

植物生長調節劑對液體培養基蠔菇菌絲生長及出菇之影響

邱獻毅¹ 趙苡蓁² 張雅涵² 洪進雄^{3,*} 陳麗如⁴

摘要

邱獻毅、趙苡蓁、張雅涵、洪進雄、陳麗如。2017。植物生長調節劑對液體培養基蠔菇菌絲生長及出菇之影響。台灣農業研究 66(3):240–247。

本研究探討植物生長調節劑 (plant growth regulator; PGR) 在液體培養方式下對蠔菇菌絲、原基及子實體生長的影響。在分別添加 1、6 mg L⁻¹ 的 1-萘乙酸 (α -naphthaleneacetic acid; NAA)、2,4-二氯苯氧乙酸 (2,4-Dichlorophenoxyacetic acid; 2,4-D) 或 0.2、1.5 mg L⁻¹ 的 6-苄氨基嘌呤 (6-Benzylaminopurine; BA) 的培養液中，接種蠔菇菌絲塊，進行 25°C 靜置培養。菌絲生長調查結果顯示，在添加 1.5 mg L⁻¹ BA 或 1、6 mg L⁻¹ 2,4-D 的培養液中，菌絲生長量最高，在接種後 21 d 達 7.5–7.8 cm，而 6 mg L⁻¹ NAA 有抑制菌絲生長的情形。在原基及子實體形成的調查結果顯示，培養 21 d 後，在 1 mg L⁻¹ 2,4-D 處理組中，原基及子實體形成數最多，其原基及子實體平均形成數分別為 235.5 個及 5.2 個。而在 1.5 mg L⁻¹ BA 處理組中，原基形成數最低，平均為 58.4 個。在 6 mg L⁻¹ 2,4-D 處理組中，子實體形成數最低，平均為 2.6 個。本研究顯示，培養液中添加 1 mg L⁻¹ 2,4-D 能顯著影響蠔菇菌絲生長、原基誘導與子實體發生，未來可進一步進行放大試驗規模，尋求可以符合商業生產的植物生長調節劑及其最適濃度。

關鍵詞：出菇、液體培養、植物生長調節劑、蠔菇。

前言

蠔菇 [*Pleurotus ostreatus* (Jacq.exFr.) Kumm.]，屬傘菌目、側耳科、側耳屬真菌，乃國內前 5 大栽培菇類 (Lu 2009)。蠔菇富含蛋白質、胺基酸、微量元素、多醣與抗氧化物質，具有高營養低熱量特性，並有提高免疫力、保護肝臟、降低血壓與膽固醇、以及增進心腦血管代謝的功能 (Sarangi *et al.* 2006; Jayakumar *et al.* 2008)。行政院農業委員會農糧署統計資料顯示，蠔菇栽培量每年約為 3,000 萬包太空包，產量約為 12,000 Mg，產值約為新台幣 5.4 億。每年用於太空包生產的木屑需約 36,000 Mg，但近年來林木資源逐漸短缺，將是未來菇類固體栽培必須面臨的重大問題。

因此，在環境生態及菇農生產成本的壓力下，近年來已有許多研究以農業廢棄物，如雜草、玉米桿、稻草等，作為替代基質的研發實例 (Liang *et al.* 2009; Naraian *et al.* 2009; Li *et al.* 2012)。

Yurekli *et al.* (2003) 指出在 30°C 黑暗條件下，*Lentinus sajor-caju* 在含葡萄糖的培養液中振盪培養，每毫升培養液最高有 0.18 mg 吲哚乙酸 (Indole acetic acid; IAA) 的產出。植物生長調節劑 (plant growth regulator; PGR) 除廣泛地應用於作物的生產與栽培上，也應用於菇類生產的研究。*Pleurotus sajor-caju* 培養液中添加 2 mg L⁻¹ IAA 振盪培養，可增加 28% 的菌絲及蛋白質產量 (Mukhopadhyay *et al.* 2005)。Jonathan & Fasidi (2001) 提出 2,4-二

投稿日期：2016 年 8 月 30 日；接受日期：2016 年 12 月 12 日。

* 通訊作者：chhung@mail.ncyu.edu.tw

¹ 國立嘉義大學園藝學系碩士。台灣 嘉義市。

² 國立嘉義大學園藝學系助理。台灣 嘉義市。

³ 國立嘉義大學園藝學系教授兼系主任。台灣 嘉義市。

⁴ 中國文化大學園藝暨生物技術學系助理教授。台灣 台北市。

氯苯氧乙酸 (2,4-Dichlorophenoxyacetic acid, 2,4-D) 可促進食用菌的菌絲生長，依菌種而異。添加 8–15 mg kg⁻¹ 1-萘乙酸 (α -naphthaleneacetic acid, NAA) 於栽培介質中，可提高平菇 (Wang *et al.* 2001) 及菌核鮑魚菇 (*Pleurotus tuber-regium*) 的產量 (Chen 2004)。添加 NAA 於液體培養基中，亦可提高桑黃 (Guo *et al.* 2009) 及金頂側耳 (*Pleurotus citrinopileatus*) 的菌絲及胞外多醣產量 (Huang *et al.* 2006)。除生長素外，添加 2 mg kg⁻¹ 6-苄氨基嘌呤 (6-Benzylaminopurine; BA) 於平菇生產，可提高子實體產量 71% (Ciou *et al.* 2001)；添加 35 mg L⁻¹ BA 至巴西蘑菇液體培養基中，對菌絲生長及可溶性醣與蛋白質含量均有顯著影響 (Guo *et al.* 2007)。

菇類由營養生長的菌絲分化為子實體的出菇過程，是菇類生產重要的一環，適當環境條件和營養需求是必要條件。探討適合出菇的栽培介質、培養基或條件，除能了解菇類生長的營養需求外，也能提升出菇速度、產量及品質。太空包的固體介質，除菌絲生長期與原基誘導期長外，介質成分複雜、體積龐大及栽培環境不易調控都是探討出菇條件的障礙 (Arjona *et al.* 2009)。因此，學者提出使用液體培養的方式，菌絲體可作為液體菌種接種太空包，也可萃取胞內多醣作為抗氧化的保健食品。採用液體菌種培養，具有較傳統菌種培養有生產週期短、菌齡一致及接種方便等優點 (Yan *et al.* 2007; Chen *et al.* 2016)。近年來亦有利用改良養液配方的液體培養基進行出菇的研究，並比較不同菇類的差異性，或使用環境調控來探討不同菇類及菌株特性與出菇需求。本研究目的在於以液體培養的方式建立蠔菇的出菇系統，並探討添加不同濃度的 NAA、2,4-D 或 BA 對蠔菇菌絲生長及出菇的影響。未來可應用於調控菌絲、菇體的生長速度或產量，或將液體培養模式結合生物技術與生化分析方法，在子實體的形成機制與其生理生化反應上能作較深入的研究。

材料與方法

菌種來源與接種源製備

本試驗所使用之蠔菇 *Pleurotus ostreatus*

為台灣一般商業栽培品種 (為台灣秋冬季栽培之低溫型白色蠔菇)，購自法商家樂福商場之新鮮菇體，於無菌操作台分離後培養在 potato dextrose agar (PDA; Himedia Chemicals, Mumbai, India) 試管斜面上，保存於 4°C 冰箱內，每 2 mo 更新繼代培養一次。接種試驗前繼代於 PDA 平板培養基，於 25°C 恆溫生長箱中黑暗培養，待長滿菌絲時使用。以直徑 0.7 cm 打孔器於長滿菌絲的平板外圍打洞，取其菌種塊作為接種源。

培養液組成分

培養液成分以 Leatham (1983) 發表的香菇液體培養配方為基礎進行修改。Leatham 培養基組成為每公升含 25 g D-glucose, 2.5 g L-glutamic acid、4 g D-glucuronic acid、2 g KH₂PO₄、2 g MgSO₄ · 7H₂O、10 mL mineral solution、1 mL trace element solution、1 mL vitamin solution 及 0.1 mL salicylic acid solution。修改後配方為每公升含 20 g Dextrose (Choneye Pure Chemicals, Taipei, Taiwan)、1.5 g Asparagine (Hayashi Pure Chemical Ind., Ltd., Osaka, Japan)、2 g KH₂PO₄ (Choneye Pure Chemicals, Taipei, Taiwan)、2 g MgSO₄ · 7H₂O (Hayashi Pure Chemical Ind., Ltd., Osaka, Japan)、10 mL mineral solution、1 mL trace element solution、1 mL vitamin solution 及 0.1 mL salicylic acid solution (表 1)。

PGR 之添加處理與接種

在培養液中分別添加不同濃度的 NAA (1、6 mg L⁻¹)、2,4-D (1、6 mg L⁻¹) 及 BA (0.2、1.5 mg L⁻¹)，以無添加任何生長調節劑作為對照組。將各處理之養液分別取 25 mL 注入 250 mL 的錐形瓶中，以高溫高壓 (121°C 及 1.2 atm) 滅菌 20 min 後，放置於無菌操作台冷卻。再接入直徑 0.7 cm 的菌絲塊，經暗培養 2 d 後，再移至光週期 18 h，光強度 10 μ mol m⁻² s⁻¹，光源為 40 W 螢光燈 (FL30D/29, China electric MFG. Co., Taipei, Taiwan) 的光照環境下進行培養，溫度為 25°C。從光照開始，每 3 d 記錄菌絲生長量、原基數及子實體數。

表 1. 修改後 Leatham 培養液配方。

Table 1. Modified composition of Leatham liquid medium.

Chemical	Content/L in stock	Content/L in medium
Dextrose		20.0 g
Asparagine		1.5 g
KH ₂ PO ₄		2.0 g
MgSO ₄ · 7H ₂ O		2.0 g
Mineral solution		10 mL
CaCl ₂ · 2H ₂ O	3.67 g	
MgSO ₄ · 7H ₂ O	4.39 g	
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	2.20 g	
Trace element solution		1 mL
Fe(NH ₄) ₂ (SO ₄) ₂ · 6H ₂ O	14.1 g	
CuSO ₄ · 6H ₂ O	0.784 g	
CoCl ₂ · 6H ₂ O	0.081 g	
Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	0.051 g	
NiCl ₂ · 6H ₂ O	0.081 g	
SnCl ₂ · 2H ₂ O	0.038 g	
HCl	2 mL	
Vitamin solution		1 mL
Myo-inositol	1 g	
Thiamine-HCl	1 g	
Pyridoxine-HCl	0.1 g	
Nicotinic acid	0.1 g	
Sodium pantothenate	0.1 g	
p-Aminobenzoic acid	0.1 g	
Riboflavin	0.1 g	
Biotin	0.03 g	
Folic acid	0.01 g	
Cyanocobalamin	0.01 g	
Salicylic acid solution		0.1 mL
Salicylic acid ^z	10 g	

^z Salicylic acid is pre-dissolved in 95% ethanol before dissolved in water.

統計分析

本研究採用完全隨機設計 (Completely randomized design; CRD) 進行試驗，每處理 4 重複，每重複 4 樣本數。試驗數據以 SAS 軟體進行變方分析 (analysis of variance; ANOVA)，以最小顯著差異分析 (least significant difference test; LSD test) 分析不同處理間是否有顯著差異 ($P < 0.05$)。

結果

PGR 處理對蠔菇菌絲生長的影響

NAA、2,4-D 及 BA 處理對蠔菇菌絲生長均有明顯的影響 (圖 1)。在接種 3 d 後，6 mg L⁻¹ NAA 處理明顯抑制菌絲生長，並持續到接種後 21 d，菌絲生長量只達 5.5 cm，明顯低於對照組 (7.0 cm)。接種 6 d 後，1.5 mg L⁻¹

BA 處理即有明顯促進菌絲生長的情形，到接種 9 d 後，菌絲生長量達 5.1 cm，與其他處理組差異最大，能促進菌絲生長的現象持續到接種後 21 d，菌絲生長量達 7.8 cm。其次為 1 和 6 mg L⁻¹ 2,4-D 的處理組，這 2 個濃度對促進菌絲生長的現象並無明顯差異，持續到接種後 21 d，促進生長的效率與 1.5 mg L⁻¹ BA 處理組相近，分別為達到 7.7 cm 及 7.5 cm。此外，施用 1 mg L⁻¹ NAA 或 0.2 mg L⁻¹ BA 對菌絲生長無明顯的影響，到接種後 21 d，菌絲生長是略低於對照組。由以上結果顯示，施用 1.5 mg L⁻¹ BA、1 或 6 mg L⁻¹ 2,4-D 於培養液中皆可促進蠔菇菌絲生長。

PGR 處理對蠔菇原基生成的影響

PGR 對原基生成的影響如表 2 所示，在接種後 6 d 後開始有原基生成，對照組平均每瓶有 12 個原基，在 6 mg L⁻¹ 2,4-D 及 1 mg L⁻¹ NAA 的處理組中，能顯著促進原基生成，平均每瓶達 25 個，約有 2 倍的促進效率，同樣在接種後 9 d 及 12 d 也最為顯著 ($P < 0.05$)。在接種 15 d 及 18 d 後，1 mg L⁻¹ 2,4-D 及 1 mg L⁻¹ NAA 處理能促進原基生成的效果最為

顯著，而到接種 21 d 後，以 1 mg L⁻¹ 2,4-D 的促進效果最佳，平均每瓶達 236 個，約有 2.6 倍的促進效率；1 mg L⁻¹ NAA 處理組的促進效果其次，平均每瓶達 191 個。接種 21 d 後，對照組平均每瓶 91.8 個原基生成，然而，1.5 mg L⁻¹ BA 處理組僅有每瓶 58.4 個，顯示 1.5 mg L⁻¹ BA 對原基生成有抑制作用，而 0.2 mg L⁻¹ BA 處理組則無顯著影響。由此研究顯示，添加 2,4-D 或 NAA (1、6 mg L⁻¹) 可促進原基生成，其中以 1 mg L⁻¹ 2,4-D 的作用最為顯著。

PGR 處理對蠔菇子實體發生的影響

接種 6 d 後，開始觀察到子實體的發生，初期在 1 mg L⁻¹ 2,4-D 及 0.2 或 1.5 mg L⁻¹ BA 處理組中子實體發生數較多 ($P < 0.05$)，隨著接種日數增加，不同處理組間之子實體發生的則有差異 (表 3)。原本在生長初期子實體發生數較多的 BA 處理組，子實體發生趨勢較平緩，到接種 21 d 後，與對照組 (3.0 個/瓶) 比較並無明顯差異。雖 2,4-D 處理組在接種後 6–15 d 的期間，子實體發生有停滯的現象，但 1 mg L⁻¹ 2,4-D 處理組在接種 18 d 後，子實體快速發生；到接種 21 d 後子實體發生數可達 5.1

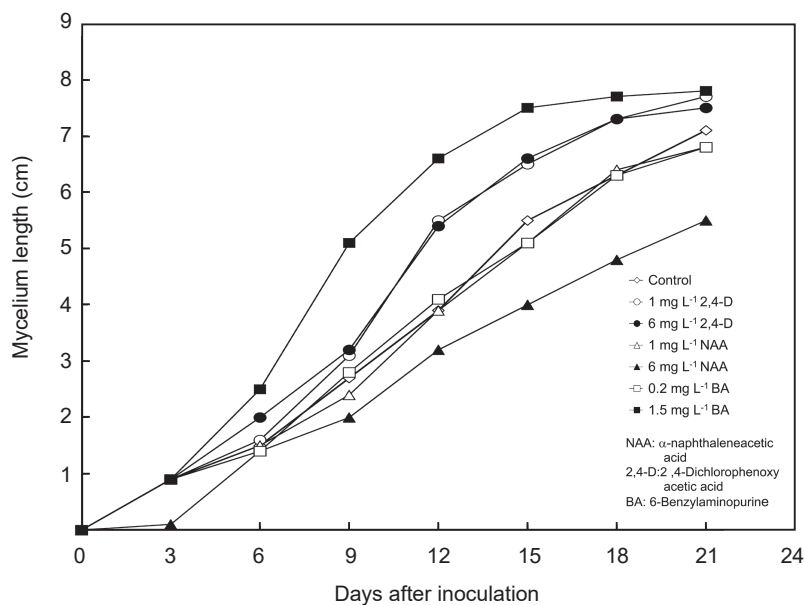


圖 1. 植物生長調節劑對蠔菇菌絲生長的影響。

Fig. 1. Effects of plant growth regulators in liquid media on mycelium growth of *Pleurotus ostreatus*.

表 2. 植物生長調節劑對於蠔菇原基生成的影響^z。Table 2. Effect of plant growth regulators (PGRs) in liquid media on primordia number of *Pleurotus ostreatus*^z.

PGR ^y	Average number of primordia					
	Day 6	Day 9	Day 12	Day 15	Day 18	Day 21
Control	12.1 b ^x	27.3 c	29.9 c	45.5 d	65.5 de	91.8 c
2,4-D						
1 mg L ⁻¹	16.4 b	35.0 bc	50.5 ab	134.6 a	164.3 a	235.5 a
6 mg L ⁻¹	25.1 a	51.2 a	61.8 a	85.0 bc	108.5 bc	164.4 b
NAA						
1 mg L ⁻¹	25.0 a	42.5 ab	63.6 a	129.2 a	133.7 ab	190.7 b
6 mg L ⁻¹	13.5 b	30.0 bc	49.7 ab	113.0 ab	103.0 bc	168.5 b
BA						
0.2 mg L ⁻¹	12.6 b	34.6 bc	40.4 bc	65.1 cd	90.0 cd	116.2 c
1.5 mg L ⁻¹	11.6 b	25.3 c	27.7 c	32.3 d	48.3 e	58.4 d
LSD	7.1	15.1	18.4	39.3	31.3	27.5

^z Each treatment had 4 replications with 4 flasks per replication.

^y PGR : NAA : α -naphthaleneacetic acid; 2,4-D:2,4-Dichlorophenoxyacetic acid; 2,4-D) ; BA 6-Benzylaminopurine.

^x The same letters within column are not significantly different at 5% by least significant difference (LSD) test.

表 3. 植物生長調節劑對於蠔菇子實體發生數的影響^z。Table 3. Effect of plant growth regulators (PGRs) in liquid media on fruit body number of *Pleurotus ostreatus*^z.

PGR ^y	Average number of fruit body					
	Day 6	Day 9	Day 12	Day 15	Day 18	Day 21
Control	0.3 bc ^x	1.0 c	1.2 bc	1.6 b	2.2 ab	3.0 bc
2,4-D						
1 mg L ⁻¹	1.0 a	1.0 c	1.0 cd	1.4 bc	2.3 ab	5.1 a
6 mg L ⁻¹	0.2 c	0.3 d	0.2 d	0.6 c	1.9 b	2.6 c
NAA						
1 mg L ⁻¹	0.8 ab	1.8 ab	1.5 abc	2.1 ab	2.8 ab	4.1 ab
6 mg L ⁻¹	0.7 abc	1.1 bc	1.9 ab	2.6 a	2.4 ab	3.4 bc
BA						
0.2 mg L ⁻¹	1.1 a	1.9 a	2.2 a	2.7 a	3.0 a	3.0 bc
1.5 mg L ⁻¹	1.3 a	1.7 ab	1.9 ab	1.9 ab	2.7 ab	3.1 bc
LSD	0.6	0.7	0.9	0.9	1.1	1.5

^z Each treatment had 4 replications with 4 flasks per replication.

^y PGR : NAA : α -naphthaleneacetic acid; 2,4-D:2,4-Dichlorophenoxyacetic acid; 2,4-D) ; BA 6-Benzylaminopurine.

^x The same letters within column are not significantly different at 5% by least significant difference (LSD) test.

個，但較高濃度的 6 mg L⁻¹ 2,4-D 處理組有抑制子實體發生的現象，平均只有 2.6 個，其他處理間並無顯著差異。

討論

本研究以 Leatham (1983) 發表的香菇液

體培養配方為基礎進行修改，並添加 2,4-D, NAA 及 BA 等植物生長調節劑 (Plant Growth Regulators; PGR) 於培養液中，探討其對蠔菇菌絲生長、原基誘導及子實體發生時期的影響。由研究結果顯示，經修正後的 Leatham (1983) 香菇液體培養配方也適用於本研究的

蠔菇液體培養系統，而 PGR 對蠔菇菌絲生長到子實體發生均有顯著影響，惟本試驗的 3 個時期，低溫蠔菇對不同 PGR 的敏感性也不相同。前人研究顯示，在平菇產料中添加 2 mg kg^{-1} BA 可提高鮮菇產量 71%，能提早出菇且明顯改善菇體外觀品質 (Ciou *et al.* 2001)。在姬松茸 (*Agaricus Blaze*) 的液體培養試驗中，添加 $20\text{--}50 \text{ mg L}^{-1}$ BA 可以促進菌絲生長量，其中以 35 mg L^{-1} 處理菌絲生產量達到最大，且可溶性醣與蛋白質含量均有顯著影響 (Guo *et al.* 2007)。Wang *et al.* (2009) 以大球蓋菇 (*Stropharia rugoso-annulata*) 進行深層發酵試驗，也得到添加 BA 處理能增加菌絲鮮重與菌球數的結果。而本研究添加 0.2 mg L^{-1} BA 對蠔菇菌絲生長、原基誘導及子實體發生並無顯著影響，而 1.5 mg L^{-1} BA 可促進菌絲生長，但不利於原基誘導與子實體發生，推測可能與過度營養生長有關。同時本研究在操作過程中僅針對液體培養液進行調配及殺菌，而並未針對液體培養液之酸鹼度加以測定，而液體除去培養液之酸鹼度是否會影響試驗結果，亦值得在未來的試驗中深入探討。

過去的研究指出生長素並非只在高等植物中合成，在酵母菌或其他真菌中，也可製造生長素，合成量可能還更高。如 *Lentinus sajor-caju* 在含葡萄糖的培養液 (pH 7.5) 中振盪培養，在 30°C 黑暗條件下，每毫升培養液可達 0.18 mg IAA 的產出 (Yurekli *et al.* 2003)，顯示生長素可能是影響食用菌生長與發育重要的因子。本試驗添加 2,4-D ($1、6 \text{ mg L}^{-1}$) 處理可提高菌絲生長速度， 1 mg L^{-1} 2,4-D 可同時促進蠔菇菌絲生長、原基誘導與子實體發生，而高濃度的 2,4-D (6 mg L^{-1}) 則有抑制子實體發生的情形。過去的研究亦指出 2,4-D 可促進食用菌的菌絲生長，但在不同菌種的作用濃度有所差異， 1 mg L^{-1} 2,4-D 可促進 *Lentinus subnudus* (Berk) 的菌絲生長，但對 *Schizophyllum commune* (Fr. ex Fr.) 有最大促進作用的濃度為 10 mg L^{-1} 2,4-D (Jonathan & Fasidi 2001)。本研究顯示 1 mg L^{-1} NAA 對菌絲生長與子實體發生並無顯著影響，但可以促進原基形成， 6 mg L^{-1} NAA 處理雖然會抑制菌絲生長，但也有促進原基形成，對子實體發生則無顯著影

響。添加 $3\text{--}15 \text{ mg L}^{-1}$ NAA 於桑黃培養液中，可提高桑黃菌絲乾重與胞外多醣產量，其中以 5.0 mg L^{-1} NAA 處理 192 h 後，胞外多醣產量達到 0.86 g L^{-1} ，產量增加 56% (Guo *et al.* 2009)。在金頂側耳 (*Pleurotus citrinopileatus*) 液體培養基中添加 0.2 mg L^{-1} NAA，顯著促進菌絲產量，而在 0.3 mg L^{-1} NAA 處理組中則有最大胞外多醣產量，添加 1.5 mg L^{-1} 吲哚丁酸 (Indole butyric acid, IBA) 處理之菌絲體與胞外多醣產量都達到最大量 (Huang *et al.* 2006)。以麥草與棉籽殼作為介質栽培平菇，分別施用 10 及 15 mg kg^{-1} NAA，可提高 3 個潮菇的產量及轉潮時間 (Wang *et al.* 2000)。添加 8 mg kg^{-1} NAA 於栽培介質中，提高菌核鮑魚菇 (*Pleurotus tuber-regium*) 產量 (Chen 2004)。雖然有許多前人研究提出 NAA 對菌絲及子實體形成有促進作用，但本試驗添加 1 或 6 mg L^{-1} NAA 的結果並不同，推測可能與培養基成分、NAA 添加濃度或菌種差異均有關。Yan & Liou (2000) 認為過高濃度 NAA 可能會不利於蜜環菌的生長。在 NAA 對虎奶菇產量的試驗中也發現，若增加 NAA 作用濃度，有可能出現抑制虎奶菇菌絲生長的現象 (Chen 2004)。

綜合上述結果，本研究之蠔菇培養在添加 1 mg L^{-1} 2,4-D 的液體培養液中，雖然對其菌絲生長量、原基生成數以及子實體發生數有顯著促進的作用，而 2,4-D 能促進菌絲生長或原基體形成均與及蠔菇出菇生理機制有關更值得進一步追蹤探討。由於子實體誘發物質在食用菇產業上具高經濟價值，許多學者嘗試透過各類添加物質誘導或促進菇類子實體的產生 (Magae *et al.* 2005; Berne *et al.* 2008)。目前菇類生產以太空包栽培為主，其栽培基質可視為緩衝物，會稀釋生長激素對菇類生長的影響，造成效果的差異。而不同植物生長調節劑種類、劑量及添加時機，也需要視其菇種而異，因植物生長調節劑在菇類之應用機制仍需要進一步的探討。雖然植物生長調節劑目前已經廣泛被應用植物生產，植物生長調節劑在菇類生產及出菇機制之研究仍然很少數，期望未來若能應用在商業太空包菇類生產上，可以達到提升產量及縮短栽培時間的目的。

引用文獻

- Arjona, D., C. Aragon, J. A. Aguilera, L. Ramirez, and A. G. Pisabarro. 2009. Reproducible and controllable light induction of in vitro fruiting of the white-rot basidiomycete *Pleurotus ostreatus*. *Mycol. Res.* 113:552–558.
- Berne, S., F. Pohleven, T. Turk, and K. Sepčić. 2008. Induction of fruiting in oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) by polymeric 3-alkylpyridinium salts. *Mycol. Res.* 112:1085–1087.
- Chen, J. T., C. C. Cheng, J. T. Huang, and H. D. Shih. 2016. Preliminary studies on the development of liquid spawn for *Pleurotus eryngii* (DC.: Fr.) Quél. *J. Taiwan Agric. Res.* 65:136–145. (in Chinese with English abstract)
- Chen, X. X. 2004. The influence of α -naphthaleneacetic acid on the output of *Pleurotus tuber-regium* (Fr.) Sing. *J. Ningde Teach. College (Natural Science)* 16(1):62–64. (in Chinese with English abstract)
- Ciou, C. E., W. D. Wang, J. J. Shao, and J. Jiang. 2001. The increase effect in production of *Pleurotus ostreatus* cultured in raw material media. *Edible Fungi* 6:3–4. (in Chinese)
- Guo, X., X. Zou, and M. Sun. 2009. Effects of phytohormones on mycelia growth and exopolysaccharide biosynthesis of medicinal mushroom *Phellinus linteus*. *Bioproc. Biosyst. Eng.* 32:701–707.
- Guo, Y., H. S. Yang, G. L. Li, and H. Chang. 2007. Effect of 6-BA on the growth and bio-chemical character of *Agaricus blazei* Murill mycelium. *J. Anhui Agric. Sci.* 35:641–651. (in Chinese with English abstract)
- Huang, Q., X. Xin, X. Liu, and J. Sun. 2006. The influence of several kinds of factors on the growth of mycelia and exopolysaccharide of *Clitocybe maxima*. *Food Sci.* 10:174–178. (in Chinese with English abstract)
- Jayakumar, T., M. Sakthivel, P. A. Thomas, and P. Geraldine. 2008. *Pleurotus ostreatus*, an oyster mushroom, decreases the oxidative stress induced by carbon tetrachloride in rat kidneys, heart and brain. *Chem. Biol. Interact.* 176:108–120.
- Jonathan, S. G. and I. O. Fasidi. 2001. Studies on phytohormones, vitamins and mineral element requirements of *Lentinus subnudus* (Berk) and *schizophyllum commune* (Fr. Ex. Fr) from Nigeria. *Food Chem.* 75:303–307.
- Leatham, G. F. 1983. A chemically defined medium for the fruiting of *Lentinus edodes*. *Mycologia* 75:905–908.
- Li, W. S., Y. S. Lue, and M. H. Chen. 2012. Rice straw for production of Phoenix-tail mushroom, *Pleurotus sajor-caju*. *J. Taiwan Agric. Res.* 61:90–99. (in Chinese with English abstract)
- Liang, Z. C., C. Y. Wu, Z. L. Shieh, and S. L. Cheng. 2009. Utilization of grass plants for cultivation of *Pleurotus citrinopileatus*. *Intl. Biodeter. Biodegr.* 63:509–514.
- Lu, Z. H. 2009. High-yield cultivation techniques of *Pleurotus geesteranus*. *Zhejiang Shiyongjun* 17(4):46–48. (in Chinese)
- Magae, Y., T. Nishimura, and S. Ohara. 2005. 3-O-alkyl-D-glucose derivatives induce fruit bodies of *Pleurotus ostreatus*. *Mycol. Res.* 109(3):374–376.
- Mukhopadhyay, R., S. Chatterjee, B. P. Chatterjee, and A. K. Guha. 2005. Enhancement of biomass production of edible mushroom *Pleurotus sajor-caju* grown in whey by plant growth hormones. *Process Biochem.* 40:1241–1244.
- Narayan, R., R. K. Sahu, S. Kumar, S. K. Garg, C. S. Singh, and R. S. Kanaujia. 2009. Influence of different nitrogen rich supplements during cultivation of *Pleurotus florida* on corn cob substrate. *Environmentalist* 29:1–7.
- Sarangi, I., D. Ghosh, S. K. Bhutia, S. K. Mallick, and T. K. Maiti. 2006. Anti-tumor and immunomodulating effects of *Pleurotus ostreatus* mycelia-derived proteoglycans. *Intl. Immunopharmacol.* 6:1287–1297.
- Wang, Q., Y. C. Zhang, and J. Zhao. 2009. Effect on the mycelia growth of *Stropharia rugoso-annulata* by exogenous hormones in liquid culture. *Edible Fungi China* 28(5):32–33. (in Chinese with English abstract)
- Wang, Z. Q., D. F. Hwang, R. Y. Ying, and J. G. Yu. 2001. Effect on yeilds and intervals of harvest of *Pleurotus ostreatus* cultured in different raw material media mixed with different concentration NAA. *Edible Fungi China* 20(3):23–25. (in Chinese with English abstract)
- Yan, C. H. and D. Y. Liou. 2000. The study of NAA on the growth of *Armillaria mellea* (Vahl. exFr.) Quel and the activities of CAT and SOD. *J. Microbiol.* 20(2):19–22.
- Yan, J., Z. F. Zhou, W. K. Wang, W. D. Yuan, and N. Lu. 2007. Comparison for liquid spawn of different strains of *Pleurotus geesteranus*. *Acta Agric. Zhejiangensis* 19(2):127–129. (in Chinese with English abstract)
- Yurekli, F., H. Geckil, and F. Topcuoglu. 2003. The synthesis of indole-3-acetic acid by the industrially important white-rot fungus *Lentinus sajor-caju* under different culture conditions. *Mycol. Res.* 107:305–309.

Effects of Plant Growth Regulators on the Mycelia Growth and Fruit Body Formation of *Pleurotus ostreatus* in Liquid Medium

Sian-Yi Ciou¹, Yi-Zhen Zhao², Ya-Han Chang², Chin-Hsiung Hung^{3*}, and Li-Ru Chen⁴

Abstract

Ciou, S. Y., Y. Z. Zhao, Y. H. Chang, C. H. Hung, and L. R. Chen. 2017. Effects of plant growth regulators on the mycelia growth and fruit body formation of *Pleurotus ostreatus* in liquid medium. *J. Taiwan Agric. Res.* 66(3):240–247.

The experiments were conducted to study the effects of plant growth regulators on the growth of mycelia and the formation of primordia and fruiting body of *Pleurotus ostreatus* cultured in liquid medium. The mycelia of *P. ostreatus* were inoculated in culture medium containing 1 mg L⁻¹ or 6 mg L⁻¹ α -naphthaleneacetic acid (NAA), 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D), or 0.2 mg L⁻¹ or 1.5 mg L⁻¹ 6-Benzylaminopurine (BA) at 25°C without shaking. The results showed that the growth of mycelia in liquid medium containing 1.5 mg L⁻¹ BA or 1, 6 mg L⁻¹ 2,4-D attained 7.5–7.8 cm after inoculation for 21 d. However, the treatment of 6 mg L⁻¹ NAA inhibited the growth of mycelia. Twenty-one days after inoculation, treatment of 1 mg L⁻¹ 2,4-D significantly induced the formation of primordia and fruiting bodies ($P < 0.05$) with an avg. of 235.5 and 5.2, respectively. The application of 1.5 mg L⁻¹ BA significantly reduced the number of primordia to the lowest (58.4 in avg.), and 6 mg L⁻¹ 2,4-D treatment inhibited the formation of fruit bodies (2.6 in avg.). Study indicated that application of 1 mg L⁻¹ 2,4-D in liquid medium can significantly enhance the growth of mycelia and the formation of primordia and fruit body of *P. ostreatus*. The scale-up experiments based on this study will be conducted for optimizing the commercial production of *P. ostreatus* in the future.

Key words: Fruit body formation, Liquid culture, Plant growth regulator, *Pleurotus ostreatus*.

Received: August 30, 2016; Accepted: December 12, 2016.

* Corresponding author, e-mail: chhung@mail.ncyu.edu.tw

¹ Graduate Student, Department of Horticultural Science, National Chiayi University, Chiayi, Taiwan, ROC.

² Assistant, Department of Horticultural Science, National Chiayi University, Chiayi, Taiwan, ROC.

³ Professor and Head, Department of Horticultural Science, National Chiayi University, Chiayi, Taiwan, ROC.

⁴ Assistant Professor, Department of Horticulture and Biotechnology, Chinese Culture University, Taipei, Taiwan, ROC.