

李守勉,李 明,田景花. 榆黄蘑杂交子代优良菌株的筛选[J]. 江苏农业科学,2014,42(7):251-254.

# 榆黄蘑杂交子代优良菌株的筛选

李守勉,李 明,田景花

(河北农业大学园艺学院,河北保定 071001)

**摘要:**以榆黄蘑杂交亲本 Pc-5、Pc-8 及 15 个杂交子代菌株为试验材料,分别对它们的菌丝生长情况、胞内多糖含量、抗绿霉能力、农艺性状、生物学效率等方面进行比较分析,结果表明,P22 产量高,朵型正,颜色鲜艳,绿霉抗性

强,为优良菌株。

**关键词:**榆黄蘑;杂交子代;菌株;筛选

**中图分类号:** S646.1+10.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)07-0251-04

榆黄蘑(*Pleurotus citrinopileatus* Sing.)属于食药兼用菌,具有很高的营养价值和药用价值<sup>[1]</sup>。榆黄蘑的人工栽培开始于 20 世纪 70 年代,但是到目前为止,在栽培上大多将采集的野生菌株直接用于生产,或者经过筛选驯化后作生产用菌种,新品种选育的报道较为少见<sup>[2]</sup>。从世界各先进国家育种工作现状来看,杂交育种仍是食用菌育种中应用广泛、效果显著的一种方法,因此,笔者所在课题组采用单孢杂交的手段对榆黄蘑新品种进行选育研究,本文对前期试验获得的 15 个杂交子代新菌株的菌丝生长情况、胞内多糖含量、抗绿霉能力、农艺性状、生物学效率等方面进行了比较分析,以期筛选出综合性状优良的杂交子代菌株,为榆黄蘑育种奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

1.1.1 供试菌株 供试菌株见表 1。

1.1.2 供试培养基

1.1.2.1 母种活化培养基 棉籽壳 200 g,马铃薯(去皮)100 g,麸皮 20 g,葡萄糖 20 g,蛋白陈 5 g,琼脂 20 g,水 1 000 mL,pH 值自然条件。

1.1.2.2 PDA 培养基 马铃薯(去皮)200 g,葡萄糖 20 g,琼脂 20 g,水 1 000 mL,pH 值自然条件。

1.1.2.3 原种和栽培种培养基 棉籽壳 78%,麸皮 20%,蔗糖 1%,石膏 1%,含水量 60%。

1.1.2.4 栽培料配方 棉籽壳 88%,麸皮 10%,蔗糖 1%,石膏 1%,含水量 60%。

### 1.2 试验方法

1.2.1 菌丝长速测定<sup>[3]</sup> 将活化后的供试菌株母种接种于直径为 9 cm 的培养皿进行比较培养。每个菌株接种 6 个培养皿,培养基(PDA 培养基)25 mL,从同步活化的母种中,取直径 3 mm、厚 0.4 mm 的菌丝圆片接于培养皿中央,置于 24 ℃

表 1 供试菌株

编号	商品名称	来源
Pc-5	榆黄蘑 1 号	河北农业大学园艺学院
Pc-8	榆黄蘑 2 号	东北食用菌研究所
P5	无	Pc-5 与 Pc-8 单孢杂交获得的子代菌株
P10	无	Pc-5 与 Pc-8 单孢杂交获得的子代菌株
P14	无	Pc-5 与 Pc-8 单孢杂交获得的子代菌株
P22	无	Pc-5 与 Pc-8 单孢杂交获得的子代菌株
P36	无	Pc-5 与 Pc-8 单孢杂交获得的子代菌株
P39	无	Pc-5 与 Pc-8 单孢杂交获得的子代菌株
P40	无	Pc-5 与 Pc-8 单孢杂交获得的子代菌株
P47	无	Pc-5 与 Pc-8 单孢杂交获得的子代菌株
P54	无	Pc-5 与 Pc-8 单孢杂交获得的子代菌株
P64	无	Pc-5 与 Pc-8 单孢杂交获得的子代菌株
P65	无	Pc-5 与 Pc-8 单孢杂交获得的子代菌株
P82	无	Pc-5 与 Pc-8 单孢杂交获得的子代菌株
P84	无	Pc-5 与 Pc-8 单孢杂交获得的子代菌株
P92	无	Pc-5 与 Pc-8 单孢杂交获得的子代菌株
P102	无	Pc-5 与 Pc-8 单孢杂交获得的子代菌株

恒温培养箱中培养。当有一个菌株菌丝长满培养皿时,结束培养,记录菌丝生长时间,测量菌落半径,计算菌丝生长速度,观察菌丝形态及其长势,结果做方差分析,进行显著性测验。

菌丝生长速度(mm/d) = 菌落半径(mm)/生长时间(d)。

1.2.2 菌丝胞内粗多糖含量测定<sup>[4-5]</sup> 采用水提法提取榆黄蘑亲本及杂交后代菌丝胞内多糖,运用苯酚-硫酸法进行比较测定。

胞内多糖提取率 =  $(A \times B) / M \times 100\%$ 。

式中:A 为标准曲线上查出样品的含糖量(mg/mL),B 为样品提取液稀释总体积(mL),M 为菌丝体质量(mg)。

1.2.3 对绿霉抗性的比较<sup>[3]</sup> 分别将筛选后的杂交组合接种到 PDA 平板培养基上,2 d 后接入绿霉菌株,与菌种块之间相距 2.5 cm,每个处理设置 3 个重复,在 25 ℃ 条件下培养 7 d,观察记录不同菌株与绿霉的拮抗情况,测量拮抗线宽度。

采用生料栽培方式,用 19 cm × 52 cm × 0.02 cm 聚乙烯袋,每袋装 800 g 干料,接种量 10%,每个菌株接种 20 袋,设 3 个重复,在 25 ℃ 下容易发生杂菌的环境中培养,记录绿霉发生率。菌丝长满菌袋后移入菇房,菇室的温度控制在 22 ℃ 左右,空气的相对湿度保持在 80% ~ 95%,按榆黄蘑子实体阶

收稿日期:2014-01-13

基金项目:河北省教育厅项目(编号:C2010273);河北省食用菌产业技术体系项目。

作者简介:李守勉(1978—),女,河北泊头人,博士研究生,讲师,主要从事食用菌生物技术与遗传育种方面的研究。Tel:(0312)7528487;E-mail:yyism@hebau.edu.cn。

段要求管理,出完第一潮菇后记录绿霉发生率。

1.2.4 生物学效率比较<sup>[3]</sup> 采用生料栽培方式,用 19 cm × 52 cm × 0.02 cm 聚乙烯袋,每袋装 800 g 干料,接种量 10%,采用 4 层菌种 3 层料的方式进行接种,每个菌株接 20 袋,设 3 个重复,在 25 ℃ 条件下培养,长满袋后放入菇房,摆放在床架上出菇,出菇室的温度控制在 20 ℃ 左右,空气的相对湿度保持在 85% ~ 95%,按常规法管理,出菇后测量榆黄蘑每袋产量(g),计算生物学效率,并做显著性测验。

生物学效率 = 子实体鲜品产量(g)/培养料干质量(g) × 100%。

1.2.5 生育期长短测定 栽培及出菇管理方法参照“1.2.4”。记录原基期(从接种到出现原基)、菇峰期(从接种到出菇高峰)。

1.2.6 不同菌株农艺性状评价<sup>[6]</sup> 栽培及出菇管理方法参照“1.2.4”,出菇后观测菌盖直径(cm)、菌盖厚度(cm)、菌柄长度(cm)、菌柄直径(cm)、单菇质量(g)、色泽等性状<sup>[3]</sup>。

2 结果与分析

2.1 杂交子代不同菌株母种阶段菌丝体的生长情况比较

将 15 个榆黄蘑杂交子代菌株及其亲本菌株同时接种在 PDA 平板培养基上培养,对杂交后代菌株的菌丝颜色、菌落边缘整齐度、菌丝生长势、菌丝生长速度等方面进行观察比较,结果见表 2。

表 2 不同菌株母种菌丝生长情况

菌株	菌丝颜色	菌丝长势	菌落边缘整齐度	长速 (mm/d)
P10	洁白	+++	整齐	6.24aA
P65	白	+++	整齐	6.18aAB
P92	洁白	++	整齐	6.13abAB
P54	洁白	+++	整齐	6.07abABC
P84	黄白	++	整齐	5.97bcBCD
Pc-5	洁白	+++	整齐	5.89cdCD
P22	洁白	+++	整齐	5.87cdCD
P40	黄白	+++	较整齐	5.83cdCDE
P102	白	++	较整齐	5.80cdDE
Pc-8	白	+++	整齐	5.78deDE
P64	洁白	+	整齐	5.76deDE
P47	白	+++	整齐	5.62efEF
P36	洁白	++	整齐	5.52fgF
P5	白	+	整齐	5.41gF
P14	白	+++	整齐	4.99hG
P82	黄白	+++	较整齐	4.73iH
P39	黄白	+++	整齐	4.31jI

注:同列数据后不同大、小写字母分别表示差异极显著( $P < 0.01$ )、显著( $P < 0.05$ )。表 3 至表 6 同。“+++”表示菌丝长势较强,“++”表示菌丝长势一般,“+”表示菌丝长势较弱。

从颜色上来看,子代菌株大致可以分为 3 种,菌株 P10、P36、P54、P22、P64 和 P92 的菌丝颜色较好,均为为洁白色;P5、P14、P47、P65 和 P102 菌丝颜色为白色;而 P39、P40、P82 和 P84 菌丝颜色为黄白色。菌丝生长势和菌落边缘整齐度方面,菌株 P10、P14、P22、P39、P40、P47、P54、P65 子代和 P82 的生长势较强,菌丝浓密;菌株 P36、P84、P92 和 P102 的菌丝生长势一般;而菌株 P5 和 P64 的菌丝生长势与其他后代相比,

表现较弱,菌丝纤细,劣于亲本;在边缘整齐度方面,除菌株 P40、P102 和 P82 菌落边缘较整齐外,其余各菌株整齐度均良好,优于亲本 Pc-8。从杂交子代菌株菌丝长速来看,菌株 P10、P65、P92 的长速极显著快于亲本,其中 P10 的日均长速最快,为 6.24 mm/d,说明其杂种优势较明显。

2.2 杂交子代菌株菌丝体胞内多糖含量比较

对 2 个亲本和 15 个杂交子代菌株的菌丝体胞内多糖进行测定,结果见表 3。由测定结果可以看出,胞内多糖含量高于亲本菌株 Pc-5 和 Pc-8 的子代菌株有 P39 和 P82,且差异极显著( $P < 0.01$ ),其中菌株 P82 多糖含量达到 11.69%,比亲本 Pc-5 高出 2.12 百分点;子代多糖含量低于亲本菌株 Pc-5 和 Pc-8 的菌株有 P10、P40、P64 和 P92,其中菌株 P92 多糖含量最低,为 6.53%,比亲本 Pc-8 低 0.93 百分点,差异极显著( $P < 0.01$ );其余各菌株菌丝多糖含量介于双亲之间。

表 3 不同菌株菌丝多糖含量的比较

菌株	菌丝多糖含量(%)
P82	11.69aA
P39	10.12bB
Pc-5	9.57cC
P14	9.52cC
P54	9.41cCD
P47	9.19dD
P22	8.34eE
P84	8.34eE
P102	8.27eE
P65	7.97fF
P5	7.89fF
P36	7.58gG
Pc-8	7.46ghGH
P40	7.36ghGHI
P64	7.26hiHI
P10	7.13iI
P92	6.53jJ

2.3 杂交子代菌株子实体发育阶段的比较

在同样的栽培管理条件下,对 15 个杂交后代和 2 个亲本的发菌期、原基期、第一潮菇菇峰期进行比较,结果见表 4。可以看出,杂交子代菌株 P10、P65、P92、P54 和 P102 发菌速度均快于亲本菌株,其中菌株 P10、P65 菌丝长满袋所需时间最短,仅为 11 d;杂交子代菌株 P82 长满袋时间最长,为 19 d。

杂交子代菌株 P10、P54、P65、P84、P92 和 P102 的原基出现时间早于亲本,其中原基出现最早的是菌株 P10,从接种到原基出现仅 13 d,其次是 P92,为 14 d;杂交子代菌株中原基出现最晚的是菌株 P82,从接种到原基出现需 23 d,比原基出现最早的菌株晚 10 d,其次是菌株 P39,为 22 d;其余各菌株原基出现稍晚于亲本或没有差异。

杂交子代菌株 P10、P54、P92 和 P102 的第一潮菇菇峰期比亲本早,说明这 4 个菌株早熟性好,其中菇峰到来最早的是 P10,为 24 d;杂交子代菌株 P14、P36 和 P64 与亲本的菇峰期没有差异;其余菌株都不同程度的晚于亲本菇峰期的出现,最晚的是 P82,菇峰期为 33 d。

2.4 不同菌株霉菌抗性比较

将 15 个杂交后代菌株和亲本菌株进行绿霉抗性试验,结

表 4 不同菌株各生长阶段的比较

菌株 (d)	发菌期 (d)	原基期 (d)	第一潮菇高峰期 (d)
Pc-5	15d	19e	29de
Pc-8	14e	18f	29de
P5	17b	21c	31bc
P10	11h	13j	24i
P14	14e	18f	29de
P22	15d	19e	30cd
P36	14e	18f	29de
P39	17b	22b	32ab
P40	15d	18f	30cd
P47	16c	20d	31bc
P54	13f	16h	28ef
P64	15d	19e	29de
P65	11h	16h	30cd
P82	19a	23a	33a
P84	14e	17g	31bc
P92	12g	14i	25h
P102	13f	16h	27g

果见表 5,可见在平板培养基上不同的杂交子代菌株及其亲本菌株与绿霉的拮抗程度有所不同,杂交子代菌株 P10、P14、P82、和 P39 的拮抗线均较其双亲宽,且差异显著,其中 P14 的拮抗线最宽,为 2.43 mm;杂交后代 P5、P64 和 P92 菌株的拮抗线比亲本窄,且差异显著,其中最窄的是 P64,仅为 0.97 mm;其余各菌株与亲本拮抗线宽度相近,差异不显著。

表 5 榆黄蘑菌株抗绿霉比较

菌株	拮抗线宽 (mm)	栽培袋污染率 (%)	相关系数
Pc-5	1.93cde	11.11g	-0.92*
Pc-8	1.87def	13.33f	
P5	1.41g	20.00c	
P10	2.31a	6.67i	
P14	2.43a	8.89h	
P22	2.09bc	13.33f	
P36	1.71f	20.00c	
P39	2.14b	8.89h	
P40	1.82ef	15.56e	
P47	2.00bcde	8.89h	
P54	1.91cde	15.56e	
P64	0.97i	28.89a	
P65	2.05bcd	11.11g	
P82	2.36a	8.89h	
P84	1.84ef	13.33f	
P92	1.21h	22.22b	
P102	1.98bcde	17.78d	

注: \* 表示显著相关( $P<0.05$ )。

将杂交子代菌株与亲本同时进行生料栽培,对栽培袋的污染率进行统计,结果见表 5,可以看出,与亲本菌株相比,杂交子代菌株 P10、P14、P39、P47 和 P82 的污染率较低,其中 P10 的污染率最低,为 6.67%,比亲本 Pc-5 低了 4.44 个百分点;P5、P36、P64、P92 和 P102 污染率较高,其中 P64 受绿霉污染最严重,绿霉污染率达 28.89%,在生产中表现为发菌阶段容易受绿霉污染,在采完第一潮菇后污染尤为严重。对拮抗

线的宽窄与栽培袋污染率的相关性进行分析,结果显示,两者的相关系数为 -0.92,显著相关,且拮抗线越宽,拮抗能力越强,在生产中栽培袋也不容易受到绿霉污染。

2.5 杂交子代菌株生物学效率比较

将榆黄蘑亲本和杂交子代菌株在同样的条件下进行栽培,统计各菌株子实体鲜质量,计算生物学效率并进行方差分析。由表 6 可知,杂交子代菌株 P22、P40、P47 和 P84 的生物学效率极显著高于双亲,其中 P22 生物学效率最高,比亲本 Pc-5 高出 11.67 个百分点,比亲本 Pc-8 高出 18.8 百分点;杂交子代菌株 P5、P36、P39、P64、P65 和 P102 的子实体产量高于亲本 Pc-8,生物学效率高出亲本 Pc-8 1.20~6.49 百分点;杂交子代菌株 P10、P14、P54、P82 和 P92 生物学效率较低,在产量性状上没有表现出杂种优势,其中生物学效率最低的是菌株 P10,仅为 81.67%,分别比亲本 Pc-8、Pc-5 低了 9.46、16.59 百分点。

表 6 不同菌株及其亲本产量性状的比较

菌株	平均生物学效率(%)
P22	109.93aA
P84	104.22bB
P40	103.34cC
P47	99.15dD
Pc-5	98.26eE
P64	97.62fE
P65	96.79gF
P36	96.14hF
P39	95.36iG
P102	94.57jH
P5	92.33kI
Pc-8	91.13lJ
P14	90.32mK
P82	89.93mK
P54	87.61nL
P92	85.39oM
P10	81.67pN

2.6 杂交子代菌株菇峰期与生物学效率的相关性

亲本和杂交子代菌株的第一潮菇菇峰期与生物学效率的相关性分析结果(表 7)表明,两者的相关系数为 0.54,具有一定的相关性,即菇峰期越早,子实体产量越低,菇峰期越晚,子实体产量越高,早熟性与丰产性呈现背离。

2.7 杂交后代与亲本菌株子实体农艺性状评价

对供试菌株的子实体菌盖直径、菌盖厚度、菌柄直径、菌柄长度及菌盖色泽进行比较分析,结果(表 8)表明,在菌盖大小方面,除 P92 和 P36 菌盖偏小,达不到商品菇标准外,其余菌株菌盖直径为 3.89~6.94 cm,均符合榆黄蘑商品菇标准。

在菌盖厚度方面,杂交子代菌株中 P14、P65 和 P92 菌株的菌盖厚度大于双亲,最厚的为 P14,达 0.61 mm,商品性状较好。在菌柄粗度方面,杂交子代菌株中多数子实体菌柄直径小于其双亲,除杂交子代菌株 P36、P40、P84、P102 菌柄小于 0.5 cm,其余菌株菌柄直径在 0.53~0.64 cm 之间,均符合商品菇标准。在菌柄长度方面,杂交子代菌株中 P36、P82 和 P92 菌株的菌柄明显长于亲本,均在 8 cm 以上,其余各菌株菌柄长度在 3.68~5.13 cm,均符合商品菇标准。在子实体色

表 7 菇峰期与生物学效率的相关性

菌株	菇峰期 (d)	平均生物学效率 (%)	相关系数
Pc-5	29	98.26	0.54
Pc-8	29	91.13	
P5	31	92.33	
P10	24	81.67	
P14	29	90.32	
P22	30	109.93	
P36	29	96.14	
P39	32	95.36	
P40	30	103.34	
P47	31	99.15	
P54	28	87.61	
P64	29	97.62	
P65	30	96.79	
P82	33	89.93	
P84	31	104.22	
P92	25	85.39	
P102	27	94.57	

表 8 各菌株农艺性状的比较

菌株	菌盖		菌柄		色泽
	直径(cm)	厚度(cm)	直径(cm)	长度(cm)	
Pc-5	3.92	0.57	0.59	3.87	淡黄
Pc-8	4.81	0.52	0.63	4.03	鲜黄
P5	4.94	0.54	0.61	4.17	黄
P10	4.16	0.42	0.53	3.81	淡黄
P14	5.21	0.61	0.59	4.69	黄
P22	4.86	0.53	0.61	3.71	鲜黄
P36	2.11	0.31	0.49	9.24	暗黄
P39	4.46	0.48	0.61	3.78	黄
P40	4.56	0.41	0.43	3.98	暗黄
P47	3.89	0.46	0.57	3.96	鲜黄
P54	6.94	0.57	0.64	5.13	浅黄
P64	5.13	0.54	0.61	4.11	淡黄
P65	4.07	0.59	0.54	3.68	鲜黄
P82	4.92	0.56	0.57	9.16	黄
P84	3.96	0.39	0.47	4.18	黄
P92	1.94	0.59	0.56	8.96	暗黄
P102	4.41	0.38	0.49	3.78	淡黄

泽方面,杂交子代菌株大致可分为 4 种颜色,即鲜黄、黄、淡黄和暗黄。杂交子代菌株 P22、P47 和 P65 色泽鲜艳;P36、P40 和 P92 为暗黄色,外观品质较差。从农艺性状的总体情况来看,菌株 P22 和 P65 色泽鲜艳,菌柄、菌盖适中,具有较高的推广价值。

3 讨论

3.1 胞内多糖含量作为杂交子代菌株筛选的重要指标

通过对杂交菌株菌丝体胞内多糖含量的比较发现,出现了显著高于双亲的后代菌株,这是很有价值的,榆黄蘑多糖以其较强的免疫调节、降血糖、抗肿瘤、抗病毒、抑菌作用及清除超氧阴离子自由基和亚硝基作用等生物活性,有望应用于食品、化妆品及医疗保健等行业<sup>[7]</sup>。因此胞内多糖含量可作为杂交子代菌株筛选的重要指标。

3.2 杂交子代菌丝长速、长势与抗木霉能力的相关性

霉菌类属于竞争性杂菌,包括半知菌纲真菌(如绿霉、曲

霉、青霉等)和接合菌纲真菌(如毛霉和根霉),其中绿霉是普遍发生且危害严重的杂菌<sup>[8]</sup>,在食用菌生产的不同阶段都会受到其污染,一旦发病,轻者减产,重者绝收,成为制约食用菌生产发展的重要障碍,因此食用菌对绿霉的抵抗能力也可作为优良菌株选育的一个重要指标。

通过对杂交子代菌株抗绿霉试验结果的分析可以看出,在菌丝体阶段,菌株的抗绿霉作用与菌丝的生长速度相关性不是太大,长得快的对绿霉抗性不一定强,但与菌丝的生长势明显相关,菌丝生长势强,菌株对绿霉的抗较强,这可能是与菌丝自身的抵抗能力有关,生长势强的菌丝浓密粗壮,抵御外来侵略的能力较强,这也符合自然界生物发展的普遍规律。在栽培袋污染率的统计中发现,菌丝体阶段抗性强的菌株在栽培过程中污染率也低,并且两者相关性极显著,这为选择栽培品种提供了依据,应尽量选择菌丝生长势强的菌株进行栽培;同时,也为育种提供了方向,在以抗杂菌能力为目标的育种过程中,亲本也可以按照这个原理进行选择。

4 结论

通过对杂交子代母种阶段菌丝生长情况比较发现,P10、P36、P54、P22、P64 和 P92 菌株的菌丝色泽比较好,均为洁白色;在菌丝生长势方面,菌株 P10、P14、P22、P39、P40、P47、P54、P65 和 P82 的生长势较强,且表现为菌丝浓密;在此阶段,菌株 P10 表现出较强的综合杂种优势。

通过杂交子代菌株胞内多糖含量的比较发现,P39 和 P82 胞内多糖含量显著高于双亲,P10 和 P92 胞内多糖含量明显低于亲本。

通过杂交子代菌株抗木霉能力的比较发现,菌株 P14 与绿霉的拮抗线最宽,栽培阶段绿霉的污染率也最低;菌株 P64 与绿霉的拮抗线最窄,栽培阶段绿霉的污染率也最高,在第一潮菇采收后污染尤为严重。对拮抗线的宽窄与栽培袋污率的相关性进行分析,两者的相关系数达到了-0.92,说明两者呈明显的负相关。

通过杂交子代子实体阶段情况比较发现,P22 产量高,朵型正,颜色鲜艳,绿霉抗性强,是较好的育种资源。

参考文献:

[1]何英,万德云,张玉兴.榆黄蘑提取物对保护肝脏作用的初步探讨[J].中国实验诊断学,2010,14(9):1368-1369.  
[2]杨蒙.榆黄蘑研究进展[J].现代农业科技,2013(19):83,86.  
[3]姚太梅.平菇单孢杂交及后代筛选[D].保定:河北农业大学,2008:13-15.  
[4]NY/T 1676—2008 食用菌中粗多糖含量的测定[S].北京:中国标准出版社,2008.  
[5]左琦,杨海峰,邢增涛,等.食用菌总糖含量测定方法的研究[J].食用菌学报,2008,15(4):57-61.  
[6]王俊玲,李明,田景花,等.杏鲍菇不同菌株的品比试验[J].中国食用菌,2008,27(1):34-35,37.  
[7]张晓倩.榆黄蘑高多糖含量菌株的筛选[D].保定:河北农业大学,2010:17-19.  
[8]李冠喜,王钰,邵世光,等.白灵菇品种的拮抗和品比鉴定[J].中国食用菌,2006,(25)2:17-18.