

# 贝尔格莱德灵芝人工驯化栽培及其化学成分分析

李开本<sup>1</sup>, 陈体强<sup>1</sup>, 林衍佳<sup>1</sup>, 林兴生<sup>1</sup>, 张 芸<sup>2</sup>, 兰良程<sup>2</sup>, 麦克·尼克西奇<sup>3</sup>

<sup>1</sup>福建省农业科学院植保研究所, 福州 350013;

<sup>2</sup>亚太地区食用菌培训中心, 福州 350001;

<sup>3</sup>贝尔格莱德大学食品技术与生物化学学院)

**摘 要:** 以栎属原木为材料, 对来自贝尔格莱德的 9 个灵芝菌株进行短段木栽培试验, 结果发现, GA-2 和 GA-9 两个菌株尚具一定栽培价值, 单产分别为 8.8kg/m<sup>3</sup> 和 8.3kg/m<sup>3</sup>, 平均单朵重分别为 12.38g 和 12.16g, GA-2 和 GA-9 两个菌株的聚丙烯酰胺凝胶电泳图谱基本一致。测试结果表明, 驯化栽培的灵芝子实体, 其水分、粗蛋白、粗纤维、粗脂肪、多糖及灰分含量分别为 11.3%~12.7%, 11.6%~12.8%, 28.7%~30.8%, 4.8%~5.6%, 0.90%~1.02% 和 1.4%~1.7%; 其脂肪酸构成主要以油酸(C18 1, 59.6%) 和亚油酸(C18 2, 19.2%) 等不饱和脂肪酸为主; 含有 18 种氨基酸, 总量为 9.611%, 其必需氨基酸含量占氨基酸含量总量的 50.6% (E/T=0.506)。

**关键词:** 贝尔格莱德灵芝菌株; 栽培性状; 显微形态; 电泳图谱; 化学成分

**中图分类号:** S567.310.22; S567.310.1 **文献标识码:** A

灵芝科 (Ganodermataceae) 是一类十分重要的大型高等真菌, 其中许多种类具有重要的药用保健价值。虽然我国灵芝种质资源比较丰富, 但目前已被开发利用的灵芝种类还很少, 主要是灵芝 (*Ganoderma lucidum*)、紫芝 (*G. sinense*)、薄盖灵芝 (*G. capense*)、松杉树芝 (*G. tsugae*)、皱盖乌芝 (*Amauroderma rude*) 和树舌 (*G. applanatum*) 等。目前, 作为法定中药材的是指赤芝 (*G. lucidum*) 或紫芝的干子实体。据此, 开展选育可供人工栽培或发酵培养的灵芝品种或菌株的应用基础研究就显得十分重要。2000 年, 我们从前南联盟的贝尔格莱德大学引进了一些食(药)用菌菌株, 着手“中国 - 南斯拉夫食药菌合作研究与开发项目”的工作。2001~2002 年对其中部分灵芝菌株进行了人工驯化栽培试验, 并初步分析测试其化学成分, 现将结果报道如下。

## 1 材料与方 法

### 1.1 供试菌株

收稿日期: 2004 - 01 - 18 原稿; 2004 - 03 - 10 修改稿

基金项目: 福建省科技厅国际合作计划项目“中国 - 南斯拉夫食药菌合作研究与开发项目”(2002 - I - 013) 的部分内容

作者简介: 李开本(1942 - ), 男, 1968 年毕业于原北京农业大学, 研究员, 主要从事植物病理学及真菌资源开发利用研究, 出版研究专著一部, 发表论文 30 多篇。主持完成“药用菌灵芝、姬松茸优质高产规范化栽培技术”, 获得 1996、1998 年福建省科技进步三等奖 2 项。

灵芝菌株 GA-1、GA-2、GA-3、GA-4、GA-5、GA-6、GA-7、GA-8、GA-9 由贝尔格莱德大学农学院 Miromir Niksic 教授提供。其中 GA-6 菌株被鉴定为薄盖灵芝, 适于发酵培养(另文报道), 其它均为灵芝。对照菌株为福建省灵芝主栽品种<sup>[1]</sup> 赤芝 6 号和芝王 8 号。

## 1.2 栽培试验

取一定数量壳斗科栎属 (*Quercus* spp.) 阔叶树段木, 长 12~15cm, 装袋, 于  $100 \pm 3$  常压蒸汽灭菌 8~10h (热化处理有利于灵芝对木材的分解)<sup>[2]</sup>, 然后分别接种待试菌株, 培养菌材, 进行短段木栽培。

## 1.3 栽培价值评估

1.3.1 表型性状 根据灵芝菌丝长满菌材、原基形成、菌柄开始生长到孢子粉释放各生长发育时期的特性以及子实体形态特征和产量进行初筛。根据试验结果, 对栽培性状较好的菌株进行菌丝体可溶性蛋白质电泳图谱分析<sup>[1]</sup>。

1.3.2 担孢子显微形态观察 取 GA-2 和 GA-9 菌株子实体, 解剖子实层, 采用日立 S-570 型扫描电子显微镜观察其担孢子显微形态<sup>[2,4]</sup>。

1.3.3 主要化学成分分析 一般化学成分及多糖测定参照文献[3,4]进行; 脂肪酸分析采用美国 Sigma 公司 2100 型气相色谱仪; 氨基酸分析采用日本日立 835-50 型氨基酸自动分析仪。

## 2 结果与分析

### 2.1 GA-2 and GA-9 菌株的栽培特性

GA-2 和 GA-9 两个菌株子实体的菌盖均呈半圆形, 近舌状, 边缘向上倾斜似碟状, 具短柄或无柄, 菌柄侧生或中生(图 1-1, 1-2); 菌盖黄褐色至赤褐色, 表面有褐色孢子粉, 背面呈浅黄色(图 1-3)。GA-2 和 GA-9 菌株子实体的单朵重(干重)和第一年单产分别为 8.5g 和 14.9g,  $6.6 \text{ kg/m}^3$  和  $8.8 \text{ kg/m}^3$  [ $1 \text{ m}^3$  菌材(湿重)重量为 1100kg], 而优质高产菌株赤芝 6 号平均单朵

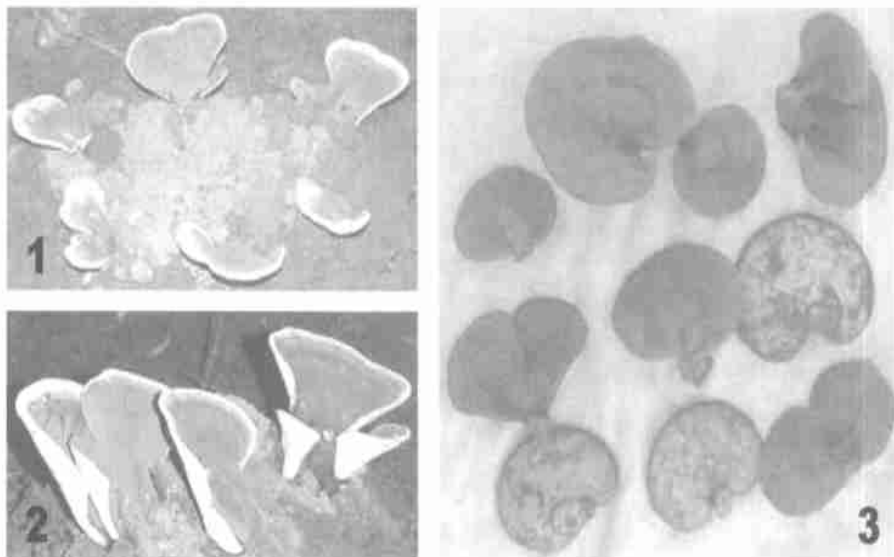


图 1 子实体形态特征

Fig. 1 Morphologic characteristics of the fruitbodies

重 27.5g,平均单产 16.2 kg/m<sup>3</sup>。栽培结果表明,除 GA-2 和 GA-9 外,大多数供试菌株不适合段木栽培。GA-2 和 GA-9 的平均单朵重分别为 12.38g 和 12.16g,平均单产分别为 8.8kg/m<sup>3</sup> 和 8.3kg/m<sup>3</sup>(表 1)。

表 1 不同菌株段木栽培试验结果

Table 1 Log cultivation results of different strains

菌株 Strains	菌材重量 Wt. of mycelial colonized wood-logs(kg)	子实体鲜重 Fresh wt. of fruitbodies(kg)	子实体干重 Dry wt. of fruitbodies(kg)	折干率 Drying rate(%)	单朵均重 Average wt. per fruitbody(g)	产量 Yield (kg/m <sup>3</sup> )
GA-1	180	3.78	1.17	31.0	11.2	7.2
GA-2	468	11.5	3.75	32.6	12.38	8.8
GA-3	192	3.57	1.27	35.6	14.9	7.3
GA-4	185	3.67	1.24	33.8	10.6	7.4
GA-5	189	3.58	1.32	36.9	10.5	7.7
GA-6	195	4.05	1.40	34.6	11.9	7.9
GA-7	190	3.07	1.14	37.1	10.4	6.6
GA-8	187	3.48	1.33	38.2	8.5	7.8
GA-9	182	4.16	1.37	32.9	12.16	8.3
赤芝 6 号 Reishi No. 6	198	8.40	2.91	34.5	27.5	16.2
赤芝 8 号 Reishi No. 8	198	7.80	2.86	36.7	37.8	15.9

## 2.2 GA-2 和 GA-9 菌株的栽培性状

GA-2 和 GA-9 菌株母种在 PDA 试管斜面上 26 ±2 培养,满管时间为 6.5~7.5d,平均生长速率为 0.56~0.60cm/d;气生菌丝洁白,生长旺盛,爬满试管壁。栽培菌种均匀地长满瓶需 26~28d(表 2)。2001 年 12 月接种,菌丝长透段木后,为了充分吸收和积累养分,菌材继续培养 8~9 周。子实体原基于 2002 年 4 月中旬出现,6 月上旬子实体完全成熟并开始释放孢子粉,随后及时采收、烘干。整个栽培过程分别为 116d 和 128d(表 2)。

表 2 GA-2 和 GA-9 菌株的栽培特性

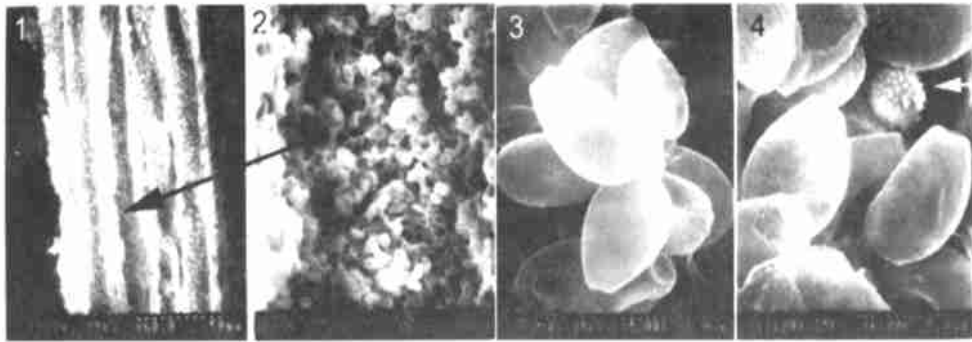
Table 2 Cultivation characteristics of strains GA-2 and GA-9

菌株 Strains	母种满管时间 Full spawn run time of mother culture (d)	栽培种满管 所需时间 Full spawn run time of culture spawn (d)	菌材培养 时间 Full- mycelial- colonized period of wood-log (d)	原基形成 时间 Primordium formation time (d)	菌柄生长 时间 Development period of pileus (d)	孢子粉 释放时间 Releasing time of spores (d)	完全成熟 时间 Full- mature period (d)	生长发育 周期 Whole development period (d)
GA-2	6.5	26	58	18	16	13	11	116
GA-9	7.5	28	61	21	18	15	13	128

在扫描电镜下,可见子实层菌管(图 2-1)中有许多担孢子(图 2-2);孢子卵形,顶端平截或钝圆锥状,大小 16~5.79 ×7.72~8.32μm,表面分布着一些微小的洞穴,近底部有一脐突状的疣(图 2-3);此外,菌管中还可见有腹孢子(图 2-4)。据梯度浓度聚丙烯酰胺凝胶电泳分析结果,GA-2 和 GA-9 两个菌株的电泳图谱基本一致(图 3)。

## 2.3 主要成分

分析结果表明,GA-2 和 GA-9 菌株子实体(干品)的水分、粗蛋白、粗纤维、粗脂肪、粗多糖



1. 子实层 Hymenium, 2. 菌管中的担孢子 Basidiospore in mediostratum, 3. 担孢子形态 Morphology of basidiospore, 4. 腹孢子 Gasterospore

图 2 子实层显微结构

Fig. 2 Microstructures of the hymenium

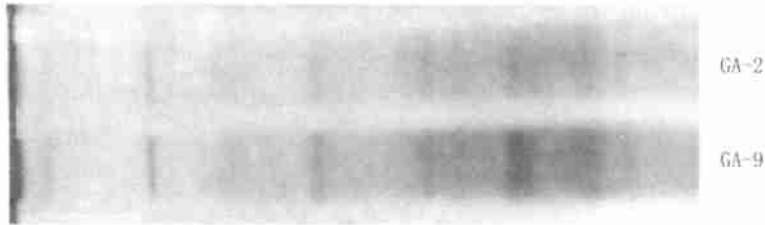


图 3 菌丝体可溶性蛋白质电泳图谱比较

Fig. 3 Comparison of the electrophoresis chromatogram of soluble mycoproteins by GC-PAGE

和灰分含量分别为 11.3% ~ 12.7%, 11.6% ~ 12.8%, 28.7% ~ 30.8%, 4.8% ~ 5.6%, 0.90% ~ 1.02% 和 1.4% ~ 1.7% (表 3)。子实体中脂肪酸构成以油酸 (59.6%)、亚油酸 (19.2%) 等不饱和脂肪酸为主 (表 4)。从子实体中检测出 18 种氨基酸, 总量为 9.611%, 其中必需氨基酸占氨基酸总量的 50.6% (表 5)。

表 3 子实体的主要成分

Table 3 Main components of the fruitbodies (g/100g)

菌株 Strains	水分 Water	粗蛋白 Crude protein	粗纤维 Crube fibre	粗脂肪 Crude fat	多糖 Polysaccharide	灰分 Ash
GA-9	12.7	12.8	28.7	4.8	1.02	1.7
GA-2	11.3	11.6	30.8	5.6	0.90	1.4

表 4 脂肪酸构成

Table 4 Constituents of fatty acids( %)

脂肪酸 Fatty acids	质量分数 Percentage	脂肪酸 Fatty acids	质量分数 Percentage	脂肪酸 Fatty acids	质量分数 Percentage
肉豆蔻酸(C <sub>14:0</sub> ) Tetradecoic acid	0.5	硬脂酸(C <sub>18:0</sub> ) Stearic acid	1.6	亚油酸 Linoleic acid(C <sub>18:2</sub> )	19.2
棕榈酸(C <sub>16:0</sub> ) Palmitic acid	17.7	油酸(C <sub>18:1</sub> ) Oleic acid	59.6	其它脂肪酸 Other fatty acid	1.4

表 5 氨基酸含量

Table 5 Contents of amino acids(g/100g)

氨基酸 Amino acids	含量 Content	氨基酸 Amino acids	含量 Content	氨基酸 Amino acids	含量 Content	氨基酸 Amino acids	含量 Content
天冬氨酸 Asp	1.015	甘氨酸 Gly	0.561	异亮氨酸 Ile	1.306	色氨酸 Trp	0.034
苏氨酸 Thr	0.506	丙氨酸 Ala	0.662	亮氨酸 Leu	0.922	组氨酸 His	0.223
丝氨酸 Ser	0.424	胱氨酸 Cys	0.096	酪氨酸 Tyr	0.116	精氨酸 Arg	0.358
谷氨酸 Glu	1.304	苯丙氨酸 Phe	0.524	缬氨酸 Val	0.672	总量 Total	9.611
脯氨酸 Pro	0.198	蛋氨酸 Met	0.140	赖氨酸 Lys	0.550	E/T	50.6

### 3 讨论

据报道(陈体强等,1999),福建原木灵芝(赤芝6号)子实体(超细粉)水分含量为3.5%~4.2%,粗蛋白、粗脂肪、粗纤维、总糖、还原糖及灰分含量分别为9.81%~10.84%,2.46%~3.76%,36.5%~41.3%,24.76%~27.54%,1.44%~1.89%和1.3%~1.7%;18种氨基酸的总量为5.80~6.07mg/100mg,其中必需氨基酸含量分别占氨基酸总量的49.7%和50.7%;其脂肪酸构成以油酸(44.2%)、亚油酸(32.1%)和棕榈酸(19.8%)为主<sup>[4]</sup>。另据潘继红等(1993)报道,安徽产野生灵芝氨基酸含量为4.39mg/100mg<sup>[5]</sup>;李开本等(1994)报道,原木灵芝与野生灵芝的氨基酸含量接近,必需氨基酸含量分别占氨基酸总量的45.9%和47.6%;其脂肪酸构成以油酸(39.1%)、亚油酸(42.2%)等不饱和脂肪酸为主<sup>[3]</sup>。丁平等(1996)报道,壳斗科栲属(*Castanopsis* spp)菌材栽培的子实体,其必需氨基酸含量与氨基酸总量的比值(41.4%~43.6%)较其他菌材栽培的灵芝高<sup>[6]</sup>。刘艳平等(1999)对不同来源的段木灵芝子实体多糖含量的分析结果表明,来自日本的4个菌株,其子实体的多糖含量均高于野生菌种<sup>[7]</sup>。唐力等(1999)、李晓晖等(1997)报道,不同产地灵芝的水溶性多糖含量(0.90%~1.58%)存在差异<sup>[8,9]</sup>。

李开本等(1996)、陈秀炳等(1999)报道了短(原)段木栽培优质高产灵芝新菌株的选育<sup>[1,10]</sup>。据陈体强等(1999)报道,赤芝6号子实体水溶性多糖含量为1.2%~1.4%,三萜酸(Ganoderic acid A,B,C)等含量为3.02~3.78mg/g<sup>[4]</sup>。林兴生等(2001)还对我们灵芝种质资源库中其他菌株的栽培性状和同工酶酶谱进行了研究<sup>[11,12]</sup>。赵明文等(2003)根据液体培养菌丝体中三萜和多糖含量的差异进行了灵芝优良品种的筛选<sup>[13]</sup>。

本研究结果表明,引进的贝尔格莱德灵芝菌株,人工驯化栽培子实体的表型性状及多糖等有效成分含量不如现有的段木栽培优良菌株。但我们的研究发现,贝尔格莱德灵芝菌株GA-2、GA-9尚具有一定的栽培价值,而GA-6非常适于液体发酵培养(另文报道)。

### 参 考 文 献

- [1] 李开本,陈体强,何修金,等. 短段木灵芝优质高产菌株“赤芝6号”研究初报[J]. 福建农学院学报, 1996, 11 : 1~6.
- [2] 陈体强,李开本,陈朝旭,等. 灵芝、紫芝担孢子及其孢壁的超微结构[J]. 福建农业学报, 1998, 13 : 33~38.
- [3] 李开本,陈体强,何修金,等. 灵芝营养成分测试分析初报[J]. 营养学报, 1994, 16 : 95~98.
- [4] 陈体强,李开本,朱培根,等. 灵芝子实体微粉末显微形态及其化学成分[J]. 福建农业学报, 1999, 14

: 27 ~ 33.

- [ 5 ] 潘继红,胡向武. 安徽梅山灵芝的化学成分[J]. 食用菌,1993,15(增刊): 11 ~ 12.
- [ 6 ] 丁平,徐鸿华,钟镜金,等. 不同菌材培养的灵芝氨基酸含量测定[J]. 中药材,1999,19(12): 595 ~ 596.
- [ 7 ] 刘艳平,蔡红军. 不同菌种培养的灵芝中多糖含量测定[J]. 广州中医药大学学报,1999,16 : 54 ~ 55.
- [ 8 ] 李晓晖,何云庆,李荣芷. 不同产地灵芝中多糖含量的测定[J]. 中国中药杂志,1997,22 : 83 ~ 84.
- [ 9 ] 唐力,邢继强. 不同产地灵芝中多糖含量的比较[J]. 黑龙江医药科学,1999,22 : 25.
- [ 10 ] 陈秀炳,刘叶高. 灵芝短原木熟料栽培优良菌株选育研究[J]. 食用菌学报,1999,6 : 20 ~ 24.
- [ 11 ] 林兴生,李开本,陈体强,等. 11 个灵芝菌株的栽培性状和酯酶同工酶研究[J]. 江西农业大学学报,2001,23 : 80 ~ 84.
- [ 12 ] 林兴生,李开本,陈体强,等. 28 个灵芝菌株栽培特状比较[J]. 食用菌学报,2001,8 : 45 ~ 49.
- [ 13 ] 赵明文,王晨光,鲍鹏,等. 不同灵芝菌丝体中三萜与多糖含量的比较[J]. 中国食用菌,2003,22 : 43 ~ 46.

## Artificial Domestication Cultivation and Chemical Components Analysis of *Ganoderma lucidum* Strains from Belgrade

LI Kai-ben<sup>1</sup>, CHEN Ti-qiang<sup>1</sup>, LIN Yan-quan<sup>1</sup>, LIN Xing-sheng<sup>1</sup>,  
Zhang Yun<sup>2</sup>, LAN Liang-cheng<sup>2</sup>, Miromir Niksic<sup>3</sup>

(<sup>1</sup> Plant Protection Institute, Fujian Academy of Agricultural sciences, Fuzhou 350013, China;

<sup>2</sup>Asia Pacific Edible Mushroom Training Center, Fuzhou 350001, China;

<sup>3</sup>Institute of Food Technology and Biochemistry, University of Belgrade)

**Abstract:** Short wood-logs (*Quercus* spp.) were applied in the artificial domestication cultivation of *Ganoderma lucidum* strains obtained from Belgrade University. The experiment result showed that strains GA-2 and GA-9 were the optimum strains with the yield being 8.8kg/m<sup>3</sup> and 8.3 kg/m<sup>3</sup> (dry fruitbody) respectively, and the average weight of single fruitbody being 12.38g and 12.16g (dry fruitbody) respectively. The microstructures of hymenium and basidiospores were observed by electric scanning microscopy (SEM). And the electrophoresis chromatogram of soluble mycoprotein of strains GA-2 and GA-9 by GC PAGE was basically identical. While the analytical results showed that the contents of water, crude protein, crude fibre, crude fat, polysaccharide and ash in the fruitbodies of *G. lucidum* GA-2 and GA-9 were 11.3% and 12.7%, 11.6% and 12.8%, 28.7% and 30.8%, 4.8% and 5.6%, 0.90% and 1.02%, 1.4% and 1.7% respectively, that their fatty acids were mainly composed with the unsaturated fatty acids including oleic acid (C<sub>18:1</sub>, 59.6%) and linoleic acid (C<sub>18:2</sub>, 19.2%), and that 18 kinds of amino acids were found in the fruitbodies with a total content and E/T being 9.61% and 50.6% respectively.

**Key Words:** *Ganoderma lucidum* strain from Belgrade; Cultivation characteristic; Micro morphology; Electrophoresis chromatogram; Chemical component