

徐思炜,张君胜,周 雯. 香菇液体菌种培养条件优化[J]. 江苏农业科学,2014,42(12):290-292.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2014.12.098

香菇液体菌种培养条件优化

徐思炜¹, 张君胜¹, 周 雯²

(1. 江苏农牧科技职业学院动物科技学院, 江苏泰州 225300; 2. 江苏省泰州市科学技术局, 江苏泰州 225300)

摘要:从碳源、氮源、无机盐及发酵控制条件等方面,对香菇(*Lentinus edodes*)液体菌种培养条件的优化进行了研究。单因素试验结果表明:香菇菌丝生长最佳碳源为麦芽糖,最佳氮源为麦麸。正交试验结果表明:培养基最佳配方为麦麸 70%、麦芽糖 3%、MgSO₄ 0.15%、KH₂PO₄ 0.2%;适宜培养条件为 250 mL 三角瓶装液量 100 mL,pH 值 5.0,接种量 13%,转速 180 r/min。

关键词:香菇;液体菌种;发酵条件;正交试验

中图分类号: S646.1⁺20.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)12-0290-03

香菇(*Lentinus edodes*)别称香蕈、香菌,是侧耳科植物香蕈的子实体,营养价值很高。香菇蛋白质含量高达 18.6%,脂肪含量低至 4.8%,碳水化合物含量为 71%,粗纤维含量为 9.6%,含有人体必需的 8 种氨基酸、多种维生素、矿物元素等^[1-4]。传统的香菇制种技术具有成本高、周期长、劳动强度大等缺点,液体菌种制备技术具有成本低、周期短、易保存、易控制、污染低等优点,是发展规模化香菇产业的理想选择^[5-6]。本研究探讨香菇液体培养基最佳配方及发酵条件,旨在为香菇液体菌种生产提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌种 供试香菇菌种由江苏农牧科技职业学院动物科技学院生物技术实验室提供。

1.1.2 培养基 PDA 活化培养基:马铃薯 200 g、葡萄糖 20 g、MgSO₄·7H₂O 1 g、KH₂PO₄ 2 g、琼脂 20 g、水 1 000 mL,pH 值自然。种子液体培养基:马铃薯 200 g、葡萄糖 20 g、酵母膏 3 g、MgSO₄·7H₂O 1 g、KH₂PO₄ 1 g、水 1 000 mL,pH 值 6.0。碳源供试培养基:酵母膏 1 g、MgSO₄·7H₂O 1 g、KH₂PO₄ 1 g、水 1 000 mL,pH 值 6.0,分别加入供试碳源。氮源供试培养基:麦芽糖 3 g、MgSO₄·7H₂O 1 g、KH₂PO₄ 1 g、水 1 000 mL,pH 值 6.0,分别加入供试氮源。

1.1.3 主要仪器设备 超净工作台、电子天平、恒温振荡培养箱、蒸汽灭菌锅、真空干燥箱、试管及三角瓶等玻璃仪器。

1.2 方法

1.2.1 斜面菌种制备 在超净工作台中,挑取香菇母种菌块 1 cm²,转入 PDA 斜面活化培养基,25℃下培养 10 d,选取菌丝洁白、浓密、健壮、无污染的斜面试管备用^[7]。

1.2.2 液体菌种的制备 取 250 mL 三角瓶,装入 100 mL 种子液体培养基并进行高压蒸汽灭菌。在超净工作台中接入

1 cm²斜面菌种 2 块,置于恒温振荡培养箱中,温度设定为 25℃。静置 24 h 后,在 25℃、160 r/min 条件下振荡 12 d 终止培养,获得香菇液体菌种。

1.2.3 培养方法 将 100 mL 供试培养基分装至 250 mL 三角瓶中,灭菌后以 10% 的接种量将菌种接入,然后放入培养箱中,在 25℃、160 r/min 条件下培养 12 d。

1.2.4 碳源、氮源筛选试验 将不同供试碳源、氮源分别加入培养基中进行单因素试验,碳源分别为葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、可溶性淀粉、玉米粉(表 1),氮源分别为 NH₄NO₃、蛋白胨、酵母膏、黄豆芽、麦麸(表 2),每处理 3 水平,重复 3 次。

表 1 不同碳源筛选试验

编号	葡萄糖含量 (%)	蔗糖含量 (%)	麦芽糖含 量(%)	可溶性淀粉 含量(%)	玉米粉 含量(%)
1	1	1	1	2	2
2	2	2	2	3	3
3	3	3	3	4	4

表 2 不同氮源筛选试验

编号	NH ₄ NO ₃ 含量(%)	蛋白胨 含量(%)	酵母膏 含量(%)	黄豆芽 含量(%)	麦麸含量 (%)
1	0.5	1	1	60	60
2	1.0	2	2	70	70
3	1.5	3	3	80	80

1.2.5 香菇液体菌种培养基优化 根据上述单因素碳源、氮源筛选试验结果,加入无机盐 MgSO₄、KH₂PO₄,设计正交试验(表 3),每组试验重复 3 次,以菌丝干质量为指标,取平均值。

表 3 香菇液体培养基正交试验因素水平

水平	A:麦麸 含量(%)	B:麦芽糖 含量(%)	C:MgSO ₄ 含量(%)	D:KH ₂ PO ₄ 含量(%)
1	60	1	0.10	0.10
2	70	2	0.15	0.15
3	80	3	0.20	0.20

1.2.6 培养条件筛选试验 将上述试验筛选出的优化配方作为培养基,以装液量、pH 值、接种量、转速为因素,设计培养条件正交试验(表 4),每组试验重复 3 次,以菌丝干质量为指标,取平均值。

收稿日期:2014-09-02

基金项目:江苏农牧科技职业学院青年基金(编号:NSFQN1301)。
作者简介:徐思炜(1984—),男,助教,从事养殖研究。Tel:(0523) 86158388;E-mail:95875493@qq.com。

表 4 液体培养条件正交试验因素水平

水平	A:装液量 (mL)	B:pH 值	C:接种量 (%)	D:转速 (r/min)
1	80	5.0	10	140
2	100	5.5	13	160
3	120	6.0	15	180

1.2.7 菌丝干质量测定 培养液过滤后取香菇菌丝,用蒸馏水冲洗至无培养液,放入干燥箱内,80℃下烘干至恒质量,用电子天平称量菌丝干质量^[8]。

2 结果与分析

2.1 不同碳源对香菇菌丝干质量的影响

由图 1 可知,以麦芽糖为碳源培养结果最优,菌丝干质量最高,以蔗糖为碳源培养结果最差,菌丝干质量最低。由此可知,适合香菇菌丝生长的最佳碳源为麦芽糖。

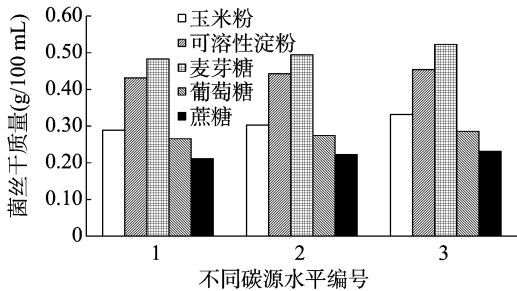


图 1 不同碳源对香菇菌丝干质量的影响

2.2 不同氮源对香菇菌丝干质量的影响

由图 2 可知,以麦麸为氮源培养结果最优,菌丝干质量最高,以无机氮源 NH_4NO_3 为氮源培养结果最差,菌丝干质量最低,适合香菇菌丝生长的最佳氮源为麦麸。

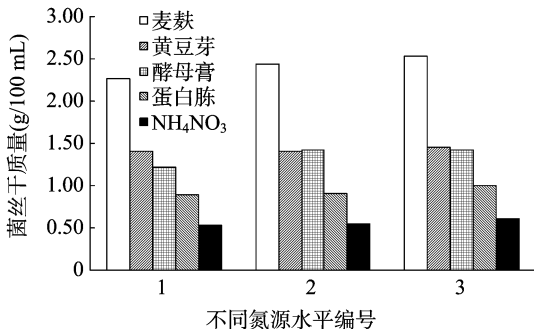


图 2 不同氮源对香菇菌丝干质量的影响

2.3 液体培养基最佳配方确定

由表 5、表 6、图 3 可知,最佳液体培养基配方组合为 $\text{A}_2\text{B}_3\text{C}_2\text{D}_3$,即麦麸 70%、麦芽糖 3%、 MgSO_4 0.15%、 KH_2PO_4 0.2%,影响香菇菌丝生长的因素由强到弱依次为麦麸>麦芽糖> MgSO_4 > KH_2PO_4 。

表 5 液体培养基优化配方正交试验结果

序号	因素水平				菌丝干质量 (g/100 mL)
	A:麦麸	B:麦芽糖	C: MgSO_4	D: KH_2PO_4	
1	1	1	1	1	1.534
2	1	2	2	2	1.760
3	1	3	3	3	1.975
4	1	1	1	1	0.798
5	1	2	2	2	1.982
6	1	3	3	3	1.874
7	1	1	1	1	1.269
8	1	2	2	2	2.580
9	1	3	3	3	2.078
10	2	1	2	3	2.021
11	2	2	3	1	2.317
12	2	3	1	2	2.463
13	2	1	2	3	2.814
14	2	2	3	1	1.915
15	2	3	1	2	1.515
16	2	1	2	3	2.512
17	2	2	3	1	2.220
18	2	3	1	2	3.024
19	3	1	3	2	2.216
20	3	2	1	3	2.508
21	3	3	2	1	2.804
22	3	1	3	2	1.559
23	3	2	1	3	1.375
24	3	3	2	1	2.841
25	3	1	3	2	1.533
26	3	2	1	3	2.788
27	3	3	2	1	1.727

表 6 液体培养基优化配方试验方差分析

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	显著性
校正模型	116.156	1	116.156	469.814	0.000
A:麦麸	1.440	2	0.720	2.912	0.080
B:麦芽糖	1.010	2	0.505	2.042	0.159
C:硫酸镁	0.949	2	0.474	1.918	0.176
D:磷酸二氢钾	0.353	2	0.177	0.714	0.503
误差	4.450	18	0.247		
总变异	124.358	27			
校正总和	8.201	26			

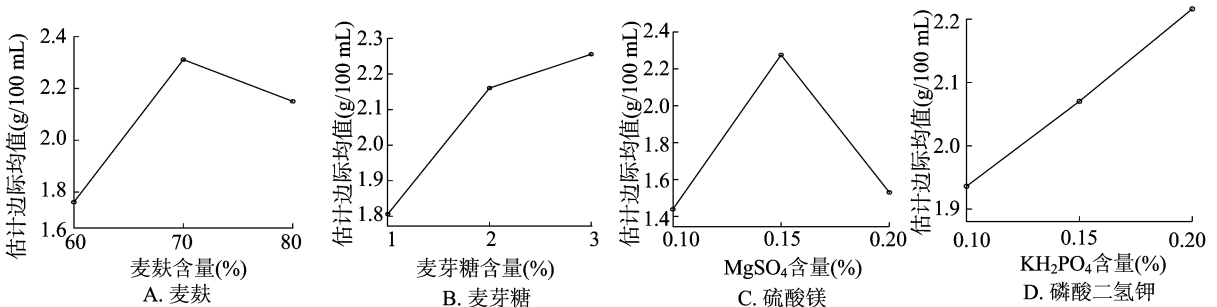


图 3 液体培养基正交试验最佳组合分析

2.4 最佳培养条件的确定

由表 7、表 8、图 4 可知,最佳液体培养条件组合为 A₂B₁C₂D₃,即装液量 100 mL,pH 值 5.0,接种量 13%,转速 180 r/min,影响香菇菌丝生长的因素由强到弱依次为装液量 > 转速 > pH 值 > 接种量。

表 7 液体培养条件正交试验结果

序号	A:装液量	B:pH 值	C:接种量	D:转速	菌丝干质量 (g/100 mL)
1	1	1	1	1	2.293
2	1	2	2	2	2.396
3	1	3	3	3	2.612
4	1	1	1	1	3.119
5	1	2	2	2	1.855
6	1	3	3	3	2.172
7	1	1	1	1	2.636
8	1	2	2	2	1.634
9	1	3	3	3	2.972
10	2	1	2	3	2.544
11	2	2	3	1	2.735
12	2	3	1	2	2.571
13	2	1	2	3	3.606
14	2	2	3	1	3.243
15	2	3	1	2	2.369
16	2	1	2	3	3.814
17	2	2	3	1	1.895
18	2	3	1	2	2.133
19	3	1	3	2	2.547
20	3	2	1	3	2.415
21	3	3	2	1	2.533
22	3	1	3	2	1.278
23	3	2	1	3	1.239
24	3	3	2	1	1.385
25	3	1	3	2	1.278
26	3	2	1	3	1.239
27	3	3	2	1	1.385

表 8 培养条件重复试验方差分析

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	显著性
校正模型	141.902	1	141.902	440.534	0.000
A:装液量	5.318	2	2.659	8.254	0.003
B:pH 值	1.149	2	0.574	1.783	0.197
C:接种量	0.074	2	0.037	0.114	0.893
D:转速	1.209	2	0.605	1.877	0.182
误差	5.798	18	0.322		
总变异	155.450	27			
校正总和	13.548	26			

3 结论与讨论

本研究表明,香菇菌丝生长的最适碳源为麦芽糖,可溶性淀粉在高温灭菌后需水解方能利用,因此效果不如麦芽糖。玉米粉高温灭菌后杂质相对较多,在菌丝吸收利用方面次于可溶性淀粉。葡萄糖或因高温灭菌过程中发生不明显焦化现象,导致实际利用率较低。最佳氮源为麦麸,香菇作为异养菌种,对有机氮源利用率较高,麦麸高温处理后可溶性蛋白含量较高,同时富含各种维生素,适宜菌丝生长。黄豆芽、酵母膏、蛋白胨营养成分相对单一,促进菌丝生长效果一般。铵盐虽然较易吸收,但作为无机氮源的 NH₄NO₃,容易引起 pH 值波动以及铵毒性,因此总体效果不佳,不易被菌丝吸收利用,菌丝干质量最低。培养基优化配方结果表明,氮源、碳源对菌丝的生长影响较大,MgSO₄、KH₂PO₄ 次之。综上所述,最佳液体培养基培养条件组合为 A₂B₁C₂D₃,即装液量 100 mL,pH 值 5.0,接种量 13%,转速 180 r/min,影响香菇菌丝生长的培养因素依次为装液量 > 转速 > pH 值 > 接种量。

参考文献:

[1]王廷河,支 国,陈希元. 香菇酚类物质的抑菌活性分析[J]. 江苏农业科学,2013,41(5):305-306.
[2]陈世通,李梦杰,蒲 敏,等. ISSR 分子标记鉴定香菇单孢杂交后代的研究[J]. 江苏农业科学,2012,40(11):35-37.

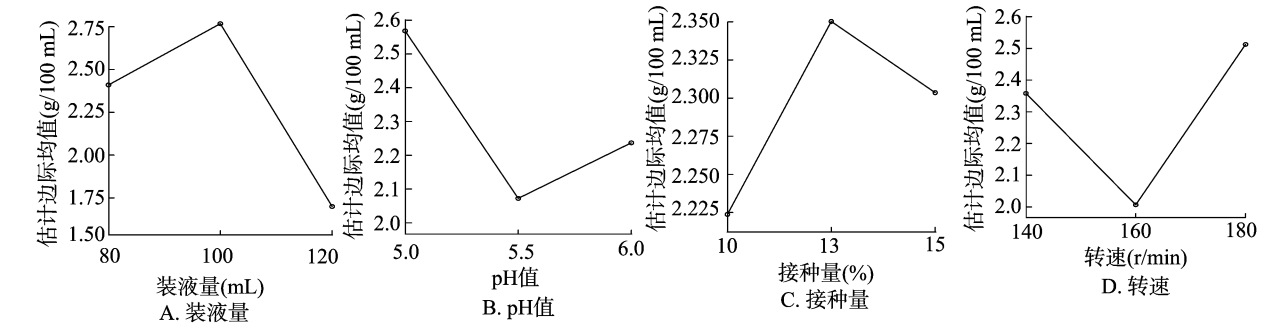


图 4 培养条件正交试验最佳组合分析

[3]常明昌. 食用菌栽培学[M]. 北京:中国农业出版社,2003:68.
[4]朱兴一,陈 秀,谢 捷,等. 基于响应面法的闪式提取香菇多糖工艺优化[J]. 江苏农业科学,2012,40(5):243-245.
[5]秦俊哲,吕嘉彬. 食用菌栽培学[M]. 杨凌:西北农林科技大学出版社,2002:90.
[6]王 谦,刘利群. 香菇深层发酵工艺的研究[J]. 河北大学学报:自然科学版,2004,24(2):172-174.
[7]秦秀丽. 香菇液体培养的工艺研究[J]. 北方园艺,2009(6):227-229.
[8]孟艳琼,宋 敏,彭 凡,等. 杏鲍菇深层发酵工艺的研究[J]. 安徽农业大学学报,2003(3):337-341.