

# Effects of Different Culture Media on Different Strains of *Ganoderma pseudoferreum*

Huizhen Zhou<sup>1</sup>, Zhixin Liu<sup>2</sup>, Yunxia Qin<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Institute of Tropical Agriculture and Forestry, Hainan University, Haikou Hainan

<sup>2</sup>Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Danzhou Hainan

<sup>3</sup>Rubber Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Key Laboratory of Biology and Genetic Resources of Rubber Tree, Ministry of Agriculture, Danzhou Hainan  
Email: [qinyunxia2004@163.com](mailto:qinyunxia2004@163.com)

Received: Aug. 13<sup>th</sup>, 2018; accepted: Aug. 29<sup>th</sup>, 2018; published: Sep. 5<sup>th</sup>, 2018

## Abstract

Seven *Ganoderma pseudoferreum* strains were cultured on the medium of corn culture medium (CMA medium), PDA medium, PDA with carrot medium, 1/2 (MS + CMA) (comprised by half corn and half MS) medium. The results showed that 5 of the strains were grown best on the CMA culture medium, and 2 strains were in PDA with carrot medium. At the same time, the growth of the 3 strains on the 1/2 (MS + CMA) medium was the slowest, and the 2 strains grew slowly on the CMA medium, and 2 strains grew slowly on the PDA with carrot culture medium. The result indicated that although different strains of *Ganoderma pseudoferreum* demand were variable in nutrition, they also had some in common that all eight strains could be cultured in the PDA with carrot medium. The results are helpful for further exploring the mechanism of *Ganoderma pseudoferreum* and disease control.

## Keywords

*Ganoderma pseudoferreum*, Culture Medium, Nutrition Demand

# 不同培养基对橡胶树红根病菌的生长影响

周慧珍<sup>1</sup>, 刘志昕<sup>2</sup>, 秦云霞<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>海南大学热带农林学院, 海南 海口

<sup>2</sup>中国热带农业科学院热带生物技术研究所, 海南 儋州

<sup>3</sup>中国热带农业科学院橡胶研究所, 农业部橡胶树生物学与遗传资源利用重点实验室, 海南 儋州

\*通讯作者。

Email: qinyunxia2004@163.com

收稿日期: 2018年8月13日; 录用日期: 2018年8月29日; 发布日期: 2018年9月5日

## 摘要

将7个橡胶树红根病菌(*Ganoderma pseudoferreum*)不同株系, 分别在玉米培养基(CMA培养基), PDA培养基, PDA + 胡萝卜培养基, 1/2(MS + CMA)培养基(玉米和MS培养基二者各一半混合而成的培养基)上培养, 结果发现, 其中5个菌株在CMA培养基上生长最佳, 2个菌株在PDA + 胡萝卜培养基上生长最佳。同时, 3个菌株在1/2(MS + CMA)培养基上生长最慢, 2个菌株在CMA培养基上生长最慢, 2个菌株在PDA+胡萝卜培养基上生长较慢, 这说明橡胶树红根病菌营养需求具有差异性, 但也有一定的共性, PDA + 胡萝卜培养基可以选为红根病菌生长的较好培养基。本研究结果为筛选合适的红根病菌培养基, 探寻病原菌的生理代谢途径及病害防控奠定基础。

## 关键词

橡胶树红根病菌, 培养基, 营养需求

Copyright © 2018 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

在我国, 橡胶树根病是危害橡胶树的重要病害之一, 共有7种: 红根病、褐根病、紫根病、臭根病、黑根病、黑纹根病和白根病, 其中又以橡胶树红根病危害面积最广, 危害程度最大[1][2]。橡胶树红根病病原菌为 *Ganoderma pseudoferreum* (Wakef.) Over.et steinm [3][4], 属于真菌界担子菌门, 层菌纲, 灵芝属[4], 具有寄主较多[5]、潜伏期长[6]、在土壤中蔓延迅速[7]、对干胶产量影响严重等特点[8][9]。相对于大多数可人工培养的植物病原真菌, 橡胶树红根病菌在平板培养基上生长缓慢, 速度不同步, 且形状不规则, 属于相对难培养的菌种, 可能预示了病原菌生长营养需求的复杂性。在前期的培养过程中发现, 将7个红根病菌株分别在4种培养基上生长, 结果不同的菌株表现出了不同的培养基偏好性。除了生长速度的差别, 不同的培养基还对菌丝的生长形态及颜色变化有影响。本研究的实施, 将为筛选合适的红根病菌培养基, 探寻病原菌的生理代谢途径, 以及病害防控奠定基础。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 菌株

橡胶树红根病菌株由中国热带农业科学院橡胶研究所涂敏博士提供。

### 2.2. 培养基(培养基的 PH 统一调为 6 [5])

#### 2.2.1. PDA 培养基

称取 200 g 去皮马铃薯, 切碎, 加水 1 L 煮沸半个小时左右, 纱布过滤, 再加 15 g 葡萄糖、14 g 琼脂粉和水定容至 1 L, 搅拌溶解后分装至三角瓶, 121℃ 高温高压灭菌 20 分钟左右。

### 2.2.2. CMA 培养基

称取 30 g 玉米粉加水 1 L 加热煮沸后纱布过滤，再加入 14 g 琼脂粉，加水定容至 1 L，搅拌溶解后分装至三角瓶，121℃高温高压灭菌 20 分钟左右。

### 2.2.3. 1/2(MS + CMA)培养基

将上述 CMA 培养基和 MS 培养基等体积混合，121℃高温高压灭菌 20 分钟左右。

### 2.2.4. PDA + 胡萝卜培养基

称取去皮马铃薯和胡萝卜各 100 g，切碎，加水 1 L 煮沸半个小时左右，纱布过滤，再加 15 g 葡萄糖、14 g 琼脂粉和水定容至 1 L，搅拌溶解后分装至三角瓶，121℃高温高压灭菌 20 分钟左右。

## 2.3. 方法

### 2.3.1. 培养方法

各菌株在 CMA 培养基平板上于 28℃活化培养 160 h，在活化平板菌落边缘取长势一致的 8 mm 菌饼接种于 4 种培养基平板的中央位置，不同的培养基平板接 3 皿作为重复，28℃黑暗条件下培养[10]，分别在 8 天和 10 天后用十字交叉法[11]测量菌落直径(cm)，记录菌落的生长状态并拍照，继续放置观察。每处理重复三次。

### 2.3.2. 统计分析

数据统计分析用 SAS 软件完成。

## 3. 结果与分析

### 3.1. 不同菌株对不同培养基的偏好不一样

如图 1 所示，在 4 种培养基平板上培养 8 天，不同的菌落大小显示了各菌株对 4 种培养基的偏好性。在全部 7 种菌株中，有 2 种菌株以 CMA 为最适培养基(DF, SD1)，有 3 种菌株以 PDA + 胡萝卜培养基为最适培养基(YN1, AO4, SD2)，有 1 种菌株以 PDA 为最适培养基(BO5)，有 1 种菌株以 1/2(MS + CMA)培养基为最适培养基(BO1)。在这 7 种菌株中，有 3 个菌株以 PDA 为最差培养基(DF, BO1, SD1)，有 3 个菌株以 CMA 为最差培养基(YN1, BO1, SD1)，另 1 个菌株 BO5 在 PDA + 胡萝卜培养基上生长速度最差。

如表 1 所示，在 4 种培养基平板上培养 10 天后，不同的菌落大小显示了各菌株对 4 种培养基不同的偏好性。在全部 7 种菌株中，有 4 种菌株以 CMA 为最适培养基(DF, BO1, SD1, BO5)，有 3 种菌株以 PDA + 胡萝卜培养基为最适培养基(YN1, AO4, SD2)。在这 7 种菌株中，有 3 个菌株以 1/2(MS + CMA)为最差培养基(BO5, AO4, SD1)，有 2 个菌株以 PDA 为最差培养基(DF, BO1)，有 2 个菌株以 CMA 为最差培养基(SD2, YN1)。如图 2 所示，培养八天后 BO5 菌株在不同培养基上长势虽有不同，但相对于其他菌株而言，其在四种培养基上的生长速度较快且比较均衡。

以 B05 在四种培养基上生长 8 天为例，B05 在经过复苏培养后，同一天接种在四种培养基上。结果表明：B05 在 1/2(MS + CMA)生长最初是最慢的，菌丝稀薄(图 2(A))；在 CMA 培养基上生长速度最快但是分泌色素且不一致(图 2(B))；在 PDA 培养基上生长较快而均一(图 2(C))；在 PDA+胡萝卜培养基上菌丝增厚而致密(图 2(D))。该结果也证明了红根病菌株形态的多变性，及以此进行形态鉴定的局限性。

### 3.2. 不同培养基上红根病菌的形态不一样

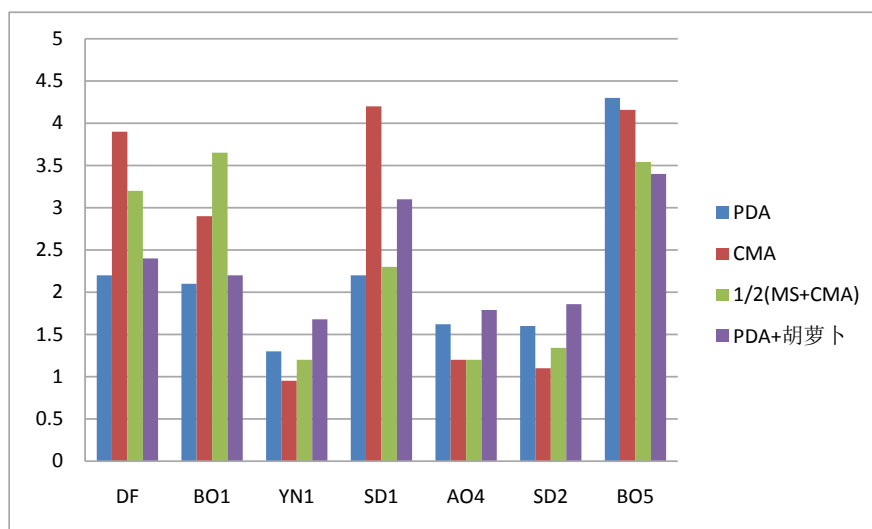
不同菌株在不同的培养基上生长速度不一，所以菌株长满平皿的时间也不尽相同，其中 BO5 菌株在

**Table 1.** Growth of seven strains on different culture media for 10 days (cm)**表 1.** 十天后菌株在培养基上的直径(cm)

	DF	BO1	YN1	SD1	AO4	SD2	BO5
PDA	2.85b	2.55b	1.5ab	2.9c	2.3a	2.05b	5.45a
CMA	6.56a	5.47a	1c	7.45a	1.55b	1.375c	6.17a
1/2(MS + CMA)	6.2a	4.8ab	1.28bc	2.5c	1.35b	1.425c	4.2b
PDA + 胡萝卜	3.15b	2.7b	1.85a	3.9b	2.35a	2.33a	4.4b

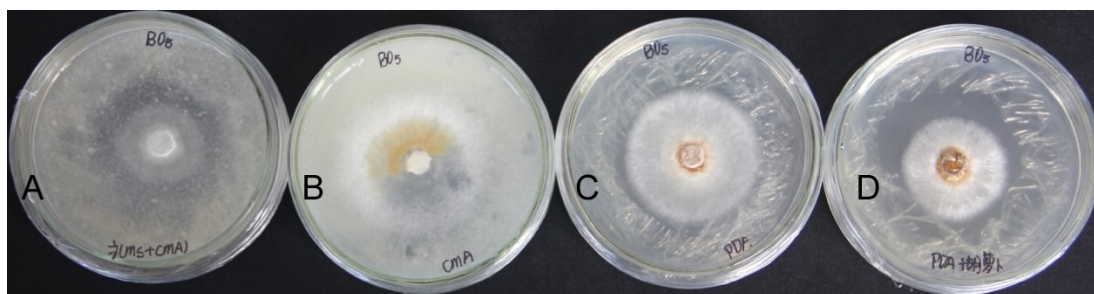
说明: 小写字母表示  $p < 0.05$  水平上具有显著性差异。

Note: Different lowercase letters in a column indicate statistically significant difference at  $p < 0.05$ .



**Figure 1.** The diameter (cm) of different strains of *Ganoderma pseudoferreum* grown on the four media for eight days

**图 1.** 红根病不同菌在四种培养基上生长 8 天后的直径(cm)



**Figure 2.** Growth profiles of B05 on four different culture media

**图 2.** B05 菌株在不同培养基上的长势

CMV 培养基上培养十天后长满平皿, DF 和 SD1 在培养十二天后长满平皿, 其他的均在培养十五天后长满平皿。如图 3 所示, 在各菌株长满平皿后, 尽管 7 株红根病菌在 4 种培养基上表现出了迥异的形态特征(比如菌丝生长速度和分泌色素的差异等), 但是它们在同一种培养基上还是表现出较一致的生长特征。比如 7 个菌株在 PDA 培养基上生长速度相对缓慢, 最早出现黄化变色现象; 在 CMA 培养基上的生长速度很快, 菌丝致密旺盛, 甚至长出血缝。在 1/2(MS + CMA)培养基少数菌株的生长速度和 CMA 培养基相当。而在 PDA + 胡萝卜培养基上菌株菌丝成车轮辐射状, 长势均衡。



**Figure 3.** Growth profiles of *Ganoderma pseudoferreum* strains in four culture media

**图 3.** 菌株在培养基上长满后的形态

#### 4. 讨论

病原菌的分离培养是病原菌后续诸多生物学研究的基础。大多数可离体培养的植物病原真菌都可以在 PDA 培养基上很好地生长，但是橡胶树红根病菌属于例外，在 PDA 培养基上生长速度均衡但缓慢。但在 PDA 培养基的基础上加入胡萝卜后，供试的所有菌株都会在原来基础上长势增快。部分菌株(DF, BO1, SD1, BO5)在 CMA 培养基上生长快速，但在加入了 MS 的 1/2(MS + CMA)培养基上生长反而变缓。这在一定程度上说明 PDA 培养基还是可以作为红根病菌的基础培养基，但由于 PDA 培养基营养单一，我们需要适当的在其中加入其它的营养成分。本实验中在 PDA 培养基基础上加入胡萝卜后菌株的生长速度虽有增加，但变幅不大，在后续探讨试验中我们可以再加入一定量的 CMA，使其培养基的营养成分更全面均衡。而在 3 次生物学重复实验中，同一菌株，在相同的培养基平板上测量出的直径大小可能不同，这是因为所用母本菌株的老化程度不同，对菌株的扩展速度有影响，但这不影响同一菌株在 3 种培养基上扩展快慢的趋势。综合以上结果，说明橡胶树红根病菌不同菌株间具有差异化的营养需求。

这种营养差异与地域无关。涂敏等[12]利用 RAPD 标记，对采集于云南和海南的 18 株橡胶树红根病菌进行遗传相似性聚类分析，结果表明，不同生态类型地区的菌株存在较大的遗传差异性，地理上隔离地区的病原菌各自具有相对独立的进化途径。以 CMA 培养基为例，DF, BO1, SD1, BO5 在其上生长快速，但 DF, BO1 和 BO5 采集于云南，SD1 采集于海南[13]。由此可以看出，本研究中的 7 株菌株间的营养差异划分跟地理区域来源并不相关。

本研究中，在 CMA 培养基上，DF, BO1, SD1, BO5 生长速度最快，而 YN1, AO4, SD2 生长速度最慢，且 YN1 的生长速度是 DF 的七分之一。在 PDA 培养基上七种菌株虽然生长速度不一，但相对在其他培养基上的生长速度而言，在 PDA 培养基上比较均衡。这说明了橡胶树红根病菌株间营养代谢具有差异和多样性但又有一定的共性。

由实验可知，在 PDA 培养基的基础上加入胡萝卜，虽然部分菌株在此培养基上不是长势最好的，但是对大部分的菌株而言，长势是最稳定的。虽然本研究中的 PDA + 胡萝卜培养基还不是最适合橡胶树红

根病菌的培养基，但是也为培养红根病菌提供了一种不错的培养基选择。并且为后续的最适培养基筛选奠定了一定基础，并为以后通过化学药剂甚至分子手段防治橡胶树红根病菌研究奠定基础。

## 致 谢

该研究得到海南省自然科学基金项目(20153213)的支持，国家橡胶树种质资源圃提供信息。

## 参考文献

- [1] 张箭. 木薯发展史初论[J]. 中国农史, 2011, 30(2): 19-30.
- [2] FAO. (2013) Food Outlook. <http://www.fao.org/docrep/019/i3473e/i3473e.pdf>
- [3] 张运强, 张辉强, 邓晓东. 橡胶树红根病病原菌的鉴定[J]. 热带作物学报, 1997(1): 16-23.
- [4] 张运强, 谢艺贤, 张辉强. 橡胶树红根病病原菌的鉴定(II) [J]. 热带作物学报, 2000, 21(1): 20-24.
- [5] 丁雄飞, 刘昌芬. 云南橡胶树灵芝分类研究[J]. 云南热作科技, 1995, 18(2): 14-19.
- [6] 何康, 黄宗道. 热带北缘橡胶树栽培[M]. 广州: 广东科技出版社, 1987: 294-300.
- [7] 张运强, 张辉强. 橡胶树红根病的蔓延速度及预测预报[J]. 热带作物学报, 1998, 19(1): 7-12.
- [8] 张贺, 蒲金基, 张欣, 等. 橡胶树红根病病原菌生物学培养特性[J]. 热带作物学报, 2008, 29(5): 632-635.
- [9] 张运强, 张辉强, 邓晓东. 橡胶树红根病病原菌的鉴定[J]. 热带作物学报, 1997, 18(1): 16-23.
- [10] 中共勐海县委调研组. 勐海县“三农”工作探究[J]. 中共云南省委党校学报, 2012, 13(4): 103-106.
- [11] Chen, Q., Lu, F.P., Lu, H., *et al.* (2014) Cassava Pests in China. Proceedings of the Ninth Regional Workshop Helidin Nanning, Guangxi, China PR. CIAT-Asia Office, Cali, Columbia, 245-261.
- [12] 涂敏, 蔡海滨, 皮彩霞, 等. 橡胶树红根病菌遗传多态性的 RAPD 分析[C]//中国植物病理学会 2012 年学术年会论文集. 2012: 584-589.
- [13] 杨先锋, 徐正伟, 华玉伟, 等. 橡胶树红根病菌具有差异化的营养需求[J]. 热带农业科学, 2016, 26(4): 63-71.

### 知网检索的两种方式:

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>  
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2168-5665, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>  
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>  
期刊邮箱: [br@hanspub.org](mailto:br@hanspub.org)