

# 广西野生鳞盖红菇原种培养研究

曾广宇, 甘福丁, 秦文弟, 魏世清, 赵德钦

(广西林科院, 广西 南宁 530002)

**摘要:**为获得野生鳞盖红菇原种,利用通过组织分离获得的母种,根据母种分离培养经验并利用各种食用菌原种培养料搭配成多种配方培养红菇原种。结果表明:花生饼对原种培养有较大促进作用;麦子较适合作为培养原种主原料;配方棉籽壳 15%、麦麸 10%、麦子 57%、玉米粉 8%、花生饼 8%、蔗糖 0.8%、石膏 1%、硫酸镁 0.2%能长出较合格原种。

**关键词:**鳞盖红菇;原种;培养

**中图分类号:**S 646.1<sup>+</sup>9 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2015)04-0147-03

广西浦北红菇又名红椎菌、红菌,分类学上隶属于担子菌门 Basidiomycota、担子菌纲 Basidiomycetes、红菇目 Russulales Kreisel ex P. M. Kirk, P. F. Cannon & J. C. David、红菇科 Russulaceae Lotsy、红菇属 *Russula*、鳞盖红菇(*R. lepidota*)<sup>[1]</sup>,是只有在红(白)椎林下及特定的气候、环境和土壤条件下方可生长出的野生菌根型食用菌<sup>[2-3]</sup>。广西红菇生长密集、产量大、价格高,给当地林农带来了很好的经济效益,每年到红菇采收时,有红菇林地的林农就搭棚住到山上守护红菇,几百年以来,当地产妇“坐月子”进补必吃红菌,对产妇哺乳汁减少、贫血等有特殊食疗价值。红椎菌也深受国内外消费者的青睐,畅销福建、广东等省以及日本、东南亚各国、港澳台等国家和地区,市场销售价格连年上扬<sup>[4-5]</sup>,由于红菇的极大经济效益,当地红椎林保存非常好,既有较好的经济效益,又有很好的生态效益。国内目前绝大部分是关于红菇生态、资源、分类、化学成分等方面的研究,部分专家通过分离获得了菌株,但原种及栽培种尚鲜有报道培育成功。该试验在对广西红椎菌利用组织分离方法获得母种后,开展了原种培育研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验母种来自广西林科院微生物实验室,母种通过组培分离获得,被分离实体采自广西浦北县龙门镇龙门村旱塘屯红(白)椎树混交林,采摘的红菇为朵型正

常、生长健壮、内菌膜刚破、成熟、无病虫的新鲜子实体(图 1)。母种分离培养基:马铃薯 100 g,葡萄糖 10 g,琼脂 10 g,硫酸镁 0.3 g,水 350 mL+(子实体碎末 60 g 及洗子实体红色水 150 mL,煮沸 20 min,冷却取澄清液 150 mL)<sup>[6]</sup>。

### 1.2 试验方法

按表 1 各种培养原料<sup>[7]</sup>所占比例配置 12 个原种配方,1~4 配方主原料以桑杆屑为主,对玉米粉、花生饼、豆粕及空白等辅料进行对比;5~8 配方以棉籽壳为主原料,对玉米粉、花生饼、豆粕及空白等辅料进行对比;9~12 配方以麦子为主原料,对玉米粉、花生饼、豆粕及空白等辅料进行对比。根据红菇母种分离经验,硫酸镁对红菇生长有一定促进作用。蔗糖、石膏及硫酸镁各个配方加的量相同。根据第一轮筛选试验结果,以棉籽壳、麦麸、麦子、玉米粉、花生饼、蔗糖、石膏、硫酸镁为原料进行进一步配方筛选,配方见表 2。

表 1 原种筛选第一轮配方

Table 1 The first culture formulas of the stock spawn of *Russula* %

序号	桑杆屑	棉籽壳	麦子	麦麸	玉米粉	花生饼	豆粕	蔗糖	石膏	硫酸镁
1	70	10		18				0.8	1	0.2
2	60	10		18	10			0.8	1	0.2
3	60	10		18		10		0.8	1	0.2
4	60	10		18			10	0.8	1	0.2
5	15	70		13				0.8	1	0.2
6	15	60		13	10			0.8	1	0.2
7	15	60		13		10		0.8	1	0.2
8	15	60		13			10	0.8	1	0.2
9		10	75	13				0.8	1	0.2
10		10	65	13	10			0.8	1	0.2
11		10	65	13		10		0.8	1	0.2
12		10	65	13			10	0.8	1	0.2

**第一作者简介:**曾广宇(1977-),男,硕士,工程师,研究方向为林业微生物。E-mail:vieri900@21cn.com.

**基金项目:**广西林业科技资助项目(桂林科字[2002]第 13 号)。

**收稿日期:**2014-11-25

表 2 二级种筛选第二次配方

Table 2 The second culture formulas of the stock spawn of *Russula*

序号	棉籽壳	麦麸	麦子	玉米粉	花生饼	蔗糖	石膏	硫酸镁
1	15	10	61	8	4	0.8	1	0.2
2	15	10	57	8	8	0.8	1	0.2
3	15	10	53	8	12	0.8	1	0.2
4	15	10	49	8	16	0.8	1	0.2
5	15	10	45	8	20	0.8	1	0.2

按照各配方分别把桑杆屑、棉籽壳及花生饼混合后加水,调到含水率在 60%左右,用小桶装好后放于培养箱升温预发酵,温度维持在 47℃。3 d 后取出,备用,把麦子煮到麦粒中心无白心后捞出,摊开晾干,按配方量把所有配方内物质混合拌匀,加水调整到含水率为用手握培养料没有水下滴,但指间有水,把混合后的培养料装于聚丙烯材料制作容积为 750 mL 的透明菌种瓶中(加厚型),每个配方 8 瓶。配好后用菌种瓶装好后高温高压灭菌 60 m。

## 2 结果与分析

### 2.1 原种配方第一轮筛选结果

11 号配方生长效果较好,菌丝基本能长满全瓶,长满时间约 32 d,3、7 号配方开始菌丝有吃料,在吃料后不久,菌丝停止往下生长,最后菌丝干枯而死,7 号配方菌丝生长时间比 3 号配方长些,菌丝生长面积也大些,但也没有长满瓶口。其它配方菌丝都没有萌发。从上述结果中可以看出,3、7、11 号配方都是加入了花生饼的配方,可见花生饼对菌株生长有一定的促进作用,从 3 号及 7 号配方对比看出棉籽壳比桑枝更适合菌株生长,从 11 号配方看出麦子对菌丝继续生长有很好的促进作用。



图 1 红菇新鲜子实体

### 2.2 原种配方第二轮筛选结果

配方 2 菌丝生长最快,菌丝也最浓密,28 d 长满,其它 4 个配方菌丝都能萌发,配方 1 菌丝生长较慢,34 d 才长满全瓶,配方 3 也是 26 d 左右长满全瓶但菌丝感觉纤细,而且瓶口上方已经看到黄水,配方 4 只长到全瓶 2/3 左右就停止生长,配方 5 在菌种萌发覆盖菌瓶表面后也停止了生长。从上述结果看出,花生饼含量在 8%左右比较适合此菌种生长(图 2),含量太高反而抑制其后期生长。



图 2 生长中的原种

## 3 结论

该试验针对野生菌根型食用菌鳞盖红菇进行原种培养,进行了多种主料、多种辅料对比配方试验,结果表明,花生饼对鳞盖红菇原种培养有较好的促进作用,是很好辅料;麦子是较好的主原料,对其菌丝持续生长有较好的促进作用;棉籽壳 15%、麦麸 10%、麦子 57%、玉米粉 8%、花生饼 8%、蔗糖 0.8%、石膏 1%、硫酸镁 0.2% 配方能培养出很好的原种。

### 参考文献

- [1] 李国杰,文华安. 中国红菇属分类研究进展[J]. 菌物学报,2009,28(2):303-309.
- [2] 李海鹰,王桂文,范嘉晔,等. 红菇与红锥形成的根共生体形态的描述[J]. 微生物学通报,2000(27):31.
- [3] 李海鹰,范嘉晔,王桂文,等. 广西浦北鳞盖红菇的形态与生态环境[J]. 中国食用菌,1995,14(1):27-28.
- [4] 钱建新,陈仁毅,张惠兰. 正红菇的生长环境研究[J]. 福建林业科技,2003(4):52-53.
- [5] 甘耀坤,赵良发,戴卢,等. 野生红菇研究综述[J]. 玉林师范学院学报(自然科学版),2005(3):70-74.
- [6] 曾广宇,伍琪,李勇江,等. 广西红椎菌分离培养研究[J]. 食用菌,2014(5):19-21.
- [7] 张金霞. 食用菌菌种生产与鉴别[M]. 北京:中国农业出版社,2002.

## Study on the Stock Spawn Culture of Wild Guangxi *Russula*

ZENG Guang-yu, GAN Fu-ding, QIN Wen-di, WEI Shi-qing, ZHAO De-qin  
(Guangxi Forestry Science Research Institute, Nanning, Guangxi 530002)

# 糙皮侧耳杂交后代遗传多样性分析

盛春鸽, 王延锋, 潘春磊, 徐德海, 侯国强

(黑龙江省农业科学院 牡丹江分院, 黑龙江 牡丹江 157041)

**摘 要:**以糙皮侧耳 *Pleurotus ostreatus* 白色菌株 P1 和深灰色菌株 P2 为亲本, 通过单孢菌株配对杂交获得 40 个杂交组合。出菇记录杂交后代子实体颜色, 提取 42 个样本的全基因组 DNA, 用 ISSR 进行遗传多样性分析。结果表明: 6 条 ISSR 引物共扩增出 45 条带, 其中多态性条带 34 条, 多态性比率为 75.56%, 有效等位基因数为  $N_e=1.4858$ , 遗传多样性指数  $H=0.2725$ , 香农信息指数  $I=0.4021$ 。聚类分析后发现, 在 0.6889 水平上聚为 4 类, 聚类结果与子实体颜色关系不大, 表明糙皮侧耳杂交后代存在丰富的遗传变异。分类结果将有利于更好的利用这些丰富的育种资源。

**关键词:**糙皮侧耳; 杂交后代; 遗传多样性

**中图分类号:**S 646.1<sup>+</sup>4 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)04-0149-03

糙皮侧耳(*Pleurotus ostreatus*)俗称平菇, 栽培范围遍及全球, 产量在世界菇类总产中位居前列<sup>[1]</sup>, 由于其易于栽培, 价格合理深受菇农和消费者的青睐。近年来, 平菇生理生化、遗传多样性等相关研究比较多, 但以平菇的杂交后代为材料进行遗传多样性分析的相关研究却鲜有报道。现以糙皮侧耳杂交后代为试材, 采用 ISSR 技术对其进行遗传多样性分析, 以期为更好的利用后代资源作为育种材料提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试糙皮侧耳: 白色亲本(P1)、暗灰色亲本(P2)以

及 40 个杂交后代。菌种保藏在黑龙江省农业科学院牡丹江分院。

### 1.2 试验方法

1.2.1 担孢子单核体的获得 按照黄毅<sup>[2]</sup>的方法收集担孢子。镜检后确认为单核体<sup>[3]</sup>的菌丝置于 25℃ 恒温箱培养, 保存待用。

1.2.2 杂交后代的构建 2 个亲本单核体随机配对进行单对单培养, 将出现锁状联合的双核体移植培养, 备用。共获得可出菇的杂交双核体 40 个。

1.2.3 全基因组 DNA 的提取 菌丝 DNA 的提取使用植物基因组 DNA 提取试剂盒(DP305-03, 天根生化科技有限公司)。

1.2.4 PCR 扩增 引物由上海 Sangon 公司合成。扩增反应体系: dNTPs(2.5 mmol/L) 2 μL, 引物(0.2 mmol/L) 1 μL, 10×ExTaq PCR buffer 2 μL, ExTaq (5 U/μL) 0.1 μL (TaKaRa), DNA 模板 2 μL, ddH<sub>2</sub>O 补至 20 μL。反应程序为: 94℃ 预变性 4 min; 94℃ 变性 50 s, 57~58℃ 复性 50 s, 72℃ 延伸 2 min, 35 个循环; 72℃ 补齐 7 min。1.0% 的琼脂糖凝胶电泳检测。

**第一作者简介:**盛春鸽(1985-), 女, 硕士, 研究实习员, 研究方向为食用菌遗传育种。E-mail: shengchunge@163.com.

**责任作者:**王延锋(1973-), 男, 博士, 研究员, 现主要从事食(药)用菌遗传育种与栽培技术及产品保鲜精深加工等研究工作。E-mail: mdjunks@126.com.

**基金项目:**黑龙江省应用技术与开发计划资助项目(WB13B10602); 牡丹江市科技攻关资助项目(Z2013n014)。

**收稿日期:**2014-11-19

**Abstract:** In order to get the stock spawn of wild Guangxi Russula, and lay the foundation for the next step of semi artificial cultivation. According to the mother seed culture experience and using various materials for fungi, compose of a variety of formulations of Russula stock spawn. The results showed that peanut cake had bigger simulative effect to cultivate seed; wheat was more suitable for cultivation as the main material; formulation of cottonseed shell 15%, wheat bran 10%, wheat 57%, corn flour 8%, peanut cake 8%, sucrose 0.8%, and gypsum powder 1%, magnesium sulfate 0.2% could grew qualified stock spawn.

**Keywords:** *Russula lepida*; stock spawn; culture