

# 环腺苷酸在灰盖鬼伞子实体发育中的效用研究

邱 龙 新

(福建龙岩师专生物系 龙岩 364000)

**摘要:** 通过测试 cAMP, 子实体浸提液对灰盖鬼伞 (*Coprinus cinereus*) 双核体菌丝的子实体诱导测试研究及通过用腺苷分别抑制 cAMP 在子实体发育各阶段的合成, 对 cAMP 在灰盖鬼伞子实体发育中的影响进行了研究。结果表明: cAMP 及子实体浸提液对灰盖鬼伞双核体菌丝的子实体形成并无诱导信号作用, 阻止 cAMP 的合成延缓了子实体原基的发生, 菌盖的形成, 担孢子梗的形成, 也延缓了质配和担孢子的发生, 但菌柄的延长, 子实体的成熟, 担孢子的着色与释放则不受 cAMP 合成受阻的影响。

**关键词:** 灰盖鬼伞, cAMP, 子实体发育

**中图分类号:** Q939.5    **文献标识码:** A    **文章编号:** 0253-2654(2000)02-0125-04

## STUDY ON THE INFLUENCE OF CYCLI cAMP ON THE *COPRINUS CINEREUS* FRUIT BODY DEVELOPMENT

QIU Long-Xin

(Biology Department, Longyan Teachers College, Longyan 364000)

**Abstract:** The influence of cAMP and the extraction from the fruit body of *Coprinus cinereus* on the *Coprinus cinereus* fruit body development was studied. cAMP and the extraction did not act as a signal inducing dikaryon to produce fruit body. The dikaryon could not produce initials when the produce of cAMP was blocked by adenosine, an adenylate cyclase inhibitor. After the initials was produced, adenosine delayed the produce of primordium, cap and the basidia, the sterigmata forming from basidia was delayed, and the meiosis was delayed as well. The inhibition of the produce of cAMP had no influence on the stem elongation, the fruit body mature, basidiospore pigmentation and spores discharge.

**Key words:** *Coprinus cinereus*, cAMP, Fruit body development

3', 5'-环腺苷酸(cAMP)广泛地产生于真核及原核生物中, cAMP可以诱导鬼伞的单核体菌株产生子实体<sup>[1]</sup>。类似作用还发生于对牛肝菌的研究<sup>[2]</sup>及对金孢菌的研究等<sup>[3]</sup>。Uno<sup>[4]</sup>继续研究发现cAMP逐步累积, 增加于在光照下的鬼伞双核体菌丝中并在原基形成阶段达到最高水平, 随后迅速下降, 但根据此现象对于cAMP的累积是否诱导子实体的产生不能作出判断。Kuhad等<sup>[5]</sup>报道了cAMP在灰盖鬼伞子实体发育中的变化情况并发现cAMP, 糖原在子实体发育中有一定联系。本研究旨在通过研究cAMP对灰盖鬼伞双核体菌株的子实体产生的影响及通过抑制cAMP合成酶的活力对子实体发育的影响来对cAMP在鬼伞子实体发育中的效用作出进一步的探讨。

## 1 材料与方 法

### 1.1 菌株

本实验采用的灰盖鬼伞“meathop”由英国曼彻斯特大学生物系 Dr. David Moore 提供。

### 1.2 培养基及培养条件

基本培养基: 葡萄糖 20g, 天冬酰胺 2g, 酒石酸胺 0.5g, 磷酸氢二钠 1.45g, 正磷酸二氢钾

1.35g, 硫酸钠 0.3g, 维生素 B<sub>1</sub> 0.001g。

双核体菌株于暗处, 温度 37℃ 下, 在 9cm 培养皿内培养于 PDA 培养基上。

子实体产生于 YMG 培养基上(酵母浸提物 4g, 麦芽浸提物 10g, 葡萄糖 4g, 琼脂 10g 于 1L 自来水中), 从培养皿内取一些小块的双核体菌丝, 接种于 YMG 上, 在 37℃ 下培养于暗处 3d, 然后移至光照培养箱内, 温度 26℃, 16h 光/8h 暗的光周期, 光照由日光灯提供, 光照强度平均 800 lx。

### 1.3 子实体浸提液制备

将鬼伞子实体用匀浆机搅成匀浆, 在 0℃ ~ 4℃ 下, 每 100g 子实体用 3 倍体积蒸馏水浸提 24h, 然后顺序经纱布, 新华 1 号滤纸, 新华 GF/A 玻璃纤维过滤后, 用冷冻干燥法浓缩滤液后用蒸馏水分别加至 2mL, 5mL, 10mL, 15mL 和 20mL, 最后经 0.22μm 薄膜过滤灭菌。

### 1.4 子实体诱导测试

**1.4.1** 将 cAMP 加入基本培养基中使 cAMP 浓度达到  $20 \times 10^{-6}$  mol/L, 接种后在前述培养条件下培养。实验设 9 次重复。

**1.4.2** 在基本培养基中央挖一个直径 2cm 的槽, 加入  $20 \times 10^{-6}$  mol/L 的 cAMP 及各浓度子

实体浸提液,放置10h后按上述条件接种培养,观察槽周围是否出现子实体原基。YMG上接种作为对照。实验设9次重复。

**1.4.3** 在YMG培养基中央放置一个圆柱状琼脂筒,加入 $20 \times 10^{-6}$  mol/LcAMP,各浓度子实体浸提液于琼脂筒中。蒸馏水作为对照加入。然后整个培养基用赛璐玢膜覆盖,接种后按上述培养条件培养,观察琼脂筒上方的菌丝形成原基情况。实验设9次重复。

### 1.5 cAMP合成抑制影响

接种鬼伞于YMG液体培养基上,培养条件如上所述。在子实体发育的各个阶段<sup>[6]</sup>发生前加入终浓度 $5 \times 10^{-4}$  mol/L的腺苷酸环化酶抑制剂-腺苷于YMG液体培养基,未加入腺苷作为对照,观察子实体发育情况。实验设9次重复。

## 2 结果

### 2.1 子实体诱导测试

在基本培养基上测试,加入cAMP及各种浓度的子实体浸提液都不能诱导产生子实体,对照组均能正常产生原基。

表1 cAMP与子实体浸提液在YMG培养基上对子实体原基产生的影响

试验号	cAMP	I	II	III	IV	V	蒸馏水
1	-	-	-	+	-	-	+
2	+	+	-	+	+	+	-
3	-	+	+	-	-	+	-
4	-	-	+	-	-	-	+
5	+	-	+	-	+	-	-
6	+	-	-	-	-	+	-
7	-	+	+	+	-	-	+
8	-	+	+	-	-	-	+
9	-	-	-	+	-	+	-

注:“+”表示加入该物质的琼脂筒上方产生子实体原基,“-”表示没有,I-V表示子实体浸提液,浓度由高-低

YMG培养基上测试,加入cAMP,各浓度子实体浸提液,蒸馏水的琼脂筒上方有一些原基形成,三者之间并无显著差异,各九个重复测试中,加入cAMP的琼脂筒上方有3个测试产生原基,加入各浓度子实体浸提液的琼脂筒上

方平均有3.8个测试产生原基,各浓度间无显著差异,加入蒸馏水的对照组亦有4个测试产生原基(表1)。说明cAMP及子实体浸提液并没有明显诱导子实体发生的作用。

### 2.2 cAMP合成抑制影响

加入腺苷酸环化酶抑制剂腺苷后,菌丝完全不能生长,阶段0的发生被抑制,阶段1,2,3的发生均有不同程度的延迟,但产生子实体的数量与对照组无显著差异。4,5两阶段不受抑制剂的影响(表2)。

表2 腺苷对鬼伞子实体发育的影响

阶段	加腺苷		对照	
	时间(h)	数量(个)	时间(h)	数量(个)
菌丝	未能生长		正常生长	
0	未能发生		92	159
1	132	19	115	21
2	149	13	137	13
3	162	8	149	9
4	155~163	9	155~163	11
5	165	9	165	11

注:时间为接种后至发生时间

## 3 讨论

在鬼伞双核体菌丝生长初期,在培养基中加入cAMP合成酶抑制剂腺苷后,菌丝生长完全停止,在阶段0即原始体发生前,在培养基中加入腺苷,原始体的发生也被阻止。这说明cAMP是鬼伞双核体菌丝生长和子实体形成所必需的。在鬼伞双核体菌丝中,有环腺苷酸受体蛋白质的存在<sup>[7]</sup>。cAMP作为在高等真核生物中第二信使,通过活化蛋白激酶而使表型表达中的关键细胞蛋白磷酸化而活化,从而促使了表型表达的机制,已被详细阐述了<sup>[8]</sup>。虽然抑制cAMP抑制了原始体的发生,但子实体诱导测试的实验结果,表明cAMP并没有作为一种信号而诱导子实体的形成。它是通过作为第二信使而起作用的,外界加入的cAMP并不影响双核体菌丝及子实体的生长发育。

在原始体形成后,阶段1即原基形成前在培养基内加入腺苷,延缓了原基的形成,但并不阻止原基形成,同样分别在阶段2,3前加入腺

苷,不能阻止阶段2,3的产生,但延缓了阶段2,3的产生,说明阻止cAMP在各阶段的产生延缓了原基的形成,菌盖的形成,担孢子梗的形成,也延缓了质配和担孢子的发生,这些表型的表达与cAMP有某种联系,但cAMP并不是必需的。至于阶段4,5即菌柄的延长,子实体的成熟,担孢子的着色与释放则完全不受cAMP合成受阻的影响。据Kuhad<sup>[5]</sup>对cAMP在鬼伞子实体各阶段的水平检测,按 $\text{pmol mg}^{-1}$ 干重水平来计算,cAMP在原始体阶段水平最高,然后逐步下降,若以 $\text{pmol}$ 每个子实体来计算,则于阶段3达到最高,然后迅速下降。Uno<sup>[4]</sup>研究则显示发现双核体菌丝经光照后,cAMP开始逐步累积至原基末期达到最高,然后迅速下降,cAMP在子实体发育各阶段的水平变化和本研究抑制阶段cAMP产生结果说明了cAMP对于原始体的形成是至关重要的,但它并不作为诱导信号而起作用。原始体的形成与cAMP作为第二信使的作用有关,同时,cAMP可能通过影响子实体发育时的一些代谢活动而影响了子实体的发育,高浓度的葡萄糖抑制cAMP的累积,抑制原基的产生<sup>[4]</sup>。cAMP可以活化糖原磷酸化酶,抑制糖原合成酶<sup>[9]</sup>,这和子实体发育过程

中糖原从菌丝向子实体转移及在子实体各组织间转移具有较有意义的关联,糖原的转移对子实体的发育具有重要的影响<sup>[10]</sup>。

### 参 考 文 献

- [1] Uno I, Ishikawa T. J. Bacteriol, 1973, 113:1240~1248.
- [2] Oyama Y, Yoshida T, Taguchi H. Mushroom Science, 1974, IX(Part I):719~731.
- [3] Gold M H, Cheng T M. Arch. Microbiol., 1979, 134:108~113.
- [4] Uno I, Ishikawa T. J. Bacteriol, 1974, 120:96~100.
- [5] Kuhad R C, Rosin I V, Moore D. Transactions of the British Mycological Society, 1987, 88:229~236.
- [6] Moore D, Elhiti M M Y, Butler R D. New Phytologist, 1979, 83:695~722.
- [7] Uno I, Ishikawa T. J. Biochem., 1981, 89:1275~1281.
- [8] Robison G A, Butcher R W, Sutherland E W. Cyclic AMP, New York: Academic Press, 1971.
- [9] Uno I, Ishikawa T. Biochimica et Biophysica Acta, 1976, 452:112~120.
- Uno I, Ishikawa T. Journal of General and Applied Microbiology, 1978, 24:193~197.
- [10] Moore D, Devadatham M S. Biochimica et Biophysica Acta, 1979, 550:515~526.