



马紫英, 倪 焱, 魏要武, 等. 野生巨大口蘑 1 株新菌株 ITS 鉴定及菌丝培养基优化[J]. 华南农业大学学报, 2015, 36(3): 98-103.

# 野生巨大口蘑 1 株新菌株 ITS 鉴定及菌丝培养基优化

马紫英, 倪 焱, 魏要武, 聂 健, 杨水莲, 昌毓嵩, 莫美华

(华南农业大学 食品学院, 广东 广州 510642)

**摘要:**【目的】鉴定 1 株巨大口蘑 *Tricholoma giganteum* 新的野生菌株, 并优化其菌丝的最适培养基. 【方法】以 1 株野生巨大口蘑为研究对象, 采用组织分离法, 从野生巨大口蘑子实体中分离纯化得到纯菌丝, 利用分子生物学方法进行鉴定, 通过测定菌丝生长速度、菌丝长势等指标对其进行培养条件研究, 并运用均匀设计法对培养基进行优化, 采用二次多项式逐步回归方法对试验结果进行分析. 【结果和结论】该野生菌株经鉴定为巨大口蘑, GeneBank 编号为 JX193694, 命名为 SCAU3, 其菌丝生长的最适温度为 30 ~ 32 ℃, 最适 pH 为 7 ~ 8, 最佳碳源为麦芽糖, 最佳氮源为酵母膏. 经均匀设计法优化得到最适培养基组合: 麦芽糖 26 g · L<sup>-1</sup>, 酵母膏 2 g · L<sup>-1</sup>, MgSO<sub>4</sub> 2.7 g · L<sup>-1</sup>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.8 g · L<sup>-1</sup>, 维生素 B1 16 mg · L<sup>-1</sup>, pH7.7.

**关键词:** 巨大口蘑; ITS 鉴定; 培养基优化; 均匀设计; 温度; pH

中图分类号: S511; S502

文献标志码: A

文章编号: 1001-411X(2015)03-0098-06

## Identification of a new strain of *Tricholoma giganteum* by ITS and optimization of culture medium for mycelium

MA Ziying, NI Yan, WEI Yaowu, NIE Jian, YANG Shuilian, CHANG Yusong, MO Meihua  
(College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

**Abstract:**【Objective】A new wild strain of *Tricholoma giganteum* was identified and the culture medium of mycelium was optimized. 【Method】The pure mycelium of *T. giganteum* was obtained from the wild fruitbody by the tissue isolation and identified by molecular biological techniques. The culture condition of the mycelium was researched by measuring mycelial growth rate and growth vigor. The optimum growth medium of mycelium was determined by the uniform-design-method. The method of quadratic polynomial step regression analysis was employed for analyzing the experiment results. 【Result and conclusion】The wild strain was identified as *T. giganteum*, named as SCAU3. The accession number of ITS sequence was JX193694 in GeneBank. The results show that the optimum carbon source and nitrogen source for mycelium growth are maltose and yeast extract respectively. The optimum temperature is 30 – 32 ℃, and the optimum pH in medium was 7 – 8. The optimum medium for mycelial growth is maltose 26 g · L<sup>-1</sup>, yeast extract 2 g · L<sup>-1</sup>, MgSO<sub>4</sub> 2.7 g · L<sup>-1</sup>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.8 g · L<sup>-1</sup>, vitamin B1 16 mg · L<sup>-1</sup>, pH7.7.

收稿日期: 2014-01-18      优先出版时间: 2015-04-14

优先出版网址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/44.1110.s.20150414.0932.009.html>

作者简介: 马紫英 (1988—), 女, 硕士研究生, E-mail: ziying@163.com; 通信作者: 莫美华 (1966—), 女, 副教授, 博士, E-mail: mindymo@163.com

基金项目: 国家自然科学基金 (31272218); 国家星火计划项目 (2012GA780042, 2013GA780040); 广东省省部产学研项目 (2012B091100302); 广东省农业科技推广专项 (201201138); 广州市花都区科技计划项目 (HD13CXY-010)

<http://xuebao.scau.edu.cn>

**Key words:** *Tricholoma giganteum*; ITS identification; optimum culture medium; uniform design; temperature; pH

巨大口蘑 *Tricholoma giganteum*, 又名洛巴伊口蘑 *T. lobayense*、大白口蘑 *T. giganteum*, 属于担子菌亚门、层菌纲、伞菌目、口蘑科、口蘑属<sup>[1]</sup>. 巨大口蘑属高温食用菌<sup>[2]</sup>, 朵型优美、口感鲜脆<sup>[3]</sup>, 每年5—10月成群长出, 6—8月最多<sup>[1]</sup>, 在国外主要分布于非洲地区和亚洲的印度、孟加拉、日本等地, 国内主要分布于台湾、福建、广东、香港、广西、云南、湖南等地<sup>[4]</sup>. 1992年, 卯晓岚首次在香港中文大学校园内凤凰木 *Delonix regia* 树旁采到了1株巨大口蘑标本<sup>[5]</sup>; 1998年郭翠英等<sup>[6]</sup>在福建省亚热带植物研究所院内发现了1株野生大白口蘑, 经研究, 选育出了5株优质丰产菌株; 1998年, 刘月廉等<sup>[7]</sup>在湛江海洋大学校园内凤凰木附近也发现了该菌, 经鉴定为洛巴伊口蘑<sup>[8]</sup>; 随后, 在福建三明、湖南吉首、陕西、广西、厦门等地相继被采集到<sup>[4, 9-12]</sup>.

巨大口蘑营养丰富, 其多糖和粗蛋白质量分数分别为 365.9 和 115.9 g · kg<sup>-1</sup>; 含有 18 种氨基酸, 其中必需氨基酸为 74.4 g · kg<sup>-1</sup>, 占氨基酸总量的 40.63%, 达到 FAO/WHO 对理想蛋白质的要求<sup>[13]</sup>. 它还含有丰富的矿质元素, 如 K、Na、Ca、Mg、Fe、Zn 等<sup>[14]</sup>. 巨大口蘑具有抗氧化、抗肿瘤、提高免疫力、抑制高血压和艾滋病毒等多种功能<sup>[15-18]</sup>. 此外, 它还有抗细菌、真菌<sup>[19-22]</sup>等作用.

华南农业大学食品学院应用真菌课题组于 2011 年 5 月在华南农业大学校园内发现 1 株巨大口蘑野生菌, 该菌株生长在羊蹄甲 *Bauhinia purpurea* 的树根旁, 子实体周围长着野花生 *Alysicarpus vaginalis*, 这与以前报道的巨大口蘑通常生长在甘蔗 *Saccharum officinarum* 和凤凰木附近的土壤中不同. 其形态与我们以前采集到的菌株也不同, 单个幼小的子实体像保龄球, 成丛后像一朵盛开的菊花. 而前面采集到的菌株像绣球. 另外, 该菌株的发生期与我们已经报道的菌株相比提前了 1 个月. 因此有必要对其进行 ITS 鉴定及生物学特性研究, 结果发现其对营养的要求与前面的菌株不一致, 于是, 进一步利用均匀设计法优化了其培养基, 研究了其栽培学特性. 为其驯化栽培, 以及今后的产业化提供理论依据.

1 材料与方法

1.1 供试菌株

野生巨大口蘑菌株采自华南农业大学校园内羊蹄甲树根旁(图 1), 通过组织分离法分离培养得到纯化的菌丝.



图1 野生巨大口蘑菌株的生长环境  
Fig. 1 The growing environment of *Tricholoma giganteum*

1.2 ITS 鉴定

利用 ITS 通用引物 ITS4 和 ITS5 对分离的野生巨大口蘑菌种进行 ITS 鉴定. 通用引物 ITS4: 5'-TC-CTCCGCTTATTGATATGC-3'; ITS5: 5'-GGAAGTAAAGTCGTAACAAGG-3'. ITS-PCR 反应体系: *Taq* 酶 0.25 U, 10 × Buffer 5 μL, dNTP 44 μL, 模板 DNA 1 μL, ITS4/ITS5 各 1 μL, 反应总体积 50 μL, 用 ddH<sub>2</sub>O 补足. 扩增过程: 95 °C 预变性 5 min; 95 °C 变性 30 s, 55 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 1 min, 共 30 个循环; 72 °C 补平 10 min, 终止温度为 4 °C. 扩增产物送由北京六合华大基因科技股份有限公司测序.

1.3 培养基

PDA: 马铃薯(去皮)200 g, 葡萄糖 20 g, 琼脂 20 g, 水 1 000 mL.

培养基 I: 马铃薯(去皮)200 g, 葡萄糖 20 g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.5 g, MgSO<sub>4</sub> 0.5 g, 琼脂 20 g, 水 1 000 mL.

培养基 II: 葡萄糖 20 g, 蛋白胨 2 g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.5 g, MgSO<sub>4</sub> 0.5 g, 琼脂 20 g, 水 1 000 mL.

1.4 试验方法

1.4.1 测定方法 取生长期和长势一致的 PDA 平板上的菌落, 用直径 0.9 cm 的打孔器取长在同一直

径内的菌块,接入相应的培养基中央,恒温培养,菌丝萌发后,采用十字交叉法测量菌落直径,每隔 3 d 测量 1 次,记录菌丝长势,计算生长速度:

生长速度 = 菌落直径/生长时间.

1.4.2 温度筛选试验 试验采用培养基 I ,分别在 22、24、26、28、30、32、34 和 37 ℃ 条件下恒温培养,每个处理 5 个重复,观测不同温度对菌丝生长的影响.

1.4.3 pH 筛选试验 试验采用培养基 I ,调 pH 分别为 5、6、7、8 和 9,放置于 30 ℃ 恒温培养箱中培养,每个处理 5 个重复,观测不同 pH 对菌丝生长的影响.

1.4.4 碳源试验 试验所用的碳源包括葡萄糖、果糖、乳糖、蔗糖、麦芽糖、可溶性淀粉,分别用 20 g 的不同碳源代替培养基 II 中的葡萄糖,以不加碳源的培养基 II 做阴性对照,以培养基 I 做阳性对照,于 30 ℃ 恒温培养箱中培养,每个处理 5 个重复,观测不同碳源对菌丝生长的影响.

1.4.5 氮源试验 试验所用的氮源包括酵母膏、牛肉膏、蛋白胨、NaNO<sub>3</sub>、(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、尿素,分别用 5 g 的不同氮源代替培养基 II 中的蛋白胨,以不加氮源的培养基 II 做阴性对照,以培养基 I 做阳性对照,于 30 ℃ 恒温培养箱中培养,每个处理 5 个重复,观测不同氮源对菌丝生长的影响.

1.4.6 均匀设计优化最适培养基 采用均匀设计法优化野生巨大口蘑的培养基配方,在单因素试验结果的基础上,选择麦芽糖、酵母膏、MgSO<sub>4</sub>、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>、pH、维生素 B1 6 个因素作为参试因子,按照 6 因素 7 水平的均匀设计表 U<sub>7</sub>(7<sup>6</sup>)进行试验方案设计. 每个处理 5 个重复.

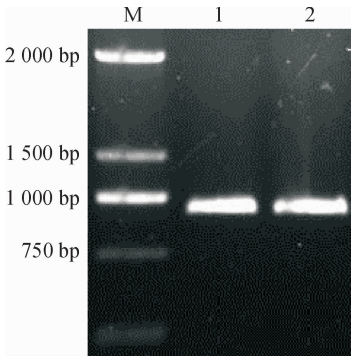
1.4.7 最适培养基验证试验 将优化出的最适培养基配方与优化试验中生长较快的培养基进行验证试验,每个处理 5 个重复,观测菌丝生长速度.

2 结果与分析

2.1 野生巨大口蘑的 ITS 鉴定结果

利用 ITS 通用引物对野生巨大口蘑进行 PCR 扩增(图 2)、测序并提交序列, GeneBank 编号为 JX193694,对测序结果进行剪切 BLAST 对比,目标序列与我们之前分离的菌株 SCAU1 (JX041888)、SCAU2 (JX068526)、Dongguanzhuang (JX068527) 及贵州分离的菌株 (EU051917) 的巨大口蘑有 99% 的相似性,与印度分离的 2 个菌株 JN006792、jn192443 的相似性为 98%,与印度其他菌株的相似性均低于

94%,与美国分离菌株的 AF042591 的相似性只有 35%,与日本分离的 3 个菌株的相似性只有 33%(图 3),因此,结合形态学鉴定可确定分离菌种为巨大口蘑 1 个新菌株,并命名为 SCAU3.



M:DNA maker DL2000;1、2: SCAU3.

图 2 菌株 SCAU3 的 ITS-PCR 扩增产物电泳图

Fig.2 Electrophoresis of PCR products of ITS from SCAU3

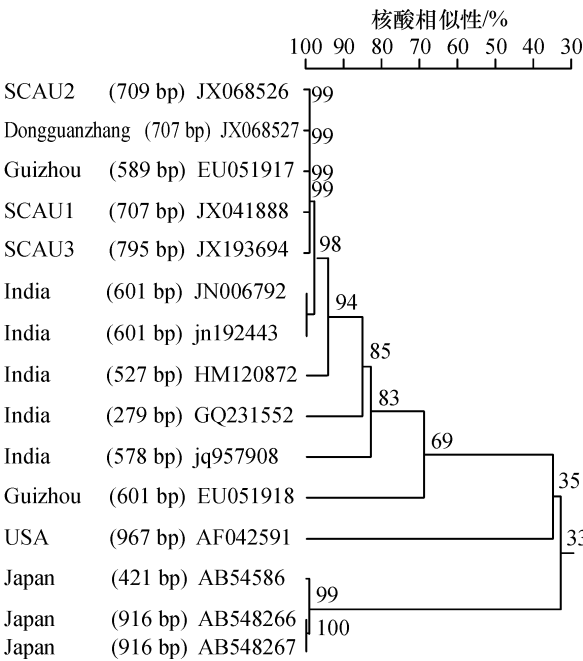


图 3 新菌株 SCAU3 与其他巨大口蘑的进化树

Fig.3 The phylogenetic tree of strain SCAU3 and *Tricholoma giganteum* related species

2.2 温度对菌丝生长的影响

温度对菌丝生长的影响明显,由表 1 可以看出,野生巨大口蘑菌丝生长的最适温度为 30 ~ 32 ℃,超过 37 ℃ 生长极其缓慢,低于 22 ℃ 几乎不生长.

2.3 pH 对菌丝生长的影响

由表 2 可以看出,菌丝在 pH5 ~ 9 中均可生长,在中性及中性偏碱条件下生长速度较快,在 pH5 ~ 9 的范围内菌丝均较浓密,但 pH5 ~ 8 菌丝洁白,pH9 菌丝发黄.野生巨大口蘑生长最适 pH 为 7 ~ 8.

表1 培养温度对野生巨大口蘑菌丝生长的影响  
Tab.1 Effect of temperature on the mycelial growth of *Tricholoma giganteum*

$\theta/^{\circ}\text{C}$	菌丝生长速度 <sup>1)</sup> / $(\text{mm}\cdot\text{d}^{-1})$	菌丝长势 <sup>2)</sup>
22	0.208 3±0.024 1 f	-
24	1.597 2±0.027 8 d	+
26	1.944 4±0.118 7 c	++
28	2.194 4±0.156 5 b	+++
30	2.680 6±0.013 9 a	+++
32	2.777 8±0.013 9 a	+++
34	2.131 9±0.025 0 bc	+++
37	0.513 9±0.018 4 e	+

1)同列数据后,凡具有一个相同小写字母者,表示差异不显著(Duncan's法, $P>0.05$ );2)-表示不生长,++表示生长稀疏,+++表示生长较致密,+++表示生长致密。

表2 培养基pH对野生巨大口蘑菌丝生长的影响  
Tab.2 Effect of pH on the mycelial growth of *Tricholoma giganteum*

pH	菌丝生长速度 <sup>1)</sup> / $(\text{mm}\cdot\text{d}^{-1})$	菌丝长势 <sup>2)</sup>
5	1.981 5±0.092 6 c	++
6	2.574 1±0.240 7 b	++
7	3.074 1±0.037 0 a	++
8	2.722 2±0.096 2 ab	++
9	2.388 9±0.115 6 bc	++

1)同列数据后,凡具有一个相同小写字母者,表示差异不显著(Duncan's法, $P>0.05$ );2)++表示生长较致密,+++表示生长致密。

2.4 碳源对菌丝生长的影响

菌丝在不同的碳源培养基中生长速度不同(表3)。在蔗糖中生长速度最快,但是菌丝不浓密。在可溶性淀粉中生长速度次之,且菌丝稀疏。在麦芽糖中菌丝最浓密,生长速度也较快。在无碳源对照中,虽然生长范围较大,但是菌丝非常稀薄、细弱。所以选择麦芽糖作为野生巨大口蘑生长的最适碳源。

表3 培养基碳源对野生巨大口蘑菌丝生长的影响  
Tab.3 Effects of carbon sources on the mycelial growth of *Tricholoma giganteum*

碳源	菌丝生长速度 <sup>1)</sup> / $(\text{mm}\cdot\text{d}^{-1})$	菌丝长势 <sup>2)</sup>
葡萄糖	1.916 7±0.137 1 b	+++
果糖	2.000 0±0.333 3 b	+++
乳糖	1.083 3±0.024 1 c	++
蔗糖	2.833 3±0.024 1 a	++
麦芽糖	2.513 9±0.077 3 a	+++
可溶性淀粉	2.822 9±0.057 4 a	++
无碳对照	2.666 7±0.000 0 a	+
PDA	2.527 8±0.073 5 a	++

1)同列数据后,凡具有一个相同小写字母者,表示差异不显著(Duncan's法, $P>0.05$ );2)+表示生长稀疏,++表示生长较致密,+++表示生长致密。

2.5 氮源对菌丝生长的影响

菌丝在不同氮源培养基中生长速度不同(表4),在尿素中不生长,在 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 中仅萌发出菌丝但是不再生长,在 $\text{NaNO}_3$ 中菌丝极稀疏,在牛肉膏和PDA中菌丝生长最快,但是菌丝不浓密,在酵母膏中菌丝生长速度较快,且菌丝浓密洁白。所以选择酵母膏作为野生巨大口蘑菌丝生长的最适氮源。

表4 培养基氮源对野生巨大口蘑菌丝生长的影响  
Tab.4 Effects of nitrogen sources on the mycelial growth of *Tricholoma giganteum*

氮源	菌丝生长速度 <sup>1)</sup> / $(\text{mm}\cdot\text{d}^{-1})$	菌丝长势 <sup>2)</sup>
酵母膏	2.395 8±0.097 0 ab	+++
牛肉膏	2.625 0±0.158 7 a	++
蛋白胨	1.888 9±0.263 9 bc	+++
$\text{NaNO}_3$	1.694 4±0.183 7 c	+
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0.000 0±0.000 0 d	-
尿素	0.000 0±0.000 0 d	-
无氮对照	1.930 6±0.180 6 bc	+
PDA	2.527 8±0.073 5 a	++

1)同列数据后,凡具有一个相同小写字母者,表示差异不显著(Duncan's法, $P>0.05$ );2)-表示不生长,++表示生长稀疏,+++表示生长较致密,+++表示生长致密。

2.6 最适培养基优化结果

均匀设计试验结果如表5,以菌丝生长速度为目标函数(Y),用DPSV9.5对数据进行二次多项式逐步回归分析,所得回归方程为:

$$Y=0.101\ 7+1.634\ 4X_1+0.004\ 6X_5^2-0.575\ 5X_1X_2-1.699\ 0X_1X_4+4.999\ 1X_2X_4.$$

对回归方程进行检验,得到相关系数 $R=0.999\ 997$ ,由此可见,菌丝生长速度与回归方程中试验因子的含量有密切的相关性,其显著性检验值 $F=36\ 450.659\ 6$ ,显著水平 $p=0.004\ 0<008.01$ ,剩余标准差 $S=0.002\ 2$ ,调整相关系数 $R=0.999\ 984$ ,回归方程极显著,说明方程的可信度高。

方程中各项试验因子的回归系数和t检验结果见表6。由表6可知,方程中各个回归项的显著水平均小于0.01,这说明麦芽糖、pH、麦芽糖与酵母膏、麦芽糖与 $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 、酵母膏与 $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 的交互作用对菌丝生长速度影响很大,达到极显著水平。

2.6.1 观察值和拟合值 由表7数据显示:观察值与拟合值接近,最大拟合误差绝对值仅为0.001 4,进一步说明了回归方程的准确性。

表 5 均匀设计试验结果  
Tab.5 The results of experiment based on uniform design

配方	$\rho(\text{麦芽糖})/(\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$ $X_1$	$\rho(\text{酵母膏})/(\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$ $X_2$	$\rho(\text{MgSO}_4)/(\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$ $X_3$	$\rho(\text{KH}_2\text{PO}_4)/(\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$ $X_4$	pH $X_5$	$\rho(\text{维生素 B1})/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$ $X_6$	菌丝生长速度 <sup>1)</sup> / (mm · d <sup>-1</sup> )
1	14	3	1.6	3.0	7.5	14	2.656 3 ± 0.340 4b
2	16	5	2.8	1.8	6.5	12	3.093 8 ± 0.252 6ab
3	18	7	1.2	3.4	5.5	10	3.359 4 ± 0.179 5a
4	20	2	2.4	2.2	8.0	8	3.593 8 ± 0.231 1a
5	22	4	0.8	3.8	7.0	6	3.093 8 ± 0.726 2ab
6	24	6	2.0	2.6	6.0	4	3.656 3 ± 0.231 1a
7	26	8	3.2	4.2	8.5	16	3.718 8 ± 0.449 2a

1) 同列数据后,凡具有一个相同小写字母者,表示差异不显著(Duncan's 法, $P > 0.05$ ).

表 6 各回归项的回归系数检验

Tab.6 The test results of the regression coefficient of the regression items

回归项	偏相关	$t$	$P$
$r(Y, X_1)$	1.000 0	274.701 4	0.002 3
$r(Y, X_5 X_5)$	0.999 9	64.007 8	0.009 9
$r(Y, X_1 X_2)$	-1.000 0	138.194 9	0.004 6
$r(Y, X_1 X_4)$	-1.000 0	235.938 1	0.002 7
$r(Y, X_2 X_4)$	1.000 0	178.317 7	0.003 6

2.6.2 验证试验 经数学模拟,分析得出一个最高指标时各个因素的优化组合,将此理论最优组合与组间最优处理配方 7(直观最优)进行验证,以确定野生巨大口蘑菌丝生长的最佳培养基,验证试验结果如表 8.

通过 DPS9.50 进行显著性分析,理论最优组合

表 8 不同培养基对野生巨大口蘑菌丝生长速度的影响

Tab.8 Effects of the growth of *Tricholoma giganteum* in different culture media

试验号	$\rho(\text{麦芽糖})/(\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$ $X_1$	$\rho(\text{酵母膏})/(\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$ $X_2$	$\rho(\text{MgSO}_4)/(\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$ $X_3$	$\rho(\text{KH}_2\text{PO}_4)/(\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$ $X_4$	pH $X_5$	$\rho(\text{维生素 B1})/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$ $X_6$	菌丝生长速度 <sup>1)</sup> / (mm · d <sup>-1</sup> )
理论最优	26	2	2.7	1.8	7.7	16	3.527 8 ± 0.088 1 a
配方 7	26	8	3.2	4.2	8.5	16	3.722 2 ± 0.047 6 a

1) 同列数据后,凡具有一个相同小写字母者,表示差异不显著(Duncan's 法, $P > 0.05$ ).

3 讨论与结论

ITS 序列分析在食用菌快速分类鉴定方面有着极大的优势,本试验通过 ITS 鉴定及在 NCBI 中 BLAST 后,发现 SCAU3 与 guizhou (基因编号为 EU051917.1)以及我们之前分离的 3 个菌株(基因编号分别为 JX041888、JX068526、JX068527)有 99%

与组间最优配方 7 的菌丝生长速度无显著性差异.因此,野生巨大口蘑菌丝生长最适培养基为:麦芽糖 26 g · L<sup>-1</sup>,酵母膏 2 g · L<sup>-1</sup>,MgSO<sub>4</sub> 2.7 g · L<sup>-1</sup>,KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.8 g · L<sup>-1</sup>,pH7.7,维生素 B1 16 mg · L<sup>-1</sup>.

表 7 样本配方的观察值、拟合值和拟合误差

Tab.7 The observed value, fitted value and fitted error of the samples

配方	观察值	拟合值	拟合误差
1	2.656 3	2.655 1	0.001 1
2	3.093 8	3.095 2	-0.001 4
3	3.359 4	3.359 2	0.000 1
4	3.593 8	3.593 7	0.000 1
5	3.093 8	3.094 5	-0.000 7
6	3.656 3	3.655 3	0.001 0
7	3.718 8	3.718 9	-0.000 2

的相似性,与 India 分离的几个菌株(基因编号分别为 JN006792、jn192443、HM120872、GQ231552、jq957908)的相似性分别为 98%、98%、94%、85%、83%,与美国分离菌株 AF042591 的相似性只有 35%,与日本分离的 3 个菌株的相似性只有 33%,显示出了此菌株与其他菌株的差异性,这说明该菌株为一个新菌株.

本文通过对野生巨大口蘑生长特性研究表明,在供试的葡萄糖、果糖、乳糖、蔗糖、麦芽糖、可溶性淀粉中,野生巨大口蘑菌丝生长的最适碳源为麦芽糖,其次是蔗糖;在供试的酵母膏、牛肉膏、蛋白胨、 $\text{NaNO}_3$ 、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、尿素中,野生巨大口蘑菌丝生长的最适氮源为酵母膏和牛肉膏,在无机氮中菌丝生长较差;菌丝的最适生长温度范围为  $30 \sim 32\text{ }^\circ\text{C}$ ,低于  $22\text{ }^\circ\text{C}$  菌丝不生长,高于  $37\text{ }^\circ\text{C}$  菌丝生长缓慢;菌丝在  $\text{pH}5 \sim 9$  范围内均可生长,最适  $\text{pH}$  为  $7 \sim 8$ 。在以上试验的基础上应用均匀设计试验对培养基进行优化,得到最适培养基为:麦芽糖  $26\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,酵母膏  $2\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $\text{MgSO}_4$   $2.7\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$   $1.8\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $\text{pH}7.7$ ,维生素 B1  $16\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

本试验中最适碳源为麦芽糖和蔗糖,这与上官建舟等<sup>[3]</sup>的研究结果相同,但与刘鸿高等<sup>[23]</sup>、刘月廉等<sup>[24]</sup>的研究结果有所不同,其分别为果糖和蔗糖;本试验的最适氮源为酵母膏,与其他学者的研究结果相同;最适  $\text{pH}$  试验结果差别很大,刘鸿高等<sup>[23]</sup>的大白口蘑最适  $\text{pH}$  为  $4 \sim 5$ ,刘月廉等<sup>[24]</sup>的洛巴伊口蘑最适  $\text{pH}$  为  $6.5$ ,上官建舟等<sup>[3]</sup>的巨大口蘑最适  $\text{pH}$  为  $6 \sim 7$ ,本研究结果为  $7 \sim 8$ 。由此可以得出巨大口蘑不同菌株的生物学特性是有一定差别的,需要对其进行系统的研究,在生产中应根据菌株不同选择适宜的培养基和培养条件。

参考文献:

[1] 黄年来. 适合热带地区栽培的珍稀菇:巨大口蘑[J]. 食用菌, 2001, 23(5):12-13.

[2] 吴建成. 水平棚架梨园栽培巨大口蘑技术[J]. 中国食用菌, 2007, 26(4):60-60.

[3] 上官建舟,林汝楷,吴宝芳. 巨大口蘑生物学特性的研究[J]. 浙江食用菌, 2007, 15(1):16-21.

[4] 卢成英,钟以举,张敏. 吉首大白口蘑 (*Tricholoma giganteum*) 研究[J]. 微生物学通报, 2001, 28(4):20-23.

[5] 李志生. 巨大口蘑及其栽培技术[J]. 食用菌, 2007(5):59-61.

[6] 郭翠英,沈育芬. 大白口蘑菌株厦3的分离驯化研究[J]. 亚热带植物科学, 2002, 31(1):14-16.

[7] 刘月廉,谭树明,温美英,等. 野生洛巴伊口蘑菌株的分离与鉴定[J]. 食用菌学报, 2001, 8(2):19-23.

[8] 郑贵朝,张善信,胡事君. 高温型洛巴伊口蘑的菌种选育及栽培技术[J]. 食用菌, 2005, 27(4):16-18.

[9] 上官建舟,林汝楷,吴宝芳. 荆西口蘑的驯化研究[C]//中国菌物学会,中国食用菌协会. 首届全国食用菌中青年专家学术交流会议论文集. 武汉:中国菌物

学会,2006:40-46.

[10] 张文隽,吴亚召,雷萍,等. 巨大口蘑 Tsw-06 栽培试验初报[J]. 食用菌, 2011, 33(6):21-22.

[11] 陈丽新,韦仕岩,黄卓忠. 温度、酸碱度和培养基含水量对金福菇 Tg-505 菌丝生长的影响[J]. 西南农业学报, 2012, 25(2):597-600.

[12] 张国广,邹金美,郑琳. 一株野生大型真菌的 ITS 分析及生物学特征研究[J]. 云南民族大学学报, 2010, 19(6):395-399.

[13] 王元忠,汤洪敏,虞泓,等. 巨大口蘑子实体营养成分分析[J]. 食用菌学报, 2005, 12(2):24-26.

[14] 李涛,王元忠,刘鸿高. 巨大口蘑中微量元素的光谱测定[J]. 光谱学与光谱分析, 2008, 28(2):450-452.

[15] MAU J L, LIN H C, SONG S F. Antioxidant properties of several specialty mushrooms[J]. Food Res Int, 2002, 35(6):519-526.

[16] MIZUNO T, KINOSHITA T, ZHUANG C, et al. Antitumor-active heteroglycans from niohshimeji mushroom, *Tricholoma giganteum*[J]. Biosci Biotechnol Biochem, 1995, 59(4):568-571.

[17] LIU F, OOI V E C, LIU W K, et al. Immunomodulation and antitumor activity of polysaccharide-protein complex from the culture filtrates of a local edible mushroom, *Tricholoma lobayense* [J]. Gener Pharmacol: Vasc Syst, 1996, 27(4):621-624.

[18] HYOUNG L D, HO K J, SIK P J, et al. Isolation and characterization of a novel angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptide derived from the edible mushroom *Tricholoma giganteum* [J]. Peptides, 2004, 25(4):621-627.

[19] LI M, ZHANG G, WANG H, et al. Purification and characterization of a laccase from the edible wild mushroom *Tricholoma mongolicum*[J]. J Microbiol Biotechn, 2010, 20(7):1069-1076.

[20] 张倩勉,莫美华. 巨大口蘑挥发油化学成分及抑菌作用的研究[J]. 现代食品科技, 2008, 24(12):1232-1235.

[21] 莫美华,张倩勉. 巨大口蘑子实体抽提物抑菌活性研究[J]. 食品工业科技, 2009, 30(5):151-153.

[22] WANG H X, NG T B. Purification of a novel low-molecular-mass laccase with HIV-1 reverse transcriptase inhibitory activity from the mushroom *Tricholoma giganteum*[J]. Biochem Bioph Res Co, 2004, 315(2):450-454.

[23] 刘鸿高,王元忠,张东艳,等. 大白口蘑菌丝的培养优化[J]. 菌物学报, 2011, 30(1):142-146.

[24] 刘月廉,陈爱珠,谭树明,等. 野生洛巴伊口蘑菌株生物学特性的研究(英文)[J]. 华中农业大学学报, 2004, 23(1):36-39.

【责任编辑 李晓卉】