

羊肚菌育种的策略及建议

贺国强 魏金康 胡晓艳
(北京市农业技术推广站,北京 100029)

摘要:对羊肚菌品种存在的问题和育种的遗传基础进行概述,提出了基于交配型基因标记的羊肚菌杂交育种策略,并对羊肚菌品种选育工作提出了有效扩充基因库、目标导向性开展品种选育、加强选育品种保护的建议,为羊肚菌育种工作开辟了新思路。

关键词:羊肚菌;育种;品种选育;交配型

Strategies and Suggestions for *Morchella* Breeding

HE Guoqiang, WEI Jinkang, HU Xiaoyan
(Beijing Agricultural Technology Promotion Station, Beijing 100029)

羊肚菌(*Morchella*)属于子囊菌门,盘菌亚门,盘菌纲,盘菌目,羊肚菌科,是一类在亚热带和温带分布广泛的食用菌,因其子囊果上部的菌帽部分具有蜂窝状凹坑,形似羊肚而得名。羊肚菌味道鲜美,是较为名贵的野生食用菌。20世纪80年代以来,羊肚菌的室内栽培获得成功,并申请了专利^[1-2],随后在21世纪初,外援营养袋的成功应用使得羊肚菌室外大田栽培获得成功^[3],这对于羊肚菌产业化发展起到了重要的推动作用。我国羊肚菌栽培产业发展迅速,种植面积由2012年的200hm²,迅速增长到2022年的16750hm²左右。然而,在羊肚菌产业快速发展的背景下,羊肚菌品种选育工作却较为滞后,不能满足产业发展的需要,限制着羊肚菌产业的健康和稳定发展。

1 羊肚菌品种存在的问题

羊肚菌是一个属的概念,并不是指单一的一个物种。因此,羊肚菌的品种选育首先要了解羊肚菌的分类体系。按目前分子系统发育学的多基因联合分类方法标准,羊肚菌属被分为3个支系,即黄色羊肚菌支系(*Esculenta* clade)、黑色羊肚菌支系(*Eлата* clade)(包括黑色和半开两个类群)和变红羊

肚菌支系(*Rufobrunnea* clade)。目前羊肚菌能栽培出菇的有8个种^[4]:黑色类群的7个物种(*Mel-13*、*Mel-21*、*M. sextelata*、*M. exuberans*、*M. importuna*、*M. oweri*、*M. eximia*),变红类群的1个物种(*M. rufobrunnea*),而黄色类群至今仍未有可栽培出菇的物种。在羊肚菌商业化大规模栽培中,常用到的主要是黑色类群中的3个物种^[5],即梯棱羊肚菌(*Mel-10*)、六妹羊肚菌(*Mel-6*)、七妹羊肚菌(*Mel-7*)。

品种指在一定的生态和经济条件下,经自然或人工选择形成的动、植物群体,其遗传性稳定,有较高的经济价值,食用菌也适用于此品种概念。目前羊肚菌品种通过登记的较少,仅有四川省农业科学院选育的川羊系列(梯棱羊肚菌:川羊1号^[6]、川羊5号^[7];七妹羊肚菌:川羊7号;六妹羊肚菌:川羊6号^[8]、川羊9号),中国科学院昆明植物研究所选育的昆植系列(六妹羊肚菌:昆植1号^[9]、昆植2号),贵州省土壤肥料研究所选育的黔羊肚菌1号^[10](六妹羊肚菌),中华全国供销合作总社昆明食用菌研究所选育的中菌羊肚菌1号^[11]等。最近有单位着手开展羊肚菌的新品种权登记保护,如由南阳市科学院培育的羊肚菌南农1号已获得农业农村部2023年首批授权食用菌新品种。但市场上羊肚菌品种却“层出不穷”,名称命名混乱,对引进、驯化、育种不进

行区分,对物种、品种、菌株不进行区分,乱象丛生,所谓的“品种”并不是通过正规的育种途径获得的。

2 羊肚菌的遗传基础

2.1 羊肚菌的交配型基因 交配型(*MAT*)基因是有性生殖的关键调控因子,决定真菌物种的交配策略,包括异源性(自交不亲和)、初级源性(自亲和)或次级源性(自我亲和)。子囊菌的有性生殖由单一交配位点 *MAT1* 调控,位点上有 *MAT1-1* 或 *MAT1-2* 两种交配型,两者之间源性极低,可称为同源异构体 *idiomorph*。异宗配合(*heterothallism*)的子囊菌的单倍体核上只存在 *MAT1-1* 或 *MAT1-2* 两种同源异构体中的一种,因此,需要具有互补交配型的单孢菌株结合才能完成有性生殖。

羊肚菌属于子囊菌。羊肚菌属中 38 个物种^[4]均含有 *MAT1-1-1* 基因和 *MAT1-2-1* 基因,33 个物种含有 *MAT1-1-10* 基因(*M.rufobrunnea* 未检测到, *M.tridentina*、*M.semilibera*、*Mel-21*、*M.dunalii* 不含有), *M.sexatellata*、*M.eximia*、*M.exuberans*、*M.importuna*、*Mel-14*、*M.eximioides*、*M.snyderi* 7 个物种含有 *MAT1-1-11* 基因。因此,交配型位点基因可以作为羊肚菌品种选育中重要的分子标记。

2.2 羊肚菌的交配系统 交配类型是根据其识别和交配不同性细胞类型的能力,用于定义真菌个体的性身份,进而确定生殖方式。研究表明,38 个羊肚菌属的物种中,除 *M.rufobrunnea*、*Mel-24*、*Mel-27*、*M.steppicola* 4 个物种未确认外,其余 34 个物种均有异宗配合的现象^[4,12-14],需要 2 种不同交配型基因(*Mat1-1-1* 或 *Mat1-2-1*)的同时存在才能完成有性生殖过程,形成可育的子实体(子囊果)。然而,在 *M.sexatellata*、*M.importuna* 和 *Morchella* sp.、*Mes-15*^[4,15] 中报道了假同宗结合现象,发现了携带 *MAT1-1* 和 *MAT1-2* 基因的单子囊孢子,解释了栽培种“单孢菌株出菇”的现象。因此,羊肚菌属是以异宗配合为主要生活史的真菌。

3 羊肚菌育种策略

根据目前对羊肚菌的交配系统和生活史的认识,形成以下品种选育的技术路线(图 1)。其流程包括:搜集种质资源进行筛选,收集单孢(或多孢),进行单孢(或多孢)杂交,经过筛选(初筛和复筛),获得具有优良性状和特性的目标子囊果,进行组织分离,获得菌株,进行生产中试。

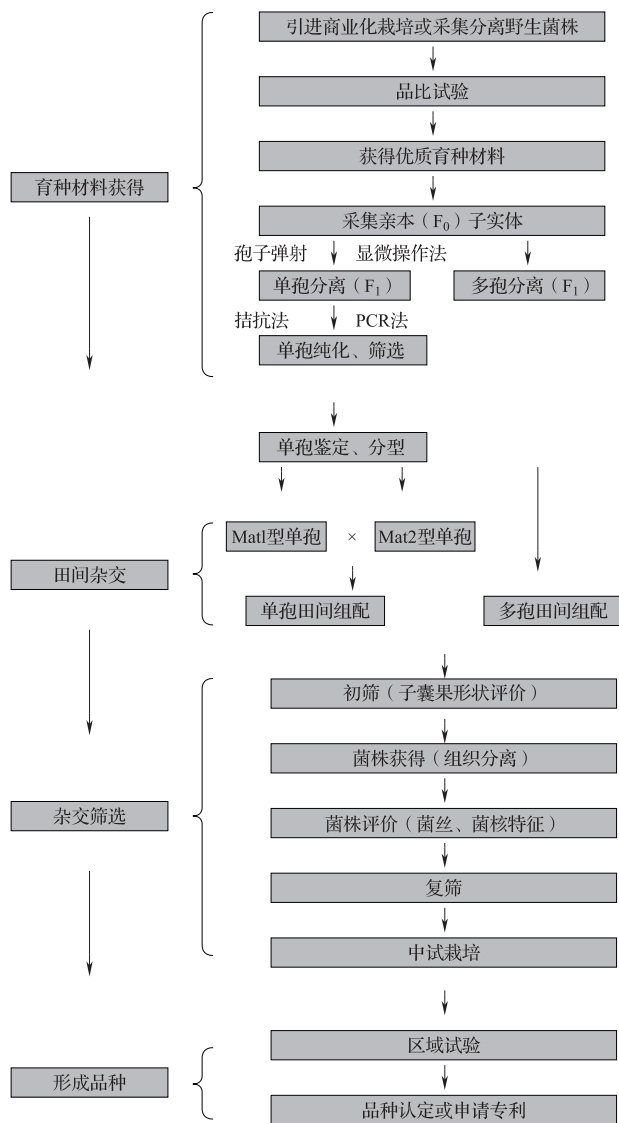


图 1 羊肚菌品种选育技术路线

3.1 育种材料的获得

3.1.1 组织分离 目前在羊肚菌的栽培中,制种者大多采用组织分离的方法获得栽培菌株用于生产中,但是羊肚菌的菌丝细胞存在多个细胞核^[15],而且羊肚菌随着组织分离、转代次数增加等因素,会导致细胞核不均等迁移,菌株中的其中 1 种基因型逐渐减少或衰退^[16-17],无法完成有性生殖的过程,从而无法出菇。因此,在品种选育过程中通过组织分离获得优选子囊果的组织分离菌丝体必须经过交配型基因的检测,确保同时含有 2 种交配型基因,才能用于下一步生产中。

3.1.2 单孢分离 利用自然弹射法收集羊肚菌的子囊孢子。采用梯度稀释法或显微操作技术分离羊肚菌单个子囊孢子。两种方法都需要首先采用无菌水

或50%的无菌甘油溶液将羊肚菌孢子制成悬浮液,然后进行稀释,涂布平板或挑取单孢,待18~20℃避光培养约36~48h形成单菌落后及时切取菌丝生长末端的单根菌丝,转接至新的培养基内,即获得纯化的单孢菌丝。获得的单孢菌株需要经过交配型基因检测以验证挑取是否成功。

3.1.3 多孢分离 多孢分离是直接收集羊肚菌子囊果弹射的孢子于平板上或制备成悬浮液,稀释到合适的浓度,再涂布到平板上,置于18~20℃室内避光培养,待孢子萌发并形成絮状菌丝体后,转接培养,进行纯化。

3.2 田间杂交

3.2.1 单孢杂交 收集的不同交配型的单孢菌株,分别制备成羊肚菌栽培种,两两之间进行组配,进行田间混合播种,进行出菇。

3.2.2 多孢杂交 获得多孢菌株直接制备成羊肚菌栽培种,然后播种,进行出菇。

3.3 筛选 以原基形成能力及分化情况,子囊果性状、产量、抗病性等为指标进行初筛和复筛,获得具有优良性状和特性的目标子囊果,进行组织分离,获得杂交后菌株,也可以记录单孢组合的编号,将该组合的对应单孢菌株作为下一步制种的目标材料。

4 羊肚菌育种建议

4.1 有效扩充基因库

4.1.1 广泛收集野生种质资源 羊肚菌在世界范围内分布较为广泛,尤其是温带地区。从平原到海拔3000m的山区均有野生羊肚菌的分布。野生羊肚菌是重要的种质资源,许多种类的羊肚菌还没有被驯化栽培,含有丰富多样的基因,是一个巨大的基因库,有助于羊肚菌的品种选育。

4.1.2 重视栽培资源的收集 虽然目前大规模栽培的羊肚菌主要集中在六妹羊肚菌、梯棱羊肚菌、七妹羊肚菌,但是由于长时间的栽培,这些种类的羊肚菌也表现出了对不同栽培地区和设施的适应性,其实这是一个定向选择的过程。因此,这些田间栽培的羊肚菌也是一个巨大的基因库,积累了羊肚菌的很多变异,有助于品种选育。

4.2 目标导向性开展品种选育

4.2.1 开展与生产设施匹配的羊肚菌品种选育

任何品种都有其适应性,应针对不同地区、不同设施类型设定育种目标,从而选育具有不同适应性的品

种。一方面,针对不同地区选育适合当地的品种,以适应当地自然环境,会给生产者带来较高的经济利益;另一方面,针对不同设施选育适合当地的品种,如日光温室、春秋大棚、工厂化设施条件内环境因子有较大差异,为此选育适应各自生长条件的品种对于获得优质高产羊肚菌品种十分必要。

4.2.2 开展抗逆品种选育 羊肚菌属于低温菌类,对高温的耐受性较差,尤其是原基和幼菇期,对高温和低温耐受性都较差,一旦遇到25℃以上的高温 and 5℃以下的低温,很容易造成原基和幼菇死亡。因此,在品种选育中将其对温度的适应性作为筛选指标,有助于获得稳产。同时羊肚菌出菇期子囊果也易受到染镰刀菌的为害,从而发生白霉病,其蔓延迅速,使子囊果失去商品性,常常造成减产和绝产。为此,选育对白霉病具有一定抗性的品种也具有重要意义。

4.2.3 具有优良商品性的品种选育 羊肚菌品种选育除了关注其高产、稳产、抗逆性外,还需要关注其子囊果的性状,即选育具有优良商品性的品种。这其中包括子囊果的形状(菇型)、菇肉厚度、颜色以及特殊风味。目前市场上公认的优质羊肚菌为:菇柄细短、菇帽细长、菇肉厚,颜色黑,香味浓郁。这也是羊肚菌品种筛选的主要指标。

4.3 加强选育品种保护 在新修订的《种子法》中,食用菌未被列入登记目录,但羊肚菌已被列入植物品种保护目录。因此,新品种保护将是未来羊肚菌品种知识产权保护的主要手段。而寻找所选育的羊肚菌菌株的特异性分子标记,SNP、RFLP等技术将是品种保护的有效手段。

参考文献

- [1] Ower R D. Notes on the development of the morel ascocarp: *Morchella esculenta*. Mycologia, 1982, 74 (1): 142-144
- [2] Ower R D, Gary L M, James A M. Cultivation of *Morchella*. US: 4594809. 1986-06-17
- [3] 刘伟, 张亚, 蔡英丽. 我国羊肚菌产业发展的现状及趋势. 食药菌, 2017, 25 (2): 77-83
- [4] Du X H, Yang Z L. Mating systems in true morels (*Morchella*). Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2021, 85 (3): e0022020
- [5] 赵永昌, 柴红梅, 陈卫民. 理性认识羊肚菌产业发展诸多问题. 食药菌, 2018, 26 (3): 121-127
- [6] 陈影, 彭卫红, 甘炳成, 唐杰, 黄忠乾, 王勇. 羊肚菌新品种‘川羊肚

(下转第39页)

- 藜1号的选育. 贵州农业科学, 2022, 50 (6): 1-4
- [13] Muhammad A, Foolad M R. Crop breeding for salt tolerance in the era of molecular markers and marker-assisted selection. Plant Breeding, 2013, 132 (1): 10-20
- [14] Jarvis D E, Ho Y S, Lightfoot D J, Schmöckel S M, Li B, Borm T J, Ohyanagi H, Mineta K, Michell C T, Saber N, Kharbatia N M, Rupper R R, Sharp A R, Dally N, Boughton B A, Woo Y H, Gao G, Schijlen E G, Guo X, Momin A A, Negrão S, Al-Babili S, Gehring C, Roessner U, Jung C, Murphy K, Arold S T, Gojobori T, Linden C G, van Loo E N, Jellen E N, Maughan P J, Tester M. The genome of *Chenopodium quinoa*. Nature, 2017, 542 (7641): 307-327
- [15] Paterson A H, Kolata A L. Genomics: Keen insights from quinoa. Nature, 2017, 542 (7641): 300-302
- [16] Zou C, Chen A, Xiao L, Muller H M, Ache P, Haberer G, Zhang M, Jia W, Deng P, Huang R, Lang D, Li F, Zhan D, Wu X, Zhang H, Böhm J, Liu R, Shabala S, Hedrich R, Zhu J K, Zhang H. A high-quality genome assembly of quinoa provides insights into the molecular basis of salt bladder-based salinity tolerance and the exceptional nutritional value. Cell Research, 2017, 27 (11): 1327-1340
- [17] Yasui Y, Hirakawa H, Oikawa T, Toyoshima M, Matsuzaki C, Ueno M, Mizuno N, Nagatoshi Y, Imamura T, Miyago M, Tanaka K, Mise K, Tanaka T, Mizukoshi H, Mori M, Fujita Y. Draft genome sequence of an inbred line of *Chenopodium quinoa*, an allotetraploid crop with great environmental adaptability and outstanding nutritional properties. DNA Research, 2016, 23 (6): 535-546
- [18] Viktória A, Pedro M S, Danilo C M, Muhammad W K, Alicia H, Forough K, Graeff-Hönniger S, Cinzia P. Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.): An overview of the potentials of the “Golden Grain” and socio-economic and environmental aspects of its cultivation and marketization. Foods, 2020, 9 (2): 216
- [19] Rojas W, Soto J L, Catrasco E. Study on the social, environmental and economic impacts of quinoa promotion in Bolivia. Proinpa foundation, La Paz, Bolivia, 2004
- [20] Kolano B, Siwinska D, Pando L G, Szymanowska-Pulka J, Maluszynska J. Genome size variation in *Chenopodium quinoa* (*Chenopodiaceae*). Plant Systematics and Evolution, 2012, 298 (1): 251-255
- [21] Maughan P J, Turner T B, Coleman C E, Elzinga D B, Jellen E N, Morales J A, Udall J A, Fairbanks D J, Bonifacio A. Characterization of *Salt Overly Sensitive 1* (SOS1) gene homoeologs in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). Genome, 2009, 52 (7): 647-657
- [22] Bazile D, Jacobsen S E, Verniau A. The global expansion of quinoa: Trends and limits. Front in Plant Science, 2016, 9 (7): 622
- [23] Li F, Guo X H, Liu J X, Zhou F, Liu W Y, Wu J, Zhang H L, Cao H F, Su H Z, Wen R Y. Genome-wide identification, characterization, and expression analysis of the NAC transcription factor in *Chenopodium quinoa*. Genes, 2019, 10 (7): 500
- [24] Coles N D, Coleman C E, Christensen S A, Jellen E N, Steven M R, Bonifacio A, Rojas-Beltrán J A, Fairbanks D J, Maughan P J. Development and use of an expressed sequenced tag library in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) for the discovery of single nucleotide polymorphisms. Plant Science, 2005, 168 (2): 439-447
- [25] 张体付, 戚维聪, 顾闽峰, 张晓林, 李坦, 赵涵. 藜麦 EST-SSR 的开发及通用性分析. 作物学报, 2016, 42 (4): 492-500
- [26] Maughan P J, Smith S M, Rojas-Beltrán J A, Elzinga D, Raney J A, Jellen E N, Bonifacio A, Udall J A, Fairbanks D J. Single nucleotide polymorphism identification, characterization, and linkage mapping in quinoa. Plant Genome, 2012, 5: 114-125
- [27] 陆敏佳, 蒋玉蓉, 陆国权, 陈国林, 毛前. 利用 SSR 标记分析藜麦品种的遗传多样性. 核农学报, 2015, 29 (2): 260-269
- [28] 陆敏佳, 莫秀芳, 王勤, 陆国权, 蒋玉蓉. 藜麦基因组 DNA 提取方法的比较. 江苏农业科学, 2014, 42 (4): 42-45

(收稿日期: 2023-11-09)

(上接第34页)

- 菌1号’. 园艺学报, 2016, 43 (11): 2289-2290
- [7] 陈影, 唐杰, 彭卫红, 甘炳成, 黄忠乾, 王勇. 羊肚菌新品种‘川羊肚菌5号’. 园艺学报, 2017, 44 (9): 1831-1832
- [8] 陈影, 唐杰, 彭卫红, 甘炳成, 黄忠乾, 王勇. 羊肚菌新品种‘川羊肚菌6号’. 园艺学报, 2017, 44 (12): 2431-2432
- [9] 赵琪. 羊肚菌新品种介绍. 菌物研究, 2021, 19 (4): 214-295
- [10] 金琳山, 陈波, 王晓敏, 朱森林, 张邦喜, 张钦语, 杨仁德. 羊肚菌新品种‘黔羊肚菌1号’. 园艺学报, 2023, 50 (S1): 91-92
- [11] 刘春丽, 刘绍雄, 李建英, 尚陆娥, 张俊波, 毛宗洪, 罗孝坤, 华蓉, 孙达锋. 羊肚菌新品种“中菌羊肚菌1号”选育. 中国食用菌, 2020, 39 (10): 6
- [12] Chai H M, Chen L J, Chen W M, Zhao Q, Zhang X L, Su K M, Zhao Y C. Characterization of mating-type idiomorphs suggests that *Morchella importuna*, *Mel-20* and *M-sextelata* are heterothallic. Mycological Progress, 2017, 16: 743-752
- [13] Du X H, Zhao Q, Xia E H, Gao L Z, Richard F, Yang Z L. Mixed-reproductive strategies, competitive mating-type distribution and life cycle of fourteen black morel species. Scientific Report, 2017, 7 (1): 1493
- [14] Liu W, Chen L F, Cai Y L, Zhang Q, Bian Y B. Opposite polarity monospore genome de novo sequencing and comparative analysis reveal the possible heterothallic life cycle of *Morchella importuna*. International Journal of Molecular Sciences, 2018, 19 (9): 2525
- [15] 柴红梅, 马渊浩, 刘萍, 陈卫民, 陶南, 赵永昌. 单孢分离菌株的异核不对称特性揭示梯棱羊肚菌为假同宗结合真菌. 菌物学报, 2022, 41 (10): 1607-1618
- [16] 刘伟, 蔡英丽, 何培新, 边银丙. 羊肚菌组织分离物交配型基因缺失现象分析. 食用菌学报, 2020, 27 (3): 1-6
- [17] 曾婷婷. 羊肚菌菌种的交配型研究. 长沙: 湖南师范大学, 2019

(收稿日期: 2023-10-22)