

一种大豆秸秆蜜环菌培养基及其生产条件的优化

刘天睿, 李仰华, 韩鹏杰, 周骏辉, 赵玉洋, 袁媛*

(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训基地, 北京 100700)

[摘要] 目的:为了解决天麻栽培中对木材的大量使用造成的森林资源破坏及栽培成本增加问题,该研究对农作物余料替代木材(或木屑)培养蜜环菌的可行性进行了探讨,以期降低天麻的栽培成本,同时使农作物余料得到有效利用,进而保护林木资源。方法:观察蜜环菌的生长情况,划线法测量蜜环菌生长速度;苯酚浓硫酸法测定不同培养基中蜜环菌的总多糖含量;为了进一步优化大豆秸秆培养基配比,对主料配比、蔗糖含量、无机盐含量及含水量进行四因素三水平 $L_9(3^4)$ 正交优化试验。结果:通过比较不同培养基培养中蜜环菌的生长情况,发现大豆秸秆培养基培养的蜜环菌从接种第4天就开始生长,菌丝长势好,生长速度为 $0.352\text{ cm}\cdot\text{d}^{-1}$,是桦木屑培养基生长速度 $0.283\text{ cm}\cdot\text{d}^{-1}$ 的1.48倍;大豆秸秆培养基培养的蜜环菌总多糖含量最高,为 $39.260\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$,远远高于桦木屑培养的蜜环菌总多糖含量 $17.028\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$,大豆秸秆培养基优势明显;主料(大豆秸秆与麦麸)配比为8:2,蔗糖含量为主料的1%,无机盐含量为主料含量的0.5%,含水量50%时,蜜环菌生长速度稳定为 $0.392\text{ cm}\cdot\text{d}^{-1}$ 。结论:该研究结果为天麻栽培中使用大豆秸秆培养基替代木材(或木屑)培养基培养的蜜环菌提供了依据,为天麻在栽培中减少林木资源浪费、保护自然环境提供了参考。

[关键词] 农作物余料;大豆秸秆;蜜环菌;条件优化;天麻栽培

[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)15-0100-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20210914

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20210518.1738.005.html>

[网络出版日期] 2021-05-19 11:15

A Soybean Straw Cultivation Medium for *Armillaria gallica* and Optimal Composition

LIU Tian-ruì, LI Yang-hua, HAN Peng-jie, ZHOU Jun-hui, ZHAO Yu-yang, YUAN Yuan*

(National Resource Center for Chinese Materia Medica, State Key Laboratory Breeding Base of Daodi-herbs, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the feasibility of replacing wood (or wood chips) with crop residues for culturing *Armillaria gallica* targeting the problems of forest resource destruction and increased cultivation cost caused by the extensive use of wood in *Gastrodia elata* cultivation, so as to reduce the cultivation cost of *G. elata*, promote the effective use of crop residues, and protect forest resources. **Method:** The growth situation of *A. gallica* in different media was observed, followed by the measurement of its growth rate using streaking method and the determination of total polysaccharide content of *A. gallica* by phenol-concentrated sulfuric acid colorimetric method. In order to further optimize the soybean straw cultivation medium, we carried out a four-factor three-level $L_9(3^4)$ orthogonal assay on the ratio of main ingredients, sucrose content, inorganic salt content, and water content. **Result:** The comparison of growing states of *A. gallica* cultured in different media revealed that *A. gallica* in soybean straw medium began to grow since the fourth day of inoculation, and the mycelium grew well, with the growth rate being $0.352\text{ cm}\cdot\text{d}^{-1}$, which was 1.48 times that in birch wood

[收稿日期] 20210401(010)

[基金项目] “科技助力经济2020”重点专项;国家自然科学基金重大项目(81891013,81891010);中央本级重大增减支项目(2060302);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] 刘天睿,在读博士,从事中药资源开发与品质评价研究,E-mail:raymond50@live.cn

[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

medium. The total polysaccharide content of *A. gallica* cultured in soybean straw medium was the highest, which was $39.260 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, much higher than $17.028 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ of that cultured in birch wood medium. This demonstrated the obvious advantage of soybean straw medium, whose main ingredients were soybean straw and wheat bran at the ratio of 8:2, with the sucrose and inorganic salt content accounting for 1% and 0.5% of the main ingredients, respectively. When the water content reached 50%, the growth rate of *A. gallica* was maintained at $0.392 \text{ cm} \cdot \text{d}^{-1}$. **Conclusion:** This study has provided a basis for utilizing soybean straw instead of wood (or wood chips) as cultivation medium for *A. gallica*, thus better reducing the waste of forest resources and protecting the natural environment in the cultivation of *G. elata*.

[Keywords] crop residues; soybean straw; *Armillaria gallica*; optimal composition; cultivation of *Gastrodia elata*

天麻为兰科名贵中药材^[1],在治疗失眠、惊厥、抑郁、缺血性脑卒中、焦虑、认知障碍等中枢神经系统疾病方面疗效显著^[2-4]。天麻无叶片不能进行光合作用,其无性繁殖阶段,从白麻栽培到收获箭麻不需阳光,栽培期间保持适宜的温度、湿度及土壤透气性,最快当年3月份栽培,10月份即可收获,因此天麻多栽培于山坡林地,天麻产业也已成为各地林下经济、山地高效农业以及精准扶贫的高效产业^[5]。随着天麻被列为药食两用中药材,在云南和贵州两省试生产,天麻在保健功能开发方面具有广阔前景,市场需求量逐渐增加^[5],提高天麻的产量和品质是亟待解决的问题。

天麻作为完全异养植物,其生长发育阶段所需的营养完全依赖于蜜环菌。蜜环菌通过分泌胞外纤维素酶、果胶酶等破坏植物细胞壁,侵染天麻和木材,天麻体内存在的抗真菌蛋白消化蜜环菌菌丝获取营养,二者的生长达到了动态平衡^[6-7]。有研究表明,蜜环菌菌索粗壮、分枝多、生长速度快就能为天麻提供充足的养分,所伴栽天麻的产量更高,品质更优。因此蜜环菌的生长情况是影响天麻产量和品质的决定性因素^[8-9]。目前,对蜜环菌的培养优化主要是对碳源和氮源的优化,玉米粉、麦麸、糊精、红薯粉、葡萄糖、红薯粉、蔗糖等均可以作为优质的碳源促进蜜环菌生长,豆饼粉、蛋白胨、豆粕、酵母膏、菜籽饼、蚕蛹粉等被认为是适宜蜜环菌生长的氮源^[10-15],不同碳氮源的来源及添加比例均影响蜜环菌的生长,但不同蜜环菌菌株对碳源和氮源的利用存在较大差异,因此为不同的蜜环菌菌株优化其培养基中碳氮源的配比,是提高蜜环菌菌丝体的产量的有效方法。

在天麻栽培中,蜜环菌的培养通常使用木材(或木屑)作为主要碳源,为蜜环菌的生长提供基础。木材中富含丰富的木质纤维素^[16],蜜环菌主要

消耗的木质纤维素种类为纤维素,使用纤维素含量较高的菌材伴栽天麻,天麻产量更高^[17]。但木材生长周期长,购买价格高,使天麻栽培成本增加,若能选择有效替代性产品,降低种植天麻的成本,提高麻农收入,将会进一步推进天麻产业的发展。我国作为农业大国,农作物余料如秸秆产量丰富,目前秸秆大量在田间焚烧,造成了严重的空气污染和资源浪费。秸秆富含丰富的纤维素,其纤维素质量分数在28.14%~33.97%^[18],使得秸秆替代木材培养蜜环菌成为可能。秸秆中丰富的纤维素可以满足蜜环菌的生长发育,使用大豆秸秆代替蜜环菌生产中使用的木材,既实现了农作物余料的高效利用又可以降低天麻栽培成本,同时对保护空气环境、保护林木资源具有间接作用,符合绿色可持续发展的生态理念。

本研究通过不同的农作物余料培养蜜环菌,观察蜜环菌的生长情况,测量蜜环菌的生长速度及蜜环菌多糖,筛选出了可以替代木材(或木屑)培养蜜环菌的方案,并对其配方条件进行了优化,为蜜环菌工业化生产提供依据和参考,同时为减少资源浪费、保护自然环境、促进乡村振兴提供新的思路。

1 材料

1.1 菌株和农作物余料 高卢蜜环菌菌株MH1,参考梁宇庭等^[19]提出的DNA鉴定方法,鉴定为高卢蜜环菌菌株 *Armillaria gallica* sp.,保存于中国中医科学院中药资源中心。农作物余料包括高粱秸秆、小麦秸秆、玉米秸秆、玉米芯、玉米纤维、水稻秸秆、油菜秸秆、大豆秸秆、花生秸秆、芦苇秸秆、茅草秸秆、桦木屑、麦麸,以上农作物余料购买于江苏省连云港市东海县白塔埠镇长远秸秆加工厂。

1.2 试剂 葡萄糖(批号2020011025),蔗糖(批号2019110195)购自天津市致远化学试剂有限公司;石膏、磷酸二氢钾(批号20191121)购自上海国药试

剂集团;硫酸镁(批号20200915)购自天津市津科精细化工研究所;5%苯酚、浓硫酸(批号20171106)购自北京化工厂;盐酸噻胺(批号CV29193940)购自北京酷来搏科技有限公司;马铃薯浸出粉(批号414U031)购自北京索莱宝科技有限公司;琼脂粉(批号B0B3101400)购自北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司;无水乙醇(批号20210109)购自天津市鼎盛鑫化工有限公司,所有试剂均为分析纯。

1.3 仪器 DHG-9145AZ型电热干燥箱(上海恒科仪器有限公司);Pacific T-II型超纯水仪,Sorvall Legend MicroCL 17型离心机,Varioskan Flash型荧光酶标仪(美国Thermo Scientific公司);XL-130型多功能粉碎机(永康市小宝电器有限公司);MGC-350HP-2型人工气候箱(上海恒科仪器有限公司)。

2 方法

2.1 高卢蜜环菌菌株MH1活化 改良固体PDA培养基包括马铃薯浸出粉4 g,麦麸33 g,葡萄糖20 g,磷酸二氢钾3 g,硫酸镁1.500 g,盐酸噻胺0.100 g,琼脂粉10 g,蒸馏水1 000 mL^[20]。将上述培养基混合均匀于121 °C灭菌20 min,放冷后倒入90 mm培养皿,每个培养皿倒入20 mL培养基,将保存的高卢蜜环菌菌株接种于改良固体PDA培养基,25 °C黑暗培养14 d备用。

2.2 高卢蜜环菌菌株MH1扩大培养 制作改良液体PDA培养基,将马铃薯浸出粉4 g,麦麸33 g,葡萄糖20 g,磷酸二氢钾3 g,硫酸镁1.500 g,盐酸噻胺0.100 g,蒸馏水1 000 mL,分装入组培瓶,每瓶倒入液体培养基100 mL,于液体上方加入一层珍珠岩,121 °C高温灭菌20 min。放冷后的培养基接种活化后的MH1蜜环菌幼嫩菌索,25 °C黑暗条件下培养14 d备用。

2.3 高卢蜜环菌菌株MH1农作物余料培养基 蜜环菌农作物余料培养基制备,将农作物余料与麦麸按4:1混匀制成混合料,加入混合料质量1%的蔗糖,1%的无机盐[石膏、磷酸二氢钾和硫酸镁的混合物,石膏-磷酸二氢钾-硫酸镁(20:6:3)],拌匀加水使含水量达到60%。农作物余料包括大豆秸秆、高粱秸秆、花生秸秆、芦苇秸秆、茅草秸秆、水稻秸秆、小麦秸秆、油菜秸秆、玉米秸秆、玉米纤维、玉米芯、桦木屑。

干燥的农作物余料粉碎,过30目筛,按上述配方配制培养基。将配制好的各培养基装入菌种瓶,每瓶装填量一样,保持松紧度一致,121 °C灭菌2 h。冷却后接种扩大培养的蜜环菌MH1,使每瓶培养基

接入1/4扩大培养的蜜环菌,25 °C避光培养,每配方设3次重复。接种后每5 d观察各培养基中菌丝长势、疏密、颜色,用划线法记录菌丝生长情况。

2.4 高卢蜜环菌菌株MH1总多糖含量测定

2.4.1 多糖标准曲线绘制 精密称定65 °C烘干至恒重的葡萄糖10 mg至量瓶中,加入蒸馏水定容至10 mL,配制成1 g·L⁻¹的葡萄糖对照溶液。准确移取葡萄糖对照溶液0.100~0.600 mL于10 mL量瓶中,并用蒸馏水补充至2 mL,以蒸馏水2 mL作空白。分别加入5%苯酚溶液1 mL,浓硫酸5 mL,摇匀定容至10 mL。放于沸水浴中15 min后取出,冷却至室温,使用荧光酶标仪在490 nm处测定吸光度^[21]。以葡萄糖质量浓度为横坐标,吸光度为纵坐标绘制标准曲线,得到回归方程为 $Y=7.796 5X+0.063 7$ ($r=0.999 2$),结果表明葡萄糖质量浓度在0.010~0.060 g·L⁻¹与吸光度呈良好的线性关系。

2.4.2 供试品液制备 将培养基与蜜环菌分离,精密称取65 °C烘干至恒重的蜜环菌0.100 g于2 mL离心管,加入超纯水1.500 mL,120 W,40 kHz,80 °C超声提取30 min,放至室温后12 000 r·min⁻¹(半径55 mm)离心5 min,吸取上清液加入新的50 mL离心管,加入95%乙醇使乙醇最终体积分数为80%,在4 °C冰箱中醇沉12 h,再次离心,倒掉废液,挥干乙醇,沉淀加蒸馏水溶解定容至10 mL。精密吸取供试液1 mL,加入5%苯酚溶液1 mL,浓硫酸5 mL,摇匀蒸馏水定容至10 mL,沸水浴中15 min后取出,冷却至室温,在490 nm处测定吸光度^[22]。

2.5 农作物余料培养基配方优化 使用四因素三水平L₉(3⁴)正交表设计正交试验,考察因素包括农作物余料与麦麸配比(A),蔗糖含量(B),无机盐含量(C),含水量(D)。按配方制作农作物余料培养基,等量装入组培瓶121 °C灭菌2 h。放冷后接入等量蜜环菌25 °C黑暗培养25 d,观察蜜环菌生长情况。

2.6 农作物余料培养基配方优化验证 将大豆秸秆培养基组分按2.5项下正交优化得到的最优培养参数进行配比,重新制作改良的大豆秸秆培养基,等量装入组培瓶121 °C灭菌2 h。放冷后使每瓶培养基接入1/4扩大培养的蜜环菌,25 °C黑暗培养25 d,观察蜜环菌生长情况。

3 结果与分析

3.1 不同培养基对蜜环菌菌丝生长的影响 使用不同农作物余料作为培养基培养蜜环菌,发现蜜环菌在不同农作物余料培养基中均能正常生长。自

接种至长满过程中,随着培养时间的延长,蜜环菌菌丝生长速度逐渐加快,颜色逐渐由浅白变成浓白色,进入后熟期后,再由浓白色逐渐变成浅黄色,之后由浅黄色逐渐加深。其中,大豆秸秆和玉米秸秆作为培养基主要营养源时,蜜环菌菌丝从接种第4天开始生长,蜜环菌在桦木屑培养基中基则在接种第10天才开始生长。

蜜环菌在大豆、花生、芦苇、茅草、水稻、油菜、玉米秸秆培养基、玉米芯培养基和桦木屑培养基中菌丝浓密,扩展性好,而在高粱、小麦秸秆培养基以及玉米纤维培养基中菌丝生长稀疏,在小麦秸秆培养基、玉米纤维培养基中菌丝扩展性一般。蜜环菌菌丝在大豆、高粱、花生、玉米秸秆培养基中长势最佳。其中,蜜环菌在大豆秸秆培养基中菌丝萌发天数最短,表现出优势,与桦木屑培养基相比,接种第

十天,蜜环菌在大豆秸秆培养基中已生长近一半,而在桦木屑培养基中则刚开始生长。当在接种20 d时,大豆秸秆培养基中的蜜环菌已接近长满瓶体,而桦木屑培养基则长至刚过半。在接种蜜环菌25 d时,2种培养基中蜜环菌均长满瓶体,但是观察瓶底发现桦木屑培养基中,蜜环菌刚开始长入瓶底,而大豆秸秆培养基中蜜环菌已经接近长满瓶底。接种蜜环菌30 d时,大豆秸秆培养基中蜜环菌长满瓶底,而桦木屑培养基中的蜜环菌并未长满瓶底以上结果表明,相比于桦木屑培养基,蜜环菌在大豆秸秆培养基中的生长速度较快,结合蜜环菌菌丝开始生长时间和在不同农作物余料制作的培养基中的生长情况,初步推断使用大豆秸秆培养基培养蜜环菌,可以缩短蜜环菌培养时间。见图1,表1。

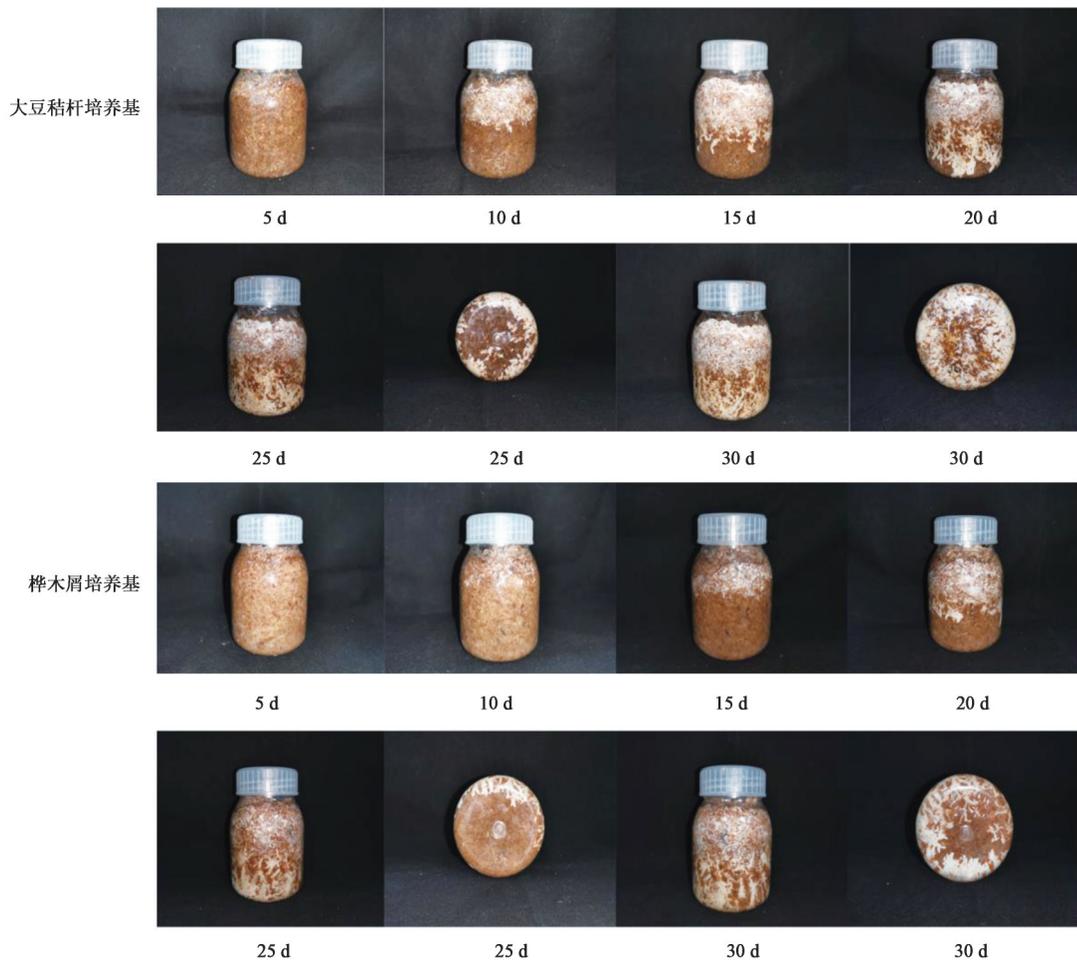


图1 蜜环菌菌丝在两种培养基中的生长情况

Fig. 1 Growth of *Armillaria gallica* hyphae in two medium

3.2 蜜环菌总多糖含量及其与菌丝生长发育相关性分析 不同农作物余料培养蜜环菌不仅影响了蜜环菌菌丝的形态,还影响了蜜环菌菌丝的生长发

育。以菌丝生长30 d为参照,对比了蜜环菌菌丝在不同农作物余料中的生长速度发现,蜜环菌菌丝在大豆秸秆培养基中生长速度最快,为 $0.352 \text{ cm} \cdot \text{d}^{-1}$,

表1 蜜环菌菌丝在不同培养基中的发育情况 (n=3)

Table 1 Hyphal development of *Armillaria gallica* in different medium (n=3)

农作物余料	菌丝开始生长天数	菌丝疏密	菌丝扩展性	菌丝长势
大豆秸秆	4	密	好	+++
高粱秸秆	5	疏	好	+++
花生秸秆	5	密	好	+++
芦苇秸秆	9	密	好	+
茅草秸秆	8	密	好	++
水稻秸秆	4	密	好	++
小麦秸秆	7	疏	一般	+
油菜秸秆	7	密	好	+
玉米秸秆	5	密	好	+++
玉米纤维	7	疏	一般	++
玉米芯	6	密	好	++
桦木屑	10	密	好	++

注:菌丝长势根据接种蜜环菌30 d时,蜜环菌在不同农作物余料培养基中瓶底的生长情况。长满瓶底为+++ ,刚开始向瓶底生长为+,生长入瓶底但未长满瓶底为++。

显著高于其他农作物余料培养基($P<0.05$);其次是花生秸秆培养基和玉米秸秆培养基,蜜环菌的生长速度分别为 $0.324 \text{ cm}\cdot\text{d}^{-1}$ 和 $0.323 \text{ cm}\cdot\text{d}^{-1}$ 。蜜环菌生长速度较慢的是桦木屑培养基、油菜秸秆培养基和芦苇秸秆培养基,生长速度分别为 $0.283, 0.279, 0.264 \text{ cm}\cdot\text{d}^{-1}$ 。不同农作物余料培养的蜜环菌总多糖含量也不同,在生长30 d时,蜜环菌菌丝总多糖在大豆秸秆培养基和花生秸秆培养基中质量分数较高,分别达到了 $39.260, 38.038 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$,其次是高粱秸秆培养基 $30.396 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$,水稻秸秆培养基 $31.460 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 和玉米秸秆培养基 $31.814 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$,质量分数较低的是桦木屑培养基 $17.028 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$,油菜秸秆培养基 $13.786 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 和芦苇秸秆培养基 $12.568 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

蜜环菌菌丝的总多糖含量与蜜环菌菌丝的生长速度表现出极强的正相关关系($P<0.01$), Pearson相关系数为0.851。蜜环菌在大豆秸秆培养基中菌丝的生长速度和总多糖含量均显著高于其他农作物余料培养基,在培养蜜环菌中表现出优势。见表2。

3.3 农作物余料培养基配方优化及其验证 结合3.1和3.2项的实验结果,本研究选择了大豆秸秆作为培养蜜环菌的主要营养源,以大豆秸秆和麦麸作为主料,通过更改蜜环菌三级培养基中主料配比、蔗糖含量、无机盐含量及含水量,观察以上因素对

表2 蜜环菌总多糖含量和菌丝生长速度 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 2 Content of polysaccharides and growth rate of *Armillaria gallica* ($\bar{x}\pm s, n=3$)

农作物余料	蜜环菌多糖/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	蜜环菌菌丝生长速度/ $\text{cm}\cdot\text{d}^{-1}$
桦木屑	1.703 ± 0.124	0.283 ± 0.013
大豆秸秆	$3.926\pm 0.194^{2)}$	$0.352\pm 0.014^{1)}$
高粱秸秆	$3.039\pm 0.074^{2)}$	$0.309\pm 0.005^{2)}$
花生秸秆	$3.804\pm 0.125^{2)}$	$0.324\pm 0.010^{2)}$
芦苇秸秆	$1.257\pm 0.101^{2)}$	0.264 ± 0.010
茅草秸秆	$2.384\pm 0.090^{2)}$	0.297 ± 0.005
水稻秸秆	$3.146\pm 0.082^{2)}$	0.304 ± 0.016
小麦秸秆	$2.297\pm 0.108^{2)}$	0.283 ± 0.008
油菜秸秆	$1.379\pm 0.054^{1)}$	0.279 ± 0.006
玉米秸秆	$3.181\pm 0.157^{2)}$	$0.323\pm 0.005^{1)}$
玉米纤维	$2.423\pm 0.149^{2)}$	0.285 ± 0.017
玉米芯	$2.515\pm 0.136^{2)}$	0.303 ± 0.012

注:与桦木屑培养基相比¹⁾ $P<0.05$,²⁾ $P<0.01$ 。

蜜环菌生长速度的影响,筛选出最适合培养蜜环菌的大豆秸秆培养基各成分分配比。

判断培养基各因素对蜜环菌生长速度的影响主次。A是影响蜜环菌菌丝生长速度的主要因素,其次为C, B,对蜜环菌生长速度影响最小的为D。最终确定蜜环菌大豆秸秆培养基配方优化条件为 $A_2B_2C_1D_1$,即主料(大豆秸秆与麦麸)配比为8:2,蔗糖质量分数为主料的1%,无机盐质量分数为主料的0.5%,含水量50%。筛选到的大豆秸秆培养基最佳方案培养蜜环菌,进行3组平行试验,验证正交试验结果的可靠性和准确性。实验结果表明蜜环菌平均生长速度为 $0.392 \text{ cm}\cdot\text{d}^{-1}$, RSD为0.03%,筛选到的蜜环菌大豆秸秆培养基培养蜜环菌,蜜环菌生长速度较为稳定,可以应用生产。见表3。

4 讨论

天麻的栽培离不开蜜环菌,蜜环菌的生长特性是影响天麻产量和品质的主要因素。不同来源的蜜环菌菌株对营养物质(碳源和氮源)的利用度不同,使其生长情况存在较大的差异,因此在使用蜜环菌栽培天麻之前,往往会对蜜环菌的培养条件进行优化^[15]。目前,对蜜环菌培养的优化主要集中在固体、液体发酵培养更换碳氮源上,但是在实际天麻栽培中使用的蜜环菌三级种以及天麻栽培时常使用的木棒(木段)为碳源,蜜环菌通过降解木材中的木质素为其生长提供营养^[23-24]。本课题组前期从4个天麻的主产区贵州、云南、湖北、陕西,采集了栽

表3 大豆秸秆培养基配方优选的正交试验 (n=5)

Table 3 Orthogonal results when use soybean straw medium (n=5)

组别	因素				生长速度 /cm·d ⁻¹
	A	B/%	C/%	D/%	
1	7:3	0.500	0.500	50	0.314
2	7:3	1	1	60	0.311
3	7:3	1.500	1.500	70	0.320
4	8:2	0.500	1	70	0.342
5	8:2	1	1.500	50	0.387
6	8:2	1.500	0.500	60	0.381
7	9:1	0.500	1.500	60	0.365
8	9:1	1	0.500	70	0.374
9	9:1	1.500	1	50	0.356

培穴中的伴栽菌棒,发现菌材物种基原多以壳斗科、桦木科、蔷薇科为主,使用纤维素含量较高的菌材伴栽天麻,天麻的产量和多糖含量高^[17]。

因此本文以纤维素含量较高的农作物余料作为碳源代替木材培养蜜环菌,发现蜜环菌在农作物余料中均能正常生长,说明以农作物余料代替木材是可行的。

通过对蜜环菌的生长速度和总多糖含量进行分析,发现与桦木屑培养的蜜环菌相比,大豆秸秆培养的蜜环菌菌丝萌发天数提前了7d且菌丝长势更佳,并在第30天时长满培养基,且多糖含量和生长速度分别为桦木屑培养的2.305,1.244倍,表现出优势。同时,本研究对大豆秸秆培养基中的碳源(大豆秸秆),氮源(麦麸),额外添加的碳源(蔗糖),无机盐及含水量进行了优化,发现大豆秸秆粉与麦麸的配比(碳氮源比例)是影响蜜环菌生长发育的主要因素,与现有研究结果相符,并提出了大豆秸秆培养蜜环菌MH1的最佳配方为主料大豆秸秆与麦麸配比为8:2,蔗糖质量分数为主料的1%,无机盐质量分数为主料的0.5%,含水量50%。

目前使用大豆秸秆培养蜜环菌尚未见报道,本文首次使用纤维素含量丰富的大豆秸秆替代木材(木屑),既实现了农作物余料的充分利用,为使用农作物余料培养蜜环菌、扩展秸秆等农作物余料的开发利用提供理论支持,又降低了天麻栽培的成本,保护了林木资源,为减少资源浪费和保护环境提供了新的思路。

[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,2020:59.

[2] 张志龙,郜玉钢,臧埔,等. 天麻素、对羟基苯甲醇对中枢神经系统作用机制研究进展[J]. 中国中药杂志,2020,45(2):312-320.

[3] 季宇彬,董婉睿,刘雪松,等. 彝良小草坝乌天麻对东莨菪碱所致记忆障碍模型小鼠的影响及机制研究[J]. 中国药理学通报,2018,34(12):1684-1688.

[4] 柳威,邓林华,祁东利,等. 天麻及其有效成分的药理作用概述[J]. 中药药理与临床,2021,doi:10.13412/j.cnki.zyyl.20210120.003.

[5] 张进强,肖承鸿,周涛,等. 神奇的天麻[J]. 中国食品药品监管,2021(2):114-119.

[6] 刘云霞,狄永国,仇全雷,等. 基于转录组测序初步揭示天麻生长代谢的分子机制[J]. 中草药,2021,52(3):827-837.

[7] YUAN Y, JIN X H, LIU J, et al. The *Gastrodia elata* genome provides insights into plant adaptation to heterotrophy[J]. Nat Commun, 2018, 59(1):1615.

[8] 刘天睿,王忠巧,陈向东,等. 4株蜜环菌菌株鉴定及其对彝良乌天麻产质量的影响[J]. 中国中药杂志, 2019,44(24):5352-5357.

[9] 王永,王彩云,侯俊,等. 不同蜜环菌菌株对红天麻农艺性状、产量及质量的影响[J]. 微生物学杂志, 2020,40(6):59-65.

[10] 柳运波. 蜜环菌液体培养条件优化及降血脂作用的研究[D]. 长春:吉林大学,2015.

[11] 闫军,王欢,孙冬梅. 蜜环菌培养条件优化[J]. 黑龙江农业科学,2016(3):112-114.

[12] 杨海旭. 秦巴山区天麻共生蜜环菌遗传多样性研究及优良菌种的选育[D]. 汉中:陕西理工学院,2016.

[13] 任思竹,陈青君,程继鸿. 不同碳源、氮源对蜜环菌生长的影响[J]. 安徽农业科学,2014,42(16):4974-4975,4990.

[14] 刘宇,龚思慧,彭楠,等. 蜜环菌液态发酵培养基及补料分批发酵工艺的优化[J]. 食品与发酵工业,2016,42(5):187-191,197.

[15] 陈伟,冯欢,欧江,等. 蜜环菌液体培养基碳氮源的筛选和优化[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版, 2020,48(9):128-136.

[16] 杨杰,张进强,周涛,等. 蜜环菌和冬荪菌侵染与降解菌材的比较研究[J]. 中国中药杂志,2020,45(3):472-477.

[17] 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.

[18] 王建波. 大豆秸秆纤维素和半纤维素含量近红外检

- 测模型研究与建立[D]. 哈尔滨:东北农业大学, 2016.
- [19] 梁宇庭,蒋超,周骏辉,等. 高卢蜜环菌PCR-RFLP快速鉴别方法研究[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(17): 3622-3626.
- [20] 刘天睿,张薇薇,王忠巧,等. 蜜环菌胞外酶和多糖含量变化规律研究[J]. 中药材, 2019, 42(1): 57-61.
- [21] 刘晓敏,陈向东,张薇薇,等. 不同蜜环菌菌株的鉴定及胞外酶活性研究[J]. 中国农学通报, 2020, 36(24): 99-106.
- [22] 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.
- [23] 黄维金,吴兴波,王秋颖. 滇西南地区不同道地树种对蜜环菌生长的影响[J]. 中国现代中药, 2015, 17(5): 475-478, 484.
- [24] 赵佳. 蜜环菌对榛材成分的降解及其真菌群落的研究[D]. 哈尔滨:东北林业大学, 2017.
- [责任编辑 顾雪竹]

·书讯·

淋巴瘤化疗患者疲乏抑郁心理护理 ——评《中国肿瘤心理临床实践指南2020》

随着人们生活水平的不断提高,饮食结构与生活结构的改变,导致癌症患病率逐年增加。在治疗过程中,癌症患者不仅要承受身体上的痛苦,也容易出现焦虑、恐惧、紧张等心理,严重影响了患者的生活质量。病情的反复、手术治疗、化疗等都会对患者造成身心负担,患者因此极易产生疲乏、抑郁心理,不仅影响治疗也会影响到预后。有关于癌症患者患抑郁症几率的系统统计表明,门诊患者患抑郁症的几率为5%~16%;住院患者患抑郁症的几率为4%~14%;保守治疗患者患抑郁症的几率为7%~49%。在对癌症患者的统计中能够看出,超过23%的门诊患者存在着一定的焦虑症状,而住院患者的焦虑障碍发病率超过9.7%,住院患者的谵妄患病率超过28%,终、末期的癌症患者超过84%。

《中国肿瘤心理临床实践指南2020》作者唐丽丽,人民卫生出版社2020年出版。全书共十二章,规范了癌症患者的心理社会评估和干预,为指导肿瘤心理临床实践提供参考依据,从而改善肿瘤临床心理社会服务的质量。书中指出,改善癌症患者的心理状态进而提升癌症治愈率已经成为临床研究的热点。常规的心理干预更加侧重缓解患者在治疗过程中所产生的不良情绪,并没有针对患者对应激事件如何进行处理而进行深入研究。积极的心理干预更加强调挖掘出患者心中的正能量,改善患者对病症的认知以及自身行为,提升患者的积极情感,让患者能够有效消除不良的心理障碍,顺应自己内心的声音进而达到自我实现的最终效果。心理干预对癌症患者的心理弹性、疲乏抑郁症及其他心理状态都有着有效的影响。

淋巴瘤化疗导致患者疲乏抑郁心理的产生通常因为肿瘤治疗周期过长、治疗过程痛苦、精神压力与经济负担过重,导致患者出现主观的疲劳感。这种疲乏感往往会持续很长时间,并在治疗过程中引发功能障碍,影响患者的正常机体功能。化疗作为淋巴瘤的主要治疗方法,最常见的副作用就是癌因性疲乏抑郁心理,比起其他的疲乏感,癌因性疲乏抑郁心理对患者的身体健康和生活质量影响更严重。化疗过程中这种疲乏感会逐渐放大,患者身、心都遭受着巨大的折磨,严重者甚至会产生轻生的想法。针对这一现象,医护人员可结合该书对患者的疲乏情况进行干预,提升患者的生活质量。首先应对患者进行认知行为的干预措施,在患者接受综合护理干预的过程中,护理人员要将癌因性疲乏抑郁心理的具体概念和表现形式及对体会产生的影响对患者进行告知,让患者对这一心理状态有所了解,并对病因及临床表现进行深入讲解,鼓励患者在治疗过程中参与一些轻松且有积极意义的活动,借此转移癌因性疲乏抑郁心理所带来的压力和疲劳感。根据患者的不同年龄,护理人员可在治疗过程中加入体能调节的训练,通过运动的方式来改善患者身体情况,结合心理辅导教育,采用文字、视频、图片、影像等方法对患者进行心理辅导,让患者正确认知癌因性疲乏抑郁心理的病症,使其不再恐惧,建立自信心,并鼓动患者家属、朋友一起参与心理辅导教育,为患者鼓劲儿、加油,减轻患者的抑郁状况。

《中国肿瘤心理临床实践指南2020》的出版标志着中国心理社会肿瘤学临床实践进入了标准化的新纪元,对肿瘤临床医护人员和心理社会肿瘤学专业人员提供了很好的指导,使更多肿瘤临床医护人员开始关注患者心理社会层面的需求,也推动了我国该领域科研工作的进一步开展。

(作者卢祖金,湖北省肿瘤医院,武汉 430000)