

虫草人工控制液体培养生态因子研究

尚子焕

(滨州市农业局 山东 滨州 256600)

摘要:通过人工控制液体培养虫草试验,研究了虫草人工控制液体栽培最佳碳、氮、无机盐、维生素种类、浓度及配比,以及最适 pH 和最适温度。结果表明:虫草液体培养的最适碳、氮组合为葡萄糖 5.0 g/L、白糖 3.0 g/L、蛋白胨 2.0 g/L、牛肉膏 1.0 g/L;最适无机盐和维生素是 KH_2PO_4 1.0 g/L、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g/L、 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g/L、 VB_1 0.1 g/L;最适 pH 5.5;最适温度是 24℃。

关键词: 虫草;人工控制;液体培养;生态因子

中图分类号: Q 282.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2010)14-0189-04

1 材料与方法

1.1 虫草液体培养的碳源试验

1.1.1 虫草液体培养的碳源种类试验 以蛋白胨(2.5 g/L)、酵母膏(2.5 g/L)为基本培养基,分别选用葡萄糖、麦芽糖、蔗糖、白糖及可溶性淀粉为碳源,24℃进行培养。用显微镜镜检单核菌丝转化成双核菌丝后,测其菌丝体干重和粗多糖含量。以确定最佳碳源。

1.1.2 虫草液体培养的碳源浓度试验 碳源种类试验确定碳源为葡萄糖后,再用上述的基本培养基,依次选用 2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0 g/L 葡萄糖为碳源,24℃进行培养。用显微镜镜检单核菌丝转化成双核菌丝后,测其菌丝体干重和粗多糖含量。以确定碳源的最佳浓度。

1.2 虫草液体培养的氮源试验

1.2.1 虫草液体培养的氮源种类试验 以葡萄糖(5.0 g/L)、酵母膏(2.5 g/L)为基本培养基,分别选用蛋白胨、牛肉膏、硫酸铵、尿素及复合氨基酸粉为氮源,24℃进行培养。用显微镜镜检单核菌丝转化成双核菌丝后,测其菌丝体干重和粗多糖含量。以确定最佳氮源。

1.2.2 虫草液体培养的氮源浓度试验 氮源种类试验

确定碳源为蛋白胨后,再用上述的基本培养基,依次选用 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 g/L 的蛋白胨为氮源,24℃进行培养。用显微镜镜检单核菌丝转化成双核菌丝后,测其菌丝体干重和粗多糖含量。以确定氮源的最佳浓度。

1.3 虫草液体培养的 C/N 比试验

选用碳源试验和氮源试验中最适的 2 种碳源和氮源,进行四因素三水平试验,来确定 C/N 比。试验设计如表 1。

表 1 虫草液体培养的 C/N 四因素三水平试验设计

水平	因素			
	葡萄糖(A)	白糖(B)	蛋白胨(C)	牛肉膏(D)
1	0	0	0	0
2	2.0	2.0	1.0	1.0
3	3.0	3.0	2.0	2.0

1.4 液体培养的无机盐和和维生素试验

根据上述各试验,再加入酵母膏(2.5 g/L)为基本培养基,进行六因素二水平试验,来确定最佳无机盐和和维生素组合(表 2)。

表 2 虫草液体培养无机盐和和维生素试验设计

水平	因素					
	KH_2PO_4 (A)	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (B)	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (C)	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (D)	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (E)	VB_1 (F)
1	0	0	0	0	0	0
2	0.1	0.5	0.5	0.01	0.001	0.1

1.5 虫草液体培养的 pH 试验

用 5%氢氧化钠和 0.2 mol/L 的盐酸分别调节 pH 值至 4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0,

在 24℃进行培养,用显微镜镜检单核菌丝转化成双核菌丝后,测其菌丝体干重和粗多糖含量,来确定虫草液体培养的最适 pH 值。

1.6 虫草液体培养的温度试验

分别在 16、18、20、22、24、26、28℃下进行培养。用显微镜镜检单核菌丝转化成双核菌丝后,测其菌丝

作者简介:尚子焕(1967-),女,本科,高级农艺师,现从事农业技术推广工作。E-mail: shzh0910@126.com.
收稿日期: 2010-04-07

体干重和粗多糖含量, 来确定虫草液体培养的最适温度值。

2 结果与分析

2.1 虫草液体培养的碳源试验

2.1.1 虫草液体培养的碳源种类试验 从表 3、4 可看出, 虫草在以葡萄糖和白糖为碳源时, 菌丝体干重和粗多糖含量最高, 菌丝体干重 1.2416、1.2994 g/ 100mL, 粗多糖含量可达 0.1185、0.1183 g/ 100mL。虫草对上述 5 种碳源的利用依次为葡萄糖> 白糖> 蔗糖> 麦芽糖> 可溶性淀粉。

表 3 不同碳源对虫草菌丝体干重的影响					
菌丝干重 / g ° (100mL)⁻¹	碳源				
	葡萄糖	麦芽糖	蔗糖	可溶性淀粉	白糖
I	1.2503	0.8857	1.0836	0.8266	1.2293
II	1.2346	0.8490	1.0994	0.8371	1.2291
III	1.2398	0.8801	1.0983	0.8200	1.2299
Σx _i	3.7274	2.6598	3.2813	2.4837	3.6883
X _i	1.2416	0.8866	1.0936	0.8279	1.2294

表 4 不同碳源对虫草菌丝体粗多糖含量的影响					
粗多糖含量 / g ° (100mL)⁻¹	碳源				
	葡萄糖	麦芽糖	蔗糖	可溶性淀粉	白糖
I	0.1224	0.0821	0.0984	0.0800	0.1215
II	0.1146	0.0899	0.0996	0.0814	0.1137
III	0.1184	0.0876	0.0979	0.0811	0.1198
Σx _i	0.3554	0.2596	0.2959	0.2425	0.3550
X _i	0.1185	0.0865	0.0986	0.8080	0.1183

2.1.2 虫草液体培养的碳源浓度试验 从表 5 可看出, 葡萄糖浓度太高和太低都不利于冬虫夏草菌丝体的生长和粗多糖产率的提高。当葡萄糖浓度小于 3.0 g/ L 时, 粗多糖产率降低, 其营养用于长菌丝体的比例增加。当葡萄糖浓度大于 6.0 g/ L 时, 对菌丝体生长有一定的抑制作用, 粗多糖得率也并不高。葡萄糖浓度在 4.0 ~ 6.0 g/ L 时, 其菌丝体干重和粗多糖得率都较高。因此, 虫草液体培养的碳源浓度应控制在 4.0 ~ 6.0 g/ L, 以 5.0 g/ L 为宜。

表 5 不同葡萄糖浓度对虫草菌丝体干重及粗多糖含量的影响			
葡萄糖浓度 / g ° L⁻¹	菌丝体干重 / g ° (100mL)⁻¹	粗多糖含量 / g ° (100mL)⁻¹	粗多糖得率 / %
2.0	1.1013	0.0727	6.60
3.0	1.1215	0.0836	7.45
4.0	1.2387	0.1104	8.91
5.0	1.2408	0.1159	9.34
6.0	1.0983	0.0947	8.62
7.0	1.0004	0.0865	8.65

2.2 虫草液体培养的氮源试验

2.2.1 虫草液体培养的氮源种类试验 如表 6、7 所示, 最适虫草液体培养的氮源种类是蛋白胨, 其次是牛肉膏。

表 6 不同氮源对虫草菌丝体干重的影响					
菌丝体干重 / g ° (100mL)⁻¹	氮源				
	蛋白胨	复合氨基酸分	牛肉膏	硫酸铵	尿素
I	1.4233	1.256	1.3989	0.2264	0.1509
II	1.4018	1.2649	1.3946	0.2381	0.1543
III	1.4172	1.2758	1.3896	0.2259	0.1592
Σx _i	4.2423	3.7974	4.1831	0.6841	0.4581
X _i	1.4141	1.2658	1.3944	0.2280	0.1527

表 7 不同氮源对虫草菌丝体粗多糖含量的影响					
粗多糖含量 / g ° (100mL)⁻¹	氮源				
	蛋白胨	复合氨基酸分	牛肉膏	硫酸铵	尿素
I	0.1023	0.0809	0.0965	0.0134	0.0082
II	0.0993	0.0812	0.0974	0.0139	0.0093
III	0.1017	0.0803	0.0969	0.0141	0.0092
Σx _i	0.3033	0.2424	0.2908	0.0414	0.0267
X _i	0.1011	0.0808	0.0969	0.0138	0.0089

2.2.2 虫草液体培养的氮源浓度试验 从表 8 及图 1 可以看出, 氮源浓度太高 (> 2.5 g/ L) 时, 菌丝体干重明显增加, 但粗多糖产量下降, 氮源浓度太低 (< 1.5 g/ L), 菌丝体才能兼顾其生长和多糖的形成。因此最适的氮源浓度为 2.0 g/ L。

表 8 不同浓度蛋白胨对虫草菌丝体干重及粗多糖含量的影响			
蛋白胨浓度 / g ° L⁻¹	菌丝体干重 / g ° (100mL)⁻¹	粗多糖含量 / g ° (100mL)⁻¹	粗多糖得率 / %
0.5	1.0127	0.0506	4.99
1.0	1.1955	0.0630	5.27
1.5	1.3825	0.0847	6.13
2.0	1.4243	0.0964	6.77
2.5	1.4721	0.0889	6.04
3.0	1.4924	0.0873	5.85

表 9 虫草液体培养基 C/N 比正交实验结果 L ₉ (3 ⁴) 及极差分析								
试验号	因 素				粗多糖得率 %			总和
	A	B	C	D				
1	1	1	3	2	3.01	3.09	3.07	9.17
2	2	1	1	1	2.87	2.93	2.96	8.76
3	3	1	2	3	4.07	4.06	4.11	12.24
4	1	2	2	1	3.97	3.90	3.89	11.76
5	2	2	3	3	4.98	5.10	5.04	15.12
6	3	2	1	2	5.07	5.08	5.10	15.25
7	1	3	1	3	5.21	5.09	5.13	15.43
8	2	3	2	2	6.67	6.93	6.82	20.42
9	3	3	3	1	6.99	6.97	6.99	20.95
R1	12.12	10.06	13.15	13.82				
R2	14.77	14.04	14.81	14.95	T=129.10			
R3	16.15	18.93	15.08	14.26	X=4.78			
极差	4.03	8.87	1.93	1.13				

2.3 虫草液体培养的 C/N 比试验

从表 9 中的极差分析可看出, 葡萄糖的极差最大, 其次是白糖、蛋白胨和牛肉膏。极差越大, 说明该因素对粗多糖得率的影响越大。由此可见, 四因素对菌丝粗多糖得率的影响主次顺序为: 葡萄糖> 白糖> 蛋白胨>

牛肉膏。由表 9 中可看出, 各因素的较优水平分别是 A₃、B₃、C₃、D₂, 将各因素的最优水平结合起来, 则虫草液体培养的最优碳源、氮源组合为: 葡萄糖 3.0 g/L、白糖 3.0 g/L、蛋白胨 2.0 g/L、牛肉膏 1.0 g/L。

2.4 液体培养的无机盐和和维生素试验

从表 10 可看出, 六因素对粗多糖得率的影响依次

表 10 虫草无机盐和 VB₁ 六因素二水平正交试验结果及极差分析

试验号	因素						粗多糖得率			总 和
	A	B	C	D	E	F	/ %			
1	1	1	1	2	2	2	4.59	4.47	4.51	13.57
2	2	1	2	2	1	2	5.89	6.02	5.76	17.67
3	1	2	2	2	2	1	5.02	5.21	5.07	15.30
4	2	2	1	2	1	1	6.09	6.31	6.18	18.58
5	1	1	2	1	1	1	4.94	4.98	5.01	14.93
6	2	1	1	1	2	1	5.07	5.23	5.09	15.39
7	1	2	1	1	1	2	4.94	4.92	4.99	14.85
8	2	2	2	1	2	2	6.87	6.72	6.71	20.30
R1	14.66	15.39	15.60	16.37	16.51	16.05				
R2	17.99	17.26	17.05	16.28	16.14	16.60				
极差	3.33	1.87	1.45	0.09	0.37	1.55				

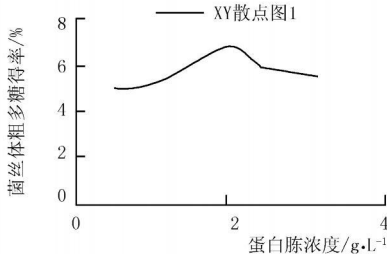


图 1 不同蛋白胨浓度对虫草菌丝体粗多糖得率的影响

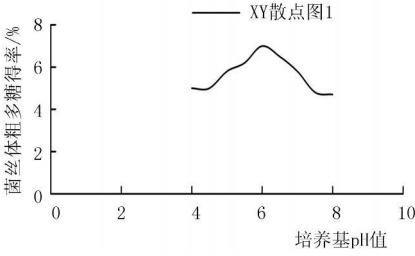


图 2 不同 pH 对虫草菌丝体粗多糖得率的影响

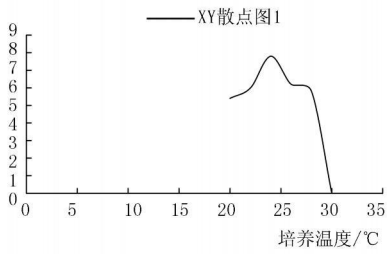


图 3 不同温度对虫草菌丝体粗多糖得率的影响

2.5 虫草液体培养的 pH 试验

从表 11 和图 2 可看出, 当 pH 5.5 时, 虫草菌丝体干重、粗多糖含量及粗多糖得率均为最高。因此, 虫草液体培养的最适 pH 5.5。

表 11 不同 pH 对虫草菌丝体干重、粗多糖得率的影响

pH	菌丝体干重	粗多糖含量	粗多糖得率
	/ g · (100mL) ⁻¹	/ g · (100mL) ⁻¹	/ %
4.0	1.0050	0.0546	5.02
4.5	1.2209	0.0712	5.83
5.0	1.3048	0.0838	6.42
5.5	1.3997	0.0976	6.97
6.0	1.3234	0.0858	6.48
6.5	1.2708	0.0757	5.96
7.0	1.2009	0.0605	5.04
7.5	1.113	0.0542	4.88
8.0	1.0370	0.0445	4.29

2.6 虫草液体培养的温度试验

从表 12 和图 3 可看出, 当温度为 24℃时, 虫草菌丝体干重、粗多糖含量及粗多糖得率均为最高。因此虫草

为 $\text{KH}_2\text{PO}_4 > \text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} > \text{VB}_1 > \text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O} > \text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O} > \text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 由 R 可以得出, 各因素的最优水平分别为 A₂、B₂、C₂、D₁、E₁、F₂。即 KH_2PO_4 1.0 g/L、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g/L、 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g/L、 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.01 g/L、 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.001 g/L、 VB_1 0.1 g/L。

液体培养的最适温度为 24℃。

表 12 不同温度对虫草液体培养的影响

温度 / °C	菌丝体干重	粗多糖含量	粗多糖得率
	/ g · (100mL) ⁻¹	/ g · (100mL) ⁻¹	/ %
20	1.0821	0.0586	5.42
22	0.2672	0.0769	6.07
24	1.3984	0.0968	6.92
26	1.3547	0.0841	6.21
28	1.2658	0.0737	5.82
30	1.0949	0.0539	4.92

3 结论

综上所述虫草液体培养的最适碳源种类及浓度是葡萄糖 5.0 g/L, 其次是白糖 3.0 g/L; 最适氮源种类及浓度是蛋白胨 2.0 g/L, 其次是牛肉膏 1.0 g/L; 虫草液体培养的最优碳、氮源组合为葡萄糖 5.0 g/L、白糖 3.0 g/L、蛋白胨 2.0 g/L、牛肉膏 1.0 g/L; 最适无机盐和维生素为 KH_2PO_4 1.0 g/L、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g/L、 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g/L、 VB_1 0.1 g/L; 最适 pH 5.5; 最适温度 24℃。

陕西秦巴山区金荞麦资源调查

吴振海¹, 罗小华², 陈 西³, 田 涛⁴, 黄大权⁴, 孙建钊¹

(1. 西北农林科技大学 生命科学学院, 陕西 杨凌 712100; 2. 陕西林业调查规划院 陕西 西安 710082;

3. 陕西省种子管理站 陕西 西安 710003; 4. 陕西省农业环境保护监测站, 陕西 西安 710003)

摘 要: 通过室内查阅标本和文献并结合野外实地调查, 调查了位于自然分布区最北端的陕西秦巴山区农业野生药用植物金荞麦(*Fagopyrum dibotrys*)的资源 and 分布特征。结果表明: 陕西秦巴山区金荞麦分布较广; 资源相对稀少; 药材达到《中国药典》(2005 年版 一部)标准; 该区是金荞麦的适生地区。

关键词: 金荞麦; 资源; 调查; 秦岭; 巴山

中图分类号: S 517(241) **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2010)14-0192-03

金荞麦属于蓼科(Polygonaceae)荞麦属(*Fagopyrum*)多年生草本植物, 花雪白色, 繁茂, 在秦巴山区秋季开放, 为重要的野生观赏植物; 根状茎药用, 属于传统中药《中华人民共和国药典》(2005 年版 一部)收载, 具有清热解毒, 排脓祛瘀的功能; 用于肺脓疡、麻疹肺炎、扁桃体周围脓肿等疾病的治疗; 分布于甘肃、陕西、河南、安徽、贵州、湖北、湖南、江苏、江西、四川、福建、广东、广西、西藏、云南、浙江等省区; 国外见于不丹、缅甸、印度、尼泊尔、克什米尔地区、越南和泰国。在完成农业部农业野生植物资源调查任务时, 对秦巴山区农业野生药用植物

金荞麦进行了全面的普查, 摸清了该区野生金荞麦的资源状况, 现首次报道这次调查结果。

1 调查方法

1.1 室内调查

室内调查主要是查阅西北农林科技大学植物标本馆(原西北植物研究所植物标本馆)和国内其它标本馆所收藏的陕西金荞麦标本, 并登记标本信息; 其次是查阅有关参考文献, 如《秦岭植物志》等, 记录金荞麦在陕西的分布状况。

1.2 野外调查

野外调查是在秦岭南坡和巴山北坡 30 个县区进行全面普查, 每县设样线 1~3 条, 调查金荞麦的资源 and 分布状况; 同时与当地的农林科技人员座谈, 并访问当地群众, 力争获得较多的有关金荞麦的资料。

第一作者简介: 吴振海(1964), 男, 高级实验师, 现主要从事植物分类和植物资源调查工作。E-mail: wzhhai@nwsuaf.edu.cn.

基金项目: 农业部农业野生植物资源调查资助项目。

收稿日期: 2010-04-16

Study of Ecological Factors on Submerged Culture Under Manual Control for *Cordyceps sinensis*

SHANG Zi-huan

(Agricultural Bureau of Binzhou City, Binzhou, Shandong 256600)

Abstract: Effects of different carbon, nitrogen, vitamin and mineral salt sources and their concentration on submerged culture for *Cordyceps sinensis* were investigated. The optimal submerged culture conditions were achieved. The results showed that the best concentration of carbon source and nitrogen source were glucose 5.0 g/L, white sugar 3.0 g/L, peptone 2.0 g/L, beef extract 1.0 g/L; the optimal concentration of mineral salt and vitamin were KH_2PO_4 1.0 g/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g/L, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g/L, VB₁ 0.1 g/L; the best growth condition were pH 5.5; the optimal growth temperature were 24 °C.

Key words: *Cordyceps sinensis*; manual control; submerged culture; ecological factor