

不同方式长期保藏黑木耳菌种性状的效果

岳 欣, 焦栎禾, 韩 闯, 张晓佳, 王凤利, 赵彦姝, 戴肖东

(黑龙江省科学院微生物研究所·国家食用菌种质资源库 哈尔滨 150010)

摘 要:为研究不同保藏方法对黑木耳菌种性状的影响,以 10 株分别采用液氮保藏和 4 °C 斜面移植法保藏 20 年的黑木耳菌种为供试材料,采用生长状态测定、栽培出耳、酯酶同工酶和 ISSR 分子标记等方法对不同保藏方式的长期保藏效果进行研究。结果表明,同一菌种在菌丝长势和生长速度方面,液氮保藏整体表现显著优于 4 °C 斜面移植法保藏;出耳方面未见显著差异。不同保藏方式下的同一菌种的酯酶同工酶聚类分析图谱相似系数均为 1,ISSR 分子标记聚类分析中相似系数均高于 0.90,说明不同保藏方式下同一菌种之间高度相似,但仍存在一定差异,可能是菌种长期 4 °C 斜面保藏或者传代过程中出现了变化。研究结果对黑木耳菌种长期保存以及保持生产性状的稳定性具有重要意义。

关键词:黑木耳;菌种保藏;ISSR 分子标记;酯酶同工酶

中图分类号:S646.6

文献标志码:A

文章编号:1673-2871(2025)10-171-07

Study on the traits of *Auricularia heimuer* strains preserved for long time by different methods

YUE Xin, JIAO Lihe, HAN Chuang, ZHANG Xiaojia, WANG Fengli, ZHAO Yanshu, DAI Xiaodong

(Institute of Microbiology, Heilongjiang Academy of Sciences/National Collection of Edible Fungi, Harbin 150010, Heilongjiang, China)

Abstract: To study the effects of different preservation methods on the traits of *Auricularia heimuer* strains, 10 strains of *A. heimuer* that had been preserved for 20 years by liquid nitrogen preservation method and 4 °C slant transplantation method respectively were used as the test materials. Methods such as determination of growth status, cultivation for fruiting body production, esterase isoenzyme analysis, and ISSR molecular marker analysis were adopted to investigate the long-term preservation effects of different preservation methods. The results showed that for the same strain, in terms of mycelial growth vigor and growth rate, the overall performance of liquid nitrogen preservation was significantly better than that of the 4 °C slant transplantation method. There was no significant difference in the aspect of fruiting body production. For the same strain under different preservation methods, the clustering analysis of the esterase isoenzyme indicated was uniformly 1, and the similarity coefficients in the ISSR molecular marker clustering analysis were all higher than 0.90. This indicates that the same strain under different preservation methods is highly similar but there are still certain differences. It is likely that changes occurred during the long-term preservation of the strain by the 4 °C slant transplantation method or during the subculture process. This study is of great significance for the long-term preservation of *A. heimuer* strains and maintaining stability during the process of industrial production.

Key words: *Auricularia heimuer*; Strain preservation; ISSR marker; Esterase isoenzyme

黑木耳(*Auricularia heimuer*)是我国第二大食用菌生产菌种,味道鲜美,营养丰富^[1],营养价值和药用价值极高^[2],具有抗肿瘤、抗氧化、降血糖、降血脂等功效^[3-5]。据中国食用菌协会统计,2023 年全国黑木耳总产量达到 714.47 万 t^[6]。在食用菌生产与研究领域,菌种占据着核心地位,是推动整个产业发展和科学探索的关键基础。然

而,在繁育过程中,菌种极易发生变异,这是一个不容忽视的问题^[7]。因此,科学且高效地保藏菌种成为保障高产的关键,菌种保藏的重要性日益凸显^[8]。黑木耳菌种的保藏方法丰富多样^[9],主要包括 4 °C 斜面移植保藏法、液氮保藏法、石蜡油覆盖保藏法、谷物与木屑保藏法^[10]和无菌水保藏法等,其核心原理均是通过创造特定的环境条件,抑制菌

收稿日期:2025-03-06;修回日期:2025-04-22

基金项目:黑龙江省科学院重点研发项目(ZDYF2024SW02)

作者简介:岳 欣,女,在读硕士研究生,研究方向为食用菌种质资源评价。E-mail:y13474850905@163.com

通信作者:戴肖东,男,研究员,研究方向为食用菌种质资源利用与遗传育种。E-mail:heiweihlj@126.com

丝代谢,从而延长菌种保存时间和降低变异的可能性。这些特定的环境条件主要包括干燥、低温和隔绝空气,能够显著降低微生物的代谢能力^[11],进而达到保藏的目的。目前生产企业广泛采用 4℃斜面移植法保藏菌种,具有操作简单、随用随取的优点,但存在频繁转接的问题,容易导致菌种污染和变异^[12-13];液氮保藏法被认为是最有效、安全的保藏方法,适用于大多数真菌的长期保存,但需要特殊设备,维护成本高,适合科研单位和种质资源库使用^[14]。

鉴于此,笔者以 10 株液氮保藏和 4℃斜面移植法保藏 20 年的黑木耳菌种为试验材料,通过观察菌种的生长及出耳状态结合酯酶同工酶和分子

标记(ISSR)等手段进行性状测试,系统评估不同保藏方法的长期保藏效果,以期为黑木耳菌种的保藏及种源维护提供有力的数据支持,为优化保藏方法提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

试验于 2023 年 12 月至 2024 年 12 月在黑龙江省科学院微生物研究所实验室进行。供试材料是完全随机选取的 10 株黑木耳生产菌种,分别在液氮(金凤液氮罐)和 4℃保藏条件下保存了 20 年,共计 20 个样本,菌种名称如表 1 所示,均

表 1 黑木耳供试品种
Table 1 *A. heimuer* strains for test

菌株名称 Strain name	液氮处理编号 Number of liquid nitrogen treatment	4℃处理编号 Number of 4℃ treatment	选育单位 Breeding organization	菌种类型 Strain type
黑 29 Hei 29	B1	B2	黑龙江省科学院微生物研究所 Institute of Microbiology, Heilongjiang Academy of Sciences	单片聚生型 Monophyllous fasciculate type
8808	B3	B4	黑龙江省科学院微生物研究所 Institute of Microbiology, Heilongjiang Academy of Sciences	菊花型 Chrysanthemum-shaped
916	B5	B6	黑龙江省科学院微生物研究所 Institute of Microbiology, Heilongjiang Academy of Sciences	单片聚生型 Monophyllous fasciculate type
9809	B7	B8	黑龙江省东宁食用菌研究所 Heilongjiang Dongning Edible Fungi Research Institute	单片聚生型 Monophyllous fasciculate type
延明 1 号 Yanming No. 1	B9	B10	吉林省敦化市售 Sold in Dunhua City, Jilin Province	单片聚生型 Monophyllous fasciculate type
139	B11	B12	福建省三明真菌所 Fujian Sanming Mycological Institute	菊花型 Chrysanthemum-shaped
981	B13	B14	黑龙江省科学院微生物研究所 Institute of Microbiology, Heilongjiang Academy of Sciences	单片聚生型 Monophyllous fasciculate type
590	B15	B16	上海市食用菌研究所 Shanghai Edible Fungi Research Institute	菊花型 Chrysanthemum-shaped
Au86	B17	B18	黑龙江省科学院微生物研究所 Institute of Microbiology, Heilongjiang Academy of Sciences	菊花型 Chrysanthemum-shaped
888	B19	B20	辽宁省朝阳食用菌研究所 Chaoyang Edible Fungi Research Institute, Liaoning Province	菊花型 Chrysanthemum-shaped

由国家食用菌种质资源库(黑龙江)提供。

1.2 培养基制作

cPDA 培养基:马铃薯 200 g(煮汁),葡萄糖 20.0 g,磷酸二氢钾 3.0 g,硫酸镁 1.5 g,蛋白胨 0.5 g,琼脂粉 14.0 g,配制 1000 mL 培养基。

液体培养基:马铃薯 200 g(煮汁),葡萄糖 20.0 g,

磷酸二氢钾 3.0 g,硫酸镁 1.5 g,蛋白胨 0.5 g,配制 1000 mL 培养基。

木屑培养基:硬质木屑 870 g,麦麸 100 g,豆饼 20 g,石膏 10 g,配制 1000 g 培养基。

1.3 方法

1.3.1 菌种保藏方式 笔者选用了目前最常用的

两种保藏方法进行菌种保藏试验,分别为液氮保藏法和4℃斜面移植保藏法。

液氮保藏法^[15]:将菌种进行平板培养7~8 d,用打孔器打出6 mm菌饼,取10个菌饼接入装有15%甘油保护剂的冻存管中,利用程控降温仪(FREEZE CONTROT CL-8000)进行降温预冷操作,随后将冻存管放入液氮罐内液相(-196℃)保藏,保藏时间(2003年1月至2023年1月)共计20年。

4℃斜面移植法^[16]:将菌种接种在cPDA斜面固体培养基上,硅胶塞封口,25℃避光培养至菌丝长满斜面,将其转移至4℃冰箱保存,每年定期移植转接1次,保藏时间(2003年1月至2023年1月)共计20年。

1.3.2 菌种活化方法 液氮保藏法菌种活化^[17]:首先将菌种放在37℃水槽中快速解冻,轻摇冻存管使其在1 min内全部融化,将解冻后的菌种接种到cPDA培养基上,25℃进行培养。4℃斜面移植法菌种活化^[17]:将4℃斜面保存的菌种接种到cPDA培养基中,25℃进行培养。将两种保藏方法的菌种活化后,进行二次转接,比较同一菌种不同保藏方法的菌丝长势和菌丝生长速度,每个样品进行3次生物学重复。菌丝生长速度/(cm·d⁻¹)=菌丝生长圈直径增加量/培养时间。

1.3.3 酯酶同工酶试验 参照《食用菌菌种真实性鉴定 酯酶同工酶电泳法》^[18],将黑木耳保藏菌种活化后进行液体培养,过滤收集菌丝体。试验具体步骤参照韩增华等^[19]的方法进行,最后采用垂直电泳仪(BIO RAD)进行酯酶同工酶分析,迁移率(Rf)=条带n的迁移距离/溴酚蓝的迁移距离。利用NTSYS-PC(2.10e)软件对电泳酶谱计算菌株间遗传相似系数,并构建系统发育进化树。

1.3.4 ISSR测试分析 参照《食用菌菌种真实性鉴定 ISSR法》^[20],采用植物基因组DNA提取试剂盒DP 320-02(天根生化科技有限公司)提取黑木耳菌株DNA。使用1.0%琼脂糖凝胶通过水平电泳仪(BIO RAD)检测DNA质量。所用ISSR引物均由生工生物工程(上海)股份有限公司合成,引物信息见表2。

PCR反应体系(20 μL)见表3,扩增程序参考王立枫^[21]的方法。PCR产物用1.5%琼脂糖凝胶电泳检测,采用凝胶成像系统拍照记录。基于上述ISSR图谱,采用NTSYS-PC(2.10e)软件计算菌株间遗传相似系数,构建系统发育进化树。

1.3.5 不同保藏方法的菌种出耳试验 采用木屑

表2 10条ISSR引物序列及退火温度
Table 2 10 ISSR primer sequences and annealing temperature

引物编号 Primer number	引物序列 Primer sequence	退火温度 Annealing temperature/℃
UBC-807	AGAGAGAGAGAGAGAGT	50
UBC-808	AGAGAGAGAGAGAGAGC	50
UBC-809	AGAGAGAGAGAGAGAGG	52
UBC-810	GAGAGAGAGAGAGAGAT	53
UBC-834	AGAGAGAGAGAGAGAGYT	52
UBC-835	AGAGAGAGAGAGAGAGYC	56
UBC-836	AGAGAGAGAGAGAGAGYA	54
UBC-823	TCTCTCTCTCTCTCC	56
UBC-889	GTGACACACACACACAC	56
UBC-890	ACAGTGTGTGTGTGTGT	51

表3 PCR扩增体系
Table 3 Composition of PCR system

反应组分 Component	体积 Volume/μL
PCR Taq 酶 2×Taq PCR Mix	10
引物 Primer	1
DNA 模板 DNA template	2
无菌水 ddH ₂ O	7

培养基,按栽培黑木耳的常规方法生产菌包,待菌丝成熟后割V字形口,设置出菇箱(ZT-KX-CG-1500)培养条件为20℃、湿度95%以上,进行出耳试验,观测不同菌株出耳状况。

1.4 数据处理

采用Office 2016软件对试验数据进行处理,采用SPSS 24软件进行方差分析,利用Adobe Illustrator 2020整理图片。

2 结果与分析

2.1 液氮保藏与4℃斜面移植法保藏菌种的生长状态比较

将液氮保藏的复活菌种与4℃斜面移植法保藏的相同菌种进行比较,在cPDA培养基上菌丝的萌发时间均为2~3 d。10组菌种的菌丝长势及生长速度如表4所示。使用液氮保藏的黑29、8808、916、9809、Au86菌种,菌丝生长状况比4℃斜面移植法保藏的菌种更为浓密,而延明1号、139、981、590、888长势相同。除菌种888在4℃保藏下生长速度较快外,延明1号在不同保藏方法下生长速度相同,其他菌种均在液氮保藏下生长速度更快。

表 4 黑木耳菌种在培养基上的生长状况
Table 4 The growth status of *A. heimuer* strains on the culture medium

菌株(液氮) Strain (Liquid nitrogen)	菌丝长势 Mycelial growth vigor	菌丝平均生长速度 Average growth rate of mycelium/(cm·d ⁻¹)	菌株(4℃) Strain(4℃)	菌丝长势 Mycelial growth vigor	菌丝平均生长速度 Average growth rate of mycelium/(cm·d ⁻¹)
黑 29 Hei 29	+++	0.22±0.002 b	黑 29 Hei 29	++	0.18±0.005 f
8808	+++	0.20±0.002 d	8808	++	0.19±0.003 e
916	+++	0.21±0.006 c	916	++	0.20±0.006 d
9809	+++	0.22±0.003 b	9809	+	0.21±0.003 c
延明 1 号 Yanming No. 1	++	0.22±0.002 b	延明 1 号 Yanming No. 1	++	0.22±0.004 b
139	++	0.22±0.002 b	139	++	0.20±0.001 d
981	++	0.23±0.005 a	981	++	0.21±0.004 c
590	++	0.21±0.002 c	590	++	0.20±0.005 d
Au86	+++	0.22±0.005 b	Au86	++	0.20±0.004 d
888	+++	0.19±0.008 e	888	+++	0.21±0.003 c

注:同列不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著。+, 菌丝稀疏; ++, 菌丝密; +++, 菌丝浓密。
Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant difference at 0.05 level. +, Fair; ++, Dense; +++, Luxuriant.

2.2 液氮保藏与 4℃斜面移植法保藏菌种的酯酶同工酶分析

20 株黑木耳菌种酯酶同工酶样品电泳酶谱如图 1 所示,共检测出 15 条谱带,酶谱多态性丰富。

各菌株的谱带数有 5~8 条,不同保藏方法下的相同菌株之间条带类型和数量大都一致。各菌株的迁移率(Rf)为 0.37~0.59,其中条带 6 分布频率为 100.0%,可认为是黑木耳酯酶同工酶的特征谱带。

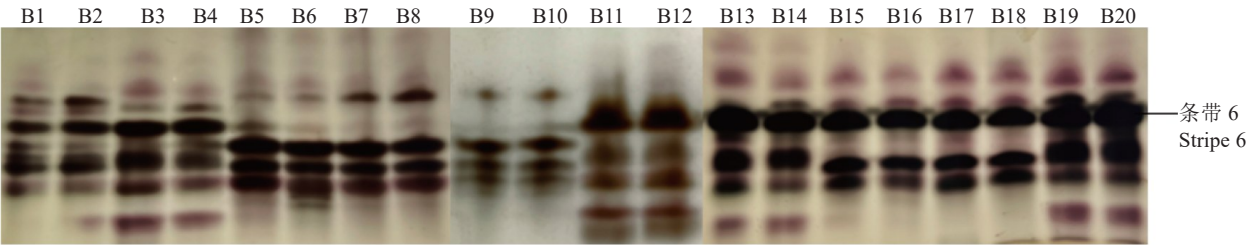


图 1 供试菌株的同工酶酶谱
Fig. 1 The esterase isoenzyme zymograms of the tested strains

在酯酶同工酶图谱的基础上,将有无条带分别用 1 和 0 标记,建立原始数据矩阵,采用 NT-SYS-PC(2.10e)软件进行聚类分析并构建亲缘关系

树状图。由图 2 可知,20 株菌种间的遗传相似系数变化范围在 0.42~1.00,不同保藏方法下的同一菌种相似系数均为 1。

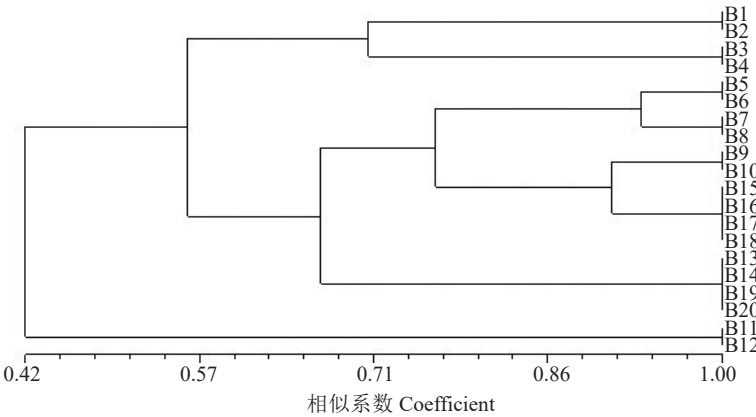
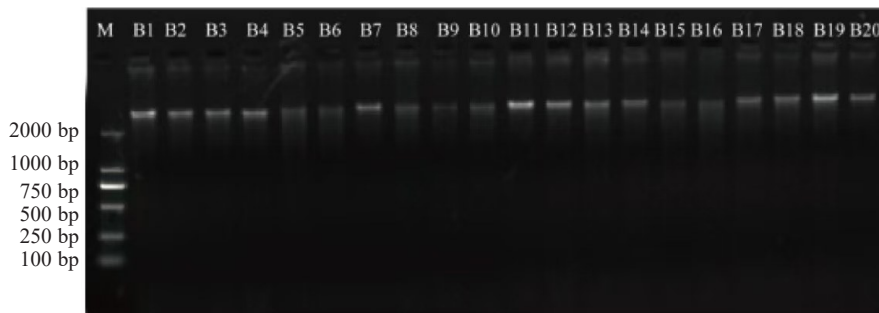


图 2 酯酶同工酶聚类分析
Fig. 2 Cluster analysis of esterase isoenzyme

2.3 液氮保藏与4℃斜面移植法保藏菌种的ISSR及聚类分析

由图3可以看出,黑木耳基因组DNA电泳后

条带较为完整,没有明显的拖尾现象,无明显弥散现象,表明试验得到了纯度较高的DNA样品,可用于后续试验。



注:M. 分子质量标记;B1~B20. 黑木耳菌株编号。下同。

Note: M. DNA marker; B1-B20. The strain numbers of *A. heimuer*. The same below.

图3 黑木耳基因组DNA的电泳检测结果

Fig. 3 Electrophoresis detection results of the DNA of *A. heimuer*

利用ISSR引物对供试的20株黑木耳菌种基因组进行PCR扩增,ISSR-PCR扩增图谱显示,10条ISSR引物在20株黑木耳菌种间扩增出了101

条清晰、稳定的多态性片段,片段长度不等,每条引物对20株黑木耳菌种基因组扩增的条带数介于10~18条。部分引物扩增如图4所示。

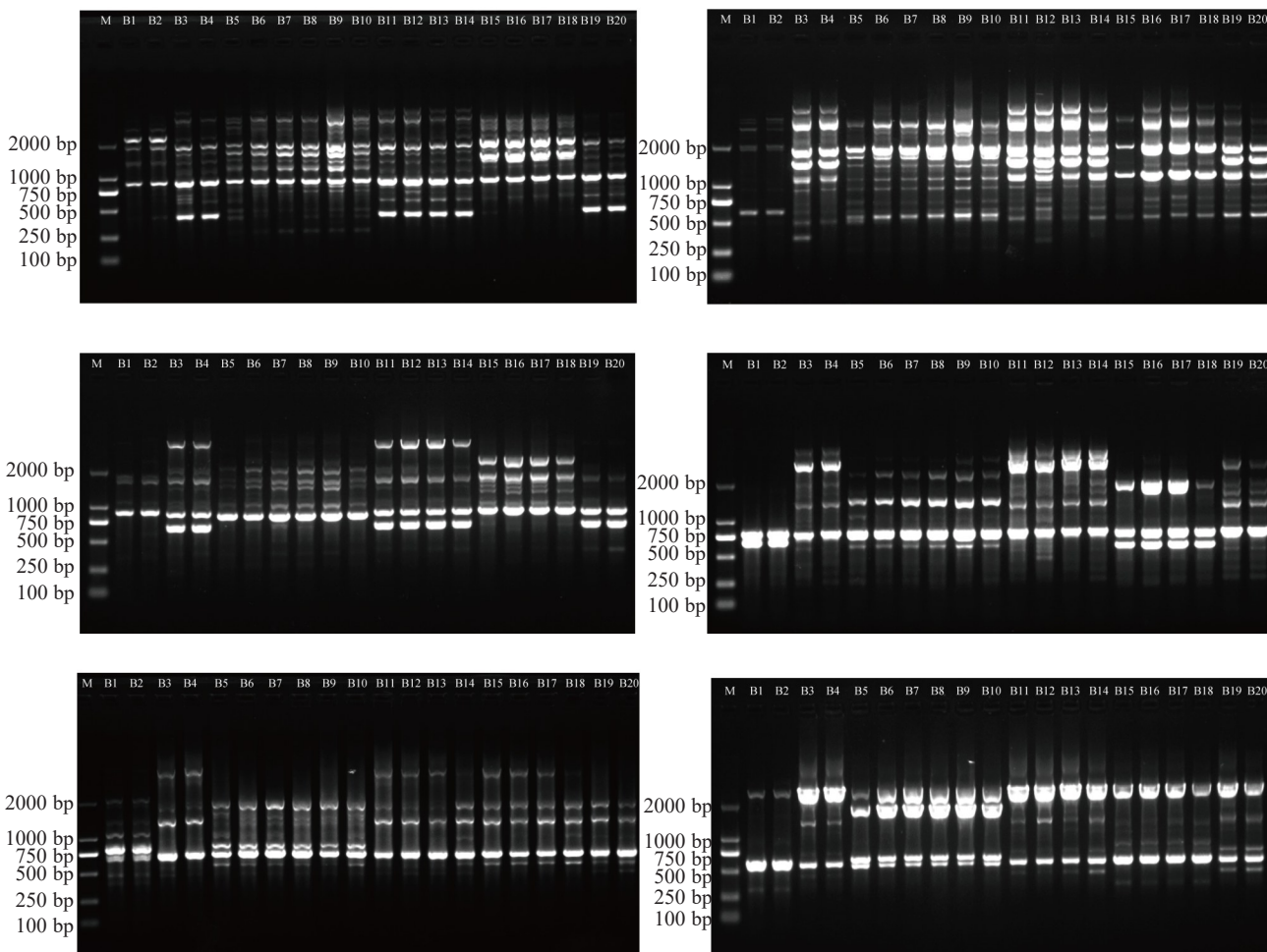


图4 黑木耳菌株ISSR-PCR产物电泳

Fig. 4 ISSR-PCR product electrophoresis of *A. heimuer* strains

将20株黑木耳菌种的ISSR图谱转换为0/1矩阵,有条带记为1,无条带记为0,采用NTSYS-PC(2.10e)软件进行聚类分析,得到亲缘关系树状图。由图5可知,供试的20株黑木耳菌种相似系数在0.51~0.99。B19和B20、B7和B8这两组的相似系

数在0.99左右,说明不同保藏方法下的相同菌株高度相似但仍存在一定差异;B15和B16、B17和B18、B9和B10差异较大;其余10株不同保藏方法的相同菌种的相似系数均高于0.90,说明液氮保藏与4℃斜面移植法保藏的相同菌种在特征谱带相

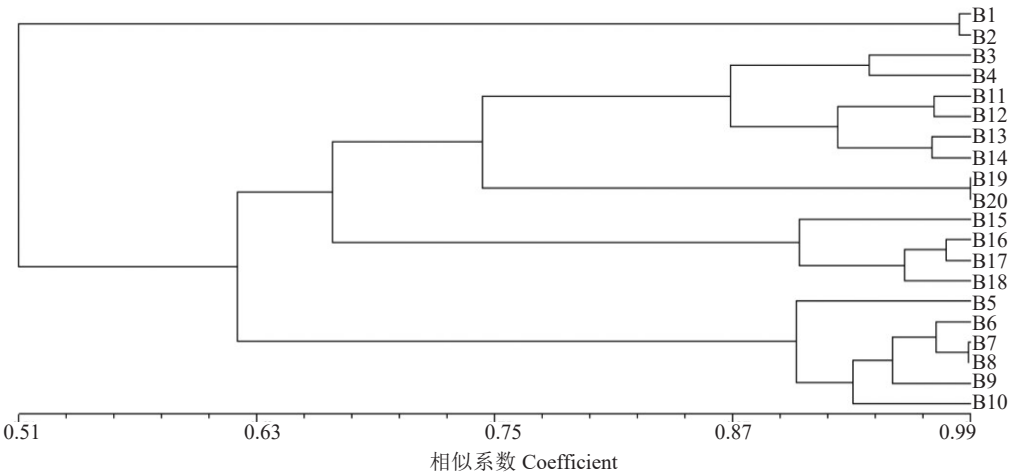


图5 黑木耳菌株基于ISSR遗传关系的聚类分析
Fig. 5 Cluster analysis of the genetic relationships of *A. heimuer* strains based on ISSR

同的情况下,菌种之间存在一定差异。

2.4 液氮保藏与4℃斜面移植法保藏菌种的出耳结果

从液氮保藏与4℃斜面移植法保藏的菌种中

随机选出3对菌种,采用木屑培养基制作菌包,进行出耳试验。结果如表5所示,不同保藏方式的相同菌种在菌丝长满菌包的时间及原基形成时间方面没有显著差异。

表5 液氮保藏与4℃斜面移植法保藏菌种出耳结果
Table 5 The fruiting results of the strains preserved in liquid nitrogen and at 4℃

菌株(液氮) Strain (Liquid nitrogen)	满袋时间 Bag-filling time/d	原基形成时间 Primordium formation time/d	菌株(4℃) Strain (4℃)	满袋时间 Bag-filling time/d	原基形成时间 Primordium formation time/d
黑 29 Hei 29	74 a	87 ab	黑 29 Hei 29	72 ab	91 a
8808	70 b	72 c	8808	70 b	72 c
916	60 c	65 d	916	60 c	68 d

3 讨论与结论

菌种作为食用菌产业生产的基础,任何的退化、变异和污染都有可能给企业造成重大损失,因此如何保持菌种的稳定性成为目前面临的最大问题^[22]。菌种保藏的目的是最大限度地保持菌种的活性及遗传性状的稳定性,在诸多保藏方法中,液氮保藏法最为安全有效,在-196~-150℃的超低温下菌种的生理活动处于完全休眠状态,有效延缓了菌种的变异和退化。蔡凌等^[23]研究表明,利用液氮保藏灵芝菌种,保藏前后菌种未发生变异现象。4℃

斜面移植法长期保藏的食用菌菌种,会出现菌丝减退、生长速度减慢以及某些相关酶(如漆酶、纤维素酶)活性降低的现象,频繁的继代移植也增加了菌种变异的风险。查波等^[16]研究表明,利用4℃斜面移植法保藏羊肚菌菌种超过6个月时,菌种容易失活,本研究也证实液氮保藏菌种在菌丝长势和生长速度方面整体较4℃斜面移植法保藏菌种有显著优势。在菌种的区别性鉴定方面,酯酶同工酶没有分子标记(ISSR)的灵敏度高。液氮保藏与4℃斜面移植法保藏的相同菌种,ISSR分子标记聚类分析的相似系数在0.90~0.99之间,而酯酶同工酶图谱

聚类分析的相似系数全部为 1.0,未能区分出这些细微差异,可能是在菌种遗传背景较为相似的情况下,酯酶同工酶的基因编码差异较小,对于亲缘关系极近的菌株之间的细微变异,同工酶谱差异不明显,难以区分。

实践证明,不同保藏方法对黑木耳菌种的保藏效果不同,液氮与 4℃斜面移植法保藏同一菌种在生长状态和分子评价方面都存在一定差异,液氮保藏的菌种生长速度快,菌丝也较为茂密^[24],与本研究结果基本一致。可能是因为,4℃斜面移植法保藏的菌种仍然具有生理活性,长期处于 cPDA 培养基中导致某些酶活性降低,频繁传代导致遗传物质易发生改变。而菌种在超低温中保存使生理活性和遗传物质更加稳定。这些差异并未在栽培种中表现出来,可能是菌种的生长状态在木屑培养基中得到了恢复。在生产中,4℃斜面移植法保藏的菌种可以采用 cPDA 培养基与木屑培养基变换的方式,来保持或恢复菌种活力的稳定性。

综上所述,采用液氮和 4℃斜面移植法长期保藏黑木耳,同一菌种在菌丝长势和生长速度方面存在差异,液氮保藏整体表现显著优于 4℃斜面移植法保藏;而出耳方面未见显著差异。不同保藏方式下的同一菌种的酯酶同工酶聚类分析图谱相似系数均为 1,ISSR 分子标记聚类分析中相似系数均高于 0.90,说明不同保藏方式下的同一菌种之间高度相似,但仍存在一定差异。研究结果为科学、稳定、高效地保藏菌种提供了理论依据,也为最终解决菌种保藏的难题提供了方向和基础。

参考文献

- [1] 孙鹏.黑木耳种质资源评价与种质创新研究[D].长春:吉林农业大学,2020.
- [2] 米昊雨,耿楠楠,杜鹏禹,等.铜离子对黑木耳漆酶活性及其基因转录水平的影响[J].菌物学报,2025,44(4):71-83.
- [3] 黄东,刘振东,张彦龙.黑木耳多糖的提取方法及抗肿瘤作用机制[J].高原农业,2019,3(6):694-699.
- [4] QIAN L, LIU H, LI T, et al. Purification, characterization and *in vitro* antioxidant activity of a polysaccharide AAP-3-1 from *Auricularia auricula*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 162: 1453-1464.
- [5] 张燕燕,刘新春,王雪,等.黑木耳营养成分及生物活性研究进展[J].南方农业,2018,12(29):130-134.
- [6] 中国食用菌协会.2023 年度全国食用菌统计调查结果分析[J].中国食用菌,2025,44(1):120-129.
- [7] 阳新春,杨财容,祁伟亮,等.鸡腿菇菌种不同保藏方法比较试验[J].食用菌,2022,44(6):17-20.
- [8] STOJKVIC D, REIS F S, BARROS L, et al. Nutrients and non-nutrients composition and bioactivity of wild and cultivated *Coprinus comatus*(O F Mull.)Pers[J]. Food and Chemical Toxicology, 2013(59):289-296.
- [9] 刘昕哲.对于食用菌种质资源保藏方法的探究[J].种子科技,2020,38(10):34-35.
- [10] 戴肖东,王玉江,张丕奇,等.木屑长期保藏食用菌菌种活性试验[J].黑龙江科学,2013(10):18-19.
- [11] 甘颖,陈杰,林俊彬,等.食用菌菌种退化机制及其保藏方法研究进展[J/OL].菌物研究,1-9(2025-02-24). <https://doi.org/10.1334/j.jfr.2024.1668>.
- [12] CUI H C, REN X B, YUN L S, et al. Simple and inexpensive long-term preservation methods for *Phytophthora infestans*[J]. Journal of Microbiological Methods, 2018(152):80-85.
- [13] IQBAL S, ASHFAQ M, MALIK A H, et al. Isolation, preservation and revival of *Trichoderma viride* in culture media[J]. Journal of Entomology and Zoology Studies, 2017,5(3):1640-1646.
- [14] 孔维丽,袁瑞奇,孔维威,等.食用菌菌种保藏历史、现状及研究进展概述[J].中国食用菌,2015,34(5):1-5.
- [15] 陈胤.姬松茸菌种特性与液氮保藏研究[D].福州:福建农林大学,2014.
- [16] 查波,王文丽,余文娟,等.羊肚菌菌种不同保藏方法保藏效果比较[J].食用菌,2024,46(1):31-33.
- [17] 焦栎禾,马银鹏,王凤利,等.无菌水长期保藏黑木耳菌种性状研究[J].北方园艺,2023(12):115-121.
- [18] 中华人民共和国农业部.食用菌菌种真实性鉴定 酯酶同工酶电泳法:NY/T 1097-2006[J].北京:中国标准出版社,2006.
- [19] 韩增华,张介弛,戴肖东,等.黑木耳液体菌丝球长期保藏菌种性状研究[J].食用菌,2007(1):21-22.
- [20] 中华人民共和国农业部.食用菌菌种真实性鉴定 ISSR 法:NY/T 1730-2009[J].北京:中国标准出版社,2009.
- [21] 王立枫.黑龙江省野生黑木耳菌种的 ISSR 指纹分析及 SCAR 标记[D].哈尔滨:东北农业大学,2010.
- [22] 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.
- [23] 蔡凌,贺黎铭,谢欣,等.一种灵芝菌种液氮保藏方法的研究[J].北方园艺,2024(10):92-98.
- [24] 张介弛,戴肖东,张丕奇,等.黑木耳菌种保藏方法的比较研究[J].中国食用菌,2007(5):16-18.