

# 无柄紫灵芝的生物学特性及其驯化栽培

马思宇<sup>1,2</sup>, 陈爽<sup>2</sup>, 王军芳<sup>1,2</sup>, 屈直<sup>2</sup>, 刘爽<sup>1,2</sup>, 孙景芳<sup>2</sup>, 朱安红<sup>2,3,4\*</sup>

1 吉林农业大学植物保护学院, 吉林 长春 130118

2 中国热带农业科学院热带生物技术研究所 海南省热带微生物资源重点实验室 海口市食药菌种质资源与利用重点实验室, 海南 海口 571101

3 中国热带农业科学院椰子研究所, 海南 文昌 571339

4 北京林业大学生态与自然保护学院, 北京 100083

**摘要:** 灵芝的民间药用历史悠久, 具有重要的药用价值和经济价值。为充分保护和开发海南热带雨林野生灵芝资源, 对采自海南热带雨林国家公园五指山片区的1株野生灵芝菌株X2287进行分离鉴定。利用形态学和TEF1- $\alpha$ -RPB2序列相结合的方法鉴定该菌株为无柄紫灵芝 *Ganoderma orbiforme*。本文对其菌丝的生物学特性及驯化栽培条件进行初步研究。结果表明, 菌丝生长最适碳源为蔗糖、最适氮源为氯化铵、最适pH为5.0、最适温度为30 °C。在驯化栽培过程中, 发菌温度25 °C、黑暗条件下菌丝约30 d满袋; 原基形成约7-10 d, 出原基后约25 d子实体成熟。研究结果可为海南热带雨林特色灵芝资源发掘、新品种选育提供基础数据参考。

**关键词:** 无柄紫灵芝; 分离; 鉴定; 生物学特性; 驯化与栽培

## [引用本文]

马思宇, 陈爽, 王军芳, 屈直, 刘爽, 孙景芳, 朱安红, 2025. 无柄紫灵芝的生物学特性及其驯化栽培. 菌物学报, 44(7): 250069  
Ma SY, Chen S, Wang JF, Qu Z, Liu S, Sun JF, Zhu AH, 2025. Biological characteristics and domestication cultivation of *Ganoderma orbiforme*. Mycosystema, 44(7): 250069

资助项目: 海南省重点研发计划-海南国家公园研究院资助项目(ZDYF2023RDYL01, KY-24ZK02); 五指山市生态科技特派员项目(WZSKTPXM202211); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(1630012025308)

This work was supported by the Key Research and Development Program of Hainan Province and Hainan Institute of National Park (ZDYF2023RDYL01, KY-24ZK02), the Ecological Science and Technology Project of Wuzhishan City (WZSKTPXM202211), and the Central Public-interest Scientific Institution Basal Research Fund (1630012025308).

\*Corresponding author. E-mail: anhong.zhu@catas.cn

Received: 2025-03-17; Accepted: 2025-04-22

# Biological characteristics and domestication cultivation of *Ganoderma orbiforme*

MA Siyu<sup>1,2</sup>, CHEN Shuang<sup>2</sup>, WANG Junfang<sup>1,2</sup>, QU Zhi<sup>2</sup>, LIU Shuang<sup>1,2</sup>, SUN Jingfang<sup>2</sup>, ZHU Anhong<sup>2,3,4\*</sup>

1 College of Plant Protection, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, Jilin, China

2 Hainan Key Laboratory of Tropical Microbe Resources, Haikou Key Laboratory for Protection and Utilization of Edible and Medicinal Fungi, Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, Hainan, China

3 Coconut Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Wenchang 571339, Hainan, China

4 School of Ecology and Nature Conservation, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China

**Abstract:** *Ganoderma*, as indigenous traditional medicine with a long application history, has important medical properties and economic values. A wild strain of *Ganoderma* X2287 collected from Wuzhishan area in National Park of Hainan Tropical Rainforest was isolated and identified as *Ganoderma orbiforme* by the combination of morphology and TEF1- $\alpha$ -RPB2 sequence. The biological characteristics and domestication conditions of the strain were studied. The results showed that the optimal carbon source for mycelial growth was sucrose; the optimal nitrogen source was ammonium chloride; the optimal pH was 5.0, and the optimal temperature was 30 °C. The mycelia fully colonized the media of culture bag after cultivation for about 30 days at 25 °C under dark conditions. The primordium began to form in 7–10 days, and the fruiting body matured in 25 days. The results provide basic data for development and utilization of the *Ganoderma* resources in Hainan Tropical Rainforest and breeding of new varieties.

**Keywords:** *Ganoderma orbiforme*; isolation; identification; biological characteristics; domestication and cultivation

灵芝 *Ganoderma lingzhi* Sheng H. Wu, Y. Cao & YC. Dai 在中国已有 2 000 多年的利用历史(戴玉成等 2013, 2021), 是一种大型药食两用真菌(戴玉成和杨祝良 2008; 纪伟等 2024), 具有很多生理活性和药理作用(文波等 2015; Wu *et al.* 2019; 滕李铭等 2021), 其中, 三萜和多糖被认为是灵芝 *G. lingzhi* 最重要的药理成分(Bishop *et al.* 2015), 具有抗肿瘤(Kao *et al.* 2013)、降血脂(Lv *et al.* 2019)、降血糖(Guo *et al.* 2018)、抗衰老(Cuong *et al.* 2019)、抗病毒(Zhang *et al.* 2014)、免疫调节(Liu *et al.* 2020)等功效。目前, 灵芝深加工产品涉及医药、保健、食品、美妆等领域(关颖贤等 2023; 曾婷等 2024), 国家药品监督管理局网站(<https://www.nmpa.gov.cn/datasearch/home-index.html>)上可查询到国产

灵芝药品共 172 种、含灵芝成分的国产化妆品 33 种, 而特殊食品安全监督管理局网站(<http://www.samr.gov.cn/tssps>)上注册的灵芝保健品达 1 214 种之多, 产品种类繁多, 消费市场潜力巨大。

灵芝属 *Ganoderma* 作为重要的木材腐朽菌, 能够降解木质素和纤维素, 参与森林物质循环, 维持生态平衡(王庆福等 2015)。还有部分种类如狭长孢灵芝 *Ganoderma boninense* Pat.、橡胶灵芝 *Ganoderma philippii* (Bres. & Henn. ex Sacc.) Bres.等能够侵染橡胶、油棕、木麻黄、落叶松等林木, 对树木造成严重危害(戴玉成等 2000; 戴玉成 2012; Isha *et al.* 2020; Page *et al.* 2020; Yuan *et al.* 2023)。此外, 中国传统文化中, 灵芝具有祥瑞、神圣的寓意, 其外观美观, 具有极高

的观赏价值(胡楠 2022; 崔宝凯等 2023; 纪伟等 2024)。近年来,人们对灵芝的需求量大幅度增加,灵芝及相关产品具有极大的市场空间(戴玉成 2022; 曹月刚等 2024)。

本研究以 1 株采自海南热带雨林国家公园五指山片区的野生灵芝为研究对象,在形态学与分子生物学鉴定基础上,开展生物学特性研究,并进行驯化出芝,研究结果可为灵芝资源开发利用和种质创新提供基础数据支撑。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 供试菌株

试验所用灵芝菌株的子实体采自海南热带雨林国家公园五指山片区,采集号为 X2287,采用组织分离法获得菌种。标本和菌种分别保存于中国热带农业科学院热带生物技术研究所菌物标本馆和菌种库中。

#### 1.1.2 培养基

PDA 培养基:去皮马铃薯 200 g/L,葡萄糖 20 g/L,蛋白胨 2 g/L,  $MgSO_4$  1.5 g/L,  $KH_2PO_4$  3 g/L,琼脂 20 g/L, pH 自然。

栽培培养基:木屑 38%,玉米芯 20%,麸皮 20%,棉籽壳 10%,玉米粉 10%,石灰 1%,石膏 1%。

### 1.2 鉴定

形态学鉴定:参考 Sun *et al.* (2022)的方法,观察和测量子实体菌盖结构、菌肉颜色、菌孔形状和着生方式,在显微镜下观察和测量菌丝和孢子。

分子生物学鉴定:采用 CTAB 法从野生灵芝菌丝中提取 DNA,使用通用引物 EF1-983F/EF1-2218R 和 5F/7CR 分别对 TEF1- $\alpha$  和 RPB2 片段进行扩增。PCR 产物送至北京华大生物科技有限公司进行测序,获得 TEF1- $\alpha$  和 RPB2 序列。以 *Sanguinoderma rude* (Berk.) Y.F. Sun, D.H. Costa & B.K. Cui 和 *Sanguinoderma rugosum* (Blume & T. Nees) Y.F. Sun, D.H. Costa & B.K. Cui 为外类群,使用 RAxML GUI 1.3.1 软件 (Stamatakis 2014)采用最大似然法 (maximum

likelihood, ML)构建系统发育树,明确系统发育地位。

### 1.3 生物学特性研究

#### 1.3.1 菌种活化

将保藏于 4 °C 菌种箱中的菌株移接到 PDA 培养基上,置于 25 °C 恒温培养箱中避光培养。当菌丝长满平板的 90% 时,使用 8.00 mm 的打孔器在平板同一半径边缘位置打孔,得到的菌饼用于后续菌丝生物学特性研究。

#### 1.3.2 单因素试验

温度对菌丝生长的影响:采用 PDA 培养基,分别设置温度为 15、20、25、30、35、40 °C 共 6 个梯度, pH 自然,每个处理 8 个重复。将菌饼接种到各试验培养基中央位置,25 °C 恒温暗培养。采用“十”字交叉法测量菌落直径,计算菌丝的生长速度,同时观察记录菌丝生长势。

pH 对菌丝生长的影响:采用 PDA 培养基,分别用 1 mol/L 的 HCl 和 NaOH 将 pH 值调节为 5.0、6.0、7.0、8.0、9.0 共 5 个梯度,每个处理 8 个重复。将菌饼接种到各试验培养基中央位置,25 °C 恒温暗培养。测量方法同上。

碳源对菌丝生长的影响:以碳源空白培养基(蛋白胨 2 g/L,  $MgSO_4$  1.50 g/L,  $KH_2PO_4$  3 g/L,琼脂 20 g/L, pH 自然)为对照,分别以 20 g/L 的乳糖、麦芽糖、甘露糖、葡萄糖、果糖、蔗糖、淀粉作为碳源加入碳源空白培养基,每个处理 8 个重复。接种后 25 °C 恒温暗培养。测量方法同上。

氮源对菌丝生长的影响:以氮源空白培养基(葡萄糖 20 g/L,  $MgSO_4$  1.5 g/L,  $KH_2PO_4$  3 g/L,琼脂 20 g/L, pH 自然)为对照,分别以 2 g/L 的酵母、蛋白胨、尿素、硝酸钠、硝酸钾、硝酸铵、氯化铵作为氮源加入氮源空白培养基,每个处理 8 个重复。接种后 25 °C 恒温暗培养。测量方法同上。

#### 1.3.3 正交试验

根据碳源、氮源、pH、温度的 4 个单因素试验结果,各选出 3 个最佳水平,进行 4 因素 3 水平正交试验,每个处理 6 次重复。设计方案见表 1。

表 1 正交试验 4 因素 3 水平表

Table 1 The orthogonal test table of 4 factors and 3 levels

水平 Level	碳源(A) Carbon source	氮源(B) Nitrogen source	pH (C)	温度(D) Temperature (°C)
1	果糖 Fructose	硝酸铵 NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	5.0	20
2	甘露糖 Mannose	硝酸钠 NaNO <sub>3</sub>	6.0	25
3	蔗糖 Sucrose	氯化铵 NH <sub>4</sub> Cl	7.0	30

### 1.4 驯化栽培试验

在无菌条件下,将培养好的无柄紫灵芝菌丝平板分为 8 块,接种到灭菌后的培养袋中,置于 25 °C 黑暗条件下培养,观察记录菌丝生长状态。待菌丝长满培养袋后,采用架上出芝的方式于室温下(25–30 °C)诱导出芝。

### 1.5 数据处理

利用 Mafft (MAFFT alignment and NJ/UPGMA phylogeny)、trimAl Clustalx 1.83 等软件对序列进行人工校对、剪切(Thompson *et al.* 1997);使用 RAxML GUI 1.3.1 软件(Stamatakis 2014)采用最大似然法构建系统发育树。采用 SPSS 21.0 软件进行数据差异显著性和方差分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 鉴定

形态学鉴定:子实体菌盖为半圆形,紫红色,有同心环痕,表面微突,有蜡质层,层下有轻微光泽感;孔口近圆形,棕黄色,管壁稍厚;菌肉黄褐色,不分层;菌管褐色或深褐色,偶有分层。担孢子 8.5–11 × 5–6 μm,椭圆形,成熟时顶端喙脱落,呈平截状,双层壁,外壁光滑,内壁表面有粗糙的点状物。依据形态学特征,初步判定该菌为无柄紫灵芝 *Ganoderma orbiforme* (Fr.) Ryvarden (图 1)。

分子生物学鉴定:由 TEF1-α 和 RPB2 序列构建的系统发育树(图 2)显示,菌株 X2287 与无柄紫灵芝 *G. orbiforme* (Cui 13891)聚在一起,自展支持率 100%。结合形态学鉴定结果,鉴定菌

株 X2287 为无柄紫灵芝 *G. orbiforme*。

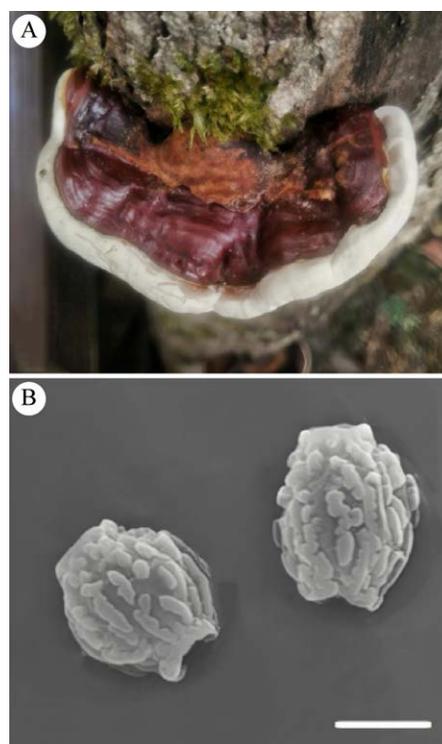


图 1 无柄紫灵芝 X2287 形态 A: 野生子实体。B: 担孢子。标尺=2 μm

Fig. 1 Morphology of *Ganoderma orbiforme* X2287. A: A wild fruiting body. B: Basidiospores under SEM. Bar=2 μm.

### 2.2 生物学特性研究

#### 2.2.1 温度对菌丝生长的影响

无柄紫灵芝菌丝在温度为 20–35 °C 时均可生长,不同温度对其生长的影响呈显著差异(表 2,图 3A,图 4)。菌丝生长速度随温度升高而增加,达到最适温度 30 °C 时,生长速度达到最快(16.65±0.13 mm/d),而后下降。从生长势来看,25 °C 和 30 °C 时菌丝均洁白、致密,边缘平整,长势好。温度为 15 °C 和 40 °C 时菌丝不再生长。综合考虑,无柄紫灵芝菌丝生长适宜温度范围为 25–30 °C。

#### 2.2.2 pH 对菌丝生长的影响

无柄紫灵芝菌丝在 pH 5.0–9.0 时均可生长,但生长速率和菌丝长势有所差异(表 2,图 3B,图 4)。菌丝的生长速度从快到慢依次为 pH 5.0 > pH 6.0 > pH 7.0 > pH 8.0 > pH 9.0。当 pH 为 5.0–7.0

时,菌丝生长速度快,达(9.18±0.28) mm/d (pH 5.0),菌丝浓密粗壮,长势旺盛。综合菌丝生长速度和长势,无柄紫灵芝适宜生长条件为弱酸性(pH 5.0–7.0)。

### 2.2.3 碳源对菌丝生长的影响

无柄紫灵芝菌丝在供试的 7 种碳源中均能生长,但生长速率和长势有所差异(表 2, 图 3C, 图 4)。与碳源空白对照相比,葡萄糖、果糖、蔗糖、麦芽糖、甘露糖、淀粉对菌丝生长均有促进作用,生长速度从快到慢依次为果糖>甘露糖>蔗糖>淀粉>麦芽糖>葡萄糖>空白对照>乳糖,其中,添加果糖、甘露糖、蔗糖的菌丝长势都较好,菌丝浓密。以乳糖为碳源时,菌丝生长速度[(4.63±0.45) mm/d]较慢,低于空白对照组,对菌丝生长有抑制作用。综合菌丝长势,选取果糖、甘露糖、蔗糖为无柄紫灵芝菌丝生长的适宜碳源。

### 2.2.4 氮源对菌丝生长的影响

无柄紫灵芝菌丝在供试的 7 种氮源中均能生长,但生长速率和长势有所差异(表 2, 图 3D,

图 4)。与氮源空白对照相比,酵母、蛋白胨、硝酸钠、硝酸钾、硝酸铵、氯化铵对菌丝生长均有促进作用,生长速度依次为硝酸铵>硝酸钠>氯化铵>硝酸钾>蛋白胨>空白对照>酵母>尿素。其中,以硝酸铵、硝酸钠、氯化铵为氮源时,菌丝生长快,长势旺盛。以酵母[(8.84±0.09) mm/d]、尿素[(4.64±0.43) mm/d]为氮源时,菌丝生长速度较慢,低于空白对照组,对菌丝生长有抑制作用。综合菌丝生长速度和长势,选取硝酸铵、硝酸钠、氯化铵为无柄紫灵芝菌丝生长的适宜氮源。

### 2.2.5 正交试验

正交试验结果显示,碳源、氮源、pH 和温度这 4 个因素的极差 R 值分别为 2.73、2.36、6.02 和 7.48,表明 4 个因素中温度对菌丝生长的影响最大,其次为 pH、碳源和氮源。碳源、氮源、pH 和温度 4 个因素经优化后,得出最佳营养源和培养条件(表 3, 图 5),即:碳源为蔗糖、氮源为氯化铵、pH 为 5.0、30 °C 时,菌丝生长速度最快、长势最好。

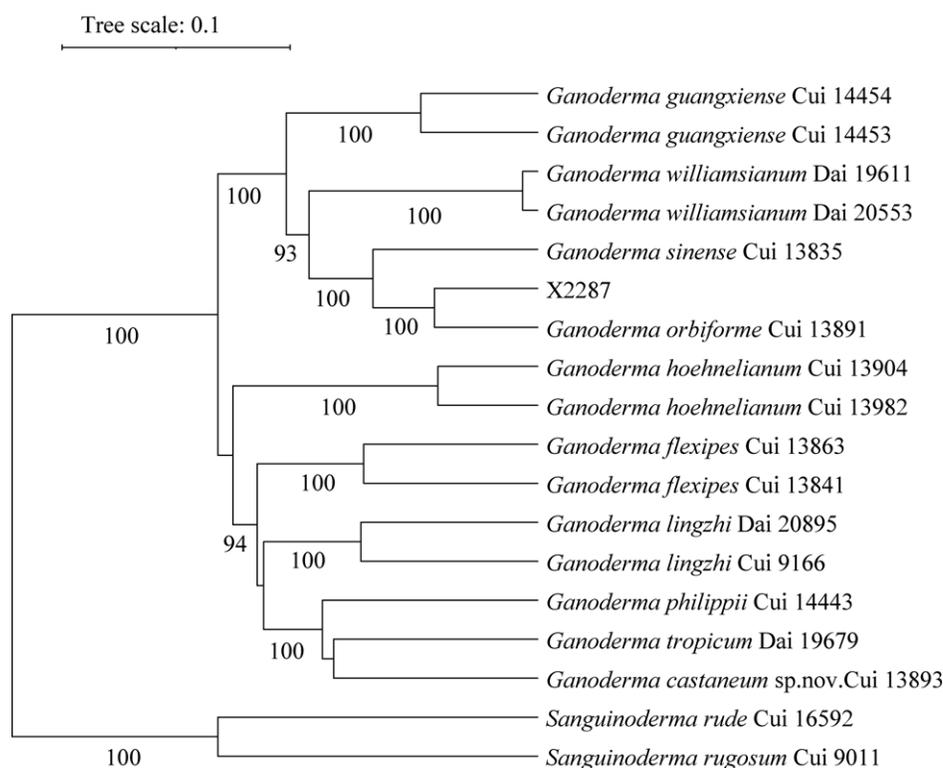


图 2 基于 TEF1-α-RPB2 序列构建的灵芝属系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree of *Ganoderma* based on TEF1-α-RPB2 sequence.

表 2 单因素试验对野生无柄紫灵芝菌丝生长的影响

Table 2 The effects of single factor test on the mycelial growth of wild *Ganoderma orbiforme*

培养条件 Condition	因子 Factor	菌丝生长速度 Mycelial growth rate (mm/d)	显著性 Significance	菌丝长势 Mycelial growth vigor
			0.05	
温度 Temperature (°C)	15	0.00±0.00	e	-
	20	4.10±0.10	c	+
	25	9.33±0.54	b	++
	30	16.65±0.13	a	+++
	35	2.12±0.28	d	+
	40	0.00±0.00	e	-
pH	5	9.18±0.28	a	+++
	6	9.12±0.39	a	+++
	7	8.50±0.48	ab	+++
	8	8.00±0.63	b	+++
	9	6.92±0.29	c	++
碳源 Carbon source	蔗糖 Sucrose	11.20±0.57	bc	+++
	乳糖 Lactose	4.63±0.45	f	+
	果糖 Fructose	12.31±0.26	a	+++
	淀粉 Starch	10.97±0.49	bc	+++
	葡萄糖 Glucose	9.10±0.43	d	+++
	甘露糖 Mannose	11.97±0.22	ab	+++
	麦芽糖 Maltose	10.41±0.93	c	++
	碳源空白对照 CK	5.92±1.59	e	+
氮源 Nitrogen source	酵母 Yeast	8.84±0.09	e	++
	尿素 Carbamide	4.64±0.43	f	+
	蛋白胨 Peptone	11.48±0.81	c	++
	氯化铵 NH <sub>4</sub> Cl	13.51±0.32	b	+++
	硝酸铵 NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	14.80±0.47	a	+++
	硝酸钾 KNO <sub>3</sub>	12.18±0.35	c	+++
	硝酸钠 NaNO <sub>3</sub>	13.88±0.39	b	+++
氮源空白对照 CK	9.63±1.10	d	+	

注: -代表菌丝不生长; +代表菌丝稀疏; ++代表菌丝较浓密; +++代表菌丝浓密. 下同. 相同小写字母表示差异不显著 ( $P>0.05$ ), 不同小写字母表示差异显著 ( $P<0.05$ )

Note: -, no growth; +, weak growth; ++, moderate growth; +++, vigorous growth. The same below. Same lowercase letter means no significant differences ( $P>0.05$ ), different lowercase letter means significant differences ( $P<0.05$ ).

经方差分析结果进一步验证(表 4), 温度的  $F$  值最高, 其后依次是 pH、碳源、氮源, 说明温度对无柄紫灵芝菌丝生长的影响最显著, 方差分析的结果与正交试验结果一致. 4 个因素的  $P$  值均小于 0.01, 说明温度、pH、碳源、氮源对无柄紫灵芝菌丝生长速度的影响极显著.

### 2.3 驯化栽培

接种后菌袋置于 25 °C 恒温条件下暗培养, 空气湿度 60%–65%, 30 d 左右菌丝可长满菌袋. 随后将菌袋移至出菇架上, 温度控制在 25–30 °C, 湿度保持在 80%–90%, 散光照射, 大约 7–10 d 可长出原基. 原基形成后约 25 d 后子实体成熟,

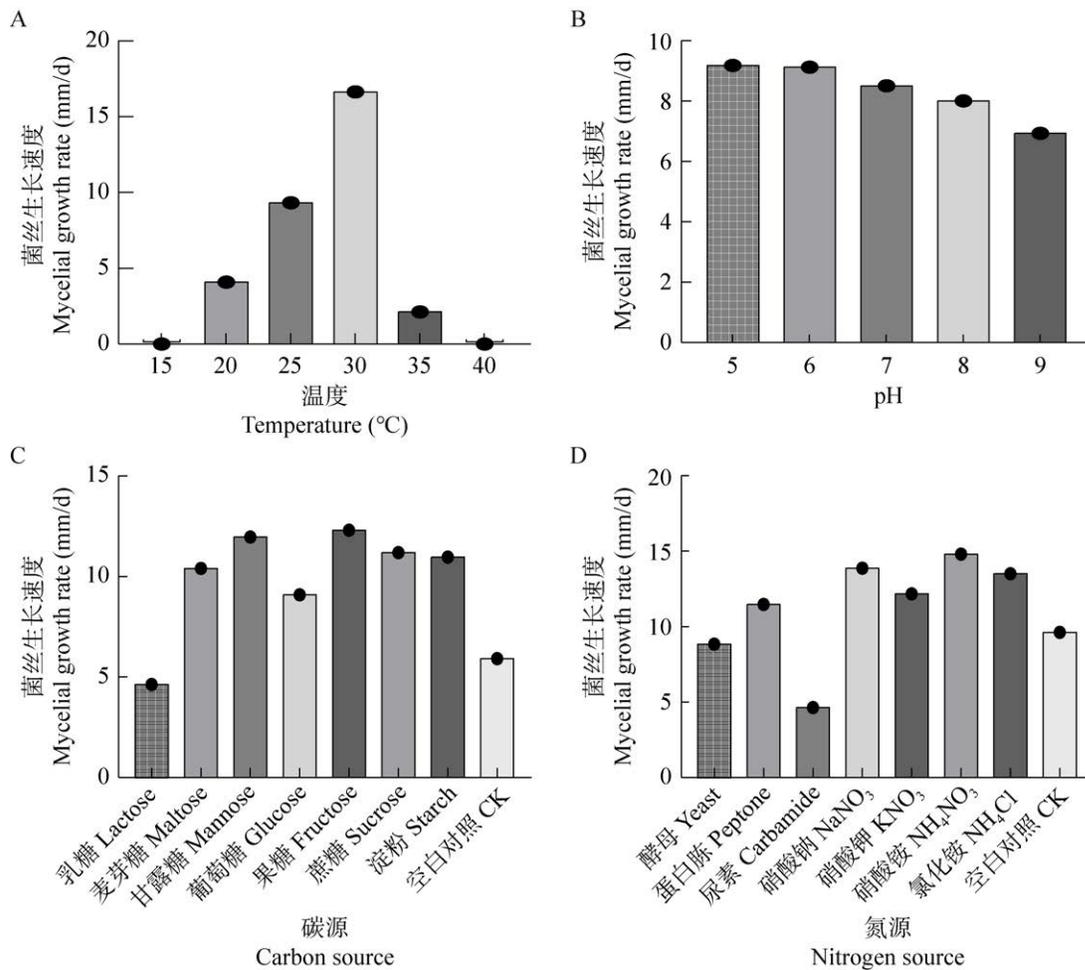


图 3 不同单因素条件对无柄紫灵芝菌丝生长速度的影响 A: 温度. B: pH. C: 碳源. D: 氮源

Fig. 3 The effects of different single factors on the mycelial growth rate of *Ganoderma orbiforme*. A: Temperature. B: pH. C: Carbon source. D: Nitrogen source.

形成的灵芝子实体菌盖有漆状光泽(图 6), 当子实体边缘不再生长即可采收。

### 3 讨论

本研究以采自海南热带雨林的野生灵芝为材料, 结合形态学特征和 TEF1- $\alpha$ 、RPB2 序列分析, 确定野生灵芝菌株 X2287 为无柄紫灵芝 *Ganoderma orbiforme*。

适宜的环境条件和充足的营养供给是生命活动的基础, 本研究通过生物学特性试验研究得到无柄紫灵芝 X2287 菌株菌丝生长最适营养需求与最佳环境条件为: 果糖、氯化铵、30 °C、pH5.0, 发现温度是影响其菌丝生长的最主要因素, 其次是 pH。通过对灵芝属不同物种生物特

性对比(表 5), 发现不同物种最适培养条件和最佳营养源存在差异, 相同物种的不同菌株在不同研究中生物学特性不同, 这可能与野生菌株不同的生长环境相关, 气候及植被差异导致菌丝体代谢水平不同, 因此对营养源和培养条件的需求发生变化。

碳源筛选试验发现, 灵芝属真菌可广泛利用各种碳源, 多数菌株对单糖和双糖的利用效果优于多糖, 如滇中灵芝 *Ganoderma dianzhongense* J. He, H.Y. Su & S.H. Li、山西灵芝 *Ganoderma shanxiense* L. Fan & H. Liu 和白肉灵芝 *Ganoderma leucocontextum* T.H. Li, W.Q. Deng, Sheng H. Wu, Dong M. Wang & H.P. Hu 对单糖葡萄糖利用效果最佳(牛开阳等 2022; 何俊等 2023; 杨杰和

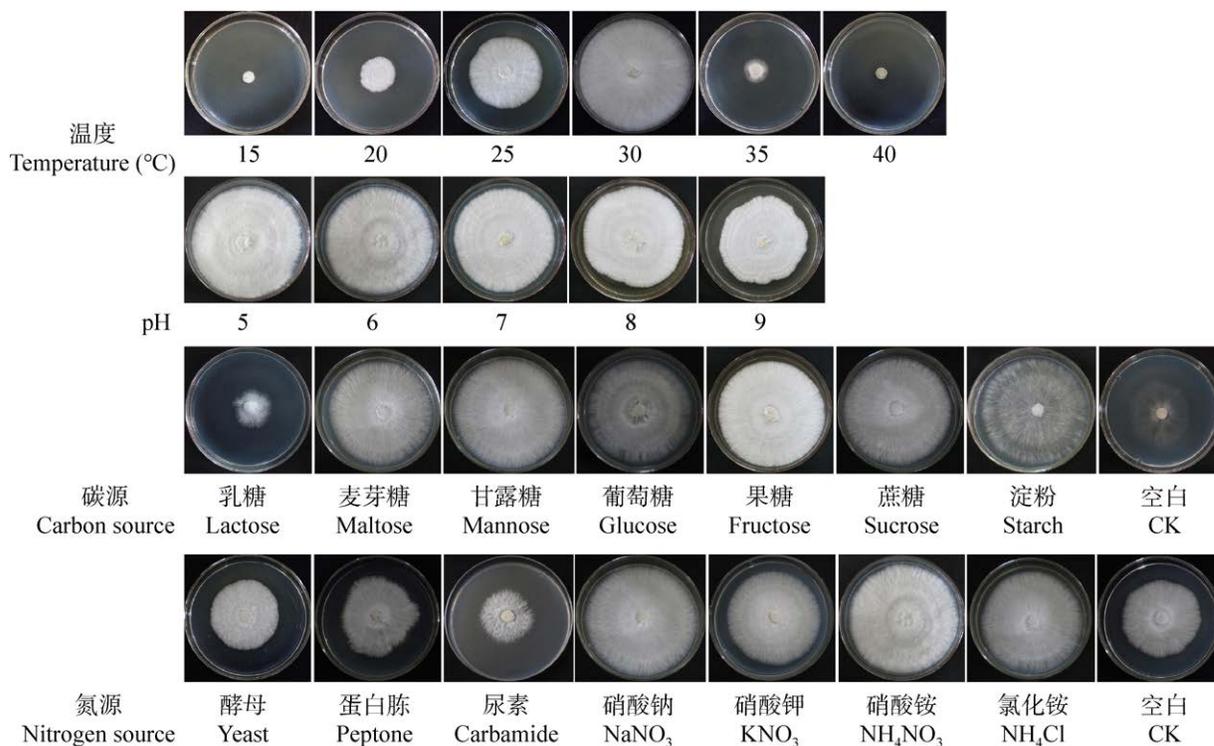


图 4 不同单因素条件对无柄紫灵芝菌丝生长的影响

Fig. 4 The effects of different single factor on mycelial growth of *Ganoderma orbiforme*.

表 3 正交试验结果

Table 3 The results of orthogonal test

	碳源(A) Carbon source	氮源(B) Nitrogen source	pH (C)	温度(D) Temperature (°C)	菌丝生长速度 Mycelial growth rate (mm/d)	菌丝长势 Mycelial growth vigor
1	果糖 Fructose	硝酸铵 NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	5.0	20	4.10±0.14	+
2	果糖 Fructose	硝酸钠 NaNO <sub>3</sub>	7.0	25	2.69±0.35	+
3	果糖 Fructose	氯化铵 NH <sub>4</sub> Cl	6.0	30	13.28±0.53	++
4	甘露糖 Mannose	硝酸铵 NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	7.0	30	4.16±0.53	+
5	甘露糖 Mannose	硝酸钠 NaNO <sub>3</sub>	6.0	20	4.23±0.14	+
6	甘露糖 Mannose	氯化铵 NH <sub>4</sub> Cl	5.0	25	7.49±0.24	+
7	蔗糖 Sucrose	硝酸铵 NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	6.0	25	7.20±0.30	++
8	蔗糖 Sucrose	硝酸钠 NaNO <sub>3</sub>	5.0	30	15.09±0.22	+++
9	蔗糖 Sucrose	氯化铵 NH <sub>4</sub> Cl	7.0	20	1.78±0.22	+
K1	80.30	61.85	106.70	40.40		
K2	63.50	88.00	98.85	69.50		
K3	96.25	90.20	34.50	130.15		
K1	6.69	5.15	8.89	3.37		
K2	5.29	7.33	8.24	5.79		
K3	8.02	7.52	2.88	10.85		
R	2.73	2.36	6.02	7.48	D>C>A>B	
最优配方 Optimal formula	A <sub>3</sub> B <sub>3</sub> C <sub>1</sub> D <sub>3</sub>					

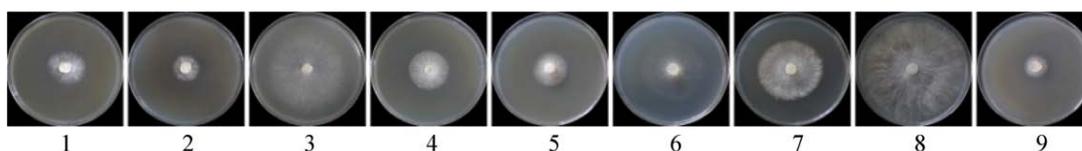


图 5 正交试验菌丝生长结果

Fig. 5 The results of mycelial growth under orthogonal test.

表 4 正交试验方差分析

Table 4 The variance analysis of orthogonal test

来源	偏差平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
Source	Sum of squares	df	Mean square	F value	P value	Significance
修正模型 Correction model	697.146 <sup>a</sup>	8	87.143	810.112	0.000	**
截距 Intercept	1 600.667	1	1 600.667	14 880.311	0.000	**
碳源 Carbon source	44.7	2	22.35	207.773	0.000	**
氮源 Nitrogen source	41.455	2	20.728	192.69	0.000	**
pH	261.538	2	130.769	1 215.673	0.000	**
温度 Temperature	349.453	2	174.726	1 624.312	0.000	**
误差 Error	2.904	27	0.108			
总计 Total	2 300.718	36				
修正后总计	700.051	35	$R^2=0.996$	$R^2_{Adj}=0.995$		
Total after correction						

注: \*\*  $P<0.01$  极显著; \*  $P<0.05$  显著; a 表明该模型经过统计修正Note: \*\*  $P<0.01$  extremely significant; \*  $P<0.05$  significant; a indicates that this model has undergone statistical correction.

图 6 人工驯化的无柄紫灵芝子实体

Fig. 6 Fruiting bodies of domesticated *Ganoderma orbiforme*.

刘虹 2023); 而可食灵芝 *Ganoderma esculentum* He & S.H. Li 和四川灵芝 *Ganoderma sichuanense* J.D. Zhao & X.Q. Zhang 的最适碳源则为麦芽糖(钱坤等 2022; 何俊等 2023); 有柄灵芝 *Ganoderma gibbosum* Blume & T. Nees 不同菌株最适碳源分别为葡萄糖、麦芽糖和果糖(梁志群和陈子武 2011; 陈爽等 2023); 灵芝 *Ganoderma lingzhi* 最适碳源为蔗糖和葡萄糖(兰玉菲等 2016), 亚弯柄灵芝 *Ganoderma subflexipes* B.K. Cui, J.H. Xing & Y.F. Sun 最适氮源为葡萄糖、蔗糖、麦芽糖(田润等 2024)。本研究无柄紫灵芝可利用葡

萄糖、果糖、蔗糖、麦芽糖、甘露糖、淀粉等多种碳源, 碳源为蔗糖、果糖、甘露糖时, 菌丝生长速度和生长势都较好。但本试验也发现, 乳糖抑制了无柄紫灵芝菌丝的生长, 与亚弯柄灵芝的研究结果一致(田润等 2024), 这可能是两者都为中高温型菌株, 乳糖在高温环境下转化为抑制菌丝生长的物质。

氮源筛选试验发现, 大多数灵芝属真菌在有机氮环境下比无机氮源生长更好, 如滇中灵芝 *G. dianzhongense*、山西灵芝 *G. shanxiense*、白肉灵芝 *G. leucocontextum*、有柄灵芝 *G. gibbosum* 最适氮源均为酵母粉(牛开阳等 2022; 陈爽等 2023; 何俊等 2023; 杨杰和刘虹 2023), 亚弯柄灵芝 *G. subflexipes*、灵芝 *G. lingzhi*、有柄灵芝 *G. gibbosum* 和四川灵芝 *G. sichuanense* 也均可利用有机氮维持菌丝生长(梁志群和陈子武 2011; 兰玉菲等 2016; 钱坤等 2022; 田润等 2024), 这与很多食药菌资源有机氮源利用偏好性相同, 如侧耳类(王军芳等 2023; 李曼玲等

表 5 无柄紫灵芝与其他灵芝属真菌菌丝生长最适条件对比

Table 5 A comparison of optimal conditions for mycelia growth between *Ganoderma orbiforme* and other *Ganoderma* species

种类	碳源	氮源	温度	pH	参考文献
Species	Carbon source	Nitrogen source	Temperature (°C)		Reference
滇中灵芝	葡萄糖	酵母粉	28	6.0	何俊等 2023
<i>G. dianzhongense</i>	Glucose	Yeast powder			He <i>et al.</i> 2023
山西灵芝	葡萄糖	酵母粉	30	4.0	杨杰和刘虹 2023
<i>G. shanxiense</i>	Glucose	Yeast powder			Yang & Liu 2023
白肉灵芝	葡萄糖	酵母粉	24	6.5	牛开阳等 2022
<i>G. leucocontextum</i>	Glucose	Yeast powder			Niu <i>et al.</i> 2022
亚弯柄灵芝	葡萄糖、蔗糖、	麦芽浸粉、	30–32	5.0–8.0	田润等 2024
<i>G. subflexipes</i>	麦芽糖	酵母浸粉、			Tian <i>et al.</i> 2024
	Glucose, sucrose,	牛肉蛋白胨			
	maltose	Malt extract			
		powder, yeast			
		extract powder,			
		beef peptone			
灵芝	蔗糖	酵母膏	25	—	兰玉菲等 2016
<i>G. lingzhi</i>	Sucrose	Yeast ointment			Lan <i>et al.</i> 2016
	蔗糖、葡萄糖	酵母	30	6.0	刘冬梅等 2022
	Sucrose, glucose	Yeast			Liu <i>et al.</i> 2022
有柄灵芝	葡萄糖、麦芽糖	蛋白胨	28–32	4.5–7.0	梁志群和陈子武 2011
<i>G. gibbosum</i>	Glucose, maltose	Peptone			Liang & Chen 2011
	葡萄糖、果糖	酵母	28	5.5	张国广等 2015
	Glucose, fructose	Yeast			Zhang <i>et al.</i> 2015
	果糖	酵母	25	7.0	陈爽等 2023
	Fructose	Yeast			Chen <i>et al.</i> 2023
可食灵芝	麦芽糖	硫酸铵	26	5.0	何俊等 2023
<i>G. esculentum</i>	Maltose	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>			He <i>et al.</i> 2023
四川灵芝	麦芽糖	牛肉膏	30	7.0	钱坤等 2022
<i>G. sichuanense</i>	Maltose	Beef ointment			Qian <i>et al.</i> 2022
南方灵芝	—	—	30	6.0	胡真臻等 2021
<i>G. australe</i>					Hu <i>et al.</i> 2021
无柄紫灵芝	蔗糖、果糖、	硝酸铵、硝酸钠、	30	5.0–6.0	本研究
<i>G. orbiforme</i>	甘露糖	氯化铵			This study
	Sucrose, fructose,	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> , NaNO <sub>3</sub> ,			
	mannose	NH <sub>4</sub> Cl			

2024)。但本研究中，无柄紫灵芝对无机氮的利用优于有机氮，菌丝可利用硝酸钠、硝酸钾、硝酸铵和氯化铵等多种无机硝态氮和铵态氮，何俊等(2023)对可食灵芝 *G. esculentum* 营养源筛选发现最适氮源也为无机铵态氮，推测这些菌株对无机氮的偏好性可能与其地域环境中的氮素水平和养分形态相关。

灵芝属真菌菌丝生长 pH 研究发现，大多数种类喜欢偏酸性或中性环境(表 5)。本研究的无

柄紫灵芝在偏酸、中性和偏碱性环境中均能生长，但在偏酸环境中生长更好。研究表明，灵芝属真菌大多为中、高温型真菌(表 5)，最适生长温度一般在 25–30 °C 之间，说明大部分灵芝种类能适应较高温度，适宜在热带地区栽培。本研究结果显示，无柄紫灵芝属于高温型真菌，菌丝最适生长温度为 30 °C，这也与其分布于中国台湾、海南等亚热带、热带地区气候特征一致。

通过常规木屑栽培配方能成功诱导出无柄

紫灵芝子实体, 本文是有关该真菌的首次生物学特性和驯化栽培研究报道。该菌株发菌和培育周期较短, 子实体形态与野生子实体基本一致。本研究对海南热带雨林国家公园野生灵芝种质资源多样性保护具有重要意义, 同时为灵芝新种质创制及研发提供了基础数据, 后续可对其基质配方优化、功能成分分析及食药价值等方面开展深入研究。

## 作者贡献

马思宇: 实验、数据整理和论文撰写; 陈爽: 实验设计和执行; 王军芳: 实验和数据分析; 屈直: 实验设计; 刘爽: 实验; 孙景芳: 实验; 朱安红: 指导实验设计、构思、数据处理、论文写作及修改。

## 利益冲突

作者声明, 该研究不存在任何潜在利益冲突的商业或财务关系。

## [REFERENCES]

- Bishop KS, Kao CHJ, Xu YY, Glucina MP, Paterson RRM, Ferguson LR, 2015. From 2000 years of *Ganoderma lucidum* to recent developments in nutraceuticals. *Phytochemistry*, 114: 56-65
- Cao YG, Zhao J, Han JH, 2024. Analysis of nutritional value and product development status of edible fungi. *China Food Industry*, 2024(1): 165-167 (in Chinese)
- Chen S, Liu SJ, Gao Y, Song ZK, Ma HX, 2023. Biological characteristics and domestic cultivation of wild *Ganoderma gibbosum*. *Mycosystema*, 42(11): 2218-2230 (in Chinese)
- Cui BK, Pan XH, Pan F, Sun YF, Xing JH, Dai YC, 2023. Species diversity and resources of *Ganoderma* in China. *Mycosystema*, 42(1): 170-178 (in Chinese)
- Cuong VT, Chen WD, Shi JH, Zhang MJ, Yang H, Wang N, Yang S, Li JF, Yang P, Fei J, 2019. The anti-oxidation and anti-aging effects of *Ganoderma lucidum* in *Caenorhabditis elegans*. *Experimental Gerontology*, 117: 99-105
- Dai YC, 2012. Pathogenic wood-decaying fungi on woody plants in China. *Mycosystema*, 31: 493-509 (in Chinese)
- Dai YC, 2022. New trend of edible and medicinal fungi research in China—based on publications in *Mycosystema* during 2000–2021. *Journal of Fungal Research*, 20: 141-156 (in Chinese)
- Dai YC, Cao Y, Zhou LW, Wu SH, 2013. Notes on the nomenclature of the most widely cultivated *Ganoderma* species in China. *Mycosystema*, 32(6): 947-952 (in Chinese)
- Dai YC, Qin GF, Xu MQ, 2000. The forest pathogens of root and butt rot on northeast China. *Forest Research*, 13: 15-22 (in Chinese)
- Dai YC, Yang ZL, 2008. A revised checklist of medicinal fungi in China. *Mycosystema*, 27: 801-824 (in Chinese)
- Dai YC, Yang ZL, Cui BK, Wu G, Yuan HS, Zhou LW, He SH, Ge ZW, Wu F, Wei YL, Yuan Y, Si J, 2021. Diversity and systematics of the important macrofungi in Chinese forests. *Mycosystema*, 40: 770-805 (in Chinese)
- Guan YX, Jiang J, Xue CG, Pan L, 2023. Research progress of *Ganoderma* functional foods. *Journal of Dalian Minzu University*, 25(5): 395-402 (in Chinese)
- Guo WL, Pan YY, Li L, Li TT, Liu B, Lv XC, 2018. Ethanol extract of *Ganoderma lucidum* ameliorates lipid metabolic disorders and modulates the gut microbiota composition in high-fat diet fed rats. *Food & Function*, 9(6): 3419-3431
- He J, Li EX, Niu KY, Luo HM, Wu XQ, Su KM, Luo ZL, Li SH, 2023. Biological characteristics and domestication of *Ganoderma dianzhongense* and *G. esculentum*. *Acta Edulis Fungi*, 30(4): 21-30 (in Chinese)
- Hu N, 2022. Research on ancient Chinese *Ganoderma lucidum* culture (Pre-Qin to Song Dynasty). MS Thesis, Central China Normal University, Wuhan. 1-118 (in Chinese)
- Hu ZZ, Li ZP, Shan JX, Zhang Y, Xiong QY, Wu RH, 2021. Identification and biological characteristics of pathogen of *Ganoderma* causing stem rot on *Hevea brasiliensis*. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 42(2): 488-494 (in Chinese)
- Isha A, Yusof NA, Shaari K, Osman R, Abdullah SNA, Wong MY, 2020. Metabolites identification of oil palm roots infected with *Ganoderma boninense* using GC-MS-based metabolomics. *Arabian Journal of Chemistry*, 13: 6191-6200
- Ji W, Su WY, Liu XM, Ren LK, Hu SJ, Sun XX, Chen KL, 2024. Analysis of biological characteristics and genomic characteristics of wild *Ganoderma lucidum* in Lianyungang. *Journal of Jiangsu Agricultural Sciences*, 40(2): 223-232 (in Chinese)
- Kao CHJ, Jesuthasan AL, Bishop KS, Glucina MP, Ferguson LR, 2013. Anti-cancer activities of *Ganoderma lucidum*: active ingredients and pathways. *Functional Foods in Health and Disease*, 3(2): 48
- Lan YF, Wang QW, Tang LN, Li XM, 2016. Comparison to

- mycelial growth rates of three species of *Ganoderma* on different carbon source, nitrogen source and temperature. *Edible Fungi of China*, 35(1): 31-33 (in Chinese)
- Li ML, Zhu AH, Ma GY, Qu Z, Lu XH, Ma HX, Liu ZD, 2024. Biological characteristics and domestication of wild *Pleurotus giganteus*. *Mycosystema*, 44(3): 240255 (in Chinese)
- Liang ZQ, Chen ZW, 2011. Study on the biological characteristics of mycelium of *Ganoderma gibbosum*. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 27(18): 164-167 (in Chinese)
- Liu DM, Sun XY, Yan BY, Chen ZQ, Diao WT, Liang CY, 2022. Isolation, identification and biological characteristics analysis of a wild strain of *Ganoderma lucidum*. *Edible Fungi of China*, 41(11): 18-23 (in Chinese)
- Liu T, Zhou JC, Li WX, Rong XP, Gao Y, Zhao LH, Fan Y, Zhang JY, Ji C, Ma QG, 2020. Effects of sporoderm-broken spores of *Ganoderma lucidum* on growth performance, antioxidant function and immune response of broilers. *Animal Nutrition*, 6(1): 39-46
- Lv XC, Guo WL, Li L, Yu XD, Liu B, 2019. Polysaccharide peptides from *Ganoderma lucidum* ameliorate lipid metabolic disorders and gut microbiota dysbiosis in high-fat diet-fed rats. *Journal of Functional Foods*, 57: 48-58
- Niu KY, Li EX, He J, Li SH, Su XJ, Luo ZL, 2022. Solid culture properties, domestication and analysis of active components of wild *Ganoderma leucocontextum*. *Edible Fungi of China*, 41(11): 24-34, 39 (in Chinese)
- Page DE, Glen M, Puspitasari D, Prihatini I, Gafur A, Mohammed CL, 2020. Acacia plantations in Indonesia facilitate clonal spread of the root pathogen *Ganoderma philippii*. *Plant Pathology*, 69: 685-697
- Qian K, Wu DM, Wang H, Sun YF, Si J, Cui BK, 2022. Biological characteristics and antioxidant activities of wild *Ganoderma sichuanense*. *Mycosystema*, 41(4): 601-617 (in Chinese)
- Stamatakis A, 2014. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics*, 30(9): 1312-1313
- Sun YF, Xing JH, He XL, Wu DM, Song CG, Liu S, Vlasák J, Gates G, Gibertoni TB, Cui BK, 2022. Species diversity, systematic revision and molecular phylogeny of Ganodermataceae (Polyporales, Basidiomycota) with an emphasis on Chinese collections. *Studies in Mycology*, 101: 287-415
- Teng LM, Tian XM, Wu F, Dai YC, 2021. A comparison of triterpenoids and polysaccharides in 13 species of wild *Ganoderma*. *Mycosystema*, 40: 1811-1819 (in Chinese)
- Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins DG, 1997. The CLUSTAL-X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research*, 25(24): 4876-4882
- Tian R, Chen LF, Zhao RX, Zeng NK, 2024. Biological characteristics and cultivation of *Ganoderma subflexipes*. *Mycosystema*, 43(10): 48-65 (in Chinese)
- Wang JF, Song GY, Gao Y, Song ZK, Ma HX, 2023. Biological characteristics and domestic cultivation of wild *Pleurotus tuber-regium*. *Mycosystema*, 42(1): 395-407 (in Chinese)
- Wang QF, Huang QH, Liang L, Li QW, An YX, 2015. Research progress and potential application of ligninolytic enzyme from *Ganoderma* spp. *Chinese Journal of Topical Crops*, 36(7): 1361-1367 (in Chinese)
- Wen B, Wang M, Zhang YY, 2015. *Ganoderma lucidum* seed cultivation technique in bottle. *Edible Mushroom*, 37(3): 38-39 (in Chinese)
- Wu F, Zhou LW, Yang ZL, Bau T, Li TH, Dai YC, 2019. Resource diversity of Chinese macrofungi: edible, medicinal and poisonous species. *Fungal Diversity*, 98: 1-76
- Yang J, Liu H, 2023. Biological characteristics and cultivation conditions of *Ganoderma shanxiense*. *Edible Fungi of China*, 42(1): 20-25 (in Chinese)
- Yuan Y, Bian LS, Wu YD, Chen JJ, Wu F, Liu HG, Zeng GY, Dai YC, 2023. Species diversity of pathogenic wood-rotting fungi (Agaricomycetes, Basidiomycota) in China. *Mycology*, 14: 204-226
- Zeng T, Huang WQ, Zhao LN, Liu B, 2024. Research progress on techniques and products with deep processing of *Ganoderma*. *Journal of Fungal Research*, 22(1): 103-112 (in Chinese)
- Zhang GG, Lu WP, Lin LZ, Zou JM, 2015. Isolation identification, mycelial cultivation characteristics and artificial cultivation of a wild *Ganoderma gibbosum* strain. *Northern Horticulture*, 39(22): 153-157 (in Chinese)
- Zhang WJ, Tao JY, Yang XP, Yang ZL, Zhang L, Liu HS, Wu KL, Wu JG, 2014. Antiviral effects of two *Ganoderma lucidum* triterpenoids against enterovirus 71 infection. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 449(3): 307-312

#### [附中文参考文献]

- 曹月刚, 赵健, 韩吉辉, 2024. 食用菌营养价值及产品开发现状分析. *中国食品工业*, 2024(1): 165-167
- 陈爽, 刘淑娟, 高悦, 宋子坤, 马海霞, 2023. 野生有柄灵芝生物学特性及驯化栽培. *菌物学报*, 42(11): 2218-2230

- 崔宝凯, 潘新华, 潘峰, 孙一翡, 邢佳慧, 戴玉成, 2023. 中国灵芝属真菌的多样性与资源. 菌物学报, 42(1): 170-178
- 戴玉成, 2012. 中国木本植物病原木材腐朽菌研究. 菌物学报, 31: 493-509
- 戴玉成, 2022. 中国食药真菌研究发展的新趋势—以《菌物学报》2000–2021年发表论文分析. 菌物研究, 20: 141-156
- 戴玉成, 曹云, 周丽伟, 吴声华, 2013. 中国灵芝学名之管见. 菌物学报, 32(6): 947-952
- 戴玉成, 秦国夫, 徐梅卿, 2000. 中国东北地区的立木腐朽菌. 林业科学研究, 13: 15-22
- 戴玉成, 杨祝良, 2008. 中国药用真菌名录及部分名称的修订. 菌物学报, 27: 801-824
- 戴玉成, 杨祝良, 崔宝凯, 吴刚, 袁海生, 周丽伟, 何双辉, 葛再伟, 吴芳, 魏玉莲, 员瑗, 司静, 2021. 中国森林大型真菌重要类群多样性和系统学研究. 菌物学报, 40: 770-805
- 关颖贤, 江洁, 薛晨光, 潘玲, 2023. 灵芝功能食品的研究进展. 大连民族大学学报, 25(5): 395-402
- 何俊, 李娥贤, 牛开阳, 罗红梅, 吴晓蕻, 苏开美, 罗宗龙, 李树红, 2023. 滇中灵芝和可食灵芝生物学特性及驯化. 食用菌学报, 30(4): 21-30
- 胡楠, 2022. 中国古代灵芝文化研究(先秦至宋). 华中师范大学硕士论文, 武汉. 1-118
- 胡真臻, 李增平, 单金雪, 张宇, 熊秋雨, 吴如慧, 2021. 橡胶树灵芝茎腐病原菌鉴定及其生物学特性测定. 热带作物学报, 42(2): 488-494
- 纪伟, 苏文英, 刘晓梅, 任立凯, 胡曙鋈, 孙潇潇, 陈克龙, 2024. 连云港地区野生灵芝生物学特性及基因组特征分析. 江苏农业学报, 40(2): 223-232
- 兰玉菲, 王庆武, 唐丽娜, 李秀梅, 2016. 灵芝属 3 个种菌丝生长的最适碳源、氮源及温度比较. 中国食用菌, 35(1): 31-33
- 李曼玲, 朱安红, 马国营, 屈直, 卢雪花, 马海霞, 刘振东, 2024. 野生巨大侧耳生物学特性及驯化栽培. 菌物学报, 44(3): 240255
- 梁志群, 陈子武, 2011. 有柄灵芝菌丝生物学特性研究. 中国农学通报, 27(18): 164-167
- 刘冬梅, 孙雪言, 严碧云, 陈泽群, 刁文彤, 梁呈元, 2022. 1 株野生灵芝的分离鉴定及生物学特性分析. 中国食用菌, 41(11): 18-23
- 牛开阳, 李娥贤, 何俊, 李树红, 苏锡钧, 罗宗龙, 2022. 野生白肉灵芝固体培养特性、驯化栽培及活性成分分析. 中国食用菌, 41(11): 24-34, 39
- 钱坤, 武冬梅, 王豪, 孙一翡, 司静, 崔宝凯, 2022. 野生四川灵芝的生物学特性和抗氧化活性. 菌物学报, 41(4): 601-617
- 滕李铭, 田雪梅, 吴芳, 戴玉成, 2021. 13 种野生灵芝菌丝体中胞内三萜与多糖含量的比较. 菌物学报, 40: 1811-1819
- 田润, 陈丽芳, 赵润祥, 曾念开, 2024. 亚弯柄灵芝的生物学特性及其驯化栽培. 菌物学报, 43(10): 48-65
- 王军芳, 宋国月, 高悦, 宋子坤, 马海霞, 2023. 野生菌核侧耳生物学特性及驯化栽培. 菌物学报, 42(1): 395-407
- 王庆福, 黄清铎, 梁磊, 李奇伟, 安玉兴, 2015. 灵芝木质素降解酶研究及其潜在应用进展. 热带作物学报, 36(7): 1361-1367
- 文波, 王茂, 张媛媛, 2015. 灵芝子实体瓶内栽培技术. 食用菌, 37(3): 38-39
- 杨杰, 刘虹, 2023. 山西灵芝的生物学特性与栽培条件. 中国食用菌, 42(1): 20-25
- 曾婷, 黄文琪, 赵立娜, 刘斌, 2024. 灵芝精深加工技术与产品研发进展. 菌物研究, 22(1): 103-112
- 张国广, 卢文朋, 林溜章, 邹金美, 2015. 一株野生有柄树舌的鉴定、菌丝培养特性及驯化栽培. 北方园艺, 39(22): 153-157