

香菇母种培养基优化研究

刘明军¹, 包玉政², 王晓巍¹, 韩爱民², 李通¹, 杨建杰¹, 任爱民¹

(1. 甘肃省农业科学院蔬菜研究所, 甘肃 兰州 730070;

2. 宕昌县农业技术推广中心, 甘肃 宕昌 748500)

摘要: 探究宕昌地区香菇主栽品种香菇 L808 菌丝的最佳生长条件和优化其培养基, 为甘肃宕昌地区香菇菌种生产企业中母种培养基标准不统一、母种质量参差不齐的现象提供参考, 以香菇品种 L808 为试材, 采用单因素试验和 $L_9(3^4)$ 正交试验的方法, 进一步明确香菇 L808 菌丝的最佳碳源、最佳氮源、最适培养温度、最适培养 pH 以及优化其培养基配方。结果表明, 香菇 L808 菌种菌丝的最佳生长条件是: 最佳碳源为葡萄糖, 最佳氮源为牛肉膏, 最适培养温度为 24 ℃, 最适培养 pH 为 6; 其最优培养基配方为木屑 75 g/L、葡萄糖 20 g/L、琼脂粉 18 g/L、马铃薯 220 g/L。

关键词: 香菇; 母种; 培养基; 碳源; 氮源; 温度; pH; 优化

中图分类号: S646.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 2097-2172(2024)11-1037-05

doi:10.3969/j.issn.2097-2172.2024.11.011

Study on the Optimization of *Lentinula edodes* Mother Seed Culture Medium

LIU Mingjun¹, BAO Yuzheng², WANG Xiaowei¹, HAN Aiming², LI Tong¹, YANG Jianjie¹, REN Aiming¹

(1. Vegetables Research Institute, Gansu academy of Agricultural Sciences, Lanzhou Gansu 730070, China;

2. Tanchang County Agricultural and Technology Extension Centre, Tanchang Gansu 748500, China)

Abstract: In view of the phenomenon that the standard of mother seed culture medium is not uniform and the quality of mother culture is uneven in the production enterprises of *Lentinula edodes* strains in Tanchang area of Gansu Province, the biological characteristics of the mycelium of the main cultivated varieties of *Lentinula edodes* in Tanchang area and the optimization of its culture medium were explored. With *L. edodes* variety L808 as test material, the optimum carbon source, nitrogen source, optimum temperature and pH value of *L. edodes* mycelium were determined by single factor test and orthogonal test $L_9(3^4)$, and the medium formula was optimized. The optimum carbon source, nitrogen source, culture temperature and pH value of *Lentinula edodes* were glucose, beef extract, 24 °C and 6, respectively. The final optimized formula by orthogonal test was sawdust at 75 g/L, glucose at 20 g/L, agar powder at 18 g/L, and potato at 220 g/L.

Key words: *Lentinula edodes*; Mother seed; Culture medium; Carbon source; Nitrogen source; Temperature; pH; Optimization

香菇(*Lentinus edodes*)是世界第二大食用菌, 我国是世界上最大的香菇主产国^[1-2]。优质的香菇母种则是在栽培过程中获得高品质和高产的基础, 在栽培过程中具有最重要的意义^[3]。香菇菌丝的培养基及生长条件是目前香菇生产研究的重要方向, 而 PDA 培养基则是普遍认为最常用的培养基^[4]。近年来, 越来越多的研究开始筛选并

优化香菇的最佳培养基, 李秋信等^[5]使用金银花藤浸出液对香菇武香 1 号母种培养基进行优化的最终结果表明, 向每 1 000 mL 培养基中添加 200 g 金银花藤浸出液后菌丝长速最快, 长势最旺盛, 且显著快于 PDA 培养基上生长的菌丝。邓志刚等^[6]研究表明, 香菇 L26 菌丝在小麦琼脂培养基和玉米粉蔗糖培养基上生长最佳。不同品种的香菇母

收稿日期: 2024-02-28; 修订日期: 2024-09-05

基金项目: 国家重点研发计划项目(2021YFD1100503); 甘肃省科技计划项目(22CX8NA031); 国家食用菌产业技术体系(CARS-20)。

作者简介: 刘明军(1977—), 男, 甘肃白银人, 副研究员, 主要从事食用菌栽培研究示范工作。Email: 254555998@qq.com。

通信作者: 任爱民(1970—), 男, 甘肃合水人, 研究员, 硕士, 主要从事食用菌栽培技术研究与推广等方面的研究工作。Email: gs_ram@126.com。

种所需的生长条件不同，且相同品种的香菇母种在不同的环境条件下的菌丝生长情况也出现很大变化，故香菇品种的多样性也导致了培养条件的多样化。

宕昌县位于甘肃省南部，地处亚热带向暖温带过渡地段，山峦起伏，沟壑纵横，山岳特征显著，地形地貌异常复杂，县境海拔 $1\,138\sim4\,154$ m，属温带大陆性气候区。由于当地产业基础薄弱、香菇菌种混乱、优质菌种缺乏、培养条件研究不到位等问题，故需要利用当地气候资源优势，研究规范当地的香菇优质菌种及培养条件。菌种相当于作物的种子，其质量优劣对后期栽培过程起到了关键的作用^[7]，母种菌丝的生长情况与栽培过程中出现的问题呈正相关^[8]，所以研究菌种的生理学特性及优化其配方尤为重要。我们以当地的香菇 L808 为供试菌种，研究其菌丝生长的最佳碳源、最佳氮源、最适培养温度和最适培养 pH，以及优化该香菇的母种培养基，进而改进优质菌种的培养及生产，以期为当地的香菇菌种培养和生产提供科学的理论依据，并对指导新时期企业香菇生产具有积极意义。

1 材料与方法

1.1 供试材料

指示香菇品种 L808 的菌种由宕昌县宕兴菌业有限公司提供。供试培养基有 PDA 培养基（马铃薯 200 g、葡萄糖 20 g、琼脂粉 18 g、水 1 000 mL）、碳氮源筛选培养基[碳源(分别为葡萄糖、果糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖)20.0 g, 琼脂粉 18.0 g, 氮源(分别为蛋白胨、亮氨酸、牛肉膏、酵母膏、硫酸铵)0.2 g, 磷酸二氢钾 1.0 g, 硫酸镁 0.5 g, 水 1000 mL]。

1.2 试验方法

1.2.1 菌种纯化 使用 90 mm×90 mm 的培养皿制作 PDA 平板培养基，并将菌种转接至平板上，待平板上的菌落长满后备用。

1.2.2 不同碳源对香菇菌丝的影响 试验选用 1.1 碳氮源筛选培养基配方，分别以葡萄糖、果糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖为不同碳源制作培养基，以不添加碳源的培养基为对照，分别研究并分析不同碳源对香菇菌丝生长的影响。每处理 6 次重复，试验在恒温培养箱中完成，且均在黑暗条件下培

养，记录香菇菌丝的生长情况。

1.2.3 不同氮源对香菇菌丝的影响 试验选用 1.1 碳氮源筛选培养基配方，分别以蛋白胨、亮氨酸、牛肉膏、酵母膏、硫酸铵为不同氮源制作培养基，以不添加氮源的培养基为对照，分别研究并分析不同氮源对香菇菌丝生长的影响。每个处理 6 次重复，试验在恒温培养箱中完成，且均在黑暗条件下培养，记录香菇菌丝的生长情况。

1.2.4 不同温度对香菇菌丝的影响 试验使用 PDA 培养基为供试培养基，设置 8、12、16、20、24、28、32、36 ℃ 共 8 个处理，每个处理 6 次重复，试验在恒温培养箱中完成，且均在黑暗条件下培养，分别记录香菇菌丝的生长情况。

1.2.5 不同 pH 对香菇菌丝的影响 试验使用 PDA 培养基为供试培养基，制作培养基前使用 0.1 mol/L 的 HCl 溶液和 0.1 mol/L 的 NaOH 溶液将培养基 pH 分别调节为 4、5、6、7、8、9 共 6 个梯度，再灭菌，每个处理 6 次重复，试验在恒温培养箱中完成，且均在黑暗条件下培养，分别记录香菇菌丝的生长情况。

1.2.6 香菇母种培养基优化 试验设置向 PDA 培养基添加木屑的单因素实验，以木屑、葡萄糖、琼脂粉、马铃薯为因子对香菇母种培养基进行优化，选出最佳的木屑、葡萄糖、马铃薯、琼脂粉的添加量。试验采用 $L_9(3^4)$ 正交设计(表 1)，并对其实验结果进行优化。

表 1 正交试验因素和水平 g/L

水平 编号	因素			
	A(木屑)	B(葡萄糖)	C(琼脂粉)	D(马铃薯)
1	50	18	16	180
2	75	20	18	200
3	100	22	20	220

1.3 数据整理与分析

采用 Microsoft Excel 2016 软件对试验数据进行分析整理，使用 SPSS 26.0 统计软件对试验数据进行方差分析并采用 Duncan's 新复极差法进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 不同碳源对香菇菌丝的影响

由表 2 可知，以葡萄糖为碳源的处理香菇菌丝生长速度最快，为 0.820 cm/d，均显著高于其他

碳源处理和 CK 的生长速度($P<0.05$)，较 CK 增加 485.71%，较果糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖为碳源的处理分别增加 17.14%、18.84%、17.14%、74.46%；以果糖和麦芽糖为碳源的处理香菇菌丝生长速度次之，均为 0.700 cm/d，均较 CK 增加 400.00%；以乳糖为碳源的处理香菇菌丝生长速度最慢，为 0.470 cm/d，较 CK 增加 235.71%。同时可以看出，以葡萄糖、蔗糖为碳源的处理香菇菌丝长势旺盛，以果糖、麦芽糖为碳源的处理香菇菌丝长势较旺盛，以乳糖为碳源的处理和 CK 香菇菌丝长势一般。综上认为，葡萄糖为香菇菌丝生长的最适碳源。

表 2 不同碳源对香菇菌丝生长的影响^①

碳源	生长速度 /(cm/d)	菌丝长势
葡萄糖	0.820±0.042 a	+++
果糖	0.700±0.024 b	++
蔗糖	0.690±0.011 b	+++
麦芽糖	0.700±0.068 b	++
乳糖	0.470±0.042 c	+
CK	0.140±0.035 d	+

^①表中数据为平均值±标准差，相同指标同列数据不同小写字母表示差异在 0.05 水平显著 ($P<0.05$)；“+++”表示菌丝长势旺盛，“++”表示菌丝长势较旺盛；“+”表示菌丝长势一般，下表同。

2.2 不同氮源对香菇菌丝的影响

由表 3 可知，以牛肉膏为氮源的处理香菇菌丝生长速度最快，为 0.870 cm/d，较 CK 增加 265.50%，较亮氨酸、硫酸铵、蛋白胨、酵母粉为氮源的处理分别增加 52.63%、20.83%、20.83%、8.75%；酵母粉为氮源的处理香菇菌丝生长速度次之，为 0.800 cm/d，较 CK 增加 233.33%，均显著高于其他氮源处理和 CK 的生长速度($P<0.05$)；亮氨酸为氮源的处理香菇菌丝生长速度最慢，为 0.570 cm/d，较 CK 增加 137.50%。同时可以看出，以蛋白胨、牛肉膏为氮源的处理香菇菌丝长势旺盛，亮氨酸、硫酸铵、酵母粉为氮源的处理香菇菌丝长势较旺盛，CK 香菇菌丝长势一般。综上可

表 3 不同氮源对香菇菌丝生长的影响

氮源	生长速度 /(cm/d)	菌丝长势
亮氨酸	0.570±0.036 c	++
硫酸铵	0.720±0.028 b	++
蛋白胨	0.720±0.061 b	+++
牛肉膏	0.870±0.054 a	+++
酵母粉	0.800±0.029 a	++
CK	0.240±0.043 d	+

知，牛肉膏为香菇菌丝生长的最适氮源。

2.3 不同温度对香菇菌丝的影响

由表 4 可知，随着培养温度的升高，香菇菌丝的生长速度呈现先上升后下降的趋势，当香菇菌丝在 24 ℃培养条件下，菌丝生长速度最快，为 0.830 cm/d；其次是 28 ℃培养条件下，菌丝生长速度为 0.810 cm/d，二者菌丝生长速度均显著高于 8、12、16、32、36 ℃条件下的菌丝生长速度($P<0.05$)，但与 20 ℃条件下的菌丝生长速度差异不显著($P>0.05$)。8 ℃培养条件下，菌丝生长速度最慢，为 0.140 cm/d，显著慢于其余温度条件下的菌丝生长速度($P<0.05$)。同时可以看出，在 20、24、28 ℃培养条件下香菇菌丝长势旺盛，16、32 ℃培养条件下香菇菌丝长势较旺盛，8、12、36 ℃培养条件下香菇菌丝长势一般。综上可知，在 PDA 培养基上香菇菌丝生长的最适培养温度为 24 ℃。

表 4 不同温度对香菇菌丝生长的影响

温度 /℃	生长速度 /(cm/d)	菌丝长势
8	0.140±0.026 e	+
12	0.260±0.051 d	+
16	0.480±0.035 c	++
20	0.760±0.029 ab	+++
24	0.830±0.051 a	+++
28	0.810±0.035 a	+++
32	0.610±0.028 b	++
36	0.520±0.068 bc	+

2.4 不同 pH 对香菇菌丝的影响

由表 5 可知，随着 PDA 培养基 pH 的增加，香菇菌丝的生长速度呈现先上升后下降的趋势，当香菇菌丝在 PDA 培养基 pH 为 6 的培养条件下，菌丝生长速度最快，为 0.730 cm/d；PDA 培养基 pH 为 7 的培养条件下菌丝生长速度次之，为 0.690 cm/d，二者之间菌丝生长速度差异不显著($P>0.05$)，但均显著快于 pH 为 4、5、8、9 时的菌丝生长速

表 5 不同 pH 对香菇菌丝生长的影响

pH	生长速度 /(cm/d)	菌丝长势
4	0.380±0.034 c	+
5	0.570±0.051 b	++
6	0.730±0.029 a	+++
7	0.690±0.018 a	+++
8	0.550±0.064 b	++
9	0.390±0.057 c	+

度($P<0.05$)；PDA 培养基 pH 为 4 的培养条件下菌丝生长速度最慢，为 0.380 cm/d ，其次是 pH 为 9 时的生长速度，均显著低于其余 pH 条件下的菌丝生长速度($P<0.05$)。同时可以看出，PDA 培养基 pH 为 6、7 时香菇菌丝长势旺盛，pH 为 5、8 时香菇菌丝长势较旺盛，pH 为 4、9 时香菇菌丝长势一般。综上可知，在 PDA 培养基上香菇菌丝生长的最适培养 pH 为 6。

2.5 正交试验优化结果

由表 6 可知，影响香菇菌丝生长的培养基因素排序为 A(木屑) > B(葡萄糖) > D(马铃薯) > C(琼脂粉)，即对香菇菌丝生长影响最大的因素为木屑，葡萄糖次之，马铃薯较小，琼脂粉最小。正交试验结果表明，适合香菇菌丝生长的最优组合为 $A_2B_1C_2D_3$ (木屑 75 g/L、葡萄糖 18 g/L、琼脂粉 18 g/L、马铃薯 220 g/L)；而使用极差分析得到的最优组合为： $A_2B_2C_2D_3$ (木屑 75 g/L、葡萄糖 20 g/L、琼脂粉 18 g/L、马铃薯 220 g/L)。将 2 个方案进行验证试验后最终得出，最优组合为 $A_2B_2C_2D_3$ 。

表 6 香菇母种培养基优化正交试验结果分析^①

方案	因素				菌丝长速 /(cm/d)	菌丝长势
	A(木屑)	B(葡萄糖)	C(琼脂粉)	D(马铃薯)		
1	1	1	1	1	$0.460\pm0.027\text{ b}$	++
2	1	2	2	2	$0.440\pm0.037\text{ b}$	++
3	1	3	3	3	$0.430\pm0.041\text{ b}$	+
4	2	1	2	3	$0.560\pm0.056\text{ a}$	+++
5	2	2	3	1	$0.510\pm0.034\text{ b}$	+++
6	2	3	1	2	$0.420\pm0.046\text{ bc}$	++
7	3	1	3	2	$0.400\pm0.034\text{ bc}$	++
8	3	2	1	3	$0.390\pm0.049\text{ c}$	++
9	3	3	2	1	$0.380\pm0.018\text{ c}$	+
K_1	1.330	1.420	1.270	1.350		
K_2	1.490	1.340	1.380	1.260		
K_3	1.170	1.230	1.340	1.380		
k_1	0.443	0.473	0.423	0.450		
k_2	0.497	0.447	0.460	0.420		
k_3	0.390	0.410	0.447	0.460		
R	0.107	0.063	0.037	0.040		
优水平	A_2	B_2	C_2	D_3		
优组合				$A_2B_2C_2D_3$		
主次因素				$A>B>D>C$		

^①表中 K_1 、 K_2 、 K_3 分别表示每个因素下对应水平的实验结果的和， k_1 、 k_2 、 k_3 分别表示每个因素下对应水平的实验结果的极差， R 为每个因素下 k 的最大值减最小值。

表 7 验证试验结果

试验	组合	菌丝长速 /(cm/d)	菌丝 长势
正交试验4号方案(最优组合)	$A_2B_1C_2D_3$	0.55 ± 0.036	+++
优化组合	$A_2B_2C_2D_3$	0.59 ± 0.042	+++

通过验证试验结果表明(表 7)，优化组合 $A_2B_2C_2D_3$ 菌丝生长速度略高于最优组合 $A_2B_1C_2D_3$ ，因此认为，香菇母种培养基的最佳配方组合为木屑 75 g/L、葡萄糖 20 g/L、琼脂粉 18 g/L、马铃薯 220 g/L。

3 讨论与结论

通过改善香菇菌丝的生长条件，可以显著改善菌丝生长情况，菌丝可以获得更多的营养物质，并且在栽培过程中可以增加菌丝的抗病性，使其对不良环境有更强的耐受力，减少菌棒的污染率，达到提高产量和品质的效果^[9-10]，所以对菌丝的生物学特性的探究和培养基配方的优化至关重要。但关于当地香菇原种以及香菇栽培条件的改善有待进一步研究。本研究通过对香菇 L808 母种菌丝

的生长条件进行研究, 筛选出其最佳碳源为葡萄糖, 这与曾茜等^[11]研究结果一致, 以葡萄糖为碳源处理后, 菌丝生长旺盛且菌丝生长速度均显著高于其他碳源和对照不添加碳源处理; 最佳氮源为牛肉膏, 这与廖真等^[12]研究结果一致, 以牛肉膏作为氮源时, 菌丝生长速度快且旺盛。而刘元涛等^[13]表明, 中华小香菇的最佳碳源为麦芽糖; 丁李春等^[14]研究表明, 宁香8号香菇的最佳氮源为蛋白胨, 这可能是由于香菇品种的不同或是培养条件的不同而产生的差异^[15]。熊雪等^[16]研究表明, 野生马桑香菇的最适培养温度为23~25℃, 与本研究得出的最适温度为24℃的结果基本一致; 但其研究表明, 最适培养pH为7~10, 而本研究中最适培养pH为6, 造成该差异很可能是野生马桑香菇可能未经驯化, 而本研究使用的是已驯化和选育并广泛种植的香菇品种, 或不同地域香菇遗传差异性的原因所导致^[17~18]。由于香菇菌丝具有较强的降解木质纤维素的能力^[19~21], 而木屑滤液中含有木质纤维素, 故在制作香菇母种培养基时可在PDA培养基中添加木屑滤液, 可使菌丝生长更加旺盛。

通过对宕昌地区香菇主栽品种香菇L808的菌丝最佳生长条件进行研究, 结果表明, 香菇L808的菌丝生长的最佳碳源为葡萄糖, 最佳氮源为牛肉膏, 最适培养温度为24℃, 最适培养pH为6。通过正交试验方法对香菇L808母种培养基进行优化, 最终得出最优配方为木屑75 g/L、葡萄糖20 g/L、马铃薯220 g/L、琼脂粉18 g/L。同时从正交试验结果分析可发现, 对香菇L808菌丝生长的最大影响因素为木屑, 因此向香菇母种培养基中添加木屑后香菇菌丝的生长速度和长势均有明显的改善。

参考文献:

- [1] 汪文琦, 冯继虎, 段辉, 等. 康县香菇产业现状及发展建议[J]. 寒旱农业科学, 2024, 3(3): 208~211.
- [2] 任爱民, 包玉政, 韩爱民, 等. 基于D-optimal法优化香菇菌种培养基质配方的研究[J]. 寒旱农业科学, 2024, 3(8): 724~733.
- [3] 朱金霞, 冯锐, 任怡莲, 等. 4株香菇菌株菌丝在不同母种培养基上的生长特性比较[J]. 中国食用菌, 2022, 41(5): 37~42.
- [4] 张金霞, 蔡为明, 黄晨阳. 中国食用菌栽培学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2020.
- [5] 李秋信, 苑建芳, 李振智, 等. 金银花藤香菇母种培养基优化试验[J]. 食用菌, 2018, 40(3): 43~44; 65.
- [6] 邓志刚, 单良, 于洋. 不同培养基对香菇菌丝体生长速度的影响[J]. 土国绿化, 2015(10): 54~55.
- [7] 岳万松, 华蓉, 刘绍雄, 等. 影响食用菌菌种质量的因素及提高菌种质量的方法[J]. 耕作与栽培, 2020, 40(6): 28~32.
- [8] 李丽娟, 刘莉琳. 因劣质菌种导致菇农损失的法律保障及追溯探讨[J]. 中国食用菌, 2020, 39(1): 240~243.
- [9] 边银丙, 肖扬, 郭孟配. 食用菌病害防控研究进展[J]. 食用菌学报, 2021, 28(5): 121~131.
- [10] 游潇轩, 宋晓霞, 戈永杰, 等. 外源*vplI*基因对香菇双核菌丝体木质素降解酶活性和基因表达的影响[J]. 菌物学报, 2024, 43(7): 69~81.
- [11] 曾茜, 陈旭, 杨雨, 等. 野生香菇黔香5号菌丝的生物学特性及抗氧化活性[J]. 西南农业学报, 2022, 35(3): 558~563.
- [12] 廖真, 林占熲, 徐志文, 等. 巴布亚新几内亚野生香菇的鉴定及生物学特性[J]. 北方园艺, 2021(14): 143~152.
- [13] 刘元涛, 刘一鹏, 张志豪, 等. 中华小香菇的生物学特性研究[J]. 中国食用菌, 2021, 40(3): 27~32.
- [14] 丁李春, 阮瑞国. 香菇新菌株宁香8号生物学特性初步研究[J]. 食用菌学报, 2005(4): 23~26.
- [15] 刘高磊. 中国香菇重要性状的全基因组关联分析[D]. 武汉: 华中农业大学, 2017.
- [16] 熊雪, 李鹏, 廖小峰, 等. 野生马桑香菇的鉴定及其生物学特性[J]. 北方园艺, 2021(4): 118~123.
- [17] 曾倩. 德昌县林下大型真菌资源调查及野生香菇驯化栽培[D]. 成都: 四川农业大学, 2019.
- [18] 江枝和, 翁伯琦, 雷锦桂, 等. 大杯香菇辐射新株系各类氨基酸的遗传主成分分析[J]. 激光生物学报, 2010, 19(5): 638~643.
- [19] 倪新江, 潘迎捷. 袋栽香菇生长期不同料层中木质纤维素的降解及有关酶活性的变化[J]. 食用菌学报, 1998(1): 13~17.
- [20] 史红鸽, 魏银初, 班新河, 等. 正交实验法优化香菇母种培养基[J]. 北方园艺, 2020(19): 129~133.
- [21] 王宇星, 董浩然, 章炉军, 等. 不同碳氮源对香菇液体菌种生长的影响[J]. 上海农业学报, 2024, 40(1): 40~46.