

网络出版时间:2020-09-27 14:07 DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2021.03.017
网络出版地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20200924.1326.017.html

黑木耳菌株农艺性状评价与遗传差异分析

宋吉玲¹, 陆娜¹, 闫静¹, 亢学平², 黄小苏¹, 周小华³

(1 杭州市农业科学研究院, 浙江 杭州 310024; 2 延边朝鲜族自治州农业科学院, 吉林 延吉 133001;

3 桐庐县农业技术推广中心, 浙江 桐庐 311500)

【摘要】【目的】对黑木耳菌株进行农艺性状评价与遗传差异分析, 筛选不同种源黑木耳优良菌株, 为黑木耳栽培菌株的筛选和选育提供理论基础。【方法】通过 ISSR 分子标记技术对 15 个黑木耳菌株进行 PCR 扩增, 对产物进行电泳检测, 以 ISSR 聚类图谱分析不同菌株间的亲缘关系; 对各菌株的菌丝生长、子实体农艺性状和产量等进行综合评价, 并分析其农艺性状与产量之间的相关性。【结果】聚类分析结果表明, 15 个黑木耳菌株遗传相似系数为 0.50~0.97, 且在相似系数为 0.50 时可分为 2 个类群, 其中大部分菌株的聚类结果与其地理分布相吻合。依据菌株农艺性状分析, A6(黑山)菌株出耳快且整齐, 耳片颜色黑、厚而小, 产量高。Pearson 分析发现, 黑木耳菌株的产量与其现耳芽时间呈显著负相关, 与栽培种菌丝生长速度、耳片厚度具有一定正相关性, 而与母种菌丝生长速度无相关性。【结论】A6(黑山)菌株各项农艺性状均表现较好, 可在南方地区进行推广栽培; A3(916)、A4(Aa7)、A5(黑 2)和 A8(丽黑 1 号)菌株可做育种材料。黑木耳栽培种菌丝生长速度和现耳芽时间可以作为预测其子实体产量的参考指标。

【关键词】黑木耳; 遗传多样性; 菌丝生长; 农艺性状

【中图分类号】S646.6 【文献标志码】A 【文章编号】1671-9387(2021)03-0147-08

Agronomic traits evaluation and genetic differentiation analysis of *Auricularia auricular-judae* strains

SONG Jiling¹, LU Na¹, YAN Jing¹, KANG Xueping², HUANG Xiaosu¹, ZHOU Xiaohua³

(1 Hangzhou Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou, Zhejiang 310024, China;

2 Yanbian Academy of Agricultural Sciences, Yanji, Jilin 133001, China;

3 Agricultural Technology Promotion Center of Tonglu County, Tonglu, Zhejiang 311500, China)

Abstract: 【Objective】The agronomical characters and genetic differences of *Auricularia auricular-judae* strains were evaluated and analyzed to provide basis for the selection of cultivation strains and breeding of *Auricularia auricular-judae*. 【Method】ISSR-PCR and cluster analysis were used to determine the genetic relationship of 15 *Auricularia auricular-judae* strains. The agronomic traits were evaluated by comparing the growth of mycelial growth, fruiting body and yield in the variety comparative test, and the correlation of each character and yield was analyzed. 【Result】Cluster analysis show that the genetic similarity of the 15 strains ranged from 0.50 to 0.97. The 15 strains were divided into two groups with the genetic similarity of 0.50, and most of the strains were in accordance with their geographical distribution. Agronomic characters show that strain A6 (Heishan) had fast and neat ear, small and thick of ear, black fruiting bodies and high yield. Pearson analysis demonstrated that yield had significantly negative correlation with period of present ear, and had positive correlation with growth rate of cultivated species and ear thickness.

【收稿日期】2020-03-12
【基金项目】现代农业产业技术体系建设专项资金项目(CARS-20); 浙江省农业新品种选育重大科技专项(2016c02057-2)
【作者简介】宋吉玲(1986—), 女, 吉林临江人, 农艺师, 硕士研究生, 主要从事食用菌栽培与育种研究。
E-mail: songjiling860605@163.com
【通信作者】周小华(1972—), 男, 浙江桐庐人, 高级农艺师, 主要从事食用菌栽培与推广研究。E-mail: hztlzsh@163.com

There was no correlation between daily growth rate of mother mycelium and yield. 【Conclusion】 A6 (Heishan) strain showed good performance in various cultivation traits and could be used for cultivation and promotion. A3 (916), A4(Aa7), A5 (Hei 2) and A8 (Lihei 1) strains can be used as breeding materials. The growth rate of cultivated species and period of present ear can be used as a reference index to predict yield of fruiting body.

Key words: *Auricularia auricular-judae*; genetic diversity; mycelial growth; agronomic characters

黑木耳隶属木耳目木耳科木耳属, 俗称云耳、细木耳^[1], 其子实体富含蛋白质、粗纤维、碳水化合物及人体必需氨基酸, 具有降血脂^[2]、抗炎^[3]、抗病毒^[4]、抗肿瘤^[5]、抗氧化和延缓衰老^[6]等多种功效。

黑木耳作为我国三大食用菌栽培品种之一, 其年产量仅次于平菇和香菇^[7]。随着“北耳南扩”^[8]产业的发展, 浙江、福建等南方地区袋栽黑木耳“全日光间歇喷雾栽培模式”得到了快速发展, 形成了一定的产业规模^[9]。而南方市场上的黑木耳菌株大多是从东北引进的, 同名异物和同物异名的现象频发, 同时由于菌种扩繁的不规范, 常常造成菌种质量、产量和抗性差的情况出现, 严重制约了黑木耳产业的可持续发展。而且由于南北气候条件差异较大, 北方选育的黑木耳品种不一定适应南方高热高湿的气候条件, 经常会出现耳片大、颜色偏黄、产量低的现象。因此为了更好地鉴别黑木耳种质资源之间的遗传差异, 并筛选出适合南方地区栽培的优质高产黑木耳菌株, 从分子生物学和传统农艺性状方面对不同来源的黑木耳菌株进行评价分析就显得尤为重要^[10-13]。目前关于黑木耳品种筛选评价方面的研究报道较多, 杜萍等^[14]通过对 16 个黑木耳菌株的菌丝生长速度、长势、栽培农艺性状和产量进行测定,

筛选出 6 个优质高产黑木耳菌株; 郭晓帆等^[15]通过比较 5 个黑木耳菌株在母种、原种和栽培种培养基上的菌丝生长情况、栽培及产量性状等, 筛选出朵型好、颜色黑, 出耳快、齐, 产量高的优质菌株 Au29; 郑素月等^[16]对北方地区 19 个黑木耳菌株的菌丝和出耳性状进行比较分析, 筛选出适宜河北地区栽培的 4 个优质高产黑木耳菌株(野森一代、黑丹一代、黑山和黑耳厚)。以上研究多注重从子实体商品性和产量方面对黑木耳菌株进行评价分析, 而对菌丝生长情况、子实体农艺性状与产量之间相关性的研究相对较少。为此, 本研究通过 ISSR 技术对 15 个黑木耳菌株的亲缘关系进行分析, 同时结合菌丝生长速度、产量和子实体农艺性状, 筛选出适合南方地区栽培的优质高产黑木耳菌株, 并对其农艺性状与产量间的相关性进行分析, 旨在为优质黑木耳种源选育和精准化栽培提供参考。

1 材料与方法

1.1 供试菌株

供试菌株共 15 个, 均为杭州市农业科学研究院选育、收集、保藏的菌株, 详细情况见表 1。

表 1 15 个供试黑木耳菌株的信息
Table 1 Information of 15 *Auricularia auricula-judae* strains

菌株编号 Strain No.	菌株名称 Strain name	来源 Source
A1	2016-D	吉林农业大学 Jilin Agricultural University
A2	2016-E	吉林农业大学 Jilin Agricultural University
A3	916	浙江云和栽培场 Yunhe cultivation area, Zhejiang Province
A4	Aa7	浙江淳安栽培场 Chun'an cultivation area, Zhejiang Province
A5	黑 2 Hei 2	吉林延吉栽培场 Yanji cultivation area, Jilin Province
A6	黑山 Heishan	吉林延吉栽培场 Yanji cultivation area, Jilin Province
A7	黑 07 Hei 07	吉林延吉栽培场 Yanji cultivation area, Jilin Province
A8	丽黑 1 号 Lihei 1	丽水市农林科学研究院 Lishui Agricultural and Forestry Research Institute
A9	黑木耳 Heimuer	浙江开化栽培场 Kaihua cultivation area, Zhejiang Province
A10	黑单片 Hei Danpian	黑龙江伊春栽培场 Yichun cultivation area, Heilongjiang Province
A11	Au11	浙江桐庐栽培场 Tonglu cultivation area, Zhejiang Province
A12	Au12	杭州市农业科学研究院 Hangzhou Academy of Agricultural Sciences
A13	Y3	吉林延吉栽培场 Yanji cultivation area, Jilin Province
A14	Y4	吉林延吉栽培场 Yanji cultivation area, Jilin Province
A15	Aa2	浙江桐庐栽培场 Tonglu cultivation area, Zhejiang Province

1.2 培养基及培养方法

母种培养基:马铃薯 200 g,葡萄糖 20 g,琼脂 18 g,蒸馏水 1 000 mL。

原种培养基:木屑 83%,麸皮 15%,石灰 1%,石膏 1%,含水量为 55%~60%。

栽培种培养基:木屑 88%,麸皮 10%,石灰 1%,石膏 1%,含水量约为 60%。

按栽培黑木耳的常规方法生产菌棒,使用 15 cm×55 cm×0.05 mm 的聚乙烯栽培袋装袋,每个

菌株接种 150 棒,设 3 个重复,菌棒接种后置于 25 ℃条件下培养,待菌丝成熟后按常规方法进行出耳管理。

1.3 ISSR 引物

从美国哥伦比亚大学(UBC)公布的 100 条 ISSR 通用引物中筛选出多态性高、扩增条带清晰、重复性好的 11 条引物,委托杭州擎科生物公司合成。引物信息详见有 2。

表 2 11 条 ISSR 引物序列及退火温度
Table 2 11 ISSR primer sequences and annealing temperature

引物编号 Primer number	引物序列(5'→3') Sequence of primer(5'→3')	退火温度/℃ Annealing temperature
UBC807	AGAGAGAGAGAGAGAGT	54.6
UBC808	AGAGAGAGAGAGAGAGC	54.6
UBC809	AGAGAGAGAGAGAGAGAGG	51.0
UBC810	GAGAGAGAGAGAGAGAT	49.0
UBC812	GAGAGAGAGAGAGAGAA	52.2
UBC823	TCTCTCTCTCTCTCTCC	54.6
UBC830	TGTGTGTGTGTGTGTGG	54.6
UBC836	GTGTGTGTGTGTGTGTYC	56.2
UBC880	GGAGAGGAGAGGAGA	53.8
UBC886	BHBGAGAGAGAGAGAGA	53.8
UBC888	BDBCACACACACACACA	53.8

注(Note):B=(C,G,T),D=(A,G,T),H=(A,C,T),Y=(C,T)。

1.4 黑木耳菌丝体的培养

从 PDA 平板上培养 3 d 的菌落边缘取 2 mm×2 mm 的菌丝块,接种于 100 mL PDA 液体培养基中,25 ℃浅层静置培养 10 d,收集菌丝,无菌水漂洗 2 次,无菌滤纸吸干水分,-80 ℃保存备用。

1.5 黑木耳遗传差异分析

1.5.1 黑木耳基因组 DNA 的提取及检测 供试 15 个黑木耳菌株基因组 DNA 参照新型快速植物基因组 DNA 提取试剂(BioTeke,北京)的说明提取,提取后测定 DNA 的浓度,并经 1.5%琼脂糖凝胶电泳检测,于-20 ℃保存备用^[17]。

1.5.2 ISSR 多态性分析 ISSR-PCR 扩增反应在 TC-XP 型 PCR 仪(博日科技有限公司 Bioer,杭州)上进行。ISSR-PCR 扩增体系为:2×TSINGKE PCR Master (blue)预混体系 10 μL,ISSR 引物 1 μL,DNA 模板(20 ng/μL)3 μL,用 ddH₂O 补齐到 20 μL。反应条件:94 ℃预变性 5 min;94 ℃ 30 s,适当温度退火(退火温度视引物而定,具体见表 2) 30 s,72 ℃ 90 s,35 个循环;72 ℃ 7 min,16 ℃保存。PCR 扩增产物用 1.5%琼脂糖凝胶(EB 染色)电泳检测,150 V 电泳 30 min。采用 Chemi Doc XRS imaging system(Bio-Rad,Hercules,CA,USA)对扩

增图谱进行拍照,有 ISSR 谱带标记为 1,无 ISSR 谱带标记为 0,构建初始数据矩阵。用 NTSYSpc 2.1 软件计算遗传相关系数,采用平均连锁法(UPGMA)进行聚类分析,得到聚类图谱。

1.6 黑木耳农艺性状的观测

记录不同黑木耳菌株菌丝生长速度、菌丝长势、现耳芽时间、出耳整齐度、耳片形状、耳脉情况、耳片颜色等性状,并测定耳片长度、宽度、厚度和产量等指标^[18]。其中菌丝生长速度每隔 5 d 测量 1 次,记录菌丝长势,计算平均生长速度。菌丝平均生长速度(cm/d)=菌丝生长长度(cm)/菌丝生长天数(d)。耳片性状选取第 1 潮 30~50 个鲜耳进行测定。耳片大小用游标卡尺“十”字形测量耳片直径,子实体颜色深浅度为黑色、黄褐色、灰褐色。

1.7 数据处理

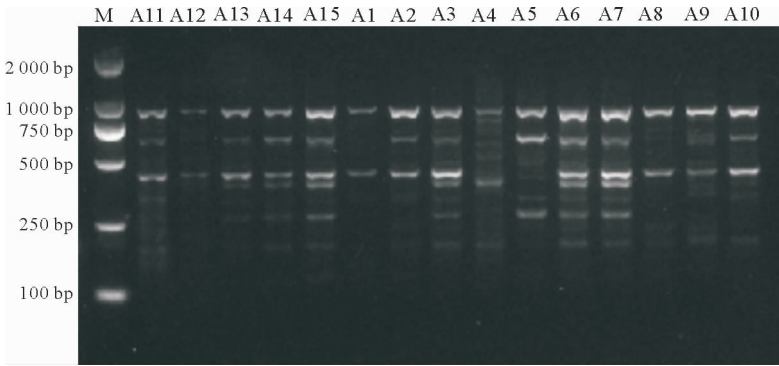
试验数据以“平均值±标准差”表示。利用 SPSS 17.0 软件对试验数据进行单因素方差分析(ANOVA)和 LSD 检验。 $P<0.05$ 和 $P<0.01$ 分别为差异显著和极显著。采用 Pearson 相关性分析法^[19]分析菌丝生长情况、子实体农艺性状与产量之间的相关性。

2 结果与分析

2.1 15 个黑木耳菌株的 ISSR 多态性分析

利用 ISSR 引物对供试的 15 个黑木耳菌株基因进行 PCR 扩增,ISSR-PCR 扩增图谱显示,11 条

ISSR 引物在 15 个黑木耳菌株间扩增出了 71 条清晰、稳定的多态性片段,片段长度为 200~2 000 bp。引物 UBC807 的 ISSR-PCR 扩增结果如图 1 所示,其他引物扩增图略。



M, DNA Marker; A1~A15. 黑木耳菌株编号,见表 1
M, DNA Marker; A1—A15. The strain number of *Auricularia auricula-judae* is shown in table 1

图 1 引物 UBC807 对 15 个供试黑木耳菌株扩增的 ISSR 电泳图谱

Fig. 1 ISSR electrophoretogram of 15 tested *Auricularia auricula-judae* strains based on primer UBC807

2.2 15 个黑木耳菌株的聚类分析

从聚类结果(图 2)可以看出,A13 与 A14 和 A15 之间的遗传相似水平高于 0.90,A14 与 A15 相似系数达 0.97,初步确认 A14 和 A15 为同一菌株,而 A13 与 A14 和 A15 菌株的亲缘关系较近。在相似系数为 0.50 时可将 15 个黑木耳菌株分为 2 个类

群。第一类群包括 A1、A2、A3、A5、A6、A7、A10、A11、A12、A13、A14、A15 共 12 个菌株;第二类群包括 A4、A8 和 A9 共 3 个菌株。15 个黑木耳菌株的遗传相似系数变异范围为 0.50~0.97,表明黑木耳遗传差异较大,遗传背景十分丰富。

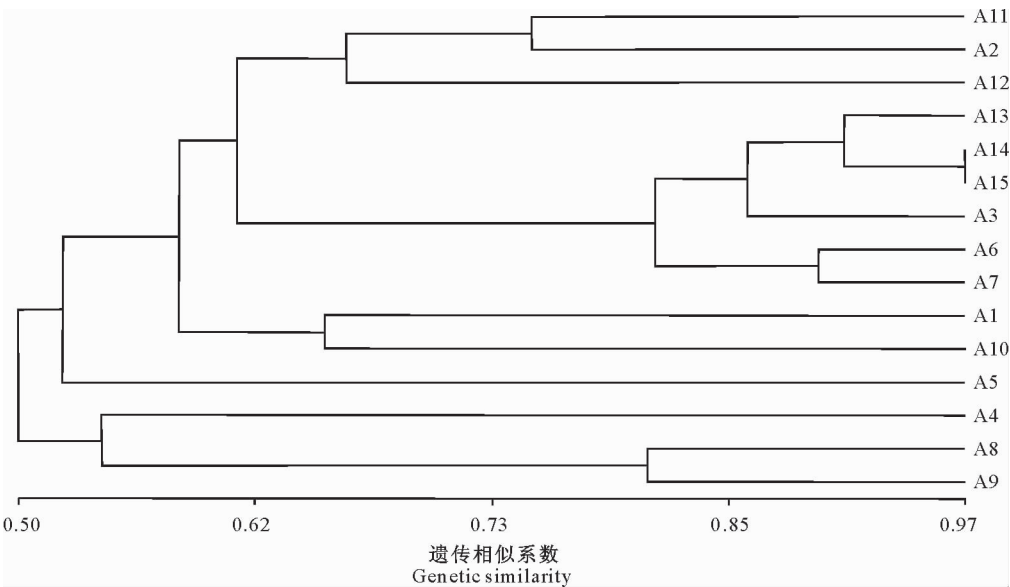


图 2 15 个黑木耳菌株的聚类分析结果

Fig. 2 Cluster analysis diagram of 15 tested *Auricularia auricula-judae* strains

2.3 15 个黑木耳菌株菌丝的生长情况

由表 3 可知,不同黑木耳菌株母种菌丝长势差异不明显,除 A7 菌株菌丝长势稍弱外,其余菌株均

长势良好。其中 A11、A12、A8 和 A9 菌株菌丝生长较快,平均生长速度分别为 0.258,0.247,0.247 和 0.243 cm/d;其次为 A6、A14、A1、A15、A13、A10、

A2、A4、A3 和 A7 菌株;生长最慢的为 A5 菌株,平均生长速度为 0.190 cm/d。15 个黑木耳菌株整体抗杂性均表现较好,无污染现象发生。

由表 3 还可知,不同黑木耳菌株栽培种长势差异不明显,整体表现菌丝洁白、浓密、整齐。其中 A4、A5、A3 和 A10 菌株菌丝生长较快,平均生长速度分别为 0.449,0.447,0.442 和 0.439 cm/d;其次为菌株 A6、A7、A2、A14、A12、A1、A15、A11、A13 和 A9 菌株;生长最慢的为 A8 菌株,平均生长速度

仅为 0.372 cm/d,与其他菌株存在显著差异。

2.4 15 个黑木耳菌株的产量

由表 3 可知,15 个黑木耳菌株中,A6、A5、A3 和 A4 的产量较高,分别为 87.55,83.24,82.36 和 79.45 g/棒;其次为 A8、A9、A15、A10、A13 和 A14;A11、A12、A1、A7 和 A2 的产量较低,分别为 59.36,58.18,57.53,53.26 和 49.30 g/棒。因此从产量性态来看,可以淘汰产量较低的 A11、A12、A1、A2 和 A7 菌株。

表 3 15 个黑木耳菌株的菌丝生长及产量情况

菌株编号 Strain No.	母种 Mother culture		栽培种 Cultivated species		产量/(g·棒 ⁻¹) Yield of single bag
	平均生长速度/ (cm·d ⁻¹)	生长势 Growth vigor	平均生长速度/ (cm·d ⁻¹)	生长势 Growth vigor	
	Average growth rate		Average growth rate		
A1	0.235±0.019 d	++++	0.421±0.001 i	++++	57.53±1.63 e
A2	0.211±0.020 h	++++	0.425±0.040 g	++++	49.30±1.87 g
A3	0.198±0.008 j	++++	0.442±0.016 c	++++	82.36±1.66 b
A4	0.204±0.003 i	++++	0.449±0.021 a	++++	79.45±0.85 b
A5	0.190±0.006 l	++++	0.447±0.040 b	++++	83.24±1.39 b
A6	0.236±0.008 d	++++	0.431±0.009 e	++++	87.55±0.85 a
A7	0.194±0.003 k	+++	0.427±0.008 f	++++	53.26±1.37 f
A8	0.247±0.004 b	++++	0.372±0.007 m	++++	65.41±1.26 c
A9	0.243±0.007 c	++++	0.387±0.025 l	++++	65.36±1.67 c
A10	0.218±0.016 g	++++	0.439±0.036 d	++++	63.28±2.20 cd
A11	0.258±0.012 a	++++	0.414±0.014 j	++++	59.36±3.04 de
A12	0.247±0.017 b	++++	0.423±0.006 h	++++	58.18±2.11 e
A13	0.226±0.008 f	++++	0.408±0.002 k	++++	63.27±2.39 cd
A14	0.235±0.005 d	++++	0.424±0.007 gh	++++	61.36±2.34 cde
A15	0.228±0.006 e	++++	0.414±0.014 j	++++	64.28±1.23 c

注:同列数据后标不同小写字母表示不同菌株间差异显著性($P<0.05$)。++++表示菌丝生长浓密、旺盛;+++表示菌丝较密、生长势较强。

Note:Different small letters indicate significant of differences among different strains($P<0.05$).++++ Represents dense mycelia and strong growth vigor;+++ Represents relatively dense mycelia and comparative strong growth vigor.

2.5 15 个黑木耳菌株的农艺性状

由表 4 可知,各参试菌株打孔后现耳芽时间为 20~36 d,其中 A3、A4、A5、A6、A7、A8、A9、A10 和 A11 菌株现耳芽时间最短,为 20~25 d;A12 和 A13 菌株现耳芽时间较短,均为 30 d;A1、A2、A14 和 A15 菌株现耳芽时间较长,分别为 36,35,31 和 32 d,菌棒易脱水,培养中后期菌棒变软、长青苔、污染,因此应淘汰这 4 个菌株。

由表 4 还可知,在 15 个供试菌株中,耳片形状多以单片为主,少量朵状;6 个菌株的耳片颜色为黑色,7 个菌株为黄褐色,2 个菌株为灰褐色;耳片长度为 5.236~6.139 cm,宽度为 4.068~4.608 cm,厚度为 1.722~2.262 mm。在耳片厚度方面,A1 和 A6 菌株耳片厚(厚度>2.0 mm),A5、A9、A10、A14 和 A15 菌株耳片薄(厚度<1.8 mm);在耳片大小

方面,A1、A3、A4、A6、A8 和 A9 菌株耳片小(长×宽<5.40 cm×4.35 cm),A5 和 A14 菌株耳片大(长×宽>6.0 cm×4.5 cm),其余菌株耳片大小比较适中。出耳整齐度也是影响黑木耳产量和质量的一个重要因素^[20],由表 4 可知,除 A1、A13、A14 和 A15 菌株出耳不整齐外,其余菌株表现良好。

综合分析菌株的农艺性状可知,15 个供试菌株中,A6 菌株出耳快、齐,耳片颜色黑、小,产量高,适宜作为推广品种使用;A13 菌株出耳不整齐,A9 和 A10 菌株耳片薄,A1、A2、A14 和 A15 菌株现耳芽时间长、菌棒易污染,因此这些菌株应被淘汰;在产量性状表现较好的 A3、A4、A5 和 A8 菌株中,A3、A5 耳片为黄褐色、筋多,A4 菌株耳片稍薄,A8 耳片黄褐色、薄,因此这 4 个菌株不太适合栽培推广,但可作为与抗性强、商品性优良的品种进行杂交育种

的亲本材料使用。

表 4 15 个黑木耳菌株的农艺性状分析

Table 4 Analysis of agronomic characteristics of 15 tested *Auricularia auricular-judae* strains

菌株 编号 Strain No.	现耳芽时间/d Period of present ear	出耳 整齐度 Primordium uniformity	耳片形状 Ear shape	耳脉情况 Wrinkle status of fruiting body	耳片长度/cm Length of fresh fruiting body	耳片宽度/cm Width of fresh fruiting	耳片厚度/mm Thickness of fresh fruiting body	耳片颜色 Fuiting body colour
A1	36	不齐 Untidy	单片 Single piece	筋少 Less wrinkle	5.236	4.306	2.032	灰褐色 Cinereous-brown
A2	35	整齐 Tidy	单片 Single piece	筋多 More wrinkle	5.618	4.258	1.838	黄褐色 Yellowish-brown
A3	20	整齐 Tidy	朵 Flower-like	筋多 More wrinkle	5.334	4.436	1.904	黄褐色 Yellowish-brown
A4	22	整齐 Tidy	单片 Single piece	无筋 No wrinkle	5.358	4.298	1.935	黑色 Black
A5	23	整齐 Tidy	朵 Flower-like	筋多 More wrinkle	6.042	4.608	1.776	黄褐色 Yellowish-brown
A6	23	整齐 Tidy	单片 Single piece	筋少 Less wrinkle	5.289	4.278	2.262	黑色 Black
A7	25	整齐 Tidy	单片 Single piece	筋多 More wrinkle	5.447	4.442	1.922	灰褐色 Cinereous-brown
A8	25	整齐 Tidy	单片 Single piece	筋少 Less wrinkle	5.286	4.268	1.831	黄褐色 Yellowish-brown
A9	23	整齐 Tidy	单片 Single piece	筋少 Less wrinkle	5.249	4.068	1.728	黑色 Black
A10	25	整齐 Tidy	单片 Single piece	筋少 Less wrinkle	5.668	4.469	1.738	黄褐色 Yellowish-brown
A11	25	整齐 Tidy	单片 Single piece	筋少 Less wrinkle	5.568	4.377	1.852	黄褐色 Yellowish-brown
A12	30	整齐 Tidy	单片 Single piece	筋少 Less wrinkle	5.818	4.428	1.828	黄褐色 Yellowish-brown
A13	30	不齐 Untidy	朵 Flower-like	筋多 More wrinkle	5.768	4.226	1.987	黑色 Black
A14	31	不齐 Untidy	朵 Flower-like	筋多 More wrinkle	6.139	4.568	1.793	黑色 Black
A15	32	不齐 Untidy	单片 Single piece	筋多 More wrinkle	5.849	4.396	1.722	黑色 Black

2.6 黑木耳产量与栽培及农艺性状的相关性分析

通过 Pearson 相关性分析发现,黑木耳产量与耳片厚度、栽培种菌丝平均生长速度具有正相关性,相关系数分别为 0.347 和 0.383;与现耳芽时间则

表现出显著负相关性,相关系数为- 0.698;与耳片长度、耳片宽度和母种菌丝平均生长速度的相关性不大。

表 5 黑木耳产量与栽培及农艺性状的相关性

Table 5 Relationship between yield and cultivation and agronomic characteristics of *Auricularia auricular-judae* strains

项目 Item	母种菌丝平均生长速度 Average growth rate of mother mycelium	栽培种菌丝 平均生长速度 Average growth rate of cultivated species	现耳芽时间 Period of present ear	耳片长度 Length of fresh fruiting body	耳片宽度 Width of fresh fruiting body	耳片厚度 Thickness of fresh fruiting body
产量 Yield	-0.290	0.383	-0.698 *	-0.136	0.119	0.347

注: * 表示显著相关($P<0.05$)。
Note: * Indicates significant correlation ($P<0.05$).

3 讨 论

随着分子生物学技术的快速发展,分子标记技术广泛应用于作物遗传多样性研究中,而 ISSR 作为一种操作简单、快捷、高效的检测手段,常常用于食用菌遗传多态性分析和种内菌株亲缘关系的区分。任广明等^[21]运用 ISSR 分子标记技术对黑龙江

伊春地区的 23 个黑木耳主栽品种进行遗传差异分析,发现 23 个黑木耳菌株在相似系数为 0.8 时聚为 3 个类群,遗传背景差异不大,亲缘关系较近。而徐安然等^[22]利用 SSR 标记对来源于全国不同地区的 72 份黑木耳栽培种和野生种菌株进行遗传多样性分析及分子身份证的构建,发现其遗传差异比较大,同时也发现有同物异名的现象存在。李辉平等^[23]

应用 ISSR 技术对 21 个栽培黑木耳进行了遗传多样性研究,结果表明我国栽培黑木耳的遗传背景十分丰富,遗传多样性很高。姚方杰等^[24]基于毛木耳全基因组开发的 SSR 标记对 27 份毛木耳菌株的遗传多样性进行分析,结果表明供试菌株遗传相似系数为 0.618~0.971,说明毛木耳种质资源具有丰富的遗传多样性。本研究利用 ISSR 分子标记技术对 15 个黑木耳菌株基因组 DNA 扩增片段进行聚类分析,发现利用 ISSR 分子标记技术能够将黑木耳菌株区分开来,并将 15 个菌株聚为 2 个类群,一类为来自浙江地区的菌株,另一类以东北地区菌株为主,但并未发现黑木耳菌株农艺性状与地域分布之间存在相关性。这与李黎等^[25]的研究结果不同,可能与目前我国各地相互引种、菌种来源不明确有关。

农艺性状作为评价种质资源是否优良的一个重要指标,在栽培试验过程中,研究者多是以子实体商品性和产量为主要评价内容。杜萍等^[14]、郭晓帆等^[15]及郑素月等^[16]从菌丝长势、产量、子实体商品性等方面对黑木耳菌株进行农艺性状的比较分析,筛选出适宜栽培的优良菌株。金鑫等^[26]从菌丝长势、子实体农艺性状、多糖和麦角甾醇等方面筛选出适宜西南地区栽培的黑木耳品种。孙靖轩^[27]通过对 70 个亲本菌株的产量、熟性、朵型和鲜耳腹面颜色比较分析筛选出亲缘关系较远、性状具有互补性的优良亲本黑 29 和黑威 9 号。本研究通过对黑木耳菌株的菌丝生长、子实体农艺性状和产量等指标进行综合评价分析,筛选出适合南方地区栽培的优质高产 A6(黑山)菌株和适宜作为育种材料使用的 A3(916)、A4(Aa7)、A5(黑 2)和 A8(丽黑 1 号)菌株。同时,本试验通过 Pearson 相关性分析发现,现耳芽时间与产量之间存在显著负相关关系,即现耳芽时间越短产量越高;栽培种生长速度、耳片厚度与产量之间存在一定的正相关性,而母种菌丝生长速度与产量之间相关性不大,因此现耳芽时间和栽培种菌丝平均生长速度可以作为衡量菌株是否高产的评价指标。在研究过程中还发现,出耳整齐度与产量之间存在一定的相关性,但两者之间具体有何种关系,还有待进一步研究。

参考文献

- [1] 戴玉成,杨祝良. 中国药用真菌名录及部分名称的修订 [J]. 菌物学报,2008,27(6):801-824.
Dai Y C, Yang Z L. A revised checklist of medicinal fungi in China [J]. Mycosystema, 2008, 27(6): 801-824.
- [2] Chen G, Luo Y C, Ji B P, et al. Hypocholesterolemic effects of *Auricularia auricular* ethanol extract in ICR mice fed a cholesterol-enriched diet [J]. Journal of Food Science and Technology, 2011, 48(6): 692-698.
- [3] Dante D, Reza M A, Lee S J, et al. Anti-inflammatory activity of dichloromethane extract of *Auricularia auricular* in RAW 264. 7 cells [J]. Toxicological Research, 2011, 27(1): 11-14.
- [4] Nguyen T L, Chen J, Hu Y L, et al. *In vitro* antiviral activity of sulfated *Auricularia auricular* polysaccharides [J]. Carbohydrate Polymers, 2012, 90(3): 1254-1258.
- [5] Reza A, Choi M J, Damte D, et al. Comparative antitumor activity of different solvent fractions from an *Auricularia auricular-judae* ethanol extract in P388D1 and sarcoma 180 cells [J]. Toxicological Research, 2011, 27(2): 77-83.
- [6] Zhang H, Wang Z Y, Zhang Z, et al. Purified *Auricularia auricular-judae* polysaccharide (AAP I-a) prevents oxidative stress in an ageing mouse model [J]. Carbohydrate Polymers, 2011, 84(1): 638-648.
- [7] 姚方杰, 边银丙. 图说黑木耳栽培关键技术 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2011: 1-78.
Yao F J, Bian Y B. Graphic illustration on key cultivation techniques of *Auricularia auricular-judae* [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2011: 1-78.
- [8] 姚方杰. “北耳南扩”的喜与忧 [J]. 中国食用菌, 2012, 31(1): 61-62.
Yao F J. The cultivation spread of *Auricularia auricular* from north to south in China [J]. Edible Fungi of China, 2012, 31(1): 61-62.
- [9] 刘福阳, 巫仁高, 刘新锐, 等. 黑木耳新品种南耳 1 号主要性状和遗传特性 [J]. 福建农业学报, 2018, 33(12): 1264-1269.
Liu F Y, Wu R G, Liu X R, et al. Agronomic traits and genetic characteristics of a new *Auricularia auricular-judae* variety, Nan'er No. 1 [J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2018, 33(12): 1264-1269.
- [10] 陶梅. 黑龙江省黑木耳栽培菌株遗传多样性研究 [D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2009.
Tao M. Research on the genetic diversity of *Auricularia auricular* cultivated strains in Heilongjiang Province [D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2009.
- [11] 陶鹏飞, 许修宏. 利用 ITS 和 SRAP 分子标记对黑龙江省野生黑木耳菌株进行遗传多样性分析 [J]. 东北农业大学学报, 2011, 42(11): 144-149.
Tao P F, Xu X H. Genetic polymorphism study of wild *Auricularia auricular* isolated from Heilongjiang Province using ITS sequence analysis and SRAP marker technique [J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2011, 42(11): 144-149.
- [12] 张介驰, 马庆芳, 张丕奇, 等. 用 ISSR 分子标记鉴别东北地区黑木耳生产菌株的研究 [J]. 菌物学报, 2007, 26(4): 534-538.
Zhang J C, Ma Q F, Zhang P Q, et al. Identification of cultivated strains of *Auricularia auricular* from northeastern China by ISSR marker [J]. Mycosystema, 2007, 26(4): 534-538.
- [13] 孙鹏. 黑木耳种质资源评价与种质创新研究 [D]. 吉林: 吉

林农业大学,2019.

Sun P. The study of evaluation and innovation of germplasm resources on *Auricularia heimuer* [D]. Jilin:Jilin Agricultural University,2019.

[14] 杜 萍,张春风,姜国胜,等. 黑龙江黑木耳优良菌株筛选研究 [J]. 菌物学报,2014,33(2):230-241.

Du P,Zhang C F,Jiang G S,et al. Screening excellent strains of *Auricularia auricular-judae* in Heilongjiang Province [J]. Mycosystema,2014,33(2):230-241.

[15] 郭晓帆,陈艳秋. 黑木耳品种比较试验 [J]. 延边大学农学学报,2005,27(1):40-43.

Guo X F,Chen Y Q. Variety test of *Auricularia auricular* [J]. Journal of Agricultural Science Yanbian University, 2005,27(1):40-43.

[16] 郑素月,史灵燕,赵翠敏,等. 适宜河北西部山区栽培的黑木耳优良菌株筛选研究 [J]. 中国食用菌,2019,38(7):19-22,27.

Zheng S Y,Shi L Y,Zhao C M,et al. Screening of high-quality *Auricularia auricular* strains suitable for cultivation in western mountainous areas of Hebei Province [J]. Edible Fungi of China,2019,38(7):19-22,27.

[17] 陆 娜,王伟科,宋吉玲,等. 秀珍菇种质遗传多样性分析与优质菌株筛选 [J]. 中国食用菌,2018,37(6):20-23.

Lu N,Wang W K,Song J L,et al. Genetic diversity analysis and selection of high quality strains of *Pleurotus geesteranus* [J]. Edible Fungi of China,2018,37(6):20-23.

[18] 陈 影. 黑木耳栽培种质资源多样性的研究及核心种质群的建立 [D]. 吉林:吉林农业大学,2010.

Chen Y. Study on the diversity of cultivated germplasm and the establishment of core collection of *Auricularia auricular-judae* [D]. Jilin:Jilin Agricultural University,2010.

[19] 宋吉玲,袁卫东,王伟科,等. 桑黄菌液体培养过程中酶活及多糖含量变化规律 [J]. 菌物学报,2019,38(11):1-10.

Song J L,Yuan W D,Wang W K,et al. Activities of extracellular enzymes and polysaccharides in liquid culture of *Sang-huangporus* [J]. Mycosystema,2019,38(11):1-10.

[20] 贾培松,罗 影,王振津,等. 新疆绿洲生态区袋栽黑木耳催耳芽技术 [J]. 新疆农业科学,2018,55(2):344-351.

Jia P S,Luo Y,Wang Z J,et al. Research on pregermination techniques of *Auricularia auricular* in plastic bag in Xinjiang oasis ecological region [J]. Xinjiang Agricultural Sciences, 2018,55(2):344-351.

[21] 任广明,李滇华,郭 兴,等. 黑木耳栽培菌株亲缘关系的 ISSR 分析 [J]. 东北林业大学学报,2011,39(5):99-101.

Ren G M,Li D H,Guo X,et al. ISSR analysis of relative relationships of *Auricularia auricular* strains [J]. Journal of Northeast Forestry University,2011,39(5):99-101.

[22] 徐安然,付永平,王延锋,等. 黑木耳部分种质资源 SSR 分子身份证的构建 [J]. 农业生物技术学报,2017,25(12):1930-1939.

Xu A R,Fu Y P,Wang Y F,et al. Establishment of a SSR molecular ID system for some *Auricularia heimuer* germplasm resources [J]. Journal of Agricultural Biotechnology,2017,25(12):1930-1939.

[23] 李辉平,黄晨阳,陈 强,等. 黑木耳栽培菌株的 ISSR 分析 [J]. 园艺学报,2007,34(4):935-940.

Li H P,Huang C Y,Chen Q,et al. ISSR analysis of cultivated *Auricularia auricular* [J]. Acta Horticulturae Sinica,2007,34(4):935-940.

[24] 姚方杰,黄程远,孔祥会,等. SSR 标记在毛木耳种质资源遗传多样性研究中的应用 [J]. 菌物学报,2019,38(12):2122-2132.

Yao F J,Huang C Y,Kong X H,et al. Application of SSR markers in evaluating the genetic diversity of *Auricularia cornea* germplasm resources [J]. Mycosystema,2019,38(12):2122-2132.

[25] 李 黎,范秀芝,肖 扬,等. 中国木耳栽培种质生物学特性及遗传多样性分析 [J]. 菌物学报,2010,29(5):644-652.

Li L,Fan X Z,Xiao Y,et al. The physiological characteristics and genetic diversity analysis of *Auricularia auricular-judae* cultivated germplasm in China [J]. Mycosystema,2010,29(5):644-652.

[26] 金 鑫,陈祖琴,李文治,等. 西南地区优良黑木耳品种筛选和活性成分研究 [J]. 微生物学杂志,2017,37(6):36-40.

Jin X,Chen Z Q,Li W Z,et al. Screening of fine variety and active components of black wood ear(*Auricularia auricular*) in SW China [J]. Journal of Microbiology,2017,37(6):36-40.

[27] 孙靖轩. 黑木耳优质高产菌株的选育 [D]. 北京:中国农业科学院,2013.

Sun J X. The breeding of *Auricularia auricular-judae* strains with high quality and yield [D]. Beijing:Chinese Academy of Agriculture Sciences,2013.