

# 秦巴山区香菇主要栽培种亲缘关系的研究

赵娜娜<sup>1</sup>, 陈文强<sup>1,2</sup>, 邓百万<sup>1,2</sup>, 兰阿峰<sup>1,2</sup>, 解修超<sup>1,2</sup>, 王 进<sup>1</sup>

(1. 陕西理工学院 生物科学与工程学院, 陕西 汉中 723000; 2. 陕西省食药菌工程技术研究中心, 陕西 汉中 723000)

**摘 要:**以秦巴山区 10 株香菇主栽菌株为试材, 采用组织培养方法对其菌丝生长速度、菌丝形态特征进行分析, 采用 CTAB 法对其 DNA 提取、PCR 扩增及扩增产物进行测序比对, 依据 ITS 序列分析和构建系统进化树。结果表明:“香菇 808”和“香菇 507”两菌株具有较高生长优势且亲缘关系较远, 可作为原生质体制备、融合及再生的菌株。该研究可为秦巴山区香菇主要栽培种亲缘关系的确定和新品种的培育提供理论依据。

**关键词:**香菇; 菌株; 形态特征; ITS 序列; 亲缘关系

**中图分类号:**S 646 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2014)16-0140-04

香菇 (*Lentinula edodes*) 属层菌纲(Hymenomycetes)伞菌目(Agaricales)新香菇属(*Lentinula*)<sup>[1]</sup>, 又称香蕈、厚菇、花菇。其具有独特的香味, 优良的质地, 营养价值和药用价值极高。据分析, 干香菇食用部分占 72%, 组成香菇蛋白质的 18 种氨基酸包含人体所必须的 8 种氨基酸, 还含有多种维生素、矿物质, 对促进人体新陈代谢, 提高机体适应力有很大的帮助, 对糖尿病、肺结核、传染性肝炎、神经炎等起治疗作用。香菇多糖(Lentinan)、香菇太生(lentysin)、干扰素(Interferon)及其诱导物等活性物质, 能提高辅助性 T 细胞的活力而增强人体体液免疫功能。香菇还具有防止肿瘤、降血脂、抗血栓、健胃保肝、预防佝偻病、缓减便秘、治贫血等功效<sup>[2]</sup>。由于秦巴山区气候温和湿润, 适宜菌类生长, 所产香菇以其质厚和肉嫩而深受人们喜爱。

ITS(Internal transcribed spacer)是核糖体 rDNA 中介于 18S 与 5.8S 之间的 ITS 1, 5.8S 与 28S 之间的 ITS 2 的非编码转录间隔区, 进化速率较快且片段长度适中, 加上协调进化, 使得该片段在基因组不同重复单元间十分一致, 成为高等真菌属内种间及种群系统学研究的核基因标记<sup>[3]</sup>。真菌的 rDNA 的 ITS 区段的保守性基本上表现为种内相对一致、种间差异比较明显, 这一特点使得 ITS 区段不仅适合于属内物种间或种内差

异较明显的菌群间的系统发育关系分析, 而且非常适合于真菌物种的分子鉴定<sup>[4]</sup>。许多学者利用不同物种中或同一物种不同菌株间 ITS 序列的差异来进行真菌系统发育或分类鉴定等方面的研究<sup>[5-8]</sup>。近年来, 曹杰等<sup>[9]</sup>利用 ITS 序列分析证明 8 种鹅膏菌的种间具有较高的遗传多样性。由于 ITS 序列具有方便、快速的特点, 因此也用于鉴定一些未知菌株, 如侯军等<sup>[10]</sup>利用 ITS 序列对疑似菌株白羊肚菌进行了初步分子鉴定。

目前, 国内对香菇种质资源研究主要集中于栽培品种。叶翔等<sup>[11]</sup>应用 SSR 分子标记技术对我国 25 个香菇品种进行区别性分析, 为构建香菇栽培种的 SSR 分子指纹图谱提供依据和方法; 黄龙花等<sup>[12]</sup>运用 18S rDNA 和 ITS 序列相结合分析的方法, 对 15 种常见栽培食用菌的 30 个菌株的系统发育关系进行了研究, 结果表明, 18S rDNA 和 ITS 这 2 个目的片段的保守性不一, 适用的分类范围各异, ITS 序列分析适于鉴定出某一菌种所属的科、属、种; 秦莲花等<sup>[13]</sup>对 16 个供试菌株进行 ITS 和 ISSR 遗传分析, 并用 RAPD 技术验证发现, ITS 序列可以为香菇菌株的亲缘关系问题提供较强的证据。

由于秦巴山区香菇主要栽培种的亲缘关系尚无相关研究报道, 香菇品系的种源关系不明确, 缺少适宜地域栽培生长的香菇品种, 培育适合秦巴山区栽培的优良高产菌株难度较大。该研究选取秦巴山区“香菇 18”、“香菇 507”、“香菇 808”、“高温香菇”、“南山 1#”、“香菇日大”、“森立 8#”、“渝化 2#”、“渝化 3#”、“沪农 3#”共 10 株香菇主栽菌株为试材, 对其菌丝生长速度、菌丝形态特征及其核糖体转录间隔区(ITS)进行序列分析, 并进一步对 ITS 序列进行核酸序列数据库 GenBank 同源性检索比对, 构建系统发育树, 以期基于传统形态特征对秦巴山区 10 个香菇主要栽培菌株之间的亲缘关系提供分子依据, 为香

**第一作者简介:**赵娜娜(1988-), 女, 甘肃庆阳人, 硕士研究生, 现主要从事微生物资源开发利用等研究工作。E-mail: xyzh\_2080@yeah.net.

**责任作者:**陈文强(1956-), 男, 陕西洋县人, 教授, 硕士生导师, 现主要从事微生物资源的保护与利用等研究工作。E-mail: wen-qiangc@126.com.

**基金项目:**陕西理工学院创新基金资助项目(SLGYCX1309)。

**收稿日期:**2014-04-16

菇优良菌种选育及建立种质资源库提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试“香菇 18”、“香菇 507”、“香菇 808”、“高温香菇”、“南山 1#”、“香菇日大”、“森立 8#”、“渝化 2#”、“渝化 3#”、“沪农 3#”共 10 株香菇栽培菌株,由陕西省食用菌工程技术研究中心提供。

CPDA 培养基:马铃薯 200.00 g、葡萄糖 20.00 g、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$  5.00 g、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  3.00 g、维生素  $\text{B}_1$  0.01 g、琼脂 18.00 g,加水至 1 000 mL,pH 自然。

试剂:2×Taq PCR Mix、ITS1-F、ITS4-B、模板 DNA、dd  $\text{H}_2\text{O}$ 。

仪器:恒温振荡器(ZHWY-210 2C,上海智诚分析仪器有限公司);超净工作台(SW-CJ-1F,苏州安泰空气技术有限公司);电子天平(BJ100M,上海精科天美科学仪器有限公司);立式圆形压力蒸气灭菌器(LS-B50L,上海医用核子仪器厂);人工气候箱(LRH-800-GS,韶关市明天环保仪器有限公司);恒温水浴锅(DZKW-S-4,惠州市新旭实业有限公司)。

### 1.2 试验方法

1.2.1 菌种活化 配制 CPDA 培养基,分装试管,于  $1.034 \times 10^5$  Pa 灭菌 30 min 后放置斜面,冷却后,10 个香菇菌株分别接于培养基上,28℃培养,待菌丝长满斜面后,4℃保存备用。

1.2.2 菌丝生长速度的测定 配制 CPDA 培养基,于  $1.034 \times 10^5$  Pa 灭菌 30 min,倒平皿,冷却后每个菌株种接 5 个平皿,28℃培养,记录菌丝生长速度,每个处理重复 5 次,对试验结果进行统计分析,用 LSD 比较差异显著性;观察香菇菌丝形态、菌丝色泽及密度并记录。

1.2.3 液体发酵 CPDA 培养基去掉琼脂制备液体培养基,分装于 500 mL 三角瓶中,装液量 200 mL/瓶,于  $1.034 \times 10^5$  Pa 灭菌 30 min,冷却后将活化的菌株接入液体培养基中<sup>[12]</sup>,静置 24 h 后,28℃,170 r/min 振荡培养。

1.2.4 菌丝体收集 28℃振荡培养 6~7 d,将培养好的菌丝体用纱布过滤,再用无菌水洗涤过滤 2~3 次,最后用滤纸吸干水分收集菌丝体。4℃保存备用。

1.2.5 DNA 的提取 菌丝体 DNA 的提取参照 CTAB 法<sup>[14]</sup>。取 0.5 g 备用香菇菌丝体,液氮研磨成粉状;加 600  $\mu\text{L}$  CTAB,混匀;65℃水浴 1 h,每 20 min 翻转 1 次;4℃,12 000 r/min 离心 15 min;取上清液加 300  $\mu\text{L}$  Tris 饱和酚,300  $\mu\text{L}$  氯仿-异戊醇(24:1),轻轻混匀,4℃,12 000 r/min 离心 15 min;取上清液加入 1/2 体积无水乙醇,−20℃冷冻 1 h,4℃,12 000 r/min 离心 15 min;弃上清,加 75%乙醇洗 2 次(乙醇每次加满 EP 管),4℃,12 000 r/min 离心 15 min 重复 2 次,弃上清,晾干;加

dd  $\text{H}_2\text{O}$  20  $\mu\text{L}$ ,溶解 DNA,−20℃保存备用。

1.2.6 ITS 序列扩增及检测 ITS 序列扩增引物为真菌通用引物 ITS1-F、ITS4-B,由上海生物工程有限公司合成<sup>[15]</sup>。PCR 反应体系(25  $\mu\text{L}$ ):2×Taq PCR Mix 12  $\mu\text{L}$ 、ITS1-F 1  $\mu\text{L}$ 、ITS4-B 1  $\mu\text{L}$ 、模板 DNA 2  $\mu\text{L}$ 、dd  $\text{H}_2\text{O}$  9  $\mu\text{L}$ ;PCR 反应条件:94℃预变性 5 min;94℃变性 45 s,53℃退火 45 s,72℃延伸 1 min,共 35 个循环;72℃延伸 10 min。取 5  $\mu\text{L}$  PCR 产物,用 1%琼脂糖凝胶(TBE 缓冲液)电泳检测,于 Tanon 3500R 凝胶成像系统(中国 TANON 公司产品)拍照,记录电泳结果。

1.2.7 测序 PCR 产物测序委托生工生物工程(上海)股份有限公司完成。

1.2.8 系统进化树的构建 通过前端引物与后端引物双向测序获得 ITS 的完整基因序列。用 ClustalW 软件对序列进行对位排列,然后手工适当校正,排列中产生的空位(Gap)被处理为缺失(Missing)。应用 Mega 6.05 软件包计算它们相互间的碱基差异,GenBank 数据库中进行 BLAST 搜索,搜索并下载得到相似度大于 99%的序列,使用 Kimura 双参数模型构建邻接系统发育树,利用自展法(Bootstrap,1 000 次重复)检验各分支的置信度。

## 2 结果与分析

### 2.1 香菇菌株菌丝的生长速度

由表 1 可知,“香菇 808”菌丝生长速度最快,平均生长速度为 5.460 mm;“香菇日大”菌丝生长速度最慢,平均生长速度为 4.000 mm;10 株香菇菌株菌丝的平均生长速度为 4.790 mm,“香菇 808”、“南山 1#”、“香菇 507”、“渝化 3#”的差异显著性小;“香菇日大”较其它菌株差异显著性较大。

表 1 香菇菌株菌丝的生长速度

Table 1 Mycelia growth rate of different *Lentinula edodes* strains

香菇品种 Variety	菌株 Strain	编号 Number	菌丝生长速度 Growth rate /mm·d <sup>-1</sup>					菌丝平均 生长速度 Average growth rate/mm·d <sup>-1</sup>	差异显著性 Significant differences
			1	2	3	4	5		
“香菇 18”	18		3.000	3.500	4.000	5.000	5.500	4.200	c C
“香菇 507”	507		5.000	5.000	4.500	5.000	5.500	5.000	a A
“香菇 808”	808		5.000	5.500	5.500	5.500	5.800	5.460	a A
“高温香菇”	G		5.000	4.500	4.500	5.000	5.000	4.800	b B
“南山 1#”	N1		4.500	4.800	5.000	5.000	6.000	5.060	a A
“香菇日大”	R		3.000	3.500	4.000	5.000	4.500	4.000	e E
“森立 8#”	S8		3.800	4.000	4.500	4.000	5.000	4.260	c C
“渝化 2#”	Y2		4.500	5.000	4.800	5.000	5.000	4.860	b B
“渝化 3#”	Y3		4.000	4.800	5.200	5.000	6.000	5.000	b B
“沪农 3#”	H3		3.500	5.000	4.800	5.000	5.500	4.760	c C
平均								4.790	

### 2.2 香菇菌株菌丝的形态观察

由表 2 可知,“香菇日大”、“高温香菇”、“沪农 3#”菌

丝边缘不完整;“香菇 18”、“香菇 507”、“香菇 808”、“南山 1#”、“森立 8#”、“渝化 2#”、“渝化 3#”菌丝边缘完整,10 株菌株均为绒毛状;“香菇 808”菌丝洁白色,“香菇 18”、“高温香菇”、“南山 1#”、“森立 8#”菌丝均呈白色;“香菇 507”、“渝化 2#”菌丝呈灰白色;“香菇日大”菌丝呈乳黄色;“渝化 3#”菌丝呈乳白色;“沪农 3#”菌丝为暗黄色;“香菇 18”、“高温香菇”、“南山 1#”、“香菇日大”、“森立 8#”、“渝化 2#”菌丝浓密;“香菇 507”、“香菇 808”、“渝化 3#”菌丝较浓密;“沪农 3#”菌丝稀疏。

表 2 香菇菌株菌丝的形态观察

Table 2 Mycelia morphology investigation of different *Lentinula edodes* strains

香菇品种 Strains	Variety 菌株编号 Number	菌丝形态 Mycelial form	菌丝色泽 Mycelium color	菌丝密度 Mycelium density
“香菇 18”	18	完整,绒毛状	白色	浓密
“香菇 507”	507	完整,绒毛状	灰白色	较浓密
“香菇 808”	808	完整,绒毛状	洁白色	较浓密
“高温香菇”	G	不完整,绒毛状	白色	浓密
“南山 1#”	N1	完整,绒毛状	白色	浓密
“香菇日大”	R	不完整,绒毛状	乳黄色	浓密
“森立 8#”	S8	完整,绒毛状	白色	浓密
“渝化 2#”	Y2	完整,绒毛状	灰白色	浓密
“渝化 3#”	Y3	完整,绒毛状	乳白色	较浓密
“沪农 3#”	H3	不完整,绒毛状	暗黄色	稀疏

### 2.3 香菇菌株 ITS-PCR 扩增与检测

将活化的香菇菌株于液体发酵收集菌丝,采用 CTAB 法<sup>[14]</sup>提取菌丝 DNA,通过真菌 ITS 通用引物 ITS1-F、ITS4-B 扩增,取 5  $\mu$ L PCR 产物,用 1% 琼脂糖凝胶(TBE 缓冲液)电泳检测,于 Tanon 3500R 凝胶成像系统(中国 TANON 公司产品)拍照,结果见图 1。

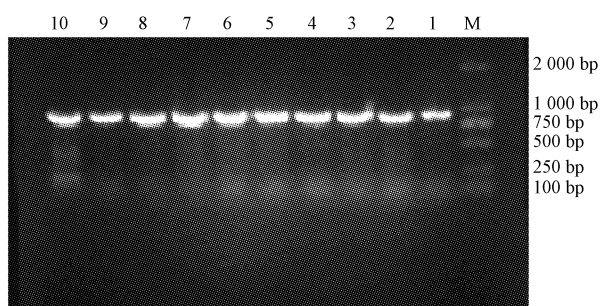


图 1 PCR 扩增产物电泳图

注:泳道 1~10 为 PCR 扩增产物;1:“南山 1 号”,2:“渝化 2 号”,3:“森立 8 号”,4:“高温香菇”,5:“香菇 18”,6:“香菇日大”,7:“渝化 3 号”,8:“沪农 3 号”,9:“香菇 808”,10:“香菇 507”;M:DNA Marker 2 000。

Fig. 1 The electrophoresis of PCR amplification products

Note: Lanes 1~10 for the PCR amplification products; 1: 'Nanshan 1', 2: 'Yuhua 2', 3: 'Senli 8', 4: 'High Temperature Lentinula edodes', 5: 'Lentinula edodes 18', 6: 'Lentinula edodes Rida', 7: 'Yuhua 3', 8: 'Hunong 3', 9: 'Lentinula edodes 808', 10: 'Lentinula edodes 507', M: DNA Marker 2 000.

由图 1 可知,10 株香菇菌株的基因组 DNA 经 PCR 扩增后获得了单一的条带,菌株的 rDNA ITS 的区域的序列片段长度大小为 750 bp 左右。PCR 扩增获得的目的片段含有 ITS1-F、5.8S rDNA 和 ITS4-B 序列,分别将这 10 条序列提交 NCBI 公共数据库 GeneBank,利用 NCBI 的软件 BLAST 进行网上比对。

### 2.4 系统进化树的构建

将获得的 10 个 ITS 序列提交 GenBank,香菇菌株“香菇 18”、“香菇 507”、“香菇 808”、“高温香菇”、“南山 1 号”、“香菇日大”、“森立 8 号”、“渝化 2 号”、“渝化 3 号”、“沪农 3 号”的登陆号依次为:KF757009、KF757010、KF757011、KF757012、KF757013、KF757014、KF757015、KF757016、KF757017、KF757018,再进行 BLAST 检索对比后,得到同源性较高菌株的 ITS 序列,下载 10 个具有代表性菌株序列与该试验所测的 10 株菌株 ITS 序列利用 Clustal W 软件将序列匹配排列后,采用 MEGA 6.05 软件邻近相邻法构建系统发育树,树枝上方数值为 Bootstrap 值,结果见图 2。

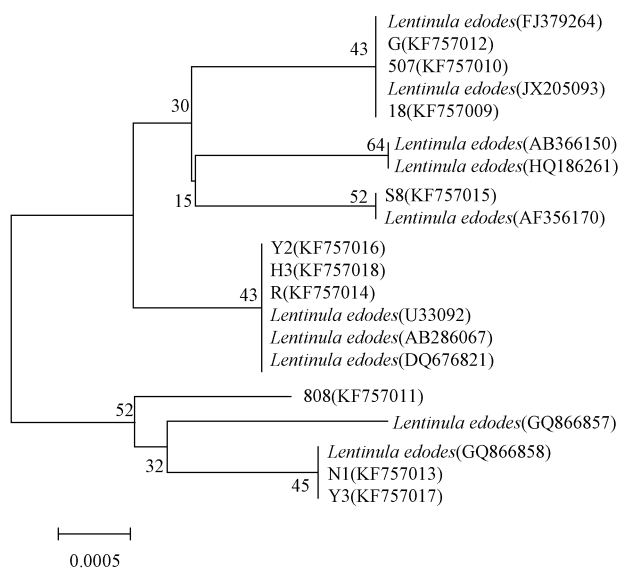


图 2 基于 ITS 序列构建的系统发育树

注:树枝上的数字表示 Bootstrap 验证中该树枝的可信度;其余为 GenBank 中相关菌种的登陆号。

Fig. 2 The phylogenetic tree based on ITS sequences

Note: Digital branches indicate the credibility of the Bootstrap validation branches; rest of related species in GenBank accession number.

从邻近相邻法构建的系统发育树上可看出,“高温香菇”、“森立 8#”、“香菇 18”、“香菇 507”、“渝化 2#”、“沪农 3#”、“香菇日大”这 7 个菌种亲缘关系比较近;“香菇 808”、“南山 1#”、“渝化 3#”这 3 个菌种亲缘关系比较近。其中,“高温香菇”、“香菇 507”、“香菇 18”与标准菌株 *Lentinula edodes* (FJ379264)、*Lentinula edodes* (JX205093) 聚类在同一分支上;“森立 8#”和标准菌株 *Lentinula*

edodes(AF356170)聚类在同一分支上,“渝化 2<sup>#</sup>”、“沪农 3<sup>#</sup>”、“香菇日大”与标准菌株 *Lentinula edodes* (DQ676821)、*Lentinula edodes* (U33092)、*Lentinula edodes* (AB286067)聚在同一分支上;且“高温香菇”、“森立 8<sup>#</sup>”、“香菇 18”、“香菇 507”与“渝化 2<sup>#</sup>”、“沪农 3<sup>#</sup>”、“香菇日大”亲缘关系相对较远。“南山 1<sup>#</sup>”、“渝化 3<sup>#</sup>”和标准菌株 *Lentinula edodes* (GQ866858)聚类在同一分支上;且“香菇 808”与“南山 1<sup>#</sup>”、“渝化 3<sup>#</sup>”亲缘关系相对较远。

### 3 结论

该研究通过对 10 株香菇菌株的形态特征和序列比较分析表明,“高温香菇”、“香菇 507”、“香菇 18”与标准菌株 *Lentinula edodes* (FJ379264)、*Lentinula edodes* (JX205093)聚类在同一分支上;“森立 8<sup>#</sup>”和标准菌株 *Lentinula edodes* (AF356170)聚类在同一分支上,“渝化 2<sup>#</sup>”、“沪农 3<sup>#</sup>”、“香菇日大”与标准菌株 *Lentinula edodes* (DQ676821)、*Lentinula edodes* (U33092)、*Lentinula edodes* (AB286067)聚在同一分支上,且“高温香菇”、“森立 8<sup>#</sup>”、“香菇 18”、“香菇 507”与“渝化 2<sup>#</sup>”、“沪农 3<sup>#</sup>”、“香菇日大”亲缘关系相对较远。“南山 1<sup>#</sup>”、“渝化 3<sup>#</sup>”和标准菌株 *Lentinula edodes* (GQ866858)聚类在同一分支上;且“香菇 808”与“南山 1<sup>#</sup>”、“渝化 3<sup>#</sup>”亲缘关系相对较远。“高温香菇”、“森立 8<sup>#</sup>”、“香菇 18”、“香菇 507”这 4 个菌种亲缘关系比较近;“渝化 2<sup>#</sup>”、“沪农 3<sup>#</sup>”、“香菇日大”这 3 个菌种亲缘关系比较近;“南山 1<sup>#</sup>”、“渝化 3<sup>#</sup>”亲缘关系比较近。

通过对秦巴山区香菇主要栽培菌株的形态特征及 ITS 序列的获得与系统进化树的构建,菌株“香菇 808”和“香菇 507”可作为原生质体制备、融合及再生的优势菌株,为秦巴山区香菇主要栽培种亲缘关系的确定和高

产优质香菇的新品种选育奠定理论基础。

(该文作者还有乔艳明和苏晨曦,单位同第一作者。)

### 参考文献

- [1] 卯晓岚. 中国蕈菌[M]. 北京:科学出版社,2009:38.
- [2] 刘威,刘立强. 浅谈香菇营养及药用保健价值[J]. 农业与技术,2009(5):331-332.
- [3] Tedersoo L, Suvi T, Jairus T, et al. Revisiting ectomycorrhizal fungi of the genus *Alnus*: differential host specificity, diversity and determinants of the fungal community[J]. New Phytologist, 2009, 182(3):727-735.
- [4] 曹杰,张志国,刘弟,等. 滇藏地区 8 种鹅膏菌的 ITS 序列分析[J]. 云南大学学报(自然科学版),2009,31(1):90-96.
- [5] 陈玉华,刘君昂,周国英,等. 松乳菇 ITS 序列比较及其在乳菇属中的系统发育分析[J]. 食用菌学报,2013,20(1):18-24.
- [6] Brock P M, Doring H, Bidartondo M I. How to know unknown fungi: the role of a herbarium [J]. New Phytologist, 2009, 181:719-724.
- [7] 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.
- [8] 杨永彬,兰家细,谢福泉,等. 基于香菇菌株 rDNA-ITS 序列的系统发育分析[J]. 微生物学杂志,2010,30(4):27-29.
- [9] 曹杰,张志国,刘弟,等. 滇藏地区 8 种鹅膏菌的 ITS 序列分析[J]. 云南大学学报,2009,31(1):90-96.
- [10] 侯军,林晓民,江芸,等. 基于 ITS 序列分析对疑似白羊肚菌株的分子鉴定[J]. 食品科学,2009,30(5):141-145.
- [11] 叶翔,黄晨阳,陈强,等. 中国主栽香菇品种 SSR 指纹图谱的构建[J]. 植物遗传资源学报,2012,13(6):1067-1072.
- [12] 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.
- [13] 秦莲花,宋春艳,谭琦,等. 用 ITS 和 ISSR 分子标记技术鉴别香菇生产用种[J]. 菌物学报,2006,25(1):94-100.
- [14] 张红,秦莲花,谭琦,等. 用改进的 CTAB 法提取香菇基因组 DNA [J]. 上海大学学报(自然科学版),2006,12(5):547-550.
- [15] White T J, Bruns T, Lee S, et al. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics [M]. California: Academic Press, 1990.

## Study of the Genetic Relationships of Main *Lentinula edodes* Cultispecies in Qinba Mountainous Area

ZHAO Na-na<sup>1</sup>, CHEN Wen-qiang<sup>1,2</sup>, DENG Bai-wan<sup>1,2</sup>, LAN A-feng<sup>1,2</sup>, XIE Xiu-chao<sup>1,2</sup>, WANG Jin<sup>1</sup>, QIAO Yan-ming<sup>1</sup>, SU Chen-xi<sup>1</sup>

(1. School of Biological Science and Engineering, Shaanxi University of Technology, Hanzhong, Shaanxi 723000; 2. Shaanxi Engineering Research Center of Edible and Medicated Fungi, Hanzhong, Shaanxi 723000)

**Abstract:** Using ten main *Lentinula edodes* cultivated in Qinba mountainous area as materials, the growth rate, mycelium morphology of them were analyzed by tissue cultured method. Meanwhile, CTAB method was used to extract genomic DNA from the mycelium, amplifying and sequencing PCR products, and ITS analysis of *Lentinula edodes* and phylogenetic tree were conducted. The results showed that ‘*Lentinula edodes* 808’ and ‘*Lentinula edodes* 507’ owned growth advantage and distant relationship, as dominant strains protoplast formation, fusion and regeneration. Our findings established a solid foundation to determine the genetic kinship of cultivated species and the cultivation of new varieties in Qinba mountainous area.

**Key words:** *Lentinula edodes*; strain; morphological characteristics; ITS sequence; kinship.