

DOI: 10.16861/j.cnki.zggc.2025.0644

可栽培黄色羊肚菌 *Mes-21* 组织分离物 交配型基因缺失现象分析

王如江¹, 孙文化², 方若天¹, 王海彦³, 张文昌¹,
孔维丽², 何培新¹, 刘伟⁴, 王少波⁵

(1. 郑州轻工业大学食品与生物工程学院 郑州 450001; 2. 河南省农业科学院食用菌研究所 郑州 450002;
3. 洛阳大荒野生态农业有限公司 河南洛阳 471000; 4. 云南民族大学民族医药学院 昆明 650201;
5. 洛阳祥旺农业科技有限公司 河南栾川 471500)

摘要: 为揭示可栽培黄色羊肚菌 *Mes-21* 组织分离物是否存在交配型缺失现象, 以深化对其人工栽培不稳定性的理解, 本研究采用自行设计的通用引物, 利用 PCR 扩增反应结合扩增产物测序验证, 检测了 *Mes-21* 单孢分离物和组织分离物的交配型基因, 并分析了组织分离物培养性状与交配型基因缺失间的关联性。单孢分离物的检测结果表明, 96.30% 的单孢菌株只含有两种交配型基因中的一种, 证实 *Mes-21* 为异宗结合真菌。在 56 份 2025 年组织分离物中, 有 34 个菌株只检测到一种交配型基因, 交配型基因缺失率高达 60.71%。在 7 份 2024 年组织分离物中, 不能出菇的 5 个菌株中有 4 个只含有一种交配型基因, 而 3 个交配型基因完整的菌株有 2 个可以出菇。培养性状与交配型基因缺失间的关联性分析表明, 组织分离菌株的菌丝生长速度与交配型基因缺失之间没有明显关联性, 而菌核产生较晚和色素产生较早的菌株交配型基因缺失的概率较大。总之, 本研究发现 *Mes-21* 组织分离物存在严重的交配型基因缺失现象, 这可能是其人工栽培不稳定的原因之一。

关键词: 羊肚菌; 驯化栽培; 生产不稳定; 交配型基因; 菌落萌发

中图分类号: S646.7 文献标志码: A 文章编号: 1673-2871(2026)03-027-07

Analysis of mating type gene deletion phenomenon in tissue isolates of the cultivable yellow morel *Mes-21*

WANG Rujiang¹, SUN Wenhua², FANG Ruotian¹, WANG Haiyan³, ZHANG Wenchang¹, KONG Weili²,
HE Peixin¹, LIU Wei⁴, WANG Shaobo⁵

(1. School of Food and Biological Engineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450001, Henan, China; 2. Institute of Mushroom, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, Henan, China; 3. Luoyang Wilderness Ecological Agriculture Co., Ltd., Luoyang 471000, Henan, China; 4. School of Ethic Medicine, Yunnan Minzu University, Kunming 650201, Yunnan, China; 5. Luoyang Xiangwang Agricultural Technology Co., Ltd., Luanchuan 471500, Henan, China)

Abstract: To reveal the existence of mating type deletion in isolates of the cultivable yellow morel *Mes-21* and thus promote the understanding of the instability of its artificial cultivation, the self-designed universal primers were used to detect the mating type genes of the *Mes-21* single-spore isolates and tissue isolates through PCR amplification combined with sequencing verification of the amplified products. Moreover, the correlation between the culture traits of the tissue isolates and the deletion of the mating type genes was analyzed. The detection of single spore isolates suggested that 96.30% tested strains harbored one kind of mating type gene, which confirmed the heterothallic nature of *Mes-21*. Moreover, in 56 tissue isolates separated in 2025, only one kind of mating type gene was detected in 34 strains, accounting for 60.71% of the total isolates. In 7 tissue isolates separated in 2024, 4 out 5 sterile strains harbored one mating type gene, while 2 strains out of 3 fertile strains harbored both mating type genes. The initial correlation analysis between the culture characteristics of tissue isolates and the mating type gene deletion indicated an obvious irrelevance between mating type

收稿日期: 2025-09-09; 修回日期: 2025-11-06

基金项目: 河南省现代农业产业技术体系(HARS-22-08-S)

作者简介: 王如江, 男, 在读硕士研究生, 主要从事发酵工程研究。E-mail: 1283760024@qq.com

通信作者: 何培新, 男, 教授, 主要从事蕈菌生物技术研究。E-mail: peixinhe191@163.com

刘伟, 男, 讲师, 主要从事大型真菌生物学与栽培技术研究。E-mail: zhenpingliuwei@163.com

gene deletion and mycelial growth rate. However, the probability of mating type gene deletion may be higher in strains with slower sclerotial formation and faster pigment production. Overall, this research indicated significant phenomenon of mating type gene deletion in tissue isolates of *Mes-21*, which may constitute one of the main reasons for its artificial cultivation instability.

Key words: Morel; Domestication; Production instability; Mating type gene; Colony germination

羊肚菌隶属于子囊菌门盘菌纲羊肚菌科羊肚菌属 (*Morchella* Dill. ex Pers.), 为备受推崇的名贵食药兼用真菌, 不仅香味浓郁、味道鲜美、质地独特, 富含蛋白质、膳食纤维、维生素和矿物质, 碳水化合物和脂肪含量低, 具有较高的食用价值; 而且还含有多糖、酚类化合物、生育酚和麦角甾醇等生物活性物质, 具有增强人体免疫功能、提供抗氧化保护、防治心血管疾病和维持消化系统健康等功效, 成为保健品和药品行业中的潜在功能食品^[1-5]。基于多基因谱系一致性系统发育物种识别, 可将羊肚菌分为黄色羊肚菌支系 (*esculenta* clade)、黑色羊肚菌支系 (*elata* clade) 和变红羊肚菌支系 (*rufobrunnea* clade)^[6-8]。目前, 黑色羊肚菌支系中的梯棱羊肚菌 (*M. importuna*)、六妹羊肚菌 (*M. sextelata*)、七妹羊肚菌 (*M. eximia*) 和 *Mel-21* (*M. diversa*) 等, 变红羊肚菌支系中的变红羊肚菌 (*M. rufobrunnea*) 已经实现了人工栽培, 而黄色羊肚菌支系的物种鲜有人工栽培的报道。近年来, 源自河南洛阳的野生黄色羊肚菌 *Mes-21* 成功实现了驯化栽培^[9], 但缺乏系统的理论研究和技术开发。

真菌的交配型位点 (mating type locus, MAT) 是调控真菌交配系统、有性繁殖方式和子实体发育的关键位点^[10-11]。子囊菌的有性生殖由单一交配位点 MAT1 调控, 位点上有同源性极低的 2 种交配型 (MAT1-1 或 MAT1-2), 因此用同位异宗 (idiomorph) 来命名^[12]。异宗结合 (heterothallism) 子囊菌的单倍体核上只存在 MAT1-1 或 MAT1-2 同位异宗的 1 种, 有性生殖需要具有互补交配型的单孢菌株结合; 同宗结合 (homothallism) 子囊菌的单倍体基因组中, MAT1-1 和 MAT1-2 连锁或者分散性地共同存在, 一个单孢菌株即能完成有性生殖。若物种的单子囊孢子中同时存在具有互补交配型的细胞核, 一个单孢菌株可完成有性生殖, 则为二级同宗结合 (secondary homothallism) 或者假同宗结合 (pseudohomothallism)^[12-13]。尽管有占比较低的假同宗结合和异核体子囊孢子发生的情况^[13-15], 目前我国大规模人工栽培应用的黑色羊肚菌的有性生殖方式仍以异宗结合为主^[16-21]。组学证据也表明, 2 种交配型所代表的核型, 在基因组序列、基因表达量

和基因功能上存在较大差异, 两种交配型基因核型的完整性应该是完整生活史 (出菇) 体现的关键^[19]。然而, 可栽培黑色羊肚菌的组织分离物 (特别是菌柄组织分离物) 存在着明显的交配型基因缺失现象, 即部分组织分离物只包含 1 种交配型基因, 这样的菌株用于人工栽培, 可能会导致不出菇或产量较低, 是黑色羊肚菌人工栽培不稳定的原因之一^[22-27]。因此, 对于羊肚菌规模化生产, 有必要测定潜在生产菌株的基因型完整性, 保证存在 2 种交配型基因^[16, 22, 26, 28]。

黄色羊肚菌 *Mes-21* 已经初步实现了人工栽培。然而, 2024—2025 年生产季在河南、山东、湖北、四川等地的小规模栽培发现, 其人工栽培存在着不稳定现象: 播种较早 (2024 年 8 月和 9 月份播种) 的地块部分出菇, 但产量较低 (鲜菇 0~50 g·m⁻²); 播种较晚 (10 月份以后) 的地块均没有出菇。造成 *Mes-21* 人工栽培不稳定的原因较多。由于 *Mes-21* 是异宗结合真菌^[29], 用于栽培的组织分离菌株交配型基因缺失也可能是原因之一。笔者测定了 2024 年 7 个 *Mes-21* 试验栽培菌株的交配型, 发现其存在交配型分离现象, 单一交配型的菌株均没有出菇。然而, 由于样品数量太少, 该结果可能不具有代表性。鉴于此, 本研究测定了 54 株 *Mes-21* 单子囊孢子分离物的交配型基因, 验证其异宗结合属性; 并测定 63 株菌盖组织分离菌株 (包括 7 株 2024 年试验栽培菌株) 的交配型基因, 了解 *Mes-21* 组织分离物是否存在交配型基因缺失现象, 明确交配型缺失能否成为该黄色羊肚菌人工栽培不稳定的原因之一, 以期为我国黄色羊肚菌人工驯化栽培和规模化推广应用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 供试菌株及培养基

1.1.1 单孢分离菌株 从福星 5 号 (FX-5) 栽培子囊果通过单孢分离获得, 共 54 株, 编号 S01~S54。福星系列栽培菌株均为 *Mes-21* 野生种质的驯化菌株。

1.1.2 组织分离菌株 2025 年 4 月份, 从 FX-5、福星 W 号 (FX-W) 栽培的子囊果, 以及河南省灵宝市

采集的野生黄色羊肚菌子囊果(LB-W)经菌盖组织分离获得 56 株,其中 FX-5 有 17 株(编号 T01~T17)、FX-W 有 12 株(编号 T18~T29)、LB-W 有 27 株(编号 T30~T56);2024 年 4 月经菌盖组织分离获得 7 株用于小规模试验栽培,包括福星 2 号(FX-2)、福星 3 号(FX-3)、FX-5 和 FX-W 各 1 株、LB-W 有 3 株(LB-W-1、LB-W-2 和 LB-W-3)。所有菌株经多基因谱系一致性系统发育物种识别^[9],均为黄色羊肚菌 *Mes-21*。

1.1.3 培养基 菌株的分离和培养采用 CYM 培养基:葡萄糖 20 g,蛋白胨 2.0 g,酵母浸粉 2.0 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.50 g, KH_2PO_4 0.46 g, K_2HPO_4 1.0 g,琼脂 20 g,超纯水 1 L, pH 自然, 121 °C 灭菌 20 min。菌丝体液体培养采用 CYM 液体培养基(上述配方不加琼脂)。

1.2 菌种分离

1.2.1 单孢分离 将新鲜采集的 FX-5 栽培子囊果去除杂质,切除菌柄,将干净菌盖置 A4 打印纸上过夜。待孢子弹射后,将携带孢子的纸张分割为 1 cm × 2 cm 的长条,置无菌小培养皿(直径 6 cm)密封,4 °C 保藏待用。采用毛细管分离单孢^[15],置于 CYM 平板(直径 9 cm)上,22 °C 避光培养,观察到菌丝萌发后,将其转接 CYM 斜面,培养至菌丝满管后 4 °C 保存备用。

1.2.2 组织分离 采用短生长管法进行菌盖组织分离,22 °C 避光培养^[9]。当菌丝生长至生长管另一端时,取菌丝块转接新的 CYM 斜面,培养至菌丝满管后 4 °C 保存备用。

1.3 菌株栽培试验

2024 年 4 月分离的 7 个菌株用于当年的栽培试验,在洛阳市栾川县羊肚菌基地完成,每个菌株 5 m²。栽培技术参考黑色羊肚菌的冷棚土壤法栽培^[30]。菌种和营养袋的配方为(w):玉米芯 54%,小麦粒 45%,生石灰 1%。播种时间为 2024 年 9 月 7 日,播种量为 0.3 kg · m⁻²。施加外援营养袋时间为 2024 年 9 月 16 日,密度为 6 个 · m⁻²(营养袋湿质量 0.6 kg 左右)。施加外援营养袋后,菇畦表面覆盖黑色透光地膜,直到 2025 年 3 月 15 日催菇,撤去地膜。浇透水催菇后,架设小拱棚,保持近地面温度 6~15 °C,空气相对湿度 90%左右。

1.4 基因组 DNA 提取

菌丝体培养采用液体培养法。从供试菌株的活化培养平板打取 5 mm 见方的菌种块 4~5 块,接入 100 mL 的 CYM 液体培养基(250 mL 锥形瓶)

中,22 °C 静置培养 7 d,用接种针轻轻剥去老菌块,菌丝体用无菌去离子水清洗 2~3 遍,用无菌滤纸吸干水分,立即使用或 -80 °C 保存备用。

称取约 0.5 g 菌丝体加液氮充分研磨,菌粉置 1.5 mL 离心管中,用 700 μL CTAB 提取缓冲液悬浮,65 °C 水浴 20~30 min,4 °C 12 000g 离心 10 min,上清液加入 700 μL 氯仿-异戊醇(体积比 24:1)沉淀蛋白质 2 次,离心后,往上清液加入等体积的无水异丙醇沉淀 DNA,用 70%和 100%乙醇洗涤风干后重悬于 100 μL 无菌双蒸水中,-20 °C 保存备用^[9]。

1.5 交配型基因的扩增与检测

采用羊肚菌通用引物(待发表)扩增供试菌株的交配型基因。引物对 Con_Mat1F/R(CATGTC ACTYCGYCCRGTTTA/CCACATRGCTTTCCTCT TCTC)扩增 *Mat1-1-1* 基因;引物对 Con_Mat2F/R(AACAGATGCTSGAAGAAGC/CTTATAYCCAG - GATGCTTAC)扩增 *Mat1-2-1* 基因。PCR 扩增体系(25 μL)为:2 × PCR buffer (Mg^{2+} plus) 12.5 μL, dNTPs 2 μL, *rTaq* (TaKaRa, Japan) 0.25 μL, 引物各 1 μL,模板 DNA 1 μL, ddH₂O 7.25 μL。优化后的 Con_Mat1F/R 引物对 PCR 反应条件:95 °C 预变性 3 min;95 °C 变性 30 s,60 °C (Con_Mat2F/R 引物对退火温度 55 °C)退火 20 s,72 °C 延伸 30 s,39 个循环;72 °C 延伸 5 min。扩增产物采用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测^[28]。

1.6 交配型基因扩增产物验证

随机选取 7 株交配型基因扩增结果为 *Mat1-1-1* 的测试菌株(单孢菌株 S16、S21、S25、S33 和组织分离菌株 T23、T29、T40)和 7 株交配型基因扩增结果为 *Mat1-2-1* 的测试菌株(单孢菌株 S6、S18、S26、S32 和组织分离菌株 T23、T29、T30),将其 PCR 扩增产物委托生工生物工程(上海)股份有限公司进行一代测序(测序仪型号 ABI3730XL),剔除测序两端的低质量碱基后,使用 clustal x1.83 软件^[31]分别对 *Mat1-1-1* 和 *Mat1-2-1* 基因进行本地对齐比对,以确定扩增交配型基因的一致性;并提交 NCBI 进行在线 BLAST 比对分析,验证 PCR 扩增产物是否为目标交配型基因,确保交配型基因扩增的可靠性。

1.7 菌落特征与交配型基因缺失关系分析

完成交配型基因测定后,将 2025 年 4 月分离的 56 株组织分离菌株接种 CYM 平板(每个菌株 3 个平板,分析平均值),22 °C 避光培养 7 d,观察记录菌丝生长速度($cm \cdot h^{-1}$)、产菌核时间和产色素时间,

根据这些特征对菌落进行分类,并统计分析交配型基因完整性与表型之间的关联度。

2 结果与分析

2.1 单孢分离和组织分离

试验中发现,黄色羊肚菌 *Mes-21* 的野生和人工栽培子囊果很容易弹射孢子。此外,大多数样品(孢子和组织块)在 22 °C 培养 56~72 h 时开始萌发出菌丝,初期菌丝纤细,根根可见,随着培养时间的延长,菌丝密度增加形成圆形菌落。2025 年 4 月 10 日对 3 个羊肚菌子囊果标本进行组织分离,萌发率从 60%~100% 不等,成功分离的平均比例为 85%,共计获得 56 个纯培养物。整体而言,采取短生长管法很容易通过菌盖组织分离获取 *Mes-21* 的菌丝体菌株。

2.2 人工栽培试验

2024 年 4 月的 7 个组织分离菌株用于当年的小面积栽培试验。2025 年 3 月 15 日催菇 1 周后, LB-W-2 和 FX-W 两个菌株有少量原基出现,最终出菇。LB-W-2 菌株平均每平方米出菇 1.2 个,主要在畦面土壤出菇;FX-W 平均每平方米出菇 2.4 个,主要在畦沟和靠近畦沟的畦面土壤出菇(图 1)。其他 5 个菌株(FX-2、FX-3、FX-5、LB-W-1 和 LB-W-3)均没有出菇。



图 1 *Mes-21* 组织分离菌株 LB-W-2(左)和 FX-W(右)出菇现场

Fig. 1 Scene of cultivation of *Mes-21* tissue isolate LB-W-2(left) and FX-W(right)

2.3 *Mes-21* 单孢分离物的交配型基因特性

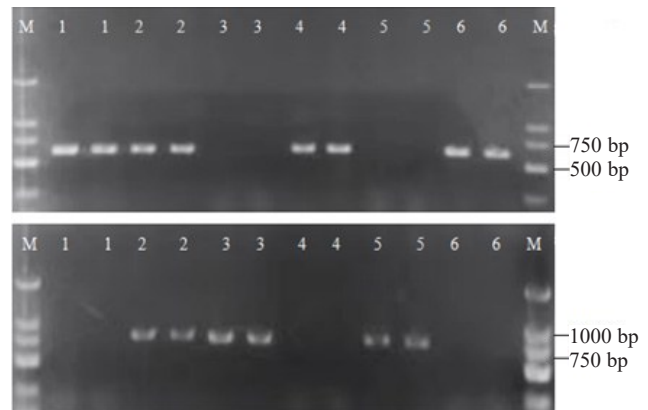
单孢菌株的交配型基因检测结果显示,在 54 株单孢分离物中,有 2 株同时检出 2 种交配型基因(*Mat1-1-1* 和 *Mat1-2-1*),占比 3.70%;在其他 52 个菌株中,31 株检出 *Mat1-1-1* 交配型基因,21 株检出 *Mat1-2-1* 交配型基因,二者的比例接近 1.5:1,进一

步证实了黄色羊肚菌 *Mes-21* 为异宗结合真菌,与文献报道的结果一致^[29]。

2.4 *Mes-21* 组织分离物的交配型基因特性

组织分离菌株的交配型基因检测结果显示,2025 年 4 月份分离的 56 株组织分离物中,有 34 株仅检测到 1 种交配型基因(*Mat1-1-1* 或 *Mat1-2-1*),二者的比例为 19:15,交配型缺失菌株占比为 60.71%。有 22 株同时携带 2 种交配型基因(*Mat1-1-1* 和 *Mat1-2-1*),占比 39.29%。图 2 显示了部分菌株(组织分离菌株 T1~T6)交配型基因的凝胶电泳结果。2024 年分离的 7 个组织分离菌株, LB-W-1 的交配型为 *Mat 1-2*,FX-2、FX-3 和 FX-5 的交配型为 *Mat 1-1*,均只含有 1 种交配型基因;其他 3 个菌株(LB-W-2、LB-W-3 和 FX-W)同时含有 2 种交配型基因(图 3)。4 株交配型基因缺失的菌株均没有出菇,而 3 株交配型基因完整的菌株有 2 株(FX-W 和 LB-W-2)小规模栽培成功出菇(图 1)。该结果初步表明,可栽培黄色羊肚菌 *Mes-21* 菌盖组织分离物存在着严重的交配型基因缺失现象,而且交配型基因缺失可能是其人工栽培不稳定的原因之一。

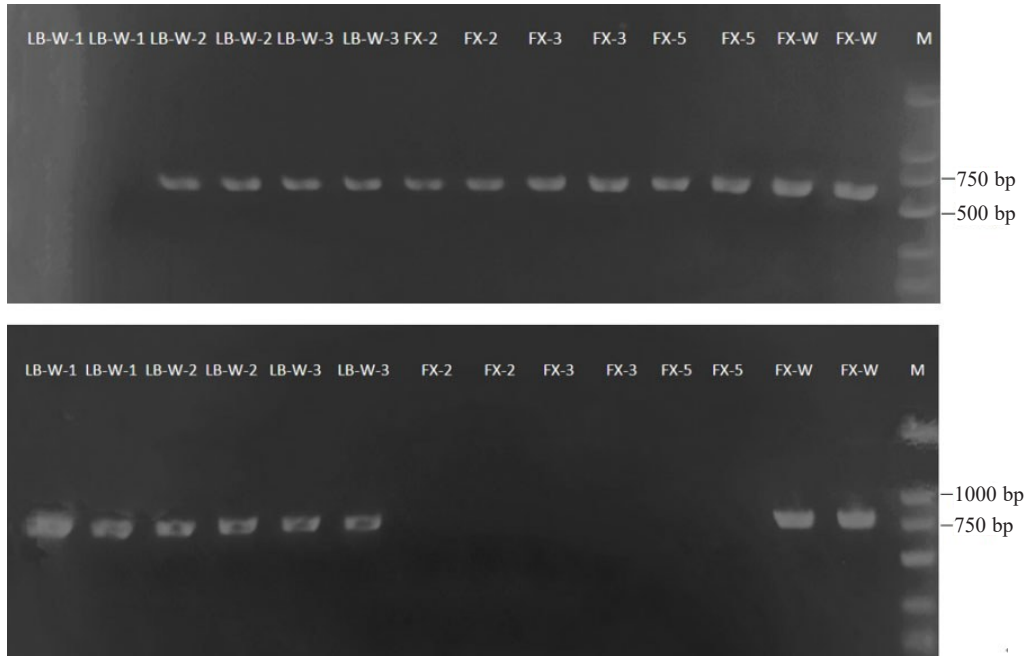
交配型基因扩增产物验证结果表明,预期扩增的 7 个菌株的 *Mat1-1-1* 和 7 个菌株的 *Mat1-2-1* 基因序列完全一致,其中 *Mat1-1-1* 基因有效测序序列长度为 549 bp,*Mat1-2-1* 基因有效测序序列长度为 714 bp;与基因库中 *Mes-21* 的 *Mat1-1-1* (基因号 MN513844) 和 *Mat1-2-1* (基因号 MN513927) 序列相似性分别为 100% 和 99.73%,表明本研究使用的



注:上图为 *Mat1-1-1* 基因,下图为 *Mat1-2-1* 基因。1~6 代表 6 个不同的菌株。M. DNA marker。

Note: The figure above and below represents the results of *Mat1-1-1* and *Mat1-2-1*, respectively. 1-6 represent different six strains. M. DNA marker.

图 2 组织分离菌株 T1~T6 交配型基因凝胶电泳图谱
Fig. 2 Agarose gel electrophoresis map of *Mat* genes of isolate T1-T6



注:上图为 *Mat1-1* 基因,下图 *Mat1-2* 基因。M. DNA marker.

Note: The figure above and below represents the results of *Mat1-2*, *Mat1-1* gene, respectively. M. DNA marker.

图3 2024年7株试验栽培菌株的交配型基因凝胶电泳图谱

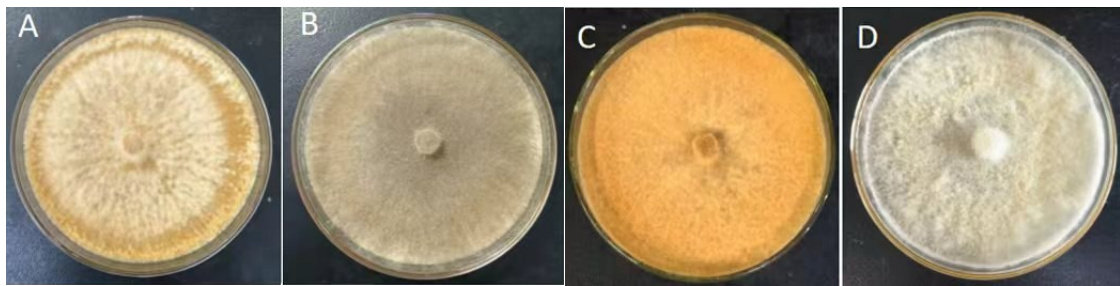
Fig. 3 Agarose gel electrophoresis map of *MAT* gene of 7 experimental cultivation strains isolated in 2024

引物可有效扩增出 *Mes-21* 的交配型基因序列,研究结果可靠。

2.5 菌落特征与交配型基因缺失的关系

完成交配型基因测定后,将2025年4月分离的56株组织分离物接种在CYM平板上进行培养,分别按照菌丝生长速度、产菌核和产色素时间早晚

分成3个类型,统计分析不同菌落类型与交配型基因缺失情况,结果见图4、表1。可以看出,菌株的交配型基因缺失与菌丝生长速度的关系不明显;产生菌核时间较晚和产生色素较早(更容易老化)的菌株,交配型基因缺失的概率较大。为确保稳定生产,生产上应尽量使用产菌核较早和产色素较晚



注:A为产菌核菌落;B为不产菌核菌落;C为产色素菌落;D为色素较少菌落。

Note: A. Colony with substantial sclerotia; B. Colony without sclerotium; C. Colony with more pigment; D. Colony with less pigment.

图4 *Mes-21* 在CYM平板上的菌落特征

Fig. 4 Colony characteristics of *Mes-21* on CYM plate

表1 供试56株组织分离菌株菌落特征与交配型基因缺失间的关系

Table 1 Relationship between colony characteristics and mating type gene deletion in 56 tested tissue isolates

交配型基因缺失的数量与占比 Number and percent of mating type gene deletion	菌丝生长速度 Mycelial growth rate/(cm·h ⁻¹)			菌核产生时间 Time of sclerotial production/d			色素产生时间 Time of pigment production/d		
	≥0.12	0.10~0.12	≤0.10	4~5	6~7	无 None	≤6	7~8	≥9
数量 Number	9/14	21/35	4/7	19/38	8/10	7/8	4/4	23/36	7/16
占比 Percent/%	64.29	60.00	57.14	50.00	80.00	87.50	100.00	63.89	43.75

(更耐老化)的 *Mes-21* 菌株进行人工栽培。

3 讨论与结论

笔者采用项目组设计的通用引物,成功扩增出可栽培黄色羊肚菌 *Mes-21* 的 2 种交配型基因 (*Mat1-1-1* 和 *Mat1-1-2*),扩增产物经过测序和比对验证,结果可靠。本研究表明,可栽培黄色羊肚菌 *Mes-21* 为异宗结合真菌,其菌盖组织分离物存在严重的交配型基因缺失现象,交配型基因缺失可能是影响该羊肚菌成功人工栽培的因素之一。*Mes-21* 组织分离菌株高频出现交配型基因缺失的原因,可以归为 2 种交配型所处的细胞核萌发能力的差异化竞争和/或不同交配型细胞核在羊肚菌子囊果组织中的差异化分布^[27]。黑色羊肚菌支系的梯棱羊肚菌存在假同宗结合现象^[12],该现象有待于在 *Mes-21* 中验证。此外,在 54 株单孢分离物中,有 2 株同时检出了 2 种交配型基因(占 3.70%)。这种情况的出现,有可能源于操作不严谨,获得了具有互补交配型的孢子萌发菌丝。在梯棱羊肚菌等黑色羊肚菌研究中,也有报道单孢分离获得占比较低的异核体子囊孢子发生的情况^[14-15],由于采用显微操作技术分离单个子囊孢子,因此将这种情况归在于羊肚菌子囊孢子形成过程中,少数孢子在形成孢子壁前,将 2 种不同交配型的细胞核包裹在了一起^[32]。总之,*Mes-21* 是以异宗结合为主的可栽培黄色羊肚菌,单一交配型(*Mat1-1* 或 *Mat1-2*)的组织分离物、单孢分离物用于人工栽培,有可能造成不出菇或者出菇产量较低的现象;能交配型基因完整的菌株应用于生产,将提高人工栽培的稳定性。

本研究表明,*Mes-21* 菌株的交配型基因缺失与菌丝生长速度的关系不明显,但与产生菌核和色素的时间存在着一定的对应关系。梯棱羊肚菌等黑色羊肚菌组织分离物的培养性状与交配型基因缺失的关联性研究发现,组织块萌发较慢、气生菌丝稀疏的分离物交配型基因缺失的概率远高于萌发较快、菌丝浓密的分离物^[27]。六妹羊肚菌 *MATI-2* 菌株对化学胁迫的耐受性较强,特别对氧化应激的耐受性更为明显,表明交配型 *MATI-2* 的菌株更不容易老化;另外,交配型完整的六妹羊肚菌菌株具有更广的环境适应性和更高的活力^[23]。此外,与 *Mat1-2* 交配型相比,六妹羊肚菌 *Mat1-1* 交配型菌丝体具有更强的分枝生长能力^[22]。*Mes-21* 交配型基因与菌株生理性状的相关性还有待于进一步深入研究。

目前,*Mes-21* 人工栽培技术还不成熟,存在着生产不稳定现象。究其原因,除了本研究揭示的栽培菌株交配型基因缺失之外,共生生活史^[33]、内共生细菌^[34]、伴生真菌^[35]等也可能发挥重要作用。黑色羊肚菌人工栽培历程和育种实践表明,加强基础理论研究和相关技术攻关,将会最终攻克黄色羊肚菌的人工栽培难题。此外,本研究存在着样本数量少等局限性,研究结果有待于更多样本和更大栽培规模的验证。

综上所述,笔者采用自行设计的羊肚菌交配型测定通用引物,对可栽培黄色羊肚菌 *Mes-21* 的单孢分离菌株进行了交配型测定,验证了该羊肚菌为异宗结合真菌。同时,对组织分离菌株的交配型基因测定发现,*Mes-21* 的菌盖组织分离物存在着严重的交配型基因缺失现象,交配型基因缺失可能是影响该羊肚菌成功人工栽培的因素之一。本研究结果对推动我国黄色羊肚菌人工驯化栽培和规模化推广应用具有一定的理论意义和应用价值。

参考文献

- [1] LI Y T, CHEN H Y, ZHANG X. Cultivation, nutritional value, bioactive compounds of morels, and their health benefits: A systematic review[J]. *Frontiers in Nutrition*, 2023, 10: 1159029.
- [2] ANAND K, PANKAJ, PARBHAKAR P K. Phytochemistry and pharmacological activities of *Morchella esculenta*: A review[J]. *AIP Conference Proceedings*, 2023: 020287.
- [3] WU H S, CHEN J, LI J L, et al. Recent advances on bioactive ingredients of *Morchella esculenta*[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2021, 193(12): 4197-4213.
- [4] TIETEL Z, MASAPHY S. True morels (*Morchella*)-nutritional and phytochemical composition, health benefits and flavor: A review[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2018, 58(11): 1888-1901.
- [5] GURSOY N, SARIKURKCU C, CENGİZ M, et al. Antioxidant activities, metal contents, total phenolics and flavonoids of seven *Morchella* species[J]. *Food Chemistry and Toxicology*, 2009, 47(9): 2381-2388.
- [6] TAŞKIN H, BÜYÜKALACA S, DOĞAN H H, et al. A multigene molecular phylogenetic assessment of true morels (*Morchella*) in Turkey[J]. *Fungal Genetics and Biology*, 2010, 47(8): 672-682.
- [7] TAŞKIN H, BÜYÜKALACA S, HANSEN K, et al. Multilocus phylogenetic analysis of true morels (*Morchella*) reveals high levels of endemics in Turkey relative to other regions of Europe[J]. *Mycologia*, 2012, 104(2): 446-461.
- [8] RICHARD F, BELLANGER J M, CLOWEZ P, et al. True morels (*Morchella*, Pezizales) of Europe and North America: Evolutionary relationships inferred from multilocus da-

- ta and a unified taxonomy[J]. *Mycologia*, 2015, 107(2): 359-382.
- [9] 张文昌,孙文化,王海彦,等.可栽培黄色羊肚菌品种的鉴定与系统发育分析[J]. *中国瓜菜*, 2025, 38(2): 59-65.
- [10] LIU Q Z, QU S, HE G Q, et al. Mating-type genes play an important role in fruiting body development in *Morchella sextelata*[J]. *Journal of Fungi*, 2022, 8(6): 564.
- [11] DU X H, YANG Z L. Mating systems in true morels (*Morchella*)[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2021, 85(3): e0022020.
- [12] TURGEON B G, YODER O C. Proposed nomenclature for mating type genes of filamentous ascomycetes[J]. *Fungal Genetics and Biology*, 2000, 31(1): 1-5.
- [13] 柴红梅,马渊浩,刘萍,等.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[J]. *菌物学报*, 2022, 41(10): 1607-1618.
- [14] 果禹鑫,陈青君,张国庆,等.运用交配型基因分子标记辅助羊肚菌单孢杂交育种[J]. *分子植物育种*, 2022, 20(12): 4067-4074.
- [15] 刘萍,马渊浩,赵永昌,等.羊肚菌单孢菌株的性亲和与营养体亲和特性[J]. *食用菌学报*, 2021, 28(1): 40-47.
- [16] 刘伟,蔡英丽,马晓龙,等.羊肚菌生产菌株栽培适宜性评价系统[J]. *轻工学报*, 2022, 37(3): 50-57.
- [17] CHAI H M, LIU P, MA Y H, et al. Organization and unconventional integration of the mating-type loci in *Morchella* species[J]. *Journal of Fungi*, 2022, 8(7): 746.
- [18] CHAI H M, CHEN W M, ZHANG X L, et al. Structural variation and phylogenetic analysis of the mating-type locus in the genus *Morchella*[J]. *Mycologia*, 2019, 111(4): 551-562.
- [19] LIU W, CHEN L F, CAI Y L, et al. Opposite polarity monospore genome de novo sequencing and comparative analysis reveal the possible heterothallic life cycle of *Morchella importuna*[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, 19: 2525.
- [20] DU X H, ZHAO Q, XIA E H, et al. Mixed-reproductive strategies, competitive mating-type distribution and life cycle of fourteen black morel species[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1/4): 1493.
- [21] CHAI H M, CHEN L J, CHEN W M, et al. Characterization of mating-type idiomorphs suggests that *Morchella importuna*, *Mel-20* and *M. sextelata* are heterothallic[J]. *Mycological Progress*, 2017, 16(7): 743-752.
- [22] WANG J T, ZHU D Z, LI X B, et al. Distribution of two mating-type idiomorphs in commercially cultivated *Morchella sextelata* unveiling unique life cycle of Morels[J]. *Horticulturae*, 2025, 11(4): 385.
- [23] MU C F, HAO C, YOU L H, et al. Population distribution characteristics of mating type genes and genetic stability in *Morchella sextelata*[J]. *Archives of Microbiology*, 2024, 206(10): 412.
- [24] LIU W, CAI Y L, HE P X, et al. Genetic polymorphism of *Mel-21* *Morchella* tissue isolates[J]. *Journal of Agriculture and Food Research*, 2022, 9: 100324.
- [25] 钟娟,初奕杉,王晓艳,等.不同方法分离的梯棱羊肚菌菌种的交配型检测[J]. *中国食用菌*, 2022, 41(6): 19-23.
- [26] HE P X, CAI Y L, YU F Q, et al. Spatial and temporal disequilibrium of nuclear distribution in heterothallic *Morchella importuna*[J]. *Journal of Agriculture and Food Research*, 2021, 6: 100240.
- [27] 刘伟,蔡英丽,何培新,等.羊肚菌组织分离物交配型基因缺失现象分析[J]. *食用菌学报*, 2020, 27(3): 1-6.
- [28] 刘伟,蔡英丽,何培新,等.梯棱羊肚菌单孢及杂交群体的栽培出菇试验和极性分析[J]. *菌物研究*, 2019, 17(1): 43-49.
- [29] DU X H, WU D M, KANG H, et al. Heterothallism and potential hybridization events inferred for twenty-two yellow morel species[J]. *IMA Fungus*, 2020, 11(1): 10.
- [30] 刘伟,张亚,何培新.羊肚菌生物学与栽培技术[M]. 长春:吉林科学技术出版社, 2017.
- [31] LARKIN M A, BLACKSHIELDS G, BROWN N P, et al. Clustal W and Clustal X version 2.0[J]. *Bioinformatics*, 2007, 23(21): 2947-2948.
- [32] HE P X, WANG K, CAI Y L, et al. Live cell confocal laser imaging studies on the nuclear behavior during meiosis and ascosporeogenesis in *Morchella importuna* under artificial cultivation[J]. *Micron*, 2017, 101: 108-113.
- [33] 张倩倩.基于比较基因组和转录组的羊肚菌与马尾松互作机制研究[D]. 武汉:华中农业大学, 2023.
- [34] ZHANG W C, CAO M T, YIN Q, et al. Artificial endosymbiosis of *Pedobacter* sp. DDGJ boosts the growth potential, stress resistance and productivity of *Morchella* mushrooms[J]. *Microbial Biotechnology*, 2025, 18(7): e70197.
- [35] 李建英,刘绍雄,罗孝坤,等.羊肚菌人工栽培及其伴生菌研究现状[J]. *农产品加工*, 2017(19): 69-70.