

李文豪, 刘明, 康林芝, 肖自添, 何焕清, 徐江, 胡婷婷, 刘主. 一株疑似野生大白口蘑的鉴定及菌丝培养基筛选 [J]. 广东农业科学, 2019, 46(3): 37–44.

一株疑似野生大白口蘑的鉴定及菌丝培养基筛选

李文豪¹, 刘明², 康林芝³, 肖自添², 何焕清², 徐江², 胡婷婷¹, 刘主¹

(1. 韶关学院英东生命科学学院, 广东 韶关 512005; 2. 广东省农业科学院蔬菜研究所, 广东 广州 510640;
3. 韶关学院英东食品科学与工程学院, 广东 韶关 512005)

摘要: 【目的】鉴定 1 株在粤北韶关学院内采集的疑似大白口蘑 (*Tricholoma giganteum*) 野生菌株, 并筛选其菌丝适宜培养基, 为丰富其生物资源、开发利用该菌株提供依据和参考。【方法】以该疑似大白口蘑野生菌株为试材, 采用组织分离法, 从野生子实体中分离纯化得到纯菌丝体; 通过子实体形态特征分析、菌丝生物学特性分析和 ITS 序列克隆与分析对其进行鉴定; 并在 PSA 培养基、酵母膏培养基和棉籽壳培养基中进行菌丝培养试验, 筛选菌丝适宜培养基。【结果】该菌株与 GenBank 中报道的大白口蘑具有较高的相似性、Ident 在 82.23%~90.06% 之间, 其中与序列 JX041888.1 相似性最高、Ident 为 90.06%。结合传统形态学分析, 鉴定该菌株为野生大白口蘑, 命名为 Tsg1。菌丝体均可在 PSA 培养基、酵母膏培养基和棉籽壳培养基中培养, 但在棉籽壳培养基中菌丝体最为浓密粗壮、长势最好, 其菌丝生长速度为 3.68 mm/d。【结论】该菌株为野生大白口蘑, 棉籽壳培养基是其菌丝培养适宜培养基。

关键词: 粤北; 大白口蘑; 野生菌株; ITS 鉴定; 形态学鉴定; 培养基筛选

中图分类号: S646.9

文献标志码: A

文章编号: 1004-874X (2019) 03-0037-08

Identification of A Strain of Suspected Wild *Tricholoma giganteum* and Screening of Mycelium Culture Medium

LI Wenhao¹, LIU Ming², KANG Linzhi³, XIAO Zitian², HE Huanqing², XU Jiang², HU Tingting¹, LIU Zhu¹

(1. Yingdong College of Life Sciences, Shaoguan University, Shaoguan 512005, China; 2. Research Institution of Vegetable, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China; 3. Yingdong College of Food Sciences and Engineering, Shaoguan University, Shaoguan 512005, China)

Abstract: 【Objective】A wild strain of suspected *Tricholoma giganteum* collected in Shaoguan University, Northern Guangdong Province was identified and the suitable mycelium culture medium was screened, which provided basis and reference for the enrichment of its biological resources and the development and utilization of the strain. 【Method】Using the wild strain of the suspected *T. giganteum* as tested material, the pure mycelium was isolated and purified by tissue isolation from the wild strain fruiting body. Identification was carried out by the morphological characteristics analysis of fruiting bodies, biological characteristics analysis of mycelium, and ITS sequence cloning and analysis. In order to screen the most suitable mycelium culture medium, mycelium culture experiment was carried out in PSA medium, yeast extract medium and cottonseed shell medium, respectively. 【Result】The cloning and analysis of ITS sequence showed that the suspected wild *T. giganteum* had high similarity with the *T. giganteum* that reported in GenBank and Ident was between 82.23% and 90.06%, The sequence showed highest similarity with sequence JX041888.1 and its Ident was 90.06%. Combined with

收稿日期: 2019-01-25

基金项目: 广东省大学生创新创业训练计划项目 (Sycxxy2017-027); 韶关学院科研重点项目 (SZ2018KJ07); 韶关学院博士科研启动基金 (433-99000612); 韶关市科技计划项目 (2018sn042)

作者简介: 李文豪 (1995—), 男, 在读本科生, 研究方向为生物技术, E-mail: 727074450@qq.com

通信作者: 刘主 (1977—), 男, 博士, 副教授, 研究方向为食用菌和分子生物学研究, E-mail: liuzhu77@126.com

traditional morphological analysis, the strain was identified as wild *T. giganteum* and named as Tsg1. The mycelium could be cultured in PSA medium, yeast extract medium and cottonseed shell medium. But the mycelium was the densest and the strongest in the cottonseed shell medium, with the growth rate of 3.68 mm/d. 【Conclusion】 This strain is a wild *T. giganteum*, and cottonseed shell medium is the most suitable medium for mycelium culture.

Key words: Northern Guangdong; *Tricholoma giganteum*; wild strain; ITS identification; morphological identification; screening of culture medium

【研究意义】大白口蘑 (*Tricholoma giganteum*) 又称为巨大口蘑、洛巴伊口蘑，是一种大型簇生的食、药用真菌，隶属于担子菌门、伞菌纲、伞菌目、口蘑科、口蘑属^[1]。大白口蘑的营养价值极高，其粗蛋白和多糖含量分别是 115.9 g/kg 和 365.9 g/kg，含有 18 种氨基酸，其中人体必需氨基酸 74.4 g/kg，满足 FAO/WHO 最高蛋白质的需求^[2]。大白口蘑含有丰富的矿物质元素，如锌、钾、钙、铁、钠、镁等^[3]；还具有防突变、增强免疫力、抗肿瘤、抗氧化、抗艾滋病毒、抗真菌、降血糖血脂血压和保护肝脏等功能^[4-9]。大白口蘑是一种簇生的野生珍稀食药用菌，菇体肥大、菌肉鲜美、口感极佳，具有很高的食药用价值，而且不易褐变和腐烂，耐贮运性好，有很好的开发价值和应用前景^[10]。大白口蘑属于高温品种，可在夏季市场短缺菇的情况下抢占市场，具有良好的发展前景^[11]。韶关学院“食用菌生态循环栽培技术及产业化创新服务团队”在韶关学院校园内的荒地杂草丛中（旁有苦棟树和海南蒲桃树）发现 1 株疑似大白口蘑野生菌。本研究结合形态学特征与 ITS 序列分析鉴定其分类学地位，并筛选该菌株适宜的菌丝培养基，旨在丰富其种质资源，也为其驯化、栽培和育种提供依据和参考。**【前人研究进展】**大白口蘑是由法国真菌学家 Hiem 发现于非洲，于 1970 年定名，被称为“菌中新秀”^[12]。文献报道了从不同地方分离纯化得到的野生大白口蘑新品系：卯晓岚^[13]于 1992 年在香港中文大学校内凤凰木树旁草地采集到 1 株；郭翠英等^[14]在福建省热带植物研究所（厦门）、上官舟建等^[15]在荆西地区、汤洪敏等^[16]在云南楚雄、邓优锦等^[17]在福建福州、黎金锋等^[18]在广西南宁、张国广等^[19]在厦门大学、刘月廉等^[20]在湛江海洋大学校园内均采集到野生菌株，并进行了分离鉴定和驯化等方面的研究。莫美华等^[10]在广州先后分离到 4 株大白口蘑新品系，分别命名为 SCAU1、Dongguanzhuang、

SCAU2 和 SCAU3，并对它们的生物学特性、栽培学特性和品质特性等进行了研究，经过驯化及优化栽培，获得了 4.5 万 ~7.5 万 kg/hm² 的产量，而且得到抗杂菌能力强的菌株。粤北具有丰富的野生大型真菌种质资源，毕志树等在粤北地区采集并鉴定包括担子菌和子囊菌等大型真菌 529 种，其中野生食药用菌 113 种^[21]。据报道，目前粤北地区已知野生食药用菌共有 145 种^[22]，但没有发现野生大白口蘑的文献报道。大白口蘑的商业化栽培范围较窄，大部分地区仍处于试栽培阶段，生产规模较小，制约了该菌的大规模推广^[23]。

【本研究切入点】本团队在粤北韶关学院校园内中发现 1 株疑似大白口蘑野生菌株，旁有苦棟和海南蒲桃树。采集并从子实体组织中分离纯化得到纯菌丝体，菌株命名为 Tsg1。本研究结合形态学特征与 ITS 序列分析进行鉴定，并通过在 PSA 培养基、酵母膏培养基和棉籽壳培养基中的培养试验，筛选该菌株菌丝培养最合适的培养基。**【拟解决的关键问题】**通过 ITS 序列克隆和分析，结合形态学，对野生菌株 Tsg1 进行鉴定，丰富其生物种质资源；并通过菌丝培养基筛选试验和野生环境分析，为其开发利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试菌株 野生大白口蘑 Tsg1，采自广东韶关学院校园内荒地杂草丛中，通过组织分离法分离培养得到纯化的菌丝体。

1.1.2 试剂 PSA 培养基 马铃薯 200 g, 蔗糖 20 g, 琼脂粉 15 g, 蒸馏水定容至 1 L, 自然 pH。酵母膏培养基：麦芽糖 26 g, 酵母膏 2 g, MgSO₄ 2.7 g, KH₂PO₄ 1.8 g, 维生素 B 116 mg, 琼脂粉 15 g, 蒸馏水定容至 1 L, 自然 pH。棉籽壳培养基：棉籽壳 150 g, 麸皮 20 g, 蒸馏水 1 L, 煮沸 20 min, 过滤；滤液中加葡萄糖 20 g, 琼脂粉 20 g, 煮沸后蒸馏水定容至 1 L, 自然 pH。

1.1.3 引物设计与选择 菌株 Tsg1 的 ITS 序列 PCR 扩增采用真菌 ITS 通用引物: ITS1, 5'-TCCGTAGGTGAAACCTGCCG-3'; ITS4, 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'。

1.2 试验方法

1.2.1 野生菌株的采集和分离 2016 年 7 月 16 日, 在韶关学院西区的荒地上采集到 1 株野生大型真菌, 采用食用菌组织分离法: 取 1 块黄豆大小的菌盖与菌柄交界部位的菌肉接种于 PSA 固体培养基上, 30 °C 下培养 6 d, 然后将得到的纯菌丝体转入 PSA 斜面培养基中, 命名为 Tsg1, 备用。

1.2.2 野生菌株的鉴定 (1) 形态观察和鉴定。观察野生菌株子实体的菌盖、菌褶、菌柄、菌环和菌托等主要构成部分, 观察菌丝体在固体培养基上菌落的形状、大小、味道、颜色、生活力等, 同时采用平板斜插盖玻片法^[24-25] 观测菌丝细胞大小、形态、锁状联合结构等。(2) ITS 鉴定。采用 FDEB 法^[26] 提取 Tsg1 基因组 DNA, ITS 区序列 PCR 扩增主要参考 Ahlawat 等^[27] 的方法。以真菌 ITS 通用引物 ITS1 和 ITS4 进行 PCR 扩增: 10 × buffer (无 Mg²⁺) 5 μL, MgCl₂ (25 mmol/L) 2.0 μL, ddH₂O 33 μL, Primer (IST1, 4) 4 μL, dNTPs (各 2.5 mmol/L) 2 μL, DNA 模板 3 μL, Taq 酶 (5 U/μL) 1 μL, 总体积 50.0 μL。PCR 扩增程序: 预变性 94 °C 5 min, 变性 94 °C 45 s, 退火 56 °C 1 min, 延伸 72 °C 1 min, 以上共 32 个循环, 最后 72 °C 延伸 10 min。

将 PCR 产物送交生工生物工程(上海)股份有限公司进行正反序列测定。将该序列在 GenBank 核酸数据库中进行 BLAST, 在 DNA 序列数据库中搜索同源性高的序列进行比对分析, 并用 MEGA 7.2 软件对 Tsg1 的 ITS 序列进行 NJ 法聚类分析^[28]。构建系统发育树, 分析 G 含量、C 含量、遗传距离和遗传进化关系等^[29]。

1.2.3 菌丝培养基的筛选 选取一管生长良好的母种, 活化后再进行转接。用接种钩划取一黄豆大小的菌块, 接入 PSA 培养基、酵母膏培养基和棉籽壳培养基中, 30 °C 下培养 12 d 后, 观察测量菌丝的生长速度、色泽、密度和爬壁能力等情况。

试验数据采用 SPSS19.0 软件进行 *t* 检验统计学分析。

2 结果与分析

2.1 形态观察和鉴定

该野生蘑菇大型, 簇生, 初期为半球形或伞形, 菌盖厚, 边缘平滑内卷; 后期平展, 表面光滑, 棕白色, 菌盖直径 5.0~16.0 cm、厚 1.9~6.1 cm, 平滑或稍粗糙, 微粘。菌肉白色至微棕色、厚实、坚韧、嫩脆、有浓厚的蘑菇香味, 伤不变色。菌褶白色至浅黄色, 直生或弯生, 稍密, 初期窄后变宽。菌柄中生或偏生, 基部往往连合成一丛, 实心粗壮, 圆柱或倒棒状, 长 10.0~25.0 cm、粗 3.5~9.0 cm, 棕白色, 基部肥大略弯, 无菌环与菌托(图 1)。孢子表面光滑, 球圆或椭圆形, 孢子印白色。



图 1 野生大白口蘑 (Tsg1) 子实体
Fig. 1 The fruiting bodies of wild *Tricholoma giganteum*

由图 2 可知, 在 PSA 平板中菌丝体呈白色, 翠状, 气生菌丝较多且较致密, 但菌丝生长较缓慢, 菌丝体 3 d 后开始扩展。显微观察显示菌丝细胞有隔膜, 无色透明, 均一, 分枝均匀, 菌丝



图 2 野生大白口蘑菌丝锁状联合
Fig. 2 Clamp connection of wild *Tricholoma giganteum* (1 000×)

直径 2.5~4.0 μm , 锁状联合明显。综上所述, 根据菌株的形态学特征, 并参考《中国大型真菌》^[30], 初步判断 Tsg1 与大白口蘑相似, 暂定为“拟野生大白口蘑”。

2.2 ITS 序列分析与鉴定

采用真菌 ITS 通用引物 ITS1 和 ITS4，对疑似野生大白口蘑菌株 Tsg1 基因组 DNA 的 ITS 序列进行 PCR 扩增，扩增结果用 1% 琼脂糖凝胶电泳进行检测（图 3）。PCR 产物送至生工生物工程（上海）股份有限公司进行正反序列测定。将获得的正反向序列使用 DNASTar 软件包中的 SeqMan 进行拼接、编辑，获得完整的 ITS 序列（序列长度为 650 bp，GenBank 登记号为 MK660795）。

通过 NCBI 在线 BLAST N 检索，该序列与 GenBank 中报道的大白口蘑 JX041888.1、JX068526.1、MK024240.1、MH053153.1、MG867660.1、JX193694.1、KY744346.1、KJ463732.1、JN006792.1、KJ463731.1 等菌株序列相似性较高，其 Ident 约为 90%，且 E value 为 0。

通过软件 MEGA7.2 分析 Tsg1 与 GenBank 中报道的大白口蘑（共 25 株）的 GC 含量，结果显示 GC 含量在 39.0~45.3 之间，而 Tsg1 的 GC 含量较低，与 HM120872.1 极为相近、皆为 41.8。选择“Krima2-Paramenter”核酸距离模式进行数据处理，获得遗传距离矩阵（图 4）。显示 Tsg1 与其他大白口蘑菌株之间的遗传距离矩阵较小，有着很近的亲缘关系。采用 N-J (Neighbor-

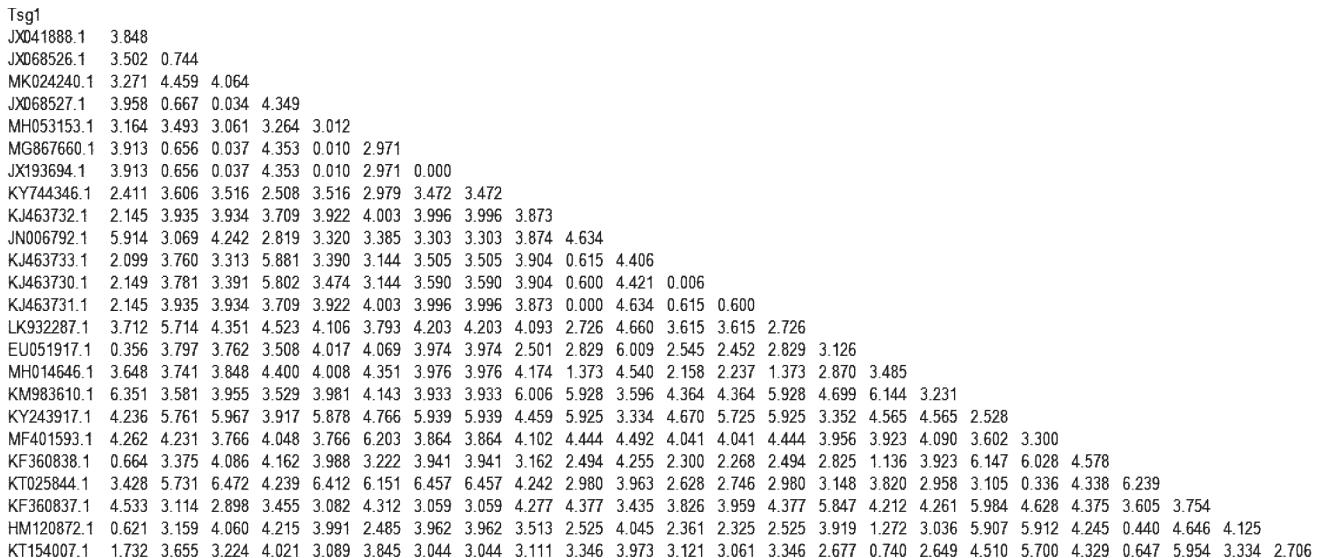
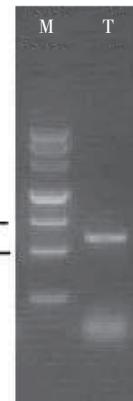


图4 大白口蘑的遗传距离矩阵



M: DNA Marker 3, T: Tsg1

图 3 ITS 序列 PCR 扩增结果
Fig. 3 Result of ITS PCR amplification

Joining) 法构建系统发育树(图 5)进行聚类分析,结果显示 Tsg1 序列与 GenBank 中报道的大白口蘑(24 株)序列具有较高的相似性、Ident 在 82.23%~90.06% 之间,其中与序列 JX041888.1 相似性最高、Ident 为 90.06%,与序列 KT154007.1 相似性较低、Ident 为 82.23%。因此,结合形态学鉴定可确定 Tsg1 为大白口蘑新菌株。

2.3 菌丝培养基的筛选

Tsg1 菌丝在 3 种培养基中 30 ℃培养 12 d，生长情况如图 6（彩版见封三）和表 1。图 6 和表 1 显示，Tsg1 菌丝在 3 种培养基中均能生长，菌丝的长势存在明显不同，其生长速度表现为棉籽壳培养基>酵母膏培养基> PSA 培养基，爬壁能力表现为棉籽壳培养基>酵母膏培养基= PSA 培

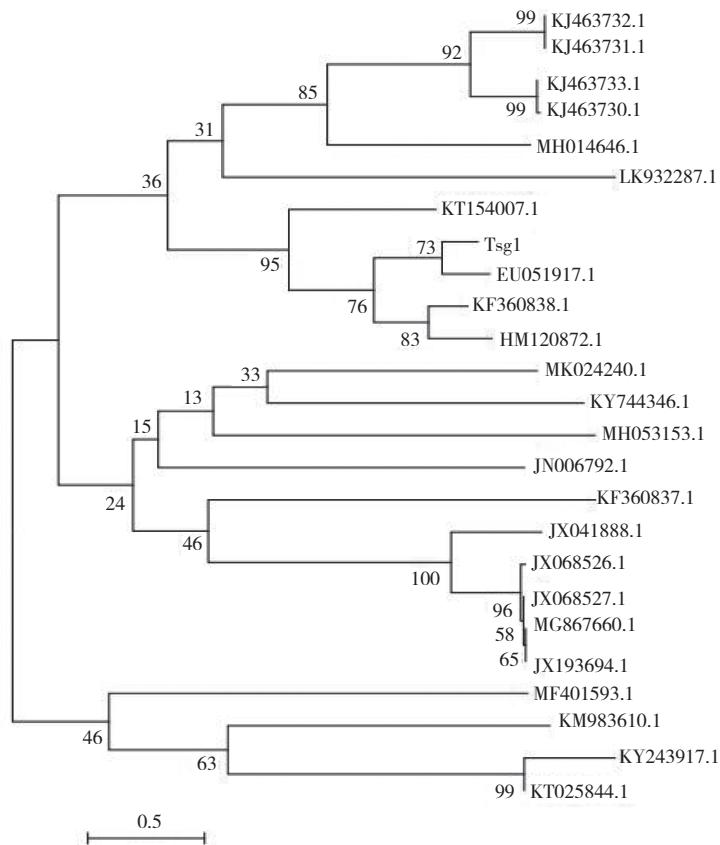
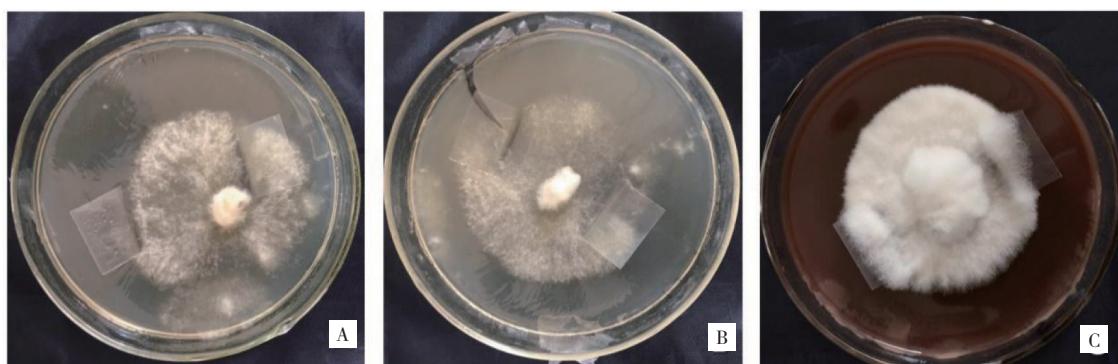


图 5 新菌株 Tsg1 与其他大白口蘑的进化树

Fig. 5 The phylogenetic tree of new strain Tsg1 and *Tricholoma giganteum* related species



A: PSA 培养基, B: 酵母膏培养基, C: 棉籽壳培养基

A: PSA medium; B: Yeast extract medium; C: Cottonseed shell medium

图 6 Tsg1 在 3 种培养基上的菌丝生长情况

Fig. 6 The growth situation of Tsg1 in three mycelium culture media

表 1 Tsg1 在 3 种培养基上菌丝的生长情况

Table 1 The mycelium growth situation of Tsg1 in three culture media

培养基 Medium	菌丝浓密度 Mycelium density	菌丝颜色 Mycelium colour	菌丝粗壮度 Mycelium roughness	菌丝爬壁能力 ability of mycelium	菌丝生长速度 Mycelium growth rate (mm/d)
PSA 培养基 PSA medium	较浓	较白	较粗壮	较弱	2.32 ± 0.18 a
酵母膏培养基 Yeast extract medium	较稀疏	较白	较纤细	较弱	2.95 ± 0.18 b
棉籽壳培养基 Cottonseed shell medium	浓密	雪白	粗壮	强	3.68 ± 0.23 c

注：同列数据后小写英文字母不同者表示差异显著。

Note: The different lowercase letters in the same column represent significant differences.

养基，菌丝浓密和粗壮度表现为棉籽壳培养基>PSA 培养基>酵母膏培养基。其中在棉籽壳培养基中菌丝的生长速度最快、长势最好，菌丝雪白，爬壁能力强，致密健壮。

3 讨论

对野生大型真菌种质资源的收集、驯化是当前科研工作的重点之一。然而，以往对野生大型真菌的鉴定大多依据形态学分类，由于这些依据指标存在一定的主观性，且有些特征会随着生长条件的改变而发生变化，这给传统分类带来了困难，特别是对于那些形态特征非常相近的种，更是难以准确区分^[31]。分子生物学的快速发展为野生真菌的鉴定提供了准确而便捷的方法，采用分子方法进行物种间的分类和鉴定，分析物种间的同源性，更加贴近生物的本原。目前关于真核微生物的鉴定，通常利用其高度保守区 rDNA 间隔转录区间 (ITS) 特征进行鉴定^[32]，因为 rDNA 的 ITS 区同时具有保守区和多变区，在真菌系统发育分析以及物种鉴定方面，ITS 序列也作为一个有效鉴定真菌种类的分子标记而被广泛采用^[33]。18S、5.8S 和 28S 的序列在进化中趋于保守、种间变化少；然而，内转录间隔区 ITS1 和 ITS2 作为非编码区，最终不加入成熟核糖体，受到的选择压力较小，进化速度快且变异速度存在较大的种间差异，适合种及种以下水平的分类研究^[34]。

本研究在形态学的基础上，通过 ITS 序列分析，结合 GenBank 已有的大白口蘑基因序列特征，最终确定 Tsg1 为大白口蘑。近年在香港、云南、广东、湖南、福建等多个地方的夏秋季都发现了野生大白口蘑，在凤凰木树旁、羊蹄甲树旁、榕树下、竹林中的沃土或草地上丛生^[14-20]。本次发现的野生大白口蘑是在苦棟和海南蒲桃树旁的杂草中，地处粤北的韶关学院校园内。ITS 序列分析显示，该菌株与其他发现的野生菌株存在一定差异，与莫美华等^[10, 35]在广州发现的菌株 (JX041888.1、JX068526.1、JX068527.1 和 JX193694.1) 较为相似，其 Ident 分别为 90.06%、89.63%、89.47% 和 89.58%，这对丰富大白口蘑的野生资源具有积极意义，有利于对本地野生巨大口蘑资源的保护、开发和育种。同时，培养基筛选试验显示棉籽壳培养基是该菌株菌丝培养合适的培养基，这为后期相关研究奠定了基础。

4 结论

本研究团队在粤北韶关学院内苦棟和海南蒲桃树旁的杂草中采集到 1 株疑似大白口蘑野生菌株，采用组织分离法，从野生子实体中分离纯化得到纯菌丝体。通过 ITS 序列克隆与序列分析，结合传统形态学分析，鉴定该菌株为野生大白口蘑，命名为 Tsg1。棉籽壳培养基是其菌丝培养适宜培养基。

参考文献 (References) :

- [1] CHANG S T, MAO X L. Hong Kong Mushrooms [M]. Hong Kong: The Chinese University of Hong Kong Press, 1995: 79–80.
- [2] 王元忠, 汤洪敏, 虞泓, 张振富. 巨大口蘑子实体营养成分分析 [J]. 食用菌学报, 2005, 12(2): 24–26. doi:10.16488/j.cnki.1005-9873.2005.02.005.
- [3] WANG Y Z, TANG H M, YU H, ZHANG Z F. Analysis of main nutrition components in *Tricholoma giganteum* Fruitbodies [J]. *Acta Edulis Fungi*, 2005, 12(2): 24–26. doi:10.16488/j.cnki.1005-9873.2005.02.005.
- [4] 李涛, 王元忠, 刘鸿高. 巨大口蘑中微量元素的光谱测定 [J]. 光谱学与光谱分析, 2008, 28(2): 450–452.
- [5] LI T, WANG Y Z, LIU H G. Spectrometric determination of trace elements in *Tricholoma Giganteum* Massei [J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2008, 28(2): 450–452.
- [6] LIU F, OOI V C, LIU W K, CHANG S T. Immunomodulation and antitumor activity of polysaccharide–protein complex from the culture filtrates of a local edible mushroom, *Tricholoma lobayense* [J]. *General Pharmacology*, 1996, 27(4): 621–624.
- [7] MIZUNO T, KINOSHITA T, ZHUANG C, ITO H, MAYUZUMI Y. Antitumor-active heteroglycans from niohshimeji mushroom, *Tricholoma giganteum* [J]. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 1995, 59(4): 568–571. doi:10.1271/bbb.59.568.
- [8] MAU J L, LIN H C, SONG S E. Antioxidant properties of several specialty mushrooms [J]. *Food Research International*, 2002, 35(6): 519–526.
- [9] GUO Y, WANG H, NG T B. Isolation of trichogen, an antifungal protein from fresh fruiting bodies of the edible mushroom *Tricholoma giganteum* [J]. *Peptides*, 2005, 26(4): 575–580. doi:10.1007/s10528-010-9347-y.
- [10] LEE D H, KIM J H, PARK J S, CHOI Y J, LEE J S. Isolation and characterization of a novel angiotensin I-converting enzyme inhibitory Peptide derived from the edible mushroom *Tricholoma giganteum* [J]. *Peptides*, 2004, 25(4): 621–627. doi: https://doi.org/10.1016/j.peptides.2004.01.015.
- [11] YAUG J L, LIN H C, MAU J L. Non-volatile taste components of several Pecialty mushrooms [J]. *Food Chemistry*, 2001, 72(4): 465–471.
- [12] 杨水莲, 聂健, 叶运寿, 莫美华, 蒋鑫宇, 黄友环, 郑锦荣, 刘英, 袁菁艺.

- 巨大口蘑的研究现状及前景展望[J].安徽农业科学,2016,44(10):9–12. doi:10.13989/j.cnki.0517–6611.2016.10.004.
- YANG S L, NIE J, YE Y S, MO M H, JIANG X Y, HUANG Y H, ZHENG J R, LIU Y, YUAN J Y. Research status and prospect forecast of *Tricholoma giganteum* [J]. *Journal of Anhui Agricultural Science*, 2016, 44(10): 9–12. doi:10.13989/j.cnki.0517–6611.2016.10.004.
- [11] 何志强, 岑延新. 金福菇夏季栽培技术[J]. 食用菌, 2009 (4) : 49. doi:cnki:sun:siyj.0.2009–04–036.
- HE Z Q, CEN Y X. Cultivation techniques of *Tricholoma lobayerse* in summertime [J]. *Edible Fungi*, 2009(4): 49. doi:cnki:sun:siyj.0.2009–04–036.
- [12] 王桂芹, 王志. 金福菇菌株间品比试验[J]. 中国林副特产, 2008(2):32–34. doi:10.3969/j.issn.1001–6902.2008.02.012.
- WANG G Q, WANG Z. Comparative study of the cultural strains of *Tricholoma lobayerse* [J]. *Forest By-Product and Speciality in China*, 2008(2): 32–34. doi:10.3969/j.issn.1001–6902.2008.02.012.
- [13] 李志生. 巨大口蘑及其栽培技术[J]. 食用菌, 2007 (5) : 59–61. doi:10.3969/j.issn.1000–8357.2007.04.050.
- LI Z S. Cultivation techniques of *Tricholoma giganteum* [J]. *Edible Fungi*, 2007(5): 59–61. doi:10.3969/j.issn.1000–8357.2007.04.050.
- [14] 郭翠英, 沈育芬. 大白口蘑夏1菌株的特性研究[J]. 食用菌, 2002, 24 (3) : 11–12. doi:cnki:sun:siyj.0.2002–03–009.
- GUO C Y, SHEN Y F. Study of characteristics on *Tricholoma giganteum* strain XIA 1 [J]. *Edible Fungi*, 2002, 24(3): 11–12. doi:cnki:sun:siyj.0.2002–03–009.
- [15] 上官舟建, 林汝楷, 吴宝芳. 巨大口蘑生物学特性的研究[J]. 浙江食用菌, 2007 (1) : 16–21. doi:cnki:sun:zsyc.0.2007–01–011.
- SHANGGUAN Z J, LIN R K, WU B F. Study on biological characteristics of *Tricholoma giganteum* [J]. *Zhejiang Shiyongjun*, 2007(1): 16–21. doi:cnki:sun:zsyc.0.2007–01–011.
- [16] 汤洪敏, 虞泓, 李长利, 张灼. 大白口蘑生物学特性的观察[J]. 菌物学报, 2007, 26(2): 297–301. doi:cnki:sun:jwxt.0.2007–02–025.
- TANG H M, YU H, LI C L, ZHANG Z. Biological characteristics of *Tricholoma giganteum* Massee [J]. *Mycosistema*, 2007, 26(2): 297–301. doi:cnki:sun:jwxt.0.2007–02–025.
- [17] 邓优锦, 傅俊生, 谢宝贵, 林娓娓, 郑域茹. 野生金福菇的鉴定及其生物学特性研究[J]. 浙江食用菌, 2008 (6) : 10–14.
- DENG Y J, FU J S, XIE B G, LIN W W, ZHENG Y R. Identification and study of biological characteristics on wild *Tricholoma giganteum* [J]. *Zhejiang Shiyongjun*, 2008(6) : 10–14.
- [18] 黎金锋, 覃培升. 野生巨大口蘑生物学特性研究[J]. 中国食用菌, 2008 (3) : 43–45. doi:10.3969/j.issn.1003–8310.2008.03.016.
- LI J F, QIN P S. Studies on biological characteristics of *Tricholoma giganteum* [J]. *Edible Fungi of China*, 2008(3): 43–45. doi:10.3969/j.issn.1003–8310.2008.03.016.
- [19] 张国广, 邹金美, 郑琳, 史志敏, 谢懿斌, 陈祖华. 一株野生大型真菌的ITS分析及生物学特征研究[J]. 云南民族大学学报(自然科学版), 2010, 19 (6) : 395–399. doi:10.3969/j.issn.1672–8513.2010.06.002.
- ZHANG G G, ZOU J M, ZHENG L, SHI Z M, XIE Y B, CHEN Z H. Study on a wild Macrofungi ITS and its biological characteristics [J]. *Journal of Yunnan University of Nationalities (Natural Sciences Edition)*, 2010, 19(6): 395–399. doi:10.3969/j.issn.1672–8513.2010.06.002.
- [20] 刘月廉, 谭树明, 温美英, 梁恩义. 野生洛巴伊口蘑菌株的分离与鉴定[J]. 食用菌学报, 2001, 8 (2) : 19–23. doi:10.3969/j.issn.1005–9873.2001.02.004.
- LIU Y L, TAN S M, WEN M Y, LIANG E Y. A study on the isolation and identification of wild *Tricholoma lobayense* strain [J]. *Acta Edulis Fungi*, 2001, 8(2): 19–23. doi:10.3969/j.issn.1005–9873.2001.02.004.
- [21] 毕志树, 郑国杨, 李泰辉, 王又昭. 粤北山区大型真菌志[M]. 广州: 广东科学技术出版社, 1990.
- BI Z S, ZHENG G Y, LI T H, WANG Y Z. *Macrofungi in Mountainous Areas of Northern Guangdong* [M]. Guangzhou: Guangdong Science and Technology Press, 1990.
- [22] 蔡爱群. 粤北地区的抗肿瘤野生食用菌资源[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(1): 250–251, 267. doi:10.3969/j.issn.0517–6611.2008.01.107.
- CAI A Q. Wild edible fungi resources of antitumor in the north region of Guangdong province [J]. *Journal of Anhui Agricultural Science*, 2008, 36(1): 250–251, 267. doi:10.3969/j.issn.0517–6611.2008.01.107.
- [23] 马紫英, 夏斌, 倪焱, 魏要武, 聂健, 莫美华. 以椰子壳为主碳源的巨大口蘑原种培养基优化[J]. 北方园艺, 2014 (13) : 142–145. doi:cnki:sun:bfy.0.2014–13–040.
- MA Z Y, XIA B, NI Y, WEI Y W, NIE J, MO M H. Optimization of culture medium for second-class spawn of *Tricholoma giganteum* using coconut shell as main carbon source [J]. *Northern Horticulture*, 2014(13):142–145. doi:cnki:sun:bfy.0.2014–13–040.
- [24] LIU Z, LIN J F, GUO L Q, WANG W, YUAN J H, WU Y D. The migration of multipartial nuclear and its regulation by DCTN1 gene in the mycelium cells of *Volvariella volvacea* [J]. *Nanoscience and Nanotechnology Letters*, 2017(9): 2061–2066. doi:<https://doi.org/10.1166/nnl.2017.2582>.
- [25] 肖自添, 刘明, 何焕清. 一株野生乌芝的鉴定及其生物学特性研究[J]. 广东农业科学, 2016, 43 (3) : 72–76. doi:10.16768/j.issn.1004–874X.2016.03.015.
- XIAO Z T, LIU M, HE H Q. Research on identification and biological characteristics of a wild *Amauroderma rugosum* [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2016, 43(3): 72–76. doi:10.16768/j.issn.1004–874X.2016.03.015.
- [26] WANG J, GUO L Q, ZHANG K, WU Q, LIN J F. Highly efficient Agrobacterium-mediated transformation of *Volvariella volvacea* [J]. *Bioresource Technology*, 2008, 99: 8524–8527. doi:10.1135/cccc20030105.
- [27] AHLAWAT O P, GUPTA P, KAMAL S, DHAR B L. Variability in intra-specific and monosporous isolates of *Volvariella volvacea* based on enzyme activity, ITS and RAPD [J]. *Indian Journal of Microbiology*, 2010, 50(2): 192–204. doi:<https://doi.org/10.1007/s12088–010–0031–z>.

- [28] 兰玉菲, 王庆武, 唐丽娜, 安秀荣. 鳞皮侧耳种质主要农业艺形状的遗传多样性及聚类分析 [J]. 食用菌学报, 2014 (4) : 10–14. doi: cnki:sun:syjb.0.2014-04-003.
- LAN Y F, WANG Q W, TANG L N, AN X R. Cluster analysis based on agronomic traits of *Pleurotus ostreatus* strains [J]. *Acta Edulis Fungi*, 2014(4): 10–14. doi:cnki:sun:syjb.0.2014-04-003.
- [29] 饶冬梅. NCBI 组数据库及其资源的获取 [J]. 科技视界, 2013 (7) : 30–32. doi:cnki:sun:kjsj.0.2013-07-036.
- RAO D M. NCBI database and the access of resources [J]. *Science & Technology Vision*, 2013(7): 30–32. doi:cnki:sun:kjsj.0.2013-07-036.
- [30] 卵晓岚. 中国大型真菌 [M]. 郑州: 河南科学技术出版社, 2000: 128.
- MAO X L. Chinese Macrofungi [M]. Zhengzhou: Henan Science and Technology Press, 2000: 128.
- [31] 刘主, 蔡爱群, 刘静华, 何智丹, 孟晓东. 基于 ITS 序列的疑似野生“南华”草菇菌株的分子鉴定 [J]. 北方园艺, 2016 (1) : 126–130. doi:10.11937/bfyy.201601033.
- LIU Z, CAI A Q, LIU J H, HE Z D, MENG X D. Molecular identification of suspected wild Nanhua *Volvariella volvacea* strain based on internal transcribed spacer sequence [J]. *Northern Horticulture*, 2016(1): 126–130. doi:10.11937/bfyy.201601033.
- [32] 何凌冰, 吴惠萍, 游春平, 陈炳旭, 韩正洲, 徐冰, 兰金旭, 邢建永. 岗梅枝枯病病原鉴定 [J]. 广东农业科学, 2017, 44 (1) : 111–114. doi:10.16768/j.issn.1004-874X.2017.01.017.
- HE L B, WU H P, YOU C P, CHEN B X, HAN Z Z, XU B, LAN J X, XING J Y. Identification of the pathogen causing branch blight of *Ilex asprella* [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2017, 44(19): 111–114. doi:10.16768/j.issn.1004-874X.2017.01.017.
- [33] 任翔, 何德, 李翠新, 丁浩书. 香菇细胞内 ITS 致同进化不完全及对分类鉴定和系统发育的影响 [J]. 广东农业科学, 2015, 42 (19) : 111–121. doi:10.16768/j.issn.1004-874X.2016.03.015.
- REN X, HE D, LI C X, DING H S. Incomplete intracellular ITS concerted evolution in *Lentinula edodes* and its influence on identification and phylogenesis [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2015, 42(19): 111–121. doi:10.16768/j.issn.1004-874X.2016.03.015.
- [34] LANDEWEERT R, LEEFLANG P, KUYPER T W, HOFFLAND E, ROSLING A, WERNARS K, SMIT E. Molecular identification of *Ectomycorrhizal mycelium* in soil horizons [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, 69(1): 327–333. doi:10.1128/aem.69.1.327–333.2003.
- [35] 马紫英, 倪焱, 魏要武, 聂健, 杨水莲, 昌毓嵩, 莫美华. 野生巨大口蘑 1 株新菌株 ITS 鉴定及菌丝培养基优化 [J]. 华南农业大学学报, 2015, 36 (3) : 98–103. doi:10.7671/j.issn1001-411X.2015.03.017.
- MA Z Y, NI Y, WEI Y W, NIE J, YANG S L, CHANG Y S, MO M H. Identification of a new strain of *Tricholoma giganteum* by ITS and optimization of culture medium for mycelium [J]. *Journal of South China Agricultural University*, 2015, 36(3): 98–103. doi:10.7671/j.issn1001-411X.2015.03.017.

(责任编辑 张辉玲)