

二次回归正交旋转组合设计优化大肥蘑菇液体培养基

杨 琴, 张桂香, 杨建杰, 王英利

(甘肃省农业科学院蔬菜研究所, 甘肃 兰州 730070)

摘要: 为优化大肥蘑菇液体培养基, 通过单因子试验确定大肥蘑菇最佳碳源(葡萄糖)、最佳氮源(蛋白胨)及矿物质的适宜浓度(用量)范围, 采用二次回归旋转组合设计研究3个参数对大肥蘑菇菌丝生物量的影响, 建立数学模型, 以获得适宜的配方组合。结果表明, 葡萄糖浓度、蛋白胨浓度对大肥蘑菇菌丝体生物量的影响达极显著水平, 矿物质添加剂用量达显著水平。最优培养基参数为葡萄糖浓度 33.26 g/L、蛋白胨浓度 4.24 g/L、矿物质添加剂 1.82 mL/L, 在该参数组合下, 28 ℃振荡培养 8 d, 菌丝干重可达 16.44 g/L, 且经反复试验验证可行。

关键词: 大肥蘑菇; 培养基; 二次回归旋转组合; 优化

中图分类号: S646.9 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1463(2017)11-0012-06

[doi:10.3969/j.issn.1001-1463.2017.11.005](https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-1463.2017.11.005)

Optimization of *Agaricus bitorquis* Liquid Culture Medium by Quadratic Regression Orthogonal Rotary

YANG Qin, ZHANG Guixiang, YANG Jianjie, WANG Yingli

(Institute of Vegetable, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou Gansu 730070, China)

Abstract: In order to optimize the liquid medium of *Agaricus bitorquis*, the best density(dosage) and appropriate concentration (dosage) range of main factors is determined by the single factor experiment and main factors including glucose, peptone and mineral additive. Further, the influence of three parameters on mycelia biomass is carried out using quadratic orthogonal rotation combination design, established the mathematical model, obtained the appropriate combination formula. The experimental result shows that the effects of glucose concentration, peptone concentration on mycelium biomass reached extremely significant level, and mineral additives to significant level. The optimal medium parameters which glucose is 33.26 g/L, peptone is 4.24 g/L, mineral additives is 1.82 mL/L. Experiment is performed with the optimal parameters which 28 ℃ shaking culture 8 d, mycelial dry weight reach to 16.44 g/L. Prediction result is reliable and the model is validated.

Key words: *Agaricus bitorquis*; Culture medium; Quadratic regression rotation combination; Optimization

博斯腾湖位于巴音郭楞蒙古自治州焉耆盆地的博湖县境内, 总面积 1 228 km², 蓄水量 8.0 × 10⁹ m³, 是开都河的归宿, 孔雀河的源头, 更是一座天然的大型调节水库, 也是新疆最大的内陆淡水湖。大肥蘑菇(经ITS序列分析确定^[1])是在新疆博斯腾湖特殊环境条件下形成的极为珍贵的野生食用菌, 在分类上隶属于担子菌纲(*Basidiomycetes*)伞菌目(*Agaricales*)蘑菇科(*Agaricaceae*)蘑菇属(*Agaricia*), 其子实体硕大、菌肉肥厚细嫩, 通过营养成分、氨基酸组成、矿物质、脂肪酸营养成分的测定^[2-3], 发现大肥蘑菇具有极高的

风味物质、营养价值和保健作用。在自然发生条件下, 大肥蘑菇的菌丝体和子实体发生部位一般都在 40 ~ 60 cm 深的土层之下, 极少露出地面, 采菇者往往通过雨后地表局部隆起、裂缝情况或脚踩时的松软感觉寻找菇区, 且子实体一般成片分布, 只要发现一个、挖下去就是一大片^[4]。近年来, 由于生态环境的变化, 大肥蘑菇自然发生量明显减少。为了保护这种珍惜食用菌, 我们对其菌种保藏、人工抚育、驯化栽培进行了较为系统的研究。有关大肥蘑菇的人工驯化及高产栽培技术研究已有一些报道, 包括培养基的筛选^[5]、栽

收稿日期: 2017-09-26

基金项目: 甘肃省农业科学院食用菌遗传育种及高效栽培学科团队(2017GAAS32)、甘肃省农业科学院中青年创新基金项目(2016GAAS46)。

作者简介: 杨 琴(1983—), 女, 甘肃兰州人, 助理研究员, 硕士, 主要从事食用菌资源与利用研究工作。联系电话: (0)18919980041。E-mail: gsyangqin06@163.com。

通信作者: 张桂香(1963—), 女, 甘肃金塔人, 研究员, 主要从事食用菌栽培研究工作。E-mail: zhanggx2008@sina.com。

培方式的比较^[6]、覆土材料的筛选^[7]等。但依赖天然杂交具四孢特性的大肥蘑菇种内相似程度较低^[8]，不同菌株间差异很大。博斯腾湖大肥蘑菇作为大肥蘑菇野生种之一，对其营养生理已进行过详细研究，适宜的碳源(葡萄糖)、氮源(蛋白胨)及矿物质元素均已明确^[9]，不过这些研究仅从单因素出发，还存在一定的局限性，因素间的交互作用需要综合考虑。二次正交旋转组合设计通过统计软件对试验结果进行非线性数学模型拟合，是一种将正交、回归、均匀和较高饱和程度融为一体试验设计方法^[10]，建立模型之后，能多角度对模型进行模拟分析，可充分发掘模型所提供的信息^[11]。我们在大肥蘑菇营养生理研究的基础上，采用单因素试验获得主要因素的适宜范围，然后采用二次回归旋转组合设计对培养基参数及其交互作用进行研究，以期获得大肥蘑菇菌丝体最佳培养基组成，为液体培养基的制备提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 菌株 供试菌株于 2009 年 7 月采集野生子实体经组织分离获得^[1]，经多年驯化选育，编号为 200961-1。

1.1.2 培养基 液体菌种培养基配方为葡萄糖 20 g、蛋白胨 2 g、KH₂PO₄ 1 g、MgSO₄ 0.5 g，无离子水 1 000 mL；培养基 I 配方为蛋白胨 2 g、KH₂PO₄ 0.5 g、MgSO₄ 0.5 g、无离子水 1 000 mL；培养基 II 配方为葡萄糖 10 g、KH₂PO₄ 0.5 g、MgSO₄ 0.5 g、无离子水 1 000 mL；培养基 III 配方为葡萄糖 10 g、蛋白胨 2 g、无离子水 1 000 mL。

1.2 试验设计

1.2.1 单因子试验设计 采用培养基 I 配制葡萄糖浓度分别为 10、20、30、40、50 g/L 的液体培

培养基，以培养基 I 为对照，研究葡萄糖浓度对大肥蘑菇菌丝体生长的影响。采用培养基 II 配制蛋白胨浓度分别为 1、2、3、4、5、6、7、8、9 g/L 的液体培养基，以培养基 II 为对照，研究蛋白胨浓度对大肥蘑菇菌丝体生长的影响。采用培养基 III 配制矿物质添加剂(5 g/L CuSO₄ + 5 g/L ZnSO₄ 溶液)用量分别为 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 mL/L 的平板培养基，以培养基 III 为对照，研究矿物质添加剂用量对大肥蘑菇菌丝体生长的影响。

1.2.2 多因子试验设计 在单因素试验结果的基础上，取葡萄糖、蛋白胨、矿物质添加剂适宜的浓度及用量范围，对 3 因素进行二次回归正交旋转组合试验设计，试验因素水平及编码见表 1。中心化处理公式 $X_{ij}' = X_{ij} - 0.5938 = 0.4062$ ($i=1, 2, 3 \dots 30; j=1, 2, 3$)。

1.3 试验方法

1.3.1 液体菌种的制备 按液体菌种配方制备培养基后，分装于 100/250 mL 三角瓶内，高压灭菌、冷却后接入活化斜面菌种，于振荡培养器上培养(转速 150 r/min，温度 25 °C ± 1 °C) 8 d 可得液体菌种。

1.3.2 试验操作 按试验设计制备培养基，然后分装在 100 mL 三角瓶中，每瓶 24 mL，3 次重复。灭菌、冷却后每瓶接入 1 mL 液体菌种，于 28 °C 条件下振荡培养 8 d，滤出菌丝体，80 °C 下烘干 24 h，称量菌丝体重量，换算成 1 000 mL 培养液中菌丝体干重，即为试验结果。

1.4 数据处理

采用 DPS(Data Processing System)软件和 Microsoft Excel 2010 对试验数据进行处理和方差分析并作图。

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 葡萄糖浓度对大肥蘑菇菌丝生长的影响 通

表 1 因素水平编码

水平	因素		
	Z ₁ 葡萄糖 (g/L)	Z ₂ 蛋白胨 (g/L)	Z ₃ 矿物质添加剂 (mL/L)
r(Z _{2j})	50.0	6.0	3.6
1(Z _{0j} +Δ _j)	41.9	3.9	2.9
0(Z _{0j})	30.0	3.0	1.8
-1(Z _{0j} -Δ _j)	28.1	2.1	0.7
-r(Z _{1j})	10.0	0	0
变化间距 ^① Δ _j =(Z _{2j} -Z _{1j})/2r*	11.856 8	0.891 9	1.067 1
编码公式X _j =(Z _j -Z _{0j})	X ₁ =0.084 3Z ₁ - 2.5301	X ₂ =1.1212Z ₂ - 3.363 6	X ₃ =0.937 1 Z ₃ -1.686 8

① r*=1.686 8; Z_{2j}、Z_{1j}、Z_{0j} 分别表示第 j 个因素 Z_j 的上水平、下水平、零水平。

过表 2 数据得到葡萄糖浓度(Z_1)与大肥蘑菇菌丝生长量(Y_1)的数学模型:

$$\hat{Y}_1 = 1.9837 + 0.1938Z_1 - 0.0027Z_1^2 \quad (P=0.0046) \quad (1)$$

对方程(1)求导可得: $Z_{1max} = 36.61$

由方程 1 可得图 1 及 Y_1 的预测值 \hat{Y}_1 (表 2)。由图 1 可以得出, 菌丝生长量随着葡萄糖浓度的增加而升高, 当葡萄糖用量大于 36.61 g/L 时, 菌丝生长量又随着葡萄糖用量的升高而下降, 因此葡萄糖的最佳用量为 36.61 g/L; 当葡萄糖用量为 0 时, 菌丝干重为 2.19 g/L, 表明菌丝利用了蛋白胨中的一些碳素物质。

表 2 葡萄糖不同浓度的大肥蘑菇菌丝生长量 g/L

葡萄糖浓度	菌丝生长量		葡萄糖浓度	菌丝生长量	
	实测值 Y_1	拟合值 Y_1		实测值 Y_1	拟合值 Y_1
0	2.19	1.98	30	5.65	5.40
10	3.32	3.65	40	5.57	5.46
20	4.69	4.79	50	4.87	5.00

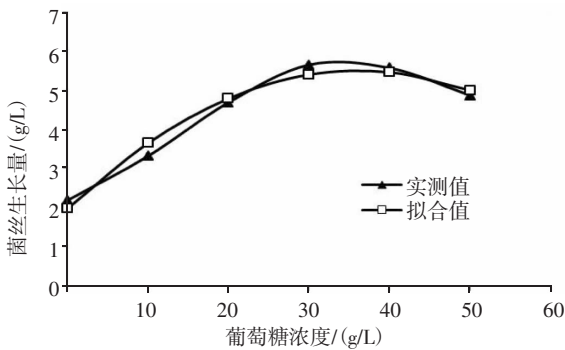


图 1 葡萄糖浓度对博湖蘑菇菌丝生长量的影响

2.1.2 蛋白胨浓度对大肥蘑菇菌丝生长的影响 通过表 3 中数据可得蛋白胨浓度与大肥蘑菇菌丝生长量的数学模型:

$$\hat{Y}_2 = 10.3317 / [1 + \exp(2.0616 - 0.9896Z_2)] \quad (P = 0.0001) \quad (2)$$

对方程(2)求导可得: $Z_{2max} = 1.87$

由方程 2 可得图 2 及 Y_2 的预测值 \hat{Y}_2 (表 3)。由图 2 可知, 当蛋白胨浓度为 0~4 g/L 时, 菌丝生长量增加很快, 表现为近直线增长; 当浓度大于 4 g/L 时, 随着蛋白胨浓度的增加, 菌丝生长量增加

表 3 蛋白胨不同浓度的大肥蘑菇菌丝生长量 g/L

蛋白胨浓度	菌丝生长量		蛋白胨浓度	菌丝生长量	
	实测值	拟合值		实测值	拟合值
0	2.98	2.63	5	10.61	10.12
1	5.13	4.95	6	9.84	10.25
2	6.90	7.36	7	10.00	10.30
3	9.48	8.98	8	10.81	10.32
4	10.25	9.79	9	9.86	10.33

幅度很小并逐渐趋于平缓, 因此蛋白胨的最佳浓度为 4 g/L。当蛋白胨浓度为 0 时, 菌丝干重为 2.98 g/L, 表明菌丝在不提供氮源的情况下仍能够生长。

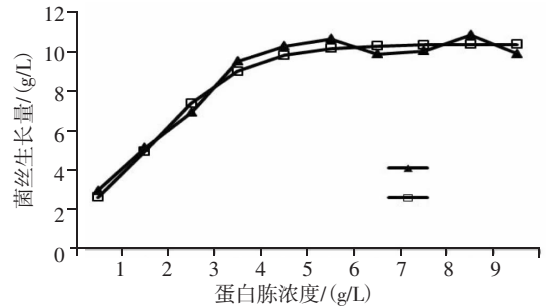


图 2 蛋白浓度对博湖蘑菇菌丝生长量的影响

2.1.3 矿物质添加剂用量对大肥蘑菇菌丝生长的影响 根据表 4 数据可得矿物质添加剂用量(Z_3)与大肥蘑菇菌丝生长量(Y_3)的数学模型:

$$\hat{Y}_3 = 0.2817 + 0.0644Z_3 - 0.0172Z_3^2 \quad (P=0.0015) \quad (3)$$

对方程(3)求导可得: $Z_{3max} = 1.87$

由方程(3)可得图 3 及 Y_3 的预测值 \hat{Y}_3 (表 4)。由图 3 可知, 当矿物质添加剂用量较低时, 菌丝日生长量随着矿物质添加剂用量的增加而增加; 当矿物质添加剂用量达到 1.87 mL/L 时, 菌丝日生长量最大; 之后随着矿物质添加剂用量的增加, 菌丝日生长量呈现出下降的趋势。可见低用量的矿物质添加剂可以提高菌丝的生长速率, 高用量的矿物质添加剂反而会抑制菌丝生长, 因此矿物质添加剂的最适用量为 1.87 mL/L。

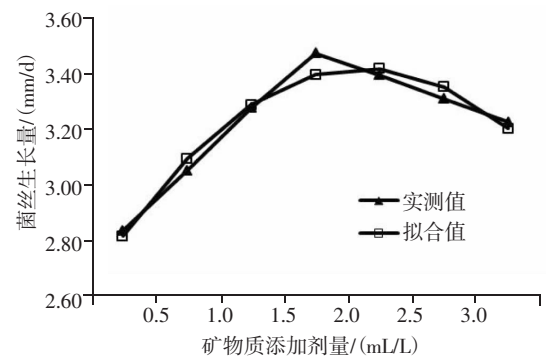


图 3 矿物质添加剂不同用量对博湖蘑菇菌丝生长量的影响

表 4 矿物质添加剂不同用量的大肥蘑菇菌丝生长量 mL/L

矿物质添加剂用量	菌丝生长量		矿物质添加剂用量	菌丝生长量	
	实测值	拟合值		实测值	拟合值
0	2.83	2.81	2.0	3.39	3.41
0.5	3.05	3.09	2.5	3.31	3.35
1.0	3.27	3.28	3.0	3.22	3.20
1.5	3.47	3.39			

2.2 二次回归正交旋转组合试验

2.2.1 数学模型的建立及方差分析 对获得的菌丝干重求其平均值(y)即为试验结果(表5)。对该结果进行回归分析计算(表6)，由表6得菌丝干重 y_j 与 x_{ij} 的回归方程：

$$y = 16.144 + 0.346x_1 + 0.621x_2 + 0.184x_3 + 0.345x_1x_2 + 0.288x_1x_3 - 0.299x_2x_3 - 1.043x_1^2 - 0.327x_2^2 - 0.459x_3^2 \quad (4)$$

由方差分析可知， $F_1=0.318 < F_{0.05(5,8)}=3.69$ ，表明方程不失拟，与实际情况符合； $F_2=59.347 > F_{0.01(9,13)}=4.19$ ，回归方程的检验达到了极显著，说明模型的预测值与实际值非常吻合，模型成立。

2.2.2 单一因素对大肥蘑菇菌丝量的效应分析 由表6可以看出，葡萄糖浓度(x_1)、蛋白胨浓度(x_2)对菌丝生物量的影响达到极显著水平，矿物质添加剂用量(x_3)对菌丝生物量的影响达到显著水平。三者对菌丝生物量的影响作用表现为一次项 $x_2 > x_1 > x_3$ ；二次项 $x_1^2 > x_2^2 > x_3^2$ 。从图4可以看出，各个曲线的变化趋势与葡萄糖浓度、蛋白胨浓度及矿物质添加剂用量对大肥蘑菇菌丝生长量的影响吻合。

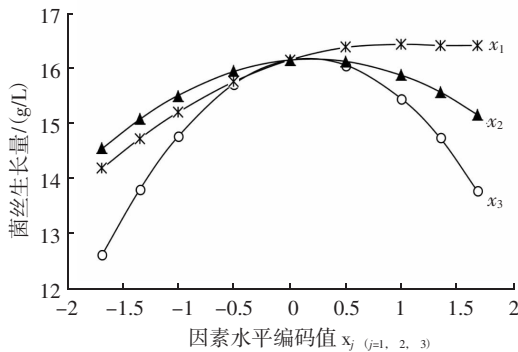


图4 单一因素对博湖蘑菇菌丝生长量的影响

表6 试验结果方差分析

变异来源	平方和	自由度	均方	比值F	显著水平P
X_1	1.635	1	1.635	27.453	0.000 2
X_2	5.268	1	5.268	88.447	0.000 1
X_3	0.462	1	0.462	7.763	0.015 4
X_1^2	17.299	1	17.299	290.474	0.000 1
X_2^2	1.695	1	1.695	28.458	0.000 1
X_3^2	3.345	1	3.345	56.166	0.000 1
X_1X_2	0.954	1	0.954	16.012	0.001 5
X_1X_3	0.661	1	0.661	11.103	0.005 4
X_2X_3	0.715	1	0.715	27.453	0.004 2
回归	31.824	9	3.536	$F_2=59.374$	0.000 1
剩余	0.774	13	0.060		
失拟	0.129	5	0.026	$F_1=0.318$	0.893 2
误差	0.646	8	0.081		
总和	32.599	22			

2.2.3 两因素对大肥蘑菇菌丝生长量的耦合效应

由表6可知，葡萄糖浓度与蛋白胨浓度的交互作用、蛋白胨浓度与矿物质添加剂用量的交互作用对大肥蘑菇菌丝生长量的影响达极显著水平，葡萄糖浓度与矿物质添加剂用量的交互作用对菌丝生长量的影响达显著水平。固定其他1个因子为0水平，可从模型(4)中导出另外2个因子的解析模型。其中葡萄糖浓度、蛋白胨浓度与菌丝生长量的交互作用关系式为：

$$y_{x_1x_2} = 16.144 + 0.346x_1 + 0.621x_2 - 0.345x_1x_2 - 1.043x_1^2 - 0.327x_2^2 \quad (5)$$

由方程(5)可得图5。由图5可知，无论 x_2 取何值，菌丝干重与 x_1 之间均呈二次函数关系，即在同一蛋白胨浓度下，随着葡萄糖浓度的提高，菌丝干重逐渐增大，达到一定值后，随着浓度的增加菌丝干重反而减小；从曲线的位置来看，蛋白胨浓度较低时，随着浓度的提高，菌丝干重逐渐增大，当 $x_2=1, x_2=1.6818$ 时，两条曲线的位置较接近，说明蛋白胨达到适宜浓度后，菌丝干重不会随

表5 试验设计及结果

编号	因素①			菌丝干重/(g/L)	编号	因素①			菌丝干重/(g/L)
	x_1	x_2	x_3			x_1	x_2	x_3	
1	1	1	1	15.800	13	0	0	-1.681 8	14.577
2	1	1	-1	15.346	14	0	0	1.681 8	15.115
3	1	-1	1	14.538	15	0	0	0	15.962
4	1	-1	-1	13.038	16	0	0	0	15.977
5	-1	1	1	13.731	17	0	0	0	16.385
6	-1	1	-1	14.577	18	0	0	0	15.815
7	-1	-1	1	14.000	19	0	0	0	16.069
8	-1	-1	-1	13.500	20	0	0	0	16.346
9	-1.681 8	0	0	12.654	21	0	0	0	16.262
10	1.681 8	0	0	13.731	22	0	0	0	16.654
11	0	-1.681 8	0	14.000	23	0	0	0	15.831
12	0	1.681 8	0	16.440					

① x_1, x_2, x_3 分别为葡萄糖浓度、蛋白胨浓度、矿物质添加剂浓度的编码值。

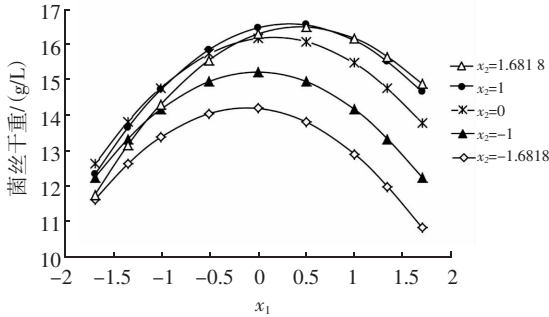


图5 葡萄糖浓度(x₁)和蛋白胨浓度(x₂)对博湖蘑菇菌丝生长量的影响

着浓度的提高而增大；在 $x_1 \in [0, 1]$, $x_2 \in [1, 1.6818]$ 时, $x_1|x_2$ 的交互作用较强, 经计算: $x_1=0.4220$, $x_2=1$ 时, 菌丝干重最大。

葡萄糖浓度 x_1 、矿物质添加剂用量 x_3 与菌丝生长量的交互作用关系式为:

$$y_{x_1, x_3} = 16.144 + 0.346x_1 + 0.184x_3 + 0.288x_1x_3 - 1.043x_1^2 - 0.459x_3^2 \quad (6)$$

由方程(6)可得图6。由图6可知, 无论 x_1 取何值, 菌丝干重与 x_3 之间均呈二次函数关系; 葡萄糖浓度较低或较高时, 不论矿物质添加剂用量 (x_3) 取何值, 均得不到理想的菌丝干重; 而当葡萄糖浓度适中, 即 $x_1=0$ 时, 菌丝干重较高。 x_1 、 x_3 的适宜取值范围为 $x_1 \in [0, 1]$, $x_3 \in [-1, 1]$, 经计算: $x_1=0$, $x_3=0.2004$ 时, 菌丝干重最高。

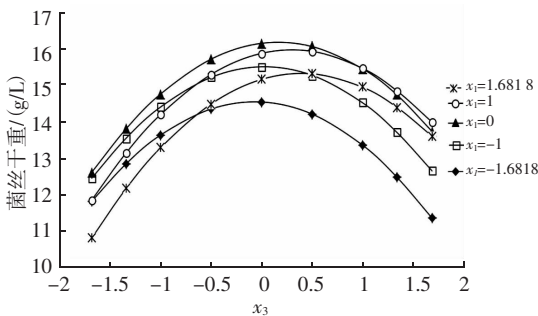


图6 葡萄糖浓度(x₁)和矿物质添加量(x₃)对博湖蘑菇菌丝生长量的影响

蛋白胨浓度 x_2 、矿物质添加剂用量 x_3 与菌丝生长量的交互作用关系式为:

$$y_{x_2, x_3} = 16.144 + 0.621x_2 + 0.184x_3 - 0.299x_2x_3 - 0.327x_2^2 - 0.459x_3^2 \quad (7)$$

由方程(7)可得图7, 由图7可知, 当 $x_2=-1.6818$ 及 $x_2=-1$ 时, 随矿物质添加剂用量的增大, 菌丝干重逐渐增大; 当 $x_2=0$ 、 $x_2=1$ 、 $x_2=1.6818$ 时, 菌丝干重呈现出先增大后减小的趋势, 表明在蛋白胨浓度较高的情况下, 矿物质添加剂用量

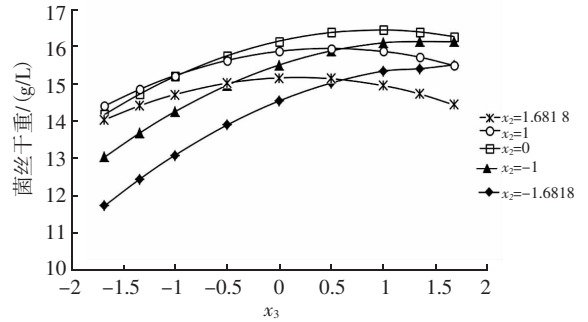


图7 蛋白胨浓度(x₂)和矿物质添加剂用量(x₃)对博湖蘑菇菌丝生长量的影响

应相应减小; 在 $x_2 \in [0, 1]$, $x_3 \in [0, 1]$ 时, 的交互作用较强, 经计算: 当 $x_2=0$, $x_3=0.2004$ 时, 二者的交互作用最强, 即菌丝干重最大。

2.2.4 大肥蘑菇母种培养基模型的优化 根据以上结果对模型进行优化, 对方程(4)进行极值分析, 采用薛尔维斯德(J.J.Sylvester)不等式判别方程(4)的极值。设方程(4)在稳定点 $x_0=(x_{01}, x_{02}, x_{03})$ 处, 计算 y 对 x_j ($j=1, 2, 3$) 的各阶偏导数, 并定义行列式 D_j 为:

$$D_j = \begin{vmatrix} \frac{\partial^2 y}{\partial x_1^2} & \frac{\partial^2 y}{\partial x_1 \partial x_2} & \dots & \frac{\partial^2 y}{\partial x_1 \partial x_j} \\ \frac{\partial^2 y}{\partial x_2 \partial x_1} & \frac{\partial^2 y}{\partial x_2^2} & \dots & \frac{\partial^2 y}{\partial x_2 \partial x_j} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \frac{\partial^2 y}{\partial x_j \partial x_1} & \frac{\partial^2 y}{\partial x_j \partial x_2} & \dots & \frac{\partial^2 y}{\partial x_j^2} \end{vmatrix} \quad (j=1, 2, 3)$$

经计算: $D_1=-2.086<0$, $D_2=1.245>0$, $D_3=-1.716<0$ 。

由以上计算可知, 方程(4)具有极小值, 采用求驻点的方法计算极小值。对方程(4)中各变量求一阶偏导数并令其为0, 则有:

$$\begin{cases} 0.346 + 0.345x_2 + 0.288x_3 - 1.043x_1 = 0 \\ 0.621 + 0.345x_1 - 0.299x_3 - 0.327x_2 = 0 \\ 0.184 + 0.288x_1 - 0.299x_2 - 0.459x_3 = 0 \end{cases}$$

解此方程组得:

$$x_{1\max} = 0.19, \quad x_{2\max} = 1.40, \quad x_{3\max} = 0.02$$

将编码公式代入上式得:

$$Z_{1\max} = 33.26, \quad Z_{2\max} = 4.24, \quad Z_{3\max} = 1.82$$

即葡萄糖 33.26 g/L, 蛋白胨 4.24 g/L, 矿物质添加剂用量 1.82 mL/L 为最佳值。

3 结论

单因子研究结果表明, 大肥蘑菇菌丝生长的最佳葡萄糖浓度为 35.89 g/L、蛋白胨浓度为 4.00 g/L、矿物质添加剂用量为 1.87 mL/L。通过二次回归正交旋转组合试验建立了大肥蘑菇菌丝培养基的优化

辣椒病毒病原种类检测初报

陈灵芝, 张 茹, 魏兵强, 王兰兰

(甘肃省农业科学院蔬菜研究所, 甘肃 兰州 730070)

摘要: 针对甘肃省农业科学院蔬菜研究所辣椒组育苗棚、试验地以及近郊辣椒种植田病毒病发病严重问题, 开展了病毒病原种类鉴定, 并比较了双抗体夹心酶联免疫吸附法(DAS-ELISA)和简易试纸条对同一种病毒的检测结果。结果检测出了 TMV、PVV 和 PVS 3 种病毒, 其中 TMV 为优势种群, 侵染率高达 66.7%, 未发现 CMV 侵染。试验结果表明, DAS-ELISA 法和简易试纸条法对同一种病毒检测结果基本一致。

关键词: 辣椒; 病毒; 检测

中图分类号: S436.418.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1463(2017)11-0017-03

doi: 10.3969/j.issn.1001-1463.2017.11.006

A Preliminary Report on Detection of Pathogenic Species of Virus Disease in Pepper

CHEN Lingzhi, ZHANG Ru, WEI Bingqiang, WANG Lanlan

(Institute of Vegetables, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou Gansu 730070, China)

Abstract: We use DAS-ELISA method to identify the pathogenic virus and compare the result between DAS-ELISA and immunostrip. The result detects three virus: TMV, PVV, PVS, and TMV is the prevalent pathogenic virus, the detection rate is 66.7%. TMV is the dominant species, CMV isn't detected. The detection results between DAS-ELISA and immunostrip is almost accordance.

Key words: Pepper; Virus; Identification

辣椒病毒病是近年来危害辣椒生产的重要病害。植株一旦被病毒感染, 常表现为叶片皱缩、

收稿日期: 2017-06-13

基金项目: 甘肃省农业生物技术研究与应用项目(GNSW-2015-21)。

作者简介: 陈灵芝(1971—), 女, 甘肃靖远人, 研究员, 主要从事辣椒、茄子育种研究, 联系电话:(0931)7616788。E-mail: gschlzh38@sina.com。

数学回归模型: $y = 16.144 + 0.346x_1 + 0.621x_2 + 0.184x_3 + 0.345x_1x_2 + 0.288x_1x_3 - 0.299x_2x_3 - 1.043x_1^2 - 0.327x_2^2 - 0.459x_3^2$ 。通过模型的优化得出, 大肥蘑菇菌丝培养基质的最佳配方为葡萄糖 33.26 g/L、蛋白胨 4.24 g/L、矿物质添加剂用量 1.82 mL/L。采用此培养基, 28 °C 振荡培养 8 d, 菌丝干重可达 16.44 g/L。经过反复试验验证, 该配方正确可行。

参考文献:

- [1] 常 昕. 大肥蘑菇人工栽培关键因素及多糖提取工艺研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2011.
- [2] 杨 琴, 杜双田, 郜小娟, 等. 博湖大蘑菇蛋白质营养价值评价[J]. 食品科学, 2009, 30(5): 100-103.
- [3] 杨 琴, 杜双田, 张桂香. 大肥蘑菇矿物质、脂肪酸成分分析[J]. 食品科学, 2013(6): 231-233.
- [4] 吴学明, 王广民. 柴达木盆地野生大肥菇资源调查及人工驯化的研究[J]. 青海师范大学学报: 自然科学版, 1994(4): 49-54.
- [5] 高淑敏. 柴达木盆地野生大肥菇菌种培养基配方筛选

[J]. 园艺与种苗, 2011(2): 52-54.

- [6] 高淑敏. 青藏高原柴达木野生大肥蘑菇驯化研究初报[J]. 食用菌, 2010, 32(3): 14-15; 17.
- [7] LIAQAT M R, ALI M A, KHAN N A, *et al.* Influence of different casing materials on the growth and yield of thermo-tolerant strains of *Agaricus bitorquis*[J]. Pakistan Journal of Phytopathology, 2013, 55(3): 605-11.
- [8] 曾 伟, 宋思扬, 王泽生, 等. 双孢蘑菇及大肥菇的种内及种间多态性 RAPD 分析[J]. 菌物系统, 1999(1): 55-60.
- [9] 杨 琴, 杜双田, 张桂香. 大肥蘑菇营养生理研究[J]. 食用菌学报, 2012, 19(3): 63-68.
- [10] 王连臻, 杜小凤, 吴传万, 等. 应用二次回归正交旋转组合法进行小麦抗低温胁迫复配植物生长调节剂研发[J]. 中国农学通报, 2015(9): 63-67.
- [11] 彭晓霞, 张振巍. 二次正交旋转组合法优化赤芍醇提工艺[J]. 中药材, 2010, 33(6): 991-994.

(本文责编: 陈 伟)