

# 液体培养条件下温度对灵芝菌丝作用效果研究

汪金萍, 吴保锋

(信阳农业高等专科学校 生物技术系, 河南 信阳 464000)

**摘 要:** 采用食用菌菌丝液体培养的方法, 分析了不同温度条件对灵芝菌丝生长的影响。结果表明: 对比不同温度条件下灵芝菌丝干重, 在设置的 5 个温度条件下, 对灵芝菌丝生长的促进作用大小依次为: 28℃ > 25℃ > 30℃ > 23℃ > 室温, 并且恒温优于室内的变温。

**关键词:** 灵芝; 液体培养; 温度; 方差分析; 多重比较

中图分类号: S 567.3<sup>+</sup>1 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2010)16-0203-02

灵芝(*Ganoderma lucidum* (Leyss. ex Fr.) Karst) 隶属于灵芝菌科(Ganodermataceae)灵芝属(*Ganoderma*)。别名灵芝草、灵芝仙草、木灵芝、红芝、赤芝、瑞草、万年蕈等, 现代灵芝的生物学、医学科研究成果证明灵芝在许多方面对于人体的保健具有相当大的益处, 也在一定程度上解释了《神农本草经》等古代文献对灵芝的药性、功能作用的论述。现代药理和临床研究证实, 灵芝具有多方面生理活性和药理作用。灵芝菌丝体含有多糖、多种氨基酸、活性肽、三萜类、碱基、核苷、硬脂酸、多种微量元素、苯甲酸、多种酶、酶抑制剂, 以及多种生物碱等多种生物活性物质。并且菌丝体有富集作用, 能将环境中稀有元素如硒、锗、碘的无机形式转化为有机形式, 有利于人体吸收, 这更增强了灵芝菌丝体功效<sup>[1-3]</sup>。近些年来, 中外学者对灵芝子实体、菌丝体、孢子粉和发酵液及不同方法提取的有效成分进行了广泛深入的研究, 研究水平已从整体器官水平深入到分子水平, 并对灵芝扶正固本的机理进行了深入的探讨<sup>[4]</sup>。灵芝的生长需要一定

的营养、温度、湿度、空气、光照、酸碱度等生态条件, 其中温度也是一个重要条件。现设置不同的温度条件对灵芝进行液体培养, 并测定灵芝菌丝生长量, 从而探讨适合灵芝菌丝生长的温度条件。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

1.1.1 菌种 灵芝由信阳农业高等专科学校应用真菌实验室提供。

1.1.2 母种培养基 马铃薯(去皮): 200 g, 葡萄糖: 20 g, 水: 1 000 mL, pH 自然<sup>[3]</sup>。

1.1.3 液体培养基 马铃薯(去皮): 200 g, 葡萄糖: 20 g, 硫酸镁: 0.5 g, 磷酸二氢钾: 1.0 g, 维生素 B<sub>1</sub>: 10 mg, 琼脂: 20 g, 水: 1 000 mL<sup>[3]</sup>。

1.1.4 仪器设备 超净工作台; 试管(18 mm×180 mm); 接种铲; 接种针; 锥形瓶(250 mL); 高压蒸汽灭菌锅; 恒温培养箱; 恒温干燥箱; 电子天平等。

### 1.2 试验方法

1.2.1 母种培养基制备 马铃薯去皮后切成块, 放入水中, 煮沸后维持 25 min。用 2~8 层纱布过滤后取滤液, 然后分别加入其它各种培养基配方, 定容。将培养基分装于试管, 装量为试管的 1/5~1/4, 121℃灭菌 30 min,

第一作者简介: 汪金萍(1981-), 女, 河南潢川人, 硕士, 讲师, 现从事微生物学研究工作。

收稿日期: 2010-04-12

## 5 采收

待子实体不再生长, 顶端出现许多小刺时, 表明已成熟, 可以采收了。采收时, 用无菌镊子从培养瓶中小心钳出子实体, 然后再加少许营养液, 重新包扎好瓶口, 继续培养, 20 d 左右, 又可长出第 2 批子座。采收下的子实体晾干或低温烘干后, 就可作为商品出售。暂不出售, 应密封好放在低温干燥处贮存。

## 6 注意事项

蛹虫草菌种不宜长期保存, 也不宜多次转管扩繁, 否则菌种很容易退化、变异。因此需要经常栽培留种, 更新原来保存的菌种。为了保证蛹虫草菌种的种性、纯

度和活力, 对没有条件进行组织分离留种的农户, 应该购买优质菌种, 以便达到高产优质的目的。

## 参考文献

[1] 刘红锦, 蒋宁, 李建军, 等. 蛹虫草多糖提取及纯化工艺研究[J]. 江西农业学报, 2007, 19(12): 80-82.  
[2] 梁月, 张国珍, 安沫, 等. 蛹虫草子囊孢子萌发及其后代群体培养性状观察[J]. 菌物学报, 2006, 24(4): 525-532.  
[3] 车振明. 人工蛹虫草子实体及大米培养基残基中虫草素的提取纯化方法[J]. 食用菌, 2004(4): 40-41.  
[4] 纪朋艳, 罗速, 崔新颖, 等. 中药蛹虫草的抗肿瘤活性及机制研究[J]. 北华大学学报(自然科学版), 2005, 6(4): 324-329.  
[5] 王英娟, 李多伟, 王义, 等. 蛹虫草中虫草素、虫草多糖综合提取工艺研究[J]. 西北植物学报, 2005, 25(9): 1863-1867.

取出摆斜面。

1.2.2 菌种活化培养 将保藏的灵芝菌种无菌操作接至试管斜面, 28℃下培养, 待其菌丝长满斜面, 即可使用。

1.2.3 液体培养基的制备 按配方配制液体培养基, 并且分装于 15 个锥形瓶中, 每瓶装液量为 50 mL, 121℃灭菌 30 min。

1.2.4 接种及培养 无菌操作从试管斜面上取大小相近的 1 cm×1 cm 的母种块, 接种于上述每瓶液体培养基中(菌块要薄, 尽量使菌块漂浮在液面上)。每瓶接种 1 块。把 15 个装有液体培养基的锥形瓶分成 5 组, 分别标记为处理组 I、II、III、IV 和 V, 每组 3 次重复。然后将这 5 组分别置于 23、25、28、30℃和室温条件下静置培养。

1.2.5 菌丝体生物量的测定 待菌丝大量生长, 恒温培养 10 d 后, 将菌丝挑入装有蒸馏水的锥形瓶中, 50~60℃水浴中溶解菌丝体上粘连的残余培养基, 将菌丝收集, 再用蒸馏水冲洗数次, 沥干, 然后在 60℃烘箱中烘干至恒重, 用电子天平称重。

2 结果与分析

试验测定 5 个处理组菌丝体干重, 每组 3 次重复, 共测得 15 个数值(表 1)。

表 1	不同处理组中灵芝菌丝体干重 g·(50 mL) <sup>-1</sup>				
处理组	I (23℃)	II (25℃)	III (28℃)	IV (30℃)	V (室温)
1	0.0876	0.2719	0.4074	0.1663	0.0342
2	0.1033	0.2292	0.2506	0.2015	0.1421
3	0.1015	0.1527	0.2042	0.0446	0.0499
和	0.2924	0.6538	0.8622	0.4124	0.2262
平均数	0.0975	0.2179	0.2874	0.1375	0.0754

表 2	不同处理组中灵芝菌丝体干重方差分析表					
变异来源	平方和(SS)	自由度(df)	均方(MS)	F 值	F <sub>0.05(5, 12)</sub>	F <sub>0.01(5, 12)</sub>
处理组间	0.0933	4	0.0233	4.6234 *	3.48	5.99
误差	0.0505	10	0.0050			
总和	0.1438	14				

方差分析表明(表 2): 临界 F 值为: F<sub>0.05(4, 10)</sub> = 3.48, F<sub>0.01(4, 10)</sub> = 5.99<sup>[5]</sup>, 因为不同温度间的 F 值 4.6234 > F<sub>0.05</sub> (4, 10), 但是 F<sub>4.6234</sub> < F<sub>0.01</sub> (4, 10), 所以该试验设计的不同温度条件对灵芝菌丝干重的影响具有显著差异, 即不

同的温度条件显著地影响灵芝菌丝在液体培养基中的生长。由此结果可知, 还需要继续分析各个处理组之间的差异程度, 即各个温度条件之间的差异情况。因此, 应该继续对两两处理组间进行比较, 从而更具体地判断两两处理组间的差异显著性, 进行以下多重比较。

表 3	SSR 和 LSR 值表 <sup>[5]</sup>					
误差自由度(df)	秩次距(k)	SSR <sub>0.05</sub>	SSR <sub>0.01</sub>	LSR <sub>0.05</sub>	LSR <sub>0.01</sub>	
10	2	3.15	4.48	0.13	0.18	
10	3	3.30	4.73	0.14	0.19	
10	4	3.37	4.88	0.14	0.20	
10	5	3.43	4.96	0.14	0.20	

表 4	Duncan's 多重比较结果					g·(50 mL) <sup>-1</sup>
处理组	平均值(X <sub>i</sub> )	X <sub>i</sub> -X <sub>V</sub>	X <sub>i</sub> -X <sub>II</sub>	X <sub>i</sub> -X <sub>IV</sub>	X <sub>i</sub> -X <sub>III</sub>	
III(28℃)	0.2874	0.21 * *	0.19 *	0.15 *	0.07	
II(25℃)	0.2179	0.143 *	0.12	0.08		
IV(30℃)	0.1375	0.06	0.04			
I(23℃)	0.0975	0.02				
V(室温)	0.0754					

通过不同温度条件处理组间的 Duncan's 多重比较研究结果表明(表 4): 处理组 III(28℃)对灵芝菌丝生长的促进作用极显著地高于处理组 V(室温); 处理组 III(28℃)对灵芝菌丝生长的促进作用显著地高于处理组 I(23℃)和处理组 IV(30℃); 处理组 II(25℃)对灵芝菌丝生长的促进作用显著地高于处理组 V(室温)。

3 结论

对灵芝菌丝的生长具有促进作用的程度由大到小为: 28℃ > 25℃ > 30℃ > 23℃ > 室温, 并且恒温条件优于室内的变温条件, 灵芝菌丝更适合在恒定温度条件下生长, 最适温度是 28℃。

参考文献

[1] 林东星. 灵芝辅助治癌探讨[J]. 中国食用菌, 2000, 19(1): 3-5.  
[2] 方庆华, 钟建江. 灵芝真菌发酵生产灵芝多糖和灵芝酸[J]. 华东理工大学学报(自然科学版), 2001, 27(3): 254-257.  
[3] 刁治民, 魏克家, 吴保锋, 等. 食用菌学[M]. 西宁: 青海人民出版社, 2006: 434-463.  
[4] 卢振, 陈金和, 王雨来, 等. 灵芝的研究及应用进展[J]. 时珍国医国药, 2003, 14(9): 577-581.  
[5] 张勤, 张启能. 生物统计学[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2002(12): 281-287.

Study on Effect of *Ganoderma lucidum* Mycelium from Temperature in the Condition of Liquid Culture

WANG Jin-ping, WU Bao-feng

(Department of Biotechnology, Xinyang Agricultural College, Xinyang Henan 464000)

**Abstract:** Using liquid culturing method of edible mushroom spawn, we emphasized on analyzing the effects of different temperature conditions on the mycelium growth of *Ganoderma lucidum*. We contrasted the net weight of *Ganoderma lucidum* mycelium in different conditions of temperature. The results showed that the order of the effects of different temperature conditions on the mycelium growth of *Ganoderma lucidum* was 28℃ > 25℃ > 30℃ > 23℃ > room temperature, and constant temperature was better than variable temperature in the room.

**Key words:** *Ganoderma lucidum*; liquid culture; temperature; analysis of variance; multiple comparisons