

## 研究报告

## 洁丽新韧伞的子实体培育与生物活性评价

白雪<sup>1</sup>, 张永杰<sup>1</sup>, 张姝<sup>\*1,2</sup>

1 山西大学生命科学学院, 山西 太原 030031

2 农业农村部农业微生物资源收集与保藏重点实验室, 北京 100081

白雪, 张永杰, 张姝. 洁丽新韧伞的子实体培育与生物活性评价[J]. 微生物学通报, 2024, 51(3): 921-934.

BAI Xue, ZHANG Yongjie, ZHANG Shu. Artificial cultivation and biological activity evaluation of *Neolentinus lepideus*[J]. Microbiology China, 2024, 51(3): 921-934.

**摘要:**【背景】我国食用菌产量高, 但新品种的选育相对滞后, 需要加强对野生食用菌资源的挖掘和利用。【目的】人工培育洁丽新韧伞子实体, 通过生物活性分析评价其开发潜力。【方法】从山西省交城县采集野生洁丽新韧伞子实体, 分离菌种并诱导产生子实体, 对得到的人工子实体进行生物活性分析和营养成分含量测定。【结果】从洁丽新韧伞野生子实体中分离得到菌株 ZYJ0862, 经系统发育分析确认其为洁丽新韧伞(*Neolentinus lepideus*)。该菌株在以樟子松木屑为主料、玉米粉为辅料的栽培培养基上能成功诱导出与野生子实体形态特征一致的人工子实体。通过与 5 种常见栽培菇的比较, 洁丽新韧伞人工子实体表现出较强的抗氧化和纤维素酶活性, 以及一定的木质素降解酶活性。营养成分含量分析发现, 洁丽新韧伞人工子实体呈现出高蛋白、低热量、低脂肪的特点。【结论】本研究报道了洁丽新韧伞在山西的分布, 确认洁丽新韧伞菌株 ZYJ0862 能够人工诱导出子实体, 具有一定的开发潜力, 并为洁丽新韧伞的规模化栽培提供了理论依据。

**关键词:** 洁丽新韧伞; 人工栽培; 抗氧化; 纤维素降解; 木质素降解; 营养成分

资助项目: 农业农村部农业微生物资源收集与保藏重点实验室开放基金(KLMRCP2023-01)

This work was supported by the Open Fund Project of Key Laboratory of Microbial Resources Collection and Preservation, Ministry of Agriculture and Rural Affairs (KLMRCP2023-01).

\*Corresponding author. E-mail: zhangshu@sxu.edu.cn

Received: 2023-08-17; Accepted: 2023-09-26; Published online: 2023-11-21

# Artificial cultivation and biological activity evaluation of *Neolentinus lepideus*

BAI Xue<sup>1</sup>, ZHANG Yongjie<sup>1</sup>, ZHANG Shu<sup>\*1,2</sup>

1 School of Life Science, Shanxi University, Taiyuan 030031, Shanxi, China

2 Key Laboratory of Microbial Resources Collection and Preservation, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Beijing 100081, China

**Abstract:** [Background] Although being a major producer of edible fungi, China remains to improve the breeding of new varieties and strengthen the excavation and utilization of wild edible fungal resources. [Objective] To cultivate the fruiting bodies of *Neolentinus lepideus* and evaluate its development potential based on the biological activity analyses. [Methods] The wild fruiting bodies of *N. lepideus* were collected from Jiaocheng County, Shanxi Province, and the cultures were isolated and induced to produce fruiting bodies in the laboratory. The biological activities and nutrient composition of the artificially cultivated fruiting bodies were determined. [Results] From the wild fruiting bodies of *N. lepideus*, the strain ZYJ0862 was obtained and identified as *N. lepideus* by the phylogenetic analysis. On the medium with pine sawdust as the main material and corn meal as the complementary material, the strain was successfully induced to generate fruiting bodies. The artificially cultivated fruiting bodies had consistent morphological characteristics with the wild fruiting bodies. Compared with five other commercially cultivated mushrooms, the artificially cultivated fruiting bodies of *N. lepideus* showed strong antioxidant and cellulase activities, as well as certain lignin-degrading enzyme activities. In addition, the artificially cultivated fruiting bodies of *N. lepideus* had high protein, low calorie, and low fat. [Conclusion] The distribution of *N. lepideus* in Shanxi was reported for the first time in this study. The strain ZYJ0862 capable of generating fruiting bodies under artificial cultivation conditions demonstrated high development potential. This study provided a theoretical basis for the large-scale cultivation of *N. lepideus*.

**Keywords:** *Neolentinus lepideus*; artificial cultivation; anti-oxidation; cellulose degradation; lignin degradation; nutrient composition

大型真菌指能形成肉质或胶质子实体或菌核的高等真菌，大多隶属担子菌门，少数隶属子囊菌门。我国大型真菌资源丰富，至少包括 1 662 个分类单元，其中食用菌有 1 020 种，药用菌有 692 种，毒蘑菇有 480 种<sup>[1]</sup>。我国是世界上最早栽培食用菌的国家，也是目前食用菌产量最高的国家。根据中国食用菌协会统计，2021 年全国食用菌鲜品总产量为 4 133.96 万 t，实现总产值 3 475.63 亿元，均占世界 75%以上<sup>[2]</sup>。

但是，我国食用菌新品种和优良品种的选育相对滞后，需要加强对野生优质食用菌资源的挖掘和利用。

洁丽新韧伞 [*Neolentinus lepideus* (Fr.) Redhead & Ginns] [= *Lentinus lepideus* (Fr.) Fr.]，又名洁丽新香菇、豹皮新香菇、鳞皮新香菇、洁丽香菇、豹皮香菇、豹皮菇和豹皮斗菇等<sup>[3]</sup>。洁丽新韧伞的形态特征与香菇 [*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler] [= *Lentinus edodes* (Berk.) Singer]较

为相似, 曾被归入韧伞属(*Lentinus*, 隶属多孔菌目), 但由于其木腐机理与香菇等白腐菌不同, 分类学家后来将其从韧伞属分离出来成立新韧伞属(*Neolentinus*, 隶属黏褶菌目)<sup>[4]</sup>。多项独立的分子系统发育研究也支持将洁丽新韧伞归入黏褶菌目<sup>[5-7]</sup>。洁丽新韧伞目前在权威真菌分类数据库(如 Fungal Names、Mycobank 和 Index Fungorum)中的分类地位均为担子菌门(*Basidiomycota*)伞菌纲(*Agaricomycetes*)黏褶菌目(*Gloeophyllales*)黏褶菌科(*Gloeophyllaceae*)。作为食用菌, 其肉质紧实, 具有独特的松木清香, 具有进入高端食用菌市场的潜力; 作为药用菌, 其发酵产物具有抗高血压、抗肿瘤、提高细胞免疫和抑制透明质酸酶等功能, 其子实体提取物具有抗高血糖、抗氧化等功能<sup>[8-14]</sup>。进一步挖掘和利用洁丽新韧伞资源, 实现野生资源的驯化栽培具有重要意义。

洁丽新韧伞人工子实体培育方面目前已有的一些研究工作。例如, Jang 等利用分离自日本和韩国的洁丽新韧伞菌株, 探究了栽培培养基组成对诱导子实体的影响, 发现在樟子松木屑+玉米粉的栽培培养基中可长出子实体, 鲜重可达 115 g/kg<sup>[15-16]</sup>。杨珍福等从云南省丽江市玉龙县分离到洁丽新韧伞菌株, 可在以麦粒为主料的栽培培养基上培育出子实体, 但人工子实体的菌盖肉色、鳞片不明显, 菌褶红棕色, 与野生子实体差异较大<sup>[17]</sup>。

目前, 洁丽新韧伞野生资源在我国仅发现于云南<sup>[17]</sup>、黑龙江<sup>[18]</sup>和贵州<sup>[19]</sup>, 山西尚无该物种的明确记载。作者近年进行山西野生真菌资源调查时多次采集到洁丽新韧伞子实体。本研究从采集的洁丽新韧伞新鲜子实体中分离真菌菌株, 进而开展子实体培育和活性评价工作, 以期确定该物种的开发价值, 丰富我国食用菌资源, 并为其规模化栽培提供理论依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

在 2017–2019 年 7–8 月间, 在山西省交城县庞泉沟国家级自然保护区进行真菌资源调查期间, 多次在倒腐木或树桩上采集到疑似洁丽新韧伞的野生子实体。新鲜子实体带回实验室后用 70%酒精进行表面擦拭, 在超净工作台用双手掰开菌柄与菌盖接合部, 取小块内部组织接种于 PDA 平板上进行菌种分离。购买人工栽培的香菇(*Lentinula edodes*, Le)、杏鲍菇(*Pleurotus eryngii*, Pe)、金针菇(冬菇)(*Flammulina filiformis*, Ff)、斑玉蕈(白玉菇)(*Hypsizygus marmoreus*, Hm)和糙皮侧耳(平菇)(*Pleurotus ostreatus*, Po)作为生物活性和营养成分评价中的对照材料。

培养基: 种子培养基(g/L): 马铃薯 200.00 (去皮切块沸水煮 30 min, 四层纱布过滤 2 次取滤液), 葡萄糖 20.00, 蛋白胨 5.00,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1.50,  $\text{MgSO}_4$  0.50, 维生素 B<sub>1</sub> 0.01, pH 自然。分装至 250 mL 规格的锥形瓶中, 每瓶装 100 mL 培养液和 3 颗玻璃珠, 121 °C 蒸汽灭菌 25 min。

人工栽培培养基: 在 450 mL 带透气孔瓶盖的玻璃瓶中加入樟子松木屑 30.87 g, 玉米粉 3.43 g, 葡萄糖 0.70 g, 蒸馏水 65 mL, 121 °C 蒸汽灭菌 25 min。

羧甲基纤维素钠(sodium carboxymethyl cellulose, CMC-Na)培养基(g/L): 羧甲基纤维素钠 2.00,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0.30, 酵母粉 0.30,  $\text{MgSO}_4$  0.15,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.30, 琼脂 3.00, 蒸馏水 300 mL, pH 自然, 121 °C 蒸汽灭菌 25 min, 适当冷却后添加 30 mg/mL 链霉素和四环素盐酸盐。

2,2-二苯基-1-三硝基苯肼(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, DPPH)、水杨苷和考马斯亮蓝 G250, 上海麦克林生化科技股份有限公司; 水

杨酸、牛血清蛋白、2,6-二甲基苯酚和藜芦醇, 上海源叶生物科技有限公司; 2,2-联氮-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸 [2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), ABTS], 北京酷来搏科技有限公司; 卢戈碘液、CMC-Na 和 3,5-二硝基水杨酸(3,5-dinitrosalicylic acid, DNS), 北京索莱宝科技有限公司。分析天平, 奥豪斯仪器(上海)有限公司; 高通量多样品组织研磨仪, 南京先欧仪器制造有限公司; 超声波清洗机, 昆山市超声仪器有限公司; 冷冻高速离心机, 贝克曼库尔特有限公司; 超微量分光光度计, 赛默飞世尔科技公司; 紫外可见分光光度计, 上海美谱达仪器有限公司。

## 1.2 物种鉴定

参照真菌分类著作《中国大型菌物资源图鉴》<sup>[20]</sup>对采集的野生子实体进行初步鉴定。从野生子实体中分离得到菌株 ZYJ0862, 将其保藏到中国普通微生物菌种保藏管理中心, 保藏号为 CGMCC 40365。使用十六烷基三甲基溴化铵(cetyl trimethyl ammonium bromide, CTAB)法<sup>[21]</sup>提取洁丽新韧伞野生子实体和 ZYJ0862 菌丝体的 DNA, 参考文献[22]中的引物和 PCR 反应条件扩增 nrDNA ITS 片段。扩增产物送苏州金唯智生物科技有限公司进行测序, 测得的序列在 GenBank 数据库(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>)中进行比对分析。从 NCBI 网站下载新韧伞属物种的 nrDNA ITS 序列, 使用软件 MEGA 7.0<sup>[23]</sup>进行序列比对后采用邻接法和 Kimura 2-parameter 模型构建系统发育树, 进行 1 000 次重复的自展检验。以黏褶菌属(*Gloeophyllum*)的 3 个物种为外群。

## 1.3 子实体人工培养

将菌株 ZYJ0862 接种到 PDA 平板上 28 °C 培养 7 d 进行活化。准备种子培养基, 每瓶接入 5 块从 PDA 平板菌落边缘打取的菌块( $\Phi=5$  mm),

在 28 °C、160 r/min 条件下振荡培养约 15 d, 直至出现均匀菌丝球。

制备人工栽培培养基灭菌后冷却至室温。将 5 mL 枪头的前段剪去, 将 5 mL 液体培养物均匀接种在培养基表面。接菌后采取以下管理措施: (1) 菌丝生长阶段: 在 28 °C、相对湿度 50%–60%条件下, 避光培养至菌丝长满培养料。(2) 原基诱导阶段: 菌丝长满培养料后, 调整温度为 22 °C 诱导原基产生, 相对湿度和光照与上阶段相同。(3) 子实体生长阶段: 原基产生后, 设置温度 24 °C、相对湿度 80%–90%、光照 100 lx 连续给光 12 h/d。子实体长出菌盖但未完全开伞时采收, 选择 15 个子实体测量鲜重(g)、菌盖直径(mm)和菌柄长度(mm)。

## 1.4 抗氧化活性测定

样品制备: (1) 鲜菇样品: 将 10 g 蘑菇子实体以及少许石英砂和玻璃珠分批加到 2 mL 离心管中, 65 Hz 研磨 180 s, 蒸馏水洗涤离心管, 洗涤水移入 50 mL 容量瓶中, 添加蒸馏水定容配制成浓度 0.2 g/mL 的样品溶液, 然后用超声波清洗机在 360 W、50 °C 条件下处理 15 min。(2) 干制样品: 使用电热鼓风干燥箱 58 °C 将蘑菇子实体烘至恒重, 研钵中磨碎后过 50 目筛, 取 0.5 g 样品加适量蒸馏水溶解定容至 50 mL, 配制成浓度 0.01 g/mL 的样品溶液, 用超声波清洗机在 360 W、50 °C 条件下处理 15 min。超声处理过的鲜菇或干制样品提取液用蒸馏水进行稀释, 鲜菇配制成 0.2、0.1、0.05、0.025 和 0.012 5 g/mL 的梯度稀释液, 干制品配制成 0.01、0.005、0.002 5 和 0.001 25 g/mL 的梯度稀释液。

测定 DPPH 自由基清除率<sup>[24]</sup>、羟基自由基清除率<sup>[25]</sup>和 ABTS 自由基清除率<sup>[26]</sup>方法详见参考文献。以维生素 C (vitamin C, VC) 在对应浓度下的自由基清除率为阳性对照。使用 SPSS 软件计算半数抑制浓度(half-maximal inhibitory

concentration,  $IC_{50}$ )<sup>[27]</sup>, 即自由基清除率为 50% 时的浓度。通过公式  $IC_{50(VC)}/IC_{50(样品)}$  计算比活性。

### 1.5 纤维素降解酶活性测定

按照 1.4 中样品制备方法制备 0.1 g/mL 鲜菇和干制样品提取液, 使用 CMC-Na 培养基直观判断纤维素酶活性大小, 进一步根据葡萄糖标准曲线计算具体酶活。

制备 CMC-Na 平板, 凝固后使用打孔器 ( $\Phi=4$  mm) 在平板表面打孔, 孔内注入 50  $\mu$ L 样品提取液, 每个样品重复 3 孔, 以注入蒸馏水为阴性对照。平板在 25  $^{\circ}$ C 放置 16 h 后使用 5 mL 5% 碘液染色 1 h, 然后用蒸馏水洗脱并浸泡 5 min, 根据平板褪色情况初步判断纤维素酶活力。

绘制葡萄糖标准曲线方法详见参考文献[28]。测定全酶(filter paperase, FPase)活性、外切酶(又称纤维二糖水解酶 cellobiohydrolase, CBH)活性、内切酶(endo-1,4- $\beta$ -D-glucanase, EG)活性和  $\beta$ -葡萄糖苷酶( $\beta$ -1,4-glucosidase,  $\beta$ -Gase)活性方法详见参考文献[29]。

### 1.6 木质素降解酶活性测定

按照 1.4 方法进行鲜菇和干制品处理, 制备浓度为 0.1 g/mL 的样品提取液。测定漆酶(laccase, Lac)<sup>[30]</sup>、锰过氧化物酶(manganese peroxidase, MnP)<sup>[31]</sup>和木质素过氧化物酶(lignin peroxidase, LiP)<sup>[32]</sup>活性方法详见参考文献。测定 2 种过氧化物酶活性均为加入 10  $\mu$ L 的 10 mmol/L 过氧化氢溶液启动反应, 迅速测定最大吸收波长处吸光度, 30  $^{\circ}$ C 反应 3 min 再次测定吸光度, 计算增量。

### 1.7 主要营养成分含量测定

粗多糖含量的测定方法参照 NY/T 1676—2008 中的苯酚-硫酸法<sup>[33]</sup>。粗脂肪含量测定方法参照国标 GB 5009.6—2016 中的酸水解法<sup>[34]</sup>。粗蛋白含量的测定使用考马斯亮蓝 G250 法, 详见

参考文献[35]。

### 1.8 数据处理

使用 IBM SPSS Statistics 26 进行数据处理和显著性分析, 使用 Microsoft Excel 2010 进行统计分析, 试验结果以平均值 $\pm$ 标准差表示, 使用 Origin 2019b 64Bit 绘图。

## 2 结果与分析

### 2.1 菌株分离与鉴定结果

采集的野生子实体菌盖灰白色至浅褐色, 具褐色鳞片; 菌褶灰白色(干后黄褐色), 延生至菌柄, 不等长, 褶缘锯齿状; 菌柄圆柱形, 有膜状绒毛, 上部浅黄色, 基部浅褐色, 有褐色鳞片(图 1A)。这些特征与洁丽新韧伞形态特征相近。分离得到的菌株 ZYJ0862 在 PDA 培养基上菌落白色, 生长较快, 8 d 时直径可达约 6.3 cm (图 1B)。从野生子实体及菌株 ZYJ0862 中扩增出的 nrDNA ITS 序列完全相同。将 nrDNA ITS 序列在 GenBank 数据库中进行 BLAST 搜索, 与洁丽新韧伞(KY433984)的序列相似度达到 98.7%。基于 ITS 序列使用邻接法构建系统发育树, 菌株 ZYJ0862 与其他已知的洁丽新韧伞样品以 99% 的节点支持率聚在一支(图 1C)。综合以上数据, 本研究将菌株 ZYJ0862 鉴定为洁丽新韧伞。菌株 ZYJ0862 的 nrDNA ITS 序列已提交到 GenBank, 登录号为 OR142398。

### 2.2 子实体培育结果

在以樟子松木屑为主料、玉米粉为辅料的栽培培养基上可以成功诱导出洁丽新韧伞的子实体, 其中, 菌丝生长阶段需 20–25 d, 原基诱导阶段需 7 d, 子实体生长至成熟需 20–40 d。人工子实体的特征为: 子实体单生或丛生; 菌盖半球形, 直径 1–5 cm, 乳白色至淡黄色, 有褐色丛毛状鳞片, 表皮延生; 菌褶白色, 延生, 不等长, 褶缘锯齿状; 菌柄中生, 圆柱形, 长

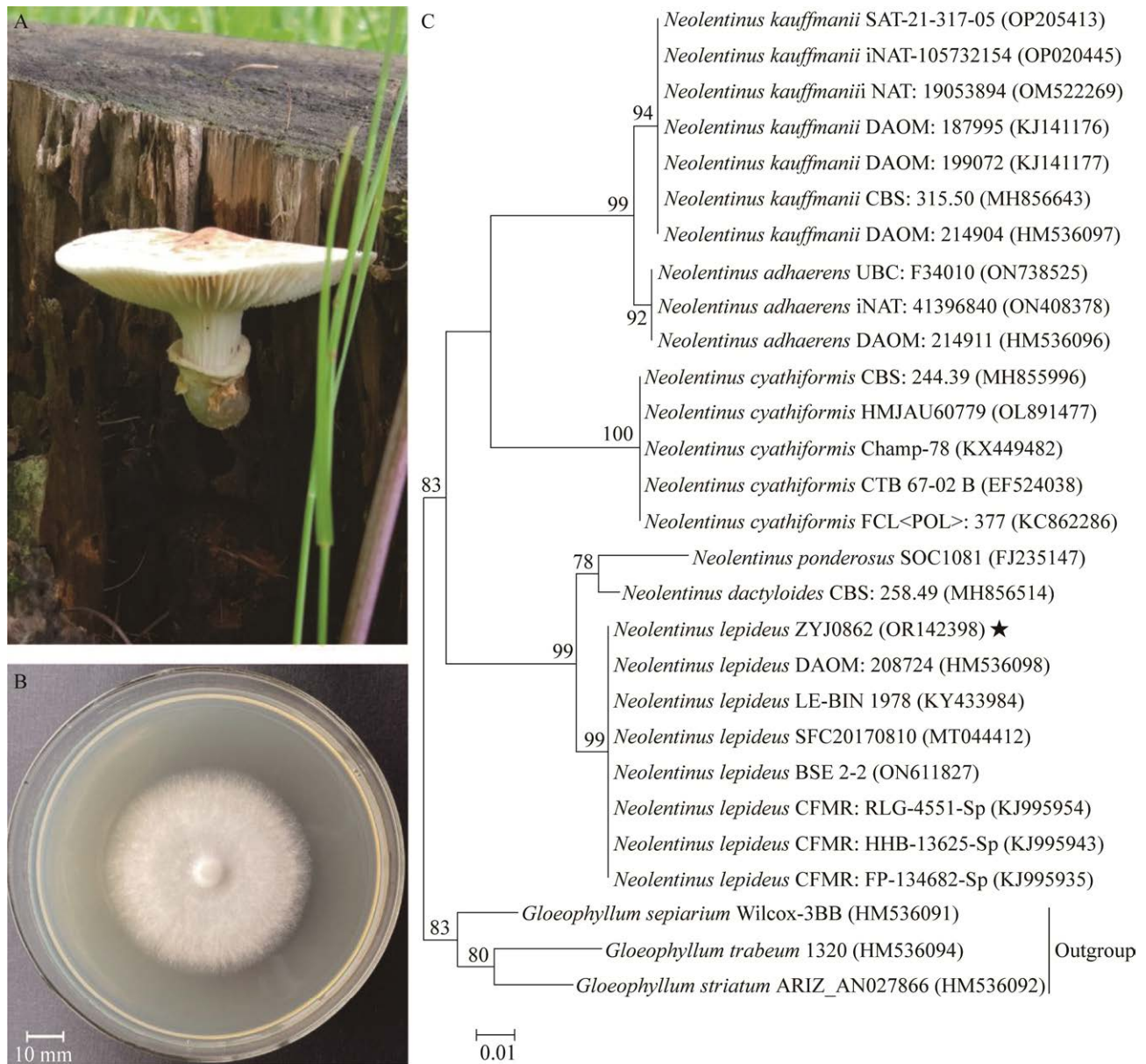


图 1 洁丽新韧伞野生子实体(A)、菌落形态(B)和基于 nrDNA ITS 序列构建的系统发育树(C) 新韧伞属目前已知 9 个物种, 其中 3 个物种(*N. cirrhosus*、*N. pallidus* 和 *N. papuanus*)缺乏 nrDNA ITS 序列, 因此, 只有 6 个物种用于系统发育分析. 系统发育树中每个分类群的名称包含物种名、菌株名和 GenBank 序列登录号(括号中), 分支上数字表示节点支持率, 标尺代表遗传距离, 星号代表本研究使用的菌株

Figure 1 Wild fruiting body (A), colony morphology (B) and phylogenetic tree (C) of *Neolentinus lepideus* based on nrDNA ITS sequences. *Neolentinus* contains nine accepted species currently with three (*N. cirrhosus*, *N. pallidus*, and *N. papuanus*) lacking available ITS sequences. Therefore, only six *Neolentinus* species are used for the phylogenetic analysis. Names of each taxa in the phylogenetic tree include species name, strain name and GenBank accession number (within parentheses). Numbers on branches indicate the support values of those nodes, and the scale represents the genetic distance. The star indicates the strain used in this study.



3–15 cm, 直径 0.5–1.0 cm, 纤维质, 实心, 具褐色鳞片, 上部有单层菌环(图 2)。人工子实体的典型特征与野生子实体相符。人工子实体单重平均 1.28 g, 产量 6.91 g/100 g, 测定其 nrDNA ITS 序列与野生子实体一致。

### 2.3 抗氧化活性

在清除 DPPH 自由基方面, 洁丽新韧伞子实体鲜菇与干制品都具有较高的清除能力, 鲜菇的  $IC_{50}$  为  $1.18 \times 10^{-2}$  g/mL, 干制品的  $IC_{50}$  为  $5.04 \times 10^{-4}$  g/mL, 其清除能力低于香菇, 但高于其余 4 种市售蘑菇(表 1)。

在清除羟基自由基方面, 洁丽新韧伞子实体鲜菇具有较高的清除能力,  $IC_{50}$  为  $1.56 \times 10^{-2}$  g/mL, 其清除能力高于其余 5 种市售

蘑菇。然而, 干制影响洁丽新韧伞的羟基自由基清除能力, 干制品的  $IC_{50}$  为  $3.59 \times 10^{-3}$  g/mL, 仅略高于香菇(表 1)。

在清除 ABTS 自由基方面, 洁丽新韧伞与香菇鲜菇均具有较高的清除能力, 在测定浓度范围内(0.01–0.20 g/mL)始终保持较高水平, 继续稀释 3 个梯度, 才测得低于 50% 的自由基清除率。洁丽新韧伞鲜菇的  $IC_{50}$  为  $4.11 \times 10^{-3}$  g/mL, 其清除能力高于其他 5 种市售蘑菇; 干制品的  $IC_{50}$  为  $1.22 \times 10^{-3}$  g/mL, 其清除能力仅低于香菇, 高于其余 4 种市售蘑菇(表 1)。

### 2.4 纤维素降解酶活性

根据 CMC-Na 平板碘液染色初筛结果(图 3A–3F), 洁丽新韧伞的干制品、平菇的鲜菇



图 2 洁丽新韧伞人工子实体的培育过程 A: 菌丝生长阶段. B: 原基诱导阶段. C: 未成熟子实体. D: 成熟子实体. E–G: 采收的子实体

Figure 2 Process of artificial fruiting body cultivation of *Neolentinus lepideus*. A: Mycelial growth stage. B: Primordia induction stage. C: Immature fruiting body. D: Mature fruiting body. E–G: Harvested fruiting bodies.

表 1 洁丽新韧伞及 5 种市售蘑菇抗氧化活性分析

Table 1 Antioxidant activity of *Neolentinus lepideus* and five commercially available mushrooms

| 样品<br>Sample         | DPPH 自由基清除率<br>Scavenging DPPH free<br>radicals |                                 | 羟基自由基清除率<br>Scavenging ·OH free<br>radicals |                                 | ABTS 自由基清除率<br>Scavenging ABTS free<br>radicals |                                 |                       |
|----------------------|---|---------------------------------|---|---------------------------------|---|---------------------------------|-----------------------|
|                      | $IC_{50}$<br>(g/mL)                             | 比活性<br>Specific<br>activity (%) | $IC_{50}$<br>(g/mL)                         | 比活性<br>Specific<br>activity (%) | $IC_{50}$<br>(g/mL)                             | 比活性<br>Specific<br>activity (%) |                       |
|                      | 阳性对照<br>Positive control                        | VC                              | $1.28 \times 10^{-6}$                       | 100                             | $4.62 \times 10^{-7}$                           | 100                             | $9.36 \times 10^{-6}$ |
| 鲜菇<br>Fresh mushroom | Nl  | $1.18 \times 10^{-2}$           | 0.011                                       | $1.56 \times 10^{-2}$           | 0.003   | $4.11 \times 10^{-3}$           | 0.228                 |
|                      | Le  | $2.65 \times 10^{-3}$           | 0.048                                       | $2.58 \times 10^{-2}$           | 0.002   | $5.24 \times 10^{-3}$           | 0.179                 |
|                      | Pe  | $1.04 \times 10^{-1}$           | 0.001                                       | $5.24 \times 10^{-2}$           | 0.001   | $5.05 \times 10^{-2}$           | 0.019                 |
|                      | Ff  | $2.17 \times 10^{-2}$           | 0.006                                       | $4.37 \times 10^{-2}$           | 0.001   | $1.68 \times 10^{-2}$           | 0.056                 |
|                      | Hm  | $1.95 \times 10^{-2}$           | 0.007                                       | $2.85 \times 10^{-2}$           | 0.002   | $2.66 \times 10^{-2}$           | 0.035                 |
|                      | Po  | $4.25 \times 10^{-2}$           | 0.003                                       | $4.06 \times 10^{-2}$           | 0.001   | $5.10 \times 10^{-2}$           | 0.018                 |
| 干制品<br>Dry product   | Nl  | $5.04 \times 10^{-4}$           | 0.254                                       | $3.59 \times 10^{-3}$           | 0.013   | $1.22 \times 10^{-3}$           | 0.768                 |
|                      | Le  | $1.47 \times 10^{-4}$           | 0.869                                       | $4.22 \times 10^{-3}$           | 0.011   | $1.09 \times 10^{-3}$           | 0.862                 |
|                      | Pe  | $2.25 \times 10^{-3}$           | 0.057                                       | $3.57 \times 10^{-3}$           | 0.013   | $2.19 \times 10^{-3}$           | 0.427                 |
|                      | Ff  | $1.49 \times 10^{-3}$           | 0.086                                       | $3.30 \times 10^{-3}$           | 0.014   | $2.68 \times 10^{-3}$           | 0.348                 |
|                      | Hm  | $1.51 \times 10^{-3}$           | 0.085                                       | $2.14 \times 10^{-3}$           | 0.022   | $2.64 \times 10^{-3}$           | 0.355                 |
|                      | Po  | $1.22 \times 10^{-2}$           | 0.011                                       | $2.11 \times 10^{-3}$           | 0.022   | $2.97 \times 10^{-3}$           | 0.315                 |

Nl: 洁丽新韧伞; Le: 香菇; Pe: 杏鲍菇; Ff: 金针菇; Hm: 白玉菇; Po: 平菇. 下同

Nl: *Neolentinus lepideus*; Le: *Lentinula edodes*; Pe: *Pleurotus eryngii*; Ff: *Flammulina filiformis*; Hm: *Hypsizygus marmoreus*; Po: *Pleurotus ostreatus*. The same below.

和干制品具有相对较高的纤维素酶活性, 香菇、杏鲍菇和金针菇的干制品具有相对较弱的纤维素酶活性。

由于 CMC-Na 平板上褪色圈的大小和褪色程度不能直接计算纤维素酶活力, 因此通过制备葡萄糖标准曲线进行了酶活的具体测定, 以葡萄糖含量(mg)为横坐标、吸光度为纵坐标绘制标准曲线:  $y=1.3077x-0.0176$ ,  $R^2=0.9956$ 。对于鲜菇, 洁丽新韧伞的全酶、外切酶、内切酶和  $\beta$ -葡萄糖苷酶活性分别为(18.51±0.90)、(17.54±0.78)、(19.71±0.77)和(19.94±1.11) U/mL, 4 种酶活性均仅次于平菇, 不显著低于其余 4 种蘑菇(图 3G, 表 2)。对于干制品, 洁丽新韧伞的全酶、外切酶、内切酶和  $\beta$ -葡萄糖苷酶活性分别为(162.64±1.95)、(153.52±4.97)、(106.56±6.49)和(166.52±1.86) U/mL, 除内切酶活性较低外,

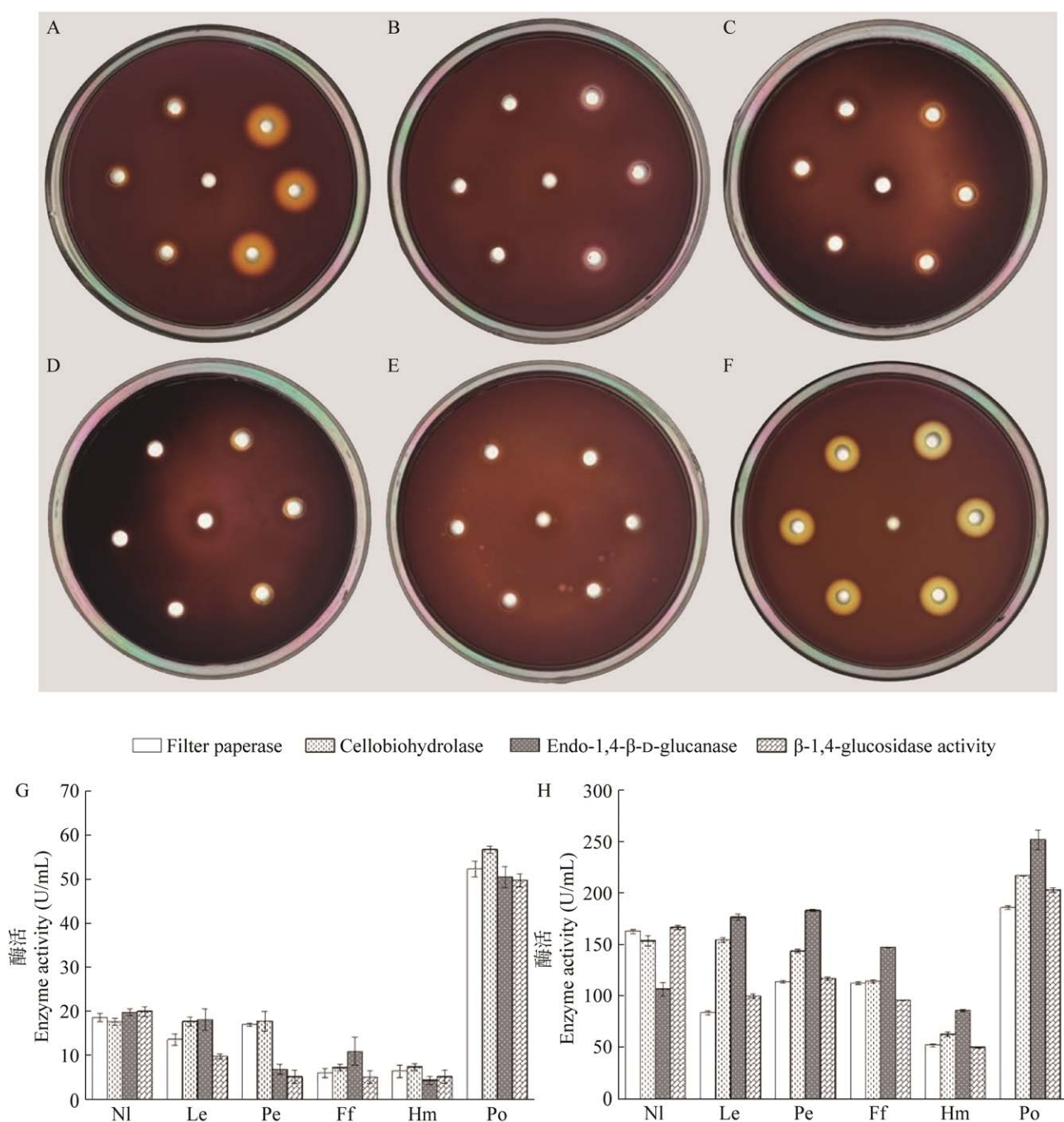
其余 3 种酶活性均仅次于平菇(图 3H, 表 2)。

## 2.5 木质素降解酶活性

对于鲜菇, 洁丽新韧伞漆酶活性为(33.43±2.71) U/mL, 木质素过氧化物酶活性为(43.92±2.08) U/mL, 与杏鲍菇和文献[29]中测定的酶活性比较, 活性均较低, 锰过氧化物酶测定 470 nm 处吸光度 3 min 增量小于 0.10, 认为无锰过氧化物酶活性。总之, 洁丽新韧伞木质素降解能力较差, 其他市售蘑菇中只有杏鲍菇测出完备的木质素降解酶系且活性较高(表 3, 图 4A)。

对于干制品, 洁丽新韧伞漆酶活性为(22.59±4.81) U/mL, 木质素过氧化物酶活性为(57.08±1.63) U/mL, 无锰过氧化物酶活性(表 3, 图 4B)。洁丽新韧伞和市售蘑菇鲜菇和干制品均表现出相同的木质素降解酶种类。





**图 3** 六种食用菌的纤维素酶活性 A-F: 分别为洁丽新韧伞、香菇、杏鲍菇、金针菇、白玉菇和平菇提取液 CMC-Na 平板碘液染色褪色情况, 左为鲜菇, 右为干制品, 中为空白对照. G: 鲜菇 4 种纤维素酶活性. H: 干制品 4 种纤维素酶活性

Figure 3 Cellulase activities for six different edible fungi. A-F: The iodine staining and fading of CMC-Na plate of NI, Le, Pe, Ff, Hm, and Po, respectively. In each plate, the left three holes are for fresh mushroom; the right for dry product; and the middle for blank control. G: Four cellulase activities of fresh mushrooms. H: Four cellulase activities of dried products.

表 2 洁丽新韧伞及 5 种市售蘑菇纤维素酶活性

Table 2 Cellulase activity of *Neolentinus lepideus* and five commercially available mushrooms

| 样品<br>Sample      | CMC-Na 褪色情况<br>Fading on CMC-Na plate |                                 | 全酶酶活<br>Filter paperase<br>activity (U/mL) | 外切酶酶活<br>Cellobiohydrolase<br>activity (U/mL) | 内切酶酶活<br>Endo-1,4-β-D-<br>glucanase activity<br>(U/mL) | β-葡萄糖苷酶<br>酶活<br>β-1,4-glucosidase<br>activity (U/mL) |
|-------------------|---------------------------------------|---------------------------------|--|---|--|---|
|                   | 褪色圈直径<br>Fading ring<br>diameter (mm) | 褪色程度<br>Discoloration<br>degree |  |   |  |   |
|                   | 鲜菇 Fresh mushroom                     |                                 |  |   |  |   |
| Nl                | 8.00                                  | +                               | 18.51±0.90b                                | 17.54±0.78b                                   | 19.71±0.77b  | 19.94±1.11b   |
| Le                | 7.00                                  | ++                              | 13.50±1.26c                                | 17.60±1.13b                                   | 18.06±2.45b  | 9.68±0.50c  |
| Pe                | 6.50                                  | +                               | 16.92±0.40b                                | 17.71±2.22b                                   | 6.66±1.06cd  | 5.00±1.49d  |
| Ff                | 5.83                                  | +                               | 5.75±1.01d                                 | 7.00±0.69c                                    | 10.76±3.24c  | 4.95±1.43d  |
| Hm                | 5.00                                  | -                               | 6.26±1.37d                                 | 7.17±0.77c                                    | 4.26±0.93d   | 5.00±1.49d  |
| Po                | 5.50                                  | ++                              | 52.31±1.72a                                | 56.76±0.77a                                   | 50.49±2.37a  | 49.75±1.43a   |
| 干制品 Dried product |                                       |                                 |  |   |  |   |
| Nl                | 13.17                                 | +                               | 162.64±1.95b                               | 153.52±4.97b                                  | 106.56±6.49d   | 166.52±1.86b  |
| Le                | 8.17                                  | +++                             | 83.60±2.00d                                | 154.44±2.43b                                  | 176.67±3.09b   | 99.79±2.01d   |
| Pe                | 12.33                                 | +                               | 113.58±1.17c                               | 143.44±1.62c                                  | 183.11±0.90b   | 116.94±1.68c  |
| Ff                | 6.67                                  | ++                              | 112.21±1.16c                               | 114.21±1.67d                                  | 147.09±0.56c   | 95.68±0.50e   |
| Hm                | 6.50                                  | +                               | 51.74±1.33e                                | 62.46±2.40e                                   | 85.82±0.99e  | 49.69±0.61f   |
| Po                | 11.33                                 | ++                              | 185.85±1.59a                               | 217.03±0.53a                                  | 252.08±9.60a   | 203.18±2.10a  |

-: 无明显褪色; +: 褪色圈呈黄褐色; ++: 褪色圈呈亮黄色; +++: 褪色圈呈透明. 不同小写字母代表样品间的差异显著 ( $P<0.05$ ). 鲜菇和干制品分开分析

-: No obvious fading; +: Yellowish brown fading ring; ++: Bright yellow fading ring; +++: Transparent fading ring. Different lowercase letters show statistically significant difference at  $P<0.05$ . Fresh mushrooms and dried products are analyzed separately.

表 3 洁丽新韧伞及 5 种市售蘑菇木质素降解酶活性

Table 3 Lignin degrading enzyme activity of *Neolentinus lepideus* and five commercially available mushrooms

| 样品 Sample         | 漆酶酶活<br>Lac activity (U/mL) | 锰过氧化物酶酶活<br>MnP activity (U/mL) | 木质素过氧化物酶酶活<br>LiP activity (U/mL) |
|-------------------|-----------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|
|                   | 鲜菇 Fresh mushroom           |                                 |                                   |
| Nl                | 33.43±2.71c                 | 13.47±9.37d†                    | 43.92±2.08b                       |
| Le                | 8.52±4.12e†                 | 106.75±2.42b                    | 2.65±1.23d†                       |
| Pe                | 166.58±5.22a                | 164.41±5.10a                    | 82.66±0.95a                       |
| Ff                | 20.74±2.24d†                | 3.06±2.33d†                     | 14.48±3.29c†                      |
| Hm                | 27.59±1.72cd                | 12.98±8.08d†                    | 43.20±5.95b                       |
| Po                | 154.91±4.06b                | 168.21±2.75a                    | 3.86±1.19d†                       |
| 干制品 Dried product |                             |                                 |                                   |
| Nl                | 22.59±4.81c                 | 1.47±1.59e†                     | 57.08±1.63b                       |
| Le                | 10.83±2.23d†                | 110.06±3.90c                    | 3.38±3.36c†                       |
| Pe                | 148.52±3.02a                | 208.61±12.69a                   | 170.63±2.51a                      |
| Ff                | 14.81±0.69d†                | 2.45±2.00e†                     | 2.53±1.85c†                       |
| Hm                | 27.50±2.02c                 | 36.48±14.55d†                   | 55.39±9.19b                       |
| Po                | 100.65±3.88b                | 165.64±7.35b                    | 1.45±0.89c†                       |

†: 在最大吸收波长处测得吸光度或吸光度增量小于 0.1, 认为无该酶活性. 不同小写字母代表样品间的差异显著 ( $P<0.05$ ). 鲜菇和干制品分开分析

†: The absorbance or absorbance increment measured at the maximum absorption wavelength is less than 0.1, so no enzyme activity is considered. Different lowercase letters show statistically significant difference at  $P<0.05$ . Fresh mushrooms and dried products are analyzed separately.

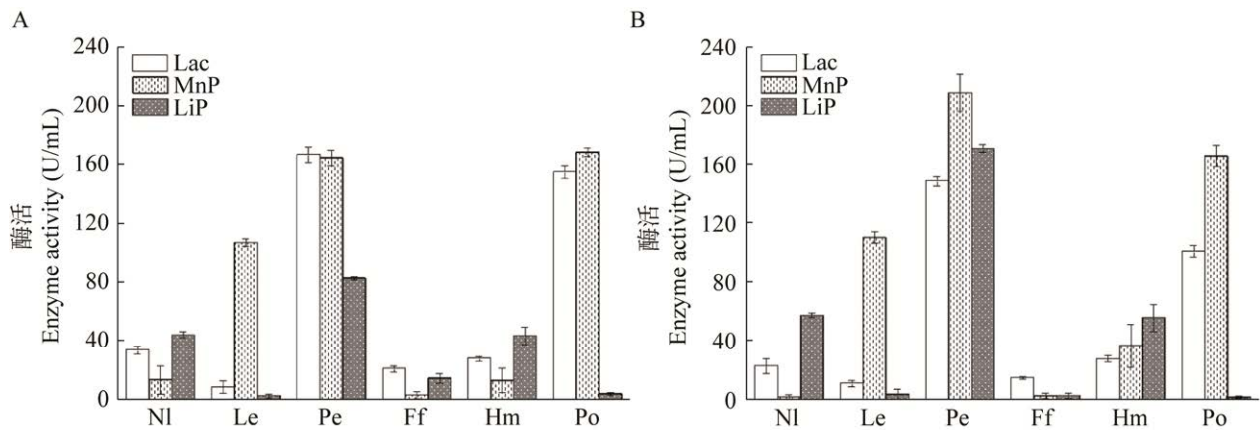


图 4 六种食用菌的木质素降解酶活性 A: 鲜菇 3 种木质素降解酶活性. B: 干制品 3 种木质素降解酶活性

Figure 4 Lignin degrading enzyme activity for six different edible mushrooms. A: Three lignin degrading enzyme activities of fresh mushrooms. B: Three lignin degrading enzyme activities of dried products.

## 2.6 主要营养成分含量

制作葡萄糖标准曲线为  $y=0.0104x+0.0216$ ,  $R^2=0.9982$ ; 蛋白质标准曲线为  $y=0.0124x+0.0767$ ,  $R^2=0.9819$ , 在蛋白浓度较高时出现轻微非线性, 测定样品时适度稀释保持较低浓度。测定洁丽新韧伞和市售香菇的主要营养成分含量(表 4), 洁丽新韧伞粗多糖、粗脂肪含量均略低于香菇, 粗蛋白含量略高于香菇, 呈现出高蛋白、低热量、低脂肪的特点。

表 4 洁丽新韧伞和香菇主要营养成分含量

Table 4 Content of main nutritional components of *Neolentinus lepideus* and *Lentinula edodes* (g/100 g)

| 项目                   | 洁丽新韧伞                       | 香菇                      |
|----------------------|-----------------------------|-------------------------|
| Item                 | <i>Neolentinus lepideus</i> | <i>Lentinula edodes</i> |
| 粗多糖                  | 7.13                        | 11.44                   |
| Crude polysaccharide |                             |                         |
| 粗脂肪                  | 8.76                        | 11.52                   |
| Crude fat            |                             |                         |
| 粗蛋白                  | 6.96                        | 5.72                    |
| Crude protein        |                             |                         |

## 3 讨论与结论

洁丽新韧伞广泛分布于世界各地, 在加拿大、墨西哥、德国、日本和英国等国家均有报道<sup>[5]</sup>, 在中国已知分布于云南<sup>[17]</sup>、黑龙江<sup>[18]</sup>和贵州<sup>[19]</sup>等省。本研究报道采自山西的洁丽新韧伞野生子实体, 并通过组织分离得到菌株 ZYJ0862。目前新韧伞属共有 9 个物种 (*N. adhaerens*、*N. cirrhosus*、*N. cyathiformis*、*N. dactyloides*、*N. kauffmanii*、*N. lepideus*、*N. pallidus*、*N. papuanus* 和 *N. ponderosus*)。除了暂无分子序列报道的 *N. cirrhosus*、*N. pallidus* 和 *N. papuanus* 外, 基于 nrDNA ITS 序列构建系统发育树可以较高的节点支持率将洁丽新韧伞与其他物种区分开。因而, nrDNA ITS 序列可作为新韧伞属物种鉴定的分子标记。

对洁丽新韧伞菌株 ZYJ0862 进行人工栽培, 能够在樟子松木屑:玉米粉为 9:1 (质量比), 含水量 65% 的人工栽培培养基上诱导出与野生子实体形态特征一致的人工子实体。菌株

ZYJ0862与产自韩国江原道的菌株KFRI 853在子实体颜色、菌盖宽度和菌柄长度上较为相似,两者菌丝生长所需时长和子实体管理时长也较为接近,菌株ZYJ0862的产量(6.91 g/100 g)也与KFRI 853 [(42.8±5.9) g/600 g]接近<sup>[36]</sup>。菌株ZYJ0862在栽培过程中菌丝生长最适温度比来自日本和韩国的菌株高5–8 °C,生长速率较日韩菌株慢<sup>[37]</sup>。本研究栽培出的洁丽新韧伞人工子实体含水量较低,可在子实体管理阶段提高环境相对湿度,并控制培养基内的相对湿度保持恒定<sup>[38]</sup>。栽培过程中部分子实体会出现珊瑚状畸形,主要是由于光照强度不足导致,但光照越强会导致子实体菌柄长度越短、菌盖越薄,不利于生产高质量子实体<sup>[39]</sup>,因此光照条件有待进一步优化。

根据对人工子实体的活性分析结果,洁丽新韧伞具有参与经典纤维素降解机制所需要的3类酶且活性较强,但不具备完整的木质素氧化酶系(具有较弱的漆酶和木质素过氧化物酶活性,但缺少锰过氧化物酶)。基因组测序和注释结果可以一定程度上解释活性测定结果。

本研究还对人工栽培的洁丽新韧伞子实体进行了抗氧化活性和营养成分评价,发现其具有较强的清除DPPH自由基、羟基自由基和ABTS自由基的能力,与市售蘑菇相比表现出较强的抗氧化活性,其营养成分呈现出高蛋白、低热量和低脂肪的特点,表明该菌株有一定的食用价值和药用价值。同时人工栽培的子实体也具有类似松木的独特鲜香味,肉质紧实,可以作为优良品种进行规模化人工栽培。目前韩国将洁丽新韧伞作为具有进入高端食用菌市场的新品种进行研究,主要集中在呈味物质、功能成分方面<sup>[40]</sup>。对于国产洁丽新韧伞菌株ZYJ0862后续也可以从呈味物质、其他代谢产物方面展开,进一步探究洁丽新韧伞的食药价值。

## REFERENCES

- [1] WU F, ZHOU LW, YANG ZL, BAU T, LI TH, DAI YC. Resource diversity of Chinese macrofungi: edible, medicinal and poisonous species[J]. *Fungal Diversity*, 2019, 98(1): 1-76.
- [2] 中国食用菌协会. 2021年度全国食用菌统计调查结果分析[J]. *中国食用菌*, 2023, 42(1): 118-127. China Edible Fungi Association. Analysis on the results of national edible fungi statistical survey in 2021[J]. *Edible Fungi of China*, 2023, 42(1): 118-127 (in Chinese).
- [3] 戴玉成, 周丽伟, 杨祝良, 文华安, 图力古尔, 李秦辉. 中国食用菌名录[J]. *菌物学报*, 2010, 29(1): 1-21. DAI YC, ZHOU LW, YANG ZL, WEN HA, BAU T, LI TH. A revised checklist of edible fungi in China[J]. *Mycosystema*, 2010, 29(1): 1-21 (in Chinese).
- [4] REDHEAD SA, GINNS JH. A reappraisal of agaric genera associated with brown rots of wood[J]. *Transactions of the Mycological Society of Japan*, 1985, 26(3): 349-381.
- [5] MOLINA FI, SHEN P, JONG SC, ORIKONO K. Molecular evidence supports the separation of *Lentinula edodes* from *Lentinus* and related genera[J]. *Canadian Journal of Botany*, 1992, 70(12): 2446-2452.
- [6] GARCIA-SANDOVAL R, WANG Z, BINDER M, HIBBETT DS. Molecular phylogenetics of the *Gloeophyllales* and relative ages of clades of *Agaricomycotina* producing a brown rot[J]. *Mycologia*, 2011, 103(3): 510-524.
- [7] CHEN CC, CAO B, HATTORI T, CUI BK, CHEN CY, WU SH. Phylogenetic placement of *Paratrichiaptum* and reconsideration of *Gloeophyllales*[J]. *Fungal Systematics and Evolution*, 2020, 5(1): 119-130.
- [8] OKAMOTO K, KANAWAKU R, MASUMOTO M, YANASE H. Efficient xylose fermentation by the brown rot fungus *Neolentinus lepideus*[J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2012, 50(2): 96-100.
- [9] OKAMOTO K, KAWAMURA S, TAGAWA M, MIZUTA T, ZAHID HM, NABIKA T. Production of an antihypertensive peptide from milk by the brown rot fungus *Neolentinus lepideus*[J]. *European Food Research and Technology*, 2020, 246(9): 1773-1782.
- [10] 王瑞, 朱宴妍, 魏巍, 朱相杨, 王永强, 王琦. 洁丽香菇胞外粗多糖对小鼠移植性S180肉瘤的抑制作用和免疫功能调节[J]. *菌物学报*, 2015, 34(4): 779-786. WANG R, ZHU YY, WEI W, ZHU XY, WANG YQ, WANG Q. Anti-tumor and immunomodulatory activities of exopolysaccharides from *Lentinus lepideus*

- in S180 tumor-bearing mice[J]. *Mycosystema*, 2015, 34(4): 779-786 (in Chinese).
- [11] HOSOE T, SAKAI H, ICHIKAWA M, ITABASHI T, ISHIZAKI T, KAWAI KI. Lepidepyrone, a new  $\gamma$ -pyrone derivative, from *Neolentinus lepideus*, inhibits hyaluronidase[J]. *The Journal of Antibiotics*, 2007, 60(6): 388-390.
- [12] SHIN JW, BAE SM, HAN SM, LEE YH, KIM JH, JI JH, LEE JS. Antihyperglycemic  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity of ethanol extract from *Neolentinus lepideus*[J]. *The Korean Journal of Mycology*, 2015, 43(3): 174-179.
- [13] YOON KN, ALAM N, LEE KR, SHIN PG, CHEONG JC, YOO YB, LEE TS. Antioxidant and antityrosinase activities of various extracts from the fruiting bodies of *Lentinus lepideus*[J]. *Molecules*, 2011, 16(3): 2334-2347.
- [14] QUINTERO-CABELLO KP, PALAFOX-RIVERA P, LUGO-FLORES MA, GAITÁN-HERNÁNDEZ R, GONZÁLEZ-AGUILAR GA, SILVA-ESPINOZA BA, TORTOLEDO-ORTIZ O, AYALA-ZAVALA JF, MONRIBOT-VILLANUEVA JL, GUERRERO-ANALCO JA. Contribution of bioactive compounds to the antioxidant capacity of the edible mushroom *Neolentinus lepideus*[J]. *Chemistry & Biodiversity*, 2021, 18(7): e2100085.
- [15] JANG MJ, LEE YH, JU YC, KOO HM. Cultural characteristics by sawdust and liquid spawn for the cultivation of *Neolentinus lepideus*[J]. *The Korean Journal of Mycology*, 2010, 38(2): 125-129.
- [16] JANG MJ, LEE YH, JU YC, PARK YJ, KOO HM. Cultural characteristics of a new variety, *Neolentinus lepideus*[J]. *The Korean Society of Mushroom Science*, 2011, 9(3): 101-104.
- [17] 杨珍福, 余金凤, 马明, 岳万松, 冯云利, 刘绍雄, 罗孝坤, 郭相. 一株野生鳞皮新香菇的分离鉴定与培养[J]. *食用菌学报*, 2019, 26(4): 72-77, 158.  
YANG ZF, YU JF, MA M, YUE WS, FENG YL, LIU SX, LUO XK, GUO X. Isolation and cultivation characteristics of a wild *Neolentinus lepideus* strain[J]. *Acta Edulis Fungi*, 2019, 26(4): 72-77, 158 (in Chinese).
- [18] 李丹, 戴月婷, 李玉. 对采自黑龙江五个大型真菌菌株最佳培养条件的筛选[J]. *北方园艺*, 2014(22): 154-157.  
LI D, DAI YT, LI Y. Selection of optimum culture conditions for five macrofungi strains collected from Heilongjiang[J]. *Northern Horticulture*, 2014(22): 154-157 (in Chinese).
- [19] 王敏, 吴迪, 蒋力力, 冯占, 向准, 李鹏, 邓春英, 李骥鹏. 贵州省食用菌资源概况[J]. *中国食用菌*, 2021, 40(1): 7-23.  
WANG M, WU D, JIANG LL, FENG Z, XIANG Z, LI P, DENG CY, LI JP. Overview on edible fungi resources in Guizhou Province[J]. *Edible Fungi of China*, 2021, 40(1): 7-23 (in Chinese).
- [20] 李玉, 李泰辉, 杨祝良, 图力古尔, 戴玉成. 中国大型菌物资源图鉴[M]. 郑州: 中原农民出版社, 2015: 955.  
LI Y, LI TH, YANG ZL, BAU T, DAI YC. Atlas of Chinese Macrofungi Resources[M]. Zhengzhou: Zhongyuan Farmers Publishing House, 2015: 955 (in Chinese).
- [21] ZHANG YJ, ZHANG S, LIU XZ, WEN HA, WANG M. A simple method of genomic DNA extraction suitable for analysis of bulk fungal strains[J]. *Letters in Applied Microbiology*, 2010, 51(1): 114-118.
- [22] ZHANG S, ZHANG YJ, LIU XZ, ZHANG H, LIU DS. On the reliability of DNA sequences of *Ophiocordyceps sinensis* in public databases[J]. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 2013, 40: 365-378.
- [23] KUMAR S, STECHER G, TAMURA K. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2016, 33(7): 1870-1874.
- [24] 赵晓明, 宋菲, 赵松林, 王挥, 张玉锋. 功能性椰子植物酸奶的加工工艺及抗氧化活性研究[J]. *食品与发酵工业*, 2022, 48(11): 150-155.  
ZHAO XM, SONG F, ZHAO SL, WANG H, ZHANG YF. Processing technology of functional coconut plant-based yoghurt and its antioxidant activity[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2022, 48(11): 150-155 (in Chinese).
- [25] 徐勇亮, 徐军伟. 灵芝不同菌株胞外多糖的单糖组成和抗氧化活性分析[J]. *菌物学报*, 2022, 41(5): 792-801.  
XU YL, XU JW. A comparative study on monosaccharide compositions and antioxidant activities of purified exopolysaccharides from two different *Ganoderma lingzhi* strains[J]. *Mycosystema*, 2022, 41(5): 792-801 (in Chinese).
- [26] 樊香萍, 张姝, 张永杰. 布莱克韦尔虫草的生物活性评价及其子实体的人工培育[J]. *菌物学报*, 2022, 41(11): 1807-1818.  
FAN XP, ZHANG S, ZHANG YJ. Evaluation of

- biological activities and artificial cultivation of fruiting bodies of *Cordyceps blackwelliae*[J]. *Mycosystema*, 2022, 41(11): 1807-1818 (in Chinese).
- [27] 范集壮, 程依婷, 高玉婷, 余容, 杨晓燕. 一株从云南西部土壤中分离的蕈状芽孢杆菌(*Bacillus mycoides*)的抗氧化活性研究[J]. *当代化工研究*, 2021(16): 150-153.
- FAN JZ, CHENG YT, GAO YT, SHE R, YANG XY. Antioxidant activity of a *Bacillus mycoides* isolated from the soil of west Yunnan[J]. *Modern Chemical Research*, 2021(16): 150-153 (in Chinese).
- [28] WU YX, XU LS, YIN ZY, FENG H, HUANG LL. Transcription factor VmSeb1 is required for the growth, development, and virulence in *Valsa mali*[J]. *Microbial Pathogenesis*, 2018, 123: 132-138.
- [29] 王洪媛, 范丙全. 三株高效秸秆纤维素降解真菌的筛选及其降解效果[J]. *微生物学报*, 2010, 50(7): 870-875.
- WANG HY, FAN BQ. Screening and enzyme-producing conditions of edible fungus strains with higher lignin degradation ability[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2010, 50(7): 870-875 (in Chinese).
- [30] 秦澎, 辜运富, 曾先富, 向泉桔. 香菇漆酶高产菌株筛选及漆酶基因的表达研究[J]. *菌物学报*, 2017, 36(9): 1243-1250.
- QIN P, GU YF, ZENG XF, XIANG QJ. Screening of high-yield laccase producing *Lentinula edodes* strains and transcriptional analysis of laccase genes[J]. *Mycosystema*, 2017, 36(9): 1243-1250 (in Chinese).
- [31] 杨慧, 武宸睿, 陈桂东, 张雅蕊, 张会娟, 尚洁. 白腐真菌锰过氧化物酶活性测定条件优化[J]. *宁夏农林科技*, 2021, 62(2): 67-70.
- YANG H, WU CR, CHEN GD, ZHANG YR, ZHANG HJ, SHANG J. Optimization of determination conditions of manganese peroxidase activity in white-rot fungi[J]. *Ningxia Journal of Agriculture and Forestry Science and Technology*, 2021, 62(2): 67-70 (in Chinese).
- [32] 金剑, 康文丽, 生吉萍, 程凡升, 王权帅, 张焱鑫, 张国鹏, 申琳. 云芝(*Coriolus versicolor*)木质素过氧化物酶(LiP)酶学性质分析[J]. *食品科学*, 2010, 31(17): 224-227.
- JIN J, KANG WL, SHENG JP, CHENG FS, WANG QS, ZHANG YX, ZHANG GP, SHEN L. Enzymological characteristics of lignin peroxidase (LiP) from *Coriolus versicolor*[J]. *Food Science*, 2010, 31(17): 224-227 (in Chinese).
- [33] 中华人民共和国农业部. 食用菌中粗多糖含量的测定: NY/T 1676—2008[S]. 北京: 中国农业出版社, 2008: 1-3.
- Ministry of Agriculture of the the People's Republic of China. Determination of crude polysaccharide content in edible fungi: NY/T 1676—2008[S]. Beijing: Agriculture Press of China, 2008: 1-3 (in Chinese).
- [34] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准食品中脂肪的测定: GB 5009.6—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016: 3-5.
- National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China, State Food and Drug Administration. National standards for food safety—determination of fat in food: GB 5009.6—2016[S]. Beijing: Standards Press of China, 2016: 3-5 (in Chinese).
- [35] 董洁, 郭立玮, 文红梅, 刘佳. 中药水提液中蛋白质含量测定方法研究[J]. *现代中药研究与实践*, 2009, 23(6): 40-43.
- DONG J, GUO LW, WEN HM, LIU J. Study on the method for protein determination in Chinese herbal decoction[J]. *Research and Practice on Chinese Medicines*, 2009, 23(6): 40-43 (in Chinese).
- [36] KIM MS, JEON SM, KA KH, BAK WC. Cultivation characteristics of *Neolentinus lepideus* strains on sawdust media[J]. *The Korean Journal of Mycology*, 2013, 41(4): 225-230.
- [37] JANG MJ, LEE YH, JEON DH, JU YC, YOO YB. Effect of growth temperature on development of fruit body in *Neolentinus lepideus*[J]. *Journal of Mushroom*, 2013, 11(1): 21-23.
- [38] JANG MJ. Characteristics of fruit body of *Neolentinus lepideus* according to relative humidity[J]. *Journal of Mushroom*, 2014, 12(4): 363-366.
- [39] JANG MJ, LEE YH, CHO YK, KOO HM, OH TS. Growth properties of *Neolentinus lepideus* according to the light environment[J]. *Journal of Mushroom*, 2015, 13(2): 125-128.
- [40] JANG MJ, KIM JH, JU YC. Aroma constituents, ergosterol and proximate analysis of *Neolentinus lepideus*[J]. *Journal of Mushroom*, 2014, 12(1): 73-76.