DOI:10.16861/j.cnki.zggc.2025.0343

# 长根菇菌株 NCM23504 液体培养基优化

刘龙语[1],胡春辉[1],于海龙[2],卢伟东[1],徐丽丽[1],师海宝[3],于 浩[1]

(1.青岛农业大学生命科学学院•山东省微生物资源挖掘与创新利用重点实验室 山东青岛 266109;
2.上海市农业科学院食用菌研究所 上海 201403; 3.甘肃高科农牧生态有限公司 甘肃定西 748112)

**摘 要**:液体菌种的使用能够缩短食用菌培养周期,提高生产效率。为探究长根菇菌丝液体培养最优生长条件,以商品化长根菇菌株 NCM23504 为试验材料,对液体菌种接种方式、培养基配方进行了优化,并初步筛选了菌株固体栽培料配方。结果表明,2 种接种方法相比较,匀浆接种法优于玻璃珠研磨接种法,前者能够显著提升菌丝分散均匀性和菌株生长的一致性。通过单因素试验筛选确定了红糖、酵母粉、燕麦麸皮粉为培养基最优碳源、氮源和天然基质,结合 Box-Behnken 响应面法确定最优培养基配方为:红糖 21.6 g·L$^{-1}$、酵母粉 5 g·L$^{-1}$、燕麦麸皮粉 15 g·L$^{-1}$、$KH_2PO_4$ 3 g·L$^{-1}$、$MgSO_4$ 1.5 g·L$^{-1}$。在最优条件下,培养 7 d 菌丝体生物量可达(15.33±0.51) g·L$^{-1}$。木屑试管试验结果表明,当栽培料配方为 $m_{木屑}$∶$m_{棉籽壳}$∶$m_{麸皮}$∶$m_{蔗糖}$∶$m_{碳酸钙}$=50∶28∶20∶1∶1 时,菌丝生长最快,满管时间为 23 d。本研究结果为长根菇液体菌种的生产及条件优化提供了科学依据。

**关键词**:长根菇;接种方法;培养基优化;液体菌种

**中图分类号**:S646 **文献标志码**:A **文章编号**:1673-2871(2026)04-112-09

## Optimization of liquid spawn for *Oudemansiella raphanipes* strain NCM23504

LIU Longyu[1], HU Chunhui[1], YU Hailong[2], LU Weidong[1], XU Lili[1], SHI Haibao[3], YU Hao[1]

*(1. College of Life Sciences, Qingdao Agricultural University/Shandong Provincial Key Laboratory of Microbial Resource Exploration and Innovative Utilization, Qingdao 266109, Shandong, China; 2. Institute of Edible Fungi, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 201403, China; 3. Gansu Gaoke Agricultural and Pastoral Ecology Co., Ltd., Dingxi 748112, Gansu, China)*

**Abstract:** The use of liquid spawn can shorten the cultivation cycle of edible mushroom and improve production efficiency. To investigate the optimal growth conditions for the mycelial liquid culture of *Oudemansiella raphanipes*, the commercial strain NCM23504 was used as the experimental material. The inoculation method and culture medium composition for liquid spawn were optimized, and a solid cultivation substrate formula for the strain was preliminarily screened. The results showed that, between the two inoculation methods, the homogenate inoculation method was superior to the glass bead grinding inoculation method, as the former significantly improved the uniformity of mycelial dispersion and the consistency of strain growth. Through single-factor experiments, brown sugar, yeast extract, and oat bran powder were identified as the optimal carbon source, nitrogen source, and natural substrate, respectively. Further optimization using the Box-Behnken response surface methodology determined the optimal liquid culture medium formula as follows: Brown sugar 21.6 g·L$^{-1}$, yeast extract 5 g·L$^{-1}$, oat bran powder 15 g·L$^{-1}$, $KH_2PO_4$ 3 g·L$^{-1}$, and $MgSO_4$ 1.5 g·L$^{-1}$. Under these optimal conditions, the dry mycelial biomass reached (15.33±0.51) g·L$^{-1}$ after 7 days of cultivation. The sawdust tube test showed that when the cultivation substrate formula was $m_{sawdust}$∶$m_{cottonseed\ hull}$∶$m_{bran}$∶$m_{sucrose}$∶$m_{calcium\ carbonate}$=50∶28∶20∶1∶1, the mycelial growth was the fastest, with complete colonization of the tube achieved within 23 days. This study provides a scientific basis for the production and condition optimization of liquid spawn for *O. raphanipes*.

**Key words:** *Oudemansiella raphanipes*; Inoculation method; Media optimization; Liquid spawn

**收稿日期**:2025-04-30;**修回日期**:2025-12-21

**基金项目**:山东省食用菌产业技术体系遗传育种岗位专家项目(SDAIT-07-02);山东省重点研发计划(2022TZXD0024);陇西县科技计划(LXAYY018)

**作者简介**:刘龙语,女,硕士,主要从事食用菌育种工作。E-mail:18653413763@163.com

**通信作者**:于 浩,男,教授,主要从事食用菌遗传育种和高效栽培技术研究等工作。E-mail:yuhaosunshine@163.com

长根菇（*Oudemansiella raphanipes*），商品名黑皮鸡枞，学名卵孢小奥德蘑，系担子菌门（Basidiomycota）腐生型中高温真菌[1-3]，是一种近年来广泛栽培的珍稀食用菌。其自然种群在我国大部分地区均有分布，如云贵高原、四川盆地、山东等地区[4-6]。长根菇子实体肉质细嫩，柄部脆爽，富含功能性活性成分。其所含多糖及多酚类物质具有显著的抗氧化特性，蛋白质组分含17种必需氨基酸，同时积累γ-氨基丁酸等特征代谢物，并富含锌、硒等微量矿质元素[6-10]，兼具营养强化与药用开发双重价值。近年来，长根菇的人工栽培规模逐渐扩大，主要采用覆土栽培模式生产，可以实现工厂化、周年化生产。长根菇菌包主要为工厂化集中生产，因为生产周期长，容易出现污染，缩短发菌时间可以有效降低污染率。

液体深层发酵技术起源于20世纪40年代，最早由美国的颜梦秋等[11]成功培养出双孢蘑菇菌丝体，随后迅速扩展到其他食药用真菌的研究。1958年，J. Szuecs首次利用发酵罐培养羊肚菌，标志着食药用真菌液体发酵进入工业化生产领域[12]。国内的研究起步于20世纪60年代，杨庆尧等[13]率先开展了香菇深层发酵研究，随后进一步探索了香菇、侧耳等食药用真菌的液体培养技术。进入20世纪80年代后，液体发酵技术在菌种种类、发酵工艺、设备及商业化产品开发等方面取得了显著的研究进展。液体菌种具有生长周期短、菌龄一致、生产成本低、接种方便等优点，且有利于进行工厂化生产，越来越受食用菌生产企业的青睐，已成为当前食用菌制种产业的发展趋势。

由于使用液体菌种可以缩短生长周期，降低污染率，因此液体菌种技术已成为长根菇菌包生产的主要制种方式[14-16]。长根菇是近些年开始大规模栽培的食用菌新品种，许多菌包生产企业已经开始利用液体菌种进行菌包的工厂化制包[14,17]。但是，目前长根菇液体菌种生产还面临着一些问题，例如为了追求生产稳定性，大部分工厂使用的长根菇液体菌种配方都是延续了杏鲍菇、金针菇等工厂化品种的配方，缺少适宜的专用配方。长根菇液体菌种的研究能够提供更多的原材料选择参考，增强长根菇液体菌种配方的适用性。目前，长根菇液体发酵的研究主要集中在培养基优化和工艺条件探索上，包括碳源、氮源、无机盐、生长因子等营养性因子，以及发酵温度、接种量、搅拌速度、初始pH等非营养性因子的优化。研究目标是通过提高菌丝生物量和胞外多糖产量，为长根菇的工业化生产提供科学依据，然而已报道的不同长根菇菌株的最适碳源、氮源和初始pH等存在较大差别[18-19]。黄静等[18]的研究表明，HP1号长根菇菌株液体发酵的最佳培养成分为玉米粉和酵母膏；刘运伟等[2]研究了购买自高邮食用菌研究所的长根菇，发现最佳培养基成分为玉米粉和蛋白胨。这说明不同的长根菇菌株可能对营养因子的需求不同，存在菌株特异性。液体菌种的发酵技术，涉及接种方式、关键营养成分优化及液体菌种在菌包中的生长情况，目前的研究主要集中在关键营养成分的优化上，尚缺少对长根菇接种方式及液体菌种在菌包中的生长情况进行系统研究的报道。在生产过程中保持菌株生长一致性，对工业化生产有重要的意义，但是传统的菌球接种方式，接种量偏差较大，会造成对发酵终点判断不准确，对菌种的质量造成一定的影响。

本研究首次优化了长根菇液体菌种的接种方式，运用单因素试验和响应面试验等方法，对长根菇液体培养基中的碳源、氮源、天然基质等关键营养成分进行优化。最终通过木屑试管试验证明了液体菌种配方在实际生产中的潜在应用价值。该研究为长根菇的工业化生产提供了技术支持，为长根菇规模化生产提供了有益参考。

## 1　材料与方法

### 1.1　材料

供试菌株长根菇NCM23504来源于青岛农业大学崂山食药用菌种质资源库（保藏编号NCMC-CFD230504），该菌株是目前商业化栽培的长根菇菌株，表现出了良好的商品属性和生产稳定性。栽培试验于2024年1—9月在青岛农业大学进行。长根菇NCM23504的生长周期约为100 d，单个子实体质量在10 g左右，菌体颜色呈深褐色，菌柄形状为典型的棒状，符合市场对长根菇外观和品质的要求（图1）。

### 1.2　培养基与菌种活化

马铃薯培养基（PDA）：马铃薯200 g，切成直径5 mm左右的小块，放到不锈钢锅中，加入1 L蒸馏水，大火煮沸，改小火煮20 min，用8层纱布过滤，丢弃固体，保留液体。用蒸馏水定容到1 L后分装到三角瓶中，每100 mL培养基加入2 g琼脂粉，高压蒸汽灭菌。

液体种子培养基（PDB）：方法同PDA培养基配置，不加入琼脂粉。

基础培养基：马铃薯200 g、葡萄糖20 g、蛋白

注：A. 栽培场景；B. 切除根部后的子实体。

Note: A. Cultivation scene; B. Fruiting bodies after root trimming.

**图1　长根菇 NCM23504 的子实体**

**Fig. 1　Mushroom fruiting bodies of *O. raphanipes* NCM23504**

胨 2 g、磷酸二氢钾 3 g、无水硫酸镁 1.5 g、蒸馏水 1 L（配置方法参考 PDA 培养基）。

菌种活化及液体种子培养：从保藏的斜面试管菌种中切出 0.5 cm×0.5 cm 大小的菌块接种于 PDA 培养基平板的中部，25 ℃恒温培养 14 d。将已活化的平板菌种用打孔器（直径 5 mm）打孔，接种于液体种子培养基中，每 100 mL 培养基（250 mL 三角瓶）接 10 块菌块，在 25 ℃、135 r·min$^{-1}$ 条件下培养 7 d。

### 1.3　液体菌种接种条件优化

液体菌种处理方式筛选：首先筛选匀浆时间，匀浆设置 3 个时间，分别为 2、5、15 s。同时将匀浆破碎接种与玻璃珠手摇破碎方式比较，来确定合适的接种方式。培养 7 d 后测生物量，比较不同接种方式对菌丝生长的影响。以上每组试验共设置 3 个生物学重复，每个重复 1 瓶。

匀浆破碎接种方法如下：将培养后的液体种子培养液倒入匀浆杯，分别匀浆 2、5 和 15 s，将匀浆后的液体种子培养液接种到新的 PDB 培养基中，接种量为 5%。

玻璃珠手摇破碎接种方法如下：将液体种子培养液倒入 50 mL 无菌螺口离心管（装有 20 个 6 mm 玻璃珠）中，手动摇晃 1 min 左右直至菌球明显破碎，接种到 PDB 培养基中，接种量为 5%。

### 1.4　液体摇瓶菌丝生物量测定

菌丝体培养 7 d 后，用烘干称质量后的 8 层纱布过滤菌丝体，用蒸馏水洗 2~3 遍，连同纱布一起放入 60 ℃烘干箱至恒质量，用分析天平称质量，每个处理 3 次重复，每个重复 1 瓶[20-21]。

### 1.5　发酵条件优化试验

1.5.1　液体培养基成分单因素试验　碳源筛选：以 20 g·L$^{-1}$ 葡萄糖的含碳量为标准，分别用相等含碳量的麦芽糖、蔗糖、红糖代替基础培养基中的葡萄糖，观察不同碳源对长根菇菌丝生长的影响，以摇瓶基础培养基为对照（CK），培养温度为 25 ℃，摇床转速为 135 r·min$^{-1}$，培养 7 d。

氮源筛选：以 5 g·L$^{-1}$ 蛋白胨的含氮量为标准，分别用相等含氮量的酵母粉、牛肉膏、尿素、硫酸铵代替基础培养基中的蛋白胨，观察不同氮源对长根菇菌丝生长的影响，以基础培养基为对照（CK），培养温度 25 ℃，摇床转速 135 r·min$^{-1}$，培养 7 d。

天然基质筛选：将摇瓶基础培养基中的马铃薯换成玉米粉、燕麦麸皮粉、黄豆粉，添加量为 10 g·L$^{-1}$，观察不同天然基质对长根菇菌丝生长的影响，以摇瓶基础培养基为对照（CK），培养温度为 25 ℃，摇床转速为 135 r·min$^{-1}$，培养 7 d。

以上每组试验共设置 3 个重复，每个重复 1 瓶。根据单因素试验确定最优碳源、氮源和天然基质。

1.5.2　培养基营养因素响应面试验方案　根据单因素试验结果，为了得到碳源、氮源、天然基质的最优添加量而进行响应面试验。以菌丝体的生物量为响应值，碳源（A）、氮源（B）、天然基质（C）为因素，运用 Box-Behnken 模型设计 3 因素 3 水平的响应面试验，对发酵条件进一步优化，并进行二次多项回归拟合分析和方差分析，得出适合菌株生长的最佳发酵条件（表 1）。根据响应面优化选择的最优条件，在最优条件下培养长根菇，验证响应面试验的准确性。每个条件设置 3 个生物学重复。

### 1.6　栽培料配方筛选

栽培料配方[22-26]筛选：配方 A 为 $m_{木屑}$∶$m_{棉籽壳}$∶$m_{麸皮}$∶$m_{蔗糖}$∶$m_{碳酸钙}$ = 50∶28∶20∶1∶1；配方 B 为

表1　响应面设计因素水平

Table 1　Factor levels for response surface design

| 因素 Factors/(g·L$^{-1}$) | 代码 Code | 水平 Level −1 | 0 | 1 |
|---|---|---|---|---|
| ρ(红糖) Brown sugar content | A | 15 | 20 | 25 |
| ρ(酵母粉) Yeast extract powder content | B | 0 | 5 | 10 |
| ρ(燕麦麸皮粉) Oat bran flour content | C | 5 | 10 | 15 |

$m_{木屑}:m_{棉籽壳}:m_{麸皮}:m_{碳酸钙}=40:40:19:1$；配方C为$m_{木屑}:m_{麸皮}:m_{碳酸钙}=75:23.5:1.5$；配方D为$m_{木屑}:m_{棉籽壳}:m_{麸皮}:m_{碳酸钙}:m_{玉米粉}:m_{玉米芯}=8:30:20:1:10:30$，以上$m_{配方料}:m_{水}=1:1.3$，每个条件设置3个生物学重复，每个重复1瓶。

### 1.7　数据分析

测定结果以“平均值±标准差”表示，利用python的numpy和pandas包进行数据处理，利用pyDOEZ和statsmodels进行响应面试验设计与分析（https://protocols.mushroomlab.cn/），使用WPS Office表格软件进行数据分析和差异显著性分析。

## 2　结果与分析

### 2.1　不同接种方式对长根菇液体菌种生长的影响

从图2可以看出，匀浆破碎后的长根菇菌丝更分散、均匀性更好，而玻璃珠法破碎后的菌丝仍然有明显的絮状菌丝团。在匀浆时间的试验中，匀浆5 s后接种的菌丝生物量最大，与玻璃珠破碎接种生物量接近，太长的匀浆时间（15 s）则会导致菌体被破坏，菌丝生长缓慢且生物量较小。对比匀浆破碎接种和玻璃珠破碎接种的菌丝生物量（表2），玻璃珠破碎接种菌丝平均生物量最大，这说明匀浆过程会破坏菌体结构，从而延长菌丝生长期。然而，玻璃珠破碎接种法的*CV*值明显高于匀浆接种法，这表明玻璃珠法破碎不均匀，不同瓶和不同批次的生长速度差异较大，不利于标准化生产。因此，从标准化操作和提高生长效率方面综合考虑，最优方案为匀浆5 s后进行接种。

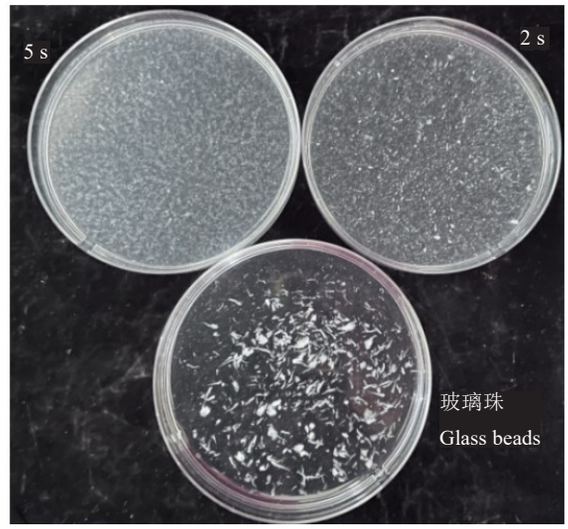



图2　匀浆5 s、2 s和玻璃珠手摇破碎后菌丝形态对比

Fig. 2　Comparison of homogenization for 5 s, 2 s and hand-rotated glass beads disruption

表2　不同接种方式对长根菇液体菌种生长的影响（培养7 d）

Table 2　The influence of different mycelial treatment methods on the growth of mycelial bodies of *O. raphanipes* (cultivation for 7 days)

| 指标 Index | 匀浆15 s Homogenize for 15 s | 匀浆5 s Homogenize for 5 s | 匀浆2 s Homogenize for 2 s | 玻璃珠法 Glass beads methods |
|---|---|---|---|---|
| 菌丝生物量 Mycelia biomass/(g·L$^{-1}$) | 3.1±0.1 c | 9.1±0.2 a | 5.0±0.1 b | 10.8±2.2 a |
| *CV*/% | 1.8 | 1.7 | 2.3 | 20.0 |

注：同一行不同小写字母表示在0.05水平差异显著。下同。

Note: Different lowercase in the same row indicate significant difference at 0.05 level. The same below.

### 2.2　不同碳源对长根菇菌丝体生长的影响

不同碳源（葡萄糖、麦芽糖、红糖、蔗糖）对长根菇液体菌种生长的影响差异显著（表3，图3），菌丝体生物量从大到小顺序依次为红糖>葡萄糖>蔗糖>麦芽糖。从菌丝体生物量来看，红糖作为长根菇液体培养基碳源时，菌丝生物量最大，为9.3 g·L$^{-1}$，比

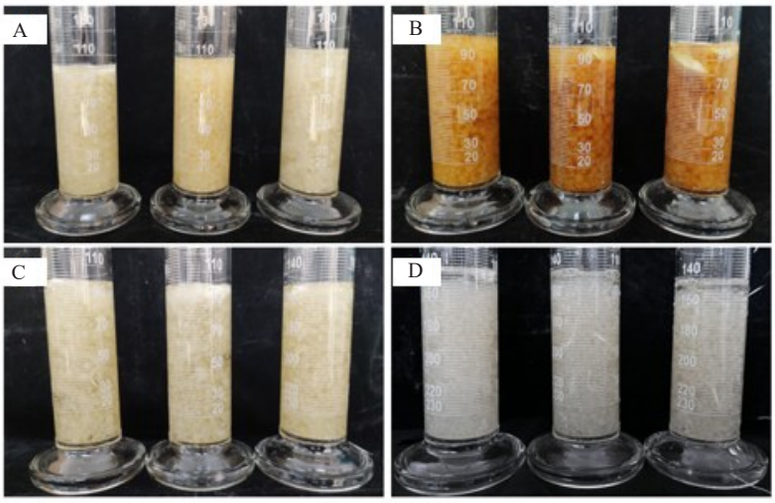
表3　不同碳源对长根菇菌丝体生长的影响

Table 3　The influence of different carbon sources on the mycelial growth of *O. raphanipes* NCM23504

| 指标 Index | 葡萄糖 Glucose（CK） | 红糖 Brown sugar | 蔗糖 Sucrose | 麦芽糖 Maltose |
|---|---|---|---|---|
| 菌丝长势 Growth of mycelia | ++ | +++ | ++ | + |
| 菌丝体生物量 Mycelial biomass/(g·L$^{-1}$) | 6.7±0.05 b | 9.3±0.25 a | 5.7±0.06 b | 4.3 ± 0.06 b |

注：+、++、+++表示菌丝长势逐渐增强。下同。

Note: +, ++, +++ indicates the growth of mycelium is gradually strengthening. The same below.




注：A. 葡萄糖；B. 红糖；C. 蔗糖；D. 麦芽糖

Note: A. Glucose; B. Brown sugar; C. Sucrose; D. Maltose.

**图 3　不同碳源下长根菇菌丝体生长状态**

**Fig. 3　The growth status of mycelium of *O. raphanipes* NCM23504 under different carbon sources**

用葡萄糖做碳源菌丝体的生物量提升了 38.8%。在本试验中，红糖对长根菇菌丝体生长有显著的促进作用，是长根菇液体培养基的最优碳源。

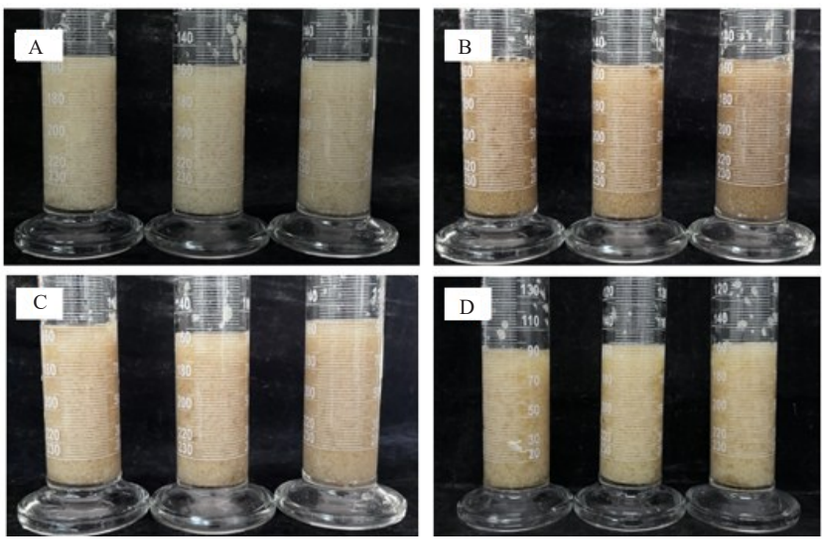
### 2.3　不同天然基质对长根菇菌丝体生长的影响

由表 4、图 4 可知，液体菌种中的菌丝生物量从大到小依次为燕麦麸皮粉>黄豆粉>玉米粉>马铃薯，其中燕麦麸皮粉作为天然基质时的菌丝体生物量最大，为 14.0 g·L$^{-1}$，比添加马铃薯时的菌丝体生物量提升了 75.0%。结果表明，燕麦麸皮粉对长根菇菌丝体生长有显著的促进作用。

**表 4　不同天然基质对长根菇菌丝体生长的影响**

**Table 4　The influence of different natural substrates on the mycelial growth of *O. raphanipes* NCM23504**

| 指标 Index | 黄豆粉 Soybean meal | 玉米粉 Corn flour | 燕麦麸皮粉 Oat bran flour | 马铃薯 Potato flour |
|---|---|---|---|---|
| 菌丝长势 Growth of mycelia | +++ | +++ | +++ | ++ |
| 菌丝体生物量 Mycelial biomass/(g·L$^{-1}$) | 12.3±0.15 ab | 12.0±0.26 ab | 14.0±0.26 a | 8.0±0.10 b |




注：A. 黄豆粉；B. 玉米粉；C. 燕麦麸皮粉；D. 马铃薯粉。

Note: A. Soybean meal; B. Corn flour; C. Oat bran flour; D. Potato flour.

**图 4　不同天然基质下长根菇菌丝体生长状态**

**Fig. 4　The growth status of mycelium of *O. raphanipes* NCM23504 under different natural substrates**

### 2.4　不同氮源对长根菇菌丝体生长的影响

不同氮源（酵母粉、牛肉膏、尿素、硫酸铵、蛋白胨）对长根菇菌丝体生长的影响如表5所示。根据菌丝体生长情况分析，菌丝生物量从大到小依次为酵母粉>牛肉膏>蛋白胨>硫酸铵>尿素。将培养基和菌丝体倒入量筒内静置15 min，可以发现A组（尿素）和D组（硫酸铵）中菌丝体会产生分层现象，B组（牛肉膏）、C组（酵母粉）和E组（蛋白胨）培养的长根菇菌球细密，不产生分层现象（图5）。综合来看，有机氮相比无机氮对菌丝生长有明显的促进作用。添加酵母粉作为长根菇液体培养基氮源时，平均菌丝生物量最大，为11.0 g·L$^{-1}$，比用牛肉膏作氮源菌丝体生物量提升了13.4%，较蛋白胨作氮源生物量提升37.5%。因此，酵母粉被认为是长根菇液体培养基的最优氮源。

### 2.5　响应面试验分析及长根菇最优液体培养基确定

根据以上单因素试验结果，对建立的3因素3水平试验进行响应面分析，结果见表6，回归模型方差分析见表7。

利用python脚本对试验结果（表6）进行拟合，建立二次回归模型：

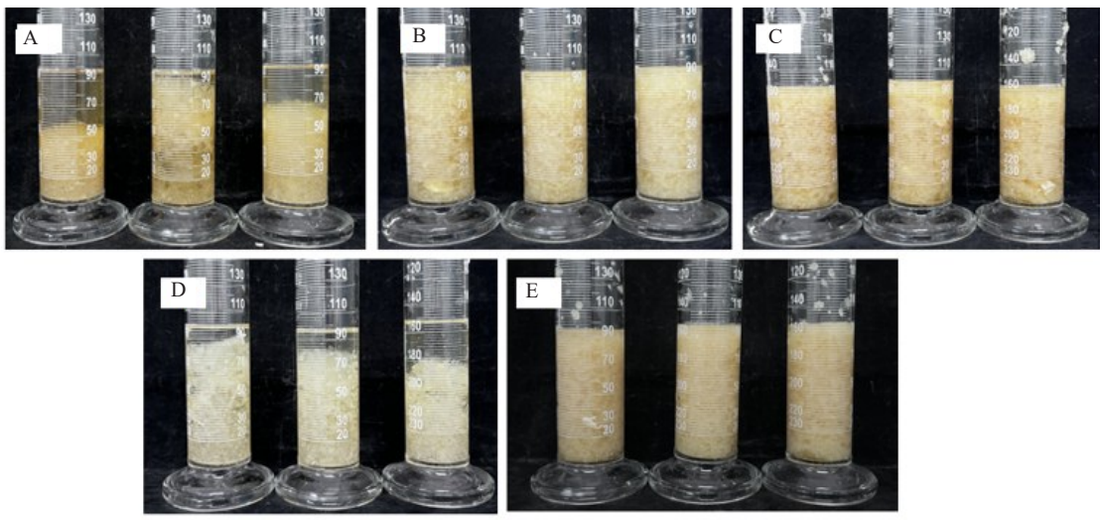
$$Y=1.12+0.069A+0.041B+0.093C+0.085AB+0.068AC-0.025BC-0.08A^2+0.11B^2-0.06C^2。$$

如表7所示，二次回归方程模型$P<0.05$，差异显著，具有统计学意义。失拟项$P$值大于0.05，表明模型能很好地反映响应值与因素之间的关系，且模型的$R^2$=0.948 6，$R^2_{Adj}$=0.882 4，$R^2_{Pre}$=0.704 8，均接近于1，且$R^2_{Adj}$与$R^2_{Pre}$之间的差异小于0.2，表明模型的拟合效果也比较好。各因素对长根菇菌丝体的影响程度分别为天然基质>碳源>氮源，即燕麦麸皮粉添加量>红糖添加量>酵母粉添加量，因素A和C对$Y$值的影响差异显著（$P<0.05$），通过响应面分析得到的长根菇液体菌种培养基最优配方为红糖21.6 g·L$^{-1}$、酵母粉5 g·L$^{-1}$、燕麦麸皮粉15 g·L$^{-1}$，在此条件下培养7 d菌丝体生物量达到15.87 g·L$^{-1}$。按照优化后的发酵条件进行试验，结果证明菌丝生物量达到了（15.33±0.51）g·L$^{-1}$。

表5　不同氮源长根菇菌丝体状态

**Table 5　The mycelial state of different nitrogen sources in *O. raphanipes* NCM23504**

| 指标 Index | 尿素 Urea | 牛肉膏 Beef extract | 酵母粉 Yeast extract | 硫酸铵（$(NH_4)_2SO_4$ | 蛋白胨 Peptone |
|---|---|---|---|---|---|
| 菌丝长势 Growth of mycelia | + | +++ | +++ | + | ++ |
| 菌丝生物量 Mycelial biomass/(g·L$^{-1}$) | 4.0±0.10 b | 9.7±0.21 a | 11.0±0.26 a | 5.3±0.15 b | 8.0±0.10 a |




注：A. 尿素；B. 牛肉膏；C. 酵母粉；D. 硫酸铵；E. 蛋白胨。

Note: A. Urea; B. Beef extract; C. Yeast extract; D. $(NH_4)_2SO_4$; E. Peptone.

图5　不同氮源下长根菇菌丝体生长状态

**Fig. 5　The growth status of mycelium of *O. raphanipes* NCM23504 under different nitrogen sources**

表 6　响应面设计试验及结果

Table 6　Response surface design experiments and results

| 试验组 Experimental group | A | B | C | 菌丝生物量 Mycelial biomass/(g·L$^{-1}$) |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 0 | 0 | 0 | 11.7 |
| 2 | 1 | 0 | −1 | 9.0 |
| 3 | 0 | 1 | −1 | 13.3 |
| 4 | 0 | 0 | 0 | 11.3 |
| 5 | −1 | 1 | 0 | 10.3 |
| 6 | −1 | 0 | −1 | 9.3 |
| 7 | 1 | 0 | 1 | 11.7 |
| 8 | 0 | −1 | 1 | 15.0 |
| 9 | 0 | −1 | −1 | 7.7 |
| 10 | 0 | 1 | 1 | 10.7 |
| 11 | 0 | 0 | 0 | 10.7 |
| 12 | −1 | 0 | 1 | 9.3 |
| 13 | 1 | 1 | 0 | 13.7 |
| 14 | 1 | −1 | 0 | 11.0 |
| 15 | 0 | 0 | 0 | 12.0 |
| 16 | −1 | −1 | 0 | 11.0 |
| 17 | 0 | 0 | 0 | 10.3 |

表 7　回归模型方差分析

Table 7　Analysis of variance for the regression model

| 来源 Source | 平方和 Sum of squares | 自由度 *df* | 均方 Mean square | *F* 值 *F* value | *P* 值 *P* value |
|---|---|---|---|---|---|
| 模型 Model | 0.500 | 9 | 0.055 | 14.34 | 0.001** |
| A | 0.036 | 1 | 0.036 | 9.26 | 0.018 8* |
| B | 0.014 | 1 | 0.014 | 3.62 | 0.099 |
| C | 0.067 | 1 | 0.067 | 17.50 | 0.004 1** |
| AB | 0.028 | 1 | 0.028 | 7.23 | 0.031 1* |
| AC | 0.018 | 1 | 0.018 | 4.63 | 0.068 5 |
| BC | 0.250 | 1 | 0.250 | 65.08 | <0.000 1** |
| $A^2$ | 0.025 | 1 | 0.025 | 6.44 | 0.038 8* |
| $B^2$ | 0.048 | 1 | 0.048 | 12.47 | 0.009 6** |
| $C^2$ | 0.015 | 1 | 0.015 | 3.95 | 0.087 3 |
| 残差 Residual | 0.027 | 7 | 0.004 | | |
| 失拟项 Lack of fit | 0.008 | 3 | 0.003 | 0.54 | 0.678 6 |
| 纯误差 Pure error | 0.019 | 4 | 0.005 | | |
| 总离差 Cor total | 0.520 | 16 | | | |

注：*表示 $P<0.05$；**表示 $P<0.01$。

Note: * indicates significant difference at 0.05 level; ** indicates highly significant difference at 0.01 level.

### 2.6　不同栽培料配方对长根菇菌丝体生长的影响

配方 A 在接种 4 d 后菌丝开始萌发，菌丝日均生长速度明显高于其他 3 个配方（表 8），菌丝长势最佳，其次是配方 B，配方 D 中未检测到菌丝生长。继续进行培养，栽培料 A 中培养 23 d 长根菇菌丝能长满整个试管（图 6），培养 25 d 时，栽培料 B 中长根菇菌丝体占试管的 90%以上，栽培料 C 中长根菇菌丝体占试管的 80%左右，而栽培料 D 中未见明显菌丝生长。因此，长根菇最优的栽培料配方为 A（$m_{木屑}$∶$m_{棉籽壳}$∶$m_{麸皮}$∶$m_{蔗糖}$∶$m_{碳酸钙}$=50∶28∶20∶1∶1）。

表 8　不同配方的菌丝生长情况

Table 8　The growth conditions of mycelium under different formulations.

| 配方 Media | 菌丝萌发时间 Mycelial germination time/d | 菌丝生长速度 Average growth rate of mycelium/(cm·d$^{-1}$) | 满管时间 Full time/d | 菌丝长势 Growth of mycelia |
|---|---|---|---|---|
| A | 4±0 | 0.42±0.02 | 23.1±0.9 | +++ |
| B | 5±0 | 0.35±0.04 | 27.0±2.8 | ++ |
| C | 6±0 | 0.32±0.05 | 30.4±4.2 | + |
| D | - | - | - | - |

注："-"表示无数据。

Note: "-" means no data.

## 3　讨论与结论

在工厂化生产中，液体菌种接种具有稳定性高、活性高、标准化程度高的优势，其使用比例在逐年增加。因此，液体菌种的生产效率和品质直接关系到食用菌栽培的经济效益[25-26]。在液体菌种质量评价中，菌丝形态非常重要，它直接决定了菌种接种后的定殖速度。生产上希望生产生物量大、菌丝体细小、均匀的菌丝球[27]。有研究表明，液体摇瓶培养过程中菌种的破碎方式对缩短生产周期、提高生物量及均一性有显著影响。相较于传统玻璃珠机械破碎法，匀浆接种能够形成数量多、均一性好的菌丝碎片，菌丝培养液不容易产生分层现象，生物学重复之间的差异显著缩小。该种形态的菌丝能够增加发菌点的数量，有利于大规模生产。对生长周期长、生长较慢的长根菇有较好的促进效果[28]。

营养配方的精细化调整是提升液体菌种品质的核心方法。本研究首先通过单因素筛选发现碳源中红糖较葡萄糖可显著提升 NCM23504 菌株菌丝生物量 38.8%，氮源中酵母粉较蛋白胨增加生物量 37.5%，而添加复合碳源燕麦麸皮粉可使菌丝生物量显著提高 75.0%。这与前人报道中卵孢长根菇对葡萄糖、豆粕粉、维生素等[29-30]的偏好性有所

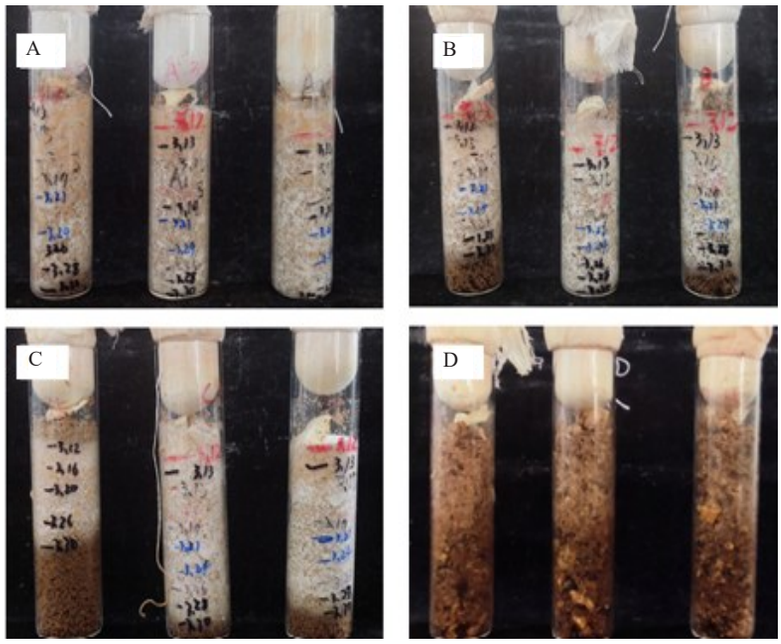



**图6　不同配方下菌丝生长情况（培养至25 d）**

**Fig. 6　Growth conditions of mycelium under different formulations（cultivate for 25 d）**

不同，提示不同菌株可能存在碳代谢通路调控的遗传特异性。进一步通过Box-Behnken响应面设计试验的结果表明，各因素对菌丝生物量的影响次序为：燕麦麸皮粉>红糖>酵母粉。在最优模型条件下，菌丝生物量可达（15.33±0.51）$g \cdot L^{-1}$（为理论最高生物量15.87 $g \cdot L^{-1}$的96.5%），较PDB培养基的6.7 $g \cdot L^{-1}$提升128%。最优组分中燕麦麸皮粉的多组分特性（$\beta$-葡聚糖、阿拉伯木聚糖）为菌丝提供了缓释碳源与结构性多糖，支持中后期生物量持续积累。酵母粉的丰富氨基酸谱（含硫氨基酸占比>15%）与B族维生素（如泛酸、烟酸）优化了氮代谢效率，减少氮源竞争抑制。该配方组成较为简单，仅由3种原料构成，且成本低廉，有利于工业化生产。后续木屑试管试验结果表明，经本试验优化后的液体菌种在保持同等生物活性的前提下，能有效定殖于固体基质，进一步验证了该优化方案具备较大的应用潜力。

综上所述，通过对接种方式和培养基的优化，匀浆接种法能够提高菌丝分散均匀性和菌丝生长一致性，更有利于液体菌种发酵过程控制。最优培养基为红糖21.6 $g \cdot L^{-1}$、酵母粉5 $g \cdot L^{-1}$、燕麦麸皮粉15 $g \cdot L^{-1}$、$KH_2PO_4$ 3 $g \cdot L^{-1}$、$MgSO_4$ 1.5 $g \cdot L^{-1}$，该条件下，培养7 d菌丝体生物量干质量可达（15.33±0.51）$g \cdot L^{-1}$。本研究结果为长根菇液体菌种发酵提供了可量化的工艺参数，在提高液体菌种生物量、提升生产效率方面具有一定的应用价值。

## 参考文献

[1] ZHU L P，GAO X，ZHANG M H，et al. Whole genome sequence of an edible mushroom *Oudemansiella raphanipes*（Changgengu）[J]. Journal of Fungi，2023，9（2）：266.

[2] 刘运伟，郭兴. 黑皮鸡枞菌液体培养基配方筛选[J]. 中国林副特产，2020（4）：23-25.

[3] 罗晓妙. 液态发酵产鸡枞菌菌丝体的条件优化[J]. 食品科技，2010，35（3）：29-33.

[4] 于浩，葛志豪，徐丽丽，等. 双单杂交技术选育长根菇高品质抗病新菌株[J]. 南方农业学报，2019，50（12）：2621-2628.

[5] 于凤春，高琪，魏赛，等. 航天诱变丝球小奥德蘑获得优良菌株[J]. 中国瓜菜，2025，38（9）：57-64.

[6] 胡尚勤，刘天贵，李贤柏. 鸡枞菌的培养条件研究[J]. 食品与生物技术学报，2008，27（1）：67-70.

[7] 苗晶囡，董嘉木，刘树民，等. 黑皮鸡枞菌多糖超声辅助提取条件优化及抗氧化活性研究[J]. 食品安全质量检测学报，2023，14（12）：109-116.

[8] 刘芹，闻诗歌，刘阳，等. 15种常见食用菌营养成分分析及评价[J]. 中国瓜菜，2024，37（11）：67-74.

[9] 刘苗苗，徐丽丽，杨秀青. 两种长根菇的氨基酸含量对比分析与营养价值评价[J]. 中国检验检测，2022，30（3）：20-22.

[10] 陈建飞，程萱，周爱珠，等. 长根菇化学成分及药理作用研究进展[J]. 食药用菌，2018，26（4）：222-224.

[11] 颜梦秋，刘艳芳，周帅，等. 食药用菌液体发酵及功能活性成分研究现状与展望[J]. 微生物学通报，2023，50（7）：3211-3231.

[12] 范贵增，宁超美，熊国真，等. 金针菇液体菌种生产技术研究[J].

食用菌，1992（4）：10-11.
[13] 杨庆尧.食用菇的深层发酵[J].中国食用菌，1985（4）：10-12.
[14] 王坤，曲亮璠，王祥河，等.鸡枞菌液体发酵菌丝体的条件优化[J].食品工程，2019（2）：13-46.
[15] 陆建明，张锡凤.食用菌液体菌种制备的研究进展[J].中国食用菌，2003，22（6）：15-17.
[16] 王敬文，闻亚美，王奇，等.响应面法优化平菇液体菌种培养体系及与固体菌种栽培对比[J].中国瓜菜，2025，38（5）：81-90.
[17] 李艳丽.鸡枞菌培养基优化及人工栽培技术研究[D].陕西汉中：陕西理工大学，2018.
[18] 黄静，李鹏，和耀威，等.响应曲面法优化黑皮鸡枞液体配方研究[J].安徽农业科学，2023（13）：49-52.
[19] 朱春弟，张健，徐柳静，等.长根菇大田覆土栽培技术[J].食药用菌，2001，29（5）：444-446.
[20] 叶树才，侯银臣，杨盛茹，等.长根菇液体深层发酵制备多糖条件优化及体外抗氧化活性研究[J].食品安全质量检测学报，2023，14（3）：58-67.
[21] 梁锡坤，田腴澍，李心悦，等.长根菇液体深层发酵培养基的优化[J].现代牧业，2023，7（3）：38-43.
[22] ZHU L P，MA S，GAO X，et al.Comparative secretome analysis of *Oudemansiella raphanipes* grown on different agricultural residues[J].Journal of Proteomics，2025，317：105445.
[23] 刘国丽，陈珣，肖军，等.卵孢长根菇液体发酵培养基配方优化[J].河南农业科学，2024，53（5）：133-140.
[24] 贾健辉，刘颖，贾婷婷，等.榛蘑液体培养基优化及其多糖抗氧化性评价[J].粮食与油脂，2023，36（7）：109-113.
[25] 冯嘉洁，曹逸，王思敏，等.杏鲍菇液体菌种培养研究进展[J].现代园艺，2020，43（20）：5-7.
[26] 李贺，王相刚，李艳芳，等.食用菌液体菌种生产研究进展[J].园艺与种苗，2012，（6）：123-125.
[27] 陈金花，张作法，吕国英，等.金针菇液体菌种技术研究进展[J].食药用菌，2016，24（1）：38-40.
[28] 冯立才.匀浆接种法在食用菌液体发酵中的应用[J].食用菌，2000（6）：12-13.
[29] 邹祥，胡昌华.长根菇液体深层发酵条件的研究[J].食品科学，2005，26（2）：130-134.
[30] 珂野，张小平，谭伟，等.长根菇菌丝体液体培养条件的研究[J].中国食用菌，2005（1）：45-47.