

高等担子菌双重营养缺陷突变菌株的分离

王 澄 澈

(河南省洛阳农业高等专科学校 洛阳 471003)

梁 枝 荣

(中国科学院北京农村经济技术发展部 北京 100080)

摘要: 带有单一营养缺陷的凤尾菇和裂褶菌的单核体菌株经亲和性交配,各自交配产生后代,从中分离出遗传特性稳定,生理特征表型正常的双重缺陷营养突变型菌株,为原生质体融合育种研究提供了可靠的亲本菌株。

收稿日期: 1999-03-08, 修回日期: 1999-10-23

关键词: 凤尾菇, 裂褶菌, 亲和交配, 双重营养缺陷型

中图分类号: Q939 文献标识码: A 文章编号: 0253-2654(2000)04-0272-03

PREPARATION OF DOUBLE MUTANTS THROUGH CROSSES BETWEEN COMPATIBLE AUXOTROPHIC MUTANTS IN HIGHER BASIDIOMYCETES

WANG Cheng-Che

(Agricultural College of Luoyang, Henan Province, Luoyang 471003)

LIANG Zhi-Rong

(Department of Rural Economy and Technology, Chinese Academy of Science, Beijing 100080)

Abstract: In order to get double auxotrophic mutants, two compatible auxotrophic mutants of (*Pleurotus sajor-caju*) were mated with each other on CMA plates and also were done for *Schizophyllum commune*. The fruit bodies were induced from those matings and the spores were collected from those produced fruit bodies, and then the monokaryons were isolated from those spores on CMA. Those monokaryons were subcultured onto the MMA, MMA + one nutrient which was deficient for one parent and MMA + another nutrient which was deficient for the other parent. The monokaryons that could not grow on these three kinds of media were supposed to be double mutants and this was further confirmed by subculturing them onto MMA supplemented by the two nutrients which were deficient for the two parents. A rather number of stable double auxotrophic mutants were selected and they are useful as a start strain in protoplast fusion study.

Key words: *Pleurotus sajor-caju*, *Schizophyllum commune*, Compatible Mating, Double Mutants

为了更有效地在高等担子菌中进行原生质体融合育种研究, 通过单个营养缺陷单核体之间的亲和性交配, 从产生的后代中分离获得遗传特性稳定, 生理特征表型正常的双重营养缺陷突变菌株, 作为融合研究稳定的出发菌株。

1 材料与方法

1.1 菌株

P277(Prol)脯氨酸缺陷型, 交配选择基因A1B1。

P318(Nic)尼克酰胺缺陷型, 交配选择基因A2B2。

P277和P318均是通过UV处理凤尾菇(*Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Sing)担孢子后筛选得到的营养突变型单核体菌株(梁枝荣等, 1999)。

S100(Arg-10)精氨酸缺陷型, 交配型基因

A41B42。

S83(Ade)腺嘌呤缺陷型, 交配型基因A42B41。

S100和S83均是通过UV处理裂褶菌(*Schizophyllum commune* Fr.)担孢子而筛选得到的营养突变型单核体。

1.2 培养基

完全培养基(CMA): 硫酸镁 0.5g, 磷酸二氢钾 0.46g, 磷酸氢二钾 1.0g, 蛋白胨 2.0g, 酵母浸汁 2.0g, 葡萄糖 20.0g, 盐酸 0.005g, 琼脂 20.0g, 定容 1L 水中。

基本培养基(MMA): 硫酸镁 0.5g, 磷酸二氢钾 0.46g, 磷酸氢二钾 1.0g, 天冬酰胺 2.0g, 葡萄糖 20.0g, 盐酸 0.12g, 琼脂 20.0g, 定容 1L 水中。

1.3 子实体培养和单核体分离培养

将P277和P318(或S100和S83)分别转接到CMA平板中央, 接种块距离0.5厘米, 25℃

暗光培养 10d 左右, 自然光下继续培养到两个菌落交接处产生子实体, 收集孢子随机进行一定量的单孢分离, 分别转接到 CMA 平板得到单核体, 每个单核体依次编号。

1.4 营养缺陷检测

每一个凤尾菇单核体菌落分别同时接入到 MMA, MMA + Prol, MMA + Nic, MMA + Prol + Nic 3 种平板培养基, 25℃ 暗光培养, 7d 后观察每个单核体在这些培养基上的生长, 确定突变类型。

每一个裂褶菌单核体菌落分别同时接入到 MMA, MMA + Arg-10, MMA + Ade, MMA + Arg-10 + Ade 3 种平板培养基, 25℃ 暗光培养, 7d 后观察每个单核体在这些培养基上的生长, 确定突变类型。

2 结果与讨论

配对培养后, 凤尾菇一般 15d 左右在 CMA 平板上产生子实体, 并释放出大量担孢子, 培养皿上形成明显的孢子印, 裂褶菌 10d 左右即可形成子实体产生孢子印。从培养皿盖上的孢子印中挑取少量孢子接入无菌水稀释, 进行单孢分离。P277 与 P318 交配后代中, 分离得到 95 个单核体, S100 与 S83 的交配后代中分离得到 104 个单核体。经分别培养检测, 结果如表 1, 表 2。

表1 P277 × P318 交配后代的营养缺陷型分析

后代类型	数量(株)	比率(%)
Prot(原养型)	31	27.9
Nic	8	7.2
Prol	18	16.2
Prol+Nic	4	3.6
Leaky(突变渗漏)	13	11.7
Retard(生长延缓)	2	1.8
unknown(未知)	19	17.1

凤尾菇营养缺陷型交配后代中有 4 株稳定的双重突变型, 但也出现了大量的突变渗漏、生长延缓和未知菌株, 说明两株亲本的营养突变位点与交配型基因位点的关系复杂, 还有待于大量的实验工作和遗传分析。

裂褶菌营养缺陷型菌株交配后代中分离到

12 株稳定的双突变型, 而其他几种类型的菌株数量也较有规律。事实上, 裂褶菌一直是高等

表2 S100 × S83 交配后代的营养缺陷型分析

后代类型	数量	比率(%)
Prot(原养型)	36	34.6
Ade	40	38.5
Arg	16	15.4
Ade+Arg	12	11.5

担子菌中进行遗传研究的常用菌株, 其遗传特性也比较清楚(Bernnet, 1976)。

结果表明, 通过亲和性营养突变型菌株之间交配产生的后代中可以分离到遗传特性稳定, 生理特性表型正常的双突变型菌株, 在原生质体融合中可用作亲本菌株。同时, 从分离结果中, 我们也可看到, 营养突变型单核体之间的亲和性交配所产生的后代中, 原养型的比例较高, 而双重缺陷型的比例较低, 作者注意到了这种现象, 其原因还需作大量的工作进行探讨。

近年来, 原生质体融合已经作为食用菌育种和遗传研究的一种重要手段。进行原生质体融合首先要选择合适的亲本, 而作为融合的标志和融合后代的遗传分析, 亲本要带有稳定、明显的遗传标记。目前, 最常用最方便的标记是营养缺陷型。亲本要获得营养缺陷型标记, 现在常用的方法是通过化学和物理的方法处理子实体担孢子进行诱导突变。大量的实践表明, 单缺陷型标记有一定回复突变的可能性, 会给研究工作带来一定的困难。亲本如果能带有双突变型标记则可排除回复突变的干扰。通过常规的物理化学方法处理来筛选双突变型机率很低, 而且往往会给亲本带来一些有害的变异, 这显然不符合育种的目的。本实验通过亲和性营养缺陷型亲本的交配得到了遗传稳定、生理特性表型正常的双突变型后代, 为原生质体融合研究提供了可靠的亲本。

参 考 文 献

- [1] 梁枝荣, 曹素芳. 食用菌, 1999(6): 15~17.
- [2] Burnett J H. Mycogenetics. London. John Wiley & Sons Press, 1976.