



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106613350 A

(43)申请公布日 2017.05.10

(21)申请号 201611193054.X

*C05G 3/00*(2006.01)

(22)申请日 2016.12.21

*C12N 1/14*(2006.01)

(83)生物保藏信息

*C12R 1/645*(2006.01)

CCTCC NO:M 2016236 2016.04.29

(71)申请人 广东省微生物研究所(广东省微生物分析检测中心)

地址 510070 广东省广州市先烈中路100号大院56号

(72)发明人 黄龙花 贺凤 胡惠萍 刘远超  
莫伟鹏 黄志勇 吴丽霞

(74)专利代理机构 广州科粤专利商标代理有限公司 44001

代理人 刘明星

(51)Int.Cl.

*A01G 1/04*(2006.01)

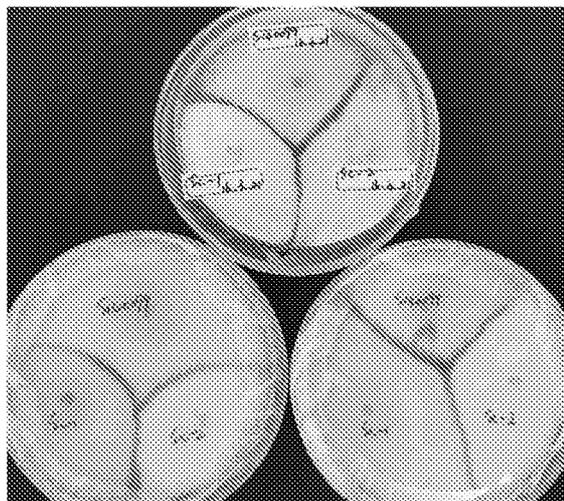
权利要求书1页 说明书4页  
序列表1页 附图2页

(54)发明名称

一株裂褶菌及其驯化栽培方法和应用

(57)摘要

本发明公开了一株裂褶菌及其驯化栽培方法和应用。裂褶菌(*Schizophyllum commune*)HMGIM-S140099,保藏号为:CCTCC NO:M 2016236。本发明从广东省分离得到新菌株裂褶菌(*Schizophyllum commune*)HMGIM-S140099,该菌株具有非常好的药食两用价值,具有广阔的应用前景。



1. 裂褶菌 (*Schizophyllum commune*) HMGIM-S140099, 保藏号为: CCTCC NO: M 2016236。

2. 一种裂褶菌 (*Schizophyllum commune*) HMGIM-S140099的驯化栽培方法, 其特征在于, 包括以下步骤:

在无茵条件下将权利要求1中的裂褶菌 (*Schizophyllum commune*) HMGIM-S140099母种接种到装有原种培养基的袋中, 于25℃恒温下遮光培养, 直至菌丝吃满料即得原种, 原种在无茵条件下接种到装有栽培料培养基的袋中, 于25℃恒温下, 空气相对湿度为60-70%避光培养, 待菌丝长满栽培料培养基后, 进行出菇管理;

所述的出菇管理是控制温度在 $23 \pm 1$ ℃之间, 空气相对湿度60-80%之间, 光照为100-200lux, 二氧化碳含量刚出原基时控制在2000ppm以上, 在子实体生长期, 调整温度20-23℃之间, 空气相对湿度70-85%之间, 光照约200-300lux, 保持二氧化碳含量在1200ppm以下。

3. 根据权利要求2所述的制备方法, 其特征在于, 所述的原种培养基, 按质量分数计, 包括高粱79%, 小米20%,  $\text{CaCO}_3$  1%, 按其含量将各组分混合均匀, 然后再加水, 使含水量为55-60%, 由此得到原种培养基。

4. 根据权利要求2所述的制备方法, 其特征在于, 所述的栽培料培养基, 按质量分数计, 包括棉籽壳50%, 木屑38%, 麸皮10%和 $\text{CaCO}_3$  2%, 按其含量将各组分混合均匀后, 再加水, 使含水量为60%。

5. 权利要求1所述的裂褶菌 (*Schizophyllum commune*) HMGIM-S140099在制备裂褶菌多糖中的应用。

## 一株裂褶菌及其驯化栽培方法和应用

### 技术领域：

[0001] 本发明属于微生物领域，具体涉及一株裂褶菌及其驯化栽培方法和应用。

### 背景技术：

[0002] 裂褶菌 (*Schizophyllum commune* Fr.) 俗称：八担柴、白花、天花菌、白参菌、树花。隶属于真菌界 (Mycota)，真菌门 (Eumycota)，担子菌纲 (Basidiomycetes)，伞菌目 (Agaricales)，裂褶菌科 (Schizophyllaceae)，裂褶菌属 (*Schizophyllum*)。

[0003] 裂褶菌子实体个头小，呈扇形或掌状开裂，通常覆瓦状叠生、簇生或群生，形似小菊花。菌盖长为6~50mm，宽8~30mm，厚1~3mm，菌盖表面白色、灰白色、肉褐色至黄棕色，密披茸毛或粗毛，具有多个裂瓣，韧肉质至软革质，边缘内卷。菌褶白色、灰白色、淡肉色或带紫褐色，不等长，褶缘中部纵裂成深沟纹。菌肉厚约1mm，白色，革质，柔韧，无味，干后强烈收缩，吸水后恢复原状。子实体无柄或有短柄。孢子印白色或淡肉色，担孢子5~7×2~3.5μm，椭圆形或腊肠形，光滑，无色，非淀粉质。

[0004] 分布：裂褶菌广泛分布于世界各地，在我国大部分省市均有分布，菌种资源非常丰富。

[0005] 生境：散生至群生，常叠生于腐木或腐竹上

[0006] 药效：裂褶菌子实体幼时，质嫩味美，具有特殊的浓郁香味，性平，味甘，能滋补强壮、扶正固本、镇静作用，治疗神经衰弱、精神不振、头昏耳鸣、虚汗，是一种高档食药两用菌，其代谢产物具有较好的药用价值。裂褶菌子实体或菌丝体含有丰富的免疫性多糖、蛋白质、生物活性L型氨基酸、多种必需氨基酸和微量元素等，这些物质分别对心血管和肝、肾等多种器官疾病具有防治作用，并具有抗癌、抗衰老、抗炎症等功效，具有提高机体免疫力、抗菌消炎、抗辐射等多种生理活性，具有良好的食用和药用价值。目前裂褶菌多糖已被开发成抗肿瘤制剂，结合放化疗用于治疗子宫颈癌、胃癌和乙肝病毒等的治疗中。

### 发明内容：

[0007] 本发明的第一个目的是提供可食药两用的，采自广东地区的裂褶菌 (*Schizophyllum commune*) HMGIM-S140099，该菌株已于2016年4月29日保藏于中国典型培养物保藏中心 (简称CCTCC，湖北省武汉市洪山区八一路，武汉大学)，保藏号为：CCTCC NO:M 2016236。

[0008] 本发明的第二个目的是提供一种裂褶菌 (*Schizophyllum commune*) HMGIM-S140099的驯化栽培方法，其特征在于，包括以下步骤：

[0009] 在无菌条件下将裂褶菌 (*Schizophyllum commune*) HMGIM-S140099母种接种到装有原种培养基的袋中，于25℃恒温下遮光培养，直至菌丝吃满料即得原种，原种在无菌条件下接种到装有栽培料培养基的袋中，于25℃恒温下，空气相对湿度为60-70%避光培养，待菌丝长满栽培料培养基后，进行出菇管理；

[0010] 所述的出菇管理是控制温度在23±1℃之间，空气相对湿度60-80%之间，光照为

100-200lux,二氧化碳含量刚出原基时控制在2000ppm以上,在子实体生长期,调整温度20-23℃之间,空气相对湿度70-85%之间,光照约200-300lux,保持二氧化碳含量在1200ppm以下。

[0011] 所述的原种培养基,按质量分数计,包括高粱79%,小米20%,CaCO<sub>3</sub>1%,按其含量将各组分混合均匀,然后再加水,使含水量为55-60%,由此得到原种培养基。

[0012] 所述的栽培料培养基,按质量分数计,包括棉籽壳50%,木屑38%,麸皮10%和CaCO<sub>3</sub>2%,按其含量将各组分混合均匀后,再加水,使含水量为60%。

[0013] 本发明的第三个目的是提供裂褶菌 (*Schizophyllum commune*) HMGIM-S140099在制备裂褶菌多糖中的应用。

[0014] 本发明从广东省分离得到新菌株裂褶菌 (*Schizophyllum commune*) HMGIM-S140099,该菌株具有非常好的药食两用价值,具有广阔的应用前景。

[0015] 裂褶菌 (*Schizophyllum commune*) HMGIM-S140099,该菌株已于2016年4月29日保藏于中国典型培养物保藏中心(简称CCTCC,湖北省武汉市洪山区八一路,武汉大学),保藏号为:CCTCC NO:M 2016236。

#### 附图说明:

[0016] 图1是裂褶菌 (*Schizophyllum commune*) HMGIM-S140099和现有技术中的裂褶菌 (*Schizophyllum commune*) Sc-1和裂褶菌 (*Schizophyllum commune*) Sc-2两两之间拮抗图,其中S140099、Sc-1和Sc-2分别代表裂褶菌 (*Schizophyllum commune*) HMGIM-S140099、裂褶菌 (*Schizophyllum commune*) Sc-1和裂褶菌 (*Schizophyllum commune*) Sc-2。

[0017] 图2是在白云山野生的裂褶菌 (*Schizophyllum commune*) HMGIM-S140099的生长图;

[0018] 图3是驯化栽培后的裂褶菌 (*Schizophyllum commune*) HMGIM-S140099的生长图。

#### 具体实施方式:

[0019] 以下实施例是对本发明的进一步说明,而不是对本发明的限制。

[0020] 实施例1:

[0021] 一、裂褶菌 (*Schizophyllum commune*) HMGIM-S140099获取和鉴定:

[0022] 本发明的裂褶菌 (*Schizophyllum commune*) HMGIM-S140099分离自广东省广州市白云山阔叶林倒木上。

[0023] 裂褶菌 (*Schizophyllum commune*) HMGIM-S140099的形态学特征和ITS序列:

[0024] 裂褶菌子实体群生于枯木上,革质,菌盖扇形或掌状,长为7~15mm,宽8~20mm,厚2~3mm,表面灰白色,被有粗绒毛,边缘内卷。菌褶淡肉色,不等长,褶缘中部纵裂成深沟纹。菌肉白色,韧革质,约1mm。菌柄短至无。孢子印淡肉色,孢子在光学显微镜下无色,透明,孢子椭圆形,2.57~3.92×5.3~6.43μm。

[0025] 采用生工Ezup柱式真菌基因组DNA抽提试剂盒提取裂褶菌 (*Schizophyllum commune*) HMGIM-S140099菌丝体DNA,以ITS1、ITS4为引物进行ITS-PCR,产物测序后得到碱基数为636bp的序列,其核苷酸序列如SEQ ID NO.1所示,经GenBank序列BLAST比对分析,与其上已发表的JX848644.1和JF439509.1等裂褶菌菌株的序列相似性均高达99%,确定该分

离的菌株为*Schizophyllum commune*,命名为:裂褶菌(*Schizophyllum commune*)HMGIM-S140099。

## [0026] 二、拮抗实验

[0027] 用普通PDA培养基制作平板培养基(直径9cm),pH自然,按三角形接种法分别接入裂褶菌(*Schizophyllum commune*)HMGIM-S140099、裂褶菌(*Schizophyllum commune*)Sc-1和裂褶菌(*Schizophyllum commune*)Sc-2的菌种块(约5mm见方菌块),分别做3个重复,用封口膜封口后,在25℃恒温培养箱内避光培养至3个种的菌丝相互充分接触,观察是否存在拮抗线,并拍照记录。

[0028] 如图1可见,裂褶菌(*Schizophyllum commune*)HMGIM-S140099和现有技术中的裂褶菌(*Schizophyllum commune*)Sc-1和裂褶菌(*Schizophyllum commune*)Sc-2两两之间均存在明显拮抗线,由于遗传特性不同使得菌丝体具有不相融性,菌丝体拮抗反应是这种不相融状态肉眼可见的指标之一,结果表明,裂褶菌(*Schizophyllum commune*)HMGIM-S140099和现有技术中的裂褶菌(*Schizophyllum commune*)Sc-1和裂褶菌(*Schizophyllum commune*)Sc-2之间均存在明显的遗传差异,可判断裂褶菌(*Schizophyllum commune*)HMGIM-S140099和现有技术中的裂褶菌(*Schizophyllum commune*)Sc-1和裂褶菌(*Schizophyllum commune*)Sc-2均为不同菌株。

## [0029] 三、驯化栽培

### [0030] 1. 培养基

#### [0031] 1) 组织分离及母种培养基

[0032] 配方:综合PDA(按质量分数计,包括马铃薯20%+葡萄糖2%+琼脂2%+磷酸二氢钾0.3%+硫酸镁0.15%+维生素B1微量,溶剂为水,即其做法是先将马铃薯洗净去皮,再称取200g马铃薯切成小块,加水煮烂(煮沸20~30分钟,能被玻璃棒戳破即可),用八层纱布过滤,得滤液,滤液中加入20g葡萄糖、20g琼脂,3g磷酸二氢钾、1.5g硫酸镁,维生素B1微量,然后用水补足到1L,灭菌。

#### [0033] 2) 原种培养基

[0034] 配方:按质量分数计,包括高粱79%,小米20%,CaCO<sub>3</sub>1%,按其含量将各组分混合均匀,然后再加水,使含水量为55-60%。

#### [0035] 3) 栽培料培养基

[0036] 通过不同配方成分和含量比较实验,最终确定最佳配方:按质量分数计,包括棉籽壳50%,木屑38%,麸皮10%,CaCO<sub>3</sub>2%,将上述成分混合均匀后,再加水,使含水量60%。

### [0037] 2. 栽培技术参数

#### [0038] 1) 菌丝培养

[0039] 无菌条件下通过组织分离、纯化后获得裂褶菌(*Schizophyllum commune*)HMGIM-S140099母种;在无菌条件下将裂褶菌(*Schizophyllum commune*)HMGIM-S140099母种接种到装有原种培养基的袋中,于25℃恒温下遮光培养,直至菌丝吃满料即得原种。原种在无菌条件下接种到装有栽培料培养基的袋中,于25℃恒温下,空气相对湿度为60-70%避光培养,待菌丝长满栽培料培养基后,进行出菇管理。该全过程约需20-25天。

#### [0040] 2) 出菇条件

[0041] 控制温度在23±1℃之间,空气相对湿度60-80%之间,光照约为100-200lux,二氧

化碳含量刚出原基时控制在2000ppm以上。在子实体生长期,调整温度20-23℃之间,空气相对湿度70-85%之间,光照约200-300lux,保持二氧化碳含量在1200ppm以下。

[0042] 3. 出菇情况

[0043] 1) 生长周期:

[0044] 将原种接种至栽培袋中13-15天后菌丝长满袋,5-7天后出原基,5-7天后子实体成熟可采收,从栽培袋接种到采收整个生长周期约23-28天。

[0045] 2) 产量:每个菌袋每潮出菇45-60克之间,可出三潮,总体生物转化率约在70-85%之间。

[0046] 子实体性状:

[0047] 四、粗多糖含量测定

[0048] 1. 裂褶菌 (*Schizophyllum commune*) HMGIM-S140099子实体粗多糖的提取

[0049] 取裂褶菌 (*Schizophyllum commune*) HMGIM-S140099菌种驯化栽培后的裂褶菌子实体,粉碎后,按照1:30的料液比,在100℃下浸提2小时,过滤,浓缩后用4倍体积的无水乙醇沉淀过夜,透析,得裂褶菌子实体粗多糖溶液。

[0050] 2. 多糖含量测定

[0051] 根据中华人民共和国农业行业标准 (NY/T 1676-2008) 食用菌中粗多糖的含量测定对裂褶菌 (*Schizophyllum commune*) HMGIM-S140099子实体粗多糖含量 (粗多糖/子实体干重×100%) 进行测定。测得其多糖含量为5.17%,据文献记载,裂褶菌多糖 (SPG) 具有抗肿瘤、免疫调节、抑菌、抗病毒等作用。因此,该裂褶菌 (*Schizophyllum commune*) HMGIM-S140099具有较好的开发潜质。

## 序列表

<110> 广东省微生物研究所(广东省微生物分析检测中心)

<120> 一株裂褶菌及其驯化栽培方法和应用

<160> 1

<210> 1

<211> 636

<212> DNA

<213> 裂褶菌(*Schizophyllum commune*) HMGIM-S140099

<400> 1

TCCGTAGGTG AACCTGCGGA AGGATCATTA ACGAATCAAA CAAGTTCATC TTGTTCTGAT 60  
 CCTGTGCACC TCATGTAGTC CCAAAGCCTT CACGGGCGGC GGTGACTAC GTCTACCTCA 120  
 CACCTTAAAG TATGTAAACG AATGTAATCA TGGTCTTGAC AGACCCTAAA AAGTTAATAC 180  
 AACTTTCGAC AACGGATCTC TTGGCTCTCG CATCGATGAA GAACGCAGCG AAATGCGATA 240  
 AGTAATGTGA ATTGCAGAAT TCAGTGAATC ATCGAATCTT TGAACGCACC TTGCGCCCTT 300  
 TGGTATTCCG AGGGGCATGC CTGTTTGAGT GTCATTAAAT ACCATCAACC CTCTTTTGAC 360  
 TTCGGTCTCG AGAGTGGCTT GGAAGTGGAG GTCTGCTGGA GCCTAACGGA GCCAGCTCCT 420  
 CTTAAATGTA TTAGCGGATT TCCCTTGCGG GATCGCGTCT CCGATGTGAT AATTTCTACG 480  
 TCGTTGACCA TCTCGGGGCT GACCTAGTCA GTTTCAATAG GAGTCTGCTT CTAACCGTCT 540  
 CTTGACCGAG ACTAGCGACT TGTGCGCTAA CTTTGTACTT GACCTCAAAT CAGGTAGGAC 600  
 TACCCGCTGA ACTTAAGCAT ATCAATAAGC GGAGGA 636

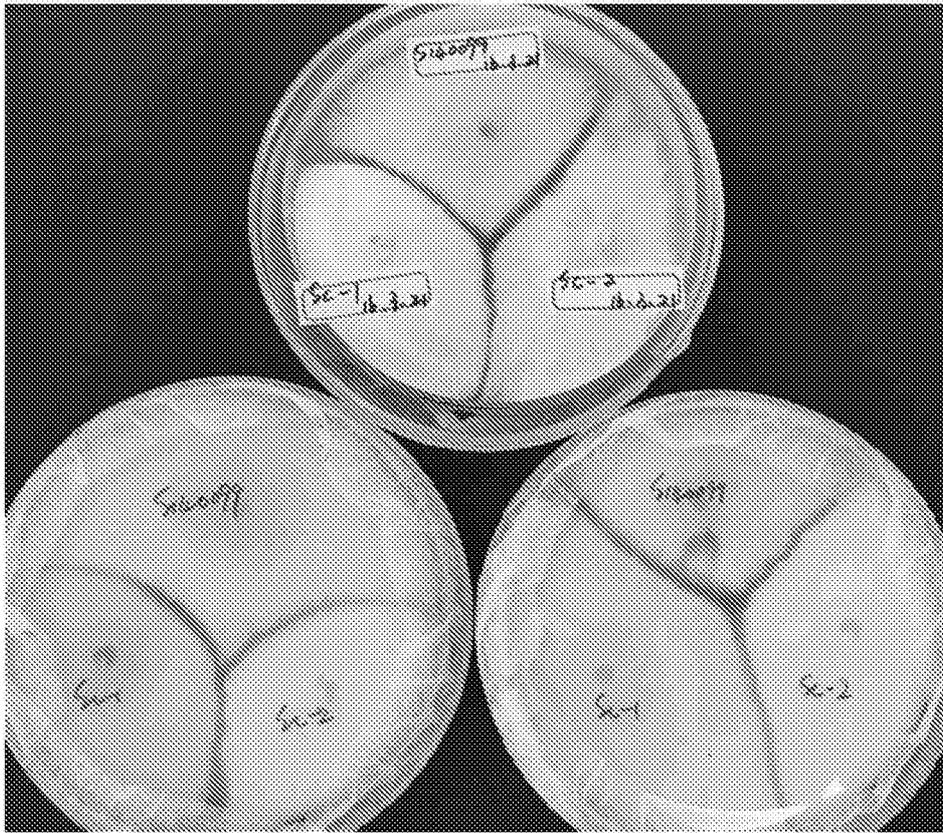


图1

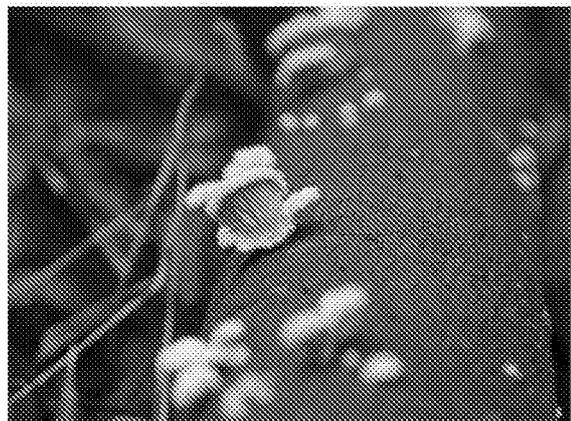
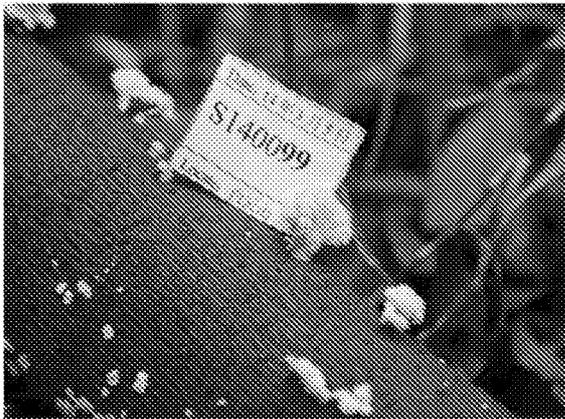


图2

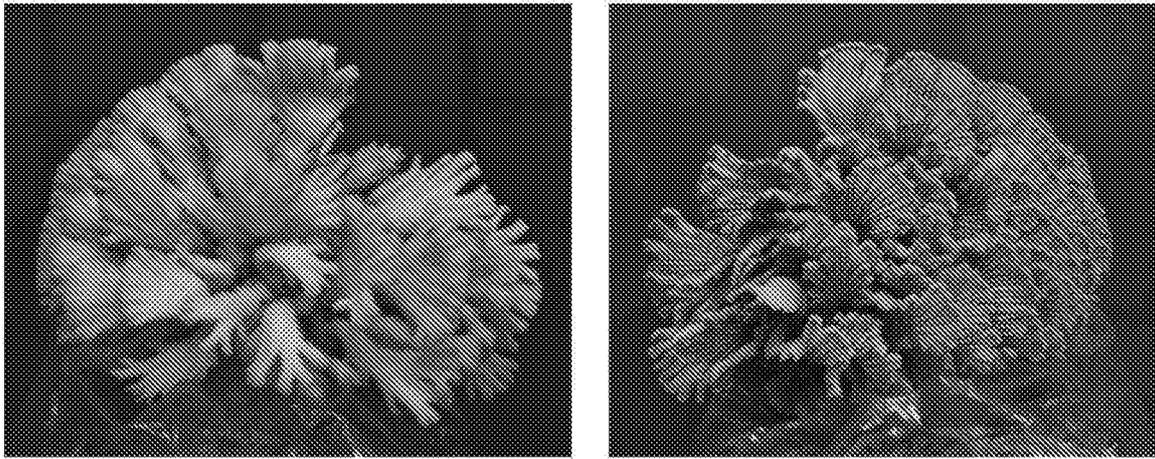


图3