

白鳞粗柄鹅膏菌丝的固态发酵^{*}

李宗菊 强莉坤

(云南大学生物技术系 昆明 650091)

关键词 白鳞粗柄鹅膏, 菌丝体, 固态发酵

中图分类号 Q949.32 文献标识码 B 文章编号 1001-6209 (2002) 05-0625-03

近年来,因鹅膏菌肽类毒素可用于分子生物学、医学、农学等领域而具广阔的开发前景^[1]。但由于鹅膏菌资源有限,而人工合成的毒素又不具活性,所以目前尚难以开发利用。加之鹅膏菌大多属于外生菌根真菌,虽然已在少数种的菌根合成方面取得了一些进展^[2-4],但至今该属中绝大部分种仍属于自然界中难培养或未能培养的微生物,难以人工、半人工栽培。因此,目前国内还没有一种能规模化开发的毒素产品。而现在作为生化试剂的肽类毒素全部来源于欧美的毒鹅膏子实体,售价在每克 10 万美元以上。所以,研究如何开发利用我国的鹅膏菌及其毒素具有非常重要的意义。而鹅膏菌菌丝的分离与固态发酵是关系到今后毒素能否进行规模化生产及毒菌能否人工栽培的前提和关键。本文报道了影响白鳞粗柄鹅膏(*Amanita vittadinii* (Moretti) vittad.)菌丝分离及固态发酵的条件。

1 材料和方法

1.1 材料

白鳞粗柄鹅膏 [*Amanita vittadinii* (Moretti) vittad.]^[5] 采自云南省陆良县。

1.2 方法

1.2.1 基本培养基 改良 PDA 培养基

1.2.2 培养基的配制与分装 常规法。

1.2.3 试管斜面菌种的分离 取刚采集的毒菌子实体,用组织分离法分别从菌盖、菌柄、菌盖与菌柄的交接部位取下黄豆大小的组织块,分别放在不同的培养基上,于 25℃ 暗培养。

1.2.4 菌丝生长速度的测定 常规法。

2 结果和讨论

2.1 菌丝体的诱导(母种的制备)

由表 1 可见,只有菌盖和菌柄交接部位的组织可以在 A、B 培养基上生长出菌丝体。培养基 A 中加入了适量的新鲜玉米汁和黄豆芽汁,培养基 B 中加入了适量的蘑菇汁,可能是这些成分中的复合营养因子对菌丝的萌发及生长起到了一定的促进作用。

^{*} 云南省教委资助项目(9912132)

作者简介 李宗菊(1965-),女,云南腾冲县人,副教授,主要从事生物技术研究。

收稿日期 2001-09-13,修回日期 2002-04-03

表 1 白鳞粗柄鹅膏组织在几种培养基上的 菌丝的萌发情况					
采种部位	培养基				
	A	B	C	D	E
菌盖(50 支)	-	-	-	-	-
菌柄(50 支)	-	-	-	-	-
菌盖与菌柄交接部位(50 支)	+	+	-	-	-

注“+”表示有菌丝长出,“-”表示无菌丝长出。

2.2 菌丝体的转管扩繁(原种制备)

2.2.1 PDA 培养基与母种培养基比较 :为进一步降低成本及简化母种培养基,将 A、B 两种培养基与 PDA 培养基进行对比,并进行多次转接观察。由表 2 可知,已诱导出的菌丝体,即使只在简单的 PDA 培养基上也能较好地生长。只是刚转管时菌丝生长较慢,长势稍差,但随着转管代数的增加,菌丝长势明显转好。到第四代时,已和在 A、B 培养基上生长出的菌丝相差不大。

2.2.2 PDA 培养基的不同碳源比较 :进行了几种碳源对菌丝生长的影响实验。从表 3 可以看出,蜂糖(未脱脂)单独作为碳源时,菌丝生长速度较慢,当混合其它碳源时菌丝生长速度加快,如 5 号、6 号培养基。在单因子碳源中,菌丝在赤砂糖上生长较好。

表 3 不同碳源(3%)对菌丝生长状况的影响		
培养基编号	碳源	菌丝生长情况
1	葡萄糖	生长快,菌丝健壮
2	蔗糖	五天后菌丝的生长速度与 1 号相当。
3	赤砂糖	四天后菌丝的生长速度超过 1 号。
4	蜂糖	生长较慢
5	葡萄糖、赤砂糖、蜂糖(1:1:1)	生长较快,生长速度超过 1 号。
6	赤砂糖、蜂糖(1:1)	四天后菌丝的生长速度超过 1 号。

2.2.3 利用葡萄糖作碳源,添加不同的氮源进行比较 :通过加入有机氮与无机氮,观察菌丝对不同氮源的利用情况。结果表明,在添加有机氮的培养基上菌丝比在添加无机氮的培养基上生长得更快。

2.2.4 利用葡萄糖作碳源,添加不同的生长因子进行比较 :实验表明,在培养基中分别添加 V_{B1} 、 V_{B6} 、 V_{PP} 生长因子时,菌丝的生长速度稍比未加入时快,但用复合生长因子($V_{B1} + V_{B6} + V_{PP}$)时,生长速度却明显加快。

2.2.5 利用葡萄糖作碳源,添加不同的微量元素进行比较 :菌丝在添加微量元素(Zn^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Na^{+} 等)的培养基上的生长速度与在基本培养基上的生长速度相差不大。

2.3 菌丝的扩大培养

2.3.1 菌丝在培养基上的生长 :把菌丝转入装有培养基的 2 000mL 的三角瓶中,菌丝的生长情况仍然很理想,见图 1。

2.3.2 菌丝在杂木屑、麦麸等介质中的生长 :将毒菌菌丝转接在以杂木屑、麦麸等为主的培养介质中,开始生长很缓慢,但 4~5d 以后即能较快生长(见图 2)。说明毒菌菌丝具有分解或利用杂木屑、麦麸等粗纤维的能力。这一点对于今后大规模地进行毒菌菌丝的固体发酵非常重要。

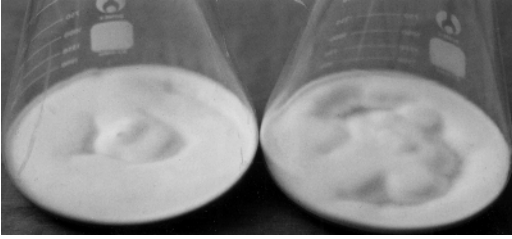


图 1 菌丝在 2 000mL 的三角瓶中的生长情况

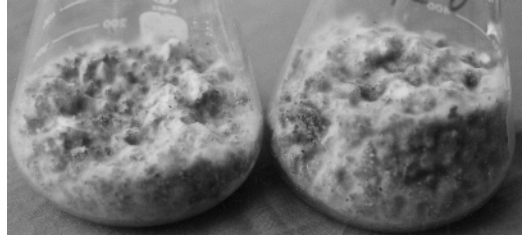


图 2 菌丝在杂木屑、麦麸等培养基质中的生长情况

参 考 文 献

[1] Brown A, Garrity G M. *Toxicon*, 1980, **18** 702 ~ 704.
[2] Grma A. *J Sci*, 1985, **85** 38 ~ 39.
[3] Kottke I, Oberwinkley F. *Can J Bot*, 1986, **64**(10) 2348 ~ 2354.
[4] Fortin J A. *Microbiology*, 1995, **120** 1250 ~ 1261.
[5] 卯晓岚. 中国大型真菌. 郑州 :河南科学技术出版社, 2000, 80 ~ 106.

Study on Solid State Fermentation of the Mycelium from *Amanita vittadinii*

Li Zongju Qiang Likun

(Biotechnology Department of Yunan University, Kunming 650091, China)

Abstract : Solid State Fermentation of the mycelium of *Amanita vittadinii* were successfully studied. The results showed that, only the tissue pieces from the joint site of pileus and stipe of fruiting body can sprout mycelium on some special medium containing corn juice, bean sprouts juice, mushroom juice, etc but to the forth times transfer of culture, the mycelium no longer need the special medium and only demand simple PDA medium ; the mycelium grow better on the medium containing brown sugar、 $V(V_{BI}、V_{B6}、V_{PP})$ and organic nitrogen ; but micro-minerals (Zn^{2+} , Fe^{2+} , Ca^{2+} , Na^{+}) were not necessary to the mycelium ; the mycelium could grow on the medium containing coarse-fibre such as various wooden pieces and wheat bran. This meant the mycelium can decompose and use coarse-fibre.

Key words : *Amanita vittadinii*, Mycelium, Solid state fermentation

* Project Granted by Yunan Educational Commission Found of China(9912132)