

蜜环菌培养影响因子的多因素分析

江本利, 苏香峰, 储甲松, 路曦结 (安徽省农业科学院棉花研究所, 安徽合肥 230031)

摘要 [目的]探讨蜜环菌人工培养方法。[方法]研究菌材营养和 pH、光照、温度等环境条件下蜜环菌生长形态变化规律和生长量。[结果]pH 5.0 浸泡液浸泡菌材、黑暗条件有利于蜜环菌生长;温度较高有利于气生菌丝生长,温度较低有利于菌索生长;用带有栎树、棉秸秆的混合材料作菌材培养蜜环菌,可实现发菌快、菌索多的目的。[结论]试验结果为提高蜜环菌人工培养技术水平提供了理论依据。

关键词 蜜环菌;生长形态;生长量

中图分类号 S646 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2016)29-0001-02

Multi-factor Analysis of Influencing Factors on *Armillaria mellea* Culture

JIANG Ben-li, SU Xiang-feng, CHU Jia-song et al (Cotton Research Institute of Anhui Academy of Agricultural Sciences, Hefei, Anhui 230031)

Abstract [Objective] The aim was to discuss artificial culture method for *Armillaria mellea*. [Method] The change forms and increment of *Armillaria mellea* under different conditions such as material nutrition, pH, light, temperature were studied. [Result] The results showed that pH value of 5.0 for soaking material and dark conditions are conducive to the growth of *Armillaria mellea*; High temperature is in favor of aerial mycelium growth and low temperature is in favor of rhizomorph growth; Hybrid material with oak and cotton straw material can provide nutrition rapidly for *Armillaria mellea* and it is vigorous. [Conclusion] The results can provide theoretical basis for improving technical level of artificial cultivation of *Armillaria mellea*.

Key words *Armillaria mellea*; Growth form; Increment

蜜环菌是一种腐生、寄生兼性营养真菌,属于层菌纲伞菌目口蘑科蜜环菌属。其生物形态呈现复杂多样性,既有白絮状气生菌丝,又有紫红色根状菌索。蜜环菌具有较高的经济价值,与天麻、猪苓是共生关系^[1-2]。在天麻栽培生产中,蜜环菌生长与天麻产量呈正相关^[3];同样,猪苓菌核在其生长过程中不能完全自养,需要吸收蜜环菌菌索的代谢产物才能继续生长^[4]。另外,该类真菌本身具有药用、食用价值,科研工作者已开发出与蜜环菌有关的药品和保健品,如蜜环菌糖浆、蜜环菌浸膏、蜜环菌片、健脑露、蜜环菌酒和蜜环菌饮料等^[5]。这些产品的开发促进了蜜环菌资源需求,为了扩展菌材种类和来源,进一步完善人工培养蜜环菌技术,笔者在前人工作的基础上,通过将栎树、白杨的枝材和棉秸秆茎段粉碎成屑(过 1 cm 孔径)培养蜜环菌,分析了不同条件下蜜环菌生长的形态变化规律和生长量变化情况,研究了蜜环菌生长的适应特性。

1 材料与方 法

1.1 材料 菌材:栎树(青冈栎)枝材,采自安徽省安庆市岳西县石关乡黄羊村;杨树(意大利杨)枝材,采自安徽省安庆市迎江区龙狮乡前进村;棉秸秆(陆地棉),采自安徽省农业科学院棉花研究所安庆试验农场;菌种:蜜环菌种京-234,由陕西省洋县天麻研究所提供。液体培养基:马铃薯 200.0 g,葡萄糖 20.0 g,蛋白胨 5.0 g,磷酸二氢钾 3.0 g,硫酸镁 1.5 g,水 1 000 mL。

1.2 培养方法 将蜜环菌母种接入液体培养基,22 ℃、150 r/min 摇动培养 10 d,达到菌丝球直径 2.5 mm、菌液紫色时取用。分别取各种菌材碎屑(过 1 cm 孔径筛),烘干至恒

重;用 200 mL 玻璃瓶装料,每瓶装入 20.0 g 木屑、30 mL 固定 pH 的浸泡液(纯水 + 稀硫酸调成),盖紧瓶盖,121 ℃ 高压灭菌 2 h,冷却后接入 5 mL 液体菌种,放入三面透明培养箱,设定温度培养。

1.3 试验设计 设菌材、浸泡液 pH(以下简称 pH)、光照、温度 4 个因子,其中菌材设 4 个水平,即栎树(标记为 L)、杨树(Y)、棉秸秆(M)、三者 1:1:1 混合的材料(以下称为混材, H);pH 设 3 个水平,即 5.0、6.0、7.0,分别标记为 5、6、7;光照设 2 个水平,即室内自然光照(G)、完全黑暗(A);温度设 3 个水平,即 16、20、24 ℃,分别标记为 1、2、3。单个处理编号为 4 个因素标记的组合,例如 L5G1 表示该处理为在栎树菌材、pH 5、室内自然光照、16 ℃ 条件下培养蜜环菌,其他依此类推;数据处理表格中表示某个因子(组合)处理,用_代替其他因子水平,该因子(组合)符号不变,如 L__表示菌材因子为栎树的所有处理,L_G_表示栎树菌材和室内自然光照条件下的所有处理,其他依此类推。采用完全随机试验设计,共 72 个处理,3 次重复,合计 216 瓶。

1.4 调查方法 观察蜜环菌生长过程中的形态变化,记录培养 45 d 后各种形态长势的强弱并进行比较;记录培养瓶接种完毕初始质量及培养 45 d 后质量,以各因子水平下培养瓶的质量变化量为考察对象分析蜜环菌生长量变化。

1.5 数据处理 采用 SPSS 17.0 软件处理数据,通过方差分析检验各处理间的差异显著性,利用 LSR 法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 不同菌材营养与环境条件下蜜环菌生物学形态变化与比较 观察发现,蜜环菌在菌料上的生长大致分为 4 个阶段:①气生菌丝侵入菌料,白色菌丝生长扩展一定区域并累积成白絮状,菌丝分泌黏液,菌料和大量白色菌丝开始黏结成块;②菌料结块触到培养瓶的玻璃壁扩张受阻,从外看瓶壁上形成了以菌液渍痕为外缘的白色菌斑,气生菌丝从内伸

出继续侵入菌料;③菌斑内逐渐形成白色菌索,部分白色菌索初期呈扁平带状;④白色菌索从菌料结块突出,成为红色根状菌索,尖端保持白色,以菌索形式侵入菌料。

蜜环菌生长情况如上所述,但各因素水平下生长进度及生长势强弱有差异。在菌材营养方面(表1),以栎树为菌材,蜜环菌较易进入以菌索形态为主的生长阶段,菌丝生长较少;以杨树为菌材,菌丝生长缓慢,菌斑、菌索形成也较少;以棉秸秆为菌材,气生菌丝生长旺盛,多数经过白色菌斑的累积生长后才进入白色菌索生长阶段,45 d 红色根状菌索刚开始生长;以混材为菌材,与棉秸秆相似,但白色菌索较少,红色根状菌索稍多。在环境因素方面(表2),浸泡液 pH 5.0 条件下,红色菌索形成较多;完全黑暗条件下蜜环菌生长势较室内自然光照条件下强;24 ℃ 条件下白色菌斑、白色菌索

较 20、16 ℃ 条件下多,但红色菌索量无优势。

表1 不同营养因素下蜜环菌生长形态比较

Table 1 The growth morphology comparison of *Armillaria mellea* under different nutritional factors

蜜环菌形态 Morphology of <i>Armillaria mellea</i>	栎树 Oak	杨树 Poplar	棉秸秆 Cotton stalk	混合材料 Hybrid materials
气生菌丝 Aerial mycelium	++++	+++	++++	++++
白色菌斑 White plaque	++	++	++++	++++
白色菌索 White rhizomorph	++++	+	++++	+++
红色菌索 Red rhizomorph	++	-/+	+	++

注: -/+ 表示无或刚生成, + 表示有形成, + 的数量表示生长的程度;菌丝(斑、索)形成程度合计的算法为: + 的数量减去 - 的数量所得的差值。

Note: -/+ means no/ trace, + means accumulation, number of + means accumulations; the calculation method of the accumulations: + minus -.

表2 不同环境因素下的蜜环菌生长形态比较

Table 2 The growth morphology comparison of *Armillaria mellea* under different environmental factors

蜜环菌形态 Morphology of <i>Armillaria mellea</i>	浸泡液 pH Soak solution pH value			光照 Illumination		温度 Temperature/℃		
	5.0	6.0	7.0	室内自然光照 Indoor natural light	完全黑暗 Dark	16	20	24
				+++	+++			
气生菌丝 Aerial mycelium	++++	++++	++++	+++	+++	++++	++++	++++
白色菌斑 White plaque	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
白色菌索 White rhizomorph	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
红色菌索 Red rhizomorph	++	+	+	+	++	+	+	+

注: -/+ 表示无或刚生成, + 表示有形成, + 的数量表示生长的程度;菌丝(斑、索)形成程度合计的算法为: + 的数量减去 - 的数量所得的差值。

Note: -/+ means no/ trace, + means accumulation, number of + means accumulations; the calculation method of the accumulations: + minus -.

2.2 不同菌材营养与环境条件下蜜环菌生长量比较 蜜环菌生长量的多因素方差分析显示,菌材、温度对蜜环菌生长影响差异极显著,菌材与光照的交互作用对蜜环菌生长影响差异显著,光照与温度的交互作用对蜜环菌生长影响差异极显著。其他因子及交互作用对蜜环菌生长影响未达显著水平。

对差异显著的因子及其互作的进一步分析表明(表3):菌材方面,蜜环菌生长量大小顺序依次是棉秸秆、混材、栎树、杨树,其中棉秸秆和混材、栎树和杨树之间差异均不显著,棉秸秆、混材与栎树、杨树之间差异达极显著水平;温度因子方面,温度越高,蜜环菌生长量越大,3个温度水平之间差异均极显著;菌材×光照的交互作用方面,蜜环菌生长量大小顺序依次是 M_G_、H_G_、M_A_、H_A_、L_A_、L_G_、Y_A_、Y_G_、其中棉秸秆×室内自然光照、混材×室内自然光照条件下差异显著大于杨树×完全黑暗、杨树×室内自然光照条件下,其他水平组合间差异不显著;光照×温度的交互作用方面,蜜环菌生长量大小顺序依次是 __G3_、__A3_、__G2_、__A2_、__A1_、__G1_、不同光照和温度水平组合差异大,24、20 ℃ 有光条件下以及 16 ℃ 黑暗条件下蜜环菌生长量均较大。

3 结论与讨论

菌材是蜜环菌培养的物质基础,根据观察记录 and 数据分析,菌材的营养成分不仅影响蜜环菌的生长形态,也影响蜜环菌的生长量。蜜环菌在自然环境中往往生长在栎树茎干或根部^[6],有学者选用20余种阔叶树进行试验,认为适宜蜜

表3 不同因子及互作对蜜环菌生长量的多重比较

Table 3 Multiple comparisons of different factors and their interactions on *Armillaria mellea* growth

因子及互作 Factors and interactions	代号 Code	质量变化均数 Quality change mean//%
菌材 Material	L_	0.495 bB
	Y_	0.471 bB
	M_	0.616 aA
	H_	0.598 aA
温度 Temperature	_1	0.480 C
	_2	0.545 B
	_3	0.610 A
菌材×光照 Material × Illumination	L_G_	0.489 abA
	L_A_	0.502 abA
	Y_G_	0.464 bA
	Y_A_	0.478 bA
	M_G_	0.634 aA
	M_A_	0.597 abA
光照×温度 Illumination × Temperature	H_G_	0.631 aA
	H_A_	0.566 abA
	_G1	0.459 eD
	_G2	0.560 bcB
	_G3	0.645 aA
	_A1	0.501 dCD
	_A2	0.530 cdBC
	_A3	0.575 bB

注:相同因子同列数据后不同大、小写字母分别表示不同处理间在 0.01、0.05 水平差异显著。

Note: Data followed by different capital letters and lowercases in the same column stand for significant difference at 0.01 and 0.05 level among treatments.

国家Ⅱ级重点保护鸟类有白尾鹬、鱼雕、黑耳鸢、苍鹰、雀鹰、松雀鹰、灰林鸢、领角鸢、红腹角雉、红腹锦鸡、勺鸡、白冠长尾雉、红翅绿鸠、红脚隼、红隼、短耳鸢。

被列入《濒危野生动植物种国际贸易公约》的鸟类有画眉、白尾鹬、鱼雕、黑耳鸢、苍鹰、雀鹰、松雀鹰、灰林鸢、领角鸢、红脚隼、红隼、短耳鸢。

被列入《中国濒危动物红皮书》易危的鸟类有白冠长尾雉；稀有的鸟类有红脚隼。

3 讨论

蒲花河流域属于亚热带季风气候,水资源丰富,植被资源较优越,所以该地区鸟类资源较丰富,表现为森林鸟类占多数,以留鸟和夏候鸟等繁殖鸟类占主体,鸟类区系以东洋界种类占优势,符合我国西南地区山地鸟类的资源特点。

调查中发现与 20 世纪 90 年代相比,该地区的鸟类物种数和种群密度均有不同程度的下降。其原因可能在于:①近年来,随着城市化进程的加剧和大量的人为干扰,致使部分鸟类失去栖息地。②随着生活的改善,人们对野味的需求与日俱增,人为的大量捕杀导致部分鸟类失去原有的数量,部分种类目前已经很难发现。

(上接第 2 页)

环菌寄生的多为生长缓慢的壳斗科植物^[7]。该试验中,栎树菌材表现出较易生长白色菌索的特点,甚至有些白色菌索呈培养基中常出现的带状,显示营养供给很适宜、充足。棉秸秆、混材上蜜环菌生长量比栎树、杨树上大,这种超过栎树的生长量主要源于侵染前期的菌丝生长活动,显示出材质疏松的材料易被侵染的特点^[8];棉秸秆、混材上红色菌索生长量不弱于栎树,显示出蜜环菌对其供给的营养成分也有较好的适应性。杨树上蜜环菌可生长,但适应性弱于栎树、棉秸秆及混材上。从生长形态的统计结果看,与秦国夫等^[9-10]的研究结论一致,pH 5.0 条件下菌索生长较多;黑暗条件下菌丝、菌索都较光照条件下多;高温条件下菌丝生长比低温条件下有优势,红色菌索生长与低温条件下相比无优势。从生长量分析结果看,pH 和光照条件下差异都不显著,高温条件下生长量显著高于低温条件下,差异主要源于菌丝生长,菌索生长势差异不大。

蜜环菌菌丝侵入材料形成菌索,能给天麻、猪苓供养^[11],选用棉花秸秆或混合材料(可考虑以资源充足、营养适应性较好的菌材代替杨树),在微酸性(pH 5.0~6.0,有利于以后菌索生长)、黑暗条件下,以较高的温度(20~24℃)

基于上述分析提出以下建议:①保护好蒲花河流域自然环境,为鸟类提供更适宜的生存环境。②城市化进程中要尽可能地保持原生态的环境,减少对鸟类生存环境的干扰。③对部分需求量较大的野生鸟类可采用驯化方法扩大其数量,从而避免过度的人为捕杀。

参考文献

- [1] 冉江洪,刘少英,林强,等. 重庆三峡库区鸟类生物多样性研究[J]. 应用与环境生物学报,2001,7(1):45-50.
- [2] 苏化龙,林英华,张旭,等. 三峡库区鸟类区系及类群多样性[J]. 动物学研究,2001,22(3):191-199.
- [3] 苏化龙,马强,胥执清,等. 三峡水库蓄水 139 m 前后江面江岸冬季鸟类动态[J]. 动物学杂志,2005,40(1):92-95.
- [4] 李丽纯,冉江洪,曾宗永,等. 重庆库区不同海拔段繁殖鸟类群落的物种多样性[J]. 应用与环境生物学报,2006,12(4):537-542.
- [5] 吴雪,杜杰,李晓娟,等. 重庆江北机场鸟类群落结构及鸟击防范[J]. 生态学杂志,2015,34(7):2015-2024.
- [6] SUTHERLAND W J. 生态学调查方法手册[M]. 张金屯,译. 北京:科学技术文献出版社,1997:181-185.
- [7] 张荣祖. 中国动物地理[M]. 北京:科学出版社,1999:435-471.
- [8] 湖北省林业厅,湖北省水产局,湖北省野生动物保护协会. 湖北省重点保护野生动物图鉴[M]. 武汉:湖北科学技术出版社,1996:278-282.
- [9] 张正旺. 受《濒危野生动植物种国际贸易公约》保护的中国鸟类[J]. 中国鸟类研究简讯,2003,12(1):1-3.
- [10] 汪松,郑光美,王岐山. 中国濒危动物红皮书:鸟类[M]. 北京:科学出版社,1998:1-341.

先进行气生菌丝培养,蜜环菌生长进入白色菌斑阶段后降低温度至 16~20℃以促进菌索生长,是人工培养蜜环菌可选取的方式之一,能部分缓解壳斗科植物生长缓慢、资源不足的矛盾。

参考文献

- [1] 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社,1993:1-294.
- [2] 袁崇文,刘智,袁玉清,等. 中国天麻[M]. 贵阳:贵州科技出版社,2002:1-255.
- [3] 李志英. 缩短天麻栽培周期的研究[D]. 武汉:华中农业大学,2007.
- [4] 许广波,李太元,李艳茹. 药用真菌猪苓研究热点的进展[J]. 延边大学农学报,2012,34(3):262-266,272.
- [5] 杨淑云,林远崇,羿红,等. 珍稀食药菌——蜜环菌的开发与应用[J]. 生物学杂志,2007,24(3):52-54.
- [6] 刘冰,牛芸,张德著,等. 天麻共生蜜环菌母种及液体培养基的优化[J]. 中国食用菌,2012,31(3):28-31.
- [7] 宫喜臣. 天麻标准化生产技术[M]. 北京:金盾出版社,2010:67-69.
- [8] 张洁,秦俊哲,张大为. 菌材及土壤条件对天麻有效成分的影响[J]. 食用菌,2009(1):63-65.
- [9] 秦国夫,赵俊,郭文辉,等. 蜜环菌的生物学研究进展[J]. 东北林业大学学报,2004,32(6):89-94.
- [10] WEINHOLD A R, HENDRIX F F, RAABE R D. Stimulation of rhizomorph growth of *Armillaria mellea* by indole-3-acetic acid and figwood extract[J]. *Phytopathology*, 1962,52(8):757.
- [11] 姚启华,王绍柏. 天麻蜜环菌材培养技术的源起、发展与展望[J]. 食用菌,2013(6):5-6.