

张朝辉, 王勋, 陈天航, 等. 平菇单核体与双核体差异的 RAPD 分析 [J]. 福建农业学报, 2022, 37 (5): 648–653.

ZHANG C H, WANG X, CHEN T H, et al. RAPD Analysis on Differences between Monokaryotic and Dikaryotic *Pleurotus ostreatus* [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2022, 37 (5): 648–653.

平菇单核体与双核体差异的 RAPD 分析

张朝辉^{1,2}, 王 勋¹, 陈天航², 梅会元², 韩盼盼²,
刘天翔¹, 王振河², 邱立友^{1*}

(1. 河南农业大学生命科学学院/农业农村部农业微生物酶工程重点实验室, 河南 郑州 450002;

2. 河南科技学院生命科技学院, 河南 新乡 453003)

摘 要:【目的】探究平菇单双核菌丝体间的差异, 为平菇品种培育提供技术理论基础。【方法】从平菇 TD300 的担孢子中分离得到两个单核菌株 MK13 和 MK3, 通过交配得到优良双核菌株 DK300, 进行平板试验和出菇试验, 测定 4 个菌株的菌丝生长状况和出菇产量, 再利用随机扩增多态性 DNA (Randomly Amplified Polymorphic DNA, RAPD) 标记技术检测 4 个菌株之间的遗传差异性。【结果】DK300 与亲本 TD300 在菌丝生长状况和产量上没有显著性差异, 但 MK13、MK3 和交配所得的 DK300 与亲本 TD300 间存在较大的遗传差异性, 而 MK13、MK3 和 DK300 间遗传差异性较小, 尤其是 MK3 和 DK300 间遗传差异性最小。【结论】经过减数分裂形成担孢子时可能发生有基因重组, 而通过两个单核菌株交配得到双核菌株过程则较少发生基因重组。

关键词: 平菇; 单核体; 双核体; 产量; 遗传差异性

中图分类号: S 646.1+4

文献标志码: A

文章编号: 1008-0384 (2022) 05-0648-06

RAPD Analysis on Differences between Monokaryotic and Dikaryotic *Pleurotus ostreatus*

ZHANG Chaohui^{1,2}, WANG Xun¹, CHEN Tianhang², MEI Huiyuan², HAN Panpan²,
LIU Tianxiang¹, WANG Zhenhe², QIU Liyou^{1*}

(1. College of Life Sciences, Henan Agricultural University/Key Laboratory of Enzyme Engineering of Agricultural Microbiology, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Zhengzhou, Henan 450002, China; 2. College of Life Science and Technology, Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang, Henan 453003, China)

Abstract: 【Objective】Differences between uni- and bi-nucleate mycelia of *Pleurotus ostreatus* were studied to aid the mushroom breeding and cultivation. 【Method】Monokaryons MK13 and MK3 were isolated from basidiospores of *P. ostreatus* TD300 and mated to obtain the dikaryotic DK300. Conventional plate and fruiting tests were applied to compare the mycelial growth and fruiting body yield of the 4 strains. Genetic differences of the strains were determined by random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. 【Result】There were no significant differences in mycelial growth and fruiting body yield between DK300 and TD300. However, a significant genetic difference existed between the offspring (i.e., MK13, MK3, and DK300) and parent TD300. The differences among MK13, MK3, and DK300 were minute, especially between MK3 and DK300. 【Conclusion】Gene recombination might occur during the basidiospore formation by meiosis, but less likely in the mating of two monokaryotic strains to generate a dikaryotic offspring.

Key words: *Pleurotus ostreatus*; monokaryon; dikaryon; yield; genetic diversity

收稿日期: 2022-03-02 初稿; 2022-04-04 修改稿

作者简介: 张朝辉 (1983-), 男, 博士, 副教授, 主要从事食药菌生理生化研究 (E-mail: p686@163.com)

* 通信作者: 邱立友 (1963-), 男, 博士, 教授, 主要从事真菌学研究 (E-mail: qliyou@henau.edu.cn)

基金项目: 河南省科技攻关计划项目 (202102110019、212102110430); 国家级大学生创新创业训练计划项目 (202110467035X)

0 引言

【研究意义】平菇 (*Pleurotus ostreatus*)，又称糙皮侧耳，属于食药两用真菌^[1]，在我国具有较长的栽培历史，种类繁多^[2]，具有营养价值高、适应性强、产量高的特点，目前已成为世界性的食用菌品种^[3]。平菇属于典型的异宗结合担子菌，即单核菌株不能形成子实体，两个具有亲和作用的异性单核菌丝体结合后，才具备出菇能力^[4]，但单核体与双核体之间的差异尚不明确。【前人研究进展】随着分子生物学的发展，DNA 分子标记技术被广泛应用于食用菌的遗传多样性分析中。DNA 分子标记包括限制性片段长度多态性 (Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP) 标记^[5]、相关序列扩增多态性 (Sequence-related amplified polymorphism, SRAP) 标记^[6]、RAPD 标记^[7]、简单重复序列区间 (Inter-simple sequence repeats, ISSR) 标记^[8]等，它是直接在 DNA 水平上反映遗传变异的一种技术。其中 RAPD 标记由于其具有检测范围广^[9]、检测速度快、操作简单等优点，现已被广泛应用于菌种鉴定、遗传多样性分析、遗传图谱的建立等方面^[10]，并取得了显著成效。詹才新等利用 RAPD 标记对金针菇不同亲本菌株及其杂交菌株进行分析后，得出该技术可用于鉴别真伪杂种的结论^[11]。赵光辉等利用 RAPD 标记对 20 株草菇进行遗传多样性的分析，结果表明所有供试菌株间均存在遗传差异^[12]。RAPD 标记技术在食用菌遗传多样性分析中发挥了极大的作用^[13]。【本研究切入点】双核体是一种独特的生物，它的菌丝每个隔间包含两个单倍体核，每个单倍体核来自不同的亲本^[14]，两个相容的单核菌丝体交配形成新的双核菌丝体，仅发生质配而没有进行核配^[15]，这种有性繁殖方式与二倍体明显不同。通过来自糙皮侧耳或香菇 (*Lentinus edodes*) 的同一亲本的交配亲和性担孢子自交，已选育出多个优良菌种^[16-19]，但其机理还不清楚。目前对于双核体及其亲本单核体之间的差异研究较少，通过比较单核体和双核体的菌丝生长状况、出菇产量和遗传多样性是研究两者之间差异的有效方法。【拟解决的关键问题】从平菇 TD300 的担孢子中分离得到 MK13 和 MK3，二者交配得到 DK300，通过对单双核菌株及其亲本进行菌丝生长状况和出菇产量的测定，利用 RAPD 法检测单双核菌株的遗传差异，以期为食用菌自交育种提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 菌种

TD300：平菇天达 300，河南农业大学农业农村

部农业微生物酶工程重点实验室保藏菌株；单核菌株 MK13 和 MK3：TD300 担孢子分离获得。选择品质优良、大小合适、约八成成熟的 TD300 子实体通过钩悬法收集孢子并制成孢子液，稀释涂布于 PDA 平板，25 ℃ 培养至出现单菌落。挑取单菌落接种至 PDA 平板培养基中央，继续培养。选择能够配合为优良双核菌丝的 MK13 和 MK3 作为试验的单核菌株；双核菌株 DK300：MK13 和 MK3 交配所得。

1.2 培养基的配制

PDA 培养基：马铃薯 200 g，葡萄糖 20 g，琼脂 20 g，水 1000 mL，pH 自然，分装后高压灭菌；棉籽壳栽培料培养基：棉籽壳 78%，麸皮 20%，石灰 1%，石膏 1%，含水量 65%，pH 自然，装袋后高压灭菌。

1.3 菌丝生长状况对比

将 MK13、MK3、DK300 和 TD300 分别接种在含有等体积 PDA 培养基的培养皿上进行活化，3~5 d 后，打孔接种到新的平板上培养，在培养期间从菌落形态、菌丝颜色、长势、满板天数等方面观察并记录 4 个菌株的菌丝生长状况。

1.4 出菇情况及产量对比

常规栽培试验：使用 15 cm × 32 cm 聚丙烯折角袋，每袋装 0.9 kg 栽培料。高压灭菌 2.5 h，每处理数量为 20 袋。常规管理，在此期间分别记录菌株性状和出菇产量。

1.5 菌株 RAPD 分析

RAPD 标记技术是以基因组 DNA 为模板，随机选择一个长度通常为 10 个碱基对的寡聚核苷酸序列作为引物，进行 PCR 扩增反应，得到不连续的 DNA 产物，用于检测 DNA 序列的多样性^[20]。本试验 PCR 扩增所用的引物来自上海生工的十碱基随机引物，如表 1 所示。

菌丝 DNA 提取：称取新鲜的平板菌丝 0.1~0.2 g，利用 CTAB 法^[21]提取菌株 DNA。随机引物的 PCR 扩增：PCR 体系：HSTMMix (购自广州东盛公司) 12.5 μL，随机引物 (上海生工合成) 1 μL，DNA 模板 0.5 μL，ddH₂O 8.5 μL。PCR 扩增程序为：94 ℃，5 min；94 ℃，1 min；36 ℃，1 min；72 ℃，2 min；72 ℃，10 min，进行 30 Cycles。用 1.2% 的琼脂糖凝胶电泳检测。

2 结果与分析

2.1 菌丝生长状况分析

将直径为 6 mm 的 TD300、DK300、MK13 和 MK3 菌丝块接种在 PDA 平板中培养，观察记录 4 个菌株

表 1 供试随机引物
Table 1 Random primers applied

引物编号 Primer number	引物序列 (5'-3') Primer sequence(5'-3')
S10	CTGCTGGGAC
S22	TGCCGAGCTG
S23	AGTCAGCCAC
S28	GTGACGTAGG
S36	AGCCAGCGAA
S39	CAAACGTCGG
S43	GTCGCCGTCA
S62	GTGAGGCGTC
S75	GACGGATCAG
S78	TGAGTGGGTG
S79	GTTGCCAGCC
S124	GGTGATCAGG
S126	GCGAATTCGG

菌丝的生长情况。如表 2 所示，从菌落形态来看，TD300 与 DK300 为半气生型，MK13 和 MK3 为匍匐型。从菌丝长势来看，TD300 的菌丝比其他 3 个菌株菌丝纤细稀疏，MK13 和 MK3 的菌丝长势最好，均表现为粗壮浓密。而从菌丝颜色来看，DK300、MK13 和 MK3 的菌丝均为白色，TD300 的菌丝为浅白色。结果表明，4 个菌株菌丝形态差异明显。

表 2 菌株的菌丝形态
Table 2 Mycelium morphology of tested strains

菌株 Bacterial strain	菌落形态 Colonial morphology	菌丝长势 Mycelium growth vigor	菌丝颜色 Color of mycelium
TD300	半气生型 Semi-air type	+	浅白 Light white
DK300	半气生型 Semi-air type	++	白 White
MK13	匍匐型 Prostrate type	+++	白 White
MK3	匍匐型 Prostrate type	+++	白 White

+++：粗壮浓密；++：较粗壮浓密；+：纤细稀疏。
+++：thick；++：thick and dense；+：slender sparse.

通过观察记录，对 4 个菌株菌丝在不同培养基中的生长状况进行统计分析。如图 1 所示，从菌丝满板天数来看，TD300 与 DK300 最快满板，均为 4 d，MK13 和 MK3 长速较慢，其中 MK13 最慢，长满整个平板需要近 20 d。在栽培试验中，TD300 菌丝最先满袋，MK13 最晚满袋，TD300 比 MK13 提前 20 d 满袋，这与 4 个菌株菌丝在平板中的生长状况一致。

结果表明，在不同培养料中，TD300 和 DK300 菌丝生长状况较好，MK13 和 MK3 菌丝生长状况较差。

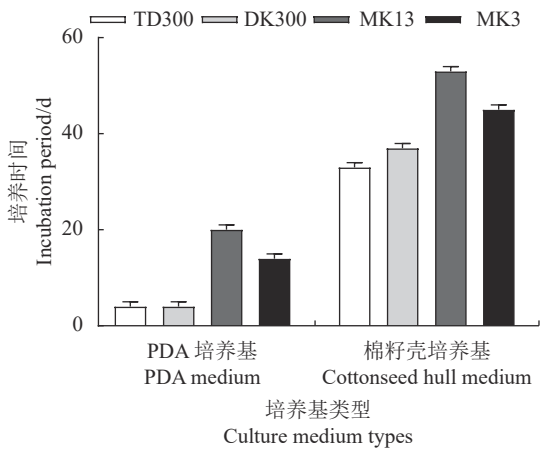


图 1 菌株在不同培养基中生长状况
Fig. 1 Mycelial growth of strains in different culture media

2.2 出菇情况及产量分析

如表 3 所示，TD300 和 DK300 均可以出菇，MK13 和 MK3 均不出菇。从子实体形状来看，TD300 为贝壳状，DK300 为扇叶状。而从子实体颜色来看，TD300 为深褐色，DK300 为浅褐色。结果表明，TD300 与 DK300 子实体性状差异明显。

表 3 菌株出菇情况及子实体性状
Table 3 Germination and fruiting body properties of mushrooms

菌株 Bacterial strain	出菇情况 Mushroom-budding	子实体形状 Fruit-body shape	子实体颜色 Fruit-body color
TD300	出菇 Producing mushroom	贝壳状 Conchoid type	深褐色 Dark brown
DK300	出菇 Producing mushroom	扇叶状 Fan leaf type	浅褐色 Light brown
MK13	不出菇 No mushrooms	—	—
MK3	不出菇 No mushrooms	—	—

—：不出菇。
—：No mushrooms.

如表 4 所示，从第一茬均产量来看，DK300 平均每袋产量高于 TD300，每袋高出 4.40%，但不具有显著性差异；从第二茬均产量来看，TD300 平均每袋产量比 DK300 高出 21.93%，且具有显著性差异；而从平均每袋总产量来看，TD300 的平均每袋总产量比 DK300 高出 3.26%。

2.3 基于 RAPD 标记的菌株间亲缘关系分析

对提取的单、双核菌丝 DNA 进行电泳，结果如图 2 所示，DNA 条带清晰且明亮，无明显弥散荧光区出现，适合用来做 RAPD 分析。本试验对提取的

表 4 菌株出菇产量
Table 4 Yields of mushrooms

菌株 Strain	第一茬均产量 Average yield of the first crop/ (kg·袋 ⁻¹)	第二茬均产量 Average yield of the second crop/ (kg·袋 ⁻¹)	平均总产量 Average total output/ (kg·袋 ⁻¹)
TD300	0.273 a	0.139 a	0.412 a
DK300	0.285 a	0.114 b	0.399 a
MK13	—	—	—
MK3	—	—	—

表中不同字母表示差异显著 ($P<0.05$)；—：不出菇。
Different letters indicate significant difference at $P<0.05$; —: no mushrooms.

TD300、DK300、MK13 和 MK3 的菌丝 DNA 进行 RAPD 分析。

对 13 条随机引物进行 PCR 扩增，通过凝胶电泳发现，12 条引物能扩增出清晰且重复性好并能用于 RAPD 分析的条带。如图 3 所示，共有 86 个条带被扩增，其中多态性片段 69 条，且特异性较高。如引物 S36 扩增出多态性片段 8 条，4 个菌株共同条带 2 条，在 DK300、MK13 和 MK3 这 3 个菌株中也有两条共同条带，其中 DK300 拥有的条带均能够在 MK13 和 MK3 中找到，说明 DK300 与 MK13 和 MK3

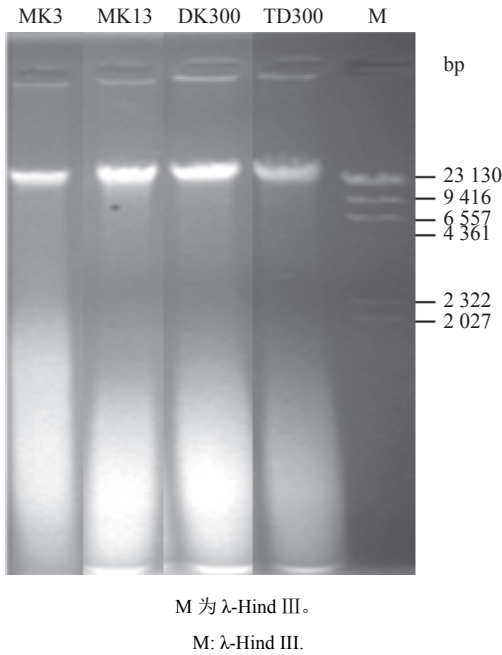


图 2 DNA 电泳检测结果
Fig. 2 DNA electrophoresis of 4 mushroom strains

的亲缘关系最近。引物 S62 共扩增出 6 条多态性片段，4 个菌株中出现 3 条共同条带，在 DK300、MK13 和 MK3 中有两个共同条带出现。所有条带中，出现

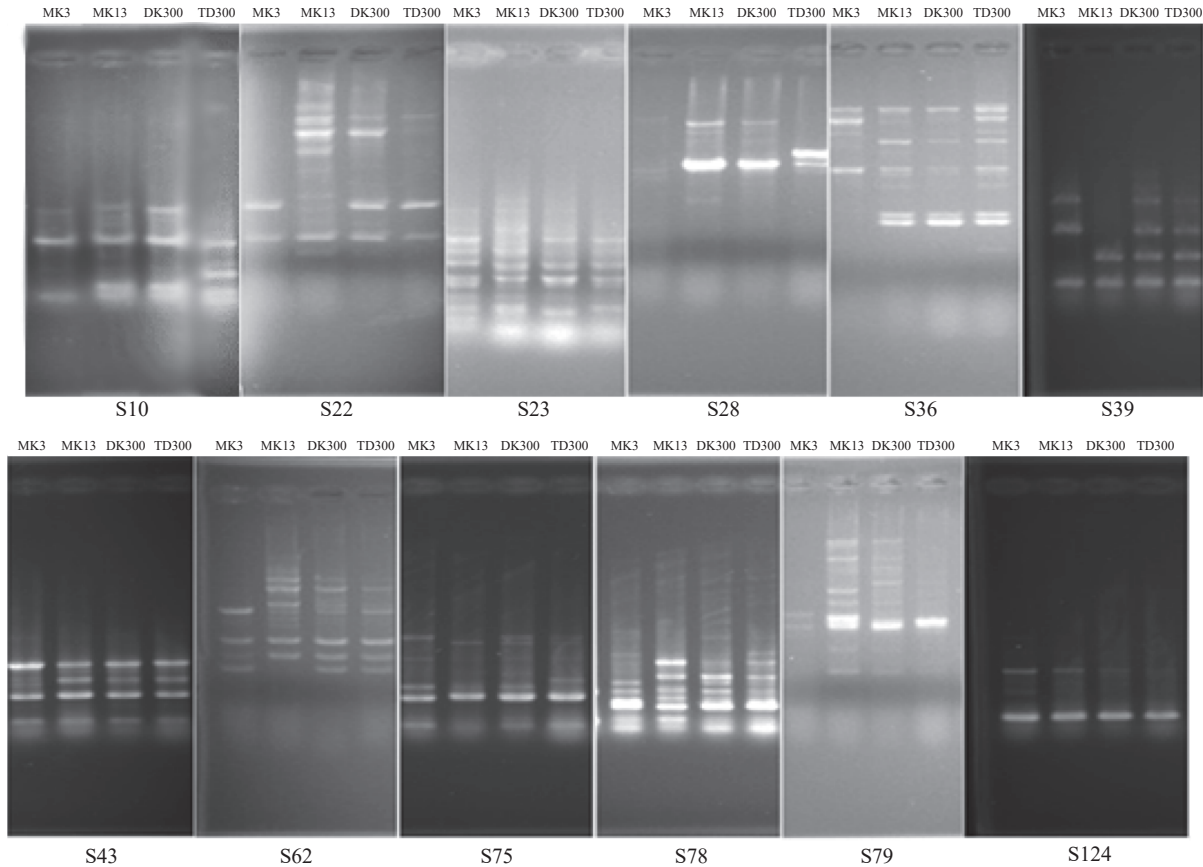


图 3 随机引物扩增电泳图谱
Fig. 3 PCR electrophoresis using random primers

共同条带 17 条,说明这四个菌株在 DNA 水平上具有丰富的遗传多样性和一定的遗传均一性。

2.4 RAPD 结果聚类分析

为进一步研究菌株间的亲缘性关系,根据 RAPD 产生的条带作出“0-1”矩阵图并利用 NTSYS 软件的 Jaccard 聚类分析法制作聚类图谱(图 4)。可以看出,在遗传相似系数为 0.53 时,4 个菌株分为两个类群,TD300 为一类,MK13、DK300、MK3 为一类。当遗传相似系数为 0.80 时,4 个菌株被分为 3 大类,其中 MK13 为第一类,DK300 和 MK3 为第二类,TD300 为第三类。这表明,DK300、MK13、MK3 与 TD300 之间的亲缘关系较远,MK13 和 MK3 与 DK300 的亲缘关系较近,其中 MK3 与 DK300 的亲缘关系最近。而从遗传差异性来看,遗传相似系数越大说明二者之间的遗传差异越小,由图 4 可知,MK13、MK3 和交配所得的 DK300 与亲本 TD300 间具有较大的遗传差异性,而 MK13、MK3 和 DK300 间遗传差异性较小,尤其是 MK3 和 DK300 遗传差异性最小。

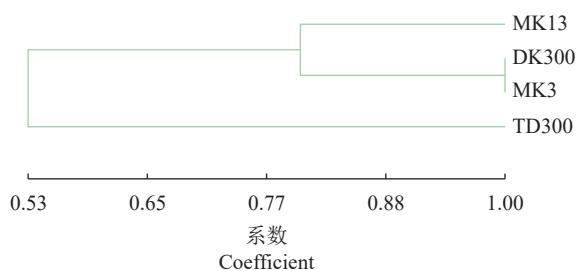


图 4 RAPD 聚类分析

Fig. 4 RAPD clustering on mushroom strains

3 讨论

平菇属于异宗结合食用菌,由担孢子直接萌发形成的菌株是不孕的,只有双核化的菌株才能形成子实体^[4]。根据这一原理,本试验从 TD300 的担孢子中分离得到 MK13 和 MK3,二者交配得到 DK300,通过比较 4 个菌株的菌丝生长状况和出菇产量发现,TD300 与其子代 DK300 的菌丝生长状况和产量没有显著性差异^[15],这一结果也证实了由单核菌丝交配产生的子代双核菌株遗传了亲本的优良性状,对杂交育种提供一定的借鉴。

RAPD 技术能够准确鉴定菌株的亲缘关系^[22]。这是由于 PAPD 技术利用随机引物对不同物种或个体的 DNA 序列进行随机扩增^[7],而引物与序列结合位点存在的差异能导致扩增的多态性 DNA 片段在 DNA 水平上反映出物种或者个体间的遗传差异^[23]。本试验通过 RAPD 技术检测 4 个菌株间的遗传差异性,结果表明两个单核菌株 MK13、MK3 与亲本 TD300

和单核菌株交配所得的双核菌株 DK300 间具有遗传差异性,而单核菌株 MK13 和 MK3 与其交配所得的双核菌株 DK300 间遗传差异较小,尤其是 MK3 与 DK300 间差异更小。表明经过减数分裂形成担孢子时可能发生有基因重组,而通过两个单核菌株交配得到双核菌株过程则较少发生基因重组。前期同工酶谱结果与之类似。NADH 脱氢酶同工酶谱中双核菌株 DK300 和单核菌株 MK3 有 2 条 NADH 脱氢酶同工酶谱带,而单核菌株 MK13 有 3 条 NADH 脱氢酶同工酶谱带;NADPH 脱氢酶同工酶中双核菌株 DK300、单核菌株 MK3 只有 1 条同工酶谱带,而单核菌株 MK13 的 NADPH 脱氢酶同工酶谱带为 4 条^[24]。

端粒酶发挥作用能够维持端粒长度。由于体细胞中缺乏端粒酶活性,因此端粒长度会随 DNA 复制逐渐缩短。在生殖细胞中则有端粒酶,能够进行端粒修复,端粒长度因端粒酶活性的存在保持不变,保护染色体遗传物质的完整性^[25]。担子菌食用菌保藏、制种和复壮时,往往通过菌丝和组织块的无性繁殖进行的,因此,染色体端粒将不断缩短,进而导致菌种活力下降,产量降低。通过有性繁殖形成担孢子时,担孢子中的染色体可能存在有端粒修复,由担孢子萌发形成的单核菌丝交配形成的双核菌丝其染色体端粒可能得以修复,菌种活力得到真正的复壮。这种机制可能是担子菌食用菌自交育种的另一个机理,但还有待进一步的实验验证。

本研究通过 RAPD 分析和聚类结果,并结合同工酶分析,可以快速检测出 4 个菌株间的遗传差异性,得出结论:MK13、MK3 和交配所得的 DK300 与亲本 TD300 间具有较大的遗传差异性,而 MK13、MK3 和 DK300 间遗传差异性较小,尤其是 MK3 和 DK300 遗传差异性最小。这一结果是由于减数分裂过程中产生的遗传变异引起的,可能是担子菌食用菌自交育种的重要机制之一。

参考文献:

- [1] 戴玉成,周丽伟,杨祝良,等.中国食用菌名录[J].菌物学报,2010,29(1):1-21.
DAI Y C, ZHOU L W, YANG Z L, et al. A revised checklist of edible fungi in China [J]. *Mycosystema*, 2010, 29 (1): 1-21. (in Chinese)
- [2] 戚元成,张小强,高玉千,等.中国栽培糙皮侧耳品种细胞不亲和性实验与 RAPD 分析结果的比较[J].菌物学报,2010,29(3):379-388.
QI Y C, ZHANG X Q, GAO Y Q, et al. Comparison between somatic incompatibility and RAPD analysis of cultivated *Pleurotus ostreatus* in China [J]. *Mycosystema*, 2010, 29 (3): 379-388. (in Chinese)

- [3] 刘海旺, 梁丽梅, 黄日保, 等. 平菇菌株栽培试验初报 [J]. 食用菌, 2021, 43 (4): 29–30, 33.
- LIU H W, LIANG L M, HUANG R B, et al. Preliminary report on cultivation test of *Pleurotus ostreatus* strains [J]. *Edible Fungi*, 2021, 43 (4): 29–30, 33. (in Chinese)
- [4] GHAREHAGHAJI A N, GOLTAPPEH E M, MASIHA S, et al. Hybrid production of oyster mushroom *Pleurotus ostreatus* (Jacq: Fries) kummer [J]. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 2007, 10 (14): 2334–2340.
- [5] BOTSTEIN D, WHITE R L, SKOLNICK M, et al. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms [J]. *Am J Hum Genet*, 1980, 32 (3): 314–331.
- [6] LI G, QUIROS C F. Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: Its application to mapping and gene tagging in *Brassica* [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2001, 103 (2/3): 455–461.
- [7] WILLIAMS J G K, KUBELIK A R, LIVAK K J, et al. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers [J]. *Nucleic Acids Research*, 1990, 18 (22): 6531–6535.
- [8] ZIETKIEWICZ E, RAFALSKI A, LABUDA D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification [J]. *Genomics*, 1994, 20 (2): 176–183.
- [9] VOS P, HOGERS R, BLEEKER M, et al. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting [J]. *Nucleic Acids Research*, 1995, 23 (21): 4407–4414.
- [10] 陈艳秋, 李玉, 郭晓帆. 应用RAPD标记对斜生褐孔菌菌株亲缘关系的分析 [J]. 菌物学报, 2007, 26 (1): 122–127.
- CHEN Y Q, LI Y, GUO X F. RAPD analysis of *Phaeoporus obliquus* strains from different areas of China [J]. *Mycosystema*, 2007, 26 (1): 122–127. (in Chinese)
- [11] 詹才新, 朱兰宝, 杨新美. RAPD技术在金针菇杂交育种中的应用 [J]. 食用菌学报, 1995, 2 (1): 7–11.
- ZHAN C X, ZHU L B, YANG X M. Application of RAPD technique in crossbreeding of *Flammulina velutipes* [J]. *Acta Edulis Fungi*, 1995, 2 (1): 7–11. (in Chinese)
- [12] 赵光辉, 方洪陈, 陈剑, 等. 20株草菇遗传多样性的分析 [J]. 江苏农业科学, 2020, 48 (16): 194–197.
- ZHAO G H, FANG H F, CHEN J, et al. Strains of mushroom genetic diversity analysis [J]. *Jiangsu Agricultural Science*, 2020, 48 (16): 194–197. (in Chinese)
- [13] 林范学, 林芳灿. 香菇亲本菌株及其杂交后代的RAPD分析 [J]. 菌物系统, 1999, 18 (3): 279–283.
- LIN F X, LIN F C. Rapd analysis of parental strains and their crossing progenies of *Lentinula edodes* [J]. *Mycosystema*, 1999, 18 (3): 279–283. (in Chinese)
- [14] STAJICH J E, BERBEE M L, BLACKWELL M, et al. The fungi [J]. *Curr Biol*, 2009, 19 (18): R840–845.
- [15] LIU T X, LI H R, DING Y T, et al. Genome-wide gene expression patterns in dikaryon of the basidiomycete fungus *Pleurotus ostreatus* [J]. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2016, 48 (2): 380–390.
- [16] 王瑞娟, 杨慧, 刘建雨, 等. 肺形侧耳‘申秀1号’的选育报告 [J]. 菌物学报, 2020, 39 (12): 2389–2391.
- WANG R J, YANG H, LIU J Y, et al. A new *Pleurotus pulmonarius* cultivar ‘Shenxiu 1’ [J]. *Mycosystema*, 2020, 39 (12): 2389–2391. (in Chinese)
- [17] 李巧珍, 刘建雨, 章炉军, 等. 香菇自交选育新菌株及其亲本子实体的氨基酸特征及蛋白质营养价值 [J]. 食用菌学报, 2019, 26 (3): 51–57.
- LI Q Z, LIU J Y, ZHANG L J, et al. Amino acid profile and protein nutritional value of *Lentinula edodes* huxiang F₂ and its self-breeding progenies [J]. *Acta Edulis Fungi*, 2019, 26 (3): 51–57. (in Chinese)
- [18] 张美彦, 于海龙, 章炉军, 等. 香菇‘申香1644’的选育报告[J/OL]. 菌物学报 [2022-04-04]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.5180.Q.20220106.1217.014.html>.
- ZHANG M Y, YU H L, ZHANG L J, et al. A new *Lentinula edodes* cultivar ‘Shenxiang 1644’ [J/OL]. *Mycosystema* [2022-04-04]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.5180.Q.20220106.1217.014.html>. (In Chinese)
- [19] 郑文妹, 章炉军, 李巧珍, 等. 香菇沪香F₂菌株重要农艺性状在F₂和F₃代中的遗传规律 [J]. 菌物学报, 2021, 40 (12): 3129–3142.
- ZHENG W M, ZHANG L J, LI Q Z, et al. Genetic law of important agronomic traits of *Lentinula edodes* in F₂ and F₃ generations [J]. *Mycosystema*, 2021, 40 (12): 3129–3142. (in Chinese)
- [20] KHUSH R S, BECKER E, WACH M. DNA amplification polymorphisms of the cultivated mushroom *Agaricus bisporus* [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1992, 58 (9): 2971–2977.
- [21] XU J P, YOELL H J, ANDERSON J B. An efficient protocol for isolating DNA from higher fungi [J]. *Trends in Genetics*, 1994, 10 (7): 226–227.
- [22] YIN Y G, LIU Y, WANG S X, et al. Examining genetic relationships of Chinese *Pleurotus ostreatus* cultivars by combined RAPD and SRAP markers [J]. *Mycoscience*, 2013, 54 (3): 221–225.
- [23] 邹锋, 谭晓风, 袁德义, 等. RAPD分子标记及其在油茶遗传育种研究中的应用 [J]. 亚热带植物科学, 2009, 38 (1): 70–73.
- ZOU F, TAN X F, YUAN D Y, et al. RAPD marker and its application in *Camellia oleifera* genetic breeding [J]. *Subtropical Plant Science*, 2009, 38 (1): 70–73. (in Chinese)
- [24] 张明月, 刘冬忍, 张大飞, 等. 糙皮侧耳单核体和双核体同工酶谱的比较 [J]. 河南农业大学学报, 2013, 47 (3): 325–329.
- ZHANG M Y, LIU D R, ZHANG D F, et al. Comparison of isoenzyme patterns between the monokaryons and dikaryons of *Pleurotus ostreatus* [J]. *Journal of Henan Agricultural University*, 2013, 47 (3): 325–329. (in Chinese)
- [25] 贺小英, 荆乾鸽, 姜欣颖, 等. 端粒酶与体细胞重编程的最新研究进展 [J]. 南方农业学报, 2019, 50 (5): 1133–1140.
- HE X Y, JING Q G, JIANG X Y, et al. Research progress of telomerase and somatic cell reprogramming [J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2019, 50 (5): 1133–1140. (in Chinese)