

在纯培养条件下温度对外生菌根 真菌生长的影响*

毕国昌

郭秀珍

臧穆

(中国科学院研究生院) (中国林业科学研究院林业研究所) (中国科学院昆明植物研究所)

摘要 在 MMN 培养基上, 用 5—40 °C 范围内的 15 种不同温度, 对云南省不同针叶林下 38 种常见外生菌根真菌的 44 个菌株进行纯培养试验。绝大部分菌株的最适生长温度为 25 °C, 最低临界生长温度为 7 °C, 最高临界生长温度为 35 °C。各种真菌在最适生长温度下的生长速度可分为快、中、慢三种类型。不同菌种的温度生长曲线形状也有多样: 一般有尖峰形、宽顶形和缓平形三种。文中还附有各菌株的生长速度、最适生长温度和临界生长温度表。

关键词 外生菌根真菌; MMN 培养基; 纯培养; 最适生长温度; 临界生长温度

在影响外生菌根真菌生长和生理代谢的生态因子中, 温度是最重要的因素之一^[4,8]。菌根真菌的分离、培养、繁殖、贮藏, 菌剂的工业化生产, 以及菌根接种的成功与否, 在很大程度上也是取决于温度条件。在筛选优良菌根真菌时, 首先也要了解该菌对不同温度的反应, 要求它们在较广的温度范围内都能有较快的生长速度^[10]。有许多外生菌根真菌还是珍贵的食用菌和药用菌。正确地理解这些真菌生长和温度的关系, 将促进这些珍贵真菌资源的开发利用。不同种外生菌根真菌, 甚至同一种真菌的不同菌株, 对温度的反应也有较大的差别^[4]。因此, 了解温度对各种外生菌根真菌, 甚至对各个菌株的影响, 是成功利用该菌株的重要条件之一。过去, 国内也曾对几种牛肝菌类外生菌根真菌的最适生长温度进行过试验^[2]。但对大量外生菌根真菌有关生长温度方面的资料很少报道。本文是云南省不同针叶林下 38 种常见的外生菌根真菌(其中许多种是常见的野生食用菌和药用菌) 44 个菌株在不同温度下进行纯培养的试验结果, 为这些真菌在生产实践上的应用提供了科学的数据, 同时也丰富了这些真菌的生态学和生物学内容。

一、试验材料和方法

(一) 试验材料

试验所用的 38 种外生菌根真菌 44 个菌株均从云南省中部和西北部海拔 1200—3700m 不同针叶林下采集的新鲜子实体上分离所得。这些菌种在国内外文文献中都曾报道是外生菌根真菌^[11,9]。其中绝大部分菌株经我们接种试验, 也都证明能与一种或几种树种形成外生菌根。

本文于 1988 年 12 月 6 日收到。

* 本课题系自然科学基金资助项目, 纪大千副研究员和张海平同志协助工作, 一并致谢。

(二) 培养基

采用的 MMN 培养基成分经再次修改如下: $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 0.25 g, KH_2PO_4 0.5 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.15 g, CaCl_2 0.05 g, NaCl 0.025 g, $\text{FeCl}_3(1\%)$ 1.2 ml, 新鲜麦芽汁(约1.05波美)100 ml, 葡萄糖15 g, 牛肉蛋白胨5 g, 维生素 B_1 1 mg, 柠檬酸0.2 g, 琼脂20 g, 加蒸馏水至1 000 ml。高压灭菌后 pH 值5.3—5.5。

(三) 培养方法

分离菌株先转接在盛有 MMN 培养基的平板上,在25℃下培养2—4周,形成母菌菌落备用。分别采用直径9 cm和15 cm的培养皿注入定量的 MMN 培养基。在预先培养好的母菌菌落的边缘,用孔径5 mm的灭菌打孔器打成圆形菌块。在每个盛有 MMN 培养基的培养皿中央接种一个菌块。然后放置在5—40℃范围内的15种不同温度的恒温箱内培养15 d。温度的梯度为 $2.5^\circ\text{C} \pm 0.5^\circ\text{C}$ 。每个温度级设两个重复。从接种后第三天起每隔1 d在2个固定的垂直方向测量菌落的直径。在整个培养期内共测量7次,并绘制每个菌株的温度生长曲线。

(四) 生长速度

菌株的生长速度根据它们在最适生长温度下培养15 d时的菌落平均直径划分为5级:

- 1级(生长极慢) + —— 菌落直径小于2.0 cm,
- 2级(生长较慢) + + —— 菌落直径为2.1—4.0 cm,
- 3级(生长中速) + + + —— 菌落直径为4.1—7.0 cm,
- 4级(生长较快) + + + + —— 菌落直径为7.1—9.0 cm,
- 5级(生长很快) + + + + + —— 菌落直径大于9.1 cm。

1级和2级可认为是生长慢速类型; 3级为生长中速类型; 4级和5级属于生长快速类型。

二、试验结果

(一) 最适生长温度和临界生长温度

兹将各菌株的最适生长温度、及其最低和最高临界生长温度,按其生长速度类型列如表1。

从表1可见,绝大部分菌株的最适生长温度为25℃,少数菌种为22℃;还有一些菌株,则为27℃。各菌株的最高和最低临界生长温度变化也较大。大多数菌株的最高临界温度为35℃,有少数菌株,在40℃下也能缓慢生长。但在40℃高温下培养2周的菌落重新放置在27℃的最适生长温度下,其菌丝的生活力已显著减弱,有的甚至完全丧失生命力。大多数菌株的最低临界生长温度为7℃,少数菌株,在5℃下也能缓慢生长。长期放置在5℃低温下的菌株即使已停止生长,一旦重新放置在室温条件下,它们都能很快地恢复生长,菌丝的生活力并不受影响。

(二) 生长速度

从表1还可以发现,在上述外生菌根真菌中,同一属的菌种大多属同一生长速度类型,但也有不少例外。例如牛肝菌属(*Boletus*)和乳牛肝菌属(*Suillus*)的大多数菌种都属于慢速生长类型,但灰盖牛肝菌则生长很快,而点柄乳牛肝菌的生长速度中等。又例如上述乳菇属(*Lactarius*)的5个菌种中4个是生长快速类型,但鲜红乳菇的生长速度中等,较其它4种慢得多(图1)。

表 1 云南省不同针叶林下常见的外生菌根真菌的生长速度及其最适和最低、最高临界生长温度

生长类型	菌种	采集的林分	海拔高 (m)	生长温度(°C)		生长速度
				最 适	临 界	
快速生长类型	<i>Boletus griseus</i> (灰盖牛肝菌)	云南松林	2 000	27	7—30	++++
	<i>Cantharellus cibarius</i> (鸡油菌)	长卷冷杉林	3 600	22	10—30	++++
	<i>Gomphidius roseus</i> (粉红铆钉菇)	云南松、栎混交林	2 000	22	12—40	++++
	<i>Laccaria bicolor</i> (二色蜡蘑)	大果落叶松林	3 600	22	5—30	++++
	<i>Lactarius comphoratus</i> (浓香乳菇)	丽江云杉、高山栎林	3 500	25	5—30	++++
	<i>L. deliciosus</i> (松乳菇)	大果落叶松林	3 600	27	7—40	++++
	<i>L. helvus</i> (蜡黄乳菇)	云南松、栎混交林	2 000	25	5—30	++++
	<i>L. hygrophoroides</i> (湿乳菇)	"	2 000	25	7—35	++++
	<i>Lycoperdon pratense</i> (草地马勃)	"	2 000	22	5—30	++++
	<i>Oudemansiella hygrophoroides</i> (蜡伞状小奥德蘑)	丽江云杉林	3 400	25	7—35	++++
	<i>Phylloporus borneensis</i> (南洋褶孔菌)	"	3 000	25	—	++++
	<i>Russula lutea</i> (黄红菇)	思茅松林	2 000	27	7—35	++++
<i>Scleroderma polyrhizum</i> (多根硬皮马勃)	思茅松林	1 400	25	10—40	++++	
中速生长类型	<i>Amanita pantherina</i> (豹斑鹅膏)	云南松、栎混交林	2 000	25	7—35	+++
	<i>A. pantherina</i> (豹斑鹅膏)	丽江云杉林	3 400	25	5—30	+++
	<i>Boletinus pinetorum</i> (松林小牛肝菌)	思茅松林	2 000	25	5—30	+++
	<i>B. pinetorum</i> (松林小牛肝菌)	"	1 400	25	5—30	+++
	<i>Cortinarius castaneus</i> (栗色丝膜菌)	高山栎林	3 550	25	12—35	+++
	<i>C. elegantior</i> (雅致丝膜菌)	云南松、栎混交林	2 000	25	7—30	++
	<i>Lactarius hygginus</i> (鲜红乳菇)	思茅松林	1 400	25	7—30	+++
	<i>Rhizopogon luteolus</i> (淡黄须腹菌)	云南松林	2 000	25	7—35	+++
	<i>Rh. luteolus</i> (淡黄须腹菌)	思茅松林	1 400	25	7—40	++
	<i>Rh. nigrescens</i> (淡黑须腹菌)	丽江云杉林	3 300	27	10—30	+++
	<i>Rh. sp.</i> (须腹菌之一种)	云南松、栎混交林	2 000	22	10—35	+++
	<i>Russula atropurpurea</i> (黑紫红菇)	丽江云杉林	3 400	25	7—35	+++
	<i>R. fellea</i> (苦红菇)	云南松林	2 000	22	5—35	+++
	<i>S. rubra</i> (大红菇)	油杉林	1 900	25	5—35	+++
	<i>Suillus granulatus</i> (点柄乳牛肝菌)	思茅松林	1 200	25	10—35	+++
<i>Tricholomopsis rutilans</i> (拟白蘑)	云南松、栎混交林	2 000	25	10—30	+++	
<i>Tr. rutilans</i> (拟白蘑)	丽江云杉林	3 300	25	7—30	+++	
慢速生长类型	<i>Boletus edulis</i> (美味牛肝菌)	云南松林	2 000	25	7—30	++
	<i>B. speciosus</i> (华美牛肝菌)	"	1 900	25	10—35	++
	<i>Clitocybe conglobata</i> (丛生杯伞)	高山松、栎林	3 200	25	—	++
	<i>Gyroporus castaneus</i> (栗色圆孔牛肝菌)	云南松、栎混交林	2 000	25	—	+
	<i>Inocybe fastigiata</i> (黄丝盖伞)	油杉林	1 900	25	10—35	++
	<i>Leccinum scabrum</i> (褐疣柄牛肝菌)	丽江云杉林	3 400	22	5—30	++
	<i>Pisolithus tinctorius</i> (彩色豆马勃)	云南松林	2 000	27	10—35	++
	<i>P. tinctorius</i> (彩色豆马勃)	云南松、栎混交林	1 800	27	10—35	++
	<i>P. tinctorius</i> (彩色豆马勃)	思茅松林	1 600	27	10—40	++
	<i>P. tinctorius</i> (彩色豆马勃)	"	1 200	27	10—40	++
	<i>Suillus bovinus</i> (乳牛肝菌)	高山松、栎林	3 300	25	10—30	++
	<i>S. luteus</i> (褐环乳牛肝菌)	云南松、栎林	2 000	25	10—30	++
	<i>S. subluteus</i> (微褐环乳牛肝菌)	高山松、栎林	3 200	25	10—30	+
<i>Xerocomus chrysenteron</i> (红线盖牛肝菌)	云南松林	1 800	25	10—30	+	

在同一菌种内，不同菌株的生长速度往往差异不大，尤其是在森林生态环境条件比较近

似的各种森林类型内，同种真菌不同菌株的最适生长温度和临界生长温度也都相同，其温度生长曲线也很相似，以彩色豆马勃为例见图 2。用其中任一菌株接种在云南松、湿

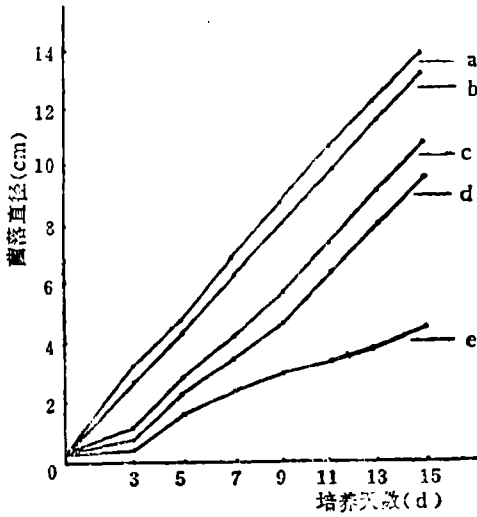


图 1 乳菇属几种外生菌根真菌在最适生长温度下菌落的生长速度。

- a. 浓香乳菇(22℃)
- b. 松乳菇(22℃)
- c. 湿乳菇(25℃)
- d. 蜡黄乳菇(22℃)
- e. 鲜红乳菇(25℃)

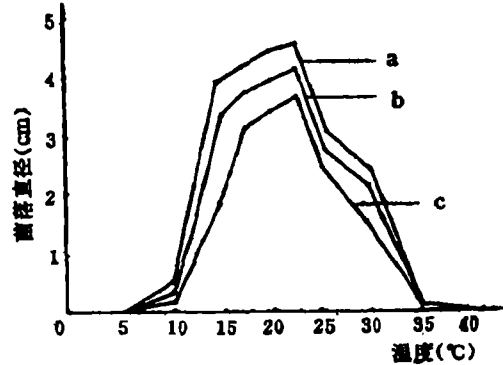


图 2 彩色豆马勃不同菌株的温度生长曲线

- a. 海拔1200 m湿地松人工林下的86090号菌株
- b. 海拔1600 m思茅松林下的86095号菌株
- c. 海拔2000 m云南松林下的85007号菌株

地松、加勒比松和桉树幼苗上都能形成金黄色的外生菌根。

但在森林生态环境条件差异悬殊的不同森林内所采集的同种真菌的不同菌株，虽然生长速度比较接近，但温度生长曲线可能不同。例如，豹斑鹅膏在海拔3 400 m 的丽江云杉林下的85031号菌株和海拔2 000 m麻栎、云南松混交林下的85015号菌株，都属中速生长类型，最适生长温度也都是25℃，但在25℃下前者菌落生长速度要比后者慢些。然而，在10℃的低温条件下前者则比后者生长要快，而且最低临界温度也要低一些，在5℃下也能生长。两者的温度生长曲线并不相似(图 3)。用低海拔云南松林下所采集的85015号菌株接种高海拔地区生长的丽江云杉和长苞冷杉幼苗，其菌根感染率很低。看来，由于它们长期生活在各自不同的森林环境中，已经形成了不同的生态类型。

(三) 温度生长曲线

从温度与菌落直径的生长关系来看，大多数菌株自15℃起，菌落生长就迅速加快，到22℃或27℃时，生长速度达到最大。在这一段温度范围内，菌落的生长速度是随温度的升高而逐渐增加。但超过了最适生长温度后，菌落的生长速度就随温度的升高而急剧降低，其温度生长曲线几乎都是前缓后陡(图 4)。从温度生长曲线的峰形来看，大致可以分为三种：一种是尖峰形，其最适生长温度形成很尖的高峰，范围只有1—3℃(图 4-a)。如蜡伞状小奥德蘑、豹斑鹅膏、草地马勃、淡黄须腹菌和淡黑须腹菌等。另一种是宽顶形，其温度生长曲线的顶部较宽，适宜生长温度范围有5—7℃(图 4-b)。如松林小牛肝菌、彩色豆马勃、湿乳菇、多根硬皮马勃等。第三种是缓平形，这些菌株的适宜生长温度范围更宽，一般在相差10—15℃范围内生长速度变化都不很大。其温度生长曲线的前半段是平缓上升，后半段的

下降也较缓，已没有显著突起的高峰(图 4-c)。如点柄乳牛肝菌、美味牛肝菌、华美牛肝菌、灰盖牛肝菌、大红菇、苦红菇、黄红菇、松乳菇、浓香乳菇、二色蜡蘑、栗色丝膜菌、褐疣柄牛肝菌等。

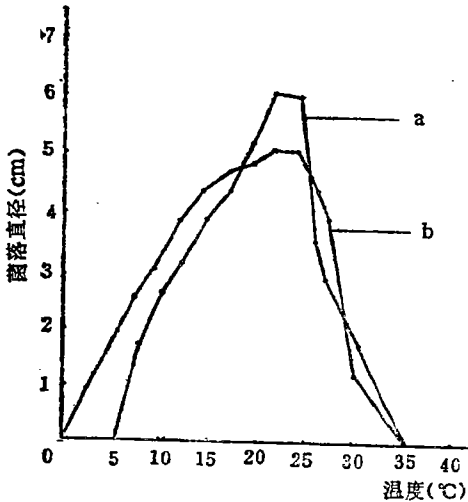


图 3 豹斑鹅膏不同菌株的温度生长曲线
a. 海拔2000m云南松林下的85015号菌株
b. 海拔3400m丽江云杉林下的85031号菌株

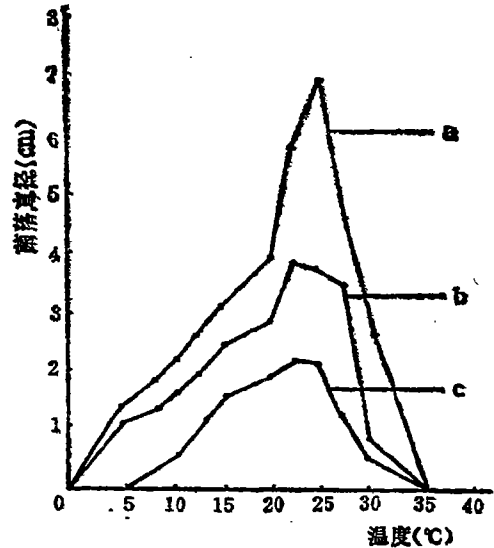


图 4 不同外生菌根真菌的温度生长曲线形状
a. 伞状小奥德蘑，尖峰形；b. 松林小牛肝菌，宽顶形；c. 点柄乳牛肝菌，缓平形

三、讨 论

1. 本试验也曾同时采用液体培养称量菌丝生物量的方法进行对比。结果表明，除气生菌丝特别发达的菌种，如彩色豆马勃等外，大多数菌种的菌丝干重与固体培养基上的菌落直径都成一定的比例。由于固体培养测定菌落直径的方法简便，而且在同一处理的不同重复样品间数据差异较小，所以本文采用了固体培养测定菌落直径的数据。

2. 一般来说，同一菌株在人工纯培养条件下对温度的要求，与在自然条件下是不相同的。在自然条件下，其适宜生长温度的范围往往要宽一些，最低临界生长温度也要低一些，最高临界生长温度也可能要高得多。而且菌丝的最适生长温度也不一定就是形成菌根的最适温度^[4,7]。因为形成菌根的条件是多方面的，其中还包括寄主植物与温度的关系在内。不过，人工纯培养条件下各种菌根真菌的生长与温度的关系，不仅是真菌的培养、繁殖和菌剂生产的重要因素，也是选择优良菌株的重要条件。对于一个优良的外生菌根真菌来说，要求具备生长速度快，适宜生长的温度范围广，温度生长曲线呈缓平形或宽顶形，最低临界生长温度较低，最高临界生长温度较大，具有较强的耐寒或耐热性。这样的菌株在自然条件下才有较强的适应能力。

3. 在人工接种培育菌根化苗木时，尽量不要用森林环境条件差异很大的菌株来接种。

参 考 文 献

- [1] 毕国昌等, 1989, 滇西北高山针叶林区主要林型下外生菌根真菌的分布, 林业科学, 25(1):33—39.
- [2] 郭秀珍, 1981, 松树外生菌根真菌——牛肝菌(*Boletus* sp.)和厚环粘盖牛肝菌(*Suillus grevillei*)对立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)的作用, 森林病虫通讯, (2): 1—6.
- [3] Hackaylo, E. P. et al., 1965, Effect of temperature on growth and respiration of ectotrophic mycorrhizal fungi, *Mycologia*, 57, 748—749.
- [4] Harley, J. L. et al., 1983, Mycorrhizal symbiosis. Chapt. 7, *Acad. Inc.*, 157—195.
- [5] Hung, L. L. et al., 1978, Physiological studies on two ectomycorrhizal fungi, *Pisolithus tinctorius* and *Suillus bovinus*., *Trans. Mycol. Soc. Japan.*, 19, 121—127.
- [6] Laiho, C., 1970, *Paxillus involutus* as a mycorrhizal symbiont of forest trees., *Acta For. Fenn.*, 106, 1—65.
- [7] Marx, D. H. et al., 1970, Influence of temperature on aseptically synthesized ectomycorrhizae by *Thelephora terrestris* and *Pisolithus tinctorius* on loblolly pine, *For. Sci.*, 16, 424—431.
- [8] Theodorou, C. et al., 1971, Influence of temperature on the mycorrhizal association of *Pinus radiata*, *D. Don. Aust. J. Bot.*, 19, 13—20.
- [9] Trappe, J. M., 1962, Fungus association of ectotrophic mycorrhizae, *Bot. Rev.*, 28, 538—606.
- [10] Trappe, J. M., 1977, Selection of fungi for ectomycorrhizal inoculation in nurseries, *Ann. Rev. Phytopathol.*, 15, 203—222.

INFLUENCE OF TEMPERATURE ON COLONY GROWTH OF ECTOMYCORRHIZAL FUNGI IN PURE CULTURE

Bi Guochang

Guo Xiuzhen

(Graduate School, Academia Sinica)

(The Research Institute of Forestry CAF)

Zang Mu

(Kunming Institute of Botany, Academia Sinica)

Abstract 44 isolates of ectomycorrhizal fungi comprising 38 species were cultured on MMN medium at 15 temperature gradients from 5°C to 40°C for 2 weeks. For growth of most isolates, the optimum temperatures ranged from 22 to 27°C with the optima of 25°C. Most isolates stopped growing at 10°C and 35°C. A few isolates had a poor growth at 5°C and 40°C, but at the highest growth temperature for a long time, the isolates were much weakened, even lost their vitality at all. Most isolates of genera *Boletus*, *Leccinum*, *Suillus*, *Xerocomus* and *Pisolithus* were fungi of slow growing type, while those of genera *Laccaria*, *Lactarius*, *Cantharellus*, *Lycoperdon*, *Gomphidius*, *Russula* and *Oudemansiella* were fungi of fast growing type, and fungi of

genera *Amanita*, *Boletinus*, *Cortinarius*, *Rhizopogon*, *Scleroderma* and *Tricholomopsis* grew intermediately. But [there were always many exceptions. Different isolates within a species collected from different forest sites maybe react to the temperature variation diversely. For instance, the isolates of *Amanita pantherina* collected from the spruce forest at altitude above 3400m grew slower than that collected from the pine forest of altitude about 2000m, but it grew faster than the later at low temperature of 10°C for it has long been adapted to the cold alpine circumstance. They were apparently fungi of different ecotypes. From the point of view of selection of ectomycorrhizal fungi, the isolates are required to possess the fast growing ability, to have a more wide range of optimum growth temperature and to be resistant to extreme temperatures.

Key words ectomycorrhizal fungi; MMN medium; pure culture; growth optimum temperature; growth critical temperature.

第五届国际植物病理学术会议概况

1988年8月19—28日在日本京都参加了第五届国际植物病理学术会议。该会由日本科学委员会、国际植物病理学会、日本植物病理学会和植物保护协会组织，由日本Kiyoshi Yora教授担任主席。出席会议的有日、美、英、加、中、法、意、荷、朝、泰等国代表2000余名。我国参加39名，约占2%，其中林业系统4名。大会共收到论文2000余篇，中国提交了40余篇，其中我院提交了两篇（“接种VA菌根真菌的葡萄组培苗对霜霉病的影响”和“外生菌根菌同立枯丝核菌重寄生关系的研究”），在分组会上进行了宣读，并被列入“墙报”展出，评价较好。

这次会议来自各国的代表阵容大，论文内容丰富，涉及到植物病理学的各个领域。为了便于交流，会议安排了大会报告、学科分组会议、各专题卫星会议、墙报、测试仪器设备等展销、会前会后有关专业会议等活动，使大家了解到植物病理研究的现状、进展及展望。大会报告共有四大专题：水稻病害、植物保护生物技术、植物病害生物防治和杀菌剂最新进展。学科分组会议有病毒学、细菌学、真菌学、线虫、土传植物病害、植物病原生理、抗性遗传、病害流行和作物损失分析、植物病害防治、森林病理、热带植物病害、种子病害、作物储藏病害、环境污染、真菌毒素、教育等。涉及森林病理的有松树萎蔫病、热带树病、锈病新进展、针叶和阔叶树溃疡、腐朽生物学、树木侵害反应、病原菌—昆虫相互作用等。

在这次会议中，京都农林水产省林业试验场邀请了各国从事林病研究的专家、学者到该场举行宴会，中国参加者有本人和四川省林科所的陈守常高级工程师。会议期间，以中国科协副主席裘维蕃教授为首的中国代表与台湾学者欢聚一堂，畅谈海峡两岸同胞在日本进行的学术交流，增进了友谊，为完成统一祖国大业，发展植病事业尽心尽力。会后共同合影留念。

（中国林业科学研究院林业研究所 郭秀珍）