

简称 EhGV。根据 1986 年报道,世界上已知此类病毒约有 130 株,我国发现约 42 株,EhGV 尚未见报道^[3-5],有关它的生物学特性和野外试验有待进一步研究。

参 考 文 献

1. 西北农学院植保系编: 陕西省经济昆虫图志(鳞翅目: 蝶

类),陕西人民出版社,19—25,1978。

2. Fenner F: *Interirology*, 7:1—116, 1976。

3. 梁东瑞等:中国昆虫病毒图谱,湖南科学技术出版社,113—119,1986。

4. 中国科学院武汉病毒所:微生物学报,27(3): 292—295, 1987。

5. 刘岱岳:西北林学院学报,2(1): 134—153,1987。

猴头菌液体培养下的生理特性观察

石 勇 民

丁 彦 怀

马 麟 祥*

(河北承德地区轻工业公司)

(辽宁大学生物系)

(辽宁省农科院土肥所)

摘要 以猴头 (*Hericium erinaceus*) 菌株 He-1 为供试株,探讨猴头菌生理特性。实验表明,钾、镁、磷为猴头菌生长所必需。1—2ppm 的三十烷醇、1—3 ppm 的 α -萘乙酸和吲哚乙酸、80 μ g/l 的烟酸、100—1000 μ g/l 的硫胺素、40 μ g/l 的生物素分别具促进菌丝生长作用。其生长 pH 范围广,最适 pH4—5,并在不适 pH 下具自身生理调节机制。最适生长温度 25—30 $^{\circ}$ C,40 $^{\circ}$ C 抑制生长但不致死。前期定期振荡虽能促进菌丝生长,但在整个培养期定期振荡不能增加菌丝生物量。

关键词 猴头菌;液体培养;生理特性

采用国际联机文献检索得知,目前国内外对于猴头菌营养生理方面的系统研究未见报道^[1-11]。笔者对此进行了初步实验,现将结果报告如下。

材 料 与 方 法

1. 供试菌株:猴头 (*Hericium erinaceus*) 菌株辽 101,编号 He-1。

2. 培养基

(1) 斜面培养基(I):以 PDA 为基础培养基,添加 KH_2PO_4 1g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.3g, 酵母膏 5g, 用柠檬酸调 pH5.5。

(2) 液体培养基 I:上述配方去琼脂。

(3) 液体培养基 II(%):葡萄糖 4.0, 酵母膏 0.5, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.2, KH_2PO_4 0.1, Na_2HPO_4 0.012, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05, 1% ZnSO_4 0.5ml, 柠檬酸 0.04, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.03, H_3BO_3 , $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 各 1mg, VB_1 50 μ g, 生物素 10 μ g, 核黄素 5 μ g, 氯霉素 5000 单位。

3. 标准接种液制备:取供试菌株斜面,挑取表面菌苔接种在液体培养基 I 上,摇床振荡培养 10—12 天,无菌过滤得菌丝体,无菌水冲洗后,再用等体积生理盐水(内加玻璃珠,氯霉素 50 单位/ml)稀释摇匀,冰箱保存。

4. 无机盐、生长素和激素对 He-1 生长的影响:无机离子试验用液体培养基 II,换用无离子水,取消酵母膏,将 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 增为 0.4%, 缺磷试验将 KH_2PO_4 和 Na_2HPO_4 换成 KCl 0.1%, 缺钾试验将 KH_2PO_4 换成 Na_2HPO_4 0.1%, 其它无机盐试验在培养基 II 中取消相应物质按表 1 浓度添加试验即可。培养 20 天后取出用 $\phi 100\mu\text{m}$ 滤孔坩埚过滤得菌丝体,置 70 $^{\circ}$ C 下干燥 24 小时后称干重。取平行三次重复平均值(下同)。

生长素及浓度配比试验按表 2 所列^[12],液体培养基 II 为基质,各生长素待培养基装瓶灭

* 马麟祥先生为本实验指导。

菌后,均用无菌过滤器(100ml G6型)滤加,使达所需浓度,接种后20天测菌丝干重。

激素添加试验,以液体培养基II为基础,25℃下生长20天观测。

5. 温度、pH、振荡对 He-1 生长的影响: 分别试验不同温度、不同 pH 及定期振荡(每隔12小时振荡30分钟,60r/min)下,在液体培养基I上的生长情况。125ml 烧瓶装50ml 培养

液,均一接种后定期检测。

结果与讨论

1. 无机盐的影响: 试验结果表明,缺钾、镁和磷时可完全阻碍菌丝生长。缺锌、铁、钙和氯离子则无大影响(表1)。

2. 维生素的影响: 表2结果所示,80μg/l 的烟酸、100—1000μg/l 的硫胺素和40μg/l

表1 无机盐对 He-1 菌丝生长的影响

无机盐	K ⁺			Mg ²⁺			P ³⁺			Zn ²⁺		
浓度(%)	0	0.5	1.0	0	0.25	0.5	0	0.5	1.0	0	0.025	0.05
菌丝干重 (mg/ 100ml)	0	137.2	121.5	0	89.4	72.3	0	73.0	92.7	58.2	60.7	52.5

无机盐	Fe ²⁺			Fe ³⁺			Ca ²⁺			Cl ⁻		
浓度(%)	0	0.10	0.15	0	0.10	0.15	0	0.3	0.5	0	0.3	0.5
菌丝干重 (mg/ 100ml)	23.1	46.9	18.8	94.8	83.6	50.1	35.0	32.8	40.1	70.7	92.4	68.0

的生物素明显促进菌丝生长,其它维生素的添加对生长作用不显著。硫胺素虽能防止菌丝体在液体培养基中沉没^[3],但过量加入(2000μg/l)

对生长促进作用减弱。

3. 激素的影响: 表3结果证实了三十烷醇在1—2ppm,α-萘乙酸在1—3ppm,吲哚乙酸

表2 几种维生素对 He-1 菌丝生长的影响

硫胺素(μg/l)	维生素(μg/l)	菌丝干重 (mg/100ml)	增重(%)
2000	生物素40	195.9	71.24
2000	烟酸80	225.2	96.85
2000	吡哆醇100	152.5	33.30
2000	泛酸100	157.1	37.33
2000	核黄素100	163.8	43.18
2000	—	151.5	32.43
1000	—	226.4	97.90
500	—	213.0	86.19
100	—	176.5	54.28
0	—	114.4	0

在1—3ppm下有效地促进菌丝生长。α-苄氨基嘌呤和赤霉素没有促进作用或作用不明显。

4. 温度的影响: 在20—35℃下菌丝均可

生长,当温度达40℃时,菌丝停止生长但不致死(表4)。在25—30℃间的相对短期内,能获得最大生物量、为生长适宜温度,与文献报道相

同。随着温度增加,菌丝前期生长较快,但往往引起徒长,使后期生长呈现总的生物量降低。

5. pH 影响: pH 低于 3 及高于 8 时,前期生长受抑,但随着培养时间的增加,抑制逐渐解除,菌丝生长呈上升趋势。最终测 pH 表明,菌丝生长过程中具自身调节功能,其生理机制尚待进一步探讨。如使初始 pH10 可缓解到 pH 6.90, pH2 最终达 pH3.24, 逐渐向其自身生理生长适宜的范围内移动。在 pH4—6 均可在早期获得较大生物量,为生长适宜 pH。值得指

出的是在 pH9 时,菌丝前期生长要优于 pH7 和 pH8 时的生长(表 5)。

6. 振荡的影响: 表 6 结果表明,前期振荡虽能促进菌丝生长,但在整个培养期定期振荡对于菌丝干重的增加并不显著(相对静止培养), t 测验: $t = 0.3180 < P_{0.05} = 2.069$ 。生长曲线: $y_{cm} = -219.34 + 125.81 \ln X$

$$\ln y_m = -0.6244 + 1.826 \ln X$$

随着培养基质的逐渐消耗,培养液 OD 值呈下降趋势,说明此期间菌丝还没有色素分泌,

表 3 激素对 He-1 菌丝生长的影响

激素 结果 激素浓度 (ppm)	三十烷醇		α -萘乙酸		α -苯氨基嘌呤		赤霉素		吲哚乙酸	
	菌丝得率 (mg/100ml)	增重(%)	菌丝得率 (mg/100ml)	增重(%)	菌丝得率 (mg/100ml)	增重(%)	菌丝得率 (mg/100ml)	增重(%)	菌丝得率 (mg/100ml)	增重(%)
0	238.7	0	238.7	0	238.7	0	238.7	0	238.7	0
0.5	255.1	6.87	—	—	198.0	-17.05	—	—	—	—
1.0	327.9	37.38	337.2	41.27	275.8	15.54	251.7	5.45	328.9	37.79
2.0	308.1	29.07	317.4	32.97	266.6	11.69	229.7	-3.75	315.0	31.96
3.0	283.5	18.77	319.9	34.02	244.6	2.47	232.2	-2.72	300.1	25.72
5.0	283.2	18.64	254.1	6.45	214.3	-10.22	237.2	-0.59	227.5	-4.69
10.0	—	—	238.6	-0.04	—	—	228.6	-4.23	234.7	-1.68

表 4 不同温度对 He-1 菌丝生长的影响

干重 (mg/100ml) 取样时间 (天) 温度(°C)	0	8	12	14	16	18	20	22	24	26	28	32	Σ
20	0	63.4	61.0	63.2	85.5	108.1	169.3	196.8	192.5	249.7	263.4	331.4	1784.3
25	0	60.7	74.0	76.2	89.5	133.6	196.0	294.3	380.5	582.0	562.7	597.0	3046.5
30	0	82.4	152.3	260.7	305.5	349.3	462.0	467.8	475.5	477.4	483.5	494.3	4010.7
35	0	93.3	172.0	230.9	212.0	234.9	282.5	270.5	301.8	288.1	274.7	294.8	2655.5

菌丝尚未老化。培养液养份含量在整个培养观测期能够满足生长需要。

由 t 测验和生长曲线表明,振荡虽然能增加液氧含量,但由于同时带来的机械损伤或迫使菌丝呈团块状生长而影响了丝状真菌的自由

蔓延,导致后期生长的生物量增加缓慢。若作为液体种子液,因为前期菌丝生长较对照快,并且振荡形成的菌球较分散,故可能提高接种效果。但作为液体发酵摸索前期振荡培养,后期静止发酵是否有利,有待实验验证之。

表 5 不同 pH 对 He-1 菌丝生长的影响

干重 (mg/50ml)	取样时间 (天)	10	15	20	25	30	35	40	45	Σ	最终 pH
2		5.3	8.1	17.9	16.5	32.8	40.3	62.1	67.8	250.8	3.24
3		8.6	14.1	44.0	121.6	118.7	143.4	181.9	193.4	825.7	3.07
4		43.5	78.9	253.4	294.4	309.4	319.5	300.3	311.7	1911.1	3.90
5		45.7	76.3	205.0	277.2	311.4	314.0	315.4	323.1	1868.1	4.05
6		54.1	72.5	172.0	218.7	292.7	279.5	310.8	315.5	1715.8	4.05
7		34.0	60.5	91.3	165.6	155.9	218.6	294.5	307.9	1328.3	4.30
8		31.0	43.9	81.6	151.7	145.0	229.0	290.8	332.5	1305.5	5.10
9		42.5	67.1	99.5	165.2	219.7	293.4	298.7	277.3	1463.4	5.68
10		12.4	16.8	34.0	94.4	98.1	161.2	194.1	225.5	836.5	6.90

注: 25℃ 下培养

表 6 定期振荡对 He-1 菌丝生长的影响

项目 取样时间 (天)	菌球干重 (mg/50ml)	发 酵 液			对菌干重 (mg/50ml)
		残糖(g/50ml)	pH	色度值 (OD ₅₂₀)	
0	0	1.015	4.87	0.270	0
5	17.3	0.993	4.85	0.274	—
8	29.2	0.908	4.90	0.220	30.8
10	35.7	0.912	4.92	0.155	39.0
12	93.5	0.880	4.97	0.153	42.7
14	85.1	0.863	4.92	0.144	50.1
16	107.2	0.804	4.90	0.136	68.8
18	129.2	0.783	4.94	0.126	91.3
20	198.7	0.425	5.07	0.115	118.5
22	184.9	0.437	5.12	0.115	147.0
24	196.0	0.397	5.07	0.112	190.3
26	192.7	0.360	5.12	0.107	231.2
28	196.5	0.335	5.08	0.108	265.0
30	203.4	0.273	5.08	0.124	281.4

参 考 文 献

1. 黄年来: 自修食用菌学, 南京大学出版社, 南京, 1987 年。
2. 姜隆后: 食用菌生物学及栽培技术, 林业出版社, 北京, 1984 年。
3. 杨庆尧: 国外食用菌研究, 上海师范学院, 上海, 1983 年。
4. 李敬轩等: 微生物学通报, 12(5): 198—200, 1985。
5. Yurchenco J A and H Warren *Mycologia*, 53(6): 566—574, 1961.
6. Ginns J *Can. J. Bot.*, 63(9): 1551—1563, 1985
7. Ginns J *Mycotaxon*, 20(1): 39—43, 1984
8. Thind K S and H S Khara *Indian Phytopathol.*, 28(1): 57—65, 1975
9. Nils Hallenberg *Mycotaxon*, 18(1): 181—189, 1983.
10. Tamblin N and Costa E W B Da *Nature*, 181: 578—

579, 1958

- 11 Nikolaeva T L Hydnaceae Fungi, Indian National Scientific Documentation, New Delhi, 304—305, 320—328, 1977

- 12 Kazuya Hashimoto and Zenjiro Takahashi Mushroom Science IX (Part I), Proceedings of the Ninth International Scientific Congress on the Cultivation of Edible Fungi, Tokyo, 137—143, 1974

食用真菌蛋白——美味丝蕈霉 D-100 的研究

I. 菌种的选育与鉴定*

林伯荃 李淑敏 任杰路戈

(北京市营养源研究所, 真菌工程室)

摘要 从 8 属 11 种的 291 个真菌菌株中筛选出一株可用于生产食用真菌蛋白的优良菌种。根据其形态与生理特性, 该菌与迄今所发表的已知丝蕈霉菌种都有明显不同。因而被确定为一个新种——美味丝蕈霉 *Papulospora sapidus*。有汉文与拉丁文描述。

关键词 食用真菌蛋白, 美味丝蕈霉

为解决人们对蛋白质食品日益提高的需求和市场瘦肉类食品供不应求的矛盾, 除积极发展畜牧业外, 发展食品蛋白生产的生物新技术是一条高效率的新途径。利用廉价的低蛋白原料, 通过微生物发酵工艺和其它新生物技术, 生产出蛋白质含量较高的食用真菌蛋白。实现了肉食品的工业化生产, 这在我国食品工业的发展上是一项具有深远意义的工作。

在真菌中有一些丝状真菌可将含有淀粉、无机氮和必要矿物质营养的基质, 转化为可食用的真菌蛋白。这种蛋白质不但具有类似瘦肉的组织结构, 而且具有咀嚼性和肉质性, 味道鲜美, 用以制成的仿肉食品可以假乱真。单细胞蛋白一般用做饲料, 再提供畜牧业生产肉食品, 而食用真菌蛋白是直接用作食品。这样可以减少蛋白质转化的环节, 是解决人类蛋白食品源的更为直接有效的办法。

英国 RHM 公司 1964 年就开始了这项研究。他们获得了一株能利用淀粉、糖类的无毒真菌菌株——禾本科镰孢 *Fusarium graminearum*, 研究了它的发酵工艺和加工成仿肉食品的方法, 并做了系统的安全试验^[1], 1981 年正式获准用于食品。美、法等国家的科学家也有不

同程度的研究, 但尚未商品化。

我们从 1982 年开始进行食用真菌蛋白的菌种选育。从大量的无毒丝状真菌菌株中, 最后筛选出美味丝蕈霉 D-100 菌株。该菌能利用玉米、大米、小麦、土豆和红薯等淀粉原料进行发酵。经加工而成的鲜菌体具有类似瘦肉的丝状结构, 味美。1985 年北京卫生防疫站毒理室对此菌进行了国家卫生部规定的四个阶段的安全试验和营养价值评定。证明其无毒。同时, 我们对菌体生产工艺, 加工方法和连续发酵等进行了研究。1988 年获得了专利。1989 年通过了全部鉴定。1989 年底正式获准用于食品。

本文报道了该菌的菌种选育与鉴定工作。

材料与方 法

(一) 菌种来源

291 株供试菌由本室菌种保藏组提供。归属于 8 属 10 个种, 在一般情况下均不产生真菌

* 本文的菌种鉴定部分得到了北京农业大学李季伦教授和美国 Wisconsin 大学 E. B. Smalley 教授的审阅与指导, Smalley 教授并赠予 ATCC 的近似种 *Papulospora pennosa* 供鉴定时对比用, 特此一并致谢。