

doi:10.11937/bfyy.20171661

## 一株野生侧耳属菌株的鉴定及生物学特性

宋冰<sup>1</sup>, 付永平<sup>1</sup>, 郭昱秀<sup>1</sup>, 李长田<sup>1</sup>, 张志武<sup>2</sup>, 李玉<sup>1</sup>

(1. 吉林农业大学 食药用菌教育部工程研究中心, 吉林 长春 130118;

2. 华盛顿州立大学 作物和土壤科学系, 美国 华盛顿 99164)

**摘要:**以1株野生侧耳属菌株为试材,采用ITS序列克隆和分析,并结合传统形态学研究对其进行分类鉴定,通过单因素试验确定该菌株的生物学特性。结果表明:该野生菌株为紫孢侧耳(*Pleurotus sapidus*),其菌丝生长的最佳碳源为玉米粉,最佳氮源为牛肉膏,最适培养温度为30℃,最适pH 7.0。该研究为加快紫孢侧耳的推广和产业化提供了基础和种质资源。

**关键词:**紫孢侧耳;形态学;ITS;生物学特性

**中图分类号:**S 646.1<sup>+</sup>4 **文献标识码:**A **文章编号:**1001—0009(2017)24—0182—07

紫孢侧耳(*Pleurotus sapidus* (Schulz.) Sacc.)属担子菌门(Basidiomycota)、蘑菇目(Agaricales)、侧耳科(Pleurotaceae)、侧耳属(*Pleurotus*),又名美味侧耳<sup>[1-4]</sup>、美味北风菌、美味平菇<sup>[2-3]</sup>,野生菌株生长在春秋季节的阔叶树林

**第一作者简介:**宋冰(1980-),男,博士,讲师,研究方向为食药用菌栽培育种。E-mail:song19800123@126.com。

**责任作者:**李玉(1944-),男,博士,教授,中国工程院院士,研究方向为菌物学。E-mail:yuli966@126.com。

**基金项目:**公益性行业(农业)科研专项资助项目(201503137);国家重点研发计划资助项目(2017YFD0601002);高等学校学科创新引智计划资助项目(D17014);国家重点基础研究发展计划(973)资助项目(2014CB138305);吉林省秸秆综合利用技术创新平台资助项目(吉高平合字[2014]C-1);长春市科技局资助项目(15SS11)。

**收稿日期:**2017—07—26

的枯木上,在我国大部分地区都有分布。具有营养丰富、口味鲜美、抗病性强、生长旺盛、生长周期短的特点,目前已基本实现了人工土法栽培<sup>[2,5]</sup>。紫孢侧耳是一种具有重要市场前景的食用菌品种,随着食用菌产业的快速发展,培育和驯化优良的食用菌品种是产业发展的关键。但是由于受紫孢侧耳培养条件的限制,一定程度上制约了其产业化和规模化发展。

该研究以形态学鉴定为基础,辅以基因片段对野外采集到的一个侧耳属菌株进行鉴定,采用ITS序列克隆和分析,并结合传统形态学研究对其进行分类鉴定,通过单因素试验确定该菌株的生物学特性。为野生食用菌尽快实现人工驯化栽培、野生菌种的保育、菌物资源的可持续发展并提供了资源和技术支持<sup>[6-7]</sup>,以期为野生紫孢侧耳的产业化、规模化发展提供参考依据。

**Abstract:** This study introduced detailed the specific content of the standard that the verification of genuineness for spawn of *Auricularia heimuer* by SRAP. This standard provided not only a scientifically effective and easy-to-use method for the verification of genuineness for spawn, but also an effective way for breeders to protect intellectual property rights.

**Keywords:** *Auricularia heimuer*; spawn; verification of genuineness; SRAP

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试菌株为2015年6月10日在河南省信阳市采集的野生菌株(菌株编号:ccmj1334),菌株保存于吉林农业大学教育部食药用菌工程研究中心标本馆。

琼脂、葡萄糖、麦芽糖、蛋白胨、琼脂糖、蔗糖、淀粉、果糖、乳糖、蛋白胨、尿素、硝酸钾、硝酸铵、牛肉膏、琼脂、硫酸镁、磷酸二氢钾等均为分析纯,购自北京鼎国公司。无水乙醇、超纯水、Taq酶、DNA Marker DL 2 000、6×PCR Buffer、核酸荧光染料、dNTPs、CTAB、Tris-HCl、EDTA、3% KOH等,引物ITS1和ITS4由北京鼎国昌盛生物技术公司合成,MD18-T Vector克隆载体购自大连宝生物生物技术公司。

PDA培养基:马铃薯200 g、葡萄糖20 g、琼脂20 g、1 000 mL水。121 °C灭菌20 min备用。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 菌株的形态学鉴定

宏观形态观察:肉眼观测菌盖的形状、颜色,菌肉的厚度、颜色,菌褶形态、颜色以及和菌柄的关系,菌柄的长度、粗细和着生方式,菌环、菌托的有无等<sup>[8-9]</sup>。

担孢子形态观察:在超净工作台中,取菌株子实体的一小块在硫酸纸中制作孢子印,用解剖针挑取硫酸纸上的担孢子放在载玻片上,滴取少量的3% KOH固定,盖上盖玻片,在ZEISS光学显微镜下观察担孢子的外部形态并用测微尺测量担孢子大小<sup>[9-10]</sup>。

#### 1.2.2 菌株的分子鉴定

菌株基因组DNA的提取<sup>[11-12]</sup>。称取0.1 g子实体或者菌丝体(用载玻片从菌板中挂取)并放入预冷的研钵中,加入适量的液氮迅速研磨成粉末,转入2 mL的离心管,利用植物基因组DNA提取试剂盒提取菌丝体的DNA,经电泳检测后用于后续试验。

野生菌株ITS片段PCR扩增。利用真菌核糖体rDNA区域通用引物ITS1和ITS4进行PCR扩增,ITS1: TCCGTAGGTGAAACCTGCGC, ITS4:

TCCTCCGCTTATTGATATGC。采用25 μL反应体系:2.5 μL Taq Buffer, 2.5 μL MgCl<sub>2</sub>(1.5 mmol·L<sup>-1</sup>), 1 μL dNTPs(200 μmol·L<sup>-1</sup>), 0.5 μL Taq DNA聚合酶(1 U), 20 ng基因组DNA(2~5 μL), ITS1和ITS4引物各0.5 μL,用ddH<sub>2</sub>O补足体积。PCR扩增条件:94 °C预变性5 min; 94 °C变性60 s, 60 °C退火50 s, 72 °C延伸60 s, 35个循环; 72 °C后延伸10 min, 4 °C保存。

野生菌株的ITS序列分析。吸取2 μL PCR扩增产物,进行1%琼脂糖凝胶电泳检测,与Marker比较后,将有正确条带的样品切胶回收并连接克隆载体(pMD18-T Vector, 大连宝生物),转化到大肠杆菌中后,将菌液送至上海生工生物工程公司进行测序。将测序结果运用NCBI数据库GenBank中的BLAST工具软件搜索同源DNA序列并进行比较分析,同时采用DANMAN分析野生菌株与紫孢侧耳的同源性,并建立系统发育树。

#### 1.2.3 菌株生物学特性研究

碳源对菌丝生长的影响。碳源培养基的配制:分别以淀粉、木糖、玉米粉、麦芽糖、葡萄糖、蔗糖为碳源配制固体培养基,各碳源分别加入20 g,磷酸二氢钾2 g,硫酸镁1 g,琼脂15 g,加水定容至1 L,121 °C高压灭菌20 min,取出后稍微冷却趁热在无菌条件下倒平板,以基础培养基为对照,每处理设10个重复。接种后在25 °C培养箱避光培养,记录和测量菌丝生长速度。

氮源对菌丝生长的影响。氮源培养基的配制:分别以酵母浸粉、谷氨酸、牛肉膏、蛋白胨、豆粉、硝酸铵为氮源配制固体培养基,各氮源分别加入2 g,葡萄糖20 g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2 g, MgSO<sub>4</sub> 1 g,琼脂15 g,加水至1 L,121 °C高压灭菌20 min,取出后稍微冷却趁热在无菌条件下倒平板并接种,以基础培养基为对照,每处理设10个重复。培养和测量方法同上。

温度对菌丝生长的影响。将菌块接种到普通的PDA培养基中央,每一个培养皿接一块,每处理设3个重复,分别放入5、10、15、20、25、30、35 °C恒温箱中培养。测量方法同上。

pH对菌丝生长的影响。基础培养基:马铃薯200 g,葡萄糖20 g,蛋白胨2.0 g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>

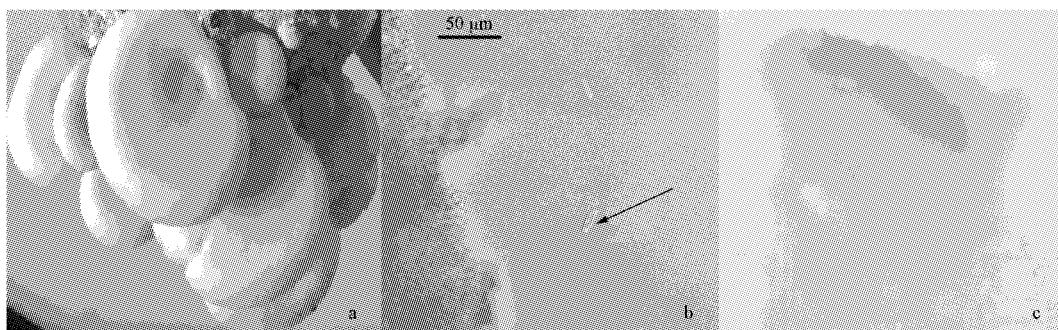
2 g, MgSO<sub>4</sub> 1 g, 琼脂 15 g, 加水定容至 1 L。用无菌的 1 mol·L<sup>-1</sup> HCl 和 1 mol·L<sup>-1</sup> NaOH, 将加热后的 PDA 培养基 pH 调至 5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0、8.5, 并在超净工作台上制成 PDA 平板并接种, 每处理设 10 个重复, 培养和测量方法同上<sup>[13-14]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 菌株的形态鉴定分析

野生菌株的子实体多丛生, 每丛具 6~21 个子实体。子实体菌盖大小为 (5.7~10.3) cm × (4.0~7.2) cm, 颜色为灰白色, 边缘灰黑色, 表面光滑, 无鳞毛或鳞片, 具较厚肉质, 厚度为 3.0~3.2 cm; 菌柄粗短, 长 2.7~3.0 cm, 宽 3.2~

4.0 cm, 白色、实心、侧生, 基部表面具细绒毛; 菌褶白色至浅棕黄色, 宽 0.32~0.50 cm, 延生, 单个子实体鲜质量 21.5~49.0 g, 平均 37 g(图 1a), 这特征也与以往报道的特征相似<sup>[3,9,16]</sup>。在光学显微镜下观察担孢子形态, 担子呈棒状, 平行密集排列, 单细胞, 上部宽于基部, 幼担子顶端圆钝光滑, 成熟担子顶端具 4 个小梗, 担子大小为 (31.18~32.98) μm × (6.13~7.52) μm, 平均 32.08 μm × 6.83 μm。担孢子无色光滑, 短棒状, 一端具偏生短突出, 大小为 (11.02~12.83) μm × (2.58~4.01) μm, 平均 11.93 μm × 3.30 μm(图 1b), 孢子印呈现灰紫色(图 1c), 这与以往报道的特征非常接近<sup>[3,9,16]</sup>, 这些形态学数据初步验证其为紫孢侧耳。



注:a. 子实体;b. 孢子;c. 孢子印。

Note: a. Fruitbody; b. Spore; c. Spore print.

图 1 野生菌株的形态鉴定

Fig. 1 The morphology of wild strain

### 2.2 基于 ITS 片段的序列分析

采用 ITS 通用引物 ITS1 和 ITS4 对提取的疑似野生紫孢侧耳的基因组 DNA 的 ITS 区段进行 PCR 扩增, 扩增结果用 1% 的琼脂糖凝胶电泳进行检测, 其中阳性对照采用紫孢侧耳菌株 AS2706 的 DNA(图 2)。

野生紫孢侧耳扩增的 ITS 片段经测序得到的一个长度为 692 bp 序列, 将序列得到的结果与 BLAST 比对上的前 3 个已经鉴定为紫孢侧耳的序列, 输入 DNAMAN 6.0 软件中进行多重序列比对, 比对结果表明, 疑似野生紫孢侧耳的 ITS 区段为 692 bp 的片段, 与已知的 3 个紫孢侧耳

ITS 序列同源性达到 99.46%, 野生疑似菌株为紫孢侧耳。利用野生菌株与 BLAST 得到的前 8 个序列, 以及平菇 ITS 序列构建系统发育树, 结果表明, 野生菌株与紫孢侧耳被聚到一个类群, 更加说明其为紫孢侧耳(图 3)。结合形态学鉴定其与以往报道的紫孢侧耳特征相同或者相似, 故确定为紫孢侧耳。

### 2.3 生物学特性分析

#### 2.3.1 碳源对菌丝生长的影响

从表 1 可以看出, 紫孢侧耳的菌丝在不同的碳源中均可生长, 保持了完整的菌落形态, 但其在各个碳源中生长速度和长势有很大差异, 菌丝在

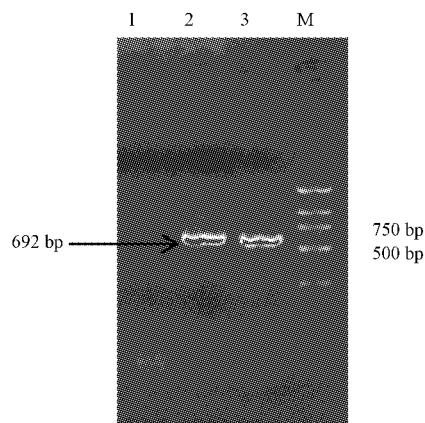


图2 野生菌株ITS序列电泳检测

Fig. 2 Electrophoresis analysis of ITS sequences from wild strain

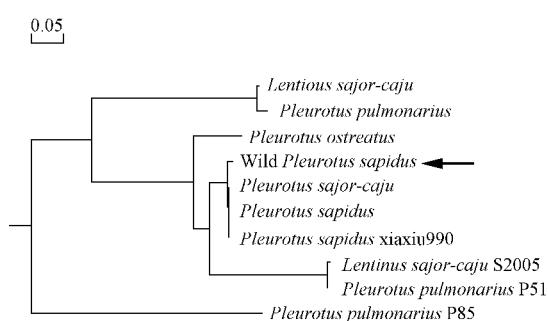


图3 野生菌株与其它紫孢侧耳的系统发育树

Fig. 3 Phylogenetic tree of wild strain and other reported *Pleurotus sapidus*

玉米粉中生长速度最快,其次是麦芽糖,二者差异不显著,这2个碳源和其它糖类培养基上菌丝生长差异显著。菌丝在淀粉和蔗糖中长势较好,二者差别不显著,与葡萄糖、木糖生长差异显著。菌丝在以葡萄糖为碳源时长势较差,而木糖中生长最慢。可见,紫孢侧耳最佳碳源是玉米粉和麦芽

糖,由于玉米粉中营养丰富,含有大量的淀粉、亚油酸、蛋白质和维生素等营养物质,可以极大的促进菌丝生长。而麦芽糖可以被许多真菌酶解成2分子的 $\alpha$ -D-葡萄糖,可能更易菌丝体吸收<sup>[17-19]</sup>。此外,菌丝在淀粉和蔗糖中生长良好,也可以作为紫孢侧耳的碳源。

表1 不同碳源对紫孢侧耳菌丝生长速率和长势的影响

Table 1 Effect of different carbon sources on mycelial growth rate and mycelial growth vigor of *Pleurotus sapidus*

碳源	菌落形态	菌丝长势	菌丝长度	菌丝生长速度	0.05水平差异显著性
Carbon source	Bacterium shape	Mycelial growth vigor	Mycelium length/cm	Mycelial growth rate/(cm·d <sup>-1</sup> )	Significant difference at 0.05 level
基础培养基	圆形,完整	+++	6.326	0.90	c
淀粉	圆形,完整	+++	6.735	0.96	b
木糖	圆形,完整	+	5.668	0.81	d
葡萄糖	圆形,完整	++	6.062	0.87	cd
玉米粉	圆形,完整	++++	7.023	1.00	a
蔗糖	圆形,完整	+++	6.649	0.95	bc
麦芽糖	圆形,完整	++++	6.948	0.99	ab

### 2.3.2 氮源对菌丝生长的影响

从表 2 可以看出,紫孢侧耳的菌丝在各氮源中均可正常生长,也都保持了完整的菌落形态,但其在各氮源中生长速度和长势有很大差异,在牛肉膏中长势最好、生长速度最快,其次是豆粉,且与牛肉膏差异不显著,二者和其它氮源差异显著。

而菌丝在谷氨酸和蛋白胨中长势相近,差异不显著,与其它的差异显著。酵母浸粉和硝酸铵长势相对较差,其中硝酸铵长势最差,二者差异显著。表明适合紫孢侧耳菌丝生长的最佳氮源是牛肉膏,其次是豆粉。

表 2

不同氮源对紫孢侧耳菌丝生长速率和长势的影响

Table 2 Effect of different nitrogen sources on mycelial growth rate and mycelial growth vigor of *Pleurotus sapidus*

氮源 Nitrogen source	菌落形态 Bacterium shape	菌丝长势 Mycelial growth vigor	菌丝长度 Mycelial length/cm	菌丝生长速度 Mycelial growth rate/(cm·d <sup>-1</sup> )	0.05 水平差异显著性 Significant difference at 0.05 level
基础培养基	圆形,完整	+++	6.251	0.89	b
硝酸铵	圆形,完整	++	5.968	0.85	d
酵母浸粉	圆形,完整	++	6.076	0.87	c
谷氨酸	圆形,完整	+++	6.301	0.90	b
豆粉	圆形,完整	++++	6.592	0.94	ab
牛肉膏	圆形,完整	++++	6.615	0.95	a
蛋白胨	圆形,完整	+++	6.191	0.87	bc

### 2.3.3 温度对菌丝生长的影响

从表 3 可以看出,菌丝在不同温度梯度下都能生长,并保持完整的菌落形态,但长势不同,在 30 ℃下长势最好、生长速度最快,25 ℃与 30 ℃生长速率和菌落大小相近,差异不显著,二者与其它温度下菌丝生长差异显著。菌丝在 15 ℃和 20 ℃下长势较好,菌丝间长速差别不显著,与其

它差异显著。在 5、10、35 ℃长速较慢,三者差异不显著,其中 10 ℃长速最慢,这是由于过低的温度降低了菌丝细胞的新陈代谢,进而降低了菌丝生长的速度,过高的温度加速了菌丝水分的蒸发代谢,使菌丝不能正常生长。可见,紫孢侧耳菌丝适宜的生长温度是 30 ℃。

表 3

不同温度对紫孢侧耳菌丝生长速率和长势的影响

Table 3 Effect of different temperature on mycelial growth rate and mycelial growth vigor of *Pleurotus sapidus*

温度 Temperature/°C	菌落形态 Bacterium shape	菌丝长势 Mycelial growth vigor	菌丝长度 Mycelial length/cm	菌丝生长速度 Mycelial growth rate/(cm·d <sup>-1</sup> )	0.05 水平差异显著性 Significant difference at 0.05 level
5	圆形,完整	+	0.604	0.086	d
10	圆形,完整	+	0.551	0.079	d
15	圆形,完整	++	3.321	0.470	bc
20	圆形,完整	++	3.837	0.550	b
25	圆形,完整	++++	6.207	0.890	a
30	圆形,完整	++++	7.066	1.010	a
35	圆形,完整	+	0.620	0.090	cd

### 2.3.4 pH 对菌丝生长的影响

从表 4 可以看出,pH 7.0 时紫孢侧耳的菌丝生长速度最快,但是与 pH 7.5 和 pH 8.0 时差异不显著,pH 6.5 和 pH 8.5 时菌丝生长居中,无

显著差异,当 pH 5.5 和 pH 6.0 时菌丝生长缓慢,其它条件呈显著差异。可见紫孢侧耳适合在中性或者弱碱性的环境中生长,过酸或者过碱的环境都会抑制菌丝的生长。

表 4

Table 4 Effect of different pH on mycelial growth rate and mycelial growth vigor of *Pleurotus sapidus*

pH	菌丝长度 Mycelium length/cm	菌丝生长速度 Mycelial growth rate $(\text{cm} \cdot \text{d}^{-1})$	0.05 水平差异显著性
			Significant difference at 0.05 level
5.5	5.382	0.77	d
6.0	6.290	0.90	cd
6.5	6.707	0.96	bc
7.0	7.373	1.05	a
7.5	7.096	1.01	a
8.0	7.022	1.00	a
8.5	6.813	0.97	b

### 3 结论与讨论

传统分类学对真菌的鉴定主要集中在形态学鉴定,形态学鉴定也是分类鉴定的基础,但是随着越来越多的大型真菌被发现后,许多近缘种、菌根菌、无子实体的菌株和相似种,宏观形态非常接近,很难从形态学上进行鉴定区分,这就需要新的技术来弥补形态学鉴定的缺点,真菌分子系统学的发展就是对传统技术的巨大补充和推动。根据真菌分类学家 RENSKE 的观点:当被鉴定物种的 rDNA 的 ITS 序列与已知种的相似性 $\geq 99\%$ ,可鉴定其为同一物种。rDNA 的 ITS 序列的一个特点决定了其适合作为基因片段用于真菌的分类鉴定,其具有高度保守性表现为种内相对一致,同时 ITS 区域内也有可以变化的区域,有较为丰富的变异位点,这为种属间的区分提供了可能。虽然绝大多数的真菌序列信息已经被上传到 GenBank 等数据库中,但因很多真菌的基因组信息并未被测序,其中仍有些核酸序列信息不够完整,甚至有些错误的信息也被传到网上,这就会对分析鉴定产生很大干扰。研究发现,试验方法的不同、物种受环境影响的变异也会对鉴定结果产生一定程度的影响<sup>[20]</sup>。因此,仅以 ITS 序列分析进行真菌鉴定是不够充分的,建议使用多个基因片段去除这些影响,如 SSU、LSU、EF1 $\alpha$ 、 $\beta$ -tubulin 等。同时,形态学鉴定和分子鉴定要相辅相成,同时并用,不能够单独使用一个鉴定方法来确定种属关系,且形态学鉴定是分类的基础<sup>[21]</sup>。此外,传统分类学通过形态鉴定得出的鉴定结果被上传至真

菌字典中,尤其是早期的鉴定结果,随着分类学的发展,许多以前被广泛认定的种被发现是错误的命名,所以在鉴定时要及时查阅文献,更新数据,以免发生错误。

在对氮源的试验中,研究发现野生紫孢侧耳菌丝能很好的利用有机氮,菌丝在牛肉膏和豆粉中长势最好,其中牛肉膏为其最佳氮源。牛肉膏和豆粉中含有大量的动植物蛋白,更利于菌物吸收利用。以往的报道中最佳氮源是蛋白胨,这一结果与该试验有一定的差异,可能是之前的研究没有选择利用动植物蛋白作为氮源,但是,菌丝也可以在蛋白胨等氮源中生长良好。硝酸盐往往是菌物可以直接吸收的氮源,但其营养成分单一,不如牛肉膏和豆粉营养丰富<sup>[16]</sup>。

在对温度的试验中,研究发现野生紫孢侧耳菌丝在 5~35 ℃均可生长,但是在 30 ℃左右无论长速长势都比其它温度要好,这与以往的报道结果相近<sup>[6, 16]</sup>。大多数野生菌都是嗜酸性菌,但研究结果表明野生紫孢侧耳菌丝在中性或者酸碱性的环境中长势最好,过酸过碱均会抑制菌丝生长。这也可能是培养基在灭菌后的 pH 略有降低所造成的。

该研究以传统形态学鉴定为主,辅以分子生物学方法,初步明确了采自河南省信阳市疑似的野生蘑菇菌株为紫孢侧耳,并通过生物学特性的研究表明,其最佳碳源为玉米粉,最佳氮源为牛肉膏,最适培养温度为 30 ℃,最适 pH 为 7.0。这为野生紫孢侧耳的驯化栽培研究提供了重要的参考依据。

## 参考文献

- [1] 应建渐,赵继鼎.食用蘑菇[M].北京:科学出版社,1982.
- [2] 上海农业科学院食用菌研究所.中国食用菌志[M].北京:中国林业出版社,1991.
- [3] 陈体强,种藏文,李开本,等.美味侧耳子实体与担孢子形态观察及其营养成分分析初报[J].食用菌学报,1997,4(1):51-54.
- [4] KIRK P, CANNON P, MINTER D, et al. Dictionary of the fungi[M]. London:CABI Publishing,2008.
- [5] 高居易,卓建亭,黄一红.紫孢侧耳多糖的提取、纯化及性质的研究[J].福建师范大学学报(自然科学版),1999,15(2):83-87.
- [6] 王呈玉,图力古尔,李玉.侧耳属真菌系统分类研究概况[J].吉林农业大学学报,2006,28(2):158-163.
- [7] 李蝶.侧耳野生菌株驯化及液固两相轻简化栽培技术研究[D].南宁:广西大学,2015.
- [8] 郑域茹.野生洛巴伊口蘑 Tr0013 的生物学特性与栽培研究[D].福州:福建农林大学,2009.
- [9] 卢东升,王金平,邵翻翻,等.野生紫孢侧耳 DW 菌株生物学特性[J].食用菌,2009,31(3):20-21.
- [10] 王敬.毛木耳的形态发育及野生菌株驯化研究[D].长春:吉林农业大学,2013.
- [11] 贾定洪,郑林用,郭勇,等.5个野生木耳属菌株的 ITS PCR-RFLP 分析[J].西南农业学报,2010,23(2):449-453.
- [12] 秦莲花,宋春艳,谭琦,等.用 ITS 和 ISSR 分子标记技术鉴别香菇生产用种[J].菌物学报,2006,25(1):94-100.
- [13] 单洪涛.野生平菇-紫平培养条件的优化和品种鉴定[D].泰安:山东农业大学,2009.
- [14] 单洪涛,万鲁长,丁爱云,等.野生紫平菌丝生长营养物质优化研究[J].山东农业科学,2010(5):75-77.
- [15] 陈艳秋,朴政玉,郭晓帆.榆干侧耳人工驯化栽培研究初探[J].中国食用菌,2005,24(2):15-16.
- [16] 况颐,周巍,尹健,等.野生紫孢侧耳生物学特性观察及驯化试验[J].河南农业科学,2003(8):53-55.
- [17] KALAČ P, SVOBODA L. A review of trace element concentrations in edible mushrooms[J]. Food Chemistry, 2000, 69 (3):273-281.
- [18] SÁNCHEZ C. Modern aspects of mushroom culture technology[J]. Applied Microbiology & Biotechnology, 2004, 64(64): 756-762.
- [19] GBOLAGADE J S. Bacteria associated with compost used for cultivation of Nigerian edible mushrooms *Pleurotus tuberregium* (Fr.) Singer, and *Lentinus squarrosulus* (Berk.)[J]. African Journal of Biotechnology, 2006, 5(4):338-342.
- [20] LANDEWEERT R, LEEFLANG P, KUYPER T W, et al. Molecular identification of ectomycorrhizal mycelium in soil horizons [J]. Applied & Environmental Microbiology, 2003, 69(1):327.
- [21] 马爱瑛. rDNA 分析在真菌分类鉴定中的应用[J].安徽农业科学,2010,38(32):18079,18081.

## Identification and Biological Characteristics of a Wild *Pleurotus* sp.

SONG Bing<sup>1</sup>, FU Yongping<sup>1</sup>, GUO Yuxiu<sup>1</sup>, LI Changtian<sup>1</sup>, ZHANG Zhiwu<sup>2</sup>, LI Yu<sup>1</sup>

(1. Engineering Research Center of Chinese Ministry of Education for Edible and Medicinal Fungi, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118; 2. Department of Crop and Soil Sciences, Washington State University, Washington, USA 99164)

**Abstract:** A wild fungi stain was used as test material, the strain was identified by molecular identification with ITS sequence cloning and analyzing and combine with the traditional morphological. And the biological characteristics were studied by single factor test. The results showed that the wild strain was identified as *Pleurotus sapidus* by morphological and ITS analysis. The optimum carbon source was maize meal, the optimum nitrogen source was beef extract, the optimal cultivation temperature was 30 °C, and the optimal pH was 7.0. This research promoted the basis and genetic resources to increase the market promotion and industrialization development of *Pleurotus sapidus*.

**Keywords:** *Pleurotus sapidus*; morphology; ITS; biological characteristics