



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106305132 A

(43)申请公布日 2017.01.11

(21)申请号 201610656215.8

(22)申请日 2016.08.11

(71)申请人 甘肃民族师范学院

地址 747000 甘肃省甘南藏族自治州合作市知合玛路233号

(72)发明人 何淑玲 马令法 常毓巍 杨敬军  
李瑛萍 马明海

(74)专利代理机构 北京国坤专利代理事务所  
(普通合伙) 11491

代理人 郭伟红

(51)Int.Cl.

A01G 1/04(2006.01)

C05G 3/00(2006.01)

权利要求书3页 说明书15页

(54)发明名称

一种高寒高海拔地区黑虎掌高效种植方法

(57)摘要

本发明公开了一种高寒高海拔地区黑虎掌高效种植方法,包括如下步骤:1:黑虎掌子实体的分离克隆;2:栽培种的制作;3:外援营养袋的制作;本发明方法在高寒、高海拔等自然条件恶劣地区不受自然条件限制,可周年规模化、规范化种植黑虎掌,所用材料来源广泛、便捷,能变废为宝,且循环利用生活、生产等废旧物如废纸、废纸箱、草木灰、农作物秸秆、落叶、腐熟的家禽、家畜粪便等,该技术不但出菇重复性高,产量高且稳定,而且经济、环保的日光温室黑虎掌反季节种植技术。

1. 一种高寒高海拔地区黑虎掌高效种植方法,其特征在于,由如下步骤组成:

步骤1:黑虎掌子实体的分离克隆:

培养基料在容器中分五层设置,按照质量份数,每一层具体为:第一层为25~80份黑虎掌基脚土+3~5份生石灰+72~15份腐熟牛、羊或鸡粪,第二层为85~65份农作物秸秆粉+15~35份杂木屑,第三层为10~30份小麦+85~65份农作物秸秆粉+1~3份维生素B族+4~2份草木灰,第四层为85~65份农作物秸秆粉+15~35份杂木屑,第五层为10~35份玉米芯+10~30份杂木屑+70~30份粉碎废纸+10~5份尿素,容器口塞上棉塞,在温度为125℃,压力为0.15Mpa下高压灭菌1小时,在室温下自然冷却;将野生或栽培黑虎掌子实体取麦粒大小的1~2块组织接种在上述试管第一层料上,将试管放在12~28℃下,空气湿度为60%~95%,下避光培养,接种后第2天开始长出菌丝,10~15天待试管中长满菌丝直至长出菌核后取试管底部的菌丝或菌核或有菌丝、菌核的培养基直接接种在栽培种培养料上;

步骤2:栽培种的制作

培养主料配方为10%~35%小麦+75%~30%直径0.2~0.5厘米的玉米秸秆颗粒+10%~30%草木灰+1%磷酸二氢钾+3%磷肥+1%石灰;②将浸泡24~48小时的小麦煮至里面不发白但不烂皮后捞出沥干水分,加上玉米秸秆颗粒、草木灰拌匀;③将磷酸二氢钾、磷肥和石灰完全溶解在水里拌在上述混合物里做成培养料,含水量50%~65%;④培养料封口料配方为:60%~82%黑虎掌基脚土,38%~14%草木灰,1%~3%生石灰,1%磷酸二氢钾,含水量30%~45%,pH为7.0~7.5;⑤封口料装瓶或装袋:先将培养料主料装入瓶或袋中,装瓶或装袋,再装入封口料;⑥封口灭菌:121℃~125℃,0.12Mpa~0.15Mpa高压灭菌4~2小时;⑦接种:将灭菌后的料冷却,在无菌环境中接入步骤1分离得到的菌丝或菌核连同培养料取黄豆粒大小接种在封口料上并压紧与料充分接触,一支20mm×200mm试管视菌丝和菌核长势可以接30~55瓶或袋,其中最下层接15~25瓶或袋,第二层接10~20瓶,第一层接5瓶~10瓶;⑧培养:在温度为10~28℃下避光培养,空气湿度为55%~90%,接种后第2~4天开始长出菌丝,10~20天菌丝满瓶或满袋直至长出菌核即为栽培种;

步骤3:外援营养袋的制作

(1)外援营养袋养料配方:60%~85%废纸、35%~10%尿素、1%磷酸二氢钾、0.5%硫酸镁、0.5%硫酸锌,3%石膏;

步骤4:日光温室棚种植,周年均可种植,此步骤包括:

(1)整地及播种:①施基肥:施有机肥和油菜饼粉作为基肥,②土壤灭菌:将厢内土壤翻松,整平,先用石灰进行全面的消毒,石灰用量为250kg/亩~350kg/亩,浇一次透水后,晾晒2~5天,再撒一层1厘米厚的草木灰和一层5厘米厚的中砂,喷洒浓度为0.5%氯氰菊酯及50%的辛硫磷混合水溶液杀虫;③温室棚灭菌:土壤消毒后再将地深翻一次后密闭大棚用高锰酸钾和甲醛进行熏蒸灭菌3天,然后通风处理2天;④起厢:平整后的种植土地表面开设厢面,厢面宽度为80~120cm,再在厢面四周开设厢灌水沟,灌水沟的宽度15~30cm,灌水沟的深度为15~20cm,然后将栽培种撒播在厢面上,该技术要求大播种量,分春、秋、冬三季播种;

(2)消毒:采用75%的酒精对菌种取用器具、盛放盆、接种人员双手等进行消毒后,接种人员通过取用器具将黑虎掌菌种置于盛放器具中;

(3)拌种:将甘油三酯和磷酸二氢钾与水(1~3:1:5)

混合制成拌种溶液,将栽培种拌匀,拌种溶液的用量为栽培质量的25%—35%,因为黑虎掌在营养生长阶段必须储存足够的营养,而甘油三酯可以作为营养物质储存在菌丝里以满足黑虎掌生殖生长的需要,因此,延长了生殖生长期,减少了病虫害的发生,出菇稳定,大大地提高了种植产量;该技术是本发明的核心技术之三;

(4)播种:在厢面上先用1%磷酸二氢钾+1%赤霉素+0.5%硫酸镁+0.5%硫酸锌+10%草木灰的混合营养液洒湿整个厢面,再直接在厢面上进行撒播,后覆盖2~4cm的土,再将厢内土壤进行4~6小时的喷灌,直至使土壤湿度达到95%,再在厢面上覆盖一层(2~3cm厚)的作物秸秆,以利于保湿;目的是通过进行第一次的水刺激使正在生长的菌丝进入生殖生长;如果第一季在2月初播种,菌丝营养生长在2、3和4月,子实体生殖生长在5月中旬至6月初,25~40天生长周期结束,在整个生长阶段,在高寒地区棚内温度不会低于黑虎掌生活史的最低生长温度,子实体生长1个月左右结束了整个生活史,第一季出菇产量约为100~150kg/亩;接着夏季在6月初进行第二季播种,菌丝营养生长在6、7和8月,8月中旬至9月初开始出菇,这个季节,在高寒地区温度也不会超过其生活史的最高生长温度,子实体生长30~50天完成了整个生活史,第二季出菇产量约为150~kg/亩,接着10月份初进行第三季播种,菌丝营养生长在10、11、12和1月,由于早晚温差较大,一天中棚内凌晨3:00~5:00温度为最低~5℃~3℃,菌丝生长期延长,子实体生殖生长在第二年的1月底至2月初,这个季节,在高寒高海拔地区温室棚温度也不会低于其生活史的最底生长温度,子实体生长40~55天完成了整个生活史,第二季出菇产量170~200kg/亩;因此,可以实现一年三季的周年生产,且由于,高寒高海拔地区几乎没有高于30℃的季节,出菇会延长至30~40天,而在温度较高地区黑虎掌子实体出菇仅为10~15天;加大播种量是提高产量的关键之一,另外用营养液喷洒厢面可以为菌丝生长提供必要的无机盐、激素等物质,另外黑虎掌连作更能丰富土壤的微生物区系,从而比单作大大地提高了产量;

#### (5)投放外援营养袋

在步骤4黑虎掌播种后第:7~10天,在养料袋上扎孔,将养料袋开孔的一侧平放于土壤表面,压至与所有孔均与土壤充分接触,如果将孔暴露在空气中,就会引起营养袋内的养料感染杂菌而霉变,外援营养袋之间的距离为25cm~45cm,行距30cm~50cm;

#### (6)菌丝生长阶段管理

在步骤5黑虎掌播种后,因土壤水分蒸发而导致土壤发白时,就要进行土地灌水沟漫灌和厢面喷灌处理,进行灌溉时,水里加上甘油三酯0.5mL/L、磷酸二氢钾0.05mL/L和细胞分裂素0.05mL/L,以提供菌丝生长的营养,同时,保持厢面土壤湿度50%~70%,空气湿度70%~95%,温度12~22℃;

(7)拿掉外援营养袋:营养袋投放7~40天,标准营养袋内长满菌丝,且菌丝非常密集后拿掉,拿掉外源营养袋菌丝进入生殖生长的诱因之一,后进行第一次补水2L/m<sup>2</sup>,后每隔7天补一次水进行水刺激,直到原基出现,补水时向水中加入磷酸二氢钾0.05mL/L和细胞分裂素0.05mL/L,水刺激的速度为250~1000mL/小时·平方米,每次12小时到40小时,在水刺激前土壤要相对的干燥,水刺激后的土壤含水量50%~65%,空气湿度85%~90%,温度12~22℃;

#### (8)黑虎掌出菇管理

黑虎掌菌丝分化形成原基到具有菌柄和菌盖的幼小子实体后,进入黑虎掌出菇阶段,

原基出现到长到3cm期间是一个关键的时期这段时间,厢面土壤湿度控制在田间持水量的50%~60%,空气湿度控制在85%~90%,温度12~22℃,条件稍有不妥,原基就会大量死亡;

#### (9)采收

子实体生长5~10天后,颜色由灰色变成灰黄时,子实体表面开始有少量白色孢子粉出现时达到成熟标准及时进行采收,成熟一个采收一个,每天早晨、中午、下午各采摘1次;采摘时,用木制刀具从菌柄基部与土壤的交接处,整齐切断,不要用手直接从土壤上拔起,以免损伤周围的幼小原基和未成熟的子实体。

2.根据权利要求1所述的一种高寒高海拔地区黑虎掌高效种植方法,其特征在于,所述步骤一中,第一层装量为试管容积15%,含水量为50~75%,第二层装量为试管容积25%,含水量为55~70%,第三层装量为试管容积15%,含水量为40~55%,第四层装量为试管容积25%,含水量为35~50%,第五层装量为试管容积20%,含水量为55~80%,试管口留出5%的空间以利于管内空气流通。

3.根据权利要求1所述的一种高寒高海拔地区黑虎掌高效种植方法,其特征在于,所述步骤二中,培养料主料装量标准为不大于3/5,再装入封口料,封口料装量标准为不少于1/5,装料不能太实,料中间插上一支木条,且瓶或袋要留出1/5的空间,以确保料的通气性。

4.根据权利要求1所述的一种高寒高海拔地区黑虎掌高效种植方法,其特征在于,所述步骤三中,将各原料混合后用水拌匀,含水量为45%~60%,即得外援营养袋养料,将养料依次进行装袋、封口,不需要高压灭菌,即得养料袋。

5.根据权利要求1所述的一种高寒高海拔地区黑虎掌高效种植方法,其特征在于,所述步骤四中,有机肥的使用量为800~1200kg/亩,油菜饼粉的使用量为120~130kg/亩。

6.根据权利要求1所述的一种高寒高海拔地区黑虎掌高效种植方法,其特征在于,所述步骤四中,拿掉外援营养袋后进行第一次补水,补水量为2L/m<sup>2</sup>,后每隔7天补一次水进行水刺激,直到原基出现。

7.根据权利要求6所述的一种高寒高海拔地区黑虎掌高效种植方法,其特征在于,所述步骤四中,补水时向水中加入磷酸二氢钾0.05mL/L和细胞分裂素0.05mL/L,水刺激的速度为250~1000mL/小时·平方米,每次12小时到40小时,在水刺激前土壤要相对的干燥,水刺激后的土壤含水量50%~65%,空气湿度85%~90%,温度12~22℃。

## 一种高寒高海拔地区黑虎掌高效种植方法

### 技术领域

[0001] 本发明属于设施农业食用菌种植技术领域,特别涉及一种高寒高海拔地区黑虎掌高效种植方法。

### 背景技术

[0002] 黑虎掌菌学名枣翘鳞肉齿菌,是著名的出口食用菌之一。菌体粗壮肥大、肉质细嫩,含有丰富的胞外多糖,不易破烂且营养丰富。据分析测定,其干品含17种氨基酸,其中有占总量41.46%的7种人体必需氨基酸,以及11种矿物质和微量元素。这种食用菌价值极高,在粤北地区有产,价格1000多元一斤。

[0003] 黑虎掌菌在历史上被视为中宝珍品,是向历代王朝纳贡的贡品之一。这种菌无盖无柄,在菌体上长满一层纤细的茸毛,呈黄褐色,并有明显的黑色花纹,形如虎爪,因而得名。虎掌菌营养价值和经济价值很高,鲜时有浓香味,干制后香味更浓。虎掌菌每年八至九月生长在高山悬崖的草丛深处。云南省仅有楚雄州和丽江县的少数地区生产,故较珍贵。而且,黑虎掌还具有较强的抗肿瘤、增强人体免疫力、补肾壮阳、预防感冒、强身健体等作用。除了食用、药用价值外,现代社会还针对其特殊营养成分开发了商业化的调味品、保健饮品、食品(氨基酸)添加剂、泡酒等一系列产品。由此可见,黑虎掌是一种开发前景广阔的珍稀食药菌。目前国内一些高档酒店和电商市场均能见到黑虎掌食谱或精装商品销售,如淘宝网标价196元/50克干品,阿里巴巴的黑虎掌干品批发价在800~2000元/斤,其需求量相当大。而目前中国野生黑虎掌受环境恶劣变化和人为肆意采挖影响,野生黑虎掌产量急剧缩减,每年仅产约10吨,人工栽培每年生产量不超过500吨,而全球黑虎掌总需求量预计超过10万吨,因此,仅靠采集野生黑虎掌已经远远不能满足社会需求,而反季节栽培黑虎掌定能带来良好的经济收益。另外黑虎掌在食品、保健品、医药化工等多领域有着广阔的应用前景,是中国主要出口到法国等欧洲国家的食用菌产品,并且随着德、法、意、美等国家对黑虎掌的需求量增大,其价格不断攀升。但是由于黑虎掌人工栽培难度大,人工栽培研究进展缓慢,野生黑虎掌其远远不能满足国内与国际市场的需求,并且由于近年来过渡采挖野生黑虎掌,严重破坏了黑虎掌的生物多样性和森林、草地生态系统平衡。因此,黑虎掌的人工或半人工栽培技术一直是国际食用菌研究的热点,栽培试验偶有成功,但其重复性差,出菇不稳定,产量低,无法进行商业化栽培。因此,研究黑虎掌的高产质优的人工栽培则具有巨大的市场前景和经济效益、生态效益,同时对于减少野生菌类的开采,保护生态环境,具有重要的意义。

[0004] 近几年来,我国黑虎掌人工栽培的研究主要集中在菌种生产工艺,各种大田、林地、小麦、麦冬地仿生栽培技术、套种技术方面,国外则主要集中在室内工厂化栽培技术方面。在中国的四川、重庆、云南、湖北等地,基本上实现了黑虎掌的规模化、商业化生产,目前,国内外对黑虎掌(*M. esculenta*)、黑脉黑虎掌(*M. angusticeps*)、尖顶黑虎掌(*M. conica*)的栽培条件已进行了广泛的研究且。2014~2015年投产的黑虎掌种植面积已经达到8000多亩,亩产达到10~150kg/亩。人工栽培黑虎掌的研究探索已有近百年的历史,在1986年美国

旧金山州立大学Ron Ower在1982年和1986年被授权了两个黑虎掌栽培的美国专利。在20世纪50年代刘波开展了半人工栽培方面试验研究,并且采用新鲜的天然菌丝体栽培、用新鲜和干燥子实体栽培、用纯培养的菌丝体栽培等,都能成功地长出了子实体。同时。半人工栽培方面,台湾省通过菌土接种法、子实体接种法也开展了半人工栽培试验;国外,在1898年5~6月份Baron dyvoire通过把黑虎掌的子实体块接种在菊芋(*Helianthus tuberosus*)苗床穴中,秋季在菊芋茎基部四周施人苹果渣,1~2周后再盖上枯枝落叶,翌年春天除去枯枝落叶的方法进行了半人工栽培试验,发现在比较潮湿的条件下,黑虎掌的菌丝体在基质中蔓延生长,其后年年都有黑虎掌子实体长出;在1892年Repin将经培养多月的黑虎掌菌丝体作菌种撒在种花地上栽培,4年后获得菌丝体,且在经碳酸钙处理至碱性的干叶组成的苗床上和从苹果残物填满的山沟中也长出黑虎掌子实体;J.Pelmas报道,用pH值<7的苹果浆或旧报纸都可种出子实体,但实验不能重复;1904~1905年Molliard苹果渣上种出了黑虎掌子实体;1909~1910Matruchat用纸浆、腐木混合物栽培黑虎掌,也获得了子实体。室外栽培方面,我国进行了大量研究。在1997朱斗锡首次报道了黑虎掌栽培方法。四川青川县在上世纪90年代也进行过黑虎掌的大田栽培实验,出菇不是很稳定。因此,寻找一种具有稳定高产尤其是在高寒地区稳定高产的黑虎掌人工栽培技术,显得极为迫切。因此,该研究的目的在于解决在青海、西藏、甘肃甘南等高寒、高海拔地区如何更好地利用日光温室大棚进行黑虎掌的反季节栽培,以实现高寒地区黑虎掌产量高、品质好以及以此来促进高寒地区经济发展和农牧民增收、创益的目的。

[0005] 然而,上述方法均存在如下缺点:按其技术和方法在高寒高海拔地区,种植黑虎掌产量都非常低,甚至因受低温的限制而不能出菇,因此均不能在高寒地区实现周年化生产。

[0006] 以上技术和方法中提到的原料在高寒地区受到极大的限制,不能循环利用废纸、废纸箱、农作物秸秆等工作、生活废弃物,需要投入大量材料费用,同时,对种植户来说,需要生产菌种的先进设备和场所,技术要求高,种植户很难操作,因此使其生产成本增高;在大规模种植仅使用遮阳网荫棚时,由于高寒高海拔地区风力大,很容易被大风掀翻,加之紫外线非常强,遮阳网易于老化,要经常更换,造成管理麻烦和成本增加,同时,在寒冷季节种植起不到保暖作用;黑虎掌采摘后,遮荫网还需要进行人工回收,回收以后的材料不能循环利用,而且费工费时,遮阳网材料残留在土壤中,还会对土壤造成进一步污染,影响下一茬黑虎掌种植。

[0007] 综上所述,目前所采用的黑虎掌人工种植方法普遍选用的原料及配方比较复杂,尤其是象6~苜基腺嘌呤、赤霉素等药品种植户得到较困难且成本较高,同时在制种过程中需要先进、高端的设备,价格非常昂贵,同时,大面积使用后废弃的遮阳网,会导致管理困难、污染环境等问题。因此,目前迫切需要一种新的方法,以解决上述问题。

## 发明内容

[0008] 为解决上述现有技术存在的问题,本发明的目的在于提供一种高寒高海拔地区黑虎掌高效种植方法,在高寒、高海拔等自然条件恶劣地区不受自然条件限制,可周年规模化、规范化种植黑虎掌,所用材料来源广泛、便捷,能变废为宝,且循环利用生活、生产等废旧物如废纸、废纸箱、草木灰、农作物秸秆、落叶、腐熟的家禽、家畜粪便等,该技术不但出菇重复性高,产量高且稳定,而且经济、环保的日光温室黑虎掌反季节种植技术。

[0009] 为达到上述目的,本发明的技术方案为:

[0010] 一种高寒高海拔地区黑虎掌高效种植方法,由如下步骤组成:

[0011] 步骤1:黑虎掌子实体的分离克隆:

[0012] 培养基料在容器中分五层设置,按照质量份数,每一层具体为:第一层为25~80份黑虎掌基脚土+3~5份生石灰+72~15份腐熟牛、羊或鸡粪,第二层为85~65份农作物秸秆粉+15~35份杂木屑,第三层为10~30份小麦+85~65份农作物秸秆粉+1~3份维生素B族+4~2份草木灰,第四层为85~65份农作物秸秆粉+15~35份杂木屑,第五层为10~35份玉米芯+10~30份杂木屑+70~30份粉碎废纸+10~5份尿素,容器口塞上棉塞,在温度为125℃,压力为0.15Mpa下高压灭菌1小时,在室温下自然冷却;将野生或栽培黑虎掌子实体取麦粒大小的1~2块组织接种在上述试管第一层料上,将试管放在12~28℃下,空气湿度为60%~95%,下避光培养,接种后第2天开始长出菌丝,10~15天待试管中长满菌丝直至长出菌核后取试管底部的菌丝或菌核或有菌丝、菌核的培养基直接接种在栽培种培养料上;

[0013] 步骤2:栽培种的制作

[0014] 培养主料配方为10%~35%小麦+75%~30%直径0.2~0.5厘米的玉米秸秆颗粒+10%~30%草木灰+1%磷酸二氢钾+3%磷肥+1%石灰;②将浸泡24~48小时的小麦煮至里面不发白但不烂皮后捞出沥干水分,加上玉米秸秆颗粒、草木灰拌匀;③将磷酸二氢钾、磷肥和石灰完全溶解在水里拌在上述混合物里做成培养料,含水量50%~65%;④培养料封口料配方为:60%~82%黑虎掌基脚土,38%~14%草木灰,1%~3%生石灰,1%磷酸二氢钾,含水量30%~45%,pH为7.0~7.5;⑤封口料装瓶或装袋:先将培养料主料装入瓶或袋中,装瓶或装袋,再装入封口料;⑥封口灭菌:121℃~125℃,0.12Mpa~0.15Mpa高压灭菌4~2小时;⑦接种:将灭菌后的料冷却,在无菌环境中接入步骤1分离得到的菌丝或菌核连同培养料取黄豆粒大小接种在封口料上并压紧与料充分接触,一支20mm×200mm试管视菌丝和菌核长势可以接30~55瓶或袋,其中最下层接15~25瓶或袋,第二层接10~20瓶,第一层接5瓶~10瓶;⑧培养:在温度为10~28℃下避光培养,空气湿度为55%~90%,接种后第2~4天开始长出菌丝,10~20天菌丝满瓶或满袋直至长出菌核即为栽培种;

[0015] 步骤3:外援营养袋的制作

[0016] (1)外援营养袋养料配方:60%~85%废纸、35%~10%尿素、1%磷酸二氢钾、0.5%硫酸镁、0.5%硫酸锌,3%石膏;

[0017] 步骤4:日光温室棚种植,周年均可种植,此步骤包括:

[0018] (1)整地及播种:①施基肥:施有机肥和油菜饼粉作为基肥,②土壤灭菌:将厢内土壤翻松,整平,先用石灰进行全面的消毒,石灰用量为250kg/亩~350kg/亩,浇一次透水后,晾晒2~5天,再撒一层1厘米厚的草木灰和一层5厘米厚的中砂,喷洒浓度为0.5%氯氰菊酯及50%的辛硫磷混合水溶液杀虫;③温室棚灭菌:土壤消毒后再将地深翻一次后密闭大棚用高锰酸钾和甲醛进行熏蒸灭菌3天,然后通风处理2天;④起厢:平整后的种植土地表面开设厢面,厢面宽度为80~120cm,再在厢面四周开设厢灌水沟,灌水沟的宽度15~30cm,灌水沟的深度为15~20cm,然后将栽培种撒播在厢面上,该技术要求大播种量,分春、秋、冬三季播种;

[0019] (2)消毒:采用75%的酒精对菌种取用器具、盛放盆、接种人员双手等进行消毒后,接种人员通过取用器具将黑虎掌菌种置于盛放器具中;

[0020] (3)拌种:将甘油三酯和磷酸二氢钾(1~3:1)与水混合制成拌种溶液,将栽培种拌匀,拌种溶液的用量为栽培质量的25%—35%,因为黑虎掌在营养生长阶段必须储存足够的营养,而甘油三酯可以作为营养物质储存在菌丝里以满足黑虎掌生殖生长的需要,因此,延长了生殖生长时期,减少了病虫害的发生,出菇稳定,大大地提高了种植产量;该技术是本发明的核心技术之三;

[0021] (4)播种:在厢面上先用1%磷酸二氢钾+1%赤霉素+0.5%硫酸镁+0.5%硫酸锌+10%草木灰的混合营养液洒湿整个厢面,再直接在厢面上进行撒播,后覆盖2~4cm的土,再将厢内土壤进行4~6小时的喷灌,直至使土壤湿度达到95%,再在厢面上覆盖一层(2~3cm厚)的作物秸秆,以利于保湿;目的是通过进行第一次的水刺激使正在生长的菌丝进入生殖生长;如果第一季在2月初播种,菌丝营养生长在2、3和4月,子实体生殖生长在5月中旬至6月初,25~40天生长周期结束,在整个生长阶段,在高寒地区棚内温度不会低于黑虎掌生活史的最低生长温度,子实体生长1个月左右结束了整个生活史,第一季出菇产量约为100~150kg/亩;接着夏季在6月初进行第二季播种,菌丝营养生长在6、7和8月,8月中旬至9月初开始出菇,这个季节,在高寒地区温度也不会超过其生活史的最高生长温度,子实体生长30~50天完成了整个生活史,第二季出菇产量约为150~kg/亩,接着10月份初进行第三季播种,菌丝营养生长在10、11、12和1月,由于早晚温差较大,一天中棚内凌晨3:00~5:00温度为最低~5℃~3℃,菌丝生长期延长,子实体生殖生长在第二年的1月底至2月初,这个季节,在高寒高海拔地区温室棚温度也不会低于其生活史的最底生长温度,子实体生长40~55天完成了整个生活史,第二季出菇产量170~200kg/亩;因此,可以实现一年三季的周年生产,且由于,高寒高海拔地区几乎没有高于30℃的季节,出菇会延长至30~40天,而在温度较高地区黑虎掌子实体出菇仅为10~15天;加大播种量是提高产量的关键之一,另外用营养液喷洒厢面可以为菌丝生长提供必要的无机盐、激素等物质,另外黑虎掌连作更能丰富土壤的微生物区系,从而比单作大大地提高了产量;

[0022] (5)投放外援营养袋

[0023] 在步骤4黑虎掌播种后第:7~10天,在养料袋上扎孔,将养料袋开孔的一侧平放于土壤表面,压至与所有孔均与土壤充分接触,如果将孔暴露在空气中,就会引起营养袋内的养料感染杂菌而霉变,外援营养袋之间的距离为25cm~45cm,行距30cm~50cm;

[0024] (6)菌丝生长阶段管理

[0025] 在步骤5黑虎掌播种后,因土壤水分蒸发而导致土壤发白时,就要进行土地灌水沟漫灌和厢面喷灌处理,进行灌溉时,水里加上甘油三酯0.5mL/L、磷酸二氢钾0.05mL/L和细胞分裂素0.05mL/L,以提供菌丝生长的营养,同时,保持厢面土壤湿度50%~70%,空气湿度70%~95%,温度12~22℃;

[0026] (7)拿掉外援营养袋:营养袋投放7~40天,标准营养袋内长满菌丝,且菌丝非常密集后拿掉,拿掉外源营养袋菌丝进入生殖生长的诱因之一,后进行第一次补水2L/m<sup>2</sup>,后每隔7天补一次水进行水刺激,直到原基出现,补水时向水中加入磷酸二氢钾0.05mL/L和细胞分裂素0.05mL/L,水刺激的速度为250~1000mL/小时·平方米,每次12小时到40小时,在水刺激前土壤要相对的干燥,水刺激后的土壤含水量50%~65%,空气湿度85%~90%,温度12~22℃;

[0027] (8)黑虎掌出菇管理



[0028] 黑虎掌菌丝分化形成原基到具有菌柄和菌盖的幼小子实体后,进入黑虎掌出菇阶段,原基出现到长到3cm期间是一个关键的时期这段时间,厢面土壤湿度控制在田间持水量的50%~60%,空气湿度控制在85%~90%,温度12~22℃,条件稍有不妥,原基就会大量死亡;

[0029] (9)采收

[0030] 子实体生长5~10天后,颜色由灰色变成灰黄时,子实体表面开始有少量白色孢子粉出现时达到成熟标准及时进行采收,成熟一个采收一个,每天早晨、中午、下午各采摘1次;采摘时,用木制刀具从菌柄基部与土壤的交接处,整齐切断,不要用手直接从土壤上拔起,以免损伤周围的幼小原基和未成熟的子实体。

[0031] 进一步的,所述步骤一中,第一层装量为试管容积15%,含水量为50~75%,第二层装量为试管容积25%,含水量为55~70%,第三层装量为试管容积15%,含水量为40~55%,第四层装量为试管容积25%,含水量为35~50%,第五层装量为试管容积20%,含水量为55~80%,试管口留出5%的空间以利于管内空气流通。

[0032] 进一步的,所述步骤二中,培养料主料装量标准为不大于3/5,再装入封口料,封口料装量标准为不少于1/5,装料不能太实,料中间插上一支木条,且瓶或袋要留出1/5的空间,以确保料的通气性。

[0033] 进一步的,所述步骤三中,将各原料混合后用水拌匀,含水量为45%~60%,即得外援营养袋养料,将养料依次进行装袋、封口,不需要高压灭菌,即得养料袋。

[0034] 进一步的,所述步骤四中,有机肥的使用量为800~1200kg/亩,油菜饼粉的使用量为120~130kg/亩。

[0035] 进一步的,所述步骤四中,拿掉外援营养袋后进行第一次补水,补水量为2L/m<sup>2</sup>,后每隔7天补一次水进行水刺激,直到原基出现。

[0036] 进一步的,所述步骤四中,补水时向水中加入磷酸二氢钾0.05mL/L和细胞分裂素0.05mL/L,水刺激的速度为250~1000mL/小时·平方米,每次12小时到40小时,在水刺激前土壤要相对的干燥,水刺激后的土壤含水量50%~65%,空气湿度85%~90%,温度12~22℃。

[0037] 相对于现有技术,本发明的有益效果为:

[0038] ①本发明野生(或栽培)种的子实体的分离克隆技术采用了五层特殊而不同的原料配方,因为菌丝经过五层不同培养料的生长已经达到了纯化和复壮的目的,可以直接用来生产栽培种,省去了母种和原种的制作,大大地缩短了制种周期。②在栽培种制作时原料主要以黑虎掌基脚土、草木灰,腐熟牛(或羊、鸡)粪、农作秸秆粉、玉米芯、麸皮为主,所用材料来源非常便捷、广泛、廉价,投入少,大大地降低了成本,但提高了产量。③在营养袋养料配方中以碎纸和尿素为主所用所用材料来源同样非常便捷、广泛、廉价,投入少,大大地降低了成本,而且循环利用了生活、工作废品,也保护了生态环境。④在整地时进行了施基肥、土壤灭菌、温室棚灭菌三个环节,因此,在种植期间没有病虫害发生,且提高了产量。⑤拌种时采用甘油三酯和磷酸二氢钾的混合液作为拌种液,因为甘油三酯可以作为营养物质储存在菌丝里以满足黑虎掌生殖生长的需要,因此,延长了生殖生长时期,并且减少了病虫害的发生,提高了种植产量。⑥播种前用营养液喷洒厢面可以为菌丝生长提供必要的无机盐、激素等物质,播种后将厢面土壤进行4~6小时的喷灌,目的是通过进行第一次的水刺激使正

在生长的菌丝进入生殖生长,从而提前出菇,可以缩短种植周期,再在厢面上覆盖一层(2~3cm厚)的作物秸秆,以利于保湿间接地提高了产量。⑦黑虎掌连作更能丰富土壤的微生物区系,从而比单作大大地提高了产量。⑧投放外援营养袋的最佳时间为黑虎掌播种后第7~10天。⑨拿掉外援营养袋最适时间为16天,因为此时营养袋内已经长满了密集的菌丝,此时拿掉外源营养可以诱导黑虎掌较早地进入生殖生长,同时进行第一次补水 $2\text{L}/\text{m}^2$ ,后每隔7天补一次水进行水刺激,直到原基出现,补水时向水中加入磷酸二氢钾 $0.05\text{mL}/\text{L}$ 和细胞分裂素 $0.05\text{mL}/\text{L}$ ,水刺激的速度为 $250\sim 1000\text{mL}/\text{小时}\cdot\text{平方米}^2$ ,每次12小时到40小时,在水刺激前土壤要相对的干燥,水刺激后的土壤含水量 $50\%\sim 65\%$ ,空气湿度 $85\%\sim 90\%$ ,温度 $12\sim 22^\circ\text{C}$ 。⑩菌丝生长阶段进行灌溉时,水里加上甘油三酯 $0.5\text{mL}/\text{L}$ 、磷酸二氢钾 $0.05\text{mL}/\text{L}$ 和细胞分裂素 $0.05\text{mL}/\text{L}$ ,以提供菌丝生长的营养,原基长到3cm关键的时期时,厢面土壤湿度控制在田间持水量的 $50\%\sim 60\%$ ,空气湿度控制在 $85\%\sim 90\%$ ,温度 $12\sim 22^\circ\text{C}$ ,最适温度 $18^\circ\text{C}$ ,条件稍有不妥,原基就会大量死亡。

[0039] 综上所述,本发明的有益效果:1)在高寒高海拔地区周年生产黑虎掌,且年产量高达 $422\text{kg}\sim 520\text{kg}/\text{亩}$ 。2)子实体朵形端正、大小均匀、菌冒周长平均 $2.5\text{cm}\sim 4.0\text{cm}$ ,菌冒长 $2.0\sim 3.5\text{cm}$ ,菌柄周长 $0.5\sim 1.5\text{cm}$ ,菌柄长 $1\sim 2\text{cm}$ ,菌冒肉质肥厚,品质俱佳率可高达 $92\%$ 。

[0040] 3)充分循环利用了生活、工作废品及下脚料,降低了种植成本,提高了产量,保护和修复了生态环境。

[0041] 同时,本发明在制种程序上省去了技术要求最高的母种的制作,且野生种克隆,制作原种、栽培种、栽培料及外援营养袋时选择生活中常见的废纸、废纸箱、玉米芯、小麦、玉米秸秆、麸皮、落叶、鸡粪、牛粪等廉价培养料,充分循环利用了当地的生产、生活下脚及料废弃物等既管理简单易操作,有生态环保、投资小且大大提高了黑虎掌的产量。

## 具体实施方式

[0042] 下面结合具体实施方式对本发明技术方案做进一步详细描述:

[0043] 一种高寒高海拔地区黑虎掌高效种植方法,由如下步骤组成:

[0044] 步骤1:野生(或栽培)种的子实体的分离克隆

[0045] 所用器材及技术要点:(1)各种规格的试管: $10\text{mm}\times 100\text{mm}$ 、 $12\text{mm}\times 100\text{mm}$ 、 $15\text{mm}\times 150\text{mm}$ 、 $18\text{mm}\times 180\text{mm}$ 、 $20\text{mm}\times 200\text{mm}$ ;(2)原料:黑虎掌基脚土、腐熟牛(或羊、鸡)粪、小麦、农作物秸秆粉、磷肥、白糖、玉米芯、麸皮、粉碎废纸、尿素、维生素B<sub>1</sub>;(3)技术要点:试管第一层为25~80份黑虎掌基脚土+3~5份生石灰+72~15份腐熟牛、羊或鸡粪,第二层为85~65份农作物秸秆粉+15~35份杂木屑,第三层为10~30份小麦+85~65份农作物秸秆粉+1~3份维生素B族+4~2份草木灰,第四层为85~65份农作物秸秆粉+15~35份杂木屑,第五层为10~35份玉米芯+10~30份杂木屑+70~30份粉碎废纸+10~5份尿素,第一层装量为试管容积15%,含水量为50~75%,第二层装量为试管容积25%,含水量为55~70%,第三层装量为试管容积15%,含水量为40~55%,第四层装量为试管容积25%,含水量为35~50%,第五层装量为试管容积20%,含水量为55~80%,试管口留出5%的空间以利于管内空气流通。容器口塞上棉塞,在温度为 $125^\circ\text{C}$ ,压力为 $0.15\text{Mpa}$ 下高压灭菌1小时,在室温下自然冷却;将野生或栽培黑虎掌子实体取麦粒大小的1~2块组织接种在上述试管第一层料上,将试管放在 $12\sim 28^\circ\text{C}$ 下,空气湿度为 $60\%\sim 95\%$ ,下避光培养,接种后第2天开始长出菌丝,10~15天

待试管中长满菌丝直至长出菌核后取试管底部的菌丝或菌核或有菌丝、菌核的培养基直接接种在栽培种培养料上；因为菌丝经过三层不同培养料的生长已经达到了纯化和复壮的目的，可以直接用来生产栽培种，省去了母种和原种的制作，大大地缩短了制种周期。

[0046] 第一层黑虎掌基脚土含量小于25%时因组织块长时间脱水而变干，导致不能发菌；腐熟牛、羊或鸡粪含量低于15%时菌丝不扭结，生长缓慢，甚至停止生长；生石灰含量低于3%时料容易霉变，甚至分离失败。第三层为10%~30%小麦；第三层小麦含量10%、维生素B族低于1%和草木灰含量低于2%时在此层菌丝也不会发生扭结，仅有很少量的菌丝才能进入第四层。第五层粉碎废纸含量低于30%和尿素含量低于5%时，菌丝生长缓慢，也不形成菌核，造成产量降低，玉米芯含量低于10%时，培养料通气性较差，容易霉变。

[0047] 步骤2:栽培种的制作

[0048] 所用器材及技术要点：(1)450~750mL的菌种瓶或聚丙烯菌种袋或洗净的废弃的罐头瓶、输液瓶；(2)原料：黑虎掌基脚土、草木灰，腐熟牛(或羊、鸡)粪、农作秸秆粉、磷肥、白糖、玉米芯、麸皮、尿素；(3)技术要点：①培养主料料配方为10%~35%小麦+75%~30%直径0.2~0.5厘米的玉米秸秆颗粒+10%~30%草木灰+1%磷酸二氢钾+3%磷肥+1%石灰。小麦含量和草木灰含量低于10%时发菌很慢，菌丝也不扭结，形成的菌核较少，甚至不形成菌核，造成出菇少，产量低。小麦含量高于30%时，菌丝生长的营养过剩，造成资源浪费，同时提高了生产成本，玉米秸秆颗粒低于10%时，原料的通气性较差，料的霉变率增高。②将浸泡24~48小时的小麦煮至里面不发白但不烂皮后捞出沥干水分，加上玉米秸秆颗粒、杂木屑、麸皮拌匀。③将磷酸二氢钾、磷肥和石灰完全溶解在水里拌在上述混合物里做成培养料，含水量50%~65%，pH为自然。④培养料封口料配方为：60%~82%黑虎掌基脚土，38%~14%草木灰，1%~3%生石灰，1%磷酸二氢钾，含水量30%~45%，pH为7.0~7.5；黑虎掌基脚土含量低于60%和草木灰含量低于14%，发菌迟且慢，料的保水性能差，水分蒸发快，不利于菌核形成。生石灰含量低于1%时，封口料易生线虫，高于3%，料的pH值将高于7.5，碱性太强，不利于菌丝生长。⑤封口料装瓶或装袋：先将培养料主料装入瓶或袋中，装瓶或装袋，装量标准为3/5，再装入封口料，装量标准为1/5，装料不能太实，料中间插上一支木条，以确保料的通气性。⑥封口灭菌：121℃~125℃，0.12Mpa~0.15Mpa高压灭菌2~4小时。⑦接种：将灭菌后的料冷却，在无菌环境中接入步骤1分离得到的菌丝或菌核，一支试管可以接30~55瓶或袋，其中最下层接15~25瓶或袋，第二层接10~20瓶，第一层接5瓶~10瓶。⑧培养：在温度为10~28℃下避光培养，最适温度为18~20℃，空气湿度为55%~90%，最适湿度为65%~75%，接种后第2-4天开始长出菌丝，10~20天菌丝瓶或满袋直至长出菌核即为栽培种。

[0049] 步骤3:外援营养袋的制作

[0050] (1)外援营养袋养料配方：60%~85%废纸、35%~10%尿素、1%磷酸二氢钾、0.5%硫酸镁、0.5%硫酸锌，3%石膏；废纸含量低于60%和尿素含量低于10%时，菌丝进入营养袋的时间延长，延长了拿掉外援营养带的时间，从而延长了菌丝的营养生长期，推后了生殖生长时间，因此，出菇较晚，使黑虎掌的生长周期延长，不能实现一年三季的生产，间接地降低了产量。(2)将各原料混合后用水拌匀，含水量为45%~60%，即得外援营养袋养料，将养料依次进行装袋、封口，不需要高压灭菌，即得养料袋。营养袋养料材料来源便捷、广泛、廉价，对设备要求不高，投入少，大大地降低了成本，技术简单。

[0051] 步骤4:日光温室棚(有通风、灌溉设备)种植,周年均可种植,此步骤包括以下过程:(棚内还可以用种植层架进行立体种植,立体种植技术正在研发中)

[0052] (1)整地及播种:①施基肥:施有机肥和油菜饼粉作为基肥,有机肥的使用量为800~1200kg/亩,油菜饼粉的使用量为120~130kg/亩;②土壤灭菌:将厢内土壤翻松,整平,先用石灰进行全面的消毒,石灰用量为250kg/亩~350kg/亩,浇一次透水后,晾晒2~5天,再撒一层1厘米厚的草木灰和一层5厘米厚的中砂,喷洒0.5%氯氰菊酯及50%辛硫磷混合水溶液杀虫;③温室棚灭菌:土壤消毒后再将地深翻一次后密闭大棚用高锰酸钾和甲醛进行熏蒸灭菌3天,然后通风处理2天;④起厢:平整后的种植土地表面开设厢面,厢面宽度为80~120cm,再在厢面四周开设厢灌水沟,灌水沟的宽度15~30cm,灌水沟的深度为15~20cm,然后将栽培种撒播在厢面上,该技术要求大播种量,分春、秋、冬三季播种。

[0053] (2)消毒:采用75%的酒精对菌种取用器具、盛放盆、接种人员手等进行消毒后,接种人员通过取用器具将黑虎掌菌种置于盛放器具中。

[0054] (3)拌种:将甘油三酯和磷酸二氢钾(1~3:1)与水混合制成拌种溶液,将栽培种拌匀,拌种溶液的用量为栽培质量的25%—35%,因为黑虎掌在营养生长阶段必须储存足够的营养,而甘油三酯可以作为营养物质储存在菌丝里以满足黑虎掌生殖生长的需要,因此,延长了生殖生长时期,减少了病虫害的发生,出菇稳定,大大地提高了种植产量。该技术是本发明的核心技术之三。

[0055] (4)播种:在厢面上先用1%磷酸二氢钾+1%赤霉素+0.5%硫酸镁+0.5%硫酸锌+10%草木灰的混合营养液洒适整个厢面,喷洒此营养液,能有效打破菌丝的休眠,同时提供菌丝营养生长所需的各种盐。再直接在厢面上进行撒播,后覆盖2~4cm的土,再将厢土壤进行4~6小时的喷灌,直至使土壤湿度达到95%,再在厢面上覆盖一层(2~3cm厚)的作物秸秆,以利于保湿。目的是通过进行第一次的水刺激使正在生长的菌丝进入生殖生长。如果第一季在2月初播种,菌丝营养生长在2、3和4月,子实体生殖生长在5月中旬至6月初,25~40天生长周期结束,在整个生长阶段,在高寒地区棚内温度不会低于黑虎掌生活史的最低生长温度,子实体生长1个月左右结束了整个生活史,第一季出菇产量约为100~150kg/亩。接着夏季在6月初进行第二季播种,菌丝营养生长在6、7和8月,8月中旬至9月初开始出菇,这个季节,在高寒地区温度也不会超过其生活史的最高生长温度,子实体生长30~50天完成了整个生活史,第二季出菇产量约为150~kg/亩,接着10月份初进行第三季播种,菌丝营养生长在10、11、12和1月,由于早晚温差较大,一天中棚内凌晨3:00~5:00温度为最低~5℃~3℃,菌丝生长期延长,子实体生殖生长在第二年的1月底至2月初,这个季节,在高寒高海拔地区温室棚温度也不会低于其生活史的最底生长温度,子实体生长40~55完成了整个生活史,第二季出菇产量170~200kg/亩。因此,可以实现一年三季的周年生产,且由于,高寒高海拔地区几乎没有高于30℃的季节,出菇会延长至30~40天,而在温度较高地区黑虎掌子实体出菇仅有10~15天。加大播种量是提高产量的关键之一,另外用营养液喷洒厢面可以为菌丝生长提供必要的无机盐、激素等物质,另外黑虎掌连作更能丰富土壤的微生物区系,从而比单作大大地提高了产量。

[0056] (5)投放外援营养袋

[0057] 在步骤4黑虎掌播种后第:7~10天,在养料袋上扎孔,将养料袋开孔的一侧平放于土壤表面,压至与所有孔均与土壤充分接触,如果将孔暴露在空气中,就会引起营养袋内的

养料感染杂菌而霉变,外援营养袋之间的距离为25cm~45cm,行距30cm~50cm。

[0058] (6)菌丝生长阶段管理

[0059] 在步骤5黑虎掌播种后,因土壤水分蒸发而导致土壤发白时,就要进行土地灌水沟漫灌和厢面喷灌处理,进行灌溉时,水里加上甘油三酯0.5mL/L、磷酸二氢钾0.05mL/L和细胞分裂素0.05mL/L,以提供菌丝生长的营养,同时,保持厢面土壤湿度50%~70%,最适土壤湿度65%,空气湿度70%~95%,最适空气湿度75%,温度12~22℃,最适温度20℃。

[0060] (7)拿掉外援营养袋:营养袋投放7~40天,标准营养袋内长满菌丝,且菌丝非常密集后拿掉外源营养袋;拿掉外源营养袋菌丝进入生殖生长的诱因之一,后进行第一次补水2L/m<sup>2</sup>,后每隔7天补一次水进行水刺激,直到原基出现,补水时向水中加入磷酸二氢钾0.05mL/L和细胞分裂素0.05mL/L,水刺激的速度为250~1000mL/小时·平方米,每次12小时到40小时,在水刺激前土壤要相对的干燥,水刺激后的土壤含水量50%~65%,空气湿度85%~90%,温度12~22℃;

[0061] (8)黑虎掌出菇管理

[0062] 黑虎掌菌丝分化形成原基到具有菌柄和菌盖的幼小子实体后,进入黑虎掌出菇阶段,原基出现到长到3cm期间是一个关键的时期这段时间,厢面土壤湿度控制在田间持水量的50%~60%,空气湿度控制在85%~90%,温度12~22℃,条件稍有不妥,原基就会大量死亡;

[0063] (9)采收

[0064] 子实体生长5~10天后,颜色由灰色变成灰黄时,子实体表面开始有少量白色孢子粉出现时达到成熟标准及时进行采收,成熟一个采收一个,每天早晨、中午、下午个采摘1次。采摘时,用木制刀具从菌柄基部与土壤的交接处,整齐切断,不要用手直接从土壤上拔起,以免损伤周围的幼小原基和未成熟的子实体。

[0065] 实施例1

[0066] 实施地点:甘肃省合作市甘肃民族师范学院高原真菌科研教学实习基地,海拔3090米,年均气温1.7℃,无绝对无霜期。

[0067] 2013年4月15日在高寒高海拔的合作市土壤刚刚解冻后在甘肃民族师范学院高原真菌科研教学实习基地用遮阳网荫棚常规法种植3个阴棚,每个棚面积600m<sup>2</sup>,到8月份在每个棚里见到不到10个子实体,且子实体小。接着在9月15日用同样的荫棚进行二季试种,直到2014年4月20日至5月20日,3个阴棚共长出了40个子实体。2013年3月15日同时在日光温室棚内进行种植技术改进试验,取得了意想不到的技术效果,2013年~至今,经过4年每年3季的重复试验,试验结果能够重复并获得了成功。

[0068] 实施例2

[0069] 实施地点:甘肃省卓尼县某乡某村,平均海拔2000-2920米之间,年均气温4.6℃,年降水量584毫米,日光温室棚种植总数为18棚,面积为18亩。种植实施时间:2014年3月10日~2016年3月20日。

[0070] 具体实施过程如下。

[0071] 步骤1:野生(或栽培)种的子实体的分离克隆

[0072] (1)所用试管:15mm×150mm(2)原料:黑虎掌基脚土、腐熟牛(或羊、鸡)粪、小麦、农作秸秆粉、磷肥、白糖、玉米芯、麸皮、粉碎废纸、尿素、维生素B;(3)技术要点:试管第一层为

80份黑虎掌基脚土+5份生石灰+15份腐熟牛、羊或鸡粪,第二层为65份农作物秸秆粉+35份杂木屑,第三层为30份小麦+65份农作物秸秆粉+3份维生素B族+2份草木灰,第四层为65份农作物秸秆粉+35份杂木屑,第五层为35份玉米芯+30份杂木屑+30份粉碎废纸+5份尿素,试管塞上棉塞,在121℃高压锅内灭菌1小时,在室温下自然冷却。将野生或栽培黑虎掌子实体组织块随采随接种在潮湿的土上,此方法达到了简单的开放式操作,不受周围环境条件的限制和约束。将试管放在20℃下,空气湿度为75%,最适湿度为80%下避光培养,接种后第2天开始长出菌丝,13天待试管中长满菌丝并长出菌核后取有菌丝、菌核的培养基直接接种在栽培种培养料上。

#### [0073] 步骤2:栽培种的制作

[0074] (1)选用450mL的洗净的废弃的罐头瓶、输液瓶;(2)原料:黑虎掌基脚土、草木灰,腐熟牛(或羊、鸡)粪、农作秸秆粉、磷肥、白糖、玉米芯、麸皮、尿素;(3)技术要点:①培养主料配方为35%小麦+30%直径0.5厘米的玉米秸秆颗粒+30%草木灰+1%磷酸二氢钾+3%磷肥+1%石灰。②将浸泡48小时的小麦煮至里面不发白但不烂皮后捞出沥干水分,加上玉米秸秆颗粒、杂木屑、麸皮拌匀。③将磷酸二氢钾、磷肥和石灰完全溶解在水里拌在上述混合物里做成培养料,含水量50%,pH为自然。④培养料封口料配方为:82%黑虎掌基脚土,14%草木灰,3%生石灰,1%磷酸二氢钾,含水力量40%,pH为自然。⑤封口料装瓶或装袋:先将培养料主料装入瓶或袋中,装瓶或装袋,装量标准为3/5,再装入封口料,装量标准为1/5,装料不能太实,料中间插上一支木条,以确保料的通气性。⑥封口灭菌:121℃高压灭菌3小时。⑦接种:将灭菌后的料冷却,在无菌环境中于接入步骤1分离得到的菌丝或菌核,一支试管可以接35瓶,其中最下层接15瓶或袋,第二层接10瓶,第一层接5瓶。⑧培养:在温度为18℃,空气湿度为55%,最适湿度为75%,接种后第2天开始长出菌丝,13天菌丝瓶且长出菌核即为栽培种。

#### [0075] 步骤3:外援营养袋的制作

[0076] (1)外援营养袋养料配方:85%废纸、10%尿素、1%磷酸二氢钾、0.5%硫酸镁、0.5%硫酸锌,3%石膏;(2)将各原料混合后用水拌匀,含水量为45%,即得外援营养袋养料,将养料依次进行装袋、封口,不需要高压灭菌,即得养料袋。

#### [0077] 步骤4:有通风、灌溉设备日光温室棚种植,此步骤包括以下过程:

[0078] (1)整地及播种:①施基肥:施有机肥和油菜饼粉作为基肥,有机肥的使用量为800kg/亩,油菜饼粉的使用量为120kg/亩;②土壤灭菌:将厢内土壤翻松,整平,先用石灰进行全面的消毒,石灰用量为250kg/亩,浇一次透水后,晾晒2天,再撒一层1厘米厚的草木灰和一层5厘米厚的中砂,喷洒0.5%氯氰菊酯及50%辛硫磷混合水溶液杀虫;③温室棚灭菌:土壤消毒后再将地深翻一次后密闭大棚用高锰酸钾和甲醛进行熏蒸灭菌3天,然后通风处理2天;④起厢:平整后的种植土地表面开设厢面,厢面宽度为80cm,再在厢面四周开设厢灌水沟,灌水沟的宽度15~30cm,灌水沟的深度为15cm,然后将栽培种撒播在厢面上。菌种量为1瓶/m<sup>2</sup>。

[0079] (2)消毒:采用75%的酒精对菌种取用器具、盛放盆、接种人员手等进行消毒后,接种人员通过取用器具将黑虎掌菌种置于盛放器具中。

[0080] (3)拌种:将甘油三酯和磷酸二氢钾(1:1)与水混合制成拌种溶液,将栽培种拌匀,拌种溶液的用量为栽培质量的25%。

[0081] (4)播种:在厢面上先用1%磷酸二氢钾+1%赤霉素+0.5%硫酸镁+0.5%硫酸锌+10%草木灰的混合营养液洒适整个厢面,再直接在厢面上进行撒播,后覆盖2cm的土,再将厢土壤进行4小时的喷灌,直至使土壤湿度达到95%,再在厢面上覆盖一层(2cm厚)的作物秸秆。第一季在2月8日播种,菌丝营养生长在2、3和4月,5月2日开始出菇,6月15日,生长周期基本结束,在整个生长阶段,在高寒地区棚内最低温度控制在3~12℃,最高温度控制在14℃~26℃,子实体生长近40天左右结束了整个生活史,第一季出菇产量124kg/亩~135kg/亩。接着夏季在6月10日进行第二季播种,菌丝营养生长在6、7和8月,9月1日开始出菇,这个季节,在高寒地区棚内最高温度控制在12℃~24℃,子实体生长48天完成了整个生活史,第二季出菇产量139kg/亩~148kg/亩,接着10月15日进行第三季播种,菌丝营养生长在10、11、12,由于早晚温差较大,一天中棚内凌晨3:00~5:00温度为最低-5℃~3℃,菌丝生长期延长,子实体生殖生长在第二年的1月24日,子实体生长55天完成了整个生活史,第三季出菇产量155kg/亩~172kg/亩。年总产量大约为419kg/亩~445kg/亩因此,实现了一年三季的周年生产。

[0082] (5)投放外援营养袋

[0083] 在步骤4黑虎掌播种后第7天,在养料袋上扎孔,将养料袋开孔的一侧平放于土壤表面,压至与所有孔均与土壤充分接触,如果将孔暴露在空气中,就会引起营养袋内的养料感染杂菌而霉变,外援营养袋之间的距离为25cm,行距30cm。

[0084] (6)菌丝生长阶段管理

[0085] 菌种播种后,只要出现土壤发白,就进行土地灌水沟漫灌和厢面喷灌处理,进行灌溉时,水里加上甘油三酯0.5mL/L、磷酸二氢钾0.05mL/L和细胞分裂素0.05mL/L,以提供菌丝生长的营养,同时,保持厢面土壤湿度50%,最适土壤湿度65%,空气湿度70%,最适空气湿度75%,温度16℃,最适温度20℃。

[0086] (7)拿掉外援营养袋:营养袋投放25天,当营养袋内长满菌丝后拿掉,拿掉外源营养袋并进行第一次补水2L/m<sup>2</sup>,后每隔7天补一次水进行水刺激,直到原基出现,补水时向水中加入磷酸二氢钾0.05mL/L和细胞分裂素0.05mL/L,水刺激的速度为250mL/小时·平方米2,每次12小时,在水刺激前土壤要相对的干燥,水刺激后的土壤含水量50%,空气湿度85%,温度16℃。

[0087] (8)黑虎掌出菇管理

[0088] 黑虎掌菌丝分化形成原基到具有菌柄和菌盖的幼小子实体后,进入黑虎掌出菇阶段,原基出现到长到3cm期间是一个关键的时期这段时间,厢面土壤湿度控制在田间持水量的50%,空气湿度控制在85%,温度15~22℃,没有出现原基大量死亡的现象。

[0089] (9)采收

[0090] 子实体生长5~10天后,颜色由灰色变成灰黄时,子实体表面开始有少量白色孢子粉出现时达到成熟标准及时进行采收,成熟一个采收一个,每天早晨、中午、下午个采摘1次。采摘时,用木制刀具从菌柄基部与土壤的交接处,整齐切断,不要用手直接从土壤上拔起,以免损伤周围的幼小原基和未成熟的子实体。分别在2014年6月18日、10月13日、2月20日对棚内子实体发生数量依次进行调查,调查结果表明,18个棚每个棚每季子实体的数量为分别为34~45个/m<sup>2</sup>、38~58个/m<sup>2</sup>、44~70个/m<sup>2</sup>,周年子实体的数量为124~171个/m<sup>2</sup>,单个成熟子实体的重量为2.25~20.42g,平均按照4.0g/个计算,每个棚每个棚的年产量均为

330.83kg/亩~456.22kg/亩,每个棚平均年产量为438.5kg/亩。

[0091] 实施例3

[0092] 实施地点:青海省乐都县某乡某村20个棚,总面积为19.3亩。

[0093] 种植实施时间:2015年4月24日~2016年5月22日。

[0094] (1)各种规格的试管:20mm×200mm;(2)原料:黑虎掌基脚土、腐熟牛(或羊、鸡)粪、小麦、农作秸秆粉、磷肥、白糖、玉米芯、麸皮、粉碎废纸、尿素、维生素B;(3)技术要点:试管培养基料在容器中分五层设置,按照质量份数,每一层具体为:第一层为50份黑虎掌基脚土+4份生石灰+46份腐熟牛、羊或鸡粪,第二层为75份农作物秸秆粉+25份杂木屑,第三层为20份小麦+75份农作物秸秆粉+2份维生素B族+3份草木灰,第四层为75份农作物秸秆粉+25份杂木屑,第五层为25份玉米芯+20份杂木屑+48份粉碎废纸+7份尿素,第一层装量为试管容积15%,含水量为50~75%,第二层装量为试管容积25%,含水量为55~70%,第三层装量为试管容积15%,含水量为40~55%,第四层装量为试管容积25%,含水量为35~50%,第五层装量为试管容积20%,含水量为55~80%,试管口留出5%的空间以利于管内空气流通,试管塞上棉塞,在125℃下的高压锅内灭菌1小时,在室温下自然冷却。将野生或栽培黑虎掌子实体组织块随采随接种在潮湿的土上,将试管放在温度为16~20℃下,空气湿度为60%~95%,下避光培养,接种后第2天开始长出菌丝,10~15天试管中长满菌丝或长出菌核后可取试管有菌丝、菌核的培养基直接接种在栽培种培养料上。

[0095] 所用器材及技术要点:(1)750mL的菌种瓶(2)原料:黑虎掌基脚土、草木灰,腐熟牛(或羊、鸡)粪、农作秸秆粉、磷肥、白糖、玉米芯、麸皮、尿素;(3)技术要点:①培养主料料配方为20%小麦+35%直径0.5厘米的玉米秸秆颗粒+20%草木灰+20%麸皮+1%磷酸二氢钾+3%磷肥+1%石灰。②将浸泡36小时的小麦煮至里面不发白但不烂皮后捞出沥干水分,加上玉米秸秆颗粒、杂木屑、麸皮拌匀。③将磷酸二氢钾、磷肥和石灰完全溶解在水里拌在上述混合物里做成培养料,含水量65%,pH为自然。④培养料封口料配方为:85%黑虎掌基脚土,15%草木灰,1%生石灰,1%糖,含水力量30%~45%,pH为自然。⑤封口料装瓶或装袋:先将培养料主料装入瓶或袋中,装瓶或装袋,装量标准为3/5,再装入封口料,装量标准为1/5,装料不能太实,料中间插上一支木条,以确保料的通气性。⑥封口灭菌:121℃高压灭菌2小时。⑦接种:将灭菌后的料冷却,在无菌环境中接入步骤1分离得到的菌丝或菌核,一支试管接30~40瓶,其中最下层接15~20瓶,第二层接10~15瓶,第一层接5瓶~10瓶。⑧培养:在温度为10~28℃下避光培养,空气湿度为55%~65%,接种后第36小时开始长出菌丝,10~20天菌丝瓶并长出菌核即为栽培种。

[0096] 步骤3:外援营养袋的制作

[0097] (1)外援营养袋养料配方:85%废纸、10%尿素、1%磷酸二氢钾、0.5%硫酸镁、0.5%硫酸锌,3%石膏(2)将各原料混合后用水拌匀,含水量为60%,即得外援营养袋养料,将养料依次进行装袋、封口,不需要高压灭菌,即得养料袋。

[0098] 步骤4:日光温室棚(有通风、灌溉设备)种植,周年均可种植,此步骤包括以下过程:(棚内还可以用种植层架进行立体种植,立体种植技术正在研发中)

[0099] (1)整地及播种:①施基肥:施有机肥和油菜饼粉作为基肥,有机肥的使用量为1200kg/亩,油菜饼粉的使用量为130kg/亩;②土壤灭菌:将厢内土壤翻松,整平,先用石灰进行全面的消毒,石灰用量为350kg/亩,浇一次透水后,晾晒4天,再撒一层1厘米厚的草木



灰和一层5厘米厚的中砂,喷洒0.5%氯氰菊酯及50%辛硫磷混合水溶液杀虫;③温室棚灭菌:土壤消毒后再将地深翻一次后密闭大棚用高锰酸钾和甲醛进行熏蒸灭菌3天,然后通风处理2天;④起厢:平整后的种植土地表面开设厢面,厢面宽度为120cm,再在厢面四周开设厢灌水沟,灌水沟的宽度30cm,灌水沟的深度为20cm,然后将栽培种撒播在厢面上。菌种量为2瓶/m<sup>2</sup>。

[0100] (2)消毒:采用75%的酒精对菌种取用器具、盛放盆、接种人员手等进行消毒后,接种人员通过取用器具将黑虎掌菌种置于盛放器具中。

[0101] (3)拌种:将甘油三酯和磷酸二氢钾(1~3)与水混合制成拌种溶液,将栽培种拌匀,拌种溶液的用量为栽培质量的35%。

[0102] (4)播种:在厢面上先用1%磷酸二氢钾+1%赤霉素+0.5%硫酸镁+0.5%硫酸锌+10%草木灰的混合营养液洒适整个厢面,再直接在厢面上进行撒播,后覆盖2~4cm的土,再将厢土壤进行6小时的喷灌,直至使土壤湿度达到95%,再在厢面上覆盖一层(3cm厚)的作物秸秆,以利于保湿。目的是通过进行第一次的水刺激使正在生长的菌丝进入生殖生长。如果第一季在4月24日播种,菌丝营养生长在5、6和7月,子实体生殖生长在6月18日~7月10日,8月20日左右,生长周期结束,第一季出菇产量138~155kg/亩。接着夏季在9月10日进行第二季播种,菌丝营养生长在10、11和12月,在10月19日开始出菇,12月5日子实体完成了整个生活史,第二季出菇产量161~180kg/亩,接着12月20日进行第三季播种,菌丝营养生长在2015年1、2和3月,由于早晚温差较大,一天中棚内凌晨3:00~5:00温度为最低~4℃~4℃,菌丝生长期延长,3月6日开始出菇,4月26日完成了整个生活史,出菇期高达55天,第三季出菇产量172~200kg/亩。因此,也实现了一年三季的周年生产,年总产量大约为472kg/亩~535kg/亩,因此,实现了一年三季的周年生产,并获得了高产。

[0103] (5)投放外援营养袋

[0104] 在步骤4黑虎掌播种后第:10天,在养料袋上扎孔,将养料袋开孔的一侧平放于土壤表面,压至与所有孔均与土壤充分接触,如果将孔暴露在空气中,就会引起营养袋内的养料感染杂菌而霉变,外援营养袋之间的距离为45cm,行距50cm。

[0105] (6)菌丝生长阶段管理

[0106] 在步骤5黑虎掌播种后,只要出现土壤发白,就要进行土地灌水沟漫灌和厢面喷灌处理,进行灌溉时,水里加上甘油三酯0.5mL/L、磷酸二氢钾0.05mL/L和细胞分裂素0.05mL/L,以提供菌丝生长的营养,同时,保持厢面土壤湿度50%~70%,空气湿度70%~95%,温度12~22℃。

[0107] (7)拿掉外援营养袋:营养袋投放40天,标准营养袋内长满菌丝,且菌丝非常密集后拿掉,拿掉外源营养袋菌丝进入生殖生长的诱因之一,后进行第一次补水2L/m<sup>2</sup>,后每隔7天补一次水进行水刺激,直到原基出现,补水时向水中加入磷酸二氢钾0.05mL/L和细胞分裂素0.05mL/L,水刺激的速度为250~1000mL/小时·平方米,每次20小时,在水刺激前土壤要相对的干燥,水刺激后的土壤含水量50%~65%,空气湿度85%~90%,温度12~22℃。

(8)黑虎掌出菇管理

[0108] 黑虎掌菌丝分化形成原基到具有菌柄和菌盖的幼小子实体后,进入黑虎掌出菇阶段,原基出现到长到3cm期间是一个关键的时期这段时间,厢面土壤湿度控制在田间持水量的50%~60%,空气湿度控制在85%~90%,温度12~22℃,没有出现原基大量死亡。

[0109] (9)采收

[0110] 子实体生长5~10天后,颜色由灰色变成灰黄时,子实体表面开始有少量白色孢子粉出现时达到成熟标准及时进行采收,成熟一个采收一个,每天早晨、中午、下午个采摘1次。采摘时,用木制刀具从菌柄基部与土壤的交接处,整齐切断,不要用手直接从土壤上拔起,以免损伤周围的幼小原基和未成熟的子实体。

[0111] 分别在2015年8月23日、12月8日、4月28日对棚内子实体发生数量依次进行调查,调查结果表明,18个棚每个棚每季子实体的总数量为分别为35~50个/m<sup>2</sup>、44~60个/m<sup>2</sup>、50~72个/m<sup>2</sup>,周年子实体的数量为129~182个/m<sup>2</sup>,单个成熟子实体的重量为2.75~17.66g,平均按照4.0g/个计算,每个棚的年产量约为344.17kg/亩~485.58kg/亩,每个棚平均年产量约为468.8kg/亩。因此,实现了一年三季的周年生产,并获得了高产。

[0112] 实施例4,其他同实施例3

[0113] 步骤1中,培养基料在容器中分五层设置,按照质量份数,每一层具体为:第一层为25份黑虎掌基脚土+3份生石灰+72份腐熟牛、羊或鸡粪,第二层为85份农作物秸秆粉+15份杂木屑,第三层为10份小麦+85份农作物秸秆粉+1份维生素B族+4份草木灰,第四层为85份农作物秸秆粉+15份杂木屑,第五层为10份玉米芯+10份杂木屑+70份粉碎废纸+10份尿素;

[0114] 分别在2015年8月23日、12月8日、4月28日对棚内子实体发生数量依次进行调查,调查结果表明,18个棚每个棚每季子实体的总数量为分别为30~40个/m<sup>2</sup>、40~50个/m<sup>2</sup>、40~60个/m<sup>2</sup>,周年子实体的数量为100~153个/m<sup>2</sup>,单个成熟子实体的重量为2.75~17.66g,产量相比实施例3略有降低,但仍能达到一年三季的高产。

[0115] 实施例5,其他同实施例3

[0116] 步骤一中,试管第一层为20份黑虎掌基脚土+2份生石灰+12份腐熟牛、羊或鸡粪,第二层为85~65份农作物秸秆粉+15~35份杂木屑,第三层为8份小麦+85~65份农作物秸秆粉+0.5份维生素B族+1份草木灰,第四层为85~65份农作物秸秆粉+15~35份杂木屑,第五层为10~35份玉米芯+10~30份杂木屑+70~30份粉碎废纸+10~5份尿素,第一层装量为试管容积15%,含水量为50~75%,第二层装量为试管容积25%,含水量为55~70%,第三层装量为试管容积15%,含水量为40~55%,第四层装量为试管容积25%,含水量为35~50%,第五层装量为试管容积20%,含水量为55~80%,试管口留出5%的空间以利于管内空气流通。

[0117] 第一层黑虎掌基脚土含量小于25%时因组织块长时间脱水而变干,导致不能发菌;腐熟牛、羊或鸡粪含量低于15%时菌丝菌丝不扭结,生长缓慢,甚至停止生长;生石灰含量低于3%时料容易霉变,甚至分离失败。第三层为10%~30%小麦;第三层小麦含量10%、维生素B族低于1%和草木灰含量低于2%时在此层菌丝也不会发生扭结,仅有很少量的菌丝才能进入第四层。第五层粉碎废纸含量低于30%和尿素含量低于5%时,菌丝生长缓慢,也不形成菌核,造成产量降低,玉米芯含量低于10%时,培养料通气性较差,容易霉变。

[0118] 步骤二中,培养主料料配方为8%小麦+79%直径0.2~0.5厘米的玉米秸秆颗粒+8%草木灰+1%磷酸二氢钾+3%磷肥+1%石灰。小麦含量和草木灰含量低于10%时发菌很慢,菌丝也不扭结,形成的菌核较少,甚至不形成菌核,造成出菇少,产量低。小麦含量高于30%时,菌丝生长的营养过剩,造成资源浪费,同时提高了生产成本,玉米秸秆颗粒低于10%时,原料的通气性较差,料的霉变率增高。

[0119] 培养料封口料配方为:55%黑虎掌基脚土,43.5%草木灰,0.5%生石灰,1%磷酸二氢钾,含水量30%~45%,pH为7.0~7.5;黑虎掌基脚土含量低于60%和草木灰含量低于14%,发菌迟且慢,料的保水性能差,水分蒸发快,不利于菌核形成。生石灰含量低于1%时,封口料易生线虫,高于3%,料的pH值将高于7.5,碱性太强,不利于菌丝生长。

[0120] 步骤3:外援营养袋的制作

[0121] (1)外援营养袋养料配方:56%废纸、39%尿素、1%磷酸二氢钾、0.5%硫酸镁、0.5%硫酸锌,3%石膏;废纸含量低于60%和尿素含量低于10%时,菌丝进入营养袋的时间延长,延长了拿掉外援营养带的时间,从而延长了菌丝的营养生长期,推后了生殖生长时间,因此,出菇较晚,使黑虎掌的生长周期延长,不能实现一年三季的生产,间接地降低了产量。

[0122] 因培养条件不达标,在高寒高海拔的合作市土壤刚刚解冻后在甘肃民族师范学院高原真菌科研教学实习基地用遮阳网荫棚种植3个阴棚,每个棚面积600m<sup>2</sup>,到8月份在每个棚里见到不到20个子实体,且子实体小。效果差异明显。

[0123] 以上所述,仅为本发明的具体实施方式,但本发明的保护范围并不局限于此,任何不经过创造性劳动想到的变化或替换,都应涵盖在本发明的保护范围之内。因此,本发明的保护范围应该以权利要求书所限定的保护范围为准。