

硒浓度和培养时间对中华羊茅内生真菌*Epichloë* sp.固体培养菌丝体矿质营养的影响

周连玉, 焦璐, 巨家升, 蒋霞, 乔枫

青海师范大学生命科学学院, 高原科学与可持续发展研究院, 青海省青藏高原药用动植物资源重点实验室, 青海 西宁

收稿日期: 2021年11月13日; 录用日期: 2021年12月3日; 发布日期: 2021年12月15日

摘要

探讨硒浓度对中华羊茅内生真菌*Epichloë* sp.固体培养过程中菌丝体矿质营养的影响。样品经微波消解后, 分别采用钼蓝比色法、四苯硼钠法、偶氮氯膦III法、邻菲罗啉比色法、氢化物原子荧光光谱法检测磷、钾、钙、铁、硒的含量。结果表明: 硒浓度和培养时间对中华羊茅内生真菌*Epichloë* sp.菌丝体磷、钙、硒含量的影响达到显著或极显著水平($P < 0.05$, $P < 0.001$)。当添加硒浓度0.2~0.4 mmol/L时, 菌丝体钾含量在不同培养时间之间存在显著或极显著水平($P < 0.05$, $P < 0.001$); 而硒浓度0.1~0.3 mmol/L时, 菌丝体铁含量在不同培养时间之间存在显著或极显著水平($P < 0.05$, $P < 0.001$)。当培养4周~6周时, 适宜的硒浓度提高菌丝体磷、钾、铁和钙含量; 菌丝体中硒含量随着添加硒浓度的量而显著增加($P < 0.05$), 随着培养时间的延长其变化呈现升降。适宜的亚硒酸钠能提高中华羊茅内生真菌*Epichloë* sp.固体培养菌丝体吸收矿质营养。

关键词

硒, 培养时间, 中华羊茅内生真菌*Epichloë* sp., 矿质营养, 固体培养

Effect of Se Concentration and Culture Time on Mineral Nutrition in Mycelia of *Epichloë* sp. from *Festuca sinensis* in Solid Culture

Lianyu Zhou, Lu Jiao, Jiasheng Ju, Xia Jiang, Feng Qiao

Key Laboratory of Medicinal Plant and Animal Resources of the Qinghai-Tibetan Plateau in Qinghai Province, Academy of Plateau Science and Sustainability, School of Life Science, Qinghai Normal University, Xining Qinghai

Received: Nov. 13th, 2021; accepted: Dec. 3rd, 2021; published: Dec. 15th, 2021

文章引用: 周连玉, 焦璐, 巨家升, 蒋霞, 乔枫. 硒浓度和培养时间对中华羊茅内生真菌 *Epichloë* sp.固体培养菌丝体矿质营养的影响[J]. 微生物前沿, 2021, 10(4): 189-196. DOI: 10.12677/amb.2021.104024

Abstract

This study was to investigate the effects of different selenium concentrations and culture time on mineral nutrition in mycelium of *Epichloë* sp. from *Festuca sinensis* in solid culture. The levels of P, K, Ca, Fe and Se contents in mycelial sample digested by microwave digestion oven were detected by molybdenum blue, sodium tetrathylborate, chlorophosphonazo III, phenanthroline method, and atomic fluorescence spectroscopy, respectively. The results showed that the highly significant or significant effects of selenium treatment or culture time were detected for P, Ca, Se concentrations of mycelia of *Epichloë* sp. from *F. sinensis* ($P < 0.05$, $P < 0.001$). The presence of 0.2~0.4 mmol/L was the highly significant or significant effects detected on K content for mycelia of *Epichloë* sp. The presence of 0.1~0.3 mmol/L was the highly significant or significant effects detected on Fe content for mycelia of *Epichloë* sp. After incubation for 4 to 6 weeks, selenium at appropriate concentrations promoted P, K, Fe, and Ca concentrations. Selenium concentration of solid medium significantly increased with the increased concentrations of selenite ($P < 0.05$), and increased first, and then decreased with the prolongation of incubation time. The addition of appropriate Na_2SeO_3 concentrations contributed to higher levels of mineral nutritions in mycelia of *Epichloë* sp. from *F. sinensis*.

Keywords

Selenium, Culture Time, *Epichloë* sp. from *Festuca sinensis*, Mineral Nutrition, Solid Culture

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

禾草内生真菌是指生长在禾草体内并完成全部或大部分生活周期,而不显示外部症状的一类真菌[1]。中华羊茅(*Festuca sinensis*)隶属早熟禾族(Poeae)羊茅属(*Festuca*),南志标曾报道中华羊茅普遍感染内生真菌[2],从中华羊茅种子中分离出一些内生真菌菌株,对其生物学与生理学特性进行了研究[3],也发现了中华羊茅内生真菌在形态上存在多样性[4],基于 actin 序列分析 8 个不同地理种群的中华羊茅 *Epichloë* 的鉴定和系统发育关系[5],中华羊茅内生真菌发挥着多种生物活性[6] [7],但是有关中华羊茅内生真菌吸收矿质营养的研究相关报道较少。

诸多研究表明矿质元素影响着菌体生长以及对营养物质的吸收[8] [9],而合适的矿质元素种类、浓度梯度有利于菌丝体生长以及富集矿质元素[10] [11]。硒是生物必需微量矿质元素之一,适宜硒浓度能促进真菌生长、提高抗氧化活性和代谢产物[12] [13] [14],真菌能将培养环境中的无机硒转化为有机硒[15]。当培养液中加入不同浓度的硒化合物后,导致真菌在生长过程中菌丝体或发酵液的营养成分发生变化[16] [17] [18] [19]。本试验通过添加不同亚硒酸钠浓度,初步探讨固体培养过程中华羊茅内生真菌菌丝体矿质营养的变化,旨在为解释内生真菌富硒特性提供一定的数据参考。

2. 材料和方法

2.1. 材料

2.1.1. 菌株

中华羊茅内生真菌菌株 *Epichloë* sp.保存于青海师范大学微生物实验室。

2.1.2. 培养基

PDA 培养基: 马铃薯 200 g、葡萄糖 20 g、琼脂 20 g、蒸馏水 1000 mL、pH 自然。

2.2. 方法

2.2.1. 中华羊茅内生真菌 *Epichloë* sp.活化

将中华羊茅内生真菌 *Epichloë* sp.接种到 PDA 平板上, 于 $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 培养 1 个月。

2.2.2. 不同硒浓度对中华羊茅内生真菌固体培养矿质营养的影响

分别制备含有亚硒酸钠浓度为 0 (CK)、0.1 mmol/L、0.2 mmol/L、0.3 mmol/L、0.4 mmol/L 的平板, 用打孔器打孔至菌落成直径 4 mm 的菌块, 接种于 90 mm 的 PDA 平板上, 每个皿中的 3 块呈三角形排列, 于恒温培养箱中 $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 培养, 在富硒培养过程中, 用解剖刀小心刮取培养 4 周、5 周、6 周、7 周、8 周相同量的菌丝, 放入 -20°C 的冰箱中备用。

2.3. 测定指标

样品中加入消解液, 经微波消解后消化液采用钼蓝比色法[20]、四苯硼钠法[21]、偶氮氯膦 III 法[22]、邻菲罗啉比色法[20]分别测定磷、钾、钙、铁的含量, 采用 GB5009.93-2017(第一法氢化物原子荧光光谱法)测定硒含量[23]。

2.4. 统计分析

试验数据结果均采用平均值 $\pm$ 标准误表示, 各项指标采用 SPSS16.0 统计分析软件进行单因素方差分析(LSD, $P < 0.05$)。采用 Spearman 双侧检验矿质营养之间的相关性分析。

3. 结果与分析

3.1. 硒浓度和培养时间对中华羊茅内生真菌固体培养菌丝体磷含量的影响

硒浓度和培养时间对中华羊茅内生真菌 *Epichloë* sp.菌丝体磷含量的影响达到显著或极显著水平($P < 0.05$, $P < 0.001$) (表 1)。表 2 结果表明: 当培养时间为 4 周~8 周时, 硒浓度为 0.1、0.2、0.3 mmol/L 时菌丝体磷含量呈现先升后降趋势, 菌丝体磷含量均于第 7 周达到最大值, 其含量显著高于其它培养时间($P < 0.05$); 当硒浓度为 0.4 mmol/L 时, 培养第 8 周的菌丝体磷含量明显高于其他培养时间($P < 0.05$); 不加硒组第 7 周、8 周培养的菌丝体磷含量显著高于培养时间 4 周~6 周的菌丝体磷含量($P < 0.05$)。当培养时间为 4 周时, 不加硒时菌丝体磷含量显著低于添加硒浓度 0.2、0.3、0.4 mmol/L 的菌丝体中磷含量($P < 0.05$); 当培养时间为 5 周时, 加硒组菌丝体磷含量显著高于对照组($P < 0.05$); 当培养时间为 6 周或 7 周时, 对照组菌丝体磷含量显著高于加硒浓度 0.2、0.3、0.4 mmol/L 的菌丝体; 当培养时间为 8 周时, 加硒组菌丝体磷含量显著低于对照组($P < 0.05$)。

Table 1. Results of one-way ANOVA for the effects of Se treatment or culture time on mineral nutrition in mycelium of *Epichloë* sp. from *F. sinensis* in solid culture

表 1. 硒浓度或培养时间对中华羊茅内生真菌固体培养菌丝体矿质营养影响的方差分析

Treatment	df	P		K		Ca		Fe		Se		
		F	<i>P</i>	F	<i>P</i>	F	<i>P</i>	F	<i>P</i>	F	<i>P</i>	
Time (w)	4	4	45.072	0.000	2.170	0.146	202.103	0.000	5.663	0.012	1749.185	0.000
	5	4	29.091	0.000	14.194	0.000	39.679	0.000	3.333	0.056	3588.317	0.000

Continued

Time (w)	6	4	5.175	0.016	2.135	0.151	354.969	0.016	12.575	0.001	1144.221	0.000
	7	4	22.257	0.000	1.411	0.299	44.060	0.000	3.225	0.061	4676.706	0.000
	8	4	73.851	0.000	2.317	0.128	30.009	0.000	9.346	0.002	1345.909	0.000
	0	4	141.212	0.000	1.433	0.293	398.226	0.000	1.659	0.235	167.732	0.000
Se (mmol/L)	0.1	4	48.342	0.000	3.232	0.060	80.331	0.000	8.145	0.003	138.418	0.000
	0.2	4	35.288	0.000	5.108	0.017	10.986	0.000	9.718	0.002	650.364	0.000
	0.3	4	20.997	0.000	27.966	0.000	67.517	0.000	31.259	0.000	1601.659	0.000
	0.4	4	98.979	0.000	15.356	0.000	66.123	0.000	1.303	0.088	346.693	0.000

Table 2. Effect of Se concentration on P concentration in mycelium of *Epichloë* sp. from *F. sinensis* in solid culture
表 2. 硒浓度或培养时间对中华羊茅内生真菌固体培养菌丝体中磷含量的影响

硒浓度(mmol/L)	磷含量(mg/g)				
	4 周	5 周	6 周	7 周	8 周
CK	2.10 ± 0.10 ^{cC}	2.84 ± 0.22 ^{cB}	6.92 ± 0.48 ^{bAB}	10.95 ± 0.82 ^{aA}	10.57 ± 0.93 ^{aA}
0.1	2.09 ± 0.30 ^{dC}	5.40 ± 0.65 ^{cA}	7.80 ± 1.44 ^{bA}	10.07 ± 0.34 ^{aAB}	5.07 ± 0.33 ^{cC}
0.2	3.11 ± 0.18 ^{cB}	5.25 ± 0.22 ^{bA}	5.35 ± 0.73 ^{bC}	8.99 ± 1.28 ^{aB}	3.33 ± 0.34 ^{dD}
0.3	3.62 ± 0.21 ^{dA}	5.54 ± 0.42 ^{bcA}	5.10 ± 0.84 ^{cC}	7.34 ± 0.33 ^{aC}	6.23 ± 0.56 ^{bB}
0.4	3.81 ± 0.21 ^{dA}	5.71 ± 0.19 ^{cA}	6.23 ± 0.25 ^{bBC}	6.21 ± 0.06 ^{bC}	6.87 ± 0.24 ^{aB}

注：同行中小写字母表示同一浓度不同周次之间的显著性差异($P < 0.05$)，同列中大写字母表示相同周次不同浓度之间的显著性差异($P < 0.05$)。

3.2. 硒浓度和培养时间对中华羊茅内生真菌固体培养菌丝体钾含量的影响

当添加硒浓度 0.2~0.4 mmol/L 时，菌丝体钾含量在不同培养时间条件下存在显著或极显著差异($P < 0.05$, $P < 0.001$)；当培养时间 5 周时，不同硒浓度条件下钾含量存在极显著性差异($P < 0.001$) (表 1)。硒浓度和培养时间对菌丝体钾含量的影响结果见表 3。当培养时间为 4 周~8 周时，对照组中菌丝体钾含量差异不显著；当硒浓度为 0.1 mmol/L 时，培养第 7 周的菌丝体钾含量显著低于培养时间为 5 周和 8 周菌丝体钾含量($P < 0.05$)；当硒浓度为 0.2 mmol/L 时，培养第 7 周的菌丝体钾含量显著低于培养时间为 6 周和 8 周菌丝体钾含量($P < 0.05$)；当硒浓度为 0.3、0.4 mmol/L 时，菌丝体钾含量均于第 8 周达到最大值，并显著高于其他培养时间($P < 0.05$)。当培养时间为 4 周时，加硒浓度为 0.3 mmol/L 的菌丝体钾含量明显低于加硒浓度为 0.1、0.2 mmol/L 的菌丝体中钾含量($P < 0.05$)；当培养时间为 5 周时，加硒浓度为 0.1 mmol/L 的菌丝体钾含量明显高于其他处理组($P < 0.05$)；当培养时间为 6 周时，加硒浓度为 0.2 mmol/L 的菌丝体钾含量明显高于对照和加硒浓度为 0.4 mmol/L 的菌丝体钾含量($P < 0.05$)；当培养时间为 7 周时，加硒浓度为 0.2 mmol/L 的菌丝体钾含量明显低于对照($P < 0.05$)；当培养时间为 8 周时，加硒浓度为 0.3 mmol/L 的菌丝体钾含量明显高于对照($P < 0.05$)。

Table 3. Effect of Se concentration on K concentration in mycelium of *Epichloë* sp. from *F. sinensis* in solid culture
表 3. 硒浓度或培养时间对中华羊茅内生真菌固体培养菌丝体中钾含量的影响

硒浓度 (mmol/L)	钾含量(mg/g)				
	4 周	5 周	6 周	7 周	8 周
CK	199.91 ± 4.27 ^{aAB}	203.08 ± 9.82 ^{aB}	195.55 ± 3.56 ^{aB}	210.77 ± 6.66 ^{aA}	209.77 ± 16.37 ^{aB}

Continued

0.1	206.59 ± 15.21 ^{abcA}	223.03 ± 7.93 ^{aA}	204.65 ± 7.72 ^{bcAB}	202.02 ± 8.60 ^{cAB}	221.85 ± 6.11 ^{abAB}
0.2	205.03 ± 3.40 ^{bcA}	201.21 ± 4.70 ^{bcB}	208.21 ± 4.98 ^{abA}	192.68 ± 16.93 ^{cB}	222.87 ± 3.91 ^{aAB}
0.3	189.06 ± 3.03 ^{cB}	200.71 ± 4.07 ^{bB}	201.52 ± 7.78 ^{bAB}	204.58 ± 4.60 ^{bAB}	230.41 ± 4.15 ^{aA}
0.4	202.97 ± 8.13 ^{bAB}	166.65 ± 15.41 ^{cC}	195.67 ± 7.72 ^{bB}	203.85 ± 5.29 ^{bAB}	223.53 ± 4.83 ^{aAB}

注：同行中小写字母表示同一浓度不同周次之间的显著性差异($P < 0.05$)，同列中大写字母表示相同周次不同浓度之间的显著性差异($P < 0.05$)。

3.3. 硒浓度和培养时间对中华羊茅内生真菌固体培养菌丝体钙含量的影响

硒浓度和培养时间对中华羊茅内生真菌 *Epichloë* sp. 固体培养菌丝体钙含量的影响达到显著或极显著水平($P < 0.05$, $P < 0.001$) (表 1)。不同硒浓度和培养时间对菌丝体钙含量影响不一致(表 4)。当培养时间为 4 周~8 周时，对照组和加硒浓度 0.3 mmol/L 的菌丝体钙含量均于培养时间第 7 周达到最大值，其含量显著高于其他培养时间的钙含量($P < 0.05$)；加硒浓度 0.1、0.4 mmol/L 的菌丝体钙含量均于第 5 周达到最大值，其含量显著高于其他培养时间($P < 0.05$)；加硒浓度 0.2 mmol/L 的菌丝体钙含量于培养时间 4 周和 7 周时明显低于其他培养时间($P < 0.05$)。当培养时间为 4 周时，加硒浓度为 0.2、0.3 mmol/L 的菌丝体钙含量明显高于其他处理组($P < 0.05$)；当培养时间为 5 周时，加硒浓度为 0.1 mmol/L 的菌丝体钙含量明显高于加硒浓度 0、0.2、0.3 mmol/L 处理组($P < 0.05$)；当培养时间为 6 周时，加硒浓度为 0.2 mmol/L 的菌丝体钙含量明显高于其他处理组($P < 0.05$)；当培养时间为 7 周时，对照组和加硒浓度为 0.3 mmol/L 的菌丝体钙含量明显高于加硒浓度 0.1、0.2、0.4 mmol/L 处理组($P < 0.05$)；当培养时间为 8 周时，对照组和加硒浓度为 0.2 mmol/L 的菌丝体钙含量明显高于加硒浓度 0.1、0.3、0.4 mmol/L 处理组($P < 0.05$)。

Table 4. Effect of Se concentration on Ca concentration in mycelium of *Epichloë* sp. from *F. sinensis* in solid culture

表 4. 硒浓度或培养时间对中华羊茅内生真菌固体培养菌丝体中钙含量的影响

硒浓度(mmol/L)	钙含量(mg/g)				
	4 周	5 周	6 周	7 周	8 周
CK	1.27 ± 0.04 ^{dC}	1.37 ± 0.16 ^{dD}	3.35 ± 0.13 ^{cB}	4.65 ± 0.22 ^{aA}	4.35 ± 0.06 ^{bA}
0.1	2.14 ± 0.12 ^{dB}	5.17 ± 0.33 ^{aA}	3.48 ± 0.07 ^{cB}	3.40 ± 0.23 ^{bB}	3.15 ± 0.22 ^{cB}
0.2	3.69 ± 0.30 ^{bA}	4.21 ± 0.15 ^{aB}	4.37 ± 0.26 ^{aA}	3.35 ± 0.15 ^{bC}	4.43 ± 0.31 ^{aA}
0.3	3.48 ± 0.11 ^{bA}	3.10 ± 0.10 ^{bC}	1.60 ± 0.16 ^{cC}	4.66 ± 0.14 ^{aA}	3.41 ± 0.45 ^{bB}
0.4	0.71 ± 0.10 ^{dD}	4.92 ± 0.87 ^{aAB}	0.27 ± 0.03 ^{dD}	3.25 ± 0.10 ^{bC}	2.28 ± 0.21 ^{cC}

注：同行中小写字母表示同一浓度不同周次之间的显著性差异($P < 0.05$)，同列中大写字母表示相同周次不同浓度之间的显著性差异($P < 0.05$)。

3.4. 硒浓度和培养时间对中华羊茅内生真菌固体培养菌丝体铁含量的影响

硒浓度和培养时间对中华羊茅内生真菌菌丝体铁含量的影响见表 1 和表 5。当添加硒浓度为 0.1~0.3 mmol/L 时，菌丝体铁含量在不同培养时间条件下存在显著或极显著性差异($P < 0.05$, $P < 0.001$)；当培养时间为 4、6、8 周时，不同硒浓度下的铁含量存在显著性差异($P < 0.05$) (表 1)。当培养时间为 4 周~8 周时，培养时间第 4 周对照组菌丝体铁含量显著低于培养时间为 6 周的铁含量($P < 0.05$)；加硒浓度 0.1 mmol/L 的菌丝体铁含量于第 8 周达到最大值，其含量显著高于其他培养时间($P < 0.05$)；加硒浓度 0.2 mmol/L 的菌丝体铁含量于培养时间 4 周时明显高于其他培养时间($P < 0.05$)；加硒浓度 0.3 mmol/L 的菌

丝体铁含量于培养时间 6 周时明显高于其他培养时间($P < 0.05$)。当培养时间为 4 周时, 加硒浓度为 0.2 mmol/L 的菌丝体铁含量明显高于对照组和加硒浓度 0.1、0.3 mmol/L 处理组($P < 0.05$); 当培养时间为 5 周时, 加硒浓度为 0.2 mmol/L 的菌丝体铁含量显著低于加硒浓度 0.2 mmol/L 处理组($P < 0.05$); 当培养时间为 6 周时, 加硒浓度为 0.3 mmol/L 的菌丝体铁含量显著高于其他处理组($P < 0.05$); 当培养时间为 7 周时, 加硒浓度为 0.4 mmol/L 的菌丝体铁含量显著高于加硒浓度为 0.1、0.2 mmol/L 处理组($P < 0.05$); 当培养时间为 8 周时, 加硒浓度为 0.1、0.4 mmol/L 的菌丝体铁含量显著高于其他处理组($P < 0.05$)。

Table 5. Effect of Se concentration on Fe concentration in mycelium of *Epichloë* sp. from *F. sinensis* in solid culture
表 5. 硒浓度或培养时间对中华羊茅内生真菌固体培养菌丝体中铁含量的影响

硒浓度(mmol/L)	铁含量(mg/g)				
	4 周	5 周	6 周	7 周	8 周
CK	1.94 ± 0.07 ^{bC}	2.39 ± 0.39 ^{abAB}	2.91 ± 0.85 ^{aB}	2.42 ± 0.38 ^{abAB}	2.35 ± 0.21 ^{abB}
0.1	2.32 ± 0.36 ^{bBC}	2.34 ± 0.04 ^{bAB}	2.11 ± 0.15 ^{bcC}	1.95 ± 0.09 ^{cC}	2.77 ± 0.10 ^{aA}
0.2	2.79 ± 0.29 ^{aA}	2.00 ± 0.21 ^{bB}	1.81 ± 0.23 ^{bC}	2.05 ± 0.16 ^{bBC}	1.87 ± 0.18 ^{bC}
0.3	2.33 ± 0.08 ^{cBC}	2.80 ± 0.07 ^{bA}	4.02 ± 0.03 ^{aA}	2.37 ± 0.32 ^{cABC}	2.35 ± 0.36 ^{cB}
0.4	2.53 ± 0.19 ^{aAB}	2.38 ± 0.41 ^{aAB}	2.55 ± 0.28 ^{aBC}	2.52 ± 0.03 ^{aA}	2.81 ± 0.09 ^{aA}

注: 同行中小写字母表示同一浓度不同周次之间的显著性差异($P < 0.05$), 同列中大写字母表示相同周次不同浓度之间的显著性差异($P < 0.05$)。

3.5. 硒浓度和培养时间对中华羊茅内生真菌固体培养菌丝体硒含量的影响

培养时间和硒浓度对菌丝体硒含量的影响达到极显著水平($P < 0.001$) (表 1)。当培养时间相同时, 对照组菌丝体中硒含量显著低于加硒组($P < 0.05$)。在不加硒和硒浓度为 0.1、0.2、0.3、0.4 mmol/L 条件下, 随着培养时间的延长菌丝体硒含量表现出先升后降趋势(表 6)。对照组和硒浓度为 0.1 mmol/L 时菌丝体硒含量均于第 7 周达到最大值, 其含量显著高于其它培养时间($P < 0.05$); 在硒浓度为 0.2、0.3、0.4 mmol/L 条件下, 培养第 5 周的菌丝体硒含量明显高于其他培养时间($P < 0.05$)。

Table 6. Effect of Se concentration on Se concentration in mycelium of *Epichloë* sp. from *F. sinensis* in solid culture
表 6. 硒浓度或培养时间对中华羊茅内生真菌固体培养菌丝体中硒含量的影响

硒浓度 (mmol/L)	硒含量(μg/g)				
	4 周	5 周	6 周	7 周	8 周
CK	0.82 ± 0.03 ^{eD}	1.68 ± 0.1 ^{dD}	2.17 ± 0.09 ^{cE}	3.08 ± 0.12 ^{aD}	2.52 ± 0.18 ^{bD}
0.1	254.13 ± 8.4 ^{dC}	343.51 ± 21.77 ^{cC}	363.96 ± 7.45 ^{bD}	407.72 ± 2.82 ^{aC}	228.85 ± 3.28 ^{eC}
0.2	957.79 ± 15.69 ^{bB}	1353.53 ± 32.29 ^{aB}	737.37 ± 38.79 ^{cC}	710.05 ± 9.21 ^{cB}	370.66 ± 11.93 ^{dB}
0.3	1185.48 ± 40.76 ^{cA}	1519.81 ± 7.76 ^{aA}	1442.58 ± 321.29 ^{bA}	935.19 ± 3.46 ^{dA}	232.5 ± 18.1 ^{eC}
0.4	1167.21 ± 24.71 ^{cA}	1351.78 ± 20.46 ^{aB}	1259.88 ± 52.25 ^{bB}	707.36 ± 17.62 ^{dB}	686.92 ± 14.95 ^{dA}

注: 同行中小写字母表示同一浓度不同周次之间的显著性差异($P < 0.05$), 同列中大写字母表示相同周次不同浓度之间的显著性差异($P < 0.05$)。

3.6. 矿质营养各组分之间的相关性分析

表 7 为磷、钾、钙、铁和硒含量组分之间的相关性分析结果。加硒组钙含量和铁含量存在较强的负

相关性,达到显著水平($P < 0.05$);钾含量与硒含量之间的相关系数为 -0.657 ,达到极显著水平($P < 0.01$)。对照组磷含量与硒含量、钙含量与硒含量之间存在显著的正相关性($P < 0.05$);磷含量与钾含量之间的相关系数为 0.995 ,达到极显著水平($P < 0.01$)。

Table 7. Correlation of mineral nutritions in mycelia of *Epichloë* sp. from *F. sinensis*

表 7. 中华羊茅内生真菌菌丝体矿质营养之间的相关性分析

	P		K		Ca		Fe		Se	
	Se ⁴⁺	CK	Se ⁴⁺	CK	Se ⁴⁺	CK	Se ⁴⁺	CK	Se ⁴⁺	CK
P	1	1	-0.091	0.664	-0.107	0.995**	-0.197	0.377	-0.124	0.933*
K			1	1	0.021	0.590	-0.002	-0.288	-0.657**	0.631
Ca					1	1	-0.474*	0.432	-0.235	0.926*
Fe							1	1	0.404	0.531
Se									1	1

注: *表示差异显著($P < 0.05$), **表示差异极显著($P < 0.01$)。

4. 讨论与结论

矿质元素种类和浓度梯度影响着菌丝体生长以及富集矿质元素的能力[10] [11]。在 PDA 培养基中添加 1000 mg/L 的 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 能明显促进菌丝体生长,使钙的富集率达到 0.07%; $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ 为最适宜的铁源,当添加浓度为 300 mg/L 时铁的富集率高达 0.29%; 当添加 175 mg/L 浓度的 ZnSO_4 时,菌丝体中锌的富集率最高达到 0.57% [11]。尹智美采用添加 2 $\mu\text{g/mL}$ 亚硒酸钠的发酵培养基作为雅致放射毛霉的培养基质,富硒菌丝体中钠、钾、钙、锌、硒、镉含量高于普通菌丝,而镁、锰、铜、钡、铅和锑的含量低于普通菌丝[24]。本试验发现随着硒浓度的增加菌丝体生长速度减慢,当培养 4 周~6 周时,适宜的硒浓度提高菌丝体磷、钾、铁和钙含量(表 2~5);菌丝体中硒含量随着添加硒浓度的量而显著增加($P < 0.05$),随着培养时间的延长其变化呈现升降趋势(表 6)。在加硒培养条件下中华羊茅内生真菌菌丝体钙含量与铁含量、钾含量与硒含量之间存在显著或极显著的负相关性(表 7);而在未加硒培养条件下菌丝体磷含量与硒含量、钙含量与硒含量、磷含量与钾含量之间存在显著或极显著的正相关性(表 7)。由此可见,硒浓度和培养时间影响着中华羊茅内生真菌菌丝体吸收矿质营养,对于其他营养物质的吸收和利用有待研究。

基金项目

国家自然科学基金地区科学基金项目(31760697)。

参考文献

- [1] Siegel, M.R., Latch, G.C.M. and Johnson, M.C. (1987) Fungal Endophytes of Grasses. *Annual Review of Phytopathology*, 25, 293-315. <https://doi.org/10.1146/annurev.py.25.090187.001453>
- [2] 南志标. 内生真菌在我国部分国产和引进禾草品种种子中的分布[J]. 草业学报, 1996, 5(2): 1-8.
- [3] 金文进, 李春杰, 南志标. 中华羊茅内生真菌 *Neotyphodium* sp.生物学与生理学特性的研究[J]. 菌物学报, 2009, 28(3): 363-369.
- [4] 杨洋, 陈娜, 李春杰. 甘肃中华羊茅内生真菌形态多样性[J]. 草业科学, 2011, 28(2): 273-278.
- [5] 旷宇, 汪建军, 许文博, 等. 中华羊茅 *Epichloë* 内生真菌的 actin 序列分析[J]. 草业学报, 2016, 25(9): 125-131.
- [6] 刘静, 周景乐, 陈振江, 等. 内生真菌发酵液浸种对干旱胁迫下黑麦草种子萌发的影响[J]. 草业科学, 2018, 35(4): 839-847.

- [7] 周连玉, 钟松, 朵红梅, 等. 中华羊茅内生真菌 *Epichloë* sp. 挥发性物质的抑菌活性及成分分析[J]. 天然产物研究与开发, 2019, 31(9): 1543-1551.
- [8] 邱鹏程, 梁宗锁, 陈德育. 矿质元素对猪苓菌丝生长发育的影响[J]. 陕西农业科学, 2007(4): 67-71.
- [9] 苏菲娅, 辜夕容, 邓雪梅, 等. 碳、氮和磷对松乳菇生长及矿质营养的影响[J]. 食品与发酵工业, 2015, 41(5): 99-104.
- [10] 沈文英, 陈祖校. 钙锌在鸡腿菇菌丝体中的富集及其生长的影响[J]. 绍兴文理学院学报, 2001, 21(3): 57-60.
- [11] 于研, 郭晓帆, 王玉峰, 等. 富集矿质元素桦纤孔菌总三萜含量研究[J]. 中药材, 2016, 39(8): 1687-1691.
- [12] Sadykova, V.S., Gromovkyh, T.I., Kazennova, D.V., Cheremnykh, E.G. and Brusnikina, L.I. (2012) Production of a Feed Additive Based on Selenium-Containing Mycelium of Fungi of the Genus *Trichoderma*. *Russian Agricultural Sciences*, **38**, 234-238. <https://doi.org/10.3103/S1068367412030172>
- [13] Kieliszek, M., Błażej, S., Bzducha-Wróbel, A. and Kot, A.M. (2019) Effect of Selenium on Growth and Antioxidative System of Yeast Cells. *Molecular Biology Reports*, **46**, 1797-1808. <https://doi.org/10.1007/s11033-019-04630-z>
- [14] Dong, J.Z., Lei, C., Ai, X.R. and Wang, Y. (2012) Selenium Enrichment on *Cordyceps militaris* Link and Analysis on Its Main Active Components. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, **166**, 1215-1224. <https://doi.org/10.1007/s12010-011-9506-6>
- [15] Vetchinkina, E., Loshchinina, E., Kursky, V. and Nikitina, V. (2013) Reduction of Organic and Inorganic Selenium Compounds by the Edible Medicinal Basidiomycete *Lentinula edodes* and the Accumulation of Elemental Selenium Nanoparticles in Its Mycelium. *Microbiology Physiology and Biochemistry*, **51**, 829-835. <https://doi.org/10.1007/s12275-013-2689-5>
- [16] 杨淑云, 陈如登, 陈仁财, 等. 姬松茸富硒液体发酵条件优化及其菌丝营养成分分析[J]. 保鲜与加工, 2017, 17(3): 103-106.
- [17] 黄六容, 赵康妹, 张莹, 等. 硒对金耳发酵液营养成分和抗氧化能力的影响[J]. 湖北农业科学, 2009, 48(9): 2231-2233.
- [18] 周连玉, 焦璐, 李逢劲. 虎掌菌菌丝富硒培养的研究[J]. 微生物学杂志, 2020, 40(2): 72-77.
- [19] 张炎灼, 吴俐, 沈恒胜, 等. 富硒秀珍菇液体培养菌丝生长规律的动态分析[J]. 福建农业学报, 2012, 27(4): 400-404.
- [20] 李和生. 食品分析[M]. 北京: 科学出版社, 2014.
- [21] 傅晓莉. 分光光度法测定中药注射剂中钾离子的含量[J]. 成都医药, 1998, 24(3): 176-177.
- [22] 方明建, 尹益勤. 偶氮氯膦III吸光光度法测定水中微量钙[J]. 2004, 40(8): 459-461.
- [23] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会和国家食品药品监督管理总局. GB5009.93-2017 食品安全国家标准 食品中硒的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- [24] 尹智美. 富硒对雅致放射毛霉菌丝化学成分的影响[J]. 安徽农学通报, 2016, 22(13): 42-43.