

# 食用菌育种 栽培 加工技术

● 黄日明 陈国醒等编著 ● 湖南科学技术出版社



# 食用菌研究法

杨新美 主编

中国农业出版社

主 编 杨新美

副 主 编 吕作舟

编者名单 (以姓氏笔画为序)

马文珍 马爱民 王家清 邝幸泉 朱兰宝

毕成鹏 刘咏梅 吕作舟 汪中文 陈立国

杨新美 林芳灿 周玉林 罗信昌 高国琪

谢宝贵

审 稿 林芳灿 陈立国

## 食用菌研究法

杨新美 主编

\* \* \*

责任编辑 孟令洋

中国农业出版社出版(北京市朝阳区农展馆北路2号 100026)

新华书店北京发行所发行 中国农业出版社印刷厂印刷

850mm×1168mm 32开本 10.25印张 257千字

1998年12月第1版 1998年12月北京第1次印刷

印数 1~2 000册 定价 26.50元

ISBN 7-109-05396-2/S·3436

(凡本版图书出现印刷、装订错误,请向出版社发行部调换)

## 内 容 简 介

本书介绍了食用菌教学、科研及应用中所涉及的实验技术，并扼要阐明各项实验技术的基本原理。全书共分十三章，内容包括显微镜及镜检材料的制备；大型真菌标本的采集、鉴定及管理；食用菌生理、生化基础实验；食用菌遗传育种的基本步骤；食用菌菌种的分离、制种及保藏技术；食用菌栽培技术的理论与实践；食用菌主要病虫害的防治技术；食用菌产品的保鲜与加工工艺；深层通气发酵工艺；现代生物技术食用菌中的应用；以及试验设计和实验数据的统计分析等。

本书可作为大专院校微生物、园艺、食品、植保等有关专业的教材，也可作为食用菌专业技术人员、生产及营销人员在分析和解决问题时参考。



《食用菌研究法》(Research Methods of The Edible Mushroom) 是为适应教育、科研及现代食用菌产业发展形势而编写的一本实验指导参考书。全书共分十三章和一组可供参考的附录。本书侧重实验技术,并扼要阐明各项实验技术的原理。书末的附录使本书兼有工具书的作用。

本书的主要内容包括,显微镜及镜检材料的制备、大型真菌标本的搜集、鉴定及标本档案的建立和管理;食用菌生理、生化基础实验;食用菌遗传育种的基本步骤;现代生物技术在食用菌中的应用;食用菌菌种的分离、制种及保藏技术;食用菌栽培、管理的设施及关键技术;食用菌主要病虫害的防治技术措施;食用菌产品的保鲜与加工工艺流程;深层通气发酵工艺以及试验设计和实验数据的统计分析等。附录中列有培养基配方、消毒灭菌、农药使用、试剂配制等方面的参考资料。

本书贯彻科学技术和学术研究为社会主义经济建设服务的方针,期望能为我国食用菌产业的科技进步起一定的促进作用。在内容上,力图做到理论与实践相结合,系统总结本国经验与积极借鉴国外先进技术相结合。本书可作为大专院校微生物、园艺、食品、

植保等有关专业的教材，也可供食用菌专业技术人员、广大食用菌生产及营销人员在分析和解决实际问题时参考。

本书从筹想到完稿达十余年之久。由于食用菌研究法涉及多种分支学科，因此，特邀请具有不同专长学者分工撰写。编写者多系华中农业大学应用真菌研究室教师，他们大多长期从事食用菌教学、科研或技术推广工作，积累了较丰富的经验。参加撰稿的有：马文珍、马爱民、王家清、邝幸泉、朱兰宝、毕成鹏、刘咏梅、吕作舟、汪中文、陈立国、杨新美、周玉林、林芳灿、罗信昌、高国琪、谢宝贵等。为了体现对编写者辛勤劳动的尊重及便于读者与编写者直接联系，各章均由编写者署名。由于完稿时间较长，内容有较大变动等原因，有些章节曾由不同作者先后提交了各自的文稿。如遇此种情况时，所有供稿者均署其名，而将最后采用稿作者的署名列在前面。

全书完稿后，主编邀请专人进行了认真的修改、审订。参与终审定稿的有：林芳灿、陈立国、吕作舟、杨新美等。

编写食用菌研究法方面的著作尚属初次尝试，书中挂一漏万甚或讹误之处在所难免，诚望广大读者在参阅使用中，提出宝贵意见，以便今后修订时改进。

**杨新美**

1998年3月



## 前言

<b>第一章 显微镜及镜检材料的制备</b> .....	1
<b>第一节 光学显微镜及其配套技术</b> .....	1
一、明视野显微镜 .....	2
二、相差显微镜 .....	4
三、荧光显微镜 .....	5
<b>第二节 电子显微镜及其有关技术</b> .....	8
一、电子显微镜的构造及其工作原理 .....	8
二、透射电子显微镜及超薄切片 .....	9
三、扫描电子显微镜及其制片 .....	12
<b>主要参考文献</b> .....	14
<b>第二章 食用菌标本的采集、鉴定及管理</b> .....	15
<b>第一节 食用菌标本的采集</b> .....	15
一、采集用具 .....	16
二、采集方法 .....	16
三、采集时注意事项 .....	17
四、采集记录 .....	17
<b>第二节 标本的制作</b> .....	18
一、标本的整理 .....	19
二、干标本的制作 .....	19
三、液浸标本的制作 .....	20
<b>第三节 标本的鉴定</b> .....	21

第四节 标本的管理 .....	22
一、标本柜 .....	22
二、标本盒 .....	22
三、标本瓶 .....	23
四、标签 .....	23
五、菌类索引卡片 .....	23
六、标本的保藏 .....	23
主要参考文献 .....	24
<b>第三章 菌种分离及保藏技术</b> .....	<b>25</b>
第一节 菌种分离 .....	26
一、分离工作所需要的用品 .....	26
二、分离前的准备工作 .....	27
三、菌种的分离 .....	27
四、菌种的制备 .....	32
五、菌种污染的原因及检查方法 .....	34
六、菌种的检验 .....	35
第二节 菌种保藏及复壮 .....	38
一、斜面低温保藏法 .....	39
二、锯木屑保藏法 .....	39
三、液体石蜡保藏法 .....	40
四、菌丝球保藏法 .....	41
五、液氮超低温保藏法 .....	41
主要参考文献 .....	42
<b>第四章 栽培技术的理论与实践</b> .....	<b>43</b>
第一节 菇房栽培 .....	43
一、菇房栽培的原理 .....	43
二、菇房要求 .....	43
三、菇房栽培的形式 .....	45
四、菇房周年集约化栽培的原理和设计 .....	49
第二节 室外栽培 .....	55
一、室外栽培的原理 .....	55



二、室外栽培的主要形式 .....	55
<b>第三节 人防工程栽培</b> .....	60
一、人防工程的特殊生态环境 .....	60
二、人防工程栽培食用菌 .....	60
<b>主要参考文献</b> .....	61
<b>第五章 贮藏与加工技术</b> .....	62
<b>第一节 贮藏保鲜技术</b> .....	62
一、保鲜原理 .....	63
二、保鲜技术 .....	63
三、食用菌保鲜实例 .....	65
<b>第二节 加工技术实例</b> .....	72
一、金针菇干制加工 .....	72
二、双孢蘑菇盐渍加工 .....	74
三、银耳罐藏加工 .....	76
四、香菇松加工技术 .....	78
五、香菇多糖注射液的制备方法 .....	80
<b>主要参考文献</b> .....	84
<b>第六章 食(药)用菌的深层发酵技术</b> .....	86
<b>第一节 深层发酵的工艺流程</b> .....	87
一、灭菌和空气净化 .....	87
二、菌种的扩大培养 .....	89
三、培养基的筛选 .....	90
四、发酵设备 .....	92
五、发酵工艺条件的优化 .....	94
六、发酵过程的监测 .....	97
七、后处理工艺 .....	99
<b>第二节 食(药)用菌深层发酵技术的应用</b> .....	99
一、液体菌种 .....	99
二、菌丝体产品 .....	100
三、菌类多糖的生产研究 .....	101
<b>主要参考文献</b> .....	103

<b>第七章 遗传育种技术</b> .....	104
<b>第一节 食用菌的生活史与性征</b> .....	104
一、食用菌的生活史 .....	104
二、食用菌的性征 .....	108
<b>第二节 高等担子菌子实体形成的遗传调节</b> .....	115
一、结实的多基因控制 .....	115
二、交配型基因对结实的控制 .....	116
三、单核体结实 .....	118
四、交配型基因与各种修饰基因的相互作用 .....	120
<b>第三节 选择育种技术</b> .....	122
一、人工选择的概念 .....	122
二、选择育种的步骤 .....	123
<b>第四节 杂交育种技术</b> .....	125
一、杂交育种中的几个基本问题 .....	125
二、杂交育种的一般步骤 .....	131
三、杂交育种的具体方法 .....	131
<b>第五节 诱变育种技术</b> .....	134
一、诱变育种中的几个基本问题 .....	134
二、诱变育种的一般步骤 .....	136
三、诱变育种的具体方法 .....	137
<b>主要参考文献</b> .....	140
<b>第八章 营养物质及其基质的化学分析</b> .....	141
<b>第一节 营养成分的测定</b> .....	141
一、总糖和还原糖的测定——3,5-二硝基水杨 酸法 .....	141
二、碳水化合物的测定——酚硫酸法 .....	144
三、蛋白质的测定——凯氏定氮法和 Bradford 法 .....	145
四、脂肪的测定——索氏提取法 .....	150
五、金针菇中赖氨酸含量的测定 .....	152

第二节 维生素的测定 .....	154
一、维生素 B <sub>1</sub> 的测定——荧光法 .....	154
二、维生素 C 的测定——2,6-二氯酚靛酚法 .....	156
第三节 金属离子的测定 .....	159
一、钙的测定——间接滴定法 .....	159
二、铁的测定——比色法 .....	161
三、磷的测定——比色法 .....	162
第四节 纤维素、半纤维素及木质素的测定 .....	164
一、纤维素的测定 .....	164
二、半纤维素的测定 .....	166
三、木质素的测定 .....	167
第九章 生理及生化研究法 .....	169
第一节 酶的分离纯化 .....	169
一、胞外纤维素酶的提取——盐析法 .....	169
二、纤维素酶的纯化——分子筛柱层析法脱盐 .....	172
三、纤维素酶的纯化——离子交换层析的应用 .....	174
第二节 酶活力的测定 .....	176
一、纤维素酶活力的测定 .....	177
二、蛋白酶活力的测定 .....	180
第三节 呼吸代谢的测定 .....	182
一、瓦氏 (Warburg) 呼吸计测压法 .....	182
二、木耳孢子呼吸强度测定 .....	187
第四节 电泳技术 .....	189
一、聚丙烯酰胺凝胶电泳法分离食用菌的酯酶同工酶 .....	189
二、SDS—聚丙烯酰胺凝胶电泳法测定蛋白质分子量 .....	192
三、等电聚焦法测定食用菌蛋白质的等电点 .....	195
主要参考文献 .....	199
第十章 原生质体融合育种技术 .....	200

第一节 概论 .....	200
一、原生质体融合育种技术简介 .....	200
二、原生质体融合育种技术的意义 .....	201
三、原生质体融合育种技术的进展 .....	201
第二节 原生质体融合育种技术的一般程序 和关键步骤 .....	202
一、一般程序 .....	202
二、关键步骤 .....	202
第三节 原生质体融合育种技术的具体方法 .....	203
一、原生质体的分离 .....	203
二、原生质体的再生 .....	206
三、原生质体的融合 .....	209
四、融合子生产性能的检测 .....	216
主要参考文献 .....	216
<b>第十一章 基因工程技术简介 .....</b>	<b>218</b>
第一节 基因克隆技术 .....	219
一、目的基因的取得 .....	219
二、DNA 的体外重组 .....	220
三、重组 DNA 的转化与扩增 .....	225
四、重组子的筛选与鉴定 .....	225
第二节 基因文库技术 .....	226
一、目的片段的制备 .....	227
二、载体分子的制备 .....	229
三、目的片段与载体分子的连接 .....	230
四、体外包装及文库的构建 .....	231
五、文库的鉴定 .....	232
第三节 基因扩增技术 .....	233
一、多聚酶链式反应技术 .....	233
二、NASBA 技术 .....	235
主要参考文献 .....	237

<b>第十二章 病虫害及其防治</b> .....	239
<b>第一节 病害及杂菌的防治</b> .....	240
一、病害的类型 .....	240
二、病害的诊断 .....	241
三、病害的发生规律及防治研究 .....	251
<b>第二节 害虫的防治</b> .....	254
一、害虫调查 .....	254
二、害虫生活史的研究 .....	254
三、害虫防治 .....	255
四、螨类的防治 .....	260
五、其他病虫害的综合防治 .....	262
<b>主要参考文献</b> .....	266
<b>第十三章 试验设计及统计分析</b> .....	267
<b>第一节 生物统计引论</b> .....	267
一、数理统计学研究的对象和作用 .....	267
二、生物统计学的概念及研究内容 .....	269
<b>第二节 试验设计的原理</b> .....	270
一、试验的一般要求 .....	270
二、试验设计的原理 .....	271
三、常用试验设计的类型 .....	273
<b>第三节 试验结果的统计分析</b> .....	275
一、两个样本平均数的比较 .....	275
二、多样本试验结果的方差分析 .....	279
<b>第四节 直线相关</b> .....	289
一、相关的意义 .....	289
二、相关的类别 .....	289
三、相关系数 .....	290
<b>第五节 卡平方 (<math>x^2</math>) 测验</b> .....	292
一、卡平方 ( $x^2$ ) 的概念 .....	292
二、 $x^2$ 测验的步骤 .....	293
三、 $x^2$ 测验的应用 .....	293

第六节 聚类分析的原理与实例 .....	296
一、聚类分析的概念 .....	296
二、聚类分析的方法 .....	297
三、系统聚类法及其分类步骤 .....	298
四、聚类分析在食用菌遗传育种研究中的应用 .....	298
主要参考文献 .....	301
附录 .....	302

# 第一章 显微镜及镜检 材料的制备

---

显微镜技术是近代微生物学研究中一项极其重要的技术。它可为真菌、细菌及病毒的形态结构提供图像；不仅外部扫描，而且可透视到细胞内部；它不仅可为细胞组织结构，而且还可为亚细胞结构及非细胞生物的分子结构提供图像。

显微技术，不仅止于阐明形态结构，而且有助于探讨形态发生及推导形态与功能的关系。它还可通过遗传物质载体（如细胞核型和染色体组型等）的观察，阐明遗传问题。

显微技术的主要工具为显微镜，而它的目的还必需将镜检材料，通过与各式显微镜相配套的制片技术才能完成。

显微镜可分为光学显微镜和电子显微镜两大类。

## 第一节 光学显微镜及其配套技术

光学显微镜是以日光或电光为光源，通过物镜，将标本放大，最后成像。人眼通过目镜，观察图像。

在光学显微镜中最常用的是明视野显微镜。为了适应不同的需求和条件，还有暗视野显微镜、相差显微镜、荧光显微镜等。它们的基本结构和普通明视野显

显微镜一样，包括机械装置和光学系统两部分（图 1—1、图 1—2）。

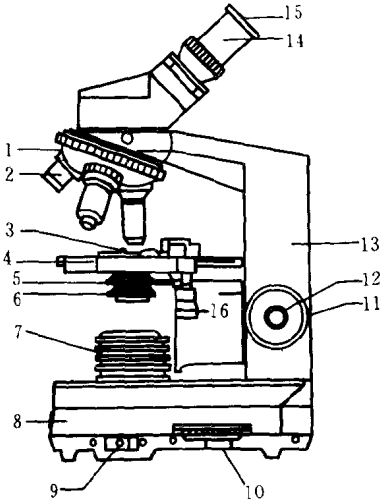


图 1—1 光学显微镜构造示意图

1. 物镜转换器 2. 物镜 3. 游标卡尺
4. 载物台 5. 聚光器 6. 彩虹光栏
7. 光源 8. 镜座 9. 电源开关
10. 光源滑动变阻器 11. 粗调螺旋
12. 微调螺旋 13. 镜臂 14. 镜筒
15. 目镜 16. 标本移动螺旋

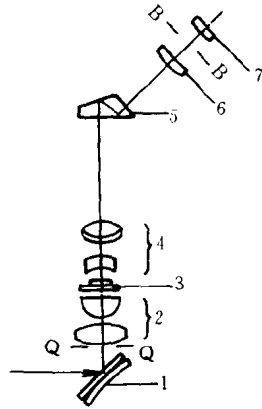


图 1—2 显微镜的光学系统

1. 反光镜 2. 聚光器 3. 标本
4. 物镜 5. 半五角棱镜 6. 场镜
7. 接目透镜 Q. 聚光器  
孔径光栏 B. 目镜视场光栏

## 一、明视野显微镜

明视野显微镜具有目镜和物镜两组镜头，二者将实物放大，形成可见的实像，既可及时观察，也可通过显微照相附件将所看到的图像拍摄下来。

物镜是显微镜中最主要的部件，显微镜的分辨率的高低取决于物镜“数值口径”（Numerical aperture），简称“NA”。同时，也与光源的波长相关。可用下面的公式来表示。

$$NA = n \sin \frac{\alpha}{2}$$



$u$  是进入物镜锥形光柱的角度， $n$  是物体和物镜之间的介质的折射率。加大物镜的透镜的直径和缩短它与实物间的焦距，就会加大  $u$  的角度，从而提高“数值口径”。然而，放大倍数高的物镜，其焦距很短，使用也就不方便。

$$\text{分辨率} = \frac{\text{光波长度}}{\text{数值口径}}$$

光波愈短，显微镜的分辨率愈高。众所周知，“可见光”的波长大于“紫外光”；然而，我们的肉眼看不见紫外光下的物体，因此，用紫外光作光源时，只能用于显微摄影而不能直接观察。所以，提高分辨率，较多地只得通过增加“NA”来达到。

为了使用方便，各物镜上都刻铸了它的放大倍数及相应的数值口径的焦距。例如：油浸镜上刻有  $90\times$ 、(NA) 0.65~0.95、(焦距) 1.6mm。

物体的放大倍数主要取决于物镜和目镜的乘积。目镜上也刻有  $5\times$ 、 $10\times$ 、 $15\times$ 、 $20\times$  或  $25\times$  等字样。

介质的折射率 ( $n$ )，对 (NA) 也有一定的作用。以空气在  $25^{\circ}\text{C}$  下的折射率为 1 作为基准，水的折射率为 1.33，石蜡油的为 1.46，香柏油的为 1.51，玻璃载片的为 1.50。例如，使用油浸镜头时，需要把石蜡油滴在业已染色的载片标本上，还要在聚光镜上面也滴一滴石蜡油。它的作用，不仅是增加透明度，而且也是使油浸、载片标本及聚光镜间的介质折光率趋于一致。

采用油浸镜或高倍镜时，需先用低倍镜找出实物适于观察的部位，然后换用高倍镜，换用油浸镜时，最好先用肉眼从载台侧面观测镜头浸入油滴的情况，然后使用微调，从目镜中观察标本，徐徐向上旋动，以免物镜受损。

聚光镜的作用是调聚光线，使明暗适度，从而提高对实物的分辨率。聚光镜实质上是一座镜面宽大的物镜，使用得当，可使分辨率提高 1 倍。

现代显微镜的底座中，都可装入低瓦小灯泡，由变压器调控