

文章编号:1673-9496(2011)02-00082-05

腐熟菌糠成分测定与提取物植物促长研究

张光祥, 司小卉, 范涛, 吴丹, 王燕

(四川师范大学 生命科学学院, 四川 成都 610101)

摘要:本研究测定了平菇菌糠腐熟后的氮、磷、钾含量, 提取了腐熟菌糠的水溶性和醇溶性物质以及腐殖质。用这些提取物对莴笋、玉米、茄子和黄瓜进行了苗期叶面喷施正交试验, 其植物促长结果为: 平菇腐熟菌糠含全氮0.21%、全磷0.95% (以 P_2O_5 计)、全钾0.62% (以 K_2O 计); 腐熟菌糠的水提物、乙醇提取物和腐殖质提取率分别为4.05%、0.31%和23.31%; 作物苗期最大叶片的长度增量对喷施处理反应敏感, 可在较短时间对不同活性物的促长效果做出评价; 腐殖质的促长作用最大, 对叶片长度的促进效果是商品叶面肥诺贝宁的1.48倍, 是乙醇提取物的1.34倍, 差异显著。水提物的作用略差于乙醇提取物, 略好于诺贝宁, 但差异均未达显著水平。

关键词:食用菌菌糠; 水提物; 乙醇提取物; 腐殖质; 促长效应

中图分类号: S646.1+4

文献标识码: A

Determination of major mineral elements of decomposed SMS and evaluation for growth - promoting effect of extracts from SMS

ZHANG Guang-Xiang, SI Xiao-Hui, FAN Tao, WU Dan, WANG Yan

(College of Life Science, Sichuan Normal University, Sichuan Chengdu 610101, China)

Abstract: In the study, the contents of three major nutrient elements in decomposed SMS from *Pleurotus* mycelium production were determined. The aqueous extract (AE), ethanolic extract (EE) and humus were extracted from this kind SMS, and their growth - promoting effects on seedlings of lettuce, maize, eggplant and cucumber were evaluated by foliage spray in various concentrations in an orthogonal experiment. The main results were as follows: the total contents of nitrogen, phosphorus and potassium were 0.21%, 0.95% (P_2O_5 %) and 0.62% (K_2O %) respectively. The extraction rates of AE, EE and humus were 4.05%, 0.31% and 23.31% respectively. The increment of maximum leaf length was sensitive to the stimulation of the extracts and could be taken as a simple index for evaluating growth - promoting effects of different extracts in a short experiment period. The growth - promoting effect of humus was 1.48 times that of Nuobeining, a commercial foliar fertilizer. The effect of AE was slightly better than that of Nuobeining and inferior slightly than that of EE, but the differences among them were not significant.

Key words: spent mushroom substrate; aqueous extract; ethanolic extract; humus; growth - promoting effect

我国食用菌年生产量达 $1.73 \times 10^8 \sim 1.83 \times 10^8$ t^[1-2], 居世界前列, 按生物学效率40%和食用菌培养料减重50%^[3]计算, 菌糠年产生量在 2×10^8 t以上。食用菌菌糠的资源化利用已受到广泛

关注^[1], 从用作农作物基肥^[4-5]发展到制备活性炭^[6]等新用途, 已报道的利用途径不下10种^[1,7], 但是大多数用途的研究还不够深入, 未在生产实践中得到广泛推广。末次采菇后的新鲜菌糠可直

收稿日期: 2011-04-11

基金项目: 四川师范大学校级科研创新基金

作者简介: 张光祥(1960-), 男, 四川成都人, 副教授, 从事生物化学与分子生物学的研究。

接用于食用菌基料添加、畜禽鱼饲料添加、产沼气、提取植物营养液和纤维素酶等^[7]、生产微生物菌肥^[8-12]。相对于含有大量菌丝体的新鲜菌糠,腐熟菌糠的理化性质和成分含量相对更为稳定。腐熟菌糠可用于无土栽培基质^[13-15]、饲养昆虫^[9]或蚯蚓^[16]、提取漆酶^[7]等,还可用于环境修复或污水处理中吸附 Pb^{+2} 、降解多环芳烃类物质(PAH)和造纸工业污染物 2,4-二氯酚(DCP)等有机氯^[7]。但对腐熟菌糠的资源化利用研究相对滞后,甚至腐熟菌糠的成份也还知之甚少。本研究旨在测定腐熟菌糠中的氮、磷、钾含量,并对菌糠腐殖质、水提物和醇溶物的植物促长效果作一比较,为腐熟菌糠的高附加值利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

腐熟的平菇菌糠取自成都市龙泉驿区大面镇附近的废弃菌糠堆积处,晒干后研细备用。供试作物为“大白尖叶”莴笋、“彩糯 668”玉米、“竹丝茄”(茄子)和“二早子”(黄瓜)。

1.2 试验方法

腐熟菌糠成份的提取测定方法:腐熟菌糠中 N、P、K 的测定:随机抽取 5 个种植袋倒出腐熟菌糠压碎后晒干,再次压碎后充分混匀,充分研细后备用(图 1)。测定前 50℃ 烘干至恒重后取样,按有机肥国家标准 NY525-2002 规定的方法测定全氮、全磷和全钾,分别测定 4 个、3 个和 9 个重复样。

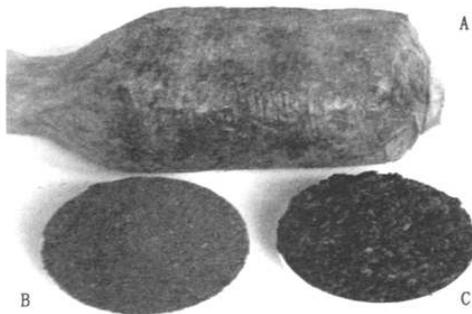


图1 腐熟菌糠和制样所得菌糠粉

Fig.1 Spent mushroom substrate decomposed thoroughly (SMSD) and its powder

水溶性物质的提取:取按前述方法制备的菌

糠粉 800g,用适量水在 40℃ 下溶提 1h,再以双层纱布过滤,取滤渣与适量水在钢筋锅内煮沸,沸腾 1h 后再次以双层纱布过滤,将两次获得的滤液合并,离心(800r/min,10min)以取上清液,将上清液 60℃ 烘干得到水溶物干物质。

醇性物质的提取:称取菌糠粉 400g 菌糠,以适量乙醇溶液溶泡 24h 后,在 40℃ 下水浴 1h,并进行超声波处理三次,每次 5min,然后四层纱布过滤,将上清液置于通风橱风干得到膏状醇溶物。

腐殖质的提取:取 500g 烘干的菌糠粉于锅内,加入 3L 提取液(44.6g 焦磷酸钠与 4.0g 氢氧化钠溶于水并定容至 1L),溶泡 1h 后煮沸 1h,放置过夜后两层纱布过滤。将滤液 800rpm 离心 10min 后取上清液于白磁盘中置鼓风干燥箱 50℃ 烘干。

不同提取物对作物的促长试验:根据水提物、醇提物、腐殖质的提取率分别配制成低、中、高三种喷施浓度,韦尔奇高科牌叶面肥“诺贝宁”(以芸苔素、壳聚糖为主要成分,说明书使用浓度为 0.125%)的使用浓度。水提物的低、中、高三浓度水平分别为 0.1%、0.5%、2.5% (w/v) 的药剂,醇提物的低、中、高三浓度水平分别为 0.01%、0.05%、0.1% (w/v) 的药剂,腐殖质的低、中、高三浓度水平分别为 0.2%、1.0%、5.0% (w/v) 的药剂。以主要活性成分为芸苔素和壳聚糖的韦尔奇高科牌叶面肥“诺贝宁”(说明书使用浓度为 0.125%)为标准对照,也配成低(0.025%)、中(0.125%)、高(0.625% (w/v))三个喷施浓度。四种试验药剂都设零浓度(只喷纯净水)的空白对照。

试验采用 $L_6(4^1)$ 正交试验设计方法,重复两次,因素水平见表 1。于早春大棚温室育苗,选 12cm 高的健壮苗移栽,移栽后一周开始试验处理,处理前进行一次株高和当时最大叶片的长度与叶宽调查,并挂牌编号。药剂喷施处理 4d,每天早晚在植株的叶面各喷施一次,以叶面湿润为度。停止叶面喷施处理后的第五天再次进行一次株高和当时最大叶片的长度与叶宽测量。

表 1 正交试验因素水平表

Tab.1 Factor levels of orthogonal test

因素	1 水平	2 水平	3 水平	4 水平
A 材料品种	莴笋	玉米	茄子	黄瓜
B 喷施药剂	水提物	醇提物	腐殖质	诺贝宁
C 药剂浓度	零浓度	低浓度	中浓度	高浓度

2 结果与讨论

2.1 腐熟菌糠中的氮、磷、钾含量

测定结果显示,平菇腐熟菌糠中全氮的含量为 $(2.100\ 0 \pm 0.114\ 3)\text{mg/g}$,即0.21%;全磷含量(以 P_2O_5 计)为 $(9.543\ 5 \pm 0.335\ 3)\text{mg/g}$,即0.95%;全钾含量(以 K_2O 计)为 $(6.155\ 2 \pm 0.505\ 4)\text{mg/g}$,即占0.62%。与平菇新鲜菌糠全氮含量0.53%~0.48%、全磷(以 P_2O_5 计)0.55%~0.84%和全钾(以 K_2O 计)0.62%~0.78%^[17]相比,全钾的含量相当,全磷含量偏高,但差异并不十分悬殊,然而全氮含量不及一半,说明充满新鲜菌糠的菌丝体的腐烂对氮的含量影响很大,全氮含量大幅减少。由于磷和钾的含量一般不会因为菌糠腐熟过程而明显损耗,按理应该受新鲜菌糠中菌丝体等有机质腐烂和腐殖化的减重影响而有所增加。但是食用菌培养料的配方不同会造成磷和钾等成份初始含量的差异,从而导致不同菌糠间的含量差异^[11]。

2.2 生物活性物的提取

用腐熟菌糠提取的腐殖质溶液为橙黄色透明液,于鼓风干燥箱 50°C 烘干后,磁盘中为灰白色放射状固形物,磁盘边缘的固形物带深浅不同的棕色(图2)。每500g烘干菌糠粉得116.53g腐殖质,提取率为23.306%。腐殖质含有丰富的芳香环、羧基、羟基、甲氧基等基团,具有较高的离子交换容量,对一些金属离子、有机污染物和染料等具有络合或螯合作用,对动植物具有多种生理活性,用途十分广泛^[18]。腐熟菌糠中23.306%的腐殖质提取率已经接近风化煤的腐植酸含量(27.68%)^[19],也接近低腐植酸泥炭的腐植酸含量(15%~25%)的高限^[20]。

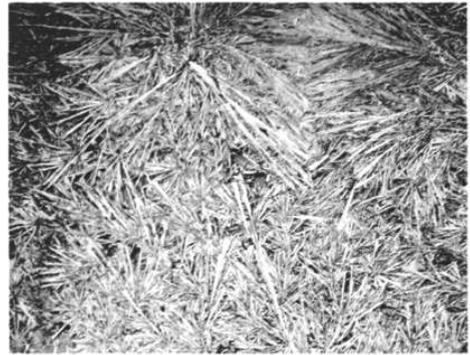


图2 从腐熟菌糠中提取的结晶状腐殖质

Fig.2 The crystal humus extracted from SMSD

从800g烘干的食用菌生产废料提取到的水提取物总量为32.42g,提取率为4.0525%;从400g烘干的腐熟菌糠中共提取到醇提取物1.25g,提取率为0.3125%。这些提取物是否具有生理活性值得研究。

2.3 植物促长试验结果

叶面喷施试验结果表明,以试验期间作物苗期最大叶片的长度增量为指标时,腐殖质、水溶性提取物、醇溶性提取物和叶面肥“诺贝宁”的促长作用具有极显著差异,不同浓度对作物叶片长度的影响也达到了显著水平。

用新复极差法对各因素的水平间差异进行多重比较(表3),结果表明腐殖质对作物叶片长度的增长量具有最大促进作用,促长效果是“诺贝宁”的1.48倍,与另外3种喷剂的作用达极显著差异。醇提取物和水提取物的作用与叶面肥“诺贝宁”相当,三者之间无显著差异。这些喷剂对叶片长度的促进作用随浓度提高而增大,但只有试验中的最大浓度才显著优于喷纯净水的对照。

表2 不同因素对四种作物叶片长度增量的正交试验方差分析
Tab.2 Variance analysis of orthogonal experiment on influence of foliage spray with various extracts on leaf length of plants

变异来源	SS	df	MS	F值	P值
作物间 A	30 056.67	3	10 018.890 0	83.586**	3.503×10^{-12}
药剂间 B	1 869.62	3	623.206 7	5.199**	0.007 2
浓度间 C	1 097.62	3	365.873 3	3.052*	0.0498
合并误差 e	2 636.99	22	119.863 2		
模型误差 e_1	776.99	6	129.498 3	1.114 ^{NS}	
试验误差 e_2	1 860.00	16	116.250 0		

表 3 各因素的不同水平间差异多重比较

Tab.3 Multi-comparison analysis of three experimental factors

A 材料	显著性		B 药剂	显著性		C 浓度	显著性	
	5%	1%		5%	1%		5%	1%
k1(莴笋) 97.500	a	A	k3(腐殖质) 61.125	a	A	k4(高) 55.500	a	A
k2(玉米) 46.625	b	B	k2(醇提物) 45.500	b	B	k3(中) 52.250	ab	A
k3(茄子) 33.875	c	B	k1(水提物) 44.875	b	B	k2(低) 43.625	ab	A
k4(黄瓜) 14.750	d	C	k4(诺贝宁) 41.250	b	B	k1(零) 41.375	b	A

表 4 不同因素对四种作物叶片宽度增量的正交试验方差分析

Tab.4 Variance analysis of orthogonal experiment on influence of foliage spray with various extracts on leaf width of plants

变异来源	SS	df	MS	F 值	P 值
作物间 A	4 609.375 0	3	1 536.458	132.948**	3.01×10^{-14}
药剂间 B	146.625 0	3	48.875	4.229*	0.016 7
浓度间 C	14.625 0	3	4.875	0.422 ^{NS}	
合并误差 e	254.250 0	2 211.556 82			
模型误差 e ₁	89.250 0	6	14.875	1.442 ^{NS}	
试验误差 e ₂	165.000 0	16	10.312 5		

在试验期间不同作物的叶片长度增量具有极显著差异(表 2),莴笋的叶片长度增长速度大大快于其它 3 种作物,黄瓜的叶片长度增长最慢(表 3)。这种差异很可能只是不同作物的叶形和叶片生长特性不同所致,因为在正交试验的方差分析中,模型误差项并不显著,说明作物与喷剂种类之间以及喷剂的种类与浓度之间并不存在显著的互作效应(表 2)。

当以叶片宽度的增量为评价指标时,不同作物间也存在极显著差异(表 4)。但是不同喷剂间的差异只达到显著水平,不同浓度间的差异不显著。这与叶片宽度的增长速度比叶片长度慢,试验观察期不够长等因素有关。事实上,叶片宽度的全试验平均增量仅为(17.187 5 ± 12.731 6)mm,叶片长度的平均增量达(48.187 5 ± 33.916 8)mm,两者相差悬殊。所以,叶片宽度增量对喷剂的反应不及叶片长度增量敏感,需要足够长的实验观察期才能充分反映出喷剂的作用效果。而苗期最大叶片长度的增量对叶面喷施生理活性物质的反应最为敏感,可在较短时间内对促长效果做出评价。

腐殖质具有促进营养吸收、增加细胞透性、调节体内 pH 和离子平衡、增强酶活和代谢机能、激活和增强动物免疫力以及类似生长素的促长活性等多方面的生理作用^[21-23],虽然类似植物生长素

活性的作用机制还有不同说法^[21],但 Nebbioso 等人^[24]利用腐殖质组学(Humeomics)方法发现腐殖质含甾体类物质。天然甾体化合物大都具有重要生理作用,比如甾体类植物激素油菜素甾醇和拉肖皂苷等就具有明显促长作用^[25]。本研究腐熟菌糠腐殖质的高提取率和极显著的植物促长效果说明,菌糠也是一种具有开发价值的腐殖质资源。腐殖质在种植业和养殖业以外也有很多高附加值利用途径^[18],而且还在不断涌现,比如可用于生产有机污染物的高灵敏传感器^[26]、复合高吸水性树脂^[27]、高能锂电池阳极材料 LiFePO₄/C^[28]以及高效率的有机、无机染污物清除剂^[29-30]。所以大量废弃腐熟菌糠作为腐殖质资源的综合利用值得进一步研究。

3 结论

1)栽培平菇产生的腐熟菌糠含全氮 0.21%、全磷 0.95%、全钾 0.62%。从腐熟菌糠干粉中提取腐殖质、水溶性物质和醇溶性物质的提取率分别为 23.306%、4.0525%和 0.3125%。

2)从腐熟菌糠中提取的水溶性物质和醇溶性物质都对作物具有与诺贝宁相当的促长作用,但腐殖质的促长作用最大,对叶片长度的促进效果

是叶面肥“诺贝宁”的1.48倍。

参考文献:

- [1] 卫智涛, 周国英, 胡清秀. 食用菌菌渣利用研究现状[J]. 中国食用菌, 2010, 29(5): 3-6.
- [2] 夏友国, 黄勤楼, 杨信, 等. 菌糠饲料开发利用的研究进展[J]. 家畜生态学报, 2010, 31(4): 6-9.
- [3] 黄秀声, 翁伯琦, 黄勤楼, 等. 食用菌菌渣循环利用对农田生态环境的影响与评价指标[J]. 现代农业科技, 2010(22): 268-271.
- [4] 侯立娟, 代祖艳, 韩丹丹, 等. 菌糠的营养价值及在栽培上的应用[J]. 北方园艺, 2008(7): 91-93.
- [5] 刘二伟, 张晨曦. 蘑菇渣基质对大花蕙兰和矮牵牛生长的影响[J]. 河北林果研究, 2010, 25(3): 292-295.
- [6] 华坚, 尹华强, 吴莉丽, 等. 利用废弃食用菌渣制备活性炭的方法: 中国, 200710049438 [P]. 2008-01-30.
- [7] 王德汉, 项钱彬, 陈广银. 蘑菇渣资源的生态高值化利用研究进展[J]. 有色冶金设计与研究, 2008, 28(2-3): 262-266.
- [8] 刘润叶. 食用菌菌渣生产水体缓释肥的发酵技术研究[J]. 河北农业科学, 2010, 14(7): 42-44.
- [9] 米青山, 王尚堃, 宋建华. 食用菌废料的综合利用研究[J]. 中国农学通报, 2005, 21(2): 284-287.
- [10] 刘雯雯, 姚拓, 孙丽娜, 等. 菌糠作为微生物肥料载体的研究[J]. 农业环境科学学报, 2008, 27(2): 787-791.
- [11] 王艳荣, 王鸿升, 张海棠, 等. 平菇菌糠营养价值分析[J]. 贵州农业科学, 2008, 36(4): 158-159.
- [12] 王玉军, 窦森, 张晋京, 等. 农业废弃物堆肥过程中腐殖质组成变化[J]. 东北林业大学学报, 2009, 37(8): 79-81.
- [13] 周庆, 傅玉兰, 黄新, 等. 芦荟有机生态型无土栽培基质的研究[J]. 经济林研究, 2005, 23(3): 28-30.
- [14] 赵恒田, 王新华. 寒区草莓无土栽培品种与基质筛选试验[J]. 农业系统科学与综合研究, 2001, 17(4): 319-320.
- [15] 莫大旺. 麝香百合切花无土栽培技术[J]. 林业实用技术, 2010(9): 51-52.
- [16] 李瑞哲, 张红垒, 郭建伟, 等. 蘑菇底料等废弃物对蚯蚓生长发育的影响[J]. 中国食用菌, 2010, 29(2): 32-33.
- [17] 王建忠, 王颖. 利用菌糠生产有机肥的可行性分析[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(5): 2568-2570.
- [18] ALLREAD P, HARTUNG HA. 腐植酸物质在商业中的应用-现今世界文献综评[J]. 腐植酸, 2001(3): 7-8.
- [19] 曹鹏, 李华, 李永青, 等. 两种测定风化煤与土壤腐殖酸含量方法的比较[J]. 中国农学通报, 2007, 23(1): 277-279.
- [20] 马秀欣, 李欣. 腐植酸资源开发前景广阔[J]. 中国煤炭, 2000, 26(10): 34-35.
- [21] SARA TREVISAN, ORNELLA FRANCIOSO, SILVIA QUAGGIOTTI, et al. Humic substances biological activity at the plant-soil interface[J]. Plant Signaling & Behavior, 2010, 5(6): 635-643.
- [22] 康萍, 刘福柱, 刘敏. 腐植酸在动物生产中的应用[J]. 中国饲料, 2003(24): 17-18.
- [23] VETVICKA V, BAIGORRI R, ZAMARRE O AM, et al. Glucan and humic acid: synergistic effects on the immune system[J]. J Med Food. 2010, 13(4): 863-869.
- [24] NEBBIOSO A, PICCOLO A. Basis of a Humeomics science: chemical fractionation and molecular characterization of humic biosuprastructures[J]. Biomacromolecules, 2011, 12(4): 1187-1199.
- [25] 郭杰, 管桦, 张存莉, 等. 拉肖皂苷元和拉肖皂苷 C 对油菜种子萌发和幼苗生长的影响[J]. 北方园艺, 2010(24): 12-14.
- [26] CRESPILO FN, ZUCOLOTTO V, SIQUEIRA JR JR, et al. Immobilization of humic acid in nanostructured layer-by-layer films for sensing applications[J]. Environ Sci Technol. 2005, 39(14): 5385-5389.
- [27] 马敬昆, 蒋淑丽, 蒋庆哲, 等. 改性腐植酸盐-丙烯酸酰胺-丙烯酸复合吸水树脂制备及性能研究[J]. 环境工程学报, 2010, 4(7): 1675-1680.
- [28] 周学酬, 刘永梅, 杨同欢, 等. 以腐殖酸为还原剂合成 LiFePO₄/C 的性能[J]. 电池, 2009, 39(2): 85-87.
- [29] CERVANTES F J, GONZALEZ ESTRELLA J, MARRQUEZ A, et al. Immobilized humic substances on an anion exchange resin and their role on the redox biotransformation of contaminants[J]. Bioresour Technol, 2011, 102(2): 2097-100.
- [30] 李成吾, 李勇, 高景龙, 等. 环氧树脂-腐殖酸复合材料的制备及其吸附 Cr(VI) 性能[J]. 电镀与精饰, 2010, 32(12): 42-44.

(责任编辑 刘存英)