

蜜环菌菌株 DJ1 的分子鉴定、生物学特性及人工培养

史雪叶^{1,2}, 朱国胜³, 黄万兵³, 李裕荣², 陈之林², 付少彬¹

(1. 遵义医科大学药学院 贵州遵义 563000; 2. 贵州省农业科学院园艺研究所 贵阳 550006;
3. 贵州省农作物品种资源研究所 贵阳 550006)

摘要: 为优化蜜环菌的人工培养条件, 以蜜环菌菌株 DJ1 为研究对象, 对其进行分子鉴定并通过生物学特性观察, 筛选其最佳培养基和培养条件。结果表明, 通过 ITS 序列构建的系统发育树可知, 菌株 DJ1 属于高卢蜜环菌 *Armillaria gallica*。DJ1 生长的最优培养条件为 PDA 培养基+木屑 100 g, 麸皮 5 g, 水 1 L, pH=6, 培养温度 23 °C。出菇结果表明, 在 PDA+2%/4%/6%/8%玉米面培养基与木屑培养基中均可得到子实体, 其中以添加 4%玉米面的培养基出菇效果最好, 出菇时间最快; 随着玉米面添加量的增加, 蜜环菌子实体的出菇率呈先上升后下降的变化趋势。研究结果可为蜜环菌的快速培育和人工驯化提供参考。

关键词: 蜜环菌属; 食药菌; 生物学特性; 人工驯化

中图分类号: S646 文献标志码: A 文章编号: 1673-2871(2024)06-079-09

Molecular identification, biological characteristics and artificial cultivation of *Armillaria* strain DJ1

SHI Xueye^{1,2}, ZHU Guosheng³, HUANG Wanbing³, LI Yurong², CHEN Zhilin², FU Shaobin¹

(1. Department of Pharmacy, Zunyi Medical University, Zunyi 563000, Guizhou, China; 2. Horticultural Research Institute, Guizhou Academy of Agricultural Sciences, Guiyang 550006, Guizhou, China; 3. Guizhou Institute of Crop Germplasm Resources, Guiyang 550006, Guizhou, China)

Abstract: To optimize the artificial culture conditions of *Armillaria*, using the *Armillaria* strain DJ1 as the research object, the author conducted molecular identification and biological characteristics observation to select the optimal medium and culture conditions. The results revealed that the phylogenetic tree constructed based on the ITS sequence indicated that the strain DJ1 belongs to *Armillaria gallica*. The optimal culture conditions for DJ1 growth were PDA medium with sawdust 100 g, bran 5 g, water 1 L, pH=6, and cultivation temperature of 23 °C. The results of mushroom emergence showed that fruiting bodies could be obtained in PDA + 2%/4%/6%/8% cornmeal medium and sawdust medium. Among them, the medium with 4% cornmeal had the best mushroom production effect and the fastest mushroom emergence time. With the increase of cornmeal addition, the mushroom yield of the fruiting bodies of *Armillaria* increased first and then decreased. The results of this study can provide a reference for the rapid cultivation and artificial domestication of *Armillaria*.

Key words: *Armillaria*; Edible and medicinal mushrooms; Biological characteristics; Artificial domestication

蜜环菌属真菌 *Armillaria* (Fr.) Staude 隶属担子菌亚门 Basidiomycotina、伞菌目 Agaricales、泡头菌科 Physalacriaceae^[1], 是中药材天麻与猪苓的必需共生菌^[2-3]。此外, 蜜环菌还可导致树木的局部腐朽, 是多种林木的致病菌, 严重者甚至使树木死亡^[4-5]。蜜环菌子实体俗称榛蘑, 广泛分布在温带到热带地区, 味道鲜美, 具有高蛋白、高粗纤维和低脂肪等特性^[6-7], 是人们追求健康饮食的理想食品, 经常食用可增强机体免疫力, 被人们誉为“东北第四

宝”。蜜环菌具有较高的药用价值, 子实体、菌丝、菌索都可以入药, 具有降血糖^[8]、保护脑^[9]、增强免疫^[10]、抗菌消炎^[11]、抗真菌^[12]和抗病毒^[13]等药理作用。

贵州省拥有丰富的食用真菌和药用真菌资源, 野生食用菌种类在全国的 80%以上, 近年来贵州食用菌产业发展速度较快^[14-16], 但部分大型真菌依旧没有实现人工培养的完全驯化。目前, 榛蘑生产主要依靠林地自然发生和人工无序采摘的方式, 野生榛蘑自然产量较低且无序采摘导致其野生资源减

收稿日期: 2023-11-07; 修回日期: 2024-01-24

基金项目: 贵州省食用菌育种重点实验室(黔科合平台人才(2019)5105号); 国家重点研发计划子课题(2021YFD1601002-03-1)

作者简介: 史雪叶, 女, 在读硕士研究生, 主要从事食药菌真菌研究。E-mail: 1635020787@qq.com

通信作者: 付少彬, 女, 教授, 主要从事微生物资源开发利用研究。E-mail: fushb@126.com

少,野生资源的供应又受到季节和地域的影响,使榛蘑价格居高不下^[17]。近年来,国内外对蜜环菌的研究多集中在活性成分、药理作用及其产品开发等方面^[18],对子实体的驯化栽培只有零星报道。目前的栽培研究大多是仿野生或者在野生生境下播种,利用自然的温度、湿度等环境条件进行生长,但生产效益尚未达到理想水平,此项技术仍有待于深入研究^[19-22]。蜜环菌的生长发育过程较复杂,子实体的形成需要低温、光照和湿度等环境因素协同作用^[23-24],目前尚未实现工厂化生产。为更有效地利用蜜环菌资源,提高其产量和品质,有必要加强对蜜环菌人工培养技术的研究,笔者通过对贵州地区一种蜜环菌属真菌进行生物学鉴定和培养条件的优化,旨在为蜜环菌的快速培育和开发利用提供关键的理论依据和技术支持。

1 材料与方 法

1.1 材料

1.1.1 供试菌株 蜜环菌菌株 DJ1 由贵州省农作物品种资源研究所提供。

1.1.2 供试培养基和栽培培养基 供试培养基有 6 种,1 号培养基:PDA 培养基(土豆 200 g、葡萄糖 20 g、琼脂 15 g、水 1 L,pH 自然);2 号培养基:PDA 培养基+木屑 100 g,麸皮 100 g,水 1 L,pH 自然;3 号培养基:葡萄糖 20 g,蛋白胨 6 g,玉米面 30 g,琼脂 15 g,水 1 L^[25],pH 自然;4 号培养基:木屑 100 g,麸皮 100 g,葡萄糖 20 g,牛肉膏 5 g,琼脂 15 g,水 1 L^[26],pH 自然。碳源培养基:2 号培养基(不含葡萄糖)+4 种碳源(葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、玉米面)20 g,pH=6。氮源培养基:2 号培养基(不含麸皮)+4 种氮源(牛肉膏、酵母粉、麸皮、蛋白胨)5 g,pH=6。

栽培培养基有 2 种,玉米面培养基:PDA 培养基+0%/2%/4%/6%/8%/0%玉米面,水 1 L;木屑培养基:木屑与玉米面质量比 1:0 或 1:1,麸皮质量=蔗糖质量=1/10 木屑质量,含水量 65%左右。

1.2 方法

1.2.1 供试菌株系统发育树的绘制 供试菌株 DNA 基因的提取与扩增:供试菌株活化后,取出菌丝,清除培养基后,用液氮速冻,磨成粉状,DNA 提取按照真菌基因组 DNA 提取试剂盒说明书进行。采用真菌通用引物 ITS1 和 ITS4(引物序列如表 1)对菌株的内部转录间隔区进行 PCR 扩增,PCR 反应

体系共 25 μ L,正反引物各 1 μ L,ddH₂O 为 9.5 μ L。反应条件:95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min,94 $^{\circ}$ C 变性 30 s,57 $^{\circ}$ C 退火 30 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 90 s,共 30 个循环;72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min,4 $^{\circ}$ C 保存。PCR 产物用 1.5%的琼脂糖凝胶电泳检测后,将其扩增产物送至生工生物工程(上海)股份有限公司测序。

表 1 引物序列及名称

Table 1 Primer sequences and names

扩增对象	引物名称	引物序列(5'-3')
Amplify the object	Primer name	Primer sequence(5'-3')
rDNA-ITS	ITS1	5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'
	ITS4	5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'

系统发育树的绘制:将测序序列在 NCBI(<http://www.ncbi.nlm.gov>)数据库中进行在线 BLAST 分析。使用 MEGA 11 软件构建邻接树,建树时采用 Maximum Composite Likelihood 模型,经 Bootstrap 1000 次循环检验系统发育树的可靠性。

1.2.2 最优培养基的筛选 在 1~4 号培养基中分别接入菌株 DJ1,每处理重复 3 次。接种后置于 25 $^{\circ}$ C 培养箱暗培养,观察菌株在 4 种培养基上菌索的生长特性。

1.2.3 不同 pH 对菌株 DJ1 菌索生长的影响 使用 1 mol·L⁻¹ NaOH 和 1 mol·L⁻¹ HCl 分别调节 2 号培养基不同的 pH 梯度(5、6、7、8、9),采用平板培养法将 1 cm³ 菌块接种于平板,每个处理设置 3 次重复,25 $^{\circ}$ C 培养箱暗培养,采用十字交叉法,自接种之日起定时划线测量(接种与测量方法下同)。

1.2.4 不同温度对菌株 DJ1 菌索生长的影响 调节 2 号培养基 pH=6,接种菌株 DJ1 后分别置于不同温度(13、18、23、28、33 $^{\circ}$ C)下进行培养,每个处理设置 3 次重复。

1.2.5 不同碳氮源配方对菌株 DJ1 菌索生长的影响 为继续优化菌株 DJ1 的最优培养基配方,分别设置在不同碳源、氮源的培养基上接种菌株 DJ1,每个处理设置 3 次重复,调节 pH=6,置于 23 $^{\circ}$ C 培养箱暗培养,以不加碳源、氮源为对照。

以上试验均于 2022 年春夏两季在贵州省农业科学院园艺研究所实验室完成。

1.2.6 菌株 DJ1 子实体的驯化栽培 试验于 2022 年 8 月在贵州省农业科学院园艺研究所实验室进行,将玉米面培养基分别装入三角瓶(250 mL)中,装量 150 mL,高压灭菌 30 min,冷却后接种菌株 DJ1,每处理 3 次重复,培养箱暗培养 25~30 d,然后转入白天温度 22 $^{\circ}$ C、晚上温度 16 $^{\circ}$ C、12 h 散射光环境中培养出菇。

将木屑栽培料装入培养瓶(850 mL 聚乙烯瓶),装量 1/2,高压灭菌 35 min,冷却后接种菌株 DJ1,每处理 3 次重复,培养箱暗培养 30 d 至菌丝长满培养瓶,继续培养 15 d,待菌丝充分后熟后,转入白天温度 22 °C,晚上温度 16 °C,12 h 散射光环境中培养出菇。

1.3 数据处理

采用 Microsoft Office Excel 2007 软件统计分析数据,采用 SPSS 25.0 软件对数据进行差异显著性分析,采用 Adobe Photoshop 2021 软件对图片进行处理。

2 结果与分析

2.1 供试菌株的系统发育分析

基于 rDNA-ITS 序列构建的系统发育树如图 1 所示,菌株 DJ1 与参考序列 OL411636 *Armillaria gallica* 聚为 1 支,相似度为 99%,覆盖率 100%。

2.2 最优培养基的筛选

通过观察记录菌株 DJ1 在 4 种培养基上的生物学特性,发现其生长的最优培养基为 2 号培养基,在此培养基上菌株 DJ1 菌索长势良好、粗壮,菌索萌动早,且长满培养基时间短(表 2、图 2)。

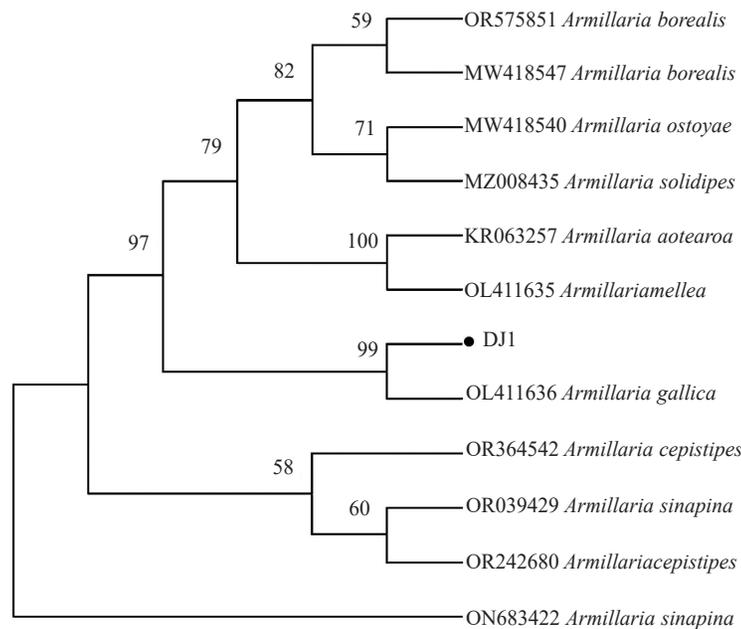


图 1 供试蜜环菌菌株 DJ1 的系统发育树

Fig. 1 Phylogenetic tree of the tested *Armillaria* strain DJ1

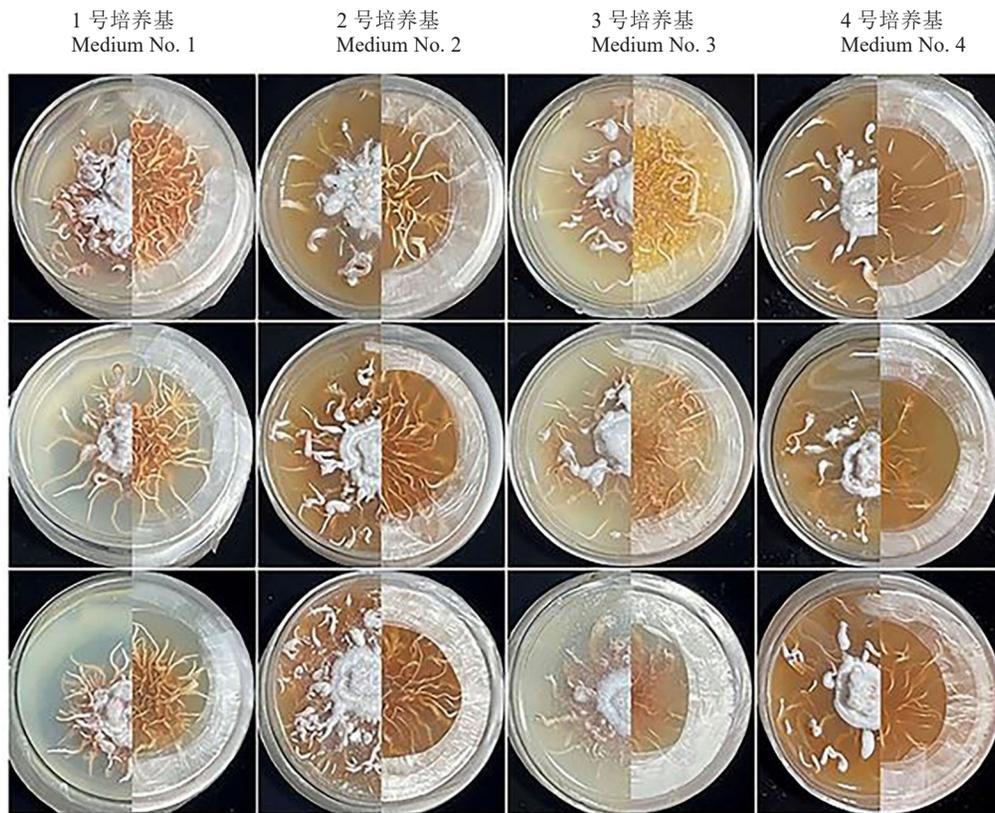
表 2 菌株 DJ1 在 4 种培养基上的生物学特性观测

Table 2 Observations of biological characteristics of strain DJ1 on 4 mediums

观测项目 Observation items	1 号培养基 Medium No. 1	2 号培养基 Medium No. 2	3 号培养基 Medium No. 3	4 号培养基 Medium No. 4
菌索萌动时间 Time of hyphal germination/d	7~8	6~7	6~7	7~8
菌索分支 Hyphal branches	++++	++++	+++	+++
菌索形态 Hyphal morphology	粗壮 Stout	粗壮 Stout	粗壮 Stout	一般 Ordinary
菌索密度 Hyphal density	++++	++++	+++	++
长满培养基时间 Time of full medium/d	18~19	17~18	20~21	19~20

注:菌索分支中++++代表很多;+++代表多。菌索密度中++++代表生长旺盛;+++代表生长中等;++代表生长中等偏弱,下表菌索长势同。

Note: Myxocord branches, ++++indicates many; +++indicates multi. Myxocord density, ++++indicates vigorous growth; +++indicates medium growth; ++indicates moderately weak growth, The same below.



注:左半部分为培养皿正面,右半部分为培养皿反面。下同。

Note: Left half represents front of the petri dish, right half represents reverse side of petri dish. The same below.

图2 菌株DJ1在4种培养基上的生长情况

Fig. 2 Growth status of strain DJ1 on four mediums

2.3 不同pH对菌株DJ1菌索生长的影响

由表3、图3可知,菌株DJ1在pH=5~9处理下均生长良好,各处理组的菌索生长量与粗细程度均无显著差异,其中以pH=6菌索生长最快且最粗壮。

表3 不同pH对菌索生长的影响

Table 3 Effect of different pH on hyphae growth

pH	菌索萌动时间 Time of hyphal germination/d	菌索长势 Hyphal growth vigor	生长量 Growth rate/ (mm·d ⁻¹)	菌索粗细 Hyphal thick- ness/mm
5	3	++++	7.87±1.10 a	4.06±0.03 a
6	4~5	++++	8.50±0.00 a	5.19±1.32 a
7	3~4	++++	8.47±0.06 a	4.77±1.07 a
8	3~5	++++	8.45±0.09 a	3.65±0.72 a
9	4~5	++++	8.03±0.81 a	4.04±1.32 a

注:不同小写字母表示在0.05水平上存在显著差异。下同。

Note: Different small letters indicate significant differences at 0.05 level. The same below.

2.4 不同温度对菌株DJ1菌索生长的影响

由表4、图4可知,菌株DJ1在不同温度培养条件下的生长状况有较大差异,在33℃高温培养下仅见少量白色菌丝萌发,后停止生长;在13~28℃培养条件下均可生长,其中在23℃培养下长势最

好,生长量最大,当温度低于18℃或高于28℃时菌索生长速度缓慢。

2.5 不同碳氮源配方对菌株DJ1菌索生长的影响

由表5、图5、图6可知,菌株DJ1在对碳源的利用中,加入葡萄糖、蔗糖和麦芽糖与不加碳源(CK)相比,均提高了菌索生长量,但差异不显著,菌索粗壮程度均优于CK,其中以对葡萄糖的利用最佳,而菌株DJ1对玉米面的利用最差,菌索生长量和菌索粗壮程度均低于CK。在对氮源的利用中,菌株DJ1对4种氮源的利用与不加氮源(CK)相比,菌索生长量和粗壮程度均无显著差异,其中以对麸皮的利用最佳。

综上所述,菌株DJ1经优化后的培养条件为:PDA培养基+木屑100g,麸皮5g,水1L,pH=6,温度23℃。

2.6 菌株DJ1的驯化培养及生长各时期的形态观察

由表6、图7可知,在不添加玉米面的2种栽培培养基中未见原基及子实体形成,而添加一定量玉米面的培养基经过温差和光照等刺激后,一些菌落

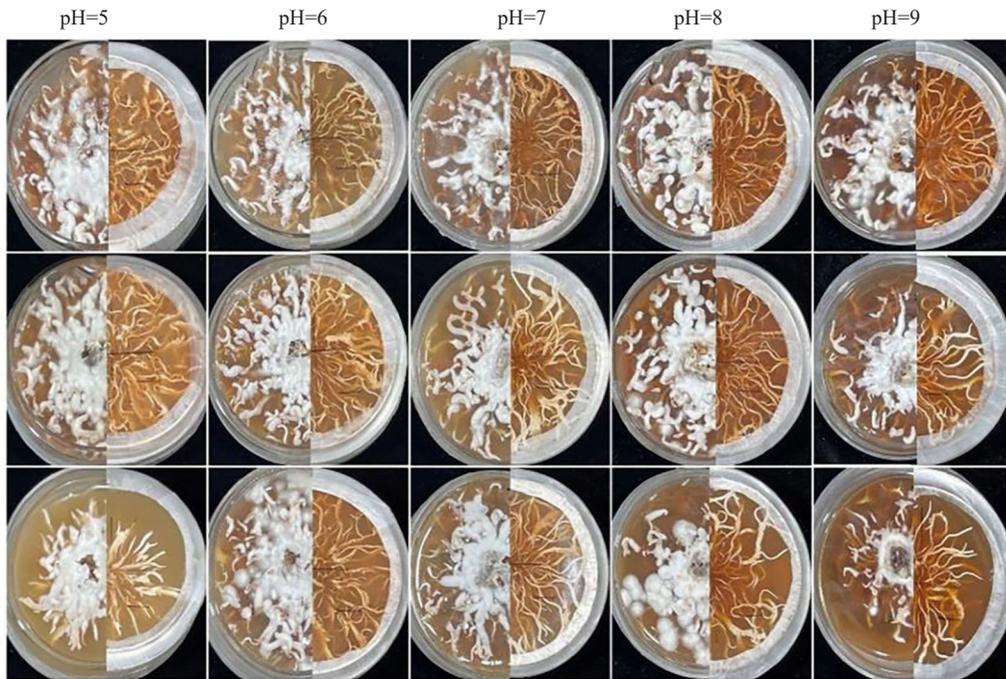


图3 不同 pH 处理下菌索的生长情况

Fig. 3 Growth status of hyphae under different pH treatments

表4 不同温度对菌索生长的影响

Table 4 Effect of different temperature on hyphae growth

温度 Temperature/°C	菌索萌动时间 Time of hyphal germination/d	菌索长势 Hyphal growth vigor	生长量 Growth rate/(mm · d ⁻¹)	菌索粗细 Hyphal thickness/mm
13	13~14	++	2.16±0.73 c	2.08±0.70 a
18	5	+++	5.98±1.35 ab	3.04±0.34 a
23	4	++++	8.33±0.29 a	3.54±1.06 a
28	5~6	+++	3.05±2.65 bc	1.60±1.39 a

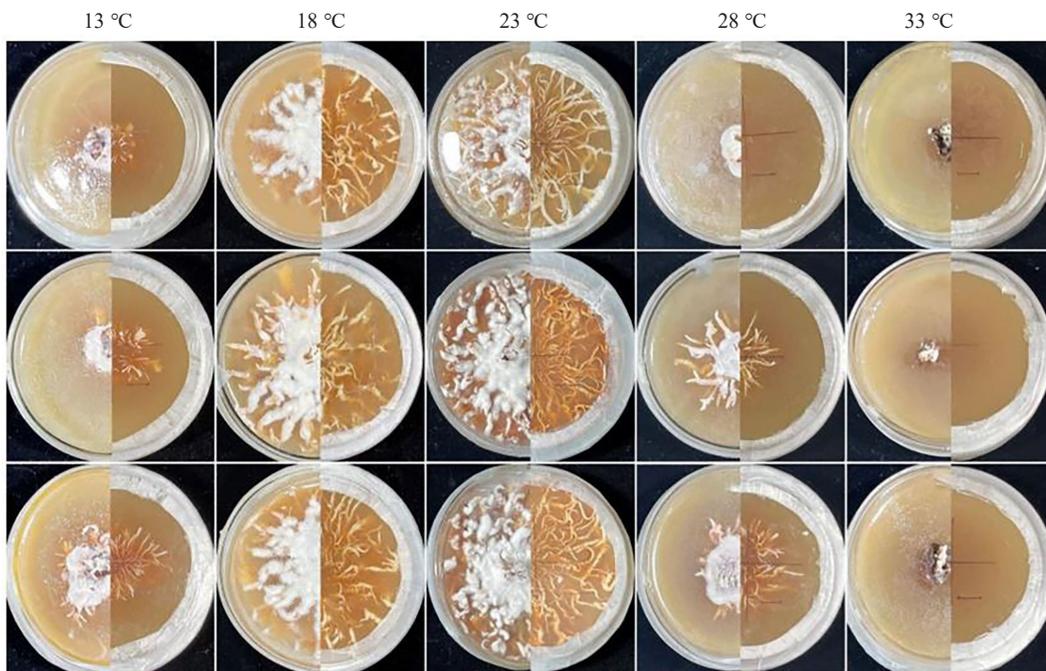


图4 不同温度处理下菌索的生长情况

Fig. 4 Growth status of hyphae under different temperature treatments

表5 不同碳氮源配方对菌索生长的影响

Table 5 Effect of different various carbon and nitrogen sources formulation on hyphae growth

碳氮源 Carbon and nitrogen sources	成分 Ingredients	菌索长势 Hyphal growth vigor	生长量 Growth rate/(mm·d ⁻¹)	菌索粗细 Hyphal thickness/mm
碳源 Carbon source	葡萄糖 Glucose	++++	8.50±0.00 a	3.66±0.71 a
	蔗糖 Sucrose	+++	8.40±0.11 ab	2.98±0.81 ab
	麦芽糖 Maltose	+++	8.49±0.01 ab	2.73±0.38 abc
	玉米面 Cornmeal	++	7.38±0.30 b	1.72±0.40 c
	CK	+++	8.25±0.18 ab	2.15±0.31 bc
氮源 Nitrogen source	牛肉膏 Beef paste	+++	8.00±0.87 a	3.69±1.44 a
	酵母粉 Yeast powder	+++	7.12±2.40 a	3.79±1.74 a
	麸皮 Bran	++++	8.50±0.00 a	3.38±0.34 a
	蛋白胨 Peptone	+++	8.10±0.71 a	2.53±0.58 a
	CK	++++	8.48±0.03 a	2.84±0.25 a



图5 不同碳源下菌索的生长情况

Fig. 5 Growth status of hyphae under different carbon source treatments

开始向子实体原基分化,在2种栽培培养基表面均可以观察到其表层有很多气生菌丝,但只有小部分气生菌丝可以扭结形成原基,大部分菌落只停留在菌落堆状态,没有再进一步分化为原基。其中在玉米面培养基中,菌株DJ1在PDA+0%、2%、4%、6%、8%、10%玉米面含量下的菌索生长量无显著差异,以在PDA+4%玉米面培养基中生长最快。除未添加玉米面的培养基与添加10%玉米面的培养基未出菇外,添加2%、4%、6%、8%玉米面的培养基均有子实体出现,以添加4%玉米面的培养基出菇效果最好,出菇最快,其次是添加2%玉米面培养基。该

结果表明,随着玉米面添加量的增加,出菇率呈现先上升后下降的变化趋势。

菌株DJ1在固体培养基中接种后2~3d菌丝萌发,乳白色,然后分化形成菌索(图8-A),菌索能够从为其提供营养物质的基物中伸出,进入另一个并不支持其生长的基物中^[27],在这个过程中,菌索顶端二叉分支或不分支,幼嫩菌索淡黄色或乳白色(图8-B~C),伴随着生长,不断分支(图8-D)。菌索由致密的红褐色至黑褐色的外壳层和白色菌丝构成的髓心组成(图8-E),随着菌索长满培养基(以木屑培养基为例),菌索会在培养基表层形成一层黑色

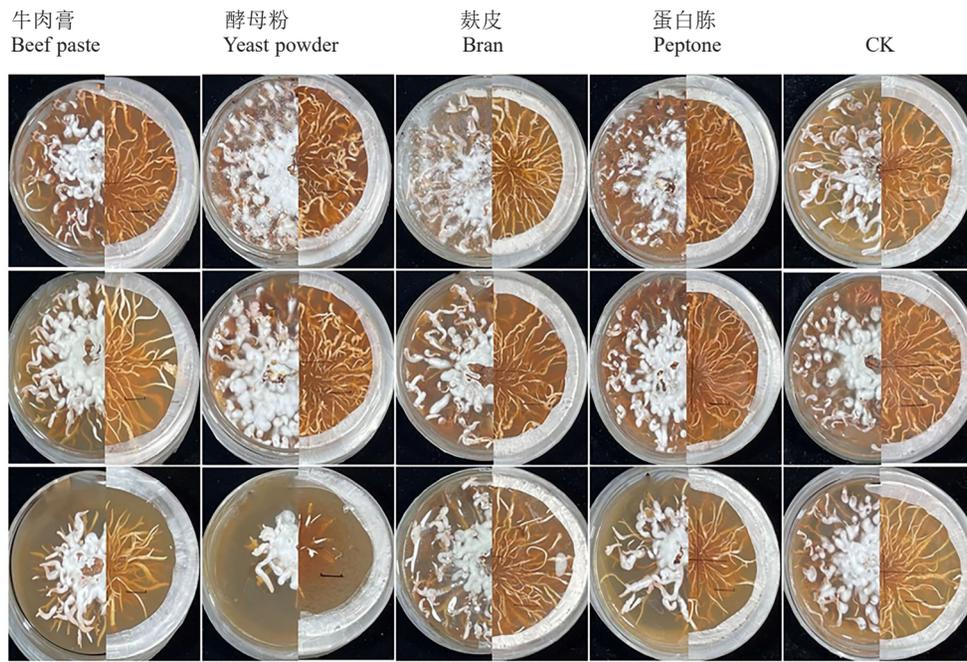


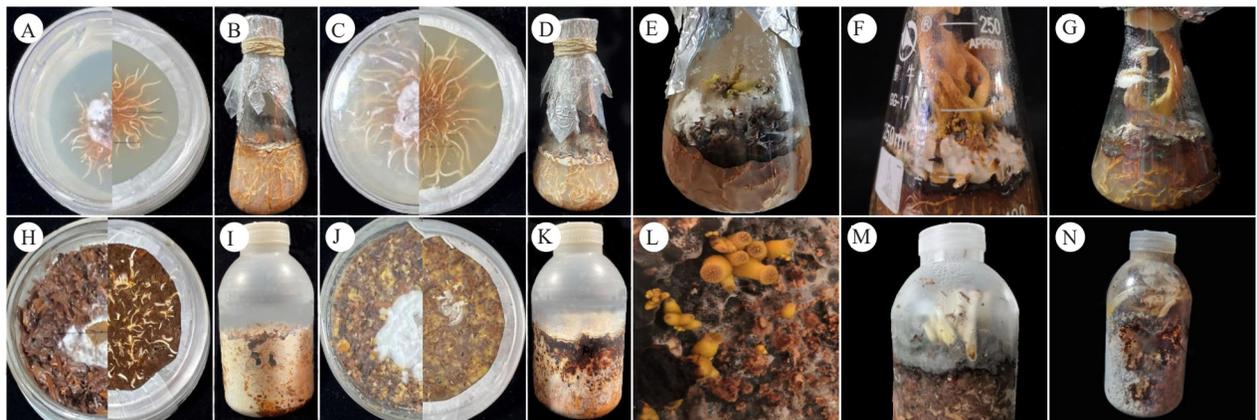
图6 不同氮源下菌索的生长情况

Fig. 6 Growth status of hyphae under different nitrogen source treatments

表6 菌株DJ1在2种栽培培养基上的生长情况及子实体的驯化栽培

Table 6 Growth of strain DJ1 on 2 types of cultivation medium and domestication of fruiting bodies

栽培培养基 Cultivation medium	配方 Formulation	菌索长势 Hyphal growth vigor	子实体诱导率 Fruiting bodies induction rate/%
玉米面培养基 Cornmeal medium	PDA	+++	0.0
	PDA+2%玉米面 PDA+2% cornmeal	+++	100.0
	PDA+4%玉米面 PDA+4% cornmeal	++++	100.0
	PDA+6%玉米面 PDA+6% cornmeal	+++	66.6
	PDA+8%玉米面 PDA+8% cornmeal	+++	66.6
	PDA+10%玉米面 PDA+10% cornmeal	+++	0.0
木屑培养基 Sawdust medium	木屑:玉米面=1:0 Sawdust:cornmeal = 1:0	++	0.0
	木屑:玉米面=1:1 Sawdust:cornmeal = 1:1	++++	100.0



注:A-B. 菌株DJ1在PDA+0%玉米面培养基中的生长情况;C-G. 菌株DJ1在PDA+4%玉米面培养基中的生长情况及子实体的驯化;H-I. 菌株DJ1在木屑:玉米面=1:0基质中的生长情况;J-N. 菌株DJ1在木屑:玉米面=1:1基质中的生长情况及子实体的驯化。

Note: A-B. Growth of strain DJ1 in PDA+0% cornmeal medium; C-G. Growth of strain DJ1 in PDA+4% cornmeal medium and domestication of fruiting bodies; H-I. Growth of strain DJ1 in sawdust: cornmeal=1:0 substrate; J-N. Growth of strain DJ1 in sawdust:cornmeal=1:1 substrate and domestication of fruiting bodies.

图7 菌株DJ1在2种栽培培养基上的生长情况及子实体的驯化诱导

Fig. 7 Growth status of strain DJ1 on 2 types of cultivation medium and domestication induction of fruiting bodies



注: A. 菌丝、菌索; B-E. 菌索各部位; F. 培养基表层; G. 原基期; H. 子实体菇蕾期; I. 子实体幼菇期; J. 子实体成熟期。

Note: A. Mycelium and hyphal; B-E. Hyphal parts; F. Surface layer of medium; G. Primordial phase; H. Fruiting bodies mushroom bud stage; I. Fruiting bodies juvenile mushroom stage; J. Fruiting bodies maturation.

图8 菌株 DJ1 生长发育各阶段
Fig. 8 Stages of strain DJ1 growth and development

脆弱的盘(图 8-F),充分后熟后,经过温度、光照等环境因素的刺激,开始形成原基(图 8-G),给予合适的环境条件,逐渐生长为菇蕾(图 8-H)、幼菇(图 8-I)及成熟子实体(图 8-J)。

3 讨论与结论

珍贵中药材天麻与猪苓生长的优劣与其必需共生菌蜜环菌的菌索特征,如粗细、分支和颜色等有关^[28],子实体的形成也与菌索的生长密切相关^[29],好的蜜环菌菌种除与菌株本身的遗传特性有关外,还依赖于培养环境和培养基质所提供的养分,只有在比较充足的营养环境下,生理功能才能正常完成,性状才能得以稳定的表达^[30]。孙小卫等^[31]对野生和人工培养的蜜环菌菌索主要营养成分进行测定,发现人工培养菌索的蛋白质、氨基酸、脂肪、多糖含量均高于野生菌索,认为人工培养的蜜环菌菌索可代替野生菌索应用在食品和医药保健品中。

国内外对蜜环菌子实体生长的研究表明,子实体形成对培养基有一定的要求,不同蜜环菌对培养基基质的适应性不同,开发挖掘适合不同蜜环菌生长发育的基质非常必要。不少学者对蜜环菌的栽培基质进行摸索^[32-37],成功驯化出了蜜环菌子实体。目前蜜环菌子实体已经在合成培养基中培养成功,如麦芽汁培养基^[23-24]和 10%玉米面培养基^[38]等。在本研究中,菌株 DJ1 在 4 种培养基上的生长状态不同,在 2 号培养基上生长情况最优,菌索粗壮,分布

稠密,在 4 号培养基上生长情况较差。菌株 DJ1 最优碳氮源分别为葡萄糖和麸皮,但当氮源含量固定时,不同氮源种类(指本试验所用的 4 种氮源)与 CK 相比,对 DJ1 菌索生长量与粗壮程度的影响均无显著差异,因此在蜜环菌菌丝体生产实践中尤其要重视碳源种类的筛选。

笔者首次在 PDA+玉米面培养基上成功培育出蜜环菌子实体,除 PDA 培养基与添加 10%玉米面培养基上未见子实体外,添加 2%、4%、6%、8%玉米面的培养基均可培育出子实体。其中,不同玉米面含量的 6 种培养基菌索生长量无显著差异,但添加 4%玉米面的 PDA 培养基菌索长势最好,且出菇时间最短,出菇效果最好。笔者推测添加一定量的玉米面不仅可以为蜜环菌菌丝的生长提供较多且易于利用的营养和能量,还可以促进其从营养生长到生殖生长的转换,形成子实体,该结论与于海龙等^[39]和马丽峰等^[40]的研究结果一致。其次,笔者采用木屑与玉米面质量比 1:1,麸皮质量=蔗糖质量=1/10 的木屑质量培养基在培养瓶中成功驯化出菌株 DJ1 子实体。

综上所述,菌株 DJ1 属于高卢蜜环菌 *Armillaria gallica*。菌株 DJ1 最优培养条件为 PDA 培养基+木屑 100 g,麸皮 5 g, pH=6, 温度 23 °C,在此条件下,菌丝洁白,菌索生长良好。在 PDA+玉米面培养基上成功培育出蜜环菌子实体,其中以添加 4%玉米面的 PDA 培养基菌索长势最好,出菇时间最短,

出菇效果最好。笔者优化了菌株DJ1的培养条件,可为实现蜜环菌的快速培育提供参考。蜜环菌的药用和食用部分多为子实体,笔者提供了蜜环菌出菇的两种栽培培养基并探索了玉米面添加量与出菇率的关系,有望对蜜环菌的人工栽培及开发利用提供指导与帮助。

参考文献

- [1] 门金鑫,邢晓科,郭顺星.蜜环菌生物种及鉴定方法研究进展[J].菌物学报,2016,35(11):1281-1302.
- [2] 郭顺星,徐锦堂.蜜环菌菌索发育的研究[J].真菌学报,1992,11(4):308-313.
- [3] 徐锦堂,郭顺星.猪苓与蜜环菌的关系[J].真菌学报,1992,11(2):142-145.
- [4] BAUMGARTNER K, RIZZO D M. Ecology of *Armillaria* spp. in mixed- hardwood forests of California[J]. Plant Disease, 2007, 85(9):947-951.
- [5] SINCLAIR W A, LYON H H. Diseases of trees and shrubs [M]. New York: Cornell University Press, 2005.
- [6] 于传宗,郝丽珍,庞杰,等.我国北方三省(区)几种常见野生食用菌营养成分分析[J].食品工业科技,2018,39(2):308-313.
- [7] 文春玉,徐明,杨云礼,等.我国野生食用菌营养成分与价值评价研究进展[J].中国食用菌,2021,40(11):1-10.
- [8] 操玉平,于敏,沈业寿,等.蜜环菌多糖对损伤性胰岛细胞分泌功能的影响[J].中国食用菌,2009,28(1):39-41.
- [9] WATANABE N, OBUCHI T, TAMAI M, et al. A novel N6-substituted adenosine isolated from mi huan jun (*Armillaria mellea*) as a cerebral-protecting compound[J]. Planta Medica, 1990, 56(1):48-52.
- [10] 于敏,沈业寿,梅一德,等.蜜环菌菌索多糖的免疫增强作用研究[J].生物学杂志,2001,18(4):16-18.
- [11] OBUCHI T, KONDOH H, WATANABE N, et al. *Armillaria* acid, a new antibiotic produced by *Armillaria mellea*[J]. Planta medica, 1990, 56(2):198-201.
- [12] SHIGERU N, KOBORI H, SEKIYA A. Anti-aging and anti-microbial effects of melleolide on various types of yeast[J]. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 2014, 78(3):455-457.
- [13] MISIEK M, WILLIAMS J, SCHMICH K, et al. Structure and cytotoxicity of arnamial and related fungal sesquiterpene aryl esters[J]. Journal of Natural Products, 2009, 72(10):1888-1891.
- [14] 李彪,尚念杰,杨通静,等.贵州省册亨县和望谟县大型真菌资源收集及鉴定分析[J].中国瓜菜,2022,35(10):26-33.
- [15] 田丹梅,王森,周林荣,等.贵州食用菌产业区域集群竞争力分析与空间差异化研究[J].中国瓜菜,2023,36(5):152-157.
- [16] 龙鸥.农业旅游资源的开发:以贵州省食用菌资源为例[J].中国食用菌,2019,38(2):108-110.
- [17] 邓正正.榛蘑人工栽培技术研究进展[J].农业科技与装备,2019(3):69-70.
- [18] 秦国夫,赵俊,郭文辉,等.蜜环菌的生物学研究进展[J].东北林业大学学报,2004,32(6):89-94.
- [19] 黄瑞贤,高景恩,李世荣,等.榛蘑代料栽培出菇效果观察[J].吉林蔬菜,2017(8):26-27.
- [20] 黄瑞贤,李世荣,黄淑敏,等.长白山区菌棒出榛蘑仿生栽培技术研究[J].人参研究,2016,28(6):43-44.
- [21] 郭俊财,张忠伟,薛光艳,等.蜜环菌(榛蘑)林地栽培技术[J].辽宁林业科技,2009(3):61-62.
- [22] 李贵春,许延敏,庞启亮,等.大兴安岭野生蜜环菌人工驯化种植初探[J].食药菌,2018,26(4):256-258.
- [23] 薛梅,王秋颖,樊锦燕.蜜环菌子实体发生条件的初探[J].食品工业科技,2004,25(10):58-60.
- [24] 程显好,郭顺星.蜜环菌子实体的诱导和发生条件[J].菌物学报,2006,25(2):302-307.
- [25] 柳玲玲,毛堂芬,朱国胜,等.优质蜜环菌菌株的初步筛选[J].贵州农业科学,2015(1):87-89.
- [26] 罗智文,刘洋,焦云健,等.蜜环菌 YN3862 菌株的高密度发酵工艺[J].北方园艺,2020(20):124-129.
- [27] 柳玲玲,秦松,朱国胜,等.猪苓与蜜环菌共生体系的研究进展[J].湖北农业科学,2012,51(4):655-659.
- [28] 赵香娜,胡亚平,张鹏,等.蜜环菌的特性及其对天麻生长的影响[J].中国果菜,2016,36(6):57-59.
- [29] 曾玉洁,王业红,谭涛,等.北方蜜环菌菌索生长、发育对环境氧气及土壤湿度的响应[J].菌物学报,2022,41(5):739-748.
- [30] 王振伟,武忠伟,赵现方,等.营养物质对桑黄菌丝生物量及胞外多糖产量的影响[J].中国野生植物资源,2009,28(1):37-40.
- [31] 孙小卫,沈业寿.野生和人工培养的蜜环菌菌索营养成分比较[J].生物学杂志,2004,21(2):23-24.
- [32] GRILLO R, KORHONEN K, HANTULA J, et al. Genetic evidence for somatic haploidization in developing fruit bodies of *Armillaria tabescens*[J]. Fungal Genetics and Biology, 2000, 30(2):135-145.
- [33] KIM H J, KO M C, LEE C K, et al. Cultivation of *Armillaria mellea* mushrooms on a sawdust medium in polypropylene bags[J]. Korean Journal of Mycology, 1992, 20(3):273-276.
- [34] 庄严,赵俊,秦国夫,等.奥氏蜜环菌杂交双倍体子实体的人工诱导[J].中国森林病虫,2003,22(5):13-16.
- [35] SHIM J O, CHANG K C, LEE Y S, et al. The fruiting body formation of *Armillaria mellea* on oak sawdust medium covered with ground raw carrots[J]. Mycobiology, 2006, 34(4):206-208.
- [36] FORD K L, BAUMGARTNER K, HENRICOT B, et al. A native promoter and inclusion of an intron is necessary for efficient expression of GFP or mRFP in *Armillaria mellea*[J]. Scientific Reports, 2016, 6(1):29226.
- [37] 陈鹏,宋佳,郭璞,等.中国东北地区三种蜜环菌的生物学特性及奥氏蜜环菌人工培养[J].菌物学报,2023,42(1):297-311.
- [38] 张丽娜,朱国胜,黄万兵,等.一种蜜环菌(榛蘑)驯化栽培技术:CN201810728783.3[P]. 2018-07-05[2023-11-05].
- [39] 于海龙,吕贝贝,宋春艳,等.复合氮源对香菇生长及产量的影响分析[J].上海农业学报,2016,32(3):63-66.
- [40] 马丽峰,范博文,王庚.不同玉米浆浓度对金针菇生长和产量的影响[J].乡村科技,2021,12(30):50-52.