

蒙古口蘑担孢子萌发及初生菌丝生物学特性研究

刘晓婷, 郭九峰, 王淑妍, 李亚娇, 袁丽丽, 那 日

(内蒙古大学 物理科学与技术学院, 离子束生物工程自治区重点实验室, 内蒙古 呼和浩特 010021)

摘 要:以蒙古口蘑(*Tricholoma mongolicum*)为试材,采用光学显微镜观察担孢子及菌丝体形态的方法,研究了不同培养基对蒙古口蘑担孢子萌发及初生菌丝生长情况的影响。结果表明:蒙古口蘑担孢子呈肾形或椭圆形,大小约为 $(4\sim6)\mu\text{m}\times(6\sim9)\mu\text{m}$;担孢子在培养基上萌发出肉眼可见的微小菌落至少需要1周的时间;MS培养基中添加 $1.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 酵母粉和 $1.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 酸水解酪蛋白,对担孢子萌发有明显的促进作用;根据初生菌丝菌落生长速度和菌落形态等有关特征,发现有5种明显不同类型的初生菌丝,分别为菌丝绒毛型、菌丝贴生型、菌丝稀薄型、成簇生长型、缓慢生长型。另外,采用rDNA-ITS方法、PCR产物测序及NCBI-Blast比对,证明试验材料为蒙古口蘑。该试验提供了一种食用菌菌丝体直接PCR的方法,为进行有关食用菌DNA分子方面研究提供了便利;该研究结果可为蒙古口蘑担孢子交配型研究提供依据,为珍稀食用菌研究积累资料。

关键词:草原白蘑;生长发育;有性繁殖;单核菌丝;生物学习性

中图分类号:S 646.1⁺1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)16-0136-06

蒙古口蘑(*Tricholoma mongolicum* Imai.)属伞菌目(Agaricales)、口蘑科(Tricholomataceae)、口蘑属(*Tricholoma*)或白丽蘑属(*Leucocalocybe*)^[1-2],又称白蘑菇^[3]、白蘑、口蘑、白口蘑、珍珠蘑、草原白蘑等^[4]。主要分布在内蒙古以及河北张家口以北等地区的草原环境中。因其口味鲜美,又可供药用,深受人们的欢迎,但现今各种原因使其野生产量越来越少,国内外市场供不应求。目前,有关蒙古口蘑的分子鉴别研究^[5-6]、食品医药及功能性成分研究^[7-9]等方面的报道较多,有关其生理学研究及驯化栽培技术^[10-11]等方面也有报道,但鲜有实质性进展,有关蒙古口蘑担孢子和单核菌丝的研究尚鲜见报道。担孢子在食用菌中相当于植物的雌雄配子,是食用菌生活史中占有重要地位的一种形态,是研究食用菌遗传特性的重要材料,也是研究和开发有关食用菌生理生化特性的重要前提和基础。为保护这一珍贵的生物资源,该试验以蒙古口蘑为试验材料,跟踪研究了其担孢子萌发情况和初生菌丝生长情况,旨在为研究草原珍稀食用菌的遗传及生物学特性,加速其驯化和育种研究等提供新的思路和方法。

第一作者简介:刘晓婷(1991-),女,硕士研究生,研究方向为环境生物物理。E-mail:liuxiaoting0522@sina.com

责任作者:郭九峰(1964-),男,博士,教授,研究方向为生物物理与生物技术。E-mail:guojf101@sina.com

基金项目:国家自然科学基金资助项目(51267014)。

收稿日期:2016-04-26

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试蘑菇子实体采自蒙古口蘑的核心生长区—内蒙古锡林郭勒盟白音锡勒草原,人工制取的蒙古口蘑孢子印。

PDA培养基:去皮马铃薯 $100\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,蔗糖 $20\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,蛋白胨 $2.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,酵母浸出粉 $1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, K_2HPO_4 $1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, MgSO_4 $0.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,琼脂 $20\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$;MS培养基;MS⁺培养基:MS培养基中另加 $1.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 酵母粉和 $1.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 酸水解酪蛋白。

1.2 试验方法

1.2.1 担孢子收集 将蒙古口蘑子实体用小刀削去少许菌柄,在超净工作台上用75%的酒精擦拭菇体表面进行消毒,再用无菌水快速冲洗菇体表面3次,用灭菌的吸水纸将菇体表面水分尽量吸干,用烧过的铁丝穿过菇体,使其菌褶向下悬挂于灭过菌的广口瓶内收集担孢子。

1.2.2 担孢子悬液制备 挑取少许担孢子至无菌试管中,加无菌水稀释至一定倍数,充分混匀,在显微镜下用血球计数板挑选稀释至 $100\mu\text{L}$ 含40~60个担孢子,作为该试验的担孢子悬液。

1.2.3 担孢子观察 采用悬滴法制片,用齐氏(Ziehl)石炭酸复红染液对担孢子进行染色,置于光学显微镜油镜下($1000\times$),观察担孢子形态,测定其大小,并拍照保存。

1.2.4 担孢子萌发 吸取 $100\mu\text{L}$ 担孢子悬液分别滴加

于添加适量抗生素的 PDA 培养基、MS 培养基、MS⁺ 培养基 3 种平板培养基上,并均匀涂布,5 次重复,25 °C 下避光分别培养 3 d 后,定时对比观察,并拍照保存。

1.2.5 初生菌丝的培养 待担孢子萌发后菌落长至肉眼可见时,挑取单个菌落,分别移至新的 MS⁺ 培养基上培养,25 °C 下避光培养。培养一段时间后,待菌落长大进行镜检,采用直接涂片法对菌丝体进行观察,通过有无锁状联合的情况,判断菌丝是否为初生菌丝。定时观察初生菌丝长势,并记录初生菌丝菌落形态,直至初生菌丝长满整个培养皿。

1.2.6 初生菌丝生长速率的测定 在分离得到的不同初生菌丝中,挑选菌落形态典型不同的几种初生菌丝,用直径 6 mm 的打孔器打孔,挑取一块接种于新的 MS⁺ 平板培养基中央,每天定时记录菌落直径,每种初生菌丝 3 次重复,取平均值即为菌丝生长速度,绘制生长曲

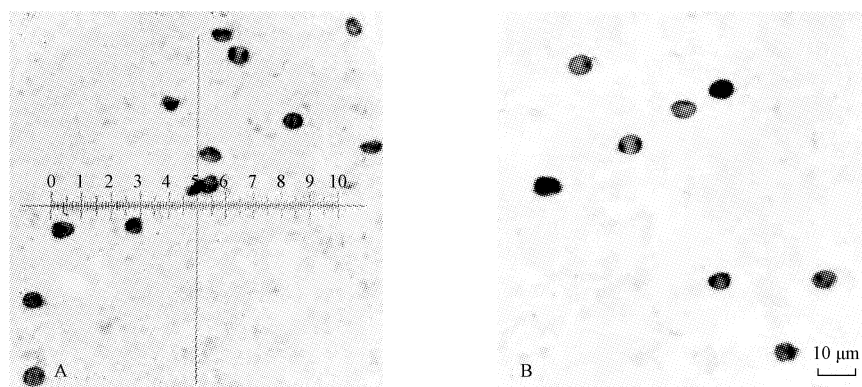
线;再挑选长势较好的初生菌丝,同样方法分别接种于 3 种不同培养基上,观察并记录 3 种培养基上同种初生菌丝的生长速度,绘制生长曲线。

1.2.7 rDNA-ITS 方法分子鉴定 用镊子从培养皿中刮取少量菌丝,置于装有 100 μ L 超纯水的 1.5 mL 试管中,轻轻震荡,浸泡 3~5 min,用已建立的 PCR 反应条件^[12],扩增目的 DNA 片段,经 PCR 产物测序,与 NCBI 中 DNA 序列数据库信息资源进行 Blast 比对。

2 结果与分析

2.1 蒙古口蘑担孢子形态

显微观察表明,蒙古口蘑担孢子可用齐氏(Ziehl)石炭酸复红染液染色,染色后的蒙古口蘑担孢子呈粉色,肾形或椭圆形,偶有弯月牙形,表面光滑,大小约为(4~6) μ m \times (6~9) μ m(图 1-A、B)。



注:A、B:光学显微镜下蒙古口蘑担孢子形态。

Note: A, B; Morphology of basidiospores of *Tricholoma mongolicum* Imai, under optical microscope.

图 1 蒙古口蘑担孢子形态(1 000 \times)

Fig. 1 Morphology of basidiospores in *Tricholoma mongolicum* Imai. (1 000 \times)

2.2 担孢子萌发

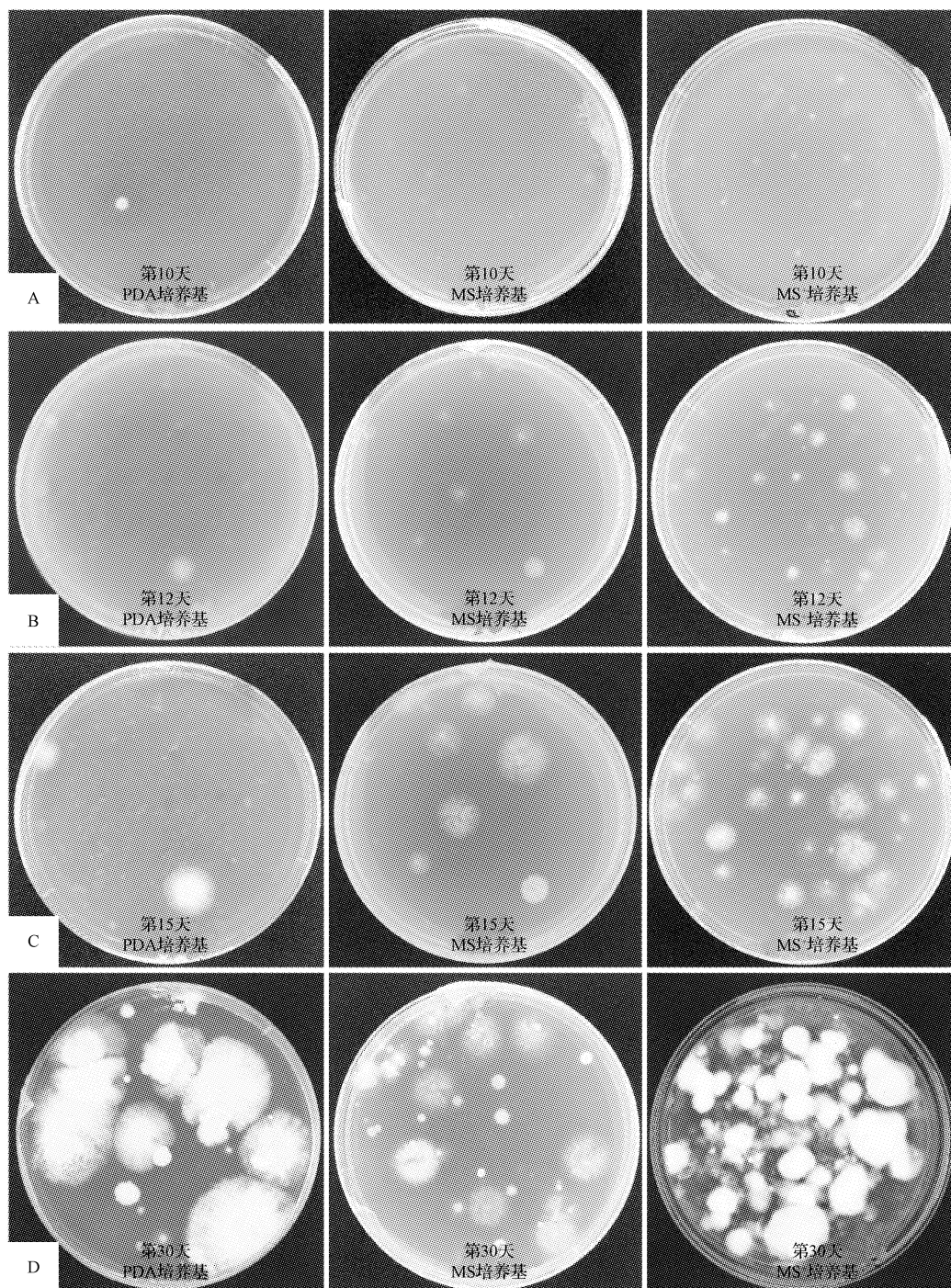
平板培养基上涂布蒙古口蘑担孢子悬液后,6~8 d 肉眼可见培养皿中出现 1 mm 左右的微小菌落,即个别担孢子已萌动。10 d 后培养皿中有更多担孢子萌发,此时不同培养基上担孢子菌落生长情况明显不同,从肉眼可见菌落个数来看,PDA 培养基中极少,MS⁺ 培养基中较多;从菌落长势来看,PDA 培养基中菌落长势较好,菌落直径明显偏大,且菌落较致密,而 MS 培养基中菌落长势较差,菌落直径偏小,在 1 mm 左右,偶有大者,但菌落极稀疏(图 2-A)。12 d 后,3 种培养基中已萌发担孢子菌落直径达到 4~6 mm,MS⁺ 培养基中的担孢子个数仍明显多于其它 2 种培养基,且有较多刚萌发的担孢子(图 2-B)。15 d 后,PDA 培养基中可见新萌发的担孢子菌落,3 种培养基中担孢子菌落不断长大,菌落直径可达 15 mm,且同一皿中明显可见几种不同的菌落形态,与其它 2 种培养基中担孢子菌落相比,PDA 培养基中担孢子

菌落明显致密(图 2-C)。1 个月内菌落可不断长大,菌落形态差别也越见明显,相邻菌落之间出现明显的亲和现象或拮抗现象,期间也不断有孢子萌发。1 个月后,仍有担孢子萌发,较其它 2 种培养基,MS⁺ 培养基萌发情况最好,菌落数量最多且长势较好(图 2-D)。

上述结果可能是不同培养基营养成分的不同,导致担孢子萌发状态的不同。PDA 培养基有机物含量高,但天然有机物对于担孢子来讲,吸收较为困难,需要一定的适应期与营养转化期,所以开始一段时间 PDA 培养基上的担孢子萌发数量较少,但丰富的营养使菌丝体生长明显致密,生命力较强,萌发后期比较发现,该培养基中已萌发担孢子数较低,这仍与担孢子长时间难以吸收天然有机物的营养有关;MS 培养基中人工配制营养元素相对全面且容易吸收,担孢子可快速适应并萌发起来,但该培养基中有机物含量不足,难以提供更多萌发后担孢子生长所需的营养,所以后期担孢子菌落难以再长

大,且长势稀疏,生命力较弱;MS⁺培养基是该试验在 MS 培养基的基础上再加 1.5 g · L⁻¹ 酵母粉和 1.5 g · L⁻¹ 酸水解酪蛋白配制而成的培养基,相比较而言,该培养基综合了以上 2 种培养基的优点,全面且易吸收的人工

配制营养元素既可以让担孢子较快萌发,添加一定的有机物氨基酸又可以较好的维持担孢子萌发后的生长,加之配制过程简单方便,该试验确定选用 MS⁺ 培养基培养蒙古口蘑担孢子。



注:A:涂布后第 10 天蒙古口蘑担孢子分别在 3 种培养基上萌发情况;B:同处理第 12 天萌发情况;C:同处理第 15 天萌发情况;D:同处理第 30 天萌发情况。

Note:A;Coated basidiospores germination situation in different culture mediums after 10 days;B;The same situation after 12 days;C;The same situation after 15 days;D;The same situation after 30 days.

图 2 不同培养基蒙古口蘑担孢子萌发情况

Fig. 2 Germination situation of basidiospores in different culture mediums

2.3 初生菌丝验证

光学显微镜镜检发现,所培养的菌丝无锁状联合(图 3-A、B),表明是初生菌丝。

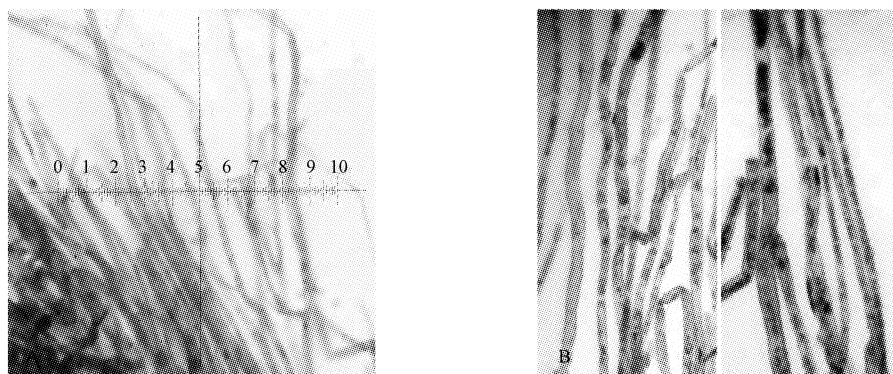
2.4 初生菌丝生长菌落形态观察

从已涂布担孢子悬液并培养 12 d 以上的培养基中挑取单个菌落,转接到新的培养基上,3~4 d 后即肉眼可见菌落开始长大。

不同担孢子菌落生长速度不同,待菌落长满皿或长一段时间后,观察菌落形态,根据单核菌落生长特征,发现有几种不同类型的初生菌丝,1)菌丝绒毛型:菌丝气生性强,绒毛型,白色致密,可占满培养基上方大部分空间,可均匀长满整个培养皿(图 4-A);2)菌丝贴生型:前期可见绒毛状菌丝生长,不久后便贴皿生长,气生性不

强,表面菌丝凝集,形成一个个小型的凸起,有明显浅色外圈(图 4-B);3)菌丝稀薄型:生长初期菌丝稀薄色浅有光泽,后期气生菌丝虽加快生长,在菌落中央易形成一小丛拔高的气生菌丝,但菌丝整体长势仍属稀薄,气生性不强,无明显外圈(图 4-C);4)成簇生长型:菌丝易纠缠集成簇,菌落生长明显不均匀,易有大小沟壑,在菌落中央易形成一个凹陷的小坑,有一定的气生性(图 4-D);5)缓慢生长型:不易横向生长以扩大菌落直径,而是先纵向生长,形成团状菌落,从培养皿底部观察,常有黄黑色基部形成,较硬,挑取时极困难,生长极缓慢(图 4-E)。

另外,发现蒙古口蘑初生菌丝培养时有角变现象(图 4-F),食用菌研究中目前只见于囊菌中有报道^[13]。发生角变的初生菌丝生命力也较旺盛。

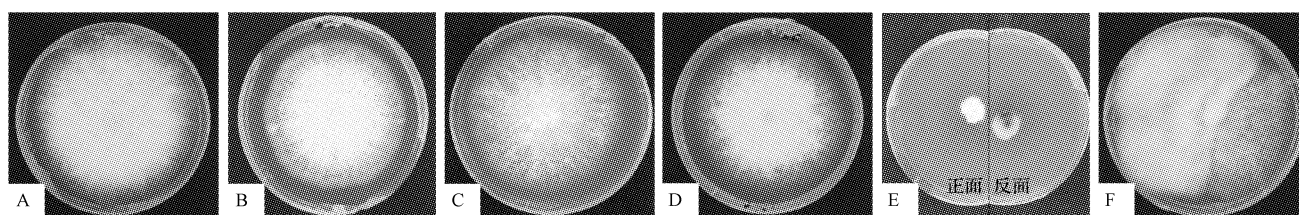


注:A、B:蒙古口蘑初生菌丝形态观察,无锁状联合。

Note: A, B: Morphology of primary hypha in *Tricholoma mongolicum* Imai, and no clamp connection.

图 3 蒙古口蘑初生菌丝观察(1 000×)

Fig. 3 Observation of primary hypha in *Tricholoma mongolicum* Imai. (1 000×)



注:A. 菌丝绒毛型;B. 菌丝贴生型;C. 菌丝稀薄型;D. 成簇生长型;E. 缓慢生长型(正面、反面);F. 角变现象。

Note: A. Hypha tomentum type; B. Hypha adhesion type; C. Hypha thin type; D. Clusters growth type; E. Tardiness growth type(Front and back); F. Angle change phenomenon.

图 4 初生菌丝菌落形态

Fig. 4 Colony morphology of primary hypha

2.5 初生菌丝生长速度测定

不同菌落形态初生菌丝生长速度测定(图 5-A)表明,在 MS⁺ 培养基上,菌丝绒毛型、成簇生长型和菌丝贴生型 3 种单核菌丝生长较快且三者生长速度相当,而菌丝稀薄型初生菌丝生长较慢,生长速度也较前三者低,这应该与初生菌丝的气生性有关,气生性强的初生菌丝生长较快,而气生性弱的生长较慢;缓慢生长型初生菌

丝生长最慢,菌丝致密,基部脆且硬。

不同培养基下初生菌丝生长速度测定(图 5-B)表明,蒙古口蘑初生菌丝在 MS⁺ 培养基上生长最快;PDA 培养基上的初生菌丝在经过一小段时间的适应后开始快速生长;MS 培养基上的初生菌丝生长较其它 2 种慢,这说明该培养基中缺乏某些供初生菌丝生长的营养。

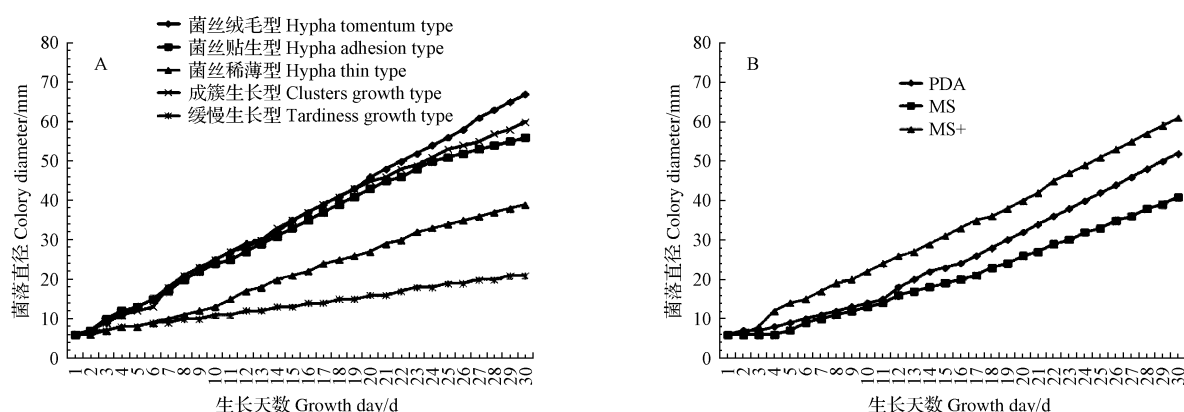
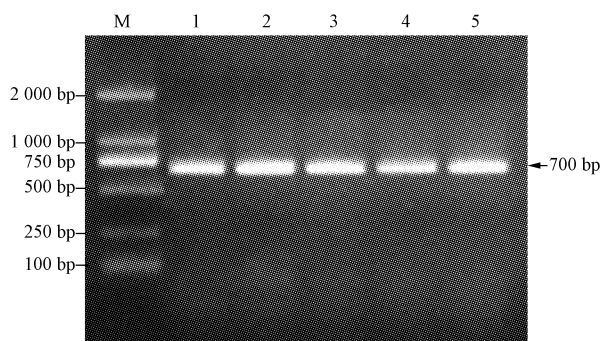


图5 不同培养基下初生菌丝生长速度

Fig. 5 Growth rate of primary hypha in different culture mediums



注:M:分子标记,DL 2 000;1~5:5种菌落形态的初生菌丝。

Note:M: Molecular markers, DL 2 000; 1~5: Primary hypha in five kinds of colony morphology.

图6 蒙古口蘑初生菌丝体 ITS 序列 PCR 结果

Fig. 6 The PCR result of ITS of primary hypha in *Tricholoma mongolicum* Imai.

2.6 rDNA-ITS 方法分子鉴定结果

试验证明,将少许蒙古口蘑初生菌丝体直接置于超纯水中,浸泡3~5 min,可直接用于PCR扩增反应。ITS序列PCR结果表明(图6),5种类型初生菌丝的rDNA-ITS扩增产物条带长度一致,均为700 bp左右。测序结果通过NCBI-Blast比对,确认试验材料为蒙古口蘑种。

3 结论与讨论

该研究表明,蒙古口蘑担孢子呈肾形或椭圆形,表面光滑,大小约为(4~6) $\mu\text{m} \times$ (6~9) μm ,可被齐氏(Ziehl)石炭酸复红染液染色。蒙古口蘑担孢子在PDA及MS固体培养基上,25℃黑暗条件下萌发出肉眼可见的微小菌落需要至少1周时间,1个月后仍有孢子萌发。MS培养基中添加1.5 g \cdot L⁻¹酵母粉和1.5 g \cdot L⁻¹酸水解酪蛋白,对蒙古口蘑担孢子萌发和生长有明显的促进作用。根据菌落生长速度和菌落形态等有关特征,发现有5种明显不同类型的初生菌丝,分别为菌丝绒毛型、菌丝贴生型、菌丝稀薄型、成簇生长型、缓慢生长型。

可用蒙古口蘑初生菌丝体作PCR扩增反应中的DNA模板,直接进行ITS片段的扩增。

有关食用菌担孢子萌发的研究,国内较早有报道的是刘日新等^[14]采用悬滴培养法观察香菇孢子。在萌发时间上,胡安等^[15]发现平菇孢子萌发过程需要15 d左右。熊杰等^[16]发现茯苓担孢子在26℃或28℃条件下的PDA培养基上8 d后即开始出现肉眼可见的细小的星芒状小菌落;宋小亚等^[17]发现木耳担孢子在无菌水中培养24 h不能萌发,36 h时可萌发产生芽管,60 h后芽管出现分支,各分支顶端产生1~4个分生孢子;柯斌榕等^[18]发现无柄灵芝担孢子在无菌水中培养24 h即可萌发,48 h萌发率为6.77%。该试验所研究的蒙古口蘑担孢子,在培养基上萌发出肉眼可见的微小菌落至少需要1周的时间,且1个月后仍有孢子萌发。在萌发条件方面,早期谭金莲等^[19]试验发现,营养丰富的培养基对金针菇新鲜孢子萌发更为有利;李荣春等^[20]发现,不同培养基对野蘑菇担孢子的萌发影响很大,在添加了堆肥浸体物的培养基中担孢子的萌发率较高,这与其草腐生性密切相关;王杰等^[21]对草菇担孢子的萌发条件作研究发现,葡萄糖为其萌发的最佳碳源,添加无机盐不利于担孢子萌发;酒连娣等^[22]研究发现,美味扇菇担孢子在无菌水中不易萌发,在液体PDA培养基中容易萌发。该研究表明,在菌丝生长最适温度20~25℃的条件下,MS培养基中添加1.5 g \cdot L⁻¹酵母粉和1.5 g \cdot L⁻¹酸水解酪蛋白对蒙古口蘑担孢子萌发和生长有明显的促进作用。

该试验在初生菌丝的培养试验中发现,至少有5种不同类型的初生菌丝。不同类型的初生菌丝在生长速度和菌落形态方面有较大差别,这说明蒙古口蘑的交配类型应该属于双因子控制的异宗配合,这有待下一步交配试验来验证。

该试验还发现蒙古口蘑初生菌丝培养中存在角变现象,这在担子菌中尚鲜见报道,还需进一步试验研究

在蒙古口蘑这类担子菌上发生类似角变现象的相关影响控制因素及基因基础。

试验证明,将少许蒙古口蘑初生菌丝体直接置于超纯水中,浸泡 3~5 min,即可直接用作 PCR 扩增反应中的 DNA 模板。这大大简化了食用菌菌丝体 DNA 提取的步骤,在食用菌分子研究方面具有一定的实际意义。

参考文献

- [1] YU X D, DENG H, YAO Y J. *Leucocalocybe*, a new genus for *Tricholoma mongolicum* (Agaricales, Basidiomycota) [J]. *African Journal of Microbiology Research*, 2011, 5(31): 5750-5756.
- [2] 董冬, 图力古尔. 蒙古口蘑分类地位研究 [J]. *菌物研究*, 2013(3): 172-175.
- [3] IMAI S. On an edible mongolian fungus "Pai-mo-ku" [J]. *Proc Imper Acad Tokyo*, 1937, 13(7): 280-282.
- [4] 苏日古格, 佟春兰, 包海鹰. 蒙古口蘑的真伪鉴别 [J]. *中国食用菌*, 2012(2): 29-33.
- [5] 刘芳, 朱兵, 于景丽, 等. 分子标记对草原野生食用菌蒙古口蘑的鉴别分析 [J]. *生物技术通报*, 2010(6): 124-129.
- [6] 张智毓, 姚庆智, 闫伟. 草原珍稀食用菌蒙古口蘑菌种的分子鉴定 [J]. *生物技术*, 2011(3): 40-43.
- [7] 佟春兰, 包海鹰, 图力古尔. 蒙古口蘑子实体石油醚提取物的化学成分及抑菌活性 [J]. *菌物学报*, 2010, 29(4): 619-624.
- [8] 苏日古格, 包海鹰, 图力古尔, 等. 蒙古口蘑子实体的抗肿瘤活性 [J]. *食品科学*, 2012(21): 280-284.
- [9] WANG J, ZHAO Y M, LI W, et al. Optimization of polysaccharides extraction from *Tricholoma mongolicum* Imai and their antioxidant and antiproliferative activities [J]. *Elsevier B V*, 2015, 131: 322-331.
- [10] 邢仁昌, 闫伟. 蒙古口蘑液体发酵条件的优化 [J]. *食用菌学报*, 2009, 16(3): 43-47.
- [11] 张金霞, 陈强, 黄晨阳, 等. 食用菌产业发展历史、现状与趋势 [J]. *菌物学报*, 2015, 34(4): 524-540.
- [12] 刘晓婷, 郭九峰, 王淑妍, 等. 用 rDNA-ITS 方法鉴别内蒙古多种野生食用 [J]. *食药菌*, 2015, 23(5): 301-306.
- [13] 何莉莉, 韩成玲, 李佩亮, 等. 矿质元素对北虫草继代培养中菌落形态的影响 [J]. *沈阳农业大学学报*, 2009, 40(6): 672-677.
- [14] 刘日新, 刘桂云, 张娟, 等. 香菇孢子悬滴培养的细胞学观察 [J]. *食用菌*, 1983(1): 34-35, 49.
- [15] 胡安, 石国昌, 杨小年. 平菇孢子萌发的细胞学观察 [J]. *食用菌*, 1984(4): 33, 2.
- [16] 熊杰, 林芳灿, 王克勤, 等. 茯苓基本生物学特性研究 [J]. *菌物学报*, 2006, 25(3): 446-453.
- [17] 宋小亚, 李阳, 刘德云. 野生木耳担孢子萌发特性研究 [J]. *中国食用菌*, 2010, 29(5): 12-13.
- [18] 柯斌榕, 吴小平. 赤芝与无柄灵芝担孢子的萌发特性比较 [J]. *食药菌*, 2015, 23(5): 282-287.
- [19] 谭金莲, 刘长庚. 金针菇担孢子特性研究 [J]. *湖南农业大学学报*, 1997(6): 53-56.
- [20] 李荣春, 余杨, 李林玉, 等. 野蘑菇担孢子萌发和菌丝细胞学观察研究 [J]. *微生物学杂志*, 2004(3): 5-7.
- [21] 王杰, 林俊芳, 赖进土, 等. 草菇担孢子萌发条件的研究 [J]. *食用菌*, 2009(4): 16-17.
- [22] 酒连娣, 姚方杰, 张友民, 等. 美味扇菇担孢子萌发及菌丝生长特性研究 [J]. *中国食用菌*, 2015(2): 10-12.

Study on Basidiospore Germination and Biological Characteristics of Primary Hypha in *Tricholoma mongolicum*

LIU Xiaoting, GUO Jiufeng, WANG Shuyan, LI Yajiao, YUAN Lili, NA Ri

(College of Physical Science and Technology/Key Laboratory of Ion Beam Biotechnology, Inner Mongolia University, Huhhot, Inner Mongolia, 010021)

Abstract: Taking *Tricholoma mongolicum* as materials, the morphology of the basidiospores and mycelium were observed under optical microscope. Situations of basidiospores germination and primary hypha growth in different culture mediums were investigated. The results showed that, basidiospores of *Tricholoma mongolicum* were kidney-shaped or oval, $(4-6) \mu\text{m} \times (6-9) \mu\text{m}$; it took a week at least when basidiospore could germinate and become macroscopic tiny colony. Adding $1.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ yeast extract and $1.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ casein hydrolysate to the MS medium could promote the basidiospores germination. According to colony growth speed and morphology of primary hypha, we found that there were five distinct types in primary hypha: hypha tomentum type, hypha adhesion type, hyphae thin type, clusters growth type and tardiness growth type. In addition, it was identified which were *Tricholoma mongolicum* by rDNA-ITS sequence. This result provided a kind of method of PCR directly in mycelium of edible fungus, which simplify the research methods on edible fungus DNA molecules. The results provided the basis for mating type researches and accumulate biological knowledges for the research of edible fungus.

Keywords: *Tricholoma mongolicum*; growth and development; sexual reproduction; mononuclear mycelia; biological habit