

九种不同蕈菌菌株间颞颞现象分析

刘西周^{1,2}, 郭成金^{1,2}

(1. 天津师范大学 蕈菌研究所, 天津 300387; 2. 天津市动植物抗性重点实验室, 天津 300387)

摘要:为了研究不同菌株间颞颞现象, 试验对 9 种不同蕈菌菌株两两组合进行菌丝体培养, 观察其颞颞现象与其亲缘关系间内在规律。结果表明: 9 种不同蕈菌间颞颞现象存在显著差异, 且随亲缘关系疏远程度呈现一定规律, 亲缘关系越远, 颞颞越强; 反之, 颞颞越弱。

关键词:蕈菌; 菌丝体; 颞颞现象; 菌株; 相对生长势

中图分类号:S 646.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)22-0144-04

蕈菌(Mushroom)是一类具有显著子实体的大型高等真菌, 其子实体肉眼可见, 徒手可摘^[1]。我国蕈菌资源丰富, 约有 1 500~2 000 种食用菌, 已被发现的有 981 种^[2]。颞颞作用是指 2 个不同的蕈菌菌丝细胞在同一个培养基生长过程中相互抵御对方侵入, 在 2 个蕈菌菌落之间形成对峙现象^[3]。颞颞反应是蕈菌间遗传特性不同的重要表现^[4]。颞颞在蕈菌研究领域主要应用在新菌株验证、同名异种或同种异名检出^[5], 对减少生产盲目性和保护品种权都具有重要意义。目前除了颞颞线有无外, 关于颞颞详细描述以及蕈菌种类与颞颞现象关联少有研究。

该研究以 9 种不同蕈菌菌株两两组合, 观察颞颞现象特征, 分析亲缘关系与颞颞现象关系。蛹虫草(*Cordyceps militaris*)隶属于子囊菌门, 核菌纲, 麦角菌目, 麦角菌科, 虫草属^[6], 为食药两用真菌, 具有较高的虫草素、虫草酸、虫草多糖、SOD 等虫草活性成分含量, 可作为营养、滋补保健品^[7]。香菇(*Lentinula edodes*)隶属于担子菌门, 层菌纲, 伞菌目, 小皮伞科, 香菇属^[8], 肉质肥厚细嫩, 营养丰富, 对高血压、高血脂、动脉硬化具有良好的保健功效, 香菇多糖是临床上肿瘤辅助治疗药物^[9]。香菇 1 和香菇 2 为其 2 个不同菌株。平菇(*Pleurotus ostreatus*)属于担子菌门, 层菌纲, 伞菌目, 侧耳科, 侧耳属^[10], 含有丰富的营养物质, 食药价值较高, 是世界上

主要食用菌种类之一^[11]。平菇 1、平菇 2、平菇 3 为其 3 个不同菌株。白灵菇(*Pleurotus nebrodensis*)隶属于担子菌门, 层菌纲, 伞菌目, 侧耳科, 侧耳属^[12], 子实体洁白美观, 盖厚柄粗, 营养丰富, 对调节人体生理平衡及增强人体非特异性免疫功能有促进作用^[13]。白灵菇 1、白灵菇 2、白灵菇 3 为其 3 个不同的菌株。

该研究分析 9 种不同蕈菌菌株间颞颞试验现象与其亲缘关系间内在规律, 进一步丰富了颞颞现象内容, 尤其是同种不同菌株间颞颞现象描述, 为判断是否为同一菌株提供了参考依据, 具有一定的理论和实践意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试菌株: 蛹虫草、香菇 1、香菇 2、白灵菇 1、白灵菇 2、白灵菇 3、平菇 1、平菇 2、平菇 3, 均由天津师范大学蕈菌研究所提供。

PDA 综合培养基: 棉籽皮 200 g(浸汁), 马铃薯 200 g(浸汁), 葡萄糖 20 g, KH_2PO_4 3 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.50 g, 维生素 B_1 0.004 g, 琼脂 18 g, 蒸馏水定容至 1 000 mL, pH 自然^[14]。

葡萄糖(分析纯)、 KH_2PO_4 (分析纯)、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (分析纯)、维生素 B_1 (化学纯), 均由上海生工试剂公司生产。

YXQG02 手提式压力蒸汽消毒器(山东新华医疗器械厂), SW-CJ-2 超净工作台(上海锦屏仪器仪表有限公司), BS/BT 电子天平(德国赛多利斯), WDP 微生物多用培养箱(广东省医疗器械厂)。

1.2 试验方法

配制 PDA 综合培养基, 0.12 Mpa 灭菌 25 min, 28℃ 培养 48 h, 检查无污染备用。无菌条件下接于平板综合

第一作者简介:刘西周(1984-), 男, 硕士, 助理实验师, 现主要从事蕈菌设施化培养与植物组织培养等研究工作。E-mail: fusant@126.com.

责任作者:郭成金(1953-), 男, 教授, 现主要从事蕈菌与植物细胞营养生理等研究工作。E-mail: chengjin6866@163.com.

基金项目:国家级星火计划资助项目(2012GA61002)。

收稿日期:2015-07-27

培养基上,28℃培养 3~4 d 后挑取强壮菌丝体前端,接于斜面综合培养基上,28℃培养 6~7 d 备用^[15]。

1.3 项目测定

将 9 种供试蕈菌菌株两两组合,用打孔器取菌落边缘直径 8.5 mm 菌种块,等距接种平板培养基(直径 75 mm)上,相距 1.5 cm,每组重复 3 次。28℃恒温培养 14 d 后观察颞颞现象,并拍照记录。菌株间颞颞现象类型、颞颞显著程度以及相对生长势。

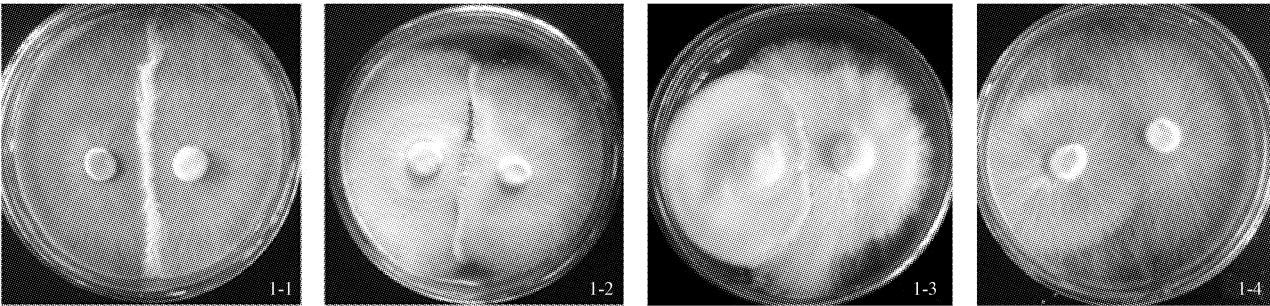
2 结果与分析

2.1 不同蕈菌间颞颞反应显著程度

根据颞颞反应显著程度大致可分 2 种类型。一类为显著型:菌落交界处形成脊、沟、覆盖现象,如白灵菇 1 与白灵菇 2(图 1-1),香菇 1 与白灵菇 3(图 1-2)之间颞颞现象,同时菌落交界处有菌丝细胞自溶释放褐色或浅黄色

小液滴,背面观并伴有色素沉淀,如蛹虫草与平菇-1 间覆盖颞颞(图 1-3),这种显著颞颞是由营养体不亲合所致;另一类为非显著型:由于营养体亲合,菌落能够正完全接触,但菌落形态差异明显,如白灵菇 2 与白灵菇 3 间颞颞(图 1-4)。

蛹虫草(属子囊菌亚门)与其它蕈菌颞颞均极显著。香菇(属小皮伞科香菇属),平菇和白灵菇(侧耳科、侧耳属),香菇与平菇之间、香菇与白灵菇之间颞颞均较显著;白灵菇和平菇二者颞颞显著;2 个不同香菇菌株间、3 个不同白灵菇菌株间、3 个不同平菇菌株间颞颞总体较缓和,不同菌株间颞颞显著性详见表 1。总之,亲缘关系越远,颞颞越强烈;反之,颞颞越缓和,且能在亲缘关系较近的不同菌株间也能体现颞颞现象,因此可作为同名异种或同种异名的有效判断依据。



注:1-1,白灵菇 1(左)与白灵菇 2(右);1-2,香菇 1(左)与白灵菇 3(右);1-3,蛹虫草(左)与平菇-1(右);1-4,白灵菇 2(左)与白灵菇 3(右)。

Note:1-1,*Pleurotus nebrodensis*-1 and *Pleurotus nebrodensis*-2;1-2,*Lentinula edodes*-1 and *Pleurotus nebrodensis*-3;1-3,*Cordyceps militaris* and *Pleurotus ostreatus*-1;1-4,*Pleurotus nebrodensis*-2 and *Pleurotus nebrodensis*-3.

图 1 不同蕈菌菌株间颞颞反应类型

Fig.1 The type of antagonistic phenomenon between the different mushroom strains

表 1 9 个不同蕈菌菌株间颞颞反应

Table 1 Antagonistic phenomenon between the nine different mushroom strains

蕈菌	蛹虫草	香菇 1	香菇 2	白灵菇 3	白灵菇 2	白灵菇 1	平菇 1	平菇 2
香菇 1	+++							
香菇 2	+++	-						
白灵菇 3	+++	++	++					
白灵菇 2	+++	++	++	-				
白灵菇 1	+++	++	++	+	+			
平菇 1	+++	++	++	+	+	+		
平菇 2	+++	++	++	+	+	+	+	
平菇 3	+++	++	++	+	+	+	+	-

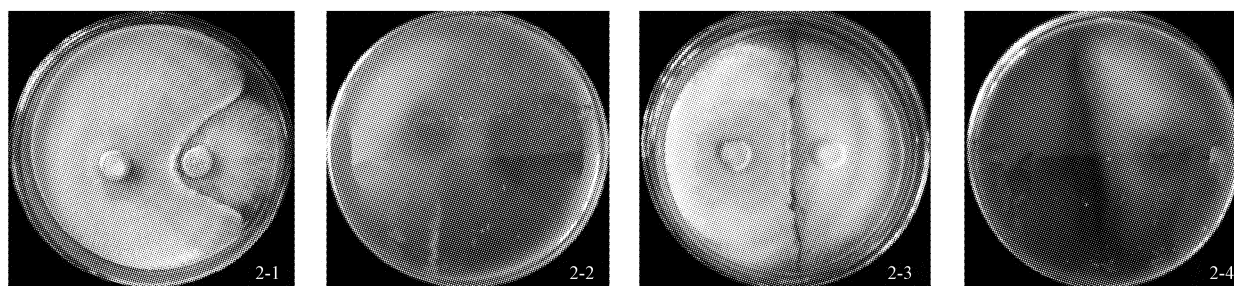
注:+++ ,极显著; ++ ,较显著; + ,显著; - ,不显著。

Note: + + + ,the most significant difference; + + ,more significant difference; + ,significant difference; - ,no significant difference.

2.2 不同蕈菌菌落相对生长势

在相同条件下,不同菌株菌落相对生长势差异显著。如平菇 2 与香菇 1 相比,平菇 2 具有相对生长优势(图 2-1 和图 2-2)。有些蕈菌间菌落大小相近,不表现相对生长优劣,如平菇 2 与香菇 2(图 2-3 和图 2-4)。

蛹虫草菌落均表现生长劣势;平菇菌落表现生长优势;香菇与白灵菇间,香菇菌落表现相对生长劣势;2 个不同香菇菌株间、3 个不同白灵菇菌株间无相对生长优劣区分。可见,相对生长势差异与亲缘关系有一定关系,门间(子囊菌门和担子菌门)比较,蛹虫草表现为生长劣势;同门(担子菌门)中香菇、白灵菇菌株相对于其它菌株表现为生长劣势,同种不同菌株间多不表现出生长优劣势(表 2)。因此相对生长势较强的蕈菌菌株抗性强,可作育种优质资源。



注:2-1,平菇 2(左)与香菇 1(右);2-2,平菇 2(左)与香菇 1(右);2-3,平菇 2(左)与香菇 2(右);2-4,香菇 2(左)与平菇 2(右)。

Note:2-1,*Pleurotus ostreatus*-2 and *Lentinula edodes*-1;2-2,*Pleurotus ostreatus*-2 and *Lentinula edodes*-1;2-3,*Pleurotus ostreatus*-2 and *Lentinula edodes*-2;2-4,*Pleurotus ostreatus*-2 and *Lentinula edodes*-2.

图 2 不同蕈菌间的相对生长势

Fig. 2 The relative growth vigor between the different mushroom strains

表 2 9 个不同蕈菌菌株间相对生长势

Table 2 The relative growth vigor between the nine different mushroom strains

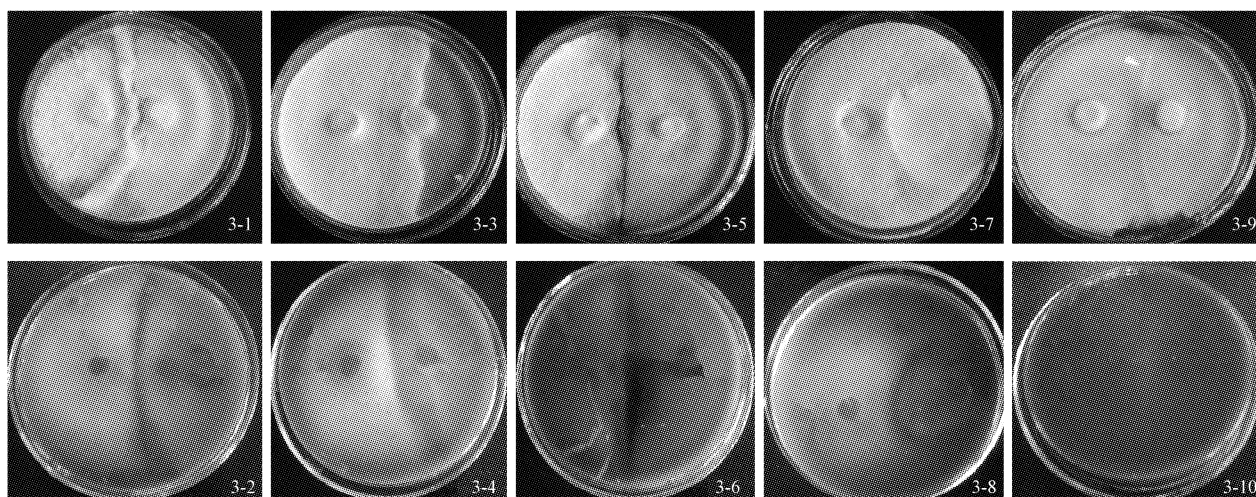
不同蕈菌	蛹虫草	香菇 1	香菇 2	白灵菇 3	白灵菇 2	白灵菇 1	平菇 1	平菇 2
香菇 1	V							
香菇 2	V							
白灵菇 3	V	V	V					
白灵菇 2	V	V	V					
白灵菇 1	V	V	V					
平菇 1	V	V		V	V	V		
平菇 2	V	V		V	V	V	V	
平菇 3	V	V		V	V	V	V	

注:“V”开口方向表示相对生长劣势菌株;“|”表示蕈菌间不表现相对生长优势。

Note:The direction of “V” indicate the strain with the disadvantage in relative growth vigor,“|” indicate no disadvantage and advantage in relative growth vigor.

2.3 不同蕈菌间颞颞现象类型

试验共发现有 3 种颞颞类型,第一种类型菌落间相互接触菌丝隆起,形成脊,如平菇 1 与平菇 2 颞颞(图 3-1 和图 3-2),香菇 2 与香菇 1 颞颞(图 3-9 和图 3-10)。第二种类型为菌落交界部位重叠,形成覆盖,如平菇 2 与白灵菇 3 颞颞(图 3-3 和图 3-4),如平菇 3 与蛹虫草颞颞(图 3-7 和图 3-8)。第三种类型为菌落间生长相互对峙,形成沟,如平菇 3 与香菇 2 颞颞(图 3-5 和图 3-6),总之,不同菌株间颞颞反应剧烈通常会形成脊、沟、覆盖,同种不同菌株间颞颞反应缓和,多形成脊,菌丝亲和、相互交织,无黄褐色小液滴,背面有素沉积,菌落边界可辨。



注:3-1,平菇 1(左)与平菇 2(右);3-2,平菇 1(左)与平菇 2(右);3-3,平菇 2(左)与白灵菇 3(右);3-4,平菇 2(左)与白灵菇 3(右);3-5,平菇 3(左)与香菇 2(右);3-6,平菇 3(左)与香菇 2(右);3-7,平菇 3(左)与蛹虫草(右);3-8,平菇 3(左)与蛹虫草(右);3-9,香菇 2(左)与香菇 1(右);3-10,香菇 2(左)与香菇 1(右)。

Note:3-1,*Pleurotus ostreatus*-1 and *Pleurotus ostreatus*-2;3-2,*Pleurotus ostreatus*-1 and *Pleurotus ostreatus*-2;3-3,*Pleurotus ostreatus*-2 and *Pleurotus nebrodensis*-3;3-4,*Pleurotus ostreatus*-2 and *Pleurotus nebrodensis*-3;3-5,*Pleurotus ostreatus*-3 and *Lentinula edodes*-2;3-6,*Pleurotus ostreatus*-3 and *Lentinula edodes*-2;3-7,*Pleurotus ostreatus*-3 and *Cordyceps militaris*;3-8,*Pleurotus ostreatus*-3 and *Cordyceps militaris*;3-9,*Lentinula edodes*-2 and *Lentinula edodes*-1;3-10, *Lentinula edodes*-2 and *Lentinula edodes*-1.

图 3 不同蕈菌间正面和背面颞颞现象

Fig. 3 Front and back antagonistic phenomenon between the different mushroom strains

表 3 9 个不同蕈菌间颞颞类型

Table 3 The type of antagonistic phenomenon between the different mushroom strains

蕈菌	蛹虫草	香菇 1	香菇 2	白灵菇 3	白灵菇 2	白灵菇 1	平菇 1	平菇 2
香菇 1	□							
香菇 2	□	/						
白灵菇 3	□	□	□					
白灵菇 2	□	□	□	/				
白灵菇 1	□	□	□	△	△			
平菇 1	□	□		□	□	□		
平菇 2	□	□		□	□	□	△	
平菇 3	□	□		□	□	□	△	△

注：“△”表示脊；“□”表示覆盖；“||”表示沟；“/”表示不明显。

Note: “△” indicate ridge, “□” indicate cover, “||” indicate gap, “/” indicate not significant.

3 讨论与结论

蛹虫草与其它 8 个菌株颞颞极显著；香菇与平菇、香菇与白灵菇不同科属间颞颞显著；平菇和白灵菇不同种间颞颞较显著，可见在种间以上的亲缘关系菌株颞颞作用明显，表现为剧烈的脊、沟、覆盖；菌落交界处菌丝体不亲和；有黄褐色小液滴；菌落形态特征差异显著；有相对生长势区分，上述特征可作为对不同种菌株判定依据。同种不同菌株间也存在颞颞现象，多为较缓和的脊；菌丝体亲和；无黄褐色小液滴，但菌落形态特征存在差异；无相对生长势优劣区分，上述特征可作为对同种不同菌株判定依据。蕈菌颞颞显著程度、相对生长势、颞颞类型间接反映了蕈菌间遗传差异，亲缘关系越远，颞颞越强；反之，颞颞越弱。该现象是蕈菌在长期生存竞争中相关遗传和环境因素共同作用结果，该试验进一

步丰富了颞颞现象内容，颞颞特征可作为判断是否为同一菌株的依据。

参考文献

- [1] CHANG S T. Global impact of edible and medicinal mushrooms on human welfare in the 21st century; non-green revolution [J]. International Journal of Medicinal Mushrooms, 1999(1): 1-7.
- [2] 张树庭. 中国蕈菌产业的发展[J]. 浙江食用菌, 2010, 18(3): 1-3.
- [3] 刘蕾, 宁丽, 郭立忠, 等. 12 个真姬菇菌株拮抗试验及部分同工酶分析[J]. 食用菌, 2008(1): 12-14.
- [4] 王磊, 蔡德华, 宿红艳, 等. 拮抗实验和 RADP 对鸡腿菇栽培菌株亲缘关系的研究[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(16): 3903-3904.
- [5] 庞茂旺, 赵淑芳, 万鲁长, 等. 双孢蘑菇不同菌株生物学特性的研究[J]. 中国食用菌, 2010, 29(1): 28-30.
- [6] 罗巍, 刘东波, 吴郑武, 等. 蛹虫草液态发酵过程中有效成分的动态积累变化[J]. 食品与发酵工业, 2011, 37(10): 96-99.
- [7] 张平, 朱述钧, 钱大顺. 北冬虫夏草功能成分及保健作用分析[J]. 江苏农业科学, 2003(6): 105-107.
- [8] 戴玉成, 周丽伟, 杨祝良, 等. 中国食用菌名录[J]. 菌物学报, 2010(29): 1-21.
- [9] 王淑蕾, 梁敬钰, 唐庆九. 香菇嘌呤的研究进展[J]. 菌物学报, 2012, 31(1): 151-158.
- [10] 王建华, 孙高飞, 李友杰. 平菇价值及其深加工产品[J]. 农产品加工学刊, 2012(3): 140-141.
- [11] 饶毅萍, 陈洁辉, 张冰娜, 等. 平菇菌丝体与子实体营养成分的分析比较[J]. 生物学杂志, 2011(3): 94-96.
- [12] 刘文芳, 郭成金. 白灵菇原生质体制备与再生研究[J]. 天津师范大学学报, 2012, 32(1): 88-92.
- [13] 赵占军, 张勇, 李毅, 等. 白灵菇生理生化研究进展[J]. 山西农业科学, 2012, 40(3): 292-294.
- [14] 郭成金. 蕈菌生物学[M]. 天津: 科学技术出版社, 2005.
- [15] 钱存柔, 黄仪秀. 微生物学实验教程[M]. 北京: 北京大学出版社, 1999.

Analysis of Antagonistic Phenomenon Between Nine Different Mushroom Strains

LIU Xizhou^{1,2}, GUO Chengjin^{1,2}

(1. Mushroom Institute, Tianjin Normal University, Tianjin 300387; 2. Tianjin Key Laboratory of Animal and Plant Resistance, Tianjin 300387)

Abstract: To study the antagonistic phenomenon between the different mushroom strains, the combination of two mushrooms mycelium of nine different kinds was cultured respectively on the same plate to observe antagonistic phenomenon, the relationship between different mushroom strains. The results showed that there were obvious difference among them and had a regular pattern accompany the relationship distance, the relationship was further, the antagonistic was stronger; the relationship was closer, the antagonistic was weaker.

Keywords: mushroom; mycelium; antagonistic phenomenon; strains; the relative growth vigor