

红托鬼笔黄水病病原鬼笔复膜孢酵母侵染过程的组织学观察

彭科琴^{1,2}, 谭廷俊¹, 林美伶¹, 袁潇潇^{1,2}, 徐彦军^{1,2}, 田风华^{1,2,3*}

1 贵州大学农学院植物保护植物病理教研室, 贵州 贵阳 550025

2 贵州大学食用菌研究院, 贵州 贵阳 550025

3 吉林农业大学食药菌教育部工程研究中心, 吉林 长春 130118

摘要: 红托鬼笔黄水病是一种由鬼笔复膜孢酵母引起的致灾性土传病害, 极难防治。本研究通过探索获得高质量红托鬼笔组织石蜡切片技术的基础上, 对幼担子果生长期病原接种后第 8、16、24、32、40、48 和 72 h 进行组织取样, 利用 Van-clear 透明剂制备石蜡切片, 观察病原的侵染过程, 以健康的幼担子果做对照。结果表明: 健康的红托鬼笔包被表面菌丝呈管状, 与包被中部菌丝结构无明显差异。而接种病原后第 8 h 时, 即可观察到病原细胞和假丝形成, 包被表面菌丝萎缩、褐变, 病原细胞通过菌丝间隙向内扩散和侵染, 侵染速度 18.14 $\mu\text{m}/\text{h}$ 。接种后 32 h 包被表面菌丝大量降解, 主要是病原细胞和假丝存在, 此时病原可以侵染至包被中部菌丝组织。接种后 40 h 幼担子果表面分泌黄色渗出物液滴, 包被表面开始溃烂, 病原侵染至幼担子果包被胶质层, 并不断向内侵染。本研究采用石蜡切片法对黄水病病原的侵染过程进行了组织学观察, 为其致病机制和病害综合防治研究提供借鉴。

关键词: 侵染过程; 致病性实验; 腐烂病; 透明剂; 石蜡切片

[引用本文] 彭科琴, 谭廷俊, 林美伶, 袁潇潇, 徐彦军, 田风华, 2022. 红托鬼笔黄水病病原鬼笔复膜孢酵母侵染过程的组织学观察. 菌物学报, 41(5): 730-738

Peng KQ, Tan TJ, Lin ML, Yuan XX, Xu YJ, Tian FH, 2022. Histological observation on the infection process of *Phallus rubrovolvatus* yellow rot pathogen *Saccharomycopsis phalli*. Mycosystema, 41(5): 730-738

基金项目: 贵州省科技支撑项目(黔科合支撑[2021]一般 199)

Supported by the Science and Technology Projects of Guizhou Province (Support of QKH [2021] General 199).

*Corresponding author. E-mail: fhtian@gzu.edu.cn

Received: 2021-09-14, accepted: 2021-11-01

Histological observation on the infection process of *Phallus rubrovolvatus* yellow rot pathogen *Saccharomycopsis phalli*

PENG Keqin^{1,2}, TAN Tingjun¹, LIN Meiling¹, YUAN Xiaoxiao^{1,2}, XU Yanjun^{1,2},
TIAN Fenghua^{1,2,3*}

1 Department of Plant Pathology, College of Agriculture, Guizhou University, Guiyang 550025, Guizhou, China

2 Institute of Edible Fungi, Guizhou University, Guiyang 550025, Guizhou, China

3 Engineering Research Center of Chinese Ministry of Education for Edible and Medicinal Fungi, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, Jilin, China

Abstract: Yellow rot of *Phallus rubrovolvatus* is a soil-borne disease caused by *Saccharomycopsis phalli* (as “*phalluae*”), which is extremely difficult to control. In this study, based on paraffin section technology, high-quality tissue samples of *P. rubrovolvatus* were collected in 8, 16, 24, 32, 40, 48 and 72 h after inoculation of pathogen in the growing period of young basidiocarp. Paraffin sections were prepared with Van-clear transparent agent to observe the infection process of *S. phalli*, and healthy young basidiocarp were used as control. The results showed that the mycelia on the surface of healthy peridium was tubular and not obviously different from the mycelia in the middle of peridium. After inoculation, the pathogen cells and pseudohyphae can be observed in 8 h. Mycelia on the surface of peridium atrophy and become brownish, and the pathogen diffuse through intermycelial space at the infection rate of 18.14 $\mu\text{m}/\text{h}$. In 32 h after inoculation, the mycelia on the surface of peridium were largely degraded, and replaced by pathogenic cells and pseudohyphae. The pathogen could invade to the mycelial tissue in middle of peridium. In 40 h, yellow exudate droplets covered the surface of peridium, and the surface of peridium began ulceration. The pathogen infected the gelatinous layer of young basidiocarp and continued inward. This study provides references for further pathogenesis observation and integrated control of the disease.

Keywords: infection process; pathogenicity test; rot disease; clearing agent; paraffin section

红托鬼笔 *Phallus rubrovolvatus* (M. Zang, D.G. Ji & X.X. Liu) Kreisel, 是贵州省重要且具有特色的珍稀食用菌, 主要分布在我国西南地区(卢颖颖等 2014; 李玉等 2015), 隶属于担子菌门 Basidiomycota、蘑菇纲 Agaricomycetes、鬼笔亚纲 Phallomycetidae、鬼笔目 Phallales、鬼笔科 Phallaceae。其子实体洁白、细嫩爽口、营养丰富, 含有人体必需的氨基酸, 具有抗肿瘤、治疗慢性气管炎、降血压和降胆固醇等多种药用功能(Wu *et al.* 2019), 素有“真菌之花”“山珍”之称(Zhuang & Sun 2011; 叶建方等 2016; Sun *et al.* 2017)。贵州省红托鬼笔栽培是一项投资大、效

益高的产业, 2010 年获“织金竹荪”中国国家地理标志产品保护。目前贵州省已经建立了简易大棚种植、设施化层架种植和林下传统种植等多种红托鬼笔种植模式。据贵州省农业农村厅的统计, 2020 年红托鬼笔的种植规模达 8 000 万棒, 是贵州省支持的特色产业中的重要食用菌品种。

红托鬼笔属覆土栽培型食用菌, 自覆土至采收周期长达 4–10 个月, 在此过程中易受环境微生物的影响发生病害, 时常会出现幼担子果包被外发生水肿、枯萎、霉菌生长和腐烂现象, 特别是幼担子果形成后常发生黄水病(腐烂病)等(潘高潮等 2015; 卢颖颖等 2018a, 2018b; Chen *et al.*

2021; 李建英等 2021), 部分地区黄水病的发生率可达 60%–80%, 是一种严重威胁红托鬼笔产业发展的致灾性病害, 该病的发生具有蔓延快、致病性强和防控困难等特点, 成为红托鬼笔产业发展的主要限制因子, 造成极大的经济损失。病原菌的侵染过程是病害循环的重要组成部分, 明确病原菌的侵染过程和病害发生规律, 将为探索病害最佳防控时间和有效措施等提供重要基础(丁正 2018)。

2021 年, 本团队明确了该病害的发病原因是由鬼笔复膜孢酵母 *Saccharomycopsis phalli* F.H. Tian, X.X. Yuan & K.Q. Peng (as “*phalluae*”) 引起的真菌性病害(Yuan *et al.* 2021)。在此基础上, 本研究探索了红托鬼笔幼担子果组织石蜡切片的制作技术, 分别选择接种病原不同时间的幼担子果组织进行石蜡切片, 观察黄水病病原在红托鬼笔组织中的侵染过程, 为后续的病原侵染规律和病害综合防治研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 供试材料

红托鬼笔黄水病菌 *Saccharomycopsis phalli* 菌株保存于贵州大学农学院植物病理学菌种保藏中心(the Culture Collection of the Department of Plant Pathology, Agriculture College, Guizhou University), 保藏号 GUCC 2006, 为野生型强毒力菌株。供试红托鬼笔品种由贵州金蟾大山生物科技有限公司提供, 种植于贵州大学食用菌研究院, 随机选择直径为 3–4 cm 的健康红托鬼笔幼担子果用于病原接种实验。

1.2 方法

1.2.1 病原接种和组织取样

将在酵母浸出粉胨葡萄糖培养基(yeast extract peptone dextrose medium, YPD)中培养 16 h 的病原菌 *S. phalli* GUCC 2006 菌悬液进行离心, 弃上清, 无菌水洗涤后配置成浓度为 1×10^6 个/mL

细胞悬浮液, 采用喷雾法(Tian *et al.* 2017), 将配置好的病原细胞悬浮液均匀喷洒在直径为 3–4 cm 的健康红托鬼笔幼担子果上。分别于接种后 8、16、24、32、40、48 和 72 h 进行取样, 取样时用锋利的手术刀片随机切取大小为 5 mm×1 mm 的块组织, 切取厚度以到达胶质层为准(组织厚度约 2 mm)。以接种无菌水为空白对照, 重复 3 次。

1.2.2 石蜡切片制作的条件优化

制片优化过程分别参照万佳宁等(2019, 2020, 2021)和王瑞娟等(2019)优化的食用菌组织石蜡切片技术, 针对材料处理、脱水、透明、浸蜡、包埋和染色等步骤进行改良, 同时探索红托鬼笔包被组织包埋的方向和角度。选择较理想的石蜡制片方式对红托鬼笔接种黄水病病原后不同时期的幼担子果组织进行石蜡切片制作。

1.2.3 组织观察

将接种病原后不同时期的石蜡切片放置于徕卡 Aperio Versa 8 显微镜下观察病原细胞侵染红托鬼笔组织的过程, 将要长久保存的石蜡切片用中性树胶进行封片。

2 结果与分析

2.1 石蜡切片方法优化

2.1.1 固定、脱水和透明

红托鬼笔菌丝组织易氧化, 为防止其氧化变色, 将切取的组织迅速浸没于甲醛-乙酸-乙醇(formaldehyde-acetic acid-ethanol fixative, FAA)固定液中, 并将固定液置于转速为 10 r/min 的摇床中固定 4 h。固定完成后先将组织依次用浓度为 75%、85%和 95%的乙醇溶液进行脱水处理, 每次处理 0.5 h, 其次用无水乙醇脱水处理两次, 每次 0.5 h。随后将脱水处理后的组织置于 Van-clear 透明剂(无水乙醇体积比为 2:1 的混合液)中处理 0.5 h, 然后置于 Van-clear 透明剂中透明 0.5 h, 获得透明处理好的组织若干。

2.1.2 浸蜡和包埋

将透明处理后的组织浸于 Van-clear 透明剂(石蜡体积比为 1:1 的混合液)中,于 58 °C 的烘箱中浸蜡 2 h。最后将其置于新的液体石蜡中浸蜡处理两次,每次处理 2 h。浸蜡完成后在包埋机(徕卡 HistoCore Arcadia H)中进行包埋处理,包埋时将组织放入装有蜡液的包埋盒中,并将幼担子果包被表面朝下,胶质层朝上,包埋完成后放于冷冻台上进行冷却。

2.1.3 切片和烘片

将包埋后的蜡块转移至轮转式切片机(徕卡 RM2235)蜡块钳内,切片厚度设置为 7 μm 。将得到的蜡片放入温水中进行展片,待其均匀展开后用粘附载玻片进行捞片。为防止组织脱离,将其放入 50 °C 的烘箱烘烤 2 h。

2.1.4 脱蜡和复水

将烤片后的载玻片用 Van-clear 透明剂脱蜡处理两次,每次 20 min。脱蜡完毕后将其依次置于无水乙醇、95%乙醇、80%乙醇、50%乙醇和纯水中进行梯度复水,每个梯度浸泡 1 min。

2.1.5 染色

将复水后的载玻片置于 0.5%番红水溶液中染色 0.7 h,最后用蒸馏水缓慢清洗去除表面浮色,待水分蒸发后即置于光学显微镜下观察,优

化后的切片效果见图 1,均为健康幼担子果包被外层组织菌丝,优化前菌丝片段化严重(图 1A),优化后整体菌丝完整(图 1B)。若要长久保存可用中性树胶进行封片。

2.2 黄水病菌对红托鬼笔幼担子果侵染过程的光学显微观察

分别选择病原接种后不同时间(8、16、24、32、40、48 和 72 h)的组织进行石蜡切片制作,观察病原细胞的侵染过程、红托鬼笔寄主菌丝的结构变化及幼担子果表面发病症状的变化情况。结果发现,健康的红托鬼笔包被表面呈均匀粉白色(图 2A-1),包被外层菌丝组织呈管状(图 2A-2),与包被中部菌丝结构无明显差异(图 2A-3);接种病原 8 h 后,幼担子果表面发病症状不明显(图 2B-1),组织切片观察发现,病原细胞在幼担子果菌丝层外部开始芽殖并形成假菌丝,包被表面菌丝萎缩、褐变,病原细胞通过菌丝间隙向内扩散和侵染(图 2B-2),包被中部菌丝及内部胶质层与对照组无明显差异(图 2B-3, 2B-4);接种 16 h 后大量病原细胞形成假菌丝并且不断伸长;接种 24 h 后在包被菌丝层中部可观察到假菌丝;接种 32 h 后,幼担子果表面可观察到微黄色液滴状渗出物(图 2C-1),幼担子果包被菌丝外部可观察到大量的假菌丝存在,有

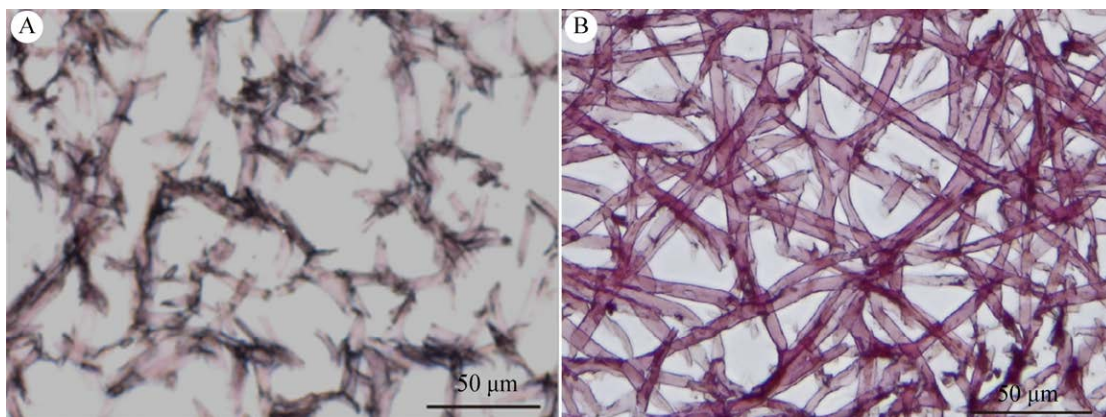


图 1 石蜡切片优化前后健康幼担子果包被组织菌丝结构效果比较 A: 条件优化前; B: 条件优化后

Fig. 1 A comparison of mycelial structure of peridium of healthy young basidiocarp before and after paraffin section optimization. A: Before optimization; B: After optimization.

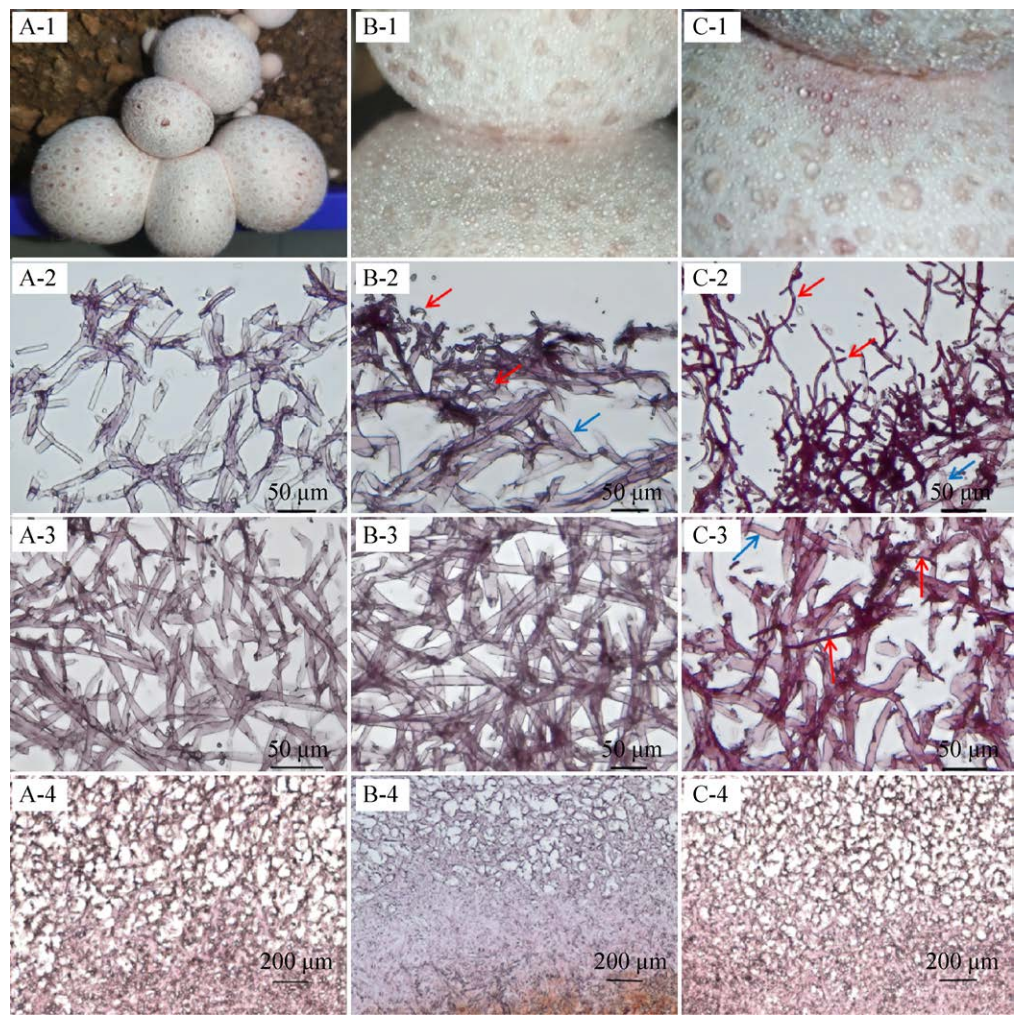


图 2 红托鬼笔黄水病病原接种后组织图片 A-1: 对照组幼担子果包被症状, A-2: 对照组包被外层菌丝, A-3: 对照组包被中部菌丝, A-4: 对照组包被内胶质层; B-1: 接种后第 8 h 幼担子果包被症状, B-2: 接种后第 8 h 包被外层菌丝, B-3: 接种后第 8 h 包被中部菌丝, B-4: 接种后第 8 h 包被内胶质层; C-1: 接种后第 32 h 幼担子果包被症状, C-2: 接种后第 32 h 包被外层菌丝, C-3: 接种后第 32 h 包被中部菌丝, C-4: 接种后第 32 h 包被内胶质层

Fig. 2 Histological picture of *Phallus rubrovolvatus* after inoculation with yellow rot pathogen. A-1: The control group, peridium symptoms of young basidiocarp, A-2: The control group, outer mycelia of peridium, A-3: The control group, middle mycelia of peridium, A-4: The control group, inner gelatinous layer of peridium; B-1: 8 h after inoculation, peridium symptoms of young basidiocarp, B-2: 8 h after inoculation, outer mycelia of peridium, B-3: 8 h after inoculation, middle mycelia of peridium, B-4: 8 h after inoculation, inner gelatinous layer of peridium; C-1: 32 h after inoculation, peridium symptoms of young basidiocarp, C-2: 32 h after inoculation, outer mycelia of peridium, C-3: 32 h after inoculation, middle mycelia of peridium, C-4: 32 h after inoculation, inner gelatinous layer of peridium.

逐渐覆盖感病部位的趋势,包被表面菌丝大量降解(图 2C-2),此时病原可以侵染至包被中部菌丝组织(图 2C-3),侵染速度 $18.14\ \mu\text{m}/\text{h}$; 接种 40 h 后,幼担子果表面菌丝组织受到病原侵染后,分

泌出渗出物,呈现明显的黄色液滴状,包被表面开始溃烂(图 3A-1),幼担子果包被菌丝外层不仅逐渐被假菌丝覆盖,而且也产生了大量的病原细胞(图 3A-2),病原侵染至幼担子果胶质层,并

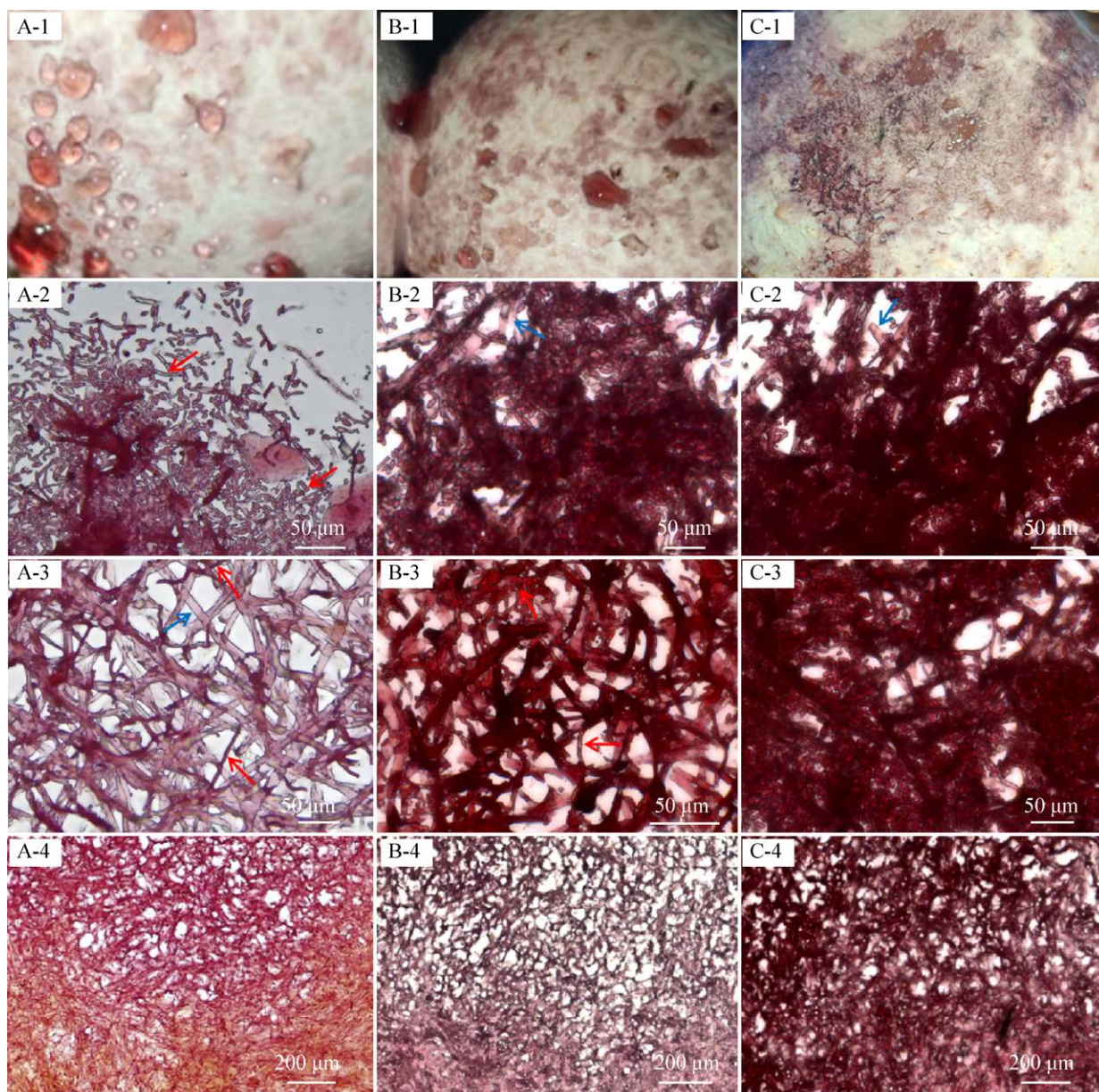


图3 红托鬼笔黄水病病原接种后组织图片(续) A-1: 接种后第40 h 幼担子果包被症状, A-2: 接种后第40 h 包被外层菌丝, A-3: 接种后第40 h 包被中部菌丝, A-4: 接种后第40 h 包被内胶质层; B-1: 接种后第48 h 幼担子果包被症状, B-2: 接种后第48 h 包被外层菌丝, B-3: 接种后第48 h 包被中部菌丝, B-4: 接种后第48 h 包被内胶质层; C-1: 接种后第72 h 幼担子果包被症状, C-2: 接种后第72 h 包被外层菌丝, C-3: 接种后第72 h 包被中部菌丝, C-4: 接种后第72 h 包被内胶质层

Fig. 3 Histological picture of *Phallus rubrovolvatus* after inoculation with yellow rot pathogen (continued). A-1: 40 h after inoculation, peridium symptoms of young basidiocarp, A-2: 40 h after inoculation, outer mycelia of peridium, A-3: 40 h after inoculation, middle mycelia of peridium, A-4: 40 h after inoculation, inner gelatinous layer of peridium; B-1: 48 h after inoculation, peridium symptoms of young basidiocarp, B-2: 48 h after inoculation, outer mycelia of peridium, B-3: 48 h after inoculation, middle mycelia of peridium, B-4: 48 h after inoculation, inner gelatinous layer of peridium; C-1: 72 h after inoculation, peridium symptoms of young basidiocarp, C-2: 72 h after inoculation, outer mycelia of peridium, C-3: 72 h after inoculation, middle mycelia of peridium, C-4: 72 h after inoculation, inner gelatinous layer of peridium.

不断向内侵染(图 3A-3, 3A-4); 接种 48 h 后, 病害发生更加严重, 感病部位褐变面积扩大且红色液滴连接成片(图 3B-1), 同时外层菌丝均被降解并被大量病原细胞所覆盖(图 3B-2); 接种 72 h 后, 组织表面溃烂加重(图 3C-1), 幼担子果包被自外层至内部胶质层均被大量病原细胞和假丝网络覆盖(图 3C-2, 3C-3), 此时病原可侵染至包被内部的胶质层(图 3C-4)。

3 讨论

本研究选用 Van-clear 作为透明剂对红托鬼笔幼担子果组织进行透明处理, 显著提升了切片成品的清晰度和完整性, 同时也保障了实验者的人身健康。通过改进后的石蜡切片方法消除了因红托鬼笔特殊的胶质层结构特性引起浸蜡不充分所导致材料破损易碎等问题, 且制得的红托鬼笔组织石蜡切片在普通光学显微镜下即可获得高清晰度的图像。在红托鬼笔组织进行固定时, 本研究将其置于 10 r/min 的摇床中固定 4 h, 加快了固定液在组织中的渗透速度使细胞和组织保持了原有的结构和状态。与传统的固定方式相比(张鹏 2011; 王跃华等 2018; 李亚男等 2019), 此方法显著缩短了固定周期并能得到良好的切片效果; 脱水透明处理时, 采用酒精浓度从大到小梯度脱水的方式, 透明是将蘑菇组织浸泡于 Van-clear 透明剂和无水乙醇体积比为 2:1 的混合液中, 有利于组织在短时间内与混合液充分接触, 提升置换红托鬼笔组织内的脱水剂效率, 为下一步浸蜡起到桥梁的作用(万佳宁等 2021)。与常规透明时间相比, 改良后的透明时间缩短了 0.5 h 且能得到完整、清晰的组织图像(万佳宁等 2020)。浸蜡包埋的目的是用石蜡取代透明剂, 使石蜡可以与材料形成密不可分的整体, 切片时能得到完整和连续的蜡带(王瑞娟等 2019)。与其他蘑菇石蜡切片的方法相比, 改良后的浸蜡时间缩短

了 87.5%–93%。在缩短浸蜡时长的同时也保证了组织的完整性。

大量实验发现用于展片的水温不应太低, 以不高于石蜡熔点即可。太低会使蜡片难以展开, 产生褶皱会大大影响切片效果。同时使用粘附载玻片进行捞片可以舍去各种粘附剂, 减少烤片的时间, 使操作更简便。染色时使用 0.5% 番红水溶液染色 0.7 h, 再用蒸馏水洗去多余浮色, 待水分蒸发后可直接置于光学显微镜下观察, 永久保存可用中性树胶进行封片。

黄水病是红托鬼笔的一种灾难性病害, 一旦发生病害, 患病组织迅速被大量腐生微生物定殖, 因此确定发病原因一直是一项挑战(潘高潮等 2015; 卢颖颖等 2018; Chen *et al.* 2021; 李建英等 2021), 本团队通过采集不同地方、不同发病时期的组织样本进行病原分离, 确定病原菌(Yuan *et al.* 2021)的基础上, 对幼担子果生长阶段、组织、透明剂、固定时间、浸蜡时间和切片厚度等进行优化, 最终确定了最佳的红托鬼笔幼担子果组织石蜡包埋技术。结果显示, 受到侵染后红托鬼笔幼担子果包被菌丝受病原细胞的影响发生了明显的变化, 在接种病原后 8 h、32 h 和 40 h 病原细胞和假丝分别从幼担子果包被外层向内以 18.14 $\mu\text{m}/\text{h}$ 的速度进行侵染, 红托鬼笔菌丝萎缩、褐变, 病原细胞通过菌丝间隙向内扩散和侵染; 在接种后 16 h 幼担子果包被表面出现少量黄色液滴状渗出物, 不明显; 在接种后 32 h 幼担子果包被表面出现明显的黄色液滴状渗出物, 黄水病典型症状呈现出来; 接种后 72 h 时幼担子果包被表面明显发生溃烂, 外层至内部胶质层均被大量病原细胞和假丝网络覆盖。本研究结果为后续的病原侵染规律和病害防治研究奠定了基础。

致谢: 感谢贵州金蟾大山生物科技有限公司提供红托鬼笔实验材料和场地。

[REFERENCES]

- Chen X, Zhou XH, Zhao J, Tang XL, Pasquali M, Migheli Q, Berg G, Cernava T, 2021. Occurrence of green mold disease on *Dictyophora rubrovolvata* caused by *Trichoderma koningiopsis*. *European Journal of Plant Pathology*, 103(3): 981-984
- Ding Z, 2018. Study of the infection process of *Botryosphaeria dothidea* on apple shoots and identification of a mycovirus infecting *Botryosphaeria dothidea*. PhD Dissertation, China Agricultural University, Beijing. 1-138 (in Chinese)
- Li JY, Wu SR, Liu CL, Shang LE, Luo XK, 2021. Study on fungal pathogens of *Dictyophora rubrovolvata* rot disease. *Edible Fungi of China*, 40(1): 109-112 (in Chinese)
- Li Y, Li TH, Yang ZL, Bau T, Dai YC, 2015. Atlas of Chinese macrofungal resources. Central Plains Farmers Press, Zhengzhou. 1-1351 (in Chinese)
- Li YN, Yan W, Luo LJ, Lü YL, Huang JX, 2019. Preparation of paraffin sections of plant leaves with a low-toxic transparent agent. *Chinese Journal of Tropical Agriculture*, 39(4): 58-61 (in Chinese)
- Lu YY, Gui Y, Chen YY, Zeng LX, Zhu GS, 2018a. Preliminary study on the *Dictyophora rubrovolvata* rot disease. *Edible Fungi of China*, 37(2): 73-76, 78 (in Chinese)
- Lu YY, Gui Y, Chen YY, Zeng LX, Zhu GS, 2018b. A preliminary investigation on the occurrence of rotting disease of *Dictyophora rubra*. *Edible Fungi*, 40(2): 73-76, 78 (in Chinese)
- Lu YY, Gui Y, Gong GL, Wei SY, Zhu GS, 2014. Genetic diversity of 18 *Dictyophora rubrovolvata* germplasm resources from Guizhou. *Guizhou Agricultural Science*, 42(2): 17-20 (in Chinese)
- Pan GC, Long HW, Wu D, Chen X, Dai LH, Sun Y, Zhou FL, 2015. Occurrence of bark-rot disease on *Dictyophora rubrovolvata* and its prevention in Guizhou Province. *Edible Fungi of China*, 34(5): 72-75 (in Chinese)
- Sun LP, Bao CJ, Chang WD, Zhuang YL, 2017. Preparation, characterisation, antioxidant and antiglycation activities of the novel polysaccharides from the pileus of *Dictyophora rubrovolvata*. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 52(1): 161-170
- Tian FH, Li CT, Li Y, 2017. First report of *Penicillium brevicompactum* causing blue mold disease of *Grifola frondosa* in China. *Plant Disease*, 101(8): 1549
- Wan JN, Wang RJ, Gong M, Bao DP, Shang XD, Wang Y, Mao WJ, Shang JJ, Tang LH, Yang H, 2021. Method for preparing tissue section of fruiting body of *Flammulina velutipes*: China, CN110132673B. 2021-06-15 (in Chinese)
- Wan JN, Zhang LJ, Bao DP, Gong M, Tang LH, Shang JJ, Mao WJ, Wang Y, 2020. A preparation method of paraffin section of *Lentinus edodes*: China, CN110779758A. 2020-02-11 (in Chinese)
- Wan JN, Zhang LJ, Song CY, Tan Q, Bao DP, Shang XD, Yang RH, Zhou CL, Mao WJ, Wang RJ, 2019. A slice preparation method suitable for morphological observation of lamella and basidia on *Lentinus edodes*: China, CN109374376A. 2019-02-22 (in Chinese)
- Wang RJ, Wan JN, Gong M, Mao WJ, Wang Y, Tang LH, Shang JJ, Yang H, Bao DP, 2019. Observation on the histological structure of *Flammulina velutipes* fruiting body at different development stages by improved paraffin section method. *Acta Edulis Fungi*, 26(2): 54-58, 9-10 (in Chinese)
- Wang YH, Liu HM, Liu X, Yang H, Li R, Huang P, 2018. Study on preparation and structural observation of paraffin section of three kinds of *Rhodiola*. *Seed*, 37(7): 28-30, 34 (in Chinese)
- Wu F, Zhou LW, Yang ZL, Bau T, Li TH, Dai YC, 2019. Resource diversity of Chinese macrofungi: edible, medicinal and poisonous species. *Fungal Diversity*, 98(1): 1-76
- Ye JF, Luo P, Xiao JY, Wu XY, Zhang Y, 2016. Induction of *Dictyophora rubrovolvata* polysaccharides on tumor cell apoptosis. *Mycosystema*, 35(7): 892-896 (in Chinese)
- Yuan XX, Peng KQ, Li CT, Zhao ZB, Zeng XY, Tian FH, Li Y, 2021. Complete genomic characterization and identification of *Saccharomycopsis phalluae* sp. nov., a novel pathogen causes yellow rot disease on *Phallus rubrovolvatus*. *Journal of Fungi*, 7(9): 707
- Zhang P, 2011. Study on the morphological development of *Auricularia auricula* and the anatomy about secondary mycelium and sporocarpium of *Auricularia* Bull. ex Merat. Master Thesis, Jilin Agricultural University, Changchun. 1-38 (in Chinese)
- Zhuang YL, Sun LP, 2011. Nutritional characteristics of proteins from the volva and pileus in cultivated mushroom *Dictyophora rubrovolvata*. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 62(4): 392-396

[附中文参考文献]

- 丁正, 2018. 葡萄座腔菌侵染苹果枝条过程研究及一株低致病力菌株中病毒的鉴定. 中国农业大学博士论文, 北京. 1-138
- 李建英, 吴素蕊, 刘春丽, 尚陆娥, 罗孝坤, 2021. 红托竹荪腐烂病发病部位侵染真菌的研究. *中国食用菌*, 40(1): 109-112
- 李亚男, 严炜, 罗丽娟, 吕玉兰, 黄家雄, 2019. 一种低毒透明剂制作植物叶片石蜡切片的方法. *热带农业科学*, 39(4): 58-61

- 李玉, 李泰辉, 杨祝良, 图力古尔, 戴玉成, 2015. 中国大型菌物资源图鉴. 郑州: 中原农民出版社. 1-1351
- 卢颖颖, 桂阳, 陈娅娅, 曾令祥, 朱国胜, 2018a. 红托竹荪腐烂病初探. 中国食用菌, 37(2): 73-76, 78
- 卢颖颖, 桂阳, 陈娅娅, 曾令祥, 朱国胜, 2018b. 红托竹荪腐烂病发生规律初步调查. 食用菌, 40(2): 73-76, 78
- 卢颖颖, 桂阳, 龚光禄, 魏善元, 朱国胜, 2014. 18 个贵州红托竹荪种质资源的遗传多样性. 贵州农业科学, 42(7): 17-20
- 潘高潮, 龙汉武, 吴迪, 陈宵, 代丽华, 孙燕, 邹方伦, 2015. 贵州省红托竹荪菌蛋烂皮病的发生与防治. 中国食用菌, 34(5): 72-75
- 万佳宁, 王瑞娟, 龚明, 鲍大鹏, 尚晓冬, 汪莹, 茅文俊, 尚俊军, 唐利华, 杨慧, 2021. 一种制备金针菇子实体组织切片的方法: 中国, CN110132673B. 2021-06-15
- 万佳宁, 章炉军, 鲍大鹏, 龚明, 唐利华, 尚俊军, 茅文俊, 汪莹, 2020. 一种香菇石蜡切片的制备方法: 中国, CN110779758A. 2020-02-11
- 万佳宁, 章炉军, 宋春艳, 谭琦, 鲍大鹏, 尚晓冬, 杨瑞恒, 周陈力, 茅文俊, 王瑞娟, 2019. 一种适于香菇菌褶担子细胞形态观察的切片制备方法: 中国, CN109374376A. 2019-02-22
- 王瑞娟, 万佳宁, 龚明, 茅文俊, 汪莹, 唐利华, 尚俊军, 杨慧, 鲍大鹏, 2019. 改良石蜡切片法观察金针菇子实体不同发育时期组织结构. 食用菌学报, 26(2): 54-58, 9-10
- 王跃华, 刘洪明, 刘鑫, 杨淮, 李瑞, 黄鹏, 2018. 红景天植物石蜡切片的制作和结构观察研究. 种子, 37(7): 28-30, 34
- 叶建方, 罗鹏, 肖佳艳, 吴雪艳, 张豫, 2016. 红托竹荪多糖诱导肿瘤细胞凋亡的作用初探. 菌物学报, 35(7): 892-896
- 张鹏, 2011. 木耳形态发育及木耳属次生菌丝和子实体的解剖学研究. 吉林农业大学硕士论文, 长春. 1-38