

自交选育秀珍菇新菌株“申秀 1 号”

张俊玲^{1,2} 章炉军¹ 李亮¹ 刘建辉¹ 谭琦^{1,2} 尚晓冬^{1*}

(1. 上海市农业科学院食用菌研究所 国家食用菌工程技术研究中心 上海 201403)

(2. 南京农业大学 生命科学学院 江苏 南京 210095)

摘要:【目的】对自交子代群体主要栽培和商品性状进行综合分析,并选育综合性状优良的秀珍菇新菌株。【方法】以秀珍菇商业菌株“3108”为亲本进行自交,综合分析其自交子代群体的菌丝生长速度、产量、菇型、抗杂、抗逆性和栽培周期等性状以选育新菌株,利用 ISSR (Inter-sample sequence repeat) 鉴定新菌株和亲本菌株之间遗传差异性。【结果】自交子代中,菌丝生长速度和产量分别有 19.5% 和 8.9% 的菌株优于亲本;子代群体中菌丝生长速度和子实体产量之间无相关性($R=0.102$, $P>0.05$);37% 的菌株栽培周期比亲本短;菇盖平展、厚且不易碎分别占 53%、11%,菌柄直径和长度变化幅度分别为 5–13 mm 和 21–75 mm;发生黄枯病,出现萎缩、死菇现象以及畸形分别占 23%、19%、5%。【结论】通过对子代群体各性状综合分析,从中选育出生长快、产量高、菇盖厚且不易碎、柄粗长、抗杂和抗逆性强、栽培周期短等优良性状的秀珍菇新菌株“申秀 1 号”,前三潮菇平均单袋产量 334 g,生物学效率高达 74%,比亲本菌株增产 7.1%,且种性稳定。经 ISSR 鉴定表明,该菌株具有自身特异性。

关键词: 育种,栽培性状,菌丝生长速度,产量,ISSR

Inbreeding and selection of new strain Shenxiu-1 of *Pleurotus pulmonarius*

ZHANG Jun-Ling^{1,2} ZHANG Lu-Jun¹ LI Liang¹ LIU Jian-Hui¹ TAN Qi^{1,2}
SHANG Xiao-Dong^{1*}

(1. Institute of Edible Fungi, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, National Engineering Research Center of Edible Fungi, Shanghai 201403, China)

(2. College of Life Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing, Jiangsu 210095, China)

Abstract: [Objective] Several main cultivated and commercial characteristics of the inbred progenies were comprehensively analyzed to inbred desirable new strain of *Pleurotus pulmonarius*. [Methods] In this study, we used a commercial strain 3108 of *P. pulmonarius* as inbreeding parent. The mycelia growth rate, yield, fruit body appearance, anti-hybrid bacteria and stress resistance and cultivation cycle were aggregately analyzed to select new cultivated strains. Inter-simple sequence repeat (ISSR) was

基金项目: 国家科技支撑项目(No. 2013BAD16B02); 上海种业专项项目(No. 沪农科种字(2012)第 6 号)

*通讯作者: Tel: 86-21-37196815; 信箱: xdshang@163.com

收稿日期: 2014-10-28; 接受日期: 2014-12-26; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2015-01-12

used to identify genetic differences between new strain and parent strain. **[Results]** In the inbred progenies, as for mycelia growth rate and fruit body yield, respectively 19.5% and 8.9% of progenies were apparently better than their parent. However, there was no correlation between mycelia growth rate and yield ($R=0.102$, $P>0.05$). The cultivation cycle of 37% progenies strains was shorter than their parent. Pileus of 53% progenies strains were the same flat as their parent, and 11% generations strains were thicker than the parent. Range ability of stipe diameter was 5–13 mm and that of stipe length was 21–75 mm. Yellows incidence, withered or dead fruits and malformation accounted for 23%, 19%, and 5%, respectively. **[Conclusion]** We selected one new strain of *P. pulmonarius* named as Shenxiu-1 through comprehensive analysis of progenies strains' characteristics. Shenxiu-1 had fast growth rate, high yield, thick pileus, thick and length stipe, strong anti-hybrid bacteria and stress resistance, and were not easy to be cracked. The average yield per bag of Shenxiu-1 was 334 g in the first three flushes, which increased 7.1% than the parent strain, and the biological efficiency was up to 74%. Moreover, the new strain was stably cultivated. ISSR identification showed that Shenxiu-1 had its own specificity.

Keywords: Inbreeding, Cultivation characteristics, Mycelia growth rate, Yield, ISSR

秀珍菇 [*Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quél] 隶属于担子菌纲、伞菌目、侧耳科、侧耳属^[1], 属于平菇大类中的肺形侧耳^[2-3]。秀珍菇是一种适合在热带和亚热带地区栽培的食用菌, 出菇时机可人工控制, 经过低温冷刺激可在夏季高温季节成批整齐出菇生产, 填补了因季节原因造成的菇类产品断档、供应不足的问题, 并且具有实现规模化、工厂化生产特性。

目前常用的食用菌育种方法有: 系统选育、原生质体融合、杂交、诱变^[4]以及分子辅助育种^[5]等, 自交的应用较少。自交的遗传学意义为, 使杂合基因分离、纯化, 淘汰潜在的隐性有害基因, 使遗传组成得以改良, 遗传性状更加稳定。对育种而言, 自交可建立新品系或为杂交育种提供亲本材料。在植物育种中, 自交的运用较为普遍, 自交可直接形成 F2 代新菌株^[6]或通过不同自交系间的性状差异为杂交育种提供亲本材料及优异的种质资源^[7-9], 在食用菌的自交研究中, Chai 等^[10]以杨柳田头菇 (*Agrocybe salicicola*) YAASM0711 菌株为材料, 利用自交寻找不产生或产生较少孢子的发育缺陷型菌株, 这对育种材料以及育种方法来说都具有实际的指示作用。李红梅等^[11]通过多孢自交获得杏鲍菇 (*Pleurotus eryngii*) 的自交 S1 群体, 通过研究其质量性状和数量性状的遗传分化来指示育种的定向选

择利用。苏蓉等^[12]研究 6 个金针菇 (*Flammulina velutipes*) 菌种的自交后代生物学特性, 发现可根据育种目标的不同选择自交子代群体中的优势菌株。徐珍等^[13]以金针菇菌株 F3-6 和 F3-31 为亲本通过多孢自交选育出 6-299、6-318 和 31-70 三个性状优良的自交子代, 丰富了金针菇的种质资源。

在秀珍菇育种中, 自交方法尚未有文献报道, 应用较多的是系统选育^[14]、杂交、菌丝融合^[15]和原生质体融合^[16]等方法。本研究以秀珍菇“3108”为出发菌株进行多孢自交, 对其自交子代群体的菌丝生长速度、产量、菇型、抗杂、抗逆性以及栽培周期等栽培和商品性状进行综合分析, 并从中筛选性状优良的秀珍菇新菌株, 利用 ISSR (Inter-sample sequence repeat) 标记对新菌株进行分析鉴定, 获得新菌株与亲本间的遗传差异性, 为丰富秀珍菇种质资源、培育优质新品种奠定基础。

1 材料与方法

1.1 供试菌株

菌株“3108”为上海超大食用菌有限公司商业栽培的秀珍菇品种。该菌株在栽培中的突出性状有: 子实体密度适中、菇型好、抗杂、抗逆性强; 但菌株也存在生物学转化率较低、菇盖厚度薄, 质地脆、易碎, 菇柄略短等不良的栽培及商品性状。

1.2 栽培方法

母种采用马铃薯葡萄糖琼脂(Potato dextrose agar, PDA)培养基(BD 公司, 美国)按说明书配置后, 1×10^5 Pa 灭菌 30 min; 原种、栽培种和栽培料的培养料配方(干重比): 30%玉米芯、25%木屑、13%麸皮、13%米糠、7%棉籽壳、7%豆粕、3%玉米粉、1%石灰、1%轻钙, 加水至含水量 67%。

采用 17 cm×35 cm×0.005 cm 的聚乙烯塑料袋装料, 每袋装湿料量 1.1–1.2 kg, 干料 0.45 kg 左右, 料高 18–20 cm, 1.5×10^5 Pa 灭菌 2 h。栽培方法采用常温季节出菇^[17]方法, 转潮采用菌包倒置反浸水和低温冷刺激的方法^[18]。

1.3 自交子代群体构建

自交子代群体采用多孢自交的方法构建, 用徐珍等^[13]的方法收集“3108”子实体的担孢子, 涂平板自交, 经过单根菌丝纯化、显微镜鉴定等步骤, 构建了“3108”的自交子代群体。

1.4 自交子代群体菌丝生长速度测定

将自交子代群体和亲本“3108”菌株接种到 1.2 所述的栽培袋中, 从菌丝在培养料中开始萌发时开始测量每隔 7 d 的菌丝生长距离, 计算菌丝在培养料中的日平均生长速度, 3 个重复^[19]。

1.5 自交子代群体栽培及商品性状测定

用 1.2 所述栽培方法, 对自交子代群体及亲本菌株进行栽培试验, 当子实体菇盖展开至直径 2.8–3.2 cm 时采收, 并测量和记录不同子代菌株子实体的前三潮产量, 菇盖颜色、直径和厚度, 菌柄

直径、长度, 子实体密度, 成菇率, 栽培周期等性状的数据, 抗杂、抗逆性检测参考黄良水等^[20]的方法, 每个菌株 30 个重复。运用 IBM SPSS 生物统计软件进行数据分析^[21–22]。

1.6 新菌株“申秀 1 号”栽培试验

通过生长速度, 产量, 菇型, 抗杂、抗逆性以及栽培周期等性状的综合比较, 将从自交子代群体中筛选出的优异菌株“申秀 1 号”与亲本进行栽培比较, 观察新菌株各方面性状是否稳定遗传, 成为新的栽培菌株。

1.7 ISSR 分子鉴定

参照《食用菌菌种真实性鉴定农业行业标准—ISSR 法》, 选取其中的 12 个 ISSR 引物对“3108”自交子代群体中筛出的新菌株和亲本进行特异性鉴定, 引物信息见表 1。

2 结果与分析

2.1 菌丝生长速度和产量比较

“3108”菌株经多孢自交子代群体的构建, 共得到 318 株自交后代, 命名为 pg-s1–pg-s318。经过菌丝在栽培料中的生长速度及长势比较, 剔除了菌丝生长极缓慢, 菌丝稀薄和易污染的衰弱、退化菌株, 对剩余的 292 个菌株及亲本进行菌丝生长速度测量和子实体产量记录, 其频数分布图见图 1 和图 2。

如图 1 所示, 亲本“3108”的菌丝生长速度为 5.08 ± 0.3 mm/d, 自交子代群体的平均生长速度为

表 1 PCR 反应中筛选的 ISSR 引物
Table 1 ISSR primers used in this study

| 引物 Primers | 序列 Sequences (5'→3') | T_m (°C) | 引物 Primers | 序列 Sequences (5'→3') | T_m (°C) |
|-----------------|--------------------------|------------|-----------------|-------------------------|------------|
| P ₁ | TGC(AC) ₆ | 46 | P ₁₁ | (GA) ₈ AC | 54 |
| P ₂ | GTG(AC) ₆ | 46 | P ₁₂ | (AG) ₈ GC | 56 |
| P ₄ | GGATGCA(AC) ₆ | 58 | P ₂₃ | (GA) ₈ CT | 54 |
| P ₇ | CCA(GTG) ₄ | 50 | P ₂₄ | CAC(GA) ₇ | 52 |
| P ₈ | GGA(GTG) ₄ | 50 | P ₂₅ | (GA) ₈ CC | 56 |
| P ₁₀ | (GA) ₈ C | 52 | P ₂₆ | CAC(CA) ₇ | 52 |

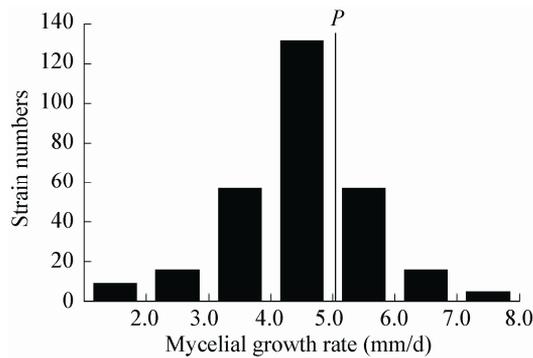


图1 “3108”自交子代群体菌丝生长速度频次分布

Figure 1 Frequency distributions of mycelia growth rate of 3108's inbred progenies

注: P: 亲本“3108”的菌丝生长速度。

Note: P: Mycelia growth rate of parental strain 3108.

4.45 mm/d, 菌丝生长速度变化幅度为 1.23–7.31 mm/d, 变异系数为 23%; 子代群体生长速度的分化呈正态分布, 有 57 株菌株长速比亲本快, 占群体总数 19.5%, 最快菌丝生长速度为 7.31 mm/d, 具有生长快的特性。

子代群体子实体前三潮产量的分布情况显示 (图 2): 亲本平均单袋产量为 310.0 ± 24.3 g, 自交子代群体的平均产量为 225 g, 变化幅度为 56–375 g, 变异系数为 30%; 子代群体产量分化也呈正态分布, 产量比亲本高的子代菌株有 26 株, 占群体总数的 8.9%, 最高平均产量为 375 g, 具有高产特性。

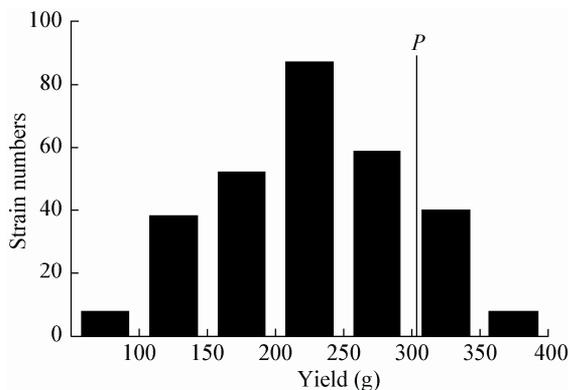


图2 自交子代群体子实体产量频次分布图

Figure 2 Frequency distributions of fruit body yield of 3108's inbred progenies

注: P: 亲本“3108”的平均产量。

Note: P: Average fruit body yield of parental strain 3108.

将自交子代群体与亲本菌株生长速度和产量这两个性状进行相关性分析, 由图 3 可知: 子代群体菌丝生长速度主要集中在 3.0–6.0 mm/d, 产量集中在 150–300 g, 大部分子代菌株菌丝生长速度、产量均低于亲本, 但仍有 16 个菌株在这两个性状上同时表现出超亲优势, 占 5.5%。子代群体菌丝生长速度和子实体产量之间的线性相关系数 $R=0.102$, $P(\text{Sig})=0.083 > 0.05$, 说明自交子代菌株的菌丝生长速度与子实体产量之间无相关性。因此选育生长速度快、产量高的新菌株, 需对这两个性状分开筛选。

菌丝生长速度和产量是栽培生产中最重要的两个性状, 根据菌丝生长速度、产量及菌丝生长速度和产量相关性统计分析结果, 从自交群体中筛选出了 16 株生长快、产量高的子代菌株 (表 2), 进一步观察菇型、抗性、栽培周期等其他性状。

2.2 主要栽培及商品性状比较

将自交子代群体及亲本进行栽培试验, 对子实体外观、密度、成菇率等主要栽培及商品性状进行比较。结果显示: 亲本菇盖颜色为灰褐色, 自交子代群体分化为灰褐色 (81%)、浅灰色 (15%) 和灰白色 (4%); 子代群体的菇盖形状与亲本一致, 呈扇形, 仅有 53% 的菌株菇盖平展; 亲本菇盖厚度薄、质地脆, 子代群体中有 11% 的菌株出现菇盖平展、厚且不易碎的优良性状; 亲本菌株菌柄为实心, 直径为

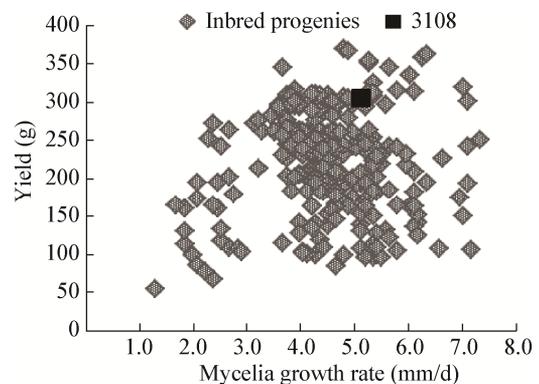


图3 自交后代菌丝生长速度与子实体产量相关性

Figure 3 Correlation analysis between mycelia growth rate and fruit body yields of 3108's inbred progenies

表 2 生长速度及产量表现优异的自交子代菌株
Table 2 Mycelia growth rate and fruit body yields of selected inbred progenies

| 菌株 Strain | 菌丝生长速度 Mycelia growth rate (mm/d) | 产量 Fruit body yield (g) | 生物转化率 Biological efficiency (%) |
|--------------|--------------------------------------|----------------------------|------------------------------------|
| 3108 | 5.08±0.3 | 310±24.3 | 68.9 |
| pg-s1 | 5.3±0.2* | 330±21.2* | 73.3 |
| pg-s4 | 5.77±0.1* | 320±30.2 | 71.1 |
| pg-s6 | 6.00±0.4** | 340±26.3* | 75.6 |
| pg-s10 | 5.15±0.2 | 314±15.7 | 69.8 |
| pg-s11 | 6.23±0.3* | 315±35.3** | 70.1 |
| pg-s15 | 5.15±0.1 | 321±27.8 | 71.3 |
| pg-s25 | 6.08±0.7** | 319±20.3 | 70.9 |
| pg-s32 | 6.15±0.5** | 343±28.9* | 76.2 |
| pg-s52 | 5.31±0.3* | 313±23.4 | 69.6 |
| pg-s57 | 5.23±0.1 | 321±26.7 | 71.3 |
| pg-s69 | 5.62±0.3* | 351±31.6** | 78.0 |
| pg-s80 | 5.23±0.2 | 356±30.4** | 79.1 |
| pg-s98 | 5.38±0.6* | 316±19.8 | 70.2 |
| pg-s125 | 5.31±0.4* | 317±25.5 | 70.4 |
| pg-s219 | 6.08±0.2** | 331±23.4* | 73.5 |
| pg-s221 | 5.92±0.1* | 360±31.6** | 80.0 |

注: 数据为 30 个栽培袋的统计结果。*: $P<0.05$ 的差异显著性; **: $P<0.01$ 的差异显著性。

Note: Statistical data calculated from 30 cultivation bags. *: Significant difference at 0.05 level; **: Extremely significant difference at 0.01 level.

9.00±0.10 mm, 菌柄长度 49.00±0.50 mm, 而自交子代菌柄直径和长度变化幅度分别为 5–13 mm、21–75 mm; 亲本子实体密度适中, 子代菌株中子实体密度大致分为高、中、低 3 种, 密度过高则子实体易丛生、菇体偏小、菌柄细、短, 不利于后期采收, 密度过低则形成子实体数目少无法保证高产; 子实体成菇率为原基发育成子实体的概率, 亲本成菇率高, 子代群体中 31% 的菌株与亲本相当, 其余则不同程度的降低, 并且成菇率与子实体密度的高低无相关性。

生长快、产量高的 16 个子代菌株的栽培和商品性状数据为(表 3): pg-s10、pg-s15、pg-s25、pg-s52、pg-s69、pg-s80 和 pg-s125 菇盖平展度差, 菇型不好, 外观质量欠佳; pg-s4、pg-s57 和 pg-s98 菇型好, 但菌柄短细, 商品性差; pg-s1、pg-s6、pg-s11、pg-s32、

pg-s219 和 pg-s221 菇盖平展、菌柄粗长, 外观商品性状优良, 尤其是 pg-s1、pg-s6 和 pg-s32 具有菇盖厚、不易碎、子实体密度适中、成菇率高等优异的栽培和商品性状, 可作为栽培生产的备用菌种。

2.3 抗杂、抗逆性及栽培周期比较

在常规栽培试验后, 对自交后代群体进行了不良环境下抗杂菌和抗逆性检测以及栽培周期检测。亲本菌株的抗杂菌及抗逆性较强, 而在子代群体中, 发生黄枯病、出现萎缩死菇现象、畸形的菌株分别占 23%、19%、5%, 表明自交导致子代群体在除了菌丝形成原基之前正常吐黄水外, 部分子代菌株在不良栽培环境抗杂菌及抗逆性方面出现衰退和杂菌侵染时也出现了吐黄水现象。子代群体的栽培周期变化幅度为 55–90 d, 有 37% 的菌株栽培周期比亲本短。

表3 优异自交子代菌株的主要栽培及商品性状
Table 3 Main cultivation and appearance characters of selected inbred progenies

| 菌株 Strain | 菇盖 Pileus | | | | 菌柄 Stipe | | 子实体 Fruit body | |
|--------------|-------------|------------------|-----------------|------------------|----------------|--------------|----------------|-------------------------|
| | 颜色 Color | 平展度 Flat rate | 厚度 Thickness | 易碎性 Fragility | 直径 Diameter | 长度 Length | 密度 Density | 成菇率 Development rate |
| 3108 | 灰褐色 | 高 | 薄 | 易碎 | 粗 | 中 | 中 | 高 |
| pg-s1 | 灰褐色 | 高 | 厚 | 不易碎 | 粗 | 长 | 中 | 高 |
| pg-s4 | 浅灰色 | 高 | 薄 | 易碎 | 细 | 短 | 低 | 低 |
| pg-s6 | 灰褐色 | 高 | 厚 | 不易碎 | 粗 | 长 | 中 | 高 |
| pg-s10 | 灰白色 | 低 | 薄 | 易碎 | 细 | 短 | 高 | 高 |
| pg-s11 | 灰褐色 | 高 | 薄 | 易碎 | 粗 | 长 | 中 | 中 |
| pg-s15 | 灰褐色 | 低 | 薄 | 易碎 | 细 | 短 | 低 | 高 |
| pg-s25 | 灰褐色 | 低 | 薄 | 易碎 | 细 | 短 | 高 | 中 |
| pg-s32 | 灰褐色 | 高 | 厚 | 不易碎 | 粗 | 长 | 中 | 高 |
| pg-s52 | 灰白色 | 低 | 薄 | 易碎 | 粗 | 中 | 低 | 高 |
| pg-s57 | 浅灰色 | 高 | 薄 | 易碎 | 细 | 短 | 高 | 高 |
| pg-s69 | 灰褐色 | 低 | 薄 | 易碎 | 粗 | 中 | 高 | 高 |
| pg-s80 | 灰白色 | 低 | 厚 | 不易碎 | 粗 | 短 | 低 | 高 |
| pg-s98 | 浅灰色 | 高 | 薄 | 易碎 | 细 | 短 | 低 | 低 |
| pg-s125 | 灰褐色 | 低 | 薄 | 易碎 | 细 | 短 | 高 | 高 |
| pg-s219 | 灰褐色 | 高 | 厚 | 不易碎 | 粗 | 长 | 高 | 低 |
| pg-s221 | 灰褐色 | 高 | 薄 | 易碎 | 粗 | 长 | 中 | 高 |

注: 数据为 30 个栽培袋的统计结果。

Note: Statistical data calculated from 30 cultivation bags.

由优良株系 pg-s1、pg-s6 和 pg-s32 与亲本“3108”抗杂、抗逆能力数据可知, pg-s1、pg-s6 和 pg-s32 菌株与亲本相比, pg-s6 和 pg-s32 菌株黄枯病发生率高, 并且在出菇过程中出现吐黄水和萎缩、死菇现象(表 4)。这 3 个子代菌株在生长速度、产量, 栽培及商品性状方面都优于亲本, 菇柄也较

亲本粗、长, 但其对杂菌和不良环境的抗性呈不同的分化, 仅 pg-s1 菌株与亲本相当, pg-s6 和 pg-s32 表现出抗性衰退趋势。

在栽培周期的比较中, pg-s1 菌株栽培周期为 68 d, 比亲本、pg-s6 和 pg-s32 菌株栽培周期分别缩短 7、7 和 11 d(图 4)。pg-s1、pg-s6 和 pg-s32 因生

表4 亲本及自交优良株系抗杂、抗逆性比较
Table 4 Disease and stress resistance of parental strain and superior inbred strains

| 菌株 Strain | 菌柄直径 Stipe diameter (mm) | 菌柄长度 Stipe length (mm) | 菌柄软硬 Stipe consistence | 吐黄水 Yellow water exudation | 黄枯病发生率 Yellows incidence (%) | 萎缩、死菇现象 Withered or dead fruits |
|--------------|--------------------------------|------------------------------|------------------------------|----------------------------------|------------------------------------|---------------------------------------|
| 3108 | 9.00±0.10 | 49.00±0.50 | 硬 | 无 | <1 | 无 |
| pg-s1 | 11.00±0.13* | 56.00±0.49** | 硬 | 无 | <1 | 无 |
| pg-s6 | 11.00±0.11* | 55.00±0.39* | 硬 | 略有 | 9 | 略有 |
| pg-s32 | 10.00±0.17 | 53.00±0.26* | 软 | 略有 | 8 | 略有 |

注: 数据为 30 个栽培袋的统计结果。

Note: Statistical data calculated from 30 cultivation bags.

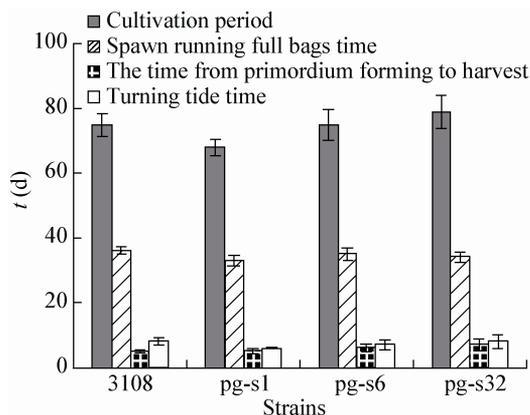


图 4 优异自交后代菌株的栽培周期

Figure 4 Cultivation period of parental strain and superior inbred progenies

长速度快发菌满袋时间均比亲本短, 但 pg-s6 和 pg-s32 菌株在原基发育到可以采收的成菇时间长于亲本, 导致最终的栽培周期反而比亲本长, 仅 pg-s1 菌株在发菌速度和转潮时间均优于亲本。成菇时间长表明前期发菌阶段积累的养分不够, 与生长的快慢无关, 转潮时也如此。因此, 生长速度快的菌株不代表整个栽培周期一定会短。

2.4 “申秀 1 号”菌株栽培试验

综合比较子代菌株在生长、出菇各环节重要性

状, pg-s1 菌株在生长速度、产量、子实体外观等性状的表现均优于亲本, 在不良环境中的抗杂、抗逆性也不弱, 并且其栽培周期短、转潮快, 将其命名为“申秀 1 号”。随后在室内设施栽培环境中与其亲本“3108”进行了中试比较, 其菇型(图 5)、产量等方面均表现出了优异的品质(表 5), 并且大大缩短了工厂的生产周期, 更适合作为工厂栽培生产的菌种。

2.5 ISSR 分子鉴定

ISSR 广泛应用于菌株鉴定^[23]、亲缘关系、遗传多样性等研究工作中, 利用该方法对选育的新菌株及亲本进行鉴定, 获得新菌株与亲本间的差异性。ISSR 鉴定结果显示, 12 个引物共扩增出 69 个条带, 每个引物可扩增 4–10 个条带, 大小分布在 200–2 000 bp, 共有多态性条带 5 个(引物 P₁、P₁₀、P₁₁、P₂₄), 多态性比例为 7% (图 6), 这些条带在亲本中存在, “申秀 1 号”中缺失, 表明“申秀 1 号”既存在与亲本共有的条带, 同时存在与亲本不同的特异性条带, 也说明自交过程在改善部分性状的同时降低了生物遗传多样性, “申秀 1 号”菌株与亲本具有遗传差异, 具有特异性。

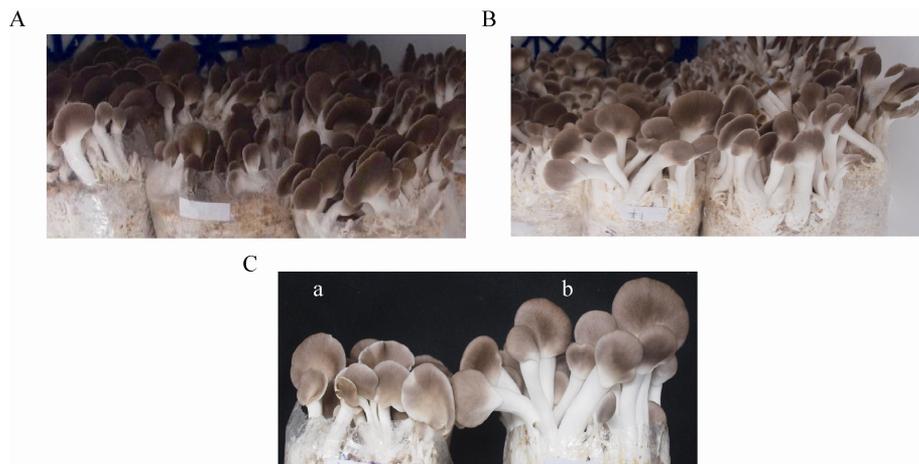


图 5 亲本和新菌株“申秀 1 号”菇型比较

Figure 5 Fruit body appearance of parental strain 3018 and Shenxiu-1

注: A: 亲本“3108”; B: 申秀 1 号; C: 亲本“3108”(a)和申秀 1 号(b).

Note: A: 3108; B: Shenxiu-1; C: Parental strain 3108 (a) and Shenxiu-1 (b).

表 5 “3108”和“申秀 1 号”菌株栽培性状比较
Table 5 Cultivation characters comparison between parental strain 3108 and Shenxiu-1

| 菌株 Strain | 产量 Yield (g) | 单菇重 Single fruit body weight (g) | 柄长 Stipe length (mm) | 柄直径 Stipe diameter (mm) | 盖基部厚 Pileus basal thickness (mm) | 盖边缘厚 Pileus rim thickness (mm) |
|--------------|-----------------|-------------------------------------|-------------------------|----------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------|
| 3108 | 312.0±26.8 | 4.80±0.67 | 49.00±0.50 | 9.00±0.10 | 9.00±0.11 | 0.90±0.02 |
| Shenxiu-1 | 334.0±19.9* | 5.00±0.51* | 57.00±0.44** | 10.00±0.14** | 11.00±0.13** | 1.10±0.02** |

注：数据为 1 000 个栽培袋随机抽样 100 个的统计结果。

Note: Statistical data calculated from 100 cultivation bags randomly selected from 1 000.

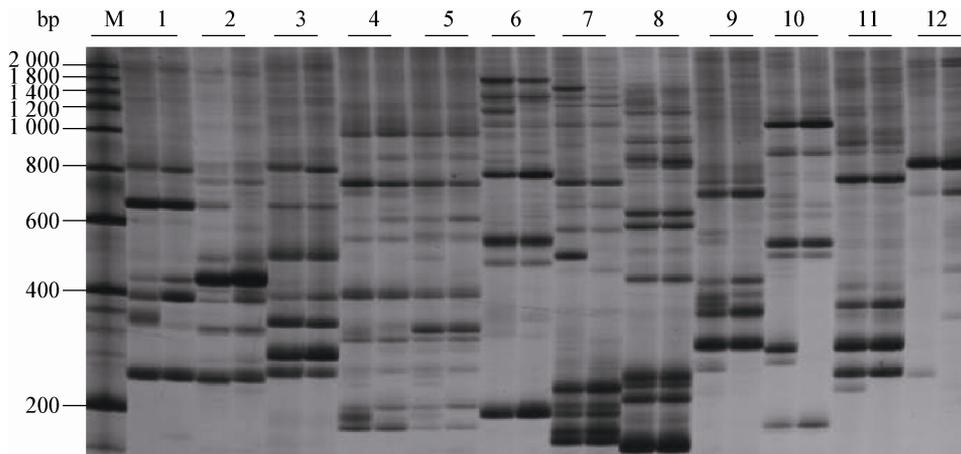


图 6 12 个 ISSR 引物对亲本和“申秀 1 号”菌株的扩增图谱

Figure 6 Amplification profile of parental strain 3108 and Shenxiu-1 by 12 ISSR primers

注：M: Marker D2000; 1-12: ISSR 引物，对应引物编号为 P1、P2、P4、P7、P8、P10、P11、P12、P23、P24、P25、P26；每个引物第一个泳道为亲本“3108”，第二个泳道为“申秀 1 号”。

Note: M: Marker D2000; 1-12: ISSR primers, the corresponding primers numbers were P1, P2, P4, P7, P8, P10, P11, P12, P23, P24, P25 and P26; First lane of each primer was parental strain 3108, and the second was Shenxiu-1.

3 讨论

自交属于一种极端的近亲交配方式，基因纯合是自交最根本的遗传效应^[24]。对于育种来说，携带较多有害或者不利基因的菌株自交后往往衰退比较严重，因此便可通过自交测试取舍亲本材料以及优良品种纯化^[12]。此外，可以进一步选育自交群体中表现较优的菌株，优良性状稳定后将其进一步升级为品系或品种。同时，杂交育种的亲本材料也可从这些表现较优的菌株中筛选^[11]。

本文研究秀珍菇“3108”菌株自交子代群体的菌丝生长速度、产量、子实体外观、抗杂菌和抗逆性等若干性状的遗传分化，为自交体系的建立和优良

菌株的选育提供理论和实践依据。在菌丝生长速度和产量这两个重要的栽培性状上，较大的变异系数表明其在后代的遗传能力较强。子代群体中大部分菌株生长速度慢于亲本、产量低于亲本，也存在少数在两个性状上优于亲本的菌株，自交导致的自交衰退和超亲优势均得以体现，这与李红梅等^[11]对杏鲍菇自交 S1 群体研究的结果一致，也证实了自交子代群体中可筛选出生长速度快、产量高的超亲菌株。自交子代菌株的菌丝生长速度与子实体产量之间均无相关性，这与徐珍等^[13]在金针菇上的结论一致，因此，在菌株选育过程中，需分开筛选这两个重要的栽培性状。在子实体菇盖、菌柄等外观性状，

抗杂、抗逆性,栽培周期等性状上,均出现了异于亲本的分化和衰退现象,且所有性状之间的分化都不存在相关关系。综合前人的研究,自交后代中在生长速度、产量、单菇重以及栽培周期等性状上出现表现优异菌株的概率较大^[11-12],本文也证实了这一现象。

“3108”自交子代群体出现自交超亲和自交衰退现象。自交超亲可能由于亲本自交过程中产生新的有利基因,不同基因重新组合以及对外界栽培环境的适应能力强,可以解释自交子代菌株中出现生长快、产量高、菇盖厚、不易碎、菌柄粗长等超亲现象的原因。自交衰退则可能是有害基因发生纯合,多基因平衡遭到破坏或遗传物质缺失导致^[25-26];无论是自交超亲还是自交衰退都是一个生长发育问题,而生长发育不仅受到自身遗传物质的控制,而且会受到培养料、湿度、栽培技术等外界环境的影响,故自交超亲和衰退现象是在自身遗传物质和外界栽培环境共同作用下导致表型特征差异,因此,需要进一步研究不同栽培环境条件是否产生相似的结果。

优质、高产、抗杂菌和抗逆性强等一直是育种工作者的主要目标^[27]。通过研究“3108”菌株自交子代群体若干性状的特征,初步建立秀珍菇自交育种体系,根据子代菌株的整体表现,以菌丝生长快、产量高、菇盖厚、菌柄粗长、栽培周期短以及抗杂菌和抗逆性强等性状为育种目标,从中筛选出基因优良和环境适应性强的秀珍菇新菌株,为自交研究或自交育种提供实际依据,对育种材料本身,育种的方法以及新品系的建立均具有实际的指示作用;为丰富和创新秀珍菇种质资源,进一步获得具有商业价值的优势菌种奠定基础。

参 考 文 献

- [1] Mao XW, Chen XP. Comparative experiment on facilities culture of *Pleurotus pulmonarius* strains in summer[J]. Edible and Medicinal Mushroom, 2012, 20(2): 90-91 (in Chinese)
毛小伟, 陈小平. 夏季设施化栽培秀珍菇的菌株比较试验[J]. 食药菌, 2012, 20(2): 90-91
- [2] Zhang JX, Huang CY, Zheng SY. Speciality and character of new *Pleurotus* strain[J]. Edible Fungi of China, 2005, 24(4): 25-26 (in Chinese)
张金霞, 黄晨阳, 郑素月. 平菇新品种——秀珍菇的特征特性[J]. 中国食用菌, 2005, 24(4): 25-26
- [3] Shnyreva AA, Sivolapova AB, Shnyreva AV. The commercially cultivated edible oyster mushrooms *Pleurotus sajor-caju* and *P. pulmonarius* are two separate species, similar in morphology but reproductively isolated[J]. Russian Journal of Genetics, 2012, 48(11): 1080-1088
- [4] Ma SM, Wang YF, Yi RH. Review of edible fungi breeding[J]. Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry (Natural Science Edition), 2004, 32(4): 108-111 (in Chinese)
马三梅, 王永飞, 亦如瀚. 食用菌育种的研究进展[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2004, 32(4): 108-111
- [5] Chakravarty B. Trends in mushroom cultivation and breeding[J]. Australian Journal of Agricultural Engineering, 2011, 2(4): 102-109
- [6] Huang XQ, Shen YZ, Huang YF, et al. Self-cross segregation of yellow seed gene in *Brassica napus* L.[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2001, 14 (1): 43-45 (in Chinese)
黄先群, 沈永珍, 黄燕芬, 等. 甘蓝型油菜黄籽基因的分离研究 I. 自交[J]. 西南农业学报, 2001, 14(1): 43-45
- [7] Zhu SY, Zhang XL, Liu Q, et al. Principal component analysis and cluster analysis for main morphological characteristics of Cauliflower inbred lines[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2012, 13(1): 77-82 (in Chinese)
朱世杨, 张小玲, 刘庆, 等. 花椰菜自交系主要形态性状的主成分分析和聚类分析[J]. 植物遗传资源学报, 2012, 13(1): 77-82
- [8] Chen ZH, Luan HQ, Liu JJ, et al. Selection and application of maize inbred line C8605-2[J]. Rain Fed Crops, 2007, 27(5): 322-325 (in Chinese)
陈中赫, 栾化泉, 刘敬娟, 等. 玉米自交系 C8605-2选育与利用[J]. 杂粮作物, 2007, 27(5): 322-325
- [9] Cui JM, Lu LY, Liu ZP, et al. Selection and application of a new maize inbred line A28[J]. Rain Fed Crops, 2007, 27(5): 317-321 (in Chinese)
崔俊明, 芦连勇, 刘智萍, 等. 玉米新自交系 A28的选育及应用[J]. 杂粮作物, 2007, 27(5): 317-321
- [10] Chai HM, Zhou HM, Zhao J, et al. Searching development-deficient genes in edible mushroom by self-crossing[J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 2012, 13(10): 2037-2043
- [11] Li HM, Shang XD, Tan Q, et al. Genetic differentiation of self-crossing S1 generations of *Pleurotus eryngii*[J]. Mycosystema, 2009, 28(4): 541-547 (in Chinese)
李红梅, 尚晓冬, 谭琦, 等. 刺芹侧耳自交 S1代若干性状的遗传分化[J]. 菌物学报, 2009, 28(4): 541-547

- [12] Su R, Shang XD, Xu Z, et al. Biological characteristics of *Flammulina velutipes* self-bred progenies[J]. *Mycosystema*, 2009, 28(3): 378-384 (in Chinese)
苏蓉, 尚晓冬, 徐珍, 等. 金针菇自交后代生物学特性的研究[J]. 菌物学报, 2009, 28(3): 378-384
- [13] Xu Z, Shang XD, Tan Q. Multispore inbreeding and selection of *Flammulina velutipes* strains for industrial cultivation[J]. *Acta Edulis Fungi*, 2012, 19(4): 11-13 (in Chinese)
徐珍, 尚晓冬, 谭琦. 多孢自交选育工厂化栽培的金针菇菌株[J]. 食用菌学报, 2012, 19(4): 11-13
- [14] Huang LS, Xu LS, Hong JL, et al. The breeding and application of new strain QingXiu 2 of *Pleurotus geesteranus*[J]. *Edible Fungi of China*, 2011, 30(2): 20-21 (in Chinese)
黄良水, 徐立胜, 洪金良, 等. 秀珍菇新菌株青秀2号的选育及应用[J]. 中国食用菌, 2011, 30(2): 20-21
- [15] Adebayo EA, Oloke JK, Yadav A, et al. Improving yield performance of *Pleurotus pulmonarius* through hyphal anastomosis fusion of dikaryons[J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2013, 29(6): 1029-1037
- [16] Zhang P. Technical research of protoplast fusion between *Pleurotus eryngii* and *Pleurotus pulmonarius*[D]. Fuzhou: Master's Thesis of Fujian Agriculture and Forestry University, 2012 (in Chinese)
张鹏. 杏鲍菇和秀珍菇融合育种技术研究[D]. 福州: 福建农林大学硕士学位论文, 2012
- [17] Huang LS. Standard cultivation techniques of pollution-free *Pleurotus pulmonarius*[J]. *Edible Fungi*, 2004, 23(6): 23-24 (in Chinese)
黄良水. 无公害秀珍菇标准化栽培技术[J]. 食用菌, 2004, 23(6): 23-24
- [18] Chen JC, Sheng HS, Tang BS, et al. Off-season high efficient cultivation technology of *Pleurotus pulmonarius*[J]. *Edible Fungi of China*, 2003, 22(4): 21-22 (in Chinese)
陈君琛, 沈恒胜, 汤葆莎, 等. 秀珍菇反季节高效栽培技术研究[J]. 中国食用菌, 2003, 22(4): 21-22
- [19] Xu Z, Shang XD, Su R, et al. Cross breeding and selection of *Flammulina velutipes* hybrid strains for industrial cultivation[J]. *Acta Edulis Fungi*, 2008, 15(4): 26-30 (in Chinese)
徐珍, 尚晓冬, 苏蓉, 等. 杂交选育工厂化生产的金针菇菌株[J]. 食用菌学报, 2008, 15(4): 26-30
- [20] Huang LS, Xu LS, Jiang MF. Exceptional problems analysis and processing of *Pleurotus pulmonarius* in the process of fruiting[J]. *Edible Fungi*, 2009, 31(4): 39-40 (in Chinese)
黄良水, 徐立胜, 江美芳. 秀珍菇出菇过程中异常问题分析及处理[J]. 食用菌, 2009, 31(4): 39-40
- [21] Zhang WT, Yan J. A Basic Textbook for SPSS Statistics and Analysis[M]. Beijing: Higher Education Press, 2004 (in Chinese)
张文彤, 闫洁. SPSS 统计分析基础教程[M]. 北京: 高等教育出版社, 2004
- [22] Quinn GP, Keough MJ. Experimental Design and Data Analysis for Biologists[M]. Jiang ZG, Trans. Beijing: Higher Education Press, 2003 (in Chinese)
Quinn GP, Keough MJ. 生物实验设计与数据分析[M]. 蒋志刚, 主译. 北京: 高等教育出版社, 2003
- [23] Gilbert JE, Lewis RV, Wilkinson MJ, et al. Developing an appropriate strategy to assess genetic variability in plant germplasm collections[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1999, 98(6): 1125-1131
- [24] Xu YF, Chen FD, Teng NJ, et al. Preliminary study on inbreeding depression of *Dendranthema morifolium*[J]. *Journal of Plant Resources and Environment*, 2009, 18(4): 28-32 (in Chinese)
徐雁飞, 陈发棣, 滕年军, 等. 菊花自交衰退现象初步研究[J]. 植物资源与环境学报, 2009, 18(4): 28-32
- [25] Li Y, Li GC, Li CH, et al. Prospects of diploid hybrid breeding in potato[J]. *Chinese Potato Journal*, 2013, 27(2): 96-99 (in Chinese)
李颖, 李广存, 李灿辉, 等. 二倍体杂种优势马铃薯育种的展望[J]. 中国马铃薯, 2013, 27(2): 96-99
- [26] Wang H. New theory of inbreeding depression[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2013, 11(5): 630-63 (in Chinese)
王浩. 自交衰退新解[J]. 分子植物育种, 2013, 11(5): 630-637
- [27] Fu LZ, Wu XQ, Wei HL, et al. Advances in the study on breeding technique of edible fungi in China and the prospect[J]. *Acta Edulis Fungi*, 2005, 12(3): 63-68 (in Chinese)
付立忠, 吴学谦, 魏海龙, 等. 我国食用菌育种技术应用研究现状与展望[J]. 食用菌学报, 2005, 12(3): 63-68