

天津七里海野生芫蕈菌丝体液体培养基的优化

徐莹莉^{1,2}, 郭成金^{1,2}, 吕绍生³, 李兆江⁴, 刘西周^{1,2*}

(1. 天津师范大学生命科学学院, 天津 300387; 2. 天津市动植物抗性重点实验室, 天津 300387; 3. 天津市七里文化传播有限公司, 天津 301508; 4. 天津师范大学地理与环境科学学院, 天津 300387)

摘要 以一株分离自天津七里海湿地野生芫蕈为研究对象, 以其菌丝体生物量为主要测量指标, 对其菌丝体液体培养基进行优化, 首先采用不同碳源、氮源进行单因素初选, 再结合正交设计, 最终得到其菌丝体最佳液体培养基配方为蔗糖 20 g/L, 蛋白胨 4 g/L, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 1.5 g/L, KH_2PO_4 3 g/L, V_{B_1} 0.004 g/L, pH 值自然。29 °C 培养 20 d, 菌丝体生物量达到 1.980 g/L。

关键词 野生芫蕈; 菌丝体; 液体培养基; 正交设计; 生物量

中图分类号 S646.9 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2018)21-0012-03

Optimization of Liquid Culture Medium of Wild Weimo Mycelium in Qilihai, Tianjin

XU Ying-li^{1,2}, GUO Cheng-jin^{1,2}, LÜ Shao-sheng³ et al (1. College of Life Sciences, Tianjin Normal University, Tianjin 300387; 2. Tianjin Animal and Plant Resistance Key Laboratory, Tianjin 300387; 3. Tianjin Qili Culture Communication Co., Ltd., Tianjin 301508)

Abstract A strain of wild weimo isolated from Tianjin Qilihai wetlands was studied in the experiment. The mycelial biomass was chosen as the main index to optimize liquid culture medium of wild weimo mycelium. Firstly, the single factor primary election was conducted with different carbon sources and nitrogen sources, then, in combination with orthogonal design. The optimum liquid nutrient medium was: 20 g/L sucrose, 4 g/L peptone, 1.5 g/L $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 3 g/L KH_2PO_4 , 0.004 g/L vitamin B_1 , pH natural. Under the condition of dark at 29 °C, the biomass of mycelium could reach 1.980 g/L after culturing 20 days.

Key words Wild weimo; Mycelium; Liquid nutrient medium; Orthogonal design; Biomass

食用蕈菌的液体培养称为液体发酵^[1], 液体发酵法能大大缩短生长周期, 实现菌种快速生长, 普遍提前 10~20 d, 且菌龄一致, 生长发育均匀一致, 接种简便, 液体菌种便于接种工作的机械化, 适合食用菌的工厂化、标准化生产^[2]。目前研究主要集中在芫蕈的抗氧化活性、种属鉴定, 对芫蕈菌丝体液体培养基筛选的有关报道较少。以一株采自天津七里海地区的野生蕈菌为研究对象, 通过碳氮源单因素初选, 并结合 $L_9(3^4)$ 正交设计^[3], 试图筛选出其菌丝体最适液体培养基, 实现天津七里海野生芫蕈的可持续合理有序开发利用, 提高生物量, 为其发酵生产、细胞学育种等进一步研究开发提供物质基础、理论依据和技术支撑, 为拯救和恢复该濒危野生蕈菌种质资源提供有力支持^[4]。

1 材料与方 法

1.1 供试菌种 供试菌株为一株野生芫蕈, 采自天津市宁河县七里海湿地保护区, 现存于天津师范大学蕈菌研究所。

1.2 试剂 蔗糖、葡萄糖、麦芽糖、可溶性淀粉、蛋白胨(含氮量 14.5%)、酵母粉(含氮量 9%)、牛肉膏(含氮量 11.7%)、硫酸铵(含氮量 99%)、硝酸铵(含氮量 99%)、 KH_2PO_4 、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 、 V_{B_1} 、琼脂粉(上海蓝季), 以上均为分析纯, 马铃薯、豆粕(含氮量 45.4%)。均为市售。

1.3 仪器 YXQ-LS-70A 电热压力蒸汽灭菌器, 上海博迅实业有限公司; SW-CJ-1FD 超净工作台, 苏净集团苏州安泰空气技术有限公司; Sartorius BS 224S 电子天平, 赛多利斯科学仪器(北京)有限公司; SPX-250B-Z 生化培养箱, 上海博迅实业有限公司医疗设备厂; THZ-D 台式恒温振荡器, 太仓市实验设备厂; SHB-III 循环水式多用真空泵, 郑州长城科工贸有限公司; DHG-9245A 电热恒温鼓风干燥箱, 上海一恒科

学仪器有限公司。

1.4 综合培养基 PDA 培养基: 马铃薯(浸提液) 200 g/L、琼脂粉 20 g/L、葡萄糖 20 g/L、 KH_2PO_4 3 g/L、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 1.5 g/L、 V_{B_1} 0.01 g/L。现将马铃薯加水煮沸 30 min 过滤, 滤液加入其他药品完全溶解后, 121 °C 灭菌 20 min, pH 自然。

1.5 试验方法

1.5.1 菌种分离培养及活化。 采用组织分离方法获取菌种, 将野生芫蕈色泽正常、未受病虫害的部分子实体表面杂物清除, 并用手术刀将子实体根部切除, 再用 75% 酒精擦拭 2 次, 在无菌条件下, 解剖刀、镊子等紫外线消毒后, 在酒精灯外焰进行灼烧, 冷却后, 把供分离部分子实体纵切一分为二, 在菌柄与菌盖交接处的组织上用解剖刀切成见方 1 cm² 小块, 用镊子迅速将组织块放在 PDA 平板内培养 7~8 d^[5]。将制备的菌种提前 4 d 活化。无菌条件下接种于综合培养基平板上, 29 °C 培养 3~4 d 备用^[6]。

1.5.2 菌丝体液体培养基制备。 从综合培养基上用手术刀挑取约 0.5 cm² 大小的菌种块, 接种在液体培养基液面上(100 mL 三角瓶装 50 mL 液体培养基), 每瓶 3 块, 每个水平重复 5 次, 29 °C 恒温培养 20 d。

1.5.3 菌丝体干重测量。 滤纸编号(3 次重复分别编号)后用电子天平称重, 将培养 20 d 的芫蕈菌丝体培养物抽滤, 蒸馏水冲洗 3 次后, 于 60 °C 烘箱中烘干 2 h 至恒重, 再次称量。

1.5.4 碳源培养基初选。 在基础培养基中以蛋白胨 4 g/L 为氮源, C_1 、 C_2 、 C_3 、 C_4 、 C_5 碳源分别为葡萄糖 20 g/L、蔗糖 20 g/L、麦芽糖 20 g/L、可溶性淀粉 10 g/L、马铃薯(浸提液) 200 g/L, 其他培养基成分为: KH_2PO_4 3 g/L, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 1.5 g/L, V_{B_1} 0.004 g/L^[6-7](表 1)。

1.5.5 氮源培养基初选。 芫蕈培养基配方见表 2。

1.6 正交试验设计 根据上述菌丝体干重结果, 从中选取 2 个菌丝体生物量较高的碳源和氮源, 以及不同浓度梯度的

作者简介 徐莹莉(1993—), 女, 安徽阜阳人, 硕士研究生, 研究方向: 遗传学。

收稿日期 2018-04-12

无机盐和 V_{B_1} , 使用 $L_9(3^4)$ 四因素、三水平进行正交试验, 正交因素与水平如表 3 所示。

表 1 芫蕈培养基序号及配方

Table 1 Serial number and formula of Weimo medium

培养基 Medium	KH_2PO_4	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	V_{B_1}	蛋白胨 Peptone	葡萄糖 Glucose	蔗糖 Sucrose	麦芽糖 Maltose	可溶性淀粉 Soluble starch	马铃薯(浸提液) Potato(water extract)
C_1	3	1.5	0.004	4	20				
C_2	3	1.5	0.004	4		20			
C_3	3	1.5	0.004	4			20		
C_4	3	1.5	0.004	4				10	
C_5	3	1.5	0.004	4					200

表 2 芫蕈培养基序号及配方

Table 2 Weimo medium serial number and formula

培养基 Medium	KH_2PO_4	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	V_{B_1}	葡萄糖 Glucose	蛋白胨 Peptone	酵母粉 Yeast powder	牛肉膏 Beef extract	豆粕(浸提液) Soybean meal (water extract)	$(NH_4)_2SO_4$	NH_4NO_3
N_1	3	1.5	0.004	20	4					
N_2	3	1.5	0.004	20		6.4				
N_3	3	1.5	0.004	20			4.95			
N_4	3	1.5	0.004	20				1.275		
N_5	3	1.5	0.004	20					2.76	
N_6	3	1.5	0.004	20						1.675

表 3 正交试验因素和水平

Table 3 Orthogonal experimental factors and levels

水平 Level	蔗糖(A) Sucrose	酵母粉(B) Yeast powder	无机盐(C) Inorganic salt	V_{B_1} (D)
Z_1	10(1)	3(1)	0.5+1(1)	0.004(1)
Z_2	10	6(2)	1.5+3(2)	0.008(2)
Z_3	10	9(3)	2.5+5(3)	0.012(3)
Z_4	15(2)	3	1.5+3	0.012
Z_5	15	6	2.5+5	0.004
Z_6	15	9	0.5+1	0.008
Z_7	20(3)	3	2.5+5	0.008
Z_8	20	6	0.5+1	0.012
Z_9	20	9	1.5+3	0.004

2 结果与分析

2.1 碳源差异性对芫蕈菌丝体生长的影响 碳源是蕈菌生长必不可少的营养物质之一,其作用是供应菌丝体生长所需的能量,参与各种代谢,组成菌体细胞的碳架结构^[8]。由表 4 可知,以蔗糖为供试碳源时生物量最多,以马铃薯浸提液为供试碳源时生物量最少。经生物统计学^[9]方差分析(表 5) F 值为 3.490, 小于 $F_{4,10,0.01} = 5.994$, 大于 $F_{4,10,0.05} = 3.478$, 表明在 0.01 水平上各个碳源对芫蕈菌丝体生物量影响不显著, 在 0.05 水平上其差异显著。根据 Duncan 检测法可知, 在 0.01 水平上蔗糖和马铃薯浸提液差异不显著, 但和葡萄糖、麦芽糖、可溶性淀粉间差异性显著。为获得最终碳源配方, 所以选用蔗糖为碳源进行正交试验。

2.2 氮源差异性对野生蕈菌菌丝体生长的影响 氮源是野生蕈菌生长必需的组分之一,其介入合成生物大分子等^[10]。由表 6 可知,有机氮源和无机氮源均可使其菌丝体生长,以

酵母粉为供试氮源菌丝体的生物量最多,而以硝酸铵为供试氮源菌丝体生物量最少。同时,发现有机氮源比无机氮源更适合野生蕈菌菌丝体生长。经生物统计学方差分析(表 7) F 值为 26.231, 大于 $F_{5,12,0.01} = 9.888$, 表明在氮源不相同的情况下芫蕈菌丝体干重呈现显著性差异。应用 Duncan 检测法检验表明,在 0.01 水平上酵母粉和其他 5 种氮源有极显著性差异,所以选取酵母粉做正交试验。

表 4 碳源差异性对菌丝体生物量的影响

Table 4 Effect of different carbon sources on the mycelia biomass

	葡萄糖 Glucose	蔗糖 Sucrose	麦芽糖 Maltose	可溶性淀粉 Soluble starch	马铃薯 Potato
重复 Repeated					
1	1.480	2.360	1.320	1.780	0.940
2	1.220	2.020	1.740	1.840	1.360
3	1.400	1.560	2.000	1.160	0.920
平均值 Mean	1.366	1.980	1.686	1.594	1.074
显著性 Significant	1.366± 0.133 ab	1.980± 0.401 b	1.686± 0.343 ab	1.594± 0.376 ab	1.074± 0.248 b

注:不同小写字母表示 0.05 水平差异显著

Note: Different lowercases stand for significant differences at 0.05 level

表 5 碳源差异性对菌丝体生物量的方差分析

Table 5 Variance analysis of different carbon sources on the mycelia biomass

交叉来源 Cross sources	平方差 Quadratic difference	自由度 Degree of Freedom	均方 Mean square	F
培养基间 Inter-medium	1.397	4	0.349	
误差 Error	1.000	10	0.100	3.490
总和 Sum	2.397	14		

表6 氮源差异性对菌丝体生物量影响

重复 Repeated	牛肉膏 Beef extract	豆粕 Soybean meal	蛋白胨 Peptone	NH_4NO_3	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	酵母粉 Yeast powder
1	1.560	1.180	1.380	1.120	1.120	1.820
2	1.320	1.220	1.680	1.080	1.040	2.020
3	1.500	1.260	1.360	1.000	1.160	1.880
平均值 Mean	1.460	1.220	1.473	1.067	1.107	1.907
显著性 Significant	0.125B	0.040C	0.179B	0.061C	0.061C	0.103A

注:不同大写字母表示0.01水平差异显著

Note: Different capital letters stand for significant differences at 0.01 level

表7 氮源差异性对菌丝体生物量的方差分析

交叉来源 Cross sources	平方差 Quadratic difference	自由度 Degree of freedom	均方 Mean square	F
培养基间 Inter-medium	1.472	5	0.294	
误差 Error	0.135	12	0.011	26.231
总和 Sum	1.607	17	-	

2.3 液体培养基正交试验及理论最佳组合验证 正交试验结果如表8所示,在4个因子中,相较于其他3个因子无机盐的极差(R)最大,蔗糖的极差最小,而无机盐极差越大,表示该因子的改变越能影响试验结果,即无机盐浓度的变化对野生蕈菌菌丝体干重的影响程度最大,蔗糖影响最小^[11-12]。同一因素下,K值越大,说明该处理越有利于蕈菌菌丝体生物量的累积,经比较各因素不同的K值可知,蔗糖和无机盐在第3个水平上,酵母粉与 V_{B_1} 分别在第1个水平上和第2个水平上^[14],使野生蕈菌菌丝体生物量最多,生长最佳,故理论最佳的液体培养基配方 $Z_7(A_3B_1C_3D_2)$,即蔗糖20 g/L,酵母粉3 g/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 2.5 g/L, KH_2PO_4 5 g/L, V_{B_1} 0.008 g/L。

表8 正交试验结果

Table 8 Orthogonal test results analysis table

水平 Level	蔗糖(A) Sucrose	酵母粉(B) Yeast powder	无机盐(C) Inorganic salt	V_{B_1} (D)	结果 Result
Z_1	10(1)	3(1)	0.5+1(1)	0.004(1)	0.727
Z_2	10	6(2)	1.5+3(2)	0.008(2)	0.836
Z_3	10	9(3)	2.5+5(3)	0.012(3)	0.836
Z_4	15(2)	3	1.5+3	0.012	0.908
Z_5	15	6	2.5+5	0.004	0.847
Z_6	15	9	0.5+1	0.008	0.730
Z_7	20(3)	3	2.5+5	0.008	1.031
Z_8	20	6	0.5+1	0.012	0.834
Z_9	20	9	1.5+3	0.004	0.746
K_1	0.800	0.889	0.764	0.773	
K_2	0.828	0.839	0.830	0.866	
K_3	0.870	0.771	0.905	0.859	
R	0.070	0.118	0.141	0.093	

注:无机盐由 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 和 KH_2PO_4 组成Note: Inorganic salt is composed of $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ and KH_2PO_4

在正交试验结果的基础上,做验证试验,以菌丝体生物量为指标,用正交试验所获得的菌丝体生物量最高的配方 Z_7

做验证试验(图1),得到苇蕈菌丝体生物量为1.031 g/L,低于 C_2 组合,结果显示理论最佳配方并非菌丝体生物量最高的配方,形成此种结果的原因可能是培养基的成分不同,导致溶液的渗透压和pH不同,从而使苇蕈的菌丝体生物量产生差异^[13]。

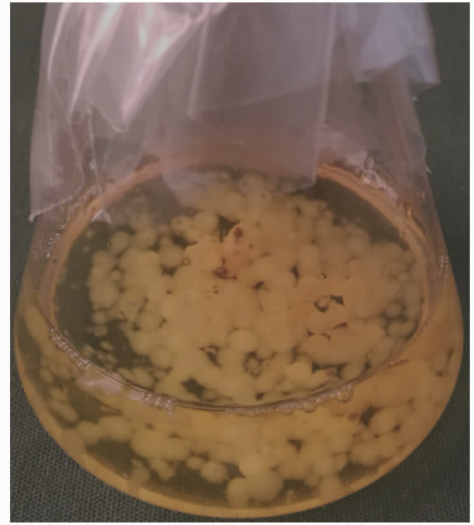


图1 理论最佳配方苇蕈菌丝体

Fig. 1 The best theoretical formula reed mushroom mycelia

经过碳源、氮源筛选试验,正交试验及理论最佳组合验证试验共21组(表9, $C_1 \sim C_5$ 表示碳源筛选试验, $N_1 \sim N_6$ 表示氮源筛选试验, $Z_1 \sim Z_9$ 表示正交试验, Y_1 表示理论最佳组合验证试验),并对21组试验做方差齐性分析(表10)可知, $F=6.594$,大于 $F_{20,42,0.05}=1.831$,表明各组合对苇蕈菌丝体生物量的影响具有显著性差异。

表9 不同培养基菌丝体生物量比较

Table 9 Comparison of biomass of mycelium in different culture mediums

试验号 Test No.	重复1 Repeated 1	重复2 Repeated 2	重复3 Repeated 3	平均值± 标准差 md±SD
C_1	1.480	1.220	1.400	1.366±0.133
C_2	2.360	2.020	1.560	1.980±0.401
C_3	1.320	1.740	2.000	1.686±0.343
C_4	1.780	1.840	1.160	1.594±0.376
C_5	0.940	1.360	0.920	1.074±0.248
N_1	1.560	1.320	1.500	1.460±0.124
N_2	1.180	1.220	1.260	1.220±0.040
N_3	1.380	1.680	1.360	1.473±0.179
N_4	1.120	1.080	1.000	1.067±0.061
N_5	1.120	1.040	1.160	1.107±0.061
N_6	1.820	2.020	1.880	1.907±0.103
Z_1	0.760	0.820	0.600	0.727±0.114
Z_2	0.460	0.860	1.200	0.836±0.370
Z_3	1.060	0.680	0.760	0.836±0.200
Z_4	1.180	0.860	0.680	0.980±0.253
Z_5	0.760	1.180	0.600	0.847±0.299
Z_6	0.700	0.880	0.600	0.730±0.141
Z_7	0.760	1.260	1.080	1.031±0.253
Z_8	0.840	0.700	0.960	0.834±0.130
Z_9	0.460	0.920	0.860	0.746±0.250
Y_1	2.036	0.874	1.158	1.356±0.606

- alternate* in Connecticut and Massachusetts [J]. *Plant disease*, 2001, 85(2): 230.
- [6] 张万良, 翟争光, 谢扬军, 等. 烟草赤星病研究进展[J]. *江西农业学报*, 2011, 23(1): 118-120.
- [7] 彭希文, 刘光珍, 杨永柱, 等. 云南省烟草赤星病(Tobacco brown spot)病原研究及其防治药剂的筛选[J]. *西南农业大学学报*, 2000, 22(2): 153-156.
- [8] 祖艳青, 蒋士君, 王海涛, 等. 河南省烟草赤星病病原鉴定[J]. *中国烟草学报*, 2013(4): 73-77.
- [9] 曹毅, 陆宁, 陈兴江, 等. 贵州典型山地气候区烟草赤星病菌的致病力[J]. *贵州农业科学*, 2012, 40(11): 104-106.
- [10] 莫建国, 陈庆园, 干飞. 烟草赤星病病原菌侵染的气象条件分析[J]. *安徽农业科学*, 2012, 40(25): 12530-12532.
- [11] 刘洋, 陈庆园, 曾琛, 等. 贵州省不同气候区烟草赤星病菌孢子分布研究[J]. *河南农业科学*, 2012, 41(11): 100-102.
- [12] 唐明, 向金友, 谢冰, 等. 宜宾烤烟赤星病致病力分化、生物学特性及抑菌药剂筛选研究[J]. *天津农业科学*, 2016, 22(10): 96-101.
- [13] 曾琛, 姜于兰, 谷晓平, 等. 山地气候对烟草赤星病的影响研究[J]. *广东农业科学*, 2012(3): 32-34.
- [14] 范敬修, 饶勇, 祝庄品, 等. 烟草赤星病发病规律及防治技术研究[J]. *安徽农业科学*, 2014, 42(14): 4240-4241.
- [15] 高福宏, 陈静, 陶琼, 等. 植烟地土壤理化性质对烟草病害发生的影响[J]. *湖南农业科学*, 2012(9): 74-76.
- [16] 蒋彩虹, 罗成刚, 任民, 等. 一个与净叶黄抗赤星病基因紧密连锁的 SSR 标记[J]. *中国烟草科学*, 2012, 33(1): 19-22.
- [17] 高亭亭, 蒋彩虹, 罗成刚, 等. Beinhart1000-1 抗赤星病基因的 QTL 定位[J]. *中国烟草学报*, 2014, 20(2): 104-107.
- [18] 吴中心, 张同庆, 王振坤, 等. 外源 DNA 导入转移烟草抗赤星病性状的研究[J]. *河南农业大学学报*, 1995, 29(1): 71-75.
- [19] 朱生伟, 张寒霜, 徐仲, 等. 应用浸种法导入外源 DNA 转化烤烟遗传性状变异的初步研究[J]. *华北农学报*, 1999, 14(S1): 107-111.
- [20] 孙光军, 舒敏言, 刘呈义, 等. 烟草赤星病流行规律及其防治方法[J]. *贵州农学院学报*, 1997(4): 28-31.
- [21] 张文平, 汪代斌, 曾超宁, 等. 不同烟草品种对烟草赤星病的抗性比较[J]. *安徽农业科学*, 2014, 42(35): 12513-12515.
- [22] 赵洋洋, 孙翠红, 刘建军, 等. 陇县不同烟草品种对赤星病的抗性以及品种筛选[J]. *安徽农业科学*, 2014, 42(13): 3879, 3883.
- [23] 曾超宁. 不同诱抗剂对烟草赤星病的诱导抗病作用[J]. *安徽农业科学*, 2015, 43(13): 115-116, 281.
- [24] 黄夸克, 陈海如, 杜官本, 等. “多肽保”诱导剂防治烟草病害的效果研究[J]. *西南林业大学学报*, 2016, 36(6): 131-136.
- [25] 李宏光, 周志成, 钟权, 等. 7种药剂防治烟草赤星病的田间药效试验[J]. *湖南农业科学*, 2012(16): 28-29.
- [26] 陈维林, 尚峰, 罗元雄, 等. 烟草赤星病发生为害调查及药剂防治试验[J]. *江西农业学报*, 2014, 26(2): 85-88.
- [27] 曹兴华, 李付军, 王培东, 等. 5种药剂防治烟草赤星病药效研究[J]. *现代农业科技*, 2013(14): 117, 119.
- [28] 张文梅, 张超群, 周治宝, 等. 不同杀菌剂防治烟草赤星病的田间药效评价[J]. *生物灾害科学*, 2013(3): 288-290.
- [29] 肖庆龄, 李基光, 林中正. 6种药剂对烟草赤星病的防治效果[J]. *安徽农业科学*, 2013, 41(7): 2916-2917, 2919.
- [30] 曾超宁, 车腾飞. 不同化学药剂对烟草赤星病的防治效果[J]. *安徽农业科学*, 2015, 43(24): 99-100, 113.
- [31] 彭世逞, 吴昊, 朱陈曾, 等. 几种药剂对烟草赤星病菌的抑制作用[J]. *西昌学院学报(自然科学版)*, 2015, 29(3): 1-3.
- [32] 王丽红, 陈世伟, 张帅, 等. 烟草赤星病菌的拮抗放线菌筛选[J]. *陕西科技大学学报(自然科学版)*, 2013, 31(2): 109-112.
- [33] 万科, 黄慧, 葛永怡, 等. 拮抗菌 L2 代谢产物对烟草赤星病原菌的抑制效果[J]. *贵州农业科学*, 2014, 42(6): 56-60.
- [34] 王静, 田华, 孔凡玉, 等. 短小芽孢杆菌 ARO3 对烟草赤星病菌和白粉病菌的防治[J]. *应用生态学报*, 2015, 26(10): 3167-3173.
- [35] 廉立慧, 高丽君, 杨娜, 等. 烟草赤星病菌拮抗性放线菌 Q14 的筛选及鉴定[J]. *生物技术通报*, 2013(10): 127-130.
- [36] 袁圆, 桑维钧, 石春发, 等. 6种中草药提取物对烟草赤星病菌的抑制作用[J]. *湖北农业科学*, 2016(5): 1159-1162.
- [37] 张焱珍, 肖志新, 浦勇, 等. 四种植物提取物对烟草赤星病菌抑菌活性研究[J]. *北方园艺*, 2014(11): 108-110.

(上接第 14 页)

表 10 不同培养基菌丝体生物量差异性的方差分析

Table 10 Variance analysis of biomass difference in different culture medium mycelium

	平方和 Square sum	df	均方 Mean square	F	显著性 Significant
组间 Intergroup	9.057	20	0.453	6.594	0.000
组内 Intragroup	2.885	42	0.069		
总数 Total	11.942	62			

3 结论与讨论

试验结果表明, 苇蕈菌丝体最佳液体培养基配方为 C₂ 组合, 即: 蔗糖 20 g/L, 蛋白胨 4 g/L, MgSO₄ · 7H₂O 1.5 g/L, KH₂PO₄ 3 g/L, V_{B1} 0.004 g/L, pH 自然, 29 °C, 培养 20 d, 菌丝体生物量达到 1.980 g/L。虽未从正交试验中筛选出最适配方, 但从 21 组试验中优化出最佳配方作为苇蕈菌丝体液体培养基配方^[14], 为其发酵生产、细胞学育种等进一步研究开发提供物质基础、理论依据和技术支撑, 为拯救和恢复该濒危野生蕈菌种质资源提供有力支持。

参考文献

- [1] 贾身茂. “蕈菌”之概念[J]. *食用菌*, 2015, 37(3): 66-68.

- [2] 闻毛红, 朱将伟. 食用菌液体培养技术的发展与应用[J]. *现代农业科技*, 2008(19): 125-126.
- [3] 张树庭. 蕈菌学[J]. *中国食用菌*, 1991, 10(3): 3.
- [4] 王祖伟, 刘明舵, 李兆江, 等. 七里海湿地环境生态系统退化与修复[J]. *水土保持研究*, 2005, 12(5): 244-247.
- [5] 刘进杰, 王淑芳, 卜庆梅, 等. 四种食用菌子实体不同部位组织分离菌丝长势对比[J]. *烟台职业学院学报*, 2006, 12(2): 62-65.
- [6] 刘西周, 郭成金. 采用 L₉(3⁴) 正交设计方法筛选血耳菌丝体液体培养基[J]. *中国食用菌*, 2009, 28(1): 36-38.
- [7] 马海燕, 郭成金. 灵芝菌丝体液体培养基的筛选[J]. *中国食用菌*, 2007, 26(4): 34-36.
- [8] 贾素巧. 碳氮营养对猴头菌生长发育及胞外酶活性的影响[D]. 保定: 河北农业大学, 2006.
- [9] NORMAN G R, STREINER D L. *生物统计学基础*[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2010.
- [10] 刘成荣. 碳源、氮源及其比例对香菇液体深层培养的影响[J]. *德州学院学报*, 2007, 23(6): 58-60.
- [11] 杨子美, 郭成金. 正交设计法筛选槐耳菌丝体液体培养基的研究[J]. *天津师范大学学报(自然科学版)*, 2009, 29(3): 66-68.
- [12] 黄亮, 王玉, 胡炳旭, 等. 正交设计法筛选紫芝菌丝体液体培养基的研究[J]. *天津农学院学报*, 2010, 17(2): 14-17.
- [13] 赵润, 郭成金. 冬虫夏草菌丝体液体培养基的优化[J]. *天津师范大学学报(自然科学版)*, 2008, 28(1): 8-11.
- [14] GANG J, LIU H, LIU Y. Optimization of liquid fermentation conditions and protein nutrition evaluation of mycelium from the caterpillar medicinal mushroom, *Cordyceps militaris* (Ascomycetes) [J]. *Int J Med Mushrooms*, 2016, 18(8): 745-752.