

文章编号 :1009-038X(2002)02-0164-03

灰树花液体菌种固体栽培

袁德云, 章克昌

(江南大学 工业生物技术教育部重点实验室 江苏 无锡 214036)

摘 要 :采用一种特殊培养基培育灰树花液体菌种,并进行固体料的搅拌式接种.此栽培方式由于发菌很快而大大缩短了栽培周期,是一种灰树花的制种、栽培新技术.

关键词 :灰树花;液体菌种;固体栽培

中图分类号 :Q 939.11

文献标识码 :A

Preliminary Studies on Preparation of Liquid Inoculum and Solid Medium Cultivation of *Grifola frondosa*

YUAN De-yun, ZHANG Ke-chang

(The Key Laboratory of Industry Biotechnology, Ministry of Education, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

Abstract : *Grifola frondosa* is a kind of valuable edible and medical fungus. In this article, we inoculated solid medium by means of stirring inoculation. Growth of mycelium was accelerated greatly and cultivation period was reduced greatly by this cultivation. This is a new technique of inoculation and cultivation for *Grifola frondosa*.

Key words : *Grifola frondosa*; liquid strain; solid medium cultivation

灰树花(*Grifola frondosa*),又名千佛菌、莲花菌、贝叶多孔菌、叶奇果菌、舞茸(日本)等.在分类学上灰树花隶属于担子菌亚门,层菌纲,非褶菌目,多孔菌科,树花菌属,是一种天然的珍稀食药两用真菌^[1].灰树花子实体形态婀娜如云、层叠似菊、肉质脆嫩、独具郁香、滋味鲜美,在日本倍受喜爱,供不应求.其所含的生物活性物质——灰树花多糖,具有明显的抗肿瘤、抗 HIV 病毒、改善免疫系统功能,且调节血糖、血脂及胆固醇水平,有降血压等作用,对防止癌细胞的生成和转移,预防爱滋病、高血压、肥胖症、糖尿病等疾病,以及调节免疫系统功能紊乱,都有一定的疗效,且无任何毒副作用^[2].此

外,Nanba^[3]认为灰树花多糖是所有真菌生物活性物质中抗肿瘤活性最强的,而且绝大多数真菌多糖制剂口服无效,而灰树花多糖例外.

近几年国内对灰树花的生产和研究已形成热潮.作者针对传统栽培方式存在发菌慢、周期长的问题,提出一种液体菌种固体栽培、搅拌式接种的方法,旨在推动灰树花等珍贵食用菌的生产与科研,造福大众.

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 供试菌株 作者所在实验室筛选菌株.

收稿日期 2001-11-09; 修订日期 2001-12-04.

作者简介:袁德云(1973-),女,吉林九台人,发酵工程博士研究生.

万方数据

1.1.2 斜面培养基 葡萄糖 2 g/dL,马铃薯汁 20 g/dL,麸皮汁 5 g/dL, KH_2PO_4 0.2 g/dL, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.1 g/dL,琼脂 2 g/dL. 2

1.1.3 液体母种培养基 葡萄糖 2 g/dL,玉米粉 1 g/dL,麸皮 1.5 g/dL, KH_2PO_4 0.2 g/dL, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2 g/dL, CaCl_2 0.1 g/dL.

1.1.4 液体栽培种培养基 葡萄糖 1 g/dL,玉米粉 0.5 g/dL,麸皮 1.5 g/dL, KH_2PO_4 0.2 g/dL, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2 g/dL, CaCl_2 0.1 g/dL,此外另加几种特殊物质.

1.1.5 固体栽培培养基 木屑 50 g/dL,麸皮 10 g/dL,棉籽壳 30 g/dL,糖 1 g/dL,石膏 (1 ± 8) g/dL.料水质量比 1:1.搅拌式接种后最终含水量为 65%左右, pH 为 5.4.

1.1.6 主要培养设备 SP-250A 型生化培养箱,南京实验仪器厂制;HYG-II 型回转式摇床,上海欣芯自动化设备有限公司制造.

1.2 实验方法

1.2.1 发酵液还原糖的测定 3,5-二硝基水杨酸法^[4].

1.2.2 发酵液固形物含量的测定 取 40 mL 发酵液,3 000 r/min 离心 20 min,菌体经多次冲洗后,于 105 ℃ 烘至恒重.

1.2.3 发酵液胞外多糖含量的测定 3 000 r/min 离心所得上清液,取 30 mL,加 3 倍体积 95% 的乙醇,于 4 ℃ 冰箱中醇析 18 h,离心,取沉淀于 105 ℃ 烘至恒重.

1.2.4 斜面母种、液体摇瓶菌种培养条件 培养箱及摇床温度均为 25 ℃,摇床转速为 160 r/min.

1.2.5 固体栽培实验方法

1) 种龄试验

按时间逆推法培养液体母种及固体栽培种,使不同种龄的栽培种于同一时间进行栽培接种,以便观察比较.经摇瓶发酵确定以种龄分别为 4、5、6 d 的种子,按 10 g/dL 接种量,搅拌接种后进行培养观察,以菌丝萌发最快者的种龄为最佳种龄.

2) 接种方式试验

搅拌式接种 将液体菌种接入固体料中,并搅拌均匀,接种量分为 10、15、20 g/dL.

打孔式接种 固体料中部由上至下打一孔洞,将液体菌种注入孔中,接种量为 10 g/dL.

表面式接种 将液体菌种直接涂于栽培料表面,接种量为 10 g/dL.

3) 固体栽培培养条件

装料量为 200 g/瓶,于 25 ℃ 避光培养.

2 结果与讨论

2.1 液体栽培种摇瓶培养情况

由图 1 2 可以看出,随着发酵的进行,pH 开始下降,于第 4 天至第 7 天维持在 pH 3.4 左右,第 8 天 pH 有所上升,可能是发酵后期部分菌体分解所致.同时胞外多糖不断积累,于第 6 天达到高峰,为 215 mg/dL.还原糖含量呈下降趋势.应用这样的菌种进行栽培,可迅速将栽培料加以分解利用,吃料快,发菌快,使目标菌于短期内占据优势,有利于防止杂菌污染,缩短栽培周期,且在制得液体菌种的同时,亦获取了较高含量具有重要药用价值的灰树花多糖,因而具有一定的经济意义.

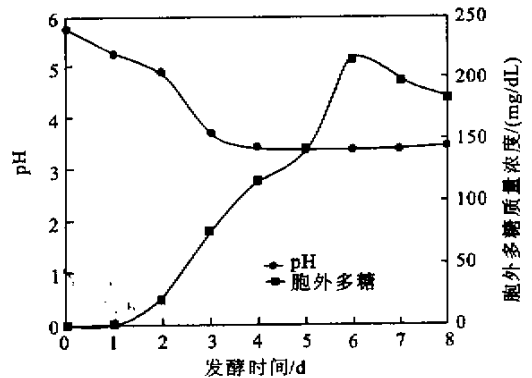


图 1 pH、胞外多糖含量变化曲线

Fig. 1 Curve of pH and extracellular polysaccharide contents

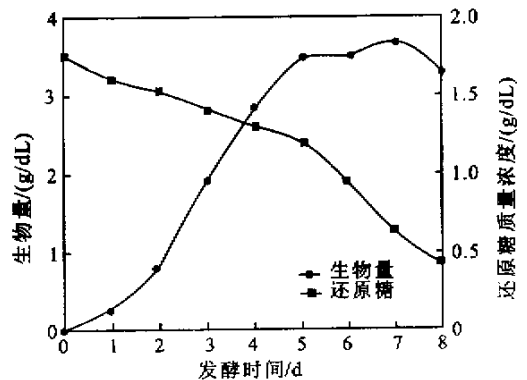


图 2 生物量、还原糖变化曲线

Fig. 2 Curve of biomass and reducing sugar contents

2.2 固体栽培情况

2.2.1 种龄试验 据图 3,种龄试验表明 4、5、6 d 种龄的培养料均发菌迅速,一周左右即可发透.其中种龄为 6 d 的比其他种龄的培养料菌丝萌发都要快,长势亦好,这与其生物量大,且菌体茁壮有关.故确定 6 d 为栽培种之最佳种龄.

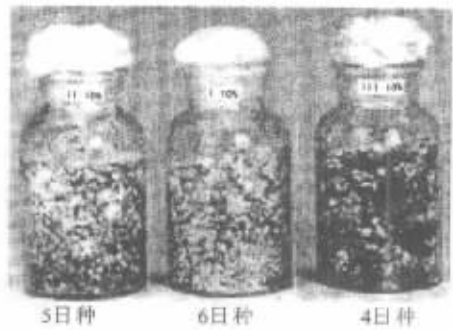


图 3 培养 9 d 照片

Fig.3 Photo of incubating after 9 days

2.2.2 接种方式试验 由图 4、5,接种方式试验表明,搅拌式接种明显优于传统的表面接种及打孔接种法,其萌发并走透栽培料之迅速是另两种接种法无可比拟的.试验亦表明,在搅拌式接种法中,在初期 20 g/dL 接种量的栽培料菌丝萌发程度比 10、15 g/dL 的要快,这是由于菌体量大所致,而接种量为 10、15 g/dL 的后劲较大,至第 8、9 天各接种量的菌丝萌发程度相似,均浓白走透.参照实验结果及综合考虑经济因素,选用 10 g/dL 接种量为最佳接种量.

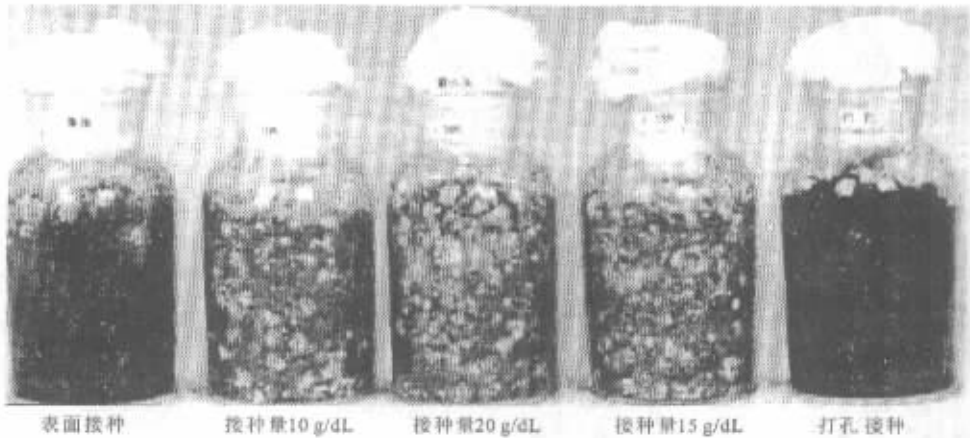


图 4 培养 6 d 照片

Fig.4 Photo of incubating after 6 days

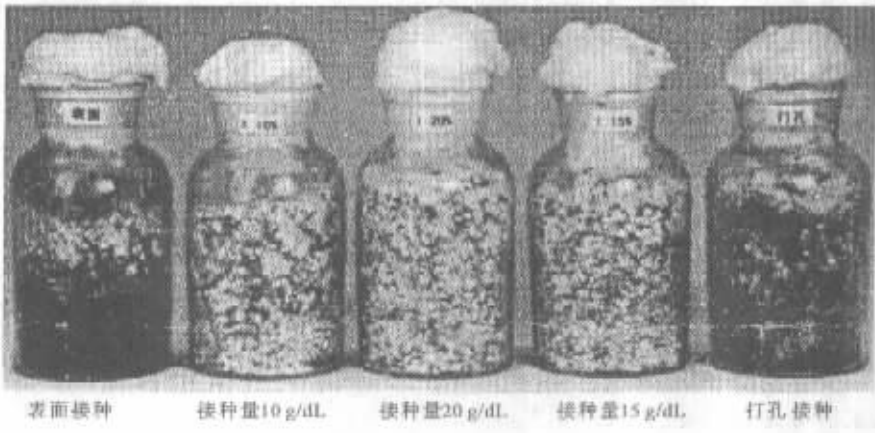


图 5 培养 9 d 照片

Fig.5 Photo of incubating after 9 days

参考文献：

[1]杨胜龙,张东平,韩省华.灰树花在百祖山区的发生及其规律[J].江苏食用菌,1994,15(2):35.
[2]刑增涛,周昌艳,潘迎捷.灰树花多糖研究进展[J].食用菌学报,1999,6(3):54.
[3]HIROAKI NANBA. Maitake mushroom - immune therapy to prevent from cancer and metastas[J]. Explore,1995(6):1.
[4]张龙翔,张庭芳,李令媛.生化实验方法和技术[M].北京:人民教育出版社,1981.