不同LED光质对莞香灵芝子实体生长发育的影响

王兴华¹, 熊 曦², 黄文龙², 曹汝岱², 黄艳芳², 戚 怡¹, 童玉珍³, 曾凯琳³, 王丽涵³, 郑海珊³, 于 丰彦^{4*}, 于海兵^{2*} (1.广东湛江海洋医药研究院, 广东湛江 524002; 2.广东医科大学公共卫生学院, 广东东莞 523808; 3.广东省东莞市松山湖园区北京大学东莞光电研究院, 广东东莞 523024; 4.广东医科大学第二临床医学院, 广东东莞 523024)

摘 要:目的 研究 5 种LED光质对莞香灵芝子实体生长发育及其主要活性成分的影响。方法 将不同光质的 LED光源设为光照条件(红、蓝、黄、绿、白光为处理组,黑暗为黑暗组),对灵芝子实体进行培养,观察其生长速率、形态、多糖含量及三萜含量。结果 红、绿、黄、白、蓝 5 种光质处理组的灵芝子实体菌盖直径和干重均大于黑暗组(P<0.01 或 0.05),黄光组的子实体干重最大(P<0.01 或 0.05),灵芝子实体出芝数和菌盖厚度与黑暗组比较差异无统计学意义(P>0.05)。在灵芝的 5 个生长时期,蓝光组的多糖含量均明显高于其他各组(P<0.01);现蕾期、开伞期、弹孢前期,黄光组多糖含量高于除蓝光组外的其他各组(P<0.01);弹孢后期,白光组的多糖含量显著高于除蓝光组外的其他各组(P<0.01)。芝盖形成期,红光组的灵芝三萜含量低于其他各组(P<0.01);弹孢前期,绿、白、红和蓝光组的灵芝三萜含量高于黑暗组(P<0.01 或 0.05)。现蕾期、开伞期和弹孢后期,各组灵芝三萜含量比较差异无统计学意义(P>0.05)。结论5 种LED光质均影响莞香灵芝子实体的生长发育及其主要活性成分的生成,应根据各光质对灵芝子实体影响效果不同的特点合理安排光照。

关键词: 莞香灵芝子实体; 光质; 灵芝多糖; 灵芝三萜

中图分类号: S 567.31 文献标志码: A 文章编号: 2096-3610(2024)03-0246-05

Effects of different LED light quality on the growth and development of Ganoderma lucidum fruiting body

WANG Xing-hua¹, XIONG Xi², HUANG Wen-long², CAO Ru-dai², HUANG Yan-fang², QI Yi¹, TONG Yu-zhen³, ZENG Kai-lin³, WANG Li-han³, ZHENG Hai-shan³, YU Feng-yan^{4*}, YU Hai-bing^{2*}(1. Zhanjiang Institute of Marine Medicine, Zhanjiang 524002, China; 2. School of Public Health, Guangdong Medical University, Dongguan 523808, China; 3. Dongguan Institute of optoelectronics,of Peking University, Dongguan 523024, China; 4. The Second Clinical Medical College of Guangdong Medical University, Dongguan 523024, China)

Abstract: Objective To study the effects of different LED light qualities on the growth and development of Ganoderma lucidum substrates and their main active components. Methods Ganoderma lucidum substrates were cultured by setting LED light sources with different light qualities as light conditions, and the growth rate, morphology, polysaccharide content, and triterpene content were observed and measured as indicated methods. Results The diameter and dry weight of Ganoderma lucidum fruitum in red, green, yellow, white and blue light treatment groups were higher than those in dark group (P<0.01 or 0.05), and the dry weight of Ganoderma lucidum fruitum body in yellow light group was the largest (P<0.01 or 0.05). There was no statistical significance in the number of germination of Ganoderma lucidum fruitum and the thickness of fungus cap between the two groups (P>0.05). During the five growth periods of Ganoderma lucidum, the polysaccharide content of the blue

收稿日期: 2023-11-16

基金项目: 2022 年度广东省基础与应用基础研究基金自然科学基金项目(2022A1515012407), 广东省中医药科学技术研究项目 (20221209), 2022 年年东莞市社会发展科技(重点)项目(20221800905642), 广东省大学生创新创业训练计划项目(省-S202210571088,校-GDMU2021112),广东医科大学校级大学生创新创业训练计划项目(GDMU2021138),广东省基础与应用基础研究基金自然科学基金项目(2022A1515012407)

作者简介: 王兴华(1998-),男,学士, E-mail: 17875595143@163.com

通信作者: 于丰彦(1969-),女,博士后,副主任医师, E-mail: yujoyce022@163.com 于海兵(1981-),男,博士,副教授, E-mail: hby616688@gdmu.edu.cn light group was significantly higher than that of all other groups (P<0.01); during the bud- breaking stage, umbrella-opening stage, and pre-spores popping stage, the polysaccharide content of the yellow light group was higher than that of all other groups except the blue light group (P<0.01); and during the post-spores popping stage, the polysaccharide content of the white light group was significantly higher than that of all other groups except the blue light group (P<0.01). During the cap formation period, the triterpene content of Ganoderma lucidum in the red light group was lower than that in the other light quality groups and the dark group (P<0.01); during the pre-sporulation period, the triterpene content of Ganoderma lucidum was higher than that in the dark group in the green light, white light, red light and blue light groups (P<0.01 or 0.05). At the present bud stage, the opening stage and the late stage of spore popping, the difference of Ganoderma triterpene content between the groups was not statistically significant (P>0.05). Conclusion All five LED light qualities affected the growth and development of Ganoderma lucidum substrate and the production of its main active ingredients, and the light should be rationally arranged according to the characteristics of different effects of each light quality on Ganoderma lucidum substrate.

Key words: Guanxiang Ganoderma lucidum fruit body; light quality; Ganoderma polysaccharide; Ganoderma lucidum triterpenoid

灵芝(Ganoderma lucidum),又称瑞草、瑶草、万年 蕈等,属于担子菌门、多孔菌目、灵芝科、灵芝属的真菌, 作为一种传统中药,自古以来在中国医药中占有重要 地位[1]。灵芝化学成分复杂,灵芝多糖与总三萜是灵芝 的主要化学和药效成分,是孢子粉和灵芝子实体的重 要生物活性物质,其含量可作为衡量灵芝质量的标准 之一[2]。灵芝在栽培生长过程中会受到各种环境因素 的影响,光作为一种环境信号,对灵芝的分化发育、形 态发展及代谢等方面均有影响[3]。郝俊江等[4]使用滤 光膜创造不同的光质环境,探究其对灵芝生长及抗氧 化酶系统的影响,发现蓝光和红光能维持灵芝子实体 较高的抗氧化酶水平, 黄光和绿光则可抑制其抗氧化 酶活性。孙恬等[5]研究发现,蓝膜栽培的灵芝子实体多 糖含量和三萜含量较白膜栽培整体提高, 蓝膜栽培有 助于提高灵芝子实体的有效成分含量和质量。此外,近 年来已有国内外学者探究不同光质对灵芝菌丝体生长 的影响[6-7],但不同LED光质对灵芝子实体的研究鲜有 报道。莞香灵芝是以瑞香科沉香属植物沉香木屑作为 栽培原料培养出的一种以灵芝总三萜高含量为特色的 灵芝新品种(专利申请号: 201610320833.5)。项目组 前期研究已证实其灵芝总三萜含量高于市售的其他品 种灵芝,并且符合《中华人民共和国药典》中的相关标 准要求,具有重要的行业参考意义[8]。除灵芝总三萜含 量较高外, 莞香灵芝中的灵芝多糖和其他功能性成分 含量以及所含稀有元素也具有明显的优势[9]。因此,以 莞香木为原料栽培的莞香灵芝具有更好的药理功效, 在食用、保健及药用研发时可以优先选择莞香灵芝。此 外,项目组前期研究也已证实莞香灵芝的形态、生长周 期、生长条件及有效成分种类与市售其他品种灵芝差 异并不显著,提示莞香灵芝可反映人工栽培灵芝的一

般特征和规律^[8]。本文旨在探究不同LED光质处理对 灵芝子实体生长发育、产量及其有效成分含量的影响, 为莞香灵芝子实体培育提供科学依据,从而助力于优 质人工栽培灵芝的市场化及产业化。

1 材料和方法

1.1 材料

本研究选用的未出蕾的紫灵芝菌包由芝泰元生物(东莞)有限公司提供,是以瑞香科沉香属植物沉香木屑为栽培原料培养出的一种以灵芝总三萜高含量为特色的灵芝新品种。

1.2 方法

- 1.2.1 光质处理条件 LED 灯光源由天源照明灯具有限公司提供,功率为 36 W,设置红、蓝、黄、绿、白等 5 个不同光质为处理组,设黑暗为对照组,不同光质经东莞北京大学光电研究院鉴定。光源置于培养棚顶部,用光度计调节棚内光强一致,外层由黑色遮光材料覆盖。待菌丝长至菌包底部 3/4 处,开盖,移入装有不同 LED光质的培养棚培养。
- 1.2.2 培养条件 实验环境需保持阴暗,湿度保持在 (80.0 ± 0.5) %,温度维持在 (27 ± 1) ℃, CO_2 体积分数 ≤0.05%,每天光照时长为 $12~h_{\odot}$
- 1.2.3 样品采集与粗处理 分别在灵芝现蕾期、芝盖 形成期、开伞期、弹孢前期、弹孢后期从培养棚采取样 品,在每个生长周期均从红、蓝、黄、绿、白 5 个处理组 及黑暗组中取样,每个组取样 5 次,每次取 1 个样品。 置于 60 ℃烘箱烘干,粉碎,过 40 目筛,备用。
- 1.2.4 生长速率及形态大小的测定 生长速率的测定 是通过观察不同LED光质对灵芝子实体出蕾的影响, 定期记录各组灵芝出芝的样品数目,至样品全部出芝

为止; 形态大小的测定则通过将弹孢后期采摘的灵芝 子实体用游标卡尺测量, 记录不同光质下子实体的直 径大小和灵芝菌盖的厚度。

1.2.5 灵芝子实体干重的测定 将现蕾期、芝盖形成期、开伞期、弹孢前期和弹孢后期采集的灵芝子实体置于电热鼓风干燥机中烘干至恒重,用电子分析天平分别称量不同光质处理的灵芝子实体的干重。

1.2.6 灵芝多糖的测定 精密取前文 "1.2.3 样品采集与粗处理" 步骤中的备用样品 2.00 g,加入 30 mL蒸馏水,水浴加热回流 2 h,过滤洗涤。上述步骤重复 2 次。水浴蒸干滤液,加 3 mL水溶解,再加入 50 mL乙醇,振荡,置于 4 ℃实验室冰箱静置 12 h。4 000 r/min离心,弃上清液,用热水将沉淀移至 50 mL容量瓶中,取适量在相同条件下离心。取 3 mL 上清液于 25 mL 容量瓶中,定容,得待测样品溶液。采用蒽酮-硫酸法对各组样品多糖含量进行测定,上述处理重复 3 次。

1.2.7 灵芝三萜的测定 取前文 "1.2.3 样品采集与粗处理" 步骤中的灵芝粉末 2.00 g,置具塞锥形瓶中,加人乙醇 50 mL,超声处理(功率 140 W,频率 42 kHz) 45 min,过滤洗涤,滤液转移至 100 mL容量瓶,并加入适量乙醇定容,得待测样品溶液。参考《中国药典2020 版》[10]的方法对各组样品三萜含量进行测定,上述处理重复 3 次。

1.3 统计学处理

应用 SPSS 25.0 统计软件对数据资料进行统计分析。采用 Shapiro-Wilk 检验进行正态性检验,计量资料符合正态分布以 $\bar{x}\pm s$ 表示,不符合正态分布以M(Q1,Q3)表示。多组比较采用单因素方差分析或 Kruskal-Wallis 秩和检验,两两比较采用 SNK-q 检验或 Dunn's 检验。P<0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同LED光质对灵芝子实体生长速率的影响

红、绿、黄、白、蓝 5 种光质处理组的灵芝子实体 出芝数与黑暗组比较差异无统计学意义(P>0.05),见表 1。

2.2 不同 LED 光质对灵芝子实体形态及干重的影响

红、绿、黄、白、蓝 5 种光质处理组的灵芝子实体 菌盖直径和干重均大于黑暗组(P<0.01 或 0.05),而 5 种光质处理组的子实体直径之间的差异无统计学意义 (P>0.05)。5 种光质处理组的菌盖厚度与黑暗组比较 差异无统计学意义(P>0.05),蓝、白光组的菌盖厚度大 于红光组(P<0.05)。黄、绿、白和蓝光组的灵芝子实体 干重大于红光组(P<0.01 或 0.05); 黄光组的子实体干重大于绿、白、蓝光组(P<0.01); 白、绿、蓝光组的实体干重差异无统计学意义(P>0.05),提示黄光组的子实体干重最大。见表 2。

表 1 各时间点不同光质下的灵芝子实体出芝数的比较 (个, n=25)

组 别	7 d	9 d	11 d	13 d	15 d	合计
黑暗组	0	2	5	7	3	17
红光组	0	3	8	6	1	18
绿光组	2	4	8	5	3	21
黄光组	2	5	8	5	1	21
白光组	2	8	6	5	2	23
蓝光组	8	4	5	5	3	24

各组比较均P>0.05

表 2 各组灵芝子实体菌盖直径、厚度及干重的比较 (x+s, n=5

 $(\overline{x}\pm_S, n=5)$

组 别	直径/cm	厚度/cm	干重/g
黑暗组	10.26 ± 0.71	1.58 ± 0.12	10.31±0.60
红光组	12.52 ± 1.46^a	1.35 ± 0.24	12.70 ± 0.50^{b}
绿光组	11.85 ± 0.64^a	1.75 ± 0.10	$14.09{\pm}0.59^{bc}$
黄光组	12.51 ± 0.86^a	1.50 ± 0.25	$16.99{\pm}0.74^{bde}$
白光组	12.65 ± 1.25^a	$1.89\pm0.20^{\circ}$	$14.93{\pm}0.71^{\rm bdf}$
蓝光组	12.03 ± 1.24^{a}	$1.81\pm0.38^{\circ}$	14.39 ± 1.41^{bdf}

与黑暗组比较: *P<0.05, *P<0.01; 与红光组比较: *P<0.05, *P<0.01; 与绿光组比较: *P<0.01; 与黄光组比较: *P<0.01

2.3 不同LED光质对灵芝各生长时期多糖含量的影响

灵芝子实体各生长时期蓝光组多糖含量均高于其他各组(P<0.01)。现蕾期,黄光组多糖含量高于除蓝光组外的其他各组(P<0.01);芝盖形成期,黄光组多糖含量高于黑、红光组(P<0.01或0.05);开伞期,红、白、绿光组的多糖含量低于黑暗组,黄光组多糖含量高于除蓝光组外的其他各组(P<0.01);弹孢前期,黄光组的多糖含量明显高于除蓝光组外的其他各组,白光组多糖含量低于其他各组(P<0.01);弹孢后期,白光组的多糖含量显著高于除蓝光组外的其他各组(P<0.01)。见表 3。

2.4 不同LED光质对灵芝三萜含量的影响

芝盖形成期,红光组的灵芝三萜含量低于其他光质组和黑暗组(P<0.01);弹孢前期,绿、白、红和蓝光组的灵芝三萜含量高于黑暗组(P<0.01或0.05),白光组的灵芝三萜含量与黄光组相比差异有统计学意义(P<0.05)。现蕾期、开伞期和弹孢后期,各组灵芝三萜含量比较差异无统计学意义(P>0.05)。见图1。

3 讨论

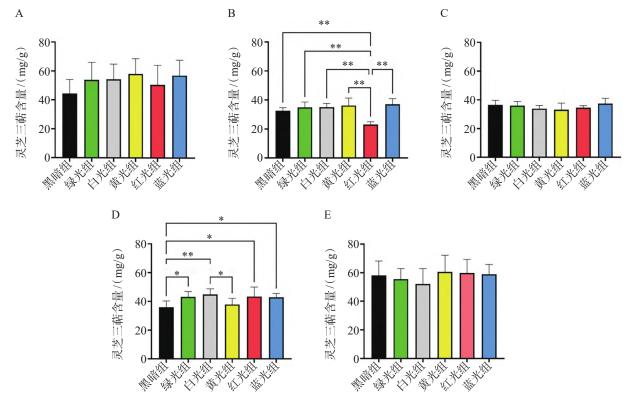
光在植物的生长发育中具有不可替代的作用,几

表 3 灵芝子实体各生长时期各组多糖含量比较

 $(\overline{x}\pm s, \text{mg/g}, n=9)$

组 别	现蕾期	芝盖形成期	开伞期	弹孢前期	弹孢后期
黑暗组	28.94±0.50	20.54±1.37	15.63±0.29	9.41±1.55	7.51±0.69
红光组	27.43 ± 0.85^{b}	21.64±2.53	13.70 ± 0.32^{b}	8.79 ± 0.83	7.34 ± 0.40
绿光组	28.51 ± 0.74^{d}	22.75 ± 1.96^{a}	$12.21 \pm 0.45^{\text{bd}}$	9.68 ± 0.77	8.07 ± 0.43
黄光组	32.87 ± 0.38^{bdf}	24.45 ± 1.70^{bd}	16.38 ± 0.41^{bdf}	12.57 ± 1.00^{bdf}	$7.14\pm0.96^{\mathrm{f}}$
白光组	28.56 ± 0.72^{bdh}	23.02 ± 1.70^{a}	14.06 ± 0.51^{bfh}	7.39 ± 0.96^{bdfh}	10.57 ± 0.65^{bdfh}
蓝光组	34.95 ± 0.44^{bdfhj}	29.23 ± 1.19^{bdfhj}	22.04 ± 0.22^{bdfhj}	16.16 ± 0.76^{bdfhj}	12.08±0.71 ^{bdfhj}

与黑暗组比较:"P<0.05, "P<0.01; 与红光组比较:"P<0.05, "P<0.01; 与绿光组比较:"P<0.05, "P<0.01; 与黄光组比较:"P<0.05, "P<0.01; 与白光组比较:"P<0.05, "P<0.01"



A. 现蕾期; B. 芝盖形成期; C. 开伞期; D. 弹孢前期; E. 弹孢后期; *P<0.05, **P<0.01 **图** 1 灵芝子实体各生长时期各组灵芝三萜含量的比较

乎影响着植物生长的全阶段^[3]。目前在农业领域中,通过调节不同的光质这一项技术运用于植物的栽培和培育上,极大提高了农产品的品质和产量。研究发现通过合理运用 LED 组合光源能有效提高温室植物的生长速率和营养物质的合成速率,发挥更大的经济效益^[11]。应正河等^[12]在研究不同光质对绣球菌(Sparassis crispa)菌丝生长发育、原基形成分化的影响过程中,发现红光最有益于促进菌丝生长发育,而黄光则能较大地促进其原基的形成分化。王立华等^[13]研究灵芝菌丝体在不同光质条件下生长时,发现在蓝光和黑暗条件下菌丝体的生长速率较快,但蓝光条件下的菌丝体形态要远远优于黑暗条件。光质除了会影响子菌丝生长速度外,还对子实体的形态、色泽、产量、活性成分和氧化酶体系有不同程度的影响。罗茂春等^[14]用绿、白、

红、黄4种不同光质照射红平菇,以自然光和黑暗处理 作为对照组,发现在自然光和白光照射下,红平菇原基 出现的时间最早,原基及子实体数目多,成菇率较高, 形态美观,明显优于其他光质。

本研究发现,与黑暗组相比,不同光质的LED光源对灵芝子实体生长速率的影响不显著。而王媛媛等^[15]认为光照是高等真菌生长发育所需的环境因素之一,与本研究结论不符,其原因有待进一步验证。5种光质处理的灵芝子实体的菌盖直径均大于黑暗组,提示5种光质处理均可促进子实体菌盖面积的增大;而5种光质处理的菌盖厚度与黑暗组比差异无统计学意义(P>0.05),提示在本研究中红、绿、黄、白、蓝5种光质处理组对促进灵芝子实体菌盖的发育无明显效果。郝俊江等^[16]研究认为白光组的子实体菌盖厚度最

大,与本研究结论不一致。原因可能与光照强度的不同、培育灵芝时提供的生长条件不同、光质的给予方式不同以及选用的灵芝品种不同有关,对此有必要进行下一步的研究验证。此外,本研究发现黄光组的子实体干重显著大于其他各组,提示黄光可促进子实体的产量。

不同LED光质对灵芝的有效成分含量作用有所 不同。在灵芝子实体整个生长周期中, 灵芝多糖的含 量随着子实体的衰老而逐渐减少,其原因可能是灵芝 子实体生长发育需要消耗糖类合成自身骨架,故多糖 含量呈现下降趋势[17-18]。本研究结果显示,在各生长 周期,蓝光光质均有利于延缓灵芝多糖的分解,促进灵 芝多糖的生成,效果优于其他光质处理组和黑暗组,此 结果与余吴梦晓[19]的研究一致; 开伞期,红、白、绿光 组的多糖含量低于黑暗组,因此可在该时期减少红、 白、绿光的照射时长。此外,本研究发现,现蕾期、开伞 期和弹孢后期进行不同光质处理对灵芝三萜含量影响 不显著; 芝盖形成期进行红光处理能够抑制灵芝三萜 的生成; 弹孢前期,绿、白、红和蓝光处理的三萜含量 大于黑暗组,因此可在弹孢前期对灵芝子实体进行绿、 白、红和蓝光的光照处理,达到促进灵芝三萜生成增加 的效果。

本研究选用莞香灵芝作为研究对象,不仅可反映 人工栽培灵芝的一般特征和规律,而且功能性成分含 量和所含稀有元素处于明显优势,具有更好的药理功效,在食用、保健及药用研发时可为首选,现阶段正在 积极推广。另外,本研究是不同LED光质对莞香灵芝 子实体生长发育影响的首次研究,为实现优质人工栽 培莞香灵芝提供了重要依据。

综上所述,在实际生产中,为提高莞香灵芝子实体的品质,在生长发育时期需对灵芝子实体进行一定时间的不同LED光质照射,需根据各光质对灵芝子实体影响不同的特点合理安排光照,从而实现优质人工栽培莞香灵芝的产业化生产。

参考文献:

[1]朱诗君,罗幼君,金树权,等.灵芝-水稻轮作体系中土壤微生物群落的演替[J].中国农学通报,2024,40(5):39-46.

- [2] 林志彬. 灵芝的现代研究 [M]. 北京: 中国协和医科大学联合出版社, 1996: 145-146.
- [3]邢阿宝,崔海峰,俞晓平,等. 光质及光周期对植物生长发育的影响[J]. 北方园艺, 2018 (3): 163-172.
- [4] 郝俊江, 陈向东, 兰进. 光质对灵芝生长及抗氧化酶系统的影响 [J]. 中草药, 2011, 42(12): 2529-2534.
- [5]孙恬,郭爱玲.蓝白光膜对灵芝田间生长、多糖含量及三萜含量的影响[J].生物化工,2019,5(1):70-72,76.
- [6] ALCAZAR A, DULAY R M R, KALAW S, et al. Effect of light-emitting diodes on the mycelial biomass production and antioxidant activity of ganoderma lucidum (W. Curt.: Fr.) P. Karst[J]. CLSU International Journal of Science & Technology, 2021, 5(1): 1-10.
- [7]应正河,林衍铨,马璐,等.不同光质光量对绣球菌菌丝生长及原基形成的影响[J].福建农业学报,2013,28(6):538-540.
- [8] 戚怡, 吕思敏, 丁鸿燕, 等. 莞香灵芝与市售灵芝中总三萜含量的对比分析[J]. 广州中医药大学学报, 2019 (5): 729-733.
- [9]李林科,杨慧,吕贵何,等.一种莞香灵芝培养方法[P]. 广东省: CN201610320833. 5, 2019-05-14.
- [10]国家药典委员会.中国药典[M]. 北京:中国医药科技出版 社,2020:1088.
- [11]罗洁.浅析LED光对温室植物生长的影响概述[J]. 福建茶叶,2020,42(4): 12.
- [12]应正河,林衍铨,马璐,等.不同光质光量对绣球菌菌丝生长及原基形成的影响[J]. 福建农业学报,2013,28(6):538-540.
- [13]王立华,陈向东,王秋颖,等.LED光源的不同光质对灵芝菌丝体生长及抗氧化酶活性的影响[J].中国中药杂志,2011,36(18):2471-2474.
- [14]罗茂春,林标声,林跃鑫.光质对红平菇菌丝体和子实体生长发育的影响[J].食品工业科技,2012,33(8):188-190.
- [15]王媛媛,朱涵予,刘冬梅,等.光照对高等真菌生长发育影响的研究进展[J]. 食品工业科技, 2017, 38(21): 324-329.
- [16]郝俊江,陈向东,兰进.光质对灵芝生长与灵芝多糖含量的影响[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(17): 2242-2245.
- [17]游俊健,叶志伟,郑倩望,等.灵芝子实体多糖和三萜含量变化规律[J]. 食品工业,2021,42(12):260-264.
- [18]李赛飞,周俊,佟瑶,等.段木灵芝子实体全生长阶段生物活性物质的动态变化[J]. 菌物学报,2024,43(2):102-114.
- [19]余吴梦晓. 蓝光对灵芝生长和质量的影响及相关调控蛋白14-3-3 蛋白研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2018.

(责任编辑:李 晓)