

野生灵芝的分离鉴定及林下栽培技术研究

吴国华¹, 付雅丽², 叶茂平¹, 童小青², 饶雨欣², 江宏², 王勇军^{2,3}

(1. 浙江省龙泉市林业局, 浙江 龙泉 323700; 2. 浙江农林大学 林业与生物技术学院, 浙江 杭州 311300;
3. 浙江农林大学, 省部共建亚热带森林培育国家重点实验室, 浙江 杭州 311300)

摘要: 灵芝 *Ganoderma lucidum* 是我国重要的珍贵食药两用菌。本研究从浙江省龙泉市森林中采集得到 8 个野生灵芝子实体, 通过菌丝体分离, 获得了相应 8 个灵芝菌种, 比较不同菌株在 PDA 培养基和原种培养基的生长速度, 发现采自板栗 *Castanea mollissima* 上的菌株 LQ06 的生长最快。对其进行形态学和 ITS 序列比对分析, 明确了菌种 LQ06 为灵芝属灵芝种真菌 *G. lucidum* Dai 2272。比较了灵芝 LQ06 林下栽培过程中不同段木栽培基质、不同林地郁闭度及塑料棚设置等因素对灵芝生长及产量的影响。结果显示, 以麻栎 *Quercus acutissima* 为段木栽培基质进行栽培, 所得灵芝的生长性状及孢子粉产量显著高于以枫香树 *Liquidambar formosana*、板栗和青冈 *Cyclobalanopsis glauca* 为段木栽培基质的 ($P < 0.05$); 在林分郁闭度为 0.6 和 0.8 的条件下, 灵芝的生长性状及孢子粉产量均优于郁闭度为 0.4 的条件; 设置灵芝棚可显著促进灵芝生长和提高孢子粉产量, 林下栽培得到的灵芝菌柄平均长度为 12.04 cm, 菌盖平均直径为 17.92 cm, 生物转化率为 5.63%, 每个成熟灵芝子实体平均干质量为 163.43 g, 孢子粉平均质量为 152.37 g, 粉/芝比为 93.23%。研究结果对灵芝野生资源开发及山区林下经济发展具有理论和应用价值。

关键词: 灵芝; 分子鉴定; 林下栽培; 段木基质; 郁闭度

中图分类号: S718.81 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-3776 (2021) 02-0029-06

Isolation and Identification of Wild *Ganoderma lucidum* and Cultivation Under Forest

WU Guo-hua¹, FU Ya-li², YE Mao-ping¹, TONG Xiao-qing², RAO Yu-xin², JIANG Hong², WANG Yong-jun^{2,3}

(1. Longquan Forestry Bureau of Zhejiang, Longquan 323700, China; 2. School of Forestry and Biotechnology, Zhejiang A & F University, Hangzhou 311300, China; 3. State Key Laboratory of Subtropical Silviculture, Zhejiang A & F University, Hangzhou 311300, China)

Abstract: In August 2017, 8 fruiting bodies of wild *Ganoderma lucidum* were collected in Longquan, Zhejiang province and 8 strains were isolated. Experiments were conducted on cultivation of isolated stains on PDA and primary stock substrate for comparing their growth. The result showed that stain of LQ06 collected from *Castanea mollissima* had the fastest growth. Analysis on its morphology and sequences of the internal transcribed spacer (ITS) region demonstrated that LQ06 was *G. lucidum* Dai 2272. Cultivation tests of LQ06 were carried out in Longquan in 2018 and 2019, with different cut logs, under different canopy densities and green house. The result concluded that LQ06 cultivated on cut log of *Quercus acutissima* had the best growth and highest spores yield, with crown densities of 0.6 and 0.8. Cultivation in greenhouse could significantly increase the growth and spores yield. The average length of stipes and diameter of caps was 12.04 cm and 17.92 cm, with 5.63% of biological efficiency. The average weight of each dry fruiting body and spore yield was 163.43 g and 152.37 g, resulting in the ratio of 93.23%.

Key words: *Ganoderma lucidum*; molecular identification; cultivation under forest; cut log; crown density

收稿日期: 2020-09-10; 修回日期: 2021-01-04

基金项目: 浙江省重点研发计划 (2018C02034); 浙江省林业局省院合作项目 (L20180056)

作者简介: 吴国华, 工程师, 从事森林培育及林下经济研究与应用工作; E-mail: 2534281344@qq.com。通信作者: 王勇军, 副教授, 从事森林微生物学研究; E-mail: wangyj@zafu.edu.cn。

灵芝 *Ganoderma lucidum* 隶属于担子菌纲 Basidiomycetes 多孔菌目 Polyporales 多孔菌科 Polyporaceae 灵芝属 *Ganoderma*, 被誉为百草之王, 是中国名贵传统中药材, 在我国已有 2 000 多年的药用历史, 具有滋补强壮、扶正固本的功效^[1]。灵芝及其孢子粉中含有多糖类、三萜类、蛋白质、甾醇类、核苷类、微量元素等生物活性成分^[2]。现代临床医学研究证明, 灵芝具有调节免疫、抗肿瘤、保肝解毒、抗衰老、抗神经衰弱、降血糖等功效^[3-5]。我国在 20 世纪 50 年代首次成功栽培灵芝并逐渐实现了灵芝规模化生产, 现已成为灵芝重要栽培和加工的国家^[6]。据 2015 年数据统计, 我国灵芝及孢子粉年产量约 12 万 t, 产值达到 16 亿美元^[6]。浙江灵芝商品性生产始于 20 世纪 70 年代, 已成为全国灵芝及孢子粉的主产区, 主要集中在龙泉、庆元、莲都、武义等生态环境优越的山区, 其中龙泉灵芝孢子粉 2011 年被列为国家地理标志产品保护^[7]。

目前, 我国灵芝栽培主要以袋料栽培和段木基质栽培为主^[6]。随着灵芝需求量的提高, 栽培场地的不断扩大, 新型栽培模式也在不断探索。林下仿野生栽培, 将菌丝袋料或段木覆土于遮阳较好的树林下培育出芝, 可有效克服栽培场地短缺、连作障碍等问题^[8], 并具有产量高、生物转化率高等优点, 已在四川、福建等山区林地得到推广和应用^[9-10]。龙泉灵芝目前主要以大田栽培为主, 主要栽培品种为‘沪农灵芝 1 号’, 针对林下栽培尚无大面积推广的品种^[11]。本研究从龙泉市森林中采集野生灵芝子实体并分离菌种, 筛选生长性能优良的菌种并完成野生灵芝的鉴定, 建立了野生菌株的林下栽培技术, 旨在为龙泉灵芝提供新的菌种资源和林下栽培模式。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 菌种采集 2017 年 8 月, 在浙江省龙泉市兰巨乡梅地村天然林(地理坐标为 119°7'41.22" E, 27°56'56.43" N, 海拔 650 ~ 700 m)中进行野生灵芝采集, 用小刀切取新鲜灵芝, 连同菌柄和菌盖, 装入取样袋中, 置于冰盒保存, 记录灵芝着生的宿主植物种类。从不同地点采集得到 8 个野生灵芝样品, 带回实验室进行分离及纯化。龙泉市属亚热带季风气候区, 年平均温度为 17.6℃, 年平均降水量为 1 664 mm, 平均空气相对湿度为 79%, 平均日照为 1 823.8 h, 无霜期为 262 d。

1.1.2 培养基 马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA): 马铃薯 200 g, 葡萄糖 20 g, 琼脂 20 g, 水 1 000 mL, pH 7.0, 121℃下高温灭菌 20 min。木屑麦麸培养基(原种培养基): 木屑 750 g, 麦麸 240 g, 石膏 10 g, 水 1 200 mL, pH 6.5, 采用 100℃下常压灭菌 24 h。段木栽培基质: 将供试的直径为 5 ~ 8 cm 的板栗 *Castanea mollissima*、枫香树 *Liquidambar formosana*、青冈 *Cyclobalanopsis glauca* 或麻栎 *Quercus acutissima* 的多年生枝条锯成 30 cm 长的段木, 分别装入高密度低压聚乙烯筒袋内, 每袋装入 7 根相同段木, 采用 100℃下常压灭菌 24 h。

1.1.3 栽培场地 栽培场地设置在浙江省龙泉市兰巨乡梅地村附近的次生林中, 地理坐标为 119°7'41.20" E 27°56'56.43" N, 海拔 500 ~ 700 m, 坡度在 25°~ 30°, 林地以阔叶树种为主, 主要包括枫香树、青冈等, 土质疏松, 偏酸性沙质土, 经间伐后林分郁闭度分别为 0.4、0.6 和 0.8。

1.2 试验方法

1.2.1 灵芝菌丝分离纯化 将采集到的灵芝样品用 75%酒精表面消毒 10 s 后, 用无菌水冲洗 2 遍, 用无菌剪刀在灵芝菌盖嫩边圈剪取长、宽均为 1 mm 大小的边缘菌块, 将菌块接种于 PDA 培养皿中, 避光条件下 28℃培养。待长出菌丝, 用挑针挑取少量菌丝置于新鲜 PDA 培养皿中, 进行培养, 观察菌丝形态, 获得纯培养物。按菌种生长速度, 选出菌丝生长最快的灵芝菌种作为研究菌种。

1.2.2 扫描电镜观察 选出生长最快的菌种作为研究菌种, 取该灵芝孢子粉用无菌水重悬后, 加入 2.5%戊二醛于 4℃下浸泡过夜, 加入磷酸缓冲液(pH 7.0)浸泡 15 min, 浸洗 3 次, 再用 1%锇酸溶液固定样品 1 ~ 2 h, 再用磷酸缓冲液(pH 7.0)漂洗 15 min, 随后依次将样品浸泡于 30%、50%、70%、80%、90%和 95%的乙醇溶液中, 每次浸泡 15 min。移除乙醇溶液, 用 100%乙醇洗脱 20 min, 洗脱 2 次, 然后用乙醇与乙酸异戊酯溶液(1/1, V/V)浸没 30 min 后, 用 100%乙酸异戊酯浸没样品 2 h, 晾干备用。将样品在临界点进行镀金, 放置于扫描电子显微镜(Phenom ProPW-100-011, 荷兰)下进行观察。

1.2.3 ITS-PCR 及测序 采用 Ezup 柱式真菌基因组 DNA 抽提试剂盒(生工®,上海)提取灵芝菌丝的总 DNA,采用真菌核糖体基因间隔区(ITS)通用引物 ITS1(5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3')和 ITS4(5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')对基因组 DNA 进行 PCR 扩增^[12]。扩增反应为:94℃/5 min;94℃/45 s,55℃/45 s,72℃/1 min,共 30 个循环;72℃/8 min。将扩增得到的 PCR 产物送生工生物工程(上海)股份有限公司双向测序,采用 DNAMAN 软件进行拼接。序列采用 MEGA 7.0 软件进行系统发育树构建,采用 Maximum likelihood analysis 进行分析,自展数据(bootstrap)为 1 000 次^[13]。

1.2.4 灵芝菌包的制备 将在 PDA 上生长的灵芝菌丝,接入原种培养基中,在黑暗条件下 18~22℃进行发菌;待白色菌丝长满原种培养基菌袋后,在无菌条件下用镊子取含有菌丝的培养料,加入供试的 4 种段木栽培基质的两端,扎口后,置于黑暗条件下 22~24℃进行发菌;20~30 d 后,待菌丝长满段木表面 1 周后,取出移至林地栽培。

1.2.5 灵芝林下栽培管理及采收 根据林区山坡的特征,设计灵芝菌包的排放位置,并进行起垄,每排灵芝菌包间隔 25 cm,每垄安排 4 排菌包。在 2018 年 4~5 月选择晴天排放菌包,通风 15~20 d 后脱去菌袋,覆盖厚度 1~2 cm 泥土,再在泥土上盖一层树叶;出芝后,保持湿润通气,当大部分灵芝菌盖表面色泽一致,边缘无嫩边圈时,即行采收。采用套筒采集法进行孢子粉采收,将灵芝菌盖和接粉薄膜上的孢子粉刷下,将收集到的孢子粉放置在干净容器里。

1.2.6 不同段木对灵芝林下栽培影响的小区设计 将用板栗、枫香树、青冈和麻栎 4 种不同段木栽培基质制备的灵芝菌包进行标记,于 2018 年 4 月,随机摆放在垄上,每垄摆放不同段木制备的灵芝菌包各 20 个,共 3 垄。约 70 天后,待灵芝孢子不再大量产生,进行孢子粉采收。取试验区每个灵芝,进行菌柄长度、菌盖直径、生物转化率、子实体干质量、孢子粉质量等指标进行测定。生物转化率(%)为子实体干质量和孢子粉质量之和占接种前段木质量的百分比。粉芝比(%)为灵芝孢子粉质量与子实体干质量的比值。

1.2.7 林间不同郁闭度对灵芝林下栽培影响的小区设计 适当间伐,采用树冠投影法确定林分郁闭度,得到郁闭度分别 0.4、0.6 和 0.8 的林下栽培区。栽培区树种主要为青冈和枫香树,树龄约为 20 年,树高 6~8 m。于 2018 年 4 月,将菌包排放在不同郁闭度的林区,每个郁闭度的林区设置 3 垄,每垄放置 20 个菌包。待灵芝孢子不再大量产生,进行孢子粉采收。取试验区每个灵芝,进行菌柄长度、菌盖直径、生物转化率、子实体干质量、孢子粉质量等指标进行测定。

1.2.8 设置灵芝棚对灵芝林下栽培影响的小区设计 于 2019 年 4 月,根据上年段木筛选试验结果和郁闭度试验结果,在麻栎段木栽培和林分郁闭度为 0.8 的栽培条件下,进行灵芝棚对灵芝生长及孢子产量的比较试验。处理组采用在灵芝菌包林下摆放并覆土后,用塑料膜支起 50 cm 高的灵芝棚盖住整垄,待到灵芝菌盖嫩边圈消失后,撤下灵芝棚,空白组不设置灵芝棚,每个处理设置 3 垄,每垄放置 20 个菌包。待灵芝孢子不再大量产生,进行孢子粉采收。取试验区每个灵芝,进行菌柄长度、菌盖直径、生物转化率、子实体干质量、孢子粉质量等指标测定。

1.2.9 统计分析 所有数据采用 SPSS 19 软件进行统计分析,采用 Duncan 新复极差法进行多重比较,采用 *t* 检验对两组数据进行比较。

2 结果与分析

2.1 不同灵芝菌种的生长速度测定

将采集到的 8 个野生灵芝样品进行培养,得到纯菌丝体,分别命名为 LQ01、LQ02、LQ03、LQ04、LQ05、LQ06、LQ07、LQ08 菌种。将这 8 个菌种分别在 PDA 和原种培养基上进行接种,测定菌丝的生长速度,结果如表 1。由表 1 可知,从板栗上分离的菌种 LQ06 在 PDA 和原种培养基上的生长速度均显著高于其他菌种($P < 0.05$),在 PDA 上第 5 天就长满整个培养皿,接种原种培养基后,第 14 天菌丝平均直径达到 16.12 cm,表

现出优良的生长性状。因此，本研究选择菌种生长最快的 LQ06 作为其他试验的菌种。

表 1 不同菌种在 PDA 和原种培养基上的生长
Table 1 Growth of isolated 8 strains on PDA and primary stock substrate

菌种	宿主植物	在 PDA 上的菌落直径/cm		在原种培养基上的菌落直径/cm	
		第 3 天	第 5 天	第 7 天	第 14 天
LQ01	枫香树	3.49±0.14	7.60±0.43	4.20±0.40	10.09±2.58
LQ02	麻栎	3.36±0.20	7.36±0.20	4.16±0.31	9.36±1.99
LQ03	板栗	3.60±0.24	7.60±0.24	4.28±0.46	10.60±3.17
LQ04	板栗	3.63±0.39	8.23±0.23	4.27±0.17	12.63±0.49
LQ05	板栗	3.50±0.13	8.48±0.13	4.30±0.39	13.10±1.14
LQ06	板栗	4.12±0.49*	9.00±0.00 *	4.66±0.21*	16.12±1.33*
LQ07	板栗	3.70±0.18	8.66±0.23	4.38±0.20	11.30±2.40
LQ08	板栗	3.69±0.19	8.49±0.15	4.29±0.32	11.29±2.55

注：菌落直径为菌落最长和最短的平均值；*为采用 *t* 检验进行两组数据的比较，同列中在 0.05 水平下与其他组数据差异显著。

2.2 灵芝菌种 LQ06 的生长特性及 ITS 序列分析

LQ06 菌丝体在 PDA 培养基上呈现浓密白色，较纤细，粗细均匀，菌丝透明（图 1A）。担孢子呈椭圆形，表面有网纹孔格，大小为（5.3~6.4）μm×（2.7~3.8）μm（图 1B）。PCR 扩增获得菌株 LQ06 的 ITS 部分序列，NCBI 登录号为 MT936513。利用 MEGA 7.0 软件构建的系统发育树分析结果显示，LQ06 与灵芝 *G. lucidum* Dai2272 菌株和 G1T099 菌株亲缘关系最近，与 *G. lucidum* Dai2272 的相似度为 97.09%，构成一个分支（图 2）。菌丝和担孢子形态以及 ITS 序列比对结果进一步明确了菌株 LQ06 为灵芝属灵芝种 *G. lucidum* 真菌。

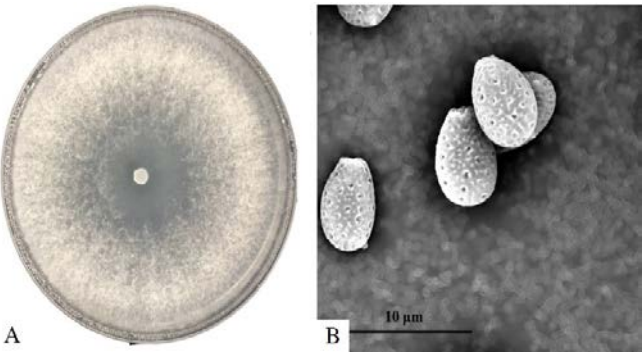


图 1 灵芝 LQ06 菌丝（A）和担孢子（B）形态

Figure 1 The mycelium of *G. lucidum* LQ06 growing on PDA (A) and morphology of basidiospores

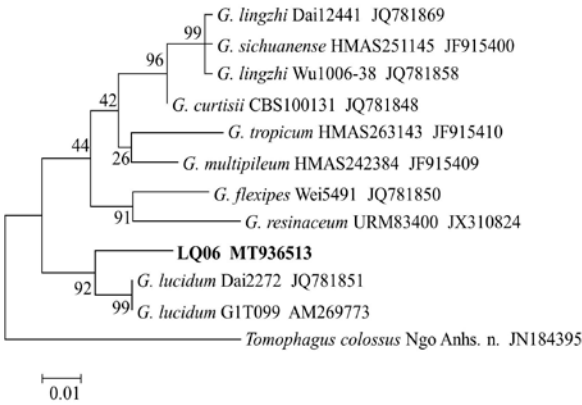


图 2 基于 ITS 序列构建的系统发育树

Figure 2 Phylogenetic tree inferred from the Maximum likelihood analysis based on the ITS dataset

2.3 林下栽培过程中灵芝 LQ06 的生长特征

将得到的灵芝菌种 LQ06 经试管母种生长和原种扩繁后，接种于消毒后的麻栎段木栽培基质上，进行发菌处理，待到菌丝布满菌棒后，于 2020 年 5 月移至林地（图 3A）。30 d 后，进入出芝期（图 3B），随后菌盖不断展开，菌柄伸长，约 45 d 后，菌盖嫩边圈开始消失，菌盖颜色呈现赤色，50 d 后，菌盖嫩边圈完全消失，担孢子开始从菌盖下表面的多孔中开始产生（图 3C）。

2.4 不同段木栽培基质对林下栽培灵芝 LQ06 的生长性状及孢子产量的影响

选择枫香树、板栗、青冈、麻栎 4 种段木栽培基质进行灵芝 LQ06 的栽培，结果如表 2。

表 2 不同段木栽培基质对林下栽培灵芝生长性状和孢子产量的影响
Table 2 Effect of different cut logs on growth traits and spores yield of *G. lucidum* LQ06 cultivation under forest

段木类型	菌柄长度/cm	菌盖直径/cm	生物转化率/%	子实体干质量/g	孢子粉质量/g	灵芝产量比/%
枫香树	7.49±0.92 a	15.44±1.23 a	4.54±0.63 a	83.87±8.46 a	78.54±7.35 a	93.64
板栗	7.85±0.82 a	16.23±1.63 a	5.02±0.37 b	86.38±6.14 a	82.45±6.12 a	95.45
青冈	8.56±1.03 b	17.54±1.78 a	5.54±0.68 c	97.01±9.14 b	95.35±8.34 b	98.29
麻栎	9.57±0.67 c	19.61±1.35 b	6.14±0.24 d	112.56±7.26 c	108.54±12.63 c	96.43

注：采用 Duncan 新复极差法进行多重比较，同列中不同字母表示差异显著（*P*<0.05）。

由表 2 可知, 以麻栎作为段木栽培基质的灵芝生长最快, 在灵芝孢子粉不再大量产生时, 菌柄平均长度达到 9.57 cm, 菌盖平均直径达到 19.61 cm, 生物转化率为 6.14%, 每个成熟灵芝子实体平均干质量为 112.56 g, 孢子粉平均质量为 108.54 g, 粉芝产量比为 96.43%。以青冈、板栗、枫香树为段木栽培基质的灵芝生长和孢子粉质量均显著低于麻栎 ($P < 0.05$)。

2.5 不同郁闭度对林下栽培灵芝 LQ06 的生长性状及孢子产量的影响

以麻栎段木为栽培基质, 选择不同郁闭度的林地进行灵芝菌种 LQ06 的栽培, 结果如表 3。由表 3 看出, 在郁闭度为 0.6 和 0.8 的林地栽培的灵芝生长较好, 其菌柄长度、菌盖直径、生物转化率、单个子实体干质量以及孢子粉质量, 均显著高于郁闭度为 0.4 的林地 ($P < 0.05$)。郁闭度为 0.6 和 0.8 的林区栽培的灵芝之间无明显差异。



图 3 灵芝林下栽培现场 (A) 及子实体生长发育过程 (B 和 C)

Figure 3 The cultivation of *G. lucidum* LQ06 under forest (A) and development of fruiting body (B and C)

表 3 不同郁闭度对林下栽培灵芝的生长性状和孢子产量的影响
Table 3 Effect of different crown density on growth traits and spores yield of *G. lucidum* LQ06 cultivation under forest

郁闭度	菌柄长度/cm	菌盖直径/cm	生物转化率/%	子实体干质量/g	孢子粉质量/g	粉芝产量比/%
0.4	5.34±0.42 a	12.44±3.68 a	4.31±0.61 a	73.87±13.46 a	68.31±8.79 a	92.47
0.6	7.45±0.62 b	14.23±2.34 b	5.13±0.85 b	109.58±10.31 b	103.21±9.24 b	94.19
0.8	7.56±0.63 b	16.54±1.68 b	5.59±0.62 b	111.10±11.44 b	104.26±8.35 b	93.84

注: 采用 Duncan 新复极差法进行多重比较, 同列中不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

2.6 灵芝棚搭建对林下栽培灵芝 LQ06 的生长性状及孢子产量的影响

在以麻栎段木为栽培基质和郁闭度为 0.8 的栽培条件下, 搭建灵芝棚, 测定搭建灵芝棚对灵芝生长性状和孢子产量的影响, 结果表 4。由表 4 可以看出, 搭棚组灵芝的菌柄平均长度为 12.04 cm, 显著高于无棚对照组 (8.72 cm), 两处理的菌盖直径无显著差异, 有棚组的生物转化率为 5.63%, 显著高于对照组 ($P < 0.05$); 有棚组的单个灵芝子实体干质量为 163.43 g, 孢子粉平均质量为 152.37 g, 均显著高于对照组 ($P < 0.05$)。

表 4 灵芝棚搭建对林下栽培灵芝的生长性状和孢子产量的影响
Table 4 Effect of greenhouse on growth and spores yield of *G. lucidum* LQ06 cultivation under forest

处理	菌柄长度/cm	菌盖直径/cm	生物转化率/%	子实体干质量/g	孢子粉质量/g	粉芝产量比/%
无棚	8.72±1.05	18.14±0.77	4.91±0.35	99.29±13.46	91.87±10.29	92.53
有棚	12.04±1.02 *	17.92±1.73	5.63±0.22	163.43±13.24*	152.37±10.35*	93.23

注: 采用 *t* 检验进行两组数据的比较, *表示同列中表示在 $P < 0.05$ 水平下差异显著。

3 结论与讨论

3.1 讨论

优良的菌种资源是灵芝育种和栽培的重要前提^[14-15]。当前, 灵芝菌种的鉴定主要以担孢子形态、子实体形态以及真菌 ITS 序列为参考指标^[16]。LQ06 的担孢子呈椭圆形, 表面有网纹孔格, 其形态特征及大小与 *G. lucidum* Dai2272 相似^[12], 子实体为典型赤色, ITS 序列分析结果发现 LQ06 与来源于中国的 *G. lucidum* Dai2272^[12]和意大利的 *G. lucidum* G1T099^[17]亲缘关系最近, 与 *G. lucidum* Dai2272^[12]的相似度为 97.09%, 基于此确认其为 *G. lucidum* Dai2272, 这为龙泉林下栽培提供了新的菌种资源。

灵芝林下栽培与其他栽培环境相比, 存在着自然环境不可控制、生长速度较为缓慢等问题。灵芝在不同基质营养、光照、温度等不同环境下, 生长和发育均会表现出差异^[10,18-19]。本研究针对灵芝 LQ06 菌种林下栽培中的段木基质、林区郁闭度以及搭建灵芝棚等因素对灵芝生长和孢子粉产量的影响进行了分析。初步明确了灵芝

LQ06 林下栽培过程中,以麻栎作为段木基质、林间郁闭度在 0.6~0.8 为宜。同时,参照龙泉灵芝大田栽培技术^[11],覆土后搭建灵芝棚,可保证出芝期灵芝幼嫩组织能快速健康生长,有效促进灵芝的生长和提高孢子粉产量。

本研究中灵芝菌种 LQ06 在浙江龙泉的林下栽培得到的每颗灵芝孢子粉平均产量为 152.37 g,虽不及‘沪农灵芝一号’在大田栽培的产量(每颗灵芝产孢子粉 178.5 g)^[20],但在耕地少的山区开展林下栽培具有推广意义。不同栽培条件下灵芝孢子粉中药效成分可能存在差异,后续将进一步研究该菌种孢子粉破壁后有效成分含量及药理。

3.2 结论

本研究从浙江龙泉森林中获得了一个具有生长优势的野生灵芝菌株,通过形态学和 ITS 序列分析,进一步明确了该菌株为灵芝属灵芝种真菌 *G. lucidum* Dai2272,建立了该菌株麻栎段木栽培、林分郁闭度 0.6~0.8 之间、早期搭建灵芝棚等林下栽培技术,达到了单颗灵芝产孢子粉质量超过 150 g 的栽培效果,为灵芝林下栽培及龙泉林下经济发展提供了新的菌种资源和技术支持。

参考文献:

- [1] 林志彬. 灵芝的现代研究: 第 4 版[M]. 北京: 北京大学医学出版社, 2015: 212-374.
- [2] BOH B, BEROVIC M, ZHANG J, et al. *Ganoderma lucidum* and its pharmaceutically active compounds[J]. Biotech Ann Rev, 2007, 13: 265-301.
- [3] CÖR D, KNEZ Ž, HRNČIĆ M K. Antitumour, antimicrobial, antioxidant and antiacetylcholinesterase effect of *Ganoderma lucidum* terpenoids and polysaccharides: a review[J]. Molecules, 2018, 23: 649.
- [4] ZHANG S S, NIE S P, XIE M Y, et al. Immunomodulatory effect of *Ganoderma atrum* polysaccharide on CT26 tumor-bearing mice[J]. Food Chem, 2013, 136: 1213-1219.
- [5] BISHOP K S, KAO C H J, XU Y, et al. From 2000 years of *Ganoderma lucidum* to recent developments in nutraceuticals[J]. Phytochemistry, 2015, 114: 56-65.
- [6] 周州, 余梦瑶, 江南, 等. 我国灵芝栽培研究近况及其未来发展趋势探讨[J]. 中国食用菌, 2017, 36(4): 5-7.
- [7] 何伯伟, 徐丹彬, 马蕾, 等. 浙江省灵芝产业的发展及其安全生产要求[J]. 食药菌, 2016, 24(6): 353-357.
- [8] TONG X, JIANG H, LIANG Y, et al. Waterlogging reduces soil colonization by antagonistic fungi and restores production in *Ganoderma lucidum* continuous cultivation[J]. Crop Prot, 2020, 137: 105314.
- [9] 姚珂, 贺黎铭, 余梦瑶, 等. 峨眉山地区林下栽培灵芝技术研究[J]. 安徽农业科学, 2020, 48(2): 180-182.
- [10] 林怡, 叶菁, 陈华, 等. 不同林下栽培方式对灵芝生长和培养料碳素转化的影响[J]. 热带作物学报, 2019, 40(3): 425-431.
- [11] 李朝谦, 韩省华, 叶晓菊, 等. 龙泉市灵芝种植技术发展过程与推广经验[J]. 食药菌, 2017, 25(4): 226-230.
- [12] CAO Y, WU S H, DAI Y C. Species clarification of the prize medicinal *Ganoderma* mushroom “Lingzhi”[J]. Fungal Divers, 2012, 56: 49-62.
- [13] KUMAR S, STECHER G, TAMURA K. MEGA: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets[J]. Mol Biol Evol, 2016, 33: 1870-1874.
- [14] WANG X C, XI R J, LI Y, et al. The species identity of the widely cultivated *Ganoderma*, ‘*G. lucidum*’ (Ling-zhi), in China [J]. PLoS ONE, 2012, 7: e40857.
- [15] 汤坤鹏. 18 个野生灵芝菌株的分离鉴定及其特性研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2016.
- [16] YANG Z L, FENG B. What is the Chinese “Lingzhi”? a taxonomic mini-review[J]. Mycology, 2013, 4: 1-4.
- [17] GUGLIELMO F, BERGEMANN S E, GONTHIER P, et al. A multiplex PCR-based method for the detection and early identification of wood rotting fungi in standing trees[J]. J App Microbiol, 2007, 103: 1490-1507.
- [18] 吕明亮, 应国华, 斯金平, 等. 基质对段木灵芝栽培外观与产量的影响[J]. 中国食用菌, 2008, 27(5): 22-24.
- [19] 蒋志琴, 陆玉荣, 加米拉·肉孜, 等. 西部旱区灵芝轻简化栽培基质与出芝模式的优化[J]. 山东农业科学, 2017, 49(10): 51-54.
- [20] 李朝谦, 韩鸿翼, 潘峰, 等. 我国产孢用灵芝栽培发展进程和主要技术[J]. 食药菌, 2020, 28(2): 137-140.