

珊瑚猴头液体菌种及对栽培效果的研究

张伟彤¹, 姚方杰^{1,2*}, 方明², 张友民², 马晓旭¹, 黄程远², 张越¹

(1. 吉林农业大学食药菌教育部工程研究中心, 长春 130118; 2. 吉林农业大学园艺学院, 长春 130118)

摘要:设计单因素试验, 调查菌种质量, 筛选出最佳碳源为玉米粉, 氮源为酵母粉; 通过调整碳源含量设计6个碳氮比(10:1~15:1)液体菌种培养基配方, 得到最佳碳氮比11:1的配方(1 L)为玉米粉15 g、葡萄糖5 g、酵母粉5 g、马铃薯200 g、麦麸2 g、硫酸镁1.5 g、磷酸氢二钾3 g、V_{B1} 0.01 g; 采用该配方设计L₂₅(4×5⁴)正交试验, 优化出最佳培养条件为装液量120 mL/250 mL, 接种量是装液量的3.5%, 接种菌龄7 d, 转速180 r/min, pH 5.0; 在此结果基础上制备液体菌种, 以固体菌种为对照, 采用集成创新的出菇环境开展出菇试验, 调查农艺性状, 每袋鲜重提高26.22%、干重提高35.35%。

关键词:珊瑚猴头; 液体菌种; 基质; 碳氮比; 栽培效果

中图分类号: S646; TS219

文献标识码: A

文章编号: 2096-5877(2021)02-0125-07

Study on Liquid Culture of *Hericium Coralloides* and Its Cultivation Effects

ZHANG Weitong¹, YAO Fangjie^{1,2*}, FANG Ming², ZHANG Youmin², MA Xiaoxu¹, HUANG Chengyuan², ZHANG Yue¹

(1. Engineering Research Center of Edible and Medicinal Fungi, Ministry of Education, Jilin Agricultural University, Changchun 130118; 2. College of Horticulture, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China)

Abstract: A single factor experiment was designed to screen out the optimum carbon and nitrogen sources based on investigating the quality of culture. It was found that the optimum carbon is corn flour and the optimum nitrogen source is yeast extract powder. Six C/N ratios (10:1~15:1) were designed based on controlling the carbon source content, it was shown that the optimum C/N ratio was 11:1. The optimum liquid strain culture formula of *Hericium coralloides* was corn flour 15 g/L, glucose 5 g/L, yeast extract powder 5 g/L, potato 200 g/L, wheat bran 2 g/L, magnesium sulfate 1.5 g/L, dipotassium hydrogen phosphate 3 g/L and V_{B1} 0.01 g/L. The orthogonal test of L₂₅(4×5⁴) was designed to screen out the optimal culture conditions according to the optimum C/N ratios formula. The volume of liquid was 150 mL/250 mL, the inoculation volume was 3.5%, the inoculation age was 7 days, the rotational speed was 180 r/min, and the pH was 5.0. The liquid culture was prepared with the optimum C/N ratio formula and culture conditions, and the solid culture was used as the control to produce mushrooms in the intelligent mushroom house using integrated and innovative mushroom environment. The results showed that the fresh weight and dry weight of each bag increased by 26.22% and 35.35%. The results of this study laid the foundation for the factory production and provided scientific guidance for the expansion of *H. coralloides*.

Key words: *Hericium coralloides*; Liquid culture; Cultural medium; C/N ratio; Cultivation effect

珊瑚猴头 [*Hericium coralloides*(Scop.) Pers.] 是我国著名的珍稀名贵食药菌, 外形美观, 其多糖具有增强胃黏膜屏障机理、保肝护肝等药用价值^[1-2], 市场需求不断增加。珊瑚猴头人工栽培周期长、生产技术不成熟成为制约规模化、产业化

发展的重要因素。现今珊瑚猴头的生产方式主要是农法栽培, 规模化生产才是满足市场需求与产业升级换代的必由之路。本团队已经确定珊瑚猴头的有性生殖系统^[3]、形态发育规律^[4], 建立了固体菌种繁育方法, 选育出首个省审品种“玉珊瑚”。随着“走出去”发展战略的提出, 珊瑚猴头已经成功引种至赞比亚, 并集成了热带高原配套产业化技术^[5]。但目前国内对于适于规模化生产的液体菌种及栽培效果的研究尚属空白。

液体菌种技术已经广泛应用于多种食用菌的

收稿日期: 2019-04-24

基金项目: 高等学校学科创新引智计划(D17014)

作者简介: 张伟彤(1993-), 女, 在读硕士, 主要从事食用菌遗传育种与高效栽培研究。

通讯作者: 姚方杰, 女, 博士, 教授, E-mail: yaofj@aliyun.com

工厂化生产中,与固体菌种相比在生产上优势明显^[6-7]。选择适合珊瑚猴头生产的液体培养基配方及其适宜的培养条件是影响其规模化生产的核心因素^[8-9]。本研究设计单因素试验筛选最佳碳源、氮源和不同碳氮比液体培养基配方,设计正交试验,筛选珊瑚猴头液体菌种的最佳培养条件,用筛选出的最佳碳氮比配方和最佳培养条件进行液体菌种的制备,以传统固体菌种为对照,在智能菇房出菇,采用珊瑚猴头液体菌种最佳出菇环境条件,比较栽培效果,为珊瑚猴头工厂化生产奠定基础,为扩大栽培提供科学指导。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

供试菌株为珊瑚猴头省审品种“玉珊瑚”。玉米粉、马铃薯购于农贸市场,其他药品购于上海生工生物有限公司。

1.2 种子液培养基配制

种子液培养基(1 L):葡萄糖 20 g,蛋白胨 3 g,酵母粉 3 g,磷酸氢二钾 3 g,硫酸镁 1.5 g, V_{B1}

0.01 g。用 9 mm 打孔器对平板进行打孔,每瓶接种 5 块。接种后置于 25 °C、180 r/min 摇床振荡培养 4 d,用于接种液体菌种培养基。

1.3 培养基质碳源、氮源的筛选

设计单因素试验对碳源和氮源进行筛选,根据不同氮源、不同碳源配制液体培养基(1 L),接种种子液后置于 25 °C、180 r/min 摇床振荡培养,pH 自然,7 d 后测定各配方的菌种质量。

(1)碳源 20 g,马铃薯 200 g,磷酸氢二钾 3 g,硫酸镁 1.5 g,蛋白胨 2.5 g, V_{B1} 0.01 g。

(2)氮源 5 g、马铃薯 200 g,葡萄糖 20 g,硫酸镁 1.5 g,磷酸氢二钾 3 g, V_{B1} 0.01 g。

碳源种类包括葡萄糖、麦芽糖、玉米粉、蔗糖、乳糖。氮源种类包括蛋白胨、酵母粉、硝酸铵、磷酸二氢铵、马铃薯。

1.4 最适碳氮比液体菌种培养基配方筛选

在最适碳氮源基础上,通过调整碳源含量设计 6 个不同碳氮比的液体菌种培养基配方(表 1),培养条件同 1.3,测定菌种质量和菌球回接平板的萌发时间。

表 1 不同培养基配方比例表

编号	玉米粉	葡萄糖	酵母浸粉	马铃薯	麦麸	硫酸镁	磷酸氢二钾	V_{B1}
K ₁	15	0	5	200	2	1.5	3	0.01
K ₂	15	5	5	200	2	1.5	3	0.01
K ₃	25	10	5	200	2	1.5	3	0.01
K ₄	35	10	5	200	2	1.5	3	0.01
K ₅	45	10	5	200	2	1.5	3	0.01
K ₆	55	10	5	200	2	1.5	3	0.01

注:K₁ ~ K₆的 C/N 分别为 10:1, 11:1, 12:1, 13:1, 14:1, 15:1

1.5 培养条件的筛选

采用筛选出的最佳碳氮比液体菌种培养基配方,根据预试验结果设计接种量、接种菌龄、转

速、pH 均为 5 水平,装液量为 4 水平的 $L_{25}(4 \times 5^4)$ 正交试验(表 2),对培养条件进行优化,每组试验重复 3 次。

表 2 正交试验的影响因素及各因素的水平数

水平数	影响因素				
	A:接种量(%)	B:接种菌龄(d)	C:装液量(mL/250 mL)	D:转速(r/min)	E:pH
1	1.5	4	80	100	4
2	2	5	100	120	4.5
3	2.5	6	120	140	5
4	3	7	150	160	5.5
5	3.5	8	—	180	6

1.6 液体菌种与固体菌种对珊瑚猴头栽培效果的影响

以最佳碳氮比配方和最佳培养条件制备液体菌种,以传统固体菌种为对照,均采用相同的栽

培料配方开展出菇试验,出菇地点为教育部食用菌工程研究中心的智能菇房,每个配方出菇 30 袋,每袋培养料干重 500 g,测定农艺性状,各项指标取 30 个菌袋的平均值。出菇环境调控采用本

研究室集成创新的珊瑚猴头生产技术规程出菇管理条件,温度 20~24 °C,空气相对湿度 85%~90%,通过通风控制菇房内二氧化碳浓度在 2 g/m³ 以下。栽培料配方:木屑 80%,麦麸 20%。

1.7 指标测定

1.7.1 菌种质量的测定

菌球直径的测定:根据每种培养液中所含菌球大小数量比例随机选取 10 个菌球排成一长列,测量总长度,再除以 10,重复 3 次,求平均值。

菌丝生物量的测定:采用差量法测定。把培养好的液体菌种过滤,收集 250 mL 摇瓶内所有菌球(承载的滤纸称重之前烘干至恒重),用清水冲洗 3 次,置于恒温烘干箱中 70 °C 烘干至恒重,求平均值。

菌球密度的测定:从液体培养基的每个重复摇瓶中摇匀后取出 25 mL 培养液置于培养皿中,对菌球数量进行计数,重复 3 次,求平均值。

1.7.2 菌球回接平板萌发时间的测定

从液体培养基中取一个菌球置于 PDA 固体培养基中央,25 °C 培养,记录萌发时间,重复 3 次,求

平均值。

1.7.3 农艺性状的测定

生育期、发菌时间、原基发生时间、子实体成熟时间、子实体鲜重、子实体干重、子实体颜色、子实体长宽比、子实体分枝数的测定方法参照文献[10]。

2 结果与分析

2.1 液体菌种培养基质的最适碳、氮源

2.1.1 不同碳源对珊瑚猴头菌种质量的影响

由图 1 可知,玉米粉作为碳源时菌丝生物量最高,为 0.9 g,在 0.05 水平上显著高于其他几种碳源,其次是葡萄糖;玉米粉作为碳源时,菌球直径最小为 2.70 mm(该菌球直径在接种过程中不阻塞枪口,同时能保证足够的菌丝量),在 0.05 水平上显著低于其他几种碳源,菌球密度为 89 个/25 mL,在 0.05 水平上显著高于麦芽糖和乳糖,菌球密度适中,适合作为液体菌种进行生产。因此,玉米粉可以作为珊瑚猴头液体菌种生产的最佳碳源。

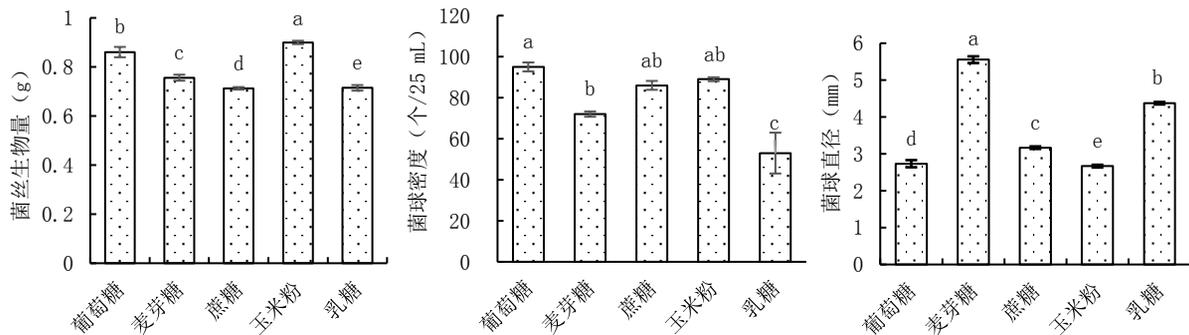


图 1 不同碳源对菌种质量的影响

2.1.2 不同氮源对珊瑚猴头菌种质量的影响

由图 2 可知,酵母粉作为氮源时,菌丝生物量为 0.72 g/250 mL,显著高于其他氮源,菌球直径为 2.10 mm,该菌球直径在接种过程中不阻塞枪口,

同时能保证足够的菌丝量,菌球密度为 58 个/25 mL,适合作为液体菌种的氮源。其次是蛋白胨,其菌丝生物量为 0.38 g,当蛋白胨作为液体菌种的氮源时,菌丝生物量过低,因此选择酵母粉作

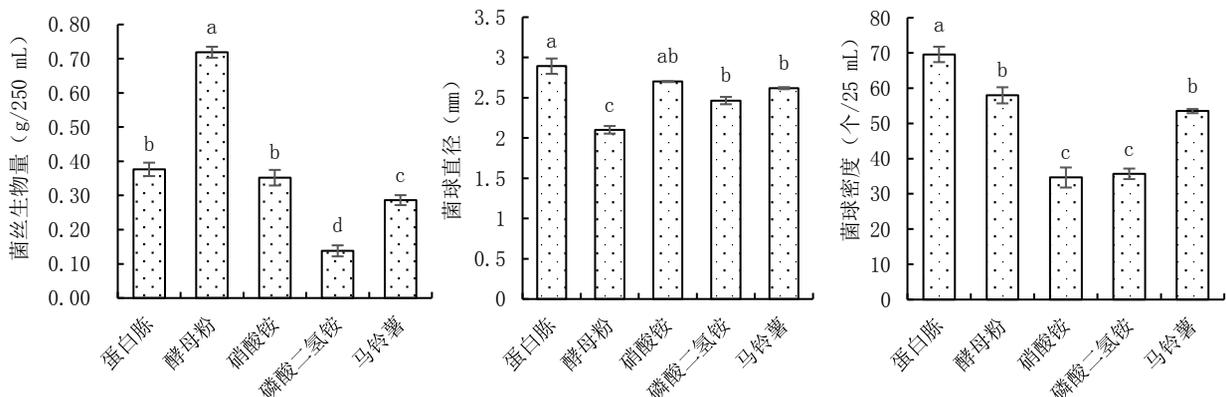


图 2 不同氮源对菌种质量的影响

为珊瑚猴头液体培养基的最佳氮源,硝酸铵和磷酸二氢铵作为氮源时,菌丝生物量和菌球密度低,不适合作为液体菌种的氮源。

2.2 珊瑚猴头最佳碳氮比液体培养基配方

通过调查菌种质量指标,对珊瑚猴头液体菌种最佳培养基配方进行筛选,试验结果筛选出最佳培养基配方为碳氮比 11:1 的配方 K₂,见表 3。该培养基配方的菌球直径适中,平均为 2.38 mm,菌球密度为 95 个/25 mL,菌丝生物量为 0.96 g,显著高于其他配方,代谢活跃,与其他培养基相比

更适合作为液体菌种;同时取培养 7 d 的菌球回接到 PDA 固体培养基中,观察菌球的萌发时间也可以看出 K₂ 比其他五种培养基的萌发时间短,表明 K₂ 培养基的菌球活性更高。K₁ 和 K₆ 的菌丝生物量均处于较低水平,说明碳氮比过高或者过低都不利于珊瑚猴头菌丝的生长(图 3)。

表 3 六种培养基配方对菌种质量的影响

培养基配方	菌球直径 (mm)	菌球密度 (个/25 mL)	菌球回接平板萌发时间(h)
K ₂	2.38d	95a	24.00
K ₅	2.75b	85b	26.33
K ₃	2.58c	81bc	26.67
K ₄	2.07e	76c	28.67
K ₆	2.93a	81bc	27.33
K ₁	2.47ed	79bc	25.67

注:小写字母代表在 0.05 水平差异显著

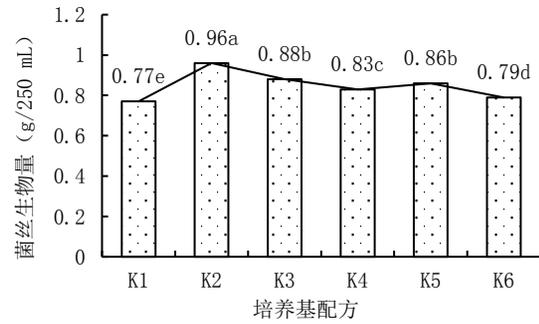


图 3 六种培养基配方对菌丝生物量的影响

2.3 珊瑚猴头液体菌种最佳培养条件

由表 4 可知,达到菌丝生物量最大且各水平均值达到最大值,最优组合为 A₅B₄C₃D₅E₃。通过极差结果比较分析各因素对液体菌种菌丝生物量影

表 4 正交试验结果分析表

试验编号	A:接种量	B:接种种龄	C:装液量	D:转速	E:pH	菌丝生物量(g)
1	2	2	1	1	2	0.25
2	5	5	2	1	5	0.72
3	3	4	1	2	1	0.97
4	5	2	4	3	1	0.74
5	1	5	1	5	3	0.81
6	5	3	1	4	4	0.74
7	2	1	4	5	4	0.32
8	3	2	3	5	5	0.57
9	3	1	2	4	2	0.32
10	1	1	1	1	1	0.11
11	4	1	1	3	5	0.48
12	4	2	1	4	3	0.36
13	2	5	3	4	1	0.57
14	1	4	4	4	5	0.32
15	5	1	3	2	3	0.26
16	3	3	4	1	3	0.99
17	4	4	3	1	4	0.46
18	1	3	3	3	2	0.60
19	3	5	1	3	4	0.45
20	1	2	2	2	4	0.12
21	2	4	2	3	3	0.67
22	4	3	2	5	1	0.45
23	2	3	1	3	5	0.57
24	5	4	3	5	2	1.13

续表 4

试验编号	A:接种量	B:接种种龄	C:装液量	D:转速	E:pH	菌丝生物量(g)
25	4	5	4	2	2	0.55
	0.39	0.30	0.53	0.51	0.57	
	0.48	0.41	0.45	0.50	0.57	
	0.66	0.67	0.60	0.59	0.62	
	0.46	0.71	0.58	0.46	0.42	
	0.72	0.62	—	0.66	0.53	
R	0.33	0.41	0.14	0.19	0.20	

响的次序是:接种种龄>接种量>pH>转速>装液量。经试验验证培养条件组合 A₅B₄C₃D₅E₃即接种量为装液量的 3.5%,接种菌龄 7 d,装液量 120 mL/250 mL,转速 180 r/min,pH 5.0 为最优水平组合,菌丝生物量达到 1.15 g/250 mL,菌球直径 2.02 mm,菌球密度为 140 个/25 mL。

表 5 各因素对菌球直径、菌球密度、菌丝生物量的显著性分析

影响因素	菌种质量指标	III型平方和	自由度	均方	F值	显著性(0.01水平)
接种量	菌球直径	977.915	4	244.479	1.359	0.260
	菌球密度	143.474	4	35.869	1.687	0.166
	菌丝生物量	1.226	4	0.307	16.973	0.000
接种菌龄	菌球直径	32 670.194	4	8 167.549	45.407	0.000
	菌球密度	2 418.269	4	604.567	28.434	0.000
	菌丝生物量	1.960	4	0.490	27.125	0.000
转速	菌球直径	10 935.309	4	2 733.827	15.199	0.000
	菌球密度	933.396	4	233.349	10.975	0.000
	菌丝生物量	0.418	4	0.104	5.778	0.001
装液量	菌球直径	2 201.628	3	733.876	4.080	0.011
	菌球密度	259.022	3	86.341	4.061	0.011
	菌丝生物量	0.202	3	0.067	3.735	0.016
pH值	菌球直径	11 199.494	4	2 799.874	15.566	0.000
	菌球密度	466.758	4	116.689	5.488	0.001
	菌丝生物量	0.365	4	0.091	5.049	0.002
误差	菌球直径	9 893.012	55	179.873		
	菌球密度	1 169.406	55	21.262		
	菌丝生物量	0.994	55	0.018		

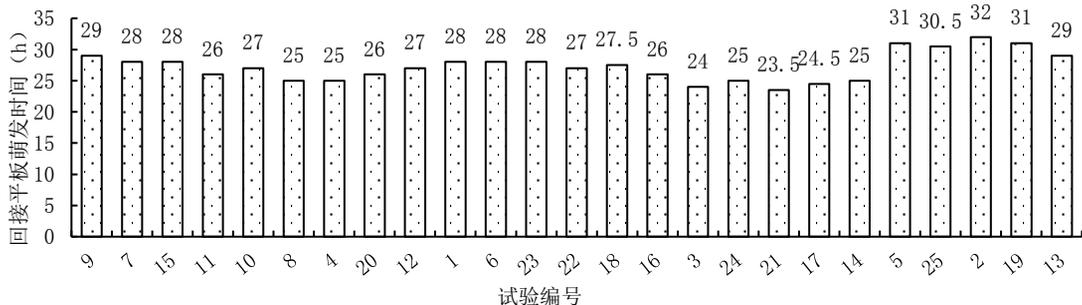


图 4 不同菌龄的液体菌种菌球回接平板的萌发时间

注:试验 7、9、15、11、10 为菌龄 4 d,试验 1、4、8、12、20 为菌龄 5 d,试验 6、16、18、22、23 为菌龄 6 d,试验 3、14、17、21、24 为菌龄 7 d,试验 2、5、13、19、25 为菌龄 8 d

对正交试验全部结果进行显著性分析,显著性(Sig.)小于 0.01 的因素对测试指标有显著影响,

表 5 结果表明仅接种菌龄、转速和 pH 对菌球直径和菌球密度有显著影响;与菌球直径和菌球密度

不同,5个因素对菌丝生物量均有显著影响。

不同培养条件的菌球回接平板的萌发时间差异见图4。经过正交试验发现菌龄为7d时,菌球回接平板的时间相比于其他更短。接种菌龄小于7d时,菌球的活性没有达到最大值;大于7d时,菌龄过大菌丝容易老化,导致菌球活性低。

2.4 液体菌种与传统固体菌种的栽培效果比较

液体菌种栽培的珊瑚猴头与传统固体菌种相比,发菌时间短6d,发菌整齐,原基发生时间早8d,整体生育期缩短3d(表6),子实体成熟时间差别较小,而传统固体菌种子实体成熟时间相差较大,不能够保证统一的货架期,因此液体菌种更适合进行工厂化规模生产。

表6 液体菌种与固体菌种生育期比较 d

配方	满袋时间	原基发生时间	子实体成熟时间
K ₂	33	38	49
CK	39	46	52

液体菌种栽培的珊瑚猴头平均产量要高于传统固体菌种(表7),液体菌种栽培的珊瑚猴头子实体鲜重和干重均在0.05水平上显著高于对照,鲜重为224.20g/袋,比对照提高26.22%,干重21.90g/袋,比对照提高35.35%。

表7 液体菌种与固体菌种产量比较 g/袋

配方	子实体鲜重	子实体干重
K ₂	224.20*	21.90*
CK	177.62	16.18

注:*表示在0.05水平差异显著

出菇试验的商品性状见表8。液体菌种发菌期菌丝洁白,子实体长宽比更接近于1,子实体长宽比例适中,子实体分枝数为5~6级,传统固体菌种的子实体偏长,整体外形不美观,采收时容易造成机械损伤,影响珊瑚猴头商品价值。

表8 液体菌种与固体菌种商品性状比较

配方	子实体分枝数	子实体颜色	子实体长宽比
K ₂	5~6级	洁白	1.18
CK	4~5级	白略带浅黄	1.38

3 讨论

本试验结果填补了珊瑚猴头液体菌种研究的空白,在试验中测定的各项指标(菌丝生物量、菌球直径、菌球密度等)均能够满足实际生产需求^[10-13]。试验表明,珊瑚猴头的液体菌种培养最

佳碳氮比为11:1,与猴头菌的液体菌种培养基碳氮比(13:1)无显著差异^[14-16],而珊瑚猴头液体菌种培养基碳氮比明显低于侧耳属(30:1)^[17],说明在猴头菌属中不同种之间菌丝体对碳氮源的需求相近,但对于氮源的利用明显优于侧耳属食用菌。大部分食用菌如杏鲍菇、黑木耳、榆耳、茶树菇^[12,18-22]等液体菌种研究只调查菌丝生物量、菌球直径、菌球密度等菌种质量指标,本研究在此基础上,结合液体菌种与传统固体菌种的栽培效果比较试验,并采用集成创新的珊瑚猴头出菇环境,在保证液体菌种健壮的同时也能保证出菇成品率,进一步说明珊瑚猴头的液体菌种适合应用于工厂化、规模化生产中。

此外,液体菌种相较于传统固体菌种的生产成本虽偏高,但因其具有缩短生长周期、发菌整齐、子实体成熟期一致等优点,能够保证出菇整齐度和货架期统一性,在生产中节约大量的环境调控与劳动力成本,增加收益。在生产过程中可以采用液体菌种制种技术,同时结合传统固体菌种的发菌期管理方法,能够提高生产效率。在制备液体菌种的过程中发现,当菌液中水分含量多时,黏稠度低容易导致污染,本试验通过添加无机盐、维生素和少量麦麸丰富了菌液中营养物质,使菌丝活性增强,菌液黏稠度明显增加,污染情况得到大幅改善。下一步将进行扩大试验,使用发酵罐研制液体菌种工厂化生产工艺,为珊瑚猴头工厂化生产提供技术支撑。

参考文献:

- [1] 范宇光,图力古尔.长白山野生珊瑚状猴头驯化栽培[J].中国食用菌,2010,29(4):10-11.
- [2] 朱美静.猴头菌多糖的提取及理化性质的研究[D].无锡:江南大学,2006.
- [3] 胡欣,姚方杰,张友民,等.珊瑚猴头担孢子萌发及其菌丝生长特性[J].食用菌学报,2016,23(2):23-24.
- [4] 胡欣.珊瑚猴头交配系统与形态发育解析及良种繁育的研究[D].长春:吉林农业大学,2016.
- [5] 任洋洋.珊瑚状猴头品种选育与营养利用的分析及在赞比亚的应用[D].长春:吉林农业大学,2016.
- [6] 刘世玲,卢兴潮,江坤,等.香菇液体菌种深层发酵工艺探索[J].中国食用菌,2016,35(1):21-24.
- [7] 戴建清,曾志恒.食用菌液体菌种研究现状及发展趋势[J].中国食用菌,2012,31(5):1-3.
- [8] Xie L J, Tang L P. Preliminary Study on the Identification of Poisonous Mushrooms and Confusable Edible Mushrooms[J]. Adverse Drug Reactions Journal, 2013, 15(6): 330-335.
- [9] Liu S R, Zhang W R, Kuang Y B. Production of Stalk Spawn of an Edible Mushroom (*Pleurotus ostreatus*) in Liquid Culture as

- a Suitable Substitute for Stick Spawn in Mushroom Cultivation [J]. *Scientia Horticulturae*, 2018, 240: 572-577.
- [10] 王 玉,李 政,班立桐,等.猴头菇液体菌种培养基配方的研究[J].北方园艺,2011(9):202-204.
- [11] 杨云静.金针菇“江山一号”营养要素筛选及其液体菌种培养研究[D].福州:福建农林大学,2017.
- [12] 唐利华,高君辉,茅文俊,等.杏鲍菇工厂化栽培的液体菌种培养条件的优化[J].上海农业学报,2015,31(1):27-29.
- [13] 刘 冉,董 莎,姚志超,等.黑木耳菌糠有机肥的制备及肥效研究[J].东北农业科学,2018,43(6):20-24.
- [14] 刘晓鹏,姜 宁,夏冬冬,等.猴头菌液体发酵培养基及工艺优化的研究[J].广东农业科学,2014,41(18):79-82,86.
- [15] 曾化伟,郑惠华,梁 伟,等.猴头菌液体发酵培养基的优选[J].食品与发酵科技,2014,50(3):29-31.
- [16] 赵金芬.猴头菌液体发酵培养基优化提高菌丝生物量的研究[J].中国医药导刊,2010,12(10):1831-1833.
- [17] 赵竹青,贺长映,都秀俐.不同碳氮比对白玉菇生长影响试验[J].中国果菜,2013(9):7-9.
- [18] 孙荟林,李 明,李守勉,等.茶树菇母种培养基最适碳氮比及碳源、氮源筛选[J].北方园艺,2016(14):148-151.
- [19] 王 涛,谭 琦,李 玉,等.杏鲍菇液体菌种应用工艺参数的优化[J].上海农业学报,2019,35(1):33-37.
- [20] 刘孝利,李晓博,赵敬聪,等.玉米耳液体菌种配方研究[J].食用菌,2019,41(1):37-38.
- [21] 王庆武,乔爱丽,兰玉菲.黑木耳液体发酵菌种的制作技术要点[J].食用菌,2018,40(3):64-65.
- [22] 刘宏宇,郭鹏程,姚方杰.榆耳菌丝原生质体制备及再生的研究[J].东北农业科学,2018,43(2):60-64.

(责任编辑:刘洪霞)

(上接第75页)与不同花药基因型自身的分化能力以及愈伤组织本身内源细胞分裂素水平较低或生长素浓度较高有关。不定芽增殖阶段,生长素和细胞分裂素越高,增殖系数越大,产生芽数越多,此结果与前人研究规律一致^[15-21]。但高浓度激素条件下,丛生芽普遍出现玻璃化现象严重,生长受到抑制。综合考虑,TDZ和2,4-D浓度应在一定范围内。

通过对草莓花药离体组织培养试验研究,结果表明:TDZ和2,4-D组合可成功建立草莓花药离体再生体系。在本试验所设处理中,最适宜诱导培养基为MS+2,4-D 0.2 mg/L+TDZ 1.5 mg/L,最适宜分化培养基为MS+2,4-D 0.05 mg/L+TDZ 2.0 mg/L,最适宜增殖阶段培养基为MS+TDZ 0.5 mg/L+2,4-D 0.1 mg/L。本试验结果为草莓花药单倍体育种研究工作提供了理论依据。

参考文献:

- [1] 大泽胜次,西贞夫.用花药培养法大量培育草莓无病毒植株的研究[J].农业园艺(日),1974(4):537-540.
- [2] 宫崎正则,美谷诚一,藪内一雄.关于加工用草莓植株育成的研究二[J].东洋食品研究所,1978(13):41-47.
- [3] 赵永钦,吴新新,郑 禾,等.草莓“甜查理”和“章姬”花药培养及单倍体植株的获得[J].中国农业大学学报,2012,17(5):39-45.
- [4] 陈玉波,张学明,姚环宇,等.以草莓花药培养实现脱毒的研究进展[J].北方果树,2016(6):1.
- [5] 张立磊,李桂荣,张 浩,等.不同草莓品种无茵苗增殖及不定芽诱导的研究[J].西北林学院学报,2018,33(2):134-138.
- [6] 胡选萍.IBA对大樱桃“吉塞拉”试管苗生根的效应研究[J].东北农业科学,2015,40(3):106-109.
- [7] 王敬东,张 丽,马洪爱,等.植物生长调节剂TDZ在草莓花药培养中的应用[J].安徽农业科学,2011,39(5):2588-2590,2622.
- [8] 陈纪鹏,彭嗣亮,卢 禹,等.预处理和激素对草莓花药离体培养的影响[J].核农学报,2016,30(11):2144-2150.
- [9] Roberto Cappelletti, Silvia Sabbadini, Bruno Mezzetti. The use of TDZ for the efficient in vitro regeneration and organogenesis of strawberry and blueberry cultivars[J]. *Scientia Horticulturae*, 2016, 207: 117-124.
- [10] 查中萍,柳 俊,刘定富.影响草莓花药培养因素的分析[J].安徽农业科学,2006,34(1):24,28.
- [11] 吴鹏飞,王丽娟,切岩祥和,等.设施草莓组培快繁研究现状分析[J].北方园艺,2016(1):195-199.
- [12] Prior R L, Cao G, Martin A, et al. Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity, and variety of vaccinium species[J]. *Agric. Food Chem*, 1998, 46: 2686-2693.
- [13] 晁慧娟,刘 敏,姬谦龙,等.‘甜查理’草莓花药培养脱毒技术[J].北京农学院学报,2010,25(2):18-21.
- [14] 张玉君,彭兴龙,张哲民,等.草莓组织培养与脱毒技术[J].河南林业科技,2009,29(11):73-75.
- [15] 邹锋康,王秋红,周建朝,等.生长素调节植物生长发育的研究进展[J].中国农学通报,2018,34(24):34-40.
- [16] 陶阿丽,曹殿洁,华 芳,等.植物组织培养技术研究进展[J].长江大学学报(自然科学版),2018,15(18):31-35.
- [17] 王万奇,李文龙,王媛媛,等.植物花药组织培养技术的研究[J].黑龙江农业科学,2015(10):177-179.
- [18] 陈玉波,张学明,姚环宇,等.8个草莓品种在日光温室立体栽培的引种表现[J].东北农业科学,2016,41(6):97-99.
- [19] 杨怀卫.玉米单倍体育种研究[J].种子科技,2018,36(2):53-54.
- [20] 祝剑峰.植物组织培养在育种中的应用[J].安徽农业科学,2014,42(35):12415-12417.
- [21] 程 艳,吴春燕,张晓旭,等.蕹菜叶片SPAD值与叶绿素含量的相关性分析[J].东北农业科学,2018,43(4):44-47.

(责任编辑:刘洪霞)