

# 金针菇菌株的 PAGE 与 SDS-PAGE 鉴别法的研究

黄大斌 翁启勇 陈体强 (福建农科院植保所 350013)

目前,金针菇菌株各自命名的现象很普遍,从而造成菌种名称上的混乱。采用不同菌株之间拮抗反应的方法进行鉴别,又不能区别在遗传性状上有密切联系的菌株;根据形态特征分类方法,又易受到各种环境因素的干扰。本文采用 PAGE 与 SDS-PAGE 方法,对国内外 11 个不同的金针菇菌株进行鉴别测定。

## 材料与方法

一、供试菌株来源 菌株白 15 (粗)、白 1 号 (中)、白 208 (细) 由同安县真菌所提供;白 R18、白 1 号宝是由厦门杏林地区农户提供;黄 (A 号)、GB 白是由南安县农户提供;杂交 19 是由三明真菌所提供;上海 9 号由建瓯县芝城镇食用菌经营部提供;8909 (E)、8909 (B) 是本所从日本小林先生赠送的金针菇样品中分离得到。这 11 个菌株除黄 (A 号)、杂交 19 是黄色外,其余菌株的子实体颜色皆表现为白色。

二、样品制备 将 11 个菌株分别移接于 PDA 斜面上,于 25℃ 恒温培养约 20 天,然后刮取菌苔约 1 克,加入 1 毫升左右 TBE [其配方为 0.1M Tris(三羟甲基氨基甲烷),0.1M H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>(硼酸),0.1M EDTA(乙二胺四乙酸二钠)等量混合] 提取液,在 0℃ 冰冻下研磨成糊状,于 -15℃ 冻融两次,再置转速为每分 8000 转离心机中分离 10 分钟,后取上清液,置冰箱中冻存待用。

## 三、电泳

(一) 酯酶同工酶电泳 采用 PAGE 法,分离胶浓度为 10%、胶层厚 0.15 厘米, pH8.8; 浓缩胶浓度为 3.4%、pH6.7。电极缓冲液为 Tris-甘氨酸系统, pH8.3。电泳前取样品融化后,与样品缓冲液(甘油 3 毫升, TBE 缓冲液 7 毫升, 溴酚蓝 0.001 克) 2:1 混匀,每槽点样量为 100 微升,稳定电流为 40 毫安(4 小时),待溴酚蓝泳动至凝胶另一端约 1 厘米时停止电泳,在凝胶上标记前段指示剂迁移位置。

(二) 可溶性蛋白质电泳 采用 SDS-PAGE 法,即在电极缓冲液中加入 10% SDS (十二烷基硫酸钠),

样品缓冲液改为 β-巯基乙醇 (98%) 1 毫升、甘油 2.0 毫升、TBE 7.0 毫升、溴酚蓝 0.001 克。胶厚 0.3 厘米,电泳前 2:1 混匀后沸浴 1 分钟左右再加样,点样量为 150 微升,其他过程同 1。

## 四、染色

(一) 酯酶同工酶染色液 称取 α-萘酚, β-萘酚各 40 毫克,用等量丙酮溶解后,加入坚牢蓝 40 毫克,用 0.2M (pH6.4) 磷酸缓冲液稀释至 150 毫升。电泳完毕

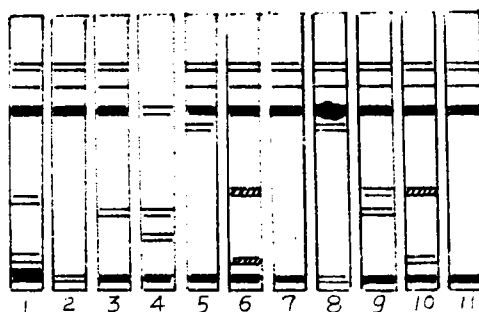


图 1 金针菇菌株酯酶同工酶 PAGE 图谱

注: 1. 白 15 (粗); 2. 8909 (E); 3. 白 R18; 4. 白 1 号 (宝); 5. 黄 A 号; 6. GB 白; 7. 白 208 (细); 8. 杂交 19; 9. 上海 9 号; 10. 8909 (B); 11. 白 1 号 (中)。酶谱带黑色示染色很深,斜线示染色较深,白色示染色浅的。

表 1 金针菇酯酶同工酶的迁移率(Rf 值)

品 种	1	2	3	4	5	6
白 15(粗)	0.21	0.28	0.37	0.69	0.90	0.98
8909(E)	0.21	0.28	0.37	—	—	0.98
白 R18	0.21	0.28	0.37	0.72	—	0.98
白 1 号(宝)	—	—	0.37	0.72	0.90	0.98
黄(A号)	0.21	0.28	0.37	0.39	—	0.98
GB(白)	0.21	0.28	0.37	0.67	0.90	0.98
白 208(细)	0.21	0.28	0.37	—	—	0.98
杂交 19	0.21	0.28	0.37	0.38	—	0.98
上海 9 号	0.21	0.28	0.37	0.67	0.72	0.98
8909(B)	0.21	0.28	0.37	0.67	0.90	0.98
白 1 号(中)	0.21	0.28	0.37	—	—	0.98

表 2 不同时间 4 种红萍体内蛋白质和粗纤维含量

时间	成分(干重%)	卡洲萍	羽叶萍	小叶萍	细绿萍
1 月	粗蛋白	14.9	13.4	12.5	20.2
10 月	粗蛋白	20.6	25.5	21.0	
10 月	粗纤维	8.5	8.8	11.7	

## 讨 论

周年试验的结果表明,周年养鱼的最佳红萍品种搭配应是:冬季用细绿萍,春季用卡洲萍,夏季用卡洲萍和羽叶萍,秋季用羽叶萍。

(主要参考文献 6 篇略)

将凝胶剥离、立即浸入染色液中, 32℃温育, 待酶带显现清晰后(约30分钟), 倾去染色液, 将凝胶漂洗后浸入7%醋酸溶液脱色、漂洗后观察。按比例将酶带位置、染色深浅、宽度等描在坐标纸上绘成图谱(图1)。

(二)可溶性蛋白质染色液 称取2.5克考马斯亮蓝R, 用90毫升醋酸溶液溶解后, 加入450毫升甲醇、450毫升蒸馏水配制成染色液。电泳完毕将凝胶剥离, 立即转移至染色液中, 染色固定1~2小时后倾去染色固定液, 用清水漂洗后, 移入洗脱液中(含9%冰乙酸, 45%甲醇)浸泡数小时(其间更换洗脱液1~2次)直至凝胶底色清亮为止。经洗脱后的凝胶在清水中浸泡复原后, 按比例将蛋白带条数、位置、着色深浅等描在坐标纸上, 绘成图谱(图2)。

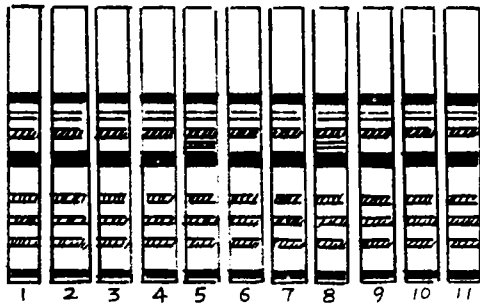


图2 金针菇菌丝体可溶性蛋白质 SDS-PAGE 主要谱带

注: 各代号相对应的菌株同表1。

表2 金针菇可溶性蛋白质主要谱带及迁移率

菌株	1	2	3	4	5	6	7	8	9
白15(粗)	0.34	0.40	0.45		0.57	0.71	0.78	0.85	0.99
8909(E)	0.34	0.40	0.45	0	0.57	0.71	0.78	0.85	0.99
白R18	0.34	0.40	0.45	0	0.57	0.71	0.78	0.85	0.99
白1号(宝)	0.34	0.40	0.45	0	0.57	0.71	0.78	0.85	0.99
黄(A号)	0.34	0.40	0.45	0.50	0.57	0.71	0.78	0.85	0.99
GB白	0.34	0.40	0.45	0	0.57	0.71	0.78	0.99	0.99
白1号(中)	0.34	0.40	0.45	0	0.57	0.71	0.78	0.85	0.99
白208(细)	0.34	0.40	0.45	0	0.57	0.71	0.78	0.85	0.99
杂交19	0.34	0.40	0.45	0.50	0.57	0.71	0.78	0.85	0.99
上海9号	0.34	0.40	0.45	0	0.57	0.71	0.78	0.85	0.99
8909(B)	0.34	0.40	0.45	0	0.57	0.71	0.78	0.85	0.99

### 结果和讨论

一、酯酶同工酶的酶谱及迁移率。从图1与表1中可以看出11个菌株可分4个类型: ①白15(粗)、GB(白)、8909(B)和上海9号4个菌株都有6条酶带, 而

除上海9号外其余菌株的6条酶带的Rf值都一样, 因此可以把这三个不同命名的菌株认为是同一个菌株。

②杂交19、黄(A号)、白R18三个菌株的酶带都有5条, 而且杂交19和黄(A号)的5条酶带的Rf值几乎一样, 这也符合其外观上同是黄色的特征。③白1号(中)、白208(细)、8909(E)三个菌株的酶带都是4条而且各酶带的Rf值都相同, 为此可以把其外观上不同看作是同一品种的不同性状表现或变种。④白1号(宝)也有4条酶带, 其活性较高, Rf值均在0.37以上, 所以可以看作是不同于其他4条酶带的菌株。

二、11个菌株都有Rf值0.37和0.98两条相同的酶带, 这可否作为金针菇与其他菇类不同的鉴别酶带。

三、可溶性蛋白谱及迁移率从图2及表2中可以看出, 在外观色泽上很相似的黄(A号)、杂交19, 其酶谱和Rf值很相似。而其他9个菌株子实体均为白色, 在可溶性蛋白谱上都同样具有8条Rf值都相同的谱带, 因此可溶性蛋白谱可以作为白色金针菇和黄色金针菇的早期品种鉴别。

四、通过11个菌株酯酶同工酶和可溶性蛋白谱的测定, 为深入研究金针菇的遗传代谢和品种的早期鉴别提供了依据。可以在子实体未形成前就能快速地通过菌丝体同工酶的测定与菌丝体可溶性蛋白谱的测定获得鉴别菌株的结果。

## 土壤缺硫与施硫肥效果

据中科院昆明生态所邓纯章等报道: 1978~1992年, 他们与云南、广东、广西、海南等省有关单位协作, 在四省的部分地区采集有代表性土样和植株2000多个进行化验。按化验结果, 把土壤全硫量在0.02%以下或有效硫含量在20毫克/公斤时, 初定为缺硫临界值; 全硫在0.01%以下或有效硫10毫克/公斤时, 初定为严重缺硫。据上划分, 在1460个土样中, 严重缺硫的占42.9%, 轻度缺硫的占47.3%。从取样的11类土壤中有10类土壤含硫量低于缺硫临界值。水稻土中全硫含量以潜育型含量最高(平均0.038%), 潜育型水稻土居中(0.014%), 淹育型最低(0.012%)。四省的163组田间施硫肥试验结果, 增产的占91%, 余为平产, 而1093组的同田简比试验结果, 增产的占95%, 余者也是平产。增产幅度在9.5%~52.7%。其中增产率多在12%~14.5%。但不同地区、不同硫肥用量、不同硫肥种类, 其增产效果也不一样。一般在湿热地区施磷石膏增效大于石膏和硫磺; 在冷浸田中硫磺增效则大于石膏。水稻田施磷石膏量一般为150~300公斤/公顷。

贤 摘自《土壤肥料》1994(3)