(19) 中华人民共和国国家知识产权局



(12) 发明专利



(10) 授权公告号 CN 107964513 B (45) 授权公告日 2021. 03. 23

A01G 18/70 (2018.01) C12R 1/645 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 107396751 A.2017.11.28

CN 101926265 A, 2010.12.29

CN 102860218 A.2013.01.09

CN 1545841 A,2004.11.17

田绍义等.蒙古口蘑驯化栽培成功.《真菌学 报》.1992,第11卷(第2期),第146-149页.

田绍义等.蒙古口蘑驯化栽培成功.《真菌学 报》.1992,第11卷(第2期),第146-149页.

修翠娟.野生口蘑菌种分离及人工驯化.《微 生物学杂志》.2012,第32卷(第3期),第98-100 页.

吴恩奇.蒙古口蘑研究进展.《中国食用菌》 .2007,第26卷(第4期),第3-5页.

解亚杰等.草原野生食用菌蒙古口蘑的研究 进展.《食药用菌》.2017,第25卷(第1期),第28-33页.

审查员 赵秋歌

权利要求书1页 说明书7页 序列表1页 附图1页

1号进行创业和就业,发家致富。

(21) 申请号 201711425469.X

(22) 申请日 2017.12.25

(65) 同一申请的已公布的文献号 申请公布号 CN 107964513 A

(43) 申请公布日 2018.04.27

(83) 生物保藏信息

CGMCC No. 15085 2017.12.07

(73) 专利权人 内蒙古自治区农牧业科学院 地址 010070 内蒙古自治区呼和浩特市玉 泉区昭君路22号

专利权人 内蒙古大学

(72) 发明人 郭九峰 孙国琴 王润元 王勇 王海燕 边淑萍 庞杰 于传宗 李亚娇 金焕林

(74) 专利代理机构 北京路浩知识产权代理有限 公司 11002

代理人 王文君 王璐

(51) Int.CI.

C12N 1/14 (2006.01)

C12N 1/02 (2006.01)

A01G 18/20 (2018.01)

(54) 发明名称

蒙古口蘑新菌株草原白蘑1号及其选育方法 (57) 摘要

本发明属于食用菌新菌株驯化方法领域,具 体公开了一个蒙古口蘑新菌株草原白蘑1号及其 选育方法。本发明所述蒙古口蘑新菌株草原白蘑 1号的保藏编号为CGMCC No.15085,其具有抗逆 性强、遗传性能稳定、优质、美味的特点,为人们 提供一种新的优质食用菌产。本发明所提供的驯 四 化方法不仅保护了濒临灭绝的蒙古口蘑这一珍 E134962 稀物种,还能通过栽培草原白蘑1号新菌株实现 农牧业废物资源化利用,推进农业经济的可持续 ²⁰ 发展,拓展了农牧民新的经济增长点,是发展牧 云 区庭院经济和草畜循环经济的重要一环,对利用 农牧区废弃物、闲置牛羊圈等设施栽培草原白蘑

- 1.蒙古口蘑(Tricholoma mongolicum Imai)新菌株草原白蘑1号菌株,其特征在于,其保藏编号为CGMCC No. 15085。
 - 2.一种草原白蘑1号的栽培方法,其特征在于,包括如下步骤:
- (a) 将牲畜粪便和植物废料按4:6~5:5的质量比混合均匀建成发酵堆,在清洁通风处发酵;

所述植物废料选自草节子、柠条粉枝叶、稻草、玉米秸秆、麦秸中的一种或多种;

(b) 将权利要求1所述的草原白蘑1号栽培种均匀铺在发酵后的物料上,上面再铺一层发酵后的物料,再撒上一层栽培种,发酵后的物料每层铺10cm~15cm厚,表层菌种和栽培种培养料混拌压平,整理成底宽1.3m~1.5m、上宽1.2m~1.3m、高20cm~24cm的长不限的龟背型出菇行,进行菌丝体培养20~25天;

待菌丝体长满物料后,在表面覆4cm \sim 6cm厚的田园土或草炭土,出菇前表面土变白则喷水保湿,温度控制在15 ℃ \sim 23 ℃;覆土后 $40\sim$ 50天,出现草原白蘑1 号原基,保持土壤湿润,通风清洁, $12\sim$ 15天后即可采收。

3.根据权利要求2所述的方法,其特征在于,采收第一茬菇后把表面整平轻压干2天,使菌丝体恢复生长后继续进行出菇管理,采收第一茬菇后的第15~18天出现二茬菇原基,共可采3茬菇。

蒙古口蘑新菌株草原白蘑1号及其选育方法

技术领域

[0001] 本发明属于食用菌新菌株驯化方法领域,具体地说,涉及一个蒙古口蘑新菌株草原白蘑1号及其选育方法。

背景技术

[0002] 蒙古口蘑 (Tricholoma mongolicum Imai) 隶属伞菌目 (Agaricales)、口蘑科 (tricholomataceae)、口蘑属 (Tricholoma) 或白丽蘑属 (Leucocalcybe),又称珍珠蘑,俗称白蘑等。主要分布在内蒙古的锡林郭勒、科尔沁、呼伦贝尔草原上,锡林郭勒的白蘑菇品质最佳。蒙古口蘑含有丰富的蛋白质、维生素以及钾、磷、硒、铁等多种矿物质和多糖、多肽、三萜等活性成分。蒙古口蘑肉肥质嫩、郁香纯正、口感极佳,为菌中珍品,同时具有医疗保健作用,抗肿瘤、降血糖血脂等,是我国宝贵的野生食用菌资源。但由于近年来过度采摘和草牧场的沙化退化、少雨干旱等因素,导致蒙古口蘑几近绝迹,成为当今草原上的一大憾事;同时牧区牛羊粪除少部分用于烧火取暖外大部分堆放在牧业点的周围,没有利用,造成资源浪费和环境污染。

[0003] 因此,急需提供一个适宜人工栽培的蒙古口蘑菌株草原白蘑1号,在保留野生蒙古口蘑(图1)原有的风味的同时,保护濒临灭绝的草原白蘑1号这一珍稀物种,还能通过栽培草原白蘑1号新菌株实现农牧业废物资源化利用,

发明内容

[0004] 为了解决现有技术中存在的问题,本发明的目的是提供一个蒙古口蘑新菌株草原白蘑1号及其选育方法。

[0005] 为了实现本发明目的,本发明的技术方案如下:

[0006] 第一方面,本发明提供了一株草原白蘑1号,经鉴定为蒙古口蘑,保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心(简称CGMCC,地址:北京市朝阳区北辰西路1号院3号,中国科学院微生物研究所,邮政编码:100101),保藏日期为2017年12月7日,保藏编号为CGMCC No.15085。

[0007] 所述草原白蘑1号,子实体通体纯白色,初期半球形至成熟期菌盖平展呈伞形,成熟子实体菌盖直径7~20cm,菌肉厚硬白色,菌肉厚5~12.8cm,初期菌盖边缘内卷;菌褶白色,稠密,弯生,不等长;菌柄粗壮内实,白色,长3.5~7cm,粗1.5~7.6cm,柄基部稍大(见图2)。

[0008] 所述菌株的5.8S核糖体的编码基因序列如SEQ ID NO.1所示,对该序列扩增后的琼脂糖凝胶电泳图如图3所示。

[0009] 本发明所提供的草原白蘑1号,是经过对野生蒙古口蘑驯化而得到,其保留有野生蒙古口蘑原有的风味,且可实现人工栽培。

[0010] 第二方面,本发明提供了一种驯化草原白蘑1号菌株的方法,包括如下步骤:

[0011] 1) 母种制作:以野生蒙古口蘑子实体为材料在20℃~23℃下培养母种,至培养基

上长满菌丝;

[0012] 2) 扩繁:将步骤1) 所得母种转移至培养基上,在20℃~23℃下培养,至长满菌丝;

[0013] 3) 原种制作:将步骤2) 扩繁后的母种移入装有原种培养料的器皿内,在20℃~23℃恒温条件下培养30~35天,至菌丝长满器皿完成原种制作;

[0014] 4) 栽培种制作:将步骤3) 制作的原种植入装有栽培种培养料的器皿内,在20℃~23℃的恒温条件下培养27~30天,至菌丝长满器皿完成栽培种制作。

[0015] 其中,所述步骤1)用组织分离法或担孢子收集法制作菌种:

[0016] 所述组织分离法为:在无菌条件下切开新鲜野生的蒙古口蘑子实体,选取菌盖菌柄交界处的菌肉组织,移入装有培养基的器皿内,在20℃~23℃的恒温培养箱内培养25~28天:

[0017] 所述担孢子收集法为:在无菌条件下用铁丝穿过新鲜野生的蒙古口蘑子实体,使 其菌褶向下悬挂于容器内收集担孢子,挑取少许担孢子至试管中,加无菌水稀释至100μL含 40~60个担孢子,得到担孢子悬液;吸取担孢子悬液滴加于培养基上,并均匀涂布,20℃~ 23℃的恒温培养箱内培养25~28天。

[0018] 其中,步骤1)中的所述培养基为PDA改良培养基:

[0019] 步骤2) 中所述的培养基为PDA改良培养基或PDA改良液体培养基;当采用PDA改良培养基时,在PDA改良培养基上培养25~28天;当采用PDA改良液体培养基时,在PDA改良液体培养基中以120~140r/min转速培养13~16天;

[0020] 所述PDA改良培养基的配方为:碳源 $15g/L\sim200g/L$ 、蔗糖10g/L、葡萄糖10g/L、酵母粉1.6g/L、蛋白胨1.6g/L、硫酸镁0.5g/L、磷酸氢二钾1g/L、琼脂10g/L;

[0021] 所述PDA改良液体培养基的配方为:碳源 $15g/L\sim200g/L$ 、蔗糖10g/L、葡萄糖10g/L、酵母粉1.6g/L、蛋白胨1.6g/L、硫酸镁0.5g/L、磷酸氢二钾1g/L、琼脂0.6g/L;

[0022] 所述碳源为马铃薯、红薯、麸皮、麦粒全粉、豆饼粉中的一种或多种。

[0023] 其中,步骤3)中的所述原种培养料的配方为:全麦粒或谷粒、磷酸二氢钾和硫酸镁;

[0024] 所述磷酸二氢钾的质量为全麦粒或谷粒质量的0.2%;

[0025] 所述硫酸镁的质量为全麦粒或谷粒质量的0.1%:

[0026] 所述原种培养料的制作方法为:将全麦粒或谷粒以料水质量为1:1~1:1.5的比例 浸泡9~12h,浸泡的同时加入磷酸二氢钾和硫酸镁,使其充分溶解,浸泡后煮开至无硬芯, 控去水,用石灰调节pH至7.5~8,灭菌。

[0028] 所述栽培种培养料的制作方法为:将麦粒以料水质量为1:1.1.5~1:2的比例浸泡9~12h,浸泡的同时加入相对麦粒质量0.2%的磷酸二氢钾和0.1%的硫酸镁,使其充分溶解,浸泡后煮开至无硬芯但不裂开,控去水;以料水质量为1:1.2的比例用水浸泡柠条粉,再与麦粒混合均匀,用石灰调节pH至7.5~8,灭菌。

[0029] 所述柠条粉为柠条地上部分的柠条枝,粉碎成0.5-1.0厘米的颗粒。柠条粉蛋白质含量高,富含矿物质元素、维生素等,营养丰富。

[0030] 第三方面,本发明还提供了一种人工栽培草原白蘑1号的方法,包括如下步骤:

[0031] (a) 将植物废料和牲畜粪便堆料发酵;

[0032] (b) 将本发明所提供的草原白蘑1号或其他经由本发明所述驯化方法驯化得到的栽培种均匀铺在发酵后的物料上,上面再铺一层发酵后的物料,再撒上一层栽培种,发酵后的物料每层铺10cm~15cm厚,表层菌种和栽培种培养料混拌压平,整理成底宽1.3m~1.5m、上宽1.2m~1.3m、高20cm~24cm的长不限的龟背型出菇行,进行菌丝体培养20~25天。

[0033] 作为优选,所述堆料发酵为:将牲畜粪便和植物废料按4:6~5:5的质量比混合均匀建成发酵堆,在清洁通风处发酵;

[0034] 所述植物废料选自草节子、柠条粉枝叶、稻草、玉米秸秆、麦秸中的一种或多种。

[0035] 所述堆料发酵为:建成底宽1.2m~1.4m、上宽1.1m~1.3m、高1.1m~1.3m的发酵堆,用直径6cm~8cm的木棒在料堆上打孔洞至料底,孔洞间距40cm~50cm,堆温升到65℃时保持24个小时,进行第一次翻堆,继续打孔发酵,堆温升到65℃再保持24小时进行第二次翻堆,2天后再次升温65℃时保持12小时后第三次翻堆,水份调节在60%~65%左右即可用于播种:

[0036] 进一步地,待菌丝体长满物料后,在表面覆4cm~6cm厚的田园土或草炭土,出菇前表面土变白则喷水保湿,温度控制在15℃~23℃;覆土后40~50天,出现草原白蘑1号原基,保持土壤湿润,通风清洁,12~15天后即可采收。

[0037] 进一步地,采收第一茬菇后把表面整平轻压干2天,使菌丝体恢复生长后继续进行出菇管理,采收第一茬菇后的第15~18天出现二茬菇原基,共可采3茬菇。

[0038] 本发明的有益效果在于:

[0039] 本发明提供一种野生蒙古口蘑新菌株及其选育方法。所述选育方法不仅保护了蒙古口蘑这一珍稀惜的野生物种免遭灭绝,维持牧草与草原蘑菇共生的生态体系,还能为人们提供味道极佳的食用菌产品。

[0040] 本发明所提供的草原白蘑1号新菌株抗逆性强、遗传性能稳定、优质、美味,为人们提供一种新的优质食用菌产品。通过本发明得到的草原白蘑1号,保留着野生蒙古口蘑特有的风味及营养成分,夏季在牧区的牛羊圈生产出来的产品味道更鲜,深受人们的喜爱。

[0041] 本发明不但保护了濒临灭绝的草原白蘑1号这一珍稀物种,还能通过栽培草原白蘑1号新菌株实现农牧业废物资源化利用,变废为宝,拓展了农牧民新的经济增长点,是发展牧区庭院经济和草畜循环经济的重要一环,对利用农牧区废弃物、闲置牛羊圈等设施栽培草原白蘑1号进行创业和就业,发家致富。实现资源的综合利用,推进新兴《草、畜、菌》产业生态循环经济的可持续发展。

附图说明

[0042] 图1为蒙古口蘑野生菌株。

[0043] 图2为本发明所述的草原白蘑1号菌株。

[0044] 图3为本发明所述草原白蘑1号的5.8S核糖体编码基因序列的扩增电泳图。

具体实施方式

[0045] 下面将结合实施例对本发明的优选实施方式进行详细说明。需要理解的是以下实施例的给出仅是为了起到说明的目的,并不是用于对本发明的范围进行限制。本领域的技

术人员在不背离本发明的宗旨和精神的情况下,可以对本发明进行各种修改和替换。

[0046] 下述实施例中所使用的实验方法如无特殊说明,均为常规方法。

[0047] 下述实施例中所用的材料、试剂等,如无特殊说明,均可从商业途径得到。

[0048] 实施例1

[0049] 1) 母种制作:采集健壮野生的蒙古口蘑制作母种,在无菌条件下切开新鲜野生的蒙古口蘑子实体,选取菌盖菌柄交界处的菌肉组织,移入装有PDA改良培养基的器皿内,放入恒温培养箱内培养,在20℃~23℃的温度下培养25~28天,至菌丝长满器。

[0050] 2) 扩繁: 母种转移至PDA改良培养基上,在20℃~23℃下培养25~28天至长满菌丝。

[0051] PDA改良培养基为:经温度121 $\mathbb{C} \sim 125$ \mathbb{C} (压力1.1kg/cm² ~ 1.5 kg/cm²) 灭菌30分钟含红薯200g/L、蔗糖10g/L、葡萄糖10g/L、酵母粉1.6g/L、蛋白胨1.6g/L、硫酸镁0.5g/L、磷酸氢二钾1g/L、琼脂10g/L的培养基。

[0052] 3) 原种制作:将得到的扩繁母种移植入装有培养料的器皿内,放置在25℃~23℃的恒温条件下培养30~37天,菌丝长满器皿即完成原种制作。

[0053] 4) 栽培种制作:将得到的原种植入装有培养料的器皿内,放置在25℃~23℃的恒温条件下培养27~30天,菌丝长满器皿即完成栽培种制作。

[0054] 所述原种培养料的制作方法为:将全麦粒或谷粒以料水质量为1:1.5的比例浸泡 10h,浸泡同时加入0.2%磷酸二氢钾、0.1%硫酸镁使其充分溶解,浸泡后煮开至无硬芯但不裂开,控去水,用2%的石灰调节pH至7.5,装进器皿,经温度121 $\mathbb{C} \sim 125$ \mathbb{C} (压力1.1kg/cm² ~ 1.5 kg/cm²) 灭菌2.5h,冷却后即可在无菌条件下接种。

[0055] 所述栽培种培养料包括质量份为20~30份的麦粒和70~80份的柠条粉;所述栽培种培养料的制作方法为:将麦粒以料水质量为1:1.3~1:2的比例浸泡8~12h,浸泡的同时加入相对麦粒质量0.2%的磷酸二氢钾和0.1%的硫酸镁,使其充分溶解,浸泡后煮开至无硬芯但不裂开,控去水;以料水质量为1:1.2的比例用水浸泡柠条粉,再与麦粒混合均匀,调节pH至7.5~8,灭菌。

[0056] 实施例2

[0057] 1) 母种制作:采集健壮野生的蒙古口蘑制作母种,在无菌条件下切开新鲜野生的蒙古口蘑子实体,选取菌盖菌柄交界处的菌肉组织,移入装有PDA改良培养基(用土豆200g/L,其他同实施例1)的器皿内,放入恒温培养箱内培养,在20℃~23℃的温度下培养25~28天,至菌丝长满器。

[0058] 扩繁:母种转移至改良PDA液体培养基上,在20℃~23℃下,以140r/min转速培养8~10天培养菌球均匀长满器皿即完成液体菌种制作。

[0059] PDA改良液体培养基为:经温度 121° C~ 125° C(压力1.1kg/cm²~1.5kg/cm²)灭菌30分钟含土豆200g/L、蔗糖10g/L、葡萄糖10g/L、酵母粉1.6g/L、蛋白胨1.6g/L、硫酸镁0.5g/L、磷酸氢二钾1g/L。

[0060] 3) 原种制作:将得到的扩繁母种移植入装有培养料的器皿内,放置在25℃~23℃的恒温条件下培养30~37天,菌丝长满器皿即完成原种制作。

[0061] 4) 栽培种制作:将得到的原种植入装有培养料的器皿内,放置在25 \mathbb{C} \sim 23 \mathbb{C} 的恒温条件下培养27 \sim 30 \mathbb{E} ,菌丝长满器皿即完成栽培种制作。

[0062] 所述原种培养料的制作方法为:将全麦粒或谷粒以料水质量为1:1.3的比例浸泡 12h,浸泡同时加入0.2%磷酸二氢钾、0.1%硫酸镁使其充分溶解,浸泡后煮开至无硬芯但不裂开,控去水,用2%的石灰调节pH至7.5,装进器皿,经温度121%~125%(压力1.1kg/cm²~1.5kg/cm²)灭菌2.5h,冷却后即可在无菌条件下接种。

[0063] 所述栽培种培养料包括质量份为20~30份的麦粒和70~80份的柠条粉;所述栽培种培养料的制作方法为:将麦粒以料水质量为1:1.3的比例浸泡8~12h,浸泡的同时加入相对麦粒质量0.2%的磷酸二氢钾和0.1%的硫酸镁,使其充分溶解,浸泡后煮开至无硬芯但不裂开,控去水;以料水质量为1:1.2的比例用水浸泡柠条粉,再与麦粒混合均匀,调节pH至7.5~8,灭菌。

[0064] 实施例3

[0065] 1) 母种制作:采集健壮野生的蒙古口蘑制作母种,在无菌条件下用铁丝穿过新鲜野生的蒙古口蘑子实体,使其菌褶向下悬挂于广口瓶内收集担孢子,挑取少许担孢子至于试管中,加无菌水稀释至100μL含40~60个担孢子,得到担孢子悬液。吸取担孢子悬液滴加于移入装有PDA改良培养基(用麸皮100/L,其他同实施例1),并均匀涂布,在20℃~23℃的温度下培养25~28天,至菌丝长满器。

[0066] 2) 扩繁: 母种转移至PDA改良培养基上,在20℃~23℃下培养25~28天至长满菌丝。

[0067] PDA改良培养基为:经温度121 $\mathbb{C} \sim 125$ \mathbb{C} (压力1.1kg/cm² ~ 1.5 kg/cm²) 灭菌30分钟 含麸皮100/L、蔗糖10g/L、葡萄糖10g/L、酵母粉1.6g/L、蛋白胨1.6g/L、硫酸镁0.5g/L、磷酸氢二钾1g/L、琼脂10g/L的培养基。

[0068] 3) 原种制作:将得到的扩繁母种移植入装有麦粒培养料的器皿内,放置在25℃~23℃的恒温条件下培养30~37天,菌丝长满器皿即完成原种制作。

[0069] 4) 栽培种制作:将得到的原种植入装有培养料的器皿内,放置在25 \mathbb{C} \sim 23 \mathbb{C} 的恒温条件下培养27 \sim 30 \mathbb{E} , 菌丝长满器皿即完成栽培种制作。

[0070] 所述原种培养料的制作方法为:将全麦粒或谷粒以料水质量为1:1.2的比例浸泡 11h,浸泡同时加入0.2%磷酸二氢钾、0.1%硫酸镁使其充分溶解,浸泡后煮开至无硬芯但不裂开,控去水,用2%的石灰调节pH至7.5,装进器皿,经温度121℃~125℃(压力1.1kg/cm²~1.5kg/cm²)灭菌2.5h,冷却后即可在无菌条件下接种。

[0071] 所述栽培种培养料包括质量份为25份的麦粒和75份的柠条粉;所述栽培种培养料的制作方法为:将麦粒以料水质量为1:1.2的比例浸泡11h,浸泡的同时加入相对麦粒质量0.2%的磷酸二氢钾和0.1%的硫酸镁,使其充分溶解,浸泡后煮开至无硬芯但不裂开,控去水;以料水质量为1:1.2的比例用水浸泡柠条粉,再与麦粒混合均匀,调节pH至8,灭菌。

[0072] 实施例4

[0073] 1) 母种制作:采集健壮野生的蒙古口蘑制作母种,在无菌条件下用铁丝穿过新鲜野生的蒙古口蘑子实体,使其菌褶向下悬挂于广口瓶内收集担孢子,挑取少许担孢子至于试管中,加无菌水稀释至100μL含40~60个担孢子,得到担孢子悬液。吸取担孢子悬液滴加于移入装有PDA改良培养基(豆饼粉20g/L,其他同实施例1),并均匀涂布,在20℃~23℃的温度下培养25~28天,至菌丝长满器。

[0074] 2) 扩繁: 母种转移至改良PDA液体培养基上,在25~29℃下,以130r/min转速培养

10~12天培养菌球均匀长满器皿即完成液体菌种制作;

[0075] PDA改良液体培养基为:经温度121℃~125℃(压力1.1kg/cm²~1.5kg/cm²)灭菌30分钟含豆饼粉20g/L、蔗糖10g/L、葡萄糖10g/L、酵母粉1.6g/L、蛋白胨1.6g/L、硫酸镁0.5g/L、磷酸氢二钾1g/L。

[0076] 3) 原种制作:将得到的扩繁母种移植入装有麦粒培养料的器皿内,放置在25℃~23℃的恒温条件下培养30~37天,至菌丝长满器皿。

[0077] 4) 栽培种制作:将得到的原种植入装有培养料的器皿内,放置在25℃~23℃的恒温条件下培养27~30天,至菌丝长满器皿。

[0078] 步骤3) 和4) 的培养料同实施例1。

[0079] 5) 发酵:预先碾碎的羊粪和新鲜无霉变的柠条粉枝叶以1:1的比例加水充分预湿,交替均匀的铺上羊粪和草,建成底宽1.3m、上宽1.2m、高1.2m、长不限的堆,用直径6cm~8cm的木棒打洞至料底,洞距50cm,堆温升到65℃时,保持24个小时,进行第一次翻堆,继续打孔发酵,堆温升到65℃再保持24小时进行第二次翻堆,2天后再次升温65℃,12小时后第三次翻堆,水份调节在60%~65%左右即可用于播种。

[0080] 6) 驯化栽培:将发酵好的培养料铺在打扫干净的牧区羊圈地面,把栽培种均匀撒在培养料上,上面再铺一层发酵好的培养料,再撒上一层栽培种,表层菌种和培养料混拌压平,整理成底宽1.4m、上宽1.3m、高23cm左右长不限的龟背型出菇行,进行菌丝体培养20~25天。待菌丝体长满培养料后,在表面覆盖6cm湿润的土,出菇前表面土变白时喷水保湿,温度控制在15℃~23℃。覆土后40~50天,出现草原白蘑1号原基,12~15天后即可采收,科学进行出菇管理可采3~5茬菇。

[0081] 实施例5

[0082] 1) 母种制作: 采集健壮野生的蒙古口蘑制作母种, 在无菌条件下切开新鲜野生的蒙古口蘑子实体, 选取菌盖菌柄交界处的菌肉组织, 移入装有PDA改良培养基的器皿内, 放入恒温培养箱内培养, 在20℃~23℃的温度下培养25~28天, 至菌丝长满器。

[0083] 2) 扩繁: 母种转移至PDA改良培养基上,在20℃~23℃下培养25~28天至长满菌丝。

[0084] PDA改良培养基为:经温度 121° C~ 125° C(压力1.1kg/cm²~1.5kg/cm²)灭菌30分钟含麦粒全粉15g/L、蔗糖10g/L、葡萄糖10g/L、酵母粉1.6g/L、蛋白胨1.6g/L、硫酸镁0.5g/L、磷酸氢二钾1g/L、琼脂10g/L的培养基。

[0085] 3) 原种制作:将得到的扩繁母种移植入装有麦粒培养料的器皿内,放置在25℃~23℃的恒温条件下培养30~37天,菌丝长满器皿即完成原种制作。

[0086] 4) 栽培种制作:将得到的原种植入装有培养料的器皿内,放置在25℃~23℃的恒温条件下培养27~30天,菌丝长满器皿即完成栽培种制作。

[0087] 所述原种培养料的制作方法为:将全麦粒或谷粒以料水质量为1:1.2的比例浸泡 11h,浸泡同时加入0.2%磷酸二氢钾、0.1%硫酸镁使其充分溶解,浸泡后煮开至无硬芯但不裂开,控去水,用2%的石灰调节pH至7.5,装进器皿,经温度121℃~125℃(压力1.1kg/cm²~1.5kg/cm²)灭菌2.5h,冷却后即可在无菌条件下接种。

[0088] 所述栽培种培养料包括质量份为25份的麦粒和75份的柠条粉;所述栽培种培养料的制作方法为:将麦粒以料水质量为1:1.2的比例浸泡11h,浸泡的同时加入相对麦粒质量

0.2%的磷酸二氢钾和0.1%的硫酸镁,使其充分溶解,浸泡后煮开至无硬芯但不裂开,控去水;以料水质量为1:1.2的比例用水浸泡柠条粉,再与麦粒混合均匀,调节pH至8,灭菌。

[0089] 5) 发酵: 预先碾碎过筛的羊粪和新鲜无霉变的柠条粉枝叶以4:6的比例加水充分预湿,交替均匀的铺上羊粪和草,建成底宽1.2m、上宽1.1m、高1.1m、长不限的堆,用直径6cm~8cm的木棒打洞至料底,洞距40cm,堆温升到65℃时,保持24个小时,进行第一次翻堆,继续打孔发酵,堆温升到65℃再保持24小时进行第二次翻堆,2天后再次升温65℃,12小时后第三次翻堆,水份调节在60%~65%左右即可用于播种。

[0090] 6) 驯化栽培:将发酵好的培养料铺在打扫干净的牧区羊圈地面,把栽培种均匀撒在培养料上,上面再铺一层发酵好的培养料,再撒上一层栽培种,表层菌种和培养料混拌压平,整理成底宽1.3m、上宽1.2m、高23cm左右长不限的龟背型出菇行,进行菌丝体培养20~25天。待菌丝体长满培养料后,在表面覆盖5cm湿润的土,出菇前表面土变白时喷水保湿,温度控制在15℃~23℃。覆土后40~50天,出现草原白蘑1号原基,12~15天后即可采收,科学进行出菇管理可采3~5茬菇。

[0091] 本发明成功地实现了草原白蘑1号的人工驯化栽培,不但保护了濒临灭绝的蒙古口蘑这一珍稀物种,而且充分利用牧区丰富的牛羊粪、草渣子等废弃物,进行栽培草原白蘑1号,实现资源的综合利用,推进新兴《草、畜、菌》产业的生态循环经济的可持续发展,还能有效增加当地牧民的收入。

[0092] 应当理解的是,对上述实施例所用试剂或原料的用量进行等比例扩大或者缩小后的技术方案,与上述实施例的实质相同。

[0093] 虽然,上文中已经用一般性说明及具体实施方案对本发明作了详尽的描述,但在本发明基础上,可以对之作一些修改或改进,这对本领域技术人员而言是显而易见的。因此,在不偏离本发明精神的基础上所做的这些修改或改进,均属于本发明要求保护的范围。

1/1 页

```
[0001]
                                序列表
[0002]
       〈110〉 内蒙古自治区农牧业科学院 内蒙古大学
[0003]
       〈120〉 蒙古口蘑新菌株草原白蘑1号及其选育方法
[0004]
       <141>
              2017-12-19
[0005]
       <160>
             1
[0006]
       <170>
              SIPOSequenceListing 1.0
[0007]
       <210> 1
[8000]
       <211> 643
[0009]
       <212>
              DNA
[0010]
       <213>
              蒙古口蘑(Tricholoma mongolicum Imai)
[0011]
       <400>
[0012]
       atgcggatct tggttgggtt gtgctggctt ttcggagcat gtgcatgcct agcgccattt
[0013]
       ttaccacctg tgcacatttt gtagatttga aacaattctc gaggaaactc ggtttgagga 120
[0014]
       atgctgtgcg gaagcttagc tttccttgtg tttcaagtct atgtttttat ataccccata 180
[0015]
       agaatgtaat agaatgtcat taatgggctt tttgcctttt aattaataca acttttaaca 240
[0016]
       acggatetet tggetetece etecatgaag aacaeegega aatgegataa gtaatgtgga 300
[0017]
       ttgcagaatt cattgaatca tccaatcttt gaacgeeect tgegeteett ggtatteega 360
[0018]
       ggagcatgcc tgtttgagtg gcattaaatt ctccaccttt tcagcttttg caagttggat 420
[0019]
       tggcttggat gtgggggttt ttgcaggctt ctcctaagac agctcctcct aaatacatta 480
[0020]
       gcagaacctt tgtggaccag cttttgtgtg gtaattatct actccatggt tgtgaagcaa 540
[0021]
       cttttcatag gggtcacctt tcctataatc cattgacttg gacaatttct gacgatttga 600
[0022]
                                                                         643
       cctccaatca tgtaggacta cccctgaac ataagcatat caa
```



图1



图2

草原白蘑1号

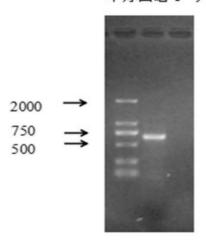


图3