

野生灵芝的驯化栽培技术

初 洋¹, 倪新江¹, 陈 鹏², 李 洁¹

(1. 烟台大学 化学生物理工学院, 山东 烟台 264005; 2. 烟台大学 海洋学院, 山东 烟台 264005)

摘 要:通过对野生灵芝进行组织分离、菌种筛选、纯化复壮、栽培试验, 得到产量高抗性强的灵芝菌株, 进行推广栽培及仿野生栽培不仅可以取得一定的经济效益还能对野生灵芝资源种群及生物遗传多样性进行保护。

关键词:野生灵芝; 组织分离; 驯化栽培; 仿野生栽培

中图分类号:S 567.3⁺1 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2010)17-0217-02

灵芝(*Ganoderma lucidum*)属于多孔菌科灵芝属, 是一种名贵的药用真菌。灵芝中含有多种活性成分如多糖、甾类、三萜类、碱基、核苷、硬脂酸、苯甲酸、虫漆酸、有机锗以及多种生物碱等^[1]。灵芝有调节免疫^[2]、抗肿瘤、抗癌^[3]、改善血液循环, 滋补、健脑、强壮、消炎、利尿等功效。我国野生灵芝资源丰富, 大部分林区均有分布, 据记载有 90 多种, 分布于国内 23 个省市, 14 种已被开发利用。随着灵芝市场需求的快速增长, 野生灵芝资源已遭到过度采摘和破坏, 有的品种已濒临灭绝, 目前各灵芝产区应加大保护力度, 有序开采, 严禁乱采乱挖以保护野生灵芝种群及生物遗传多样性, 另外可通过对野生灵芝的引种驯化栽培和仿野生栽培等技术手段进行合理开发利用。现通过多年的试验探索, 对野生灵芝分离、纯化、栽培形成完整的技术方案, 供生产参考。

1 野生灵芝的菌种分离及筛选

1.1 培养基配制

野生灵芝组织分离采用 PDA 培养基, 配方: 马铃薯 200 g, 葡萄糖 20 g, 琼脂 20 g, 水 1 000 mL。将马铃薯切片加水煮沸 30 min, 4 层纱布过滤后定溶至 1 000 mL, 在滤液中加入琼脂、葡萄糖, 分装到 18 mm×180 mm 试管中, 121℃ 灭菌 0.5 h 后摆斜面。

1.2 野生灵芝的组织分离

选取野外采摘的幼嫩灵芝子实体用无菌水清洗表面, 然后用 75% 酒精棉球进行表面消毒, 在超净工作台内(如无超净台可在自制的简易接种箱内)用灭菌的手

术刀将灵芝菌盖从中间分开, 将菌盖内部菌肉分割成 5 mm 见方的小块, 用灭菌的镊子将菌块接种到 PDA 斜面培养基上。接种后放入 25℃ 恒温培养箱培养。

1.3 菌种筛选

分离接种 3~5 d 后可见菌块周围长出白色菌丝并开始培养基上蔓延生长, 去除杂菌污染的试管, 10~15 d 后可长满试管斜面。筛选出菌丝洁白浓密、气生菌丝多的试管进行继代培养。

1.4 菌种继代培养

继代培养可采用 PDA 培养基和棉籽壳培养基。棉籽壳培养基配方^[4]为: 棉籽壳 100 g, 麦麸 10 g, 葡萄糖 20 g, 琼脂 20 g, 水 1 000 mL, 将棉籽壳、麦麸文火煮 50 min, 4 层纱布过滤后定溶至 1 000 mL, 其它步骤同 PDA 培养基。将筛选出的分离菌种无菌分割成 5 mm×7 mm 菌块接种到继代培养基上, 25℃ 恒温培养 7~10 d 可长满试管斜面, 如此继代培养 2~3 次, 每次都去除杂菌污染的菌种, 筛选出长势好的菌种, 可作为栽培用的母种。

2 引种的野生灵芝栽培试验

菌种分离成功后为鉴定菌种纯度及验证是否具有出芝能力, 需要进行出芝试验, 并且通过试验筛选出产量高、抗病抗杂能力强的菌株。

2.1 原种及栽培种的制作

2.1.1 原种及栽培种配方 ①棉籽壳培养基: 棉籽壳 78%, 麦麸 20%, 蔗糖 1%, 石膏 1%。②木屑培养基: 阔叶木屑 78%, 麦麸 20%, 蔗糖 1%, 石膏 1%。③玉米粒培养基: 玉米粒 97%, 蔗糖 1%, 石膏 1%, 碳酸钙 1%。④麦粒培养基: 麦粒 97%, 蔗糖 1%, 石膏 1%, 碳酸钙 1%。

2.1.2 原种的制作及接种 配方①、②的制作方法: 将培养料混匀, 按料: 水=1:1.5 加水拌匀后装入 500 mL

第一作者简介: 初洋(1972-), 男, 吉林省吉林市人, 硕士, 高级实验师, 现主要从事食用菌栽培及生理生化的教学及科研工作。

基金项目: 烟台大学青年基金资助项目(HY09Z5)。

收稿日期: 2010-05-25

罐头瓶,用聚丙烯薄膜封口,121℃灭菌 1.5 h。配方③、④的制作方法:分别将玉米粒和麦粒煮至无白心捞出稍晾干后加入其它材料拌匀后装入 500 mL 罐头瓶,用聚丙烯薄膜封口,121℃灭菌 1.5 h。原种瓶灭菌冷却后在超净工作台内接入灵芝母种,25℃恒温培养 30~40 d 可长满瓶。

2.1.3 栽培种制作 如果大规模栽培要制作栽培种,小规模栽培可直接用原种接种,栽培种可用 33 cm×17 cm×0.05 cm 的聚丙烯塑料袋,制作同原种,121℃灭菌 2 h,冷却后在超净工作台内接入原种,25℃恒温培养 40 d 可长满袋。

2.2 栽培袋的制作

2.2.1 栽培料配方 ①棉籽壳培养基:棉籽壳 83%,麦麸 15%,蔗糖 1%,石膏 1%。②木屑培养基:阔叶木屑 83%,麦麸 15%,蔗糖 1%,石膏 1%。③棉籽壳木屑培养基:棉籽壳 45%,阔叶木屑 38%,麦麸 15%,蔗糖 1%,石膏 1%。④段木培养基:将直径 10 cm 的阔叶树干截成 30 cm 的木段。

2.2.2 栽培料培养基配制及接种 ①②③拌料同原种,配制后装入 33 cm×17 cm×0.05 cm 的聚丙烯栽培袋,每袋装折合干料 500 g 左右。④用水浸泡后装入聚丙烯袋,121℃灭菌 2 h,冷却后在超净工作台内接入原种或栽培种,25℃恒温培养 30~45 d 可长满袋。

2.3 出芝试验

2.3.1 出芝条件及方法 菌丝满袋后转入菇房出芝,菇房可选择日光温室、塑料大棚或半地下式拱棚。出芝温度控制在 25~30℃,空气湿度 80%~90%,要有遮光设施,光照控制在三分阳七分阴,定时通风。出芝方式可采用直接开袋出芝和开袋覆土出芝 2 种方法。直接开袋出芝是菌袋移入菇房后结开扎袋口绳,留少许缝隙,当有原基出现后逐渐结开袋口,可顺利出芝,缺点是菌棒容易失水,补水困难。覆土法是在菇房内开挖 3 m×0.8 m×0.5 m 的畦,将菌袋脱去袋膜竖直放入,菌棒间留 3~5 cm 间隙,用含腐殖质的园田土填实,浇透水后覆 3 cm 细土,10~20 d 后可出芝。

2.3.2 菌株的筛选 栽培出芝后筛选出生长快、抗污染能力强、产量高的菌株作为推广栽培的品种。还可以根据不同的应用目的进行筛选。如作为药材食用可选择产量高菌盖大菌肉厚的菌株;如制作盆景可选择菌柄长菌盖形状和颜色好的菌株;如以采收孢子为目的可选择产孢量大的菌株。对筛选出的菌株再进行 2~3 次栽培试验以确定性状的稳定性后可推广生产。

3 引种的野生灵芝菌种复壮

菌种长期保存后生活能力下降,影响质量和产量。

为了确保菌种的优良性状和较强的适应能力,要进行复壮。

3.1 低温保藏菌种及时转管

菌种放在 4℃冰箱中保藏,使菌种处于较低的生命活动水平,每隔 4 个月转管 1 次,转管后再继续低温保藏或使用。转管时可经常更换培养基配方,适时变换培养基成分和比例,既可增强菌种活力,促进良种复壮,又可提高菌种成活率,提高产量。

3.2 组织分离提纯复壮法

继代保藏的菌种转管超过 6 次以上会出现退化现象,可在栽培中选择性状稳定、抗杂菌能力强、产量高的菌株进行组织分离,以达到长期保藏菌种的目的。

3.3 孢子分离提纯复壮法

选取即将产孢子的子实体一小块菌褶朝下用铁丝悬于无菌三角瓶口,孢子弹射后用无菌水稀释,接种到 PDA 平板上培养,孢子萌发后挑取单孢子初生菌丝在 PDA 平板上进行配对,选取亲和交配型,经检验为双核菌丝的,移接试管中成为母种。再进行栽培试验筛出性状稳定的菌株。

4 灵芝的仿野生栽培

仿野生栽培是将培养室内发好菌的栽培袋在自然条件下利用山间林地进行人工栽培出芝,其产品具有野生灵芝的外观和颜色,由于是从野外分离的菌种更适合当地的气候环境因此可获得高产,并且会积累更多的干物质,提高药用活性成分的含量。

4.1 菌袋的制作和培养

培养料及菌袋制作、发菌培养同栽培试验。

4.2 栽培方法

栽培季节选择 5~7 月份温度稳定在 25~30℃时进行。栽培场地要求排水通风良好,光照为三分阳七分阴的林下。开挖 3 m×0.8 m×0.5 m 的畦,将发好菌的菌棒脱去袋竖放入畦内,菌棒间留 3~5 cm 间隙,用土填实,浇透水后覆 3 cm 细土,畦上搭建塑料小拱棚以利于保温保湿,光照强时可用遮阳网覆盖。管理时注意保持好温度、湿度并及时通风,10~20 d 可出现原基,再过 20 d 左右菌盖完全展开时采收。

参考文献

- [1] 简丽,方能虎,吴旦. 灵芝的主要生物活性研究概况[J]. 中国食用菌, 2002,21(3):38-40.
- [2] 章灵华,王会贤,王立为,等. 灵芝孢子粉提取物在体内外的免疫效应[J]. 中国免疫学杂志,1994,10(3):169-72.
- [3] 赵东旭,王利波,杨新林,等. 灵芝子实体抗肿瘤成分提取的研究[J]. 北京理工大学学报,1999,19(6):782-786.
- [4] 初洋,倪新江. 灵芝培养基的筛选[J]. 安徽农业科学,2008,36(5):1924-1925.