

温度和接种物 对外生菌根真菌生长的影响

宋美金

(中科院昆明植物研究所)

随着菌根技术在林业上的广泛应用,目前国内有些地区出现外生菌根菌的菌种供不应求,其原因是绝大部分外生菌根菌人工培养生长的速度比腐生菌生长的速度慢,这是菌根菌的遗传特性所决定的,但有些是由于没有找到其最适合的温度,或选用的接种物不适合菌根菌生长。作者就云南目前在林业上应用得比较多的20种外生菌根菌,就其各个种的最适温度和选择最佳接种物进行了试验,现将结果总结如下。

材料和方法

(一)供试材料 20种外生菌根真菌是从云南省不同林下采集的新鲜子实体,经组织分离获得的纯种。接种物分别为:A松木屑;B腐殖土;C泥炭土;D阔叶树木屑;E砾石、泥炭土、阔叶树木屑,体积比为12:1:2;F砾石、阔叶树木屑,体积比为1:1。

(二)培养基 以MMN培养基为主要成分经修改为:氯化钙0.05g,硫酸镁0.15g,氯化钠0.025g,磷酸二氢钾0.5g,磷酸氢二铵0.25g,三氯化铁(1%)1.2ml,VB₁10mg,新鲜麦芽汁(约11波美)100ml,葡萄糖10g,蛋白胨2g,柠檬酸0.2g,琼脂18g,清水1000ml,高压灭菌后pH5.5~6。

(三)培养方法 用25×200mm试管注入20ml培

养基制斜面,接种0.5×1.0cm菌种块。每块上下边缘做好记号,分别置于15、20、25、30℃四种温度的恒温箱内培养。每隔5天测量接种块上下二端长出的菌丝体长度,相加为该菌株生长的速度,三组相加取平均值。

接种物按以上6种配方分别加入液体培养基(不加琼脂)拌匀,使其含水量为55~60%,装入17×33cm聚丙烯袋,每袋装量约1kg,料中央打一直径1.5cm的洞至料底部,袋口扎塑料环加棉塞,在121℃下灭菌2小时,冷却后每袋接入0.5×1.0cm菌种块,置于最适生长温度下培养,每菌株接不同接种物5袋,测各菌株在不同接种物上的生长速度。在最适温度下培养后20天,菌丝体在试管斜面上生长的长度分四个级别:一级生长极慢,2cm以下,以+表示;二级较慢,在2~3.9cm,以++表示;三级较快,在4~5.9cm,以+++表示;四级很快,在6cm以上,以++++表示。

结果和讨论

供试的20种菌种大多数能与松树类形成菌根,只有少数菌种能与桉树形成菌根,也有部分菌种能与多种树形成菌根。菌落颜色,有很多是与其实体颜色相同,如紫晶蜡蘑的子实体为淡紫色而菌落颜色也为淡紫色,这为分离纯菌种可作参考。最适生长温度,绝大部分为25℃,只有极少数由热带地区分离来的菌种如彩色豆马勃为30℃。外生菌根真菌的生长速度一般都比较慢,但也有极少数生长是很快的,如乳牛肝菌、紫晶蜡蘑等(表1)。

生长快的菌株一般对温度要求不很严格,如紫晶蜡蘑在15~30℃的均能快速生长(图1)。但多数菌株

表1 20种外生菌根真菌能形成菌根的树种及其生长情况

编号	菌种名称	能形成菌根树种	菌落颜色	最适温度(℃)	生长速度
G3-1	<i>Suillus bovinus</i> 乳牛肝菌	松、桉	白	25	++++
8628	<i>Laccaria amethystea</i> 紫晶蜡蘑	松、阔叶树	淡紫	25	++++
10516	<i>Cortinarius castaneus</i> 栗色丝膜菌	高山栎	白	25	+++
31	<i>Tricholoma matsutake</i> 松茸	松、高山栎	白	20	+
10419	<i>Phylloporus rhodoxanthus</i> 红黄褶孔菌	松、阔叶树	灰白	20	++++
21	<i>Xerocomus baolius</i> 褐皱盖牛肝菌	松	白	25	++
K137	<i>Pisolithus tinctorius</i> 彩色豆马勃	松、桉树	棕黄	30	++
10451	<i>Laccaria bicolor</i> 双色蜡蘑	松、杉、高山松	灰白	20	----
K80	<i>Rhizoglyphus luteolus</i> 黄须瓣菌	松	灰白	25	+++
10403	<i>Lyophyllum decastes</i> 荷叶离褶伞	高山松	灰白	25	++
27	<i>Lycoperdon pusillum</i> 小马勃	高山松、桉树	白	20	+
K45	<i>Suillus subulatus</i> 亚褐环乳牛肝菌	高山松	白	25	++
10425	<i>Russula lilacea</i> 淡紫红菇	云杉、松	淡棕色	20	+++
165	<i>Scleroderma cepa</i> 硬皮马勃	松、桉树	淡黄	25	+++
K159	<i>Suillus granulatus</i> 点柄乳牛肝菌	云南松	灰白	25	++
10519	<i>Lycoperdon perlatum</i> 网纹马勃	松	白	20	+
175	<i>Cenococcium geophilum</i> 空团菌	松、桉	灰黑	25	+
9061	<i>Suillus spraguei</i> 虎皮牛肝菌	华山松	淡黄	20	+
9071	<i>Boletus edulis</i> 美味牛肝菌	云南松	白	20	+
9063	<i>Lactarius deliciosus</i> 松乳菇	松	棕黄	25	++

如栗色丝膜菌只有在最适温度 25℃ 下才生长得快。

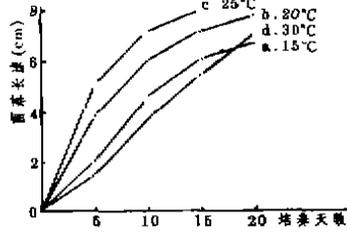


图 1 紫晶蜡菌不同温度下生长曲线

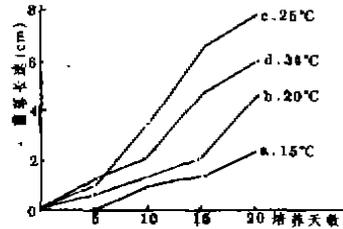


图 2 栗色丝膜菌不同温度下生长曲线

尽管培养基相同,均在最适温度条件下培养,但由于接种物的不同,各菌株的生长速度差异很大,多数菌种只能在少部分接种物上生长(表 2),这就给制种带来了困难。据我们试验,以石为主的接种物,绝大多数外生菌根真菌均能生长,这是因为石的透气性和保水性能均优于其他接种物。另外,一般在斜面培养基上生长较快的菌株,均能在多种接种物上生长,如紫晶蜡菌能在供试验的所有接种物上生长。

表 2 接种物对外生菌根真菌生长的影响

接种物	A	B	C	D	E	F
G3-1	++++	++++	++++	++++	++++	++++
8628	++	+	++	+	++++	++++
10516	-	+	++	+	++++	++
31	-	-	-	-	+	-
10419	-	-	-	-	++	-
21	-	-	-	-	+	-
K137	-	-	-	-	+++	+
10451	+	+	+++	+	++++	++
K80	++	++	++	++	+++	++
10403	+	+	+	++	+	+
27	+	-	+	++++	++	+++
K45	-	-	-	-	+	-
10425	-	-	+	-	++	-
165	-	-	-	-	+	-
K159	-	-	-	-	++	+
10519	++	+	+	+	++	+
175	-	-	-	-	+	-
9061	+	-	-	-	+	-
9071	-	-	-	-	+	-
9063	-	-	-	-	+	-

菌根技术在林业育苗上应用,其关键是选择菌丝生长迅速的优良菌株,这样才有实际应用价值。

注:供试菌种由臧穆教授鉴定。

茶碱

对美味侧耳子实体形成的影响

陶树兴 薛知文 景丹光

(陕西师大生物系)

影响食用菌子实体形成的因素,以往对碳氮源、无机盐、光、温度、CO₂ 等的效果研究较多。近年来对子实体形成的促进物质也有一些报道。3',5'-cAMP 和茶碱诱导子实体形成已引起人们的兴趣,但由于实验菌种和使用浓度不同,结果有差异。我们采用在培养基中加茶碱和菌丝长满瓶后喷茶碱两种方式,研究了茶碱对美味侧耳子实体形成的影响,现将结果报告如下:

材料和方法

(一)材 料 供试菌种为美味侧耳 (*Pleurotus sapidus*),引自山西大学生物系。母种培养基为 PDA。栽培料培养基为棉子壳 78%、麸皮 20%、蔗糖 1%、石膏 1%,料水比 1:1.6。

(二)方 法 采用将茶碱加入棉子壳培养基和菌丝长满瓶后喷茶碱溶液两种方式,各设 10 个处理,每处理 4 次重复。加入培养基的,是将一定量的茶碱母液加入配料所用水中,培养基中茶碱的最终浓度依次为 0(对照)、0.01、0.1、0.5、1、1.5、2、5、10、100ppm。喷雾的,是在菌丝长满瓶第 2 天,播菌后每瓶各喷对应浓度的茶碱溶液 5ml,然后移入出菇房,第 4 天再喷 5ml。对照组每次喷等量蒸馏水。移入出菇房后,每天定时观测各项考核指标。原基形成以瓶口现原基的日期为准。菌盖充分展开,边缘变薄、中间凹陷部分出现白茸毛时采收,统计成熟子实体数并称重。

结果与讨论

(一)对第一批菇的影响 茶碱对美味侧耳头批菇有明显的作用,从表 1 可以看出:①使用茶碱后,原基形成比对照早。经方差分析,茶碱加入培养基的, $F=27.668$; 喷雾的, $F=11.865$ 。两者 F 值都大于 $F(9, 30)_{0.01}=3.06$,表明各处理间存在极显著差异。用 LSD 法进行多重比较,茶碱加入培养基的, $LSD_{0.01}=0.308$, $LSD_{0.05}=0.228$; 喷雾的, $LSD_{0.01}=0.469$, $LSD_{0.05}=0.349$ 。结果两种方式中茶碱浓度为 0.01~10ppm 时,对照组与各处理之间的差值大于 $LSD_{0.01}$,差异极显著。②使用茶碱后,从原基形成到子实体成熟的天数比对照稍短,但经方差分析,差异不显著。③当茶碱浓度在 10ppm 以下时,无论是加入培养基的还是喷雾的,头批子实体数均有增加。经方差分析,茶