



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104177182 A

(43) 申请公布日 2014. 12. 03

(21) 申请号 201410406541. 4

(22) 申请日 2014. 08. 19

(71) 申请人 中华全国供销合作总社南京野生植
物综合利用研究所

地址 210042 江苏省南京市玄武区蒋王庙 4
号

(72) 发明人 林群英 孙晓明 张卫明 吴亮亮

(51) Int. Cl.

C05G 3/00 (2006. 01)

A01G 1/04 (2006. 01)

权利要求书1页 说明书3页

(54) 发明名称

一种利用玉米芯生产蛹虫草子实体的栽培方法

(57) 摘要

本发明涉及生物技术领域,一种利用玉米芯生产蛹虫草子实体的栽培方法。利用谷物类基质培养蛹虫草子实体是目前最常用的方法,但利用玉米芯为主要基质培植蛹虫草子实体还未见报道。蛹虫草液体菌种接入添加有营养液的玉米芯培养基内,将其水分含量调节至 60-80%,在温度为 18-25℃的环境中,培养 3-4 天后,进行光照培养,经 40-50 天,子实体生长成熟。这种方法在不影响产量的情况下,使生产成本大大下降,培育的蛹虫草子实体与目前常用的谷物类基质栽培所得的子实体营养成分相当,可作为食品或原料使用可应用于食品。

1. 一种蛹虫草子实体的固体栽培方法。
2. 权利要求 1 所述的蛹虫草子实体的栽培方法,以玉米芯为主要基质。
3. 权利要求 2 所述玉米芯生产培养基需要由玉米芯和营养液组成,每升营养液由碳源 10-30 g,氮源 8-15 g,大量元素 1-5 g,以及余量的水组成,pH6.0-7.5,所述的碳源是白糖、葡萄糖或不添加碳源,所述的氮源是蛋白胨、牛肉浸膏、酵母浸膏、甘氨酸或硝酸铵,大量元素是磷酸二氢钾、硫酸镁(以上所用碳源、氮源和磷元素可为食品级或生化试剂级;玉米芯需粉碎至 5 目以上)。
4. 权利要求 3 所述玉米芯生产培养基水分含量为 60-80% 左右,而以 70-80% 为最佳,以保证蛹虫草子实体生长全过程所需的水分要求。
5. 权利要求 4 所述玉米芯生产培养基厚度需控制在 2-5cm,同时需压实使其密度达到 0.3-0.6g/cm³,在保证满足生长要求的条件下,达到缩短灭菌时间(121 °C 灭菌 20 min),实现节约能源的目的。
6. 权利要求 5 所述玉米芯生产培养基在接入液体菌种时避免加入过多的水分,影响培养基的透气性,且能降低接种难度和加快接种的速度,仅接入 1-10mL 经稀释的液体菌种即能达到快速发菌的要求。

一种利用玉米芯生产蛹虫草子实体的栽培方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种蛹虫草 (*Cordyceps militaris*) 子实体的生产方法, 具体来说是涉及一种以玉米芯为基质栽培蛹虫草子实体的生产方法。

背景技术

[0002] 传统医学与现代科学研究都表明, 冬虫夏草含有多种对人体有益的营养有效成分, 其中如虫草素、虫草酸、腺苷等均具有抗菌、抗肿瘤、抗氧化、滋阴壮阳、保肝益肺和提高免疫力等功效, 因而越来越受到人们的喜爱, 市场需求不断扩大。蛹虫草作为冬虫夏草的替代品也开始深受消费者的追捧, 其栽培产业已渐成规模。蛹虫草子实体的栽培生产主要以大米、小麦等谷物类为主要基质进行, 与其它以农林下脚料为主要栽培基质的食用菌种类有明显的差别, 未能充分发挥食用菌“化废为宝”的特点。为进一步降低生产成本, 节约粮食资源, 有必要开展利用新基质的栽培技术研究。

发明内容

[0003] 本发明的目的在于开发出一种以玉米芯为主要基质栽培蛹虫草子实体的生产方法, 即通过蛹虫草母种的制备与保藏、活化、液体菌种的制备、生产种的制备、玉米芯生产培养基制备、接种、培育与采收, 从而得到了一种蛹虫草子实体, 最终实现本发明的目的。本发明首次采用玉米芯为主要栽培基质, 通过固体培养的方式进行蛹虫草子实体栽培生产。这种方法不仅节约资源, 充分发挥食用菌变废为宝的生物优势, 将农林下脚料玉米芯进行生物转化, 还能生产出营养价值和保健价值高的子实体, 且产量和质量均与目前的生产水平相当, 部分有效成分的含量甚至更高。

[0004] 本发明的蛹虫草子实体的生产方法, 其特征包括以下的步骤:

[1] 蛹虫草菌株斜面母种的制备: 利用获得的新鲜蛹虫草子实体进行组织分离, 取 0.5cm×0.5cm 大小的菌肉接入综合 PDA 斜面培养基, 20-25℃, 避光培养 12-20 天, 菌丝长满斜面即得到斜面母种, 5℃ 保存。

[0005] [2] 母种的活化: 将(1)获得的菌种接入无菌的综合 PDA 斜面培养基中, 20-25℃ 下, 暗培养 4-7 天后, 光照 5-10 天, 选取菌丝生长整齐且基生菌丝发达的菌种作为活化母种。

[0006] [3] 液体菌种的制备: 将(2)获得的活化母种接至无菌液体培养基中, 每 100 毫升液体培养基接入母种 8-12 块(黄豆大小), 20-25℃ 下, 100-120rpm, 振荡培养 5-7 天, 选取菌丝球大小均匀一致的作为一级菌种, 或用同样的方法扩大培养作为二级菌种或选取菌丝球大小均匀一致直接用于栽培生产。所述的液体培养基组成是 PPDA, 即每升培养基中含葡萄糖 20g, 土豆 200g, 蛋白胨 2-6g, KH_2PO_4 1-4g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1-4g。土豆切粒后煮沸 20 分钟后, 采滤法。将各成分按配方用量称好并分别用水溶解后, 调节 pH 至 6.5-7.0, 用水定容至 1 升, 按装量为 20-60% 的比例装入耐高温的容器内, 于 121℃ 下, 15-30 分钟常规灭菌, 冷却至室温, 备用。

[0007] [4] 生产种的制备: 将一级菌种按 2-10%(V/V) 的接种量接入液体培养基 PPDA 中,

按步骤 [3] 进行培养,选取菌丝球大小均匀一致的作为生产种,用于栽培生产。

[0008] [5] 接种:在无菌室或超净工作台内,按 1:10-30 (V/V)的比例用无菌水将生产菌种稀释,再接入无菌的生产培养基中,接种量为 1-10mL,接入玉米芯生产培养基中。

[0009] [6] 玉米芯生产培养基制备:所述的生产培养基是由玉米芯和营养液组成,每升营养液由碳源 10-30 g,氮源 8-15 g,大量元素 1-5 g,以及余量的水组成,pH6.0-7.5,所述的碳源是白糖、葡萄糖或不添加碳源,所述的氮源是蛋白胨、牛肉浸膏、酵母浸膏、甘氨酸或硝酸铵,大量元素是磷酸二氢钾、硫酸镁(以上所用碳源、氮源和磷元素可为食品级或生化试剂级;玉米芯需粉碎至 4 目以上),玉米芯和营养液混合后,使培养基水分含量为 60-80%左右,装瓶,将料面压平,生产培养基厚度为 2-5cm,密度为:0.3-0.6g/cm³,封口,121 ° C 灭菌 40 min,冷却至室温备用。

[0010] 培育与采收:在 18-25 ° C,空气相对湿度 50-65%下,先进行暗培养 3-4 天,待菌丝长满培养基后,进行光照培养,光强 400-1000lux,10-12h/d,空气相对湿度 80-90%,18-23 ° C,经 7-14 天即可长出子实体原基,再培养 40-50 天,待部分子实体顶部变成圆形,或出现浅黄色孢子时,即可进行采收。新鲜的子实体在 60 ° C 下烘 3-4 小时,即可获得干品(水分含量 ≤ 13%),便于保存和再利用。

[0011] 本发明利用玉米芯为主要原料进行蛹虫草子实体栽培,并未对生产周期和生产条件产生明显的影响。本发明的蛹虫草子实体含有多种有效成分和营养成分,且与目前常用的大米等主要基质栽培所得的子实体营养成分相当,部分成分含量更高,可作为食品或原料使用。各营养成分含量见表 1 所示。

[0012] 表 1 蛹虫草子实体的主要营养活性成分及最低含量表

分析项目	玉米芯栽培的子实体	大米栽培的子实体
腺苷	4.8mg/g	2.1mg/g
虫草素	10.5mg/g	11.9mg/g
虫草酸	150mg/g	88mg/g
粗蛋白	36%	26%
灰分	9.6%	7.8%

具体实施方式

[0013] 下面结合具体实施方法对本发明进一步说明,但本发明不限于以下实施例。

[0014] (1) 蛹虫草菌株斜面母种的制备:利用获得的新鲜蛹虫草子实体进行组织分离,取 0.5cm×0.5cm 大小的菌肉接入综合 PDA 斜面培养基,20-25 ° C,避光培养 12-20 天,菌丝长满斜面即得到斜面母种,5 ° C 保存。

[0015] (2) 母种的活化:将(1)获得的菌种接入无菌的综合 PDA 斜面培养基中,22 ° C 下,暗培养 7 天后,光照 5 天,选取菌丝生长整齐且基生菌丝发达的菌种作为活化母种。

[0016] (3) 液体菌种的制备:将(2)获得的活化母种接至无菌液体培养基中,每 100 毫升液体培养基接入母种 8-12 块(黄豆大小),25 ° C 下,120rpm,振荡培养 7 天,选取菌丝球大小均匀一致的作为一级菌种,或用同样的方法扩大培养作为二级菌种或选取菌丝球大小均匀一致直接用于栽培生产。所述的液体培养基组成是 PPDA,即每升培养基中含葡萄糖 20g,土豆 200g,蛋白胨 5g, KH₂PO₄ 2g, MgSO₄ · 7H₂O 2g。土豆切粒后煮沸 20 分钟后,采滤法。将各成分按配方用量称好并分别用水溶解后,调节 pH 至 6.5,用水定容至 1 升,按装量为 50%的比例装入耐高温的容器内,于 121 ° C 下,20 分钟常规灭菌,冷却至室温,备用。

[0017] (4) 生产种的制备 :将一级菌种按 10% (V/V) 的接种量接入液体培养基 PPDA 中,按步骤(3)进行培养,选取菌丝球大小均匀一致的作为生产种,用于栽培生产。

[0018] (5) 接种 :在无菌室或超净工作台内,按 1 :30 (V/V) 的比例用无菌水将生产菌种稀释,再接入无菌的生产培养基中,接种量为 5mL, 接入玉米芯生产培养基中。

[0019] (6) 玉米芯生产培养基制备 :所述的生产培养基是由玉米芯和营养液组成,每升营养液由白糖 10 g,蛋白 8 g, KH_2PO_4 2g,以及余量的水组成, pH7.5。玉米芯需粉碎至 5 目以上,玉米芯和营养液混合后,使培养基水分含量为 65% 左右,装瓶,将料面压平,生产培养基厚度为 3cm,密度为 :0.4g/cm³,用聚丙烯薄膜封口,121 ° C 灭菌 40 min,冷却至室温备用。

[0020] (7) 培育与采收 :在 20°C,空气相对湿度 50-65% 的培养房内进行避光培养 4 天,待菌丝长满培养基后,进行光照培养,光强 600lux,12h/d,空气相对湿度 80% 左右,18-20°C,经 10 天左右即可长出子实体原基,再继续培养 40 天左右,待部分子实体顶部变成圆形时,即可进行采收。新鲜的子实体在 60°C 下烘 3-4 小时,即可获得干品(水分含量 ≤ 13%),便于保存和再利用。每瓶可收获 15 克新鲜子实体,或 3 克子实体干品。