

滑菇杂交菌株“辽滑菇 1 号”的选育

张 敏, 李 红, 刘 娜, 张季军, 肖千明

(辽宁省农业科学院 微生物工程中心, 辽宁 沈阳 110161)

摘 要:以滑菇 PN06 和滑菇 PN08 为亲本,应用单孢杂交方法,经过同工酶检测、生物学特性分析、出菇性鉴定、袋栽筛选试验,优选出杂交新菌株“辽滑菇 1 号”(编号 H03)。该菌株菌盖半球形,高产优质性状稳定,抗杂、抗逆性强,尤其适合于辽宁省广泛采用的半熟料栽培模式,污染率平均降低 8%,提高产量 7% 以上。2013 年获得辽宁省的新品种认定,是优良的栽培菌株。

关键词:滑菇;杂交育种;人工栽培

中图分类号:S 646.1⁺6 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2015)11-0155-03

滑菇 (*Pholiota nameko*) 学名光帽鳞伞,又名滑子蘑、珍珠菇等,是世界上人工栽培的五大食用菌之一,因其味道鲜美、营养丰富、并具有保健功能,深受国内外市场欢迎。滑菇是辽宁省出口创汇的主要食用菌品种,2011 年辽宁滑菇产量 37 万 t,占全国总产量的 60%^[1]。据估计,选用良种在提高作物产量方面所起的作用约占 10%,滑菇育种研究相对香菇、平菇、金针菇等食用菌起步晚,发展较慢,由于其生理方面的特殊性,如双核菌丝的单核化,单核菌丝出菇等^[2],给育种工作带来了一系列从理论到实践上的困难。为了更好的推动辽宁地区滑菇产业持续稳定的发展,优良菌种选育得到了充分重视。该研究通过单孢杂交选育获得新菌株“辽滑菇 1 号”,表现为高产、抗杂、抗逆性强等优良性状,已通过辽宁省新品种认定。

1 材料与方法

1.1 试验材料

亲本菌株 PN06、PN08,滑菇栽培常用菌株 PN01、PN02、PN03 等由辽宁省农业科学院蔬菜研究所保存。改良 PDA 培养基:马铃薯 200 g,葡萄糖 20 g, KH_2PO_4 3 g, MgSO_4 1.5 g, VB_1 10 mg,琼脂 20 g,加蒸馏水定容至 1 L。菌糠煎汁培养基:滑菇菌糠煎汁制成的 PDA 培养基。栽培培养基:木屑 78%、玉米芯 10%、麦麸 10%、石膏 2%,含水量 65%~70%。

第一作者简介:张敏(1972-),女,博士,研究员,现主要从事食用菌育种及栽培等研究工作。E-mail:zhangmindun@163.com。

基金项目:辽宁省科学事业公益研究基金资助项目(2012005010);辽宁省农业攻关及成果产业化资助项目(2014209002)。

收稿日期:2015-01-19

1.2 试验方法

1.2.1 单孢杂交选育新菌株的方法 杂交新菌株的获得:单核菌丝的分离培养和鉴定步骤同前法^[3]。将不同亲本来源的单核菌丝编号,随机选取每种亲本单核菌丝,在直径 9 cm 改良 PDA 培养基平板上,相距 1.0~1.5 cm,分别接种 2 个不同亲本的单核菌丝,25℃ 培养 10~12 d,待 2 菌丝接触后,挑取菌丝镜检观察,形成锁状联合的确认为异核菌丝,转接到 PDA 斜面扩大培养,淘汰菌落形态不均一、生长较弱的菌丝体,选择生长正常的异核菌丝体,编号后,留作进一步考察。杂交新菌株出菇能力的测定:将获得的杂交菌株接种到菌糠煎汁培养基上,22℃ 恒温培养。菌丝长满斜面后,在变温条件下培养,给予适当的散射光刺激出菇,检查各个菌株的结实能力。优势菌株的筛选:将获得的杂交新菌株进行出菇试验,初筛优势菌株。栽培袋采用 17 cm×37 cm×0.042 cm 聚丙烯袋,每袋 400 g 左右干料,每个菌株接 10 袋,3 次重复,常规熟料栽培方式管理出菇^[1-5]。

1.2.2 杂交菌株比较试验 酯酶同工酶鉴定:杂交优势菌株、PN06、PN08、PN01、PN02 及 PN03 菌株,酯酶同工酶电泳样品制备、聚丙烯酰胺凝胶制备、电泳及结果分析方法同前法^[6]。菌丝培养特性试验:筛选得到的杂交优良菌株、PN06、PN08、PN01、PN02 及 PN03 菌株进行同步菌丝培养后,用 Φ 0.6 cm 的打孔器沿着菌种菌落边缘取相同菌龄的菌种块,分别接种到平板 PDA 培养基上,每皿接菌种 1 块,每个菌种重复 5 次。菌株出菇特性比较:筛选得到的杂交菌株及亲本(PN06、PN08)采用半熟料袋栽方式进行栽培试验,栽培菌袋规格 25 cm×55 cm×0.04 cm,每袋 1 250 g 左右干料,每个品种 200 袋,常规管理出菇^[1]。

1.2.3 示范性推广试验 2011—2013 年分别在辽宁各产区进行了 400 万袋半熟料栽培的推广试验,以当地主栽品种 PN06 为对照,常规管理出菇^[1]。

1.3 项目测定

观察菌丝生长情况,计算菌丝生长速度;观察、记录菇形、测定污染率和生物转化率。生物转化率(%)=(鲜菇重/培养料干重)×100%。

1.4 数据分析

采用 DPSv7.05 版软件处理系统分析不同菌株间菌丝生长速度的差异,显著性采用单因素单向方差(ANOVA)进行分析,多重比较采用邓肯氏新复极差法(SSR 法),并字母标记表示结果。

2 结果与分析

2.1 选育过程

以滑菇菌株 PN06、PN08 为亲本,单孢分离获得单核菌丝体,通过配对杂交获得杂交菌株;通过锁状联合确定异核体,经过出菇性鉴定具有出菇能力的新菌株进一步进行熟料袋栽初筛试验,H03 菌株综合表现良好,确定为优势菌株。

2.2 同工酶分析

由图 1 可知,杂交新菌株 H03 共有 10 条酯酶同工酶谱带,其颜色深浅、酶带粗细及位置从蛋白质分子水平上反映了它的遗传特性,与亲本 PN06 和 PN08 酶谱表型存在明显的差别,与其它 3 个常用栽培菌株,PN01、PN02 和 PN03,酯酶同工酶的比对试验表明,菌株 H03 与亲本及其它 3 个对比品种遗传差异显著。

表 1

杂交菌株 H03 与对照品种菌丝体培养情况比较

Table 1

Comparison of mycelial growth on PDA media

菌株 Strain	菌丝生长速度 Mycelial growth rate/(mm·d ⁻¹)	菌丝体长势 Mycelial vigor	菌丝体先端 Boundary of mycelia	气生菌丝状态 Aerial mycelia
H03	3.69±0.04 b B	+++	整齐	绒毛状
PN06	3.53±0.09 c BC	++	较整齐	绒毛状
PN08	3.49±0.06 c C	+++	整齐	绒毛状
PN01	3.57±0.05 bc BC	+++	整齐	绒毛状
PN02	3.55±0.06 c BC	++	较整齐	棉絮状
PN03	4.22±0.19 a A	++	不整齐	棉絮状

注:数据为试验平均值±SD;不同小写字母表示 0.05 水平差异显著,不同大写字母表示 0.01 水平差异显著;+++菌丝长势浓密健壮浓密;++菌丝较浓密。

Note: Values represent the mean±SD (n=5); different lowercase and capital letters show significant differences at 0.05 level and 0.01 level respectively, +++ vigorous mycelia growth, ++ moderate mycelia growth.

表 2 菌株间栽培特性比较

Table 2 Comparison of cultivation among stain H03, PN06 and PN08

品种 Stain	生长类型 Stain type	污染率 Pollution rate/%	生物转化率 Biological efficiency/%
H03	丛生	2	96
PN06	丛生	4	95
PN08	丛生	8	85

2.5 示范性推广试验

为了进一步检验 H03 的适应性和稳定性,从

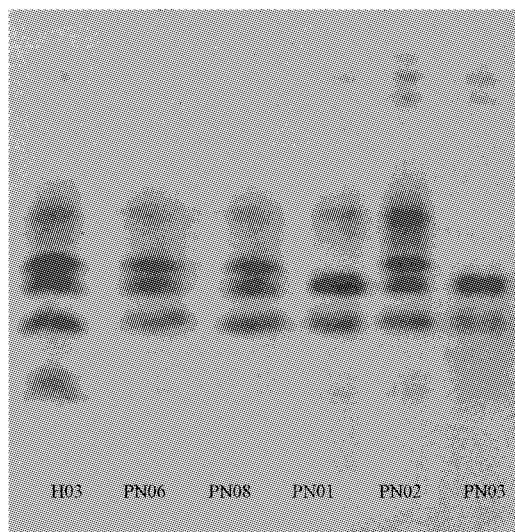


图 1 酯酶同工酶电泳图谱

Fig. 1 Esterase isozyme PAGE patterns

2.3 菌丝培养特性比较

由表 1 可知,6 个滑菇菌株在 PDA 平板上生长速度和生长势有一定差异。PN03 菌株生长速度最快,极显著高于其它菌株($P<0.01$)但菌丝边缘不整齐。H03 菌株显著高于亲本菌株 PN06 和 PN08 ($P<0.05$),菌丝浓密,生长整齐,尖端菌丝绒毛状。

2.4 菌株出菇特性比较

由表 2 可知,菌株 H03 菇体丛生,菌盖半球形,菌柄中等长,菇体健壮、不易开伞,生物转化率高于亲本,抗杂性强,保盘率高于亲本之一 PN08。

2011—2013 年连续 3 年的 400 万袋半熟料栽培试验中,以该地常用品种 PN06 为对照比较了污染率和生物转化率情况。滑菇半熟料栽培是辽宁省主要栽培模式,是指栽培滑菇的培养料拌料后,采用常压蒸锅见汽撒料的方式蒸散料,100℃灭菌 2~3 h 后出锅冷却、装袋、养菌、出菇的一种栽培方法。滑菇菌丝培养后能否安全越冬是半熟料生产成败的关键,滑菇越冬极限温度维持时间增加,滑菇菌丝抗性减弱,增加污染率。30℃为滑菇安全

越夏温度,连续 4 d 的高温就会使菌丝受到伤害^[1],增加污染率。以宽甸地区为例,2011 年 7—8 月气温超过 30℃ 为 8 d,降水 37 d;2012 年 7—8 月气温超过 30℃ 为 9 d,降水 38 d;2013 年 7—8 月气温超过 30℃ 为 10 d,降水 40 d^[7],高温高湿的天气增加了菌盘污染的几率。

表 3 2011—2013 年菌株栽培情况比较

Table 3 Comparison of pollution rate and biological efficiency value in 2011,2012 and 2013 cultivation

品种 Strain	2011		2012		2013	
	污染率 Pollution rate/%	生物转化率 Biological efficiency/%	污染率 Pollution rate/%	生物转化率 Biological efficiency/%	污染率 Pollution rate/%	生物转化率 Biological efficiency/%
H03	2	102	3	105	5	100
PN06	8	98	9	98	15	90

3 结论

杂交育种是通过有性杂交发生基因重新组合后,在杂交一代中筛选杂种优势^[4],在以子实体产量和农艺性状为主要目标的滑菇育种中,单胞杂交育种是菌种生产和品种改良中使用最广泛、收效最显著的育种手段。该文通过高产栽培菌株 PN06 和 PN08 的不同配对杂交组合筛选试验,获得高产优质菌株 H03,2013 年获得辽宁省的新品种认定,定名为“辽滑菇 1 号”。

“辽滑菇 1 号”菌株,子实体丛生,菇头半球形、浅黄桔红,第 3 茬以后呈红褐色,不易开伞,柄长中等,抗杂、抗逆性强,生物转化率高,生物转化率可达 95%~110%。3 年的示范和推广应用表明,“辽滑菇 1 号”菌株具有很高的生物转化率和较高的商品价值,同时还具有良好的稳定性、一致性和较高的抗逆、抗杂性等特点,是一个具有较高商品性的滑菇品种。

由表 3 可知,H03 菌丝抗逆性强,降低越夏期间污染率,半熟料栽培中比对照平均降低于 8%,生物转化率平均高于对照菌株 7%。3 年栽培期间,菌株 H03 生物转化率变化小于 5%,证明该菌株适应性和稳定性较好,适于推广栽培。

参考文献

- [1] 冯景刚.滑菇栽培实用技术彩色图解[M].沈阳:辽宁科学技术出版社,2012.
- [2] Masuda P,Yamanaka K,Sato Y,et al.Nuclear selection in monokaryotization of dikaryotic mycelia of *Pholiota nameko* as described by leading and following nuclei[J].Mycoscience,1995,6:413-420.
- [3] 张敏,张季军,刘俊杰.滑菇单核菌丝的形态学及出菇研究[J].华北农学报,2011,26(1):219-222.
- [4] 张树庭,林芳灿.蕈菌遗传与育种[M].北京:中国农业出版社,1997:149-186.
- [5] 高志国.滑菇熟料袋栽技术[J].中国食用菌,2004,23(2):34-35.
- [6] 张敏,肖千明,李红.滑菇主要栽培品种间亲缘关系的同工酶研究[J].辽宁农业科学,2010(4):25-27.
- [7] 天气网.宽甸历史天气查询[EB/OL].http://lishi.tianqi.com/kuandian/index.html.

Breeding of a New *Pholiota nameko* Hybrid Strain ‘LH-1’

ZHAN Min,LI Hong,LIU Na,ZHANG Ji-jun,XIAO Qian-ming

(Research Center of Microbial Engineering,Liaoning Academy of Agricultural Sciences,Shenyang,Liaoning 110161)

Abstract: *Pholiota nameko* hybrid strain ‘LH-1’ (serial No. :H03) was obtained by monospores crossbreeding technology. The monospores derived from parental strains PN06 and PN08 respectively. Differences in esterase isozyme PAGE patterns indicated that ‘LH-1’ was a new strain. The strain ‘LH-1’ was screened optimum by biological characteristics analysis,fruit test,and bag cultivation in breeding process. Cultivation test comparing ‘LH-1’ with control demonstrated that the fruit body was hemisphere with good quality,high yield, and high resistance to disease,especially for semi-processed raw materials cultivation,the pollution rate decreased by 8% in average,the average yield increased by 7%. It was certified by the Variety Certification Community of Liaoning Province in 2013,and suitable for cultivation.

Keywords: *Pholiota nameko*;cross breeding;artificial cultivation