(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 103327805 A
(43)申请公布日 2013.09.25

(21)申请号 201180060700.4
(22)申请日 2011.12.02
(30)优先权数据
10-2010-0128902 2010.12.16 KR
(85)PCT申请进入国家阶段日
2013.06.17
(86)PCT申请的申请数据
PCT/KR2011/009330 2011.12.02
(87)PCT申请的公布数据
WO2012/081851 KO 2012.06.21
(83)生物保藏信息
KCCM11135P 2010.11.23
(71)申请人 金永燦
地址 韩国庆尚南道
(72)发明人 金永燦
(74)专利代理机构 北京润平知识产权代理有限公司 11283
代理人 王崇 刘国平
(51)Int.Cl.
A01G 1/04(2006.01)
A01H 15/00(2006.01)
C12N 1/14(2006.01)

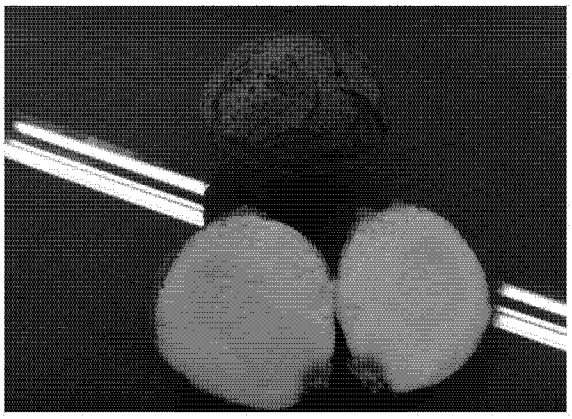
权利要求书1页 说明书8页 附图2页

(54)发明名称

新型香菇菌株 GNA01

(57)摘要

本发明涉及一种香菇菌株(Lentinula edodes)。更具体地,本发明涉及一种新型香菇菌株 GNA01(保藏号:KCCM11135P),以及通过培养所述菌株所获得的子实体,其中,所述新型 Lentinula edodes(Berk.)Pegler 具有新的形状和风味。



CN 103327805 A

1. 一种新型蕈形香菇菌株 Lentinula edodes(Berk.)Pegler GNA01（保藏号：KCCM11135P）。

2. 由权利要求 1 所述的菌株产生的蕈形香菇的子实体。

3. 根据权利要求 2 所述的蕈形香菇的子实体，其中，所述子实体为既没有菌盖也没有菌柄分化的球形。

4. 根据权利要求 2 所述的蕈形香菇的子实体，其中，所述子实体味甜。

5. 根据权利要求 2 所述的蕈形香菇的子实体，其中，所述子实体在表面上呈现白色暴花的外观。

6. 根据权利要求 2 所述的蕈形香菇的子实体，其中，所述子实体为不生孢子的。

7. 根据权利要求 6 所述的蕈形香菇的子实体，其中，所述子实体通过它的部分子实体的组织分离增殖。

新型香菇菌株 GNA01

技术领域

[0001] 本发明涉及一种香菇(Lentinula edodes)菌株。更具体地,本发明涉及一种具有新的形态学和风味的新型蕈形(shiitake)香菇(Lentinula edodes(Berk.)Pegler)菌株,并命名为 Lentinula edodes GNA01 (保藏号 :KCCM11135P),以及通过培养所述菌株所获得的子实体。

背景技术

[0002] 蕈形香菇(也被称为瓢菰 pyogo,双名(binomial name):Lentinula edodes(Berk.)Pegler),属于口蘑科(Tricholomataceae family)的香菇属,英国植物学家伯克利(Berkeley)在日本采集该菌株后,由其首次引入学术界。蕈形香菇原产于韩国,中国和日本。在韩国,蕈形香菇被冠以各种名称,例如,香梁(hyangsim)、磨菰(mago)和橡树菇(oak tree mushroom),并被称之为包括松菇和虎掌菌(Sarcodon aspratus)在内的三大著名食用菌中的一员。

[0003] 从春天到秋天,蕈形香菇在死尸或例如橡树(例如,橡子树(acorn trees)、蒙古橡、韩国橡)、红叶鹅耳枥(red-Leaved Hornbeam)、栗树等阔叶树的树枝上萌发并生长,但现在可以人工栽培。不像其它的蘑菇,蕈形香菇在中等温度(最适 22-28℃,高达 32℃)下生长。

[0004] 蕈形香菇通常产生大量的具有锁状联合的菌丝体。这种真菌为四极性的雌雄异株。当蘑菇的孢子萌发时,它们产生被称为单核体(在每个室中含有一个核)的菌丝。在它们成长的某个阶段,两个不同的相容组的单核体融合形成双核体(杂交菌株)。所述双核体是褐色的,并且在光下会硬化,并发育为子实体。尽管蕈形香菇的菌丝比平菇的菌丝生长的慢,但其能够在橡木中很好的产生。

[0005] 如图 1 和图 2 中所示的子实体为半被果型(hemiangiocarpous),并具有与菌盖的中心连接的菌柄,菌褶自菌盖的中心延伸。所述菌盖为灰白色或暗褐色,而菌柄和菌褶都是白色的。所述菌盖是圆形的,并且根据营养、环境和物种,具有不同的直径范围,包括小于 3 厘米和大于 10 厘米。在子实体发育的早期,所述菌盖向内卷曲,但随着子实体的长大,所述菌盖变得更平坦。蕈形香菇具有硬实的肉质体,并且当其干燥后,它的特性气味更浓郁。菌褶薄并且为白色,菌柄为白色或呈褐色并有坚韧的纤维。

[0006] 在 19 世纪 70 年代,发现来源于蕈形香菇的香菇多糖(β-D- 葡聚糖)具有抗癌活性。自此,对蕈形香菇的药用活性进行了研究(Chihara et al.,1970;Tamura et al.,1997)。在蕈形香菇中发现的营养成分为粗蛋白、糖脂、灰分、碳水化合物、纤维以及氨基酸。近年来,蕈形香菇已被加工成各种食品、零食、发酵乳饮料、汤等(Ryu,1998),并且对具有抗炎、抗高血压和抗血栓效果的生理活性成分的研究最为活跃(Ohnuma 等,2000 ;Yaoita 等,1998、1999)。

[0007] 然而,不像其它的蘑菇,蕈形香菇具有长达 4-5 年的单作物期(single crop period),并且在蕈形香菇的繁殖方面,需要高额的研究费用。在这些情况下,主要由在国家

林业合作联盟(National Forestry Cooperative Federation)支持下的林业蘑菇研究中心和在韩国的韩国林业科学研究所进行了蕈形香菇变种的开发研究。

[0008] 仅繁殖了数量极其有限的蕈形香菇韩国变种,并且在常规属性方面,没有任何一株变种优于日本变种。自从2008年,由于根据国际植物新品种保护联盟(Union Internationale pour la Protection des Obtentions Vegetales,UPOV)的新品种保护的国际公约(International Convention for the Protection of New Varieties)已应用到蕈形香菇上,使用日本或中国变种必须支付专利费,因此,需要新型的蕈形香菇变种。

[0009] 因此,迫切需要开发在常规属性方面要优于包括日本蘑菇和中国蘑菇的常规变种的新型蕈形香菇变种。

发明内容

[0010] 技术问题

[0011] 考虑到发生在现有技术中的上述问题,本发明的发明人进行了新型蕈形香菇菌株的开发研究,从而产生了本发明。

[0012] 本发明的目的是提供一种新型蕈形香菇变种,该新型蕈形香菇变种通常类似球形,菌柄与菌盖都聚集在球体或类似球体的形状中。

[0013] 本发明的另一个目的是提供一种新型蕈形香菇变种,该新型蕈形香菇变种不但具有蕈形香菇的气味特性,还具有甜味。

[0014] 本发明的另一个目的是提供一种新型蕈形香菇变种,该新型蕈形香菇变种具有比传统蕈形香菇更硬实的菌肉,并且比传统的蕈形香菇的储存时间长2倍以上,生长快2倍以上,且菌盖不会打开。

[0015] 本发明进一步的目的是提供一种新型蕈形香菇变种,该新型蕈形香菇变种在子实体的表面上呈现白色暴花(blooming)的外观,因此,比传统的蕈形香菇的商业价值更高。

[0016] 本发明更进一步的目的是提供一种新型蕈形香菇变种,该新型蕈形香菇变种对气候具有抵抗性,尤其是对高温和低温,因此,能够全年生产。

[0017] 通过以下详细的描述,将更清楚的理解本发明的上述及其它目的、特性以及其它优点。

[0018] 技术方案

[0019] 通过供应新型蕈形香菇菌株Lentinula edodes(Berk.)Pegler GNA01能够实现上述目的。所述菌株于2010年11月23日保藏在韩国微生物培养中心(Korean Culture Center of Microorganism)(保藏号:KCCM11135P)。

[0020] 另外,本发明提供了一种生长自权利要求1的菌株的蕈形香菇的子实体。

[0021] 在一种优选的实施方式中,所述子实体类似球形,在菌盖和菌柄之间没有区别。

[0022] 在另一种优选的实施方式中,所述子实体味甜。

[0023] 在进一步优选的实施方式中,所述子实体在其表面呈现白色暴花的外观。

[0024] 在更进一步优选的实施方式中,所述子实体为不生孢子的(asporogenous)。

[0025] 在另一种更进一步优选的实施方式中,所述新型菌株通过部分子实体的组织分离增殖。

[0026] 有益效果

[0027] 根据本发明的新型蕈形香菇菌株的特性如下：

[0028] 首先，本发明的蕈形香菇没有明显的菌盖和菌柄，但通常类似球形，菌柄与菌盖都聚集在球体或类似球体的形状中。

[0029] 在特性气味上不同于传统的蕈形香菇，本发明的所述新型蕈形香菇菌株味甜，也具有特性气味。

[0030] 另外，本发明的所述新型蕈形香菇菌株比传统的蕈形香菇具有更硬实的菌肉，并且比传统的蕈形香菇的储存时间长 2 倍以上，生长快 2 倍以上，且菌盖不会打开。

[0031] 此外，本发明的所述新型蕈形香菇菌株在子实体的表面上呈现白色暴花的外观，因此，比传统的香菇的商业价值更高。

[0032] 而且，本发明的所述新型蕈形香菇菌株对气候具有抵抗性，尤其是对高温和低温，因此，能够全年生产。

附图说明

[0033] 图 1 为传统的蕈形香菇生长过程中的图片。

[0034] 图 2 显示了图 1 的传统蕈形香菇收获后的一般形态，及其纵向截面。

[0035] 图 3 为本发明的新型蕈形香菇菌株（Lentinula edodes(Berk.)Pegler}GNA01）生长过程中的图片。

[0036] 图 4 显示了图 3 的新型蕈形香菇菌株 Lentinula edodes(Berk.)Pegler GNA01 收获后的一般形态，及其纵向截面。

具体实施方式

[0037] 为了更好的解释本发明，并指导本领域技术人员实施本发明，尽可能多地使用了本领域中广泛使用的常规术语。不应该将本发明的发明人不可避免的选择的用于描述特定点（specific points）的术语解释为这些单词本身的简单意思，而应在使用术语的短语或句子的语境中解释术语。

[0038] 现将参考附图和优选的实施方式阐明本发明。

[0039] 然而，本发明并不限于本文中给出的实施方式，也可以体现为其它的形式。整个说明书中，使用相同的参数指代相同或相似的部分。

[0040] 与本发明的一个方面一致，本发明提供了一种能够产生没有明显菌盖和菌柄的在形态学上类似球形的新型蕈形香菇菌株 Lentinula edodes(Berk.)Pegler GNA01。

[0041] 根据本发明的所述新型蕈形香菇菌株 Lentinula edodes(Berk.)Pegler GNA01（保藏号 :KCCM11135P）能够产生既没有菌盖也没有菌柄分化的看起来像球体或类似球体的形状的子实体。

[0042] 迄今为止，不考虑蕈形香菇的变种，所有已知的蕈形香菇都具有菌盖和菌柄。与此相反，根据本发明的所述新型菌株 Lentinula edodes(Berk.)Pegler GNA01 形成了其中既没有明显菌盖也没有明显菌柄的球体或类似球体的形状。球形的子实体在口感、以及口感和风味方面均优于传统的蕈形香菇。具体地，新型蕈形香菇菌株味甜，另外具有典型的气味。此外，新型蕈形香菇菌株在子实体的表面上呈现白色暴花的外观，因此商业价值更高。

[0043] 通过将单核香菇菌株进行杂交（crossing）开发了根据本发明的新型菌株。如将

详细阐明的，两种单核菌株彼此杂交以形成初级杂交菌株，然后将所述初级杂交菌株与一种单核亲本菌株进行回交以产生次级杂交菌株。所述初级和次级杂交菌株再进行杂交以产生本发明的新型菌株。由于在蕈形香菇中没有确定的系统发育关系，因此，不能确定所述新型菌株的系统发育地位。然而，当考虑形态学、生理学以及培养特性时，将通过单核蕈形香菇菌株杂交获得的所述新型菌株命名为 Lentinula edodes(Berk.)Pegler GNA01。以下将给出所述新型菌株在形态学、生理学以及培养特性上的描述。

[0044] 实施例 1 :新型蕈形香菇菌株的分离以及形态学特性

[0045] 1. 第一代杂交菌株的形成

[0046] 使用位于中国福建省的三明真研究所(Sammyungjin Research Institute)的L26 菌株和庆元(Kyoungwon)9015(939) 菌株作为用于开发本发明的所述新型菌株的亲株。

[0047] (1)单孢子的分离

[0048] 将蕈形香菇菌株L26 和庆元9015(939) 的菌盖分别置于培养皿中，24 小时后，收集落在培养皿中的孢子，并在无菌水中稀释成适当的浓度，并涂布在马铃薯琼脂板上。用牙签将孢子在 25℃下培养萌发的初级菌丝分开，然后分别接种到马铃薯琼脂板上。将这些马铃薯琼脂板在 25℃下孵育 14 天，然后，从所述马铃薯琼脂板中分离菌丝，并在显微镜下观察锁状联合的形成。在 10% 的甘油溶液中仅储存没有锁状联合的菌丝，储存在冰箱中直至用于实验中。

[0049] (2)杂交

[0050] 将纯化分离的单个蕈形香菇孢子(单核体)接种到马铃薯琼脂板中，并在 25℃下孵育 14 天。选择生长良好且菌丝体数量丰富的菌丝用于杂交。将选择的单核菌丝，即生长在马铃薯琼脂板上的菌丝切成直径为 1cm 的圆形。将一个单菌丝(单核体)和另一个单菌丝(单核体)彼此相隔 3cm 接种到新鲜的马铃薯琼脂板中，然后在培养箱中 25℃下孵育 15-20 天。分离菌丝并通过显微镜观察以确定锁状联合的形成。选择形成锁状联合的菌株。

[0051] (3)第一代杂交菌株的培养

[0052] 将橡树锯末、白桦树锯末和麦麸以 3:1:1 的比例混合，并使混合物具有 62% 的水含量。在 850cc 的用于培养蘑菇的瓶子中装入 580g 的所述混合物。将直径为 2cm 的棒在瓶口的中央从上向下用力推，以形成贯穿所述混合物的通路，然后在大气压下 105℃灭菌 70min，再在高压下 121℃高压蒸汽灭菌 110min。待所述瓶子冷却至 17℃后，接种选择的菌株，并在黑暗条件下 22℃培养 50 天。将培养基转移至褐变室(browning chamber)，并进行一次或多次穿孔以调节水含量。褐变 60 天完成后，将所述培养基转移至繁殖室，浸入水中，并将其置于 17-23℃、85-90% 的湿度下进行萌发和培养。

[0053] 2. 第二代杂交菌株的形成

[0054] (1)单核菌丝的分离

[0055] 将单个孢子从培养的第一代杂交菌株的子实体上分离，并按照上述相同的方法对其进行处理以产生单核菌丝，然后将其储存于冰箱中直至用于实验中。

[0056] (2)杂交

[0057] 按照上述相同的方法，将纯化分离的 L26 的单核菌丝和第一代杂交菌株的单核菌丝进行杂交以选择第二代杂交菌株。

[0058] (3)第二代杂交菌株的培养

[0059] 按照和上述培养第一代菌株相同的方法培养第二代杂交菌株。

[0060] 3. 新型菌株 Lentinula edodes(Berk.)Pegler GNA01 的形成

[0061] (1)单核菌丝的分离

[0062] 将单个孢子从培养的第二代杂交菌株的子实体上分离,并按照上述相同的方法对其进行处理以产生单核菌丝,然后将其储存于冰箱中直至用于实验中。

[0063] (2)杂交

[0064] 按照和上述相同的方法,将纯化分离的第一代和第二代杂交菌株的单核菌丝进行杂交以选择具有锁状联合的菌株,并将其并命名为 Lentinula edodes(Berk.)Pegler GNA01。

[0065] (3)Lentinula edodes(Berk.)Pegler GNA01 的培养

[0066] 按照和培养第一代菌株相同的方法培养 Lentinula edodes(Berk.)Pegler GNA01。

[0067] 4. 新型蕈形香菇菌株的选择

[0068] 在繁殖的子实体中,将在形态学、颜色以及光泽、尺寸和口味方面较佳的子实体作为初级选择。然后再选择在形态学上几乎完全为球形、致密、但组织不太硬,并且在整个表面呈现白色暴花外观的子实体,并将该菌株于 2010 年 11 月 23 日保藏在韩国微生物培养中心(保藏号 :KCCM11135P)。

[0069] 5.Lentinula edodes(Berk.)Pegler GNA01 的形态学特征

[0070] Lentinula edodes(Berk.)Pegler GNA01 看起来像既没有菌盖也没有菌柄形成于其中的一个球体。由于新型菌株既没有菌盖也没有菌柄,因此,它不呈现菌盖的打开。它的生长速度为传统蕈形香菇的两倍,重量可达 150g。Lentinula edodes(Berk.)Pegler GNA01 的组织柔软、有弹性且为白色,并且具有味道甘甜的特性风味。由于其耐嚼因此口感非常好。Lentinula edodes(Berk.)Pegler GNA01 的菌肉比传统的蕈形香菇的菌肉硬实,并在整个表面呈现白色暴花的外观,提高了 Lentinula edodes(Berk.)Pegler GNA01 的子实体的商业价值。由于 Lentinula edodes(Berk.)Pegler GNA01 不产生孢子,因此通过其子实体的组织分离进行繁殖。

[0071] 实施例 2 :Lentinula edodes(Berk.)Pegler GNA01 的生理学特性

[0072] (1)菌丝生长的最适温度

[0073] 将生长在马铃薯琼脂板上的菌丝切成直径为 10mm 的尺寸,分别接种在 MCM 琼脂板的中央,并在不同的温度下培养 14 天。生长的菌丝的测量值指示了 5℃到 29℃的生长温度范围,日光条件下的最适温度为 17-23℃,夜间条件下的最适温度为 5-10℃。

[0074] (2)菌丝生长的最适酸度

[0075] 为了研究菌丝生长的最适酸度,将 25ml 的酵母浸出粉胨葡萄糖肉汤(glucose peptone-yeast extract broth)的 pH 值调节至 4 到 8。静置培养 14 天后,将干燥的菌丝称重,表明可用于菌丝生长的酸度的范围为 4.5 到 8,最适 pH 值约为 6.5。

[0076] 实施例 3 :新型菌株 Lentinula edodes(Berk.)Pegler GNA01 的培养

[0077] 1. 培养基的制备

[0078] (1)原材料

[0079] ①阔叶树锯末(橡树)

[0080] 可用于培养 Lentinula edodes(Berk.)Pegler GNA01 的阔叶树锯末片尺寸为 5mm 或小于 5mm，具有新鲜和鲜明的颜色(fresh and vivid color)。所述锯末的水含量为 14-18%，并且 pH 值呈现为 8.0 左右，总氮含量为 0.3% 或大于 0.3%。镉含量严格限制在标准水平或更低。优选 12-15 年树龄的橡树。优选地，其直径在 12-15cm 之间。所述锯末优选由 60% 的 3-5mm 尺寸的木片、30% 的 2-3mm 尺寸的木片和 10% 的 1-2mm 尺寸的木片组成。

[0081] ②白桦树锯末

[0082] 用于培养蕈形香菇的培养基通常含有糖类作为有机碳源。本发明中使用 20% 的白桦树锯末代替糖类。

[0083] ③麦麸

[0084] 麦麸的蛋白含量为 13.5%，粗脂肪的含量为 3.8%，粗纤维的含量为 10.4%，可利用的碳水化合物的含量为 55.40%，灰分含量为 4.8%，以及水含量为 12.1%。另外，麦麸具有的维生素 B1 的含量为 7.9mg/kg，并含有 16 种氨基酸且谷氨酰胺的总含量达 46%。

[0085] (2)培养基的构成比例

[0086] 将橡树锯末、白桦树锯末和麦麸以 3:1:1 (v/v/v)的比例混合。

[0087] (3)混合

[0088] 将干燥的原材料与水一起混合约 2 小时，所述混合物的水含量在 60-62% 之间。最终的培养基优选在制备后 4 小时内使用。

[0089] 2. 装料(填料)

[0090] 在规格为高 60cm× 宽 18cm× 厚 0.055mm 的培养 PP 袋(culturing PP envelope)中装入 42cm 高的培养基，总重量达 3.0-3.2kg。使用瓶帽(capsule)将装料的袋的上部密封并塞上棉塞。

[0091] 3. 灭菌

[0092] 在大气压下于 105℃进行灭菌 70min，然后在高压下于 121℃灭菌 110min (有效灭菌时间)。

[0093] 4. 冷却

[0094] 将所述培养基在保持 7℃的无菌冷却室内冷却至 17℃。

[0095] 5. 接种

[0096] 通过使用穿孔器在培养基的中央形成空穴。将种子菌株以每袋 10g 的接种量接种于空穴中，随后使用棉塞密封。

[0097] 6. 培养

[0098] 将单个袋摆放在培养台(culture benches)上，并在空气通风机运作良好的条件下于 22℃孵育 50 天。将空气维持在 60% 的湿度，二氧化碳的含量为 1,200ppm 或 1,200ppm 以下。保持黑暗条件用于菌株的生长。

[0099] 7. 褐变

[0100] 转移至褐变室后，对袋进行一次或多次穿孔以调节水含量。褐变持续 60 天。穿孔的数量可以取决于水含量以使得重量可以降至装入的培养基的约 30%。典型的，转移至褐变室约 10 天后进行第一次穿孔，并根据水含量进行另外的穿孔。

[0101] 8. 繁殖管理

[0102] 褐变 60 天后，将培养基转移至繁殖室并进行浸渍工序。优选地，先将用于浸渍工

序的水温调节至比室温低约 10℃，再将培养基在水中浸渍 8 小时。另外，水的 pH 值优选为 6.5。水浸渍完成后，将所述培养基置于桌子上以使蘑菇出菇。繁殖室在日光条件下保持 17-23℃并且在夜间条件下保持 5-10℃的最适温度，在蘑菇出菇的早期湿度为 85%-90%，在收获期湿度为 60%。一般地，水浸渍后 15 天可以获得产物。

[0103] 尽管为了说明的目的已经公开了本发明的优选实施方式，但在没有背离伴随的权利要求中公开的本发明的范围和精神的情况下，对本发明做出的修改、添加和替换对本领域技术人员来说是显而易见的。

[0104]

申请人或代理人档案号 OPP2011090KR	国际申请号

关于微生物保藏的说明

（专利合作条约实施细则 13 之 2）

微生物保藏的说明	
A.对说明书第 3 页，第 8-10 行 所述的已保藏的微生物或其他生物材料的说明	
B. 保藏事项	更多的保藏在附加页说明 ☐
保藏单位名称 韩国微生物培养中心（Korean-Culture of Microorganisms）	
保藏单位地址 （包括邮政编码和国名） 361-221，Yurim B/D 弘济-1-洞，西大门区 首尔 韩国 （361-221，Yurim B/D Hongje-1-dong, Seodaemun-gu SEOUL 120-091 Republic of Korea）	
保藏日期 2010-11-23	保藏号 KCCM11135P
C.补充说明（必要时）	更多信息在附加页中 ☐
D.本说明是为下列指定国作的（如果说明不是为所有指定国而作的）	
E.补充说明（必要时）	
下列说明将随后向国际局提供（写出说明的类别，例如：“保藏的编号”）	

由受理局填写	由国际局填写
☐ 本页已经和国际申请一起收到	☐ 国际局收到本页日期
授权官员	授权官员

[0105] PCT/RO/134 表（1998 年 7 月，2004 年 1 月再版）

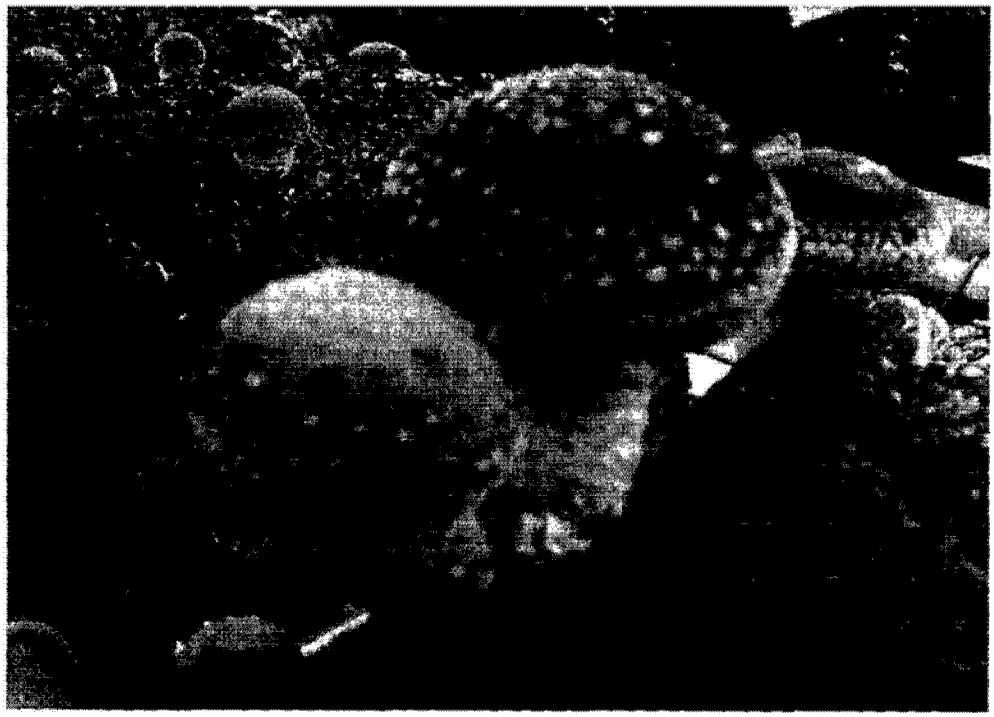


图 1



图 2

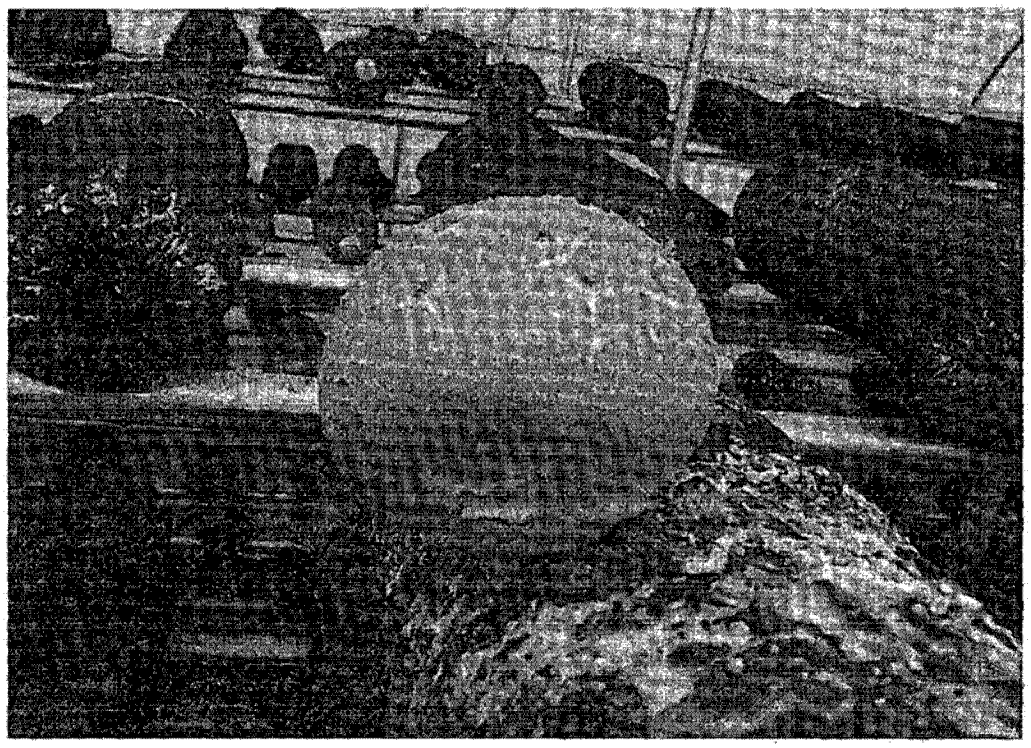


图 3

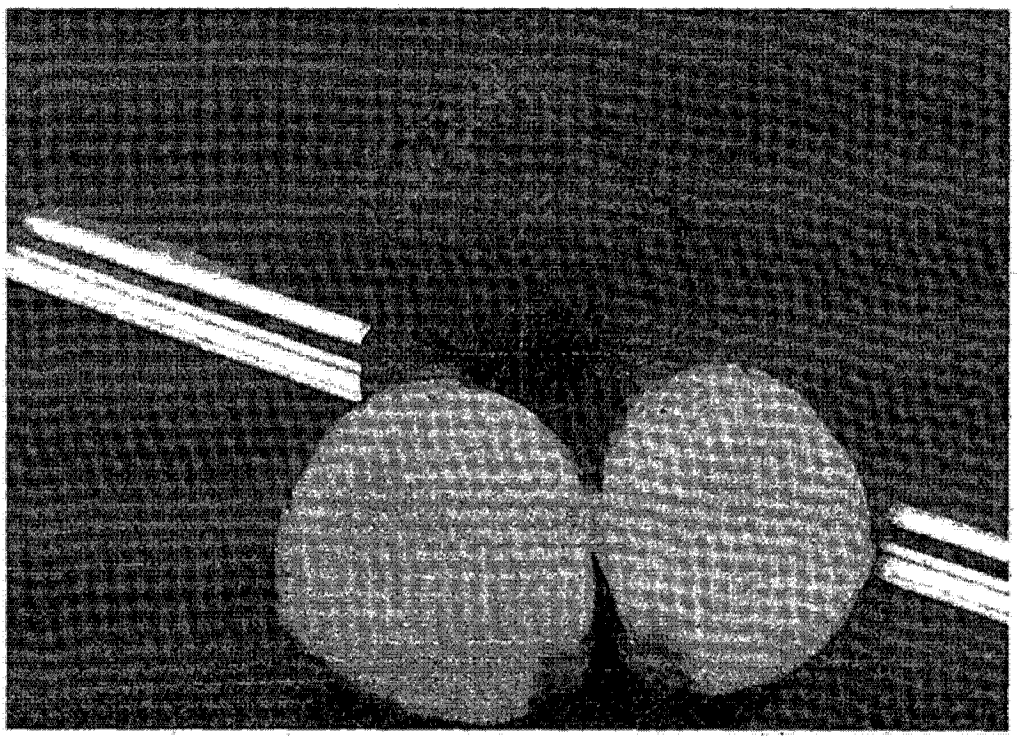


图 4