

## 对 92 个茶树菇菌株的遗传多样性分析和农艺性状的评价

王洪秀<sup>1,2</sup>, 章炉军<sup>3</sup>, 孙 鹏<sup>1</sup>, 胡 佳<sup>1</sup>, 安 颖<sup>4</sup>, 陈绪涛<sup>1</sup>, 魏云辉<sup>1\*</sup>

(1.江西省农业科学院 农业应用微生物研究所,江西 南昌 330200;

2.江西省科学院 微生物研究所,江西 南昌 330096;3.上海市农业科学院 食用菌研究所,上海 201403;

4.浙江大学生命科学学院 生物物理研究所 教育部生物系统稳态与保护重点实验室,浙江 杭州 310058)

**摘 要** 为了解茶树菇(*Agrocybe aegerita*)种质资源的遗传多样性和筛选优良的茶树菇新品种,采用菌株拮抗试验方法观察了 92 株茶树菇菌株间拮抗反应及其类型,ISSR-PCR(inter-simple sequence repeat-PCR)分子标记方法对 92 株茶树菇菌株的遗传多样性进行了综合分析。拮抗试验将 92 株茶树菇菌株分为 27 组;筛选出的 20 条 ISSR 引物共扩增出 317 条清晰条带,多态性条带平均比率为 82.60%;在遗传相似系数为 0.742 时,ISSR 分子标记分析可将 92 株茶树菇划分为 6 大类群,拮抗试验和 ISSR 分子标记分析的结果基本一致。通过对比农艺性状分析,初步筛选出滇农 5、滇农 14、茶 5-800、白茶、闽农 5 及滇农 8 作为工厂化生产茶树菇菌种。结果表明茶树菇的遗传多样性丰富,结合栽培出菇试验可为茶树菇品种选育和杂交育种的亲本选择提供参考。

**关键词** 茶树菇(*Agrocybe aegerita*);拮抗反应;简单序列重复区间;遗传多样性;农艺性状

**中图分类号** Q933 **文献标识码** A **文章编号** 1005-7021(2024)02-0019-14

doi:10.3969/j.issn.1005-7021.2024.02.002

## Genetic Diversity and Agronomic Traits Evaluation of 92 Tea Tree Mushroom (*Agrocybe aegerita*) Strains

WANG Hong-xiu<sup>1,2</sup>, ZHANG Lu-jun<sup>3</sup>, SUN Peng<sup>1</sup>, HU Jia<sup>1</sup>, AN Ying<sup>4</sup>, CHEN Xu-tao<sup>1</sup>, WEI Yun-hui<sup>1\*</sup>

(1. Inst. of Agric. App. Microbiol., Jiangxi Acad. of Agric. Sci., Nanchang 330200;

2. Inst. of Microbiol., Jiangxi Prov. Acad. of Sci., Nanchang 330096;

3. Inst. of Edid. Fungi, Shanghai Acad. of Agric. Sci., Shanghai 201403;

4. MOE Key Lab. of Biosys. Homeost. & Protect., Inst. of Biophys., Coll. of Life Sci., Zhejiang Uni., Hangzhou 310058)

**Abstract** To understand the genetic diversity of *Agrocybe aegerita* germplasm resources and to screen excellent new varieties of *Agrocybe aegerit*. The antagonistic reaction and its types between strains of *Agrocybe aegerita* were investigated through hyphal antagonism experiment. The genome DNA of *A. aegerita* was amplified by PCR using inter-simple sequence repeat (ISSR) molecular markers, and the genetic diversity of 92 strains of *A. aegerita* was analyzed comprehensively. The results showed that the 92 strains were divided into 27 groups based on the antagonistic reaction. Among the 20 ISSR primers screened, 317 clear bands were amplified, and the average polymorphism band ratio was 82.60%. The results of cluster analysis of ISSR molecular markers showed that at the genetic similarity coefficient level of 0.742, the 92 strains of *A. aegerita* were divided into six groups. The five strains of Diannong5, Diannong14, Cha5-800, Baicha, Minnong5 and Diannong8 could be used as factory production strains. In this study, the results of antagonism test and ISSR cluster analysis were basically consistent, and the 92 strains selected were rich in genetic diversity.

基金项目:国家现代农业产业技术体系建设专项(CARS-20);国家自然科学基金项目(31460490);江西现代农业科研协同创新专项(JXXTCXQN201907);江西现代农业科研协同创新专项(JXXTCX201803-01);江西省科学院博士基金项目(2022YYB16);江西省农作物良种联合攻关项目;江西省广昌县科技计划项目(C2023n6)

作者简介:王洪秀 女,副研究员,博士。研究方向为食药食用菌遗传育种、资源化利用及栽培技术研究。

E-mail:wanghongxiu0624@163.com

\* 通讯作者。男,研究员,硕士。研究方向为食药食用菌种质资源评价及栽培技术研究。E-mail:yunhuiwei@sina.com

收稿日期:2023-12-07

ty. The results of this paper provide a scientific basis for the selection of plant varieties and parental selection of cross breeding for *A. aegerita*.

**Keywords** tea tree mushroom (*Agrocybe aegerita*); antagonistic reaction; ISSR; genetic diversity; agronomic traits

茶树菇(*Agrocybe aegerita*)广泛分布于我国的江西、福建、云南、浙江、贵州及四川等地。因其生长宿主的多样性及形态上的细微差别,中文名又被称为杨树菇、柳松茸(日本与中国台湾省)、柳环菌(贵州、云南)、柱状田头菇、茶薪菇、油菜菇等<sup>[1]</sup>。茶树菇菌盖细嫩、柄脆、味纯香、鲜美可口,是高蛋白、低脂肪、低糖分的集营养、保健及食疗于一身的珍稀食用菌<sup>[2]</sup>。近年来,随着茶树菇栽培规模不断扩大,选育优良品种已成为当务之急。随着分子生物学技术的快速发展,DNA 分子标记因其具有直接分析遗传物质,信息量大和所需样品量小等优点,目前被普遍认为是评判遗传结构的最好方法<sup>[3-8]</sup>。简单序列重复间区标记(inter-simple sequence repeat, ISSR)是在微卫星(simple sequence repeat, SSR)序列基础上发展起来的分子标记<sup>[9]</sup>,具有引物设计简单、所用 DNA 量少、多态性丰富及重复性好等优点,在分类学、种系发生学、保护生物学和种群遗传学等方面得到了广泛

应用<sup>[10]</sup>。目前关于茶树菇种质资源的分类、鉴定、评价,亲缘关系和多态性的研究报道有限<sup>[11-16]</sup>。不同分子标记方法所得的聚类分析结果通常存在较大差异。本研究采用 ISSR 分子标记和拮抗试验相结合的方法,对分离自不同地区的 92 株茶树菇菌株的遗传多样性进行了分析,并结合农艺性状进行综合评价,以期茶树菇种质资源分析和菌种选育提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌株 本研究采用的 92 株茶树菇菌株来自江西省农业科学院农业应用微生物研究所食用菌育种室多年收集和保藏的菌种,其中 20 株为野生菌株,65 株为工厂化栽培菌株,5 株为经钴 60(剂量为 600Gy、700Gy 和 800Gy)辐照诱变菌株,2 株为搭载神州十号的航天诱变菌株,各菌株信息详见表 1。

表 1 茶树菇供试菌株及其来源  
Table 1 *Agrocybe aegerita* strains used in the experiment

菌株编号	菌种名称	来源或基质	类型
Aa01	茶园 1 号	江西黎川,茶园	野生
Aa02	茶园 2 号	江西黎川,茶园	野生
Aa03	杨树洞 1 号	江西黎川,杨树	野生
Aa04	杨树上 2 号	江西黎川,杨树	野生
Aa05	AS-1	江西省农业科学院农业应用微生物研究所	栽培
Aa06	AS-2	江西抚州	栽培
Aa07	古 1	福建古田	栽培
Aa08	古 2	福建古田	栽培
Aa09	茶 3	江西黎川	栽培
Aa10	白茶	江西黎川	栽培
Aa11	茶 5	江西黎川	栽培
Aa12	茶 3-800	江西黎川	“茶 3”800 Gy 辐照诱变
Aa13	AS-1-700	江西省农业科学院农业应用微生物研究所	“AS-1”700 Gy 辐照诱变
Aa14	AS-2-600	江西抚州	“AS-2”600 Gy 辐照诱变
Aa15	白茶 700	江西黎川	“白茶”700 Gy 辐照诱变
Aa16	茶 5-800	江西黎川	“茶 5”800 Gy 辐照诱变
Aa17	茶 3 神	江西黎川	“茶 3”神州十号航天诱变
Aa18	AS-1 神	江西省农业科学院农业应用微生物研究所	“AS-1”神州十号航天诱变
Aa19	闽农 1	福建省食用菌种质资源保藏管理中心	栽培
Aa20	闽农 3	福建省食用菌种质资源保藏管理中心	栽培
Aa21	闽农 6	福建省食用菌种质资源保藏管理中心	栽培

续表 1

菌株编号	菌种名称	来源或基质	类型
Aa22	闽农 7	福建省食用菌种质资源保藏管理中心	栽培
Aa23	闽农 8	福建省食用菌种质资源保藏管理中心	栽培
Aa24	闽古 6	福建古田	栽培
Aa25	滇农 4	云南省农科院-云南省农业生物技术重点实验室	野生
Aa26	滇农 10	云南省农科院-云南省农业生物技术重点实验室	野生
Aa27	滇农 12	云南省农科院-云南省农业生物技术重点实验室	野生
Aa28	滇农 13	云南省农科院-云南省农业生物技术重点实验室	野生
Aa29	鲁泰 1	山东省泰安市农科院	栽培
Aa30	鲁泰 3	山东省泰安市农科院	栽培
Aa31	鲁农 2	山东省农科院农业资源与环境研究所	栽培
Aa32	鲁农 6	山东省农科院农业资源与环境研究所	栽培
Aa33	吉农 1	吉林农业大学食药食用菌教育部工程研究中心	野生
Aa34	浙丽	浙江丽水职业技术学院	栽培
Aa35	塔 2 大	江西省农业科学院农业应用微生物研究所	栽培
Aa36	塔城小	江西省农业科学院农业应用微生物研究所	栽培
Aa37	茶 F2	江西省农业科学院农业应用微生物研究所	栽培
Aa38	余干	江西省农业科学院农业应用微生物研究所	栽培
Aa39	WC	江西省农业科学院农业应用微生物研究所	栽培
Aa40	鲁农 1	山东省农科院农业资源与环境研究所	栽培
Aa41	鲁农 3	山东省农科院农业资源与环境研究所	栽培
Aa42	鲁农 4	山东省农科院农业资源与环境研究所	栽培
Aa43	鲁农 5	山东省农科院农业资源与环境研究所	栽培
Aa44	鲁泰 4	山东省泰安市农科院	栽培
Aa45	鲁泰 5	山东省泰安市农科院	栽培
Aa46	滇农 1	云南省农科院-云南省农业生物技术重点实验室	栽培
Aa47	滇农 2	云南省农科院-云南省农业生物技术重点实验室	栽培
Aa48	滇农 3	云南省农科院-云南省农业生物技术重点实验室	栽培
Aa49	滇农 5	云南省农科院-云南省农业生物技术重点实验室	野生
Aa50	滇农 6	云南省农科院-云南省农业生物技术重点实验室	野生
Aa51	滇农 7	云南省农科院-云南省农业生物技术重点实验室	野生
Aa52	滇农 8	云南省农科院-云南省农业生物技术重点实验室	野生
Aa53	滇农 9	云南省农科院-云南省农业生物技术重点实验室	野生
Aa54	滇农 11	云南省农科院-云南省农业生物技术重点实验室	野生
Aa55	滇农 14	云南省农科院-云南省农业生物技术重点实验室	野生
Aa56	滇农 15	云南省农科院-云南省农业生物技术重点实验室	野生
Aa57	闽农 2	福建省食用菌种质资源保藏管理中心	栽培
Aa58	闽农 5	福建省食用菌种质资源保藏管理中心	栽培
Aa59	闽古 1	福建古田	栽培
Aa60	闽古 2	福建古田	栽培
Aa61	闽古 2-2	福建古田	栽培
Aa62	闽古 3	福建古田	栽培
Aa63	闽古 3-2	福建古田	栽培
Aa64	闽古 4	福建古田	栽培
Aa65	闽古 4-2	福建古田	栽培
Aa66	闽古 5	福建古田	栽培
Aa67	闽古 5-2	福建古田	栽培
Aa68	闽古 7	福建古田	栽培
Aa69	闽古 8	福建古田	栽培

续表 1

菌株编号	菌种名称	来源或基质	类型
Aa70	沪农 1	上海市农科院食用菌研究所	栽培
Aa71	沪农 2	上海市农科院食用菌研究所	栽培
Aa72	沪农 3	上海市农科院食用菌研究所	栽培
Aa73	中农 1	中国农业科学院农业资源与农业区划研究所	栽培
Aa74	中农 2	中国农业科学院农业资源与农业区划研究所	栽培
Aa75	吉农 2	吉林农业大学食用菌教育部工程研究中心	野生
Aa76	吉农大 566	吉林农业大学食用菌教育部工程研究中心	野生
Aa77	黑农	黑龙江省牡丹江农业科学院	栽培
Aa78	苏农	江苏省农科院	栽培
Aa79	2511	江西省农业科学院农业应用微生物研究所	栽培
Aa80	2513	江西省农业科学院农业应用微生物研究所	栽培
Aa81	2516	江西省农业科学院农业应用微生物研究所	栽培
Aa82	奉新 F2	江西省农业科学院农业应用微生物研究所	栽培
Aa83	白茶(湖南)	湖南省农科院	栽培
Aa84	野生茶树菇(LC)	江西黎川,茶园	野生
Aa85	茶树菇章	上海市农科院食用菌研究所	栽培
Aa86	茶树菇 AS·C	上海市农科院食用菌研究所	栽培
Aa87	AS-3	上海市农科院食用菌研究所	栽培
Aa88	茶 3 号	上海市农科院食用菌研究所	栽培
Aa89	茶树菇 ASB	上海市农科院食用菌研究所	栽培
Aa90	茶树菇 5 号	上海市农科院食用菌研究所	栽培
Aa91	茶树菇杨 4	上海市农科院食用菌研究所	栽培
Aa92	晋农	山西农业大学	栽培

1.1.2 培养基 PDA 综合培养基:马铃薯 200 g,硫酸镁 1.5 g,琼脂 20 g,磷酸二氢钾 1.0 g,葡萄糖 20 g,水 1 000 mL。

1.1.3 主要试剂与仪器设备 DP305 植物基因组 DNA 提取试剂盒购自 TIANGEN 生化科技(北京)有限公司;Taq DNA 聚合酶、dNTP、琼脂糖、Marker DL2000 和 6 × Loading Buffer 购自宝生物工程(大连)有限公司;PCR 引物购自上海立菲生物技术有限公司;核酸染料和 RNaseA 购自北京索莱宝科技有限公司;PCR 仪(S1000TM Thermal Cycler, BIO-RAD 公司);电泳槽(PowerPacTM Basic, BIO-RAD 公司);高级凝胶成像系统(G-Box F3, SYNGENE 公司)。

1.2 方法

1.2.1 菌丝拮抗试验 参照国家行业标准 NY/T 1845-2010《食用菌菌种区别性鉴定 拮抗反应》<sup>[17]</sup>操作:将保存的试管种接种到直径 9 cm 的 PDA 平板上,25 ℃ 黑暗培养 10 d。经活化后的菌株用经灭菌的直径 0.5 cm 的打孔器在菌落边缘打取菌苔,将菌苔按“品”字形接种于直径 9 cm

的 PDA 平板上。每个平板接 3 个不同菌株,25 ℃ 黑暗培养 15 d。每个组合重复 3 次,同时保证 92 株菌株各菌株之间均按 3 个一组进行拮抗试验,观察不同菌株间是否产生拮抗反应及其拮抗类型和程度。

1.2.2 菌丝体基因组 DNA 提取 将保存的茶树菇菌株接种至 PDA 平板上活化,然后接种在铺有经灭菌的玻璃纸的 PDA 平板上,25 ℃ 黑暗培养 10 d。用接种铲轻轻刮下菌丝体,放入 1.5 mL 离心管中,称重,备用。采用 TIANGEN DP305 植物基因组 DNA 抽提试剂盒提取菌丝体基因组 DNA,采用琼脂糖凝胶电泳和生物分光光度计法检测 DNA 的纯度和浓度<sup>[18]</sup>。

1.2.3 引物筛选 根据国家行业标准 NY/T 1730-2009 列出的常用引物<sup>[19]</sup>进行多态性筛选,引物序列见表 2。选彼此具明显拮抗的 6 株菌株基因组 DNA 为模板,进行 ISSR-PCR 扩增,琼脂糖凝胶电泳检测,对 28 条 ISSR 分子标记引物进行筛选,选出电泳条带清晰、重复性好且多态性丰富的引物进行 PCR 扩增。



表 2 ISSR 分子标记的引物序列	
Table 2 The sequences of ISSR primers	
引物名称	引物序列(5'-3')
P1	TGCACACACACACAC
P2	GTGACACACACACAC
P3	GTGACGACTCTCTCTCT
P4	GGATGCAACACACACAC
P5	CGTGTGTGTGTGTGT
P6	AGTGTGTGTGTGTGT
P7	CCAGTGGTGGTGGTG
P8	GGAGTGGTGGTGGTG
P9	AGAGAGAGAGAGAGAGG
P10	GAGAGAGAGAGAGAGAC
P11	GAGAGAGAGAGAGAGAAC
P12	AGAGAGAGAGAGAGAGGC
P13	TCTCTCTCTCTCTCTCGG
P14	ACACACACACACACACCG
P15	GTGTGTGTGTGTGTGTTA
P16	TGTGTGTGTGTGTGTGGA
P17	ACACACACACACACAC
P18	ACACACACACACACACC
P19	ACACACACACACACACCT
P20	ACACACACACACACACCTG
P21	AGCAGCAGCAGCAGCAGCG
P22	AAGAAGAAGAAGAAGAAGC
P23	GAGAGAGAGAGAGAGACT
P24	CACGAGAGAGAGAGAGA
P25	GAGAGAGAGAGAGAGACC
P26	CACCACACACACACACA
P27	GTATGTATGTATGTATGG
P28	GTATGTATGTATGTATGC

1.2.4 ISSR 扩增 使用筛选出的 20 条具多态性的引物对所有茶树菇菌株进行 ISSR-PCR 扩增,采用高效率的 PCR 预混合液(TAKARA Premix Taq),ISSR 扩增体系总体积 20 μL,包括 2 × PCR Premix 10 μL,10 μmol/L 引物 1 μL,DNA 模板 1 μL,ddH<sub>2</sub>O 8 μL。ISSR 扩增反应程序:94 ℃预变性 3 min;94 ℃变性 30 s,55 ℃退火 45 s,72 ℃延伸 2 min,35 个循环;72 ℃延伸 5 min。PCR 产物经 1.5%琼脂糖凝胶电泳(凝胶中先加入 1/10 000 的 SYBR Green I 染色剂),电泳产物用凝胶成像系统(SYNGENE 公司)观察并拍照。

1.2.5 系统发育树构建 采用 SensiAnsys 软件分析电泳条带,统计 200~2 000 bp 的条带,扩增条带的有无分别记为 1 或 0,形成 0/1 数据矩阵。用 NTSYS-pc2.1 软件的算术平均非加权配组法(unweighted pair group method with arithmetic mean,UPGMA)进行遗传相似性聚类分析,构建系统发育树。

1.2.6 子实体主要差异性状测定 依据拮抗试

验和 ISSR 分子标记试验的聚类分析结果,从 92 株茶树菇菌株种质中筛选出 9 株遗传差异大的代表性菌株用于出菇试验,并测定子实体阶段的差异特征性状。具体方法如下:将 9 株茶树菇菌株分别接种到栽培袋中,每个菌株接种 30 袋(规格 17 cm×38 cm、厚度 0.045 cm 的高压聚丙烯塑料袋),放入培养室发菌培养,培养室温度 24~26 ℃,空气相对湿度 65%~70%,并进行定期通风,保持培养室空气清新,40~50 d 后,菌丝长满菌袋。而后移入菇房,采取立式出菇方式,菇房的环境温度 22~28 ℃,空气相对湿度 90%~95%,进行催蕾。现蕾后将菇房的环境温度调控至 20~24 ℃,空气相对湿度 85%~90%,光照强度 150~200 lx,进行育菇,待茶树菇子实体生长至其菌环脱落,菌盖不翻盖时即开始采收。从子实体规格(单重、菌盖直径、菌盖厚度、菌褶宽度、菌柄长度、菌柄直径(测量最大直径))、子实体颜色(菌盖颜色、菌褶颜色、菌柄颜色)和子实体形态(菌盖形态、菌褶形态、菌褶密度、菌柄有无纤毛、菌柄是否中空)三方面进行农艺性状调查(表 3),从中筛选出子实体朵型好、产量高、出菇整齐的优良菌株。使用 SPSS 软件对子实体农艺性状进行统计分析。

表 3 茶树菇菌株子实体性状分级说明			
Table 3 Classification of fruiting body characters of <i>Agrocybe aegerita</i>			
测量性状	观测方法	性状表现	性状代号
菌盖颜色	群体目测	白色	1
		浅褐色	2
		深褐色	3
		黄白色	4
菌盖形态	群体目测	凹形	1
		平形	2
		草帽形	3
		伞形	4
菌柄颜色	群体目测	白色	1
		褐色上下同色	2
		褐色由上向下逐渐变深	3
纤毛	群体目测	无	1
		有	2
菌柄中空	群体目测	是	1
		否	2
		小菇不中空,大菇中空	3
		部分中空部分不中空	4
菌褶颜色	群体目测	黑色	1
		黄白色	2
菌褶分布形态	群体目测	规则直线型	1
		断裂分叉型	2
菌褶密度	群体目测	疏	1
		密	2

## 2 结果与分析

### 2.1 拮抗试验

茶树菇不同菌株间的拮抗类型只有隆起型一种(图1)。根据拮抗试验,将92株茶树菇菌株分为27组。茶园1号、茶园2号、杨树洞1号、杨树上2号、WC、吉农1、滇农5、吉农2、滇农12、滇农13、鲁农1、滇农10、滇农15、野生茶树菇(LC)、茶树菇章和滇农6等16株菌株分别与其他91株菌株间具有明显拮抗作用,这16株菌株每株自成一组,有别于其他菌株。

茶3、茶3-800、茶3神、古1、古2、AS-1、AS-1-700、AS-2、AS-2-600、闽农6、闽古6、鲁农2、鲁农6、浙丽、塔2大、塔城小、茶F2、余干、鲁农3、鲁农5、鲁泰4、鲁泰5、滇农2、闽农2、闽古1、闽古2、闽古2-2、闽古3、闽古3-2、闽古4、闽古4-2、闽古5、闽古5-2、闽古7、闽古8、中农2、沪农1、沪农2、苏农、2516、奉新F2、茶树菇AS·C、AS-3、茶3号、茶树菇ASB、茶树菇杨4及晋农等47株菌株为一组。鲁泰3、闽农5、沪农3、黑农、2511、2513、茶5、茶5-800、白茶700、滇农14及AS-1神等11株菌株为一组。有两组各包含4株菌株,分别是滇农8、滇农9、滇农11及吉农大566为一组;鲁泰1、鲁农4、白茶(湖南)及白茶为一组。闽农1、闽农7及滇农1等3株菌株为一组;闽农8和中农1等2株菌株为一组;闽农3、滇农4、滇农3、茶树菇5号及滇农7分别单独为一组(表4)。

组内菌株之间如果不产生拮抗或拮抗反应不明显,表明它们亲缘关系很近;如果组间菌株拮抗明显,则表明它们亲缘关系较远。

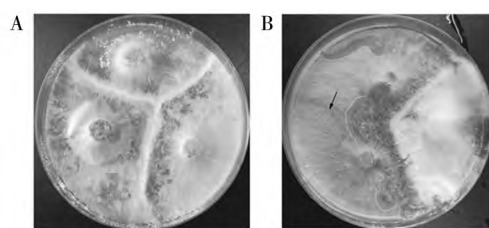


图1 茶树菇菌株间的拮抗反应及其类型

Fig.1 Antagonistic reaction types between *Agrocybe aegerita* strains

A: 隆起型; B: 箭头所示菌株间无拮抗

A: ridge type; B: no antagonistic reaction between two strains as shown by the arrows

### 2.2 引物筛选

选取相互间拮抗明显的菌株茶园1号、杨树

洞1号、吉农1、鲁农1、滇农5及茶树菇章进行引物筛选,结果表明P1、P4、P5、P6、P7、P8、P9、P10、P11、P14、P16、P17、P18、P20、P21、P22、P23、P24、P25及P26等20条ISSR引物扩增出的条带清晰,多态性高,重复性好,可供进一步试验。

### 2.3 基于ISSR分子标记构建的系统发育树

用筛选出来的20条ISSR引物对供试92株茶树菇菌株进行ISSR-PCR扩增,共产生317条扩增条带,平均每个引物扩增条带数为15.9,多态性条带为262条,多态性条带比率为82.60%。引物P24将供试菌株扩增出19条带,每个菌株扩增条带数为2~9,平均为5,P24对茶树菇基因组DNA扩增的多态性条带比率较高,为89.47%(图2),引物P26扩增的多态性条带比率相对较低,为71.67%。当遗传相似系数为0.61时,所有菌株聚为一大类群。当遗传相似系数为0.742时,可将供试92株茶树菇菌株分为6大类群,类群I包括茶园1号、茶园2号、吉农1、吉农2及WC;类群II包括杨树洞1号、杨树上2号、滇农15、滇农10、滇农13、滇农8、滇农9、滇农11及吉农大566;滇农6单独聚为类群IV;滇农12单独聚为类群V;类群VI包括鲁农1、茶树菇章及滇农5;其余73株聚为类群III,其中,滇农8、滇农9及滇农11相异系数为0;AS-2、古1、古2、茶3及茶3-800相异系数为0;AS-1-700、鲁农6、塔城小、茶F2、鲁农3、鲁农5及滇农2相异系数为0;AS-2-600、闽农6、闽古6、鲁农2、浙丽、塔2大、闽农2、闽古2、闽古2-2、闽古3、闽古3-2、闽古4-2、闽古5、闽古5-2、中农2、奉新F2、茶树菇AS·C及AS-3相异系数为0;余干、鲁泰4、苏农、2516、茶3号、茶树菇ASB、茶树菇杨4及晋农相异系数为0;闽古1和闽古7相异系数为0;闽古8及沪农1相异系数为0;闽农1、闽农7及滇农1相异系数为0;鲁泰1和鲁农4相异系数为0;鲁泰3、沪农3、黑农、2511和2513相异系数为0,说明各菌株间遗传差异小或为同一菌株。Cha3与Cha3shen,AS-2与AS-2-600,AS-1与AS-1shen、AS-1-700,分别聚在了不同的分支,说明这7株茶树菇菌株可能由于辐照或航天诱变后使得ISSR序列存在着种内的变异(图3)。系统发育分析中92株菌株聚为6大分支,应视为6个遗传株系,分支间遗传距离较大,可在遗传分支间挑选亲本菌株进行杂交育种,以便充分发挥杂交后代遗传互补优势。







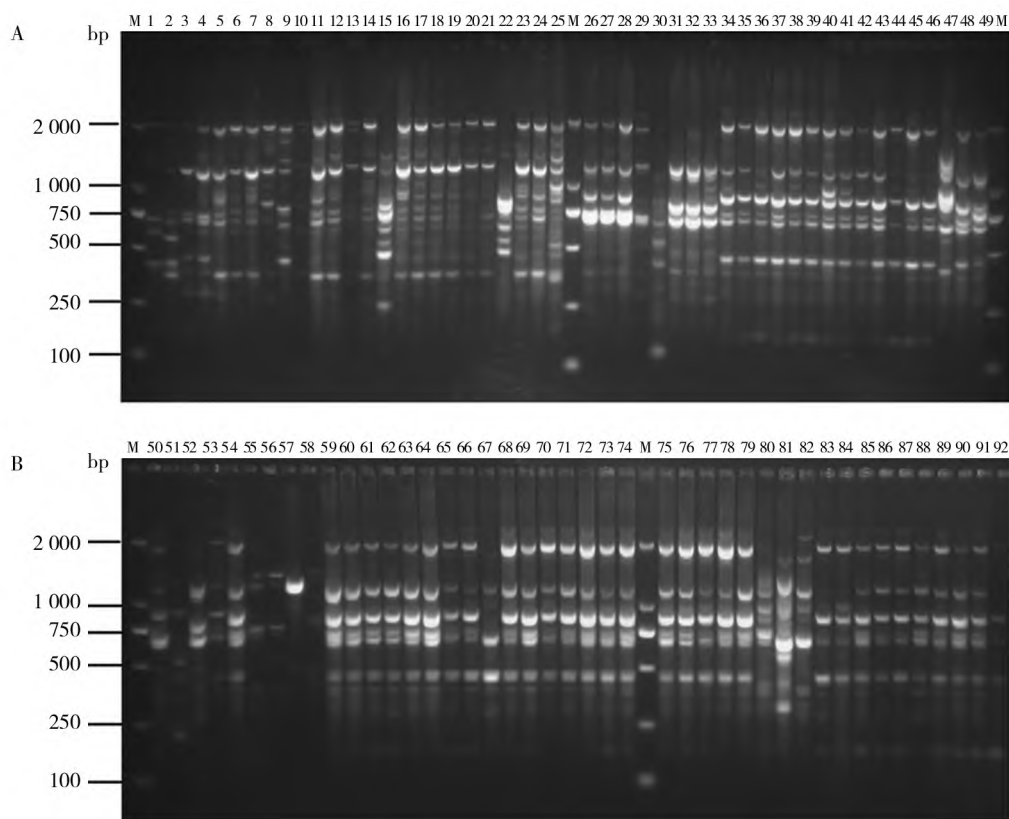


图 2 采用引物 P24 的 ISSR 标记 92 株茶树菇 PCR 扩增琼脂糖凝胶电泳图

Fig.2 Electrophoresis image of ISSR amplification in the 92 *Agrocybe aegerita* strains using primer P24

M:DL2000 Marker; A:1:茶园 1 号;2:茶园 2 号;3:杨树洞 1 号;4:杨树上 2 号;5:白茶;6:鲁泰 1;7:鲁农 4;8:白茶(湖南);9:野生茶树菇(LC);10:茶 5;11:茶 5-800;12:AS-1 神;13:闽农 3;14:鲁泰 3;15:鲁农 1;16:滇农 14;17:闽农 5;18:沪农 3;19:黑衣;20:2511;21:2513;22:茶树菇章;23:茶树菇 5 号;24:白茶 700;25:滇农 12;26:闽农 1;27:闽农 7;28:滇农 1;29:滇农 15;30:吉农 2;31:滇农 8;32:滇农 9;33:滇农 11;34:闽农 2;35:闽古 1;36:闽古 2;37:闽古 2-2;38:闽古 3;39:闽古 3-2;40:闽古 4;41:闽古 4-2;42:闽古 5;43:闽古 5-2;44:闽古 7;45:闽古 8;46:沪农 1;47:滇农 6;48:AS-2-600;49:滇农 10;50:滇农 13;51:吉农 1;52:吉农大 566;53:余干;54:茶 3 神;55:中农 1;56:闽农 8;57:WC;58:AS-1;59:AS-2;60:古 1;61:古 2;62:茶 3;63:茶 3-800;64:AS-1-700;65:闽农 6;66:闽古 6;67:滇农 4;68:鲁农 2;69:鲁农 6;70:浙丽;71:塔 2 大;72:塔城小;73:茶 F2;74:鲁农 3;75:鲁农 5;76:鲁泰 4;77:鲁泰 5;78:滇农 2;79:滇农 3;80:滇农 5;81:滇农 7;82:沪农 2;83:中农 2;84:苏农;85:2516;86:奉新 F2;87:茶树菇 AS · C;88:AS-3;89:茶 3 号;90:茶树菇 ASB;91:茶树菇杨 4;92:晋农

M: DL2000 Marker; A:1: Chayuan1hao; 2: Chayuan2hao; 3: Yangshudong1hao; 4: Yangshushang2hao; 5: Baicha; 6: Lutai1; 7: Lunong4; 8: Baicha (Hunan); 9: Yeshengchashugu (LC); 10: Cha5; 11: Cha5-800; 12: AS-1shen; 13: Minnong3; 14: Lutai3;15: Lunong1; 16: Diannong14; 17: Minnong5; 18: Hunong3; 19: Heinong; 20: 2511; 21: 2513; 22: Chashuguzhang; 23: Chashugu5hao; 24: Baicha700; 25: Diannong12; 26: Minnong1; 27: Minnong7; 28: Diannong1; 29: Diannong15; 30: Jinong2; 31: Diannong8; 32: Diannong9; 33: Diannong11; 34: Minnong2; 35: Mingu1; 36: Mingu2; 37: Mingu2-2; 38: Mingu3; 39: Mingu3-2; 40: Mingu4; 41: Mingu4-2; 42: Mingu5; 43: Mingu5-2; 44: Mingu7; 45: Mingu8; 46: Hunong1; 47: Diannong6; 48: AS-2-600; 49: Diannong10; B: 50: Diannong13; 51: Jinong1; 52: Jinongda566; 53: Yugan; 54: Cha3shen; 55: Zhongnong1; 56: Minnong8; 57: WC; 58: AS-1; 59: AS-2;60: Gu1; 61: Gu2; 62: Cha3; 63: Cha3-800; 64: AS-1-700; 65: Minnong6; 66: Mingu6; 67: Diannong4; 68: Lunong2; 69: Lunong6; 70: Zheli; 71: Ta2da; 72: Tachengxiaao; 73: ChaF2; 74: Lunong3; 75: Lunong5;76: Lutai4; 77: Lutai5; 78: Diannong2; 79: Diannong3; 80: Diannong5; 81: Diannong7; 82: Hunong2; 83: Zhongnong2; 84: Sunong; 85: 2516; 86: FengxinF2; 87: ChashuguAS · C; 88: AS-3; 89: Cha3hao; 90: ChashuguASB; 91: Chashuguyang4; 92: Jinnong

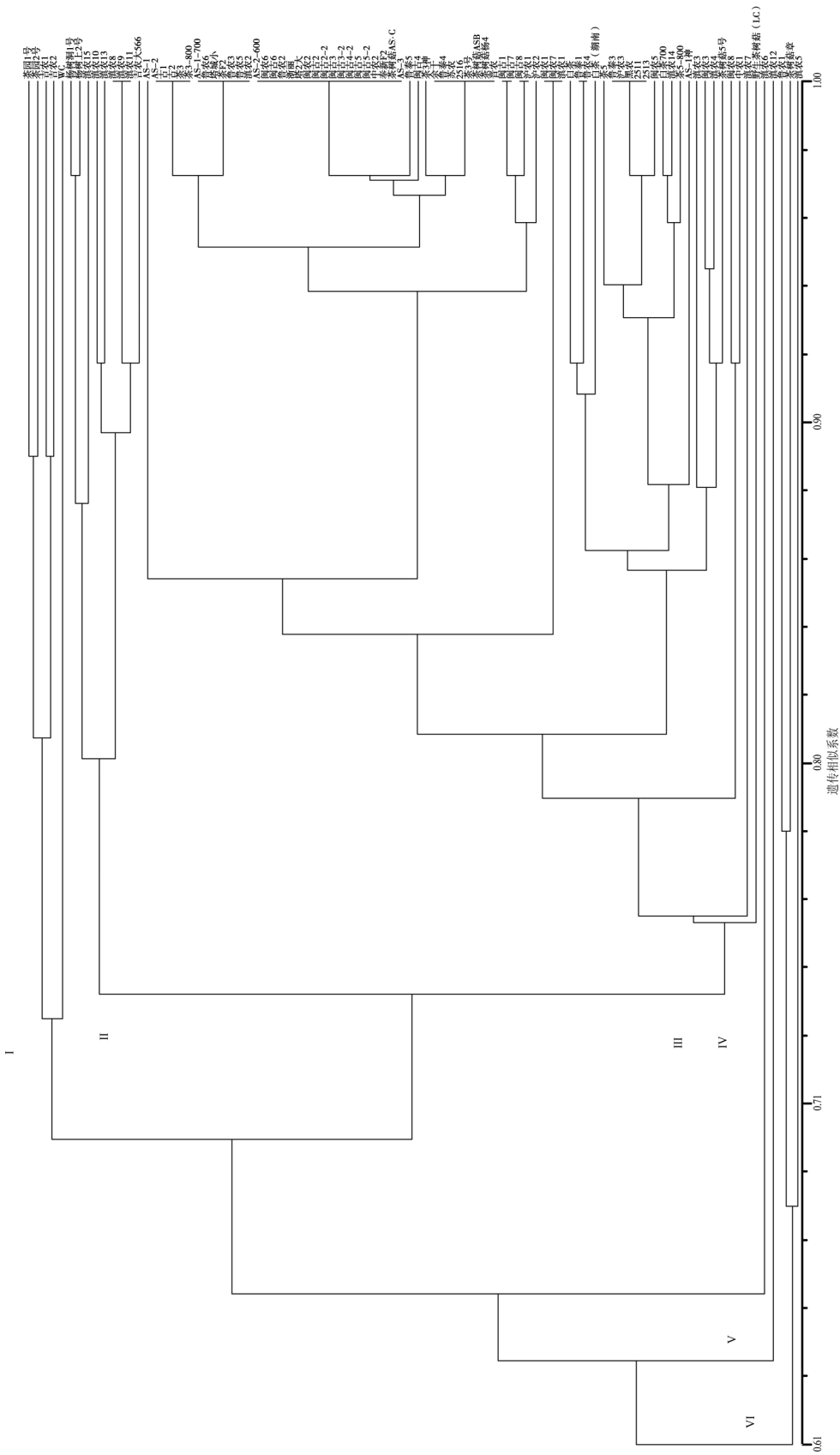


图3 基于ISSR分子标记聚类的92株茶树菇系统发育树  
Fig.3 UPCMA dendrogram of the 92 *Agroclybe aegerita* strains based on ISSR  
I~VI: 当遗传相似系数为0.742时将92株菌株分成的6个类群  
I~VI: The 92 strains were clustered in to 6 groups at a genetic similarity coefficient of 0.742

2.4 茶树菇菌株的子实体农艺性状

2.4.1 子实体农艺性状 根据 92 株菌株聚类分析结果,选择其中每个类群的代表性菌株进行出菇栽培试验。对子实体特征,如菌盖直径、菌盖厚度、菌褶宽度、菌柄直径(测量最大直径)等进行测量。供试菌株子实体阶段性状观察结果见表 5。菌盖最厚的是滇农 5 和滇农 8,菌盖直径最大的是滇农 5,菌褶最宽的是滇农 5,菌柄最长的是滇农 5,菌柄直径最大的是滇农 5,子实体单重最大的是滇农 5。通过比较,发现滇农 5 的各农艺性状表现最优。通过综合比较,初步筛选出性状较优菌株为滇农 5、滇农 14、茶 5-800、白茶、闽农 5 及滇农 8,可用作工厂化栽培生产菌种,尤其滇农 5 可优先推广。上述 9 株代表性菌株的出菇情况见图 4。

2.4.2 子实体颜色和子实体形态 表 6 给出了 9 株茶树菇菌株的子实体农艺性状分级结果。从 2.4.1 初步筛选出较优菌株为滇农 5、滇农 14、茶 5-800、白茶、闽农 5 及滇农 8。表 6 对这些菌株的子实体农艺性状分级描述如下:滇农 5、滇农 14、闽农 5 和茶 5-800 菌盖深褐色,滇农 8 菌盖黄白色,白茶菌盖白色;除了白茶菌盖凹形,其余 5 株菌盖均为草帽形;除了白茶菌柄白色,其余 5 株菌柄均为褐色且由上向下逐渐变深;6 株菌株菌柄均无纤毛;滇农 5 和滇农 8 菌柄不中空,滇农 14 菌柄大菇中空小菇不中空,白茶菌柄中空,闽农 5 和茶 5-800 菌柄部分中空部分不中空;除了滇农 5 菌褶黄白色,其余 5 株菌褶均为黑色;6 株菌褶均呈断裂分叉分布;滇农 5、闽农 5 和茶 5-800 菌褶浓密,滇农 14、白茶和滇农 8 菌褶稀疏。

表 5 9 株茶树菇菌株的子实体农艺性状  
Table 5 The fruiting body features and agronomic traits of 9 tested strains of *Agrocybe aegerita*

菌株	菌盖厚度/cm	菌盖直径/cm	菌褶宽度/cm	菌柄长度/cm	菌柄直径/cm	单菇重/g
白茶	16.66±2.71b	74.09±10.22bc	6.74±0.97bc	139.94±23.52bc	10.10±1.81bc	22.84±6.95bc
茶 5	11.79±1.68de	64.78±8.99c	6.68±1.34bc	136.54±17.77bc	8.11±1.46d	16.50±6.71c
茶 5-800	12.92±2.46cd	69.55±12.96bc	6.25±1.12c	154.56±25.57b	9.82±2.00bc	23.32±10.20bc
鲁农 6	10.61±1.60e	66.51±10.31bc	5.17±0.62d	156.33±21.49b	9.02±1.80cd	17.80±7.06c
滇农 5	19.26±1.30a	105.96±9.66a	13.07±1.56a	186.50±24.75a	11.50±0.76a	42.74±14.20a
滇农 8	20.68±1.93a	76.83±6.48b	7.36±0.70b	105.91±8.47d	8.03±0.58d	20.15±4.21bc
滇农 14	14.06±2.17c	72.21±13.53bc	6.68±0.80bc	154.33±38.87b	10.16±1.84bc	25.88±11.05b
闽农 5	14.25±2.26c	68.08±13.96bc	6.48±1.07bc	131.52±19.33c	9.08±1.32cd	20.37±8.37bc
吉农 2	10.67±1.64e	67.16±15.59bc	5.33±0.73d	137.40±15.61bc	10.88±3.12ab	22.14±12.96bc

注:不同小写字母表示在  $P<0.0001$  水平上的显著差异



图 4 9 株茶树菇菌株栽培生长的子实体特征

Fig.4 The fruiting body features of 9 tested strains of *Agrocybe aegerita* in cultivation

表 6 9 株茶树菇菌株的子实体农艺性状分级统计表  
Table 6 Statistical table of fruiting body agronomic traits of 9 strains of *Agrocybe aegerita*

菌株	菌盖颜色	菌盖形态	菌柄颜色	菌柄纤毛	菌柄中空	菌褶颜色	菌褶形态	菌褶密度
滇农 5	深褐色	草帽形	褐色且由上向下逐渐变深	无纤毛	不中空	黄白色	呈断裂分叉分布	浓密
滇农 14	深褐色	草帽形	褐色且由上向下逐渐变深	无纤毛	大菇中空,小菇不中空	黑色	呈断裂分叉分布	稀疏
吉农 2	深褐色	草帽形	褐色且由上向下逐渐变深	无纤毛	不中空	黑色	呈断裂分叉分布	浓密
白茶	白色	凹形	白色	无纤毛	中空	黑色	呈断裂分叉分布	稀疏
闽农 5	深褐色	草帽形	褐色且由上向下逐渐变深	无纤毛	部分中空,部分不中空	黑色	呈断裂分叉分布	浓密
滇农 8	黄白色	草帽形	褐色且由上向下逐渐变深	无纤毛	不中空	黑色	呈断裂分叉分布	稀疏
鲁农 6	浅褐色	草帽形	褐色且由上向下逐渐变深	无纤毛	部分中空,部分不中空	黑色	呈断裂分叉分布	浓密
茶 5	浅褐色	草帽形	褐色且由上向下逐渐变深	无纤毛	不中空	黄白色	呈断裂分叉分布	浓密
茶 5-800	深褐色	草帽形	褐色且由上向下逐渐变深	无纤毛	部分中空,部分不中空	黑色	呈断裂分叉分布	浓密

3 讨 论

随着分子生物学技术的快速发展,分子标记技术被广泛用于生物群体遗传多样性研究中<sup>[20-22]</sup>,而 ISSR 作为一种操作简单、快捷、高效的检测手段,常常用于种质资源遗传多态性分析和种内菌株亲缘关系的区分<sup>[23-24]</sup>。该技术在食用菌上主要集中于食用菌种质资源鉴定,了解种质资源的亲缘关系和亲本选择<sup>[25-29]</sup>。本研究采用菌株拮抗试验和 ISSR-PCR 分子标记的方法对 92 株茶树菇菌株间拮抗反应和遗传多样性进行了综合分析。结果表明,拮抗试验可将 92 株茶树菇菌株分为 27 组;筛选出的 20 条 ISSR 引物共扩增出 317 条清晰条带,多态性条带平均比率为 82.60%;在遗传相似系数为 0.742 时,ISSR 分子标记分析可将 92 株茶树菇菌株划分为 6 大类群,拮抗试验和 ISSR 分子标记分析的结果基本一致。通过对比农艺性状分析,初步筛选出滇农 5、滇农 14、茶 5-800、白茶、闽农 5 及滇农 8 可作为工厂化生产茶树菇菌种。

目前,茶树菇大规模栽培主要集中在福建省古田县和江西省广昌县,福建省古田县主栽品种为古 1 和古 2,江西省广昌县为 AS-1、AS-2、茶 3 及茶 5。ISSR-PCR 标记分析结果表明,在供试 92 株菌株中有 71% 的菌株可分别与两个地区的主栽品种聚在一起,29% 的菌株未聚在一起,系统发育中不同的遗传分支亲缘关系较远,栽培中可将不同菌株搭配种植,以扩大栽培菌株间的遗传背景,利于改良栽培品种结构,提高茶树菇栽培品种对环境、病虫害等因素的适应性。基于 ISSR 分析

的分子标记聚类,野生菌株大都聚在系统发育树的外围,与栽培菌株的遗传距离相对较远,野生菌株因其采自野生环境,具有特有的环境适应性、抗逆性等优良特性,能够作为优良亲本菌株在育种中得到较好应用。茶 3 与茶 3 神、AS-2 与 AS-2-600、AS-1 与 AS-1 神、AS-1-700 分别聚成不同的类群,说明这 7 株茶树菇菌株可能由于辐照或航天诱变后使得 ISSR 序列发生了种内的变异。菌株经辐照或航天诱变产生的变异可以改变菌株因长期栽培导致的菌种退化,可以选择产生有利性状的诱变菌株作为父母本进行杂交,提高后代的杂种优势。

ISSR 分子标记的聚类分析结果与拮抗分组结果相似度很高,两种试验方法相结合能够更真实准确地显示出菌株之间的亲缘关系。前期,作者曾对 92 株菌株中的 18 株菌株进行了 rDNA ITS 分析<sup>[11]</sup>,ITS 聚类分析结果与本研究结果相类似。作者又采用分子标记 ISSR、拮抗和同工酶技术对该 18 株茶树菇菌株进行了菌株分型、亲缘关系分析和农艺性状评价<sup>[30]</sup>,研究结果与本研究结果类似。另外,刘晓雪等<sup>[31]</sup>通过酯酶同工酶和 ISSR 分子标记技术对 69 株野生糙皮侧耳 (*Pleurotus ostreatus*) 单核菌株进行了遗传多样性分析。将交配型、酯酶同工酶和 ISSR 分子标记三种分类结果进行对比后发现,交配型为 A2B2 的 P11、P12、P34、P59、P73、P85 和 P90 这 7 株单核菌株均同属于一类,分类结果并没有严格按照交配型来进行归类。说明酯酶同工酶和 ISSR 分子标记技术可用于平菇单核菌株的遗传多样性研究,并可作为交配型鉴定的辅助手段,为平菇杂交育种过程



中优良亲本单核体的选择提供理论依据;高傲等<sup>[32]</sup>基于 ISSR 和 SRAP 分子标记对 22 株鸡腿菇(*Coprinus comatus*)遗传多样性和亲缘关系进行了分析。使用筛选出的 24 条 ISSR 引物和 24 对 SRAP 引物,以 22 株鸡腿菇菌株样本的基因组 DNA 为模板,共扩增出条带 368 条,其中含有多态性条带 331 条,多态性条带占总条带比为 89.90%,说明 22 株鸡腿菇菌株样本具有较为丰富的遗传多样性,可优化的菌株种类多,有利于进行杂交选育获得优势品种;王艳等<sup>[3]</sup>采用 ISSR 和 SRAP 综合分析了 42 株灰树花(*Grifola frondosa*)菌株的遗传多样性。ISSR 和 SRAP 两种分子标记的综合聚类分析结果较单独分析更准确,当遗传相似系数为 0.779 时,可将 42 株灰树花划分为 6 大类群,表明本研究中选取的 42 株灰树花菌株的遗传多样性丰富,为杂交育种的亲本选择提供了分子水平的依据;袁滨等<sup>[33]</sup>采用拮抗和 ISSR 分子标记对 11 株灰树花菌株进行了鉴定和遗传多样性分析,综合这两种方法,推测菌株 1(石家庄灰树花)与菌株 2(台灰)为同一菌株,属于同种异名现象;菌株 5(Gr0001+2)、6(CN)、7(雪圆)为同一菌株,属于同种异名现象;菌株 8(H)、9(Hokto)为同一菌株,也属于同种异名现象。菌株 3(Gr20)、菌株 4(Gr0003)为不同菌株。刘昆昂等<sup>[34]</sup>采用 rDNA-ITS 和 SRAP 综合分析了黑木耳(*Auricularia auricular* (L.ex Hook.) Underw)栽培种的遗传多样性。结果表明 ITS 和 SRAP 都能很好地对黑木耳进行聚类分析,而且产生的结果相似,结合菌株的亲合性试验能更好地用于黑木耳的遗传多样性分析;另外,鉴定结果也显示黑木耳栽培种的多态性较低,有些不同品种间遗传差异较小。研究明确了 15 株黑木耳栽培种的亲缘关系,对黑木耳属资源评价和遗传育种研究具有一定指导意义。

本研究通过拮抗试验,发现 92 株供试茶树菇菌株中部分菌株为同物异名,如滇农 8、滇农 9 及滇农 11 相异系数为 0;AS-2、古 1、古 2、茶 3 及茶 3-800 相异系数为 0;AS-1-700、鲁农 6、塔城小、茶 F2、鲁农 3、鲁农 5 及滇农 2 相异系数为 0;AS-2-600、闽农 6、闽古 6、鲁农 2、浙丽、塔 2 大、闽农 2、闽古 2、闽古 2-2、闽古 3、闽古 3-2、闽古 4-2、闽古 5、闽古 5-2、中农 2、奉新 F2、茶树菇 AS·C 及 AS-

3 相异系数为 0;余干、鲁泰 4、苏农、2516、茶 3 号、茶树菇 ASB、茶树菇杨 4 及晋农相异系数为 0;闽古 1 和闽古 7 相异系数为 0;闽古 8 和沪农 1 相异系数为 0;闽农 1、闽农 7 及滇农 1 相异系数为 0;鲁泰 1 和鲁农 4 相异系数为 0;鲁泰 3、沪农 3、黑衣、2511 及 2513 相异系数为 0。在聚类的系统发育树上相异系数为 0 的菌株彼此之间没有拮抗现象。本研究结果表明,92 株茶树菇菌株遗传多样性丰富,最大的一个类群包括 72 株菌株,与福建省古田县或江西省广昌县的主栽品种亲缘关系较近,可能是相互引种后又各自保藏命名造成。

种质资源是一个物种性状的基因载体,是品种选育的物质基础。而农艺性状测定则是种质资源开发利用及优质品种选育的基础工作,也是种质资源分类、鉴定和种质资源筛选的重要指标<sup>[35-37]</sup>。本研究综合比较茶树菇子实体农艺性状,初步筛选出滇农 5、滇农 14、茶 5-800、白茶、闽农 5 及滇农 8 具有较优良的菌株特性,可作为工厂化生产茶树菇菌种,其中滇农 5 可优先推广。本研究结果可为茶树菇菌株鉴定、菌种管理、杂交育种等研究工作提供参考。

致谢:向给本研究提供材料的所有单位和老师一并表示感谢。

#### 参考文献:

- [1] 刘祈猛,刘郁林,陈明辉,等.田头菇属的系统分类学研究进展[J].中国食用菌,2020,39(5):1-7,16.
- [2] 王贺祥.食用菌学[M].北京:中国农业大学出版社,2004:213-214.
- [3] 王艳,万鲁长,黄春燕,等.采用 ISSR 和 SRAP 综合分析灰树花的遗传多样性[J].食用菌学报,2019,26(3):26-36.
- [4] Du P, Cuibk, Zhang CF, et al. Genetic diversity of wild *Auricularia auricular-judae* revealed by ISSR analysis[J]. Biochemical Systematics and Ecology, 2013, 48: 199-205.
- [5] Yin YG, Liu Y, Wang SX, et al. Examining genetic relationships of Chinese *Pleurotus ostreatus* cultivars by combined RAPD and SRAP markers[J]. Mycoscience, 2013, 54(3): 221-225.
- [6] Yuan F, Yu H, Zuo SM, et al. Development of EST-SSR for preliminary analysis of genetic diversity of *Cordyceps militaris* [J]. Biochemical Systematics and Ecology, 2015, 58: 126-131.
- [7] Liu XB, Feng B, Li J, et al. Genetic diversity and breeding history of winter mushroom (*Flammulina velutipes*) in China uncovered by genomic SSR markers[J]. Gene, 2016, 591

- (1): 227-235.
- [8] 王金斌, 刘华, 郭陈莉, 等. 中国工厂化主栽双孢蘑菇品种的 SSR 标记遗传多样性分析[J]. 分子植物育种, 2019, 17(5): 1589-1596.
- [9] 任梦云, 陈彦君, 张盾, 等. ISSR 标记技术在药用植物资源中的研究进展及应用[J]. 生物技术通报, 2017, 33(4): 63-69.
- [10] 方宜钧, 吴为人, 唐纪良. 作物 DNA 标记辅助育种[M]. 北京: 科学出版社, 2000: 27-28.
- [11] 王洪秀, 魏云辉, 靳亮, 等. 基于 ITS 序列分析 18 个茶树菇菌株的亲缘关系[J]. 西南农业学报, 2016, 29(9): 2038-2044.
- [12] 谭琦, 严培兰, 詹才新, 等. 利用 RAPD 技术对不同地理环境下柳松菇菌株亲缘关系的分析[J]. 上海农业学报, 1999, 15(4): 18-21.
- [13] 鲍大鹏, 王南, 陈明杰, 等. 采用 ARDRA 和 RAPD 对柳松菇 (*Agrocybe aegerita*) 菌株遗传多样性的分析[J]. 上海农业学报, 2001, 17(1): 18-22.
- [14] 王筱凡. 茶树菇农艺性状分析及 EST-SSR 标记的应用[D]. 南昌: 南昌大学, 2012.
- [15] 何莹莹, 陈卫民, 赵永昌, 等. 云南田头菇属两个物种遗传多样性的 AFLP 分析[J]. 北方园艺, 2012(21): 85-88.
- [16] 姜性坚, 尹永刚, 王小艳, 等. 湖南地区柱状田头菇的 AFLP 分析[J]. 食用菌学报, 2013, 20(1): 25-30.
- [17] 中国农业科学院农业资源与农业区划研究所, 农业部微生物肥料和食用菌菌种质量监督检验测试中心. NY/T 1845-2010 食用菌菌种真实性鉴定拮抗反应[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.
- [18] 楚海娇. 玉米基因组 DNA 不同提取方法及提取部位的比较研究[J]. 农业与技术, 2016, 36(23): 30-32.
- [19] 中国农业科学院农业资源与农业区划研究所, 农业部微生物肥料和食用菌菌种质量监督检验测试中心. NY/T 1730-2009 食用菌菌种真实性鉴定 ISSR 法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2009.
- [20] 仇律雯, 杨扬, 范亚明, 等. 国家东南区鲜食糯玉米品质及农艺性状与 SSR 标记遗传多样性分析[J]. 江苏农业科学, 2022, 50(18): 130-135.
- [21] 赫卫, 张慧. 基于表型性状和 SRAP 标记的观赏用辣椒种质资源遗传多样性分析[J]. 中国瓜菜, 2022, 35(1): 16-23.
- [22] 李辉玲, 张建文, 李守明. 基于 SSR 标记的新疆大蒜及其野生蒜种遗传多样性及聚类分析[J]. 江苏农业科学, 2022, 50(18): 158-163.
- [23] 陈兆贵, 张荃锋, 卢晓琪, 等. 基于 ISSR 分子标记的冬种马铃薯品种遗传多样性分析[J]. 湖南农业科学, 2022(1): 8-11.
- [24] 张永吉, 苏芑, 张瑛, 等. 慈姑种质资源 ISSR 遗传多样性分析[J]. 扬州大学学报(农业与生命科学版), 2022, 43(4): 110-116.
- [25] 陆欢, 尚晓冬, 宋春艳, 等. 基于 ISSR 标记和农艺性状的金顶侧耳种质资源遗传多样性分析[J]. 食用菌学报, 2022, 29(6): 14-24.
- [26] 吴碧君, 刘小英. 大杯蕈遗传多样性的 ISSR 分析[J]. 浙江农业科学, 2022, 63(3): 614-618.
- [27] 宋吉玲, 王伟科, 陆娜, 等. 基于农艺性状和 ISSR 标记的秀珍菇遗传多样性分析[J]. 南方农业学报, 2022, 53(1): 173-181.
- [28] 罗燕娜, 王静静, 李旭东, 等. 双孢蘑菇 A15 菌株的 ISSR 分子标记聚类分析[J]. 分子植物育种, 2022, 20(2): 473-478.
- [29] 柯丽娜, 黄艺宁, 袁滨, 等. 主栽毛木耳菌株农艺性状及 ISSR 遗传分析[J]. 福建农业学报, 2021, 36(7): 771-778.
- [30] 王洪秀, 孙鹏, 安颖, 等. 18 个茶树菇菌株的亲缘关系分析及农艺性状评价[J]. 中国农学通报, 2022, 38(1): 23-31.
- [31] 刘晓雪, 王强, 张彬彬, 等. 基于酯酶和 ISSR 技术的平菇单核菌株遗传多样性分析[J]. 江苏农业科学, 2022, 50(9): 27-32.
- [32] 高傲, 刘宇, 宋庆港, 等. 基于 ISSR 和 SRAP 分子标记的 22 株鸡腿菇遗传多样性和亲缘关系分析[J]. 中国食用菌, 2021, 40(4): 92-98.
- [33] 袁滨, 柯丽娜, 黄艺宁, 等. 应用拮抗和 ISSR 方法综合鉴定灰树花菌株[J]. 福建农业学报, 2019, 34(4): 393-399.
- [34] 刘昆昂, 马宏, 刘萌, 等. 采用 rDNA-ITS 和 SRAP 综合分析黑木耳栽培种的遗传多样性[J]. 分子植物育种, 2021, 19(24): 8223-8232.
- [35] 贾娇. 大球盖菇种质资源评价及配套栽培技术研究[D]. 汉中: 陕西理工大学, 2022.
- [36] 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.
- [37] 刘昊. 金针菇种质资源遗传多样性及主要农艺性状分析[D]. 长春: 吉林农业大学, 2016.