

2016 VOL.30 NO. 12

核农学报

JOURNAL OF NUCLEAR AGRICULTURAL SCIENCES

主办：中国原子能农学会

中国农业科学院农产品加工研究所

(前中国农业科学院原子能利用研究所)

中文核心期刊

中国科技论文统计源期刊

中国科学引文数据库统计期刊

RCCSE 中国核心学术期刊A级

中国农业核心期刊

985高校、国家级科研机构职称评审单位认定的一级学报

2014年度核心影响因子在34种综合类农学核心期刊中位列第4

目 次

植物诱变育种 · 农业生物技术

- 2289 浙贝母 *HMGR* 基因保守区序列的克隆及生物信息学分析 ... 冯亚斌 俞信光 庄欣晨 王忠华
- 2295 大粒型水稻材料粒型性状的 QTL 定位
..... 汪欲鹏 王根发 武志峰 王智权 石庆华 潘晓华 吴自明
- 2304 水稻干尖线虫海藻糖酶 *Ab-tre-1* 基因克隆与逆境条件下的表达分析
..... 陈 曦 冯 辉 束兆林 姚克兵 魏利辉
- 2312 草菇 V23 子实体耐低温性能改良的初步研究 祝子坪 李 娜 唐雪明
- 2318 不结球白菜抽薹开花性状的主基因 + 多基因遗传分析
..... 李晓锋 朱红芳 朱玉英 侯瑞贤 翟 文
- 2326 禾本科植物富甲硫氨酸蛋白基因的克隆及其进化分析 陈宏伟 饶力群 邱业先
- 2336 唐古特大黄 SRAP 反应体系优化及引物筛选 王爱兰 李维卫 李 慧 聂臻臻
- 2343 小麦花药培养的研究和应用 王 炜 陈 琛 欧巧明 叶春雷 罗俊杰

农产品辐照研究 · 食品科学

- 2355 紫菜多糖抗氧化活性及体外免疫调节作用研究 ... 刘 亮 钟云凯 曹少谦 戚向阳 罗 彤
- 2363 不同干燥方法对板栗品质的影响 张 乐 王赵改 杨 慧 王晓敏 史冠莹
- 2373 秀丽槭叶总黄酮的提取及其抗氧化能力研究 林 立 林乐静 毛阳正 祝志勇 付 涛
- 2382 超声波 - 内部沸腾法提取杏鲍菇多糖的工艺优化
..... 赖谱富 陈君琛 杨艺龙 翁敏劼 李怡彬 沈恒胜

- 2391 红叶李花中总黄酮提取工艺及抑制 α -葡萄糖苷酶活性研究 卫 强 徐 飞
- 2402 苹果皮渣固态发酵生产菌体蛋白饲料工艺优化及产物品质分析 刘倩男 哈益明 靳 婧
- 2411 烤烟打顶后喷施外源激素对中部烟叶品质的互作效应 王 林 朱金峰 许自成

同 位 素 示 踪 · 资 源 环 境 · 动 植 物 生 理

- 2418 莎草诱导土壤有机碳的激发效应 田耀武 王 宁 刘 晶
- 2425 川北烟区土壤有效磷空间变异特征及主控因素
..... 王永豪 王昌全 李启权 李 斌 何玉婷 金明清 陈 林 陈玉蓝
- 2434 干旱胁迫下枸溶性钾肥配施对烤烟土壤理化性质、微生物数量及根系生长的影响
..... 李 鑫 周冀衡 贺丹锋 张纪利 陈 峰
- 2441 施氮和接种根瘤菌对红壤旱地花生生长及氮素累积的影响
..... 刘 佳 张 杰 秦文婧 谢 杰 王芳东 项兴佳 刘光荣 徐昌旭
- 2451 外源 NO 对 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 胁迫下番茄幼苗 PSII 功能及光能分配利用的影响
..... 孙德智 韩晓日 彭 靖 范 富 张庆国
- 2460 外源硝酸钙对水培生菜生长及矿质元素吸收的影响
..... 何 鑫 张存政 刘贤金 卢海燕 梁 颖
- 2467 基于黄金分割法的双季稻合理密植研究
..... 谢小兵 蒋 鹏 黄 敏 曹放波 周雪峰 张瑞春 陈佳娜 伍丹丹 邹应斌

《核农学报》2016 年总目次

版权声明

本刊已许可中国学术期刊(光盘版)电子杂志社在中国知网及其系列数据库产品中以数字化方式复制、汇编、发行、信息网络传播本刊全文。作者向本刊提交文章发表的行为即视为同意上述声明。

文章编号:1000-8551(2016)12-2312-06

草菇 V23 子实体耐低温性能改良的初步研究

祝子坪¹ 李娜¹ 唐雪明²¹ 浙江台州学院生命科学院/浙江省植物进化生态学与保护重点实验室,浙江台州 318000;² 上海市农业科学院生物技术研究所,上海 201106)

摘要:为了改良草菇 V23 子实体耐低温储藏性能,对其原生质体分别进行电子束诱变和⁶⁰Co- γ 射线诱变,用筛选出的耐低温突变体进行基因组重排。经过3轮基因组重排成功选育出1株能正常出菇的菌株 VF;VF 遗传稳定,其子实体在 10℃ 条件下储藏期为 20 h,比原始菌株 V23 储存期延长了 25%。由此可见,用基因组重排技术提高草菇的耐低温性能是可行的。本研究结果为选育对环境耐受的食用菌菌株提供了新的思路。

关键词:草菇;基因组重排技术;原生质体;耐低温菌株

DOI:10.11869/j.issn.1000-8551.2016.12.2312

草菇 [*Vohariella volvacea* (Bull. ex Fr.) Sing.] 又称中国菇,是一种喜湿、喜温的草腐真菌,栽培区域广泛^[1]。草菇鲜食口感较好,以鲜销为主,但常温下其子实体生理代谢活动旺盛,极易老化^[2]。采收的草菇子实体急需低温储存。然而在 5~10℃ 低温条件下,草菇子实体会变软、自溶液化,以致腐化变质而丧失食用价值,所以,子实体储存问题是草菇生产的关键制约因素^[3]。为了解决草菇子实体储藏问题,吴国虹等^[4]研究了不同包装方式对 1-MCP 处理草菇的保鲜效应,发现打孔 PE 膜结合托盘包装的贮藏效果较好;叶蕙等^[5]研究了 γ 辐照对草菇保鲜及其生理机制的影响,结果表明,在一定的范围内,辐照抑制了膜脂过氧化过程,保持了膜结构的完整性,因而延缓了草菇的衰老进程,延长了贮藏保鲜期。魏要武等^[6]和赵妍等^[7]从草菇储藏生理方面研究了储藏过程中酶活性的变化,为储藏条件研究奠定了基础;林锋等^[8]对草菇育种方法及相关分子标记研究进展进行了综述,指出草菇遗传育种研究进展缓慢,应该引进先进的技术方法。

草菇生活史复杂,且菌丝间无锁状联合,杂种选择缺乏遗传标记,难以进行常规育种^[9-10]。使用诱变及转基因方法也未能选育出可用于生产的耐低温理想菌株,草菇不耐低温问题仍然是食用菌界一个难

题^[11-15]。基因组重排 (genome shuffling) 技术是近几年发展起来的微生物育种方法,该技术通过定向进化技术使菌株的基因组得到随机重排而达到选育目的,具有不需要事先知道供试微生物的遗传背景也可以对其进行遗传育种的突出优点,成为一种极其高效的微生物育种方法^[16]。2002 年, Zhang 等^[17]首次用基因组重排技术提高费氏链霉菌合成泰乐星的能力,取得了明显的成效。此后,研究者又在多种微生物育种上取得了较好的效果^[18-22]。

目前,对草菇遗传背景还缺乏了解,且所筛选到的耐低温草菇菌株多为通过诱变选育得到,但再继续采用常规诱变育种手段则难以获得明显的效果,因此草菇育种应该探索先进的方法。genome shuffling 技术为草菇耐低温菌株的选育提供了先进可行的途径,本研究用 genome shuffling 技术选育草菇耐低温菌株,以期提高草菇子实体耐低温能力,解决草菇子实体低温储藏难题。

1 材料与方法

1.1 材料

草菇 V23, 上海农业科学院食用菌研究所提供;溶

收稿日期:2015-06-19 接受日期:2015-11-10

基金项目:国家自然科学基金青年基金(31300047)

作者简介:祝子坪,男,讲师,主要从事食品微生物研究。E-mail: zhuzp123@sohu.com

通讯作者:同第一作者。

壁酶 (lywallzyme), 购自广东微生物研究所; 葡萄糖、氯化钙、PEG6000 等试剂均为分析纯, 购自上海国药试剂公司。

1.2 培养基

PDA 液体培养基: 200 g 马铃薯沸水中煮 15 min, 8 层纱布过滤, 滤液中加入 20 g 葡萄糖, 补加蒸馏水至 1 000 mL, pH 自然。PDA 固体培养基: 向上述 PDA 液体培养基中加入 1% 的琼脂粉后灭菌。PDA 再生培养基: PDA 液体培养基中加渗透压稳定剂, 使其浓度为 $0.6 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 再加 1% 的琼脂粉。

1.3 原生质体诱变及变异菌株筛选

草菇 V23 原生质体制备和再生方法参考文献 [23] 进行。离心制备原生质体, 加渗透压稳定剂调整浓度为 1.0×10^7 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$, 取 1 mL 置于 2.5 mL PE 离心管中密封, 采用上海市农业科学院高能电子直线加速器及 15 万居里的钴源辐照装置进行诱变。 $^{60}\text{Co} - \gamma$ 诱变剂量率为 $10 \text{ Gy} \cdot \text{min}^{-1}$ 。高能电子直线加速器 (日本 IHI 公司), 功率为 10 KW, 每秒能发射 10 Mev 能量。诱变的草菇原生质体再生后, 放置 $0 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$ 条件下处理 24 h, 然后在 $32 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$ 条件下培养, 4 d 后选取未冻死且复苏生长较快的菌株接种于 PDA 平板上, 选菌丝较密、生长健壮的菌株为初筛变异菌株。将初筛变异菌株转接 4 代, 每代都进行耐低温试验 ($0 \text{ }^\circ\text{C}$, 24 h), 到第 4 代还保持耐低温性且生长速度、菌落外观形态、颜色均无明显变化的菌株为最终筛选出的变异菌株。

1.4 原生质体灭活

合适的灭活条件为草菇 V23 变异菌株的原生质体致死率刚好为 100% 的处理条件。热灭活: 将变异菌株的原生质体悬液移入无菌试管中, 置于 $50 \text{ }^\circ\text{C}$ 恒温水浴中, 保温处理 3 min; 紫外线灭活: 将变异菌株的原生质体悬液移入直径为 6 cm 的无菌平皿中, 置于已预热稳定的 30 W 紫外灯下, 垂直距离为 30 cm, 照射 105 s。

1.5 原生质体融合条件优化

将 V23 原生质体分为 2 份, 一份用紫外线灭活, 一份用热灭活。从 2 份中分别取浓度为 1.0×10^6 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ 灭活原生质体悬液各 1.0 mL, 混合, $3\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 收集原生质体, 去除上清液后将原生质体悬浮于 0.2 mL 渗透压稳定剂中, 然后加入一定浓度、 $32 \text{ }^\circ\text{C}$ 预热的 PEG 融合剂 1.8 mL, 使稀释后的 PEG 终浓度分别为 25%、30%、35%、40%、45%, $32 \text{ }^\circ\text{C}$ 水浴保温 60 s 后加入 5 mL 渗透压稳定剂终止融合, 并离心洗涤, 去除融合剂。洗涤后的原生质体重新悬浮于渗透压稳定剂中, 涂布于 PDA 再生平板再生培

养。在较优的 PEG 浓度下进行融合剂 pH 优化试验, pH 值分别为 6.5、7、7.5、8、8.5、9。PEG 融合剂用渗透压稳定剂配制, 其中添加 Ca^{2+} ($0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ CaCl}_2$)。根据融合子和灭活亲本的再生情况计算融合率, 原生质体融合率按下式计算 [24]:

$$a = [(b-c)/d] \times 100\% \quad (1)$$

式中, a 表示原生质体融合率; b 表示融合再生平板的菌落数; c 表示灭活亲本再生平板的菌落数; d 表示亲本再生平板的菌落数 (供融合的双方原生质体较少方)。

1.6 基因组重排

所有变异菌株的原生质体等量混合后分成相等的 2 份, 一份进行热灭活, 另一份进行紫外线灭活。将 2 份灭活的原生质体混合, 在融合剂作用下随机融合, 再生平板培养基再生, $32 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$ 恒温培养 3~4 d。收集全部再生的融合菌株接种于 PDA 培养基上, $32 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$ 恒温培养 1 d, 然后置于 $0 \text{ }^\circ\text{C}$ 下处理 28 h, 再置于 $32 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$ 恒温培养, 仍然能生长的菌株为 F_1 重排菌株。将 F_1 重排菌株连续转接培养 5 代, 每代都进行低温处理 ($0 \text{ }^\circ\text{C}$, 28 h), 到第 5 代还保持耐低温性且生长速度、菌落外观形态、颜色均无明显变化的菌株为遗传性稳定的 F_1 基因组重排菌株。之后, 将 F_1 重排菌株全部收集, 制备原生质体, 并按同样方法进行第 2 轮融合、再生、 $0 \text{ }^\circ\text{C}$ 条件下处理 32 h, 转接培养, 遗传稳定性测定, 所得菌株即为第 2 轮耐低温融合子, 即 F_2 重排菌株。将 F_2 重排菌株全部收集, 制备原生质体, 并按同样方法进行第 3 轮融合、再生、 $0 \text{ }^\circ\text{C}$ 条件下处理 36 h, 转接培养, 遗传稳定性测定, 所得菌株即为第 3 轮耐低温融合子, 即 F_3 重排菌株。

1.7 重排菌株子实体耐低温测定

对筛选出的基因组重排菌株进行出菇试验, 能正常出菇的菌株采收子实体, 随机选 10 个子实体放在保鲜袋中于 $10 \text{ }^\circ\text{C}$ 条件下储藏 [25], 每间隔 2 h 用 HV-10 型维氏硬度计 (瑞士 PROCEQ 公司) 测定子实体硬度、质量, 计算平均值; 并切开观察切面有无水浸现象。当子实体变软、表面出水、切面出现水浸现象时, 表明草菇已失去商品性。

1.8 RAPD 法检测变异菌株

采用 CTAB 法 [26] 提取草菇基因组 DNA, 采用核酸蛋白测定仪 (美国 Quawell 公司) 测定 DNA 浓度, 1.3% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 质量。从常用随机引物中挑选扩增效果好、多态性高、稳定较强的引物 GAAACGGGTG 对样品进行扩增。反应体系总体积为 15 μL , 包括 1.5 μL $10 \times \text{Buffer}$, 1.0 μL $2.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ dNTPs, 1.5 μL $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 引物, 90 ng 模板 DNA, 0.5

子实体局部液化出现在储藏 20 h 时,比 V23 储藏期延长了 4 h。由图 3 可知,在低温储藏时草菇子实体硬度和质量都会下降,这可能是由于低温胁迫造成草菇子实体细胞膜损伤所致,因此硬度和质量变化能反映草

菇子实体耐低温胁迫能力。VF 菌株硬度和质量下降的幅度明显比 V23 小,可见其耐低温胁迫能力较 V23 有所提高。

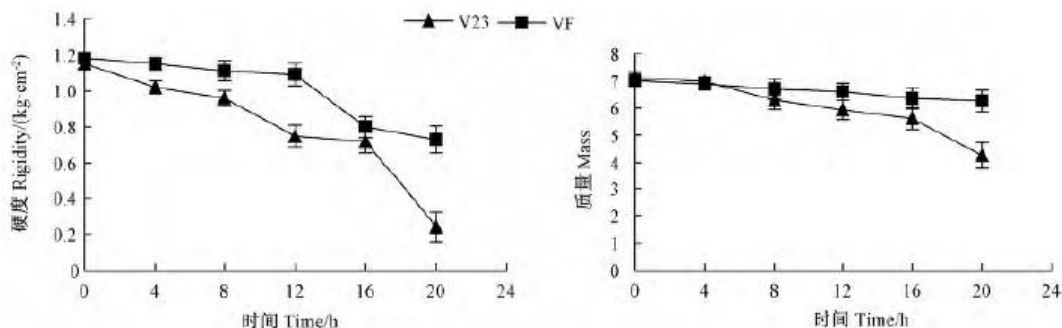


图 3 子实体硬度和质量随储藏时间的变化

Fig. 3 The change of the rigidity and the mass of the fruiting body with the storage time

2.5 重排菌株鉴定

用所选引物分别对 V23 和 VF 进行 PCR 扩增。由图 4 可知, VF 扩增条带和 V23 扩增条带存在明显差异, VF 与 V23 相比扩增出 2 条特异性带,这 2 条带之中 1 条在 2 000 bp 附近, 1 条在 1 500 bp 附近。表明菌株 VF 的基因组有别于原来的亲本株 V23。

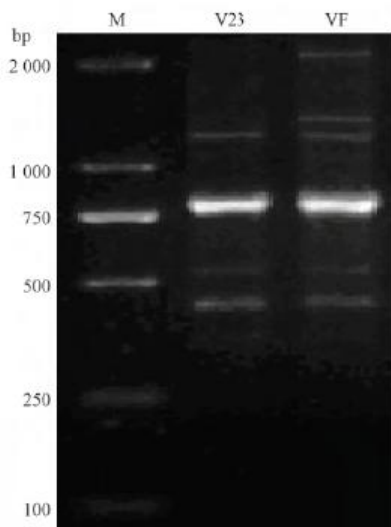


图 4 RAPD 电泳图谱

Fig. 4 RAPD profiles of the shuffled and parental strains

3 讨论

低温可以抑制果蔬呼吸代谢,延长储藏期。但是草菇的子实体却在低温下自溶液化,很快丧失食用价值。孙晓红等^[29]研究发现草菇在低温诱导下有多基

因表达,推测草菇耐低温表型由多个微小基因决定,属于复杂的数量性状遗传。由于草菇耐低温性状涉及的基因数量多,每个基因对表型的影响比较小,因此传统的育种方法很难大幅度提高草菇菌株的耐低温性,这给耐低温菌株的选育带来了困难,因此至今尚未选育出生产上实用的草菇耐低温菌种,需要寻求新的方法选育草菇耐低温菌种。

本试验出发材料为草菇的菌丝体,亲本优良性状相对稳定且容易培养,去除细胞壁的原生质体对外界环境十分敏感,经诱变剂处理后易发生突变,容易获得突变株^[30]。每种诱变剂都有自身特有的诱变机理,⁶⁰Co- γ 射线可诱导 DNA 的甲基化而使基因发生变异,电子束可使 DNA 双链断裂而产生变异^[31-33]。在诱变剂量固定时, DNA 的损伤程度和损伤位点具有相对的稳定性,因此基因突变位点具有相对稳定性。本研究采用 2 种不同的诱变方式,具有较宽的变异谱,尽可能使草菇耐低温相关的多基因发生突变,然后用 genome shuffling 技术使耐低温突变基因进行高度集中,选育出的菌株比出发菌株耐低温性明显提高,为今后草菇菌株性状的进一步改良提供了思路。

4 结论

以草菇菌株 V23 为材料,通过酶解菌丝方法制备原生质体。用 600 Gy 电子束辐照剂量诱变原生质体,筛选出 3 株耐低温变异菌株;用 750 Gy ⁶⁰Co- γ 射线辐照诱变原生质体,筛选出 4 株耐低温变异菌株,将 2 次筛选出的变异菌株组建成突变菌株库。在 PEG 浓

度为40%、pH值为7.5的条件下对突变菌株库进行3轮随机基因组重排,最终筛选出8株耐低温且遗传稳定的重排菌株。其中一株VF能正常出菇,其子实体在10℃条件下储藏期为20h,比原始菌株V23储存期延长了4h。由此可见,用基因组重排技术提高草菇的耐低温性能是有效可行的。

参考文献:

- [1] Chang S T. Mushroom biology and mushroom products [M]. Hong Kong: The Chinese University Press, 1993: 3-17
- [2] 傅俊生. 草菇遗传规律研究 [D]. 福州: 福建农林大学, 2010
- [3] 杨新美. 中国食用菌栽培学 [M]. 北京: 农业出版社, 1988: 408-418
- [4] 吴国虹, 谢宝贵, 江玉姬, 肖开前, 王德娜, 彭超, 苏雅荣. 不同包装方式对1-MCP处理草菇的保鲜效应 [J]. 食用菌学报, 2014, 21(3): 60-65
- [5] 叶蕙, 陈建勋, 余让才, 陈巧玲, 刘伟. γ 辐照对草菇保鲜及其生理机制的研究 [J]. 核农学报, 2000, 14(1): 24-28
- [6] 魏要武, 陈东梅, 杨水莲, 吕毓嵩, 郑锦荣, 刘英, 袁菁艺, 莫美华. 三种食用菌贮藏过程中抗氧化酶活力的变化研究 [J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(4): 1363-1368
- [7] 赵妍, 马丹丹, 姜威, 颜素雅, 陈明杰. 草菇谷胱甘肽还原酶基因受低温影响的表达研究 [J]. 生物学杂志, 2015, 32(1): 44-47
- [8] 林锋, 李国贤, 赵妍, 汪虹, 陈明杰. 草菇育种方法及相关分子标记研究进展 [J]. 热带作物学报, 2014, 35(3): 609-615
- [9] Chang S T. The biology and cultivation of edible fungi [M]. New York: Academic Press, 1978: 573-605
- [10] 谢宝贵, 黄志龙, 江玉姬. 草菇杂交研究初报 [J]. 食用菌学报, 1997, 4(2): 5-10
- [11] 韩业君, 曹晖, 陈明杰, 潘迎捷. 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
- [12] 何建华, 蒋玮, 吕贝贝, 李鹏, 武国干, 王金斌, 祝子坪, 吴潇, 唐雪明. 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
- [13] Liu Z, Zhang K, Lin J F, Guo L Q. Breeding cold tolerance strain by chemical mutagenesis in *Volvariella volvacea* [J]. Scientia Horticulturae, 2011, 130(1): 18-24
- [14] 郭丽琼, 林俊芳, 熊盛, 陈守才. 抗冷冻蛋白基因遗传转化草菇的研究 [J]. 微生物学报, 2005, 45(1): 39-43
- [15] 刘学铭, 廖森泰, 陈智毅. 草菇的化学特性与药理作用及保鲜与加工研究进展 [J]. 食品科学, 2011, 32(1): 260-264
- [16] Powell K A, Ramer S W, Cardayre S B, Stemmer W P, Tobin M B, Longchamp P F, Huisman G W. Directed evolution and biocatalysis [J]. Angewandte Chemie-international Edition, 2001, 40(21): 3948-3959
- [17] Zhang Y X, Perry K, Vinci V A, Powell K, Stemmer W P C, Cardayre S B. Genome shuffling leads to rapid phenotypic improvement in bacteria [J]. Nature, 2002, 415: 644-646
- [18] Zhao J F, Li Y H, Zhang C, Yao Z Y, Zhang L, Bie X M, Lu F X, Lu Z X. Genome shuffling of *Bacillus amyloliquefaciens* for improving antimicrobial lipopeptide production and an analysis of relative gene expression using FQ RT-PCR [J]. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 2012, 39: 889-896
- [19] Gao X F, Zhao H, Zhang G H, He K Z, Jin Y L. Genome shuffling of clostridium acetobutylicum CICC 8012 for improved production of acetone-butanol-ethanol (ABE) [J]. Current Microbiology, 2012, 65(2): 128-132
- [20] Lv X A, Jin Y Y, Li Y D, Zhang H, Liang X L. Genome shuffling of *Streptomyces viridochromogenes* for improved production of avilamycin [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2013, 97: 641-648
- [21] Cao X H, Song Q, Wang C L, Hou L H. Genome shuffling of *Hansenula anomala* to improve flavour formation of soy sauce [J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2012, 28: 1857-1862
- [22] Ge J P, Sun H B, Song G, Ling H Z, Ping W X. A genome shuffling-generated *Saccharomyces cerevisiae* isolate that ferments xylose and glucose to produce high levels of ethanol [J]. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 2012, 39: 777-787
- [23] 祝子坪, 马海乐. 桑黄菌原生质体的分离与再生研究 [J]. 中国中药杂志, 2007, 32(21): 2232-2235
- [24] 诸葛健, 王正祥. 工业微生物实验技术手册 [M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1994: 476
- [25] 王富民, 宫秀荣, 高君辉, 刘日新. 草菇采后保鲜研究 [J]. 食用菌, 1990, (4): 35-37
- [26] 张红, 秦莲花, 谭琦, 潘迎捷. 用改进的CTAB法提取香菇基因组DNA [J]. 上海大学学报: 自然科学版, 2006, 12(5): 547-550
- [27] Wang P, Liu Y, Yin Y G, Jin H J, Wang S X, Xu F, Zhao S, Geng X L. Diversity of microorganisms isolated from the soil sample surround *Chroogomphus rutilus* in the Beijing region [J]. International Journal of Biological Sciences, 2011, 7(2): 209-220
- [28] 施巧琴, 吴松刚. 工艺微生物育种学 [M]. 北京: 科学出版社, 2003: 261-268
- [29] 孙晓红, 冯爱萍, 陈明杰, 潘迎捷. 草菇冷诱导相关基因的克隆及序列分析 [J]. 菌物学报, 2006, 25(1): 88-93
- [30] 张志光. 真菌原生质体技术 [M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 2003: 139-141
- [31] 杨震, 郭会君, 赵林妹, 古佳玉, 谢永盾, 刘录祥. ^{60}Co - γ 射线诱导的小麦基因组DNA的甲基化变异 [J]. 核农学报, 2015, 29(1): 1-9
- [32] 熊冬梅, 曾璐, 熊兴耀, 田开忠, 刘阳, 石琢, 苏小军. 基于 ^{60}Co - γ 射线辐照的木糖乙醇发酵差异性突变菌株筛选及其发酵特性 [J]. 核农学报, 2015, 29(2): 290-295
- [33] 朱虹, 许竟早, 李世强, 孙晓宇, 姚思德, 汪世龙. 高能脉冲电子束对生物大分子的辐射损伤 [J]. 中国科学B辑: 化学, 2008, 38(1): 79-84

Preliminary Study on Improving the Tolerance of *Volvariella volvacea* Strain V23 Substance to Low-temperature

ZHU Ziping¹ LI Na¹ TANG Xueming²

(¹ Zhejiang Provincial Key Laboratory of Plant Evolutionary Ecology and Conservation/School of Life Science, Taizhou University, Taizhou, Zhejiang 318000; ² Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 201106)

Abstract: To improve the performance of *Volvariella volvacea* strain V23 during low-temperature storage, The study performed mutagenesis on the protoplasts of V23 via electronic beam and ⁶⁰Co - γ ray radiation, respectively. Mutants with enhanced tolerance to low temperature were selected after three rounds of genome shuffling. One strain VF displaying normal fruiting and stable heredity was successfully obtained. The fruitbody of strain VF could be successfully stored for 20h at 10°C, which was 25% longer than that of the original strain V23. The results proved that it is feasible to improve the low-temperature tolerance of *Volvariella volvacea* V23 using Genome shuffling technique. This work provides novel insights for cultivating edible fungi with enhanced performance under unfavorable environments.

Keywords: *Volvariella volvacea*, genome shuffling, protoplast, low temperature resistant strain



ISSN 1000-8551



9 771000 855167