

文章编号:1673-1689(2008)01-0067-04

鸡枞菌的培养条件研究

胡尚勤, 刘天贵, 李贤柏

(重庆师范大学 生命科学院, 重庆 400047)

摘要: 研究鸡枞菌营养要求, 实现鸡枞菌的人工栽培。采用液体振荡培养法, 研究鸡枞菌菌丝体对不同矿物质、维生素、氨基酸等营养物质的需要。结果表明, 鸡枞菌菌丝体在葡萄糖为碳源, 氨基酸为氮源时, 最适 C/N 为 12~14:1。在分别以谷氨酸、天门冬氨酸和精氨酸为氮源时, 鸡枞菌菌丝体的生长最好, 其生物量最高, 鸡枞菌菌丝体对 Ca^{2+} 的需要量最大, 其次是 K^{1+} 和 Mn^{2+} 。对 VB_1 、 VB_2 、 VB_3 、 VB_5 、VC、VM 的需要量在 3.5mg/L 时鸡枞菌菌丝体生物量最高, 对 VB_6 、 VB_{12} 的需要量在 2.0~2.5 mg/L 时, 其菌丝体生物量最高。

关键词: 鸡枞菌; 菌丝体; 营养; 影响; 液体

中图分类号: Q 939.9

文献标识码: A

Research of the Nutrition Requirement of the *Termitomyces Albuminosu*

HU Shang-qin, LIU Tian-gui, LI Xian-bo

(College of Life Sciences, Chongqing Normal University, Chongqing 400047, China)

Abstract: The effect of mineral substance, vitamins and amino acids on the *Termitomyces albuminosus* mycelium growth on the submerged culture was carefully investigated. The results showed that the most suitable C/N was 12~14:1 when grown on glucose and amino acid medium. The highest of *Termitomyces albuminosu* was achieved when Glu, Asp and Arg used as nitrogen source. The most required mineral substance for *T. albuminosu* mycelium was the Ca^{2+} , next was the K^{+} and Mn^{2+} . The biomass achieved highest when the VB_1 , VB_2 , VB_3 , VB_5 , VC, VM was 3.5 mg/L and the VB_6 , VB_{12} is 2.0~2.5 mg/L, respectively.

Key words: *Termitomyces albuminosus*; mycelium; nutrition; effect; liquid

鸡枞菌(*Termitomyces albuminosus*)隶属于担子菌纲(Basidiomycotina)、伞菌目(Agaricales)、白蘑科(Trichomatace)、鸡枞属(mitamyces)^[1-2]。自从 Berkley 对鸡枞菌进行分类研究以来, 国内外学者对该菌与白蚁的共生关系、地区分布、生态关系以及形态学进行了大量研究^[3-4]。长期以来, 人们希望将这种野生珍稀食用菌人工驯化成栽培种, 但是由于鸡枞菌与白蚁共生, 其子实体仅能在白蚁窠

上生长, 鸡枞菌与白蚁二者间的生态关系背景和营养关系复杂, 这给鸡枞菌人工驯化带来了困难, 人工栽培尚处在探索阶段, 还不能完全人工栽培。在检索的国内外文献资料中尚未发现有鸡枞菌丝体营养要求的研究报道。作者旨在对鸡枞菌丝体营养要求进行全面研究, 以寻找其限制性营养物质的种类和浓度的动力学基础, 从而为鸡枞菌的人工栽培提供理论依据。

收稿日期: 2007-1-22.

基金项目: 重庆市教委基金项目(KJ-050804).

作者简介: 胡尚勤(1950-), 男, 重庆人, 教授. 主要从事食品与应用微生物领域的研究工作. Email: hushangqin@163.com

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌种来源 鸡枞菌(*Termitomyces albuminosus*)从山东安慧真菌研究所购买。

1.1.2 药品及试剂 葡萄糖,谷氨酸,甘氨酸,酪氨酸,亮氨酸,丙氨酸,异亮氨酸,丝氨酸,苯丙氨酸,苏氨酸,缬氨酸,精氨酸,半光氨酸,色氨酸,甲硫氨酸,天门冬氨酸,赖氨酸,组氨酸,天门冬酰胺,脯氨酸,10%盐酸,10% NaOH, VB₁, VB₂, VB₃(泛酸), VB₅, VB₆, VB₁₂, VC, VH, VM(叶酸), K¹⁺, Na¹⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Zn²⁺, Cu²⁺, Mn²⁺, Fe²⁺等。

1.1.3 仪器设备 恒温制冷振荡培养箱:LRH-250型,广东省医疗器械生产;电热恒温干燥箱:DH2-9023A型,上海精宏实验设备有限公司产品;自动控制高压灭菌器:YXQ·WY21·600,日本Tomyseikoco产品;超净工作台:SW-CJ-IBU型,苏州净化设备有限公司产品;TDZ5-WS多管架自动平衡离心机:4 000 r/min, XIANGYI,长沙湘仪离心机仪器有限公司产品;高速离心机:10 000 r/min, pH S-2c型 pH 酸度计:四川成都方舟科技开发有限公司生产;万分之一阻力天平: TG328A型 Xiangyi,上海精天电子仪器有限公司产品和 FA1004型天平,上海精天电子仪器生产。

1.2 方法

1.2.1 培养基的配制 ①PDA培养基^[5-6]:A:以葡萄糖为碳源,酪氨酸为氮源,精确计算和准确量,按碳氮质量比要求,C:N为8:1,10:1,12:1,14:1,15:1,18:1,20:1,22:1,25:1,并分别加入 K¹⁺, Na¹⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Zn²⁺, Cu²⁺, Mn²⁺, Fe²⁺和 VB₁, VB₂, VB₃, VB₅, VB₆, VB₁₂, VC, VH, VM各2 mg/L,配成 pH 值为6.0的碳氮比液体培养基。B:以葡萄糖为碳源,酪氨酸为氮源,C:N=14:1,加入不同种类不同数量的维生素(VB₁, VB₂, VB₃, VB₅, VB₆, VB₁₂, VC, VH, VM,每升加入0.5 mg, 1.0 mg, 1.5 mg, 2.0 mg, 2.5 mg, 3.0 mg, 3.5 mg, 4.0 mg, 4.5 mg, 5.0 mg不同浓度维生素和 K¹⁺, Na¹⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Zn²⁺, Cu²⁺, Mn²⁺, Fe²⁺各2 mg/L矿质元素。配制 pH 值为6.0的液体维生素试验培养基。C:以葡萄糖为碳源,酪氨酸为氮源,C:N=14:1,并加入不同种类和不同数量的 K¹⁺, Na¹⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Zn²⁺, Cu²⁺, Mn²⁺, Fe²⁺各0.5 mg/L, 1.0 mg/L, 1.5 mg/L, 2.0 mg/L, 2.5 mg/L, 3.0 mg/L, 3.5

mg/L, 4.0 mg/L 和 VB₁, VB₂, VB₃, VB₅, VB₆, VB₁₂, VC, VH, VM各2 mg/L。配成 pH 值为6.0的矿物质试验培养基。D:以葡萄糖为碳源,分别以不同种类氨基酸为氮源,C:N=14:1,并加入各种 K¹⁺, Na¹⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Zn²⁺, Cu²⁺, Mn²⁺, Fe²⁺各2 mg/L 和 VB₁, VB₂, VB₃, VB₅, VB₆, VB₁₂, VC, VH, VM各2 mg/L。配成 pH 值为6.0的氨基酸试验培养基。

上述各培养基配制好后,分别分装在250 mL三角瓶中,每瓶100 mL,121℃灭菌30 min(维生素用过滤除菌后加入灭菌后的培养基中)。

1.2.2 接种培养 ①菌种活化培养,将鸡枞菌原种接种到(18 cm×1.5 cm的试管,培养基高度4 cm)PDA培养基上,22℃培养7 d。②试验培养,将活化培养的鸡枞菌菌丝体用接种铲刮下加水(按每支斜面种菌丝体加入8 mL无菌水的比例),用事先准备好的无菌组织粉碎机打成很细的菌丝体浆悬液,然后用无菌操作,分别接种上述A、B、C、D 4类培养基,每瓶接种2 mL;用菌浆悬液接种比直接用每支斜面接种4瓶更加均等)。每组处理设6个重复和1个对照,将各处理组置于22℃恒温振荡培养箱中振荡培养96 h。

1.2.3 菌丝体生长生物量的测定 各处理组在22℃培养96 h后,过滤或离心收集菌丝体,烘干后称重,计算其生物量。

2 结果分析

2.1 鸡枞菌菌丝体生长最适 C:N 试验

采用液体合成培养基 A,接种后在22℃培养96 h,过滤收集菌丝体,烘干后称重,计算其生物量,结果见图1。

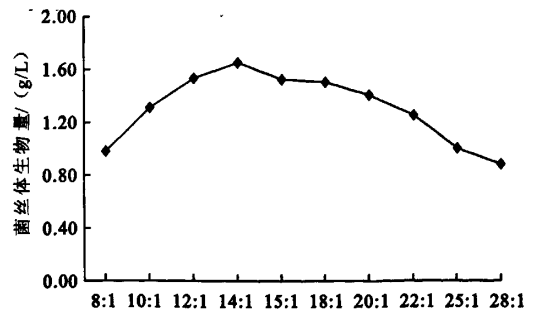


图1 鸡枞菌菌丝体在不同C:N质量比培养基中生长曲线

Fig.1 *Termitomyces albuminosus* growth curve in the medium of the different C:N

从图1中可见,以葡萄糖为碳源,酪氨酸为氮源时,鸡枞菌菌丝体生长最适 C/N 在(12~14):1

,其鸡枞菌菌丝体生物量最高为 1.53~1.65 g/L,是对照 0.42g/L 的 3.93 倍。其次是 15:1,其鸡枞菌菌丝体生物量为 1.52 g/L。

2.2 鸡枞菌菌丝体生长对维生素营养要求的试验

采用液体合成培养基 B,接种后在 22℃ 培养 96 h,过滤收集菌丝体,烘干后称重,计算其生物量,结果见图 2。

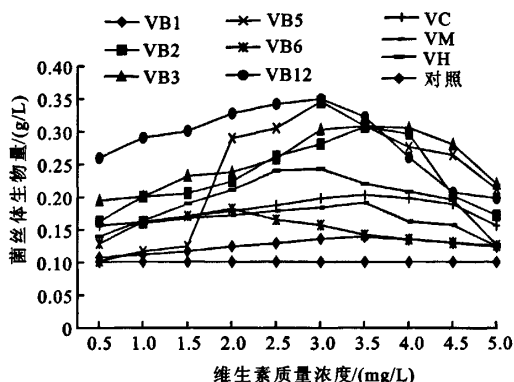


图2 鸡枞菌菌丝体生长与维生素的关系

Fig.2 Relationship of the vitamins and growth of the *Termitomyces albuminosus* mycelium

从图2可看出,不同种类不同浓度的维生素对鸡枞菌生长有一定影响。其中 VB₁ 在 3.0~3.5 mg/L 时,鸡枞菌生长好,生物量为 0.136~0.139 g/L。VB₂ 在 3.5~0.40 mg/L 时,鸡枞菌生长好,生物量为 0.307~0.296 g/L。VB₃ 在 0.35~0.40 mg/L 时,鸡枞菌生长好,生物量为 0.308~0.305 g/L。VB₅ 在 3.0~3.5 mg/L 时,鸡枞菌生长好,其生物量为 0.346~0.308 g/L。VB₆ 在 2.0~2.5 mg/L 时,鸡枞菌生长好,其生物量为 0.182~0.165 g/L。VB₁₂ 在 2.5~3.0 mg/L 时,鸡枞菌生长好,其生物量为 0.342~0.350 g/L。VC 在 3.0~3.5 mg/L 时,鸡枞菌生长好,其生物量为 0.198~0.203 g/L。VM 在 3.0~3.5 mg/L 时,鸡枞菌生长好,其生物量为 0.184~0.191 g/L。VH 在 2.5~3.0 mg/L 时,鸡枞菌生长好,其生物量为 0.240~0.243 g/L。是对照 0.101 g/L 的 1.35~3.47 倍。

2.3 鸡枞菌对矿元素要求的试验

采用液体合成培养基 C,接种后在 22℃ 培养 96 h,过滤收集菌丝体,烘干后称重,计算其生物量,结果见图 3。

从图3可以看出,Fe²⁺ 在 1~1.5 mg/L、K¹⁺ 在 1.5~2.0 mg/L、Na¹⁺ 在 1.0~1.5 mg/L、Mg²⁺ 在 0.5~1.0 mg/L、Mn²⁺ 在 1.5~2.0 mg/L、Zn²⁺ 在 1.0~1.5 mg/L、Ca²⁺ 在 2.5~3.0 mg/L、Cu²⁺ 在 0.5~1.0 mg/L 时,鸡枞菌菌丝体的生物量最高,

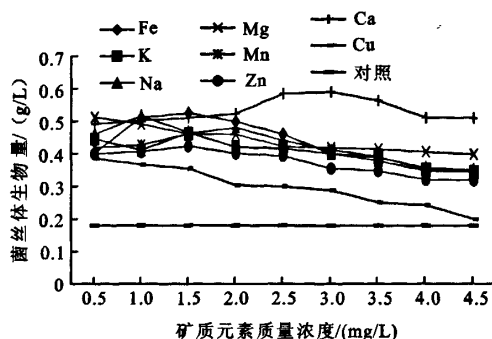


图3 矿质元素对鸡枞菌菌丝体生长的影响

Fig.3 Effect of the mineral to growth of the *Termitomyces albuminosus* mycelium

分别为 0.511~0.526 g/L、0.464~0.422 g/L、0.516~0.467 g/L、0.512~0.491 g/L、0.463~0.481 g/L、0.406~0.424 g/L、0.586~0.592 g/L 和 0.421~0.400 g/L。平均是对照 0.180 g/L 的 4.92 倍、5.46 倍、5.57 倍、5.24 倍、4.61 倍、6.54 倍和 4.56 倍。

2.4 鸡枞菌对氨基酸营养要求试验

采用液体合成培养基 D,接种后在 22℃ 培养 96 h,过滤收集菌丝体,烘干后称重,计算其生物量,结果见图 4。

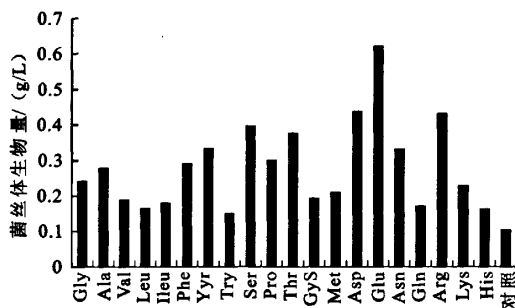


图4 不同氨基酸对鸡枞菌菌丝体生长的影响

Fig.4 Effect of the different amino acids to growth of the *Termitomyces albuminosus* mycelium

从图4中可以看出,谷氨酸、精氨酸、天门冬氨酸、苏氨酸、丝氨酸、酪氨酸、天门冬酰胺 7 种氨基酸对鸡枞菌菌丝体生长有明显促进作用,其生物量比其他氨基酸的高,分别为 0.620 g/L、0.431 g/L、0.437 g/L、0.376 g/L、0.396 g/L、0.333 g/L、0.331 g/L。分别是对照 0.104 g/L 的 5.96、4.14、4.20、3.62、3.81、3.20、3.18 倍。这 7 种氨基酸可以看作是无可取代氨基酸。其中谷氨酸、精氨酸、和天门冬氨酸 3 种氨基酸不但有利于鸡枞菌生长,而且有刺激鸡枞菌生长的作用,因此,可以把它们看作既是无可取代氨基酸又可作为生长因子,这 3

种氨基酸的培养基中鸡枞菌菌丝体的生物量最高,为0.620 g/L、0.431 g/L、0.437 g/L。其余的氨基酸均可看作为可取代氨基酸,鸡枞菌菌丝体生物量相对较低,在0.300 g/L以下。

3 结 语

1) 实验结果表明,鸡枞菌菌丝体生长在以葡萄糖为碳源,氨基酸为氮源,最佳C:N为(12~14):1,其鸡枞菌菌丝体生物量最高,为1.53~1.65 g/L,是对照的3.93倍。

2) 结果表明不同氨基酸对鸡枞菌菌丝体生长亦有影响,在20种氨基酸实验中,谷氨酸、天门冬氨酸、和精氨酸对鸡枞菌生长影响较大,其生物量最高,分别为0.620、0.437、0.431 g/L,分别是对照的0.104 g/L的5.96、4.14、4.20、3.62、3.81、3.20、3.18倍。其次是丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸和天

门冬酰胺对鸡枞菌菌丝体生长亦有比较明显影响。

3) 实验结果表明,矿质元素对鸡枞菌菌丝体生长有明显影响。当 Mg^{2+} 、 Cu^{2+} 在0.5~1.0 mg/L时,鸡枞菌菌丝体生物量最高为0.512~0.499 g/L和0.421~0.400 g/L; Fe^{2+} 、 Na^{1+} 、 Zn^{2+} 在1.0~1.5 mg/L时,其菌丝体生物量最高为0.511~0.526 g/L,0.516~0.467 g/L,0.406~0.424 g/L; K^{1+} 、 Mn^{2+} 在1.5~2.0 mg/L时,其生物量最高为0.464~0.422 g/L,0.463~0.481 g/L; Ca^{2+} 在2.5~3.0 mg/L时,鸡枞菌菌丝体生物量最高为0.586~0.592 g/L。

4) 研究结果还表明,鸡枞菌菌丝体生长对维生素的需要均在2~3.5 mg/L的浓度范围内为合适。本实验对鸡枞菌营养要求的研究从而为鸡枞菌实现完全人工栽培提供了理论依据。

参考文献(References):

- [1] 胡清秀. 鸡枞菌研究现状[J]. 食用菌学报, 2001, 8(1): 54-58.
HU QING-XIU. The present research situation of *Termitomyces albuminosus* [J]. *Acta Edulis Fungi*, 2001, 8(1): 54-58. (in Chinese)
- [2] 胡清秀. 五种鸡枞菌的分离培养试验[J]. 食用菌学报, 2000, 7(3): 43.
HU QING-XIU. Isolation culture test of five *termitomyces albuminosus* [J]. *Acta Edulis Fungi*, 2000, 7(3): 43. (in Chinese)
- [3] R Corutecuisse, B Duhem. Mushrooms and Toadstools[M]. Harpercollins Publishers, 1996, 195.
- [4] 姚晓红, 许尧兴, 许少春. 鸡枞菌的生物学特性及深层发酵研究进展[J]. 食用菌学报, 2001, 8(1): 59.
YAO Xiao-hong, XU Yao-xing, XU Shao-chun. Recent studies on the biological characteristics and submerged culture of *termitomyces albuminosus* mycelia [J]. *Acta Edulis Fungi*, 2001, 8(1): 59. (in Chinese)
- [5] 沈萍, 范秀容, 李广武. 微生物学实验[M]. 高等教育出版社, 北京, 2001, 215.
- [6] 邓百万, 陈文强. 美味牛肝菌胞外多糖高产菌株的诱变选育[J]. 食品与生物技术学报, 2006, 25(6): 50.
DENG Bai-wan, CHEN Wen-qiang. Screening of high exopolysaccharide yied strain of *boletus edulis* by UV Ray [J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2006, 25(6): 50. (in Chinese)

(责任编辑: 杨 萌)