



经验交流

三种香蘑属野生食用菌菌株的培养条件优化

赵秉浩¹ 刘虹² 郭丽杰¹ 范黎^{*1}

1 首都师范大学生命科学学院 北京 100048

2 山西省农业科学院食用菌研究所 山西 太原 030031

摘要:【背景】供试菌株分别是分离自山西省宁武县管涔山的肉色香蘑 *Lepista irina*、斑褶香蘑 *L. panaeolus* 和山西省蒲县五鹿山的紫丁香蘑 *L. nuda* 3 种野生食用菌的子实体。【目的】获得 3 种野生食用菌的最佳培养条件。【方法】以菌丝生长速度为指标研究不同碳源、氮源、碳氮比、pH 和培养温度等各因素对菌丝生长的影响，根据 Box-Behnken 中心组合试验设计原理，采用 3 因素 3 水平的响应面法确定使菌丝体达到最快生长速度的最佳培养碳源、氮源和 pH。【结果】肉色香蘑在葡萄糖 20.9 g/L、土豆 196.47 g/L、pH 6.0、培养温度 21 °C 的条件下，菌丝日均生长速度达到最大，为 1.13 mm/d；斑褶香蘑在甘露醇 17.4 g/L、酵母膏 8.1 g/L、B 族维生素 0.1 g/L、K₂HPO₄ 2.5 g/L、MgSO₄ 2.5 g/L、pH 7.9、培养温度 25 °C 的条件下，菌丝日均生长速度达到最大，为 0.73 mm/d；紫丁香蘑在土豆 200 g/L、可溶性淀粉 20.5 g/L、KNO₃ 2.1 g/L、K₂HPO₄ 2.5 g/L、MgSO₄ 2.5 g/L、B 族维生素 0.1 g/L、pH 7.0、培养温度 25 °C 的条件下，菌丝日均生长速度达到最大，为 2.38 mm/d。【结论】获得了 3 种香蘑属菌株的最佳培养条件，为后续优质野生食用菌的引种驯化积累了相关数据和资源。

关键词：真菌，香蘑属，响应面法，优化，培养条件

Optimization of culture conditions for three edible *Lepista* mushrooms

ZHAO Bing-Hao¹ LIU Hong² GUO Li-Jie¹ FAN Li^{*1}

1 College of Life Sciences, Capital Normal University, Beijing 100048, China

2 Institute of Edible Fungi, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Taiyuan, Shanxi 030031, China

Abstract: [Background] The strains in this study were respectively isolated from the wild edible fungus fruit-bodies of *Lepista irina*, *L. panaeolus* and *L. nuda*, which were collected from Guancenshan and Wulushan Mountains in Shanxi province. [Objective] To obtain their optimal culture conditions on mycelial growth. [Methods] The effects of different carbon sources, nitrogen sources, carbon-nitrogen ratio, pH and culture temperature were studied by using mycelial growth rate as an indicator; according to the Box-Behnken center combination based on the experimental design principle, the three-factor and three-level response surface method is used to determine the optimal culture carbon source, nitrogen source and pH for the mycelium. [Results] The mycelium growth rate of *L. irina* reached 1.13 mm/d under the optimized culture conditions of glucose 20.9 g/L, potato 196.47 g/L, pH 6.0 and culture temperature 21 °C;

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (31750001); Beijing Natural Science Foundation (5172003)

***Corresponding author:** Tel: 86-10-68902964; E-mail: fanli@mail.cnu.edu.cn

Received: 04-01-2019; **Accepted:** 24-04-2019; **Published online:** 27-05-2019

基金项目: 国家自然科学基金(31750001); 北京市自然科学基金(5172003)

***通信作者:** Tel: 010-68902964; E-mail: fanli@mail.cnu.edu.cn

收稿日期: 2019-01-04; **接受日期:** 2019-04-24; **网络首发日期:** 2019-05-27

the maximized mycelium growth rate of *L. panaeolus* was 0.73 mm/d under mannitol 17.4 g/L, yeast extract 8.1 g/L, vitamin B 0.1 g/L, K₂HPO₄ 2.5 g/L, MgSO₄ 2.5 g/L, pH 7.9, 25 °C; *L. nuda* in potato 200 g/L, soluble starch 20.5 g/L, KNO₃ 2.1 g/L, K₂HPO₄ 2.5 g/L, MgSO₄ 2.5 g/L, vitamins B 0.1 g/L, pH 7.0, 25 °C reached the maximum mycelial growth rate of 2.38 mm/d. [Conclusion] The optimized culture conditions for three strains of *Lepista* will provide the data for the introduction and acclimatization of wild edible fungi.

Keywords: Fungus, *Lepista*, Response surface methodology, Optimization, Culture conditions

香蘑属(*Lepista*)包含多种美味的食用菌，其肉质地细嫩、味道鲜美，被我国老百姓普遍食用，其中紫丁香蘑(*L. nuda*)更是素有“一家食其味，十家闻其香”的美誉^[1]。已有的研究还表明此类食用菌有潜在的药用价值，如肉色香蘑(*L. irina*)的提取物对多种细菌有较强的抑制作用^[2]，紫丁香蘑的提取物对小白鼠肉瘤S180和艾氏瘤的抑制率分别为90%和100%^[3]。有关香蘑属真菌的培养在我国也开展了一些工作，发现其菌种多存在菌丝体易退化、生长缓慢、长势弱、生长周期较长、人工种植产量低的问题^[4-7]。广泛收集菌株，研究其培养条件和性状，筛选生长快速、抗逆能力强的高产菌株是香蘑属食用菌实现产业化的关键性技术问题^[8]。

本研究对分离自山西省宁武县管涔山的肉色香蘑(*L. irina*)、斑褶香蘑(*L. panaeolus*)和山西省蒲县五鹿山的紫丁香蘑(*L. nuda*)等3种野生食用菌子实体的菌株培养条件进行研究，筛选各菌株最佳的碳源、氮源、碳氮比(C/N)、pH、培养温度，并通过Box-Behnken Design (BBD)建模寻找出其最佳培养条件，为优质野生食用菌的引种驯化积累数据和资源。

1 材料与方法

1.1 材料

供试菌株FM420肉色香蘑(*L. irina*)、LH03斑褶香蘑(*L. panaeolus*)、FM421紫丁香蘑(*L. nuda*)由山西省农科院食用菌研究所刘虹提供，由首都师范大学范黎鉴定，菌株保存于山西省农业科学院食用菌研究所和首都师范大学生命科学学院真菌室。各菌株的ITS序列提交GenBank，序列登录号分别为MK641486(FM420肉色香蘑)、MK642902(LH03斑褶香蘑)、MK642877(FM421紫丁香蘑)。

1.2 培养基

菌株保存和活化培养基均为PDA培养基。菌株活化完成后，从15种供试培养基(表1)中筛选出各菌株最适生长的基础培养基，然后基于该培养基进行培养条件的单因素试验。

1.3 主要试剂和仪器

葡萄糖、蔗糖、磷酸氢二钾、磷酸二氢钾、硫酸镁购自北京化工厂；蛋白胨、酵母膏、琼脂粉购自北京奥博星生物技术有限责任公司；B族维生素购自Sigma公司。生化恒温培养箱，哈尔滨东联电子技术开发有限公司；超净工作台，哈尔滨东升哈尔仪器制造有限公司。

1.4 方法

1.4.1 不同碳源对菌丝体生长速度的影响

最适基础培养基确定后，在其他成分不变的情况下，分别更换等量的碳源为葡萄糖、果糖、麦芽糖、蔗糖、可溶性淀粉和甘露醇。将平板培养基中培养好的菌丝体沿菌落的边缘用5 mm打孔器截取菌块接种于不同碳源培养基中央，每个菌株重复3次，置25 °C恒温培养箱中培养。期间采用十字划线法测量菌落生长半径，分析菌丝生长速度的差异性(下同)。

1.4.2 不同氮源对菌丝体生长速度的影响

在各菌株的基础培养基其他成分不变的情况下，分别更换等量的氮源为草酸铵、硫酸铵、硝酸钠、硝酸钾、酵母膏和蛋白胨，以研究不同氮源对菌丝生长速度的影响。

1.4.3 不同C/N对菌丝体生长速度的影响

在各菌株的基础培养基中碳源选定为葡萄糖、氮源选定为酵母膏、其他成分不变的情况下，将葡萄糖定量为20 g/L，根据葡萄糖总碳含量(36.4%)

表 1 供试培养基配方

Table 1 Test media formulation

培养基编号 Media No.	成分 Composition
1	NaNO ₃ 3.0 g, KCl 0.5 g, FeSO ₄ 0.01 g, K ₂ HPO ₄ 1.0 g, MgSO ₄ 0.5 g, 蔗糖 30.0 g, 琼脂 20.0 g, 蒸馏水 1 L
2	NaNO ₃ 3.0 g, KCl 0.5 g, FeSO ₄ 0.01 g, K ₂ HPO ₄ 1.0 g, MgSO ₄ 0.5 g, sucrose 30.0 g, agar 20.0 g, distilled water 1 L
3	葡萄糖 2%, 蛋白胨 0.2%, B 族维生素 5×10 ⁻⁵ g, 0.1% K ₂ HPO ₄ , 0.05% MgSO ₄ , 0.046% KH ₂ PO ₄ , 琼脂 20 g, 蒸馏水 1 L
4	Glucose 2%, peptone 0.2%, VB 5×10 ⁻⁵ g, 0.1% K ₂ HPO ₄ , 0.05% MgSO ₄ , 0.046% KH ₂ PO ₄ , agar 20 g, distilled water 1 L
5	葡萄糖 20.0 g, 酵母膏 5.0 g, B 族维生素 0.1 g, K ₂ HPO ₄ 2.5 g, MgSO ₄ 2.5 g, 琼脂 20.0 g, 蒸馏水 1 L
6	Glucose 20.0 g, yeast extract 5.0 g, VB 0.1 g, K ₂ HPO ₄ 2.5 g, MgSO ₄ 2.5 g, agar 20.0 g, distilled water 1 L
7	土豆 200.0 g, 葡萄糖 20.0 g, 琼脂 20.0 g, 蒸馏水 1 L
8	Potato 200.0 g, glucose 20.0 g, agar 20.0 g, distilled water 1 L
9	土豆 200.0 g, 麦芽汁 0.1 L, 葡萄糖 20.0 g, 琼脂 20.0 g, 蒸馏水 1 L
10	Potato 200.0 g, wort 0.1 L, glucose 20.0 g, agar 20.0 g, distilled water 1 L
11	土豆 200.0 g, 葡萄糖 20.0 g, B 族维生素 0.01 g, KH ₂ PO ₄ 3.0 g, MgSO ₄ 1.5 g, 琼脂 20.0 g, 蒸馏水 1 L
12	Potato 200.0 g, glucose 20.0 g, VB 0.01 g, KH ₂ PO ₄ 3.0 g, MgSO ₄ 1.5 g, agar 20.0 g, distilled water 1 L
13	Potato 200.0 g, glucose 20.0 g, yeast extract 5.0 g, VB 0.1 g, K ₂ HPO ₄ 2.5 g, MgSO ₄ 2.5 g, agar 20.0 g, distilled water 1 L
14	土豆 200.0 g, 葡萄糖 20.0 g, 酵母膏 5.0 g, B 族维生素 0.1 g, K ₂ HPO ₄ 2.5 g, MgSO ₄ 2.5 g, 琼脂 20.0 g, 蒸馏水 1 L
15	Potato 200.0 g, glucose 20.0 g, peptone 10.0 g, VB 0.01 g, K ₂ HPO ₄ 3.0 g, MgSO ₄ 1.5 g, agar 20.0 g, distilled water 1 L
	麸皮 50.0 g, 葡萄糖 20.0 g, KH ₂ PO ₄ 3.0 g, K ₂ HPO ₄ 3.0 g, MgSO ₄ 2.0 g, 琼脂 20.0 g, 蒸馏水 1 L
	Bran 50.0 g, glucose 20.0 g, KH ₂ PO ₄ 3.0 g, K ₂ HPO ₄ 3.0 g, MgSO ₄ 2.0 g, agar 20.0 g, distilled water 1 L
	玉米粉 40.0 g, 蔗糖 10.0 g, 琼脂 20.0 g, 蒸馏水 1 L
	Corn flour 40.0 g, sucrose 10.0 g, agar 20.0 g, distilled water 1 L
	玉米粉 40.0 g, 麦芽浸膏 20.0 g, 蛋白胨 1.0 g, 葡萄糖 20.0 g, 琼脂 20.0 g, 蒸馏水 1 L
	Malt extract 20.0 g, peptone 1.0 g, glucose 20.0 g, agar 20.0 g, distilled water 1 L
	麸皮 50.0 g, 葡萄糖 30.0 g, 酵母膏 5.0 g, B 族维生素 0.1 g, K ₂ HPO ₄ 2.5 g, MgSO ₄ 2.5 g, 琼脂 20.0 g, 蒸馏水 1 L
	Bran 50.0 g, glucose 30.0 g, yeast extract 5.0 g, VB 0.1 g, K ₂ HPO ₄ 2.5 g, MgSO ₄ 2.5 g, agar 20.0 g, distilled water 1 L
	玉米粉 40.0 g, 葡萄糖 30.0 g, 酵母膏 5.0 g, B 族维生素 0.1 g, K ₂ HPO ₄ 2.5 g, MgSO ₄ 2.5 g, 琼脂 20.0 g, 蒸馏水 1 L
	Corn flour 40.0 g, glucose 30.0 g, yeast extract 5.0 g, VB 0.1 g, K ₂ HPO ₄ 2.5 g, MgSO ₄ 2.5 g, agar 20.0 g, distilled water 1 L
	干牛粪 150.0 g, 葡萄糖 30.0 g, 酵母膏 5.0 g, B 族维生素 0.1 g, K ₂ HPO ₄ 2.5 g, MgSO ₄ 2.5 g, 琼脂 20.0 g, 蒸馏水 1 L
	Dry cow dung 150.0 g, glucose 30.0 g, yeast extract 5.0 g, VB 0.1 g, K ₂ HPO ₄ 2.5 g, MgSO ₄ 2.5 g, agar 20.0 g, distilled water 1 L
	干牛粪 150.0 g, 土豆 200.0 g, 葡萄糖 20.0 g, 琼脂 20.0 g, 蒸馏水 1 L
	Dry cow dung 150.0 g, potato 200.0 g, glucose 20.0 g, agar 20.0 g, distilled water 1 L

和酵母膏总氮含量(10%)来分别调整酵母膏的量, 使其 C/N 分别为 5:1、10:1、30:1、40:1、60:1, 以研究不同 C/N 对菌丝生长速度的影响。

1.4.4 不同温度对菌丝体生长速度的影响

在各菌株的基础培养基其他成分不变的情况下, 将接种好的平板培养基分别放入 21、23、25、27、29 °C 的恒温培养箱中培养, 以研究不同温度对菌丝生长速度的影响。

1.4.5 不同 pH 对菌丝体生长速度的影响

在各菌株的基础培养基其他成分不变的情

况下, 将培养基的 pH 分别调整为 5.0、6.0、7.0、8.0、9.0, 以研究不同 pH 对菌丝生长速度的影响。

1.5 响应面法优化

基于上述单因素试验结果, 以碳源、氮源、pH 为影响因素, 采用 BBD 设计方法进一步优化菌株生长的最佳培养基和培养条件。

1.6 数据分析

试验数据利用 SPSS 17.0、Design Expert 11 和 OriginPro 8 进行统计分析和作图。

2 结果与分析

2.1 菌株最适基础培养基筛选

基础培养基筛选结果(图 1、2)显示,肉色香蘑的菌丝生长速度在4号培养基上最快,日均2.26 mm/d,基内菌丝生长浓密,气生菌丝较发达;

斑褶香蘑在3号培养基上生长速度最快,日均1.70 mm/d,基内菌丝发达,气生菌丝浓密、暗白色、欠发达;紫丁香蘑在7号培养基上生长速度最快,日均1.80 mm/d,基内菌丝、气生菌丝均非常发达,菌丝生长浓密、粗壮,呈淡紫色。

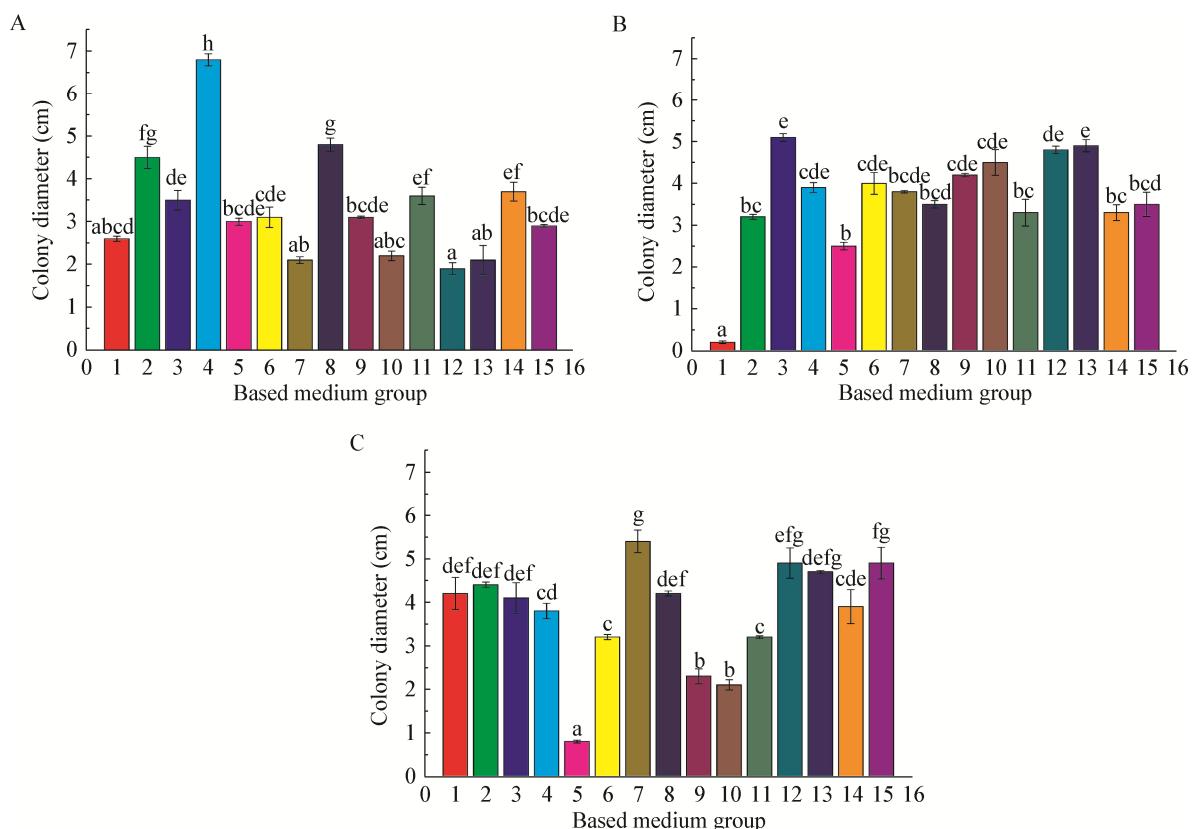


图1 供试菌株在不同基础培养基培养 15 d 的菌落直径

Figure 1 The colony diameter of three strains of *Lipista* cultured in different based medium for 15 days

注: A: 肉色香蘑; B: 斑褶香蘑; C: 紫丁香蘑。不同小写字母代表样本之间的显著差异($P<0.05$)。

Note: A: *Lipista irina*; B: *Lipista panaeolus*; C: *Lipista nuda*. The different letters represent significant differences between samples ($P<0.05$).

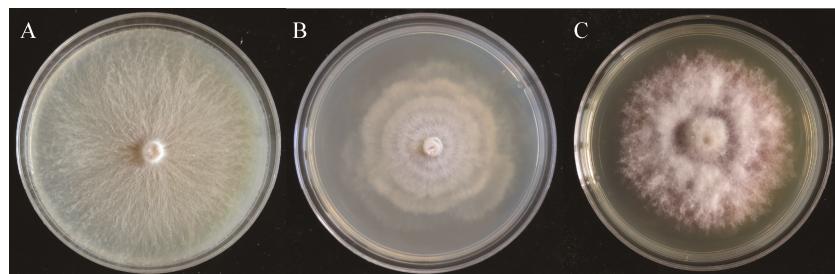


图2 供试菌株在其最适基础培养基上的菌落形态

Figure 2 Colony morphology of three strains of *Lipista* on the optimal based medium

注: A: 4号培养基上的肉色香蘑; B: 3号培养基上的斑褶香蘑; C: 7号培养基上的紫丁香蘑。

Note: A: *L. irina* on the fourth number medium; B: *L. panaeolus* on the third number medium; C: *L. nuda* on the seventh number medium.

2.2 不同碳源对3株真菌菌丝生长速度的影响

结果(表2, 图3)表明, 肉色香蘑最适碳源为葡萄糖和蔗糖, 两者差异不显著, 基内菌丝稠密、较粗壮且生长速度快, 气生菌丝不发达; 斑褶香蘑的最适碳源为葡萄糖和甘露醇, 基内菌丝发达、致密、粗壮, 气生菌丝欠发达, 暗白色, 菌落呈同心圆状生长, 边缘较均匀、整齐; 紫丁香蘑的最适碳源有可溶性淀粉、蔗糖、麦芽糖, 以蔗糖和可溶性淀粉为碳源时, 基内菌丝和气生菌丝均极度发达, 菌丝稠密且粗壮, 气生菌丝呈浅淡紫色绒毛状, 以麦芽糖为碳源时, 基内菌丝和气生菌丝较发达或相对稀疏, 但其生长速度与以

蔗糖、可溶性淀粉为碳源的实验组差异不大。

2.3 不同氮源对3株真菌菌丝生长速度的影响

结果(表3, 图3)表明, 肉色香蘑在添加硝酸钾为氮源时, 菌丝生长速度最快(1.578 ± 0.101 mm/d), 但值得注意的是, 该菌株在其基础培养基(4号培养基)上的生长速度更快(2.26 mm/d, 图1), 且基内菌丝和气生菌丝的长势更好(图2A), 因此肉色香蘑最适氮源是其基础培养基中的天然有机氮源(土豆); 斑褶香蘑最适氮源是酵母膏, 菌丝生长速度最快, 基内菌丝发达, 气生菌丝欠发达, 菌落呈同心圆状生长; 紫丁香蘑可很好地利用不同的氮源, 在硝酸钾、蛋白胨、硝酸钠为氮源时菌丝生长速度均较

表2 不同碳源对供试菌株的菌丝体生长速度(mm/d)的影响

Table 2 Effect of different carbon source on the rate (mm/d) of mycelium

香蘑属 <i>Lepista</i>	葡萄糖 Glucose	果糖 Fructose	麦芽糖 Maltose	蔗糖 Sucrose	可溶性淀粉 Soluble starch	甘露醇 Mannitol
肉色香蘑	2.244 ± 0.184 d	1.756 ± 0.111 b	1.656 ± 0.101 b	2.200 ± 0.185 d	1.511 ± 0.184 a	1.889 ± 0.222 c
<i>L. irina</i>						
斑褶香蘑	1.644 ± 0.184 c	1.222 ± 0.219 b	1.444 ± 0.294 c	1.167 ± 0.192 ab	0.978 ± 0.229 a	1.667 ± 0.133 c
<i>L. panaeolus</i>						
紫丁香蘑	1.844 ± 0.184 a	1.811 ± 0.129 a	2.700 ± 0.192 c	2.711 ± 0.111 c	2.733 ± 0.192 c	2.533 ± 0.333 b
<i>L. nuda</i>						

注: 数据为3次重复的平均值和标准差, 同列数据后无相同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

Note: The data is the mean and standard deviation of 3 replicates, the same lowercase letters after the same data indicate significant difference ($P<0.05$).

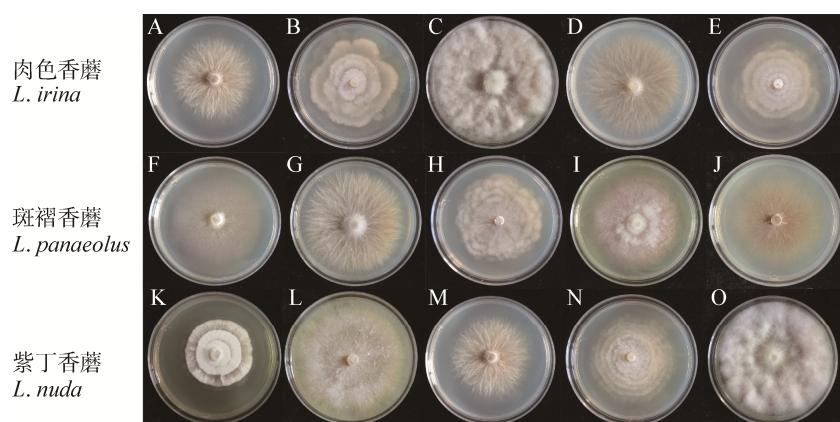


图3 单因素试验中供试菌株的菌落形态

Figure 3 Colony morphology of test strains in single factor test

注: A: 葡萄糖碳源; B: 土豆氮源; C: 60:1 碳氮比; D: pH 7.0; E: 21 °C; F: 甘露醇碳源; G: 酵母膏氮源; H: 40:1 碳氮比; I: pH 8.0; J: 25 °C; K: 可溶性淀粉碳源; L: 硝酸钾氮源; M: 40:1 碳氮比; N: pH 8.0; O: 25 °C.

Note: A: Glucose carbon source; B: Potato nitrogen source; C: C/N 60:1; D: pH 7.0; E: 21 °C; F: Mannitol carbon source; G: Yeast extract nitrogen source; H: C/N 40:1; I: pH 8.0; J: 25 °C; K: Soluble starch carbon source; L: KNO_3 nitrogen source; M: C/N 40:1; N: pH 8.0; O: 25 °C.

表3 不同氮源对供试菌株的菌丝体生长速度(mm/d)的影响

Table 3 Effect of different nitrogen source on the rate (mm/d) of mycelium

香蘑属 <i>Lepista</i>	草酸铵 (NH ₄) ₂ C ₂ O ₄	硫酸铵 (NH ₄) ₂ SO ₄	硝酸钠 NaNO ₃	硝酸钾 KNO ₃	酵母膏 Yeast extract	蛋白胨 Peptone
肉色香蘑	0.744±0.094a	0.811±0.111a	1.444±0.194c	1.578±0.101d	1.300±0.192b	1.478±0.101cd
<i>L. irina</i>						
斑褶香蘑	0.711±0.111b	1.317±0.096d	0.611±0.194a	0.700±0.192b	1.644±0.184e	1.056±0.111c
<i>L. panaeolus</i>						
紫丁香蘑	2.200±0.192c	1.344±0.188a	2.522±0.113d	2.700±0.192d	1.844±0.184b	2.633±0.109d
<i>L. nuda</i>						

注：数据为3次重复的平均值和标准差，同列数据后无相同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

Note: The data is the mean and standard deviation of 3 replicates, the same lowercase letters after the same data indicate significant difference ($P<0.05$).

快，基内菌丝较发达。但以蛋白胨为氮源时气生菌丝最发达，而以硝酸钾为氮源时菌丝生长速度最快。

2.4 不同C/N对3株真菌菌丝生长速度的影响

结果(表4, 图3)表明，肉色香蘑在碳氮比为60:1时菌丝生长速度最快，菌落边缘均匀、整齐，随着C/N的降低，菌丝生长速度逐渐下降，至5:1时，菌丝即不生长，虽然在碳氮比为40:1和60:1时菌丝生长速度的差异性不显著，但随着C/N的增加，气生菌丝逐渐发达，颜色逐渐变白；斑褶香蘑在C/N为40:1时，菌丝生长速度最快，此时基内菌丝发达，气生菌丝欠发达，然而随着碳氮比的升高，气生菌丝颜色由洁白变为灰白，致密程度也逐渐下降；紫丁香蘑在碳氮比为40:1时，菌丝生长速度最快，基内菌丝发达，气生菌丝较发达且较粗壮、致密，呈淡紫色，随着碳氮比的提高，气生菌丝逐渐增多。

表4 不同碳氮比对供试菌株的菌丝体生长速度(mm/d)的影响

Table 4 Effect of different C/N on the mycelium growth rate (mm/d) of the tested strain

香蘑属 <i>Lepista</i>	5:1	10:1	30:1	40:1	60:1
肉色香蘑	0.000±0.000a	1.067±0.192b	1.189±0.129b	1.456±0.222c	1.478±0.144c
<i>L. irina</i>					
斑褶香蘑	0.329±0.008a	0.629±0.008b	0.876±0.037c	0.914±0.016c	0.862±0.017c
<i>L. panaeolus</i>					
紫丁香蘑	0.706±0.147a	1.144±0.056b	1.156±0.042b	1.217±0.192c	1.150±0.096b
<i>L. nuda</i>					

注：数据为3次重复的平均值和标准差，同列数据后无相同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

Note: The data is the mean and standard deviation of 3 replicates, the same lowercase letters after the same data indicate significant difference ($P<0.05$).

2.5 不同pH对3株真菌菌丝生长速度的影响

结果(表5, 图3)显示，肉色香蘑的最适pH为7.0，菌丝生长速度最快，基内菌丝发达，菌丝稠密、粗壮，呈深黄色，气生菌丝相对欠发达，随着pH的升高，基内菌丝颜色逐渐加深，接种块周围出现褐色色素沉积；斑褶香蘑和紫丁香蘑的最适pH均为8.0，菌丝体生长速度最快，基内菌丝发达，气生菌丝较发达。斑褶香蘑气生菌丝致密，呈洁白色，紫丁香蘑气生菌丝相对稀疏，呈灰白色。此外，紫丁香蘑在弱酸、中性、弱碱环境下均生长较好，在中性和弱碱条件下菌丝生长速度差异不显著，说明其对酸碱环境的适应能力相对较强。

2.6 不同温度对3株真菌菌丝生长速度的影响

结果(表6, 图3)显示，肉色香蘑的菌丝在21 °C生长速度最快，基内菌丝发达，稠密、粗壮，气生菌丝较发达，呈灰白色，随着温度的升高，菌丝生长速度逐渐下降，在27 °C时停止生长；斑

表 5 不同 pH 对供试菌株的菌丝体生长速度(mm/d)的影响**Table 5 Effect of different pH value on the mycelium growth rate (mm/d) of the tested strain**

香蘑属 <i>Lepista</i>	5.0	6.0	7.0	8.0	9.0
肉色香蘑	1.178±0.122a	1.700±0.092b	2.233±0.082c	2.033±0.092c	2.056±0.101d
<i>L. irina</i>					
斑褶香蘑	1.133±0.092a	1.356±0.125abc	1.478±0.128bc	1.644±0.101c	1.244±0.189ab
<i>L. panaeolus</i>					
紫丁香蘑	1.167±0.177a	2.033±0.194b	2.256±0.194c	2.344±0.101c	1.933±0.102b
<i>L. nuda</i>					

注: 数据为 3 次重复的平均值和标准差, 同列数据后无相同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

Note: The data is the mean and standard deviation of 3 replicates, the same lowercase letters after the same data indicate significant difference ($P<0.05$).

表 6 不同温度对供试菌株的菌丝体生长速度(mm/d)的影响**Table 6 Effect of different temperature on the mycelium growth (mm/d) rate of the tested strain**

香蘑属 <i>Lepista</i>	21 °C	23 °C	25 °C	27 °C	29 °C
肉色香蘑	2.500±0.092d	2.333±0.092c	2.244±0.184b	0.000±0.000a	0.000±0.000a
<i>L. irina</i>					
斑褶香蘑	1.022±0.149a	1.267±0.092b	1.644±0.184c	1.000±0.109a	1.069±0.109a
<i>L. panaeolus</i>					
紫丁香蘑	1.022±0.094a	1.056±0.176a	1.844±0.184c	1.356±0.122b	1.133±0.092a
<i>L. nuda</i>					

注: 数据为 3 次重复的平均值和标准差, 同列数据后无相同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

Note: The data is the mean and standard deviation of 3 replicates, the same lowercase letters after the same data indicate significant difference ($P<0.05$).

褶香蘑和紫丁香蘑的最佳生长温度均为 25 °C, 斑褶香蘑基内菌丝发达、稠密、粗壮, 气生菌丝较发达或相对稀疏, 而紫丁香蘑的基内菌丝和气生菌丝均极度发达, 菌丝粗壮、稠密、呈淡紫色, 且菌丝生长速度高于斑褶香蘑。

2.7 响应面法优化

3 株真菌的培养条件优化因子编码及各自变量水平见表 7。由表 8 的 Box-Behnken 试验设计及响应值可知, 肉色香蘑、斑褶香蘑、紫丁香蘑的最大拟合误差分别不超过 2.06%、1.54%、7.14%, 说明模型拟合度很好。由表 9 的二阶模型方差分析可知, 3 种香蘑的模型显著性检验 P 值均小于 0.05, 说明所有模型均具有统计学意义, 其中肉色香蘑模型的 X_1 、 X_1^2 、 X_2^2 , 斑褶香蘑模型的 X_1 、 X_2 、 X_1X_2 、 X_2X_3 、 X_1^2 、 X_2^2 、 X_3^2 和紫丁香蘑模型的 X_1 、 X_3 、 X_1X_2 、 X_1X_3 、 X_2X_3 、 X_1^2 、 X_2^2 、 X_3^2 均达到显著水平($P<0.05$)。模型中的失拟项 Lack of fit 表示所

构建的模型与实验拟合的程度, 即二者差异的程度。本实验中所构建的 3 种香蘑模型失拟项 P 值均大于 0.05, 失拟不显著, 说明无失拟因素存在。

由 Design expert 软件分析得到它们各自的二次响应面回归方程。

表 7 真菌培养条件优化的因素和水平**Table 7 Factors and levels of fungal culture conditions optimization**

香蘑属 <i>Lepista</i>	编码 Coding	因素 Factor	水平 Level		
			-1	0	1
肉色香蘑	X_1	葡萄糖 Glucose (g/L)	15	20	25
<i>L. irina</i>	X_2	土豆量 Potato (g/L)	150	200	250
	X_3	pH	6.0	7.0	8.0
斑褶香蘑	X_1	甘露醇 Mannitol (g/L)	15	20	25
<i>L. panaeolus</i>	X_2	酵母膏 Yeast extract (g/L)	5	10	15
	X_3	pH	7.0	8.0	9.0
紫丁香蘑	X_1	可溶性淀粉 Soluble starch (g/L)	15	20	25
<i>L. nuda</i>	X_2	KNO ₃ (g/L)	1	2	3
	X_3	pH	7.0	8.0	9.0

表 8 Box-Behnken 试验设计及响应值

Table 8 Box-Behnken test design and response value

编号 Number	因素 Factor			菌丝生长速度 Mycelial growth rate (mm/d)			拟合值 Fitted value (mm/d)			拟合误差 Fitting error (%)		
	碳源 Carbon source	氮源 Nitrogen source	pH				A	B	C	A	B	C
				A	B	C						
1	0	0	0	1.12	0.72	1.92	1.12	0.72	1.96	0.00	0.00	2.04
2	-1	1	0	0.91	0.66	0.91	0.90	0.65	0.86	-1.11	-1.54	-5.81
3	0	0	0	1.10	0.73	1.96	1.12	0.72	1.96	1.79	-1.39	0.00
4	1	-1	0	1.01	0.65	0.65	1.02	0.66	0.70	0.98	1.52	7.14
5	0	1	1	1.03	0.65	0.77	1.03	0.66	0.81	0.00	1.52	4.94
6	-1	0	1	0.94	0.69	1.11	0.95	0.70	1.12	1.05	1.43	0.89
7	0	0	0	1.12	0.72	2.00	1.12	0.72	1.96	0.00	0.00	-2.04
8	0	-1	-1	1.08	0.69	1.80	1.08	0.68	1.76	0.00	-1.47	-2.27
9	0	0	0	1.13	0.72	1.96	1.12	0.72	1.96	-0.89	0.00	0.00
10	1	0	-1	1.09	0.68	2.04	1.08	0.69	2.03	-0.93	1.45	-0.49
11	0	1	-1	1.07	0.69	1.96	1.06	0.70	1.96	-0.94	1.43	0.00
12	0	0	0	1.11	0.72	1.97	1.12	0.72	1.96	0.89	0.00	-0.51
13	1	0	1	1.10	0.69	0.90	1.08	0.68	0.84	-1.85	-1.47	-7.14
14	-1	-1	0	0.99	0.71	1.42	0.97	0.72	1.40	-2.06	1.39	-1.43
15	-1	0	-1	1.00	0.71	1.89	1.02	0.72	1.95	1.96	1.39	3.08
16	0	-1	1	1.05	0.71	0.89	1.06	0.70	0.89	0.94	-1.43	0.00
17	1	1	0	1.01	0.68	1.35	1.03	0.67	1.37	1.94	-1.49	1.46

注: A: 肉色香蘑; B: 斑褶香蘑; C: 紫丁香蘑。

Note: A: *Lipista irina*; B: *Lipista panaeolus*; C: *Lipista nuda*.

表 9 响应面二阶模型的方差分析

Table 9 ANOVA for response surface quadratic polynomial mode

Source	df	肉色香蘑 <i>L. irina</i>		斑褶香蘑 <i>L. panaeolus</i>		紫丁香蘑 <i>L. nuda</i>	
		F-value	P-value	F-value	P-value	F-value	P-value
X_1	1	40.00	0.000 4	14.06	0.007 2	6.91	0.034
X_2	1	3.54	0.102 1	18.36	0.003 6	2.40	0.165
X_3	1	4.21	0.079 4	2.58	0.152 1	734.37	<0.000 1
X_1X_2	1	3.74	0.094 4	36.72	0.000 5	133.07	<0.000 1
X_1X_3	1	2.86	0.134 5	5.16	0.057 3	11.78	0.011
X_2X_3	1	0.058 4	0.815 9	20.66	0.002 7	7.13	0.032
X_1^2	1	63.77	<0.000 1	37.69	0.000 5	214.97	<0.000 1
X_2^2	1	30.31	0.000 9	71.76	<0.000 1	389.98	<0.000 1
X_3^2	1	0.088 6	0.774 0	9.19	0.019 1	16.00	0.005 2
Lack of fit	3	6.35	0.053 1	6.35	0.053 1	6.49	0.051 2
Model	9	17.17	0.000 6	25.29	0.000 2	174.22	<0.000 1

肉色香蘑为: $Y_0 \text{ (mm/d)} = -0.492 + 0.976X_1 + 0.007X_2 - 0.033X_3 + 0.0008X_1X_2 + 0.035X_1X_3 - 0.00005X_2X_3 - 0.322X_1^2 - 0.000022X_2^2 - 0.003X_3^2$, 其中 R^2 为 0.96。

斑褶香蘑为: $Y_0 \text{ (mm/d)} = -0.082 + 0.0985X_1 + 0.278X_2 + 0.152X_3 + 0.08X_1X_2 + 0.015X_1X_3 - 0.03X_2X_3 - 0.079X_1^2 - 0.109X_2^2 - 0.00975X_3^2$, 其中 R^2 为 0.97。

紫丁香蘑为: $Y_0 \text{ (mm/d)} = -10.019 + 6.128X_1 +$

$13.977X_2 + 1.633X_3 + 6.05X_1X_2 - 0.18X_1X_3 - 0.7X_2X_3 - 1.499X_1^2 - 50.475X_2^2 - 0.102X_3^2$, 其中 R^2 为 0.99。

2.8 响应面分析

通过 Design expert 软件对各因素之间的交互作用进行分析作出响应面分析图(图 4), 它可以较为直观地预测和确定各变量之间的交互关系。图 4A-C 显示, 碳氮源对肉色香蘑的菌丝生长速度影

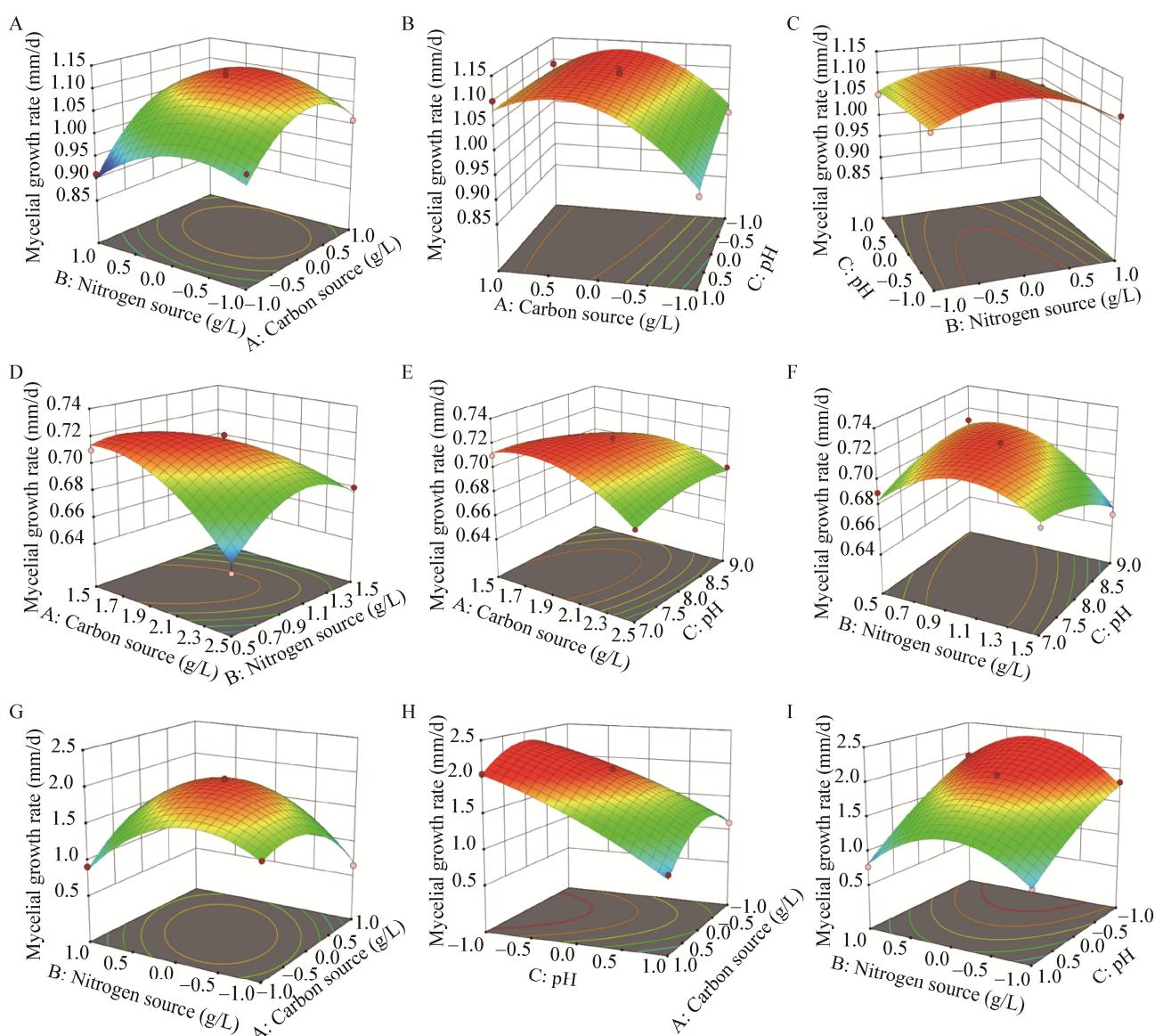


图 4 响应面分析立体图

Figure 4 Response surface analysis

注: A-C、D-F、G-I 分别为肉色香蘑, 斑褶香蘑, 紫丁香蘑的(X_1 、 X_2)、(X_1 、 X_3)、(X_2 、 X_3)立体分析图。

Note: A-C, D-F, G-I are stereoscopic analysis diagrams of (X_1 , X_2), (X_1 , X_3), (X_2 , X_3) of *L. irina*, *L. panaeolus*, *L. nuda*, respectively.

响极为明显，随着碳氮源浓度的升高，菌丝生长速度先升后降，出现最高点，两者交互作用显著，而菌丝生长速度虽然随着 pH 的降低逐渐变快，但是影响并不明显。图 4D-F 显示，碳氮源对斑褶香蘑的菌丝生长速度影响极为显著，随着两者浓度的变化，菌丝的生长速度随之改变，且两者交互作用显著，其菌丝生长速度随着 pH 的升高逐渐加快，在达到最高值后出现缓慢降低趋势，说明 pH 对斑褶香蘑的菌丝生长速度有一定的影响，但其响应面图坡度较为平缓，说明 pH 对斑褶香蘑菌丝生长速度的影响低于碳源和氮源。图 4G-I 显示，碳氮源对紫丁香蘑菌丝生长速度的影响也极为明显，并且两者交互作用极显著，其菌丝生长速度随着 pH 的降低逐渐加快且上升坡度较陡，说明 pH 对紫丁香蘑菌丝生长速度的影响极为明显。

2.9 优化后的最佳培养条件和验证试验

响应面优化结果表明，肉色香蘑最佳培养基配方及培养条件为：土豆 196.47 g/L、葡萄糖 20.9 g/L、pH 6.0、培养温度 21 °C，模型预测其菌丝日均生长速度为 1.13 mm/d，验证试验结果为 1.17 mm/d；斑褶香蘑为：甘露醇 17.4 g/L、酵母膏 8.1 g/L、B 族维生素 0.1 g/L、K₂HPO₄ 2.5 g/L、MgSO₄ 2.5 g/L、pH 7.9、培养温度 25 °C，模型预测其菌丝日均生长速度为 0.73 mm/d，验证试验结果为 0.80 mm/d；紫丁香蘑为：土豆 200 g/L、可溶性淀粉 20.5 g/L、KNO₃ 2.1 g/L、K₂HPO₄ 2.5 g/L、MgSO₄ 2.5 g/L、B 族维生素 0.1 g/L、pH 7.0、培养温度 25 °C，模型预测其菌丝日均生长速度为 2.38 mm/d，验证试验结果为 2.17 mm/d。显然，验证试验结果和模型预测结果基本一致。

3 讨论与结论

我国有关香蘑属真菌培养特性和栽培研究主要集中在紫丁香蘑(*L. nuda*)^[9-11]、花脸香蘑(*L. sordida*)^[12-14]、白香蘑(*L. caespitoso*)^[4]和灰紫香蘑(*L. glaucocana*)^[5,15]，有关斑褶香蘑的培养研究未

见记载，本实验首次对斑褶香蘑的菌丝体培养进行了研究。实验结果表明，与其他常见的香蘑属食用菌不同，斑褶香蘑的菌丝体可以利用甘露醇在弱碱(pH 7.9)环境中良好生长，该结果拓宽了人们对香蘑属真菌培养特性的认知。

有关肉色香蘑的培养研究仅见于刘红霞^[16]对河北省围场红松洼景区的肉色香蘑进行的分离和培养，发现其最佳碳源为可溶性淀粉(菌丝生长速度 3.43 mm/d)、氮源为硫酸铵、最适 pH 为 5.0，而本实验的肉色香蘑菌株的最佳碳源为葡萄糖(菌丝生长速度 2.26 mm/d)，对可溶性淀粉的利用能力较差(菌丝生长速度 1.51 mm/d)，其最佳氮源为土豆、最适 pH 为 6.0。这些结果表明，来自不同地域的肉色香蘑显然在营养物质和环境条件的需求上可能存在明显的差异，为进一步阐明肉色香蘑的培养特性和开展驯化栽培提供了新思路和依据。

紫丁香蘑的培养特性和驯化栽培研究在我国已积累了许多工作。如：刘红霞^[16]发现河北省围场县的紫丁香蘑菌丝体培养的最佳碳氮源分别为可溶性淀粉和酵母粉、最适 pH 为 5.5；赵婷^[10]发现吉林长白山的紫丁香蘑菌丝体培养的最佳碳氮源分别是蔗糖和酵母膏、适宜 pH 在 6.0-7.0、最适生长温度为 25 °C；朱峥等^[17]发现吉林左家自然保护区的紫丁香蘑的最佳碳源为麦芽糖、最佳氮源为牛肉膏、最适 pH 值为 6.0、最适温度为 20 °C；刘悦萍等^[18]研究了北京市怀柔区喇叭沟门原始次生林区的紫丁香蘑菌丝体生长条件，发现其最适碳源为蔗糖、最适氮源为酵母浸膏、最适 C/N 为 20:1、最适温度为 24 °C、最适 pH 为 7.0。本实验发现紫丁香蘑菌丝体生长的最佳碳氮源分别为可溶性淀粉和硝酸钾、最适 C/N 为 40:1、适宜 pH 在 6.0-8.0、最适温度为 25 °C。显然，来自不同地域的紫丁香蘑其在碳源和氮源的选择上差异不大，对环境中酸碱度的适应范围相对较宽，最适生长温度相近；本实验的菌株对无机氮源的利用好于有机氮源(表 3)，在弱酸、中性、弱碱(表 5)环境下均生长较好。这些结果在一定程度上表明，紫丁

香蘑对环境有相对较强的适应能力，具有实现商业化栽培的潜力。

此外，本实验结果显示，肉色香蘑和斑褶香蘑在优化后培养基上的菌丝生长速度低于基础培养基，这种现象的产生可能与菌种的退化有关。事实上，在本研究进行过程中，我们观察到菌丝生长速度似乎有下降的现象，因此在进行响应面优化实验的同时，尝试重复了部分单因素实验，发现生长速度长速出现了下降，如：肉色香蘑在 pH 为 6.0 时的菌丝日均生长速度为 0.768 mm/d，较之前单因素试验时的生长速度 1.700 mm/d（表 5）降低了 0.932 mm/d；斑褶香蘑在 pH 为 8.0 时日均生长速度为 0.661 mm/d，较之前单因素试验的生长速度 1.644 mm/d（表 5）降低了 0.983 mm/d。紫丁香蘑在优化后培养基上的菌丝生长速度大于基础培养基上，但单因素重复实验显示菌丝生长速度变慢，如 pH 为 7.0 时菌丝日均生长速度为 1.670 mm/d，较最初单因素试验的生长速度 2.256 mm/d（表 5）降低了 0.586 mm/d。这些结果表明供试菌株在实验进行过程中确实出现了退化，且不同菌株的退化程度不同，肉色香蘑和斑褶香蘑的退化速度相对较快，紫丁香蘑的退化速度相对较慢。菌种是科学研究与食用菌生产的重要物质基础^[19]，任何的退化变异都有可能给科学的研究和生产造成无法估量的损失^[20]，有关菌种退化的原因目前多认为主要与营养基质不良、菌株传代次数过多引起变异、长期低温保藏造成菌株活力下降提前出现老化现象等有关^[21-22]。本研究已经筛选出各菌株的最佳营养基质，在今后的工作中应进一步研究适合各菌株的保藏方法，减少传代次数，以保证菌株性状的稳定。

REFERENCES

- [1] Zhou F, Wang RJ, Li Y, et al. Biology and cultivation of the edible/medicinal fungus, *Lepista nuda*-a review[J]. *Acta Edulis Fungi*, 2010, 17(4): 79-83 (in Chinese)
周峰, 王瑞娟, 李玉, 等. 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
- [2] Chen Y, Sun H, Zhang SB, et al. Antioxidant and anti-tumor activities of extracts from *Lepista irina*[J]. *Food Science*, 2009, 30(23): 214-217 (in Chinese)
- [3] Ying JZ, Mao XL, Ma QM, et al. *Chinese Medicinal Fungi Illustration*[M]. Beijing: Science Press, 1987 (in Chinese)
应建浙, 卵晓岚, 马启明, 等. 中国药用真菌图鉴[M]. 北京: 科学出版社, 1987
- [4] Xu CL. Study on the culture characteristics of mycelium and artificial domestication of *Lepista caespitosa*[D]. Yanji: Master's Thesis of Yanbian University, 2009 (in Chinese)
徐冲力. 白香蘑菌丝体培养特性及人工驯化栽培研究[D]. 延吉: 延边大学硕士学位论文, 2009
- [5] Luan QS, Jin RZ, Yun LL. Study on biological determination and expanding breeding culture of *Lepista glaucocana*[J]. *Edible Fungi of China*, 2006, 25(5): 23-26 (in Chinese)
栾庆书, 金若忠, 云丽丽. 灰紫香蘑分离及生物学测定及扩繁培养[J]. 中国食用菌, 2006, 25(5): 23-26
- [6] Thongbai B, Wittstein K, Richter C, et al. Successful cultivation of a valuable wild strain of *Lepista sordida* from Thailand[J]. *Mycological Progress*, 2017, 16(4): 311-323
- [7] Tian GT, Yang QF, Xu XZ. A study on the domestication cultivation of *Lepista sordida*[J]. *Acta Edulis Fungi*, 2003, 10(1): 52-56 (in Chinese)
田果廷, 杨琼芬, 徐学忠. 紫花脸香蘑驯化栽培研究[J]. 食用菌学报, 2003, 10(1): 52-56
- [8] Li T, Song B, Lin QY, et al. Research on advances of *Lepista* epiphyte in China[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2011, 39(13): 7579-7581,7770 (in Chinese)
李挺, 宋斌, 林群英, 等. 我国香蘑属真菌研究进展[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(13): 7579-7581,7770
- [9] Chen MX, Peng JT, Chen JT, et al. Effects of some factors on the fruiting characteristics of *Lepista nuda* (Bull.) Cooke[J]. *Journal Agricultural Research of China*, 2003, 52(2): 99-106 (in Chinese)
陈美杏, 彭金腾, 陈锦桐, 等. 影响紫丁香蘑出菇因子之研究[J]. 中华农业研究, 2003, 52(2): 99-106
- [10] Zhao T. Study on the culture characteristics of mycelium and artificial domestication of *Lepista nuda*[D]. Yanji: Master's Thesis of Yanbian University, 2010 (in Chinese)
赵婷. 紫丁香蘑菌丝体培养特性及人工驯化栽培研究[D]. 延吉: 延边大学硕士学位论文, 2010
- [11] Dai CY, Cui XM. Domestication and cultivation of *Lepista nuda* in tea garden[J]. *Journal of Guizhou Tea*, 1994(1): 24 (in Chinese)
戴彩云, 崔晓明. 茶园自生食用菌紫丁香蘑的驯化栽培[J]. 贵州茶叶, 1994(1): 24
- [12] Li XH, Zhao B, Mo SF. Preliminary report on artificial domestication and cultivation techniques of *Lepista sordid* (Fr) Sing[J]. *Edible Fungi*, 2004, 26(3): 12-13 (in Chinese)
李晓华, 赵兵, 莫绍芬. 花脸香蘑人工驯化栽培技术初报[J]. 食用菌, 2004, 26(3): 12-13
- [13] Li WS, Lue YS, Wu TY, et al. Domestication of native *Lepista sordida* (Fr.) Singer in Taiwan[J]. *Journal of Taiwan Agricultural Research*, 2014, 63(3): 216-224 (in Chinese)

- 李玮崧, 吕昀升, 吴宗谚, 等. 台湾原生花脸香蘑 [*Lepista sordida* (Fr.) Singer] 之驯化[J]. 台湾农业研究, 2014, 63(3): 216-224
- [14] Li BQ, Chen ZM, Lin JY, et al. Comparative test of *Lepista sordida* cultivated by three different cultivation model[J]. Edible Fungi of China, 2014, 33(5): 33-34 (in Chinese)
李碧琼, 陈政明, 林俊扬, 等. 花脸香蘑 3 种不同栽培模式比较试验[J]. 中国食用菌, 2014, 33(5): 33-34
- [15] Feng XY. Studies on biological characteristics and cultivation techniques of *Lepista glaucocana* in Inner Mongolia[D]. Harbin: Master's Thesis of Northeast Forestry University, 2010 (in Chinese)
冯晓宇. 内蒙古灰紫香蘑生物学特性及栽培技术的研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学硕士学位论文, 2010
- [16] Liu HX. Studies on identification of macro fungi by ITS technique and domestication of 8 species of wild fungi[D]. Shijiazhuang: Master's Thesis of Hebei Normal University, 2014 (in Chinese)
刘红霞. 大型真菌 ITS 鉴定及 8 种野生蕈菌的驯化研究[D]. 石家庄: 河北师范大学硕士学位论文, 2014
- [17] Zhu Z, Zhang L, Xu JZ. Biology characteristics of a wild *Lepista nuda* from Zuojia protection zone[J]. Journal of Northeast Forestry University, 2015, 43(8): 25-28 (in Chinese)
朱峥, 张雷, 徐济责. 左家保护区的野生紫丁香蘑生物学特性[J]. 东北林业大学学报, 2015, 43(8): 25-28
- [18] Liu YP, Wang ZJ, Cui K, et al. Isolation, identification, culture conditions, and enzyme production of a wild mushroom *Lepista* sp.[J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2012, 18(5): 804-809 (in Chinese)
刘悦萍, 王子健, 崔凯, 等. 一种野生香蘑的分离、鉴定、培养条件与产酶特性[J]. 应用与环境生物学报, 2012, 18(5): 804-809
- [19] Zhang RY, Hu DD, Zuo XM, et al. Advances in the preservation of edible mushroom cultures[J]. Acta Edulis Fungi, 2010, 17(4): 84-88 (in Chinese)
张瑞颖, 胡丹丹, 左雪梅, 等. 食用菌菌种保藏技术研究进展[J]. 食用菌学报, 2010, 17(4): 84-88
- [20] Gu JG, Li SG, Jiang RB. Recent advance of fungi preservation technology[J]. Mycosistema, 2007, 26(2): 316-320 (in Chinese)
顾金刚, 李世贵, 姜瑞波. 真菌保藏技术研究进展[J]. 菌物学报, 2007, 26(2): 316-320
- [21] Liu HY, Dong YX, Zhou TB, et al. Degradation and rejuvenation of edible fungi[J]. Edible Fungi, 2003, 25(6): 16-17 (in Chinese)
刘海英, 董月香, 周廷斌, 等. 食用菌菌种的退化及复壮[J]. 食用菌, 2003, 25(6): 16-17
- [22] Li YJ, Sun GQ, Guo JF, et al. Latest research progress on the degradation mechanism and preventive measures of edible fungus strains[J]. Heilongjiang Agricultural Sciences, 2018(2): 136-139 (in Chinese)
李亚娇, 孙国琴, 郭九峰, 等. 食用菌菌种退化机制及预防措施的最新研究进展[J]. 黑龙江农业科学, 2018(2): 136-139