

## 外源性物质对猪苓菌丝体生长及多糖含量的影响

郑媛<sup>1</sup>, 李仰华<sup>1</sup>, 韩鹏杰<sup>2</sup>, 赵玉洋<sup>2</sup>, 周骏辉<sup>2</sup>, 南铁贵<sup>2\*</sup>, 杨全<sup>1</sup>, 张敏<sup>3</sup>, 袁媛<sup>1,2\*</sup>

(1. 广东药科大学 中药学院, 广州 510006;

2. 中国中医科学院 中药资源中心 道地药材国家重点实验室培育基地, 北京 100700;

3. 湖北梦阳药业, 湖北 荆门 448124)

**[摘要]** 目的:为探讨不同外源性物质对猪苓菌丝生长发育的影响,系统研究了不同浓度外源性物质处理后猪苓菌丝生长速度及其多糖含量,以期筛选出猪苓菌丝的最佳生长条件,为其规模化人工培养提供参考。方法:采用平皿培养真菌的方法,将猪苓菌丝放在含有不同外源性物质的培养基上进行了培养,以菌落直径来判断菌丝的生长速度,苯酚-硫酸法测定猪苓菌丝的多糖含量。结果:高浓度环磷腺苷酸,6-苄氨基嘌呤(6-BA),赤霉素(GA),2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D),维生素(V)B<sub>1</sub>, VB<sub>3</sub>, VB<sub>6</sub>, VB<sub>9</sub>, VB<sub>12</sub>处理组均促进了猪苓菌丝生长,而吲哚乙酸(IAA), VC, VB<sub>2</sub>处理组均抑制了猪苓菌丝生长;高浓度环磷腺苷酸,6-BA, GA, 2,4-D, VB<sub>1</sub>, VB<sub>3</sub>, VB<sub>6</sub>, VB<sub>9</sub>, VB<sub>12</sub>处理组均提高了猪苓菌丝多糖含量,而 IAA, VB<sub>2</sub>处理组均降低了其多糖含量。高浓度 VC 处理组对猪苓菌丝生长抑制最为明显,但能显著增加猪苓菌丝多糖含量;环磷腺苷酸浓度为 2 mmol·L<sup>-1</sup>, 6-BA, GA, 2,4-D, VB<sub>1</sub>, VB<sub>2</sub>, VB<sub>3</sub>, VB<sub>9</sub>, VB<sub>12</sub>质量浓度分别为 6, 15, 2, 4, 2, 4, 2, 4, 6, 10 mg·L<sup>-1</sup>时,均有利于猪苓菌丝生长和多糖含量的累积。结论:通过在培养基中添加外源物质可以调控猪苓菌丝的生长发育,改变猪苓菌丝生长速度和多糖含量的累积。

**[关键词]** 外源性物质; 猪苓菌丝; 生长速度; 多糖含量

**[中图分类号]** R284.2; R289; R22; R2-031; R33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)14-0129-09

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20210911

**[网络出版地址]** <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20210506.1503.002.html>

**[网络出版日期]** 2021-05-06 17:28

### Effects of Exogenous Substances on Growth of *Polyporus umbellatus* Mycelium and Its Polysaccharide Content

ZHENG Yuan<sup>1</sup>, LI Yang-hua<sup>1</sup>, HAN Peng-jie<sup>2</sup>, ZHAO Yu-yang<sup>2</sup>, ZHOU Jun-hui<sup>2</sup>, NAN Tie-gui<sup>2\*</sup>,  
YANG Quan<sup>1</sup>, ZHANG Min<sup>3</sup>, YUAN Yuan<sup>1,2\*</sup>

(1. School of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006,

China; 2. State Key Laboratory of Dao-di Herbs, National Resource Center for Chinese Materia Medica,

China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;

3. Hubei Mengyang Pharmaceutical Co. Ltd., Jingmen 448124, China)

**[Abstract]** **Objective:** To explore the effects of diverse exogenous substances at different concentrations on the growth of *Polyporus umbellatus* mycelium and polysaccharide content and screen out the optimal growth condition for *P. umbellatus* mycelium, so as to provide a reference for its large-scale artificial cultivation. **Method:** *P. umbellatus* mycelium was cultured in media containing different exogenous substances using the method for fungal culturing in plate. The growth rate of the mycelium was judged by the colony

**[收稿日期]** 20210219(005)

**[基金项目]** 国家中医药管理局“科技助力经济2020”重点专项; 国家科技部科技基础资源调查项目(2018FY100800); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(ZZ10-008)

**[第一作者]** 郑媛, 在读硕士, 从事中药资源与鉴定学研究, E-mail: zyzy06@163.com

**[通信作者]** \*袁媛, 研究员, 博士生导师, 从事中药鉴定与分子生药学研究, Tel: 010-64087649, E-mail: y\_yuan0732@163.com;

\*南铁贵, 副研究员, 从事中药质量评价研究, Tel: 010-64087649, E-mail: nantiegui@163.com

diameter and the polysaccharide content was determined by the phenol-sulfuric acid method. **Result:** The high-dose cyclic adenosine monophosphate, 6-benzyl aminopurine (6-BA), gibberellic acid (GA), 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid (2, 4-D), vitamin (V) B<sub>1</sub>, VB<sub>3</sub>, VB<sub>6</sub>, VB<sub>9</sub>, and VB<sub>12</sub> all promoted the growth of *P. umbellatus* mycelium and elevated polysaccharides content. By contrast, indole acetic acid (IAA), VC, and VB<sub>2</sub> inhibited its growth, with the most obvious inhibition detected in the high-dose VC group. IAA and VB<sub>2</sub> both reduced the polysaccharide content, whereas the high-dose VC significantly increased the polysaccharide content. Cyclic adenosine monophosphate, 6-BA, GA, 2, 4-D, VB<sub>1</sub>, VB<sub>3</sub>, VB<sub>6</sub>, VB<sub>9</sub>, and VB<sub>12</sub> at the concentrations of 2 mmol·L<sup>-1</sup>, 6 mg·L<sup>-1</sup>, 15 mg·L<sup>-1</sup>, 2 mg·L<sup>-1</sup>, 4 mg·L<sup>-1</sup>, 2 mg·L<sup>-1</sup>, 4 mg·L<sup>-1</sup>, 6 mg·L<sup>-1</sup>, and 10 mg·L<sup>-1</sup>, respectively, contributed to the growth of *P. umbellatus* mycelium and polysaccharide accumulation. **Conclusion:** The growth of *P. umbellatus* mycelium and polysaccharide accumulation can be regulated by adding exogenous substances to the culture medium.

[**Keywords**] exogenous substances; *Polyporus umbellatus* mycelium; growth rate; polysaccharide content

猪苓为多孔菌科多孔菌属猪苓 *Polyporus umbellatus* 的干燥菌核<sup>[1]</sup>,是名贵真菌药物之一<sup>[2]</sup>,在我国东北、华北、华中、西北、西南及华东等地区均有分布,具有解热除湿、行窍利水、防老驻颜等功效<sup>[3]</sup>。猪苓的主要药用成分为猪苓多糖和甾体,具有抑制肿瘤生长、延缓衰老、增强机体免疫力<sup>[4]</sup>、保护肝脏及降血糖等作用<sup>[5-7]</sup>,在五苓散、猪苓汤等中药方中均大量使用<sup>[8]</sup>。

随着对猪苓需求的不断攀升,野生猪苓被大规模采挖,致使自然资源遭到严重破坏,已面临枯竭,我国已将其列为三级保护野生药材<sup>[9]</sup>;尽管猪苓的人工培育已较为成熟,但猪苓的生物学特性尚不完全清楚,且面临着生长周期长<sup>[10-11]</sup>、生产成本低及种植风险大等问题<sup>[12-13]</sup>,难以满足市场需求。生物技术保护是珍稀濒危药用资源保护的重要途径之一,菌丝体可作为真菌类药材的替代物,如蝙蝠蛾拟青霉菌丝体已被国家药品监督管理局批准为可用于保健食品的真菌菌种。与野生猪苓菌核相似,猪苓菌丝体中的猪苓多糖具有抗肿瘤作用<sup>[14]</sup>,因此利用培养基生产猪苓菌丝体,并以菌丝体代替菌核为原料提取多糖,可以更快地将猪苓多糖生产成药品满足市场需求,利用生物技术保护野生资源也成为当前猪苓研究的热点。种质的优劣对药材产量和质量起着决定性的作用,而猪苓种质资源的保存主要依赖于菌丝保存。邢咏梅等<sup>[15]</sup>研究发现高浓度维生素C(VC)处理对猪苓菌丝生长具有抑制作用,温度和pH等环境因子<sup>[16]</sup>对猪苓菌丝体生长发育有影响,但其他外源性物质对猪苓菌丝生长的影响鲜有报道,基于此,本实验初步探讨了环磷腺苷酸、植物生长调节剂,VC及VB族对猪苓菌丝生长速度及多

糖含量的差异,以期为猪苓菌丝的优质高产提供理论基础,以便更有效地利用优良的种质资源,改变供需矛盾的现状,同时为我国猪苓种质资源的深入研究提供参考依据。

## 1 材料

本实验所用猪苓菌种,购买自中国普通微生物菌种保藏管理中心,并保存于猪苓培养基中。

D-葡萄糖(Glu,批号B21882,纯度98%),环磷酸腺苷(cAMP,批号B24342,纯度98%),2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D,批号B65122,纯度98%),6-苄氨基嘌呤(6-BA,批号B24213,纯度98%),赤霉素(GA,批号B20187,纯度90%),吲哚乙酸(IAA,货号B21810,纯度98%),维生素(VC,VB<sub>1</sub>,VB<sub>2</sub>,VB<sub>3</sub>,VB<sub>6</sub>,VB<sub>9</sub>,VB<sub>12</sub>,上海源叶生物科技有限公司,批号分别为B21293,B21288,B21290,B21423,B21292,B21487,B21289,纯度均为99%),其他试剂均为分析纯,0.22 μm 聚四氟乙烯(PTFE)滤膜(天津津腾实验设备有限公司)。

T6型新世纪紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司),MS-S型1/10万电子天平[梅特勒-托利多(上海)有限公司],MM 400型球磨机(德国Retsch公司),Centrifuge 5415D型离心机(德国Eppendorf公司);Pacific T-II型超纯水仪(美国Thermo公司);SB-800DTD型超声波清洗器(宁波新芝生物科技股份有限公司);D9145AZ型电热干燥箱(上海恒科仪器有限公司),MLS3751型高压灭菌器(日本Sanyo公司)。

葡萄糖2.0 g,酵母粉0.5 g,磷酸氢二钾0.1 g,磷酸二氢钾0.05 g,硫酸镁0.55 g,琼脂1.0 g,去离子水100 mL,pH 5。121 °C高压灭菌15 min。

## 2 方法

### 2.1 外源性物质对猪苓菌丝生长速度的影响

**2.1.1 cAMP对猪苓菌丝生长速度的影响** 取cAMP配制成浓度为 $10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的母液,  $0.22\ \mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤除菌后将其稀释至分别为 $0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的溶液(分别为cAMP-0.01, cAMP-0.05, cAMP-0.1, cAMP-0.5, cAMP-1.0, cAMP-2.0, cAMP-4.0处理组, cAMP-0为空白组), 分别加入到灭菌后冷却至 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 左右的培养基中。沿平皿中培养的菌龄为30 d的菌落外缘, 用打孔器打下直径为13 mm的猪苓菌片, 每个平皿中央接种1片, 置 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 暗培养环境中培养, 观察不同浓度的cAMP对猪苓菌丝生长速度的影响<sup>[17]</sup>。

**2.1.2 植物生长调节剂对猪苓菌丝生长速度的影响** 取植物生长调节剂2, 4-D, 6-BA, GA, IAA配制成质量浓度为 $50\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的母液, 经 $0.22\ \mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤除菌后将其稀释至质量浓度分别为 $2.0, 6.0, 8.0, 10, 15, 20, 25\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 不同浓度的溶液(分别为2, 4-D-2.0, 2, 4-D-6.0, 2, 4-D-8.0, 2, 4-D-10, 2, 4-D-15, 2, 4-D-20, 2, 4-D-25处理组, 2, 4-D-0为空白处理组。6BA-2.0, 6BA-6.0, 6BA-8.0, 6BA-10, 6BA-15, 6BA-20, 6BA-25处理组, 6BA-0为空白处理组。GA-2.0, GA-6.0, GA-8.0, GA-10, GA-15, GA-20, GA-25处理组, GA-0为空白处理组。IAA-2.0, IAA-6.0, IAA-8.0, IAA-10, IAA-15, IAA-20, IAA-25处理组, IAA-0为空白处理组), 按照2.1.1项下方法操作, 观察不同浓度的植物生长调节剂对猪苓菌丝生长速度的影响。

**2.1.3 抗氧化剂对猪苓菌丝生长速度的影响** 取抗氧化剂VC配制成质量浓度为 $20\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的母液, 经 $0.22\ \mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤除菌后将其稀释至质量浓度分别为 $0.5, 1.0, 2.0, 5.0, 10\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的溶液, 按照2.1.1项下方法操作, 观察不同浓度的抗氧化剂VC对猪苓菌丝生长速度的影响。

**2.1.4 VB族维生素对猪苓菌丝生长速度的影响** 取 $\text{VB}_1, \text{VB}_2, \text{VB}_3, \text{VB}_6, \text{VB}_9, \text{VB}_{12}$ 分别配制成质量浓度为 $20\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的母液, 经过 $0.22\ \mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤除菌后, 将其稀释成质量浓度分别为 $2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的溶液(分别为对应各维生素V-0.5, V-1.0, V-2.0, V-5.0, V-10处理组, V-0为空白处理组), 按照2.1.1项下方法操作, 观察不同浓度的维生素对猪苓菌丝生长速度的影响。

### 2.2 猪苓菌丝多糖含量的测定

**2.2.1 标准曲线制备** 精密称取无水葡萄糖约

$10.00\text{ mg}$ , 加水定容至 $50\text{ mL}$ , 配制成 $0.20\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的母液, 分别吸取 $0.1\sim 0.6\text{ mL}$ 于 $10\text{ mL}$ 量瓶中, 加水定容。精密吸取上述对照溶液 $1\text{ mL}$ 于试管中, 于冰水浴中加入 $5\%$ 苯酚 $1\text{ mL}$ , 加入浓硫酸 $5\text{ mL}$ , 置于沸水浴中加热 $10\text{ min}$ , 再置于冷水浴中降至室温, 在 $490\text{ nm}$ 处测定吸光度 $A$ <sup>[18]</sup>。以葡萄糖浓度为横坐标,  $A$ 为纵坐标绘制标准曲线, 得到回归方程为 $Y=0.738\ 3X+0.005\ 3, R^2=0.999$ , 结果表明葡萄糖质量浓度在 $0.01\sim 0.06\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 与 $A$ 呈良好的线性关系。

**2.2.2 供试品溶液制备与多糖含量测定** 在本课题组已建立的糖类含量测定方法基础上<sup>[19-21]</sup>, 对供试品溶液制备方法进行了调整和优化。精密称取猪苓粉末 $0.50\text{ g}$ , 加入 $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ 去离子水 $10\text{ mL}$ , 超声提取( $120\text{ W}, 40\text{ kHz}$ ) $30\text{ min}$ ,  $8\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 $10\text{ min}$ (离心半径 $2.88\text{ cm}$ )取上清液, 上清液加 $95\%$ 乙醇使乙醇最终体积分数为 $80\%$ ,  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 醇沉 $12\text{ h}$ , 再次离心后氮吹挥干乙醇, 得到多糖, 多糖沉淀加热水溶解定容至 $25\text{ mL}$ 。精密吸取供试溶液 $1\text{ mL}$ , 于冰水浴中加入 $5\%$ 苯酚 $1\text{ mL}$ , 浓硫酸 $5\text{ mL}$ , 置于沸水浴中加热 $10\text{ min}$ , 再置于冷水浴中降至室温, 测定供试品溶液的 $A$ , 即可计算出样品中多糖含量。

**2.3 统计学分析** 采用SPSS 23.0软件进行处理, 各组数列均呈正态分布时, 数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 采用ANOVA进行方差分析, 方差齐用最小显著性差异法(LSD)- $t$ 进行组间比较, 方差不齐用Dunnnett's进行组间比较,  $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

## 3 结果与分析

**3.1 不同浓度cAMP对猪苓菌丝生长及多糖含量的影响** 不同浓度的cAMP对猪苓菌丝生长量和多糖含量的影响见表1。结果表明cAMP处理低浓度组( $\leq 0.5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )对猪苓菌丝的生长未表现出促进作用, 且存在一定程度的抑制生长现象, 而cAMP处理高浓度组( $\geq 1.0\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )则可以显著促进猪苓菌丝的生长。在多糖含量方面, cAMP-2.0处理组的多糖含量显著高于空白, 而其他处理组多糖含量则小于或显著小于空白组。因此, 猪苓菌丝经cAMP-2.0组处理后, 不仅可以显著提升猪苓菌丝的生长速度, 还可以显著提高猪苓菌丝中多糖的含量。通过Person相关性分析, 发现cAMP处理后猪苓菌丝生长速度和多糖含量相关系数为 $0.647(P<0.01)$ 。

**3.2 不同植物生长调节剂对猪苓菌丝形成及多糖含量的影响**

**3.2.1 6-BA对猪苓菌丝形成及多糖含量的影响** 不同浓度6-BA对猪苓菌丝生长量和多糖含量的影响

表1 不同cAMP对猪苓菌丝生长及多糖含量的影响

Table 1 Effect of different cAMP on mycelial growth and polysaccharide content

组别	菌落直径/cm			平均值/cm	生长速度/mm·d <sup>-1</sup>	多糖质量分数( $\bar{x}\pm s, n=6$ )/%
	1	2	3			
cAMP-0	6.51	5.92	6.60	6.34	0.97	5.82±0.42
cAMP-0.01	6.30	6.20	6.50	6.33	0.97	4.51±0.23 <sup>2)</sup>
cAMP-0.05	6.30	6.10	6.50	6.30	0.97	5.65±0.19
cAMP-0.1	5.40	5.80	6.00	6.03	0.87 <sup>1)</sup>	2.61±0.53 <sup>2)</sup>
cAMP-0.5	6.10	6.20	5.80	5.73	0.92	4.35±0.37 <sup>2)</sup>
cAMP-1.0	7.20	7.20	7.00	7.13	1.11 <sup>2)</sup>	4.89±0.36 <sup>2)</sup>
cAMP-2.0	8.00	7.08	7.29	7.46	1.16 <sup>2)</sup>	7.80±0.42 <sup>2)</sup>
cAMP-4.0	6.90	7.00	7.30	7.07	1.10 <sup>2)</sup>	4.92±0.15 <sup>2)</sup>

注:与空白组比较<sup>1)</sup> $P<0.05$ ,<sup>2)</sup> $P<0.01$ (表2~12同)。

见表2。结果表明6-BA处理低浓度组( $\leq 2.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )对猪苓菌丝的生长未表现出促进作用,其生长速度与空白组相比无显著变化,而6-BA处理高浓度组( $\geq 6.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )可以显著促进猪苓菌丝的生长。在多糖含量方面,6-BA-6.0处理组的多糖含量显著高于

空白组。因此,猪苓菌丝经6-BA-6.0组处理后,不仅可以显著提升猪苓菌丝的生长速度,而且可以显著提高猪苓菌丝中多糖的含量。通过Person相关性分析,发现6-BA处理后猪苓菌丝生长速度和多糖含量相关系数为0.493( $P<0.05$ )。

表2 不同6-BA对猪苓菌丝生长及多糖含量的影响

Table 2 Effect of different 6-BA on mycelial growth and polysaccharide content

组别	菌落直径/cm			平均值/cm	生长速度/mm·d <sup>-1</sup>	多糖质量分数( $\bar{x}\pm s, n=6$ )/%
	1	2	3			
6-BA-0	6.2	6.0	5.2	5.80	0.88	2.99±0.11
6-BA-2.0	6.0	5.2	6.0	5.73	0.87	4.52±0.05 <sup>2)</sup>
6-BA-6.0	6.3	7.0	7.2	6.83	1.06 <sup>2)</sup>	5.20±0.14 <sup>2)</sup>
6-BA-8.0	6.5	6.4	6.4	6.43	0.99 <sup>1)</sup>	4.74±0.14 <sup>2)</sup>
6-BA-10	6.6	6.8	6.4	6.60	1.02 <sup>1)</sup>	4.84±0.10 <sup>2)</sup>
6-BA-15	6.1	6.1	6.0	6.07	0.93	4.74±0.15 <sup>2)</sup>
6-BA-20	5.4	6.2	6.2	5.93	0.91	4.56±0.09 <sup>2)</sup>
6-BA-25	6.7	6.5	6.4	6.53	1.01 <sup>1)</sup>	4.60±0.06 <sup>2)</sup>

**3.2.2 GA对猪苓菌丝形成及多糖含量的影响** 不同浓度的植物生长调节剂GA对猪苓菌丝生长量和多糖含量的影响见表3。结果表明GA处理低浓度组( $\leq 2.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )对猪苓菌丝的生长未表现出促进作用,且存在一定程度的抑制生长现象,而GA处理高浓度组( $\geq 6.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )则可以促进猪苓菌丝的生长。在多糖含量方面,GA-15.0处理组的多糖含量显著高于对照。因此,猪苓菌丝经GA-15.0组处理后,不仅可以显著提升猪苓菌丝的生长速度,而且可以显著提高猪苓菌丝中多糖的含量。通过Person相关性分析,发现GA处理后猪苓菌丝生长速度和多糖含量表现出极强的正相关性,相关系数为0.684( $P<0.01$ )。

**3.2.3 IAA对猪苓菌丝形成及多糖含量的影响** 不同浓度的植物生长调节剂IAA对猪苓菌丝生长量和多糖含量的影响见表4。结果表明IAA处理组( $\geq 2.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )并未对猪苓菌丝的生长表现出促进作用,且显著抑制猪苓菌丝的生长。在多糖含量方面,IAA-25  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理组多糖含量显著小于空白组。因此,猪苓菌丝经不同浓度IAA处理后,猪苓菌丝的生长速度和多糖含量均显著降低。通过Person相关性分析,发现IAA处理后猪苓菌丝生长速度和多糖含量表现出极强的正相关性,相关系数为0.905( $P<0.01$ )。

**3.2.4 2,4-D对猪苓菌丝形成及多糖含量的影响** 不同浓度的植物生长调节剂2,4-D对猪苓菌丝生

表 3 不同 GA 对猪苓菌丝生长及多糖含量的影响

Table 3 Effect of different GA on mycelial growth and polysaccharide content

组别	菌落直径/cm			平均值/cm	生长速度/mm·d <sup>-1</sup>	多糖质量分数( $\bar{x}\pm s, n=6$ )/%
	1	2	3			
GA-0	7.0	6.8	7.0	6.93	1.07	4.72±0.31
GA-2.0	6.5	7.0	6.9	6.80	1.05	4.43±0.28
GA-6.0	7.3	7.1	6.5	6.97	1.08	4.83±0.07
GA-8.0	7.3	7.0	6.8	7.03	1.09	5.25±0.05 <sup>2)</sup>
GA-10	7.2	7.1	7.0	7.10	1.10	7.37±0.11 <sup>2)</sup>
GA-15	7.3	7.6	7.5	7.47	1.16 <sup>2)</sup>	9.13±0.20 <sup>2)</sup>
GA-20	7.1	7.2	6.9	7.07	1.09	6.01±0.07 <sup>2)</sup>
GA-25	7.0	6.8	6.7	6.83	1.06	4.48±0.31

表 4 不同 IAA 对猪苓菌丝生长及多糖含量的影响

Table 4 Effect of different IAA on mycelial growth and polysaccharide content

组别	菌落直径/cm			平均值/cm	生长速度/mm·d <sup>-1</sup>	多糖质量分数( $\bar{x}\pm s, n=6$ )/%
	1	2	3			
IAA-0	7.9	7.5	7.2	7.53	1.17	5.63±0.15
IAA-2.0	5.8	6.3	6.1	6.07	0.93 <sup>2)</sup>	4.52±0.12 <sup>2)</sup>
IAA-6.0	5.9	5.5	5.4	5.60	0.85 <sup>2)</sup>	4.49±0.11 <sup>2)</sup>
IAA-8.0	6.2	6.5	5.8	6.17	0.94 <sup>2)</sup>	4.67±0.10 <sup>2)</sup>
IAA-10	4.7	5.0	4.6	4.77	0.71 <sup>2)</sup>	3.71±0.03 <sup>2)</sup>
IAA-15	5.4	4.6	5.0	5.00	0.75 <sup>2)</sup>	4.09±0.06 <sup>2)</sup>
IAA-20	4.9	5.3	4.3	4.83	0.72 <sup>2)</sup>	3.65±0.06 <sup>2)</sup>
IAA-25	5.4	4.2	4.6	4.73	0.71 <sup>2)</sup>	3.23±0.28 <sup>2)</sup>

长量和多糖含量的影响见表 5。结果表明 2,4-D 处理低浓度组 ( $\leq 8.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 对猪苓菌丝生长均表现出促进作用, 而 2,4-D 处理高浓度组 ( $\geq 20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 对猪苓菌丝的生长未表现出促进作用, 且存在一定程度的抑制生长现象。在多糖含量方面, 2,4-D-2.0 处理

组的多糖含量显著高于空白, 可以显著提升猪苓菌丝的生长速度, 还可以显著提高猪苓菌丝中多糖的含量。通过 Person 相关性分析, 发现 2,4-D 处理后猪苓菌丝生长速度和多糖含量表现出极强的正相关性, 相关系数为 0.713 ( $P < 0.01$ )。

表 5 不同 2,4-D 对猪苓菌丝生长及多糖含量的影响

Table 5 Effect of different 2,4-D on mycelial growth and polysaccharide content

组别	菌落直径/cm			平均值/cm	生长速度/mm·d <sup>-1</sup>	多糖质量分数( $\bar{x}\pm s, n=6$ )/%
	1	2	3			
2,4-D-0	6.9	6.8	6.5	6.73	1.04	4.74±0.14
2,4-D-2.0	7.7	7.9	6.8	7.47	1.16 <sup>2)</sup>	6.80±0.03 <sup>2)</sup>
2,4-D-6.0	7.3	7.3	7.0	7.20	1.12	5.73±0.21 <sup>2)</sup>
2,4-D-8.0	7.0	6.7	7.0	6.90	1.07	5.72±0.18 <sup>2)</sup>
2,4-D-10	6.5	6.5	7.0	6.67	1.03	4.87±0.17
2,4-D-15	7.4	7.5	7.4	7.43	1.16 <sup>2)</sup>	4.02±0.80 <sup>2)</sup>
2,4-D-20	6.7	6.5	6.7	6.63	1.02	3.34±0.07 <sup>2)</sup>
2,4-D-25	6.8	6.4	6.9	6.70	1.03	3.47±0.07 <sup>2)</sup>

3.3 不同浓度 VC 对猪苓菌丝形成及多糖含量的影响 不同浓度 VC 对猪苓菌丝生长量和多糖含量的

影响见表 6。结果表明 VC 处理高浓度组 ( $\geq 1.0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 显著抑制猪苓菌丝的生长。在多糖含量方面, VC-

0.5 g·L<sup>-1</sup>处理组多糖含量显著小于空白组,但 VC-10 g·L<sup>-1</sup>处理组多糖含量显著高于空白组。因此,猪苓菌丝经不同浓度 VC 处理后,猪苓菌丝的生长速

度和多糖含量均显著降低。通过 Person 相关性分析,发现 VC 处理后猪苓菌丝生长速度和多糖含量具有负相关性,相关系数为-0.508( $P<0.05$ )。

表6 不同 VC 对猪苓菌丝生长及多糖含量的影响

Table 6 Effect of different VC on mycelial growth and polysaccharide content

组别	菌丝长势(菌落直径/cm)			平均值/cm	生长速度/mm·d <sup>-1</sup>	多糖质量分数( $\bar{x}\pm s, n=6$ )/%
	1	2	3			
VC-0	8.5	8.3	8.5	8.43	1.32	5.26±0.10
VC-0.5	8.0	8.0	7.8	7.93	1.24	3.93±0.20 <sup>2)</sup>
VC-1.0	7.0	7.0	7.9	7.30	1.13 <sup>2)</sup>	4.95±0.19
VC-2.0	5.3	5.6	5.6	5.50	0.83 <sup>2)</sup>	4.23±0.11 <sup>1)</sup>
VC-5.0	4.2	4.5	3.7	4.13	0.61 <sup>2)</sup>	4.14±0.15 <sup>1)</sup>
VC-10	2.1	2.2	2.3	2.20	0.28 <sup>2)</sup>	7.27±1.20 <sup>2)</sup>

### 3.4 不同浓度维生素对猪苓菌丝形成及多糖含量的影响

**3.4.1 VB<sub>1</sub>对猪苓菌丝形成及多糖含量的影响** 不同浓度的 VB<sub>1</sub>对猪苓菌丝生长量和多糖含量的影响见表7。结果表明 VB<sub>1</sub>处理低浓度组( $\leq 2.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )对猪苓菌丝的生长未表现出促进作用,存在一定程度的抑制生长现象,VB<sub>1</sub>处理高浓度组( $\geq 4.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )则可以显著促进猪苓菌丝的生长。在多糖含量

方面,VB<sub>1</sub>-2.0处理组的多糖含量小于空白组,而其他处理组多糖含量则高于或显著高于空白组,其中 VB<sub>1</sub>-4.0处理组的多糖含量显著高于对照。因此,猪苓菌丝经 VB<sub>1</sub>-4.0组处理后,不仅可以显著提升猪苓菌丝的生长速度,而且可以显著提高猪苓菌丝中多糖的含量。通过 Person 相关性分析,发现 VB<sub>1</sub>处理后猪苓菌丝生长速度和多糖含量具有极强的正相关性,相关系数为 0.681( $P<0.01$ )。

表7 不同 VB<sub>1</sub>对猪苓菌丝生长及多糖含量的影响

Table 7 Effect of different VB<sub>1</sub> on mycelial growth and polysaccharide content

组别	菌落直径/cm			平均值/cm	生长速度/mm·d <sup>-1</sup>	多糖质量分数( $\bar{x}\pm s, n=6$ )/%
	1	2	3			
VB <sub>1</sub> -0	7.5	8.0	7.8	7.77	1.21	4.66±0.08
VB <sub>1</sub> -2.0	7.5	7.8	7.6	7.63	1.19	4.37±0.33
VB <sub>1</sub> -4.0	8.3	8.4	8.5	8.40	1.32 <sup>2)</sup>	5.98±0.10 <sup>2)</sup>
VB <sub>1</sub> -6.0	8.5	8.1	8.5	8.37	1.31 <sup>1)</sup>	5.18±0.11 <sup>2)</sup>
VB <sub>1</sub> -8.0	8.5	8.1	7.9	8.17	1.28	5.83±0.12 <sup>2)</sup>
VB <sub>1</sub> -10	8.5	7.9	8.0	8.13	1.27	4.90±0.11

**3.4.2 VB<sub>2</sub>对猪苓菌丝形成及多糖含量的影响** 不同浓度的 VB<sub>2</sub>对猪苓菌丝生长量和多糖含量的影响见表8。结果表明 VB<sub>2</sub>处理高浓度组( $\geq 4.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )对猪苓菌丝的生长未表现出促进作用,且存在一定程度的抑制生长现象。同时,在多糖含量方面,VB<sub>2</sub>-2.0处理组的多糖含量高于对照,而 VB<sub>2</sub>处理高浓度组( $\geq 6.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )多糖含量则小于或显著小于对照组。因此,猪苓菌丝经 VB<sub>2</sub>-2.0组处理后,不仅可以提升猪苓菌丝的生长速度,而且可以提高猪苓菌丝中多糖的含量。通过 Person 相关性分析,发现 VB<sub>2</sub>处理后猪苓菌丝生长速度和多糖含量无相关性。

**3.4.3 VB<sub>3</sub>对猪苓菌丝形成及多糖含量的影响** 不同浓度的 VB<sub>3</sub>对猪苓菌丝生长量和多糖含量的影响见表9。结果表明 VB<sub>3</sub>处理高浓度组( $\geq 4.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )可以显著促进猪苓菌丝的生长。在多糖含量方面,VB<sub>3</sub>-4.0处理组的多糖含量则显著高于空白,其他处理组多糖含量与空白组相比也显著升高。因此,猪苓菌丝经 VB<sub>3</sub>-4.0组处理后,不仅可以显著提升猪苓菌丝的生长速度,而且可以显著提高猪苓菌丝中多糖的含量。通过 Person 相关性分析,发现 VB<sub>3</sub>处理后猪苓菌丝生长速度和多糖含量具有强的正相关性,相关系数为 0.561( $P<0.05$ )。

表8 不同VB<sub>2</sub>对猪苓菌丝生长及多糖含量的影响

Table 8 Effect of different VB<sub>2</sub> on mycelial growth and polysaccharide content

组别	菌落直径/cm			平均值/cm	生长速度/mm·d <sup>-1</sup>	多糖质量分数( $\bar{x}\pm s, n=6$ )/%
	1	2	3			
VB <sub>2</sub> -0	7.8	6.5	7.0	7.10	1.10	5.37±0.04
VB <sub>2</sub> -2.0	7.8	6.9	6.8	7.17	1.11	5.56±0.14
VB <sub>2</sub> -4.0	8.5	6.6	6.0	7.03	1.09	5.52±0.06
VB <sub>2</sub> -6.0	6.7	6.5	6.9	6.70	1.03	2.34±0.03 <sup>2)</sup>
VB <sub>2</sub> -8.0	6.6	6.3	6.2	6.37	0.98	4.72±0.13 <sup>2)</sup>
VB <sub>2</sub> -10	6.5	7.0	6.4	6.63	1.02	4.99±0.27 <sup>2)</sup>

表9 不同VB<sub>3</sub>对猪苓菌丝生长及多糖含量的影响

Table 9 Effect of different VB<sub>3</sub> on mycelial growth and polysaccharide content

组别	菌落直径/cm			平均值/cm	生长速度/mm·d <sup>-1</sup>	多糖质量分数( $\bar{x}\pm s, n=6$ )/%
	1	2	3			
VB <sub>3</sub> -0	7.5	7.2	7.2	7.30	1.13	4.77±0.06
VB <sub>3</sub> -2.0	6.7	7.4	7.6	7.23	1.12	6.94±0.16
VB <sub>3</sub> -4.0	8.1	8.4	8.2	8.23	1.29	8.28±0.06
VB <sub>3</sub> -6.0	7.3	8.3	7.7	7.77	1.21	7.13±0.10
VB <sub>3</sub> -8.0	8.3	7.8	7.6	7.90	1.23	7.49±0.18
VB <sub>3</sub> -10	7.1	7.7	7.8	7.53	1.17	6.98±0.15

3.4.4 VB<sub>6</sub>对猪苓菌丝形成及多糖含量的影响 不同浓度的VB<sub>6</sub>对猪苓菌丝生长量和多糖含量的影响见表10。结果表明VB<sub>6</sub>处理高浓度组( $\geq 4.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )可以促进猪苓菌丝的生长。在多糖含量方面,VB<sub>6</sub>-10.0处理组的多糖含量显著高于空白,VB<sub>6</sub>-6.0次

之,而其他处理组多糖含量均小于或显著小于空白组。猪苓菌丝经VB<sub>6</sub>-6.0组和VB<sub>6</sub>-10.0组处理后,可以显著提升猪苓菌丝的生长速度,还可以显著提高其多糖的含量。Person相关性分析发现,VB<sub>6</sub>处理后猪苓菌丝生长速度和多糖含量无相关性。

表10 不同VB<sub>6</sub>对猪苓菌丝生长及多糖含量的影响

Table 10 Effect of different VB<sub>6</sub> on mycelial growth and polysaccharide content

组别	菌落直径/cm			平均值/cm	生长速度/mm·d <sup>-1</sup>	多糖质量分数( $\bar{x}\pm s, n=6$ )/%
	1	2	3			
VB <sub>6</sub> -0	6.9	7.3	6.5	6.90	1.07	5.97±0.41
VB <sub>6</sub> -2.0	6.5	7.3	7.4	7.07	1.09	4.38±0.06 <sup>2)</sup>
VB <sub>6</sub> -4.0	7.7	7.2	7.8	7.57	1.18 <sup>1)</sup>	5.79±0.05
VB <sub>6</sub> -6.0	7.5	8.2	7.7	7.80	1.22 <sup>2)</sup>	6.23±0.52
VB <sub>6</sub> -8.0	7.2	7.3	7.8	7.43	1.16	4.65±0.04 <sup>2)</sup>
VB <sub>6</sub> -10	7.8	7.6	7.6	7.67	1.19 <sup>1)</sup>	6.40±0.81

3.4.5 VB<sub>9</sub>对猪苓菌丝形成及多糖含量的影响 不同浓度的VB<sub>9</sub>对猪苓菌丝生长量和多糖含量的影响见表11。结果表明VB<sub>9</sub>处理低浓度组( $\leq 2.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )对猪苓菌丝的生长存在一定程度的抑制生长现象,而VB<sub>9</sub>处理高浓度组( $\geq 4.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )则可以显著促进猪苓菌丝的生长。在多糖含量方面,VB<sub>9</sub>-6.0处理组的多糖含量显著高于空白。因此,猪苓菌丝经VB<sub>9</sub>-

6.0组处理后,不仅可以显著提升猪苓菌丝的生长速度,而且可以显著提高猪苓菌丝中多糖的含量。通过Person相关性分析,发现VB<sub>9</sub>处理后猪苓菌丝生长速度和多糖含量具有极强的正相关性,相关系数为0.642( $P<0.01$ )。

3.4.6 VB<sub>12</sub>对猪苓菌丝及多糖含量的影响 不同浓度的VB<sub>12</sub>对猪苓菌丝生长量和多糖含量的影响

表11 不同VB<sub>9</sub>对猪苓菌丝生长及多糖含量的影响

Table 11 Effect of different VB<sub>9</sub> on mycelial growth and polysaccharide content

组别	菌落直径/cm			平均值/cm	生长速度/mm·d <sup>-1</sup>	多糖质量分数( $\bar{x}\pm s, n=6$ )/%
	1	2	3			
VB <sub>9</sub> -0	7.4	7.2	7.0	7.20	1.12	4.31±0.04
VB <sub>9</sub> -2.0	6.3	6.8	7.7	6.93	1.07	3.18±0.09 <sup>2)</sup>
VB <sub>9</sub> -4.0	7.7	7.7	8.0	7.80	1.22	4.47±0.11 <sup>2)</sup>
VB <sub>9</sub> -6.0	8.5	8.2	8.2	8.30	1.30 <sup>2)</sup>	4.71±0.06 <sup>2)</sup>
VB <sub>9</sub> -8.0	7.5	8.0	7.5	7.67	1.19	4.42±0.05
VB <sub>9</sub> -10	7.2	7.2	7.5	7.30	1.13	4.37±0.05

见表12。结果表明VB<sub>12</sub>处理高浓度组( $\geq 4.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )可以促进猪苓菌丝的生长。在多糖含量方面,VB<sub>12</sub>-10.0处理组的多糖含量显著高于空白,而VB<sub>12</sub>-2.0和VB<sub>12</sub>-10.0处理组的菌丝生长速度和多糖含量均低于对照。因此,猪苓菌丝经VB<sub>12</sub>-10.0组处理后,

不仅可以显著提升猪苓菌丝的生长速度,而且可以显著提高猪苓菌丝中多糖的含量。通过Person相关性分析,发现VB<sub>12</sub>处理后猪苓菌丝生长速度和多糖含量具有强的正相关性,相关系数为0.537( $P<0.05$ )。

表12 不同VB<sub>12</sub>对猪苓菌丝生长及多糖含量的影响

Table 12 Effect of different VB<sub>12</sub> on mycelial growth and polysaccharide content

组别	菌落直径/cm			平均值/cm	生长速度/mm·d <sup>-1</sup>	多糖质量分数( $\bar{x}\pm s, n=6$ )/%
	1	2	3			
VB <sub>12</sub> -0	8.0	7.0	7.5	7.50	1.17	3.95±0.11
VB <sub>12</sub> -2.0	7.5	7.2	7.3	7.33	1.14	3.92±0.22
VB <sub>12</sub> -4.0	7.9	7.8	7.5	7.73	1.21	5.15±0.50 <sup>2)</sup>
VB <sub>12</sub> -6.0	7.8	8.0	7.0	7.60	1.18	4.96±0.05 <sup>2)</sup>
VB <sub>12</sub> -8.0	7.5	7.3	7.2	7.33	1.14	3.81±0.04
VB <sub>12</sub> -10	7.5	7.9	8.0	7.80	1.22	5.25±0.10 <sup>2)</sup>

#### 4 讨论

药用真菌猪苓菌丝体的生长发育,受到pH,光照,温度,氧气,二氧化碳以及机械因素在内的各种环境因素的影响<sup>[22]</sup>,土壤发酵液也能够促进猪苓菌丝生长发育、提高猪苓胞外多糖质量浓度<sup>[23]</sup>。本实验表明不同浓度的生长调节剂、维生素等外源物质处理对猪苓菌丝的生长发育有着不同的影响,其中VC处理最为明显,随着VC浓度的提高,菌丝生长速度显著下降,说明高浓度的VC不适于猪苓菌丝生长,与邢咏梅等<sup>[15]</sup>发现的低浓度的VC( $0.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ )能够促进猪苓菌丝生长并促使猪苓菌丝形成菌核的研究结果相符。高浓度VC抑制菌丝生长,则可能是由于VC浓度的增加,猪苓菌丝内活性氧的含量逐渐下降,当VC质量浓度为5,10,15  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,猪苓菌丝基本不生长<sup>[22]</sup>。

本研究通过对外源性物质处理后的猪苓菌丝生长速度与多糖含量进行分析,发现cAMP为2  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组,6-BA为6  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组,GA为15  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$

组,2,4-D为2  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组,VB<sub>1</sub>为4  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组,VB<sub>2</sub>为2  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组,VB<sub>3</sub>为4  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组,VB<sub>9</sub>为6  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组,VB<sub>12</sub>为10  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组处理后最有利于猪苓菌丝生长且多糖含量最高,从该结果可以看出,菌丝生长速度加快后可能有利于多糖含量的积累,该结果说明通过添加外源物质并利用猪苓菌丝生产猪苓多糖的方法是可行的。本实验对猪苓菌丝的培养条件进行了初步筛选,为猪苓菌丝培养体系的优化提供了一定的研究依据,明确外源物质可以调控猪苓菌丝生长发育,但在猪苓的产业发展中,如何筛选出生长速度快、生产能力强及多糖含量高的菌株,仍需对现有猪苓菌丝的培养体系进一步优化。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

#### [参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:136.
- [2] 戚淑威,袁理春,赵琪,等. 不同培养条件对野生猪苓

- 菌丝生长的影响[J]. 中国食用菌, 2007, 3(5): 41-43.
- [3] 王弘, 晁建平, 陈文举, 等. 猪苓药材的质量评价标准研究[J]. 中草药, 2009, 40(6): 971-974.
- [4] 陆勇芹, 周文明, 王琦, 等. 木蹄层孔菌化学成分及不同提取物外抗肿瘤活性研究[J]. 西北林学院学报, 2007, 22(4): 131-134.
- [5] 陈晓梅, 田丽霞, 郭顺星. 猪苓化学成分及药理活性研究进展[J]. 菌物学报, 2017, 36(1): 35-47.
- [6] 王天媛, 张飞飞, 任跃英, 等. 猪苓化学成分及药理作用研究进展[J]. 上海中医药杂志, 2017, 51(4): 109-112.
- [7] 黄靖雯, 赖长江生, 袁媛, 等. 猪苓与蜜环菌化学成分研究的相关分析进展[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(15): 2905-2914.
- [8] 庞兵武. 猪苓菌丝体化学成分在运动性水肿中的作用[J]. 中国食用菌, 2020, 39(11): 106-108.
- [9] 胡平, 方清茂, 夏燕莉, 等. 猪苓栽培技术研究[J]. 安徽农业科学, 2013, 41(21): 8855-8856.
- [10] 徐梦馨, 郭宏波, 廉冬, 等. 干旱胁迫对猪苓菌丝生长及多糖合成相关酶活性的影响[J]. 西北农业学报, 2019, 28(7): 1179-1186.
- [11] 高巧妮. 土壤微生物对猪苓菌核形成的影响[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2017.
- [12] 胡平, 武晋钰, 周先建, 等. 九寨猪苓与蜜环菌共培养条件研究[J]. 西昌学院学报: 自然科学版, 2020, 34(2): 13-15.
- [13] 马珍璐. 猪苓栽培技术及人工菌核分化研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2020.
- [14] 李云. 猪苓多糖的优化培养提取及生物活性的研究[D]. 太原: 山西农业大学, 2014.
- [15] 邢咏梅, 李红莲, 郭顺星. 抗氧化剂对猪苓菌丝形成菌核的影响[J]. 中国医药生物技术, 2013, 8(4): 254-258.
- [16] 邢咏梅, 郭顺星. 环境因子对猪苓菌丝体生长发育的影响[J]. 中国药学杂志, 2011, 46(7): 493-496.
- [17] 暴增海, 杨飞, 王增池. 不同营养条件对海鲜菇菌丝生长量的影响[J]. 北方园艺, 2011(6): 180-181.
- [18] 鲁文静, 周密, 梁宗锁. 猪苓药材质量影响因素及质量评价的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(17): 366-370.
- [19] 宋瑞琦, 南铁贵, 袁媛, 等. 不同产地猪苓多糖含量及猪苓多糖中的单糖组成研究[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(17): 3608-3614.
- [20] 梁宇庭, 周骏辉, 南铁贵, 等. 柱前衍生化UPLC-MS/MS测定12种单糖含量的方法学研究及其应用[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(22): 4469-4473.
- [21] 李仰华, 南铁贵, 钱润, 等. 菌材物种调查及其与天麻产量和质量相关性分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(19): 29-34.
- [22] ERENTAL A, DICKMAN M B, YARDEN O. Sclerotial development in *Sclerotinia sclerotium*: awakening molecular analysis of a "Dor-mant" structure[J]. Fungal Biol Rev, 2008, 22(1): 6-16.
- [23] 廉冬, 徐梦馨, 马珍璐, 等. 土壤微生物发酵液对猪苓菌丝生长的影响[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2019, 47(10): 80-86.

[责任编辑 顾雪竹]