

钟礼义, 陈体强, 刘新锐, 等. 鉴别紫芝菌株的 PCR 引物筛选及其序列比对验证 [J]. 福建农业学报, 2020, 35 (7): 725–730.
ZHONG L Y, CHEN T Q, LIU X R, et al. Selection and Sequence Alignment of PCR Primers for Identifying Zizhi Strain [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2020, 35 (7): 725–730.

鉴别紫芝菌株的 PCR 引物筛选及其序列比对验证

钟礼义¹, 陈体强^{2*}, 刘新锐³, 应正河², 杨 驰²

(1. 福建武平县食用菌技术推广服务站, 福建 武平 364300; 2. 福建省农业科学院食用菌研究所, 福建 福州 350014; 3. 福建农林大学菌物研究中心, 福建 福州 350002)

摘 要:【目的】紫芝 S2 (品种名: 武芝 2 号) 是近年来在福建及周边省份推广应用的紫芝栽培新品种, 为了避免与遗传背景不同的栽培菌株混杂而建立有效的分子标记。【方法】采用 PCR 扩增筛选条带清晰稳定、呈现多态性的引物, 根据菌株间 UPMGA 聚类构建系统发生树, 通过遗传距离确定主要栽培菌株间的亲缘关系, 并与菌株间的拮抗反应结果相印证, 进而与‘紫芝 S2’基因组序列进行比对验证。【结果】筛选得到能清晰且稳定地扩增出特异性或多态性条带的 2 个 RAPD-PCR 引物和 3 个 ISSR-PCR 引物, 比对发现这 5 个引物短序列与‘紫芝 S2’基因组序列完全匹配上的位点与数目不同。【结论】基于紫芝 S2 基因组序列比对, 确认其中 3 个引物 (ISSR13、S1326 和 S1506) 可以有效地用于紫芝栽培菌株鉴定。

关键词: 紫芝; 栽培菌株; 分子标记; PCR 引物; 序列比对

中图分类号: S 646.2

文献标志码: A

文章编号: 1008-0384 (2020) 07-0725-06

Selection and Sequence Alignment of PCR Primers for Identifying Zizhi Strain

ZHONG Liyi¹, CHEN Tiqiang^{2*}, LIU Xinrui³, YIN Zhenghe², YNAG Chi²

(1. *Fujian Wuping Mushroom Extension Station, Wuping, Fujian 364000, China*; 2. *Edible & Medicinal Fungi Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou, Fujian 350014, China*; 3. *Mycological Research Center, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002, China*)

Abstract: 【Objective】The molecular markers of the cultivated strain of *Ganoderma sinense*, Zizhi S2 (aka Wu-Zhi No. 2), recently popularized in Fujian and surrounding provinces were studied to facilitate the authentication of the medicinal fungus. 【Method】Relevant primers of Zizhi S2 showing clear and stable bands and polymorphism were screened using PCR. Phylogenetic tree of UPMGA clustering analysis on the verified authentic cultivars was constructed to determine their relationship by genetic distance as well as antagonistic reaction. Subsequently, sequences of the selected primers were blasted on the genome of Zizhi S2 to validate the methodology. 【Result】There were 2 RAPD-PCR and 3 ISSR-PCR primers found to clearly and stably amplify the specific or polymorphic bands. However, the sites and numbers on the scaffolds of the Zizhi S2 genome that matched the sequences of the 5 primers were not same. 【Conclusion】It was confirmed that three primers (ISSR13, S1326, and S1506) could be effectively used for identification of Zizhi cultivated strains based on sequences alignment with the genome of *G. sinense* strain Zizhi S2.

Key words: *Ganoderma sinense*; cultivated strain; molecular markers; PCR primers; sequence alignment

0 引言

【研究意义】灵芝的商品化栽培 (规范化种植) 起源于 20 世纪 90 年代, 福建省曾大力推广以赤芝 6 号等为代表的优良栽培菌株^[1-2], 成为国内最大

的灵芝生产与出口基地。但 2000 年以来, 福建灵芝种植业受国家林业政策等影响, 栽培用材短缺难以维持商品化种植的需求 (人工培育灵芝专用林的成材期长达 10—12 年), 栽培量一落千丈。同时, 长期以来人工栽培和加工利用的灵芝种类 (品种) 单

收稿日期: 2020-01-16 初稿; 2020-06-03 修改稿

作者简介: 钟礼义 (1968-), 男, 推广研究员, 研究方向: 食药菌技术推广应用 (E-mail: fjzly99@163.com)

* 通信作者: 陈体强 (1968-), 男, 研究员, 研究方向: 药用菌与闽产中药材 (E-mail: chen_tiqiang@189.cn)

基金项目: 福建省财政专项—福建省农业科学院科技创新团队建设项目 (STIT2017-2-8, STIT2017-1-6)

一，难以满足多样化的市场需要，产业发展缺乏新的增长点。而野生紫芝种质资源的开发利用及其人工驯化栽培技术的推广应用，可再次促进福建省灵芝产业的发展，能成为山区扶贫致富的好项目。福建省灵芝科真菌资源中灵芝属的紫芝类（Sect. *Phaeonema*）有 9 种^[3]，其代表性种类是被称为中国灵芝的紫芝（*G. sinense*）、其近缘种的硬孔灵芝（*G. duropora*）^[4]，这 2 种紫芝常见于闽西北山区。【前人研究进展】紫芝是灵芝科灵芝属（*Ganoderma*）的重要类群紫芝组（Sect. *Phaeonema*），其特征是菌肉呈均匀褐色、深褐色至栗褐色；以 *Ganoderma sinense* 为中心的紫芝大种群是属于高温多雨气候型，分布在长江以南的 8 个省区^[5]。相较于栽培较广泛的赤芝（*G. lucidum*）与松杉灵芝（*G. tsugae*），紫芝种质资源的开发利用相对滞后，市场上的灵芝或者灵芝类产品很少以紫芝为主要原料^[6]。紫芝作为中药材灵芝来源菌物，自 2000 年起被《中国药典》收录，但其栽培种质资源与遗传育种方面的研究报道较少，亟待加强。目前，我国人工栽培的紫芝菌种主要还是野外分离和驯化的菌株^[7]，如闽紫 96 和紫芝 S2^[8-9]。这 2 个栽培菌株在栽培性状（朵型、大小）或子实体发育形态上有着很大的不同，其中闽紫 96 菌盖小型，菌柄侧生、偏生为主，栽培单产仅有 12.70 kg·m⁻³（干品/菌材），而紫芝 S2 菌盖大型，菌柄中生、近中生，栽培单产平均可达 25.05 kg·m⁻³（干品/菌材）。国内外学者根据（微观和宏观）形态特征上的不同，早在 2005 年就描述了紫芝（*G. sinense*）的表型可塑性^[10]，且基于系统发育分析，已有研究者提出将硬孔灵芝（*G. duropora*）与紫芝（*G. sinense*）归类为一个新的复合种——紫芝（*Ganoderma duroporum* comb. nov.）^[11]。最近，来自中国境内不同产地的具有高度表型可塑性的 20 份紫芝标本，从多基因序列比对结果也被证实为同一种^[12]。【本研究切入点】经多年多点区域试验和 Finlay 稳定性分析，紫芝 S2 受栽培环境因素影响较小（稳定性好，适应性强），于 2012 年获得新品种认定（品种认定号：闽认菌 2012002），定名为武芝 2 号^[13]。紫芝 S2 适于林下种植与大棚栽培，已在福建省闽西北推广应用多年，年产量可达 300 t；近年来，紫芝 S2 已经被引种至广东、广西、江西和浙江等省份，辽宁、黑龙江也有零星种植。为了避免与其他来源（遗传背景不同）栽培菌的株系混杂，本研究采用 RAPD-PCR、ISSR-PCR 技术构建紫芝 S2（Zizhi S2）的分子标记。【拟解决的关键问题】应用 Primer-Blast 在线设计，将筛选得到的特异性 PCR 引物短序列与紫芝 S2 基因组全序列进行 Blast 比对，反向验证其有效

性，为紫芝菌株鉴别提供参考。

1 材料与方法

1.1 供试菌株

从不同单位得到的 6 个紫芝栽培常用紫菌株（表 1）。其中，1 号菌株紫芝 S2 和 2 号菌株紫芝 X5 均由福建省武平县食用菌技术推广服务站选育提供。紫芝 S2 与紫芝 X5、紫芝 1、紫芝 2、紫芝 3、紫芝 4 等其他 5 个菌株间均存在不同程度的拮抗现象，菌丝表面形成带状拮抗线（图 1）。

表 1 供试紫芝菌株信息
Table 1 Strains of cultivated Zizhi used in study

编号 No.	菌株名 Strain name	来源 Source
1	紫芝 S2 Zizhi S2	福建省农作物品种审定委员会认定品种（武芝2号） New varieties identified by Fujian Crop Variety Approval Committee（Wuzhi No.2）
2	紫芝 X5 Zizhi X5	福建省武平县食用菌技术推广服务站 Fujian Wuping County Edible Fungi Technology Extension Service Statio
3	紫芝1 Zizhi 1	华中农业大学菌种实验中心 Microbial Species Laboratory Center of Huazhong Agricultural Universit
4	紫芝2 Zizhi 2	上海市农业科学院食用菌研究所 Institute of Edible Fungi, Shanghai Academy of Agricultural Sciences
5	紫芝3 Zizhi 3	江苏省江都天达食用菌研究所 Jiangdu Tianda Institute of Edible Fungi, Jiangsu Province
6	紫芝4 Zizhi4	辽宁省锦州市亚泰食用菌研究所 Yatai Institute of Edible Fungi, Jinzhou City, Liaoning Province

1.2 DNA 样品提取与检测

将供试菌株分别接种到贴有玻璃纸的 PDA 平板中，封口倒置、于 27 ℃ 培养，待菌丝长满平板收集菌丝，于预冷研钵中加入液氮研磨成细粉，采用改良 CTAB 法提取和纯化总 DNA^[14]。采用 0.75% 琼脂糖凝胶电泳（100 V 直流 1 h，5~80 kb 脉冲 16 h）检测 DNA 样品符合建库合格，Nanodrop 检测 DNA 纯度（161.6 ng·μL⁻¹），Qubit 快速荧光定量（154.0 ng·μL⁻¹）。

1.3 RAPD、ISSR 扩增分析比较

采用 Eppendorf Mastercyeter Personal PCR 扩增仪，PCR 试剂购自 TaKaRa 有限公司（大连），候选 RAPD、ISSR 扩增引物均从（上海）生工生物工程

股份有限公司提供的引物产品中筛选，PCR 反应体系及扩增程序按照参考文献 [14]。反应结束后，各取 5 μ L PCR 产物，加 1 μ L 溴酚蓝 (6 $\times$) 混匀，在 1.0% 琼脂糖凝胶 (含 Goldview TMDNA 染料 0.5 μ g $\cdot$ mL⁻¹) 上电泳，使用 Marker 为 DL2000，于 4~5 V $\cdot$ cm⁻¹ 电压下电泳约 1.0 h，在 JS-680 全自动数码凝胶成像系统上观察并拍照保存。

1.4 引物序列与基因组序列的比对

采用 PacBio Sequel 三代测序平台完成紫芝 S2 全基因组测序，组装得到 72 条 Scaffold (其中核基因组 71 条，另文报道)；Blast 比对 (BLAST, v2.2.26) 检测每条 Scaffold 上是否包含 RAPD、ISSR 引物的短序列，并统计不同错配比对结果。

1.5 数据统计与处理方法

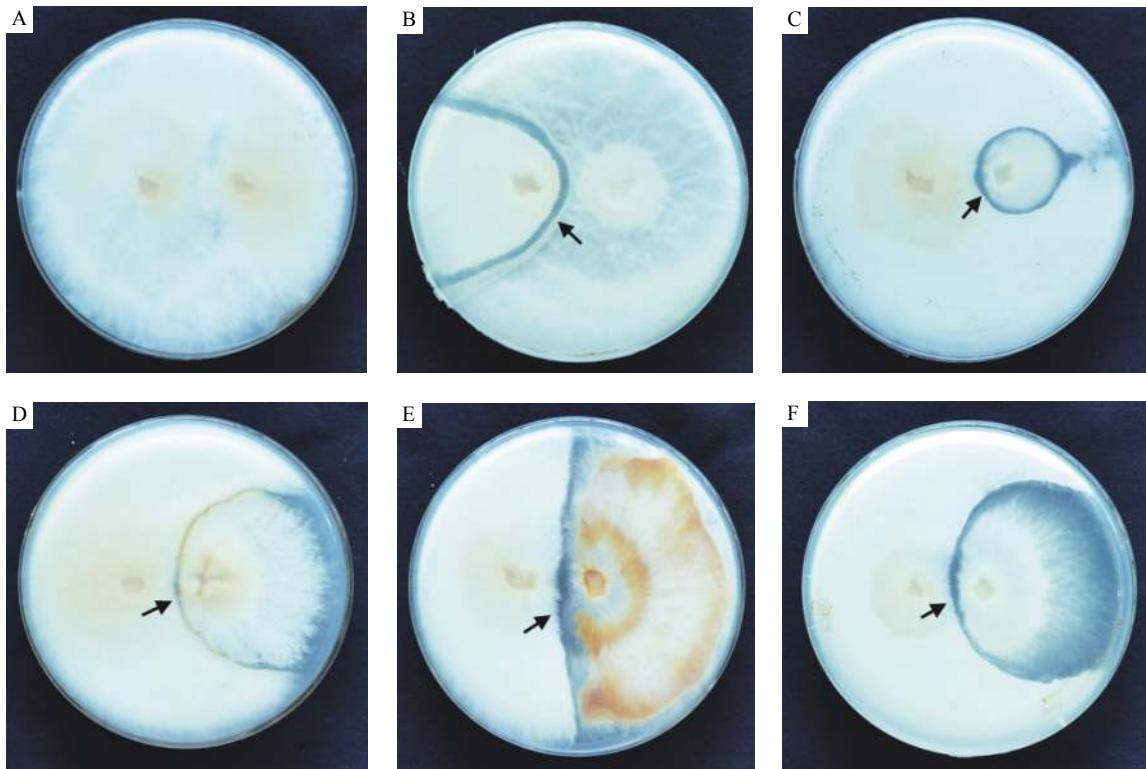
多态位点百分率计算公式为 $P = (k/n) \times 100\%$ ， k 为多态位点数， n 为检测位点总数；遗传相似距离计算采用 Nei 氏公式 $S = 2N_{xy} / (N_x + N_y)$ ，其中 N_{xy} 为菌株 X 和 Y 共有片段数， N_x 、 N_y 分别为 X 和 Y 菌株扩增片段总数。采用 NTSYSpc2.0 软件对菌株 RAPD、ISSR 分子标记结果进行 UPGMA 聚类分析，生成供试菌株的遗传聚类关系图。选取比对允许空位数为

0 的 Blast 结果 (比对分数值 Score 越大越好， e 值越小越好)，采用 Excel 2010 软件进行数据统计，分成比对允许错配为 0 和 1 (即 Gap=0; Mismatch=0,1) 两类结果。

2 结果与分析

2.1 鉴别菌株的分子标记短序列

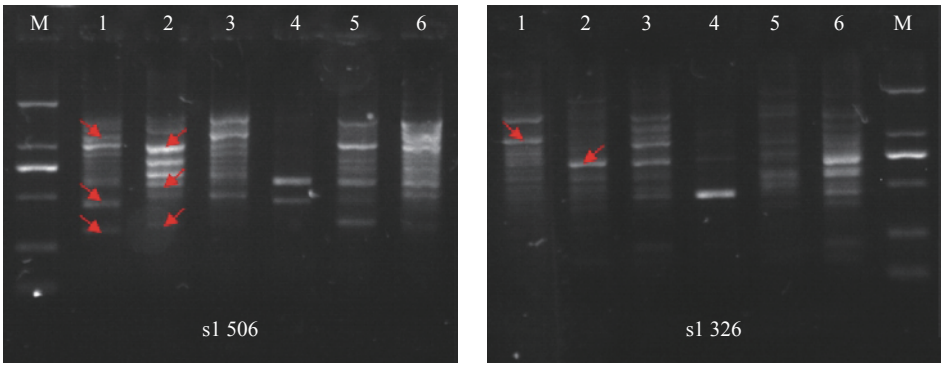
筛选到 2 个 RAPD 引物：S1506 (GGTGGCCA AG) 和 S1326 (AGGCATCGTG)，其扩增效果较好、重复性高，能稳定地扩增出特异性的条带；其中，在紫芝 S2、X5 的图谱中分别呈现明显区别的 1~3 特异性条带，并且与 4 个对照菌株的条带均能明显差异 (图 2)。同时，还筛选到 3 个 ISSR 引物：ISSR1 (C ACCACACACACACACA)、ISSR2 (AGAGACAGAG AGAGAGT) 和 ISSR13 (TTCCCTTCCTTCCC)，其扩增效果好、条带清晰且稳定，呈现多态性；共扩增出 87 条带，其中表现出多态性的条带为 59 条，多态位点百分率为 67.82%。其中，紫芝 S2、X5 彼此间呈现 1~3 条特异性条带，也能与 4 个对照菌株的条带明显区别开来 (图 3)。分析结果表明：采用 S1506、S1326、ISSR1、ISSR2、ISSR13 共 5 个短序列引物，扩



注：A：紫芝 S2-紫芝 S2；B：紫芝 S2-紫芝 X5；C：紫芝 S2-紫芝 1；D：紫芝 S2-紫芝 2；E：紫芝 S2-紫芝 3；F：紫芝 S2-紫芝 4。

Note: A: Zizhi S2 vs. Zizhi S2; B: Zizhi S2 vs. Zizhi X5; C: Zizhi S2 vs. Zizhi 1; D: Zizhi S2 vs. Zizhi 2; E: Zizhi S2 vs. Zizhi 3; and, F: Zizhi S2 vs. Zizhi 4.

图 1 紫芝菌株间的拮抗现象
Fig. 1 Antagonism between different Zizhi strains



注：泳道 1~6：紫芝 S2、紫芝 X5、紫芝-1、紫芝-2、紫芝-3 和紫芝-4，M 为分子标记 DL2000。

Note: Electrophoretic lines 1-6: Zizhi S2, Zizhi X5, Zizhi 1, Zizhi 2, Zizhi 3, and Zizhi 4; M: molecular marker DL2000.

图 2 RAPD-PCR 扩增图谱

Fig. 2 RAPD-PCR amplifications

增得到 RAPD 和 ISSR 图谱，均能够简单而有效地将紫芝 S2 与其他紫芝菌株鉴别，可以考虑用于分子标记。

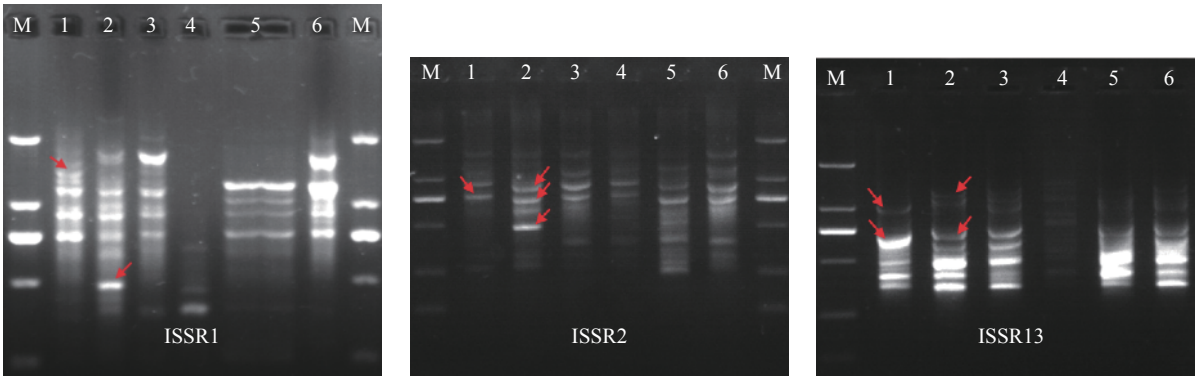
2.2 不同紫芝菌株间的遗传距离

通过聚类分析建立遗传相似距离矩阵，得到聚类图（图 4）。结果表明，6 株菌株相互间的遗传相似距离在 0.564~0.836；其中，1 号菌株（紫芝 S2）

与 4 号菌株（紫芝 2）之间的亲缘关系最近，而与 5 号菌株（紫芝 3）之间的亲缘关系最远。已知紫芝 S2 与紫芝 2 之间拮抗不明显，而与紫芝 3 之间拮抗明显（图 1），这 2 个试验结果相印证。

2.3 RAPD 和 ISSR 引物序列与基因组的比对结果

将筛选得到 5 个引物短序列（标为*_碱基数：S1



注：泳道 1~6：紫芝 S2、紫芝 X5、紫芝-1、紫芝-2、紫芝-3 和紫芝-4，M 为分子标记物 DL2000。

Note: Line 1-6: Electrophoretic results of Zizhi S2, Zizhi X5, Zizhi 1, Zizhi 2, Zizhi 3, Zizhi 4 and the M is the molecular marker DL2000.

图 3 ISSR-PCR 扩增图谱

Fig. 3 ISSR-PCR amplifications

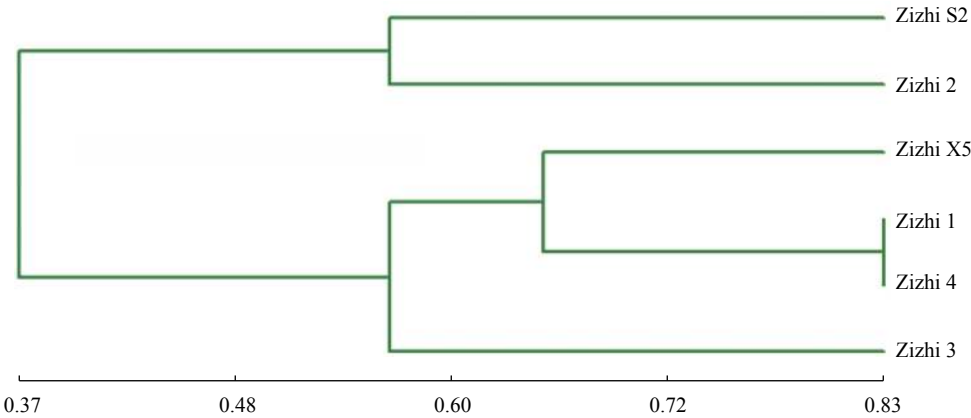


图 4 紫芝菌株的遗传聚类图

Fig. 4 Clustering dendrogram of Zizhi strains

506_10、S132610、ISSR1_17、ISSR2_17 和 ISSR13_14）与紫芝 S2 的基因组序列进行 Blast 比对，结果发现：除 ISSR1_17 外，其他 4 个引物都能比对上，均在基因组中不同 Scaffold 上的多个位点找到与引物相匹配的序列片段（表 2）。在允许一个（单碱基）错配或空位情况下，在 18 条 Scaffold 上有 31 个片段（17 bp）与 ISSR-PCR 引物 ISSR2_17 相匹配（Identity=93.75~94.12），同时在 18 条 Scaffold 上找到 31 个片段（14 bp）与 ISSR13_14（完全匹配 Identity=100），在 48 条 Scaffold 上找到 158 个片段（10 bp）与 S1326_10 匹配（Identity=

100%），在 47 条 Scaffold 上找到 172 个片段（10 bp）与 S1506_10（Identity=100%）相匹配。如不允许错配或空位，则在 5 条 Scaffold 上有 6 个片段（14 bp）与引物 ISSR13_14 完全匹配（Identity=100%），在 48 条 Scaffold 上发现共有 158 个片段（10 bp）与引物 S1326_10 完全匹配，在 47 条 Scaffold 上共有 172 个位点片段（10 碱基）与 S1506_10 完全匹配。因此，本研究最终推荐 ISSR13、S1326 和 S1506 这 3 个 PCR 引物作为鉴别紫芝菌株的分子标记。

表 2 PCR 引物与基因组比对结果
Table 2 Blast result of PCR primer sequences on genomes

引物名称_碱基数 Primer name _Base number	比对上引物序列的 Scaffold 数目 All scaffold number	与引物匹配的位点数 All primer number	比对相似度 Identity (%)
不允许错配（空位为0）No mismatches allowed（Gap=0）			
ISSR13_14	5	6	100
S1326_10	48	158	100
S1506_10	47	172	100
允许一个错配（空位为0）Allow one mismatch（Gap=0）			
ISSR2_17	11	14	93.75~94.12
ISSR13_14	18	31	100
S1326_10	48	158	100
S1506_10	47	172	100

注：引物ISSR13短序列出现在Scaffold_1上2个位点，引物S1326出现在Scaffold_1上15个位点；S1506引物出现在Scaffold_1上17个位点，出现在Scaffold_60上5个位点。
Note: Short sequence of ISSR 13 appeared at two sites on Scaffold No. 1; S1326 at 15 sites on Scaffold No. 1; and S1506 at 17 sites on Scaffold No. 1 and 5 sites on Scaffold No. 60.

3 讨论与结论

已知在灵芝属药用真菌的遗传多样性研究中可以通过拮抗反应进行初步分类，然后再通过分子生物学的方法进行深入研究^[15~17]。本研究发现，紫芝 S2 菌株与其他紫芝菌株之间存在拮抗反应，遗传背景明显不同的个体在菌丝交界区会形成明显的拮抗线，可以据此进行少量紫芝菌株的初步分类与鉴别；但当菌株数量众多时，工作量大且无法量化而不适用。本研究通过筛选到有价值的 2~3 个 RAPD/ISSR 引物，PCR 扩增得到的 DNA 片段呈现条带清晰稳定、多态性和特异性的电泳指纹图谱，可用于紫芝新品种武芝二号（紫芝 S2）与其他 5 个紫芝菌株的鉴别。在此基础上，通过遗传距离确定其亲缘关系，与菌株间的拮抗反应相一致；进一步通过与紫芝 S2 菌株基因组序列比对，确认利用其中 3 个引物

（ISSR13、S1326 和 S1506）作为鉴别紫芝栽培品种或菌株简单有效的分子标记物。

2012 年以来公布的几种灵芝核基因组^[18~21]，其中组装质量高和注释信息较完整的有赤芝基因组全序列总长 43.29 Mb（82 条 Scaffold，16113 个蛋白质编码基因）^[19]，紫芝基因组全序列总长 48.96 Mb（69 条 Scaffold，15688 个蛋白质编码基因）^[20]；本研究同期完成紫芝 S2 三代测序，组装得到的核基因组序列全长 56.76 Mb，包含 71 条 Scaffold，注释出 16681 蛋白质编码基因（另文报道）。在此基础上，既可以基于灵芝基因组序列筛选出有效 SSR 位点用于快捷、准确地标记区分灵芝菌株间亲缘关系（另文报道），也可以将筛选得到的有效鉴别紫芝菌株的 RAPD/ISSR-PCR 引物（短序列）与紫芝基因组序列进行 Blast 比对验证。

致谢：本研究依托特色食用菌繁育与栽培国家地方

(福建省农业科学院) 联合工程研究中心、福建农林大学菌物研究中心、福建省农业科学院药用植物研究中心的科研平台完成。

参考文献:

- [1] 李开本, 陈体强, 何修金, 等. 短段木灵芝优质高产菌株“赤芝6号”研究[J]. 福建省农科院学报, 1996, 11 (3): 1-6.
LI K B, CHEN T Q, HE X J, et al. Study on “Red Reishi No. 6”, a high-yield and fine-quality strain of *Ganoderma lucidum* for woodlqg cultivation [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 1996, 11 (3): 1-6. (in Chinese)
- [2] 林兴生, 李开本, 陈体强, 等. 28个灵芝菌株栽培特性比较[J]. 食用菌学报, 2001, 8 (3): 45-49.
LIN X S, LI K B, CHEN T Q, et al. A comparative study on the cultivation characteristics of 28 *Ganoderma lucidum* strains [J]. *Acta Edulis Fungi*, 2001, 8 (3): 45-49. (in Chinese)
- [3] 陈体强, 林兴生, 赵健, 等. 福建灵芝科真菌资源及担孢子形态结构数据库研究[J]. 福建农业学报, 2002, 17 (1): 40-44.
Chen T Q, Lin X S, ZHAO J, et al. Resource of *Ganodermataceae* in Fujian Province and its morphology and structure database of basidiospores [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2002, 17 (1): 40-44. (in Chinese)
- [4] 赵继鼎. 中国灵芝科的分类研究: XI. 灵芝亚属灵芝组[J]. 真菌学报, 1989 (1): 25-34.
ZHAO J D. Studies on the taxonomy of *Ganodermataceae* in China vi [J]. *Mycosystema*, 1989 (1): 25-34. (in Chinese)
- [5] 赵继鼎, 张小青. 中国真菌志(第十八卷)·灵芝科[M]. 北京: 科学出版社, 2000, 70: 86-87&103-106.
- [6] 李艳艳, 钟莹莹, 陈逸湘, 等. 我国灵芝种质资源及生产技术研究进展[J]. 中国食用菌, 2016, 35 (1): 8-12, 20.
LI Q Y, ZHONG Y Y, CHEN Y X, et al. Research advances on the production technology of *Ganoderma* in China [J]. *Edible Fungi of China*, 2016, 35 (1): 8-12, 20. (in Chinese)
- [7] 陈逸湘, 宋斌, 李挺, 等. 紫芝研究进展[J]. 广东农业科学, 2011, 38 (24): 36-39.
CHEN Y X, SONG B, LI T, et al. Research on advances of *Ganoderma sinense* [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2011, 38 (24): 36-39. (in Chinese)
- [8] 陈体强, 吴锦忠, 李晔, 等. 福建野生紫芝资源开发利用 II. “闽紫96” (中国灵芝) [J]. 菌物研究, 2006, 4 (4): 27-32.
CHEN T Q, WU J Z, LI Y, et al. Exploitation and utilization of wild Zhizi resources (sect. *phaeonomia* of *Ganoderma*) in Fujian (II) / *G. sinense* “minzi 96” [J]. *Journal of Fungal Research*, 2006, 4 (4): 27-32. (in Chinese)
- [9] 钟礼义, 陈体强, 邱福平. 不同紫芝菌株特性比较及边材栽培研究初报[J]. 食用菌, 2005, 27(1): 26-27.
ZHONG L Y, CHEN T Q, QIU F P, et al. Primary study on cultivation of Zizhi with broad-leaved sapwood and comparative characteristics of different strains [J]. *Edible Fungi*, 2005, 27(1): 26-27. (in Chinese)
- [10] 吴兴亮, 戴玉成. 中国灵芝图鉴[M]. 北京: 科学出版社, 2005.
- [11] 王新存. 灵芝科系统发育研究[D]. 北京: 中国科学院大学, 2012.
WANG X C. Phylogenetic studies of *Ganodermataceae* [D]. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences, 2012. (in Chinese)
- [12] HAPUARACHCHI K K. High phenotypic plasticity of *Ganoderma sinense* (*ganodermataceae*, *polyporales*) in China [J]. *Asian Journal of Mycology*, 2019, 2 (1): 1-47.
- [13] 钟礼义. 紫芝新品种武芝2号区域试验[J]. 中国食用菌, 2013, 32 (6): 25-27.
ZHONG L Y. The regional test on new varieties of Zizhi (*Ganoderma*) [J]. *Edible Fungi of China*, 2013, 32 (6): 25-27. (in Chinese)
- [14] 应正河. RAPD、SRAP和ISSR标记在香菇种质资源的应用及其SCAR标记的建立[D]. 福州: 福建农林大学, 2006.
YIN Z H. Application of RAPD, SRAP and ISSR markers in germplasm resources of *Lentinus edodes* and establishment of SCAR markers [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2005. (in Chinese)
- [15] 唐传红, 张劲松, 陈明杰, 等. 利用拮抗试验和RAPD对灵芝属菌株进行分类研究[J]. 微生物学通报, 2005, 32 (5): 72-76.
TANG C H, ZHANG J S, CHEN M J, et al. Study on classification of strains of *Ganoderma* by antagonistic effect and rapd [J]. *Microbiology*, 2005, 32 (5): 72-76. (in Chinese)
- [16] 王锦锋, 李晶, I.L.Datti, et al 利用拮抗、ITS和RAPD技术对灵芝属菌株分类的研究[J]. 西南农业学报, 2017, 30 (1): 26-33.
WANG J F, LI J, DATTI I, et al. Study on classification of 21 strains of *Ganoderma* by antagonistic effect, ITS and RAPD technology [J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2017, 30 (1): 26-33. (in Chinese)
- [17] 徐凯, 唐传红, 王天娇, 等. 基于SRAP、ISSR和RAPD分析灵芝G0130菌株单核体多态性[J]. 工业微生物, 2014, 44 (4): 39-45.
XU K, TANG C H, WANG T J, et al. Polymorphism of monokaryons of *Ganoderma lucidum* G0130 based on SRAP, ISSR and RAPD analysis [J]. *Industrial Microbiology*, 2014, 44 (4): 39-45. (in Chinese)
- [18] LIU D B, GONG J, DAI W K, et al. The genome of *Ganoderma lucidum* provides insights into triterpenes biosynthesis and wood degradation [J]. *PLoS One*, 2012, 7 (5): e36146.
- [19] CHEN S L, XU J, LIU C, et al. Genome sequence of the model medicinal mushroom *Ganoderma lucidum* [J]. *Nature Communications*, 2012, 3: 913.
- [20] ZHU Y J, XU J, SUN C, et al. Chromosome-level genome map provides insights into diverse defense mechanisms in the medicinal fungus *Ganoderma sinense* [J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 11087.
- [21] 龚明, 鲍大鹏, 唐传红, 等. 沪农灵芝1号全基因组分析和演化比较[J]. 食用菌学报, 2016, 23 (2): 1-5, 19.
GONG M, BAO D P, TANG C H, et al. Genome-wide analysis and evolution comparison of *Ganoderma lucidum* SH [J]. *Acta Edulis Fungi*, 2016, 23 (2): 1-5, 19. (in Chinese)

(责任编辑: 黄爱萍)