

用油料作物加工副产物栽培灵芝研究(I) ——生产菌种的制备

费利克斯, 莫斯柯维奇 张 涛 章克昌

(乌克兰切尔诺滩斯国立大学)

(无锡轻工业学院)

摘要 灵芝菌的子实体作为一种药用植物闻名于中国和日本。本文研究了用油料作物加工副产品作为栽培灵芝培养基主要成分的情况。研究结果表明, 这些副产品含有足以保证灵芝菌旺盛生长的全部营养成分。发现培养基的结构及相关的氧浓度是菌丝体生长的重要参数。制定了菌丝生长的最佳培养基。

关键词 灵芝; 向日葵壳粉; 脱蛋白豆粕; 菌丝体; 培养基结构

0 前 言

灵芝菌(*Ganoderma Lucidum*)作为一种药用植物闻名于中国和日本。它的水或酒精浸出物被用作镇静剂, 强壮药。也可以治疗高血压, 慢性支气管炎和其它一些疾病^[1,2]。资料^[3]指出, 灵芝的疗效与它含有的一系列萜烯属化合物有关, 而萜烯属化合物是在灵芝菌的子实体成熟期间形成的, 它不存在于菌丝体之中。所以, 优化子实体形成过程就具有重要性。

众所周知, 用植物来源基质栽培食用菌的过程是由三个阶段组成, 即原种制备, 生产种制备和子实体栽培等阶段。第一阶段一般要1—2周, 第二阶段要2周, 第三阶段要7—9周时间^[1,3]。由于缺乏所用基质生化组成及各种组成对灵芝生长速度的影响及评价生产菌种和子实体质量等方面的数据。使得这些过程的最优化遇到困难。灵芝浸出液中干物质得率不稳定可能与此有关^[4,6]。利用大豆和向日葵加工副产物来栽培灵芝未见文献报道。

为了继续研制包括将副产物作为食用菌培养基在内的大豆和其它油料作物的无废料工艺, 我们认为, 将栽培灵芝过程最优化作为研究课题是很有必要的。本文研究了该过程的前两个阶段。

1 材料与方 法

a. 灵芝斜面菌种购自上海农业科学研究院食用菌站。

收稿日期: 1992-01-11

菌种保藏用培养基为土豆汁琼脂培养基。在4—6°C下保藏三个月移接一次。

为得到生长能力较强的原种,我们将斜面菌种的菌块移入许多土豆汁琼脂平板的中心,保温培养,观察菌丝生长情况。选育生长发育快的平板,将外围菌丝切成1cm²的小块,供进一步扩大培养使用。在观察中发现,在2—9d,菌丝体的线生长速度为4.5—5.5mm/d。

b. 液体菌种用土豆汁培养基进行培养。在装有无菌土豆汁培养液的300ml三角瓶中接入几个斜面菌块,静止保温26°C培养1—2d,然后摇床培养3—4d。采用这种培养方法是因为,接种后就上摇床培养,只能得到由接入菌块形成的几个大菌球,而液体中几乎没有菌丝体。这种培养液无法作为液体种子。当先静止培养1—2d时,在液体表面形成一层薄的膜,它随后的摇床培养时会形成大量的菌丝生长核心。

c. 培养生产菌种用的基质是用大豆和向日葵加工的中间产品、产品和副产品配制而成。这些产品是大豆粉、豆饼粉、脱脂蛋白粉、大豆分离蛋白和向日葵壳粉。它们是在实验室按大豆蛋白工业生产流程制备得到的^[9]。固体培养是在300ml三角瓶中进行。料层厚度为1cm(一般为每瓶装10g干料),培养料水分为65%,培养温度24—26°C,培养箱空气相对湿度在整个培养期间保持70%—80%。

上述各种基质的化学组成数据取自切尔诺维斯基蛋白质生产实验工厂我们以前的分析结果^[7,8]。

d. 电子显微镜照片是用扫描电镜ISI-SX-40(日本产)。

2 结果与讨论

我们所用基质的生物化学分析结果(表1)表明,它们含有担子菌生长所需的全部必需成分。利用不同比例的大豆和向日葵加工产品配制成若干种培养基,进行生产种的培养试验,以求得到灵芝菌生长的最佳培养基(表2)。

表1可见,所用各种基质的成分和含量有很大区别。表2则为有关试验的数据:这些

表1 油料作物加工副产物中主要成分的含量

	大豆粉	豆饼粉	脱脂脱蛋白豆粉	乳清	分离蛋白	向日葵壳
蛋白质	23.0—31.2	40.1—43.0	18.4—32.1	0.30—0.50	76.7—82.4	2.2—2.8
非蛋白质氮	0.8—1.6	1.3—1.8	0.4—1.0	0.015—0.030	0.8—1.4	1.9—2.4
游离氨基酸	0.3—0.8	0.35—1.1	0.10—0.15	0.035—0.151	0.07—0.11	—
可溶性糖	7.1—9.3	8.9—14.0	6.1—8.0	0.35—1.05	未测出	4.8—5.5
寡糖	6.2—8.6	8.1—12.9	1.5—5.7	0.38—0.85	未测出	0.6—0.9
纤维素	1.2—2.0	1.9—2.8	3.0—5.0	未测出	未测出	30.2—33.0
半纤维素	5.5—7.1	6.8—9.1	9.2—11.8	未测出	未测出	45.0—49.0
果胶质	3.0—3.4	3.5—4.1	4.3—5.5	未测出	未测出	4.1—4.8
总磷	0.8—1.1	0.8—1.4	0.9—1.55	0.01—0.03	0.9—1.1	0.8—1.0
有机酸	1.1—1.5	0.6—0.8	0.4—0.6	0.06—0.08	未测出	—
维生素PP	(4—6)×10 ⁻³	(3—5)×10 ⁻³	(1—2)×10 ⁻³	(6—8)×10 ⁻⁵	(1—2)×10 ⁻³	—
生物素	—	—	—	<10 ⁻¹	—	—
维生素C	0.04—0.10	0.01—0.04	0.01—0.03	未测出	未测出	未测出

表中“—”号表示缺少实验数据。除乳清以外均为干物重的%。

数据表明,所用基质含有灵芝菌丝旺盛生长所需的各种成分。事实上,往脱脂脱蛋白豆粉中

加葡萄糖;在增湿时,用富含容易为微生物同化的化合物的乳清代替水;往含有乳清的培养基中加1%—5%的葡萄糖;往脱脂脱蛋白豆粉中加比例为1:1—1:1.2的分离蛋白等试验,并没有看到菌丝生长有实质性的变化。相反,按其化学组分来看较为贫乏的向日葵壳粉却是最好的菌丝生长基质。这可能是由于向日葵壳和豆饼粉中含有大量灵芝容易同化的非蛋白质氮,这些化合物的存在就不要求灵芝在生长初期就分泌相当数量的蛋白酶。

试验中还发现,灵芝在蛋白质含量较高,纤维素含量较低的培养基上,不仅菌丝生长慢,而且菌丝体细胞开始分化的时间也推迟。

表2 不同培养基接种液体菌种后菌丝生长情况

培养基	水分 (%)	生长速度 mm/d	出现菌丝 (d)	菌丝复盖表面(d)	开始分化 (d)
大豆粉	<60	<3	8—10	>17	>25
豆饼粉	65—75	3—4	10—12	10—12	>25
脱脂脱蛋白豆粉	65	5—8	6—8	10—12	>25
脱脂脱蛋白豆粉	65	3—5	1—5	10—12	13—15
脱脂脱蛋白豆粉 + 葡萄糖(2%—2.5%)	65	4—6	1—5	9—11	11—17
向日葵壳	65	7—10	3—4	5—6	10—12

* 菌丝复盖表面后,为了控制分化开始时间,将三角瓶移到有光照、温度23—25℃,湿度为95%—100%的容器中进行培养。

菌丝体在培养基内部生长的速度与在表面的生长速度有明显的区别,即使料层厚度仅为1cm时也是这样。这种差别是与培养基质的结构有关,后者直接影响到基质中氧的浓度。电子显微镜照片可证明这一点。从图1、图2可见,大豆粉和豆饼粉因含有许多脂肪和蛋白

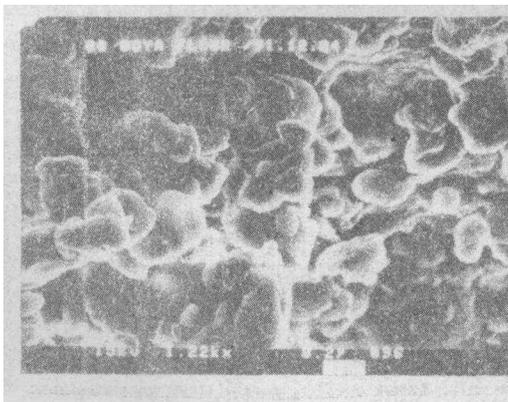


图1 大豆粉结构



图2 灵芝菌丝在大豆粉基质上的生长情况

质颗粒,使得它们在高压灭菌后形成很结实的基质。菌丝很难往这种基质内部生长。灵芝菌丝在脱脂脱蛋白豆粉上虽然生长不很快,但它向四周生长的速度是均匀的。向日葵壳粉(图3,4)在加压消毒时不发生明显的变化。菌丝在这种疏松的基质中能很好地往内部生长。为了得到兼有高结构性能和足够营养的最佳培养基,我们用脱脂脱蛋白豆粉和向日葵壳粉配制成不同配比(1:2; 1:5; 1:10; 1:50;)的培养基,并以上述各种培养基作为对照,进行生产种的培养试验。结果配比为1:2—1:10的培养基生长最好。菌丝体生长速度比用向日葵壳粉快20%。尽管菌丝生长速度有很大差别,但在电镜下的菌丝形态并没有什么明

显的区别。

试验表明,用固体原种来制备生产种,菌丝生长要比液体原种慢,但三天后,菌丝生长速度就可达到表 2 所示的正常值。固体接种时只有一个生长中心(接入的菌块或料团),这与液体种有许多菌球的情况不同。所以,固体接种菌丝复盖表面的时间要比液体原种慢 2—3d。固体原种在大规模生产时还是可采用的,因为它的生产过程简单,可以早期发现染菌,并可选择生长旺盛的菌种。

从图 5 可见,在土豆汁琼脂培养基上灵芝菌丝具有的形态与上述各种固体培养基培养的菌丝明显不同(图 6)。这表明,菌丝形态也是与固体基质的结构有密切的关系。

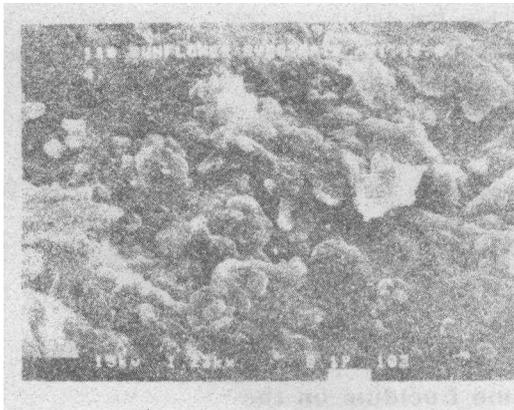


图 3 向日葵壳结构

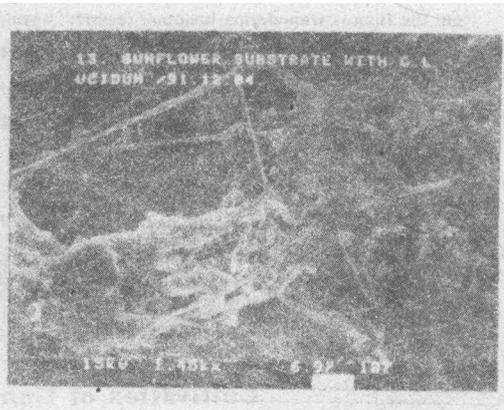


图 4 灵芝菌丝在向日葵基质上的生长情况

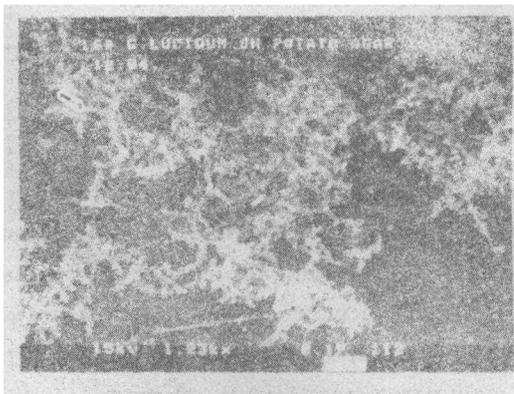


图 5 灵芝菌丝在土豆汁琼脂培养基上的生长情况

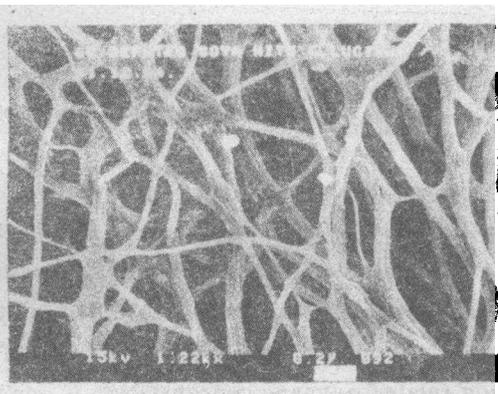


图 6 灵芝菌丝在豆饼粉培养基上的生长情况

综上所述,利用油料作物的加工副产品来培养灵芝菌是可行的。我们所用各种基质已含有菌丝旺盛生长所需的各种成分。基质的结构及与此相关的氧的浓度是影响菌丝生长的决定性因素。脱脂脱蛋白豆粉和向日葵壳粉的比例为 1:2—1:10 时是培养灵芝的最佳培养基结构和组成。

参 考 文 献

1. Toshio Miyazaki, Motohiro Nishijima. Studies on fungal polysaccharides. XXV. Structural examination of a water-soluble, antitumor polysaccharide of *G. lucidum*-Chem pharm bull. 1981;29(12):3611-3616
2. Zheng Yao Da Ci Dian. Directory of Chinese Materia Medica. Shanghai, Shanghai Sci and Techno Publisher, 1977; 1180
3. Tsuoshi Nishitoba, Hiroji Sato, Sachico Shirasu, Sadao Sakamura. Evidence on the Strain-specific Terpenoid Pattern of *Ganoderma lucidum*. Agric Biolog Chem, 1986;50(8):2151-2154
4. Tsuyoshi Nishitoba, Hiroji Sato, Takanori Kasai, Hirokazu Kawagishi, Sadao sakamura. New bitter C-7 and C-30 terpenoids from the Fungus *Ganoderma lucidum* (reishi). Agric Biolog Chem, 1985;49(6):1792-1798
5. Hiroji Sato, Tsuyoshi Nishitoba, Sachico Shirasu, Kyoko Oda, Sadao Sakamura. Ganoderiol A and B, new terpenoids from the fungus *Ganoderma lucidum* (reishi). Agric Biolog Chem, 1986;50(11):2887-2890
6. Tsuyoshi Nishitoba, Hiroji Sato, Sadao Sakamura. Novel micellial components; ganoderic acid Mg, Mh, Mi, Mj and Mk, from the fungus *Ganoderma lucidum*. Agric Biolog Chem, 1987;51(4):1149-1153
7. 莫斯科维奇 Ф. С., 甘巴洛夫 Х. В. 担子菌 *Bjerkandera adusta* 的制备及其水解性能. 第一部份, 酶形成的最优化. 生物工程(俄)1991;1:6
8. Moshkovich F S, Kostyshin S S. New biotechnological ways of soybean- processing technology elaboration. Proc. 15th International Congress of Biochemistry. Jerusalem, Israel, 1991;66
9. Harry E Snyder T W Kwon. Soybean utilization. New York: Van Nostrand Reinhold Co, 1987; xii, 316

Cultivation of *Ganoderma lucidum* on the Oil Cultures Treatment Wastes (I) ——Miceliu Preparation

Felix S. Moshkovich

Zhang Tao

Zhang Kechang

(Chernivtsy State Univ., Ukraine)

(Wuxi Inst. of Light Ind.)

Abstract Fungus bodies of *Ganoderma lucidum* (Polyporaceae) as the folk medicine are well-known in China and Japan. Possibility of the oil cultures treatment waste utilization as the main components of microbiological media for the *Ganoderma lucidum* cultivation was shown. It was found that the qualitative and quantitative composition of substrates used is enough for the effective growth of micelium. It is supposed that the media structure and related oxygen concentration is one of the main parameters for the micelium growth. Optimal for the micelium production were found.

Key words *ganoderma lucidum*; ground sunflower shell; deproteinized soybean dregs; micelium; constitution of medium