

无机盐及生长因子对羊肚菌菌丝生长的影响

朱永真,杜双田,车进,常昕,江微,王崇鼎

(西北农林科技大学 生命科学学院,陕西 杨凌 712100)

[摘要] 【目的】探讨不同种类无机盐、维生素、植物生长调节剂对羊肚菌菌丝生长的效应及机理。【方法】以羊肚菌菌株 M-4 为供试材料,以该菌株在不同培养基上的菌落直径为考察指标,研究不同质量浓度无机盐、维生素、植物生长调节剂对羊肚菌菌丝生长的影响。【结果】不同种类无机盐中,MnSO₄ 对羊肚菌菌丝生长有一定促进作用,MgSO₄、K₂SO₄、NaCl、Na₂MoO₄ 对羊肚菌菌丝生长无明显抑制或促进作用,KH₂PO₄、FeSO₄、ZnSO₄、Na₂SeO₃、CuSO₄、CoCl₂ 和 Ni(NO₃)₂ 则对羊肚菌菌丝生长有不同程度的抑制作用。不同种类维生素中,V_{B₁}、V_{B₂}、V_{B₆}、V_{B₁₂} 和叶酸对羊肚菌菌丝生长无明显抑制或促进作用,而烟酸则极显著地抑制了羊肚菌菌丝的生长。供试植物生长调节剂中,6-BA 对羊肚菌菌丝生长有微弱的促进作用;适量添加 2,4-D($\leqslant 10$ mg/L)和吲哚乙酸($\leqslant 2$ mg/L)可促进羊肚菌菌丝的生长,质量浓度较高时则抑制菌丝生长;赤霉素(GA₃)对羊肚菌菌丝生长具有极显著的抑制作用。【结论】不同无机盐、维生素及植物生长调节剂对羊肚菌菌丝生长影响的差异较大,向培养基中适量添加 MnSO₄、2,4-D 或吲哚乙酸,均可促进羊肚菌菌丝的生长。

[关键词] 羊肚菌;无机盐;维生素;植物生长调节剂

[中图分类号] Q935;S567.3⁺90.48

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2011)04-0211-05

Effect of inorganic salts and growth factors on the mycelial growth of *Morchella esculenta*

ZHU Yong-zhen, DU Shuang-tian, CHE Jin, CHANG Xin,

JIANG Wei, WANG Chong-ding

(College of Life Sciences, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: 【Objective】The research is done to explore the effect and mechanism of different inorganic salts, vitamin and plant hormones on mycelial growth of *Morchella esculenta*. 【Method】We take *M. esculenta* M-4 as the tested materials, use the colony size and the growth vigor of aerial hyphae in different culture media as the index to research the effect of different inorganic salts, vitamin, plant hormones and their concentration on the growth of *M. esculenta* mycelium. 【Result】In different inorganic salts, the manganese sulfate has certain promotion on the mycelial growth of *M. esculenta*; Magnesium sulfate, potassium sulfate, sodium chloride, sodium molybdate have not significant role in promoting the mycelium growth of *M. esculenta*; potassium dihydrogen phosphate, ferrous sulfate, zinc sulfate, sodium selenite, copper sulfate, cobalt chloride and nitrate nickel have different degrees of inhibition on the mycelium growth of *M. esculenta*. In different types of vitamins, V_{B₁}, V_{B₂}, V_{B₆}, V_{B₁₂} and folic acid have not significant inhibition or promotion on the mycelium growth of *M. esculenta*, nicotinic acid significantly inhibits the mycelium growth of *M. esculenta*. In different types of plant hormones, 6-BA has weak promotion on the mycelium growth of *Morchella*; 2,4-D ($\leqslant 10$ mg/L) and indole acetic acid ($\leqslant 2$ mg/L) can promote the mycelium growth of *M.*

* [收稿日期] 2010-09-21

[基金项目] 2008 年国家大学生创新项目“羊肚菌菌核分化条件优化研究”

[作者简介] 朱永真(1985—),男,山东淄博人,在读硕士,主要从事微生物资源与利用研究。E-mail:zhuyongzhen@126.com

[通信作者] 杜双田(1961—),男,陕西扶风人,副教授,主要从事食用与药用真菌研究。E-mail:dst6107@126.com

Morchella esculenta, inhibit the growth of mycelium at high concentrations; GA₃ significantly inhibits the mycelium growth of *M. esculenta*. 【Conclusion】 Different inorganic salts, vitamins and plant hormones show quite different effects on the growth of *M. esculenta* mycelium. Adding medium amount of manganese sulfate or 2,4-D and indole acetic acid can promote the growth of mycelium.

Key words: *Morchella esculenta*; inorganic salts; vitamin; plant hormones

羊肚菌(*Morchella esculenta*)隶属于子囊菌亚门(Ascomycota)、盘菌纲(Discomycetes)、盘菌目(Pezizales)、羊肚菌科(Morchellaceae)、羊肚菌属(*Morchella*),是世界公认的名贵食用菌,肉质脆嫩可口,其受欢迎程度在欧洲仅次于块菌(*Tuber* spp.)^[1]。因其菌盖表面生有许多小凹坑,外观极似羊肚而得名。

羊肚菌具有多种保健和药理功能,最早收录于李时珍的《本草纲目》^[2]。传统中医认为,羊肚菌(子实体)性平,味甘寒,无毒,具有益肠胃、消化助食、化痰理气、补肾、壮阳、补脑、提神之功效。最近研究发现,羊肚菌还有降血脂、调节免疫功能、抗疲劳、抗辐射、抗肿瘤等作用,其水提物对化学性肝损伤具有一定的保护作用,并能减轻放疗化疗对癌症患者造成的毒副作用^[2-6]。

目前,国内对羊肚菌的研究尚处于实验室阶段,无法实现规模化的人工栽培。因此,探索羊肚菌的营养生理特性,对研究羊肚菌的人工栽培具有重要意义。为此,本试验研究了不同种类无机盐及生长因子对羊肚菌菌丝生长的影响,以期为羊肚菌的人工栽培提供依据。

1 材料与方法

1.1 菌株

供试菌株羊肚菌M-4,由西北农林科技大学生命科学学院提供。

1.2 培养基

培养基Ⅰ:马铃薯200 g(去皮),葡萄糖10 g,蔗糖10 g,KH₂PO₄ 1 g,MgSO₄ 0.5 g,琼脂粉12 g,去离子水1 000 mL,pH 7。

培养基Ⅱ:可溶性淀粉20 g,硝酸钠2 g,琼脂粉12 g,去离子水1 000 mL。

培养基Ⅲ:可溶性淀粉20 g,硝酸钠2 g,KH₂PO₄ 1 g,MgSO₄ 0.5 g,琼脂粉12 g,去离子水1 000 mL。

1.3 菌种的制备

将制备的培养基Ⅰ经高压蒸汽灭菌后制成平板培养基,在平板中央接入活化的斜面菌种,于(22±

1) °C条件下黑暗培养,待菌丝长满平板后备用。

1.4 试验方法

采用直径90 mm的培养皿,培养基用量20 mL/皿,每皿中央定量接种1块直径5 mm的菌饼,于(22±1) °C、空气相对湿度70%~75%条件下培养,84 h后测量添加不同种类无机盐、维生素、植物生长调节剂培养基上的菌落直径,以考察供试物质对羊肚菌菌丝生长的影响,每种培养基接种3皿。

1.4.1 无机盐对羊肚菌菌丝生长的影响 供试无机盐分为含常量矿物质元素和微量元素2类。前者有KH₂PO₄、MgSO₄、FeSO₄、NaCl和K₂SO₄,每种无机盐均按0,200,400,600,800,1 000和1 200 mg/L分别加入基础培养基Ⅱ中;后者包括CoCl₂、ZnSO₄、Na₂SeO₃、MnSO₄、Na₂MoO₄、CuSO₄和Ni(NO₃)₂,每种无机盐均按0,10,30,50,70,90和110 mg/L分别加入基础培养基Ⅱ中;以未添加无机盐的基础培养基Ⅱ为对照。

1.4.2 维生素对羊肚菌菌丝生长的影响 供试维生素为V_{B₁}、V_{B₂}、V_{B₆}、V_{B₁₂}、烟酸和叶酸,均分别按0,2,4,6,8和10 mg/L加入基础培养基Ⅲ中,以未添加维生素的基础培养基Ⅲ为对照。

1.4.3 植物生长调节剂对羊肚菌菌丝生长的影响

将植物生长调节剂2,4-D、赤霉素(GA₃)、6-苄基嘌呤(6-BA)和吲哚乙酸,均分别按0,2,6,8,10,15,20和25 mg/L加入基础培养基Ⅲ中,以未添加生长调节剂的基础培养基Ⅲ为对照。

1.5 数据分析

试验数据采用DPS软件进行分析。

2 结果与分析

2.1 无机盐对羊肚菌菌丝生长的影响

2.1.1 含常量矿物质元素的无机盐 由图1可见,含常量矿物质元素的不同种类无机盐中,MgSO₄、K₂SO₄、NaCl对羊肚菌菌丝生长无明显抑制或促进作用,KH₂PO₄对羊肚菌菌丝生长的抑制作用较大,而FeSO₄的抑制作用相对最大。

由图1还可以看出,MgSO₄、K₂SO₄和NaCl对羊肚菌菌丝生长的作用并不随其质量浓度的增大

而增强,菌丝生长曲线变化一直较平稳; KH_2PO_4 对羊肚菌菌丝生长的抑制作用则随其质量浓度的增大而逐渐增强,在其质量浓度达 400 mg/L 后,羊肚菌菌丝生长曲线趋于平稳,方差分析结果表明,不同质量浓度的 KH_2PO_4 对羊肚菌的菌丝生长有极显著影响($P<0.01$);在基础培养基中加入 FeSO_4 后,羊

肚菌菌丝的生长受到严重抑制,而且抑制作用随其质量浓度的增大而增强,在其质量浓度达到 1 000 mg/L 时,羊肚菌菌丝不再生长,方差分析结果表明, FeSO_4 各质量浓度对羊肚菌菌丝生长的抑制作用差异极显著,表明羊肚菌菌丝生长对培养基中 FeSO_4 的质量浓度极为敏感。

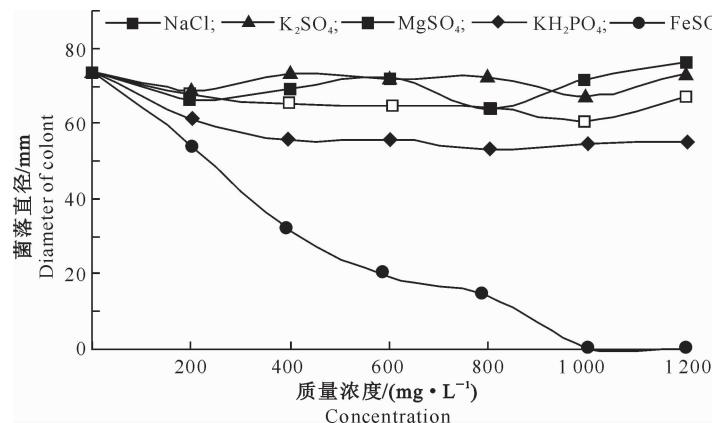


图 1 含常量矿物质元素无机盐对羊肚菌菌丝生长的影响

Fig. 1 Effect of inorganic salts with constant mineral element on the mycelial growth of *M. esculenta*

2.1.2 含微量矿物质元素的无机盐 由图 2 可见,含不同微量矿物质元素的无机盐对羊肚菌菌丝生长的影响差异很大。其中 MnSO_4 对羊肚菌菌丝生长具有一定的促进作用($P<0.05$),在其质量浓度为 0~30 mg/L 时,随着 MnSO_4 质量浓度的增加,促进作用逐渐增强,之后生长曲线趋于平稳; Na_2MoO_4 对羊肚菌菌丝生长无明显促进作用; ZnSO_4 、 Na_2SeO_3 、 CuSO_4 、 CoCl_2 和 $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$ 对羊肚菌菌丝生长有极显著的抑制作用,并且随着质量

浓度的增加,抑制作用逐渐增强,相比而言, Na_2SeO_3 和 ZnSO_4 对羊肚菌菌丝生长的抑制作用明显小于另外 3 种无机盐。 CoCl_2 在质量浓度为 10 mg/L 时,对羊肚菌菌丝生长有极微弱的促进作用;之后随其质量浓度的增加,对羊肚菌菌丝生长产生抑制作用,当质量浓度达到 70 mg/L 时,羊肚菌菌丝停止生长。 CuSO_4 在质量浓度达到 70 mg/L、 $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$ 在质量浓度达到 90 mg/L 时,羊肚菌菌丝均停止生长。

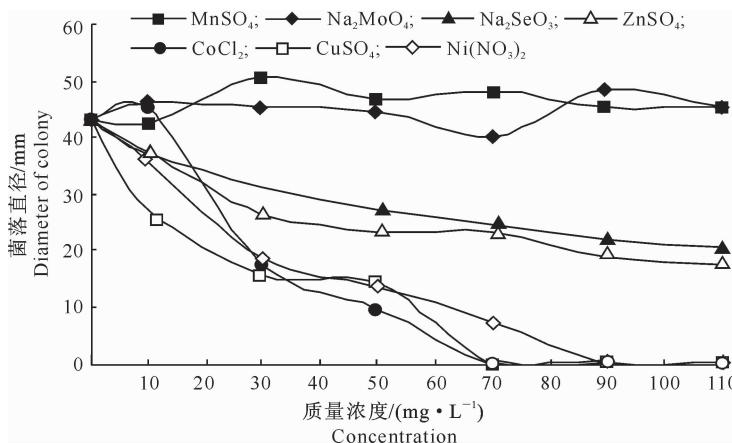


图 2 含微量矿物质元素无机盐对羊肚菌菌丝生长的影响

Fig. 2 Effect of inorganic salts with micro mineral element on the mycelial growth of *M. esculenta*

2.2 维生素对羊肚菌菌丝生长的影响

由图 3 可见,不同维生素对羊肚菌菌丝生长的影响作用不同,其中 V_{B_1} 、 V_{B_2} 、 V_{B_6} 、 $\text{V}_{\text{B}_{12}}$ 和叶酸对羊

肚菌菌丝的生长无明显促进或抑制作用;而烟酸对羊肚菌菌丝的生长具有极显著抑制作用,且随其质量浓度的增大,抑制作用逐渐增强。

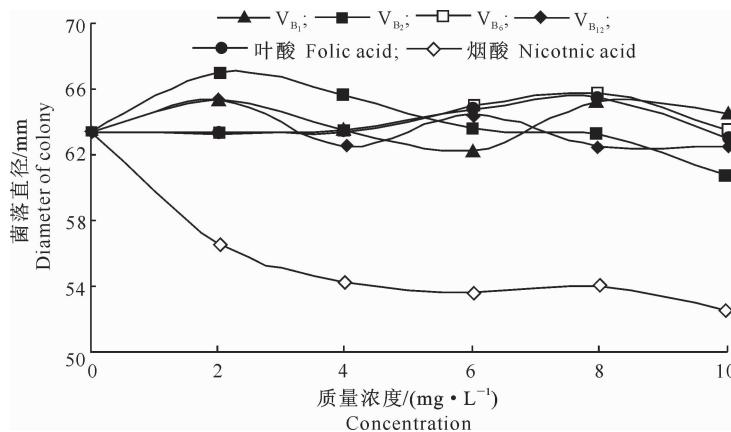


图3 不同种类维生素对羊肚菌菌丝生长的影响

Fig. 3 Effect of vitamins on the mycelial growth of *M. esculenta*

2.3 植物生长调节剂对羊肚菌菌丝生长的影响

由图4可见,不同植物生长调节剂对羊肚菌菌丝生长的影响有较大差异。其中6-BA对羊肚菌菌丝生长有一定的促进作用,但其作用不明显;适量添加2,4-D可促进羊肚菌菌丝的生长($P<0.05$),但当其质量浓度达到15 mg/L后,则对羊肚菌菌丝生长产生了一定的抑制作用;GA₃能抑制羊肚菌菌丝

的生长,当其质量浓度达到10 mg/L后,抑制作用不再随质量浓度的增加而加剧;吲哚乙酸在低质量浓度时可促进羊肚菌菌丝的生长,当质量浓度为2 mg/L时促进作用最强,之后随着质量浓度的增大,开始表现出抑制作用,在其质量浓度达到10 mg/L后,抑制作用趋于平稳。

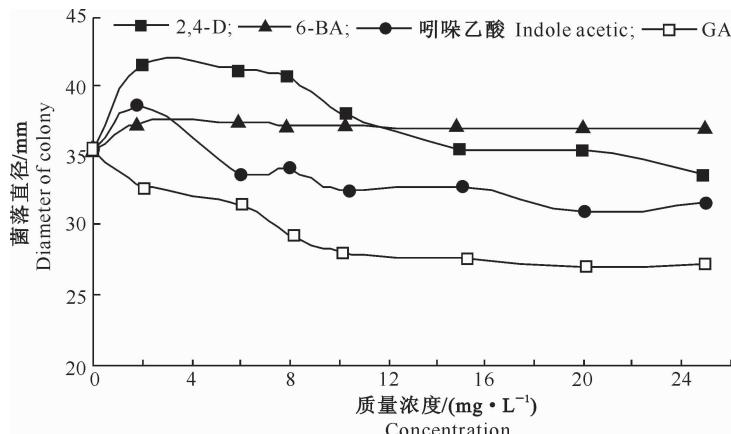


图4 不同种类植物生长调节剂对羊肚菌菌丝生长的影响

Fig. 4 Effect of different plant hormones on the mycelial growth of *M. esculenta*

3 结论与讨论

1)不同种类无机盐对羊肚菌菌丝生长的作用效果不同。在培养基中添加MnSO₄对羊肚菌菌丝生长有一定的促进作用;MgSO₄、K₂SO₄、Na₂MoO₄和NaCl对羊肚菌菌丝生长的促进及抑制作用不明显;KH₂PO₄、FeSO₄、ZnSO₄、Na₂SeO₃、CuSO₄、CoCl₂和Ni(NO₃)₂则对羊肚菌菌丝生长有极显著的抑制作用。锰是羧化酶的激活剂,是糖代谢中许多酶类发挥活性所必需的^[7],KH₂PO₄和MgSO₄能提供微生物生长所需要的矿物质元素。但本试验结果显

示,它们对羊肚菌的生长均有一定的抑制作用,其机理尚不清楚,需要进一步研究。关于矿物质元素对羊肚菌菌丝生长影响的报道较多,刘生梅^[8]研究发现,Zn、Cu、Se等微量元素对羊肚菌生长的促进作用较大,Mo、Ni、Pb、Al也可不同程度地促进菌丝生长,但Cd、Ti、Ag则完全抑制菌丝生长,Zn+Mn+Cu、Zn+Mn对菌丝生长存在元素协同效应;刁治民等^[9]的研究结果与此基本相同。李洁等^[10]研究认为,一定浓度范围的MgSO₄、KNO₃、CaCl₂、NaNO₃均能促进羊肚菌的孢子萌发和菌丝生长,且以MgSO₄的促进作用最为明显。

2)不同维生素对羊肚菌菌丝生长的作用效果差异较大。 V_{B_1} 、 V_{B_2} 、 V_{B_6} 、 $V_{B_{12}}$ 和叶酸对羊肚菌菌丝生长的抑制或促进作用不明显,烟酸对羊肚菌菌丝生长有极显著的抑制作用。贺新生等^[2]认为,羊肚菌对于各种生长因子均表现为非营养缺陷型,是生长因子自养微生物;但据刁治民等^[9]报道, V_{B_1} 、 V_{B_2} 、 V_{B_6} 、 V_H 和叶酸对羊肚菌菌丝生长有明显的促进作用,而 V_C 、 $V_{B_{12}}$ 有抑制作用。

3)不同的植物生长调节剂对羊肚菌菌丝生长的作用效果不同。6-BA对羊肚菌菌丝生长的促进作用不明显;适量添加2,4-D($\leq 10\text{ mg/L}$)和吲哚乙酸($\leq 2\text{ mg/L}$)可促进羊肚菌菌丝生长,但质量浓度较高时则表现出一定的抑制作用;GA₃对羊肚菌菌丝生长的抑制作用较强。但据刁治民等^[9]报道,1~5 mg/kg GA₃、6-BA均能促进羊肚菌菌丝的生长。侯集瑞等^[11]研究认为,GA₃和 α -萘乙酸(NAA)均对羊肚菌菌丝生长有不同程度的促进作用,且GA₃的促进作用明显优于NAA。

综上所述,关于不同无机盐、维生素及植物生长调节剂对羊肚菌菌丝生长影响效应的研究结果差异较大,尚需进一步研究。

[参考文献]

- [1] 林晓民,李振歧,侯军,等.中国菌物[M].北京:中国农业出版社,2007:107-108.
Lin X M,Li Z Q,Hou J,et al. Chinese mycology [M]. Beijing: China Agriculture Press,2007:107-108. (in Chinese)
- [2] 贺新生,侯大斌,何培新,等.野生蕈菌生物学特性与栽培技术[M].北京:中国轻工业出版社,2007:165-166.
He X S,Hou D B,He P X,et al. Biological characteristics and cultivation techniques of wild mushroom [M]. Beijing: China Light Industry Press,2007:165-166. (in Chinese)
- [3] 宋淑敏,邹作华,王洪荫,等.EF-11营养液的研制及其保健作用的试验研究[J].食品科学,1996,17(7):52-57.
Song S M,Zou Z H,Wang H Y,et al. The study on development of nutrition and health effects of EF-11 [J]. Food Science,1996,17(7):52-57. (in Chinese)
- [4] 孙晓明,张卫明,吴素玲.羊肚菌免疫调节作用研究[J].中国野生植物资源,2001,20(2):12-13,20.
Sun X M,Zhang W M,Wu S L. Studies on the regulating immunization function of *Morchella* powder [J]. Chinese Wild Plant Resources,2001,20(2):12-13,20. (in Chinese)
- [5] 贾建会,徐宝梁,宋淑敏,等.羊肚菌发酵制品保健机理初探[J].食用菌,1996,18(4):40-42.
Jia J H,Xu B L,Song S M,et al. The study on the healthy of fermented goods of *Morchella* [J]. Edible Fungi,1996,18(4):40-42. (in Chinese)
- [6] 周丽伟,陈彦,孙玉军.羊肚菌水提物对急性肝损伤的干预作用[J].中国食用菌,2006,25(6):36-37.
Zhou L W,Chen Y,Sun Y J. Protective effects of *Morchella esculenta* on acute hepatic injury induced by CCl₄ in mice [J]. Edible Fungi of China,2006,25(6):36-37. (in Chinese)
- [7] 陈天寿.微生物培养基的制造与应用[M].北京:中国农业出版社,1995:19.
Chen T S. Microorganism culture medium manufacture and application [M]. Beijing: China Agriculture Press,1995:19. (in Chinese)
- [8] 刘生梅.微量元素对羊肚菌菌丝体生物学效应的影响[J].安徽农业科学,2007,35(5):1331-1332.
Liu S M. The biological effects of trace elements on *Morchella* mycelium [J]. Journal of Anhui Agri Sci,2007,35(5):1331-1332. (in Chinese)
- [9] 刁治民,鲍敏,祝鲜宁.羊肚菌菌丝营养生理特性的研究[J].青海师范大学学报:自然科学版,2001(3):62-66,69.
Diao Z M,Bao M,Zhu X N. Preliminary study on nutrition physiological characteristics of *Morchella esculenta* mycelia [J]. Journal of Qinghai Normal University: Natural Science,2001(3):62-66,69. (in Chinese)
- [10] 李洁,张云霞,邱德江.不同因素对羊肚菌孢子萌发和菌丝生长的影响[J].河北林业科技,2004(2):1-2.
Li J,Zhang Y X,Qiu D J. The effect of different factors on spore germination and mycelial growth on *Morchella* [J]. Journal of Hebei Agri Sci,2004(2):1-2. (in Chinese)
- [11] 侯集瑞,李玉,图力古尔,等.赤霉素和 α -萘乙酸对羊肚菌菌丝生长的影响[J].吉林农业大学学报,2001,23(4):41-43,50.
Hou J R,Li Y,Tolgör,et al. Effects of GA₃ and NAA on the growth of hyphae of *Morchella esculenta* [J]. Journal of Jilin Agricultural University,2001,23(4):41-43,50. (in Chinese)