

## 大白口蘑生物学特性的观察

汤洪敏<sup>1, 2</sup> 虞泓<sup>1\*</sup> 李长利<sup>3</sup> 张灼<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>云南大学生命科学学院生态遗传学实验室 昆明 650091; <sup>2</sup>贵州民族学院化学系 贵阳 550025; <sup>3</sup>云南英茂生物技术实验室 昆明 650106)

中图分类号: Q939.5 文献标识码: A 文章编号: 1672-6472 (2007) 02-0297-0301

## Biological characteristics of *Tricholoma giganteum* Masee

TANG Hong-Min<sup>1, 2</sup> YU Hong<sup>1\*</sup> LI Chang-Li<sup>3</sup> ZHANG Shuo<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> Laboratory of Ecological Genetics, School of Life Sciences, Yunnan University, Kunming 650091; <sup>2</sup> Department of Chemistry, Guizhou University for Nationalities, Guiyang 550025; <sup>3</sup> Inmol Laboratory of Biotechnology of Yunnan, Kunming 650212)

大白口蘑 *Tricholoma giganteum* Masee, 是一种大型簇生的食、药用真菌 (Chang & Mao, 1995)。从大白口蘑菌丝发酵液中分离出的多糖蛋白复合物 (PSPC) 具有抗癌活性并能提高免疫反应 (Liu *et al.*, 2000)。其子实体中含有 angiotensin I-converting enzyme 血管紧张素 I 转变酶 (ACE) 抑制肽, 该抑制肽作为一种主要抑制物能竞争性抑制 ACE 的活性, 因此具有抗高血压的药效 (Lee *et al.*, 2004)。子实体中化学成分之一的漆酶能抑制艾滋病病毒逆转录酶的活性 (Wang & Ng, 2004)。大白口蘑的多酚化学成分具有抗氧化活性, 并能清除 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radicals (Mau *et al.*, 2002)。在亚洲, 由于大白口蘑具有许多药用特性, 作为民间药物长期被利用 (Lee *et al.*, 2004)。

虽然大白口蘑具有较大的潜在经济价值, 但关于该物种的基础生物学研究尚不深入, 为了更科学地对大白口蘑进行开发利用, 同时也为大白口蘑的物种保护提供基础性资料, 我们对大白口蘑的生态环境、形态特征及其菌丝生物学特性进行了较深入的观察研究。

### 1 材料与方法

#### 1.1 方法

到野外进行寻访、购买、踏查等实地调查, 再辅以室内文献查阅整理。记录大白口蘑的生境特征、子实体的形态特点, 并将子实体做种类鉴定和分离菌丝, 观察分离菌丝的生物学特性。用小培养方法结合石碳酸-品红染色, 镜检双核菌丝生长情况及其分枝、锁状联合, 以及双核菌丝产生厚垣孢子的情况。参照张筱梅等 (2003) 的方法, 在 28℃ 培养, 观察厚垣孢子的萌发情况。

#### 1.2 供试菌株及分离方法

菌株系野生子实体分离菌株。将采集的野生子实体采用 PDA 培养基, 通过柄盖组织分离进行分离培养, 经纯化后得到大白口蘑的纯菌种。

基金项目: 贵州省教育厅自然科学基金资助项目 (No.2004217)

\*通讯作者 Corresponding author. E-mail: hongyu@ynu.edu.cn; Tel: 0871-5034655; Fax: 0871-5033732

收原稿日期: 2006-04-12, 收修改稿日期: 2006-08-08

### 1.3 供试培养基

PDA 培养基, 用于菌丝培养。

## 2 结果与分析

### 2.1 物候

在 2004、2005 年的 4~5 月和 7~8 月, 对云南省思茅地区南部和红河州西部进行了大白口蘑生长生态的实地考察。范围覆盖北纬 22°89'~23°31', 东经 100°75'~102°31'。地形属于山地, 海拔 346~1460m 不等; 南亚热带季风气候。大白口蘑通常分布于竹林、常绿阔叶林和林缘灌丛。结合对当地采菇者的寻访, 大白口蘑每年 10 月初至次年 2 月下旬为菌丝越冬休眠期。3 月上旬随着气温回升, 土壤中菌丝开始生长。4 月上旬, 地表下白色菌丝便清晰可见。在同一地点, 气候条件对大白口蘑的发生影响很大, 如遇降雨量充裕, 温度适宜, 子实体产量增加, 反之减少。在不同地区, 纬度和海拔的影响也较大。这种影响不仅关系到每年大白口蘑的发生时间, 而且还关系到大白口蘑的产量。降雨和天晴的交替发生有利于大白口蘑子实体的形成和生长。生长所需的土壤湿度为 75%~90%, 土壤温度为 20℃~25℃。一般来说, 大白口蘑每年只发生一茬, 出菇时间约为 20d 以上。

### 2.2 生境特征及分布现状

本文所研究的大白口蘑 6 个菌塘分布于海拔 346~1460m 的范围内。适生生境的土壤以黑壤、棕壤和暗棕壤为主, 富含腐殖质, 粒状或颗粒状结构, 自然肥力高。根据调查和文献报道, 我国大白口蘑生境特征和分布大致情况见表 1。

表 1 大白口蘑菌塘的生境特征

Table 1 Habitat characteristics of *Tricholoma giganteum shiros*

产地 Locality	生境特征 Habitat characteristics	坡度 Degree of slope	海拔 Altitude (m)	经纬度 Longitude and latitude
思茅市曼连	山竹林地, 腐竹根黑壤, 向阳, 郁闭度 60%	<10°	346	E 100°87', N 22°91'
思茅市大寨	农舍牲畜圈旁, 枯树桩旁空地上, 暗棕壤, 郁闭度 20%	>30°	759	E 100°95', N 22°89'
红河州红河县独格	常绿阔叶林下, 向阳斜坡, 棕壤, 郁闭度 40%	>30°	1460	E 102°37', N 23°25'
墨江县打东	常绿阔叶林下, 阴坡, 暗棕壤, 郁闭度 40%	<20°	1218	E 102°06', N 23°40'
思茅市三棵桩	枯树桩旁裸地, 向阳, 棕壤, 郁闭度 5%	<30°	1027	E 100°79', N 22°99'
思茅市整碗	公路边常绿阔叶林缘灌丛旁, 棕壤, 郁闭度 30%	<30°	993	E 100°75', N 22°93'
湖南吉首矮寨 (Lu <i>et al.</i> , 2001)	山竹林地, 腐竹根黑壤, 向阳	—	450~700	E 110°30', N 29°04' *
广东湛江 (Liu <i>et al.</i> , 2001)	校园内, 距凤凰树干约 3 米的地上	—	—	E 110°38', N 21°11' *
云南省红河屏 (Wang <i>et al.</i> , 2004)	林地腐殖地表, 山区菜园旁	—	>600	E 103°60', N 22°90' *
福建省厦门 (Guo & Shen, 2002)	福建省亚热带植物研究所院内, 凤凰木附近草地上	—	—	E 118°06', N 22°45' *
中国香港 (Chang & Mao, 1995)	香港中文大学校园内, 凤凰木附近	—	—	E 114°10', N 22°27' *

注: 带\*者为根据文献报道查出

Note: \* The data from references.

### 2.3 子实体形态特征

大白口蘑子实体中等至大型, 簇生。菌盖厚, 边缘内卷, 直径 4~25cm, 厚 2.3~6.4cm, 初期半球形或扁半球形, 白色至微棕色, 后期扁平至稍平展, 色变暗, 表面平滑。菌肉白色, 致密, 伤不变色。菌褶白色至象牙白色, 直生至弯生, 密, 初期窄后变宽。菌柄长 8~35cm, 粗 1.5~4.6cm, 白色, 直, 中生, 幼时粗壮明显, 膨大似瓶, 实心, 如图 1 所示。孢子印白色。孢子光滑, 卵圆或宽椭圆形,  $4.5\sim 7.4 \times 3.4\sim 5\mu\text{m}$ 。具有褶皱囊状体, 褶皱囊状体大小为  $3.5\sim 4.4 \times 30.5\sim 33.1\mu\text{m}$ 。菌髓为平行粗壮菌丝体, 直径  $7.5\sim 12.5\mu\text{m}$ , 菌丝具锁状联合。



图 1 大白口蘑子实体形态

Fig.1 The morphological character of fruiting body of *T. giganteum* Massee.

### 2.4 菌株营养菌丝的形态特征

在 PDA 平板中培养的菌落呈白色, 絮状, 气生菌丝多且致密, 但菌丝生长缓慢, 菌丝体 5d 开始扩展, 两个星期向周围延伸 1cm。在光学显微镜下, 菌丝有规律的包含两个细胞核。如图 2-A 所示, 菌丝细胞壁较薄, 有隔膜, 无色透明, 均一, 分枝均匀, 菌丝直径  $2.5\sim 4\mu\text{m}$ 。锁状联合明显。

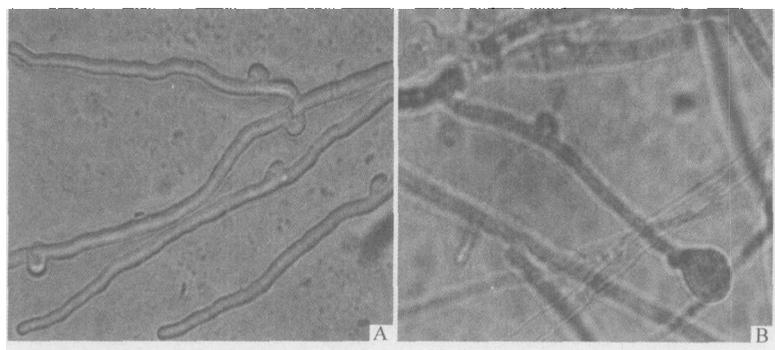


图 2 大白口蘑菌丝锁状联合和厚垣孢子 A: 菌丝锁状联合 (1000 $\times$ ); B: 厚垣孢子 (1000 $\times$ )

Fig.2 Clamp connections and chlamydospores of *T. giganteum* Massee. A: Clamp connections of dikaryons(1000 $\times$ );

B: Chlamydospores of dikaryons(1000 $\times$ ).

## 2.5 厚垣孢子的形态特征

大白口蘑厚垣孢子的产生与菌丝培养时间、环境条件直接相关,在4℃~10℃冰箱保存下,随着生长时间的延长,一般在6~8个月便可观察到厚垣孢子的产生。并且保存时间越长,厚垣孢子产生量越多,这是对低温等逆境条件的一种反应。如图2-B所示,厚垣孢子在菌丝上的着生方式绝大多数为顶生,卵圆形,大小为3~5×2.5~4μm。观察发现大白口蘑的厚垣孢子主要由气生菌丝产生,匍匐菌丝(培养基表面菌丝)和基内菌丝很少见到厚垣孢子的产生。也未见到象白绒鬼伞 *Coprinus lagopus* Fr.等高等真菌产生无性孢子时伴随出现的液滴或分泌物(Alexopoulos & Mims, 1979)。

厚垣孢子萌发的最适温度为25℃~30℃。28℃培养2d后,其萌发率可达80%以上,但少数已萌发的厚垣孢子其芽管不能继续生长。温度对厚垣孢子的萌发结果影响不大,但对萌发速度有明显影响。由单个厚垣孢子萌发长成的菌丝具有明显的锁状联合,在光学显微镜下,可观察到有规律的包含着两个细胞核。多次重复观察,结果一致。

## 3 讨论

从生物学特性看,大白口蘑是一种较耐高温的菌类,其子实体的生长尤其适合于春夏及夏季的气候,因此可以填补这段时间里食用菌适栽品种少的不足。1990年印度园艺研究所的Ganeshan在西孟加拉,用稻草作培养基袋栽大白口蘑获得成功(Ganeshan, 1991)。现在许多国家将其作为珍稀食用菌推广栽培(Kazunari *et al.*, 1995; Kim *et al.*, 1998; 刘月廉等, 2001; 郭翠英和沈育芬, 2002)。

根据大白口蘑生长的生境特点,以及其营养菌丝具有锁状联合,并可进行人工栽培等特点,可明确断定大白口蘑并非菌根菌。本研究结果与Pegler等(1998)和Deng等(2004)的研究相互印证。

虽然担子菌类产生的无性孢子的种类或现象比较稀少(杨新美, 2001),但少数伞菌也被证明可以通过厚垣孢子进行无性繁殖,如:灰盖鬼伞 *Coprinus cinereus* (Schaeff.) Coole (Lewis, 1961)和草菇 *Volvariella volvacea* (Bull. ex Fr.) Sing (Chang & Yan, 1971)。在本研究中,观察到了大白口蘑双核菌丝产生的厚垣孢子,并且菌丝的保存时间与厚垣孢子的产生量呈正相关。大白口蘑厚垣孢子在菌丝上的着生方式绝大多数为顶生,宽卵圆形,萌发快,存活率高。由于厚垣孢子是由已存在的菌丝细胞逐渐被一层厚细胞壁所包被整个转化而来,这不仅构成了大白口蘑生活史中的无性小循环,丰富了大白口蘑生活史的内容。更为重要的是,厚垣孢子保持亲本的遗传稳定性,具有抗低温、干燥、无氧等逆境的能力,在菌种保存中可防止菌种退化,利于长期保藏,可为大白口蘑的人工培养提供遗传稳定的菌种。

大白口蘑作为一种珍贵的资源,不同地方的野生菌塘子实体具有丰富的遗传变异(汤洪敏等, 2007),颇具开发利用价值。其野生菌塘在云南分布较多,有必要对其进行有效保护和合理的开发利用。但在对大白口蘑开发利用过程中,应广泛收集不同地区的野生种质资源,为其人工栽培选育更多的优质菌株。

## [REFERENCES]

- Alexopoulos CJ, Mims CW, 1979. *Introductory Mycology*, 3<sup>rd</sup> ed. New York: John Wiley & Sons. 1-632
- Chang ST, Mao XL, 1995. *Hong Kong Mushrooms*. Hong Kong: The Chinese University of Hong Kong Press. 1-209
- Chang ST, Yan CK, 1971. *Volvariella volvacea* and its life history. *Am J Bot*, 58: 552-561
- Deng H, Yao YJ, Pegler DN, 2004. An annotated checklist of *Tricholoma* from China. *Journal of Fungal Research*, 2(1): 1-18
- Ganeshan G, 1991. Cultivation of *Tricholoma lobayense* Heim on paddy straw substrate. *Mushroom Journal for the Tropics*, 10: 31-33
- Guo CY, Shen YF, 2002. A study on the characteristic of *Tricholoma giganteum* strain. *Edible Fungi*, 3: 11-12 (in Chinese)
- Kazunari I, Yoshinori T, Yoshikazu M, Toshirou M, 1995. Fruiting-body formation of *Tricholoma giganteum* on artificial

- medium. *Environment Control in Biology*, **33**(3): 169~174
- Kim HK, Kim YS, Seok SJ, Kim GP, Cha DY, 1998. Artificial cultivation of *Tricholoma giganteum* collected in Korea (I) - Morphological characteristics of fruitbody and environmental condition in habitat of *T. giganteum*. *Korean Journal of Mycology*, **26**(2): 182~186
- Lee DH, Kim JH, Park JS, Choi YJ, Lee JS, 2004. Isolation and characterization of a novel angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptide derived from the edible mushroom *Tricholoma giganteum*. *Peptides*, **25**: 621~627
- Lewis D, 1961. Genetical analysis of methionine suppressors in *Coprinus*. *Genet Res Camp*, **2**: 141~155
- Liu F, Ooi VEC, Xing LJ, Zhao L, Zhang ST, 2000. Antitumor mechanism of polysaccharide-protein complex from the culture filtrate of *Tricholoma Lobayense*. *Mycosystema*, **19**(3): 396~400
- Liu YL, Tan SM, Wun MY, Liang EY, 2001. A study on the isolation and identification of wild *Tricholoma giganteum* strain. *Acta Edulis Fungi*, **8**(2): 19~23 (in Chinese)
- Lu CY, Zhang YJ, Zhang M, 2001. Studies on the *Tricholoma giganteum* from Jishou. *Microbiology*, **28**(4): 20~24 (in Chinese)
- Mau JL, Lin HC, Song SF, 2002. Antioxidant properties of several specially mushrooms. *Food Research International*, **35**: 519~526
- Pegler DN, Lodge DJ, Nakasone KK, 1998. The pantropical genus *Macrocybe* gen. nov. *Mycologia*, **90**(3): 494~504
- Tang HM, Wu G, YU H, 2007. Genetic diversity of *Tricholoma giganteum* Massee in Yunnan. *Mycosystema*, **26**(2): 297~301 (in Chinese)
- Wang HX, Ng TB, 2004. Purification of a novel low-molecular-mass laccase with HIV-1 reverse transcriptase inhibitory activity from the mushroom *Tricholoma giganteum*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **315**: 450~454
- Wang YZ, Zhang ZF, Chen XQ, He YH, Yuan SH, 2004. Biological studies on the *Tricholoma giganteum* Massee, a rare and precious wild Mushroom in Yunnan. *Journal of Yunnan Agricultural University*, **19**(6): 708~711 (in Chinese)
- Yang XM, 2001. Impartment and exploitations of mycology in China. Beijing: China Agriculture Press. 1~295 (in Chinese)
- Zhang XM, Zhang HY, Zhang Y, 2003. Observation of chlamyospores produced from *Hericium erinaceus* monocaryotic mycelium. *Mycosystema*, **22**(3): 436~440 (in Chinese)

#### [附中文参考文献]

- 郭翠英,沈育芬,2002.大白口蘑属 1 菌株的特性研究.食用菌, **3**:11~12
- 刘月廉,谭树明,温美英,梁恩义,2001.野生洛巴伊口蘑菌株的分离与鉴定.食用菌学报, **8**(2):19~23
- 卢成英,钟以举,张敏,2001.吉首大白口蘑(*Tricholoma giganteum*)研究.微生物学通报, **28**(4):20~24
- 汤洪敏,吴刚,虞泓,2007.云南野生大白口蘑遗传多样性研究.菌物学报, **26**(2):297~301
- 王元忠,张振富,陈兴全,何永宏,袁赛华,2004.云南珍稀野生菌长柄口蘑生物学研究.云南农业大学学报, **19**(6):708~711
- 杨新美,2001.中国菌物学传承与开拓.北京:中国农业出版社,1~295
- 张筱梅,张焕英,张渊,2003.猴头菌单核菌丝厚垣孢子的观察.菌物系统, **22**(3): 436~440