

香菇的杂交育种研究

I. 孢子、单核菌株、异核体的观察与判别

张厚铨 孙慧明 舒娅玲

(江西省林业科学研究所, 南昌)

香菇 [*Lentinus edodes* (Benk) Sing] 是我国的传统食用菌, 但单产较低, 特别是以木屑为主的代料栽培中产量更低。通过杂交育种途

径, 培育新的优良香菇品种, 是提高香菇品质与产量的积极措施。本文报道香菇杂交育种中孢子收集和异核体形成以及判别方法等试验研

究。

材料和方 法

(一) 材料

选用不同香菇品种中的优良菌株以及地理上相隔较远的不同株系, 参试菌株为 7402、7919、7925 等 12 个品种。

(二) 方法

1. 孢子释放: 1984 年 3—4 月取 7401、靖野等六菌株已释放首批孢子的鲜菇, 自盖中至盖缘四方位, 每隔 0.5—1.0 厘米切取 1 平方厘米组织块, 竖插于黑纸上, 常温、静止状态下放孢, 每放孢一次换纸一次, 每天观察 2—3 次。

2. 孢子收集、贮藏: 用 10 × 60 毫米指形管与 10 毫升安瓿瓶为容器, 对 7402 等四个菌株作收贮孢子效果比较。收集孢子所用器具分别用常规湿热、干热灭菌法灭菌。在无菌条件下将菇体进行表面消毒。在无菌条件下使其自由放孢。在平皿中排列 15—20 枚滤纸条(滤纸大小为 0.4—0.5 × 2—2.5 厘米²), 覆盖钟罩。每天收集滤纸条 1—3 次。将带孢滤纸条分别投入安瓿管或指形管中, 同时加入硅胶两粒吸湿。指形管加软木塞后蜡封; 安瓿瓶用火焰烧结封口, 均于 4—6℃ 下保存。

3. 单核菌株的筛选: 无菌条件下, 取出带孢滤纸条, 配成 10⁻²、1.5 × 10⁻²、2 × 10⁻² 三种浓度的孢子液。分别涂平皿后(PDA)于 25℃ 恒温培养 7 天左右。发现有微小白星点时, 将其挑入 PDA 斜面, 25℃ 恒温培养, 菌落长至 3 厘米时, 用显微镜观察(600×), 若无锁状联合, 可初步认为系单孢萌发而成的单核菌株。

4. 异核体的获得和拮抗试验: ①用不同品种香菇的单核菌株进行配对杂交。主要以 7402 的 5 株和靖野的 2 株与 7917 的 12 株、广西的 6 株、7925 的 13 株、02 × 香九的 1 株、7401 的 8 株配对; 7402 的 5 株与靖野的 2 株配对。配对方法: 在 PDA 斜面上相距 2 厘米分别接种两单核菌株的菌丝体, 25℃ 恒温培养, 两菌交接后, 挑取菌丝体镜检(600×), 有锁状联合者

表明已形成异核体。这些异核体可根据其生长优劣进行筛选。

② 拮抗试验: 取异核体及其双亲的原种菌落各一块(3 × 4 毫米²), 在 PDA 斜面的上中下三端各相间 1 厘米, 顺序接入亲本-异核体-亲本, 25℃ 恒温培养一个月后观察其拮抗现象, 参检的异核体菌株共 129 个。

结果与分析

(一) 孢子释放规律的观察

经过 6 个菌株的 560 次观察得出

1. 香菇孢子是由菌褶自菌盖中心向盖缘顺序释放孢子的。

2. 孢子印自盖心向盖缘由浓到淡。以 7401 菌株为例, 8 天放孢期间, 近盖缘处的组织块自第三天(约第 4—5 批)起, 孢子印就淡或极淡了。

表 1 7401 菌放孢批数及孢子印浓淡

放 孢 菌褶序位	四组放孢 总次数	孢子印浓淡及释放次数					
		浓		淡		极淡	
		次数	%	次数	%	次数	%
近盖中心	53	48	90.57	0	0	5	9.43
次近盖中心	55	46	83.64	4	7.27	5	9.09
次近盖缘	51	41	80.39	5	9.81	5	9.80
次盖缘	37	21	56.76	6	16.21	10	27.03

3. 释放孢子的批数与数量也是自盖心向盖缘减少(表 1)。最好从菌褶中段获取孢子。

4. 离体的香菇组织块放孢时间与次数随温度而异, 11.5—19℃ 均能放孢, 适温下每天可放孢 2—3 次。

(二) 孢子的收集和贮藏

1983 年 12 月至 1984 年 5 月, 收藏 7402 等 11 个菌株 708 支安瓿, 至 1984 年 11 月作平板培养, 平均萌发率为 80%, 最高达 100%。而用石蜡封存的指形管保藏的孢子, 萌发率趋于零。

(三) 单核菌株的类型

1. 用 7402 等 7 个菌株试验, 香菇孢子一般在平板培养后 10 天左右均可出现小白星点状

表 2 七个香菇菌株单核菌株挑出百分率

菌株	稀释度 ($\times 10^{-2}$)	挑出星点状 菌落总数 (个)	无锁状联合的 星点状菌落数 (个)	单核菌株 百分率 (%)	菌株	稀释度 ($\times 10^{-2}$)	挑出星点状菌 落总数 (个)	无锁状联合的 星点状菌落数 (个)	单核菌株 百分率 (%)
7402	1.5	19	8	42.1	7917	1	6	2	33.3
	2	7	3	42.9		1.5	17	14	82.4
	2	5	1	20.0	广西	2	16	14	87.5
7925	1	11	5	45.5	7401	2	23	8	34.8
	1.5	8	5	62.5	靖野	抖落式	8	1	12.5
	2	17	12	70.6	靖野	抖落式	10	1	10.0
7402 \times 香九	1	3	1	33.3					

菌落。个别菌株稍迟,用 600 倍显微镜观察,小菌落内已形成轮辐状并有短分枝。此时挑取单核菌株较为合适。

2. 不同稀释度中均能挑到一些数量的单核菌株,但以 $1.5-2.0 \times 10^{-2}$ 稀释度挑出率较高(表 2)。由于孢子萌发时间不一致,使挑出的

单核菌落杂有其它单个孢子,形成双核化菌丝体,致使单核菌株率偏低。

3. 不同香菇菌株的单核菌株表现出菌丝纤细的共性,在变温情况下不形成子实体,但所形成的菌落有四种类型(表 3)。表中所列只有第三种类型为正常的单核菌株,可作为配对杂交

表 3 香菇单核菌株的不同类型

菌株 数量	7402		7925		7917		形态特征
	菌株数	%	菌株数	%	菌株数	%	
1	2	16.7	4	18.2	3	18.8	菌丝生长稀疏不匀
2	4	33.3	5	22.7	1	6.2	菌丝生长不匀,产生红褐斑迹,易死
3	5	41.7	13	59.1	12	75.0	菌丝生长快或较快,整齐细丝状,浅白有光泽,均匀
4	1	8.3					菌丝贴面生长,缓慢,局部厚似不灰质

的原始材料,这类菌株在不同香菇的单核菌株中占 40% 以上。其它三种类型均属不正常或衰老型。7402、7925、7917、广西、7401 等 6 个品种的单核菌株入选率分别为(%):41.7、59.1、

75、42.8 和 100。

4. 单核菌株的生长速度一般均较双核化株为慢(表 4),其中靖野的单核菌株生长最慢。

(四) 配对杂交

1. 两单核菌株配对培养 2—3 周(少数 4—5 周)后就会相接。一般在 3—4 周时可镜检出有无锁状联合。

2. 单核菌株配对培养的 245 个组合中,配对成功的有 171 个组合,即有 69.8% 的组合发生质配和核迁移而形成异核体,并可在异核体菌落中看到双核化菌株的标志——锁状联合。

3. 不同香菇品种的单核菌株间的亲和力有所不同,以不同地域的菌系间的亲和性最好。如靖野(江西靖安县野生香菇)与其它品种的单

表 4 香菇不同品种菌丝体(单、双核)生长比较

菌株	单核菌丝生长速度 (cm/d)	双核菌丝生长速度 (cm/d)
7402	0.52	0.58
7925	0.48	0.61
广西	0.43	0.61
7917	0.48	0.64
02 \times 香九	0.41	0.69
7401	0.40	0.56
靖野	0.34	0.58

核菌株间的亲和率多数为 100%。在不亲和的组合中, 不亲和因素可能是多数系日本香菇品

种, 除亲缘关系近而产生极性干扰外, 还有强优势生长的因素(表 5)。

表 5 香菇不同品种单核菌株间的亲和性

亲本	亲和数	7402			靖野		
		组合数(个)	亲和数(个)	亲和率(%)	组合数(个)	亲和数(个)	亲和率(%)
7402					10	9	90
7919		60	52	86.7	24	24	100
广西		30	15	50	12	12	100
7925		65	15	23.1	26	26	100
02×香九					2	2	100
7401					10	10	100

4. 单核菌株配对培养中, 观察到不亲和组中有带、埂与全围三种形式, 与不同的双核菌株间的拮抗现象相似。这表明单核菌株在代谢过程中可能同样产生相互对峙或使对方生长受抑制或致死的物质。根据择优筛选的原则, 对生长极缓慢、菌落不匀或转色的异核体予以筛除, 选取菌丝粗壮、具光泽、生长较快的异核体作出

菇试验的材料。

(五) 拮抗试验

异核体菌株是否成为有别于双亲的新代谢类型, 还有赖于生理、生化测定。日本农林省以两个品种在培养基上能形成拮抗线作为注册香菇品种必备的遗传特性。国内试验也认为拮抗试验可作为香菇品种及异核体的鉴定方法。本

表 6 129 个杂交菌株与双亲拮抗现象的类型

拮抗类型	与亲本之一无界	与双亲无界	浓淡, 埂	浓淡, 带	埂, 带	埂, 埂	带, 带	围, 埂
各类型累计(个)	9	2	4	11	32	28	42	1
百分率(%)	6.98	1.55	3.10	8.53	24.80	21.71	32.55	0.78

试验参检的 129 个杂交菌株与其双亲的拮抗试验中看出, 有拮抗现象者占 91.47%, 与双亲之一或与双亲无明显拮抗现象仅占 8.53%。

本试验表明, 采用拮抗试验来判别异核体或品种, 在多数情况下是可行的, 但只能作为综合考察某一品种或异核体的手段之一。本试验看出异核体菌株与双亲有 6 种拮抗类型, 以带-

带型多见, 围-埂型为最少(表 6)。

参 考 文 献

- [1] 盛祖嘉: 微生物遗传学, 科学出版社, 北京, 第 1—28、185—188、253—257 页, 1983 年。
- [2] 杨庆尧: 食用菌生物学基础, 上海科技出版社, 上海, 第 210、220—223 页, 1981 年。
- [3] 罗宽华: 微生物学通报, 7(2): 51—53, 1980。