

高寒地区蛹虫草摇瓶液体培养基优化

孙慧娟 (西藏农牧科学院蔬菜研究所, 西藏拉萨 850032)

摘要 [目的]筛选出高寒地区蛹虫草摇瓶液体培养基的最佳配方。[方法]以菌丝体干质量浓度为指标,首先采用单因素试验方法筛选出液体培养基中的最优碳源和氮源,然后运用方差分析得出最佳碳氮比(C/N)。[结果]辽宁某企业提供的蛹虫草菌株液体培养基的最佳碳源为蔗糖,最佳氮源为蛋白胨,碳氮比为2:1和1:1时均可使菌丝达到较大的生物量。[结论]该研究为高寒地区蛹虫草的液体发酵培养提供理论依据。

关键词 高寒地区;蛹虫草;液体培养基;优化

中图分类号 S567;Q949.327.6 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2015)34-152-02

Optimization of Flask Liquid Medium of *Cordyceps militaris*(L.)Link in Alpine Region

SUN Hui-juan (Institute of Vegetables, Tibetan Academy of Agricultural and Animal Husbandry Sciences, Lhasa, Tibetan 850032)

Abstract [Objective] The research aimed to select the best formula of flask liquid medium of *Cordyceps militaris*(L.) Link in Alpine region. [Method] With mycelium dry mass concentration as an index, first, the optimal carbon and nitrogen in liquid medium were selected by single-factor test, then the best carbon-nitrogen ratio (C/N) was obtained by variance analysis. [Result] The best carbon source of liquid medium of *Cordyceps militaris*(L.) Link strains in Liaoning was sucrose, the best nitrogen source was peptone, the carbon nitrogen ratio of 2:1 and 1:1 could reach a larger biomass of mycelium. [Conclusion] The study provides the theoretical basis for the liquid fermentation culture of *Cordyceps militaris*(L.) Link in Alpine region.

Key words Alpine region; *Cordyceps militaris*(L.) Link; Liquid medium; Optimization

蛹虫草[*Cordyceps militaris*(L.) Link]又名北虫草、北冬虫夏草等,隶属于菌物界(Fungi)、子囊菌门(Ascomycota)、粪壳菌纲(Sordariomycetes)、肉座菌亚纲(Hypocreomycetidae)、肉座菌目(Hypocreales)、虫草菌科(Cordycipitaceae)。到目前为止,在全世界范围有近400种的虫草属真菌被报道,其中常见的被人们所熟知的有冬虫夏草、蝉花、蛹虫草、霍克斯虫草等,其中以冬虫夏草和蛹虫草最为重要。由于冬虫夏草目前尚不能人工栽培且野生资源逐年下降,不能满足市场需求资源十分稀缺。而人工栽培的蛹虫草与野生的冬虫夏草主要的营养成分和药用成分十分相近,甚至有的高于冬虫夏草,所以蛹虫草的商品化生产应运而生。研究表明,采用液体培养的虫草菌丝体,其所含的主要成分与天然子实体十分接近^[1],且具有培养条件易控制、产量高、生长周期短且活性物质易于提取等特点,有望成为野生虫草的替代品^[2-4]。因此,该试验对蛹虫草在高寒地区的液体发酵培养基配方进行了优化试验,以培养出的菌丝干质量浓度为衡量指标,筛选出最佳的培养基配方。

1 材料与方

1.1 材料 由辽宁某企业提供的蛹虫草菌株。

1.2 基础液体培养基配方 葡萄糖20 g、蛋白胨10 g、硫酸镁1.5 g、磷酸二氢钾1.5 g、蒸馏水1 000 ml。

1.3 接种及培养方法 将斜面试管蛹虫草菌株分成0.5 cm的小块,接种于已灭菌的装有250 ml液体培养基的500 ml三角瓶中,置于摇床中震荡培养,每个处理重复2次。

1.4 菌丝体生物量测定方法 采用菌丝体干质量法,取发酵液

100 ml,分装于4个50 ml离心管中,配平后离心,3 000 r/min,备用。

1.5 培养基配方优化方法

1.5.1 最佳碳、氮源的筛选试验。基础培养基中的碳源采用葡萄糖、蔗糖,以20 g/L添加,以不含碳源的培养基作为对照,每个处理重复2次;在三角瓶中分别用摇床培养5 d和静置培养7 d,测定菌丝体干质量浓度,通过培养出的菌丝体干质量浓度的不同来比较不同碳源对其影响。选取蛋白胨、酵母浸出粉作为有机氮源进行单因素试验分析,以10 g/L添加,其他方法同上。

1.5.2 液体培养基中不同碳氮比(C/N)对菌株菌丝体干质量浓度的影响。将筛选到的最佳碳源、有机氮源按2:1、1:2、1:1 3种配比进行试验,液体培养基中各成分具体加入量如表1所示,每个处理重复2次。比较不同C/N的培养基对培养的菌丝干质量浓度的影响。

表1 培养基配方 g/L

处理	蔗糖	蛋白胨	硫酸镁	磷酸二氢钾
1	5.0	2.5	0.4	0.4
2	2.5	5.0	0.4	0.4
3	5.0	5.0	0.4	0.4

1.6 数据处理 试验数据采用Excel和SAS 9.0数据分析软件进行统计分析。

2 结果与分析

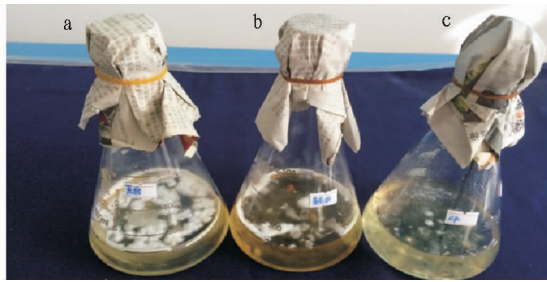
2.1 最佳碳、氮源的筛选试验 通过静置培养的菌丝生长情况对比(图1)可以直观地看出,以蔗糖作为碳源的培养基三角瓶中菌丝生长最密,其次是葡萄糖,不加碳源的CK菌丝生长量最少,同时也说明碳源是作为液体培养基中的一个非常重要的营养因子。从图1可以看出最佳碳源是蔗糖。通过图2也可以明显看出最利于菌丝培养的碳源是蔗糖。

通过静置培养的菌丝生长情况(图3)可以直观地看出,

基金项目 国家现代食用菌产业技术体系拉萨综合试验站资助项目(CARS-24);西藏财政预算内资助项目“高寒地区蛹虫草菌种选育及优质高效栽培技术研究与示范”。

作者简介 孙慧娟(1987-),女,黑龙江鹤岗人,研究实习员,硕士,从事食用菌研究。

收稿日期 2015-10-29



注:a.蔗糖;b.葡萄糖;c. CK。

图1 不同碳源培养基静置培养7 d后菌丝生长情况

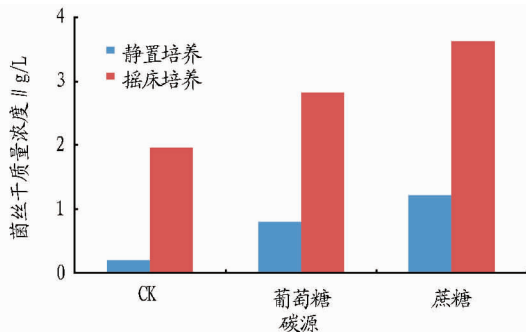
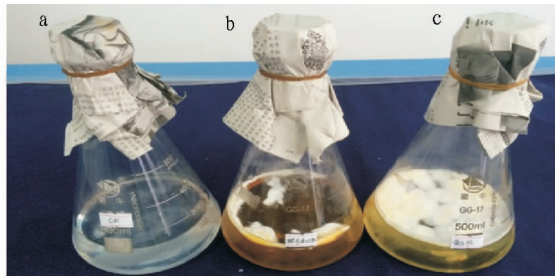


图2 不同碳源对菌丝干质量浓度影响



注:a. CK;b. 酵母浸出粉;c. 蛋白胨。

图3 不同氮源培养基静置培养7 d后菌丝生长情况

以蛋白胨作为氮源的培养基三角瓶中菌丝生长最密,其次是酵母浸出粉,不加氮源的CK菌丝生长量最少,几乎没有,同时也说明氮源是作为液体培养基中的一个非常重要的营养因子。从图3可以看出最佳氮源是蛋白胨,通过图4也可以明显看出最利于菌丝培养的氮源是蛋白胨。

从图2和图4也可以看出,同样温度条件下摇床培养的菌丝明显高于静置培养的菌丝生长量。

2.2 不同碳氮比(C/N)对菌株菌丝体干质量浓度的影响 将筛选到的最佳碳源蔗糖、有机氮源蛋白胨按1:2、2:1、1:1 3种配比进行试验,测得的菌丝干质量浓度分别为4.28、6.00、5.90 g/L,经方差分析得出,当碳氮比为2:1和1:1时菌丝干质量浓度无显著差异,均得到了较高的生物量,碳氮

肥比为1:2时,菌丝干质量浓度与其他2种碳氮比下的菌丝生长量存在显著差异,且明显低于后两者,所以对于辽宁某企业提供的蛹虫草菌株液体培养基的碳氮比为2:1或1:1情况下均利于其菌丝生长,对其他蛹虫草的液体发酵培养也有一定的指导意义。

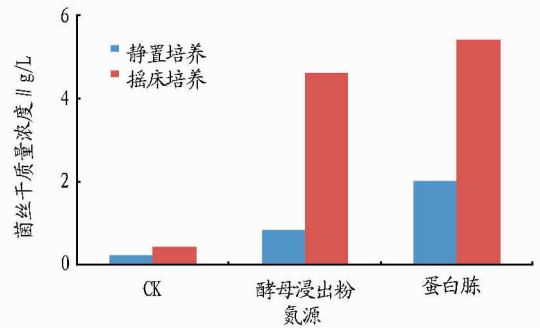


图4 不同氮源对菌丝干质量浓度影响

3 讨论

最佳碳、氮源的筛选试验结果表明,蔗糖最有利于蛹虫草菌丝的生长,这与周广麒等^[5]的研究结果一致,而蔡友华等^[6]和刘苗苗等^[7]筛选出的蛹虫草菌丝生长的最佳碳源是葡萄糖,这可能与蛹虫草菌株的性状不同有关系;在氮源筛选试验中,当液体培养基中未加氮源时菌丝生长量几乎为零,而在碳源筛选试验中未加碳源的情况下菌丝生长量也很少但明显高于未加氮源的培养基中的菌丝量,说明氮源对蛹虫草液体发酵的影响较明显,这与孙佳岩^[8]的研究结果一致。

由不同碳氮比(C/N)对菌丝体生长影响的试验结果可见,当碳源所加的量相同时,氮源加量的多少对菌丝的生长影响不显著;而当加入同样量的氮源时,菌丝体干质量浓度在加入不同碳源的情况下存在显著性差异,同样说明了碳源的重要性。

参考文献

- [1] 张绪璋. 北冬虫夏草的人工培植及其营养成分分析[J]. 中国食用菌, 2003, 22(2): 19-21.
- [2] 侯友松, 周广麒, 于玲, 等. 麦芽汁培养基中蛹虫草液体发酵的研究[J]. 大连轻工业学院学报, 2000, 19(4): 271-273.
- [3] 王国栋. 冬虫夏草类生态培植应用[M]. 北京: 科学技术文献出版社, 1995: 168-171.
- [4] 梁宗琦. 我国虫草属真菌的研究开发的现状与思考[J]. 食用菌学报, 2001, 8(2): 53-62.
- [5] 周广麒, 戴娜. 响应面法优化虫草培养的研究[J]. 中国酿造, 2011(1): 112-115.
- [6] 蔡友华, 范文霞, 刘学铭, 等. 响应面法优化巴西虫草发酵培养基的研究[J]. 食用菌学报, 2007, 14(2): 55-59.
- [7] 刘苗苗, 宁尚勇, 崔西勇, 等. 响应面法优化蛹虫草液体培养条件[J]. 中国农学通报, 2008, 24(5): 127-131.
- [8] 孙佳岩. 蛹虫草液体深层发酵的研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2012: 7-10.

(上接第96页)

- [5] 吴雪辉, 李琳. 复合磷酸盐对面条改良作用的研究[J]. 粮食与饲料工业, 1998(12): 43-44.
- [6] LAMPILA L E. Applications and functions of food-grade phosphates[J]. Ann N Y Acad Sci, 2013, 1301: 37-44.
- [7] 刘锐萍, 裴庆润, 张铁军, 等. 食品中磷酸盐的应用现状及存在问题分析[J]. 饮料工业, 2007(10): 9-11.

- [8] 汪学荣, 周维禄. 复合磷酸盐对鱼糜制品的保水效果研究[J]. 食品科技, 2002(9): 50-51.
- [9] 马利华. 复合磷酸盐在果汁饮料中的应用[J]. 中国食品添加剂, 2005(1): 62.
- [10] 郝娟, 丁武. 复合磷酸盐对鸡肉制品质构特性的影响研究[J]. 肉类工业, 2010(2): 21-24.