

清源,何晓兰,柳成益,等.名贵地下真菌——块菌的研究进展[J].江苏农业科学,2013,41(11):19-22.

名贵地下真菌——块菌的研究进展

清源¹,何晓兰²,柳成益³,杨梅³,郑林用²

(1.西昌学院,四川西昌 615013; 2.四川省农业科学院,四川成都 615000; 3.四川省攀枝花市农林科学研究院,四川攀枝花 617060)

摘要:从国内外块菌的研究历史、营养价值、保健功效、挥发性成分、栽培技术等方面,探讨了名贵地下食用真菌——块菌的研究进展,并对我国今后在块菌研究方面的发展趋势提出了展望。

关键词:真菌;块菌;松露;菌根

中图分类号: S646.01;S646.04

文献标志码: A

文章编号: 1002-1302(2013)11-0019-04

块菌(truffle)是一类与树木共生的地下真菌的统称。其中,子囊菌门中的块菌被称为“真块菌”,又名松露、猪拱菌、无娘果、土茯苓等,隶属于块菌科(Tuberaceae Dumort.)块菌属(*Tuber Micheli*),享有“厨房里的黑钻石”和“上帝的食物”之美誉。块菌在北半球国家如法国、意大利、西班牙等分布广泛,而南半球的新西兰也有报道。在我国,块菌属主要分布于西南地区的四川省和云南省,西北地区的新疆和西藏也有一些报道。另外,我国的山西、吉林、辽宁等省区也有发现块菌的相关记录^[1]。到目前为止,全球范围内报道的块菌属已超过 200 种,且多分布于欧洲地区,报道自我国的块菌属有 25 种左右。其中,黑孢块菌(*T. melanosporum* Vittad.)、白块菌(*T. magnatum* Picco)、夏块菌(*T. aestivum* Vittad.)等具有很高的商业价值。

西方国家对地下真菌的认识和研究起源较早。其中,块菌属的研究历史最早可追溯到公元前 350 年,古希腊哲学家和博物学家 Theophrastus 总结当时人们的共识,提出了块菌的形成与雷击有关^[2]。自 1792 年,植物学家 Micheli 首次记载了块菌属(*Tuber*),再到 1823 年菌物学家 Fires 确认了块菌属在真菌分类学上的地位,与现代也已相隔数百年时间^[3]。虽然,我国四川、云南等地的群众也早有食用块菌的习惯,但是 1985 年刘波对太原块菌(*Tuber taiyuanense* B. Liu)新种的报道才真正开启了国内对块菌属的科学研究工作^[4]。随后,有关块菌营养价值、活性成分和功效、香气成分、栽培技术等方面的研究也逐渐开展起来。

1 块菌的营养价值和保健功效

1.1 营养价值

块菌是世界上最珍贵的食用菌之一,子实体中含有丰富的蛋白质、氨基酸、碳水化合物、麦角固醇、甾醇等营养物质和芳香成分。与其他食用菌相比,块菌的蛋白质含量普遍较高^[5],可谓素中之荤。早在 1990 年,陶恺等便对四川省会东县的印度块菌进行了氨基酸、蛋白质、矿物质、维生素、糖、灰分和水分析,结果显示印度块菌可与黑孢块菌相媲美^[6]。而据刘洪玉等报道,采自四川省会东县的块菌(未鉴定种属)

收稿日期:2013-06-22

基金项目:四川省重大科技计划(编号:2012NZ0003);四川省科技厅行业公益性专项(编号:2013NZ0029)。

作者简介:清源(1983—),女,河北张家口人,博士研究生,讲师,主要从事食用菌相关研究。E-mail: yuanqing_12@yahoo.com.cn。

通信作者:郑林用,博士,研究员,博士生导师,主要从事食用菌遗传育种、栽培技术研究与应用推广。E-mail: zly6559@126.com。

[20] Portillo F. Regulation of plasma membrane H^+ -ATPase in fungi and plants[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2000, 1469: 31-42.

[21] Mason A B, Kardos T B, Monk B C. Regulation and pH-dependent expression of a bilaterally truncated yeast plasma membrane H^+ -ATPase[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 1998, 1372(2): 261-271.

[22] Abdallah B M, Simões T, Fernandes A R, et al. Glucose does not activate the plasma-membrane-bound H^+ -ATPase but affects pmaA transcript abundance in *Aspergillus nidulans* [J]. Archives Microbiology, 2000, 174(5): 340-345.

[23] Carmelo V, Bogaerts P, Sá-Correia I. Activity of plasma membrane H^+ -ATPase and expression of PMA1 and PMA2 genes in *Saccharomyces cerevisiae* cells grown at optimal and low Ph[J]. Arch Microbiol, 1996, 166(5): 315-320.

[24] Fernandes A R, Peixoto FP, Sá-Correia I. Activation of the H^+ -ATPase in the plasma membrane of cells of *Saccharomyces cerevisiae* grown under mild Copper stress [J]. Archives of Microbiology, 1998, 171(1): 6-12.

[25] Billack B, Santoro M, Lau-Cam C. Growth inhibitory action of eb-selen on fluconazole-resistant *Candida albicans*: role of the plasma membrane H^+ -ATPase [J]. Microbial Drug Resistance (Larchmont, N. Y.), 2009, 15(2): 77-83.

[26] Trópia M J, Cardoso A S, Tisi R, et al. Calcium signaling and sugar-induced activation of plasma membrane H^+ -ATPase in *Saccharomyces cerevisiae* cells [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2006, 343(4): 1234-1243.

[27] Bouillet L E, Cardoso A S, Perovano E, et al. The involvement of Calcium carriers and of the vacuole in the glucose-induced calcium signaling and activation of the plasma membrane H^+ -ATPase in *Saccharomyces cerevisiae* cells [J]. Cell Calcium, 2012, 51(1): 72-81.

[28] 郭士伟, 李万昌, 彭陈, 等. 稻瘟菌 *Magnaporthe oryzae* P-ATPases 基因家族分析[J]. 生物信息学, 2012, 10(1): 15-19.

[29] 彭陈, 陈洪亮, 王俊伟, 等. 稻瘟菌 P-ATPase 基因 *MoCTA3* 的克隆及表达分析[J]. 江苏农业学报, 2012, 28(3): 492-496.

含蛋白质、脂肪、碳水化合物都较高,还略高于法国的黑孢块菌。其中,人体必需的 8 种氨基酸占氨基酸总量的 40% 以上,特别是蛋氨酸和胱氨酸含量较丰富^[7]。Gioacchini 等通过对新鲜的黑孢块菌、夏块菌、白块菌、波氏块菌中蛋白质及矿物质含量进行测定后,发现其蛋白质含量在 8.7% ~ 24% (干重)之间,尤以色氨酸,蛋氨酸和赖氨酸的含量最为丰富,同时含有 Si、K、Na、Ca、Mg、Mn、Fe、Al、P、S、Cu 和 Zn 等多种矿物质元素^[8]。常明昌等针对铁、锌含量进行测定,结果表明块菌中含量是一般水果的 8 ~ 10 倍^[9]。此外,块菌还含有微量元素硒,硒元素被看作是自然界中抗衰老的重要物质。

1.2 保健功效

1.2.1 抗氧化活性 抗氧化是抗衰老的关键。机体氧化代谢过程中产生的自由基可以作用于细胞、组织等脂类物质形成脂质过氧化物,并沉积在细胞膜上导致膜功能丧失,细胞、组织和器官功能下降,机体出现老化。陈毅坚等开展了块菌抗氧化活性方面的初步研究,并分别采用水提物、50% 和 95% 乙醇提取物进行清除 DPPH、超氧阴负离子以及羟基自由基的试验,结果显示,块菌水提物和醇提物均有较好的抗氧化性能,而 95% 乙醇提取物的综合清除效果最好,对 DPPH 自由基和羟基自由基的清除率最高值达 80%^[10]。郭坦等在进行印度块菌提取物抗氧化活性的研究时,则利用 55% 乙醇、石油醚和乙酸乙酯提取物来验证其清除 DPPH 自由基和羟基自由基的能力。试验发现,当浓度为 20 g/L 时,3 种提取物对 DPPH 自由基的清除率均已达到 90% 以上,其中 55% 乙醇提取物的清除率最高可达 96.59%,其次是乙酸乙酯提取物,再次是石油醚提取物;但是,乙酸乙酯提取物对羟基自由基的清除能力却最好^[11]。此外,还有学者对印度块菌粗多糖的抗氧化活性进行了研究。其中,魏磊等证实,块菌粗多糖对羟基自由基的清除活性最高,对超氧阴离子的清除效果不佳^[12]。而罗强等对印度块菌粗多糖进一步纯化后,发现其主要多糖组分 TIP-A 对羟基自由基、超氧阴离子自由基、DPPH 自由基均有较强的清除能力,其半抑制质量浓度 (IC₅₀) 分别为 1.06、1.02、1.13 mg/mL^[13]。

1.2.2 增强免疫和抗肿瘤活性 胡慧娟等研究了块菌多糖对小鼠肿瘤及免疫系统的影响,结果表明,其可以显著抑制小鼠 S180 及 EAC 肉瘤的生长,但是对体外培养的 HeLa 细胞增殖无明显抑制作用。提示块菌多糖的抗肿瘤活性并非细胞毒性作用所致,可能与其调节机体免疫系统有关。此外,块菌多糖能够提高小鼠碳粒廓清速率和血清抗体 IgG 水平,增加小鼠脾脏重量和外周血细胞数目,促进 T 淋巴细胞转化,也为块菌多糖抗肿瘤作用可能是通过促进机体免疫功能而实现这一理论奠定了一定的基础^[14]。

1.2.3 其他 董洋等通过动物试验,阐明了块菌具有多种保健功效,并有针对性地讨论了块菌对雌性和雄性小鼠的不同影响。其中,块菌能显著提高小鼠常压耐缺氧能力,延长亚硝酸钠中毒小鼠的存活时间,促进小鼠小肠的蠕动能力,并呈明显的剂量依赖关系,且雌性小鼠的表现均更优于雄性小鼠。在负重游泳试验中,小鼠的抗疲劳能力随块菌食用量的增加而增强,且雄性小鼠的抗疲劳能力具有更明显的增强效果,而块菌亦能显著增强极端寒冷条件下小鼠的存活率,相对于雌性小鼠,雄性表现更佳。此外,块菌还具有一定的雌激素样作

用,可使小鼠的子宫和卵巢指数增大,对于女性来说具有较好的保健价值^[15]。

2 块菌挥发性成分的研究现状

1950 年,气相色谱和质谱技术兴起之后,国外关于块菌挥发性成分组成的研究陆续开展。1967 年 Fieocchi 等首次研究了白块菌的香气成分,并发现了二甲硫基甲烷这一物质^[16]。自 1980 年 Ney 和 Freitag 等学者报道了黑孢块菌子实体的关键挥发性成分以后,大量关于块菌子实体和菌丝体的挥发性成分组成的研究在科学杂志中发表,并证实包括醇、醛、酮、酸、酯、胺类物质、芳香族化合物、含硫化合物、杂环化合物、烯醇类物质等 200 多种碳氢化合物^[17-18]。而国内有关块菌挥发性成分的研究相对较少。

2.1 块菌挥发性成分的生物学作用

块菌作为地下共生真菌,它的生活史必须借助植物根系来完成,如果不形成菌根,块菌将不能形成子实体。然而,块菌的子实体自身并不能传播孢子,又必须依靠昆虫或哺乳动物来实现繁殖的目的。此时,块菌诱人的挥发性成分可能是调控自身与其他物种之间相互作用的重要物质。

在实验室条件下,研究人员发现白块菌产生的乙烯等物质,可能通过 4-甲硫基-2-丁酮酸钠 (KMBA) 途径,干扰吲哚乙酸在阿拉伯芥 (非宿主植物) 分裂组织中的分布,从而引起根毛延长,导致植物根的形态学变化^[19]。但是,相同的挥发性物质也会发挥不同的作用。调查发现,黑孢块菌会在其宿主植物周围、草皮覆盖的地方形成一个奇怪的“灼烧圈”,这里的草本植物几乎死亡或枯黄。这时,块菌菌丝体存在并释放的乙烯和吲哚乙酸又可能发挥了除草剂的作用。然而,有些块菌并不会形成“灼烧圈”,这可能与该品种产生此类物质的能力有关,也可能“灼烧圈”的产生根本是其他物种所为。此外,从块菌子实体和菌丝体中分离得到的 1-辛烯-3-醇,在高浓度时发挥毒性作用,可缩短植物初生根系,并通过氧化应激作用导致叶绿素丢失;在低浓度时,又具有诱导植物防卫基因的作用,提高宿主植物的抗病能力^[20-21]。据此推测,块菌也可能释放某些物质,提高其菌丝体与宿主植物根系相遇和结合的成功率^[22]。

在自然界里,块菌的挥发性物质可以吸引猪、狗、松鼠等哺乳动物,在以块菌为食的同时将孢子传播出去。因此,在国外训练动物来寻找地下的块菌已经比较常见。起初,科学家推测块菌中的甾醇类激素 5 α -雄甾烯醇具有典型的麝香味,是吸引猪的主要物质;但是,不久便证明,真正起作用的是广泛存在于块菌中的二甲基硫醚类物质^[23]。研究还发现,在块菌上寄生着 2 种昆虫即甲壳虫 (*Leiodes cinnamomea* Panzer) 和块菌蝇 (*Suillia pallida*)。目前,还不清楚是哪种挥发性成分在引诱这些昆虫前来。但是,成熟的块菌不吸引甲壳虫 (*L. cinnamomea*),可能只有未成熟的块菌才会释放相应的挥发性物质^[24]。此外,Napoli 等还证实在黑孢块菌“灼烧圈”内,其他种类 (主要是担子菌) 外生菌根的数量和丰富程度大大减少^[25]。但是,由于与块菌相关的微生物具有多样性和复杂性,研究块菌挥发性物质与其他微生物种群之间的相互作用将极具挑战性。

2.2 影响块菌挥发性成分的因素

块菌的挥发性成分与品种之间有着密切联系。到目前为止,从块菌中分离出来的挥发性成分已有 200 多种^[26]。虽然,挥发性物质不稳定,却仍然可以作为区分不同块菌种类的指纹图谱。如果从确定哪些挥发性成分是各种块菌共有的,哪些是某类块菌特有的角度出发,研究人员则需要利用相同的技术手段,对大量来自于不同地方、不同成熟阶段、不同种类的块菌展开全面分析。现代研究发现,黑孢块菌、印度块菌、白块菌、波氏块菌等 10 种块菌的挥发性成分中均含有 2-甲基丁醛和 3-甲基丁醛,而含硫化物如二甲基二硫醚、2-甲基-1-丙醇、1-辛烯-3-醇在大多数块菌中也存在^[22]。然而,二甲硫基甲烷则是白块菌等所特有,2-甲基-4,5-二氢噻吩也仅在波氏块菌中被发现^[22],可以分别作为指示成分用于鉴定相应的品种。

由于波氏块菌的菌丝体比其他块菌容易生长,所以直到 2009 年仅有其菌丝体中的挥发性物质被研究。通过人类嗅觉辨别,波氏块菌的菌丝与子实体的芳香气味并不同,这可能是由于培养菌丝体中的挥发性物质与子实体中不完全相同,或者相互之间的比例并不一致。随着发酵技术的进步,有学者还开展了培养条件对黑孢块菌、夏块菌和印度块菌等菌丝体挥发性成分影响的研究。有趣的是,研究人员发现培养条件对挥发性成分的影响明显高于块菌品种自身的影响^[27]。其中,Splivallo 等利用不同培养条件培养波氏块菌菌丝体,发现了包括八碳挥发性化合物在内的 8 种挥发性成分,有 7 种存在于子实体中^[26]。Tirillini 等在波氏块菌菌丝体中发现了 29 种易挥发成分,仅有 3-辛酮和二甲基三硫醚 2 种存在于其子实体中^[28]。

此外,块菌容易腐烂,储存的温度和时间均会对挥发性成分产生影响,而子实体成熟度、地理位置分布也是影响块菌香气物质的主要因素^[29]。其他,如块菌遗传背景、宿主植物、内部微生物种群等可能也影响块菌内的挥发性物质,还有待进一步研究。

3 国内外块菌的人工栽培技术

块菌的生长发育过程与宿主植物密切相关,是典型的菌根类真菌,在栽培方式上与腐生真菌有着本质区别,因此,块菌的人工驯化及栽培技术的研究,与其他名贵食用菌如松茸、牛肝菌等一样,是近年来备受国内外关注的前沿性课题。目前,法国、意大利、新西兰、澳大利亚等国家在块菌苗的人工栽培研究方面已经取得了突破性进展^[30-32]。法国也最早实现了块菌苗商业化生产,为其他国家块菌的人工栽培树立了成功的科学典范。

3.1 块菌的共生宿主植物

块菌是菌根真菌,对宿主植物有较强的选择性和专一性,因此,在进行人工驯化和栽培研究过程中,筛选适合当地的宿主,是关系到菌根苗生产成功与否的关键和前提,更关系到能否产出块菌。根据 Zanini 等的研究报道,在自然或者人工接种条件下,块菌可以与榛(*Corylus*)、栎(*Quercus*)、松(*Pinus*)、雪松(*Cedrus*)、栗(*Castanea*)、杨(*Populus*)、柳(*Salix*)、榉(*Fagus*)、椴(*Tilid*)、冷杉(*Abies*)、胡桃(*Juglans*)、斗目花(*Helianthemum*)等属的树木根系共生形成菌根^[33]。陈波涛

利用孢子悬浮液接种感染槲栎(*Quercus aliena*)、白栎(*Q. fabri*)、青岗栎(*Cyclobatanopsis glauca*)、小叶青岗(*C. myrsinalefolia*)、云山青岗(*C. nubium*)、青皮青冈(*C. gilva*)、云南松(*Pinus yunnanensis*)等,除云南松接种成功率略低外(约 80%),其他的均在 90% 以上^[34]。

3.2 菌根苗合成技术

早在 18 世纪,法国和意大利便开展了块菌人工种植技术的研究。一种被称作 Talon's 的方法应运产生。作为一种“消极的”“原始的”栽培方法,Talon 通过在野生黑孢块菌的产地内种植较多的宿主植物,靠自然感染培养菌根化树苗从而实现块菌增产。直至现代,这种技术在西班牙仍被使用^[35]。虽然这种方法具有成本低和方法简单的优点,但是其所生产的菌根苗受污染的概率很高导致成功率也不高。20 世纪 60 年代末 70 年代初,欧洲国家的块菌产量明显减少,科研人员开始了利用块菌孢子悬浮液生产菌根苗技术的研究,自 1978 年利用该方法收获黑孢块菌子实体后,这种“积极的”“现代化的”栽培方法已得到广泛应用。

在我国,台湾省于 1998 年已经宣布成功培育台湾块菌。中国林业科学院热带林业研究所的部分研究人员,利用振荡培养的黑孢块菌菌丝体接种感染云南松、高山栎、栓皮栎等,均可成功收获块菌菌根苗^[35-36]。中国科学院昆明植物研究所刘培贵实验室开展了印度块菌菌根苗合成技术研究,并成功合成了其与华山松(*Pinus armandii* Franch.)和板栗(*Castanea mollissima* Bl.)的菌根幼苗。柳成益等也开展了相关研究,并进一步探讨了印度块菌与云南松、华山松、板栗幼苗形成菌根之后,块菌菌根对苗木的苗高、地茎、生物量的影响^[37]。

4 展望

块菌因其拥有较高的营养价值、多种保健功效以及迷人的香气,在欧洲国家的食品原料中弥足珍贵。根据资料显示,地中海沿岸的欧洲鲜块菌,2008 年市场售价已达 200~700 欧元/kg,如果当年遇到干旱的话,价格可升至 1 000 欧元/kg 以上^[38]。在 20 世纪,由于生态和社会因素的双重作用,欧洲野生食用块菌的产量明显减少,块菌的人工栽培技术在法国兴起。自 1970 年开始,地中海沿岸国家更通过建立种植园加强对块菌的种植。在此期间,科学人员还发现块菌属与树木的互惠共生关系同时具有重要的生态学价值。例如,黑孢块菌菌根具有促进橡树和松树种子萌发,增加栎树和橡树根系对磷元素的吸收,保护宿主植物免受干旱威胁的作用^[40]。

在我国,云南、四川等地是国内块菌的主要产区。近年来,随着国内学者对块菌的研究和宣传逐渐增多,块菌也成为了我国西南地区内销和出口创汇的主要食用菌品种。然而,作为国内最大的野生块菌核心产区的攀枝花市,2011 年出口欧美的价格也仅 800~1 000 元/kg,与欧美价格悬殊。其中,农民缺乏认识,常在利益驱使下提前采收块菌,导致其子实体还未成熟、品质不佳是造成出口价格低的主要原因之一。除此之外,我国块菌实现商业化开发后,野生资源遭到了掠夺式的乱采乱挖,块菌与树木之间的共生菌根受到严重破坏,导致块菌的自然产量连年急剧下降。据不完全统计,攀枝花市块菌 2010 年的总产量已从 20 世纪 90 年代的 200 多 t,下降到 30 余 t。同时,国内块菌属的多样性也遭到破坏甚至有些种

已濒临灭绝,森林损毁面积正不断扩大,这样的次生危害使得西南地区的生态环境也面临巨大威胁。

因此,提升采收人员对块菌名贵价值的认识,规范块菌的采收时期和采收方式,开展相关多样性调查与研究,加强我国块菌属生态环境恢复,开展块菌菌根苗合成和种植技术研究,已经成为今后我国菌物工作者的工作重心。但是,块菌的生长又与土壤、气候、林地环境等条件密切相关,菌根苗的合成技术还仅是块菌人工种植研究的第一步,深入分析与块菌相关的土壤结构和类型、土壤微生物组成、环境气候类型等也是必不可少的前提。在借鉴国外的成功经验的基础之上我们还知道,菌根苗种植后需要 5~7 年的时间才能收获块菌子囊果,这期间如何管理、如何经营、如何在不产块菌的年限里获得利益,也是值得仔细探讨的问题。

参考文献:

- [1] 徐阿生. 西藏块菌属的分类研究[J]. 菌物系统, 1999, 18(4): 361-364.
- [2] 陈应龙, 弓明钦. 块菌资源多样性及其地理分布[J]. 中国食用菌, 2000, 19(6): 25-26.
- [3] 王福强, 张世奇. 块菌的国内外研究及其有效活性成分的应用[J]. 农产品加工·创新版, 2011(1): 63-67.
- [4] Liu B. New species and new records of Hypogeous fungi from China (I)[J]. Acta Mycologica Sinica, 1985, 4: 84-89.
- [5] Singer R. Mushrooms and truffles[M]. London: Leonard Hill Ltd, 1961.
- [6] 陶 恺, 刘 波. 中国块菌的生态和营养价值[J]. 山西大学学报: 自然科学版, 1990, 13(3): 319-321.
- [7] 刘洪玉, 陈惠群, 李子平, 等. 块菌的营养价值及其开发利用[J]. 资源开发与市场, 1997, 13(2): 60-61, 66.
- [8] Gioacchini A M, Menotta M, Guescini M, et al. Geographical traceability of Italian white truffle (*Tuber magnatum* Picco) by the analysis of volatile organic compounds[J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2008, 22(20): 3147-3153.
- [9] 常明昌, 陶 恺. 珍稀名贵的食用菌——块菌[J]. 山西农业科学, 1989(4): 10-11.
- [10] 陈毅强, 钟文武, 余正云. 食用块菌形态特征和抗氧化性能研究[J]. 食品工业科技, 2010, 31(2): 139-141.
- [11] 郭 坦, 侯成林, 魏 磊, 等. 印度块菌提取物抗氧化活性的研究[J]. 菌物学报, 2010, 29(4): 569-575.
- [12] 魏 磊, 苏 红, 曹晋忠, 等. 印度块菌水溶性多糖提取及抗氧化活性的初步研究[C]//2010 年中国菌物学会学术年会论文摘要集. 北京: 中国菌物学会, 2010: 225.
- [13] 罗 强, 颜 亮, 吴俐莎, 等. 印度块菌水溶性多糖的单糖组成与抗氧化活性研究[J]. 食品科学, 2010, 31(23): 52-56.
- [14] 胡慧娟, 李佩珍, 林 涛, 等. 块菌多糖对小鼠肿瘤及免疫系统的影响[J]. 中国药科大学学报, 1994, 25(5): 289-292.
- [15] 董 洋, 王海英, 赵 遵. 田块菌保健功效的初步研究[J]. 河北省科学院学报, 2012, 29(1): 68-73.
- [16] Fiechi A, Kienle M G, Scala A, et al. Bis-methylthiomethane, an odorous substance from white truffle, *Tuber magnatum* Pico. [J]. Tetrahedron Letters, 1967, 8: 1681-1682.
- [17] Mauriello G, Marino R, D'Auria M, et al. Determination of volatile organic compounds from truffles via SPME GC-MS[J]. Journal of Chromatographic Science, 2004, 42: 299-305.
- [18] Cullere L, Ferreira V, Chevret B, et al. Characterisation of aroma active compounds in black truffles (*Tuber melanosporum*) and summer truffles (*Tuber aestivum*) by gas chromatography-olfactometry[J]. Food Chemistry, 2010, 122: 300-306.
- [19] Splivallo R, Fischer U, Göbel C, et al. Truffles regulate plant root morphogenesis via the production of auxin and ethylene[J]. Plant Physiology, 2009, 150(4): 2018-2029.
- [20] Splivallo R, Novero M, Berteaux CM, et al. Truffle volatiles inhibit growth and induce an oxidative burst in *Arabidopsis thaliana* [J]. New Phytologist, 2007, 175(3): 417-424.
- [21] Kishimoto K, Matsui K, Ozawa R, et al. Volatile 1-octen-3-ol induces a defensive response in *Arabidopsis thaliana* [J]. Journal of General Plant Pathology, 2007, 73: 35-37.
- [22] Splivallo R, Ottonello S, Mello A, et al. Truffle volatiles: from chemical ecology to aroma biosynthesis [J]. New Phytologist, 2011, 189(3): 688-699.
- [23] Talou T, Gaset A, Delmas M, et al. Dimethyl sulphide: the secret for black truffle hunting by animals? [J]. Mycological Research, 1990, 94: 277-278.
- [24] Hochberg M E, Bertault G, Poirineau K, et al. Olfactory orientation of the truffle beetle, *Leiodes cinnamomea* [J]. Entomologia Experimentalis et Applicata, 2003, 109: 147-153.
- [25] Napoli C, Mello A, Borra A, et al. *Tuber melanosporum*, when dominant, affects fungal dynamics in truffle grounds [J]. New Phytologist, 2010, 185(1): 237-247.
- [26] Splivallo R, Bossi S, Maffei M, et al. Discrimination of truffle fruiting body versus mycelial aromas by stir bar sorptive extraction [J]. Phytochemistry, 2007, 68(20): 2584-2598.
- [27] Tang Y J, Wang G, Li Y Y, et al. Fermentation condition outweighed truffle species in affecting volatile organic compounds analyzed by chromatographic fingerprint system [J]. Analytica Chimica Acta, 2009, 647(1): 40-45.
- [28] Tirillini B, Verdelli G, Paolocci F, et al. The volatile organic compounds from the mycelium of *Tuber borchii* Vitt. [J]. Phytochemistry, 2000, 55(8): 983-985.
- [29] Falasconi M, Pardo M, Sberveglieri G, et al. Study of white truffle aging with SPME-GC-MS and the Pico-electronic nose [J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2005, 106: 88-94.
- [30] Wedén, C, Chevalier, et al. *Tuber aestivum* (syn. *T. uncinatum*) biotopes and their history on Gotland, Sweden [J]. Mycological Research, 2004, 108: 304-310.
- [31] Zambonelli A, Iotti M, Rossi I, et al. Interactions between *Tuber borchii* and other ectomycorrhizal fungi in a field plantation [J]. Mycological Research, 2000, 104: 69-702.
- [32] Bonuso E, Zambonelli A, Bergemann S, et al. Multilocus phylogenetic and coalescent analyses identify two cryptic species in the Italian Bianchetto truffle, *Tuber borchii* Vittad. [J]. Conservation Genetics, 2010, 11: 1453-1466.
- [33] Zanini E, Giovannet T G, Fran C N, et al. Soil-carphophore in some Italian truffle epedon-environments [J]. Agricoltura Med Ittranea, 1995, 125: 205-214.
- [34] 陈波涛. 块菌的感染接种与块菌林营建技术初报[J]. 贵州林业科技, 2003, 31(4): 10-14.
- [35] 弓明钦, 陈 羽, 王凤珍. 黑孢块菌的苗木菌根合成效果研究[J]. 林业科学研究, 2003, 16(1): 52-57.
- [36] 柳成益, 唐 平, 兰 海, 等. 印度块菌菌根对苗木生长的影响[J]. 西南林学院学报, 2008, 28(6): 21-24.
- [37] Samils, N, Olivera, et al. The socioeconomic impact of truffle cultivation in rural Spain [J]. Economic Botany, 2008, 62: 331-340.
- [38] Domínguez Núñez J A, Planelles González R, Rodríguez Barreal J A, et al. The effect of *Tuber melanosporum* Vitt. mycorrhization on growth, nutrition, and water relations of *Quercus petraea* Liebl., *Quercus faginea* Lamk., and *Pinus halepensis* Mill. seedlings [J]. New Forests, 2008, 35: 159-171.