

真菌生理学

V. W. 柯克兰著

科学出版社

真 菌 生 理 学

V. W. 柯 克 兰 著

陈 駒 声 方 琳 陈 权 胡 学 智 译

陈 駒 声 校

科 学 出 版 社

1 9 6 3

VINCENT W. COCHRANE
PHYSIOLOGY OF FUNGI
John Wiley & Sons, Inc. 1958

內 容 簡 介

本书取材比較全面,参考文献多达数千篇,而作者以簡括文字作批評式的陈述,使讀者得到很明确的概念。

首先叙述表面培养与深层培养应注意的要点、各种保存法、生长动力学、二形現象与生长测定法均有实用价值。次述碳、氮、无机盐的营养与代謝以及維生素的需要,为真菌培养提供了丰富知識。再次叙述各种糖的代謝途径与循环,和对真菌繁殖与发芽有关的因素。最后叙述化学剂与物理因素对真菌的影响,对于防霉和研究真菌的变异也有参考价值。

本书可供从事发酵、植物病理、森林防护、工农业产品防霉等有关学科的工作者的参考。

真 菌 生 理 学

V. W. 柯克兰 著

陈駒声 方琳 陈权 胡学智 譯

陈 駒 声 校

*

科学出版社出版 (北京朝阳門大街 117 号)

北京市书刊出版业营业許可証出字第 061 号

中国科学院印刷厂印刷 新华书店总經售

*

1963 年 5 月第 一 版

1963 年 5 月第一次印刷

(京) 0001—2,150

书号: 2722 字数: 438,000

开本: 850×1168 1/32

印张: 16 5/8

定价: 2.70 元

序 言

真菌生理学的研究，虽然还没有跟上象細菌新陈代謝这一部門的研究，但它在最近数十年中，有很多相类似的发展。說这两种类型的研究迥不相同，似乎是公允的。对于有些問題如真菌的繁殖、寄生和发育的研究，除了重要的但为数无多的例外，一直是属于描述性質的。而在另一极端，根据默認的假設，认为微生物是一小囊的酶，只要予以提取并列举出来，便可增进了基础的生物化学知識。我們当前的需要是把理想的分析研究所获得的有价值的結果，推广应用到迄今仍停留在描述的博物学阶段中的那些問題上。

但这是将来的事。我們要就現在已获得的結果进行研究。本书的目的便是总结和组织我們所有的真菌生理的知識，并尽可能指出所面临的一些問題。如果有一指导原則可以遵循的話，那末，这个原則便是：真菌作为具有机能的完整生物，虽然是异常的或有其独特之处，但它可在細胞的和分子的基础上予以研究，只要把其他学科的，特别是細菌生理学的研究所得考虑进去。这便是比較生物化学研究所持的观点。无疑地，在一、二十年內，其他更适用的組織原則可能出現，但在目前把这門知識环繞着这个中心原則組織起来，似乎是很能站得住脚的。

強調一切生物基本上具有生物化学的相似性，便是在具体事例中闡明一般性的理論，即一切有生命的东西都有其統一性，亦即生物科学的統一性。生物学分割为不同部門，对于这些部門产生了不可估計的損害，可能对于植物学方面为害最大。这并不是否定生物学中專門化的需要，但当專門化达到这样程度，例如把一个对动物学或細菌学毫无接触的学生，竟視為在植物学方面已受到很好的訓練，那末現在似乎就要重新考虑了。在教学和研究的基

础上,必須找出方法,以保証各門的生物学者都能互相熟悉彼此問題,并且在进行他們專門的研究中,能够互相吸取經驗。

有关真菌生理学的文献是很多的,而且尚在很快地发展,其中必然有很多是重复的,并且其范围局限在一些特殊的生物或实际应用方面。有些文献是不符合正确性或邏輯性的标准。我曾試圖利用著者选择文献的权利,把我所认为不符合任何一种标准的文献摒除而不征引。但我还是宁可犯了征引过多文献的偏差,而不愿失之过少。当然沒有遺漏是談不上的;征引参考資料的意图是要尽快地把近三十年来大多数的研究工作予以介紹,并把全部文献介紹給学生或研究工作者。关于这一点,遺憾的是:“老一套”的对文献写出評述的文章,在現代刊物中,大部分是被排挤的。无疑地这一工作过去往往做得有些过分,浪費宝貴的篇幅,但現今流行把前月的研究工作,以写信給編輯的方式来发表,就更不值得提倡了。

Frank Dickens 教授有一次在課堂討論中說到,为着研究生物化学,酵母可作为动物看待。由于脑子里有了这种概念,我曾刪略了許多关于酵母生理的研究部分,因它在其他地方已得到很好的介紹了;同时认为它对絲状真菌的重要性只是属于基础性質而已。在另一方面,我把需氧的放綫菌綱列入本书,理由是就生态和生理方面而言,它們对于真正真菌有密切关系。这两类羣都是絲状的,两者的生长都需要氧气,都生成外生孢子,也都在相似的生境中找到。所以本书的范围包括絲状真菌和放綫菌綱,以及关于酵母的研究,这种研究对于真正真菌的生理学是有直接关系的。

关于生物的名称除会引起混淆者外,我是根据原著者的用法。这个原則对少数名称則有例外,例如,形成鏈状分生孢子的需氧放綫菌綱是用鏈霉菌来表示。

两个重要而有趣味的題目是几乎完全刪掉了,即真菌的发生学和在自然界中与其他生物的相互作用。这两个題目值得給予更多的篇幅,非本书所能評。而后者,即真菌生态学,或許需要以不同于本书的一种概念性的方式进行研究。

柯 克 兰 1958年10月

目 录

第 一 章 培养与生长	1
一、培养方法	1
二、保存	4
三、生长的动力学	5
四、二形现象	9
五、生长的测定	11
六、温度和生长	13
七、pH 和生长	20
八、氧和生长	23
九、二氧化碳和生长	25
十、水和生长	25
十一、生物发光现象	27
参考文献	29
第 二 章 真菌细胞的成分	36
一、细胞的主要成分	36
二、细胞的矿物质成分	38
三、细胞壁	39
四、细胞的碳水化合物	43
五、含氮成分	45
六、细胞类脂类	47
参考文献	51
第 三 章 碳营养	56
一、方法上的问题	56
二、单糖及其衍生物	61
三、低聚糖类	67
四、多糖类	74
五、有机酸类	80

六、类脂类·····	81
七、其他碳源·····	82
八、碳营养中浓度因素·····	85
九、酶的诱导：适应性的生长和混合碳源的利用·····	86
十、生长效率·····	89
十一、总结·····	90
参考文献·····	93
第 四 章 碳代谢·····	99
第一部分 引言·····	99
参考文献·····	103
第 五 章 碳代谢·····	104
第二部分 碳水化合物及其有关化合物的代谢·····	104
一、单糖的代谢·····	104
二、低聚糖的代谢·····	105
三、其他糖类的代谢·····	110
四、多糖的代谢·····	111
五、氨基糖的代谢·····	122
六、多元醇的代谢·····	122
参考文献·····	125
第 六 章 碳代谢·····	132
第三部分 有机酸、类脂和其他的化合物·····	132
一、脂族有机酸的代谢·····	132
二、类脂的代谢·····	149
三、芳族化合物的代谢·····	166
四、吡喃酮的衍生物·····	181
五、呋喃的衍生物·····	183
六、生物的甲基化作用·····	184
七、生物的氯化作用·····	186
八、青霉素·····	187
参考文献·····	191
第 七 章 呼吸作用·····	206
一、方法上的问题·····	207

二、呼吸作用的因素	209
三、内生呼吸	213
四、氧化的同化作用	215
五、Embden-Meyerhof 途径	215
六、磷酸葡萄糖酸盐的氧化途径	221
七、葡萄糖的非磷酸化的氧化作用	223
八、戊糖发酵和氧化作用	225
九、檸檬酸循环	226
十、在呼吸中的二羧酸	230
十一、二氧化碳的固定	232
十二、末端呼吸	233
参考文献	237
第 八 章 氮的营养和代謝	245
一、氮的无机来源	246
二、蛋白質类和肽类	254
三、氨基酸类和酰胺类的利用	260
四、氨基酸类的生物合成	270
五、胺类	277
六、核酸及其衍生物的代謝	279
七、尿素	282
八、麦角碱	284
九、其他氮化合物	285
参考文献	289
第 九 章 无机营养和代謝	305
一、磷	305
二、鉀	308
三、硫	309
四、鎂	311
五、鉄	312
六、鋅	313
七、銅	314
八、錳	315
九、鋁	315

十、钙	316
十一、钴	317
十二、其他无机营养物	318
十三、矿物质的生物测定法	318
十四、关于矿物质营养的问题	320
参考文献	323
第十章 真菌的维生素需要	329
一、方法上的问题	330
二、维生素需要的性质	331
三、维生素的代谢	334
四、在维生素生物测定中的真菌	335
五、硫胺素	335
六、生物素	339
七、吡哆醇	341
八、核黄素	342
九、菸酸	344
十、肌醇	346
十一、对-氨基苯甲酸	347
十二、泛酸	349
十三、蝶酰谷氨酸	350
十四、维生素 B ₁₂	350
十五、维生素 K	351
十六、其他生长因素	352
十七、在真菌中维生素缺陷型的发生	353
十八、维生素、分类学和生态学	354
参考文献	356
第十一章 繁殖	364
一、光	365
二、温度	370
三、与水分的关系	372
四、氧、二氧化碳和挥发性物质	373
五、酸度	375
六、碳营养	375

七、氮营养	378
八、矿物质营养	379
九、维生素和未经鉴定的因素	380
十、特殊的繁殖激素	381
十一、代谢和繁殖	385
十二、植物病原菌的孢子形成	387
十三、总结	388
参考文献	390
第十二章 孢子发芽	397
一、测量法	397
二、发芽过程	398
三、孢子的代谢	402
四、成熟和休眠	405
五、孢子的寿命	408
六、营养和发芽	411
七、pH 和发芽	413
八、水分和发芽	414
九、温度和发芽	417
十、氧和发芽	423
十一、二氧化碳和发芽	424
十二、对孢子发芽的生物效应	425
参考文献	428
第十三章 物理因素的作用	435
一、高温	435
二、低温	437
三、可见光	439
四、紫外线照射	441
五、电离辐射	445
六、长波长的电磁辐射	447
参考文献	448
第十四章 化学剂的作用	452
一、对毒性的感应及其测定	452

二、耐药性和抵抗性·····	460
三、选择性累积作用·····	462
四、表面作用·····	465
五、氢离子浓度·····	466
六、结构与活性·····	470
七、重金属的作用·····	478
八、硫的作用·····	485
九、醌类及其他不饱和的化合物·····	488
十、螯合作用和抑菌的活性·····	491
十一、結束語·····	499
参考文献·····	500
生物索引·····	512

• x •

第一章 培养与生长

在真菌中，生长的确切定义是由采用的测定方法而决定的。絕大多數的方法是直接或間接測定一个接种体在完全培养基中經一定時間的培养后所增长的量，因此細胞質量或数目的增加，可用作生长的有效定义。

在考究培养与生长时，我們首先要从事研討者为真菌的培养与保存方法、生长的动力学、二形性以及生长的测定等等；其次則为影响生长的温度、氫离子浓度、氧、二氧化碳与水分等外界因素。这些外界条件也影响着孢子的发芽(第十二章)。至于輻射能的影响，則放在第十三章內討論。

一、培养方法

真菌培养物通常保存在洋菜斜面上，而洋菜平板則在实验工作中使用。然而大多数定量的研究需要液体培养基，以供表面(靜止)或深层(通气)培养之用。

表面培养的一般技术已是众所熟知，毋須在此再論了。但并不常常被理解到，真正的需氧生长，只有在接种物悬浮于液体表面时才能得到。多数孢子天然地浮于液面；对于不浮者要使用麸皮培养物接种^[205]，或于培养基中加入少量的洋菜，阿拉伯胶或聚乙烯醇^[334]。

关于真菌表面培养的使用有二大爭議存在。已发育的菌落細胞不仅具有可見的不同类型——气生或深层生长——也曝露于不同的外界环境。气生菌絲是远离于营养供給，而溶于大气之中，而其下面的細胞則相反，是与营养和可溶性代謝产物密切接触，但遭受部分厌氧生活环境的害处^[167]。如检查这样深层培养的菌絲，可发现其中是充滿空泡。整个培养物可能往往是缺氧的。这种缺氧

情形, 可以从增加表面: 容积的比率^[208], 有利于糖的利用, 和下述的通气对大多数真菌生长速度的影响上看出。

搖床 (shaker) 是实验室中最普通、最适用的通气培养设备。Kluyver 与 Perquin^[161] 二氏首先对此设备作了深入的研究。瓶子是安装在床台上, 可作迅速的迴轉或橫向的往复运动。Shu 和 Johnson^[270]、Paladino^[230] 以及 Chain 和 Gualandi^[54] 等研究了設計上的若干問題。

所有代表性的真菌羣与鏈霉菌 (*Streptomyces*) 的主要属均能成功地在攪拌或振蕩培养中生长。其生长率通常較之同一菌在表面培养中至少多一倍^[1, 61, 162, 286, 319, 335], 可是某些真菌并不显出此种效应^[14, 268], 有些甚至于生长得极为不良, 以致这方法对它們不能适用。振蕩培养除了生长速度較快外, 另一重要优点是菌絲体生长均匀, 可直接用以进行測定呼吸或其他代謝的研究。

在振蕩培养中, 每个菌落四周都曝露在均一的环境中; 因此典型菌落是呈球状的结构。然而菌落的形态可能由于菌种——甚至在同一属中——和培养基的不同而异^[43]。孢子形成通常地, 但不是完全地被抑制——均匀性 (homogeneity) 的另一个因素。菌絲体的显微特征也受到通气与攪拌的影响^[76, 83]。

虽然振蕩培养比靜止培养有更多的可測定的溶解氧量和更高的氧气扩散速度^[283], 但为了某一目的, 更高供氧速度或許是需要的^[249, 252]。特别是在使用浓度較高的易被利用的碳源时常发生此情况; 在特殊情况下, 例如玉米黑粉病菌 (*Ustilago zeae*) 的最高需氧量为 16 mm 氧/升/小时^[97], 黑麴霉 (*Aspergillus niger*) 为 56 mm 氧/升/小时^[97]。这样大小的通气率, 必須有一装置, 在此装置中, 无菌培养基可以攪动并通气。有許多实验室的装置, 曾經描述^[10, 55, 142, 168, 252], 其中有一些可在市上买到。关于在設計上的理論与实践的問題, 有些实验室已进行过研究^[9, 16, 68, 97]。

在非洋菜固体培养基上的生长, 在特殊問題中是有用的。这些材料包括土壤^[224, 260]、木屑^[6]、麸皮^[206] 和棉花^[25]。用丙烯氧化氧 (propylene oxide) 灭菌处理的植物材料, 在誘导孢子形成上, 特別

有用(第十一章),且在生理学的研究上也被广泛采用。

用以做培养的接种体,通常是从洋菜斜面取得的孢子。真菌的培养常常得到由于发生变异而替代了正常的类型;这种发育特别关于孢子的形成是曾经分析研究过的,其他例子包括生化能力的损失^[63],对寄主植物毒性的改变^[202],以及同化能力的改变^[246]。为防止变异起见,最好的办法是将培养物保持于休眠状态中(参看 4 页)。获得真菌单孢子的培养方法,曾由 Hildebrand 氏作了总结^[136];为了恢复或纯化所需的类型,这些培养法可能是必需的。然而必须记着,有些孢子是多核的(第十二章),可能含有遗传性不同的核。

与接种过程有关的三种生理状况,必须提及。首先是大量接种的生长速率较小量接种快得多;此外,在深层培养时大量接种结果,往往形成较小菌落,由于氧扩散入菌落,而限制生长与呼吸的危险也较少。第二,要避免使用生活力低的老孢子;接种物的年龄和生长条件,特别是培养基与温度,应加以标准化。对于某些真菌采用一种连续培养器名为“Chemostate”容易得到标准化的接种物^[221]。最后,在不适宜的培养基中,为了促进生长,就需要大量接种^[235]。

为使生长迅速,可使用预先发芽的孢子或菌丝体为接种体^[207]。机械的浸渍菌丝体亦可用作接种体^[233,259]。对于不生成孢子的真菌常选用此方法^[3]。在应用此法时,为了减少菌丝体受到损害,处理时间愈短愈好。

培养特殊真菌的特殊方法是太多了,此处不可能都提及。连续装置是大家感到兴趣的;它包括一些装置能只使溶液更新^[325],以及可控制营养和细胞数目^[138]的那些装置。

关于真菌的培养基,曾由 Fred 和 Waksman^[101]、Levine^[176] 以及 Lilly 和 Barnett^[180] 等作过讨论。一般说来,很易于想象真菌既需要也能耐受较高浓度的营养分与高酸度;大多数真菌是这样,但非所有的真菌都是这样的。为了某种目的,高浓度的培养基自然是有用的,但在形态学、生理学以及繁殖的研究上,使用稀释的培养

基較常用的培养基更为优越。

二、保 存

在真菌保存中，感到兴趣的是：在保持原种时要避免过分劳力，而更重要的是希望保持培养物使遗传性的改变減到极小。問題在于怎样可使活的培养物处于不生长的状态中。

培养物和植物标本經過干燥后，往往可保藏到惊人的长久时期，这是可能由于形成长命孢子的緣故。Zobl^[344]氏总结保藏了21年而殘存的菌种的早期记录；在他的研究工作中发现干培养物的生存中以子囊菌綱和担子菌綱为普遍，而毛霉目則寿命相当短。有些真菌的菌核能活到13年之久^[336]，但它若用干燥法保存，則生活率較低^[291]。少数的革質的担子菌子实体用干燥法保存可以生活多年，而多数的肉質类型的担子菌則耐久性較差^[41,43]。

土壤試管法^[5,121]是将真菌移植在湿潤的无菌土壤上（最好預先用碳酸鈣調节到 pH 6—7），使其生长，并形成孢子直到土壤干燥为止。在有限的可用資料中指出：虽然有些真菌能在土管中至少可以生活5年，而很多真菌不能活得这样久，因此，本法可視作特殊方法，而不作为通用的。

将培养物保存于无菌矿物油的下面是相当簡單的方法，其优点是孢子形成与否在这里不关紧要^[39,267]。然而有限的实验指出，虽然有許多真菌至少能保存二年，而其他真菌則死亡較早^[146,331,333]。

将孢子悬浮于血清、明胶、多縮右旋葡萄糖或其他胶体物中进行冰冻干燥似为一种通用的方法，然而它对于有些真菌如虫霉目（Entomophthorales）和皮肤癣菌类（Dermatophytes）等不能获得成功^[199,239,265,337]。簡單而不需冰冻的真空干燥，对許多真菌是适用的^[244]。真菌的构造实关重要；如腐霉属（*Pythium* spp.）的种的卵囊（Oogonia）而不是孢子囊或菌絲体能成功地冰冻干燥^[218]。Haskins 与 Anastasiou^[162]报告关于成功地应用改良冰冻干燥的技术。真空干燥的夏孢子（uredospores）如再水合（rehydration）太快时，显然是有害的^[265a]。

对于能形成孢子的真菌言,冰冻干燥似为最好的唯一方法,然而在获得更多可用的报导以前,许多真菌的保存应该先作实验方能确定。冰冻干燥比较容易且设备也易于购得。在以前有不少研究报告指出^[197],用喷雾干燥真菌孢子,也是一个可行的办法。

三、生长的动力学

目前还不能对生长下一确切的定义;一个临时的可用的定义是细胞质量或数目的增加。质量(常为干重)在丝状真菌中,由于它能代表一部分多糖,类脂或细胞壁物质的累积,但是生活原生质没有任何增加,所以用来表示生长的增加是不可靠的。相反地,在粗糙链孢霉(*Neurospora crassa*)中当重量停止增加后,蛋白质的合成似可持续一个相当长的时间^[7]。

在液体振荡培养中,丝状真菌生长的时间过程,例如图 1 的数

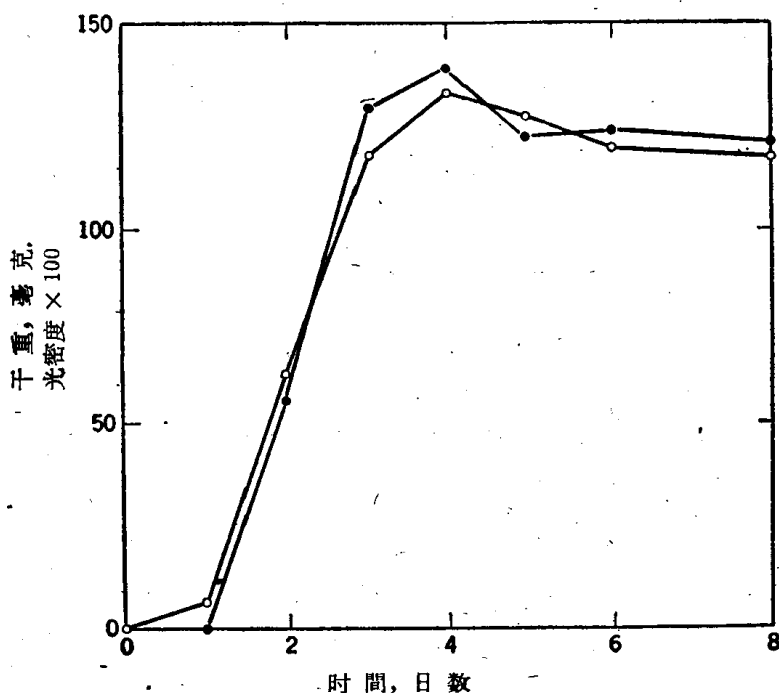


图 1 在通气培养基上茄病镰刀霉(*Fusarium solani*)的生长。
圆圈示干重;圆点示光密度

据所示。表面培养也可获得同样的生长曲线^[2,105,248]。典型的曲线，以具有三个主要时期为特征，在这些时期之间各有过渡时间：

1. 无明显的生长期；
2. 迅速地几成直线的生长期；
3. 无增长的或自溶作用及干重下降期。

然而不能设想所有数据都能适合此项规律。据报导^[30]：在特殊的情况下，也有两期的生长曲线，在此曲线中开始生长时期后，即继以第二生长时间，而在过渡中生长曾一度下降^[30]。第二生长期可能仅代表多糖的合成，而没有其他细胞组成的增加，可能是因为氮从老菌丝中移动以供新的生长之用。Morton 氏与 Broadbent 氏^[205]观察短帚霉 (*Scopulariopsis brevicaulis*) 的结果，支持第二种解说；至少在含有浓度相当高的碳源培养基中，在耗尽可用的外源氮后，氮似乎是重新被利用的。

借培养因子的适当调节，特别是营养浓度，或许能够得到不同于图 1 所示类型的生长曲线，例如 *Streptomyces fradiae* 的培养基中添加钙能延迟自溶期的到来^[132]。

生长速度不仅因种而异；并且在相同种的不同分离物或菌落之间亦有差异；这种情形在液体与洋菜固体培养中都会发现^[71, 88, 89, 130]。

没有明显生长的第一期，可假定有两个组成部分：孢子发芽前的真正延迟期和生长业已开始但还无法测定的时期。此生长期在真菌中还未详细作过研究。在细菌中利用测定蛋白质与核酸合成的方法，发现生长似乎是立刻发生的，而无真正的延迟期^[298]。

第二期为迅速生长期。如 Emerson^[86] 氏指出，干重的立方根的增加，在此时期的大部分时间内是与时间成直线关系的（图 2）。然而应着重指出，此种关系只有在没有外界因子例如氧或营养浓度限制生长时才能保持。相反地，一个曲线与图 2 曲线相符合，则表示这生物的生长是不受限制的。

菌丝体发育的形态基础，是生长只在菌丝顶端出现^[273, 272, 280]。菌丝体的内部细胞通常不直接协助新的生长，虽则它们能将营养