

# 蜜环菌培养条件优化

闫 军,王 欢,孙冬梅

(黑龙江八一农垦大学,黑龙江 大庆 163319)

**摘要:**蜜环菌营养丰富,具有药用价值,同时又是人工栽培天麻及猪苓的重要营养源。利用平板培养法,研究不同碳源、氮源、pH、温度对蜜环菌菌丝体生长的影响,获得蜜环菌的最佳培养条件。结果表明:在供试条件下,蜜环菌的最适生长温度为25~30℃,最适pH为5.0~7.0,最佳碳源是葡萄糖,最佳氮源是蛋白胨。

**关键词:**蜜环菌;生物学特性;培养条件

**中图分类号:**S646.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2016)03-0112-03 DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2016.03.0112

蜜环菌(*Armillaria mellea* (Wahl. ex Fr.) Karst.),别名榛蘑、蜜蘑、栎蘑、根腐蕈、根锁蘑、小蜜环菌,属真菌界,担子菌门,层菌纲,伞菌目,口蘑科,蜜环菌属<sup>[1-2]</sup>,是一种分布很广的食药兼用大型真菌。其味美可口,营养丰富,是中国珍贵药材天麻和猪苓的共生菌,是其主要营养源<sup>[3-4]</sup>。蜜环菌适应性强,分布范围广,在亚洲、欧洲、北美洲的一些国家都有分布。我国黑龙江、吉林、辽宁、河南、河北、山西、山东、甘肃、陕西、青海、内蒙古、西藏及台湾等省区都有分布<sup>[5]</sup>。

蜜环菌具有药用价值,对治疗腰腿疼痛、佝偻病、癫痫均有功效。经常食用蜜环菌,可预防视力减退、夜盲、皮肤干燥,并可增强人体对某些呼吸道及消化道传染病的抵抗力。

蜜环菌营腐生为主,兼营寄生生活<sup>[6]</sup>。子实体一般7 cm以上,丛生成伞状,具黄色或黄褐色的菌盖,直径5~15 cm<sup>[7]</sup>。蜜环菌的菌丝体是蜜环菌的基本结构,一般以菌丝和菌索两种形式存在,并相互转换着侵染寄主<sup>[8]</sup>。

国外最早报道蜜环菌可以引起多种针叶树及阔叶树根瘤病,其寄主植物多达300属,但并非完全致病,相反有些被蜜环菌侵染的植物生长旺盛,有的必须有该菌侵染,植物才能正常生长发育<sup>[9]</sup>。由于中药天麻及猪苓必须依靠蜜环菌侵染提供营养才能生长繁殖,因此,引起国内外学者对该菌研究的极大兴趣<sup>[10]</sup>。近几十年来,国内外对蜜环菌进行了大量研究,结果证明蜜环菌发酵产物与天

麻有类似的药物作用,具有镇静、抗惊厥、增强耐缺氧能力及增强肌体免疫功能等作用<sup>[11]</sup>。本试验通过对蜜环菌培养条件的优化,研究蜜环菌的生物学特性,为进一步利用蜜环菌资源提供理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试菌种为蜜环菌 *Armillariella* sp. 保存于实验室。马铃薯琼脂培养基(PDA培养基):马铃薯200 g、葡萄糖20 g、蛋白胨5 g、磷酸二氢钾1 g、磷酸氢二钾0.5 g、硫酸镁0.5 g、硫酸素10 mg、琼脂20 g、水100 mL;基础培养基(改良察氏培养基):葡萄糖20 g、蛋白胨5 g、K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>1 g、KCl 0.5 g、MgSO<sub>4</sub>0.5 g、FeSO<sub>4</sub>0.01 g、琼脂20 g,加水1 000 mL,pH自然。

### 1.2 方法

试验于2015年9-12月在黑龙江八一农垦大学实验室进行。

**1.2.1 不同碳源对菌丝生长的影响** 以不加碳源的改良察氏培养基为基础培养基,供试碳源为:葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖、纤维素、淀粉、甘露醇。培养基配制灭菌后倒入平皿,按常规无菌操作将大小一致的接种块接入平皿中心,每个处理5次重复,25℃恒温培养,观察其菌落形态变化,测其菌丝生长直径。

**1.2.2 不同氮源对菌丝生长的影响** 以不加氮源的改良察氏培养基为基础培养基,供试氮源为:蛋白胨、酵母粉、尿素、豆饼粉、(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、KNO<sub>3</sub>。每个处理5次重复,25℃恒温培养,观察其菌落形态变化,测其菌丝生长直径。

**1.2.3 温度对菌丝生长的影响** 培养基采用PDA培养基,温度分别为10、20、25、30、37℃,共

收稿日期:2016-01-13

**第一作者简介:**闫军(1985-),男,山东省沾化县人,在读硕士,从事微生物开发与利用及生物防治研究。E-mail:33073116@qq.com。

**通讯作者:**孙冬梅(1970-),女,黑龙江省北安市人,博士,教授,从事微生物开发与利用及生物防治研究。

5个处理,每个处理重复5次,观察其菌落形态变化,测其菌丝生长直径。

1.2.4 pH对菌丝生长的影响 采用PDA培养基,用1 mol·L<sup>-1</sup> NaOH和1 mol·L<sup>-1</sup> HCl将培养基的初始pH分别调为4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0,共6个处理,每个处理5次重复,25℃恒温培养,观察其菌落形态变化,测其菌丝生长直径。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同碳源对蜜环菌生长的影响

通过不同碳源的添加测定菌丝生长速率发现:供试的7种碳源中,葡萄糖为最佳碳源,最适合蜜环菌的生长(见表1),菌丝生长速率为17.5 mm·d<sup>-1</sup>;该蜜环菌在利用蔗糖、麦芽糖这两种碳源时菌丝生长速率也较快,且二者生长能力差异不显著,但对淀粉的利用能力最差;尽管能够利用纤维素和乳糖,但菌丝的长势比较微弱(见表1)。

表1 蜜环菌在不同碳源处理的菌丝生长速率和特征

Table 1 The mycelium growth rate of *Armillaria mellea* in different carbon sources

碳源 Carbon source	菌丝生长速率/(mm·d <sup>-1</sup> ) Mycelium growth rate	特征 Features
麦芽糖 Barley sugar	13.1±0.2 bB	++
蔗糖 Sucrose	13.0±0.1 bB	++
纤维素 Cellulose	10.0±0.1 dD	+
淀粉 Starch	8.5±0.1 fF	+
葡萄糖 Glucose	17.5±0.2 aA	++++
乳糖 Lactose	9.0±0.1 eE	+
甘露醇 Mannitol	10.5±0.1 cC	++

++++:菌丝生长旺盛;+++ :菌丝生长中等;++ :菌丝生长中等偏弱;+ :菌丝生长稀少。下同。  
++++: exuberant grown; +++ : medium grown; ++ : medium weak grown; + : scarce grown. The same below.

### 2.2 不同氮源对蜜环菌生长的影响

由表2可知,蜜环菌在所试不同氮源条件下都能生长,不同氮源条件下蜜环菌的生长状态差异显著。蛋白胨作为氮源,蜜环菌菌丝生长速率最大,为19.5 mm·d<sup>-1</sup>,尿素作为氮源时蜜环菌菌丝生长速率最慢,为13.5 mm·d<sup>-1</sup>,无机氮硝酸钾、硫酸铵作为氮源情况下,蜜环菌菌丝生长速率分别为17.0、16.5 mm·d<sup>-1</sup>。

表2 蜜环菌在不同氮源下菌丝生长速率和生长特征

Table 2 The mycelium growth rate and characteristics of *Armillaria mellea* in different nitrogen sources

氮源 Nitrogen source	菌丝生长速率/(mm·d <sup>-1</sup> ) Mycelium growth rate	特征 Features
酵母粉 Yeast powder	14.5±0.1 eE	++
蛋白胨 Peptone	19.5±0.1 aA	++++
硝酸钾 Potassium nitrate	17.0±0.1 cC	+++
豆粕粉 Soybean powder	18.0±0.1 bB	+++
尿素 Carbamide	13.5±0.1 fF	++
硫酸铵 Ammonia sulfate	16.5±0.1 dD	+++

### 2.3 温度对蜜环菌生长的影响

由图1可知,蜜环菌在不同温度下生长状况差异较大,在37℃下蜜环菌菌体无法生长,在10~30℃范围内蜜环菌菌丝均可生长,其中25和30℃下蜜环菌生长最好,二者差异较小,10~20℃次之。当温度低于20℃时菌丝生长速度缓慢,在20~30℃时菌丝生长较快,当温度高于30℃时生长速度下幅很大。

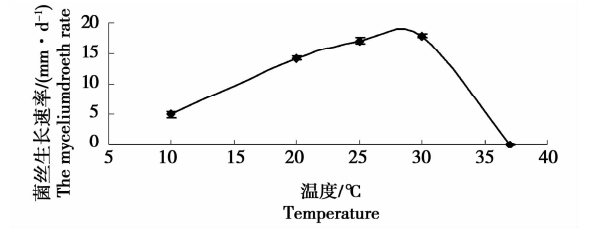


图1 蜜环菌在不同温度处理下菌丝生长速率

Fig. 1 The mycelium growth rate and characteristics of *Armillaria mellea* in different temperatures

### 2.4 pH对蜜环菌的影响

从图2看出,蜜环菌在pH 3.0~9.0均可生长,其中pH 6.0时生长状况最好,在6.0处随着pH的升高或降低其菌丝生长速率减小。

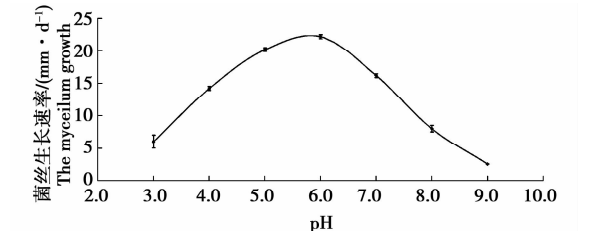


图2 蜜环菌在不同pH处理下菌丝生长速率

Fig. 2 The mycelium growth of *Armillaria mellea* in different pH

3 结 论

采用平板培养法,对蜜环菌在不同碳源、氮源、温度、pH 条件下的生长状态做试验研究。通过试验可以看出,蜜环菌的生长对碳源的选择性高于对氮源的选择性,虽然多种不同碳源均能利用,但生长状况差别很大,表明蜜环菌对不同碳源的利用能力差别很大,其中葡萄糖作为碳源时蜜环菌生长最好,为最佳碳源。在对氮源的利用上,不管是无机氮还是有机氮,生长状况差别小于不同碳源间的差别,其中蛋白胨作为氮源时生长最好,为最佳氮源。在供试温度范围内,25~30℃为最适生长温度,37℃停止生长,在 10℃低温条件下仍可生长。供试的 pH 范围内,pH6.0 最适合蜜环菌生长,随着 pH 的升高或降低其菌落直径减小。

参考文献:

[1] Kirk PM, Cannon PF, David JC, et al. Dictionary of the Fungi. 9th Edition[M]. CABI Publishing, 2001.

[2] 潘崇环,孙萍,龚翔,等. 珍稀食用菌栽培与名贵野生菌的开发利用[M]. 北京:中国农业出版社,2004: 223.

[3] 徐锦堂. 中国天麻栽培学[M]. 北京:北京医科大学中国协和医科大学联合出版,1993.

[4] 王秋颖,郭顺星,樊锦艳. 不同蜜环菌菌株生物学特性及菌丝体多糖含量的研究[J]. 中国药学杂志,2001,36(9): 588-590.

[5] 李福后,王伟霞. 5 株蜜环菌产几种胞外酶活性比较[J]. 淮海工学院学报,2006,15(3): 58-61.

[6] 吴兴亮,连宾,邹方伦. 贵州蜜环菌资源及其生态研究[J]. 贵州科学,2003,21(3): 56-60.

[7] Nagai K, Tanaka J. Synthesis and antitumor activities of mitomyein C (1-3)-beta-D-glucan conjugate [J]. Chem. Pharm. Bull., 1992, 40(8): 986.

[8] Kibo T. Polysaccharides in fungi XXIX. Structural features of two antitumor polysaccharides from the fruiting bodies of *Armillaria tabescens*[J]. Chemical and Pharmaceutical Bulletin., 1992, 40(8): 2212-2214.

[9] 郭顺星,徐锦堂. 蜜环菌索发育的研究[J]. 真菌学报,1992, 11(4): 308-313.

[10] 贺新生,吴钰娟. 野生假蜜环菌生物学特性[J]. 食用菌, 2008(2): 19-21.

[11] 程显好,郭顺星. 蜜环菌固体培养特性[J]. 中国医学科学院学报,2006,28(4): 553-557.

Optimization of Cultivation Conditions of *Armillaria mellea*

YAN Jun, WANG Huan, SUN Dong-mei

(Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing, Heilongjiang 163319)

**Abstract:** *Armillaria mellea* has medicinal value with rich nutrition, it is also the important nutrition source of artificial cultivation *Gastrodia elata* and *Polyporus*. The effects of different carbon sources, nitrogen sources, pH and temperatures on the mycelia growth were studied to obtain the optimization culture conditions. The results showed that the optimum growth temperature was 25℃ to 30℃ of *Armillaria* under the supplied temperature, the optimum pH was 6.0~8.0, the best carbon source was glucose, and the optimal nitrogen source was peptone.

**Keywords:** *Armillariella* sp.; biological characteristics; condition of culture

《黑龙江农业科学》理事会

理事长单位		代表	内蒙古丰垦种业有限公司	董事长	徐万陶
黑龙江省农业科学院	院长	李文华	理事单位		代表
副理事长单位		代表	黑龙江生物科技职业学院	院长	李承林
黑龙江省农业科学院佳木斯水稻研究所			宁安县农业委员会	主任	曾令鑫
	所长	潘国君	农垦科研育种中心哈尔滨科研所	所长	姚希勤
黑龙江省农业科学院五常水稻研究所	所长	张广柱	黑龙江农业职业技术学院	院长	李东阳
黑龙江省农业科学院克山分院	院长	邵立刚	黑龙江职业学院	院长	赵继会
黑龙江省农业科学院黑河分院	院长	魏新民	鹤岗市农业科学研究所	所长	姜洪伟
黑龙江省农业科学院绥化分院	院长	陈维元	伊春市农业技术推广中心	主任	张含生
黑龙江农业经济职业学院	院长	孙绍年	甘南县向日葵研究所	所长	孙为民
中储粮北方农业开发有限责任公司	总经理	戴传雄	萝北县农业科学研究所	所长	张海军
黑龙江省农垦总局	副局长	徐学阳	齐齐哈尔市自新种业有限公司	总经理	陈自新
常务理事单位		代表	黑龙江省农垦科学院水稻研究所	所长	解保胜
勃利县广视种业有限公司	总经理	邓宗环	黑龙江八一农垦大学农学院	院长	杨克军
黑龙江垦丰种业有限公司	总经理	刘显辉	绥化市北林区农业技术推广中心	主任	张树春
黑龙江农业经济职业技术学院	副院长	张季中	黑龙江省齐齐哈尔农业机械化学学校	校长助理	张北成