

DOI:10.16720/j.cnki.tcyj.2022.165

灵芝育种研究进展

许琳¹, 张雪超², 周亚杰³, 闫梅霞^{1*}(1. 中国农业科学院特产研究所, 吉林 长春 130112; 2. 吉林省园艺特产管理站, 吉林 长春 130000;
3. 南京中科药业有限公司, 江苏 南京 210008)

摘要: 灵芝是一种现代研究较多的真菌, 具有较高的食用及药用价值。本文通过查阅相关文献, 对自然选择育种、诱变育种、杂交育种、原生质体融合育种及分子育种 5 种育种技术在灵芝中的应用研究现状进行总结, 为灵芝品种的选育提供参考和理论依据。

关键词: 灵芝; 育种方法; 品种

中图分类号: S567.3+1

文献标识码: A

文章编号: 1001-4721(2024)01-0129-07

Research Progress of *Ganoderma lucidum* Breeding

XU Lin¹, ZHANG Xuechao², ZHOU Yajie³, YAN Meixia^{1*}(1. Institute of Special Animals and Plant Sciences of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130112, China;
2. Jilin Province Specialty Management Stations, Changchun 130000, China; 3. Nanjing Zhongke Pharmaceutical Co. Ltd,
Nanjing 210008, China)

Abstract: *Ganoderma lucidum* is a fungus that has been extensively studied in modern times and has high edible and medicinal value. This paper summarized the application and research status of five breeding technologies in *G. lucidum*, including natural selection breeding, mutation breeding, hybrid breeding, protoplast fusion breeding and molecular breeding by consulting relevant literature, and provide a reference and theoretical basis for the breeding of *G. lucidum* varieties.

Key words: *Ganoderma lucidum*; breeding; variety

灵芝(*Ganoderma lucidum*)是担子菌纲多孔菌科灵芝属真菌,为我国传统名贵药材,被称为“仙草”。灵芝入药在我国已有上千年的历史,具有扶本固正的功效,在《神农本草经》和《本草纲目》中均有记载。现代药理学研究表明,灵芝的主要活性成分为灵芝多糖、灵芝三萜、多肽、核苷类、呋喃类、甾醇和生物碱等,具有抗肿瘤^[1]、提高免疫力^[2]、抗氧化^[3]、降血糖、降血脂^[4]、保肝护肝^[5]和抗炎^[6]等作用。

我国灵芝主要分布于海南、四川、贵州、安徽和吉林等地,野生灵芝资源丰富^[7],现已发现的灵芝科有 103 种 4 个属,占世界已知灵芝种类的 88%^[8],丰富的野生灵芝资源为灵芝育种提供了良好的基础。目前,灵

芝生产优良种主要由国外引入或野生菌种驯化。我国灵芝品种经省级审定的较多,基本各省市均有审定的灵芝品种,例如上海的‘沪农灵芝 1 号’,浙江的‘仙芝 1 号’、‘仙芝 2 号’,福建的‘芝 102’、‘芝 120’,但国审灵芝品种仅有 4 个,分别是‘川芝 6 号’、‘G26’、‘金地灵芝’及‘泰赤-1’^[9]。

我国是世界上最大的灵芝生产国和消费国,2020 年,我国灵芝和灵芝孢子粉合计年产量约 1700 万 kg,灵芝产业总产值超过 80 亿元^[10]。同时由于真菌液体发酵具有生产周期短、成本低及产量高等特点^[11],灵芝液态发酵及菌种改良也受到一定关注,发酵产物已广泛应用于食品^[12]、环保^[13]和医药^[14]等行业。灵芝产

收稿日期: 2022-08-25

基金项目: 吉林省科技发展计划项目(20210401101YY)

作者简介: 许琳(1997-),女,山东济南人,在读硕士生,从事食药药用菌研究。

*通讯简介: 闫梅霞(1982-),女,河北石家庄人,副研究员,硕士生导师,从事药用菌研究。

业市场前景广阔,灵芝的稳产高产是产业健康发展的基础,优良灵芝品种是生产的基础与重要保障,科学技术的进步为灵芝育种研究提供了更多的可能性。本文通过查阅灵芝育种相关文献,综述了灵芝育种方法的研究现状,为灵芝优良菌种的研究提供参考。

1 灵芝育种方法研究进展

1.1 自然选择育种

自然选择育种是指不经人工处理,利用自然变异选育新品种的方法。自然选择育种是最古老、最简单的育种方法,是其他育种方法的基础,但需要收集大量种质资源进行试验,工作量大,且可供选择的范围有限,具有偶然性。近年来,通过自然选择育种培育出一大批省审优势品种,包括山东主要种植的灵芝品种‘御蕈堂灵芝 1 号’和‘御蕈堂灵芝 2 号’^[15],具有优良特性的‘晋灵芝 1 号’^[16]、‘川圆芝 1 号’^[17]、‘攀芝 1 号’^[18]、‘层迭灵芝泰 G1 号’^[19]、‘南 GL11’^[20]、‘仙芝 3 号’^[21]以及‘云白灵芝 2 号’^[22]等。

1.2 诱变育种

诱变育种是运用物理和化学等方法作用于菌株的 DNA,使其遗传特性发生变异,从而获得优良菌株的方法。灵芝菌丝体、原生质体均可作为诱变原材料,其中去除细胞壁的灵芝原生质体对外界环境非常敏感,更容易受到诱变剂的损伤,是诱变育种材料的首选。

1.2.1 物理诱变育种 物理诱变育种具有安全、高效等优点,是最简单、最常用的诱变方法。传统物理诱变主要采用紫外线、激光等方法进行诱变^[21],近年来,随着科学技术的发展,超声波、电磁波、微波、宇宙射线和常压室温等离子体(Atmospheric room temperature plasma, ARTP)等方法也相继出现^[23]。物理诱变可使化学键断裂,从而导致染色体结构的变异(染色体的易位、倒位和缺失)。

紫外诱变广泛应用于食用菌研究^[24-26],目前,应用紫外诱变育种方法已筛选出具有多糖含量高^[27]、三萜含量高^[28]、耐高温^[29]及产孢量高^[30]等优良性状的灵芝新菌株。朱惠照等^[31]采用紫外线诱变技术育成子实体和孢子产量高、抗逆性好、品质优的赤灵芝新品种‘仙芝 1 号’。ARTP 诱变是由清华大学研究团队开发的一种新型诱变技术^[32],基于大气压射频辉光放电原理,等离子体在形成过程中释放的高能量引起 DNA 突变^[33],具有安全、快速,在室温条件下能够产生更高的

突变率,突变谱较紫外诱变宽的特点^[34]。余雯雯^[35]通过 ARTP 诱变灵芝菌丝体,筛选出菌丝产量及灵芝酸产量与出发菌株相比均明显提高的 ATP3 菌株。李塬等^[36]利用 ARTP 诱变技术,综合考虑诱变菌株的菌丝体多糖含量和生物量,最终筛选出多糖产量较出发菌株提高 268.57%的诱变菌株 A-246。张越野等^[37]利用 ARTP 技术诱变获得抗氧化能力显著提高的诱变菌株。

1.2.2 化学诱变育种 化学诱变是化学药剂与遗传物质发生生化反应,在 DNA 复制时诱发碱基的突变与密码子的位移^[38]。主要化学诱变剂包括氯化锂、亚硝酸和甲基磺酸乙酯(EMS)等,化学诱变剂的环境安全性有待进一步提高。董玉玮等^[39]研究发现,赤芝原生质体经 0.3%氯化锂诱变后,致死率为 72.8%,诱变菌株第4代锗含量最高,为174.88 $\mu\text{g/g}$,比亲本提高了269.02%。董玉玮等^[40]分别采用不同的化学诱变剂对灵芝原生质体进行处理,最终找出不同化学诱变剂的最佳剂量,同时得到了遗传稳定的高多糖含量菌株。由于化学诱变剂的单一重复使用会产生诱变剂疲劳效应,导致突变谱变窄,因此,化学诱变常与其他诱变方法一起采用复合诱变,复合诱变为诱变剂重复使用多次或两种或两种以上诱变剂同时使用^[41]。Peng 等^[42]通过氯化锂或氯化锂和Triton X-100 的组合对灵芝原生质体进行突变处理,得到两个突变菌株,其胞内多糖和三萜类化合物的最高产量分别提高了 568.45%和 373.43%。

1.2.3 空间诱变育种 太空环境中包括辐射、微重力和交变磁场,这种特殊又复杂的环境为诱变育种带来了新的机遇。据报道,空间诱变育种突变率可达10%^[43]。1996 年,我国成功通过搭载返地式卫星获得了菌丝形态、活性均优良的新菌株^[44]。本世纪初,Qi 等^[45]对空间诱变后灵芝进行扩增片段长度多态性分析,证实了菌株的多态性差异;‘卫星灵芝 2 号’是空间诱变育种结合地面选育培育出来的灵芝新品种,与未经卫星搭载的菌株相比,新产品子实体产量可提高 75.3%,氨基酸总量达 10.315%,比对照株提高了 96.4%^[46]。张蕾等^[47]以‘仙芝 1 号’为出发菌株,通过高温栽培筛选和空间诱变,获得了一株耐高温 35℃以上、高产和优质的赤灵芝新菌株‘仙芝 2 号’。目前,针对空间育种的研究机理尚不明确且研究缺乏系统性,大多只针对一代、二代菌株进行研究,后续研究及利用相对薄弱,见表 1。

表 1 灵芝诱变育种部分报道
Table 1 Some reports of mutation breeding of *G. lucidum*

诱变组织材料 Inducing tissue	诱变剂 Mutagen	年份 Year	参考文献 Reference
组织块	紫外线 UV	2001	[31]
原生质体	紫外线 UV	2008	[28]
组织块	紫外线 UV	2014	[30]
菌丝体	紫外线 UV	2019	[23]
原生质体	紫外线 UV	2021	[27]
菌丝体	常压室温等离子体 ARTP	2019	[35]
原生质体	常压室温等离子体 ARTP	2021	[36]
原生质体	常压室温等离子体 ARTP	2021	[37]
原生质体	氯化锂 LiCl	2011	[39]
原生质体	氯化锂、甲基磺酸乙酯、亚硝酸 LiCl、EMS、HNO ₂	2012	[40]
原生质体	氯化锂、Triton X-100 LiCl、Triton X-100	2016	[42]
菌丝体	宇宙射线 cosmic rays	1996	[44]
菌丝体	宇宙射线 cosmic rays	2014	[47]

1.3 杂交育种

杂交育种工作的生物学基础是有性生殖,我国在 20 世纪 70 年代,开启了食用菌杂交育种工作^[48]。杂交育种主要包括单单杂交、单双杂交和多胞杂交等类型,杂交过程中菌丝之间发生核迁移,从而导致遗传物质重新组合。单单杂交过程中核迁移常表现为核互换或核的单向迁移,研究表明,单向核迁移占比非常高^[49];单双杂交的核迁移为双核菌丝体中的一个核迁移到单核菌丝中,其中双核菌丝体中两个核迁移概率不同,会受到等级机制的影响^[50,51],单双杂交也称为“布勒现象”^[52]。灵芝的交配系统属于四极性异宗结合,双核体菌丝中存在两种交配型,由于灵芝担孢子难以萌发,目前大多应用原生质体单核化制备技术将亲本双核分离,制备具有再交配能力的单核体。吴小平等^[53]选择遗传距离较远的 5 个灵芝品种作为亲本菌株进行单单杂交,成功获得多糖产量与子实体产量比亲本有显著提高的杂交菌株。林俊华等^[54]通过对杂交菌株进行评价,证明了灵芝原生质体单核化杂交育种技术可用于灵芝新品种培育。吴伯文^[55]筛选出在产量、灵芝三萜及灵芝多糖上具有显著优势的‘金山灵芝 102’和‘金山灵芝 120’。王天娇等^[56]通过单单杂交育种得到对培养基营养利用率高、三萜含量高的杂交菌株。刘新锐等^[57]以‘南韩灵芝’和‘G8-2’为亲本,通过原生质体单核化杂交,筛选获得抗杂菌能力较强,朵形好,出芝整齐,产量高的‘芝 102’。

1.4 原生质体融合育种

原生质体融合是一种远缘杂交育种的方法,是指

通过去壁处理得到原生质体后,在物理、化学或生物学诱导下属间、种间及种内进行融合,最终筛选得到兼具亲本优良性状的新品种。原生质体融合技术可以增高重组频率,扩大重组的亲本范围,突破种间障碍,但由于 DNA 交换及重组的随机性,融合子的筛选鉴定工作难度较大,现常用的亲本标记方法有营养缺陷型^[58]、抗药性^[59]、荧光染色^[60]和双重灭活标记^[61,62]等。原生质体融合育种技术起步较晚,仍处于发展阶段。

1.4.1 原生质体的制备与再生 原生质体在灵芝育种中担任着十分重要的角色,可作为诱变育种、杂交育种、原生质体融合育种和分子育种的原材料。1957 年, Eddy 等^[63]首次用蜗牛酶溶解酵母细胞壁分离到原生质体,随后,原生质体融合技术开始应用于食用菌研究领域。1998 年,曹文琴^[64]以‘中国红灵芝’为材料,研究了灵芝原生质体制备、再生及融合的过程,针对灵芝原生质体育种的研究开始步入正轨。

影响原生质体制备与再生的因素包括菌株类型、菌龄、渗透压稳定剂类型、酶液状态(包括酶液浓度、酶解温度、酶解时间、酶解 pH)、原生质体收集转速和再生培养基类型等。近年来,许多专家学者对影响灵芝原生质体制备与再生的条件进行了优化。研究表明,以对数生长期(菌龄 4~8 d)的菌丝为原材料,2% 溶壁酶,酶解 pH5~6,酶解时间 2~3.5 h,酶解温度 30 ℃ 左右,收集原生质体转速 3 000 r/min 左右可制备出较多数量的原生质体^[61,65,66]。此外,王昱等^[67]还对渗透压稳定剂类型进行了研究,结果表明 0.6 mol/L 甘露醇更利于原生质体的制备与再生。原生质体的制备还与

酶的类型息息相关,不同类型酶液之间制备条件存在差异,纤维素酶、蜗牛酶及其复合酶液也可用于灵芝原生质体的制备,可参照各酶液使用方法摸索最佳制备条件^[42,68,69]。原生质的再生率还与培养方式^[70]和培养基类型^[71]有关,在最佳培养条件下进行培养,可获得较高的再生率。

1.4.2 原生质体融合 自然条件下,原生质体可自发融合,但融合率极低,目前聚乙二醇(PEG)诱导的化学融合和电脉冲诱导的电融合是食用菌原生质体融合中应用最广的原生质体融合技术。

化学融合是应用最为广泛的融合方法,化学融合法是利用不同的化学试剂作为诱导剂,促使原生质体聚集、黏连及融合的方法。常用的诱导剂为 NaNO_3 和 PEG。其中利用 PEG 作为诱导剂时,需 Ca^{2+} 作为辅助诱导剂来介导原生质体的融合。全卫丰等^[72]通过 PEG 诱导两株不同性状的灵芝菌株原生质体发生融合,选育出了富硒高产灵芝菌株 YG1。陈合等^[73]研究表明灵芝原生质体融合的最佳条件为 30% PEG、0.02 mol/L CaCl_2 、融合时间 30 min、温度 30 °C,融合率为 0.4%。苗敬芝等^[74]以美国大灵芝和信州灵芝为起始菌株,研究两种原生质体最佳融合条件为 30% PEG、0.03 mol/L Ca^{2+} 、融合时间 30 min、温度 35 °C、融合率 0.47%。Raman^[61]等利用赤芝及树舌灵芝进行融合,获得总多糖含量具有显著差异的融合菌株。国审品种‘G26’为韩芝和红芝进行种内原生质体融合育成^[75]。

物理融合法主要包括电诱导融合和激光诱导融合法。电融合法优点是细胞损伤小,操作简单,条件温和,融合效率高,缺点是设备要求高,价格昂贵。陈合等^[73]将白芝和赤芝两种原生质体进行融合并确定了电融合的最佳条件。高明侠等^[76]通过电融合方法对紫芝和赤芝原生质体电融合条件进行了研究,结果显示电融合的最佳条件为:脉冲强度 10 kV,脉冲间隙 24 μs ,脉冲次数 3 次/s,最高融合率为 0.038%。激光诱导融合法目前研究较少。

1.5 分子育种

分子育种是将分子生物学技术应用于育种中,在分子水平上进行育种的一种方法,包括分子标记辅助育种、转基因育种和分子设计育种等。分子育种技术优点是不受种属限制,实现了远缘杂交,可根据研究的需要,有目的地进行定向改造,例如抗虫、抗病和高产品种^[77]。

1.5.1 分子标记辅助育种 分子标记辅助育种利用与目标基因紧密连锁的分子标记在杂交后代中准确鉴

别不同个体的基因型,从而辅助选择育种,显著提高选择的准确性和育种效率^[78]。理想的分子标记具有高多态性、共显性、分布均匀、检测手段简单和重复性好等特点。多种分子标记在灵芝遗传连锁图谱的构建中得以应用,例如限制性内切酶片段长度多态性(Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP)^[79]、限制性片段长度扩增多态性(Amplified Fragment Length Polymorphism, AFLP)^[80]、序列相关扩增多态性(Sequencerelated amplified polymorphism, SRAP)^[81]、特定序列扩增(Sequence Characterized Amplified Regions, SCAR)^[82]、单核苷酸多态性(Single Nucleotide Polymorphism, SNP)^[83]和简单序列重复(simple sequence repeat, SSR)^[84]等。

1.5.2 基因工程育种 基因工程育种是通过 DNA 重组技术进行育种。转基因育种中构建高效、稳定的遗传转化体系显得尤为重要。常规基因转化方法有电击转化法^[85]和限制酶介导的插入突变^[86]、PEG 介导的原生质体转化法^[87]和根癌农杆菌介导的转化法等。根癌农杆菌介导的转化法操作简便,转化效率高,近年来,成为灵芝遗传转化的主要研究手段之一。师亮等^[88]利用根癌农杆菌介导的转基因体系将外源基因片段整合进了灵芝的基因组 DNA 中,并优化培养参数,提高了灵芝原生质体的转化效率。Xu 等^[89]利用根癌农杆菌介导的转基因体系培育出了高产灵芝酸的灵芝菌株。

CRISPR/Cas9 是近几年发展起来的一种高效的基因编辑工具,是目前最成功的基因组精准编辑技术,它不仅可以对单个的目的基因进行编辑,也可对基因家族、整个基因座及代谢通路中的多个基因同时进行编辑^[90,91]。Qin 等^[92]首次在灵芝中成功应用了 CRISPR/Cas9 系统,成功获得了转化子,转化效率高达 66.6%,从而使灵芝产生更多具有抗肿瘤活性和抗转移活性的灵芝酸。

2 总结与展望

随着经济社会的持续健康发展,人们对于养生保健的需求越来越高,灵芝相关的保健品受到了社会的广泛关注,极大推动了灵芝产业的发展。优良的灵芝菌种是灵芝产业发展的基础,培育筛选出具有优良性状且能稳定遗传的灵芝新菌株显得迫切而又紧要。灵芝育种技术已取得了一定的进展,从最初的自然选择育种到后来随着科学技术的发展,逐渐形成的杂交育种、诱变育种、原生质体融合育种及分子育种,都极大程度上丰富了灵芝种质资源。

目前,国审品种及省审品种大多由自然选择育种得到,是灵芝育种的主要途径;诱变育种很好的解决了自然选择育种突变率低的问题,但其突变的方向仍很难确定,后续需要大量的筛选实验才可获得理想菌株;杂交育种及原生质体融合育种可以定向育种,培育出兼具双亲优势的灵芝菌株,同样存在后续筛选工作量大的情况;分子育种技术也应用到灵芝育种工作中,分子育种将现代分子技术手段整合于传统育种方法中,提高了育种的效率,但相较于其他4种育种方法,其技术难度大,价格昂贵,经改造后的新品种是否会对生态环境造成影响仍需讨论,公众对转基因的认知仍存在争议;目前灵芝育种还存在较多问题,系统性研究相比较其他作物或食用菌来说还十分滞后,由于应用于商业的栽培种优良性状较为稳定及明确,常被用来当做育种的亲本,这就导致栽培品种的遗传背景越来越窄,因此,灵芝育种应不断挖掘和利用野生种质资源,扩大种质资源基因库,扩宽栽培品种的遗传背景,相信随着育种理论研究的继续深入及育种技术的进步,不断明确育种目标,将会有更多、更优良的灵芝菌株及品种被选育出来。

参考文献

- [1] SOHRETOGLU D, HUANG S. *Ganoderma lucidum* polysaccharides as an anti-cancer agent [J]. *Anti-cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 2018, 18(5): 667-674.
- [2] ZHU N, LV X, WANG Y, et al. Comparison of immunoregulatory effects of polysaccharides from three natural herbs and cellular uptake in dendritic cells[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2016, 93: 940-951.
- [3] CHIU H F, FU H Y, LU Y Y, et al. Triterpenoids and polysaccharide peptides-enriched *Ganoderma lucidum*: a randomized, double-blind placebo-controlled crossover study of its anti-oxidation and hepatoprotective efficacy in healthy volunteers[J]. *Pharmaceutical Biology*, 2017, 55(1): 1041-1046.
- [4] XIAO C, WU Q, XIE Y, et al. Hypoglycemic mechanisms of *Ganoderma lucidum* polysaccharides F31 in db/db mice via RNA-seq and iTRAQ[J]. *Food & Function*, 2018, 9(12): 6495-6507.
- [5] ZHANG X, GAO X, LONG G, et al. Lanostane-type triterpenoids from the mycelial mat of *Ganoderma lucidum* and their hepatoprotective activities[J]. *Phytochemistry*, 2022, 198: 113131.
- [6] LI Y, LI M, WANG R, et al. *Ganoderma* modulates allergic asthma pathologic features via anti-inflammatory effects[J]. *Respiratory Physiology & Neurobiology*, 2022, 299: 103843.
- [7] 才晓玲, 何伟, 安福全. 灵芝种质资源研究进展[J]. *现代农业科技*, 2016(6): 99-100.
- [8] 付永明, 麻大鹏. 我国灵芝种质资源及生产技术研究[J]. *种子科技*, 2018, 36(6): 81.
- [9] 金鑫, 刘宗敏, 黄羽佳, 等. 我国灵芝栽培现状及发展趋势[J]. *食药菌*, 2016, 24(1): 33-37.
- [10] 食用菌市场杂志. 《2021年我国灵芝产业调研报告》[EB/OL]. (2021-07-07) [2022-08-20]. <https://mp.weixin.qq.com/s/4GbCajkD-1s353CYIEd0ZQ>.
- [11] 魏滔, 张长生, 陈琼华, 等. 灵芝真菌液体发酵及其产物应用的研究进展[J]. *微生物学通报*, 2022, 49(1): 336-351.
- [12] 王凡, 葛蒙蒙, 高忠辉, 等. 灵芝、杏鲍菇混合发酵牛蒡白果茶饮料的研制[J]. *食品工业*, 2019, 40(7): 58-62.
- [13] MOHD HANAFIAH Z, WAN MOHTAR WHM, ABU HASAN H, et al. Performance of wild-Serbian *Ganoderma lucidum* mycelium in treating synthetic sewage loading using batch bioreactor[J]. *Scientific Reports*, 2019, 9(1): 16109.
- [14] KEREZOU DI EN, MITSOU EK, GIOTI K, et al. Fermentation of *Pleurotus ostreatus* and *Ganoderma lucidum* mushrooms and their extracts by the gut microbiota of healthy and osteopenic women: potential prebiotic effect and impact of mushroom fermentation products on human osteoblasts[J]. *Food & Function*, 2021, 12(4): 1529-1546.
- [15] 左洪波, 夏伯阳, 王夕亮, 等. 灵芝产区种质资源调查及杂交育种研究[J]. *现代农业研究*, 2021, 27(3): 109-110+124.
- [16] 孟俊龙, 刘靖宇, 常明昌, 等. 灵芝新品种‘晋灵芝 1 号’[J]. *园艺学报*, 2016, 43(9): 1843-1844.
- [17] 陈秀炳, 周洁, 张波, 等. 灵芝新品种‘川圆芝 1 号’[J]. *园艺学报*, 2017, 44(11): 2239-2240.
- [18] 周洁, 张波, 杨梅, 等. 灵芝新品种‘攀芝 1 号’[J]. *园艺学报*, 2018, 45(1): 197-198.
- [19] 张光亚, 安妮, 吴建辉. 野生层迭灵芝驯化栽培研究初报[J]. *中国食用菌*, 2018, 37(6): 79-84.
- [20] 林兴生, 林占熿, 林辉, 等. 灵芝新品种‘南 GL11’[J]. *园艺学报*, 2020, 47(7): 1427-1428.
- [21] 徐靖, 王瑛, 黄庆, 等. 灵芝新品种‘仙芝 3 号’的选育[J]. *食用菌学报*, 2021, 28(3): 39-46.
- [22] 姚春馨, 田果廷, 王晖. 白肉灵芝三个新品种的选育报告[J]. *菌物学报*, 2022, 41(12): 2095-2097.
- [23] 孙玲, 刘利平, 徐婉茹, 等. 物理诱变在药食用菌育种中的应用研究进展[J]. *安徽农业科学*, 2018, 46(14): 29-33+153.
- [24] WU W J, AHN B Y. Statistical optimization of ultraviolet irradiate conditions for vitamin D₂ synthesis in oyster mushrooms (*Pleurotus ostreatus*) using response surface methodology[J]. *Plos One*, 2014, 9(4): e95359.
- [25] HU D, CHEN W, LI X, et al. Ultraviolet irradiation increased the concentration of vitamin D₂ and decreased the concentration of ergosterol in shiitake mushroom (*lentinus edodes*) and oyster mushroom (*pleurotus ostreatus*) powder in ethanol suspension[J]. *ACS Omega*, 2020, 5(13): 7361-7368.
- [26] URBAIN P, VALVERDE J, JAKOBSEN J. Impact on vitamin D₂, vitamin D₄ and agaritine in agaricus bisporus mushrooms after artificial and natural solar UV light exposure[J]. *Plant Foods for Human Nutrition (Dordrecht, Netherlands)*, 2016, 71(3): 314-21.

- [27] 余昭玮. 灵芝菌株诱变及新菌株液态发酵米糠麸皮全料的研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2019.
- [28] 朱芬, 陈军, 师亮, 等. 灵芝三萜高产菌株原生质体紫外诱变选育[J]. 南京农业大学学报, 2008(1): 37-41.
- [29] 刘月芹, 罗丽媛, 刘欢瑞, 等. 耐高温灵芝菌株的选育[J]. 中国食用菌, 2021, 40(8): 13-17.
- [30] 张伦, 黄筑, 王冲, 等. 多孢灵芝品种选育及其栽培技术[J]. 种子, 2014, 33(4): 98-101.
- [31] 朱惠照, 郑化先, 王瑛, 等. 灵芝品种仙芝 1 号的选育[J]. 浙江农业科学, 2014(8): 1163-1165.
- [32] ZHANG X, ZHANG X F, LI H P, et al. Atmospheric and room temperature plasma (ARTP) as a new powerful mutagenesis tool[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2014, 98(12): 5387-96.
- [33] ZHANG X, ZHANG C, ZHOU Q Q, et al. Quantitative evaluation of DNA damage and mutation rate by atmospheric and room-temperature plasma (ARTP) and conventional mutagenesis[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2015, 99(13): 5639-46.
- [34] YU Q, LI Y, WU B, et al. Novel mutagenesis and screening technologies for food microorganisms: advances and prospects[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2020, 104(4): 1517-1531.
- [35] 余雯雯. 灵芝 ARTP 诱变育种及灵芝酸 A 热敏脂质体的活性研究[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2019.
- [36] 李源, 张赫男, 谭贻, 等. 常压室温等离子体诱变选育高产多糖灵芝新菌株[J]. 食用菌学报, 2021, 28(2): 36-41.
- [37] 张越野, 张赫男, 谭贻, 等. 筛选高抗氧化能力的灵芝诱变菌株[J]. 食用菌学报, 2021, 28(3): 47-54.
- [38] MA L, KONG F, SUN K, et al. From classical radiation to modern radiation: past, present, and future of radiation mutation breeding[J]. Frontiers in Public Health, 2021, 9: 768071.
- [39] 董玉玮, 苗敬芝, 吕兆启, 等. 氯化锂诱变赤灵芝原生质体选育高产三萜类菌株[J]. 食品科学, 2011, 32(1): 120-123.
- [40] 董玉玮, 苗敬芝, 曹泽虹, 等. 灵芝原生质体化学诱变育种[J]. 食品研究与开发, 2012, 33(6): 166-170.
- [41] 吕孙燕, 汪祎, 陈金芸, 等. 药用微生物育种技术及其应用进展[J]. 发酵科技通讯, 2021, 50(1): 6-13.
- [42] PENG R, YONGZE F, JIAO Z, et al. Improvement of polysaccharide and triterpenoid production of *Ganoderma lucidum* through mutagenesis of protoplasts[J]. Biotechnology & Biotechnological Equipment, 2016, 30(2): 381-387.
- [43] 梁秀玲, 黄旭华, 磨美华. 桑树采用航空航天诱变育种的可行性分析[J]. 广西蚕业, 2009, 46(4): 32-36.
- [44] 王振福, 孟宪志, 邓春海, 等. 食用菌空间诱变育种研究初报[J]. 空间科学学报, 1996(S1): 160-161.
- [45] QI J J, MA R C, CHEN X D, et al. Analysis of genetic variation in *Ganoderma lucidum* after space flight[J]. Advances in Space Research, 2003, 31(6): 1617-22.
- [46] 辽宁成功培育出卫星灵芝 2 号[J]. 中国中医药信息杂志, 2000(7): 67.
- [47] 张蕾, 王瑛, 朱惠照, 等. 赤灵芝新菌株“仙芝 2 号”的选育[J]. 食用菌学报, 2014, 21(1): 15-20.
- [48] 鲍大鹏. 食用菌杂交育种中的科学问题[J]. 食用菌学报, 2020, 27(4): 1-24.
- [49] 刘靖宇, 刘新锐, 邓优锦, 等. 双向核迁移在香菇遗传和育种中的应用研究[J]. 菌物学报, 2011, 30(5): 774-781.
- [50] NIEUWENHUIS B P, DEBETS A J, AANEN D K. Sexual selection in mushroom-forming basidiomycetes[J]. Proceedings Biological Sciences, 2011, 278(1702): 152-157.
- [51] NIEUWENHUIS B P, BILLIARD S, VUILLEUMIER S, et al. Evolution of uni- and bifactorial sexual compatibility systems in fungi[J]. Heredity, 2013, 111(6): 445-455.
- [52] PILOTTI C A, SANDERSON F R, AITKEN, E A B. Sexuality and interactions of monokaryotic and dikaryotic mycelia of *Ganoderma boninense*[J]. Mycological Research, 2002, (106): 1315-1322.
- [53] 吴小平, 刘方, 谢玉荣, 等. 灵芝原生质体单核化杂交育种[J]. 中国农学通报, 2009, 25(23): 64-69.
- [54] 林俊华, 邓优锦, 谢宝贵. 灵芝原生质体单核化杂交子代的评价[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2010, 39(5): 534-537.
- [55] 吴伯文. 灵芝高产、优质杂交菌株的筛选[D]. 福州: 福建农林大学, 2012.
- [56] 王天娇, 唐传红, 张劲松, 等. 灵芝杂交菌株选育及其菌丝体液态深层发酵动力学[J]. 食品与发酵工业, 2014, 40(3): 107-112.
- [57] 刘新锐, 柯斌榕, 吴小平, 等. 灵芝新品种“芝 102”[J]. 园艺学报, 2014, 41(9): 1951-1952.
- [58] TOYOMASU T, MORI KI. Fruit body formation of the fusion products obtained on interspecific protoplast fusion between *Pleurotus* species[J]. Agricultural and Biological Chemistry, 1987, 51(7): 2037-2040.
- [59] 刘玲, 叶博, 刘长江. 原生质体融合亲本菌株抗药性标记的筛选[J]. 江苏农业科学, 2007(3): 225-227.
- [60] 吴晓华. 真姬菇与金针菇原生质体融合育种研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2011.
- [61] RAMAN J, JANG K Y, OH Y L, et al. Interspecific hybridization between *Ganoderma lingzhi* and *G. applanatum* through protoplast fusion[J]. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 2021, 37(7): 114.
- [62] BAO L H, LI R Y, ZHI W Y, et al. Construction of novel cold-tolerant strains of *Volvariella volvacea* through protoplast fusion between *Volvariella volvacea* and *Pleurotus eryngii*[J]. Scientia Horticulturae, 2018, 230: 161-168.
- [63] EDDY A A. The probable nuclear origin of certain of the bodies released from yeast protoplasts by ultrasonic treatment[J]. Experimental Cell Research, 1959, 17(3): 447-464.
- [64] 曹文琴, 郭顺星, 徐锦堂, 等. 灵芝原生质体制备、再生及融合的研究[J]. 菌物系统, 1998(1): 51-56.
- [65] 孙墨可, 陈欢, 李晰亮, 等. 赤芝原生质体分离与再生研究[J]. 菌物研究, 2015, 13(1): 52-54.
- [66] 李源. 利用诱变技术创制高多糖含量灵芝菌株的研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2020.

- [67] 王昱,王义,王康宇,等. 灵芝原生质体的制备与再生研究[J]. 北方园艺, 2013(16): 184-188.
- [68] 王岁楼,王琼波,陈春涛,等. 灵芝原生质体诱变选育高产漆酶突变株的研究[J]. 食品科学, 2006(5): 53-57.
- [69] 董玉玮,苗敬芝,曹泽虹,等. 紫外诱变赤灵芝原生质体选育高产有机锗菌株的研究[J]. 食品科学, 2009, 30(15): 188-192.
- [70] 崔晓,丛倩倩,王庆武,等. 秀珍菇原生质体高效制备与再生研究[J]. 中国食用菌, 2018, 37(5): 44-48.
- [71] 孙晓瑞. 秀珍菇与榆黄蘑原生质体融合育种技术研究[D]. 晋中: 山西农业大学, 2018.
- [72] 全卫丰,何静霞,汪洁,等. 原生质体融合选育富硒高产灵芝的研究[J]. 食用菌, 2012, 34(3): 19-21+31.
- [73] 陈合,胡云红,秦俊哲,等. 灵芝菌原生质体融合条件研究[J]. 食品科学, 2007(2): 173-176.
- [74] 苗敬芝,吕兆启,董玉玮. 灵芝原生质体制备与融合条件的研究[J]. 食品工业科技, 2011, 32(6): 198-200.
- [75] 王勇,谢正伟,郭勇. 灵芝新品种 G26 及川芝 2 号的选育研究 [C]//全国食用菌学术研讨会暨新产品新技术交流会. 中国菌物学会; 菌物学报编辑部, 2007.
- [76] 高明侠,苗敬芝,曹泽虹,等. 灵芝原生质体电融合选育高产多糖菌株的研究[J]. 江苏农业科学, 2008(6): 89-91.
- [77] 方洪枫,赵光辉,吴汉琼,等. 平菇育种技术的研究进展[J]. 食药菌, 2021, 29(2): 128-130.
- [78] 王亚琦,孙子淇,郑峥,等. 作物分子标记辅助选择育种的现状与展望[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(5): 6-12.
- [79] 解凡,叶丽云,赵丽丽,等. 三株野生重伞灵芝的鉴定及其多糖、三萜含量分析[J]. 食用菌学报, 2018, 25(3): 8-14+107.
- [80] 潘丽晶,沈汉国,陈继敏,等. 荧光 AFLP 和拮抗实验对灵芝菌遗传多样性研究[J]. 中国食用菌, 2013, 32(6): 38-42.
- [81] SUN S J, GAO W, LIN S Q, et al. Analysis of genetic diversity in *Ganoderma* population with a novel molecular marker SRAP[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2006, 72 (3): 537-43.
- [82] TANG, CHUAN-HONG, ZHANG, et al. Development of a stable SCAR marker for rapid identification of *Ganoderma lucidum* Hunong 5 cultivar using DNA pooling method and inter-simple sequence repeat markers[J]. Journal of Integrative Agriculture, 2018, 17(1): 130-138.
- [83] KWON O C, LEE C S, PARK Y J. SNP and SCAR markers for specific discrimination of antler-shaped *Ganoderma lucidum*[J]. Microorganisms, 2019, 7(1): 12.
- [84] QIAN J, XU H, SONG J, et al. Genome-wide analysis of simple sequence repeats in the model medicinal mushroom *Ganoderma lucidum*[J]. Gene, 2013, 512(2): 331-336.
- [85] SUN L, CAI H, XU W, et al. Efficient transformation of the medicinal mushroom *Ganoderma lucidum*[J]. Plant Molecular Biology Reporter, 2001, 19: 383.
- [86] KIM S, SONG J, CHOI H T. Genetic transformation and mutant isolation in *Ganoderma lucidum* by restriction enzyme-mediated integration[J]. FEMS Microbiology Letters, 2004, 233(2): 201-204.
- [87] YU X, JI S L, HE Y L, et al. Development of an expression plasmid and its use in genetic manipulation of Lingzhi or Reishi medicinal mushroom, *Ganoderma lucidum* (higher Basidiomycetes)[J]. International Journal of Medicinal Mushrooms, 2014, 16: 161-168.
- [88] SHI L, FANG X, LI M, et al. Development of a simple and efficient transformation system for the basidiomycetous medicinal fungus *Ganoderma lucidum*[J]. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 2012, 28(1): 283-291.
- [89] XU J W, XU Y N, ZHONG J J. Enhancement of ganoderic acid accumulation by overexpression of an N-terminally truncated 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase gene in the basidiomycete *Ganoderma lucidum*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2012, 78(22): 7968-7976.
- [90] 张妍,黄晨阳,高巍. 食用菌分子育种研究进展[J]. 菌物研究, 2019, 17(4): 229-239.
- [91] 苏文英,杨和川,谭一罗,等. CRISPR/Cas9 基因编辑技术在真菌中的应用[J]. 江西农业学报, 2019, 31(3): 23-29.
- [92] HAO Q, HAN X, GEN Z, et al. CRISPR-Cas9 assisted gene disruption in the higher fungus *Ganoderma* species[J]. Process Biochemistry, 2017, 56: 57-61.

(上接第128页)

- [3] 陈宏,卫利,吉晓晓,等. 王素梅教授应用虫类药治疗小儿咳嗽经验[J]. 中医儿科杂志, 2022, 18(2): 17-19.
- [4] 姬永宽,陈国森,梁锦娉,等. 僵蚕在瘟疫治疗中的运用探析[J]. 中国中医急症, 2022, 31(3): 429-432.
- [5] 李舒,石鉴泉,石志超. 石志超教授应用僵蚕蝉蜕经验选萃[J]. 光明中医, 2021, 36(19): 3241-3243.
- [6] 洪佳青,但彩云,崔诗遥,等. 白僵蚕药用的研究进展[J]. 蚕桑通报, 2021, 52(3): 1-3.
- [7] 何丽英. 僵蚕抗癫痫作用机制及质量控制研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2021.
- [8] 孙晓光,蔡俊豹,桑小普,等. 彭建中教授运用蝉蜕、僵蚕药对治疗小儿感染性发热经验拾萃[J]. 现代中医临床, 2020, 27 (5): 61-63+76.
- [9] 胡营杰,孙凤平,韩雪. 蝉蜕、僵蚕药对在小儿常见疾病中的应用[J]. 中国中西医结合儿科学, 2020, 12(4): 295-297.
- [10] 倪亮,姚毅,王文渊,等. 僵蚕新型伪品中标志物硼砂的定性定量检测方法研究[J]. 中药材, 2021, 44(8): 1848-1850.
- [11] 赵建国,曲伟红,余敬谋,等. 10 批市售僵蚕商品药材质量评价[J]. 中国药房, 2017, 28(10): 1399-1402.
- [12] 葛文龙,杨水英. 10 种常见中药材的掺伪鉴别[J]. 时珍国医国药, 2005(4): 334-335.
- [13] 杨建平,徐桂莲. 几种伪劣中药饮片的鉴别[J]. 北京中医, 2001(5): 47-48.
- [14] 王勇军,伊传明. 僵蚕的真伪识别[J]. 黑河科技, 1999(4): 35.
- [15] 赵启有. 中药僵蚕及其混伪品的鉴别[J]. 中药材, 1998(2): 75.
- [16] 崔瑾瑾,黄德红,万宏. 一种僵蚕伪品的鉴别[J]. 湖北医药学院学报, 2019, 38(2): 156-157+201.
- [17] 姚少威,姚念环. 僵蚕及其伪品的鉴定[J]. 时珍国药研究, 1997(2): 72.