

doi: 10.3969/j.issn.0490-6756.2020.01.027

菌草鹿角灵芝新菌株栽培特性及活性成分分析

林兴生, 林占熿, 林 辉, 林冬梅, 罗海凌, 胡应平

(福建农林大学 国家菌草工程技术研究中心, 福州 350002)

摘要: 为拓展灵芝栽培原料和应用灵芝新菌株, 采用菌草栽培灵芝及其蛋白质、氨基酸、多糖、三萜分析方法, 对引进灵芝菌株南 GL11 进行鹿角灵芝栽培特性研究及营养和有效活性成分分析, 结果表明, 南 GL11 与当地主栽培品种韩芝 1 号进行鹿角灵芝栽培时, 灵芝南 GL11 呈鹿角状, 韩芝 1 号为念珠状, 南 GL11 形状优于韩芝 1 号. 菌草鹿角灵芝南 GL11 菌柄显著长于韩芝 1 号, 比其长 7.4%, 菌柄直径略比韩芝 1 号粗, 但无显著差异; 鲜芝、干芝产量均显著高于韩芝 1 号, 分别高 40.9%、21.4%, 其鲜干比分别为 2.55、2.18; 菌草栽培南 GL11 鹿角灵芝的多糖、总三萜含量分别比韩芝 1 号高 28.57%、10.2%, 差异显著; 其粗蛋白与氨基酸含量略低于韩芝 1 号, 但差异不显著, 二者氨基酸组分相同, 均检出十七种氨基酸, 色氨酸则可能因酸分解未能检出. 南 GL11 鹿角栽培时, 形状好, 产量高, 有效活性成分高, 具较好的推广前景.

关键词: 鹿角灵芝; 菌草; 栽培特性; 活性成分

中图分类号: S646.2; R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0490-6756(2020)01-0181-05

Analysis of cultivation characteristics and active components of the new strain of antler-shape *Ganoderma lucidum* with juncao

LIN Xing-Sheng, LIN Zhan-Xi, LIN Hui, LIN Dong-Mei, LUO Hai-Ling, HU Ying-Ping

(National Engineering Research Center of Juncao Technology,

Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

Abstract: In order to expand the cultivation substrate of *Ganoderma lucidum* and apply the new strain, the method of cultivating *Ganoderma lucidum* with juncao and analyzing its protein, amino acid, polysaccharide and triterpene was used. The cultivation characteristics and nutrient and effective active components of introduced *Ganoderma lucidum* strain Nan-GL11 were analyzed. The results indicated that when Nan-GL11 and HanZhi-1 were cultivated with antlers *Ganoderma lucidum*, Nan-GL11 was antler like, while the main cultivated variety HanZhi-1 was bead-like, and the shape of Nan-GL11 was superior to HanZhi-1. The stipe of Nan-GL11 was significantly longer than that of Hanzhi-1 by 7.4%. The stipe diameter of Nan-GL11 was slightly thicker than that of Hanzhi-1, but without significant difference. The fresh and dry yield of Nan-GL11 was significantly higher than Hanzhi-1 by 40.9% and 21.4%, respectively. Their fresh-dry ratio was 2.55 and 2.18, respectively. The contents of polysaccharide and total triterpenoid in antler-shape Nan-GL11 cultivated with Juncao were higher than that in Nan-GL11

收稿日期: 2019-03-08

基金项目: 国家林业公益性行业科研专项(201004019); 国家菌草工程技术研究中心组建项目(2011FU125X11); 福建省教育厅省级“2011 菌草生态产业协同创新中心”(FJ2013-51)

作者简介: 林兴生(1973-), 男, 博士, 副研究员, 研究方向菌草及其综合利用技术研究应用与推广. E-mail: singelin@163.com

通讯作者: 林占熿. E-mail: wittylin@163.com

by 28.57% and 10.2%, respectively, and with a significant difference between them. The contents of crude protein and amino acid in Nan-GL11 was slightly lower than that in Hanzhi-1 but without significant difference, and they had the same amino acid components with 17 kinds of amino acid. Tryptophan was unable to be checked out probably because of the acid decomposition. Because of good shape, high yield and effective active ingredients of the Nan-GL11 antlers when cultivated, antler-shape Nan-GL11 has good prospects for popularization.

Keywords: Antler-shape *Ganoderma lucidum*; Juncao; Cultivation characteristics; Active components

1 引言

《神农本草经》把灵芝(*Ganoderma lucidum*)列为上品药^[1]. 现代医学研究表明灵芝含多糖肽、三萜、灵芝酸、甾醇等有效成分,具多种生理活性^[2-5],有清除自由基、抗氧化、提高免疫功能、抗肿瘤等功效^[6-12]. 我国灵芝已形成了产业和文化^[13]. 鹿角灵芝在公元四百年就有将其作为极品灵芝上贡给皇帝的记载,但未记载其在灵芝中的分类及药效^[14]. 我国权威灵芝分类不包括鹿角灵芝^[15-16],一般认为鹿角灵芝是因外界条件变化使灵芝异型生长形成的,其菌柄长,常有多个分枝,无菌盖或有小菌盖,形似鹿角,故得其名. 自然条件下鹿角灵芝极其罕见. 日本在栽培中发现有鹿角灵芝产生,出现率极低,但引发了对“极品鹿角灵芝”人工栽培的极大热情^[17]. 鹿角灵芝中 β -高分子蛋白多糖的含量比普通灵芝高,还含有 LPS(Lipopolysaccharide, 脂多糖),能激活巨噬细胞活性增强免疫力. 鹿角灵芝 LPS+ β -高分子蛋白多糖的含量高达 43%^[18]. 前人对灵芝分类^[19-20]、鉴定^[21]、栽培^[22]、活性成分分离鉴定^[23]及药理作用等进行了大量研究,对鹿角灵芝的研究相对较少. 2004 年福建农林大学将菌草技术专利转让给南非,在南非建立了菌草技术示范基地. 2006 年从南非引进野生灵芝菌株,以菌草为原料开展多年多地的驯化和适应性鹿角灵芝栽培,并参考刘靖宇等的方法对南 GL11 进行 DNA 指纹图谱鉴定^[24-26],与福建省已认定的 2 个品种(芝 120 和芝 102)在 DNA 水平上存在差异,2012 年通过福建省农作物品种审定委员会审定,命名为南 GL11. 2017 年菌草技术被联合国列为中国-联合国和平与发展基金重点项目,向全球推广,该菌株已在卢旺达、斐济、南非、巴新、莱索托等国应用. 本文通过鹿角灵芝栽培特性研究、有效活性成分和营养分析,旨在为其推广应用提供科学依据.

2 材料与方法

2.1 供试菌株

菌草鹿角灵芝南 GL11 和韩芝 1 号,其中韩芝 1 号为福建农林大学菌草研究所保藏菌株,系福建主栽灵芝品种之一.

2.2 方法

2.2.1 培养基配方 芒萁 25%、类芦 25%、象草 27%、麸皮 20%、石膏 3%,含水量 60%.

2.2.2 菌筒制作 采用 17 cm×60 cm×5.5 丝的聚丙烯塑料筒,每袋干料 1 850 g,常压灭菌后在菌筒同一侧接种,等距离接 3 穴.

2.2.3 菌丝培养 接种后一周内温度控制在 18~20 °C,1 w 后温度升到 25±1 °C,菌丝长透培养料前遮光培养.

2.2.4 出芝管理 菌丝长满培养基后 5~7 d,移至栽培场所出菇. 揭去菌筒接种口的胶布,紧挨着将菌筒横排在菌畦上,接种口朝上. 畦面上用竹篾做成宽 100 cm、高 80 cm 的拱形,上盖薄膜以保湿,棚膜用土袋压实以免空气进入.

2.2.5 蛋白质含量测定 参照《GB5009.5-2010 食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定》.

2.2.6 氨基酸含量的测定 参照《GB/T5009.124-2003 食品中氨基酸的测定》.

2.2.7 多糖含量测定 参照《食用菌中粗多糖含量的测定》.

2.2.8 总三萜含量测定 以苹果酸为对照品,采用正交实验方法,用硅胶柱进行总三萜分离,通过紫外可见分光光度法测定总三萜含量.

3 结果与分析

3.1 栽培特性

菌草栽培南 GL11 鹿角灵芝子实体生长适宜温度 17~22 °C,最低温度 14 °C,最高不超过 30 °C,在适宜温度下鹿角灵芝长得粗壮,产量提高. 温度高时最重要的是降温,使温度适宜灵芝子

实体生长, CO₂浓度尽可能高, 菇棚应遮盖严密, 遮盖的薄膜无破洞不漏气, 一般情况下在采收前不掀开薄膜, 高 CO₂浓度可抑制菌盖分化, 从而形成无菌盖的鹿角灵芝, CO₂浓度应高于 0.1%。适宜的空气相对湿度为 75%~85%, 长期超过 90%易长绿霉等杂菌。光照强度控制在 300~600 lx。适宜 pH 范围为 5.3~6.7。

从表 1 可看出, 在福州、连城、顺昌、松溪、将乐等 5 个地方栽培, 灵芝南 GL11 与韩芝 1 号进行鹿角灵芝栽培时, 灵芝南 GL11 呈鹿角状, 韩芝 1 号则为念珠状, 前者形状比后者好(图 1)。菌草鹿角

灵芝南 GL11 菌柄显著长于韩芝 1 号, 比其长 7.4%, 菌草鹿角灵芝南 GL11 菌柄直径略比韩芝 1 号粗, 但无显著差异。菌草鹿角灵芝南 GL11 鲜芝、干芝产量均显著高于韩芝 1 号, 分别比韩芝 1 号高 40.9%、21.4%, 其鲜干比分别为 2.55、2.18。不同地点菌草栽培南 GL11 鹿角灵芝, 与当地主栽品种韩芝 1 号比较, 形状好、产量高, 表明不同栽培地点只要选择其适宜生长的季节(温度), 通过控制 CO₂等栽培技术, 南 GL11 鹿角灵芝栽培能获得良好效益, 可在各地推广种植。

表 1 南 GL11 鹿角灵芝、韩芝 1 号多年多点栽培特性

Tab. 1 The cultivation characteristics of Nan-GL11 (antler-shape) and Hanzhi-1 with Juncao in multi-plot demonstration for several years

栽培地	时间/年	菌株	菌柄形状	菌柄长度/cm	菌柄直径/cm	鲜重/(g/筒)	干重/(g/筒)
福州	2010	南 GL11	鹿角状	40.8±0.6**	1.1±0.01	158.6±6.9**	62.3±1.7**
		韩芝 1 号	念珠状	38.2±0.2	1.1±0.01	111.2±3.4	51.6±1.2
连城	2011	南 GL11	鹿角状	42.4±0.9**	1.3±0.04	162.2±8.0**	67.6±2.2**
		韩芝 1 号	念珠状	38.8±0.7	1.2±0.06	111.8±3.4	46.6±3.1
顺昌	2011	南 GL11	鹿角状	40.1±0.4**	1.1±0.05	156.1±9.2**	59.2±3.6**
		韩芝 1 号	念珠状	37.6±0.3	1.0±0.05	109.8±4.1	50.9±2.3
松溪	2011	南 GL11	鹿角状	39.6±0.5**	1.0±0.00	147.2±6.6**	56.8±2.8**
		韩芝 1 号	念珠状	36.8±0.4	1.0±0.02	107.1±3.3	49.9±1.3
将乐	2012	南 GL11	鹿角状	39.8±0.3**	1.1±0.01	150.1±3.6**	57.8±3.3**
		韩芝 1 号	念珠状	37.2±0.2	1.1±0.00	109.4±4.0	50.9±1.8
平均	2010~2012	南 GL11	鹿角状	40.5±0.5**	1.12±0.02	154.8±6.6**	60.7±2.9**
		韩芝 1 号	念珠状	37.7±0.4	1.08±0.02	109.9±5.1	50.0±1.6

** 表示差异达到 $P<0.01$ 极显著水平, 下同。



图 1 菌草栽培鹿角灵芝子实体

A: 韩芝 1 号; B 和 C: 南 GL11

Fig. 1 Fruit-body of antler-shape *Ganoderma lucidum* cultivated with Juncao

A: Han Zhi-1; B and C: Nan-GL11

3.2 营养成分及有效活性成分

3.2.1 营养成分分析 从表 2、表 3 可知,韩芝 1 号的粗蛋白含量与氨基酸略高于菌草鹿角灵芝南 GL11,但差异不显著,二者氨基酸组分相同,均检出十七种氨基酸,色氨酸则可能因酸分解未能检出。

表 2 菌草栽培的南 GL11 鹿角灵芝、韩芝 1 号子实体营养及有效活性成分

Tab. 2 Nutrition and active effect components of Nan-GL11 (antler-shape) and Hanzhi-1 cultivated with Juncao

样 品	粗蛋白 /(g/100g)	氨基酸 /(g/100g)	多糖 /(g/100g)	总三萜 /(g/100g)
南 GL11	12.4±0.3	7.52±0.8	0.9±0.02**	1.08±0.03**
韩芝 1 号	12.8±0.4	8.33±0.6	0.7±0.01	0.98±0.02

表 3 菌草栽培南 GL11 鹿角灵芝和韩芝 1 号氨基酸含量

Tab. 3 The content of amino acid of Nan-GL11 (antler-shape) and Hanzhi-1 cultivated with Juncao

氨基酸	南 GL11 鹿角灵 芝/%	韩芝 1 号/%	氨基酸	南 GL11 鹿角灵 芝/%	韩芝 1 号/%
天门氨酸 Asp.	0.56	0.70	异亮氨酸 Ile	0.32	0.36
苏氨酸 Thr.	0.35	0.44	亮氨酸 Leu	0.45	0.51
丝氨酸 Ser.	0.35	0.40	酪氨酸 Tyr	0.14	0.16
谷氨酸 Glu.	0.48	0.65	苯丙氨酸 Phe	0.24	0.31
甘氨酸 Gly.	0.34	0.39	赖氨酸 Lys	0.29	0.33
丙氨酸 Ala.	0.37	0.44	组氨酸 His.	0.13	0.18
胱氨酸 Cys.	0.04	0.05	精氨酸 Arg.	0.22	0.27
缬氨酸 Gua.	0.35	0.42	脯氨酸 Pro.	0.28	0.28
甲硫氨酸 Aug.	2.61	2.44	色氨酸 Try.	—	—
总含量				7.52	8.33

3.2.2 有效活性成分分析 菌草南 GL11 鹿角灵芝的多糖比韩芝 1 号高 28.57%,其总三萜含量比韩芝 1 号高 10.2%,均差异显著(表 2)。

4 讨 论

我国是世界上最大的食、药用菌生产国,每年栽培食、药用菌需要消耗大量宝贵的林业生态资源,我国也是灵芝的主产国,是三大段木灵芝产区之一,传统的灵芝段木栽培,每年要消耗十几万立方米木材,灵芝生产与林业生态平衡之间的矛盾日益突出,灵芝的持续发展受到了严重影响,福建农林大学菌草研究所发明的“以草代木”栽培食、药用菌技术(菌草技术)从根本上解决了灵芝生产与资源紧缺、环境保护之间的“菌林矛盾”^[27]。

鹿角灵芝只有菌柄、没有菌盖也不产生孢子,所以菌草的配方和菌柄生长状况决定了鹿角灵芝的质量.在利用菌草栽培鹿角灵芝时,加入一定比例的芒萁,可延长鹿角灵芝的生长期,使其菌柄充分伸长,还能提高灵芝的硬度,这是因为,与其他菌草相比,芒萁木质素含量高.鹿角灵芝的栽培是通过控制其生长条件实现定向培育的,一般来说,主要是通过调节二氧化碳和光照强度,其中二氧化碳浓度是关键因素,高浓度的二氧化碳能抑制菌盖分化,促进菌柄生长^[27]。

多糖和三萜类化合物是灵芝的主要活性成分,其含量的高低可作为评价灵芝药用价值和品质的重要依据^[28-31].不同培养基配方、不同生长阶段,灵芝不同部位,均会影响其活性成分.张平等^[32]认为添加不同比例枇杷枝屑替代杂木屑栽培能提高灵芝的品质;刘明香等^[33]认为灵芝菌盖、菌柄、孢子中的活性成分含量存在一定的差异;李文涛等^[34]将认为灵芝生长期 8 个阶段,基质 4 部位,活性成分均有差异;郭金英等^[35]认为人工栽培灵芝和野生灵芝根据品种不同,其活性成分之间有较大的差异。

林树钱等^[36-37]对草栽灵芝和段木灵芝中的多糖成分的提取、纯化与特性及草栽灵芝多糖与活性的关系进行了比较研究,并利用沸水提取工艺把菌草灵芝多糖肽和灵芝酸分离^[27],结果表明,菌草灵芝的高分子部位多糖提取率高于段木灵芝分,草栽灵芝和段木灵芝的多糖肽具有相同的相对分子量分布及光谱,草栽灵芝与段木灵芝多糖肽的主要理化特性相似,其提取率比段木灵芝高,草栽灵芝的综合开发及产业化前景广阔.本研究也表明,南 GL11 进行鹿角灵芝生产时,形状、产量、有效活性成分均优于当前主栽品种韩芝 1 号,适宜推广栽培。

参考文献:

- [1] 赵继鼎. 中国灵芝新编[M]. 北京: 科学出版社, 1989.
- [2] 林志彬主编. 灵芝的现代研究[M]. 北京: 北京医科大学出版社, 2001.
- [3] 王赛贞, 林冬梅, 林占熿, 等. RP-HPLC 和 UV-VIS 法测定灵芝不同收获期的多糖肽和灵芝酸[J]. 药物评价研究, 2012, 35: 190.
- [4] 何晋浙, 黄霄芸, 张安强, 等. 灵芝醇提生物活性物质的指纹图谱分析及质控评价[J]. 中草药, 2011, 42: 1125.

- [5] 王赛贞, 林树钱, 林志彬, 等. 灵芝多糖肽中单糖的组成[J]. 中草药, 2007, 38: 174.
- [6] 李卫东, 林志彬. 灵芝的扶正固本及对“亚健康”者的保健作用[J]. 食用菌学报, 2016, 24: 29.
- [7] 张慧娜, 林志彬. 灵芝多糖对大鼠胰岛细胞分泌胰岛素功能的影响[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2003, 8: 265.
- [8] 游育红, 林志彬. 灵芝多糖肽对小鼠腹腔巨噬细胞一氧化氮产生的影响[J]. 中国药理学通报, 2004, 20: 1398.
- [9] 张群豪, 林志彬. 灵芝多糖 B 的抑瘤作用和机制研究[J]. 中国中西医结合杂志, 1999, 9: 544.
- [10] 雷林生, 林志彬. 灵芝多糖对老年小鼠 DNA 多聚酶 a 活性及免疫功能的影响[J]. 药学报, 1993, 28: 577.
- [11] You Y H, Lin Z B. Protective effects of *Ganoderma lucidum* polysaccharides peptide on injury of macrophages induced by reactive oxygen species [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2002, 23: 787.
- [12] 游育红, 林志彬. 灵芝多糖肽的抗氧化作用[J]. 药学报, 2003, 38: 85.
- [13] 戴玉成, 曹云, 周丽伟, 等. 中国灵芝学名之管见[J]. 菌物学报, 2013, 32: 947.
- [14] 钟孝武. 鹿角灵芝及其无公害栽培要点[J]. 中药科技中药研究与信息, 2002, 4: 23.
- [15] 邓书群. 中国的真菌[M]. 北京: 科学出版社, 1964.
- [16] 戴方澜. 中国真菌总汇[M]. 北京: 科学出版社, 1987.
- [17] 河野武平. の鹿角芝の再. シリズ「健康の科」[J]. 芝健康本, 2000, 1: 86.
- [18] 河野武平. 药用きのとβ-グルカン含有量鹿角芝の栽培程かり检する. シリズ丈「健康の科」[J]. 芝健康本, 2000, 2: 101.
- [19] 赵继鼎. 中国灵芝科的分类研究 XI. 灵芝亚属灵芝组[J]. 真菌学报, 1989, 8: 25.
- [20] 张景丽, 罗霞, 郑林用. 运用色谱指纹图谱与化学计量学方法对灵芝进行分类[J]. 色谱, 2009, 27: 776.
- [21] 罗联忠, 林树钱, 谢宝贵, 等. 23 株灵芝栽培菌种的 DNA 指纹鉴别[J]. 海峡药学, 2005, 17: 82.
- [22] 罗联忠, 林树钱, 谢宝贵, 等. 灵芝菌株的指纹分析[J]. 食用菌学报, 2005, 12: 7.
- [23] 林树钱, 刘亚凯, 钱友安, 等. 灵芝 GAP 有机栽培及其环境质量的研究[J]. 海峡药学, 2005, 17: 71.
- [24] 刘靖宇, 宋秀高, 叶夏, 等. 香菇菌株遗传多样性 ISSR、RAPD 和 SRAP 综合分析[J]. 食用菌学报, 2011, 18: 1.
- [25] 王超, 贺婷婷, 宋婷, 等. 短小芽孢杆菌遗传操作系统的建立及应用[J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2017, 54: 1083.
- [26] 陈小敏, 吴海冰, 向泉桔, 等. 香菇漆酶活性及转录表达对不同温度的响应特征[J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2019, 56: 155.
- [27] 林占熿. 菌草学[M]. 北京: 中国行政学院出版社, 2014.
- [28] 陈颖, 林占熿, 林树钱. 不同原料栽培的灵芝子实体形态结构及活性多糖肽成分的研究[J]. 海峡药学, 2007, 19: 65.
- [29] 林树钱, 王赛贞, 林志彬, 等. 草栽灵芝多糖肽提取条件研究[J]. 食用菌学报, 2003, 10: 33.
- [30] Gimm T, Wiese M, Teschemacher B, *et al.* Hypoxia-inducible protein 2 is a novel lipid droplet protein and a specific target gene of hypoxia-inducible factor-1 [J]. *FASEB J*, 2010, 24: 4443.
- [31] 石凤敏, 佟曦然, 丁自勉, 等. 三种灵芝不同部位的活性成分含量差异性分析[J]. 中国医药科学, 2013, 21: 33.
- [32] 张平, 陈丰, 赖腾强, 等. 枇杷枝屑代料栽培灵芝对其主要活性成分的影响[J]. 中药材, 2015, 38: 2464.
- [33] 刘明香, 林忠宁, 陈敏健. 茶枝屑代料栽培对灵芝生物转化率和质量的影响[J]. 福建农业学报, 2011, 26: 742.
- [34] 李文涛, 余梦瑶, 魏巍, 等. 栽培灵芝生长周期内物质的变化规律及其机制研究[J]. 中草药, 2014, 45: 552.
- [35] 郭金英, 朱优优, 刘贵巧, 等. 不同品种灵芝主要活性成分与营养物质比较分析[J]. 北方园艺, 2017, 17: 177.
- [36] 林树钱, 王赛贞, 林志彬, 等. 草栽与段木栽培的灵芝活性成分的分离与鉴定 I. 多糖肽成分的提取、纯化及性质[J]. 中草药, 2003, 34: 33.
- [37] 王赛贞, 林冬梅, 林占熿, 等. RP-HPLC 和 UV-VIS 法测定灵芝不同收获期的多糖肽和灵芝酸[J]. 药物评价研究, 2012, 35: 190.

引用本文格式:

中文: 林兴生, 林占熿, 林辉, 等. 菌草鹿角灵芝新菌株栽培特性及活性成分分析[J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2020, 57: 181.

英文: Lin X S, Lin Z X, Lin H, *et al.* Analysis of cultivation characteristics and active components of the new strain of antler-shape *Ganoderma lucidum* with juncao [J]. *J Sichuan Univ: Nat Sci Ed*, 2020, 57: 181.