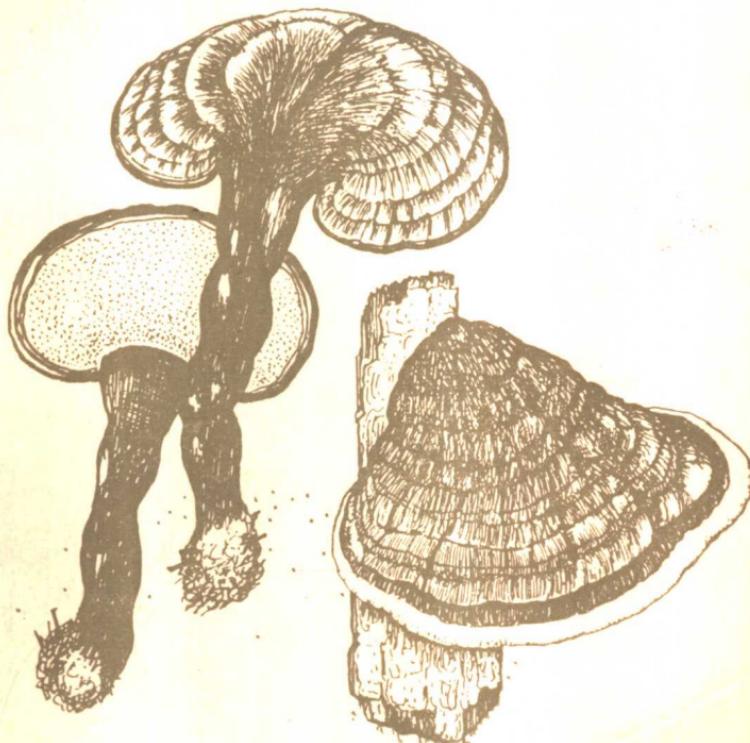


食用药用菌实验技术 及发酵生产



洪震 卯晓岚 编著
中国农业科技出版社



食用药用菌实验技术及发酵生产

洪震 卵晓嵒 编著

中国农业科技出版社

(京)新登字061号

内 容 提 要

作者通过33个食用、药用菌的实验技术的详细描述,介绍了食用、药用菌的最基本实验方法、标本鉴定、育种技术和产品深加工技术;同时也介绍了摇瓶培养、固体发酵、液体菌种及30余个蕈菌的发酵罐深层发酵新技术和新工艺。

本书通俗易懂 实用性强。对于基层生产、科研单位和广大蕈菌栽培专业户发展食用、药用菌生产及新产品开发具有参考价值,同时也适合于中等农专学校师生教学参考。

食用药用菌实验技术及发酵生产

洪 震 卵晓岚 编著

责任编辑 张荣菊

* * *

中国农业科技出版社出版(北京海淀区白石桥路30号)

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

北京市京东印刷厂印刷

开本: 787×1092毫米 1/32 印张: 8.25 字数: 178千字

1992年8月第一版 1992年8月第一次印刷

印数: 1—4200册 定价: 5.20元

ISBN 7-80026-287-1/Q·5

前 言

* * * *

我国食用菌与药用菌的科研与生产，近年来发展十分迅速。科技是第一生产力，欲提高食、药用菌的产品质量与产量，必须进行科学实验。近几年食用菌人工栽培方面的书籍出版较多，但涉及实验操作技能则叙述得较简单。为了使初学者能掌握科学实验技术，本书通过三十三个实验，由易到难，由浅入深，较系统地介绍了食、药用菌科学实验所应具备的基本操作技能。实验步骤详细、易懂，使初学者看后就能做。每个实验中，还列入“注意事项与讨论”栏目，除介绍实验的原理及应注意的事项外，还介绍了同类实验的方法及新进展等，以开阔眼界，起到举一反三的效果。

有关食用菌液体菌种生产，药用菌的固体与液体发酵生产等内容，在已出版的书籍中介绍较少。为使初学者能较系统地掌握食用菌、药用菌固体与液体发酵生产的基础理论知识和技能，本书力图对近30年来该领域的研究与生产进展情况作一较详细的回顾。

本书对30余种蕈菌的固体与液体发酵生产，重点叙述了其生产工艺，同时对每一种菌的药理作用、临床应用及化学成分等，也作了简要介绍。另外，为了符合当前广大农村生产实际，本书还介绍了自制简易发酵设备及使用方法等。

张树庭教授倡导使用“蕈菌学”(Mushroomology)，这是一新的专业术语，本书则采用了这一专业本语。蕈菌包

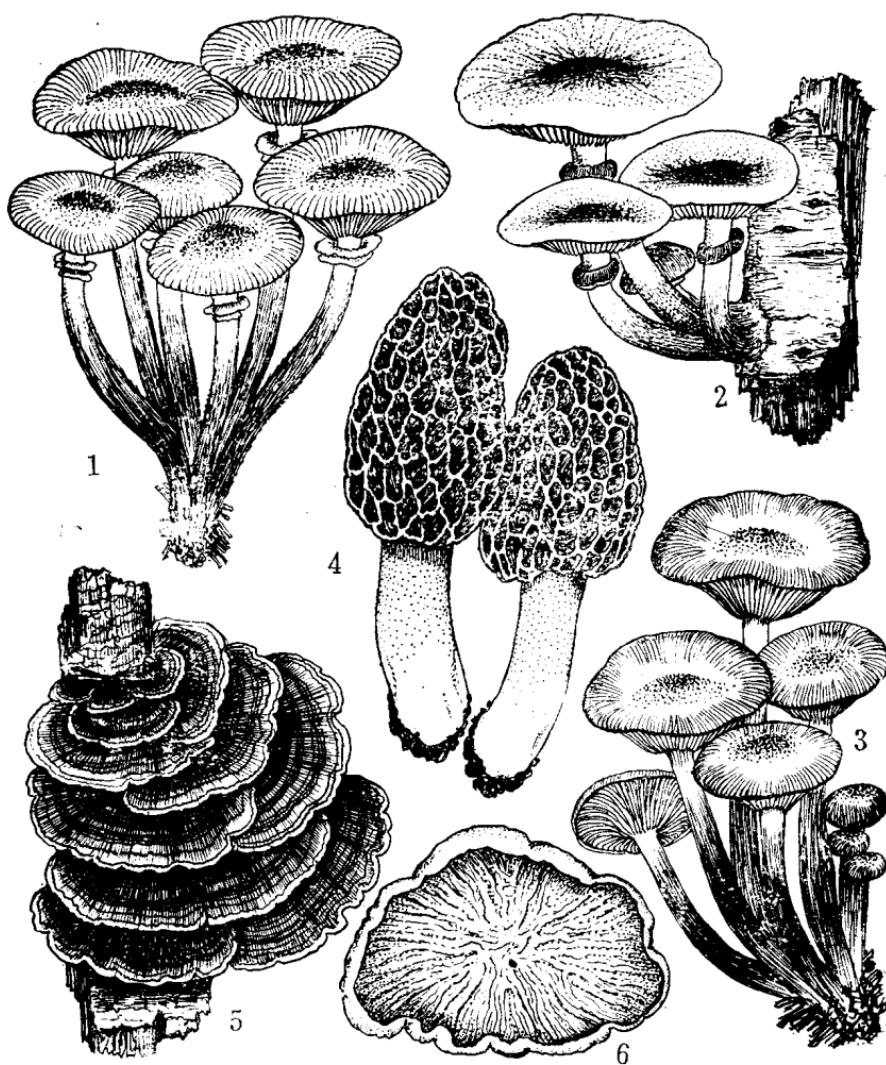
括了食用蕈菌、药用蕈菌、毒蕈菌等。

本书的第二章由卯晓岚先生编写并绘制了插图，其他六章均由洪震先生编写。由于时间仓促及限于篇幅和编著者的水平，本书疏漏之处在所难免，敬希读者不吝指教。

书中所能列入的参考文献条目有限，不能将本书所引用的散见在杂志、学术会议上的论文一一列出。在此，向各作者及给本书编写作以指教与鼓励的诸位先生一并致谢。

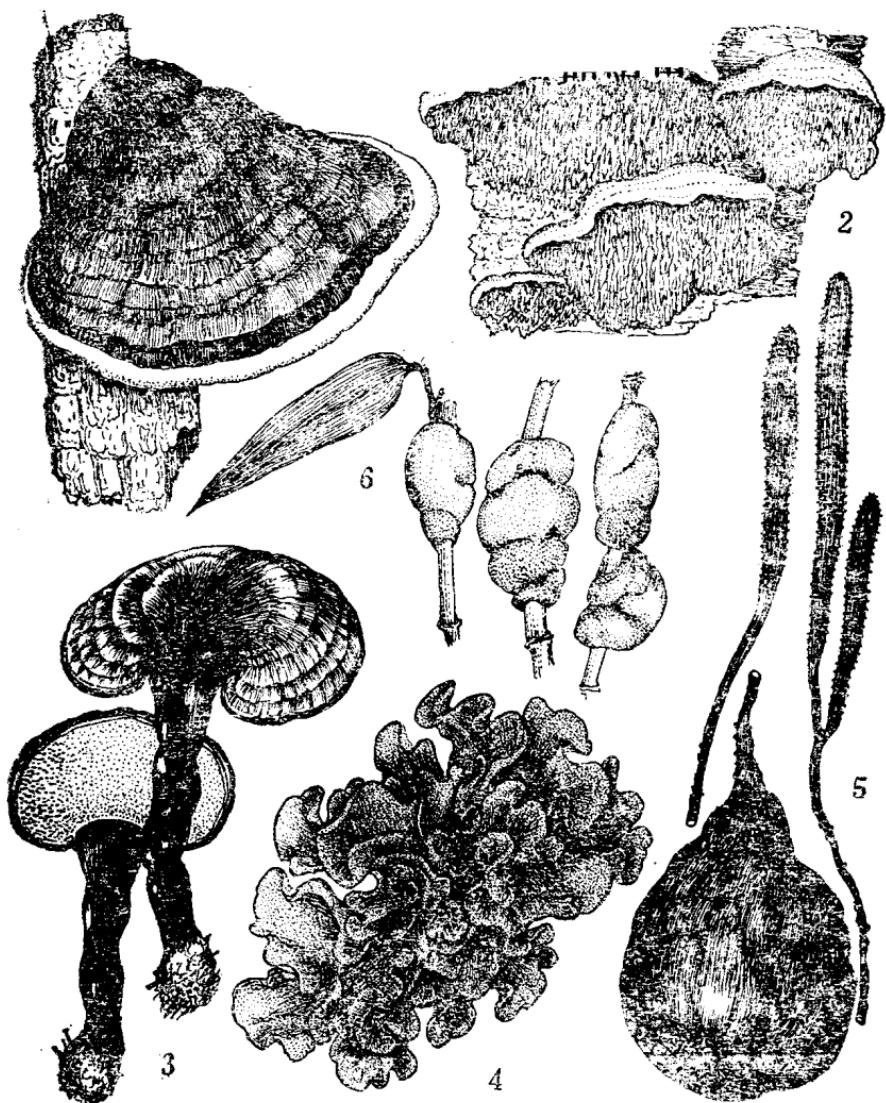
编著者

1991年11月于中国医学科学院药物研究所，北京



图一 某些食用、药用菌子实体

(1) 蜜环菌 (*Armillariella mellea*)；(2) 柱状田头菇 (*Agrocybe cylindracea*)；(3) 假蜜环菌 (*Armillariella tabescens*)；(4) 羊肚菌 (*Morchella esculenta*)；(5) 云芝 (*Coriolus versicolor*)；(6) 榆耳 (*Gloeostereum incarnatum*)。



图二 某些食用、药用菌子实体

(1) 红缘拟层孔菌 (*Fomitopsis Pinicola*)；(2) 白耙齿菌 (*Irpea lacteus*)；(3) 灵芝 (*Ganoderma lucidum*)；(4) 血耳 (*Tremella fimbriata*)；(5) 炭角菌 (*Xylaria nigripes*)；(6) 竹黄菌 (*Shiraia bambusicola*)。

目 录

第一章 蕈菌的基础实验技术	(1)
第一节 实验室常用器皿的使用	(1)
一、玻璃器皿的洗涤	(1)
二、常用玻璃器皿的使用	(2)
三、试剂的配制	(4)
四、实验室中常用的仪器设备	(7)
第二节 培养基的配制与灭菌	(8)
一、培养基的配制与灭菌	(9)
实验一 PDA试管斜面培养基的配制与灭菌	(9)
实验二 培养液的微孔滤膜灭菌法	(12)
二、几种常用培养基	(14)
第三节 蕈菌的无菌操作技术	(15)
一、洁净工作台内应具备的器皿	(16)
二、无菌操作技术	(16)
实验三 平菇菌斜面母种的转管	(16)
第二章 蕈菌标本的鉴定与显微观察技术	(19)
第一节 蕈菌标本的采集、制作与鉴定	(19)
一、标本的采集	(19)
二、菌种分离	(23)
三、标本的制作与保存	(25)
四、标本学名的确定	(26)

第二节 草菌的显微观察技术	(30)
一、普通光学显微镜的使用及菌丝体观察	(30)
实验四 平菇菌丝体的显微观察	(30)
二、显微测量	(33)
实验五 香菇担孢子的显微测量	(34)
三、孢子计数	(36)
实验六 平菇担孢子的血球计数板计数	(36)
第三章 草菌的育种技术	(39)
第一节 菌株的分离与纯化	(39)
一、多孢分离法	(39)
实验七 香菇的试管多孢分离	(40)
实验八 木耳的三角瓶多孢分离	(42)
二、菌丝体分离法	(43)
实验九 金针菇的组织块分离	(43)
实验十 银耳的基质内菌丝分离	(45)
三、菌株的纯化	(46)
第二节 草菌的杂交育种	(48)
一、单孢子和单核菌丝体的分离	(49)
实验十一 香菇单孢子分离	(49)
二、单核菌丝体的配对杂交	(52)
实验十二 香菇单核菌丝体的配对杂交	(52)
第三节 草菌的诱变育种	(54)
一、采用物理诱变剂的诱变技术	(55)
实验十三 平菇担孢子的紫外线诱变	(55)
二、采用化学诱变剂的诱变技术	(58)
实验十四 猴头担孢子DES诱变	(59)
实验十五 香菇担孢子的亚硝基胍诱变	(61)
三、生物诱变剂及综合诱变	(64)
第四节 营养缺陷型突变株的筛选与鉴定	(66)

一、营养缺陷型突变株的富集与筛选	(66)
实验十六 毛木耳营养缺陷型突变株的筛选	(66)
二、营养缺陷型突变株的鉴定	(69)
实验十七 毛木耳氨基酸营养缺陷型突变株的鉴定	(69)
第五节 抗性突变株的筛选	(72)
实验十八 抗药性平菇突变株的筛选	(72)
第六节 原生质体融合育种	(74)
一、原生质体的制备	(75)
实验十九 香菇担孢子原生质体的制备	(75)
二、原生质体的再生与融合(附二实例)	(78)
第四章 草菌菌种保藏技术	(86)
第一节 几种菌种保藏法比较	(86)
第二节 固体原种保藏法	(88)
实验二十 灵芝固体原种保藏法	(89)
第三节 试管斜面菌种低温保藏法	(91)
第四节 斜面菌种液体石蜡保藏法	(93)
实验二十一 金针菇试管斜面菌种的液体石蜡保藏	(93)
第五节 孢子的滤纸保藏法	(95)
实验二十二 双孢蘑菇担孢子的滤纸保藏	(95)
第六节 液氮超低温保藏法	(97)
实验二十三 竹黄菌株的液氮超低温保藏	(97)
第七节 菌株的退化、老化和复壮	(99)
一、菌株的退化	(99)
二、菌株退化的原因及其表现	(100)
三、菌株的老化和复壮	(102)
第五章 草菌的固体发酵生产	(104)
第一节 草菌的固体发酵生产	(104)
一、固体发酵生产的特点	(105)

二、基质的选择.....	(107)
三、固体发酵生产的控制.....	(108)
第二节 几种蕈菌的固体发酵生产.....	(111)
一、蜜环菌的固体发酵生产.....	(111)
二、猴头菌的固体发酵生产.....	(114)
三、安络小皮伞菌的固体发酵生产.....	(115)
四、假蜜环菌的固体发酵生产.....	(117)
五、云芝菌的固体发酵生产.....	(118)
六、蛹虫草菌的固体发酵生产.....	(120)
第六章 蕈菌的液体发酵生产.....	(122)
第一节 液体培养基的配制.....	(122)
一、液体培养基的组成.....	(123)
二、液体培养基的配制.....	(127)
实验二十四 银耳孢子深层发酵培养基的配料与灭菌.....	(130)
第二节 蕈菌的摇瓶培养.....	(132)
一、摇瓶培养的有关参数.....	(133)
二、摇瓶培养的操作方法.....	(137)
实验二十五 银耳孢子的摇瓶培养.....	(137)
第三节 蕈菌的发酵罐深层培养.....	(139)
一、深层发酵生产的一般设备.....	(139)
二、深层发酵生产的有关参数.....	(142)
三、深层发酵生产的控制.....	(145)
四、发酵终点的判断.....	(149)
五、发酵生产中染菌率的控制.....	(151)
六、发酵罐深层培养的操作方法.....	(153)
实验二十六 银耳孢子的发酵罐深层培养.....	(153)
第四节 自制简易发酵设备的深层培养.....	(157)
一、自制简易发酵设备的一般装置.....	(158)
二、自制简易发酵设备的安装与使用.....	(160)

第五节 食用菌液体菌种的生产与应用	(162)
一、食用菌液体菌种的优缺点	(162)
二、食用菌液体菌种生产的特点	(165)
三、液体菌种栽培平菇	(166)
四、液体菌种栽培香菇	(168)
第六节 常见药用菌的液体发酵生产	(169)
一、麦角菌的发酵生产	(169)
二、安络小皮伞菌的发酵生产	(172)
三、灵芝菌的发酵生产	(174)
四、薄树灵芝菌的发酵生产(附密纹薄芝菌的发酵生产)	(178)
五、云芝菌的发酵生产	(180)
六、蜜环菌的发酵生产	(183)
七、假蜜环菌的发酵生产	(186)
八、斑褐孔菌的发酵生产	(187)
九、白耙齿菌的发酵生产	(188)
十、冬虫夏草分离菌的发酵生产	(189)
十一、白僵菌的发酵生产	(194)
十二、猴头菌的发酵生产(附:猴头露、猴头酒的生产)	(196)
十三、银耳孢子的发酵生产	(199)
十四、香菇菌的发酵生产(附:香菇菌饮料及香菇液体菌种的生产)	(200)
第七节 常见食用菌的液体发酵生产或培养	(205)
一、平菇菌的发酵生产	(205)
二、草菇菌的发酵生产	(207)
三、金针菇菌的液体培养	(209)
四、黑木耳菌的液体培养	(210)
五、双孢蘑菇菌的液体培养	(211)
六、滑菇菌的液体培养	(212)
七、竹荪菌的液体培养	(213)

八、鸡纵菌的液体培养	(214)
九、羊肚菌的液体培养	(214)
十、柱状田头菇的液体培养	(215)
十一、灰树花菌的液体培养	(216)
十二、榆耳菌的液体培养	(217)
第八节 正在开发研究的部分药用菌的液体培养	(217)
一、茯苓菌的液体培养	(218)
二、古尼拟青霉菌的液体培养	(219)
三、雷丸菌的液体培养	(220)
四、裂褶菌的液体培养	(221)
五、竹黄菌的液体培养	(223)
六、红缘拟层孔菌的液体培养	(224)
第七章 草菌液体培养的无菌检验与化学测定技术	(226)
第一节 培养液的无菌检验	(226)
一、培养液的无菌检验技术	(226)
实验二十七 香菇菌深层发酵液的肉汤与双碟培养无菌 检验	(226)
二、培养液的镜检技术	(228)
实验二十八 香菇菌深层发酵液的镜检	(228)
第二节 培养液中菌丝含量的测定	(229)
实验二十九 草菇菌培养液中菌丝含量的测定	(229)
第三节 培养液pH的测定	(232)
实验三十 灵芝菌培养液pH值的测定	(232)
第四节 培养液中还原糖的测定	(233)
实验三十一 斑褐孔菌培养液中还原糖的测定	(234)
第五节 培养液中氨基态氮的测定	(236)
实验三十二 银耳孢子培养液中氨基氮的测定	(237)
第六节 菌丝体的同工酶凝胶电泳	(239)

实验三十三 竹黄菌丝体酯酶同工酶凝胶电泳……………(239)
主要参考文献……………(243)

附录

- 一、常用酸碱百分浓度、比重和当量浓度的关系……………(245)
- 二、常用缓冲液的配制……………(247)
- 三、饱和蒸汽压力与温度关系……………(248)

第一章

蕈菌的基础实验技术

要提高蕈菌生产的质量和产量 必须进行生物技术实验。蕈菌的生物技术研究包括基因工程、细胞工程、酶工程及发酵工程等四个领域。目前世界各国高度重视生物工程技术的发展，成果卓著。欲进行较高深的生物技术实验，首先要掌握基础实验技术。基础实验技术的内容很多，本章叙述最基本的几项内容：器皿的使用、培养基的配制、无菌操作等技术。

第一节 实验室常用器皿的使用

一、玻璃器皿的洗涤

实验室中玻璃器皿的清洁与否，往往会干扰实验结果的准确性，因此应认真对待器皿的清洗。

1. 新购置的玻璃器皿洗涤 新购置玻璃器皿的表面常附有游离的碱性物质，可先用肥皂水（或去污粉）洗刷后，再用自来水冲洗，然后浸泡在 1—2% 的盐酸溶液中过夜，

再用自来水冲洗，最后用蒸馏水荡洗2—3次后，在100—130℃烘箱内烤干备用。

2. 常用的玻璃器皿洗涤 试管、烧杯、三角瓶、量筒、培养皿等器皿，先用自来水洗刷至无污物，再选用大小合适的毛刷沾取去污粉或浸入肥皂水中，将器皿内外洗刷干净，再用自来水冲洗，蒸馏水荡洗后，烤干备用。洗净的玻璃器皿，在器壁上应无水珠为宜。

3. 难以用刷子洗刷的量器 吸量管、滴定管、容量瓶等，使用后应立即浸泡在凉水中，工作完毕之后用流水冲洗，凉干后再浸泡在铬酸洗液中4—6小时，然后用自来水冲洗，蒸馏水荡洗后，风干备用。铬酸洗液的配制方法为：取5克重铬酸钾粉末置于250毫升烧杯内，加水5毫升，尽量使其溶解，再缓缓沿烧杯壁加入工业浓硫酸100毫升，并不断搅拌，冷却后贮存备用。或用：80克重铬酸钾，溶于1000毫升自来水中，再缓缓加入工业硫酸100毫升，边加边搅拌。若器皿上有凡士林或羊毛脂时，应先用软纸擦去，然后再用乙醚擦净后，方能用洗液浸泡。带有肥皂水、去污粉的器皿，勿直接浸入洗液内，否则均会使洗液迅速失效。洗液一旦变绿，便失去了洗涤能力。

二、常用玻璃器皿的使用

1. 三角瓶 为蕈菌液体培养中最常用的玻璃器皿。有的三角瓶上有容积刻度线，但进行较精密的试验时，不能以该线为计量标准，而应使用量筒。往三角瓶内倾倒培养基时，最好使用漏斗，以免培养液沾污瓶口。从小三角瓶往大三角瓶接入液体菌种时，往往出现因瓶口烧烤过度，菌液经

过时瓶口破裂或瓶口出现焦状物的现象，应予以避免。

2. 培养皿双碟 其规格甚多，蕈菌培养多用直径9厘米的培养皿。培养皿灭菌后，在无菌条件下倒入已灭菌的培养基时，皿盖打开约60度角，开盖及倒入培养基动作要快。皿盖上出现冷凝水，勿擦拭或甩干。由于培养皿并不密闭，所以接完菌后，应皿盖在下，皿底在上放入恒温箱内培养，并尽量不挪动，以免污染。

3. 容量瓶 为配制较精确试剂的常用容器，规格较多。使用时，勿将溶质直接倒入瓶内，而应将溶质在烧杯中用少量水溶解后，再将溶液沿玻棒引入瓶内，用水洗烧杯2—3次，一并转入瓶内，塞紧瓶盖后翻转2—3次，再补足水至刻度线。

4. 吸管 为精密计量容器，有多种形式。常用的有移液管（单刻度吸管），普通单标吸管尖端所余少量液体可不必吹出。还有一种是吸量管（多刻度吸管），1毫升以下（不含1毫升管）的吸量管，必须把尖端液体吹入受器内；1毫升以上的吸量管，可不必吹，但要将管尖靠在受器壁上停留几秒至十几秒钟，并转动吸量管。读数时，管宜垂直，背对光线，眼睛与凹月面应在同一水平面上。

5. 滴定管 有具玻璃塞的酸液滴定管及带橡皮管的碱液滴定管两种。使用酸液滴定管时应在玻璃旋塞上涂一层凡士林，以防漏液。正式滴定前，先放出少量液体以赶出气体，保证计量准确。滴定时，液体流速不宜太快，尤其接近滴定终点时，应滴一滴，摇一下受器溶液，然后再滴一滴，直至终点。

在实验室中，使用的玻璃器皿甚多，尚有试管、量筒、烧杯、试剂瓶、称量瓶、蒸发皿、表面皿、研钵、离心管、各