

香菇担孢子交配型比例偏分离的遗传分析

程水明^{1,2}, 林范学²

(¹黄冈师范学院生命科学与工程学院, 黄冈 438000; ²华中农业大学农业微生物学国家重点实验室/应用真菌研究所, 武汉 430070)

摘要:【目的】验证香菇中担孢子交配型因子分离是否存在普遍意义的偏分离现象及其在栽培菌株与野生菌株中的表现。【方法】以 17 个野生和栽培香菇菌株为样本, 采用交配型分析、OWE-SOJ 技术鉴定孢子的交配型, 对各类交配型的比例进行统计分析。【结果】占供试总数 64.71% 的菌株担孢子交配型不呈预期的分离比, 其中 12 个供试栽培菌株中有 9 个, 5 个供试野生菌株中有 2 个; 偏分离菌株中均有亲本型孢子数量多于重组型孢子的趋势, 偏分离双核菌丝体的 F₁ 代担孢子的核型主要取决于双核亲本的组成。【结论】香菇中担孢子交配型因子分离偏离理论预期是一种统计学意义的普遍现象; 偏离程度栽培菌株大于野生菌株。

关键词: 交配型因子; 担孢子; 香菇; 偏分离

Genetic Analysis of Distorted Segregation Ratio of Mating Types Among Basidiospores in *Lentinula edodes*

CHENG Shui-ming^{1,2}, LIN Fan-xue²

(¹ College of Life Science and Engineering, Huanggang Normal University, Huanggang 438000; ² State Key Laboratory of Agricultural Microbiology, Institute of Applied Mycology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070)

Abstract: 【Objective】The objectives of this study are to proof whether or not it exhibits commonly statistical meanings of the phenomenon of mating-type factors segregation in *Lentinula edodes* spores and to explore the degree of distortion in all tested wild strains and cultivated strains. 【Method】Seventeen strains of *Lentinula edodes*, including wild and cultivated strains were used as test materials, statistical analysis on the ratios of spores from different aspects by using mating types analysis and OWE-SOJ technique. 【Result】Eleven out of the seventeen samples, up to 64.71% of all tested strains, did not display the expected segregation ratio of basidiospores; the nuclear type of F₁ progeny spores mainly depended on combined state of parental dikaryons among strains segregated theoretically distribution, predominant spores were those with mating type identical to dikaryotic parent. 【Conclusion】Skewed expected distribution of mating-type factors segregation has commonly statistical meanings in *Lentinula edodes* spores and the degree of distortion in all tested wild strains was lower than cultured strains.

Key words: Mating-type factor; Basidiospore; *Lentinula edodes*; Segregation distortion

0 引言

【研究意义】香菇是产量仅次于双孢蘑菇的世界第二大栽培蕈菌。中国是全球最大的香菇生产国和产品输出国, 产量高达世界总产的 80%。香菇为一种四极性食用蕈菌, 两个单核体间的亲和性受具有自交不亲和特性的 A 和 B 两对因子所控制, A 和 B 两对因子位于不同的染色体上, 双核菌丝体减数分裂后形成的

担孢子中, 两种亲本型的核及两种重组型的核预期应呈 1 : 1 : 1 : 1 之比。实际遗传分析中, 这两种类型的比例并非总以 1 : 1 : 1 : 1 的形式出现, 担孢子找到 2 种或 3 种交配型的现象并不罕见, 对这一现象的研究国内尚未进行全面、系统、深入的探讨, 国外文献则基本未曾涉及。对这一遗传现象进行系统研究, 其结果不但可以丰富蕈菌的遗传学背景知识, 而且可以提高育种工作的预见性、减少盲目性, 为选择适当的育

收稿日期: 2006-04-20; 接受日期: 2007-05-14

基金项目: 湖北省教育厅青年基金项目 (Q200627001)

作者简介: 程水明 (1966-), 男, 湖北浠水人, 博士, 研究方向为微生物遗传育种。E-mail: swcsm@hgnc.net

种策略提供科学依据。【前人研究进展】自 20 世纪 30 年代以来, 各国研究人员发现, 在腐木菌^[1]、杂色云芝^[2]、滑菇^[3]、松根担孢子^[4]、香菇^[5-9]、裂褶菌^[10]、金针菇^[11]、平菇^[12,13]、黑木耳^[14,15]、黄伞^[16]等蕈菌中不仅菌丝原生质体单核体, 而且担孢子中都不同程度地存在交配型偏分离的现象。上述交配型偏分离的研究, 可简单归纳为在香菇等蕈菌担孢子中, 4 种交配型之间的比例与理论上预期的 1 : 1 : 1 : 1 的比例往往有显著的偏离。另有报道指出, 香菇担孢子的 4 种交配型中, 以与亲本双核菌丝体相同的那两种交配型为多。【本研究切入点】以上现象均是在对蕈菌的极性、交配系统和遗传育种研究中的偶然发现, 国内外尚无对四极性蕈菌担孢子中 4 种交配型分布的系统研究。即对于不同蕈菌或同一蕈菌的不同菌株而言, 担孢子的交配型比例关系如何? 以上所说的担孢子交配型偏分离现象是不是统计意义上的偏分离? 它既是蕈菌遗传学必须加以解决的基础研究问题, 又与育种实践有密切关系, 值得深入系统地进行研究。【拟解决的关键问题】针对这一现象, 采用较大的样本对栽培和野生香菇菌株担孢子 4 种交配型比例进行系统的研究, 通过对香菇不同菌株担孢子 4 种交配型的实得比例与理论比例分析, 验证香菇中交配型因子分离是否存在普遍的偏分离及其在栽培菌株与野生菌株中的表现, 为进一步阐明蕈菌交配型因子偏分

离的遗传机制打下基础, 为香菇育种工作提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试菌株来源

供试香菇菌株: 栽培菌株 IB 系列由河南省科学院生物研究所提供; 野生菌株由本研究所从野外采集而得 (表 1)。

1.2 试验方法

1.2.1 培养基 PDY (马铃薯、葡萄糖、酵母膏), CYM (磷酸盐、硫酸镁、葡萄糖、酵母膏和蛋白胨), MYG (麦芽糖、酵母膏、葡萄糖), OWE 培养基 (担孢子交配型鉴定, 橡树木屑浸汁), SOJ 培养基 (担孢子交配型鉴定, 鲜榨橘汁) 和木屑培养基配制参照文献[17]进行。

1.2.2 子实体培养, 孢子收集 按文献[17]和[19]进行。

1.2.3 担孢子交配型分析 按文献[17]和[19]进行。

1.3 试验数据的统计与分析方法

确定担孢子 4 种交配型是否符合预期的 1 : 1 : 1 : 1 之比用公式 $\chi^2 = \sum_{i=1}^k \frac{(O-E)^2}{E}$ 进行 χ^2 测验。式中 O 和 E 分别代表担孢子 4 种交配型试验观测值和理论预期值。

表 1 供试香菇菌株

Table 1 Strains of *Lentinula edodes* used in this study

菌株号 Strains	来源 (采集地点) Original sources	菌株号 Strains	来源 (采集地点) Original sources
IB01	河南省科学院生物研究所 IBHAS	IB29	河南省科学院生物研究所 IBHAS
IB02	河南省科学院生物研究所 IBHAS	IB31	河南省科学院生物研究所 IBHAS
IB03	河南省科学院生物研究所 IBHAS	WL-1	华中农业大学菌种厂 MSCHAU
IB08	河南省科学院生物研究所 IBHAS	SHX002	陕西 Shanxi
IB09	河南省科学院生物研究所 IBHAS	SHX021	陕西 Shanxi
IB10	河南省科学院生物研究所 IBHAS	SHX041	陕西 Shanxi
IB14	河南省科学院生物研究所 IBHAS	HUB021	湖北 Hubei
IB15	河南省科学院生物研究所 IBHAS	GAN054	甘肃 Gansu
IB19	河南省科学院生物研究所 IBHAS		

IB 和 WL 为栽培菌株, 其余为野生菌株 IB and WL are cultivated strains, the others are wild type strains. IBHAS. Institute of Biology, Henan Academy of Science; MSCHAU. The Mushroom Spawn Center of Huazhong Agricultural University

2 结果与分析

2.1 担孢子 4 种交配型的比例

担孢子交配型鉴定结果见表 2。实际得到的 4 种交配型的比例与预期的 1 : 1 : 1 : 1 的比例相比, 与原生质体单核体一样, 同样出现了显著偏离。有一个菌

株即 IB19, 在检测的 64 个单核体中仅得到两种亲本交配型, 没有重组型担孢子被检测出。 χ^2 测验的结果表明, 实际比例与预期比例相偏离的菌株有 8 个, 占供试菌株总数的 47.06%, 其中栽培菌株中有 6 个, 占 50%; 5 个野生菌株中有 2 个, 占 40%。这意味着, 担孢子中各类交配型实得数与预期数相偏离的程度而

言, 野生菌株低于栽培菌株。

2.2 4种交配型担孢子中亲本型担孢子间的比例

为验证担孢子中亲本型担孢子是否符合 1:1 的孟德尔分离规律, 笔者将 4 种担孢子中的亲本型孢子的数目及其比例进行整理。结果显示, 17 个菌株中亲本交配型担孢子(交配型为 AxBx 和 AyBy)的比例与预期的 1:1 的比例相比, 只有 IB14、IB29 和 HUB021 菌株出现了显著的偏离, 占测试菌株总数的 17.65%。菌株 IB19 虽然只检测到 2 种交配型, 但这 2 种亲本交配型担孢子之间的比例经 χ^2 测验显示, 实际比例与预期比例相符, 其余菌株的亲本交配型担孢子交配型实得比与预期比例相吻合, 符合孟德尔的分离规律。

2.3 4种交配型担孢子中重组型担孢子间的比例

亲本型担孢子比例分析结果表明, 绝大多数菌株(82.35%)两种亲本型担孢子间的比例不偏离 1:1 的孟德尔分离。在重组型担孢子(交配型为 AxBy 和 AyBx)间不符合 1:1 的孟德尔分离规律。分析结果显示, 除菌株 IB19 只检测到 2 种亲本交配型外, 16 个具有重组型担孢子的菌株中重组交配型担孢子的比例与预期的 1:1 的比例经 χ^2 测验有 IB01、IB02 和 HUB021 共 3 个菌株出现显著偏离, 占测试菌株总数的 18.75%, 其余菌株的重组交配型担孢子交配型实得比与预期比例相吻合, 符合孟德尔的分离规律, 这一趋势与亲本型担孢子中两种交配型的分布相同。值得

注意的是菌株 HUB021, 不管是亲本型担孢子间的比例, 还是重组型担孢子间的比例均不符合预期的 1:1 分离比。

2.4 4种交配型担孢子中亲本型和重组型担孢子的分布

对 4 种交配型担孢子中亲本型和重组型分布的分析结果表明, 在绝大多数菌株中, 两种亲本型单核体孢子间和两种重组型单核体孢子间的比例并不偏离 1:1 的孟德尔分离, 为验证担孢子中亲本型和重组型孢子间是否符合 1:1 的孟德尔分离规律, 笔者对 4 种担孢子中的亲本型和重组型孢子的数目及其比例进行了分析(表 3)。

从表 3 可看出, 就亲本型和重组型担孢子而言, 12 个栽培菌株中有 9 个(占供试栽培菌株总数的 75%)两者的比例严重偏离 1:1 的孟德尔分离, 其中 IB14、IB19 和 IB29 菌株达到极显著水平, 两类担孢子符合 1:1 的孟德尔分离规律的有 IB09、IB15 和 WL-1 菌株; 5 个野生菌株中不符合预期的 1:1 分离的只有 GAN054, 就亲本型和重组型担孢子比例偏离程度而言, 供试的栽培菌株比野生菌株严重。

另外, 从表 3 发现, 亲本型和重组型担孢子间比例偏离 1:1 分布的 10 个菌株中, 偏离方向均为亲本型担孢子的数量总是显著多于重组型担孢子的数量。

2.5 担孢子中 4 种交配型比例偏离分布的类型统计

笔者对 17 个正常结实并得到足够数量担孢子的菌株从 4 种交配型担孢子之间、4 种交配型担孢子中亲本型担孢子之间和重组型担孢子之间以及 4 种交配型担孢子中亲本型和重组型担孢子之间的比例进行了分析, 发现分析角度不同, 发生偏离的菌株种类、偏离程度等都不相同, 为便于分析、比较, 将 17 个菌株中担孢子交配型比例偏离的情况按类型进行了统计(数据未列出)。从统计的结果看, 17 个供试菌株中, 担孢子之间的 4 种交配型分布, 亲本型担孢子间、重组型担孢子间以及亲本型和重组型担孢子之间比例的分布有以下 3 种情况。

(1) 担孢子之间的 4 种交配型分布、亲本型担孢子间、重组型担孢子间比例以及亲本型和重组型担孢子之间比例, 4 种情况均符合孟德尔分离规律: 12 个栽培菌株中有 3 个: IB09、IB15 和 WL-1 菌株, 占供试栽培菌株总数的 25%; 野生菌株中也有 3 个: SHX002、SHX021 及 SHX041 菌株, 占供试野生菌株总数的 60%, 且这 3 个菌株均是采自陕西省的野生菌株。

表 2 担孢子 4 种交配型的比例

Table 2 Ratio of four types of spore monokaryons

菌株 Strains	AxBx: AyBy: AxBy: AyBx	χ^2
IB01	21:19:10:13	5.00
IB02	20:20:17:3	13.20
IB03	23:18:13:8	7.83
IB08	18:21:13:8	6.53
IB09	21:19:21:12	3.00
IB10	25:23:17:11	6.32
IB14	56:24:12:8	56.60
IB15	21:19:10:15	4.91
IB19	40:24:0:0	72.00
IB29	12:45:6:2	70.94
IB31	25:19:13:8	10.02
WL-1	37:44:42:30	3.05
HUB021	28:73:61:39	26.53
SHX002	20:16:19:15	0.97
SHX021	20:18:20:12	2.46
SHX041	19:17:15:13	1.25
GAN054	29:18:12:13	10.11

$\chi^2_{0.05-3}=7.81$; $\chi^2_{0.01-3}=11.3$

(2) 担孢子的 4 种交配型分布符合孟德尔分离。这种情况下又可分为: 亲本型担孢子间、重组型担孢子间的比例符合孟德尔分离, 但亲本型和重组型担孢子之间比例偏离 1 : 1 分离的有菌株 IB08 和菌株 IB10; 亲本型担孢子间比例符合孟德尔分离, 但重组

型担孢子间比例以及亲本型和重组型担孢子之间比例偏离 1 : 1 分离的有菌株 IB01, 没有出现重组型担孢子符合孟德尔分离而亲本型担孢子间和亲本型与重组型担孢子间不符合孟德尔分离的现象。

(3) 担孢子之间的 4 种交配型分布不符合孟德尔

表 3 担孢子中亲本型和重组型担孢子的分布

Table 3 Distribution of parental and recombinant mating-type spores

菌株 Strains	亲本型担孢子数 Numbers of parental spore	重组型担孢子数 Numbers of recombinant spore	比例 Ratio of two groups spores	χ^2
IB01	40	23	1:0.58	4.06
IB02	40	20	1:0.50	6.02
IB03	41	21	1:0.51	5.82
IB08	39	21	1:0.54	4.82
IB09	40	33	1:0.83	3.51
IB10	48	28	1:0.58	4.75
IB14	80	20	1:0.25	34.81
IB15	40	25	1:0.63	3.02
IB19	64	0		62.02
IB29	57	8	1:0.14	35.45
IB31	44	21	1:0.48	7.45
WL-1	81	72	1:0.89	0.42
HUB021	102	100	1:0.98	0.01
SHX002	36	34	1:0.94	0.01
SHX021	38	32	1:0.84	0.42
SHX041	36	28	1:0.78	0.77
GAN054	47	25	1:0.53	6.13

$\chi^2_{0.05-1}=3.84$

分离。这种情况下又可分为: 亲本型担孢子间、重组型担孢子间的比例符合孟德尔分离, 但亲本型和重组型担孢子之间比例偏离 1 : 1 分离的有菌株 IB03、IB29、IB31 和菌株 GAN054; 亲本型担孢子间比例符合孟德尔分离, 但重组型担孢子间比例以及亲本型和重组型担孢子之间比例偏离 1 : 1 分离的有菌株 IB02; 重组型担孢子间比例符合孟德尔分离, 但亲本型担孢子间比例以及亲本型和重组型担孢子之间比例偏离 1 : 1 分离的有菌株 IB14。

特别值得注意的是菌株 IB19 和菌株 HUB021, 前者虽然只分离到 2 种亲本型担孢子, 但两者之间的比例却符合 1 : 1 分离; 后者担孢子之间的 4 种交配型分布, 亲本型担孢子间、重组型担孢子间的比例均不孟德尔分离, 但亲本型和重组型担孢子之间的比例却与 1 : 1 分离相吻合。

2.6 正反亲本结实试验结果

表 3 结果显示在 17 个供试菌株中, 亲本型和重组

型担孢子比例偏离 1 : 1 分布的 10 个菌株偏离方向一致: 亲本型担孢子的数量总是显著多于重组型担孢子的数量。这是偶然巧合还是具有普遍意义的趋势? 为此设计试验: 将获得 4 种交配型担孢子的栽培菌株中的重组型担孢子重新配成新的亲本双核体, 经栽培结实, 重新收集担孢子, 对担孢子的交配型及其比例进行鉴定, 试验结果如下。

2.6.1 正反亲本结实试验中杂交组合出菇结果 12 个栽培菌株除 IB19 获得两种亲本型担孢子外, 11 个菌株获得了重组型担孢子, 为便于比较, 将获得了重组型担孢子的 11 个菌株的亲本双核体(AxBx + AyBy) 与用重组型担孢子配制而成的双核体同时进行栽培结实试验, 并在同样的条件下进行管理出菇, 结果差异较大, 11 个菌株的亲本双核体均能正常出菇, 且出菇较早、多, 采收到的子实体绝大多数正常。而由重组型担孢子间配对成的双核体出菇情况相差较大。11 个衍生双核体有 7 个出菇, 但只有 IB03、IB10 和 IB14

菌株重组体能采收到正常的子实体并获得担孢子，IB01 菌株重组体长出的子实体菌柄细长，菌盖很小；菌株 IB08 重组体长出的子实体菌柄长、粗且菌柄中间膨大，几乎看不到菌盖；菌株 IB15 重组体长出的子实体菌柄正常，但菌盖小、成尖形且不盖伞，因而也无法获得其担孢子；菌株 IB31 重组体长出的子实体菌柄极短，菌盖几乎是贴着代料生长。

2.6.2 正反亲本结实试验中担孢子的交配型比例依常规担孢子交配型分析程序对 3 个重组型双核体菌株所获得的担孢子进行交配型比例分析鉴定，鉴定结果如表 4 所示。

表 4 正反亲本结实试验中担孢子交配型比例分析

Table 4 Analysis of four mating type's spores isolated from positive-negative parental fruiting

菌株	双核体交配型	担孢子比例	χ^2
Strains	Parental dikaryons	AxBx:AyBy:AxBy:AyBx	
IB03	AxBx+AyBy	23:18:13:8	7.83
Rm03	AxBy+AyBx	18:24:38:32	8.36
IB10	AxBx+AyBy	25:23:17:11	6.32
RM10	AxBy+AyBx	37:43:48:76	18.99
IB14	AxBx+AyBy	56:24:12:8	56.60
RM14	AxBy+AyBx	12:20:30:34	12.33

$\chi^2_{0.05-3}=7.81$; $\chi^2_{0.01-3}=11.3$

3 个重组型双核体担孢子实际得到的 4 种交配型的比例与亲本型双核体担孢子交配型比例一样，同样出现了偏离 1:1:1:1 分离。 χ^2 测验表明 RM10 和 RM14 菌株担孢子 4 种交配型实得数偏离预期数达到极显著水平。

从表 4 可清楚地看出，无论双核菌丝体的交配型组成如何，所产生的亲本型和重组型两类担孢子均不呈预期的 1:1 之比，而且正如双核菌丝体交配型为

(AxBx+AyBy) 时，是与其交配型相同的 AxBx 和 AyBy 这类亲本型担孢子数量居多一样，当双核菌丝体的交配型为(AxBy+AyBx)时，亦是 AxBy 和 AyBx 这类亲本型居多，有力地反证了亲本型孢子数量多于重组型孢子这一趋势。

2.7 A \neq 、B \neq 异核体减数分裂后代中担孢子交配型的比例

用菌株 IB01 和菌株 IB15 的原生质体单核体进行两两亲和配对，将得到的 4 个 A \neq 、B \neq 异核体及菌株 IB01、IB15 同时进行栽培结实，收集担孢子分析交配型的分布，验证 B 因子与交配型分布间关系。结果如表 5 所示。

从表 5 看，菌株 IB01 和菌株 IB15 中 A、B 因子单核体分布总体均衡，但由它们的原生质体单核体构建的 4 个 A \neq 、B \neq 异核体减数分裂后代担孢子中，4 种交配型的比例从上述的几个方面分析，异核体 3 中 4 种担孢子分布显著偏离预期值 ($\chi^2=11.68$)，原因是由重组型担孢子间偏离 1:1 分布 ($\chi^2=8.95$) 而引起，其中两种 B 因子的单核体中，含 B1 的单核体显著多于含 B3 的单核体 ($\chi^2=8.41$)；异核体 4 中 4 种担孢子分布显著偏离预期值 ($\chi^2=9.86$)，原因是由亲本型担孢子间偏离 1:1 分布 ($\chi^2=4.34$) 而引起，其中两种 B 因子的单核体中，含 B1 的单核体显著多于含 B4 的单核体 ($\chi^2=8.01$)；异核体 5 中 4 种担孢子分布、亲本型担孢子间、重组型担孢子间和亲本型与重组型之间的比例均不偏离，但两种 B 因子的单核体中，含 B3 的单核体显著多于含 B2 的单核体 ($\chi^2=4.06$)；异核体 6 中 4 种担孢子分布显著偏离预期值 ($\chi^2=11.32$)，原因是由重组型担孢子间偏离 1:1 分布 ($\chi^2=9.03$) 而引起，其中两种 B 因子的单核体中，含 B2 的单核体显著少于含 B4 的单核体 ($\chi^2=$

表 5 A \neq 、B \neq 异核体减数分裂后代中担孢子交配型分析

Table 5 Analysis of mating-type spores isolated from meiosis siblings of A \neq , B \neq heterokaryons

异核体	4 种担孢子间的比例	含 B 因子担孢子的比例	χ^2	含 A 因子担孢子的比例	χ^2
Heterokaryons	Ratio of four types of spores	Ratio of spores with		Ratio of spores with	
	(AxBx: AyBy: AxBy: AyBx)	B-mating-type factors		A-mating-type factors	
1	21:19:0:13	34:29(B1:B2)	0.25	31:32(A1:A2)	0.00
2	21:19:10:15	36:29(B3:B4)	0.55	31:34(A3:A4)	0.06
3	60:46:32:62	122:78(B1:B3)	8.41	92:108(A1:A3)	1.13
4	38:21:17:29	67:38(B1:B4)	8.01	55:50(A1:A4)	0.15
5	21:19:21:12	34:54(B2:B3)	4.06	53:45(A2:A3)	0.50
6	25:30:30:10	35:60(B2:B4)	6.06	55:40(A2:A4)	2.06

$\chi^2_{0.05-3}=7.81$; $\chi^2_{0.01-3}=11.3$

6.06) ; 6 个 A \neq 、B \neq 异核体减数分裂后代担孢子中 B 因子的特异性顺序为 B1> B3> B4> B2, 而含 A 因子的单核体分布总体平衡。

3 讨论

蕈菌双核菌丝原生质体单核体的交配型比例出现偏离的现象, Kawabata 等^[11]推测, 金针菇中可能归因于与 A, B 因子连锁的生育抑制因子, 与细胞质对核的选择力的不同也有关系。Raper 经过较系统研究后指出, 裂褶菌中不对称核比例的出现与 B 因子有关, 可以将 B 因子的特异性排成一个不同等级的序列, 携带有较大特异性的 B 因子的核, 经过原生质体单核化之后, 将以较大的比例出现^[20] Judelson 等证实致病疫霉中, 交配型出现偏分离源于隐性纯合致死的等位基因的存在^[21], 并在后续研究中, 通过对该基因的克隆、测序和作图定位, 从分子机制上解释了其偏分离现象^[22]。笔者认为 Raper 和 Judelson 等的论点有较充分的试验数据的支持, 理论解释也较为合理。

笔者通过研究发现, B 因子对香菇原生质体单核化后不对称核比例出现的影响与裂褶菌中一致: B 因子的特异性可排成一个不同等级的序列, 携带有较大特异性的 B 因子的核, 经过原生质体单核化之后, 将以较大的比例出现^[23], 这一情况在没有人工干涉的双核菌株减数分裂后代担孢子中同样存在。说明香菇双核菌丝体经原生质体单核化后 2 种交配型的单核体比例及其减数分裂后代中 4 种交配型担孢子的分布偏离孟德尔分离现象不是偶然的, 其遗传基础是由 B 因子或与 B 因子连锁的某些因子明显地影响不同交配型单核体的比例, A 因子对香菇双核菌丝体经原生质体单核化后 2 种交配型的单核体比例无明显影响。

单核单倍体的担孢子是有性生殖过程中减数分裂的自然产物, 这一过程没有人为因素的介入, 4 种不同交配型担孢子的比例会发生显著的偏离, 实际出现的亲本型孢子数量多于重组型孢子数量现象, 重组型担孢子间配对成的双核体出菇较为困难, 而由亲本型担孢子之间配对组成的双核体出菇正常, 表明对后代担孢子比例的影响, 除 B 交配型因子起主要作用, 与交配型因子 B 结合的 A 因子状态可能对后代担孢子的比例亦有影响, 即是说孢子单核体的 4 种交配型不呈预期的 1 : 1 : 1 : 1 之比这一现象可能与亲本交配型因子的异质状态有关, 至于具体情况及如何影响有待于进一步研究。

在正反亲本结实试验中对重组型双核体担孢子进

行交配型分析时, 笔者还发现了一个有趣的现象: 经镜检确证为不具锁状联合的担孢子在配对中出现了可同时与 2 种交配型、3 种交配型、甚至可与 4 种交配型的单核体发生具明显锁状联合的亲性和反应, 产生这一现象的原因可能与减数分裂过程中染色体之间的交换重组时遗传物质发生突变, 或者是由交配型因子不同亚基重组而产生的次级重组有关, 这是不是导致香菇交配型因子偏分离现象的原因之一, 有待进一步的探讨。

4 结论

本研究中, 笔者采用较大的样本对栽培和野生香菇菌株进行了较为系统的担孢子 4 种交配型比例的研究, 确证香菇担孢子中 4 种交配型的实得比例与理论比例普遍存在偏分离现象, χ^2 测验的结果表明, 担孢子 4 种交配型实际比例与预期比例偏离的菌株有 8 个, 担孢子 4 种交配型比例不发生偏离但亲本型担孢子和重组型担孢子间的比例发生偏离的菌株有 3 个, 占供试菌株总数的 64.71%; 就实得比例与理论比例相偏离的程度而言, 栽培菌株比野生菌株严重; 担孢子 4 种交配型中, 亲本型单核体数目总是多于重组型单核体数目, 大多数香菇菌株中造成 4 种担孢子比例偏分离的原因均是由于亲本型担孢子和重组型担孢子的比例偏离而产生的, 同一菌株的 4 种担孢子中, 两种亲本型担孢子之间以及两种重组型担孢子之间的比例基本平衡。担孢子的 4 种交配型不呈预期的 1 : 1 : 1 : 1 之比这一现象可能与亲本交配型因子的异质状态有关。

References

- [1] Kernuiss R M, Dacosta E W. Monokaryotization of culture of *Lenzites trabea* (Pers.) Fr. and other wood-destroying basidiomycetes by chemical agents. *Annual Botany*, 1963, 27: 653-669.
- [2] Lyttle T W. Segregation distorters. *Annual Review of Genetics*, 1991, 25(4): 511-557.
- [3] Arita I. Cytological studies on *Pholiota*. *Report of Tottori Mycology Institute*, 1979, 7: 1-67.
- [4] Bakkeren G, Kronstad J W. Conservation of the B mating-type gene complex among bipolar and tetrapolar fungi. *The Plant Cell*, 1993, 5(1): 123-136.
- [5] Zhao J, Chang S T. Monokaryotization by protoplasting heterothallic species of edible mushroom. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 1993, 9(5): 538-543.

- [6] 潘迎捷, 伯海英, 沈宗英. 香菇单核原生质体制备和再生菌丝交配型测定. 上海农业学报, 1993, 9(3): 11-14.
Pan Y J, Bo H Y, Shen Z Y. Preparation and mating type analysis of protoplast monokaryons in *Lentinula edodes*. *Acta Agriculturae Shanghai*, 1993, 9(3): 11-14. (in Chinese)
- [7] 康亚男, 钟月金, 练明忠, 蔡义进, 陆勇军, 张树庭, 尤美莲. 中国香菇交配型和基因型的分析. 真菌学报, 1992, 11(11): 314-323.
Kang Y N, Zhong Y J, Lian M Z, Cai Y J, Lu Y J, Zhang S T, You M L. Analysis of mating types and genotypes of *Lentinus edodes* in China. *Acta Mycologica Sinica*, 1992, 11 (4): 314-323. (in Chinese)
- [8] Lin F C, Wang Z W, Yang X M. Cultivation of the black oak mushroom *Lentinula edodes* in China. In: van Grienssen L J L D, eds. *Science and Cultivation of Edible Fungi*. Rotterdam: Balkema Publishers, 2000: 955-958.
- [9] 林芳灿, 汪中文, 孙 勇, 蔡亚君. 中国香菇自然群体的交配型因子分析. 菌物系统, 2003, 22(2): 235-240.
Lin F C, Wang Z W, Sun Y, Cai Y J. Analysis of the mating type factors in natural population of *Lentinula edodes* in China. *Mycosystema*, 2003, 22(2): 235-240. (in Chinese)
- [10] Raper J R, Baxter M G, Middleton R B. The genetic structure of the incompatibility factors in *Schizophyllum commune*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 1958, 44: 889-900.
- [11] Kawabata H, Magae Y, Sasaki T. Mating type analysis of monokaryons regenerated from protoplasts of *Flammulina velutipes*. *Trans Mycology Society of Japan*, 1992, 33(2): 243-247.
- [12] Kay E, Vilgalys R. Spatial distribution and genetic relationships among individuals in a natural population of the oyster mushroom *Pleurotus ostreatus*. *Mycologia*, 1992, 84: 173-182.
- [13] Larraya L M, Perez G, Iribarren I, Blanco J A, Alfonso M, Pisabarro A G, Ramirez L. Relationships between monokaryotic growth rate and mating type in the edible basidiomycete *Pleurotus ostreatus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, 67(8): 3385-3390.
- [14] Wu C S, Huang Y D, Bian Y B. RAPD/BSA analysis of mating type of monokaryons in *Auricularia auricular*. *Journal of Huzhong Agricultural University*, 2004, 23(1): 131-134.
- [15] 张 红, 曹 晖, 潘迎捷, 曹娟云. 黑木耳交配型的研究. 菌物系统, 2002, 21(4): 559-564.
Zhang H, Chao H, Pan Y J, Chao J Y. Study on mating type in *Auricularia auricular*. *Mycosystema*, 2002, 21(4): 559-564. (in Chinese)
- [16] 季 哲, 李玉祥, 薛淑玉. 黄伞的交配型性状研究. 菌物学报, 2004, 23(1): 38-42.
Ji Z, Li Y X, Xue S Y. Mating system of *Pholiota adiposa*. *Mycosystema*, 2004, 23(1): 38-42. (in Chinese)
- [17] 林芳灿, 张树庭. 中国香菇栽培菌株不亲和因子的分析. 华中农业大学学报, 1995, 14(5): 459-466.
Lin F C, Zhang S T. Analysis of incompatibility factors in cultivated strains of *Lentinula edodes* in China. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 1995, 14(5): 459-466. (in Chinese)
- [18] 张树庭, 林芳灿. 蕈菌遗传与育种. 北京: 中国农业出版社, 1997: 1-181.
Zhang S T, Lin F C. *Genetics and Breeding of Mushroom*. Beijing: Chinese Agriculture Press, 1997: 1-181. (in Chinese)
- [19] 林芳灿, 汪中文, 熊再明, 代江红, 闵家顺. OWE-SOJ 技术及核迁移试验在香菇交配型因子鉴定中的应用. 华中农业大学学报, 2000, 19(6): 573-576.
Lin F C, Wang Z W, Xiong Z M, Dai J H, Min J S. Application of OWE- SOJ technique and nuclear migration test in the determination of mating type factors in *Lentinula edodes*. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2000, 19(6): 573-576. (in Chinese)
- [20] Raper C A. B mating-type genes influence survival of nuclei separated from heterokaryons of *Schizophyllum*. *Experimental Mycology*, 1985, 9: 149-160.
- [21] Judelson H S, Spielman L J, Shattock R C. Genetic mapping and non-Mendelian segregation of mating type loci in the Oomycete. *Phytophthora infestans*. *Genetics*, 1995, 141(3): 503-512.
- [22] Judelson H S. Genetic and physical variability at the mating type locus of the Oomycete. *Phytophthora infestans*. *Genetics*, 1996, 144(6): 1005-1013.
- [23] 程水明, 林芳灿. B 因子对香菇交配型因子分离比的影响. 遗传学报, 2005, 32(12): 1301 -1304.
Cheng S M, Lin F C. Influence of B mating-type factor on asymmetric recovery of nuclear types from dikaryons in *Lentinula edodes*. *Acta Genetica Sinica*, 2005, 32(12): 1301-1304. (in Chinese)

(责任编辑 曲来娥)