

白灵菇杂交子的筛选及鉴定

高坤梅, 邢志伟, 郑素月, 卢月霞

(河北工程大学 农学院, 河北 邯郸 056038)

摘 要:以白灵菇 2 个品种“中农 1 号”和“中农翅鲍”为亲本, 采用镜检、拮抗、酯酶同工酶及原基诱导等方法, 研究了 150 对杂交组合菌株特性。结果表明: 150 对杂交组合菌株中, 99 个菌株生长较快, 有锁状联合, 75 个与 2 个亲本有明显拮抗线, 且具与 2 个亲本菌株的典型酯酶同工酶条带, 确定是杂交菌株, 其中 50 个杂交子具有出菇能力。

关键词:白灵菇; 杂交子; 拮抗; 酯酶同工酶; 原基形成

中图分类号:S 567.3⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)09-0121-03

白灵菇(*Pleurotus eryngii* var. *tuoliensis*)营养丰富、肉质细嫩、香味浓郁、味美可口, 具有较高的食用价值, 被誉为“草原上的牛肝菌”, 颇受消费者的青睐^[1]。近年来栽培规模不断扩大, 但目前生产上栽培品种种类较少, 主栽品种单一, 生产周期长, 成为制约白灵菇产业发展的重要因素。因此, 选育生产周期短, 性能优良的适宜品种势在必行。食用菌育种主要包括杂交育种、诱变育种、细胞融合育种及转基因育种等^[2], 其中杂交育种是将单孢分离得到的单核菌丝进行配对组合, 通过遗传重组获得与亲本菌株具有不同遗传背景的菌株, 再筛选出优于双亲的优良菌株, 是食用菌育种的主要手段。该试验以生产上 2 个主栽白灵菇品种为亲本进行研究, 通过出菇收集子实体担孢子, 分离孢子单核菌丝进行配对杂交, 对杂交子进行筛选与鉴定, 以期对白灵菇生产选育短周期优良杂交新品种。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试白灵菇品种为“中农 1 号”和“中农翅鲍”, 引自中国农业科学院。

PDA 综合培养基: 马铃薯 200 g、葡萄糖 20 g、硫酸镁 0.5 g、磷酸二氢钾 1 g、琼脂 18 g、水 1 000 mL, pH 自然。

出菇培养基: 棉籽壳 78%, 麦麸 20%, 蔗糖 1%, 石

膏粉 1%, 料水比 1:(1.2~1.3)。

1.2 试验方法

1.2.1 单孢菌株分离及鉴定 将“中农 1 号”和“中农翅鲍”2 个亲本菌株常规出菇, 单孢菌株分离及鉴定参照郑素月等^[3]的方法。

1.2.2 单核菌丝的配对杂交 挑选长势旺盛的 2 个亲本的单核菌株, “中农 1 号”单核菌株 15 个, “中农翅鲍”单核菌株 10 个, 两两配对接种于 PDA 平板培养基上, 二者间距 1.5~2.0 cm, 对峙适温培养, 待 2 种菌丝接触后, 挑取交界处的菌丝转接于新的 PDA 培养基平板上, 25℃下培养 7~10 d 左右, 选菌丝生长旺盛、菌落形态均匀的菌株, 进一步鉴定。

1.2.3 杂交菌株的鉴定 镜检锁状联合: 挑取生长旺盛菌株, 取少量菌丝镜检, 确认是否有锁状联合, 将有锁状联合的菌株初步确定为具有双核菌丝的杂交菌株。拮抗测定: 在 9 cm PDA 培养基平板中间分别接种 2 个亲本的菌丝体, 周围接种镜检确定的有锁状联合杂交菌株菌丝体, 若菌丝生长交界处形成明显的拮抗线, 说明与亲本是不同特性菌株, 淘汰没有明显拮抗线的菌株。酯酶同工酶鉴定: 将上述有锁状联合且与亲本具有拮抗作用的杂交菌株与 2 个亲本菌株一起进行酯酶同工酶电泳, 根据酯酶同工酶酶谱, 比较杂交子代与亲本的差异, 进一步鉴定白灵菇杂交种。采用垂直聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE), 具体参照胡能书等^[4]的方法。出菇能力测定: 参照马银鹏^[5]的方法。将上述鉴定的所有杂交菌株接种于 PDA 培养基平板中, 重复 3 次。25℃下恒温培养 7 d, 4℃培养箱诱导 3 d, 再转到 15℃恒温箱中, 记录出现原基情况, 淘汰无结实能力的杂交子。

2 结果与分析

2.1 镜检结果

对配对的 150 个杂交组合, 淘汰污染及长势较差菌

第一作者简介:高坤梅(1981-), 女, 硕士, 现主要从事食用菌等研究工作。E-mail: gaokunmei@126.com.

责任作者:郑素月(1969-), 女, 博士, 教授, 硕士生导师, 现主要从事食用菌新品种选育与菌种生产技术研究。E-mail: zhengsuyue@sina.com.

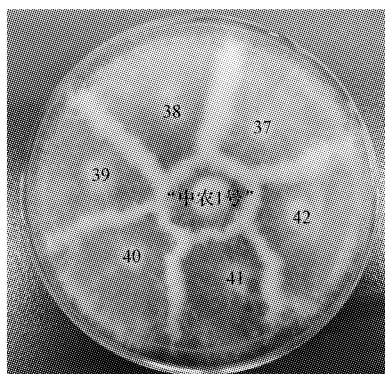
基金项目:河北省现代农业产业技术体系食用菌产业创新团队建设专项资金资助项目。

收稿日期:2015-01-22

株,剩余的菌株通过镜检观察有无锁状联合,最终获得 99 个具有锁状联合的杂交子。

2.2 拮抗测定结果

拮抗反应是鉴定菌株间差异的简单有效方法。将 99 个杂交子代菌株分别与 2 个亲本进行拮抗试验,其中有 75 个杂交子与 2 个亲本菌丝之间产生明显的拮抗反应,结果表明有可能获得了新的杂交组合,部分菌株的拮抗测定见图 1。



注:数字分别代表不同编号杂交子。

Note: The number represent different strains.

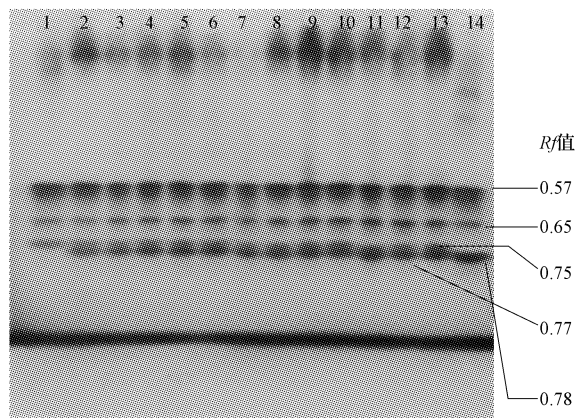
图 1 部分白灵菇杂交子拮抗测定

Fig. 1 The antagonistic test of some hybrid strains for *Pleurotus eryngii* var. *tuoliensis*

2.3 杂交菌株及其亲本酯酶同工酶测定结果

对杂交亲本及 75 个杂交子代的菌丝体进行酯酶同工酶测定,由图 2 部分杂交亲本及其杂交子代同工酶谱可知,2 个亲本与杂交菌株共得到 5 条迁移率不同的

酶带,分别为 0.57、0.65、0.75、0.77、0.78。其中迁移率为 0.57、0.65 的条带为所有菌株共有条带;迁移率 0.75 的条带为“中农翅鲍”特有条带;迁移率 0.78 的条带为“中农 1 号”特有条带;而所有杂交菌株中,除具有迁移率为 0.57、0.65 两个亲本共有条带以外,还具有“中农翅鲍”特有条带和迁移率为 0.77 的杂交新酶带。



注:泳道编号代表菌株,1 号和 14 号代表 2 个亲本菌株,2~13 号分别代表 12 个不同杂交子。

Note: 1 and 14 represent parent, 2-13 represent different hybrid strains.

图 2 部分白灵菇杂交子的酯酶同工酶谱

Fig. 2 The esterase isozyme zymograms of some hybrid strains for *Pleurotus eryngii* var. *tuoliensis*

2.4 出菇验证

原基诱导结果有 50 个杂交菌株出现了菌蕾,部分菌株现蕾情况见图 3。结果表明这 50 个杂交菌株具有结实能力。

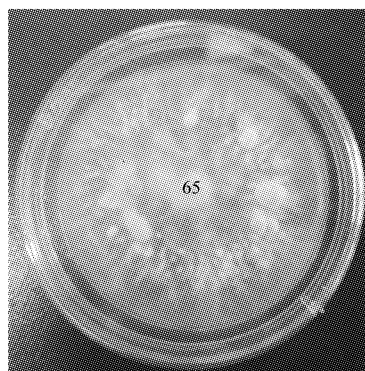
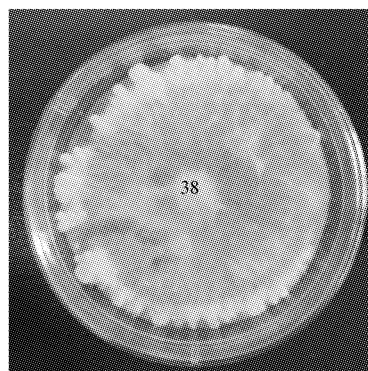


图 3 白灵菇 38 号与 65 号杂交子形成原基情况

Fig. 3 The primordium formation of No. 38 and No. 65 of *P. eryngii* var. *tuoliensis*

3 结论与讨论

食用菌杂交育种首先是将不同亲本进行出菇,收集子实体担孢子进行分离,得到的单孢萌发的单核菌丝进行交配,通过配对杂交获得与亲本菌株具有不同遗传背景的菌株,再从杂交菌株中筛选出杂种优势菌株,是目前食用菌育种的主要手段,在许多食用菌新品种的选育

中得到了广泛的应用^[6-7]。因此,单孢子萌发的单核菌丝分离是杂交育种的第一个重要环节,关于白灵菇杂交的一种简便有效的单孢分离技术该课题组已在文献^[3]中进行了报道,在此基础上,该试验初步获得了具有出菇能力的 50 个杂交子,这些杂交子的生产性能还需进行栽培出菇试验进一步验证。

海口药用植物区系研究

钟琼芯, 王士泉

(海南师范大学 生命科学院, 热带动植物生态学省部共建教育部重点实验室, 海南 海口 571158)

摘要:为进一步了解海南省海口市药用植物的分布情况,对海口市的药用植物进行了实地调查。通过标本的采集和鉴定分类,分析研究了海口药用植物区系。结果表明:海口的药用植物较为丰富,共有122科376属509种。其中蕨类植物13科16属22种,裸子植物5科5属6种,被子植物104科355属481种;优势科和优势属构成了该地植物区系的主体,具有明显的优势现象;分布类型趋于多样化,热带成分占有明显的优势。

关键词:药用植物;植物区系;海口市

中图分类号:S 567 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)09-0123-04

海口市是海南省省会,位于北纬 $19^{\circ}32'$ ~ $20^{\circ}05'$,东经 $110^{\circ}10'$ ~ $110^{\circ}41'$,地处海南岛北部,土地面积2 304.84 km²。该地区雨量充沛,年平均降雨量1 684 mm,全年日

照时间长,辐射能量大,年平均日照时数2 000 h以上,太阳辐射量可达11万~12万 Cal,年平均气温24.2℃。年平均蒸发量1 834 mm,平均相对湿度在85%左右。常年风向以东南风和东北风为主,初夏和盛夏季节多刮南风 and 西南风,年平均风速3.4 m/s。为了研究该地区药用植物的多样性、分布情况、区系分类,对整个海口的药用植物进行了调查和分类并且分析其特征,从多个方面剖析了药用植物的分布情况、区系特点等。

1 材料与方法

1.1 调查对象

在海口市设置36个样地,每个样地里设置5个

第一作者简介:钟琼芯(1957-),男,本科,副教授,现主要从事植物学等研究工作。E-mail:403282346@qq.com.

责任作者:王士泉(1971-),男,博士,教授,现主要从事植物系统与进化等研究工作。E-mail:wsqmah@163.com.

基金项目:海南省高等学校科学研究资助项目(HNKY2014-42);中医药行业科研专项资助项目(201207002);海南师范大学植物生态学重点学科资助项目(HS-1-2012-0713-2)。

收稿日期:2015-01-28

参考文献

- [1] 王贺祥,刘庆洪.食用菌栽培学[M].北京:中国农业大学出版社,2014.
- [2] 桂明英,王刚,郭永红,等.食用菌育种技术的研究进展[J].中国食用菌,2006,25(5):3-5.
- [3] 郑素月,卢月霞,张庆桥.1种简单的白灵菇单孢分离新方法[J].中国食用菌,2013,32(5):14-15.
- [4] 胡能书,万贤国.同工酶技术及其应用[M].长沙:湖南科学技术出版社,1985.

- [5] 马银鹏.环境因子对白灵侧耳原基形成的影响研究[D].北京:中国农业科学院,2012.

- [6] 刘宇,陈文良,王丽珍,等.杏鲍菇13号杂交菌株选育研究[J].食用菌学报,2004,11(3):61-64.

- [7] 刘宇,陈文良,耿小丽,等.杏鲍菇16号杂交菌株选育[J].食用菌,2009(2):23-24.

Selection and Identification of Hybrid Strain of *Pleurotus eryngii* var. *tuoliensis*

GAO Kun-mei, XING Zhi-wei, ZHENG Su-yue, LU Yue-xia

(College of Agriculture, Hebei University of Engineering, Handan, Hebei 056038)

Abstract: Taking two different *Pleurotus eryngii* var. *tuoliensis* strains as parents ('Zhongnong No. 1' and 'Zhongnong Chibao'), the properties of 150 cross combinations were studied by microscopy, antagonism, esterase isozyme and primordium induction. The results showed that 99 of 150 hybrid strains were with clamp-connection, 75 strains had obvious antagonism with two parents and had new enzyme bands and complementary enzyme bands, 50 strains had primordium formation in PDA plate.

Keywords: *Pleurotus eryngii* var. *tuoliensis*; hybrid strain; antagonistic test; isozyme analysis; primordium formation