

李守勉,李 明,田景花,等. 苜蓿秸栽培双孢菇适宜品种及最适菌种培养基筛选[J]. 江苏农业科学,2015,43(7):252-254.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.07.087

苜蓿秸栽培双孢菇适宜品种及最适菌种培养基筛选

李守勉,李 明,田景花,王胜男,冯自洋

(河北农业大学园艺学院,河北保定 071001)

摘要:对苜蓿秸栽培双孢菇适宜品种进行筛选,得出 AS2796 为最适品种,并对 AS2796 的最适母种、原种培养基进行筛选。结果表明,AS2796 适宜母种培养基为 100 g 发酵棉籽皮,50 g 牛粪,20 g 葡萄糖,20 g 琼脂,3 g KH_2PO_4 , 1.5 g MgSO_4 ,20 mg 维生素 B_1 ,5 g 蛋白胨,1 000 mL 水;AS2796 适宜原种培养基为配方 A_1 和配方 C_1 ,配方 A_1 : 84.15% 麦粒、14.85% 牛粪、1% 石膏,另加 0.1% KH_2PO_4 、0.05% MgSO_4 ,配方 C_1 : 16.83% 谷粒、67.32% 高粱粒、14.85% 牛粪、1% 石膏,另加 0.1% KH_2PO_4 、0.05% MgSO_4 。其中配方 A_1 的菌丝生长速度最快,菌丝长势较好;配方 C_1 的菌丝长势最好,生长速度中等,生产中可以根据实际需要进行选择。

关键词:苜蓿秸;双孢菇;品种;母种;原种;培养基;筛选

中图分类号: S646.104 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)07-0252-02

双孢菇(*Agaricus bisporus*)味道鲜美、营养丰富,是世界第一大宗食用菌。双孢菇属中低温性草腐菌,发菌温度 22~25℃,出菇温度 14~18℃^[1],一般于秋冬至早春栽培,是我国的主栽食用菌种类之一。坝上地区夏季温度较低,适宜进行双孢菇的错季栽培。苜蓿为坝上地区的主要粮食作物^[2],利用苜蓿秸秆栽培双孢菇,不仅可使坝上资源苜蓿秸秆、牛粪变废为宝,同时又可为食用菌生产提供充足的原料。由于苜蓿秸秆新开发双孢菇栽培原料的配套技术还不完善,有关苜蓿秸秆栽培双孢菇适宜品种筛选的研究未见报道。因此,本试验开展苜蓿秸秆栽培双孢菇适宜品种筛选的研究,以促进坝上地区双孢菇产业的健康发展,弥补夏季双孢菇市场的空缺,提高菇农效益。

1 材料与方

1.1 供试菌株

双孢菇品种 W2000、W192、AS2796、5113,均由河北农业大学园艺学院食用菌实验室保藏。

1.2 供试培养基

1.2.1 供试母种培养基 A:马铃薯 200 g,葡萄糖 20 g,琼脂 20 g,磷酸二氢钾 3 g,硫酸镁 1.5 g,维生素 B_1 20 mg,蛋白胨 5 g,水 1 000 mL,pH 值自然;B:麦粒 200 g,葡萄糖 20 g,琼脂 20 g,磷酸二氢钾 3 g,硫酸镁 1.5 g,维生素 B_1 20 mg,蛋白胨 5 g,水 1 000 mL,pH 值自然;C:谷粒 200 g,葡萄糖 20 g,琼脂 20 g,磷酸二氢钾 3 g,硫酸镁 1.5 g,维生素 B_1 20 mg,蛋白胨 5 g,水 1 000 mL,pH 值自然;D:高粱粒 20 g,葡萄糖 20 g,琼脂 20 g,磷酸二氢钾 3 g,硫酸镁 1.5 g,维生素 B_1 20 mg,蛋白胨 5 g,水 1 000 mL,pH 值自然;E:玉米粉 40 g,葡萄糖 20 g,

琼脂 20 g,磷酸二氢钾 3 g,硫酸镁 1.5 g,维生素 B_1 20 mg,蛋白胨 5 g,水 1 000 mL,pH 值自然;F:棉籽皮 100 g,发酵牛粪 50 g,葡萄糖 20 g,琼脂 20 g,磷酸二氢钾 3 g,硫酸镁 1.5 g,维生素 B_1 20 mg,蛋白胨 5 g,水 1 000 mL,pH 值自然。

1.2.2 供试原种培养基^[3-4] CK:99% 麦粒、1% 石膏,另加 0.1% KH_2PO_4 、0.05% MgSO_4 ; A_1 :84.15% 麦粒、14.85% 牛粪、1% 石膏,另加 0.1% KH_2PO_4 、0.05% MgSO_4 ; A_2 :84.15% 小麦粒、14.85% 草炭、1% 石膏,另加 0.1% KH_2PO_4 、0.05% MgSO_4 ; B_1 :84.15% 高粱粒、14.85% 牛粪、1% 石膏,另加 0.1% KH_2PO_4 、0.05% MgSO_4 ; B_2 :84.15% 高粱粒、14.85% 草炭、1% 石膏,另加 0.1% KH_2PO_4 、0.05% MgSO_4 ; C_1 : 16.83% 谷粒、67.32% 高粱粒、14.85% 牛粪、1% 石膏,另加 0.1% KH_2PO_4 、0.05% MgSO_4 ; C_2 : 16.83% 谷粒、67.32% 高粱粒、14.85% 草炭、1% 石膏,另加 0.1% KH_2PO_4 、0.05% MgSO_4 ; D_1 :58.91% 玉米芯、25.25% 谷粒、14.85% 牛粪、1% 石膏,另加 0.1% KH_2PO_4 、0.05% MgSO_4 ; D_2 :58.91% 玉米芯、25.25% 谷粒、14.85% 草炭、1% 石膏,另加 0.1% KH_2PO_4 、0.05% MgSO_4 ; E_1 :58.91% 玉米芯、25.25% 麦粒、14.85% 牛粪、1% 石膏,另加 0.1% KH_2PO_4 、0.05% MgSO_4 ; E_2 :58.91% 玉米芯、25.25% 麦粒、14.85% 草炭、1% 石膏,另加 0.1% KH_2PO_4 、0.05% MgSO_4 。

1.2.3 苜蓿秸栽培双孢菇培养料配方^[5] 苜蓿秸栽培料的适宜配方(按照 100 m^2 计算):苜蓿秸 1 500 kg,干牛粪 1 125 kg,尿素 15 kg,过磷酸钙 50 kg,石膏 25 kg,石灰 25 kg。

1.3 试验方法

1.3.1 苜蓿秸栽培双孢菇最适品种筛选 菌种的制备、培养料的堆置发酵、上料播种以及出菇期的管理等均采用常规方法。选取 W2000、W192、闽 4 号、5113 等 4 个双孢菇品种进行品比试验,每个品种设 3 个重复,随机区组排列。每个小区 10 m^2 ,共 12 个小区,分别位于床架的 2~4 层(自下而上)。观察记录各处理发菌时间及菌丝长势,记录前 3 潮菇的产量、转潮时间及第 1 潮菇菇峰期,每个小区随机选取 30 个子实体,并测量单菇质量、菌盖直径、菌盖厚度及菌柄长度。

收稿日期:2014-06-29

基金项目:河北省科技支撑计划(编号:13246427D);河北省现代农业产业技术体系食用菌创新团队项目。

作者简介:李守勉(1978—),女,河北泊头人,博士研究生,讲师,主要从事食用菌栽培生理及遗传育种方面的研究。E-mail:yyism@hebau.edu.cn。

1.3.2 莠麦秸栽培双孢菇最适品种母种培养基配方筛选试验^[6] 按“1.2.1”节中母种培养基配方配制培养基,装入培养皿,每个培养皿内注入 30 mL 培养基,121 ℃ 高压灭菌 40 min。待培养基冷却后,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。每个处理接种 5 个培养皿,取直径 3 mm、厚 0.4 mm 的菌丝圆片接于培养皿中央,置于 25 ℃ 恒温培养箱中培养。当有 1 个处理菌丝长满培养皿时,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,结果作方差分析,进行显著性测验。

菌丝生长速度(mm/d) = 菌落半径(mm)/发菌时间(d)。

1.3.3 莠麦秸栽培双孢菇最适品种原种培养基配方筛选试验^[7] 按“1.2.2”节中原种培养基配方配制原种培养基,先将麦粒、谷粒、高粱粒浸泡 48 h,玉米芯浸泡 24 h,然后用沸水煮至无白心,加入牛粪或者草炭,并拌入石膏和药品。装入 40 mm×200 mm 的大试管内,高度为试管的 3/4,各处理装料高度保持一致,放入高压灭菌锅内灭菌(126 ~ 128 ℃, 100 min)。每个处理设 5 个重复,接种后放入 25 ℃ 恒温培养箱内,观察记录菌丝的生长速度并观察菌丝颜色及生长势。菌丝生长速度(mm/d) = 培养料的高度(mm)/发菌时间(d)。

2 结果与分析

2.1 莠麦秸栽培双孢菇最适品种筛选

2.1.1 不同品种菌丝生长情况及产量比较 由表 1 可见,W192、AS2796 的菌丝长势好于 W2000、5113; AS2796、5113 发菌至出菇所需时间最短,均为 83 d,比 W2000、W192 分别短 10、11 d;从产量来看,W192、AS2796 的平均单产显著高于 W2000、5113,其中 W192 产量最高,但 W192 与 AS2796 之间差异不显著。

表 1 不同栽培品种发菌情况及产量

栽培品种	菌丝长势	发菌至出菇时间 (d)	平均单产 (kg/m ²)
W2000	++	93	5.4b
W192	+++	94	7.5a
AS2796	+++	83	6.5a
5113	++	83	5.7b

注:同列数据后标有不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著;“+”表示菌丝生长势。下表同。

2.1.2 不同品种农艺性状比较 由表 2 可知,W192 的单菇质量显著大于 W2000、5113,AS2796 的单菇质量与其他 3 个品种差异均不显著;W192 的菌盖直径显著大于 W2000、5113,与 AS2796 差异不显著;从菌盖厚度来看,W192 的菌盖厚度显著大于 W2000,与 AS2796、5113 差异不显著;从菌柄直径来看,5113 菌柄直径显著大于其他 3 个品种,AS2796 的菌柄直径最小,且显著小于其他 3 个品种,W2000、W192 的菌柄直径大小居中,且二者之间无显著差异;从菌柄长度来看,W192 的菌柄长度显著大于 AS2796,与 W2000、5113 差异不明显。AS2796 子实体最硬,W192 子实体较硬,W2000、5113 子实体硬度一般。

总体来看,AS2796 平均单产较高,生产周期最短,子实体最硬,子实体菌柄较短,菌盖直径较大,菌盖厚度一般。因此,AS2796 为莠麦秸栽培双孢菇的最适品种。

表 2 不同品种农艺性状比较

栽培品种	单菇质量(g)	菌盖直径(mm)	菌盖厚度(mm)	菌柄直径(mm)	菌柄长度(mm)	子实体硬度
W2000	13.29b	35.53bc	19.62b	16.75b	14.06ab	一般
W192	16.68a	37.86a	21.38a	16.18b	15.80a	较硬
AS2796	14.84ab	36.94ab	20.96ab	14.38c	13.18bc	硬
5113	13.97b	34.85c	20.68ab	19.87a	11.90c	一般

2.2 莠麦秸栽培双孢菇最适品种母种培养基配方筛选试验

由表 3 可知,双孢菇 AS2796 在配方 A 和配方 F 上的菌丝长速显著快于其他配方,其中配方 F 最快,配方 A 菌丝长速较快;其次是配方 C 菌丝长速较快;配方 B、配方 D 菌丝长速显著慢于其他配方,配方 D 最慢。配方 C、配方 F 菌丝长势最好,表现为菌丝洁白浓密;配方 A、配方 E 菌丝长势中等;配方 B、配方 D 菌丝长势较差,表现为菌丝灰白稀疏。总体来看,双孢菇 AS2796 菌丝在配方 F 的菌丝长速最快且菌丝长势最好。因此,配方 F 为双孢菇最适母种培养基。

表 3 不同培养基配方的菌丝生长情况比较

培养基配方	菌丝平均生长速度 (mm/d)	菌丝长势
A	2.82a	+++
B	1.78d	++
C	2.53b	++++
D	1.73d	++
E	2.13c	+++
F	2.90a	++++

2.3 莠麦秸栽培双孢菇最适品种原种培养基配方筛选试验

对不同原种培养基配方上双孢菇 AS2796 的菌丝生长情况的分析结果见表 4。从菌丝长势来看,在主料中加入牛粪的培养基配方要优于加入草炭的配方。配方 C₁ 的菌丝长势最好,菌丝浓密洁白、边缘整齐,配方 E₂ 的菌丝长势最弱。从菌丝长速来看,在主料中加入牛粪的培养基菌丝长速显著快于加草炭的培养基。其中,配方 A₁、配方 A₂ 的菌丝长速最快,且显著快于其他配方,但 A₁ 的菌丝长势好于 A₂。总体来看,配方 A₁ 菌丝长速最快,菌丝长势较好;配方 C₁ 菌丝长势最好,菌丝长速中等,因此配方 A₁、配方 C₁ 均为较好的双孢菇原种培养基,生产中可以根据实际需要进行选择。

表 4 不同培养基上的菌丝生长情况

培养基配方	菌丝平均生长速度 (mm/d)	菌丝长势
CK	4.70b	+++
A ₁	5.37a	+++
A ₂	5.28a	++
B ₁	4.08c	+++
B ₂	3.63d	++
C ₁	4.10c	++++
C ₂	3.13e	+++
D ₁	2.21f	+++
D ₂	1.69g	++
E ₁	2.77e	++
E ₂	1.33g	+

3 结论与讨论

通过莠麦秸栽培双孢菇适宜品种筛选,4 个双孢菇品种 W192、W2000、AS2796、5113 中,W192 表现为发菌快、平均单

张欣倪,王鸿磊,丁 强,等. 国外引进双孢菇菌种与国内栽培菌种的 RAPD 和酯酶同工酶指纹图谱分析[J]. 江苏农业科学,2015,43(7):254-256.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.07.088

国外引进双孢菇菌种与国内栽培菌种的 RAPD 和酯酶同工酶指纹图谱分析

张欣倪,王鸿磊,丁 强,吕 蔚,邹积华,崔从光,俞守能

(中国农业大学烟台研究院,山东烟台 264670)

摘要:利用 RAPD 和酯酶同工酶指纹图谱对国内主栽的 2 个双孢菇菌株及从荷兰、美国引进的 8 个双孢菇菌株进行亲缘关系分析。结果表明,从 47 个 RAPD 引物中筛选了 14 个条带清晰重复性好的引物,共产生了 88 条清晰的扩增条带,其中多态性条带 64 条,多态性位点百分率为 72.73%,10 个菌株可分为 4 个类群;酯酶同工酶电泳共扩增出了清晰条带 7 条,其中多态性条带 6 条,多态性位点百分率为 85.8%,10 个菌株可分为 3 个类群。2 种技术均显示,国内菌株与国外引进菌株之间亲缘关系较远。因此,引进国外优质双孢菇菌株对增加中国双孢菇遗传多样性具有重要作用。

关键词:双孢菇;酯酶同工酶;RAPD;亲缘关系

中图分类号:S646.032 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2015)07-0254-03

双孢菇 (*Agaricus bisporus*) 是中国广泛栽培的一种中低温性食用菌,近年来产量不断增加。但是,中国的双孢蘑菇品种

收稿日期:2014-03-24

基金项目:国家“948”计划(编号:2012-Z19);山东省农业良种工程重大课题;山东省现代农业产业技术体系食用菌产业创新团队项目;中国农业大学(烟台)URP 项目;山东省 2014 年度农业重大应用技术创新课题;山东省农业科学院科技创新重点项目(编号:2014CXZ02-2)。

作者简介:张欣倪(1993—),女,山东淄博人,设施农业科学与工程专业。

通信作者:王鸿磊,山东莱州人,硕士,副教授,研究方向为应用微生物。E-mail:whl197749@163.com。

产高(前 3 潮菇平均单产为 7.5 kg/m²)、子实体农艺性状表现好,但生育周期长;AS2796 平均单产较高,生产周期短,子实体最硬,子实体农艺性状表现好。AS2796、W192 均为莠麦秸秆栽培双孢菇适宜品种,但考虑坝上地区双孢菇以错季栽培、鲜销为主,子实体硬、不易开伞的品种较受欢迎,且商品价格高,而且坝上地区受气候条件影响,双孢菇出菇上市期短,生产周期为筛选品种又一个重要条件。总体来看,AS2796 为坝上地区利用莠麦秸秆栽培双孢菇的最适品种。

通过对 6 种双孢菇母种培养基的筛选,确定适宜母种培养基配方为发酵棉籽皮 100 g,牛粪 50 g,葡萄糖 20 g,琼脂 20 g,KH₂PO₄ 3 g,MgSO₄ 1.5 g,维生素 B₁ 20 mg,蛋白胨 5 g,水 1 000 mL。菌丝在该培养基配方上表现为菌丝长速最快,为 2.90 mm/d,且菌丝长势最好,表现为气生菌丝多且颜色洁白,菌落边缘整齐。

通过对 11 个原种培养基的筛选,确定了 A₁、C₁ 2 个适宜的双孢菇原种培养基配方,A₁:84.15%麦粒、14.85%牛粪,另加 0.1% KH₂PO₄、0.05% MgSO₄;C₁:16.83%谷粒、67.32%高粱粒、14.85%牛粪、1%石膏,另加 0.1% KH₂PO₄、0.05%

之间遗传关系较近^[1],且缺乏系统的归类整理,导致中国目前市场上菌种的同种品种不同名称,或者是不同品种同一名称的混杂现状,直接影响了中国双孢菇菌种的生产、种质资源的保护和优良菌种选育。采用合理有效技术对双孢蘑菇进行品种划分,区分其品种亲缘关系,鉴定双孢蘑菇的品系显得尤为重要。

RAPD 技术是 Williams 研究小组提出的一种分子标记技术^[2-3]。该技术通过人工合成的核酸单链(常为 10 个碱基)为引物,以试验对象的 DNA 为模版,进行 PCR 扩增,产生一系列不同分子量的基因片段,不同引物的凝胶电泳结果,可以作为品系的遗传特征进行记录,用于品种鉴定。RAPD 技术设备简单,技术简便易行,目前,已广泛应用于不同物种的遗

MgSO₄。其中,配方 A₁ 的菌丝生长速度最快,为 5.37 mm/d,菌丝长势较好;配方 C₁ 的菌丝长势最好,生长速度中等,为 4.10 mm/d。

参考文献:

- [1] 杨立诚. 塑料大棚错季双孢菇高产栽培技术[J]. 食用菌,2007,29(4):42-43.
- [2] 曲祥春,何中国,郝文媛,等. 我国燕麦生产现状与发展对策[J]. 杂粮作物,2008,26(3):233-235.
- [3] 曲娟娟,黄 芳,周 隆,等. 双孢蘑菇母种培养基筛选研究[J]. 东北农业大学学报,2005,36(5):576-578.
- [4] 孔德勇,许修宏,刘永鑫,等. 双孢菇母种培养基的优化[J]. 东北农业大学学报,2008,39(8):70-73.
- [5] 曲娟娟,许修宏,张小海,等. 双孢蘑菇原种培养基筛选研究[J]. 东北农业大学学报,2007,38(2):187-189.
- [6] 徐彦军,杨 静,杨 方. 双孢蘑菇稻草培养料配方优化及露地栽培试验[J]. 食用菌,2010(6):30-32.
- [7] 郑林用,刘本洪. 食用菌培养料碳氮比(C/N)的计算方法[J]. 四川农业科技,1997(3):37.