

鸡腿菇生产中杂菌总状炭角菌的生物学特性研究^{*}

杜爱玲^{1a, 2}, 曹支敏^{1b}

(1 西北农林科技大学 a 植保学院 b 林学院, 陕西 杨凌 712100; 2 河南科技大学 林学院, 河南 洛阳 471003)

[摘 要] 总状炭角菌是近几年危害鸡腿菇的一种重要杂菌。研究了温度、空气相对湿度、pH 值、光照、营养、通气状况等对总状炭角菌菌丝生长和分生孢子萌发的影响。结果表明, 该菌菌丝生长温度为10~ 37℃, 最适温度25~ 30℃; 分生孢子萌发温度为12~ 40℃, 最适温度25~ 35℃; 空气相对湿度要求在90%以上。菌丝生长的pH 为2~ 11, 最适pH 为5~ 7; 分生孢子萌发pH 为3~ 11, 最适为5~ 8。最有利于菌丝生长的碳源为麦芽糖和葡萄糖, 氮源为酵母膏、蛋白胨、牛肉膏。仅含有20 g/L 葡萄糖、20 g/L 蔗糖或者纯水的基质不利于分生孢子萌发。固态基质和良好的通气条件有利于菌丝生长和孢子萌发。光照不利于菌丝生长, 但对分生孢子萌发影响不大。菌丝致死温度47~ 50℃, 分生孢子致死温度43~ 45℃。

[关键词] 鸡腿菇; 总状炭角菌; 生物学特性

[中图分类号] S435.673

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2006)10-0140-05

鸡腿菇(*Coprinus comatus*)是近些年发展迅速的重要食用菌之一, 目前在鸡腿菇生产中出现了一种危害严重的新的杂菌, 这种杂菌只在鸡腿菇生产中发生, 已成为困扰鸡腿菇生产的一种难以防治的最主要杂菌。其子实体(子座)形似鸡爪, 菇农称之为“鸡爪菌”。曾先富^[1]曾对其进行过报道, 认为鸡爪菌是鸡腿菇的畸形菇, 由霉菌菌丝与鸡腿菇菌丝结合后变态扭结形成。王波^[2]研究后认为, 鸡爪菌为叉状炭角菌(*Xylaria furcata*), 属于子囊菌亚门, 炭角菌属。卯晓岚^[3]经过进一步鉴定后确认其为总状炭角菌(*Xylaria pedunculata* Fr.)。总状炭角菌常发生于春末至秋初温度较高的季节, 在利用山洞、人防地道和大田栽培的鸡腿菇中更易发生。这种杂菌一旦发生, 轻者导致鸡腿菇减产, 重者绝收, 且发生愈来愈严重, 但人们对其生物学特性了解甚少。炭角菌属是一个群体较大的属, 世界各地均有分布, 据报道^[4-5], 全世界有100多种, 我国分布有50多种, 主要发生在腐木和立木上。由炭角菌引起的植物病害较少, 对炭角菌属的研究也大多集中在野生资源调查、形态特征观察及鉴定、分类和一些活性成分分析等方面^[6-9]。除黑柄炭角菌之外^[10-12], 目前对其他炭角菌真菌的生物学特性鲜有报道。

本试验以从鸡腿菇菌床上分离的总状炭角菌菌

丝及其子座上产生的分生孢子为材料, 借鉴植物病原菌生物学特性研究方法, 对总状炭角菌的生物学特性进行了系统研究, 以期为此种杂菌的有效防治提供参考和依据。

1 材料与方法

1.1 总状炭角菌来源

1.1.1 菌丝来源 2004-05 从河南巩义鸡腿菇菇床上采集总状炭角菌子座, 带回实验室进行组织分离, 萌发后纯化获得菌丝。

1.1.2 分生孢子来源 2004-05 从河南巩义鸡腿菇菇床上采集鸡腿菇和长有大量总状炭角菌的混合菌料, 带回实验室接种到鸡腿菇栽培菇床中, 诱导总状炭角菌的大量发生, 总状炭角菌子座和分生孢子产生后, 采集子座获得分生孢子。

1.1.3 培养基 碳、氮源试验采用基础培养基: 葡萄糖20 g, 蛋白胨2 g, KH_2PO_4 0.46 g, K_2HPO_4 1 g, MgSO_4 0.5 g, 琼脂20 g, 水1 000 mL。

温度、湿度、pH 值、光照等其他试验采用综合 PDA 培养基: 马铃薯200 g, 葡萄糖20 g, 琼脂20 g, 磷酸二氢钾3 g, 硫酸镁1.5 g, 水1 000 mL。

1.2 研究内容与方法

1.2.1 温度对菌丝生长及分生孢子萌发的影响

^{*} [收稿日期] 2006-06-30

[基金项目] 河南省教育厅基金项目

[作者简介] 杜爱玲(1963-), 女, 河南开封人, 副教授, 在读博士, 主要从事食用菌研究。

[通讯作者] 曹支敏(1954-), 男, 陕西富平人, 教授, 博士生导师, 主要从事森林病理学研究。

首先以5℃为1个梯度设5~45℃温度处理进行初试,之后根据初试结果在最低生长温度、最适生长温度、最高生长温度附近分别增加12,33和37℃处理。培养15 d测量菌落直径。

1.2.2 空气相对湿度对分生孢子萌发的影响 湿度控制采用化学试剂法^[13]。在直径15 cm的大培养皿内放1个直径9 cm的小培养皿,大培养皿与小培养皿之间分别注入304 mL/L H₂SO₄溶液、饱和Na₂CO₃溶液、185 mL/L H₂SO₄溶液和清水,以创造75%,86%,90%和>90% 4个不同的空气相对湿度环境,以不风干湿润培养基为对照。凹玻片培养基快速风干后涂布分生孢子,置于小培养皿上方,于27℃密封培养。

1.2.3 pH值对菌丝生长及分生孢子萌发的影响 设pH值为2~11共10个处理。其中pH值为2,3,4的3个处理琼脂用量增至50 g/L,27℃培养20 d测量菌落直径。

1.2.4 碳、氮源对菌丝生长及分生孢子萌发的影响 设7个碳源和8个氮源处理。(1)碳源处理:以相同含量的蔗糖、甘露醇、乳糖、可溶性淀粉、木糖和麦芽糖分别替换基础培养基中的葡萄糖。(2)氮源处理:以相同含量的硝酸钠、硫酸铵、硝酸铵、尿素、天门冬酰胺、牛肉膏和酵母膏分别替换基础培养基中的蛋白胨。

1.2.5 基质成分对分生孢子萌发的影响 基质成分设PDA、20 g/L葡萄糖+琼脂、20 g/L蔗糖+琼脂、鸡腿菇子实体浸汁+琼脂、水+琼脂5个处理,27℃培养。

1.2.6 基质状态与透气状况对菌丝生长及分生孢子萌发的影响 设固体(PDA)和液体(PD)2种培养基状态,分别装入组培瓶,接入菌饼,观察菌丝生长情况。在凹玻片上分别加PDA和PD培养基,二者分别设加盖玻片(使盖玻片与培养基紧贴不透气)和不加盖玻片2种处理,观察分生孢子萌发情况。27℃培养20 d测量菌落直径。

1.2.7 光照对菌丝生长及分生孢子萌发的影响 设完全黑暗、12 h光暗交替、连续光照3种光照条件,27℃培养15 d测量菌落直径。

1.2.8 菌丝体与分生孢子致死温度和致死时间测定 根据预备试验结果,将菌丝体致死温度和致死时间试验设置为45℃下8,10,15 min;47℃下4,6,8,10 min;50℃下4,6,8 min。分生孢子致死温度和致死时间设置为40℃下10,20 min;43℃下4,6,8,10

min;45℃下4,6,8 min;47℃下4,6 min。恒温水浴锅预热无菌水达到预定温度后,分别加入分生孢子和菌丝块,处理结束后迅速将孢子悬浮液涂布于凹玻片培养基,菌丝块迅速移入PDA斜面试管,27℃培养7 d观察菌丝萌发情况。

1.3 测定项目与方法

1.3.1 菌丝生长速度测量 将菌丝事先培养于平板培养基中,然后取0.6 cm同龄菌饼接种后放置在上述各处理环境中进行培养,用“十字”法测量菌落直径。每处理重复3次。

1.3.2 分生孢子萌发率测定 将涂布有分生孢子的凹玻片培养基放入保湿的培养皿内(空气相对湿度处理除外),置于上述各处理环境中进行培养,48 h镜检孢子萌发率。其中温度试验的12和15℃2个处理于培养6 d后镜检孢子萌发率。每重复检查300个孢子。

2 结果与分析

2.1 温度对菌丝生长和分生孢子萌发的影响

试验结果(图1)表明,总状炭角菌菌丝生长的适宜温度为10~37℃,最适温度为25~30℃,低于10℃和高于37℃则完全不生长。分生孢子超过12℃开始萌发,30℃孢子膨胀较大,芽管较粗,萌发率最高,35℃发芽较快,40℃孢子有膨胀但未萌发。可见总状炭角菌分生孢子萌发温度为12~40℃,最适温度25~35℃。说明该菌适宜中温偏高环境。调查发现,生产中总状炭角菌常伴随鸡腿菇栽培在4~6月和8~10月大量发生,主要与该时期的气温适宜于孢子萌发和菌丝生长有关。

2.2 空气相对湿度对分生孢子萌发的影响

试验结果显示,空气相对湿度在90%以下时,分生孢子失水收缩,不能萌发;空气相对湿度在90%以上时萌发率为10%;在对照湿润培养基上萌发率为32%,说明该菌的分生孢子对湿度较为敏感,只有在高湿环境下才能萌发。据实际调查,菇房中空气相对湿度和菇床覆土中含水量的大小与发病率也成正相关。

2.3 pH值对菌丝生长和分生孢子萌发的影响

图2表明,不同pH对总状炭角菌菌丝生长和分生孢子萌发的影响很大。菌丝在pH为2~11时均能生长,最适pH为5~7,pH在2以下和11以上时不能生长。分生孢子在pH为3~11时均能萌发,最适pH为5~8,pH在3以下和11以上时不萌发。

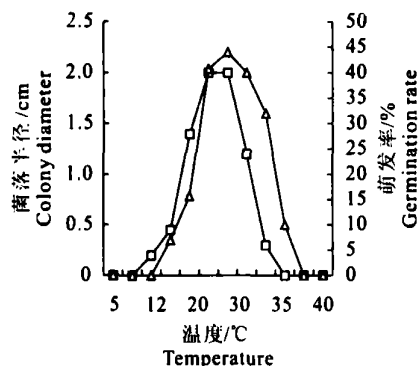


图1 温度对总状炭角菌菌丝生长和分生孢子萌发的影响

—□—, 菌落半径; —△—, 萌发率

Fig. 1 Mycelial growth and conidial germination rate incubated with different temperatures

—□—, Colony diameter; —△—, Germination rate

2.4 不同碳源和氮源对菌丝生长和分生孢子萌发的影响

不同碳、氮源对总状炭角菌菌丝生长有很大影响。由图3可知,在碳素营养中,菌丝对麦芽糖和葡萄糖的利用效果最好,其次是木糖、可溶性淀粉和乳糖,对蔗糖和甘露醇利用最差。其中在以蔗糖和甘露醇为碳源的培养基上,菌丝生长细弱并大量断裂形成分生孢子。相比之下,在以麦芽糖和葡萄糖为碳源的培养基上,菌丝呈绒状、浓密、生长快;在以可溶性淀粉为碳源的培养基上,菌丝更倾向于形成子座状结构。分生孢子在以上不同碳源培养基上均能萌发,

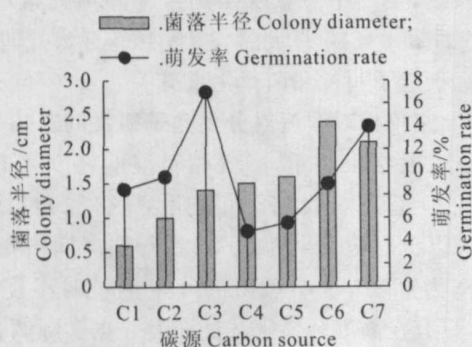


图3 不同碳源对总状炭角菌菌丝生长和分生孢子萌发的影响

C1. 蔗糖; C2. 甘露醇; C3. 乳糖; C4. 可溶性淀粉; C5. 木糖; C6. 麦芽糖; C7. 葡萄糖

Fig. 3 Mycelial growth and conidial germination rate with different carbon sources

C1. sucrose; C2. mannite; C3. lactose; C4. soluble starch; C5. xylose; C6. maltose; C7. glucose

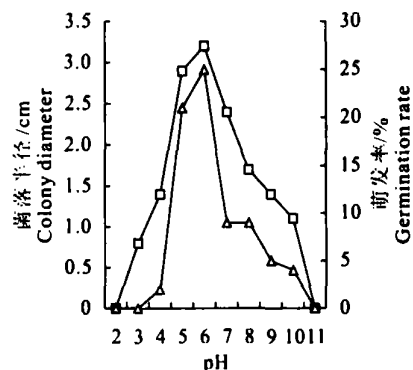


图2 pH值对总状炭角菌菌丝生长和分生孢子萌发的影响

—□—, 菌落半径; —△—, 萌发率

Fig. 2 Mycelial growth and conidial germination rate on the media with different pH values

—□—, Colony diameter; —△—, Germination rate

其中对乳糖和葡萄糖利用最好,对可溶性淀粉利用最差。说明该菌菌丝生长和孢子萌发对碳源的利用不完全一致。

由图4可知,在氮素营养中,菌丝对酵母膏、蛋白胨和牛肉膏利用最好,其次是天门冬酰胺;对尿素、硝酸铵、硫酸铵和硝酸钠的利用最差。说明总状炭角菌菌丝能很好地利用有机氮源,而几乎不能利用无机氮源和尿素。分生孢子在以上不同氮源的培养基上均能萌发,相比之下对天门冬酰胺和酵母膏利用最好。

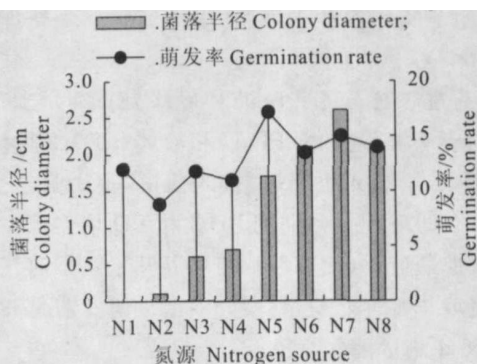


图4 不同氮源对总状炭角菌菌丝生长和分生孢子萌发的影响

N1. 硝酸钠; N2. 硫酸铵; N3. 硝酸铵; N4. 尿素; N5. 天门冬酰胺; N6. 牛肉膏; N7. 酵母膏; N8. 蛋白胨

Fig. 4 Mycelial growth and conidial germination rate with different nitrogen sources

N1. NaNO_3 ; N2. $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; N3. NH_4NO_3 ; N4. urea; N5. asparagines; N6. beef extract; N7. yeast extract; N8. peptone

2.5 基质成分对分生孢子萌发的影响

本试验结果表明, 总状炭角菌分生孢子在PDA培养基上的萌发率最高, 为34%; 在鸡腿菇子实体浸汁培养基上的萌发率为21%; 在仅含有20 g/L 葡萄糖、20 g/L 蔗糖或只含纯水的基质上的萌发率均在1%以下。结合不同碳、氮源的试验结果, 说明总状炭角菌分生孢子萌发对综合营养的需求较高, 而鸡腿菇成分不是总状炭角菌分生孢子萌发的特需因子。

2.6 基质状态与透气状况对菌丝生长和分生孢子萌发的影响

据观察, 菌丝在固体培养基上生长相对较快、浓密, 不易形成分生孢子; 在液体培养基上生长相对较慢, 易形成分生孢子。分生孢子在固体培养基上的萌发率平均达31.5%, 在液体培养基中的萌发率为15%。盖玻片紧贴培养基造成不良通气环境后, 分生孢子萌发率小于1%。表明固体培养基更利于总状炭角菌菌丝生长和分生孢子的萌发, 通气条件是分生孢子萌发的必要因素。

2.7 光照对菌丝生长和分生孢子萌发的影响

在连续光照、12 h 光暗交替和全黑暗3种光照条件处理下, 培养15 d的菌落半径分别为1.4、2.0和3.3 cm, 分生孢子的萌发率分别为32%、29%和30%。说明光照不利于菌丝生长, 而对分生孢子萌发影响不大。

2.8 菌丝体、分生孢子的致死温度和致死时间

总状炭角菌菌丝体在45℃下15 min, 47℃下8 min, 50℃下4 min不能萌发和生长; 分生孢子在43℃下8 min, 45℃下6 min不能萌发, 表明该菌菌丝的致死温度为47~50℃, 分生孢子致死温度为43~45℃, 说明该菌耐热性较强。

3 结论与讨论

了解总状炭角菌菌丝和孢子的生物学特性对该

菌的防治和鸡腿菇的高产稳产具有重要意义, 但至今尚未见相关报道。本研究发现, 总状炭角菌适宜生长在高温高湿环境中, 其菌丝生长温度为10~37℃, 最适温度为25~30℃; 其分生孢子的萌发温度为12~40℃, 最适温度为25~35℃, 要求空气相对湿度在90%以上。这些特性说明, 高温高湿条件有利于该菌的侵染和蔓延, 也印证了生产上高温高湿条件该菌发病较重的事实。

该菌菌丝体和分生孢子对酸碱度的适应能力较强, 在pH为3~11时菌丝和分生孢子均能生长和萌发, 最适宜菌丝体生长和分生孢子萌发的pH值为5~7和5~8。

最有利于该菌菌丝体生长的碳、氮源分别为麦芽糖、葡萄糖和酵母膏、蛋白胨、牛肉膏, 对蔗糖、甘露醇碳源和无机氮源的利用能力最差。在基础培养基上, 所有供试碳源和氮源都能满足该菌分生孢子萌发的需要, 但在基质中仅含有20 g/L 葡萄糖、20 g/L 蔗糖或只有纯水时几乎不能萌发, 又说明分生孢子萌发对综合营养的需求较高, 多种营养的协同作用可能对其萌发作用更大。

固态基质和透气条件有利于该菌菌丝生长和孢子萌发, 透气不良时分生孢子难以萌发。光照不利于该菌菌丝生长, 但分生孢子在有无光照或连续光照的条件下均可萌发。

致死温度是指在一定时间内(一般为10 min)杀死某微生物的水悬浮液群体所需的最低温度^[14], 致死温度是高温消毒和灭菌的参考依据。本试验结果表明, 该菌菌丝的致死温度为47~50℃, 分生孢子致死温度为43~45℃。说明该菌菌丝对高温的耐受能力较其分生孢子强, 但总的来看二者耐热性都较强。这可为鸡腿菇生产中覆土和菇房消毒时的温度处理提供参考。

[参考文献]

- [1] 曾先富 鸡腿蘑畸形菇的发生与防治[J]. 食用菌, 1995(3): 40
- [2] 王波 鸡腿蘑一种新病原菌——叉状炭角菌[J]. 食用菌, 1997(4): 34
- [3] 卯晓岚 中国大型真菌[M]. 郑州: 河南科学技术出版社, 2000: 574
- [4] 张中文, 冷怀琼, 张志铭, 等. 植物病原真菌学[M]. 成都: 四川科学技术出版社, 1988: 203
- [5] 戴芳澜 中国真菌总汇[M]. 北京: 科学出版社, 1979: 350-355
- [6] Lin Y C, Wu X Y, Feng S, et al. Five unique compounds: xyloketal from mangrove fungus *Xylaria* sp. from the South China Sea coast [J]. J Org Chem, 2001, 66: 6252-6256
- [7] Lin Y C, Wu X Y, Feng S A novel N-cinnamoylcyclopeptide containing an allenic ether from the fungus *Xylaria* sp. (strain c2508) from the South China Sea [J]. Tetrahedron Lett, 2001, 42: 449-451
- [8] Zeng Xiao-bo, Wang Hai-ying, He Lin-yu. Medium optimization of carbon and nitrogen sources for the production of eucalyptene A and

- xyloketal A from *Xylaria* sp. 2508 using response surface methodology[J]. *Process Biochemistry*, 2006, 41: 293-298
- [9] 吴根福. 黑柄炭角菌产生的DPPH自由基捕捉成分[J]. *微生物学报*, 2001, 41(3): 363-366
- [10] 朱志熊, 张泽文, 张平, 等. 黑柄炭角菌的菌种分离及其培养特性[J]. *中国食用菌*, 2005(5): 15-18
- [11] 陈宛如, 胡银忠, 王昱, 等. 白蚁巢上生长的子囊菌——黑柄炭角菌的深层培养及其生理研究[J]. *真菌学报*, 1995, 14(1): 269-276
- [12] 陈宛如, 李振堂, 史美中, 等. 真菌中药乌灵参的生物学特性研究[J]. *现代应用药学*, 1988, 5(1): 13-16
- [13] 方中达. *植病研究方法*[M]. 3版. 北京: 中国农业出版社, 1998: 344
- [14] 周德庆. *微生物学教程*[M]. 2版. 北京: 高等教育出版社, 2002: 176

Biological characteristics of *Infectious xylaria furcata* on the bed of *coprinus comatus*

DU Ai-ling^{1a, 2}, CAO Zhi-min^{1b}

(1 a College of Plant Protection, b College of Forestry, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan 471003, China)

Abstract: *Xylaria furcata* is an important infectious fungi occurred on the cultivation bed of *Coprinus comatus* in these years. The effects of temperature, relative humidity, pH, light, carbon source and aeration condition on the mycelial growth and conidial germination of infectious *Xylaria furcata* were primarily studied. For the growth of mycelia, the range of temperature was 10-37 °C, with the optimum of 25-30 °C. The favorable pH was 3-10 with the optimum pH 5-7. For the germination of conidia, the range of temperature was 12-40 °C, with the optimum 25-35 °C, the range of pH was between 4-10, with the optimum pH 5-8, and the relative humidity must exceed 90%. Among the tested carbon and nitrogen sources, glucose, maltose, yeast extract, peptone, beef extract were useful for the growth of mycelia. 20 g/L glucose or 20 g/L sucrose or Pure water was not good for germination. Solid media and aeration condition were favorable for its growth. Light inhibited growth of mycelia, but did not have significant effect on the germination of conidia. The lethal temperature for the mycelium was 47-50 °C and 43-45 °C for the conidia.

Key words: *Coprinus comatus*; *Xylaria furcata*; biological characteristic

欢迎订阅2007年《山东农业科学》

《山东农业科学》是山东省农业科学院、山东农学会、山东农业大学共同主办的综合性农业科技期刊,创刊于1963年10月。其坚持提高与普及兼顾,学术与实用并举的办刊方针。办刊宗旨是报道农业科技成果,传播农业科学技术,促进农业科技交流,推动农业科技进步。除开辟遗传育种、生物技术、栽培生理、植物保护、土壤肥料、新品种新技术、畜牧兽医等固定栏目外,还不定期设农业科技论坛、超级麦论坛、农业信息技术、国外农业科技、文献综述等栏目,及时报道农业科研的新成果、新进展、新方法和新技术。主要读者对象是农业科研人员、农业院校师生、农业管理干部、农技推广人员、农村科技示范户等。

本刊为山东省十佳期刊、华东地区最佳期刊、中国期刊方阵双百期刊、中国农学会优秀期刊、第二届和第三届中国期刊奖百种重点期刊。

本刊大16开本,双月刊,128页,每期定价10元,全年定价60元,国内外公开发行,邮发代号24-2,各地邮局及本刊编辑部均可订阅。欢迎订阅,欢迎投稿。

地址: 济南市桑园路28号 邮编: 250100

电话: 0531-83179268 邮箱: sdnykx@saas.ac.cn