



1株云南楚雄野生香菇菌株的分离鉴定及袋料栽培方法研究

寸孟人 余浪 李蕾 王琴 陈玉惠 冯小飞

Isolation and Identification of a Wild *Lentinula edodes* Strain in Chuxiong, Yunnan and Bag Cultivation

Cun Mengren, Yu Lang, Li Lei, Wang Qin, Chen Yuhui, Feng Xiaofei

引用本文:

寸孟人, 余浪, 李蕾, 王琴, 陈玉惠, 冯小飞. 1株云南楚雄野生香菇菌株的分离鉴定及袋料栽培方法研究[J]. 西南林业大学学报, 2023, 43(6):192–198. doi: 10.11929/j.swfu.202207016

Cun Mengren, Yu Lang, Li Lei, Wang Qin, Chen Yuhui, Feng Xiaofei. Isolation and Identification of a Wild *Lentinula edodes* Strain in Chuxiong, Yunnan and Bag Cultivation[J]. *Journal of Southwest Forestry University(Natural Science)*, 2023, 43(6):192–198. doi: 10.11929/j.swfu.202207016

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11929/j.swfu.202207016>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

1株产色素毛壳菌的分离鉴定及其生物学特性

Isolation, Identification and Biological Characteristics of *Chaetomium* sp. of Produce Red Pigment
西南林业大学学报. 2021, 41(4): 79–85 <https://doi.org/10.11929/j.swfu.202004071>

黔中喀斯特地区不同土层厚度生物学特性研究

Response of Soil Biological Properties to Soil Layer–depth of Karst Area in the Center of Guizhou Province
西南林业大学学报. 2017, 37(4): 91–96 <https://doi.org/10.11929/j.issn.2095–1914.2017.04.014>

核桃黑斑病致病性泛菌的分离鉴定及壳聚糖抑菌的研究

Identification and Antibacterial Tests of Chitosan for a Pathogenic *Pantoea* Isolate Causing Black Spot of Walnut
西南林业大学学报. 2021, 41(3): 100–106 <https://doi.org/10.11929/j.swfu.202002015>

樟叶越桔1株内生真菌的鉴定及其抑菌活性

Identification and Antifungal Activity of An Endophytic Fungus from *Vaccinium dunalianum*
西南林业大学学报. 2018, 38(4): 187–192 <https://doi.org/10.11929/j.issn.2095–1914.2018.04.029>

金毛狗脊内生细菌分离鉴定及其拮抗作用分析

Isolation and Identification of Endophytic Bacteria from *Cibotium barometz* and Its Antagonistic Effect
西南林业大学学报. 2020, 40(1): 176–180 <https://doi.org/10.11929/j.swfu.201812045>

野生与栽培红河橙叶表型性状比较研究

Comparative Study on Phenotypic Traits of *Citrus hongheensis* Leaves in Wild and Cultivated
西南林业大学学报. 2018, 38(2): 56–60 <https://doi.org/10.11929/j.issn.2095–1914.2018.02.009>

DOI: 10.11929/j.swfu.202207016

引文格式: 寸孟人, 余浪, 李蕾, 等. 1株云南楚雄野生香菇菌株的分离鉴定及袋料栽培方法研究 [J]. 西南林业大学学报 (自然科学), 2023, 43(6): 192-198.

1株云南楚雄野生香菇菌株的分离鉴定及袋料栽培方法研究

寸孟人 余浪 李蕾 王琴 陈玉惠 冯小飞

(西南林业大学生命科学学院, 云南昆明 650233)

摘要: 以云南楚雄地区的1株野生香菇为研究对象, 开展了菌种的分离与鉴定, 测定了不同温度、pH、碳源、氮源、无机盐对菌株菌丝体生长情况的影响; 同时以杂木屑、玉米芯等农废资源为主要基质, 进行了野生香菇菌株的袋料驯化栽培。结果表明: 结合形态和ITS分子鉴定, 菌株鉴定为香菇属真菌; 生物学特性实验发现该野生香菇菌丝体生长最适温度为30℃, 最适pH值为6.0, 最佳碳源、氮源分别为玉米粉、蛋白胨, 最适无机盐为氯化钙与硫酸镁; 以60.0%杂木屑添加30.0%玉米芯组成的袋料基质栽培效果最好, 生物转化率达到41.49%。

关键词: 野生香菇; 菌种分离; 菌种鉴定; 生物学特性; 袋料栽培

中图分类号: S318

文献标志码: A

文章编号: 2095-1914(2023)06-0192-07

Isolation and Identification of a Wild *Lentinula edodes* Strain in Chuxiong, Yunnan and Bag Cultivation

Cun Mengren, Yu Lang, Li Lei, Wang Qin, Chen Yuhui, Feng Xiaofei

(College of Life Sciences, Southwest Forestry University, Kunming Yunnan 650233, China)

Abstract: In the research, a wild *Lentinula edodes* strain from Yunnan Chuxiong area was isolated and characterized. Effect of different temperature, pH, carbon source, nitrogen source and inorganic salt on mycelia growth of the strain were studied. At the same time, the wild *L. edodes* strain was successfully cultivated by the mixed sawdust, corn cob and other agricultural waste resources as the main substrate. The results were as follows: Combined with morphological and ITS molecular identification, the strain was identified as *Lentinula* fungus by morphological and molecular identification; biological characteristics experiments found that the optimum temperature for the growth of wild *L. edodes* mycelium was 30.0℃, and the optimum pH was 6.0, the best carbon source and nitrogen source are corn meal and peptone, the best inorganic salt are calcium chloride and magnesium sulfate; bag substitute material cultivation results show: the optimal bag substitute composed of 60.0% sawdust and 30.0% corncob, the biotransformation rate reached 41.49%.

Key words: Wild *Lentinula edodes*; strain isolation; strain identification; biological characteristics; bag substitute material cultivation

收稿日期: 2022-07-08; 修回日期: 2022-10-20

基金项目: 国家级大学生创新创业训练计划项目(202110677014)资助; 云南省大学生创新创业训练计划项目(202110677007, 202010677019)资助; 生物学质量工程项目(503190106)资助; 云南省教育厅科学研究基金项目(2022J0506)资助。

第1作者: 寸孟人(1999—), 男。研究方向: 生物技术。Email: cunmengren@qq.com。

通信作者: 冯小飞(1986—), 男, 博士研究生, 实验师。研究方向: 植物生物化学。Email: 15288404356@163.com。

香菇 (*Lentinula edodes*) 是我国重要的食用菌栽培品种, 在我国具有悠久的栽培历史和广阔的市场前景^[1], 特别是近年来人们饮食结构的调整, 促进了香菇、平菇、木耳等食用菌栽培规模的扩大和产品的开发^[2]。随着国内香菇产业的不断发展, 优良野生菌株的驯化和生态环保型栽培基质的研究是香菇栽种过程中的重要环节, 对香菇产业的长远发展有着重要的意义, 所以对野生香菇优良品种的驯化和栽培是促进香菇产业可持续发展的重要途径^[3]。

云南独特的气候环境及多样的植物类型为各种大型真菌的生长提供了适宜的自然条件, 造就了该地区丰富的野生菌资源。楚雄是云南省重要的野生食用菌采收及销售中心, 该地区食用菌品种多, 产量大, 素有“野生食用菌王国”的美誉, 楚雄当地的野生香菇口感鲜嫩, 香味宜人, 也被当地人称为“香菌”。虽然楚雄地区野生食用菌产业对当地农民创收做出了巨大贡献, 但是该地区野生食用菌产业发展却存在资源开发不均衡, 对当地优质野生香菇、黑木耳 (*Auricularia curricula*)、金耳 (*Naematelia aurantialba*) 等可栽培的野生食用菌资源重视不够, 可持续化程度低等问题^[4-7]。为了更好地发展楚雄地区野生食用菌资源, 除了强调对菌根真菌的保护和利用以外, 同时也应该重视当地优质的香菇、木耳、裂褶菌 (*Schizophyllum commune*) 等可培养野生食用菌的开发, 促进楚雄地区野生食用菌产业的可持续发展^[8-9]。

楚雄地区野生香菇资源丰富, 南华、双柏、大姚、牟定等多个县都有野生香菇的分布, 而当地市场上售卖的野生香菇主要依靠村民林间采摘, 产量有限, 远远不能满足市场的需求。虽然近年来, 政府和民众都越来越重视野生食用菌资源的保护, 但是到目前为止, 还未出现针对楚雄野生香菇菌株驯化及袋料栽培相关的研究报道, 基于该地区野生香菇品种香味突出, 在市场上认可度较高, 具有潜在的市场价值。所以, 开展菌种分离及驯化栽培对该地区野生香菇种质资源的保护开发和后续仿生栽培具有重要的理论意义和实践价值。同时, 以玉米芯、作物秸秆等农业废弃物为基质材料的栽培方法^[10]是食用菌产业向着生态友好, 绿色发展的必然趋势。本研究针对楚雄地区野生香菇进行优良菌种的分离驯化和保

存, 以当地农业生产废弃玉米芯为基质添加材料开展袋料栽培研究, 合理开发利用该地区的优良野生香菇资源, 保护当地野生食用菌种质资源, 促进云南楚雄地区可栽培野生食用菌产业的发展^[11-14]。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试材料

杂木屑、玉米芯、麦麸、石膏粉购自当地农资市场, 其中玉米芯样品粉碎至约 0.5 cm×0.5 cm×0.5 cm 大小的备用。

1.1.2 供试菌种

野生香菇子实体采自云南省楚雄彝族自治州永仁县, 白马河林场 (26°22'17.2"N, 101°37'14.6"E), 生长于栓皮栎 (*Quercus variabilis*) 枯木。选择子实体完整、菌盖肥厚的野生香菇子实体为菌株分离材料, 低温保存, 带回实验室分离备用。

1.1.3 供试培养基

PDA 培养基: 土豆 200.0 g 沸水煮制 20 min 后过滤所得浸出汁中加入葡萄糖 20.0 g, 琼脂粉 18.0 g, 蒸馏水定容至 1 L。基础培养基: 土豆 200.0 g 沸水煮制 20 min 后过滤所得浸出汁中加入葡萄糖 20.0 g, 酵母浸膏 3.0 g, 琼脂粉 18.0 g, KH₂PO₄ 1.0 g, 蒸馏水定容至 1 L。

1.2 方法

1.2.1 菌种的分离、纯化和保藏

采用组织分离法分离获得野生香菇菌种。野生香菇子实体经表面清洗消毒后, 在无菌条件下挑取野生香菇的菌髓与菌肉交界处组织接种于 PDA 培养基上, 于 25 °C 培养箱中进行培养。待组织周围菌丝萌发后及时对菌种进行纯化培养及菌种保存。

1.2.2 野生香菇菌种鉴定

利用光学显微镜对菌丝体的形态进行观察, 同时选取长势良好的菌丝体进行 DNA 提取与 ITS 测序, 以通用引物 ITS5 (GGAAGTAAAAGT CGTAACAAGG) 和通用引物 ITS4 (TCCTCCGCT TATTGATATGC) 为引物, 退火温度 53.95 °C, 使用克隆目标序列再扩增和直接扩增目标序列两种方法测定野生香菇的 rDNA-ITS 序列, 利用 NucleotideBLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 对测序结果进行多序列比对, 选取相似度较

高的序列,使用MEGA构建系统发育树,确定菌株的种属关系。

1.2.3 野生香菇菌株生物学特性研究

对分离鉴定后的菌株开展培养温度、pH、碳源、氮源、无机盐的研究,操作过程如下:无菌条件下使用打孔器将平板菌种打孔为大小相同的“菌饼”(直径0.5 cm),分别接种于基础培养基后放置于不同温度下恒温培养(15、20、25、30、35℃)10 d;分别接种于不同pH(pH=5.0、pH=6.0、pH=7.0、pH=8.0、pH=9.0)的基础培养基培养10 d。同时以不同碳源(蔗糖、麦芽糖、米粉、可溶性淀粉、玉米粉、黑豆粉),不同氮源(蛋白胨、牛肉膏、酵母提取粉、硫酸铵、酸水解酪蛋白、尿素),不同无机盐(氯化钙、硫酸镁、磷酸二氢钾、氯化钠、硫酸亚铁)分别替换基础培养基中的葡萄糖、酵母膏、及磷酸二氢钾,于25℃条件下培养10 d,测量菌落直径,计算菌丝体日均生长速率,每个单因素实验设置4个平行。

1.2.4 楚雄野生香菇袋料栽培方法研究

基质配方以阔叶树木屑、玉米芯为主要基质材料,按表1进行栽培基质的配制,每袋基质干料300.0 g,按质量比1:1.5加水混匀后装入菌袋(使用规格为18.0 cm×30.0 cm的PVC菌袋),pH自然,每组实验3个平行。

表1 袋料栽培基质配比

Table 1 The matrix ratio of bag substitute cultivation

编号	玉米芯/%	杂木屑/%	辅料/%
A	10	80	10
B	20	70	(6%麦麸,1.5%黄豆粉,1%石膏,1%蔗糖,0.25%硫酸镁,0.25%磷酸二氢钾)
C	30	60	
D	40	50	
E(CK ₁)	0	90	
F(CK ₂)	90	0	

菌种接种至液体培养基中摇床发酵培养10 d后备用,按照1/10(V/m)的接种量对菌包一端进行接种,接种后的菌包于25℃条件下避光发菌培养,按时观察菌种萌发情况,并采用“划线法”分别记录不同菌包中菌丝体的生长速率及形态,并按公式(1)计算菌丝体日均生长速率。

$$\text{菌丝体生长速率} = \text{菌丝体长度} / \text{生长天数} \quad (1)$$

待菌包中的菌丝长满至菌包底部后,打开出菇环,促进菌包转色的同时增加光照强度和湿度(80%~85%)催化出菇,待原基开始分化后,观察子实体的生长情况并及时进行采收和称重,每个配方采菇3茬,并按公式(2)计算不同基质的生物转化率。

$$\text{生物转化率} = \text{香菇鲜质量} / \text{基质干质量} \times 100\% \quad (2)$$

1.2.5 数据处理

实验数据采用IBM SPSS Statistics 20软件中“Duncan”方法对菌丝生长速率、生物转化率等数据进行方差分析及差异性分析。

2 结果与分析

2.1 野生香菇菌种分离与鉴定

接种于PDA平板培养基的组织于20℃环境下培养约8~9 d开始萌发出白色菌丝体(图1b),纯化后的菌丝置于25℃条件下约10~11 d长满培养皿(直径9.0 cm)。野生香菇菌丝体洁白呈现羊毛状,贴于基质表面呈辐射状生长,其形态如图1c所示,纯化获得的野生楚雄香菇菌株命名为“YR-YCY-1”。利用光学显微镜对菌丝体进行观察,其菌丝有隔、分枝、无色透明,可在一些菌丝上观察到明显的锁状联合结构(图1d)。

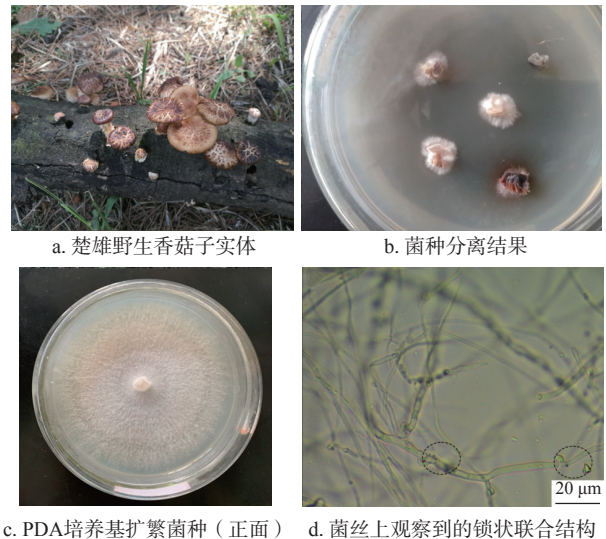


图1 野生香菇的菌丝培养

Fig. 1 Mycelium culture of wild *L. edodes*

rDNA-ITS分子鉴定结果显示:对YR-YCY-1菌株测序后获得序列长度为878 bp的序列(Genbank: OM455387.1),通过Genbank数据库比对,使用MEGA软件中的Neighbor joining(Nj)法构建系统发育树(图2),YR-YCY-1菌株的ITS

序列与菌株 YAASM1520 (Genbank: KY494616.1) 的香菇菌株的序列相似率最高 (100%)，结合形态观察，可初步推断本次分离纯化的菌株属于

担子菌门、伞菌目、小皮伞科、香菇属、香菇^[15-18]。

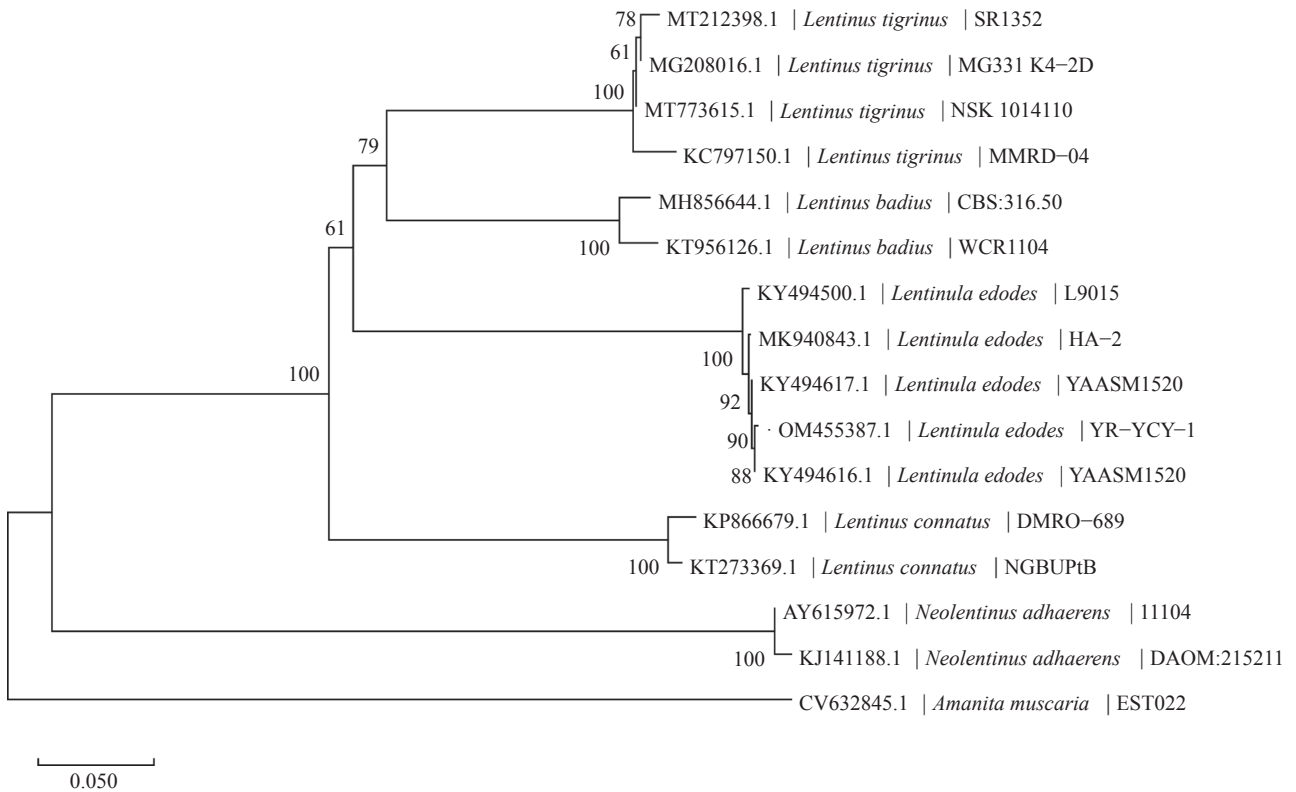


图 2 YR-YCY-1 菌株系统发育树
Fig. 2 Phylogenetic tree of YR-YCY-1 strain

2.2 野生香菇生物学特性研究

2.2.1 不同温度、pH 对野生香菇菌丝体生长的影响

不同温度、pH 条件下培养对野生香菇菌丝体生长影响见表 2~3。菌株 YCY-1 在 15~35 °C 温度范围内都能够正常生长，且菌丝体日均生长速率出现了先增长后减低的趋势，菌丝体在 15 °C 条件下也能够正常生长，但是生长速率较慢，仅为 1.8 mm/d，显著低于其他温度的生长速率 ($P < 0.05$)，30 °C 时菌丝体生长速率最快，达到了 3.3 mm/d，显著高于其他温度条件下的生长速率 ($P < 0.05$)，当温度升高至 35 °C 时，菌丝体生长速率开始下降，且显著低于 25 和 30 °C 的菌丝生长速率 ($P < 0.05$)，说明 30 °C 是比较适合楚雄野生香菇菌丝体生长的温度，该温度下菌丝体生长速率快，且菌丝体浓密粗壮。通过表 3 试验表明，云南楚雄野生香菇菌丝体能够在 pH 5.0~9.0 的范围内正常生长，当 pH 为 6.0 时，菌丝体生长速度最快，达到了 3.0 mm/d，显著高于其他 pH 下的生长情况 ($P < 0.05$)。

表 2 不同培养温度对香菇菌丝体的影响

Table 2 The effect of different temperatures on *L. edodes* mycelium

温度/°C	菌丝日生长速度/(mm·d ⁻¹)	菌丝形态
15.0	1.8 ± 0.03 ^c	较白、纤细、稀疏
20.0	2.3 ± 0.09 ^d	较白、较粗壮、较浓密
25.0	3.0 ± 0.04 ^b	较白、较粗壮、稀疏
30.0	3.3 ± 0.03 ^a	洁白、粗壮、浓密
35.0	2.7 ± 0.05 ^c	洁白、较粗壮、稀疏

注：不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

表 3 不同培养基 pH 对香菇菌丝体的影响

Table 3 The effect of different pH on *L. edodes* mycelium

pH	菌丝日生长速度/(mm·d ⁻¹)	菌丝形态
pH 5.0	2.3 ± 0.09 ^c	较白、纤细、稀疏
pH 6.0	3.0 ± 0.08 ^a	洁白、粗壮、浓密
pH 7.0	2.6 ± 0.03 ^b	洁白、较粗壮、较浓密
pH 8.0	2.5 ± 0.05 ^{bc}	较白、纤细、稀疏
pH 9.0	2.4 ± 0.06 ^c	较白、纤细、较浓密
pH 10.0	2.3 ± 0.02 ^c	较白、纤细、稀疏

注：不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

2.2.2 碳源、氮源、无机盐对楚雄野生香菇菌丝体影响

由表 4 可知, 野生香菇菌株 YR-YCY-1 在供试的 6 种碳源中均能够正常生长, 其中大豆粉作为主要碳源时, 菌丝体生长最慢, 仅为 3.2 mm/d, 显著低于其他供试碳源 ($P < 0.05$), 添加玉米粉作为碳源, 菌丝体生长速率最快, 日均生长速度达到了 3.9 mm/d, 显著高于添加蔗糖为碳源的生长速率 ($P < 0.05$), 但是与麦芽糖、米粉可溶性淀粉相比, 菌丝体日均生长速率差异不显著。通过表 5 可知, 菌株 YR-YCY-1 在蛋白胨为氮源的培养基中菌丝体生长速度最快, 达到了 3.4 mm/d, 显著高于其他氮源 ($P < 0.05$)。其中在添加了尿素作为氮源的培养基中, 野生香菇菌丝体几乎不能萌发和生长, 说明尿素的添加不利于该野生香菇菌丝体的生长, 造成了一定的抑制作用。

表 4 不同碳源对香菇菌丝体的影响

Table 4 Effects of different carbon sources on *L. edodes* mycelium

供试碳源	菌丝日生长速度/(mm·d ⁻¹)	菌丝形态
蔗糖	3.4 ± 0.14 ^{bc}	洁白、较粗壮、较浓密
麦芽糖	3.4 ± 0.06 ^{bc}	洁白、较粗壮、较浓密
米粉	3.5 ± 0.21 ^b	较白、粗壮、较浓密
可溶性淀粉	3.4 ± 0.17 ^b	较白、粗壮、较浓密
玉米粉	3.9 ± 0.11 ^a	洁白、粗壮、浓密
黑豆粉	3.2 ± 0.14 ^c	较白、纤细、稀疏

注: 不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

表 5 不同氮源对香菇菌丝体的影响

Table 5 Effects of different nitrogen sources on *L. edodes* mycelium

供试氮源	菌丝日生长速度/(mm·d ⁻¹)	菌丝形态
蛋白胨	3.4 ± 0.07 ^a	洁白、粗壮、浓密
牛肉膏	3.0 ± 0.08 ^c	较白、纤细、稀疏
酵母提取粉	3.3 ± 0.03 ^a	洁白、粗壮、较浓密
硫酸铵	3.0 ± 0.08 ^c	较白、纤细、稀疏
酸水解酪蛋白	3.2 ± 0.03 ^b	洁白、粗壮、较浓密
尿素	0.0 ± 0.00 ^d	-

注: 不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$), “-”表示菌丝不能正常生长。

通过表 6 可知, 除了硫酸亚铁以外, 野生香菇菌株能够在 4 种无机盐培养基中正常生长, 其中添加氯化钙或硫酸镁后, 其菌丝体生长最快,

日均生长速率均达到了 3.9 mm/d, 二者差异不显著。氯化钠或磷酸二氢钾的培养基中, 野生香菇菌丝体生长速率达到了 3.5 mm/d, 二者差异不显著。添加硫酸亚铁后, 菌丝体不能萌发和生长, 说明硫酸镁、氯化钙 2 种无机盐能够促进野生香菇菌丝体的生长, 而硫酸亚铁的添加不利于菌株菌丝体的萌发和生长。

表 6 不同无机盐对香菇菌丝体的影响

Table 6 Effects of different inorganic salts on *L. edodes* mycelium

供试无机盐	菌丝日生长速度/(mm·d ⁻¹)	菌丝形态
硫酸镁	3.9 ± 0.13 ^a	洁白、粗壮、浓密
氯化钙	3.9 ± 0.11 ^a	洁白、粗壮、浓密
磷酸二氢钾	3.5 ± 0.17 ^b	较白、粗壮、较浓密
氯化钠	3.5 ± 0.11 ^b	较白、粗壮、较浓密
硫酸亚铁	0.0 ± 0.00 ^c	-

注: 不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$), “-”表示菌丝不能正常生长。

2.3 野生香菇袋料栽培方法研究

野生香菇 (YR-YCY-1) 袋料栽培出菇结果如图 3 所示, 以原基分化后 3 d 为依据开始采收, 生物转化率测定结果如表 7 所示, 本次分离获得的野生香菇菌株能够在供试的 6 种袋料基质上正常生长和分化出菇。基质配方 D 中菌丝体生长速率较快, 达到了 4.7 mm/d, 显著高于基质配方 A 和两个对照的测定值 ($P < 0.05$)。其次为基质配方 C 和 B, 而二者生长速率分别为 4.6 mm/d、4.3 mm/d, B、C、D 对野生香菇菌丝体生长速率影响差异不显著。结合子实体生物转化率的计算结果发现, 基质配方 C 生物转化率最高, 达到了 41.49%, 显著高于配方 A、B 和对照菌包的子实体生物转化率 ($P < 0.05$), 其次为基质配方 D, 子实体生物转化率为 36.66%, 与配方 C 相比, 二者在菌丝体生长速率及子实体产量方面均差异不显著。综合比较, 该野生香菇菌株子实体生物转化率与菌丝体生长速率存在一定正相关性, 基质配方 C 和 D 不仅菌丝体生长速度快, 同时子实体生物转化率也相对较高, 特别是配方 C 子实体转化率超过了 40%。分析基质配方发现, 单独以玉米芯或者杂木屑为主要基质开展该菌株的袋料栽培效果均不够理想, 二者进行复配在一定程度上能够提高子实体的生物转化率及菌丝体生长速率, 所以, 本次袋料栽培研究中配方 C 为较好的袋料基质配方。

表7 不同基质配方的香菇菌丝体生长速率及子实体生物转化率

Table 7 Mycelium growth rate and fruit body biotransformation rate of *L. edodes* in different substrate formulations

编号	菌丝日生长速度/(mm·d ⁻¹)	菌丝形态	平均生物转化率/%
A	3.9 ± 0.15 ^b	洁白粗壮	28.84 ± 3.007 ^c
B	4.3 ± 0.35 ^{ab}	洁白粗壮	32.61 ± 3.697 ^b
C	4.6 ± 0.40 ^a	洁白粗壮	41.49 ± 3.971 ^a
D	4.7 ± 0.15 ^a	洁白粗壮	36.66 ± 3.912 ^a
E(CK ₁)	3.2 ± 0.30 ^c	洁白	27.81 ± 2.523 ^c
F(CK ₂)	3.9 ± 0.11 ^b	洁白致密	28.83 ± 1.166 ^c

注: 不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。



图3 野生香菇袋料栽培情况

Fig. 3 Bag substitute material cultivation situation of *L. edodes*

3 结论与讨论

形态观察是传统真菌鉴定过程中的重要方法,除了子实体的直观表型外,菌丝体结构、孢子大小、产孢结构等微观结构在真菌鉴定过程中都发挥着重要的作用。本次分离纯化后的菌株,利用光学显微镜明显观察到了菌丝上的锁状联合结构,该结构是担子菌菌丝体发育过程中形成的特有结构,为菌株的鉴定提供了初步的依据^[19]。同时,ITS测序技术是近年来真菌鉴定过程中的重要方法,已经被广泛应用于多种真菌的分析鉴定工作中^[20-21],将形态观察与分子测序技术进行有机结合能够快速准确地开展微生物的鉴定工作。生物学特性是了解菌株生长和发育的重要指标,对菌种培养、保存及生产实践具有重要的意义,通过测定不同单因素实验对野生香菇菌株菌丝体形态和生长速率的影响,为后期菌种产业化培育和长时间保存提供依据。本次单因素分析结

果显示,平板培养基中分别以玉米粉作为碳源、蛋白胨为氮源、添加适量氯化钙或硫酸镁、pH为6.0、培养温度30℃时菌丝体形态较好,生长速率较快,该研究结果与廖真等^[22]、熊雪等^[23]的研究结果具有一定的一致性,证实了蛋白胨作为主要氮源时,对香菇菌丝体的生长具有一定的促进作用,但是不同来源野生香菇因生长环境及其种间可能存在的差异,导致了其在对温度、pH、主要营养元素的利用等方面具有较大差异,若要深入对该野生香菇菌株生物学特性进行研究,还需进一步开展各单因素正交试验的验证。袋料栽培方法发现基质中添加部分玉米芯能够促进菌丝体生长和子实体生物转化率的提高,实验中,添加了30%玉米芯的实验组较之不添加玉米芯的实验组菌丝生长速率提高了1.4 mm/d,生物转化率提高了13.68%,近年来,针对香菇菌包基质配比及袋料基质开展了大量研究。例如:夏敏等^[24]的研究表明在袋料栽培基质中添加一定含量的玉米秸秆混合物能有效缩短菌包发菌培养、转色和出菇的时间,分别缩短了18、27 d和30 d,但是将会在一定程度上降低生物转化率。王广慧等^[25]的研究表明在基质中添加不同比例的玉米秸秆混合物也对香菇子实体生物转化率产生影响,同时向基质中添加62%的玉米秸秆混合物时将有效增加子实体中的还原糖、总糖和总氨基酸含量,同时生物转化率较之添加68%的米秸秆混合物的实验组生物转化率提高6.09%。付显锋^[26]的试验也表明在栽培基质中添加一定的麦麸和石膏能够显著提升香菇子实体的生物转化率,袋均生物转化率提高了5.07%。可见袋料基质的选择、配比、辅料的添加等过程是菌种萌发、菌丝生长、子实体原基分化和出菇产量的重要影响因素。玉米芯、棉籽壳、秸秆等农废资源是重要的食用菌栽培基质,与杂木屑相比,不同秸秆或者玉米芯在纤维素、木质素以及其他营养成分方面存在较大的含量差异,不同基质的合理混配不仅有利于袋料基质中多种营养成分的补充,同时开辟了农废资源利用的新途径,对食用菌栽培产业的绿色发展具有一定的实践生产价值。

本研究对1株楚雄野生香菇菌株进行了菌种分离,生物学特性分析及驯化栽培研究,利用形态观察及分子测序技术开展了菌株YR-YCY-1的鉴定工作,确定了该菌株为香菇属真菌(*Lentinula edodes*)。单因素实验筛选了碳源、氮源、无机盐、pH以及培养温度对菌丝体生长的影响,

同时实现了野生香菇菌株袋料栽培的分化出菇及袋料基质配方的优化,结果表明该野生香菇菌丝体生长最适温度为 30 ℃,最适 pH 为 6.0,最适碳源为玉米粉,最适氮源为蛋白胨,最适无机盐为氯化钙与硫酸镁,同时以 60.0% 杂木屑添加 30.0% 玉米芯组成的袋料基质栽培效果最好,生物转化率达到 41.49%。此外,下一阶段的实验将进一步对该株香菇的香味成分及营养成分进行分析。为该地野生香菇资源的利用提供技术支持,同时也为后期该地区野生香菇林下仿生栽培奠定基础,促进当地的野生食用菌产业可持续发展。

[参 考 文 献]

- [1] 宋鼎珊. 野生食用菌国内外市场前景及云南食用菌定位分析 [J]. 西南林学院学报, 2002, 22(3): 33-38.
- [2] 卯晓岚. 中国香菇属的种类及香菇的自然分布 [J]. 中国食用菌, 1996, 15(3): 34-36.
- [3] 张寿橙. 中国香菇栽培与市场 [M]. 杭州: 西泠印社出版社, 2006: 35-38.
- [4] 吴学谦, 陈士瑜. 中国香菇栽培技术的变革与发展 [J]. 浙江林业科技, 2002, 22(3): 14-18.
- [5] 谭琦, 潘迎捷, 黄为一. 中国香菇育种的发展历程 [J]. 食用菌学报, 2000, 7(4): 48-52.
- [6] 黄年来. 中国现代菇业发展现状及展望 [J]. 食用菌, 2004, 26(4): 2-3.
- [7] 张树庭, 陈明杰. 香菇产业的过去现在和未来 [J]. 食用菌, 2003, 25(1): 2-4.
- [8] 吕作舟, 刘巧云. 我国香菇育种的回顾与展望 [J]. 中国食用菌, 1996, 15(1): 5-7.
- [9] 杜双田. 香菇袋料栽培新技术 [M]. 杨凌: 西北农林科技大学出版社, 2005.
- [10] 张振文, 姚方杰, 张作达, 等. 基于木薯茎秆屑栽培的黑木耳品质评价 [J]. 云南农业大学学报 (自然科学), 2022, 37(2): 330-335.
- [11] 张寿橙, 赖敏男. 中国香菇栽培历史与文化 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1993.
- [12] 陈秀炳. 人工栽培香菇阔叶树种的优化选择及应用研究 [C]. 长春: 第八届海峡两岸菌物学学术研讨会论文集. 2007: 161-166.
- [13] 赵麒鸣, 吴鹏, 刘鸿高, 等. 食用菌修复重金属污染土壤研究进展 [J]. 西南林业大学学报 (自然科学), 2022, 42(2): 180-188.
- [14] 段昌群, 付登高, 刘嫦娥, 等. 生态文明背景下云南生物多样性国家意义与国际价值的认识 [J]. 西部林业科学, 2021, 50(5): 1-4.
- [15] Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees [J]. Molecular Biology and Evolution, 1987, 4(4): 406-425.
- [16] Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap [J]. Cancer Informatics, 1985, 39(4): 783-791.
- [17] Nei M, Kumar S. Molecular Evolution and Phylogenetics [M]. New York: Oxford University Press, 2000.
- [18] Kumar S, Stecher G, Li M, et al. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms [J]. Molecular Biology and Evolution, 2018, 35(6): 1547-1549.
- [19] 杨雄, 赵长林. 药用真菌香樟范氏孔菌的驯化栽培及生物学发育特征 [J]. 菌物学报, 2022, 41(1): 59-67.
- [20] 张家晨, 贾福晨, 罗章, 等. 基于 ITS 序列对林芝市售七种野生大型食用真菌的鉴定 [J]. 北方园艺, 2020 (8): 122-129.
- [21] 秦莲花, 宋春艳, 谭琦, 等. 用 ITS 和 ISSR 分子标记技术鉴别香菇生产用种 [J]. 菌物学报, 2006, 25(1): 94-100.
- [22] 廖真, 林占熿, 徐志文, 等. 巴布亚新几内亚野生香菇的鉴定及生物学特性 [J]. 北方园艺, 2021(14): 143-152.
- [23] 熊雪, 李鹏, 廖小锋, 等. 野生马桑香菇的鉴定及其生物学特性 [J]. 北方园艺, 2021(4): 118-123.
- [24] 夏敏, 秦秀昌. 香菇玉米秸秆袋料春季栽培技术研究 [J]. 湖北农业科学, 2004, 43(5): 69-71.
- [25] 王广慧, 魏雅冬, 于德涵. 秸秆袋料栽培香菇培养料配方的优化 [J]. 山西农业科学, 2015, 43(2): 164-166.
- [26] 付显锋. 高温香菇高效栽培配方的筛选 [J]. 中国食用菌, 2021, 40(6): 50-55.

(责任编辑 冯 雪)

