

引用格式:

周思琦, 龚文兵, 夏志兰, 吴秋云, 王亚东. 秀珍菇全基因组 SSR 位点分析及其在遗传多样性评估中的应用[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2023, 49(2): 176–182.

ZHOU S Q, GONG W B, XIA Z L, WU Q Y, WANG Y D. Genome-wide SSR characterization and its application in evaluating the genetic diversity of *Pleurotus pulmonarius*[J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2023, 49(2): 176–182.

投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



秀珍菇全基因组 SSR 位点分析及其在遗传多样性评估中的应用

周思琦¹, 龚文兵², 夏志兰^{1*}, 吴秋云^{3,4}, 王亚东¹

(1.湖南农业大学园艺学院, 湖南 长沙 410128; 2.中国农业科学院麻类研究所, 湖南 长沙 410221; 3.园艺作物种质创新与新品种选育教育部工程研究中心, 湖南 长沙 410128; 4.蔬菜生物学湖南省重点实验室, 湖南 长沙 410128)

摘要:利用 GenBank 数据库中秀珍菇(*Pleurotus pulmonarius*)的全基因组序列进行简单重复序列(SSR)位点挖掘。在秀珍菇 PM_{ss5} 基因组中共检测出 2348 个 SSR 位点, 相对丰度为平均 1 Mb 中含有 59 个 SSR 位点; 所有 SSR 位点中, 以二核苷酸 SSR 为主(51.8%), 三核苷酸 SSR 次之(27.7%); 经鉴定的秀珍菇 SSR 位点包含 141 种碱基基序, 优势碱基基序为 GA/TC、CT/AG; SSR 长度变化范围为 10~156 bp, 其中, 10~15 bp 的 SSR 位点占比为 77.2%; 在秀珍菇和其他 4 种侧耳属真菌基因组中, 都是以短核苷酸 SSR 为主, 秀珍菇二核苷酸 SSR 占比高于其他侧耳属菌株; 利用筛选的 53 对多态性引物对 18 个秀珍菇菌株进行遗传多样性分析, 结果发现参试菌株表现出中度遗传多样性, 平均 Shannon 信息指数为 0.38, 平均 Nei's 基因多样性为 0.23, 平均有效等位基因数为 1.35。

关键词: 秀珍菇; 全基因组; 简单重复序列; 碱基基序; 遗传多样性

中图分类号: S646.1+43

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2023)02-0176-07

Genome-wide SSR characterization and its application in evaluating the genetic diversity of *Pleurotus pulmonarius*

ZHOU Siqu¹, GONG Wenbing², XIA Zhilan^{1*}, WU Qiuyun^{3,4}, WANG Yadong¹

(1.Horticulture College, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China; 2.Institute of Bast Fiber Crops, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Changsha, Hunan 410221, China; 3.Engineering Research Center for Horticultural Crop Germplasm Creation and New Variety Breeding, Ministry of Education, Changsha, Hunan 410128, China; 4.Key Laboratory for Vegetable Biology of Hunan Province, Changsha, Hunan 410128, China)

Abstract: Using the whole genome sequence of PM_{ss5} downloaded from GenBank database, genome-wide simple sequence repeats(SSRs) of *Pleurotus pulmonarius* were mined and characterized. A total of 2348 SSR loci were detected in PM_{ss5} genome, with a relative abundance of 59 SSRs per Mb. Among all SSR loci, the di-nucleotide repeats were the dominant(51.8%), followed by the tri-nucleotide repeats(27.7%). The identified SSR loci contained 141 base motifs, among which the dominant base motifs were GA/TC and CT/AG. The length of SSRs ranged from 10 to 156 bp, and 77.2% of the identified SSRs were 10 to 15 bp. The SSR patterns in *P. pulmonarius* were also compared with those of other four species of *Pleurotus*. The short nucleotide repeats were dominant SSRs in all five *Pleurotus* spp., with the di-nucleotide SSRs accounting for higher rate in *P. pulmonarius*. Then, 53 pairs of polymorphic SSR primers were

收稿日期: 2022-06-11

修回日期: 2023-03-10

基金项目: 湖南省现代农业产业技术体系(湘农农【2022】31号); 湖南省科技计划项目(2019GK5065)

作者简介: 周思琦(1997—), 男, 安徽省太湖县人, 硕士研究生, 主要从事食用菌栽培与育种研究, 2785136862@qq.com; *通信作者, 夏志兰, 教授, 主要从事食用菌栽培与育种研究, 695218379@qq.com

designed and selected to analyze the genetic diversity of the 18 varieties of *P. pulmonarius*, which showed *P. pulmonarius* owned moderate genetic diversity, and the average numbers of effective alleles, Nei's genetic diversity and Shannon index were 1.35, 0.23 and 0.38, respectively.

Keywords: *Pleurotus pulmonarius*; whole genome; simple sequence repeat; repetitive motifs; genetic diversity

秀珍菇(*Pleurotus pulmonarius*)属于伞菌目、侧耳科、侧耳属。该菌外形小巧,质地柔软,平滑,口感好,且蛋白质、总多糖、矿物质等营养成分含量高,长期食用可以降低血压、血脂,增强人体免疫力,具有良好的营养价值和药用价值^[1-2]。但秀珍菇菌种命名混乱,存在异种同名或同种异名的混乱现象,给品种选育工作增加了困难。对秀珍菇资源的遗传多样性进行分析成为了其种质资源开发和利用中亟需解决的问题^[3-4]。

黄晨阳等^[5]对侧耳属 16 个种的 38 个菌株的 ITS 进行了鉴定分析,结果表明利用 ITS 序列可对侧耳属的大多种类进行有效鉴定,但 16 个种的 ITS 序列种内趋异度较小,种内菌株的区分仍需开发新的标记。陈躬国等^[6]对 41 个秀珍菇菌株进行 RAPD 分析,结果表明 RAPD 分子标记和拮抗反应可一致地反映秀珍菇种质资源的遗传多样性。林原等^[7]对 7 个秀珍菇菌株进行了 ISSR 遗传分析,并对秀珍菇种质资源进行了分类。虽然 RAPD 和 ISSR 标记可用于秀珍菇菌株亲缘关系的分析,但 RAPD、ISSR 标记扩增出的条带数较多,统计分析比较繁琐且部分标记重复性较低。随着测序技术的不断发展,SSR(simple sequence repeat)和 SNP(single nucleotide polymorphism)等分子标记被开发出来^[8-10]。SSR 标记因其在基因组内有着分布广泛、重复性高、位点特异、共显性遗传、多态性高等优点,被广泛应用于种质资源鉴定、遗传多样性分析、基因定位、品种鉴定、遗传图谱构建、QTL 分析、种子纯度鉴定等方面^[11-13]。张丹等^[14]利用全基因组序列开发 SSR 标记对香菇进行遗传多样性分析,构建了指纹图谱。徐晓兰等^[15]基于赤芝全基因组序列开发出了 24 个有多态性条带的 SSR 位点。此外,灵芝^[16]、云芝^[17]、金针菇^[18]及美味牛肝菌^[19]等食用菌的全基因组 SSR 分子标记均得到了有效开发,但基于全基因组 SSR 标记用于秀珍菇种质资源遗传多样性的研究较少。

2020 年,VIDAL-DIEZ 等^[20]公布了秀珍菇的全基因组序列,为开发秀珍菇的 SSR 标记提供了契机。笔者基于秀珍菇基因组序列信息,对基因组中的

SSR 位点进行统计分析,并将开发的 SSR 标记应用于 18 个秀珍菇菌株的亲缘关系鉴定,旨在为秀珍菇菌种鉴定提供有效途径,为秀珍菇分子标记开发和杂交育种亲本选择提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

18 份秀珍菇种质资源(表 1)主要来源于中国南部地区,均培养于试管固体培养基中。

表 1 供试秀珍菇菌株

Table 1 Test strains of <i>Pleurotus pulmonarius</i>		
编号	名称	来源
1	秀珍菇 2	湖南农业大学食用菌研究所
2	台秀 1 号	湖南农业大学食用菌研究所
3	台秀 3 号	福建省食用菌协会
4	金秀 1 号	贵州省六盘水市
5	成秀①315	海南海口市定安县
6	台秀 57	海南海口市定安县
7	台秀 912	海南海口市定安县
8	新秀 169	湖南农业大学食用菌研究所
9	秀珍菇 1672	湖南农业大学食用菌研究所
10	秀珍菇 93	云南省农业科学院
11	秀珍菇 92	云南省农业科学院
12	秀珍菇 705	湖南农业大学食用菌研究所
13	基因 2005	湖南农业大学食用菌研究所
14	秀珍菇 71	湖南农业大学食用菌研究所
15	中国农秀	海南海口市定安县
16	台秀 2 号	云南省农业科学院
17	特大凤尾	江苏省江都天达食用菌研究所
18	凤尾 327	广东省揭阳市

1.2 方法

1.2.1 DNA 的提取

在 28 °C 下,将保存在斜面培养基的菌种活化培养后接种到平面培养基中培养 5~7 d,收集菌丝。采用真菌 DNA 提取试剂盒(百泰克生物技术有限公司 BioTeke,北京)提取供试菌株的 DNA。取 2 μL DNA 样品,用 1.0% 琼脂糖凝胶电泳紫外检测,将符合试

验要求的样品置于-20℃冰箱保存。

1.2.2 基因组资源的获取

秀珍菇(PM_ss5)全基因组参考序列来源于NCBI数据库^[20],榆黄菇(HfpriPC05-1-Y1)、平菇(PC9)、杏鲍菇(JKXB130DA)及佛罗里达平菇(CCMSSC 00406)的基因组信息从文献[21-24]获取。

1.2.3 序列中SSR引物的搜索

以秀珍菇PM_ss5全基因组序列为模板,利用GMATA^[25]软件SSR identification功能区搜寻SSR位点,设定搜索条件为单碱基重复次数 ≥ 10 ,二碱基、三碱基、四碱基、五碱基和六碱基重复次数 ≥ 5 。

1.2.4 SSR标记引物的设计

依据SSR两端的保守区域,利用GMATA软件的Marker designing功能区设计引物,设计参数为:GC含量为40%~60%,退火温度约60℃,预期产物长度为100~400 bp,引物长度为18~22 bp。引物由北京擎科生物科技股份有限公司提供。

1.2.5 SSR引物的筛选

利用GMATA e-mapping功能区,输入sequence file和marker file(sts),筛选出特异性较高的引物,并从中挑选出以二核苷酸和三核苷酸重复基元为主的83对SSR引物,送往北京擎科生物科技股份有限公司进行合成。将条带清晰、特异性强且具有多态性的53对SSR引物扩增结果用于后续聚类分析中。

1.2.6 PCR扩增和电泳

SSR-PCR反应体系(10 μ L): 20 ng/ μ L模板DNA 1 μ L, 0.2 mmol/L上、下游引物各 1 μ L, 5 μ L 2 \times Taq Super Mix, 剩余用ddH₂O补齐。PCR反应程序: 94℃预变性4 min; 94℃变性45 s, 60℃退火45 s, 72℃延伸75 s, 共35个循环; 最后72℃充分延伸7 min。将扩增后的PCR产物加入4 μ L Buffer, 混样至10 μ L, 用2%琼脂凝胶电泳100 V稳压1 h, 使用凝胶成像系统检测拍照。

1.3 数据处理

运用Quantity One对扩增条带进行分析,通过

PopGene1.32软件计算群体的遗传结构,如等位基因数、有效等位基因数、Shannon信息指数、Nei's遗传距离和遗传一致性。根据Nei's遗传距离,运用NTSYS pc2.1中的Tree plot功能进行聚类分析。

2 结果与分析

2.1 秀珍菇全基因组SSR的分布特点

2.1.1 SSR位点在染色体上的分布

秀珍菇PM_ss5的基因组序列长度为39.87 Mb,共23个染色体片段。根据SSR筛选标准,共鉴定出2348个SSR位点,相对丰度为1 Mb中含有59个SSR位点。秀珍菇的SSR总长度为36 315 bp,占基因组总长度的0.09%,相对密度为1 Mb中SSR长911 bp。SSR位点的短核苷酸(单核苷酸到三核苷酸)SSR占比92.4%,其中单核苷酸SSR占12.9%,二核苷酸SSR占51.8%,三核苷酸SSR占27.7%,四核苷酸、五核苷酸和六核苷酸SSR分布较少,分别占比3.4%、1.3%、2.9%。

2.1.2 不同核苷酸基序SSR的数量特征

挖掘的秀珍菇基因组SSR中共包含141种核苷酸基序:单核苷酸、二核苷酸、三核苷酸、四核苷酸、五核苷酸、六核苷酸基序分别有2、8、29、37、20、45种(表2)。单核苷酸SSR分布比较均衡,其中,以A/T和C/G为基序的SSR数较接近;其他核苷酸类型的SSR具有明显的碱基偏好性。在二核苷酸SSR中,基序为GA/TC和CT/AG的SSR数较多,分别有257和227个,共占二核苷酸SSR的39.8%;基序为GC/GC的SSR数最少,仅有71个。在三核苷酸SSR中,以TCG/CGA为基序的SSR数最多,有80个;以TAT/ATA为基序的SSR仅有1个。在四核苷酸基序中,以ATAA/TTAT为基序的SSR数最多,有19个;其次是以GGAG/CTCC为基序的SSR,有6个。在五核苷酸基序中,以CAGTT/AACTG为基序的SSR共有9个,其次是以TGTCG/CGACA为基序的SSR。六核苷酸基序类型比较多,SSR数量较少,以TAACCC/GGGTTA为基序的SSR最多,有9个,最少的仅有1个。

表 2 秀珍菇中核苷酸 SSR 的数量和比例及主要基序

Table 2 The quantities, proportions and main types of SSR in *Pleurotus pulmonarius*

SSR 位点类型	数量/个	比例/%	重复序列的基序类型/种	重复序列的主要基序
单核苷酸	303	12.9	2	C/G、A/T
二核苷酸	1216	51.8	8	GA/TC、AG/CT、AT/AT
三核苷酸	651	27.7	29	TCG/CGA、GAC/GTC、TCC/GGA
四核苷酸	80	3.4	37	ATAA/TTAT、GGAG/CTCC、GAGT/ACTC
五核苷酸	30	1.3	20	CAGTT/AACTG、TGTCG/CGACA、GAAAC/GTTTC
六核苷酸	68	2.9	45	TAACCC/GGGTTA、CCTAAC/GTTAGG、CCCTAA/TTAGGG
总计	2348	100.0	141	

2.2 秀珍菇全基因组 SSR 长度分布

秀珍菇全基因组SSR长度不一且跨度较大，为10~156 bp(图 1)。通过比较可知，长度为10~15 bp的SSR位点数量有1813个，占有所有检出SSR位点总数的77.2%，此范围内以二核苷酸SSR位点为主；其次是长度为16~40 bp区间的SSR位点，占有所有检出SSR位点总数的20.7%，此范围内以三核苷酸SSR位点所占比例最大。四核苷酸SSR位点的长度区间主要分布于16~40 bp，占四核苷酸SSR位点总数的96.3%。五核苷酸SSR位点的长度分布区间以21~40 bp为主，占五核苷酸SSR位点总数的93.3%。六核

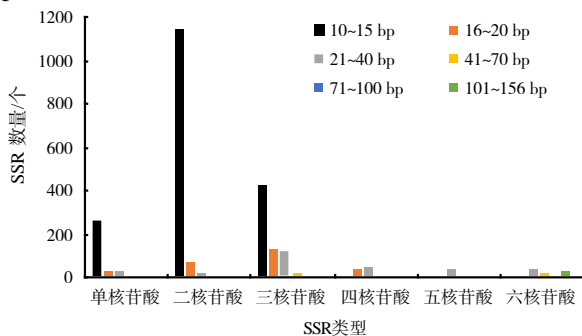


图 1 秀珍菇基因组不同长度 SSR 的数量

Fig.1 Amount of different length SSR in *Pleurotus pulmonarius* genome

苷酸SSR位点长度区间以21~40 bp的最多，占六核苷酸SSR总数的44.1%。总体上看，秀珍菇的大部分SSR长度在40 bp以下，大于40 bp的SSR相对较少。

2.3 5种侧耳属真菌全基因组及 SSR 的分布

2.3.1 基因组及 SSR 位点信息对比

系统比较5种侧耳属真菌(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/data-hub/genome/?taxon=5320>)基因组及SSR的分布情况。结果(表3)显示，这些侧耳属菌株的基因组大小为34.90~49.92 Mb，所包含的SSR位点数为1825~3108个，SSR长度为27 622~47 810 bp，在基因组中的占比为0.07%~0.12%。秀珍菇基因组中SSR数量、相对丰度和相对密度介于佛罗里达平菇和榆黄菇之间。

从表4可以看出，短核苷酸在各侧耳属SSR总数中占主要部分，从平菇的92.3%至杏鲍菇的96.5%，且秀珍菇二核苷酸SSR占比高于其他侧耳属菌株的；与短核苷酸相比，长核苷酸(四核苷酸、五核苷酸、六核苷酸)占SSR总数比例较低(3.5%~7.7%)。总之，在5种侧耳属真菌中，二核苷酸SSR所占比例最大；三核苷酸SSR次；五核苷酸SSR最少。

表 3 5种侧耳属真菌基因组及 SSR 的分布情况

Table 3 Genome and SSR distribution of five *Pleurotus* species

种类	基因组长度/Mb	SSR 数量	相对丰度	SSR 总长度/bp	相对密度	在基因组的占比/%
榆黄菇	38.59	3108	81	47 810	1239	0.12
平菇	34.90	2089	60	33 129	950	0.10
杏鲍菇	49.92	2903	58	45 160	905	0.09
佛罗里达平菇	35.08	1825	52	27 622	787	0.07
秀珍菇	39.87	2348	59	36 315	911	0.09

相对丰度的单位为1 Mb中含有的SSR位点数；相对密度的单位为1 Mb中SSR的长度。

表4 5种侧耳属真菌核苷酸SSR基序分布情况

Table 4 Distribution of SSR motifs in the all studied five *Pleurotus* species

种类	数量						相对丰度					
	单核苷酸	二核苷酸	三核苷酸	四核苷酸	五核苷酸	六核苷酸	单核苷酸	二核苷酸	三核苷酸	四核苷酸	五核苷酸	六核苷酸
榆黄菇	515	1394	994	90	45	70	13	36	26	2	1.2	2
平菇	264	928	736	67	24	70	8	27	21	2	0.7	2
杏鲍菇	576	1361	863	45	24	34	12	27	17	1	0.5	1
佛罗里达平菇	258	892	590	28	18	39	7	25	17	1	0.5	1
秀珍菇	303	1216	651	80	30	68	8	30	16	2	0.8	2

种类	长度/bp						相对密度					
	单核苷酸	二核苷酸	三核苷酸	四核苷酸	五核苷酸	六核苷酸	单核苷酸	二核苷酸	三核苷酸	四核苷酸	五核苷酸	六核苷酸
榆黄菇	6149	16380	17970	2136	1215	3960	159	424	466	55	31	103
平菇	3335	10370	13086	1492	650	4188	96	297	375	43	19	120
杏鲍菇	8182	15760	18508	1088	760	1386	164	316	371	22	15	28
佛罗里达平菇	4170	10032	10608	624	520	1668	119	286	302	18	15	48
秀珍菇	3859	13486	11403	2008	855	4704	96	338	286	50	21	118

相对丰度的单位为 1 Mb中含有的SSR位点数; 相对密度的单位为 1 Mb中SSR的长度。

2.3.2 优势SSR基序对比

在单核苷酸SSR中,基序为C/G的SSR在秀珍菇和佛罗里达平菇中占主要比例;基序为A/T的SSR在杏鲍菇、平菇及榆黄菇中占主要比例。在二核苷酸SSR中,5种侧耳属真菌中基序为AT的SSR比例均高于GC,除杏鲍菇外,基序为GA/TC与CT/AG的SSR在其他4种侧耳属真菌的含量大于40%。在三核苷酸SSR中,佛罗里达平菇基因组中基序为GTC/GAC的SSR含量最高,其他4种真菌中基序为CGA/TCG的SSR含量最高,均在10%左右。在长核苷酸SSR中,平菇、秀珍菇及杏鲍菇的五核苷酸中基序为CAGTT/AACTG的SSR出现频率最高,其他长核苷酸SSR中不同物种的不同基序类型SSR出现的频率有较大差异。与其他4种侧耳属真菌相比,秀珍菇基因组中的六核苷酸相对密度最高,为1 Mb中SSR长118 bp,出现次数最多的六核苷酸基序类型为TAACCC/GGGTTA。

2.4 秀珍菇的遗传多样性分析

2.4.1 多态性分析

以18份秀珍菇DNA为模板,利用设计的83对引物进行扩增,结果(表5)显示,83对引物中有80对引物有扩增结果,占比96.4%;其中,67对引物有清晰且稳定的扩增结果,占比80.7%,53对引物筛选出了多态性,多态比例为63.9%。在所选用的SSR标记中,随着不同范围内SSR长度的增加,其引物多态性占比从61.8%上升至66.7%。可见,SSR

长度越长,其表现出多态性的可能性越高。

表5 秀珍菇83个SSR标记多态性与长度的关系

Table 5 Relationship between polymorphism and length of 83

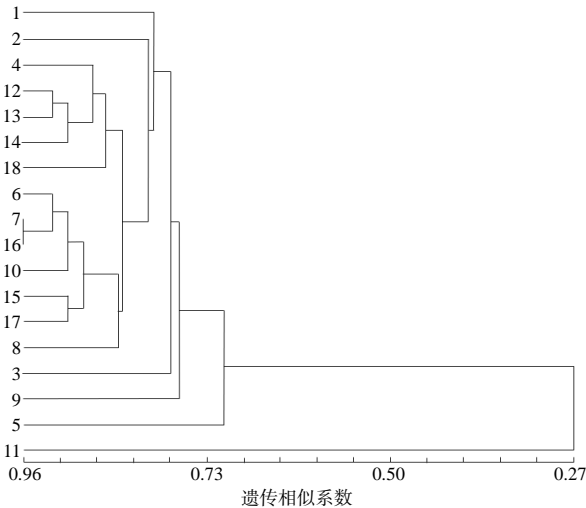
SSR markers in *Pleurotus pulmonarius*

SSR长度/bp	引物总数	有扩增结果的引物数	有清晰扩增结果的引物数	有多态性的引物数	多态比例/%
10~14	34	32	25	21	61.8
15~19	28	28	26	18	64.2
≥20	21	20	16	14	66.7
总计	83	80	67	53	63.9

运用PopGene1.32对18个秀珍菇菌株进行遗传多样性分析,结果表明,Shannon信息指数为0.21~0.69,平均值为0.38。Nei's基因多样性为0.10~0.50,平均值为0.23。有效等位基因数最大为2.0,最小为1.12,平均值为1.35。

2.4.2 聚类分析

根据NTSYS pc2.1中的Tree plot聚类分析结果(图2),18个秀珍菇之间的遗传相似系数为0.27~0.96。当遗传相似系数为0.71时分为3类:秀珍菇92和成秀①315分别为1个类群,其余为1个类群。当遗传相似系数增加到0.84时,菌株可分为8类:秀珍菇2、台秀1号、台秀3号、秀珍菇1672、成秀①315、秀珍菇92分别聚为一类;菌株金秀1号、秀珍菇705、基因2005、秀珍菇71、凤尾327聚为一类;台秀57、台秀912、台秀2号、特大凤尾、秀珍菇93、中国农秀、新秀169聚为一类。



1~18 分别示秀珍菇 2、台秀 1 号、台秀 3 号、金秀 1 号、成秀①315、台秀 57、台秀 912、新秀 169、秀珍菇 1672、秀珍菇 93、秀珍菇 92、秀珍菇 705、基因 2005、秀珍菇 71、中国农秀、台秀 2 号、特大凤尾、凤尾 327。

图 2 18 个秀珍菇的 SSR 遗传聚类结果

Fig.2 SSR clustering result of 18 *Pleurotus pulmonarius* strains

3 结论与讨论

本研究对已经公布的秀珍菇(PM_ss5)菌株基因组序列进行SSR位点分析,共获得 2348 个SSR位点,高于金针菇(1279 个)^[18]和云芝(1224 个)^[17],而低于美味牛肝菌(2732 个)^[19]和灵芝(4038 个)^[16]。秀珍菇属于腐生菌,其全基因组SSR含量占比为 0.09%,低于共生菌双色蜡蘑(8%)的^[26],在一定程度上说明腐生菌和共生菌在全基因组SSR含量上可能存在较大差异。

绝大多数真菌及其他真核生物单核苷酸SSR数量占比最高,原核生物中以三核苷酸为主^[27],食用菌SSR位点分布与原核生物类似,如灵芝、云芝及金针菇等食用菌^[16-18]都是以三核苷酸为主,极少数(如草菇)是以单核苷酸为主^[28]。本研究结果显示,秀珍菇SSR主要以二核苷酸为主,且二核苷酸超过SSR总数的一半,高于其他侧耳属的食用菌,这与王艳芳等^[29]关于香菇的研究结果类似,这可能和秀珍菇的遗传特性有关,也有可能和设定的碱基重复次数有关。本研究中,从SSR位点基序类型来看,基序为GA/TC与CT/AG的SSR在榆黄菇、平菇、佛罗里达平菇及秀珍菇的二核苷酸中占比大于 40%,GA/TC与CT/AG为侧耳属的优势基序;在SSR长度方面,TEMNYKH等^[30]认为,SSR长度越长,品种之间显示的多态性越高。秀珍菇在 10~15 bp的SSR位点占比 77.2%,16~40 bp区间的占比 20.7%,可见秀珍菇全基因组有着众多多态性较高的SSR位

点,极具开发潜力。

秀珍菇全基因组SSR标记数量充足,显著多于忻雅等^[31]开发的秀珍菇EST-SSR标记,且SSR序列特异性标记有着重复性好、条带清晰易读、可操作性强等优点,给菌株的遗传多样性分析带来诸多便利。本研究从 83 对引物中筛选出了 53 对多态性引物,用于 18 份秀珍菇进行遗传多样性分析,结果表明,53 对引物的多态性信息量平均值为 0.38,多态性信息量不高。多态性信息量可以用来衡量品种的遗传多样性,当多态性信息量为 0.25~0.50 时,表现出中度的遗传多样性^[32]。根据遗传聚类分析结果,来源相同的供试秀珍菇菌株大部分都聚为一类,但也有部分菌株与来源不同的菌株聚在一起,说明中国秀珍菇栽培存在引种混乱的现象。推测聚类图谱中距离相近的不同名称的菌株极有可能是同种秀珍菇,不宜用于杂交育种研究,应当选择在聚类图谱中距离较远的秀珍菇菌株作为杂交亲本。

近年来,食用菌产业逐渐兴起,市场菌种不断增多,菌种的鉴定将成为一项必不可少的工作。随着食用菌基因组测序工作的开展,分布于全基因组的大量SSR标记也将会被开发利用。本研究中,根据秀珍菇全基因组信息,挖掘了大量特异性SSR位点,同时对不同类型SSR位点所合成的引物进行了多态性检测和遗传多样性分析,有利于秀珍菇遗传多样性保护研究,但如何基于秀珍菇全基因组序列开发更多的多态性SSR分子标记还需要不断探索。

参考文献:

- [1] WANG Q, LI H, CHEN T T, et al. Yield, polysaccharides content and antioxidant properties of *Pleurotus abalonus* and *Pleurotus geesteranus* produced on asparagus straw as substrate[J]. *Scientia Horticulturae*, 2012, 134: 222-226.
- [2] 金茜, 令狐金卿, 李华刚, 等. 不同基质培养下秀珍菇中蛋白质营养价值评价[J]. *食品科技*, 2017, 42(3): 79-83.
- [3] 陈躬国, 陈剑, 吴汉琼, 等. 肺形侧耳种质资源拮抗反应及 RAPD 分子标记遗传多样性分析[J]. *南方农业学报*, 2020, 51(12): 2892-2900.
- [4] 黄良水, 蔡为明, 金群力. 我国秀珍菇的发展现状与前景展望[J]. *食药用菌*, 2015, 23(6): 340-343.
- [5] 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.
- [6] 陈躬国, 林原, 刘新锐, 等. 秀珍菇遗传育种研究进展[J]. *热带作物学报*, 2017, 38(7): 1377-1381.

- [7] 林原, 陈剑, 赵光辉, 等. 7个秀珍菇菌株栽培特性及 ISSR 遗传分析[J]. 福建农业学报, 2015, 30(4): 339-343.
- [8] 曲亮, 陈卫江, 李莓, 等. SSR 标记技术在甘蓝型油菜杂交种纯度鉴定中的应用[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2009, 35(3): 229-232.
- [9] 徐超华, 刘新龙, 毛钧, 等. 基于 SSR 分子标记数据构建割手密核心种质库[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2020, 46(6): 657-663.
- [10] 贾小平, 张博, 全建章, 等. 98份谷子材料穗部性状的全基因组 SNP 关联分析[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2019, 45(1): 25-29.
- [11] 王显生, 贾钰莹, 顾汉艳, 等. 鹰嘴豆 EST 资源中 SSR 的信息分析[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2010, 36(2): 137-141.
- [12] 罗冉, 吴委林, 张旻, 等. SSR 分子标记在作物遗传育种中的应用[J]. 基因组学与应用生物学, 2010, 29(1): 137-143.
- [13] 张立荣, 徐大庆, 刘大群. SSR 和 ISSR 分子标记及其在植物遗传育种研究中的应用[J]. 河北农业大学学报, 2002, 25(1): 90-94.
- [14] 张丹, 宋春艳, 章炉军, 等. 基于全基因组序列的香菇商业菌种 SSR 遗传多样性分析及多位点指纹图谱构建的研究[J]. 食用菌学报, 2014, 21(2): 1-13.
- [15] 徐晓兰, 陈体强, 兰进, 等. 赤芝全基因组 SSR 位点的筛选及种质资源遗传多样性分析[J]. 世界中医药, 2020, 15(5): 677-682.
- [16] 何金字, 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.
- [17] 曹云, 张延召, 程抒勃, 等. 云芝全基因组 SSR 位点分布及比较分析[J]. 菌物学报, 2017, 36(11): 1524-1542.
- [18] 金群力, 沈颖越, 蔡为明, 等. 金针菇基因组 SSR 位点分析及标记开发[J]. 食用菌学报, 2016, 23(2): 12-19.
- [19] 王莹, 陈明杰, 汪虹, 等. 美味牛肝菌全基因组 SSR 位点的分布规律研究[J]. 菌物学报, 2015, 34(2): 204-214.
- [20] VIDAL-DIEZ DE ULZURRUN G, LEE Y Y, STAJICH J E, et al. Genomic analyses of two Italian oyster mushroom *Pleurotus pulmonarius* strains[J]. G3, 2021, 11(2): jkaa007.
- [21] YONEYAMA S, SHIRAI N, ANDO N, et al. Identification of a SNP and development of a PCR-based allele-specific marker of the sporulation-deficient (sporeless) trait of the Tamogitake 108Y2D mutant using next-generation sequencing[J]. Breeding Science, 2020, 70(5): 530-539.
- [22] LEE Y Y, VIDAL-DIEZ DE ULZURRUN G, SCHWARZ E M, et al. Genome sequence of the oyster mushroom *Pleurotus ostreatus* strain PC9[J]. G3, 2021, 11(2): jkaa008.
- [23] ZHANG Z B, WEN J W, LI J Z, et al. The evolution of genomic and epigenomic features in two *Pleurotus* fungi[J]. Scientific Reports, 2018, 8(1): 1-15.
- [24] GAO W, QU J B, ZHANG J X, et al. A genetic linkage map of *Pleurotus tuoliensis* integrated with physical mapping of the *de novo* sequenced genome and the mating type loci[J]. BMC Genomics, 2018, 19(1): 18.
- [25] WANG X W, WANG L. GMATA: an integrated software package for genome-scale SSR mining, marker development and viewing[J]. Frontiers in Plant Science, 2016, 7: 1350.
- [26] LABBÉ J, MURAT C, MORIN E, et al. Survey and analysis of simple sequence repeats in the *Laccaria bicolor* genome, with development of microsatellite markers[J]. Current Genetics, 2011, 57(2): 75-88.
- [27] SHARMA P C, GROVER A, KAHL G. Mining microsatellites in eukaryotic genomes[J]. Trends in Biotechnology, 2007, 25(11): 490-498.
- [28] 熊登坤. 草菇 SSR 标记遗传连锁图谱的构建[D]. 武汉: 华中农业大学, 2014.
- [29] 王艳芳, 赵彦宏, 王爱云, 等. 香菇 EST 资源的 SSR 信息分析[J]. 食品科学, 2010, 31(1): 137-140.
- [30] TEMNYKH S, DECLERCK G, LUKASHOVA A, et al. Computational and experimental analysis of microsatellites in rice (*Oryza sativa* L.): frequency, length variation, transposon associations, and genetic marker potential[J]. Genome Research, 2001, 11(8): 1441-1452.
- [31] 忻雅, 阮松林, 王世恒, 等. 基于 RAPD 和 EST-SSR 标记的秀珍菇菌株聚类分析[J]. 食用菌学报, 2008, 15(4): 20-25.
- [32] BOTSTEIN D, WHITE R L, SKOLNICK M, et al. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms[J]. American Journal of Human Genetics, 1980, 32(3): 314-331.

责任编辑: 毛友纯
英文编辑: 柳正