

平菇单孢子杂交育种技术

姚太梅¹, 刘 畅¹, 郭会靖¹, 李守勉², 李 明²

(1. 河北北方学院 农林科技学院, 河北 张家口 075100; 2. 河北农业大学 园艺学院, 河北 保定 071001)

中图分类号: S 646.1⁺4 文献标识码: B 文章编号: 1001-0009(2010)08-0203-02

不同菌株的混合栽培、转管多代次等都会引起菌种退化, 无性繁殖与有性繁殖交替进行是防止菌种退化的重要措施之一, 经过有性繁育出的菌种, 可以突破母本的优良性状, 在各方面的表现都优于母本。每年进行孢子分离, 以有性繁殖来发现优良菌株, 以组织分离来巩固优良菌株的遗传特性。

平菇属于异宗结合的食用菌, 异宗结合的食用菌单孢子萌发形成的菌株是不孕的, 不经过可亲和孢子菌株的交配不能形成子实体, 不能完成生活史。只有通过不

同单核菌丝配对杂交结合时, 才能双核化, 形成子实体。根据这一原理, 用具有不同优点遗传性的单核菌丝体进行杂交, 选育出优良的杂交菌株是食用菌育种的一条重要途径。现将平菇单孢子杂交育种的方法进行简述。

1 平菇亲本的选择

在杂交育种中, 亲本选配是杂种后代出现理想性状组合的关键。至少亲本之一要高产, 一般高产种与高产种杂交, 所得菌种的产量也较高。所选亲本优点多, 缺点少, 亲本间优缺点可以互补。例如某一高产菌株质量欠佳, 而另一菌株产量不够理想, 但质量性状突出, 这样的 2 个菌株杂交往往能够获得综合二者优良性状的杂交种。在这一组合中, 高产的菌株是要改造的对象, 优质的菌株则是要引入性状的介体。这 2 个亲本除了性状能互补外, 任何一方劣性的性状都不能太多, 集中力量解决主要矛盾。在亲缘关系较远, 生态环境差异大的菌株间杂交, 后代中更容易出现超越亲本的优良性状,

第一作者简介: 姚太梅(1982-), 女, 河北宣化人, 硕士, 助教, 现主要从事食用菌生物技术与遗传育种方面研究工作。
通讯作者: 李明(1961-), 男, 教授, 现主要从事食用菌生物技术与遗传育种方面研究工作。
收稿日期: 2009-12-22

都优于其它配方, 生物学转化率也最高。杏鲍菇菌柄平均长度 11.36 cm, 菌柄平均直径 4.06 cm, 菌盖平均直径 3.93 cm, 平均重量 172.85 g, 生物学转化率 34.57%, 周期 66 d。

参考文献

[1] Mau Jeng-kun, Lin Yen-pin, Chen Peiting et al. Flavor compounds in

king oyster mushroom *Pleurotus eryngii* [J]. Agric Food Chem. 1998, 46: 4587-4591.
[2] 姚自奇, 兰进. 杏鲍菇研究进展 [J]. 食用菌学报, 2004, 11(1): 52-58.
[3] 刘雪琼. 杏鲍菇无公害工厂化栽培技术 [J]. 中国食用菌, 2008, 27(6): 60-64.
[4] 江枝和, 翁伯琦, 肖淑霞等. 杏鲍菇高产栽培工艺的研究 [J]. 食用菌学报, 2002, 9(3): 42-45.

Effects of Different Carbon Nitrogen Ratio in the Training Materials on the Quality of *Pleurotus eryngii*

BAN Li-tong, HAN Zhi-qiang, HUANG Liang
(Department of Agronomy, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300384)

Abstract: In this study, using different compositions to obtain training materials with five different carbon nitrogen ratio, we carried on the experiment in the same condition, and carried on the sample investigation to *Pleurotus*, including: the growth of hypha, the length of mushroom stem, the diameter of mushroom stem, the diameter of pileus, the color of pileus, the condition of carpophore, pollution rate, periods. Considering the Factorization production synthetically, We obtained that the best carbon nitrogen ratio of the local production *Pleurotus* through the data of statistics was 34.64. The *Pleurotus* cultivated by the fourth training materials showed the better properties and we could get higher efficiency.
Key words: *Pleurotus eryngii*; training materials; Carbon Nitrogen ratio; factorization production

成为进一步选育的宝贵材料。用当地菌株与外来菌株杂交时, 应选当地适应性强的菌株。

2 孢子的分离和鉴定

2.1 种菇的选择

所选种菇应具备亲本典型优良性状, 种菇选定后, 将周围 6~10 cm 范围内小菇摘去, 适当增加喷水量, 并随时检查种菇的生长情况。种菇八成熟时, 及时采摘供分离用。

2.2 表面灭菌

将种菇菌柄剪去 2/3, 用 75% 酒精在菌盖表面及菌柄部分进行揩擦消毒, 然后用无菌水冲洗, 最后用无菌纱布吸干菇体表面水分, 即可进行分离。

2.3 孢子的收集

将消过毒的种菇插入孢子采集装置的支架上, 支架可用粗铁丝折曲而成, 在支架下放有培养皿底, 作收集孢子用, 外面用烧杯套住, 整个装置都须先灭菌干燥, 有关操作必须在超净工作台中进行, 以保证所收集的孢子纯正。

2.4 孢子的分离

孢子的分离采用连续稀释法, 这是一种通过不断稀释的方法, 使孢子分散到最低限度, 再吸取一定量的孢子液注入平板, 这样分离出的孢子就被固定在原处而形成单孢菌落。其具体步骤如下, 在无菌条件下用接种针挑取一定量的孢子, 注入 10 mL 无菌水中摇匀, 再从中取出 1 mL 孢子液, 加入 9 mL 无菌水中。如此反复稀释, 一直到稀释液中大概有 10^6 个/mL, 用玻棒均匀涂于有培养基的培养皿中, 25℃ 恒温培养。

2.5 单核菌丝鉴别

菌落长到 2 cm 时, 挑取边缘菌丝置载玻片上, 用显微镜观察, 若无锁状联合, 可初步认为是单孢萌发而生成的单核菌丝, 然后转接到 PDA 斜面培养基上培养。

3 单核菌丝配对杂交

将 2 个不同亲本的单核菌丝同时接种于 PDA 平板培养基上, 相距 1.0~1.5 cm, 培养 12 d 左右, 待菌丝接触后, 挑取交界处的部分菌丝用棉兰(碱性甲基蓝)染色后进行镜检, 如发现锁状联合, 立即将其转接于新的斜面培养基上, 于 25℃ 下培养 7~10 d 左右, 挑出菌丝生长旺盛、菌落形态均匀的菌株, 挑取少许菌丝放在显微镜下观察, 鉴定确是双核菌丝后, 进行 PDA 斜面试管扩大培养, 而菌落形态不均一、菌丝生长较弱的则淘汰, 待菌丝满管后, 选择优良的异核菌丝体, 放入冰箱内保藏, 留作筛选试验用。

4 杂交菌株鉴定

4.1 拮抗试验

拮抗试验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菌株遗传特性的重要表现。在 PDA 斜面培养基的中间接种单孢杂交菌丝体, 两端分别接种亲本的菌丝体, 菌丝能互相长进去, 连成一片的说明是同种菌丝, 若在相交处形成明显的黄褐色拮抗线, 便说明菌种性质不同。只有在斜面上同时出现 2 条拮抗线, 才说明杂交成功, 产生了新的性状。

4.2 液体培养基出菇试验

将所有的杂交组合分别接种到含 30 mL 液体培养基的三角瓶(100 mL)中, 每个组合 3 次重复。25℃ 恒温培养, 待菌丝长满液面时进行低温刺激培养, 记录菇蕾产生情况, 淘汰不具有结实能力的杂交组合。

5 出菇试验

将杂交得到的母种扩繁成二、三级菌种, 进行代料栽培, 观察发菌期的长短、原基形成快慢、子实体形状、颜色、厚度及杂交菌株的适用性等, 记录前 3 潮菇的产量, 进行综合比较后初步筛选出较优良的杂交菌株, 经过中试后再逐步示范推广。

食用菌选购注意事项

- 1 香菇: 品质总体要求是体圆齐正、菌伞肥厚, 盖面平滑, 质干不碎。手捏菌柄有坚硬感, 放开后菌伞膨松如故, 其色泽黄褐, 远闻有香气, 无焦片, 霉变和碎屑。
- 2 花菇: 菇伞面有似菊花一样的白色裂纹, 其色泽黄褐而光滑, 菌伞厚实, 边缘下卷, 香气浓郁为质优。
- 3 厚菇: 伞顶面无花纹, 菌美浓褐色至褐色, 肉厚质

嫩, 朵稍大, 边缘破裂较多, 若菌伞直径小于 1 cm 者为质次。

4 平菇: 平顶, 浅褐色, 以片大, 菌伞较厚, 伞面边缘完整, 破裂口较少, 菌柄较短的质好。

5 银耳应以朵大、体轻、色黄白, 有光泽, 胶质厚者为佳。选购时应注意含水量, 过潮则易发霉不宜存储, 过干则易碎, 宜密封后保存, 质量好的银耳, 水泡开后, 细软柔润, 富有弹性, 而质次的水泡开后除外层有柔软弹性外, 喘常有硬块, 需注意鉴别。