

香味全缘孔菌培养条件的研究

魏玉莲^{1,2}, 周宝祥³

(1. 中国科学院沈阳应用生态研究所, 辽宁 沈阳 110016;

2. 中国科学院研究生院, 北京 100039;

3. 内蒙古林业勘察设计院, 内蒙古 呼和浩特 010020)

摘要: 香味全缘孔菌是一种可以提取天然香料的高等真菌。本研究对分离于野外的香味全缘孔菌从不同的温度、pH 值以及不同的 C 源和 N 源的营养成分进行室内培养。其结果显示香味全缘孔菌营养菌丝生长的相对最适温度为 33℃; 最佳 N 源为酵母汁, 其次为牛肉膏; 相对在培养基 pH 值为 6.0 时菌丝生长较快, 较好的 C 源为葡萄糖。这些结果为大规模人工培养香味全缘孔菌提供了很好的指导作用。

关键词: 香味全缘孔菌; 培养研究; 最佳培养条件

中图分类号: S464.1⁺9 文献标识码: A

Artificial Culture of *Haploporus odorus*

WEI Yu-lian^{1, 2}, ZHOU Bao-xiang³

(1. Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016, Liaoning, China;

2. Graduate School, Chinese Academy of Sciences, Beijing 110039, China;

3. Forestry Investigation & Surveying Academy of Inner Mongolia, Hohhot 010020, Inner Mongolia, China)

Abstract: *Haploporus odorus* is a species of Basidiomycetes with fragrant anise-like aroma. Its culture study was made in laboratory. The results showed that optimum temperature for the mycelial growth was 33 °C. Zymoid Extract was the best nitrogenous source. The fungus grew better at pH value as 6.0. Glucose was better among the selected carbonic sources.

Key words: *Haploporus odorus*; culture study; optimum culture conditions

香味全缘孔菌 *Haploporus odorus* (Sommerf.) Bondartsev & Singer 是一种具有强烈芳香气味的高等大型真菌。在 19 世纪, 北美地区的印第安人赋予了香味全缘孔菌极为神秘的宗教色彩, 用其子实体装饰祭祀时的长袍, 穿成长链作为祭祀道具^[1]。他们认为这种菌具有特殊能力和神奇的能量, 可以起到奇迹般的保护作用^[2,3], 能够治愈一些疾病。Hellson^[4] 后来报道了香味全缘孔菌具有药用价值。除了一定的药用价值外, 在当时香味全缘孔菌被印第安人大量使用的主要原因是因为该菌子实体非常浓烈的芳香气味, 可以在宗教仪式等活动中起净化

作用。另外在中世纪欧洲, 香水的使用还不普及, 许多妇人采摘香味全缘孔菌的子实体晾干后放入衣橱中保持衣物的香味。由于对香味全缘孔菌的大量采集, 使得其数量迅速减少, 从那时起, 到 20 世纪 80 年代只有零星报道发现其子实体^[5-7]。目前香味全缘孔菌已被许多国家列为濒危真菌种类。

在分类学上香味全缘孔菌属于担子菌门(Basidiomycota), 非褶菌目(Aphyllorphorales), 多孔菌科(Polyporaceae)。该菌只生长在原始林的柳属(*Salix* L.) 树木上, 能对柳树(*S. spp.*) 造成心材白色腐朽, 作为病害目前发生不严重。该菌的子实体为马蹄状,

收稿日期: 2004-12-17

基金项目: 国家杰出青年基金项目 30425042

作者简介: 魏玉莲(1975-), 女, 江苏镇江人, 助理研究员, 在职博士生。

孔面为白色,而且新鲜时有强烈的芳香气味,在野外十几米远即可闻到。外部形态特征与另一种也具有芳香气味的大型真菌香菇 *Trametes suaveolens* (L.) Fr. 相似,但从显微结构来看,香味全缘孔菌的担孢子卵圆形至椭圆形,有疣状纹,具有拟糊精反应,这几点可与香菇相区别。另外,香味全缘孔菌的子实体干燥后香味依然强烈而香菇子实体的香味很快便消失了^[8]。

由于香味全缘孔菌独特的生物特性,为了更好地开发和利用这种自然资源,对香味全缘孔菌的培养条件进行了研究,以期人工培养出大量子实体,进而提炼绿色天然无刺激的香料产品。

1 材料和方法

1.1 菌种分离

2003年在野外考察期间,对生长于柳树(*Salix* spp.)上的野生香味全缘孔菌子实体成功进行了菌种分离,并进一步进行纯化。

1.2 试验方案

从温度、pH值、不同营养成分三方面对香味全缘孔菌进行室内培养,找出培养香味全缘孔菌最佳的温度、pH值和营养成分。

1.2.1 菌丝对温度的选择试验 以PDA培养基为基础培养基,分别在13、18、23、28、33℃的温度下进行培养,重复4次,共5个处理,测量菌落的直径,取平均值,找出香味全缘孔菌菌丝体生长的最适温度。

1.2.2 菌丝对培养基pH值的选择试验 在最适温度下,以麦芽琼脂培养基为基础培养基,装入培养皿中,灭菌前用NaOH $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和HCl $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 进行调节,pH值分别为6.0、6.5、7.0、7.5、8.0,重复4次,共5个处理,测量菌落直径,取平均值,找出香味全缘孔菌菌丝体生长的最适pH值。

1.2.3 菌丝对C源的选择试验 在最适温度下,用葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、甘露醇、可溶性淀粉5种C源,分别加入无C基础培养基,重复4次,共5个处理,测量菌落直径,取平均值,找出香味全缘孔菌菌丝体生长的最佳C源。

无C基础培养基: KNO_3 3 g, KH_2PO_4 1.0 g, K_2HPO_4 0.4 g, MgSO_4 0.5 g,定容至1000 mL

1.2.4 菌丝对N源的选择试验 在最适温度下,用蛋白胨、尿素、牛肉浸膏、酵母汁、硫酸铵作为N源,分别加入无N基础培养基,重复4次,共5个处理,测量菌落直径,找出香味全缘孔菌菌丝体生长的最

佳N源。

无N基础培养基:葡萄糖 20 g, KH_2PO_4 1.0 g, K_2HPO_4 0.4 g, MgSO_4 0.5 g,定容至1000 mL

2 结果与讨论

2.1 不同温度对香味全缘孔菌菌丝体生长的影响

温度对香味全缘孔菌菌丝体的生长有明显的影 响,在不同的温度条件下,菌丝生长速度差异比较显著。通过对比整个生长周期的菌落直径变化和在培养中期不同温度下的菌丝生长速度后,认为在选取的5种温度条件下,香味全缘孔菌相对最适的温度为33℃,在13℃时生长最为缓慢(图1)。

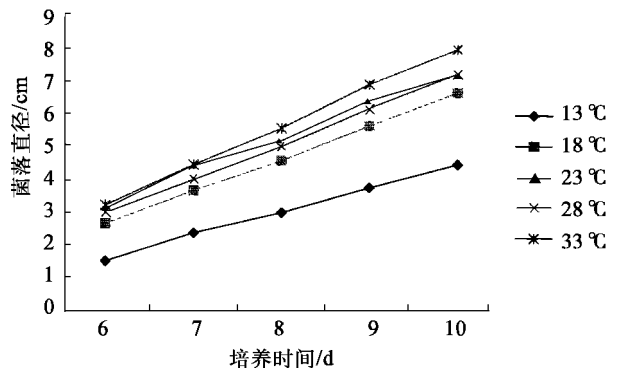


图1 不同温度下香味全缘孔菌菌落直径变化

为考察5种不同的温度处理对香味全缘孔菌的菌丝生长是否具有不同的影响,验证温度选取的合理性,选取菌丝生长达到最大值的第10天的测量结果进行方差分析,其结果如表1所示。

表1 温度方差分析

变差来源	平方和 SS	自由度 f	平均平方和 MS	F 值	$F_{0.01}(4, 15)$	$F_{0.05}(4, 15)$
组间	$SS_1 = 28.477$	$f_1 = 4$	$MS_1 = 7.119$	136.9 [*]	2.36	3.06
组内	$SS_2 = 0.7825$	$f_2 = 15$	$MS_2 = 0.052$			
(总计)	$SS = 29.2595$	$f = 19$				

根据方差分析的结果,认为采取5种不同温度的处理方法对菌丝生长的影响差异显著,在本次试验中5种温度的选取合理。

2.2 不同pH值对香味全缘孔菌菌丝体生长的影响

图2可以看出香味全缘孔菌在偏酸的培养条件下生长更为良好,相对最适合的pH值为6.0,在该条件下菌丝生长一直保持相对较快的速度,而pH值为6.5、7.0、7.5、8.0的培养条件之间菌丝生长差异不明显。

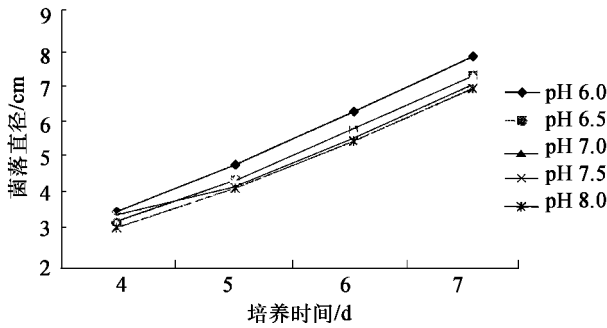


图 2 不同 pH 值条件下香味全缘孔菌菌落直径变化

为考察 5 种不同的 pH 值处理对香味全缘孔菌的菌丝生长是否具有不同的影响, 验证 pH 值选取的合理性, 选取菌丝生长达到最大值的第 7 天的测量结果进行方差分析, 其结果如表 2 所示。

表 2 pH 值方差分析

变差来源	平方和 SS	自由度 f	平均平方和 MS	F 值	$F_{0.01}$ (4, 15)	$F_{0.05}$ (4, 15)
组间	$SS_1 = 2.067$	$f_1 = 4$	$MS_1 = 0.517$	39.77*	2.36	3.06
组内	$SS_2 = 0.2$	$f_2 = 15$	$MS_2 = 0.013$			
(总计)	$SS = 2.267$	$f = 19$				

根据方差分析的结果, 认为采取 5 种不同 pH 值的处理方法对菌丝生长的影响差异相对较显著, 在本次试验中 5 种 pH 值的选取相对比较合理。

2.3 不同 C 源对香味全缘孔菌菌丝体生长的影响

香味全缘孔菌在不同 C 源下的生长情况见图 3。这 5 种 C 源香味全缘孔菌利用效果都不是很好, 菌丝长满培养皿需要 22 d 左右的时间, 而其中相对较好的 C 源为葡萄糖, 在这种条件下菌丝生长一直保持相对较快的生长速度, 而在其它 4 种 C 源条件下菌丝生长速度的差异并不明显。

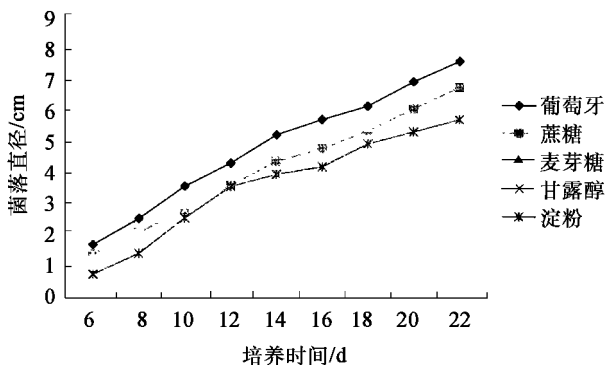


图 3 不同 C 源条件下香味全缘孔菌菌落直径变化

为考察 5 种不同的 C 源处理对香味全缘孔菌的菌丝生长是否具有不同的影响, 验证 C 源选取的合理性, 选取菌丝生长达到最大值的第 22 天的测量结果进行方差分析, 其结果如表 3 所示。

表 3 C 源方差分析

变差来源	平方和 SS	自由度 f	平均平方和 MS	F 值	$F_{0.01}$ (4, 15)	$F_{0.05}$ (4, 15)
组间	$SS_1 = 8.45$	$f_1 = 4$	$MS_1 = 2.1125$	22.7**	2.36	3.06
组内	$SS_2 = 1.4$	$f_2 = 15$	$MS_2 = 0.093$			
(总计)	$SS = 9.85$	$f = 19$				

根据方差分析的结果, 认为采取 5 种不同 C 源的处理方法对菌丝生长的影响差异相对较显著, 在本次试验中 5 种 C 源的选取相对比较合理。

2.4 不同 N 源对菌丝体的影响

如图 4 所示, 香味全缘孔菌在只添加 N 源的培养基上生长非常快, 生长最快的处理只用了 6 d 时间便长满整个培养皿, 而且菌丝在 5 种 N 源培养基上生长差异非常明显, 其中最好的 N 源为酵母汁, 其次是蛋白胨, 在添加尿素和硫酸铵的培养基上菌丝生长则相当缓慢。

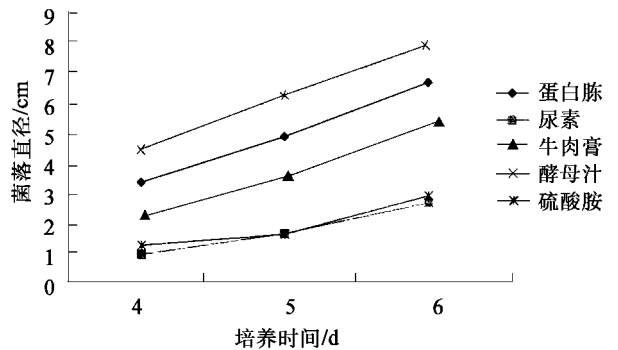


图 4 不同 N 源条件下香味全缘孔菌菌落直径变化

为考察 5 种不同的 N 源处理对香味全缘孔菌的菌丝生长是否具有不同的影响, 验证 N 源选取的合理性, 选取菌丝生长达到最大值的第 6 天的测量结果进行方差分析, 其结果如表 4 所示。

表 4 N 源方差分析

变差来源	平方和 SS	自由度 f	平均平方和 MS	F 值	$F_{0.01}$ (4, 15)	$F_{0.05}$ (4, 15)
组间	$SS_1 = 82.337$	$f_1 = 4$	$MS_1 = 20.58$	270.8**	2.36	3.06
组内	$SS_2 = 1.135$	$f_2 = 15$	$MS_2 = 0.076$			
(总计)	$SS = 83.472$	$f = 19$				

根据方差分析的结果, 认为采取 5 种不同 N 源的处理方法对菌丝生长的影响差异非常显著, 在本次试验中 5 种 N 源的选取很合理。

3 讨论

通常情况下一般真菌生长不耐高温, 且在培养时酸碱度多为中性, 但自然分布在北半球温带、寒温

带的香味全缘孔菌在 33 °C 时菌丝生长却更快,而在 23 °C 时生长速度却比 28 °C 时略快,其原因可能是由于实验室的误差还是香味全缘孔菌菌丝生长的独特性状? 另外该菌在 pH 值为 6.0 时生长迅速,而在小于 6.0 时菌丝生长状况如何? 这些问题还有待进一步深入研究。在营养条件方面,不同的 C 源培养基对其菌丝生长没有特别显著的促进作用,但添加 N 源的培养基能够促进菌丝的迅速生长。这些结果可以为将来人工培养香味全缘孔菌提供理论数据和指导作用。

参考文献:

- [1] Blanchette R A. *Haplporus odurus*: A sacred fungus in traditional Native American culture of the northern plains [J]. *Mycologia*, 1997, 89: 233- 240
- [2] Wissler C. Social organization and ritualistic ceremonies of the Blackfoot Indians [J]. *Anthropology Paper of American Museum of Nature History*, 1912, 7: 64
- [3] Mandelbaum D G. The Plains Cree: An Ethnographic Historical and Comparative Study [M]. *Canada Plains Studies No. 9*. Canadian Plains Research Center, University of Regina, 1979
- [4] Hellson J C. Ethnobotany of the Blackfoot Indians [M]. *Canada Ethnobotany Service Papers. No. 19*. National Museums of Canada, Ottawa, 1974
- [5] Gilbertson R L. Polyporaceae of the western United States and Canada. I. *Trametes* Fries [J]. *NorthWest Science*, 1961, 35: 1~ 20
- [6] Gilbertson R L, Ryvarden L. *North American Polypores. Vol 1, Fungi flora* [M]. Osb, 1986
- [7] Johnston E. III year forestry student collects wood decaying fungus yet unreported from North America [M]. *Annual Ring, Faculty of Forestry*, University of Toronto, Toronto, Canada, 1961
- [8] Hirt R R. On the biology of *Trametes suaveolens* (L.) Fries [M]. *Bulletin New York State College for Syracuse No. 37*, 1932