

长白山树舌在液体培养中菌丝体生长及多糖得率变化

于海茹, 李艳茹, 许广波, 李太元, 梁运江

(延边大学 农学院 吉林 龙井 133400)

摘要:研究了长白山树舌在浅层静置液体培养过程中菌丝体生长、多糖得率、培养液 pH 值及培养液中残糖量等相关指标的动态变化。结果表明, 在 25℃ 恒温静置培养条件下, 树舌菌丝体生物量的鲜重在第 35 天达到最大值(37.3 g), 干重在第 2 天达到最大值(3.1 g); 菌丝体中总糖和还原糖在第 28 天达到最大值(19.29% 和 9.68%), 发酵液的 pH 值在整个液体培养过程中呈现升高趋势; 培养液的残糖量呈下降趋势, 在第 42 天后糖含量达到最低值(0.03 mg/mL)。

关键词: 树舌; 液体培养; 菌丝体; 多糖得率

中图分类号: S 567.3⁺1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2008)02-0238-02

树舌 [*Ganoderma applanatum* (Pers.: Gray) Pat.], 也叫平盖灵芝、扁灵芝, 属于担子菌门(Basidiomycota), 层菌纲(Hymenomycetes), 非褶菌目(Aphyllphorales), 灵芝科(Ganodermataceae), 灵芝属(*Ganoderma* Karst.)^[1]。树舌是长白山区一种具有较高药用价值的大型真菌, 其多糖更是由于显著的抗肿瘤作用而成为近年来研究的热点^[2-3]。树舌多糖是由多个单糖分子以糖苷键结合而成的高分子多聚物, 具有重要的生物活性和功能, 主要存在于其菌丝、子实体及其发酵液中, 被称为“生物效应调节剂”。因树舌多糖具有清热、消积、化痰、止痛、抗癌、增强机体免疫等功能, 且无毒性^[4-5]。已广泛应用于免疫缺陷性疾病、乙型肝炎、食道癌、神经衰弱和肺结核等的临床治疗^[1]。以树舌多糖为原料开发的新药也不断得到广泛利用。目前, 野生树舌资源极为有限, 树舌生长周期长, 人们获取树舌多糖的途径多集中在从子实体提取而得, 但子实体培养的周期长, 产量低等限制了产品的工业化生产, 远远满足不了人们需求的不断增大。故应该探索应用微生物发酵技术进行液体深层培养以获取树舌多糖的工业化生产渠道, 利用微生物发酵技术生产树舌多糖。为此, 试验先从树舌菌丝在液体浅层培养过程中多糖的积累规律方面进行了初步研究, 旨在为开辟工业化液体深层培养生产名贵真菌多糖提供更为可靠的理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试菌种

树舌纯菌种由产自长白山区的野生树舌子实体经

组织分离得到, 试验前经过活化和扩繁。

1.2 液体培养基配方

玉米粉 10 g, 蛋白胨 5 g, 麦芽糖 15 g, 磷酸二氢钾 0.75 g, 硫酸镁 0.75 g, 维生素 B₁ 75 mg, 自来水 1 L, 用 0.1 mol/L HCl 将 pH 调至为 3.5 左右。

1.3 试验方法

将配制好的液体培养基分装于 100 mL 三角瓶中, 每个三角瓶装培养液 50 mL, 然后在 1.0 kg/cm² 压力下灭菌 30 min。试验共设 5 组, 每组 5 瓶, 每隔 7 d 测定 1 组。

1.4 接种和培养方法

用经过灭菌的孔径为 1 cm 的打孔器截取大小均匀一致的树舌菌种块接入三角瓶中使其浮在培养的液体培养基表面上, 放置于 25℃ 的恒温培养箱中静止培养。

1.5 测定项目及方法

树舌菌丝体生物量的变化: 每隔 7 d 取出测定组各瓶内全部树舌菌丝体称鲜重, 然后置于 80℃ 烘干箱中烘至恒重。树舌菌丝体中和液体培养基中多糖含量的变化: 总糖和还原糖测定采用 3, 5-二硝基水杨酸法。液体培养基中胞外多糖含量的变化: 培养液酸度的变化: 用 PHS-3C 精密酸度计测定培养液的酸度。

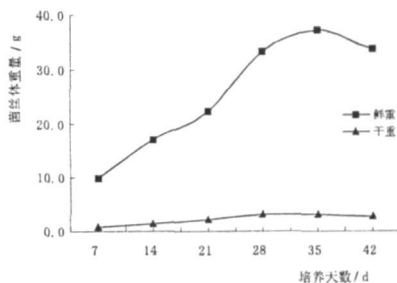


图1 树舌菌丝体干鲜重的变化

2 结果与分析

2.1 树舌菌丝体生长量的变化

第一作者简介: 于海茹(1979-), 女, 延边大学农学院在读硕士。

通讯作者: 许广波. E-mail: gbxu@ybu.edu.cn.

基金项目: 延边大学科学基金资助项目(延大科合字 2004-33 号)。

收稿日期: 2007-08-10

在 25℃条件下培养树舌菌丝体生长状况见图 1,每隔 7 d 测定菌丝体的鲜重和干重。菌丝体生长量呈现 2 个阶段,第 1 个阶段菌丝体的增长幅度低于第 2 个阶段。接种后前 3 周的菌丝体生长较为缓慢,在第 21 天菌丝体

鲜重为 22.3 g,从第 4 周开始菌丝体生长量加快,在第 35 天重量增至 37.3 g,随后菌丝体的重量呈下降趋势。菌丝体的干重在第 28 天时达到最大量 3.1 g。

2.2 树舌菌丝体中多糖得率的变化

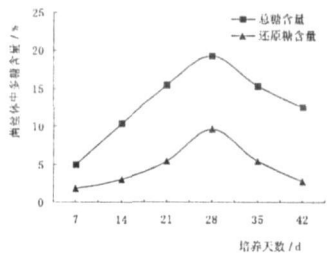


图2 树舌菌丝体中多糖得率的变化

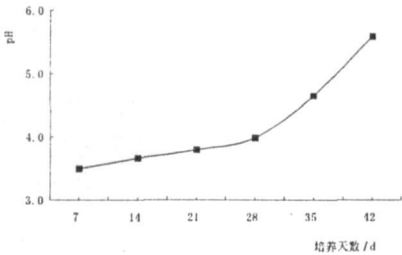


图3 发酵液 pH 值变化

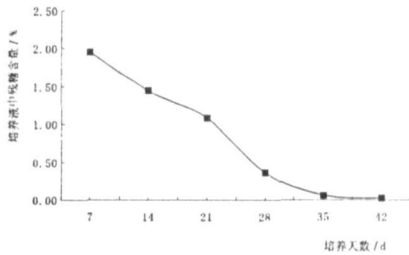


图4 培养液中残糖量的变化

在培养的前 4 周菌丝体中总糖和还原糖的含量都呈上升趋势,在第 28 天达到最大量 19.29%和 9.68%。从第 5 周开始菌丝体中总糖和还原糖的含量明显下降,在第 42 天,总糖含量下降至 12.52%,还原糖含量接近第 7 天的水平为 2.81%。

2.3 树舌菌丝体中培养液中 pH 的变化

由图 3 可知,在整个液体培养过程中,发酵液的 pH 值变化不大,前 28 天发酵液的 pH 值呈缓慢上升趋势,然后 pH 值开始陡然上升,在第 42 天, pH 值已达到 5.6。结合菌丝生长和菌丝体中多糖含量变化,在 28 d 前,菌丝生长向培养液中释放的代谢产物少,以初级代谢为主。表明菌丝体开始消耗菌丝体中的多糖,并向培养中排出碱性物质,以至于发酵液 pH 值迅速上升。

2.4 树舌菌丝体中培养液中残糖量的变化

从图 4 中可以看出,培养液中的残糖量一直呈现下降趋势,对照图 1 菌丝体的生长量来看,培养液中的残糖量下降与菌丝体的生长量相符,在第 2 阶段下降幅度

较大,在培养 35 d 后,培养液中的含量只有 0.06 mg/mL,在第 42 天只有 0.03 mg/mL。也表明该培养基配方适合于树舌的液体培养,培养基中营养物质转化率高。

3 结论

菌丝体的生长量在第 28 天达到最大量,菌丝体中的多糖在第 28 天也达到最大量,适合菌丝体生长的 pH 值在 3.5~4.0 之间,从培养液中残糖量的变化来看,配方适用于树舌的液体培养。

参考文献

[1] 周忠波,马红霞,图力古尔.树舌(*Ganoderma lipsiense*)化学成分及药理学研究进展[J].菌物研究,2005,3(1):35-42.
[2] 张春玉,黄国辉,刘立侠.长白山药用真菌树舌凝集素的纯化及生化特性[J].中国生物工程杂志,2005,25(9):84-88.
[3] 王玉.多糖抗肿瘤作用的研究进展[J].中国优生与遗传杂志,2003,11(2):139-140.
[4] 卯晓岚.中国大型真菌[M].郑州:河南科学技术出版社,2000:483.
[5] 王淑英,张春晶.树舌多糖抗肿瘤机制的研究[J].齐齐哈尔医学院学报,2004,25(5):507-508.

Changes of Polysaccharide Yield and Growth of Mycelia of *Ganoderma lipsiense* in Changbai Mountain Under Swallow Liquid Culture

YU Hai-ru, LI Yan-ru, XU Guang-bo, LI Tai-yuan, LIANG Yun-jiang
(Agricultural College of Yanbian University, Longjing, Jilin 133400, China)

Abstract: The dynamic change of *Ganoderma lipsiense* in changbai mountain under swallow liquid culture were studied in the growth of mycelia, polysaccharide yield, pH value and residue sugar of cultural liquid. The result showed: the biomass of mycelia after 35 days were in the highest in fresh weight, and their dry weight were in the highest after 28 days under 25℃ culture; total sugar and reducing sugar were maximum after 28 days, the pH value of fermentation were increased in the whole culture; residue sugar of cultural liquid were decreased, the content of sugar were minimum after 42 days.

Key words: *Ganoderma lipsiense*; Liquid culture; Mycelia; Polysaccharide yield