

子午岭林区野生白囊耙齿菌生物学特性研究

张秀丽，刘亚亚，肖正璐，秦一统，段建锋，李欣

(庆阳市农业科学研究院, 甘肃 庆阳 745000)

摘要: 为了解子午岭林区野生白囊耙齿菌生物学特性, 为其进一步开发利用奠定基础。采用生长速率法测定不同培养条件对其菌丝生长的影响。结果表明, 最适宜菌丝生长的碳源是果糖, 氮源是酵母膏, 最适生长温度为25℃, 菌丝致死温度为50℃条件下处理15 min, 对pH的适应范围较广, pH 5.0~10.0条件下生长差异不显著。

关键词: 庆阳; 子午岭; 白囊耙齿菌; 生物学特性

中图分类号: S718.81

文献标志码: A

文章编号: 1001-1463(2022)06-0072-04

doi:10.3969/j.issn.1001-1463.2022.06.017

Study on the Biological Characteristics of Wild *Irpelex lacteus* in the Forest Area of Ziwu Mountain

ZHANG Xiuli, LIU Yaya, XIAO Zhenglu, QIN Yitong, DUAN Jianfeng, LI Xin

(Qingyang Academy of Agricultural Sciences, Qingyang Gansu 745000, China)

Abstract: In order to clarify the biological characteristics of wild *Irpelex lacteus* (Fr.) Fr. in forest region of Ziwu mountain for further development and utilization, the effects of different culture conditions on the growth of its mycelia were measured by growth rate method. The results showed that the most suitable carbon and nitrogen source were fructose and yeast extract, respectively, the optimal growth temperature was 25℃ and the lethal temperature was 50℃ for 15 min. The suitable growth range of pH value for mycelia was wide, and no significant difference was detected from the pH value range of 5.0 to 10.0.

Key words: Qingyang; Ziwu mountain; *Irpelex lacteus* (Fr.) Fr.; Biological characteristic

白囊耙齿菌 (*Irpelex lacteus*), 又叫白囊孔菌、白耙齿菌等, 属于担子菌门(Basidiomycota), 伞菌纲(Agaricomycetes), 多孔菌目(Polyporales), 皱孔菌科(Meruliaceae), 耙齿菌属(*Irpelex*)^[1]。白囊耙齿菌为一种药用真菌, 具有抗肾炎、提高免疫力等功效^[2], 其所含多糖具有治疗肾小球肾炎引起各种症状的作用^[1], 其发酵提取物具有抗疲劳及增强缺氧耐受力等多种作用^[3], 有极高的医学价值, 但其野生资源生长对环境要求较为严格, 且生长缓慢^[4], 生产上常通过菌丝体培养、人工栽培等方式进行繁殖以满足市场需求。我们在分离与庆阳市子午岭野生猪苓共生的蜜环菌菌种时得到菌株Z, 经单胞纯化后通过ITS分子生物学方法进行鉴定, 鉴定结果为白囊耙齿菌。为探明其

生长发育与温度、酸碱度、营养等生物学因子的关系^[5], 我们对其进行生物学特性的测定, 旨在为进一步开发利用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试菌株从与庆阳市子午岭林区野生猪苓菌核共生的蜜环菌菌索中分离得到, 其在Gen Bank数据库里的rDNA-ITS序列登录号为OL351834, 编号为菌株Z。

1.2 试验方法

1.2.1 不同碳源下白囊耙齿菌菌丝生长情况测定

以基础培养基(20 g葡萄糖、2 g蛋白胨、0.5 g磷酸二氢钾、0.5 g磷酸氢二钾、0.1 g维生素B₁、0.5 g硫酸镁、20 g琼脂、1 000 mL蒸馏水)为基准

收稿日期: 2022-03-14

基金项目: 2021年度甘肃省重点人才项目(2021RCXM73); 甘肃省中药材产业体系种子种苗繁育岗位项目。

作者简介: 张秀丽(1983—), 女, 甘肃环县人, 农艺师, 研究方向为药用植物栽培技术研究与示范推广。Email: 996458411@qq.com。

通信作者: 刘亚亚(1983—), 女, 甘肃庆城人, 高级农艺师, 研究方向为药用植物栽培技术研究与示范推广。Email: 362902941@qq.com。

^[6], 碳源分别用20 g等量的蔗糖、甘露醇、可溶性淀粉、果糖、麦芽糖替换基础培养基中的葡萄糖, 配制成不同碳源平板培养基, 对照为基础培养基, 3次重复。取单孢分离后在PDA培养基上培养7 d的白囊耙齿菌菌种, 用内径0.5 cm的无菌打孔器, 取直径为0.5 cm的菌饼接种于平板中央, 每皿接1个菌饼, 置于25 ℃黑暗条件下培养, 每天观察菌丝生长情况, 分别于3、5、7 d用十字交叉法测量菌落直径^[7], 计算菌丝生长速率, 培养7 d时观察菌丝生长情况。菌丝长势强, 用“++”表示; 菌丝长势一般, 用“+”表示; 菌丝生长势差, 用“-”表示。菌丝不生长, 用“-”表示。

菌丝生长速度=(菌落直径-菌饼直径)/培养天数

1.2.2 不同氮源下白囊耙齿菌菌丝生长情况测定
以基础培养基为对照, 氮源分别用2 g等量的硝酸铵、硫酸铵、氯化铵、尿素、酵母膏替换基础培养基中的蛋白胨, 配制成不同氮源平板培养基, 3次重复。接种、培养及测定方法同1.2.1。

1.2.3 不同pH下白囊耙齿菌菌丝生长情况测定
用0.1 mol/L的HCl或NaOH调节PDA培养基pH为5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0后灭菌, 分别制成平板, 将菌饼接在不同pH的PDA平板中央, 在25 ℃条件下黑暗培养, 3次重复, 观测菌落生长情况(同1.2.1)。

1.2.4 不同温度下白囊耙齿菌菌丝生长情况测定

培养7 d的单孢菌落, 取直径为0.5 cm的菌饼移入PDA平板中央, 每皿1块, 分别于5、10、15、20、25、30、35 ℃温度条件下黑暗培养, 3次重复, 观测菌落生长情况(同1.2.1)。

1.2.5 白囊耙齿菌致死温度测定 移取直径为0.5 cm的菌饼到无菌试管中, 加入2 mL的无菌水, 分别置于25、30、35、40、45、50 ℃下水浴加热15 min, 取出后立即于冰水中冷却至室温。将处理后的菌饼接种到PDA平板上, 观测菌落生长情况(同1.2.1)。

1.3 数据统计分析

数据利用Microsoft Excel 2007进行处理, 用spss17.0软件中的Duncan进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 不同碳源对白囊耙齿菌菌丝生长的影响

从表1可以看出, 白囊耙齿菌在不同碳源培养基上均可以生长。在果糖培养基上菌落直径最大, 菌丝生长速度最快, 平均生长速度0.85 cm/d, 显著高于对照; 其次是蔗糖培养基, 但与对照差异不显著; 在其他碳源培养基上菌丝生长速度均低于对照, 但与对照差异不显著。说明果糖和蔗糖培养基上菌丝生长势强。综合菌丝生长速度和生长势, 白囊耙齿菌生长最适碳源为果糖。

2.2 不同氮源对白囊耙齿菌菌丝生长的影响

从表2可以看出, 白囊耙齿菌在不同氮源培

表1 不同碳源对白囊耙齿菌菌丝生长的影响

碳源	3 d		5 d		7 d		平均生长速度/(cm/d)	菌丝生长势/cm
	菌落直径/cm	生长速度/(cm/d)	菌落直径/cm	生长速度/(cm/d)	菌落直径/cm	生长速度/(cm/d)		
麦芽糖	1.38	0.29±0.03 abA	4.62	0.82±0.04 bAB	7.10	0.94±0.04 bB	0.68±0.10 bAB	++
蔗糖	1.42	0.30±0.12 abA	4.73	0.85±0.12 bAB	7.28	0.97±0.10 bB	0.71±0.13 bAB	+++
甘露醇	1.17	0.22±0.11 bA	4.28	0.76±0.05 bB	7.05	0.94±0.02 bB	0.64±0.06 bB	++
可溶性淀粉	1.23	0.24±0.06 bA	4.37	0.77±0.05 bB	6.80	0.90±0.08 bB	0.64±0.02 bB	++
果糖	1.90	0.47±0.05 aA	5.33	0.97±0.02 aA	8.28	1.11±0.01 aA	0.85±0.04 aA	+++
葡萄糖(CK)	1.50	0.33±0.09 abA	4.45	0.79±0.04 bB	7.10	0.94±0.02 bB	0.69±0.05 bAB	++

表2 不同氮源对白囊耙齿菌菌丝生长的影响

氮源	3 d		5 d		7 d		平均生长速度/(cm/d)	菌丝生长势/cm
	菌落直径/cm	生长速度/(cm/d)	菌落直径/cm	生长速度/(cm/d)	菌落直径/cm	生长速度/(cm/d)		
酵母膏	2.03	0.51±0.14 aA	4.67	0.83±0.07 aA	6.87	0.91±0.03 aA	0.75±0.08 aA	+++
硝酸铵	1.00	0.17±0.05 cdBC	3.65	0.59±0.10 cC	6.48	0.77±0.08 bB	0.48±0.07 cBC	++
硫酸铵	1.02	0.17±0.02 cdBC	3.43	0.63±0.08 bcBC	5.88	0.85±0.07 abAB	0.52±0.05 cBC	++
氯化铵	1.20	0.23±0.05 bcBC	4.08	0.72±0.02 abABC	6.45	0.85±0.03 abAB	0.58±0.02 bcBC	++
尿素	0.65	0.05±0.02 dC	2.27	0.35±0.05 dD	4.27	0.54±0.05 cC	0.29±0.04 dD	+
蛋白胨(CK)	1.53	0.34±0.08 bAB	4.45	0.79±0.04 aAB	7.10	0.94±0.02 aA	0.67±0.05 abAB	++

养基上均可以生长。平均生长速度最快的是酵母膏培养基,为0.75 cm/d,但与对照差异不显著。在其他培养基上菌丝生长速度均低于对照,其中尿素培养基与对照差异极显著,硫酸铵、硝酸铵培养基与对照差异显著,氯化铵培养基与对照差异不显著。在酵母膏培养基上菌丝生长势最强,尿素培养基菌丝生长势最差,其他处理下菌丝长势一般。综合菌丝生长速度和生长势,白囊耙齿菌生长的最适氮源为酵母膏。

2.3 不同pH对白囊耙齿菌菌丝生长的影响

从表3可以看出,白囊耙齿菌在pH 5.0~10.0下均可以生长。在pH 10.0培养基上菌落直径最长,平均生长速度最快,达0.99 cm/d。各处理间菌丝生长速度无显著性差异,菌丝生长势一致,可见其生长过程中对pH的适应范围较大。

2.4 不同温度对白囊耙齿菌菌丝生长的影响

从表4可以看出,不同培养温度对菌丝生长影响较大,随着温度的升高菌丝生长速度总体呈现出先上升后下降的趋势。5℃条件下培养,前7d菌落不生长,直到第8d才开始萌发生长,且生长速度仅为0.04 cm/d。10℃条件下培养,前4d

菌落不生长,直到第5d才开始萌发生长,生长速度为0.07 cm/d。培养温度为15~35℃的5个处理,均在培养3d时开始萌发生长,且15~25℃时随着培养温度的升高菌丝生长速度也随之增加,25~35℃时随着培养温度的升高菌丝生长速度随之降低。不同温度条件下培养3~8d,菌丝生长最快的是25℃下培养,平均生长速度1.02 cm/d,极显著高于30、35、10、5℃条件下,显著高于15℃条件下,与20℃培养差异不显著。25℃和20℃条件下菌丝生长势最强,15、30、35℃下培养菌丝生长势一般,5℃和10℃下培养菌丝生长势最差。综合菌丝生长速度和生长势,白囊耙齿菌最适生长温度范围为20~25℃,以25℃左右最佳。

2.5 不同致死温度对白囊耙齿菌菌丝生长的影响

从表5可以看出,培养3d时,25、30、35、40℃处理下的菌丝生长速度较快,处理间差异不显著,极显著高于45℃处理,50℃处理菌丝未生长。培养5d时,30、35、40℃处理下菌丝生长速度极显著高于25℃和45℃处理,50℃处理菌丝未生长。培养7d时,25、30、35℃处理下的

表3 不同pH对白囊耙齿菌菌丝生长的影响

pH	3 d		5 d		7 d		平均生长速度/(cm/d)	菌丝生长势/cm
	菌落直径/cm	生长速度/(cm/d)	菌落直径/cm	生长速度/(cm/d)	菌落直径/cm	生长速度/(cm/d)		
5.0	3.07	0.86±0.05 aA	5.50	1.00±0.24 aA	7.07	0.94±0.07 aA	0.93±0.08 aA	+++
6.0	2.82	0.77±0.40 aA	6.27	1.15±0.08 aA	7.02	0.93±0.05 aA	0.95±0.05 aA	+++
7.0	2.77	0.75±0.06 aA	6.03	1.11±0.07 aA	7.05	0.93±0.02 aA	0.93±0.05 aA	+++
8.0	2.83	0.78±0.05 aA	6.32	1.16±0.11 aA	7.28	0.97±0.06 aA	0.97±0.07 aA	+++
9.0	2.78	0.76±0.13 aA	6.32	1.16±0.12 aA	7.32	0.98±0.08 aA	0.97±0.11 aA	+++
10.0	2.88	0.79±0.01 aA	6.35	1.17±0.01 aA	7.57	1.01±0.02 aA	0.99±0.01 aA	+++

表4 不同温度对白囊耙齿菌菌丝生长的影响

培养温度/℃	3 d		4 d		5 d		6 d		7 d		8 d		平均生长速度/(cm/d)	菌丝生长势/cm
	菌落直径/cm	生长速度/(cm/d)												
5	0.50	0 cB	0.50	0 dC	0.50	0 dD	0.50	0 dD	0.50	0 dC	0.78	0.04 dC	0.01 dD	+
10	0.50	0 cB	0.50	0 dC	0.87	0.07 dD	0.97	0.08 dD	1.07	0.08 dC	1.23	0.09 dC	0.05 dD	+
15	2.53	0.68 abA	3.58	0.77 bcB	4.75	0.85 bABC	5.85	0.89 bB	6.75	0.89 abAB	7.43	0.87 abAB	0.82 bABC	++
20	2.63	0.71 abA	3.68	0.80 bB	5.13	0.93 abAB	5.95	0.91 bAB	7.05	0.94 abAB	7.88	0.92 aAB	0.87 abAB	+++
25	2.80	0.77 aA	4.65	1.04 aA	6.15	1.13 aA	7.20	1.12 aA	8.10	1.09 aA	8.60	1.01 aA	1.02 aA	+++
30	2.50	0.67 abA	3.58	0.77 bcB	4.28	0.76 bcBC	4.53	0.67 cC	5.57	0.72 bcB	5.88	0.67 bcB	0.71 bcBC	++
35	2.08	0.53 bA	2.93	0.61 cB	3.53	0.61 cC	4.22	0.62 cC	4.97	0.64 cB	5.37	0.61 cB	0.60 cC	++

表5 不同致死温度对白囊耙齿菌菌丝生长的影响

致死 温度 /℃	3 d		5 d		7 d		平均生长 速度 /(cm/d)	菌丝 生长势 /cm
	菌落直径 /cm	生长速度 /(cm/d)	菌落直径 /cm	生长速度 /(cm/d)	菌落直径 /cm	生长速度 /(cm/d)		
25	2.02	0.51±0.01 aA	4.42	0.78±0.01 bBC	7.12	0.94±0.01 aAB	0.75±0.01 aAB	+++
30	2.10	0.53±0.04 aA	4.77	0.85±0.02 aA	7.23	0.96±0.01 aA	0.78±0.03 aA	+++
35	2.05	0.52±0.04 aA	4.78	0.86±0.02 aA	6.93	0.95±0.02 aAB	0.76±0.02 aA	++
40	2.00	0.50±0.03 aA	4.65	0.83±0.03 aAB	7.13	0.92±0.01 bBC	0.76±0.03 aA	++
45	1.68	0.40±0.03 bB	4.38	0.78±0.03 bC	6.87	0.91±0.02 bC	0.70±0.03 bB	+
50	0.50	0 cC	0.50	0 cD	0.5	0 cD	0 cC	

菌丝生长速度较快，显著高于40 ℃处理，极显著高于45 ℃处理，50 ℃处理菌丝依然未生长；30、35、40 ℃菌丝平均生长速度较快，处理间差异不显著，但均极显著高于45 ℃处理；25 ℃处理下菌丝生长速度显著高于45 ℃处理。25和30 ℃处理下菌丝生长势最强，35 ℃和40 ℃处理下菌丝生长势一般，45 ℃处理下菌丝生长势较差，50 ℃菌丝始终未生长。综上可见，35 ℃和40 ℃处理下影响菌丝生长势，45 ℃处理影响菌丝生长速度和生长势，而50 ℃处理为白囊耙齿菌的致死温度。

3 结论与讨论

研究结果表明，适于庆阳市野生白囊耙齿菌培养的最佳碳源为果糖，最佳氮源为酵母膏，最佳培养温度为25 ℃。野生白囊耙齿菌生长对pH的适应性较广，pH 5.0~10.0均可以很好生长，且差异不显著。其致死温度为50 ℃条件下处理15 min。

白囊耙齿菌在药理方面的研究较多^[8-11]，但对其培养条件的研究较少见。王忠艳等^[12]对长白山林区白耙齿菌子实体分离纯化得到的菌株进行最佳培养基配方研究，认为其生长最佳碳源为淀粉、最佳氮源为酵母膏。于萍等^[13]对长白山野生白耙齿菌研究的结果表明，YPAD培养基为其菌丝体生长的最佳固体培养基、最佳培养温度为29~32℃，以29 ℃为最佳；最适pH为6.5~7.5，以7.0最佳。本研究结果与王忠艳研究的最佳氮源一致，而最佳碳源不一致，可能是因为不同产地环境菌株之间的差异；与于萍研究结果不一致可能是因为采用的培养基不同，也有可能是与产地环境不同菌株的生物学特性不一样。

参考文献：

[1] 董晓明, 宋新华, 刘宽博, 等. 药用真菌白囊耙齿菌

的研究现状及展望[J]. 菌物学报, 2017, 36(1): 28-34.

- [2] 张 娜. 白囊耙齿菌高产菌株选育、发酵、胞内多糖分离纯化及生物活性研究[D]. 长春: 吉林大学, 2012.
- [3] 李臣亮. 白囊耙齿菌水提物的抗疲劳、耐缺氧活性及其颗粒剂制备的研究[D]. 长春: 吉林大学, 2015.
- [4] 于 萍. 长白山野生白耙齿菌鉴定及人工驯化栽培研究[D]. 延吉: 延边大学, 2016.
- [5] 丁文姣, 于安芬, 李瑞琴, 等. 定西市黄芪根腐病优势病原菌生物学特性研究[J]. 甘肃农业科技, 2018 (3): 33-36.
- [6] 张清卿, 李传华, 杨瑞恒, 等. 西藏地区一珍稀药用菌—上升炭角菌生物学特性研究[J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2020, 35(5): 862-870.
- [7] 张庆霞. 苹果树腐烂病病原菌培养条件研究[J]. 甘肃农业科技, 2017(2): 16-19.
- [8] 高苗苗, 李士伟, 祝洪艳, 等. 白囊耙齿菌多糖结构及抗肾小球系膜细胞的增殖活性研究[J]. 天然产物研究与开发, 2019, 31(11): 1954-1959.
- [9] 宋雷蕾, 黄 涛, 张秀芳, 等. 白囊耙齿菌ZK1对17β-雌二醇的降解特征[J]. 吉林农业大学学报, 2019, 41(5): 607-612.
- [10] 韦炎治, 姜明国, 邓丽姚, 等. 白耙齿菌发酵茶体内降血脂及保护肝脏作用的研究[J]. 食品工业科技, 2021, 42(24): 334-339.
- [11] 黄 静, 李 昂, 刘宇光, 等. 白耙齿菌固体发酵产物对高尿酸血症及痛风性关节炎的治疗作用[J]. 西北药学杂志, 2018, 33(4): 488-491.
- [12] 王忠艳, 于 萍, 陈艳秋. 白耙齿菌最佳培养基配方[J]. 食用菌学报, 2013, 20(3): 15-17.
- [13] 于 萍, 隋飞飞, 陈艳秋, 等. 白耙齿菌菌丝培养环境条件的研究[J]. 中国食用菌, 2014, 33(5): 35-36.