

# 杂菌净对黑木耳菌株生长的影响

韩增华, 张介弛, 戴肖东, 张丕奇, 马庆芳, 孔祥辉, 朴万华

(黑龙江省科学院应用微生物研究所, 黑龙江 哈尔滨 150010)

**摘要:** 黑木耳抑菌剂——“杂菌净”能刺激黑木耳菌丝生长, 有效抑制黑木耳生产中的杂菌污染, 用量仅为 0.2‰ (干料比), 灭菌时间从 8h 缩短到 4h, 菌丝培养期污染率降低 7.8%, 出耳期杂菌污染率极低。出耳期提前, 产耳质量提高, 产量提高达 28.9%。

**关键词:** 黑木耳; 抑菌剂; 生长影响; 显著性 t 检验

中图分类号: S646.6 文献标识码: A

文章编号: 1003-8310 (2004) 03-0026-03

黑木耳人工栽培规模逐年扩大, 菌种生产中的问题逐渐暴露, 常压土锅灭菌由于冷空气排放不充分, 接菌环境不良等, 造成杂菌污染严重。黑木耳菌丝较弱, 对应用于菇类的药品十分敏感, 如多菌灵、甲基托布津、克霉灵等对黑木耳菌丝有强烈的抑制作用。目前, 市场上还没有用于黑木耳菌种生产的有效抑菌剂, 针对这些情况, 黑龙江省微生物研究所立项研究, 经反复实验, 推出了适合常压土锅灭菌的既能起到杀菌作用又能刺激菌丝快速生长, 提高产量的黑木耳抑菌剂——“杂菌净”。

## 1 材料与方法

**1.1 供试菌株** 黑木耳 8808 (本所提供); 黑木耳“黑 29” (本所提供); G<sup>+</sup> 芽孢杆菌、青霉、绿色木霉、黑曲霉、链孢霉 (均从被污染的黑木耳培养料中分离纯化而来)。

**1.2 培养基** (1) CPDA 培养基; (2) CPD 液体培养基; (3) 牛肉膏蛋白胨培养基; (4) 麦粒培养基; (5) 栽培种培养基: 木屑 78%, 麸皮 20%, 石膏 1%, 石灰 1%。

**1.3 供试药品** “杂菌净” (本所研制生产), 具有低毒、无害、高效等特点, 用量 (干料比) 为 0.2‰。甲基托布津, 多菌灵, 高锰酸钾, 克霉净 (均为市售)。

## 1.4 方法

**1.4.1 不同药剂对菌丝生长影响** CPDA 培养基加不同浓度的杂菌净制平板, 空白对照 CPDA 培养基, 接入黑木耳 8808 和“黑 29”菌种, 置 25℃ 恒温培养, 记录菌丝生长情况。

**1.4.2 不同药剂对杂菌生长的影响** CPDA 培养基加适当浓度的供试药品, 制成平板, 空白对照 CPDA 培养基, 接入各供试杂菌 ( $10^6 \sim 10^7$  个/mL)

1.0mL 于平皿上, 分别置 25℃ 和 37℃ 恒温培养, 测供试药品对各种杂菌的抑制作用。

**1.4.3 杂菌净的最低抑菌浓度 (MIC) 和最小杀菌浓度 (MBC)** 无菌操作各取 0.1mL 不同菌液 ( $10^8$  个/mL) 接于二倍稀释法制成的不同药物、不同浓度的 3mLCPD 液体培养基 (细菌培养基为牛肉膏蛋白胨培养基) 中, 分别置 25℃ 和 37℃ 温箱中培养 2 周后观察, 无菌生长试管最低药物浓度为最低抑菌浓度。上述实验未长菌试管中各取 0.1mL 加入 20mLCPD 培养基 (细菌培养基为牛肉膏蛋白胨培养基), 分别置 25℃ 和 37℃ 温箱中培养 2 周, 无菌生长试管最低药物浓度为最小杀菌浓度。

**1.4.4 栽培实验** (1) 一级种培养 CPDA 培养基, 培养温度 25℃, 培养时间 15d; (2) 二级种培养 麦粒培养基, 培养温度 25℃, 培养时间 20d; (3) 三级种培养 栽培种培养基, 培养温度 18~24℃, 培养时间 60d, 培养室保持通风、避光; (4) 割口 每袋割 12 个 V 型口, 每边长约 1.5~2.0cm; (5) 栽培管理 栽培方式地摆阳畦, 催耳期 (7~12d), 每日早晚向菌袋浇水一次; 耳芽现齐后加大水量直至采收; (6) 采收记录木耳形态, 干重。

**1.4.5 杂菌净的使用方法** 将 50g 本品溶于水中, 均匀拌入 250kg 干料中, 常压土锅灭菌, 升温至 100℃, 充分排放冷气后, 开始记时, 100℃ 保持 4h, 熄火, 冷却至室温, 起锅。

## 2 结果与分析

**2.1 不同药剂对黑木耳菌丝生长的影响** 表 1 中, 杂菌净、高锰酸钾对黑木耳菌丝生长无抑制, 多菌

表 1 不同药剂对黑木耳菌丝生长的影响

供试药品	黑木耳 8808		黑木耳黑 29	
	cm/7d	cm/14d	cm/7d	cm/14d
空白组	2.0	6.5	3.0	7.5
0.2‰杂菌净	2.0	7.0	3.0	8.0
1‰多菌灵	—	—	—	—
1‰甲基托布津	萌发	—	萌发	—
1‰克霉净	—	—	—	—
0.5‰高锰酸钾	2.1	7.0	3.0	7.5

表中“—”代表菌丝死亡。

灵、甲基托布津、克霉净对黑木耳菌丝生长有强烈抑制作用，生产中不能用作黑木耳杂菌抑菌剂。

2.2 不同药剂对杂菌的抑制作用 表2可知，高锰酸钾只对 G<sup>+</sup>芽孢杆菌和青霉有抑制作用，对其它所筛选的杂菌无抑制作用。其他药剂对所筛选的杂菌均有较强的抑菌作用。

2.3 不同药剂的最低抑菌浓度（MIC）和最小杀菌浓度（MBC） 表3和表4中杂菌净对 G<sup>+</sup>细菌、青霉、黑曲霉的最低抑菌浓度（MIC）和最小杀菌浓度（MBC）均为 0.63%，对链孢霉的 MIC 和 MBC 均为 3.13‰。高锰酸钾、多菌灵的 MIC 为 5‰，而相对于 MBC 来说，当药剂浓度达到 10%时，仍不能完全杀死杂菌，说明它们只能抑菌而不能杀菌。

表2 不同药剂对杂菌的抑制

药 剂	G <sup>+</sup>	青霉	木霉	黑曲霉	链孢霉
空白组	-	-	-	-	-
0.2‰杂菌净	+++	+++	+++	++	+++
1‰多菌灵	+++	++	+	+++	+++
1‰甲基托布津	+++	++	+++	+++	+++
1‰克霉净	+++	++	+++	+++	+++
0.5‰高锰酸钾	+++	+++	-	-	-

表中“-”无抑菌作用，“+”有抑菌作用，但不明显。“++”抑菌作用较强。“+++”完全抑菌。

表3 不同药剂的最低抑菌浓度（MIC）

药剂	10%	5%	2.5%	1.25%	0.63%	3.13‰	1.56‰	0.78‰	0.39‰
杂菌净 1						+	+	+	+
杂菌净 2							+	+	+
杂菌净 3						+	+	+	+
杂菌净 4						+	+	+	+
高锰酸钾			+	+	+	+	+	+	+
多菌灵			+	+	+	+	+	+	+
甲基托布津						+	+	+	+
克霉净				+	+	+	+	+	+

注：杂菌净 1 所接杂菌为 G<sup>+</sup>细菌；杂菌净 2 所接杂菌为链孢霉；杂菌净 3 所接杂菌为青霉；杂菌净 4 所接杂菌为黑曲霉；KMnO<sub>4</sub> 所接杂菌为细菌；多菌灵、甲基托布津、克霉净所接杂菌为青霉。其中表 3 中的“+”表示有杂菌菌落生长。

表4 不同药剂的最小杀菌浓度（MBC）

药剂	10%	5%	2.5%	1.25%	0.63%	3.13‰	1.56‰	0.78‰	0.39‰
杂菌净 1						+	+	+	+
杂菌净 2							+	+	+
杂菌净 3						+	+	+	+
杂菌净 4						+	+	+	+
高锰酸钾	+	+	+	+	+	+	+	+	+
多菌灵	+	+	+	+	+	+	+	+	+
甲基托布津					+	+	+	+	+
克霉净		+	+	+	+	+	+	+	+

注：杂菌净 1 所接杂菌为 G<sup>+</sup>细菌；杂菌净 2 所接杂菌为链孢霉；杂菌净 3 所接杂菌为青霉；杂菌净 4 所接杂菌为黑曲霉；KMnO<sub>4</sub> 所接杂菌为细菌；多菌灵、甲基托布津、克霉净所接杂菌为青霉。其中表 4 中的“+”表示有杂菌菌落生长。

2.4 实验各组不同灭菌时间对黑木耳 8808 菌丝生长的影响 表5可知，灭菌时间对黑木耳菌丝生长有着极大的影响，灭菌 2h，菌丝生长缓慢、细弱，污染率高。灭菌数据空白组菌丝生长细弱，培养中

菌袋污染率高。4h 实验组，菌丝生长粗壮洁白，污染率低，虽比 8h 空白对照组菌丝萌发稍慢，但后期菌丝生长速度快，污染率低。

2.5 不同灭菌时间对实验组及空白组出耳时间和

产量的影响 表 6 中, 2h 空白组、实验组, 4h 空白组出耳期菌袋污染较严重, 耳成熟期长, 产量低于 8h 空白对照。4h 实验组污染率低, 出耳芽快, 产量高于 8h 空白对照组的 28.9%。此原因说明“杂菌净”有抑制杂菌生长的作用, 并能刺激黑木耳菌丝生长, 因而有助于黑木耳产量的提高。

表 5 不同灭菌时间菌丝生长情况及培养期污染率					
组 别	菌丝萌发 ( d )	菌丝封袋 ( d )	菌丝长满 ( d )	菌丝生长状态	菌丝培养期污染率 ( % )
2h 空白组	9	19	65	细弱、灰白	23.8
2h 实验组	7	14	60	细弱、灰白	19.1
4h 空白组	3	16	48	较弱、较白	15.6
4h 实验组	4	11	40	粗壮、洁白	2.0
8h 空白组	3	14	45	粗壮、洁白	9.8

空白组为培养料中未加杂菌净；实验组为培养料中添加杂菌净。

表 6 黑木耳 8808 各组出耳情况及产量情况					
组 别	出耳芽时间 ( d )	耳成熟时间 ( d )	出耳期菌袋污染率 ( % )	出耳平均产量 ( g/袋 )	提高产量 ( % )
2h 空白组	12	45	19.1	33	- 13.2
2h 实验组	10	42	15.4	36	- 5.3
4h 空白组	10	40	21.4	31	- 18.4
4h 实验组	7	27	7.3	49	28.9
8h 空白组	10	35	13.6	38	-

空白组为培养料中未加杂菌净；实验组为培养料中添加杂菌净。

2.6 各实验组与 8h 空白对照组显著性 t 检验分析 (单位: g) 表7可知,  $|t_1| < t_{0.0(14)} = 2.977$ ,  $|t_1| < t_{0.0(14)} = 2.145$ 。这表明 2h 实验组与 8h 空白对照组在 0.01 和 0.05 水平总体平均数差异不显著。 $|t_2| < t_{0.0(14)} = 2.977$ ,  $|t_2| > t_{0.0(14)} = 2.145$  表明, 4h 实验组与 8h 空白对照组在 0.01 水平总体平均数差异不显著, 在 0.05 水平总体平均数差异显著。

表 7 各实验组与 8h 空白组显著性 t 检验		
2h 实验组 $x_1$	4h 实验组 $x_2$	8h 空白组 $x_3$
34	54	32
31	44	42
39	48	36
35	50	37
36	54	44
38	46	31
37	49	39
38	47	43
$\sum x_1 = 288$	$\sum x_2 = 392$	$\sum x_3 = 304$
$x_1 = 36$	$x_2 = 49$	$x_3 = 38$
$t_1 = 1.014$ 方差数据 = 2.3876		

3 结论  
实验证实, 黑木耳杂菌净能有效抑制杂菌生长, 4h 实验组, 栽培种培养期污染率仅为 2%。杂菌净又能刺激菌丝生长和耳片生长, 出耳提前 3~5d, 采收期提前 7~9d, 黑木耳产量提高 28.9%, 耳片增厚, 出耳质量明显提高, 能将菌袋灭菌时间从 8h 缩短到 4h。杂菌净为化学复合配方药剂, 具有高效、低毒、无害, 使用量仅为 0.2‰, 远远低于国家规定的 2‰的使用标准。

[参考文献]

[1] 陈秀坤. 杂菌抑制剂药敏实验初报 [J]. 中国食用菌, 1989, 8 (3): 21

[2] 陶树兴, 薛知文, 杨秋香. 几种食用菌真菌和霉菌对一些抗菌药剂的敏感性研究 [J]. 中国食用菌, 1990, 9 (1): 19-20.

[3] 罗宽, 王国平. 防治食用菌杂菌的药剂筛选 [J]. 中国食用菌, 1990, 9 (2): 19.

[4] 张萍华, 蒋冬花, 贾波. 四种杀菌剂对双孢蘑菇菌丝及霉菌生长的影响 [J]. 中国食用菌, 2001, 20 (6): 18-20.

[5] 张永旺. 几种杀菌剂对霉菌及香菇菌丝生长影响试验初报 [J]. 中国食用菌, 1990 (2): 24-26.