

食用菌培养料发酵及接种液体菌种试验

周建树 孟庆国 赵洁 韩冰 陈超

(辽宁省微生物科学研究院, 辽宁朝阳 122000)

摘要 食用菌液体菌种接种发酵料鲜有报道。试验目的在于充分利用液体菌种生产条件,探索在规模化食用菌生产中,解决降低大量培养料灭菌成本、缩短灭菌时间、减轻劳动强度等问题。将发酵料的发酵试验接种液体菌种。试验表明,平菇液体菌种、鸡腿菇液体菌种均能在以玉米芯、棉子壳、木屑为主要原料的发酵料上生长,但在玉米芯发酵料上生长最佳。液体菌种在平均发酵温度40~55℃,发酵时间72~120h,pH7~10的条件下均能正常生长。

关键词 液体菌种 发酵料 微生物

文章编号 1000-8357(2009)05-0042-02

固体菌种生产周期较长,栽培袋灭菌效率低,成为食用菌生产发展的瓶颈。液体菌种生产不仅大大缩短了菌种生产的周期,而且液体菌种萌发快,出菇早。栽培料通过堆制发酵,可以大大地降低生产成本,减轻劳动强度,更重要的是发酵料对接种环境的要求比熟料接种的环境条件要求要低,而且污染率明显降低。

1 材料和方法

1.1 供试发酵料配方 ①玉米芯78%,麸皮20%,石膏1%,石灰1%,发酵剂0.1%;②棉子壳78%,麸皮20%,石膏1%,石灰1%,发酵剂0.1%;③木屑78%,麸皮20%,石膏1%,石灰1%,发酵剂0.1%;④玉米芯,棉子壳,木屑各26%,麸皮20%,石膏1%,石灰1%,发酵剂0.1%。

1.2 液体菌种 平菇(*Pleurotus ostreatus*),鸡腿菇(*Coprinus comatus*),金针菇(*Flammulina velutipes*),杏鲍菇(*Pleurotus eryngii*),滑菇(*Pholiota nameko*)。

1.3 培养基 ①液体菌种培养基:玉米粉3%,豆饼粉2%,蔗糖1%,磷酸二氢钾0.3%,硫酸镁0.15%。②牛肉膏蛋白胨培养基:牛肉膏0.5%,蛋白胨1%,氯化钠0.05%,琼脂粉2%,pH7.2~7.4。③高氏1号培养基:可溶性淀粉2%,硝酸钾0.1%,磷酸氢二钾0.05%,硫酸镁0.05%,硫酸亚铁0.001%,琼脂粉2% pH7.2~7.4。④马丁氏培养基:磷酸二氢钾0.1%,葡萄糖0.1%,硫酸镁0.05%,蛋白胨0.5%,琼脂粉2%,1%孟加拉红溶液3.3 mL。

1.4 仪器设备 旋转式摇床,恒温水浴摇床,烘干箱,恒温培养箱,超净工作台,显微镜。

1.5 试验方法

1.5.1 发酵料的制备及取样 将不同配方的主料混匀,用石灰、石膏水预湿,然后用经过处理的含有高温微生物的发酵剂孢子悬液混匀培养料,达到规定的湿度即可。

将培养料充分拌匀后,在料堆的中心位置和料堆四周取

5个样并混匀,用无菌袋包好,备用。

1.5.2 堆温的测定 在堆料的上、中、下的位置测量堆温,取平均值。

1.5.3 悬浮液的制备 取样品2.5 g,放入47.5 mL有玻璃珠的三角瓶中,在50℃的恒温水浴摇床中振荡30 min,使其充分混匀,取1 mL悬浮液于9 mL无菌水试管中,依次稀释到要求的浓度。

1.5.4 堆料中微生物的培养

1.5.4.1 细菌的培养 分别取0.1 mL 10^{-10} 、 10^{-11} 、 10^{-12} 、 10^{-13} 、 10^{-14} 、 10^{-15} 稀释度的菌悬液涂布于牛肉膏蛋白胨培养皿上,用刮铲涂匀,静置一段时间,让菌悬液充分吸收后,倒置于50℃条件下培养,培养12~24 h。每个浓度3个重复。

1.5.4.2 放线菌培养 分别取0.1 mL 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 的稀释度菌悬液涂布于高氏1号培养皿上,用刮铲涂匀,静置一段时间,让菌悬液充分吸收后,倒置于50℃条件下培养,培养24~72 h。每个浓度3个重复。

1.5.4.3 真菌的培养 分别取0.1 mL 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 的稀释度菌悬液涂布于马丁氏培养皿上,用刮铲涂匀,静置一段时间,让菌悬液充分吸收后,倒置于50℃条件下培养,培养72~120 h。每个浓度3个重复。

1.5.5 液体菌种接种不同发酵时间的堆料试验 分别取发酵时间为24 h、36 h、48 h、72 h、96 h、120 h、144 h、168 h的发酵料装袋接种液体菌种,25℃条件下培养,观察菌球的萌发及吃料情况。

1.5.6 液体菌种在干制发酵料上的生长试验 将发酵5~7 d的棉子壳发酵料风干放置20 d,彻底干燥后,加适量石灰和开水拌匀,pH7,冷却后,接种液体菌种,25℃条件下培养,观察菌球的萌发及吃料情况。

1.5.7 液体菌种不同接种形式对萌发及吃料的影响 将液体菌种分别接种栽培袋的表面、中部、底部、混合接种,25℃条件下培养,观察菌球的萌发及吃料情况。

1.5.8 不同液体菌种接种不同发酵料试验 在发酵料上分别接种金针菇、平菇、滑菇、杏鲍菇、鸡腿菇等液体菌种,观察菌球的萌发及吃料情况。

2 结果与分析

2.1 堆料中的堆温变化 从图1~图3中可以看出,堆料在发酵到第3天时温度最高,达到40.5℃,随着时间的延长,堆温越来越低,第7天时,降到30℃。这可能是因为木屑颗粒比较细,料堆透气性较差,木屑中的营养较玉米芯和棉子壳要简单一些,限制了好氧微生物的代谢活动,致使堆温升温不高。

棉子壳有弹性,而且透气性好,营养比较丰富,高温微生物活动比较旺盛,发酵96 h最高温度达到43.5℃,之后温度逐渐下降。

收稿日期:2009-04-15 一稿;2009-04-27 修改稿。

基金项目:辽宁省农业科技攻关项目(2008201008)。

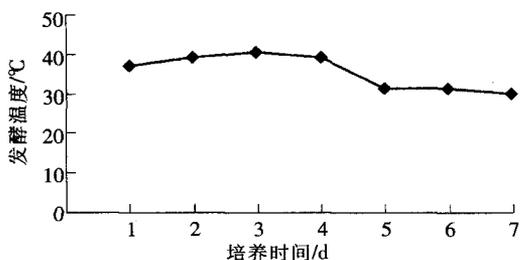


图1 木屑发酵料的堆温变化曲线

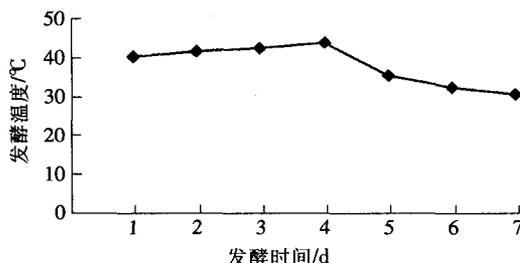


图2 棉子壳发酵料的堆温变化曲线

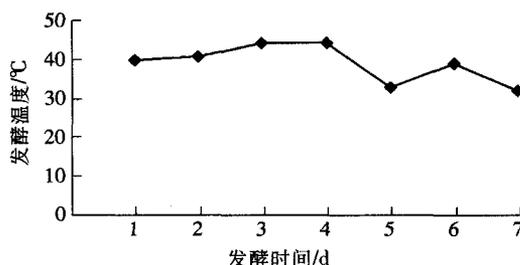


图3 玉米芯发酵料的堆温变化曲线

玉米芯发酵料在发酵 72 h 后温度达到最高 44.6℃,并且持续保持该温度 24 h,这与玉米芯的透气性好,营养丰富,微生物活动状态好有关。

2.2 堆料中的微生物变化规律 三种堆料中木屑的堆料温度最低,这可能是与木屑的营养单一,木屑颗粒较细,透气性较差,影响好氧高温微生物的繁殖有关;72 h 堆料温度最高,而 72 h 时放线菌的数量也是最高的,高温真菌在发酵前期,几乎检测不到。

表 1 木屑发酵料不同发酵时间微生物的变化

发酵时间/h	发酵温度/°C	细菌	放线菌	真菌
24	34	2.7×10 ⁵	6.2×10 ⁴	0
48	39	3.3×10 ⁵	5.1×10 ⁵	0
72	40.5	4.5×10 ⁶	4.6×10 ⁷	4.3×10 ⁴
96	39	2.1×10 ⁷	3.4×10 ⁷	4.7×10 ⁴
120	31	1.3×10 ⁶	7.4×10 ⁴	3.3×10 ⁴

注:微生物测得值为每克料含量。表 2、表 3 同。

从表 2 可见,棉子壳堆料中细菌、放线菌、真菌的变化都呈现出逐渐上升的趋势,96 h 时温度达到最高,达到最高温度的时间要比木屑和玉米芯堆料的时间长。各种高温微生物变

表 2 棉子壳发酵料不同发酵时间微生物的变化

发酵时间/h	发酵温度/°C	细菌	放线菌	真菌
24	40	3.0×10 ⁵	6.7×10 ⁴	0
48	41	3.2×10 ⁵	5.66×10 ⁵	0
72	42	4.15×10 ⁶	4.0×10 ⁷	5.1×10 ⁴
96	43.5	4.3×10 ⁷	4.78×10 ⁷	4.3×10 ⁴
120	35	2.33×10 ⁶	7.2×10 ⁴	4.4×10 ⁴

化规律与温度的升高呈正相关。

在堆制前期,料温升至 34℃ 以上时,细菌就开始大量繁殖,随着发酵温度的升高,细菌的数量也在逐渐增加;放线菌在发酵 72 h 时数量最多,之后逐渐下降(表 3)。

表 3 玉米芯发酵料不同发酵时间微生物的变化

发酵时间/h	发酵温度/°C	细菌	放线菌	真菌
24	34	4.12×10 ⁵	6.8×10 ⁴	0
48	42.1	3.23×10 ⁵	5.7×10 ⁵	0
72	53.6	4.35×10 ⁶	4.3×10 ⁷	5.7×10 ⁴
96	50.3	2.13×10 ⁷	3.99×10 ⁷	4.97×10 ⁴
120	47.3	1.36×10 ⁶	8.2×10 ⁴	4.5×10 ⁴

从试验结果可以看出,棉子壳和木屑发酵料的微生物变化规律与玉米芯发酵料的微生物的变化规律相一致,不同的是高温放线菌和高温细菌以及高温真菌的数量比玉米芯发酵料的量少,以上三种堆料的料温的变化基本上与堆料中高温微生物的数量变化有一定的正相关性。因此说,高温微生物量的多少决定着堆料的温度高低。

2.3 不同液体菌种接种在各类发酵料上的结果 试验发现,平菇和鸡腿菇液体菌种在以木屑为主料的发酵料上生长较差,而且鬼伞和菇蝇发生率达到 35%,这说明木屑发酵料的发酵效果不理想。而以棉子壳为主料的发酵料要好于木屑发酵料,虽然液体菌种的生长不如玉米芯发酵料,但是鲜有鬼伞及菇蝇发生。液体菌种在以玉米芯为主料的发酵料的生长好于木屑与棉子壳发酵料,不仅菌丝浓白,发菌快,而且鲜见鬼伞及菇蝇发生,鸡腿菇更适合玉米芯发酵料(表 4)。

表 4 不同品种液体菌种在不同发酵料培养基上的生长状态

液体菌种	木屑	棉子壳	玉米芯
平菇	鬼伞、菇蝇	+	++
鸡腿菇	鬼伞、菇蝇	+	+++
杏鲍菇	鬼伞、菇蝇	-	-
滑菇	鬼伞、菇蝇	-	-
香菇	鬼伞、菇蝇	-	-
金针菇	鬼伞、菇蝇	-	-

2.4 不同发酵时间发酵料接种液体菌种结果 发酵 72 h 后,发酵温度超过 40℃ 的情况下,平菇、鸡腿菇液体菌种均能在木屑、棉子壳、玉米芯发酵料上萌发生长(表 5)。

表 5 发酵料的发酵时间对液体菌种生长状态的影响

发酵时间/h	发酵温度/°C	萌发	吃料
24	30.5	染菌	染菌
48	40	染菌	染菌
72	42	萌发	吃料
96	38	萌发	吃料
120	36	萌发	吃料

注:以平菇和鸡腿菇为例。

2.5 在干制发酵料上接种液体菌种结果 将发酵好的发酵料存放 30 d 后,再用 2% 的石灰水将其拌匀,含水量达到 60%,接种平菇、鸡腿菇固体菌种和液体菌种,结果表明,固体和液体菌种均能在该料上萌发和吃料,但液体菌种生长状态较弱,且有污染现象发生。

2.6 液体菌种不同接种方式萌发及吃料情况 液体菌种在发酵料表面接种、以及在两层发酵料夹层间接种均能萌发,但是表面接种要优于夹层接种,液体菌种与发酵料混合接种时,菌丝

保水剂在平菇母种培养及保存中的应用试验

马晓娣¹ 刘贵巧¹ 房刚²

(1 河北工程大学,河北邯郸 056038; 2 北京金元易生态工程技术中心,北京 100015)

摘要 试验将不同类型(MP3005KM、MP3005KB、MP-KR、MP-KS)、不同质量分数(0.1%、0.5%、1%、1.5%、2%)的保水剂吸水制成凝胶颗粒后加入母种培养基,对菌丝生长状况、过氧化物酶活性等进行观察与测定研究。结果表明:颗粒大小适中的A(MP3005KM)和B(MP3005KB)保水剂在促进菌丝生长、提高菌丝活力等方面综合效果较好。保水剂使用浓度为1%时效果最好,A、B保水剂分别使菌落直径增长112.8%和110.3%,菌丝过氧化物酶活性增长299.4%和145.6%。由此可见,选择适宜类型及质量分数的保水剂制成凝胶颗粒加入母种培养基,是促进菌丝生长、提高菌丝活力的有效途径,值得推广应用。

关键词 保水剂 平菇 母种 培养基

文章编号 1000-8357(2009)05-0044-02

母种培养与保存是平菇栽培中的重要环节,要想收获高产优质的平菇子实体,首先必须培养出健壮的母种菌丝体^[1]。除营养成分外,培养基水分是影响菌丝体生长的一个重要因素。如何有效调控培养基中水分含量,促进菌丝生长,提高菌丝活力,是母种生产与保存中一个重要的研究课题。

保水剂是一种无毒、无味、无污染的新型高分子聚合物,具有极强的吸水保水能力,能够吸收并保持自身重量数百倍乃至数千倍的水,其吸水后自身成为不规则的凝胶颗粒,吸收的水分不流动、不易蒸发,且其吸收的90%以上的游离水分可被植物利用^{[2]、[3]}。近年来,笔者曾在小麦、萝卜、棉花、绞股兰、月季、翠菊、鸡冠花等多种植物栽培中进行保水剂的应用研究^{[4]、[10]},均取得了良好的研究结果,并逐渐在生产中推广应用。另外,在平菇栽培中将保水剂制成凝胶颗粒拌入培养料,结果发现,适宜的保水剂可有效促进菌丝生长,提高平菇产量。保水剂能否应用于平菇母种培养及保存并产生积极影响,尚未见相关报道。为此,笔者在平菇母种培养基中加入不同类型、不同质量分数的保水剂,研究保水剂对平菇母种培养及保存中的效应,为培养健壮的母种菌丝体、获得高产优质的平菇子实体提供参考。

收稿日期:2009-01-08

萌发及吃料的效果要差于上述两种接种方式,有时甚至不萌发。

3 小结

试验结果表明:玉米芯发酵料的高温微生物的繁殖速度要快于棉子壳及木屑发酵料,先于棉子壳和木屑发酵料形成有利于平菇和鸡腿菇利用的小分子物质优势,因此,玉米芯发酵料更适合平菇和鸡腿菇液体菌种生长。三种栽培料相比较,木屑培养料不宜进行发酵料栽培食用菌,原因是该料容易产生鬼伞,发酵效果不理想;棉子壳、玉米芯适合用来进行发酵栽培食用菌,而玉米芯栽培料更适合进行发酵处理,接种平

1 材料与方法

1.1 供试材料 ①AQUASORB系列保水剂:MP3005KM、MP3005KB、MP-KR、MP-KS(聚丙烯酸系列产品,白色粉末或颗粒,无毒无害。其吸水后自身成为不规则的凝胶颗粒,具有吸水性好、保水力强、释水缓慢、供水期长等特性),由北京金元易生态工程技术中心(法国SNF授权中国代理商)提供。②平菇菌株:抗病5号,由河北工程大学农学院微生物实验室提供。

1.2 试验方法

1.2.1 试验设计 A、B、C、D分别代表MP3005KM、MP3005KB、MP-KR、MP-KS 4种保水剂,每一种保水剂分别设定1、2、3、4、5,5个处理,各处理添加的保水剂分别为培养基中干物质重的0.1%、0.5%、1%、1.5%、2%,每处理设5次重复。CK为对照,不添加保水剂。

1.2.2 保水剂吸水凝胶以及母种培养基的制备 每一种保水剂的各处理均需要50 mL PDA培养基,按培养基中干物质重的0.1%、0.5%、1%、1.5%、2%分别称取保水剂,将保水剂和水按1:100的比例混合均匀,让保水剂充分吸水膨胀,变为凝胶状。将凝胶状保水剂均等分装到5个培养皿,每个培养皿加入10 mL灭菌后冷却到50℃左右的培养基,使培养基和保水剂混合均匀,然后放入手提式高压灭菌锅,在121℃下灭菌30 min,待冷却后即可进行接种。

1.2.3 接种及菌丝培养 按常规接种方法,在每个母种培养基上的中央部位,接种同一品种、同一培养时期、同样大小的母种一块,然后将其置于室温(15~25℃)下培养,观察记录菌丝生长状况,并进行相关指标的测定。

1.2.4 测定指标及方法

1.2.4.1 菌落及菌丝直径测量 在菌丝生长15 d后,用直尺测量各处理的菌落直径,并取少许菌丝体制成临时制片,在显微镜下测量菌丝的直径。

1.2.4.2 菌丝活力测定 ①菌丝体生长速度:在菌丝生长60 d后,分别取各处理菌落边缘的菌丝体一块,接种到新的不含保水剂和鸡腿菇的液体菌种。

由于受环境温度和料堆体积的影响,每次试验的发酵温度有差异,但试验结果表明平菇和鸡腿菇液体菌种在玉米芯发酵料发酵温度40~55℃,发酵时间72 h~120 h, pH 7~10的条件下均能正常生长。

参与文献

- [1] 黄保敬. 发酵料选择性成因的探讨[J]. 食用菌, 1996, 18(1): 7-8.
- [2] 姜成. 蘑菇培养料堆制过程中微生物的演替及作用[J]. 微生物学杂志, 2003, 23(1): 56-58.