

台蘑小香蕈液体发酵培养基筛选

尤利霞 (山西省医药与生命科学研究院, 山西太原 030006)

摘要 [目的]优化台蘑小香蕈液体发酵培养基的最佳配方。[方法]通过单因素试验考察葡萄糖、蔗糖、马铃薯汁、无机盐等常用碳源与氮源对台蘑液体发酵菌丝生物量的影响。[结果]台蘑小香蕈液体发酵培养基的最佳配方为蔗糖3.0%、麸皮汁3.0%、玉米粉5.0%、马铃薯汁30%、植被汁10%、 NaNO_3 0.3%、 K_2HPO_4 0.1%、 KCl 0.1%、 FeSO_4 0.001%, pH 7。[结论]优化后的培养基配方能明显提高台蘑液体发酵的菌丝生物量, 配方经济合理。

关键词 台蘑; 液体培养; 菌丝体; 碳源; 氮源; 无机盐

中图分类号 S646.1⁺1 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2016)26-0089-02

Screening of Liquid Fermentation Mediums of Small Mushrooms from Wutai Mountains

YOU Li-xia (Shanxi Institute of Medicine and Life Sciences, Taiyuan, Shanxi 030006)

Abstract [Objective] To optimize the best formula of liquid fermentation mediums of small mushrooms from Wutai Mountains. [Method] Through a single factor experiment, the effects of commonly used carbon and nitrogen sources (glucose, sucrose, potato juice, and inorganic salt) on the mycelial biomass of small mushrooms from Wutai Mountains were studied. [Result] The best formula of the liquid fermentation medium of small mushrooms from Wutai Mountains are shown as follows: sucrose 3.0%, bran juice 3.0%, corn flour 5.0%, potato juice 30%, vegetation juice 10%, NaNO_3 0.3%, K_2HPO_4 0.1%, KCl 0.1%, FeSO_4 0.001%, and pH = 7. [Conclusion] The optimized formula of the liquid fermentation medium can significantly improve the mycelial biomass of small mushrooms from Wutai Mountains, so it is economical and reasonable.

Key words Small mushrooms from Wutai Mountains; Liquid culture; Mycelium; Carbon sources; Nitrogen sources; Inorganic salts

台蘑是在五台山地区的5个台顶周围30 km范围内分布的特有野生蘑菇^[1], 因其分布范围有限, 产量小, 非常珍贵, 所以深受人们的青睐^[2]。台蘑不仅蛋白质含量较高, 且富含多种人体必需的氨基酸、维生素和矿物质, 是一种珍稀的天然保健食品^[3]。台蘑在液体发酵培养过程中会产生多种生理活性物质, 虽然这些物质从子实体中也可获得, 但从生产规模、生产周期及经济效益等方面均不及用液体培养。目前采用液体发酵技术^[4]是获得台蘑菌丝体和发酵产物的重要手段, 因此, 开发利用液体发酵的菌丝体及其发酵液来获得具有子实体类似的生物活性物质将具有一定的发展前景。笔者对香蕈菌菌丝体液体发酵培养基中的不同成分进行优化, 通过单因素试验考察葡萄糖、蔗糖、马铃薯汁、无机盐等常用碳源与氮源对台蘑液体发酵菌丝生物量的影响, 旨在筛选出适合菌丝体生长的培养基。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌种材料来源。2007年8月采于山西五台山东台顶草原牧场^[5]的香蕈子实体, 经挑选洗净后, 用0.1%氯化汞浸泡3 min, 再用蒸馏水反复冲洗干净, 去皮, 切小块接种到PDA(由马铃薯鲜重200 g、葡萄糖20 g、琼脂18 g组成)培养基上, 反复分离培养多次后得小香蕈菌种 wtsxx07。

1.1.2 植被汁的制作方法。将采集到的台蘑周围的苔草、蕨类、落叶松、云杉的腐殖质混合后与水按1:5的比例煮沸20 min, 经4层纱布过滤后待用。

1.1.3 试剂。琼脂购自山西太原双鹤药业有限公司, 蔗糖、葡萄糖、 K_2HPO_4 、 KH_2PO_4 购于国药集团上海化学试剂有限

公司, 马铃薯在市场购买。

1.1.4 仪器设备。离心机, 常州国华电器有限公司; LDZX-40BI 型立式自动电热压力蒸汽灭菌器、SW-CJ-ICU 双人单面净化工作台, 天津市泰斯特仪器有限公司; HMJX-160B-Z 霉菌培养箱, 上海博讯实业有限公司医疗设备厂; HYG-B 全温度摇瓶柜, 常州迈科诺仪器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 菌种 wtsxx07 的活化。将小香蕈菌种在无菌条件下, 接种到PDA培养基上, 在25℃霉菌培养箱中培养, 待菌丝长满整个试管斜面时, 挑选菌丝洁白、粗壮、生长旺盛、无污染

的斜面菌种作为供试菌种, 放入-4℃的冰箱中保存待用。
1.2.2 香蕈菌 wtsxx07 的液体培养。在250 mL三角瓶中分别加入100 mL的培养基, 于高压灭菌锅内121℃灭菌30 min。冷却后在无菌条件下每瓶接入划碎后约1 cm²的小香蕈肿块, 置恒温培养箱中培养, 发酵温度为18~24℃, 转速为180 r/min^[6], 发酵时间为10~12 d。培养基配方见表1。

1.2.2.1 碳源对菌丝体浓度的影响。1、2、3号培养基的蔗糖浓度分别为3.0%、2.0%、1.0%, 4、5、6号培养基的葡萄糖浓度分别为3.0%、2.0%、1.0%, 其他组分不变, 接种后摇床培养, 最后得菌丝生长浓度。

1.2.2.2 氮源对菌丝体浓度的影响。7、8、9号培养基的马铃薯汁浓度分别为10%、20%、30%, 蔗糖浓度均为3.0%, 其他组分不变, 接种后摇床培养, 最后得菌丝生长浓度。

1.2.2.3 KH_2PO_4 、 K_2HPO_4 对菌丝体浓度的影响。10、11、12号 KH_2PO_4 和 K_2HPO_4 的比例分别是1:1、0:1、1:0, 马铃薯汁浓度均为30%, 其他组分不变, 接种后摇床培养, 最后得菌丝生长浓度。

1.2.2.4 NaNO_3 对菌丝体浓度的影响。13、14、15号培养基

基金项目 科技部科技援外项目(KY20110097)。

作者简介 尤利霞(1977-), 女, 山西忻州人, 工程师, 从事中药及食用菌的栽培技术研究。

收稿日期 2016-08-24

的 NaNO_3 浓度分别为 0.1%、0.3%、0.5%，其他组分不变，接种后摇床培养，最后得菌丝生长浓度。

表 1 培养基配方

Table 1 Formula of liquid fermentation mediums

编号 No.	蔗糖 Sucrose	葡萄糖 Glucose	麸皮汁 Bran juice	玉米粉 Corn flour	马铃薯汁 Potato juice	植被汁 Vegetation juice	KH_2PO_4	K_2HPO_4	NaNO_3	KCl	FeSO_4	pH
1	3.0		3.0	5.0	10	10	0.10	0.10	0.1	0.1	0.001	7
2	2.0		3.0	5.0	10	10	0.10	0.10	0.1	0.1	0.001	7
3	1.0		3.0	5.0	10	10	0.10	0.10	0.1	0.1	0.001	7
4		3.0	3.0	5.0	10	10	0.10	0.10	0.1	0.1	0.001	7
5		2.0	3.0	5.0	10	10	0.10	0.10	0.1	0.1	0.001	7
6		1.0	3.0	5.0	10	10	0.10	0.10	0.1	0.1	0.001	7
7	3.0		3.0	5.0	10	10	0.10	0.10	0.1	0.1	0.001	7
8	3.0		3.0	5.0	20	10	0.10	0.10	0.1	0.1	0.001	7
9	3.0		3.0	5.0	30	10	0.10		0.1	0.1	0.001	7
10	3.0		3.0	5.0	30	10	0.05	0.05	0.1	0.1	0.001	7
11	3.0		3.0	5.0	30	10		0.10	0.1	0.1	0.001	7
12	3.0		3.0	5.0	30	10	0.10		0.1	0.1	0.001	7
13	3.0		3.0	5.0	30	10		0.10	0.1	0.1	0.001	7
14	3.0		3.0	5.0	30	10		0.10	0.3	0.1	0.001	7
15	3.0		3.0	5.0	30	10		0.10	0.5	0.1	0.001	7

1.2.3 菌丝浓度计算。真菌菌丝体生物量是真菌液体发酵的重要参考指标^[7]，菌丝生物量的测定以菌丝体的浓度为指标。该试验每个培养基 8 组重复，发酵结束后准确称量发酵液体积，在 4 000 r/min 下离心 15 min 后将上清液倒出，精确称量上清液的体积，根据公式计算得菌丝生长浓度，最后计算其平均值。

$$\text{菌丝浓度} = \frac{\text{菌液(准确量取)} - \text{上清液(准确量取)}}{\text{菌液(准确量取)}} \times$$

100%

2 结果与分析

试验结果表明，1、2、3 号培养基中菌丝平均浓度分别为 34.8%、32.0%、29.1%，三者相比 1 号培养基菌丝浓度最高；4、5、6 号培养基中菌丝平均浓度分别为 33.8%、31.2%、28.2%，三者相比 4 号培养基的菌丝浓度最高；且 1 号培养基的菌丝平均浓度大于 4 号培养基，故选浓度为 3% 蔗糖为合适碳源。碳源确定后，7、8、9 号培养基的菌丝平均浓度分别为 39.6%、42.3%、45.0%，以 9 号培养基为最高，故选 30% 马铃薯汁为氮源。碳源、氮源确定后，10、11、12 号培养基菌丝平均浓度分别为 44.8%、45.5%、43.2%，以 11 号培养基为最高，故选 0.1% K_2HPO_4 作为无机钾盐；13、14、15 号培养基的菌丝平均浓度分别为 45.5%、47.0%、45.9%，以 14 号培养基为最高，故选 0.3% NaNO_3 作为无机钠盐。

3 小结

该试验研究表明，在其他组分不变的情况下，选 3.0% 蔗

糖作为碳源的培养基，其培养的 wtsxx07 的菌丝体平均浓度最高；马铃薯汁浓度为 30% 时，菌丝体平均浓度明显高于其他 2 个浓度， K_2HPO_4 浓度为 0.1% 时菌丝体平均浓度略优于其他 2 个浓度， NaNO_3 浓度为 0.3% 时菌丝体的平均浓度明显优于其他 2 个浓度。由此确定小香蕈最佳液体培养基为蔗糖 3.0%、麸皮汁 3.0%、玉米粉 5.0%、马铃薯汁 30%、植被汁 10%、 NaNO_3 0.3%、 K_2HPO_4 0.1%、KCl 0.1%、 FeSO_4 0.001%、pH 7。该配方作为培养小香蕈 wtsxx07 的培养基较为合理，不仅经济适用，且菌丝体生长速度快，菌丝体相对浓度高达 47.0%。台蘑小香蕈 wtsxx07 的菌丝液体培养研究还未见文献报道，说明该研究具有一定的新颖性，可为小香蕈 wtsxx07 的进一步研究提供参考。

参考文献

- [1] 李晓霞. 台蘑繁育技术[J]. 山西林业, 2012(2): 32-33.
- [2] 王书光. 五台山区台蘑资源培育开发前景探讨[J]. 山西林业, 2015(2): 32-33.
- [3] 贺沛芳, 张琦, 原宗英, 等. 台蘑返生态栽培技术[J]. 农业技术与装备, 2011(14): 44-47.
- [4] 朱华玲, 班立桐, 徐晓萍, 等. 食用菌发酵的应用研究进展[J]. 江西农业学报, 2012, 24(4): 80-83.
- [5] 贺沛芳, 杨怀民, 张治家, 等. 五台山野生食用菌资源营养价值及展望[J]. 中国食用菌, 2010, 29(3): 7-9.
- [6] 张旺壁, 郭素萍, 薛莉. 五台山香蕈菌丝发酵及原生态扩繁研究[J]. 山西中医学院学报, 2011, 12(5): 23-24.
- [7] 杨全, 李艳辉, 严寒静, 等. 药用真菌桑黄液体发酵工艺的研究[J]. 广东药学院学报, 2004, 20(3): 213-216.