

## 研究报告

# 茶薪菇‘赣茶 AS-5’担孢子单核体菌株的交配型鉴定及菌丝生长速度

彭新红<sup>1</sup>, 刘颖聪<sup>1,2</sup>, 陈绪涛<sup>1</sup>, 孙鹏<sup>1</sup>, 戴丹<sup>1</sup>, 胡佳<sup>1</sup>, 王振<sup>1</sup>, 戴建成<sup>1</sup>, 魏云辉<sup>\*1</sup>

1 江西省农业科学院 农业应用微生物研究所, 江西 南昌 330200

2 江西农业大学 农学院, 江西 南昌 330045

彭新红, 刘颖聪, 陈绪涛, 孙鹏, 戴丹, 胡佳, 王振, 戴建成, 魏云辉. 茶薪菇‘赣茶 AS-5’担孢子单核体菌株的交配型鉴定及菌丝生长速度[J]. 微生物学通报, 2025, 52(1): 263-275.

PENG Xinhong, LIU Yingcong, CHEN Xutao, SUN Peng, DAI Dan, HU Jia, WANG Zhen, DAI Jiancheng, WEI Yunhui. Mating type and mycelial growth rate of basidiospore-derived monokaryons of *Cyclocybe chaxingu* Gancha AS-5[J]. Microbiology China, 2025, 52(1): 263-275.

**摘要:**【背景】茶薪菇(*Cyclocybe chaxingu*)具有较高的食药价值, 加强优良菌种培育是推动茶薪菇产业发展的前提。杂交育种是目前食用菌育种常用的手段, 单核体的获取及其交配型鉴定是杂交育种的基础性工作。【目的】开展茶薪菇单核体菌株的交配型鉴定, 研究交配型对单核体菌丝生长速度的影响, 为茶薪菇杂交育种提供理论依据。【方法】以茶薪菇‘赣茶 AS-5’为研究对象, 利用前期原生质体单核化获得的原生质体单核体菌株, 进行互配确定标准测交菌株; 收集‘赣茶 AS-5’担孢子, 将标准测交菌株与担孢子单核体配对及担孢子单核体互配后, 进行担孢子单核体菌株交配型的分类; 利用橡树木屑浸汁琼脂-榨橘汁(oak wood extract-squeezed orange juice, OWE-SOJ)琼脂培养基转换技术、核迁移及分子标记试验鉴定担孢子单核体的交配型; 同时根据鉴定结果, 随机选取不同交配型中可亲和的担孢子单核体进行杂交配对, 考察其子实体形成情况。【结果】收集分离鉴定茶薪菇‘赣茶 AS-5’的担孢子单核体共 420 株, 交配型鉴定为 T1、T2、T3 和 T4 型的分别有 69、126、148 和 77 株, 所占比例分别为 16.43%、30.00%、35.24%和 18.33%。OWE-SOJ 技术、核迁移试验及分子鉴定交配型的结果一致, T1、T2、T3 和 T4 的交配型分别为 A1B1、A2B2、A2B1 和 A1B2,

资助项目: 江西现代农业科研协同创新专项(JXXTXBSJJ202213); 江西省自然科学基金(20242BAB20296); 国家食用菌产业技术体系(CARS-20); 江西省重点研发计划重点项目(20212BBF61002); 江西省农作物良种联合攻关项目; 吉安市科技计划(20233-107733)

This work was supported by the Jiangxi Modern Agricultural Research Collaborative Innovation Special Project (JXXTXBSJJ202213), the Natural Science Foundation of Jiangxi Province (20242BAB20296), the National Edible Fungus Industry Technology System (CARS-20), the Key Project of Key Research and Development Program of Jiangxi Province (20212BBF61002), the Jiangxi Province Improved Crop Joint Research Project, and the Ji'an Science and Technology Program (20233-107733).

\*Corresponding author. E-mail: yunhuiwei@sina.com

Received: 2024-04-16; Accepted: 2024-08-27; Published online: 2024-10-14

根据鉴定结果随机挑选的可亲和担孢子单核体杂交配对组合均可形成子实体。菌丝生长速度结果表明, A 和 B 因子均显著影响担孢子单核体的菌丝生长速度, 并且 B 因子对菌丝生长速度的影响效应大于 A 因子。【结论】OWE-SOJ、核迁移及分子标记技术均可准确鉴定茶薪菇担孢子单核体菌株的交配型, 并且交配型存在偏分离现象, 茶薪菇的单核体菌丝生长速度与交配型之间存在关联。

关键词: 茶薪菇; 交配型; OWE-SOJ 技术; 核迁移试验; 分子鉴定; 菌丝生长

## Mating type and mycelial growth rate of basidiospore-derived monokaryons of *Cyclocybe chaxingu* Gancha AS-5

PENG Xinhong<sup>1</sup>, LIU Yingcong<sup>1,2</sup>, CHEN Xutao<sup>1</sup>, SUN Peng<sup>1</sup>, DAI Dan<sup>1</sup>, HU Jia<sup>1</sup>, WANG Zhen<sup>1</sup>, DAI Jiancheng<sup>1</sup>, WEI Yunhui<sup>\*1</sup>

1 Institute of Agricultural Applied Microbiology, Jiangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanchang 330200, Jiangxi, China

2 School of Agricultural Sciences, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, Jiangxi, China

**Abstract:** [Background] *Cyclocybe chaxingu* has high edible and medicinal values. Strengthening the breeding of elite strains is the premise for promoting the development of the *C. chaxingu* industry. At present, crossing is a common method in the breeding of edible fungi, and the acquisition of monokaryons and identification of the mating type is the basic work in the breeding of edible fungi. [Objective] To identify the mating type of *C. chaxingu* and evaluate the influence of mating type on the mycelial growth rate of monokaryons, thus laying a theoretical foundation for the crossing of *C. chaxingu*. [Methods] The protoplast monokaryons of *C. chaxingu* Gancha AS-5 were obtained by protoplast monokaryotation, and the standard tester strains were ascertained by mutual mating of monokaryotized protoplasts. Furthermore, basidiospores were collected. The basidiospore-derived monokaryons were matched with standard tester strains and with each other, respectively, and then the mating type of monokaryons was classified. The mating type of monokaryons was identified by oak wood extract-squeezed orange juice agar (OWE-SOJ), nuclear migration test, and molecular identification. [Results] A total of 420 monokaryons were collected and classified into four types, including 69, 126, 148, and 77 of T1, T2, T3, and T4, which accounted for 16.43%, 30.00%, 35.24%, and 18.33%, respectively. The results of OWE-SOJ, nuclear migration test, and molecular identification showed that the mating types of T1, T2, T3, and T4 were A1B1, A2B2, A2B1, and A1B2, respectively. The mating combinations of monokaryons randomly selected from the identification results could form fruiting bodies. Both A and B factors had significant effects on the mycelial growth rate of monokaryons, and the effect of B factor was greater than that of A factor. [Conclusion] OWE-SOJ, nuclear migration, and molecular techniques can accurately identify the mating type of monokaryons. Partial segregation appeared in the mating of monokaryons. There is an association between the mycelial growth rate and mating type of *C. chaxingu* monokaryons.

**Keywords:** *Cyclocybe chaxingu*; mating type; oak wood extract-squeezed orange juice (OWE-SOJ); nuclear migration test; molecular identification; mycelial growth

茶薪菇是我国广泛栽培的食用菌，与杨柳环伞(*C. salicaceicola*)和柱状环伞(*Cyclocybe cylindracea*)构成柱状环伞复合群(*C. cylindracea* complex)，商品名为茶树菇<sup>[1-3]</sup>。研究学者曾将茶薪菇归属于担子菌门(*Basidiomycota*)、伞菌目(*Agaricales*)、球盖菇科(*Strophariaceae*)、田头菇属(*Agrocybe*)，刘祈猛等<sup>[4]</sup>根据系统发育分析将茶薪菇从田头菇属转至环伞属(*Cyclocybe*)。茶薪菇口味鲜美，清脆可口，营养丰富，具有较高的食用和药用价值，深受消费者青睐<sup>[5]</sup>。据全国食用菌统计调查结果分析显示，2022年我国茶薪菇的年产量为88.23万t，在全国主要食用菌中位列第8<sup>[6]</sup>。然而，在生产过程中，用种杂乱、质量参差不齐、菌种老化变异及抗性减退等因素严重影响经济效益。因此，对现有品种进行遗传改良，培育高产、优质、多抗、适应性强的优良菌种非常必要，在保障我国茶薪菇产业的高质量发展中将发挥关键作用。

杂交育种是获得高产优质食用菌品种的常用方法，而交配型系统参与调控食用菌的有性生殖过程，对交配型的鉴定及系统研究是开展食用菌育种工作的前提。从目前研究来看，主要在香菇、金针菇、平菇、木耳、灰树花、羊肚菌、金耳、斑玉蕈等食用菌中开展了相关研究<sup>[7-13]</sup>，包括利用标准测交法、核迁移试验、橡树木屑浸汁琼脂-榨橘汁(oak wood extract-squeezed orange juice, OWE-SOJ)琼脂培养基转换技术、特异位点扩增等进行交配型鉴定，并利用功能基因组学、高通量测序等进行功能基因定位和分子遗传学结构解析<sup>[14-17]</sup>，很多常见担子菌类食用菌尚未系统开展相关研究，成功运用交配型基因解决生产实际问题的研究成果更少<sup>[18]</sup>。在茶树菇中，仅少数研究对柱状田头菇和杨柳田头菇的交配型及A、B交配型位点特征进行了分析<sup>[19-21]</sup>。如，杨玮嫻等<sup>[19]</sup>研究发现茶树菇中

A交配型位点和编码线粒体中间肽酶(mitochondrial intermediate peptidase encoding gene, MIP)的编码基因在有丝分裂过程中显示出连锁现象，且*mip*基因N端编码区出现明显的变异，根据这些变异区域设计特异引物(Ys-*mip*F/R、Cs1-*mip*F/R、Cs2-*mip*F/R)，成功对获得的单核体菌株A交配位点进行了鉴别。陈卫民等<sup>[20]</sup>对柱状田头菇和杨柳田头菇B交配型位点特征进行分析，同时克隆获得了2个柱状田头菇菌株的B交配位点，包括信息素受体*rcb1*、*rcb2*和部分非编码区。钱蓉等<sup>[21]</sup>根据B2-*rcb3a*和B2-*rcb3b*这2个片段序列，分别设计引物对P3af/r和P3bf/r，用来分析茶树菇单核体群体的B交配型。

菌丝生长速度是食用菌的重要农艺性状，与产量和生物学效率存在一定的相关性<sup>[22]</sup>。交配型因子是影响菌丝生长速度的重要因素<sup>[23-26]</sup>。林范学等<sup>[24]</sup>研究表明交配型因子可能与单核体的菌丝生长速度存在基因连锁。潘越等<sup>[25]</sup>和蚁瑞荣等<sup>[26]</sup>的研究表明，不同交配型的单核体菌株的宏观菌落形态和微观菌丝形态、生长特性及代谢能力等均存在明显差异，推测斑玉蕈的菌落形态、生长能力及代谢特点等可能与交配型因子具有内在联系。

食用菌的有性生殖类型包括异宗配合的四极性、二极性及其兼有次级同宗配合和二极性的兼性配合，茶薪菇的遗传模式属于四极性异宗配合<sup>[27]</sup>。目前有关茶薪菇交配型的相关研究较少，明确茶薪菇担孢子单核体的交配型，可为遗传育种工作提供参考依据。本研究即以‘赣茶 AS-5’菌株为研究对象，通过收集‘赣茶 AS-5’的担孢子，将标准测交菌株与担孢子单核体配对及担孢子单核体互配后，利用传统的交配型鉴定方法(标准测交法、OWE-SOJ技术和核迁移试验)，结合已报道的田头菇属交配型基因对茶薪菇担孢子单核体菌株的交配型进行精准鉴

定,并根据鉴定结果随机选取可亲和的不同交配型孢子单核体进行杂交出菇以验证分型的准确性;同时明确交配型对单核体菌株菌丝生长速度的影响,为指导茶薪菇优良菌种选育奠定基础。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 供试菌株

茶薪菇‘赣茶 AS-5’菌株由江西省农业科学院农业应用微生物研究所保藏。

### 1.2 培养基和主要试剂、仪器

马铃薯葡萄糖琼脂(potato dextrose agar, PDA)培养基、橡树木屑浸汁(oak wood extract, OWE)琼脂培养基和榨橘汁(squeezed orange juice, SOJ)琼脂培养基参照杨军等<sup>[7]</sup>配制,原种培养基参照孙鹏等<sup>[28]</sup>配制。茶薪菇基因组 DNA 提取试剂盒购自康为世纪生物科技股份有限公司。PCR 仪, Bio-Rad 公司;电泳仪,北京六一生物技术有限公司;生化培养箱,莱新科学仪器(上海)有限公司;凝胶成像系统,杭州申花科技有限公司;高速冷冻离心机, Scilogex 公司。

### 1.3 菌株栽培出菇

茶薪菇菌株在 23–25 °C 发菌室避光发菌,待菌丝生长满袋后移入菇房进行出菇。出菇期间菇房温度保持在 16–24 °C,湿度约为 85.0%–95.0%,二氧化碳(CO<sub>2</sub>)浓度及光照强度分别低于 1 000 mg/L 和 1 000 lx。待原基形成后开袋出菇。

### 1.4 担孢子单核体的分离

摘取‘赣茶 AS-5’菌株的成熟子实体表面消毒,切取子实体菌盖,将具菌褶一面朝下放置于培养皿中,自然弹射孢子 24 h 后收集担孢子。取少量无菌水反复吸打孢子印,经 10 倍梯度稀释获得 10<sup>-1</sup>–10<sup>-7</sup> 的孢子悬液,采用血球计数板对 10<sup>-4</sup>–10<sup>-7</sup> 这 4 个梯度的孢子悬液进行孢子计

数,最终取孢子浓度≤10<sup>2</sup>/mL 的悬浮液各 100.0 μL 涂布于 PDA 培养基上,在温度 25 °C 条件下进行暗培养。5 d 后挑取单菌落菌丝接种到 PDA 培养基上培养,待长成合适大小的菌落后镜检,选择无锁状联合的担孢子单核体保藏备用。

### 1.5 原生质体单核体菌株和担孢子单核体的交配型鉴定

原生质体单核体菌株由本实验室前期制备所得<sup>[29]</sup>,并通过配对将其分为 T1 型(指定其交配型为 A1B1)和 T2 型(指定其交配型为 A2B2) 2 种交配型菌株。从 T1 型和 T2 型原生质体单核体菌株中各取 1 株菌作为标准测交菌株,与所有担孢子单核体菌株配对,能与 T1 型菌株发生亲和反应形成锁状联合的菌株记为 T2 型,同理,能与 T2 型菌株发生亲和反应形成锁状联合的菌株记为 T1 型;接下来任取一株与 T1、T2 型菌株均不亲和不能形成锁状联合的菌株,与余下的菌株配对,能与其发生亲和反应形成锁状联合的菌株记为 T3 型,剩余不能形成锁状联合的菌株记为 T4 型。

### 1.6 OWE-SOJ 技术

参考 Darmono 等<sup>[30]</sup>的方法,将 4 种交配型担孢子单核体菌株两两对峙接种于 OWE 上,25 °C 培养,待两接种菌块新萌发的菌丝接触后,沿配对区的垂直方向整条切块,并转接至 SOJ 上进行培养。25 °C 培养 10–15 d 后观察菌落形态并镜检观察有无锁状联合。

### 1.7 核迁移试验

参考李安政等<sup>[31]</sup>方法分别从 4 种不同交配型的担孢子单核体菌株中选取数个菌株,按照 T1×T3、T1×T4、T2×T3 和 T2×T4 等 4 种组合进行首次配对。培养至菌丝接触后,在配对块菌落外侧各取一菌块分别与相应单核体进行 2 次配对。若第 2 次配对组合镜检观察到锁状联合,表明相应的首次配对有核迁移发生,其交配反

应为  $A=B\neq$ ; 若无锁状联合, 则表明相应的首次配对无核迁移发生, 其交配反应为  $A\neq B=$ 。据此确定 4 个组合中 T1 型与 T3 型、T1 型与 T4 型、T2 型与 T3 型、T2 型与 T4 型间的交配型关系。

### 1.8 担孢子单核体菌株交配型的分子鉴定

将 4 种不同交配型单核体菌株接种于 PDA 培养基中, 28 °C 培养 7 d 后从培养基表面刮取 1 g 菌丝体用液氮研磨, 使用 DNA 提取试剂盒提取基因组 DNA。使用 2×*SanTaq* PCR Mix 预混液进行 PCR 扩增, 反应体系(25 μL): 2×PCR Premix 12.5 μL, DNA (200 ng/μL) 1 μL, 上游引物(A 和 B 交配型鉴定上游引物分别为 Ys-mipF 和 P3bf, 引物浓度为 10 μmol/L) 1 μL, 下游引物(A 和 B 交配型鉴定下游引物分别为 Ys-mipR 和 P3br, 引物浓度为 10 μmol/L) 1 μL, ddH<sub>2</sub>O 补足 25 μL。反应条件: 94 °C 5 min; 94 °C 30 s, 55 °C 30 s, 72 °C 1 min, 35 个循环; 72 °C 反应 7 min。反应产物用 3% 琼脂糖凝胶电泳检测。引物序列参考杨玮娴等<sup>[19]</sup>和钱蓉等<sup>[21]</sup>的茶树菇 A 和 B 交配型分子鉴定引物(表 1)。

### 1.9 单胞杂交出菇验证交配型

随机挑选 4 种不同交配型的孢子单核体菌株各 3 株, 根据鉴定结果分别将 A1B1 与 A2B2 型菌株配对, 将 A2B1 与 A1B2 型菌株配对, 共 12 组杂交配对组合。将 2 个配对单核体菌株

表 1 ‘赣茶 AS-5’担孢子单核体菌株交配型分子鉴定所用引物

Table 1 Primers used for identification of mating type of spore monokaryons of strain ‘Gancha AS-5’

引物名称 Primer name	序列 Sequence (5'→3')	片段大小 Product size (bp)
Ys-mipF	AGTAACGCCACTGACTGACA	215
Ys-mipR	GATGGAATGGCACGGATCAC	
P3bf	TGTCGTTGCGATGGAGTTT	463
P3br	GTGGCGTGTGGGAGTATTC	

接种在 PDA 平板上, 相距 1 cm, 25 °C 暗培养至菌落交接后观察锁状联合, 并进行杂交组合出菇试验, 根据锁状联合的有无和出菇试验结果鉴定交配型分型结果的准确性。

### 1.10 四种交配型单核体菌株菌丝生长速度测定

从 4 种不同交配型单核体菌株中各随机选取 25 个菌株接种于 PDA 培养基中, 28 °C 培养活化 3 d 后挑取菌丝接入 PDA 培养基中, 28 °C 培养继续活化 3 d, 在单核体菌丝边缘打孔, 将菌块接入 PDA 培养基中于 25 °C 恒温培养箱避光培养, 每个处理设置 3 个平行样。分别于第 3 天和第 7 天划线标记菌丝尖端位置, 并测量第 3 天和第 7 天之间的距离(mm), 所得距离除以培养天数(d)即为菌丝的生长均速。

### 1.11 数据处理和分析

根据公式  $\chi^2 = \sum_{i=1}^k \frac{(O-E)^2}{E}$  ( $O$  为每种交配型数量的实测值,  $E$  为该种交配型数量的理论值) 计算  $\chi^2$  值, 分析‘赣茶 AS-5’的孢子单核体 4 种交配型的分离规律。采用 SPSS Statistics 17.0 和 Excel 2021 进行数据分析和作图。数值用平均值±标准误表示, 并利用单因素方差分析(one-way ANOVA)、一般线性模型单变量分析和最小显著差异(least significant difference, LSD) 检验等方法进行分析。 $P < 0.05$  表示差异显著。

## 2 结果与分析

### 2.1 茶薪菇孢子单核体交配型常规分析

收集茶薪菇菌株‘赣茶 AS-5’的担孢子制成合适浓度的孢子悬浮液后涂布于 PDA 平板中, 待其长出单菌落后挑取单菌落培养并镜检观察, 如图 1A 所示, 不具有锁状联合的菌株即为单核体菌株(图 1A); 具有锁状联合结构, 即形成典型的喙状突起的为双核体菌株(图 1B), 共分离获得

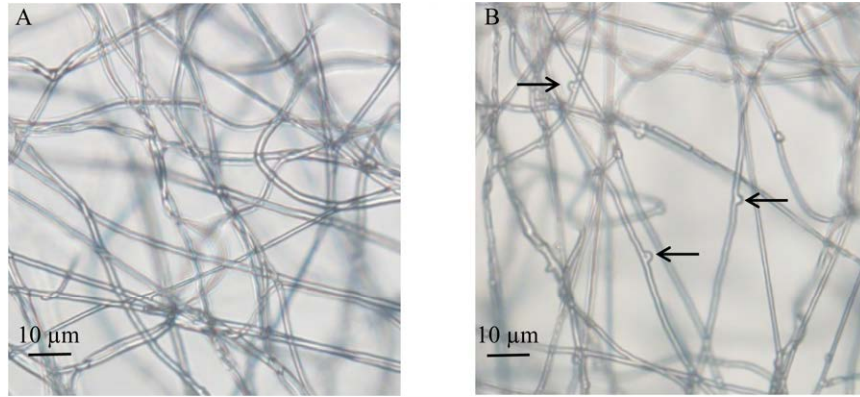


图 1 茶薪菇孢子单核体的鉴定 A: 单核菌丝; B: 双核菌丝。箭头所示为锁状联合。

Figure 1 Identification of basidiospore-derived monokaryons of *Cyclocybe chaxingu*. A: Monokaryotic hyphae; B: Dikaryotic hypha. Arrow: Clamp connection.

420 个单核体菌株。将单核体菌株分别与标准测交菌株和担孢子单核体菌株互配, 以此对担孢子单核体菌株的交配型进行分类。结果显示, T1 型、T2 型、T3 型、T4 型菌株数量分别为 69、126、148 和 77, 所占比例分别为 16.43%、30.00%、35.24%和 18.33% (图 2), 实际测得的交配型比例 (1.00:1.83:2.14:1.12) 与理论值 1:1:1:1 的比例不符, 通过计算得知  $\chi^2=41.62>7.82$ 。

## 2.2 孢子单核体菌株交配型的准确鉴定

### 2.2.1 基于 OWE-SOJ 技术的交配型鉴定

随机从 T1 (106、155、90)、T2 (2、93、151)、T3 (20、69、77)、T4 (70、67、124) 型菌株中各取 3 个菌株, 根据 OWE-SOJ 技术 (T1×T2、T3×T4、T1×T3、T1×T4、T2×T3、T2×T4) 进行配对, 观察配对组合在 SOJ 上的反应。结果显示, 配对组合中 T1×T2 和 T3×T4 的菌丝均表现为“具有锁状联合的绒毛状菌落”, 表示 A 和 B 因子均不同 (A≠B≠), 标记为“+” (图 3A、3B, 表 2); T1×T3 和 T2×T4 均表现为“无锁状联合的栅栏菌落”, 表示 A 因子不同 B 因子相同 (A≠B=), 标记为“B” (图 3C、3D, 表 2)。T1×T4 和 T2×T3 均表现为“无锁状联合的绒毛状菌落”, 表示 A 因子相同 B 因子不同 (A=B≠), 标记为“F” (图 3E、

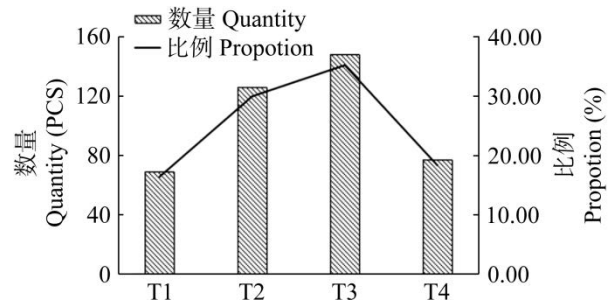


图 2 茶薪菇菌株‘赣茶 AS-5’孢子单核体的 4 种类型 (T1、T2、T3、T4) T1、T2、T3 和 T4 分别代表担孢子单核体菌株的 4 种不同交配型类型。

Figure 2 Four types of sporulated monokaryons for *Cyclocybe chaxingu* strain ‘Gancha AS-5’ (T1, T2, T3, and T4). T1, T2, T3, and T4 represents four different mating types of the basidiospore-derived monokaryons strains.

3F, 表 2)。在指定 T1 型的交配型为 A1B1 以及 T2 型的交配型为 A2B2 的情况下, 可推断出 T3 和 T4 的交配型分别为 A2B1 和 A1B2。

### 2.2.2 基于核迁移试验的交配型鉴定

指定 T1 型 (106、155、90) 和 T2 型 (2、93、151) 菌株的交配型分别为 A1B1 和 A2B2, 通过核迁移试验, 发现在首次配对中 T1×T4、T2×T3 发生了核迁移, 其交配型为 A=B≠。T1×T3、T2×T4 在首次配对中未发生核迁移, 其交配型

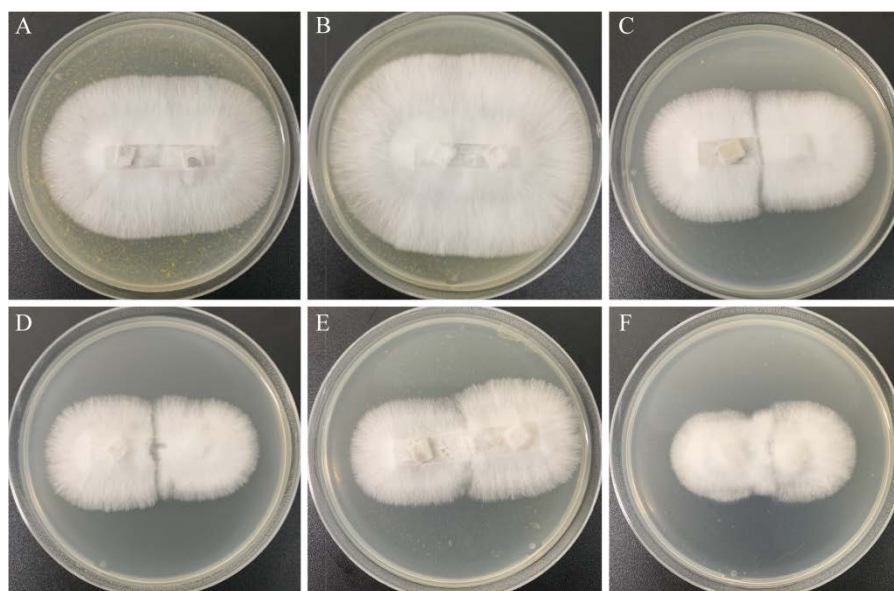


图3 SOJ培养基上对峙单核体菌落的配对反应

Figure 3 Antagonism test of monocyte on SOJ medium. A: T1×T2; B: T3×T4; C: T1×T3; D: T2×T4; E: T1×T4; F: T2×T3.

表2 ‘赣茶 AS-5’单核体对峙培养物在 SOJ 上的反应

Table 2 Antagonism of strain ‘Gancha AS-5’ monokaryons on SOJ medium

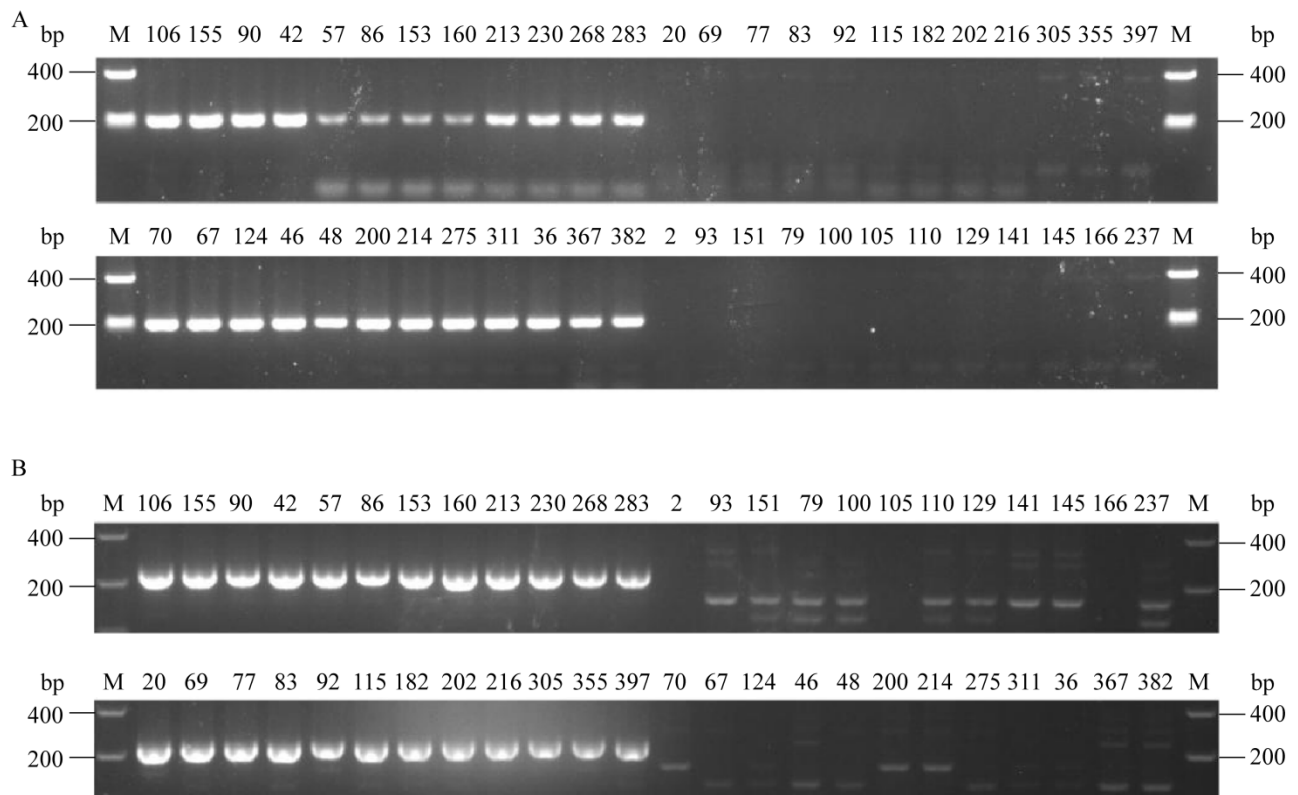
组别/编号 Group/Number		T2			T3			T4		
		2	93	151	20	69	77	70	67	124
T1	106	+	+	+	B	B	B	F	F	F
	155	+	+	+	B	B	B	F	F	F
	90	+	+	+	B	B	B	F	F	F
T2	2				F	F	F	B	B	B
	93				F	F	F	B	B	B
	151				F	F	F	B	B	B
T3	20							+	+	+
	69							+	+	+
	77							+	+	+

为  $A \neq B$ 。由此推出，T3 型(20、69、77)和 T4 型(70、67、124)的交配型分别为 A2B1 和 A1B2。

### 2.2.3 四种交配型单核体菌株交配型的分子鉴定

根据扩增结果的统计，‘赣茶 AS-5’的担孢子单核体菌株存在 4 种交配型(图 4)。利用 A 因子特异性引物对孢子单核体菌株进行扩增，结

果表明，菌株 106、155、90、42、57、86、153、160、213、230、268、283、70、67、124、46、48、200、214、275、311、36、367 和 382 扩增到大小为 215 bp 的条带，其交配型为 A1；菌株 20、69、77、83、92、115、182、202、216、305、355、397、2、93、151、79、100、105、110、129、141、145、166 和 237 均未扩增出该条带，



**图 4** ‘赣茶 AS-5’菌株 48 个孢子单核体 **A** 因子和 **B** 因子的扩增结果 A: 用 Ys-mipF/Ys-mipR 引物对扩增单核体菌株 A 交配型基因的结果; B: 用 P3bf/P3br 引物对扩增单核体菌株 B 交配型基因的结果。Figure 4 A and B factor amplification results of 48 basidiospore-derived monokaryons of strain ‘Gancha AS-5’. A: Amplification results of Ys-mipF/Ys-mipR primer pairs. B: Amplification results of P3bf/P3br primer pairs. M: DL2000 DNA Marker.

其交配型为 A2 (图 4A); 利用 B 因子特异性引物对孢子单核体菌株进行扩增, 结果表明, 菌株 106、155、90、42、57、86、153、160、213、230、268、283、20、69、77、83、92、115、182、202、216、305、355 和 397 扩增到大小为 463 bp 的条带, 其交配型为 B1; 菌株 2、93、151、79、100、105、110、129、141、145、166、237、70、67、124、46、48、200、214、275、311、36、367 和 382 均未扩增出该条带, 其交配型为 B2 (图 4B)。以此判断, 随机选取的 48 个孢子单核体中交配型为 A1B1 的有菌株 106、155、90、42、57、86、153、160、213、230、268 和 283;

交配型为 A2B2 的有菌株 2、93、151、79、100、105、110、129、141、145、166 和 237; 交配型为 A2B1 的有菌株 20、69、77、83、92、115、182、202、216、305、355 和 397; 交配型为 A1B2 的有菌株 70、67、124、46、48、200、214、275、311、36、367 和 382。

#### 2.2.4 杂交验证交配型

对 12 组孢子单核体杂交配对组合镜检均观察到了锁状联合 (表 3), 并且 12 个杂交组合的双核体菌株均能出菇形成子实体 (图 5), 配对的 2 个单核体的交配型可亲和, 说明单核体菌株交配型分型结果准确。



表3 可亲和的担孢子单核体间的杂交配对组合  
Table 3 Mating combination of spore monokaryons

担孢子单核体 交配型 Mating type of spore monokaryons strains	担孢子单核体 菌株编号 Spore monokaryons strains code	杂交组合 Hybrid combination	锁状联合 Clamp connection
A1B1	86	86×166	+
	155	155×93	+
	160	160×93	+
A2B2	93	93×86	+
	105	105×160	+
	166	166×155	+
A2B1	83	83×275	+
	115	115×275	+
	182	182×382	+
A1B2	46	46×83	+
	275	275×182	+
	382	382×115	+

+: 具有锁状联合结构。

+: Clamp connection.

### 2.3 四种交配型单核体菌株的菌丝生长速度

由表4可知, A2B2单核体菌株菌丝生长速度小于其他交配型菌株的菌丝生长速度, 并且

存在极显著差异( $P=0.00<0.01$ ); A1B1、A2B2和A1B2单核体菌株菌丝生长速度的变异系数相同且均大于A2B1。

交配型因子的方差分析结果(表5)表明, A和B因子均对单核体菌丝生长速度存在显著影响( $P=0.00<0.01$ ), 并且B因子影响大于A因子(表6)。A和B因子互作对单核体菌丝生长速度无显著影响。

### 3 讨论

食用菌不同交配型的单核体菌株可通过亲和和反应形成锁状联合结构, 据此可便于鉴定单核体的交配型, 从而提高杂交育种后代获得的成功率。传统的交配型鉴定通常利用原生质体单核化或单孢分离等方法获得单核体菌株, 再利用标准测交法或核迁移试验对菌种交配型进行鉴定<sup>[31-33]</sup>。本研究首先利用标准测交法、OWE-SOJ技术及核迁移试验等传统方法对茶薪菇‘赣茶 AS-5’的420个单核体菌株进行交配型鉴定, 并利用杨玮娴等<sup>[19]</sup>和钱蓉等<sup>[21]</sup>设计的茶树菇A、B交配型分型引物对4种交配型部分单核体菌株进行PCR扩增验证, 并且进行了不同

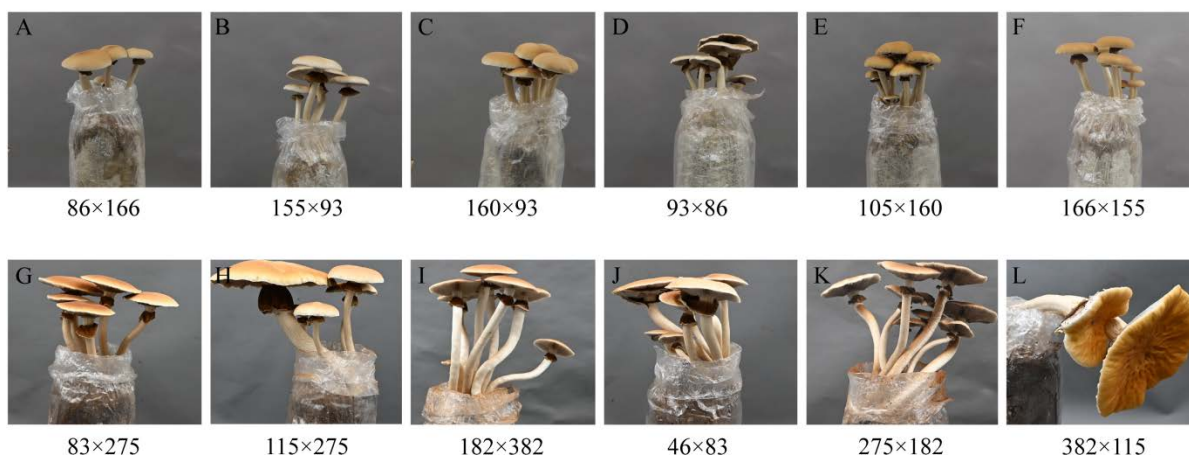


图5 12个担孢子单核体杂交组合出菇结果

Figure 5 Fruiting body formation of 12 hybrid combinations.

表 4 不同交配型单核体菌丝生长速度比较  
Table 4 Mycelial growth rates of monokaryons with different mating types

交配型	平均值	变异系数
Mating type	Average value (mm/d)	Variable coefficient
A1B1	4.97±0.19a	0.19
A2B2	3.79±0.14b	0.19
A2B1	4.59±0.15a	0.16
A1B2	4.55±0.17a	0.19

不同小写字母表示差异显著。

Different lowercase letters indicate significant differences.

交配型菌株配对出菇验证,发现分子鉴定结果与常规鉴定结果一致,并且以上方法均可用于茶薪菇担孢子单核体菌株交配型的鉴定。同时研究结果表明,‘赣茶 AS-5’菌株的遗传模式为四极性异宗结合,交配型为 A1B1、A2B2、A2B1 和 A1B2 的单核体菌株分离比为 1.00:1.83:2.14:1.12,与孟德尔遗传定律 1:1:1:1 的比例不符,经计算其卡方测验  $\chi^2$  的值为 41.62,远大于临界分布值 7.82 ( $P<0.05$ ),表明‘赣茶 AS-5’的担孢子单核体交配型存在偏分离现象。在生物发展进程中,偏分离现象能够提升群体中杂合等位基因或异型染色体的出现频率,被视为生物进化的强驱动力<sup>[34-35]</sup>。重组导致偏分离现象在食用菌中极为普遍,造成该现象的原因有很多,主要包括遗传、生理、孢子萌发力等多个方面。林芳灿等<sup>[36]</sup>和朱朝辉等<sup>[37]</sup>研究发现,香菇原生质体单核化获

得的 2 种不同交配型单核体菌株分离比为 43:1,呈现严重的偏分离现象,其原因可能与不同交配型单核体菌株的再生能力强弱有关,而调控原生质体单核体的再生性能则可能与 B 交配型因子相关<sup>[38-39]</sup>。姜珊等<sup>[40]</sup>对香菇原生质体单核化过程中的细胞核相对优势等级开展研究,并引入强势核和弱势核的概念,发现不同强势核和弱势核之间存在等级关系,表明同核异质体在偏分离现象中强势核和弱势核的表现是一致的。程水明等<sup>[41]</sup>发现在香菇中来自同一双核菌株的不同交配型担孢子单核体分布不均衡可能与其菌丝生长特性(包括萌发能力和生长速度)存在差异有关。张小雷等<sup>[42]</sup>对杨柳田头菇交配型偏分离成因进行分析,发现担孢子的交配型偏分离是由孢子萌发力或生长速度引发的,而不是孢子比例差别造成的。从遗传因素上看,出现偏分离现象可能与交配型的 A、B 因子与生长抑制因子存在连锁、或细胞质存在着与核选择相关的因子、或存在隐性纯合致死等位基因等有关<sup>[43-44]</sup>。本研究中, A 和 B 因子互作对单核体菌丝生长速度无显著影响,并且单核体交配型的分离比与菌丝生长速度无明显相关性,推测‘赣茶 AS-5’担孢子单核体菌株交配型的分离与孢子萌发力或遗传特性相关的可能性更大。

表 5 不同交配型单核体的菌丝生长速度差异分析

Table 5 Differential analysis of mycelial growth rate of monokaryons with different mating type

变异来源	平方和	自由度	均方	F value	P value
Source of variation	Sum of square	Degree of freedom	Mean square		
校正模型 Calibration model	18.240	3	6.08	8.93	0.000
截距 Intercept	2 000.290	1	2 000.29	2 939.15	0.000
A	8.140	1	8.14	11.96	0.001
B	9.220	1	9.22	13.55	0.000
A×B	0.877	1	0.88	1.29	0.259
误差 Error	65.330	96	0.68		
总变异 Total variation	2 083.860	100			
校正的总计 Corrected total	83.570	99			

表 6 不同交配型因子单核体菌丝生长速度的多重比较

Table 6 Multiple comparison (LSD) of mycelial growth rates between monokaryons with different mating types

交配型因子	均值	P value
Mating type factor	Average value (mm/d)	
A1	4.76±0.13	0.002
A2	4.19±0.12	
B1	4.78±0.12	0.001
B2	4.17±0.12	

本研究发现, A2B2 型菌株的菌丝生长速度极显著慢于其他 3 种交配型菌株, A 和 B 交配型因子均对单核体菌丝生长速度有极显著影响, 并且 B 交配型因子的影响效应大于 A, 说明 A 和 B 交配型因子可能都与调控菌丝生长速度的基因/位点连锁。关于杨柳田头菇(*Agrocybe salicacola*)孢子单核体菌丝生长速度的研究发现, 其与极性和交配型因子明显相关, 并且也有一个菌丝生长速度极慢的孢子单核体交配型 AyBy, 推测杨柳田头菇的 A、B 交配型因子可能都与调控生长速度相关的因子(底物利用相关酶类或细胞分裂调控元件等)连锁<sup>[23]</sup>。香菇中同一品种的单核菌株菌丝生长速率分布频率呈正态分布, 说明即使是同一个子实体其所产生孢子在调控菌丝生长速率方面的遗传因子也存在一定差异<sup>[45]</sup>。但是, 大型真菌单核体中调控菌丝生长速度的主效数量性状基因座(quantitative trait locus, QTL), 是与交配型 A 和 B 双因子都连锁还是只与其中的单个因子连锁, 仍需进一步探索。

## 4 结论

茶薪菇‘赣茶 AS-5’担孢子交配型存在偏分离现象; 利用标准测交法、OWE-SOJ 试验、核迁移试验及分子鉴定进行交配型鉴定的结果均一致, 上述方法均可用于茶薪菇交配型的精准

鉴定; 茶薪菇的单核体菌丝生长速度与交配型之间存在相关性, A 和 B 因子对单核体菌丝生长速度具有显著影响。

## 致谢

感谢上海市农业科学院食用菌研究所章炉军老师在交配型鉴定和表型鉴定等方面的指导。

## REFERENCES

- [1] 上海农业科学院食用菌研究所. 中国食用菌志[M]. 北京: 中国林业出版社, 1991. Institute of Edible Fungi, Shanghai Academy of Agricultural Science. China Edible Fungi Records[M]. Beijing: China Forestry Publishing House, 1991 (in Chinese).
- [2] CHEN WM, CHAI HM, ZHOU HM, TIAN GT, LI SH, ZHAO YC. Phylogenetic analysis of the *Agrocybe aegerita* multispecies complex in Southwest China inferred from ITS and mtSSU rDNA sequences and mating tests[J]. Annals of Microbiology, 2012, 62(4): 1791-1801.
- [3] VIZZINI A, CLAUDIO A, ERCOLE E. Le sezioni Velatae e *Aporus* di *Agrocybe* sottogenere *Aporus*: rivalutazione del genere *Cyclocybe* Velen. ed un nuova specie[J]. Bollettino Della Associazione Micologica Ecologica Romana, 2014, 30(92): 21-38.
- [4] 刘祈猛, 宋海燕, 陈润秀, 陈明辉, 翟志军, 周健平, 高扬, 胡殿明. 我国主栽食用菌茶薪菇的物种概念[J]. 菌物学报, 2021, 40(5): 981-991. LIU QM, SONG HY, CHEN RX, CHEN MH, ZHAI ZJ, ZHOU JP, GAO Y, HU DM. Species concept of *Cyclocybe chaxingu*, an edible mushroom cultivated in China[J]. Mycosystema, 2021, 40(5): 981-991 (in Chinese).
- [5] 陈润秀, 陈茂江, 刘郁林, 刘祈猛, 殷华, 胡殿明. 茶树菇研究进展[J]. 生物灾害科学, 2020, 43(3): 219-226. CHEN RX, CHEN MJ, LIU YL, LIU QM, YIN H, HU DM. Research progress of *Cyclocybe cylindracea* complex[J]. Biological Disaster Science, 2020, 43(3): 219-226 (in Chinese).
- [6] 中国食用菌协会. 2022 年度全国食用菌统计调查结果分析[J]. 中国食用菌, 2024, 43(1): 118-126. China edible fungi association. Analysis on the results of national edible fungi statistical survey in 2022[J]. Edible Fungi of China, 2024, 43(1): 118-126 (in Chinese).
- [7] 杨军, 徐吉, 宋一鸣, 朱坚. 灰树花交配型鉴定分析[J]. 南方农业学报, 2016, 47(3): 412-418. YANG J, XU J, SONG YM, ZHU J. Identification for mating type of *Grifola frondosa*[J]. Journal of Southern Agriculture, 2016, 47(3): 412-418 (in Chinese).
- [8] 张美彦, 宋春艳, 于海龙, 谭琦, 徐珍, 王瑞娟, 章炉军, 尚晓冬. 基于 SNP 分型的香菇交配型 AS-PCR 鉴定[J]. 食用菌学报, 2019, 26(2): 1-9, 2. ZHANG MY, SONG CY, YU HL, TAN Q, XU Z,

- WANG RJ, ZHANG LJ, SHANG XD. Mating-type identification of *Lentinula edodes* based on SNP genotyping by AS-PCR[J]. *Acta Edulis Fungi*, 2019, 26(2): 1-9, 2 (in Chinese).
- [9] 舒芳, 边银丙, 周雁. 毛木耳 A 交配型位点的克隆和序列结构分析[J]. *菌物学报*, 2020, 39(6): 1029-1037.
- SHU F, BIAN YB, ZHOU Y. Cloning and sequence structure analysis of A mating type loci of *Auricularia cornea*[J]. *Mycosystema*, 2020, 39(6): 1029-1037 (in Chinese).
- [10] 刘晓雪, 王春霞, 刘利娟, 郭金英, 郑素月. 1 株野生平菇菌株的鉴定及交配型分析[J]. *河南农业科学*, 2021, 50(12): 128-133.
- LIU XX, WANG CX, LIU LJ, GUO JY, ZHENG SY. Identification and mating type analysis of a wild oyster mushroom strain[J]. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 2021, 50(12): 128-133 (in Chinese).
- [11] 果禹鑫, 陈青君, 张国庆, 王贺祥, 秦勇. 运用交配型基因分子标记辅助羊肚菌单孢杂交育种[J]. *分子植物育种*, 2022, 20(12): 4067-4074.
- GUO YX, CHEN QJ, ZHANG GQ, WANG HX, QIN Y. Application of mating type gene molecular markers in *Morchella singlespore* cross breeding[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2022, 20(12): 4067-4074 (in Chinese).
- [12] 马丽娟, 李晓玲, 鲍大鹏, 尚俊军, 周陈力, 杨瑞恒. 斑玉蕈交配型位点结构及其多态性分析[J]. *食用菌学报*, 2022, 29(2): 23-30.
- MA LJ, LI XL, BAO DP, SHANG JJ, ZHOU CL, YANG RH. Genetic structure and polymorphism of mating-type loci in different *Hypsizygus marmoreus* strains[J]. *Acta Edulis Fungi*, 2022, 29(2): 23-30 (in Chinese).
- [13] 沈真辉, 曹瑶, 李梦杰, 杨林雷, 罗祥英, 李荣春. 基于基因组数据解析金耳 A 和 B 交配型位点结构[J]. *菌物学报*, 2024, 43(2): 16-37.
- SHEN ZH, CAO Y, LI MJ, YANG LL, LUO XY, LI RC. Analyses of the A and B mating-type locus structure from *Naematelia aurantialba* based on genomic data[J]. *Mycosystema*, 2024, 43(2): 16-37 (in Chinese).
- [14] CHEN BZ, van PEER AF, YAN JJ, LI X, XIE B, MIAO J, HUANG QH, ZHANG L, WANG W, FU JS, ZHANG X, ZHANG XY, HU FL, KONG QF, SUN XY, ZOU F, ZHANG HX, LI SJ, XIE BG. Fruiting body formation in *Volvariella volvacea* can occur independently of its MAT-A-controlled bipolar mating system, enabling homothallic and heterothallic life cycles[J]. *G3*, 2016, 6(7): 2135-2146.
- [15] AU CH, WONG MC, BAO DP, ZHANG MY, SONG CY, SONG WH, LAW PTW, KÜES U, KWAN HS. The genetic structure of the A mating-type locus of *Lentinula edodes*[J]. *Gene*, 2014, 535(2): 184-190.
- [16] PARK YJ, BAEK JH, LEE S, KIM C, RHEE H, KIM H, SEO JS, PARK HR, YOON DE, NAM JY, KIM HI, KIM JG, YOON H, KANG HW, CHO JY, SONG ES, SUNG GH, YOO YB, LEE CS, LEE BM, KONG WS. Whole genome and global gene expression analyses of the model mushroom *Flammulina velutipes* reveal a high capacity for lignocellulose degradation[J]. *PLoS One*, 2014, 9(4): e93560.
- [17] 曾旭, 刘芳, 陈娟, 王威, 谢宝贵, 郭顺星. 金针菇基因组测序及萜类合成关键基因分析[J]. *菌物学报*, 2015, 34(4): 670-682.
- ZENG X, LIU F, CHEN J, WANG W, XIE BG, GUO SX. Genomic sequencing and analysis of genes related to terpenoid compound biosynthesis of *Flammulina velutipes*[J]. *Mycosystema*, 2015, 34(4): 670-682.
- [18] 鲍大鹏. 担子菌类食用菌交配型位点结构的研究进展[J]. *菌物学报*, 2019, 38(12): 2061-2077.
- BAO DP. Research progress on the mating-typing locus structures of basidiomycete mushrooms[J]. *Mycosystema*, 2019, 38(12): 2061-2077 (in Chinese).
- [19] 杨玮娟, 赵永昌, 陈玉惠, 陈卫民. 茶树菇线粒体中间肽酶基因克隆分析及其在 A 交配型鉴定中的应用[J]. *北方园艺*, 2018(12): 150-156.
- YANG WX, ZHAO YC, CHEN YH, CHEN WM. Cloning analysis of mitochondrial intermediate peptidase encoding gene and its application on A mating-locus identification in *Agrocybe aegerita*[J]. *Northern Horticulture*, 2018(12): 150-156 (in Chinese).
- [20] 陈卫民, 柴红梅, 杨玮娟, 马渊浩, 赵永昌. 柱状田头菇和杨柳田头菇 B 交配型位点特征分析及其应用[J]. *生物技术通报*, 2021, 37(11): 57-64.
- CHEN WM, CHAI HM, YANG WX, MA YH, ZHAO YC. Characterization of B mating loci identification and application in *Cyclocybe aegerita* and *C. salicicola*[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2021, 37(11): 57-64 (in Chinese).
- [21] 钱蓉, 陈卫民, 柴红梅, 陶南, 赵永昌, 陈玉惠. 茶树菇 B 交配型位点结构分析[J]. *中国农学通报*, 2021, 37(2): 14-19.
- QIAN R, CHEN WM, CHAI HM, TAO N, ZHAO YC, CHEN YH. B mating locus from *Agrocybe aegerita*: structural analysis[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2021, 37(2): 14-19 (in Chinese).
- [22] 沈天峰, 申进文, 王付才, 李治锋, 马向东, 郭恒, 程雁, 高喜梅. 平菇菌丝体生长速度与子实体产量的相关性研究[J]. *中国食用菌*, 2002, 21(4): 18-19.
- SHEN TF, SHEN JW, WANG FC, LI ZF, MA XD, GUO H, CHENG Y, GAO XM. Study on the correlation between mycelium growth rate and the fruiting body yield of *Pleurotus*[J]. *Edible Fungi of China*, 2002, 21(4): 18-19 (in Chinese).
- [23] 周会明, 柴红梅, 赵静, 魏云林, 赵永昌. 基于 SPSS 的杨柳田头菇菌丝生长速度与交配型相关性分析[J]. *西南农业学报*, 2010, 23(6): 1992-1998.
- ZHOU HM, CHAI HM, ZHAO J, WEI YL, ZHAO YC. Correlation analysis between mycelial growth rate and mating type of *Agrocybe salicicola* based on SPSS statistics[J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2010, 23(6): 1992-1998 (in Chinese).
- [24] 林范学, 李宏盛, 冯磊, 梁保东, 鲍大鹏. 交配型对香菇单、双核菌丝体菌丝生长速度的影响[J]. *上海农业学报*, 2013, 29(5): 15-22.
- LIN FX, LI HS, FENG L, LIANG BD, BAO DP. The relationships between mating types and mycelial growth rates of monokaryons and dikaryons in *lentinula edodes*[J]. *Acta Agriculturae Shanghai*, 2013, 29(5): 15-22 (in Chinese).
- [25] 潘越, 陈辉, 冯志勇, 赵静. 斑玉蕈不同交配型的原生质体单核菌株差异分析[J]. *生物技术通报*, 2014, 30(9): 131-135.
- PAN Y, CHEN H, FENG ZY, ZHAO J. Variance analysis of different mating type strains in mononuclear protoplast of *Hypsizygus marmoreus*[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2014, 30(9): 131-135 (in Chinese).
- [26] 蚁瑞荣, 曹晖, 潘迎捷. 金针菇不同类型单核原生质

- 体的分离及其差异比较[J]. 上海农业学报, 2008, 24(3): 50-53.
- YI RR, CAO H, PAN YJ. Isolation and comparison of different types of protoplast monokaryons from *Flammulina velutipes*[J]. Acta Agriculturae Shanghai, 2008, 24(3): 50-53 (in Chinese).
- [27] 鲍大鹏. 食用菌杂交育种中的科学问题[J]. 食用菌学报, 2020, 27(4): 1-24.
- BAO DP. Scientific problems in crossbreeding of edible fungi[J]. Acta Edulis Fungi, 2020, 27(4): 1-24 (in Chinese).
- [28] 孙鹏, 陈绪涛, 王洪秀, 李菁, 胡佳, 魏云辉. 茶树菇赣茶 AS-3、赣茶 AS-5 选育研究[J]. 江西农业学报, 2021, 33(3): 82-87.
- SUN P, CHEN XT, WANG HX, LI J, HU J, WEI YH. Breeding of *Agrocybe aegerita* AS-3, AS-5[J]. Acta Agriculturae Jiangxi, 2021, 33(3): 82-87 (in Chinese).
- [29] 王洪秀, 章炉军, 孙鹏, 胡佳, 陈绪涛, 魏云辉. 茶树菇原生质体再生及单核体菌株的特性[J]. 微生物学通报, 2022, 49(6): 2076-2087.
- WANG HX, ZHANG LJ, SUN P, HU J, CHEN XT, WEI YH. Protoplast regeneration and monokaryotization characteristics of *Cyclocybe aegerita*[J]. Microbiology China, 2022, 49(6): 2076-2087 (in Chinese).
- [30] DARMONO TW, BURDSALL HH. Morphological characteristics of incompatibility reactions and evidence for nuclear migration in *Armillaria mellea*[J]. Mycologia, 1992, 84(3): 367.
- [31] 李安政, 林芳灿. 核迁移试验在香菇交配型分析中的应用[J]. 湖北民族学院学报(自然科学版), 2013, 31(3): 289-291, 342.
- LI AZ, LIN FC. The mating type analysis in *Lentinula edodes* using nuclear migration test[J]. Journal of HuBei Minzu University (Natural Science Edition), 2013, 31(3): 289-291, 342 (in Chinese).
- [32] 余梅, 杜军华, 张宝静, 陈群. 真姬菇交配型的遗传学鉴定[J]. 热带作物学报, 2021, 42(7): 1905-1910.
- YU M, DU JH, ZHANG BJ, CHEN Q. Genetic determination of mating type in *Hypsizygus marmoratus*[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2021, 42(7): 1905-1910 (in Chinese).
- [33] 季哲, 李玉祥, 薛淑玉. 黄伞的交配型性状研究[J]. 菌物学报, 2004, 23(1): 38-42.
- JI Z, LI YX, XUE SY. Mating system of *Pholiota adiposa*[J]. Mycosystema, 2004, 23(1): 38-42 (in Chinese).
- [34] SANDLER L, NOVITSKI E. Meiotic drive as an evolutionary force[J]. The American Naturalist, 1957, 91(857): 105-110.
- [35] CHARLESWORTH B. Driving genes and chromosomes[J]. Nature, 1988, 332(6163): 394-395.
- [36] 林芳灿, 张树庭. 中国香菇栽培菌株不亲和性因子的分析[J]. 华中农业大学学报, 1995, 14(5): 459-466.
- LIN FC, ZHANG ST. Analysis of incompatibility factors in cultivated strains of *Lentinus edodes* in China[J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 1995, 14(5): 459-466 (in Chinese).
- [37] 朱朝辉, 陈明杰, 谭琦, 贺冬梅, 潘迎捷. 香菇原生质体单核体的再生与交配型的关系[J]. 食用菌学报, 2000, 7(4): 1-3.
- ZHU CH, CHEN MJ, TAN Q, HE DM, PAN YJ. Study on the relationship between protoplasted monokaryon regeneration and mating types of *Lentinula edodes*[J]. Acta Edulis Fungi, 2000, 7(4): 1-3 (in Chinese).
- [38] RAPER CA. B-mating-type genes influence survival of nuclei separated from heterokaryons of *Schizophyllum*[J]. Experimental Mycology, 1985, 9(2): 149-160.
- [39] 程水明, 林范学, 林芳灿. 蕈菌交配型因子偏分离现象的研究进展[J]. 华中农业大学学报(自然科学版), 2005, 24(6): 638-643.
- CHENG SM, LIN FX, LIN FC. Recent studies on segregation distortion of mating-type factors in mushroom[J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2005, 24(6): 638-643 (in Chinese).
- [40] 姜珊, 明鹏辉, 杨瑞恒, 汪滢, 侯娣, 余梅, 鲍大鹏. 香菇原生质体单核化过程中细胞核相对优势等级的研究[J]. 菌物学报, 2023, 42(1): 187-195.
- JIANG S, MING PH, YANG RH, WANG Y, HOU D, YU M, BAO DP. A study on relative dominance of the nuclei during protoplast monokaryotization of *Lentinula edodes*[J]. Mycosystema, 2023, 42(1): 187-195 (in Chinese).
- [41] 程水明, 林范学. 香菇担孢子交配型比例偏分离的遗传分析[J]. 中国农业科学, 2007, 40(10): 2296-2302.
- CHENG SM, LIN FX. Genetic analysis of distorted segregation ratio of mating types among basidiospores in *Lentinula edodes*[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2007, 40(10): 2296-2302 (in Chinese).
- [42] 张小雷, 周会明, 柴红梅, 李树红, 田果廷, 赵永昌. 杨柳田头菇担孢子交配型偏分离成因研究[J]. 西南农业学报, 2012, 25(2): 609-613.
- ZHANG XL, ZHOU HM, CHAI HM, LI SH, TIAN GT, ZHAO YC. Analysis of distorted segregation of mating types ratio of basidiospores in *Agrocybe salicicola*[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2012, 25(2): 609-613 (in Chinese).
- [43] KAWABATA H, MAGAE Y, SASAKI T, TANIGUCHI H. Mating type analysis of monokaryons regenerated from protoplasts of *Flammulina velutipes*[J]. Trans Mycology Society of Japan, 1992, 33(2): 243-247.
- [44] CHENG SM, LIN FX, XU XF, LI AZ, LIN FC. Genetic analysis of segregation distortion of mating-type factors in *Lentinula edodes*[J]. Progress in Natural Science, 2005, 15(8): 684-688.
- [45] 程爽爽, 张姣, 杜双田. 香菇单核菌株菌丝生长特性分析[J]. 中国食用菌, 2019, 38(7): 32-37, 42.
- CHENG SS, ZHANG J, DU ST. Analysis of mycelial growth characteristics of *Lentinus edodes* monokaryons strains[J]. Edible Fungi of China, 2019, 38(7): 32-37, 42 (in Chinese).