

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 材料与方法

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)中加入维生素 B₁ 溶液,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,冀丽莎,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,统计分析及数据挖掘[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 个表观群,其中 YBS12(D 群)、YBS21(E 群)、YBS15(F 群)、YBS18(G 群)可以独自形成表观群,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 个表观群,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观群,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 ℃ 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 ℃ 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	
				α=0.05	α=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	
				α=0.05	α=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.