

# 超声-紫外复合诱变对茶薪菇高产菌株选育研究

朱维红, 张 渊, 张筱梅

(保定学院 生物化学系, 河北 保定 071051)

**摘 要:**以茶薪菇为试材, 采用超声波-紫外线对其担孢子进行诱导, 以期选育出优质高产的茶薪菇菌株。结果表明: 以超声波 500 W+紫外线 30 s 的复合诱变效果最好; 通过筛选得到诱变株‘AF107’, 其菌丝长速快、菇形好、商品性高、子实体产量提高 36%、生物学效率达 57.4%, 经 2 次出菇试验发现其性状稳定。

**关键词:**茶薪菇; 担孢子; 超声波-紫外线; 复合诱变

**中图分类号:**S 646.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)24-0150-03

茶薪菇作为珍稀菇类近年在我国发展迅速, 销量急剧增加。但连续栽培后, 生产株农艺性状及产量下降明显, 需不断育种。食用菌传统育种过程复杂<sup>[1]</sup>、时间长、效果较差<sup>[2]</sup>、不能满足生产需求。目前, 已有关于利用超声波-紫外线微生物育种的报道<sup>[3-4]</sup>, 但超声波-紫外线食用菌育种尚鲜见报道。该试验采用超声波-紫外线复合诱变, 初步探讨茶薪菇高产菌株的诱变方法和条件, 以期建立茶薪菇多孢诱变育种的新途径, 为其生产育种提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试茶薪菇引自福建三明食用菌研究所。

母种培养基: 马铃薯 20%, 玉米粒 1.5%, 麦麸 2%, 葡萄糖 2%, 琼脂 1.8%, 水 1 000 mL, pH 6.5; 栽培种培养基: 棉籽皮 55%, 木屑 27%, 麦麸 13%, 玉米粉 3%, 红糖 1%, 石膏 1%, 料液比 1:1.2, pH 自然; 斜面培养基: 马铃薯 20%, 玉米粒 1.5%, 麦麸 2%, 葡萄糖 2%, 琼脂 1.8%, 水 1 000 mL, pH 6.5。

### 1.2 试验方法

1.2.1 担孢子采集及其悬液制备 供试菌株斜面活化 2 次, 接入栽培种培养基出菇, 选健壮典型头潮菇子实体, 以悬钩法放入具纸条的罐头瓶中, 26℃培养 24 h 后取出子实体, 担孢子 2~4℃保藏, 备用。使用前担孢子

于室温下浸泡 18~24 h 计数, 稀释至  $10^5 \sim 10^6$  个/mL, 备用。

1.2.2 超声波处理 孢子悬液 20 mL 分别以超声波 100、200、300、400、500、600、700、800 W 强度处理 10 min, 取 0.1 mL 处理液涂布平板, 26℃培养 9 d, 以未处理为对照(CK), 记录菌落数, 计算致死率。致死率=(未处理菌落数-处理后菌落数)/未处理菌落数×100%。

1.2.3 紫外线处理 20 W 紫外灯距离 15 cm, 时间设定为 10、30、60、90、120 s, 分别对 20 mL 孢子悬液紫外辐照, 以未处理为对照(CK)。处理液 0.1 mL 涂布平板, 黑袋包裹, 26℃培养 9 d, 记录菌落数, 计算致死率。

1.2.4 超声-紫外复合处理 茶薪菇孢子悬液于 300、500、700 W 超声波下分别处理 10 min, 再进行紫外辐照 30 s(处理方法同 1.2.2), 以未处理为对照(CK)。

1.2.5 菌株初筛 挑选菌丝色白、浓密均匀、生长快的复合诱变株, 转接斜面培养基多代培养, 测定菌丝长势和长速, 初步筛选优势菌株。

1.2.6 出菇试验 初筛菌株转接栽培种袋, 每袋干料 300 g, 重复 6 次, 室温发菌培养, 常规出菇管理, 对各处理的长速、现蕾、子实体鲜重及农艺性状等进行比较。子实体计 2 潮鲜重。

1.2.7 拮抗性试验 复筛菌株与原菌株成对接入平板(相距 2 cm), 26℃培养 10 d 观察拮抗现象。

## 2 结果与分析

### 2.1 诱变试验

2.1.1 超声波诱变对茶薪菇萌发的影响 从表 1 可以看出, 各处理孢子最早萌发时间均比对照提前 1~3 d, 说明超声波处理对茶薪菇担孢子的萌发具有加速作用, 各处理菌丝长势均匀、色白, 不同超声强度的影响差异不大。随着超声波的诱变剂量增大, 孢子萌发数量依次降低、致死率升高, 到 800 W 时致死率已达 97%。

**第一作者简介:**朱维红(1970-), 女, 本科, 实验师, 研究方向为微生物应用。

**责任作者:**张筱梅(1958-), 女, 教授, 研究方向为微生物及细胞学。

**基金项目:**河北省自然科学基金资助项目(C2013104055); 河北省科技厅科技规划资助项目(12236308); 河北省教育厅资助项目(Z2011106)。

**收稿日期:**2013-09-09

当超声波的诱变剂量为 300 W 时,气生菌丝旺盛,当诱变剂量为 700 W 时菌丝洁白浓密。

表 1 超声波对茶薪菇担孢子萌发的影响

Table 1 Effects of ultrasonic on basidiospore germination of *Agrocybe chaxingu*

	处理剂量 Treatment dose/W								
	0(CK)	100	200	300	400	500	600	700	800
担孢子最早萌发时间 The earliest germination time of basidiospora/d	5	4	3	2	2	2	2	3	4
致死率 Death rate/%	0	11	32	54	58	65	78	87	97

2.1.2 紫外线诱变 经紫外线处理后担孢子最早萌发时间均较对照有所延迟,随着紫外线照射时间的延长,担孢子萌发菌落递次减少,致死率增加,在 120 s 的处理时间下未有孢子萌发,致死率达 100%。萌发菌丝初期稀疏,生长 2~3 d 后明显转白,渐密,长速加快,其中 10 s 处理与对照相似,90 s 处理长势最差,菌丝稀疏绒状、生长不齐。30、60 s 处理菌丝长势最好,颜色浓白,尖端整齐。

表 2 紫外线对茶薪菇担孢子萌发的影响

Table 2 Effects of UV on basidiospore germination of *Agrocybe chaxingu*

	处理时间 Treatment time/s					
	0(CK)	10	30	60	90	120
担孢子最早萌发时间 The earliest germination time of basidiospore/d	4~5	5~6	6	6~8	7~8	10
致死率 Death rate/%	0	26	48	69	92	100

2.1.3 超声波-紫外线复合诱变 由表 3 可知,复合诱变中孢子最早萌发时间均比对照提前 2 d,保持了超声波单因子加速孢子萌发的诱变效应,而致死率较 2 种单因子诱变也均有提高,说明 2 种因子协同作用加大了对孢子的致死作用。

表 3 复合诱变对茶薪菇担孢子萌发的影响

Table 3 Effects of complex mutation on basidiospore germination of *Agrocybe chaxingu*

	处理剂量 Treatment dose			
	0(CK)	300 W+30 s	500 W+30 s	700 W+30 s
担孢子最早萌发时间 The earliest germination time of basidiospore/d	5	3	3	3
致死率 Death rate/%	0	59	72	93

从图 1 可以看出,随着培养时间的延长,萌发菌落呈持续增长趋势,从 3 条复合诱变萌发曲线走向看,前 8 d 均匀平稳,到第 9 天 300 W+30 s、500 W+30 s 处理的菌落增加明显,与对照相似,说明孢子在 9 d 左右达到萌发高峰,而 700 W+30 s 处理由于致死率较高,日萌发数量变化不明显。从菌丝生长情况来看,复合诱变后菌

丝整体长势优于单因子诱变,菌丝疏长茂密、尖端整齐,颜色洁白。

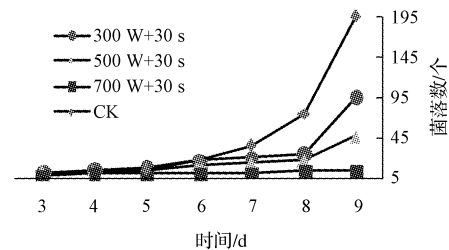


图 1 超声紫外复合诱变担孢子萌发曲线

Fig. 1 Germination curves of basidiospore by UV and ultrasonic complex mutation

## 2.2 菌丝培养初筛比较

挑选菌落萌发早、菌丝长势好的单因子和复合诱变株各 50 株接于斜面培养基,恒温培养 7 d,对其菌丝长速长势与对照进行比较,选优势菌株连续 3 次传代培养后,挑选出稳定性好的菌株与对照进行拮抗比对。选择拮抗明显的诱变株 24 株进入复筛比较。

## 2.3 出菇试验

将复筛菌株接种料袋,经栽培发现,大多诱变株在栽培料中长势和满袋时间仍优于对照株,但子实体产量有分化,其中 10 株优于对照,增产率为 10%~40%,超过 25% 的有 4 株,均为复合诱变株,且子实体农艺性状亦有不同,主要表现为丛生株个体均匀,柄粗盖厚,畸形菇少。由表 4 可知,4 株诱变株的菌丝长速、密度优于对照,现蕾时间提前,生物学效率达 55%~60%,增产率达 29.2%~40.5%。其中复合诱变株‘AF107’长速最快,日均长速达 4.53 mm/d,且菌丝长势和爬壁力强,密度大,镜检菌丝粗壮。

为进一步确定所选诱变菌株遗传的稳定性,对以上 4 株优势菌株进行了继代出菇试验。从表 5 可以看出,4 个诱变株仍保持了生长快、现蕾早的优势,其中‘AF107’现蕾时间较对照提前 12 d。生物学效率保持在 50%~60%。但各菌株产量稳定性则程度不一,‘AF033’、‘AF054’产量有所下降,‘AF143’、‘AF107’则稳定性较好,2 代出菇都保持了 35% 左右的增产率。二者均为超声 500 W+UV 30 s 复合诱变处理的菌株,同时子实体农艺性状也有变化,原对照菌株子实体单株较矮,柄细盖薄,柄长超过 100 mm 的不足 10%,而诱变株柄粗盖厚,菇体较粗壮,单株鲜重大,柄长多大于 100 mm,其鲜脆质感未受影响,较原株耐采摘。经测量柄长最大可达 151 mm、柄径 17 mm、盖径 32 mm、1 潮菇袋产量达 128 g。比较‘AF107’、‘AF143’子实体农艺性状发现,‘AF143’单株参差,各平行出菇量差别较大,‘AF107’菇体整齐,畸形率低,平行出菇稳定,尤其是 2 潮菇出菇较

表 4

诱变株与出发菌株菌丝生长、出菇比较

Table 4

Comparison of mycelial growth situation between the induced strains and original strain

菌株	处理剂量	日均长速	密度	长势	现蕾天数	子实体产量	增产率	生物效率
Strain	Treatment dose	Growth rate/mm·d <sup>-1</sup>	Density	Growth situation	Primordium from days/d	Fruiting body yield/g	Increase production rate/%	Biological efficiency rate/%
CK	0	3.36	+	++	79	774.0	—	43.0
'AF033'	300 W+30 s	3.85	++	++	78	1 008.0	30.2	56.0
'AF054'	300 W+30 s	4.02	++	++	76	1 000.2	29.2	55.6
'AF107'	500 W+30 s	4.53	+++	+++	70	1 046.6	35.2	58.1
'AF143'	500 W+30 s	4.36	++	+++	72	1 087.2	40.5	60.4

注:计2潮菇鲜重。

表 5 2代诱变株与出发菌株出菇比较

Table 5 Comparison of fruiting between

second generation induced strain and original strain

菌株	现蕾天数	子实体产量	增产率	生物效率
Strain	Primordium form days/d	Fruiting body yield/g	Increase production rate/%	Biological efficiency rate/%
CK	65	759.6	—	42.7
'AF033'	60	928.8	22	51.6
'AF054'	60	917.4	21	51.0
'AF107'	53	1 033.4	36	57.4
'AF143'	56	1 022.7	35	56.8

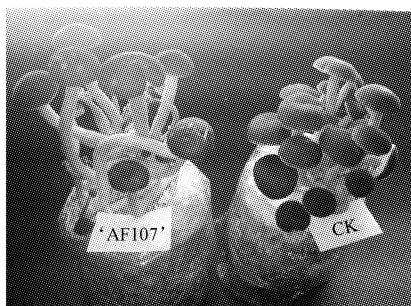


图 2 'AF107'与出发菌株子实体农艺性状的比较

Fig. 2 Comparison of fruit body agronomic characters between 'AF107' strain and original strain

快。综合评价,'AF107'优于'AF143',增产率达36%,是通过超声波-紫外复合诱变选育出的生长快、产量高、子实体商品性好的优良菌株。

### 3 结论

该试验以茶薪菇担孢子为试材,通过超声波、紫外线单因子及复合诱变处理,确定了诱变剂量、方法,经出菇比较,可使菌丝生长快、现蕾期缩短、产量提高10%~40%,以复合诱变超声波500 W、10 min、UV 30 s效果最佳。通过2次出菇试验,选出1株优良菌株'AF107',2代出菇,自然条件下增产率36%左右,生物学效率达到57.4%,稳定性好。

复合诱变处理使茶薪菇担孢子首先以超声波空化为前提,缩短了孢子的萌发时间,辅以紫外诱变,增加了菌株变异程度,试验表明超声波紫外复合诱变是一种切实可行的诱变育种方式。

该试验首次尝试将超声波-紫外复合诱变方法应用于食用菌育种,对茶薪菇担孢子产生了积极的诱导效应,为食用菌育种提供了一条新的途径。

### 参考文献

- [1] 张筱梅.猴头单孢诱变育种初报[J].中国食用菌,1995(4):20-21.
- [2] 张焕英,张筱梅,张渊.三株鸡腿菇组织分离培养[J].食用菌,2003(3):17-18.
- [3] 赵兴秀,方春玉,周健,等.紫外线与超声波复合诱变选育红曲色素高产菌株的研究[J].中国酿造,2010(3):66-69.
- [4] 邵淑娟,李铁柱,李倬林,等.凝乳酶高产菌株的超声波-紫外复合诱变育种及其发酵条件的优化[J].中国酿造,2011(2):41-45.
- [5] 张渊,王谦,张筱梅,等.原生质体紫外诱变选育茶薪菇的研究[J].保定师范专科学校学报,2003(4):24-26.
- [6] 甘广东,刘清斌,吴建国,等.复合诱变选育高产GSH的菌株生物技术[J].生物技术,2008(6):57-58.

## Screening of High-yield *Agrocybe chaxingu* Strains by Ultrasonic and UV Complex Mutation

ZHU Wei-hong, ZHANG Yuan, ZHANG Xiao-mei

(Department of Biochemistry, Baoding Teacher's College, Baoding, Hebei 071051)

**Abstract:** Taking *Agrocybe chaxingu* as test material, ultrasonic ultraviolet radiation was used to induce its basidiospora, to select *Agrocybe chaxingu* strains with high yield and good quality. The results showed that the composite mutagenesis effect of ultrasonic 500 W+UV 30 s was the best; the mutant 'AF107' had faster mycelial growth speed, mushroom shaped, good commodity, fruitbody yield increased by 36%, the biological efficiency was 57.4%, 2 times of fruiting test found that the characters of stability.

**Key words:** *Agrocybe chaxingu*; basidiospora; ultrasonic-UV; complex mutation