

矿物油中保存真菌存活期限的检测*

杨之为 李有志 宗兆锋
(西北农业大学植物保护系, 杨陵 712100)

摘 要 检测了矿物油中保存了 14~ 45 年的 131 株真菌, 存活率为 44. 6%。这些存活菌株分属于真菌 4 个亚门中的 19 个属。有一种半知菌系存活达 45 年。不同保存期限的菌株存活率不同, 保存 14~ 16 年的存活率为 94. 1%, 26~ 28 年的为 100%, 30~ 39 年的为 24. 3%, 40~ 45 年的为 43. 3%。群体存活率与保存期限并无一致性, 主要取决于群体的构成; 矿物油中保存的真菌存活年限目前尚无法定论, 有待进一步研究。

关键词 矿物油, 保存真菌, 存活期限
中国分类号 S432. 44, Q939. 5-3. 36

矿物油保存法是菌种保藏方法中简单、有效、应用最普及的一种。用此法保存真菌, 其存活年限是菌种收藏者最为关注的问题。1995 年, 作者研究了西北农业大学植病研究所生态病理研究室保存矿物油中的 131 个真菌菌株 (其中 50~ 70 年代的菌株为 仇元先生所分离)。现将其存活情况介绍如下。

1 材料和方法

供试菌株为室温、矿物油中保存于 PDA 试管斜面上的培养菌 131 株。用 PDA 培养基作复活培养。在 cj-1 型超净工作台上, 倒出供试菌管中的液体矿物油, 用灭菌拔针在斜面中央取小块菌块, 对于干燥的培养物, 取其全部置于灭菌滤纸上, 待菌块上的矿物油被吸干之后, 将菌块移至 PDA 平板, 25℃ 下恒温培养, 7~ 10 d 后观察。比较复活菌株与原始菌株的菌落形态并镜检, 确认二者无异后转培于 PDA 试管斜面培养保存。在 10 d 后未形成菌落者视其未能存活。

2 结果与分析

对 1951~ 1982 年间保存的 131 株真菌菌株, 按照保存期限分别对它们的存活情况列表进行分析。保存 14~ 16 年的 16 个供试菌株绝大部分是镰刀菌 (*Fusarium* spp), 它们全部存活 (表 1), 一方面可能是保存期限较短, 另外也说明镰刀菌具有较强的存活能力。

表 1 矿物油中保存 14~ 16 年菌系的存活情况

菌名	保存起始日期	存活株数 / 总株数	寄 主
<i>Fusarium avenaceum</i>	1982. 11	1/1	?
<i>F. equiseti</i>	1982. 11	1/1	?
<i>F. gramineum</i>	1982. 11	1/1	?
<i>F. moniliforme</i>	1982. 11	1/1	?
<i>F. moniliforme</i> var. <i>suglutinans</i>	1982. 11	1/1	?
<i>F. spp.</i>	1982. 11	1/11	?

* 国家自然科学基金资助项目。

在保存 26~ 28年的菌株虽然全部存活 (表 2),但此间保存的菌类只有 4种 5个菌株,数量少。 所以,不能充分反映各菌群的存活情况。

表 2 矿物油中保存 26~ 28年菌系的存活情况

菌名	保存起始日期	存活株数 /总株数	寄 主
<i>Macrophoma</i> sp.	1969	1/1	苹果
<i>Monochyta</i> sp.	1970	1/1	?
<i>Rhizoctonia solani</i>	1970	1/1	棉花
半知菌系 (种名未定)	1968	2/2	?

由表 3看出,寄主对菌系的存活也可能有一定影响。 例如,同期保存的粉红镰刀菌 (*F. roscum*),寄主南麦 (小麦)的菌系存活 (1/7),而寄主为玉米的菌系则无一存活 (0/8)。 同样,小米上的 *F. spp.*均有存活者 (1/2, 1/1),而玉米上的则无一存活 (0/7)。

表 3 矿物油中保存 30~ 39年菌系的存活情况

菌名	保存起始日期	存活株数 /总株数	寄 主
<i>Ascochyta gossypii</i>	1964. 7. 16	1/1	棉花
<i>A. gossypii</i>	1957. 8	0/1	棉花
<i>Choanephore cucurbitarum</i>	1958. 5. 4	1/1	瓜类
<i>Coniothyrium diplodiella</i>	1959. 9. 6	0/1	葡萄
<i>Fusarium roseum</i>	1964. 7. 16	1/7	南麦
<i>F. roscum</i>	1964. 7. 16	0/8	玉米
<i>F. spp</i>	1964. 7. 16	0/7	玉米
<i>F. spp</i>	1964. 7. 16	1/2	小米
<i>F. sp</i>	1963. 7. 1	1/1	小米
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>vasinfectum</i>	1963. 7. 1	1/1	棉花
<i>Phanopsis</i> sp.	1964. 7. 14	0/1	?
<i>Verticillium albo-atrum</i>	1957. 5. 7	1/2	棉花叶
半知菌系 (种名未定)	1957. 1. 9	3/3	?

表 4中反映了保存 40~ 45年菌株的存活情况。 这一批保存期限最长,总株数最多 (67株),存活率达 43. 3% (29/67),比保存 30~ 39年的存活率 (24. 3%)还高。 这期间保存的菌株分布在真菌的 4个亚门中,代表性最广,因而更具有代表性,比较真实地反映了这一保存期限内菌株存活情况。 值得注意的是葡萄白腐病菌 (*C. diplodiella*)保存 41年后能存活,而保存 37年后的则未能存活下来 (表 3)。 接合菌亚门的 *Cunninghamella* sp.,保存 41年后也仍然存活。 还出现了一种存活时间最长 (45年)的半知菌菌株。

表 4 矿物油中保存 40~ 45年菌系的存活情况

菌名	保存起始日期	存活株数 /总株数	寄主
<i>Absidia</i> spp.	1954. 12. 25	0/2	?
<i>Alternaria oleracea</i>	1955. 5. 4	0/1	甘蓝
<i>Aspergillus flavus</i>	1955. 5. 7	1/1	?
<i>As. glaucus</i>	1955. 5. 4	1/1	?
<i>Auricularia auricula</i>	1953. 6. 18	1/1	?
<i>Botrytis cinerea</i>	1955. 5. 6	1/1	甘薯

续表 4 矿物油中保存 40~ 45年菌系的存活情况

菌名	保存起始日期	存活株数 /总株数	寄主
<i>Ceratocystis fimbriata</i>	1952	0/1	甘薯
<i>Chactomium globosum</i>	1955	0/1	?
<i>Ch. sp.</i>	1950	0/1	棉花
<i>Cladosporium paoniae</i>	1955. 5. 8	1/1	芍药
<i>Colletotrichum lagenarium</i>	1955. 5. 4	0/1	茄子
<i>C. sp.</i>	1952. 4. 24	0/1	?
<i>Coniothyrium diploidiella</i>	1955	1/1	葡萄
<i>Coronophora sp.</i>	1955. 1. 5	1/1	?
<i>Cunninghamella sp.</i>	1955. 5. 5	1/1	棉籽
<i>Fusarium oxysporum</i>	1956. 4	0/1	辣椒
<i>F. roseum</i>	1956. 12. 1	1/1	南麦
<i>F. roseum</i>	1955. 6. 14	1/1	小麦
<i>F. roseum</i>	1955. 6. 4	2/3	南麦
<i>F. roseum</i>	1953. 4. 12	1/2	南麦
<i>F. spp.</i>	1956. 6. 16	1/2	玉米
<i>F. spp.</i>	1955. 6. 4	10/18	棉杆、棉籽、玉米、 小米、甘蓝、麦种
<i>Glomerella lagenarium</i>	1952. 3	0/1	苹果
<i>Monilinia fructigena</i>	1955	0/1	苹果果实
<i>Penicillium citrinum</i>	1955. 5. 7	1/1	柑桔
<i>P. italicum</i>	1955. 5. 4	0/1	柑桔
<i>P. sp.</i>	1954. 5. 7	1/1	?
<i>Pythium sp.</i>	1955. 5. 4	1/1	黄瓜
<i>Rhizoctonia soiani</i>	1953	0/1	棉花
<i>Sclerotinia arachidis</i>	1955. 5. 7	0/1	花生
<i>S. sp.</i>	1953. 5. 4	1/1	水稻
<i>Verticillium albo-atrum</i>	1955. 8. 9	0/1	棉叶柄
<i>V. albo-atrum</i>	1953. 5. 7	0/1	棉花红叶型
半知菌系 (种名未定)	1951. 1. 14	1/1	?
其余半知菌系 (种名未定)	1952~ 1954	0/10	甘蓝、小麦、葡萄 (其余寄主不明)

3 讨 论

矿物油保存真菌 ,其存活年限是评价该方法优劣的主要标准 ,也是菌种收藏者关注的焦点 ,据文献^[1~ 3]所述 ,用该法保存真菌的存活年限短则 9个月 ,长则 15年。而作者的研究结果表明 ,最长的可存活 45年 ,比冷冻干燥保存真菌最长存活年限 23年^[2]还长。所以矿物油保存真菌的存活年限目前尚无法统一。很可能存活时间比 45年还长。其影响菌种寿命长短的原因究竟何在? 作者认为 ,不仅涉及保存之前培养物的来源、寄主和保存数量 ,也与保存期间的温度等条件有关。保存之后进行检测所用的培养基 ,可能也是影响保存期的重要因素。一般来讲 ,保存时间愈长 ,群体存活率也随之降低。本文中保存 30~ 39年的存活率 (24. 3%)反比保存 40~ 43年的存活率 (43. 3%)低 ,这可能与群体的构成有关。当然 ,这一现象也受保存数量的极大影响 ;作者在试验中还发现采自棉籽上的接合菌亚门的 *Cunninghamella sp.*菌系保存 41年后仍然存活。这一现象与根 外喜男^[2]指出矿

物油不宜用于保存该菌的提法有所不同,其原因尚需进一步探讨。作者认为:矿物油保存法应用范围较广;但用矿物油保存菌种中存在的问题是,这些存活菌株是否仍保持着野生习性;它们的遗传特性以及有关菌种的致病性是否已发生变化,这些都有待进一步的研究。

参 考 文 献

- 1 中国科学院微生物研究所《菌种手册》编著组. 菌种保藏手册. 北京: 科学出版社, 1980
- 2 根井外喜男编;金连缘译. 微生物保存法, 上海: 上海科学技术出版社, 1982
- 3 郭维烈. 实用微生物技术. 北京: 科学技术文献出版社, 1991

Determination of the Viability of Fungi Stored in Mineral Oil

Yang Zhiwei Li Youzhi Zong Zhaofeng

(Department of Plant Protection, North western Agricultural University, Yangling, Shaanxi, 712100)

Abstract 131 strains of fungi preserved in mineral oil were tested. The results showed that, after long-term mineral oil preservation, about 58 strains (roughly 45.8%) remained viable. These viable strains belonged to 19 genera in 4 mycetmycotina. One species of the imperfect fungi lived for 45 years. The viability with different preservation term was as follows: the viable percentage for 14–16, 26–28, 30–39 and 40–45 years was 94.1% (16/17), 100% (5/5), 24.3% (10/42) and 43.3% (29/67), respectively. The viable percentage of population did not show significant correlation with preservation term, depending on the constitution of the population. At present, the longevity of fungi preserved in mineral oil can not be unified and needs further research.

Key words mineral oil, preservation, fungi, viability