

# 长白山松口蘑的驯化研究进展\*

傅伟杰\*\* 许广波 傅民杰 梁运江 刘文利

(延边大学农学院 龙井 133400)

**摘要:** 对长白山区松口蘑的分布、生态、纯培养菌种、驯化栽培、人工促繁的研究进展进行了专题论述。

**关键词:** 松口蘑、生态、纯培养、驯化栽培、人工促繁

**中图分类号:** S646.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2004) 06-0105-05

## Advance of Domesticating Cultivation of *Tricholoma matsutake* in the Area of Changbai Mountain\*

FU Wei-Jie\*\* XU Guang-Bo FU Min-Jie LIANG Yun-Jiang LIU Wen-Li

(College of Agronomy, Yanbian University, Longjing 133400)

**Abstract:** In this paper, we expatiate the advance of *Tricholoma matsutake* including distributing, environment, pure culture, domesticating cultivation and artificial forcing breeding in the area of Changbai Mountain of China.

**Key words:** *Tricholoma matsutake*, Environment, Pure culture, Domesticating cultivation, Artificial forcing breeding

松口蘑 (*Tricholoma matsutake*) 在中国商贸和民间称之为松茸。松口蘑是营养共生的外生菌根菌, 人工驯化极为艰难, 尽管经历了一个世纪的不懈努力, 迄今尚未实现松口蘑的人工栽培。自 1984 年起, 我们对长白山区松口蘑的驯化和促繁进行了连续研究, 获得了一些新知识、新理论和新方法, 现将其有关研究进展通报如下。

### 1 长白山区松口蘑的生态及地域分布特征

长白山地包括许多平行的山脉, 总的走向是东北~西南。中段山势最高, 白头山天池一带海拔超过 2,000 m。长白山地北端延伸到黑龙江省牡丹江地区, 南端的千山山脉构成了辽东半岛的骨架。长白山的东部和东南有图们江和鸭绿江流过, 这是中、朝两国的界河。由于受水平地带性自然因素和历史地质条件的影响, 长白山地的气候随海拔的增高而变化, 其植被具有明显的垂直分布规律。由下而上明显区分为: 次生阔叶林、针阔混交林、针叶林、岳桦林和高山苔原 5 个植被垂直带。按照植被垂直分布规律, 纵观长白山区松口蘑, 一般是在海拔 400 m ~ 1,000 m 的赤松—蒙古栎针阔混交林地成环状布局。靠近江河湖海、山中云雾笼罩是长白山松茸的地域分布特征<sup>[1]</sup>。根据这一特征, 我们在蛟河市松花湖畔的松江、池水、青背 3 个乡镇和海青林场发现了松口蘑新产区。研究长白山松口蘑生态, 松口蘑发生地多处在山顶周围、山脊处和山腰以上的凸形坡面。地质为花岗岩、砂岩、粘板岩和页岩等<sup>[2]</sup>。土壤为浅薄、贫瘠、疏松、干燥的残积土。pH 值为 4.5~5.5。植被简单, 林下草本稀疏, 枯枝落叶少。乔

\* 国家自然科学基金资助项目 (No. 39860047, 30260071)

\*\* 联系人 Tel: 0433-3261466, E-mail: liuwenli@163.com

收稿日期: 2004-02-20, 修回日期: 2004-04-01

木主要有赤松 (*Pinus densi flora*)、蒙古栎 (*Quercus mongolica*) 以及白桦 (*Betula platyphylloides*)、山杨 (*Populus daurica*) 等。灌木主要有兴安杜鹃 (*Phododendron dauricum*)、胡枝子 (*Lespedeza bicolor*)、还有少量乌苏里绣线菊 (*Spiraea ussuriensis*)、山梅花 (*Philadelphus tenuifolia*) 等。草本植物主要有羊胡子苔草 (*Carex callitrichos*)、玉竹 (*Polygonatum odoratum*)、桔梗 (*Platycodon grandiflorum*)、关仓术 (*Atractylis japonica*) 等。

## 2 松口蘑纯培养菌种的分离、扩繁及鉴定

松口蘑纯培养菌种的分离、扩繁及鉴定是困扰菌物学者的难题之一。松口蘑研究的创始人日本的三村钟三郎以及后来的西门义一都曾做过尝试,但菌种成活率极低。直到 1955 年,才由浜田 稔设计出效果良好的松口蘑组织分离培养基,即浜田培养基。1988 年 Onta 设计了 BM 培养基,这两种培养基一直延续至今。日本富永保人于 1960 年在松口蘑组织分离时得到两种菌丝。一种是松口蘑自身菌丝,生长缓慢;另一种生长迅速,认为是葡萄酒色被孢霉 (*Mortierella Dixon-Stewart*)<sup>[3]</sup>,但未提出鉴定依据。另据报道,小川 真等还在试管中培养出直径 5mm 左右的松口蘑原基。原基顶部变成褐色,质地致密、多汁,有松口蘑香味。1980 年以后,我国一些学者相继通过组织分离获得了松口蘑纯培养菌种,并对松口蘑母种培养基配方进行了改良。其基本措施是:选择和加入适宜氮源;适当调整 C/N 比;加入复合维生素液;加入某些矿质元素。改良后的培养基配方由于成分复杂、制备繁琐、价格昂贵,难以坚持连续研究和扩大规模。本项目在松口蘑纯培养菌种研制中的进展如下。

**2.1 菌种鉴定** 应用 RAPD 指纹对比技术对组织分离中获得的生长速度快、慢不同的两种菌株进行 PDA 鉴定。结果表明,“慢生型”菌株与其来源松口蘑子实体的菌盖、菌褶、菌柄的不同组织全部具有相同的图谱,显示了分离菌株与子实体是相同基因的克隆产物<sup>[4]</sup>。而“快生型”菌株则不同,它与松口蘑发生地 B 层土壤中居多的葡萄酒色被孢霉指纹图谱对应相同,可确认不是松口蘑菌株。从而为松口蘑菌种鉴定提供了科学的依据和方法。此外,对其组织分离出现两种不同菌株的原因进行了探讨。多次分离对比试验显示,利用菌褶和菌盖部位菌肉为分离材料所获得的菌株全部为松口蘑菌株;而用菌柄基部组织为分离材料,时而出现葡萄酒色被孢霉。

**2.2 松口蘑菌种的分离与扩繁** 在松口蘑菌种分离和扩繁的研究中,以广泛应用的浜田培养基和 BM 培养基为对照,设计了以 PDA 培养基为基础,添加松口蘑土、松枝、松针、天然果汁、菇类煮汁、麦麸煮汁、酵母浸膏、蛋白胨的不同天然物质和不同有机复合氮源的培养基配方。用火焰消毒法代替升汞消毒法,用三角瓶代替试管,开展对比试验。试验结果表明,在松口蘑组织分离中最适宜的培养基是松口蘑土培养基、其次是菇类菌丝麦麸汁培养基<sup>[5]</sup>。其它培养基或成活率低或表现不够稳定。松口蘑土是松口蘑发生地的 B 层土壤,其中含有松口蘑的菌丝、菌根和大量的松树须根。pH 值在 4.5~5.5,具有浓郁的松口蘑香味,在营养上与天然松口蘑生境具有极大的相似性。在松口蘑母种扩繁的试验中,以菇类菌丝麦麸汁培养基最佳,以下依次是果汁培养基、BM 培养基、浜田培养基、PDA 培养基和酵母浸膏蛋白胨培养基,见表 1。不同食用菌菌丝煮汁之间对松口蘑菌丝生长速度影响差异未达到极显著水平,可以随机选用。菌丝麦麸汁培养基可以广泛用于松口蘑母种扩繁,7 d 内菌丝恢复生长,生长速度可达

0.807 mm/d, 与小川真、浜田稔当年最适培养基 20 d 菌丝扩展 7.5 mm, 70 d 菌丝扩展 23.8 mm, 生长速度 0.34 mm/d 相比, 提高一倍以上, 向松口蘑菌种的批量生产前进了一步。

表 1 不同培养基上松口蘑菌丝生长速度的比较结果 (SSR 法)

培养基	菌丝生长量 (mm/d)					平均值 (mm/d)	差异显著性	
	1	2	3	4	5		0.05	0.01
糙皮侧耳菌丝麦麸汁培养基	0.833	0.767	0.833	0.833	0.767	0.807	a	A
果汁培养基	0.767	0.833	0.833	0.767	0.833	0.807	a	A
BM 培养基	0.833	0.767	0.800	0.833	0.767	0.800	a	A
浜田培养基	0.767	0.733	0.733	0.700	0.767	0.740	b	B
松口蘑土培养基	0.733	0.700	0.700	0.733	0.700	0.713	b	B
PDA	0.700	0.600	0.633	0.633	0.567	0.627	c	C
酵母膏蛋白胨培养基	0.467	0.467	0.500	0.533	0.500	0.493	d	D

**2.3 松口蘑原基的培养** 原基和子实体均为组织化的菌丝体。在研究松口蘑菌丝体组织化的试验中, 我们在 1,000 ml PDA 培养基中分别加入 1 g, 2 g, 3 g 一直到 16 g 的蛋白胨。结果发现, 随着蛋白胨浓度梯度的变化, 松口蘑菌落形态和组织化的程度成规律性的变化。在 PDA 培养基上, 松口蘑菌丝为纯白色, 菌落表面气生菌丝扭结, 形成毛刺状。当蛋白胨含量为 0.1% 时, 菌丝仍为纯白色, 菌落表面气生菌丝呈绒毛状, 且不发生扭结。当蛋白胨含量为 0.2%, 菌落中央明显隆起, 呈草帽状。表面气生菌丝长而多分枝, 且旺盛致密。随着蛋白胨含量的增加菌落中央隆起越高, 草帽状菌落外沿越来越窄, 隆起部位颜色越来越深, 气生菌丝逐渐变短。当蛋白胨含量达 1.6% 时, 菌落呈半球形, 颜色为浅黄褐色, 组织化程度高, 酷似松口蘑菌盖, 半球直径可达 15 mm ~ 20 mm。解剖观察, 质地致密多汁, 有浓郁的松口蘑香味, 与小川真当年描述松口蘑原基一致, 但原基直径明显增大且具有可调控规律。

### 3 松口蘑的驯化及促繁

在驯化、促繁研究方面的进展是: 明确了驯化的难点、潜能和基本条件; 评估了驯化栽培和科学意义; 提出了自然繁衍是松口蘑产量形成的主体, 人工促繁是实现松口蘑可持续发展的有效途径。

**3.1 驯化栽培的难点** 松口蘑驯化栽培之所以艰难, 是因为松口蘑是营养共生型的菌根菌。现今, 人类还难以合成代替活树根系所提供的营养物质和天然生境。自然状态下, 松口蘑孢子通过气流和水流进入土壤中, 萌发后, 需要一个菌根形成和菌丝再发生的过程。只有当菌丝在土中达到一定的生物量并在条件适宜时才能发生子实体并弹射孢子, 这一期间至少需要 5 年<sup>[3]</sup>。由于松口蘑生境地处偏僻深山, 交通不便, 每年发生期仅有 2 个月左右, 限制了菌物学者深入调查和连续研究。致使松口蘑的驯化栽培研究在相当一个时期陷入低谷。

**3.2 松口蘑的驯化潜能** 适应性和变异性是松口蘑驯化栽培研究的基础。松口蘑发生地菌根植物、立木密度、树龄、土壤、纬度、海拔、地形因地域不同存在明显差异。已报道的菌根植物有赤松 (*Pinus densiflora*)、云南松 (*P. yunnanensis*)、台湾松 (*P. taiwanensis*)、红松 (*P. koraiensis*)、高山松 (*P. densata*) 等几十种。树龄跨度 20 年至

百年。立木密度范围 500 ~ 3,000 株/hm<sup>2</sup>。土壤有山地暗棕色森林土、山地红壤、山地黄壤、棕壤、黄棕壤、灰棕壤等多种类型。海拔高度从 400 ~ 4,000 m。发生季节从 6 月中旬到 11 月中旬。分布于亚洲、欧洲和北美洲。全世界报道了 15 个松口蘑的近缘种和 1 个变种, 其中我国记载了 5 个种和 1 个变种, 除松口蘑外, 还有傻松口蘑 (*T. bakamatsutake* Hongo)、青岗蕈 (*T. quercicola* Zang)、粗壮口蘑 [*T. robustum* (Alb. et Schw. ex Fr.) Ricken]、黄褐口蘑 (*T. fulvocastaneum* Hongo) 和松口蘑台湾变种 [*Tricholoma matsutake* (S. Ito et Imai) Sing. Var. *formosana* Sawada.]<sup>[6]</sup>。在长白山区, 除松口蘑外还有傻松口蘑 (*T. bakamatsutake*)。上述内容足以说明松口蘑的适应性、变异性和驯化潜能。

**3.3 驯化松口蘑的基本条件** 松口蘑驯化栽培的目的在于实现松口蘑资源的有效保护和可持续利用。松口蘑驯化栽培的基本条件是具备生命系统、环境系统和人工调控系统。生命系统包括松口蘑菌丝, 共生植物以及它们共同形成的菌根。作用的机理是赤松不定根和愈伤组织与松口蘑外生菌根菌的相互作用<sup>[7]</sup>。环境系统包括土壤(类型、质地、结构、pH 值、微生态)、地形(坡向、坡度、坡位、坡面)、植被(乔木、灌木、林下草本、郁闭度、蘑菇相)、气候(温度、湿度、光照、通风)。人工调控系统包括林地更新、清理地表, 集根作业, 增施营养液, 灌溉等。

**3.4 对松口蘑驯化栽培的评估** 研究认为, 百年的松口蘑驯化栽培研究对松口蘑的生态、分布、种群、生物学特性、生长发育条件、丰欠规律以及形态、成份、保鲜、加工等诸多方面有了充分的认识、形成了较为系统的基本理论和基本方法。松口蘑的人工栽培是指应用松口蘑纯培养菌种在人工合成培养基上所进行的栽培<sup>[8]</sup>。这是一个难以实现的目标。其难点在于环境系统的选择和创造。但是, 松口蘑纯培养菌种的分离扩繁和鉴定是松口蘑乃至菌根菌驯化研究的重大进展。松口蘑的半人工栽培是指以天然松口蘑的孢子、菌丝、菌根以及子实体为接种材料、以适宜林地栽培场所的模拟栽培。半人工栽培是一种原始的驯化栽培方法, 受到时间、地点和接种材料的限制。但是, 半人工栽培获得了松口蘑子实体, 进一步提示了松口蘑的驯化潜能, 建立了以天然松口蘑为接种物, 以适宜林地栽培场所的模拟栽培技术体系。近年来, 我们提出应用纯培养菌种林地栽培松口蘑的驯化途径<sup>[8]</sup>。就接种材料而言, 属于人工栽培范畴。就其栽培场所而言, 还不能认为是纯粹的人工栽培。松口蘑的人工林地栽培集人工栽培和半人工栽培的优势为一体, 符合松口蘑驯化栽培的基本条件, 冲破纯粹人工栽培的束缚, 是理想的驯化栽培技术路线。其前提是批量生产纯培养菌种和适地的选择, 切入点是人工营造松口蘑窝, 技术关键是促成松口蘑窝内菌根和菌丝大量发生, 调控菌丝体组织化和结实基因的及时表达<sup>[8]</sup>。

**3.5 松口蘑的人工促繁** 松口蘑的自然繁衍是松口蘑产量形成的主体。在一座松口蘑山中松口蘑窝的数量、单窝产出松口蘑的平均株数和单株松口蘑的平均重量是天然松口蘑产量构成的三要素<sup>[9]</sup>。松口蘑窝是指连年发生松口蘑的同一地点, 是松口蘑立地并完成生活史的主要场所。松口蘑窝具有自然扩繁能力。一个松口蘑窝出现之后就会接连不断地发生子松口蘑窝、孙松口蘑窝, 一代一代繁衍下去<sup>[10]</sup>。松口蘑窝的形成和发育程度受到林地土壤、林地植被、林地气候、林地生物的影响。林地是松口蘑的家园, 土壤是松口蘑的居室, 土栖性是松口蘑的重要属性。人工培育一个松口蘑窝十分艰难, 但保护和培育天然松口蘑窝要容易得多。松口蘑的人工促繁旨在保护林地资源,

优化环境系统,选择和创造松口蘑适生林地,促进松口蘑窝的形成和生长发育,实现松口蘑的可持续发展。松口蘑的人工促繁需要政策的支持和群众的参与。建立自然保护区是一种好形式,可以将科技精神注入民族文化。1996年,我们的科研基地-吉林龙井天佛指山被批准为省级松口蘑自然保护区。2002年晋升为国家级自然保护区。保护区成立以来,实行了科学管理和有效的保护措施,建立了松口蘑山承包责任制。群众的科技意识鲜明增强。承包者已摸清自家松口蘑窝的本底并积极实行人工促繁。由于实施“应用等外子实体切块直播营造松口蘑窝”、“保留部分产孢种菇增加松口蘑窝”、“禁采拒收童菇提高松口蘑窝的单产”等促繁技术<sup>[11]</sup>,使保护区  $7 \times 10^4 \text{hm}^2$  的松口蘑资源得到了恢复和发展。2002年,松口蘑产量超 30 t,创近 10 年来产量新高。

### 参 考 文 献

- [1] 傅伟杰,许广波,刘继生,等.食用菌学报,1996,3(3):46~50.
- [2] 傅伟杰,许广波,杨淑荣,等.土壤学报,1998,35(1):140~143.
- [3] 赵淑芬.松口蘑.吉林:科技出版社,1986,32.
- [4] 曾东方,罗信昌,傅伟杰,等.微生物学报,2001,4(3):278~286.
- [5] 魏铁铮,许广波,傅伟杰,等.食用菌学报,2000,7(3):48~52.
- [6] 臧 穆.真菌学报,1990,9(2):113~127.
- [7] 傅禄敏,铃木和夫.菌物系统,2003,22(3):369~373.
- [8] 傅伟杰,许广波,陈艳秋,等.中国食用菌,1999,18(6):10~11.
- [9] 弓明钦,陈 羽,王凤珍,等.松茸.昆明:云南科技出版社,1999.55.
- [10] 伊藤武,岩象果园管理那样培育松茸.日本:新产品系列丛书,1997.125,135.
- [11] 傅伟杰,许广波,魏铁铮,等.生命科学,2003,4:15~16.