

萘乙酸对昭通乌天麻野生蜜环菌生长的影响

杨文宏, 黄美娟, 黄海泉

(西南林业大学 园林学院, 云南 昆明 650224)

摘 要:以分离筛选后的昭通乌天麻野生蜜环菌为试材,以 PDA 为基本培养基,研究了不同浓度 NAA 对昭通乌天麻野生蜜环菌菌丝出现时间、菌索出现时间、菌索长度、生物量以及生长状况的影响。结果表明:处理 4(5.0 $\mu\text{g/mL}$)的菌丝、菌索出现最快;处理 1~5(0.5、1.0、2.5、5.0、10.0 $\mu\text{g/mL}$)菌索长度明显大于对照,处理 6~9(25、50、100、250 $\mu\text{g/mL}$)菌索生长明显小于对照;最终的生物量以处理 4(5.0 $\mu\text{g/mL}$)为最大;处理 3(2.5 $\mu\text{g/mL}$)和处理 4(5.0 $\mu\text{g/mL}$)蜜环菌生长状况最好。综合比较来看,以处理 4(5.0 $\mu\text{g/mL}$)为蜜环菌生长的最佳浓度。该研究为后续蜜环菌的培养、菌包生产以及研发奠定了一定的基础。

关键词:蜜环菌;菌丝;菌索;NAA;生长状况

中图分类号:S 646.1⁺1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)09-0169-03

蜜环菌(*Armillaria mellea*)属口蘑科(Trichomataceae)蜜环菌属(*Armillaria*)^[1]真菌,别名榛蘑、臻蘑、蜜蘑、蜜环蕈、栎蕈,在世界各大洲均有分布。据秦国夫^[2]报道目前世界各地蜜环菌共有约 42 种,其中欧洲 7 种、北美 10 种、澳洲 7 种、非洲 5 种、日本 11 种以及中国 16 种。我国的蜜环菌主要分布在云南、贵州、四川、黑龙江等地^[3]。蜜环菌作为一种重要的药食兼用真菌^[4],其子实体可食用;菌丝及菌索均可入药,并具有很高的药用价值^[2];同时它还是一种兼性寄生菌,具有寄生和腐生的特点^[5],常寄生于天麻、猪苓等植物中,其中天麻通过其皮层消化细胞消化菌索而获得所需的养分^[6],而猪苓则通过其菌核菌丝吸收蜜环菌代谢产物来获取养分^[7],因此,蜜环菌是天麻(*Gastrodia elata* Blume)和猪苓(*Grifolia umbellata*)栽培必备的共生菌^[3]。目前国内研究萘乙酸(NAA)对蜜环菌生长的影响尚鲜见报道,现对不同浓度萘乙酸对昭通乌天麻蜜环菌生长的影响进行研究,以期对促进昭通天麻产业发展以及蜜环菌的进一步开发利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以分离后的昭通乌天麻野生蜜环菌为试材。培养基:以 PDA 培养基(土豆 200 g/L,葡萄糖 20 g/L)为基本培养基,分别配制 0(CK)、0.5、1.0、2.5、5.0、10.0、25.0、50.0、100.0、250.0 $\mu\text{g/mL}$ (分别为处理 1~9)10 个 NAA 浓度梯度进行接种试验。

1.2 试验方法

菌丝及菌索出现时间:接种后每天定期观察菌丝和菌索出现的时间。菌索出现后第 3 天,每 3 d 对菌索长度进行测定,并求其平均值。接种后第 15 天开始,每 3 d 对其生物量进行测定,并求其平均值。接种后对各处理的菌索颜色、形状、粗细、分枝能力、顶端整齐度、密度、荧光强弱等方面进行观察记载。菌丝粗细:0~500 μm (+);500~1 000 μm (++);1 000~1 500 μm (+++);1 500~2 000 μm (++++); $\geq 2 000 \mu\text{m}$ (+++++)。菌丝分枝能力:0~3 分支(*);3~6 分支(**);6~9 分支(***);9~12 分支(****); ≥ 12 分支(*****).

2 结果与分析

2.1 不同浓度 NAA 对蜜环菌菌丝出现时间的影响

由表 1 可知,第 3 天时处理 4 出现菌丝的瓶数最多,为 8 瓶,占总数的 32%,比对照高 20%,而处理 9 无菌丝出现;处理 4 仅 3 d 时间所有菌丝均已出齐,比 CK 早 1 d,比处理 7~9 早 3 d,说明处理 4 对菌丝出现时间具有一定的促进作用;处理 9 菌丝出现时间最晚,说明高浓度 NAA 对菌丝生长有一定抑制作用。而且发现处理 4 可能是影响蜜环菌菌丝出现和生长的一个临界浓

第一作者简介:杨文宏(1987-),男,硕士,研究方向为植物生物技术。

责任作者:黄海泉(1974-),男,博士,副教授,现主要从事生物技术等研究工作。E-mail:haiquanhuang@gmail.com.

基金项目:云南省自然科学基金资助项目;云南省园林植物与观赏园艺省级重点学科及云南省高校园林植物与观赏园艺重点实验室资助项目。

收稿日期:2013-01-18

度,高于该浓度,NAA 对菌丝的抑制作用随着浓度越高,抑制作用越明显。

表 1 不同浓度 NAA 对蜜环菌菌丝出现时间的影响

Table 1 Effects of different concentrations of NAA on mycelium emergence date of *A. mellea* 瓶

处理	接种数	第 3 天 出丝数	第 4 天 出丝数	第 5 天 出丝数	第 6 天 出丝数	第 7 天 出丝数	第 8 天 出丝数
CK	25	3	3	17	2	0	0
1	25	2	6	15	1	1	0
2	25	2	6	14	2	1	0
3	25	3	10	10	2	0	0
4	25	8	10	7	0	0	0
5	25	4	10	8	2	1	0
6	25	2	6	1	15	1	0
7	25	1	8	1	11	1	3
8	25	1	8	0	12	0	4
9	25	0	0	4	18	0	3

2.2 不同浓度 NAA 对蜜环菌菌索出现时间的影响

从表 2 可以看出,蜜环菌在不同浓度 NAA 中菌索出现时间主集中于第 7~12 天。其中,处理 4 第 7 天出现菌索瓶数最多,为 12 瓶,占总数的 48%,比对照高出 16%;其次是处理 3 和处理 5;而处理 9 出现瓶数最少,为 2 瓶,比对照低 24%。同时发现处理 4 仅 4 d 菌索均已出齐,比对照提早 1 d;处理 6~8 最慢,比对照晚 2 d;CK 及处理 1~4 菌索出现时间主要集中在第 7~8 天,比处理 7~9 集中出菌索时间快 3~4 d。同时发现,处理 4 可能是一个临界浓度,低于该浓度对蜜环菌菌索生长具有一定促进作用,在此范围内随着浓度升高促进作用越明显;高于该浓度对其生长具有明显的抑制作用,并随着 NAA 浓度升高,抑制效果越显著。

表 2 不同浓度 NAA 对蜜环菌菌索出现时间的影响

Table 2 Effects of different concentrations of NAA on rhizomorph emergence date of *A. mellea* 瓶

处理	接种数	第 7 天 出索数	第 8 天 出索数	第 9 天 出索数	第 10 天 出索数	第 11 天 出索数	第 12 天 出索数
CK	25	8	10	2	2	3	0
1	25	3	15	2	2	2	0
2	25	6	13	3	1	2	0
3	25	9	10	2	3	1	0
4	25	12	5	5	3	0	0
5	25	9	4	2	7	3	0
6	25	7	8	2	3	4	1
7	25	6	4	1	6	7	1
8	25	3	7	2	3	8	2
9	25	2	2	0	15	1	0

2.3 不同浓度 NAA 对蜜环菌菌索长度的影响

由表 3 可知,处理 1~5 菌索长度测量值均大于 CK,其中以处理 4 最佳,最后 1 次长度达到 7.33 cm,比对照长出 2.11 cm,其长度为处理 9 的近 2 倍;处理 6~9

所有值均小于对照,且随浓度升高,菌索长度递减;说明 NAA 浓度超过一定范围,随着 NAA 浓度升高,其对菌索生长抑制作用越明显;进一步表明适宜 NAA 浓度可促进蜜环菌菌索生长,其中以处理 4 效果最佳,菌索长度增加最为明显。

表 3 不同浓度 NAA 对蜜环菌菌索长度的影响

Table 3 Effects of different concentrations of NAA on rhizomorph length of *A. mellea* cm

处理	第 1 次测量	第 2 次测量	第 3 次测量	第 4 次测量	第 5 次测量
CK	1.22	1.50	2.47	4.00	5.22
1	1.39	1.61	2.69	4.82	5.56
2	1.33	1.58	2.54	4.89	5.21
3	1.27	1.50	3.00	4.94	5.94
4	1.62	3.33	5.22	6.57	7.33
5	1.33	2.50	4.57	5.89	6.83
6	1.13	1.44	2.50	3.67	4.22
7	0.83	1.37	2.21	3.56	4.33
8	0.79	1.45	2.19	3.34	4.14
9	0.72	1.49	2.39	3.17	3.83

2.4 不同浓度 NAA 对蜜环菌生物量的影响

从表 4 可知,第 15 天时处理 1~9 菌索的生物量均大于 CK,发现起始阶段不同浓度 NAA 均对蜜环菌菌索生物量均有一定的促进作用;第 18~27 天,处理 5~9 生物量均小于 CK,尤其是处理 9,后 4 次生物量约为 CK 的 1/2,说明高浓度 NAA 在培养后期对蜜环菌生物量具有较明显的抑制作用。同时发现处理 4 生物量最大,达到 24.96 g/L,比 CK 多 2.51 g/L,是处理 9 的 2 倍多,进一步说明适宜的 NAA 浓度对蜜环菌生物量增加具有一定促进作用,其中以处理 4 对蜜环菌生物量作用最为明显,即为最适宜的 NAA 浓度。

表 4 不同浓度 NAA 对蜜环菌生物量的影响

Table 4 Effects of different concentrations of NAA on rhizomorph biomass of *A. mellea* g/L

处理	第 15 天	第 18 天	第 21 天	第 24 天	第 27 天
CK	1.87	6.71	14.09	21.84	22.45
1	2.05	7.54	16.64	21.92	23.41
2	2.70	6.00	14.68	21.88	23.34
3	2.51	7.81	15.25	22.60	24.75
4	2.48	7.95	15.93	22.05	24.96
5	2.41	6.71	12.25	19.85	20.70
6	3.95	6.63	14.26	20.23	20.64
7	2.81	5.27	11.25	13.57	19.95
8	2.71	6.11	13.04	15.58	18.73
9	2.23	3.01	5.59	8.49	12.25

2.5 不同浓度 NAA 对蜜环菌生长状况的影响

由表 5 可以看出,蜜环菌在不同浓度 NAA 培养条件下,菌索呈现出白色、黄色、棕色及褐色不同的颜色变化;菌索形状也呈现圆柱扁平或不规则圆柱变化,处理 1~9 随 NAA 浓度升高,菌索形状越趋向于不规则圆柱状,说明高浓度 NAA 对菌索生长的颜色及形状产生一定的影响。与对照相比,处理 3~4 菌索最粗,达 1 500~

2 000 μm ,菌索的分枝能力也最强,达 9~12 分枝,且菌索顶端整齐度较高,密度较大,荧光较强;处理 8~9 菌索粗细、分枝能力最差,菌索顶端不整齐、密度小、荧光弱。说明处理 3~4 对菌索粗细、分枝能力均有较好地促进作用;而处理 8~9 则相反,抑制作用极为明显。

表 5 不同浓度 NAA 对蜜环菌生长状况的影响

Table 5 Effects of different concentrations of NAA on growth characteristics of *A. mellea*

处理	菌索颜色	菌索形状	菌索粗细	分枝能力	顶端整齐度	菌索密度 /%	荧光强弱
CK	顶褐、底白	圆柱、扁平	++++	*****	整齐	90	强
1	顶棕、黄白	圆柱、扁平	++++	*****	整齐	90	强
2	顶棕、黄白	圆柱、扁平	++++	*****	不整齐	95	很强
3	顶棕、黄白	圆柱、扁平	+++++	*****	整齐	95	很强
4	顶棕、黄白	圆柱、扁平	+++++	*****	整齐	90	强
5	顶褐、底白	圆柱	++++	**	整齐	85	强
6	褐色	圆柱	++	***	整齐	80	强
7	顶褐、底白	圆柱	+++++	***	整齐	75	弱
8	顶白、底褐	不规则、圆柱	++	**	不整齐	70	很弱
9	白色	不规则、圆柱	++	**	不整齐	65	很弱

3 讨论

该研究结果表明,不同浓度 NAA 对蜜环菌菌丝、菌索、生物量及生长状况均有一定影响;其中以处理 4 表现最佳,其对菌丝菌索出现时间、菌索长度、生物量、颜色、形状、粗细、分枝能力、密度及荧光均有较好的促进作用。纵观整体来看,在该浓度以下,随着 NAA 浓度升高,促进作用逐渐增强;若高于该浓度,随着 NAA 浓度

升高,抑制作用越来越明显。这与 Garraway 等^[8]研究发现的在合成培养基中添加吡啶-3-乙酸能明显地增加蜜环菌菌索生长的结果是一致的;Pronos 等^[9]采用不同浓度 2,4-D 对不同蜜环菌株系的影响发现,不同株系之间差异极大。因此,NAA 对昭通野生乌天麻蜜环菌不同株系之间的生长影响以及与其它激素对其生长的影响还有待进一步研究。

参考文献

[1] 徐锦堂. 中国药用真菌学[M]. 北京:北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社,1997:574-582.
[2] 秦国夫. 中国蜜环菌的遗传学与系统学研究[D]. 北京:中国林科院森林生态环境与保护研究所,2002.
[3] 徐锦堂. 中国天麻栽培学[M]. 北京:北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社,1993.
[4] 于敏,沈业寿. 野生和人工培养蜜环菌菌索多糖含量及免疫活性的比较[J]. 安徽大学学报(自然科学版),2002,26(1):107-110.
[5] 兰进,徐锦堂,贺秀霞. 药用真菌栽培实用技术[M]. 北京:中国农业出版社,2001.
[6] 王贺,徐锦堂. 蜜环菌侵染天麻皮层过程中酸性磷酸酶的细胞化学研究[J]. 真菌学报,1993(2):152-157.
[7] 郭顺星. 蜜环菌和猪苓发育学及其二者的相互作用机理[D]. 北京:中国协和医科大学,1995(5):91-92.
[8] Garraway M O, Weinhold A R. *Armillaria mellea* infection structures: rhizomorphs. In: T A Tousoun, R V Bega, P E Nelson, ed. Root disease and soil-borne pathogens[M]. Berkeley: University of California Press, 1970: 122-124.
[9] Pronos J, Patton R F. The effect of chlorophenoxy acid herbicides on growth and rhizomorph production of *Armillariella mellea* [J]. Ecology and Epidemiology 1979,69:136-141.

Effects of NAA on Growth of *Armillaria mellea* of *Gastrodia elata* Blume in Zhaotong

YANG Wen-hong, HUANG Mei-juan, HUANG Hai-quan
(College of Landscape Architecture, Southwest Forestry University, Kunming, Yunnan 650224)

Abstract: Taking *Armillaria mellea* of *Gastrodia elata* Blume isolated and screened as the experimental material, the effects of different concentrations of NAA on the mycelium and rhizomorph emergence date, rhizomorph length, biomass and growth status of *Armillaria mellea* of *Gastrodia elata* Blume were investigated by using ten different concentrations of NAA added in the PDA basal culture media. The results showed that the mycelium and rhizomorph emergence dates of No. 4(5.0 $\mu\text{g/mL}$) treatment were earlier than those of other treatments; the rhizomorph length of treatments from 1 to 5(0.5, 1.0, 2.5, 5.0, 10.0 $\mu\text{g/mL}$) were obviously longer than CK, while treatments from 6 to 9(25, 50, 100, 250 $\mu\text{g/mL}$) were much worse than CK; the biomass of No. 4 treatment was the highest among all the treatments; and the growth status of No. 3 and 4 treatments was much better than others. On the basis of comprehensive comparison and analysis, No. 4 treatment was the best one for the growth of *Armillaria mellea*, which laid some foundation for the cultivation, production, research and exploitation of *Armillaria mellea* in the future.

Key words: *Armillaria mellea*; mycelium; rhizomorph; NAA; growth status