

研究报告

一株采自蒙古国白色肺形侧耳菌株生物学特性和驯化

戴丹^{#1,2}, 胡佳^{#1}, 李菁¹, 章炉军³, 彭新红¹, 孙鹏¹, 戴建成¹, 魏云辉^{*1}

1 江西省农业科学院农业应用微生物研究所, 江西 南昌 330200

2 吉林农业大学 食药菌教育部工程研究中心, 吉林 长春 130118

3 山东七河生物科技股份有限公司, 山东 淄博 255100

戴丹, 胡佳, 李菁, 章炉军, 彭新红, 孙鹏, 戴建成, 魏云辉. 一株采自蒙古国白色肺形侧耳菌株生物学特性和驯化[J]. 微生物学通报, 2025, 52(6): 2789-2802.

DAI Dan, HU Jia, LI Jing, ZHANG Lujun, PENG Xinhong, SUN Peng, DAI Jiancheng, WEI Yunhui. Biological characterization and domestication of a white *Pleurotus pulmonarius* strain collected from Mongolia[J]. Microbiology China, 2025, 52(6): 2789-2802.

摘要: 【背景】我国栽培肺形侧耳(*Pleurotus pulmonarius*)种质资源匮乏。【目的】通过加强野外资源采集或国外引种, 扩充肺形侧耳种质资源库。【方法】在蒙古国国家公园采集一份侧耳属(*Pleurotus*)真菌子实体, 通过菌株分离纯化获得菌落白色的菌株, 利用形态特征结合内转录间隔区(internal transcribed spacer, ITS)序列分析进行物种鉴定; 以该菌株为试验材料, 从温度、pH、碳源和氮源 4 个方面进行单因素生物学特性研究, 从中选出 3 个较优水平进行正交试验; 并采用 2 个配方对该菌株进行驯化栽培。【结果】该菌株鉴定为肺形侧耳(*Pleurotus pulmonarius*)。单因素试验结果表明, 在实验范围内, 该菌株的最适生长温度为 25 °C, pH 8.0, 最适碳源和氮源分别为可溶性淀粉和酵母浸粉; 正交试验表明, 菌丝生长的最佳组合为温度 25 °C, pH 8.0, 最佳碳源为可溶性淀粉、最佳氮源为牛肉膏。4 个因素中对白色肺形侧耳菌丝生长影响最大的为碳源。该菌株适宜的栽培配方为莲子壳 35%、细木屑 35%、麦麸 20%、玉米粉 7%、石灰和石膏各 1.5%, 含水量 55%–60%; 在 25 °C 黑暗条件下培养, 菌丝满袋需要 34–35 d, 平均生长速率为 3.43–3.53 mm/d; 白色肺形侧耳菌株原基在温度 7–15 °C 的低温条件下 10 d 左右形成, 子实体发育在温度 17–25 °C、空气相对湿度 75%–85% 条件下 7 d 左右成熟。【结论】白色肺形侧耳菌株生物学特性不同于现有的栽培菌株, 具有较好的开发利用价值。

关键词: 生长条件; 菌丝生长速率; 单因素试验; 正交试验

资助项目: 江西省技术创新引导类计划(20212BDH80009); 江西现代农业科研协同创新专项(JXXTCXBSJJ202212); 现代农业产业技术体系建设专项(CARS-20)

This work was supported by the Jiangxi Province Technology Innovation Guidance Program (20212BDH80009), the Jiangxi Modern Agricultural Scientific Research Collaborative Innovation Special Project (JXXTCXBSJJ202212), and the Modern Agroindustry Technology Research System (CARS-20).

[#]These authors contributed equally to this work.

^{*}Corresponding author. E-mail: yunhuiwei@sina.com

Received: 2024-09-30; Accepted: 2024-12-02; Published online: 2024-12-27

Biological characterization and domestication of a white *Pleurotus pulmonarius* strain collected from Mongolia

DAI Dan^{#1,2}, HU Jia^{#1}, LI Jing¹, ZHANG Lujun³, PENG Xinhong¹, SUN Peng¹, DAI Jiancheng¹, WEI Yunhui^{*1}

1 Institute of Agricultural Applied Microbiology, Jiangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanchang 330200, Jiangxi, China

2 Engineering Research Center of Edible and Medicinal Fungi, Ministry of Education, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, Jilin, China

3 Shandong Qihe Biotechnology Co., Ltd., Zibo 255100, Shandong, China

Abstract: [Background] The germplasm resources of cultivated *Pleurotus pulmonarius* in China are scarce. [Objective] To enrich the resource bank of *P. pulmonarius* through enhancing field resource collection or importing genetic materials from overseas countries. [Methods] A wild strain with white mycelia was isolated from the fruiting bodies of *Pleurotus* collected in the National Park of Mongolia, and it was identified based on morphological characteristics and ITS sequence information. The effects of different temperatures, pH, and carbon and nitrogen sources on mycelial growth of this strain were studied through single factor tests. Orthogonal tests were conducted on three optimal levels of four single factors. Two formulas were used in domestication of the strain. [Results] This strain was identified as *P. pulmonarius*. The results of single factor tests showed that the strain demonstrated the best growth status at 25 °C, pH 8.0, carbon source of soluble starch, and nitrogen source of yeast extract powder. The results of orthogonal tests indicated the optimal growth condition combination consisted of soluble starch as the carbon source, beef extract as the nitrogen source, pH 8.0, and 25 °C. Among the four factors, carbon source exerted the most significant effect on mycelial growth. The appropriate cultivation formula was composed of 35% lotus seed hulls, 35% fine sawdust, 20% wheat bran, 7% corn flour, 1.5% gypsum, 1.5% quicklime, and moisture content of 55%–60%. When being cultivated at 25 °C in the dark, the strain needed 34–35 d to fill the bag with mycelia, with the mycelial growth rate reaching 3.43–3.53 mm/d. Primordia differentiated around 10 d at 7–15 °C, and fruiting bodies matured after approximately 7 d at 17–25 °C and relative air humidity of 75%–85%. [Conclusion] The biological characteristics of the white *P. pulmonarius* strain are different from those of the existing cultivated strains, showcasing a high development and utilization value.

Keywords: growth conditions; mycelial growth rate; single factor test; orthogonal tests

肺形侧耳(*Pleurotus pulmonarius*)又名凤尾侧耳、肺形平菇、印度鲍鱼菇,隶属于担子菌门(*Basidiomycota*)蘑菇纲(*Agaricomycetes*)蘑菇目(*Agaricales*)侧耳科(*Pleurotaceae*)侧耳属(*Pleurotus*)^[1],该种下有俗称为凤尾菇和秀珍菇的商业化栽培菌株^[2]。秀珍菇和凤尾菇的农艺

性状和商品性状存在诸多不同。秀珍菇菌盖浅棕褐色,子实体分化发育适宜温度为12–16 °C,出菇时菇潮整齐,子实体大小均匀,商品率高,适合工厂化栽培^[2],因原基形成需要低温刺激,因此,可人工控制出菇^[3–4],近年来秀珍菇发展较好,陆续有新品种被选育^[5–6];凤尾菇菌盖黄褐色,

菌丝体在 15–35 °C 的条件下均可生长, 最适温度为 25–27 °C; 子实体形成温度为 18–32 °C, 最适宜温度为 25 °C, 凤尾菇属于中高温型品种^[7–8]。2021 年, 刘新锐等^[9]对我国栽培的肺形侧耳进行遗传多样性分析, 通过测试 36 个俗称秀珍菇和凤尾菇菌株的交配型, 结果显示, 供试 36 个菌株的交配型特异性低, 只含 4 种 A 交配型和 3 种 B 交配型, 暗示我国栽培肺形侧耳种质资源匮乏; 作者同时指出, 通过加强野外资源采集或国外引种, 可扩充肺形侧耳基因资源库。

食用菌子实体颜色变异时有发生, 如白色茶树菇^[10]、金针菇^[11]、双孢蘑菇^[12]和毛木耳^[13]等, 其中玉木耳是由毛木耳白色变异菌株经过系统选育获得的优良菌株, 是我国最近栽培且推广成功的木耳品种。可见将颜色变异的菌株驯化或者作为亲本进行杂交可获得新品种^[14]。作者于 2023 年 8 月在蒙古国国家公园采集获得一份白色侧耳属真菌子实体并分离获得菌株, 经鉴定为肺形侧耳; 该菌株所产子实体菌盖纯白色, 不同于目前商业化栽培的菌株, 是一个新的肺形侧耳菌株。

为了明确白色肺形侧耳菌株的相关特性, 本研究对此菌株开展了生物学特性研究和驯化栽培试验, 明确了其营养生长阶段最适培养条件和生殖生长阶段原基形成及栽培出菇的参数, 以期为蒙古国野生食用菌开发利用提供参考, 同时为肺形侧耳优良品种选育提供种质资源。

1 材料与方法

1.1 供试菌株

白色肺形侧耳子实体由作者于 2023 年 8 月采自蒙古国国家公园腐木上, 标本编号为 D534, 标本干燥后保存于江西省农业科学院菌物标本馆, 供试菌株保藏于江西省农业科学院菌种保藏中心。

1.2 培养基、主要试剂和仪器

马铃薯葡萄糖琼脂(potato dextrose agar, PDA)培养基^[15]用于菌株活化。单因素和正交试

验基础培养基(g/L): 碳源 20.0, 氮源 2.0, 磷酸二氢钾 2.0, 硫酸镁 1.0, 琼脂粉 20.0, pH 自然。新型植物基因组提取试剂盒, 康为世纪生物科技股份有限公司。

恒温培养箱, 莱新科学仪器(上海)有限公司; PCR 仪, 伯乐生命医学产品上海有限公司; 智能出菇箱, 北京智态康兴生物科技有限公司。

1.3 标本和菌株的鉴定

对野生采集子实体及其分离获得的菌株和栽培的子实体进行宏观和微观形态特征观察和描述, 并与李玉等^[16]描述的侧耳属物种进行比较研究。同时采用分子生物学方法对鉴定结果进行验证, 以野生子实体组织和分离获得的纯培养菌丝体为材料, 使用新型植物基因组提取试剂盒提取基因组 DNA, 选取通用引物 ITS1 和 ITS4 进行 PCR 获得其内转录间隔区(internal transcribed spacer, ITS)片段^[17]。PCR 产物交由生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序, 观察测序成功的序列峰图和碱基对应情况, 查看有无简并碱基或碱基错误拼写。在 NCBI 数据库中将测序结果进行 BLAST 比对分析^[18]。将从 GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)下载的侧耳属相关类群序列与供试菌株的序列整合入 MEGA 7 中构建序列矩阵^[19], 并使用“muscle”比对策略进行序列对齐处理, 使用 IQ-TREE^[20]和 MrBayes 3.2 软件^[21]分别构建最大似然法和贝叶斯法系统发育树, 选用新西兰本土平菇(*Pleurotus purpureo-olivaceus*)作为外群, 并使用 FigTree v1.4.4 软件显示系统发育树。

1.4 单因素试验

1.4.1 温度试验

以葡萄糖为固定碳源、酵母浸粉为固定氮源制作培养基, 菌株在 PDA 培养基活化后, 使用 5 mm 打孔器在菌落同一半径处打孔, 将菌饼转接至培养基中央, 分别置 20、25、30 和 35 °C 的恒温培养箱中进行培养。7 d 后用十字交叉法测量菌落直径, 计算菌丝生长速率, 观察并记录菌丝长势, 每个处理设 5 个重复。

1.4.2 pH 试验

以葡萄糖为固定碳源、酵母浸粉为固定氮源制作培养基,使用 1 mol/L 盐酸与 1 mol/L 氢氧化钠调节培养基 pH 值至 5.0–10.0,间隔 1.0。接种后置 25 °C 恒温培养箱中进行培养,每个处理设 4 个重复。菌丝生长情况观察与记录同 1.4.1。

1.4.3 碳源试验

分别以多糖(可溶性淀粉和糊精)、二糖(麦芽糖和蔗糖)、单糖(葡萄糖)为供试碳源制作培养基,以不添加碳源为对照组。接种后置 25 °C 恒温培养箱中进行培养,每个处理设 5 个重复;菌丝生长情况观察与记录同 1.4.1。

1.4.4 氮源试验

分别以有机氮源(蛋白胨、酵母浸粉和牛肉膏)、无机氮源(氯化铵和硫酸铵)作为供试氮源,可溶性淀粉作为固定碳源制作培养基,同时将不添加任何氮源的培养基作为对照组。接种后置 25 °C 恒温培养箱中进行培养,每个处理设 5 个重复。菌丝生长情况观察与记录同 1.4.1。

1.5 正交试验

在上述 4 个单因素试验的基础上,每个因素选出 3 个较优水平建四因素三水平的正交试验^[22],正交试验培养基为正交表上对应的温度、pH、碳源和氮源。每个处理设 4 个重复。菌丝生长情况观察与记录同 1.4.1。

1.6 驯化栽培

1.6.1 栽培袋制作

栽培料配方一:细木屑 35%、莲子壳 35%、麦麸 20%、玉米粉 7%、石灰和石膏各 1.5%,含水量调至 55%–60%。用 24 cm×12 cm×0.005 cm 聚丙烯袋装料,每袋装湿料 400 g,松紧度均匀一致,装料高度为 12.0 cm,封口方式为套环封口。栽培料配方二:粗木屑 79%、麦麸 20%、石膏 1%,含水量调至 55%–60%。用 24 cm×12 cm×0.005 cm 聚丙烯袋装料,每袋装湿料 400 g,松紧度均匀一致,装料高度为 13.0 cm,封口方式为套环封口。栽培袋 121 °C 高压灭菌 2 h,出锅后冷却至室温,在超净工作台上进行接种,每

袋接种量为 1/2 母种(9 cm 平板培养母种),接种后于 24–26 °C 条件下黑暗培养。

1.6.2 出菇条件

每袋接种后于 24–26 °C 条件下黑暗培养进行发菌管理,待菌包内菌丝满袋后置室温 7–15 °C 的低温自然散射光条件下进行催蕾,原基出现后移至智能出菇箱中,在原基出现处开口,温度保持在 17–25 °C,相对湿度保持在 75%–85%,每天 600–650 lx 散射光照 12 h,定时通风控制二氧化碳浓度在 600–660 mg/L。

2 结果与分析

2.1 菌株鉴定结果

将以 ITS1 和 ITS4 为 PCR 引物扩增获得的供试野生菌株的 ITS 序列拼接后提交至 GenBank,获得登录号 PQ269712。利用最大似然法和贝叶斯法构建基于 ITS 序列的系统发育树(图 1),供试菌株与来自中国和墨西哥的 3 份肺形侧耳聚为一支。结合子实体、菌株形态学特征和分子生物学证据,该菌株被鉴定为肺形侧耳。

2.2 生物学特性

2.2.1 不同温度对菌丝生长的影响

温度单因素试验结果表明,白色肺形侧耳菌株 D534 在 30 °C 及以下的温度内均可萌发生长,35 °C 时生长明显受到抑制。在供试温度梯度内,菌株最适生长温度为 25 °C,菌丝生长速率为 7.64 mm/d,显著快于其他温度,菌丝洁白、长势壮;其次为 30 °C,菌丝生长速率为 5.46 mm/d,菌丝洁白但菌落边缘不规则;在 20 °C 条件下,菌丝生长速率为 4.88 mm/d,菌丝白且密,菌落边缘规则(图 2)。温度梯度试验表明该种为中温型菌株(表 1)。

2.2.2 不同培养基 pH 对菌丝生长的影响

白色肺形侧耳在培养基 pH 7.0、8.0 和 9.0 条件下,菌丝生长速率分别为 8.21、8.45 和 8.34 mm/d,并且三者之间差异不显著,菌落白边缘圆润,菌丝长势均壮(图 3);培养基 pH 6.0

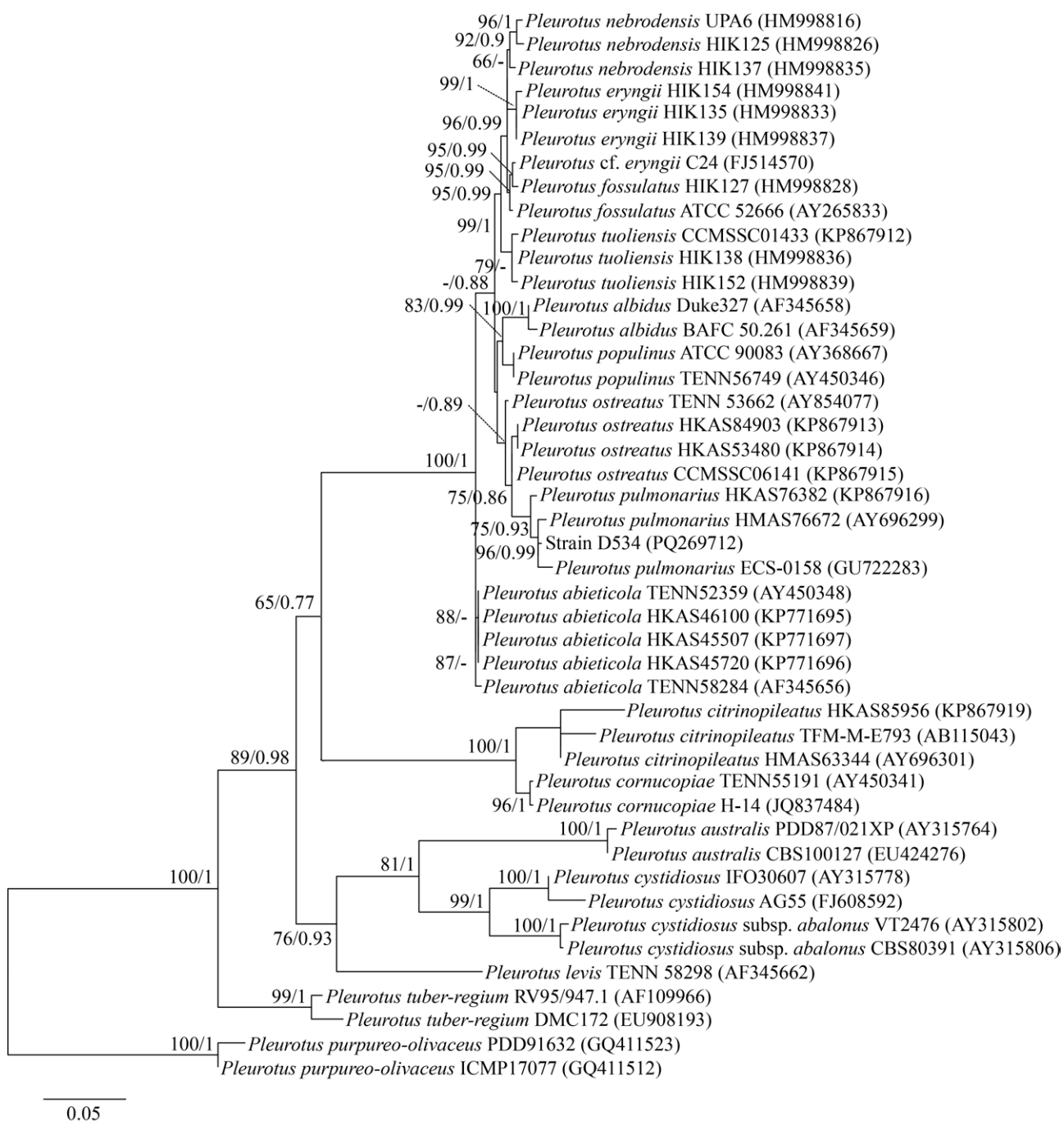


图1 基于 ITS 序列的最大似然法系统发育树 贝叶斯分析的拓扑结构与最大似然树结果相似, 本图以最大似然法拓扑结构展示; Bootstrap 值 $\geq 50\%$ (左) 及贝叶斯后验概率 ≥ 0.60 (右) 标注在节点位置; 标尺表示遗传距离。

Figure 1 Phylogenetic tree based on ITS sequence with maximum likelihood method. The tree topology of the Bayesian analyses was similar to that of maximum likelihood, so this figure presented the topological structure with the maximum likelihood method; Bootstrap values (left) $\geq 50\%$ from analysis and Bayesian posterior probabilities (BYPP, right) ≥ 0.60 are shown at the supported branches; The scale bar represents the genetic distance.

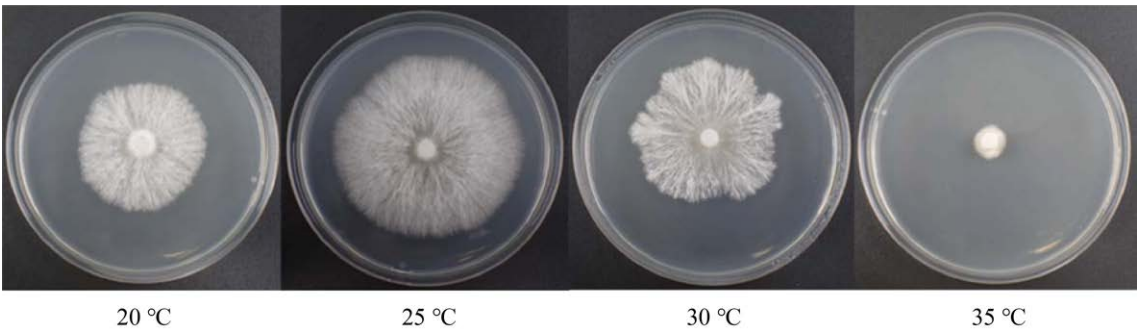


图 2 不同温度对白色肺形侧耳菌丝生长的影响
Figure 2 Effects of different temperatures on mycelial growth of white *Pleurotus plumonarius*.

表 1 不同温度对菌丝生长的影响
Table 1 Effects of different incubation temperature on mycelial growth of *Pleurotus plumonarius*

温度 Temperature (°C)	菌丝特征 Colony characteristic	生长速率 Growth rate (mm/d)	差异显著性 Significant difference		菌丝长势 Mycelial growth vigor
			0.05	0.01	
20	浓密, 白色 Dense, white	4.88±0.09	c	C	+
25	浓密, 白色 Dense, white	7.64±0.43	a	A	+++
30	浓密, 白色 Dense, white	5.46±0.34	b	B	++
35	浓密, 白色 Dense, white	0.62±0.16	d	D	—

+++：菌丝长势较强；++：菌丝长势一般；+：菌丝长势弱。不同小写字母表示 $P<0.05$ 水平存在差异；不同大写字母表示 $P<0.01$ 水平差异。下同。
+++：Mycelial growth is strong; ++: Mycelial growth is general; +: Mycelial growth is weak. Different lowercase letters represent a significant different at $P<0.05$; different uppercase letters represent a extremely significant different at $P<0.01$. The same below.

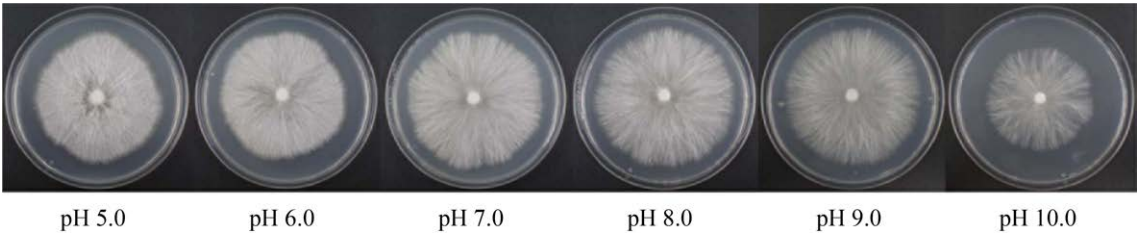


图 3 不同培养基 pH 对白色肺形侧耳菌丝生长的影响
Figure 3 Effects of different pH on mycelial growth of white *Pleurotus plumonarius*.

条件下菌丝生长速率中等,为 7.30 mm/d,pH 5.0 条件下生长速率次之,为 6.95 mm/d; pH 10.0 条件下菌丝生长速率显著慢于其他处理,仅为 6.05 mm/d。综合分析,白色肺形侧耳母种培养

适宜 pH 值范围为 7.0–9.0 (表 2)。
2.2.3 不同碳源对菌丝生长的影响
白色肺形侧耳母种在含供试碳源的培养基上均能生长,菌丝整体呈白色,气生菌丝旺盛

(图 4); 在无碳源的对照中, 菌丝稀疏, 长势较弱。在供试的碳源中最适碳源为可溶性淀粉, 菌丝生长速率可达 9.78 mm/d, 显著快于其他处理; 其次为蔗糖和麦芽糖, 菌丝生长速率分别为 8.99 mm/d 和 8.89 mm/d, 二者之间差异不显著; 再次为糊精, 菌丝生长速率为 8.24 mm/d; 在葡萄糖为碳源的培养基上菌丝长速较慢, 为 7.64 mm/d, 菌丝白但菌落边缘不整齐(表 3)。

2.2.4 不同氮源对菌丝生长的影响

在供试氮源中, 白色肺形侧耳菌丝对有机氮源的利用优于无机氮源(图 5)。酵母浸粉为氮源的培养基上菌丝生长速率明显快于其他处理, 为 8.84 mm/d, 菌丝浓密, 长势壮, 边缘整

齐(图 5); 其次为牛肉膏和蛋白胨, 菌丝生长速率分别为 7.86 mm/d 和 7.60 mm/d, 菌丝洁白、较密; 再次为硫酸铵, 菌丝生长速率为 6.80 mm/d, 菌丝较为稀疏; 在氯化铵为氮源的培养基上, 菌丝生长速率较慢且菌丝较为稀疏; 不添加氮源的对照处理菌丝生长速率仅为 5.56 mm/d, 并且菌丝十分稀疏; 综合菌丝生长速率和长势, 该菌株最适氮源为酵母浸粉(表 4)。

2.3 正交试验结果分析

根据单因素试验结果选取温度、pH、碳源和氮源的前 3 个较优水平进行四因素三水平正交试验(表 5)。用正交试验直观分析法对菌丝生长速率进行分析, 显示碳源是影响白色肺形

表 2 不同 pH 对白色肺形侧耳菌丝生长的影响
Table 2 Effects of different incubation pH on mycelial growth of white *Pleurotus plumonarius*

pH	菌丝特征	生长速率	差异显著性		菌丝长势
	Colony characteristic	Growth rate (mm/d)	Significant difference		Mycelial growth vigor
			0.05	0.01	
5.0	浓密, 白色 Dense, white	6.95±0.18	c	B	+
6.0	浓密, 白色 Dense, white	7.30±0.29	b	B	++
7.0	浓密, 白色 Dense, white	8.21±0.07	a	A	+++
8.0	浓密, 白色 Dense, white	8.45±0.10	a	A	+++
9.0	浓密, 白色 Dense, white	8.34±0.15	a	A	+++
10.0	浓密, 白色 Dense, white	6.05±0.32	d	C	+



图 4 不同碳源对白色肺形侧耳菌丝生长的影响
Figure 4 Effects of different carbon sources on mycelial growth of white *Pleurotus plumonarius*.

表 3 不同碳源对白色肺形侧耳菌丝生长的影响

Table 3 Effects of different carbon sources on mycelial growth of white *Pleurotus plumonarius*

碳源 Carbon source	菌丝特征 Colony characteristic	生长速率 Growth rate (mm/d)	差异显著性 Significant difference		菌丝长势 Mycelial growth vigor
			0.05	0.01	
葡萄糖 Glucose	浓密, 白色 Dense, white	7.64±0.43	d	D	++
蔗糖 Sucrose	稀疏, 白色 Sparse, white	8.99±0.19	b	B	+++
可溶性淀粉 Soluble starch	较密, 白色 Little dense, white	9.78±0.19	a	A	+++
糊精 Dextrin	浓密, 白色 Dense, white	8.24±0.09	c	C	++
麦芽糖 Maltose	浓密, 白色 Dense, white	8.89±0.16	b	A	+++
对照 CK	稀疏, 白色 Sparse, white	6.71±0.03	e	E	+

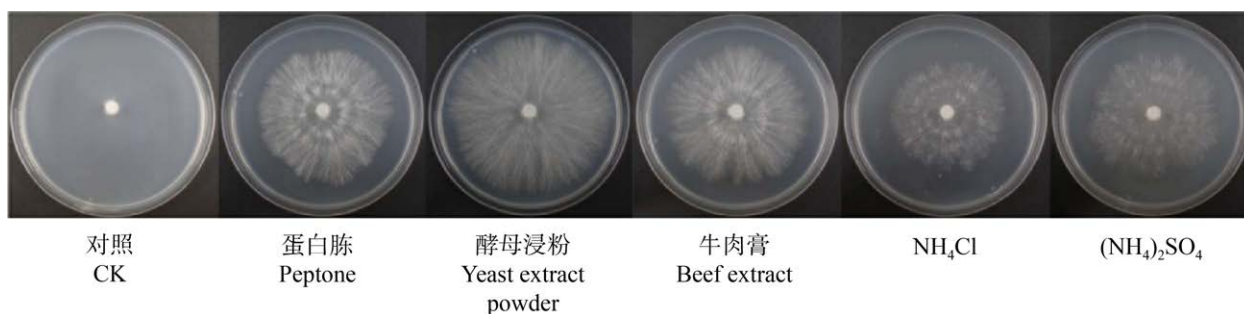


图 5 不同氮源对白色肺形侧耳菌丝生长的影响

Figure 5 Effects of different nitrogen sources on mycelial growth of white *Pleurotus plumonarius*.

表 4 不同氮源对白色肺形侧耳菌丝生长的影响

Table 4 Effects of different nitrogen sources on mycelial growth of white *Pleurotus plumonarius*

氮源 Nitrogen source	菌丝特征 Colony characteristic	生长速率 Growth rate (mm/d)	差异显著性 Significant difference		菌丝长势 Mycelial growth vigor
			0.05	0.01	
酵母浸粉 Yeast extract powder	浓密, 白色 Dense, white	8.84±0.19	a	A	+++
蛋白胨 Peptone	浓密, 白色 Dense, white	7.60±0.27	b	B	++
牛肉膏 Beef extract	浓密, 白色 Dense, white	7.86±0.10	b	B	++
硫酸铵 Ammonium sulphate	较密, 白色 Little dense, white	6.80±0.37	c	C	+
氯化铵 Ammonium chloride	较密, 白色 Little dense, white	6.06±0.15	d	D	+
对照 CK	稀疏, 透明 Sparse, transparent	5.56±0.15	e	E	+

表 5 白色肺形侧耳菌丝生长正交试验结果直观分析

Table 5 Intuitive analysis of the orthogonal test results of white *Pleurotus pulmonarius*

试验号 Test No.	温度 Temperature (°C)	pH	碳源 Carbon source	氮源 Nitrogen source	生长速率 Growth rate (mm/d)	菌丝长势 Mycelial growth vigor
A	1 (25)	1 (8.0)	1 Soluble starch	1 Yeast extract powder	9.98±0.25	+++
B	1 (25)	2 (9.0)	2 Sucrose	2 Beef extract	8.60±0.41	++
C	1 (25)	3 (7.0)	3 Maltose	3 Peptone	7.11±0.44	+
D	2 (30)	1 (8.0)	2 Sucrose	3 Peptone	7.64±0.25	++
E	2 (30)	2 (9.0)	3 Maltose	1 Yeast extract powder	5.26±0.28	+++
F	2 (30)	3 (7.0)	1 Soluble starch	2 Beef extract	9.21±0.35	+
G	3 (20)	1 (8.0)	3 Maltose	2 Beef extract	8.20±0.18	++
H	3 (20)	2 (9.0)	1 Soluble starch	3 Peptone	8.17±0.30	+
I	3 (20)	3 (7.0)	2 Sucrose	1 Yeast extract powder	7.90±0.13	++
T ₁	25.69	25.82	27.36	23.14		
T ₂	22.11	22.03	24.44	26.01		
T ₃	24.27	24.22	20.57	22.92		
X ₁	8.56	8.61	9.12	7.71		
X ₂	7.37	7.34	8.15	8.67		
X ₃	8.09	8.03	6.86	7.64		
R	1.19	1.27	2.26	1.03		

侧耳菌丝生长最主要的因素,其极差(R)达到 2.26,其次是 pH、温度和氮源,极差分别为 1.27、1.19 和 1.03。温度的均值大小为 $X_1 > X_3 > X_2$, pH 的均值大小为 $X_1 > X_3 > X_2$, 碳源的均值大小为 $X_1 > X_2 > X_3$, 氮源的均值大小为 $X_2 > X_1 > X_3$, 因此,最佳组合为 $A_1B_1C_1D_2$, 即温度为 25 °C、pH 8.0、可溶性淀粉为碳源、牛肉膏为氮源(图 6),此时菌丝生长速率为(10.51±0.22) mm/d,确认此组合的菌丝生长速率较其他正交组合快。

对正交结果进行方差分析(表 6),结果显示,碳源的 F 值最大,随后依次是 pH、温度和氮源,碳源的 F 值显著高于其他 3 个因素,与表 5 的直观分析结果一致。

2.4 驯化栽培

2.4.1 发菌阶段

白色肺形侧耳驯化栽培如图 7 所示。图 7A、7B 为野生子实体。发菌阶段 2 个栽培配方满袋时

间差异较大。栽培料配方一装湿料 400 g,松紧度均匀一致,装料高度为 12.0 cm,在 24–26 °C 条件下黑暗培养,菌丝满袋需要 34–35 d,平均生长速率为 3.43–3.53 mm/d(图 7C);栽培料配方二装湿料 400 g,松紧度均匀一致,装料高度为 13.0 cm,在 24–26 °C 黑暗条件下,菌丝满袋需要 64–66 d,平均生长速率为 1.97–2.03 mm/d(图 7F)。

2.4.2 催蕾和出菇

菌丝满袋后,将栽培袋置室温 7–15 °C 的低温自然散射光条件下进行催蕾,10 d 左右可见栽培袋侧面和顶部有幼小的原基形成,在原基形成处开袋,将栽培袋置智能出菇箱中进行出菇管理;控制温度 17–25 °C,相对湿度 75%–85%,每天 600–650 lx 散射光照 12 h,定时通风控制二氧化碳浓度为 600–660 mg/L,7 d 左右子实体成熟(图 7D、7E、7G–7J),栽培子实体形态特征与野生子实体相似。

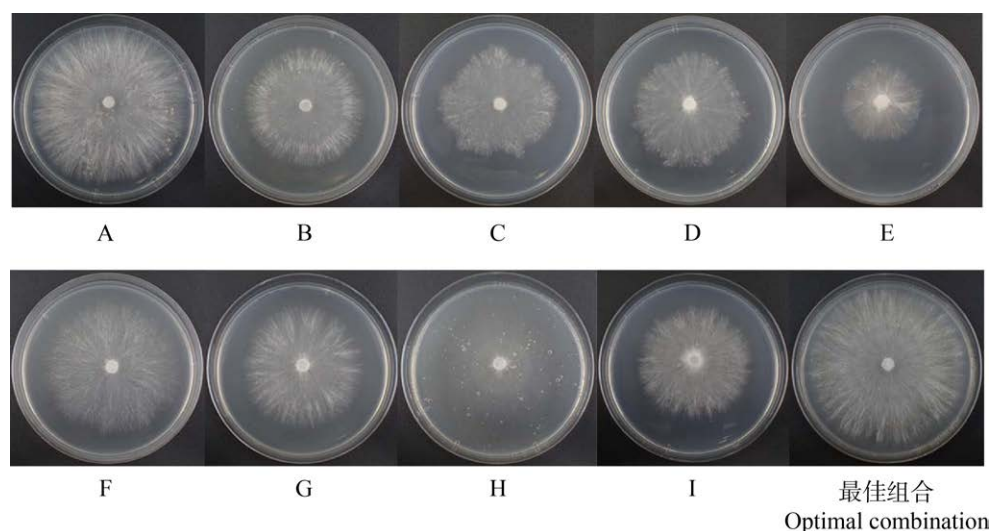


图 6 正交试验不同组合菌丝生长状态

Figure 6 The growth status of different combinations in orthogonal tests.

表 6 菌丝生长正交试验结果的方差分析

Table 6 *F*-test of mycelial growth

来源	III型平方和	自由度	均方	<i>F</i> 值	显著性
Source	Type III sum of square	<i>df</i>	Mean square	<i>F</i> value	Significance
温度 Temperature	0.108	2	0.054	58.105	0.000
pH	0.121	2	0.060	64.915	0.000
碳源 Carbon source	0.385	2	0.192	206.636	0.000
氮源 Nitrogen source	0.099	2	0.050	53.245	0.000
误差 Error	0.034	36	0.001		
总计 Total	29.610	45			
校正的总计	0.747	44			
Total after correction					

3 讨论

本研究碳源单因素试验显示,供试的 5 种碳源均可被白色肺形侧耳利用,其中,最适碳源为可溶性淀粉(多糖),其次为蔗糖(双糖)、麦芽糖(双糖)、糊精(多糖)和葡萄糖(单糖),该菌株喜淀粉多糖的习性与侧耳属中冷杉侧耳和刺芹侧耳相似^[23-24];白色肺形侧耳对有机氮源的利用明显优于无机氮源,最适氮源为酵母浸粉,与侧耳属中泡囊侧耳、巨大侧耳和糙皮侧耳相似^[24-26];白色肺形侧耳菌丝在 pH 7.0–9.0 的范围内均能较快生长,属于适应中性和偏碱性环境的菌株,与 10 种已报道的侧耳属真菌不同(其

中 9 种喜中性和偏酸性,1 种喜碱性)^[18];温度方面,白色肺形侧耳适宜在 25 °C 下生长,与冷杉侧耳、中柄侧耳、鸽色侧耳、巨大侧耳和糙皮侧耳相似,属于中温型真菌^[23-28]。

目前,肺形侧耳种内主要有秀珍菇和凤尾菇 2 个商业化品种^[9]。本文中白色肺形侧耳除菌盖颜色明显不同于秀珍菇和凤尾菇外,在生物学特性和栽培特性方面也表现出不同于秀珍菇和凤尾菇的特点。菌丝体阶段,白色肺形侧耳菌株生长最适温度为 25 °C,与秀珍菇不同(30 °C)^[29-30];而其原基形成的条件与秀珍菇相似,均需要低温刺激;原基分化后,每个幼菇的生



图7 白色肺形侧耳 A、B分别为野生子实体正面和背面；C为配方一菌包；D、E为配方一栽培子实体；F为配方二菌包；G、H为配方二原基；I、J为配方二栽培子实体；标尺=1 cm。

Figure 7 White *Pleurotus pulmonarius*. A: Front view of wild fruiting bodies; B: Back view of wild fruiting bodies; C: Cultivated bag of formula one; D and E are cultivated fruiting bodies of formula one; F: Cultivated bags of formula two; G and H are primordia of formula two; I and J are cultivated fruiting bodies of formula two; Scale bars=1 cm.

长发育不均衡,个体间差异较大,不同于秀珍菇菇潮整齐、子实体大小均匀的商品特性^[2],该菌株后续可作为亲本与秀珍菇进行杂交选育优异菌株;而与凤尾菇相比,菌丝体生长温度范围和最适温度相似,但该菌株需低温刺激,与凤尾菇的出菇形式存在明显不同。综上,白色肺形侧耳菌株可作为亲本进行杂交育种,以此丰富肺形侧耳的栽培种质资源。

白色肺形侧耳菌丝体生长适宜温度为 25 °C,试验中发现其菌丝在 4 °C 条件下也可缓慢生长,原基形成需要低温刺激(7–15 °C)。2023 年蒙古国首都地区夏季(7–8 月)平均气温 9–21 °C,早晚温差大(5–32 °C)。综上,本研究驯化的菌株适宜在当地进行季节性栽培。目前,肺形侧耳主要在我国长三角地区采用设施化温控周年栽培、高温反季节栽培(季节性设施化栽培)和简易大棚的季节性栽培等模式进行栽培。其中,季节性设施化栽培每年 10 月制作菌种,12 月开始制备料袋、接种、发菌,次年的 4–9 月集中出菇^[31];若采用工厂化集中制袋、分散出菇模式,则每年 3 月中下旬集中制袋,6 月开始持续出菇^[6]。综上,白色肺形侧耳栽培适宜采用低温养菌、低温刺激原基形成、10–28 °C 以内出菇;季节性设施化栽培模式在我国大部分地区均可实施,南北方的栽培季节需根据当地气候确定,北方的采菇潮次较南方少 1–2 潮。目前,蒙古国销售的栽培食用菌仅有平菇、香菇、金针菇和白玉菇,均从我国进口。蒙古国首都乌兰巴托仅有农法栽培糙皮侧耳(*Pleurotus ostreatus*)的小型作坊,肺形侧耳可作为该地区食用菌生产的栽培品种。

4 结论

在蒙古国国家公园采集获得一份菌盖白色的侧耳属真菌子实体,通过组织分离获得其菌株纯培养。经鉴定,该菌株为肺形侧耳,单因素试验和正交试验表明,该菌株最佳培养条件为:温度 25 °C、培养基 pH 8.0、碳源和氮源分

别为可溶性淀粉和牛肉膏;驯化栽培试验结果表明,该菌株原基形成需要低温刺激。该菌株的栽培适宜低温养菌、低温刺激原基形成、适温出菇,在蒙古国以及我国大部分地区均可栽培,也可作为亲本进行杂交育种。

作者贡献声明

戴丹:标本采集、菌株分离、物种鉴定、试验设计、稿件写作和返修;胡佳:生物学特性试验、返修;李菁:标本采集、资料收集整理和检查;章炉军:栽培指导、写作和检查;彭新红:数据处理、返修;孙鹏:拍照、数据处理、系统发育分析;戴建成:驯化栽培试验与写作;魏云辉:稿件写作和检查。

作者利益冲突公开声明

作者声明绝无任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

REFERENCES

- [1] 戴玉成,周丽伟,杨祝良,文华安,图力古尔,李秦辉. 中国食用菌名录[J]. 菌物学报, 2010, 29(1): 1-21. DAI YC, ZHOU LW, YANG ZL, WEN HA, BAU Tolgor, LI TH. A revised checklist of edible fungi in China[J]. Mycosystema, 2010, 29(1): 1-21 (in Chinese).
- [2] 张金霞,黄晨阳,郑素月. 平菇新品种:秀珍菇的特征特性[J]. 中国食用菌, 2005, 24(4): 26, 25. ZHANG JX, HUANG CY, ZHENG SY. Oyster mushroom new cultivar: the characteristic of *Pleurotus pulmonarius*[J]. Edible Fungi of China, 2005, 24(4): 26, 25 (in Chinese).
- [3] 黄云柳. 人工冷刺激对桑枝屑栽培秀珍菇产量影响[J]. 食用菌, 2015, 37(1): 42-43. HUANG YL. Effect of artificial cold stimulation on yield of *Pleurotus pulmonarius* cultivated with mulberry twig[J]. Edible Fungi, 2015, 37(1): 42-43 (in Chinese).
- [4] 周烁红,沈颖越,蔡为明,金群力,范丽军,宋婷婷,冯伟林,章宵华. 肺形侧耳变温结实相关基因 Ppsl-1 的克隆及功能预测[J]. 菌物学报, 2016, 35(8): 946-955. ZHOU SH, SHEN YY, CAI WM, JIN QL, FAN LJ, SONG TT, FENG WL, ZHANG XH. Cloning and functional prediction of the Ppsl-1 related to change-temperature fruiting of *Pleurotus pulmonarius*[J]. Mycosystema, 2016, 35(8): 946-955 (in Chinese).
- [5] 王伟科,宋吉玲,闫静,陆娜,袁卫东,周祖法. 肺形侧耳‘杭秀 2 号’的选育[J]. 菌物学报, 2021, 40(9): 2508-2510.

- WANG WK, SONG JL, YAN J, LU N, YUAN WD, ZHOU ZF. A new *Pleurotus pulmomarius* cultivar 'Hangxiu 2'[J]. *Mycosystema*, 2021, 40(9): 2508-2510 (in Chinese).
- [6] 王瑞娟, 杨慧, 刘建雨, 宋春艳, 尚晓冬, 王作录. 肺形侧耳‘申秀 1 号’的选育报告[J]. 菌物学报, 2020, 39(12): 2389-2391.
WANG RJ, YANG H, LIU JY, SONG CY, SHANG XD, WANG ZL. A new *Pleurotus pulmonarius* cultivar 'Shenxiu 1'[J]. *Mycosystema*, 2020, 39(12): 2389-2391 (in Chinese).
- [7] 吴继林. 凤尾菇[J]. 农业科技通讯, 1984(7): 15.
WU JL. *Pleurotus pulmonarius*[J]. *Agricultural Technology Communication*, 1984(7): 15 (in Chinese).
- [8] 吴继林, 向华. 凤尾菇越夏试验[J]. 食用菌, 1983, 5(3): 21-22.
WU JL, XIANG H. Experiment of *Pleurotus pulmonarius* over summer[J]. *Edible Fungi*, 1983(3): 21-22 (in Chinese).
- [9] 刘新锐, 叶丽云, 张黎杰, 谢宝贵, 吴小平. 我国肺形侧耳栽培菌株交配型分析[J]. 菌物学报, 2021, 40(12): 3109-3117.
LIU XR, YE LY, ZHANG LJ, XIE BG, WU XP. Mating type analyses of cultivated *Pleurotus pulmonarius* in China[J]. *Mycosystema*, 2021, 40(12): 3109-3117 (in Chinese).
- [10] 刘新锐, 陈威龙, 周一卓, 王圣铨, 李莉, 谢宝贵. 柱状田头菇白色变种遗传分析[J]. 菌物学报, 2019, 38(9): 1450-1456.
LIU XR, CHEN WL, ZHOU YZ, WANG SY, LI L, XIE BG. Genetic analyses of albino *Agrocybe cylindracea*[J]. *Mycosystema*, 2019, 38(9): 1450-1456 (in Chinese).
- [11] 谢宝贵, 江玉姬, 吴文礼. 金针菇子实体颜色的遗传规律研究[J]. 菌物学报, 2004, 23(1): 79-84.
XIE BG, JIANG YJ, WU WL. Fruit-body color inheritance of *Flammulina velutipes*[J]. *Mycosystema*, 2004, 23(1): 79-84 (in Chinese).
- [12] CALLAC P, MOQUET F, IMBERNON M, GUEDES-LAFARGUE MR, MAMOUN M, OLIVIER JM. Evidence for PPC1, a determinant of the pilei-pellis color of *Agaricus bisporus* fruitbodies[J]. *Fungal Genetics and Biology*, 1998, 23(2): 181-188.
- [13] 任梓铭, 方宏阳, 孟秀秀, 张阔谭, 代俊杰, 李寿建, 黎智文, 李晓. 白色毛木耳新品种“玉木耳”的选育[J]. 分子植物育种, 2018, 16(3): 954-959.
REN ZM, FANG HY, MENG XX, ZHANG KT, DAI JJ, LI SJ, LI ZW, LI X. Breeding of a new white *Auricularia cornea* ehrenb "white wood ear"[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2018, 16(3): 954-959 (in Chinese).
- [14] 任梓铭, 王月, 陆珠, 于延申, 耿伟, 杨文夺. 毛木耳新品种‘粉木耳 1 号’的选育[J]. 北方园艺, 2022(23): 157-160, 2.
REN ZM, WANG Y, LU Z, YU YS, GENG W, YANG WD. Breeding of a new *Auricularia cornea* ehrenb variety 'pink wood ear No.1'[J]. *Northern Horticulture*, 2022(23): 157-160, 2 (in Chinese).
- [15] 戴丹, 王振, 胡佳, 戴建成, 彭新红, 孙鹏, 陈绪涛, 王志伟, 魏云辉, 李玉. 梭伦小剥管孔菌生物学特性和驯化栽培[J]. 菌物学报, 2024, 43(7): 82-92.
DAI D, WANG Z, HU J, DAI JC, PENG XH, SUN P, CHEN XT, WANG ZW, WEI YH, LI Y. Biological characteristics and domestication of *Piptoporellus Soloniensis* (*Piptoporellaceae*, *Basidiomycota*)[J]. *Mycosystema*, 2024, 43(7): 82-92 (in Chinese).
- [16] 李玉, 李泰辉, 杨祝良, 图力古尔, 戴玉成. 中国大型菌物资源图鉴[M]. 郑州: 中原农民出版社, 2015.
LI Y, LI TH, YANG ZL, DAI YC. Atlas of Chinese macrofungal resources[M]. Zhengzhou: Central China Farmers Publishing House, 2015 (in Chinese).
- [17] WHITE TJ, BRUNS T, LEE S, TAYLOR J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics[M]//PCR Protocols. Amsterdam: Elsevier, 1990: 315-322.
- [18] 王军芳, 宋国月, 高悦, 宋子坤, 马海霞. 野生菌核侧耳生物学特性及驯化栽培[J]. 菌物学报, 2023, 42(1): 395-407.
WANG JF, SONG GY, GAO Y, SONG ZK, MA HX. Biological characteristics and domestic cultivation of wild *Pleurotus tuber-regium*[J]. *Mycosystema*, 2023, 42(1): 395-407 (in Chinese).
- [19] KUMAR S, STECHER G, TAMURA K. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2016, 33(7): 1870-1874.
- [20] NGUYEN LT, SCHMIDT HA, von HAESLER A, MINH BQ. IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2015, 32(1): 268-274.
- [21] RONQUIST F, TESLENKO M, van der MARK P, AYRES DL, DARLING A, HÖHNA S, LARGET B, LIU L, SUCHARD MA, HUELSENBECK JP. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space[J]. *Systematic Biology*, 2012, 61(3): 539-542.
- [22] 张峰, 张桐, 李丹, 张波, 李玉. 迷宫栓孔菌生物学特性、驯化栽培及抗氧化活性[J]. 菌物学报, 2019, 38(9): 1480-1490.
ZHANG F, ZHANG T, LI D, ZHANG B, LI Y. Biological characteristics, domestication cultivation and antioxidant activity of *Trametes gibbosa*[J]. *Mycosystema*, 2019, 38(9): 1480-1490 (in Chinese).
- [23] 罗智楠, 牛鑫, 魏生龙, 于海萍, 张波, 李玉. 采自祁连山的冷杉侧耳生物学特性及栽培条件探索[J]. 菌物学报, 2020, 39(9): 1741-1749.
LUO ZH, NIU X, WEI SL, YU HP, ZHANG B, LI Y. Biological characteristics and cultivation conditions of *Pleurotus abieticola* from Qilian Mountains, northwestern China[J]. *Mycosystema*, 2020, 39(9): 1741-1749 (in Chinese).
- [24] 王庆武, 兰玉菲, 崔晓, 安秀荣. 侧耳属 3 个种菌丝培养特性比较[J]. 中国食用菌, 2016, 35(4): 43-46.
WANG QW, LAN YF, CUI X, AN XR. Cultural characteristic on three strains of *Pleurotus*[J]. *Edible Fungi of China*, 2016, 35(4): 43-46 (in Chinese).
- [25] 孟灵思, 胡佳君, 马敖, 程国辉, 宋冰, 李玉. 野生大革耳的生物学特性及驯化栽培[J]. 北方园艺, 2018(21): 165-168.

- MENG LS, HU JJ, MA A, CHENG GH, SONG B, LI Y. Selected biological characteristics and artificial cultivation of *Pleurotus giganteus*[J]. Northern Horticulture, 2018(21): 165-168 (in Chinese).
- [26] 肖玉军, 孔令家, 黄中华, 杨梅, 唐莉静, 柳成益. 一株野生泡囊侧耳的鉴定及生物学特性研究[J]. 食用菌, 2022, 44(4): 24-27.
- XIAO YJ, KONG LJ, HUANG ZH, YANG M, TANG LJ, LIU CY. Identification and biological characteristics of a wild *Pleurotus cystidiosus*[J]. Edible Fungi, 2022, 44(4): 24-27 (in Chinese).
- [27] 陈政明, 彭建平, 卢翠香, 李碧琼, 林俊扬, 邱春锦, 郑永德. 中柄侧耳生物学特性研究[J]. 福建农业学报, 2013, 28(6): 561-565.
- CHEN ZM, PENG JP, LU CX, LI BQ, LIN JY, QIU CJ, ZHENG YD. Biological characteristics of *Pleurotus centralis* X.D.Yu, Z.M.Chen Y.J.Yao, sp. nov. ined[J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2013, 28(6): 561-565 (in Chinese).
- [28] 孙瑞泽, 张耀玲, 王胜宝, 刘勇, 陈进, 黄重, 魏玲, 魏芳勤, 荆丹, 陈永刚, 王艳龙, 瞿艳丽, 高红玲, 杨秀丽. 一株野生侧耳菌种鉴定及生物学特性[J]. 安徽农学通报, 2019, 25(9): 34-37.
- SUN RZ, ZHANG YL, WANG SB, LIU Y, CHEN J, HUANG Z, WEI L, WEI FQ, JING D, CHEN YG, WANG YL, ZHAI YL, GAO HL, YANG XL. Identification and biological characteristics of a wild *Pleurotus*[J]. Anhui Agricultural Science Bulletin, 2019, 25(9): 34-37 (in Chinese).
- [29] 鲁欣, 郑秋霞, 叶丽云, 丁智权, 出怡汝, 黄清雄, 吴小平. 一株野生秀珍菇的鉴定及其生物学特性的分析[J]. 基因组学与应用生物学, 2017, 36(5): 1997-2004.
- LU X, ZHENG QX, YE LY, DING ZQ, CHU YR, HUANG QX, WU XP. Identification and biological characteristics analysis of a wild *Pleurotus pulmonarius*[J]. Genomics and Applied Biology, 2017, 36(5): 1997-2004 (in Chinese).
- [30] 柯斌榕, 兰清秀, 卢政辉, 卢园萍, 林弘毅, 李亚茹. 秀珍菇主栽品种遗传差异及农艺性状比较[J]. 东南园艺, 2023, 11(4): 241-247.
- KE BR, LAN QX, LU ZH, LU YP, LIN HY, LI YR. Comparison of genetic differences and agronomic traits between the main cultivars of *Pleurotus pulmonarius*[J]. Southeast Horticulture, 2023, 11(4): 241-247 (in Chinese).
- [31] 赵书光, 张翠娥, 张亚楠, 张亚丽, 周宏大, 周忠明. 秀珍菇设施化高效栽培关键技术[J]. 食用菌, 2024, 46(4): 54-56.
- ZHAO SG, ZHANG CE, ZHANG YN, ZHANG YL, ZHOU HD, ZHOU ZM. The key technology of efficient cultivation of *Pleurotus pulmonarius*[J]. Edible Fungi, 2024, 46(4): 54-56 (in Chinese).