

张传利,桂雪梅,杨发军,等.咖啡壳在虎奶菇菌种生产上的应用试验初报[J].江苏农业科学,2015,43(2):249-251.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.02.080

咖啡壳在虎奶菇菌种生产上的应用试验初报

张传利¹,桂雪梅²,杨发军¹,何素明¹,周洋³,林蓉¹,李万伟³

(1. 云南农业大学热带作物学院,云南普洱 665000; 2. 云南省普洱市种子管理站,云南普洱 665000;

3. 云南省普洱市淞茂医药有限公司,云南普洱 665000)

摘要:在咖啡壳中添加不同比例的刨花或棉籽壳进行虎奶菇的制种试验,以探讨咖啡壳制备虎奶菇菌种的可能性。以菌丝生长情况及菌种使用效果为评价指标,筛选以咖啡壳为主要原料生产虎奶菇菌种的培养基。综合评价萌发时间、满袋时间、菌丝日生长速度、密度、长势及菌种产量等各项指标,筛选出配方Ⅱ(咖啡壳 50%、刨花 30%、麸皮 18%、石膏 1%、石灰 1%)培养基为较优培养基。方差分析结果表明,与生产中最常用的棉籽壳麸皮对照培养基相比,配方Ⅱ培养基生产的菌种在萌发定植时间、菌丝密度、色泽长势、抗老化、满袋时间方面差异不显著,且其感染率降低 20~25 百分点。可见,经过合理设计,咖啡壳混合其他原料可以作为制备虎奶菇菌种的良好材料。

关键词:咖啡壳;培养基;虎奶菇;菌种

中图分类号:S646.04 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2015)02-0249-03

虎奶菇 [*Pleurotus tuber-regium* (Fr.) Sing] 别称菌核侧耳、虎奶菌、核耳菇、茯苓侧耳、南洋茯苓,是热带和亚热带地区一种名贵的药食兼用真菌,隶属担子菌亚门(Basidiomycotina)层菌纲(Hymenomycetes)伞菌目(Agaricales)侧耳科(Pleurotaceae)侧耳属(*Pleurotus*),为具菌核真菌,与茯苓(子实体不可食)、猪苓(菌核不可食)不同,其子实体与菌核皆能食用^[1]。虎奶菇富含蛋白质、人体所必需的氨基酸、支链氨基酸、儿童氨基酸、甜味氨基酸、脂肪酸、微量元素以及多糖蛋白复合体,可以治疗胃病、便秘、发烧、感冒、水肿、胸痛、痔疮、神经系统疾病、天花、哮喘、糖尿病、冠心病、高血压等疾病和营养失调的婴儿^[1-2]。在当今国内外掀起“天然、保健食品”热潮之际,虎奶菇已引起人们的重视,市场前景广阔。

咖啡壳是咖啡初加工过程中产生的副产品,据报道,2012 年在云南热区年产咖啡壳约 2.3 万 t,目前其资源开发利用很低,除少部分用作生产木炭燃料外,绝大部分被当作废弃物处理;咖啡壳含有一定量的蛋白质、多种纤维素和矿物质元素,木纤维化程度高于稻草,经加工后可作为食用菌和药用菌的培养料,替代一部分木屑和棉籽壳^[3-4],这不仅有效合理利用了资源,起到降低成本和保护森林资源的作用,还为咖啡副产品的开发利用探索出一条新的途径,是一种经济的资源节约型、环境友好型的生产方式,应大力提倡和发展。

近年来,在食用菌产业中,作为生产主料的棉籽壳、木屑、麸皮等原料价格不断上涨和“菌林矛盾”的不断突出,为了降低生产成本和获得充足的生产原料,企业急需找寻和开发利用一些生产成本相对廉价的新原料作为栽培基料。因此,笔者结合云南热区产业实际情况,将咖啡副产品资源作为食用

菌的主料进行有效的开发利用,并在彩云菇、姬松茸、白参菌等珍稀食用菌栽培上取得成功^[4-5]。但是,在国内外还未有利用咖啡壳制作菌核侧耳栽培种和生产栽培料的报道。试验利用咖啡壳为主料进行菌核侧耳栽培种制作,旨在筛选该珍稀药食兼用菌的最适培养配方,为拓宽咖啡壳这一资源在食用菌生产中的利用提供理论依据并为广大食用菌生产者提供一定参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试菌株为虎奶菇 1 号,引自江西抚州金山食用菌研究所。供试原料包括咖啡壳(购于云南省普洱市咖啡加工厂),刨花(购于为普洱市木材加工厂),棉籽壳、麸皮、石灰、石膏(均购自普洱市五一市场)等。母种培养基采用马铃薯麸皮综合培养基^[5];原种培养基采用刨花木屑麸皮培养基^[4]。

1.2 试验方法

1.2.1 栽培种培养基配方设计 根据咖啡壳、刨花和棉籽壳的理化性质和营养成分,以普遍采用的生产虎奶菇菌种的棉籽壳麸皮培养基为对照,主要按单一咖啡壳、咖啡壳与刨花、咖啡壳与棉籽壳设计 3 种培养基配方,具体配方见表 1。

表 1 不同培养基配方

| 编号 | 各配方含量(%) | | | | |
|-----|----------|-----|----|----|-------|
| | 咖啡壳 | 棉籽壳 | 刨花 | 麸皮 | 石灰 石膏 |
| I | 80 | | | 18 | 1 1 |
| II | 50 | | 30 | 18 | 1 1 |
| III | 50 | 30 | | 18 | 1 1 |
| CK | | 80 | | 18 | 1 1 |

1.2.2 栽培种培养基的筛选 根据各配方比例分别称取各种原料,采用 12.00 cm×24.00 cm×0.04 cm 的聚乙烯塑料袋,装干料 0.20 kg/袋左右,每个配方重复 8 袋。常规方法拌料、装袋,含水量控制在 65% 左右, pH 值 7.5 左右。在 0.135 MPa 下灭菌 2.5 h,冷却后接种,于(31±1)℃培养箱

收稿日期:2014-09-08

基金项目:云南省教育厅项目(编号:2012Z131C);云南农业大学热带作物学院科研项目(编号:2014KY011)。

作者简介:张传利(1981—),男,山东曲阜人,硕士,讲师,主要从事生物技术推广与科研工作。E-mail:zhchuanli00@163.com。

中避光培养。

1.2.3 4 种菌种配方栽培效果试验 按“棉籽壳 64%、木屑 20%、麸皮 12%、石灰 2%、石膏 2%、含水量 60%~65%、pH 值 7.5 左右”配方配制栽培袋,按常规方法拌料、装袋,装入 14.00 cm×28.00 cm×0.05 cm 的聚丙烯塑料袋中,装干料 0.33 kg/袋左右,在 0.135 MPa 下灭菌 3 h,灭菌冷却后接入各配方咖啡壳菌种,(31±1)℃避光培养,观察比较各菌种菌丝生长情况以及不同菌种培养基在相同培养料中出菇产量。

1.2.4 观测项目及方法 每个重复随机选取无污染的 3 袋观察并记录各培养基配方虎奶菇菌丝的生长情况,测量菌丝生长速度[菌丝日均生长速率(mm/d)=菌丝生长量(mm)/培养时间(d)]及菌丝生长势(分别将不同处理的菌丝生长情况相互比较,用“+”号表示菌丝密度)、每袋产量、每个重复的平均产量及其平均转化率。采用新复极差法检查各配方之间是否存在显著差异,以此说明试验的可靠性。

2 结果与分析

2.1 虎奶菇菌丝在不同培养基中的生长情况

设计的 3 种培养基配方中均含有相同含量的麸皮作为主

要的氮源原料提供者。除配方 I 主要由单一咖啡壳作为碳源原料的提供者以外,配方 II、III 主要有咖啡壳混合刨花或棉籽壳作为碳源原料的提供者,3 种配方中的咖啡壳含量分别为 80%、50%、50%。咖啡壳富含纤维素、木质素以及其他营养物质,其中含有粗纤维 21.49%、蛋白质 2.44%、总糖 1.19%、维生素 0.2 mg/g、灰分 0.54%^[3]。所以,采用咖啡壳作为主要培养基也能为虎奶菇菌丝生长提供一定的碳氮源。3 种培养基中菌丝生长情况见表 2。由表 2 可知,虎奶菇菌丝在 3 种培养基内均可生长,但在萌发定植时间、菌丝生长势、污染率、物理状态和老化情况方面存在差异。3 种培养基配方的萌发定植时间与对照差异不明显;污染程度从高到低依次为 CK>配方 I=配方 III>配方 II,由单一棉籽壳作为主要碳源原料提供者的对照明显高于单一咖啡壳及咖啡壳与刨花或棉籽壳混合原料配方;从物理状态、老化情况和菌丝长势进行综合评价,效果从好到差依次为 CK>配方 II=配方 III>配方 I,这至少说明单一咖啡壳作为主要的碳源提供者效果不是很理想,须要和其他原料混合搭配才能更好地为虎奶菇菌丝的生长发育提供碳源的供给。

表 2 不同培养配方虎奶菇菌丝生长情况

| 配方编号 | 萌发定植时间 (d) | 污染率 (%) | 物理状态 | 老化情况 | 生长势 | |
|------|---------------|------------|---------|------------|------|----------|
| | | | | | 密度 | 色泽、长势 |
| I | 3.5 | 12.5 | 较松,弹性较差 | 退菌明显,老化明显 | + | 浅白色、生长较弱 |
| II | 3.5 | 0 | 较紧实,有弹性 | 均匀一致,无老化现象 | +++ | 白、粗壮、较旺 |
| III | 3.0 | 12.5 | 较紧实,有弹性 | 均匀一致,无老化现象 | +++ | 白、粗壮、较旺 |
| CK | 3.0 | 20.0 | 紧实,有弹性 | 均匀一致,无老化现象 | ++++ | 洁白、粗壮、旺盛 |

注:“+”表示菌丝浓密程度,“+”越多,表示菌丝越浓密。表 4 同。

2.2 不同培养基配方对虎奶菇菌丝生长速度的影响

由表 3 可知,在设计 3 种培养基中,虎奶菇菌丝在配方 II 中生长最快,生长速度为 3.08 mm/d,在配方 III 中生长最慢,生长速度为 3.02 mm/d。菌丝宏观生长速度从快到慢依次为 CK>配方 II>配方 I>配方 III。由表 2 可知,与对照相比,配方 II、配方 III 中虎奶菇菌丝的密度、色泽、长势基本上一致,与对照差异不明显,但配方 I 的虎奶菇生长势与对照、配方 II、配方 III 差异较大。对试验数据进行方差分析,结果(表 3)表明,配方 II 与对照、配方 I、配方 III 差异均不显著,但对对照与配方 I、配方 III 差异均显著($P<0.05$)。

2.3 虎奶菇菌丝不同配方菌种生长情况

由表 4 可知,虎奶菇菌丝在 3 种配方培养基中均可生长,但在萌发定植时间、菌丝生长势、污染率、满袋时间以及老化情况方面存在差异。3 种培养基中的菌种萌发定植时间与对照差异不明显,污染程度从高到低依次为 CK>配方 I=配方

表 3 不同培养基配方对虎奶菇菌丝生长的影响

| 配方编号 | 菌丝生长速度(mm/d) | | | |
|------|--------------|------|------|---------|
| | 重复 1 | 重复 2 | 重复 3 | 平均值 |
| CK | 3.10 | 3.10 | 3.11 | 3.10aA |
| II | 3.08 | 3.10 | 3.06 | 3.08abA |
| I | 3.07 | 3.01 | 3.02 | 3.03bA |
| III | 2.99 | 3.05 | 3.02 | 3.02bA |

注:同列数据后标有不同小写、大写字母者分别表示差异显著($P<0.05$)、极显著($P<0.01$)。表 5、表 6 同。

III>配方 II,与不同配方培养基中虎奶菇菌丝污染度基本一致,但与栽培种的污染率相比,各配方菌种在培养料中定植的污染率有所提高;对满袋时间、老化情况和菌丝长势进行综合评价,结果显示,CK 最好,配方 I 最差,配方 II 与配方 III 基本差不多,且都与对照相近。

表 4 不同配方菌种虎奶菇菌丝生长情况

| 配方编号 | 萌发定植时间 (d) | 污染率 (%) | 满袋时间 (d) | 老化情况 | 生长势 | |
|------|---------------|------------|-------------|------------|-------|----------|
| | | | | | 密度 | 色泽、长势 |
| I | 2.5 | 25.0 | 37 | 均匀一致,略有老化 | ++ | 白色、生长一般 |
| II | 2.5 | 12.5 | 33 | 均匀一致,无明显老化 | ++++ | 洁白、粗壮、较旺 |
| III | 2.5 | 25.0 | 33 | 均匀一致,无明显老化 | ++++ | 洁白、粗壮、较旺 |
| CK | 2.5 | 37.5 | 32 | 均匀一致,无明显老化 | +++++ | 洁白、粗壮、旺盛 |

2.4 不同配方菌种对虎奶菇菌丝生长速度的影响

由表 5 可知,菌种在配方Ⅱ中生长较快,生长速度为 4.57 mm/d,在配方Ⅰ中生长最慢,生长速度为 3.94 mm/d。各菌种在培养料中菌丝宏观生长速度从快到慢依次为 CK>配方Ⅱ>配方Ⅲ>配方Ⅰ。由表 4 可知,配方Ⅱ菌种与配方Ⅲ的菌丝密度、色泽、长势基本上一致,与对照无明显差异,但配方Ⅰ菌种的菌丝生长势与对照及配方Ⅱ、Ⅲ差异较大,与不同配方培养基中虎奶菇菌丝生长势基本一致。对试验数据进行方差分析,结果(表 5)表明,配方Ⅱ与对照差异显著($P>0.05$),与配方Ⅰ菌种差异极显著($P>0.01$),但与配方Ⅲ菌种差异不显著($P>0.01$);配方Ⅲ、配方Ⅰ与对照差异极显著($P>0.01$),且两者之间也差异极显著($P>0.01$)。

表 5 不同配方菌种对虎奶菇菌丝生长的影响

| 配方编号 | 菌丝生长速度(mm/d) | | | |
|------|--------------|------|------|---------|
| | 重复 1 | 重复 2 | 重复 3 | 平均值 |
| CK | 4.83 | 4.95 | 4.59 | 4.79aA |
| Ⅱ | 4.56 | 4.57 | 4.56 | 4.57bAB |
| Ⅲ | 4.47 | 4.53 | 4.45 | 4.48bB |
| Ⅰ | 3.97 | 3.97 | 3.87 | 3.94cC |

2.5 不同配方菌种培养基对虎奶菇产量的影响

由表 6 可知,3 种培养基中菌种的平均产量和生物学转化率均低于对照,其中配方Ⅰ的平均产量最低,为 144.3 g/袋,对应的生物学转化率也最低,为 43%;配方Ⅲ的平均产量最高,为 224.0 g/袋,对应的转化率也最高,为 67%。方差分析结果(表 6)表明,配方Ⅰ、配方Ⅱ、配方Ⅲ的虎奶菇产量和生物学转化率均与对照差异极显著,配方Ⅱ、配方Ⅲ的虎奶菇产量和生物学转化率均与配方Ⅰ差异极显著,但配方Ⅱ和配方Ⅲ之间的虎奶菇产量和生物学转化率差异不显著。

表 6 不同配方菌种培养基对虎奶菇产量的影响

| 配方编号 | 产量(g/袋) | | | | 生物学转化率 (%) |
|------|---------|------|------|---------|------------|
| | 重复 1 | 重复 2 | 重复 3 | 平均 | |
| CK | 245 | 249 | 256 | 250.0aA | 75aA |
| Ⅲ | 218 | 221 | 233 | 224.0bB | 67bB |
| Ⅱ | 213 | 216 | 219 | 216.0bB | 65bB |
| Ⅰ | 137 | 148 | 148 | 144.3cC | 43cC |

3 结论与讨论

本试验以生产上采用的棉籽壳麸皮培养基为对照,精心

设计 3 种配方培养基,综合虎奶菇在含咖啡壳原料的各配方培养基和各配方菌种在栽培料上的菌丝生长情况、菌丝生长速度以及各配方培养基对虎奶菇产量的表现等因素,结合与对照的方差分析结果初步筛选出配方Ⅱ(咖啡壳 50%、刨花 30%、麸皮 18%、石膏 1%、石灰 1%)培养基为本试验条件下的最优培养基。方差分析结果表明,虽然配方Ⅱ产量极显著低于对照,但考虑到棉籽壳和咖啡壳成本相差数倍(目前,云南棉籽壳的平均价格为 2600 元/t,咖啡壳的平均价格为 150 元/t,换算到配方中棉籽壳麸皮对照培养基的平均成本比配方Ⅱ培养基高 0.653 元/袋,而对照培养基的平均收益比配方Ⅱ培养基高 0.612 元/袋,可见对照培养基的投入产出比高于配方Ⅱ),且配方Ⅱ感染率比对照低 20~25 百分点,二者在萌发时间、菌丝密度、色泽长势、抗老化、满袋时间等方面差异不显著。因此,在食用菌生产中使用的常规原料价格上涨的局面下,选择云南热区特色咖啡产业生产的副产品咖啡壳作为食用菌栽培的一部分原料的配方,可降低生产成本。

试验结果还表明,在配方Ⅱ培养基所展现的优势和良好特性方面,配方Ⅰ培养基与对照差异均极显著,这至少说明单一咖啡壳作为主要的碳源提供者效果不是很理想,须要和其他原料混合搭配才能更好地为虎奶菌菌丝的生长发育提供营养物质。同时,本试验在添加相同比例氮源(麸皮)的情况下,只进行了单一咖啡壳、咖啡壳与刨花、咖啡壳与棉籽壳的 3 种配方培养基与棉籽壳麸皮培养基的对比研究,纯咖啡壳、多种不同比例混合配方以及同时含有一定比例咖啡壳、刨花、棉籽壳 3 种物质的配方是否可行、培养基配方是否更好,尚待进一步试验。

参考文献:

[1]林跃鑫,刘春辉,肖良建,等. 虎奶菇 *Pleurotus tuber-regium* 深层发酵的研究[J]. 龙岩学院学报,2009,27(2):55-59.
[2]黄年来. 珍稀食用菌——虎奶菇开发[J]. 江苏食用菌,1995(3):6-9.
[3]张京文,黄家雄,吕玉兰,等. 咖啡废弃物利用研究初探[C]//第 16 届中国科协年会——精品咖啡豆认证与公平交易及庄园标准化国际论坛. 临沧:中国科协、云南省人民政府,2014:1-3.
[4]张传利,李学俊,杨发军,等. 用咖啡壳在咖啡园复合栽培彩云菇研究与综合效益分析[J]. 热带农业科学,2014,34(1):22-26,53.
[5]张传利,杨发军,桂雪梅,等. 普洱地区白参菌栽培试验[J]. 热带农业科技,2010,33(2):19-22.