



## 研究报告

## 金针菇退化菌丝的生理生化特征

田甜 姚澜 范冬雨 李可心 李长田\* 李玉\*

吉林农业大学食药菌教育部工程研究中心 吉林 长春 130118

**摘要:**【背景】金针菇菌种在继代培养的过程中会出现菌种退化的现象,影响着金针菇的产量与质量。【目的】为研究金针菇退化菌种菌丝的生理生化特征,筛选金针菇退化菌株。【方法】以金针菇原始菌株(H)和退化菌株(T)为研究对象,测定不同碳源培养基上菌丝的生理生化特征及超氧化物歧化酶(Superoxide Dismutase, SOD)、过氧化物酶(Peroxidase, POD)和过氧化氢酶(Catalase, CAT)的活性,并测定菌丝在栽培瓶中的漆酶(Laccase, Lac)和锰过氧化物酶(Manganese Peroxidase, MnP)的活性,记录菌丝在搔菌后的恢复情况。【结果】T 在各个碳源的菌丝生长速度低于 H,粉孢子等级在 3–4 级之间, SOD、CAT 活性低于 H,在栽培料中的 Lac 活性和 MnP 活性在第 5 天时与 H 相同,在第 10、15、20 天低于 H。T 在搔菌后菌丝恢复时间比 H 恢复时间长,恢复后的菌丝长势没有 H 长势浓密。【结论】通过探究金针菇原始菌株与退化菌株的菌丝生理生化特征,为判断金针菇菌株是否为退化菌株提供理论依据。

**关键词:** 金针菇, 菌种退化, 菌丝, 生物学特性

## Physiological and biochemical characteristics of degenerate mycelium of *Flammulina filiformis*

TIAN Tian YAO Lan FAN Dongyu LI Kexin LI Changtian\* LI Yu\*

Engineering Research Center of Chinese Ministry of Education for Edible and Medicinal Fungi, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118, China

**Abstract:** [Background] In the process of subculture, *Flammulina filiformis* strains will degenerate, which affects the yield and quality of *F. filiformis* strains. [Objective] The physiological and biochemical characteristics of the mycelia of the degenerative strains of *F. filiformis* were studied in order to select the degenerate strains of *F. filiformis*. [Methods] This experiment by *F. filiformis* original strain (H) and degenerated strains (T) as the research object, measuring the different carbon source culture medium on physiological and biochemical characteristics of mycelia and superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) and catalase (CAT) activity, and determination of mycelia in the cultivation of laccase (Lac) and the activity of the manganese peroxidase (MnP), recorded the mycelia recovery after scratching the fungi.

**Foundation items:** National Key Research and Development Program of China (2020YFD1000304, 2017YFD0601002)

\*Corresponding authors: Tel: 86-431-84532989

E-mail: LI Changtian: changtianli@126.com; LI Yu: yuli966@126.com

**Received:** 18-12-2020; **Accepted:** 19-02-2021; **Published online:** 15-03-2021

基金项目: 国家重点研发计划(2020YFD1000304, 2017YFD0601002)

\*通信作者: Tel: 0431-84532989

E-mail: 李长田: changtianli@126.com; 李玉: yuli966@126.com

收稿日期: 2020-12-18; 接受日期: 2021-02-19; 网络首发日期: 2021-03-15

**[Results]** The mycelia growth rate of T in each carbon source was lower than that of H, the levels of oidiopore were between 3–4, the activities of SOD and CAT activity were lower than that of H, and the activity of MnP and Lac were the same as H at the 5th day, and lower than H at the 10th, 15th and 20th days. The recovery time of T was longer than H, and the growth thvigor of the restored mycelia was less dense than H. **[Conclusion]** By exploring the physiological and biochemical characteristics of the mycelium of the original strain and the degenerated strain of *F. filiformis*, it provides a theoretical basis for judging whether the strain of *F. filiformis* is the degenerated strain.

**Keywords:** *Flammulina filiformis*, strain degeneration, mycelium, biological characteristics

金针菇(*Flammulina filiformis*)又名构菌、冬菇、毛柄金钱菌, 隶属于真菌界(Fungi)担子菌门(Basidiomycota)蘑菇纲(Agaricomycetes)蘑菇目(Agaricales)泡头菌科(Physalacriaceae)冬菇属(*Flammulina*)<sup>[1-2]</sup>。金针菇因其含有较高的人体必需氨基酸被称为“增智菇”, 是广为人知的药食用菌<sup>[3]</sup>。金针菇不仅在餐桌上惹人喜爱, 还有抗菌、抗氧化、抗癌、保肝护肝的功效和增强小鼠记忆的功能<sup>[4-10]</sup>。

食用菌菌种在继代培养过程中, 由于遗传性的变异而引起原品种的优良性状、典型性和一致性部分或全部丧失的现象常称为菌种退化<sup>[11]</sup>。近年来, 食用菌的退化现象备受关注, 围绕这一问题开展了许多研究, 研究多在蛹虫草<sup>[12]</sup>、草菇<sup>[13]</sup>、羊肚菌<sup>[14]</sup>、双孢菇<sup>[15]</sup>、黑木耳<sup>[16]</sup>、秀珍菇<sup>[17]</sup>等食用菌上, 如蛹虫草的菌种极易发生退化, 菌种的使用期半年不到或传种几代就会产生严重的退化现象<sup>[18]</sup>, 如菌丝体分枝多、畸形、呈弯曲的不规则状且丧失了合成虫草素的能力<sup>[19]</sup>, 草菇退化菌丝表现为菌丝的生长速度和生物量随着代数增加先增加再减少<sup>[20]</sup>。

随着金针菇产业的不断发展, 金针菇工厂化的周年生产过程中出现了菌种退化现象, 如出菇期明显推迟、成菇率低、出菇不整齐、产量下降等<sup>[21]</sup>。解决金针菇的菌种退化问题已成为国内外学者研究的焦点。一直以来, 育种专家和有关工作者都希望能从菌丝生长阶段找出与其子实体形成等农艺性状相关的菌种退化判别标准, 至今尚没有有效方法, 但也有一些相关的方法探索, 如日本 Magae 等用简单的比色方法通过不同的金针菇菌株对特殊

培养基的脱色能力的区别快速检测退化菌株<sup>[22]</sup>。金针菇菌丝体进行无性繁殖时产生的无性孢子通常称为粉孢子<sup>[23]</sup>, 粉孢子产生后形成菌丝体进行无性繁殖, 这种菌丝体结实能力差, 对金针菇的产量影响大。培养基成分、培养温度对粉孢子形成有一定的影响<sup>[24]</sup>。抗氧化酶体系具有清除生物体内活性氧、维持生物体内氧化还原平衡的功能<sup>[25]</sup>。胞外酶是分泌到细胞外通过分解基质而使自身获得营养物质的酶<sup>[26]</sup>。胞外酶的产生与活性变化的强弱能反映出菌丝的生理生化特性, 从而反映菌株的生长情况以及优良状况<sup>[27]</sup>, 如漆酶是木质素降解的重要催化剂, 可以将木质素芳香族高分子化合物分解为小分子物质供菌丝生长<sup>[28]</sup>。

本研究以金针菇原始菌株 H 与由原始菌株 H 继代的退化菌株 T 的菌丝为实验材料, 测定金针菇原始菌株 H 与退化菌株 T 在不同碳源下的菌丝特性和抗氧化酶, 以及栽培瓶中锰过氧化物酶和漆酶的活性, 探讨金针菇退化菌丝的特性, 以期找到退化菌株和原始菌株在菌丝方面的差别及退化菌种在菌丝方面的生理生化特性, 为工厂前期筛选退化菌种及生产中鉴定金针菇菌株退化提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 供试菌种

金针菇原始菌株 H 和退化菌株 T 由吉林农业大学食药菌教育部工程研究中心提供。退化菌株 T 由原始菌株 H 连续继代 33 次获得, 记为 T。T 的产量比 H 降低 39.31%。

### 1.1.2 主要试剂和仪器

葡萄糖、果糖、蔗糖、海藻糖、糊精、可溶性淀粉, 国药集团化学试剂有限公司; 磷酸二氢钾、硫酸镁, 北京化工厂; 超氧化物歧化酶试剂盒、过氧化物酶试剂盒、过氧化氢酶试剂盒、漆酶试剂盒和锰过氧化物酶试剂盒, 苏州科铭生物有限公司。数显恒温水浴锅, 常州澳华仪器有限公司; 多功能酶标仪, BioTek 公司; 立式压力蒸汽灭菌器, 上海博迅实业有限公司医疗设备厂; 生化培养箱, 上海新苗医疗器械有限公司; 超净工作台, 上海苏净实业有限公司。

## 1.2 方法

### 1.2.1 碳源培养基的配制

碳源培养基 C1 (g/L): 马铃薯 200.0, 葡萄糖 20.0, 琼脂粉 20.0,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.1,  $\text{MgSO}_4$  0.1, RO 水定容至 1 L。碳源培养基 C2 (g/L): 马铃薯 200.0, 果糖 20.0, 琼脂粉 20.0,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.1,  $\text{MgSO}_4$  0.1, RO 水定容至 1 L。碳源培养基 C3 (g/L): 马铃薯 200.0, 蔗糖 20.0, 琼脂粉 20.0,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.1,  $\text{MgSO}_4$  0.1, RO 水定容至 1 L。碳源培养基 C4 (g/L): 马铃薯 200.0, 海藻糖 20.0, 琼脂粉 20.0,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.1,  $\text{MgSO}_4$  0.1, RO 水定容至 1 L。碳源培养基 C5 (g/L): 马铃薯 200.0, 糊精 20.0, 琼脂粉 20.0,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.1,  $\text{MgSO}_4$  0.1, RO 水定容至 1 L。碳源培养基 C6 (g/L): 马铃薯 200.0, 可溶性淀粉 20.0, 琼脂粉 20.0,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.1,  $\text{MgSO}_4$  0.1, RO 水定容至 1 L。

所有培养基均在  $1 \times 10^5$  Pa 灭菌 30 min。

### 1.2.2 培养方法

待培养基凝固后, 在培养基平板皿底划“+”线。无菌条件下用打孔器于菌落边缘取菌龄一致的菌块, 然后接种在“+”线交叉处,  $25^\circ\text{C}$  暗处培养 5 d。

### 1.2.3 平板菌丝长势调查和生长速度测定

采取十字交叉法记录 5 d 内菌丝生长长势。

### 1.2.4 粉孢子数量

观察记录 H、T 在培养基中第 5 天的粉孢子生长状况, 从少到多分级。将粉孢子数量分为 4 级,

从接种块到菌丝边缘无粉孢子为 0 级; 以接种块为原点, 0.5 cm 为半径有少量粉孢子为 1 级; 以接种块为原点, 0.5 cm 为半径, 有多量粉孢子为 2 级; 以接种块为原点, 1 cm 为半径有少量粉孢子为 3 级; 以接种块为原点, 1 cm 为半径有多量粉孢子为 4 级。

## 1.3 抗氧化酶活性测定

### 1.3.1 SOD 活性

采用 wst-8 法, 按照超氧化物歧化酶试剂盒说明书测定不同碳源下 H 和 T 的超氧化物歧化酶活性。

### 1.3.2 POD 活性

采用愈创木酚法, 按照过氧化物酶试剂盒说明书测定不同碳源下 H 和 T 的过氧化物酶活性。

### 1.3.3 CAT 活性

采用钼酸铵比色法, 按照过氧化氢酶试剂盒说明书测定不同碳源下 H 和 T 的过氧化氢酶活性。

## 1.4 培养料中 Lac 和 MnP 酶活性测定

### 1.4.1 取样

测定菌丝生长的第 5、10、15、20 天 4 个不同生长时期的 Lac 活性、MnP 活性, 每个时期随机选取 H 和 T 的 3 个栽培瓶, 分别在每瓶的上、中、下 3 个部位取样, 混匀备用。

### 1.4.2 粗酶液的提取方法

称取 0.1 g 组织, 加入 1 mL 提取液, 进行冰浴匀浆,  $4^\circ\text{C}$ 、14 000 r/min 离心 30 min 后取上清置于冰上待测。

### 1.4.3 Lac 活性

按照漆酶试剂盒说明书测定培养料中菌丝生殖阶段的漆酶活性。

### 1.4.4 MnP 活性

按照锰过氧化物酶试剂盒说明书测定培养料中菌丝生殖阶段的锰过氧化物酶活性。

### 1.4.5 搔菌后的菌丝恢复情况

观察记录金针菇搔菌后的菌丝恢复情况。

## 1.5 数据分析

以上实验均重复 3 次, 取平均值。采用 SPSS 19.0 软件进行分析。

2 结果与分析

2.1 不同碳源对 H 和 T 菌丝生长速度、菌丝长势的影响

测定 H 和 T 的菌丝生长速度、菌丝长势(表 1, 图 1)。H 的菌丝在以葡萄糖为碳源的培养基上的生长速度与以果糖、蔗糖、海藻糖、糊精和可溶性淀粉为碳源的培养基上没有显著性差异。H 在葡萄糖、果糖、蔗糖、糊精、可溶性淀粉为碳源的培养基上菌丝洁白、浓密, 在以海藻糖为碳源

的培养基上菌丝较为浓密。T 在不同碳源培养基上的菌丝生长速度低于 H 在不同碳源培养基上的菌丝生长速度, 大小依次为: 糊精>可溶性淀粉>蔗糖>海藻糖>果糖>葡萄糖。T 的菌丝生长速度在以葡萄糖为碳源的培养基上与以蔗糖、糊精和可溶性淀粉为碳源的培养基上有显著性差异, 与以果糖、海藻糖为碳源的培养基上的菌丝生长速度没有显著性差异, 退化菌株 T 菌丝在各碳源处理中长势稀疏。

表 1 不同碳源下金针菇原始菌株 H 与退化菌株 T 的菌丝生长情况

Table 1 Effects of different carbon sources on the mycelium growth of *F. filiformis*

碳源 Carbon source	菌株 H Strain H		菌株 T Strain T	
	生长速率 Growth rate (mm/d)	长势 Growth vigor	生长速率 Growth rate (mm/d)	长势 Growth vigor
葡萄糖 Glucose	9.78±0.21a	+++	6.85±0.14c	+
果糖 Fructose	9.42±0.48a	+++	6.95±0.32c	+
蔗糖 Sucrose	10.58±0.83a	+++	8.05±0.55b	+
海藻糖 Trehalose	9.48±0.78a	++	7.66±0.52bc	+
糊精 Dextrin	9.63±0.24a	+++	9.62±0.24a	+
可溶性淀粉 Soluble starch	9.67±0.41a	+++	8.45±0.27b	+

注: +: 菌丝稀疏; ++: 菌丝较浓密; +++: 菌丝浓密。不同小写字母表示差异显著

Note: +: Mycelia grow weakly; ++: Mycelia grow ordinarily; +++: Mycelia grow strongly. Different lowercase letters indicate significant differences

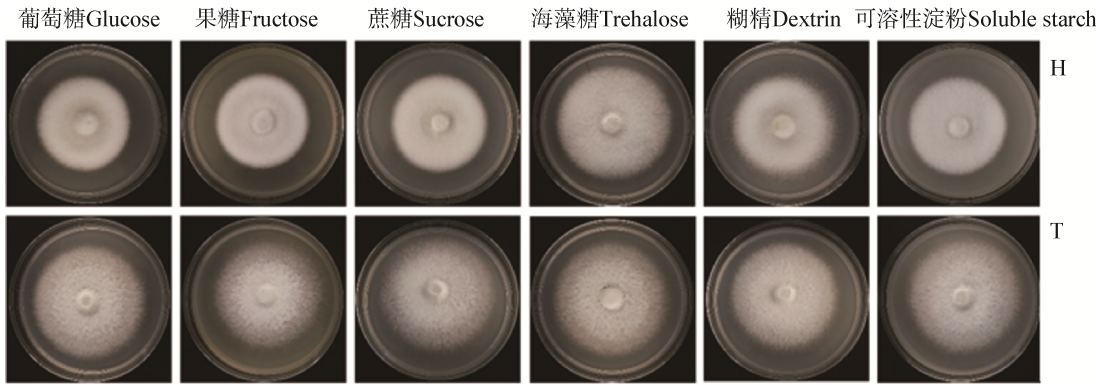


图 1 不同碳源下金针菇菌丝的生长情况

Figure 1 Growth of *F. filiformis* mycelium under different carbon sources

2.2 不同碳源对金针菇粉孢子的影响

粉孢子是评价金针菇菌种优劣的一个重要指标,对 H 和 T 的粉孢子进行观察记录(表 2)。H 在以果糖和糊精为碳源的培养基上均为 0 级;在蔗糖、葡萄糖、海藻糖、可溶性淀粉为碳源的培养基上为 1 级。T 在以葡萄糖、蔗糖、海藻糖和糊精为碳源的培养基上粉孢子等级为 3 级;在以果糖和可溶性淀粉为碳源的培养基上粉孢子等级为 4 级,粉孢子呈面粉状。

2.3 不同碳源对金针菇菌丝 SOD、POD 和 CAT 活性的影响

SOD 是胞内清除 ROS 的第一道防线, SOD 活性下降, 机体的抗氧化能力将大大降低。对 H 和 T 菌丝清除活性氧的主要抗氧化酶 SOD、POD 和 CAT 活性进行测定。T 的 SOD 和 CAT 活性均低于 H, 如表 3、4、5 所示。H 在以葡萄糖为碳源的培养基上的 SOD 活性与以果糖、海藻糖、糊精为碳源的培养基上有显著性差异, T 在以葡萄糖为碳源的培养基上的 SOD 活性与以蔗糖、海藻糖、可溶性淀粉、糊精为碳源的培养基上有显著性差异; H 和 T 在以葡萄糖为碳源的培养基上的 POD 活性与以果糖、蔗糖、海藻糖、可溶性淀粉、糊精为碳源的培养基上有显著性差异; H 在以葡萄糖为碳源的培养基上的 CAT 活性与以海藻糖为碳源的培养基上有显著性差异, T 在与以葡萄糖为碳源的培养基上的 CAT 活性与以可溶性淀粉、糊精为碳源的培养基上有显著性差异。

表 2 不同碳源下金针菇原始菌株 H 与退化菌株 T 的粉孢子生长情况

Table 2 Effects of different carbon sources on the oidiospore formation of *F. filiformis*

碳源	菌株 H	菌株 T
Carbon source	Strain H	Strain T
葡萄糖 Glucose	1	3
果糖 Fructose	0	4
蔗糖 Sucrose	1	3
海藻糖 Trehalose	1	3
糊精 Dextrin	0	3
可溶性淀粉 Soluble starch	1	4

表 3 不同碳源下金针菇原始菌株 H 与退化菌株 T 的 SOD 活性

Table 3 Effects of different carbon sources on mycelium SOD activity of *F. filiformis*

碳源	酶活力	
	Enzyme activity (U/g)	
	菌株 H	菌株 T
Carbon source	Strain H	Strain T
葡萄糖 Glucose	257.04±4.68d	183.6±2.97d
果糖 Fructose	346.14±5.02b	183.1±1.95d
蔗糖 Sucrose	267.62±2.98d	166.04±1.78e
海藻糖 Trehalose	315.42±2.54c	234.27±3.7b
可溶性淀粉	243.4±1.96d	226.56±6.13c
Soluble starch		
糊精 Dextrin	656.48±32.11a	414.3±1.3a

表 4 不同碳源下金针菇原始菌株 H 与退化菌株 T 的 POD 活性

Table 4 Effects of different carbon sources on mycelium POD activity of *F. filiformis*

碳源	酶活力	
	Enzyme activity (U/g)	
	菌株 H	菌株 T
Carbon source	Strain H	Strain T
葡萄糖 Glucose	1 653.33±61.1a	946.67±61.1a
果糖 Fructose	476.67±55.08c	166.67±23.09c
蔗糖 Sucrose	613.33±46.19b	373.33±166.53b
海藻糖 Trehalose	560±40bc	280±40bc
可溶性淀粉	360±40d	280±40bc
Soluble starch		
糊精 Dextrin	640±69.28b	240±40bc

表 5 不同碳源下金针菇原始菌株 H 与退化菌株 T 的 CAT 活性

Table 5 Effects of different carbon sources on mycelium CAT activity of *F. filiformis*

碳源	酶活力	
	Enzyme activity (μmol/(min·g))	
	菌株 H	菌株 T
Carbon source	Strain H	Strain T
葡萄糖 Glucose	1.3±0.19a	0.18±0.14c
果糖 Fructose	1.54±0.36a	0.39±0.26c
蔗糖 Sucrose	1.51±0.23a	0.6±0.09bc
海藻糖 Trehalose	0.54±0.31b	0.45±0.14c
可溶性淀粉	1.38±0.39a	0.95±0.18ab
Soluble starch		
糊精 Dextrin	1.63±0.29a	1.17±0.3a

## 2.4 金针菇培养料中菌丝的 Lac 和 MnP 活性

H 和 T 在培养料菌丝的 Lac 活性和 MnP 活性在菌丝生殖阶段不断提升, T 的 Lac 活性在第 5 天与 H 的 Lac 活性相同, T 的第 10、15、20 天的 Lac 活性均低于 H 的 Lac 活性(图 2)。T 的 MnP 活性在第 5 天与 H 的 MnP 活性相同, T 在 10、15、20 d 的 MnP 活性低于 H 的 MnP 活性。

## 2.5 搔菌后的菌丝恢复情况

H 和 T 搔菌后在料面上菌丝恢复呈现出不一样的状态, 如图 3 所示。图 3A、B 是 H 和 T 搔菌后第 4 天菌丝在料面的恢复情况, H 的菌丝在料面开始萌发, T 的菌丝在料面还未萌发; 图 3C、D 是 H 和 T 搔菌后第 5 天菌丝在料面的恢复情况, H 菌丝萌发完全, T 刚刚开始萌发。

## 3 讨论与结论

金针菇主要为工厂化周年栽培, 菌种退化会给金针菇产业发展带来一定的损失, 因此退化金针菇菌株的生理生化特征急需开展研究。本研究通过测定分析原始菌株和退化菌株的各项特征参数, 为挑选优良菌株提供检测手段, 如果在菌丝生长阶段能够找到与退化相关的指标, 就能提前检测出菌种是否在可使用期内, 减少菌株退化给生产带来的风险。

食用菌气生菌丝密度、生长速度等指标可以用来衡量食用菌菌丝体生长活力是否旺盛, 其值越高, 代表菌丝体活力越旺盛<sup>[29]</sup>。本研究发现培养基中碳源的不同对原始菌株的菌丝生长速度没有影响, 对退化菌株的菌丝生长速度有不同的影响, 退化菌株的菌丝生长速度低于原始菌株。李晓等<sup>[16]</sup>

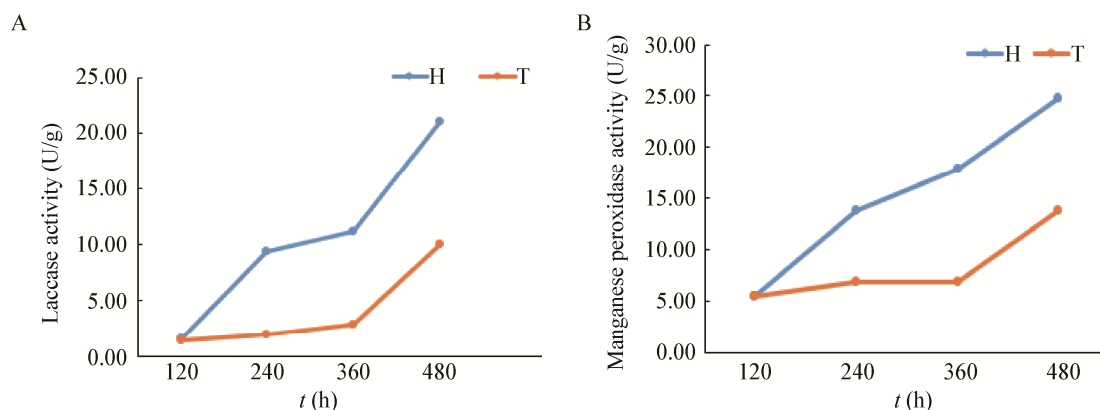


图 2 金针菇菌丝在培养料中第 5、10、15、20 天的漆酶和锰过氧化物酶的活性

Figure 2 Changes of Lac and MnP activity of *F. filiformis* mycelia in medium for 5, 10, 15 and 20 days

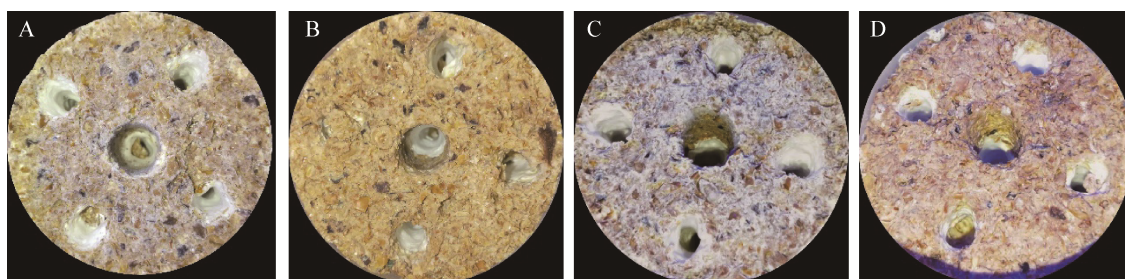


图 3 金针菇搔菌后菌丝恢复情况

Figure 3 The mycelium recovery of *F. filiformis*

注: A、B 搔菌后第 4 天; C、D 搔菌后第 5 天

Note: A, B Fungi scratching after the fourth day; C, D Fungi scratching after the fifth day



发现黑木耳菌种继代次数越多, 菌丝平均日生长量逐渐降低, 这与本研究结果一致。唐木田郁夫等提出在金针菇菌种培养时, 不要单看菌丝变化, 还要捕捉其他的变化动向, 金针菇菌株不稳定主要是粉孢子的影响, 单核菌丝与混入的单核粉孢子菌丝发生结合时, 会形成双核菌丝, 易导致遗传特性变异<sup>[30]</sup>。本研究探究了不同碳源对 H 和 T 粉孢子产生的影响, 不同碳源下 T 的粉孢子量在 3-4 级之间, H 在 0-1 级之间。因此在判断观察金针菇菌株是否退化时, 建议以上述生理生化特征作为金针菇因继代次数增加引起退化时的初步评估考核指标。

大量研究表明, 退化菌株会表现出活性氧清除能力变差, 活性氧大量积累的现象。冯玉杰通过对蛹虫草退化菌株的转录组测序, 发现菌株的退化过程与活性氧积累以及清除活性氧能力下降有关<sup>[31]</sup>。李美娜<sup>[32]</sup>研究表明原始菌株中 SOD 酶的活性显著高于退化菌株, 与本研究结果一致, 本研究通过测定活性氧代谢途径中主要酶活性, 研究了退化菌株在不同碳源下超氧化物歧化酶、过氧化物酶、过氧化氢酶的酶活性与原始菌株的差异, 为探究活性氧胁迫对菌种退化的分子机制打下基础, 为鉴别金针菇原始菌株与退化菌株提供了一项有价值的参数。退化菌株 T 在培养料中的菌丝漆酶活性低于原始菌株 H, 与退化金针菇搔菌后的菌丝恢复长势差、子实体产量下降的现象互相印证, 为金针菇菌种退化检测指标提供参考。

## REFERENCES

- [1] Li Y, Li TH, Yang ZL, Tolgor B, Dai YC. Atlas of Chinese Macrofungi Resources[M]. Zhengzhou: Central Chinese Farmer Press, 2015 (in Chinese)  
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
- [2] Dai YC, Yang ZL. Notes on the nomenclature of five important edible fungi in China[J]. Mycosystema, 2018, 37(12): 1572-1577 (in Chinese)  
戴玉成, 杨祝良. 中国五种重要食用菌学名新注[J]. 菌物学报, 2018, 37(12): 1572-1577
- [3] Smiderle FR, Carbonero ER, Sassaki GL, Gorin PAJ, Iacomini M. Characterization of a heterogalactan: some nutritional values of the edible mushroom *Flammulina velutipes*[J]. Food Chemistry, 2008, 108(1): 329-333
- [4] Dong YR, Cheng SJ, Qi GH, Yang ZP, Yin SY, Chen GT. Antimicrobial and antioxidant activities of *Flammulina velutipes* polysaccharides and polysaccharide-iron(III) complex[J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 161: 26-32
- [5] Yeh MY, Ko WC, Lin LY. Hypolipidemic and antioxidant activity of enoki mushrooms (*Flammulina velutipes*)[J]. BioMed Research International, 2014, 2014: 352385
- [6] Zhang TT, Ye JF, Xue CH, Wang YM, Liao WZ, Mao LM, Yuan MM, Lian S. Structural characteristics and bioactive properties of a novel polysaccharide from *Flammulina velutipes*[J]. Carbohydrate Polymers, 2018, 197: 147-156
- [7] Zhang AL. Effect of *Flammulina velutipes* polysaccharide on proliferation and apoptosis of HepG2 cells[D]. Changchun: Master's Thesis of Jilin Agricultural University, 2017 (in Chinese)  
张爱龙. 金针菇多糖抑制肝癌 HepG2 细胞增殖及诱导细胞凋亡作用[D]. 长春: 吉林农业大学硕士学位论文, 2017
- [8] Yang WJ, Yu J, Zhao LY, Ma N, Fang Y, Pei F, Mariga AM, Hu QH. Polysaccharides from *Flammulina velutipes* improve scopolamine-induced impairment of learning and memory of rats[J]. Journal of Functional Foods, 2015, 18: 411-422
- [9] Rathore H, Prasad S, Sharma S. Mushroom nutraceuticals for improved nutrition and better human health: a review[J]. PharmaNutrition, 2017, 5(2): 35-46
- [10] Zhang TY, Gao YS, Zhang AL, Zhou JS, Song H. Effects of *Flammulina velutipes* stembase on T and B lymphocyte immune functions of broilers[J]. Journal of China Agricultural University, 2016, 21(4): 86-94 (in Chinese)  
张彤瑶, 高雅松, 张爱龙, 周家生, 宋慧. 金针菇菌脚对肉鸡 T、B 淋巴细胞免疫功能的影响[J]. 中国农业大学学报, 2016, 21(4): 86-94
- [11] Liao HF, Zhou ZH, Chen DM, Xie XD, Chen DY, He CW, Zhang Z. Analysis on quality control of mushroom strain propagation in factory production[J]. Edible Fungi of China, 2019, 38(1): 16-20 (in Chinese)  
廖浩锋, 周振辉, 陈东梅, 谢晓丹, 陈多扬, 何纯旺, 张智. 食用菌工厂化栽培中菌种扩繁的质量控制浅析[J]. 中国食用菌, 2019, 38(1): 16-20
- [12] Yin J, Xin XD, Weng YJ, Gui ZZ. Transcriptome-wide analysis reveals the progress of *Cordyceps militaris* subculture degeneration[J]. PLoS One, 2017, 12(10): e0186279

- [13] Liu XX, An XM, Yun JM, Bao RX, Ye CG, Zhao FY. Rejuvenation of *Volvariella volvacea* degeneration strains by changing medium carbon source[J]. *Mycosystema*, 2020, 39(7): 1312-1321 (in Chinese)  
刘小霞, 安学明, 俞建民, 包瑞星, 叶晨光, 赵风云. 改变培养基碳源复壮草菇退化菌种[J]. *菌物学报*, 2020, 39(7): 1312-1321
- [14] Liu L. Degeneration of *Morchella* hyphae and transcriptome analysis[D]. Hanzhong: Master's Thesis of Shaanxi University of Technology, 2020 (in Chinese)  
刘璐. 羊肚菌菌丝退化现象及转录组分析[D]. 汉中: 陕西理工大学硕士学位论文, 2020
- [15] Chen MY, Wang ZS, Liao JH, Li HR, Cai ZX, Xie BG. Differential proteomics analysis of degeneration on the substrate-decomposing of *Agaricus bisporus*[J]. *Mycosystema*, 2011, 30(3): 508-513 (in Chinese)  
陈美元, 王泽生, 廖剑华, 李洪荣, 蔡志欣, 谢宝贵. 双孢蘑菇基质降解能力退化的差异蛋白质组学分析[J]. *菌物学报*, 2011, 30(3): 508-513
- [16] Li X, Meng XX, Li SJ, Song G, Xie ML. Study on the relation between subculture times and degeneration of *Auricularia auricular-judae*[J]. *Heilongjiang Agricultural Sciences*, 2015(4): 138-139 (in Chinese)  
李晓, 孟秀秀, 李寿建, 宋关, 谢孟乐. 黑木耳母种继代培养次数与菌种退化关系研究[J]. *黑龙江农业科学*, 2015(4): 138-139
- [17] Ke BR, Lu ZH, Wu XP, Chen FC, Lan QX. Biological characteristics of degenerated strains of *Pleurotus pulmonarius* and detection of dsRNA virus[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2018, 49(1): 98-103 (in Chinese)  
柯斌榕, 卢政辉, 吴小平, 陈发川, 兰清秀. 秀珍菇退化菌株生物学特征比较及 dsRNA 病毒检测[J]. *南方农业学报*, 2018, 49(1): 98-103
- [18] Zhou SC, Zou G, Yang ZS, Bao DP, Yao WW, Yang J, Wang Y, Li XL. Physiological and biochemical characteristics of a degraded strain of *Cordyceps militaris*[J]. *Acta Edulis Fungi*, 2019, 26(4): 23-28, 157 (in Chinese)  
周思池, 邹根, 杨占山, 鲍大鹏, 姚威威, 杨杰, 汪滢, 李晓玲. 蛹虫草退化菌株的生理生化特征[J]. *食用菌学报*, 2019, 26(4): 23-28, 157
- [19] Meng XL, Li CX. Detection method and influencing factors of strain degradation of *Cordyceps militaris*[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2017, 45(13): 133-134, 156 (in Chinese)  
孟小丽, 李翠新. 蛹虫草菌种退化的检测方法和影响因素[J]. *安徽农业科学*, 2017, 45(13): 133-134, 156
- [20] Chen X, Zhang Z, Liu XX, Cui B, Miao WT, Cheng WW, Zhao FY. Characteristics analysis reveals the progress of *Volvariella volvacea* mycelium subculture degeneration[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 2045
- [21] Li XF, Tong XD, Li CT, Fu YP, Song B, Li Y. Preliminary study on optimization of conditions for rejuvenation of degenerated strains of *Flammulina filiformis*[J]. *Edible and Medicinal Mushrooms*, 2019, 27(1): 52-56 (in Chinese)  
李雪飞, 佟希丹, 李长田, 付永平, 宋冰, 李玉. 金针菇退化菌株复壮条件的优化初探[J]. *食药菌*, 2019, 27(1): 52-56
- [22] Magae Y, Akahane K, Nakamura K, Tsunoda S. Simple colorimetric method for detecting degenerate strains of the cultivated basidiomycete *Flammulina velutipes* (Enokitake)[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(10): 6388-6389
- [23] Yu ZH, Zhu LB, Yang XM. Studies on biology of oidia in *Flammulina velutipes*[J]. *Mycosystema*, 1998, 17(1): 75-82 (in Chinese)  
余知和, 朱兰宝, 杨新美. 金针菇粉孢子的生物学研究[J]. *菌物系统*, 1998, 17(1): 75-82
- [24] Huang RZ, Cao H. Preliminary study on the production factors of *Flammulina velutipes* oidiospore[J]. *Edible Fungi*, 1992, 14(6): 18-19 (in Chinese)  
黄瑞贞, 曹晖. 金针菇粉孢子产生因子初探[J]. *食用菌*, 1992, 14(6): 18-19
- [25] Yu Q. Study on the biological characteristics of the degenerated strain of *Cordyceps militaris*[D]. Shenyang: Master's Thesis of Shenyang Agricultural University, 2020 (in Chinese)  
于群. 蛹虫草退化菌株生物学特性的研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学硕士学位论文, 2020
- [26] Liu ZT, Luo XC. *Biotechnology and Application of Edible Mushroom*[M]. Beijing: Tsinghua University Press, 2002 (in Chinese)  
刘祖同, 罗信昌. 食用菌生物技术及应用[M]. 北京: 清华大学出版社, 2002
- [27] Guo Q, He QB. The variation law of several extracellular enzyme activity and lignocellulose degradation during the growth period of *Agaricus bitorquis*[J]. *Acta Edulis Fungi*, 1998, 5(2): 13-17 (in Chinese)  
郭倩, 何庆邦. 四孢蘑菇生长过程中四种胞外酶活性和木质纤维素降解的变化规律[J]. *食用菌学报*, 1998, 5(2): 13-17
- [28] Wu N, Tian FH, Jia CW, Wang Y, Li CT. Substrate



- optimization for mycelium growth of *Pleurotus djamor* in the concept of “replacing wood by grass”[J]. *Microbiology China*, 2019, 46(6): 1390-1403 (in Chinese)
- 吴楠, 田风华, 贾传文, 王悦, 李长田. 混料设计优化红平菇菌丝生长的“以草代木”配方[J]. *微生物学通报*, 2019, 46(6): 1390-1403
- [29] Chen C. Degradation phenomenon and comparative metabolomics study of mycelia of *Volvariella volvacea* in the process of subgeneration[D]. Kunming: Master's Thesis of Kunming University of Science and Technology, 2017 (in Chinese)
- 陈超. 草菇菌种菌丝体继代过程中的退化现象及比较代谢组学研究[D]. 昆明: 昆明理工大学硕士学位论文, 2017
- [30] TMTYF, Wang JB. Problems in the factory production of *Flammulina filiformis* in China[J]. *Edible and Medicinal Mushrooms*, 2018, 26(1): 23-25 (in Chinese)
- 唐木田郁夫, 王建兵. 中国金针菇工厂化生产中的问题[J]. *食药菌*, 2018, 26(1): 23-25
- [31] Feng YJ. Study the degenerated mechanism of *Cordyceps militaris* strain and the key cultivation technology in solar greenhouse of Xinjiang[D]. Shihezi: Doctoral Dissertation of Shihezi University, 2019 (in Chinese)
- 冯玉杰. 蛹虫草退化机制及新疆温室关键栽培技术的研究[D]. 石河子: 石河子大学博士学位论文, 2019
- [32] Li MN. Genetic analysis on the variation of traits of artificially cultivated *Cordyceps militaris*[D]. Dalian: Master's Thesis of Liaoning Normal University, 2003 (in Chinese)
- 李美娜. 人工栽培蛹虫草(*Cordyceps militaris*)性状变异的遗传学分析[D]. 大连: 辽宁师范大学硕士学位论文, 2003