

茶褐牛肝菌人工模拟栽培初步研究*

纪开萍, 曾雁, 刘昌芬, 李加智, 何明霞
(云南省热带作物科学研究所, 云南 景洪 666100)

摘要: 以组织分离法获得茶褐牛肝菌母种, 筛选母种、原种培养基配方, 菌丝日平均生长量 0.37~0.44 cm。2003 年用纯培养原种接种咖啡苗、三裂叶蟛蜞菊苗根系, 接种 30~50 d, 在 2 株咖啡苗、1 株三裂叶蟛蜞菊苗根茎部生长子实体幼蕾, 幼蕾发育为成熟子实体。2005 年用纯培养原种接种 192 株咖啡苗根系, 共生长子实体幼蕾 40 个, 发育成熟 21 个。检查生长子实体的宿主树根系, 纯培养原种与宿主树根系形成共生菌根, 接种咖啡苗的菌根感染率及子实体生长率为 6.25%~35.0%。

关键词: 美味牛肝菌; 母种、原种培养; 人工接种; 子实体生长

中图分类号: S 646.3.048 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-390X(2006)03-0399-07

Preliminary Study on Cultivation of *Boletus brunneissimus* Chiu on Modelling

Ji Kai-ping, ZENG yan, LIU Chang-feng, LI Jia-zhi, HE Ming-xia
(Yunnan Tropical Crops Research Institute, Jinghong 666100, China)

Abstract: Mother *Boletus brunneissimus* Chiu was gained through tissue isolation, selected culture medium. The growth of mycelium averages 0.37~0.44 cm daily. Inoculated into hosts' root with its pure pathogens in 2003, young fruiting bodies come out from the root stem of two coffee seedlings and one *Wedekia trilobata* in 30 to 50 days. In 2005, inoculation of 192 coffee seedlings was done with the pure pathogens, and among 40 young fruiting bodies, 21 of them grew into adult ones. Checking the root system of host plant with fruiting bodies, it was found that intergrowth mycorrhizal fungus has been formed. Rate of mycorrhizal infection and growth of fruiting bodies from coffee seedlings reaches to 6.25%~35.0%.

Key words: *Boletus brunneissimus* Chiu; mother plant; pathogen culture; inoculation; growth of fruit bodies

茶褐牛肝菌(*Boletus brunneissimus* Chiu)为可食用子实体外生菌根菌。在 140 多个可食用菌根菌中,只有 *Tuber melanosporum* Vitt. 与 *T. magnatum* Pico 获人工商业栽培生产^[2]。牛肝菌的生长必须与适宜宿主树根系营共生生活,人工栽培很困难^[3]。云南热带地区茶褐牛肝菌宿主树广,咖啡(*Coffea arabica*),芒果(*Mangifera indica*),柚(*Citrus grandis*),菠萝蜜(*Artocarpus heterophyllus* Lam),

凤凰花(*Delonix regia*),九里香(*Duranta repens* Linn),假连翘 [*Micromelum paniculata* (Linn.) Jack],三裂叶蟛蜞菊(*Wedekia trilobata*)等植物是其宿主树,多雨高湿季节,这些宿主树下常有子实体生长。2001~2005 年,笔者采集了茶褐牛肝菌野生种,分离获得其母种,扩大培养成原种,并进行人工模拟栽培研究初探,2003 年培育出 3 个成熟子实体,2005 年培育出 20 个成熟子实体,现将结

收稿日期: 2005-06-09

* 基金项目: 云南省科技厅预研基金资助项目

作者简介: 纪开萍(1966-),女,云南临沧人,助理研究员,主要从食用菌栽培及外生菌根研究。

果报道如下。

1 材料与方 法

1.1 母种分离

采集新鲜、壮实、中等成熟的野生子实体,清洗净子实体表面泥沙,用 75% 酒精表面消毒。无菌条件下,将子实体纵剖为两半,用解剖刀切取菌柄、菌盖、菌盖与菌柄交汇处 3 个部位组织块于培养皿中,置 28℃ 恒温培养,观察组织块萌发情况。

1.2 母种培养基配方筛选

1.2.1 液体培养鲜菌球体积测定及菌干重测定

液体培养鲜菌球配方 5 个处理。I, 马铃薯 200.0 g, 葡萄糖 20.0 g, 水 1 000 mL; II, 马铃薯 200.0 g, 葡萄糖 20.0 g, $MgSO_4$ 1.0 g, KH_2PO_4 1.0 g, 蛋白胨 2.0 g, 水 1 000 mL; III, 马铃薯 200.0 g, 葡萄糖 20.0 g, $MgSO_4$ 1.0 g, KH_2PO_4 1.0 g, 酵母浸出汁 2.0 g, 维生素 B_1 (40 $\mu g/mL$) 1.0 mL, 水 1 000 mL; IV, 麦皮 200.0 g, 葡萄糖 20.0 g, $MgSO_4$ 1.0 g, KH_2PO_4 1.0 g, 酵母浸出汁 2.0 g, 维生素 B_1 (40 $\mu g/mL$) 1.0 mL, 水 1 000 mL; V, 马铃薯 200.0 g, 葡萄糖 20.0 g, $MgSO_4$ 1.0 g, KH_2PO_4 1.0 g, 水 1 000 mL;

3 次重复,每重复 3 瓶。用三角瓶装 100 mL 培养液,0.11 MPa (121℃) 灭菌 45 min,冷却后接 0.2 cm² 斜面种 5~6 块/瓶,28℃ 恒温摇床培养,测量各配方鲜菌球在培养液中所占的体积百分比;鲜菌球用 3 层纱布过滤,弃去滤液,置 60℃ 恒温箱内烘干至恒重,精确称重,二者作方差分析。

1.2.2 菌落生长量测定

液体培养鲜菌球配方制成固体培养基,用 10 cm 的培养皿,每皿倒 10 mL 培养基,培养皿底部划“十”线,在中心点接 2 mm² 菌种,5 个处理,5 次重复(5 皿),共 25 皿,接种后置 28℃ 恒温培养,13 d 测量菌落半径,资料作方差分析。

1.3 原种培养基配方筛选

用 750 mL 菌种瓶装料,培养料含水量 60%,培养料配方设 5 个处理,5 次重复,共 125 瓶。配方 I,干红壤 4.51 kg,谷子 4.5(浸泡 12 h)kg,干橡胶木锯末 1.0 kg(堆放发酵 30 d),草炭 0.5 kg,麦麸 0.3 kg,硫酸钾 0.1 kg,过磷酸钙 0.1 kg;II,干红壤 4.5 kg,谷子 4.5(浸泡 12 h)kg,草炭 0.5 kg,

硫酸钾 0.1 kg,过磷酸钙 0.1 kg;III,干红壤 4.5 kg,草炭 2.0 kg,硫酸钾 0.1 kg,过磷酸钙 0.1 kg;IV,干红壤 4.5 kg,谷子 4.5(浸泡 12 h)kg,干咖啡木锯末 1.0 kg,珍珠岩 0.5 kg,硫酸钾 0.1 kg,过磷酸钙 0.1 kg;V,干红壤 4.5 kg,河沙 3.5 kg,干橡胶木锯末 1.0 kg,硫酸钾 0.1 kg,过磷酸钙 0.1 kg。原种瓶 126℃ 灭菌 1 h,冷却后接液体菌种 20 mL/瓶,置 28~30℃ 温度培养,接种后 20 d 测量菌丝生长量,资料进行方差分析。

1.4 菌根苗培养、子实体人工模拟栽培试验

1.4.1 2003 年 7 月人工接种模拟栽培

接种菌株:牛肝菌 B-1 菌株,纯培养原种,菌龄 30 d;孢子液:从市场购买的野生美味牛肝菌成熟子实体,配成孢子液,孢子量 1.0×10^5 / mL。

试验处理:I 盆栽咖啡苗、II 盆栽蟛蜞菊苗、III 地栽咖啡苗、IV 地栽蟛蜞菊苗。盆栽苗接种 10 株/盆,5 次重复,共 50 株。地栽苗接种 50 株/处理。

接种方法:原种接种量 50 g/株,孢子液接种量 30 mL/株,扒开苗木根部土壤,埋入(倒入)原种、孢子液,菌种或孢子液与根系紧密接触,接好后盖土。接种后遮荫、淋水管理,观察菌根感染率,原基分化及子实体生长情况。

1.4.2 2005 年 7 月人工接种模拟栽培

接种菌株:牛肝菌 B-1 菌株,纯培养原种,菌龄 30 d。

试验处理:用花盆作培养盆,装培养土 10.0 kg/盆,设 4 个处理,(I)一般红壤土 10.0 kg/盆;(II)一般红壤土 10.0 kg/盆,硫酸钾 30.0 g,过磷酸钙 20.0 g,液体培养鲜菌球营养液 II 500 mL;(III)野生牛肝菌菌塘红壤土(在菠萝蜜树下,当年生长牛肝菌子实体部位,取去掉 10 cm 表土层的土壤) 10.0 kg/盆;(IV)野生牛肝菌菌塘红壤土 10.0 kg/盆,硫酸钾 30.0 g,过磷酸钙 20.0 g,液体培养鲜菌球营养液 II 500 mL。4 次重复(4 盆)/处理,接种咖啡苗 12 株/盆,共接种 48 株/处理。4 个处理共接种 192 株咖啡苗。

接种方法:花盆及盆底垫的碎石块用高锰酸钾液淋洗消毒,盆底放 10 cm 厚培养土,铺一层菌种在培养土表面,另用一瓶菌种(750 mL)与其余培养土壤拌匀,铺于菌种层的上面。咖啡苗(苗龄 1 年)剪去茎尖,栽入花盆的培养土中,栽苗 12 株/

盆,栽苗时苗的根系尽量与菌种接触,栽苗后培养盆置于光线1 000 lx的荫棚下,保持土面湿润,切忌雨水淋入盆中及直接浇水。

2 结果与分析

2.1 母种分离成活率

以组织分离方法进行牛肝菌母种分离,分离其菌柄菌肉、盖柄相连处菌肉、菌盖菌肉,成活率分别为50%、80%、70%(表1)。分离后24~48 h菌肉组织即萌发生长菌丝,10 d菌落直径2~4 cm。

2.2 适宜牛肝菌母种生长的培养基

2.2.1 液体培养鲜菌球所占体积百分比(表2)

三角瓶中鲜菌球呈半透明胶状体,均匀分布于培养液中。配方Ⅲ、Ⅳ100 mL液体培养基中鲜菌球占体积百分比48.6%、44.0%,极显著高于配方Ⅱ、Ⅰ、Ⅴ,配方Ⅲ与Ⅳ,配方Ⅱ与Ⅰ、Ⅴ差异不显著。

2.2.2 鲜菌球干重(表3)

配方Ⅲ100 mL液体培养基鲜菌球干重0.52 g,极显著高于配方Ⅳ、Ⅱ、Ⅰ、Ⅴ,配方Ⅳ极显著高于配方Ⅰ、Ⅴ,配方Ⅳ与Ⅱ、Ⅱ与Ⅰ、Ⅴ差异不显著。

表1 茶褐牛肝菌组织分离萌发率

Tab.1 Germination rate of tissue isolates from *Boletus brunnissimus* Chiu

分离部位 isolate part	接种组织块数 tissue number of inoculation	萌发率/% germination rate	10 d 平均菌落直径/cm average diameter in 10 days
菌柄 stipe	20	50	2.9
菌盖 pileus	20	70	3.6
盖柄相连 joint	20	80	4.0

表2 不同培养配方鲜菌球体积所占百分比方差分析

Tab.2 Differentia analysis of fresh fungus in various cultural solutions

处理 treatment	重复1 replicate1	重复2 replicate2	重复3 replicate3	重复4 replicate4	重复5 replicate5	平均数 average	差异显著性 percent of differentia	
							5%	1%
Ⅲ	50.0	48.0	50.0	45.0	50.0	48.6	a	A
Ⅳ	45.0	50.0	40.0	40.0	45.0	44.0	a	A
Ⅱ	30.0	35.0	25.0	30.0	30.0	30.0	b	B
Ⅰ	30.0	28.0	30.0	25.0	25.0	27.6	bc	B
Ⅴ	20.0	25.0	25.0	30.0	20.0	20.0	c	B

($D_{0.05} = 9.84$ $D_{0.01} = 13.43$)

* 相同字母表示差异不显著,不同字母表示差异显著(下同)。

Same letter indicates non-significant difference, Different letter indicates significant difference(The same below)

表3 不同培养配方鲜菌球干重方差分析

Tab.3 Differentia analysis of dry weight of fresh fungus

处理品 treatment	重复1 replicate1	重复2 replicate2	重复3 replicate3	重复4 replicate4	重复5 replicate5	平均数 average	差异显著性 percent of differentia	
							5%	1%
Ⅲ	0.60	0.50	0.55	0.45	0.50	0.52	a	A
Ⅳ	0.40	0.38	0.45	0.42	0.40	0.41	b	B
Ⅱ	0.40	0.30	0.25	0.35	0.30	0.32	c d	BC
Ⅰ	0.30	0.25	0.22	0.30	0.24	0.26	d e	C
Ⅴ	0.30	0.25	0.20	0.18	0.25	0.24	e	C

($D_{0.05} = 0.06$ $D_{0.01} = 0.09$)

2.2.3 不同培养配方平皿中菌落生长量(表 4) 量 0.37 cm, 极显著高于其他配方; 配方 II 与 III, 配方 I 13 d 菌落半径 4.9 cm, 菌丝日平均生长 V, IV 差异显著, 配方 III, V, IV 间差异不显著。

表 4 不同培养配方菌落生长量方差分析

Tab. 4 Growth of pathogen colonies in various cultural solutions

cm

处理 treatments	重复 1 replicate1	重复 2 replicate2	重复 3 replicate3	重复 4 replicate4	重复 5 replicate5	平均数 average	差异显著性 percent of differentia	
							5%	1%
I	5.0	5.0	4.9	4.8	4.9	4.9	a	A
II	4.0	4.0	4.2	4.0	4.4	4.12	b	B
III	3.0	2.8	2.9	3.1	2.5	2.86	c	C
V	2.9	3.0	2.5	2.4	2.6	2.68	c d	C D
IV	2.8	2.5	2.3	2.4	2.5	2.5	d	D

($D_{0.05} = 0.25$ $D_{0.01} = 0.34$)

2.3 适宜原种生长的培养基配方 cm, 极显著高于配方 II, V, IV, III, 配方 II 极显著高于配方 IV, 配方 II 与 V, III, IV 与 III 差异不明显。I 25 d 菌丝长满菌种瓶, 菌丝日平均生长量 0.44

表 5 不同原种培养配方菌丝生长量方差分析

Tab. 5 Growth of mycelium in various solutions with pathogens

cm

处理 treatment	重复 1 replicate1	重复 2 replicate2	重复 3 replicate3	重复 4 replecate4	重复 5 replicate5	平均数 average	差异显著性 percent of differentia	
							5%	1%
I	11.0	12.0	12.0	10.5	9.5	11.0	a	A
II	10.0	8.0	9.5	10.5	9.0	9.4	b c	B C
V	8.0	9.0	8.5	8.6	8.0	8.4	c	C
III	6.0	7.0	6.5	6.8	6.5	6.6	d	C D
IV	5.0	4.0	4.5	5.5	5.0	4.8	e	D

($D_{0.05} = 1.48$ $D_{0.01} = 2.01$)

2.4 菌根苗培养及子实体生长发育情况

2.4.1 2003 年 7 月人工模拟栽培出菇情况

接种后 30 d, 纯培养原种接种两株盆栽咖啡苗、1 株盆栽蟛蜞菊苗分化子实体原基, 原基黑褐色, 半球形, 直径 0.3 ~ 0.5 cm, 紧贴苗木的茎基部生长, 表现出典型的共生关系。原基继续发育形成幼蕾, 3 ~ 5 d 后, 幼蕾发育成熟子实体。用孢子液接种盆栽、地栽咖啡苗、蟛蜞菊苗均未生长子实体。收获子实体后, 检查菌根形成情况, 发现生长子实的苗均形成菌根。纯培养原种接种咖啡苗、蟛蜞菊苗的菌根感染率及子实体生长率为 4.0%, 2.0%。

茶褐色的菌丝、菌膜、菌索附生于咖啡苗、蟛蜞菊苗的主根、侧根、须根形成菌套, 每株菌根苗有 3 ~ 5 条侧根、须根形成菌套, 菌套长 2 ~ 3 cm, 主根菌套面积 2 cm × 3 cm。子实体原基从主根菌套处

分化并发育成熟。侧根、须根形成菌套后其根直径增粗 1 倍。

2.4.2 2005 年 7 月人工模拟栽培情况

接种后第 15 d 开始陆续生长出子实体, 至 40 d 结束(表 6, 图 1)。4 个处理, 4 个重复共接种 192 株咖啡苗, 共生长子实体 40 个, 发育成熟 21 个。接种咖啡苗的菌根感染率及子实体生长率为 6.25% ~ 35.0%。II, IV 处理培养土中添加肥料及营养液, 子实生长数 15 个, 16 个, 而且在各个重复均有 2 ~ 6 个子实体生长, 菌根感染率 33%, 35%, 子实体生长数及菌根感染率均优于用纯红壤土培养的 I, III 处理。用一般红壤作培养土的 I, II 处理与用野生牛肝菌菌塘土作培养土的 III, IV 处理子实体生长数及菌根感染率% 没有明显差异。



图1 2003年栽培的茶褐牛肝菌子实体从咖啡幼苗的根部生长出
Fig. 1 The fruiting bodies of *Boletus brunneissimus* Chiu come out from the root of young coffee seedlings in 2003

成熟子实体中等大,重 50.0 ~ 80.0 g,菌盖直径 8.0 ~ 13.0 cm,稍平展,不粘或成熟时粘,光滑,边缘完全,土褐色。菌肉淡黄色,肥厚,受伤后不变色。菌管淡黄色,直生。管口圆形,每毫米 2 ~ 3 个。菌柄长 5 ~ 7 cm,粗 3.5 ~ 4.5 cm,近圆柱形,基部稍膨大,与菌盖同色,但稍浅,中生,内实。孢子印橄榄色,孢子长椭圆形,平滑,淡黄色,7.5 ~

10.0 μm \times 5.0 ~ 7.45 μm ,内具 1 个油滴。子实体收获后,检查菌根生长情况,发现茶褐色的菌膜覆盖生长于咖啡苗根表面,有明显的菌索,菌索突出,其颜色稍深于菌膜。菌丝的侵染多从苗的根茎部或主根中部开始,向根尖、侧根延伸生长,越往根尖部,菌膜的颜色越浅,菌丝越稀疏。菌膜多生长于宿主苗的根基茎部及主根部分,须根及根尖部很少。

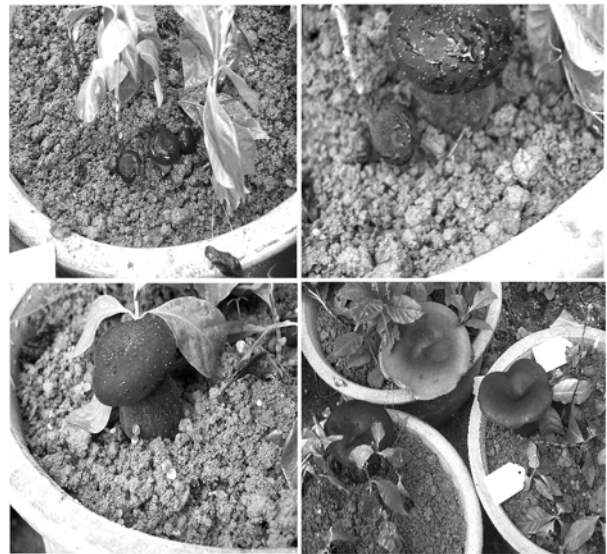


图2 2005年栽培的茶褐牛肝菌子实体从咖啡幼苗的根部生长出
Fig. 2 The fruiting bodies of *Boletus brunneissimus* Chiu come out from the root of young coffee seedlings in 2005

表6 来源及处理不同的培养土出菇情况

Tab. 6 Fruiting bodies in culture medium with various treatments

处理 treatment	接种咖啡苗株数 seedling number of inoculation	子实体生长数 fruiting bodies	子实体生长率/% percentage of growth	菌根率/% mycorrhizal rate	子实体成熟数 adult fruiting bodies
I	48.0	6.0	12.5	12.5	3.0
II	48.0	16.0	35.0	35.0	9.0
III	48.0	3.0	6.25	6.25	2.0
IV	48.0	15.0	33.0	33.0	6.0

3 讨论

华美牛肝菌(*Boletus speciosus* Frost)组织培养获得的纯菌丝,生长速度很慢,菌丝日生长量仅 0.2 mm^[4]。本试验研究表明茶褐牛肝菌平皿菌落培养及原种培养菌丝日平均生长量 0.37 ~ 0.44 cm,为华美牛肝菌日生长量的 20 倍,据笔者

对多种牛肝菌组织分离培养试验结果,不同的种,菌丝生长速度差异大。培养基配方不同,对菌丝生长速度也有影响。

对于一些外生菌根菌来说(如:根须腹菌属),通常寄主根须接种孢子数量为 1.0×10^5 ^[5]。但孢子数量若达到 1.0×10^7 时接种还是会失败。MOLINA 等^[6]描述的用于其他外生菌根菌的改进技术

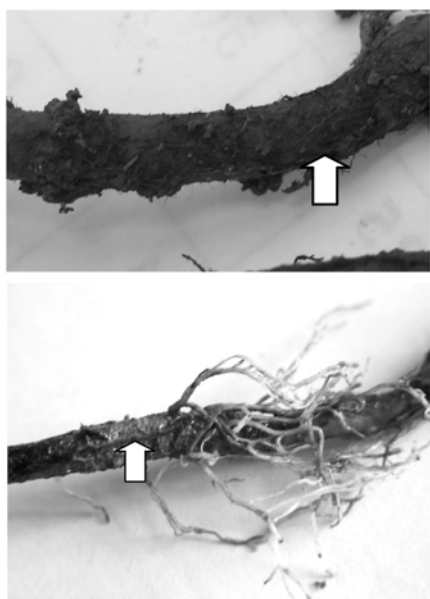


图 3 咖啡菌根苗菌膜、菌索
Fig. 3 Mycoderm and shoestring of mycorrhizal seedling of coffee

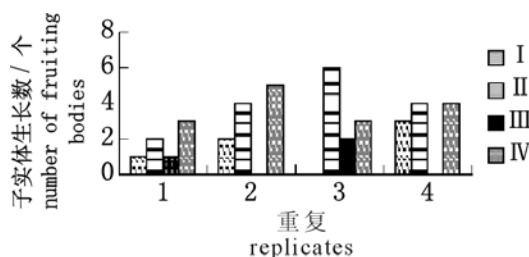


图 3 各重复出菇情况
Fig. 3 Fruiting bodies in different replicates

已成功生产出一定数量的接种有牛肝菌和其他 *Boletaeae* 属的植株^[7,8]。当然,由于牛肝菌在进行次培养时会很快丧失接种能力,也就是说,一旦将接种物置于未消毒的介质中,接种就会失败(Wang 数据未发表)。菌根性食用菌目前纯培养只得到菌丝体,很难得到子实体,即使得到子实体,也是不完整的、小的子实体,方平夷对松乳菇进行纯种分离和驯化栽培试验,并于 1992 年获得少量子实体,1993 年又获得较多小的子实体,其试验表明,人工栽培条件下,可以形成子实体,但不易形成,就是形成了也不易长大。本试验初步研究结果表明,用孢子液接种宿主树根系,未能形成菌根,接种失败;而用纯培养原种接种宿主树咖啡苗根系,2003 年 4.0%,2005 年 33.0%~35.0% 的咖啡苗形成菌根并生长子实体幼蕾,50.0% 的子实体幼蕾长大成熟。

通常林木树根外生菌根的侵染由侵染点通过根尖及根毛区进入到皮层细胞间隙进行生长繁殖,同时分布于根表皮层外表面的菌丝体繁殖成真菌套将根尖包裹,完成真菌对根的侵染形成林木菌根。而本研究两次接种茶褐牛肝菌试验,收获子实体后检查菌根生长情况,都发现根表层的菌丝体形成的菌膜、菌套部分或全部将宿主树根系的主根中部包裹,菌膜先端菌丝向根尖、侧根延伸生长,菌丝侵染点并非从根尖开始,而是从主根开始,这可能是接种时新移植的咖啡苗的侧根、根尖受伤,菌根真菌难以与吸收根识别,而迅速与营养根接触识别共生形成菌根。子实体收获后间隔 30 d,检查生长子实体的咖啡苗菌根生长存活情况,用纯红壤作培养土 I、III 处理各抽查 5 株菌根苗,70% 的菌根苗菌膜存活并继续生长。红壤培养土中添加硫酸钾、过磷酸钙的 II、IV 处理各抽查 10 株菌根苗,60% 的菌根因咖啡苗萎蔫,根系枯萎死亡,不发新根,根部的菌膜、菌索干枯死亡,与根表面脱离。说明添加肥料及营养素可促进菌根形成及子实体生长,但对新移植苗的根系有伤害作用,苗移栽一定时间后根系死亡,进而导致菌根死亡,永久菌根合成及培养土中营养素添加有待于进一步的研究。

现在已知,科学家们可以在人工条件下获得菌根真菌子实体的有茶褐牛肝菌,铜色牛肝菌 (*Boletus aereus*) 和网纹牛肝菌 (*Boletus reticulatus*) 等,但尚未达到商业化目的,人工栽培研究也尚未见报道。目前世界菌根性食用菌人工栽培最为成功的是黑孢块菌 (*Tuber melanosporum*)。在新西兰,黑孢块菌人工栽培从种植园的建立到有块菌子囊果收获需要 6~7 年时间^[9]。我国菌根性食用菌人工栽培,有报道松茸与云南松能形成棒状外生菌根^[10]。在营养丰富和满足最佳温、湿度的条件下,松茸在室内人工栽培能形成原基^[11]。蒙古口蘑 (*Tricholama mangolicum*) 可能同某些多年生草本植物或微生物区系有关,很难得到子实体,但已在河北坝上驯化成功^[12]。与黑孢块菌人工栽培相比较,用茶褐牛肝菌纯培养原种接种宿主树幼苗,从接种至菌根形成、原基分化、子实体发育成熟仅需 30~50 d 时间,在幼苗期就可收获子实体,接种至收获的时间很短。目前存在的问题是菌根感染率低,菌根感染率的提高有待于进一步研究。

本研究只是茶褐牛肝菌人工模拟栽培一个很小的开端,成功培育出了数十个子实体,为外生菌根菌子实体人工栽培探索了一点经验。相关的许多问题如菌根菌接种方法、接种时间、宿主树筛选、永久菌根合成、菌根率的提高、培养土中营养物质添加、子实体成熟率提高等等有待于进一步的研究。

致谢:栽培试验牛肝菌菌种茶褐牛肝菌(*Boletus brunneissimus* Chiu)为臧穆老师鉴定,廖国荣、赵丽芳同志参加试验,在此谨致诚挚谢意!

[参考文献]

- [1] 张光亚. 云南食用菌[M]. 昆明:云南人民出版社, 1984.
- [2] HALL I R, WANGY. Methods for cultivating edible ectomycorrhizal mushrooms[J]. In A. Varma, ed., Mycorrhizae manual. Springer Verlag, Heidelberg, Germany. P. 1988, 99 - 114.
- [3] 陈应龙. 欧洲块菌人工栽培技术研究[J]. 中国食用菌, 2002, 21(1): 7 - 11.
- [4] 吴金荣. 华美牛肝菌的组织分离及其栽培初探[J]. 食用菌, 2002, (5): 14.
- [5] CASTELLANO M A, MOLINA R. Mycorrhizae [A]. In Landis TD, Tinus RW, McDonald SE, et al. (eds). The container tree nursery manual, vol 5. The biological, component; nursery pests and mycorrhizae. Agricultural Handbook 674. Forest Service, United States Department of Agriculture, Washington, U. S. A, 1999
- [6] MOLINA R, PALMER J G. Isolation, maintenance and pure culture manipulation of ectomycorrhizal fungi [A]. In N. C. Schenck, ed., Methods and Principles of Mycorrhizal Research [M]. The American Phytopathological Society, St. Paul, USA, 1982.
- [7] MARAIS L J, KOTZE J M. Notes on ectotropic mycorrhizae of *Pinus patula* in South Africa [J]. South African Forestry Journal, 1977, 100: 61 - 71.
- [8] ZUCCHERELLI G. Prime esperienze sulla produzione di piante forestali micorrizzate con *Boletus edulis* [J]. Montie Boschi, 1988, 39: 11 - 14.
- [9] 谭著明,傅少春,刘晓红. 新西兰菌根性食用菌研究开发现状与启示[J]. 湖南林业科技, 2002, 29(3): 72 - 74.
- [10] 苏开美,王志和,段福文. 松茸云南松菌根苗培育技术的初步研究[J]. 食用菌, 2002, (6): 35 - 36.
- [11] 胡尚勤. 松茸人工栽培技术的研究[J]. 食用菌, 2002, (2): 27 - 29.
- [12] 田绍义,杨发茂. 蒙古口蘑驯化栽培成功[J]. 真菌学报, 1992, 11(2): 146 - 149.