



普通高等教育“十二五”规划教材
微生物学实验教程系列

食用菌学实验教程

王贺祥 主编 顾桂芬 主审

MUSHROOM BIOLOGY
EXPERIMENTATION



科学出版社

微生物学实验教程系列编委会

普通高等教育“十二五”规划教材

微生物学实验教程系列

食用菌学实验教程

陈文新 中国农业大学

主编 王贺祥

主审 顾桂芬

顾桂芬
王贺祥
何李李

科学出版社

元 8.80 定价

北京

S646
268

内 容 简 介

本教材为微生物学实验教程系列之一,由中国农业大学等高校组织编写。主要包括食用菌资源调查、典型食用菌形态及其分类鉴定、食用菌菌种制作、不同食用菌栽培技术及特点、产品加工、食用菌遗传育种及生理活性物质的分离纯化等内容。此外,还提供了关于食用菌的等级划分依据、蘑菇罐头加工标准和卫生标准等相关知识。

本书可作为高等院校食用菌学相关课程实验教学的教材,也可以作为食用菌科研和技术人员的参考书。

图书在版编目(CIP)数据

食用菌学实验教程/王贺祥主编. —北京:科学出版社, 2014.5

ISBN 978-7-03-040647-7

I. ①食… II. ①王… III. ①食用菌-实验-教材 IV. ①S646-33

中国版本图书馆CIP数据核字(2014)第100656号

责任编辑:刘 畅/责任校对:赵桂芬
责任印制:阎 磊/封面设计:迷底书装

科学出版社出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

保定市中华美凯印刷有限公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2014年6月第一版 开本:720×1000 B5

2014年6月第一次印刷 印张:12 1/2

字数:256 000

定价:29.80元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

微生物学实验教程系列编委会

主 委	任	李季伦	中国农业大学
	员	李季伦	中国农业大学
		陈文新	中国农业大学
		邢来君	南开大学
		陈冠军	山东大学
		赵良启	山西大学
		顾桂芬	中国农业大学
		楼慧强	中国农业大学
		何 群	中国农业大学
		李 颖	中国农业大学
		李大伟	中国农业大学
		王贺祥	中国农业大学
		封文海	中国农业大学
		宋 渊	中国农业大学
		袁红莉	中国农业大学
		文 莹	中国农业大学

《食用菌学实验教程》编委会

主 编 王贺祥

编 委 (按姓氏汉语拼音排序)

王贺祥 中国农业大学

张国庆 北京农学院

郑素月 河北工程大学

朱孟娟 山东农业大学

主 审 顾桂芬

总 序

中国农业大学生物学院微生物学科创建于1958年，由原北京农业大学植保系和土化系的微生物学教研组合并组建而成，是我国高等院校第一个农业微生物学专业。1981年被国务院学位委员会列为第一批博士点，1993年被评为农业部重点学科，2001年被评为国家级重点学科。

本学科特色是研究、挖掘和利用丰富的微生物资源，为农业生产服务。研究方向包括根瘤菌资源调查和系统发育学、固氮酶的生化机制及遗传调控、真菌生理及遗传学、药用及食用真菌学、微生物发酵工程、土壤和环境微生物学，并在此基础上，加强了微生物分子遗传，增加了病毒学、免疫学和生物质能源等研究方向。1985年，原在植保系的微生物专业参与了中国农业大学生物学院的组建，建立了微生物系，于2003年更名为“微生物及免疫学系”。目前本系开设的本科生课程包括：微生物生物学，原核生物进化与系统分类学，真菌生物学，微生物生理学，微生物遗传学，微生物发酵工程，食用菌学，资源与环境微生物学，病毒学及免疫学，每门课程均有理论课和实验课。

本系俞大绂教授等老一代学者及多位已经退休的老老师在微生物学教学思想、课程设置及团队建设等方面，为学科发展做出了巨大的贡献，也为后人的工作奠定了良好的基础。在教学中突出的特色是理论课程与实验课程的紧密结合，特别是对于本专业入门的实验课程，积极推进将“死标本”的观察转变为学生自行分离和观察活体标本，使学生们从被动地接受知识转变为主动地参与学习，有利于促进学生们掌握实验技能，并锻炼思考和分析能力。这种教学理念和模式一直沿用至今。目前本系担任教学工作的是一支中、青年教师结合的队伍，他们责任心强、思想活跃、虚心进取，不断进行教学改革，积极探讨在新的形势下，如何正确解决，“基础与创新”、“理论与实践”、“教学与科研”的关系，认真履行着教师的职责。

本套实验教程的基本资料均来自教师们多年的积累。本系历来坚持教学与科研并重的原则，在多年的发展过程中，逐步规划将教师的科研方向与所承担的课程内容紧密相关，保证教学内容中基础知识与前沿知识相结合，很多实验设计出自任课教师的科研积累。大家齐心协力，勇于创新，不断更新实验教学内容，使各门实验课程的教学工作一直受到学生的好评。

本系承担的9门本科生微生物学实验课程一直没有编写正式出版的教材。最近，

在大家的努力和领导的支持下，各位主编在近年完成实验课教学大纲修订的前提下，汇集了来自其他兄弟院校教师们的智慧，终于完成 9 本实验教程的编写，这是大家共同努力的结果。

衷心感谢南开大学邢来君教授、山东大学陈冠军教授、山西大学赵良启教授欣然接受我们的邀请，不仅为本套教材的审稿付出辛勤劳动，同时作为本套实验教程编委会成员，为保证教材的质量献计献策。感谢中国农业大学生物学院领导的支持和“教育部高等学校专业综合改革试点”项目的资助，感谢来自兄弟院校全体参编教师们的认真合作。感谢科学出版社为编辑和出版本套教材所付出的努力。希望这套实验教程的出版，为本学科和相关学科读者的学习和工作带来有益的参考，也希望广大读者提出批评和建议，以便我们今后做出修改。

李季伦

2014 年 1 月

前 言

食用菌学是微生物学的一个重要分支,也是人们生产和生活中不可缺少的食品。越来越多的食用菌被驯化成功,成为人们餐桌上的美味佳肴,一些食用菌和药用真菌也早已被发现具有提高免疫力和抗肿瘤等功效。学习和掌握食用菌的基础知识,对深入研究大型真菌具有重要的意义。

本实验教程内容全面,分别介绍了食用菌资源调查与分类、食用菌生理及遗传育种、食用菌细胞中生理活性物质的提取与加工、代表性食用菌栽培等方面技术。参加本书编写的有中国农业大学、北京农学院、河北工程大学和山东农业大学等从事食用菌教学与科研工作的教师。具体分工为:实验一至实验六、实验二十和实验二十一由郑素月编写,实验七至实验十四由王贺祥编写,实验十五至实验十七由朱孟娟编写,实验十八和实验十九、实验二十二至实验二十六由张国庆编写,附录由朱孟娟和张国庆整理,全书由王贺祥统稿,由顾桂芬主审。

本书的编写获得中国农业大学生物学院“教育部高等学校专业综合改革试点”项目和公益性行业(农业)科研专项经费项目“食用菌保鲜加工与循环利用技术研究示范(201303080)”的支持,科学出版社给予大力支持和帮助,在此一并致谢。

限于编者水平,本书难免会有不足之处,敬请读者随时向我们提出宝贵意见,以便及时修改。

实验二 液体菌种制作技术	12
一、实验目的	12
二、实验原理	12
三、实验材料	12
四、实验步骤	13
五、思考题	15
六、参考文献	15
实验四 菌种保藏方法	16
一、实验目的	16
二、实验原理	16
三、实验材料	17
四、实验步骤	18
五、思考题	19
六、参考文献	19

编 者

2014年2月

目 录

总序	1
前言	1
实验一 母种、原种、栽培种的制作	1
一、实验目的	1
二、实验原理	1
三、实验材料	1
四、实验步骤	2
五、思考题	6
六、参考文献	6
实验二 菌种分离技术	7
一、实验目的	7
二、实验原理	7
三、实验材料	7
四、实验步骤	8
五、思考题	11
六、参考文献	11
实验三 液体菌种制作技术	12
一、实验目的	12
二、实验原理	12
三、实验材料	12
四、实验步骤	13
五、思考题	15
六、参考文献	15
实验四 菌种保藏方法	16
一、实验目的	16
二、实验原理	16
三、实验材料	17
四、实验步骤	18
五、思考题	19
六、参考文献	19

实验五 平菇不同菌株的酯酶同工酶凝胶电泳鉴定	20
一、实验目的	20
二、实验原理	20
三、实验材料	21
四、实验步骤	22
五、思考题	23
六、参考文献	24
实验六 RAPD 检测平菇菌株间基因组差异	25
一、实验目的	25
二、实验原理	25
三、实验材料	27
四、实验步骤	28
五、思考题	31
六、参考文献	31
实验七 平菇栽培技术	32
一、实验目的	32
二、实验原理	32
三、实验材料	35
四、实验步骤	35
五、思考题	36
六、参考文献	37
实验八 香菇栽培技术	38
一、实验目的	38
二、实验原理	38
三、实验材料	42
四、实验步骤	43
五、思考题	46
六、参考文献	46
实验九 金针菇栽培技术	48
一、实验目的	48
二、实验原理	48
三、实验材料	51
四、实验步骤	51
五、思考题	53
六、参考文献	53

实验十 黑木耳栽培技术	54
一、实验目的.....	54
二、实验原理.....	54
三、实验材料.....	56
四、实验步骤.....	57
五、思考题.....	58
六、参考文献.....	59
实验十一 双孢蘑菇栽培技术	60
一、实验目的.....	60
二、实验原理.....	60
三、实验材料.....	63
四、实验步骤.....	63
五、思考题.....	67
六、参考文献.....	68
实验十二 鸡腿菇栽培技术	69
一、实验目的.....	69
二、实验原理.....	69
三、实验材料.....	70
四、实验步骤.....	70
五、思考题.....	72
六、参考文献.....	72
实验十三 草菇栽培技术	74
一、实验目的.....	74
二、实验原理.....	74
三、实验材料.....	76
四、实验步骤.....	76
五、思考题.....	78
六、参考文献.....	78
实验十四 杏鲍菇栽培技术	79
一、实验目的.....	79
二、实验原理.....	79
三、实验材料.....	80
四、实验步骤.....	80
五、思考题.....	81
六、参考文献.....	81

实验十五 白灵菇栽培技术	83
一、实验目的	83
二、实验原理	83
三、实验材料	84
四、实验步骤	84
五、思考题	85
六、参考文献	86
实验十六 灵芝栽培技术	87
一、实验目的	87
二、实验原理	87
三、实验材料	88
四、实验步骤	88
五、思考题	90
六、参考文献	90
实验十七 蛹虫草栽培技术	91
一、实验目的	91
二、实验原理	91
三、实验材料	92
四、实验步骤	92
五、思考题	93
六、参考文献	94
实验十八 香菇烘干技术	95
一、实验目的	95
二、实验原理	95
三、实验材料	98
四、实验步骤	98
五、实验结果	99
六、思考题	99
七、参考文献	99
实验十九 双孢蘑菇罐头加工技术	100
一、实验目的	100
二、实验原理	100
三、实验材料	103
四、实验步骤	103
五、实验结果	104
六、思考题	104

七、参考文献	104
实验二十 食用菌子实体总糖含量的测定	105
一、实验目的	105
二、实验原理	105
三、实验材料	105
四、实验步骤	106
五、思考题	107
六、参考文献	107
实验二十一 食用菌子实体粗蛋白含量的测定	108
一、实验目的	108
二、实验原理	108
三、实验材料	108
四、实验步骤	109
五、思考题	111
六、参考文献	111
实验二十二 香菇多糖的粗分离及含量测定	112
一、实验目的	112
二、实验原理	112
三、实验材料	114
四、实验步骤	115
五、实验结果	116
六、思考题	116
七、参考文献	116
实验二十三 巨大革耳子实体漆酶的分离纯化	118
一、实验目的	118
二、实验原理	118
三、实验材料	122
四、实验步骤	124
五、实验结果	128
六、思考题	128
七、参考文献	128
实验二十四 茶树菇子实体凝集素的分离纯化	130
一、实验目的	130
二、实验原理	130
三、实验材料	132
四、实验步骤	133

五、实验结果	136
六、思考题	137
七、参考文献	137
实验二十五 野生食用菌资源调查	138
一、实验目的	138
二、实验原理	138
三、实验材料	145
四、实验步骤	145
五、实验结果	146
六、思考题	146
七、参考文献	147
实验二十六 食用菌标本保存技术	148
一、实验目的	148
二、实验原理	148
三、实验材料	150
四、实验步骤	150
五、实验结果	151
六、思考题	151
七、参考文献	151
附录	152
附录一 常用培养基配方	152
附录二 消毒与灭菌	155
附录三 接种	158
附录四 培养料中碳氮比例(C/N)的计算方法	160
附录五 培养料的含水量	161
附录六 不允许使用的化学药剂*	162
附录七 食用菌产品的分级	162
附录八 食品中可能违法添加的非食用物质和易滥用的食品添加剂名单 (第1~5批汇总)	164
附录九 中华人民共和国农业行业标准:香菇等级规格	168
附录十 中华人民共和国国家标准:食用菌罐头卫生标准	173
附录十一 中华人民共和国国家标准:蘑菇罐头	176

实验一 母种、原种、栽培种的制作

一、实验目的

1. 掌握食用菌母种培养基的制作、灭菌、母种转接等操作技术和方法。
2. 掌握食用菌原种的制作方法和接种技术。
3. 掌握食用菌栽培种的制作方法和接种技术。

二、实验原理

母种又称一级种，常用试管作为容器，故又称试管种。是指经组织分离、孢子分离或基内菌丝分离而得到的具有结实性的菌丝体纯培养物及继代培养物。母种的制作过程分为培养基的制作、灭菌、接种和培养。

原种又称二级种，是指把培养好的优良母种转接到谷粒、棉籽壳、木屑或粪草等原料制成的培养基上，使其进一步扩大繁殖而成的菌种。原种常用透明的玻璃瓶、塑料瓶或聚丙烯塑料袋作为容器，主要用来繁殖三级种。不同菇类的原种培养基成分不同。一般草腐菌（双孢蘑菇、草菇等）可用粪草为主要原料作培养基；木腐菌（香菇、平菇等）培养基可用木屑或棉籽壳为主要原料来配制；谷粒培养基适合于大多数食用菌生长。随着食用菌产业的发展，用作原种培养基的原料来源会越来越广泛。

栽培种又称三级种，是由原种转接、扩繁到相同或相似培养基上培养而制成的菌种，制作方法基本上与原种相同。菇类不同，制备栽培种所用培养基的成分也有差异，常用培养料有木屑、棉籽壳、粪草等。栽培种常用聚丙烯塑料袋作为容器，使用时要仔细检查塑料袋有无沙眼或破损，否则容易造成污染。

三、实验材料

1. 母种制作

马铃薯、葡萄糖或蔗糖、琼脂、pH 试纸（或 pH 计）、1 mol/L NaOH 溶液、1 mol/L HCl 溶液、磷酸二氢钾、硫酸镁、维生素 B₁。

2. 原种制作

麦粒、石膏粉、碳酸钙、棉籽壳（或木屑）、麦麸（或米糠）、蔗糖、过磷酸钙、母种。

3. 栽培种制作

棉籽壳（或木屑）、麦麸（或米糠）、过磷酸钙、蔗糖、原种。

4. 其他

手提式高压灭菌锅、立式（卧式）高压灭菌锅、接种箱或接种室、电热恒温

培养箱、培养室、分装漏斗、搪瓷缸、电磁炉、纱布、18 mm × 180 mm 试管、牛皮纸、酒精灯、75%酒精棉球、接种工具、记号笔、菌种瓶（菌种袋）、天平、盘秤等。

四、实验步骤

（一）母种的制作

1. 培养基的制作

为获得优良和生长旺盛的母种，母种培养基的成分应选用营养丰富、容易被菌丝吸收利用的原料来进行配制。因为不同菌类对营养物质的需求不同，所以不同母种培养基的成分和比例也各有差异。食用菌常用的母种培养基配方有马铃薯葡萄糖琼脂培养基（PDA 培养基）和 PDA 综合培养基，配方如下：

PDA 培养基：马铃薯（去皮）200 g，葡萄糖（或蔗糖）20 g，琼脂 18~20 g，水 1000 mL，pH 自然。

PDA 综合培养基：马铃薯（去皮）200 g，葡萄糖（或蔗糖）20 g，磷酸二氢钾 3 g，硫酸镁 1.5 g，维生素 B₁ 10 mg，琼脂 18~20 g，水 1000 mL，pH 自然。

配制过程（以配制 1000 mL 为例）：

- 1) 马铃薯去皮洗净，称取 200 g，切成 1 cm³ 小块或 2~3 mm 厚的薄片。
- 2) 将切好的马铃薯加入到 1000 mL 自来水中，电磁炉上煮沸后维持 15~20 min，至马铃薯熟而不烂，4 层或 8 层预湿的纱布过滤，滤液补水至 1000 mL。
- 3) 将称好的琼脂加入到滤液中，在电磁炉上用小火加热，边煮边搅拌，防止琼脂糊底，直至琼脂完全融化，再加入葡萄糖等可溶性物质，搅拌均匀。
- 4) 调节 pH：PDA 培养基配好后，pH 一般为中性，不必调节。若培养其他食用菌菌丝体，如猴头菌，需将培养基调节至最适 pH 范围。如培养基低于所要求的 pH 时，应向培养基中滴加 1 mol/L NaOH 溶液；若培养基高于所要求的 pH，应滴加 1 mol/L HCl 溶液进行调节。边滴入，边搅拌，边用精密 pH 试纸或 pH 计测定，直至合适为止。应该注意培养基的酸碱度在灭菌前不宜调至 pH 6.0 以下，否则灭菌后培养基不凝固。有些菇类的培养基要求 pH 6.0 以下时，要求灭菌后在无菌条件下滴加盐酸或乳酸等进行调节。pH 调节好后，加水定容至 1000 mL。

5) 分装试管：配制好的培养基应趁热用分装漏斗进行分装，常选用 18 mm × 180 mm 玻璃试管，每个试管分装 10 mL 左右培养基，一般装入试管高度的 1/5~1/4，分装时应注意不得使培养基粘在试管的口壁上，以防止杂菌污染。培养基分装完以后立即塞上大小合适的棉塞或透气的胶塞。将塞好棉塞的试管 7 或 9 支扎成一把，在棉塞外面包一层防潮纸或牛皮纸，防止灭菌时棉塞被冷凝水打湿。

2. 灭菌

培养基分装完后立即采用高压灭菌锅进行灭菌。一般马铃薯葡萄糖琼脂培养基

采用 0.103~0.110 MPa 的压强, 灭菌 20~30 min。灭菌时应注意以下几个方面:

1) 将灭菌物品直立放入内锅, 试管口或三角瓶口向上且不要贴锅边, 避免冷凝水浸入试管或三角瓶。灭菌物品不要装得太满, 留出一定空间, 便于蒸汽流通, 否则易造成灭菌不彻底和培养基粘在容器的口壁上而发生污染。

2) 盖锅盖时应将锅盖上的排气管插入锅内壁管孔内, 然后对角线方向拧紧锅盖上的螺丝, 并将放气阀直立打开, 安全阀横向关闭。

3) 将灭菌锅通电加热, 当锅内蒸汽大量排出时再继续排气 3~5 min, 以便排净锅内的冷空气, 然后关闭放气阀。

4) 当压力表指针达到所需压力时开始计时, 维持 20~30 min。灭菌结束待压力表指针自然回到“0”位时打开放气阀, 排出锅内剩余蒸汽后, 打开锅盖。注意切忌在压力表未到“0”位时就放汽, 以免试管内的培养基向上冲浸湿棉塞, 造成以后菌种的污染。

3. 摆斜面

试管取出后一定要趁热摆斜面, 斜面的长度一般为试管长度的 3/5。用于保藏菌种的试管斜面应适当短些。

4. 接种和培养

将制作好的斜面培养基放进接种室、接种箱或超净工作台内, 用紫外灯 (或化学药品, 如气雾消毒盒等) 消毒 30 min 以上, 关闭紫光灯或熏蒸消毒 20 min 后, 再开始进入接种室内进行接种。

接种时要严格按照无菌操作规程进行操作, 具体接种方法如下:

1) 左手平托两支试管, 手指按住试管底部, 外侧一支是供接种用的菌种试管, 内侧一支是待接母种的试管。

2) 右手拿接种针或接种铲, 用拇指、食指和中指握住其柄部, 将接种针或接种铲插入 75%乙醇消毒瓶中, 在酒精灯火焰上灼烧接种针或接种铲的顶端, 逐渐将杆部也在火焰上慢慢通过, 这样反复 3 次即可将接种针或接种铲彻底灭菌, 切记最后一次灼烧后不能再浸入乙醇消毒瓶中, 应在火焰旁自然冷却。

3) 将左手平托的两支试管管口靠近火焰, 用右手的小指和手掌将外侧的菌种管上的棉塞拔出, 再用中指和无名指拔出内侧试管口上的棉塞夹在手中, 不得放在桌子上或台面上, 将两支试管口迅速移到酒精灯火焰旁边。

4) 将烧过并冷却的接种针或接种铲伸入母种试管中, 在菌丝斜面上勾取火柴头大小的一块菌丝块, 迅速放到待接试管斜面的中部, 将试管口在火焰上烧一下, 然后立即塞上棉塞。

5) 接种完毕, 再将接种针或接种铲在火焰上灼烧灭菌。以免使接种的菌丝扩散, 造成污染。

6) 菌种接完后, 贴好标签或用记号笔在试管壁上注明菌种名称及接种日期等。

7) 将同类菌种扎好, 置于该菌所要求的适宜温度下 (恒温箱或恒温室内) 培养,