

## 不同温型巨大侧耳菌株的生物学特性及液体发酵条件研究

李婧怡<sup>1,2</sup>, 骈永茹<sup>2,3</sup>, 严廷良<sup>2,4</sup>, 杨 阳<sup>2,4\*</sup>, 李勤奋<sup>2,4\*</sup>, 李 玉<sup>5</sup>

1. 海南大学热带作物学院, 海南海口 570228; 2. 中国热带农业科学院环境与植物保护研究所/农业农村部热带农业绿色低碳重点实验室, 海南海口 571101; 3. 华中农业大学植物科学技术学院应用真菌研究所, 湖北武汉 430070; 4. 国家农业环境儋州观测实验站, 海南儋州 571737; 5. 吉林农业大学食药菌教育部工程研究中心, 吉林长春 130118

**摘要:** 巨大侧耳 (*Pleurotus giganteus*) 是国内新开发的一种珍稀食用菌, 具有典型的耐高温特性, 在热区食用菌产业发展中具有重要地位。本团队通过前期在热区进行巨大侧耳的规模化栽培, 筛选到 2 株具有不同出菇温型的菌株, 分别适合于热区的热季和凉季栽培, 可有效保障当地巨大侧耳市场的全年供应。为充分了解巨大侧耳的菌丝体营养需求和适宜培养条件, 本研究以筛选到的高温型 (PG46) 和中温型 (PG79) 巨大侧耳菌株为材料, 采用单因素和正交试验方法, 比较和分析 2 株菌的生物学特性和液体发酵条件, 并对液体发酵中菌丝体生长的动态变化规律进行研究。生物学特性研究表明: 在单因素试验中, PG46 和 PG79 的生长条件基本一致, 最适碳源为麦芽糖, 最适氮源为酵母浸粉和蛋白胨, 最适 pH 为 7, 最适温度为 25~28 °C; 但在 30 °C 时, 中温型菌株 PG79 的菌丝体开始遭受高温胁迫, 菌落形态开始出现不规则现象; 正交试验论证了单因素结果, 且各因素对菌丝生长的影响程度均为: 氮源>pH>温度>碳源。液体发酵试验结果显示: 在生物学特性基础上, 当摇床转速为 150 r/min, 装液量为 120 mL, 接种量为 12% 时, 更适宜巨大侧耳菌丝体生长; PG46 和 PG79 的菌丝体生长均呈“对数增长”的动态模式, 分别在第 15 天 (0.95 g) 和第 13 天 (1.09 g) 获得最高菌丝生物量, 且 PG79 始终高于 PG46, 与平板上的生长速率差异一致 (PG79>PG46)。研究结果可为不同温型巨大侧耳的规模化栽培、高温胁迫条件优化、杂交育种, 以及深入开展巨大侧耳的表型和基因型研究提供参考。

**关键词:** 巨大侧耳; 不同温型; 营养需求; 生长条件; 生物量

中图分类号: S646.14 文献标识码: A

## Biological Characteristics and Liquid Fermentation Conditions of *Pleurotus giganteus* Strains with Different Temperature Types

LI Jingyi<sup>1,2</sup>, PIAN Yongru<sup>2,3</sup>, YAN Tingliang<sup>2,4</sup>, YANG Yang<sup>2,4\*</sup>, LI Qinfen<sup>2,4\*</sup>, LI Yu<sup>5</sup>

1. College of Tropical Crops, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China; 2. Environment and Plant Protection Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences / Key Laboratory of Low Carbon Green Agriculture in Tropical China, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Haikou, Hainan 571101, China; 3. Institute of Applied Mycology, College of Plant Science Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan, Hubei 430070, China; 4. National Agricultural Experimental Station for Agricultural Environment, Danzhou, Hainan 571737, China; 5. Engineering Research Center, Chinese Ministry of Education for Edible and Medicinal Fungi, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118, China

**Abstract:** *Pleurotus giganteus* is a kind of rare edible fungus newly developed in China. It has typical high temperature resistance and plays an important role in the development of edible fungus industry in tropics. With the large-scale cultivation of *P. giganteus* in tropics, two strains with different fruiting temperature types were selected, which are suitable for cultivation in hot season and cold season respectively, and can effectively ensure the annual supply of the local *P. giganteus* market. In order to fully understand the nutritional needs and suitable culture conditions of *P. giganteus* my-

收稿日期 2022-08-01; 修回日期 2022-09-15

基金项目 海南省自然科学基金项目 (No. 322QN365); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项 (No. 1630042022003, No. 1630042022020)。

作者简介 李婧怡 (1996—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食用菌栽培技术。\*通信作者 (Corresponding author): 杨 阳 (YANG Yang), E-mail: yyjob1992@163.com; 李勤奋 (LI Qinfen), E-mail: qinfenli2005@163.com。

celia, the screened high-temperature strain (PG46) and med-temperature strain (PG79) of *P. giganteus* were used as the materials to compare and analyze the biological characteristics and liquid fermentation conditions with single factor and orthogonal experimental methods, and the dynamic changes of mycelia growth in liquid fermentation were further studied. The experimental data were analyzed by SPSS 26 software. The experiment results of biological characteristics showed that in the single factor experiment, the growth conditions of PG46 and PG79 were basically the same, the optimal carbon source was maltose, the optimal nitrogen sources were yeast extract powder and peptone, the optimal pH was 7, and the optimal temperature was 25–28 °C. However, the mycelia of PG79 began to suffer from heat stress at 30 °C, and the colony morphology became irregular. The orthogonal experiment proofed the single factor results, and the impact order of each factor on the mycelia growth of *P. giganteus* was: nitrogen source > pH > temperature > carbon source. The experimental results of liquid fermentation showed that on the basis of biological characteristics, when the rotating speed was 150 r/min, the liquid volume was 120 mL, and the inoculation amount was 12%, it was more suitable for the mycelia growth of *P. giganteus*. The mycelial growth of PG46 and PG79 showed a dynamic pattern of “logarithmic growth”, and the highest mycelia biomass was obtained at 15 d (0.95 g) and 13 d (1.09 g) respectively. The mycelia biomass of PG79 was always higher than that of PG46, which was consistent with the difference in growth rate between them (PG79>PG46). The study could provide references for the large-scale cultivation of *P. giganteus* strains with different temperature types, the optimization of heat stress conditions, cross breeding, and the further study of the phenotype and genotype of *P. giganteus*.

**Keywords:** *Pleurotus giganteus*; different temperature types; nutritional requirement; growth conditions; biomass

**DOI:** 10.3969/j.issn.1000-2561.2023.08.015

巨大侧耳[*Pleurotus giganteus* (Berk.) Karun. & K.D. Hyde], 又名大杯蕈、巨大香菇、猪肚菇, 是国内新开发的一种珍稀食药菌<sup>[1-2]</sup>。其营养丰富、口味独特, 具有抗肿瘤、抗氧化、降低肝损伤等多种药用功能, 备受消费者青睐, 具有较高的潜在市场价值<sup>[3]</sup>。巨大侧耳的纤维素降解能力强、环境适应性高、栽培技术相对简单, 逐步引起食用菌生产者的重视, 其栽培规模不断扩大, 目前已涵盖浙江、山东、北京、上海、云南、广东、福建、海南等多个省(市)<sup>[4]</sup>。热带地区年平均气温较高, 对食用菌出菇温度要求严格, 但多数食药菌属于中低温型, 如双孢菇(16~18 °C)<sup>[5]</sup>、金针菇(10~15 °C)<sup>[6]</sup>、黑木耳(20~25 °C)<sup>[7]</sup>等, 适合热区规模化栽培的食用菌种类相对较少。研究发现, 野生巨大侧耳多于夏末秋初的炎热季节出现, 主要分布于我国华中、华南地区, 以及东南亚和大洋洲等热带及亚热带地区, 人工栽培时也适宜在气温较高的夏季出菇, 对于解决食用菌生产淡季和调节市场供应具有一定意义, 特别是为热区食用菌产业发展提供新机遇<sup>[8]</sup>。

种质资源是食用菌研究的基础, 高质量的菌种在食用菌产业中至关重要<sup>[9]</sup>。近年来, 随着温室效应的不断加剧, 高温已成为限制食用菌在热区栽培的主要因素, 耐高温菌株的选育十分迫切。课题组通过前期在热区进行巨大侧耳的规模化栽

培, 筛选到 2 株具有不同出菇温型的巨大侧耳菌株, 中温型菌株 PG79 的适宜出菇温度为 22~24 °C, 适合热区的凉季(干季)栽培; 高温型菌株 PG46 可耐受 25 °C 以上高温, 适宜出菇温度为 26~30 °C, 适合热区的热季(湿季)栽培。不同温型巨大侧耳菌株的获得, 为我国热区全年栽培巨大侧耳提供了宝贵材料。

菌丝阶段是食用菌生长发育的重要阶段, 菌丝体培养质量的优劣直接影响食用菌出菇产量的高低<sup>[10]</sup>。因此, 探究 2 株不同温型巨大侧耳菌丝体生长的营养需求和环境条件, 对巨大侧耳的扩大化培养和稳定栽培至关重要。本研究采用单因素和正交试验的方法, 对不同温型巨大侧耳菌株进行生物学特性分析和液体发酵条件优化, 并对液体发酵中菌丝体生长的动态变化规律进行研究, 旨在获得巨大侧耳菌丝体生长的最佳培养基配方和培养条件, 以及不同温型菌株间的营养需求和生长条件差异。研究结果可为巨大侧耳的规模化栽培奠定基础, 进而推动热区食用菌产业的快速发展。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 供试菌株 实验室通过前期在热区进行规模化栽培, 筛选到 2 株不同温型的巨大侧耳菌株, 分别为高温型菌株 PG46, 中温型菌株 PG79, 菌种现保存于中国热带农业科学院环境与植物保护

研究所菌种保藏中心。

1.1.2 供试培养基 使用的基础培养基配方为：葡萄糖 20 g，蛋白胨 3 g，磷酸二氢钾 0.5 g，硫酸镁 0.5 g，琼脂 20 g，加水混匀后定容至 1 L。

## 1.2 方法

1.2.1 生物学特性分析 取 4 ℃ 试管斜面保存的菌种，接种于基础培养基平板上进行活化，28 ℃ 恒温暗培养至菌丝长至平板直径的 3/4，用于后续试验。

(1) 碳源对菌丝体生长的影响。分别以可溶性淀粉、蔗糖、果糖、麦芽糖、葡萄糖为碳源，以不加碳源为对照。用直径 8 mm 的无菌蓝枪头在已活化菌落边缘打孔取菌块，将菌块接种至碳源培养基正中央，28 ℃ 恒温暗培养至菌丝长满平板，每个处理设 3 次重复。采用“十”字交叉法，每隔 24 h 测量记录菌落直径，并拍照观察。

(2) 氮源对菌丝体生长的影响。分别以酵母浸粉、蛋白胨、尿素、硫酸铵和氯化铵为氮源，以不加氮源为对照。方法同 1.2.1-(1)。

(3) 温度对菌丝体生长的影响。以基础培养基为供试培养基，按照 1.2.1-(1) 接种后，分别置于 15、20、25、30、35、40 ℃ 培养箱恒温暗培养，分析适宜菌丝体生长的温度范围。然后，在适宜温度范围内划分为 20、23、25、28、30 ℃，明确菌丝体最适生长温度。测量方法同 1.2.1-(1)。

(4) pH 对菌丝体生长的影响。以基础培养基为供试培养基，用 1 mol/L HCL 和 1 mol/L NaOH 调节培养基 pH 为 5、6、7、8、9，自然 pH 为对照。方法同 1.2.1-(1)。

(5) 正交试验。基于单因素试验结果，分别从各因素中选取 3 个长势最好的培养条件，组成 4 因素 3 水平的正交试验，对培养条件进行验证和优化。方法同 1.2.1-(1)。

1.2.2 液体发酵条件优化 基于生物学特性试验，在 PG46 和 PG79 的最适培养条件下，开展巨大侧耳液体发酵的最适装液量、转速和接种量探究试验，并探究菌丝动态生长规律<sup>[11-12]</sup>。

(1) 装液量试验。配制液体培养基时，在 250 mL 三角瓶中，分别加入 80、100、120、150、180、200 mL 培养基。高温灭菌后，调节 pH 为 7，每瓶接入 10 片直径 5 mm 的菌块，置于摇床中恒温暗培养，设置转速 150 r/min，温度 28 ℃。培养 10 d 后，烘干称菌丝体干重。

(2) 转速试验。在 250 mL 三角瓶中加入

120 mL 培养基，接种后分别置于转速为 100、120、150、180、200 r/min 的摇床中培养 10 d。方法同 1.2.2-(1)。

(3) 接种量试验。在 250 mL 三角瓶中加入 120 mL 的培养基，分别设置 6%、8%、10%、12%、15% 的接种量，置于 150 r/min 摇床振荡培养 10 d。方法同 1.2.2-(1)。

(4) 生物量动态检测。以干重法测生物量。在液体发酵条件优化的基础上，分别以 120 mL 装液量（250 mL 三角瓶）、150 r/min 转速和 12% 接种量为最适条件，进行液体发酵。从发酵第 3 天开始，每隔 2 d 取样进行烘干称重，直至菌丝体的干重趋于平稳为止，菌丝干重即为菌丝生物量。方法同 1.2.2-(1)。

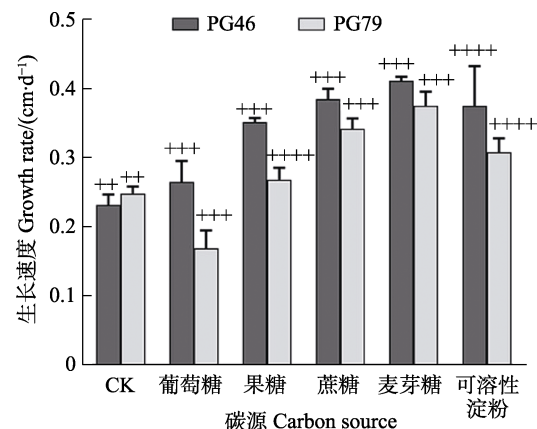
## 1.3 数据处理

利用 SPSS 26 软件对试验数据进行统计分析<sup>[13-15]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 生物学特性分析

2.1.1 碳源对菌丝体生长的影响 由图 1 可知，PG46 和 PG79 在 5 种供试碳源上均可生长。以麦芽糖为碳源时，2 株菌的菌落形态规则，菌丝较浓密且生长速度最大，分别为 0.41、0.38 cm/d；以可溶性淀粉为碳源时，2 株菌的菌丝生长速度较快，但菌落形态不规则；以果糖和葡萄糖为碳源时，PG46 菌丝生长速度较快且菌落规则，但 PG79 菌丝的生长速度较慢且菌落不规则。综上，2 株巨大



++++表示菌丝浓密；+++表示菌丝较密；++表示菌丝较稀疏；+表示菌丝稀疏。

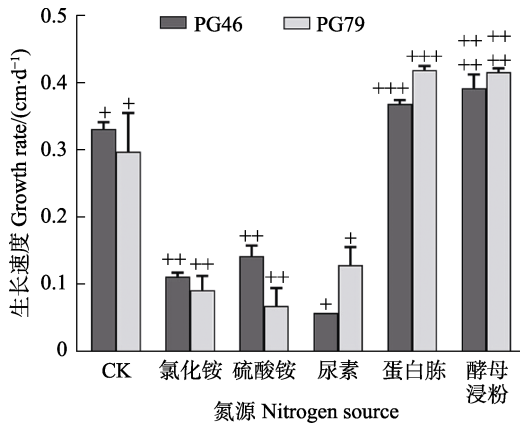
++++ indicate mycelia thickening; +++ indicate mycelia thicker; ++ indicate mycelia sparser; + indicates mycelia sparse.

图 1 不同碳源对巨大侧耳菌丝体生长的影响

Fig. 1 Effects of different carbon sources on mycelial growth of *P. giganteus*

侧耳的最适碳源均为麦芽糖，但以单糖为碳源时，2 株菌的利用效果存在差异。

2.1.2 氮源对菌丝体生长的影响 由图 2 可知，PG46 和 PG79 在 5 种供试氮源上均可生长，但生长速度和长势存在显著差异。以酵母浸粉和蛋白胨为氮源时，菌落形态规则，菌丝浓密且生长速度最快，分别为 0.39 cm/d 和 0.37 cm/d (PG46)、0.41 cm/d 和 0.42 cm/d (PG79)；以硫酸铵、氯化铵和尿素为氮源时，菌落形态均不规则且长势较差；不添加氮源时，菌丝生长速度虽较快，但均为气生菌丝且接近透明，不适宜菌丝生长。综上，2 株巨大侧耳的最适氮源相同，均为酵母浸粉和蛋白胨。



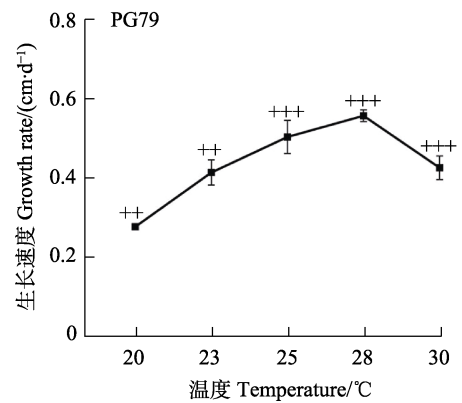
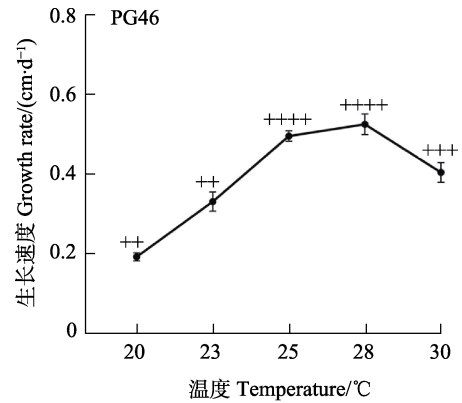
++++表示菌丝浓密；+++表示菌丝较密；++表示菌丝较稀疏；+表示菌丝稀疏。

++++ indicate mycelia thickening; +++ indicate mycelia thicker; ++ indicate mycelia sparser; + indicates mycelia sparse.

图 2 不同氮源对巨大侧耳菌丝体生长的影响

Fig. 2 Effects of different nitrogen sources on mycelial growth of *P. giganteus*

2.1.3 温度对菌丝体生长的影响 前期研究结果显示，PG46 和 PG79 菌丝生长的适宜温度范围均为 20~30℃，在该范围内进一步筛选各菌株的最适生长温度。结果显示（图 3），随着温度的升高，2 株菌的生长速度均呈先上升后下降的趋势。其中，PG46 在 25℃ 和 28℃ 时，菌丝生长速度快且浓密，分别为 0.50 cm/d 和 0.53 cm/d；PG79 在 28℃ 时，菌丝生长速度最快且浓密，为 0.56 cm/d；当温度高于 28℃ 时，菌丝生长速度均开始下降，并且中温菌株 PG79 的生长速度下降较明显且菌丝形态发生改变，菌落形态变得不规则（图 4）。综上，2 株巨大侧耳菌株的菌丝最适生长温度大致相同，均为 25~28℃，但菌丝体耐受温度范围不同，30℃ 时中温菌株 PG79 开始遭受高温胁迫。

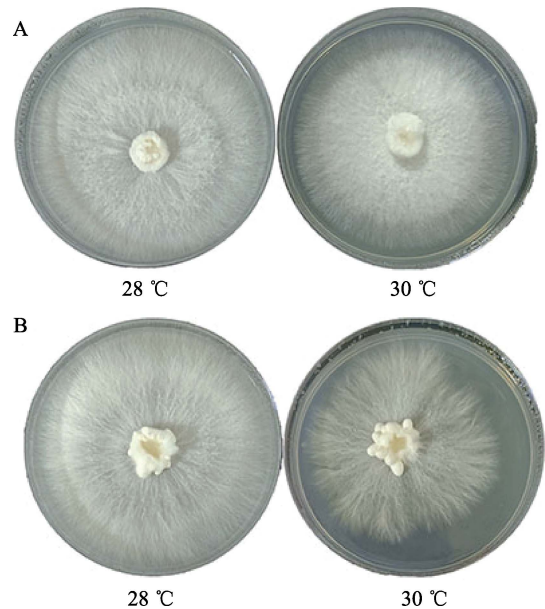


++++表示菌丝浓密；+++表示菌丝较密；++表示菌丝较稀疏；+表示菌丝稀疏。

++++ indicate mycelia thickening; +++ indicate mycelia thicker; ++ indicate mycelia sparser; + indicates mycelia sparse.

图 3 不同培养温度对巨大侧耳菌丝体生长的影响

Fig. 3 Mycelium growth at different culture temperatures of *P. giganteus*

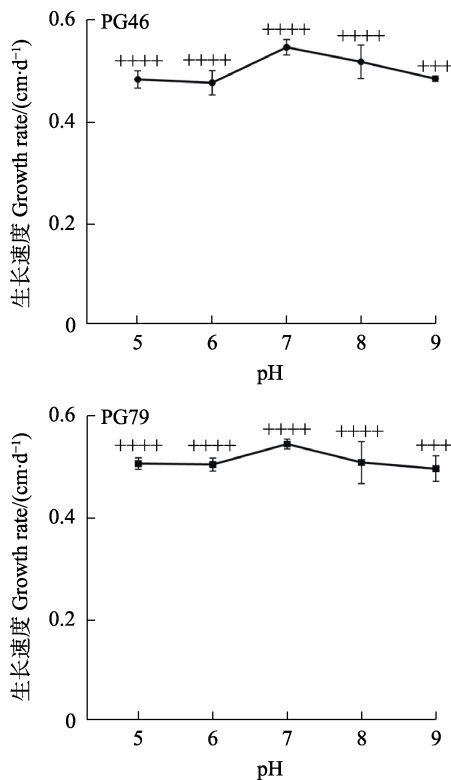


A: PG46; B: PG79.

图 4 菌株 PG46 和 PG79 在 28℃ 和 30℃ 时的菌落形态

Fig. 4 Colony morphology of strains PG46 and PG79 at 28℃ and 30℃

2.1.4 pH 对菌丝体生长的影响 由图 5 可知, PG46 和 PG79 在 pH 为 5~9 范围内均可生长, 且生长速度变化不大。当培养基偏酸性时, 菌丝洁白浓密且形态规则, 但生长速度较慢。随着 pH 升高, 菌丝生长速度加快, 在 pH 为 7 时生长速度最快, 分别为 0.55 cm/d 和 0.54 cm/d。当培养基偏碱性时, 随着 pH 的升高, 菌丝变稀疏且呈明显放射状, 但整体生长速度较快。综上, 2 株巨大侧耳的菌丝均适宜偏中性 (pH 7) 环境生长, 但适应的酸碱度范围较广。



++++表示菌丝浓密; +++表示菌丝较密; ++表示菌丝较稀疏; +表示菌丝稀疏。  
 ++++ indicate mycelia thickening; +++ indicate mycelia thicker; ++ indicate mycelia sparser; + indicates mycelia sparse.

图 5 不同 pH 对巨大侧耳菌丝体生长的影响

Fig. 5 Mycelium growth on different pH culture medium of *P. giganteus*

2.1.5 正交试验 由于单因素试验不能检测各因素的交互影响, 因此, 基于单因素试验结果, 开展正交试验 (表 1), 以进一步探究 2 株菌的最适生长条件。由表 2 和表 3 可知, PG46 和 PG79 在 9 种组合下均可生长, 且与单因素试验结果大致相同, 即以麦芽糖为碳源、酵母浸粉为氮源、培养温度为 28 °C、培养基 pH 为 7 (组合 1) 时, 为最适生长条件。但也存在一定差异, 除组合 1

外, PG46 在组合 7 (可溶性淀粉为碳源、酵母浸粉为氮源、培养温度为 25 °C、培养基 pH 为 8) 中, 菌丝生长也可达到最佳状态; PG79 在组合 4 (蔗糖为碳源、酵母浸粉为氮源、培养温度为 30 °C、培养基 pH 为 6) 和组合 7 中, 均可达到最佳生长状态。以上结果说明, 各因素间的交互作用对菌丝生长影响较大, 在统计分析中不可忽略。另外, 方差分析结果 (表 4, 表 5) 还显示, 4 个因素对菌丝生长的影响程度依次为: 氮源 > pH > 温度 > 碳源。

表 1 巨大侧耳菌丝生长的正交试验设计

Tab. 1 Orthogonal experimental design of mycelial growth of *P. giganteus*

水平 Level	因素 Factor			
	碳源 Carbon source	氮源 Nitrogen source	温度 Temperature/°C	pH
1	麦芽糖	酵母浸粉	28	7
2	蔗糖	蛋白胨	25	8
3	淀粉	硫酸铵	30	6

表 2 PG46 菌株的正交试验结果

Tab. 2 Orthogonal experimental results of PG46 strain

编号 No.	因素 Factor				菌丝生长速度 Mycelial growth rate/(cm·d <sup>-1</sup> )
	碳源 Carbon source	氮源 Nitrogen source	温度 Temperature	pH	
1	1	1	1	1	0.61±0.04 <sup>a</sup>
2	1	2	3	2	0.43±0.01 <sup>d</sup>
3	1	3	2	3	0.42±0.01 <sup>d</sup>
4	2	1	3	3	0.54±0.02 <sup>b</sup>
5	2	2	2	1	0.51±0.03 <sup>c</sup>
6	2	3	1	2	0.05±0.02 <sup>e</sup>
7	3	1	2	2	0.59±0.02 <sup>a</sup>
8	3	2	1	3	0.51±0.02 <sup>c</sup>
9	3	3	3	1	0.49±0.02 <sup>e</sup>
K <sub>1</sub>	1.450	1.730	1.160	1.600	
K <sub>2</sub>	1.100	1.450	1.520	1.070	
K <sub>3</sub>	1.590	0.960	1.460	1.470	
k <sub>1</sub>	0.483	0.577	0.387	0.533	
k <sub>2</sub>	0.367	0.483	0.507	0.357	
k <sub>3</sub>	0.530	0.320	0.487	0.490	
R	0.163	0.257	0.129	0.177	

注: 不同小写字母表示差异显著 (P<0.05)。

Note: Different lowercase letters indicate significant difference (P<0.05).

表 3 PG79 菌株的正交试验结果

Tab. 3 Orthogonal experimental results of PG79 strain

编号 No.	因素 Factor				菌丝生长速度 Mycelial growth rate/(cm·d <sup>-1</sup> )
	碳源 Carbon source	氮源 Nitrogen source	温度 Temperature	pH	
1	1	1	1	1	0.62±0.04 <sup>a</sup>
2	1	2	3	2	0.45±0.02 <sup>c</sup>
3	1	3	2	3	0.25±0.01 <sup>d</sup>
4	2	1	3	3	0.60±0.02 <sup>a</sup>
5	2	2	2	1	0.53±0.01 <sup>b</sup>
6	2	3	1	2	0.24±0.05 <sup>d</sup>
7	3	1	2	2	0.62±0.03 <sup>a</sup>
8	3	2	1	3	0.42±0.03 <sup>c</sup>
9	3	3	3	1	0.43±0.03 <sup>c</sup>
K <sub>1</sub>	1.320	1.840	1.280	1.580	
K <sub>2</sub>	1.370	1.400	1.400	1.310	
K <sub>3</sub>	1.470	0.920	1.480	1.270	
k <sub>1</sub>	0.440	0.613	0.427	0.527	
k <sub>2</sub>	0.457	0.467	0.467	0.437	
k <sub>3</sub>	0.490	0.307	0.493	0.423	
R	0.050	0.307	0.067	0.103	

注：不同小写字母表示差异显著 (P<0.05)。

Note: Different lowercase letters indicate significant difference (P<0.05).

表 4 PG46 菌株的方差分析

Tab. 4 Variance analysis of PG46 strain

来源 Source	平方和 Sum of squares	自由度 df	F	P
碳源	0.220	2	220.446	*
氮源	0.572	2	571.763	*
温度	0.126	2	126.306	*
pH	0.272	2	272.192	*
误差	0.019	39		
总和	11.078	48		

注：\*表示差异显著 (P<0.05)。

Note: \* indicates significant difference (P<0.05).

表 5 PG79 菌株的方差分析

Tab. 5 Variance analysis of PG79 strain

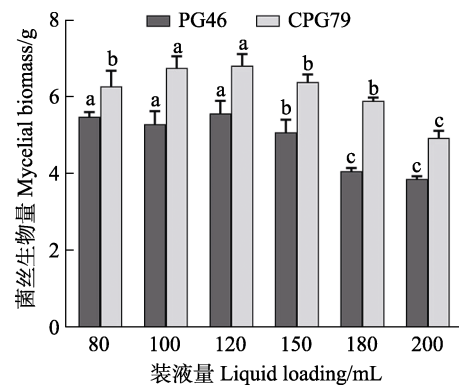
来源 Source	平方和 Sum of squares	自由度 df	F	P
碳源	0.021	2	9.404	*
氮源	0.732	2	323.177	*
温度	0.029	2	12.842	*
pH	0.093	2	40.986	*
误差	0.042	37		
总和	10.591	46		

注：\*表示差异显著 (P<0.05)。

Note: \* indicates significant difference (P<0.05).

## 2.2 液体发酵条件优化

2.2.1 装液量对液体发酵的影响 在液体发酵过程中, 250 mL 三角瓶中装液量直接影响菌丝体的供氧情况。由图 6 可知, 在一定范围内, 随着装液量的增加, PG46 和 PG79 的菌丝体生物量均呈先上升后下降的趋势。在装液量为 120 mL 时, 菌丝生物量均达到最大, 分别为 5.58 g/L 和 6.83 g/L, 且与 100 mL 装液量无显著性差异, 但菌丝球大小更均匀。综上, 2 株巨大侧耳液体发酵的最适装液量均为 120 mL。



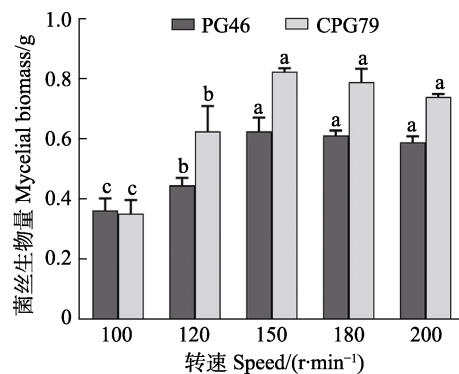
不同小写字母表示差异显著 (P<0.05)。

Different lowercase letters indicate significant difference (P<0.05).

图 6 装液量对巨大侧耳液体发酵菌丝体生物量的影响

Fig. 6 Effects of liquid volume on mycelial biomass of *P. giganteus* in liquid fermentation

2.2.2 转速对液体发酵的影响 由图 7 可知, 随着摇床转速的增加, PG46 和 PG79 的菌丝体生物量呈先增加后趋于平稳的趋势。当转速为 150 r/min 时, PG46 和 PG79 的菌丝生物量达最高, 分别为 0.62 g 和 0.82 g; 转速继续增大, 菌丝体生物量无显著变化, 但菌丝球大小均一度 and 生长



不同小写字母表示差异显著 (P<0.05)。

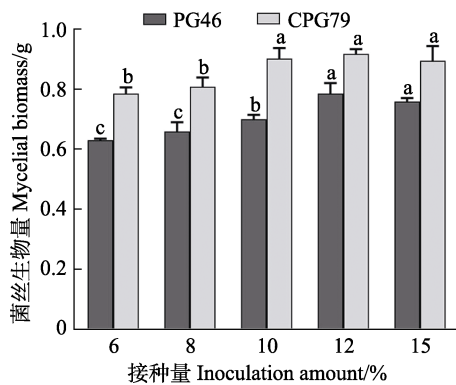
Different lowercase letters indicate significant difference (P<0.05).

图 7 转速对巨大侧耳液体发酵菌丝体生物量的影响

Fig. 7 Speed effects on mycelial biomass of *P. giganteus* in liquid fermentation

点数量有所下降。因此,综合菌丝生物量和菌丝球均一度指标,确定 150 r/min 为 2 株巨大侧耳液体发酵的最适摇床转速。

2.2.3 接种量对液体发酵的影响 由图 8 可知,PG46 和 PG79 的菌丝体生物量随着接种量的增加而增大。当接种量为 12% 时,菌丝生物量达到最大,分别为 0.79 g 和 0.93 g;其中,PG79 接种量为 10%、12%、15% 的菌丝体生物量无显著差异,但接种量为 12% 的菌丝球大小更均匀;PG46 接种量为 12%、15% 的菌丝体生物量无显著差异。因此,最终确定 2 株巨大侧耳菌株的最适接种量为 12%。



不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。

Different lowercase letters indicate significant difference ( $P < 0.05$ ).

图 8 接种量对巨大侧耳液体发酵菌丝体生物量的影响  
Fig. 8 Effects of inoculation amount on mycelial biomass of *P. giganteus* in liquid fermentation

2.2.4 菌丝生长动态变化 由图 9 可知,PG46 和 PG79 的菌丝体生长均呈“对数增长”模式,且 PG79 的菌丝生物量始终高于 PG46,与平板上的生长速度差异相符 (PG79 > PG46)。PG46 在发酵 3~9 d 时生长速度最快,第 9 天后生长变缓,

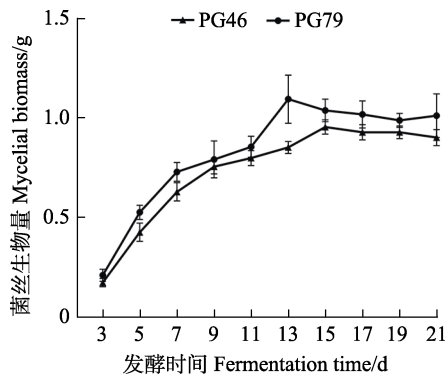


图 9 巨大侧耳液体发酵菌丝体生物量的动态变化

Fig. 9 Dynamic change of mycelial biomass of *P. giganteus* in liquid fermentation

第 15 天菌丝生物量最高 (0.95 g),之后趋于稳定;PG79 在发酵 3~7 天时生长速度最快,第 7 天后生长变缓,第 13 天菌丝生物量最高 (1.09 g),之后趋于平稳。

### 3 讨论

由于巨大侧耳的研究起步较晚,现有研究主要集中在分类地位、营养价值、活性成分、生物学特性、栽培技术等方面<sup>[3, 8]</sup>,但涉及的研究报道较少并且不够深入。其中,生物学特性研究大多只针对 1 株菌株开展,由于菌株间的遗传多样性,导致试验结果的通用性较差<sup>[16-17]</sup>。本研究以 2 株具有代表性的不同温型巨大侧耳菌株为材料,采用单因素和正交试验相结合的方法,从碳源、氮源、温度和 pH 4 个方面开展生物学特性研究,并对液体发酵条件进行优化,分析菌丝生长的动态变化。

在生物学特性试验中,PG46 和 PG79 的最适碳源均为麦芽糖,麦芽糖为二糖,与多数食用菌优先利用单糖或双糖的结果一致<sup>[18]</sup>。以酵母浸粉和蛋白胨为氮源时,2 株菌株菌丝浓密且长速较快,但以硫酸铵和氯化铵为氮源时,菌丝长势较差且菌落形态不规则,说明有机氮比无机氮更适宜巨大侧耳菌丝生长,可能与有机氮中提供的维生素、微量元素等营养物质相关<sup>[13, 19]</sup>。PG46 和 PG79 菌丝的最适生长温度均为 25~28 °C,但菌丝体耐受温度范围不同,30 °C 时 PG46 菌丝可正常生长,但 PG79 菌落形态变得不规则,这一现象与出菇温型相符。2 株菌株均适宜偏中性 (pH 7) 环境生长,与孟灵思等<sup>[20]</sup>的研究结果一致。在试验范围内 (pH 为 5~9),菌丝均长势较好,说明巨大侧耳适应的酸碱度范围较广,适合进行规模化推广。正交试验论证了单因素试验结果,但也存在部分差异,进一步说明在多因素试验中正交试验的必要性<sup>[21]</sup>。

液体发酵具有周期短、成本低、产量高的特点,是目前食用菌进行规模化栽培的主要发酵方式,同时也是生理活性物质提取的重要工艺<sup>[22-23]</sup>。三角瓶中的装液量直接影响菌丝体的供氧情况。随着装液量的增加,营养物质含量增加但氧气含量不断降低<sup>[24]</sup>。本研究中,当装液量达到 120 mL 时,菌丝生物量最大且菌丝球大小更均匀,说明此时营养物质含量和供氧水平达到平衡,过高或过低均不利于菌丝生长。同样,摇床转速也直接影响

到发酵液中的溶氧水平<sup>[25]</sup>。摇床转速过低时菌球过大, 当转速为 150 r/min 时, 菌丝生物量最高, 且菌丝球大小均匀, 但转速过高形成的菌球过小甚至无法形成完整菌球, 影响下一步研究。在工业化生产中, 接种量高低直接影响生产成本。当接种量为 12% 时, 菌丝生物量最高, 但与 15% 接种量无显著差异, 考虑成本, 最终确定 12% 为最适接种量。在液体发酵中, 发酵终点也是必须考虑的重要环节。由于培养过程中, 菌球处于封闭状态, 营养物质的消耗、氧气的耗损、菌球生长过程中生存空间的缩小及其所产生的次级产物, 均会影响菌球的生长<sup>[26]</sup>。本研究中, 2 株菌株的菌丝体生长呈“对数增长”模式。在发酵前 7 d (PG79) 或前 9 d (PG46) 时, 菌丝处于对数生长期, 菌丝活力旺盛, 长速最快, 可用于酶活性测定、原生质体制备等菌丝活力相关的研究<sup>[27-28]</sup>; 在发酵至 15 d 或 13 d 时, 菌丝生物量最高, 可用于生理活性成分提取和菌袋接种等菌丝生物量相关研究<sup>[22-23]</sup>; 继续发酵, 菌丝生物量降低, 不利于巨大侧耳的菌丝体生长。

综上, PG46 和 PG79 菌丝体的生物学特性基本一致, 最适碳源为麦芽糖, 最适氮源为酵母浸粉和蛋白胨, 最适 pH 为 7, 最适温度为 25~28 ℃。在生物学特性研究的基础上, 当摇床转速为 150 r/min, 装液量为 120 mL, 接种量为 12% 时, 更适宜巨大侧耳菌丝体的液体发酵, 且 PG46 和 PG79 的菌丝体生物量均呈“对数增长”的模式。研究结果可为不同温型巨大侧耳的规模化栽培奠定基础, 以进一步推动热区食用菌产业的发展。

## 参考文献

- [1] 李玉, 李秦辉, 杨祝良, 图力古尔, 戴玉成. 中国大型菌物资源图鉴[M]. 郑州: 中原农民出版社, 2015.  
LI Y, LI T H, YANG Z L, BAU T, DAI Y C. Atlas of Chinese macrofungal resources[M]. Zhengzhou: Zhongyuan Farmers Publishing House, 2015. (in Chinese)
- [2] 曾念开, 蒋帅. 海南鹦哥岭大型真菌图鉴[M]. 海口: 南海出版公司, 2020.  
ZENG N K, JIANG S. Atlas of macrofungi from Yinggeling of Hainan, China[M]. Haikou: Nanhai Publishing Company, 2020. (in Chinese)
- [3] 吴碧君. 巨大革耳研究现状及展望[J]. 安徽农业科学, 2020, 48(22): 25-27, 50.  
WU B J. Research progress and prospect for *Panus giganteus*[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2020, 48(22): 25-27, 50. (in Chinese)
- [4] 于海龙, 翟丹丹, 沈秀芬, 张美彦, 王宇星, 尚晓冬, 张丹, 李巧珍. 猪肚菇种质资源子实体数量性状变异及概率分级[J]. 食用菌学报, 2021, 28(2): 42-47.  
YU H L, ZHAI D D, SHEN X F, ZHANG M Y, WANG Y X, SHANG X D, ZHANG D, LI Q Z. Variation and probability classification of fruiting body quantitative characteristics in *Pleurotus giganteus* germplasm resources[J]. Acta Edulis Fungi, 2021, 28(2): 42-47. (in Chinese)
- [5] FU Y P, WANG X X, LI D, LIU Y, SONG B, ZHANG C L, WANG Q, CHEN M Y, ZHANG Z W, LI Y. Identification of resistance to wet bubble disease and genetic diversity in wild and cultivated strains of *Agaricus bisporus*[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2016, 17(10): 1568.
- [6] LIU X B, XIA E H, LI M, CUI Y Y, WANG P M, ZHANG J X, XIE B G, XU J P, YAN J J, LI J, NAGY L G, YANG Z L. Transcriptome data reveal conserved patterns of fruiting body development and response to heat stress in the mushroom-forming fungus *Flammulina filiformis*[J]. PLoS One, 2020, 15(10): e0239890.
- [7] 张振文, 姚方杰, 张作达, 林立铭, 余厚美, 王琴飞, 李开绵. 基于木薯茎秆屑栽培的黑木耳品质评价[J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2022, 37(2): 330-335.  
ZHANG Z W, YAO F J, ZHANG Z D, LIN L M, YU H M, WANG Q F, LI K M. Evaluation on the quality of *Auricularia auriculas* based on dust of cassava stalks[J]. Journal of Yunnan Agricultural University (Natural Science), 2022, 37(2): 330-335. (in Chinese)
- [8] 董洪新, 蔡德华, 李玉. 猪肚菇的研究现状及展望[J]. 中国食用菌, 2010, 29(3): 3-6.  
DONG H X, CAI D H, LI Y. Research situation and prospect of *Panus giganteus*[J]. Edible Fungi of China, 2010, 29(3): 3-6. (in Chinese)
- [9] 查璟, 刘文斌, 黄丽丽, 李佩娟. 食用菌菌种质量与菌种管理存在的问题及对策[J]. 农技服务, 2015, 32(4): 52.  
CHA J, LIU W B, HUANG L L, LI P J. Problems and countermeasures in the quality and management of edible fungi[J]. Agricultural Technology Service, 2015, 32(4): 52. (in Chinese)
- [10] 史刚荣. 平菇快速发菌优质高产栽培法[J]. 食用菌, 1994(4): 27.  
SHI G R. High quality and high yield cultivation of *Pleurotus ostreatus*[J]. Edible Fungi, 1994(4): 27. (in Chinese)
- [11] GANG J, LIU H, LIU Y. Optimization of liquid fermentation conditions and protein nutrition evaluation of mycelium from the caterpillar medicinal mushroom, *Cordyceps militaris*

- (Ascomycetes)[J]. International Journal of Medicinal Mushrooms, 2016, 18(8): 745-752.
- [12] DU P, CAO T X, ZHANG L L, HUANG Y Q, CHEN J Z. Cultivation and medicinal value of the red belt conk mushroom *Fomitopsis pinicola* (Agaricomycetes)[J]. International Journal of Medicinal Mushrooms, 2020, 22(10): 1021-1031.
- [13] 谢孟乐, 杨阳, 刘源, 张进武, 李丹, 张波, 冀瑞卿, 李玉. 松脂皱皮孔菌生物学特性及驯化栽培研究[J]. 食用菌学报, 2018, 25(4): 51-55, 141.  
XIE M L, YANG Y, LIU Y, ZHANG J W, LI D, ZHANG B, JI R Q, LI Y. Biological characteristics and domestication cultivation of *Ischnoderma resinosum*[J]. Acta Edulis Fungi, 2018, 25(4): 51-55, 141. (in Chinese)
- [14] 胡佳君, 马敖, 孟灵思, 徐帅, 程国辉, 张波, 李玉. 松软毡被孔菌生物学特性及驯化栽培[J]. 基因组学与应用生物学, 2019, 38(7): 3082-3089.  
HU J J, MA A, MENG L S, XU S, CHENG G H, ZHANG B, LI Y. Biological characteristics and domestication cultivation of *Spongipellis spumeus*[J]. Genomics and Applied Biology, 2019, 38(7): 3082-3089. (in Chinese)
- [15] 梁逸, 戴丹, 饶固, 李丹, 于寒, 张波, 李玉. 牡蛎形拟层孔菌生物学特性、驯化栽培及抗氧化活性[J]. 菌物学报, 2021, 40(8): 2074-2086.  
LIANG Y, DAI D, RAO G, LI D, YU H, ZHANG B, LI Y. Biological characteristics, domestic cultivation and antioxidant activities of *Fomitopsis ostreiformis*[J]. Mycosystema, 2021, 40(8): 2074-2086. (in Chinese)
- [16] 江玉姬, 谢宝贵, 刘新锐, 邓优锦, 陈东兴, 朱坚. 巨大革耳遗传多样性的 ISSR 分析[J]. 中国食用菌, 2012, 31(6): 32-34.  
JIANG Y J, XIE B G, LIU X R, DENG Y J, CHEN D X, ZHU J. Analysis of genetic diversity among germplasm of *Panus giganteus* by ISSR markers[J]. Edible Fungi of China, 2012, 31(6): 32-34. (in Chinese)
- [17] 陈雪凤, 潘庆流, 吴圣进, 刘增亮, 张雯龙, 石鹏, 韦贤平. 大杯蕈白色变异菌株形态特征及生物学特性研究[J]. 食用菌, 2022, 44(2): 21-25.  
CHEN X F, PAN Q L, WU S J, LIU Z L, ZHANG W L, SHI P, WEI X P. Study on morphological and biological characteristics of white mutant strains of *Pleurotus giganteus*[J]. Edible Fungi, 2022, 44(2): 21-25. (in Chinese)
- [18] 吴龙月, 马水丽, 何小芳, 苏琮葆, 叶丽云, 汤坤鹏, 吴小平. 红缘拟层孔菌菌丝的生物学特性研究[J]. 中国食用菌, 2022, 41(3): 30-34.  
WU L Y, MA S L, HE X F, SU Z B, YE L Y, TANG K P, WU X P. Study on mycelia biological characteristics of *Fomitopsis pinicola*[J]. Edible Fungi of China, 2022, 41(3): 30-34. (in Chinese)
- [19] 王婷, 包海鹰, 图力古尔, 李玉. 寄生于蒙古黄榆上的粗毛纤孔菌生物学特性及驯化栽培[J]. 菌物学, 2016, 35(6): 694-704.  
WANG T, BAO H Y, BAU T, LI Y. Biological characteristics and cultivation of *Inonotus hispidus* parasitizing on *Ulmus macrocarpa* var. *mongolica*[J]. Mycosystema, 2016, 35(6): 694-704. (in Chinese)
- [20] 孟灵思, 胡佳君, 马敖, 程国辉, 宋冰, 李玉. 野生大革耳的生物学特性及驯化栽培[J]. 北方园艺, 2018(21): 165-168.  
MENG L S, HU J J, MA A, CHENG G H, SONG B, LI Y. Selected biological characteristics and artificial cultivation of *Pleurotus gigantues*[J]. Northern Horticulture, 2018(21): 165-168. (in Chinese)
- [21] 汪阳, 李硕, 张桐, 郭艳芳, 李丹, 张波, 李玉. 裂拟迷孔菌生物学特性及驯化栽培分析[J]. 中国食用菌, 2019, 38(7): 9-14, 18.  
WANG Y, LI S, ZHANG T, GUO Y F, LI D, ZHANG B, LI Y. Biological characteristics and domestic cultivation analysis of *Daedaleopsis confragosa*[J]. Edible Fungi of China, 2019, 38(7): 9-14, 18. (in Chinese)
- [22] FENG J, FENG N, TANG Q, LIU Y, TANG C, ZHOU S, WANG J, TAN Y, ZHANG J, LIN C C. Development and optimization of the triterpenoid and sterol production process with Lingzhi or Reishi medicinal mushroom, *Ganoderma lucidum* strain G0017 (Agaricomycetes), in liquid submerged fermentation at large scale[J]. International Journal of Medicinal Mushrooms, 2021, 23(3): 43-53.
- [23] 刘海娟, 刘利娟, 郑素月, 许子洁, 郭纹余, 郭金英. 白灵菇液体发酵条件优化[J]. 北方园艺, 2021(18): 125-131.  
LIU H J, LIU L J, ZHENG S Y, XU Z J, GUO W Y, GUO J Y. Optimization of fermentation conditions for liquid spawn of *Pleurotus nebrodensis*[J]. Northern Horticulture, 2021(18): 125-131. (in Chinese)
- [24] 刘敏, 刘鹏冀, 赵玉涛, 卢红. 白背毛木耳液体发酵条件优化[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(21): 149-151, 175.  
LIU M, LIU P J, ZHAO Y T, LU H. Optimization of liquid fermentation conditions of *Auricularia cornea*[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2017, 45(21): 149-151, 175. (in Chinese)
- [25] 魏雅冬, 王广慧, 李贺, 李艳芳, 胡畔. 香菇液体发酵条件的优化[J]. 山西农业科学, 2016, 44(4): 506-508.  
WEI Y D, WANG G H, LI H, LI Y F, HU P. Study on optimization of mushrooms liquid fermentation conditions[J]. Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 2016, 44(4): 506-508. (in Chinese)

- [26] 刘海娟, 刘利娟, 郭纹余, 常晓宁, 郑素月, 郭金英. 白灵菇液体发酵菌种培养终点初探[J]. 食用菌, 2022, 44(1): 13-16, 23.
- LIU H J, LIU L J, GUO W Y, CHANG X N, ZHENG S Y, GUO J Y. Study on culture endpoint of liquid fermentation strain of *Pleurotus nebrodensis*[J]. Edible Fungi, 2022, 44(1): 13-16, 23. (in Chinese)
- [27] 程凡升, 生吉萍, 王仁爱, 申琳. 平菇液体培养液全波长光谱特性与漆酶产量关系研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2009, 29(8): 2157-2160.
- CHENG F S, SHENG J P, WANG R A, SHEN L. Relationship between the laccase production of *Pleurotus ostreatus* and the full wavelength scan for the fermentation liquid[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2009, 29(8): 2157-2160.
- [28] 邹彰毅, 邓百万. 姬松茸原生质体制备及再生条件优化[J]. 北方园艺, 2020(3): 128-137.
- ZOU Z Y, DNEG B W. Optimization of protoplasm preparation and regeneration conditions of *Agaricus blazei*[J]. Northern Horticulture, 2020(3): 128-137. (in Chinese)