

工厂化栽培灰树花菌株的筛选研究

潘 辉^{1,2}, 王瑞娟¹, 李正鹏¹, 李巧珍², 刘朝贵², 郭 倩¹

(1. 国家食用菌工程技术研究中心, 农业部应用真菌资源与利用重点开放实验室 上海市农业遗传育种重点开放实验室
上海市农业科学院 食用菌研究所, 上海 201106; 2. 西南大学 园艺园林学院, 重庆市蔬菜学重点实验室, 重庆 400715)

摘 要:比较研究了 11 个灰树花菌株的菌丝生长速度、生长势、菌丝拮抗性, 考察了不同灰树花菌株的生物学特性及遗传差异, 并以栽培周期、子实体品质及生物学效率等指标进行工厂化栽培鉴定, 旨在筛选出适合工厂化栽培的灰树花菌株。结果表明: 11 个菌株间存在遗传差异, 菌株 G11 菌丝生长速度及生长势适中; 栽培周期 73 d, 为试验菌株中周期最短, 子实体品质优良, 生物学效率达到 35.7%, 是适应灰树花工厂化栽培的优良菌株。

关键词:灰树花; 菌株筛选; 工厂化栽培

中图分类号:S 646.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)01-0188-04

灰树花[*Grifola frondosa* (Dicks. Fr.) S. F. Gray] 属担子菌亚门层菌纲无隔担子菌亚纲非褶菌目多孔菌科树花菌属真菌, 是近年来开发的珍奇药食两用菌之一, 又名贝叶多孔菌、千佛菌、栗子蘑、云蕈、莲花菌等, 日本称之为舞茸, 美国称之为林鸡^[1]。灰树花的人工栽培始于 1965 年, 由日本人伊藤熊一木屑栽培成功, 并于 1975 年实现商业化生产。我国人工栽培灰树花时间较晚, 技术也较落后, 浙江庆元 1983 年开始进行灰树花人工栽培试验, 目前已经能够季节性规模化生产; 河北迁西于 1992 年创造仿野生覆土栽培^[2]。近年来兴起的工厂化栽培比自然条件或辅助设施栽培更能够准确地控制温度、湿度、光照、CO₂ 等环境条件, 产量和品质都更加稳定^[3]。但是, 野生灰树花菌株和仿野生栽培菌株因其生境的特殊性, 并不是都能直接用于工厂化栽培。因此, 筛选适合工厂化栽培的高产优质菌株是灰树花工厂化栽培的重要研究内容。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试菌株及其来源 该试验所用的 11 个灰树花菌株均保藏于上海市农业科学院食用菌所, 菌株编号、名称以及来源见表 1。

1.1.2 培养基配方 基础培养基配方: 马铃薯 200 g, 葡萄糖 20 g, 琼脂 20 g, 磷酸氢二钾 1.5 g, 硫酸镁 2.0 g, 蛋白胨 5 g, VB₁ 10 mg, 水 1.0 L, pH 自然。原种及栽培种配方: 木屑 79%, 麸皮 20%, 石膏 1%, 含水量 60%。栽培培养料配方: 木屑 35%, 棉籽壳 35%, 麸皮 23%, 玉米粉 6%, 石膏 1%, 含水量 64%。

表 1 供试菌株及其来源

编号	来源
G1	美国宾夕法尼亚州
G2	福建三明真菌研究所
G3	河北
G4	上海农科院食用菌研究所
G5	福建三明真菌研究所
G6	浙江松阳
G7	上海农科院食用菌研究所
G8	韩国
G9	美国宾夕法尼亚州立大学
G10(CK)	浙江庆元
G11	浙江庆元

1.2 试验方法

1.2.1 不同菌株生长速度试验 用打孔器从已活化的菌种中取等质量的 5 mm 的菌种块, 接种到装有基础培养基的平板中央。25℃恒温避光培养, 每日观察测量菌丝长势及生长速度, 直至菌丝长满平板^[4]。

1.2.2 不同菌株拮抗试验 先将斜面母种转接入平板中扩繁活化, 然后将参试的 11 个菌株两两组合, 用打孔器取等生长速度(同心圆上)的 5 mm 菌种块, 分别接入装有基础培养基的平板中(每个平板均匀分布地接 3 个菌株), 3 次重复。25℃恒温避光培养 15 d, 观察菌丝之间的拮抗反应。

1.2.3 栽培试验 采用工厂化栽培, 按照配方将原料混合搅拌, 使用装袋机装袋, 每袋装料 800 g, 121℃灭菌

第一作者简介:潘辉(1985-), 男, 在读硕士, 研究方向为食用菌工厂化栽培。E-mail: panhui509@126.com。

通讯作者:郭倩(1969-), 男, 博士, 研究员, 研究方向为珍稀食用菌的工厂化栽培和技术推广。

基金项目:上海市农委重点攻关资助项目(沪农科攻字(2009)第 2-2 号)。

收稿日期:2010-10-11

2 h, 冷却后接种, 接种量为 10%。将其置于 25℃, 65% 的相对湿度的培养室中发菌培养 50 d。然后割口搔菌刺激原基形成, 温度为 23℃, 相对湿度为 97%~99%。待原基形成后发育至直径 2~3 cm 时, 将其置于出菇房使其原基分化出菇, 出菇温度 18~20℃, 相对湿度 95%~99%。各阶段环境参数均采用人工智能控制系统进行调节^[5]。

1.2.4 灰树花子实体品质鉴定 根据灰树花子实体形状及开片程度, 将其品质从劣到优分为 1、2、3、4 等级。等级 1: 原基不分化, 不能形成成熟的子实体; 等级 2: 超过一半的原基未分化形成子实体; 等级 3: 原基大部分分化开片形成子实体, 形状较好; 等级 4: 原基全部分化, 开片一致, 形如盛开的莲花^[6]。

表 2		不同菌株之间的拮抗情况									
	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8	G9	G10	
G2	+										
G3	+	—									
G4	+	+	+								
G5	+	+	—	+							
G6	+	—	+	+	+						
G7	+	+	+	—	+	—					
G8	+	+	+	+	+	+	+				
G9	+	+	+	+	+	+	+	+			
G10	+	—	+	+	+	+	+	+	—		
G11	+	—	+	+	+	—	+	+	+	—	

注: “+”表示拮抗, “-”表示亲和

2.2 不同菌株生长速度比较

灰树花菌株在平板上的菌丝生长速度是实际生产中初步筛选优良菌株的标准之一, 菌株的菌丝在平板上生长速度越快, 说明菌株的生活力越强, 越有利于保存及生产使用。从表 3 可看出, 供试的 11 株灰树花在平板上的生长速度有显著性差异, 生长势及菌落情况都有所差异。其中菌株 G4 和 G7 的菌丝在平板上的生长速度

2 结果与分析

2.1 不同菌株拮抗试验

在遗传背景明显不同的真菌交界区会形成明显的分界线, 这便是拮抗反应。拮抗反应是鉴定菌株间遗传差异的传统方法, 菌丝之间的拮抗反应是菌株间不同遗传特性的一个重要表现。2 种菌株间的拮抗线越明显, 说明二者的遗传差异越大、亲缘关系越远。拮抗试验表明, 所选取的 11 株灰树花菌株之间存在明显的遗传差异(表 3), 菌株 G1 和 G8 分别与其它菌株之间互相拮抗, 各自属于一个亲和群; 菌株 G2、G3、G5 之间相互亲和, 遗传性相近, 应该属于一个亲和群; 菌株 G4、G6、G7 之间的遗传特性相近, 属于一个亲和群; 菌株 G9、G10 和 G11 之间遗传差异较小, 属于一个亲和群。

最快, 达到 5.2 mm/d, 与对照菌株(G10)差异显著; 其次是菌株 G1、G6、G8 与对照菌株差异显著; 菌株 G2、G9 和 G11 的菌丝生长速度一般, 与对照菌株差异不显著; 生长速度最慢的是 G3 和 G5, 与对照菌株差异显著。从生长势来看, 菌株 G2、G7 和 G9 的生长势最强, 其次是 G1、G3、G4、G6、G8、G9、G10 和 G11, 菌株 G5 的生长势最弱。

表 3		不同灰树花菌株在平板上的生长速度及菌落形态						
菌株	生长速度 / mm·d ⁻¹	差异显著性		生长势	颜色	菌落厚度	有无隆起	是否整齐
		0.05	0.01					
G1	4.9±0.2	ab	AB	++	+	++	无	齐
G2	4.2±0.2	c	CD	+++	++	+++	有	不齐
G3	3.8±0.2	d	DE	++	+++	+++	有	齐
G4	5.2±0.1	a	A	++	++	++	无	齐
G5	3.5±0.4	d	E	+	+++	++	有	齐
G6	4.9±0.3	ab	AB	++	++	++	无	齐
G7	5.2±0.2	a	A	+++	+++	+++	有	齐
G8	4.6±0.2	bc	BC	++	++	++	有	不齐
G9	4.4±0.2	c	BC	+++	+++	+++	有	齐
G10	4.3±0.1	c	CD	++	++	++	无	不齐
G11	4.5±0.1	c	BC	++	++	++	无	齐

注: “+++”表示生长势强、颜色洁白或菌落厚 “++”表示生长势较强、颜色白或菌落较厚, “+”表示生长势弱、颜色淡黄或菌落薄。

2.3 出菇试验

将供试的 11 株灰树花菌株在工厂化栽培的环境下

进行栽培试验, 结果表明, 11 株灰树花的栽培周期不同, 品质和生物学效率存在显著性差异(a=0.05, 下同)。由

图1可知,菌株G8不形成原基,菌株G1、G5、G7形成原基,但是原基不分化,不能形成子实体,其它7株灰树花菌株都能形成原基,并且分化形成子实体,其中菌株G11的栽培周期最短:发菌45 d、原基形成14 d、子实体形成14 d,比对照菌株的栽培周期缩短了22 d。从图2可看出,菌株G3、G6、G11的子实体品质和生物学效率均为最好,品质分别为3.3、3.0和3.3,生物学效率分别为34.8%、36.5%和35.7%,三者之间没有显著性差异,与对照菌株差异不显著。

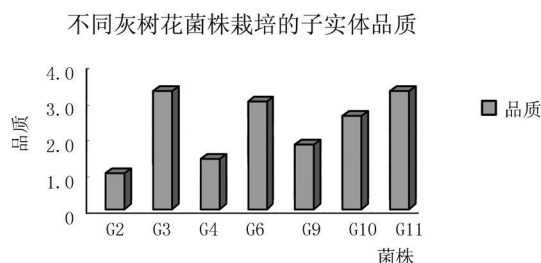


图2 供试11株灰树花工厂化栽培的品质和生物学效率

注:因菌株G1、G5、G7和G8不形成原基或者子实体,未显示。

为了更好的鉴别菌株栽培性状间的差异,图3显示了出菇情况较好的4株灰树花菌株(G3、G6、G10、G11)的栽培性状(子实体的长、宽、高以及叶片的长和宽)。菌株G11的子实体长与宽、叶片的长与宽最相近,说明子实体形状最接近圆形、开片效果最好,形似盛开的莲花,子实体的商品性状最好。

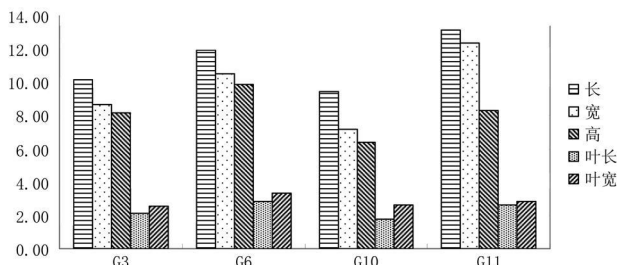


图3 灰树花菌株G3、G6、G10、G11的栽培性状

注:只显示了子实体品质较好的4株灰树花的栽培性状,其余的灰树花菌株因未形成原基或原基未分化开片而没有显示。

3 结论与讨论

我国食用菌工厂化栽培的历史较短,灰树花工厂化栽培更是史无前例,因此,适用于工厂化栽培的灰树花菌株的认定至今也没有报道。对于优良菌株的筛选,考察其在平板上的生长速度及生长势只是初级阶段,并不能完全依靠其结果作为菌株筛选的最终结果。该试验所用的11株灰树花在生长速度和生长势上差异很大,最好的是菌株G4和G7,但是二者在进行栽培试验时表现较差;菌株G6和G11菌丝生长速度和生长势中等,但是工厂化栽培生物学效率较高、子实体品质较好;菌株G3生长速度最慢,但是栽培表现较好。综合得出,适合工厂化栽培的灰树花菌株有G3、G6和G11,其中以G11

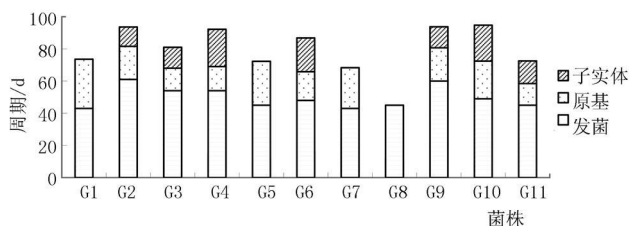


图1 供试11株灰树花工厂化栽培不同阶段的周期

的栽培周期最短,子实体性状最好。综上所述,灰树花菌株G11是工厂化栽培的优良菌株。

对于菌株之间的遗传差异,拮抗性试验只能作为初步鉴定的方法。从表2可看出,菌株G2和G6是亲和的,菌株G7和G6是亲和的,但是G2和G7是拮抗的,因此应该用其它方法进一步研究其遗传差异。另外,在试验中发现,有几株灰树花菌株在平板上生长时会形成不同的生长层,菌丝的尖端先形成纤毛状的细丝向四周延伸,然后菌落才一步步向边沿生长。这种生物学特性是否可以作为优良菌株的筛选指标,与栽培性状是否有联系,这些都需要进一步研究。

工厂化栽培食用菌只采收第一潮菇,以提高菇房利用率。因此,在筛选出工厂化栽培的优良菌株后,应当重点研究栽培工艺、栽培环境参数的调控,以便提高栽培的生物转化率(生物学效率),保证高产稳产,实现灰树花工厂化栽培的大范围推广。

参考文献

- [1] Borchers A T, Stem J S, Hanckman R M, et al. Mushrooms, Tumors, and Immunity [J]. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine 1999, 221: 281-293.
- [2] 杨国良, 陈惠. 灰树花与杨树菇生产全书[M]. 北京: 中国农业出版社, 2004.
- [3] 王瑞娟, 郭力刚, 刘朝贵, 等. 工厂化栽培杏鲍菇优良菌株筛选[J]. 食用菌学报, 2006, 13(3): 19-21.
- [4] 卜庆梅, 颜宁, 邱秋春, 等. 灰树花菌株的比较试验[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(34): 11081-11082.
- [5] 川岛右介. 2006年度版きのこ年鉴[M]. 东京: 株式会社ブテソツワノド, 2008: 154-158.
- [6] QING Shen. Molecular phylogenetic analysis of *Grifola frondosa* (Maitake) and related species and the influence of selected nutrient supplements on mushroom yield[J]. The Pennsylvania State University, 2001.

香菇冷棚半熟料袋栽技术规程

冯景刚¹, 程远星², 吴丽馥²

(1. 沈阳农业大学 农学院, 辽宁 沈阳 110161; 2. 新宾满族自治县 辽宁 新宾 113200)

摘要:以辽宁省香菇冷棚半熟料袋栽生产为模式,按照香菇生产的产地环境、栽培原料、栽培技术、采收标准与病虫害防治等制订了《香菇冷棚半熟料袋栽技术规程》。以期香菇生产者提供标准化生产的科学依据,从而提高产品的产量、质量及国内外市场的竞争能力。

关键词:香菇; 袋栽; 半熟料; 技术规程

中图分类号: 646.1⁺2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2011)01-0191-02

1 适用范围

该规程规定了香菇生产的产地环境、栽培原料、栽培技术、采收标准与病虫害防治等要求,适用于辽宁省香菇冷棚半熟料袋栽生产,其它省份可参考使用。

2 引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。

NY/T 391-2000: 绿色食品产地环境条件; NY/T 5099-2002: 无公害食品食用菌栽培基质安全技术要求; NY/T 528-2002: 食用菌菌种生产技术规程; NY/T 393-2000: 绿色食品农药使用准则; GB 5749: 生活饮用水卫生标准。

3 术语和定义

3.1 半熟料

经常压蒸汽消毒的培养料,在 100℃条件下消毒时间为 2~3 h。

第一作者简介: 冯景刚(1955-),男,教授,辽宁省食用菌协会常务理事,现主要从事食用菌的教学与科研工作。

基金项目: 辽宁省科技攻关资助项目(2007207002)。

收稿日期: 2010-10-22

3.2 主料

主料是指香菇培养基中占数量比重大的碳素营养物质,如木屑、玉米芯、豆秸等作物秸秆。

3.3 辅料

辅料是指香菇培养基中占数量比重小的含氮量较高的营养物质,如麦麸、米糠、玉米粉等。

4 产地环境

香菇产地环境应符合国家行业标准 NY/T 391-2000 的要求,栽培场地应远离工矿业污染源,距离在 2 km 以上,不受废水、废气、废渣的污染。

5 生产原料及配方

5.1 生产原料

生产原料应符合 NY/T 5099-2002 无公害食品食用菌栽培基质安全技术要求,主料木屑应选择阔叶树硬杂木屑,玉米芯要求在使用前粉碎成黄豆粒大小。辅料麦麸、玉米粉等要求新鲜无霉变。

5.2 培养料配方

生产上常用的 2 个配方是(1)木屑 85%、麦麸 10%、玉米粉 4%、石膏粉 1%;(2)玉米芯 60%、木屑 30%、麦麸 9%、石膏粉 1%。

Screening of Excellent *Grifola frondosa* Strain for Industrial Cultivation

PAN Hui^{1,2}, WANG Rui-juan¹, LI Zheng-peng¹, LI Qiao-zhen², LIU Chao-gui², GUO Qian¹

(1. National Engineering Research Center of Edible Fungi; Key Laboratory of Applied Mycological Resources and Utilization, Ministry of Agriculture; Shanghai Key Laboratory of Agricultural Genetics and Breeding; Institute of Edible Fungi, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 201106; 2. Key Laboratory of Vegetable of Chongqing, College of Horticulture and Landscape Architecture, Southwest University, Chongqing 400715)

Abstract: To investigate the biological characteristic and hereditary difference of different stains using 11 *Grifola frondosa*, the growth rate and growth potential of mycelium and the mycelium rivalry were detected. In order to screen excellent *Grifola frondosa* strain for industrial cultivation, the crop circle time, quality of fruit-body and the biological efficiency were determined in the cultivation experiments. The results showed that there were hereditary difference between the 11 strains, and the growth rate and potential of the mycelium of the strain G11 were moderate. Strain G11's crop circle time was 73 days, which was the shortest of all strains, and its fruit-body quality was fine, the biological efficiency arrived at 35.7%. The *Grifola frondosa* strain G11 was the excellent strain for industrial cultivation.

Key words: *Grifola frondosa*; strain screen; industrial cultivation