



# 食用菌菌种退化机制及预防措施的最新研究进展

李亚娇<sup>1,2</sup>, 孙国琴<sup>1,2</sup>, 郭九峰<sup>3</sup>, 王海燕<sup>1,2</sup>, 庞杰<sup>1,2</sup>

(1. 内蒙古自治区农牧业科学院 蔬菜研究所, 内蒙古 呼和浩特 010031; 2. 食用菌内蒙古自治区工程研究中心, 内蒙古 呼和浩特 010031; 3. 内蒙古大学物理科学与技术学院, 内蒙古 呼和浩特 010021)

**摘要:**食用菌菌种相当于作物生产中的种子,其质量的好坏直接影响产量的高低。在实际生产及试验过程中,经常出现菌种退化现象,给食用菌产业健康发展带来很大阻碍。为从根本上防止菌种退化,就食用菌菌种退化原因及如何预防进行综述,提出了存在的问题并对未来研究方向进行了展望。

**关键词:**食用菌;退化表现;退化原因;退化预防

近些年食用菌产业迅猛发展,从各家各户到工厂化模式生产,已成为我国农业发展的重要组成部分,但在实际生产过程中经常出现因菌种退化而导致的产量损失。菌种退化的表现形式很复杂,原因也多种多样,如菌丝体的遗传物质发生了变异、菌种培养过程中营养控制不到位、不重视人工选择、菌种传代次数过多、菌种杂交、细胞内酶合成能力下降、病毒干扰正常代谢等宏观及微观因素<sup>[1-5]</sup>,本文将具体阐述食用菌菌种退化机制的研究进展及预防措施,以期为食用菌产业的健康发展提供思路。

## 1 食用菌菌种退化具体表现

在菌种继代过程中,经常会出现一些因遗传物质发生改变导致的“退化”现象,如产量低、质量差、出菇晚、抗性弱等<sup>[6]</sup>。具体表现为以下几种情况:菌丝外观。在培养基上出现浓密的白色扇形菌落,菌落生长速度不一致<sup>[7]</sup>;菌丝体生长发生变化。生长缓慢,对环境、杂菌等抵抗力变弱,子实体形成期提前或推后,子实体原基的产量降低,出菇潮次不明显等现象<sup>[8]</sup>;菌种色象的变化。菌种继代培养时,有时会发生色素异常现象,色素量增加或减少、出现异常的色素、产生色素变成不产生色素等<sup>[1-2]</sup>;代谢产物的变化。次级代谢产物产量大幅下降,特别对于一些食药两用菌活性下降,培养周期变长、菌丝量减少、易老化<sup>[1]</sup>;对产量的

影响。产量降低、品种变劣、整齐度下降、生活力衰退、抗逆性减弱<sup>[9]</sup>。

## 2 食用菌菌种退化的机制

菌种退化的原因很多,主要由两方面因素决定:菌种自身的遗传多样性因素和菌种外界的生长条件因素<sup>[10]</sup>。

### 2.1 菌种退化的遗传学分析

2.1.1 核型改变 在食用菌生长过程中,会出现菌种异核现象,这可能会导致菌种发生遗传变异。蛹虫草最为典型,谭琦等<sup>[11-12]</sup>通过实验发现蛹虫草为异核体交配型基因,而退化的蛹虫草菌株为同核体交配型基因,因此可判断核型的改变导致蛹虫草菌种退化。吴春玲等<sup>[13]</sup>发现香菇是四极性异宗结合真菌,只有不同极性的单核体配对后,才形成能发育成子实体的异核体,有相当一部分香菇双核菌丝经脱壁再生后转变为单核体,无法形成子实体,也就是说香菇双核体的单核化是菌种退化的一个重要原因。

2.1.2 基因突变 大多数基因突变对生物的生长和发育往往是有害的。食用菌生长周期短,细胞分裂速度快,因此容易在生长过程中发生基因突变,从而导致菌种退化。同时食用菌大多采用无性生殖和继代培养,使其发生突变的可能性更大<sup>[14]</sup>。李美娜等<sup>[15]</sup>通过 PCR-RFLP 和 RAPD 方法,分别分析了野生驯化和退化的蛹虫草菌株,对结果进行比对后发现 DNA 发生明显变异。徐金柱等<sup>[16]</sup>探究了退化白僵菌线粒体基因组的基因突变情况,发现线粒体 DNA 存在多种形式的变异,多发生在选择压力较小的非编码区。

2.1.3 菌株无性繁殖体感染病毒 病毒感染菌丝体也可能导致菌种退化,病毒在细胞中无限增殖,影响细胞内正常的代谢活动,菌丝体的代谢活

收稿日期:2018-01-27

基金项目:内蒙古农牧业科技创新基金资助项目(2016CXJ JN10)。

第一作者简介:李亚娇(1990-),女,黑龙江省佳木斯市人,硕士,助理研究员,从事内蒙古食用菌种质资源收集与创新研究。E-mail: 726450605@qq.com。

通讯作者:孙国琴(1964-),女,内蒙古自治区赤峰市人,硕士,研究员,从事食用菌种质资源创新研究。E-mail: sgq9648@126.com。

动受到严重抑制,对木质素、纤维素的分解能力下降,菌丝生长缓慢,末端细弱,气生菌丝减少,培养料分解不彻底等症状<sup>[17]</sup>。这种现象在平菇、香菇生产种较为多见。Qiu等<sup>[18]</sup>发现平菇栽培菌株TD300感染病毒导致菌种退化的原因,从其菌丝中分离出一种球状病毒POSV和4种dsRNA片段,当除去这些病毒后,菌种退化性状消失,因此认为真菌病毒的感染是食用菌菌株退化的一个原因。郑鹏等<sup>[19]</sup>构建不同发育时期smartDNA文库及高通量表达谱信息,寻找出一个潜在的活性因子基因*cvm*,对其进行功能研究。该基因活性是通过阻止病毒与宿主细胞的结合来实现,蛹虫草中缺失该基因严重抑制其子实体的生长发育。

**2.1.4 细胞内酶合成能力下降** 在食用菌生长过程中,菌丝体会分泌多种酶类,如纤维素酶、蛋白酶、漆酶等,将培养基或培养料中养分分解成自身生长发育所需的小分子营养成分。张政<sup>[20]</sup>利用RT-PCR技术对草菇退化期间产生的 $\beta$ -葡萄糖苷酶和漆酶-1的表达差异性分别进行检测分析,发现随着草菇菌种继代时间的不断延长,两种酶的表达量呈下降的趋势,因此,菌种退化可能是由于其产酶能力下降造成的<sup>[21-22]</sup>。邹亚杰<sup>[23]</sup>以正常黑木耳黑A及其退化菌株黑AD为材料,利用mRNA差异显示技术研究二者的基因表达差异,克隆的7条差异性条带中有4个差异片段分别与成熟酶,核迁移蛋白,细胞色素c氧化酶亚基II和聚半乳糖醛酸(内切)酶有较高的同源性,3个差异片段属于未知功能蛋白,经RT-PCR可知,它们在具退化症状培养物(AD)中的表达量明显降低,因此可以初步推测它们可能是与菌株退化相关的蛋白。林清泉等<sup>[24]</sup>研究了蛹虫草退化菌株与正常菌株脱氢酶活性的特征差异性,结果表明,退化菌株的脱氢酶活性明显弱于正常菌株。

**2.1.5 其它遗传原因与菌种退化** 胡锋黎等<sup>[25]</sup>发现草菇核不对称分裂与菌种退化相关,通过对退化的草菇菌株细胞核进行DAPI染色,与正常菌种比较发现草菇菌丝细胞为多核,有丝分裂过程中存在核不对称分裂,由此可推断草菇细胞核不对称分裂可能是导致草菇菌种退化的一个重要原因。林清泉等<sup>[24]</sup>研究了蛹虫草退化菌株与正常菌株色度的特征差异性,结果表明,退化菌株在色度培养基中的脱色能力显弱于正常菌株<sup>[26]</sup>。熊承慧等<sup>[27]</sup>认为细胞内活性氧(ROS)积累过量是导致丝状真菌退化的重要原因之一,通过克隆来源于构巢曲霉的*GPx*基因,分别转化到已经退化菌株和能够正常结实的两株不同的蛹虫草菌株

中进行过量表达,与对应的野生型菌株相比,退化菌株过氧化物酶酶活显著提高,对外源氧化胁迫的抵抗能力增强,说明胞内活性氧与蛹虫草菌种退化有关。

## 2.2 菌种退化的外界因素

**2.2.1 营养不良** 在人工培养菌种时,一般选用特定培养基,内含生长、发育、繁殖所需碳源、氮源等的培养基。但当培养基的营养物质比不均衡,会导致菌种生长缓慢、代谢微弱<sup>[28]</sup>;或者长时间使用营养物质不变、比例相同的培养基,会导致不能达到生长所需营养的要求,长期下去会造成营养不良;或一些菌种生长周期延长,培养基中营养成分用尽,最终使得菌丝生长活力逐渐变弱<sup>[1]</sup>。

**2.2.2 无限传代** 在实际生产中,由于母种直接应用于生产,需求量比较大,会导致对母种无限制无性繁殖、继代转管,然而转管次数越多,对菌种的创伤就越大,长此以往会导致可遗传变异,影响菌种的产量及质量<sup>[17]</sup>。李晓等<sup>[29]</sup>对黑木耳母种继代培养次数与菌种退化关系进行研究,发现菌丝生长速度以及木屑料分解能力随着继代培养次数的增加而出现下降的趋势,且菌丝分枝明显减少。彭凡<sup>[30]</sup>对蝉花在人工培养基上继代培养菌株的生物学特性进行研究,发现蝉花菌株在继代培养过程中随着传代次数的增加,菌株的产孢量逐渐下降,而菌丝生长速度则先加快到第8代开始减缓。

**2.2.3 长期低温保藏** 菌种长期在低温下保藏保存,实际并未停止其生命活动,仍然存在着变异的潜在可能,菌丝长势减弱,容易提前出现老化现象<sup>[1]</sup>。若在保藏过程中有光照、温度刺激等也可引起菌种的退化。

## 3 食用菌菌种退化的预防措施

### 3.1 适宜的保藏条件

对菌种进行保藏时,要有合适的保藏条件,菌种保藏时间要求在30d内,长于60d的菌种退化特性表现非常显著;如要中长期保存,必须要在恒湿、低温(2~4℃)保存;为防止保藏过程培养基中水分流失,可将保藏培养基中琼脂的量增加0.5%来延长保藏时间;对于超过最佳保藏期的菌种应及时转管培养,以防菌种退化带来严重损失<sup>[31-32]</sup>。

### 3.2 适宜的培养条件

**3.2.1 适宜的营养成分** 适当比例的氮源和碳源对食用菌菌丝体及子实体的生长和发生有积极的促进作用,在不同的生长阶段需要的培养基碳

氮比也是不一样的。培养基中碳源含量不充足,容易造成菌丝早衰;培养基中氮源含量不充足容易造成菌丝生长缓慢、长势弱,而含量过高容易引起生长过剩,代谢产物积累受阻<sup>[33]</sup>。卢伟等<sup>[31]</sup>探究金针菇在不同碳氮比的培养料的条件下培养,对其生长、发育、繁殖的影响,以棉子壳、棉花秸秆和麸皮为主要原料,在碳氮比为 30:1~40:1 时,金针菇生长周期短、蛋白质含量高、产量好。

**3.2.2 适宜的温度** 菌种退化与培养温度关系密切,不适宜的培养温度会造成菌种退化,食用菌生长。王再明等<sup>[36]</sup>在 PDA 培养基上接种杏鲍菇、秀珍菇、金针菇、蟹味菇、鸡腿菇、黑平菇、灵芝、茶树菇 8 种食用菌菌种,并选择在 3 个温度(22、25、27℃)下培养 7 d,观察测量菌丝的萌发、日生长速度及菌落形态,获取各菌种的最适生长温度。试验结果表明,金针菇菌丝的最适生长温度为 22℃,灵芝和黑平菇菌丝的最适生长温度为 27℃,其余 5 个菌种菌丝的最适生长温度为 25℃。于海龙等<sup>[37]</sup>探究在培育猴头菇过程中温度对其生长的影响,发现温度不同对其生长影响很大,猴头菇最适出菇温度范围在 14~19℃,其中最适温度为 16℃,温度过高或过低都会引起子实体发红现象。

**3.2.3 其它条件** 在食用菌菌丝生长阶段,培养料的适宜含水量一般为 60%~65%<sup>[33]</sup>;空气相对湿度为 70%~85%时助于营养菌丝健壮、快速生长,空气相对湿度为 80%~95%时为子实体分化最适湿度,而空气相对湿度高于 95%时,菌丝表面水分过大,菌丝体呼吸、子实体生长发育受阻,并易受污染,导致菌种退化<sup>[37]</sup>;光作为环境因子之一,对食用菌生长具有调控作用,不同的光环境(光质、光强、光周期)对菌丝体生长的影响不同<sup>[38]</sup>;不同种类的食用菌菌丝生长阶段均有一定的 pH 范围,这是由于不同种类的食用菌新陈代谢过程中起主导作用的酶活性不同决定的,每一种酶都有其最适 pH,过高或过低的 pH 都将使酶活力降低,导致新陈代谢的减缓甚至停止,容易引起菌种退化<sup>[39]</sup>。

### 3.3 减少传代次数

菌种转管次数越多,变异的几率就越大<sup>[17]</sup>。通过实验发现,在蛹虫草繁殖过程中,有性繁殖继代 3 次以上,出草能力会显著降低;无性繁殖继代 5 次以上,出草能力会丧失,蛹虫草的此种特性较其它菌种显著<sup>[40]</sup>。

### 3.4 其它防御菌种退化方法

马元伟等<sup>[41]</sup>通过添加外源氨基酸,对恢复或

预防丝状真菌退化进行研究,以绿僵菌和蛹虫草为试验材料,通过持续传代获得退化的绿僵菌菌株,将退化菌株转接到添加不同氨基酸 MM 平板上生长 10~14 d,以不添加氨基酸的 MM 平板做对照,结果显示,添加 1.5%的组氨酸和 0.64%的赖氨酸,退化菌株的产孢量及色素明显恢复。正常的蛹虫草菌株在 PDA 培养基上连续传代 10 次后,产孢量明显减少,菌丝色素退化;而将正常的蛹虫草菌株,转接到添加 1.5%的组氨酸和 0.64%的赖氨酸 PDA 培养基上连续传代 10 次后,产孢减少的量明显降低,菌丝色素退化现象也明显降低。

## 4 存在的问题和展望

菌种退化是环境因素和遗传变异共同作用的结果,只有综合考虑内在和外在两方面因素才能真正的从本质上解决菌种退化问题<sup>[23]</sup>。

### 4.1 存在的问题

国内外关于食用菌菌种退化现象、退化原因及预防措施有很多的研究报道,但也存在一些急需解决的问题:①食用菌菌种退化至今没有明确定义;②菌种退化遗传机制研究不够深入,如甲基化、相关酶类、丛生变异等影响菌种退化机制研究不够深入;③预防菌种退化大多从环境因子上入手,只能降低退化的频度和减缓退化的速度,而不能从根本上解决问题;④研究退化菌种种类过于单一性,目前对北虫草、双孢菇、平菇等研究过多,而其它种类相对滞后。

### 4.2 前景展望

在人工培养中,食用菌菌种退化是不可避免的,菌种退化会带来巨大的经济损失,通过提前预防和预知菌种退化,从而预先筛选优良菌株。通过加强环境控制、提高技术手段等方式来减少和消除菌种培养过程中的细菌、病毒的感染,从而降低在实际生产中因菌种退化导致的产量、质量下降,减少经济损失,实现食用菌产业健康稳定发展。

### 参考文献:

- [1] 丁湖广. 菌种退化与老化原因及防止措施[J]. 特种经济动植物, 2006, 9(1): 39-40.
- [2] 姚卫红, 张丽娜, 刘美秀. 浅谈菌种的退化及有效包藏方法[J]. 中国卫生产业, 2013(3): 189-189.
- [3] 刘海英, 董月香, 周廷斌, 等. 食用菌菌种的退化及复壮[J]. 食用菌, 2003, 25(6): 16-17.
- [4] Li L, Pischetsrieder M, Leger R J S, et al. Associated links among mtDNA glycation, oxidative stress and colony sectorization in *Metarhizium anisopliae* [J]. Fungal Genetics and Biology, 2008, 45(9): 1300-1306.

- [5] Li H, Huang D, Wang Z. Potential of *Beauveria bassiana*, for biological control of *Apriona germari*[J]. *Frontiers of Agriculture in China*, 2011, 5(4): 666-670.
- [6] 陈元美. 双孢蘑菇基质降解能力退化分子机理的初步探究[D]. 福州: 福建农林大学, 2011.
- [7] 丽群. 食用菌菌种退化的原因[N]. *陕西科技报*, 2014-08-29.
- [8] 雷鸣. 如何防止食用菌菌种退化[N]. *山西科技报*, 2004-01-06.
- [9] 高玉芳. 食用菌菌种的退化和选优提纯[J]. *吉林蔬菜*, 2006(5): 28-29.
- [10] 汪虹, 魏静, 林楠, 等. 交配型基因作为分子标记鉴定蝇虫草退化菌株的核相初步研究[J]. *食用菌学报*, 2010, 17(4): 1-4.
- [11] 谭琦, 蔡涛, 汪虹, 等. 蝇虫草无性孢子的交配型基因类型的分子鉴定[J]. *上海农业学报*, 2011, 27(3): 5-8.
- [12] 胡秀彩, 吕爱军. 蝇虫草菌种退化的探讨[J]. *中国食用菌*, 2015, 34(1): 1-3.
- [13] 吴春玲, 吴学谦, 郑巧平, 等. 香菇菌种性能衰退的原因及复壮技术[J]. *中国食用菌*, 2006, 25(5): 9-11.
- [14] 刘新宇, 祁玉良, 熊在东, 等. 食用菌菌种退化的遗传学分析[J]. *信阳农林学院学报*, 2001, 11(2): 16-18.
- [15] 李美娜, 吴谢军, 李春燕, 等. 人工栽培蝇虫草退化现象的分子分析[J]. *菌物学报*, 2003, 22(2): 277-282.
- [16] Jin-Zhu X U. Sequence and phylogenetic analysis of *Beauveria bassiana* with mitochondrial genome[J]. *Mycosystema*, 2009, 28(5): 718-723.
- [17] 李红, 肖千明, 刘娜等. 食用菌菌种退化原因分析及复壮方法的探讨[J]. *辽宁农业科学*, 2010(4): 53-55.
- [18] Qiu L, Li Y, Liu Y, et al. Particle and naked RNA mycoviruses in industrially cultivated mushroom *Pleurotus ostreatus* in China[J]. *Fungal Biology*, 2010, 114(5-6): 507-513.
- [19] 郑鹏, 王成树. 蝇虫草 *cvn* 基因的功能研究[C]//中国菌物学会会员代表大会暨 2011 年学术年会, 2011.
- [20] 张政. 草菇菌丝体继代保藏菌种的退化研究[D]. 昆明: 昆明理工大学, 2016.
- [21] Chen S, Ma D, Ge W, et al. Induction of laccase activity in the edible straw mushroom, *Volvariella volvacea*. [J]. *Fems Microbiology Letters*, 2003, 218(1): 143-148.
- [22] Chen S, Ge W, Buswell J A. Molecular cloning of a new laccase from the edible straw mushroom *Volvariella volvacea*: possible involvement in fruit body development [J]. *Fems Microbiology Letters*, 2004, 230(2): 171-176.
- [23] 邹亚杰. 两种食用菌过氧化物酶和漆酶的生理生化研究及两株黑木耳的分析 DDRT-PCR 分析[D]. 北京: 中国农业科学院农业资源与农业区划研究所, 2011.
- [24] 林清泉, 丘雪红, 郑壮丽, 等. 蝇虫草退化菌株的特征研究[J]. *菌物学报*, 2010, 29(5): 670-677.
- [25] 胡锋黎, 傅俊生, 吴小婷, 等. 草菇核不对称分裂与菌种退化的相关性[J]. *南方农业学报*, 2015, 46(3): 466-470.
- [26] 何晓红, 赵欢欢, 刘飞, 等. 蝇虫草菌种退化机理及预防措施研究进展[J]. *食用菌*, 2012, 34(6): 1-3.
- [27] 熊承慧, 夏永亮, 李琳, 等. 基因工程方法改善蝇虫草菌株继代培养稳定性[C]//中国菌物学会会员代表大会暨 2011 年学术年会, 2011.
- [28] 赫朝灿. 菌种退化的原因、处理措施及菌种保藏探析[J]. *生物技术世界*, 2015(2): 1.
- [29] 李晓, 孟秀秀, 李寿建, 等. 黑木耳母种继代培养次数与菌种退化关系研究[J]. *黑龙江农业科学*, 2015(4): 138-139.
- [30] 彭凡. 蝉花菌种退化对其代谢的影响[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2014.
- [31] 方方舟, 董海波, 肖习明, 等. 保藏温度、时间及代次对蝇虫草菌种质量的影响[J]. *荆楚理工学院学报*, 2011, 26(2): 5-10.
- [32] 夏凤娜, 胡惠萍, 邵满超, 等. 蝇虫草菌种五种保藏条件的保藏效果对比试验[J]. *食用菌*, 2010, 32(5): 30-31.
- [33] 黄磊, 刘玫, 浦媛媛, 等. 食用菌固体培养基的开发与应用综述[J]. *湖北农业科学*, 2013, 52(10): 2246-2249.
- [34] 卢伟, 陶鸿, 董伟, 等. 不同碳氮比的培养料对金针菇产量及营养品质影响研究[J]. *中国农学通报*, 2010, 26(14): 238-242.
- [35] 王再明, 石堃, 潘玲玲, 等. 温度对 8 种食用菌菌丝生长的影响[J]. *林业科技*, 2015, 40(3): 20-23.
- [36] 于海龙, 冯志勇, 郭倩. 不同培养料配方和出菇温度对猴头菇生长影响[J]. *中国食用菌*, 2010, 29(4): 26-27.
- [37] 赵春巧, 谢放, 吴泽民. 环境因素对食用菌有性发育影响的研究进展[J]. *中国农学通报*, 2014, 30(13): 87-92.
- [38] 钱磊, 张志军, 周永斌, 等. 光对食用菌生长的影响[J]. *天津农业科学*, 2017, 23(7): 103-106.
- [39] 于海龙, 郭倩, 杨娟, 等. 环境因子对食用菌生长发育影响的研究进展[J]. *上海农业学报*, 2009, 25(3): 100-104.
- [40] 沈爱喜, 胡中娥, 李小云, 等. 北冬虫夏草菌种退化原因及防控方法[J]. *食用菌*, 2013, 35(4): 28-29.
- [41] 马元伟, 王荣, 高强, 等. 外源氨基酸的添加对恢复或预防丝状真菌退化的研究[J]. *生物学杂志*, 2017, 34(2): 108-111.
- [42] 熊承慧, 夏永亮, 李琳, 等. 基因工程方法改善蝇虫草菌株继代培养稳定性[C]//中国菌物学会会员代表大会暨 2011 年学术年会, 2011.

## Latest Research Progress on the Degradation Mechanism and Preventive Measures of Edible Fungus Strains

LI Ya-jiao<sup>1,2</sup>, SUN Guo-qin<sup>1,2</sup>, GUO Jiu-feng<sup>3</sup>, WANG Hai-yan<sup>1,2</sup>, PANG Jie<sup>1,2</sup>

(1. Vegetable Research Institute Inner Mongolia Academy of Agriculture and Animal Husbandry Sciences, Hohhot 010031, China; 2. Inner Mongolia Engineering Research Center of Edible Fungus, Hohhot 010031, China; 3. Physical Science and Technology College of Inner Mongolia University, Hohhot 010021, China)