肥蘑菇;大根白环蘑;最佳培养条件

中图分类号:S 646 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)10-0136-05

我国有近 1 000 种食用菌^[1],药用菌约有 540 种^[2],而驯化栽培的种类仅约有 60 种。对野生大型真菌资源的收集评价、驯化栽培和深层次利用研究当前严重不足。国内对于食用菌培养特性的研究主要集中在已经广泛栽培的食用菌种类上,例如灵芝^[3]、猪苓^[4]、绣球菌^[5]等。因此,需要加强野生大型真菌的资源收集、菌种评价和利用研究。蘑菇科的很多种类,例如双孢蘑菇、巴氏蘑菇、姬松茸等都是重要的食药两用菌^[3]。该研究以采自山西省野外蘑菇科蘑菇属和白环蘑菇属的 3 种大型真菌为试材,经菌株分离纯化,筛选菌丝生长最适碳源、氮源、无机盐、pH 和温度,进一步明确菌丝培养条件或共性,为林下蘑菇类大型真菌的驯化栽培和相关从业人员提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试大型真菌大肥蘑菇(*Agaricus bitorquis*)子实体采自庞泉沟国家自然保护区野外,大根白环蘑(*Leucoagaricus barssii*)、粉褶白环蘑(*Leucoagaricus leucothites*)采自山西农业大学校园。

第一作者简介:王术荣(1985-),男,博士,讲师,研究方向为食用菌资源和利用。E-mail:wzlj2005@163.com.

责任作者:常明昌(1964-),男,本科,教授,研究方向为食用菌栽培与加工。E-mail:sxmushroom@126.com.

基金项目:山西农业大学引进人才科研启动资助项目(2014YJ18);山西省煤基重点科技攻关资助项目(FT2014-03-01);2015 年度山西省高校协同创新中心资助项目。

收稿日期:2017-02-16

PDA 培养基:水 1 000 mL、马铃薯(去皮)500 g、琼脂 25 g、葡萄糖 25 g、蛋白胨 1.66 g、磷酸二氢钾 3.79 g、硫酸镁 1.89 g,pH 自然^[6]。

1.2 试验方法

1.2.1 菌种分离 将采集的大型真菌子实体适当风干去除多余水分和粘性,用 75%酒精表面消毒。用灭菌的镊子夹取菌肉组织块移入 PDA 斜面培养基,贴上标签并写明接种日期、菌种名及接种人姓名,放入恒温培养箱培养。定期并经常观察试管中菌丝的生长情况,排除霉菌的污染。将分离的菌种转接到新的试管斜面培养基中进行恒温培养,观察其菌落形态,若菌落逐渐向四周呈辐射状散开,外缘整齐,则可判断为纯菌种。

1.2.2 碳源、氮源、无机盐、温度及 pH 试验 试管斜面菌种接入 PDA 固体培养基进行扩大培养,待菌丝基本长满平板将菌种用打孔器接入不同碳源、氮源、无机盐、温度和 pH 的培养基中。配制 6 种不同碳源培养基(表 1),7 种氮源培养基(表 2)和 5 种无机盐培养基(表 3)。温度梯度分别选择 20、25、30、35 ℃;pH 分别选择 4、5、6、7、8 共 5 个梯度。每 48 h 进行一次菌丝的生长测量、观察,并做记录。

1.3 数据分析

试验数据利用 SPSS 17.0 软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 碳源对菌丝生长的影响

由表 4 可知,粉褶白环蘑以可溶性淀粉作为碳源时菌丝生长最快且菌丝浓密洁白,爬壁能力强,麦

芽糖次之。大肥蘑菇以蔗糖为碳源时菌丝生长速度最快,菌丝浓密洁白。从菌丝长势和生长速度来看,大根白环蘑菌丝生长所需最佳碳源是麦芽糖,其气生菌丝浓密纤长,均匀规则,整体颜色泛白。

表 1 不同碳源培养基

Table 1 Formula of medium with different carbon source

组别 Groups	葡萄糖 Glucose/g	蔗糖 Sucrose/g	可溶性淀粉 Soluble starch/g	甘露醇 Mannitol/g	麦芽糖 Maltose/g	玉米粉 Corn flour/g	琼脂 Agar/g	磷酸二氢钾 KH ₂ PO ₄ /g	硫酸镁 MgSO ₄ /g	蛋白胨 Peptone/g	水 H ₂ O/mL
A	10	—	—	—	—	—	10	1.51	0.76	0.66	400
B	—	10	—	—	—	—	10	1.51	0.76	0.66	400
C	—	—	10	—	—	—	10	1.51	0.76	0.66	400
D	—	—	—	10	—	—	10	1.51	0.76	0.66	400
E	—	—	—	—	10	—	10	1.51	0.76	0.66	400
F	—	—	—	—	—	10	10	1.51	0.76	0.66	400

表 2 不同氮源培养基

Table 2 Formula of medium with different nitrogen source

组别 Groups	酵母膏 Yeast extract/g	蛋白胨 Peptone/g	碳酸铵 (NH ₄) ₂ CO ₃ /g	麦芽浸粉 Malt extract/g	牛肉膏 Beef extract/g	硝酸钾 KNO ₃ /g	硫酸铵 (NH ₄) ₂ SO ₄ /g	葡萄糖 Glucose/g	硫酸镁 MgSO ₄ /g	磷酸二氢钾 KH ₂ PO ₄ /g	琼脂 Agar/g	水 H ₂ O/mL
A	0.66	—	—	—	—	—	—	10	0.76	1.51	10	400
B	—	0.66	—	—	—	—	—	10	0.76	1.51	10	400
C	—	—	0.66	—	—	—	—	10	0.76	1.51	10	400
D	—	—	—	0.66	—	—	—	10	0.76	1.51	10	400
E	—	—	—	—	0.66	—	—	10	0.76	1.51	10	400
F	—	—	—	—	—	0.66	—	10	0.76	1.51	10	400
H	—	—	—	—	—	—	0.66	10	0.76	1.51	10	400

表 3 不同无机盐培养基

Table 3 Formula of medium with different mineral salt

组别 Groups	硫酸镁 MgSO ₄ /g	磷酸二氢钾 KH ₂ PO ₄ /g	磷酸氢二钾 K ₂ HPO ₄ /g	硫酸锌 ZnSO ₄ /g	硫酸亚铁 FeSO ₄ /g	葡萄糖 Glucose/g	酵母膏 Yeast extract/g	琼脂 Agar/g	水 H ₂ O/mL
A	2.27	—	—	—	—	10	0.66	10	400
B	—	2.27	—	—	—	10	0.66	10	400
C	—	—	2.27	—	—	10	0.66	10	400
D	—	—	—	2.27	—	10	0.66	10	400
E	—	—	—	—	2.27	10	0.66	10	400

表 4 不同碳源对菌丝体生长的影响

Table 4 Effect of different carbon source on the growth of mycelium

菌株 Strains	碳源 C-sources	菌丝生长速度 Mycelium growth rate/(mm·d ⁻¹)	差异显著性 Significance of difference	菌丝生长势 Mycelial vigor
粉褶白环蘑 <i>Leucoagaricus leucothites</i>	麦芽糖 Maltose	2.664±0.003	a	+++
	可溶性淀粉 Soluble starch	2.765±0.018	a	+++
	蔗糖 Sucrose	2.168±0.043	b	++
	甘露醇 Mannitol	2.153±0.078	c	++
	葡萄糖 Glucose	1.897±0.056	d	+
	玉米粉 Corn flour	1.672±0.086	d	+
	麦芽糖 Maltose	1.528±0.007	d	+
	可溶性淀粉 Soluble starch	1.486±0.007	d	+
大肥蘑菇 <i>Agaricus bitorquis</i>	蔗糖 Sucrose	2.510±0.003	a	+++
	甘露醇 Mannitol	1.509±0.011	d	+
	葡萄糖 Glucose	2.060±0.005	b	++
	玉米粉 Corn flour	1.758±0.032	c	++
	麦芽糖 Maltose	2.260±0.001	a	+++
	可溶性淀粉 Soluble starch	2.033±0.008	b	++
大根白环蘑 <i>Leucoagaricus barssii</i>	蔗糖 Sucrose	1.831±0.002	c	+
	甘露醇 Mannitol	2.236±0.016	b	++
	葡萄糖 Glucose	1.442±0.018	d	+
	玉米粉 Corn flour	1.147±0.062	e	+

注:数据为 3 次重复试验的均值和标准差,+++表示菌丝生长致密,++表示菌丝生长较致密,+表示菌丝生长稀疏,—表示生长不明显。下同。

Note:The data are the average value and standard error of 3 repetitions;+++ shows that the mycelia grow vigorously,++ shows that the mycelia grow ordinarily,+ shows that the mycelia grow weakly,— shows that the mycelia grow not obvious. The same below.

2.2 氮源对菌丝生长的影响

由表 5 可知,酵母膏为粉褶白环蘑菌丝培养的最适氮源;大肥蘑菇以酵母膏和牛肉膏为氮源时菌丝的生长速度和长势较好,其中以酵母浸膏作为氮源时,菌丝生长速度最快,呈致密毡毛状,整体为深

褐色,确定酵母膏为其最适氮源;大根白环蘑以酵母膏和蛋白胨为氮源时菌丝的生长速度和长势较好,其中以酵母膏作为氮源时,菌丝生长速度最快,菌丝长且密,菌落整体呈乳白色并分布均匀,确定酵母膏为其最适氮源。

表 5 不同氮源对菌丝体生长的影响

Table 5 Effect of different nitrogen source on the growth of mycelium

菌株 Strains	氮源 Nitrogen source	菌丝生长速度 Mycelium growth rate/(mm · d ⁻¹)	显著差异性 Significance of difference		菌丝生长势 Mycelial vigor
			0.05	0.01	
粉褶白环蘑 <i>Leucoagaricus leucothites</i>	蛋白胨 Peptone	1.889±0.043	c	C	++
	酵母膏 Yeast extract	2.896±0.067	a	A	+++
	牛肉膏 Beef extract	2.271±0.026	b	B	+++
	麦芽浸粉 Malt extract	1.488±0.044	d	D	+
	硫酸铵 (NH ₄) ₂ SO ₄	1.877±0.053	c	C	++
	碳酸铵 (NH ₄) ₂ CO ₃	1.307±0.049	d	D	+
	硝酸钾 KNO ₃	2.280±0.062	b	B	++
大肥蘑菇 <i>Agaricus bitorquis</i>	蛋白胨 Peptone	1.464±0.001	b	B	++
	酵母膏 Yeast extract	2.494±0.015	a	A	+++
	牛肉膏 Beef extract	2.434±0.069	a	A	+++
	麦芽浸粉 Malt extract	1.486±0.052	b	B	+
	硫酸铵 (NH ₄) ₂ SO ₄	1.475±0.072	b	B	+
	碳酸铵 (NH ₄) ₂ CO ₃	1.479±0.053	b	B	+
	硝酸钾 KNO ₃	1.447±0.072	c	B	++
大根白环蘑 <i>Leucoagaricus barssii</i>	蛋白胨 Peptone	2.793±0.042	a	A	+++
	酵母膏 Yeast extract	2.886±0.052	a	A	+++
	牛肉膏 Beef extract	2.266±0.024	b	B	++
	麦芽浸粉 Malt extract	1.264±0.042	d	D	+
	硫酸铵 (NH ₄) ₂ SO ₄	2.162±0.053	c	C	++
	碳酸铵 (NH ₄) ₂ CO ₃	1.365±0.021	d	D	++
	硝酸钾 KNO ₃	2.634±0.045	a	A	+++

2.3 无机盐对菌丝生长的影响

表 6 表明,无机盐为磷酸二氢钾时,粉褶白环蘑和大根白环蘑菌丝生长速度最快,菌丝比较浓密,洁

白,生长活力比较旺盛;对于大肥蘑菇而言,无机盐为磷酸氢二钾时菌丝的生长速度和长势最好。无机盐为硫酸镁时 3 种蘑菇的菌丝生长均较慢,长势稍弱。

表 6 不同无机盐对菌丝体生长的影响

Table 6 Effect of different mineral salt on the growth of mycelium

菌株 Strains	无机盐 Mineral salt	菌丝生长速度 Mycelium growth rate/(mm · d ⁻¹)	显著差异性 Significance of difference		菌丝长势 Mycelial vigor
			0.05	0.01	
粉褶白环蘑 <i>Leucoagaricus leucothites</i>	磷酸氢二钾 K ₂ HPO ₄	2.338±0.044	b	B	++
	磷酸二氢钾 KH ₂ PO ₄	3.594±0.007	a	A	+++
	硫酸镁 MgSO ₄	2.304±0.063	b	B	++
	硫酸亚铁 FeSO ₄	—			
	硫酸锌 ZnSO ₄	—			
大肥蘑菇 <i>Agaricus bitorquis</i>	磷酸氢二钾 K ₂ HPO ₄	2.735±0.031	a	A	+++
	磷酸二氢钾 KH ₂ PO ₄	2.345±0.023	b	B	++
	硫酸镁 MgSO ₄	2.413±0.039	b	B	++
	硫酸亚铁 FeSO ₄	—			
	硫酸锌 ZnSO ₄	—			
大根白环蘑 <i>Leucoagaricus barssii</i>	磷酸氢二钾 K ₂ HPO ₄	2.426±0.052	b	B	++
	磷酸二氢钾 KH ₂ PO ₄	3.523±0.023	a	A	+++
	硫酸镁 MgSO ₄	1.483±0.027	c	C	+
	硫酸亚铁 FeSO ₄	—			
	硫酸锌 ZnSO ₄	—			

2.4 pH 对菌丝生长的影响

表 7 表明,粉褶白环蘑在培养基 pH 为 5 时,菌丝生长速度和菌丝长势达到最高峰,此时的菌丝浓

密,洁白,表现出较强的活力;大肥蘑菇和大根白环蘑分别在 pH 7 和 pH 6 时菌丝生长速度和长势最好。

表 7 不同 pH 对菌丝体生长的影响

Table 7 Effect of different pH on the growth of mycelium

菌株 Strains	pH	菌丝生长速度 Mycelium growth rate	差异显著性 Significance of difference		菌丝长势 Mycelial vigor
		/(mm·d ⁻¹)	0.05	0.01	
粉褶白环蘑 <i>Leucoagaricus</i>	4	3.182±0.001	b	B	++
	5	3.857±0.026	a	A	+++
<i>leucothites</i>	6	3.366±0.008	b	B	++
	7	3.353±0.056	b	B	++
大肥蘑菇 <i>Agaricus</i>	8	2.042±0.061	c	C	+
	4	2.273±0.045	d	D	+
<i>bitorquis</i>	5	3.247±0.031	c	C	++
	6	4.151±0.024	b	B	++
大根白环蘑 <i>Leucoagaricus</i>	7	4.537±0.013	a	A	+++
	8	4.012±0.032	b	B	++
<i>barssii</i>	4	—	—	—	—
	5	3.016±0.032	c	B	++
大根白环蘑 <i>Leucoagaricus</i>	6	3.258±0.024	a	A	+++
	7	3.120±0.015	b	B	++
<i>barssii</i>	8	3.243±0.069	c	C	++

2.5 温度对菌丝生长的影响

表 8 表明,粉褶白环蘑和大根白环蘑在温度为 30℃时,菌丝的生长速度达到最大值,菌丝长势也是最好。大肥蘑菇菌丝生长的最适温度为 25℃。

表 8 不同温度对菌丝生长的影响

Table 8 Effect of temperature on the growth of mycelium

菌株 Strains	温度 Temperature /℃	菌丝生长速度 Mycelium growth rate	差异显著性 Significance of difference		菌丝长势 Mycelial vigor
		/(mm·d ⁻¹)	0.05	0.01	
粉褶白环蘑 <i>Leucoagaricus</i>	20	2.349±0.043	d	D	++
	25	3.810±0.038	c	C	++
<i>leucothites</i>	30	4.390±0.027	a	A	+++
	35	4.319±0.033	b	B	++
大肥蘑菇 <i>Agaricus</i>	20	1.337±0.015	c	C	+
	25	2.524±0.003	a	A	+++
<i>bitorquis</i>	30	2.496±0.021	a	A	++
	35	1.473±0.034	b	B	+
大根白环蘑 <i>Leucoagaricus</i>	20	2.823±0.017	c	B	++
	25	3.023±0.032	b	B	++
<i>barssii</i>	30	3.476±0.053	a	A	+++
	35	3.231±0.043	b	B	++

3 结论与讨论

粉褶白环蘑以可溶性淀粉为碳源、酵母膏为氮源、磷酸二氢钾为无机盐、pH 5、温度 30℃条件培养,菌丝生长速度和长势最好;大肥蘑菇以蔗糖为碳源、酵母膏为氮源、磷酸氢二钾为无机盐、pH 7、温度 25℃培养,菌丝生长速度和长势最佳;大根白环蘑以麦芽糖为碳源、酵母膏为氮源、磷酸二氢钾为无机盐、pH 6、温度 30℃培养,菌丝生长速度和长势最好。综合来看,3种蘑菇的最适氮源均为酵母膏,最适无机盐均为磷酸盐,对麦芽糖、蔗糖、可溶性淀粉等多糖碳源有不同的喜好,对 pH 要求虽不同,但主要喜中性或弱酸性;最适温度 25~30℃。

该研究发现蘑菇属及其相近种菌丝体以酵母膏为氮源,磷酸盐为无机盐,pH 为中性或弱酸性,中高温条件下生长较好,这一结果与蘑菇属的双孢蘑菇^[8]、野蘑菇^[9]菌丝体培养特性较为一致。同时,研究发现蘑菇属和白环蘑菇属的种类具有较好的利用多糖碳源的特点。该研究为蘑菇属和相近属食用菌栽培驯化和林下食用菌资源开发利用奠定了基础。

参考文献

- [1] 戴玉成,周丽伟,杨祝良,等.中国食用菌名录[J].菌物学报,2010,29(1):1-21.
- [2] 戴玉成,杨祝良.中国药用真菌名录及部分名称的修订[J].菌物学报,2008,27(6):801-824.
- [3] 陈旭,曹茜,朱森林,等.灵芝南 GL11 菌丝的生物特性[J].西南农业学报,2016,29(9):2212-2215.
- [4] 周元,梁宗锁,段琦梅.不同来源的猪苓菌株菌丝生物学特性比较[J].微生物学杂志,2008,28(6):14-18.
- [5] 林衍铨,马璐,应正河,等.碳源和氮源对绣球菌菌丝生长的影响[J].食用菌学报,2011,18(3):22-26.
- [6] 常明昌.食用菌栽培学[M].北京:中国农业出版社,2003.
- [7] 韩晓芳,杨杰,吴艳,等.双孢蘑菇新品种冀 168 栽培特性初报[J].中国食用菌,2010,29(2):15-16,31.
- [8] 汪茜,吴圣进,韦仕岩,等.不同培养条件对双孢蘑菇菌丝生长的影响[J].南方农业学报,2012,43(2):217-222.
- [9] 吕彩莲.野蘑菇菌丝体培养条件的研究[D].呼和浩特:内蒙古农业大学,2011.

Optimum Culture Conditions for Three Macrofungi of Agaricaceae

WANG Shurong, GUO Fukuan, CHANG Mingchang

(College of Food Science and Engineering, Shanxi Agricultural University, Taigu, Shanxi 030801)

Abstract: The biological characteristics of three mushroom collected from Shanxi Province was studied. The mycelium culture characteristics and the best culture conditions of three macrofungi, including *Leucoagaricus barssii*, *Agaricus bitorquis* and *Leucoagaricus leucothites* were studied by the screening test of different carbon source, nitrogen source, inorganic salt, pH and temperature. The results showed that the optimum nitrogen source

DOI:10.11937/bfyy.201710032

不同生长年限白及生长旺盛期农艺性状与质量

杨平飞, 宋智琴, 刘 海, 罗 鸣, 张金霞, 吴明开

(贵州省现代中药材研究所, 贵州 贵阳 550006)

摘 要:以白及为试材,连续对不同生长年限白及生长旺盛期内(4—7月)的农艺性状和质量进行测量和比较分析。结果表明:4—7月,1年生白及各农艺性状均呈上升趋势,以根数增长较大,达93.34%,差异显著;花梗茎增长较小,为2.94%,差异性不显著。2年生白及各指标均有不同程度的增长,以最短根长增长幅度较大,达87.00%,差异显著;以最长根长增长幅度较小,为28.44%,差异性不显著;毛质量和块茎质量4—6月呈上升趋势,到7月则有所下降。3年生白及块茎径、分叉茎总长、分叉茎总厚呈下降趋势,块茎厚、根数、最长根长、最短根长、毛质量及块茎质量呈上升趋势,以最短根长增长幅度较大,达187.12%,差异显著;以分叉茎总长下降幅度较大,达103.78%,差异显著。4年生白及除根数和根长呈上升趋势外,其它各指标均呈下降趋势,以分叉茎总厚下降幅度较大,达34.92%,差异性不显著;以最长根长增长幅度较大,达154.54%,差异显著。3年生白及含水量较高,1年生白及含水量较低;4年生白及胶含量最高,而2年生白及的白及胶含量较低。不同生长年限白及生长旺盛期的农艺性状与质量变化不同,研究结果为了了解白及生长旺盛期的生长情况提供了参考。

关键词:白及;生长旺盛期;农艺性状;质量

中图分类号:S 567.23⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)10-0140-05

白及(*Bletilla striata*)属兰科白及属多年生草本植物,以干燥块茎入药,是传统中药材。白及味苦、

甘、涩;性微寒;归肺、肝、胃经;具有收敛止血、消肿生肌之效,主要用于治疗咳血、外伤出血、疮疡肿毒、皮肤皲裂、肺结核等^[1]。另外,白及还被广泛运用于食品和化工领域,综合利用潜力巨大^[2-6]。白及主产于贵州、安徽、云南、四川、广西、湖北等省份,全国各地有少量栽培。白及的生长旺盛期为4—7月,期间花朵由开至谢,之后逐渐结出蒴果,至9月成熟,10月下旬植株逐渐倒苗。近年来,由于人为的长期挖掘和在自然条件下白及种子的萌发率极低等原因,导致野生资源急剧减少,研究者们对白及研究较多关注于组培快繁栽培^[7-9]及药理^[10-12]等方面,对不同生长年限白及生长旺盛期各年生白及农艺性状的比较研究较少,该试验通过对白及生长旺盛期各年生白及农艺性状的比较研究,旨在为了解白及旺盛期生长特性提供参考依据。

第一作者简介:杨平飞(1988-),男,硕士,助理研究员,现主要从事中药材栽培生理等研究工作。E-mail:505092100.my@163.com

责任作者:吴明开(1970-),男,博士,研究员,现主要从事中药材资源多样性保护和利用及育种与栽培等研究工作。E-mail:bywmk1999@163.com

基金项目:2015年中医药行业专项中药类资助项目(201507002-1-11);黔农科院自主创新科研专项资助项目(字(2014)017号);施秉中药材产业科技合作专项资助项目(施中药科合专项(2014)号);贵州省农业委员会资助项目(GZ-CYTX2014-0202);黔科合农科特派资助项目([2015]4007-3);黔科合成转资助项目(字[2015]5216号);贵州省科学技术基金资助项目(黔科合 LH 字[2014]7695号)。

收稿日期:2016-12-07

for three mushroom was yeast extract and the optimum inorganic salt was phosphate. The strains had different preference on carbon source such as maltose, sucrose and soluble starch polysaccharides. The requirement of pH was different, but mainly favor neutral or weak acid. The optimal temperature was from 25 °C to 30 °C. This study paved the way for the cultivation of edible mushroom.

Keywords: *Agaricus bitorquis*; *Leucoagaricus barssii*; *Leucoagaricus leucothites*; optimal culture condition