

基于高产胞外粗多糖的白灵芝发酵茶培养基配方优化

卯明娟, 刘迪, 周会明, 白玉英, 洪鹏, 王佳琳, 杨流波, 陈真敏

Optimization of *Ganoderma leucocontextum* Fermented Tea Medium Formula Based on High-yield Extracellular Crude

MAO Mingjuan, LIU Di, ZHOU Huiming, BAI Yuying, HONG Peng, WANG Jialin, YANG Liubo, and CHENG Zhenming

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023040040>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

基于胞外多糖和菌丝生物量的香菇发酵培养基优化

Optimization of fermentation medium for extracellular polysaccharides and biomass by *Lentinus edodes*

食品工业科技. 2017(12): 176-181 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2017.12.032>

银耳芽孢多糖发酵培养基配方、发酵条件的优化及其放大发酵试验

Optimization of Fermentation Medium Formula and Fermentation Conditions of *Tremella fuciformis* Spore Polysaccharide and Its Scale-up Fermentation Experiment

食品工业科技. 2021, 42(20): 173-182 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021030083>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

卯明娟, 刘迪, 周会明, 等. 基于高产胞外粗多糖的白灵芝发酵茶培养基配方优化 [J]. 食品工业科技, 2024, 45(4): 93-100. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023040040

MAO Mingjuan, LIU Di, ZHOU Huiming, et al. Optimization of *Ganoderma leucocontextum* Fermented Tea Medium Formula Based on High-yield Extracellular Crude[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(4): 93-100. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023040040

· 生物工程 ·

基于高产胞外粗多糖的白灵芝发酵茶培养基 配方优化

卯明娟¹, 刘迪², 周会明^{1,*}, 白玉英¹, 洪鹏¹, 王佳琳¹, 杨流波¹, 陈真敏¹

(1. 滇西科技师范学院生物技术与工程学院, 云南临沧 677000;

2. 延边大学农学院, 吉林延吉 133002)

摘要: 为探究白灵芝在液体茶基质上分泌胞外粗多糖的最佳营养条件及其影响因素, 本研究在单因素实验的基础上, 通过正交试验和方差分析, 优化了该菇在茶培养基上胞外粗多糖形成的营养条件, 并采用相关性分析与通径分析, 探究了其液体培养特性与胞外粗多糖分泌的关系。结果表明, 在马铃薯 50 g/L、葡萄糖 40 g/L、红土 3 g/L、普洱茶 20 g/L、茶粉颗粒大小 0.075 mm 的茶培养基上, 白灵芝的胞外粗多糖产量最高 (1.49±0.33 g/L) 且受各营养条件的影响顺序为葡萄糖>茶叶种类>红土>马铃薯>茶粉颗粒大小。此外, 该菇胞外粗多糖的分泌受发酵液可溶性固形物、菌球数量的影响显著, 其中前者对其间接影响最大, 后者对其直接作用与综合作用最大。总之, 茶培养基的营养条件 (种类、浓度、颗粒大小等) 与白灵芝的液体培养特性对其胞外粗多糖的分泌影响较大且存在交互作用, 上述结果可为该菇多糖的提取及功能性食品的开发提供理论参考。

关键词: 白灵芝, 茶基质, 液体发酵, 胞外粗多糖, 优化试验

中图分类号: S646.9

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2024)04-0093-08

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023040040



本文网刊:

Optimization of *Ganoderma leucocontextum* Fermented Tea Medium Formula Based on High-yield Extracellular Crude

MAO Mingjuan¹, LIU Di², ZHOU Huiming^{1,*}, BAI Yuying¹, HONG Peng¹, WANG Jialin¹,
YANG Liubo¹, CHEN Zhenmin¹

(1. School of Biotechnology and Engineering, West Yunnan University, Lincang 677000, China;

2. Agricultural College, Yanbian University, Yanji 133002, China)

Abstract: To investigate the optimal nutritional conditions and their contributing factors for the secretion of extracellular crude polysaccharides with *Ganoderma leucocontextum* on a liquid tea substrate, this study optimized the nutritional conditions of its extracellular crude polysaccharides formation by orthogonal experiment and analysis of variance on the basis of the single-factor test, and explored the relevance between its liquid culture characteristics and the secretion of extracellular crude polysaccharides using correlation and path analyses. The results of study revealed that the greatest output of extracellular crude polysaccharide (1.49±0.33 g/L) was achieved on a tea culture medium of 50 g/L potato, 40 g/L glucose, 3 g/L laterite, 20 g/L Pu'er tea and 0.075 mm tea powder particle size, and was affected by each nutritional condition in the descending order of glucose>tea variety>laterite>potato>tea powder particle size. Moreover, the secretion of extracellular crude polysaccharides in *G. leucocontextum* was significantly impacted by the soluble solids of the fermentation broth and the number of mycelium balls, with the former having the greatest indirect effect while the latter, the

收稿日期: 2023-04-06

基金项目: 临沧市科技创新人才培养项目 (202204AC100001-RC01); 临沧市建设国家可持续发展议程创新示范区科技专项“临沧市台地茶提质增效集成技术体系研究” (202204AC100001-A01); 临沧市科技创新团队 (202204AC100001-TD01)。

作者简介: 卯明娟 (1996-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食用菌的开发与利用, E-mail: 2244637476@qq.com。

* 通信作者: 周会明 (1984-), 男, 硕士, 副教授, 研究方向: 大型真菌种质资源的开发与利用, E-mail: 632243530@qq.com。

greatest direct and combined effect on it. In conclusion, the nutritional conditions (variety, concentration, particle size, etc.) of the tea culture medium and the liquid culture characteristics of *G. leucocontextum* exerted a significant and interactive effect on the secretion of extracellular crude polysaccharides, and the aforesaid results may provide a theoretical reference for extraction of polysaccharides from this mushroom and development of it as functional foods.

Key words: *Ganoderma leucocontextum*; tea substrate; liquid fermentation; extracellular crude polysaccharides; optimization experiment

白灵芝(*Ganoderma leucocontextum*)又称为藏灵芝、白肉灵芝或藏白灵芝,作为一种常见的中药材,其生长于高海拔地区,是灵芝属少有且具有重要经济价值的低温型灵芝种质资源^[1-3]。该菇菌肉洁白,菇体富含多糖类物质^[4]、三萜类化合物^[5]、粗蛋白质等活性成分^[6-7],其中,多糖类物质是白灵芝最主要的活性成分^[8]且含量高于其他普通灵芝品种^[9],具有抗氧化应激^[10]、增强免疫力^[11]、延缓衰老^[12]等多种生物活性和药理作用,为该菇在治疗多种疾病方面提供了一定的理论基础,也已成为保健食品研发的重要资源^[13-14],被称为高品质的种类,售价高于普通灵芝数倍,市场开发前景好^[7,15]。

胞外粗多糖是大型真菌细胞分泌到胞外的多糖物质,参与了多种生理和病理过程,其生物合成过程涉及多种酶催化反应,各种酶的表达和活性受到多种内外因素的调节,如菌株遗传特性^[16]、营养条件^[17]、非营养条件^[18]等因素影响下菇体胞外多糖的产量存在明显的差异,白灵芝也不例外。据胡惠萍等^[15]报道,西藏林芝地区的两株白灵芝菌株其多糖含量差异较大,同时,刘艳芳等^[14]对该菇子实体与菌丝体中多糖含量进行了测定,结果显示,白灵芝液体发酵后菌丝体中的多糖含量明显高于人工栽培子实体,但关于营养因素与非营养因素对该菇胞外粗多糖的影响未见报道。白灵芝作为多糖类活性成分丰富且稀有的药用种质资源,因该菇基础研究系统性不足、人工培养历史短、栽培技术不完善、优良菌种选育滞后、产品开发技术落后等导致其市场供应受限^[19-20],功能性成分有待深入研究。液体发酵技术可提供大型真菌适宜的营养条件,具有生产周期短、成本低、产量高等优点^[21],能在短时间内生产大量的胞外粗多糖^[22]。因此,通过液体发酵技术的手段提高白灵芝胞外粗多糖的产量对推进该菇的开发利用进程具有重要意义。

茶叶是世界公认的健康饮品且具有多重保健功效^[23],对灵芝多糖的形成有显著的促进作用^[24]。马铃薯营养丰富、全面,葡萄糖容易被菌丝体吸收,均能为大型真菌液体发酵提供充足的碳源和能量^[25-26]。红土是茶树生长适宜的土壤类型之一,其浸出液有利于提高菇类的菌丝生物量^[27]。

本研究结合当地的低档茶叶资源,采用液体发酵技术,在马铃薯红土葡萄糖培养基的基础上,以其胞外粗多糖产量为考察指标,探究了基础培养基各组分的浓度、茶叶的种类及其颗粒大小对白灵芝液体

培养特性与胞外粗多糖分泌的影响。同时,采用正交试验、方差分析、相关性分析等方法明确白灵芝高产胞外粗多糖的最佳营养条件及其影响因素,以期为该菇多糖的提取、功能性产品的开发提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

白灵芝(*Ganoderma leucocontextum*)菌种由云南省农业科学院生物技术与种质资源研究所提供;绿茶、白茶、红茶均购于云南省临沧市双江县邦丙乡茶农;普洱茶购于云南省西双版纳州勐海县茶农;马铃薯购于临沧市临翔区老祥云;红土采集于滇西科技师范学院校园绿化林;琼脂、葡萄糖均为分析纯,北京奥博生物技术有限公司。

LS-75HG 型立式压力蒸汽灭菌器 江阴滨江医疗设备有限公司;PB-21PH 酸度计 德国赛多利斯公司;TS-2102 恒温摇床 上海天呈实验仪器制造有限公司;TDL-4 台式离心机 上海安亭科学仪器厂;RE-52 系列旋转蒸发器 上海亚荣生化仪器厂;TD-35 数字折光仪 浙江托普仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 菌种活化、接种及培养 将常温活化的白灵芝菌种转接至 PDA 平板培养基内,27 ℃ 下恒温培养 5~7 d^[28]。待菌丝长满培养基平板后,用孔径为 0.5 cm 的打孔器对菌落均匀打孔,取同心圆 3 个菌块接于各液体培养基内,在 27 ℃、遮光、121 r/min 的恒温摇床内培养 15 d,记录菌丝萌发与菌球形成时间(d)^[29]。

1.2.2 单因素实验 基于发酵基础培养基(马铃薯 200 g,红土 3 g,葡萄糖 20 g,蒸馏水 1 L,pH 自然)分别制作马铃薯(100、200、300 g/L)、葡萄糖(0、10、20、30 g/L)、红土(0、1、2、3 g/L)、茶叶(0、16、20、24 g/L)各单因素液体培养基,其中马铃薯洗净切成 1 cm³ 的小方块,煮至玻璃棒戳后散开,经层纱布过滤,取马铃薯汁;红土研磨后经 200 目网筛处理,粉末煮 10 min 后 8 层纱布过滤,取滤液;有关采用液体发酵法测定食用菌在茶叶基质上其胞外粗多糖产量的研究仅在绿茶上有所报道^[24],故本研究以绿茶为代表开展茶叶添加量筛选试验,试验采用无糖培养基,茶叶在 500 mL 自来水中煮沸 10 min,取茶汤,同时,以上述质量浓度为 20 g/L 的绿茶配方对照,茶叶处理方式由茶汤变为茶粉,干茶叶粉碎后过 200 目网

筛(孔径 0.075 mm),取茶粉。上述培养液分装于三角瓶(100 mL/250 mL)内,每处理 3 次重复,121 °C 高压蒸汽灭菌 30 min,冷却后趁热(30 °C 左右)接菌。

1.2.3 正交试验 根据单因素实验结果,明确正交试验的因素数值范围,在茶叶的质量浓度为 20 g/L 的基础上,参考茶粉颗粒直径相关文献^[30],以马铃薯(A)、葡萄糖(B)、红土(C)、茶叶种类(D)、茶粉颗粒大小(E)为因子,设计 $L_{16}(4^5)$ 正交试验(表 1),每处理 3 次重复,以多糖产量为主要指标,并综合其他指标设计筛选出最佳的组合。

表 1 正交试验因素与水平设计
Table 1 Orthogonal test factor and level design

水平	因素				
	A 马铃薯 (g/L)	B 葡萄糖 (g/L)	C 红土 (g/L)	D 茶叶 种类	E 茶粉颗粒大小 (mm)
1	50	10	0.5	绿茶	1.5(10目)
2	100	20	1	白茶	0.9(20目)
3	200	30	2	红茶	0.15(100目)
4	300	40	3	普洱茶	0.075(200目)

1.2.4 指标测定 发酵液的颜色参照日本传统色彩 CMYK 标准色卡进行比对测定;邀请 10 位食品科学专业且味觉敏感的大学生组成评定小组,采用感官评价法测定发酵液的味道,以甜味、酸味、涩味、苦味、甘甜五个主要感官标准来评价,每个标准又分为轻微、适中、较重三个程度,综合考虑各标准度和程度作为试验结果;取过滤后的发酵液 80 mL,在 4000 r/min 转速下离心 10 min,取 1/2 体积上清液,置于旋转蒸发器上浓缩至 20 mL,再将得到液体用 95% 的乙醇溶液定容至 40 mL,装入三角瓶,置于 4 °C 温度下静置 12 h,4000 r/min 下离心 10 min,弃上清液,取沉淀 37 °C 下烘干、称重,即为胞外粗多糖含量(g/L)^[31];取上述发酵液,采用数字折光仪上测定其可溶性固形物^[32];用酸度计测定 pH^[33];记录菌球的形状与表面特征,取 100 粒菌球,置于培养皿

内排成一排直线,测量其长度,计算其菌球直径(mm)^[34];取 10 mL 初始发酵液检测菌球的数量,并计算菌球总数(个/L);发酵液经 200 目筛过滤后的记录菌球湿重,37 °C 下烘干至恒重,测定菌球干重(g/L),即为菌球生物量^[35]。

1.3 数据处理

采用 SPSS 22.0 软件对试验数据进行显著性 ($P < 0.05$)、相关性以及通径分析^[36],每组实验重复测定三次,结果均用平均值±标准差表示。

2 结果与分析

2.1 不同马铃薯添加量对白灵芝液体培养特性的影响

由表 2 可知,马铃薯为 100 g/L 时,其胞外粗多糖产量与菌球生物量最大,分别达到 0.15 g/L、 4.82 ± 0.55 g/L;马铃薯为 200 g/L 时,白灵芝菌球数量(404.45 ± 54.54 个/L)与菌球直径(11.24 ± 1.75 mm)最大;马铃薯为 300 g/L 时,菌丝萌发(2 d)与菌球形成(3.3 d)时间最短,白灵芝发酵液可溶性固形物含量($1.33\% \pm 0.15\%$)与 pH(4.16)均最大,上述所有最大值与其相应同列最小值相比差异均显著($P < 0.05$)。同时,马铃薯为 200 g/L 时发酵液呈淡黄色,微酸,其余处理均为半透明色、淡菌香味;菌球为球形,表面有少量毛刺。总之,适宜的马铃薯添加量能显著提高该菇胞外粗多糖的产量,正交试验中其 4 个水平设置为 50、100、200、300 g/L。

2.2 不同葡萄糖添加量对白灵芝液体培养特性的影响

由表 3 可知,不同葡萄糖添加量对白灵芝液体培养特性的影响较大,葡萄糖为 0 g/L 时菌丝萌发(2 d)与菌球形成(3 d)时间最短,其发酵液 pH(5.16)最大,葡萄糖为 10 g/L 时其胞外粗多糖产量(0.36 ± 0.02 g/L)与菌球数量(1631.11 ± 93.65 个/L)均最大,葡萄糖为 30 g/L 时其发酵液可溶性固形物含量($1.87\% \pm 0.06\%$)、菌球生物量(6.34 ± 1.14 g/L)、菌球直径(15.21 ± 1.99 mm)均最大,上述所有最大值与其他梯度相比差异均极显著($P < 0.01$)。同时,4 个处理

表 2 不同马铃薯添加量对白灵芝液体培养特性的影响

Table 2 Effects of different potato additions on the liquid culture characteristics of *Ganoderma leucocontextum*

马铃薯(g/L)	菌丝萌发时间(d)	菌球形成时间(d)	胞外粗多糖含量(g/L)	可溶性固形物(%)	pH	菌球直径(mm)	菌球数量(个/L)	菌球生物量(g/L)
100	4	5	0.15 ± 0.01^{aA}	1.00 ± 0.10^{cB}	3.89	7.88 ± 1.58^{bB}	311.11 ± 20.51^{bB}	4.82 ± 0.55^{aA}
200	3	4	0.09 ± 0.01^{bB}	1.17 ± 0.06^{aA}	4.09	11.24 ± 1.75^{aA}	404.45 ± 54.54^{aA}	4.25 ± 0.16^{bA}
300	2	3.3	0.06 ± 0.00^{cB}	1.33 ± 0.15^{aA}	4.16	11.08 ± 0.88^{aA}	316.78 ± 16.78^{bB}	2.92 ± 0.87^{bA}

注:表中所述不同大写字母表示 $P < 0.01$ 水平极显著差异,不同小写字母表示 $P < 0.05$ 水平显著差异,表 3~表 8 同。

表 3 不同葡萄糖添加量对白灵芝液体培养特性的影响

Table 3 Effects of different glucose additions on the liquid culture characteristics of *Ganoderma leucocontextum*

葡萄糖(g/L)	萌发时间(d)	菌球形成时间(d)	胞外粗多糖含量(g/L)	可溶性固形物(%)	pH	菌球直径(mm)	菌球数量(个/L)	菌球生物量(g/L)
0	2	3	0.06 ± 0.00^{cC}	1.27 ± 0.12^{bcB}	5.16	4.85 ± 0.04^{cC}	1153.33 ± 80.00^{bB}	4.42 ± 0.32^{bA}
10	2.7	4	0.36 ± 0.02^{aA}	1.40 ± 0.10^{bB}	3.88	7.10 ± 0.10^{cC}	1631.11 ± 93.65^{aA}	4.20 ± 1.21^{bA}
20	3	4	0.09 ± 0.01^{cC}	1.17 ± 0.06^{cB}	4.09	11.24 ± 1.75^{bB}	404.45 ± 54.54^{cC}	4.25 ± 0.16^{bA}
30	3	4	0.21 ± 0.07^{bB}	1.87 ± 0.06^{aA}	4.10	15.21 ± 1.99^{aA}	75.56 ± 10.18^{dD}	6.34 ± 1.14^{aA}

发酵液均为淡黄色,以淡菌香味为主,其中处理4有轻微酸味;菌球为球形,表面有少量毛刺。总之,添加葡萄糖均能极显著提高该菇胞外粗多糖的产量,正交试验中的4个水平分别设置为10、20、30、40 g/L。

2.3 不同红土添加量对白灵芝液体培养特性的影响

由表4可知,发酵液红土添加量为2 g/L时,其菌球形成时间(3 d)最短,发酵液pH(4.18)与菌球数量(491.11±74.33 个/L)均达到最大;未添加红土时,该菇胞外粗多糖产量(0.55±0.04 g/L)、菌球生物量(7.14±0.28 g/L)、菌球直径(12.88±0.75 mm)均最大;红土添加量为1 g/L时,其菌丝萌发时间最短(2 d)。除发酵液酸碱度外,上述所有最大值与其相应同列最小值相比差异均显著($P<0.05$)。同时,4个处理发酵液为淡黄色,以淡菌香味为主,但添加2 g/L红土配方上为香甜味;菌球为球形,除未添加红土配方菌球毛刺较多外,其他处理表面毛刺较少。总之,添加红土不利于该菇胞外粗多糖的分泌,但为验证是否与其它因素存在交互作用,故设置其正交4个水平分别为0.5、1、2、3 g/L。

2.4 不同茶叶添加量及其处理方式对白灵芝液体培养特性的影响

试验结果表明,不同茶叶(以绿茶为代表)浓度对白灵芝液体培养特性的影响较大,由表5可知,未添加绿茶茶汤时,该菇菌丝萌发(2 d)与菌球形成(3 d)时间最短,其发酵液可溶性固形物含量(1.27%±0.12%)、菌球数量(1153.33±80.00 个/L)、菌球生物量(4.42±0.32 g/L)均最大;绿茶添加量为16 g/L时,发酵液pH(5.61)、菌球直径(33.51±3.63 mm)均最大;绿茶添加量为20 g/L时,其胞外粗多糖含量(0.29±0.03 g/L)最大。上述所有最大值与其他梯度

相比差异均显著($P<0.05$)。同时,4个处理发酵液为深褐色,淡菌香味和茶香味;菌球球形,毛刺多。总之,添加绿茶能极显著提高该菇胞外粗多糖的产量,且不同茶叶种类其营养成分差距较大,为获得更多胞外粗多糖产量,故固定茶叶的浓度为20 g/L,设置不同种类的茶叶(绿茶、白茶、红茶、普洱茶)作为正交试验的4个水平。

由表6可知,该菇在2种茶叶处理方式上其菌丝萌发时间相同,其中添加茶粉浓度为20 g/L的培养基上该菇胞外粗多糖产量是茶汤处理上的5.07倍,除发酵液可溶性固形物(0.97±0.06%)与pH(4.61)外,其余参数均明显高于茶汤组,故添加茶粉更有利于多糖分泌和菌丝体生长,且菌液具有清香味,菌香味更浓。总之,为探究不同茶叶颗粒大小对该菇胞外粗多糖产量的影响,故设置不同茶粉颗粒大小(1.5、0.9、0.15、0.075 mm)作为正交试验的4个水平。

2.5 正交试验组合对白灵芝液体培养特性的影响

由表7可知,极差分析法结果显示,5个因素对白灵芝胞外粗多糖分泌的影响从大到小顺序为:葡萄糖>茶叶种类>红土>马铃薯>茶粉颗粒大小,其最优组合($A_2B_4C_4D_4E_4$)与显著性分析($A_1B_4C_4D_4E_4$)结果不一致,经进一步验证试验,该菇在组合 $A_1B_4C_4D_4E_4$ 上除发酵液pH与菌球直径值均略小于组合 $A_2B_4C_4D_4E_4$ 外,其余参数均优于后者,其中胞外粗多糖产量达到1.49±0.33 g/L。因此,以胞外粗多糖为指标,最优组合为:马铃薯50 g/L、葡萄糖40 g/L、红土3 g/L、普洱茶20 g/L、茶粉颗粒大小0.075 mm。

由表8可知,16种正交组合对该菇液体培养特性影响较大,其中该菇在配方9、配方16上菌丝萌发(2 d)与菌球形成(3 d)时间均最短,配方12均最

表4 不同红土添加量对白灵芝液体培养特性的影响

Table 4 Effects of different red soil additions on the liquid culture characteristics of *Ganoderma leucocontextum*

红土(g/L)	萌发时间(d)	菌球形成时间(d)	胞外粗多糖含量(g/L)	可溶性固形物(%)	pH	菌球直径(mm)	菌球数量(个/L)	菌球生物量(g/L)
0	3	4.3	0.55±0.04 ^{ab}	1.27±0.06 ^a	3.77	12.88±0.75 ^{ab}	146.67±11.55 ^{bc}	7.14±0.28 ^a
1	2	5	0.33±0.05 ^{bb}	1.10±0.00 ^c	4.14	6.41±0.53 ^{bc}	255.56±13.88 ^{cb}	4.39±1.16 ^{bb}
2	2.7	3	0.13±0.02 ^c	1.22±0.03 ^{abAB}	4.18	8.86±1.63 ^{cb}	491.11±74.33 ^a	4.36±0.54 ^{bb}
3	3	4	0.09±0.01 ^{cc}	1.17±0.06 ^{bbc}	4.09	11.24±1.75 ^{ba}	404.45±54.54 ^{ba}	4.25±0.16 ^{bb}

表5 不同绿茶添加量对白灵芝液体培养特性的影响

Table 5 Effects of different green tea additions on the liquid culture characteristics of *Ganoderma leucocontextum*

绿茶(g/L)	萌发时间(d)	菌球形成时间(d)	胞外粗多糖含量(g/L)	可溶性固形物(%)	pH	菌球直径(mm)	菌球数量(个/L)	菌球生物量(g/L)
0	2	3	0.06±0.00 ^c	1.27±0.12 ^a	5.16	4.85±0.04 ^{cc}	1153.33±80.00 ^a	4.42±0.32 ^a
16	6	8	0.14±0.02 ^{bb}	0.97±0.06 ^b	5.61	33.51±3.63 ^a	22.22±3.85 ^{bb}	2.35±0.70 ^{bb}
20	7	8	0.29±0.03 ^a	1.20±0.10 ^{ba}	4.65	13.29±2.17 ^{bb}	44.45±3.85 ^{bb}	1.75±0.41 ^{cb}
24	7	8.7	0.12±0.01 ^{bb}	0.87±0.06 ^{dc}	4.76	13.86±0.98 ^{bb}	20.00±1.67 ^{bb}	0.77±0.07 ^{dc}

表6 不同绿茶处理方式对白灵芝液体培养特性的影响

Table 6 Effects of different green tea treatments on liquid culture characteristics of *Ganoderma leucocontextum*

茶叶处理方式	萌发时间(d)	菌球形成时间(d)	胞外粗多糖含量(g/L)	可溶性固形物(%)	pH	菌球直径(mm)	菌球数量(个/L)	菌球生物量(g/L)
茶汤	7	8	0.29±0.03	0.97±0.06	4.65	13.29±2.17	44.45±3.85	1.75±0.41
茶粉	7	8.7	1.47±0.01	0.87±0.06	4.61	22.90±2.10	56.67±3.34	10.71±0.96

表 7 以胞外粗多糖产量为指标的极差分析表
Table 7 Range analysis table with extracellular crude polysaccharide production as index

实验号	A马铃薯	B葡萄糖	C红土	D茶叶种类	E茶粉颗粒大小	胞外粗多糖含量(g/L)
1	1	1	1	1	1	0.28±0.01 ^{ab}
2	1	2	2	2	2	0.36±0.03 ^{ab}
3	1	3	3	3	3	0.59±0.36 ^{bcB}
4	1	4	4	4	4	1.18±0.15 ^{aA}
5	2	1	2	3	4	0.44±0.22 ^{bcB}
6	2	2	1	4	3	0.66±0.09 ^{bcB}
7	2	3	4	1	2	0.66±0.10 ^{bcB}
8	2	4	3	2	1	0.79±0.28 ^{bAB}
9	3	1	3	4	2	0.38±0.21 ^{ab}
10	3	2	1	3	1	0.57±0.09 ^{bcB}
11	3	3	4	2	4	0.42±0.17 ^{bcB}
12	3	4	2	1	3	0.67±0.07 ^{bcB}
13	4	1	4	2	3	0.50±0.28 ^{bcB}
14	4	2	3	1	4	0.41±0.11 ^{bcB}
15	4	3	2	4	1	0.62±0.34 ^{bcB}
16	4	4	1	3	2	0.61±0.24 ^{bcB}
K ₁	2.41	1.60	2.12	2.02	2.26	
K ₂	2.55	2.00	2.09	2.07	2.01	
K ₃	2.04	2.29	2.17	2.21	2.42	
K ₄	2.14	3.25	2.76	2.84	2.45	
k ₁	0.60	0.40	0.53	0.51	0.57	
k ₂	0.64	0.50	0.52	0.52	0.50	
k ₃	0.51	0.57	0.54	0.55	0.61	
k ₄	0.54	0.81	0.69	0.71	0.61	
R	0.13	0.41	0.17	0.2	0.11	
主次顺序			B>D>C>A>E			
优水平	A ₂	B ₄	C ₄	D ₄	E ₄	
优组合	A ₂ B ₄ C ₄ D ₄ E ₄					

长;其发酵液可溶性固形物含量(4.87±0.25%)、pH(4.89)、菌球直径(12.90±8.32 mm)、菌球数量(5493.33±170.10 个/L)、菌球生物量(32.18±5.19 g/L)

分别在配方 12、配方 6、配方 9、配方 4、配方 8 上最大,而在配方 5、配方 1、配方 4、配方 13、配方 9 上最小,且上述所有最大值与其他梯度相比在 0.05 与 0.01 水平上差异均显著($P<0.05$)。同时,发酵液多为枯茶色和赤褐色(图 1),以甜菌香味为主且伴有清凉和微涩口感;菌球以球形或卵形为主,少数不规则,均有毛刺,配方 3 和 11 毛刺较长,配方 4、6、7 毛刺较短,配方 9、11、12 发酵液较清澈。

2.6 白灵芝胞外粗多糖含量与其它液体培养特性相关性与通径分析

由表 9 可知,白灵芝的胞外粗多糖含量与发酵液 pH、菌球生物量呈不显著正相关,与发酵液可溶性固形物、菌球数量呈显著正相关($P<0.05$),与菌丝萌发时间、菌球形成时间、菌球直径呈不显著负相关($P>0.05$)。因此,该菇胞外粗多糖含量与其它液体培养特性之间均存在一定程度的相关性。

上述相关性仅表明白灵芝胞外粗多糖含量与其它液体培养特性之间的直接关系,需要通过逐步回归分析法把上述相关性分解为直接作用与间接作用,以明确不同液体培养特性的相互作用对该菇胞外粗多糖分泌的影响。

以胞外粗多糖含量为因变量 Y,菌丝萌发时间、菌球形成时间、可溶性固形物含量、pH、菌球直径、菌球数量、菌球生物量分别为自变量 X₁、X₂、X₃、X₄、X₅、X₆、X₇,剔除回归系数不显著的自变量,建立多元线性回归方程 $Y=0.048+0.111X_3+9.939X_6$ ($F=28.365, P=0.000<0.01$)且该方程 F 检验达到极显著,有必要再次做通径分析。

由表 10 可知,在与胞外粗多糖含量(Y)的相关性中,自变量与 Y 的相关系数、直接通径系数以及决策系数均为 X₆>X₃,间接通径系数总和却相反(X₃>X₆),说明 X₆ 对 Y 的相关程度、直接作用、综合作用

表 8 不同正交组合对白灵芝液体培养特性的影响

Table 8 Effects of different orthogonal combinations on liquid culture characteristics of *Ganoderma leucocontextum*

实验号	菌丝萌发时间(d)	菌球形成时间(d)	可溶性固形物(%)	pH	菌球直径(mm)	菌球数量(个/L)	菌球生物量(g/L)
1	3	4.3	2.17±0.21 ^{fgF}	4.31	4.97±0.47 ^{bcdAB}	1130.33±117.90 ^{dD}	13.69±0.43 ^{efDE}
2	4	5	2.90±0.10 ^{deDE}	4.38	7.00±1.57 ^{abcdAB}	1106.67±170.10 ^{eE}	19.81±1.00 ^{cdCD}
3	4	5	3.80±0.17 ^{bcB}	4.36	11.47±2.89 ^{abcAB}	300.00±10.00 ^{gG}	15.25±1.14 ^{deFD}
4	3	4	4.20±0.62 ^{bAB}	4.65	2.93±0.21 ^{dB}	5493.33±170.10 ^{aA}	22.12±1.73 ^{bcBC}
5	4	5	1.93±0.25 ^{gF}	4.51	7.50±2.43 ^{abcdAB}	1820.00±131.25 ^{dD}	13.88±1.04 ^{efDE}
6	2	3.3	2.50±0.10 ^{eEF}	4.89	4.57±0.80 ^{cdAB}	3030.00±81.85 ^{bB}	16.61±1.05 ^{deCDE}
7	3	4.3	3.70±0.46 ^{bcBC}	4.41	6.13±1.00 ^{abcdAB}	3026.67±181.48 ^{bB}	15.76±4.06 ^{defCDE}
8	3.3	5	4.23±0.46 ^{bAB}	4.45	8.50±1.04 ^{abcdAB}	3083.33±320.05 ^{bB}	32.18±5.19 ^{aA}
9	2	3	1.97±0.06 ^{fgF}	4.72	12.90±8.32 ^{aA}	890.00±60.83 ^{efEF}	11.44±1.40 ^{fE}
10	4	5.3	3.03±0.21 ^{dCDE}	4.49	8.90±0.90 ^{abcdAB}	970.00±138.92 ^{efE}	15.77±1.77 ^{defCDE}
11	4	5.3	3.73±0.15 ^{bcBC}	4.56	12.17±8.67 ^{abAB}	1610.00±78.10 ^{dD}	26.85±0.82 ^{bAB}
12	5.7	6.7	4.87±0.25 ^{aA}	4.55	8.27±3.74 ^{abcdAB}	766.67±35.12 ^{fgEF}	16.82±1.31 ^{deCDE}
13	4	4.7	2.40±0.40 ^{efGF}	4.59	11.60±4.17 ^{abcAB}	233.33±15.28 ^{hiG}	18.08±1.68 ^{cdeCD}
14	5	6.3	3.57±0.12 ^{bcCD}	4.60	7.70±1.81 ^{abcdAB}	580.00±65.57 ^{ghFG}	18.50±1.30 ^{cdeCD}
15	4.3	5.3	4.17±0.25 ^{bAB}	4.69	7.53±2.17 ^{abcdAB}	323.00±40.41 ^{hiG}	14.07±2.18 ^{efDE}
16	2	3	4.00±0.10 ^{bcB}	4.71	6.73±0.75 ^{abcdAB}	2330.00±266.65 ^{cC}	16.84±1.38 ^{deCDE}

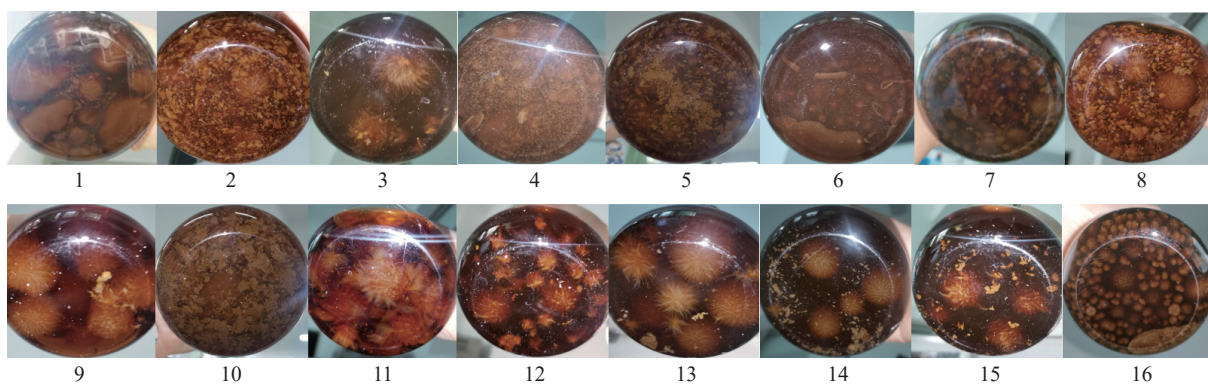


图1 不同正交组合下白灵芝在摇瓶内菌丝培养情况

Fig.1 Mycelial culture of *Ganoderma leucocontextum* in shake flasks under different orthogonal combinations

表9 胞外粗多糖含量与其它液体培养特性相关性

Table 9 Correlation between extracellular polysaccharide content and other liquid culture characteristics

项目	菌丝萌发时间	菌球形成时间	可溶性固形物	pH	菌球直径	菌球数量	菌球生物量	胞外粗多糖含量
菌丝萌发时间	1.000							
菌球形成时间	0.975**	1.000						
可溶性固形物	0.371	0.410	1.000					
pH	-0.354	-0.398	-0.013	1.000				
菌球直径	0.214	0.172	-0.129	-0.080	1.000			
菌球数量	-0.505*	-0.453	0.175	0.203	-0.716**	1.000		
菌球生物量	0.095	0.212	0.450	-0.110	0.022	0.275	1.000	
胞外粗多糖含量	-0.122	-0.108	0.595*	0.266	-0.445	0.771**	0.363	1.000

“*”代表显著相关($P<0.05$); “**”代表极显著相关($P<0.01$)。

表10 以胞外粗多糖含量为因变量的通径分析

Table 10 Path analysis referring to extracellular polysaccharide content as dependent variables

自变量	相关系数	直接通径系数	间接通径系数			决定系数(R^2)
			→可溶性固形物含量(X_3)	→菌球数量(X_6)	间接通径系数总和	
可溶性固形物含量(X_3)	0.595	0.475		0.120	0.120	0.340
菌球数量(X_6)	0.771	0.688	0.083		0.083	0.588

注: “→”表示通过该液体培养特性对Y产生间接作用。

均大于 X_3 , X_3 通过 X_6 对 Y 的间接作用大于 X_6 通过 X_3 对 Y 的间接作用($0.120>0.083$), 即发酵液可溶性固形物含量对该菌胞外粗多糖分泌的间接影响大于其菌球数量, 但菌球数量对其分泌的直接作用与综合作用最大($R^2=0.588$)。

3 讨论与结论

营养物质与环境因素是大型真菌生长发育的主要影响因素之一, 各种因素的胁迫下菇体的培养特性及其代谢产物差异较大, 香菇^[37]、白桦茸^[26]、羊肚菌^[38]等。同时, 灵芝菌在茶培养基中进行发酵时, 处于一个陌生的生活环境中, 因而生理特性发生较大改变, 对灵芝菌丝体形态、生长以及代谢产物的合成产生一定的影响^[39]。

本研究结果显示: 马铃薯和红土浸出液能缩短菌丝萌发和菌球形成时间, 提高发酵液可溶性固形物含量、菌球数量, 说明马铃薯富含淀粉等碳水化合物^[40], 是一种优质的碳源^[25], 红土浸出液又有利于大型真菌液体培养^[27]且富含无机盐类、微量元素、有

机物等营养成分, 这两种添加物为菌丝的萌发与成球提供了充足的能量和各类营养物质, 同时, 白灵芝发酵过程中会利用这些营养物质进行代谢, 产生糖类、有机酸、维生素等代谢产物, 从而提高发酵液的可溶性固形物含量。葡萄糖能增加白灵芝发酵液可溶性固形物含量、菌球数量、菌球生物量, 并增大菌球直径, 说明葡萄糖是大型真菌液体发酵较为适宜的碳源, 既能增加菌丝生物量, 又能促进糖类等代谢产物的积累^[26], 同时, 葡萄糖作为一种单糖, 为菌球的形成和体积的增大提供充足的碳源和能量。茶叶能提高白灵芝发酵液的 pH 和胞外粗多糖产量且茶粉优于茶汤, 与灵芝(*Ganoderma lucidum*)菌的研究结果一致^[24], 说明茶叶中的某些营养物质可以作为白灵芝的碳源和能量, 从而促进其胞外粗多糖的合成, 茶叶中含有大量的茶碱等碱性物质, 可以中和发酵液中固体分泌的有机酸等酸性物质, 从而提高发酵液的酸度。同时, 茶粉营养物质多于茶汤, 更适合作为该菇的液体发酵培养基成分。白灵芝胞外粗多糖的分泌与菌

丝萌发时间、菌球形成时间和菌球直径呈负相关,与菌球数量、菌球生物量、可溶性固形物等呈正相关,说明绿茶中一些多酚类等抗菌物质抑制了灵芝的菌丝生长^[24],同时,菌球数量、菌球生物量^[41]、可溶性固形物含量越大,大型真菌胞外粗多糖分泌越多。最后,除茶叶颗粒大小外,白灵芝高产胞外粗多糖的最佳营养条件组合与其单因素最佳水平均不相符,尤其葡萄糖与茶叶种类(普洱茶优于其它茶叶)是影响其产量的主要因素,说明不同单因素营养条件或正交组合下该菇胞外粗多糖的分泌存在差异,葡萄糖能为该菇胞外粗多糖的形成快速提供足够的碳源和能源,同时,普洱茶作为白灵芝高产胞外粗多糖的发酵基质,极有可能与普洱茶比绿茶、红茶、白茶含有更多的茶多糖有关^[42]。

总之,白灵芝发酵茶培养基受营养物的种类、浓度、颗粒大小等影响较大,可溶性固形物含量对该菇胞外粗多糖的分泌间接影响最大,菌球数量对其直接作用与综合作用最大,除此之外,该菇高产多糖新品种的选育、多糖的结构与功效分析、多糖的临床应用等有待深入研究。

参考文献

- [1] UMAR A, AHMED S, BASHIR H. *Ganoderma leucocontextum*, a new record from Pakistan[J]. *Mycotaxon*, 2021, 136(2): 529–539.
- [2] LI T H, HU H P, DENG W Q, et al. *Ganoderma leucocontextum*, a new member of the *G. lucidum* complex from southwestern China[J]. *Mycoscience*, 2015, 56(1): 81–85.
- [3] AISHA U, SHAKIL A. Optimization, purification and characterization of laccase from *Ganoderma leucocontextum* along with its phylogenetic relationship[J]. *Scientific Reports*, 2022, 12(1): 2416.
- [4] GAO X, ZEN R H, QI J Y, et al. Immunoregulatory activity of a low-molecular-weight heteropolysaccharide from *Ganoderma leucocontextum* fruiting bodies *in vitro* and *in vivo*[J]. *Food Chemistry*, 2022, 14: 100321.
- [5] CHEN H Y, ZHANG J J, REN J W, et al. Triterpenes and meroterpenes with neuroprotective effects from *Ganoderma leucocontextum*[J]. *Chemistry & Biodiversity*, 2018, 15(5): 1700567.
- [6] WU F, ZHOU L W, YANG Z L, et al. Resource diversity of Chinese macrofungi: Edible, medicinal and poisonous species[J]. *Fungal Diversity*, 2019, 98(1): 1–76.
- [7] 牛开阳, 李娥贤, 何俊, 等. 野生白肉灵芝固体培养特性、驯化栽培及活性成分分析[J]. *中国食用菌*, 2022, 41(11): 24–34, 39.
- [NIU K Y, LI E X, HE J, et al. Solid culture properties, domestication and analysis of active components of wild *Ganoderma leucocontextum*[J]. *Edible Fungi of China*, 2022, 41(11): 24–34, 39.]
- [8] 田星, 路丛丛. 基于 Keap1/Nrf2/HO-1 信号通路和氧化应激效应研究白肉灵芝多糖对小鼠运动性疲劳的保护作用[J]. *中国食品添加剂*, 2023, 34(1): 127–136. [TIAN X, LU C C. Protective effect of *Ganoderma leucocontextum* polysaccharide on exercise-induced fatigue in mice based on Keap1/Nrf2/HO-1 signal pathway and oxidative stress effect[J]. *China Food Additives*, 2023, 34(1): 127–136.]
- [9] 郭金英, 朱优优, 刘贵巧, 等. 不同品种灵芝主要活性成分与营养物质比较分析[J]. *北方园艺*, 2017(17): 177–180. [GUO J Y, ZHU Y Y, LIU G Q, et al. Comparative analysis of the main ac-
- tive ingredients and nutrients of different varieties of *Ganoderma lucidum*[J]. *Northern Horticulture*, 2017(17): 177–180.]
- [10] GAO X, QI J Y, HO C T, et al. Purification, physicochemical properties, and antioxidant activities of two low-molecular-weight polysaccharides from *Ganoderma leucocontextum* fruiting bodies[J]. *Antioxidants*, 2021, 10(7): 1145.
- [11] GAO X, QI J Y, HO C T, et al. Structural characterization and immunomodulatory activity of a water-soluble polysaccharide from *Ganoderma leucocontextum* fruiting bodies[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2020, 249: 116874.
- [12] LI X M, XIE Y Z, PENG J J, et al. Ganoderiol F purified from *Ganoderma leucocontextum* retards cell cycle progression by inhibiting CDK4/CDK6[J]. *Cell Cycle (Georgetown, Tex.)*, 2019, 18(21): 3030–3043.
- [13] DENG S Z, AGA E, XIE H J, et al. Evaluation of the acute toxicity and 28 - days subacute toxicity of the alcoholic extract from *Ganoderma leucocontextum*[J]. *Food Science & Nutrition Journal Article*, 2023, 11(1): 434–442.
- [14] 刘艳芳, 唐庆九, 王金艳, 等. 白肉灵芝子实体和菌丝体活性成分的比较[J]. *食用菌学报*, 2021, 28(4): 20–26. [LIU Y F, TANG Q J, WANG J Y, et al. Comparison of the fruiting body and mycelium active components of white meat *Ganoderma lucidum*[J]. *Acta Edulis Fungi*, 2021, 28(4): 20–26.]
- [15] 胡惠萍, 刘远超, 莫伟鹏, 等. 两株西藏白肉灵芝菌株特性初探[J]. *食用菌学报*, 2017, 24(1): 50–54. [HU H P, LIU Y C, MO W P, et al. Preliminary study on the characteristics of two Tibetan white meat *Ganoderma lucidum* strains[J]. *Acta Edulis Fungi*, 2017, 24(1): 50–54.]
- [16] 徐爱国, 白玛央宗, 旦真次仁, 等. 西藏桦褐孔菌菌种分离鉴定及多糖高产菌株初筛[J]. *西藏科技*, 2021(10): 20–22, 25. [XU A G, BAI M Y Z, DAN Z C R, et al. Isolation and identification of *Inonotus obliquus* and initial screening of high-yielding polysaccharide strains[J]. *Tibet Science and Technology*, 2021(10): 20–22, 25.]
- [17] 叶树才, 侯银臣, 杨盛茹, 等. 长根菇液体深层发酵制备多糖条件优化及体外抗氧化活性研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2023, 14(3): 58–67. [YE S C, HOU Y C, YANG S R, et al. Optimization of polysaccharides preparation by liquid-submerged fermentation of from *Oudemansiella radicata* and antioxidant activity *in vitro*[J]. *Journal of Food Safety and Quality*, 2023, 14(3): 58–67.]
- [18] 郭晓艺, 石林成, 戴茗卉, 等. 非营养因子对桑黄生长及胞外多糖产量的影响[J]. *扬州大学学报(农业与生命科学版)*, 2022, 43(4): 96–102, 109. [GUO X Y, SHI L C, DAI M H, et al. Effect of non-nutritive factors on growth and yield of extra-polysaccharide of *Phellinus linteus*[J]. *Journal of Yangzhou University (Agricultural and Life Science Edition)*, 2022, 43(4): 96–102, 109.]
- [19] LUANGHARN T, MORTIMER P E, KARUNARATHNA S C, et al. Domestication of *Ganoderma leucocontextum*, *G. resinaceum*, and *G. gibbosum* collected from Yunnan province, China[J]. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 2020, 17(1): 7–26.
- [20] 仇昊, 田莉, 刘笑天, 等. 双单杂交技术选育亮盖灵芝与白肉灵芝优良性状杂交子[J]. *菌物学报*, 2022, 41(12): 2083–2094. [QIU H, TIAN L, LIU X T, et al. Breeding of *Ganoderma lucidum* and *G. leucocontextum* with excellent traits by dikaryon-monokaryon mating[J]. *Mycosystema*, 2022, 41(12): 2083–2094.]
- [21] 吴宽, 米伟丽, 吴云锋. 云芝糖肽发酵条件的响应面法优化试验[J]. *陕西农业科学*, 2020, 66(1): 55–58. [WU K, MI W L, WU Y F. Response surface optimization test of *Trametes versicolor*

- glycopeptide fermentation conditions[J]. Shaanxi Journal of Agricultural Sciences, 2020, 66(1): 55-58.]
- [22] 林杉, 赵萍, 付云娜, 等. 羊肚菌胞外多糖液态发酵培养基配方优化及其体外降血糖活性[J]. 食品工业科技, 2022, 43(20): 196-203. [LIN S, ZHAO P, FU Y N, et al. Optimization of liquid fermentation medium formulation of *Morchella eschschera* exopolysaccharide and its hypoglycemic activity *in vitro*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(20): 196-203.]
- [23] 曾艳, 张矛, 陈亚, 等. 液相色谱-串联质谱法检测茶叶中真菌毒素的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(12): 3834-3841. [ZENG Y, ZHANG M, CHEN Y, et al. Research progress on detection of mycotoxins in tea by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Journal of Food Safety and Quality, 2022, 13(12): 3834-3841.]
- [24] 邹礼根, 丁玉庭, 陈艳. 灵芝菌在绿茶发酵中的应用[J]. 食品工业科技, 2004, 25(8): 80-81, 84. [ZHOU L G, DING Y T, CHENG Y. Application of *Ganoderma lucidum* bacteria in green tea fermentation[J]. Science and Technology of Food Industry, 2004, 25(8): 80-81, 84.]
- [25] 方华舟, 贾瑞, 程利霞, 等. 不同培养基原料及配方对北冬虫夏草液体菌种质量的影响[J]. 贵州农业科学, 2011, 39(2): 105-109, 113. [FANG H Z, JIA R, CHENG L X, et al. Effect of different medium components and formula on quality of liquid *Cordyceps militaris* strain[J]. Guizhou Agricultural Sciences, 2011, 39(2): 105-109, 113.]
- [26] 秦锦涛, 王亮, 曹羽杰, 等. 碳源对白桦茸菌丝体生长及多糖活性的影响[J]. 食品研究与开发, 2022, 43(21): 51-59. [QIN J T, WANG L, CAO Y J, et al. Effects of carbon sources on mycelial growth and polysaccharide activity of *Inonotus obliquus*[J]. Food Research and Development, 2022, 43(21): 51-59.]
- [27] 陈自宏, 陈凯. 高黎贡山羊肚菌菌丝液体培养条件研究[J]. 保山学院学报, 2016, 35(5): 1-4. [CHEN Z H, CHEN K. Study on the mycelium liquid culture conditions of *Morchella* in Gaoligong mountain[J]. Journal of Baoshan University, 2016, 35(5): 1-4.]
- [28] 梁丽红, 李辉, 关莹杰, 等. 牛樟芝胞外多糖抗氧化能力以及体外消化特性[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(21): 82-89. [LIANG L H, LI H, GUAN Y J, et al. Antioxidant activity of the exopolysaccharide from *Antrodia camphorata* and its digestion properties *in vitro*[J]. Food and Fermentation Industries, 2022, 48(21): 82-89.]
- [29] 兰清秀, 柯斌榕, 卢政辉, 等. 不同温度和培养基对秀珍菇木霉共培养的影响[J]. 福建农业学报, 2022, 37(2): 197-202. [LAN Q X, KE B R, LU Z H, et al. Effects of temperature and media on cocultivation of *Pleurotus pulmonarius* and *Trichoderma harzianum*[J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2022, 37(2): 197-202.]
- [30] 赵宏朋, 黄斯晨, 施丽娟, 等. 茯砖茶优势菌株分离鉴定及发酵低级绿茶分析[J]. 食品科学, 2022, 43(6): 89-95. [ZHAO H P, HUANG S C, SHI L J, et al. Isolation and identification of predominant fungi in Fuzhuan tea and their application for fermentation of low-grade green tea[J]. Food Sciences, 2022, 43(6): 89-95.]
- [31] 顿仕杰. 雷蘑胞外粗多糖在运动中抗疲劳促恢复作用研究[J]. 中国食用菌, 2020, 39(9): 50-53. [DUN S J. Study on the anti fatigue and promoting recovery of exopolysaccharide of *Clitocybe gigantea* during exercise[J]. Edible Fungi of China, 2020, 39(9): 50-53.]
- [32] 李艳婷, 周铮, 黄冬华, 等. 翠冠梨果不同部位可溶性固形物及硬度测定比较研究[J]. 中国南方果树, 2022, 51(3): 148-152. [LI Y T, ZHOU Z, HUANG D H, et al. Comparative study on determination of soluble solids and hardness in different parts of *Cui-guan pear* fruit[J]. South China Fruits, 2022, 51(3): 148-152.]
- [33] 马学兰, 周连玉, 巨家升, 等. 食用菌发酵液对酸奶理化性质和营养成分的影响[J]. 食品与机械, 2023, 39(1): 186-194. [MA X L, ZHOU L Y, JU J S, et al. Effects of edible fungi fermentation broths on the physicochemical properties and nutritional components of yogurt[J]. Food & Machinery, 2023, 39(1): 186-194.]
- [34] 刘克芳, 于国荣, 王华丽, 等. 大球盖菇液体菌种培养基的优化[J]. 中国食用菌, 2021, 40(8): 24-28. [LIU K F, YU G R, WANG H L, et al. Optimization of liquid spawn formula of *Stropharia rugosoannulata*[J]. Edible Fungi of China, 2021, 40(8): 24-28.]
- [35] 钟丽娟, 赵新海. 漏斗多孔菌液体菌种培养基及其栽培条件[J]. 菌物学报, 2021, 40(12): 3118-3128. [ZHONG L J, ZHAO X H. Liquid culture medium and cultivation conditions of *Polyporus arcularius*[J]. Mycosystema, 2021, 40(12): 3118-3128.]
- [36] 王金生, 蒲国锋, 马力, 等. 基于模型法的大豆抗倒伏评价方法研究[J]. 大豆科学, 2023, 42(1): 64-69. [WANG J S, PU G F, MA L, et al. Study on lodging resistance evaluation method of soybean based on model method[J]. Soybean Science, 2023, 42(1): 64-69.]
- [37] 曾茜, 陈旭, 杨雨, 等. 野生香菇黔香5号菌丝的生物特性及抗氧化活性[J]. 西南农业学报, 2022, 35(3): 558-563. [ZENG X, CHEN X, YANG Y, et al. Biological characteristics and antioxidant activities of wild *Lentinula edodes*[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2022, 35(3): 558-563.]
- [38] 向茂莲, 周大寨, 冉青, 等. 羊肚菌液体发酵的集砒特性及生物活性物质研究[J]. 南方农业学报, 2020, 51(10): 2523-2531. [XIANG X L, ZHOU D Z, RAN Q, et al. Selenium collecting characteristics and biological active substances in liquid fermentation of *Morchella esculenta*[J]. Journal of Southern Agriculture, 2020, 51(10): 2523-2531.]
- [39] 乔双遼, 彭林, 丁重阳, 等. 液体发酵条件对灵芝菌体形态及胞外多糖活性的影响[J]. 食品与生物技术学报, 2014, 33(10): 1070-1076. [QIAO S K, PENG L, DING C Y, et al. Effect of different culture conditions on mycelium morphology and activity of exopolysaccharides from *Ganoderma lucidum* in submerged culture[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2014, 33(10): 1070-1076.]
- [40] 任亚新. 分期施氮对马铃薯氮积累与分配的影响[J]. 世界热带农业信息, 2023(4): 16-18. [REN Y X. Effect of phased nitrogen application on nitrogen accumulation and distribution in potato[J]. World Tropical Agriculture Information, 2023(4): 16-18.]
- [41] 冯东英, 杨宁, 刘爽, 等. 液体发酵高产灵芝多糖培养基的筛选与配方优化[J]. 食用菌, 2018, 40(4): 8-10, 17. [FENG D Y, YANG N, LIU S, et al. Screening and formulation optimization of liquid fermentation medium for high yield of *Ganoderma lucidum* polysaccharides[J]. Edible Fungi, 2018, 40(4): 8-10, 17.]
- [42] 穆静静, 叶锡光, 陈忠正, 等. 茶多糖-纳米硒复合物的制备及表征[J]. 现代食品科技, 2019, 35(12): 225-231, 144. [MU J J, YE X G, CHEN Z Z, et al. Preparation and characterization of complexes of tea polysaccharide-selenium nanoparticles[J]. Modern Food Science and Technology, 2019, 35(12): 225-231, 144.]