

真菌中药乌灵参的生物学特性研究

杭州大学生物系 陈宛如 李振唐 史美中* 倪建勇*

提 要 通过人工调节 CO_2 分压、温湿度、pH 以及营养条件等因子来探讨乌灵参的生物学特性,结果表明:炭角菌生长需要高湿度、高浓度有机氮以及较低的 CO_2 浓度,最适 pH 在 5.0—6.3 之间,是一种中温性真菌。

关键词 真菌、炭角菌、生物学

乌灵参又名鸡枞蛋,是四川、云南等地的著名补气中药,对治疗脾虚食少,产后及手术后失血过多,产后乳少,胃下垂,疝气,心悸失眠及小儿惊风,跌打损伤等症都有明显功效^[1,2]。幼嫩时又是可口的食用菌^[3]。乌灵参生长在黑翅土白蚁 (*Odontotermes formosanus*) 的废巢中,是子囊菌纲炭角菌属 (*Xylaria*) 的一类真菌形成的菌核,土栖白蚁深居在地下 2—3 米,因此该药采集困难,产量低,为了开发药用真菌资源,从 1978 年^[4,6]以来作者继续对乌灵参进行野外观察和室内培养,本文着重报道乌灵参的生物学特性。

一、菌种分离

1. 材料来源:来自诸暨县黑翅土白蚁废弃蚁巢。

2. 分离方法:实验用的材料为炭角菌 (*Xylaria nigripes* (KL.) Sacc.) 的子实体,用无菌水冲洗数次,再用 70% 酒精表面灭菌,用刀片将子实体切成 3mm 大小的块,接种于改良马铃薯斜面培养基上,于 25℃ 下培养 3—4 天,即可获得菌丝体。然后,分别进行不同温度、湿度、 CO_2 ^[4,6] pH、光照、营养条件等因子对乌灵参(炭角菌)生长影响的

试验。

3. 培养基制备:PSA 采用马铃薯 20%、蔗糖 3% 作为对照;X-PSA 在 1 升 PSA 培养基中添加 2g 蛋白胨,0.5g MgSO_4 , P-YP, 酵母膏 0.5%, 其余成份同 X-PSA; P-YZP, 除蛋白胨改为 4g/升,其余成份同 X-PSA。

4. 培养方法:采用斜面培养、平板培养和液体发酵培养。

培养基的 pH 值,用 0.1N NaOH 和 0.1N HCl 调节,用 SPM-10 型数字式 pH 计测定。琼脂 3%。

二、结果与讨论

邬家林认为,乌灵参包括两种真菌的菌核,即黑柄炭角菌 (*X. nigripes* (KL.) Sacc.) 和炭角菌(燃香棍) (*X. sp.*)^[1]。浙江白蚁废弃菌圃上也生长有这两种真菌的子实体和菌核(见照片 1、2),由于不知它们的用途,所以均未开发利用。

(一) 炭角菌的形态结构

白蚁废弃的蚁巢菌圃上密布炭角菌菌丝体,菌丝直径 8—10 μm 。黑柄炭角菌生长后期部分菌丝密集成菌索向上生长,穿过地面出现子实体(子座);部分菌丝密集成菌核(乌



图1 黑柄炭角菌 (*Xylaria nigripes*)
(a) 菌核 (b) 子座(子实体)

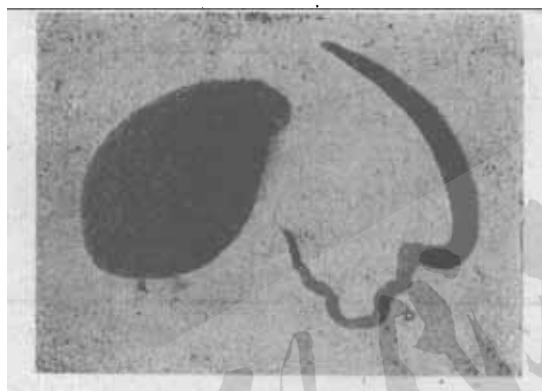


图2 燃香棍 (*Xylaria* sp.)
(a) 菌核 (b) 子座(子实体)

灵参), 逐渐与菌丝体脱离联系, 悬着于白蚁菌圃腔壁上或菌圃上, 直径约2—10cm, 重约3—50g, 翌年6月至10月, 当菌圃周围的土温在20℃以上时(此时正值雷雨和秋雨季节), 菌核上形成棍棒状的子实体, 出土呈散生或群状分布。

在斜面培养基上, 炭角菌(*X. nigripes*)菌丝培养两天后首先在斜面上长满薄薄一层灰白色基生菌丝, 再经过1—2天后, 在基生菌丝体上面长出一层白色的茂盛的气生菌丝体, 所以整个斜面上明显分为两层菌丝体, 然后由气生菌丝形成菌索, 菌索一边伸长, 一边长粗, 在实验室内, 有的培养基上也能形成菌核或子实体。

炭角菌菌丝具分枝分隔, 内部充满原生质, 菌丝直径约为6—15μm, 其生长方式为二

歧分枝。

摇瓶培养时, 炭角菌的形态, 随培养基不同而有所变化, 有的呈菌球, 有的呈棉絮状一团。

(二) 炭角菌的生态因子

1. 湿度:

把菌圃置于相对湿度为96—100%和70—80%的密封钟罩内培养, 结果见表1。

表1 炭角菌菌丝在不同湿度下生长情况

真 菌 名 称	相 对 湿 度 (%)	
	96—100	70—80
炭 角 菌	菌丝生长好, 子	菌丝生长差, 子
<i>X-nigripes</i>	座很快形成	座不能形成

从表1看出, 子实体发育要求高湿度, 所以白蚁废弃菌圃上的炭角菌子实体通常在6至10月的多雨季节出现, 菌丝体在几乎密封的白蚁菌圃上生长, 由于菌圃的特殊结构, 湿度是相当稳定和适湿的(含水量变化于46—58%之间)。

2. 温度

从表2可见, 炭角菌是一种中温性真菌, 在22°—30℃下, 均能生长, 但以25℃时生长最快, 这与炭角菌生长的生态环境——土栖黑翅土白蚁巢中温度相当稳定, 一般在25℃至26℃之间是相吻合的。高于35℃和低于13℃时菌丝体不萌发。但把接种后置于13℃下培养三天仍不萌发的培养皿, 转入25℃下培养, 数天后仍能萌发新菌丝, 同样把13℃下保存三个月的培养物转移到新培养基上, 置25℃下也能长出新菌落。而在5℃下放置一周的菌丝, 菌丝倒伏、解体, 故转移到新培养基上时, 不能萌发新菌丝。大多真菌比较能耐低温, 但黑柄炭角菌菌丝体不耐低温, 在5℃下即解体死亡, 因此菌种切不可放入冰箱内, 而应在13℃左右温度下保存。在40℃下处理一天的菌丝转移后, 置于

25℃下培养仍能生长,而处理两天的菌丝,就不能萌发新菌丝,这说明黑柄炭角菌菌丝只能耐受一天上下时间的高温。

3. 光照

根据观察,在黑暗和室内通常光照条件下,菌丝均能生长。但在全暗条件下菌丝生长密又粗壮。长满菌丝体的试管在黑暗条件下继续培养二个月,菌丝仍能生长旺盛,直至三个月后才形成菌索,而在明亮条件下的

斜面上,菌丝一周后就形成菌索,半个月后开始衰老,这可能与炭角菌菌丝长期生长在完全没有光线的黑翅土白蚁菌圃上,适应了这一特殊的环境条件。因此在保存菌种时,使菌种处于黑暗条件下较合适。

但相反,菌圃置于钟罩内保温保湿培养时,当由菌丝形成菌索和子实体时,则产生明显的向光生长,这也是与它的生态相一致的。

表2 不同温度下炭角菌菌落生长情况

菌落直径	处 理 温 度				
	13°	22°	25°	30°	35°
培养时间(小时)					
21	---	0.2	2.5	0.8	---
24	---	0.34	3.4	2	---
26	---	0.4	3.8	2.3	---
39	---	0.9	6.8	4	---
63	---	3.4	9	6.4	---
生长速度(厘米/小时)	0	0.078	0.143	0.112	0

注:单位为cm

4. pH→

表3 不同 pH 值下炭角菌菌丝体生长情况

相对生长势	pH 值							
	3.0	3.8	4.5	5.0	5.5	6.0	6.5	7.0
培养时间(小时)								
36	---	---	+	4+	4+	4+	3+	+
46	---	---	2+	4+	4+	3+	2+	+
50	---	---	2+	4+	4+	3+	+	+
68	---	---	3+	4+	4+	3+	+	---
74	---	---	4+	4+	4+	2+	+	---

表4 炭角菌生长过程中基质 pH 值的变化

基 质	自 然 pH 值	培养后 pH 值
菌 圃	3.8—4.2①	5.5—5.8②
X-P3A	5.6	7.0—7.2

注:①为长有小白球菌的菌圃 pH 值,②是生长炭角菌后菌圃 pH 值。

4. pH

从表3可见,黑柄炭角菌菌丝在 pH 4.5

至7.0之间均能生长,但最适 pH 值为5.0—6.3,菌丝生长势旺盛、健壮,菌落呈纯白色。当 pH 值为4.5时,前期生长速度慢,后期菌丝生长势加快。如培养50h,菌丝生长速率 cm^2/h 为0.25,培养68小时,为0.4,当培养到74小时时为0.46,与 pH 值5.0的生长速率相接近($0.47\text{cm}^2/\text{h}$)。pH 值低于4时,菌丝生长缓慢,甚至死亡,当 pH 值7.0以上时,前期生长缓慢,后期停止生长。

从表4看出,黑柄炭角菌生长过程中,培养基的pH值要提高,这一现象在液体摇床培养中也极为明显(见表5)。这说明炭角菌代谢过程中可能分泌某些硷性物质,使生长基质的pH值上升,如菌圃培养基的pH值由4.0左右上升到5.6左右,改良马铃薯培养基(X-P3A)的pH值由5.6上升到7.0—7.2。

表5 炭角菌液体摇床培养情况

培养基	初配时pH值	调整后pH值	培养后pH值 (6d)	菌丝体干重 (g/100ml)	生长势
PSA	6.25	5.6	6.92	0.13	+- - -
X-PSA	5.9	5.6		0.28	++ - -
P-YP	6.24	5.6	7.35	0.18	++ - -
P-Y2P	6.28	5.62	6.88	0.75	++++

注: - - - 生长差 ++ 生长一般 ++++ 生长很好

5. 添加蛋白胨、酵母浸膏对炭角菌生长的影响。

从表5可见,添加蛋白胨(0.4%)的P-Y2P培养基比添加0.2%蛋白胨的P-YP培养基,炭角菌菌丝体干重增加4倍,说明炭角菌对有机氮浓度要求较高,添加酵母浸膏对炭角菌生长影响不明显。

三、结束语

1. 乌灵参既是药用真菌又是食用菌,生长速度快,成本低,今后先作为保健食品开发具有一定价值。

2. 为了探索最佳培养基的配方,目前还正在进行不同碳原和维生素对炭角菌生长的影响试验。

3. 人工发酵培养物(菌丝体和发酵液),是否同天然中药乌灵参功效相似。有待进一步研究。

4. 乌灵参生长在白蚁废弃的蚁巢菌圃上,而有白蚁活动的蚁巢菌圃上生长有另一种真菌叫小白珠菌,它是各贵食用菌—鸡枞菌(*Termitomyces albuminosus* (Berk.)

表3中pH值为4.5的培养基前期生长速度慢,后期生长速度加速,生长速率由0.25 cm²/h提高到0.46 cm²/h,这也可能是炭角菌菌丝分泌硷性物质,使培养基的pH值(4.5),朝着适合于自己生长的pH值(5.0—6.3)上升。但到pH值在7.0以上时,炭角菌很快衰老,生长处于停止状态。

Heim.)的一个发育阶段,它与白蚁共生。为什么有白蚁活动的蚁巢中生长鸡枞菌和小白球菌(*Termitosphaeria duRoi* (Berk.) Ciferri.),没有白蚁存在(白蚁搬家或被消灭)时蚁巢上长炭角菌,国内外学者对这个问题有不同的见解^[6-8],搞清乌灵参的生物学特性,具有一定的理论和实际意义。

参 考 文 献

- [1] 郭家林:成都中医学院学报 1984, 2, 33—35
- [2] 四川省中药研究所:《四川中药志》(二) 四川人民出版社, 1434
- [3] 张光亚:云南食用菌,云南人民出版社, 1984, 17
- [4] 陈宛如等:杭州大学学报(自然科学版), 1983, 10(3), 353—359
- [5] 陈宛如等:杭州大学学报(自然科学版), 1986, 13(1), 69—73
- [6] 周家炽:科学, 1945, 27, 25—51
- [7] Batra, L. R. Insect—Fungus Symbiosis, Allanheld, Osmum & Co, 1979, 117—163
- [8] Blackwell, M. et al., Mycotaxon, 1980, 12(1)97

承中科院微生物所周家炽教授,本系项斯端教授审阅,诸暨县白蚁防治所提供蚁巢菌圃材料、曾新民同志协助摄影,在此一并致谢。