

泰山灰树花栽培种生长及出菇条件的研究

刘姗姗,邱珊珊,丰朝霞,朱孟娟

(山东农业大学 植物保护学院,山东 泰安 271018)

摘要:为推广泰山灰树花的栽培,以泰山灰树花为试验材料,采用单因素试验,研究了泰山灰树花栽培种培养基配方、菌丝发菌温度、出菇覆土与否以及出菇的温度和湿度。结果表明:泰山灰树花栽培种的最佳培养基配方为栗树木屑45%、棉籽壳33%、麦麸20%、石膏1%、白糖1%;栽培种最适发菌温度为24~28℃;出菇时需要进行覆土处理;出菇的适宜温度为20~24℃,相对湿度为90%。

关键词:泰山灰树花;培养基配方;出菇条件

灰树花(*Grifola frondosa*)属担子菌亚门,层菌纲,无隔担子菌亚纲,非褶菌目,多孔菌科,树花菌属,又名栗子蘑、莲花菌,日本俗称舞茸^[1]。子实体肉质脆嫩,口感鲜美,香味独特,营养丰富,是一种高档珍稀食用菌^[2]。同时灰树花还是一种十分珍贵的药用真菌^[3]。灰树花不仅富含丰富的氨基酸、膳食纤维、微量元素、维生素、有机酸等^[4],还含有很多生物活性物质如多糖^[5-8]、糖蛋白^[9-10]、蛋白质或肽类^[11-12]等,具有抗肿瘤、抗病毒、降血脂、降胆固醇、调节血糖、抑制糖尿病、提高免疫力等功效^[13-17]。

泰山灰树花俗称“泰山天花”,是泰山特有的食药两用菌,香味浓郁,口味极佳,既可鲜食又可制成干品,深受市场青睐^[18]。但因受到生产技术的限制,目前还没有进行大面积人工栽培。因此,本研究将对泰山灰树花栽培种的生长条件和出菇条件进行探索,以期为泰山灰树花的栽培推广提供试验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

菌种:泰山灰树花谷粒原种,由山东农业大学菌物基地提供。

栽培种培养基配方共4种,A:栗树木屑45%,棉籽壳33%,麦麸20%,石膏1%,白糖1%;B:栗树木屑60%,棉籽壳18%,麦麸20%,

石膏1%,白糖1%;C:栗树木屑75%,棉籽壳8%,麦麸15%,石膏1%,白糖1%;D:栗树木屑85%,麦麸13%,石膏1%,白糖1%。

1.2 方法

1.2.1 泰山灰树花栽培种培养基配方的筛选 (1)根据泰山灰树花的自然生长环境,设置1.1中的A、B、C、D四种栽培种培养基配方,依次使栗树木屑的含量由45%提高到85%。

(2)根据各配方,制作泰山灰树花栽培种。具体操作为拌料、装袋、灭菌、接种。

拌料:按各配方的各种营养成分的配比称量原料。将各原料边加水边搅拌混匀。培养料拌好后,闷20 min,使料吸水均匀,含水量50%~60%。

装袋:将拌好的培养料装入聚丙烯栽培袋(15 mm×30 mm)中,边装边压实,装好培养料后,从袋中央用锥形打孔棒打一个接种孔,孔深距袋底部2~3 cm,袋口用无棉盖体封口,最后将栽培袋表面擦干净。每种配方的栽培料装20袋即20个重复,每一袋的重量保持在440~450 g。

灭菌:栽培袋在121℃条件下灭菌2 h,冷却备用。

接种:将冷却后的栽培袋搬进超净工作台内紫外灭菌20 min。将预先准备好的泰山灰树花谷粒原种以无菌操作的方式接种到栽培袋中,每个栽培袋的菌种接种量为4.0 g,接种完成后盖上无棉盖体,并做标记。每种配方接种20袋。

(3)培养。接种完成后,将栽培袋移至生化培养箱进行培养,培养温度为24℃,黑暗培养。4 d后开始每2 d测量菌丝的生长长度并观察不同培养基配方下菌丝的颜色、疏密度,记录菌丝长满菌袋的时间。

收稿日期:2018-05-14

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金资助项目(31501813);山东省自然科学基金联合专项资助项目(ZR2015CL041)。

第一作者简介:刘姗姗(1992-),女,在读硕士,从事食用菌栽培研究。E-mail:985613622@qq.com。

通讯作者:朱孟娟(1985-),女,博士,副教授,从事食用菌栽培研究。E-mail:mengfan777@163.com。

1.2.2 泰山灰树花栽培种最适发菌温度的测定

通过1.2.1筛选出最佳培养基配方后,以最佳培养基配方重新按照上述方法制作泰山灰树花栽培种菌袋,共制作120袋并接种。将接种后的菌袋移至生化培养箱进行黑暗培养,培养温度分别设置为20、22、24、26、28、30℃,每个温度放置20个菌袋。4d后开始每2d测量菌丝的生长长度并观察不同温度下菌丝的颜色、疏密度,记录菌丝长满菌袋的时间。

1.2.3 覆土对泰山灰树花出菇的影响

按照筛选出的泰山灰树花栽培种最佳培养基配方制作栽培袋40袋并接种,将接种后的菌袋移至生化培养箱并按照最适发菌温度进行黑暗培养,直至菌丝长满菌袋,待用。

覆土土质的选择和处理:选择背风向阳,土壤团粒结构较好,吸水、保湿性能较好,有一定肥力但无病虫害污染源的地块,在此挖土,带回并灭菌,121℃,灭菌90min,备用。

菌袋的处理:取上述长满菌丝的菌袋,去掉无棉盖体,将灭菌后的土覆到袋内的培养基上,厚度约1cm,然后向覆土层洒水至覆土层刚刚湿透,共做20个重复。另取上述长满菌丝的菌袋20个,去掉无棉盖体,不做覆土处理。将这些栽培种菌袋放入温度为24℃、湿度为90%的人工气候培养箱中培养,前期黑暗培养,待覆土层长出菌丝时(第5天)增加光照,光照强度设置为300lx,每天通风,培养14d后,观察并记录出现原基的袋数和百分比。

1.2.4 温度对泰山灰树花出菇的影响

按照筛选出的泰山灰树花栽培种最佳培养基配方制作栽培袋并接种,将接种后的菌袋移至生化培养箱并按照最适发菌温度进行黑暗培养,直至菌丝长满菌袋。

取长满菌丝的菌袋,按照1.2.3的方法覆土1cm,共覆土80袋,分别放入湿度为90%,温度为18、20、22、24℃的人工气候培养箱中培养,每个温度放置20袋,前期黑暗培养,待覆土层长出菌丝时(第5天)增加光照,光照强度设置为300lx,每天通风,观察并记录出现原基的袋数和百分比。

1.2.5 湿度对泰山灰树花出菇的影响

按照筛选出的泰山灰树花栽培种最佳培养基配方制作栽培袋并接种,将接种后的菌袋移至24℃的生化培

养箱进行黑暗培养,直至菌丝长满菌袋。取长满菌丝的菌袋,按照1.2.3的方法覆土1cm,共覆土60袋,分别放入温度为24℃,湿度为75%、85%、90%的人工气候培养箱中培养,每个湿度放置20袋,前期黑暗培养,待覆土层长出菌丝时(第5天)增加光照,光照强度设置为300lx,每天通风,观察并记录出现原基的袋数和百分比。

1.2.6 数据分析

试验数据采用Excel 2007进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 泰山灰树花栽培种培养基配方的筛选

利用不同的培养基配方进行泰山灰树花栽培种的培养,由表1可知,在4种不同配方的培养基中,从菌丝长满菌袋的时间来看,A和B配方中菌丝长满菌袋的时间都为32d,比C、D配方中菌丝长满菌袋的时间短3d。但从菌丝长势来看,A配方的菌丝比B配方的菌丝密集旺盛,而且颜色洁白。从以上分析可以得出,栽培泰山灰树花的最佳培养基配方为A配方,即栗树木屑45%,棉籽壳33%,麦麸20%,石膏1%,白糖1%。

表1 泰山灰树花在不同培养料中的菌丝生长情况

Table 1 Mycelial growth situation of Taishan *Grifola frondosa* in different culture mediums

培养基 Culture medium	菌丝颜色 Hypha color	菌丝长势 Mycelial growth vigor	长满菌袋的时间/d Time of bags full of hypha
A	洁白	+++	32
B	洁白	++	32
C	洁白	++	35
D	乳白	++	35

“+++”表示菌丝密集,“++”表示菌丝较密集,“+”表示菌丝稀疏,下同。

“+++” means hyphae density, “++” means that hypha is relatively dense, “+” means hypha sparsity, the same below.

2.2 泰山灰树花栽培种最适发菌温度的测定

将接种后的泰山灰树花栽培袋放到不同温度的培养箱中发菌,由表2可知,在温度为24~28℃时,菌丝长满菌袋的时间最短,为31d,而且菌丝颜色洁白,密实。温度低于24℃或高于28℃时,菌丝长满菌袋的时间延长。在温度为20℃时,菌丝长满菌袋的时间延长至36d。

2.3 覆土对泰山灰树花出菇的影响

将长满菌丝的栽培袋一部分进行覆土处理,另一部分不覆土作为对照。在温度 24 ℃、湿度 90% 的条件下,培养 14 d 后,覆土的栽培袋全部

有原基形成(图 1a),没覆土的栽培袋中未发现有原基出现,且菌袋污染严重(图 1b)。以上结果表明,泰山灰树花的出菇需要进行覆土管理。



图 1 覆土(a)与未覆土(b)的泰山灰树花生长情况

Fig. 1 The growth conditioin of Taishan *Grifola frondosa* with casing soil(a) and without casing soil(b)

表 2 不同温度对泰山灰树花菌丝生长的影响

Table 2 Effects of different temperature on the growth of Taishan *Grifola frondosa* mycelium

温度/℃ Temperature	菌丝颜色 Hypha color	菌丝长势 Mycelial growth vigor	长满菌袋的时间/d Time of bags full of hypha
	++	+++	36
20	乳白	++	36
22	洁白	+++	33
24	洁白	+++	31
26	洁白	+++	31
28	洁白	+++	31
30	乳白	++	35

2.4 温度对泰山灰树花出菇的影响

将覆土后的菌袋分别放入湿度为 90%, 温度为 18、20、22、24 ℃的人工气候培养箱中培养, 14 d 后, 出现原基的情况如表 3 所示。在温度为 18~24 ℃ 时, 泰山灰树花都有原基形成。在 18 ℃ 时, 原基出现的百分率为 70%, 在 20、22 和 24 ℃ 时, 原基出现的百分率为 90%。以上结果表明, 泰山灰树花原基出现的适宜温度为在 20~24 ℃。

2.5 湿度对泰山灰树花出菇的影响

将覆土后的泰山灰树花菌袋分别放入温度为 24 ℃, 湿度为 75%、85%、90% 的人工气候培养箱中培养, 14 d 后, 出现原基的情况如表 4 所示。在湿度为 75% 时, 有 5 袋出现原基, 占比为 25%。

在湿度为 85% 时, 有 12 袋出现原基, 占比为 60%。当湿度达到 90% 时, 有 18 袋出现原基, 占比为 90%。以上结果说明, 在泰山灰树花原基形成期, 湿度非常重要, 最佳湿度为 90%。

表 3 不同温度下泰山灰树花原基出现情况

Table 3 The appearance of primordium in Taishan *Grifola frondosa* under different temperatures

温度/℃ Temperature	菌袋总数 Total number of bags	出现原基的袋数 Number of bags with primordium	占比/% Percentage
	of bags	with primordium	Percentage
18	20	14	70
20	20	18	90
22	20	18	90
24	20	18	90

表 4 不同湿度下泰山灰树花原基出现情况

Table 4 The appearance of primordium in Taishan *Grifola frondosa* under different humidity

湿度/% Humidity	菌袋总数 Total number of bags	出现原基的袋数 Number of bags with primordium	占比/% Percentage
	of bags	with primordium	Percentage
75	20	5	25
85	20	12	60
90	20	18	90

3 结论与讨论

泰山灰树花作为当地的一种珍稀食用菌,因为生产技术的限制,没有实现大规模的人工栽培,因此,其子实体在市场上往往出现一菌难求的局面。研究泰山灰树花的人工栽培条件,对于泰山灰树花的大面积推广种植,具有重要的意义。

在自然条件下,泰山灰树花多分布于海拔700~1 100 m 的针阔混交林或阔叶林中的板栗树下。为了更接近泰山灰树花原生状态的生存基质,本试验设计了含有不同质量分数栗树木屑的4 种培养基配方,以菌丝长满菌袋的时间为主要指标,结合菌丝颜色和菌丝疏密程度,筛选出了适合泰山灰树花生长的最适培养基配方,在泰山灰树花栽培培养基中添加栗树木屑,这在相关研究中尚数首次^[19-20]。本研究通过测定不同温度对泰山灰树花菌丝生长的影响,得出最适发菌温度为24~28 ℃,此结果与苏延友等^[19]的研究结果相符。有关泰山灰树花出菇是否需要覆土的问题,王庆武等^[20]研究了泰山灰树花的覆土栽培技术,本研究也在实验室条件下进行了试验,结果表明,对于泰山灰树花来说,覆土有助于泰山灰树花原基的形成。本试验还研究了泰山灰树花出菇的适宜温度和相对湿度,得出泰山灰树花出菇的适宜温度为20~24 ℃,相对湿度为90%。这与苏延友等^[19]得出的最适温度22 ℃,相对湿度90%的结果基本一致。

综上所述,本研究通过单因素试验法,系统研究了泰山灰树花栽培种培养基配方、菌丝发菌温度、出菇覆土与否、出菇的温度和湿度,得出泰山灰树花栽培种的最佳培养基配方为:栗树木屑45%,棉籽壳33%,麦麸20%,石膏1%,白糖1%;栽培种最适发菌温度为24~28 ℃;出菇时需要进行覆土处理;出菇的适宜温度为20~24 ℃,相对湿度为90%。

参考文献:

- [1] 于荣利,张桂玲,秦旭升.灰树花研究进展[J].上海农业学报,2005,21(3):101-105.
- [2] 杨冰峰,陶清泉,常学东,等.灰树花的生理功能和栽培技术研究进展[J].安徽农业科学,2017,45(26):126-128.
- [3] 甘长飞.灰树花及其药理作用研究进展[J].食药用菌,2014,22(5):264-267,281.
- [4] 马迪,冯娜,韩伟.灰树花子实体的化学成分研究[J].食用菌学报,2015,22(3):80-84.
- [5] 陈卓,吴克俭.灰树花多糖生物活性的研究进展[J].广东医学,2016,37(5):785-788.
- [6] Meng M, Cheng D, Han L, et al. Isolation, purification, structural analysis and immunostimulatory activity of water-soluble polysaccharides from *Grifola frondosa* fruiting body[J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 157:1134-1143.
- [7] Wang Y, Fang J P, Ni X Y, et al. Induction of cytokine release by GFPBW2, a novel polysaccharide from fruit bodies of *Grifola frondosa*, through dectin-1 in macrophages[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61: 11400-11409.
- [8] Mao G H, Ren Y, Li Q, et al. Anti-tumor and immunomodulatory activity of selenium(Se)-polysaccharide from Se-enriched *Grifola frondosa* [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2016, 82:607-613.
- [9] Cui F, Zan X, Li Y, et al. *Grifola frondosa* glycoprotein GFG-3a Arrests S phase, alters proteome, and induces apoptosis in human gastric cancer cells[J]. Nutrition and Cancer, 2016, 68(2):267-79.
- [10] Cui F, Zan X, Li Y, et al. Purification and partial characterization of a novel anti-tumor glycoprotein from cultured mycelia of *Grifola frondosa* [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2013, 62:684-690.
- [11] Alonso E N, Ferronato M J, Gandini N A, et al. Antitumoral effects of D-Fraction from *Grifola frondosa* (Maitake) mushroom in breast cancer [J]. Nutrition and Cancer. 2017, 69(1):29-43.
- [12] Gu C Q, Li J W, Chao F, et al. Isolation, identification and function of a novel anti-HSV-1 protein from *Grifola frondosa* [J]. Antiviral Research, 2007, 75: 250-257.
- [13] Carlos I E. The fungus maitake (*Grifola frondosa*) and its therapeutic potential[J]. Review Iberoam Ricana Micología, 2008, 25:141-144.
- [14] He X R, Wang X X, Fang J C, et al. Polysaccharides in *Grifola frondosa* mushroom and their health-promoting properties: A review[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2017, 101:910-921.
- [15] Klaus A, Kozarski M, Jovan V, et al. Biological potential of extracts of the wild edible basidiomycete mushroom *Grifola frondosa* [J]. Food Research International, 2015, 67: 272-283.
- [16] Masuda Y, Inoue H, Ohta H, et al. Oral administration of soluble b-glucans extracted from *Grifola frondosa* induces systemic antitumor immune response and decreases immunosuppression in tumor-bearing mice [J]. International Journal of Cancer, 2013, 133: 108-120.
- [17] Hong L, Xun M, Wu W T. Anti-diabetic effect of an alpha-glucan from fruit body of maitake (*Grifola frondosa*) on KK-Ay mice [J]. Journal of Pharmacy Pharmacology, 2007, 59: 575-582.
- [18] 王明才,于清伟,安秀荣,等.灰树花泰山-1生物学特性研究[J].山东农业科学,2014(6):73-75.
- [19] 苏延友,吴从平.泰山灰树花的生物学特性及人工培育技术[J].食用菌,2002,24(6):10-11.
- [20] 王庆武.泰山灰树花覆土栽培技术[J].食用菌,2009, 31(1):46-47.