

# 1种野生多孔菌的分离鉴定及其高产漆酶培养基的筛选

郭 梁<sup>1,2,3</sup>,徐伟良<sup>1,2</sup>,李春冬<sup>1,2</sup>,鲁 铁<sup>4</sup>,郭元晟<sup>1,2,3</sup>,  
钱俊平<sup>1,2,3</sup>,孙建萍<sup>1,2,3</sup>,雅 梅<sup>1,2,3</sup>

(1. 锡林郭勒职业学院,内蒙古 锡林浩特 026000;2. 锡林郭勒生物工程研究院,内蒙古 锡林浩特 026000;  
3. 锡林郭勒食品检验检测和风险评估中心,内蒙古 锡林浩特 026000;4. 河南城建学院,河南 平顶山 467000)

**摘要:**对内蒙古自治区锡林郭勒盟境内的1种野生多孔菌进行分子鉴定。通过组织分离的方法对该菌种进行分离培养,并选取常用的4种固体培养基进行最佳固体培养基配方的筛选;以漆酶活性为评价指标,筛选高产漆酶的液体培养基。结果表明,该种野生多孔菌为硬毛粗盖孔菌(*Coriolopsis trogii*)。固体培养基D(葡萄糖20 g、蛋白胨5 g、酵母浸膏10 g、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2 g、MgSO<sub>4</sub> 1 g、琼脂20 g,加水至1 000 mL,自然pH值)为该种多孔菌的最佳固体培养配方,在该培养基上培养的该种野生多孔菌菌丝长势良好,菌丝干质量为0.132 g;2号液体培养基(马铃薯切片200 g、葡萄糖20 g、蛋白胨2 g、酵母浸膏2 g、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 3 g、MgSO<sub>4</sub> 1.5 g,加水至1 000 mL,自然pH值)为该种多孔菌发酵产漆酶的最佳液体培养配方,在该培养基上培养的该种野生多孔菌菌丝生物量为8.56 g/L,漆酶活性可达907.34 U/L。

**关键词:**野生多孔菌;分离;鉴定;培养;漆酶

**中图分类号:**S646   **文献标志码:**A   **文章编号:**1004-3268(2018)11-0099-06

## Isolation and Classification of a Wild Polypore and Screening the Medium for High-yield of Laccase

GUO Liang<sup>1,2,3</sup>, XU Weiliang<sup>1,2</sup>, LI Chundong<sup>1,2</sup>, LU Tie<sup>4</sup>,  
GUO Yuansheng<sup>1,2,3</sup>, QIAN Junping<sup>1,2,3</sup>, SUN Jianping<sup>1,2,3</sup>, YA Mei<sup>1,2,3</sup>

(1. Xilingol Vocational College, Xilinhot 026000, China; 2. Xilin Gol Institute of Bioengineering, Xilinhot 026000, China; 3. Xilin Gol Food Testing and Risk Assessment Center, Xilinhot 026000, China;  
4. Henan University of Urban Construction, Pingdingshan 467000, China)

**Abstract:** In this paper, a wild polypore collected from Xilin Gol in Inner Mongolia was classified using molecular method and isolated for the culture of mycelia by tissue isolating. In addition, the optimal solid medium was assayed from the reported solid media. The laccase activity was used as an evaluation index to screen the liquid media producing high activity laccase. The results showed that the wild polypore was *Coriolopsis trogii*, the optimal solid medium was D (Glucose 20 g, peptone 5 g, yeast extract 10 g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2 g, MgSO<sub>4</sub> 1 g, agar 20 g, adding water to 1 000 mL, natural pH), in which the mycelia growth well and the mycelium dry weight was 0.132 g. The optimal liquid medium was No. 2 (Potato slices 200 g, glucose 20 g, peptone 2 g, yeast extract 2 g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 3 g, MgSO<sub>4</sub> 1.5 g, adding water to 1 000 mL, natural pH) in

收稿日期:2018-05-04

基金项目:内蒙古自治区自然科学基金项目(2016BS0317);内蒙古自治区高等学校科学研究项目(NJZY18371)

作者简介:郭 梁(1986-),男,内蒙古锡林浩特人,助理研究员,博士,主要从事微生物生态学研究。

E-mail:herdman86@163.com

which the mycelial biomass and laccase activity were 8.56 g/L and 907.34 U/L, respectively.

**Key words:** Wild polypore; Isolation; Classification; Culture; Laccase

多孔菌是一类子实层体呈孔状、质地为革质至木质的大型担子菌。多孔菌属于腐生或者寄生生物,广泛分布于世界各地。我国是多孔菌物种多样性最丰富的国家,目前已知的多孔菌共计 704 种,其中具有药用价值的多孔菌多达 60 余种<sup>[1-3]</sup>。我国对多孔菌的研究和应用历史悠久,主要集中在传统的中医药方面<sup>[4-5]</sup>。多孔菌中,灵芝(*Ganoderma lucidum*)、茯苓(*Wolfiporia cocos*)、猪苓(*Polyporus umbellatus*)、桦褐孔菌(*Inonotus obliquus*)、桑黄(*Inonotus sanghuang*)等都是著名的药用真菌。多孔菌除了药用和食用价值之外,在森林生态系统的天然更新中也起重要的作用<sup>[6-7]</sup>。多孔菌在生态系统中的功能主要依赖于其分泌的可降解木质素的酶类,比如漆酶、木质素过氧化物酶。另一方面,多孔菌还是树木的病原菌,通过腐生或者寄生的方式侵染活立木,影响树木正常的生长发育,甚至造成树木大面积死亡<sup>[8]</sup>。因此,对野生多孔菌的资源调查和科学的研究具有重要的生态效益和社会经济价值。对野生多孔菌的科学的研究和资源开发离不开其菌种制备和种属鉴定。菌种的分离方法主要有组织分离、孢子分离、基质分离 3 类<sup>[9]</sup>。菌种鉴定、分离及固体和液体培养不仅影响野生多孔菌的人工栽培,而且影响其活性和药用成分的提取、鉴定及功能分析。

前期对内蒙古自治区锡林郭勒盟境内的蕈菌资源调查中,在锡林郭勒盟正蓝旗采集到 1 种野生多孔菌,对其进行分子鉴定。随后对该菌种进行组织分离,利用 4 种固体培养基、4 种液体培养基对菌丝体进行培养,通过对菌丝体的生长状态、生长速度、菌丝生物量以及漆酶活性等指标进行评价,筛选最佳固体培养基和高产漆酶的液体培养基,为后续蕈菌资源的开发提供借鉴。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料与试剂

EasyTaq PCR Super Mix 购自北京全式金生物技术有限公司,ITS 引物由北京睿博兴科生物科技有限公司合成,基因组 DNA 快速抽提试剂盒购自上海生物工程股份有限公司,Takara MiniBEST Agarose Gel DNA Extraction Kit Ver. 4.0 购自大连 Takara 公司。

0.1 mol/L HAc - NaAc (pH 值为 4.0) 缓冲液配

制:取 22 mL 0.1 mol/L 的 NaAc 母液(称量 13.61 g NaAc · 3H<sub>2</sub>O,蒸馏水定容至 1 L)与 78 mL 0.1 mol/L 的 HAc 母液(量取 5.9 mL 浓冰醋酸,蒸馏水定容至 1 L)混合;0.5 mmol/L ABTS 溶液配制:0.013 7 g ABTS 溶于少量 0.1 mol/L HAc - NaAc 缓冲液中,并定容至 50 mL。

固体培养基 4 种,其配方来自文献[10-13]。固体培养基 A:马铃薯切片 200 g、葡萄糖 20 g、琼脂 20 g,加水至 1 000 mL,自然 pH 值<sup>[10]</sup>;固体培养基 B(经改良):麦粒 100 g(煮汁)、葡萄糖 15 g、蛋白胨 5 g、琼脂 20 g,加水至 1 000 mL,自然 pH 值<sup>[10-11]</sup>;固体培养基 C:葡萄糖 20 g、蛋白胨 10 g、酵母浸膏 20 g、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1 g、MgSO<sub>4</sub> 0.5 g、琼脂 20 g,加水至 1 000 mL,自然 pH 值<sup>[12]</sup>;固体培养基 D(经改良):葡萄糖 20 g、蛋白胨 5 g、酵母浸膏 10 g、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2 g、MgSO<sub>4</sub> 1 g、琼脂 20 g,加水至 1 000 mL,自然 pH 值<sup>[13]</sup>。

液体培养基 4 种,其配方来自文献[14-16]。1 号培养基:马铃薯切片 200 g、葡萄糖 20 g,加水至 1 000 mL,自然 pH 值<sup>[14]</sup>;2 号培养基:马铃薯切片 200 g、葡萄糖 20 g、蛋白胨 2 g、酵母浸膏 2 g、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 3 g、MgSO<sub>4</sub> 1.5 g,加水至 1 000 mL,自然 pH 值<sup>[14]</sup>;3 号培养基:葡萄糖 30 g、蛋白胨 2 g、酵母浸膏 5 g、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.5 g、MgSO<sub>4</sub> 0.5 g、维生素 B1 0.01 g,加水至 1 000 mL,自然 pH 值<sup>[15]</sup>;4 号培养基:玉米粉 30 g、蔗糖 10 g、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 3 g、MgSO<sub>4</sub> 1.5 g,加水至 1 000 mL,自然 pH 值<sup>[16]</sup>。

### 1.2 仪器

YC - R50 恒温培养摇床(天津市泰斯特仪器有限公司)、SW - J - 2FD 超净工作台(苏州市博莱尔净化设备有限公司)、HWS - 250BX 恒温恒湿培养箱(天津市泰斯特仪器有限公司)、202 - 3A 电热恒温干燥箱(天津市泰斯特仪器有限公司)、Nanodrop 2000c 核酸蛋白测定仪(美国 Thermo Fisher 公司)、2720 Thermal Cycler PCR 扩增仪(美国 ABI 公司)、MLS - 3751L - PC 高温高压灭菌锅(日本 SANYO 公司)、5418R 台式高速离心机(德国 Eppendorf 公司)、WD - 9413B 凝胶成像仪(北京六一生物科技有限公司)、UV9100A 紫外分光光度计(北京莱伯泰

科仪器股份有限公司)。

### 1.3 试验方法

1.3.1 DNA 提取 取 20 mg 干燥多孔菌子实体,用液氮研磨成粉末,转移到 1.5 mL 离心管中;加入 400  $\mu$ L Buffer Digestion 和 4  $\mu$ L  $\beta$ -巯基乙醇,振荡混匀,65 ℃水浴 1 h;加 200  $\mu$ L Buffer PF,充分颠倒混匀,-20 ℃冰箱放置 5 min;室温 10 000 r/min 离心 5 min,将上清液转移到新的 1.5 mL 离心管中;加入等体积异丙醇颠倒混匀,室温放置 2~3 min,室温 10 000 r/min 离心 5 min,弃上清;加 1 mL 75% 乙醇,颠倒漂洗后 10 000 r/min 离心 2 min,弃上清;重复上一步骤;开盖,室温倒置 5~10 min,至残留的乙醇完全挥发;用 50  $\mu$ L ddH<sub>2</sub>O 溶解 DNA。利用 Nanodrop 2000c 核酸蛋白分析仪测量其浓度,将样品母液稀释至 300 ng/ $\mu$ L 左右,-20 ℃保存。

1.3.2 PCR 扩增 以提取的基因组为模板,选用正向引物和反向引物进行扩增。引物序列如表 1 所示。PCR 反应体系(20  $\mu$ L):模板 1  $\mu$ L、正向引物和反向引物各 1  $\mu$ L、EasyTaq PCR Super Mix 10  $\mu$ L、ddH<sub>2</sub>O 7  $\mu$ L。PCR 反应程序:第 1 阶段,95 ℃预变性 3 min;95 ℃变性 30 s、69 ℃退火 30 s(每循环降低退火温度 1 ℃)、72 ℃延伸 1 min,15 个循环。第 2 阶段,95 ℃变性 30 s、47 ℃退火 30 s、72 ℃延伸 1 min,20 个循环;73 ℃加强延伸 1 min。PCR 扩增产物用 1.2% 琼脂糖凝胶电泳检测。

表 1 真菌 ITS 通用引物

引物名称	引物序列
正向引物	5' - TCCGTAGGTGAAACCTGCGG - 3'
反向引物	5' - TCCTCCGTTATTGATATGC - 3'

1.3.3 序列测序比对 将 PCR 扩增产物用 Takara MiniBEST Agarose Gel DNA Extraction Kit Ver. 4.0 进行回收。具体步骤:在紫外灯下切出含有目的 DNA 的琼脂糖凝胶,置于 EP 管中,向胶块中加入溶解液 Buffer GM,振荡混合,放入 50 ℃金属浴中溶解胶块;将溶解的胶块溶液转移至 Spin Column,12 000 r/min 离心 1 min,弃滤液;再将 700  $\mu$ L 的 Buffer WB 加入 Spin Column 中,室温 12 000 r/min 离心 1 min;重复上述操作 1 次;将 Spin Column 安置于新的 EP 管上,在 Spin Column 膜的中央加入 30  $\mu$ L 灭菌蒸馏水静置 1 min,室温 12 000 r/min 离心 1 min 洗脱 DNA。将回收的 DNA 扩增产物送至北京睿博兴科生物科技有限公司,用相同引物进行测序。测序结果经拼接后在 NCBI 数据库中进行 BLAST 同源比对。

1.3.4 菌种分离与固体培养基的筛选 选取野生多孔菌菌柄与菌盖的连接处进行组织分离培养,分别接种到选定的 4 种固体培养基上,于 25 ℃恒温培养箱中进行初步培养。在长满菌丝的培养皿中,用打孔器取长势相似、大小相同的菌丝块重新接到新的 4 种固体培养基上进行培养,观察菌丝生长状态,每天测量记录菌丝生长长度,至菌丝全部长满培养皿为止,并对培养的菌丝进行分子鉴定。将最终培养的 4 种固体培养基于电磁炉上煮沸 1 min,使琼脂溶解,取出过滤(6 层无菌纱布)。将菌丝放入已经预先称量过的培养皿(质量为 A0)中,置于电热鼓风干燥箱中,80 ℃烘干至恒质量,称量皿与菌丝(总质量为 A1),计算菌丝质量(A1-A0)。根据该多孔菌在 4 种固体培养基上的生长速度、菌丝干质量筛选最优固体培养基配方。

1.3.5 菌丝体液体培养基的筛选 将固体培养的菌丝接种于 4 种选定的液体培养基(100 mL)中,于 25 ℃恒温培养摇床中进行培养。培养 6 d 后,测定其生物量及漆酶活性。培养 7 d 后,取出过滤(8 层无菌纱布),将菌丝放入 80 ℃电热恒温干燥箱中烘干,测量菌丝生物量。根据该多孔菌在 4 种液体培养基上的生物量、发酵液中的漆酶活性筛选最优液体培养基配方。

1.3.6 菌丝体的漆酶活性测定 菌丝体的漆酶活性测定参照文献[17-20]。粗酶液制备:取 4 种液体培养基摇瓶培养的菌液,用 8 层无菌纱布过滤发酵液,并将滤液 25 ℃、8 000 r/min 离心 10 min,取上清,即为粗酶液。ABTS 测定漆酶活性:设计 3 mL 反应体系,含 2 700  $\mu$ L HAc-NaAc、200  $\mu$ L ABTS、100  $\mu$ L 粗酶液。2 700  $\mu$ L HAc-NaAc 与 200  $\mu$ L ABTS 相混,30 ℃恒温水浴 10 min 后,加入 100  $\mu$ L 酶液启动反应。根据预实验确定吸光值的有效范围为 0.1~0.8。测定吸光值:每隔 30 s 测量样品酶液 420 nm 下的 OD 值,共测量 3 min。以 100  $\mu$ L 粗酶液沸水浴 15 min 去除酶活性,作为空白对照。

酶活性定义:在 1 min 内使 1  $\mu$ mol ABTS 氧化所需的酶量即为 1 个酶活性单位(U),计算公式如下:

$$\text{酶活性} (\text{U/L}) = N \times \Delta \text{OD}_{420} \times 10^6 / (36 000 \times 3)$$

公式中,N 为稀释倍数,  $\Delta \text{OD}_{420}$  为 420 nm 下吸光度的变化值,36 000 为 ABTS 氧化态的摩尔吸光系数[L/(mol·cm)]。

## 2 结果与分析

### 2.1 野生多孔菌子实体的采集和分子鉴定

将采集到的野生多孔菌子实体(图 1)与分离培

养的菌丝体分别利用正向引物和反向引物(表 1),设置 3 个平行试验,进行 PCR 反应,并将扩增产物进行琼脂糖凝胶电泳(图 2)。由图 2 可知,子实体与菌丝体的 3 个平行均在 600~700 bp 处有 ITS 序列片段。经序列测序后,在 NCBI 数据库中进行 BLAST 比对,并利用该菌的 ITS 序列与数据库中已经存在的序列做同源比对(图 3)。结果表明,该菌种与 *Coriolopsis trogii*(KX394807. 1)、*Trametes trogii*(GU166280. 1)、*Funalia trogii*(EU273516. 1)相似性最高,核酸序列的一致性均为 100%,即所采集的多孔菌为硬毛粗盖孔菌。

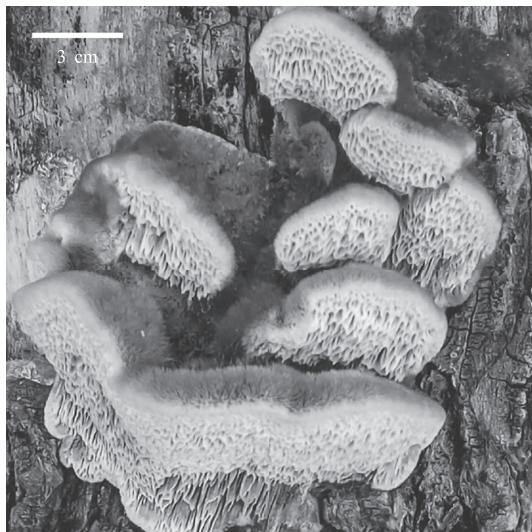


图 1 野生多孔菌子实体

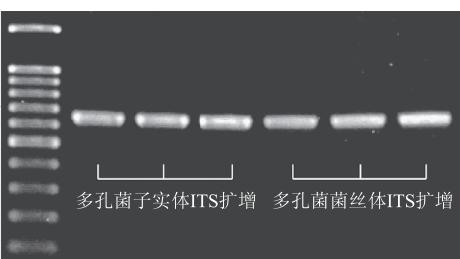


图 2 野生多孔菌 PCR 产物电泳结果

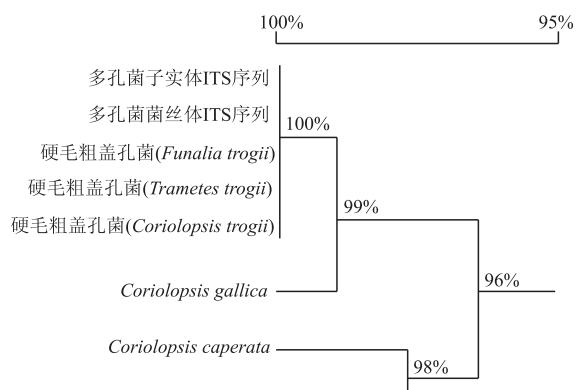


图 3 野生多孔菌序列同源比对

## 2.2 野生多孔菌菌种的分离和固体培养基的筛选

以 4 种固体培养基对该种多孔菌进行培养,观察记录菌丝在固体培养基上的生长状态,并通过菌丝生长速度和菌丝干质量的统计分析筛选出最适合该种多孔菌生长的固体培养基配方,结果见图 4—5 及表 2。该种多孔菌在固体培养基 B 上的生长速度

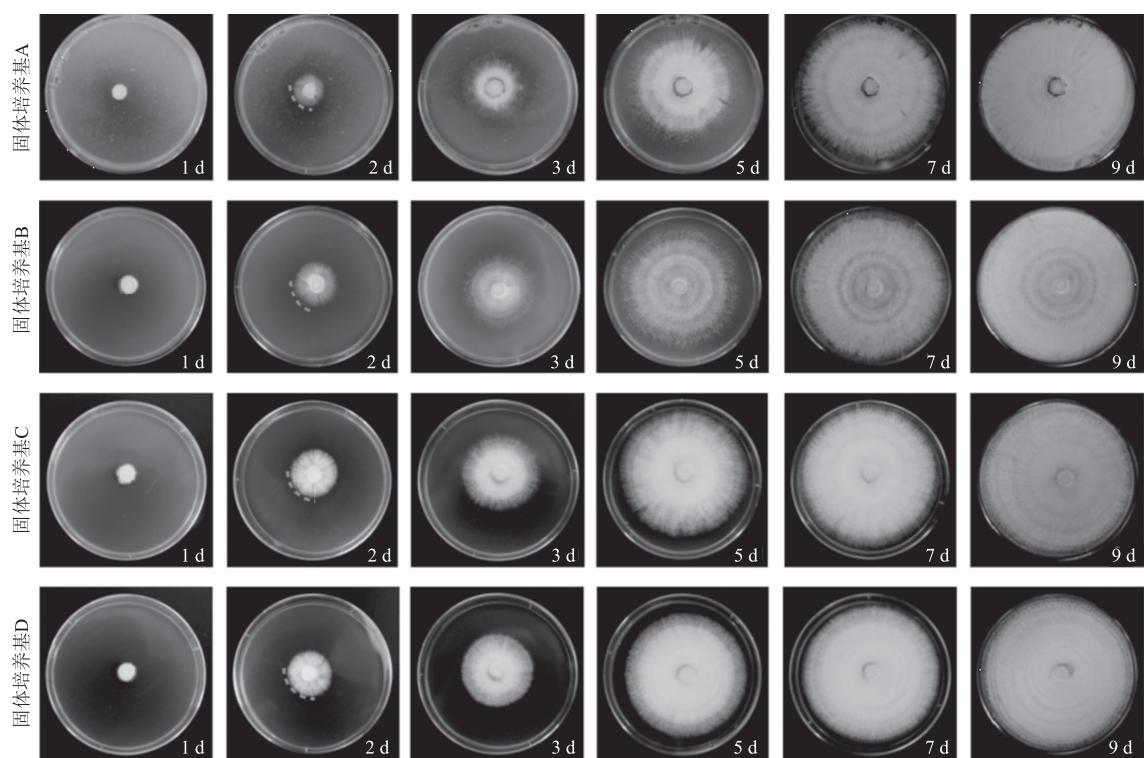


图 4 野生多孔菌菌丝在 4 种固体培养基上的生长状态

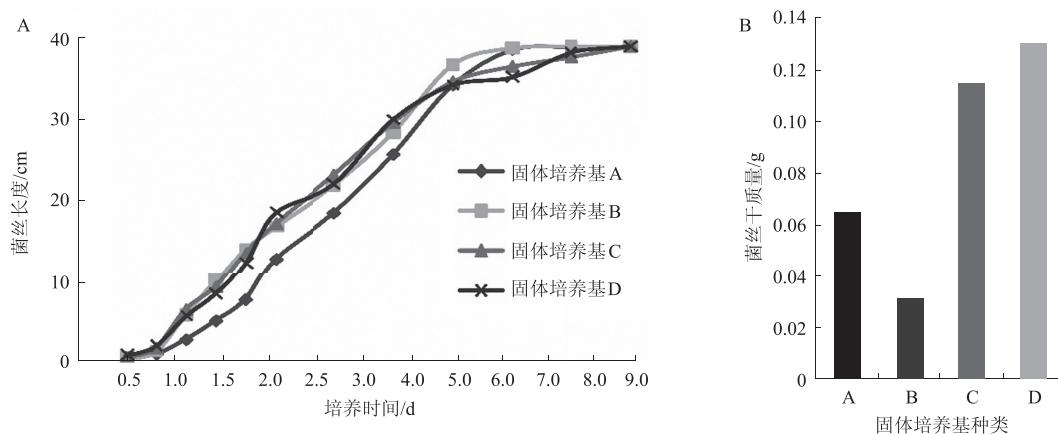


图 5 野生多孔菌在 4 种固体培养基上的菌丝长度与干质量变化

表 2 野生多孔菌在 4 种固体培养基上的菌丝生长状况

培养基	菌丝颜色	边缘整齐度	菌丝长势	菌丝生长速度/(mm/d)
固体培养基 A	白色	不整齐	++	5.83
固体培养基 B	白色	较整齐	+	5.85
固体培养基 C	乳白色	整齐	+++	5.13
固体培养基 D	乳白色	整齐	+++	5.14

注: +++ 表示菌丝粗壮、密, 长势良好; ++ 表示菌丝较粗壮、较密, 长势较好; + 表示菌丝微粗壮、密, 长势好。

最快, 培养至第 7 天时, 盘内菌丝已接近全部长满, 而固体培养基 C、D 上的菌丝生长速度略慢, 培养至第 9 天时才全部长满培养皿表面。从菌丝长势来看, 固体培养基 C、D 上的菌丝长势较好, 固体培养基 A、B 上的菌丝长势略差。通过菌丝干质量比较, 固体培养基 D 上培养的菌丝干质量最大, 为 0.132 g, 而固体培养基 B 上培养的菌丝干质量最小, 为 0.033 g, 说明固体培养基 C、D 上的菌丝生物量积累较多。综合以上试验数据, 最终确定固体培养基 D 为该种野生多孔菌的最优固体培养基配方。

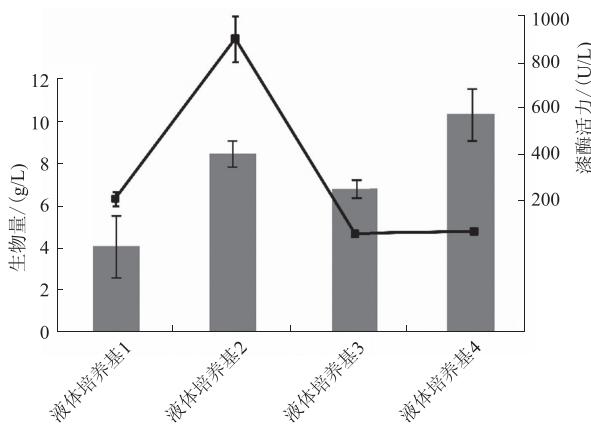
### 2.3 野生多孔菌高产漆酶液体培养基的筛选

4 种液体培养基上该种多孔菌的生物量(柱状图)及漆酶活性(折线图)见图 6。4 号液体培养基上

培养的菌丝生物量最大, 为 10.43 g/L, 而 1 号、2 号、3 号液体培养基上培养的菌丝生物量分别为 4.16、8.56、6.92 g/L, 其中 1 号液体培养基上培养的菌丝生物量最小。2 号液体发酵液中漆酶活性最高, 达 907.34 U/L, 而 1 号、3 号、4 号液体发酵液中漆酶活性分别为 212.87、60.83、70.18 U/L, 其中 3 号液体发酵液中漆酶活性最小。通过菌丝生物量及液体发酵液中漆酶活性的比较分析, 最终确定 2 号液体培养基为该种多孔菌发酵液产漆酶的最佳培养基配方。

## 3 结论与讨论

通过分子鉴定、固体培养基筛选、高产漆酶的液体培养基筛选, 对内蒙古自治区锡林郭勒盟正蓝旗地区采集的 1 种野生多孔菌进行了研究。结果表明, 该种野生多孔菌菌株与 *Coriolopsis trogii* (KX394807.1)、*Trametes trogii* (GU166280.1)、*Funalia trogii* (EU273516.1) 的 ITS 一致性为 100%, 因此, 该种野生多孔菌为硬毛粗盖孔菌。通过固体培养基的筛选, 最终确定固体培养基 D(葡萄糖 20 g、蛋白胨 5 g、酵母浸膏 10 g、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2 g、MgSO<sub>4</sub> 1 g、琼脂 20 g, 加水至 1 000 mL, 自然 pH 值)为该种多孔菌的最佳固体培养基配方; 以漆酶活性等为指标, 进行液体培养基的筛选, 最终确定 2 号液体培养基(马铃薯切片 200 g、葡萄糖 20 g、蛋白胨 2 g、酵母浸膏 2 g、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 3 g、MgSO<sub>4</sub> 1.5 g, 加水至 1 000 mL, 自然



注: 柱状图为菌丝生物量; 折线图为漆酶活性

图 6 野生多孔菌在 4 种液体培养基中的菌丝生物量及发酵液中漆酶活性

pH 值)为该种多孔菌发酵产漆酶的最佳液体培养基配方,漆酶活性可达 907.34 U/L。锡林郭勒盟除了优质的草腐蕈菌,还有具高药用功能及生物开发价值的木腐多孔菌种质资源,硬毛粗盖孔菌的发现、鉴定、培养及高产漆酶液体培养基的筛选可为后续蕈菌资源的开发提供借鉴。同时,该种硬毛粗盖孔菌具有菌丝生长快、漆酶产量高的特点,可以作为高产漆酶的候选工程菌株进行后续研究和开发。

#### 参考文献:

- [1] 王寿南. 野生多孔菌分离、鉴定与漆酶的分离纯化和基因克隆[D]. 北京:北京农学院,2017.
- [2] 周丽伟,戴玉成. 中国多孔菌多样性初探:物种、区系和生态功能[J]. 生物多样性,2013,21(4):499-506.
- [3] Dai Y C. Polypore diversity in China with an annotated checklist of Chinese polypores[J]. Mycoscience, 2012, 53 (1):49-80.
- [4] 戴玉成,李玉. 中国六种重要药用真菌名称的说明[J]. 菌物学报,2011,30(4):515-518.
- [5] 戴玉成,杨祝良. 中国药用真菌名录及部分名称的修订[J]. 菌物学报,2008,27(6):801-824.
- [6] Wei Y L,Dai Y C. Ecological function of wood-inhabiting fungi in forest ecosystem[J]. Ying Yong Sheng Tai Xue Bao,2004,15(10):1935-1938.
- [7] Cui B K,Yu C J. Fungal flora and population structure of polypores in the Great Xingan Mountains[J]. Acta Ecologica Sinica,2011,3(3):199-201.
- [8] 戴玉成. 中国木本植物病原木材腐朽菌研究[J]. 菌物学报,2012,31(4):493-509.
- [9] 曾东方. 腐生与共生食用菌菌丝体分离、培养及其 DNA 鉴定研究[D]. 武汉:华中农业大学,2000.
- [10] 刘刚. 不同培养基和 pH 值对双孢菇母种菌丝生长的影响[J]. 现代农业科技,2014(16):71-74.
- [11] 吕英华,杜明,高凯,等. 野生桑黄菌固体培养基配方的优化试验[J]. 蚕业科学,2010,36(4):676-679.
- [12] 鲁铁. 几种多孔菌的培养特性及白蜡多年卧孔菌生药学研究[D]. 长春:吉林农业大学,2013.
- [13] 图力古尔,鲁铁,刘宇. 多孔菌科 4 种白腐菌培养特性[J]. 中国食用菌,2013,32(5):21-28.
- [14] 曾璐漫,康信聪,周荣辉,等. 不同培养基成分对灵芝漆酶酶活的影响[J]. 食用菌,2015,37(3):7-8.
- [15] 杨丽维,王玉,陈颖,等. 杏鲍菇液体菌种制备条件的研究[J]. 食品研究与开发,2015,36(7):106-109.
- [16] 周剑,陆梦竹,温洪宇. 平菇华平 97-2 液体菌种的培养条件研究[J]. 种子,2012,31(11):103-105.
- [17] 王寿南,陈青君,张国庆,等. 一种野生多孔菌的分离、鉴定、培养条件及抗氧化活性[J]. 应用与环境生物学报,2017,23(1):82-88.
- [18] 刘晓婷. 蒙古口蘑菌丝体生长发育及其漆酶表达特性研究[D]. 呼和浩特:内蒙古大学,2017.
- [19] 曾璐漫,康信聪,周荣辉,等. 不同培养基成分对灵芝漆酶酶活的影响[J]. 食用菌,2015,37(3):7-8.
- [20] 林俊芳,刘志明,陈晓阳,等. 真菌漆酶的酶活测定方法评价[J]. 生物加工过程,2009,7(4):1-8.