

工厂化生产双孢蘑菇栽培种关键工艺研究

曾 辉^{1,2}

- (1. 福建省农业科学院食用菌研究所, 福建 福州 350014;
2. 福建省双孢蘑菇技术工程研究中心, 福建 福州 350014)

摘 要: 通过对不同透气膜的透气塑料袋、不同配方的原种进行比较试验, 从麦粒基质含水量、麦粒基质表面理化性状以及抗菌素添加配比等研究适合工厂化生产的双孢蘑菇栽培种。结果表明: T 型透气膜的透气塑料袋更适合现有工厂化生产工艺条件; 矿物原种为生产双孢蘑菇大袋栽培种的理想用种; 蒸煮后的小麦培养基含水量控制在 42% ~ 45% 能保证栽培种较高成品率; 小麦蒸煮时添加 0.3% 石灰、2% CaSO₄、4% CaCO₃ 与能使麦粒表面附着 1 层厚度适合的弱碱性包衣, 其黏度、酸碱度等理化性质适合双孢蘑菇菌丝生长, 比杂菌具有较强的竞争优势; 添加 0.02% 苯并咪唑 44 号、农用硫酸链霉素 0.025% (干重浓度) 能防止双孢蘑菇栽培种生长后期多种霉菌及细菌污染, 且对双孢蘑菇菌丝影响微弱。

关键词: 双孢蘑菇; 栽培种; 透气塑料袋; 关键工艺

中图分类号: S 646.1

文献标识码: A

Techniques for mass producing of mushroom spawns

ZENG Hui^{1,2}

- (1. Institute of Edible Fungi, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou, Fujian 350014, China;
2. Fujian Technology and Engineering Research Center for Mushroom, Fuzhou, Fujian 350014, China)

Abstract: By varying the breathable plastic bags, formulation of mother spawns, moisture levels of the wheat, external physical and chemical characteristics of the wheat, and antibiotics added to the wheat, the mass producing of mushroom spawns was optimized. The results showed that (a) T type breathable bags was suitable for the application; (b) the mineral mother spawn was the best; (c) moisture level should be in the range of 42% to 45% to yield the highest production rate; (d) cooking wheat with 0.3% quicklime, 2% gypsum and 4% calcium carbonate resulted in a alkaline coat on the wheat, which is conducive to mycelium growth and improves its competitiveness to other microorganisms; and, (e) cooking wheat with 0.02% benzimidazole 44 and 0.025% streptomycin sulfate prevented spawns from mold and bacterial infections during incubation, while being harmless to the mycelium development.

Key words: mushroom; spawn; breathable bag; key techniques

我国已成为世界上最大的食用菌生产国和出口国, 食用菌年产量由 1978 年的 5 万 t 增加到 2006 年的 1 400 万 t, 占世界的 70%, 产值达 590 亿元, 在食用菌的国际贸易中, 我国的贸易量占亚洲的 80%, 占全球的 40%, 2007 年全国食用菌产品出口创汇达到 14 亿美元, 成为农民增收的一条重要渠道。在国内种植业中, 食用菌产值仅次于粮、棉、油、菜、果, 居第 6 位, 已成为种植业中的一大支柱产业^[1]。工厂化生产是食用菌产业发展的高级阶段, 也是食用菌生产的国际化趋势^[2]。福建省的双孢蘑菇选育种部分技术处国内领先水平, 有的

已达国际先进水平, 育成新菌株 As2796 已获专利公开^[3], 在全国广泛使用, 年产鲜菇占全国的 33%, 世界的 10%, 产值 30 亿元, 出口 2 亿多美元。但我国大多菌种生产单位制种工艺和设备多停留在手工小作坊状态, 生产混乱、质量不稳定等问题成为制约双孢蘑菇生产发展的瓶颈之一, 也限制了双孢蘑菇菌种的出口, 造成我国成为双孢蘑菇出口大国的同时, 双孢蘑菇菌种的出口几乎为零的尴尬局面。目前国际上较大的双孢蘑菇菌种公司, 如美国的 Sylvan、A mycel, 西班牙的 Fungisem 等公司都建有工艺成熟、设备机械化、制度严格的菌种

收稿日期: 2009- 05- 06 初稿; 2009- 07- 20 修改稿

作者简介: 曾辉 (1969-), 男, 高级工程师, 主要从事食用菌工厂化制种技术研究 (E-mail: zenghui69@gmail.com)

基金项目: 福建省科技计划重点项目 (2004J008); 国家科技支撑计划 (2007BAD89B13); 福建省科技重大专项 (2008SZ0002- 1)

车间，对卫生等方面的要求不亚于制药车间，其配方和生产工艺被列为商业秘密，而且在不断改进中。在菌种包装上，国际上基本已淘汰应用了近一个世纪的玻璃瓶，以塑料作为包装材料形成流水线生产^[4]。本研究通过对双孢蘑菇工厂化制种过程几个关键工艺的不同参数的比较^[5-6]，探求适合现有条件下工厂化生产双孢产蘑菇栽培种的技术体系，已申请国家发明专利^[7]。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

1.1.1 材料 麦子购自福州市面粉公司；碳酸钙、石膏、石灰等购自福州农资公司；苯骈咪唑 44 号（杭州金尔太化工有限公司）、农用硫酸链霉素素粉剂（河北省石家庄曙光制药厂）；膨胀珍珠岩、蛭石等购自福州保温材料公司；发酵棉籽壳、干牛粪等购自长乐希尔帆食用菌有限公司；透气塑料袋长宽厚规格为 630 mm×360 mm×80 μm，带有 2 片 35 m×35 m 呼吸膜，而常用的透气膜分为 T 型（透气孔径为 0.2 μm）和 B 型（透气孔径为 0.5 μm）2 种，可装入 6 kg 麦粒培养基，由 Unicorn Imp. & Mfg. Corp.（美国 Unicorn 食用菌包装制造公司，以下简称 Unicorn）提供；美国原种由美国 Sylvan 公司提供。

1.1.2 菌株 双孢蘑菇菌种（*Agaricus bisporus*）As2796 由福建省农业科学院食用菌研究所提供。

1.1.3 设备、仪器 福建省农科院食用菌研究所菌种车间成套制种设备：WHZ-1 旋转蒸煮锅（宁波市味华食品有限公司）、2 000 kg·h⁻¹ 蒸汽锅炉（福州锅炉厂）、10 m³ 大型卧式高压锅（福州市化机厂）、无菌净化系统（苏州净化设备有限公司）含有万级冷却室、千级接种室、百级层流罩^[8-9]、MF-50 快速水分测定仪（日本 A&D 仪器有限公司）、QDF-2B 型 5M 微风热球式风速计（北京远东仪表有限公司）等。

1.2 方法

透气袋栽培菌种生产工艺流程见图 1。

1.2.1 透气塑料袋透气膜的选择 目前 Unicorn 常用在双孢蘑菇栽培种上的无菌透气塑料袋有 2 种规格，透气膜类型有 T 型和 B 型 2 种，适合不同制种工艺条件下使用。通过对不同透气膜的塑料袋进行对比试验，观察其生长和染菌情况，来确定适合现有设备条件蘑菇菌种生产的无菌透气塑料袋。

1.2.2 不同原种的对比试验 根据与常规配方原种对比试验，以矿物（膨胀珍珠岩、蛭石）^[10] 添加

发酵棉籽壳、堆肥作为主要成分，进行配方成原种基质，使原种适合生产无菌透气塑料袋栽培种需要^[5]。使用发酵棉籽壳种、矿物种、麦粒种作为接种物接种在分别装着美国原种培养基（美国原种烘干后添加 30% 牛粪）、发酵棉籽壳培养基和矿物培养基的菌种瓶（750 mL）上，观察记录其生长和染菌情况。

透气袋透气膜选型+ 原种选择

小麦培养基的蒸煮（0.05~ 0.10MPa/30min）调质

填装（6 kg）

高压灭菌（0.15MPa/126℃/120~ 150min）

强制冷却+ 万级冷却室

千级接种室、百级层流罩接种，封口

控温培养（21~ 23℃）

图 1 透气袋栽培菌种生产的工艺流程

Fig 1 Flow diagram of processing procedure and test distribution of mushroom cultivation using gas permeable pouch

1.2.3 麦粒基质不同含水量试验 主料用一级小麦（颗粒饱满，有小麦香味，新鲜无虫蛀，无霉变。每千粒小麦可见虫蛀破粒小于 2 粒，可见霉变粒小于 1 粒），参照文献[10- 11] 进行蒸煮，含水量分别为：36%、38%、40%、42%、45%、48%、50%、52%，其余调质指标统一为：辅料添加 0.3% 石灰、2% CaSO₄、4% CaCO₃，不加抗菌素。每种含水量的小麦基质用透气塑料袋各装 100 袋进行高压灭菌，用同一批次的 As2796 纯净原种进行接种培养（接种量 1：15），记录实际含水量，对其生长和染菌情况等进行对比分析。

1.2.4 麦粒基质表面理化性状调控试验 按以下 4 种配比加入辅料进行基质调质，调质指标统一为：主料用一级小麦，麦粒含水量 43%，4 种配比制作的基质用透气塑料袋各装 100 袋进行高压灭菌，用同一批次的 As2796 纯净原种进行接种培养（接种量 1：15），记录煮后麦粒物理性状，对其生长和染菌情况进行对比。配比 A：小麦按计算量加水，添加辅料（1% 石灰、2% CaSO₄、4% CaCO₃）蒸煮；配比 B：小麦按计算量加水，添加辅料（0.5% 石灰、5% CaSO₄、5% CaCO₃）蒸煮；配比 C：小麦按计

算量加水, 添加辅料(0.3% 石灰、2% CaSO_4 、4% CaCO_3) 蒸煮; 配比 D: 小麦按计算量加水, 添加辅料(0.3% 石灰、1% CaSO_4 、1.5% CaCO_3) 蒸煮。

1.2.5 不同抗菌素添加对比对透气大塑料袋栽培种成品率影响比较试验 用二级小麦(颗粒饱满, 无小麦香味。每千粒小麦可见虫蛀破粒 3~10 粒, 可见霉变粒少于 5 粒) 进行蒸煮调质, 调质指标统一为: 麦粒含水量 42%, 添加辅料(0.3% 石灰、2% CaSO_4 、4% CaCO_3) 调节麦粒表面理化性状。按以下 4 种配比加入抗菌素(干重浓度), 4 种配方制作的基质用透气塑料袋各装 100 袋进行高压灭菌, 用同一批次的 As2796 纯净原种进行接种培养(接种量 1:15), 记录蒸煮后菌袋生长和染菌情况, 进行对比。配比 A: 用逐级混合法在上述基质中加入 0.1% 苯并咪唑 44 号, 搅拌均匀; 配比 B: 用逐级混合法在上述基质中加入 0.1% 农用硫酸链霉素, 搅拌均匀; 配比 C: 用逐级混合法在上述基质中加入 0.1% 苯并咪唑 44 号、0.01% 农用硫酸链霉素, 搅拌均匀; 配比 D: 用逐级混合法在上述基质中加入 0.02% 苯并咪唑 44 号、0.025% 农用硫酸链霉素, 搅拌均匀; 对照组(CK): 不加任何抗菌素。

1.3 各级菌种的培养基和制作

参考文献[13]。
1.4 测定染菌方法
参考文献[14~15]。

2 结果与分析

2.1 不同透气膜的塑料袋的比较

表 1 结果表明, T 型塑料袋透气膜比 B 型有更好的疏水性, 水气在其表面只形成水珠, 不进入膜内, 不破坏膜的通透性和过滤性, 大大降低染菌率。

表 1 不同类型透气膜的塑料袋高压后表现及染菌率
Table 1 Autoclaved breathable bags and their microbial contamination rates

透气膜类型	透气膜潮湿情况		染菌情况		
	袋内	袋外	总袋数	染菌	染菌率(%)
B 型	水珠出现	透气膜表面潮湿	282	35	12.41
T 型	水珠出现	透气膜表面虽有水珠, 但可排除	200	6	3.00

2.2 不同原种的比较

表 2 表明, 矿物培养基原种的生长快于美国种培养基和发酵棉籽壳培养基, 尤其以麦粒种作为接

种物时更为明显。

表 2 双孢蘑菇不同接种物在不同培养基上的走菌满瓶天数
Table 2 Running days of different inoculates on varying substrates (单位: d)

培养基类别	发酵棉籽壳种	矿物种	麦粒种
美国种培养基	30	35	45(2/3 不萌发)
发酵棉籽壳培养基	40	40	45(最长 55)
矿物培养基	25	25	22

表 3 表明矿物培养基原种在生产耗时、染菌率、培养时间和保存期等都比发酵棉籽壳原种和麦粒种原种具有明显优势。

表 3 不同原种的技术指标比较
Table 3 Index for technical comparison on mother spawns

原种类别	生产耗时(h)	染菌率(%)	培养时间(d)	保存期(d)
矿物原种	24	< 5	25	360
发酵棉籽壳原种	36	5~10	35~45	90
麦粒种	36	10~15	30~35	60

2.3 麦粒基质不同含水量下的走菌表现

从表 4 可以看出, 当基质含水量在 40% 以下时, 蘑菇菌丝萌发慢, 走菌弱, 一些菌袋虽未污染杂菌, 但却因菌丝稀弱而成为次品; 当基质含水量在 42%~45% 之间时, 蘑菇菌丝萌发有力, 菌丝旺盛, 成品率高而稳定; 当基质含水量在 50% 以上时, 虽然蘑菇菌丝萌发快, 菌丝旺, 但污染率上升较快。这是因为随着含水量的加大, 麦粒吸水接近饱和, 容易过饱胀破表皮, 造成烂麦率上升, 烂麦表现为淀粉糖化, 是厌氧菌的极佳培养基, 而蘑菇菌丝却很难穿过烂麦, 因此当含水量升至 50% 以上时, 满袋天数反而延长, 污染率上升。

2.4 添加不同配比辅料对麦粒基质表面理化性状调控的效果比较

从表 5 可以看出, 按处理 C 调制出的小麦基质最适合蘑菇菌丝的生长, 其麦粒基质表面附着的包衣厚度适中, 黏度及酸碱度(约为 7.5)也比较适合, 对杂菌具有较强拮抗力的弱碱性包衣, 能提高大塑料袋栽培种的成品率。共煮的石灰比例过大将导致麦粒内部营养物质在蒸煮过程中渗出, 使其表面黏度增加, 对杂菌的敏感度也增大(烂麦率也增加)。石膏与轻钙的比例过高或过低都会影响麦粒表面的理化性状, 麦粒表面包衣过厚对蘑菇菌丝萌发生长

不利, 过薄将使其对杂菌的拮抗力下降。

表 4 小麦基质不同含水量对双孢蘑菇菌丝的影响
Table 4 Appearance of As2796 grown on wheat of different moisture contents

菌丝生产情况	含水量(%)						
	36 3	38 2	39 6	42 1	45 4	47 8	49 7
萌发时间(h)	> 72	约 48	约 36	> 24	< 24	< 24	< 24
满袋天数(d)	28	19	14	12	12	11	11
污染袋数	1	0	1	2	2	5	10
走菌情况	+	++	++++	+++++	+++++	+++++	+++++
成品率(%)	95	96	97	98	98	95	90

表 5 小麦基质不同辅料对比对双孢蘑菇菌丝的影响
Table 5 Appearance of As2796 grown on wheat with different formulations

处理	基质外观	萌发天数(d)	走菌情况	污染袋数	成品率(%)
A	较粘	1	+++	9	91
B	包衣较厚、白	2	++	4	96
C	包衣适中	1	+++++	1	99
D	包衣较薄	1	+++	3	97

2 5 不同抗菌素添加对比对透气大塑料袋栽培种成品率影响

从表 6 可以看出, 用轻度霉变小麦处理的基质, 不加抗菌素的对照组因为霉菌毒素等因素影响, 成品率为 79%; 添加高浓度 (0.1%) 苯骈咪唑 44 号的配比 A, 蘑菇菌丝生长出现了严重受抑制的现象, 导致大量菌袋不走菌; 添加高浓度 (0.1%) 农用硫酸链霉素的配比 B, 蘑菇菌丝生长受抑制的现象不太明显, 但菌丝生长较对照组弱; 配比 C 和配比 D 都添加了苯骈咪唑 44 号和农用硫酸链霉素, 从试验结果看, 配比 D 的浓度比较合适, 污染袋数大幅下降, 蘑菇菌丝生长也未受影响, 成品率大幅提升。

表 6 添加不同抗菌素对成品率的影响
Table 6 Effect of antibiotic addition to wheat on yield of spawn

处理	萌发天数(d)	满袋天数(d)	污染袋数	不走菌袋数	走菌情况	成品率(%)
A	7~ 8	30	4	68	-	10
B	3~ 4	17	7	10	+	80
C	2~ 3	15	11	6	++	83
D	2~ 3	15	4	6	++	90
CK	2~ 3	15	15	6	++	79

3 结论与讨论

3 1 作为生产用透气塑料袋首先要满足双孢蘑菇菌丝生长需要等条件, 在 125℃ 下高压 6 h, 袋子仍然保持柔软、透明、易于封口, 保持干燥, 滤膜通透性不变, 以防止微生物及线虫侵入, 并且提供气体交换 (但不包括水汽)。

3 2 与传统的原种相比, 矿物原种具有很大的优越性, 具有更大的内表面积, 使得同样体积的菌种可以吸附更多的菌丝; 作为培养基的矿物 (蛭石和膨胀珍珠岩), 吸水性强而快, 拌料预处理时间短, 预湿时间由处理发酵棉籽壳、发酵粪草和小麦的 12 h 减少到 1 h, 使原种的生产耗时由 36 h 缩短到 24 h 以内。而且矿物原种具备无菌透气塑料袋生产菌种所需的更多萌发点, 更强的活力, 易于操作, 可使双孢蘑菇麦粒栽培种生长期缩短至 10~ 12 d, 而且均匀一致。以 750 mL 菌种瓶为例, 同样长满瓶, 发酵棉籽壳需要 40 d, 而矿物种仅 25 d, 又因其萌发点多, 相对富余养分少, 故接种出来的栽培种染菌率降低一半。无菌透气塑料袋蘑菇菌种生产中除传统粪草菌种不能使用外 (秸秆会刺破塑料袋), 麦粒菌种和矿物菌种都适合作为原种。麦粒原种生长时间慢, 保存时间短, 但外表容易判断是否染菌。而矿物原种产生菌被的情况少于麦粒原种, 一旦解决隐形染菌问题, 矿物原种具有使用方便、颗粒小、接种量大、不易产生菌被的优点。目前, 矿物菌种还存在一些问题, 矿物在菌种瓶底、侧面都存在粉尘沉淀, 影响菌种外观; 由于色泽和颗粒原因, 矿物种一旦染杂菌, 除绿霉易观察外, 其他如长毛菌等不易被检出, 这些都需要进一步探讨, 逐步完善。

3 3 小麦基质的含水量控制是栽培种培养基制作工艺的重要一环, 如何通过精确计算以蒸煮出理想含水量的小麦基质是整个小麦调质的关键。试验表

明小麦含水量控制在 42% ~ 45% 能保证较高成品率。

3 4 使麦粒表面附着一层厚度、黏度、酸碱度等理化性质适合蘑菇菌丝生长, 并对杂菌具有较强的拮抗力的弱碱性包衣, 能提高大塑料袋栽培种的成品率。通过均匀添加 0.3% 石灰、2% CaSO₄、4% CaCO₃ 与小麦共煮能达到这一要求。

3 5 苯并咪唑 44 号是广谱内吸性抗真菌剂, 杀菌机制是干扰菌体细胞的有丝分裂过程, 还可以干扰核酸的合成, 在 0.03% 以下使用较为安全, 能防治木霉、轮枝孢霉、疣孢霉等真菌引起的污染^[16], 从本试验看高浓度时对蘑菇菌丝有抑制作用。农用链霉素是一种灰色链霉菌分泌的核菌素, 能防治很多发生在食用菌上的细菌性病害, 在 0.03% 以下使用较为安全^[17]。在高温高湿季节进行透气袋栽培种生产或原料发生轻微霉变时, 用这两种抗菌剂配合进行小麦调质, 能大幅降低菌袋由于真菌或细菌侵入造成污染的风险。但在添加抗菌素时要逐级均匀混合, 如果混合不均将造成局部浓度过高, 抑制蘑菇菌丝正常生长; 局部浓度太低, 又起不到防治污染的作用。

致谢: 本研究由合作方美国 Unicorn 公司及其同事戴建清、程翊、廖剑华和王泽生等给予极大支持和帮助, 特此致谢!

参考文献:

[1] 张金霞, 黄晨阳. 我国食用菌产业概况 [J]. 土壤肥料, 2003 (1): 43- 44.

[2] 常明昌. 食用菌栽培 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2003.

[3] 王泽生, 廖剑华, 李福根, 等. 双孢蘑菇杂交新菌株及其选育

方法: 中国, 94119463.9 [P]. 1994- 12- 13.

[4] 曾辉. 我国蘑菇制种技术的现状与展望 [J]. 食用菌, 2001 (增刊): 38- 39.

[5] 曾辉, 程翊, 戴建清, 等. 采用透气塑料袋生产双孢蘑菇栽培种新工艺研究 [J]. 菌物学报, 2005 (增刊): 266- 270.

[6] 程翊. 无菌透气塑料袋蘑菇菌种质量关键控制点的研究 [J]. 福建轻纺, 2006 (9): 6- 10.

[7] 曾辉, 戴建清, 程翊, 等. 采用呼吸塑料袋制作大袋蘑菇栽培种: 中国, 200910111583.4 [P]. 2009- 04- 28.

[8] 国家环保局、国家技监局. GB/T1534- 1995 环境空气总悬浮颗粒物的测定——重量法 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2003: 151- 155.

[9] 信息产业部. GB50073- 2001 洁净厂房设计规范 [S]. 北京: 中国计划出版社, 2001: 46- 47.

[10] LEMKE G. Erfahrungen mit Perlite bei der Myzelanzucht und Fruchtkoerperproduktion des Kulturchampignons Agaricus bisporus (Lge.) Sing [J]. Gartnerbauwissenschaft, 1971 (1): 19- 27.

[11] STOLLER, B B. Some preactical aspects of making mushroom spawn [J]. Mushroom Sci, 1962 (5): 170- 184.

[12] 戴建清. 关于蘑菇透气大塑料袋栽培种基质调质关键点研究 [J]. 福建轻纺, 2006 (9): 16- 20.

[13] 张金霞, 贾身茂, 王南, 等. 食用菌菌种生产技术规程 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2002: 4- 7.

[14] 王世东, 周学政. 食用菌菌种的质量监测方法 [J]. 食用菌, 2003 (18): 3- 4.

[15] 国家卫生部. GB4789.1- 4789.31- 94 食品卫生检验方法——微生物学部分 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2003: 31- 94.

[16] 叶钟音. 现代农药应用技术全书 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2002: 271- 274.

[17] 剧正理. 菜园新农药 151 种及其使用方法 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2001: 171- 172.

(责任编辑: 林海清)