

食药菌诱变育种研究进展

宋冰 付永平 李丹 叶建强 徐安然 王菲 苏文英 代月婷
郭昱秀 李晓 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: 诱变育种是一项借助诱变剂人为的诱导突变, 创造出杂交育种中无法创制的新性状的育种技术。自然界中的突变只有 0.1%, 而诱变育种可以提高到 3% 左右, 比自然突变高 100 倍以上。诱变技术已经在食药菌育种中广为利用, 本文针对诱变育种的原理、方法、在食药菌中的应用情况进行了阐述, 最后为食药菌诱变育种的进一步发展进行了探讨和展望, 这为利用诱变技术进行食药菌品种的选育提供了理论依据和参考。

关键词: 诱变育种, 突变, 新性状, 食药菌, 原理, 方法, 应用

Advances in the mutation breeding of edible and medicinal fungi

SONG Bing FU Yong-Ping LI Dan YE Jian-Qiang XU An-Ran WANG Fei
SU Wen-Ying DAI Yue-Ting GUO Yu-Xiu LI Xiao LI Yu*

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

Abstract: Mutation breeding is a new breeding technique, with the help of mutagens, and creates new traits that could not be obtained by conventional hybrid technique. The spontaneous mutation rate was only 0.1%, but the mutation rate of mutation breeding was 3%, and was 100 times higher than spontaneous mutation. The mutation technique has been used widely in breeding of edible and medicinal fungi. In this paper, we introduces the principle, method, application and prospect of mutation breeding in edible and medicinal fungi, and provide theoretical basis and reference for mutation breeding of edible and medicinal fungi.

Keywords: Mutation breeding, Mutation, New characters, Edible and medicinal fungi, Principle, Method, Application

Foundation item: Special Fund for Agro-scientific Research in the Public Interest (No. 201503137); National Basic Research Program of China (973 Program) (No. 2014CB138305); University S & T Innovation Platform of Jilin Province for Economic Fungi (No. 2014B-1); Fond of Jilin Agricultural University (No. 2015007); Scientific and Technological Planning Project of Jilin Province (No. 20140101148JC)

*Corresponding author: E-mail: yuli966@126.com

Received: November 28, 2016; **Accepted:** January 13, 2017; **Published online** (www.cnki.net): January 16, 2017

基金项目: 公益性行业(农业)科研专项(No. 201503137); 国家重点基础研究发展规划项目(973 计划) (No. 2014CB138305); 吉林省秸秆综合利用技术创新平台(吉高平合字 No. 2014B-1); 吉林农业大学校内启动基金(No. 2015007); 吉林省科技发展项目(No. 20140101148JC)

*通讯作者: E-mail: yuli966@126.com

收稿日期: 2016-11-28; 接受日期: 2017-01-13; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2017-01-16

食药菌是对可食用或药用的大型真菌的统称^[1-2]。国际著名蕈菌学家张树庭教授精辟概括了食药菌的定义：无叶无芽无花、自身结果、可食可补可药、周身是宝。由此而论，可将大型真菌中“肉质、无毒、可食、可药”的统称为食药菌^[3-4]。

目前，食药菌产业是我国第五大种植产业，仅次于粮食、油料、水果和蔬菜^[5]。据统计，食药菌总产量由 2000 年的 664 万 t 增长至 2014 年的 3 270 万 t，年均复合增速为 12.7%，总产值由 227 亿元增长至 2 356 亿元，年均复合增速为 18.2%。2015 年我国食药菌总产量进一步提高到 3 476.27 万 t，总产值达 2 516.38 亿元^[6-7]。中国工程院院士李玉教授指出，因食药菌产业不与人争粮，不与粮争地，不与地争肥，不与农争时，不与其他行业争资源，可点草成金，变废为宝，实现循环经济，创造十倍、百倍的效益，其在农业发展中有着重要的地位与作用，是生态循环经济中的重要组成部分，能深化废弃物利用，调整种植结构，推进产业化进程，促进农民增收，增加出口创汇，并能改善人们膳食结构，促进人类健康^[8]。选育优良的食药菌品种，是提高食药菌产量、扩大食药菌产业规模的关键因素。食药菌常规育种方法主要有野生种驯化、利用自发突变选择育种、杂交育种、诱变育种^[9]。与前三种方法相比，人工诱变育种可以提高突变频率，能创造出自然界原来所没有的性状，且操作简便、周期短，因而受到食药菌研究者的普遍重视^[10]。本文针对诱变育种技术的分类、原理以及在食药菌育种中的应用进行阐述，并对应用前景进行了展望，为诱变育种技术在食药菌中的应用提供理论依据。

1 诱变育种技术的分类

诱变育种技术需要借助诱变剂来达到育种目标，按使用诱变剂的种类，我们可将诱变育种技术分为物理诱变育种技术和化学诱变育种技术。

1.1 物理诱变育种

物理诱变使用的诱变剂主要是具有一定频率

的各种电离辐射和声波。1925 年，Muller 发现利用 X 射线照射不同地域的果蝇 (*Drosophila melanogaster*)，可以增加常染色体的交换频率^[11]。随后在 1927 年，Muller 在研究孟德尔遗传机制时，利用 X 射线照射果蝇，人工诱发遗传突变获得成功^[12]，开辟了辐射遗传和人工诱变研究的新领域，随后 X 射线被广泛应用于动植物和微生物的诱变育种研究^[13]，这也标志着物理诱变技术的诞生，这一发现也使 Muller 获得了 1964 年的诺贝尔生理学或医学奖。随着科技的不断发展，许多有效的诱变源如紫外线、X 射线、 α 射线、 β 射线、 γ 射线、快中子、微波、超声波、激光射线、离子束、宇宙射线等被广泛应用于物理诱变育种的研究中。此外，最近出现的常压室温等离子体 (Atmospheric room temperature plasma, ARTP) 也作为诱变剂被广泛用于工业微生物的诱变育种中^[14-16]。

1.2 化学诱变育种

化学诱变利用的诱变剂是一些分子结构不太稳定的化合物，且大多具有致癌作用。1937 年，Blakeslee 等首次发现用秋水仙素 (Colchicine) 处理植物种子可以使植物的染色体加倍，并在曼陀罗 (*Datura stramonium*) 等植物上诱导多倍体获得成功，同时还发现不同浓度秋水仙素的处理效果是有差异的，高浓度的秋水仙素会直接导致种子死亡，低浓度的秋水仙素才能够诱导出多倍体材料，这一结果为化学诱变育种及植物遗传机制的深入研究奠定了基础^[17-18]。1943 年，Auerbach 利用芥子气作为化学诱变剂诱导得到了果蝇的突变体^[19]。1943 年，Ochlkens 用脲烷 (氨基甲酸乙酯, Urethane) 处理月见草 (*Oenothera biennis*)、桃叶风铃草 (*Campanula persicifolia*) 等植物，发现其能够诱发染色体畸变^[20]。以往的文献都将 Ochlkens 的发现标志着化学诱变的开始，而笔者认为，化学诱变应起始于 Blakeslee 对秋水仙素的利用^[20]。常用的化学诱变剂有烷化剂、亚硝基化合物、叠氮化合物、碱基类似物、抗生素、羟胺、呀啶等^[13]。其中应用最广泛的是甲基磺酸乙酯 (Ethylmethylsulfone,

EMS)、叠氮化钠(Sodium azide, SA)、秋水仙素(Colchicine, Colc)等。

2 诱变育种的作用机理

细胞是生物体的基本组成单位,当具有极高能量的电磁波或者粒子流进入生物体后,导致细胞内的分子在高能量的激发下就会失去电子,分子的化学结构也随之发生改变,原子失去电荷形成离子,形成电离辐射现象^[21]。物理诱变主要是通过电离辐射作用,从而使离子与其它原子或分子结合导致共价键断裂,进而造成染色体结构的变异。常见的变异主要是染色体的易位、倒位和缺失^[13,22]。物理诱变有利于打破基因连锁,促进基因重组,可得到大量的突变体材料和新的性状,为后续的育种工作提供可供选择的亲本材料,创新种质资源^[10]。而且诱变得到的突变体材料多属简单遗传,性状稳定快,育种周期较短^[13]。

化学诱变剂在 DNA 复制时诱发了碱基的突变与密码子的位移。化学诱变剂主要是通过如下几个方式导致的突变:(1) 诱变剂具有一个或多个高度活跃的烷化基团,可与生物体内细胞的蛋白质和核酸相结合,使蛋白质和核酸失去正常的生理活性,导致 DNA 结构的变化。导致这一类型突变的诱变剂主要是烷化剂,如 EMS、氮芥(Nitrogen mustard)等;(2) 诱变剂以碱基类似物的形式参与了 DNA 的复制,导致了碱基配对错误,一个碱基对代替了另外一个碱基对,如 A-T 转换为 G-C。这一类型诱变剂有 6-巯基嘌呤(6-Mercaptopurine)、5-溴尿嘧啶(5-Bromouracil)等;(3) 一些诱变剂以嵌入剂的方式导致了移码突变,即诱变剂插入到碱基中,造成 DNA 骨架的变形,进而导致染色体配对交换的失衡,一个染色体的 DNA 分子上多了一对碱基,另外一个则少了一对碱基,导致这一突变的诱变剂有吖啶橙(Acridine orange)、二氨基吖啶(原黄素, 3,6-Diaminoacridine)等^[13,23-24]; (4) 在减数分裂时,化学诱变剂抑制纺锤体微管生成,阻止染色体分离,造成了受体材料染色体数目加倍,如使 2 倍体

变为了 4 倍体,这类诱变剂主要为秋水仙素^[17-18,25]。

总之,物理诱变和化学诱变均是借助诱变剂,使受体生物细胞的染色体断裂、缺失、碱基置换、基因重组等生物学效应^[20],进而使受体生物发生突变,从而创制出新的性状供育种者选择和利用。

3 诱变育种技术在食药菌育种中的应用概况

3.1 食药菌诱变育种的影响因素

3.1.1 出发菌株的选择: 出发菌株的选择直接影响诱变效率。以往的研究表明,包括植物诱变育种,选择的受体材料均是综合性状优良的品种。食药菌通过诱变选育出的品种,也是选择了那些综合性状优良、性状稳定、缺点较少、已经广泛推广的品种作为出发菌株。通过诱变来弥补某些缺陷性状,或者创造出一些新的优良性状。而试图通过诱变来改良菌株的综合性状往往是难以实现的^[10,26]。

3.1.2 菌株诱变材料的选择: 植物诱变育种主要利用植物的种子、花粉、细胞等组织作为诱变材料,而食药菌进行诱变育种时一般采用菌丝体、原生质体、孢子悬浮液。利用食药菌原生质体进行诱变的报道较多,但原生质体的制备较为繁琐,需要破壁酶,成本高,且菌种再生率低;除了原生质体外,另一个应用较多的诱变材料是孢子悬浮液,但食药菌孢子较小、难以分离,且容易污染,工作量大;而利用菌丝体进行诱变却很简便,一般选取菌株的幼嫩菌丝体作为诱变材料,经诱变剂处理后,容易筛选出发生突变的菌株^[27-29]。

3.1.3 诱变剂的使用剂量: 诱变剂的使用量决定着诱变育种的成败,高剂量的诱变剂会使诱变材料直接死亡,过低的剂量往往又得不到性状优良的突变体。所以要利用不同剂量的诱变剂,统计出半致死剂量和致死剂量,再筛选得到诱变材料合理的诱变剂量。⁶⁰Co 和紫外线是主要的物理诱变剂,研究表明食药菌利用 ⁶⁰Co 进行辐射的剂量通常在 0.6-3.0 kGy,剂量率在 10-20 Gy/min。紫外线的诱变剂量一般按照照射时间来计量,照射时间一般在

30–100 s, 同时紫外诱变的材料应在避光的环境中操作, 在照射后也要避光恢复几天, 以防发生光修复。此外, 激光和离子束诱变也是按照射时间来计量, 具体剂量需根据受体材料而定^[10,28-29]。

相对于物理诱变, 化学诱变在食药用菌中应用的还较少, 化学诱变剂常用的是 EMS 和秋水仙素。EMS 是最主要的化学诱变剂, 并已经广泛应用于动植物和真菌中诱变育种研究中, 试验中应设置 EMS 的浓度梯度试验, 筛选最佳作用浓度。以往报道中 EMS 最佳使用浓度为 1% (体积比) 左右。秋水仙素是倍性育种主要的诱变剂, 研究表明高浓度的秋水仙素会导致受体材料的死亡, 低浓度的秋水仙素才会使诱变材料染色体加倍成功, 试验中也需设置诱变剂的梯度试验, 筛选最佳的作用浓度, 以往报道表明大多数真核生物使用秋水仙素的加倍浓度为 0.01% (质量体积比)^[13,17]。

3.1.4 突变体菌株的鉴定: 通过诱变得到的突变体菌株, 需要进行进一步的鉴定才可进行下一步的研究和利用。研究人员往往利用食药用菌的菌丝体拮抗试验、同工酶分析、分子标记技术(RAPD、SSR 等)来验证诱变材料是否已经发生突变^[28-29]。最后还要将得到的突变体菌株进行出菇试验, 确定其农艺性状和生长特性。

3.2 食药用菌诱变育种的应用概况

1948 年, Fries 用氮芥和紫外线分别处理粪鬼伞(*Coprinus fimetarius*)的孢子和菌丝体, 并获得了 5 个外形性状明显变化的营养缺陷型突变菌株, 这是诱变技术在食药用菌研究中的有益尝试, 也标志着食药用菌诱变育种研究的开始^[30]。我国文献报道的关于食药用菌诱变育种技术的研究最早始于 1983 年, 徐序坤利用紫外灯照射猴头菇(*Heiricium crinaceus*)孢子悬浮液, 对诱变后的菌株菌丝体生长性状及农艺性状进行了统计和观察, 发现诱变后的菌株生长旺盛, 产量要高于对照^[31]。截止到 2016 年 7 月, 国内外关于食药用菌诱变育种的文献报道已有 5 000 余篇, 其中绝大多数为中国报道, 部分报道见表 1。

3.2.1 紫外线在食药用菌诱变育种中的应用: 紫外线是电磁波谱中波长从 10 nm–400 nm 辐射的总称, 微生物基因组 DNA 的吸收光谱正是在 200 nm–300 nm 之间, 当微生物 DNA 吸收紫外线之后, 结构将发生很大变化, 将引起微生物的遗传特性的改变, 利用此方法可以在短期内创造出大量的变异。由于紫外诱变所需设备简易、费用低廉、操作简单, 且诱变效果较好, 已经在诱变育种研究中广为应用。因此, 相对于其他物理诱变技术, 利用紫外线进行食药用菌诱变育种的研究报道是最多的。在 Fries^[30]用紫外线诱变粪鬼伞获得成功, 1978 年, Hundert 等利用紫外线照射裂褶菌, 获得了 3 株突变株, 发现这 3 个突变株可进行光修复和暗修复^[33]。随着原生质体技术开始在食药用菌中首次应用, 1986 年, Mukherjee 等利用紫外线处理的草菇原生质体, 获得了 4 株形态发生突变的菌株和 1 个营养缺陷型菌株^[36,67]。随着 1983 年我国首个食药用菌紫外诱变技术的报道^[31], 利用紫外线进行食药用菌诱变育种越来越受到关注。1987 年, 陆师义等利用紫外线诱变紫孢侧耳孢子, 培育出一个品质好、产量高、不产孢子的紫孢侧耳新品种^[37], 由于侧耳在成熟时可以释放大量的孢子, 严重的刺激人体的呼吸器官和皮肤, 培育出的无孢侧耳新品种更有利于大面积推广, 这一研究开创了我国利用诱变育种技术进行食药用菌品种选育的先河。1992 年, 杨崇林等对桃红平菇的原生质体进行紫外诱变, 并筛选得到一株需要补充丙氨酸和天冬氨酸的双缺突变体^[38]。随着 90 年代初金针菇工厂化种植的不断展开, 选育适宜工厂化且有自主知识产权的金针菇品种成为我国菌物工作者的一个重要任务。1992 年, 周伏忠等开始对金针菇紫外诱变育种进行了初步研究, 对金针菇原生质体制备的条件及对紫外线的反应曲线^[39], 随后其他科研人员利用紫外诱变技术选育出了一些富硒、高产的金针菇菌株。1994 年, 朱宝成等用紫外线照射紫孢侧耳双核原生质体, 得到了生产性状与紫孢侧耳一致的无孢和少孢平

表 1 食药真菌诱变育种的部分报道

Table 1 The some reports of mutation breeding in edible and medicinal fungi

食药真菌品种 Varieties of edible and medicinal fungi	诱变剂 Mutagen	诱变组织材料 Inducing tissue	年份 Year	参考文献 Reference
粪鬼伞 <i>Coprinus fimetarius</i>	氮芥, 紫外线 Nitrogen mustard, UV	孢子、菌丝体 Spore, Mycelium	1948	[30]
裂褶菌 <i>Schizophyllum commune</i>	氮芥 Nitrogen mustard	菌丝体 Mycelium	1962	[32]
裂褶菌 <i>Schizophyllum commune</i>	紫外线 UV	孢子 Spore	1978	[33]
猴头菇 <i>Heircium crinaceus</i>	紫外线 UV	孢子 Spore	1983	[31]
糙皮侧耳 <i>Pleurotus ostreatus</i>	激光 Laser	孢子 Spore	1983	[34]
双孢蘑菇 <i>Agaricus bisporus</i>	钴 60 ⁶⁰ Co	菌丝体 Mycelium	1985	[35]
草菇 <i>Volvariella volvacea</i>	紫外线 UV	原生质体 Protoplasts	1986	[36]
紫孢侧耳 <i>Pleurotus sapidus</i>	紫外线 UV	孢子 Spore	1987	[37]
桃红平菇 <i>Pleurotus djamor</i>	紫外线 UV	原生质体 Protoplasts	1992	[38]
金针菇 <i>Flammulina velutiper</i>	紫外线 UV	原生质体 Protoplasts	1992	[39]
光木耳、琥珀木耳 <i>Auricularia auricular, Auricularia fuscousucinea</i>	钴 60 ⁶⁰ Co	孢子 Spore	1994	[40]
紫孢侧耳 <i>Pleurotus sapidus</i>	紫外线 UV	原生质体 Protoplasts	1994	[41]
平菇 <i>Pleurotus ostreatus</i>	秋水仙素 Colchicine	菌丝体 Mycelium	1994	[42]
香菇、平菇、金针菇、木耳、榆耳、羊肚菌、 灰树花、灵芝、冬虫夏草、桑树花	宇宙射线 Cosmic ray	菌丝体 Mycelium	1996	[43]
<i>Lentinula edodes, Pleurotus ostreatus, Flammulina velutiper, Auricularia auricular, Gloeostereum incarnatum, Morehella esculenta, Grifflola frondosa, Ganoderma lucidum, Ophiocordyceps sinensis, Phellinus igniarius</i>	He-Ne 激光 He-Ne Laser	菌丝体 Mycelium	1997	[44]
香菇 <i>Lentinula edodes</i>	紫外线 UV	菌丝体 Mycelium	1997	[45]
香菇 <i>Lentinula edodes</i>	钴 60 ⁶⁰ Co	原生质体 Protoplasts	2000	[46]
香菇 <i>Flammulina velutiper</i>	秋水仙素 Colchicine	菌丝体 Mycelium	2000	[47]
香菇 <i>Lentinula edodes</i>	紫外线 UV	原生质体 Protoplasts	2001	[48]
灵芝 <i>Ganoderma lucidum</i>	UV	原生质体 Protoplasts		

(待续)

(续表)

巴西蘑菇	钴 60	菌丝体	2003	[49]
<i>Agaricus brasiliensis</i>	⁶⁰ Co	Mycelium		
杏鲍菇	钴 60	菌丝体	2004	[28]
<i>Pleurotus eryngii</i>	⁶⁰ Co	Mycelium		
草菇	紫外线、钴 60、硫酸二乙酯复	原生质体	2004	[50]
<i>Volvariella volvacea</i>	合诱变	Protoplasts		
	Complex mutagenesis of UV, ⁶⁰ Co, DES			
阿魏菇、香菇	离子束	孢子	2004	[51]
<i>Pleurotus ferulae</i> Lenzi, <i>Lentinula edodes</i>	Ion beam	Spore		
金针菇	紫外线和亚硝酸	菌丝体	2005	[52]
<i>Flammulina velutiper</i>	UV and Nitrous acid	Mycelium		
阿魏菇	离子束	孢子、菌丝体	2006	[53]
<i>Pleurotus ferulae</i> Lenzi	Ion beam	Spore, Mycelium		
金针菇	离子束	菌丝体	2007	[54]
<i>Flammulina velutiper</i>	Ion beam	Mycelium		
红平菇	亚硝基胍	孢子	2008	[55]
<i>Pleurotus djamor</i>	Nitrosoguanidine	Spore		
金针菇	宇宙射线	菌丝体	2008	[56]
<i>Flammulina velutiper</i>	Cosmic ray	Mycelium		
鸡腿菇	离子束	菌丝体	2008	[57]
<i>Coprinus comatus</i>	Ion beam	Mycelium		
蛹虫草	亚硝酸	原生质体	2010	[58]
<i>Cordyceps militaris</i>	Nitrous acid	Protoplasts		
草菇	钴 60	菌丝体	2011	[29]
<i>Volvariella volvacea</i>	⁶⁰ Co	Mycelium		
灵芝	氯化锂、甲基磺酸乙酯(EMS)、	原生质体	2012	[59]
<i>Ganoderma lucidum</i>	亚硝酸	Protoplasts		
	LiCl, EMS, Nitrous acid			
北虫草	紫外线	菌丝体	2013	[60]
<i>Cordyceps militaris</i>	UV	Mycelium		
双孢蘑菇	钴 60	孢子	2013	[61]
<i>Agaricus bisporus</i>	⁶⁰ Co	Spore		
香菇	秋水仙素	菌丝体	2013	[62]
<i>Lentinula edodes</i>	Colchicine	Mycelium		
杏鲍菇	离子束	菌丝体	2014	[63]
<i>Pleurotus eryngii</i>	Ion beam	Mycelium		
草菇	常压室温等离子体	原生质体	2014	[64]
<i>Volvariella volvacea</i>	Atmospheric room temperature plasma ARTP	Protoplasts		
草菇	紫外线、甲基磺酸乙酯、钴 60、	原生质体	2015	[65]
<i>Volvariella volvacea</i>	离子束	Protoplasts		
	UV, EMS, ⁶⁰ Co, Electron beam implantation			
金针菇、杏鲍菇、双孢菇、蟹味菇等	宇宙射线	菌丝体	2016	[66]
<i>Flammulina velutiper</i> , <i>Pleurotus eryngii</i> , <i>Agaricus bisporus</i> , <i>Hypsizygus marmoreus</i> , etc.	Cosmic ray	Mycelium		

菇新品种^[41]。1997年,刘国振等利用紫外线处理香菇菌丝体,获得10个高产的香菇突变菌株^[45]。2001年,李刚等利用紫外线处理灵芝原生质体,获得了2株稳定、高产、多糖含量高的灵芝突变菌株^[48]。2013年,周晓东等利用紫外线诱变北虫草菌丝体,筛选得到2个优势性状较多的突变株^[60]。这些研究为食药菌品种的选育提供了许多性状优良的种质资源,创制了许多新的性状,为食药菌紫外诱变育种的发展奠定了基础。

3.2.2 ^{60}Co 在食药菌诱变育种中的应用: ^{60}Co 是金属钴的一种放射性同位素,是强 γ 射线源,当 γ 射线辐射受体生物后导致DNA结构发生改变,进而导致受体生物发生突变。 ^{60}Co 辐射诱变可以获得较高的突变率和较宽的突变谱,同时还有利于筛选新的突变型。目前,医药行业中所需的抗生素高产菌株基本上都是通过 ^{60}Co 诱变得到的^[68]。最初, ^{60}Co 只是应用在食药菌的保鲜储藏方面,1985年,吴风雅等利用 ^{60}Co 照射双孢菇的麦粒种,发现其在0.4 kGy和0.6 kGy的照射剂量下,均可以显著提高双孢蘑菇的产量^[35],这一发现为食药菌物理诱变育种开辟了新途径。1994年,杨新美等利用不同剂量的 ^{60}Co 辐照光木耳和琥珀木耳的孢子,筛选得到9株营养缺陷型突变菌株^[40]。进入21世纪,有关食药菌 ^{60}Co 诱变育种的研究逐步增多。2000年,金玲等利用 ^{60}Co 诱变金针菇原生质体,筛选出一个适合生产的金针菇突变菌株^[46]。2003年,张卉等采用 ^{60}Co 诱变巴西蘑菇的菌丝体,筛选出一株多糖含量高、高产的巴西蘑菇突变菌株^[49]。2004年,夏志兰利用 ^{60}Co 诱变杏鲍菇菌丝体,在辐射剂量为1.0 kGy,剂量率为67.8 Gy/h的条件下,筛选出一个菌丝体累积量明显增加的突变株^[28]。2011年,林瑞虾用 ^{60}Co 诱变草菇菌丝体,通过7组不同剂量的处理,筛选得到14个性状发生变化的草菇突变株^[29]。2013年,李前红用不同剂量的 ^{60}Co 辐照双孢蘑菇孢子,筛选得到12株优良突变株,出菇结果表明其中4株为高产菌株,另外8株为低产菌株^[61]。虽然 ^{60}Co 诱变已经在诱变育种中广泛

应用,但是利用 ^{60}Co 作为物理诱变剂,所需设备昂贵,需要承建能够隔离辐射的操作室,且维护较为繁琐,还需定期更新辐射源,一般的科研单位很难单独建立和维护诱变设施,大多数诱变研究是在全国为数不多的农业科学研究机构中进行的,如黑龙江省农业科学院玉米研究所、西北农林科技大学等。

3.2.3 激光在食药菌诱变育种中的应用: 低功率激光在适当的照射剂量下,可导致受体生物发生突变。当用激光照射生物体时,激光的光、电磁场、热和压力效应直接作用于生物的染色体,导致染色体发生畸变,进而使生物性状发生改变或导致生物体死亡^[69]。1983年,徐天惠等利用3种不同类型的激光照射糙皮侧耳的孢子,观察和记录了诱变后的菌丝体生长状态^[34],这是食药菌利用激光进行诱变育种的开端。1997年,陈五岭等对香菇采用He-Ne激光($\lambda=632.8\text{ nm}$)进行两次照射,筛选出6株生长速率快于亲本的变异菌株^[44]。

3.2.4 离子束在食药菌诱变育种中的应用: 离子束注入诱变育种是近些年来新发展的一项技术,1986年,余增亮发现了离子束注入生物效应,提出能量沉积、质量沉积、电荷转移“三因子”假说,并不断得到实验证实,开辟了辐射生物学的一个新领域-低能重离子生物学^[53],这为利用离子束进行诱变育种提供了理论基础,自此大量有关离子束注入诱变育种的报道开始大量涌现。2004年起,新疆大学对食药菌离子束诱变育种进行了较为深入的研究,先后对阿魏菇、白金针菇、鸡腿菇、香菇、猴头菇等食药菌的孢子或者菌丝体进行离子束注入处理,获得了一些性状优良的食药菌突变株^[51,53-54,57,70]。2014年,李素玲等用 N^+ 注入(离子束)诱变技术处理杏鲍菇菌丝体,筛选得到1个杏鲍菇突变株,而且出菇试验表明突变株比对照菌株产量高17.43%^[63]。这些研究为日后探索食药菌离子束诱变育种提供了技术依据。

3.2.5 太空育种在食药菌诱变育种中的应用: 太空育种是将诱变材料搭载在返回式卫星中,利用宇宙空间中强辐射、微重力、高真空、弱磁场等特殊

环境作用使生物体发生基因突变,再返回地面进行选育,培育新品种、新材料的育种新技术。1996年,辽宁省微生物研究所利用我国发射的返地式卫星搭载香菇、木耳、灵芝等10个食药菌的菌丝体,进行了我国首次食药菌太空育种研究,并对返回菌株的生长性状进行了筛选和鉴定^[43]。2011年,江西省农科院微生物研究所采用航天育种诱变技术培育出金针菇“航金1号”和“航金2号”通过省品种委员会的鉴定,这也是我国首次利用太空育种技术培育的食药菌品种^[56]。2016年,李玉院士团队与神舟太空集团完成“实践十号”卫星搭载食药菌菌种回收交接,卫星中共搭载了金针菇、杏鲍菇、双孢菇、蟹味菇等50多个菌种,这为食药菌太空育种的深入发展进一步拓宽了道路^[66]。

3.2.6 常压室温等离子体技术在食药菌诱变育种中的应用:常压室温等离子体技术是一种新型的诱变技术,其原理是利用裸露金属电极结构,在正常大气压和常温下释放的一种离子体源,这种具有高活性粒子的等离子体射流包含处于激发状态的He、O、N₂、OH等粒子。这些活性粒子对核酸、蛋白质、细胞整体结构都有一定作用,能够使微生物细胞壁/膜的结构及通透性改变,并引起基因损伤,进而导致微生物产生突变^[71-72]。由于这一技术出现较晚,在食用菌中的应用还比较少。2014年,何建华等利用ARTP技术诱变草菇的原生质体,筛选到了3株抗低温能力明显提高的突变株,低温环境中突变菌株的生长速度要明显快于对照^[64]。

3.2.7 化学诱变和复合诱变在食药菌育种中的应用:相对于物理诱变育种,食药菌化学诱变育种的报道相对较少,很多都是和物理诱变一起构成复合诱变来研究。化学诱变只需要一定剂量的化学诱变剂,不需要购置和使用特殊的装备,且操作简单,诱变效果较好。2000年,Toyama等利用0.01%的秋水仙素处理香菇的菌丝体,通过透明圈法筛选到了纤维素酶产量大幅提高的香菇突变株^[47]。草菇生长和贮存所需的温度较高,这也一直限制着其推广地区和规模,选育低温型草菇品种是解决这一难

题的关键,诱变育种技术为这一目标的实现提供了可能。2004年,韩业君等利用紫外线、⁶⁰Co、硫酸二乙酯(Diethyl sulfate, DES)复合诱变技术处理草菇原生质体,获得了4株可以在低温环境下生长的突变株^[50],这为选育低温型草菇品种提供了新的种质资源。2005年,李蕤等分别利用亚硝酸及紫外线对金针菇菌丝体断片细胞悬浮液进行诱变,且得到了性状稳定的突变株^[52]。2008年,竹文坤等以亚硝基胍为诱变剂处理红平菇的孢子,获得了产量高、商品性好的优良菌株^[55]。2010年,金凌云确定了亚硝酸处理蛹虫草原生质体的最佳条件^[58]。2012年,董玉玮等利用氯化锂、EMS、亚硝酸分别诱变灵芝原生质体,获得了3个突变株,且胞外多糖的含量均高于对照^[59]。2013年,Toyama同样利用秋水仙素处理香菇菌丝体,使突变菌株增强了降解微晶纤维素的能力^[62]。2015年,Zhu等分别利用UV、EMS、⁶⁰Co、离子束处理草菇原生质体,结合低温筛选、分子鉴定和出菇试验,共筛选到了16个可在低温环境正常生长的草菇突变株^[65],这一研究利用多项主流的诱变剂,所用技术和取得的成果进一步加快了食药菌的诱变育种的发展。

相对于植物诱变育种,食药菌诱变育种发展还较慢,许多技术都是在动植物或者工业微生物发展成熟稳定后,再移植到食药菌育种中,而不同的食药菌品种对诱变剂的敏感性都不相同,这就需要科研人员对不同食药菌对诱变剂的耐受能力、突变情况进行相关的研究,选择菌种适宜的诱变剂和诱变方法。

4 食药菌诱变育种研究展望

随着食药菌产业的快速发展,食药菌企业如雨后春笋般涌现,众多大型食药菌企业陆续上市,开启了食药菌产业高速发展的新模式。金针菇、杏鲍菇、双孢菇、蟹味菇等食药菌品种均已实现工厂化生产,而如金针菇等工厂化菌种大多都是来自日本,真正由我国自主培育的优良工厂化食药菌品种还非常稀少,这就迫切的需要我国食药

用菌科研人员培育出拥有自主知识产权的优良食药菌品种。利用常规育种技术选育食药菌品种, 选育周期较长, 工作量较大, 也很难选育出表现优良的品种; 利用诱变育种技术可以快速创制出性状优良的食药菌种质资源, 加快优良的食药菌品种的选育过程。

以往的食药菌诱变育种技术, 大多使用一种诱变剂来进行处理, 单个诱变剂的处理所引发的突变频率是有限的, 作者认为可考虑采用复合诱变技术处理受体材料, 如物理诱变加化学诱变, 这在一定程度上可以加大受体材料的突变频率。此外, 在诱变处理时候还应考虑诱变时的温度和 pH 对诱变效果的影响, 大多数食药菌在诱变时的温度都是室温或者适宜的生长温度, pH 的设定应根据受体材料的特性进行相应的筛选^[46,48-49]。

在利用秋水仙素进行倍性育种时, 动植物的染色体经加倍后, 均可在显微镜下检测到染色体数目的增加, 而食药菌的细胞核非常小, 还不能在显微镜下观察到染色体数目的变化。Toyama 等利用秋水仙素处理平菇和香菇菌丝体, 核染色后利用荧光显微镜观察细胞核, 发现秋水仙素处理过的菌丝体细胞核发生了变化, 平均细胞核直径要大于出发菌株^[42,62]。因此, 我们可以将细胞核的增大作为处理菌株倍性变化的一个参考指标, 同时还要结合流式细胞仪对处理菌株的核酸含量进行检测, 用以最终确定所处理菌株的倍性。

食药菌诱变技术发展至今, 真正利用诱变技术选育出的食药菌品种寥寥无几, 且很少有在实际生产中进行大面积推广。这也是因为选育出的很多突变株, 在培养几代以后, 突变株又恢复了原有性状, 优良性状没有稳定遗传下去, 这就为科研人员留下一个需要继续解决的问题, 如何保持突变株的优良性状是日后还需解决的一个重要技术环节。此外, 筛选数量决定着诱变结果, 工业微生物诱变育种已经结合了高通量筛选技术, 利用微孔板操作平台对突变菌株产生的代谢产物、抗性、基因组信息、酶活等指标的变化进行检测, 可以从大量的突

变菌株中选择出目的菌株, 这样就大大的减少了筛选的工作量^[73-74]。结合高通量筛选技术进行诱变育种也是食药菌诱变育种未来的一个发展方向, 但是目前还未见相关报道, 这需要开发出相应的筛选标准和药剂, 从而加快食药菌诱变育种的选育速度。总之, 随着诱变育种技术在食药菌育种中的广泛应用, 食药菌科研和产业发展必将迎来一个新的时期。

参 考 文 献

- [1] Yang SQ, Sang ZL, Wu T, et al. Current situation and developmental advantage of edible mushroom industry in China[J]. *Modern Agricultural Science and Technology*, 2016(8): 303-304,310 (in Chinese)
杨顺强, 桑正林, 武婷, 等. 我国食用菌产业发展现状及优势[J]. *现代农业科技*, 2016(8): 303-304,310
- [2] Huang NL. *Edible Fungi Cyclopedia*[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1997 (in Chinese)
黄年来. *中国食用菌百科*[M]. 北京: 中国农业出版社, 1997
- [3] Chang ST, Miles PG. *Edible Mushrooms and Their Cultivation*[M]. Boca Raton, FL: CRC Press, 1989
- [4] Deng WM, Wang AX, Wu RG. Analysis of market potential and development prospect of edible and medicinal mushrooms[J]. *Edible Fungi of Zhejiang*, 2010, 18(1): 32-33 (in Chinese)
邓文明, 王爱仙, 巫仁高. 食药菌的市场潜力及开发前景探析[J]. *浙江食用菌*, 2010, 18(1): 32-33
- [5] The Information of China Finance. China edible fungi industry was the Chinese fifth plantation[EB/OL]. (2016-01-25). <http://news.xinhua08.com/a/20160125/1602102.shtml> (in Chinese)
中国金融信息网. 食用菌产业成我国第五大种植产业[EB/OL]. (2016-01-25). <http://news.xinhua08.com/a/20160125/1602102.shtml>
- [6] The Information of China Industry. Production status and characteristic analysis on consumption market of China edible fungi industry[EB/OL]. (2015-11-16). <http://www.chyxx.com/industry/201511/358796.html> (in Chinese)
中国产业信息网. 2015 我国食用菌产业生产现状及消费市场特征分析 [EB/OL]. (2015-11-16). <http://www.chyxx.com/industry/201511/358796.html>
- [7] Geng JL. Analysis of the survey of 2015 edible fungi in China[J]. *China Edible Fungi Information*, 2016(9): 15 (in Chinese)
耿建利. 简析 2015 年度全国食用菌统计调查结果的分析[J]. *全国食用菌信息*, 2016(9): 15
- [8] Li Y. The development trend of edible fungi in China[J]. *Edible and Medicinal Mushrooms*, 2011, 19(1): 1-5 (in Chinese)
李玉. 中国食用菌产业的发展态势[J]. *食药菌*, 2011, 19(1): 1-5
- [9] Chen ST, Li RC. Present research on breeding methods of edible fungi and the problems in it as well as the prospects[J]. *Journal of*

- Anhui Agricultural Sciences, 2012, 40(10): 5850-5852 (in Chinese)
陈世通, 李荣春. 食用菌育种方法的研究现状·存在的问题及展望[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(10): 5850-5852
- [10] Yang ZQ, Wang BN, Dong ZH. Development of study on mutation breeding of edible fungi[J]. Edible Fungi of China, 1998, 17(2): 6-8 (in Chinese)
杨宗渠, 王柏楠, 董志浩. 食用菌诱变育种研究进展[J]. 中国食用菌, 1998, 17(2): 6-8
- [11] Muller HJ. The regionally differential effect of X rays on crossing over in autosomes of drosophila[J]. Genetics, 1925, 10(5): 470-507
- [12] Muller HJ. Artificial transmutation of the gene[J]. Science, 1927, 66(1699): 84-87
- [13] Wang ZZ, Zhang Y, Bai SQ. Advances in research on mutation breeding of plants[J]. Prataculture & Animal Husbandry, 2009(16): 1-5,23 (in Chinese)
王曾珍, 张玉, 白史且. 植物诱变育种研究进展[J]. 草业与畜牧, 2009(16): 1-5,23
- [14] Zhang X, Zhang C, Zhou QQ, et al. Quantitative evaluation of DNA damage and mutation rate by atmospheric and room-temperature plasma (ARTP) and conventional mutagenesis[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2015, 99(13): 5639-5646
- [15] Zhang X, Zhang XF, Li HP, et al. Atmospheric and room temperature plasma (ARTP) as a new powerful mutagenesis tool[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2014, 98(12): 5387-5396
- [16] Li HP, Wang ZB, Ge N, et al. Studies on the physical characteristics of the radio-frequency atmospheric-pressure glow discharge plasmas for the genome mutation of *Methylosinus trichosporium*[J]. IEEE Transactions on Plasma Science, 2012, 40(11): 2853-2860
- [17] Blakeslee AF, Avery AG. Methods of inducing doubling of chromosomes in plants[J]. Journal of Heredity, 1937, 28(12): 393-411
- [18] Warmke HE, Blakeslee AF. Induction of simple and multiple polyploidy in nicotiana by colchicine treatment[J]. Journal of Heredity, 1939, 30(10): 419-432
- [19] Auerbach C. *D. melanogaster*: new mutants. Chemically induced mutations and rearrangements[J]. Dros, Inform, Service, 1943(17): 48-50
- [20] Oehlkers F. Die Auslösung von chromosomenmutationen in der meiosis durch einwirkung von chemikalien[J]. Zeitschrift für Induktive Abstammungs- und Vererbungslehre, 1943, 81(1): 313-341
- [21] Wu SZ. Bioeffect of electromagnetic wave and person's health[J]. Journal of South-Central University for Nationalities (Natural Science Edition), 2010, 29(1): 57-61 (in Chinese)
吴石增. 电磁波的生物效应与人体健康[J]. 中南民族大学学报(自然科学版), 2010, 29(1): 57-61
- [22] Zhang X, Yang ZS. Application of induced mutation technique to maize breeding[J]. Tianjin Agricultural Sciences, 2004, 10(4): 25-27 (in Chinese)
张旭, 杨兆顺. 诱变技术在玉米育种中的应用[J]. 天津农业科学, 2004, 10(4): 25-27
- [23] Neuffer MG, Coe EH. Paraffin oil technique for treating mature corn pollen with chemical mutagens[J]. Maydica, 1978, 23: 21-28
- [24] Li XJ, Huang LP, Yu CX, et al. The application of chemical mutagenesis in breeding of ornamental flowers[J]. Northern Horticulture, 2007(2): 60-63 (in Chinese)
李雪娇, 黄丽萍, 余朝秀, 等. 化学诱变在花卉育种中的应用[J]. 北方园艺, 2007(2): 60-63
- [25] Rêgo MM, Rêgo ER, Bruckner CH, et al. In vitro induction of autotetraploids from diploid yellow passion fruit mediated by colchicine and oryzalin[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2011, 107(3): 451-459
- [26] Cheng YL, Zhu BC, Li LL, et al. A study on ultraviolet mutagenesis of *Flammulina velutipes* protoplasts[J]. Acta Edulis Fungi, 1995, 2(3): 61-64 (in Chinese)
成亚利, 朱宝成, 李亮亮, 等. 金针菇原生质体紫外诱变选育[J]. 食用菌学报, 1995, 2(3): 61-64
- [27] Guo JP, Ma Y. Breeding *Aspergillus oryzae* strain with high protease activity by ultraviolet induced mutation[J]. Microbiology China, 2007, 34(2): 246-250 (in Chinese)
郭继平, 马莺. 紫外诱变选育米曲霉高产蛋白酶菌株[J]. 微生物学通报, 2007, 34(2): 246-250
- [28] Xia ZL, Ai X, Jiang XJ. The effects of *Pleurotus eryngii* irradiated by ⁶⁰Coγ ray[J]. Acta Laser Biology Sinica, 2004, 13(4): 298-301 (in Chinese)
夏志兰, 艾辛, 姜性坚. ⁶⁰Coγ射线对杏鲍菇菌丝的诱变效应[J]. 激光生物学报, 2004, 13(4): 298-301
- [29] Lin RX. Study on ⁶⁰Co mutation breeding of *Volvariella volvacea*[D]. Fuzhou: Master's Thesis of Fujian Agriculture and Forestry University, 2011 (in Chinese)
林瑞虾. 草菇 ⁶⁰Co 诱变育种研究[D]. 福州: 福建农林大学硕士学位论文, 2011
- [30] Fries L. Mutations induced in *Coprinus fimetarius* (L.) by nitrogen mustard[J]. Nature, 1948, 162(4126): 846-847
- [31] Xu XK. The culture characteristics, separate and mutagenesis of *Heirctium crinaceus*[J]. Edible Fungi Technology, 1983(1): 17-20 (in Chinese)
徐序坤. 猴头的培养特性和菌种的分离与诱变[J]. 食用菌科技, 1983(1): 17-20
- [32] Parag Y. Mutations in the B incompatibility factor of *Schizophyllum commune*[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1962, 48(5): 743-750
- [33] Hundert P, Koltin Y, Stamberg J, et al. Repair of UV-induced damage in wild-type and mutant strains of *Schizophyllum commune*[J]. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 1978, 50(2): 157-162
- [34] Xu TH, Ma TJ, Ma WH. Laser mutagenesis of oyster mushroom[J]. Edible Fungi, 1983(2): 34 (in Chinese)
徐天惠, 马庭杰, 马文惠. 侧耳的激光诱变[J]. 食用菌, 1983(2): 34
- [35] Wu FY, Pang YS, Zhang HR, et al. The yield-increasing effect of mushroom strains by ⁶⁰Co irradiation[J]. Guangxi Agricultural

- Sciences, 1985(4): 27 (in Chinese)
吴风雅, 庞业声, 张厚瑞, 等. 钴 60 辐射蘑菇菌种的增产效果[J]. 广西农业科学, 1985(4): 27
- [36] Mukherjee M, Sengupta S. Mutagenesis of protoplasts and regeneration of mycelium in the mushroom *Volvariella volvacea*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1986, 52(6): 1412-1414
- [37] Lu SY, Deng H, Guo XD, et al. Study on mutagenesis breeding of sporless *Pleurotus ostreatus*[J]. Edible Fungi, 1987(3): 7-8 (in Chinese)
陆师义, 邓宏, 郭向东, 等. 无孢平菇诱变育种的研究[J]. 食用菌, 1987(3): 7-8
- [38] Yang CL, Zhang JM. Auxotrophic mutant induction from the protoplast of *Pleurotus salmoneo-stramineus*[J]. Edible Fungi of China, 1992, 11(2): 20-21 (in Chinese)
杨崇林, 张鉴铭. 桃红平菇原生质体诱变营养缺陷型突变体[J]. 中国食用菌, 1992, 11(2): 20-21
- [39] Zhou FZ, Jia SM. The condition test of protoplast formation, regeneration and UV mutagenesis of *Flammulina vlutipes*[J]. Edible Fungi, 1992(2): 8-9 (in Chinese)
周伏忠, 贾身茂. 金针菇原生质体的制备再生及其紫外线诱变的条件实验[J]. 食用菌, 1992(2): 8-9
- [40] Yang XM, Luo XC, Han XC. Radiation mutagenesis and identification of auxotrophic mutants in *Auricularia auricula* and *Auricularia fuscocucinea*[J]. Edible Fungi of China, 1994, 13(2): 19-21 (in Chinese)
杨新美, 罗信昌, 韩新才. 光木耳和琥珀木耳营养缺陷型菌株的辐射诱变及鉴定[J]. 中国食用菌, 1994, 13(2): 19-21
- [41] Zhu BC, Wang JG, Yan KQ, et al. Study on mutagenesis of protoplasts from *Pleurotus sapidus*[J]. Hereditas (Beijing), 1994, 16(2): 32-34 (in Chinese)
朱宝成, 王俊刚, 燕克勤, 等. 原生质体诱变选育无孢平菇[J]. 遗传, 1994, 16(2): 32-34
- [42] Toyama H, Toyama N. Nuclear abnormality in the mycelia of *Pleurotus ostreatus* in presence of colchicine[J]. Journal of Biotechnology, 1994, 35(1): 97-106
- [43] Wang ZF, Meng XZ, Deng CH, et al. A preliminary report on the study of edible fungi space mutation breeding[J]. Chinese Journal of Space Science, 1996, 16(S1): 160-161 (in Chinese)
王振福, 孟宪志, 邓春海, 等. 食用菌空间诱变育种研究初报[J]. 空间科学学报, 1996, 16(S1): 160-161
- [44] Chen WL, Zhao QY, Yao SL. An application of He-Ne laser in selection of fast-growing and high-yielding *Lentinus edodes* strains I mutagenization and selection of strains[J]. Acta Photonica Sinica, 1997, 26(11): 972-976 (in Chinese)
陈五岭, 赵巧云, 姚胜利. He-Ne 激光在香菇速生高产菌株选育中的应用 I 菌株的诱变及选育[J]. 光子学报, 1997, 26(11): 972-976
- [45] Liu GZ, Jia JH, Li LY, et al. Study on the breeding of *Lentinula edodes* through mutation of protoplast induced by UV radiation[J]. Acta Edulis Fungi, 1997, 4(4): 11-16 (in Chinese)
刘国振, 贾建航, 李莉云, 等. 原生质体诱变技术选育香菇菌株研究[J]. 食用菌学报, 1997, 4(4): 11-16
- [46] Jin L, Wu YX, Zhou ZJ, et al. Breeding new strains of *Flammulina velutipes* by protoplast radiation induction[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2000, 27(1): 65-66 (in Chinese)
金玲, 武艳霞, 周宗俊, 等. 原生质体辐射诱变培育金针菇新菌株[J]. 园艺学报, 2000, 27(1): 65-66
- [47] Toyama H, Toyama N. Cellulase hyperproducers constructed from polyploids of *Lentinus edodes*[J]. Microbios, 2000, 101(399): 73-80
- [48] Li G, Yang F, Li RX, et al. A study on the breeding of new *Ganoderma* varieties by UV induced mutagenesis[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2001, 41(2): 229-233 (in Chinese)
李刚, 杨凡, 李瑞雪, 等. 原生质体紫外诱变选育灵芝新菌种的研究[J]. 微生物学报, 2001, 41(2): 229-233
- [49] Zhang H, Tong JS, Liu CJ. Screening of high exopolysaccharide yield strain of *Agaricus blazei* Murr. by ⁶⁰Co-gamma irradiation[J]. Edible Fungi of China, 2003, 22(5): 13-14 (in Chinese)
张卉, 佟俊生, 刘长江. ⁶⁰Co- γ 射线辐照菌丝选育多糖高产菌株[J]. 中国食用菌, 2003, 22(5): 13-14
- [50] Han YJ, Cao H, Chen MJ, et al. Selection for cold-resistant strain by complex mutagenesis of *Volvariella volvacea* and identification of the strain[J]. Mycosystema, 2004, 23(3): 417-422 (in Chinese)
韩业君, 曹晖, 陈明杰, 等. 草菇耐低温菌株的诱变选育与鉴定[J]. 菌物学报, 2004, 23(3): 417-422
- [51] Fan YH. Study on biological effects of edible and medical fungi by Low-energy ion implantation[D]. Urumqi: Master's Thesis of Xinjiang University, 2004 (in Chinese)
樊永红. 低能离子注入食药真菌生物效应的研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆大学硕士学位论文, 2004
- [52] Li R, Yu L, Kan JS. Study of mutation breeding of the hyphal body from *Flammulia velutipes*[J]. Journal of Hefei University (Natural Sciences), 2005, 15(1): 16-18 (in Chinese)
李蕤, 虞磊, 阚劲松. 金针菇菌丝断片单细胞诱变育种的研究[J]. 合肥学院学报: 自然科学版, 2005, 15(1): 16-18
- [53] Yu ZL, Xu P, Gao HB, et al. Experimental study for 80 kW Neutral-beam injector[J]. Nuclear Science and Engineering, 1986, 6(2): 167-170 (in Chinese)
余增亮, 须平, 高海波, 等. 80 kW 中性粒子束注入器实验研究[J]. 核科学与工程, 1986, 6(2): 167-170
- [54] Song DL. Study on biological effects of white *Flammulina velutipes* by Nitrogen ion beam implantation[D]. Urumqi: Master's Thesis of Xinjiang University, 2007 (in Chinese)
宋冬灵. 氮离子注入白金针菇生物学效应的研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆大学硕士学位论文, 2007
- [55] Zhu WK, He XS. Study on chemical mutation breeding of *Pleurotus djamor*[J]. Edible Fungi, 2008, 30(4): 17-19 (in Chinese)
竹文坤, 贺新生. 红平菇化学诱变育种研究[J]. 食用菌, 2008, 30(4): 17-19
- [56] Zhou QH, Yang YG, Zeng YJ, et al. A study on the thermostability

- and early-maturity of two strains of *Flammulina velutipes* from space-flight mutation[J]. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, 2011, 33(4): 801-805 (in Chinese)
周庆红, 杨寅桂, 曾勇军, 等. 两株金针菇航天诱变菌株耐高温和早熟性栽培研究[J]. *江西农业大学学报*, 2011, 33(4): 801-805
- [57] Zhang HM. Study on biological effects of *Coprinus comatus* M₁ generation by Nitrogen ion implantation[D]. Urumqi: Master's Thesis of Xinjiang University, 2008 (in Chinese)
张红梅. 氮离子注入鸡腿菇 M₁ 代生物学效应的研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆大学硕士学位论文, 2008
- [58] Jin LY. Studies on protoplast mutagenesis and technology of active component extraction of *Cordyceps militaris*[D]. Yangling: Master's Thesis of North West Agriculture and Forestry University, 2010 (in Chinese)
金凌云. 蛹虫草原生质体诱变及主要活性物质提取工艺研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学硕士学位论文, 2010
- [59] Dong YW, Miao JZ, Cao ZH, et al. Research on chemical mutation breeding of protoplasts of *Ganoderma lucidum*[J]. *Food Research and Development*, 2012, 33(6): 166-170 (in Chinese)
董玉玮, 苗敬芝, 曹泽虹, 等. 灵芝原生质体化学诱变育种[J]. *食品研究与开发*, 2012, 33(6): 166-170
- [60] Zhou XD, Li M, Tian JH, et al. Mutagenesis of mycelial of *Cordyceps militaris* and selection of fine strain[J]. *Northern Horticulture*, 2013(8): 154-156 (in Chinese)
周晓东, 李明, 田景花, 等. 北虫草菌丝体诱变及优良菌株的筛选[J]. *北方园艺*, 2013(8): 154-156
- [61] Li QH. Breed new strain of *Agaricus bisporus* by the technique of radioisotope ⁶⁰Co mutagenesis[D]. Chengdu: Master's Thesis of Sichuan Agricultural University, 2013 (in Chinese)
李前红. 利用放射性同位素 ⁶⁰Co 诱变技术创制双孢蘑菇育种新材料研究[D]. 成都: 四川农业大学硕士学位论文, 2013
- [62] Toyama H. Enhancement of microcrystalline cellulose degrading ability in *Lentinula edodes* by autopolyploidization at reduced temperature[J]. *International Journal of Advanced Biotechnology and Research*, 2013, 4(3): 308-314
- [63] Li SL, Yan MG, Xu J, et al. Breeding of *Pleurotus eryngii* by the technology of N⁺ implantation[J]. *Edible Fungi of China*, 2014, 33(4): 17-19 (in Chinese)
李素玲, 闫米格, 许晶, 等. N⁺注入诱变技术在杏鲍菇新菌株选育中的应用[J]. *中国食用菌*, 2014, 33(4): 17-19
- [64] He JH, Jiang W, Lv BB, et al. Screening and RAPD analysis of *Volvariella volvacea* ARTP mutants[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2014, 28(11): 1950-1955 (in Chinese)
何建华, 蒋玮, 吕贝贝, 等. ARTP 诱变筛选草菇优良菌株及 RAPD 分析[J]. *核农学报*, 2014, 28(11): 1950-1955
- [65] Zhu ZP, Wu X, Lv BB, et al. A new approach for breeding low-temperature-resistant *Volvariella volvacea* strains: genome shuffling in edible fungi[J]. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 2016, 63(5): 605-615
- [66] Edible Fungi Industry Chapter of China Township Enterprises Association. The handover work of edible fungi strains by recoverable satellite had been completed by professor Yu Li's research team[EB/OL]. (2016-04-24). <http://www.cefic.org.cn/article.php?id=221> (in Chinese)
中国乡镇企业协会食用菌产业分会. 李玉院士团队完成卫星搭载食用菌菌种回收交接[EB/OL]. (2016-04-24). <http://www.cefic.org.cn/article.php?id=221>
- [67] de Vries OMH, Wessels JGH. Chemical analysis of cell wall regeneration and reversion of protoplasts from *Schizophyllum commune*[J]. *Archives of Microbiology*, 1975, 102(1): 209-218
- [68] Shi QQ, Wu SG. *Industrial Microbial Breeding Science*[M]. Beijing: Science Press, 2003 (in Chinese)
施巧琴, 吴松刚. *工业微生物育种学*[M]. 北京: 科学出版社, 2003
- [69] Duan DX. Study of He-Ne laser in selection of fast-growing and high-yielding *Lentinus edodes* strains and submerged fermentation[D]. Xi'an: Master's Thesis of Northwest University, 2002 (in Chinese)
段东霞. He-Ne 激光诱变香菇原生质体选育速生高产菌株及香菇液体深层发酵工艺研究[D]. 西安: 西北大学硕士学位论文, 2002
- [70] Lü J, Jin X, Mao PH. Research progress of mutation on edible fungi by ion beam irradiation[J]. *Edible Fungi of China*, 2011, 30(5): 3-5 (in Chinese)
吕杰, 金湘, 毛培宏. 离子束注入诱变技术应用于食用菌的研究[J]. *中国食用菌*, 2011, 30(5): 3-5
- [71] Li G, Li HP, Wang LY, et al. Genetic effects of radio-frequency, atmospheric-pressure glow discharges with helium[J]. *Applied Physics Letters*, 2008, 92(22): 221504
- [72] Wang LY, Huang ZL, Li G, et al. Novel mutation breeding method for *Streptomyces avermitilis* using an atmospheric pressure glow discharge plasma[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2010, 108(3): 851-858
- [73] Liu XX, Li P, Zhao XF, et al. Rational screen of high kelimycin-producing strain by combined conventional mutagenesis and high-throughput screen method[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2013, 53(7): 758-765 (in Chinese)
刘新星, 李萍, 赵小峰, 等. 常规诱变结合高通量筛选选育可利霉素高产菌株[J]. *微生物学报*, 2013, 53(7): 758-765
- [74] Tan J. Construction of high-throughput screening platform based on multi-scale study approach for high yield industry microorganism and its practical application[D]. Shanghai: Doctoral Dissertation of East China University of Science and Technology, 2013 (in Chinese)
谭俊. 基于多尺度创新原理的工业微生物高通量筛选平台构建及应用研究[D]. 上海: 华东理工大学博士学位论文, 2013