

## 两株野生紫色香蘑菌株的鉴定

姜 雪, 庞 惟 俏, 杨 洋, 郭 德 军

(黑龙江八一农垦大学 食品学院, 黑龙江 大庆 163319)

**摘 要:**以采自黑龙江省的2株野生紫色食用菌 B5 和 BF8 菌株为试材,采用形态学和分子标记方法,研究了不同香蘑的遗传多样性,以期对香蘑在分子水平鉴定和品种亲缘关系的分析提供依据。结果表明:B5 和 BF8 子实体、菌丝的形态特征存在明显差异;2株菌株的28S rDNA 高保守区序列和 ITS 序列的同源性分别为 97.93%和 89.84%。B5 菌株鉴定为花脸香蘑(*Lepista sordida*);BF8 鉴定为紫丁香蘑(*Lepista nuda*),它们为同属不同种的2种食用菌。

**关键词:**香蘑;形态特征;分子鉴定

**中图分类号:**S 646.1<sup>+</sup>2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)22-0152-05

我国食用菌资源较为丰富,普遍存在同物异名、异物同名的现象,造成了食用菌资源管理的混乱等一系列问题。传统鉴定方法主要通过子实体的宏观形态特征和微观结构来分类和鉴定,不易对一些未知种属食用菌进行分类鉴定。随着分子生物学的发展,很多学者利用分子技术对其遗传多样性加以补充进行综合鉴定<sup>[1]</sup>。如张京良等<sup>[2]</sup>利用 ITS 和 5.8S 系统分析鉴定了一株采自青岛崂山的真菌 LS7 为花脸香蘑。李晶等<sup>[3]</sup>通过菌丝体、子实体的形态学特征对一株大型野生食用菌进行了鉴定,又结合现代分子标记的方法对其 ITS 序列进行测定,最后在基因组数据库中进行比对确定其亲缘关系。

香蘑俗称花脸蘑。香蘑属由花脸香蘑、粉紫香蘑、紫丁香蘑的3个种组成。虽然这3种香蘑的形态有所差异,但是也有很多相同的形态特征。香蘑 B5 和 BF8 菌株的子实体在黑龙江当地都被称作“紫花脸蘑”,经常引起混淆,该研究通过传统鉴定方法及 ITS 和 28S rDNA 系统对2株野生香蘑进行了鉴定,并在 NCBI 中进行同源性检索和系统发育树构建,以期对基因水平上探讨野生香蘑食用菌的遗传多样性、亲缘性提供一定的依据。

### 1 材料与方法

#### 1.1 试验材料

1.1.1 供试菌株 2015年8月末,在齐齐哈尔市双河农场草原上和龙江县龙兴镇的一个小山阴面的柞树林里采集到2株菌种的子实体,在实验室进行组织分离、培养、获得菌种,分别编号为 B5 和 BF8。用无菌接菌针将香蘑的组织块(4 mm×5 mm)接种到加有青霉素和链霉素(100 IU·mL<sup>-1</sup>)双抗的 PDA 固体培养基上,25~27℃的培养箱中,避光培养,待菌丝长满整个斜面,4℃的冰箱中保存备用<sup>[4-7]</sup>。

1.1.2 供试培养基 PDA 培养基:将配好的培养基试管分装,每管 10 mL,置于 115℃下灭菌 20 min。

#### 1.2 试验方法

1.2.1 形态学鉴定 观察2株野生香蘑 B5 和 BF8 子实体的大小,菌盖的形状、颜色、大小,菌柄的形状、颜色、长度、内部结构,菌褶的形状、颜色,用显微镜观察菌丝和孢子的结构,然后参考文献<sup>[8]</sup>和<sup>[9]</sup>初步鉴别分类。

1.2.2 分子鉴定 采用 DNA 提取试剂盒(柱式法)提取 DNA, Thermo 公司的 Nanodrop 仪器测定 DNA 浓度。采用真菌通用引物进行扩增,ITS1:5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'和 ITS4:5'-TCCTCGCTTATTGATATGC-3'为引物。扩增体系:总体积 20 μL,成分 10×PCR 缓冲液 2.5 μL, dNTPs 10 mmol·L<sup>-1</sup> 2.5 μL, 引物 5 μmol·L<sup>-1</sup> 0.5 μL, Taq 5 U·μL<sup>-1</sup> 0.15 μL, 模板 5 ng·μL<sup>-1</sup> 1.5 μL, ddH<sub>2</sub>O 12.85 μL。PCR 扩增反应程序是 94℃ 预变性 5 min, 94℃ 变性 30 s 10 个循环, 62℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 30 s 或者 45 s, 72℃ 反应 5 min, 4℃ 保存。将扩增好的 DNA 装好送往上海生物工程有限公司测定 28S rDNA 和 ITS 序列。

**第一作者简介:**姜雪(1991-),女,硕士研究生,研究方向为食品微生物。E-mail:1455765089@qq.com。

**责任作者:**郭德军(1968-),男,博士,教授,研究方向为食品微生物。E-mail:guodejun356@126.com。

**基金项目:**黑龙江八一农垦大学研究生创新科研资助项目(YJSCX2014-Y45)。

**收稿日期:**2016-08-04

利用 DNAMAN 软件,将已测得的 28S rDNA 和 ITS 序列在 NCBI 中通过 BLAST 检索比较,并构建其系统发育树<sup>[10-13]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 传统鉴定方法

2.1.1 子实体的形态 B5(图 1a)子实体较小,菌盖直径 2~4 cm,半球形至平展,中部有时稍下凹,湿润时呈淡紫色半透明状;边缘内卷,具有不明显的条纹,常呈波状,初采时浅丁香色,后褪为污白色;菌柄长 3~5 cm,粗

0.2~0.6 cm,圆柱形,与菌盖同色,靠近基部常弯曲、中实。菌褶(图 1b)直生至弯生,稀延生,不等长,淡紫色少稀。菌肉带灰白色、浅紫色。BF8(图 1c)子实体较大,菌盖直径 3.5~13.0 cm,半球形至平展,有时中部下凹,菌盖表面光滑,湿润,亮紫色至褐紫色,边缘内卷,无条纹。菌柄(图 1d)长 4~9 cm,粗 0.5~2.0 cm,圆柱形,初期上部有絮状粉末,下部具纵条纹,内部中空,基部稍膨大,不等长,同盖色。菌褶边缘小锯齿状,密,浅紫色。菌肉淡紫色,较厚。

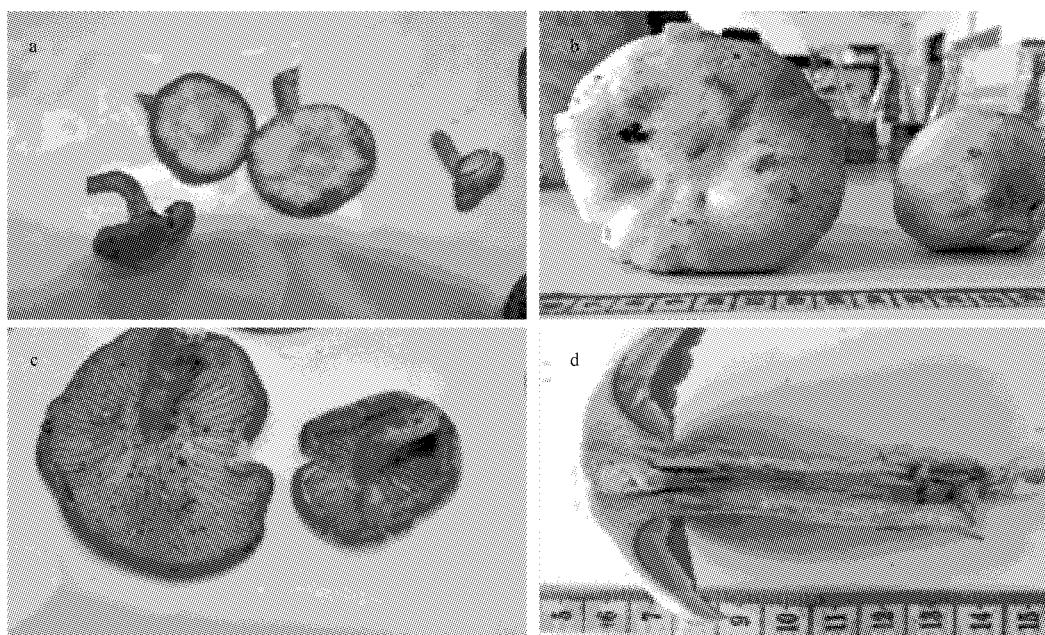


图 1 2 株野生菌子实体

Fig. 1 Fruit bodies of tow wild fruiting

2.1.2 菌丝的形态 B5 菌丝在 PDA 培养基上长势旺盛。菌丝较粗,分支多且茂密,爬壁能力较强;初为白色,培养 3~5 d 后菌丝内会产生色素,培养基转变成浅紫色,直至满斜面,绒毛状。在光学显微镜(40×

10 倍)下观察发现,菌丝有隔和锁状联合(图 2a)。BF8 菌丝相对较细,分支少且稀疏,爬壁能力较弱;菌丝颜色为白色且不变色;显微观察菌丝有隔(图 2b),有锁状联合。

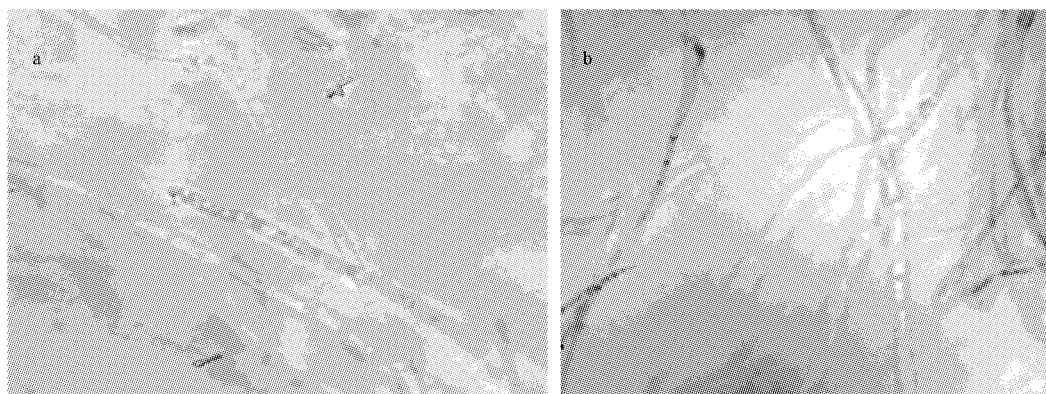


图 2 2 株菌株的菌丝体形态

Fig. 2 Mycelium forms of two strains

2.1.3 孢子的形态 2株野生菌孢子印浅粉色,孢子为淡粉色,B5的孢子近光滑,BF8的孢子粗糙,均为椭圆或球形;孢子大小没有太大区别,分别为 $(5.0\sim 9.8)\mu\text{m}\times(3.2\sim 5.0)\mu\text{m}$ , $(6.1\sim 10.8)\mu\text{m}\times(3.5\sim 5.3)\mu\text{m}$ ,番红染色后均呈现浅红色。将B5和BF8菌株的子实体、菌丝和孢子的宏观及微观结构观察结果参照《中国野生大型真菌彩色图鉴》等相关图片<sup>[8-9]</sup>,参考查阅的食用菌鉴定相关文献<sup>[14-16]</sup>,初步鉴定B5可能为伞菌目、白蘑科、香蘑属的花脸香蘑;BF8可能为伞菌目、白蘑科、香蘑属的紫丁香蘑。

## 2.2 分子鉴定

2.2.1 28S rDNA扩增和ITS序列分析 28S rDNA序列扩增的是D1/D2区域,图3测定结果表明,序列长度分别为625 bp和627 bp,同源性高达97.93%,该结果表明,B5和BF8的亲缘关系比较接近,为同一属内的食用菌,也可能为同一种内的食用菌。ITS序列扩增的是ITS1和ITS2区域,图4测定结果表明,序列长度分别为647 bp和672 bp,同缘性达到89.84%,表明B5和BF8的亲缘关系相对较远,为同属不同种的2种食用菌。

B5.seq	CGCGAGGAAAGAACTAACAAGGATTCCTCTAGTAAC	38
BF8.seq	CGCGAGGAAAGAACTAACAAGGATTCCTCTAGTAAC	40
Consensus	gCGGAGGAAAGAACTAACAAGGATTCCTCTAGTAAC	
B5.seq	TGCGAGTGAAGCGGGAAGGCTCAAAATTTAAATCTGGCG	78
BF8.seq	TGCGAGTGAAGCGGGAAGGCTCAAAATTTAAATCTGGCG	80
Consensus	tGCGAGTGAAGCGGGAAGGCTCAAAATTTAAATCTGGCG	
B5.seq	GTCTTTGGCCCTCCGAGTTGTAACTAGAGAAGTGCATTC	118
BF8.seq	GTCTTTGGCCCTCCGAGTTGTAACTAGAGAAGTGCATTC	120
Consensus	gTCTTTGGCCCTCCGAGTTGTAACTAGAGAAGTGCATTC	
B5.seq	CGCGCTGACCGTGTACAAGTCTCCTGGAACGGAGCGTCA	158
BF8.seq	CGCGCTGACCGTGTACAAGTCTCCTGGAACGGAGCGTCA	160
Consensus	cGCGCTGACCGTGTACAAGTCTCCTGGAACGGAGCGTCA	
B5.seq	TAGAGGGTGAGAAATCCCGTCTTTGACACGGAATACGAGG	198
BF8.seq	TAGAGGGTGAGAAATCCCGTCTTTGACACGGAATACGAGG	200
Consensus	tagagggTGAGAAATCCCGTCTTTGACACGGAATACGAGG	
B5.seq	CTTTGTGATGTCTCTCAAGAGTGCAGTTGTCTTGGGAAT	238
BF8.seq	CTTTGTGATGTCTCTCAAGAGTGCAGTTGTCTTGGGAAT	240
Consensus	cTTTGTGATGTCTCTCAAGAGTGCAGTTGTCTTGGGAAT	
B5.seq	GCAGCTCTAAATGGGTGGTAAATTCATCTAAAGCTAAAT	278
BF8.seq	GCAGCTCTAAATGGGTGGTAAATTCATCTAAAGCTAAAT	280
Consensus	gcagctctAAATGGGTGGTAAATTCATCTAAAGCTAAAT	
B5.seq	ATTGCCGAGACACCGATAGCGAACAAGTACCGTGACGGAA	318
BF8.seq	ATTGCCGAGACACCGATAGCGAACAAGTACCGTGACGGAA	320
Consensus	attGCCGAGACACCGATAGCGAACAAGTACCGTGACGGAA	
B5.seq	AGATGAAAAGAACTTTGGAAGAGAGTTAAACAGTACGTG	358
BF8.seq	AGATGAAAAGAACTTTGGAAGAGAGTTAAACAGTACGTG	360
Consensus	agatGAAAAGAACTTTGGAAGAGAGTTAAACAGTACGTG	
B5.seq	AAATTGTTGAAAGGGAACCGCTTGAAGTCACTGCGCTTGG	398
BF8.seq	AAATTGTTGAAAGGGAACCGCTTGAAGTCACTGCGCTTGG	400
Consensus	aaattGTTGAAAGGGAACCGCTTGAAGTCACTGCGCTTGG	
B5.seq	CTGGGGATCAACCTTGCTCTTTTGGTGTACTTCCCA	438
BF8.seq	CTGGGGATCAACCTTGCTCTTTTGGTGTACTTCCCA	440
Consensus	ctggggatCAACCTTGCTCTTTTGGTGTACTTCCCA	
B5.seq	GTGACGGGTCAGCATCAATTTTGACCAATGGAATAAGGT	478
BF8.seq	GTGACGGGTCAGCATCAATTTTGACCAATGGAATAAGGT	480
Consensus	gtGACGGGTCAGCATCAATTTTGACCAATGGAATAAGGT	
B5.seq	CAGGGGAATGTGGCATCTTCGGATGTGTTATAGCCCTTGG	518
BF8.seq	CAGGGGAATGTGGCATCTTCGGATGTGTTATAGCCCTTGG	520
Consensus	cagggGAATGTGGCATCTTCGGATGTGTTATAGCCCTTGG	
B5.seq	TTGCATACATGGTTGGGATTGAGGAACCTCAGCATGCCCG	558
BF8.seq	TTGCATACATGGTTGGGATTGAGGAACCTCAGCATGCCCG	560
Consensus	ttgcataCATGGTTGGGATTGAGGAACCTCAGCATGCCCG	
B5.seq	AAGCGCGGGTCTTTGACACGCTTACGTTAGGATGCTGG	598
BF8.seq	AAGCGCGGGTCTTTGACACGCTTACGTTAGGATGCTGG	600
Consensus	aagCGCGGGTCTTTGACACGCTTACGTTAGGATGCTGG	
B5.seq	CATAATGGCTTTAATCGACCGGCTCTTG	625
BF8.seq	CATAATGGCTTTAATCGACCGGCTCTTG	627
Consensus	cataatGGCTTTAATCGACCGGCTCTTG	

图3 2株菌的28S rDNA区碱基序列

Fig. 3 28S rDNA region nucleotide sequence of 2 strains

2.2.2 系统发育分析 分别利用2株野生香蘑菌株所测序列和NCBI数据库中11个最相近物种的28S rDNA

和ITS序列构建系统发育树,并进行分析。28S rDNA序列系统发育树显示(图5),与B5和BF8最相近的香蘑属(*Lepista*)内的11个菌株均聚在香蘑属内,分成一个类群。在这个类群中,B5与花脸香蘑(*Lepista sordida*, JN649350.1)28S rDNA序列同源性为100%,BF8与紫丁香蘑(*Lepista nuda*, FJ755225.1)28S rDNA序列同源

B5.seq	TCCTTAGGCTGCAACCTGCGGAAGGATCATTAATGAATAAA	40
BF8.seq	TCCTTAGGCTGCAACCTGCGGAAGGATCATTAATGAATAAA	39
Consensus	tccttaggCTGCAACCTGCGGAAGGATCATTAATGAATAAA	
B5.seq	CTTGGTTGGGTTGTGCTTGGCTTTTTCAGGCAATGTGACGC	80
BF8.seq	CTTGGTTGGGTTGTGCTTGGCTTTTTCAGGCAATGTGACGC	79
Consensus	cttggTTGGGTTGTGCTTGGCTTTTTCAGGCAATGTGACGC	
B5.seq	CTAGCGCCATTTTACACCTGTGACCTTTTGTAGATTT	120
BF8.seq	CTAGCGCCATTTTACACCTGTGACCTTTTGTAGATTT	119
Consensus	ctagcgccATTTTACACCTGTGACCTTTTGTAGATTT	
B5.seq	GAAACAATCTCCGAACTCGGTTTGAGGAATGCTGTG	160
BF8.seq	GAAACAATCTCCGAACTCGGTTTGAGGAATGCTGTG	159
Consensus	gaaacaATCTCCGAACTCGGTTTGAGGAATGCTGTG	
B5.seq	TGCAAACTAGGCTTTCCTTGTGTTTCAAGCTATGTTT	199
BF8.seq	TGCAAACTAGGCTTTCCTTGTGTTTCAAGCTATGTTT	199
Consensus	tGCAAACTAGGCTTTCCTTGTGTTTCAAGCTATGTTT	
B5.seq	TATTAATACCCCATTAAGTGAATAGATTTTAAATGG	239
BF8.seq	TATTAATACCCCATTAAGTGAATAGATTTTAAATGG	238
Consensus	tatTAATACCCCATTAAGTGAATAGATTTTAAATGG	
B5.seq	GCCTTAATGCCCTTAAATTAATCAACCTTCAACAACGGAT	279
BF8.seq	GCCTTAATGCCCTTAAATTAATCAACCTTCAACAACGGAT	278
Consensus	gcctTAATGCCCTTAAATTAATCAACCTTCAACAACGGAT	
B5.seq	CTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGACCGAGCGAAATGCG	319
BF8.seq	CTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGACCGAGCGAAATGCG	318
Consensus	ctctTGGCTCTCGCATCGATGAAGACCGAGCGAAATGCG	
B5.seq	ATAAGTAATGTGAATTCGAGAAATTCAGTGAATCATGGAAT	359
BF8.seq	ATAAGTAATGTGAATTCGAGAAATTCAGTGAATCATGGAAT	358
Consensus	ataagTAATGTGAATTCGAGAAATTCAGTGAATCATGGAAT	
B5.seq	CTTTGAACCGACCTTGGCGTCTCTTGGTATTCGAGGAGCA	399
BF8.seq	CTTTGAACCGACCTTGGCGTCTCTTGGTATTCGAGGAGCA	398
Consensus	ctttGAACCGACCTTGGCGTCTCTTGGTATTCGAGGAGCA	
B5.seq	TGCGTGTGAGTGTCAATTAATTCACCTTTTCAGCT	439
BF8.seq	TGCGTGTGAGTGTCAATTAATTCACCTTTTCAGCT	438
Consensus	tgcGTGTGAGTGTCAATTAATTCACCTTTTCAGCT	
B5.seq	TTTGCAAGTGTGATTCGCTTGGATGTGAGGTATTGCGG	479
BF8.seq	TTTGCAAGTGTGATTCGCTTGGATGTGAGGTATTGCGG	477
Consensus	tttGCAAGTGTGATTCGCTTGGATGTGAGGTATTGCGG	
B5.seq	GCTTCTCTAGAAGTGTGCTTCTTAAATTCATTAGCGGA	519
BF8.seq	GCTTCTCTAGAAGTGTGCTTCTTAAATTCATTAGCGGA	517
Consensus	gcttCTCTAGAAGTGTGCTTCTTAAATTCATTAGCGGA	
B5.seq	ACCTTTGTTGACCACTTTTGGGTGATAATATCTACGC	559
BF8.seq	ACCTTTGTTGACCACTTTTGGGTGATAATATCTACGC	556
Consensus	acctTTTGTGACCACTTTTGGGTGATAATATCTACGC	
B5.seq	CATGTTGTCTAGCAGCTTTTAAATTCGGGTTCAGCTTCTA	599
BF8.seq	CATGTTGTCTAGCAGCTTTTAAATTCGGGTTCAGCTTCTA	595
Consensus	catGTTGTCTAGCAGCTTTTAAATTCGGGTTCAGCTTCTA	
B5.seq	ACAGTCCATTTACTTGGACAAATTTTACATTTTACCT	639
BF8.seq	ACAGTCCATTTACTTGGACAAATTTTACATTTTACCT	634
Consensus	acagTCCATTTACTTGGACAAATTTTACATTTTACCT	
B5.seq	CAATTCAC	647
BF8.seq	CAATTCAC	672
Consensus	caatTCAC	

图4 2株菌的ITS区碱基序列

Fig. 4 ITS region nucleotide sequence of 2 strains

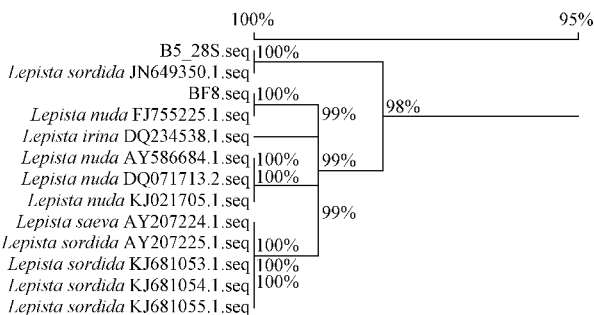


图5 2株菌的28S rDNA扩增序列构建的系统发育树

Fig. 5 Phylogenetic tree constructed with the nucleotide sequence of 28S rDNA regions of 2 fungi

性为 100%。图 6 ITS 序列系统发育树显示,与 B5 和 BF8 最相近的香蘑属(*Lepista*)内的 11 个菌株聚在其属内,分成 2 个种间的小类群。B5 菌株与花脸香蘑(*Lepista sordida*) AF241523.1、AY534114.1、FJ428582.1、FJ501562.1 和 FJ770939.1 ITS 序列同源率为 100%;BF8 菌株与紫丁香蘑(*Lepista nuda*)FJ810154.1 ITS 序列同源率为 100%。通过对 B5 和 BF8 菌株 28S rDNA 扩增序列和 ITS 序列分析及系统发育分析,将结果与食用菌分子鉴定相关文献<sup>[17-18]</sup>进行比对,初步鉴定 B5 为伞菌目、白蘑科、香蘑属的花脸香蘑;BF8 为伞菌目、白蘑科、香蘑属的紫丁香蘑。分子鉴定结果与传统鉴定结果一致,其鉴定结果得到了相互佐证。

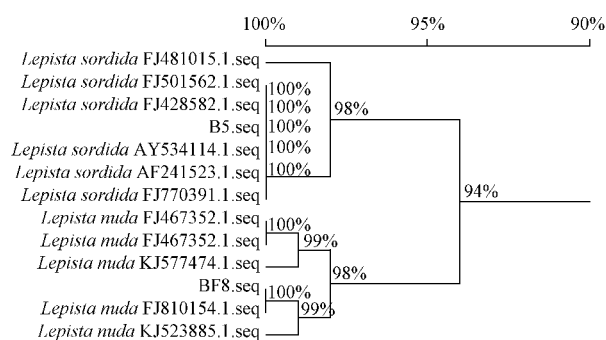


图 6 2 株菌的 ITS 序列构建的系统发育树

Fig. 6 Phylogenetic tree constructed with the nucleotide sequence of ITS regions of 2 fungi

### 3 讨论

食用菌形态学鉴定的优势主要是形态特征易于观察和比较,只要有子实体就可以进行;但也存在一些劣势,因为实验室保藏的菌种常以菌丝体形态存在,难以通过菌丝进行分类鉴定;还因为经验、子实体的相似性、自然条件等各种因素的影响,使得菌物分类者对它们的种属及亲缘关系进行鉴定时存在了一定差异,非常容易形成菌株同物异名、异物同名的现象,分子生物学技术却可以从基因水平上提供亲缘关系的佐证,近年来越来越多地被应用到食用菌分类中。

28S rDNA 高保守区序列一般可作为在真菌系统发育中种以上阶元的良好标记,不太适合在属内种间进行系统发育分析。如菌株 B5 和 BF8 的 28S rDNA 序列的同源性高达 97.93%,可能是同一种蘑菇,但最后鉴定的结果表明,它们是属于同属不同种的 2 种蘑菇。ITS 序列非常适合真菌同属内物种间或种内差异水平比较明显的菌群间的系统发育分析,具有对大型真菌菌种进行分子标记、基因鉴定的显著优势;如对野生香蘑属菌株(*Lepista*)<sup>[19]</sup>和点柄粘盖牛肝菌(*Suillus granulatus*)<sup>[20]</sup>等外生菌根菌鉴定的应用。目前,从基因水平上对菌种

进行 ITS 序列分析鉴定非常有意义,但是仅以 ITS 序列分析作为分类鉴定的标准尚不能完全被认可。对于大型真菌菌种进行分类鉴定,一般先通过孢子、菌丝和子实体的形态特征等传统鉴别方法来鉴别和分类,也再结合 ITS 序列分析鉴定,结果将会更加科学、可靠。

### 参考文献

- [1] 刘贵巧,何华奇,王建明. 一株野生食用菌株的种类鉴定研究[J]. 北方园艺,2014(12):118-121.
- [2] 张京良,李蓉,江晓路. 花脸香蘑 *Lepista sordida* LS7 的鉴定及其发酵液抗菌活性分析[J]. 食品与生物技术学报,2010,29(6):948-951.
- [3] 李晶,林冬梅,林占熺,等. 一种野生食用菌的分子及形态学鉴定[J]. 现代农业科技,2012(8):110-112.
- [4] CHOI J H, ABE N, TANAKA H, et al. Plant-growth regulator, imidazole-4-carboxamide, produced by the fairy ring forming fungus *Lepista sordida*[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58: 9956-9959.
- [5] 周峰,王瑞娟,李玉. 珍稀食用菌紫丁香蘑的研究进展[J]. 食用菌学报,2010,17(4):79-83.
- [6] XIE F Q, LIN Y C, JIANG C J, et al. A preliminary cultivation study on valuable wild *Lepista sordida* by controlling the artificial environmental factors in chamber room[J]. Journal of Fungal Research, 2007(2):89-92.
- [7] DENG G C, WANG J, ZHAO H, et al. Optimization of fermentation conditions of *Lepista sordida* mycelium[J]. Agricultural Biotechnology, 2012, 1(4):54-57.
- [8] 刘旭东. 中国野生大型真菌彩色图鉴[M]. 北京:中国林业出版社,2002:80-82.
- [9] 戴玉成,图力古尔. 中国东北野生食药真菌图志[M]. 北京:科学出版社,2007.
- [10] LEE Y S, KIM N W, KIM J B. Genetic variation based on random amplified polymorphic DNA(RAPD) and transcribed spacer (ITS) region sequences *Lepista nuda*[J]. Mycoscience, 2012, 22(11):1470-1476.
- [11] LI D J, LIU Y, WANG P, MA Y W, et al. Development of SCAR markers to determine the mating types of *Lepista nuda* protoplast monokaryons[J]. Current Microbiology, 2014, 68:536-542.
- [12] 唐庆明,邹莉,孙少辉,等. 灰紫香蘑的分离纯化及 ITS 序列鉴定[J]. 安徽农业科学,2014,42(12):4192-4193,4201.
- [13] HARTLEY A J, MATTOS-SHIPLEY K D, COLLINS C M, et al. Investigating pleuromutilin-producing *Clitopilus* species and related basidiomycetes[J]. Fems Microbiology Letters, 2009, 297:24-30.
- [14] 卯晓岚. 中国大型真菌[M]. 郑州:河南科学技术出版社,2000.
- [15] GRAF L V, RUTH J G, DORLY F B. Morphological and cytochemical characterization of spores and gills of *Lepista sordida* (fungi: basidiomycota)[J]. Brazilian Journal of Microbiology, 2008, 39:599-601.
- [16] JUNG W S, JONG B K. A study of morphological characteristics and hybridization on *Lepista nuda*[J]. Journal of Mushroom Science and Production, 2013, 11(1):1-8.
- [17] 魏海莲,刘志曦,张婉,等. 云南昭通野生紫丁香蘑群体的遗传多样性分析[J]. 北方园艺,2015(17):132-136.
- [18] 邹莉,杨苑艺,孙婷婷,等. 野生花脸香蘑的分离纯化及 ITS 序列鉴定[J]. 浙江农业学报,2016,28(2):264-268.
- [19] 贾定洪,郭勇,郑林用,等. 野生香蘑属菌株的 ITS 序列分析[J]. 食用菌,2010,32(1):21-23.
- [20] 牛玉荣,王明花,张国庆,等. 点柄粘盖牛肝菌菌种分子鉴定与最适培养条件研究[J]. 食用菌学报,2013,40(20):6-10.

DOI:10.11937/bfyy.201622039

# 不同来源黄芩种子比较及相关性分析

王峰伟, 毛祝新, 陈智坤, 马延康, 房丽君

(陕西省西安植物园 陕西省植物研究所, 陕西 西安 710061)

**摘要:**以从山西、甘肃、山东、河北、陕西收集的 18 份黄芩种子为试材, 对其净度、千粒质量、发芽率、发芽势指标进行了对比研究, 确定了黄芩种子的质量分级标准。结果表明:Ⅰ级黄芩种子的发芽率不低于 80%, 千粒质量不低于 1.700 g, 净度不低于 95%;Ⅱ级黄芩种子的发芽率不低于 70%, 千粒质量不低于 1.600 g;Ⅲ级种子的发芽率不低于 60%, 千粒质量不低于 1.500 g, 净度不低于 80%。

**关键词:**黄芩; 种子; 质量分级标准

**中图分类号:**S 567.5<sup>+</sup>3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)22-0156-04

黄芩(*Scutellaria baicalensis* Georgi)属唇形科唇形属植物的干燥根, 为我国著名中药材, 味苦, 性寒, 具有清热燥湿、解毒、止血、安胎等功效<sup>[1-2]</sup>, 广布于中国东北、华北、西北等地。其化学成分为黄酮类, 包括黄芩苷、黄芩素、汉黄芩苷、汉黄芩素等, 具有抑菌、抗炎、抗肿瘤、提高免疫力等药理作用<sup>[3]</sup>。近年来, 国内外市场对黄芩药材的需求量日增, 各地的栽培面积迅速增大, 其中河北、甘肃、山东、陕西等均有大面积栽培, 但由于各地生态环境不同和药农引种时存在盲目性, 导致栽培黄芩个体间性状差异较大、易形成变异类型、种质退化严重以及不同产地黄芩的有效成分具有显著差异。因此选择优良

种子是栽培的关键<sup>[3]</sup>。该研究对收集的 18 份种子的净度、千粒质量和发芽势、发芽率进行了测定, 制定了黄芩种子的质量分级标准。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

18 份黄芩种子分别收集于甘肃、山西、河北、陕西、山东等地, 每份种子收集量约为 1 kg。种子具体来源见表 1。

### 1.2 项目测定

对黄芩种子的净度、千粒质量、发芽率进行测定。

1.2.1 净度分析 净度分析采用“徒手减半法”抽取试验样品<sup>[4]</sup>。黄芩种子送检样品的质量应超过 90 g, 净度分析试验中送检样品的最小质量为 9 g(至少含有 2 500 粒种子单位)。由于黄芩 2 500 粒种子的质量约为 4.5 g, 所以净度分析时应从每份黄芩试样中分取 2 份全

**第一作者简介:**王峰伟(1975), 男, 本科, 助理研究员, 现主要从事植物的引种栽培及病虫害防治等研究工作。E-mail:971519001@qq.com

**基金项目:**陕西省科学院社会发展资助项目(2014K-18)。

**收稿日期:**2016-07-27

## Identification of Two Wild *Lepista* Strains

JIANG Xue, PANG Weiqiao, YANG Yang, GUO Dejun

(School of Food Science, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing, Heilongjiang 163319)

**Abstract:** In order to provide an evidence at the molecular level about resources identification and genetic relationship analysis of *Lepista* mushroom. The study which used the method of the morphological features of culture and molecular markers were made to analyze the genetic diversity of different *Lepista* mushroom. The 2 *Lepista* mushrooms of B5 and BF8 collected from the Heilongjiang were used as experimental materials. The results showed that B5 and BF8 were significantly different in the fruiting bodies and mycelial characteristics. The homology of 2 the strains of 28S rDNA in highly conserved sequence and of ITS in moderately conserved region was 97.93% and 89.84%, respectively. In conclusion, B5 was *Lepista sordida* and BF8 was *Lepista nuda*, which belonged to different species in the same genera.

**Keywords:** *Lepista*; morphological features of culture; molecular identification