



何晓兰

四川省食用菌研究所副研究员。现任中国菌物学会食用真菌专业委员会副主任委员、四川省微生物学会副秘书长等职；《菌物学报》《食用菌学报》编委。主要从事大型真菌系统分类、食用菌资源发掘与利用研究。

金针菇分子生物学和功能基因研究进展

刘询, 刘天海, 王波, 贾定洪, 彭卫红, 何晓兰*

四川省食用菌研究所 国家农业微生物新都观测实验站 食药菌育种与栽培国家地方联合工程实验室, 四川成都 610066

摘 要: 金针菇是重要的食药菌, 具有很高的经济价值。随着金针菇全基因组序列的公布、多组学分析、转基因技术、基因编辑技术的发展, 越来越多的研究者开始关注金针菇重要性状(如生长速度、菌柄长度、生物活性物质含量等)相关的分子调控机制以及关键基因的发掘。本文综述了分子生物学技术在金针菇研究中的应用并分析了不同技术的利弊; 同时, 系统介绍了金针菇菌丝和子实体生长发育、温度应答、生物活性物质代谢、蓝光响应等重要生物学过程中调控基因的最新研究进展, 并对未来金针菇分子生物学研究的方向进行了展望, 旨在为我国金针菇产业的发展提供有价值的参考。

关键词: *Flammulina filiformis*; 功能基因; 分子生物学; 分子育种

[引用本文]

刘询, 刘天海, 王波, 贾定洪, 彭卫红, 何晓兰, 2023. 金针菇分子生物学和功能基因研究进展. 菌物学报, 42(1): 130-142
Liu X, Liu TH, Wang B, Jia DH, Peng WH, He XL, 2023. Research progress of molecular biology and functional genes of *Flammulina filiformis*. Mycosystema, 42(1): 130-142

Research progress of molecular biology and functional genes of *Flammulina filiformis*

LIU Xun, LIU Tianhai, WANG Bo, JIA Dinghong, PENG Weihong, HE Xiaolan*

National Observing and Experimental Station of Agricultural Microbiology in Xindu, National-Local Joint Engineering Laboratory of Breeding and Cultivation of Edible and Medicinal Fungi, Sichuan Institute of Edible Fungi, Chengdu 610066, Sichuan, China

资助项目: 财政部和农业农村部: 国家现代农业产业技术体系资助(CARS-20); 四川省食用菌育种攻关(2021YFYZ0026)
This work was supported by the China Agriculture Research System of MOF and MARA (CARS-20) and the Edible Mushroom Breeding Project in Sichuan Province (2021YFYZ0026).

*Corresponding author. E-mail: xiaolanhe1121@aliyun.com

Received: 2022-10-21; Accepted: 2022-10-26

Abstract: *Flammulina filiformis* is an important edible and medicinal fungus with high economic value. With the publication of the whole genome sequence of *F. filiformis*, and the development of multi-omics analysis, transgenic technology, and gene editing technology, more and more researchers have focused on the molecular regulatory mechanisms related to important traits (such as growth rate, stipe length, bioactive substance content, etc.) and the exploration of key genes of the fungus. This article reviewed the applications of molecular techniques in *F. filiformis* and analyzed the advantages and disadvantages of these techniques. The recent research progress of regulatory genes in important biological processes such as growth and development, temperature response, metabolism of bioactive substances, and blue light response of *F. filiformis* were also systematically introduced, and future direction of molecular biology research in *F. filiformis* was prospected. This article aims at providing a valuable reference for the development of Chinese *F. filiformis* industry.

Keywords: *Flammulina filiformis*; functional gene; molecular biology; molecular breeding

长期以来, 亚洲东部广泛种植的金针菇被认为是 *Flammulina velutipes* 或 *F. velutipes* var. *filiformis*。但是, Wang *et al.* (2018) 基于多基因标记和形态特征比较的系统进化结果, 认为东亚的金针菇与欧洲的金针菇 *F. velutipes* 并不完全相同, 应作为一个独立的物种。因此, 中国、日本和韩国等地所有的栽培金针菇被命名为 *F. filiformis* (戴玉成和杨祝良 2018; Wang *et al.* 2018; 戴玉成等 2021)。金针菇子实体味道鲜美、营养丰富, 富含人类所必需的蛋白质、氨基酸、维生素、不饱和脂肪酸以及膳食纤维等(Cai *et al.* 2013)。除了营养物质, 金针菇还能产生对人体健康有益的生物活性化合物, 目前已在其子实体中鉴定和提取出多种生物活性成分, 包括真菌多糖、真菌免疫调节蛋白、凝集素、类黄酮、萜类、苷类和酚类化合物等, 在抗肿瘤、降血压、降胆固醇、抗氧化、减轻疲劳、延缓衰老等方面具有特定功能, 也对治疗肝脏和过敏性呼吸道疾病有一定的疗效(Rahman *et al.* 2015; Tang *et al.* 2016; Wu *et al.* 2019a; Chen *et al.* 2020)。由于金针菇具有较高的营养特性和药用价值, 在全球多个国家和地区均有种植, 其产量占世界栽培食用菌的 10% 以上, 目前已成为世界上最受欢迎、人均消费最多的食用菌品种之一(Wang *et al.* 2018; Yan *et al.* 2019)。在中国, 金针菇也是最受欢迎

的食用菌之一, 并且已经建立了稳定的栽培生产方式, 实现了大规模工厂化栽培, 年产量达到 240 万 t (李晓和李玉 2014)。目前, 中国已成为世界上最大的金针菇生产国。

金针菇栽培品种分为两大类: 黄色品种和白色品种, 其中白色金针菇因其具有出菇整齐、子实体不易褐变及耐储存等特点, 成为主要栽培品种。根据历史记载, 金针菇早在公元 9 世纪中期至 10 世纪初就在中国被人工栽培, 之后传播到日本(Sharma *et al.* 2021)。黄色品种三明 1 号是我国第一个金针菇栽培品种, 是从真菌学家黄年来先生于 1974 年在福建三明市分离的野生金针菇驯化而来(郭美英 1997)。1983 年, 日本育种家公布了以三明 1 号为亲本, 经杂交培育而成的白色金针菇品种信浓 2 号(Sharma *et al.* 2021)。随后, 郭美英从日本引种了信浓 2 号, 并将其与三明 1 号杂交, 筛选出一株高产、优质、抗病性强的杂交新品种“杂交 19 号”(郭美英 1997)。因此, 金针菇黄色栽培品种可能是由野生菌株直接驯化而来, 而白色品种则可能是从日本引种或通过野生品种间杂交而来。此后, 我国育种科学家经过多年的探索实践, 采用单孢杂交、多孢杂交及双单杂交等方式选育出了一批稳定高产的新品种(陈德明等 1991; 龙和珍 1999; 彭卫红和肖在勤 2001; 杨宗渠等 2002; 王波等 2006, 2013b;

王波 2018; 黄竹青等 2014; 刘新锐等 2014, 2018; 王瑞娟等 2023)。传统育种工作周期较长, 常用的手段包括杂交、诱变等, 这就要求大量的种质资源作为亲本, 且需要后期花费大量的时间和精力进行性状统计、优良品种的选择和鉴定等。而随着金针菇产业的发展, 培育稳定高产、品质优良、口感更好和抗逆性更强的金针菇新品种是目前亟待解决的问题。在粮食作物中已成熟应用的分子育种和基因编辑育种或许能够加快包括金针菇在内的食用菌品种遗传改良, 这也会显著缩短育种周期、减少工作量。通过分子生物学手段进行遗传改良的前提是找到性状相关的关键基因, 这就需要将金针菇功能基因组学的研究方法和成果与分子育种技术相结合, 加快金针菇品种的遗传改良和新品种创制。本文通过对金针菇基础研究中常用的分子生物学技术和已报道的关键性状相关基因进行综述, 为后续金针菇基因功能和分子机制的探究及分子育种提供参考。

1 金针菇功能基因研究方法

1.1 分子标记技术

在过去的 30 年, 分子标记技术和 QTL (数量性状基因座) 定位成为研究动物、植物和真菌复杂数量性状的强有力工具(Sharma *et al.* 2021)。常用的分子标记包括随机扩增多态性(RAPD)、限制性片段长度多态性(RFLP)、扩增片段长度多态性(AFLP)、简单重复序列(SSR)、简单重复序列间隔区多态性(ISSR)、序列相关扩增多态性(SRAP)、基于转录组测序数据开发的表达序列标签简单序列重复(EST-SSR)、碱基插入或缺失(InDel)和单核苷酸多态性(SNP)等。借助分子标记技术和合适的遗传群体材料, 科研人员已在主要农作物中发掘定位了大量与产量、品质、生物和非生物胁迫耐受性等性状相关的基因座和功能基因, 并进一步培育出多种具备优良性状的作物新品种(关淑艳等 2018; 蒋正宁等 2021; 黄艳

玲等 2022)。在金针菇的研究中, 分子标记主要用于遗传多样性研究、品种区分和鉴定、分子标记辅助育种和颜色品质性状研究等方面。贾定洪等(2011)通过 SRAP 技术初步分析了 23 个金针菇菌株的遗传多样性, 构建了受试菌株的遗传亲缘关系模型。王波等(2013a)利用 ISSR 技术分析了不同品种金针菇单核原生质体菌株之间的遗传差异。此外, 王波和鲜灵(2013)还利用 ISSR 技术对来自国内外的 114 个金针菇栽培菌株和野生菌株进行了遗传多样性分析。刘维侠等(2005)以黄色金针菇、白色金针菇以及杂交后代群体为研究材料, 利用 RAPD 技术结合 QTL 定位对 200 对引物进行筛选, 获得了 1 个与白色性状紧密连锁的 RAPD 标记。韩星等(2019)基于基因组重测序技术获得金针菇高质量的 SNP 标记, 并构建了与菌丝生长速度相关的高密度遗传连锁群, 最终获得覆盖 134 个功能基因的基因座。尽管分子标记在金针菇基因组研究方面已取得了一定的进展, 但是, 由于分子标记的开发需要花费较长的周期、成功率较低、难以实现重要性状基因的精准定位等缺陷, 限制了该技术的应用。

1.2 多组学测序在金针菇中的应用

金针菇菌丝和子实体的生长发育以及对外界环境的响应过程十分复杂, 到目前为止, 仍有大量的问题亟待解决, 如原基的形成、菌柄伸长和子实体颜色控制的机理等。随着高通量测序技术的发展和普及, 利用组学技术从分子水平对金针菇中的特定生物学问题进行探究成为一种趋势。金针菇全基因组序列被破译和公布后(Kurata *et al.* 2016; 徐伟南等 2018), 转录组、蛋白质组和代谢组也已被成功应用于金针菇关键性状调控的分子机制探究中。Wu *et al.* (2018)对冷处理的金针菇菌丝进行转录组测序, 发现钙离子信号通路、丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路、分子伴侣、细胞壁和膜系统中的功能基因与金针菇受冷诱导形成子实体的过程有关。Liu *et al.* (2017)则分析了金针菇子实体形成过程中的蛋白

质组的变化,发现与碳水化合物代谢、三羧酸循环(TCA)、MAPK 信号通路、脂肪酸生物合成等途径相关的蛋白显著上调,可为探究菌丝向子实体转变的分子调控机制提供思路。Wang *et al.* (2019)则结合转录组和代谢组数据阐述了金针菇子实体发育过程中麦角甾醇生物合成的分子机制。因此,多组学技术的发展为从分子水平阐明金针菇子实体形成和营养物质的合成机制提供了有利条件。

1.3 金针菇的遗传转化技术

随着金针菇高质量基因组测序完成以及多组学技术在金针菇中的应用,越来越多的科研人员认识到关键性状调控基因的功能研究对于金针菇分子育种的重要性,而稳定高效的遗传转化体系则是研究基因功能的关键技术。目前,已在金针菇中成功应用的转化方法包括聚乙二醇(PEG)介导转化法(Maehara *et al.* 2010)、电击转化法(Kim *et al.* 2010)、脂质体介导的转化(Lu *et al.* 2016)和农杆菌介导转化法。尽管利用前3种转化方法都能成功获得转化子,但其操作技术却十分复杂且阳性转化子检出率较低。因此,在植物和作物基因功能研究中常用农杆菌介导的遗传转化技术,因其具有操作简单、转化效率高、对受体材料要求低等优点而受到广泛的关注,并被成功应用在包括金针菇在内的多种食用菌基因功能研究中。目前,农杆菌介导的遗传转化体系已成为食用菌基因功能研究中常用的转化方法。Cho *et al.* (2006)首次报道了通过农杆菌介导的遗传转化技术对金针菇进行高效转化,以子实体菌褶组织为受体的转化效率为16%。刘建雨等(2015)以金针菇双核菌株的菌丝体碎片为转化受体,农杆菌介导的转化效率可达到40.31%,这是一个非常高的转化效率。此外,作者认为不同菌种作为转化受体会直接影响转化效率。因此,作者正在进行的一项工作就是通过根癌农杆菌介导的转化方法以多种不同品种金针菇(含白色和黄色品种)为受体进行转化,以期从中挑选出转化

效率最高且稳定遗传的转化受体,为下一步基因功能探究提供可靠的技术支持和遗传材料保障。

1.4 基因编辑技术的应用

通过对基因表达进行操控使特定性状基因过表达或沉默可以对食用菌的生长表型进行操纵,但是常用的方法引入了外源标记基因,即被认为是转基因生物,在分子育种方面还很难被社会认可。CRISPR-Cas9 基因编辑技术是一项革命性的技术,其可在基因组水平对靶基因进行编辑,从而产生基因组中不含有外源基因同时目标基因突变的材料。目前,已有一些报道成功将CRISPR-Cas9 技术应用在食用菌中。Waltz (2016)在*Nature* 期刊以新闻的形式报道了CRISPR-Cas9 技术首次在大肠杆菌双孢蘑菇中的成功应用,即1个多酚氧化酶编码基因 *PPO* 被编辑,导致双孢蘑菇褐变的酶活性显著降低,有效减缓子实体采后褐变;并且基因编辑产生的新品种由于不含有外源基因而通过了美国农业部的审查。为了将该技术应用在金针菇的分子生物学研究中,国内科研人员也进行了很多尝试。罗润等(2016)、刘建雨等(2017)、欧阳萍兰等(2018)和林金德等(2019)分别构建了金针菇基因的CRISPR-Cas9 基因编辑载体并成功获得转化子,但均未获得靶基因被编辑的突变体材料。Liu *et al.* (2022)则利用该技术成功获得乳清酸核苷单磷酸盐脱羧酶编码基因 *pyrG* 片段或碱基缺失的金针菇突变体。但是,目前国内CRISPR-Cas9 技术在食用菌中的应用报道大部分仅仅是讨论了技术的可行性,而未对影响表型或性状改良的基因进行编辑。即未对包括金针菇在内的食用菌分子育种和产业发展产生实际价值,没能解决实际生产中遇到的问题,究其原因,主要是功能明确的关键性状基因报道太少,即便有较为成熟的转化方法和基因编辑体系,也很难在实际生产中发挥其价值。尽管如此,作者目前也在进行CRISPR-Cas9 体系的构建,包括驱动sgRNA、Cas9 基因、潮霉素抗性基因表

达的启动子选择和优化(包括 U6 启动子和 *gpd* 启动子等)及其活性分析以及针对担子菌对 Cas9 基因进行密码子优化等,从而建立目标基因敲除效率高、脱靶率低的基因编辑系统,为基因编辑技术在金针菇品种选育或改良中的应用奠定基础。

2 金针菇重要性状基因的挖掘

过去的几十年,关于食用菌的研究报道大多集中在种质资源分类、传统遗传育种、栽培生理、采后保鲜方法和机制、生物活性成分的挖掘及应用等方面。但是,食用菌生长发育、产量和品质等重要性状受到复杂的遗传调控,功能基因的研究是解释遗传调控分子机制的基础(吴冰等 2015; 鲍大鹏和谢宝贵 2020)。而食用菌的功能基因研究起步较晚,功能明确的基因较少。近年来,随着多组学和现代分子生物学技术的发展,国内外专家学者在金针菇农艺性状关键基因的研究方面取得了一些进展。除了交配型基因外,还发现了与菌丝生长速度、子实体发育、代谢产物积累和响应温度变化有关的基因,这些性状直接影响金针菇的生产周期、产量、品质和活性成分等。相对于传统的金针菇育种手段,功能基因的发掘将为现代化的金针菇分子育种和设计育种提供新的策略。

2.1 交配型基因

食用菌交配型系统在物种多样性和生长发育过程中发挥重要作用,其决定了同一菌株产生的有性孢子之间部分存在可亲和性,也决定了不同菌株的有性孢子杂交可亲和性(边银丙 2022),有利于食用菌的进化。已被驯化和广泛种植的食用菌大多属于异宗配合担子菌,不同交配型的菌丝相遇并融合成双核菌丝才能正常发育,产生子实体。金针菇是典型的四极性异宗配合系统,包含两个不连锁的交配型位点: *HD* 位点(homeodomain, 编码存在同源结构域的转录因子,也被称为 A 位

点)和 *PR* 位点(pheromone, 编码信息素前体和信息素受体蛋白,也被称为 B 位点),而它们又各自包含 2 个亚单位即 *Hd- α* 、*Hd- β* 和 *PR- α* 、*PR- β* (鲍大鹏 2019)。Wang *et al.* (2016) 分析比较了 3 个金针菇单核菌株 W23、L11 和 KACC42780 的全基因组序列,发现 *Hd- α* 位点仅包含 1 个基因 *FvHD2-1*, *Hd- β* 位点则包含 2 个基因 *FvHD1-1* 和 *FvHD2-2*; 在 *PR- α* 位点发现存在 1 个信息素受体基因 *FvSTE3.1* 和 1 个信息素前体基因 *FvPp1*, 在 *PR- β* 位点包含 1 个信息素受体基因 *FvSTE3.2* 和 2 个信息素前体基因 *FvPp2*、*FvPp3*。赵琛等(2020)通过对金针菇的 142 个单孢菌株进行基因组重测序,发现了与 *PR- α* 、*PR- β* 具有相同功能的疑似亚位点 *PR- γ* 。对交配型基因的解析将有助于解释金针菇分子遗传及育种研究中遇到的问题。

2.2 菌丝和子实体发育相关基因

金针菇的生长包括营养生长和生殖生长,这是一个复杂的过程,包括菌丝生长、菌丝受冷诱导形成原基、原基分化、子实体生长、菌柄伸长和产生担孢子等环节。这些过程都是由多种基因通过复杂的分子调控机制完成的。食用菌功能基因研究起步较晚,目前相关报道较少。我国食用菌研究者在金针菇性状相关基因发掘和功能探究方面取得了一定的进展,但是更多的研究主要通过通过对基因的组织表达模式分析推测基因可能的功能。目前在金针菇中克隆了一些能够影响菌丝生长和子实体发育的关键基因,已利用转基因技术验证具体功能的基因详细信息见表 1。例如,较早从金针菇原基期特异表达基因中鉴定出的 *Fv-ada* 基因,其编码的蛋白与脊索动物和昆虫腺苷脱氨酶相关生长因子(ADGF)的氨基酸序列具有相同的保守结构域;通过 RNAi 技术将该基因沉默后,菌丝在正常培养基上的生长受到抑制(Sekiya *et al.* 2013)。类似地,张昕等(2017)利用 RNAi 技术研究真菌免疫调节蛋白编码基因

表 1 调控金针菇菌丝和子实体发育的基因列表
Table 1 A list of genes that regulate the development of mycelium and fruiting body in *Flammulina filiformis*

基因名	登录号	注释	功能	参考文献
Gene name	Accession No.	Annotation	Function	Reference
<i>Fv-ada</i>	AB715331	Adenosine deaminase-like growth factor	调控菌丝生长 Regulate the growth of mycelium	Sekiya <i>et al.</i> 2013
<i>fvhom1</i>	KM598413	HMG-box transcription factor gene	调控菌丝生长速度 Regulate the growth rate of mycelium	施乐乐等 2014 Shi <i>et al.</i> 2014
<i>Fv-JRL1</i>	KU310976	Jacalin-related lectin	调控子实体形成 Regulate the formation of fruiting body	Lu <i>et al.</i> 2016
<i>FIP-fve</i>	无 None	真菌免疫调节蛋白 Fungal immunomodulatory protein	调控菌丝生长速度 Regulate the growth rate of mycelium	张昕等 2017 Zhang <i>et al.</i> 2017
<i>Hyd9</i>	KT868841	Hydrophobin gene	调控气生菌丝密度和子实体数量 Regulate the density of aerial mycelium and the number of fruiting bodies	Tao <i>et al.</i> 2019
<i>pdd1</i>	MG264427	Primordium development defect 1 (<i>pdd1</i>) gene	调控菌丝生长和子实体发育 Regulate the growth of mycelium and the development of fruiting body	Wu <i>et al.</i> 2019b
<i>lfc1</i>	MH981942	Large fruitingbody cap 1 (<i>lfc1</i>) gene	调控子实体生长 Regulate the growth of fruiting body	Wu <i>et al.</i> 2020a
<i>Fvcpc2</i>	KY815023	Cross-pathway control protein (<i>cpc2</i>) gene	调控菌丝生长和子实体发育 Regulate the growth of mycelium and the development of fruiting body	Wu <i>et al.</i> 2020b
<i>Fvclp1</i>	MH234398	Mating-type pathway gene	调控菌丝生长和子实体发育 Regulate the growth of mycelium and the development of fruiting body	Lyu <i>et al.</i> 2021
<i>Fvhmg1</i>	KM598413	HMG-box transcription factor gene	调控子实体生长速度 Regulate the growth rate of fruiting body	Meng <i>et al.</i> 2021
<i>FfNoxA</i>	MN661156	NADPH oxidase complex component NoxA gene	调控菌柄生长速度和长度 Regulate the growth rate and length of stipe	Yan <i>et al.</i> 2022
<i>Fffmhy</i>	MG670543	Chromatin modifier protein	调控菌丝生长、菌柄生长速度 Regulate the growth rate of mycelium and stipe	Li <i>et al.</i> 2022
<i>FfMnSOD1</i>	AYG96711	CuZn superoxide dismutase 1	调控菌柄长度 Regulate the length of stipe	Yan <i>et al.</i> 2022
<i>FfMnSOD2</i>	AYG96712	CuZn superoxide dismutase 2	调控菌柄长度 Regulate the length of stipe	Yan <i>et al.</i> 2022

FIP-fve 的功能，发现 *FIP-fve* 基因沉默的金针菇菌丝的生长明显慢于野生型，初步证明该基因对金针菇菌丝体时期的生长发育具有一定调节作用。施乐乐等(2014)从金针菇中克隆了一个 HMG-box (high-mobility-group box)转录因子编码基因 *fvhom1*，并进一步通过根癌农杆菌介导的转化方法获得该基因过表达菌株，发现其菌丝生长速度相对于野生型显著变慢。对调控菌丝生长速度的关键基因发掘和分子机制研究，或许能够

为将来培育金针菇早熟品种提供理论基础。
一些在金针菇营养生长和生殖生长阶段均发挥调控功能的基因也相继被报道。Lu *et al.* (2016)发现 Jacalin 相关的凝集素编码基因 *Fv-JRL1* 在原基中表达水平最高，*Fv-JRL1*-RNAi 菌株表现为营养生长缓慢、比对照菌株 H1123 具有更少的原基数量；基因过表达菌株则表现为生长速率加快、更早形成子实体，对该基因的操纵有利于培育生长周期更短的新品种。研究发现金

金针菇 *pddl* (primordium development defect 1) 基因的表达水平随子实体发育上调, *pddl* 基因沉默的菌株菌丝生长受到抑制, 在后期几乎无法形成原基; 基因过表达不影响菌丝的生长速度同时可促进原基的形成, 其菌柄长度、子实体数量和产量均显著高于野生型菌株 F19 (Wu *et al.* 2019b)。疏水蛋白基因 *Hyd9* 沉默导致转基因菌株的气生菌丝稀疏, 平均原基和子实体数量显著低于对照菌株; *Hyd9* 过表达菌株则相反, 具有更密的气生菌丝以及显著增加的原基和子实体数量 (Tao *et al.* 2019)。Lyu *et al.* (2021) 鉴定到 1 个交配型途径上的基因 *Fvclp1*, 并获得 *Fvclp1* 基因过表达和 RANi 沉默菌株, 过表达菌株菌丝生长速度变慢, 但是其子实体产量增大; RNAi 菌株的菌丝生长速度不受影响, 但子实体形成受到抑制、数量明显减少。Li *et al.* (2022) 首次证明染色质修饰蛋白编码基因 *Ffjmy* 在金针菇菌丝生长和菌柄伸长的调控过程中发挥重要作用。*Ffjmy* 通过介导组蛋白 H3K9 位点去甲基化来增强细胞壁相关酶基因的表达, 从而调节菌柄伸长过程中的细胞壁重塑, 正调控金针菇菌柄伸长。

最近几年有少数几个仅参与调控金针菇菌柄伸长和产量的基因被报道。如 Zn(II)Cys6 型转录因子 LFC1 负调控金针菇的发育和产量, *lfc1* 基因沉默和过表达均不影响菌丝生长, 但 *lfc1* 沉默可促进子实体生长, 使培养时间缩短 2 d, 同时还显著增加了子实体长度和数量; 过表达 *lfc1* 基因不影响最终的菌柄长度, 但导致收获时间推迟 3 d, 产量也明显降低 (Wu *et al.* 2020a)。类似地, HMG-box 转录因子 *FvHmg1* 也在金针菇子实体发育过程中发挥负调控作用, *Fvhmg1*-RNAi 菌株的结实能力明显优于野生型菌株, 表现为菌柄长度显著增加, 生长周期缩短 (Meng *et al.* 2021)。此外, Wu *et al.* (2020b) 发现在不同食用菌中保守的 *cpc2* 基因正调控金针菇的发育和产量, 即 *Fvcpc2* 过表达菌株表现出产量增加、培养时

间缩短等特性, 表明 *Fvcpc2* 可作为金针菇和其他食用菌分子育种的重要候选基因。最新报道显示, NADPH 氧化酶 *FfNoxA* 和抗氧化酶 SOD 也参与金针菇菌柄伸长调节, *FfNoxA* 基因过表达菌株子实体的生长率和菌柄长度显著大于野生型菌株 Fv01, RNAi 菌株则相反; *FfMnSOD1* 和 *FfMnSOD2* 过表达品系成熟子实体的菌柄长度明显降低, *FfMnSOD1*-RNAi 和 *FfMnSOD2*-RNAi 菌株的菌柄比野生型菌株更长 (Yan *et al.* 2022)。以上已被报道功能明确的基因中, 作者认为在子实体生长发育过程中发挥负调节作用的基因如 *lfc1*、*Fvhmg1*、*FfMnSOD1* 和 *FfMnSOD2* 或许在金针菇分子育种方面具有更大的价值, 即可以利用基因编辑手段创制目标基因被敲除且表现出优良性状的新品种, 再通过遗传分离将外源抗性基因剔除, 避免传统转基因技术引入外源基因(转基因菌株)造成的不良社会影响。

此外, 还有较多研究者克隆了一些可能参与金针菇子实体发育的基因, 如 *Fv-hyd1* (Yamada *et al.* 2005)、*Fvpal* (Yun *et al.* 2015)、*Hyd1-10* (Kim *et al.* 2016)、*fvexpl1* (Huang *et al.* 2018)、*Fv-hmg* (孟丽等 2018) 和 *fvexpl2* (温蝶等 2020) 等, 它们在菌柄发育或伸长时期特异性高表达。但是它们是否在金针菇子实体发育过程中发挥调控作用还不得而知, 其具体功能或许可利用分子生物学手段进行验证。

2.3 温度胁迫应答基因

金针菇需要经历低温(13–16 °C)诱导才能形成原基, 进而发育成子实体。但是, 金针菇作为工厂化栽培成熟的食用菌, 人工制造低温环境不仅增加了资金投入, 还造成了极大的能源消耗。因此, 金针菇温度应答基因的挖掘和培育耐高温型品种十分必要。最新研究报道了 1 个异三聚体 G 蛋白 α 亚基编码基因 *FfGal1*, 该基因过表达的菌株比野生型菌株具有更强的热胁迫(30 °C)耐受性 (Du *et al.* 2022)。但是, 作者仅研究了 *FfGal1*

基因在营养生长阶段的功能,其在原基形成阶段是否也具有类似的功能仍需进一步验证。另外,还有一些基因受到低温或高温诱导表达水平上调,如 *Tps1*、*Tps2* (刘建辉等 2015)、*FvIDI* (刘建雨等 2016)、*hsp70*、*hsp90* 和 *fes1* (Liu *et al.* 2020),但是它们是否参与金针菇温度适应性调控,还需要利用分子生物学手段做进一步的验证。总体而言,金针菇热胁迫相关基因和低温应答基因的研究较少,目前还无法阐明金针菇冷诱导形成子实体的分子机制,在耐高温型品种的选育和关键基因挖掘方面仍需付出更多的努力。

2.4 次级代谢产物合成相关基因

金针菇具有很大的药用价值,这与其含有真菌多糖、氨基酸等多种生物活性成分相关。但是,目前仍无法从分子层面解释这些生物活性成分在金针菇中的合成和积累。Tian *et al.* (2022) 研究显示壳聚糖处理能够增加金针菇子实体中的赖氨酸含量,与壳聚糖诱导的野生型菌株相比, *AAT3*-RNAi 菌株的赖氨酸含量降低了约 24.87%, *AAT4*-RNAi 菌株的赖氨酸含量却增加了约 13.55%,证明氨基酸转运蛋白 AAT3 和 AAT4 参与了壳聚糖诱导金针菇赖氨酸合成过程。Liu *et al.* (2019) 发现过表达酵母氨酸脱氢酶基因 *Fvsdh* 能够促进赖氨酸的生物合成。此外,赖氨酸合成通路基因 *HCS*、*HAC1*、*HAH*、*HDH*、*AAT*、*AAR* 和 *SR* 的表达水平与赖氨酸含量成正相关关系(陶永新等 2018)。大多数的研究仅关注了金针菇生物活性成分的药用价值及在病理方面的应用,对于合成和分解代谢途径的研究不足,被报道的关键基因也较少。挖掘生物活性成分合成关键基因,以金针菇作为生物反应器,利用基因工程技术实现定向增加某种活性成分含量是一个值得研究的方向。

2.5 光受体基因

光照是重要的环境因子,能够影响绝大多数生物的生长发育过程。金针菇子实体分化和菌柄伸长过程也需要光照调节,蓝光在这一过程中发

挥重要作用。研究显示 *Zn2Cys6* 型锌指转录因子家族基因 *FjZCP09*、*FjZCP28*、*FjZCP32*、*FjZCP60* 和 *FjZCP62* 在蓝光照射后表达量显著下调,推测以负调控方式参与金针菇对蓝光的响应(赵琛等 2020)。刘建雨等(2023)从金针菇基因组中鉴定出 4 个蓝光受体基因(*FfWC-1*、*FfWC-2*、*FfCpl* 和 *FfCry-DASH*)和 1 个红光受体基因(*FfPhy*),蓝光和红光处理后,5 个基因的表达均有不同程度的改变。刘建雨等(2023)通过转录组测序探究蓝光对金针菇原基形成的影响,发现蓝光主要影响与细胞壁成分相关的疏水蛋白以及位于细胞膜的转运蛋白编码基因的表达水平。然而,由于有关金针菇光受体的研究较少,金针菇感知光照(蓝光)、传递光信号进而调控出菇的分子机制仍需进一步探究。

3 展望

中国食用菌产业发展迅速,目前已成为产值超 3 000 亿元的第五大种植业。食用菌研究领域专家、中国工程院院士李玉教授也在不同场合多次强调,“小木耳,大产业”和三物融合(动物、植物、菌物)的提出是我国食用菌产业发展的历史机遇,也在一定程度上推动了食用菌学科的发展。但是,金针菇作为工厂化程度最高的食用菌之一,目前的发展仍面临一些亟待解决的科学问题。(1) 目前,大型金针菇生产企业使用的菌种绝大多数是从日本进口,国内菌种市场占有率很低,种源依赖进口是一个“卡脖子”问题。因此,需要加快金针菇优良菌种培育,增加科研资金投入,结合现有的分子生物学技术,以传统育种和分子育种相结合的方式,培育具有自主知识产权的优良品种。(2) 金针菇子实体形成需要低温诱导,但对于工厂化生产来说,严格控制低温将造成巨大的能源消耗。因此,选育和培育能够在相对较高温度正常形成子实体的品种非常重要。(3) 金针菇品质、产量、口感等重要性状相

关的关键基因挖掘也是十分必要的,这一工作是分子育种的基础。(4) 高质量参考基因组资源匮乏是导致金针菇分子生物学研究发展缓慢的重要原因,尽管已有多家单位对金针菇进行了全基因组测序,并且已经在 NCBI 数据库共享。但是,相比于植物和作物而言还相差太远。因此,加快金针菇基因组数据库的建设也是一个重要研究方向。

[REFERENCES]

- Bao DP, 2019. Research progress on the mating-typing locus structures of basidiomycete mushrooms. *Mycosystema*, 38(12): 2061-2077 (in Chinese)
- Bao DP, Xie BG, 2020. Some research directions worthy of attention in the genetics of edible mushrooms in China. *Mycosystema*, 39(6): 971-976 (in Chinese)
- Bian YB, 2022. Genetics and breeding of edible mushroom. Higher Education Press, Beijing. 1-207 (in Chinese)
- Cai HH, Liu XM, Chen ZY, Liao ST, Zou YX, 2013. Isolation, purification and identification of nine chemical compounds from *Flammulina velutipes* fruiting bodies. *Food Chemistry*, 141: 2873-2879
- Chen DM, Xu YF, Gui WQ, Lu XZ, Wang F, Tang HJ, 1991. Studies on the cultivation of *Flammulina velutipes* Hujun No.3. *Edible Fungi of China*, 10(6): 11-13 (in Chinese)
- Chen J, Li JM, Tang YJ, Ma K, Li B, Zeng X, Liu XB, Li Y, Yang ZL, Xu WN, Xie BG, Liu HW, Guo SX, 2020. Genome-wide analysis and prediction of genes involved in the biosynthesis of polysaccharides and bioactive secondary metabolites in high-temperature-tolerant wild *Flammulina filiformis*. *BMC Genomics*, 21(1): 719
- Cho JH, Lee SE, Chang WB, Cha JS, 2006. *Agrobacterium*-mediated transformation of the winter mushroom, *Flammulina velutipes*. *Mycobiology*, 34(2): 104-107
- Dai YC, Yang ZL, 2018. Notes on the nomenclature of five important edible fungi in China. *Mycosystema*, 37(12): 1572-1577 (in Chinese)
- Dai YC, Yang ZL, Cui BK, Wu G, Yuan HS, Zhou LW, He SH, Ge ZW, Wu F, Wei YL, Yuan Y, Si J, 2021. Diversity and systematics of the important macrofungi in Chinese forests. *Mycosystema*, 40: 770-805 (in Chinese)
- Du MY, Xie YB, Wang M, Yang H, Hu BH, Mukhtar I, Liu YY, Tao YX, Liu F, Xie BG, 2022. FFGA1 protein is essential for regulating vegetative growth, cell wall integrity, and protection against stress in *Flammulina filiformis*. *Journal of Fungi*, 8(4): 401
- Guan SY, Fei JB, Liu ZB, Jin DL, Ma YY, 2018. Application of molecular marker-assisted selection (MAS) in maize resistance breeding. *Journal of Jilin Agricultural University*, 40(4): 399-407 (in Chinese)
- Guo MY, 1997. The selection and breeding of new strains of *Flammulina velutipes* in China. *Acta Edulis Fungi*, 4(1): 8-14 (in Chinese)
- Han X, Li YN, Zhao C, Liu YY, Du MY, Huang QH, Xu WN, Xie BG, 2019. Growth-rate related QTL analysis of *Flammulina filiformis* monokaryotic isolates. *Mycosystema*, 38(12): 2241-2248 (in Chinese)
- Huang QH, Han X, Mukhtar I, Gao LL, Huang RM, Fu LP, Yan JJ, Tao YX, Chen BZ, Xie BG, 2018. Identification and expression patterns of *fvexpl1*, an expansin-like protein-encoding gene, suggest an auxiliary role in the stipe morphogenesis of *Flammulina velutipes*. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(4): 622-629
- Huang YL, Yan Z, Shen GQ, Wang H, Zhang CH, Yang W, Chen L, Zhang YH, Pang ZS, Qiao M, Li FB, Yang L, 2022. Bacterial blight resistance of rice sterile line 'Quan 211S' improved by molecular marker-assisted selection. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 38(18): 133-139 (in Chinese)
- Huang ZQ, Wei CP, Huang B, Wang HJ, Zheng JL, 2014. Characteristics and comparative test of *Flammulina velutipes* Hengsheng No.1 strain. *Edible Fungi*, 36(3): 22-23, 58 (in Chinese)
- Jia DH, Wang B, Peng WH, 2011. Genetic analysis of 23 *Flammulina velutipes* strains with SRAP. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 24(5): 1871-1874 (in Chinese)
- Jiang ZN, Zhao RH, Chen TT, Wang L, Lü GF, Zang SJ, Bie TD, 2021. Molecular marker-assisted breeding of new wheat lines with resistances to *Fusarium* head blight, powdery mildew and wheat yellow mosaic virus. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 37(5): 1100-1107 (in Chinese)
- Kim H, Lee CS, Park YJ, 2016. Further characterization of hydrophobin genes in genome of *Flammulina velutipes*. *Mycoscience*, 57(5): 320-325
- Kim JK, Park YJ, Kong WS, Kang HW, 2010. Highly efficient electroporation-mediated transformation into edible mushroom *Flammulina velutipes*. *Mycobiology*, 38(4): 331-335
- Kurata A, Fukuta Y, Mori M, Kishimoto N, Shirasaka N, 2016. Draft genome sequence of the basidiomycetous fungus *Flammulina velutipes* TR19. *Genome Announcements*, 4(3): e00505-16
- Li J, Shao YP, Yang YY, Xu C, Jing ZH, Li H, Xie BG, Tao YX, 2022. The chromatin modifier protein FfJMHY

- plays an important role in regulating the rate of mycelial growth and stipe elongation in *Flammulina filiformis*. Journal of Fungi, 8(5): 477
- Li X, Li Y, 2014. Quality comparison and analysis on white *Flammulina velutipes* grown with bottle lines in China. Edible Fungi of China, 33(2): 20-24 (in Chinese)
- Lin JD, Yang XQ, Wei T, Guo LQ, Lin JF, Chen YS, Huang SS, 2019. Construction and transformation of CRISPR/Cas9 genome editing vector of *Flammulina filiformis* G protein-coupled receptor gene. Mycosystema, 38(3): 349-361 (in Chinese)
- Liu JH, Zhang JL, Li L, Shang XD, Tan Q, 2015. Sequence analysis of *tps1* and relative expression of *tps1* and *tps2* under different temperature in *Flammulina velutipes*. Science and Technology of Food Industry, 36(16): 173-177, 182 (in Chinese)
- Liu JY, Chang MC, Meng JL, Feng CP, Zhao H, Zhang ML, 2017. Comparative proteome reveals metabolic changes during the fruiting process in *Flammulina velutipes*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 65(24): 5091-5100
- Liu JY, Li JT, Lu H, Yu HL, Song CY, Li QZ, Zhang D, Xu Z, Shang XD, Wang RJ, 2023. Genome-wide characterization and expression analysis of the photoreceptors encoded in *Flammulina filiformis*. Mycosystema, <http://doi:10.13346/j.mycosystema.220245> (in Chinese)
- Liu JY, Li QZ, Jiang PY, Xu Z, Zhang D, Zhang LJ, Zhang MY, Yu HL, Song CY, Tan Q, Shang XD, Wang RJ, 2019. Overexpression of the saccharopine dehydrogenase gene improves lysine biosynthesis in *Flammulina velutipes*. Journal of Basic Microbiology, 59(9): 890-900
- Liu JY, Liu JH, Xu Z, Yu HL, Song CY, Shang XD, 2016. Cloning and expression of an isopentenyl diphosphate isomerase gene from *Flammulina velutipes*. Acta Edulis Fungi, 23(3): 10-14 (in Chinese)
- Liu JY, Liu JH, Zhang D, Xu Z, Wang RJ, Yang H, Yu HL, Shang XD, 2017. *Agrobacterium*-mediated gene transformation of Cas9 into *Flammulina velutipes*. Acta Edulis Fungi, 24(3): 25-29 (in Chinese)
- Liu JY, Wang RJ, Zhang D, Xu Z, Lu H, Song CY, Shang XD, Yu HL, 2021. Transcriptome analysis revealed effect of blue light on primordium formation of *Flammulina velutipes*. Acta Edulis Fungi, 28(5): 29-36 (in Chinese)
- Liu JY, Xu Z, Zhang D, Wang RJ, Tan Q, Shang XD, 2015. Efficiency of *Flammulina velutipes* transformation by *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation using different receptors. Acta Edulis Fungi, 22(3): 7-12 (in Chinese)
- Liu WX, Xie BG, Wang XQ, Wang YJ, 2005. Studies on RAPD markers of color gene in *Flammulina velutipes*. Chinese Agricultural Science Bulletin, 21(9): 54-56 (in Chinese)
- Liu XB, Xia EH, Li M, Cui YY, Wang PM, Zhang JX, Xie BG, Xu JP, Yan JJ, Li J, Nagy LG, Yang ZL, 2020. Transcriptome data reveal conserved patterns of fruiting body development and response to heat stress in the mushroom-forming fungus *Flammulina filiformis*. PLoS One, 15(10): e0239890
- Liu XR, Xie BG, Jiang YJ, Deng YJ, 2014. A new early-maturing *Flammulina velutipes* cultivar 'Nongjin 6'. Acta Horticulturae Sinica, 41(2): 397-398 (in Chinese)
- Liu XR, Yang ZC, Xiao SX, Cai P, Xie BG, Jiang YJ, 2018. A new high-yielding *Flammulina velutipes* cultivar 'Nongjin 7'. Acta Horticulturae Sinica, 45(6): 1219-1220 (in Chinese)
- Liu XT, Dong J, Liao J, Tian L, Qiu H, Wu T, Ge F, Zhu J, Shi L, Jiang A, Yu H, Zhao MW, Ren A, 2022. Establishment of CRISPR/Cas9 genome-editing system based on dual sgRNAs in *Flammulina filiformis*. Journal of Fungi, 8(7): 693
- Long HZ, 1999. The selection and breeding of a fine variety Nc-1 of *Flammulina velutipes*. Journal of Sichuan Teachers College (Natural Science), 20(3): 266-268 (in Chinese)
- Lu YP, Chen RL, Long Y, Li X, Jiang YJ, Xie BG, 2016. A Jacalin-related lectin regulated the formation of aerial mycelium and fruiting body in *Flammulina velutipes*. International Journal of Molecular Sciences, 17(12): 1884
- Luo R, Lin JF, Guo LQ, Ye ZW, Guo TF, Yun F, 2016. Construction of *Flammulina velutipes* genome editing vector by using CRISPR/Cas9 system. Science and Technology of Food Industry, 37(20): 230-234 (in Chinese)
- Lyu X, Jiang S, Wang L, Chou T, Wang Q, Meng L, Mukhtar I, Xie B, Wang W, 2021. The *Fvclp1* gene regulates mycelial growth and fruiting body development in edible mushroom *Flammulina velutipes*. Archives of Microbiology, 203(9): 5373-5380
- Maehara T, Yoshida M, Ito Y, Tomita S, Takabatake K, Ichinose H, Kaneko S, 2010. Development of a gene transfer system for the mycelia of *Flammulina velutipes* Fv-1 strain. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 74(5): 1126-1128
- Meng L, Lyu XM, Shi L, Wang QJ, Wang L, Zhu M, Mukhtar I, Xie BG, Wang W, 2021. The transcription factor FvHmg1 negatively regulates fruiting body development in winter mushroom *Flammulina velutipes*. Gene, 785: 145618
- Meng L, Wang L, Liu F, Chou TS, Wang W, Xie BG, 2018.

- Identification of HMG-box transcription factors and differential expression analysis of a selected gene in *Flammulina velutipes*. *Mycosystema*, 37(4): 466-475 (in Chinese)
- Ouyang PL, Li QJ, Guo LQ, Lin JF, Ye ZW, Wei T, Zheng QW, Wu TH, Luo R, 2018. Establishment of a CRISPR/Cas9 system for editing cold-induced gene *HK1/HK2* in *Flammulina velutipes*. *Acta Edulis Fungi*, 25(3): 1-7, 113 (in Chinese)
- Peng WH, Xiao ZQ, 2001. The breeding of new variety Jinbai 1 in *Flammulina velutipes*. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, S1: 75-78 (in Chinese)
- Rahman MA, Abdullah N, Aminudin N, 2015. Antioxidative effects and inhibition of human low density lipoprotein oxidation *in vitro* of polyphenolic compounds in *Flammulina velutipes* (golden needle mushroom). *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2015: 403023
- Sekiya S, Yamada M, Shibata K, Okuhara T, Yoshida M, Inatomi S, Taguchi G, Shimosaka M, 2013. Characterization of a gene coding for a putative adenosine deaminase-related growth factor by RNA interference in the basidiomycete *Flammulina velutipes*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 115(4): 360-365
- Sharma VP, Barh A, Bairwa RK, Annepu SK, Kumari B, Kamal S, 2021. Enoki mushroom (*Flammulina velutipes* (Curtis) Singer) breeding. In: Al-Khayri JM, Jain SM, Johnson DV (eds.) *Advances in plant breeding strategies: vegetable crops*. Springer. 423-441
- Shi LL, van Peer AF, Guo LX, Chen RL, Wang W, Yan JJ, Deng YJ, Xie BG, 2014. *Agrobacterium*-mediated transformation of an endogenous HMG-box transcription factor *fvhom1* in *Flammulina velutipes*. *Genomics and Applied Biology*, 33(6): 1268-1274 (in Chinese)
- Tang C, Hoo PC, Tan LT, Pusparajah P, Khan TM, Lee LH, Goh BH, Chan KG, 2016. Golden needle mushroom: a culinary medicine with evidenced-based biological activities and health promoting properties. *Frontiers in Pharmacology*, 7: 474
- Tao YX, Chen RL, Yan JJ, Long Y, Tong ZJ, Song HB, Xie BG, 2019. A hydrophobin gene, *Hyd9*, plays an important role in the formation of aerial hyphae and primordia in *Flammulina filiformis*. *Gene*, 706: 84-90
- Tao YX, Duan JY, Li YN, Li ZY, Song HB, Zhang QS, Huang JH, Gao LL, Xie BG, 2018. Identification of genes in *Flammulina velutipes* L-lysine biosynthesis pathway and their expression in response to light conditions. *Acta Edulis Fungi*, 25(4): 1-8 (in Chinese)
- Tian L, Ma ZD, Qiu H, Liu XT, Wu T, Ge F, Liu R, Zhu J, Shi L, Jiang AL, Yu HS, Ren A, 2022. Chitosan increases lysine content through amino acid transporters in *Flammulina filiformis*. *Foods*, 11(14): 2163
- Waltz E, 2016. Gene-edited CRISPR mushroom escapes US regulation. *Nature*, 532(7599): 293
- Wang B, 2018. Breeding and cultivation of a new *Flammulina velutipes* variety 'Chuanjin 33'. *Edible and Medicinal Mushrooms*, 26(1): 38-39 (in Chinese)
- Wang B, Gan BC, Peng WH, Jia DH, Liu BH, 2006. A hybrid variety of *Flammulina velutipes*-Chuanjin No.3. *Edible Fungi*, 6: 15 (in Chinese)
- Wang B, Qi LP, Xian L, Gao J, Jia DH, 2013a. ISSR analysis of genetic diversity of protoplasted mononuclear strains of *Flammulina velutipes*. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 26(3): 1126-1131 (in Chinese)
- Wang B, Xian L, 2013. Genetic diversity of *Flammulina velutipes* strains revealed by ISSR analysis. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 26(4): 1593-1599 (in Chinese)
- Wang B, Xian L, Gao J, Gao J, 2013b. Breeding of an early-maturing white *Flammulina velutipes* cultivar of Chuanjin No.5. *Edible Fungi of China*, 32(4): 15-16 (in Chinese)
- Wang PM, Liu XB, Dai YC, Horak E, Steffen K, Yang ZL, 2018. Phylogeny and species delimitation of *Flammulina*: taxonomic status of winter mushroom in East Asia and a new European species identified using an integrated approach. *Mycological Progress*, 17(9): 1013-1030
- Wang R, Ma P, Li C, Xiao L, Liang Z, Dong J, 2019. Combining transcriptomics and metabolomics to reveal the underlying molecular mechanism of ergosterol biosynthesis during the fruiting process of *Flammulina velutipes*. *BMC Genomics*, 20(1): 999
- Wang RJ, Lu H, Xu Z, Song CY, Tan Q, Liu JY, Shang XD, 2023. Breeding of a new *Flammulina filiformis* cultivar 'Shangyan 1820' by single spore hybridization. *Mycosystema*, <http://doi:10.13346/j.mycosystema.220143> (in Chinese)
- Wang W, Lian L, Xu P, Chou T, Mukhtar I, Osakina A, Waqas M, Chen B, Liu X, Liu F, Xie BG, van Peer AF, 2016. Advances in understanding mating type gene organization in the mushroom-forming fungus *Flammulina velutipes*. *G3 Genes/Genomes/Genetics*, 6(11): 3635-3645
- Wen D, Wu X, Huang QH, Chen YL, Xie BG, Wen ZQ, 2020. Identification and expression patterns analysis of expansin *fvexpl2* in *Flammulina filiformis*. *Northern Horticulture*, 12: 135-141 (in Chinese)
- Wu B, Zhang XL, Cui BK, Dai YC, 2015. Comparative genomic analysis of edible (medicinal) fungi reveals different ecological habitats. *Mycosystema*, 34: 742-760

- (in Chinese)
- Wu F, Zhou LW, Yang ZL, Bau T, Li TH, Dai YC, 2019a. Resource diversity of Chinese macrofungi: edible, medicinal and poisonous species. *Fungal Diversity*, 98: 1-76
- Wu T, Hu C, Xie BG, Zhang L, Yan S, Wang W, Tao YX, Li S, 2019b. A single transcription factor (PDD1) determines development and yield of winter mushroom (*Flammulina velutipes*). *Applied and Environmental Microbiology*, 85(24): e01735-19
- Wu T, Ye Z, Guo L, Yang X, Lin J, 2018. *De novo* transcriptome sequencing of *Flammulina velutipes* uncover candidate genes associated with cold-induced fruiting. *Journal of Basic Microbiology*, 58(8): 698-703
- Wu TJ, Hu CC, Xie BG, Wei SL, Zhang L, Zhu ZX, Zhang ZY, Li SJ, 2020a. A putative transcription factor *LFC1* negatively regulates development and yield of winter mushroom. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(13): 5827-5844
- Wu TJ, Zhang ZY, Hu C, Zhang L, Wei SL, Li SJ, 2020b. A WD40 protein encoding gene *Fvcpc2* positively regulates mushroom development and yield in *Flammulina velutipes*. *Frontiers in Microbiology*, 11: 498
- Xu WN, Huang RM, Liu YY, Tong ZJ, Han X, Xie LY, Xie BG, 2018. Genome sequencing and assembly strategy analyses of *Flammulina filiformis*. *Mycosystema*, 37(12): 1578-1585 (in Chinese)
- Yamada M, Sakuraba S, Shibata K, Inatomi S, Okazaki M, Shimosaka M, 2005. Cloning and characterization of a gene coding for a hydrophobin, *Fv-hyd1*, specifically expressed during fruiting body development in the basidiomycete *Flammulina velutipes*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 7(2): 240-246
- Yan JJ, Chekanova JL, Liu YY, Gan BC, Long Y, Han X, Tong ZJ, Miao J, Lian LD, Xie BG, Liu F, 2022. Reactive oxygen species distribution involved in stipe gradient elongation in the mushroom *Flammulina filiformis*. *Cells*, 11(12): 1896
- Yan JJ, Tong ZJ, Liu YY, Li YN, Zhao C, Mukhtar I, Tao YX, Chen BZ, Deng YJ, Xie BG, 2019. Comparative transcriptomics of *Flammulina filiformis* suggests a high CO₂ concentration inhibits early pileus expansion by decreasing cell division control pathways. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(23): 5923
- Yang ZQ, Wang BN, Wang QB, Liu W, Chen HJ, 2002. Breeding of a new strain of *Flammulina velutipes* by γ -rays induced mutation. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 5: 325-327 (in Chinese)
- Yun YH, Koo JS, Kim SH, Kong WS, 2015. Cloning and expression analysis of phenylalanine ammonia-lyase gene in the mycelium and fruit body of the edible mushroom *Flammulina velutipes*. *Mycobiology*, 43(3): 327-332
- Zhang X, Xia X, Duan ZW, Guan SY, Li HG, Chen LJ, Zhang L, Fan WL, Lin JW, 2017. Construction of silencing vector for *FIP-five* gene and genetic transformation of enoki mushroom (*Flammulina velutipes*). *Molecular Plant Breeding*, 15(11): 4491-4497 (in Chinese)
- Zhao C, Xu WN, Li YN, Wang M, Yang H, Ma XB, Jiang YJ, Xie BG, 2020. The discovery and inheritance of the third mat-B sublocus in *Flammulina filiformis*. *Mycosystema*, 39(6): 1090-1099 (in Chinese)

[附中文参考文献]

- 鲍大鹏, 2019. 担子菌类食用菌交配型位点结构的研究进展. *菌物学报*, 38(12): 2061-2077
- 鲍大鹏, 谢宝贵, 2020. 我国食用菌遗传学中一些值得关注的研究方向. *菌物学报*, 39(6): 971-976
- 边银丙, 2022. 食用菌遗传育种学. 北京: 高等教育出版社. 1-207
- 陈德明, 徐玉芬, 归武球, 陆雪珍, 汪峰, 汤惠杰, 1991. 金针菇沪菌三号的栽培研究. *中国食用菌*, 10(6): 11-13
- 戴玉成, 杨祝良, 2018. 中国五种重要食用菌学名新注. *菌物学报*, 37(12): 1572-1577
- 戴玉成, 杨祝良, 崔宝凯, 吴刚, 袁海生, 周丽伟, 何双辉, 葛再伟, 吴芳, 魏玉莲, 员瑗, 司静, 2021. 中国森林大型真菌重要类群多样性和系统学研究. *菌物学报*, 40: 770-805
- 关淑艳, 费建博, 刘智博, 金栋梁, 马义勇, 2018. 分子标记辅助选择(MAS)在玉米抗逆育种中的应用. *吉林农业大学学报*, 40(4): 39-407
- 郭美英, 1997. 我国金针菇新品种的选育. *食用菌学报*, 4(1): 8-14
- 韩星, 李依宁, 赵琛, 刘媛媛, 杜慕云, 黄千慧, 徐伟南, 谢宝贵, 2019. 金针菇单孢菌株菌丝生长速度 QTL 定位分析. *菌物学报*, 38(12): 2241-2248
- 黄艳玲, 严志, 申广勒, 王慧, 张从合, 杨韦, 陈琳, 张云虎, 庞战士, 乔木, 李方宝, 杨力, 2022. 分子标记辅助选择改良水稻不育系‘荃 211S’白叶枯病的抗性. *中国农学通报*, 38(18): 133-139
- 黄竹青, 魏赤平, 黄飏, 王洪军, 郑剑玲, 2014. 恒生金针菇 1 号菌株特性及比较试验. *食用菌*, 36(3): 22-23, 58
- 贾定洪, 王波, 彭卫红, 2011. 23 个金针菇菌株的 SRAP 分析. *西南农业学报*, 24(5): 1871-1874
- 蒋正宁, 赵仁慧, 陈甜甜, 王玲, 吕国锋, 臧淑江, 别同德, 2021. 分子标记辅助选育兼抗赤霉病、白粉病和黄花叶病毒病的小麦新品系. *江苏农业学报*, 37(5): 1100-1107
- 李晓, 李玉, 2014. 中国工厂化瓶栽白色金针菇竞品分

- 析. 中国食用菌, 33(2): 20-24
- 林金德, 杨雪琴, 魏韬, 郭丽琼, 林俊芳, 陈韵声, 黄诗诗, 2019. 金针菇 G 蛋白偶联受体基因的 CRISPR/Cas9 基因组编辑载体构建及转化研究. 菌物学报, 38(3): 349-361
- 刘建辉, 张俊玲, 李亮, 尚晓冬, 谭琦, 2015. 金针菇 *tps1* 基因序列分析及不同温度下 *tps1*、*tps2* 基因定量表达研究. 食品工业科技, 36(16): 173-177, 182
- 刘建雨, 李婧霆, 陆欢, 于海龙, 宋春艳, 李巧珍, 张丹, 徐珍, 尚晓冬, 王瑞娟, 2023. 基于全基因组的金针菇光受体基因鉴定及表达分析. 菌物学报, <http://doi:10.13346/j.mycosystema.220245>
- 刘建雨, 刘建辉, 徐珍, 于海龙, 宋春艳, 尚晓冬, 2016. 金针菇异戊烯基焦磷酸异构酶基因的克隆及表达分析. 食用菌学报, 23(3): 10-14
- 刘建雨, 刘建辉, 张丹, 徐珍, 王瑞娟, 杨慧, 于海龙, 尚晓冬, 2017. 农杆菌介导的 Cas9 基因转化金针菇的研究. 食用菌学报, 24(3): 25-29
- 刘建雨, 王瑞娟, 张丹, 徐珍, 陆欢, 宋春艳, 尚晓冬, 于海龙, 2021. 利用转录组分析蓝光对金针菇原基形成的影响. 食用菌学报, 28(5): 29-36
- 刘建雨, 徐珍, 张丹, 王瑞娟, 谭琦, 尚晓冬, 2015. 农杆菌介导法转化金针菇不同受体的效率比较. 食用菌学报, 22(3): 7-12
- 刘维侠, 谢宝贵, 王秀全, 江玉姬, 2005. 利用 RAPD-BSA 分子标记技术筛选金针菇色泽基因研究. 中国农学通报, 21(9): 54-56
- 刘新锐, 谢宝贵, 江玉姬, 邓优锦, 2014. 早熟金针菇新品种‘农金 6 号’. 园艺学报, 41(2): 397-398
- 刘新锐, 杨志超, 肖淑霞, 蔡鹏, 谢宝贵, 江玉姬, 2018. 高产金针菇新品种‘农金 7 号’. 园艺学报, 45(6): 1219-1220
- 龙和珍, 1999. 金针菇优良品种 Nc-1 选育. 四川师范学院学报(自然科学版), 20(3): 266-268
- 罗润, 林俊芳, 郭丽琼, 叶志伟, 郭天芬, 云帆, 2016. 基于 CRISPR/Cas9 系统的金针菇基因组编辑载体构建. 食品工业科技, 37(20): 230-234
- 孟丽, 王丽, 刘芳, 丑天胜, 王威, 谢宝贵, 2018. 金针菇 HMG-box 转录因子鉴定及一个候选基因的差异表达分析. 菌物学报, 37(4): 466-475
- 欧阳萍兰, 李琼洁, 郭丽琼, 林俊芳, 叶志伟, 魏韬, 郑倩望, 伍士恒, 罗润, 2018. 基于 CRISPR/Cas9 技术研究金针菇冷诱导结实基因 HK1 和 HK2 的编辑转化系统. 食用菌学报, 25(3): 1-7, 113
- 彭卫红, 肖在勤, 2001. 白色金针菇新品种金白 1 号选育. 西南农业学报, S1: 75-78
- 施乐乐, van Peer AF, 郭丽媛, 陈仁良, 王威, 严俊杰, 邓优锦, 谢宝贵, 2014. 农杆菌介导一个内源 HMG-box 转录因子 *fvhom1* 转化金针菇. 基因组学与应用生物学, 33(6): 1268-1274
- 陶永新, 段静怡, 李依宁, 李自燕, 宋寒冰, 张祺懿, 黄嘉华, 高玲玲, 谢宝贵, 2018. 金针菇 L-赖氨酸合成通路基因鉴定及对不同光质的响应表达. 食用菌学报, 25(4): 1-8
- 王波, 2018. 金针菇新品种‘川金 33’的选育和栽培应用. 食用菌, 26(1): 38-39
- 王波, 甘炳成, 彭卫红, 贾定洪, 刘本洪, 2006. 金针菇杂交品种——川金 3 号. 食用菌, 6: 15
- 王波, 祁丽萍, 鲜灵, 高俭, 贾定洪, 2013a. 金针菇单核原生质体菌株遗传差异的 ISSR 分析. 西南农业学报, 26(3): 1126-1131
- 王波, 鲜灵, 2013. 金针菇菌株遗传多样性的 ISSR 分析. 西南农业学报, 26(4): 1593-1599
- 王波, 鲜灵, 高俭, 高洁, 2013b. 早熟白色金针菇优良品种川金 5 号选育. 中国食用菌, 32(4): 15-16
- 王瑞娟, 陆欢, 徐珍, 宋春艳, 谭琦, 刘建雨, 尚晓冬, 2023. 单孢杂交选育金针菇新品种“上研 1820”. 菌物学报, <http://doi:10.13346/j.mycosystema.220143>
- 温蝶, 武鑫, 黄千慧, 陈屹未, 谢宝贵, 温志强, 2020. 金针菇类扩张蛋白 *fvexp12* 鉴定及其表达模式分析. 北方园艺, 12: 135-141
- 吴冰, 章小灵, 崔宝凯, 戴玉成, 2015. 食(药)用真菌比较基因组分析揭示其生态特性. 菌物学报, 34: 742-760
- 徐伟南, 黄蓉梅, 刘媛媛, 仝宗军, 韩星, 谢路昱, 谢宝贵, 2018. 金针菇基因组测序与组装策略分析. 菌物学报, 37(12): 1578-1585
- 杨宗渠, 王柏楠, 王勤波, 刘伟, 陈海军, 2002. γ 射线诱变选育金针菇新菌株. 核农学报, 5: 325-327
- 张昕, 夏雪, 段作文, 关山越, 李浩戈, 陈丽静, 张丽, 范文丽, 林景卫, 2017. *FIP-five* 基因沉默载体构建和金针菇的遗传转化. 分子植物育种, 15(11): 4491-4497
- 赵琛, 徐伟南, 李依宁, 王朦, 杨环, 马新斌, 江玉姬, 谢宝贵, 2020. 金针菇交配型 B 第三个亚位点的发现与遗传. 菌物学报, 39(6): 1090-1099