

草菇菌丝体深层培养条件研究

张 萍¹, 牛 磊², 王爱云¹, 曲慧鸽¹, 蔡德华¹

(1. 烟台师范学院生命科学学院, 山东 烟台 264025; 2. 聊城职业技术学院基础部, 山东 聊城 262000)

摘要: 采用深层培养方法对草菇 *V₁₁₀* 菌株在不同培养条件下的菌丝生长状况进行比较分析, 结果表明: 适合菌丝体生长的最佳培养温度为 30~33 ℃, 初始 pH 值为 6.0~7.0, 粘度为添加 0.2% 的琼脂, 接种量为 10%~15%, 500 ml 锥形瓶装液量为 150~180 ml, 转速为 220 r/min 左右。

关键词: 草菇; 深层培养; 菌丝体; 培养条件

中图分类号: S646.1⁺3 文献标识码: A 文章编号: 1004-3268(2005)11-0079-03

草菇[*Volvariella volvacea* (Bull ex Fr) Sing.] 隶属于真菌门、担子菌纲、伞菌目、光柄菇科、小苞脚菇属。其子实体含有大量的蛋白质, 多种氨基酸、维生素, 味道鲜美, 营养丰富, 并且具有较高的药用价值, 对增强人类体质, 提高免疫力, 防癌、抗癌都有良好的作用^[1]。

随着食用菌产业的发展, 传统的生产模式已不能满足生产的需要, 使用液体菌种是食用菌生产的发展趋势^[2]。有关草菇液体培养的研究报道比较零散^[3~5], 我们采用摇瓶培养方法对草菇 *V₁₁₀* 深层培养条件进行优化研究, 以探讨利于菌丝体生长的培养条件。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试菌株 草菇 *V₁₁₀*, 引自江苏省高邮市食用菌研究所。

1.1.2 母种培养基 马铃薯 20%, 葡萄糖 2%, 麦麸 3%, 蛋白胨 0.15%, KH_2PO_4 0.2%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.1%, 琼脂 2%。

1.1.3 一级摇瓶培养基 马铃薯 5%, 蔗糖 2%, 蛋白胨 0.15%, 麦麸 3%, KH_2PO_4 0.1%, MgSO_4 0.05%, VB_1 0.001%。

1.1.4 二级摇瓶培养基 马铃薯 20%, 葡萄糖 2%, 蛋白胨 0.3%, KH_2PO_4 0.1%, MgSO_4 0.05%, VB_1 0.001%。

1.2 液体菌种制备

取 3 块 0.5 cm^2 的试管母种(少带琼脂), 在无菌条件下接入盛有 150 ml 一级摇瓶培养液的锥形瓶(500 ml)中, 尽量使菌种块漂浮在液面, 25 ℃下静止培养 1d, 而后置于温度为 30 ℃、转速 210 r/min 的摇床培养约 5 d, 作为液体菌种。

1.3 试验方法

1.3.1 温度的影响 将二级摇瓶分别置于 24 ℃、27 ℃、30 ℃、33 ℃、36 ℃和 39 ℃的摇床培养。

1.3.2 pH 值的影响 将培养基初始 pH 值分别调试为 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0 和 9.0, 灭菌后接种培养。

1.3.3 粘度的影响 将培养基中分别添加 0.1%, 0.2%, 0.3%, 0.4%, 0.5% 的琼脂, 并以不添加琼脂作空白对照。

1.3.4 接种量的影响 分别接入 1%, 5%, 10%, 15%, 20% 的一级摇瓶种。

1.3.5 瓶装量的影响 分别装入 90 ml、120 ml、150 ml、180 ml、210 ml、240 ml 的培养基。

1.3.6 转速的影响 选择摇床的转速为 100 r/min、130 r/min、160 r/min、190 r/min、220 r/min、250 r/min。

以上试验除设定条件外, 均采用 500 ml 的锥形瓶, 每瓶装二级摇瓶培养基 150 ml, 接种量 10%, 摇床培养温度 32 ℃, 转速为 210 r/min。均重复 3 次。

1.4 测定方法

在设置的条件下, 培养 3 d 后, 测量菌球密度和

收稿日期: 2005-07-25

基金项目: 山东省科技厅良种产业化工程项目([2001]500号)

作者简介: 张 萍(1962-), 女, 山东临清人, 副教授, 硕士, 主要从事植物学教学和食用真菌学研究。

菌丝体干重。

1.4.1 菌球密度的测定 将发酵液置于 200 ml 的量筒中,静置 5 min,计算菌丝体与发酵液的体积比。

1.4.2 菌丝体干重的测定 将抽滤后的菌丝体置于 60 ℃的烘箱烘至恒重,用分析天平测其重量。

2 结果与分析

2.1 温度对菌丝生长的影响

从表 1 可以看出,随着培养温度的上升,菌丝体

干重逐渐增加,30 ℃时达到最大,随后,随温度继续升高,菌丝体的干重反而下降。菌球的大小随着培养温度的升高也有所增加。对不同培养温度下的菌丝体干重进行方差分析,结果表明,培养温度不同草菇菌丝体干重差异显著。其中,培养温度 30 ℃和 33 ℃与其他温度菌丝体干重差异达极显著水平,而 30 ℃与 33 ℃的菌丝体干重差异不显著。因此,30 ~33 ℃是草菇菌丝体生长最适温度。考虑到经济的因素,草菇生长的温度范围一般设在 30 ~31 ℃。

表 1 不同温度对草菇菌丝体生长的影响

项目	培养温度(℃)					
	24	27	30	33	36	39
菌球直径(mm)	2~3	2~3	3~4	3~4	4	5~6
菌丝干重(g/ml)	0.00209aA	0.00326bA	0.00647cC	0.00638cC	0.00528dD	0.00316bB

2.2 pH 值对菌丝生长的影响

由表 2 可以看出,随着培养基 pH 值增加,菌丝体干重逐渐增加,培养基 pH 值 6.0 时菌丝体干重最大,而后随培养基 pH 值的继续升高,菌丝体干重逐渐降低。菌球的直径亦随着 pH 值增加而增加,在 pH 值 7.0 时最大,随后随培养基 pH 值的继续升

高,菌球直径减少,数量减少。对不同 pH 值下的草菇菌丝体干重进行方差分析和均数间的多重比较,可以看出,不同 pH 值条件下,草菇菌丝体干重差异显著,但在 pH 值 6.0 ~7.0 时,菌丝体干重差异并不显著。因此,草菇液体培养的最适 pH 值是 6.5 左右,接近中性。

表 2 培养基初始 pH 值对草菇菌丝体生长的影响

项目	pH 值					
	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0	9.0
菌球直径(mm)	1~1.5	1.8	1.5~2	2~3	1~1.2	个别有球
菌丝干重(g/ml)	0.00162dD	0.00495	0.00593bB	0.00567aA	0.00256cC	0.00036cE

2.3 粘度对菌丝生长的影响

从表 3 可以看出,菌丝体干重在培养基琼脂添加量为 0.2 %时为最大;之后,随琼脂添加量的增加,菌丝体干重不断下降。而菌球直径在添加琼脂的培养基中都明显小于对照;在 0.1 %~0.4 %间逐渐减小;0.4 %时菌球直径最小,小球的比例最多;随后随琼脂添加量的增加,菌球的数量反而减少,出现不规则大块。由此可初步判断,适合草菇生长的琼

脂添加量范围为 0.1 %~0.2 %。对不同琼脂添加量下的菌丝体干重进行方差分析,可以看出,不同琼脂添加量下草菇菌丝体干重差异显著。均数间的多重比较显示,添加琼脂 0.1 %和 0.2 %时,菌丝体干重差异不显著,考虑到黏度太低,菌球较大,小直径的菌球比例也低,不利于接种。因此,制作草菇液体培养基时,一般应添加 0.2 %的琼脂,如果添加一定量的农产品水解液,也可不必添加琼脂。

表 3 琼脂浓度对草菇菌丝体生长的影响

项目	琼脂浓度(%)					
	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
菌球直径(mm)	5~6	3~4	2~2.5	2	1.5~2	2~4
菌丝干重(g/ml)	0.00582bAB	0.00603abAB	0.00631aA	0.00563bABC	0.00554bB	0.00495cBC

2.4 接种量对菌丝生长的影响

从表 4 可以看出,随着接种量的增加,菌丝体干

重相应增加,当接种量达 10 %时,菌丝体干重最重,随后有所下降,但不明显。

表 4 接种量对草菇菌丝体生长的影响

项目	接种量(%)				
	1	5	10	15	20
菌球直径(mm)	4	3~4	2~3	2~3	2
菌丝干重(g/ml)	0.00315aA	0.00475bB	0.00631cC	0.00614cC	0.00527bB

对不同接种量下的菌丝体干重进行方差分析显示,草菇菌丝体干重差异极显著。而均数间的多重比较显示,接种量在 10%与 15%之间差异不显著,考虑到经济因素,10%左右为草菇适宜的接种量。

2.5 装液量对菌丝生长的影响

装液量为 120~180 ml(500ml 锥形瓶)时,菌丝体干重变化不大,210 ml 时下降明显。而菌球直径

变化不大。通过对不同装液量的菌丝体干重进行方差分析可以看出,不同装液量下草菇菌丝体干重差异显著。装液量为 150 ml 和 180 ml 时差异不显著,故 150~180 ml 的装液量是其菌丝体培养的最佳装液量。这主要是因为草菇是嗜氧菌,过高的装液量影响通气,菌丝缺氧而生长缓慢;而装液量过低震荡时易对菌丝造成较大的损伤而影响其生长。

表 5 装液量对草菇菌丝体生长的影响

项目	装液量(ml)					
	90	120	150	180	210	240
菌球直径(mm)	4	3~4	2~3	2~3	2~4	2~4
菌丝干重(g/ml)	0.00326aA	0.00531bB	0.00598cBC	0.00625cC	0.00483bBC	0.00343aA

2.6 转速对菌丝生长的影响

从表 6 可以看出,菌丝体干重随着转速的上升而不断增加,220r/min 时菌丝体干重达最高,220r/min 后呈下降趋势。在 160r/min 以下菌球极少,一般菌球增大、粘连,出现不规则块状;160r/min 以上菌球增加,到 250r/min 时,菌球开始减少,而且大小不均匀,形状不规则。可见,最适合草菇菌丝体生长

的转速为 190~220r/min。对不同转速条件下的菌丝体干重进行方差分析和均数间的多重比较显示,不同转速下草菇菌丝体干重差异极显著。因此,可以确定最适合草菇生长的转速为 220 r/min。这主要是因为转速过低,菌丝不易断裂,形不成小球,加之溶氧不够,影响菌丝体的生长;转速过高对菌丝体的损伤较大,而不利于其生长。

表 6 不同转速对草菇菌丝体生长的影响

项目	转速(r/min)					
	100	130	160	190	220	250
菌球直径(mm)	不规则菌块	菌球极少 *	3	2~3	2~2.5	不规则圆球
菌丝干重(g/ml)		0.00092aA	0.00278bB	0.00512cC	0.00638eD	0.00584dD

3 小结

草菇液体培养二级摇瓶培养时,适宜草菇 V₁₁₀ 菌丝生长的条件是:温度 30~31 ℃,pH 值为 6.5,粘度为添加 0.2%的琼脂,接种量为 10%~15%,500 ml 锥形瓶装液量为 150~180 ml,转速为 220 r/min左右。与其他食用菌的培养条件相比^[6,7],草菇所需的温度和转速都比较高。

参考文献:

[1] 杨国良,韩继刚,朱宝成,等.草菇无公害生产技术[M].北京:中国农业出版社,2003.1—19.
[2] 陆建明,张锡凤.食用菌液体菌种制备的研究进展[J].

中国食用菌,2003,22(6):15—17.
[3] 党建章,仲英,李苏平.草菇菌种液体培养及超氧化物歧化酶的测定[J].南昌大学学报,1999,12(4):343—345.
[4] 刘成荣.几种食用菌液体栽培的初探[J].福建商业高等专科学校学报,2000(4):24—27.
[5] 王磊,张志光.草菇液体发酵药瓶试验初探[J].中国食用菌,1995,14(2):43—44.
[6] 乐超银,邵伟,刘庆刚,等.猴头菌液体发酵条件的研究[J].中国食用菌,1999,18(3):32—34.
[7] 辛晓林,黄清荣,董洪新,等.鸡腿菇菌丝体液体深层培养条件优化研究[J].浙江农业科学,2003(6):307—308.