

温度对蛹虫草生长的影响^{*}

杜双田^a,周锋利^a,陈德育^b

(西北农林科技大学 a 林学院, b 生命科学学院, 陕西 杨凌 712100)

[摘 要] 蛹虫草是一种珍贵的药、食同源大型真菌,其市场需求量日益增加。为了实现蛹虫草的工厂化生产,采用正交多项式回归分析法构建数学模型,揭示了温度对蛹虫草菌丝生长速率、菌丝长势、菌丝转色、子座分化、子座生长及产量的影响规律。结果表明,蛹虫草菌丝生长速率最大时的环境温度为 22.7,转色的最佳温度为 20.2,子座分化的最佳温度为 18.1;在人工栽培时,适宜的发菌温度为 15~18,子座生长的适宜温度为 14~17。该研究结果为蛹虫草规模化生产的环境控制提供了依据。

[关键词] 蛹虫草;生长规律;数学模型;培养温度

[中图分类号] S567.3⁺9

[文献标识码] A **[文章编号]** 1671-9387(2007)05-0159-04

Studies of temperature influences on *Cordyceps militaris* growth

DU Shuang-tian^a, ZHOU Feng-li^a, CHEN De-yu^b

(a College of Forestry; b College of Life Science, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: The market requirement of *Cordyceps militaris*, a valuable edible and medicinal fungus, is increasingly growing. A mathematic model is established by adopting orthogonal polynomial regression method to study the effects of temperature on hypha growth rate, development, and stroma differentiation, growth, and yield of *Cordyceps militaris*. The results show that the optimal temperature for the hypha growth, hypha color turned, and stroma differentiation is 22.7, 20.2 and 18.1, respectively, and the appropriate temperature for the hypha and stroma growth under artificial culture is 15 - 18 and 14 - 17, respectively. The research provides scientific basis for the production of *cordyceps militaris* on a large scale.

Key words: *Cordyceps militaris*; growth regulation; mathematics model; culture temperature

虫草药用源于中国,其中以中华冬虫夏草 [*Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc.] 最为著名。中华冬虫夏草以其独特的补益强壮、抗衰老作用在国内、外享有盛誉,从古至今激起人们极大的研究兴趣。但冬虫夏草的规模化生产技术仍未取得重大突破,目前难以实现规模化生产。随着人们对冬虫夏草神奇功能的不断认识及生活水平的提高,冬虫夏草的用途日益广泛,用量越来越大,从而导致对冬虫夏草野生资源的过度采集。蛹虫草对寄主要求不严,易

在人工培养基上形成子座,栽培原料来源充足,不受季节限制,生产成本相对较低,同样具有抗疲劳、抗衰老、抗缺氧的作用,可增强非特异性免疫及巨噬细胞的吞噬功能,同时具有明显抑制 S180 艾氏腹水瘤的效果^[1-4],是冬虫夏草的良好替代产品^[5-7],也是近年来新开发的一种重要的真菌营养源及药源。

关于蛹虫草 [*Cordyceps militaris* (L. ex Fr.) Link] 的人工栽培研究始于 1986 年,二十多年来,虽然方法不断改进,但由于影响蛹虫草人工栽培的因

^{*} [收稿日期] 2006-04-04

[基金项目] 陕西省农业科技攻关项目 (2002 K04-G05-4)

[作者简介] 杜双田 (1961 -), 男, 陕西扶风人, 副教授, 主要从事食用与药用真菌研究

[通讯作者] 周锋利 (1976 -), 陕西扶风人, 助理研究员, 主要从事林业资源研究。

素很多,其人工栽培技术在我国仍未得到普及推广。有关蛹虫草的子座分化、发育机理和遗传学基础尚不清楚;菌种保藏困难,子座生产的产量低而不稳等,仍是规模化生产面临的关键问题。为了提高蛹虫草的子座产量、便于规模化生产,本试验就温度对蛹虫草生长的影响规律进行了系统研究,以期对蛹虫草子座工厂化生产的环境控制提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌种 供试菌种由西北农林科技大学林学院资源利用研究所提供,菌种编号为 CDM-003。

1.1.2 栽培原料 本研究的主要栽培原料有大米、蚕蛹粉、蛋白胨、富硒添加剂 号等。

1.1.3 栽培容器 试验栽培容器为 400 mL 的玻璃罐头瓶。

1.1.4 基础培养基 含马铃薯 200 g,葡萄糖 20 g,蛋白胨 10 g,蛹虫草富硒添加剂 号 5 g,水 1 000 mL, pH 6.5~7.0。

1.2 方法

1.2.1 菌种的活化 将保存的斜面菌种在基础培养基上转接 2 次,再转接到平板培养基上,待菌丝体长满平板后备用。

1.2.2 温度对蛹虫草菌丝生长速率与长势的影响 采用基础培养基加琼脂 20 g 制成平板培养基,将活化的菌种定量接种于平板培养基上,分别于 5, 10, 15, 20, 25 和 30 的温度条件下培养,每处理重

复 3 次,每重复 50 瓶,每瓶接种量为 5 mL;为了计算方便,以培养第 5 天的菌落直径衡量菌丝的生长速率,并对菌落气生菌丝的长势进行评分,建立温度对蛹虫草菌丝生长速率及菌丝长势的数学模型。

1.2.3 温度对蛹虫草菌丝转色、子座分化的影响 采用大米培养基按常规方法栽培^[8]。将发满菌丝的栽培瓶分别置于 (15 ± 1) , (18 ± 1) , (21 ± 1)

及光照强度 800~1 000 lx 的条件下进行转色管理,每处理重复 50 瓶,定期调换栽培瓶的位置,以便光照均匀。在试验的第 10 天,对栽培瓶内菌丝的转色情况与菌丝转色的实验室标准进行对照,以划分转色与非转色,以转色瓶数与试验瓶总数的比率作为蛹虫草的转色率;在试验的第 25 天记载每个处理中形成子座的瓶数,以形成子座的瓶数占试验瓶总数的比率作为子座的分化率。

1.2.4 温度对子座生长的影响 选择子座分化均匀、生长健壮、长度在 1~2 cm 的蛹虫草 150 瓶,随机分为 5 组,分别置于 (14 ± 1) , (17 ± 1) , (20 ± 1) 和 (25 ± 1) 的条件下培养,记录从试验开始到采收的时间,以瓶内 50%子座顶端膨大为采收标准。

1.2.5 数据处理 对试验原始数据 $(\bar{x})$ 剔除 $(\bar{x}) \pm 2\sigma$ 以后,再求其平均数即为试验结果。采用正交多项式回归计算回归方程^[9]。

2 结果与分析

2.1 温度对蛹虫草菌丝生长速率的影响 试验结果见表 1。

表 1 温度对蛹虫草菌丝生长速率的影响

Table 1 Effects of temperature on *Cordyceps militaris* growth rate

mm

试验编号 Number	温度/ Temperature	实际值(y_1) Actual	预测值(y_1) Theory	试验编号 Number	温度/ Temperature	实际值(y_1) Actual	预测值(y_1) Theory
1	5	1.0	1.09	4	20	21.5	21.79
2	10	1.8	1.39	5	25	27.0	22.39
3	15	13.0	11.56	6	30	8.5	3.59

根据表 1 数据,经计算得到发菌温度(x_1)与蛹虫草菌丝生长速率(y_1)的数学模型:

$$y_1 = -0.013x_1^3 + 0.587x_1^2 - 6.47x_1 + 20.39 \quad (1)$$

由方程(1)可得图 1 及 y_1 的预测值 y_1 (见表 1)。

根据函数极值判别原则^[10],方程(1)在(15, 30)范围内有极大值:

$$x_{1\max} = 22.7, y_{1\max} = 23.94 \text{ mm}。$$

即培养环境温度为 22.7 时,菌丝的生长速率最大,为 23.94 mm。

根据以上计算及图 1 可见:(1)蛹虫草在温度为

5~10 时,菌丝生长缓慢,此温度范围有利于菌种保藏;当温度 ≥ 10 时,随着温度的升高,菌丝生长速率迅速增大,在 22.7 时达到最大值,在温度为 22.7~25 时,生长速率缓慢下降;当温度 > 25 时,菌丝生长速率迅速下降。(2)由方程(1)可见,菌丝生长速率与温度呈三次函数关系,表明蛹虫草菌丝生长速率对温度非常敏感,这就要求在实际栽培蛹虫草时要严格控制温度,特别是立体栽培时,要加强循环风,使培养架上下温差减小,以便达到生长整齐、子座分化一致,利于生产管理。

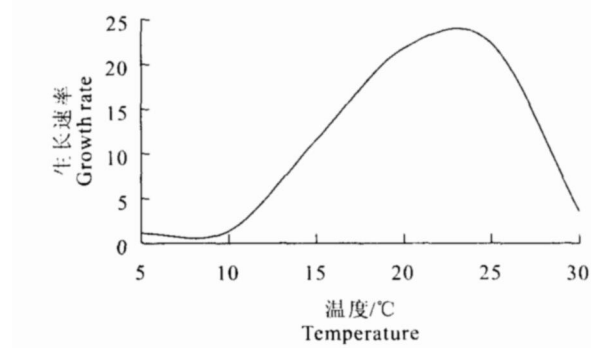


图 1 蛹虫草培养温度与菌丝生长速率的关系
Fig.1 Relationship between *Cordyceps militaris* growth rate and culture temperature

2.2 温度对蛹虫草菌丝长势的影响

菌丝长势是反映气生菌丝的生长密度、长度、洁白度等性状的一个综合指标。

试验结果表明,在 15 以下时,菌丝生长较慢;在 15~18 时,菌丝长势最好;在 20~25 时,长势较好。因此,在栽培蛹虫草时,最好将发菌温度控制在 15~18 ,在此温度范围内,蛹虫草菌丝生长较快、长势好,有利于控制杂菌生长,也有利于提高接种与发菌的成功率。

2.3 温度对蛹虫草菌丝转色和子座分化的影响

试验结果见表 2。

表 2 温度对蛹虫草转色及子座分化率的影响

试验编号 Number	温度 (x ₂) / Temperature	转色率/ % Hypha color turned		子座分化率/ % Differentiation rate of stroma	
		实际值 (y ₂)	预测值 (y ₂)	实际值 (y ₃)	预测值 (y ₃)
		Actual	Theory	Actual	Theory
1	15	10.1	11.63	16.3	16.55
2	18	55.4	56.92	48.9	47.69
3	21	63.7	65.21	24.4	22.59

2.3.1 温度对菌丝转色的影响 为了模拟温度 (x₂) 与菌丝转色率 (y₂) 之间的函数关系,借助 N = 3 的正交多项式回归计算结果得:

$$y_2 = -769.86 + 82.933x_2 - 2.0556x_2^2 \quad (2)$$

S_回 = 1 664.65 = S_总,表明三点均在曲线上。

对方程(2)求导得:

$$\frac{dy_2}{dx_2} = 82.933 - 4.111x_2 = 0,$$

$$x_{2max} = 20.17,$$

将此值代入方程(2)得:

$$y_{2max} = 66.62\%.$$

计算结果表明,当温度在 20.17 时,最有利于蛹虫草菌丝转色,第 10 天的转色率为 66.7 %。

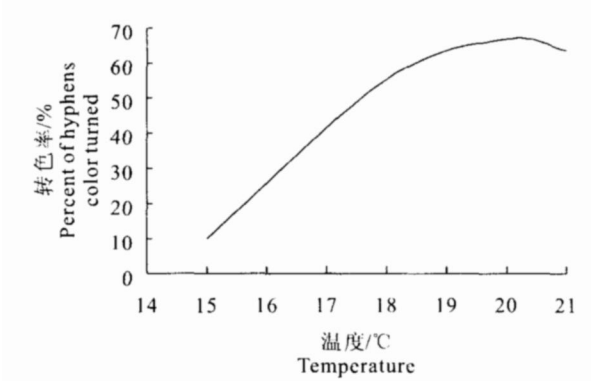


图 2 温度与蛹虫草菌丝转色率的关系
Fig.2 Relationship between temperature and hyphens color turned rate

根据方程(2)绘制出图 2。由图 2 可见,随着温度升高,人工光照后第 10 天蛹虫草菌丝的转色率也随着升高;当温度为 20.17 时,转色率最高;当温度 > 20.17 时,转色率逐渐降低,不利于转色。

2.3.2 温度对子座分化率的影响 按 2.3.1 方法计算得温度 (x₂) 与子座分化率 (y₃) 的回归方程:

$$y_3 = -1000.821 + 115.35x_2 - 3.1722x_2^2 \quad (3)$$

对方程(3)求导得: x_{2max} = 18.1 。表明,蛹虫草 CMD-003 菌株在培养温度为 18.1 时,最有利于子座分化。

根据方程(3)可绘制出图 3。

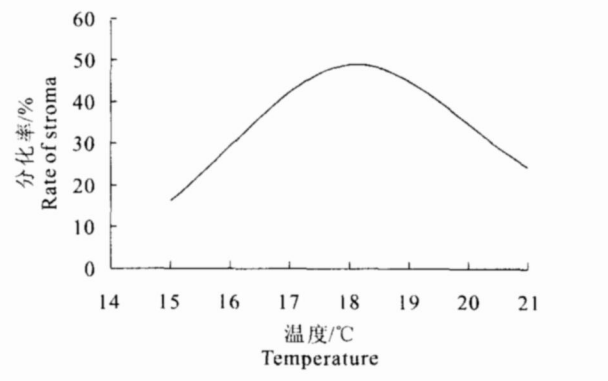


图 3 温度与蛹虫草子座分化率的关系
Fig.3 Relationship between temperature and stroma differentiation rate

由图 3 可知,蛹虫草菌孢子座形成的适宜温度为 $16.5 \sim 19.5$,最适温度为 18.1 。因此在蛹虫草生产中,出草期尽量将环境温度控制在 $16.5 \sim 19.5$,以便出草整齐,提高产量,便于管理。

2.4 温度对蛹虫草子座生长的影响

蛹虫草子座形成之后生长很快,在温度为 (25 ± 1) 时, $8 \sim 11$ d 顶端膨大,便可以采收,其子座的长度一般为 $5 \sim 8$ cm;在生长温度为 (20 ± 1) 时,子座生长较慢, $15 \sim 20$ d 顶端膨大,成熟期推迟,但子座的长度可达到 $8 \sim 10$ cm;在生长温度为 (17 ± 1) 时,子座的生长期为 30 d 左右,长度可达到 $10 \sim 12$ cm;在生长温度为 (14 ± 1) 时,蛹虫草子座生长 50 d 顶端仍未膨大,此时子座的顶端与下部等粗,子座长度一般大于 12 cm,少数达到 16 cm 以上,子座直径达到 $5 \sim 12$ mm。因此,在蛹虫草生长期,为了提高产量,增加子座的长度及直径,在子座长度达到 $1 \sim 2$ cm 时,降低环境温度至 $14 \sim 16$,这对增加子座的个体体积、提高子座商品价值十分有利。

3 结论与讨论

蛹虫草属于中低温菌类,高温不利于蛹虫草的生长繁殖。因此,在人工培养蛹虫草子座时,选择在深秋至次年的 3 月栽培比较节能,在进行周年生产时必须有良好的设施及温度控制系统。

本研究结果表明,蛹虫草的菌丝生长速率与生长环境温度呈三次函数关系,表明蛹虫草菌丝生长对温度十分敏感,即微小的温度变化就会引起较大的生理效应。从回归方程可知,蛹虫草菌丝生长的最佳温度为 22.7 。但从蛹虫草菌丝长势来看, $15 \sim 18$ 培养的菌丝长势最好,气生菌丝旺盛、浓密、洁白、不易转色,表明 $15 \sim 18$ 最有利于发菌。因为在生长温度较低时,菌丝的生长速率虽有所降低,但分枝较多,单位栽培料中的菌丝量增加,生长旺盛,对提高后期子座产量十分有利。但低温条件下,发菌期较长,对设备的利用率有一定影响。因此在进行蛹虫草工厂化栽培时,要合理调节菌丝体培养温度,在不影响产量的前提下,尽量缩短生产周期,提高经济效益。

蛹虫草菌丝转色的最适温度为 20.17 ,高温和低温都不利于转色,转色的温度范围($18 \sim 21$)比较窄。因此在进行规模化生产时,一定要控制好

菌丝转色温度。在生产中,菌种的质量也是影响转色的重要因素,优良的菌种只要温度适宜都能转色,但转色时间和转色效果是影响蛹虫草子座产量的关键,与子座分化的数量和时间有很大关系。适时转色的蛹虫草,子座形成早、数量多、产量高,反之子座形成时间推迟、数量少、产量低。转色困难的菌种一般难以形成子座,即使能形成子座产量也很低。

蛹虫草子座分化最适温度为 18.1 ,稍低于转色温度,表明在温度管理上适当的变温是提高产量的重要措施之一。蛹虫草子座生长温度为 $23 \sim 25$

时,子座生长很快,一般 $10 \sim 15$ d 就可采收,但子座短小,产量较低,商品性差;生长温度为 $14 \sim 17$ 时,子座生长缓慢,可维持生长期 $30 \sim 50$ d,形成的子座粗而长,产量高,商品性好。因为在低温条件下,子座不易形成子囊孢子,推迟了成熟时间,延长了子囊座的生长期,因此形成了较大的子囊果。

综上所述,蛹虫草对温度比较敏感,不同的生长阶段对温度要求不同,在生产中适宜于分阶段变温管理。

致谢:陕西省经济植物资源开发利用重点实验室对本研究给予了大力支持,在此谨表谢意!

[参考文献]

- [1] 王宝贵,张桂英,赵林伊. 柞蚕蛹虫草对黑腹果蝇寿命的影响[J]. 中国老年学杂志,2002,22(2):148-150.
- [2] 林群英,宋 斌,钟月金,等. 蛹虫草人工栽培条件优化研究[J]. 中国食用菌,2006,25(6):17-19.
- [3] 陈国刚,徐承智,贡成良,等. 人工培育家蚕蛹虫草海宁株的药学研究[J]. 应用与环境生物学报,2005,11(4):453-458.
- [4] Won S Y, Park E H. Anti-inflammatory and related pharmacological activities of cultured mycelia and fruiting bodies of *Cordyceps militaris* [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2005, 96(3):555-561.
- [5] 刘贵巧. 培养基的成分、数量对蛹虫草生物转化率和品质的影响[J]. 中国种业,2005(8):41-42.
- [6] 王建芳,杨春清. 蛹虫草有效成分及药理作用研究进展[J]. 中医药信息,2005,22(5):30-32.
- [7] 刘 洁,杨 旭,陈 正,等. 蚕蛹虫草镇静及性激素样作用的研究[J]. 白求恩医科大学学报,1994,20(1):14-16.
- [8] 杜双田,贾探民. 蛹虫草灰树花天麻高产栽培新技术[M]. 北京:中国农业出版社,2002:52-56.
- [9] 任露泉. 试验优化技术[M]. 北京:机械工业出版社,1986:173-175.
- [10] 惠淑荣,吕永震. 高等数学[M]. 北京:中国农业出版社,2002:92-97.