

80种中草药对松茸 T₂ 菌株生长的影响

周云 黄继翔 牛天贵

(中国农业大学 食品科学与营养工程学院, 北京 100083)

摘要 研究了80种中草药浸提液对培养基中松茸 T₂ 菌株生长的影响。结果表明:其中50种中草药对 T₂ 菌株生长抑制率高于10%,26种的影响较小。天葵子、白豆蔻、鱼腥草和雷公藤4种中草药对 T₂ 菌株生长有显著促进作用,增长率均高于10%,其中天葵子组 T₂ 菌株的增长率为22.55%。认为从中草药中可找到促进松茸 T₂ 菌株生长的物质,这4种中草药有效成分中都含有单萜烯类和多环二萜类物质,这些物质在松属植物中含量均十分丰富,很有可能是刺激松共生菌松茸 T₂ 菌株生长的物质。

关键词 中草药; 松茸; 生长

中图分类号 S 646.15

文章编号 1007-4333(2005)06-0066-03

文献标识码 A

Effects of different herbs on mycelium growth of *Tricholoma matsutake* T₂

Zhou Yun, Huang Jixiang, Niu Tianguai

(College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

Abstract The effects of 80 kinds of herbs on mycelium growth of *T. matsutake* T₂ were investigated in this paper. The results showed that 50 kinds of herbs among them had inhibitory effect on mycelium growth with restraining rates above 10%; 26 kinds of herbs had less effect; while only 4 of them (*Semigaguilegia adoxoides* Makino, *Amomun kravanh*, *Houttuynia Cordata* Thunb and *Tritergium Wilfordii*) remarkably accelerated mycelium growth with increasing rates higher than 10%. Compared with the control experiment, the highest increasing rate was 22.55%. The results indicated that the substances that stimulated mycelium growth of *T. matsutake* T₂ could be found in the herbs. Furthermore these herbs contain some monoterpeneoids or poly-cyclic diterpenoids that are abundant in *Pinus*. These substances are probably the stimuli to mycelium growth of *T. matsutake* T₂.

Key words herbs; *Tricholoma matsutake*; mycelium; growth

松茸 (*Tricholoma matsutake* (S. Ito et Imai) Sing) 又名松口蘑, 属担子菌纲、伞菌目、口蘑属^[1-2]。松茸是一种具有极高经济价值且与松属植物共生的外生菌根菌, 生态习性十分特殊, 迄今不能完全实现人工栽培^[3]。过度采挖和自然环境的破坏导致松茸产量逐年下降, 故其人工驯化栽培研究受到广泛关注。松茸菌株在实验室条件下生长缓慢, 其营养生理研究一直是松茸研究的热点问题之一。有文献报道: 松树根和松茸菌窝土壤的乙醇提取物能显著促进松茸菌株生长^[4]; 核苷和核苷酸能促进松茸菌

株的生长, 而植物的生长素和细胞分裂素对松茸菌株生长没有影响^[5]; 玉米纤维热水浸提物能促进松茸菌株生长^[6]。李映怀等在食用菌培养基中添加黄芪成功生产出新型功能性食用菌“北芪神菇”(专利号: 93101866.8)。中草药不仅在自然界中分布广泛、种类繁多, 且具有多种生理功能, 但其对松茸菌株生长影响的研究尚未见报道。笔者拟通过80种中草药对松茸 T₂ 菌株生长影响的研究, 从中草药中寻找促进松茸菌株生长的物质。

收稿日期: 2005-03-07

作者简介: 周云, 硕士研究生; 牛天贵, 教授, 博士生导师, 主要从事食品微生物学研究, E-mail: niutianguai@163.com

1 材料与方法

1) 菌株。

T. mastutake T_2 , 中国农业大学生物学院提供(已经过遗传分析和 DNA 鉴定)。由于我国目前无专门的松茸菌保藏机构, 笔者未能得到参考菌株。

2) 培养基。

基本培养基: PDA 培养基加入 0.5% (体积分数) 酵母浸膏, HCl (1 mol/L) 或 KOH (10% (体积分数)) 调节 pH 至 5.5, 121 °C 灭菌 20 min。

中草药培养基: 为将来生产使用, 从经济、实用和方便等方面考虑, 初步研究选用了 80 种中草药(均购自北京同仁堂药店)。80 种中草药分别按以下方法进行处理: 称取 10 g 药材, 加入 150 mL 蒸馏水, 室温浸泡 12 h, 水浴锅加热至 100 °C, 保持 30 min, 过滤, 滤液浓缩或定容至 100 mL, 为药材提取液。将药材提取液加入基本培养基, 提取液与基本培养基体积比为 1:9, 121 °C 灭菌 20 min, 在 7 cm 培养皿中加入 10 mL 待用。

3) 接种与培养。

取在基本培养基平板上生长 50 d 的菌落, 用内径 8 mm 的打孔器在其边缘打孔, 取下 1 个菌株块接入中草药培养基平板中央, 22 °C 培养, 以基本培养基平板作为对照, 每个处理设 4 个重复。

4) 生长量的测定。

在培养 30 d 菌落尚未长满培养皿时, 测量菌落直径, 按“米”字形取 4 个方向直径的平均值^[7]。

菌株生长量 = 菌落平均直径 - 8

5) 增长率和抑制率的计算。

增长率 =

$$\frac{\text{处理组生长量平均值} - \text{对照组生长量平均值}}{\text{对照组生长量平均值}} \times 100\%$$

抑制率 =

$$\frac{\text{对照组生长量平均值} - \text{处理组生长量平均值}}{\text{对照组生长量平均值}} \times 100\%$$

2 结果与讨论

2.1 对 T_2 菌株生长具有显著抑制作用的中草药

在供试的 80 种中草药中, 有 50 种对 T_2 菌株的生长抑制率在 10% 以上, 其中生长抑制率为 100% 的有 22 种: 款冬花、吴茱萸、秦皮、石见穿、三颗针、黄连、五倍子、金樱子、黄芪、川渔柏、旋覆花、黄柏、黄芹、桑叶、覆盆子、石榴皮、西洋参、甘草、厚朴花、

金沸草、牡丹皮和地丁, 在这些中草药培养基上, 培养 30 d 后 T_2 菌株没有生长; 抑制率在 70% 以上的中草药有芦根和桂皮; 抑制率 50% ~ 70% 的有金莲花和零陵香; 抑制率 30% ~ 50% 的有 6 种: 牛膝、羌活、秦艽、茜草、广防己和五加皮; 抑制率 10% ~ 30% 的有 18 种: 杜仲、龙葵叶、淡豆豉、瞿麦、连翘、凤尾草、木鳖子、猫眼草、海藻、薤白、鸡冠花、凌霄花、生蒲黄、土贝母、黄药子、枸杞子、紫苏叶和青蒿。

对 T_2 菌株生长具有抑制作用的中草药中, 黄连、黄柏、黄芹、三颗针等含有小檗碱; 款冬花、金樱子、黄芪、旋覆花、桑叶、西洋参、甘草、覆盆子等普遍含有四环或五环三萜皂苷类成分; 五倍子、石榴皮、金樱子等含有能凝固蛋白的鞣质; 地丁、芦根、秦皮等含有苯丙素、香豆素、木质素类成分; 吴茱萸含有生物碱类成分; 茜草含有蒽醌、萘醌类成分^[8-9]。可能是这些成分普遍具有的广谱抗菌作用, 抑制了 T_2 菌株的生长。

2.2 对 T_2 菌株生长无显著影响的中草药

在供试的 80 种中草药中与对照相比 T_2 菌株增长率或抑制率小于 10% 的有 26 种: 薄荷叶、益母草、三棱、前胡、卷柏、麦冬、功劳叶、山慈姑、锦灯笼、蒲公英、陈皮、车前子、泽兰叶、桑椹子、金荞麦、芡实、紫苏梗、草豆蔻、绞股蓝、千年健、紫苏子、昆布绿、浮萍草、柑桔梗、生地黄和海风藤。它们含有苯丙素类、香豆素类、皂苷类、蒽醌类、黄酮类、萜烯类、多糖、生物碱等多种成分。这些中草药对 T_2 菌株生长影响较小, 可能是其多种成分综合作用的缘故。

2.3 对 T_2 菌株生长具有显著促进作用的中草药

T_2 菌株增长率达到 10% ~ 20% 的中草药有白豆蔻、鱼腥草和雷公藤, 而增长率在 20% 以上的只有天葵子。经单因素方差分析检验: $F_{\text{计}} = 5.59$ 、 $F_{0.05} = 3.06$ 、 $F_{0.01} = 4.89$, 可见在 $\alpha = 0.01$ 水平上, 各处理间差异显著。用新复极差法对各处理进行多重比较可以看出, 在 $\alpha = 0.05$ 水平上, T_2 菌株在 4 种中草药培养基与对照培养基上的生长量有显著差异, 都能显著促进 T_2 菌株生长, 但其之间差异不显著; 在 $\alpha = 0.01$ 水平上, 鱼腥草、雷公藤与对照之间差异不显著, 但天葵子、白豆蔻与鱼腥草、雷公藤和对照相比能显著促进菌株生长。天葵子为毛茛科植物, 其主要有效成分为二萜类生物碱^[10]; 白豆蔻^[11]和鱼腥草^[12]的主要有效成分均为单环、双环单萜烯类挥发油, 如柠檬烯、蒎烯、松油烯、侧柏烯、月桂烯和茨烯等; 雷公藤中的雷公藤甲素、雷公藤乙素、雷

公藤内脂等有效成分均为三环二萜类物质^[13]。蒎烯等萜烯类物质是松节油的主要成分,与天葵子、雷公藤的有效成分在结构上极其类似的松香酸、松香烷、松脂酸等三环二萜类物质为松香的主要成分^[14]。松节油和松香均为松树树脂的加工产物,而松树树脂是松属植物生理代谢的自然产物。作为一种与松属植物共生的食用菌,松茸在长期的共生进化过程中对松树的根部环境产生了高度的适应性和依赖性,营养需求和物质代谢具有独特性。在培养基中添加上述中草药能促进菌株生长,很有可能是其中的萜类物质刺激了松茸 T_2 菌株的生长。

表1 4种中草药对 T_2 菌株生长的影响

Table 1 Effects of four kinds of herbs on mycelium growth of *T. matsutake* T_2

名称	菌株增长量/mm					增长率/%	F	
	1	2	3	4	平均		0.05	0.01
天葵子	22.5	24.8	23.3	24.5	23.8	22.55	a	A
白豆蔻	23.5	23.1	22.8	22.9	23.1	19.07	a	A
鱼腥草	22.0	21.5	25.5	19.5	22.1	14.05	a	AB
雷公藤	23.0	20.3	21.0	23.3	21.9	12.89	a	AB
对照	19.8	19.4	18.5	19.8	19.4	0	b	B

注:增长率 = 中草药处理组菌株增长量 / 对照组菌株增长量。

3 结论

供试的 80 种中草药中,有 50 种对 T_2 菌株生长的抑制率高于 10%,26 种对 T_2 菌株生长影响较小,仅有白豆蔻、鱼腥草、雷公藤和天葵子 4 种能显著促进 T_2 菌株生长。这 4 种中草药组 T_2 菌株增长率均高于 10%,其中天葵子组高达 22.55%。这几种中草药中均含有单萜烯类、多环二萜类物质,这些物质在松属植物中含量都十分丰富,很有可能是刺激松茸 T_2 菌株生长的物质。本实验结果对探索松茸菌株体的大量培养以及对松茸的半人工栽培均具有实际意义。

参 考 文 献

[1] 臧穆. 松茸群及其近缘种的分类地理研究[J]. 真菌学

报, 1990 (2): 113-127

- [2] 周选围. 松茸资源研究概况[J]. 食用菌学报, 2002, 9 (1): 50-56
- [3] Kusuda M, Nagai M, Hur T, et al. Purification and some properties of α -amylase from an ectomycorrhizal fungus, *Tricholoma matsutake*[J]. Mycoscience, 2003, 44: 311-317
- [4] Ogawa M, Kawai M. Studies on the artificial reproduction of *Tricholoma matsutake* (S. Ito et Imai) Sing. . Effects of growth promotion natural products on the vegetative growth of *T. matsutake* [J]. Trans Mycol Soc Japan, 1976, 17: 492-498
- [5] Kawai M, Terada O. Studies on the artificial reproduction of *Tricholoma matsutake* (S. Ito et Imai) Sing. . Effects of vitamins, nucleic acid relating substances, phytohormones and metal ions in media on the vegetative growth of *T. matsutake*[J]. Trans Mycol Soc Japan, 1976, 17: 168-174
- [6] Arai Y, Takao M, Sakamoto R, et al. Promotive effect of the hot water-soluble fraction from corn fiber on vegetative mycelial growth in edible mushrooms [J]. The Japan Wood Research Society, 2003, 49: 437-443
- [7] Terashima Y. Change in medium components and colony morphology due to mycelial growth of ectomycorrhizal fungus *Tricholoma bakamatsutake* [J]. Mycoscience, 1994, 35: 153-159
- [8] 林乾良. 中药[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1988:123-125
- [9] 肖培根. 新编中药志[M]. 北京: 化学工业出版社, 2002:70-100
- [10] 李明, 季强彪, 曾希, 等. 天葵对昆虫的生物活性研究[J]. 贵州农学院学报, 1997, 16(3): 27-30
- [11] 林敬明, 郑玉华, 贺巍, 等. 超临界 CO_2 流体萃取白豆蔻挥发油 GC-MS 分析[J]. 中药材, 2000, 23(7): 390-394
- [12] 赵璞. 中药鱼腥草的研究进展[J]. 重庆师范学院学报(自然科学版), 1998, 15: 85-87
- [13] 高锦明. 植物化学[M]. 北京: 科学出版社, 2003: 233-238
- [14] 宋湛谦. 松香的精细化工利用()——松香的组成与性质[J]. 林产化工通讯, 2002, 36(4): 29-33