

金针菇工厂化生产的液体菌种开发与应用

李国庆¹, 柯家厚², 焦小雨¹, 王燕¹, 李阿敏¹, 聂凡^{1*}

(1. 安徽省农业科学院园艺研究所, 安徽合肥 230031; 2. 合肥市福泉现代农业科技有限公司, 安徽合肥 230031)

摘要 [目的] 开发金针菇工厂化生产所需的液体菌种。[方法] 从工厂化生产的菌株与二级液体菌种培养基的筛选, 液体菌种培养条件的优化及金针菇液体菌种在工厂化生产的应用试验等方面进行研究。[结果] 在4个金针菇工厂化生产菌株中, 金针菇工厂化生产的液体菌种开发宜以F白“18”为出发菌株; 二级液体菌种的培养基宜为马铃薯15%、麸皮7%、蔗糖2%、磷酸二氢钾0.1%、硫酸镁0.05%; 培养条件为接种量10%, 转速150 r/min, 温度23℃, pH自然, 发酵罐培养时间结束点和适宜的菌龄均为144 h; 在工厂化生产应用中, 液体菌种较固体菌种发菌速度快, 生产周期缩短9 d, 生物转化率提高了6.38个百分点。[结论] 该研究可为金针菇工厂化生产所需液体菌种的开发提供技术方法。

关键词 金针菇; 工厂化生产; 液体菌种

中图分类号 S646.1⁵ **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2017)20-0053-03

Development and Application of Liquid Fungus of *Flammulina velutipes* During Its Industrial Production

LI Guo-qing¹, KE Jia-hou², JIAO Xiao-yu¹, NIE Fan^{1*} et al (1. Institute of Horticulture, Anhui Academy of Agricultural Sciences, Hefei, Anhui 230031; 2. Hefei Fuquan Modern Agricultural Science and Technology Co., Ltd., Hefei, Anhui 230031)

Abstract [Objective] To explore liquid fungus suitably utilized in the process of *Flammulina velutipes* industrial production. [Method] We screened different strains of *F. velutipes* for factory production and the second-class liquid culture media suitable for its liquid fungus, optimized its culture conditions and carried out application trials on the use of *F. velutipes* liquid fungus for industrial production. [Result] The F bai “18” strain was the most suitable liquid fungus for production of *F. velutipes*, the optimum formula of liquid fungus culture medium was potato 15%, bran powder 7%, sucrose 2%, KH_2PO_4 0.1%, MgSO_4 0.05%, and the optimum fermentation culture condition was as follows: initial pH naturally, liquid spawn quantity of 10%, rotation speed 150 r/min, temperature 23℃, culture time 144 h in fermentor, suitable cell age 144 h. In the test of industrial cultivation of liquid and solid fungus of F bai “18”, its mycelia of liquid fungus has grown faster than that of solid fungus, resulting in reduction of its production period by 7 days and increase of its biological conversion rate by 6.38 percent points. [Conclusion] The research can provide technical method for the development of liquid fungus of *F. velutipes* industrial production.

Key words *Flammulina velutipes*; Industrial production; Liquid fungus

金针菇是一种名贵食用菌, 具有较高的营养价值和药用功效, 在国内外食用菌市场比较走俏^[1]。金针菇已成为食用菌工厂化生产的重要品种之一, 目前国内食用菌工厂化生产企业仍以固体菌种生产为主, 少数采用液体菌种生产。液体菌种生产较固体菌种优势明显: 生产周期短、出菇齐、污染率低、利于机械化操作等^[2-3], 但液体菌种制作技术要求高。笔者从菌株选择、摇瓶液体培养与发酵罐液体培养的条件优化、应用等方面进行研究, 以期金针菇工厂化生产所需液体菌种的开发提供技术方法。

1 材料与与方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌株。供试菌株的名称及来源见表1。

表1 供试菌株的名称和来源

Table 1 Name and source of the tested strains

编号 No.	供试菌株 The tested strains	来源 Source
1	F21	安徽省农业科学院园艺研究所
2	F冷	安徽省农业科学院园艺研究所
3	F8801	合肥市现代农业科技有限公司
4	F白“18”	福建省三明真菌研究所

基金项目 安徽省蔬菜产业技术体系项目(食用菌); 安徽省食用菌工厂化生产工程技术研究中心资助项目。

作者简介 李国庆(1976—), 男, 安徽枞阳人, 助理研究员, 硕士, 从事食用菌育种与栽培研究。* 通讯作者, 研究员, 硕士, 从事食用菌育种与栽培研究。

收稿日期 2017-05-17

1.1.2 培养基。

1.1.2.1 斜面培养基(PDA)。马铃薯200 g、葡萄糖20 g、琼脂20 g、自来水1 000 mL, pH自然。

1.1.2.2 摇瓶液体菌种培养基(二级液体培养基筛选)。①豆饼粉4%、蔗糖2%、磷酸二氢钾0.1%、硫酸镁0.05%; ②马铃薯15%、麸皮7%、蔗糖2%、磷酸二氢钾0.1%、硫酸镁0.05%; ③麸皮7%、蔗糖2%、磷酸二氢钾0.1%、硫酸镁0.05%。

1.1.2.3 发酵罐液体菌种培养基(二级液体培养应用)。马铃薯15%、麸皮3%、蔗糖2%、磷酸二氢钾0.1%、硫酸镁0.05%。

1.1.2.4 栽培料。棉籽壳23%、玉米芯40%、杂木屑5%、麦麸10%、米糠20%、蔗糖0.5%、碳酸钙1.5%。

1.2 方法

1.2.1 菌株活化筛选。将F21、F冷、F8801、F白“18”分别接入PDA斜面培养基上, 每支试管接入0.5 cm²、厚1~2 mm的菌种块, 放在25℃培养箱内培养7 d, 测量并记录菌丝生长。

1.2.2 摇瓶液体菌种培养(二级液体培养基筛选)。分别用600 mL三角瓶装200 mL 3种摇瓶液体菌种培养基, 121℃灭菌30 min, 冷却后分别接入“1.2.1”中优质菌种, 每个三角瓶接入约0.5 cm²斜面菌种3片, 于25℃、150 r/min振荡培养箱培养7 d, 进行摇瓶液体菌种培养基的筛选。

1.2.3 二级液体菌种的培养条件优化。用600 mL三角瓶装200 mL优化的摇瓶液体菌种培养基, 121℃灭菌30 min,

冷却后接种,分别在17、19、21、23、25、27℃下,150 r/min 振荡培养箱培养7 d,测定每100 mL培养液中菌丝干重,以确定培养的适宜温度。

用600 mL三角瓶装200 mL优化的摇瓶液体菌种培养基,121℃灭菌30 min,冷却后,分别按4%、6%、8%、10%、12%、14% (V/V)接种量进行接种,于23℃、150 r/min 振荡培养箱培养7 d,测定每100 mL培养液中菌丝干重,以确定培养的适宜接种量。

1.2.4 发酵罐液体菌种培养(二级液体培养应用)。根据上述筛选的培养基与优化的培养条件,进行发酵罐液体菌种培养。采用80 L全自动发酵罐,每罐装50 L优化的摇瓶液体菌种培养基,pH自然。接入优化的摇瓶液体菌种,接种量10% (V/V),搅拌速度150 r/min,培养温度23℃,通气量15 L/min,培养时间168 h。每隔12 h取100 mL样品,测定菌丝干重。

1.2.5 菌丝干重测定与菌丝球计数。取100 mL培养液,经80目筛网,洗涤至水变清后,将菌丝球置于恒重过的定性滤纸上,置于干燥箱,60℃烘干至恒重,称其重量^[4]。

取1 mL培养液,稀释至10 mL,混匀后取1 mL置于平皿中,皿下衬黑色背景纸计数。

2 结果与分析

2.1 菌株活化筛选 将菌株活化接种在PDA上,其菌丝生长情况如表2所示。可以看出,4个工厂化生产的金针菇菌株中F白“18”菌丝生长速度较其他菌株好,故选取F白“18”作为后续液体菌种培养研究的试验菌株。

表2 菌株活化后的菌丝生长

Table 2 Mycelium growth after activation mm

时间 Time//d	F21	F冷 Fleng	F8801	F白“18” F bai“18”
1	萌发	萌发	萌发	萌发
2	0.5	0.3	0.6	0.8
3	1.6	1.4	1.2	2.0
4	3.5	3.7	2.8	4.6
5	4.5	4.9	4.1	5.3
6	6.2	5.6	5.1	6.9
7	7.5	6.7	6.2	满皿

2.2 二级液体菌种培养试验

2.2.1 二级液体菌种培养基的筛选。食用菌液体菌种培养基的氮源中有机氮源要优于无机氮源,更有利于菌丝生长^[5]。从大量生产、降低生产成本角度考虑,液体菌种培养基的有机氮源选择豆饼粉、麸皮,其他因子相同。由其组成的不同液体菌种培养基配方,它们对F白“18”菌丝生长影响如表3所示。

由表3可知,以马铃薯、麸皮为主料的液体培养基生产的菌种菌丝球个数、菌丝干重均高于豆饼粉、麸皮为主料的液体培养基;以豆饼粉、麸皮为主料的液体培养基生产的菌种菌丝球个数、菌丝干重均明显高于仅以麸皮为主料的液体培养基。原因可能是马铃薯、麸皮(或豆饼粉、麸皮)的营养较麸皮全面,含有金针菇生长所需的各种维生素和生物素。

故二级液体菌种培养基宜选择②(马铃薯15%+麸皮7%+蔗糖2%+磷酸二氢钾0.1%+硫酸镁0.05%)为佳。

表3 不同液体菌种培养基对菌丝生长的影响

Table 3 The effect of different liquid fungus culture medium on mycelium growth

培养基 Culture medium	菌丝干重 Dry weight of mycelium//g/L	菌丝球个数 Mycelial pellets number//个/L
①	8.33	10 290
②	9.28	13 270
③	6.72	8 670

2.2.2 二级液体菌种培养条件的优化。确定了二级液体菌种的培养基组成后,又对培养条件(培养温度、接种量等)进行优化研究,结果如图1、2所示。

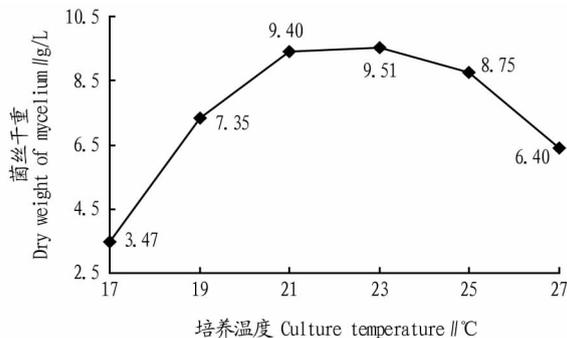


图1 不同培养温度对菌丝生长的影响

Fig. 1 The effect of culture temperature on mycelium growth

在17~23℃设6个培养温度处理。由图1可知,随着培养温度升高,菌丝干重先急剧增加,后增加放缓,至23℃达最大值,为9.51 g/L;23℃升至27℃时,菌丝干重逐渐下降。可见培养温度以23℃为宜。

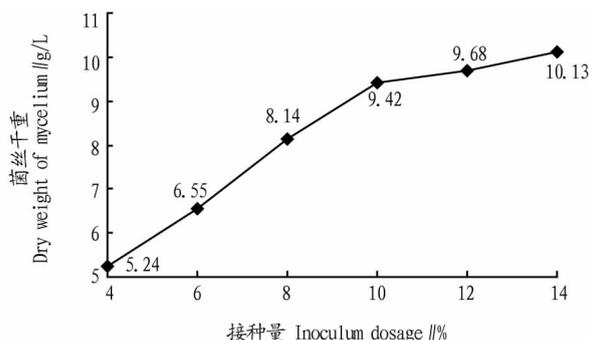


图2 不同接种量对菌丝生长的影响

Fig. 2 The effect of inoculum dosage on mycelium growth

在4%~14%设置了6个接种量。由图2可知,在4%~10%,随着接种量增加,菌丝干重急剧增加;在10%~14%,随着接种量增加,菌丝干重增加较为缓慢。再从降低生产成本的角度考虑,接种量以10%为宜。

2.3 二级培养的液体菌种应用

2.3.1 发酵罐液体菌种培养的生长曲线。采用80 L自动发酵罐在上述优化培养条件下开展二级液体菌种的培养试验,每隔12 h取100 mL液体菌种,测定菌丝干重,结果见图3。

由图3可知,液体菌种经168 h培养,其生长曲线呈典型的“S”型,包括迟缓期、生长期、稳定期和衰亡期。其中培养96~132 h为菌丝生长期,培养132~156 h为菌丝生长稳定期,菌丝干重达最大值,即培养至156 h,菌丝干重达10.27 g/L。从节约成本角度考虑,宜将144 h作为发酵罐液体菌种的培养时间结束点。

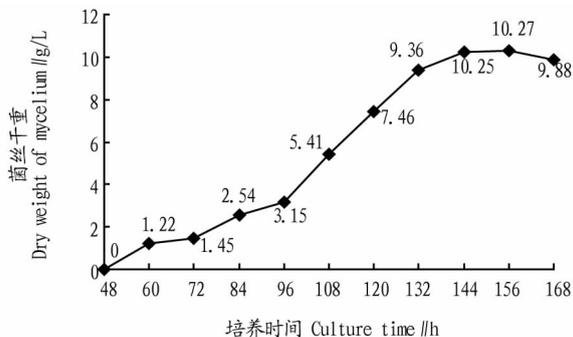


图3 菌种生长曲线

Fig.3 The growth curve of the fungus

2.3.2 发酵罐液体菌种培养的适宜菌龄。为进一步验证发酵罐液体菌种适宜的培养结束时间,取发酵罐液体培养120、132、144、156 h的液体菌种,按照接种量10%分别接种在工厂化生产金针菇的栽培料中,进行不同菌龄菌种接种栽培料的菌丝生长试验,结果如表4所示。接种菌龄为144、156 h的液体金针菇菌种,菌丝长速都超过5 mm/d,满瓶天数为

20 d,比接种其他菌龄的栽培料满瓶时间缩短1~3 d。其中尤以144 h菌龄的液体金针菇菌种为佳。这也进一步验证了在生产应用中发酵罐液体菌种的培养时间结束点宜为144 h,可能这个时期的金针菇液体菌种活力较其他时期强^[6]。

表4 不同菌龄菌种接种栽培料后的生长情况

Table 4 Fungus growth of different age after inoculation with cultivating material

菌龄 The age of liquid fungus//h	菌丝长速 Mycelium growth rate//mm/d	满瓶天数 Days of full bottle//d
120	4.74	23
132	4.90	21
144	5.04	20
156	5.01	20

2.3.3 生产应用试验。为了试验开发的液体菌种的生产效果,将上述试验确定的菌龄为144 h的液体菌种与传统的固体菌种分别接种到以棉籽壳、玉米芯为主料的栽培料中,各50瓶,进行生产应用比较试验,结果如表5所示。

由表5可知,在工厂化生产应用中,与固体菌种相比,接种于栽培料中液体菌种的菌丝长速快,满瓶时间提前10 d,第一潮菇采摘期提前9 d,即工厂化生产周期缩短了9 d,每瓶产量增加28 g,生物转化率提高了6.38个百分点。

表5 液体菌种与固体菌种在工厂化生产中的比较

Table 5 Comparison of the liquid and solid fungus in factory production

菌种类型 Fungus type	菌丝长速 Mycelium growth rate//mm/d	满瓶天数 Days of full bottle//d	第一潮菇采期 The first mushroom harvest period//d	产量 Yield g/瓶	生物转化率 Biological conver- sion ratio//%
液体菌种 Liquid fungus	5.04	20	50	319	85.71
固体菌种 Solid fungus	4.24	30	59	291	79.33

3 小结

在4个金针菇工厂化生产菌株中,金针菇工厂化生产的液体菌种开发宜以F白“18”为出发菌株;二级液体菌种的培养基宜为马铃薯15%、麸皮7%、蔗糖2%、磷酸二氢钾0.1%、硫酸镁0.05%;培养条件为接种量10%,转速为150 r/min,温度23℃,pH自然,发酵罐培养时间结束点和适宜的菌龄均为144 h;在工厂化生产应用中,液体菌种较固体菌种发菌速度快,生产周期缩短9 d,生物转化率提高了6.38个百分点。

参考文献

- [1] 闫长伟,陈合,陈宜鼎.金针菇液体菌种筛选及培养条件的研究[J].中国食用菌,2003,22(1):35-37.
- [2] 宋莹,吕立涛,杨镇,等.烟色离褶伞液体菌种培养条件及栽培基质优化[J].食用菌学报,2015,22(4):27-30.
- [3] 王庆武,兰玉菲,谢新国,等.不同营养成分对泰山赤灵芝液体菌种菌丝生物量的影响[J].食用菌,2017,30(3):33-37.
- [4] 黄清荣,姜华,张萍,等.真姬菇液体培养基的正交试验研究[J].安徽农业科学,2005,33(9):1626-1627.
- [5] 郭树凡,张慧丽.香菇液体菌种发酵条件的研究[J].中国食用菌,2004,24(1):38-41.
- [6] 黄瑞贞.金针菇高产技术[M].北京:金盾出版社,2005:52-53.

科技论文写作规范——数字

公历世纪、年代、年、月、日、时刻和各种计数和计量,均用阿拉伯数字。年份不能简写,如1990年不能写成90年,文中避免出现“去年”“今年”等写法。小于1的小数点前的零不能省略,如0.2456不能写成.2456。小数点前或后超过4位数(含4位数),从小数点向左右每3位空半格,不用“,”隔开。如18 072. 235 71。尾数多的数字(5位以上)和小数点后位数多的小数,宜采用 $\times 10^n$ (n 为正负整数)的写法。数字应正确地写出有效数字,任何一个数字,只允许最后一位存在误差。