



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110999722 A

(43)申请公布日 2020.04.14

(21)申请号 202010006609.5

(22)申请日 2020.01.03

(71)申请人 沈阳农业大学

地址 110866 辽宁省沈阳市沈河区东陵路
120号

(72)发明人 于晓丹 郭洪波 王琴 裴莹
杨记康 吕淑霞 马镛

(74)专利代理机构 北京汇信合知识产权代理有
限公司 11335

代理人 张焕响

(51)Int.Cl.

A01G 18/20(2018.01)

A01G 18/00(2018.01)

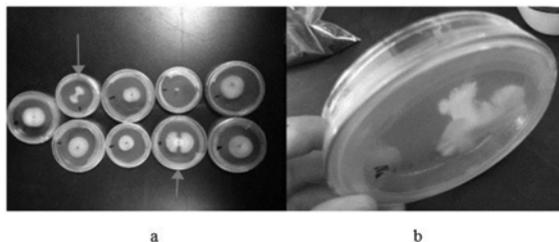
权利要求书1页 说明书7页 附图5页

(54)发明名称

一种超短裙竹荪的培养基及其培养方法

(57)摘要

本发明公开了一种超短裙竹荪的培养基,包括以下重量份的组分:麦芽浸粉15-20份、酵母浸粉1-3份、镁源1-3份、钠源1-3份、钾源1-3份、琼脂15-20份、补充水至1L。还公开了超短裙竹荪的培养方法,包括以下步骤:步骤1:用活化后的超短裙竹荪菌种制成种子液;步骤2:将种子液涂布于超短裙竹荪的培养基中,温度保持在24-31℃,湿度控制在80-90%,培养10-21天,获取超短裙竹荪菌种。本发明公开的培养基,通过在适宜条件下进行培养,可以明显增加菌丝直径,利于将所培养的菌丝用于后期栽培培养的菌种使用,以进行大批量的生产。



1. 一种超短裙竹荪的培养基,其特征在于,包括以下重量份的组分:麦芽浸粉15-20份、酵母浸粉1-3份、镁源1-3份、钠源1-3份、钾源1-3份、琼脂15-20份,补充水至1L。
2. 如权利要求1所述的超短裙竹荪的培养基,其特征在于,麦芽浸粉20份、酵母浸粉2份、镁源2份、钠源2份、钾源2份、琼脂18份,补充水至1L。
3. 如权利要求2所述的超短裙竹荪的培养基,其特征在于,所述镁源为七水硫酸镁;所述钠源为氯化钠;所述钾源为氯化钾。
4. 如权利要求3所述的超短裙竹荪的培养基,其特征在于,还包括柠檬酸和活性炭,所述柠檬酸调节pH值为5.5-7,所述活性炭为0.1-0.3份。
5. 一种超短裙竹荪的培养方法,其特征在于,包括以下步骤:
步骤1:用活化后的超短裙竹荪菌种制成种子液;
步骤2:将所述种子液涂布于权利要求1-4任一项所述的超短裙竹荪的培养基中,温度保持在24-31℃,湿度控制在80-90%,培养10-21天,获取超短裙竹荪菌种。
6. 如权利要求5所述的超短裙竹荪的培养方法,其特征在于,步骤1中,活化后的超短裙竹荪菌种按3-5个菌块/100mL,接种于PDA液体培养基中,于24-31℃震荡培养7-10天。
7. 如权利要求6所述的超短裙竹荪的培养方法,其特征在于,菌块直径5mm;震荡条件:120-180rpm。
8. 如权利要求5所述的超短裙竹荪的培养方法,其特征在于,步骤2中,所述种子液按体积比3-5%接种于所述培养基中。
9. 如权利要求5所述的超短裙竹荪的培养方法,其特征在于,种子液涂布于培养基后,最佳培养温度为27℃。

一种超短裙竹荪的培养基及其培养方法

技术领域

[0001] 本发明涉及食用菌培养技术领域,特别是涉及一种超短裙竹荪的培养基及其培养方法。

背景技术

[0002] 竹荪类真菌,又叫竹参、竹笙,属于鬼笔科(Phallaceae)、鬼笔属(Phallus)的大型食用菌,主要生长在有大量竹子残体和腐殖质的竹林里。在我国主要分布在云南、四川、贵州三省。近年来,湖南、广东、福建、河南、上海、黑龙江、吉林等省市也有发现。

[0003] 我国竹荪食用历史悠久,早在唐代段成式的《酉阳杂俎》一书中已有记载。野生竹荪味道鲜美可口,自古就列为“草八珍”之一,素有“菌中皇后”、“山珍之王”的称号,目前仅菌裙被食用。竹荪脆嫩爽口,香气浓郁,别具风味,营养丰富,是国宴及高级宴席上的名贵菜肴和著名山珍之一。竹荪菌体含有丰富的营养成分,对棘托竹荪菌体的检测显示菌体含蛋白质21.45%、粗脂肪2.73%、粗多糖8.43%。还含有多种维生素,以及钙、镁、钾、磷、铜、锌、锰、硫、钠等多种微量元素。因其富含丰富的营养物质,竹荪具有降血压、血糖,抗肿瘤,增强免疫功能及抑菌等药用价值。

[0004] 超短裙竹荪(*Phallus ultraduplicatus*)是竹荪类真菌中的一种,但是超短裙竹荪的培养受到培养基成分及浓度的限制,不能快速得到超短裙竹荪菌丝体,进一步影响了后期的栽培培养,产量极低。目前,在利用食用菌发酵液来促进植物生长及病虫害防治、研发抑菌性生防产品和食品防腐产品、循环利用各种废水废渣等方面,仅处于实验室研究水平上,还需要通过大量的试验和进一步的探索才能使该技术得到推广和应用,因此,近些年对于竹荪类真菌的研究也从培养基成分上进行改进,但是效果并不明显,所以,寻找一种能够快速培养超短裙竹荪的培养基及培养方法对于解决目前问题极其重要。

发明内容

[0005] 本发明的目的是提供一种超短裙竹荪的培养基及其培养方法,以解决上述现有技术存在的问题,筛选出最适宜超短裙竹荪生长的培养基,可以提高超短裙竹荪的生长量。

[0006] 为实现上述目的,本发明提供了如下方案:

[0007] 本发明提供一种超短裙竹荪的培养基,包括以下重量份的组分:麦芽浸粉15-20份、酵母浸粉1-3份、镁源1-3份、钠源1-3份、钾源1-3份、琼脂15-20份、补充水至1L。

[0008] 优选的是,麦芽浸粉20份、酵母浸粉2份、镁源2份、钠源2份、钾源2份、琼脂18份、补充水至1L。

[0009] 优选的是,所述镁源为七水硫酸镁;所述钠源为氯化钠;所述钾源为氯化钾。

[0010] 优选的是,还包括柠檬酸和活性炭,所述柠檬酸调节pH值为5.5-7,所述活性炭为0.1-0.3份。

[0011] 本发明还提供一种超短裙竹荪的培养方法,包括以下步骤:

[0012] 步骤1:用活化后的超短裙竹荪菌种制成种子液;

[0013] 步骤2:将所述种子液涂布于所述的超短裙竹荪的培养基中,温度保持在24-31℃,湿度控制在80-90%,培养10-21天,获取超短裙竹荪菌种。

[0014] 优选的是,步骤1中,活化后的超短裙竹荪菌种按3-5个菌块/100mL,接种于PDA液体培养基中,于24-31℃震荡培养7-10天。

[0015] 优选的是,菌块直径5mm;震荡条件:120-180rpm。

[0016] 优选的是,步骤2中,所述种子液按体积比3-5%接种于所述培养基中。

[0017] 优选的是,种子液涂布于培养基后,最佳培养温度为27℃。

[0018] 本发明公开了以下技术效果:

[0019] 本发明所使用的超短裙竹荪菌种是发明人从自己发现的一个新种中分离得到的菌株,在培养过程中一直没有得到一种适宜培养的培养基,经过不断的试验和验证,发现其与鬼笔属其他的菌种不同,如果按着其他的菌种比如花脸香蘑的培养条件培养,发现生长速度很慢,因此,从培养基成分和培养条件(温度、pH、培养时间)多种因素进行筛选,发现能为微生物生长和代谢提供营养条件的碳源和氮源,对于其生长速度极其重要,经正交试验发现以麦芽浸粉为碳源、酵母浸粉为氮源时,超短裙竹荪菌丝半径最大;同时,发现pH对于菌体生长具有重要的作用,pH过大会抑制菌体生长,pH过小时,培养基不易凝固,而当pH为6时,生长量最大。在含有不同无机盐培养基的试验中, Mg^{2+} 、 K^+ 长势较好, Mg^{2+} 好于 K^+ , Na^+ 能促进气生菌丝生长。此外,活性炭的加入,可以有效的吸附超短裙竹荪培养过程中产生的不利于菌丝生长的抗营养因子这些有害物质,明显的加快菌种的生长速度,以及菌丝半径,所以,本发明提供的培养基及培养方法能够为今后的超短裙竹荪发酵工艺奠定了理论基础。

附图说明

[0020] 为了更清楚地说明本发明实施例或现有技术中的技术方案,下面将对实施例中所需要使用的附图作简单地介绍,显而易见地,下面描述中的附图仅仅是本发明的一些实施例,对于本领域普通技术人员来讲,在不付出创造性劳动的前提下,还可以根据这些附图获得其他的附图。

[0021] 图1为超短裙竹荪菌丝的培养特征;

[0022] 图2为超短裙竹荪随着培养时间增长菌丝体生的状况;

[0023] 图3为超短裙竹荪不同碳源下菌丝体的生长状况;

[0024] 图4为超短裙竹荪不同碳源下菌丝体在培养基上的生长状况;

[0025] 图5为超短裙竹荪不同氮源下菌丝体的生长状况;

[0026] 图6为超短裙竹荪不同氮源下菌丝体在培养基上的生长状况;

[0027] 图7为超短裙竹荪不同温度下菌丝体的生长状况;

[0028] 图8为超短裙竹荪不同温度下菌丝体在培养基上的生长状况;

[0029] 图9为超短裙竹荪不同pH值下菌丝体的生长状况;

[0030] 图10为超短裙竹荪不同无机盐条件下菌丝体的生长状况。

具体实施方式

[0031] 现详细说明本发明的多种示例性实施方式,该详细说明不应认为是对本发明的限制,而应理解为是对本发明的某些方面、特性和实施方案的更详细的描述。

[0032] 应理解本发明中所述的术语仅仅是为描述特别的实施方式,并非用于限制本发明。另外,对于本发明中的数值范围,应理解为还具体公开了该范围的上限和下限之间的每个中间值。在任何陈述值或陈述范围内的中间值以及任何其他陈述值或在所述范围内的中间值之间的每个较小的范围也包括在本发明内。这些较小范围的上限和下限可独立地包括或排除在范围内。

[0033] 除非另有说明,否则本文使用的所有技术和科学术语具有本发明所述领域的常规技术人员通常理解的相同含义。虽然本发明仅描述了优选的方法和材料,但是在本发明的实施或测试中也可以使用与本文所述相似或等同的任何方法和材料。本说明书中提到的所有文献通过引用并入,用以公开和描述与所述文献相关的方法和/或材料。在与任何并入的文献冲突时,以本说明书的内容为准。

[0034] 在不背离本发明的范围或精神的情况下,可对本发明说明书的具体实施方式做多种改进和变化,这对本领域技术人员而言是显而易见的。由本发明的说明书得到的其他实施方式对技术人员而言是显而易见的。本申请说明书和实施例仅是示例性的。

[0035] 关于本文中所使用的“包含”、“包括”、“具有”、“含有”等等,均为开放性的用语,即意指包含但不限于。

[0036] 本发明中所述的“份”如无特别说明,均按质量份计。

[0037] 实施例1

[0038] 本发明筛选的培养基是在进行了大量的研究的基础上得到,以下将其中碳源、氮源、培养条件(培养时间、pH、培养温度)筛选的部分实验进行简要说明。

[0039] 1、试验材料

[0040] 本实验使用的菌种来源于超短裙竹荪的模式标本(HMAS 253050,中国科学院微生物研究所标本馆收藏),保存在沈阳农业大学生物科学技术学院菌种保藏中心,编号(SYAU-FUNGI-201501)。

[0041] 2、试验试剂

[0042] 碳源试验:葡萄糖、蔗糖、麦芽浸粉、可溶性淀粉、乳糖。

[0043] 氮源试验:蛋白胨、酵母浸粉、尿素、硫酸铵、硝酸铵。

[0044] 无机盐试验:氯化钠、氯化钾、七水合硫酸镁。

[0045] pH试验:稀盐酸,氢氧化钠。

[0046] 3、试验方法

[0047] 3.1PDA固体培养基的制备:马铃薯洗净去皮,切成薄片,称取200g。加蒸馏水1000mL放入烧杯内置于电磁炉上,加热煮沸20-30min至马铃薯酥而不烂的程度。用8层纱布过滤取其滤液。在滤液中加入琼脂20g,加入葡萄糖20g,用小火加热,并用玻璃棒不断搅拌,直至琼脂全部溶化,最后定容至1000mL。将培养基分装至若干500mL三角瓶中,每瓶装200mL。分装完毕,塞棉塞,并包报纸2层,线绳扎紧,灭菌后备用。

[0048] 基础培养基的制备:称取葡萄糖20g,蛋白胨2g,琼脂20g,放入容量瓶,加入蒸馏水使其溶解,定容至1000mL,再分装至若干500mL三角瓶中,每瓶装200mL。分装完毕,塞棉塞,并包报纸2层,线绳扎紧,灭菌后备用。

[0049] 碳源基础培养基的制备:称取蛋白胨2g,琼脂20g,放入容量瓶,加入蒸馏水使其溶解,定容至1000mL,再分装至若干500mL三角瓶中,每瓶装200mL。分装完毕,塞棉塞,并包报

纸2层,线绳扎紧,灭菌后备用。

[0050] 氮源基础培养基的制备:称取葡萄糖20g,琼脂20g,放入容量瓶,加入蒸馏水使其溶解,定容至1000mL,再分装至若干500mL三角瓶中,每瓶装200mL。分装完毕,塞棉塞,并包报纸2层,线绳扎紧,灭菌后备用。

[0051] 3.2将超短裙竹荪活化后接种到PDA液体培养基,接种量3%,置于26℃、150rpm震荡培养8天,得到种子液。

[0052] 将所得种子液按接种量3%涂布于PDA固体培养基中,26℃恒温培养,每天固定时间观察,测定菌丝体直径,记录数据,绘制曲线。

[0053] 3.3菌丝体最适碳源的筛选

[0054] 配制一瓶30mL碳源基础培养基和五组(每瓶倒3板,每瓶30mL)分别以葡萄糖(2%)、蔗糖(2%)、麦芽浸粉(2%)、可溶性淀粉(2%)、乳糖(2%)为碳源,以蛋白胨(0.2%)为氮源,pH正常,配制发酵培养基,灭菌后倒平板,待用。

[0055] 将适量菌丝体涂布于固体平面培养基中进行活化,活化后再取适量接入的菌丝体接入已灭菌倒好的平板,碳源基础培养基的平板作为空白对照组,10天后,量菌丝体直径,每组设置三重复,取平均值。绘制超短裙竹荪最适培养碳源曲线。

[0056] 3.4菌丝体最适氮源的筛选

[0057] 配制一瓶30mL氮源基础培养基和五组(每瓶倒3板,每瓶30mL)分别以蛋白胨(0.2%)、酵母浸粉(0.2%)、尿素(0.2%)、硫酸铵(0.2%)、硝酸铵(0.2%)为氮源,以葡萄糖(2%)为碳源,pH正常,配制发酵培养基,灭菌后倒板待用。

[0058] 将适量菌丝体涂布于固体平面培养基中进行活化,活化后再取适量的菌丝体接入已灭菌倒好的平板,氮源基础培养基的平板作为空白对照组,10天后,量菌丝体直径,每组设置三重复,取平均值。绘制超短裙竹荪最适培养氮源曲线。

[0059] 3.5菌丝体最适培养温度

[0060] 配制100mLPDA培养基,pH正常,灭菌倒板后待用,将适量菌丝体于固体平面培养基中进行活化,活化后再取适量接入的菌丝体接入已灭菌倒好的平板,分别在24、27、31℃条件下培养(每个条件三板)10天后,量菌丝体直径,每组设置三重复,取平均值。绘制超短裙竹荪最适培养温度曲线。

[0061] 3.6菌丝体最适培养pH值

[0062] 分别以pH=4、5、6、7、8配制基础培养基(5组,每组3板),灭菌倒板后待用,将适量菌丝体涂布于固体平面培养基中进行活化,活化后再取适量接入的菌丝体接入已灭菌倒好的平板,放入27℃培养箱培养,10天后测量菌丝直径,每组设置三重复,取平均值。绘制超短裙竹荪最适培养pH曲线。

[0063] 3.7不同无机盐对菌丝体生长得影响

[0064] 配制一瓶30mL基础培养基和三组加无机盐的基础培养基(每瓶倒3板,每瓶30mL)分别以氯化钠(0.2%)、氯化钾(0.2%)、七水合硫酸镁(0.2%)为所添加的无机盐成分,pH正常,配制发酵培养基,灭菌后倒板待用。

[0065] 将适量菌丝体涂布于固体平面培养基中进行活化,活化后再取适量的菌丝体接入已灭菌倒好的平板,基础培养基的平板作为空白对照组,10天后,量菌丝体直径,每组设置三重复,取平均值。绘制超短裙竹荪无机盐曲线。

[0066] 3.8菌丝体培养条件的正交实验

[0067] 按着表1所示的条件,配制9组培养基,分别按照以下配比进行配制(如表2所示),每组30mL,灭菌后每组倒3板。将适量菌丝体涂布于固体平面培养基中进行活化,活化后再取适量的菌丝体接入已灭菌倒好的平板,10天后,测量菌丝直径,每组设置三重复,取平均值。三因素三水平正交实验。

[0068] 表1超短裙竹荪正交实验条件

	麦芽浸粉	酵母浸粉	温度
[0069] 1	1.6%	0.2%	26℃
2	2.0%	0.4%	28℃
3	2.4%	0.6%	30℃

[0070] 表2超短裙竹荪培养条件的正交实验

	麦芽浸粉	酵母浸粉	温度
第1组	1.6%	0.2%	26℃
第2组	1.6%	0.4%	28℃
第3组	1.6%	0.6%	30℃
[0071] 第4组	2.0%	0.2%	28℃
第5组	2.0%	0.4%	30℃
第6组	2.0%	0.6%	26℃
第7组	2.4%	0.2%	30℃
第8组	2.4%	0.4%	26℃
第9组	2.4%	0.6%	28℃

[0072] 4、结果与分析

[0073] 4.1菌丝培养特性观察

[0074] 如图1a所示,菌丝生长向四周发散,扇形或圆形。白色丝状,气生菌丝有的较浓厚。当菌块面朝下与培养基接触时,如图1a中的(4)和(7)板(箭头已标出),菌丝生长呈扇形分散状,其他呈圆形发散生长,均是菌面朝上,不与培养基接触。图1b,是培养基中含有 Na^+ ,其气生菌丝较浓厚,旺盛。

[0075] 4.2超短裙竹荪的生长曲线的测定

[0076] 菌丝体直径随着生长时间的延长而逐渐增加(如图2所示),从第2天开始,菌株进入对数生长期,至第14天菌株进入生长稳定期,至第20天长满平板。因此,超短裙竹荪的延迟期为1-2天,对数生长期为2-14天,稳定期为14-20天。选择培养时间为第10天(对数生长期中期)开始收集菌体,计量菌丝体直径。

[0077] 4.3超短裙竹荪碳源筛选

[0078] 采用不同的碳源对超短裙竹荪进行培养,10天后测量菌丝体半径,如图3所示,结果发现:以麦芽浸粉为碳源的菌丝体半径明显大于其他实验组,因此,麦芽浸粉是培养该菌的最佳碳源。

[0079] 如图4所示,是对应着不同的碳源菌丝的生长状况,结果和图3结果相一致。其中,图4中包含:空白对照组、①葡萄糖、②蔗糖、③麦芽浸粉、④可溶性淀粉、⑤乳糖。

[0080] 4.4超短裙竹荪氮源筛选

[0081] 采用不同的氮源对超短裙竹荪进行培养,10天后测量菌丝体半径,如图5所示,结

果发现以酵母浸粉为氮源的菌丝体半径明显大于其他实验组,因此酵母浸粉是培养该菌的最佳氮源。

[0082] 如图6所示,是对应着不同的氮源培养的菌丝的生长状况,结果和图5结果相一致。图6中包含:空白对照组、①蛋白胨、②酵母浸粉、③尿素、④硫酸铵、⑤硝酸钾。

[0083] 4.5超短裙竹荪最适培养温度

[0084] 超短裙竹荪在不同的温度下进行培养,10天后测量菌丝体直径,如图7所示,结果发现培养温度在27℃的时候菌体直径最大,如图8所示,为24℃、27℃、31℃不同温度下菌丝在培养皿中的生长状况,明显地,与图7结果一致,27℃更适合该菌株的生长。

[0085] 4.6超短裙竹荪最适培养pH值

[0086] 超短裙竹荪在不同的pH值下进行培养,10天后测量菌丝体直径,如图9所示,结果发现随着pH增加,菌丝体直径增大,pH为6时,菌丝体直径最大,说明鬼笔菌最适培养pH值为6。

[0087] 4.7不同无机盐对菌丝体生长得影响

[0088] 超短裙竹荪在不同的无机盐条件下进行培养,10天后测量菌丝体直径,如图10所示,结果发现: Mg^{2+} 、 K^{+} 长势较好, Mg^{2+} 好于 K^{+} ,但 K^{+} 长势的较为浓密, Na^{+} 可促进该菌株的气生菌丝生长。

[0089] 4.8菌丝体培养条件的正交实验

[0090] 根据单因素实验结果,选择碳源、氮源、温度三个因素,进行三水平的正交实验。结果表明,由表3可以看出第4组,即麦芽浸粉2.0%,酵母浸粉0.2%,温度为28℃时最适合菌体生长,培养基的利用最充分。

[0091] 表3超短裙竹荪培养条件的正交实验

组别	麦芽浸粉	酵母浸粉	温度(℃)	平均直径(cm)
第1组	1.6%	0.2%	26	3.97
第2组	1.6%	0.4%	28	4.01
第3组	1.6%	0.6%	30	0.1
[0092] 第4组	2.0%	0.2%	28	4.79
第5组	2.0%	0.4%	30	3.02
第6组	2.0%	0.6%	26	2.91
第7组	2.4%	0.2%	30	3.19
第8组	2.4%	0.4%	26	3.83
第9组	2.4%	0.6%	28	4.11

[0093] 实施例2

[0094] 根据实施例筛选的条件进行超短裙竹荪的培养,即麦芽浸粉2.0%,酵母浸粉0.2%的基础上,添加七水硫酸镁0.1%、氯化钠0.1%、钾源0.1%、琼脂1.5%、补充水至100mL。

[0095] 超短裙竹荪培养方法:

[0096] 步骤1:用活化后的超短裙竹荪菌种制成种子液;

[0097] 步骤2:将所述种子液涂布于上述超短裙竹荪的培养基中,温度保持在27℃,湿度控制在85%,pH为6,培养10天,获取超短裙竹荪菌种。

[0098] 结果发现:菌丝体直径为4.90cm,相比不添加钠源、镁源以及钾源时,直径增大

2.29%，有所增长但不明显。

[0099] 实施例3

[0100] 与实施例2不同之处为：七水硫酸镁0.2%、氯化钠0.2%、钾源0.2%，其他组分同实施例2。

[0101] 结果发现：菌丝体直径为5.32cm，相比不添加钠源、镁源以及钾源时，直径增大11%，增长较明显。

[0102] 实施例4

[0103] 与实施例2不同之处为：七水硫酸镁0.3%、氯化钠0.3%、钾源0.3%，其它组分同实施例2。

[0104] 结果发现：菌丝体直径为4.96cm，相比不添加钠源、镁源以及钾源时，直径增大3.55%，有所增长但不明显。

[0105] 实施例5

[0106] 与实施例3不同之处为：添加0.02%活性炭，其他都一样。

[0107] 结果发现：菌丝体直径为5.9cm，相比活性炭时，直径增大10.9%，增长较明显。

[0108] 综合上述，在实施例2-5筛选出的最佳碳源、氮源的基础上，通过添加一些其他营养元素，并且通过活性碳的加入，可以明显的增大菌丝直径，经分析：推测超短裙竹荪需要的多种营养物质，仅仅依靠碳源虽然能满足自身一定的生长，但是通过钠源、钾源、镁源的加入，可以明显的增大菌丝直径；而活性碳作为吸附载体，将培养过程中产生的一些抗营养因子，不利于超短裙竹荪生长的有害物质进行吸附，所以可以明显促进菌丝生长，增加菌丝直径，加快菌丝的生长。

[0109] 以上所述的实施例仅是对本发明的优选方式进行描述，并非对本发明的范围进行限定，在不脱离本发明设计精神的前提下，本领域普通技术人员对本发明的技术方案做出的各种变形和改进，均应落入本发明权利要求书确定的保护范围内。



a

b

图1

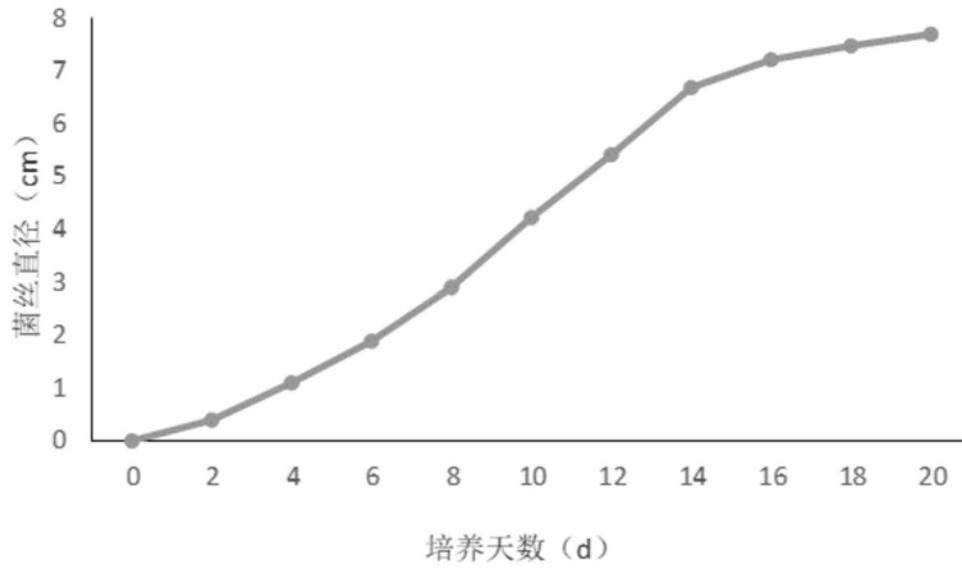


图2

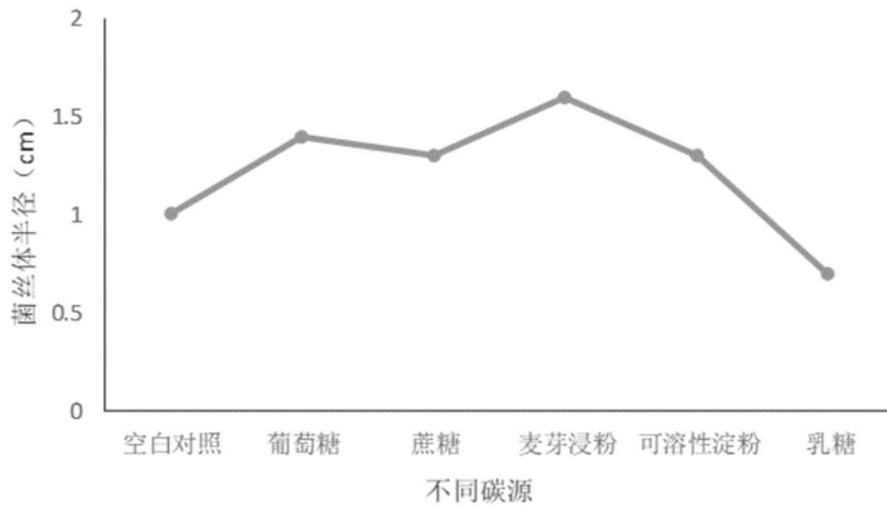


图3

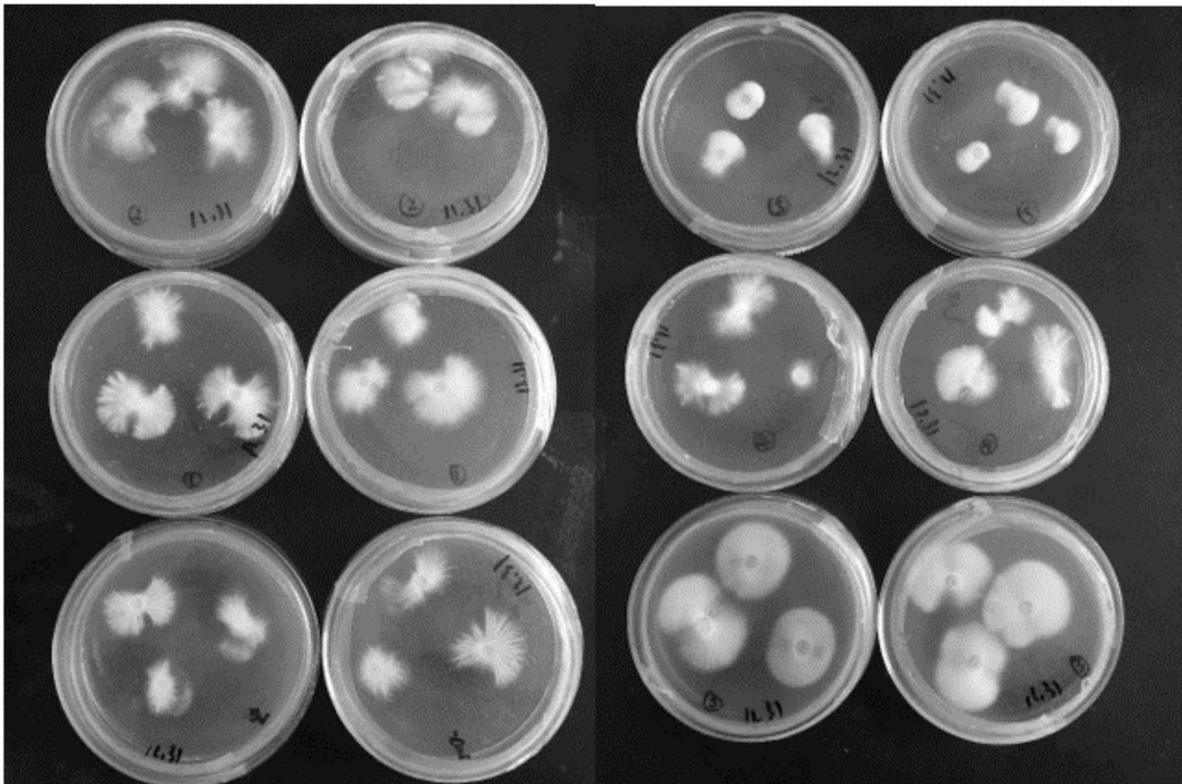


图4

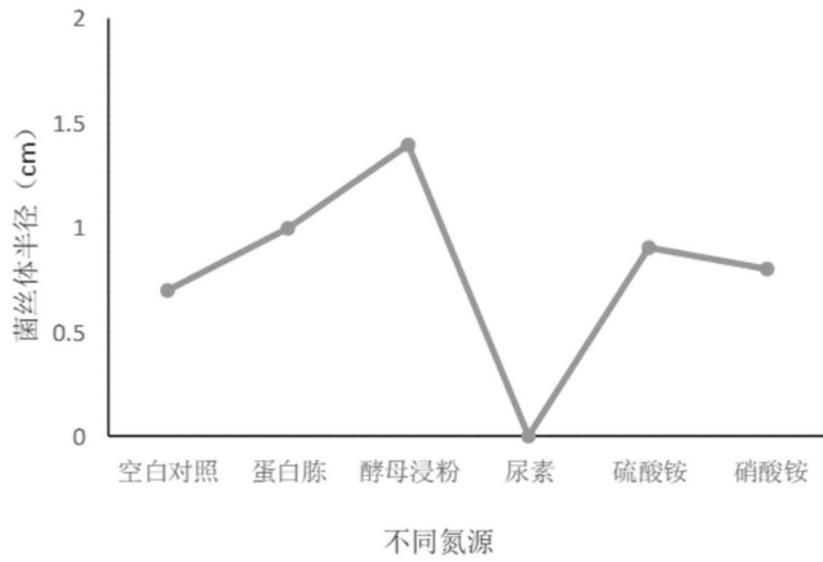


图5

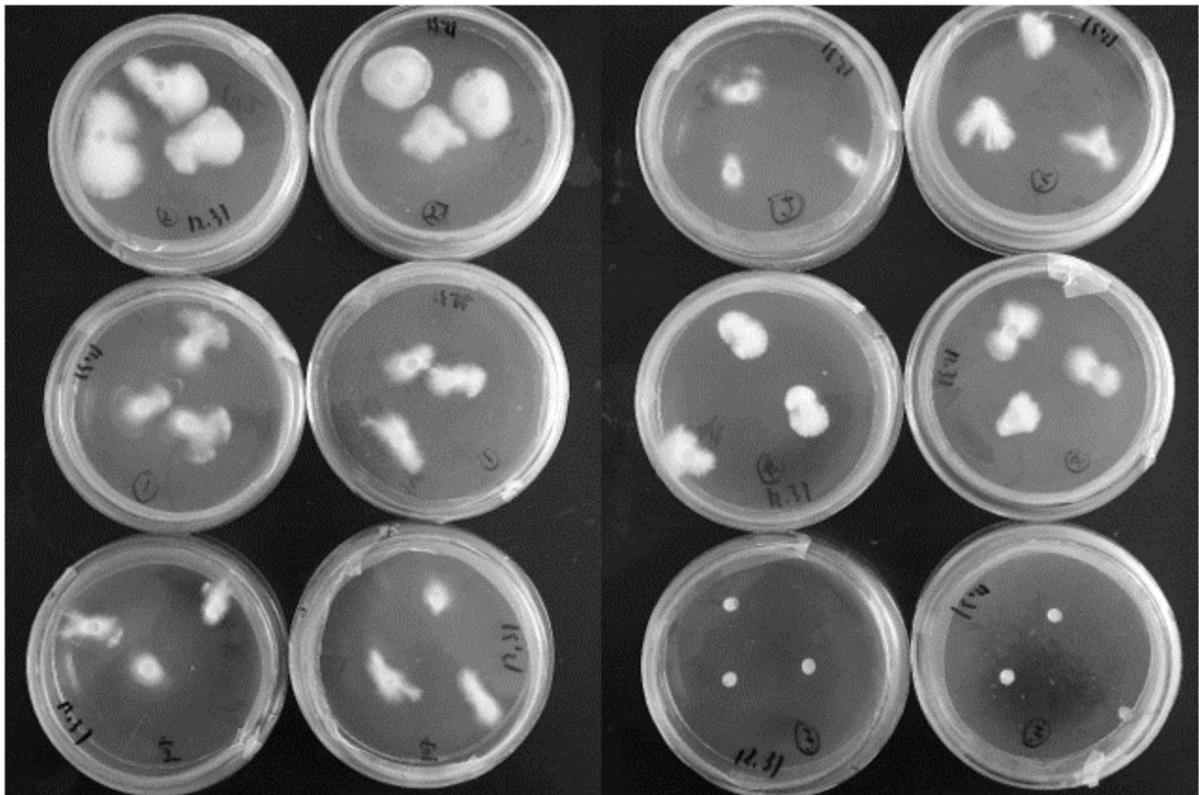


图6

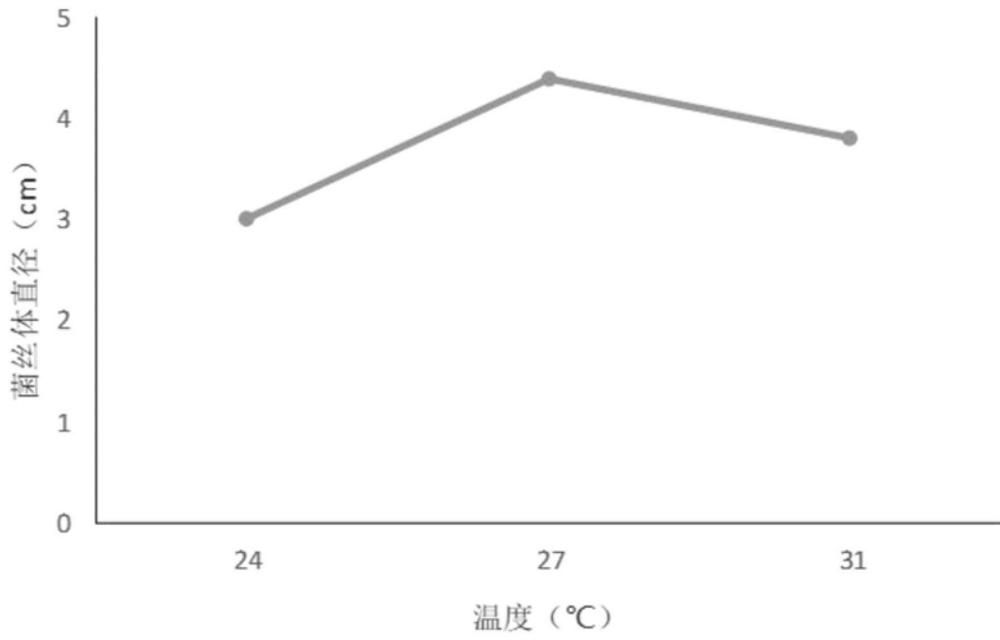


图7

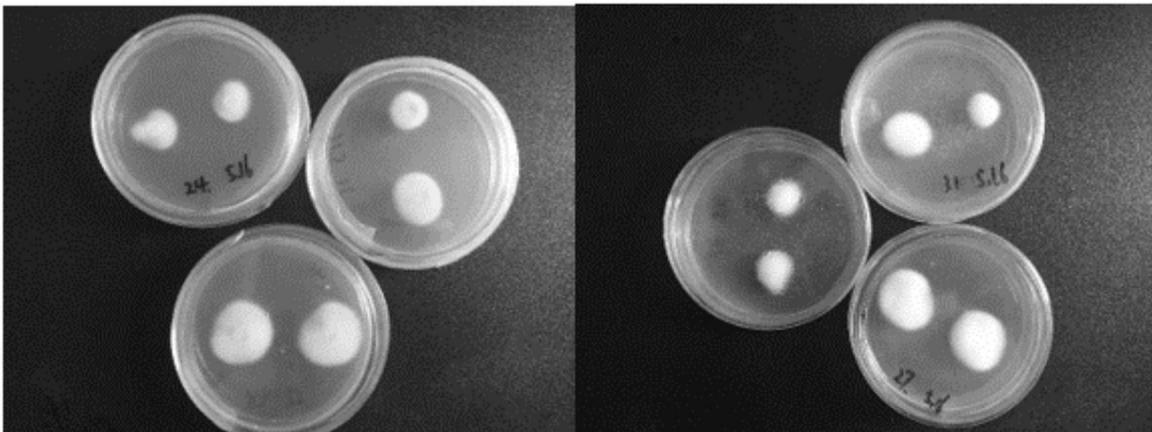


图8

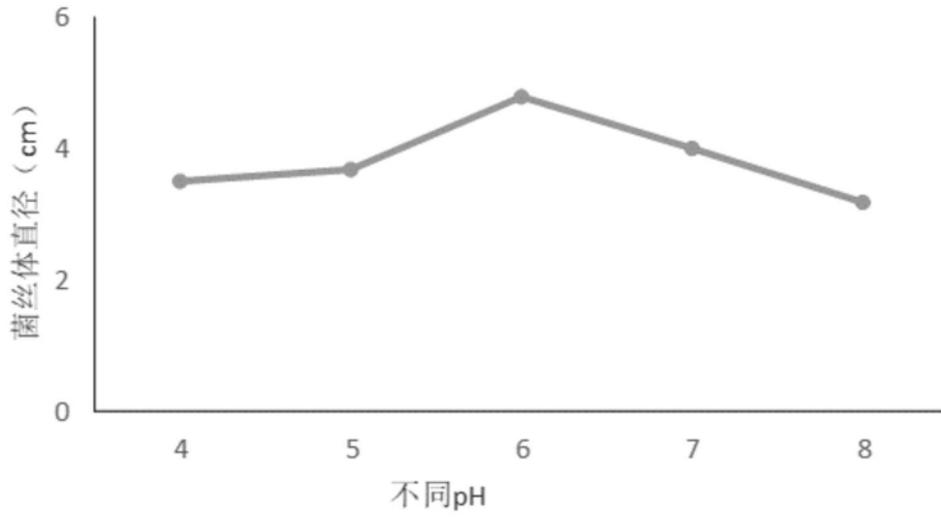


图9

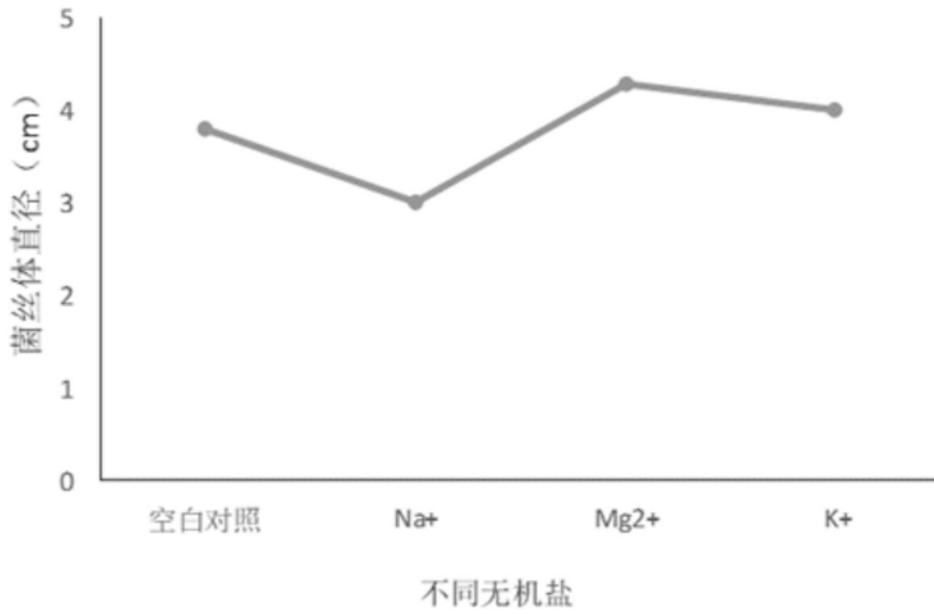


图10