

## 土壤中活跃真菌菌丝的捕捉和常见种类的简易识别法

娄 隆 后  
(北京农业大学)

土壤中以菌丝状态存活的真菌是活跃的生物类群之一。它们在土壤中具有多方面的作用<sup>[1]</sup>。有关这类真菌的分离方法曾有不少人研究过<sup>[2]</sup>，但至今还没有一个被公认的简易有效的方法，使土壤真菌研究工作的进展受到一定的限制。本文介绍一种比较简单的研究方法——悬滴玻片捕捉法，以及用此法分离到的常见土壤真菌的简易检索表。

**悬滴玻片捕捉法** 生物学用的悬滴玻片，每两片可做一套捕捉片(图1)。做时先准备好灭菌的悬滴玻片，准备方法有两种：(1)把两片玻片的穴相对，合成有一个双凸透镜形空室的一套玻片，将一套或几套包在纸中，放在烤箱中干热灭菌后备用；(2)将玻片洗净泡酒精中，做捕捉片时，用镊子取出，在灯焰上烧去酒精并灭菌，然后放在灭菌的器皿中冷却，备用。

在灭菌操作条件下，将每对玻片排好，露出每套中的一片的穴。用无菌的滴管，取不加链霉素的马丁氏洋菜培养基<sup>1)</sup>，滴一小滴于露出的穴中，使穴半满，等培养基冷凝后，将另一玻片合上，使两穴相对。

把干净的橡皮圈浸泡在70%酒精中10分钟杀菌，然后用灯焰上灭过菌的镊子夹出橡皮圈，去掉多余的酒精，放在灭菌的器皿中，干后，用来捆捕捉片两端，捆时手要洗净，或同时表面消毒，注意不要使手指接触捕捉片中央部分，以免污染。做好的捕捉片应该立即使用。带往埋片地点时，可用无菌纸或无菌器皿包装。

在埋片处，按照要求深度用铲挖出土壤，自下而上分层放片。用手持捕捉片两端，将片平放坑底，再放回厚层土壤，轻轻拍实后，继续放上一层的捕捉片。取出日期，一般为3—6天(72—144小时)，在不同的情况下可根据当地条件、试验要求和预备试验情况来决定。

取出时仍要用灭菌纸或器皿包装好，带回试验室检查菌丝进入玻片和小室情况、用蜡笔标明

菌丝生长位置并编号后，分离每一个生长出的菌落(菌丝生长较少的菌落，可放在湿室中培养两三天后再分离)。用接种针挑取穴内一小块生长菌丝的培养基移到马丁氏洋菜培养基平板上，每一菌落应该分别移出两小块，以便对照检查。这些肉眼观察到的每个单独菌落，有时可能是两三种不同真菌组成的，在菌生出后，应该及时将它们分离纯化。如果已经掌握了大部分菌的生长特点，又能及时检查分离，也可以直接移到试管斜面上，但要注意初期检查，有两三种菌开始生长时，立即移植到另一些试管斜面上。一般试管斜面培养都采用马铃薯蔗糖洋菜培养基。

**真菌简易检索表** 这里将几年来在各地土壤中经常捕捉到的，而且培养特征比较稳定的真菌种类，列成一个简易的检索表。这些种类中有一些是在我国土壤中已经被发现的<sup>[3]</sup>；有些种类已知在土壤中有特殊作用<sup>[1]</sup>。这表主要是根据最容易掌握的特征，提供认识常见种类的初步方法。至于确定各个种的精确分类地位时，还应该参考有关文献<sup>[4]</sup>，详细核对。

培养特征，主要是依据马铃薯蔗糖洋菜斜面上10—20天的培养物(24—28° 温度)情况。至于所指出的一些孢子和特殊结构的观察日期，有时更要长一些。有些特殊颜色名称，请参看科学出版社已出版的《色谱》。

- A. 气生菌丝白色或主要是白色..... B.
  - B. 除特殊结构外，菌落基质不变色或变浅黄色... C.
  - C. 直立的白色或浅黄色的菌丝顶端或接触管壁处，出现白或浅黄色小点，镜检为阜孢(图2)，阜孢后期略带黄色，长宽不超过50微米.....
- .....白色阜孢霉<sup>2)</sup> (*Papulaspora candida* Sacc.)

1) 马丁氏洋菜培养基配方：葡萄糖10克；蛋白胨5克；磷酸氢二钾( $K_2HPO_4$ )1克；硫酸镁( $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ )0.5克；洋菜15—20克；1/3000 孟加拉红溶液(Rose Bengal)100毫升；自来水900毫升。

2) 有时捕捉到的频率较高，能达到总株数的10%以上。

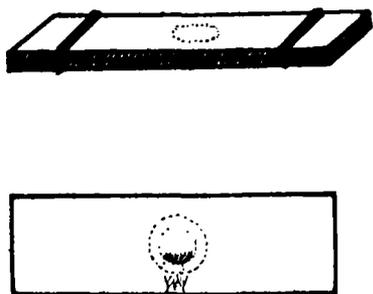


图1 捕捉片

上：已做好的； 下：菌丝伸入生长情况。

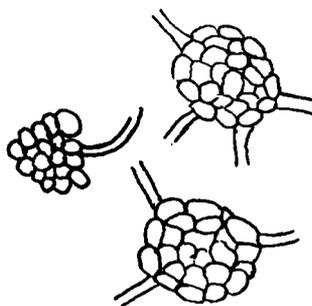


图2 阜 孢

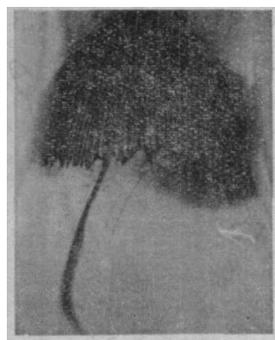


图3 绒 鬼 伞

左：幼年子实体； 右：液化的菌盖。

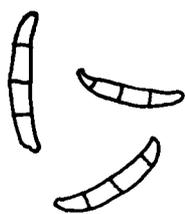


图4 天蓝色镰刀菌的孢子

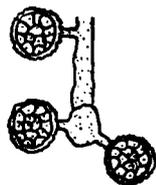


图5 紫附球霉的孢子



图6 渐尖桔镰刀菌的孢子



图7 木霉的孢子头



图 8 丝 核

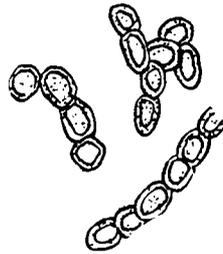


图 9 *Hormiscium* sp. 的厚垣孢子

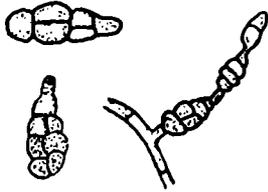


图 10 交链孢霉的孢子

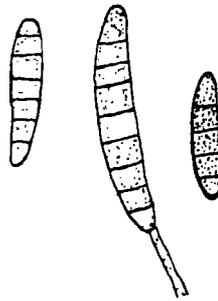


图 11 霉孢菌的孢子



图 12 茎点霉的分生孢子器和器孢子

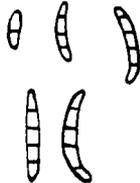


图 13 雪镰刀霉的孢子

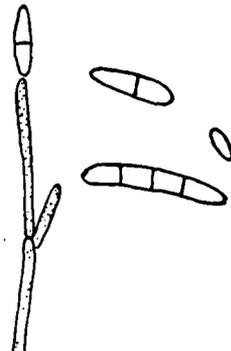


图 14 柱孢霉的孢子

- CC. 菌丝上或培养基内形成颗粒状, 质地坚硬的菌核 ..... D.  
 D. 除菌核外, 不形成其它结构 .....  
 .....小菌核 (*Sclerotium*) 的许多种  
 (最常见的是橙色小菌核)  
 DD. 成熟菌核褐色, 后期出现子实体, 菌盖老时变黑液化(图 3).....  
 .....绒鬼伞 (*Coprinus lagopus* Fr.)  
 (有时有子实体而无菌核)  
 CCC. 菌丝绒毛或乱髮状, 有些部位出现粘块状物(分生孢子堆), 初期淡黄, 后期蓝、绿色, 粘块上的孢子为典型的 Martiella 型(图 4).....天蓝色镰刀菌<sup>1)</sup> [*Fusarium coeruleum* (Lib.) Sacc.]  
 [有的分类系统并入马铃薯镰刀菌 (*F. solani*) 种中]  
 BB. 菌落基质变成其它颜色 ..... C.  
 C. 基质粉色、黄色为主, 夹杂有灰、褐及黑色斑块, 气生菌丝也有部分灰或棕色。常出现不定形, 长宽不超过 2—3 毫米的小粒(分生孢子座)。小粒初期粉色、黄色, 后期加大变黑色。孢子近圆形, 有网纹(图 5).....  
 .....紫附球霉 (*Epicoccum purpurascens* Ehrenb.)  
 CC. 基质变红色(报春红、锦葵红、孟加拉玫瑰红、石竹紫), 菌丝也常有少部分略黄或红色, 移种次数多时, 红色易消失..... D.  
 D. 个别部位形成不规则形, 橙或棕色小粒(分生孢子座), 孢子形状如图 6.....  
 .....渐尖桔镰刀菌<sup>1)</sup> [*Fusarium scirpi* Lamb. et Fautr. V. *acuminatum* (Ell. et Ev.) Wr.]  
 DD. 菌丝上无分生孢子, 有时可看到厚垣孢子.....  
 .....不孕菌丝红色菌株<sup>1)</sup>  
 (形成分生孢子座后, 一般都是渐尖桔镰刀菌)  
 AA. 气生菌丝(菌落表面)不是白色, 或由白色变成其它颜色 ..... B.  
 B. 生长初期, 菌丝主要在培养基里面发展, 或紧附培养基表面 ..... C.  
 C. 3—5 天后出现大量气生菌丝.....D.  
 D. 菌落外沿或其它部位形成球形菌丝团, 菌丝团由白色渐变为绿色。孢子聚成头状, 着生在孢子梗的对称分枝顶端(图 7).....  
 .....木霉 (*Trichoderma*) 的一些种类  
 [常见的是木素木霉 *T. lignorum* (Tode) Harz.]  
 DD. 菌丝聚成不定形菌丝团块(丝核, 图 8), 黄、棕、褐色...丝核菌<sup>1)</sup> (*Rhizoctonia*) 的一些种类  
 [常见的是马铃薯丝核菌 (*R. solani* Kühn)]  
 CC. 形成紧贴在培养基表面或在培养基内的深褐色或黑色小点 ..... D.  
 D. 小点是由深色厚垣孢子(图 9)聚集成的.....  
 .....*Hormiscium* 属的未定名种  
 DD. 小点是质地坚硬的菌核 .....  
 .....小菌核的一些种(见前)  
 BB. 生长初期, 气生菌丝生长迅速..... C.  
 C. 菌落灰色或黑色..... D.  
 D. 孢子成链, 孢子深色有纵横隔膜(图 10).....  
 .....交链孢霉 (*Alternaria*) 的一些种  
 [常见的是细交链孢霉 (*A. tenuis* Nees)]  
 DD. 孢子不成链, 孢子深色只有横隔膜(图 11).....  
 .....蠕孢菌 (*Helminthosporium*) 的一些种  
 DDD. 气生菌丝部位无孢子, 生出长宽不超过 0.2 毫米的小点(分生孢子器图 12), 由孔口喷出无色透明单细胞孢子...茎点霉(*Phoma*)的一些种  
 CC. 气生菌丝黄色, 基质黄、棕、深棕色, 某些菌株有厚垣孢子, 无其它特殊结构.....  
 .....不孕菌丝黄色菌株<sup>1)</sup>  
 CCC. 气生菌丝润红色, 后期黄色, 形成粉、橙色不定形粘块(分生孢子座或粘分生孢子团), 分生孢子常为 0—4 隔膜(图 13).....  
 .....雪镰刀菌 [*Fusarium nivale* (Fr.) Ces.]  
 CCCC. 气生菌丝棕或棕黑色, 分生孢子无色, 透明, 柱形, 有 0—3 横隔膜..... 柱孢霉 [*Cylindrocarpon didymum* (Hart.) Woll.]

## 参 考 文 献

- [1] 姜隆后: 真菌在土壤中的作用。土壤微生物学专业会议论文集, 124—132 页, 1964 年。  
 [2] Warcup J. H. (姚惠琴译): 分离土壤真菌和测定土壤真菌活性的方法。土壤译丛, 1 期, 49—50 页, 1965 年。  
 [3] 姜隆后等编: 微生物在土壤养分转化中的作用。53—60 页, 科学出版社, 1962 年。  
 [4] Gilman J. C.: A manual of Soil fungi. 2-nd ed., 1957.

1) 有时捕捉到的频率较高, 能达到总株数的 10% 以上。