

## 简 报

## 木腐菌 PDA 培养基的改良及应用效果

朱华玲<sup>1</sup>, 陈兴喆<sup>2</sup>, 雷东煜<sup>3</sup>, 班立桐<sup>\*4</sup>, 黄亮<sup>4</sup>

1 天津农学院 基础科学学院, 天津 300392

2 天津市科学技术信息研究所, 天津 300074

3 甘肃天水鑫林洼农业综合开发有限公司, 甘肃 天水 741000

4 天津农学院 农学与资源环境学院, 天津 300392

朱华玲, 陈兴喆, 雷东煜, 班立桐, 黄亮. 木腐菌 PDA 培养基的改良及应用效果[J]. 微生物学通报, 2024, 51(9): 3629-3647.

ZHU Hualing, CHEN Xingzhe, LEI Dongyu, BAN Litong, HUANG Liang. Improvement and application effect of PDA for wood-decay fungi[J]. Microbiology China, 2024, 51(9): 3629-3647.

**摘 要:**【背景】PDA 培养基是木腐菌菌种生产阶段的重要培养基,但因缺乏某些木屑成分容易导致产生菌种退化现象,迫切需要进行改良。【目的】克服普通 PDA 培养基在木腐菌菌种生产中的缺陷,实现木腐菌菌种的经济高效生产。【方法】按照木腐菌菌丝生长的营养需求和经济性原则,将农业废弃物鲜菇脚和苹果细枝适当处理后添加到普通 PDA 培养基,设计改良 PDA 培养基初筛配方,以香菇(*Lentinus edodes*) 808 和白玉菇(*white Hypsizygus marmoreus*)菌丝的菌丝生长速率  $S$  和菌丝脱氢酶激活率  $K$  为参数对初筛配方进行筛选。在初筛基础上进行配方优化,选取菌丝生长速率  $S$ 、菌丝增重  $W$  及菌丝鲜重  $G$  为主要评价参数考察优化配方的菌丝培养效果和效益,分析菌丝生长速率  $S$ 、菌丝增重  $W$ 、菌丝鲜重  $G$  与菌丝脱氢酶激活率  $K$ 、纤维素酶活力  $N$  之间的相关性和差异性,探索菌丝增长与酶活性之间的关联性。【结果】添加鲜菇脚和苹果细枝来改良的 PDA 培养基配方初筛结果表明,葡萄糖用量为 1%–2%时,添加白玉菇脚和苹果细枝来改良的 PDA 培养基与添加平菇(*Pleurotus ostreatus*)脚和苹果细枝来改良的 PDA 培养基能有效促进菌丝生长并激活菌丝脱氢酶活力,菌丝生长效果良好。在 26 种改良 PDA 培养基的优化配方中,配方 B11 (枝条液 30.0 mL,白玉菇鲜菇脚汁 10.0 mL,葡萄糖 5.0 mL,马铃薯浸液 50.0 mL,水 5.0 mL)的香菇菌丝生长效果最好,可使菌丝生长速率增加 7%,菌丝增重增加 106%,菌丝鲜重增加 84%,同时实现葡萄糖用量的减半。配方 P16 (枝条液 30.0 mL,平菇鲜菇脚汁 20.0 mL,葡萄糖 5.0 mL,马铃薯浸液 40.0 mL,水 5.0 mL)的白玉菇菌丝生长效果最好,可使菌丝生长速率增加 29%,菌丝增重增加 47%,菌丝鲜重增加 129%,实现葡萄糖用量减半且马铃薯浸提液节省 20%,总体成本降低 10%,经济和社会效

资助项目: 甘肃省科技计划(津甘合作) (22CX8NE206); 天津市蔬菜现代农业产业技术体系创新团队项目(ITTURS2023016); 甘肃省中央引导地方科技发展资金项目(24ZYQH006)

This work was supported by the Science and Technology Program of Gansu Province (Tianjin Gansu Cooperation) (22CX8NE206), the Project of Tianjin Vegetable Modern Agriculture Industry Technology System Innovation Team (ITTURS2023016), and Central Guidance for Local Scientific and Technological Development Fund of Gansu Province (24ZYQH006).

\*Corresponding author. E-mail: banlitong@126.com

Received: 2023-11-23; Accepted: 2024-03-25; Published online: 2024-05-08

益突出。配方优化实验各指标参数的差异性与相关性统计分析结果表明, 菌丝脱氢酶激活率  $K$ 、纤维素酶活力  $N$  与菌丝生长速率  $S$ 、菌丝增重  $W$  和菌丝鲜重  $G$  之间既无显著性差异, 也无相关性。

【结论】通过添加鲜菇脚(平菇和白玉菇)和苹果细枝对普通 PDA 培养基进行适度改良, 可有效促进香菇和白玉菇菌丝的生长和增重, 效果明显, 同时实现葡萄糖和马铃薯浸提液用量的大幅降低, 降低生产成本, 提高经济和社会效益。菌丝生长与脱氢酶活力、纤维素酶活力之间无相关性。

关键词: 木腐菌; 改良; 应用; 效果

## Improvement and application effect of PDA for wood-decay fungi

ZHU Hualing<sup>1</sup>, CHEN Xingzhe<sup>2</sup>, LEI Dongyu<sup>3</sup>, BAN Litong<sup>\*4</sup>, HUANG Liang<sup>4</sup>

1 College of Basic Science, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300392, China

2 Tianjin Institute of Scientific and Technical Information, Tianjin 300074, China

3 Gansu Tianshui Xinlinwa Agricultural Comprehensive Development Limited Company, Tianshui 741000, Gansu, China

4 College of Agronomy & Resources and Environment, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300392, China

**Abstract:** [Background] PDA is widely used in the production of wood-decay fungi, while the lack of wood components can easily lead to the degradation of the fungal strains. Therefore, it is urgent to improve the formula of PDA. [Objective] To overcome the shortcomings of routine PDA in the production of wood-decay fungi and achieve efficient and economical production. [Methods] According to the nutrient requirements of mycelial growth and the principle of saving costs, we treated agricultural wastes such as fresh mushroom stem residues and apple plant twigs and then supplemented them into routine PDA to design improved PDA. The formulas of improved PDA were screened with the mycelial growth rate ( $S$ ) and dehydrogenase activity ( $K$ ) of *Lentinus edodes* 808 and white *Hypsizygus marmoreus* as indicators. Furthermore, the formula of improved PDA was optimized, and the mycelial growth rate ( $S$ ), mycelial weight increase ( $W$ ), and mycelial fresh weight ( $G$ ) were determined to evaluate the mycelial culture effect and benefit of the optimized formula of improved PDA. The correlations and differences of  $S$ ,  $W$ , and  $G$  with  $K$  and cellulase activity ( $N$ ) were analyzed to explore the correlation between mycelial growth and enzyme activity. [Results] The improved PDA formula with 1%–2% glucose, stem residues of white *H. marmoreus* or *Pleurotus ostreatus*, and apple plant twigs improved  $S$  and  $K$ . Among the 26 optimized formulas of improved PDA, B11 (twig extract 30 mL, fresh white *H. marmoreus* stem residue extract 10.0 mL, glucose 5.0 mL, potato extract 50.0 mL, and water 5.0 mL) demonstrated the best performance in improving the mycelial growth of *L. edodes* 808, increasing the  $S$ ,  $W$ , and  $G$  by 7%, 106%, and 84%, respectively, while halving the glucose usage. The formula P16 (twig extract 30 mL, fresh *Pleurotus ostreatus* stem residue extract 20.0 mL, glucose 5.0 mL, potato extract 40.0 mL, and water 5.0 mL) showed the best performance in improving the mycelial growth of white *H. marmoreus*, increasing the  $S$ ,  $W$ , and  $G$  by 29%, 47%, and 129%, respectively. It not only decreased the

glucose application by 50% and potato extract application by 20% but also reduced the overall costs by 10%, with outstanding economic and social benefits. There was no significant difference or correlation of *K* and *N* with *S*, *W*, and *G*. **[Conclusion]** Adding fresh mushroom stem residues (*P. ostreatus* or white *H. marmoreus*) and apple plant twigs to PDA can improve the mycelial growth and weight of *L. edodes* 808 and white *H. marmoreus*. Moreover, it can significantly reduce the usage of glucose and potato extract, decrease costs, and improve economic and social benefits. The mycelial growth showcases no correlation with dehydrogenase or cellulase activity.

**Keywords:** wood-decay fungi; improvement; application; effect

木腐性食用菌(木腐菌)是我国食用菌产业结构的主力军,对我国的食用菌产业发展起着举足轻重的作用。2021 年我国食用菌年总产量为 4 133.94 万 t,年产量超过 100 万 t 的有香菇(*Lentinus edodes*, 1 295.72 万 t)、黑木耳[*Auricularia auricular* (L. ex Hook.) Underw., 703.44 万 t]、平菇(*Pleurotus ostreatus*, 611.34 万 t)、毛木耳[*Auricularia polytricha* (Mout) Sacc., 220.69 万 t)、金针菇(*Flammulina velutiper*, 214.57 万 t)、杏鲍菇(*Pleurotus eryngii* Quel, 205.18 万 t)和双孢蘑菇(*Agaricus bisporus*, 161.0 万 t)等 7 个品种,其中前 6 个品种均属于木腐菌,其年产量之和超过 3 250 万 t,占我国食用菌年总产量的 78.6%<sup>[1]</sup>。近年来,随着木腐菌栽培规模的不断扩大和工厂化栽培水平的不断提高,对木腐菌菌种的质量和求也越来越高,质优价廉、经济高效逐渐成为菌种企业和生产合作社的追求目标。同时,固体母种-液体原种-固体栽培种三级菌种扩繁技术以其制种时间短、效率高、品质好等优势受到菌种企业、工厂化食用菌生产企业和农村食用菌生产合作社的青睐<sup>[2-4]</sup>,成为优选的制种技术。在三级菌种扩繁过程中马铃薯葡萄糖琼脂(potato dextrose agar, PDA)培养基因性能稳定、制作简单、使用方便和便于观察等优点成为固体母种和液体原种制种环节的优选培养基,被广泛应用于木腐菌菌种的制作与保藏<sup>[5-9]</sup>。

然而在使用普通 PDA 培养基制作和保藏木腐菌菌种时发现,随着传代次数的增多,菌种表现出菌丝生长速度慢、菌丝量减少、产量低、质量差等明显的菌种退化现象<sup>[10-11]</sup>。分析原因发现,普通 PDA 培养基是半合成培养基,缺少了木屑所能提供的某些促进剂或生长因子,致使长期使用普通 PDA 培养基培养和保藏的木腐菌菌种的菌丝分解木质素和纤维素等生理代谢途径和相关酶系统长期被抑制,最终引起相关功能的退化<sup>[12-13]</sup>。解决上述问题比较有效的方法是按照木腐菌菌丝生长的营养需求和经济性原则在普通 PDA 培养基中添加木屑所能提供的某些促进剂或生长因子来改良 PDA 培养基。

在实际生产中直径小于 2 cm 的果木细枝和鲜菇脚很少被利用,大多数被当作废弃物丢弃,造成巨大的资源浪费。考虑果木细枝和鲜菇脚含有丰富的木质素、纤维素、半纤维素和粗蛋白等营养成分<sup>[14-16]</sup>,有激活木腐菌菌丝分解木质素、纤维素和半纤维素等生理代谢途径及相关酶系统的可能。本研究以现有研究成果<sup>[17-22]</sup>为基础,尝试在普通 PDA 培养基中添加苹果细枝和鲜菇脚对 PDA 培养基进行改良,并进行改良培养基的配方筛选和应用,期望弥补普通 PDA 培养基在木腐菌菌种生产中的不足,同时实现果木细枝和鲜菇脚等农业废弃物的循环再利用,降

低木腐菌菌种的制种和保藏成本,为木腐菌菌种的高效生产与保藏提供帮助。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

香菇(*Lentinus edodes*) 808 斜面菌种和白玉菇(*Hypsizygus marmoreus*)斜面菌种,天津农学院食用菌研发中心。

苹果细枝(直径小于 2 cm)和食用菌鲜菇脚,天水鑫林洼农业综合开发有限公司。

3-(4,5-二甲基-2-噻唑)-2,5-二苯基溴化四唑(methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium bromide, MTT),西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司;羧甲基纤维素钠(sodium salt of carboxy methyl cellulose, CMC),天津希恩思奥普德科技有限公司;酒石酸钾钠,福晨(天津)化学试剂有限公司;3,5-二硝基水杨酸,上海源叶生物科技有限公司。

恒温恒湿培养箱,上海精密仪器仪表公司;超净工作台,北京亚泰科隆仪器技术有限公司;紫外-可见分光光度计,上海析谱仪器有限公司;立式压力蒸汽灭菌器,上海三申医疗器械有限公司;立式恒温摇床,南北仪器有限公司;低速离心机,中科汇仪科技有限公司。

PDA 培养基(g/L):土豆 200.0,葡萄糖 20.0,琼脂 20.0。

### 1.2 选料与储备液的配制

#### 1.2.1 选料和预处理

选取初春苹果树修剪时直径 3–5 mm 的苹果细枝,晒干,用粉碎机粉碎后过 50 目筛备用;选取香菇(X)、白玉菇(B)、平菇(P)和金针菇(J)等采收时剪掉的长度小于 2 cm 的菇脚,去掉菇脚中的杂质,将菇脚洗净,晾干表面水分,备用。

#### 1.2.2 储备液的配制

称取 20 g 苹果细枝粉置于烧杯中,加入 200 mL 自来水浸泡 36 h 后加热煮沸 40 min,四

层纱布过滤后定容至 250 mL 细枝液,备用。

称取 50 g 鲜菇脚加适量水用料理机打成糊状,加热煮沸 40 min,四层纱布过滤后定容至 200 mL 鲜菇脚汁,备用。

将马铃薯去皮切成 1 cm 大小的块,称取 200 g 马铃薯块加水 500 mL 加热煮至马铃薯块可戳破,四层纱布过滤后定容至 500 mL 马铃薯浸提液,备用。

称取 20 g 葡萄糖加水溶解并定容至 100 mL 葡萄糖溶液,备用。

### 1.3 改良 PDA 培养基配方的初筛

#### 1.3.1 配方初筛实验所需培养基的配制

取 7 只 100 mL 容量瓶,分别移入 20 mL 细枝液、20 mL 鲜菇脚汁和 50 mL 马铃薯浸提液,然后依次移入 10、9、7、5、3、1 和 0 mL 葡萄糖溶液,加水定容,混匀。将上述混合液分别倒入 250 mL 烧杯中,加入 2.0 g 琼脂,再次加热至琼脂溶化,分装到 6 支试管中,装入量约占试管体积的 25%。分装完成后,将所有培养基于 121 °C 灭菌 30 min,待温度降至 65 °C 时制作斜面培养基,冷却至室温,备用。

#### 1.3.2 菌丝的培养

无菌环境下将香菇和白玉菇菌种接入 PDA 培养基,(25±1) °C 避光培养至菌丝长满平板,得到活化菌种。用直径为 6 mm 的打孔器打孔获得实验菌块。将实验菌块接种到 1.3.1 制备的配方初筛斜面培养基上,在(25±1) °C、湿度 60% 条件下避光培养 15 d。

#### 1.3.3 菌丝生长速率的测定

菌丝生长至第 8 天时测量菌斑直径  $D_1$ ,培养至第 10 天时测量菌斑直径  $D_2$ ,按照公式(1)和公式(2)计算菌丝生长速率  $S$  和对菌丝生长的助长率  $Q$ 。

$$S = \frac{D_2 - D_1}{2} \quad (1)$$

$$Q(\%) = \frac{S_s - S_B}{S_B} \times 100 \quad (2)$$

式(2)中:  $S_s$  为实验培养基上的菌丝平均生长速率<sup>[23]</sup>;  $S_B$  为普通 PDA 培养基上的菌丝平均生长速率。

### 1.3.4 菌丝脱氢酶活力的测定

按照文献[24]方法测定菌丝脱氢酶活力, 培养菌丝生长至 15 d 时从斜面培养基上刮取 0.03 g 菌丝于 25 mL 离心管中, 依次向离心管中加入 5 mL 蒸馏水和 0.2 mL 2.5 mg/mL 的 MTT 溶液, 避光 35 °C 水浴 2 h。用滴管将离心管中的溶液全部吸出, 保留全部菌丝。向离心管中加入 5 mL 无水乙醇, 然后将离心管置于振荡器上充分振荡 30 min 直至菌丝体褪至白色。从离心管吸取 4 mL 溶液置于比色皿中, 以无水乙醇作参比溶液, 在 490 nm 测定溶液的吸光度  $A_s$ , 每个处理设置 3 个重复。以 PDA 培养基斜面菌丝的乙醇溶液作空白对照, 按照公式(3)计算菌丝脱氢酶激活率  $K$ 。

$$K(\%) = \frac{A_s - A_B}{A_B} \times 100 \quad (3)$$

式(3)中:  $A_B$  为普通 PDA 培养基的乙醇溶液吸光度;  $A_s$  为实验培养基的乙醇溶液吸光度。

## 1.4 改良 PDA 培养基配方的优化

根据改良 PDA 培养基配方初筛的结果, 在培养基总量和用水量不变的情况下, 考察了枝条液、鲜菇脚汁、葡萄糖液和马铃薯浸提液等用量对菌丝生长效果的影响, 设计得到添加白玉菇脚与苹果细枝来改良的 PDA 培养基优化配方 13 个, 添加平菇脚与苹果细枝来改良的 PDA 培养基优化配方 13 个, 各优化配方的试剂用量如表 1 所示。

### 1.4.1 配方优化实验所需培养基的制备

按照 1.3.1 的制备步骤和表 1 用量配制两份改良 PDB 培养基。取一份溶液, 加入 2 g 琼脂, 加热至琼脂溶化, 分装到 6 只试管中, 于 121 °C 灭菌 30 min 后制作改良 PDA 培养基斜面, 备

表 1 改良 PDA 培养基优化配方

Table 1 Improving PDA medium and optimizing formula (mL)

编号 No.	枝条液 Twig extract	鲜菇脚汁 Extract of fresh mushroom stem residues	葡萄糖液 Glucose solution	马铃薯 浸提液 Potato extract	水 Water
10	20	20	5	50	5
11	30	10	5	50	5
12	10	30	5	50	5
13	20	10	5	60	5
14	20	30	5	40	5
15	10	20	5	60	5
16	30	20	5	40	5
17	16	20	9	50	5
18	18	20	7	50	5
19	20	16	9	50	5
20	20	18	7	50	5
21	20	20	9	46	5
22	20	20	7	48	5
PDA	0	0	10	50	40

用。取另一份溶液, 混匀, 均分到 3 只 250 mL 锥形瓶中, 放入 5 粒玻璃珠, 封口, 于 121 °C 灭菌 30 min, 冷却至室温, 获得改良 PDB 液体培养基, 备用。

### 1.4.2 改良 PDA 培养基上菌丝生长速率的测定

按照 1.3.3 方法进行改良 PDA 培养基上菌丝生长速率  $S$  的测定。

### 1.4.3 改良 PDA 培养基上菌丝增重的测定

菌丝避光培养生长至 15 d 时, 挑出改良 PDA 培养基上最初接入的母种菌块, 丢弃, 然后刮取 PDA 培养基上所有菌丝, 称重, 得到改良 PDA 培养基的菌丝增重  $W$ 。每个处理重复 3 次。

### 1.4.4 改良 PDA 培养基上菌丝脱氢酶活力的测定

按照 1.3.4 方法进行改良 PDA 培养基上的菌丝脱氢酶活力的测定和菌丝脱氢酶激活率  $K$  的计算。

### 1.4.5 改良 PDB 培养基中菌丝鲜重的测定

种子液准备: 无菌条件下向装有 100 mL 普通 PDB 培养基的锥形瓶中接入 5 块直径 6 mm

的白玉菇(香菇)菌块, 25 °C、130 r/min 培养 12 d, 培养液作为种子液。

菌丝的培养: 无菌条件下向装有按照 1.4.1 制备的改良 PDB 培养基的锥形瓶中接入白玉菇(香菇)种子液 5.0 mL, 25 °C、170 r/min 培养 7 d。

菌丝鲜重的测定: 取 1 支 50 mL 离心管称取质量  $m_1$ 。取培养 7 d 的改良 PDB 培养基, 将液体培养基连同菌丝球一起倒入离心管中, 4 000 r/min 离心 5 min, 将上清液全部倒出用于胞外纤维素酶活力的测定。在离心管中加入 10 mL 蒸馏水, 摇匀, 4 000 r/min 离心 5 min, 弃去上清液, 称取离心管质量  $m_2$ , 按照公式(4)计算菌丝鲜重  $G$ , 每个处理重复 3 次。

$$G = m_1 - m_2 \quad (4)$$

#### 1.4.6 改良 PDB 培养基中菌丝胞外纤维素酶活力的测定

采用 DNS 显色法<sup>[24-25]</sup>测定添加平菇脚(P)和苹果细枝来改良的 PDB 培养基中白玉菇菌丝的胞外纤维素酶活力  $N$ 。

葡萄糖标准曲线的绘制: 按照表 2 用量配制葡萄糖标准溶液, 沸水浴加热 10 min, 冷却后用蒸馏水定容至 10 mL, 于 540 nm 波长下测

定吸光度  $A$ , 以 0 号管作空白调零; 以  $A$  为纵坐标, 以葡萄糖的毫克数为横坐标, 绘制葡萄糖标准曲线。

菌丝胞外纤维素酶活力  $N$  的测定: 取 1.4.5 中的上清液 0.1 mL 于 25 mL 比色管中, 然后依次移入 1.5 mL 1%羧甲基纤维素钠、1.5 mL 乙酸-乙酸钠缓冲液(pH 4.8), 混匀后于 50 °C 水浴 50 min。取出后立即加入 1.5 mL DNS 试剂沸水浴 10 min, 冷却后, 用水定容至 10 mL, 于 540 nm 波长处测定  $A$  值, 由葡萄糖标准曲线计算上清液的葡萄糖含量, 进一步换算胞外纤维素酶活力  $N$ 。每组重复 3 次, 以灭活上清液为空白对照。酶活力单位(U/mL)的定义: 1 mL 上清液于 50 °C、pH 4.8 条件下 1 min 水解 1%羧甲基纤维素钠(carboxymethylcellulose sodium, CMC)溶液产生 1  $\mu$ g 还原糖(以葡萄糖计)的酶量。

#### 1.5 配方优化实验各指标参数的差异性与相关性分析

采用 SPSS 22.0 软件对配方优化的实验数据进行统计分析, 显著水平设置为  $P < 0.05$ <sup>[26]</sup>。以菌丝生长速率  $S$  为固定因子, 以菌丝增重  $W$  和菌丝鲜重  $G$  为协变量进行了协方差分析, 重点考察了添加平菇脚和苹果细枝来改良的 PDA 培养基各优化配方的菌丝生长速率  $S$ 、菌丝增重  $W$ 、菌丝鲜重  $G$  与菌丝脱氢酶激活率  $K$ 、纤维素酶活力  $N$  之间的差异性水平。采用双变量 Pearson 方法考察了菌丝生长速率  $S$ 、菌丝增重  $W$ 、菌丝鲜重  $G$  与菌丝脱氢酶激活率  $K$ 、纤维素酶活力  $N$  之间的相关性水平。

## 2 结果与分析

### 2.1 改良 PDA 培养基配方的初筛结果

#### 2.1.1 初筛配方的菌丝生长速率

从表 3 和图 1 可以看出, 添加不同鲜菇脚和苹果细枝来改良的 PDA 培养基初选配方的香

表 2 配制葡萄糖标准溶液的试剂用量

Table 2 Reagent usage of glucose standard solution's preparation

试剂 Reagent	1 mg/mL 葡萄糖溶液 1 mg/mL glucose solution (mL)	蒸馏水 Distilled water (mL)	DNS 试剂 DNS reagent (mL)	葡萄糖量 Glucose content (mg)
0	0	3.0	1.5	0.0
1	0.3	2.7	1.5	0.3
2	0.6	2.4	1.5	0.6
3	0.9	2.1	1.5	0.9
4	1.2	1.8	1.5	1.2
5	1.5	1.5	1.5	1.5
6	1.8	1.2	1.5	1.8
7	2.1	0.9	1.5	2.1
8	2.4	0.6	1.5	2.4

表 3 改良 PDA 培养基的配方初筛结果

Table 3 Primarily screening results of improved PDA's formula

Code	<i>Lentinus edodes</i>		White <i>Hypsizygus</i>	
	mycelium		<i>marmoreus</i> mycelium	
	<i>S</i> (cm/d)	<i>Q</i> (%)	<i>S</i> (cm/d)	<i>Q</i> (%)
X0	0.85	-5.56	0.65	-35.00
X1	0.82	-8.89	0.98	-2.00
X2	0.57	-36.67	0.78	-22.00
X3	0.85	-5.56	0.87	-13.00
X4	0.78	-13.33	0.75	-25.00
X5	0.75	-16.67	0.60	-40.00
X6	0.78	-13.33	0.53 (s)	-47.00
J0	0.73	-18.89	0.73	-27.00
J1	0.70	-22.22	0.45	-55.00
J2	0.73	-18.89	0.47	-53.00
J3	0.78	-13.33	0.48	-52.00
J4	0.67	-25.56	0.50	-50.00
J5	0.73	-18.89	0.47	-53.00
J6	0.68	-24.44	0.32	-68.00
B0	1.08	20.00	1.13	13.00
B1	1.02	13.33	1.15	15.00
B2	0.97	7.78	0.70	-30.00
B3	0.87	-3.33	0.85	-15.00
B4	0.90	0.00	0.73	-27.00
B5	0.90 (s)	0.00	0.43	-57.00
B6	0.92 (s)	2.22	0.52	-48.00
P0	0.73	-18.89	1.30	30.00
P1	0.77	-14.44	1.15	15.00
P2	0.82	-8.89	0.97	-3.00
P3	0.80	-11.11	1.28	28.00
P4	0.78	-13.33	1.05	5.00
P5	0.77	-14.44	1.33 (s)	33.00
P6	0.75	-16.67	1.20 (s)	20.00
PDA	0.90	0.00	1.00	0.00

X0-X6: 香菇; J0-J6: 金针菇; B0-B6: 白玉菇; P0-P6: 平菇. 下同. *S*: 生长速率. *Q*: 助长率. s: 菌丝稀薄, 长势不好

X0-X6: *Lentinus edodes*; J0-J6: *Flammulina velutiper*; B0-B6: white *Hypsizygus marmoreus*; P0-P6: *Pleurotus ostreatus*. The same below. *S*: Growth rate. *Q*: Growth accelerating rate. s: Thin hyphae with poor growth.

菇和白玉菇菌丝的平均生长速率差别明显。相较于普通 PDA 培养基, 添加香菇脚、金针菇脚、平菇脚和苹果细枝来改良的 PDA 培养基对香菇菌丝的助长率均为负值, 表明这 3 类改良 PDA 培养基对香菇菌丝有明显的抑制作用, 而添加白玉菇脚和苹果细枝来改良的 PDA 培养基对香菇菌丝的助长率大部分为正值, 表明其对香菇菌丝的生长有促进作用。相应地, 大部分添加平菇脚和苹果细枝来改良的 PDA 培养基与少数添加白玉菇脚和苹果细枝来改良的 PDA 培养基上白玉菇菌丝的助长率为正值, 表明这些改良 PDA 培养基对白玉菇菌丝的生长有明显的促进作用。

改良 PDA 培养基初筛配方的菌丝生长速率与葡萄糖用量之间的关系如图 2 所示。从图 2 可以看出, 随着葡萄糖用量的增加, 添加不同鲜菇脚和苹果细枝来改良的 PDA 培养基初筛配方的菌丝平均生长速率的变化也各不相同。对香菇菌丝来说, 添加白玉菇脚和苹果细枝来改良的 PDA 培养基上的菌丝生长速率最大, 并且随着葡萄糖用量的增加, 生长速率呈现先减小后增大的趋势。对白玉菇菌丝而言, 添加平菇脚和苹果细枝来改良的 PDA 培养基上菌丝的生长速率最大, 并且随着葡萄糖用量的增加, 生长速率呈现出先增大后减小再增大再减小最后增大的趋势。在葡萄糖用量低于 1% 时, 各改良 PDA 培养基优化配方的香菇和白玉菇菌丝均表现出生长速率与普通 PDA 相差不多或菌丝很稀少的情形, 进一步研究的意义不大。综上, 添加白玉菇脚和苹果细枝来改良的 PDA 培养基与添加平菇脚和苹果细枝来改良的 PDA 培养基在葡萄糖用量为 1%-2% 时既能有效促进菌丝的生长, 又能适当减少葡萄糖用量, 进一步研究的意义和价值比较大。

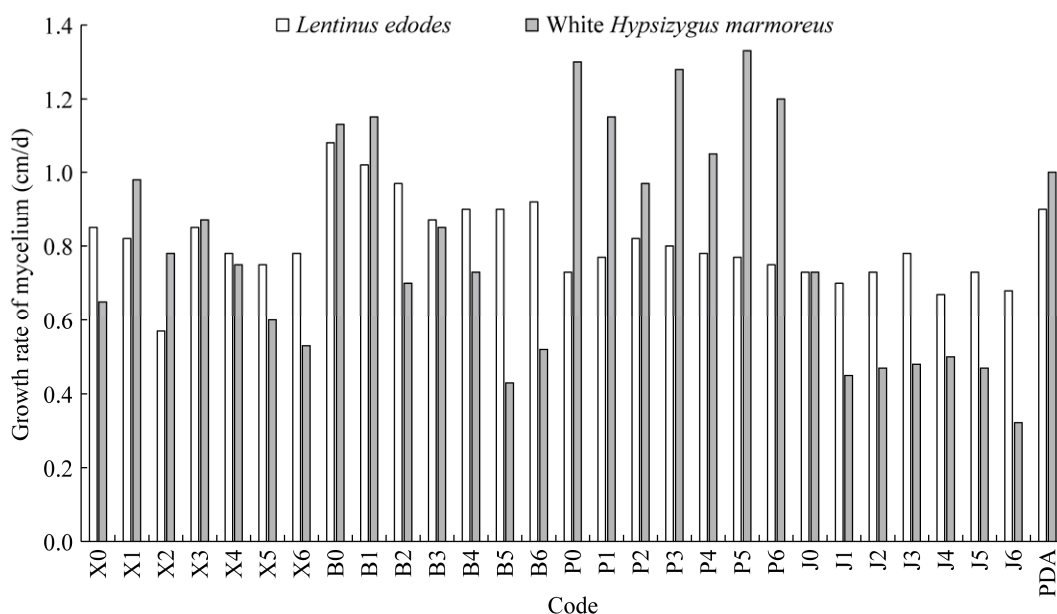


图 1 改良 PDA 培养基初筛配方菌丝的平均生长速率

Figure 1 The average growth rate of mycelium in the initial screening formula of improved PDA medium.

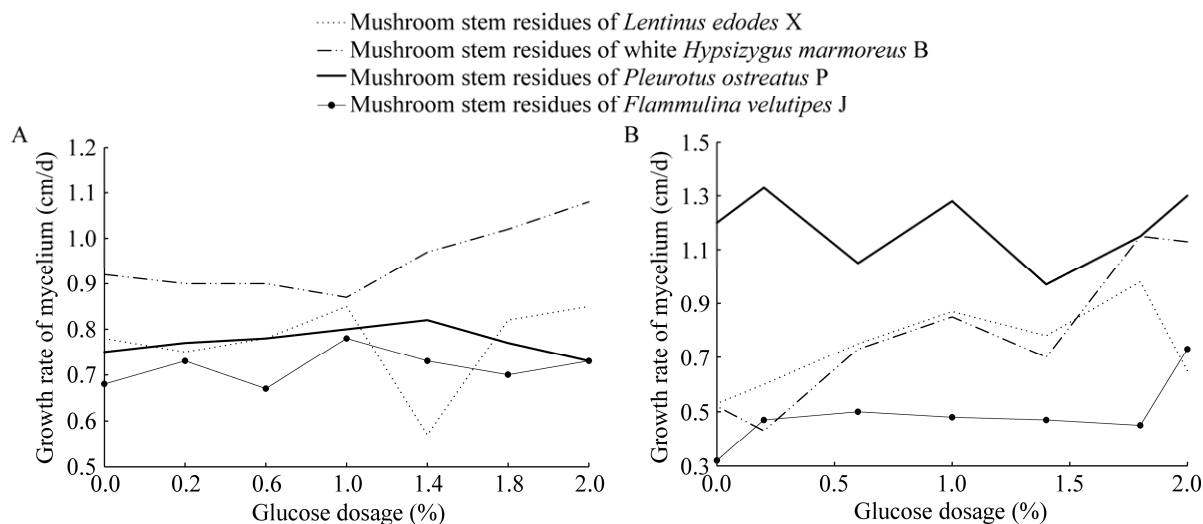


图 2 改良 PDA 培养基初筛配方菌丝的平均生长速率与葡萄糖用量的关系 A: 香菇. B: 白玉菇

Figure 2 The relationship between the average growth rate of mycelium and glucose dosage in the initial screening formula of improved PDA medium. A: *Lentinus edodes*. B: *White Hypsizygus marmoreus*.

### 2.1.2 改良 PDA 培养基初筛配方的菌丝脱氢酶活力对比

从表 4 和图 3 可以看出, 添加不同鲜菇脚和苹果细枝来改良的 PDA 培养基初筛配方的 MTT 溶液平均吸光度  $A_{490}$  和菌丝脱氢酶激活率

$K$  差别明显。对白玉菇菌丝而言, 所有添加鲜菇脚和苹果细枝来改良的 PDA 培养基初筛配方的菌丝脱氢酶激活率  $K$  均为正值, 表明所有改良 PDA 培养基均可激活白玉菇菌丝的脱氢酶活力, 增强其呼吸作用。对香菇菌丝, 添加

表 4 改良 PDA 培养基初筛配方的平均 MTT 吸光度和脱氢酶激活率

Table 4 Average MTT absorbance and dehydrogenase activation rate of the initial screening formula for improved PDA medium

Code	<i>Lentinus edodes</i> mycelium		<i>White Hysizyus</i> <i>marmoreus</i> mycelium	
	$A_{490}$	$K$ (%)	$A_{490}$	$K$ (%)
X0	0.240	-16.96	0.459	84.34
X1	0.247	-14.53	0.285	14.46
X2	0.307	6.23	0.416	67.07
X3	0.291	0.69	0.610	144.98
X4	0.134	-53.63	0.621	149.40
X5	0.141	-51.21	0.471	89.16
X6	0.162	-43.94	0.495	98.80
P0	0.376	30.10	0.250	0.40
P1	0.442	52.94	0.358	43.78
P2	0.440	52.25	0.335	34.54
P3	0.422	46.02	0.477	91.57
P4	0.416	43.94	0.478	91.97
P5	0.266	-7.96	0.323	29.72
P6	0.244	-15.57	-	-
B0	0.301	4.15	0.519	108.43
B1	0.239	-17.30	0.535	114.86
B2	0.309	6.92	0.623	150.20
B3	0.396	37.02	0.497	99.60
B4	0.331	14.53	0.450	80.72
B5	0.319	10.38	0.438	75.90
B6	0.326	12.80	0.325	30.52
J0	0.228	-21.11	0.403	61.85
J1	0.277	-4.15	0.374	50.20
J2	0.185	-35.99	0.551	121.29
J3	0.162	-43.94	0.601	141.37
J4	0.282	-2.42	0.581	133.33
J5	0.354	22.49	0.397	59.44
J6	0.266	-7.96	-	-
PDA	0.289	0.00	0.249	0.00

K: 脱氢酶激活率; -: 菌丝稀薄, 量少, 不足以进行实验  
K: Dehydrogenase activation rate; -: Thin and insufficient hyphae for carrying out the experiments.

白玉菇脚和苹果细枝来改良的 PDA 培养基与添加平菇脚和苹果细枝来改良的 PDA 培养基初筛配方的脱氢酶激活率  $K$  比较高, 大多数为

正值, 表明这两类改良 PDA 培养基均可激活香菇菌丝的脱氢酶活力, 而另外两类改良 PDA 培养基初筛配方的香菇菌丝脱氢酶激活率比较小, 大多数为负值, 表明其对香菇菌丝脱氢酶活性具有抑制作用。

添加不同鲜菇脚和苹果细枝来改良的 PDA 培养基初筛配方的 MTT 吸光度  $A$  与葡萄糖用量的关系如图 4 所示。从图 4 可以看出, 随着葡萄糖用量的增加, 添加不同鲜菇脚和苹果细枝来改良的 PDA 培养基初筛配方的香菇、白玉菇菌丝的 MTT 吸光度变化比较大。对香菇菌丝而言, 葡萄糖用量在 1%–2% 时添加平菇脚和苹果细枝来改良的 PDA 培养基上菌丝脱氢酶活力最高, 并且随着葡萄糖用量的增加, 香菇菌丝的脱氢酶活力呈现先缓慢增加后降低的趋势。对白玉菇菌丝而言, 葡萄糖用量不低于 1% 时添加白玉菇脚和苹果细枝来改良的 PDA 培养基上菌丝的脱氢酶活力比较高, 并且随着葡萄糖用量的增加, 脱氢酶活力呈现出先增大后减小的趋势。总之, 添加白玉菇脚和苹果细枝来改良的 PDA 培养基与添加平菇脚和苹果细枝来改良的 PDA 培养基可以有效激活白玉菇和香菇的菌丝脱氢酶活力。

综合菌丝平均生长速率和菌丝脱氢酶活力两个指标来看, 在葡萄糖用量为 1%–2% 时, 添加白玉菇和苹果细枝来改良的 PDA 培养基与添加平菇和苹果细枝来改良的 PDA 培养基既能促进菌丝的生长, 又能激活菌丝脱氢酶活力, 值得进一步深入研究。

## 2.2 改良 PDA 培养基配方的优化结果

### 2.2.1 改良 PDA 培养基的菌丝生长效果

结合改良 PDA 培养基配方初筛的实验结果, 选取添加白玉菇脚(B)和苹果细枝来改良的 PDA 培养基与添加平菇脚(P)和苹果细枝来改良的 PDA 培养基进行配方优化设计和试验,

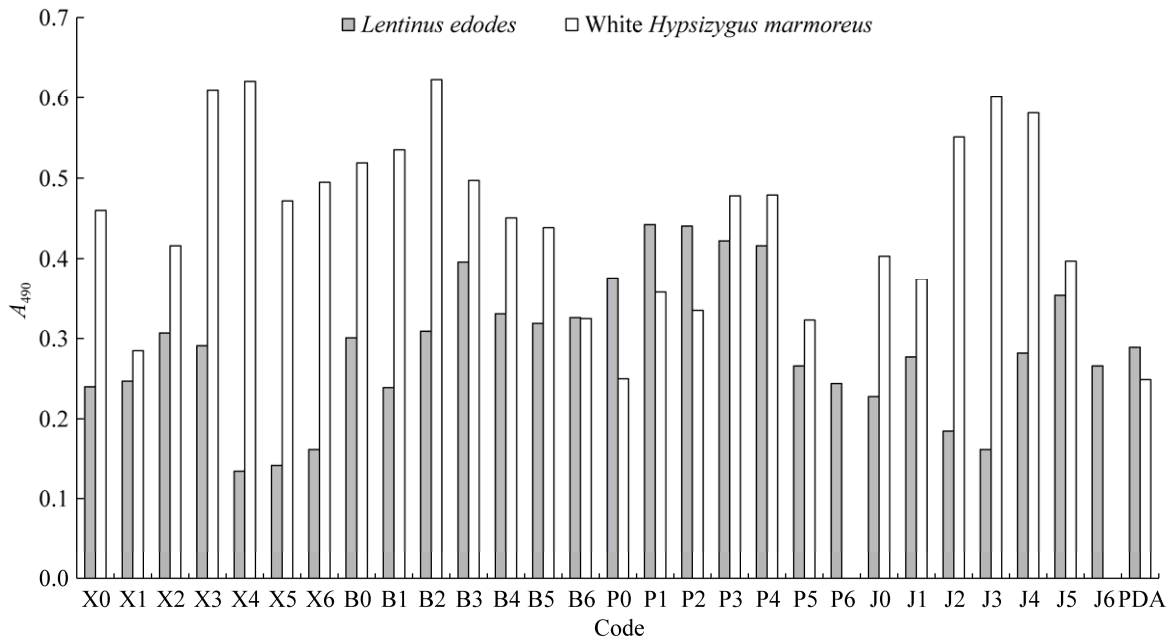


图3 改良 PDA 培养基初筛配方的平均 MTT 吸光度

Figure 3 The average MTT absorbance of the initial screening formula for improved PDA medium.

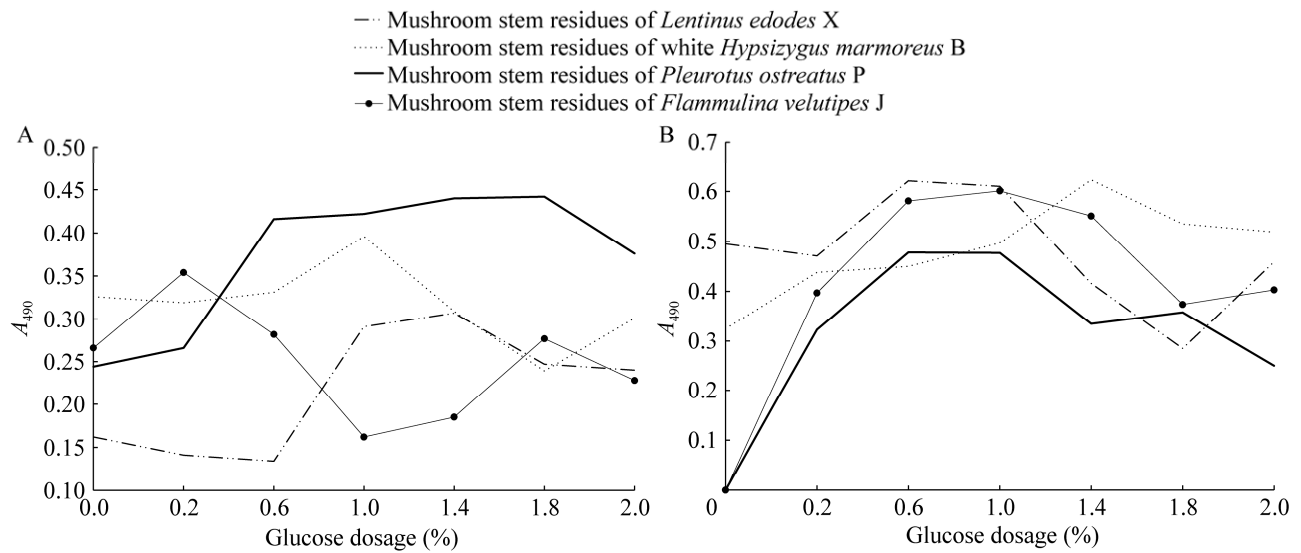


图4 改良 PDA 培养基初筛配方的 MTT 吸光度与葡萄糖用量的关系 A: 香菇. B: 白玉菇

Figure 4 The relationship between MTT absorbance and glucose dosage in the initial screening formula of improved PDA medium. A: *Lentinus edodes*. B: *White Hypsizygus marmoreus*.

从表 5 和图 5 可以看出, 各优化配方的菌丝平均生长速率和菌丝平均增重差别明显。从菌丝生长速率来看, 香菇菌丝的生长速率比较好的优化

配方是 P11、B11 和 B19, 其香菇菌丝长速可达到 1.05、1.02 和 0.98 cm/d, 分别是普通 PDA 培养基的 1.11、1.07 和 1.03 倍; 白玉菇菌丝的生

表 5 改良 PDA 培养基优化配方的菌丝平均生长速率和菌丝平均增重

Table 5 The average growth rate and average weight gain of mycelium in the optimized formula for improving PDA medium

Code	<i>Lentinus edodes</i> mycelium		<i>White Hysizygyus</i> <i>marmoreus</i> mycelium	
	S (cm/d)	W (mg)	S (cm/d)	W (mg)
B10	0.71	94	0.77	169.0
B11	1.02	192	0.75	69.0
B12	0.85	169	0.92	80.0
B13	0.93	125	0.98	58.0
B14	0.90	139	0.93	101.0
B15	0.88	151	0.97	81.0
B16	0.80	129	1.00	59.0
B17	0.95	132	0.80	55.0
B18	0.87	126	0.87	59.0
B19	0.98	102	0.70	54.5
B20	0.87	111	0.78	62.0
B21	0.87	124	0.72	80.0
B22	0.97	118	0.78	68.0
P10	0.87	78	0.87	187.0
P11	1.05	135	0.80	180.0
P12	0.85	118	0.70	138.0
P13	0.87	100	0.70	196.0
P14	0.72	114	0.90	148.0
P15	0.88	157	0.95	206.0
P16	0.88	182	1.12	223.0
P17	0.87	153	0.80	170.0
P18	0.83	168	0.87	183.0
P19	0.93	88	0.70	195.0
P20	0.88	172	0.58	172.0
P21	0.85	105	0.78	160.0
P22	0.88	139	0.83	175.0
PDA	0.95	93	0.87	152.0

S: 生长速率; W: 增重

S: Growth rate; W: Weight gain.

长速率比较好的优化配方是 P16、B16、B13 和 B15, 其白玉菇菌丝生长速率可达到 1.12、1.00、0.98 和 0.97 cm/d, 分别是普通 PDA 培养基的 1.29、1.15、1.12 和 1.11 倍。从菌丝平均增重来

看, 除优化配方 P10 和 P19 外, 其余优化配方的香菇菌丝增重均好于普通 PDA 培养基, 其中优化配方 B11 和 P16 的菌丝增重可以达到 192 mg 和 182 mg, 是普通 PDA 培养基的 2.06 倍和 1.96 倍。然而, 对于白玉菇菌丝来说, 添加平菇脚和苹果细枝来改良的 PDA 培养基优化配方的增重效果明显好于添加白玉菇脚和苹果细枝来改良的 PDA 培养基优化配方, 增重最多的是优化配方 P16 和 P15, 其菌丝增重可以达到 223 mg 和 206 mg, 是普通 PDA 培养基的 1.47 倍和 1.36 倍。

## 2.2.2 改良 PDB 培养基优化配方的菌丝鲜重

从表 6 和图 6 可以看出, 所有优化配方的菌丝平均鲜重均高于普通 PDA 培养基, 其中添加白玉菇脚和苹果细枝来改良的 PDA 培养基上香菇菌丝平均鲜重比较高的配方依次是 B14、B16 和 B11, 分别是 PDA 培养基上香菇菌丝平均鲜重的 2.11、1.90 和 1.84 倍, 菌丝平均鲜重最低的是 B21 配方, 其菌丝平均鲜重是普通 PDA 培养基的 1.18 倍。添加平菇脚和苹果细枝来改良的 PDA 培养基上白玉菇菌丝平均鲜重比较高的配方依次是 P16、P12 和 P14, 分别是 PDB 培养基上白玉菇菌丝平均鲜重的 2.29、2.26 和 2.25 倍, 菌丝平均鲜重最低的是 P13 配方, 其菌丝平均鲜重是普通 PDA 培养基的 1.22 倍。

综合分析菌丝平均生长速率、菌丝平均增重和菌丝平均鲜重这 3 个参数发现, 对香菇菌丝而言, 菌丝生长效果最好的配方是 B11, 可使菌丝生长速率增加 7%, 菌丝增重增加 106%, 菌丝鲜重增加 84%; 对白玉菇菌丝而言, 菌丝生长效果最好的配方是 P16, 可使菌丝生长速率增加 29%, 菌丝增重增加 47%, 菌丝鲜重增加 129%。

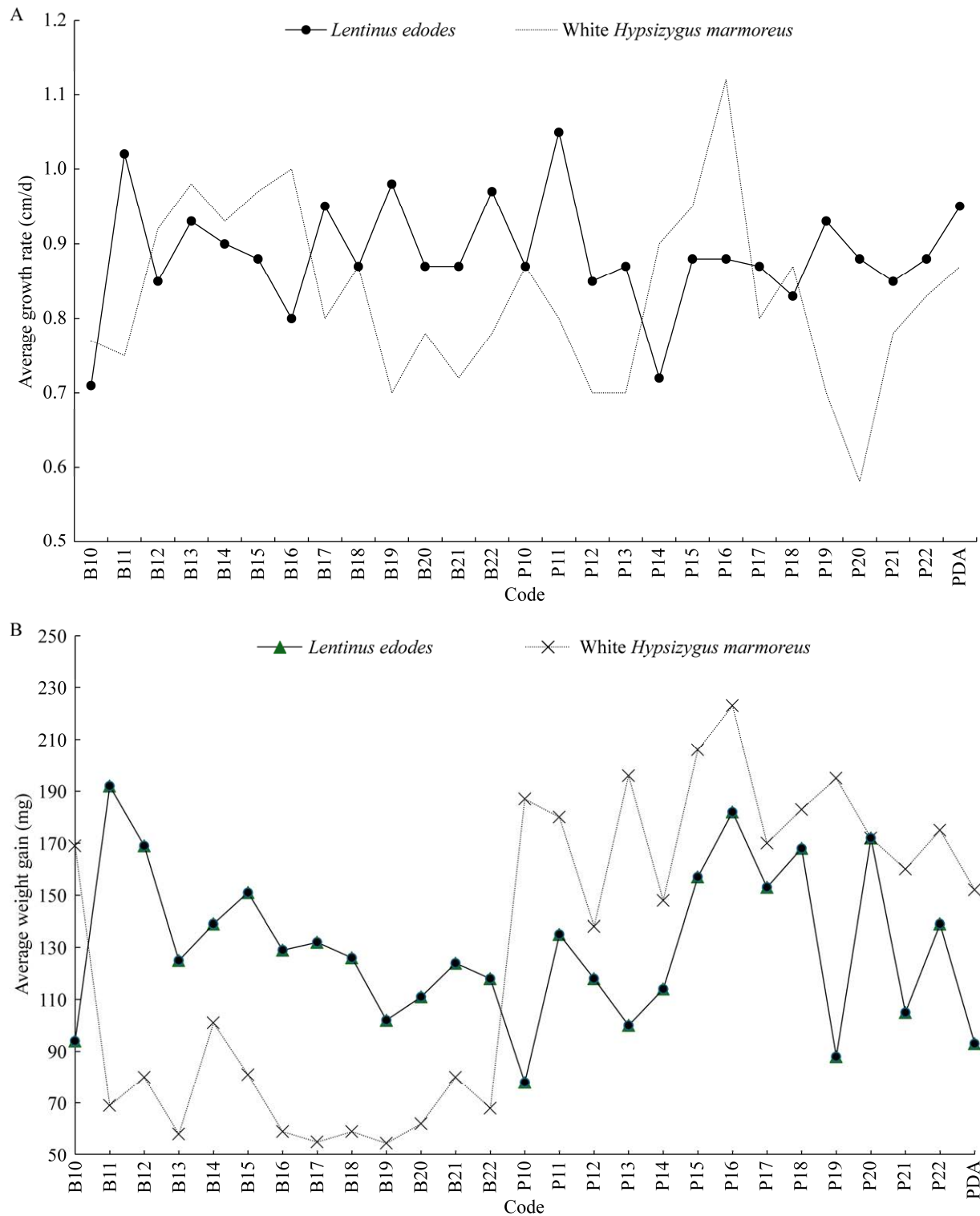


图5 改良PDA培养基优化配方菌丝的平均生长速率(A)和平均增重(B)

Figure 5 The average growth rate (A) and average weight gain (B) of mycelium in the optimized formula for improving PDA medium.

表 6 改良 PDB 培养基优化配方的菌丝鲜重  
Table 6 The fresh weight of mycelium in the optimized formula of improved PDB medium (g)

Code	$G_1$	$G_2$	$G_3$	Average $G$
<i>Lentinus edodes</i> mycelium				
B10	3.763	1.615	3.060	2.804
B11	3.505	3.857	3.930	3.764
B12	3.630	2.174	2.389	2.731
B13	4.028	3.469	2.535	3.344
B14	4.384	4.776	3.785	4.315
B15	3.267	2.023	2.692	2.661
B16	4.385	3.554	3.740	3.893
B17	2.464	2.205	3.062	2.577
B18	2.681	3.553	3.208	3.147
B19	3.083	2.578	4.038	3.233
B20	3.634	4.575	2.808	3.672
B21	3.392	1.734	2.125	2.417
B22	3.112	3.421	4.010	3.514
PDA	2.275	1.928	1.936	2.046
<i>White Hypsizygus marmoreus</i> mycelium				
P10	2.156	2.725	2.443	2.441
P11	2.143	2.037	2.739	2.306
P12	2.935	2.785	2.452	2.724
P13	0.885	1.817	1.705	1.469
P14	2.663	1.856	3.589	2.703
P15	1.818	2.028	1.641	1.829
P16	2.909	2.610	2.741	2.753
P17	3.674	1.884	2.165	2.574
P18	2.507	1.764	1.940	2.070
P19	1.822	2.619	1.512	1.984
P20	1.638	2.534	2.089	2.087
P21	2.232	1.687	2.009	1.976
P22	2.754	2.559	2.365	2.560
PDA	1.043	1.483	1.082	1.203

G: 鲜重. 下同

G: Fresh weight. The same below.

### 2.2.3 改良 PDA 培养基上菌丝的脱氢酶活力

通过测定添加白玉菇(平菇)脚和苹果细枝来改良的 PDA 培养基优化配方的香菇和白玉菇菌丝 MTT 溶液的吸光度, 进一步计算了各改良 PDA 培养基优化配方的菌丝脱氢酶激活率  $K$ ,

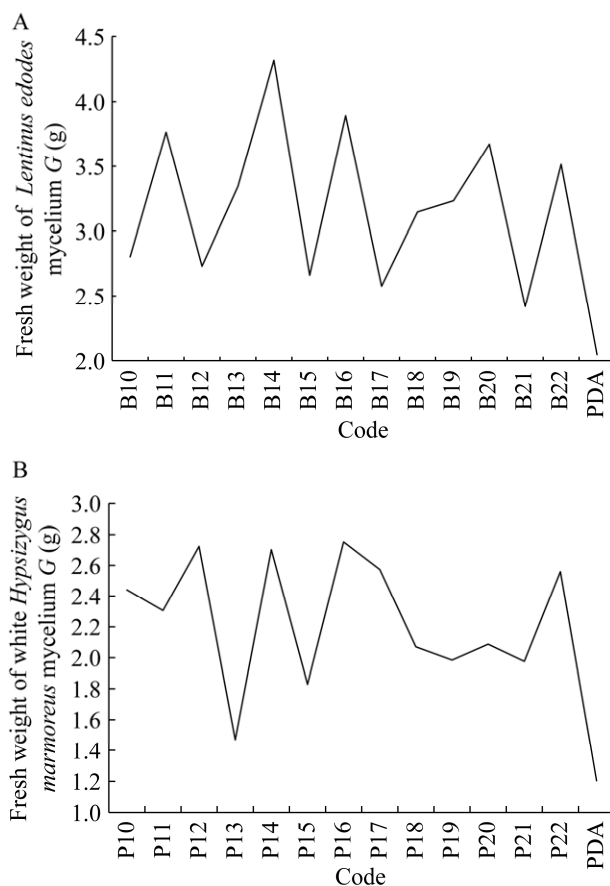


图 6 改良 PDB 培养基优化配方的菌丝平均鲜重  
A: 香菇. B: 白玉菇

Figure 6 The average fresh weight of mycelium in the optimized formula of improved PDB medium. A: *Lentinus edodes*. B: *White Hypsizygus marmoreus*.

结果如表 7 和图 7 所示。从表 7 和图 7 可以看出, 添加白玉菇脚和苹果细枝来改良的 PDA 培养基优化配方中, 除 B10 外, 其余配方的香菇菌丝脱氢酶激活率  $K$  均为负值, 表现出明显的对香菇菌丝脱氢酶活力的抑制能力; 而 B14、B15、B16、B18、B19 和 B20 等优化配方的白玉菇菌丝脱氢酶激活率  $K$  均为正值, 尤其是 B14、B15 和 B16 配方的脱氢酶激活率高于 10%, 表现出明显的菌丝脱氢酶激活活性。添加平菇脚和苹果细枝来改良的 PDA 培养基优化配方的白玉菇菌丝脱氢酶激活率  $K$  均为正值, 尤其是配方

表7 改良 PDA 培养基优化配方的平均 MTT 吸光度和脱氢酶激活率

Table 7 The average MTT absorbance and dehydrogenase activation rate of the optimized formula for improving PDA medium

Code	<i>Lentinus edodes</i> mycelium		White <i>Hypsizygus</i> <i>marmoreus</i> mycelium	
	Average $A_{490}$	K (%)	Average $A_{490}$	K (%)
B10	0.188	62.1	0.137	-32.7
B11	0.103	-11.2	0.167	-18.3
B12	0.062	-46.6	0.174	-14.7
B13	0.091	-21.6	0.174	-14.5
B14	0.078	-32.8	0.357	75.2
B15	0.066	-43.1	0.234	14.5
B16	0.074	-36.2	0.234	14.7
B17	0.075	-35.3	0.178	-12.6
B18	0.072	-37.9	0.211	3.3
B19	0.110	-5.2	0.209	2.5
B20	0.108	-6.9	0.208	2.1
B21	0.082	-29.3	0.176	-13.7
B22	0.105	-9.5	0.172	-15.7
P10	0.136	17.2	0.332	62.7
P11	0.067	-42.2	0.409	100.5
P12	0.131	12.9	0.264	29.4
P13	0.175	50.9	0.315	54.4
P14	0.097	-16.4	0.290	42.2
P15	0.088	-24.1	0.293	43.6
P16	0.139	19.8	0.246	20.6
P17	0.188	62.1	0.227	11.3
P18	0.150	29.3	0.223	9.3
P19	0.216	86.2	0.258	26.5
P20	0.152	31.0	0.501	145.6
P21	0.164	41.4	0.325	59.3
P22	0.180	55.2	0.330	61.8
PDA	0.116	0.0	0.204	0.0

正值代表激活, 负值代表抑制. K: 脱氢酶激活率

Positive values represent activation, negative values represent inhibition. K: Dehydrogenase activation rate.

P10、P11、P13、P20、P21 和 P22, 激活率超过 50%, 激活效果明显; 添加平菇脚和苹果细枝来改良的 PDA 培养基优化配方的香菇菌丝脱氢酶激活率 K 大部分为正值, 尤其是配方

P13、P17、P19 和 P22, 激活率超过 50%, 激活效果明显。

## 2.2.4 改良 PDB 培养基上菌丝的胞外纤维素酶活力

各葡萄糖标准溶液的吸光度 A 值如表 8 所示, 以葡萄糖含量为横坐标、吸光度 A 为纵坐标绘制标准曲线为  $y=0.3708x-0.0338$ ,  $R^2=0.9916$ 。

测得各添加平菇脚(P)和苹果细枝来改良的 PDB 培养基优化配方上清液的吸光度 A, 由标准曲线计算葡萄糖含量 n, 按照公式(5)计算纤维素酶活力 N (U/mL), 计算结果如表 9 和图 8 所示。

$$N = \frac{n \times 1000}{T \times V} \quad (5)$$

式(5)中: n 为葡萄糖含量(mg); T 为酶解时间(min); V 为样品体积(mL)。

从表 9 和图 8 可以看出, 不同优化配方的白玉菇菌丝胞外纤维素酶活力 N 也不同, 优化配方 P19 的白玉菇菌丝胞外纤维素酶活力最大, 为 380 U/mL, 是普通 PDA 培养基的 1.08 倍; 其次是优化配方 P21, 其白玉菇菌丝胞外纤维素酶的活力比普通 PDA 培养基略高; 其余配方的菌丝胞外纤维素酶活力均低于普通 PDA 培养基, 表明添加平菇脚和苹果细枝来改良的 PDB 培养基能促进白玉菇菌丝的生长不是通过提高胞外纤维素酶活力实现的。

## 2.3 配方优化实验各指标参数的差异性和相关性分析结果

对表 5-7 中配方优化实验的各参数进行了多因素方差分析。结果显示, 菌丝生长速率、菌丝增重、菌丝鲜重与菌丝脱氢酶激活率之间的显著性结果分别为 0.817、0.851 和 0.989, 均大于 0.05, 表明菌丝生长速率、菌丝增重、菌丝鲜重与菌丝脱氢酶激活率之间无显著性差

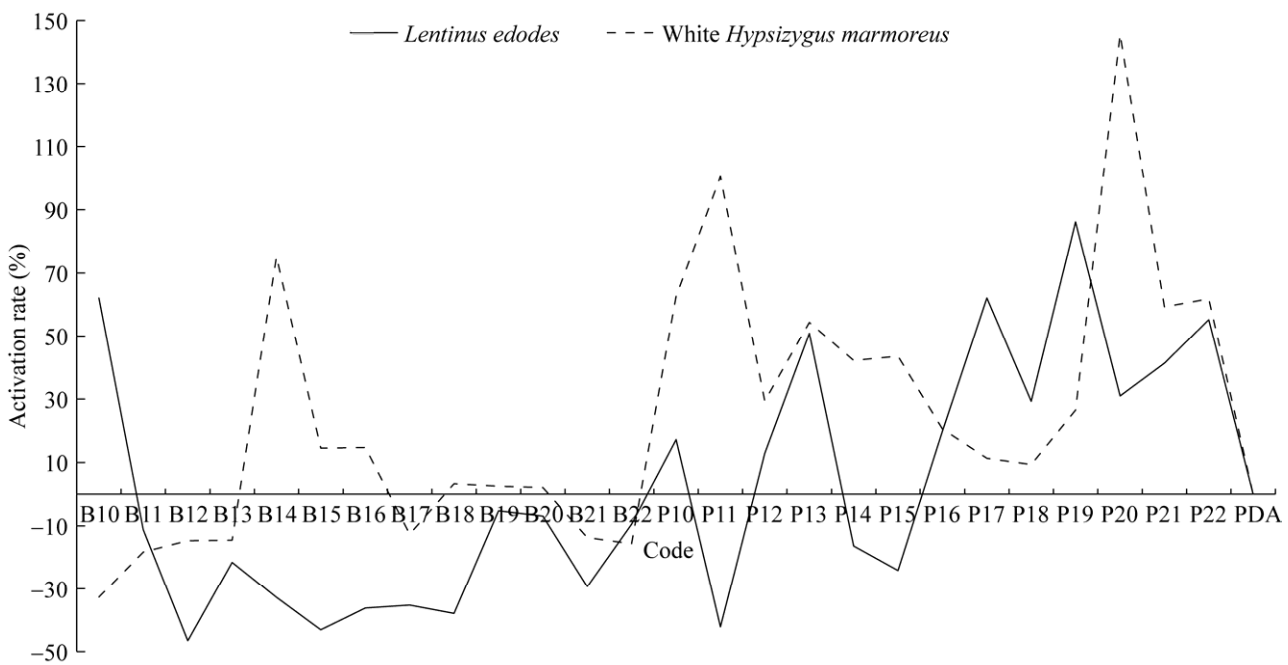


图 7 改良 PDA 培养基优化配方的菌丝脱氢酶激活率  
Figure 7 Dehydrogenase activation rate of mycelium with optimized formula for improving PDA culture medium.

异。菌丝生长速率、菌丝增重、菌丝鲜重与纤维素酶活力之间的显著性结果分别为 0.680、0.320 和 0.398，均大于 0.05，表明菌丝生长速率、菌丝增重、菌丝鲜重与纤维素酶活力之间无显著性差异。白玉菇菌丝脱氢酶激活率对菌丝生长速率、菌丝增重和菌丝鲜重的 Pearson

表 8 葡萄糖标准溶液的吸光度  
Table 8 Absorbance of glucose standard solution

葡萄糖含量 Glucose content (mg)	吸光度 Absorbance $A_{540}$
0.0	0.000
0.3	0.037
0.6	0.168
0.9	0.299
1.2	0.419
1.5	0.548
1.8	0.634
2.1	0.776
2.4	0.819

表 9 改良 PDB 培养基优化配方的菌丝平均胞外纤维素酶活力  
Table 9 The average extracellular cellulase activity of mycelium in the optimized formula of improved PDB medium

Code	$N$ (U/mL)
P10	250
P11	266
P12	270
P13	264
P14	254
P15	234
P16	288
P17	282
P18	272
P19	380
P20	288
P21	354
P22	288
PDA	352

$N$ : 胞外纤维素酶活力. 下同  
 $N$ : Extracellular cellulase activity. The same below.

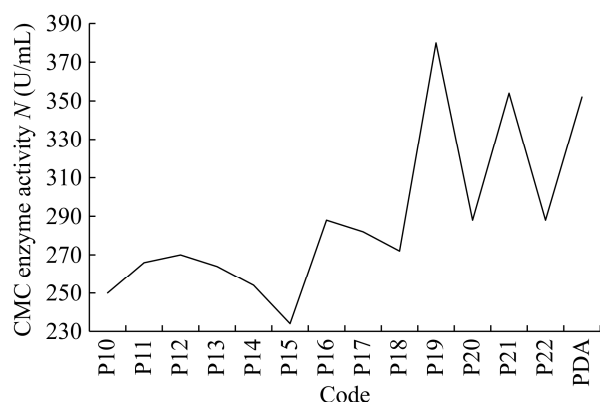


图8 改良PDB培养基优化配方的菌丝平均胞外纤维素酶活力的对比

Figure 8 Comparison of average extracellular cellulase activity of mycelium in the optimized formula of improved PDB medium.

系数分别为-0.491、-0.118和-0.208,白玉菇纤维素酶活力对白玉菇菌丝生长速率、菌丝增重和菌丝鲜重的 Pearson 系数分别为-0.314、-0.015和-0.163,比较小,显著性数值分别0.088、0.700、0.496、0.296、0.962和0.596,均大于0.05,这些表明脱氢酶激活率、纤维素酶活力与菌丝生长速率、菌丝增重和菌丝鲜重之间无相关性。

### 3 讨论

木腐菌菌种生产中长期使用PDA培养基进行菌种继代培养和保藏是造成菌丝生长细弱、品种抗逆性降低或品种退化现象的关键原因,容易给木腐菌菌种生产和保藏造成严重影响。添加木腐菌菌丝生长需要的关键营养元素是改进PDA培养基性能的有效手段,现有的改良PDA培养基配方<sup>[17-21]</sup>虽然能达到激活酶系统和降低菌种退化风险的目的,但大多数成分复杂,且选用的枝条或木屑通常来自粗枝或树干、树桩等,而粗枝、树干和树桩等的砍伐会对树木本身生长及生态环境造成不利影响,且成本

较高。此外,不同粗细的枝条与树干、树桩的解剖特征不同,各组织结构所占空间比例也有差异,营养物质分配、储存功能也不相同,相较于粗枝或树干、树桩等,可能特定树种的细枝的某些营养成分更适合木腐菌的菌种生长需求,因此进一步筛选适宜的树种和枝条也十分有意义。

已有研究报道在普通PDA培养基中添加干菇脚粉也可以促进菌丝的生长<sup>[22]</sup>,本文采用鲜菇脚对PDA培养基进行改良,主要利用了鲜菇脚可以直接获取、无须干制,可以省工省时、节省能源。然而,不同的食用菌干菇脚和鲜菇脚的成分差别比较大,还需要进一步扩大适宜菇脚的筛选范围与种类,才能为木腐菌的实际生产提供更加有益的帮助。

成本低、效果好的木腐菌菌种培养基是木腐菌生产中不可或缺的生产资料,选择苹果细枝和鲜菇脚等农业废弃物作为培养基的组成成分,不仅可以保持菌种活力和生长速度,避免品种退化,还可以实现苹果细枝和鲜菇脚的循环再利用,节约能源和资源,降低生产成本,提高生产效率,为木腐菌菌种生产与保藏提供有力支持,意义重大。

### 4 结论

#### 4.1 改良PDA培养基可显著提高木腐菌菌丝生长速率和菌丝增重,有效缩短制种时间、提高制种效率

在26种添加白玉菇脚和苹果细枝来改进的PDA培养基与添加平菇脚和苹果细枝来改进的PDA培养基优化配方中,香菇菌丝生长效果最好的配方是B11(枝条液30 mL,白玉菇鲜菇脚汁10 mL,葡萄糖5 mL,马铃薯浸液50 mL,水5 mL),与普通PDA培养基相比,该培养基配方可实现香菇菌丝生长速率增加7%,菌丝增

重 106%，菌丝鲜重增加 84% 的效果。白玉菇菌丝生长效果最好的配方是 P16 (枝条液 30 mL，平菇鲜菇脚汁 20 mL，葡萄糖 5 mL，马铃薯浸液 40 mL，水 5 mL)，与普通 PDA 培养基相比，该培养基配方可实现白玉菇菌丝生长速率增加 29%，菌丝增重 47%，菌丝鲜重增加 129%。

#### 4.2 改良 PDA 培养基可实现节省资源、降低生产成本，经济效益明显

与普通 PDA 培养基(葡萄糖 10 mL，马铃薯浸液 50 mL，水 40 mL)相对比，香菇菌种的改良 PDA 培养基最优配方 B11 (枝条液 30 mL，白玉菇鲜菇脚汁 10 mL，葡萄糖 5 mL，马铃薯浸液 50 mL，水 5 mL)可实现葡萄糖用量减半的生产成本，白玉菇菌种的改良 PDA 培养基最优配方 P16 (枝条液 30 mL，平菇鲜菇脚汁 20 mL，葡萄糖 5 mL，马铃薯浸液 40 mL，水 5 mL)可实现葡萄糖用量减半、马铃薯浸提液节省 20% 的生产成本。按照配制 10 升液体培养基计算，普通 PDA 培养基的成本价约为 9.0 元，而改良 PDA 培养基最优配方 P16 的成本大约为 8.1 元，总体可节省成本 10%。

#### 4.3 改良 PDA 培养基可实现农业废弃物循环再利用，社会效益明显

用鲜菇脚和苹果细枝来改良 PDA 培养基，可以实现苹果细枝和鲜菇脚两种农业废弃物的循环再利用，一方面减少农业废弃物的排放，减少环境污染；另一方面，可适当降低菌种生产成本，提高生产者收入，提高人们对农业废弃物循环再利用的认识，促进资源利用向最大化、最优化的方向发展，社会效益显著。

#### 4.4 菌丝生长与菌丝脱氢酶和胞外纤维素酶活力之间无相关性

统计结果显示，显著性水平设置为 0.05 时，菌丝脱氢酶活性激活率  $K$ 、纤维素酶活力与菌丝生长速率、菌丝增重和菌丝鲜重之间既无显

著差异性，也无相关性，表明菌丝生长与菌丝脱氢酶和胞外纤维素酶活力之间无相关性。

## REFERENCES

- [1] 中国食用菌协会. 2021 年度全国食用菌统计调查结果分析[J]. 中国食用菌, 2023, 42(1): 118-127.  
China Edible Fungi Association. Analysis on the results of national edible fungi statistical survey in 2021[J]. Edible Fungi of China, 2023, 42(1): 118-127 (in Chinese).
- [2] 徐彦军, 肖军, 李昌俊, 陈金棒. 香菇庆科 212 三级菌种培养基配方筛选[J]. 种子, 2019, 38(8): 138-140.  
XU YJ, XIAO J, LI CJ, CHEN JB. Screening of the three-stage culture medium formulation of *Lentinus edodes* Qingke 212[J]. Seed, 2019, 38(8): 138-140 (in Chinese).
- [3] 叶雷, 李小林, 张波, 杨学圳, 谭伟, 张小平. 毛木耳育种与菌种扩繁技术研究进展[J]. 农学学报, 2023, 13(10): 13-22.  
YE L, LI XL, ZHANG B, YANG XZ, TAN W, ZHANG XP. Research progress of breeding and spawn propagation of *Auricularia cornea*[J]. Journal of Agriculture, 2023, 13(10): 13-22 (in Chinese).
- [4] 陈青, 张军辉, 赵强, 郑明海, 钱琼秋, 陈再鸣. 海鲜菇母种继代和菌种扩繁工艺的出菇效应研究[J]. 食药菌, 2022, 30(4): 302-306.  
CHEN Q, ZHANG JH, ZHAO Q, ZHENG MH, QIAN QQ, CHEN ZM. Study on the fruiting effect of the stock culture subculture and spawn propagation technology of *Hypsizygus marmoreus*[J]. Edible and Medicinal Mushrooms, 2022, 30(4): 302-306 (in Chinese).
- [5] 史红鸽, 魏银初, 班新河, 李九英. 正交实验法优化香菇母种培养基[J]. 北方园艺, 2020(19): 129-133.  
SHI HG, WEI YC, BAN XH, LI JY. Optimization of *Lentinus edodes* stock culture medium by orthogonal test[J]. Northern Horticulture, 2020(19): 129-133 (in Chinese).
- [6] 布海丽且姆·阿卜杜热合曼, 房丹丹, 刘露萍, 裴龙英, 李和生, 姜露熙. 适于新疆干旱地区黑木耳液体菌种培养条件优化研究[J]. 北方园艺, 2022(24): 107-114.  
Buhailiqimu·Abudureheman, FANG DD, LIU LP, PEI LY, LI HS, JIANG LX. Study on liquid fungus of *Auricularia auricula* suitable for southern Xinjiang and optimization of its culture conditions[J]. Northern Horticulture, 2022(24): 107-114 (in Chinese).
- [7] 赵俊霞, 王立安, 齐志广. 四种食用菌母种培养基的

- 筛选[J]. 食用菌, 2003, 25(2): 18-20.
- ZHAO JX, WANG LA, QI ZG. Screening of mother culture media for four kinds of edible fungi[J]. Edible Fungi, 2003, 25(2): 18-20 (in Chinese).
- [8] 杨焕玲, 查磊, 赵妍, 黄建春, 隗加香, 陈明杰. 新型香菇母种培养基的筛选[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(3): 124-126.
- YANG HL, ZHA L, ZHAO Y, HUANG JC, JUAN JX, CHEN MJ. Screening of new stock medium for *Lentinula edodes*[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2019, 47(3): 124-126 (in Chinese).
- [9] 杨大林. 大米培养基制作食用菌母种[J]. 安徽农业, 2002(7): 13.
- YANG DL. Production of edible fungus mother seed with rice culture medium[J]. Anhui Agriculture, 2002(7): 13 (in Chinese).
- [10] 曾杨, 孙智敏, 杨鑫, 祁宏山, 蒲训, 王治业, 周剑平. 食用菌菌种试管斜面超长时间保藏后的复活研究[J]. 食用菌, 2010, 32(5): 28-29.
- ZENG Y, SUN ZM, YANG X, QI HS, PU X, WANG ZY, ZHOU JP. Study on the resurrection of edible fungi after long-term preservation on the inclined surface of test tube[J]. Edible Fungi, 2010, 32(5): 28-29 (in Chinese).
- [11] 李亚娇, 孙国琴, 郭九峰, 王海燕, 庞杰. 食用菌菌种退化机制及预防措施的最新研究进展[J]. 黑龙江农业科学, 2018(2): 136-140.
- LI YJ, SUN GQ, GUO JF, WANG HY, PANG J. Latest research progress on the degradation mechanism and preventive measures of edible fungus strains[J]. Heilongjiang Agricultural Sciences, 2018(2): 136-140 (in Chinese).
- [12] 刘娜, 宋莹, 张敏, 吕立涛, 张士义, 李跃. 香菇继代培养对菌丝特性和显微结构的影响[J]. 北方园艺, 2022(3): 118-124.
- LIU N, SONG Y, ZHANG M, LYU LT, ZHANG SY, LI Y. Effects on mycelial and microstructural characteristics of repeated subculture of *Lentinula edodes*[J]. Northern Horticulture, 2022(3): 118-124 (in Chinese).
- [13] 侯娣, 周陈力, 李燕, 杨瑞恒, 鲍大鹏. 木屑马铃薯培养基促进香菇单核体菌丝体生长的表达谱分析[J]. 菌物学报, 2023, 42(2): 507-519.
- HOU D, ZHOU CL, LI Y, YANG RH, BAO DP. The gene expression profiles of promoting mycelial growth of monokaryotic strains of *Lentinula edodes* cultured on PDA with additional sawdust[J]. Mycosystema, 2023, 42(2): 507-519 (in Chinese).
- [14] 林金楠, 韩盼盼, 范亚玲, 曾禹善, 朱华玲, 班立桐. 蘑菇菇脚的营养价值、活性成分及应用研究进展[J]. 天津农业科学, 2019, 25(6): 37-41.
- LIN JN, HAN PP, FAN YL, ZENG YS, ZHU HL, BAN LT. Research progress on the nutritional value, active ingredients and application of mushroom feet[J]. Tianjin Agricultural Science, 2019, 25(6): 37-41 (in Chinese).
- [15] 彭彬, 马志龙, 卡德艳·卡德尔, 阿地力·沙塔尔, 张元明. 野苹果枝条主要营养成分对苹小吉丁幼虫发育的影响[J]. 新疆农业科学, 2019, 56(9): 1710-1719.
- PENG B, MA ZL, Kadeyan Kader, Adili Shataer, ZHANG YM. Effects of main nutrients of wild apple branches on the development of *Agrilus mali* Matsumura larvae[J]. Xinjiang Agricultural Sciences, 2019, 56(9): 1710-1719 (in Chinese).
- [16] 周宁. 苹果枝条组分分离及高值化利用研究[D]. 合肥: 合肥工业大学硕士学位论文, 2022.
- ZHOU N. The study on the separation and high value utilization of apple branch components[D]. Hefei: Master's Thesis of Hefei University of Technology, 2022 (in Chinese).
- [17] 陈翠翠, 巩玉辉, 宋雕, 刘亚雯. 贵州八种林果木屑浸出液对红托竹荪菌丝生长的影响[J]. 食用菌, 2023, 45(4): 10-13, 21.
- CHEN CC, GONG YH, SONG D, LIU YW. The effect of extracts from 8 kinds of forest fruit trees in Guizhou on mycelial growth of *Dictyophora rubrovolvata*[J]. Edible Fungi, 2023, 45(4): 10-13, 21 (in Chinese).
- [18] 沈盟, 袁晔, 姚祥坦, 权新华, 王瑞森, 蒋俊. 林果树木屑浸出液对食用菌菌丝生长的影响[J]. 食用菌, 2020, 42(3): 14-18.
- SHEN M, YUAN Y, YAO XT, QUAN XH, WANG RS, JIANG J. Effect of sawdust leaching solution of forest and fruit trees on mycelium growth of edible fungi[J]. Edible Fungi, 2020, 42(3): 14-18 (in Chinese).
- [19] 姜宇, 孙水娟, 王炯, 张君, 郭杰, 杜适普. 添加苹果树枝木屑栽培秀珍菇的培养料配方筛选试验[J]. 陕西农业科学, 2021, 67(12): 52-54.
- JIANG Y, SUN SJ, WANG J, ZHANG J, GUO J, DU SP. Screening test on cultivation medium of *Pleurotus geesteranus* by adding apple sawdust[J]. Shaanxi Journal of Agricultural Sciences, 2021, 67(12): 52-54 (in Chinese).
- [20] 吴亚召, 张文隽, 雷萍, 杜芳. 利用苹果树枝木屑栽培茶树菇配方筛选试验[J]. 西北园艺(综合), 2018(5): 62-64.
- WU YZ, ZHANG WJ, LEI P, DU F. Screening

- experiment of formula for cultivating *Agrocybe aegerita* by using apple branch sawdust[J]. Northwest Horticulture, 2018(5): 62-64 (in Chinese).
- [21] 于霞. 平菇菌种生产工艺改进及高产菌株比选试验[J]. 东北林业大学学报, 2002, 30(1): 81-83.
- YU X. Improvement of producing techniques of *Pleurotus ostreatus* and contrasting test of high yield for bacterial strains[J]. Journal of Northeast Forestry University, 2002, 30(1): 81-83 (in Chinese).
- [22] 朱华玲, 林金楠, 班立桐, 黄亮, 韩盼盼, 范亚玲, 曾禹善, 王玉. 一种真姬菇菌种的蘑菇菇脚粉保藏培养基及其制备方法: CN201911080642.6[P]. 2021-05-11.
- ZHU HL, LIN JN, BAN LT, HUANG L, HAN PP, FAN YL, ZENG YS, WANG Y. A preservation medium and preparation method for mushroom foot powder of *Hypsizygus marmoreus* strain: CN201911080642.6[P]. 2021-05-11 (in Chinese).
- [23] 吴周斌, 王锦锋, 林占熿. 真姬菇菌丝体对硒耐受性的研究[J]. 微生物学通报, 2017, 44(1): 96-107.
- WU ZB, WANG JF, LIN ZX. Tolerance of *Hypsizygus marmoreus* mycelium to selenium[J]. Microbiology China, 2017, 44(1): 96-107 (in Chinese).
- [24] 王文凡, 刘银秀, 谢晓杰, 杨健, 赵卓群, 王敏, 郑华宝. 牛粪堆肥中纤维素高效降解菌的筛选与产酶条件优化[J]. 微生物学通报, 2023, 50(11): 4796-4811.
- WANG WF, LIU YX, XIE XJ, YANG J, ZHAO ZQ, WANG M, ZHENG HB. Screening of efficient cellulose degrading bacteria in cow manure compost and optimization of enzyme production conditions[J]. Microbiology China, 2023, 50(11): 4796-4811 (in Chinese).
- [25] 杨涛, 姚阳阳, 王治业, 党昇荣, 毛婷, 牛永艳, 彭桐, 王引权. 复合菌剂调控连作当归根围土壤养分及对产量的影响[J]. 微生物学通报, 2022, 49(7): 2648-2660.
- YANG T, YAO YY, WANG ZY, DANG SR, MAO T, NIU YY, PENG T, WANG YQ. Effects of complex bacterium inoculants on rhizosphere soil nutrients and yield of *Angelica sinensis* in continuous cropping[J]. Microbiology China, 2022, 49(7): 2648-2660 (in Chinese).
- [26] 朱华玲, 班立桐, 黄亮, 王玉, 杨红澎, 孙宁. 几种真姬菇菌种保藏方法的保藏效果对比[J]. 微生物学通报, 2019, 46(9): 2353-2361.
- ZHU HL, BAN LT, HUANG L, WANG Y, YANG HP, SUN N. Effect comparison of several preservation methods for strains of *Hypsizygus marmoreus*[J]. Microbiology China, 2019, 46(9): 2353-2361 (in Chinese).