

# 西藏特有黄绿卷毛菇原生地及室内试验研究

李文宇<sup>1,2</sup>, 王景升<sup>1</sup>, 余成群<sup>1</sup>, 张扬建<sup>1</sup>, 武俊喜<sup>1</sup>,  
郑周涛<sup>1</sup>, 柴一秋<sup>3</sup>, 刘又高<sup>3</sup>, 朱军涛<sup>1\*</sup>

(1. 中国科学院地理科学与资源研究所, 北京 100101; 2. 中国科学院大学, 北京 100049; 3. 浙江省亚热带作物研究所, 浙江 温州 325005)

**摘要:**黄绿卷毛菇主要分布于我国西藏的高寒草地上,具有较高的营养价值及生态效益。近些年相关学者开展了关于黄绿卷毛菇的人工引种驯化,但均未见成效。基于黄绿卷毛菇是特有的生物资源,对其成功引种驯化及快速培养具有重大意义及经济效益。通过对青藏高原高寒草甸的黄绿卷毛菇进行室内菌种培养试验及原产地增产控制试验得出以下结论:改变培养基配方可使菌丝生长速度较普通培养基配方提高;而通过原产地控制环境条件和浇水可显著提高土壤pH值。未来应重点开展原产地孢子粉野外接种栽培试验研究,开展扩张菌丝体接种栽培试验,以及固体培养物野外接种栽培试验,以实现黄绿卷毛菇的人工培育和栽培。

**关键词:**黄绿卷毛菇;菌丝体;控制试验

中图分类号:S646.1\*1

文献标志码:A

## Native Site and Indoor Experimental Study of Endemic *Floccularia luteovirens* in Tibet

LI Wenyu<sup>1,2</sup>, WANG Jingsheng<sup>1</sup>, YU Chengqun<sup>1</sup>, ZHANG Yangjian<sup>1</sup>, WU Junxi<sup>1</sup>, ZHENG Zhoutao<sup>1</sup>, CHAI Yiqiu<sup>3</sup>, LIU Yougao<sup>3</sup>, ZHU Juntao<sup>1\*</sup>

(1. Institute of Geographic Sciences and Natural Resources Research, CAS, Beijing 100101, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3. Zhejiang Institute of Subtropical Crops, Zhejiang Wenzhou 325005, China)

**Abstract:** *Floccularia luteovirens* is mainly distributed in the alpine grasslands of Tibet, China, and has high nutritional value and ecological benefits. In recent years, scholars have carried out the artificial domestication of the mushroom, but no success has been achieved. Based on the fact that the mushroom is a unique biological resource, it is of great significance and economic benefits for its successful introduction and rapid cultivation. The following conclusions were drawn from the indoor strain culture trials and in situ production increase control trials of the yellow-green curly mushroom in alpine meadows on the Tibetan Plateau. The mycelial growth rate could be increased by changing the medium formulation compared with the normal medium formulation, while the soil pH was significantly increased by watering through in situ control of environmental conditions. Future research should focus on field inoculation cultivation experiment of in situ spore powder, inoculation cultivation experiment of expanded mycelium, and field inoculation cultivation experiment of solid culture for achieving the artificial cultivation and cultivation of *Floccularia luteovirens*.

**Key Words:** *Floccularia luteovirens*; hyphae; control trial

黄蘑菇,原学名黄绿蜜环菌,现更名为黄绿卷毛菇(*Floccularia luteovirens*),以单生、丛生及蘑菇

圈方式分布在海拔3 200~5 000 m青藏高原的青海、四川、西藏等地的高寒嵩草草甸上<sup>[1-2]</sup>。黄绿卷毛菇对水分、土壤、植被等环境要素高度依赖,在西藏主要分布在以高山嵩草、藏嵩草等为优势群落的高寒草地上。有学者研究表明:黄绿卷毛菇在我国地理分布范围N28°93′-37°69′,E 90°4′-102°1′,与青藏高原嵩草属的分布地区相吻合(N27°-39°、E 82°-103°)。

收稿日期:2022-10-24

基金项目:浙江省科技计划项目(E1M10190AL);西藏那曲市市级科技计划项目(E1M10250AL)。

作者简介:李文宇(1996-),男,硕士研究生,研究方向为全球变化生态学,E-mail:liwy.19s@igsrr.ac.cn;\*为通讯作者:朱军涛(1981-),男,研究员,研究方向为全球变化生态学,E-mail:zhujt@igsrr.ac.cn。

黄绿卷毛菇常见生长在高寒嵩草草甸上,生长发育的植被均为草本,刁治民<sup>[2]</sup>认为黄绿卷毛菇会与嵩草属草本形成菌根,就目前本试验结果来看,并不支持该观点。黄绿卷毛菇的伴生植物主要是嵩草和羊茅等,因此其主要生长在高寒草甸、高寒草原等植被上。黄绿卷毛菇是大型食用真菌,营养丰富,每100 g干样品含干物质95.29 g,其中粗蛋白质38.71 g,粗脂肪15.28 g,粗纤维8.04 g,无氮浸出物25.13 g,灰分8.13 g,钙0.13 g,磷0.64 g,总热量1 8045 J/g<sup>[3-4]</sup>。近年来已开展了部分关于黄蘑菇的试验研究<sup>[5-9]</sup>,如邢睿等<sup>[6]</sup>基于454测序技术对采自青海省玉树的黄绿卷毛菇进行开发微卫星(SSR)引物,李颖等<sup>[7]</sup>采用正交试验优化了黄绿卷毛菇SSR反应体系,从34对引物中共筛选出扩增条带清晰、多态性丰富的SSR引物8对1,为黄绿卷毛菇遗传多样性检测、遗传连锁图谱构建、基因定位与标记辅助育种提供了有力的工具。

对于黄绿卷毛菇菌丝体实验室的培养,早期的研究发现菌丝在以葡萄糖、蔗糖为碳源,以铵态氮、复合氮素酵母粉、蛋白胨为氮源的培养基上生长旺盛,且矿质元素、维生素B1、B2和B7可以促进其生长<sup>[2]</sup>。此后的研究表明红糖是最佳碳源,酵母膏是最佳氮源,适宜碳氮比为(20~50):1,适宜温度为25~30℃,适宜pH值为6.0~7.0<sup>[6]</sup>。最新的研究显示适宜碳源为蔗糖,氮源为蛋白胨,适宜碳氮比为10:1,最佳矿质营养元素是硫酸镁,最适pH值为6.5,在暗处培养生长最佳<sup>[8]</sup>。但黄绿卷毛菇主要分布在光照时间长、太阳辐射强的青藏高原地区,在暗处培养的菌种以后推广起来有技术上的障碍。且不同条件下,生长效果也不一致,例如三十烷醇和肌醇能促进黄绿卷毛菇菌丝生长,但肌醇效果不如三十烷醇<sup>[10]</sup>。

到目前为止,研究者们也做了大量试验,但这些试验都存在不全面、不系统的缺点。因此仍未见到成功培养出其子实体的报道,甚至菌核期都未出现,菌丝生长依旧缓慢,这阻碍了对其更深层次的研究,最终导致不能实现其人工驯化栽培。基于上述结果,本研究进行了黄蘑菇的室内菌丝培养及原生地施肥控制试验,以研究黄蘑菇生长的内生环境要素及外源输入对其生长的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试验用的黄绿卷毛菇子实体来源:一种是采自西藏那曲生态站围栏样地;原生地增产试验的材料主要是布置遮阴棚、增温大棚以及施肥需要的无机肥和有机肥(从市场购买)。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 室内培养方法

组织分离及菌丝体培养:取采自西藏那曲样地的幼嫩子实体进行表面消毒,掰开子实体,用灭菌后的镊子小心撕取菌盖与菌柄结合处的小组织块直接接入固体斜面培养基中。组织分离固体培养基配方:配方1为马铃薯150 g,琼脂16 g,白糖15 g,pH值自然;配方2为麦芽汁;配方3为综合PDA;配方4为马铃薯300 g,琼脂13 g,葡萄糖30 g,pH值5。

组织分离固体培养基配方:配方1~4同上;配方5为葡萄糖20 g,面包酵母冷冻干燥物5 g,琼脂20 g,分别溶解于1 L自来水中,pH值5~5.2;配方6为红糖20 g,酵母膏5 g,琼脂20 g,分别溶解于1 L蒸馏水中,pH值6~7;配方7为葡萄糖20 g,酵母膏5 g,琼脂20 g,可溶性淀粉5 g,VB1+VB2(等比例)1 mg/L,分别溶解于1 L蒸馏水中,pH值6~7;配方8为葡萄糖20 g,酵母膏5 g,琼脂20 g,硫酸镁200 mg,分别溶解于1 L自来水中,pH值6~7。

#### 1.2.2 菌种扩大培养

当产生菌丝量较多时进行扩大培养。采用液体培养培养的菌种扩大培养接种前需用移液管将试管中的菌丝体混匀,之后吸取2 mL液体培养物加入到新配制的对应配方的液体培养基中,培养基配方与菌种分离培养基配方相同,每个试管的液体培养物转2管。

采自西藏那曲样地的子实体在培养过程中,由于固体培养基中的琼脂未溶解完全,部分固体培养基变成液体,菌丝已完全在液体培养基环境中生长,两周后待菌丝体较多时进行转管,方法同上。

#### 1.2.3 土壤理化性质测定及分析

土壤有机质的测定方法为重铬酸钾氧化—外加热法(GB7857-87)、pH值的测定方法为酸度计法、全氮测定方法为开氏定氮法、全磷采用碱熔—钼锑抗比色法,土壤含水率测定采用土壤湿度计,数据分析软件使用R 4.2。

2 研究区概况

藏北高原,又称羌塘高原,是青藏高原腹地,地处西藏北部,包括冈底斯山和念青-唐古拉山以北的阿里、那曲地区(含拉萨市当雄县)的辽阔区域。过去50年该区域温度增加趋势显著,平均升温幅度超过1.4℃。本文研究地点为西藏那曲高寒草地生态系统定位站(31°38'43″N,92°00'46″E,海拔4585~4603m)试验场,隶属于中国科学院地理科学与资源研究所。

研究点位于青藏高原的核心区域,藏北高原东北部,属高原亚寒带半干旱季风型气候,具有漫长的冬季和短暂的夏季,气候寒冷、干旱、多风,年平均气温为-0.9℃~-3.3℃,极端最高气温22.6℃,极端最低气温-41.2℃,最热月(7月)平均气温8.8℃,最冷月(1月)平均气温-13.8℃,大于0℃积温1000~1100℃,≥10℃积温93.5℃。全年无绝对无霜期,年相对湿度为48%~51%,多年平均降水量为400mm,年蒸发量(以小蒸发皿测量)达1800mm,由东南向西北增大;年均风速大于3.0m·s<sup>-1</sup>,年日照时数为2850~2880h。每年10月中旬至次年5月中旬为积雪期和土壤冻结期,此期间气候干燥,温度低,风沙大。冬春季受高空西风气流影响,地面气温低,空气干燥,天气晴朗,多7级以上大风,有时可达10~12级,年平均霜日103d,每年7~9月为高原植被生长期。本研究点在每年的10月中下旬至次年5月上旬常为积雪覆盖,土壤完全冻结,且气候异常干燥,温度极低,而高寒草甸的生长季多为相对温暖湿润的6~9月。试验场地于2010年用1.5m高钢丝围栏围住,全年禁止牛羊进入以避免放牧的影响。研究点植被的平均高度为3~5cm,总覆盖度60%~80%,以高山嵩草(*Kobresia pygmaea*)为优势种群(覆盖度为50%~65%),次优势种群为钉柱委陵菜(*Potentilla saundersiana*),伴生种主要有二裂委陵菜(*Potentilla bifurca*)、紫花针茅(*Stipa purpurea*)、羊茅(*Festuca ovina*)、火绒草(*Leontopodium pusillum*)、西藏风毛菊(*Saussurea tibetica*)、青藏苔草(*Carex moorcroftii*)等。

3 研究结果

2016年6月,在中科院地理资源所西藏那曲生态站建立4块黄绿卷毛菇原生地增产控制试验,设置浇水、遮阴、对照、浇水+遮阴等处理4种,每种处理5个重复,6~9月每天观察黄绿卷毛菇出菇和生长状况,见图1。

通过分析发现,浇水处理和遮阴处理对土壤pH值影响显著( $p<0.05$ ),且二者之间存在着显著交互作用(表1)。不同处理下,土壤有机质、全氮、全磷、土壤含水率均没有显著变化(表1,图2)。与对照相比,浇水处理显著提高了土壤pH值(图2,  $p<0.05$ )。

表1 不同处理下土壤理化性质线性混合效应模型结果

指标	浇水	遮荫	浇水+遮荫
有机质(SOC)	0.954	0.896	0.714
全氮(TN)	0.462	0.827	0.459
全磷(TP)	0.298	0.893	0.425
pH	<0.001	0.033	0.015
土壤含水率(SWC)	0.201	0.346	0.660



图1 黄绿卷毛菇控制试验

3.1 黄绿卷毛菇组织分离及菌丝体的培养

采自西藏那曲样地的子实体在分离培养菌丝时由于琼脂未溶解完全,导致c,d部分培养基液化。液化培养基记为c',d',组织块的生长环境与液体培养基环境相同,在一周、两周后观察菌丝生长情况与液体培养基培养菌丝生长情况相同。从菌丝培养的污染率来看,c污染率较低,d污染率较高(表2)。在采用4种固体培养基培养过程中,均未产生菌丝污染(表3)。

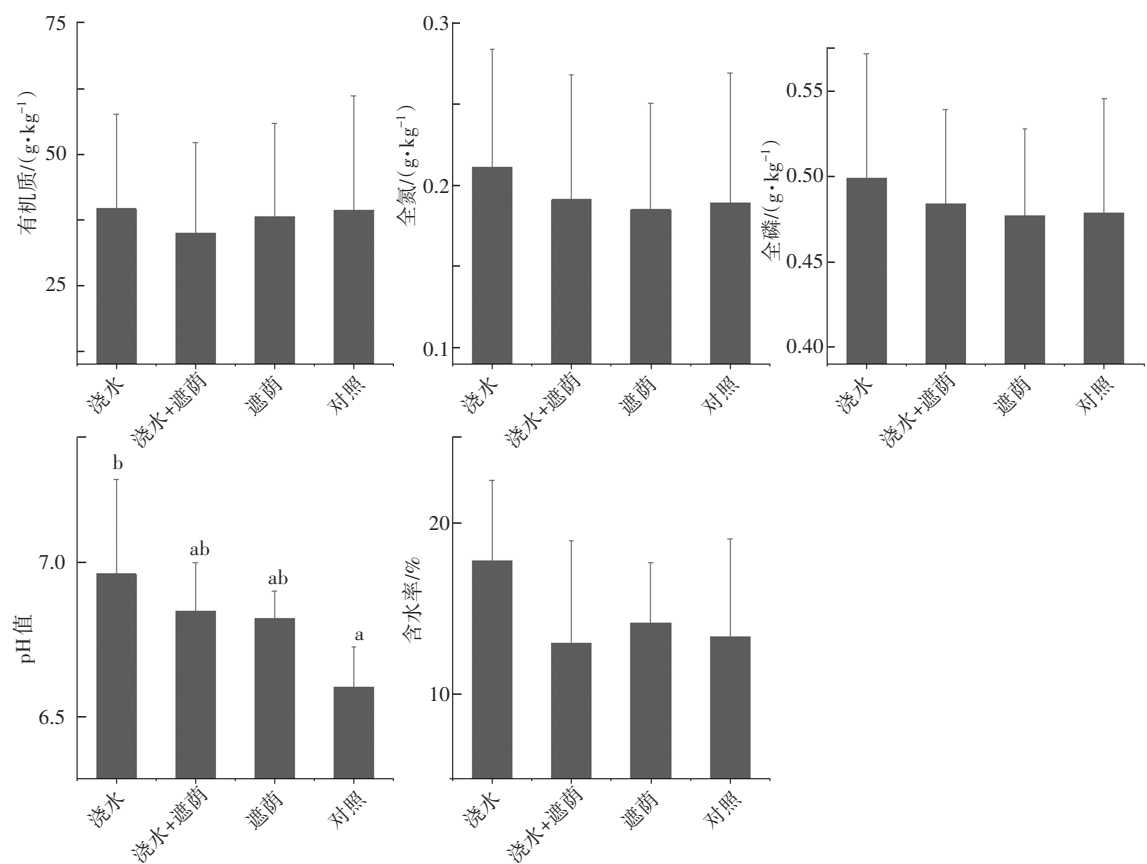


图2 不同处理下土壤理化性质变化多重比较

表2 液体培养基培养菌丝情况

培养基 序号	接种 总数/管	菌丝生长状况	污染 总数/管	污染 率%
a	7	颜色洁白,呈长丝状	2	28.6
b	7	颜色洁白,呈长丝状	2	28.6
c	7	颜色洁白,呈长丝状	2	28.6
c	2	颜色洁白,呈长丝状	0	0
d	7	颜色洁白,呈长丝状	4	57.1
d	4	颜色洁白,呈长丝状	0	0

表3 那曲样地采集子实体污染情况表

培养基序号	接种总数/管	污染总数/管	污染率%
a	7	3	42.9
b	7	2	28.6
c	5	3	60
d	3	2	66.7

3.2 菌种扩大培养

采自试验样地子实体经过转管10日后,观察菌丝的生长情况,发现菌丝量无明显增加,且有部分试管培养物浑浊,不能辨别是否染菌;一部分培养物出现染菌状况(表4)。菌种在经第一次转管三周后,除c',d'培养基未有明显变化也未染菌外,其他每种配方培养基均有白色丝状菌丝产生,但菌丝生长较缓慢,未形成絮状,部分出现染菌状况(表5)。在第一次转管4周后,除c,d培养基未有明显变化

也未染菌外,其他培养基配方中的菌丝生长仍较为缓慢,未形成絮状,污染情况见表6。

进行第二次转管两周后,除c',d'培养基未有明显变化也未染菌外,其他配方培养基中的菌丝有明显生长,呈絮状,但每种配方培养基絮状菌丝数量有差别(表5),其中c菌丝体生长量较多(表7)。a培养基的培养物有浑浊现象,经检查发现是由于在菌种分离时培养基未溶解完全,在两次的转管过程中由于需要将原管的培养物混匀,因此会将未完全溶解的培养基带入到新的培养基中;目前液体培养基中菌丝生长量的大小还未查到量化方法,描述也不完全,仅能通过肉眼简单判断。

表4 菌种扩大培养污染情况

培养基序号	转接总数/管	污染总数/管	污染率/%
a	10	3	30
b	10	3	30
c	10	1	10
c	4	0	0
d	6	2	33.3
d	8	1	12.5

注:d培养基未污染培养物,其中1管培养基较混浊,1管几乎无新菌丝产生。