

双孢斑褶菇菌丝体与子实体培养研究*

贺新生

(西南科技大学生命科学与工程学院 绵阳 621002)

摘要: 双孢斑褶菇是一种著名的神经致幻菌物, 菌丝体呈白色, 具有明显的锁状联合。分类地位属于担子菌门, 伞菌目, 粪锈伞科。研究了 C 源、N 源、C/N 比、pH 值、温度和培养料的料水比对该菌菌丝体生长的影响, 及培养料的选择试验和出菇条件试验。菌丝体生长最佳的 C 源是淀粉、蔗糖、纤维素; 酵母膏、硝酸钾、玉米粉和硝酸铵为最佳氮源; 菌丝体生长对培养基碳氮比的适应比较广泛; 适宜温度是 5℃ ~ 35℃, 最适为 25℃ ~ 30℃; 适宜的 pH 范围是 4 ~ 13, 最适为 6.5 ~ 8.0; 培养料适宜的含水量为 45% ~ 75%, 最适为 65% ~ 70%。适合菌丝体和子实体生长的培养料为食用菌出菇废料、稻草、牛粪。子实体形成的温度是 18℃ ~ 28℃, 最适温度是 20℃ ~ 25℃, 空气相对湿度为 70% ~ 85%。子实体产量为 0.1% ~ 0.3%。

关键词: 双孢斑褶菇, 形态特征, 生理特征, 栽培管理

中图分类号: Q93 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2005) 06-0105-05

Study on the Biological Characteristics and Cultivation of *Panaeolus Bisporus**

HE Xin-Sheng

(Southwest University of Science and Technology, Life Science and Engineering School, Mianyang 621002)

Abstract: The *Panaeolus bisporus* (Malencon & Bertault) Ew. Gerhardt is a toadstool species in the world, as poisonous as it contains small quantities of the psilocybin group of hallucinogens, mycelium is white with obvious clamp-connection, which belongs to Basidiomycota, Agaricales, Bolbitiaceae. The suitable and optimal carbon sources, nitrogen sources, carbon nitrogen ratio, pH worth, temperature, material water ratio of the plant material for the physiological characteristics of mycelium growth of this species were studied. The experiment showed that the optimum carbon sources were starch, sucrose and cellulose, the optimum nitrogen sources was yeast paste, potassium nitrate, maize powder and ammonium nitric, the carbon nitrogen ratio was 25:1 ~ 35:1 that for the mycelium growth. The suitable temperature for the mycelium of this fungi growth was ranged from 5℃ ~ 35℃ with the optimum temperature being 25℃ ~ 30℃, the suitable pH was ranged from 4 ~ 13 with the optimum pH being 6.5 ~ 8.0, and the suitable moisture content of the compost was ranged from 45% ~ 75% with the optimum moisture content of the compost being 65% ~ 70%; and that While the temperature for its fruit-body formation was 18℃ ~ 28℃ with the optimum temperature being 20℃ ~ 25℃, and the optimum relative air humidity for its fruit-body formation was 70% ~ 85%. The yield of the fruit-body was 0.1% ~ 0.3%.

Key words: *Panaeolus bisporus* (Malencon & Bertault) Ew., Gerhardt, Morphological characteristic, Biological characteristic, Cultivation management

Panaeolus (Fr) Quél., 斑褶菇属、花褶伞属的菌物大多有毒。其中的有毒物质有: 光盖伞辛 (psiloxynin)、毒蝇碱等毒素。它们的毒性可导致精神错乱、狂舞、大笑、幻

* 四川省教育厅自然科学基金项目资助

通讯作者 Tel: 0816-6089532, E-mail: Hexinsheng@swust.edu.cn

收稿日期: 2005-01-31, 修回日期: 2005-04-25

觉反应,潜伏期 1~6h,中毒后头痛、头晕、嗜睡、无力、喉头麻木^[1~3]。该属的分类学地位是: Basidiomycota 担子菌门, Agaricales 伞菌目, Bolbitiaceae 粪锈伞科。全球记载有 30 余种,在我国文献共记载了 19 个种,其中 *Panaeolus bisporus* (Malencon & Bertault) Ew. Gerhardt = *Copelandia papilioacea* var. *bispora* Malencon & Bertault = *Copelandia bispora* (Malencon & Bertault) Singer & R. A. Weeks = *Panaeolus cyanescens* var. *bisporus* (Malencon & Bertault) G., 双孢斑褶菇为国内报道的一个新记录种^[3,4]。斑褶菇属的大多数物种均为野生状态,人工培养成功的种类很少,已经报道的有钟斑褶菇、环带斑褶菇、沼生斑褶菇等种类^[5~8]。对斑褶菇属真菌进行分类学研究和开发利用这些菌物,必须培养其子实体,本文报道了该双孢斑褶菇的菌丝体的部分生理特性和子实体的培养方法。

1 材料与方法

1.1 试验菌株

双孢斑褶菇, *Panaeolus bisporus* (Malencon & Bertault) Ew. Gerhardt, 菌株编号: Ph. 627, 组织分离得到的纯菌种。标本采自校园内草坪。采集日期: 2000/06/27。

1.2 培养基

基础培养基: 干大麦芽 50g, 葡萄糖 20g, 蛋白胨 3g。无糖培养基: 大麦 50g, 硝酸钾 15g。

无 N 培养基: 大麦 50g, 葡萄糖 20g。棉籽壳培养基: 棉籽壳 600g、麸皮 200g、牛粪 200g。

1.3 菌丝体生理条件试验

1.3.1 菌丝对 C 源的选择试验: 用淀粉、蔗糖、葡萄糖、麦芽糖、纤维素钠、乳糖、木糖、甘露糖、果糖等 9 种 C 源, 加入无糖基础培养基。用 250mL 三角瓶分装 50mL 培养液, 每个处理重复 4 次, 灭菌后等量接种, 25℃, 150r/min, 连续振荡培养 10d, 离心, 100℃烘干 1h, 测菌丝体干重(下同)。

1.3.2 菌丝对 N 源的选择试验: 用玉米粉、蛋白胨、酵母膏、氯化铵、尿素、硫酸铵、硝酸钾、硝酸铵、乙酸铵作 N 源, 加无 N 基础培养基, 含 N 量为 0.2%。

1.3.3 菌丝对 C/N 比的选择试验: 用葡萄糖作 C 源, 用量为 20g/L, 用硝酸钾为 N 源, 250mL 三角瓶分装 50mL 培养液, 设 C/N 为 10: 1、15: 1、20: 1、25: 1、30: 1、35: 1、40: 1、45: 1、50: 1、100: 1, 共 10 个处理。

1.3.4 菌丝对 pH 的选择试验: 用基础培养基, 250mL 三角瓶分装 50mL 培养液, 灭菌前用 1% HCl 和 1% NaOH 调节 pH, 各处理的 pH 从 1~14 共 20 个处理, 级差为 0.5, 每个处理重复 4 次, 方法同上。

1.3.5 菌丝对温度的选择试验: 用基础培养基, 温度从 5℃~35℃, 级差 5, 共 7 个处理, 重复 4 次。振动培养, 离心烘干称重。

1.3.6 菌丝对培养料水分含量的选择: 用棉籽壳培养基, 100℃烘干, 每个 100mL 三角瓶中分装 10.00g 干料, 用吸管定量加水, 搅拌均匀。设定料水比为 1: 0.6~1: 2.4, 级差 0.2, 共 10 个处理, 重复 4 次, 灭菌接种, 25℃恒温培养 25d, 观察菌丝生长情况。

1.4 子实体培养试验

试验设计 5 个配方: ①发酵棉籽壳 25%, 新鲜棉籽壳 25%, 牛粪粉 25%, 平菇出菇废料 25%; ②发酵棉籽壳 40%, 新鲜棉籽壳 10%, 牛粪粉 40%, 平菇出菇废料 10%; ③发酵棉籽壳 25%, 新鲜棉籽壳 0%, 牛粪粉 50%, 平菇出菇废料 25%; ④发酵棉籽壳 20%, 新鲜棉籽壳 30%, 牛粪粉 10%, 平菇出菇废料 40%; ⑤发酵棉籽壳 30%, 新鲜棉籽壳 20%, 牛粪粉 20%, 平菇出菇废料 30%。配方中另加 1% 比例的石灰, 常规方法培养菌丝体。当菌丝体满瓶后, 从菌种瓶中掏出菌丝体放入出菇盆, 每个配方设 3 个重复, 放入菇房进行出菇管理。子实体采收后烘干称重。

出菇季节试验: 每年 4~10 月期间, 每月初作 1 次出菇试验。确定出菇季节。

覆土试验: 设覆土与不覆土 2 个处理, 覆土厚度为 1.5cm。

2 结果分析

2.1 形态特征

2.1.1 子实体形态特征: 菌盖白色, 弹射孢子后带蓝色, 直径 2cm~4cm, 有时可达 6cm, 近圆锥形、钟形至半球形, 后平展, 光滑, 表面干, 有时龟裂。菌肉白色, 厚 2mm~4mm。菌褶离生至浅弯生, 不等长, 初期灰白色, 后期呈灰, 黑相间的花斑, 边缘 8~11 片/cm。菌柄圆柱形, 长 5cm~12cm, 粗 2mm~6mm, 白色至污白色, 手指接触后变浅蓝色, 顶部有纵条纹, 内部松软变空心, 基部稍膨大。孢子印黑色, 担孢子褐色、黑褐色、光滑, 柠檬形, 与担子连接处尖, 顶部平截, $10.0\mu\text{m} \sim 13.5\mu\text{m} \times 7\mu\text{m} \sim 9.5\mu\text{m}$ 。担子白色透明, 瓶状, $20\mu\text{m} \sim 28\mu\text{m} \times 14\mu\text{m} \sim 17\mu\text{m}$ 。每个担子上着生 2 个担孢子, 偶有单个担孢子, 但是绝无 3~4 个担孢子的情况。侧生囊状体淡黄色、黄褐色, 瓶状或棒状, 顶端有乳突, $25\mu\text{m} \sim 35\mu\text{m} \times 8\mu\text{m} \sim 13\mu\text{m}$ (图 1)。

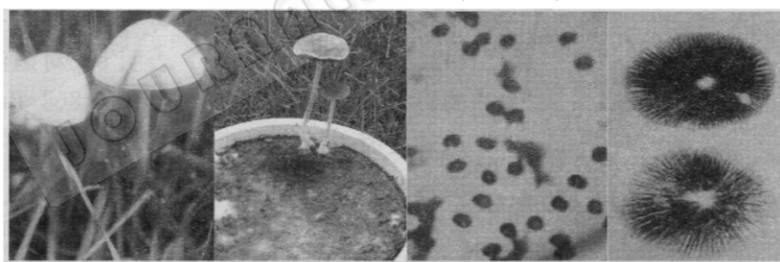


图 1 双孢斑褶菇形态

(左→右依次为: 野生子实体, 栽培子实体, 2 个孢子/担子, 孢子印)

2.1.2 菌丝形态: 纯培养特征: 菌丝体白色、灰白色, 气生菌丝弱, 均匀或不均匀, 稀疏, 略具爬壁性。在有的培养基上呈明显的环带状。基内菌丝发达。

菌丝显微特征: 纤细均匀, 有分枝和隔膜, 直径 $2.0\mu\text{m} \sim 2.5\mu\text{m}$ 。有明显的锁状联合, 突起较高。

2.2 菌丝体生理特性

2.2.1 C 源对菌丝生长的影响: 双孢斑褶菇的菌丝体可以利用各种单糖、双糖和多糖, 其中蔗糖、麦芽糖、淀粉、纤维素钠等 C 源菌丝产量较高, 其次为葡萄糖、乳糖等, 其他单糖产量较低 (表 1)。

表 1 不同 C 源的菌丝生长量 (mg/100mL)

C 源	不加 C 源	淀粉	蔗糖	葡萄糖	麦芽糖	纤维素钠	乳糖	木糖	甘露糖	果糖
菌丝产量	1316	4048	3274	1988	2094	2276	1548	1876	1506	1350

2.2.2 N 源对菌丝生长的影响：在酵母膏、玉米粉等 2 种有机氮源和硫酸铵、硝酸铵、硝酸钾等 3 种无机氮源的培养基上，双孢斑褶菇的菌丝产量最高。用尿素、乙酸铵等菌丝体无法生长。表明菌丝体可以利用有机态氮和硝态氮 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ ，铵态氮 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 利用较差（表 2）。

表 2 不同 N 源的菌丝生长量 (mg/100mL)

N 源	玉米粉	蛋白胨	酵母膏	氯化铵	尿素	硫酸铵	硝酸钾	硝酸铵	乙酸铵
菌丝产量	2102	426	1166	482	0	346	824	750	0

2.2.3 C/N 对菌丝生长的影响：据试验结果进行统计分析，得到 C/N (x) 与菌丝体生长量 (y, 菌丝干重, mg/100mL) 的关系方程为： $y = 436.7149 + 12.9743x - 0.1159x^2$ 。对数据进行 F 检验： $F = 4.2173 < F_{0.01} = 11.26$ ，表明 C/N 对菌丝生长有极不明显的影 响。即双孢斑褶菇对 C/N 的适应范围广（表 3）。

表 3 不同 C/N 的菌丝生长量 (mg/100mL)

C/N	10: 1	15: 1	20: 1	25: 1	30: 1	35: 1	40: 1	45: 1	50: 1	100: 1
菌丝产量	464	550	580	858	908	870	760	672	630	604

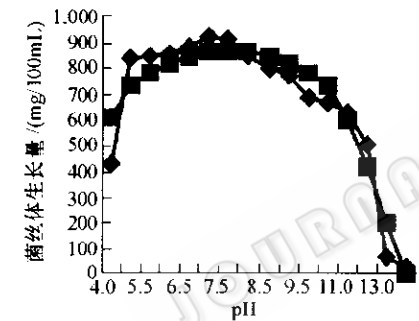


图 2 培养基 pH 值对菌丝体生长的影响
◆ 实际产量，■ 理论产量

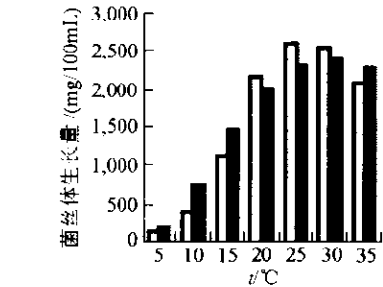


图 3 温度对菌丝体生长的影响
□ 实际产量，■ 理论产量

2.2.4 pH 对菌丝生长的影响：菌丝体生长的培养基灭菌前的 pH 范围为 1 ~ 13，最适宜的 pH 是 6.5 ~ 8.0，当 pH < 4 菌丝体生长量为零（图 2）。菌丝生长量 (y, mg/100mL) 与 pH 的关系： $y = 661.2832 + 230.2813x - 133.7568x^2$ ，F 检验： $F = 143.3189 > F_{0.01} = 8.86$ ，表明 pH 对菌丝有极显著的影响，当 pH = 7.5 时， $y_{\max} = 868$ (mg/100mL) 达最大值，所以考虑 pH 值的范围，菌丝培养最适宜的 pH 应为 6.5 ~ 8。

2.2.5 温度对菌丝的生长影响：根据试验结果进行的计算，得到温度 (x, °C) 与菌丝生长量 (y, 菌丝干重, mg/100mL) 的关系方程为： $y = -1333.1637 + 250.1789x - 4.1934x^2$ ，F 检验： $F = 92.4306 > F_{0.01} = 16.26$ ，表明温度对菌丝有极显著的影响，对于该方程，当： $x = 30^\circ\text{C}$ 时， $y_{\max} = 2398$ 达最大值。即当温度为 25°C ~ 30°C 时，菌丝生长速度最快。当温度 < 5°C 或 > 35°C 时，菌丝无法生长。菌丝适宜的温度范围为 5°C ~ 35°C。最适的生长温度应为 25°C ~ 30°C（图 3）。

2.2.6 培养料含水量对菌丝生长的影响：培养料水比 1: 0.6 ~ 1: 2.4，含水量为 45% ~ 75% 的范围

内菌丝体均能生长，但是培养料含水量为 65% ~ 70% 时，最适宜于菌丝生长（表 4）。

表 4 培养料含水量对菌丝生长量的影响 (cm)

料水比	1: 0.6	1: 0.8	1: 1.0	1: 1.2	1: 1.4	1: 1.6	1: 1.8	1: 2.0	1: 2.2	1: 2.4
菌丝生长量	3.5	3.5	4.5	5.0	4.8	4.2	4.7	5.5	5.5	5.5
浓密程度	++	++	++	+++	+++	++	++	+	+	+
积水程度	-	-	-	-	-	+	+	+	++	++

2.3 培养料配方和出菇试验

试验的 5 个配方中，以 2~4 号配方中菌丝体生长最快，满瓶时间为 40d，配方 1、5 的满瓶时间在 50d 以上，生长非常缓慢，但是菌丝体比 2~4 号配方更浓密（图 4）。用栽培食用菌的棉籽壳废料、发酵棉籽壳、牛粪、等适合菌丝体和子实体生长，新鲜棉籽壳不适合菌丝体和子实体生长。表明该菌是一种草腐生真菌。

多年的出菇试验结果表明双孢斑褶菇子实体在室内出菇的季节是 4 月~10 月，子实体形成时的温度为 18℃~28℃，最适的温度为 20℃~25℃，季节为 4~6 月和 9~10 月。出菇期间必须保持较高的地面和空气相对湿度，空气湿度在 55%~90% 范围内子实体发生和生长正常，低于 50% 或高于 90% 原基和成熟的子实体容易死亡，最适合子实体发生和生长的空气相对湿度为 70%~85%。

配方 2~4 的烘干子实体产量分别为：0.25%，0.35%，0.30%。新鲜棉籽壳的产量低于 0.1%。与各种栽培的食用真菌的子实体产量比较，双孢斑褶菇子实体的产量非常低。

覆土试验表明子实体形成必须覆土，表明该菌是一种土生真菌。

3 讨论

双孢斑褶菇菌是亚洲地区报道的一个新记录物种^[4,5]，该菌大量生长在各地的人工草坪上，子实体发生的季节在 4~10 月的雨后。本文首次对双孢斑褶菇菌丝体的生理条件和子实体培养方法进行了研究。基本搞清了该菌株菌丝体生长需要的生理条件。采用栽培食用菌的棉籽壳废料可以正常出菇，但是子实体产量较低，提高子实体产量的技术还需要改进。

进一步对其孢子萌发、遗传特性、毒素和毒理的试验正在进行。

参考文献

[1] Gerhardt E. Taxonomische Revision Der Gattungen *Panaeolus* Und *Panaeolina*. Schweizerbarts'che E. Verlagsbuchhandlung. 1996.

[2] 黄红英, 缚 岚, 张 平, 等. 中国食用菌. 2004, 23 (1): 11~13.

[3] 贺新生, 张 玲, 康晓慧. 中国食用菌. 2004, 23 (2): 10~11, 23 (3): 9~11.

[4] 贺新生, 张 玲, 康晓慧, 等. 菌物系统, 2003, 增刊: 147~153.

[5] 贺新生, 张 玲. 菌物系统. 2002, 3 (21): 454.

[6] 贺新生, 张 玲, 陈 波, 等. 中国食用菌. 2002, 5: 27~28.

[7] 贺新生. 食用菌. 2001, 5: 3.

[8] 贺新生, 张 玲, 康晓慧, 等. 微生物学杂志. 2000, 20 (4): 32~35.

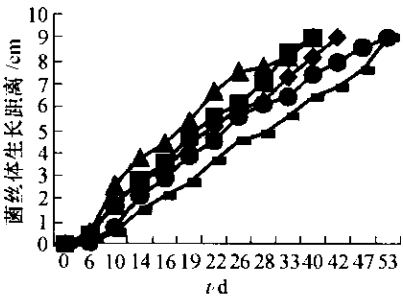


图 4 各配方中菌丝体的生长距离 (cm)
—□— 配方 1, —■— 配方 2, —▲— 配方 3,
—◆— 配方 4, —●— 配方 5