

# 食用菌菌种分子生物学检测研究进展

宋浩源, 赵 鹏

(鲁东大学园艺学院 山东烟台 264025)

**摘要:**近年来,我国食用菌产业发展迅速,食用菌菌种混乱、来源不清等问题已成为制约产业发展的重要因素。传统的食用菌菌种鉴定方法,如形态学特征观察、品种拮抗试验等,虽然在一定程度上能够满足需求,但存在鉴定周期长、准确性不高等问题。分子生物学技术的不断进步,为食用菌产业发展提供了强大的技术支撑,也提升了食用菌菌种检测、品种鉴定与种质资源保护水平。常见的食用菌菌种分子生物学检测方法有 DNA 分子标记、DNA 序列分析与 DNA 条形码技术等。DNA 分子标记技术包括以分子杂交为基础的 DNA 标记,如 RFLP;以 PCR 为基础的各种 DNA 指纹技术,如 RAPD;以及以测序为基础的新型分子标记,如 SNP 与 MNP 等。DNA 序列分析技术主要指 ITS、IGS 以及基于基因组测序技术的序列分析。DNA 条形码技术包括 ITS 条形码和蛋白编码基因条形码,如 EF-1 $\alpha$ 、 $\beta$ -tubulin 等。概述了近年来食用菌菌种分子生物学检测领域的研究进展,提出了食用菌菌种分子检测技术的发展建议,为食用菌菌种的快速准确鉴定及品种选育等提供参考。

**关键词:**菌种真实性检测;分子标记;品种鉴定;机器学习;CRISPR/Cas 系统

中图分类号:S646

文献标志码:A

文章编号:1673-2871(2024)10-009-09

## Research progress on molecular biological detection of edible mushroom strains

SONG Haoyuan, ZHAO Peng

(School of Horticulture, Ludong University, Yantai 264025, Shandong, China)

**Abstract:** In recent years, edible mushroom industry of China has developed rapidly. But the problems such as confusion and unclear source of edible mushroom strains have become important issues restricting the development of the industry. Classic identification methods of edible mushroom strains such as morphologic characteristic observation, analysis of variety antagonistic reaction are time-consuming and inaccurate sometimes. The continuous progress of molecular biology technology has provided strong technical support for the development of edible mushroom industry and facilitates the detection of edible mushroom strains, variety identification and genetic resource conservation. The molecular methods of edible mushroom strains are DNA marker method, DNA sequence analysis and DNA barcoding. DNA marker techniques include the methods based on molecular hybridization such as RFLP, DNA fingerprinting methods based on PCR technique such as RAPD and novel markers based on the genome sequencing such as SNP and MNP. DNA sequence analysis technique is the analysis of ITS, IGS and the analysis based on genome sequencing. DNA barcoding technique includes the ITS barcoding and house-keeping gene barcoding such as EF-1 $\alpha$ ,  $\beta$ -tubulin. In this paper, the research progress on the molecular biological detection of edible mushroom strains in recent years was reviewed, and prospects for future molecular detection of edible mushroom strains was addressed, which provided reference for rapid and accurate identification of mushroom strains and variety breeding.

**Key words:** Mushroom strains authenticity; Molecular marker; Variety identification; Machine learning; CRISPR/Cas system

中国食用菌产业历经 40 多年的迅速发展,已然跃升为全球最大的食用菌生产、消费和出口国。2022 年全国食用菌总产量 4 543.86 万 t<sup>[1]</sup>。种业是农业的“芯片”,菌种是食用菌产业的命脉和核心竞

争力。随着食用菌产业的快速发展,食用菌菌种混乱、来源不清等问题已成为制约产业发展的重要因素。通过对食用菌菌种的检测可鉴定菌种真实性,同时也可筛选具有优良性状的菌种为选育新品种

收稿日期:2024-07-18;修回日期:2024-08-08

作者简介:宋浩源,男,在读本科生,专业方向为食用菌学。E-mail:shy200404060035@163.com

通信作者:赵 鹏,男,副教授,主要从事食用菌分子分类研究。E-mail:zhaop529@hotmail.com

提供支持<sup>[2]</sup>。对食用菌育种人员来说,准确鉴定菌种,是培育新品种的基础。此外,鉴定食用菌品种,对保障品种权利具有重要意义。通过对新品种的认定,保证了新品种的质量,防止了侵权、不正当竞争,保护了新品种发明者的合法权利<sup>[3]</sup>。

传统的食用菌菌种鉴定方法,如形态学特征观察、品种拮抗试验及同工酶电泳等,虽然在一定程度上能够满足需求,但存在鉴定周期长、准确度不高等问题<sup>[4]</sup>。随着生物技术的不断发展,与食用菌有关的遗传学与分类学研究大量开展,使分子生物学手段在食用菌菌种鉴定方面的应用范围得到了进一步的扩展,为食用菌品种鉴定与种质资源保护等提供有力的技术支撑。分子鉴定技术作为一种新兴的技术手段,在食用菌菌种鉴定中发挥着越来越重要的作用。常用的分子生物学检测技术有DNA分子标记技术、DNA序列分析<sup>[5]</sup>与DNA条形码技术等。

## 1 DNA分子标记技术

广义的分子标记指在分子水平上可标识的基因组中任何点位上的相互差异(遗传多样性)。狭义的分子标记是指可标识的核苷酸序列多态性<sup>[6]</sup>。分子标记与遗传标记相比具有以下优点:(1)在生物体发育的不同阶段,不同组织的DNA都可用于标记分析;(2)大多数分子标记是共显性遗传;(3)基因组变异极其丰富,分子标记的数量几乎是无限的<sup>[7]</sup>。基于对DNA多态性的检测手段,可将其分为三类<sup>[8]</sup>:一是以分子杂交为基础的DNA标记技术,如RFLP(restriction fragment length polymorphism,限制性片段长度多态性),二是以PCR为基础的各种DNA指纹技术,如RAPD(random amplified polymorphic DNA,随机扩增多态性)、 AFLP(amplified fragment length polymorphism,扩增片段长度多态性)、SSR(simple sequence repeat,简单重复序列)、ISSR(inter-simple sequence repeat,简单序列重复区间扩增多态性)等,三是以测序为基础的新型分子标记,如SNP(single nucleotide polymorphism,单核苷酸多态性)、MNP(multiple nucleotide polymorphism,多核苷酸多态性)等。根据需要选择适合的分子标记技术,或联合不同的标记技术为食用菌产业的发展提供保障。

### 1.1 RFLP(限制性片段长度多态性)技术

RFLP是最早期的分子标记技术之一。RFLP是指基因型之间限制性片段长度的差异,这种差异

是由限制性酶切位点上碱基的插入、缺失、重排或点突变所引起的<sup>[9]</sup>。1995年,RFLP成功应用在食用菌菌株鉴定中<sup>[10]</sup>,后来广泛应用到食用菌的遗传研究和种群结构分析中。使用3种不同的RFLP标记和3种不同的AP-PCR(arbitrarily primed PCR,随机引物PCR)引物,成功地区分了2种草菇*Volvariella volvacea*和*V. bombycina*<sup>[11]</sup>。使用限制性内切酶Hae III和Bst F51消化ITS(internal transcribed spacer,内转录间隔区片段)成功鉴定出大多数北半球的冬菇属*Flammulina*物种,使用另外两种酶Bgl I和Bst UI消化金针菇*F. velutipes*得到了更多的限制性片段,并且这些片段与特定的地理分布相关联<sup>[12]</sup>。目前,基于指纹图谱技术发展起来的PCR-RFLP技术因具有操作简单、成本低、重复性好等优点,被广泛应用于物种鉴定<sup>[13]</sup>。通过对58个白灵侧耳*Pleurotus nebrodensis*菌株ITS特异性扩增和克隆测序,建立ITS-RFLP技术,成功实现了对白灵侧耳菌种的分子检测<sup>[14]</sup>。不过,由于成本较高,检测技术繁杂,RFLP标记难以用于大规模生产实践中<sup>[15]</sup>。

### 1.2 RAPD(随机扩增多态性)技术

RAPD标记由Williams等<sup>[16]</sup>和Welsh等<sup>[17]</sup>于1990年创立。该技术使用1~2个随机引物(一般8~10个碱基)非定点地扩增基因组DNA,然后经凝胶电泳分离后,检测其扩增片段多态性<sup>[18]</sup>。待测菌株基因组DNA如果在特定引物结合区域发生片段插入、缺失或碱基突变,有可能导致引物结合位点的分布发生相应的变化,导致PCR产物增加、缺少或发生分子质量变化。若PCR产物增加或缺少,则产生RAPD标记。RAPD技术是一种简单、快速、准确的食用菌菌种鉴定方法<sup>[19]</sup>。目前,已被广泛应用于食用菌菌种鉴定与遗传多样性研究中。利用RAPD技术和聚类分析对木耳属*Auricularia*不同种和种内不同菌株进行分子鉴定,结果表明,RAPD技术能够有效地用于木耳属物种或菌株的快速准确鉴定<sup>[20]</sup>。使用RAPD技术分析了野生红菇*Russula* sp.子实体和从中分离的3种菌株的DNA多样性,对分离得到的3个菌株进行鉴定,结果表明这3个菌株为同一个种<sup>[21]</sup>。对46个侧耳属*Pleurotus*菌株进行RAPD分析和酶谱分析,结合生态和形态学数据,探讨了这些菌株的遗传多样性和系统发育的关系<sup>[22]</sup>。利用RAPD分子标记技术对8个黑木耳*Auricularia auricula*生产菌株进行分子鉴定,通过NTSYS软件进行聚类分析,结果显示这些

菌株之间的遗传相似性在 0.53~0.97 之间,遗传差异较大,为黑木耳种质资源的研究提供了科学依据<sup>[23]</sup>。RAPD 标记的试验条件摸索和引物选择是十分关键而艰巨的任务,通过对试验条件的标准化,可以提高 RAPD 标记的再现性<sup>[24]</sup>。

### 1.3 AFLP(扩增片段长度多态性)技术

AFLP 标记技术是对限制性酶切片段的选择性扩增。其原理是通过限制性内切酶水解基因组 DNA 产生不同大小的 DNA 片段,再利用 PCR 技术将这些片段进行选择性的扩增,最后在高分辨率凝胶上通过电泳检测扩增片段的长度多态性<sup>[25]</sup>。鉴于 AFLP 标记的多态性强,一次可检测到 100~150 个扩增产物,因而非常适合绘制品种指纹图谱及进行分类研究<sup>[26]</sup>。应用 AFLP 分析建立了糙皮侧耳 *Pleurotus ostreatus* 的 DNA 指纹图谱,计算了菌株间的遗传相似系数和遗传距离,并通过 UPGMA 法进行了聚类分析。研究结果显示,14 个菌株被分为 6 个组,其中 P17 和杂 3、闽 31 和义平分别表现出密切的遗传关系,这与它们的地理分布和最佳生长温度相一致,为糙皮侧耳的分子鉴定和遗传研究提供了重要数据<sup>[27]</sup>。对 31 个香菇 *Lentinula edodes* 主要栽培菌株的 DNA 多态性进行分析研究,得到 443 条扩增条带,其中 189 条为共有带,多态性比率为 57.34%,表明香菇菌种间存在一定程度的遗传多样性,为香菇种质资源的鉴定提供了可靠的分子生物学依据<sup>[28]</sup>。应用 4 个香菇品种(LB-21、L808、215 和 B15-1)的 AFLP 分子标记,分析其遗传多样性,为香菇品种的遗传多样性和亲缘关系研究提供了重要数据<sup>[29]</sup>。AFLP 结合了 RFLP 和 RAPD 两种技术的优点,但分析成本较高,对 DNA 的纯度和内切酶的质量要求也较高<sup>[30]</sup>。

### 1.4 SSR(简单重复序列)技术

SSR 标记是由一类 1~6 个碱基组成的基序串联重复而成的 DNA 序列,长度一般较短,并广泛分布于基因组的不同位置,具有较高的多态性。其原理是根据微卫星 DNA 两端的单拷贝序列设计 1 对特殊引物,利用 PCR 技术扩增每个位点的微卫星 DNA 序列,通过电泳分析核心序列的长度多态性<sup>[31]</sup>。利用 200 对 SSR 标记分析了 25 份常用香菇栽培菌种的遗传多样性,结果显示供试材料的遗传相似性较高,平均遗传相似系数为 0.776,成功构建了 11 份香菇商业菌种的多位点 SSR 指纹图谱,为香菇菌种的真实性鉴定提供了新的方法,具有重要的应用价值<sup>[32]</sup>。从双孢蘑菇 *Agaricus bisporus* 的基

因组中鉴定了 3134 个 SSR 位点,并开发了 17 个多态性引物对。研究结果显示,这些 SSR 标记能够准确地识别所测试的 11 个商业栽培品种,其中 AB\_SSR\_2341 和 AB\_SSR\_2590 两个标记组合可以区分所有品种。该研究为双孢蘑菇品种保护和分子辅助育种提供了有效的技术手段<sup>[33]</sup>。利用 MI-SA 软件在灵芝 *Ganoderma lucidum* 全基因组中扫描到 4038 个 SSR 位点,设计出 1442 对引物,并通过试验验证筛选出 44 对有效 SSR 引物。利用这些引物对 11 份灵芝种质资源进行了遗传多样性评估,结果表明,供试材料的遗传距离在 0.120~0.962,可以分为 3 大类。表明灵芝全基因组 SSR 分子标记技术可用于种质资源鉴定和遗传多样性分析,这对推动灵芝产业的良性发展具有重要意义<sup>[34]</sup>。使用 SSR-PCR 对白肉灵芝 *Ganoderma leucocontextum* 进行遗传多样性分析,结果表明 SSR 标记技术在遗传多样性分析中表现出较高的多态性,可用于白肉灵芝菌种鉴定<sup>[35]</sup>。利用 13 个大球盖菇 *Stropharia rugosoannulata* 菌株和已公布的基因组数据,设计了 100 对 SSR 引物进行试验验证。发现了 6 种 SSR 类型,其中三核苷酸类型最为常见。通过验证试验获得了 16 对引物,其中 3 对引物(DQGSSR020、DQGSSR031、DQGSSR077)表现出高多态性、特异性和无杂峰。这些引物被用于构建大球盖菇 DNA 指纹编码,建立了 13 个大球盖菇菌株的 32 位数分子指纹数据库编码<sup>[36]</sup>。但应用 SSR 标记建立新的标记时,需要了解重复序列两端的序列信息,所以开发起来具有一定难度,成本也比较高<sup>[37]</sup>。

### 1.5 ISSR(简单重复序列区间)技术

ISSR 是基于微卫星 DNA 的分子标记方法。通过设计特定的引物,这些引物能够与基因组中的 SSR 序列结合,并在 PCR 反应中扩增这些位点。扩增产物通过电泳或毛细管电泳技术进行分析,不同的 SSR 重复模式会导致产物大小不同,从而可以识别个体之间的遗传差异<sup>[38]</sup>。ISSR 标记具有多态性高、简便快速、分辨率高等优点,广泛应用于植物和微生物的种质资源鉴定及遗传多样性分析等领域。食用菌 ISSR 相关行业标准适用于若干侧耳属食用菌、香菇、黑木耳、灰树花、金针菇、滑菇、茶树菇、鸡腿菇等菌种的真实性鉴定<sup>[39]</sup>。利用 ISSR 分子标记技术对 6 种不同来源的金针菇菌株进行了分子鉴定。从 20 条 ISSR 引物中筛选出 8 条可用引物,共获得 136 条 DNA 片段,其中多态性条带占比

81.6%。通过 UPGMA 软件进行聚类分析,将供试金针菇菌株分为 3 个组群。结果显示,ISSR 分子标记技术可有效用于金针菇生产菌株的快速准确鉴定,是金针菇指纹图谱分析的有效工具<sup>[40]</sup>。通过对 24 个黑木耳菌株的分析,发现酯酶同工酶酶谱可扩增出 11 条不同迁移率的酶带,ISSR 分子标记技术则扩增出 67 条清晰的 DNA 多态性片段;聚类分析显示,当遗传系数为 0.74 时,菌株分为两大类。研究结果与拮抗试验结果基本一致,为黑木耳菌株的选择及遗传育种提供了参考依据<sup>[41]</sup>。采用 ITS 序列分析和 ISSR 分子标记技术,结合拮抗试验,对 18 个灵芝菌株进行鉴定和遗传多样性分析。研究结果表明,所有菌株均属于赤芝 *Ganoderma sichuanense*,并可细分为 4 个类群,拮抗试验结果显示,79.7%的菌株之间存在拮抗现象,可分成 7 个类群;ISSR 分析显示,菌株的遗传相似系数平均为 0.652 9,当相似系数约为 0.679 时,也可以分为 7 个类群。综合分析表明,灵芝菌株表现出明显的遗传多样性,且基于 ISSR 的分类结果与基于 ITS 序列分析和拮抗试验结果的分类一致<sup>[42]</sup>。ISSR 技术的缺点是在 PCR 扩增过程中需要一定时间摸索最适反应条件<sup>[43]</sup>。

ISSR 标记具有重复性高、稳定性好的特点,用其转化的 SCAR (sequence characterized amplified regions, 特定序列扩增) 标记则更加可靠。采用 ISSR 标记技术对 34 个黑木耳栽培菌株进行 DNA 指纹分析,构建 DNA 指纹图谱,成功将 2 个黑木耳栽培菌株中的 ISSR 特异性 DNA 带转化为 SCAR 标记,用于快速准确鉴定黑木耳栽培菌株<sup>[44]</sup>。通过拮抗试验、现蕾出菇试验和 ISSR 图谱分析,获得秀珍菇 *Pleurotus geesteranus* 菌株的 ISSR 特异性标记,并将其克隆和测序。利用 Primer 6.0 软件设计了 SCAR 引物,并通过 PCR 扩增验证了该标记的稳定性,结果显示,该 ISSR-SCAR 标记能够以 100% 的准确率鉴定低温刺激型秀珍菇菌株,为秀珍菇种质资源的鉴定和分类提供了技术支持<sup>[45]</sup>。

### 1.6 SNP(单核苷酸多态性)技术

SNP 是指基因组水平上单个核苷酸变异所引起的 DNA 序列多态性。通过设计特异性引物或探针,结合 PCR 扩增和先进的检测技术,可以实现对 SNP 位点的精确检测,具有自动化程度高、通量大、速度快等优点<sup>[46]</sup>。随着第三代基于测序技术的分子标记技术的进展,使得密集标记图谱和基因分型成为可能<sup>[47]</sup>。

利用重测序数据分析了 8 个金针菇菌株的基因组,发掘金针菇特异性标记,共鉴定出 1 840 620 个 SNP、95 035 个 InDel (insertion deletion, 插入或缺失) 和 63 个丰度 SNP 标记区域。这些标记将有助于金针菇的遗传分析,为分子辅助育种、功能基因发掘和机制探索提供支持<sup>[48]</sup>。对河南香菇主产区 23 份香菇种质资源进行了全基因组重测序,分析了 SNP 和 InDel 数据,并进行了遗传结构分析、进化树构建和主成分分析。结果显示,这些香菇样本的遗传多样性较低,可分为 3 个谱系,推测至少有 3 个祖先遗传成分。主成分分析进一步验证了菌株间的亲缘关系,并证明了菌种分支的地域性<sup>[49]</sup>。传统方法检测 SNP 位点耗时且成本高昂,且只能发现有限的 SNP 位点。为了提高效率,可利用限制性内切酶切割基因组 DNA,并结合高通量测序技术来筛选食用菌 SNP 位点<sup>[50]</sup>。

### 1.7 MNP(多核苷酸多态性)技术

MNP 分子标记是建立在 SNP 分子标记基础上,通过识别、筛选和设计目标基因组中的多个分散 SNP 位点,构建出具有高精度和高通量的品种鉴定体系<sup>[51]</sup>。MNP 已成功应用于水稻、大豆、油菜、茄子、玉米、番茄等作物的品种鉴定<sup>[52]</sup>。研究人员已在一些常见食用菌如香菇、金针菇、刺芹侧耳等应用 MNP 技术进行菌种分子生物学鉴定<sup>[53-55]</sup>。MNP 分子标记技术以高度多态性、高通量特性、准确性和可靠性以及广泛适用性等优点在食用菌菌种分子生物学检测领域展现出巨大的应用潜力<sup>[56]</sup>。随着技术的不断发展和完善,相信 MNP 分子标记技术将在食用菌菌种的精准鉴定中发挥重要作用<sup>[57]</sup>。

## 2 DNA 序列分析技术

核酸是生命活动中最基本的遗传信息单位,同时也是重要的遗传信息载体,为研究物种的遗传多样性提供了大量可靠的资料。通过核酸序列分析,可以直观地观察到碱基的转变、颠换、变异趋势等。对食用菌菌种进行序列分析,主要是通过对核糖体 DNA 及其他基因进行序列分析<sup>[58]</sup>。

### 2.1 ITS(内转录间隔区)

ITS 片段是核糖体 RNA 基因簇的一个高变区,位于 18S 和 28S rRNA 基因之间,包括 ITS1、5.8S rRNA 基因和 ITS2 区域。真菌的 ITS 在物种间频繁地发生变化,具有丰富的序列多态性。所以,在所有的核糖体 DNA 片段序列中,ITS 片段具有更高的效率,可以应用于物种的分类鉴定<sup>[59]</sup>。

对 15 种常见栽培食用菌的 30 个菌株进行了 18S rDNA (核糖体 DNA) 和 ITS 序列的测序分析, 并使用 neighbor-joining (NJ) 法构建了系统发育树。结果显示, 18S rDNA 序列在较高分类水平上表现出极高的相似性, 而 ITS 序列则在较低分类水平上提供了更高的可信度和区分能力。研究认为, 结合 18S rDNA 和 ITS 序列分析是一种快速有效的食用菌菌种鉴定方法<sup>[60]</sup>。采用 ITS 分子标记技术, 对内蒙古市场上的 11 种常见野生食用菌进行了分子鉴定。结果显示, ITS 分析方法能够辨别外形相似的野生食用菌, 为蘑菇市场混伪品种鉴定提供了快速有效的手段<sup>[61]</sup>。对采集的 6 种野生蘑菇样本, 利用引物 ITS1 和 ITS4 进行扩增, 然后进行序列分析。结果显示, *Volvariella volvacea*、*Trametes elegans*、*Schizophyllum commune*、*Pleurotus ostreatus*、*Ganoderma lucidum* 和 *Trametes gibbosa* 的序列分别与数据库中的相应物种序列匹配, 相似性为 97%~100%<sup>[62]</sup>。

ITS 序列在进化过程中存在着高度保守、进化缓慢、分化程度低等缺陷<sup>[63]</sup>。对侧耳属 *Pleurotus* 16 个种 38 个菌株的 ITS 序列进行分析。结果显示, 侧耳属各物种的 ITS 序列种内趋异度极小, 但种间趋异度较大, 其中 *P. rattenburyi* 和 *P. djamor* 之间的趋异度最大, 为 0.282。研究认为, ITS 序列差异 2%~3% 作为伞菌中种的鉴定临界值在侧耳属中并不合适, 且对 *P. ostreatus* 和 *P. cornucopiae* 的准确鉴定需要开发新的分类鉴定标记<sup>[64]</sup>。

## 2.2 IGS (intergenic spacer, 基因间隔区)

IGS 作为核糖体 DNA 序列中进化最迅速的区段已经被广泛用于真菌的遗传学研究<sup>[65]</sup>。IGS 区域为高变区, 经常被用来进行种内的比较<sup>[66]</sup>。使用 RAPD 和 IGS 标记对白灵侧耳菌株进行分析, 结果显示供试菌株间存在多态性, IGS1 区域较为保守, 而 IGS2 区域进化较快, 具有丰富的多态性。IGS2-RFLP 被认为比 RAPD 更稳定且具有更好的操作性, 适用于白灵侧耳菌株的鉴定<sup>[67]</sup>。对 8 个刺芹侧耳 *Pleurotus eryngii* 菌株进行了 IGS2 序列的分析, 结果显示不同菌株在 IGS2 区域存在长度异质性和数量多态性, 结合 RFLP 可实现对刺芹侧耳菌种的有效鉴定<sup>[68]</sup>。利用 IGS2 和 RAPD 技术, 分析 20 个不同斑玉蕈 *Hypsizygus marmoreus* 菌株的遗传差异, 结果显示 IGS2 分析与 RPAD 技术相结合的方法准确可靠, 为斑玉蕈菌株的快速准确鉴定提供了技术支撑, 为斑玉蕈种质资源的知识产权保

护奠定了基础<sup>[66]</sup>。

## 2.3 基于基因组测序技术的 DNA 序列分析

目前, 随着高通量测序技术的发展, 完成了越来越多的食用菌全基因组测序。采用二代和三代测序技术, 获得了金针菇单核菌株 6-3 的基因组序列, 并对其 rDNA 序列进行了深入分析。结果表明 IGS 区域存在丰富的多态性, 包括 SNP、InDel 和 TRS (tandem repetitive sequence, 串联重复序列), 其中 IGS2 的多态性高于 IGS1。金针菇 rDNA 序列的 5S、5.8S、18S 和 28S rDNA 序列高度保守, 不同拷贝的序列完全一致, 而 IGS1 和 IGS2 在不同拷贝间存在广泛的多态性。说明金针菇 rDNA 序列中的 IGS 区域在种内不同菌株间的鉴定中具有应用潜力<sup>[69]</sup>。利用三代测序技术对毛木耳 *Auricularia cornea* 单核菌株 B02 的基因组进行了测序和组装, 并通过二代测序数据进行了校正, 得到了一个高质量的基因组序列。分析发现, 毛木耳的 IGS1 和 IGS2 序列高度保守, 特别是在 IGS1 的 1400~2200 bp 区域, 不同拷贝之间没有多态性, 但在不同品种之间存在较高的 SNP 频率, 这一片段有望用于毛木耳品种的鉴定研究<sup>[70]</sup>。

## 3 DNA 条形码技术

DNA 条形码是一种被广泛认可和接受的标准 DNA 片段, 这种片段拥有丰富的多样性, 能够在不同物种之间展现出明显的特异性差异。更为关键的是, 这些 DNA 片段相对较短, 便于进行扩增并能迅速识别。通过对这些特定片段的研究, 科学家们建立了一个先进的生物身份识别系统, 这个系统能够对物种进行自动化、快速且准确地鉴定<sup>[71]</sup>。其原理是 DNA 序列由 4 种不同的碱基构成, 即 A、T、G、C, 若一段序列有  $n$  个碱基, 则有  $4^n$  种编码模式。如果计算 15 个碱基, 就可以得到将近 10 亿个片段, 比现有的物种多 100 倍。从这个角度来看, DNA 条形码的编码工作是基于数百个碱基的基因序列, 基本上包含了全部的物种<sup>[72]</sup>。通过分析大量动物物种的 COI (cytochrome C oxidase subunit I) 序列, 发现不同物种之间的 COI 序列差异足以用来区分大多数动物物种, 尤其是在昆虫和其他一些动物群体中, 并明确提出使用短的 DNA 片段来快速准确地识别物种的概念<sup>[71]</sup>。2003 年首次提出了国际生命条形码计划 (iBOL, International Barcode of Life Project)<sup>[73]</sup>。成为 DNA 条形码需满足以下条件: (1) DNA 片段必须是一个标准片段, 以确定可能

的不同类群;(2)目的 DNA 区域应含有足以确定该物种在该分类系统(科、属等)中的系统发育信息;(3)应有保守的引物设计区域,方便设计一般引物;(4)有足以区别不同种类的变异;(5)目的 DNA 片段应足够短,以促进 DNA 片段的扩增。目前,用于菌物研究的备选片段有 COI、nrDNA-LSU、nrDNA-SSU、ITS 和 trnL<sup>[74-78]</sup>。

### 3.1 COI

COI 基因是第一个生物 DNA 条码,它已应用于动物的物种鉴定,其在真菌中也得到了应用<sup>[79]</sup>。但 COI 是线粒体内含子数量最多的一种,其内含子长度可在 20 kb 以上,限制了其扩增效率。因此,COI 基因不宜用作食用菌的条形码<sup>[80-81]</sup>

### 3.2 ITS

ITS 序列在食用菌的快速鉴定中有着广泛应用,并且已成为食用菌物种鉴定的通用条形码<sup>[82]</sup>。ITS 序列在食用菌物种间的差异明显,而在同一物种不同个体之间的差异很小,是真菌分类的可靠分子标记,能够有效区分不同物种<sup>[83]</sup>。有研究显示,ITS 序列可作为木耳属 22 个菌株的 DNA 条形码<sup>[84]</sup>。ITS 序列作为 DNA 条形码,能够快速准确地鉴定伞菌类真菌<sup>[85]</sup>。利用 DNA 条码技术对来自不同产地的 24 份黑木耳样品进行了产地溯源研究。结果显示,ITS 条码能够清晰溯源东北和未知地的样品<sup>[86]</sup>。使用紫芝 *Ganoderma sinense* S2 基因组 rDNA 的 ITS2 生成的 DNA 条形码与二维码,可以作为该栽培品种鉴定与同源物种其他菌株鉴定的分子标记<sup>[87]</sup>。

### 3.3 其他蛋白编码 DNA 条形码片段

ITS 条形码有时会出现种间变异较小的问题,其他一些蛋白编码基因也常用来作为食用菌菌种的 DNA 条形码。ITS、28S rDNA 和 EF-1 $\alpha$ (elongation factor-1 $\alpha$ , 翻译延伸因子)基因作为候选 DNA 条形码标记,测试侧耳属 13 个物种的菌种鉴定效果。研究结果显示,EF-1 $\alpha$  基因在食用菌物种鉴定中表现最佳,它能够区分 84.6% 的测试物种,并且在 PCR 扩增和序列获取方面具有较高的成功率<sup>[88]</sup>。使用 ITS、 $\beta$ -tubulin( $\beta$ -微管蛋白)片段、LSU(large subunit, 核糖体 RNA 大亚基基因)片段和 RPB2(RNA polymerase second largest subunit, RNA 聚合酶 II 第二大亚基基因)4 个 DNA 条形码,对 44 份灵芝属 *Ganoderma* 菌株进行 PCR 扩增和测序。结果表明  $\beta$ -tubulin 和 RPB2 片段的种内最大遗传距离分别小于各自的种间最小遗传距离,存在明显的

DNA 条形码间隔(DNA barcoding gap, DBG),有利于准确进行种间鉴定。综合评估认为, $\beta$ -tubulin 片段更适用于灵芝属种间鉴定,为灵芝快速分子鉴定和系统发育分析提供了有效工具<sup>[89]</sup>。利用 DNA 条形码技术对常见食用真菌及易混淆的野生有毒真菌进行分子鉴定,发现 ITS2、nr LSU 和 EF1- $\alpha$  可以作为 DNA 条形码,有效区分食用真菌与有毒真菌<sup>[90]</sup>。

## 4 展望

近年来,随着高通量测序技术的不断发展和成本的持续下降,在全基因组分析的基础上结合测序或非测序技术如基因编辑技术能够实现食用菌菌种的快速、准确鉴定。CRISPR-Cas12a 系统可提供一种高特异性和高灵敏度的食用菌菌种鉴定方法,在推动下一代基于全基因组的物种鉴定技术发展中具有巨大潜力,该方法结合可视化荧光技术,甚至可以实现 30 min 内现场快速精准鉴定食用菌<sup>[91]</sup>。今后,应不断优化、开发应用更多的基因编辑技术用于食用菌菌种的快速精确检测。全基因组选择(genomic selection, GS)即利用覆盖全基因组的高密度分子遗传标记进行的标记辅助选择。基于全基因组测序数据筛选多态性分子标记,构建序列库,进一步筛选出核心标记,结合生物信息学工具分析,能够对食用菌菌种进行高效检测<sup>[33-34, 36, 92]</sup>。面对海量的测序数据,人工智能(artificial intelligence, AI),特别是机器学习(machine learning, ML)逐渐被引入到生命科学领域<sup>[93]</sup>。机器学习作为人工智能的一个重要分支,具有强大的数据处理和分析能力,在全基因选择中表现出色,能够处理大量的遗传标记并有效减少拟合。机器学习已被成功应用在植物 SNP 标记筛选中<sup>[94]</sup>,为食用菌菌种分子生物学检测提供了宝贵经验。同时,食用菌菌种的分子生物学检测方法可与基于机器学习的食用菌表型组学分类与识别技术相结合,更全面、更快速有效地识别食用菌品种,相较于传统的形态学鉴定,在准确度、无损检测、自动化、适应性和可扩展性方面都具有显著优势。机器学习方法也被引入植物 DNA 条形码分析中<sup>[95-97]</sup>,这为基于机器学习的食用菌菌种 DNA 条形码检测提供了方法学参考和有益借鉴。

此外,DNA 条形码信息可以跨平台转换,即利用开源代码将这些 DNA 条形码序列转换成二维码图片<sup>[98]</sup>。这些二维码可以被扫描并提交到食用菌菌

种 DNA 条形码数据库进行鉴定,从而确保食用菌菌种的真实性和质量。该体系有助于提高食用菌菌种流通监管的效率和准确性,推动菌种流通监管的现代化和国际化。

### 参考文献

- [1] FAOSTAT[DB/OL]. [2024-07-01]. <https://www.fao.org/faostat/zh/#data/QCL>.
- [2] 边银丙.食用菌菌种质量问题与菌种管理对策的商榷II.菌种质量检测的内容与方法[J].中国食用菌,2001(1):10-11.
- [3] 张金霞,黄晨阳,胡清秀.食用菌品种鉴定及品种保护技术[J].中国食用菌,2005(4):14-16.
- [4] 李永江,张盼,张晓辉,等.食用菌分子生物学研究进展[J].安徽农业科学,2019,47(14):4-6.
- [5] 徐丽芳,陈吉炎,罗光明.分子标记技术及其在植物育种中的应用[J].食品与药品,2007,9(10):43-46.
- [6] 周超,马银鹏,包旭翔,等.DNA分子标记技术在黑木耳中的研究进展[J].北方园艺,2023(7):125-131.
- [7] 刘淑艳,李玉.几种主要分子生物学技术在菌物系统学研究中的应用[J].吉林农业大学学报,2000,22(3):47-51.
- [8] 闫华超,高岚,李桂兰.分子标记技术的发展及应用[J].生物学报,2006,41(2):17-19.
- [9] 郭春沅.RFLP、RAPD技术在食用菌研究中的应用[J].中国食用菌,1999(5):3-4.
- [10] 李英波,罗信昌,李滨,等.香菇菌株的限制性片段长度多态性[J].真菌学报,1995,14(3):209-217.
- [11] CHIU S W, CHEN M J, CHANG S T. Differentiating homothallic *Volvariella* mushrooms by RFLPs and AP-PCR[J]. Mycological Research, 1995(3):333-336.
- [12] METHVEN A, HUGHES K W, PETERSEN R H. *Flammulina* RFLP patterns identify species and show biogeographical patterns within species[J]. Mycologia, 2000, 92(6):1064-1070.
- [13] WEI Y M, LI L, LIU Y, et al. Identification techniques and detection methods of edible fungi species[J]. Food Chemistry, 2022, 374:131803.
- [14] 刘新锐,何仲辉,谢宝贵,等.ITS-RFLP在白灵菇种质资源鉴定中的应用[J].菌物研究,2013,11(1):33-37.
- [15] 王明湖,席杰君,陈玲瑜,等.分子杂交为核心的分子标记技术[J].植物医生,2017,30(9):48-51.
- [16] WILLIAMS J G, KUBELIK A R, LIVAK K J, et al. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers[J]. Nucleic Acids Research, 1990, 18(22):6531-6535.
- [17] WELSH J, MCCLELLAND M. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers[J]. Nucleic Acids Research, 1990, 18(24):7213-7218.
- [18] 罗信昌.蘑菇分离物的DNA指纹鉴定[J].中国食用菌,2001(3):3-5.
- [19] 中华人民共和国农业部.食用菌菌种真实性鉴定RAPD法:NY/T 1743-2009[S].北京:中国标准出版社,2009.
- [20] 阎培生,罗信昌,周启.利用RAPD技术对木耳属菌株进行分子鉴定的研究[J].菌物系统,2000,19(1):29-33.
- [21] 孙文波,李海鹰,王桂文,等.应用RAPD鉴定红菇组织分离菌株的探索试验[J].广西科学,2000,7(3):222-224.
- [22] ZERVAKIS G I, VENTURELLA G, PAPAPOPOULOU K. Genetic polymorphism and taxonomic infrastructure of the *Pleurotus eryngii* species-complex as determined by RAPD analysis, isozyme profiles and ecomorphological characters[J]. Microbiology, 2001, 147(11):3183-3194.
- [23] 张介驰,马庆芳,张丕奇,等.用RAPD分子标记鉴别黑木耳菌种的研究[J].菌物研究,2006,4(4):54-56.
- [24] 江启沛,冀宏,朱朝晖,等.RAPD技术及其在食(药)用菌研究中的应用[J].河北省科学院学报,2003,20(1):59-64.
- [25] 王斌,翁曼丽.AFLP的原理及其应用[J].杂交水稻,1996(5):29-32.
- [26] 马妮妮,魏冬霞,林瑞庆,等.AFLP标记在微生物学上的应用[J].热带医学杂志,2006,6(9):1048-1051.
- [27] 孟宇,蒋昌顺,廖问陶,等.糙皮侧耳(*Pleurotus ostreatus*)的AFLP指纹图谱分析[J].遗传学报,2003,30(12):1140-1146.
- [28] 卓英,谭琦,陈明杰,等.香菇主要栽培菌株遗传多样性的AFLP分析[J].菌物学报,2006,25(2):203-210.
- [29] 雷萍,张文隽,吴亚召,等.4个香菇品种的AFLP分子标记研究[J].现代农业科技,2019(9):47-48.
- [30] 何德,谭晓风,胡芳名.AFLP分子标记技术及其在林木遗传育种上的应用[J].湖南林业科技,1999(4):10-19.
- [31] 李雪松,华蓉,孙达锋,等.基于花脸香蘑基因组的SSR分子标记开发[J].北方园艺,2023(2):112-120.
- [32] 张丹,巫萍,章炉军,等.基于香菇全基因组序列开发的部分SSR标记多态性分析与品种鉴定初探[J].食用菌学报,2012,19(4):1-10.
- [33] WANG L N, GAO W, WANG Q Y, et al. Identification of commercial cultivars of *Agaricus bisporus* in China using genome-wide microsatellite markers[J]. Journal of Integrative Agriculture, 2019, 18(3):580-589.
- [34] 何金宇,刘玉洋,徐靖,等.灵芝全基因组SSR标记开发及其种质资源遗传多样性评估[J].浙江农业科学,2020,61(5):967-973.
- [35] 姚春馨,陈卫民,柴红梅,等.云南白灵芝菌株分子鉴定及SSR遗传多样性分析[J].分子植物育种,2022,20(19):6415-6423.
- [36] 李雪松,孙达锋,刘绍雄,等.基于大球盖菇基因组的SSR分子标记开发及指纹数据库应用[J].浙江农业学报,2024,36(1):84-93.
- [37] 殷继艳,张建国.SSR标记技术在杨属植物研究中的应用[J].四川林业科技,2009,30(2):25-29.
- [38] 孟虎,孙国琴,睢鞞,等.ISSR技术在食用菌研究上的应用[J].北方园艺,2016(5):207-210.
- [39] 中华人民共和国农业部.食用菌菌种真实性鉴定ISSR法:NY/T 1730-2009[S].北京:中国标准出版社,2009.
- [40] 宿红艳,王磊,明永飞,等.ISSR分子标记技术在金针菇菌株鉴定中的应用[J].生态学杂志,2008(10):1725-1728.
- [41] 史灵燕,刘保卫,顾新颖,等.生化和ISSR分子标记在黑木耳品种鉴定中的应用[J].北方园艺,2019(9):136-141.
- [42] 许琳,张瑞,王胜,等.基于ITS和ISSR的灵芝种质资源遗传

- 多样性分析[J].河南农业科学,2023,52(11):66-74.
- [43] 王明明,宋振巧,王建华. ISSR 标记技术及其在药用植物遗传育种中的应用[J].中草药,2007,38(1):134-137.
- [44] 唐利华,肖扬,边银丙.中国黑木耳主要栽培菌株 ISSR 指纹分析及 SCAR 标记[J].菌物学报,2008,27(2):243-251.
- [45] 陈雪凤,吴圣进,王灿琴,等.一个鉴定低温刺激型秀珍菇的 ISSR-SCAR 标记建立与应用[J].热带作物学报,2021,42(2):325-332.
- [46] 罗杯容,施鹏,张亚平.单核苷酸多态性的研究技术[J].遗传,2001,23(5):471-476.
- [47] MEUWISSEN T H, HAYES B J, GODDARD M E. Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps[J]. Genetics, 2001, 157(4): 1819-1829.
- [48] 贾定洪,王波,何晓兰,等.基于基因组重测序发掘金针菇 InDel、SV 及丰度 SNP 标记[J].菌物学报,2024,43(7):42-53.
- [49] 宋琳琳,陈红芝,毋柳柳,等.基于重测序的 23 份香菇种质资源全基因组序列分析[J].中国瓜菜,2024,37(3):28-34.
- [50] YE F, YU X D, WANG Q, et al. Identification of SNPs in a non-model macrofungus (*Lepista nuda*, Basidiomycota) through RAD sequencing[J]. Springerplus, 2016, 5(1): 1793.
- [51] 徐云碧,杨泉女,郑洪建,等.靶向测序基因型检测(GBTS)技术及其应用[J].中国农业科学,2020,53(15):2983-3004.
- [52] FANG Z W, LI L, ZHOU J F, et al. Multiple nucleotide polymorphism DNA markers for the accurate evaluation of genetic variations[J]. BioRxiv, 2021.
- [53] LING Y Y, ZHANG M Z, LING Z L, et al. Evolutionary relationship and a novel method of efficient identification of *Lentinula edodes* cultivars in China. [J]. Mycosphere, 2022, 13: 56-85
- [54] LIU F, WANG S H, JIA D H, et al. Development of multiple nucleotide polymorphism molecular markers for enoki mushroom (*Flammulina filiformis*) cultivars identification[J]. Journal of Fungi, 2023, 9(3): 330.
- [55] 吕志文,杨环,魏传正,等.金针菇 MNP 分子标记菌株鉴定技术建立[J].菌物学报,2024,43(1):22-38.
- [56] 魏传正,王滕,张鹏,等.基于二代测序技术的 MNP 标记鉴定刺芹侧耳菌株[J].食用菌学报,2023,30(1):1-9.
- [57] 刘飞,张明哲,曹槟,等.MNP 分子标记在食用菌品种精准鉴定中的应用与前景分析[J/OL].菌物研究,2023,[2023-03-05]. <https://doi.org/10.13341/j.jfr.2023.1647>.
- [58] 赵国柱,张天宇,张猛.核糖体基因簇在真菌系统学研究中的意义[J].生命的化学,2002,22(1):13-15.
- [59] 白树猛,田黎. ITS 序列分析在真菌分类鉴定和分子检测中的应用[J].畜牧与饲料科学,2009,30(1):52-53.
- [60] 黄龙花,杨小兵,胡惠萍,等.rDNA 部分序列在食用菌进化关系研究中的应用[J].中国卫生检验杂志,2011,21(7):1607-1610.
- [61] 刘晓婷,郭九峰,王淑妍,等.用 rDNA-ITS 方法鉴定内蒙古多种野生食用菌[J].食药菌,2015,23(5):301-306.
- [62] APPIAH T, AGYARE C, LUO Y. Molecular identification of some Ghanaian mushrooms using internal transcribed spacer regions[J]. Molecular Biology, 2017, 6(3): 1000191.
- [63] 张高曼,赵立佳,刘光富,等.基于 ITS 和 ITS2 序列的药用石斛 DNA 条形码鉴定研究[J].中草药,2024,55(2):575-587.
- [64] 黄晨阳,陈强,高山,等.侧耳属主要种类 ITS 序列分析[J].菌物学报,2010,29(3):365-372.
- [65] 余仲东,张星耀,曹支敏.真菌核糖体基因间隔区研究概况[J].西北林学院学报,2000,15(2):107-112.
- [66] 潘越,陈辉,冯志勇,等.斑玉蕈菌株的 IGS2 序列和 RAPD 分析[J].食品工业科技,2013,34(22):165-168.
- [67] 张金霞,黄晨阳,张瑞颖,等.中国栽培白灵侧耳的 RAPD 和 IGS 分析[J].菌物学报,2004,23(4):514-519.
- [68] 黄晨阳,张金霞,郑素月,等.刺芹侧耳(*Pleurotus eryngii*) rDNA 的 IGS2 多样性分析[J].农业生物技术学报,2005,13(5):592-595.
- [69] 徐伟南,黄蓉梅,刘媛媛,等.金针菇 rDNA 序列结构特征分析[J].菌物学报,2018,37(12):1620-1627.
- [70] 李冰玉,邓优锦,黄蓉梅,等.毛木耳 rDNA 序列结构及 IGS 鉴定菌株初探[J].菌物学报,2019,38(12):2214-2220.
- [71] HEBERT P D N, CYWINSKA A, BALL S L, et al. Biological identifications through DNA barcodes[J]. Proceedings Biological Sciences, 2003, 270(1512): 313-321.
- [72] 肖金花,肖晖,黄大卫.生物分类学的新动向:DNA 条形码编码[J].动物学报,2004,50(5):852-855.
- [73] 程佳月,王丽华,彭克美,等.国际生命条形码计划:DNA Barcoding[J].中国畜牧兽医,2009,36(8):49-53.
- [74] EASON R G, POURMAND N, TONGPRASIT W, et al. Characterization of synthetic DNA bar codes in *Saccharomyces cerevisiae* gene-deletion strains[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2004, 101(30): 11046-11051.
- [75] SEIFERT K A, SAMSON R A, DEWAARD J R, et al. Prospects for fungus identification using CO1 DNA barcodes, with *Penicillium* as a test case[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2007, 104(10): 3901-3906.
- [76] GEISER D M, KLICH M A, FRISVAD J C, et al. The current status of species recognition and identification in *Aspergillus*[J]. Studies in Mycology, 2007, 59: 1-10.
- [77] FRØSLEV T G, JEPPESEN T S, LÆSSØE T, et al. Molecular phylogenetics and delimitation of species in *Cortinarius* section *Calochroi* (Basidiomycota, Agaricales) in Europe[J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2007, 44(1): 217-227.
- [78] MOUHAMADOU B, CARRICONDE F, GRUYTA H, et al. Molecular evolution of mitochondrial ribosomal DNA in the fungal genus *Tricholoma*: barcoding implications[J]. Fungal Genetics and Biology, 2008, 45(9): 1219-1226.
- [79] MIN X J, HICKEY D A. Assessing the effect of varying sequence length on DNA barcoding of fungi[J]. Molecular Ecology Notes, 2007, 7(3): 365-373.
- [80] SANTAMARIA M, VICARIO S, PAPPADÀ G, et al. Towards barcode markers in Fungi: An intron map of *Ascomycota* mitochondria[J]. BMC Bioinformatics, 2009, 10(6): S15.
- [81] XU J P. DNA barcoding, fungal diversity, and authentication of wild gourmet mushrooms[J]. Acta Agriculturae Universitatis

- Jiangxiensis, 2010, 32(5): 1010-1017.
- [82] SCHOCH C L, SEIFERT K A, HUHDORF S, et al. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2012, 109(16): 6241-6246.
- [83] AVIN F A, BHASSU S, SHIN T Y, et al. Molecular classification and phylogenetic relationships of selected edible Basidiomycetes species[J]. Molecular Biology Reports, 2012, 39(7): 7355-7364.
- [84] 王晓娥, 姚方杰, 张友民, 等. 木耳属菌株 ITS 序列作为 DNA 条形码的可行性[J]. 东北林业大学学报, 2013, 41(7): 111-114.
- [85] 刘悦, 汤欢, 李西文, 等. 基于 ITS 序列的伞菌类药用食用真菌的 DNA 条形码鉴定研究[J]. 世界中医药, 2016, 11(5): 791-795.
- [86] 宋君, 王东, 郭灵安, 等. 利用 DNA 条码对农产品产地溯源研究: 黑木耳产地分子溯源[J]. 分析试验室, 2014, 33(3): 292-295.
- [87] 陈体强, 徐晓兰, 石林春, 等. 紫芝基因组 rDNA 序列特征及 ITS2 二级结构比较[J]. 菌物学报, 2023, 42(1): 330-343.
- [88] ZHAO P, JI S P, CHENG X H, et al. DNA barcoding mushroom spawn using EF-1 $\alpha$  barcodes: A case study in oyster mushrooms (*Pleurotus*)[J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 12: 624347.
- [89] 高萌, 肖世俊, 李明焱, 等. 用于灵芝属 10 个物种快速鉴定的 DNA 条形码筛选与验证[J]. 菌物研究, 2023, 21(Z1): 214-224.
- [90] 郑梦迪, 于佳琦, 王明珞. 基于 DNA 条形码的食用菌与其易混有毒真菌的鉴定[J]. 食品安全质量检测学报, 2024, 15(1): 102-109.
- [91] QI G H, HAO L J, XIN T Y, et al. Analysis of Whole-Genome facilitates rapid and precise identification of fungal species[J]. Frontiers in Microbiology, 2024, 15: 1336143.
- [92] LIU F, WANG S H, JIA D H, et al. Development of multiple nucleotide polymorphism molecular markers for enoki mushroom (*Flammulina filiformis*) cultivars identification[J]. Journal of Fungi, 2023, 9(3): 330.
- [93] AFIFY H M, AL-MASNI M A. Taxonomy metagenomic analysis for microbial sequences in three domains system via machine learning approaches[J]. Informatics in Medicine Unlocked, 2018, 13: 151-157.
- [94] YU G E, SHIN Y H, SUBRAMANIAM S, et al. Machine learning, transcriptome, and genotyping chip analyses provide insights into SNP markers identifying flower color in *Platycodon grandiflorus*[J]. Scientific Reports, 2021, 11(1): 8019.
- [95] 邝家荣, 刘巧珍, 代江鹏, 等. 基于 ITS 条形码及机器学习的黄檀属物种分子鉴定研究[J]. 中草药, 2024, 55(11): 3825-3834.
- [96] 刘守住, 汪嘉君, 陆杨, 等. 机器学习方法在木材树种识别领域的应用[J]. 世界林业研究, 2023, 36(5): 70-75.
- [97] 冯婷婷. 基于机器学习的三种药用植物 DNA 条形码分子鉴定研究[D]. 广州: 广东药科大学, 2021.
- [98] 辛天怡, 李西文, 姚辉, 等. 中药材二维 DNA 条形码流通监管体系研究[J]. 中国科学: 生命科学, 2015, 45(7): 695-702.