

杏鲍菇液体菌种培养条件的研究

马立芝¹ 袁建平¹ 马浩² 吴薇² 高振江²

1 廊坊师范学院生物系 河北廊坊 065000;

2 中国农业大学 北京 100088

zjgao@cau.edu.cn

摘要: 本文采用 L9 (34) 正交试验设计, 多指标综合平衡法, 以菌球的干重、密度、直径为检验指标, 研究了温度、装量、接种量、转速不同组合对杏鲍菇液体菌种各项指标的影响。经过试验分析, 从中筛选出最适合杏鲍菇液体菌种生长的四因素最佳组合为温度 30、装量 100ml、接种量 15%、转速 210r/min。

关键词: 杏鲍菇 液体菌种 培养条件 菌球

杏鲍菇, 又名刺芹侧耳, 伞菌目侧耳科侧耳属^[1]。菌肉肥厚, 质地脆嫩, 有杏仁香味, 口感极佳^[2], 是味道很好的一种平菇, 有“平菇王”之称^[3]。药用价值可提高免疫功能, 具有抗癌、降血脂、润肠胃、美容的效果。其氨基酸、矿质元素、寡糖含量都相当高, 具有很高的营养价值^[4]。因此, 受到国内外消费者的青睐, 是很有推广价值的一种珍稀食用菌^[6]。本研究对液体菌种培养条件温度、转速、装量、接种量的不同组合进行研究, 为杏鲍菇液体菌种的生产提供良好的科学依据。通过一系列试验及结果分析, 找出适合杏鲍菇液体菌种生长的摇瓶培养条件, 为实现杏鲍菇液体菌种固体栽培生产模式的推广应用作初步准备。

1. 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 菌种

杏鲍菇母种由廊坊市绿丰食用菌公司提供。

1.1.2 仪器设备

电热鼓风干燥箱 (500 × 500 × 500), 霉菌培养箱 (MJ-160B 型), 立式电热压力蒸汽灭菌器 (LDZX-40), 双数显汽浴恒温振荡器 (TH2-82A), 80 目筛网。

1.1.3 培养基及其制备

1 斜面培养基 (PDA 培养基) 马铃薯 20% 蔗糖 2% 琼脂 2% 马铃薯去皮, 切成块煮沸 30min, 然后用二层纱布过滤, 再加糖及琼脂, 加热至琼脂溶化后补足水定容, 然后 115 湿热灭菌 30min^[11]。2 一级摇瓶培养基 葡萄糖 3% 蛋白胨 0.2% KH₂PO₄ 0.05% MgSO₄ 0.05% VB₁ 10mg/L 酵母浸粉 0.5% 琼脂 0.4% 将以上成分加热至琼脂溶化后定容。然后 121 湿热灭菌 30min^[11]。3 二级摇瓶培养基 黄豆粉 6% 葡萄糖 3% 蛋白胨 0.2% KH₂PO₄ 0.05% MgSO₄ 0.05% VB₁ 10mg/L PH 自然 将称好的黄豆粉放入白瓷缸中加热并煮沸几分钟, 然后加入 MgSO₄、KH₂PO₄、VB₁ 等成分最后倒入 1000ml 量筒中定容。最后按试验要求 (表 2 的 9 个处理) 分装到 500ml 锥形瓶中, 然后 121 湿热灭菌 30min^[11]。4 平板培养基 成分及其制备同斜面培养基。

1.2 实验方法

1.2.1 菌种制备

1 一级菌种的制备 母种经斜面活化之后,在超净工作台无菌条件下,用接种铲取 0.5cm^2 左右的菌块接种于装有150ml一级培养基的500ml三角瓶中,每瓶3块,恒温25静置2天,然后移入THZ—82A恒温振荡器中培养,温度25、转速180r/min,振荡培养5天。2 二级菌种的制备 在无菌条件下将一级菌种按表2的9个处理的不同接种量接种于装有不同的装量的二级培养基的500ml三角瓶中,然后在THZ—82A恒温振荡器中按表2的9个处理不同的条件要求培养5天。

1.2.2 最佳培养条件试验

按装量(A)、温度(B)、转速(C)、接种量(D)四因素三水平(详细设计见表1)设计 $L_9(3^4)$ 正交试验,试验设9个处理,每个处理4个重复(详见表2)。按不同处理中对培养条件的不同要求将9个处理放在恒温振荡器上振荡培养5天。然后测量菌球干重、菌球密度、菌球直径。

1.2.3 测定内容及方法

1.2.3.1 菌球密度^[12]

将培养好的摇瓶摇匀后,取1ml培养液于培养皿中,直观计数,取3次求平均值。

1.2.3.2 菌球直径^[12]

取1ml培养液倒入培养皿中,按1ml培养液含菌球大小的数量比,取15个菌球在培养皿中排成一列,测总长度,然后计算单个菌球直径,取3次求平均值。

1.2.3.3 菌球干重^[13]

将培养液用80目筛网过滤出菌球,清水洗涤数次,然后放入干燥箱105 烘干2小时,冷却后称重,然后再放入干燥箱中105 烘干半小时再称重,直到两次称重的重量差不超过2mg即为恒重。

2. 结果与分析

2.1 不同处理对杏鲍菇液体菌种各项检验指标的影响及极差分析

2.1.1 不同处理对杏鲍菇液体菌种各项检验指标的试验结果

不同处理对杏鲍菇液体菌种各项检验指标的试验结果见表2。

2.1.2 不同指标的优方案筛选

2.1.2.1 菌球干重的优方案

各因素不同水平对菌球干重的影响见表3。由表3得知,A因素的第一水平干重量最大,B因素的第三水平干重量最大,C因素的第一水平干重量最大,D因素的第三水平干重量最大。因此,对于菌球干重来说 $A_1B_3C_1D_3$ 是优方案。

2.1.2.2 菌球密度的优方案

各因素不同水平对菌球密度的影响见表4。由表4得知,A因素的第二水平密度最大,B因素的第二水平密度最大,C因素的第三水平密度最大,D因素的第一水平密度最大。因此,对于菌球密度来说 $A_2B_2C_3D_1$ 是优方案。

2.1.2.3 菌球直径的优方案

各因素不同水平对菌球直径的影响见表5。由表5得知,A因素的第三水平直径最小,B

因素的第二水平直径最小 ,C 因素的第三水平直径最小 ,D 因素的第一水平直径最小 。因此 ,对于菌球直径来说 $A_3B_2C_3D_1$ 是优方案。

表 1 试验因素与水平

水平	因素			
	A 装量 ml	B 温度	C 转速 r/min	D 接种量 %
1	100	20	150	5
2	125	25	180	10
3	150	30	210	15

表 2 不同处理的试验结果

处理	因素				各指标的试验结果		
	A	B	C	D	干重 g/100ml	密度 个/ml	直径 mm
1	1	1	1	1	3.593	76	1.15
2	1	2	2	2	3.013	128	0.94
3	1	3	3	3	4.308	141	0.82
4	2	1	2	3	3.333	67	1.32
5	2	2	3	1	1.570	525	0.57
6	2	3	1	2	3.223	76	1.35
7	3	1	3	2	3.150	80	0.65
8	3	2	1	3	3.196	81	1.13
9	3	3	2	1	2.763	131	0.64

表 3 各因素对菌球干重的极差分析

	因素			
	A	B	C	D
K_1	10.914	10.076	10.012	7.926
K_2	8.126	7.779	0.109	9.386
K_3	9.109	10.294	9.028	10.837
1	3.398	3.359	3.337	2.642
2	2.708	2.593	3.036	3.129
3	3.036	3.431	3.009	3.612
极差	0.929	0.838	0.301	0.970
优方案	A_1	B_3	C_1	D_3

表 4 各因素对菌球密度的极差分析

	因素			
	A	B	C	D
K ₁	345	223	233	732
K ₂	668	734	326	284
K ₃	292	348	746	289
1	115	74	78	244
2	223	244	109	95
3	97	116	249	96
极差	125	170	171	148
优方案	A ₂	B ₂	C ₃	D ₁

表 5 各因素对菌球直径的极差分析

	因素			
	A	B	C	D
K ₁	2.91	3.12	3.63	2.36
K ₂	3.24	2.64	2.90	2.94
K ₃	2.42	2.81	2.04	3.27
1	0.97	1.04	1.21	0.79
2	1.08	0.88	0.97	0.98
3	0.81	0.94	0.68	1.09
极差	0.27	0.16	0.53	0.33
优方案	A ₃	B ₂	C ₃	D ₁

2.2 四因素最佳组合分析

由上面的结果我们可以看出，这三个指标的方案不完全相同。对一个指标好的方案，对另一个指标却不一定是。因此我们采用多指标综合平衡法，结合各因素的不同水平对各检验指标的影响线形图进行分析。（详见图 1—图 3）

2.2.1 装量对各指标的影响

装量对各指标的影响从表 3—表 5 中来看，对菌球干重来讲取第一水平最好；对直径来讲，装量的极差较小，取第三水平最好，因为装量对直径是影响较小的因素，所以可以取第一水平，且结合图 3 可看出第一水平也不是最差的；对菌球密度来讲其极差最小，也就是它对密度的影响最小，而且结合图 2 可看出取第一水平也不是最差。如果装量取第二水平，直径将会是最差的。因此，综合考虑装量对各指标的影响，装量应取第一水平最好。

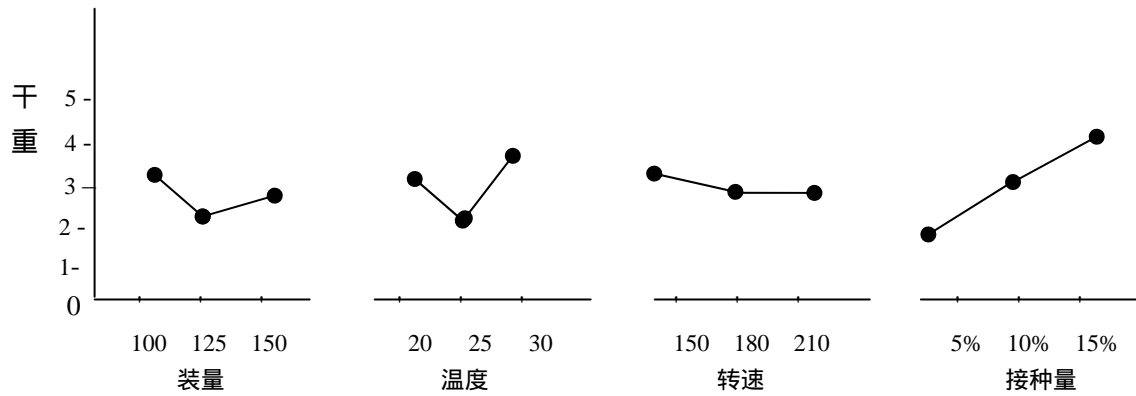


图 1 各因素的不同水平对干重的影响

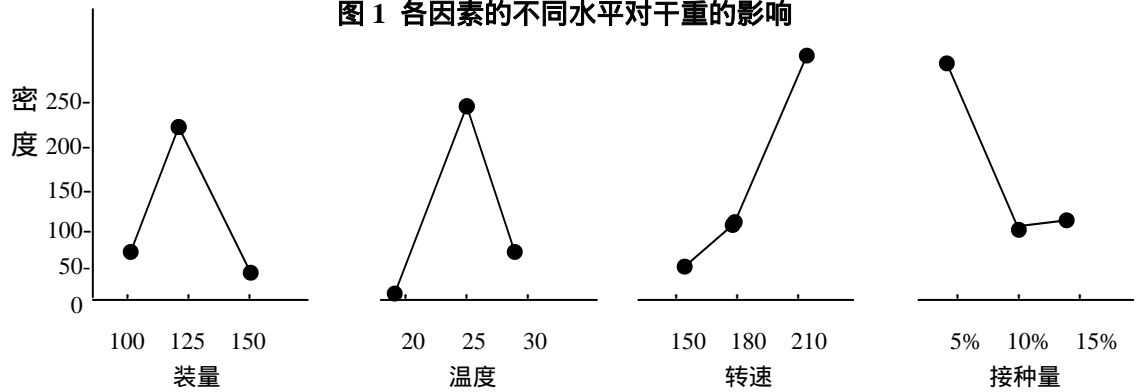


图 2 各因素的不同水平对密度的影响

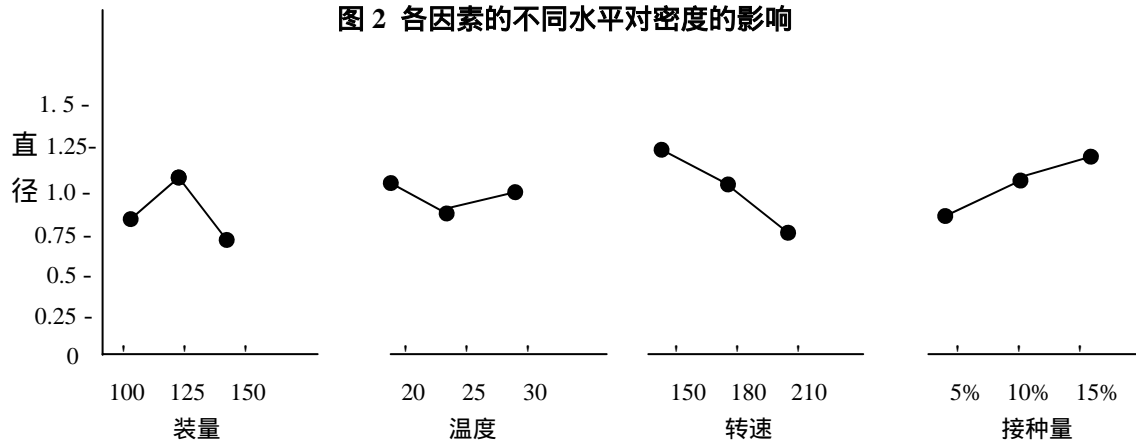


图 3 各因素的不同水平对直径的影响

2.2.2 温度对各指标的影响

从表 3—表 5 中来看温度对 3 个指标来讲极差都不是最大的，即说明温度对各项指标的影响均不是最大的。对干重来说取第三水平为最好；对直径来讲取第二水平最好，并且温度对直径的极差是最小的，再结合图 3，温度取第三水平对直径来说也不是最差；对密度取第二水平为最好，结合图 2 看出取第三水平也不是最差的。由表中的极差分析可知，温度对密度、直径来讲，均取第二水平为最好，但如果温度取第二水平，干重将会是最差的，因此认为温度应取第三水平为最好。

2.2.3 转速对各指标的影响

从表 3—表 5 中极差分析可知,转速对各指标的影响除干重外,第三水平对菌球的其它各指标试验结果均是最好的。而转速的极差对干重来说又是最小的,也就是说转速对干重来说影响是最小的。考虑到其它指标取第三水平最好,因此我们认为转速取第三水平最好。

2.2.4 接种量对各指标的影响

从表 3—表 5 中可看出对干重来讲,极差是最大的,而且取第三水平最好;对密度和直径来讲,接种量的极差均是较小的,并且接种量取第一水平最好,再结合图 2、图 3 接种量取第三水平时菌球密度也不是最差的,只是直径会为最差的。综合考虑三个指标,我们认为接种量取第三水平为最好。

通过各因素对各指标影响的综合分析得出较好的试验方案是 $A_1B_3C_3D_3$,即装量 100ml,温度 30,转速 210r/min,接种量 15%。而此组合为我们做的 9 个处理中第 3 个处理,第 3 个处理与其它几个处理相比较,我们也可以看出菌球数目除小于第五个处理外,其干重、是最好的。虽菌球直径不是最小,但菌球直径在 1mm 以内,也是优质的食用菌液体菌种^[14],因此适合于实际生产。

3. 结论与讨论

本文采取 $L_9(3^4)$ 正交设计试验,综合平衡法对杏鲍菇液体菌种培养条件进行研究,以菌球干重、密度、直径为检验指标,得出了温度 30,转速 210r/min,接种量 15%,装量 100ml 为最佳组合。经过试验表明,接种量对菌球干重影响非常大,处理 3 中接种量为 15%干重最大,处理 5 中接种量为 5%干重最小。转速对菌球密度影响最大,且为 210r/min 时菌球密度最大。温度对各个因素的极差都不是最大的,因此不是最主要的因素。装量的多少可能关系到液体内容氧量的多少,但装量的变化规律对各指标的影响有待进一步研究。

参考文献

- [1]黄年来等. 中国大型真菌原色图鉴. 北京: 中国农业出版社, 1998: 25
- [2]陈为平. 珍稀菌蕈杏鲍菇特性及覆土栽培新技术. 中国食用菌, 2002,21(1):18
- [3]陈少珍, 韦仕岩等. 杏鲍菇特征性及栽培. 广西农业科学, 2002, (4):208
- [4]颜明娟等. 杏鲍菇营养成分分析. 食用菌. 2002(2):11
- [5]黄年来. 一种前景看好的珍稀食用菌 ----杏鲍菇. 中国食用菌, 1998,17(6):3-4
- [6]刘炳明. 杏鲍菇液体培养条件的研究. 中国食用菌, 2004,23(1):58
- [7]王叔淳. 食品卫生检验技术手册. 北京: 化学工业出版社, 2002:116
- [8]赵启美等. 鸡腿菇深层发酵培养基的研究. 食用菌. 2002(2): 8

A Preliminary Study on the Optimum Culture Condition for Liquid Fungus Seeds of *Pleurotus eryngii*

Ma Lizhi¹ Yuan Jianping¹ Ma Hao² Wu Wei² Gao Zhenjiang²

1. Langfang Normal College

2. China Agricultural University

Abstract

In this paper, The orthogonal testing method of L₉(3⁴) was taken to study the effect of different combination of liquid capacity, temperature, rev and inoculate quantity according to observing and measuring index of dry weight, density and diameter of *Pleurotus eryngii* pellet.. The result showed that the optimum combination of submerged culture of *Pleurotus eryngii* is liquid capacity 100ml,temperature 30 ,rev 210r/min, inoculate quantity 15 % . These kind of liquid seeds of *Pleurotus eryngii* are suitable for planting.

Keywords *Pleurotus eryngii* Liquid fungus seeds Culture condition Pellet