

黄曼曼, 乔 帅, 王梦姣, 等. 香菇胞外多糖高产菌株的紫外诱变选育[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(13): 222–225.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.13.059

香菇胞外多糖高产菌株的紫外诱变选育

黄曼曼¹, 乔 帅¹, 王梦姣^{1,2,3}, 邓百万^{1,2}, 陈文强^{1,2}

(1. 陕西理工大学生物科学与工程学院, 陕西汉中 723000; 2. 陕西省资源生物重点实验室, 陕西汉中 723000;
3. 陕西省食药菌工程技术研究中心, 陕西汉中 723000)

摘要:以香菇 808# 为出发菌, 采用紫外辐射诱变处理其孢子, 通过拮抗试验, 筛选出与亲本菌株有较明显拮抗线的诱变菌株, 并测定其香菇胞外多糖含量。结果表明, 通过筛选, 获得 20 个诱变菌株产胞外多糖高于亲本菌株, 其中诱变菌株 YBS21 的胞外多糖含量相对较高, 为 1.34 g/L, 比亲本菌株高 42.6%; 经 10 代培养, 菌株 YBS21 的胞外多糖含量为 1.33 g/L, 高产胞外多糖遗传性状较为稳定。

关键词:香菇; 紫外诱变; 拮抗; 胞外多糖; 菌株 YBS21

中图分类号: S182 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)13-0222-04

香菇 (*Lentinus edodes*) 别称花菇、香菌、中国蘑菇, 真菌分类中属层菌纲担子菌亚纲伞菌目口蘑科香菇属^[1]。我国是香菇的原生地及优产区, 主产于河南、山东、福建、浙江等省。香菇不仅香味独特、味道鲜美, 且具有抗菌抗病毒、防治肿瘤、增强人体免疫力、降血脂等多种药用价值^[2]。香菇的主要成分为香菇多糖, 而从香菇子实体中直接提取香菇多糖的生产周期相对较长、成本较高。菌种选育常用方法有紫外诱变、化学诱变、原生质体融合、代谢工程育种等。紫外诱变是一种传统而经典的微生物菌种选育技术, 对原生质体紫外诱变有较

多研究且成果丰硕, 而直接对孢子进行紫外诱变的相关研究较少。本试验采用紫外辐射对香菇孢子进行诱变处理, 通过拮抗试验对诱变菌株进行初步鉴定, 对产生拮抗线较明显的诱变菌株测定胞外多糖, 以筛选出胞外多糖高产的诱变菌株。在此基础上, 利用香菇营养菌丝液体发酵生产香菇多糖, 不仅生产效率得到提高, 而且生产成本有明显降低。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌株 香菇 808#, 由陕西省食药菌工程技术研究中心提供。

1.1.2 培养基的配制 综合马铃薯葡萄糖琼脂培养基 (CPDA 综合培养基): 去皮马铃薯 200.0 g, 葡萄糖 20.0 g, KH_2PO_4 5.0 g, MgSO_4 3.0 g, 蛋白胨 5.0 g, 维生素 B_1 、维生素 B_2 各 10.0 mg, 琼脂 15.0 g, pH 值自然, 加水定容至

收稿日期: 2016-12-19

基金项目: 陕西省科技创新工程项目 (编号: 2016HBGC-07)。

作者简介: 黄曼曼 (1991—), 女, 宁夏银川人, 硕士研究生, 从事微生物资源保育研究。E-mail: 765447467@qq.com。

通信作者: 邓百万 (1963—), 男, 陕西眉县人, 教授, 主要从事微生物资源保护与开发利用研究。E-mail: 2210309868@qq.com。

[3] Yi Q L, Zhou X H. 土壤呼吸与环境 [M]. 姜丽芬, 曲来叶, 周玉梅, 等译. 北京: 高等教育出版社, 2007: 31–32.

[4] 周志田, 成升魁, 刘允芬, 等. 中国亚热带红壤丘陵区不同土地利用方式下土壤 CO_2 排放规律初探 [J]. 资源科学, 2002, 24(2): 83–87.

[5] 董立国, 许 浩, 张源润, 等. 宁夏黄土丘陵区冬小麦农田土壤呼吸特征及影响因素分析 [J]. 干旱区资源与环境, 2013, 27(1): 75–80.

[6] 刘 博, 黄高宝, 高亚琴, 等. 免耕对旱地春小麦成熟期 CO_2 和 N_2O 排放日变化的影响 [J]. 甘肃农业大学学报, 2010, 45(1): 82–87.

[7] 王丙文, 迟淑筠, 田慎重, 等. 不同玉米秸秆还田方式对冬小麦田土壤呼吸的影响 [J]. 应用生态学报, 2013, 24(5): 1374–1380.

[8] 李成芳, 寇志奎, 张枝盛, 等. 秸秆还田对免耕稻田温室气体排放及土壤有机碳固定的影响 [J]. 农业环境科学学报, 2011, 30(11): 2362–2367.

[9] 秦 越, 李彬彬, 武兰芳. 不同耕作措施下秸秆还田土壤 CO_2 排放与溶解性有机碳的动态变化及其关系 [J]. 农业环境科学学报, 2014, 33(7): 1442–1449.

[10] 戴万宏, 刘 军, 王益权, 等. 不同培肥措施下土壤 CO_2 释放及其动力学研究 [J]. 植物营养与肥料学报, 2002, 8(3): 292–297.

[11] 高 婕, 李 倩, 刘景辉, 等. 免耕留茬对内蒙古后山地区油菜田土壤呼吸和水热变化的影响 [J]. 作物杂志, 2012(3): 81–85.

[12] 何向南, 黄高宝, 黄 鹏. 秸秆还田及施肥对小麦复种油菜农田土壤呼吸的影响 [J]. 干旱区研究, 2012, 29(6): 1003–1008.

[13] 严俊霞, 李洪建, 尤龙凤. 玉米农田土壤呼吸与环境因子的关系研究 [J]. 干旱区资源与环境, 2010, 24(3): 183–189.

[14] Zhang H F, Ye X N, Cheng T, et al. A laboratory study of agricultural crop residue combustion in China: emission factor and emission inventory [J]. Atmospheric Environment, 2008, 42: 8432–8441.

[15] Li X H, Wang S X, Duan L, et al. Particulate and trace gas emissions from open burning of wheat straw and corn stover in China [J]. Environmental Science & Technology, 2007, 41(17): 6052–6058.

[16] 彭立群, 张 强, 贺克斌. 基于调查的中国秸秆露天焚烧污染物排放清单 [J]. 环境科学研究, 2016, 29(8): 1109–1118.

1 000.0 mL; CPDA 液体培养基: 去皮马铃薯 200.0 g, 葡萄糖 20.0 g, KH_2PO_4 5.0 g, MgSO_4 3.0 g, 蛋白胨 5.0 g, 维生素 B_1 、维生素 B_2 各 10.0 mg, pH 值自然, 加水定容至 1 000.0 mL; 查氏培养基: 水 1 000 mL, NaNO_3 2.0 g, FeSO_4 0.01 g, MgSO_4 0.5 g, K_2HPO_4 1.0 g, KCl 0.5 g, 葡萄糖 30.0 g, 琼脂 15.0 g。

1.1.3 主要仪器及设备 RV10 基本型数显旋转蒸发仪, 广州仪科实验室技术有限公司生产; Sx-300 型全自动灭菌锅, 日本 Tomy Digital Biology 公司生产; UV-1750 型紫外分光光度计, 日本岛津仪器公司生产; 5PX-250B5H 型生化培养箱, 上海新苗医疗器械制造有限公司生产; ZHWY-B2112B 型恒温培养振荡器, 上海志城分析仪器制造有限公司生产; SW-CJ-2D 型无菌洁净工作台, 苏州安泰空气技术有限公司生产; DYCZ-22A 型水平电泳仪, 北京六一厂生产。

1.2 诱变菌株的初筛

采用孢子弹射法^[3-4], 将香菇子实体去除菌柄, 移入无菌操作台中, 用 0.1% HgCl_2 溶液表面消毒 30 s, 75% 乙醇擦拭, 无菌水冲洗 2~3 次; 用无菌滤纸吸干表面水分, 将其正放在培养皿上, 盖上玻璃钟罩, 置于有漫射光照射、20~26 °C 温度下培养 1~2 d; 收集孢子, 无菌水稀释, 制成 10^4 个孢子/mL 的孢子悬浮液, 4 °C 冰箱保存, 备用; 将孢子悬浮液适当稀释, 吸取 200 mL 涂布于 CPDA 培养基中, 共涂布 60 个, 每 10 个为一组; 在黑暗条件下, 打开培养皿盖, 放入紫外灯功率为 15 W、已预热 15 min 的紫外灯下分别照射 0、30、60、90、120、150、180 s, 照射位置与紫外灯垂直距离为 30 cm; 将平板用黑布包裹, 黑暗避光, 28 °C 恒温培养箱培养 2 d; 将平板从黑布中取出, 观察记录菌落数, 统计致死率^[5], 计算公式为:

致死率 = (未经诱变处理的菌落数 - 诱变处理的菌落数) / 未经诱变处理的菌落数 × 100%。

有研究表明, 致死率达到 70%~80% 时的诱变效果相对最佳^[6]。因此, 根据测定结果选择最佳诱变剂量。挑取单菌落纯化培养, 28 °C 培养 10~15 d; 采用拮抗反应方法检测诱变菌株: 将亲本菌株与诱变菌株接于同一个培养皿上, 28 °C 培养 10~15 d, 观察拮抗反应; 将产生拮抗线明显的诱变菌株在培养皿中连续培养 3~4 代, 观察其稳定性。

1.3 产香菇多糖菌株的复筛

1.3.1 多糖液体发酵 取亲本菌株与诱变菌株的菌块各 0.5 cm^2 , 分别接种于含 CPDA 液体培养基 300 mL 的 500 mL 三角瓶中, 静置 24 h, 28 °C 160 r/min 摇瓶振荡发酵 10 d; 将发酵液抽滤除去菌丝体, 剩余菌液备用^[7]。

1.3.2 香菇多糖含量的测定 发酵液 3 000 r/min 离心, 上清液直接进行真空蒸发, 浓缩至原体积的 1/5; 乙醇分步沉淀, 离心收集沉淀, 烘干即得到胞外粗多糖^[8]。采用蒽酮硫酸法测定粗多糖含量^[9]: 分析天平上准确称取 0.100 0 g 预先 100 °C 干燥至恒质量的分析纯葡萄糖, 蒸馏水溶解, 定容至 100 mL; 分别取 1、2、3、4、5 mL 的葡萄糖溶液加入到 50 mL 容量瓶中, 蒸馏水定容至 50 mL, 即得浓度分别为 20、40、60、80、100 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液, 以蒸馏水为空白试剂; 再称取胞外粗多糖样品 0.100 0 g, 加入到 100 mL 容量瓶中, 蒸馏水溶解, 定容摇匀; 取 2 mL 粗多糖溶解液, 加入到 50 mL 的容量瓶中, 蒸馏水定容; 分别取不同浓度的葡萄糖标品和粗多糖样品溶液各 1 mL 于试管中, 加入浓度为 2 mg/mL 的蒽酮试剂 4 mL, 摇

匀, 迅速浸入冰水浴中冷却; 100 °C 沸水浴 10 min, 取出, 用流动水冷却; 以空白为参比, 紫外分光光度计测定波长 620 nm 处不同浓度葡萄糖标品及粗多糖样品的吸光度, 得到葡萄糖质量浓度对吸光度的线性回归方程, 计算香菇粗多糖的含量, 公式为

$$\text{多糖含量} = (C \times D \times V) / m \times 100\%$$

式中, C 为样品浓度, g/mL; D 为样品稀释倍数; V 为样品稀释体积, mL; m 为样品溶解质量, g。

1.3.3 香菇多糖高产菌株的稳定性试验 将筛选出的高产香菇多糖诱变菌株经 10 代传代培养, 测定每 1 代的香菇多糖, 以检测其产多糖的遗传性状稳定性。

1.4 亲本菌株与诱变菌株的菌落形态特征观察及菌丝生长速度测定

将筛选出的诱变菌株与亲本菌株分别接种于查氏培养基上, 28 °C 恒温培养箱中培养 15 d, 观察菌落颜色、隆起度、边缘是否整齐、菌丝致密度等菌落形态特征, 记录菌丝每天的生长速度, 重复 3 次。

1.5 亲本菌株与诱变菌株 rDNA-ITS 扩增碱基序列分析

利用十六烷基三甲基溴化铵法 (CTAB 法) 提取亲本菌株与诱变菌株 DNA, 采用真菌通用引物 ITS1、ITS4 扩增。PCR 反应体系 (50 μL): $2 \times \text{Taq Master Mix}$ 0.25 μL , 10 $\mu\text{mol/L}$ 上、下游引物各 2 μL , 模板 DNA 1 μL , dd H_2O 34.75 μL , $10 \times \text{buffer}$ 5 μL , 10 mmol/L dNTP 5 μL 。PCR 反应程序: 94 °C 预变性 5 min; 94 °C 变性 1 min, 58 °C 退火 45 s, 72 °C 延伸 1 min, 36 个循环; 72 °C 延伸 10 min。4 °C 保存, 备用; PCR 产物送上海生工生物工程有限公司测序, 将亲本菌株与诱变菌株测序结果进行碱基序列比对, 并提交 NCBI, 申请香菇菌株登录号。

2 结果与分析

2.1 诱变菌株的初筛

2.1.1 香菇孢子的紫外诱变效应 由图 1 可见, 随紫外光照射时间的延长, 香菇菌株的菌落数不断减少; 紫外照射为 0 s 时, 菌落数为 28 个; 紫外照射分别为 30、60、90、120、150、180 s 时, 菌落数分别为 15、12、8、6、3、0 个, 诱变致死率分别为 46%、57%、71%、79%、89%、100%。因此, 为获得较高的正诱变率, 试验选择致死率为 71%~79%、紫外光照射时间 90~120 s 作为诱变条件^[10]。

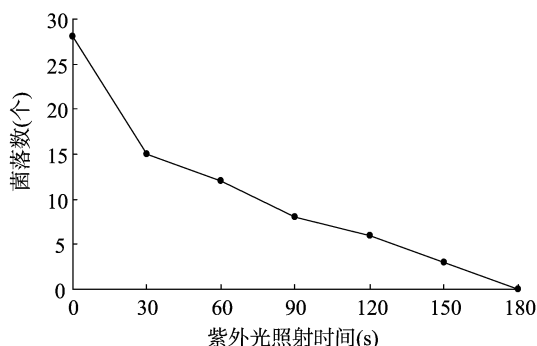
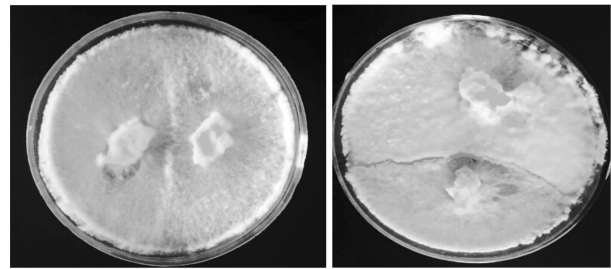


图1 紫外照射时间对香菇菌落数的影响

2.1.2 诱变菌株的检出 结果表明, 诱变菌株中, 39 个诱变菌株与亲本菌株中间有较明显的拮抗线 (图 2), 分别为诱变

菌株 YBS1、YBS2、YBS3、YBS4、YBS5、YBS6、YBS7、YBS8、YBS9、YBS10、YBS11、YBS12、YBS13、YBS14、YBS15、YBS16、YBS17、YBS18、YBS19、YBS20、YBS21、YBZ1、YBZ2、YBZ3、YBZ4、YBZ5、YBZ6、YBZ7、YBZ8、YBZ9、YBZ10、YBZ11、YBZ12、YBZ13、YBZ14、YBZ15、YBZ16、YBZ17、YBZ18,说明菌株有拮抗反应发生,其中诱变菌株 YBS21 的生长优势较为明显。



诱变菌株YBS15与亲本菌株 诱变菌株YBS21与亲本菌株
图2 诱变菌株与亲本菌株的拮抗反应

2.2 产多糖菌株的复筛

2.2.1 亲本菌株和诱变菌株多糖含量的测定 由图 3 可见,葡萄糖质量浓度对吸光度的线性回归方程为 $y = 0.005\ 5x + 0.065\ 5 (r^2 = 0.999\ 1)$ 。由表 1 可见,亲本菌株多糖含量为 0.94 g/L,诱变菌株香菇多糖含量低于亲本菌株的有 19 个,分别为 YBS1、YBS2、YBS4、YBS5、YBS6、YBS7、YBS8、YBS9、YBS10、YBS11、YBS15、YBZ5、YBZ6、YBZ7、YBZ9、YBZ11、YBZ12、YBZ13、YBZ15,其中菌株 YBS6 的多糖含量相对最低,为 0.75 g/L,比亲本菌株低 20.2%。诱变菌株香菇多糖含量高于亲本菌株的有 20 株,分别为 YBS3、YBS12、YBS13、YBS14、YBS16、YBS17、YBS18、YBS19、YBS20、YBS21、YBZ1、YBZ2、YBZ3、YBZ4、YBZ8、YBZ10、YBZ14、YBZ16、YBZ17、YBZ18,其中多糖含量相对较高的 2 株诱变菌株 YBS21、YBZ18,其多糖含量分别为 1.34、1.36 g/L,分别比亲本菌株高 42.6%、44.7%。

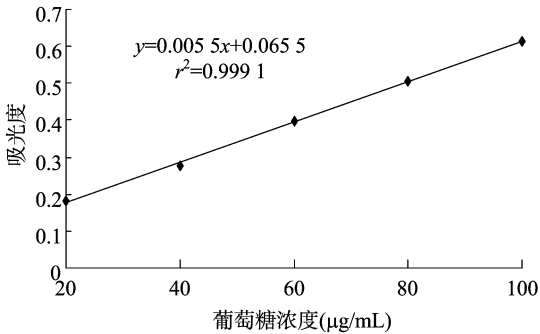


图3 蒽酮硫酸法标准曲线

2.2.2 胞外多糖高产菌株稳定性测定 由表 2 可见,诱变菌株 YBZ18 第 7、8、9、10 代的香菇多糖含量分别为 1.21、1.18、1.11、1.08 g/L,与第 1 代香菇多糖含量 1.36 g/L 相比有明显下降,遗传学性状较不稳定;诱变菌株 YBS21 第 7、8、9、10 代的香菇多糖含量分别为 1.35、1.34、1.33、1.33 g/L,与第 1 代香菇多糖含量 1.34 g/L 相比几乎无变化,说明其遗传稳定性较好,而遗传学性状是否稳定是鉴定菌株能否投入生产的重要指标。

表 1 亲本菌株与诱变菌株的多糖含量

香菇菌株	菌悬浮液 (g)	香菇粗多糖 (g)	多糖含量 (g/L)
亲本	136.28	0.31	0.940
YBS1	136.27	0.26	0.790
YBS2	121.01	0.29	0.820
YBS3	138.68	0.32	0.970
YBS4	136.21	0.28	0.870
YBS5	131.33	0.33	0.830
YBS6	128.76	0.43	0.750
YBS7	132.39	0.32	0.850
YBS8	138.67	0.29	0.760
YBS9	136.42	0.31	0.920
YBS10	127.98	0.32	0.910
YBS11	134.95	0.24	0.840
YBS12	122.33	0.38	1.210
YBS13	134.76	0.30	1.230
YBS14	140.76	0.44	1.130
YBS15	128.56	0.26	0.760
YBS16	138.32	0.35	1.030
YBS17	142.51	0.36	1.010
YBS18	135.86	0.40	1.020
YBS19	137.28	0.36	1.110
YBS20	139.87	0.32	1.230
YBS21	143.69	0.55	1.340
YBZ1	140.47	0.34	1.040
YBZ2	132.43	0.36	1.060
YBZ3	137.47	0.26	1.030
YBZ4	142.87	0.36	1.220
YBZ5	136.13	0.29	0.820
YBZ6	144.72	0.26	0.780
YBZ7	137.95	0.26	0.770
YBZ8	126.36	0.34	1.030
YBZ9	132.22	0.33	0.850
YBZ10	137.34	0.37	1.010
YBZ11	137.12	0.32	0.870
YBZ12	136.81	0.29	0.780
YBZ13	141.32	0.27	0.820
YBZ14	128.88	0.32	1.140
YBZ15	141.24	0.34	0.920
YBZ16	128.11	0.33	1.070
YBZ17	141.46	0.47	1.210
YBZ18	153.82	0.52	1.360

表 2 诱变菌株遗传稳定性试验结果

香菇菌株	多糖含量(g/L)			
	第 7 代	第 8 代	第 9 代	第 10 代
诱变菌株 YBS21	1.35	1.34	1.33	1.33
诱变菌株 YBZ18	1.21	1.18	1.11	1.08

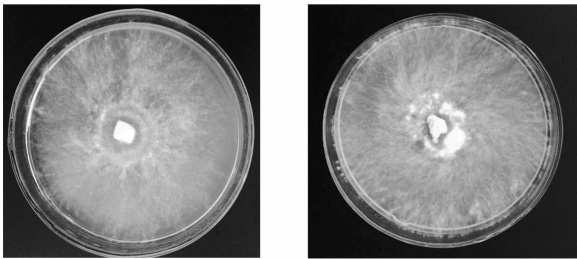
2.3 亲本菌株与诱变菌株的菌落形态及菌丝生长速度

由图 4、表 3 可见,亲本菌株菌丝为白色絮状,疏松,菌落边缘整齐,显微镜下菌丝体稍细,锁状联合较明显;菌株 YBS21 菌丝为白色絮状,紧密、爬壁力强,菌落中间隆起度较高且有菌丝体结块;菌株 YBS21 的菌丝平均生长速度为 (0.33 ± 0.02) cm/d,亲本菌株的菌丝平均生长速度为

(0.25 ± 0.02) cm/d,与亲本菌株相比,菌株 YBS21 的菌丝生长速率相对较快,而粗壮紧密的菌丝体有利于多糖的沉积和菌丝生长。

2.4 亲本菌株与诱变菌株 YBS21 的 rDNA - ITS 扩增碱基序列分析

由表 4 可见,香菇亲本菌株(登录号为:KX512805)第 453 个碱基 A 经诱变突变为 G,第 627 个碱基 T 经诱变突变为 C,从第 733 个碱基开始序列 CTAGCGGAGGGGGG 经诱变突变为序列 ATAAGCGGAGGAG,这说明菌株 YBS21(登录号为:KX512806)是诱变产生。



亲本菌株
诱变菌株 YBS21
图4 亲本菌株与菌株 YBS21 的菌落形态

表 3 亲本菌株与菌株 YBS21 菌丝的生长速率

香菇菌株	菌丝生长速度 (cm)						菌丝平均生长速度 (cm/d)
	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	
亲本菌株	0	0.2 ± 0.02	0.3 ± 0.02	0.9 ± 0.02	1.2 ± 0.02	1.5 ± 0.02	0.25 ± 0.02
诱变菌株 YBS21	0	0.3 ± 0.02	0.6 ± 0.02	1.1 ± 0.02	1.4 ± 0.02	2.0 ± 0.02	0.33 ± 0.02

表 4 亲本菌株与诱变菌株 YBS21 的部分碱基序列

菌株	部分碱基序列
亲本菌株 KX512805GCTTGCAGGCCATTGTCTAGCT.....AGGGAAGTTCTGCTTTCT.....CTAGCGGAGGGGGG.....
诱变菌株 (YBS21) KX512806GCTTGCAGGCCGTTTGTCTAGCT.....AGGGAAGTTCGCTTTCT.....ATAAGCGGAGGAG.....

3 结论与讨论

香菇多糖作为香菇最主要的食药成分,筛选出多糖含量较高的香菇菌株是现在农业发展所需。以陕南地区主栽香菇品种 808#为出发菌株,采用紫外辐射对其孢子进行诱变,初步筛选出 39 个与亲本菌株拮抗性较明显的诱变菌株。在此基础上,对筛选出的 39 个诱变菌株进行胞外多糖测定,其中 20 个诱变菌株的香菇胞外多糖含量高于亲本菌株,19 个诱变菌株的香菇胞外多糖含量低于亲本菌株,其中菌株 YBS21 的胞外多糖含量为 1.34 g/L,高于亲本菌株 42.6%,经 10 代培养,其胞外多糖含量为 1.33 g/L,产胞外多糖遗传性状较稳定,鉴定菌株 YBS21 为香菇胞外多糖高产菌株,并从形态学、分子生物学进一步确定该菌株为诱变产生。

紫外诱变是一种传统而经典的微生物菌种选育技术。梁枝荣等采用紫外辐射对香菇原生质体进行诱变,筛选出 2 个菌丝生长速度快、产量高且遗传性状稳定的香菇优良菌株^[11];王丽宁等采用原生质体紫外诱变筛选出产量高且耐高温的 4 个泸农 2 号香菇诱变株^[12]。本研究直接对香菇孢子进行紫外诱变,在现有研究的基础上简单易行且成本低,减少了原生质体制备过程中操作复杂、难控制、易污染等问题的发生,且本研究从香菇发酵液中获取香菇多糖,与传统的从香菇子实体中提取香菇多糖相比,生产工艺简单,成本低且提取效率高,这为香菇优质菌种资源的筛选、研究与开发及香菇代谢产胞外多糖的进一步研究提供了理论参考。

参考文献:

[1]黄毅.食用菌栽培[M].3版.北京:高等教育出版社,2010.
[2]吕国英,范雷法,张作法,等.香菇多糖研究进展[J].浙江农业学报,2009,21(2):183-188.
[3]李荣同,龚光禄,包水明,等.菌核侧耳担孢子收集及萌发条件[J].食用菌学报,2010,17(1):44-47.
[4]占琦,霍光华,王飞,等.一种获得大型真菌纯培养的有效方法——改良孢子弹射法[J].食用菌,2010,32(1):29-30.
[5]刘建玲,陈宝宝,刘永红,等.半夏内生菌的分离与初步鉴定[J].中国中药杂志,2009,34(18):2305-2307.
[6]王丽宁,赵妍,张宝粉,等.利用原生质体紫外诱变技术选育耐高温香菇菌株[J].微生物学通报,2014,41(7):1350-1357.
[7]乔艳明,陈文强,解修超,等.响应面法优化香菇胞外多糖提取工艺[J].食用菌学报,2015,22(3):69-73.
[8]肖彩霞.黑木耳液体深层发酵的研究[D].无锡:江南大学,2004.
[9]惠秋沙.蒽酮-硫酸法测定桑葚乌发粥中粗多糖的含量[J].农产品加工,2011(10):105-107.
[10]张杰,李春艳,李劲平,等.蒽酮硫酸法与苯酚硫酸法测定竹节参多糖含量的比较研究[J].中南药学,2012,10(6):421-424.
[11]梁枝荣,安沫平,通占元.香菇原生质体分离诱变育种研究[J].微生物学通报,2001,28(2):38-41.
[12]王丽宁,赵妍,张宝粉,等.原生质体紫外诱变选育香菇耐高温菌株[J].食品工业科技,2014,35(23):171-174,181.