



外生菌根真菌组织分离培养基比较试验

顾真荣

纪大千

(上海市农科院食用菌所) (中科院昆明植物研究所)

外生菌根真菌中包括了大量美味可口的食用真菌,开展对外生菌根菌的研究乃是野生菌驯化中的主要内容。外生菌根菌纯培养的取得,可采用孢子分离法、子实体分离法和菌根组织分离法,其中子实体组织分离法是一种较常用的分离方法。用组织分离法获得纯培养的成功与否取决于所用的分离方法、培养基和培养条件。我们选用了国内外较常用的三种分离培养基,对14个属的20种外生菌根真菌进行了比较试验,结果报道如下。

材料与方法

(一)培养基配方 ① PDM 20%马铃薯汁500毫升,麦芽汁(12.7波美)100毫升,葡萄糖15克,维生素B₁50毫克,琼脂20克,蒸馏水加至1000毫升, pH5.5左右。② M-76: 磷酸二氢钾1克,硫酸镁0.5克,酒石酸铵0.5克,硫酸锌(1:500)0.5毫升,三氯化铁(1%)0.5毫升, B₁50微克,葡萄糖20克,琼脂20克,蒸馏水加至1000毫升, pH5.5左右。③ MMN: 氯化钙0.05克,氯化钠0.025克,磷酸二氢钾0.5克,磷酸氢二铵0.25克,硫酸镁0.15克,三氯化铁(1%)1.2毫升, B₁100微克,麦芽汁(12.7波美)100毫升,葡萄糖10克,琼脂20克,蒸馏水加至1000毫升, pH5.5左右。将上述培养基分装于25×200毫米试管中,每管装约20毫升,高压锅15磅灭菌25分钟,冷却后备用。

(二)分离方法 在野外采集较幼嫩的子实体,用刀小心地削去柄基部泥土和表面脏物,用清洁的纸包裹带回,当天采集当天分离。分离最好在无菌室(箱)内进行,但由于外出无此条件,便选择了洁静的房间,在分离时紧闭门窗进行操作。分离时将子实体一掰为二,再用解剖刀无菌操作,切取与菌

柄连接处的菌盖中心组织,组织块直径3~5毫米,迅速移放到试管斜面上。从每个子实体取三块大小一致的组织,随机移入三种不同培养基试管中,即分离同一菌株时,每种培养基只设一个重复。

(三)培养和鉴别 接种后置黑暗中于室温20℃左右培养。4~5天后检查斜面是否有污染。根据菌丝体直接从接种块上长出、生长缓慢及同种子实体形成的菌落形态一致的特征,初步确定所分离的为外生菌根真菌纯培养。

结果与讨论

三种培养基系7月14日配制,20种子实体分别于7月18日到8月2日分离接种,8月9日和21日两次检查菌丝生长情况,下表为第二次检查的结果。

上述三种培养基分离效果的比较试验,由于每个处理只设一个重复,所以存在着较大的偶然性,但从统计学意义上来说,PDM和MMN培养基20种菌种分离到9种,成功率45%;M-76培养基分离到7种,成功率35%。因此,PDM和MMN培养基为分离外生菌根菌较好的培养基。M-76培养基虽然成功率较低,但由于配方中无有机氮源,且碳氮比大,不易造成严重的细菌污染,另外对个别菌种来说,其生长速度要高于前两种培养基,所以也是可使用的分离培养基。对于包脚菇这类特别难于分离的菌根菌,上述培养基都不易分离成功,必需添加特殊的活性成分。

外生菌根真菌培养不同于腐生真菌。在用组织分离法获得纯培养时难度要大。根据我们的实践,外生菌根菌的组织分离需要抓好以下三个环节。①培养基要新鲜,尽可能防止斜面培养基脱水萎缩,选用大号试管,

三种培养基组织分离效果(菌丝生长与颜色)比较

菌 种 名 称	PDM	M-76	MMN	颜色
网柄粉孢牛肝 <i>Tylophilus indecicus</i>	+	+	+	棕褐
多汁乳菇 <i>Lactarius volemus</i>	-	-	-	
乳牛肝 <i>Suillus bovinus</i>	++	+++	++	灰白
块根蘑 <i>Clitocybe conglobata</i>	+++	++	+++	灰白
包脚菇 <i>Catathelasma ventricoga</i>	-	-	-	
褐疣柄牛肝 <i>Leccinum scabrum</i>	+	+	++	黄白
魔牛肝 <i>Boletus santanus</i>	-	-	-	
红见手青 <i>B. sanguinolentus</i>	-	-	-	
脆牛肝 <i>B. firmus</i>	-	-	+	灰褐
小美牛肝 <i>B. speciosus</i>	-	-	-	
红网牛肝 <i>B. luridus</i>	+	-	+	黄白
黄褐牛肝 <i>B. fulvus</i>	+	-	-	黄色
苦味牛肝 <i>Tylophilus felleus</i>	+++	+	++	黄白
虎皮假牛肝 <i>Boletinus pictus</i>	-	-	-	
鸡油菌 <i>Cantharellus cibarius</i>	-	+	-	白色
粉孢牛肝 <i>Pulveroboletus retipes</i>	+	-	+	灰褐
褐绒盖牛肝 <i>Xerocomus badius</i>	-	-	-	
黄豹斑鹅膏 <i>Amanita pantherina</i>	+	-	+	白色
美丽蜡伞 <i>Hygrophorus speciosus</i>	-	-	-	
松口蘑 <i>Tricholoma matsutake</i>	-	-	-	

注：“-”无菌丝；“+”有菌丝；“++”生长较好，菌落直径1cm左右；“+++”生长旺盛，菌落直径2cm以上。同一菌种的3支不同培养基斜面，凡有1斜面细菌污染严重，则该菌种不予以统计。有些菌种如松口蘑、褐绒盖牛肝等，可用其中一培养基分离得到，但这次由于只设一个重复未能分离到纯培养。

装入较多的培养基，为防止脱水萎缩，在分离前后均要用牛皮纸封口，pH应在5.5左右，用柠檬酸调节，每升可添加0.1~0.2克。②采用新鲜幼嫩的子实体作分离材料，不能挤压，不宜用水清洗；尽量避免雨天取样和分离，挑取的组织块要尽可能大些，当天采样

当天分离。③要在适温(20℃左右)和黑暗中培养，培养期间尽量不要多翻动；雨季因空气湿度大，试管棉塞最易污染霉菌，因此应放在空气较流通的培养室培养。

参 考 文 献

- [1] 周崇莲等：生态学报，3(2):103, 1985
- [2] In "Mycology Guidebook" (R. Stevens, ed), University of Washington press. Seattle and London, P679, 1981.
- [3] Marx, D. H., Phytopathology, 59: 153—163, 1969.

注：用于分离的子实体标本由减穆研究员鉴定。

香菇的浸水期管理

野外袋栽香菇，浸水催菇是整个管理过程的关键。现将浸水期管理中应注意的问题简介如下：

(一) 区别品种，适时浸水。

①早熟品种浸水：在正常温度下，一般58~65天脱袋，常常脱袋后即可出菇。这类品种大部分具中、低温型特性，在较低温度下仍能出菇。因水份消耗快，浸水时间要早，一般含水量在30%以下时便可浸水。浸水前用铁丝在菌棒两端各戳一个约10cm深的孔，首次浸水约2.5小时，以后浸水时间逐次延长。一只装500克干料的袋浸水后重约2150克。一般浸水后5~10天就出菇。②晚熟品种的浸水：在正常温度下，一般70~85天脱袋，脱袋后不出或很少出菇，且有蜡烛菇出现，从11月到次年3月底很少出菇。这期间管理要勤通风少喷水，以免菌丝霉烂，同时又要保持一定的水份，以利菌丝正常生长，但浸水一般不超过1小时，否则会出现蜡烛菇。这类菇要到清明前后大量出菇且来势猛，因此要在气温回升前一周进行浸水催菇(约3月底)。

(二) 加强管理，及时采收。

菌袋浸水后移入菇床，覆盖薄膜，前3~4天每天通风一次(15分钟)，一周后开始陆续出菇，一般每天早晚通风各一次，每次1~1.5小时。菇床空气湿度掌握在90%左右，因此要进行适量喷水。于采收前1~2天停止喷水。头批菇采完后全面停止喷水，进行强通风(晚上覆膜)，这样连续7~10天(温度低时每天通风2次，每次3~4小时，连续15~20天)，促使菌丝复壮。然后进行第二次浸水催菇。

古田县委报道组 李仕坦
古田县鹤塘乡 黄丰附



小集锦