

“东北林业大学优秀教材及学术专著
出版与奖励专项资金”资助出版



蕈菌研究方法

XUNJUN YANJIU FANGFA

邹莉 编著



东北林业大学出版社
Northeast Forestry University Press

“东北林业大学优秀教材及学术专著
出版与奖励专项资金”资助出版

蕈菌研究方法

邹莉 编 著

东北林业大学出版社
Northeast Forestry University Press

· 哈尔滨 ·

版权专有 侵权必究

举报电话：0451-82113295

图书在版编目 (CIP) 数据

蕈菌研究方法 / 邹莉编著. —哈尔滨 : 东北林业
大学出版社, 2018. 8

(东北林业大学优秀教材系列丛书)

ISBN 978 - 7 - 5674 - 1530 - 0

I. ①蕈… II. ①邹… III. ①大型真菌-研究方法
-高等学校-教材 IV. ①Q949.32-3

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2018) 第 204847 号

责任编辑：倪乃华

责任校对：许 然

封面设计：乔鑫鑫

出版发行：东北林业大学出版社

(哈尔滨市香坊区哈平六道街 6 号 邮编：150040)

印 装：哈尔滨市石桥印务有限公司

规 格：185 mm×260 mm 16 开

印 张：13.75

字 数：309 千字

版 次：2018 年 8 月第 1 版

印 次：2018 年 8 月第 1 次印刷

定 价：35.00 元

前 言

朽木生蕈，腐土生菌，蕈菌是中国古代对大型真菌的称谓。现代蕈菌可定义为具有肉眼可辨的子实体的大型真菌，隶属于担子菌或子囊菌。“蘑菇”和“食用菌”的概念与“蕈菌”相似，常作为同义词混用。但蘑菇通常是指具有肥大于实体的担子菌或子囊菌，尤其是指伞菌。食用菌则是按用途对蕈菌进行的划分，不包括木质与革质的药用菌、有毒或功能未知的蕈菌。因此，用“蕈菌”一词作为大型真菌的名称更为科学、合理。

《蕈菌研究方法》是为适应蕈菌教学、科研及现代蕈菌产业的发展而编写的一本实验指导书。本书是编著者结合多年教学以及科研经验，并参阅国内外相关资料编写的，目的是方便读者更好地学习和掌握相关的蕈菌研究方法。

全书共分八章，主要内容包括：标本的采集、鉴定和管理，蕈菌菌种的分离纯化、鉴定及保藏，蕈菌菌丝生长特性的测定，蕈菌菌种的制备及检测，蕈菌栽培技术，蕈菌菌种选育，蕈菌营养成分分析，蕈菌病虫害防治。

本书立足实践与理论的相互结合，尽量通俗易懂，针对关键问题进行详尽的阐述，做到从理论到实践的整体贯通，以方便学习者扎实掌握，同时力求做到内容全面、完整、新颖，期望对我国蕈菌产业的发展起到促进作用。本书可作为菌物学、微生物学、林学、森林保护学、园艺学等与蕈菌相关专业的实验教材，也可作为科研人员、蕈菌生产者在分析和解决实际问题中的工作手册。

鉴于编著者水平有限，书中错漏之处在所难免，诚望广大读者在参阅使用过程中提出宝贵意见。

编著者
2017年10月

目 录

1 标本的采集、鉴定和管理	(1)
1.1 标本的采集	(1)
1.2 标本的制作	(6)
1.3 标本的鉴定	(8)
1.4 标本的管理	(13)
2 蕈菌菌种的分离纯化、鉴定及保藏	(15)
2.1 蕈菌菌种的分离纯化	(15)
2.2 蕈菌菌种的鉴定	(21)
2.3 蕈菌菌种的保藏、衰退及复壮.....	(24)
3 蕈菌菌丝生长特性的测定	(32)
3.1 菌丝的生长	(32)
3.2 菌丝生长指标的测定方法	(33)
3.3 菌丝对营养物质的利用	(35)
3.4 理化因子对菌丝生长的影响	(38)
3.5 液体菌丝培养特性的研究	(44)
4 蕈菌菌种的制备及检测	(52)
4.1 母种的制备	(52)
4.2 液体菌种的制备	(61)
4.3 原种和栽培种的制备	(65)
4.4 蕈菌菌种质量的检测	(75)
5 蕈菌栽培技术	(81)
5.1 外界环境对蕈菌子实体形成的影响	(81)
5.2 常见木腐菌的栽培方法	(86)
5.3 常见草腐菌的栽培方法	(106)
6 蕈菌菌种选育	(115)
6.1 蕈菌的生殖方式	(115)
6.2 蕈菌的生活史	(118)
6.3 蕈菌的选择育种	(121)
6.4 蕈菌的诱变育种	(123)
6.5 蕈菌的杂交育种	(127)

6.6	蕈菌的原生质体融合育种	(131)
6.7	蕈菌的基因工程育种	(139)
7	蕈菌营养成分分析	(168)
7.1	水分的测定	(168)
7.2	糖类物质的测定	(170)
7.3	蛋白质和氨基酸的测定	(175)
7.4	粗脂肪的测定	(179)
7.5	维生素的测定	(180)
7.6	矿物质元素的测定	(185)
7.7	其他活性物质的测定	(188)
8	蕈菌的病虫害防治	(191)
8.1	蕈菌的病害及其防治	(191)
8.2	蕈菌虫害及其他有害动物的防治	(203)
8.3	蕈菌病虫害综合防治技术	(210)
	参考文献	(213)

1 标本的采集、鉴定和管理

蕈菌标本采集之前, 首先应该进行资源调查。资源调查是开发利用蕈菌种质资源的首要条件。资源调查的目的在于确切地掌握蕈菌种质资源的种类、生态习性、分布特点, 编辑大型真菌志及建立标本库。资源调查基本可分为两大类: 普查和专门调查。蕈菌资源普查包括食用菌、药用菌、毒菌、外生菌根菌、木材腐朽菌等大型经济真菌资源普查, 调查面要广。在普查的基础上发现具有开发利用价值的种类或为了一定的目的, 就可以进行专门调查。资源调查之前, 必须收集有关资料和制订调查采集计划。在计划中, 包括采集地点、采集季节、不同的海拔高度、特定的植被类型、不同的地貌和土壤性质等。然后采集标本, 分离菌株, 科学保藏种质基因, 建立蕈菌种质资源基因库, 为科学开发利用野生蕈菌种质资源、菌种选育、基因工程等提供物质基础和科学依据。

蕈菌标本的采集、鉴定、制作的真实性决定于调查工作的仔细程度, 调查工作的质量取决于对采用的工作方法和技术掌握的熟练程度。

1.1 标本的采集

1.1.1 准备工作

1.1.1.1 收集有关资料、制定标本采集计划

收集采集地区的森林类型、林木资源、自然环境、地形、土壤、气象、真菌资源等资料, 并仔细阅读森林经理报告、地形图、施业区略图, 根据以上资料拟定调查采集计划和方法。

1.1.1.2 采集时间

不同蕈菌子实体发生的季节不同, 子囊菌一般发生在春末夏初, 担子菌发生在夏末秋初, 采集地天气以三天晴天接着两天雨天为主, 雨后两三天是采集的最佳时期。一般上午进行采集, 下午回到试验站整理标本或烘烤标本。

1.1.1.3 标本采集用具

采集用具以坚固轻便、便于携带为原则。常用的仪器和用具有指南针、海拔仪、望远镜、照相机、手电筒、放大镜、地图、雨具、采集箱、小纸盒、塑料(纸)袋、布袋、手铲、手锯、修枝剪、小刀、小尺、铅笔、毛刷、菌类野外采集记录表、记录本、废报纸、号牌及野外子实体组织分离用具等。

1.1.2 标本采集方法

采集蕈菌标本的目的是研究、认识、分离种质资源，为菌类开发利用提供基本资料。采集时要仔细地搜索地上、草丛、倒木、树桩、枯枝落叶层等不同的生境，认真观察。若发现蕈菌，应首先观察其周围是否还有同一类型的蕈菌，以及蕈菌与环境、不同蕈菌种类之间的关系等；采挖前先详细记录其生境、习性和特征，填写记录卡。选择一个最能表现蕈菌特征及生境的位置，在原地把蕈菌正、侧、倒和菌柄基部排列整齐，要保证菌幕、菌环、菌托的完整性，尽可能保持其原生态拍摄（图 1-1 为正确的拍照方法，图 1-2 为不正确的拍照方法），然后开始采挖。采挖时，应采集大（成熟的）、中、小（菇蕾）的标本各若干份，且每份标本要尽量完整，特别是菌盖表面的附属物、菌柄上的菌环、基部的菌托以及地下的根状延长物、菌索、菌核等。



图 1-1 正确的拍照方法

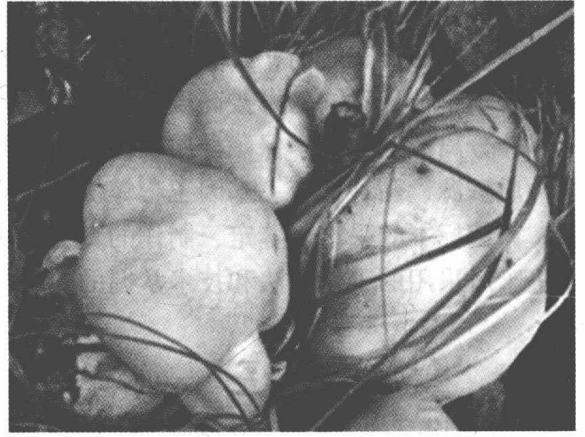


图 1-2 不正确的拍照方法

蕈菌质地一般为肉质、胶质、革质、蜡质、膜质等。采得的肉质、膜质和蜡质的标本，水分多，颜色易变，随着子实体的成熟，水分也会逐渐消失，形态、颜色、大小也在逐渐变化，有的种类变化很大，失去原样，应及时将标本轻轻放入临时做的漏斗形纸袋中，菌柄朝下，保持子实体完整，放入号牌，包好后再放入采集箱中。对于稀有种、易压坏或速腐性的标本，可将漏斗形纸袋先放入纸盒中，再放入采集箱内，以防压坏。革质、膜质的标本，采集比较容易，子实体不易损坏，采集后可用白纸分别包裹，放入号牌，然后放入采集箱中。

蕈菌一般生长在森林、草原、庭院的树木、朽木、木质材料及有腐殖质的地面或地下。采集树干或木质材料上的子实体可用短刀或手锯，从子实体的基部或带些树皮割取，也可以连枝干截取一段。采集地上生的菌类时，可用手铲连土一起铲取。

1.1.3 标本采集记录

1.1.3.1 及时填写记录表

采集蕈菌随采随填表记录。采回的标本要求在当天进行记录，以防标本的形状、颜色等特征发生变化，造成记录不准确，影响鉴定和认识。只有经过详细记录的标本才是完整的标本。填写记录信息要尽可能详细。其中对于非伞状的蕈菌主要记录其产地、海拔、生

境、基物、习性，并在备注栏中注明子实体的形状（如马鞍状、瓣片状、盘状、羊肚状、珊瑚状、耳状、贝壳状、球状、棒状等）、大小、张开或闭合、有无柄、表面光滑或有皱纹或有刺、质地（如胶质、肉质、革质、膜质等）、黏或不黏等。

对于子实体为典型伞状的蕈菌（其子实层体通常为褶状，罕为孔状）的记录应包括其生长的环境、着生的状态、子实体幼嫩时及展开时的形态、菌盖形状及表面附属物的有无、菌褶的形态特征、菌褶与菌柄的连接情况、菌柄的特征、菌环和菌托的有无、孢子印的形态及颜色、孢子的显微结构等。表 1-1 为蕈菌野外采集记录表。

表 1-1 蕈菌野外采集记录表

编号:	年 月 日			图	照片
菌名	中名:		地方名:		
	学名:				
采集地				海拔:	m
生境	针叶林 阔叶林 混交林 灌丛			基物 地上 腐木	
	草地 草原 阳坡 阴坡			立木 粪上 枯枝落叶	
习性	单生 散生 群生 丛生 簇生 叠生				
菌盖	直径: cm		颜色: 边缘: 中间:		黏 不黏
	形状: 钟状 斗笠形 半球形 漏斗形 平展				边缘有条纹 无条纹
	表面: 块鳞 角鳞 丛毛鳞片 纤毛 疣 粉粒 丝光 蜡质 龟裂				
菌肉	颜色:		气味:		伤变色: 汁液变色:
菌褶	宽度: mm		颜色:		密度: 稀 中 密
	等长 不等长 分叉 网状 横脉				离生 弯生 直生 延生
菌管	管口大小: mm		管口形状: 圆形 角形		
	管面颜色: 管里颜色: 易分离 不易分离 放射 非放射				
菌环	膜状 丝膜状		颜色: 条纹: 脱落 不脱落 活动 上 中 下		
菌柄	长: cm 粗: cm		颜色:		
	圆柱形 棒状 纺锤形			基部 根状 膨大 圆头状 杵状	
	鳞片 腺点 丝光 肉质 纤维质 脆骨质 实心 空心				
菌托	颜色 苞状 杯状 浅杯状 大型 小型				
	数圈颗粒组成 环带组成 消失 不易消失				
孢子印	白色 粉红色 锈色 褐色 青褐色 紫褐色 黑色				
备注					
采集人			鉴定人		

(1) 菌盖

①形状：不同的种菌盖形态不同，有斗笠形、圆锥形、卵形、球形、钟形、杯形、漏斗形、圆形、肾形、匙形、半圆形、贝壳状、中央凸形，有中盘、中丘等。

②菌盖表面的特征：秃净（平滑无毛），有纤毛、绒毛、疣、刺、粉粒、薄片、条纹、

沟纹、皱纹、龟裂、潮湿、胶黏，表皮有或缺。有的表面附属物极易脱落，切勿触摸，以免损坏。

③菌盖边缘的特征：全缘、波状、裂片状、正直、内屈、外屈、反卷及波曲。

④菌盖的质地：肉质、膜质、韧肉质、革质及胶质，易腐或再生，乳汁有否。

⑤菌盖的色泽及变色度。

⑥菌盖与菌柄的关系：同质或异质。

(2) 菌肉（菌髓）

同源或异源；有无球囊细胞；菌肉的颜色；受伤后是否变色及变色快慢；软硬、厚薄；有无乳汁，乳汁的颜色及其变化情况，或分泌物的清浊；辨别气味和味道。

(3) 菌褶及菌管

①与菌柄的关系：离生（或隔生、上生、狭生）、直生（或贴生）、延生（或垂生）、弯生（或弓生、举生、弧生等）。

②排列情况：疏或密，等长或不等长，单孔或复孔。

③形状：纵裂、分叉，具脉络；断面观三角形、肚状、两侧平行。

④色泽：菌褶或菌管的颜色。

⑤褶缘或管缘状态：全缘、波状、缺刻或锯齿状。

(4) 菌柄

①菌柄表面特征：着生鳞片、丝、毛、刺、粉及绒毛，线条、沟纹、网目；干燥、潮湿及胶黏。

②粗度：粗或细。

③形状：纺锤状、膨大具网纹、棒状、柱状、分枝、基部延伸呈根状、柄中生基部膨大近球形、柄侧生、柄偏生、无柄等。

④质地：肉质、纤维质和软骨质等。

⑤内部情况：中空、中松（充塞）及中实。

⑥乳汁：有无，变色度。

⑦色泽：菌柄的颜色。

(5) 菌环

①菌环：有或无，注意菌环破裂脱落后的痕迹。

②质地：膜质、易破碎。

③形状：呈齿轮状、蛛丝状、双层、单层、破碎后附在菌盖边缘。

④厚薄：较厚、较薄。

⑤开口情况：上向或下向。

⑥活动情况：可动或固着。

⑦在菌柄上的位置：上位、中位或下位着生。

(6) 菌托

①菌托（脚苞）形状：领口形、颗粒形、浅杯形、袋状、小托形、粉托，菌托开裂情况（裂片或全缘）。

②色泽：菌托的颜色。

③存在时间：宿存或早失。

1.1.3.2 制作孢子印

采集伞菌需做孢子印。孢子的形态、颜色以及孢子印的颜色是鉴定伞菌不可缺少的根据之一。孢子印的制作方法主要有两种：一是将成熟且完整的菌盖从菌柄顶端切下，菌褶或菌管向下平放在纸上，用玻璃罩罩上菌盖，以防风吹或菌盖干燥，担孢子散落于纸上形成孢子印。孢子印的制作见图 1-3。有色孢子用白纸，白色孢子用黑纸，也可将菌盖覆置于白色和黑色并拢的纸上。在室温下，一般只需 5~10 h，孢子就会弹射在纸上，从而获得与菌褶或菌管排列方式一致的孢子印。二是将接收孢子的纸中部挖一个与菌柄粗细相同的圆孔，将菌柄插入孔中，使菌褶或菌管贴于纸上，然后再将伞菌连同接收孢子的纸一起放在盛有半杯水的水杯上（见图 1-4 挖孔法制作孢子印）。此法可加速获得孢子印。较为重要的标本，最好用载玻片制作孢子印，保藏于玻片盒中。

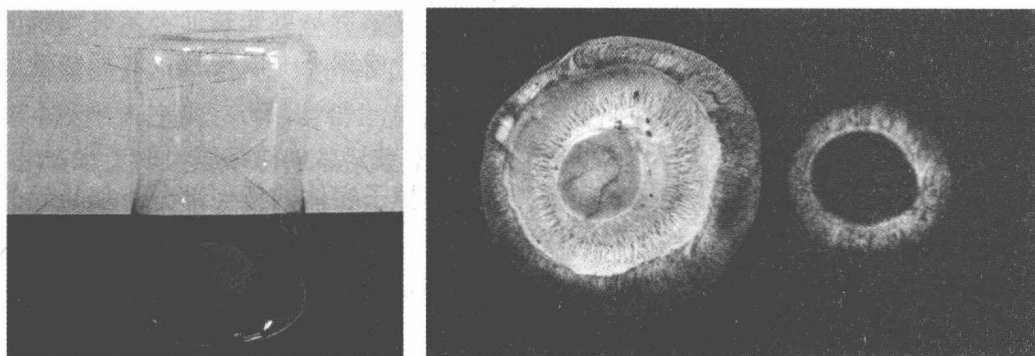


图 1-3 孢子印的制作

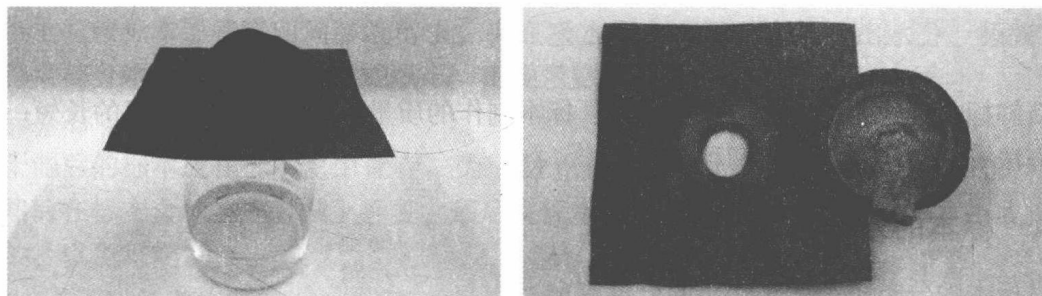


图 1-4 挖孔法制作孢子印

有些蕈菌的孢子印干燥前后颜色有所变化，需及时拍照和记录新鲜孢子印的颜色。孢子印的编号与标本一致，作为重要的实物放入档案中，以备标本鉴定时用。

1.1.3.3 拍摄生态彩照

记录子实体的特征及表达它的生态环境，除了在采集地绘图和详细描述之外，也要连同它的周围环境一起拍摄生态照片，注意添加适当的说明性文字和比例尺（或放参照物）。

1.1.3.4 完整的标本资料要求

每种完整的标本都应包括子实体、记录表、彩色照片、孢子印 4 种资料，其编号必须一致。

1.1.4 标本采集的注意事项

1.1.4.1 填写“蕈菌野外采集记录表”

采集标本后应随即填写“蕈菌野外采集记录表”，把标本的形态大小、颜色、附属物、着生位置、乳汁颜色、特殊气味等详细记录下来，有时还需要描绘草图。每种标本都要有适当的数量，以便满足日后鉴定、分离菌株、研究、保藏及交换之用。

1.1.4.2 重要种类采集不同发育阶段的标本

对于重要种类，还须注意采集它的各个发育阶段，以便比较分析。有的供生理生态研究用的标本，需要仔细观察、记录其生境，并采集其基部附着物。

1.1.4.3 采集有代表性的子实体

各种蕈菌要采集有代表性的子实体，并保持其完整性。对地上的伞菌类和盘菌类，要带根轻轻拔起或使用铲子挖掘，有些蕈菌子实体的下部结构是重要特征，只有完整的标本才易于鉴定；对树干上的菌类，可用刀带树皮一起剥下或锯下一段树枝；对那些外形相像而离得稍远地方的标本，应各自编号和用纸包裹。

1.1.4.4 采集标本时不能损坏子实体任何部分

用手拿取已采下的标本时，要轻拿轻放，不能碰掉子实体的任何部分，如易碎的菌环和菌托，因为这些都是鉴定时极其重要的依据。同时，也不能在菌盖及菌柄的表面留下指纹印，否则就会损坏子实体固有的特征，影响分类鉴定结果。

1.2 标本的制作

新鲜标本经过制作才能应用和保存。标本制作的质量影响标本保存时间的长短。标本制作方法一般有干制和浸制两种。

1.2.1 标本的分类整理

对标本的分类整理就是初步的分类鉴定。

1.2.1.1 整理方法和要求

标本采集后，立即带到工作室进行整理和鉴定。在整理标本时，首先在桌上铺好白纸，然后小心地将全部标本都放在白纸上。按不同的特征进行初步分类，在同一个地方采得的相同种标本放在一起。放置子实体时，应将菌褶朝上，以防孢子脱落在白纸上。除了清除标本上的泥土和杂物外，与标本生长有关的如黏附在子实体上的枝、叶、木屑或昆虫尸体等，均应保持其自然状态，不必弄掉，以供鉴定时参考。在淘汰破损残缺的标本后，一般每种标本保留10~15个子实体。体积较大的木质性非褶状菌，每种标本只需保存2~3个子实体。特别大的子实体，可保留该子实体的一部分。

1.2.1.2 初步鉴定

标本经初步整理后，依据记录及标本的特征，做初步鉴定。根据有性孢子的类别可初

步鉴定蕈菌所属的门。用子实体制作徒手切片，通过显微镜观察，有子囊孢子的标本为子囊菌，有担孢子的标本为担子菌。将一批能定名的标本及时定名。然后，根据标本的质地和种类，选择最完整的子实体制成干制标本或浸制标本。

1.2.2 标本的制作

1.2.2.1 干制标本的制作

干制标本的制作就是在标本整理、初步鉴定后，依其自然状态进行适当整形。

(1) 自然干燥及烘干方法

干制标本一种是自然干燥，即将标本放在通风干燥的地方晾干，或放在阳光下暴晒。另一种是借助炭火或电烘箱等缓慢地烘干，使用炭火时要在火焰上方用铁皮或瓦片隔住火焰，将标本放到架子上烘烤。为了防止标本皱缩变形，在烘烤前，应将标本先晾一下，使其失去一部分水分，再进行由低温到高温（即由 30℃ 逐渐上升到 40℃），低温烘 2~3 h，然后逐渐加热到 50~60℃，进行均匀地固定。温度不宜陡然升高，而且不能用高温处理，防止标本变形或烤焦。烘烤时借助热风循环，将湿气排出，经过 8~12 h，标本含水量为 12%~14% 时，即达到干制标本保藏要求。

(2) 小型或大型标本制作方法

对于体型小、菌盖薄、菌柄纤细的标本，整体放在吸水纸上，上、下多夹几张吸水纸，然后用标本夹夹住，使标本的水分逐渐被纸吸收。开始每天换 2~3 次吸水纸，以后每天换 1 次吸水纸，直到标本完全干燥为止。对于体型较大或菌盖较厚的新鲜标本，可用刀片按子实体的平行方向，沿中心纵切为厚约 0.5 cm 的薄片（观察菌褶与菌柄的关系），并把另一部分柄挖去约 1 mm 厚的菌盖（观察色泽和外部形态）贴在涂有明胶液或万能胶的薄纸上，按标本形状将四周薄纸剪去，夹在吸水纸中，用吸水纸吸出水分，频繁换纸，迅速将大部分水吸去，然后晒干或烘干。干燥后贴在台纸上固定即可。

(3) 标本盒保存

干制后的标本放在标本盒中保存。为了防止虫蛀受潮，可在标本盒中放樟脑和吸湿剂，然后在标本盒的左下方贴上标签，最后将标本盒放到通风良好的特制标本柜或标本橱中存放，以免霉变。

1.2.2.2 浸制标本的制作

将子实体放在盛有浸渍液的标本瓶中，尽量保持其自然状态，即成浸制标本。此法可保持标本的原形，制作方法简单，便于鉴定。但是，保存这种标本占用的面积大、时间较短。保存大量标本不宜采用这种方法。

(1) 保存液的种类

浸制标本要保持原有色泽，关键在于保存液的选择。

①白色、灰色、浅黄或淡褐色的标本，可选用下列防腐的浸渍液。

a. 甲醛 25 mL + 95% 乙醇 150 mL + 水 1 000 mL。

b. 甲醛 5 mL + 水 1 000 mL。

c. 70% 乙醇。

②保持子实体色素的浸渍液。

a. 子实体色素不溶于水的标本。

I. 硫酸锌 25 g + 甲醛 10 mL + 水 1 000 mL。

II. 醋酸汞 10 g + 冰醋酸 5 mL + 水 1 000 mL。

III. 甲醛 5 mL + 冰醋酸 5 mL + 50% 乙醇 90 mL。

IV. 5% 甲醛浸渍液。

b. 子实体色素溶于水的标本。

可用醋酸汞 1 g + 中性醋酸铅 10 g + 冰醋酸 10 mL + 90% 乙醇 1 000 mL。

(2) 标本固定法

浸渍标本可保存在玻璃瓶或标本瓶中。为了固定标本，避免其在溶液中漂动或移动，在浸泡前，可将标本用线拴在玻片或玻棒上固定，然后再放入浸渍液中。

(3) 标本瓶封口法

浸渍液大都是易挥发或易氧化的。为了保持药液的效果，玻璃瓶或标本瓶口的密封很重要。密封瓶口有临时封口和永久封口两种方法。

①临时封口法。封口将蜂蜡和松香各 1 份，分别熔化后混合，加少量凡士林调成胶状，涂在瓶盖边缘，将盖压紧封口。或将明胶 4 份，在水中浸泡几小时，滤去水分后加热熔化，再加石蜡 1 份，熔化后即成胶状物，趁热使用。

②永久封口法。取明胶 28 g 在水中浸泡几小时，滤去水分，加热熔化，加重铬酸钾 0.324 g 和适量的熟石膏调成糊状，即可封口。也可用二甲苯溶解泡沫塑料，使之呈胶状，立即封口。

制成的标本，应立即贴上标签，并放置在暗处保存。

1.3 标本的鉴定

鉴定标本是一件重要而复杂的工作。采集的标本只有经过鉴定，定出属名和种名后，才有科学价值，并可以为进一步进行野生蕈菌的保护和合理开发利用提供依据。

早期人们基于宏观形态学，结合细胞结构、个体发育资料来鉴定蕈菌的种类，随后进化论推动了系统发育研究，到 20 世纪，生物遗传学的迅速发展，推动建立了细胞水平上的系统分类。进入 20 世纪 70 年代后，生物技术的飞速发展，特别是新的鉴定方法如基因序列测定、DNA 杂交技术、血清学反应、电镜扫描技术等都丰富了蕈菌的分类研究。作为真菌学分支学科的蕈菌分类学，已从早期的以形态学、结构特征、能否食用进行分类，发展到后来的以生理学、生态学、分子生物学等特征为依据进行分类。

目前鉴定野生蕈菌的方法主要有两种：一种是以形态特征为依据的经典形态学鉴别方法；另一种是现代分子生物学鉴定方法。大量的实验证明，蕈菌的形态特征结合 ITS 序列分析是准确鉴定蕈菌的重要方法。

1.3.1 形态学鉴定方法

经典的形态学鉴定方法具有方便快捷的特点和优势。该方法主要以蕈菌的外部形态、

内部结构、生态特点为主要依据，并参考野外采集记录，根据子实体形态、颜色、气味等性状，结合光学显微镜下的形态解剖学特征和电子显微镜下的超微结构特征，再配合前人已经建立的分类检索表，就可以鉴定到蕈菌的种名。

1.3.1.1 宏观观察

蕈菌进行形态学鉴定时，采用的形态特征通常要详细，应包括子实体的生态条件、大小、形状、质地、颜色，菌盖的形状、颜色、附属物，菌肉的颜色、气味、厚薄、分泌物、分层及质地，菌褶（或菌管）的形态、颜色以及与菌柄的着生关系，菌柄的长度、粗细、质地、着生方式，菌环和菌托的有无、形态及颜色，孢子及孢子印的形态和颜色，子实层的构造特点和包被的层数、特点、开裂方式等。同时，还要用显微镜测量孢子、担子和囊状体的大小，绘出线条图。

1.3.1.2 显微观察

显微观察主要是将切片分别置于蒸馏水、5% KOH 溶液和 Melzer 试剂中进行观摩。所使用的其他化学试剂还有 14% NH_4OH 溶液、10% FeSO_4 溶液、14% HNO_3 溶液、98% H_2SO_4 （浓硫酸）、硫酸香草醛（SV）溶液和 0.1% 棉蓝溶液（0.1% 棉蓝加在 60% 乳酸中）。

Melzer 试剂（Melzer's, 1924）：碘化钾 1.5 g + 碘 0.5 g + 水合氯醛 22.5 g + 水 20 mL

硫酸香草醛（SV）液：香草醛 5 g + 硫酸 40 mL + 蒸馏水 20 mL

用显微镜观察蕈菌时，首先应制作徒手切片，然后将玻片置于显微镜下观察。如果发现孢子生于子囊之内，说明该标本属于子囊菌亚门的种类；如果发现孢子生于子实层的担子上，则说明该标本属于担子菌亚门的种类。

为操作方便，在显微镜下观察蕈菌的子实层结构时，可以采取比较简单的玻片制作方法来进行观察，其操作步骤如下：

①取载玻片和盖玻片数块，用干净的纱布擦净后，用镊子夹住分别在酒精灯火焰上来回通过数次，以进一步烧去玻片上所黏附的有机物；

②在冷却的玻片中央加一小滴蒸馏水，再用尖头镊子在标本的子实层体（如菌褶或菌管等）中间部分取小米粒大小的一块组织置于载玻片上的蒸馏水中，并用解剖针将其分散；

③按照正确的操作程序将盖玻片覆盖在分散的观察对象上，然后用铅笔上的橡皮头挤压或轻轻敲打盖玻片（小心操作，不要将盖玻片敲碎），到观察材料呈极薄的膜状分散后即可置于显微镜下观察，这时可清楚地看到观察对象的结构、大小、形态和排列状态等。

一般来说，担子菌子实层的结构比子囊菌的复杂，主要包括担子、担孢子、囊状体，有的还有侧丝等。显微观察时一般按照以下的形态指标进行观察记录。

(1) 担子

担子形状、大小、色泽、内容物、有纵或横分隔或无分隔或分叉、小梗数以及着生部位（顶生或侧生）等。

(2) 担孢子

①数目：担孢子是在担子上产生的外生孢子，典型的是 4 个孢子。

②形状：椭圆形、卵圆形、长方椭圆形、近四方形、近梭形、纺锤形、圆球形、星形、短圆柱形、柠檬形、角形、近球形、近肾形等。

③表面：粗糙、麻点、小疣、小瘤、刺棱、网棱、盔状膜、发芽孔、指状突起、条纹及横纹等。

④大小：孢子大小的测定，以 20 个孢子的平均值为准。

⑤颜色：在不同浮载剂中的颜色，如球盖菇科 (Strophariaceae) 在 5% KOH 溶液中呈橄榄色。

(3) 侧丝

侧丝是子实层中细长的不孕性菌丝。观察侧丝的有无、形态、大小等。

(4) 囊状体

囊状体在菌褶两侧或菌管内壁上，是子实层的不孕成分，常因着生的位置不同而有不同的名称。显微观测时，主要观察缘囊体、侧囊体、盖囊体、柄囊体等几种囊状体的形状、颜色、大小。囊状体的形状常有如下几类：棒状、梭形、纺锤状、顶端尾状、顶端分枝、梨形、瓶状、顶部有附属物等。此外，金黄囊状体、大囊体、黏囊体的染色情况对于分类鉴定也有很重要的作用。

①缘囊体：生于褶缘或孔缘的囊状体。

②侧囊体：生于褶缘表面和菌管内的囊状体。

③盖囊体：生于菌盖上的皮囊体。

④柄囊体：生于菌柄上的皮囊体。

⑤金黄囊状体：遇氨水内容物变金黄色的囊状体。

⑥大囊体：巨大的囊状体，在硫酸香草醛溶液中变暗色，内容物在甲酚蓝溶液中不变浓青色。

⑦黏囊体：在甲酚蓝中内容物变浓青色的囊状物。

子囊菌亚门的子实层结构主要包括子囊、子囊孢子。

(1) 子囊

子囊形状、着生位置、有纵或横分隔或无分隔或分叉、小梗数以及着生部位（顶生或侧生）等。

(2) 子囊孢子

①数目：子囊孢子是在子囊内产生的内生孢子，典型的是 8 个孢子。

②形状、表面、大小、颜色等的观察同担子菌亚门。

1.3.1.3 淀粉质反应

孢子及菌丝等的淀粉质反应或类糊精质反应是将材料置于 Melzer 试剂中来判断的，其反应如下（杨新美，1988）。

①淀粉质反应：变为蓝色、黑色、灰蓝色。

②类糊精质反应或拟（假）淀粉质反应：变为浅黄褐色、浅红褐色、红褐色。

③非淀粉质反应：不变色或稍带浅黄色。

记录下不同材料在 Melzer 试剂中的显色情况。对于特殊类群的试剂反应则视情况而定，合理使用，如牛肝菌科，其菌盖的表面遇氨起鲜明的蓝斑或孢子上有埂状隆起。

戴芳澜的《中国真菌总汇》、邓叔群的《中国高等真菌》、赵继鼎的《中国真菌志（第三卷）》、张小青的《中国真菌志（第二十九卷）》、赵继鼎的《中国真菌志（第十

八卷)》、卯晓岚的《中国大型真菌》和《中国蕈菌》、黄年来的《中国大型真菌原色图鉴》等都是运用经典的形态学分类方法对蕈菌进行系统分类研究的著作。目前,形态学的鉴定方法仍是蕈菌物种分类鉴定的主流方法,在蕈菌的分类和鉴定上有着不可替代的地位。

虽然经典的形态学分类方法在一定程度上能对类群进行很好的划分,但是此方法仍存在一定的缺陷。一方面,利用形态特征进行分类研究一般依靠宏观子实体形态特征、光学显微镜下的形态解剖学特征和电子显微镜下的超微结构特征,但由于大部分野生蕈菌分布广,形态特征复杂,而且子实体的形态容易受到外界环境的影响而出现不稳定,导致同一菌种生长环境不同而在形态上表现出较大的差异。另一方面,形态学研究往往以采集到的材料或标本为研究对象,然而这种材料只能代表菌物的某一发育阶段,它所提供用于分类鉴定的信息是有限的,因此鉴定时常常出现同物异名的错误。

1.3.2 分子生物学鉴定方法

蕈菌分类学的研究,经过较长时间的演变,逐渐形成了以形态结构特征为主,生理生化、细胞化学和生态等特征为辅的分类原则。随着科学技术的不断发展和蕈菌分类学自身发展的客观要求,鉴定蕈菌在形态分类的基础上引入了操作方便、特异性好且准确可靠的分子生物学技术,这是准确鉴定蕈菌的科学方法。

应用于蕈菌分类的分子生物学技术,主要是通过分析菌株的核酸信息借以对其进行分类鉴定。DNA 作为遗传物质比表型特征更为真实地反映了蕈菌的系统发育。应用分子生物学技术在核酸分子水平上研究蕈菌的遗传本质,为蕈菌的进化研究、系统分类和鉴定开辟了新的途径。

分子生物学鉴定方法主要有核酸杂交技术、DNA 碱基测定分析、DNA 分子标记技术等。核酸杂交技术的原理是,变性的单链 DNA 在一定条件下可以依碱基的互补配对原则复性成双链。不同蕈菌的 DNA 序列是不同的,杂交互补的程度越高,则亲缘关系越近。该技术可对蕈菌种间及属间亲缘关系进行精确分析和鉴定。DNA 碱基测定分析方法主要是分析样品 DNA 的 GC 碱基含量,根据 GC 碱基含量的不同明显地区分不同属或不同种的蕈菌,但 GC 碱基含量相同的菌,则不能肯定回答是为同一种蕈菌或近缘种,还需要形态学的特征鉴定加以辅助才能进行判断。

DNA 分子标记技术目前已发展出十几种,它们各具特色,并先后广泛应用于作物遗传育种、基因定位、亲缘关系鉴别、基因克隆研究等。依据对 DNA 多态性的检测手段,DNA 分子标记技术可分为 4 大类,即基于 DNA-DNA 杂交的 DNA 标记、基于 PCR 技术的 DNA 标记、基于限制性内切酶与 PCR 技术相结合的 DNA 标记、SNPs 标记。这些技术已经广泛应用于蕈菌分类的主要有限制性片段长度多态性 (Restriction fragment length polymorphism, 缩写为 RFLP)、简单重复序列 (Simple sequence repeat, 缩写为 SSR)、随机扩增的多态性 DNA (Random amplified polymorphic DNA, 缩写为 RAPD)、扩增片段长度多态性 (Amplified fragment length polymorphism, 缩写为 AFLP)、序列特异性扩增区 (Sequence characterized amplified region, 缩写为 SCAR)、相关序列扩增多态性 (Sequence-related amplified polymorphism, 缩写为 SRAP)、内转录间隔区 (Internal transcribed spacer, 缩写为