

热区橡胶林下适栽红托竹荪的菌株筛选和生物学特性研究

张凯鹏^{1,2,3}, 程汉亭^{1,2}, 罗贞全⁴, 徐林^{1,2}, 步连燕^{1,2}, 丁野^{1,2}, 严廷良^{1,2},
李勤奋^{1,2*}, 杨阳^{1,2*}

1. 中国热带农业科学院环境与植物保护研究所/海南省热带生态循环农业重点实验室, 海南海口 571101; 2. 农业农村部热区高效农业绿色低碳重点实验室, 海南海口 571101; 3. 华中农业大学植物科学技术学院应用真菌研究所, 湖北武汉 430070; 4. 海南医科大学热带医学院, 海南海口 571101

摘要: 为推动热区红托竹荪产业的快速发展, 本研究对收集的 11 株竹荪菌株进行 ITS 分子条形码鉴定和菌丝体拮抗试验, 并基于种质资源评价开展热区适栽菌株的筛选和生物学特性研究。试验结果表明: (1) 收集的 11 株竹荪菌株均为红托竹荪, 其中有 2 株菌株为同一菌株, 即共获得 10 株不同的红托竹荪菌株; (2) 室内菌丝评价中, 147、160、H29 和 L70 菌株的菌丝体在红糖培养基和橡胶木屑培养基上均长势较好、吃料较快, 且菌丝体在 10 °C 和 35 °C 胁迫后均能恢复生长, 适合热区的反季节栽培; (3) 在橡胶林下进行出菇试验, 4 株红托竹荪菌株均能出菇, 其中 H29 出菇整齐、朵型好、耐储存、产量较高 (750 kg/667 m²), 适合就地出花; L70 菌株出蛋多、生育期短、产量高 (800 kg/667 m²), 适合竹蛋集中出花; (4) 单因素试验中, H29 和 L70 菌丝体的营养需求基本一致, 最适碳源为海藻糖和淀粉, 最适氮源为麦芽浸粉, 最适温度为 25~28 °C, 最适 pH 为 4~5; (5) 正交试验中, 2 株菌株的菌丝体均在配方 4 (可溶性淀粉、麦芽浸粉、25 °C、pH=4) 中长势最好, 论证了单因素试验结果, 但在配方 6 中 2 株菌株的菌丝体更洁白浓密, 适用于红托竹荪的菌种保藏; SPSS 分析显示, 各因素对菌丝生长的影响程度分别为: 氮源>pH>碳源>温度 (H29), 氮源>pH>温度>碳源 (L70), 氮源和 pH 影响较大。本研究结果可为红托竹荪菌株育种、热区规模化栽培红托竹荪, 以及热区食用菌产业发展提供参考。

关键词: 红托竹荪; 热带地区; 营养需求; 生长条件; 橡胶产业

中图分类号: S432.1 文献标志码: A

Strains Screening and Biological Characteristics of *Phallus rubrovolvatus* Suitable for Cultivation in Rubber Forests of Tropical Regions

ZHANG Kaipeng^{1,2,3}, CHENG Hanting^{1,2}, LUO Zhenquan⁴, XU Lin^{1,2}, BU Lianyan^{1,2}, DING Ye^{1,2},
YAN Tingliang^{1,2}, LI Qinfen^{1,2*}, YANG Yang^{1,2*}

1. Environment and Plant Protection Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences / Hainan Key Laboratory of Tropical Eco-Circular Agriculture, Haikou, Hainan 571101, China; 2. Key Laboratory of Green and Low Carbon Green Agriculture in Tropical of China, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Haikou, Hainan 571101, China; 3. Institute of Applied Mycology, College of Plant Science Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan, Hubei 430070, China; 4. School of Tropical Medicine, Hainan Medical University, Haikou, Hainan 571101, China

Abstract: ITS molecular identification and mycelial antagonism experiments on 11 strains collected in the early stage, then screened and studied the biological characteristics of suitable strains for cultivation in tropical regions based on germplasm evaluation to promote the rapid development of *Phallus rubrovolvatus* industry in tropical regions. The strains collected were all *P. rubrovolvatus*, of which two strains were synonyms, resulting in a total of 10 different *P. rubrovolvatus* strains. In myce-

收稿日期 2024-12-16; 接受日期 2025-01-23

基金项目 海南省自然科学基金项目 (No. 322QN365); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项 (No. 1630042022003); 海南省重点研发项目 (No. ZDYF2023XDNY065)。

作者简介 张凯鹏 (2000—), 男, 硕士研究生, 研究方向: 食用菌分子育种。*通信作者 (Corresponding author): 杨阳 (YANG Yang), E-mail: yyjob1992@163.com; 李勤奋 (LI Qinfen), E-mail: qinfenli2005@163.com。

lial evaluation experience, the mycelia of strains 147, 160, H29 and L70 showed good growth and high degradability on brown sugar medium and rubber sawdust medium, and the mycelia were able to recover growth after stress at 10 °C and 35 °C, making them suitable for off-season cultivation in tropical regions. In rubber forests, four strains were able to produce mushrooms, and H29 produced mushrooms neatly, good shape, storage resistance and high yield (750 kg/667 m²), making it suitable for on-site growing indusium. L70 strain produced more mushroom-eggs, short growth period and high yield (800 kg/667 m²), making it suitable for concentrated growing indusium of mushroom-eggs after harvesting. In the single factor experiment, the nutritional requirements of H29 and L70 mycelia were basically the same, the most suitable carbon sources were trehalose and starch, the most suitable nitrogen source was malt extract, the most suitable temperature was 25–28 °C, and the most suitable pH was 4–5. In the orthogonal experiment, both strains showed the best growth in formula 4 (soluble starch, malt extract, 25 °C, pH=4), demonstrating the results of the single factor experiment. Especially, in formula 6, the mycelia of both strains were whiter and denser, making it suitable for the preservation of *P. rubrovolvatus*. SPSS analysis showed that the influence degree of various factors on mycelial growth was as follows: nitrogen source>pH>carbon source>temperature (H29), nitrogen source>pH>temperature>carbon source (L70), with nitrogen source and pH having a greater impact. The study could provide reference for breeding, large-scale cultivation of *P. rubrovolvatus*, and the development of mushroom industry in tropical regions.

Keywords: *Phallus rubrovolvatus*; tropical regions; nutrition demand; growth conditions; rubber industry

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2025.05.012

红托竹荪 [*Phallus rubrovolvatus* (M. Zang, D.G. Ji & X.X. Liu) Kreisel], 又名织金竹荪, 素有“菌中皇后”、“山珍之王”的美誉^[1-2]。其味道鲜美、营养丰富^[3], 具有抗氧化^[4]、抗衰老^[5]、抗肿瘤^[6]、护肝^[7]等多种药用功能, 深受消费者喜爱。目前, 红托竹荪被公认为是我国广泛种植的四大竹荪中品质最优的中温型食用菌, 是一种理想栽培的珍稀食药菌, 市场前景广阔^[8]。热区反季节栽培红托竹荪, 有助于解决食用菌生产淡季的市场供应问题, 对热区食用菌产业发展具有重要意义^[9]。橡胶是热区重要的经济作物, 其林下复合结构明显, 具有天然氧吧、水分涵养和环境稳定等优势, 为发展林下食用菌提供了优越的自然条件^[10]。在橡胶林下栽培红托竹荪, 既可以充分利用橡胶林条件降低栽培成本, 还能通过土壤改良促进橡胶树生长, 有助于橡胶林下复合经济的绿色可持续发展^[11]。同时, 林下食用菌栽培还可为当地居民提供务工岗位, 解决部分农民的就业问题, 具有一定的社会效益^[12]。

目前, 红托竹荪主要在贵州、云南、广西、福建、广东等地栽培, 其中以福建三明市、南平市以及云南昭通市、贵州毕节市、四川宜宾市最为有名^[13]。在海南, 红托竹荪的栽培起步较晚, 且主要集中在白沙和海口两地的橡胶林下栽培。据不完全统计, 红托竹荪在海南的栽培规模从 2020 年到 2024 年累计约 33.3 万 m², 年产值突破 1500 万元。突出的经济效益极大地提高了农户对

红托竹荪栽培的积极性, 其栽培面积也随之增加, 成为热区食用菌产业中期望较高的栽培物种。

种质资源是食用菌研究的基础, 对食用菌产业发展至关重要^[14]。研究人员发现, 我国红托竹荪菌株的遗传多样性丰富^[15], 在生育期、产量、子实体大小和形态等多种农艺性状上存在显著差异^[16], 为红托竹荪菌株的遗传育种和定向培育奠定了基础。然而, 红托竹荪在热区的栽培刚刚起步, 适栽菌株的筛选工作尚未开展。目前, 热区栽培的红托竹荪菌棒多采购自贵州、四川等地, 存在菌种不适宜、栽培基质不明确、运输成本高等诸多问题。并且, 我国热区的食用菌栽培主要以橡胶木屑为主, 红托竹荪对橡胶木屑的降解利用也尚不明确。课题组前期研究发现, 以橡胶木屑为主料的红托竹荪菌棒, 在菌丝体生长后期会出现菌棒变软、后劲不足等问题, 对红托竹荪的本地化制种存在困扰。另一方面, 在食用菌生长发育过程中, 不同物种甚至同一物种的不同菌株所需要的营养和环境是不同的^[17]。唐玲等^[18]通过将不同竹荪菌株接种在相同培养基中, 观察到菌株间菌丝生长差异明显, 有的菌株长势较好, 但有的几乎不生长。进一步比较发现, 不同菌株的生长温度和 pH 也存在一定差异^[19]。因此, 探究各菌株的生物学特性在菌株的扩大培养中十分必要。

本研究以前期在国内收集的 11 株红托竹荪菌株为材料, 通过比较菌丝长势、橡胶木屑吃料

能力、温度适应性和出菇性状等，综合筛选热区适栽的红托竹荪菌株。并基于单因素和正交试验，针对性开展适栽菌株的生物学特性研究，以明确其菌丝体生长的培养基配方和培养条件。该研究结果，对热区红托竹荪的规模化栽培，以及热区林下复合经济的可持续发展具有推动作用。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌株 实验室前期在国内收集的 11 株竹荪菌株，具体信息见表 1。所有菌株现保存于中国热带农业科学院环境与植物保护研究所菌种保藏中心。

1.1.2 供试培养基 （1）基础培养基：葡萄糖 20 g、麦芽浸粉 10 g、红糖 10 g、琼脂 20 g，加水定容至 1 L；（2）红糖培养基：蔗糖 8.75 g、可溶性淀粉 3.125 g、麸皮 2.5 g、豆粉 1.25 g、酵母浸粉 0.5 g、红糖 8.75 g、VB₁ 1 片、磷酸二氢钾 1.25 g、硫酸镁 1 g、琼脂 20 g，加水定容至 1 L；橡胶木屑培养基：（3）橡胶木屑 60%、麦麸 15%、白糖 1%、KH₂PO₄ 0.2%、MgSO₄ 0.3%、石膏 1.5%、三十烷醇 1 mg/L，培养料湿度 65%。

表 1 红托竹荪菌株信息统计
Tab. 1 Information table of *P. rubrovolvatus* strains

编号 No.	菌株 Strain	类型 Type	来源 Source
1	147	栽培	贵州省贵阳市
2	160		海南省白沙县
3	199		
4	200	野生	贵州省毕节市
5	201		
6	202		贵州省贞丰县
7	207	栽培	福建省福州市
8	208		海南省白沙县
9	H29		贵州省贵阳市
10	M83		
11	L70		

1.2 方法

1.2.1 ITS 条形码鉴定 使用新型植物基因组 DNA 提取试剂盒，提取 11 株竹荪菌株的 DNA，并用 1%的琼脂糖凝胶电泳评估 DNA 质量。采用通用引物 ITS1/ITS4 进行 PCR 扩增，扩增体系和扩增程序参考陆珠等^[20]的方法。将 PCR 产物送到深圳华大基因有限公司进行测序，测序结果在 NCBI 数据库中进行 BLAST 比对。

1.2.2 拮抗试验 将鉴定为红托竹荪的菌株活化后，用直径 7 mm 的无菌枪头打孔，采用“两两对峙”的方法接种在平板上。25 ℃恒温暗培养至 2 株菌株的菌丝体接触后，继续培养 3~5 d 观察是否有拮抗线。

1.2.3 种质资源评价 （1）菌丝体生长速度和吃料能力评价。用直径 8 mm 的无菌枪头在活化好的竹荪平板上打孔，分别转移到红糖培养基和橡胶木屑培养基正中央，25 ℃恒温暗培养。采用“十”字交叉法计算菌丝生长速度，并观察菌丝长势，+ 表示菌丝较稀疏；++ 表示菌丝浓密；+++ 表示菌丝很浓密。每个处理设 3 个生物学重复，试验数据在 SPSS 软件中分析^[21]。

（2）菌丝体温度适应性评价。结合热区冬季温度变化特点，将活化好的竹荪菌丝体，转移到新的红糖培养基上继续培养 1 周后，分别进行 10 ℃和 35 ℃的温度胁迫 24 h，之后重新放回 25 ℃培养箱继续培养，观察各菌株的菌丝体能否恢复生长，并记录菌丝恢复生长速度。

（3）红托竹荪的室外出菇试验。基于菌丝体评价结果，将初筛菌株的菌棒在橡胶林下进行反季节栽培。观察并统计各菌株的出菇产量、生育期、子实体形态等农艺性状，综合筛选胶林下适栽的红托竹荪菌株。

1.2.4 生物学特性分析 （1）碳源试验。分别用果糖、可溶性淀粉、海藻糖、蔗糖为碳源，替代基础培养基中的葡萄糖。用直径 7 mm 的无菌枪头打孔，将圆形菌块接种在培养基中央，25 ℃恒温暗培养至菌丝长满。接种、测量和分析方法同 1.2.3（1）。

（2）氮源试验。分别以酵母浸粉、蛋白胨、尿素、硫酸铵为氮源，替代基础培养基中的酵母浸粉。接种、测量和分析方法同 1.2.3（1）。

（3）温度试验。在基础培养基上接种后，分别置于 19、22、25、28、31 ℃培养箱中恒温暗培养。接种、测量和分析方法同 1.2.3（1）。

（4）pH 试验。以基础培养基为供试培养基，灭菌后在超净台内用 1 mol/L 的 HCL 和 NaOH 调节 pH，分别调至 pH 为 4、5、6、7、8。接种、测量和分析方法同 1.2.3（1）。

（5）正交试验。基于单因素试验结果，分别从各因素中选取 3 个长势最好的条件，组成 4 因素 3 水平的正交试验，对培养条件进行验证和优化。接种、测量和分析方法同 1.2.3（1）。

1.3 数据处理

利用 SPSS 26 软件对试验数据进行统计分析, 使用 GraphPad Prism 9.5 软件进行作图^[20-21]。

2 结果与分析

2.1 菌株鉴定

经基因组提取和 ITS1/ITS4 扩增, 获得了 11 个竹荪菌株的 rDNA-ITS 序列, 琼脂糖凝胶电泳结果显示条带大小均在 600 bp 左右 (图 1A)。在 NCBI 数据库中进行 BLAST 同源性对比, 所有菌株的 ITS 序列与已公布的红托竹荪 ITS 序列的相似性均在 99% 以上。因此, 鉴定 11 个竹荪菌株均为红托竹荪。

2.2 拮抗试验

将 11 株红托竹荪菌株进行两两对峙培养, 发现菌株 199 和菌株 M83 间无明显拮抗线, 且菌丝形态一致, 2 株菌株应为同一菌株。其他 10 个菌株间, 均存在显著的拮抗线, 为不同菌株 (图 1B)。

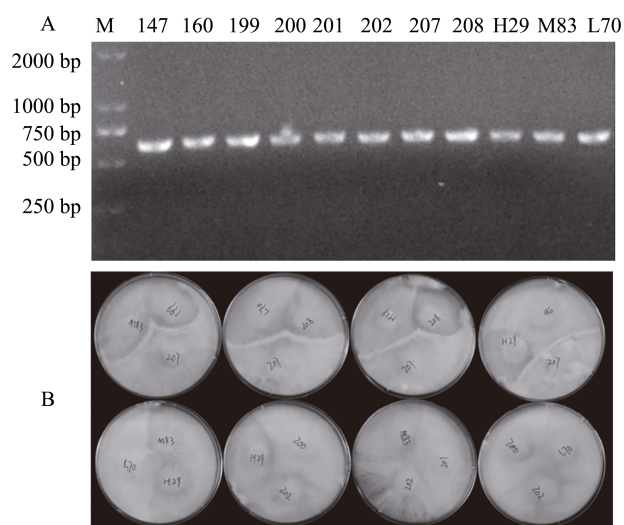


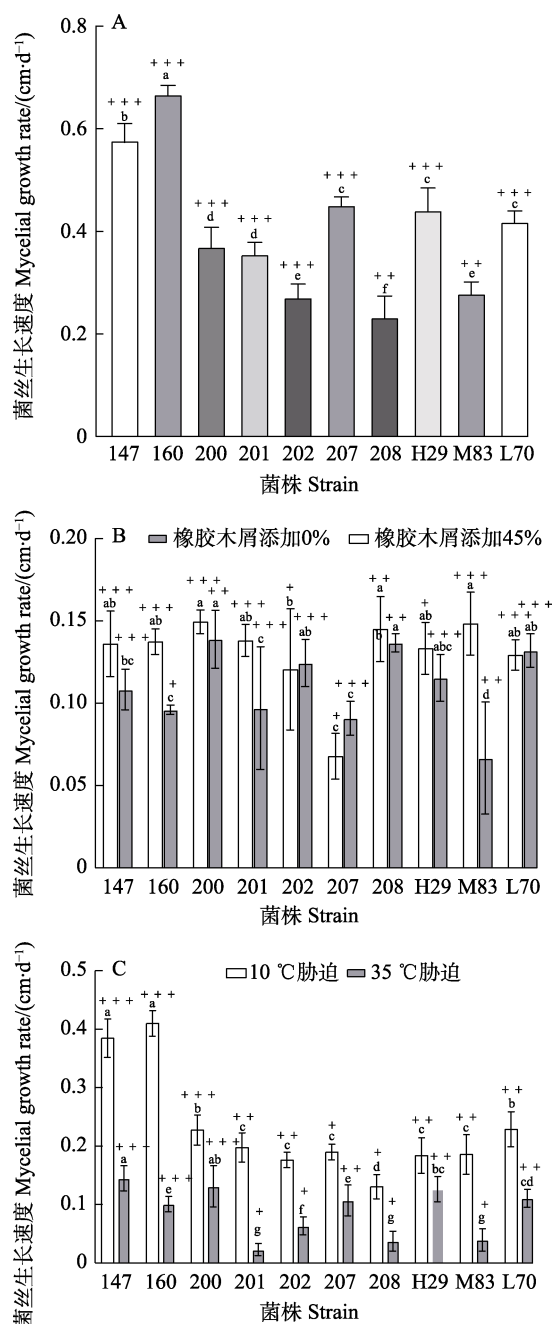
图 1 竹荪菌株的 ITS 电泳和拮抗试验

Fig. 1 Gel electrophoresis of ITS sequence and mycelial antagonism test of *P. rubrovolvatus*

2.3 种质资源评价

2.3.1 菌丝体生长速度评价 如图 2A 所示, 各菌株在红糖培养基上的生长速度差异明显, 菌落形态也有所不同。菌株 147、160、207、H29 和 L70 的菌丝体生长速度最快, 为 0.44~0.67 cm/d, 其中菌株 207 和 H29 的菌丝更浓密。菌株 200 和 201 生长速度较快, 分别为 0.37、0.36 cm/d, 菌丝较浓密。菌株 202、208 和 M83 生长速度最慢, 为 0.23~0.28 cm/d, 并出现了菌丝体不规则加厚。

2.3.2 菌丝体吃料能力评价 基于前期配方筛选, 选取橡胶木屑添加比例分别为 0 和 45% 的木屑配方进行吃料能力评价。结果显示 (图 2B), 各菌株在橡胶木屑培养基上均能生长。其中, 菌株 200、208 和 M83 的菌丝体在橡胶木屑上长势最好, 生长速度为 0.14~0.15 cm/d。其次是菌株 147、160、201、H29 和 L70, 生长速度为 0.13~0.14 cm/d。菌株 202 和 207 的吃料能力一般。除菌株 202、207



不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference ($P < 0.05$).

图 2 红托竹荪菌株的菌丝体评价

Fig. 2 Mycelial evaluation of *P. rubrovolvatus* strains

和 L70 外，橡胶木屑培养基上的菌丝长势总体优于杂屑培养基。

2.3.3 菌丝体温度适应性评价 如图 2C 所示，各菌株对温度胁迫的响应存在一定差异。遭受 10℃低温胁迫后，各菌株的菌丝体均能恢复生长，但生长速度差异较大。其中，147、160 的恢复生长速度最快为 0.39 和 0.41 cm/d；200 和 L70 的恢复生长速度较快，为 0.23 cm/d；208 的恢复生长速度最慢，仅为 0.02 cm/d。在 35℃高温胁迫下，各菌株菌丝体的恢复生长情况也存在较大差异。其中，147、200、H29 和 L70 的恢复生长速度较快，为 0.11~0.14 cm/d；菌株 201、208、M83 的菌丝体几乎不能生长，恢复生长速度仅为 0.02~0.04 cm/d。

2.3.4 出菇评价 基于菌丝评价结果，对菌株 147、160、H29 和 L70 菌株进行热区橡胶林下的出菇试验。结果表明（表 2、图 3），各菌株均能正常出菇，但在生育期、产量、子实体形态等方面表现出差异。其中，菌株 H29 出菇整齐、朵型

好、产量较高（750 kg/667 m²），竹花较软且耐储存，适合就地出花后售卖。L70 菌株出蛋多、生育期短、产量高（800 kg/667 m²），但竹花较脆耐存储，适合竹蛋期采摘后统一出花。

综上，菌株 H29 和 L70 的菌丝体和出菇性状综合表现最优，可作为热区橡胶林下适栽菌株。

2.4 生物学特性分析

2.4.1 最适碳源筛选 由图 4A 可知，H29 和 L70 的菌丝体在 5 种供试碳源上均可生长，但菌丝生长速度和长势存在差异。以海藻糖为碳源时，2 株菌株的菌丝生长速度最快，分别为 0.40、0.41 cm/d，且菌丝浓密，菌落形状整齐；以可溶性淀粉为碳源时，2 株菌株的菌丝浓密且菌落规则，菌丝生长速度与海棠糖差异不显著；以蔗糖为碳源时，L70 的菌丝生长速度与海棠糖和淀粉差异不显著，但菌落边缘菌丝稀疏且不规则，H29 的菌丝浓密，但生长速度较慢；以葡萄糖和果糖为碳源时，2 株菌株生长速度较慢，与其他碳源差异显著。综上，2 株红托竹荪的最适碳源均为海藻糖和淀粉。

2.4.2 最适氮源筛选 由图 4B 可知，H29 和 L70 的菌丝体在 5 种供试氮源上，生长速度和长势均存在显著差异，且在尿素培养基上均不能生长。以硫酸铵为氮源时，菌丝生长速度最快，分别为 0.25 cm/d 和 0.32 cm/d，但菌丝非常稀薄；以麦芽浸粉为氮源时，菌落形状不规则，但菌丝生长速度较快且菌丝较浓密，其中 H29 的菌丝生长速度与硫酸铵上差异不显著；以蛋白胨为氮源时，菌丝浓密且菌落形状较规则，但生长速度较慢，分别为 0.14 cm/d 和 0.15 cm/d；以酵母浸粉为氮源时，菌落规则，但菌丝萌发后生长速度过慢，其中 H29 的菌丝几乎不再生长。综合菌丝长势，2 株红托竹荪在本研究中的最适氮源均为麦芽浸粉。

2.4.3 生长温度筛选 由图 5A 可知，H29 和 L70 的菌丝体在 19~31℃范围内均能生长，且菌丝生长速度随温度升高呈现先增加后下降的趋势。H29 菌株在 25℃和 28℃生长速度最快，分别为 0.31 cm/d 和 0.32 cm/d，菌丝浓密且菌落规则；在 22℃条件下，菌丝生长速度显著下降，并且菌落边缘出现不规则加厚。L70 菌株在 28℃生长速度最快，为 0.39 cm/d，菌丝浓密且菌落形状规则；在 22℃和 25℃时菌丝生长速度较快，但与 28℃存在显著差异。2 株菌株在 19℃和 31℃条件下，菌丝生长均受到抑制，后期几乎不生长。综上，H29 的最适温度为 25~28℃，L70 的最适温度为 28℃。

表 2 红托竹荪菌株的农艺性状
Tab. 2 Agronomic traits of *P. rubrovolvatus* strains

菌株 Strain	出原基时间 Primordium emergence time/d	一潮采收 时间 Harvesting time/d	产量 Yield/ [kg·(667 m ⁻²)]	形态描述 Morphological character
147	29	98	650	竹花较大，裙较长较脆
160	35	102	600	竹花较小，裙中等较脆
H29	23	89	750	竹花较大，裙中等较长较软
L70	30	94	800	竹花中等大，裙较长较脆

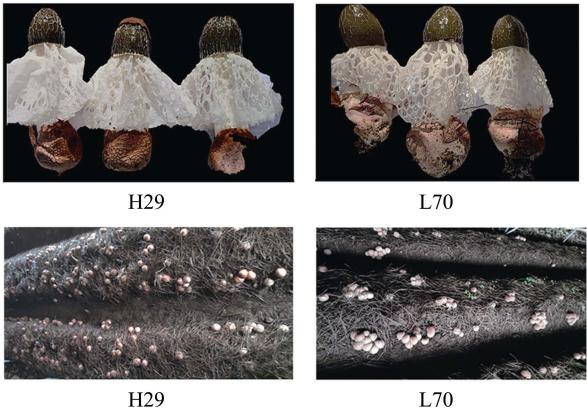
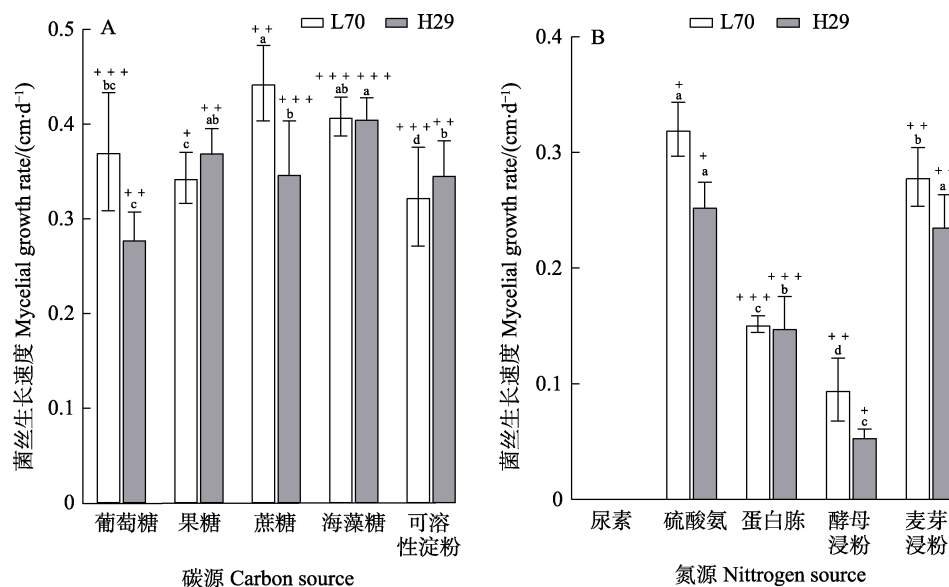


图 3 红托竹荪菌株的出菇形态

Fig. 3 Characteristic of fruiting bodies of *P. rubrovolvatus*

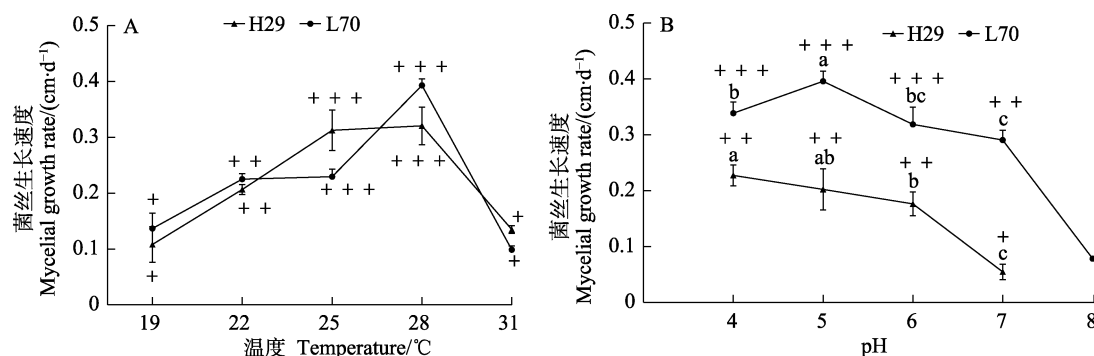


不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference ($P < 0.05$).

图 4 红托竹荪碳氮源筛选

Fig. 4 Optimal carbon and nitrogen source screening of *P. rubrovolvatus*



不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference ($P < 0.05$).

图 5 红托竹荪最适温度和 pH 筛选

Fig. 5 Optimal temperature and pH screening of *P. rubrovolvatus*

2.4.4 适宜 pH 筛选 由图 5B 可知, 2 株菌株的菌丝体在 pH 4~8 范围内的生长速度和长势均存在显著差异。H29 菌株在 pH 4 和 pH 5 条件下生长速度最快, 分别为 0.22 cm/d 和 0.21 cm/d, 菌丝较浓密且菌落形状规则; 在 pH 6 和 pH 7 条件下菌丝生长速度较快, 但均出现同心圆式胁迫生长圈, 菌落边缘菌丝稀疏; 在 pH 8 条件下停止生长。L70 菌株在 pH 4~6 范围内菌丝生长较快菌落形状规则, 在 pH 5 时菌丝生长速度最快 (0.39 cm/d) 且菌丝最浓密; 在 pH 超过 6 后菌丝生长速度显著下降且菌丝变稀疏, 与 H29 一样出现同心圆式胁迫生长圈。综上, 2 株红托竹荪的菌丝均喜酸性生长, 在 pH 4~5 条件下长势最好。

2.4.5 正交试验 基于单因素试验结果进一步开展正交试验 (表 3), 以验证和优化 2 株菌株菌丝体生长的最优条件。结果表明 (表 4、表 5), H29 和 L70 在 9 种配方下均可生长, 但菌丝体的生长速度和长势存在显著差异。H29 菌株在配方 1、2 和 4 条件下菌丝生长速度最快, 但在配方 1 和 2 条件下菌丝稀疏, 生物量较低, 在配方 4 (淀粉、麦芽浸粉、25 °C 和 pH 4) 条件下菌丝浓密且菌落形状规则。L70 菌株在配方 4 条件下生长速度最快, 为 0.48 cm/d, 菌丝浓密且性状规则。进一步比较发现, 2 株菌株在配方 6 (海藻糖、麦芽浸粉、28 °C 和 pH=6) 条件下菌丝生长速度虽与配方 4 具有显著差异, 但菌丝最浓密且性状规则。

表 3 红托竹荪菌丝生长的正交试验设计
Tab. 3 Orthogonal experimental design of mycelial growth of *P. rubrovolvatus*

编号 No.	碳源 Carbon source	氮源 Nitrogen source	温度 Temperature	pH
1	海藻糖	蛋白胨	22	4
2	淀粉	硫酸铵	25	5
3	蔗糖	麦芽浸粉	28	6

表 4 H29 菌株的正交试验结果
Tab. 4 Orthogonal experimental results of H29

编号 No.	碳源 Carbon source	氮源 Nitrogen source	温度 Temperature	pH	菌丝生长速度 Mycelial growth rate/(cm·d ⁻¹)
1	3	2	3	1	0.3481±0.013 ^a
2	3	3	1	2	0.3504±0.010 ^a
3	2	1	3	2	0.1656±0.012 ^d
4	2	3	2	1	0.3535±0.017 ^a
5	2	2	1	3	0.2386±0.006 ^c
6	1	3	3	3	0.3008±0.013 ^b
7	1	1	1	1	0.2412±0.022 ^c
8	3	1	2	3	0.1169±0.013 ^e
9	1	2	2	2	0.2944±0.082 ^b
K1	0.836	0.524	0.830	0.943	
K2	0.758	0.881	0.765	0.810	
K3	0.815	1.005	0.815	0.656	
k1	0.279	0.175	0.277	0.314	
k2	0.253	0.294	0.255	0.270	
k3	0.272	0.335	0.272	0.219	
R	0.026	0.160	0.022	0.096	

注：不同小写字母表示处理间差异显著（ $P<0.05$ ）。
Note: Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ($P<0.05$).

表 5 L70 菌株的正交试验结果
Tab. 5 Orthogonal experimental results of L70

编号 No.	碳源 Carbon source	氮源 Nitrogen source	温度 Temperature	pH	菌丝生长速度 Mycelial growth rate/(cm·d ⁻¹)
1	3	2	3	1	0.3554±0.02 ^c
2	3	3	1	2	0.3361±0.02 ^{cd}
3	2	1	3	2	0.2400±0.01 ^e
4	2	3	2	1	0.4800±0.05 ^a
5	2	2	1	3	0.3610±0.01 ^{bc}
6	1	3	3	3	0.3465±0.01 ^c
7	1	1	1	1	0.2658±0.01 ^e
8	3	1	2	3	0.3107±0.09 ^d
9	1	2	2	2	0.3871±0.01 ^b
K1	0.999	0.817	0.963	1.101	
K2	1.081	1.104	1.178	0.963	
K3	1.002	1.163	0.942	1.018	
k1	0.333	0.272	0.321	0.367	
k2	0.360	0.368	0.393	0.321	
k3	0.334	0.388	0.314	0.339	
R	0.027	0.115	0.079	0.046	

注：不同小写字母表示处理间差异显著（ $P<0.05$ ）。
Note: Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ($P<0.05$).

SPSS 分析结果（表 6、表 7）显示，各因素对 H29 菌丝生长的影响程度依次为：氮源>pH>碳源>温度，对 L70 菌丝生长的影响程度依次为：氮源>pH>温度>碳源。结果表明，氮源和 pH 对红托竹荪菌丝生长的影响程度较大，碳源和温度的影响程度较小。

表 6 H29 菌株的方差分析
Tab. 6 Variance analysis of H29

来源 Source	平方和 Sum of squares	自由度 df	<i>F</i>	<i>P</i>
碳源	0.009	2	22.317	*
氮源	0.340	2	859.599	*
温度	0.007	2	17.091	*
pH	0.105	2	264.659	*
误差	0.013	67		
总和	6.222	76		

注：*表示处理间差异显著（ $P<0.05$ ）。
Note: * indicates significant difference among treatments ($P<0.05$).

表 7 L70 菌株的方差分析
Tab. 7 Variance analysis of L70 strain

来源 Source	平方和 Sum of squares	自由度 df	<i>F</i>	<i>P</i>
碳源	0.014	2	6.980	*
氮源	0.206	2	100.839	*
温度	0.104	2	50.693	*
pH	0.035	2	16.909	*
误差	0.084	82		
总和	11.225	91		

注：*表示处理间差异显著（ $P<0.05$ ）。
Note: * indicates significant difference among treatments ($P<0.05$).

3 讨论

由于我国热带地区长夏短冬，夏季高温多雨，食用菌产业发展一直相对滞后。据统计，海南省食用菌栽培起源于 20 世纪 80 年代，截止目前，规模化生产企业仅有 12 家，年产菌棒 4000 万棒，与多数食用菌大省相差甚远^[22]。目前，在我国热区栽培的食用菌多为高温型菌株，种类仅 10 种左右，已规模化栽培的更是屈指可数^[23]。近年来，团队成员发现在热区反季节栽培红托竹荪具有较高的经济效益。同时，热区橡胶林资源丰富，发展橡胶林下食用菌产业，对稳定胶农增收、胶企增效也具有重要意义。

近年来，随着食用菌产业的不断发展，市场上菇农自行引种、制种、继代培养等问题加剧，

菌种单一、退化、同物异名的问题愈加突出^[24]。本研究对收集的竹荪菌株进行拮抗试验发现,菌株 199 和 M83 菌株间无明显拮抗线,可能为同一菌株,为后续的菌株筛选提供了参考。通过菌丝体吃料能力评价发现,多数菌株在橡胶木屑上的吃料能力较差,生长较慢。并且,在遭受拟合热区冬季温度变化的低温(10℃)和高温胁迫(35℃)后,菌丝体恢复生长速度较慢。推测可能由于红托竹荪长期在贵州、四川等地栽培,菌株本身形成了环境和基质适应性,导致其对新环境和新基质的适应性较差^[25]。可见,在食用菌引种过程中,菌株的本地化筛选和评价具有其必要性。

据统计,目前食用菌的生物学特性研究大多只针对一株菌株开展,由于菌株间的遗传多样性,导致试验结果的通用性较差^[26]。因此,本研究以筛选的 2 株农艺性状不同的菌株 H29 和 L70 为材料,通过单因素和正交试验探究菌丝生长的最适碳源、碳源、温度和 pH,为后续红托竹荪在热区的扩大栽培奠定基础。结果表明,2 株菌株在多糖和双糖上的菌丝长势优于单糖培养基,与多数食用菌优先利用单糖或双糖的结果有一定差异^[27]。推测可能是由于红托竹荪菌丝生长较慢,多糖和双糖可以提供更多、更丰富的能量供其生长,因此长势更好^[28]。在氮源筛选试验中,菌丝体在硫酸铵培养基上生长最快,与龚光禄等^[29]研究相符,但菌丝体较稀薄;在麦芽浸粉培养基上,菌丝生长速度较快且菌丝较浓密。可见红托竹荪菌株和大多数食用菌一样,在有机氮上长势更好^[30-32]。在温度筛选试验中,2 株菌株在 25~28℃ 范围内长势更好,在 19℃ 和 31℃ 条件下形成胁迫生长圈,可能与其长期的温度适应性相关^[33]。在 pH 筛选试验中,发现 2 株菌株均喜酸性生长,在 pH 4~5 范围内长势最好,与前人研究相符^[34]。这一现象可能与野生红托竹荪菌株的竹林生境相关^[35]。正交试验发现,2 株菌株虽然在 9 个配方中均可以生长,但菌丝浓密度存在显著差异。特别是在硫酸铵培养基上,菌丝较薄,与单因素试验结果一致。但在配方 6 上菌丝生长速度虽与配方 4 有显著差异,但菌丝更加洁白浓密,可能与各因素间的相互作用有关^[36]。

综上,红托竹荪菌株 H29 和 L70 适合在热区橡胶林下进行反季节栽培,且 2 株菌株的生物学特性基本一致。本研究结果可为热区红托竹荪的规模化栽培奠定基础,对红托竹荪菌株的杂交育

种、定向培育等也具有一定的参考价值。

参考文献

- [1] 毛秋生. 让中国竹荪之乡大放光芒[J]. 中国食用菌, 2000(4): 37.
MAO Q S. Let Zhijin county of Guizhou province shine for its famous mushroom: *Dictyophora indusiata*[J]. Edible Fungi of China, 2000(4): 37. (in Chinese)
- [2] 朱利泉. 竹荪的研究与利用[J]. 中国野生植物资源, 1996, 19(3): 21-23. (in Chinese)
ZHU L Q. Research and utilization of *Phallus rubrovolvatus*[J]. Chinese Wild Plant Resources, 1996, 19(3): 21-23. (in Chinese)
- [3] 才晓玲, 刘洋, 何伟, 安福全, 曹琦. 竹荪营养成分及生物活性研究进展[J]. 食用菌, 2015, 37(5): 1-3.
CAI X L, LIU Y, HE W, AN F Q, CAO Q. Research progress on nutritional components and biological activities of *Phallus rubrovolvatus*[J]. Edible Fungi, 2015, 37(5): 1-3. (in Chinese)
- [4] 王蓓蓓, 段玉峰, 邵红军, 田甜, 牛付阁, 梁蕾. 红托竹荪多糖抗氧化活性的研究[J]. 天然产物研究与开发, 2012, 24(8): 1122-1125.
WANG P P, DUAN Y F, SHAO H J, TIAN T, NIU F G, LIANG L. Research on the antioxidant activity of polysaccharides from *Phallus rubrovolvatus*[J]. Natural Product Research and Development, 2012, 24(8): 1122-1125. (in Chinese)
- [5] 叶敏, 文竹, 彭源芳, 张达贵. 红托竹荪多糖抗衰老和降血糖作用研究[J]. 食品工业科技, 2016, 37(7): 343-345.
YE M, WEN Z, PENG Y F, ZHANG D G. Research on the anti-aging and hypoglycemic effects of polysaccharides from *Phallus rubrovolvatus*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2016, 37(7): 343-345. (in Chinese)
- [6] 叶建方, 罗鹏, 肖佳艳, 吴雪艳, 张豫. 红托竹荪多糖诱导肿瘤细胞凋亡的作用初探[J]. 菌物学报, 2016, 35(7): 892-896.
YE J F, LUO P, XIAO J Y, WU X Y, ZHANG Y. Preliminary research on the induction of tumor cell apoptosis by polysaccharides from *Phallus rubrovolvatus*[J]. Mycosystema, 2016, 35(7): 892-896. (in Chinese)
- [7] 郭渝南, 刘晓玲, 范娟. 竹荪的营养与药用功效[J]. 食用菌, 2004(4): 44-45.
GUO Y N, LIU X L, FAN J. The nutrition and medicinal effects of *Phallus rubrovolvatus*[J]. Edible Fungi, 2004(4): 44-45. (in Chinese)
- [8] 王芳, 孙晓红, 陶光灿. 贵州省食用菌产业发展状况及对策[J]. 贵州农业科学, 2020, 48(12): 77-81.

- WANG F, SUN X H, TAO G C. The development status and countermeasures of edible fungi industry in Guizhou province[J]. Guizhou Agricultural Sciences, 2020, 48(12): 77-81. (in Chinese)
- [9] 岑艳喜. 广西壮族自治区百色市右江区红托竹荪反季节种植模式探索[J]. 世界热带农业信息, 2022(9): 29-30.
- CENG Y X. Exploration of the counter-seasonal cultivation model of *Phallus rubrovolvatus* in right jiang district, baise city, Guangxi zhuang autonomous region[J]. World Tropical Agriculture Information, 2022(9): 29-30. (in Chinese)
- [10] 钟梦滢, 杨众养, 陆文, 郭霞. 海南省林下经济发展现状分析[J]. 热带林业, 2023, 51(1): 88-91.
- ZHONG M Y, YANG Z Y, LU W, GUO X. Analysis on the current situation of underforest economy development in Hainan province[J]. Tropical Forestry, 2023, 51(1): 88-91. (in Chinese)
- [11] 陈兵, 刘志崑, 莫东红, 吴昶, 陈少林. 橡胶林套种竹荪的土壤肥效应分析研究[J]. 热带农业, 2008(6): 43-45.
- CHEN B, LIU Z W, MO D H, WU X, CHEN S L. Study on soil fertilizer effect of interplanting *Dictyophora vulgaris* in rubber forest[J]. Tropical Forestry, 2023, 51(1): 88-91. (in Chinese)
- [12] 刘梦晓. 定安县龙山镇南科食用菌栽培基地多个产业项目助农脱贫[N]. 海南日报, 2019-12-21.
- LIU M X. Multiple industrial projects of Nanke edible fungi cultivation base in Longhu town, Ding'an county help farmers in poverty-relief[N]. Hainan Daily, 2019-12-21. (in Chinese)
- [13] 吴勇, 姜守忠, 林朝忠. 竹荪栽培与加工技术[M]. 贵阳: 贵州科技出版社, 1997.
- WU Y, JIANG S Z, LIN C Z. Cultivation and processing technology of *Dictyophora dictyophora*[M]. Guiyang: Guizhou Science and Technology Press, 1997. (in Chinese)
- [14] HE X Y, CHEN Y W, LI H Z. Germplasm resources and secondary metabolism regulation in Reishi mushroom (*Ganoderma lucidum*)[J]. Chinese Herbal Medicines, 2023, 15(3): 378-380.
- [15] 卢颖颖, 桂阳, 龚光禄, 魏善元, 朱国胜. 18个贵州红托竹荪种质资源的遗传多样性[J]. 贵州农业科学, 2024, 42(7): 18-20.
- LU Y Y, GUI Y, GONG G L, WEI S Y, ZHU G S. Genetic diversity of 18 *Dictyophora dictyophora* germplasm resources from Guizhou[J]. Guizhou Agricultural Sciences, 2024, 42(7): 18-20. (in Chinese)
- [16] 岳万松, 孙达锋, 华蓉, 高章会, 岳婷松, 李雪松, 朱立, 刘绍雄. 红托竹荪新品种‘中菌竹荪 1 号’选育[J]. 食用菌学报, 2024, 31(4): 49-53.
- YUE W S, SUN D F, HUA R, GAO Z H, YUE T S, LI X S, ZHU L, LIU S X. Breed of *Dictyophora dictyophora* new culti var 'Zhongjunzhusun1'[J]. Acta Edulis Fungi, 2024, 31(4): 49-53. (in Chinese)
- [17] 熊雪, 李鹏, 向准, 赵晓朋, 汪建文. 不同碳氮源对长根菇菌丝生长的影响[J]. 贵州科学, 2021, 39(3): 39-40.
- XIONG X, LI P, XIANG Z, ZHAO X P, WANG J W. Effects of different carbon and nitrogen sources on the mycelial growth of *Oudemansiella radicata*[J]. Guizhou Science, 2021, 39(3): 39-40. (in Chinese)
- [18] 唐玲, 杨珍, 杨仁德, 陈波, 王晓敏, 张钦语, 张邦喜. 5种红托竹荪母种培养基的筛选[J]. 农技服务, 2022, 39(10): 81.
- TANG L, YANG Z, YANG R D, CHEN B, WANG X M, ZHANG Q Y, ZHANG B X. Culture-medium screening of 5 species of *Dictyophora dictyophora*[J]. Agricultural Technology Service, 2022, 39(10): 81. (in Chinese)
- [19] 刘芳, 陈娇, 吴三林. 红托竹荪母种培养基配方的筛选试验[J]. 乐山师范学院学报, 2010, 25(12): 21-23.
- LIU F, CHEN J, WU S L. Screening test of mother culture medium formulation of *Dictyophora dictyophora*[J]. Journal of Leshan Teachers College, 2010, 25(12): 21-23. (in Chinese)
- [20] 陆珠, 纪淑娟, 任梓铭, 王月, 谢孟乐, 杨阳, 于延申, 张桐. 2株野生猴头菇的生物学特性、驯化和栽培模式研究[J]. 中国食用菌, 2023, 42(4): 30-31.
- LU Z, JI S J, REN Z M, WANG Y, XIE M L, YANG Y, YU Y S, ZHANG T. Study on biological characteristics, domestication and cultivation patterns of two wild strains of *Hericium erinaceus*[J]. Edible Fungi of China, 2023, 42(4): 30-31. (in Chinese)
- [21] 李昕阳, 王淑敏, 冷悦, 陆珠, 王旭, 王欢, 陈长宝. 蜜环菌液体培养基配方优选及其活性成分和抗氧化活性研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(19): 275-276.
- LI X Y, WANG S M, LENG Y, LU Z, WANG X, WANG H, CHEN C B. Study on the optimal liquid medium formulation of *Armillaria mellea* and its active ingredients and antioxidant capacity[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2023, 14(19): 275-276. (in Chinese)
- [22] 程汉亭, 严廷良, 徐林, 丁野, 步连燕, 杨阳, 李勤奋. 海南省食用菌产业发展情况解析[J]. 中国食用菌, 2024, 43(4): 99-100.
- CHENG H T, YAN T L, XU L, DING Y, BU L Y, YANG Y, LI Q F. Analysis on the development of edible mushroom industry in Hainan province[J]. Edible Fungi of China, 2024, 43(4): 99-100. (in Chinese)
- [23] 邱江华. 中国热科院创建食用菌生态循环模式[N]. 中国食品报, 2022-11-22(5).
- QIU J H. The Chinese Academy of Thermal Sciences created

- an ecological cycle model for edible fungi[N]. China Food News, 2022-11-22(5). (in Chinese)
- [24] 孙翠焕, 陈丽媛, 陈杰, 赵博伦, 郭玲玲. 食用菌菌种现状及退化防控措施[J]. 微生物学杂志, 2023, 43(6): 125-127.
SUN C H, CHEN L Y, CHEN J, ZHAO B L, GUO L L. Status quo of strain seeds of edible fungi and measurement to prevent and control their degeneration[J]. Journal of Microbiology, 2023, 43(6): 125-127. (in Chinese)
- [25] 欧胜平. 竹子对红托竹荪生长发育影响研究[D]. 贵阳: 贵州师范大学, 2022.
OU S P. The effect of bamboo on the growth and development of *Phallus rubrovolvatus*[D]. Guiyang: Guizhou Normal University, 2022. (in Chinese)
- [26] 李宏月, 欧小云, 刘斌. 野生香菇菌株鉴定及其与栽培菌株的生物学特性比较[J]. 广东农业科学, 2023, 50(9): 60-61.
LI H Y, OU X Y, LIU B. Identification of two wild *Lentinula edodes* strains and their biological characteristics comparing with the cultivated strains[J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2023, 50(9): 60-61. (in Chinese)
- [27] 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): 45-46.
WANG Q W, LAN Y F, CUI X, AN X R. Cultural characteristic on three strains of *pleurotus*[J]. Edible Fungi of China, 2016, 35(4): 45-46. (in Chinese)
- [28] 陈国荣. 糖化学基础[M]. 上海: 华东理工大学出版社, 2009.
CHEN G R. Basis of carbohydrate chemistry, China[M]. Shanghai: East China University of Science and Technology Press, 2009. (in Chinese)
- [29] 龚光禄, 桂阳, 卢颖颖, 朱国胜. 红托竹荪培养基及培养条件优化[J]. 贵州农业科学, 2015, 43(11): 78-81.
GONG G L, GUI Y, LU Y Y, ZHU G S. Optimization of culture medium and culture condition of *Dictyophora dictyophora*[J]. Guizhou Agricultural Sciences, 2015, 43(11): 78-81. (in Chinese)
- [30] 王民乐, 罗瑞, 刘源, 闫丽, 方晓春, 范庆杰, 郭久林. 不同碳氮源、碳氮比对六妹羊肚菌菌丝特性的影响[J]. 中国食用菌, 2020, 39(12): 42-43.
WANG M L, LUO R, LIU Y, YAN L, FANG X C, FAN Q J, GUO J L. Effects of different carbon sources, nitrogen sources, and carbon-nitrogen ratios on the mycelial characteristics of *Morchella sextelata*[J]. Edible Fungi of China, 2020, 39(12): 42-43. (in Chinese)
- [31] 王敏, 刘爱民. 不同碳氮源对双孢蘑菇 2796 深层发酵的影响[J]. 资源开发与市场, 2009, 25(2): 101-103.
WANG M, LIU A M. Effects of carbon and nitrogen nutrient submerged fermentation in *Agaricus bisporus*[J]. Resource Development & Market, 2009, 25(2): 101-103. (in Chinese)
- [32] 林衍铨, 马璐, 应正河, 江晓凌. 碳源和氮源对绣球菌菌丝生长的影响[J]. 食用菌学报, 2011, 18(3): 22-25.
LIN Y Q, MA L, YING Z H, JIANG X L. Effects of carbon and nitrogen sources on the growth of *Sparassis crispa*[J]. Acta Edulis Fungi, 2011, 18(3): 22-25. (in Chinese)
- [33] 李代芳, 范慈惠. 几种珍贵食用菌菌丝体的生长条件[J]. 中国食用菌, 1985(3): 4-6.
LI D F, FAN C H. Growth conditions of mycelium of several valuable edible fungi[J]. Edible Fungi of China, 1985(3): 4-6. (in Chinese)
- [34] 黄义勇, 曹若彬. 红托竹荪的生物学特性研究[J]. 浙江农业大学学报, 1993(2): 66-70.
HUANG Y Y, CAO R B. Research on biological characteristics of *Dictyophora dictyophora*[J]. Journal of Zhejiang A&F University, 1993(2): 66-70. (in Chinese)
- [35] 龚光禄, 杨通静, 桂阳, 黄万兵, 卢颖颖, 刘宏宇, 黄晓润, 朱国胜. 红托竹荪资源收集与生态分布特征[J]. 中国食用菌, 2020, 39(11): 38-41.
GONG G L, YANG T J, GUI Y, HUANG W B, LU Y Y, LIU H Y, HUANG X R, ZHU G S. Resource collection and ecological distribution characteristics of *Dictyophora dictyophora*[J]. Edible Fungi of China, 2020, 39(11): 38-41. (in Chinese)
- [36] 卢征华. 红托竹荪栽培培养基优化及药用成分研究[D]. 贵阳: 贵州大学, 2021.
LU Z H. Study on optimization of culture medium and medicinal components of *Dictyophora rubrovolvata*[D]. Guiyang: Guizhou University, 2021. (in Chinese)