

外生菌根真菌彩色豆马勃 优良菌株营养源的研究*

花 晓 梅

摘要 通过 *P. t.* 优良菌株 9109 在不同培养基上生长速度、培养特性及其生长规律的研究,筛选出生长最佳培养基作为基础培养基,进行 C、N 营养研究,试验结果表明:*P. t.* 9109 不仅能利用单糖、低聚糖和无机 N 等速效 C、N 源,而且能利用多糖、多元醇和有机 N 等长效 C、N 源。其菌丝生长最适 C 源是玉米粉和甘露糖;最适 N 源是蛋白胨和氯化铵。在无机 N 利用中,对硝态 N 和铵态 N 的利用无显著差异。应用 $L_{16}(4^5)$ 正交设计确定了 *P. t.* 9109 菌丝生长的最佳营养配方,菌丝增殖高达 860 倍,不但提高菌丝生物产量,而且节省了原料,降低了成本,为改进 *P. t.* 菌剂生产配方和研制新型菌剂提供了最佳营养条件。

关键词 彩色豆马勃、培养基、C 源、N 源

外生菌根(ECM)对林木具有多方面的有益效能^[1],因此,林木菌根化已成为促进林木速生丰产的必要措施。许多研究表明:ECM 真菌彩色豆马勃(*Pisolithus tinctorius*(Pers.)Coker et Couch)(简称 *P. t.*)能与许多树木形成外生菌根,它除了具有一般菌根真菌的有益作用外,还具有广谱寄主性、广生态适应性、强抗逆性、促进林木成活和生长的效果显著等优点,所以是林业上应用价值最大的菌根真菌^[2]。

纯培养 *P. t.* 菌剂的商品化生产已在中国和美国实现^[1],为了提高商品菌剂的质量、产量,降低成本和研制新型菌剂,1991~1994 年着重研究了 *P. t.* 的营养要求,提出了增加 *P. t.* 菌丝生物产量的最佳营养条件。

1 材料和方法

1.1 菌株和母菌落的培养

供试菌株:中国林业科学研究院林木菌根中心筛选的 *P. t.* 优良菌株 9109。

母菌落培养:将试验菌株转接于 MMN 培养基平板上,置于 27.5℃ 温度下培养至菌落直径达 7~9 cm,形成试验用母菌落。

1.2 培养基的筛选

采用 MMN、MRD、PH、MH、PDAM、MMNB^[3] 等 6 种培养基进行生长对比试验,并按顺序以代号 I、II、III、IV、V、VI 表示。用灭菌打孔器在上述母菌落边缘取直径 6.0 mm、厚 2 mm 的菌丝圆片,分别接种于盛有定量(25 mL) I~VI 号培养基的培养皿中央,置于 27.5℃ 恒温箱内培养,每 5 天进行菌株培养性状的观察和生长速度的测定^[4],在观察颜色时,以 A. C. 彭德尔

1995-02-25 收稿。

花晓梅副研究员(中国林业科学研究院林业研究所 北京 100091)。

* 本文系“八五”国家科技攻关项目“湿地松、火炬松、马尾松、桉树和落叶松菌根应用技术研究”的部分内容。

采用“色谱”为依据进行比色描述。

1.3 碳源营养试验培养基的配制

以上述筛选出的最佳液体培养基为试验基础培养基,改变其C源成份,分别以市售白糖、CMC、玉米粉、蔗糖、麦芽糖、甘露糖、甘露醇、乳糖、蜜三糖代替基础培养基中的葡萄糖,并与加葡萄糖作为C源的基础培养基进行单因子对比试验。为了避免灭菌对培养基的影响,将去糖基础培养基与各种C源分别配制成浓度加倍的溶液,各自单独灭菌,然后将各C源和去糖基础培养基分别等量相混合,使培养液各成份浓度达到配方要求的浓度。

1.4 氮源营养试验培养基的配制

采用与C源试验相同的基础培养基,分别以酵母浸膏、蛋白胨、干酪素、牛肉膏、黄豆粉、硝酸钾、硝酸铵、硫酸铵和氯化铵代替基础培养基中的磷酸氢二铵 $[(NH_4)_2HPO_4]$,并与以磷酸铵为N源的基础培养基进行单因子对比试验,培养基灭菌前用pHS-29A酸度计调节pH至5.4。

1.5 多因子综合效应试验

在上述C、N单因子对比试验的基础上,参考经验配方并注意速效和长效C、N源的相互配合,选择适合的C、N源与麦芽汁进行营养源多因子综合效应试验^[5],试验培养基为去葡萄糖、磷酸氢二铵和麦芽汁的基础培养基,然后进行正交试验。

1.6 分析测试方法

在C、N营养源试验和多因子综合试验中,均以250 mL锥形瓶作为菌丝体培养的器皿,盛液量为50 mL,接入母菌落边缘菌丝圆片5片(菌丝干重1.5 mg),置于LRH-250-GS生化箱培养20 d,培养结束后,进行培养性状的观测,测定发酵液pH,然后分离出菌丝体,并用去离子水冲净附着的培养基,用滤纸吸干表面水后,置于干燥箱内,80℃下烘至恒重,用梅特勒(METTLER)AE-200电子分析天平称量菌丝干重。每个处理和试验均重复3次,并做数理统计分析。

2 结果与分析

2.1 基础培养基的筛选

试验结果见表1和图1。从表1可见:*P. t.*在不同培养基上的生长特性变异较大,充分表现了*P. t.*对培养基质有严格的要求和选择性。在适合的培养基上菌丝呈羊毛状,菌丝生长粗壮致密,菌落均匀平展,无轮纹,呈浅沙至暗沙色,菌落背面中部烟草棕色,所占菌落面积小,边缘沙土色,无色素分泌。培养基质不合适时,菌丝逐渐由毛状变为绒状、细短绒状,以致畸形成簇状;逐渐纤弱、稀疏;菌落逐渐凸起,呈波浪状至半球状,逐渐形成轮纹和沟纹,颜色由浅逐渐变深、变灰,色素分泌由无到少量至大量。根据上述性状分析,可以判断在I号培养基上*P. t.*生长最好,其次是II、IV、VI和III号培养基,在V号培养基上生长最差。

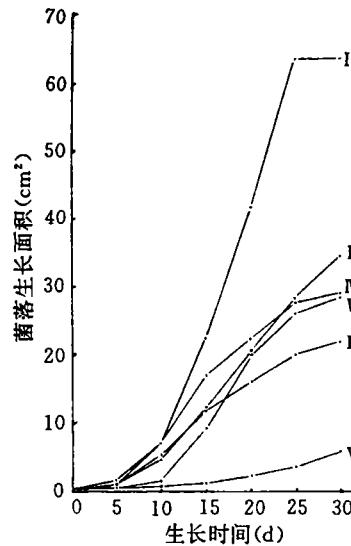


图1 *P. t.*在不同培养基上的生长速率

从图 1 可判断出, *P. t.* 在不同培养基上生长速度的差异。显然在 I 号培养基上生长速度最快, 其次是 II、IV、VI 和 III 号培养基, 在 V 号培养基上生长速度最慢。 *P. t.* 在 I 号培养基上不仅生长率最大, 生长量最高, 而且达到最大生长所需时间最短, 所以培养周期最短, 而在其它培养基上, 生长高峰出现较晚, 生长率较小, 培养周期较长。

表 1 *P. t.* 在不同培养基上的生长特性

培养基	菌丝外观形态		菌落生长特征		菌落颜色		色素分泌
	形态	生长势	形状	轮纹	正面	背面	
I	羊毛状	+++	初期中部稍凸, 后逐渐平展	无	初期浅沙色, 后为暗沙色至淡棕色	中部烟草棕色, 占菌落面积 1/10, 边缘沙土色	无
II	绒毛状	++	初期稍平, 后呈环状凸起	有颜色深浅和菌落凹凸形成的三个轮纹	初期浅沙色, 后呈沙色和淡棕色相间	中部烟草棕色占菌落面积 3/5, 边缘沙土色	无
III	细短绒状, 畸形, 成簇状生长	+	高凸, 菌落表面不平, 呈波浪状	有三种不同颜色形成的轮纹	初期沙土色, 后由中部向外为棕、金黄和沙土色相间	中部烟草棕色, 占 4/5 菌落面积, 边缘金黄色	稍有黄色素渗入培养基中
IV	初期呈毛状, 后细绒状	++	低凸平展	有三个轮纹	初为沙色, 后为黄棕色	中部烟草棕色, 占菌落面积 4/5, 边缘金黄色	少量黄色素渗入培养基中
V	细短绒状	+	高凸呈半球状, 后期皱缩, 边缘开裂	无明显轮纹, 但有辐射状沟纹	呈橄榄灰色	全部为烟草棕色	有大量茶褐色素渗入培养基中
VI	细短绒状, 畸形簇状生长	+	初期平, 后整个菌落凸起	形成不同颜色相间的三个轮纹	中部淡紫色, 边缘金黄色	全部为烟草棕色	有少量棕色素渗入培养基中

注: (1) 27.5°C 温度下培养 20 d 的结果; (2) 菌丝生长势分为三个等级: “+++” 表示菌丝粗壮, 菌丝致密; “++” 表示菌丝较粗, 菌丝较密; “+” 表示菌丝纤弱, 菌丝稀疏。

2.2 碳源营养试验

方差分析表明: 所试 10 种 C 源对 *P. t.* 菌丝生长量有极端显著性差异 (见表 2)。为了进一步分析 10 种 C 源之间是否有差异, 采用新复全距测验法进行差异显著性检验和分析, 结果如表 3。

表 2 10 种 C 源对 *P. t.* 菌丝生长量的方差分析

	SV	SS	DF	MS	F	$F_{0.05}$	$F_{0.01}$
SA	103	843.63	9	11538.18	36.24**	2.40	3.46
SE	6	366.84	20	318.34			
ST	110	210.47	29				

表 3 新复全距测验法 C 源分析

C 源	I	X	$X - \bar{X}_{10}$	$X - \bar{X}_9$	$X - \bar{X}_8$	$X - \bar{X}_7$	$X - \bar{X}_6$	$X - \bar{X}_5$	$X - \bar{X}_4$	$X - \bar{X}_3$	$X - \bar{X}_2$
甘露糖	1	433.47	174.00**	158.60**	158.11**	154.07**	94.67**	88.94**	71.60**	71.60**	12.47
玉米粉	2	421.00	161.53**	146.13**	145.67**	141.60**	82.20**	76.47**	59.20**	59.13**	
葡萄糖	3	361.87	102.40**	87.00**	86.54**	82.47**	23.07	17.34	0.07		
甘露醇	4	361.80	102.33**	86.93**	86.47**	82.47**	23.00	17.27			
蔗糖	5	344.53	85.06**	69.66**	69.20**	65.13**	5.73				
白糖	6	338.80	79.33**	63.93**	63.47**	59.40**					
乳糖	7	279.40	19.93	4.53	4.07						
蜜三糖	8	275.33	15.86	0.46							
麦芽糖	9	274.87	15.40								
CMC	10	259.41									

注: (1) * 差异显著 ($\alpha=0.05$); ** 差异极显著 ($\alpha=0.01$); (2) \bar{X} 为各 C 源 *P. t.* 菌丝干重 (mg/100 mL 培养液)。

经上述分析,除乳糖、蜜三糖、麦芽糖和 CMC;葡萄糖、甘露醇、蔗糖和市售白糖;甘露糖和玉米粉之间差异不显著以外,其余均为极显著。因此,可将 *P. t.* 对碳源利用划分为三级,依次是甘露糖和玉米粉;葡萄糖、甘露醇、蔗糖和市售白糖;乳糖、蜜三糖、麦芽糖和 CMC。观测 *P. t.* 在不同碳源培养基上的生长特性,也得出同样的结果(见表 4)。*P. t.* 对碳源利用较广,不仅可以利用单糖、低聚糖,而且可以利用多糖和多元醇。在单糖、低聚糖培养基中菌丝生长起得快,尔后进入平缓生长。而在多糖培养基中则与之相反,即起得较慢,但能维持很长的高生长率时期。所以,单糖、低聚糖类属“速效”C 源,而多糖、多元醇类属“长效”C 源。

表 4 *P. t.* 在不同 C 源培养基上的生长特性

C 源	生长启动时间(d)	菌膜特征	颜色	生长势	发酵终了时的 pH 值
(单糖)					
葡萄糖	1	胶质,膜状,较薄,较大	浅棕色	++	3.2
甘露糖	1	似革质,毡状,较厚,较大	浅棕色	+++	3.2
(低聚糖)					
市售白糖	2	胶质,膜状,较薄,较大	浅黄色	++	3.2
蔗糖	2	胶质,膜状,较薄,较大	浅黄色	++	3.3
麦芽糖	2	胶质,膜状,较薄,较大	污棕黄色	++	3.2
蜜三糖	2	胶质,膜状,薄,较大	污棕黄色	++	3.2
乳糖	2	胶质,膜状,薄,较大	污棕黄色	++	3.2
(多糖)					
玉米粉	3	胶质,膜状,厚,较大	浅黄色	+++	3.8
羧甲基纤维素	5	似革质,毡状,厚,较小	暗栗色	+	6.4
(多元醇)					
甘露醇	3	胶质,膜状,薄,较大	污棕黄色	++	3.2

注:(1)在 27.5℃ 温度下培养 20 d 的结果;(2)生长势用三个等级表示:“+++”表示菌丝粗壮,菌膜菌丝致密;“++”表示菌丝较粗,菌膜菌丝较密;“+”表示菌丝纤弱,菌膜菌丝稀疏。表 7 同。

2.3 氮源营养试验

经方差分析,表明所试 N 源对 *P. t.* 菌丝生长量有极显著性差异(见表 5)。用新复全距测验法进行差异显著性检验和分析,结果表明,除蛋白胨、氯化铵菌丝干重超过磷酸氢二铵(对照)有极显著差异外,其它 N 源的菌丝干重均低于对照,或差异不显著(见表 6)。

表 5 10 种 N 源对 *P. t.* 菌丝生长量的方差分析

SV	SS	DF	MS	F	$F_{0.05}$	$F_{0.01}$
SA	153 562.61	9	170 585.51	27.02**	2.40	3.46
SE	12 624.68	20	631.23			
ST	166 187.29	29				

表 6 新复全距测验法 N 源分析

N 源	I	\bar{X}	$\bar{X}-\bar{X}_{10}$	$\bar{X}-\bar{X}_9$	$\bar{X}-\bar{X}_8$	$\bar{X}-\bar{X}_7$	$\bar{X}-\bar{X}_6$	$\bar{X}-\bar{X}_5$	$\bar{X}-\bar{X}_4$	$\bar{X}-\bar{X}_3$	$\bar{X}-\bar{X}_2$
蛋白胨	1	399.60	218.20**	195.20**	182.60**	150.30**	118.00**	88.60**	65.50**	60.20**	19.60
氯化铵	2	380.40	198.60**	176.00**	163.40**	131.10**	98.40**	69.40**	45.90*	40.60	
硝酸钾	3	339.40	158.00**	135.00**	122.40**	90.10**	57.80*	28.40	5.30		
硝酸铵	4	334.10	152.70**	129.70**	117.70**	84.80**	52.50*	23.10			
磷酸氢二铵	5	311.00	129.60**	160.60**	94.00**	61.70*	29.40				
硫酸铵	6	281.60	100.20**	77.20**	64.60*	32.30					
酵母浸膏	7	249.30	67.90**	44.90	32.30						
干酪素	8	217.00	35.60	12.60							
牛肉膏	9	204.00	23.00								
黄豆粉	10	181.40									

注:(1)* 差异显著($\alpha=0.05$); ** 差异极显著($\alpha=0.01$);(2) \bar{X} 为各 N 源 *P. t.* 菌丝干重(mg/100 ml 培养液)。

P. t. 在不同 N 源培养基上的生长特性与上述分析一致(见表 7)。因此,可将 *P. t.* 对 N 源的利用分为 4 级:蛋白胨、氯化铵最好,硝酸钾、硝酸铵和磷酸氢二铵并列第二,硫酸铵、酵母浸膏、干酪素和牛肉膏较差,黄豆粉最差,在铵态 N、硝态 N 类培养基上,菌丝生长起动手快,以后生长平缓,而在有机 N 类培养基上,起动手慢,但能维持很长的高生长率时期,所以,前者属“速效”N 源,后者属“长效”N 源。

表 7 *P. t.* 在不同 N 源培养基上的生长特性

N 源	生长启动时间 (d)	菌膜特征	颜色	生长势	发酵终了时的 pH 值
(铵态氮)					
磷酸氢二铵	1	胶质,膜状,较厚,布满瓶内	浅棕色	+++	2.70
硫酸铵	1	胶质,膜状,薄,较大	深棕色	++	2.62
氯化铵	1	胶质,膜状,厚,布满瓶内	浅黄色	+++	3.41
硝酸铵	1	胶质,膜状,薄,布满瓶内	浅黄色	+++	2.43
(硝态氮)					
硝酸钾	1	胶质,膜状,薄,布满瓶内	深棕色	++	4.45
(有机氮)					
酵母浸膏	3	似革质,毡状,薄,较大	棕色	+	3.61
蛋白胨	2	似革质,毡状,厚,较大	棕色	+++	3.30
干酪素	3	似革质,毡状,薄,较大	深棕色	+	4.10
牛肉膏	3	似革质,毡状,薄,小	深棕色	+	4.30
黄豆粉	5	似革质,毡状,厚,小	深棕色	+	4.10

2.4 多因子综合效应试验

根据 C、N 源单因子试验结果,考虑到希望菌丝生长能达到起动手快,高生长率持续时间长的要求,在速效和长效 C、N 源中,分别选取效果好、价格低的原料和传统使用的麦芽汁共 5 种,每种设定 4 级用量(含用量为 0),作 5 因素 4 水平的正交试验。试验结果见表 8 和图 2。

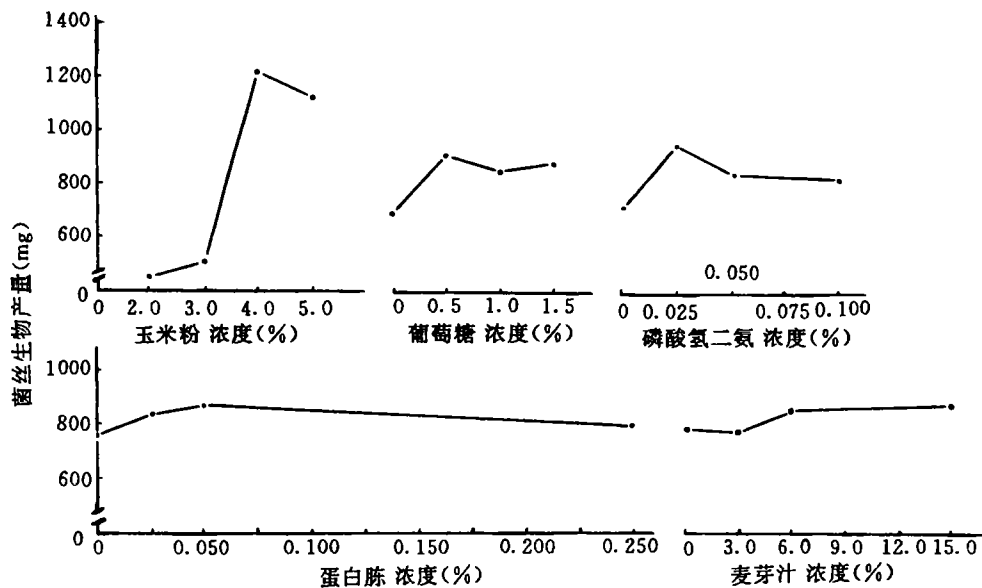


图 2 *P. t.* 菌丝生物产量和各因素关系

表8 *P. l.* 营养源多因子综合试验结果分析

因素 <i>i</i> 试验号	玉米粉 (%) A	葡萄糖 (%) B	蛋白胨 (%) C	麦芽汁 (%) D	(NH ₄) ₂ HPO ₄ (%) E	试验结果		
						菌丝干重 (mg)	增殖倍数	增产率 (%)
1	1(2.0)	1(0)	1(0)	1(0)	1(0)	87.0	58.0	-84.0
2	1	2(0.5)	2(0.250)	2(3.0)	2(0.025)	594.6	396.4	63.3
3	1	3(1.0)	3(0.050)	3(6.0)	3(0.050)	569.6	379.7	57.4
4	1	4(1.5)	4(0.025)	4(15.0)	4(0.100)	548.6	565.7	51.6
5	2(3.0)	1	2	3	4	398.4	265.6	10.1
6	2	2	1	4	3	586.6	391.1	62.1
7	2	3	4	1	2	604.8	403.2	67.2
8	2	4	3	2	1	450.2	300.1	24.4
9	3(4.0)	1	3	4	2	1 291.0	860.7	256.8
10	3	2	4	3	1	1 220.8	813.9	237.4
11	3	3	1	2	4	1 137.4	758.3	214.4
12	3	4	2	1	3	1 253.2	835.5	246.4
13	4(5.0)	1	4	2	3	972.4	648.3	168.8
14	4	2	3	1	4	1 214.8	809.9	235.8
15	4	3	2	4	1	1 090.4	726.9	201.4
16	4	4	1	3	2	1 279.8	853.2	253.7
<i>K</i> ₁	1 799.8	2 748.8	3 090.8	3 159.8	2 848.4	13 299.6		
<i>K</i> ₂	2 040.0	3 616.8	3 336.6	3 154.6	3 770.2			
<i>K</i> ₃	4 902.4	3 402.2	3 525.6	3 468.6	3 381.8			
<i>K</i> ₄	4 557.4	3 531.8	3 346.6	3 516.6	3 299.2			
\bar{X} ₁	450.0	687.2	772.7	790.0	712.1			
\bar{X} ₂	510.0	904.2	834.2	788.7	942.6			
\bar{X} ₃	1 225.6	850.6	881.4	867.2	845.5			
\bar{X} ₄	1 139.4	883.0	836.7	879.2	824.8			
<i>R</i>	775.6	217.0	108.7	90.5	230.5			
优水平	A ₃	B ₂	C ₃	D ₄	E ₂			

2.4.1 影响菌丝生长的主要因素 从表8可见:A因素(玉米粉)的*R*值最大(775.6),所以是菌丝生长的主要因素;B因素(葡萄糖)、E因素(磷酸氢二铵)*R*值居第二位,分别为217.0和230.5,因此,是菌丝生长的次要因素;C因素(蛋白胨)和D因素(麦芽汁)的*R*值最小,分别为108.7和90.5,是对菌丝生长影响最小的因素。

2.4.2 菌丝生长最佳营养组合 从图2可见,各因素指标变化的规律是:随用量增加菌丝生长量增加,所获菌丝干物重增大,但当各因素指标达到一定水平后,则菌丝干物重不再增加,或有所下降。从表8中可见在16个试验中,菌丝生长的最好营养条件是9号(A₃B₁C₃D₄E₂),其次是16号(A₄B₄C₁D₃E₂),第三是12号(A₃B₄C₂D₁E₃)。上述三个试验所得菌丝干物重(mg/100 mL)分别为1 291.0、1 279.8和1 253.2。通过对16个试验的计算和分析,得到菌丝生长最优水平组合是(A₃B₂C₃D₄E₂)(见表8)。

A因素是菌丝生长的主要因素,其水平(用量)的确定非常重要。从图2可见玉米粉用量为4%(A₃)获得的菌丝干物重最大,用量超过4%,干物重逐渐下降,且玉米粉的用量还直接影响培养液粘度,用量超过4%,粘度太大,不利菌根菌生长,因此选用A₃最适合;因素B(葡萄糖)

是速效 C 源,培养初期作用较大,少量使用可缩短菌丝生长启动时间,用量过多对菌丝后期的生长作用不大,且浪费原料,故选用 B₂;因素 C(蛋白胨)和因素 D(麦芽汁)在 4 个水平上(包括用量为 0)差异很小,可见,它们的存在与否对菌丝生长影响不大,从节约原料、降低成本考虑,可省掉;因素 E(磷酸氢二铵)是影响菌丝生长的第二要素,采用最好的第二水平。综上分析,*P. t.* 菌丝生长的最佳营养配方是 A₃B₂E₂。

3 讨 论

(1)培养基的选择是优化菌根真菌培养的前提,外生菌根真菌 *P. t.* 在不同培养基上生长速度和培养性状差异很大,其生长规律也不同,就所试培养基来说,MMN 是较适合的;依次是 MRD、MH、MMNB 和 PH;PDAM 不是合适的培养基。

(2)*P. t.* 在不适合的培养条件下,不仅生长缓慢,菌丝畸形和菌落凹凸不平,而且有色素的分泌。据观察,培养条件越不适宜,色素分泌量越大,分泌色素的颜色越深,其色素分泌的特性及其与生长的关系有待进一步研究。

(3)*P. t.* 对营养的要求并不严格,它对营养源的利用范围较广,不仅可利用单糖、低聚糖和无机 N 等速效 C、N 源,而且能利用多糖、多元醇和植物产品和有机 N 等长效 C、N 源。对于无机 N 来说,铵态 N 和硝态 N 的利用差异不显著(见表 6),与 Smith R. A. 报道一致^[6],与另一些报道不一致^[7],有待探讨。就本文结果来看,扩大了 *P. t.* 营养源范围,为选择速效和长效 C、N 源相配合的最佳营养配方提供了更广泛的原料基础。

(4)麦芽汁是 MMN 培养基的主要成分,Smith R. A. 在 *P. t.* 营养研究中认为麦芽汁是获得其最大菌丝生长率的重要因素之一^[6],通过多次重复试验(另文发表)得出:麦芽汁对 *P. t.* 生长影响不大,建议在该培养基中省去这一成分。

(5)*P. t.* 营养源单因子和多因子综合试验,得出了 *P. t.* 菌丝生长的最佳营养条件,在此营养条件下,菌丝增殖量大大超过了以往的报道,高达 860 倍(见表 8),不但提高了菌丝生物产量,而且降低了原料消耗,为生产高效、低耗的 *P. t.* 菌剂,提供了理论和实践基础。

(6)N 源单因子试验表明蛋白胨是 *P. t.* 生长最好的 N 源,而在多因子综合效应试验中,蛋白胨却是对菌丝生长影响最小的因素。产生这种情况的主要原因是:所用玉米粉中已含有机 N,据分析,玉米粉中含 8.9%蛋白质、5.5%氨基酸^[8],在多因子综合效应下,使蛋白胨对菌丝生长的影响减小,降至次要因素。可见,主次因素是随培养条件而改变的。

参 考 文 献

- 1 花晓梅. 林木菌根化栽培技术. 北京:中国科学技术出版社,1993. 11~26.
- 2 Hua Xiaomei, Charles E Cordell, William J Stambaugh. Synthesis of *Pisolithus tinctorius* ectomycorrhizae and growth responses on some commercially important Chinese tree species. *Forest Ecology and Management*, 1991, 42: 283~292.
- 3 Randy Molina, Palmer J G. Isolation maintenance and pure culture manipulation of ectomycorrhizal fungi. In: Schenck (Eds). *Methods and principles of mycorrhizal research*. The American Phytopathological Society, 1984. 115~129.
- 4 方中达. 植物病理研究方法. 北京:农业出版社,1977. 130~132.
- 5 俞俊棠,唐孝宣. 生物工艺学. 上海:华东化工学院出版社,1991. 99~107.

- 6 Smith R A. Nutritional study of *Pisolithus tinctorius*. *Mycologia*, 1982, 74(1): 54~58.
- 7 裴致达, 陈连庆. 马尾松共生真菌(Pt)增殖培养条件. 林业科学研究, 1992, 5(2): 231~234.
- 8 B. 阿特金森, F. 马维图纳(何忠效, 徐家立, 张启先译). 生化工程与生物技术手册. 北京: 科学出版社, 1992. 53~75.

Nutritional Source Study for Super-strain of Ectomycorrhizal Fungus, *Pisolithus tinctorius*

Hua Xiaomei

Abstract Through the study on growth rate, culture characteristics and growth rules of *Pisolithus tinctorius* on different medium, the optimal medium was selected as the basic medium for its carbon and nitrogen sources study. The results show that Pt has a wide range of nutritional sources for metabolization, not only can it use monosaccharides, disaccharides, and inorganic nitrogen, but also it can use polysaccharides, polyol and organic nitrogen. Corn meal and mannitol are its optimal carbon sources, peptone and NH_4Cl the optimal nitrogen sources for its mycelial growth. No obvious difference was noted when amine and nitrate forms of inorganic nitrogen were utilized by the fungus. And the optimum formulae of nutrition for its mycelial growth are obtained through orthogonal experiment $L_{16}(4^5)$. Through using the formulae, the biomass of the fungal mycelium can astonishingly proliferate 860 times, which surpass that of the former report. Therefore, the research provided the theory base to improve the formula and the technology for producing the ectomycorrhizal inocula of the fungus.

Key words *Pisolithus tinctorius*, medium, carbon source, nitrogen sources