

贺晓龙,李敏艳,任桂梅,等. 维生素 B₁ 对羊肚菌菌丝体生长的影响[J]. 江苏农业科学,2014,42(10):230-231.

维生素 B₁ 对羊肚菌菌丝体生长的影响

贺晓龙^{1,2}, 李敏艳¹, 任桂梅^{1,2}, 张旭辉¹, 刘年强¹

(1. 延安大学生命科学学院, 陕西延安 716000; 2. 陕西省区域生物资源保育与利用工程技术研究中心, 陕西延安 716000)

摘要: 维生素 B₁ 是影响羊肚菌菌丝体生长的环境因素之一, 基础培养基中加入适量的维生素 B₁ 可促进菌丝体的生长。试验研究 M_{延-5}、M_{延-12}、M_{川美} 3 种羊肚菌菌丝体生长所需的最适维生素 B₁ 浓度范围, 结果表明, M_{延-5}、M_{延-12}、M_{川美} 菌丝体生长最适维生素 B₁ 浓度分别为 25~30、15、15 mg/L。

关键词: 维生素 B₁; 羊肚菌; 菌丝体; 生长; 方差分析

中图分类号: S646.701 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)10-0230-02

羊肚菌 (*Morchella esculenta*) 属于囊菌亚门盘菌纲盘菌类, 生于阔叶林地上, 菌盖圆锥形, 高 4~7 cm, 表面呈羊肚状, 味美, 营养价值高。羊肚菌是一种珍稀的野生食用、药用真菌, 蛋白质含量极为丰富, 必需氨基酸齐全, 还含有游离的稀有氨基酸如顺-3-氨基-L-脯氨酸和 2,4-二氨基异丁酸等, 风味奇鲜、香味独特^[1-3], 羊肚菌还含有多种维生素和铁、锌等矿质元素。羊肚菌作为一种调味品, 在国外已采用深层培养法规模化生产, 但至今羊肚菌子实体仍然不能进行产业化人工栽培。

羊肚菌菌丝体含有子实体固有的营养素和生理活性组分, 能较好地保持子实体的独特风味^[4], 研究羊肚菌菌丝体的生长可以促进营养价值和药用价值的开发利用。维生素 B₁ 是影响羊肚菌 M_{延-5}、M_{延-12}、M_{川美} 菌丝体生长的环境因素之一, 而关于维生素 B₁ 对羊肚菌菌丝体生长的影响至今尚未见报道。本试验研究 M_{延-5}、M_{延-12}、M_{川美} 3 种羊肚菌菌丝体在不同维生素 B₁ 浓度混合培养基中的生长状况, 得到适合这 3 种羊肚菌菌丝体生长各自最佳的维生素 B₁ 浓度。

1 材料与方

1.1 材料

菌株 M_{延-5}、M_{延-12}, 从陕西北泥湾野生羊肚菌菌盖分离筛选而得^[5]; 菌株 M_{川美} 引自四川绵阳食用菌研究所。维生素 B₁ 片、食用菌制种与培养常用药品、设备等来自市购。

1.2 方法

在葡萄糖硝酸钾基础培养基(葡萄糖 20 g、硝酸钾 2 g、硫酸镁 0.5 g、磷酸二氢钾 0.5 g、氯化钠 0.5 g、琼脂 20 g, 蒸馏

水 1000 mL) 中接种菌丝体, 25℃ 培养 7 d, 此环境是决定内生细菌特性的重要因素。

参考文献:

- [1] 龚明福, 马玉红, 李超, 等. 苦豆子根瘤内生细菌分离及表型多样性分析[J]. 西北植物学报, 2009, 29(2): 408-411.
- [2] 孙剑秋, 郭良栋, 臧威, 等. 药用植物内生真菌及活性物质多样性研究进展[J]. 西北植物学报, 2006, 26(7): 1505-1519.
- [3] 宋良科. 峨眉山天南星科药用植物资源研究[J]. 中国野生植物资源, 2006, 25(1): 35-36, 52.
- [4] 黄芳, 李波, 田珊, 等. 天南星和半夏的药理作用及抗虫活性研究进展[J]. 贵州农业科学, 2011, 39(10): 108-112.
- [5] 柯文山, 杨金莲, 马安宁. 一把伞南星块茎水浸液的杀螺活性初探[J]. 公共卫生与预防医学, 2007, 18(5): 21-22.
- [6] 郭尚敬, 冀芦莎, 胡鹏. 天南星科植物的研究进展[C]// 海口: 第九届全国药用植物及植物药学术研讨会会议论文, 2010: 314.
- [7] 古强, 刘宁, 邱旦恒, 等. 植物叶片内生放线菌的分离、分类与拮抗活性[J]. 微生物学报, 2006, 46(5): 778-782.
- [8] 唐启义, 冯明光. DPS 数据处理系统——实验设计, 统计分析 & 数据挖掘[M]. 北京: 科学出版社, 2007.

收稿日期: 2013-12-18

基金项目: 陕西省高水平大学建设专项资金(编号: 2012SXTS06); 陕西科技厅农业攻关(编号: 2011K02-11); 陕西省延安市科技项目(编号: 2012ks-13)。

作者简介: 贺晓龙(1982—), 男, 陕西临潼人, 实验师, 从事生物技术与食用菌研究。E-mail: ydhelong@163.com。

通信作者: 任桂梅(1955—), 女, 陕西清涧人, 教授, 从事应用微生物及食用菌研究。E-mail: ydrgm@163.com。

菌在 Watson 距离为 0.2 时可以聚分为 7 个表现群, 其中 YBS12(D 群)、YBS21(E 群)、YBS15(F 群)、YBS18(G 群) 可以独自形成表现群, A 群有 10 株菌株, B 群有 7 株菌株, C 群也有 7 株菌株。

3 结论

通过对 28 株内生细菌进行的 68 项表型形状测定可知, 所有内生细菌在 Watson 距离为 0.2 时可以聚为 7 个表现群, 因此具有显著的多样性。在 pH 值 5 的情况下, 有 86% 的菌株能生长, 也有 14% 的菌株能在 5% NaCl 的环境下生长, 在较低温度下也有很大一部分菌株能生长。与一般植物内生细菌相比, 一把伞南星内生细菌更具抗性、耐低温, 因此一把伞南星内生细菌更具有开发价值。内生细菌有着丰富的多样性, 同时还具有许多优良特性, 因此在内生细菌的利用上有着丰富的菌种资源, 可以利用这一特性, 通过生物技术方法定向改变植株内生细菌, 从而改变植株的生长环境等, 达到实现经济价值的目的。通过内生细菌数值分类树状图可知, 内生细菌种类在植株间变化不大, 同一地区采集的植株具有极高的相似性, 但在不同环境下采集的植株却表现出多个表现群, 因

水 1000 mL) 中, 分别加入不同量的维生素 B₁ 溶液, 配制成含维生素 B₁ 为 0、10、20、30、40、50 mg/L 的培养基各 100 mL, 分装于 10 支试管, 供试 3 种菌株各做 1 组, 重复 3 次, 进行菌株培养基初筛; 根据初筛试验结果, 菌株 M_{延-5} 使用含维生素 B₁ 浓度为 0、20、25、30、35、40 mg/L 的培养基进行培养试验, 菌株 M_{延-12} 使用含维生素 B₁ 浓度为 0、10、15、20、25、30 mg/L 的培养基进行培养试验, 菌株 M_{川美} 使用含维生素 B₁ 浓度为 0、5、10、15、20 mg/L 的培养基进行培养试验, 每个处理各 100 mL, 分装于 10 支试管。所有培养基均 121 °C 灭菌 30 min, 冷却后取出, 摆斜面备用^[6]。

超净工作台无菌条件下进行接种, 每支试管接 1 个菌种, 尽可能将菌种放在试管斜面近上端同一位置处, 接种完毕进行标记; 将接种好的试管斜面放入恒温培养箱中 24 °C 培养^[7], 24 h 后随机抽取 5 支试管测量 1 次菌丝体的长度, 观察长势并记录。每个处理重复 3 次。采用 SSR 法进行差异性分析^[8]。

2 结果与分析

2.1 不同浓度维生素 B₁ 培养基筛选试验

由表 1 可见, 维生素 B₁ 浓度为 30 mg/L 时, 菌株 M_{延-5} 菌丝体生长速度极显著快于 0、10、50 mg/L 维生素 B₁ 培养基培养的菌丝体, 显著快于 40 mg/L 维生素 B₁ 培养基培养的菌丝体, 与 20 mg/L 维生素 B₁ 培养基培养的菌丝体之间没有显著性差异, 菌株 M_{延-5} 培养较适宜的维生素 B₁ 浓度为 20 ~ 30 mg/L; 维生素 B₁ 浓度为 20 mg/L 时, 菌株 M_{延-12} 菌丝体生长最快, 极显著快于其他各浓度, M_{延-12} 菌丝体生长较适宜的维生素 B₁ 浓度为 20 mg/L 左右; 维生素 B₁ 浓度为 10 mg/L 时, 菌株 M_{川美} 菌丝体生长最快, 除与 20 mg/L 维生素 B₁ 培养基培养的菌丝体相比差异不显著外, 与其他浓度相比存在极显著差异, M_{川美} 菌丝体生长较适宜的维生素 B₁ 浓度为 10 ~ 20 mg/L。

表 1 3 种羊肚菌菌丝体在不同浓度维生素 B₁ 培养基中的生长情况

菌种名	组别	维生素 B ₁ 浓度 (mg/L)	菌丝体生长 速度 (mm/d)	差异显著性	
				$\alpha=0.05$	$\alpha=0.01$
M _{延-5}	4	30	5.54	a	A
	3	20	5.40	ab	A
	5	40	5.31	b	A
	2	10	4.74	c	B
	1	0	4.50	d	B
	6	50	4.10	e	C
M _{延-12}	3	20	14.47	a	A
	2	10	13.77	b	B
	4	30	13.57	b	B
	5	40	13.14	c	C
	1	0	13.00	c	CD
	6	50	12.71	d	D
M _{川美}	2	10	14.07	a	A
	3	20	13.94	a	AB
	1	0	13.63	b	B
	4	30	13.03	c	C
	5	40	12.91	c	C
	6	50	12.86	c	C

2.2 不同浓度维生素 B₁ 培养基培养试验

由表 2 可见, 维生素 B₁ 浓度为 30 mg/L 时, 菌株 M_{延-5} 的

菌丝体生长最快, 极显著快于 20、40 mg/L 维生素 B₁ 培养基培养的菌丝体, 显著快于 35 mg/L 维生素 B₁ 培养基培养的菌丝体, 与 25 mg/L 维生素 B₁ 培养基培养的菌丝体相比差异不显著, 其最适维生素 B₁ 浓度为 25 ~ 30 mg/L; 维生素 B₁ 浓度为 15 mg/L 时, 菌株 M_{延-12} 的菌丝体生长最快, 极显著快于其他各浓度, 其最适维生素 B₁ 浓度为 15 mg/L; 维生素 B₁ 浓度为 15 mg/L 时, 菌株 M_{川美} 的菌丝体生长最快, 极显著快于其他各浓度, 其最适维生素 B₁ 浓度也为 15 mg/L。

表 2 3 种羊肚菌在不同浓度维生素 B₁ 培养基中菌丝体长速分析

菌种名	组别	维生素浓度 (mg/L)	菌丝体生长 速度 (mm/d)	差异显著性	
				$\alpha=0.05$	$\alpha=0.01$
M _{延-5}	3	30	5.71	a	A
	2	25	5.50	a	A
	4	35	5.08	b	A
	1	20	4.97	bc	B
	5	40	4.81	c	B
M _{延-12}	2	15	13.86	a	A
	3	20	13.47	b	B
	1	10	13.17	bc	B
	4	25	12.93	c	C
	5	30	12.40	c	C
M _{川美}	4	15	14.21	a	A
	3	10	13.93	b	B
	5	20	13.88	b	B
	2	5	13.31	c	C
	1	0	13.24	c	C

3 结论

在基础培养基中加入适量的维生素 B₁, 可促进羊肚菌菌丝体的生长, 而不同种类的羊肚菌, 其最适的维生素 B₁ 浓度范围不尽相同。试验结果显示, 菌株 M_{延-5} 最适维生素 B₁ 浓度为 25 ~ 30 mg/L, 菌株 M_{延-12} 和菌株 M_{川美} 最适维生素 B₁ 浓度均为 15 mg/L, 这可能是由于菌种本身性质不同所致。

在试验过程中, 为使结果更加精确, 需将维生素 B₁ 片配制成溶液, 并用移液管移加。接种后的试管斜面需在接种处贴一细小标签, 每次测量以此为起点确保测量的准确性。

参考文献:

- [1] 任爱梅, 李建宏, 谢放, 等. 不同培养基对羊肚菌菌丝生长及菌核形成的影响[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(11): 270-272.
- [2] 秦俊哲, 吕嘉彬. 食用菌栽培学[M]. 杨凌: 西北农林科技大学出版社, 2002: 17.
- [3] 刘文丛, 刘颖, 郭相, 等. 滇西北地区羊肚菌的分子鉴定及 ITS 序列分析[J]. 江苏农业科学, 2012, 40(3): 31-34.
- [4] 陈芳草, 刘兴蓉, 谭方河, 等. 尖顶羊肚菌生物培养学特性研究[J]. 西南农业学报, 2004, 17(4): 508-514.
- [5] 任桂梅, 高小朋, 陈国梁. 陕北野生羊肚菌母种分离研究初报[J]. 延安大学学报: 自然科学版, 2002, 21(3): 65-67.
- [6] 赵春燕, 孙军德, 李敏, 等. 培养条件对羊肚菌菌丝生长的影响[J]. 中国食用菌, 2005, 24(1): 15-17.
- [7] 孟丽, 许桂芳, 段利娟. 硫酸亚铁对食用菌菌丝体生长发育的影响[J]. 中国食用菌, 2004, 23(3): 45-47.
- [8] 杜荣骞. 生物统计学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2001: 113-114.