

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.

# 不同培养基对羊肚菌菌丝生长及菌核形成的影响

任爱梅, 李建宏, 谢放, 张生香

(兰州交通大学化学与生物工程学院,甘肃兰州 730070)

**摘要:**采用 PDA 培养基、综合 PDA 培养基、浜田氏培养基、葡萄糖硝酸钠琼脂培养基、蔗糖硝酸钾琼脂培养基,分别观察和测定 5 种培养基上羊肚菌菌丝体和菌核生长情况。结果表明,羊肚菌在综合 PDA 培养基上菌丝长势最好,菌核数量最多。

**关键词:**羊肚菌;菌丝;菌核;培养基

**中图分类号:** S646.704<sup>+</sup>.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)11-0270-03

羊肚菌(*Morchella esculenta*)是一种珍贵的食药食用菌,深受各国人们喜爱,但是其人工栽培及其子实体发生机理的问题一直未得到解决。1982 年,Ower 用羊肚菌菌核作为唯一营养库,经过特殊条件处理,观察到羊肚菌在人工控制条件下长出子实体的过程,由此证明菌核的形成是子实体发生的前提<sup>[1]</sup>,以后国内外许多学者的研究都支持这一结论。因此,摸索出菌核形成的条件是成功培育出子实体的先决条件。而不同的培养基对羊肚菌菌丝生长和菌核产生的时间和数量有明显的影响。前人对此进行了大量的研究,筛出 PDA 培养基、综合 PDA 培养基、浜田氏培养基、葡萄糖硝酸钠琼脂培养基、蔗糖硝酸钾琼脂培养基等一批优秀的真菌培养基。但是,关于这几种培养基对菌丝生长及菌核形成的比较研究仍未见报道。因此,本试验对此进行了研究,确定出最佳的培养条件及配方,旨在为羊肚菌资源的开发利用和进一步研究提供理论参考。

## 1 材料与方法

收稿日期:2012-12-30

作者简介:任爱梅(1973—),女,陕西富平人,讲师,研究方向为生物化工。

通信作者:李建宏,硕士研究生,研究方向为资源与环境微生物学。  
E-mail:398096669@qq.com。

术的成功和推广,为养殖提供了优质低价的厚壳贻贝苗种,也为厚壳贻贝规范化、产业化养殖创造了条件,同时也使部分困难户脱贫致富。

一次性环保袋网衣的引进。与以往不同的是,本次试验的后期包苗均是采用一次性环保袋网衣。根据近些年的试验表明,利用一次性环保袋网衣大大地提高了厚壳贻贝海区保苗的成活率,同时,此项技术也为养殖户节约了分苗包苗的人工成本。通过此项技术的开发,将大大推进厚壳贻贝养殖业的发展,同时也将成为厚壳贻贝海区保苗技术的研究亮点,有望在全国各养殖海区进行推广普及。

积极探索并引进国外的先进养殖技术设施。由于目前海区开阔性较大,且养殖设施缺乏升降功能,抗台风能力有限,因此不利于养殖海区的拓展,设施改进有待进一步研究。

### 1.1 供试菌株

羊肚菌,采集于甘肃省甘南州迭部县。采用组织分离法在 PDA 培养基上分离,25℃恒温培养。

### 1.2 主要仪器

恒温培养箱,UV759 紫外可见分光光度计,超净工作台,高压灭菌锅,电子天平。

### 1.3 培养基

各培养基的成分如表 1 所示。

### 1.4 试验方法

**1.4.1 菌种制备** 将已培养好的斜面菌种,接种于 9 cm 的 PDA 培养基平板上,25℃培养 3~4 d,然后用已灭过菌的 6 mm 打孔器切下长好的菌丝体块并转接于上述 5 种固体培养基平板上。

**1.4.2 菌丝体培养特征观察与测定** 每隔 24 h,观察并记录菌丝长势,气生菌丝密度,当菌丝体培养后 4 d(96 h)时,以菌丝将近长满而未长满平皿时作为测量终点,以接种块为中心用刻度尺测量菌落直径(mm),随机测量 3 次,取平均值。菌丝日均长速(mm/d)=[(菌落直径)-6 mm]/2]/培养时间(d),最后取 3 个重复的平均值。

**1.4.3 菌落干重测定** 菌丝体培养到第 5 天时,将菌丝体连同培养基一同放入盛有蒸馏水的烧杯中,每个平板对应 1 个烧杯,然后将烧杯在微波炉中加热,直至培养基完全熔化,用玻璃棒挑出菌丝,置于滤纸上吸收多余的水分后,于电热鼓风

## 参考文献:

- [1]叶雅球,刘达博. 厚壳贻贝 3 群体的形态差异与判别分析[J]. 齐鲁渔业,2012,29(8):4-7.
- [2]常抗美,吴剑锋. 厚壳贻贝人工繁殖技术的研究[J]. 南方水产,2007,3(3):26-30.
- [3]祝世军. 厚壳贻贝人工育苗技术研究[J]. 齐鲁渔业,2005,22(9):28-29.
- [4]徐志进. 舟山厚壳贻贝人工育苗喜获重大突破[J]. 渔业致富指南,2005(13):9.
- [5]戴国雄,王了臣,李松荣,等. 贝类养殖学[M]. 北京:农业出版社,1980.
- [6]金友定. 提高厚壳贻贝海区保苗成活率,推动高效精养发展[C]//嵊泗县渔业可持续发展论坛论文集. 2009:58-59.

表 1 培养基成分

序号	培养基	各成分添加量(g)									
		马铃薯	酵母粉	葡萄糖	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	NaNO <sub>3</sub>	FeSO <sub>4</sub>	KNO <sub>3</sub>	MgSO <sub>4</sub>	FeCl <sub>3</sub>	琼脂
I	PDA	50		5.0							5
II	综合 PDA	50		5.0	0.75						5
III	浜田氏		1.25	5.0							5
IV	葡萄糖硝酸钠			7.5	0.25	0.375	0.002 5				5
V	蔗糖硝酸钾			蔗糖 12.5	1.25			2.5	0.625	0.005	5

注:水 250 mL;培养条件:121 ℃,0.1 MPa,30 min。空白表示无该成分。

干燥箱中 80 ℃烘至恒重后称重,设置 3 个重复。

1.4.4 菌核培养特征观察 每隔 24 h 观察菌核是否形成,记录形成菌核时间,培养 30 d 时观察记录菌核分布和颜色特征,统计每个培养皿中形成的菌核数量。

2 结果与分析

2.1 不同培养基对羊肚菌菌丝体培养特性的影响

由表 2、图 1 可知,羊肚菌菌丝在不同培养基上的生长特征表现不同,菌丝长势、气生菌丝密度、菌丝日均生长速率、菌丝形态和颜色均表现出了很大的差异性。在不同培养基上菌丝伸长生长速率与菌丝体有机质积累速率(菌落干重)不成正比,菌丝体伸长生长速率以 I 号最快,IV 号次之,II 号又次于 IV 号,V 号最慢。因为 I 号中不仅含有速效碳源葡萄糖,还含有马铃薯,其中含有极为丰富的营养,有利于菌丝的迅速生长;IV 号中含有葡萄糖,是最容易被细胞利用的碳源,因此菌丝也能以较快的速率延伸生长;而 II 号中除含有葡萄糖和马铃薯外,还含有无机盐 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>,这就造成生长初期由于盐浓度高而表现出伸长生长缓慢的现象。V 号因缺乏有机氮源而生长缓慢。而菌丝体有机质积累速率以 II 号最快,可能原因

是 II 号中含有 P 和 K,P 是合成细胞膜的必需元素,而 K 与细胞内物质的运输相关,因此,添加 P 与 K 有利于细胞内有机物的合成与积累。另外,在培养中还发现 V 号中菌丝的褐化时间最早,褐化程度最深,这是由于 V 号中含有的营养物质最少,而且全是无机营养物质,相对不利于细胞的生长,使得菌丝较早开始老化。可以发现,葡萄糖作为碳源最易被细胞吸收利用,因此可促进羊肚菌菌线伸长生长的速率;而在富含 P 元素和 K 元素以及有机氮源的培养基上,羊肚菌菌丝干物质积累速率最快,并且较为充足的营养和质也能减缓菌丝的老化。

表 2 不同培养基对羊肚菌菌丝体生长特性的影响

培养基	菌丝长势	日均长速 (mm/d)	菌丝颜色	菌丝形态	气生菌丝密度	菌落干重 (mg)
I	++++	9.975	白色	绒毛状直立生长	较密	158
II	+++	8.795	白色	毡戎状辐射生长	稠密	268
III	++	8.200	白色	绒毛状辐射生长	稀疏	186
IV	++	9.500	白色	丝状辐射生长	稀疏	146
V	+	3.300	浅黄褐色	丝状生长	稀疏	121

注:++++ 菌丝长势极好,+++ 很好,++ 好,+ 一般。

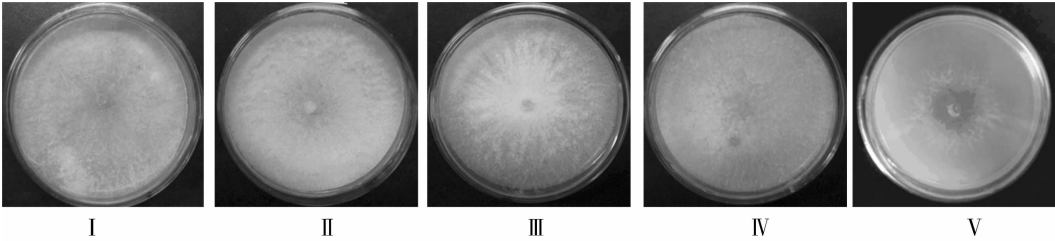


图1 25 ℃下不同培养基上培养 6 d 的羊肚菌菌丝体生长特征

2.2 不同培养基对羊肚菌菌核形成及生长发育的影响

根据表 3、图 2、图 3、图 4 可知,在 5 种不同培养基上,羊肚菌菌核的形成以及生长发育情况各不相同,其总体呈现以下规律:在保证前期菌丝正常生长的情况下,无机盐浓度越高,越有利于菌核的形成。IV 号中由于含有 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>、NaNO<sub>3</sub>、

FeSO<sub>4</sub> 等无机盐,因而菌核的直径最大,菌核的数量也较多。II 号中含有 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>,因此也有大量的菌核形成。而 I 和 III 中菌核的数量和体积也就相对次之。但就大小而言,IV 形成菌核较大,而 I、II、III 号中菌核较小,且有较浓密的菌丝掩盖,不易观察到。V 号中未见到菌核形成。造成以上现象的

表 3 不同培养基对羊肚菌菌核形成及生长发育的影响

培养基种类	菌核分布	菌核数量(个/皿)	菌核大小	菌核形状	菌核颜色
I	培养皿边缘分布	4	+	球状	黄褐色
II	接种块周围分布	105	+	椭圆状	黄褐色
III	培养皿边缘分布	23	+	球状	淡黄色
IV	接种块周围分布	67	++	椭圆状	黄褐色
V	-	-	-	-	-

注:“-”表示不产生菌核;“+”表示 d(菌核直径)<1 mm;“++”表示 d>1 mm。

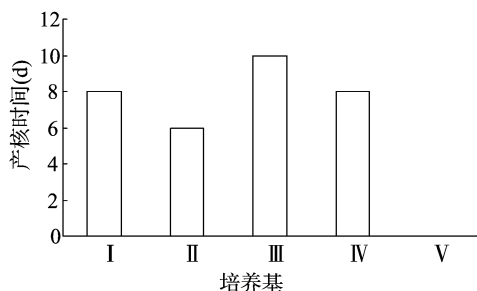


图2 不同培养基对产核时间的影响

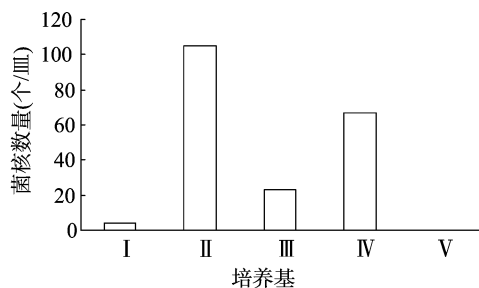


图3 不同培养基对菌核数量的影响

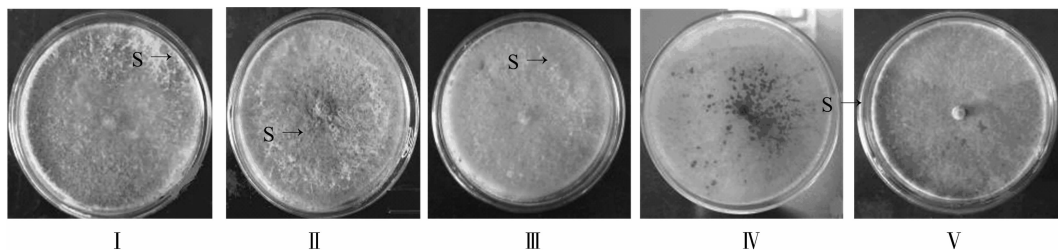


图4 25℃下不同培养基上培养 20 d 的羊肚菌菌核生长特征

原因是菌核是菌丝体在特定的不良环境条件刺激下特化产生的一种休眠体,它储存了大量的养分,在适宜的条件下又可以萌发出菌丝,培养基无机盐浓度过高会使细胞外压升高,对细胞造成一定的影响,因而可能是刺激菌核形成的条件之一。而在 V 号中始终未见到菌核的形成,可能是由于 V 号前期菌丝长势较差,未能储备足够的养分,因而后期不能形成菌核。由此可以得出,前期充足的营养储备和后期不良环境条件的刺激是菌丝体形成菌核不可缺少的 2 个条件。

### 3 讨论

一般而言,菌丝的伸长生长和菌丝体有机质的积累是同步的,但在本研究中,有机质的积累和菌丝的伸长生长不成正比,其原因可能是菌丝体的伸长生长和有机质的积累是受不同营养元素刺激,而 K、P 可能是刺激有机质积累的条件之一,具体的伸长生长和有机质积累的原理还需要进一步的研究。

在研究不同培养基对菌核形成的影响时发现,不同培养基上菌核形成的位置是不同的,这与 Buscot“在培养羊肚菌同一个子实体的组织分离物时发现,在培养基上能形成 2 种类型的菌核,一种形成早且簇集分布在培养皿边缘,另一种形成晚且分散分布,称其为 EES(簇集菌核)和 LIS(分散菌核)”的结果<sup>[2]</sup>相符。进一步研究发现,经 1℃左右的低温条件处理后,只有 LIS 型菌核能够继续形成菌丝,这些菌丝可继续形成 EES。2004 年,Stott 等在研究羊肚菌与几种细菌的关系时,也观察到了 2 种类型的菌核,分别称为 ST1 和 ST2<sup>[3]</sup>。ST1 在培养基表面形成且聚集在接种块周围,ST2 在培养基内形成,分散分布。以上这些,都仅是从现象上进行了描述,而关于其产生机理至今未有可靠的报道,还需进一步的研究。

### 4 结论

在不同培养基上菌丝伸长生长速率与菌落干重不成正比,在本研究所采用的 5 种培养基中 PDA 培养基上菌丝伸长生长最快,而在综合 PDA 培养基上菌落干重最重。前期充足的营养储备和后期不良环境条件的刺激是羊肚菌菌丝体形成菌核不可缺少的 2 个条件。

### 参考文献:

- [1] Ower R. Notes on the development of the morel ascocarp; *Morchella esculenta* [J]. *Mycologia*, 1982, 74(1): 142 - 168.
- [2] Buscot F. Mycelial differentiation of *Morchella esculenta* in pure culture [J]. *Mycological Research*, 1993, 97(2): 136 - 140.
- [3] Stott K, Mohammed C. Specialty mushroom production systems: maitake and morels [R]. Australia: RIRDC, 2004.
- [4] 刑来君, 李明春. 普通真菌学 [M]. 北京: 高等教育出版社, 1999: 58.
- [5] Packer L, Tritschler H J. Alpha - lipoic acid: the metabolic antioxidant [J]. *Free Radical Biology & Medicine*, 1996, 20(4): 625 - 626.
- [6] Tomita I. Platelet aggregation inhibitors isolation from *Morchella* for foods [J]. *Jpn Kokai Tokyo Koho*, 1994, 6: 189 - 195.
- [7] Iwahara M, Okayama Y. Skin - lightening cosmetics containing melanin formation inhibitor extracted from cultured *Morchella* [J]. *Jpn Kokai Tokyo Koho*, 1995, 5: 322 - 326.
- [8] 张广伦, 张卫明, 李 峰. 羊肚菌的研究与利用 [J]. *中国野生植物资源*, 1999, 18(1): 3 - 6.
- [9] Thomas J V, Thomas J L. Cytology of the lifecycle of *Morchella* [J]. *Mycological Research*, 1990, 94(3): 399 - 406.