

# 红菇菌丝及其深层培养液的抑菌活性初步研究

陈旭健, 刘 琴, 陈 波

(玉林师范学院化学与生物系, 广西 玉林 537000)

**摘 要:** 采用贴块法和滤纸圆片法测定广西容县野生红菇(*Russula vinosa* Lindbl)菌丝及其深层培养液的抑菌活性。结果表明: 菌丝对细菌、酵母菌、霉菌都有一定的抑菌作用, 其中对细菌的抑菌作用最强, 对酵母菌、霉菌的抑制作用较弱。结果还表明红菇深层培养液表现出较强的抑菌活性, 其中对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌等细菌的抑制作用最强, 对真菌的抑制作用较弱。红菇深层培养液培养 4d 时抑菌作用最强。

**关键词:** 红菇; 菌丝; 深层培养发酵液; 抑菌活性

## Preliminary Study of Antimicrobial Activities of *Russula vinosa* Lindbl Mycelium and Its Submerged Culture Fermentation Broth

CHEN Xu-jian, LIU Qin, CHEN Bo

(Department of Chemistry and Biology, Yulin Normal University, Yulin 537000, China)

**Abstract:** The antimicrobial activities of *Russula vinosa* Lindbl mycelium and its submerged culture fermentation broth were determined by primary-explant and filter paper disk test methods. The results indicated that the mycelium of *Russula vinosa* Lindbl has the strongest antimicrobial effect against bacteria, but weak inhibiting effect on yeast and mould. The results also showed that the antimicrobial activities of the submerged culture fermentation broth of *Russula vinosa* Lindbl against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* are the strongest, but the activities against *Aspergillus niger* and *Aspergillus oryzae* are weak. The antimicrobial activity of the submerged 4-day culture fermentation broth of *Russula vinosa* Lindbl, is up to maximum.

**Key words:** *Russula vinosa* Lindbl; mycelium; submerged cultivation fermentation broth; antimicrobial activity

中图分类号: Q939.97

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2008)07-0260-03

红菇(*Russula*) 又名美丽红菇、鳞盖红菇, 是一类大型菌根真菌, 属担子菌亚门、层菌纲、红菇目、红菇科(*Russulaceae*)。红菇营养丰富, 鲜美可口, 具有补血、滋阴、清凉解毒之功效, 民间常以红菇加瘦肉或黑豆炖服治疗贫血、水肿、营养不良及产妇出血过多等症<sup>[1]</sup>。研究表明红菇粉能有效减轻肝损伤, 改善肝功能<sup>[2]</sup>, 是一种野生名贵稀有的药食兼用菌, 具有极高的应用开发价值。国际上已报道的红菇有 300 多种, 我国有记载的 90 余种, 其中多数可食用且具有药用功能<sup>[3]</sup>。近年来, 随着研究的深入, 红菇众多的药用价值不断被发现和证实, 已成为开发新一代营养保健品及生物制药的研究热点。随着当今人们对食品天然防腐剂的要求, 使得真菌类、植物类抗菌性的研究日益受到人们的重视。凌建亚<sup>[4]</sup>、许旭萍<sup>[5]</sup>、柯丽霞<sup>[6]</sup>、计红芳<sup>[7]</sup>等分别对红菇科的浓香乳菇(*Lactarius camphoratus*)、正

红菇(*Russula vinosa*)、松乳菇(*Lactarius deliciosus*)和绒白乳菇(*Lactarius vellereus*)的菌丝抑菌活性进行了研究, 结果表明它们对各种细菌、放线菌、真菌均有不同程度的抑制作用。本实验研究广西容县野生红菇(*Russula vinosa* Lindbl)菌丝及其深层培养液的抑菌活性, 旨在为进一步开发和利用红菇这一特色资源提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 菌种

红菇菌种 广西容县野生红菇(*Russula vinosa* Lindbl)分离的纯菌丝体。

细菌: 枯草芽孢杆菌、大肠杆菌、金黄色葡萄球菌; 酵母菌: 卡尔伯斯酵母菌; 霉菌: 黑曲霉、米

收稿日期: 2007-08-11

基金项目: 广西教育厅资助项目(200609MS025); 广西自然科学基金项目(0728250)

作者简介: 陈旭健(1965-), 男, 副教授, 主要从事功能食品与营养以及微生物学研究。E-mail: ylcxj123@tom.com

曲霉。均由玉林师范学院微生物学实验室提供。

### 1.1.2 培养基

红菇菌丝培养基：PDA 培养基；细菌培养基：牛肉膏蛋白胨培养基；酵母菌培养基：豆芽汁蔗糖培养基；霉菌培养基：查氏培养基；红菇深层培养的培养基<sup>[8]</sup>(马铃薯 200g/L、蔗糖 20g/L、蛋白胨 5g/L、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$  3g/L、 $\text{MgSO}_4$  1.5g/L)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 菌种培养及菌悬液制备

红菇菌丝的培养：从母种试管中挑出黄豆大小的菌丝块接种于在斜面培养基、平板培养基中部，自然条件下培养备用；红菇菌丝体的深层培养：深层培养用 250ml 三角瓶装培养液 100ml，接种，置旋转式摇床，220r/min、26℃ 培养；供试菌株的培养及菌悬液的制备：将各供试菌种在超净工作台上分别接入已配好的固体培养基上，培养待用。用接种环挑取一环菌体放入 50ml 无菌水中，充分振荡 10min，制成菌悬液备用。

#### 1.2.2 抗菌性实验方法

##### 1.2.2.1 菌丝抑菌活性实验

采用贴块法<sup>[4]</sup>：用打孔器( $\phi=0.8\text{cm}$ )取红菇菌丝块放在供试菌株培养基平板上，然后放置一定时间，把混有 0.1ml 供试菌悬液 5ml 的半固体琼脂倒在平板上，恒温(细菌 37℃、酵母菌和霉菌 28℃)培养，以灭菌的空白红菇培养基代替红菇菌丝块作为对照，观察抑菌效果。

##### 1.2.2.2 深层培养液抑菌活性实验

将深层培养液倒出，用 6 层已灭菌的纱布过滤，用滤纸圆片测试培养法测抗菌性<sup>[9]</sup>。用打孔器将新华 1 号滤纸打成直径 6mm 的小圆片，将灭菌滤纸片浸入以上方法取得的深层培养液中，浸透 5h。用无菌镊子将浸好的滤纸片夹起并贴在已涂布好供试菌种的平板上，一边贴培养液滤纸片，一边贴空白对照滤纸片，置恒温(细菌 37℃、酵母菌和霉菌 28℃)培养箱中培养，观察抑菌效果。

### 1.2.3 数据统计分析

方差分析采用 SPSS 11.5 统计分析软件，采用 Duncan 新复极差法( $p=0.05$ )检验分析显著性。

## 2 结果与分析

### 2.1 红菇菌丝的抑菌活性

由表 1 可以看出，红菇菌丝对细菌、酵母菌、霉

表 1 红菇菌丝的抑菌活性实验结果( $n=12$ )

Table 1 Antimicrobial activity of mycelium of *R. vinosa* ( $n=12$ )

菌株	抑菌圈直径(cm)	
	培养 2d 后	培养 1 周后
枯草芽孢杆菌	$3.2 \pm 0.22^a$	$3.2 \pm 0.22^a$
大肠杆菌	$3.1 \pm 0.27^a$	$3.1 \pm 0.27^a$
金黄色葡萄球菌	$3.1 \pm 0.22^a$	$3.1 \pm 0.22^a$
卡尔伯斯酵母菌	$0.8 \pm 0.14^b$	$1.2 \pm 0.20^b$
黑曲霉	$1.2 \pm 0.20^c$	—
米曲霉	$1.3 \pm 0.17^c$	—

注：—表示没有抑菌活性；同一列内数据后有相同字母者是经 Duncan 新复极差检验差异不显著。下同。

菌都具有不同程度的抑菌活性。其中，对细菌的抑菌活性最强，1 周以后抑菌圈直径依然大于 3.0cm；对霉菌在培养 2d 后，抑菌圈也较明显，但是 1 周后抑菌圈已经消失。

表 2 不同培养时间的红菇深层培养液的抑菌效果(cm,  $n=12$ )

Table 2 Antimicrobial activity of submerged culture fermentation broth of *R. vinosa* in different incubation time (cm,  $n=12$ )

供试菌种	培养时间(d)				
	3	4	5	6	7
金黄色葡萄球菌	$1.2 \pm 0.15^a$	$1.9 \pm 0.20^b$	$1.4 \pm 0.14^c$	—	—
大肠杆菌	$1.7 \pm 0.14^a$	$2.4 \pm 0.26^b$	$1.3 \pm 0.22^c$	$1.0 \pm 0.14^d$	—

### 2.2 不同培养时间的红菇深层培养液抑菌活性的变化动态

为了解不同培养时间的红菇深层培养液的抑菌活性变化动态，确定较适合的深层培养时间，以金黄色葡萄球菌和大肠杆菌作为供试菌种进行了深层培养液抑菌活性试验。结果表明，随着红菇深层培养的培养时间不同，其培养液抑菌活性也不同(见表 2)。抑菌活性在前 4d 内快速增加，培养 4d 时培养液抑菌活性最高，随后抑菌活性随培养时间延长而降低。因此红菇深层培养液培养的最适周期为 4d。

### 2.3 红菇深层培养液的抑菌活性

由表 3 可以看出，培养 4d 的红菇深层培养液对细菌、酵母菌、霉菌都具有不同程度的抑菌活性，其中，对大肠杆菌的抑菌活性最强。

## 3 结 论

本实验中红菇菌丝和深层培养液对细菌抑制效果远远好于对真菌的抑制效果，可能是由于霉菌是靠孢子繁殖，一个星期后，霉菌产生新的孢子且红菇菌丝产生

表 3 红菇深层培养液对不同菌种的抑菌效果( $n=2$ )

Table 3 Antimicrobial activity of submerged culture fermentation broth of *R. vinosa* against different microbial strains ( $n=2$ )

供试菌种	金黄色葡萄球菌	枯草芽孢杆菌	大肠杆菌	酵母菌	黑曲霉	米曲霉
抑菌圈直径(cm)	$1.9 \pm 0.19^a$	$1.1 \pm 0.15^c$	$2.4 \pm 0.22^b$	$1.6 \pm 0.21^d$	$1.5 \pm 0.20^d$	$1.0 \pm 0.14^e$

的抑菌物质消耗殆尽,或霉菌在竞争生长中占优势,表现出抑菌效果下降甚至没有抑菌效果。红菇深层培养液培养时间为4d的抑菌作用最强,抑菌强度是细菌>酵母菌、霉菌,且G<sup>-</sup>菌>G<sup>+</sup>细菌,与许旭萍等<sup>[5]</sup>研究正红菇菌丝体和正红菇提取液的抑菌作用结果,抑菌强度为G<sup>-</sup>细菌>G<sup>+</sup>细菌>酵母、霉菌的结果是一致的,说明红菇子实体与红菇深层培养液的抑菌物质有可能是相似的。

红菇菌丝和深层培养液抑菌作用的有效成分有待于进一步研究。以深层培养液代替资源匮乏的野生子实体,提取有抑菌活性的有效成分,开发抗菌药物将具有广阔的前景。

#### 参考文献:

- [1] 甘耀坤,陈旭健,冯槐全,等. 广西容县的红菇资源及开发与保护[J]. 食用菌, 2005(6): 11-12.
- [2] 陈旭健,杨振德,阮家兴. 红菇对高糖高脂大鼠肝功能的影响[J]. 山东医药, 2007, 47(35): 21-22.
- [3] 王青云,石木标. 中国红菇的研究现状与展望[J]. 中国食用菌, 2004, 23(4): 10-12.
- [4] 凌建亚,秦红敏,张长铠. 浓香乳菇菌丝抗菌活性的研究[J]. 食品科学, 2000, 20(4): 40-42.
- [5] 许旭萍,李淑冰,李惠珍,等. 正红菇深层培养菌丝体与野生子实体有效成份的分析比较[J]. 菌物系统, 2003, 22(1): 107-111.
- [6] 柯丽霞. 松乳菇的抗菌活性研究[J]. 安徽师范大学学报: 自然科学版, 2002, 25(1): 63-64.
- [7] 计红芳,宋瑞清. 绒白乳菇菌丝体多糖成分及抑菌活性分析[J]. 东北林业大学学报, 2007, 35(4): 41-42.
- [8] 陈旭健,甘耀坤. 红菇深层培养因子的初探[J]. 食用菌, 2007(2): 21-22.
- [9] 谭敬军,胡亚平,吴晗晗. 竹荪抑菌作用研究[J]. 食品科学, 2000, 21(10): 54-56.