

食用菌遗传育种及种质鉴定研究进展*

陈娟^{1,2}, 苏开美^{2**}

(1.中国科学院昆明植物研究所, 云南 昆明 650204;

2.云南省农业科学院生物技术与种质资源研究所, 云南 昆明 650223)

摘要: 伴随着科学尤其是分子生物学的持续发展, 越来越多的新技术不断涌现并应用于食用菌的育种以及种质鉴定。主要对食用菌育种的遗传学基础、育种技术、种质评价及鉴定的手段进行综述, 并针对当前存在的问题, 对食用菌育种研究的趋向进行了展望。

关键词: 食用菌; 遗传基础; 育种; 种质鉴定

中图分类号: S646.9 文献标识码: A 文章编号: 1003-8310 (2008) 05-0003-06

真菌 (Fungi) 是地球上种类仅次于昆虫的第二大类生物。在已描述的 7 万多种真菌中, 至少有 12 000 种真菌被认为是通常意义上所说的“蘑菇 (Mushroom)”, 其中 2 000 多种属于可食用的蘑菇 (Edible Mushroom) (Chang, 1999), 35 种已商业化栽培, 约 20 种已经具有工业化生产规模。双孢蘑菇 *Agaricus bisporus* (Lange) Sing.、香菇 *Lentinula edodes* (Berk.) Sing.、侧耳 *Pleurotus* spp. 及黑木耳 *Auricula auricular* (L. ex Hook) Underw. 是世界上主要的 4 大栽培食用菌种类 (Sánchez, 2004)。

食用菌具有特殊的香味、低热量、低脂肪、降血压、抗肿瘤及增强机体免疫力的特性, 因此愈来愈受到全球广大消费者的喜爱。据统计全球商业化的食用菌年产量达到 500 万吨左右 (鲜重) (Kües and Liu, 2000), 即便如此, 目前栽培食用菌的产量仍然不能满足国内外市场需求。近年来发现的具有市场潜力的野生美味食用菌, 如美味牛肝菌 *Boletus edulis* Bull.: Fr.、松茸 *Tricholoma matsutake* (S. Ito & S. Imai) Sing. 等还尚未栽培成功, 因此迫切需要提高食用菌育种和栽培技术。

高产、优质、抗逆、强适应性菌株的制备是食用菌成功栽培的先决条件。为了达到上述育种目标, 在对食用菌遗传背景了解的基础上采取了选择育种、诱变育种及杂交育种的传统方法, 以及在细胞工程、基因工程基础上逐渐发展起来的原生质体融合和转基因育种新技术。

在过去的 20 年里, 食用菌育种技术取得了重大突破。基于 DNA 发展出的分子标记如限制性长度多态 (RFLP) 和随机扩增多态 DNA (RAPD), 为食用菌菌种的鉴定、遗传多样性的分析、线粒体和细胞核遗传研究、基因的克隆、遗传图谱的构建提供了强有力的工具。本文主要对食用菌遗传育种中传统方法扩展, 新技术的引入以及分子生物学技术作为种质评价及鉴定的手段进行综述。

1 食用菌育种的遗传基础

真菌的有性生殖非常复杂, 它不像动物和植物只有 2 种交配型, 而是有多种交配型。同宗配合和异宗配合是担孢子进行有性生殖的主要方式。同宗配合即担孢子萌发成菌丝后, 不需经过 2 个菌丝的结合就能完成有性生活史, 是一种自交可育类型, 如草菇、双孢蘑菇; 而异宗配合的单个担孢子萌发成菌丝后自身不孕, 必须经过“+”、“-”2 种菌丝的交配才能完成有性生殖。在已研究过有性生殖的担孢子中, 90% 以上的种类都属于异宗配合种类。异宗配合又分为由 1 对遗传因子控制的二极性异宗配合、由 2 对交配型因子控制的四极性异宗配合。四极性异宗配合种类, 由同一个子实体产生的担孢子相互交配后, 仅有 1/4 的交配型是可育的, 如香菇和侧耳。了解食用菌的交配系统对育种工作有重要的指导作用。

双孢蘑菇 *Agaricus bisporus* 是世界上主要栽培的食用菌种类, 也是食用菌育种的主要对象, 因此该种遗传基础的研究倍受国内外的关注。双孢蘑菇有性生殖过程中, 每个担子产生的 2 个担孢子, 大多数是异核体可以自交产生子实体, 仅有少数是同核体自交不可育, 即在基质上栽培不产生子实体。传统认为双孢蘑菇在有性生殖过程中是以异核体的次级同宗配合为主要优势, 但最近的 2 项研究表明, 远交 (Outcrossing) 和再结合 (Recombination) 在双孢蘑菇的繁殖过程中起主要作用。Xu et al. (2002) 在对双孢蘑菇自然居群的遗传多样性分析时发现, 双孢蘑菇自然居群中, 次级同宗配合繁殖得到很少的证据支持, 相反异型杂交在居群间发挥重要作用。随后, Callac et al. (2006) 通过栽培同核体菌株观察子实体产出情况, 发现大多数或全部的子实体都产生于接种的同核体和异核体菌株间的异型杂交, 并且提出了理论上可能进行的 5 种杂交模式。这方面的研究为双孢蘑菇的育种提供新的策略。

* 项目来源: 公益性行业 (农业) 科研专项经费项目资助 (nyhyzx07-008)。

** 通讯作者

收稿日期: 2008-06-04

不亲和性系统是生物防止自交从而产生更多变异以适应环境的一种机制。在担子菌中,裂褶菌 *Schizophyllum commune* 和灰盖鬼伞 *Coprinus cinereus* 作为模式生物很早就用于交配不亲和性的研究。这2个种都是属于四极性异宗配合种类,即交配是通过2对分离的非连锁因子A和B控制的,交配型因子的遗传分析的结果表明,控制不亲和性的A因子和B因子,分别由编码同源异型结构域转录因子(Homeodomain Transcription Factors)的A、Ab和编码信息素和信息素受体(Pheromones and Pheromone)的B、Bb两对基因组成(Kothe, 2001)。James et al. (2004)以上述两个模式生物为路标,通过定位克隆(Positional Cloning)和简并PCR(Degenerate PCR)分离了侧耳 *Pleurotus djamor* 的交配型基因。Kües et al. (2001)克隆了 *Coprinus bilanatus* 的A交配型因子相关基因,随后香菇的B交配型因子相关基因也被成功克隆(Li et al., 2007)。食用菌交配型基因不仅作为一个分子标记用于亲和性菌株的可靠鉴定,还可以通过交配型基因克隆,并转化到单核菌株中,产生纯系菌株(Inbred Lines)。

因此,了解食用菌交配系统,对育种时亲本的选择及亲和性交配后代的鉴定是非常重要的。为了能够得到高质量的菌株,选择相同遗传因子控制的单核个体(Co-isogenic Lineages)用于交配是食用菌育种优先考虑的原则,而在对异宗配合的种类采用单孢子杂交育种时,必须考虑自交不亲和性。

2 食用菌遗传育种技术

2.1 人工选择育种

人工选择育种是指利用生物在自然界的自然选择规律,用人工的方法定向选择自然条件下发生的有益变异,使有益变异不断累积并遗传,以获得人类需要的新品种的过程。“北京猴头菌1号”(陈文良,1988)、新疆白阿魏菇 *Pleurotus nebrodensis* (Inz) Qué. (贾身茂、秦森,2006)、开化木耳(沈秀法,2002)等新品种,都是通过人工选择获得的。人工选择的基本方法是利用组织分离法和孢子分离法获得纯菌种,不断纯化得到优良菌株。为了使人工选择育种产生效果,必须全面系统地对我国丰富的食用菌野生资源、栽培品种进行调查、采集、分离、保藏和种性(包括外部形态、生理习性、营养价值、遗传特性)研究。

2.2 诱变育种

诱变育种是利用物理(包括非电离辐射类的紫外线、激光、离子柱和引起电离辐射的x射线、γ射线和快中子等)和化学诱变剂(烷化剂、碱基类似物、吡啶类化合物)处理细胞群体,显著提高其基因突变,进而从差异群体中挑选出符合育种目的的突变株。诱变育种具有速度快、方法简单等优点,它是菌种选育的一个重要途径。

2.2.1 紫外诱变

紫外诱变育种是较为简单的一种诱变育种方式,其最适宜的诱变对象是单细胞、单核个体。李德舜等(2002)利用紫外诱变处理平菇“山大1号”菌株的担孢子获得了理想的新品系。此外,通过对特定的菌丝原生质体的紫外

诱变,也获得了稳定性较好,生物量较高的姬松茸 *Agaricus blazei* Murrill (张卉等,2004)、灰树花 *Grifola frondosa* (Fr.) S. F. Gray (徐志祥等,2004)、猴头 *Hericium* spp. (李艳红、李莉,2006)等的诱变菌株。

2.2.2 辐射育种

辐射育种是利用射线等射线诱发作物基因突变,获得有价值的新突变体,从而育成优良品种。夏志兰等(2004)采用⁶⁰Co-γ射线诱变杏鲍菇 *Pleurotus eryngii* (DC. ex Fr.) Qué.菌丝,经过拮抗试验和酯酶同工酶电泳验证,选育出一株杏鲍菇新菌株,用该方法选育出的姬松茸新菌株,经液体培养其胞外多糖产量较出发菌株提高12%(张卉、佟俊生,2003)。

2.2.3 激光诱变

激光诱变育种是上世纪60年代在前苏联兴起的一种育种技术,其原理是利用激光作用于生物体时产生的压力、热效应、电磁效应及其综合效应引起生物大分子的变化,进而导致遗传变异。激光诱变育种作为现代农作物育种技术的一项高新技术(李万云、李韬,2006),由于其具有正变率高、遗传稳定性好的特点而被应用于食用菌育种研究中。目前应用He-Ne激光诱变已经获得了具有良好遗传稳性香菇菌株(张小里等,2000)和金针菇SOD高产株(李耀维等,2002)。

2.2.4 离子注入

离子注入诱变是利用离子注入设备产生高能离子束并注入生物体引起遗传物质的永久改变,然后从变异菌株中选育优良菌株的方法。目前这项技术在我国食用菌的育种中应用较少,付永前等(2005)尝试用低能离子束诱变选育阿魏菇 *Pleurotus ferulae* Lenzi 多糖高产菌株,获得初步结果。

2.2.5 空间诱变

空间诱变育种是指利用返回式卫星或高空气球将农作物种子带到太空,在太空特殊的环境(空间宇宙射线、微重力、高真空、弱磁场等因素)作用下引起生物染色体畸变,进而导致生物体遗传变异,经地面种植选育新种质、新材料,培育新品种的作物育种新技术。目前我国已经进行了香菇、平菇、黑木耳、金针菇、灵芝等食用菌的空间诱变试验(贾建航、边银丙,1998)。

诱变育种中出发菌株的选择、诱变对象所处的状态、诱变剂的使用及剂量都会影响诱变效果。一般来讲,选择经自然选育并应用于生产、性状稳定、综合性状优良而仅有个别缺点的菌株,使其处于单细胞的均匀悬浮液状态并根据食用菌的辐射敏感性和各种性状,在不同剂量下的突变频率确定诱变剂的剂量,从而达到理想的诱变效果。

2.3 杂交育种

杂交育种技术是食用菌新品种选育中使用最广泛、收效最显著的育种手段。其原理是通过单倍体交配实现基因重组,从杂交后代中选育出具有双亲优良性状的菌株。20世纪80年代后,杂交育种技术在我国食用菌育种研究中广泛应用。我国香菇生产中90%以上的菌种都来源于单孢杂交育种(谭琦等,2000)。最近,通过单孢子杂交又获

得了双孢蘑菇 (贺建超等, 2006) 的优良高产菌株。此外, 为克服金针菇 *Flammulina velutipes* Curt.: Fr. (Sing.) 产生的无性孢子对有性杂交的干扰, 研究人员采用多孢杂交技术培育出了金针菇主栽品种“杂交 19”等 (郭美英, 1993)。

杂交育种要判断杂种的真实性, 亲代必须有标记, 异宗配合的种类, 由于自交不亲和, 因此亲本的性别本身可作为标记, 目前食用菌杂交育种也多适用于异宗配合种类。

2.4 原生质体融合育种技术

食用菌的遗传背景复杂, 加上常规育种手段本身存在局限性, 越来越不能满足人们对新品种的需要, 基于细胞工程发展起来的原生质体融合技术, 是作物及食用菌遗传育种手段的重大突破。该技术是将不同遗传类型的原生质体, 在融合剂 (或电场) 的诱导下进行融合, 实现部分或整套基因组的交换与重组, 从而产生新品种的过程。由于原生质体融合育种是一种不通过有性生活史而达到遗传重组或有性杂交的育种手段, 与常规的杂交育种手段相比, 受亲缘关系的影响较小, 使遗传差距较大的远缘种间、属间甚至科间以上的杂交成为可能。

20 世纪 70 年代, 裂褶菌原生质体的成功制备, 使得应用原生质体融合技术进行食用菌育种成为可能 (De Vries, Wessels, 1972)。Zhao et al. (1995) 利用 PEG 法和电融合法获得了 *Coprinus cinereus* 和 *Schizophyllum commune* 种内不同菌株间的融合子, 但是随后进行草菇属 *Volvariella* 种间原生质融合实验, AP-PCR 鉴定融合子未发现双倍体现象 (Zhao et al., 1997)。

在我国, 潘迎捷等 (1991) 获得了香菇种内原生质体融合菌株, 随后研究人员在平菇属和香菇属间 (刘振岳、赵世民, 1991)、蘑菇属和口蘑属间 (张功等, 2005) 进行原生质融合育种实验, 取得了一定的效果。值得一提的是肖在勤等 (1998) 用该方法, 获得了金针菇和凤尾菇不同科间的具有双亲优良性状的融合菌株“金凤 2-1”, 并用于生产。目前研究人员也努力用原生质体融合技术试图解决难栽培, 市场需求量很大的外生菌根真菌松茸的育种 (王淑珍等, 2003)。

原生质体融合育种的困难就是融合子的鉴定问题。可以用于融合子鉴定的标记有形态标记如有无锁状联合、同功酶分析、生长拮抗试验、出菇实验及担孢子分析。然而锁状联合只是被发现在一些融合率很低的种间融合子 (Toyomasu & Mon, 1989), 而在种内的 2 个不亲和的单核亲本的融合子不一定产生锁状联合 (林芳灿, 1991); 同功酶分析要依靠生化位点的建立, 耗时而且受生理环境的影响; 出菇实验是鉴定融合子最好的证据, 但是也不排除单核子实体; 原生质体单核化可以为鉴定融合子提供一条途径, 但是过程复杂 (Zhao & Chang, 1993)。因此, 应用原生质融合育种技术尚需找到更可靠的鉴定融合子的方法。

2.5 基因工程育种 (转基因育种)

基因工程育种技术是指人为从某一供体生物中提取所

需要的目的基因, 在离体条件下用适当的酶切割或修饰, 然后将其与载体 DNA 分子连接起来一并导入受体细胞中进行复制和表达, 从而选育出新物种。它为食用菌, 尤其是为那些常规育种手段受到限制的种类育种开创了新的途径。

遗传转化和表达系统的建立是基因工程育种的一个重要环节。1986 年 Mufioz-Rivas 等利用 PEG 法把同源的 *trpC* 基因转入裂褶菌色氨酸营养缺陷型突变株中, 获得正常的裂褶菌菌株, 这为后来的食用菌遗传转化育种奠定了基础。但是随后进行的大肠杆菌潮霉素 B 转磷酸酶标记基因 (*hpt*) 在双孢蘑菇中的转化受到了严重的甲基化 (Mooibroek et al., 1990)。研究人员用 PEG 法、电激法、基因枪法等各种方法, 介导外源 DNA 到双孢蘑菇原生质体、菌丝、子实体中试图建立一个稳定的转化体系, 但都因为供体 DNA 进入受体后不稳定、重组率低、甲基化严重或者在异源启动子作用下不能充分表达而没有成功 (Challen et al., 1991; Royer et al., 1991; Li et al., 1993)。1996 年, Van de Rhee et al. 通过电融合法将大肠杆菌抗潮霉素基因转入腺嘌呤营养缺陷型的双孢蘑菇同核体菌株中, 成功地获得了稳定的双孢蘑菇转化体系。但是这个转化体系对异核双孢蘑菇或其它的食用菌转化是否可用, 当时存在争议 (Stoop & Mooibroek, 1999)。1998 年, De Groot et al. 利用农杆菌 (*Agrobacterium*) 介导转化丝状真菌包括双孢蘑菇, 结果表明转化效率很低尽管该方法简便易操作。Chen et al. (2000) 在前人的基础上对农杆菌介导转化的方法作了修改, 通过子实体菌褶组织与农杆菌共培养在同源启动子的作用下实现了双孢蘑菇的高效转化。Leach et al. (2004) 利用农杆菌介导大肠杆菌抗潮霉素标记基因转化双孢蘑菇获得较理想的结果, 但同时也发现酚、乙酰等诱导的毒性对整合到双孢蘑菇基因组的转化基因有毒害作用。除了双孢蘑菇外, 目前仅有少数食用菌包括侧耳 (Herzog et al., 1995)、香菇 (Hirano et al., 2000; 闫培生等, 2002)、金针菇 (Kuo et al., 2004) 进行了类似的遗传操作, 但还没有建立起相对稳定的转化系统。

3 新型种质鉴定技术

在食用菌育种工作中, 如何选择和有效的鉴定出符合目标的菌株, 以及对优良菌株的保护是非常重要的。传统的鉴定方法是依靠菌株的形态、生理、生化等特征, 然而很多时候形态特征不明显 (出菇实验耗时) 或受环境影响不可靠, 因为没有统一的鉴定标准, 给下游的栽培带来选择困难。

分子标记是以个体间遗传物质内核苷酸序列变异为基础的遗传标记, 是 DNA 水平遗传变异的直接反映。与以往的遗传标记相比, 分子标记具有独特的优越性: 大多数分子标记是共显性遗传, 对隐性农艺性状的选择十分便利; 在生物发育的不同阶段, 不同组织的 DNA 都可用于标记分析; 而且基因组变异极其丰富, 分子标记的数量几乎是无限的 (马富英、罗信昌, 2002)。随着分子生物学技术的发展, 目前已经发展出了几十种基于 DNA 多态性的分子标记,

如随机扩增多态性 (RAPD)、限制性片段长度多态性 (RFLP)、基于 Southern 杂交和基于 PCR 的扩增片段长度多态性 (AFLP)、简单序列长度多态性 (SSLP)、序列标记位点 (STS)、单核苷酸多态性标记 (SNP)、特征片段扩增区域 (SCAR)、核糖体 DNA (rDNA) 重复序列等。其中以 RFLP、RAPD 标记较为广泛地应用于食用菌的菌株的鉴定, 遗传多样性、亲缘关系分析、种质资源评估、遗传图谱构建及基因定位和克隆等研究领域, AFLP 的应用也有少量报道。

3.1 RFLP 标记

RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) 即限制性片段长度多态性, 其基本原理是生物在长期进化过程中, 在属、种乃至品种间同源 DNA 序列中的某一位点上, 由于发生插入、缺失、倒位、易位或单碱基突变等造成该处限制性内切酶识别位点的增加或减少, 因而供试菌株 DNA 经酶切、电泳、Southern 杂交会产生不同长度的多态性, 显示不同的带型, 而这些带型是鉴别品系, 分析类缘关系, 验证遗传分离的科学证据。

上世纪 80 年代, 该技术就在对栽培蘑菇品系与野生物种间的类缘关系分析中得到很好的应用。Molina et al. (1992) 用 PCR-RFLP 对斗菇 *Lentinus* spp. 和香菇 *Lentinula edodes* 的 18S rDNA 和 ITS1-5.8S rDNA-ITS2 区域进行分析, 所有的香菇菌株的限制性图谱相同, 而与斗菇的有明显区别, 支持将香菇从斗菇属中分离出来而独立成香菇属。李英波等 (1995) 对野生和栽培香菇菌株做了 RFLP 指纹图谱分析, 表明遗传分离普遍存在于菌株间而与地理分布没有很大相关性, 提示在育种工作中选择亲本时应根据菌株间的遗传分离, 而不是单纯以地理位置的差异来选择亲本。Xu et al. (2002) 利用核基因和线粒体基因的 RFLP 及多位点酶电泳多肽分析了双孢蘑菇自然居群的遗传多样性, 指出法国不同分布区的 2 个双孢蘑菇居群都存在很高的遗传多样性。Bao et al. (2004) 利用 26S rDNA-RFLP 研究来源于亚洲的侧耳属 34 个菌株, 阐述了侧耳属不同物种间的系统进化关系。张金霞等 (2004) 以 IGS2-RFLP 为分子标记, 对中国栽培的白灵菇不同品种进行了鉴别。余志晟等 (2005) 应用 RFLP 技术对 12 个草菇栽培菌株的核糖体、线粒体和基因组总 DNA 的多态性进行了研究, 结果表明供试菌株间遗传差异很小, 为草菇的育种提供资料。

3.2 RAPD 标记

RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) 即随机扩增多态性 DNA, 是由 Williams 和 Welsh (1990) 发展起来的。它是建立在 PCR 技术基础上, 利用一系列 (通常数百个) 不同的随机排列碱基顺序的寡聚核苷酸单链 (通常为 10 聚体) 为引物, 对所研究的基因组 DNA 进行 PCR 扩增, 聚丙烯酰胺或琼脂糖电泳分离, 经 EB 染色或放射性自显影来检测扩增产物 DNA 片段的多态性, 这些扩增产物 DNA 片段的多态性反映了基因组相应区域的 DNA 多态性。RAPD 分子标记以其操作简单、快速、信息量大、经济等优点而被广泛应用于杂交亲本的选择、杂合子或融合

子鉴定及遗传相关性分析上。但 RAPD 随机扩增引物的选择和数量是十分关键的环节, 不同的引物或引物选择数量的多少将直接影响分析的结果。

运用 RAPD 技术对杂合子或融合子与其亲本进行聚类分析和相似系数分析, 可以判断杂交或融合是否成功。曾荣、刘组同 (1999) 应用 RAPD 技术结合同工酶分析检测到虎纹斗菇 *Lentinus tigrinus* 和金针菇 *Flammulina velutipes* 属间融合子, 而凤尾菇和金针菇科间融合子菌株 “金凤 2-1” 也是用 RAPD 标记检测出的 (肖在勤等, 1998)。

Yan & Jiang (2005) 将 RAPD 遗传距离作为选择单核亲本的指标, 用于 *Stropharia rugoso-annulata* 杂交育种中, 并认为根据 RAPD 遗传距离与杂合子的菌丝生长率的相关性, 可以预测杂合子的表型。

Moore et al. (2001) 应用 RAPD 技术分析了 26 个双孢蘑菇菌株, 结果表明来源于 6 个不同公司的 24 个菌株间相似性很高, 而与 2 个广泛栽培的菌株间有明显的差异。Ramírez et al. (2001) 对用于栽培的商业化双孢蘑菇的菌株进行了 RAPD 多态性分析, 结果检测到所有分析的菌株间同源性很高, 并且选择出了一个与农艺性状 “蘑菇重量” 相关的 DNA 标记。Shnyreva et al. (2003) 用 RAPD 标记结合同工酶电泳技术对俄国广泛栽培的侧耳和双孢蘑菇菌株做了分析, 结果显示侧耳表现出很高的遗传多样性, 而双孢蘑菇不同菌株之间相似性却很高。在我国, 张金霞等 (2004) 以 RAPD 为分子标记, 研究了我国栽培白灵侧耳菌株的遗传多样性, 结果显示供试的侧耳菌株间遗传多样性很高。邓旺秋等 (2004) 利用 RAPD 标记对广东省 8 个草菇主栽菌株的亲缘关系和遗传多样性进行研究, 获得了草菇不同菌株的 DNA 指纹图谱, 为草菇商业菌株的鉴别提供了快速有效的技术手段, 同样的方法也被用于不同木耳菌株的准确鉴定 (闫培生等, 2000)。

RFLP、RAPD 分子标记除用于菌株的鉴别、遗传多样性分析外, 还可用于食用菌的遗传连锁图谱的构建、基因定位和克隆以及线粒体遗传等研究。目前应用 RFLP、RAPD、rDNA 重复序列及同工酶及表型标记已经构建了双孢蘑菇、糙皮侧耳遗传连锁图 (Larraya et al., 2000)。最近又得到了二极交配型 *Pholiota nameko* 的不亲和性相关蛋白基因 (Hox1) 的连锁图 (Aimi et al., 2005)。

在 RAPD、RFLP 基础上逐渐发展起来的 AFLP、SCAR 也开始用于食用菌的品系鉴定 (Kazuhiya et al., 2004; 吴学谦等, 2005)。

4 食用菌遗传育种中存在的问题

伴随科学技术的不断进步, 人类利用已有的菌株资源, 已经选育了大量高产、优质、抗逆、强适应性的新品种。这些新品种, 以及新栽培技术的发展, 极大促进了食用菌产业的发展。我国幅员辽阔, 拥有大量野生优质的菌种资源, 但是这些种类难以人工栽培来进行规模化生产。如何可持续发展地利用这些菌种资源, 进行驯化选育或者改良已有的品种, 是当今育种科学家亟待解决的问题。首先, 种质资源的多样性是育种的基础, 无论杂交育种、突变体选育、细胞融合还是基因工程育种都依赖于真菌资源

的占有,这就要求我们大力开展资源调查和品种资源库的建设。其次,真菌的形态特征易受环境的影响而变化,这是新品种选育的难点。但是真菌的遗传物质却有极高的稳定性,这就需要基于基因的分子标记技术的进一步发展。最后,随着基因工程的发展,导入优良基因可以有效改良已有的可规模化生产的菌种。因此优良基因的克隆以及导入表达手段必将成为当前及以后科研的热点。

参考文献

- [1] Aimi T, Yoshida R, Ishikawa M, et al. Identification and linkage mapping of the genes for the putative homeodomain protein (hox1) and the putative pheromone receptor protein homologue (rcb1) in a bipolar basidiomycete, *Pholiota nameko* [J]. *Current Genetics*, 2005, (48) : 184-194.
- [2] Bao D, Ishihara H, Mori N, Kitamoto Y. Phylogenetic analysis of Oyster mushrooms (*Pleurotus* spp.) based on restriction fragment length polymorphisms of the 5' portion of 26S rDNA [J]. *Journal Wood Research Society*, 2004, (50) : 169-176.
- [3] Callac P, Spataro C, Caille A, et al. Evidence for outcrossing via the buller phenomenon in a substrate simultaneously inoculated with spores and mycelium of *Agaricus bisporus* [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 2366-2372.
- [4] Challen MP, Rao BG, Elliot TJ. Transformation strategies for *Agaricus bisporus* In Van Griensven, *Genetics and Breeding of Agaricus*[M]. Wageningen: Pudoc, 1991. 129-134.
- [5] Chang ST. World production of cultivated edible and mushrooms in 1997 with emphasis on *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. in China[J]. *Int J Med Mushrooms*, 1999, (1) : 291-300.
- [6] Chen X, Stone M, Schlagnhauer C, et al. A Fruiting body tissue method for efficient agrobacterium-mediated transformation of *Agaricus bisporus*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 4510-4513.
- [7] De Vries OMH, Wessels JGH. Release of protoplasts from *Schizophyllum commune* by a lytic enzyme preparation from *Trichoderma viride* [J]. *J. Gen. Microbiol*, 1972, (73) : 13-22.
- [8] Hirano T, Sato T, Yaegashi K, et al. Efficient transformation of the edible basidiomycete *Lentinus edodes* with a vector using a glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase promoter to hygromycin B resistance [J]. *Molecular and General Genetics*, 2000, (263) : 1047-1052.
- [9] Kazuhisa T, Teruyuki M. Strain typing of Shiitake (*Lentinula edodes*) cultivars by AFLP analysis, focusing on a heat-dried fruiting body [J]. *Mycoscience*, 2004, (45): 79-82.
- [10] Kothe E. Mating-type genes for basidiomycete strain improvement in mushroom farming [J]. *Appl. Microbiol Biotechnol*, 2001, (56) : 602-612.
- [11] K ües U, Liu Y. Fruiting body production in basidiomycetes[J]. *Appl. Microbiol Biotechnol*, 2000, (54): 141-152.
- [12] Kuo CY, Chou SY, Huang CT. Cloning of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase gene and use of the *gpd* promoter for transformation in *Flammulina velutipes*[J]. *Appl. Microbiol Biotechnol*, 2004, (65): 593-599.
- [13] Larlaya LM, Perez G, Ritter E. Genetic linkage map of the edible basidiomycete *Pleurotus ostreatus* [J]. *Appl. Environ. Microbiol*, 2000, (66) : 5290-5300.
- [14] Li A, Horgen PA. Attempts to develop a transformation system in *Agaricus bisporus*, utilizing particle bombardment and several other novel approach [J]. *Cultivated Mushroom Research Newsletter*, 1993, 11-16.
- [15] Mikosch TSP, Lavrijssen B, Sonnenberg ASM, et al. Transformation of the cultivated mushroom *Agaricus bisporus* (Lange) using T-DNA from *Agrobacterium tumefaciens*[J]. *Curr Genet*, 2001, (39) : 35-39.
- [16] Mofina FI, Shen P, Jong SH. Molecular evidence supports the separation of *Lentinula edodes* from *Lentinus* and related genera [J]. *Can J Bot*, 1992, (70) : 2446-2452.
- [17] Mooibroek H, Kuipers AGJ, Sietsma JH, et al. Introduction of hygromycin B resistance into *Schizophyllum commune*: preferential methylation of donor DNA [J]. *Mol Gen Genet*, 1990, (222): 41-48.
- [18] Moore AJ, Challen MP, Warner PJ, et al. RAPD discrimination of *Agaricus bisporus* mushroom cultivars [J]. *Appl. Microbiol Biotechnol*, 2001, (155) : 742-749.
- [19] Mufioz-Rivas A, Specht CA, Drummond BJ. Transformation of the basidiomycete *Schizophyllum commune* [J]. *Molecular and Genetics*, 1986, (205) : 103-106.
- [20] Ram íeza L, Muez V, Alfonso M, et al. Use of molecular markers to differentiate between commercial strains of the button mushroom *Agaricus bisporus* [J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2001,(198): 45-48.
- [21] Royer JC, Horgen PA. Towards a transformation of the edible basidiomycete *Agrocybe aegerita*, with the URA1 gene characterization of integrative events and of rearranged free plasmids in transformation [J]. *Current Genetics*, 1991, (22) : 53-59.
- [22] Sánchez C. Modern aspects of mushroom culture technology[J]. *Appl. Microbiol Biotechnol*, 2004, (64) : 756-762.
- [23] Shnyreva AV, Belokon YS, Belokon MM. Differentiation between Commercial Strains of Oyster and Button Mushrooms Using Molecular Markers [J]. *Russian Journal of Genetics*, 2003, (39) : 1232-1239.
- [24] Stoop JM H, Mooibroek H. Advances in genetic analysis and biotechnology of the cultivated button mushroom, *Agaricus bisporus*[J]. *Appl. Microbiol Biotechnol*, 1999, (52) : 474-483.
- [25] Williams JGK, Kubelik AR, Livak KJ, et al. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers[J]. *Nucleic Acids Res*, 1990, (18) : 6531-6535.
- [26] Xu JP, Desmerger C, Callac P. Fine-scale genetic analyses reveal unexpected spatial-temporal heterogeneity in two natural populations of the commercial mushroom *Agaricus bisporus* [J]. *Microbiology*, 2002, (148) : 1253-1262.
- [27] Yan PS, Jiang JH. Preliminary research of the RAPD molecular marker-assisted breeding of the edible basidiomycete *Stropharia rugoso annulata* [J]. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 2005, (21) : 559-563.

- [28] Zeng R, Liu ZT. Inactivated protoplast electrofusion of edible mushrooms and characterization of intergeneric fusion products[J]. In: Abstracts of 3rd International Conference of Mushroom Biology and Mushroom Products, 1999, 51.
- [29] Zhao J, Chang ST. Intraspecific hybridization between *Coprinus scitellarius* and *Schizophyllum commune* by PEG-induced protoplast fusion and electrofusion[J]. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 1995, (11): 565-590.
- [30] Zhao J, Chang ST. Monokaryotization by protoplasting heterothallic species of edible mushrooms [J]. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 1993, (9): 538-543.
- [31] Zhao J, Chang ST. Interspecific hybridization between *Volvariella volvacea* and *V. bombycina* by PEG-induced protoplast fusion [J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 1997, 13 (2): 145-151.
- [32] 陈文良. 北方食用菌栽培 [M]. 北京: 中国科学技术出版社, 1994. 96-105.
- [33] 邓旺秋, 杨小兵, 李泰辉, 等. 广东省草菇栽培菌株 RAPD 多态性分析 [J]. *食用菌学报*, 2004, (3): 1-6.
- [34] 付永前, 张军, 吕杰, 等. 低能离子注入对阿魏菇多糖生物效应的研究 [J]. *化学生物工程*, 2005, (22): 12-14.
- [35] 郭美英. 金针菇杂交育种研究 [J]. *食用菌*, 1993, (4): 4-6.
- [36] 贺建超, 贺榆露, 王玛丽. 双孢蘑菇单孢子杂交育种研究 [J]. *中国食用菌*, 2006, (25): 18-19.
- [37] 贾建航, 边银丙. 食用真菌空间诱变育种研究 [J]. *食用菌学报*, 1998, (5): 11-16.
- [38] 贾身茂, 秦森. 我国白阿魏蘑的驯化与栽培 [J]. *中国食用菌*, 2006, (25): 3-7.
- [39] 李德舜, 刘正学, 张英. 平菇“山大1号”紫外诱变育种研究 [J]. *食用菌*, 2002, (3): 9-11.
- [40] 李万云, 李韬. 激光诱变育种技术的研究与开发应用前景 [J]. *新疆农业科学*, 2006, (43): 57-60.
- [41] 李艳红, 李莉. 原生质体紫外诱变选育猴头菌新菌株的研究 [J]. *食用菌*, 2006, (28): 18-19.
- [42] 李耀维, 冯文新, 张素梅. He-Ne 激光对金针菇 SOD 高产株的诱变效应 [J]. *激光生物学报*, 2002, (11): 283-286.
- [43] 李英波. 香菇菌株的限制性片段长度多型性 [J]. *真菌学报*, 1995, (14): 10-16.
- [44] 林芳灿. 略论与食用菌种间融合子鉴定有关的几个问题 [J]. *中国食用菌*, 1991, (10): 21-22.
- [45] 刘振岳, 赵世民. 平菇与香菇属间原生质体融合的研究 [J]. *遗传学报*, 1991, (18): 352-357.
- [46] 刘祖同, 罗信昌. 食用菌生物技术及应用 [M]. 北京: 清华大学出版社, 2002.
- [47] 马富英, 罗信昌. 分子标记在食用菌遗传育种中的应用 [J]. *菌物系统*, 2002, (21): 147-151.
- [48] 潘迎捷, 陈明杰, 汪昭月, 等. 香菇的失活原生质体融合 [J]. *食用菌*, 1991, (4): 7-8.
- [49] 沈秀法, 陈哲贤. 开化黑木耳的特性及栽培技术 [J]. *食用菌*, 2002, (5): 13.
- [50] 谭琦, 潘迎捷, 黄为一. 中国香菇育种的发展历程 [J]. *食用菌学报*, 2000, (7): 48-52.
- [51] 王淑珍, 白晨, 高雁. 松茸与香菇原生质体融合的研究 [J]. *食用菌*, 2003, (2): 9-11.
- [52] 夏志兰, 艾辛, 姜性坚. ^{60}Co - γ 射线对杏鲍菇菌丝的诱变效应 [J]. *激光生物学报*, 2004, (13): 298-301.
- [53] 肖在勤, 谭伟. 金针菇与凤尾菇间原生质体融合研究 [J]. *食用菌学报*, 1998, (5): 6-12.
- [54] 徐志祥, 李刚, 李宝健. 灰树花紫外诱变育种研究 [J]. *中山大学学报 (自然科学版)*, 2004, (43): 84-87.
- [55] 闫培生, 李桂舫, 罗信昌, 等. 外源抗药性基因导入香菇体内的研究 [J]. *食用菌学报*, 2002, (9): 6-9.
- [56] 闫培生, 罗信昌, 周启. 利用 RAPD 技术对木耳属菌株进行分类鉴定的研究 [J]. *菌物系统*, 2000, (19): 29-33.
- [57] 余志晟, 吕作舟, 陈明杰, 等. 草菇栽培菌株 DNA 多态性的 PCR-RFLP 和 RAPD 分析 [J]. *中国农学通报*, 2005, (21): 58-62.
- [58] 张功, 牛艳芳, 吕桂芬. 蒙古口蘑与双孢菇原生质体融合育种研究 [J]. *内蒙古师范大学学报*, 2005, (34): 475-481.
- [59] 张卉, 李长彪, 陈明波, 等. 原生质体紫外诱变选育姬松茸新菌株 [J]. *微生物学杂志*, 2004, (24): 56-57.
- [60] 张卉, 佟俊生, 刘长江. ^{60}Co - γ 射线辐照菌丝选育多糖高产菌株 [J]. *中国食用菌*, 2003, (22): 13-14.
- [61] 张金鑫, 黄晨阳, 张瑞颖, 等. 中国栽培白灵侧耳的 RAPD 和 IGS 分析 [J]. *菌物学报*, 2004, (23): 514-519.
- [62] 张小里, 罗海峰, 陈五岭. He-Ne 激光诱变的香菇变异株遗传稳定性 [J]. *光子学报*, 2000, (29): 380-384.

Proceeding of Heredity, Breeding and Idioplasm Identification of Edible Fungi

CHEN Juan^{1,2}, SU Kai-mei²

(1. Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming Yunnan 650204;

2. Institute of Biotechnology & Genetic Research, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming Yunnan 650223)

Abstract: With the continuous development of sciences, especially molecular biology, more and more new technologies were come up with and applied in the breeding and germplasm identification of edible fungi. This review focuses on the genetic background, breeding technology and germplasm identification of edible fungi; furthermore, based on the exist problems, the tendency to breeding study of edible fungi was forecasted.

Key words: Edible fungi; Genetic background; Breeding; Germplasm identification