

Research Progress on Genetic Diversity and Cultivation of *Morchella*

Lijun Gao, Xueru Wang, Bin Liu*

College of Agriculture/Institute of Edible Mushroom, Guangxi University, Nanning Guangxi
Email: 1287250619@qq.com, [†]liubin@gxu.edu.cn

Received: Feb. 28th, 2020; accepted: Mar. 13th, 2020; published: Mar. 20th, 2020

Abstract

Morchella is a genus of edible and medicinal mushroom with high nutritional value, abundant wild resources and high economic value. The fruit bodies of *Morchella* are affected by environmental factors, which causes their morphological characteristics are variable and the species to be confused with each other. In this article, research progress related to genetic diversity and cultivation of *Morchella* have been reviewed several molecular markers applied in genetic diversity of *Morchella* and the current state of artificial cultivation in China were also discussed, a reference for the correct classification of *Morchella* and its commercial-scale cultivation.

Keywords

Morchella, Genetic Diversity, Cultivation

羊肚菌遗传多样性与栽培的研究进展

高丽君, 王雪儒, 刘 斌*

广西大学农学院/食用菌研究所, 广西 南宁
Email: 1287250619@qq.com, [†]liubin@gxu.edu.cn

收稿日期: 2020年2月28日; 录用日期: 2020年3月13日; 发布日期: 2020年3月20日

摘 要

羊肚菌是一种营养价值高, 野生资源丰富, 经济价值极高的食药菌。羊肚菌的子实体受环境因素影响导致其形态特征多变, 物种鉴定困难。本文从遗传多样性和栽培两方面对羊肚菌的研究现状进行综述,

*通讯作者。

分析几种常用于羊肚菌遗传多样性研究的分子生物学方法, 也对近年来国内外人工栽培羊肚菌的情况加以总结, 以期对羊肚菌的准确鉴定和大田规模化人工栽培提供理论依据。

关键词

羊肚菌, 遗传多样性, 栽培

Copyright © 2020 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

羊肚菌(*Morchella*)是一种外表与羊肚极其相似, 具有食药两用的珍稀食用菌, 其营养价值较高, 别名为阳雀菌、羊肚蘑和羊肚菇等, 为国内外消费者所喜爱[1]。羊肚菌富含人体所需的各种维生素和必需氨基酸, 可被烹饪成各类美味佳肴。中国古代就有羊肚菌被使用并作为药材食用的记录, 我国药典《本草纲目》中记载羊肚菌, 的功效为: 性平, 味甘, 益肠胃, 补肾纳气, 化痰理气补脑提神, 消化助食, 化痰理气。羊肚菌的子实体富含粗蛋白和氨基酸, 其中天门冬氨酸和谷氨酸的含量普遍较高, 且羊肚菌富含的多糖具有抗衰老的作用[2]-[5]。

2. 羊肚菌的遗传多样性

羊肚菌属(*Morchella*)隶属于子囊菌门(Ascomycota)盘菌目(Pezizales)羊肚菌科(Morchellaceae) [6], 其模式种为 *Morchella esculenta* (L.) Pers。羊肚菌在全球不同国家都有分布, 容易被气候、生长环境和地域等因素影响, 且羊肚菌的营养方式和生活史不同于其它食用菌, 羊肚菌菌核的形成是其生长过程中的关键环节, 菌核是由菌丝在不利条件下产生的。一是羊肚菌子囊孢子萌发形成的初生菌丝不发生质配产生, 二是初生菌丝发生质配成为异核菌丝, 异核菌丝再形成菌核, 继而发育形成子实体, 导致了其子实体的形态多变及物种界定困难, 同物异名和异物同名现象普遍[7], 羊肚菌属的种类划分复杂又多变, 目前根据形态特征不同, 可分为 4 个主要类群: 黄色羊肚菌类、黑色羊肚菌类、半开羊肚菌类和变红羊肚菌类群[8]-[12]。分子标记是目前羊肚菌遗传多样性研究最常用的有效方法。不同标记具有各自的优缺点, 合理选择标记极为重要。

2.1. 利用 RAPD, AFLP 和 ISSR 进行分析

Singh 等[13]利用 RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA, 随机扩增多态性 DNA 标记)分析技术对经单孢分离得到的 46 个羊肚菌菌株进行系统学分析, 是首次报道随机引物在羊肚菌系统分析的应用。陈吉岳等[14]利用 RAPD 分析技术对 15 个来自国内各地的羊肚菌菌株进行分析, 其结果表明这 15 个菌株之间存在较大的遗传差异。Irfan 等[15]利用 RAPD 技术对 3 种羊肚菌进行系统发育分析, 其中两个物种聚在一起, 与第三个物种不同, 但它们之间却密切相关。刘伟等[16]运用特异性 RAPD-SCAR (Sequence Characterized Amplified Regions)标记技术对 36 个采集自国内 12 个不同省份的羊肚菌栽培菌株进行分析, 可将具有特异性条带的菌株 AA02 和 AA15 与其他菌株鉴别出来, 表明 RAPD 分子标记可以用来评价其遗传多样性。

陈立佼等[17]利用 AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism, 扩增片段长度多态性)技术对 49

个单孢分离和1个组织分离得到的尖顶羊肚菌菌株进行遗传多样性分析,这些菌株可被划分为11个族群,49个单孢分离得到的菌株被划分为4组,结果显示它们的多态性指数一致。刘文丛等[18]利用ISSR(Inter-simple Sequence Repeat,简单序列重复区扩增多态性)技术分析了56个羊肚菌菌株的遗传多样性,证实了羊肚菌的亲缘关系与其地理距离明显相关。杨艳等[19]利用ISSR技术分析了18个羊肚菌菌株的遗传多样性,得出的结论为18个菌株之间的遗传多样性很明显。曹君等[20]利用ISSR技术对辽宁地区野生和栽培的羊肚菌共计29株进行多态性分析,其结果表明辽宁地区人工栽培和野生羊肚菌具有明显的遗传差异性。

2.2. 利用 rDNA ITS 序列进行分析

张华[21]对18个羊肚菌菌株进行了ITS序列分析,发现5个菌株不是羊肚菌,13个菌株被鉴定为羊肚菌的4个菌种。刘文丛等[18]利用ITS序列分析对滇西北的8株羊肚菌进行鉴定。王龙等[22]利用ITS序列分析对甘肃甘南7株野生羊肚菌进行鉴定。杨燕等[19]利用ITS序列分析对18个羊肚菌菌株进行鉴定。易思华等[23]使用ITS序列分析对新疆天山山脉的10株野生羊肚菌进行鉴定。曹君等[20]利用ITS技术对辽宁地区野生和栽培的羊肚菌共计29株进行鉴定。利用rDNA ITS序列可以进行不同羊肚菌的系统发育分析和物种鉴定,能够较好地地区分大部分物种,却与形态学分类存在一定差异,鉴定不够准确。

2.3. 利用 GCPSR 分析

由于rDNA ITS序列鉴定羊肚菌种类不够准确,2000年Taylor等人提出了GCPSR(Genealogical Concordance Phylogenetic Species Recognition,多基因联合分析法),通过扩增特定的基因片段,再用测序得到的核苷酸序列构建相应的系统发育树,即可将物种界定,目前该技术被广泛应用于真菌的系统发育学研究中[24][25][26]。O'Donnell等人[27]于2011年最早利用GCPSR(LSU + EF1a + RPB1 + RPB2)的方法对羊肚菌属进行系统发育研究,得出羊肚菌属可划分成3个支系:黑色羊肚菌支系(Elata Clade)、黄色羊肚菌支系(Esculenta Clade)和变红羊肚菌支系(Rufobrunnea Clade)的结论。杜习慧等[28]于2014年利用GCPSR(ITS + RPB1 + RPB2 + LSU + EF1a)的方法进行分析,得出羊肚菌属可由61个系统发育物种构成,包括黑色羊肚菌支系33种、黄色羊肚菌支系27种和变红羊肚菌支系1种。武冬梅[24]于2015年利用GCPSR分析(ITS + RPB1 + RPB2 + EF1a)将23株采自新疆的野生羊肚菌进行分析,结果显示该地区羊肚菌属由7种物种组成。Badshah等[29]利用GCPSR(RPB1 + RPB2 + TEF1)对采自巴基斯坦的野生羊肚菌进行了分析,得出该野生羊肚菌为*Morchella pulchella*(黑色羊肚菌支系)的结论。

3. 羊肚菌的人工栽培

早在19世纪中后期,一些欧美国家的羊肚菌爱好者就开始研究如何人工种植羊肚菌。美国学者Ower于1982年首次报道羊肚菌人工栽培获得成功,并于1986年获得了人工种植羊肚菌的专利(专利号为US4866878),专利中指出成功栽培羊肚菌的要点是促使羊肚菌形成菌核,并用大水灌溉刺激原基产生[30][31]。这是人工栽培羊肚菌的一大进步。2005年,Miller和Stewart[32]申请了人工种植羊肚菌的专利(专利号为US6951074),专利中指出羊肚菌菌丝必须与植物(苹果树*Malus pumila* M、桃树*Amygdalus persica* L、榆树*Ulmus pumila*、松树*Pinus L*等)相互作用,才能促使羊肚菌发生。我国羊肚菌人工栽培始于1953年,刘波[33]在林中腐殖质含量高的落叶层中接种羊肚菌子实体和菌丝体均可获得羊肚菌子实体。2008年,朱斗锡[34]提出室外荫棚畦式栽培法,在室外成功地栽培羊肚菌。从2012年开始,人工种植羊肚菌技术取得长足发展,栽培范围逐渐由川渝地区、云南地区逐渐向全国发展,且种植面积逐渐增长。

羊肚菌是一种低温好氧型真菌,环境对羊肚菌的生长发育影响极大,其生长发育的必须条件是氧气

充足、通风良好、温度不宜过高且有温差、适当的光照。通过长年的科学研究和种植者的经验积累,至今人们已经掌握一套能够种植羊肚菌的技术。对野生羊肚菌的生境进行调查,李旺[35]发现承德地区的野生羊肚菌的分布广泛,但原基形成后对湿度和温度极为敏感。王尚荣等[36]发现菏泽黄河冲积平原野生羊肚菌多发地的土壤为弱碱性,且透气性好。陈光平等[37]在对贵州宽阔水保护区内大型子囊菌调查时发现,有5种羊肚菌,有木生也有土生。

目前羊肚菌仿生栽培也取得一定的成果,张洪路等[38]研将羊肚菌与小麦间作栽培,且亩产75~80 kg。牛潇宇[39]在毛竹林中栽培羊肚菌,鲜产量可达0.15 kg/m²。高新楼等[40]在郑州市林木地区进行羊肚菌的仿生栽培,并在林下搭建小拱棚提高了人工栽培的生存率。仿生栽培是人工产业化栽培的一个过渡期,只有在不断尝试的过程中不断积累经验,才能成功地规模化栽培羊肚菌。

近年来我国大力发展羊肚菌人工栽培产业,七年间羊肚菌栽培面积增长24倍之多,且主栽区主要在四川、云南、贵州等地[41]。羊肚菌人工栽培模式主要是以蔬菜大棚作为主体,施加外源营养袋作为营养生长阶段的养分供给,通过人为调节氧气和二氧化碳浓度、湿度、光照和水分等条件,再根据栽培地区的环境因素加以调整来达到人工栽培的目的[42] [43] [44]。

4. 展望

我国地域辽阔,自然资源丰厚,植物和气候类型多样,现有的羊肚菌种质资源研究显示,野生羊肚菌资源还有待进一步的研究。利用GCPSR、RAPD、AFLP和ISSR技术能够准确地揭示羊肚菌的遗传多样性,为羊肚菌属的分类提供可靠信息,促进我国发现本土的菌种资源,并提高本土野生资源的利用率。

羊肚菌人工栽培技术在随着科技的进步而不断发展中,出现的问题也多种多样,必须以生产实践为指导,结合科学研究结果才能更好的推进羊肚菌栽培的发展,也才能为后续室内栽培、工厂化栽培提供理论和生产证据。

基金项目

广西重点研发计划项目(桂科AB18221047);国家现代农业产业技术体系广西食用菌创新团队建设基金项目(nycytxgxcxt-d-07-01)。

参考文献

- [1] 李华,包海鹰,李玉.羊肚菌研究进展[J].菌物研究,2004,2(4):53-60.
- [2] 张勇,李宏文,曹晋良,等.食品科技[J].食品科技,2019,44(1):103-107.
- [3] 刘蓓,吴素蕊,朱萍,等.滇西北地区4种羊肚菌营养成分分析比较[J].食品工业科技,2012,33(1):363-365.
- [4] 赵琪,康平德,戚淑威,等.羊肚菌资源现状及可持续利用对策[J].西南农业学报,2010,23(1):266-269.
- [5] 闫永兰.酶提羊肚菌子实体多糖的抗氧化和抗衰老作用[J].中国食用菌,2020,39(1):42-60.
- [6] Hibbett, D., Binder, M., Bischoff, J.F., et al. (2007) A Higher-Level Phylogenetic Classification of the Fungi. *Mycological Research*, **111**, 509-547. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2007.03.004>
- [7] 杜习慧,赵琪,杨祝良.羊肚菌的多样性、演化历史及栽培研究进展[J].菌物学报,2014,33(2):1-16.
- [8] Guzmán, G. and Tapia, F. (1998) The Known Morels in Mexico, a Description of a New Blushing Species, *Morchella rufobrunnea*, and New Data on *M. guatemalensis*. *Mycologia*, **90**, 705-714. <https://doi.org/10.1080/00275514.1998.12026960>
- [9] Volk, T.J. and Leonard, T.J. (1989) Experimental Studies on Themorel. I. Heterokaryon Formation between Monoas-cosporous Strains of *Morchella*. *Mycologia*, **81**, 523-531. <https://doi.org/10.1080/00275514.1989.12025783>
- [10] Bunyard, B.A., Nicholson, M.S. and Royse, D.J. (1994) A Systematic Assessment of *Morchella* Using RFLP Analysis of the 28S Ribosomal Gene. *Mycologia*, **86**, 762-772. <https://doi.org/10.1080/00275514.1994.12026481>

- [11] Wipf, D., Munch, J.C., Botton, B. and Buscot, F. (1996) DNA Polymorphism in Morels: Complete Sequences of the Internal Transcribed Spacer of Genes Coding for rRNA in *Morchella esculenta* (Yellow Morels) and *Morchella conica* (Black Morels). *Applied and Environmental Microbiology*, **62**, 3541-3543. <https://doi.org/10.1128/AEM.62.9.3541-3543.1996>
- [12] 杜习慧. 黑色羊肚菌支系的物种资源、生殖模式和遗传多样性研究进展[J]. 菌物研究, 2019, 1(4): 240-251.
- [13] Singh, S.K., Kamal, S., Tiwari, M., et al. (2004) Arbitrary Primer Based RAPD: A Useful Genetic Marker for Species Identification in Morels. *Plant Biochemistry & Biotechnology*, **13**, 7-12. <https://doi.org/10.1007/BF03263183>
- [14] 陈吉岳, 刘培贵. 国产羊肚菌菌株的 RAPD 鉴别[J]. 云南植物研究, 2004, 26(4): 434-438.
- [15] Irfan, M., Yang, S., Luo, Y.X., et al. (2017) Genetic Diversity Analysis of *Morchella* sp. by RAPD. *Molecular Biology Research Communications*, **6**, 27-31.
- [16] 刘伟, 兰阿峰, 张倩倩, 等. 羊肚菌栽培菌株遗传多样性分析及特异性 RAPD-SCAR 标记开发[J]. 菌物学报, 2018, 37(12): 1650-1660.
- [17] 陈立佼, 柴红梅, 黄兴奇, 等. 尖顶羊肚菌遗传多样性的 AFLP 分析[J]. 食用菌学报, 2013, 20(2): 12-19.
- [18] 刘文丛, 刘颖, 郭相, 等. 滇西北地区羊肚菌的分子鉴定及其系统学和遗传多样性研究[J]. 江苏农业科学, 2012, 40(3): 31-34.
- [19] 杨燕, 田鸿, 张小平, 等. 基于 ITS 和 ISSR 的羊肚菌种质资源遗传多样性分析[J]. 西南农业学报, 2018, 31(10): 2004-2009.
- [20] 曹君, 王红, 张敏, 等. 辽宁地区野生和栽培羊肚菌 ITS 序列及 ISSR 多态性分析[J]. 中国食用菌, 2019, 38(2): 37-41.
- [21] 张华. 基于菌丝体的羊肚菌鉴定及分子系统学研究[D]: [硕士学位论文]. 洛阳: 河南科技大学, 2009.
- [22] 王龙, 秦鹏, 王生荣, 等. 甘肃甘南野生羊肚菌 rDNA 的 ITS 序列分析[J]. 草原与草坪, 2014, 34(6): 41-44.
- [23] 易思华, 张媛, 孙燕飞, 等. 新疆天山山脉地区野生羊肚菌 ITS 分析鉴定[J]. 中国食用菌, 2019, 38(11): 47-51.
- [24] 武冬梅. 新疆野生羊肚菌分子系统学和遗传多样性研究[D]: [博士学位论文]. 北京: 中国农业大学, 2015.
- [25] Taşkın, H., Büyükalaca, S., Dogan, H.H., et al. (2010) A Multigene Molecular Phylogenetic Assessment of True Morels (*Morchella*) in Turkey. *Fungal Genetics and Biology*, **47**, 672-682. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2010.05.004>
- [26] Taşkın, H., Büyükalaca, S., Hansen, K. and O'Donnell, K. (2012) Multilocus Phylogenetic Analysis of True Morels (*Morchella*) Reveals High Levels of Endemics in Turkey relative to Other Regions of Europe. *Mycologia*, **104**, 446-461. <https://doi.org/10.3852/11-180>
- [27] O'Donnell, K., Rooney, A.P., Mills, G.L., et al. (2011) Phylogeny and Historical Biogeography of True Morels (*Morchella*) Reveals an Early Cretaceous Origin and High Continental Endemism and Provincialism in the Holarctic. *Fungal Genetics and Biology*, **48**, 252-265. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2010.09.006>
- [28] 杜习慧, 赵琪, 杨祝良. 羊肚菌的多样性、演化历史及栽培研究进展[J]. 菌物学报, 2014, 33(2): 1-16.
- [29] Badshah, H., Ali, B., Shah, S.A., et al. (2018) First Record of *Morchella pulchella* from Pakistan. *Mycotaxon*, **133**, 201-207. <https://doi.org/10.5248/133.201>
- [30] Ower, R.D. (1982) Notes on the Development of the Morel Ascocarp *Morchella esculenta*. *Mycologia*, **74**, 142-144. <https://doi.org/10.1080/00275514.1982.12021480>
- [31] Ower, R.D. and Mill, G. (1986) Cultivation of *Morchella*: United States, US4866878 (A).
- [32] Miller, G. and Stewart, C. (2005) Cultivation of *Morchella*: United States, US6951074.
- [33] 杨新美. 中国食用菌栽培学[M]. 北京: 农业出版社, 1988.
- [34] 朱斗锡. 羊肚菌人工栽培研究进展[J]. 中国食用菌, 2008, 27(4): 3-5.
- [35] 李旺. 承德野生羊肚菌生态环境调查[J]. 河北林业科技, 2010, 4(2): 31-33.
- [36] 王尚荣, 刘高峰, 赵贵红. 菏泽黄河冲积平原羊肚菌资源及生态环境调查[J]. 中国食用菌, 2008, 27(6): 12-14.
- [37] 陈光平, 邓春英, 李继祥, 等. 贵州宽阔水大型子囊菌及其资源评价[J]. 贵州科学, 2016, 34(4): 13-17.
- [38] 张洪路, 张华东. 大棚羊肚菌和小麦间作羊肚菌栽培技术[J]. 山东蔬菜, 2010(3): 43-44.
- [39] 牛潇宇. 毛竹林食用菌的生态复合经营模式研究[D]: [硕士学位论文]. 杭州: 浙江农林大学, 2016.
- [40] 高新楼, 李宾, 田芳, 等. 郑州地区羊肚菌林下栽培技术[J]. 蔬菜, 2019(12): 307-308.
- [41] 刘伟, 张亚, 蔡英丽. 我国羊肚菌产业发展的现状及趋势[J]. 食药菌, 2017, 25(2): 77-83.

-
- [42] 刘福阳, 王爱仙, 王怡暄, 等. 大棚栽培条件下不同羊肚菌菌株及遮阴处理对比试验[J]. 食用菌, 2018(5): 67-70.
- [43] 张志刚. 陇南山区小麦粒栽培羊肚菌技术[J]. 农业科学, 2018, 8(3): 220-223.
- [44] 赵航轲, 彭浩, 卢雨欣. 汉中地区羊肚菌人工栽培菌种初步选育研究[J]. 中国食用菌, 2019, 38(8): 17-20+27.