

甜味小鬼伞生物学特性、驯化栽培及抗氧化活性

赵怡^{1#}, 康霞^{1#}, 常光雷¹, 王立安², 彭慧芬¹, 田景花¹, 李守勉^{1*}, 李国杰^{1*}

1 河北农业大学园艺学院 河北省蔬菜种质创新与利用重点实验室 河北省蔬菜产业协同创新中心, 河北 保定 071001

2 河北师范大学生命科学学院, 河北 石家庄 050024

摘要: 本研究以分离自河北省秦皇岛市青龙县南山公园落叶上腐殖层菌丝获得的甜味小鬼伞 *Coprinellus saccharinus* 菌株为试验材料, 对生物学特性的 4 个因素进行了研究, 成功培育出子实体, 并测定菌丝体和子实体醇提物对 ABTS⁺·和羟自由基的清除能力。结果表明: 在生物学特性试验中, 甜味小鬼伞菌株的最适碳源是蔗糖和可溶性淀粉, 最适氮源是硝酸钾, 适宜的 pH 范围为 7–9, 在 25 °C 条件下菌丝长速最快; 在栽培驯化试验中, 温度在 (20±1)°C 条件下菌丝满瓶需要 20–25 d, 其后给予 2–4 °C 温差, 保持相对空气湿度 70%–80%, 12 h/d 光周期 800–1000 lx 散射光, 约 10–15 d 后现原基, 2–3 d 后子实体成熟。甜味小鬼伞菌丝体与栽培子实体醇提物的抗氧化活性均随添加量的增加逐渐增强, 对 ABTS⁺·和羟自由基的清除率均在醇提物添加量为 200 μL 时达到最高。其中, 栽培子实体醇提物的清除率分别为 97.93% 和 67.22%, 显著高于菌丝体的相应值 (64.73% 和 24.74%)。菌丝体和栽培子实体醇提物对 ABTS⁺·的清除能力均强于羟自由基, 其清除率分别相差 39.99% 和 30.71%。本研究结果为深入探究甜味小鬼伞的栽培技术、生理活性、药理作用及其他开发利用提供了实践依据。

关键词: 药用真菌; 生长条件; 人工栽培

资助项目: 河北省食用菌产业创新团队珍稀食用菌岗位(HBCT2023090202); 河北省自然科学基金(C2025204257); 河北农业大学引进人才科研专项(YJ201849); 国家食用菌产业技术体系小宗种类食用菌栽培岗位(CARS-20-4); 河北省县域生物多样性调查评估项目(2011600012); 河北省科技支撑计划(2053731D); 河北省科技计划项目重点研发计划(21326315D); 河北省现代农业产业技术体系食用菌创新团队项目(HBCT2018050205)

This work was supported by the Innovation Team of Edible Fungi of Hebei Modern Agricultural Industrial Technology System, Valuable and Rare Edible Fungus Position (HBCT2023090202), the Hebei Natural Science Foundation (C2025204257), the Talent Introduction Scientific Research Special Project of Hebei Agricultural University (YJ201849), the Earmarked Fund for China Agriculture Research System (CARS)–Edible Fungi, Non-staple Edible Fungus Species Cultivation Position (CARS-20-4), the Intra-County Biodiversity Investigation and Evaluation of Hebei Province (2011600012), the Hebei Province Science and Technology Support Plan (2053731D), the Key Research and Development Planning Project in Science and Technology of Hebei Province (21326315D), and the Innovation Team of Edible Fungi of Hebei Modern Agricultural Industrial Technology System (HBCT2018050205).

*Corresponding authors. E-mails: LI Shoumian, yylsm@hebau.edu.cn; LI Guojie, liguojie@hebau.edu.cn

#Co-first author

ORCID: ZHAO Yi (0009-0008-0432-8720), KANG Xia (0009-0002-9243-9645), LI Shoumian (0000-0002-1894-905X), LI Guojie (0000-0003-1815-692X)

Received: 2025-07-20; Accepted: 2025-09-14

[引用本文]

赵怡, 康霞, 常光雷, 王立安, 彭慧芬, 田景花, 李守勉, 李国杰, 2026. 甜味小鬼伞生物学特性、驯化栽培及抗氧化活性. 菌物学报, 45(1): 250223

Zhao Y, Kang X, Chang GL, Wang LA, Peng HF, Tian JH, Li SM, Li GJ, 2026. Biological characteristics, domestic cultivation and antioxidant activities of *Coprinellus saccharinus*. Mycosystema, 45(1): 250223

Biological characteristics, domestic cultivation and antioxidant activities of *Coprinellus saccharinus*

ZHAO Yi^{1#}, KANG Xia^{1#}, CHANG Guanglei¹, WANG Li'an², PENG Huifen¹, TIAN Jinghua¹, LI Shoumian^{1*}, LI Guojie^{1*}

1 Key Laboratory of Vegetable Germplasm Innovation and Utilization of Hebei, Collaborative Innovation Center of Vegetable Industry in Hebei, College of Horticulture, Hebei Agricultural University, Baoding 071001, Hebei, China
2 College of Life Sciences, Hebei Normal University, Shijiazhuang 050024, Hebei, China

Abstract: A *Coprinellus saccharinus* strain was isolated from mycelia on deciduous leaf humus in Nanshan Park (Qinglong County, Hebei, China). Four factors of biological characteristics were investigated. Fruiting bodies of this species were successfully cultivated. The scavenging capacities of both mycelium and fruiting body ethanol extracts against ABTS⁺ and ·OH were also evaluated. The results indicated that the optimum carbon source for *C. saccharinus* strain were sucrose and soluble starch; the optimum nitrogen source was KNO₃; the suitable pH range was 7–9, and the highest mycelial growth rate was observed at 25 °C. Domestication experiment showed that bottleful mycelial colonization time required 20–25 d at (20±1) °C; primordium differentiation demanded temperature difference of 2–4 °C, relative air humidity at 70%–80%, photoperiod of 12 h/d 800–1000 lx under scattered light, and a duration of 10–15 d. Mature fruiting bodies can be harvested after continued cultivation for 2–3 d. The antioxidant activities of *C. saccharinus* ethanol extracts from mycelia and cultivated fruiting bodies increased gradually as additive amount raising. Scavenging rates against both ABTS⁺ and ·OH peaked at an additive volume of 200 µL. Scavenging rates of ethanol extract of cultivated fruiting bodies reached 97.93% and 67.22%, respectively, significantly higher than those of mycelia (64.73% and 24.74%). Both mycelium and cultivated fruiting body ethanol extracts exhibited stronger scavenging capacity against ABTS⁺ than ·OH. Scavenging rate differentials were 39.99% and 30.71%, respectively. These findings provided a practical basis for further investigations into cultivation techniques, physiological activities, pharmacological effects, and other utilizations of *C. saccharinus*.

Keywords: medicinal fungus; growth condition; artificial cultivation

甜味小鬼伞 *Coprinellus saccharinus* (Romagn.) P. Roux, Guy García & Dumas 隶属于担子菌门 Basidiomycota、蘑菇纲 Agaricomycetes、蘑菇目 Agaricales、小脆柄菇科 Psathyrellaceae (黄梅 2019)。该种子实体通常较小; 菌盖钟形至圆锥形, 表面初期呈黄褐色, 成熟后逐渐变灰至黑色, 顶部具放射性条纹至边缘, 直径 1.5–3.0 cm, 高

1.5–2.0 cm; 菌褶呈深褐色, 极密且不等长, 成熟后变黑自溶; 菌柄圆柱形, 中空, 很脆易断, 米白色, 长 5.0–10.0 cm, 粗 0.2–0.4 cm; 担孢子椭圆形或钟形, 表面光滑, 褐色, 8.1–9.8 × 4.4–6.1 µm。该种常散生或群生于腐烂木材、枯枝落叶上或富含有机质的土壤中, 是全球广泛分布, 适应性较强的草腐菌(黄梅 2019; 朱力扬等

2022; 刘雅慧 2023)。目前该种是否可食尚无研究报道, 与其近缘的晶粒小鬼伞 *C. micaceus* (Bull.) Vilgalys, Hopple & Jacq. Johnson 食用后会导致胃肠炎型、神经精神型症状(图力古尔等 2024), 因此不建议食用。

鬼伞类真菌含有多种生物活性物质, 如多糖、萜类、酚类和甾体化合物, 具有抗氧化、抗炎、免疫调节和抗肿瘤等作用(Wu *et al.* 2019; 刘雅慧 2023)。研究发现毛头鬼伞 *C. comatus* (O.F. Müll.) Pers.和角鳞小鬼伞 *C. truncorum* (Scop.) Redhead, Vilgalys & Moncalvo 胞外多糖对人体癌细胞表现出显著的细胞毒活性, 对乙酰胆碱酯酶有抑制作用(Pejin *et al.* 2017; Atlagić *et al.* 2022), 毛头鬼伞的粗多糖可用于治疗高血糖、糖尿病等疾病(高政 2021), 其菌株可以合成漆酶、木质素过氧化物酶、锰过氧化物酶, 对木质素具有一定的降解能力(苏玉春等 2021)。灰盖拟鬼伞 *C. cinerea* (Schaeff.) Redhead, Vilgalys & Moncalvo 中过表达的碱性真菌漆酶可以在高温、碱性和含盐条件下高效脱色染料(王先华等 2024)。白小鬼伞 *C. disseminatus* (Pers.) J.E. Lange 作为可食用的腐生真菌, 其抗氧化活性较高(Novaković *et al.* 2016)。与甜味小鬼伞近缘的晶粒小鬼伞的液体菌种能高效降解酚木质素模式化合物, 其子实体醇提物和水提物具有抗氧化、抗糖尿病、抗乙酰胆碱酯酶、抗酪氨酸酶和抑制一氧化氮活性的作用(Guiraud *et al.* 1999; Nguyen *et al.* 2014)。因此, 甜味小鬼伞很有可能也具有一定的药用价值, 目前该种的研究集中在资源调查与分类(黄梅 2019; 朱力扬等 2022), 缺乏驯化栽培和活性产物的研究。

本研究以甜味小鬼伞菌丝纯化后的菌株为试验材料, 对其进行生物学特性、驯化栽培试验和抗氧化活性的测定, 为该种的开发与利用提供了理论支撑。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌株

甜味小鬼伞 *C. saccharinus* 菌株(20230117)分离自河北省秦皇岛市青龙县南山公园林下落

叶腐殖层菌丝, 纯化后现保存于河北农业大学园艺学院食用菌实验室。

1.1.2 培养基配方

PDA 基础培养基: 去皮马铃薯 200 g、葡萄糖 20 g、琼脂 20 g, 去离子水 1 L, pH 自然。碳源基础培养基: 肉蛋白胨 2 g、KH₂PO₄ 3 g、MgSO₄ 1.5 g、琼脂 18 g, 加水定容至 1 L, pH 自然。氮源基础培养基: 葡萄糖 20 g、KH₂PO₄ 3 g、MgSO₄ 1.5 g、琼脂 18 g, 加水定容至 1 L, pH 自然。液体培养基: 马铃薯 200 g、酵母浸膏 5 g、KH₂PO₄ 0.5 g、VB₁ 0.01 g, 加水定容至 1 L, pH 自然。栽培瓶培养基配方(刘雅慧和图力古尔 2023): 木屑 37%、玉米芯 33%、麸皮 18%、玉米粉 5%、石灰 3%、自然掉落的杨树叶 3%、石膏 1%, 料水比 1:1.2。

1.2 方法

1.2.1 菌种活化

将保藏于 4 °C 的菌株转至 PDA 基础培养基进行活化, 25 °C 恒温避光培养。

1.2.2 菌株鉴定

活化菌丝和栽培驯化子实体的 DNA 提取采用 CTAB 法(王艺红等 2008; 熊芳 2008)。PCR 扩增 ITS 和 nLSU 区段使用引物 ITS4/ITS5 (White *et al.* 1990)和 LROR/LR5 (<http://www.botany.duke.edu/fungi/mycolab/primers.htm>), 扩增产物序列测定由北京金唯智生物科技有限公司完成, 测序合格的序列上传至 GenBank 数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>)保存, 并与该数据库收录的小鬼伞属已发表可靠序列(黄梅 2019)进行 BLAST 比对; 以 46 条小鬼伞属序列作为参考序列, 选取 3 条鬼伞属和 2 条拟鬼伞属序列作为外群, 采用最大似然法(maximum likelihood, ML)和贝叶斯法(Bayesian inference, BI)进行多基因系统发育分析。

1.2.3 碳源试验

在碳源基础培养中, 以不添加碳源的基础培养基作为空白对照, 肉蛋白胨为固定氮源, 其余碳源试验处理将 20 g/L 葡萄糖的含碳量作为标准, 分别以等含碳量的麦芽糖、甘露醇、乳糖、果糖、蔗糖、可溶性淀粉替换葡萄糖, 每个碳源设置 6 个重复处理。在活化的母种中选择菌丝长

势强的平板,采用直径 11 mm 的打孔器取菌饼,转接至未接种的培养基平板中央,置于 25 °C 恒温培养箱暗培养。待其中一个处理菌丝覆盖整个平板时,采用十字交叉法测量菌落直径,观察并记录菌丝长速长势。

1.2.4 氮源试验

在氮源基础培养中,以不添加氮源的基础培养基作为空白对照,葡萄糖为固定碳源,其余氮源试验处理将 2 g/L 大豆蛋白胨的含氮量作为标准,分别以等含氮量的胰蛋白胨、肉蛋白胨、酵母浸粉、牛肉膏、硫酸铵、硝酸钾、氯化铵替换大豆蛋白胨,每个氮源设置 6 个重复处理。菌丝生长情况记录及分析同 1.2.3。

1.2.5 pH 试验

在高温灭菌后的 PDA 培养基中,用 1 mol/L NaOH 和 1 mol/L HCl 溶液将 pH 调至为 5、6、7、8、9、10,每个 pH 设置 6 个重复处理。菌丝生长情况记录及分析同 1.2.3。

1.2.6 温度试验

在 PDA 培养基中,接种后分别在 15、20、22、24、25、26、28、30、35 °C 的恒温培养箱中黑暗培养,每个温度设置 6 个重复处理。菌丝生长情况记录及分析同 1.2.3。

1.3 出菇试验

1.3.1 液体菌种制作

按照 1.1.2 的配方制备液体培养基,选用 300 mL 的三角瓶,每瓶分装 150 mL,灭菌锅设置 0.103 MPa, 121 °C 灭菌 40 min; 液体培养基在超净工作台中冷却至室温后,每个三角瓶中接入 8 个 0.5 mm × 0.5 mm 的菌块,封口膜盖严扎紧;静置 24 h 后,置于 25 °C、150 r/min 的振荡培养箱中避光培养。

1.3.2 栽培瓶制作

按照 1.1.2 的栽培瓶培养基配方将所有原料(除杨树叶)拌匀后,分装至规格 1 100 mL 聚丙烯栽培瓶中,每瓶湿料 550 g,均匀按压至瓶肩,平铺 1.0–1.5 cm 自然掉落的杨树叶,采用规格 13 cm × 2.5 cm 打孔器在料面中间打孔,盖子封口。灭菌条件为 0.15 MPa、126 °C 下 120 min。栽培瓶冷却至室温后,在超净工作台内每瓶接入 20 mL 液体菌种,置于(20±1) °C 条件下避光培养。

1.3.3 子实体培养

菌丝长满整个栽培瓶时移至出菇室,保持 20 °C 室温,相对湿度 70%–80%, 12 h/d 光周期 800–1 000 lx 散射光;待观察到菌丝发黄、大量菌丝扭结后,降温至 16–18 °C,促使原基形成,出菇过程中培养条件保持不变。

1.4 抗氧化活性测定

菌丝体制备(贾宝光等 2024): 液体培养同 1.3.1,培养后过滤菌丝,用超纯水冲洗菌丝体表面,并吸取多余水分至菌丝表面无明显水分,–80 °C 预冻 24 h 后,置于冷冻干燥机干燥 24 h,备用。

醇提物制备(康霞等 2025): 采用超声波萃取法,将冻干后菌丝体用液氮研磨成干粉,称取 0.5 g 与 22 mL 提取液混合,置于 1.5 mL 离心管中,超声波破碎 38 min, 4 °C 条件下 10 000 r/min 离心 10 min 获得上清液。

抗氧化活性测定: 使用 ABTS⁺ 和羟自由基试剂盒(北京索莱宝生物科技有限公司)对菌丝体和栽培子实体进行抗氧化活性检测,每个处理重复 3 次。

1.5 数据处理和分析

差异显著性分析和方差分析使用 Microsoft Excel 2022 和 IBM SPSS Statistics 27 软件,分析结果录入 Prism 10 软件进行绘图,菌丝生长速度以“平均值±标准误差”表示。

2 结果与分析

2.1 分子系统学分析

ITS 序列比对: 将测序获得的 ITS 序列与 GenBank 数据库序列进行 BLAST 在线比对,结果显示本研究测定的菌株 20230117-1 和栽培子实体 20230117-2 的 ITS 序列(PV888937, PV888938)与黄梅(2019)研究中引证的甜味小鬼伞标本序列 HMJAU46378 (OL355087)、HMJAU46325 (OL355022) 和 HMJAU46379 (OL355088) 相似度均达到 99% 以上,覆盖率 100%,支持菌株 20230117 为甜味小鬼伞。

多基因系统发育分析: 最大似然法和贝叶斯法系统发育分析结果显示(图 1),本研究菌株和

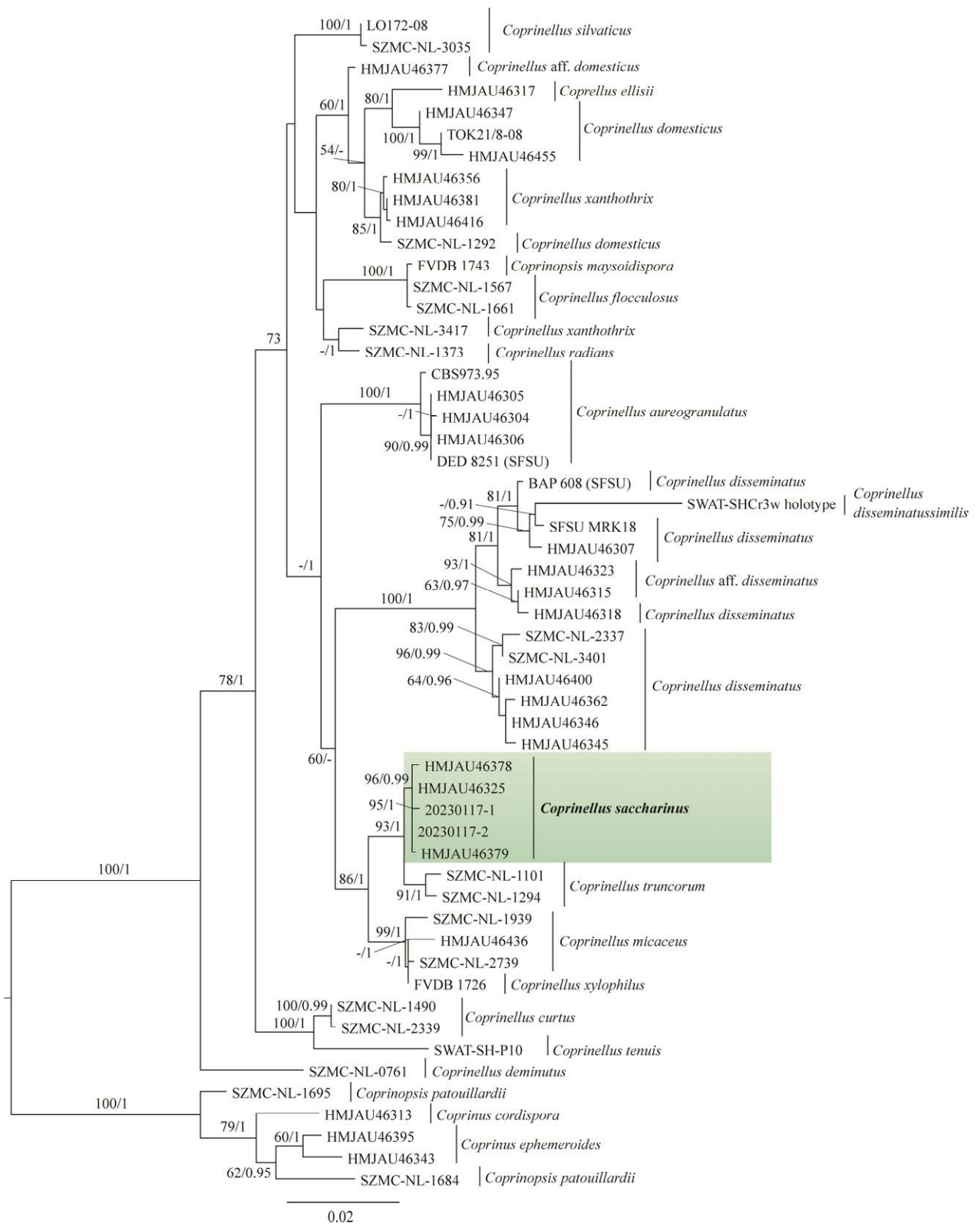


图1 由最大似然法(ML)构建的甜味小鬼伞及其近缘种类 ITS + nLSU 系统发育树 分支上标注的数字分别表示最大似然法分析的自举支持率(>50%)和贝叶斯法分析的后验概率(>0.90); 绿色区域表示甜味小鬼伞分支

Fig. 1 The maximum likelihood (ML) phylogenetic tree based on ITS + nLSU datasets of *Coprinellus saccharinus* and closely related species. Branches are labeled with bootstrap values of maximum likelihood analysis (MLBS) higher than 50% and Bayesian posterior probabilities (BIPP) higher than 0.90. Green highlight zone indicates the *Coprinellus saccharinus* clade.

栽培子实体的分支与以上 3 份甜味小鬼伞标本的分支聚集在一起, 形成一个高支持率的分支 (MLBS 96, BIPP 0.99)。综合序列比对和系统发育分析结果, 确定本研究菌株为甜味小鬼伞。

2.2 不同碳源对甜味小鬼伞菌丝生长的影响

在碳源试验中, 甜味小鬼伞在以蔗糖为碳源时, 菌丝生长最快, 长速为 5.31 mm/d, 其次是在以甘露醇、可溶性淀粉为碳源和不添加碳源的空白对照时, 菌丝长速与蔗糖为碳源时差异不显著, 长速分别为 5.29、5.29 和 5.27 mm/d (表 1); 甜味小鬼伞在果糖为碳源的培养基中长势最强, 菌丝边缘整齐且浓密, 在麦芽糖和乳糖为碳源的培养基中长势一般, 菌丝边缘整齐但较稀疏, 在不添加碳源的空白对照和甘露醇培养基中长势较弱, 菌丝边缘较整齐但稀疏, 其余碳源培养基菌丝的长势均较强(图 2)。综合分析, 甜味小鬼伞母种培养最适碳源为蔗糖和可溶性淀粉。

表 1 不同碳源对甜味小鬼伞菌丝生长的影响

Table 1 Effects of different carbon sources on mycelial growth of *Coprinellus saccharinus*

碳源	菌丝生长速度	菌落颜色	菌丝长势
Carbon source	Mycelial growth rate/(mm/d)	Colony color	Mycelial growth vigor
对照	5.27±0.02 a	白色	+
Control		White	
葡萄糖	4.39±0.05 c	白色	+++
Glucose		White	
麦芽糖	5.15±0.02 b	白色	++
Maltose		White	
甘露醇	5.29±0.05 a	白色	+
Mannitol		White	
乳糖	2.55±0.05 e	白色	++
Lactose		White	
果糖	3.15±0.05 d	白色	++++
Fructose		White	
蔗糖	5.31±0.05 a	白色	+++
Sucrose		White	
可溶性淀粉	5.29±0.03 a	白色	+++
Soluble starch		White	

注: +表示菌丝长势较弱; ++表示菌丝长势一般; +++表示菌丝长势较强; ++++表示菌丝长势强; 不同小写字母表示 $P<0.05$ 水平有显著差异。下同

Note: +, weak mycelial growth; ++, moderate mycelial growth; +++, relatively strong mycelial growth; ++++, strong mycelial growth; Different lowercase letters represent significant difference level at $P<0.05$. The same below.

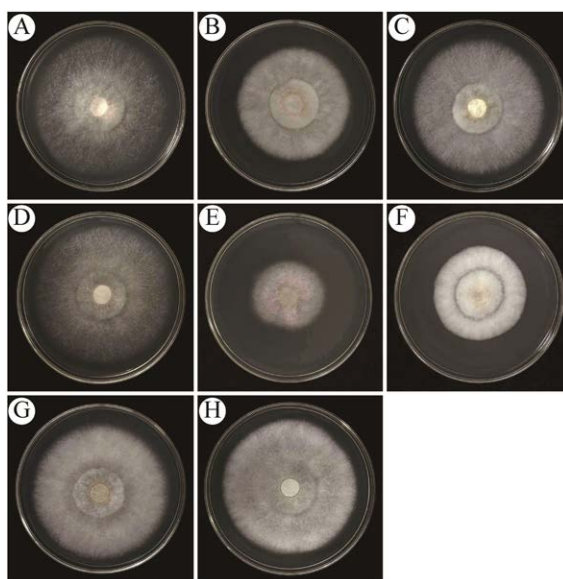


图 2 不同碳源对甜味小鬼伞菌丝生长的影响 A: 对照; B: 葡萄糖; C: 麦芽糖; D: 甘露醇; E: 乳糖; F: 果糖; G: 蔗糖; H: 可溶性淀粉

Fig. 2 Effects of different carbon sources on mycelial growth of *Coprinellus saccharinus*. A: Control; B: Glucose; C: Maltose; D: Mannitol; E: Lactose; F: Fructose; G: Sucrose; H: Soluble starch.

2.3 不同氮源对甜味小鬼伞菌丝生长的影响

在氮源试验中, 甜味小鬼伞在以硝酸钾为氮源时, 菌丝生长最快, 且显著快于其他, 长速可达 4.97 mm/d, 在硫酸铵为氮源时, 菌丝生长速度最慢, 且显著低于其他, 长速为 1.65 mm/d (表 2); 甜味小鬼伞在大豆蛋白胨和酵母浸粉为氮源的培养基中长势最强, 菌丝边缘整齐且浓密, 在肉蛋白胨为氮源的培养基中长势一般, 菌丝边缘不整齐但较浓密, 不添加氮源的空白对照培养基中长势最弱, 菌丝边缘不整齐且稀疏, 其余氮源培养基菌丝的长势均较强(图 3)。综合分析, 甜味小鬼伞母种培养最适氮源为硝酸钾。

2.4 不同 pH 对甜味小鬼伞菌丝生长的影响

在 pH 试验中, 甜味小鬼伞在 PDA 培养基 pH 7-9 时, 菌丝生长快, 且差异不显著, 长速分别为 4.57、4.53 和 4.54 mm/d, 在 pH 5 时, 菌丝生长速度最慢, 且显著低于其他, 长速为 4.39 mm/d (表 3); 甜味小鬼伞在 pH 5 和 pH 10 的培养基中长势较强, 菌丝边缘整齐, 但较稀疏, 其余 pH 培养基中菌丝的长势均强, 菌丝边缘整

齐且浓密(图 4)。综合分析,甜味小鬼伞母种培养最适 pH 范围为 7–9。

表 2 不同氮源对甜味小鬼伞菌丝生长的影响

Table 2 Effects of different nitrogen sources on mycelial growth of *Coprinellus saccharinus*

氮源 Nitrogen source	菌丝生长速度 Mycelial growth rate/(mm/d)	菌落颜色 Colony color	菌丝长势 Mycelial growth vigor
对照 Control	4.51±0.02 b	白色 White	+
大豆蛋白胨 Soy peptone	4.25±0.02 c	白色 White	++++
胰蛋白胨 Tryptone	4.39±0.03 bc	白色 White	+++
肉蛋白胨 Meat peptone	4.26±0.03 c	白色 White	++
酵母浸粉 Yeast extract powder	3.99±0.12 d	白色 White	++++
牛肉膏 Beef paste	3.93±0.09 d	白色 White	+++
硫酸铵 (NH ₄) ₂ SO ₄	1.65±0.05 f	白色 White	+++
硝酸钾 KNO ₃	4.97±0.03 a	白色 White	+++
氯化铵 NH ₄ Cl	2.06±0.04 e	白色 White	+++

2.5 不同温度对甜味小鬼伞菌丝生长的影响

在温度试验中,甜味小鬼伞在 15–35 °C 范围内均能生长,其中在 25、28 和 30 °C 时菌丝生长快,且差异不显著,长速分别为 4.29、4.27 和 4.21 mm/d,在 15 °C 和 35 °C 时,菌丝生长慢,且显著低于其他,长速分别为 2.19 mm/d 和 1.82 mm/d (表 4);甜味小鬼伞在 15 °C 和 35 °C 条件下长势较强,在其他温度下培养基菌丝的生长均强(图 5)。综合分析,甜味小鬼伞母种培养最适温度为 25 °C。

2.6 驯化栽培结果

液体菌种:培养 5 d 菌球均匀分布,表面白色,带小刺,培养 7 d 菌球充满培养基,培养结束。

发菌阶段:接入液体菌种的栽培瓶置于 (20±1) °C 黑暗条件下避光培养,保持相对空气湿度为 50%–60%,20–25 d 后长满栽培瓶,菌丝发菌完成。

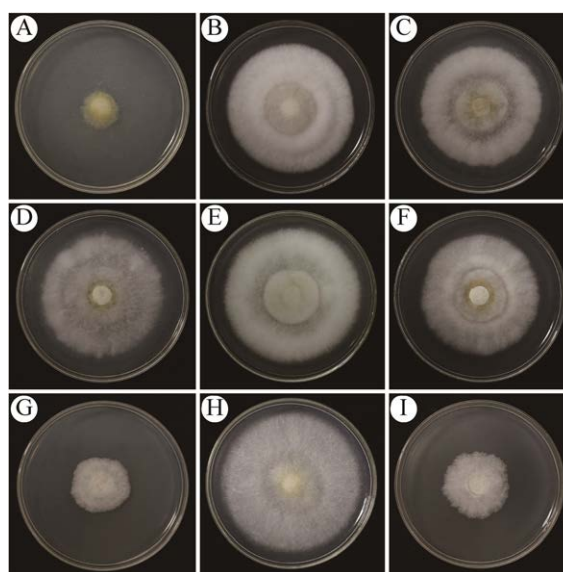


图 3 不同氮源对甜味小鬼伞菌丝生长的影响 A: 对照; B: 大豆蛋白胨; C: 胰蛋白胨; D: 肉蛋白胨; E: 酵母浸粉; F: 牛肉膏; G: 硫酸铵; H: 硝酸钾; I: 氯化铵

Fig. 3 Effects of different nitrogen sources on mycelial growth of *Coprinellus saccharinus*. A: Control; B: Soy peptone; C: Tryptone; D: Meat peptone; E: Yeast extract powder; F: Beef paste; G: (NH₄)₂SO₄; H: KNO₃; I: NH₄Cl.

表 3 不同 pH 值对甜味小鬼伞菌丝生长的影响

Table 3 Effects of different pH on mycelial growth of *Coprinellus saccharinus*

pH	菌丝生长速度 Mycelial growth rate/(mm/d)	菌落颜色 Colony color	菌丝长势 Mycelial growth vigor
5	4.39±0.03 d	白色 White	+++
6	4.49±0.01 c	白色 White	++++
7	4.57±0.01 a	白色 White	++++
8	4.53±0.01 ab	白色 White	++++
9	4.54±0.02 ab	白色 White	++++
10	4.52±0.01 bc	白色 White	+++

催蕾及出菇阶段:菌丝满瓶后立即移入出菇室,温度控制在 20–25 °C 之间,保持 70%–80% 相对空气湿度,12 h/d 光周期 800–1 000 lx 散射光,2–4 °C 温差进行催蕾,约 10–15 d 后菇蕾形成。原基分化 2–3 d 后子实体发育成熟,立即采收并烘干,避免子实体自溶。

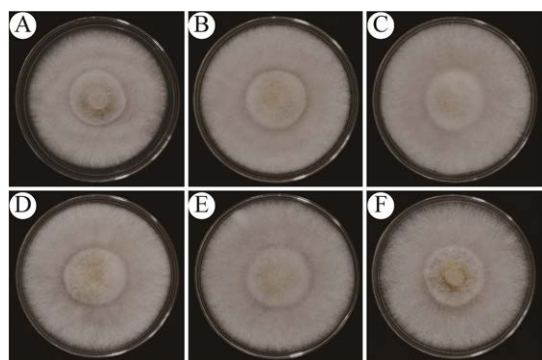


图 4 不同 pH 对甜味小鬼伞菌丝生长的影响
Fig. 4 Effects of different pH on mycelial growth of *Coprinellus saccharinus*. A: pH 5; B: pH 6; C: pH 7; D: pH 8; E: pH 9; F: pH 10.

表 4 不同温度对甜味小鬼伞菌丝生长的影响
Table 4 Effects of different temperatures on mycelial growth of *Coprinellus saccharinus*

温度 Temperature /°C	菌丝生长速度 Mycelial growth rate/(mm/d)	菌落颜色 Colony color	菌丝长势 Mycelial growth vigor
15	2.19±0.05 d	白色 White	+++
20	3.48±0.05 c	白色 White	++++
22	3.49±0.04 c	白色 White	++++
24	4.08±0.06 b	白色 White	++++
25	4.29±0.03 a	白色 White	++++
26	4.07±0.05 b	白色 White	++++
28	4.27±0.02 a	白色 White	++++
30	4.21±0.05 a	白色 White	++++
35	1.82±0.02 e	白色 White	+++

人工驯化子实体形态(图 6): 菌盖呈钟形至圆锥形, 表面土黄至鹅黄色, 直径 0.8–1.2 cm, 高 1.0–1.3 cm; 菌褶密集, 呈褐色; 菌柄细长, 中空, 极脆易断, 表面乳白色, 长 4.5–10.0 cm, 粗 0.2–0.4 cm; 担孢子椭圆形, 表面光滑, 褐色, 8.5–9.5 × 4.5–5.8 μm, 以上与黄梅(2019)对甜味小鬼伞的形态特征描述基本一致。

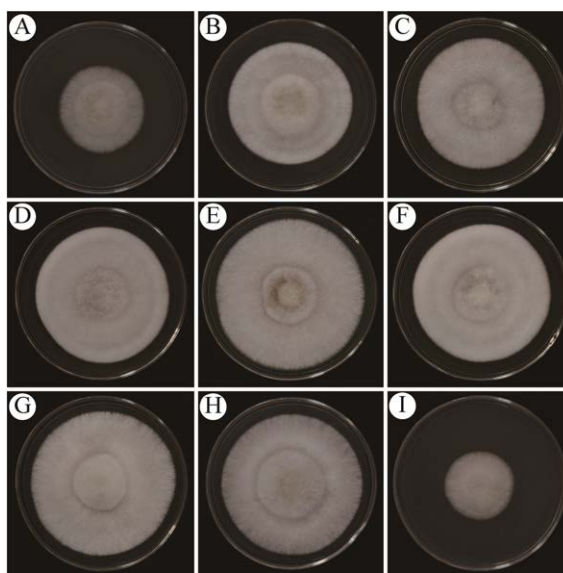


图 5 不同温度对甜味小鬼伞菌丝生长的影响
Fig. 5 Effects of different temperatures on mycelial growth of *Coprinellus saccharinus*. A: 15 °C; B: 20 °C; C: 22 °C; D: 24 °C; E: 25 °C; F: 26 °C; G: 28 °C; H: 30 °C; I: 35 °C.



图 6 子实体 A: 生长中的子实体; B, C: 采收后的子实体. 标尺=1 cm
Fig. 6 Fruiting bodies. A: Growing fruiting bodies; B, C: Harvested fruiting bodies. Bars=1 cm.

2.7 菌丝体和栽培子实体的抗氧化活性

甜味小鬼伞菌丝体和栽培子实体的醇提取物对 ABTS⁺·和羟自由基均具有一定的清除能力, 并且两种自由基清除能力随添加量增加呈线性增强趋势, 各添加量处理下菌丝体和栽培子实体醇提取物对两种自由基清除率均有显著差异。当添加量为 200 μL 时, 菌丝体和栽培子实体醇提取物对两种自由基清除能力最强。菌丝体醇提取物对 ABTS⁺·和羟自由基清除率分别为 64.73%和 24.74%, 栽培子实体醇提取物对两种自由基清除率可达到 97.93%和 67.22%, 显著高于菌丝体。综合分析, 甜味小鬼伞醇提取物对 ABTS⁺·的清除能力大于对羟自由基的清除能力(图 7)。

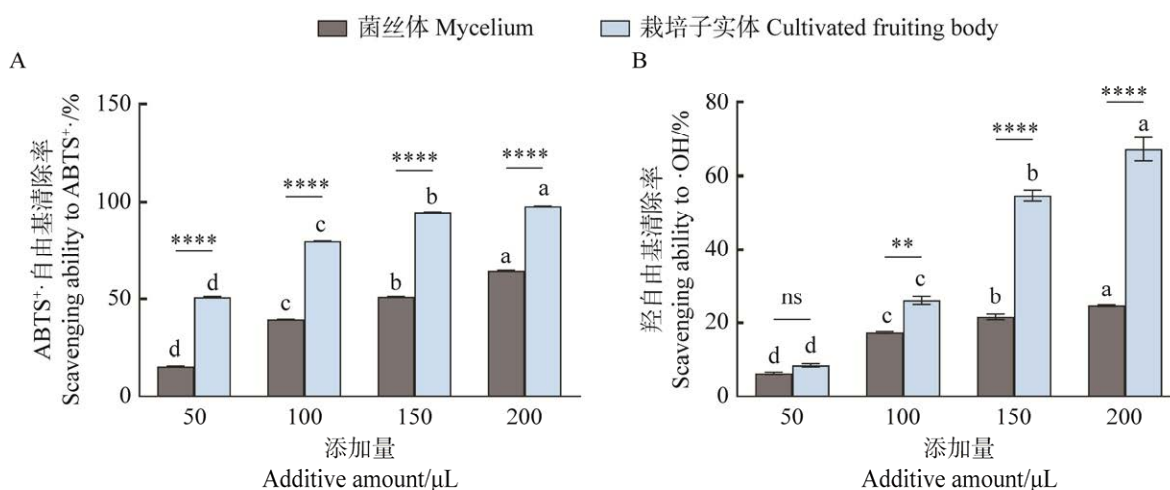


图 7 甜味小鬼伞菌丝体及栽培子实体的醇提取物对 ABTS⁺·(A)及羟自由基(B)的清除能力。数据为平均值±标准误差 ($n=3$); 不同小写字母表示同一样品不同添加量处理下清除率差异显著 ($P<0.05$); ns: 表示相同添加量处理下不同样品清除率差异不显著 ($P>0.05$); *表示相同添加量处理下不同样品清除率差异显著: * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$, **** $P<0.0001$ 。

Fig. 7 Scavenging ability of *Coprinellus saccharinus* mycelium and cultivated fruiting body ethanol extracts to ABTS⁺·(A) and ·OH (B). Data are mean ± standard error ($n=3$); Different lowercase letters indicate that the scavenging rate difference between different additive amount treatment of the same sample is significant ($P<0.05$); ns indicates that the scavenging rate difference is insignificant between samples at the same additive amount ($P>0.05$); * Indicates significant differences between samples at the same additive amount: * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$, **** $P<0.0001$.

3 讨论

在碳源单因素试验中,甜味小鬼伞菌丝在蔗糖培养基中生长最快,在以蔗糖、可溶性淀粉为碳源的培养基中生长均较为旺盛,与锥盖近地伞 *Parasola conopila* (Fr.) Örstadius & E. Larss、晶粒小鬼伞、墨汁拟鬼伞(刘雅慧 2023)和灰盖拟鬼伞(扈海静等 2020)的最适碳源筛选结果基本一致。这表明小脆柄菇科鬼伞类真菌对双糖和多糖的利用效率更高。

在氮源单因素试验中,甜味小鬼伞菌丝在以硝酸钾为氮源的培养基中生长突出,生长显著快于其他氮源。类似的现象在其他小脆柄菇科鬼伞类真菌中也有发现,庭院小鬼伞 *Coprinellus xanthothrix* (Romagn.) Vilgalys, Hopple & Jacq. Johnson 在以硝酸钠为氮源时菌丝生长最快,晶粒小鬼伞和锥盖近地伞的最适氮源为硝酸铵(刘雅慧 2023)。表明该类真菌对硝态氮的利用效率较高,对无机氮源有一定的偏好性,这不同于多数食药菌对于有机氮源的利用能力较强。该类真菌可能含有较高活性的硝酸还原酶,可以将硝

态氮还原为容易利用的铵态氮,这一机制在一些外生菌根真菌中已有报道(廖晓初 2006),在鬼伞类中的具体代谢机制尚需进一步研究。甜味小鬼伞在以大豆蛋白胨为氮源的培养基中菌丝生长稍强于硝酸钾,庭院小鬼伞在以蛋白胨为氮源的培养基中菌丝生长略强于硝酸钠,锥盖近地伞在以蛋白胨为氮源的培养基中菌丝生长稍强于硝酸铵(刘雅慧 2023)。其原因可能是蛋白胨作为有机氮源,含有一定量的维生素和糖类,能为菌丝提供碳源和生长因子等营养物质,而无机氮源则不含以上成分。

在 pH 单因素试验中,甜味小鬼伞最适 pH 范围 7–9,与祁连山野生毛头鬼伞一致(赵倩等 2024)。甜味小鬼伞在 pH 7 的培养基中生长最快,与灰盖拟鬼伞的最适 pH 一致(扈海静等 2020)。培养基 pH 为 9 时,甜味小鬼伞菌丝生长快且强,而庭院小鬼伞(刘雅慧和图力古尔 2023)菌丝生长明显慢于其他 pH 条件,由此可推测甜味小鬼伞菌丝生长不易受到 pH 变化的影响,适应能力较强。

在温度单因素试验中,甜味小鬼伞菌丝在

15–35 °C条件下均能生长, 25 °C条件下生长最快, 与庭院小鬼伞最适温度相同(刘雅慧和图力古尔 2023)。甜味小鬼伞在 20 °C以下和 30 °C以上时, 菌丝生长受到抑制, 长速明显减慢, 与庭院小鬼伞(刘雅慧和图力古尔 2023)、墨汁拟鬼伞(郝册 2011)和毛头鬼伞(赵倩等 2024)温度筛选试验的结果基本一致, 进一步支持鬼伞类是中温型真菌。

人工驯化试验发现庭院小鬼伞栽培料(刘雅慧和图力古尔 2023)适用于甜味小鬼伞, 表明这 2 个种类在出菇阶段营养需求基本相同。在发菌阶段, 两者在液体菌种接种后一周内均可观察到白色菌丝萌发生长, 甜味小鬼伞发菌期 20–25 d, 与毛头鬼伞在木屑栽培料中发菌时间一致(朱玉兰等 2015)。温差是鬼伞类真菌子实体分化发育过程中重要的环境因素, 庭院小鬼伞出菇过程中需要提供 10 °C温差(刘雅慧和图力古尔 2023), 野生毛头鬼伞出菇时需给予 5–7 °C温差(赵倩等 2024), 甜味小鬼伞菌丝大量扭结后需给予 2–4 °C温差, 适当的温差有助于子实体原基形成, 但不同种类对温差的要求不同。

本研究抗氧化活性试验表明: 甜味小鬼伞菌丝体和栽培子实体的羟自由基清除率随着醇提物浓度提高而上升。这与毛头鬼伞多糖清除羟自由基的规律一致(吴艳兵等 2007; 周林宗等 2018), 也与烟管菌 *Bjerkandera adusta* (Willd.) P. Karst. (康霞等 2025)和卵孢小奥德蘑 *Oudemansiella raphanipes* (Berk.) R.H. Petersen (杜萍等 2022)醇提物清除 ABTS⁺和羟自由基的规律一致。甜味小鬼伞栽培子实体醇提物对 ABTS⁺和羟自由基清除能力优于菌丝体, 这种子实体提取物抗氧化活性强于菌丝体提取物的现象也存在于香菇 *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler 和桑黄 *Phellinus igniarius* (L.) Quél. 中 (Reis *et al.* 2012; 应瑞峰等 2017)。其原因可能是固体和液体培养的条件差异; 也可能是子实体分化发育过程中多糖含量显著增加, 这种多糖大量合成的现象在茶树菇 *Agrocybe cylindracea* (DC.) Maire 中已有报道(刘金金 2024)。

目前对鬼伞类真菌研究大多集中在分类和

子实体分化发育, 除广泛栽培的毛头鬼伞研究较全面以外, 其他种类仅有部分开展了菌丝培养特性和生物活性物质的研究, 尽管近年来对多样野生大型真菌进行了人工驯化研究(戴玉成 2023; 李婉莹等 2023), 但对鬼伞类真菌研究较少。本研究基于甜味小鬼伞的生物学特性, 成功实现其人工驯化, 通过对该种菌丝生长条件及栽培关键技术的研究, 可以为鬼伞类真菌种质资源开发提供理论支撑与技术路径。

致谢

感谢河北师范大学生命科学学院葛荣朝教授、吕建华博士和李壮博士在菌种分离工作中的帮助, 以及河北农业大学园艺学院任慧慧、张原和张妍等同学在抗氧化活性测定过程中的帮助。

作者贡献

赵怡: 实验设计、实验、数据整理和论文撰写; 康霞: 实验设计、实验和数据整理; 常光雷、王立安和彭慧芬: 实验; 田景花: 实验指导和论文修改; 李守勉和李国杰: 实验设计、实验指导和论文修改。

利益冲突声明

该研究不存在任何潜在利益冲突的商业或财务关系。

[REFERENCES]

- Atlagić K, Živić M, Jakovljević D, Marković FJ, Šibul F, Pejın B, Karaman M, 2022. Cytotoxic activity of the crude polysaccharides /exopolysaccharides of *Coprinus comatus* and *Coprinellus truncorum*. *Natural Product Research*, 37(11): 1-6
- Bau T, Li HJ, Bao HY, Li Y, 2024. A revised checklist of poisonous mushrooms in China. *Journal of Fungal Research*, 22(4): 301-321 (in Chinese)
- Dai YC, 2023. Research progress on polypore domesticated cultivation in China. *Journal of Fungal Research*, 21(Z1): 151-156 (in Chinese)
- Du P, Yin YJ, Zhou H, Zhao H, Yang HY, Cao TX, 2022. Domesticated cultivation, nutrient composition and antioxidant activities of *Oudemansiella raphanipes*. *Mycosystema*, 41(9): 1471-1482 (in Chinese)

- Gao Z, 2021. Characterization and mechanism on renovating diabetic nephropathic of mycelial polysaccharides from *Coprinus comatus*. PhD Dissertation, Shandong Agricultural University, Tai'an. 1-113 (in Chinese)
- Guiraud P, Steiman R, Ait-Laydi L, Seigle-Murandi F, 1999. Degradation of phenolic and chloroaromatic compounds by *Coprinus* spp. *Chemosphere*, 38(12): 2775-2789
- Hao C, 2011. Study on the artificial domestication and nutrition component analysis of wild *Coprinus atramentarius*. MS Thesis, Beijing University of Agriculture, Beijing. 1-59 (in Chinese)
- Hu HJ, Peng WH, Wang RD, Zheng WC, Wang JR, 2020. Study on the biological characteristics of *Coprinopsis cinerea*. *Edible Fungi*, 42(4): 24-26, 32 (in Chinese)
- Huang M, 2019. Taxonomy and molecular phylogeny of coprinoid fungi from northeast China. MS Thesis, Jilin Agricultural University, Changchun. 1-117 (in Chinese)
- Jia BG, Li Y, Liu XR, Li D, Ma Y, 2024. Identification and preliminary study on *in vitro* antioxidant activity of a wild *Fomes fomentarius* L. ex. Fr. *Green Science and Technology*, 26(23): 96-99, 103 (in Chinese)
- Kang X, Chang GL, Ren J, Wang LA, Li X, Li SM, Li GJ, 2025. Biological characteristics, domestic cultivation, and antioxidant activities of *Bjerkandera adusta*. *Journal of Hebei Agricultural University*, 48(2): 26-36 (in Chinese)
- Li WY, Gao L, Wu F, Dou ZP, 2023. Research progress of edible and medicinal mushroom domesticated and cultivated in China during the last 10 years. *Mycosystema*, 42(10): 2011-2024 (in Chinese)
- Liao XC, 2006. The effects of nitrogen resource to the biomass, nitrogen absorption and nitrate reductase activity of ectomycorrhizal fungi. MS Thesis, Southwest University, Chongqing. 1-49 (in Chinese)
- Liu JJ, 2024. Evolutionary pattern of structure and type of *Agrocybe cylindracea* polysaccharide during the developmental process and preliminary study on its synthetic pathway. PhD Dissertation, Nanchang University, Nanchang. 1-185 (in Chinese)
- Liu YH, 2023. Cultivation characteristics and ontogeny research of coprinoid fungi. MS Thesis, Jilin Agricultural University, Changchun. 1-100 (in Chinese)
- Liu YH, Bau T, 2023. Biological characteristics and ontogeny of *Corinellus xanthothrix*. *Acta Edulis Fungi*, 30(2): 47-55 (in Chinese)
- Nguyen TK, Lee MW, Yoon KN, Kim HY, Jin GH, Choi JH, Im KH, Lee TS, 2014. *In vitro* antioxidant, anti-diabetic, anti-cholinesterase, tyrosinase and nitric oxide inhibitory potential of fruiting bodies of *Coprinellus micaceus*. *Mushroom*, 12(4): 330-340
- Novaković AR, Karaman MA, Kaišarević SN, Belović MM, Radusin TI, Beribaka MB, Ilić NM, 2016. *Coprinellus disseminatus* (Pers.) J.E. Lange 1938: *in vitro* antioxidant and antiproliferative effects. *Food and Feed Research*, 43(2): 93-101
- Pejin B, Tešanović K, Jakovljević D, Kaišarević S, Šibul F, Rašeta M, Karaman M, 2017. The polysaccharide extracts from the fungi *Coprinus comatus* and *Coprinellus truncorum* do exhibit AChE inhibitory activity. *Natural Product Research*, 33(5): 1-5
- Reis FS, Martins A, Barros L, Ferreira ICFR, 2012. Antioxidant properties and phenolic profile of the most widely appreciated cultivated mushrooms: a comparative study between *in vivo* and *in vitro* samples. *Food and Chemical Toxicology*, 50(3): 1201-1207
- Su YC, Li WB, Xiang YX, Wang SS, Chen G, 2021. Degradation of lignin by *Coprinus comatus* and optimization of its cultivation. *Journal of Jilin Agricultural University*, 43(3): 310-316 (in Chinese)
- Wang XH, Zhu XL, Lin JY, Gu XF, Peng QX, Xiao YZ, Ursula K, Fang ZM, 2024. An alkaline fungal laccase overexpressed in *Coprinopsis cinerea* shows application potential in treating high-salt dye wastewater. *Acta Microbiologica Sinica*, 64(8): 3014-3029 (in Chinese)
- Wang YH, Lin JF, Zhang WY, Guo LQ, 2008. Methods for DNA extraction from edible fungi. *Edible Fungi*, 30(3): 18-20 (in Chinese)
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J, 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gefand DH, Sninsky JJ, White JT (eds.) *PCR protocols: a guide to methods and applications*. Academic Press, San Diego. 315-322
- Wu F, Zhou LW, Yang ZL, Bau T, Li TH, Dai YC, 2019. Resource diversity of Chinese macrofungi: edible, medicinal and poisonous species. *Fungal Diversity*, 98: 1-76
- Wu YB, Xie LY, Xie LH, Lin QY, 2007. Physicochemical characteristics and antioxidant activity *in vitro* of polysaccharide from *Coprinus comatus*. *Acta Laser Biology Sinica*, 16(4): 438-442 (in Chinese)
- Xiong F, 2008. Analysis of molecular marker in germplasm resource of genus *Pleurotus*. MS Thesis, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou. 1-254 (in Chinese)
- Ying RF, Huang MG, Wang YS, Li TT, Fan GJ, Wu CE, 2017. Antioxidant activity of polysaccharides from *Phellinus igniarius* fruiting body and mycelium. *Food Research and Development*, 38(21): 1-5 (in Chinese)
- Zhao Q, Ma Z, Yang RX, Zhao X, Liang QQ, Niu X, 2024. Identification and biological characteristics of a wild

- Coprinus comatus* strain from Qilian Mountains. *Edible Fungi*, 46(3): 31-36 (in Chinese)
- Zhou LZ, Xu WB, Yang SM, 2018. Optimization of microwave-assisted extraction of polysaccharides from *Coprinus comatus* and determination of antioxidant activity. *Shandong Chemical Industry*, 47(13): 25-27 (in Chinese)
- Zhu LY, Huang M, Bau T, 2022. Taxonomy of coprinoid fungi in China. *Mycosystema*, 41(6): 878-898 (in Chinese)
- Zhu YL, Xie F, Wu PM, 2015. Isolation, identification and biological characteristics of a wild fungus of genus *Coprinus comatus* from Qilian Mountain. *Chinese Journal of Biologicals*, 28(6): 598-604 (in Chinese)
- [附中文参考文献]**
- 戴玉成, 2023. 中国多孔菌驯化栽培研究进展. *菌物研究*, 21(Z1): 151-156
- 杜萍, 尹玉娟, 周欢, 赵豪, 杨洪遥, 曹天旭, 2022. 卵孢小奥德蘑驯化栽培、营养成分及抗氧化活性. *菌物学报*, 41(9): 1471-1482
- 高政, 2021. 毛头鬼伞菌丝体多糖的结构特征及其对糖尿病肾损伤修复的相关机制初探. 山东农业大学博士学位论文, 泰安. 1-113
- 郝册, 2011. 野生墨汁鬼伞的人工驯化与营养成分分析. 北京农学院硕士学位论文, 北京. 1-59
- 扈海静, 彭炜航, 王日东, 郑文彩, 王建瑞, 2020. 灰拟鬼伞 *Coprinopsis cinerea* 的生物学特性研究. *食用菌*, 42(4): 24-26, 32
- 黄梅, 2019. 东北地区鬼伞类真菌分类与分子系统学研究. 吉林农业大学硕士学位论文, 长春. 1-117
- 贾宝光, 李颖, 刘新锐, 李冬, 马莹, 2024. 一株野生木蹄层孔菌的鉴定及体外抗氧化初步研究. *绿色科技*, 26(23): 96-99, 103
- 康霞, 常光雷, 任静, 王立安, 李肖, 李守勉, 李国杰, 2025. 烟管菌生物学特性、驯化栽培及抗氧化活性. *河北农业大学学报*, 48(2): 26-36
- 李婉莹, 高磊, 吴芳, 豆志鹏, 2023. 中国蘑菇类食药用品近十年驯化栽培研究进展. *菌物学报*, 42(10): 2011-2024
- 廖晓初, 2006. 氮源对外生菌根生长、氮吸收和硝酸还原酶活性的影响. 西南大学硕士学位论文, 重庆. 1-49
- 刘金金, 2024. 茶树菇生长发育过程中多糖结构及类型的演变规律及其合成途径初探. 南昌大学博士学位论文, 南昌. 1-185
- 刘雅慧, 2023. 鬼伞类真菌的培养特性及个体发育研究. 吉林农业大学硕士学位论文, 长春. 1-100
- 刘雅慧, 图力古尔, 2023. 庭院小鬼伞的培养特性及个体发育. *食用菌学报*, 30(2): 47-55
- 苏玉春, 李文斌, 向应欣, 汪树生, 陈光, 2021. 毛头鬼伞降解木质素及其优化条件. *吉林农业大学学报*, 43(3): 310-316
- 图力古尔, 李海蛟, 包海鹰, 李玉, 2024. 中国毒蘑菇新修订名录. *菌物研究*, 22(4): 301-321
- 王先华, 朱雪玲, 林嘉钊, 谷贤富, 彭齐霞, 肖亚中, Ursula Kues, 方泽民, 2024. 灰盖鬼伞中过表达的碱性真菌漆酶在高盐染料废水中的应用潜力. *微生物学报*, 64(8): 3014-3029
- 王艺红, 林俊芳, 张炜阳, 郭丽琼, 2008. 食用菌 DNA 提取方法研究. *食用菌*, 30(3): 18-20
- 吴艳兵, 谢荔岩, 谢联辉, 林奇英, 2007. 毛头鬼伞 (*Coprinus comatus*) 多糖的理化性质及体外抗氧化活性. *激光生物学报*, 16(4): 438-442
- 熊芳, 2008. 分子标记鉴别侧耳属 10 种食用菌种质资源的研究. 福建农林大学硕士学位论文, 福州. 1-254
- 应瑞峰, 黄梅桂, 王耀松, 李婷婷, 范龚健, 吴彩娥, 2017. 桑黄子实体与桑黄菌丝多糖抗氧化活性研究. *食品研究与开发*, 38(21): 1-5
- 赵倩, 马振, 杨若璇, 赵鑫, 梁倩倩, 牛鑫, 2024. 1 株祁连山野生毛头鬼伞菌株鉴定及生物特性研究. *食用菌*, 46(3): 31-36
- 周林宗, 徐文博, 杨申明, 2018. 微波辅助提取毛头鬼伞多糖及其抗氧化性测定. *山东化工*, 47(13): 25-27
- 朱力扬, 黄梅, 图力古尔, 2022. 中国鬼伞类真菌的分类. *菌物学报*, 41(6): 878-898
- 朱玉兰, 谢放, 吴萍民, 2015. 一株祁连山野生毛头鬼伞菌的分离鉴定及其生物学特性分析. *中国生物制品学杂志*, 28(6): 598-604