

三种维生素对滑菇固体培养的影响

杜春梅, 欧滢蔓, 董锡文, 顿圆圆

(佳木斯大学 生命科学院, 黑龙江 佳木斯 154007)

摘要:以滑菇为试材,探讨不同种类维生素对滑菇固体培养的影响,将滑菇一级种分别接种在含有维生素 B₁(VB₁)、维生素 B₂(VB₂)和维生素 B₁₂(VB₁₂)的固体平板上,以菌丝平均日长速为考察指标,通过单因素试验确定每种维生素促进滑菇固体生长的最佳浓度,再通过正交实验确定其最佳组合。结果表明:适当浓度的 VB₁、VB₂、VB₁₂均能促进滑菇菌丝的生长,培养滑菇固体生长的最佳方案是 VB₁ 0.13 μg/mL、VB₁₂ 0.05 μg/mL、VB₂ 0.10 μg/mL。

关键词:滑菇;维生素 B 族;固体培养;菌丝;平均日长速

中图分类号:S 646.1⁺6 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2014)21-0149-03

滑菇(*Pholiota microspora*)又名滑子蘑、珍珠菇等。滑菇营养丰富,味道鲜美,所含的多糖具有显著的抗肿瘤活性,兼具食用和药用价值,深受国内外市场欢迎的食用菌之一^[1]。滑菇属低温结实型菇类,适宜在北方种植^[2]。关于环境条件以及不同培养基成分对滑菇菌丝生长影响已有报道^[3-5],但是,研究维生素等生长因子对滑菇产量影响的报道还较少。现以滑菇为试材,研究不同种类的维生素对滑菇固体生长的影响,以期为滑菇的育种和实际生产提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试滑菇菌种购于黑龙江省科学院微生物研究所。

培养基:PDA 固体培养基^[6]和加入不同浓度维生素的 PDA 固体培养基,pH 5.5。

试剂:维生素 B₁(VB₁) 0.10 mg/mL、维生素 B₂(VB₂) 0.10 mg/mL、维生素 B₁₂(VB₁₂) 0.01 mg/mL,均用普通医用维生素片配制,过滤除菌后待用。

1.2 试验方法

1.2.1 菌种活化与培养 在无菌条件下用接种铲将斜面供试菌转接到 PDA 平板培养基上,23℃ 恒温培养。用打孔器在活化菌种的菌落周边打孔,取直径 1 cm 健壮的菌丝块接种到含有不同种类维生素的 PDA 培养基

上,以不加维生素的 PDA 培养基为空白对照,23℃ 恒温培养 8 d。

1.2.2 单因素试验 向 25 mL PDA 平板培养基中分别加入 VB₁、VB₂、VB₁₂,每种维生素设 5 个浓度梯度,浓度分别为 0.00、0.05、0.10、0.15、0.20 μg/mL,每种浓度做 5 个平行试验。对照为不加维生素 B(VB)的 PDA 平板培养基。

1.2.3 正交实验 根据单因素试验结果,选取最佳的 3 种维生素浓度,采用 L₉(3⁴)正交实验因素水平表对滑菇固体培养中所需维生素含量进行优化试验,每个组合设 5 个平行因素水平(见表 1)。

表 1 维生素浓度正交实验因素水平

水平	因素/(μg·mL ⁻¹)		
	A VB ₁	B VB ₂	C VB ₁₂
1	0.13	0.08	0.03
2	0.15	0.10	0.05
3	0.17	0.12	0.07

1.3 项目测定

用游标卡尺测量培养 8 d 的菌丝体菌落直径,计算菌丝平均日长速,加 VB 的菌丝长速=(加 VB 平板菌落直径-对照平板菌落直径)。

1.4 数据分析

试验数据采用 Excel 和 SPSS 软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

由图 1 可知,随着 VB₁ 浓度升高,菌丝平均日长速逐渐加快,说明添加一定浓度的 VB₁ 对滑菇的生长有促进作用。当浓度为 0.15 μg/mL 时,滑菇菌丝生长最快,平均日长速达到最大值;VB₂ 浓度的增加对滑菇菌丝体平均日长速有一定的促进作用,当 VB₂ 浓度为

第一作者简介:杜春梅(1978-),女,硕士,讲师,现主要从事微生物的教学与科研工作。E-mail:dongxiwen@126.com。

责任作者:董锡文(1965-),男,博士,教授,现主要从事微生物学教学与科研工作。

基金项目:佳木斯大学科学技术研究资助项目(S2008-104,S2011-056)。

收稿日期:2014-07-08

0.10 $\mu\text{g/mL}$ 时,平均日长速最大,低于或高于此浓度时,促进作用呈下降趋势,因此有利于滑菇菌丝体生长的最佳 VB_2 浓度为 0.10 $\mu\text{g/mL}$;当 VB_{12} 浓度为 0.05 $\mu\text{g/mL}$ 时菌丝体平均日长速最大,说明此浓度 VB_{12} 对滑菇的固体培养具有明显的促进作用,可选定为该因子影响滑菇菌丝生长的最佳浓度。

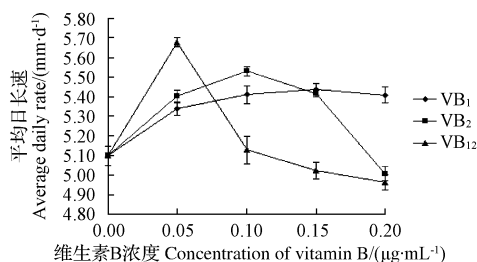


图1 不同种类不同浓度维生素B对滑菇生长速度的影响

Fig.1 Effect of different concentration and different kinds of vitamin B on slide mushroom growth speed

2.2 正交实验

将单因素试验最佳结果应用于正交实验后,结果见表2。将表2的数据进行方差分析,结果见表3。由表2、3可知,影响滑菇固体培养的主次因素顺序依次为 $A>C>B$,即 VB_1 是主要的影响因子, VB_{12} 次之, VB_2 的影响较小。由表3可知,A、C 2因素在 $\alpha=0.05$ 水平上对滑菇固体培养的影响存在显著性差异。因此,培养滑菇固体生长的最佳方案是 $A_1C_2B_2$,即 VB_1 0.13 $\mu\text{g/mL}$ 、 VB_{12} 0.05 $\mu\text{g/mL}$ 、 VB_2 0.10 $\mu\text{g/mL}$ 。

表2 维生素浓度正交实验结果

组合号	因素/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$			与CK平均日长速差 / $(\text{mm} \cdot \text{d}^{-1})$
	A VB_1	B VB_2	C VB_{12}	
1	0.13	0.08	0.03	0.551
2	0.13	0.10	0.05	0.847
3	0.13	0.12	0.07	0.530
4	0.15	0.08	0.05	0.399
5	0.15	0.10	0.07	0.388
6	0.15	0.12	0.03	0.533
7	0.17	0.08	0.07	0.438
8	0.17	0.10	0.03	0.433
9	0.17	0.12	0.05	0.510
K1	1.928	1.388	1.517	—
K2	1.320	1.668	1.756	—
K3	1.381	1.573	1.356	—
R	0.608	0.280	0.400	—

表3 方差分析

变异来源	df	SS	MS	F	P	Eta ²	显著性
A	2	0.075	0.037	1.913	0.343	0.657	*
B	2	0.014	0.007	0.346	0.743	0.257	—
C	2	0.027	0.014	0.691	0.591	0.409	*
误差	2	0.039	0.020	—	—	—	—
总和	8	0.154	—	—	—	—	—

注:显著性差异水平 $\alpha=0.05$, *表示影响较显著。

3 讨论与结论

维生素是食用菌生长发育必不可少且需要量极少的一类小分子有机化合物,主要起辅酶或辅基的作用,参与酶的组成和菌体代谢。张敏等^[5,7]对滑菇母种培养基进行了筛选,在优化出的培养基中加入 VB_1 0.01 g/L,换算为 10 $\mu\text{g/mL}$,明显高于该研究的优化结果,这可能与菌种不同有一定的关系,其它培养条件的不同也可能是另外一些原因,需要进一步研究。金荣观等^[8]研究发现 VB_2 对金针菇菌丝生长具有一定的促进作用,与该研究结果一致。 VB_{12} 对食用菌菌丝生长的影响尚鲜见报道,该试验结果表明,适宜浓度的 VB_{12} 对滑菇固体生长影响较为显著($P<0.05$), VB_{12} 比 VB_1 的作用效果更为显著,并且用量也较 VB_1 少。总之,适当浓度的维生素(B族)对滑菇菌丝生长具有明显的促进作用,在食用菌生产上可以考虑适当加入,以缩短一级种的生产周期。在液体培养和二、三级菌种的生产上是否需要加入适量维生素也是今后研究的一个方向。这在提高生产效率,增加农民经济收入上都具有重要意义。

另外,PDA培养基是绝大多数食用菌研究的母种培养基,因其营养丰富,能够满足食用菌生长的要求。但是,在制备和灭菌的过程中,经历长时间的高温处理,其中的维生素,尤其是水溶性的B族维生素受到破坏,致使菌丝体生长缓慢,尤其是生长的后期。加入适量的维生素后,菌丝体萌发和初期生长加快,长满平板的时间提前约3 d。因此在实际的生产应用中,应采取低温灭菌方式,以免天然原料中的维生素成分受到破坏,或在灭菌后的天然原料中加入无菌的微量维生素,以提高生产量,缩短生产周期,同时也可降低生产成本。

参考文献

- [1] 王芳,贾静,王军英,等.木耳菌糠袋栽滑菇配方研究[J].中国食用菌,2011,30(3):21-22.
- [2] 吴亚召,李峻志,雷萍,等.低纬度地区滑菇适栽菌株筛选研究初报[J].中国食用菌,2006,25(4):35-37.
- [3] 赵桂云,弥春霞,律凤霞,等.不同培养基和不同温度对滑菇菌丝生长的影响[J].北方园艺,2009(6):216-217.
- [4] 王淑芳,马桂珍,石桐磊,等.接种量和酸碱度对滑菇菌丝生长量的影响[J].北方园艺,2011(21):152-154.
- [5] 张敏,陈平,孙军德.滑菇母种培养基的筛选[J].食用菌,2005(2):21-22.
- [6] 李秀霞,董锡文,薛春梅,等.生物学综合实验(下册)[M].沈阳:东北大学出版社,2013.
- [7] 张敏,孙军德,陈平.滑菇子实体组织分离母种比较试验[J].中国食用菌,2005,24(3):18-19.
- [8] 金荣观,寿诚学,李曙轩.微量元素和维生素对金针菇菌丝生长的影响[J].食用菌,1988(5):15.

硫酸锰浸种处理对黑柴胡种子萌发效应研究

张胜珍, 马艳芝, 姜峰, 客绍英

(唐山师范学院 生命科学系, 河北 唐山 063000)

摘要:以黑柴胡为试材,研究了不同浓度硫酸锰浸种对黑柴胡种子萌发及萌发过程中种子生理生化指标的影响。结果表明:0.25~1.00 g/L 的硫酸锰处理提高了黑柴胡种子的发芽率和发芽势,其中以 0.50 g/L 浓度处理效果最好。与清水对照相比,硫酸锰浸种处理后黑柴胡种子电导率降低,这表明硫酸锰处理能促进膜系统的修复;此外,硫酸锰浸种后黑柴胡种子呼吸速率、可溶性糖含量、可溶性蛋白质含量及淀粉酶活性均提高,从而为种子萌发提供能源和物质基础。

关键词:硫酸锰;黑柴胡;种子萌发;生理生化指标;种子生活力

中图分类号:S 567.23 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)21-0151-04

柴胡是常用的中药材,医药领域用途广泛,需求量逐年增加,但野生资源日趋匮乏。因此,柴胡的人工栽培已成为研究的热点^[1-2]。柴胡主要以种子繁殖为主,但是柴胡种子在正常条件下的发芽率较低,完成发芽过程的时间长,部分种子存在休眠现象,因此在生产中存在出苗难、出苗率低而不整齐的问题,极大的限制了柴胡的人工栽培^[3]。提高发芽率是进行柴胡人工栽培的基础和前提。因此实际生产中必须摸清种子的生理、生物特性,用人工方法打破其休眠性,促进种子生理后熟及萌发。关于柴胡种子处理方法,前人已做过许多有益的探索,主要包括药剂处理、激素处理、砂藏处理、射线

处理、超声波处理等^[4-7]。有文献表明,适宜浓度的锰浸种处理可以提高大豆、玉米、艳山姜等种子的发芽率和活力指数^[8-11]。但目前关于硫酸锰对柴胡种子萌发的影响尚鲜见报道。该试验采用不同浓度硫酸锰溶液对柴胡种子进行浸种处理,测定发芽率及种子萌发过程中生理生化指标的变化,以明确硫酸锰浸种对柴胡种子萌发的影响,并分析其作用机理,以期为解决柴胡种子萌发难问题提供理论依据和技术参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试黑柴胡(*Bupleurum smithii* Wolff.)种子来源于山西省万荣县,千粒重为 0.9207 g。

1.2 试验方法

黑柴胡种子经 70%酒精表面消毒 30 s,0.1%升汞消毒 8 min,蒸馏水冲洗 3~4 次后,选取大小均匀的种子,分别用 0.25、0.50、0.75、1.00 g/L 的硫酸锰溶液浸种

第一作者简介:张胜珍(1979-),女,硕士,副教授,现主要从事药用植物学与生物技术等研究工作。E-mail:854797510@qq.com。

基金项目:国家科技部子课题资助项目(2011BAI07B05-4);唐山市科技资助项目(12130203A)。

收稿日期:2014-05-27

Effect of Three Kinds of Vitamins on Solid Culture of *Pholiota microspora*

DU Chun-mei, OU Ying-man, DONG Xi-wen, DUN Yuan-yuan

(College of Life Science, Jiamusi University, Jiamusi, Heilongjiang 154007)

Abstract: Taking *Pholiota microspora* as material, the effect of different kinds of vitamin on a solid culture of *Pholiota microspora* were studied. The average daily growth rate of *Pholiota microspora* mycelium was measured, which inoculated in solid plate including vitamin B₁ (VB₁), vitamin B₂ (VB₂) and vitamin B₁₂ (VB₁₂), respectively. Optimal concentration of each vitamin to promote the growth of mycelium and suitable composition were determined by single factor test and orthogonal experiment, respectively. The results showed that the appropriate concentration of VB₁, VB₂ and VB₁₂ could promote the growth of mycelia. The best concentration of vitamins was as follows: VB₁ 0.13 μg/mL, VB₁₂ 0.05 μg/mL and VB₂ 0.10 μg/mL.

Keywords: *Pholiota microspora*; vitamin B family; solid culture; mycelium; daily average growth