

#### (四) 主要化学成分

硅胶G薄层层析比较结果表明, *Paecilomyces* sp 的菌丝体与医药部门出售的冬虫夏草色谱图基本一致, 提示两者含有基本相同的化学成分<sup>11,21</sup>(见图2)。

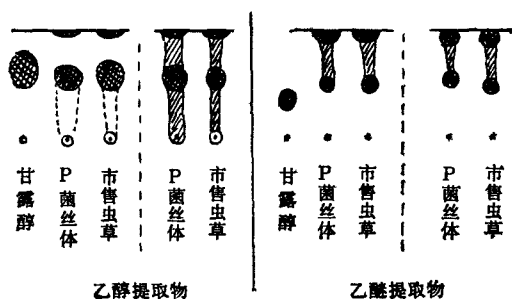


图2 *Paecilomyces* sp 菌丝体与冬虫夏草薄层层析比较  
(P 菌丝体是 *Paecilomyces* sp. 菌丝体的简称)

## 讨 论

1 从形态特征考察, 寄生于蔗褐蠹蛾的这株 *Paecilomyces* sp. 与拟青霉属的已知种比较<sup>3-7</sup>, 它有拟球形的原梗, 其上着生2—4个瓶梗; 瓶梗除锥形瓶状者外, 还有圆肚形瓶状和

具有狭长弯曲颈部的长锥形瓶梗。其瓶梗孢子的形状和量度也与其近似种中国拟青霉 (*P sinensis*)、粉拟青霉 (*P forinosus*) 有差异, 加上寄主不同, 所以该菌可能是一新种, 尚待进一步考证。

2 本文报道的 *Paecilomyces* sp 对蔗褐蠹蛾有很强的致病力, 同时, 我们发现它对甘蔗条螟、白螟以及菜青虫、蚜虫也有较强的侵染力。特别是它生活力强, 适应性广, 易于培养, 孢子丰富, 容易扩散, 在生物防治中显示出颇有希望的应用前景。

3 化学成分测试结果表明, 本试验菌的菌丝体, 与医药部门出售的冬虫夏草有着基本相同的化学成分。提示它具有潜在的药用价值。

## 参 考 文 献

1. 中国医学科学院药物研究所编: 中草药有效成分的研究 (第一分册), 11 页, 人民出版社, 1972。
2. 中国药典, 1985 年版二部, 60 页, 1985。
3. Brown AHS & Smith G *Trans Brit Mycol Soc.* 40(1) 17—89, 1957
4. Samson RA *Stud Mycol* 6 58, 1974
5. 梁宗琦: 植物病理学报, 11(4), 9—16, 1981。
6. 陈庆涛: 真菌学报, 3(1): 24—28, 1984。
7. 陈庆涛: 真菌学报, 3(2): 109—112, 1984。

## 平菇属中一新杂交种及双亲酯酶同工酶的比较研究

居中华\* 陆佩洪 何强泰

(南京师范大学细胞遗传教研组)

**摘要** 采用聚丙烯酰胺凝胶垂直平板电泳和薄层等电聚焦电泳法, 以单孢杂交筛选的平菇属中一新杂交种和双亲株[佛罗里达侧耳 (*Pleurotus florida*) 和姬菇 (*Pleurotus* sp)] 为材料, 对三种平菇子实体的酯酶同工酶进行比较, 结果表明: ①三种平菇子实体的酯酶同工酶酶谱丰富, 酶带多, 菌种酶谱稳定特异, 不受环境条件、栽培方式和采样时间的影响, 可作为菌种选育、检测和鉴定的有效指标。②杂交种的酯酶同工酶酶谱体现了双亲的酯酶同工酶基因的杂交组合, 一部分酶带可在佛罗里达侧耳中出现, 另一部分酶带在姬菇中出现。酶谱中出现了典型的互补酶带。③不同的发育阶段中的子实体酯酶同工酶酶带基本相同, 而酶活性变化较大。

**关键词** 酯酶同工酶, 杂交种; 佛罗里达侧耳, 姬菇, 电泳

目前, 有关食用菌不同种属和不同发育期同工酶的研究很多<sup>11</sup>, 但食用菌的杂交种和双亲的同工酶比较分析尚未见报道, 本文采用聚

丙烯酰胺凝胶垂直平板电泳和薄层等电聚焦电

\* 现在扬州医学院生物教研组工作。

泳,对单孢杂交筛选出的平菇属中一新杂交种和双亲的酯酶同工酶进行分析比较,观察酯酶同工酶在杂交种和双亲中表达的异同。由于此杂交种有显著的双亲杂交优势,既有佛罗里达侧耳的强抗霉性和生长快等优点,又有姬菇的菇质佳和味道香醇等优点,而且产量和菌丝生长速度均超过双亲,颇有推广价值。本实验目的在于揭示此杂交种和双亲酯酶同工酶遗传物质基础的异同,为杂交种进一步的鉴定、证实及大面积推广应用打下基础。

## 材料与方 法

### (一) 菌种来源

1. 亲本: 佛罗里达侧耳 (*Pleurotus florida*): 原种是国家外贸局 70 年代末从西德引进。

姬菇 (*Pleurotus sp.*): 原种是辽宁省外贸局 80 年代初从日本引进<sup>[2]</sup>。

2. 杂交种: 1986 年经单孢菌丝杂交获得的一株佛罗里达侧耳×姬菇的子实体,从其上挑取组织分离,进行连续培养。

### (二) 试剂

1. 进口试剂: 固蓝 RR 盐 (Fast blue RR salt) 系 Sigma 公司生产, 吩嗪二甲酯硫酸盐 (PMS) 系 Flula 公司生产, 非离子表面活性剂 (Titron × 100) 系 Serva 公司生产。

2. 国产试剂: 载体两性电解质由中国科学院上海生物化学研究所生产, pH 值范围 3.5—10。辅酶 I, 氯化硝基四氮唑蓝。

### (三) 电泳样品的制备

取新鲜子实体的菌盖外缘 1/3 处的组织 0.2g, 加 0.3ml 预冷的匀浆液 (含蔗糖 30%, 溴酚蓝和 Titron × 100 少许), 经 13000r/min 离心 15 分钟, 取上清液保存备用。

### (四) 聚丙烯酰胺凝胶垂直平板电泳

主要参考菲克强法<sup>[3]</sup>, 其中分离胶: T 7.5%, C3%, pH8.9; 浓缩胶: T4%, C20%, pH 6.8; 电极缓冲液: Tris-Gly 缓冲液, pH8.7。

### (五) 聚丙烯酰胺凝胶薄层等电聚焦电泳

主要参考 Anthony, T. A. 等方法<sup>[4]</sup>, 其中

凝胶: T7.5%, C3%, pH 梯度范围 3.5—10, 电极缓冲液: 负极为 1mol/L NaOH, 正极为 1mol/L H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>。

### (六) 酯酶同工酶染色

参考陈巧云等方法<sup>[5]</sup>, 其中以固蓝 RR 盐显色。

### (七) 结果记录

酶谱凝胶显色后, 立即进行湿板绘图, 照像, 经 751 型紫外分光光度仪扫描 ( $\lambda = 580$  nm), 最后以双层玻璃纸制成干板永久保存。

## 结果与讨论

### (一) 酶谱的稳定性

1. 温度对酶谱的影响: 观察平菇杂交种子实体在 0、7、15、23℃ 四个温度下的酯酶同工酶酶谱 (表 1), 发现平菇杂交种在不同温度下的酶谱酶带相同, 酶活性和子实体的生长速度成正比。

表 1 温度对杂交种酯酶同工酶的影响

项目 \ 温度(°C)	0	7	15	23
酶带	不变	不变	不变	不变
酶活性	弱	较强	最强	较强
子实体生长速度	慢	较快	最快	较快

2. 培养基对酶谱的影响: 选用棉籽壳、甘蔗和稻草三种培养基栽培平菇杂交种, 结果表明杂交种酯酶同工酶酶带和酶活性均相同。

3. 子实体的颜色对酶谱的影响: 由于菇房中光线、湿度和温度等条件的差异, 使子实体的颜色发生明显变异, 出现白色、灰白色、灰色、褐色和深褐色。经薄层等电聚焦电泳分析, 结果 (图版 I-1) 表明: 不同颜色的杂交种子实体酯酶同工酶酶谱基本相同, 只是酶活性略有变化, 这进一步说明同工酶作为平菇菌种鉴定的遗传基础指标比形态特征指标更稳定, 不易受环境条件干扰。

### (二) 酶谱的比较

1. 杂交种和双亲的酯酶同工酶酶谱 (图版

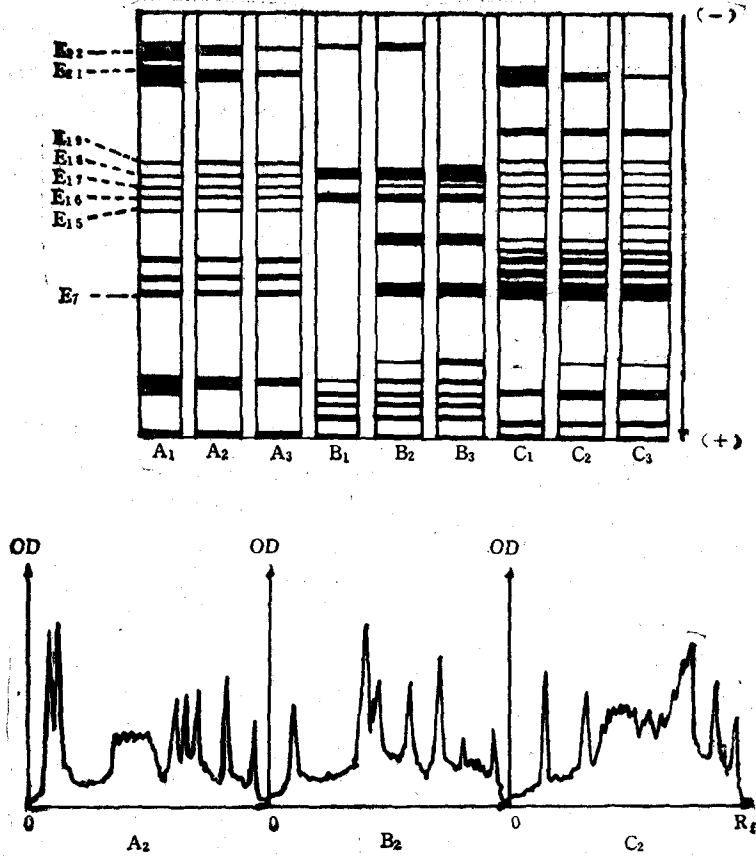


图 1. 杂交种及双亲实体的酯酶同工酶谱(图版 1-2) 的模式图及扫描曲线图

A. 杂交种, B. 佛罗里达侧耳, C. 姬菇; 1. 成菇期, 2. 幼菇期, 3. 菇芽期, 如 A<sub>1</sub> 表示菇芽期杂交种等; OD: 光密度值, R<sub>f</sub>: 酶带迁移率, 酶带按常规法编号: 称 E<sub>1</sub>, E<sub>2</sub>, ... E<sub>22</sub>。其中, 照片中少数活性弱的酶带不能显出, 而永久凝胶片和扫描曲线中明显可见, 活性很强染色重叠酶带可透强光 (100W) 分辨。扫描曲线中波长为 580nm。

1-2, 图 1) 丰富, 酶带多, 姬菇的酶带最多, 共 19 条, 酯酶总活性最高 (图版 1-2 中姬菇的加样量是其它平菇的一半), 杂交种和佛罗里达侧耳各有 12 条酶带, 三种平菇各自具有特征性的酶谱, 差异较大。

2. 杂交种的酶带大部分可以在双亲的酶谱中找到, 酶带 E<sub>1</sub>、E<sub>7</sub>、E<sub>16</sub>、E<sub>17</sub>、E<sub>18</sub>、E<sub>5</sub>、E<sub>22</sub> 在佛罗里达侧耳的酶谱中出现, 酶带 E<sub>1</sub>、E<sub>7</sub>、E<sub>16</sub>、E<sub>17</sub>、E<sub>18</sub>、E<sub>15</sub>、E<sub>19</sub>、E<sub>21</sub> 在姬菇的酶谱中找到, 这反映了杂交种同工酶的遗传基因是来源于双亲的杂交组合。

3. 杂交种酶谱中出现了典型的互补酶带 (E<sub>21</sub>、E<sub>22</sub>), 这种现象曾在植物杂交组合中有报道<sup>[6,7]</sup>, 互补酶带的出现是杂交组合的一个显

著特征标记, 互补酶带 E<sub>21</sub> 在姬菇中出现, E<sub>22</sub> 在佛罗里达侧耳中出现, E<sub>21</sub>、E<sub>22</sub> 同时在杂交种中出现, 而且酶活性很强, 这显然体现了姬菇中的酶带 E<sub>21</sub> 基因和佛罗里达侧耳中的酶带 E<sub>22</sub> 基因已经组合到杂交种中, 呈共同表达状态。至于 E<sub>21</sub>、E<sub>22</sub> 基因是否是同一位点上的等位基因同工酶还是不同位点上的多基因同工酶, 还有待进一步探索。

4. 杂交种的酶谱中出现双亲中没有的新酶带 (E<sub>9</sub>、E<sub>11</sub>), 这些酶带称为杂种酶带<sup>[8]</sup>, 出现的原因可能是由于新的遗传基因重组, 引起基因之间的抑制和表达发生变化, 使一些同工酶基因去阻遏而转录和翻译出有活性的酶带。有报道说这些杂种酶带的出现和杂交种的杂交优

势有关<sup>[3]</sup>。

5. 三种平菇子实体的酯酶同工酶用聚丙烯酰胺薄层电聚焦电泳法分析,其结果(图版I-3)和垂直平板电泳法相同,该法可清楚观察到互补酶带 E21 和 E22,它们的等电点较高,偏碱性。还可看到三种平菇子实体的酯酶同工酶有较宽广的等电点。

### (三) 子实体发育阶段的酶谱

子实体的发育阶段可按菌盖大小分为: 菇芽期( $\phi \leq 0.5$  cm), 幼菇期( $\phi = 4.5$  cm), 成菇期( $\phi = 9.0$  cm), 从三个发育阶段的子实体酯酶同工酶酶谱(图版I-2)来看说明: 三种平菇子实体的酯酶同工酶酶谱基本相同, 但有一些酶带的活性变化较大, 杂交种和姬菇的酯酶活性随着子实体的成熟(从菇芽期、幼菇期到成菇期)逐步上升, 而佛罗里达侧耳的酯酶活性则略

有下降。酯酶同工酶在平菇的生理代谢中主要水解非生理性酯类, 具有分解代谢残留酯类和解毒的作用, 酯酶同工酶的变化也反映了平菇子实体各发育阶段的生理代谢变化。

### 参 考 文 献

1. 陈都珍等: 真菌学报, 6(1): 34—41, 1987。
2. 陈应山等: 食用菌, 1: 11, 1987。
3. 龚克强等: 聚丙烯酰胺凝胶电泳, 科学出版社, 北京, P. 94—111, 1975。
4. Anthony TA: In Electrophoresis Theory: Oxford Univ. Press, P182, 1981。
5. 陈巧云等: 昆虫学报, 23(4): 350—358, 1980。
6. Baraliev P et al.: Gemes Sel, 15(1): 30—41, 1982。
7. 杨太兴等: 遗传, 3(6): 31—33, 1981。
8. Toyomasa T et al.: Agric Biol Chem, 50(1): 223—226, 1986。
9. 曾孟潜等: 遗传学报, 10(1): 43—50, 1983。

## 黑木耳栽培期两种培养基主要组分的降解和有关酶活的变化

牛福文 印桂玲 刘宝增

(河北省科学院微生物所, 保定)

**摘要** 用棉籽壳、玉米秸粉各加少量麦麸栽培黑木耳(*Auricularia auricula*), 在栽培的不同阶段分析测定基物的主要化学组成成分、有关酶活的变化和基物变化与子实体产量的主要关系。

供试的两组基物因主要有机组分和物理结构的差异, 使基物降解出现明显差别, 但在栽培的不同阶段, 其变化规律有相似特点。

纤维素酶活(C<sub>1</sub>酶、C<sub>x</sub>酶、 $\beta$ -葡萄糖苷酶)、半纤维素酶活与基物的降解速率、子实体产量的多少有关。试验还分析了基物中的过氧化物酶和多酚氧化酶的活性。

**关键词** 黑木耳; 降解; 纤维素酶; 半纤维素酶; 多酚氧化酶; 过氧化物酶

本实验采用棉籽壳和玉米秸粉各加部分辅料做基物栽培黑木耳, 栽培中定期分析基物的主要化学组分、有关酶活的变化, 以及对子实体产量的影响等, 为选择适宜高产栽培的基物提供一定依据。现将初试结果报告如下。

## 材 料 与 方 法

### (一) 菌种

黑木耳(*Auricularia auricula*)系我室选育的6号菌株。

### (二) 栽培

采用袋栽法。培养基(%): A组, 棉籽壳93、麦麸5、蔗糖1、石膏1, 料水比1:1.4; B组, 粗粉碎的玉米秸85、麦麸10、饼粉3、蔗糖1、石膏1, 料水比1:2。每袋装干料250g。菌丝生长期测生长速度, 待菌丝长满袋后, 均匀开5条长形出耳孔, 置18—23℃、控制空气相对湿度85—

中科院微生物所张树政教授对本试验给予了热忱帮助和指导, 特此致谢。