

野生沙杵菇菌株筛选试验

鲍红春¹, 贾博渊^{2*}, 李小雷³, 何瑞超³, 李慧², 贾晓东¹, 贾学宇³, 吴小燕³ (1. 内蒙古自治区园艺研究院, 内蒙古呼和浩特 010011; 2. 内蒙古漠菇生物科技有限公司, 内蒙古鄂尔多斯 017000; 3. 内蒙古农业大学, 内蒙古呼和浩特 010015)

摘要 为了挖掘野生沙杵菇新种质, 将野外采集的沙杵菇菌丝团与菌蕾采用组织分离法得到 71 个菌株, 利用 PDA 培养基进行平板培养, 观测菌丝颜色、浓密度、均匀度、菌丝长势, 并对优选菌株进行了原种培养及出菇试验。结果表明, 71 个野生沙杵菇菌株在 PDA 上均能够萌发生长, 菌株 SHCHG(S)02 与 SHCHG(L)07 菌丝浓白粗壮、均匀浓密、长势强。2 个野生菌株经人工栽培, 可正常出菇。在熟料栽培下, 菌株 SHCHG(J)02 与 SHCHG(L)07 产量高, 分别达 2 387 和 2 123 g/筐; 生物学转化率分别为 39.78% 和 35.38%, 以上 2 个菌株可用于进一步鉴定、研究、栽培, 以培育出产量高、质优的沙杵菇栽培菌种。

关键词 野生沙杵菇; 菌株; 菌丝形态; 比较试验

中图分类号 S646.9 **文献标识码** A

文章编号 0517-6611(2022)13-0056-03

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2022.13.016

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



The Wild *Coprinus comatus* Strain Screening Test

BAO Hong-chun¹, JIA Bo-yuan², LI Xiao-lei³ et al (1. Inner Mongolia Autonomous Region Horticultural Research Institute, Hohhot, Inner Mongolia 010011; 2. Inner Mongolia Mogu Biotechnological Company Limited, Ordos, Inner Mongolia 017000; 3. Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot, Inner Mongolia 010015)

Abstract In order to explore the new germplasm of wild *C. comatus*, 71 strains were collected from the field by tissue isolation of *C. comatus* peloton and button. In addition, we conducted plate culture with PDA medium to observe the color of mycelium, density, uniformity, and color of mycelium and carried out original culture and mushroom emergence test on the selected strains. The results showed that 71 wild *C. comatus* strains were able to germinate and grow on PDA, and the strain SHCHG(S)02 and SHCHG(L)07 mycelium was thick, white, uniform, and dense with strong growth. In addition, 2 wild mushroom strains were artificially cultivated and could produce mushrooms typically under clinker cultivation; strains SHCHG(J)02 and SHCHG(L)07 had high yields of 2 387 and 2 123 g/basket; biological conversion efficiency was 39.78% and 35.38%, respectively. Thus, the above two strains can be used to identify further, research, and cultivate to produce high-yielding and high-quality cultivated strains of *Comatus*.

Key words Wild *Coprinus comatus*; Strain; Mycelial morphology; Comparison experiment

沙杵菇[*Coprinus comatus* (JIA)]又称“沙棒槌菇”“沙锤子菇”, 隶属于菌伞纲, 伞菌亚目, 蘑菇科, 鬼伞属^[1-2]。因其形似沙槌而得名, 是一种珍稀的药食兼用野生真菌, 广泛分布于内蒙古鄂尔多斯市准格尔旗部分地区, 在雨后的沙蒿地、草沙地、杨树林及沙漠腐草滩地较为常见。近年来由于野生蘑菇含有多氨基酸及生物活性酶类, 有助消化、降血压、抗肿瘤、降血脂等功效, 使其备受人们青睐^[3-6]。野生沙杵菇因其绿色无污染、味道鲜美、营养丰富, 深受人们喜爱, 市场需求越来越大, 由于利益的驱使, 导致人们掠夺性采摘, 使得当地珍贵野生沙杵菇资源濒临灭绝。目前关于沙杵菇人工栽培研究甚少, 因此, 选育质优、高产新菌种进行人工栽培, 是保护野生沙杵菇资源的一项有效措施, 对当地野生食用菌资源的开发利用将具有巨大意义。

野生菌株是优良菌种选育和驯化的基础材料之一^[7-10]。笔者以采集到的野生沙杵菇菌丝团与菌蕾为试验材料, 经组织分离得到菌株, 对分离菌株进行菌丝生长情况观察评估, 并对 2 个优选菌株进行栽培试验, 以期选育出适合大面积推广的优良菌株, 为最终实现沙杵菇人工规模化栽培奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验菌种 试验所用的沙杵菇菌丝团与菌蕾, 采集于

内蒙古鄂尔多斯市准格尔旗布尔陶亥乡尔圪壕村附近沙蒿地, 经组织分离培养得到原始菌株。

1.2 培养基质 母种采用常规 PDA 培养基(马铃薯 200 g, 葡萄糖 20 g, 琼脂 20 g, 水 1 000 mL); 原种培养料配方: 玉米秸丝 35.0%, 玉米芯 35.0%, 羊粪 28.5%, 石膏粉 1.5%, 含水量 50.0%~55.0%; 栽培料配方: 玉米秸 30.0%, 玉米芯 30.0%, 沙蒿粉 10.0%, 羊粪 26.2%, 石膏粉 2.0%, 石灰粉 1.8%, 含水量 65.0%, pH 7.5~8.0。

1.3 试验方法

1.3.1 野生沙杵菇菌丝体的分离。 将野外采集的沙杵菇菌丝团和菌蕾置于 0~5℃ 条件下低温处理。待菌丝团紧缩致密, 菌蕾变小而圆整、质硬时, 取出 28 个菌丝团, 分别编号为 SHCHG(S)01~SHCHG(S)28, 43 个菌蕾编号为 SHCHG(L)01~SHCHG(L)43。迅速清除干净外围的腐草土, 分别放入无菌培养皿中。在超净工作台上, 先用 0.1% 的 HgCl₂ 溶液消毒 10 min, 再用无菌水冲洗, 然后剥离外围物质, 直到露出菌丝团的核心和单一菌蕾, 再用无菌水反复冲洗, 剥取约 1 mm 组织分别接入装有 PDA 培养基的培养皿中。在温度 18℃、湿度 80%~85% 的生物培养箱中培养 150 h, 备用。

1.3.2 野生沙杵菇再生菌丝体的提纯。 从 28 个菌丝团培养皿中, 通过趋中优选原则, 选取 3 组。为防止菌丝体感染病毒, 在培养基中加入 0.35‰ 的 5% EDTA 抑毒剂脱毒, 采用先端菌丝体分离提纯菌丝, 变换培养基复壮菌种, 利用“适培基”驯化。选取较好的菌丝体转接到试管斜面中。同样, 从

基金项目 内蒙古自治区科技计划项目(2020GG0223)。

作者简介 鲍红春(1979—), 女, 内蒙古赤峰人, 研究员, 博士, 从事食用菌种质资源创新研究。* 通信作者, 研究员, 从事食用菌栽培与种质创新研究。

收稿日期 2021-09-24

43 个菌蕾培养皿中选取 10 组较好菌丝体进行转接。

1.3.3 原种、栽培种制作和出菇试验。按上述配方配料,将 230 g 原种发酵料装入 250 mL 三角瓶,常压灭菌后接入已活化的 PDA 菌种。栽培种发酵料采用 17 cm×33 cm×0.06 cm 聚丙烯袋。常温灭菌后接种,置于 25 ℃ 生物培养箱中培养,观测菌丝形态特征、长势,比较各处理菌丝生长速度。出菇试验采用内径规格为 42 cm×42 cm×18 cm 塑料筐,试验以优选的 2 个菌株进行原种培养及出菇比较试验,每个处理设 10 个重复。设置 3 个处理,分别为 T₁100% 未经堆腐发酵的培养料,T₂ 发酵料与未发酵料各占 50%,T₃ 100% 经堆腐发酵的培养料。

1.4 菌丝长势评分标准 菌丝长势评分标准:5 分为菌丝长势浓密,均匀;4 分为菌丝长势浓密,较均匀;3 分为菌丝长势较浓密,较均匀;2 分为菌丝长势较稀疏,较均匀;1 分为菌丝长势稀疏,不均匀。

2 结果与分析

2.1 不同菌株菌丝在母种培养基上的生长情况 在同种平板 PDA 培养基上,供试菌株菌丝均能够正常生长,但各菌株菌丝颜色、菌丝浓密度、均匀度、菌丝长势存在一定差异。通过观察比较,采用趋中优选原则,从 28 个菌丝团中,优选出 3 个菌株,分别为 SHCHG(S)02、SHCHG(S)09、SHCHG(S)23。同样从 43 个菌蕾中,优选出 10 个菌株,分别为 SHCHG(L)07、SHCHG(L)09、SHCHG(L)22、SHCHG(L)24、SHCHG(L)25、SHCHG(L)31、SHCHG(L)34、SHCHG(L)36、SHCHG(L)40、SHCHG(L)42。13 个菌株的菌丝生长情况见表 1,SHCHG(S)02 与 SHCHG(L)07 菌株菌丝浓白粗壮、均匀浓密、长势强,经过反复优选确定 SHCHG(S)02 和 SHCHG(L)07 为最佳菌株。

表 1 部分野生沙杄菇菌株的菌丝在 PDA 培养皿中的生长情况(18 ℃)

Table 1 Mycelial growth of some wild *Coprinus comatus* strains in PDA dishes (18 ℃)

菌株名称 Name of strains	菌丝颜色 Color of mycelium	菌丝浓密度 Mycelial density	均匀度 Uniformity	菌丝长势评分 Mycelium growth score//分
SHCHG(S)02	浓白	浓密	均匀	5
SHCHG(S)09	白	较密	较均匀	4
SHCHG(S)23	白	较密	较均匀	4
SHCHG(L)07	浓白	浓密	均匀	5
SHCHG(L)09	白	稀疏	不均匀	2
SHCHG(L)22	白	密	较均匀	4
SHCHG(L)24	白	较密	均匀	4
SHCHG(L)25	白	较密	均匀	3
SHCHG(L)31	白	密	不均匀	4
SHCHG(L)34	白	较密	均匀	3
SHCHG(L)36	白	较密	均匀	4
SHCHG(L)40	白	密	较均匀	4
SHCHG(L)42	浓白	浓密	不均匀	4

2.2 不同栽培料对 2 个菌株菌丝生长的影响 从表 2 可以看出,在相同处理下 SHCHG(J)02 菌株菌丝生长速度均优于 SHCHG(L)07。2 个菌株菌丝生长速度为 5.0~7.5 mm/d。在 T₃ 处理下 SHCHG(J)02 和 SHCHG(L)07 菌株菌丝萌发时间最短,分别为 20 和 21 h;菌丝生长速度最快,为 7.5 和 6.5 mm/d。T₂ 处理下菌丝生长情况次之,T₁ 处理下 2 个菌株菌丝萌发时间长,生长速度慢,菌丝体长势弱。由此可知,在经过堆腐发酵的栽培料上,2 个沙杄菇菌株表现为生长速度快,菌丝体粗壮且浓白、长势强;未经堆腐发酵的培养料,不利于野生沙杄菇菌丝正常生长。

表 2 2 个菌株菌丝体在不同栽培料中的生长情况

Table 2 The mycelium growth of the 2 strains in different cultivated cultures

菌株名称 Name of strains	处理 Treatment	菌丝萌发时间 Mycelial sprouting time//h	菌丝生长速度 Mycelium growth rate//mm/d	菌丝密度 Mycelium density	菌丝长势评分 Mycelial growth score//分
SHCHG(J)02	T1	25	5.5	+	3
	T2	22	6.5	++	4
	T3	20	7.5	+++	5
SHCHG(L)07	T1	25	5.0	+	3
	T2	24	6.0	++	4
	T3	21	6.5	+++	4

注:+++表示菌丝洁白、粗壮、浓密;++表示菌丝较洁白、较粗壮、较浓密;+表示较差
Note:+++ indicated thick and white hyphae;++ indicated white, thick and dense hypha; + indicated poor hypha

2.3 2 个菌株出菇情况比较 由表 3 可知,2 个沙杄菇菌株在栽培料 3 个处理中均出菇。在 T₃ 处理下 SHCHG(J)02 菌株出菇所需时间为 66 d,平均每筐产量为 2 387 g,生物学转化率为 39.78%;SHCHG(L)07 菌株出菇所需时间为 71 d,平均每筐产量为 2 123 g,生物学转化率为 35.38%,均优于其他 2 个处理。在 T₃、T₁ 处理下,SHCHG(J)02 菌株平均每筐产量、生物学转化率均优于 SHCHG(L)07;T₂ 处理下 SHCHG(L)07 菌株平均每筐产量、生物学转化率则优于 SHCHG(J)02。由此可知,2 个菌株在堆腐发酵的栽培料上栽培均表现

为出菇所需时间短、产量高、生物学转化率高;在未经堆腐发酵的栽培料上栽培出菇晚、产量低、生物学转化率低。

3 结论与讨论

在食用菌生产中,菌种的作用是首要的,其质量直接影响食用菌产业的发展。而菌丝生长特性是衡量菌种质量的重要指标,菌丝生长迅速、长势强且浓密的食用菌菌种是实际生产中优质菌株的表现之一^[11-13]。该试验采用组织分离法得到的 71 个菌株,通过比较各菌株菌丝体的菌丝颜色、菌丝浓密度、均匀度、菌丝长势,优选出 10 个菌株,对 10 个菌

表3 沙杳菇不同菌株的产量比较

Table 3 Comparison of yields of different strains of *Coprinus comatus*

菌株名称 Name of strains	处理 Treat- ment	出菇所 需时间 Timing for fruiting//d	平均每 筐产量 Average yield of each basket//g	生物学 转化率 Biological conversion rate//%
SHCHG(J)02	T1	76	1 805	30.08
	T2	71	1 879	31.32
	T3	66	2 387	39.78
SHCHG(L)07	T1	76	1 786	29.77
	T2	74	1 891	31.52
	T3	71	2 123	35.38

株进行反复优选,最终确定 SHCHG(S)02 和 SHCHG(L)07 为最佳菌株。SHCHG(S)02 和 SHCHG(L)07 与其他菌株相比菌丝生长最佳,萌发时间短,菌丝生长浓密且均匀,长势评分为 5 分,是具有开发潜力的沙杳菇优良菌株,可作为遗传改良目标菌株,并进一步观察鉴定,以培育成产量高、质优的沙杳菇菌株。

笔者结合多年试验结果及该地区的原料特点,以玉米芯、玉米秸、沙蒿粉、羊粪为主料,这些原料在当地资源丰富,成本低廉,而且非常适合沙杳菇栽培。该试验以玉米秸 30%、玉米芯 30%、沙蒿粉 10%、羊粪 26.2%、石膏粉 2.0%、石灰粉 1.8%为配方,同种原料设置 3 个不同的堆腐发酵处

(上接第 55 页)

接“喀西茄”后“荷包茄”获得了较强的对低温环境所带来的损伤的抵御能力,提高了接穗“荷包茄”的低温胁迫耐受能力,证明低温耐受型品种“喀西茄”作砧木能在一定程度上提高“荷包茄”的低温胁迫耐受能力,对实际生产有一定的参考意义。但“喀西茄”砧木嫁接对地上部茄子接穗在抵御低温胁迫时具体如何发挥作用,有待后续试验进一步探究。

参考文献

[1] 张红梅,金海军,丁小涛,等.不同砧木黄瓜嫁接苗对温度胁迫的生理响应及其抗性评价[J].西北植物学报,2019,39(7):1259-1269.

[2] 王丽萍,王鑫,邵春蕾.低温弱光胁迫下辣椒植株生长特性的研究[J].辽宁农业科学,2007(6):7-9.

[3] 周艳虹,喻景权,钱琼秋,等.低温弱光对黄瓜幼苗生长及抗氧化酶活性的影响[J].应用生态学报,2003,14(6):921-924.

[4] 姜晶,张阳,唐广浩.苗期夜间亚低温对番茄生长发育的影响及耐低温材料的筛选[J].江苏农业科学,2010,38(1):157-159.

[5] 于龙凤,安福全,李富恒,等.低温弱光对果菜类蔬菜作物气孔特性的影响[J].安徽农业科学,2011,39(14):8194-8195,8221.

[6] 于文颖,冯锐,纪瑞鹏,等.苗期低温胁迫对玉米生长发育及产量的影响[J].干旱地区农业研究,2013,31(5):220-226.

[7] 任飞虹.嫁接技术及其提高瓜类和茄类植物抗冷能力的研究综述[J].河北理工大学学报(自然科学版),2009,31(3):140-143.

[8] 张圣平,顾兴芳,王烨,等.低温胁迫对以野生黄瓜(棘瓜)为砧木的黄瓜嫁接苗生理生化指标的影响[J].西北植物学报,2005,25(7):1428-1432.

[9] 刘慧英,朱祝军,吕国华,等.低温胁迫下西瓜嫁接苗的生理变化与耐冷性关系的研究[J].中国农业科学,2003,36(11):1325-1329.

[10] 刘飞.喀西茄低温胁迫响应 miRNAs 及其靶基因的挖掘与分析[D].扬州:扬州大学,2019.

[11] 刘明,孙齐字,黄远,等.4 种嫁接方法对西瓜嫁接苗生长的影响[J].中国瓜菜,2020,33(7):19-23.

[12] 任顺.黄瓜嫁接苗缓苗智能管理系统的研究[D].长春:吉林大学,2016.

[13] BUOSO S, LOSCHI A. Micro-tom tomato grafting for stolbur-phytoplasma

理。结果表明,100%熟料栽培 2 个沙杳菇菌株生长势强,生长速度快,菌丝体粗壮且浓白,产量高,出菇时间短,生物学转化率高。

参考文献

[1] 楚天舒.野生沙杳菇的分子鉴定和主要呈味物质分析[D].呼和浩特:内蒙古农业大学,2020.

[2] 戴玉成,杨祝良.中国药用真菌名录及部分名称的修订[J].菌物学报,2008,27(6):801-824.

[3] 郝雅芳,邢岩,徐煜东,等.五株野生鸡腿菇生物学特性比较分析[J].食用菌,2020,42(1):16-19.

[4] XU X F, LI A Z, CHENG S M, et al. Reappraisal of phylogenetic status and genetic diversity analysis of Asian population of *Lentinula edodes* [J]. Progress in natural science, 2006, 16(3): 274-280.

[5] 邱慧兰, 李林辉, 陈真勇, 等. 鸡腿菇菌株农艺性状比较及相关分析 [J]. 中国食用菌, 2010, 29(1): 31-34.

[6] 康曼, 李欣欣, 韩建荣. 一株野生鸡腿菇 ZMM-3 菌株的营养成分分析 [J]. 山西农业科学, 2017, 45(3): 358-360, 427.

[7] 胡晓强, 李峰, 赵建选, 等. 1 株野生平菇菌株的采集及其驯化栽培 [J]. 中国食用菌, 2014, 33(6): 13-14, 16.

[8] 丁智权. 虎纹香菇驯化栽培初探 [J]. 食用菌, 2010, 32(4): 52-53.

[9] 马宏, 张根伟, 刘萌, 等. 7 株野生香菇菌株的特性及出菇试验 [J]. 中国食用菌, 2019, 38(3): 36-40.

[10] 王磊, 杨树德, 程显好. 野生黄伞人工驯化及其高产栽培模式的建立 [J]. 安徽农业科学, 2019, 47(16): 51-53.

[11] 王瑞娟. 杏鲍菇工厂化栽培相关参数和生理特性研究 [D]. 重庆: 西南大学, 2007.

[12] 李蓉, 张金钰, 陈俊良, 等. 野生香菇菌株筛选试验 [J]. 食用菌, 2018, 40(1): 30-32.

[13] 李传华, 章炉军, 张美彦, 等. 野生拟粘小奥德蘑驯化和栽培研究 [J]. 食用菌学报, 2012, 19(3): 45-48.

transmission; Different grafting techniques [J]. Methods in molecular biology, 2019, 1875: 9-19.

[14] 李锡香, 朱德蔚. 种子物质资源描述规范和数据标准 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2006.

[15] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2013.

[16] 邵怡若, 许建新, 薛立, 等. 低温胁迫时间对 4 种幼苗生理生化及光合特性的影响 [J]. 生态学报, 2013, 33(14): 4237-4247.

[17] 赵昱瑄, 张敏, 姜雪, 等. 不同贮藏温度结合热处理对黄瓜品质及生理生化指标的影响 [J]. 安徽农业大学学报, 2020, 47(6): 1023-1030.

[18] 高秀瑞, 潘秀清, 武彦荣, 等. 低温胁迫对茄子幼苗耐冷生理特性的影响 [J]. 河北农业科学, 2008, 12(12): 6-8.

[19] 郭守鹏, 杨君娇, 马村, 等. 低温胁迫对不同种类茄子叶片耐寒性生理指标的影响 [J]. 现代园艺, 2018(5): 8-10.

[20] ALAN O, OZDEMIR N, GUNEN Y. Effect of grafting on watermelon plant growth, yield and quality [J]. Journal of agronomy, 2007, 6(2): 362-365.

[21] 姚明华, 徐跃进, 李晓丽, 等. 茄子耐冷性生理生化指标的研究 [J]. 园艺学报, 2001, 28(6): 527-531.

[22] 潘丽梅, 韦树根, 何丽丽, 等. 低温胁迫下桑寄生种子各生理指标的变化 [J]. 江苏农业科学, 2021, 49(10): 109-113.

[23] 付丽疆. 基于叶绿素荧光的植物光合作用活动建模及调控研究 [D]. 无锡: 江南大学, 2020.

[24] HONG M H, MA Z L, WANG X Y, et al. Effects of light intensity and ammonium stress on photosynthesis in *Sargassum fusiforme* seedlings [J/OL]. Chemosphere, 2021, 273 [2021-07-28]. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128605>.

[25] 张浩, 郑云普, 叶嘉, 等. 外源钙离子对盐胁迫玉米气孔特征、光合作用和生物量的影响 [J]. 应用生态学报, 2019, 30(3): 923-930.

[26] 易金鑫, 陈静华, 杨起英. 茄子苗期耐低温性鉴定方法初步研究 [J]. 江苏农业科学, 1998, 26(5): 51-53.

[27] 刘文革, 王鸣. 不同倍性蜜蜡西瓜幼苗在低温胁迫下的生理生化特性 [J]. 果树学报, 2003, 20(1): 44-48.

[28] WIDIWURJANI W, AUGUSTINI N, NURFIKAINI P. Synergy of application fertilizer leaves and organic growth regulatory for growth and production potential of eggplant plants (*Solanum melongena* L.) [J]. IOP conference series: Earth and environmental science, 2021, 743(1): 1-11.

[29] 王荣富. 植物抗寒指标的种属及其应用 [J]. 植物生理学通讯, 1987, 23(3): 49-55.