

台灣香菇段木上炭角菌之鑑定與藥劑感受性試驗

余祥萱¹ 呂昀陞^{1*}

余祥萱、呂昀陞。2022。台灣香菇段木上炭角菌之鑑定與藥劑感受性試驗。台灣農業研究 71(4):331–341。

摘要

台灣段木香菇年平均產量約為 264 Mg，占香菇市場的 0.6%，栽植地區主要分布於宜蘭縣、桃園市、新竹縣、苗栗縣、南投縣及屏東縣等山區原鄉社區。段木上常見之微生物多屬於木材腐朽菌，這些微生物造成段木香菇產量與品質之影響甚少研究。然而，近年來由於農業委員會林下經濟政策之推動，使段木香菇栽種面積增加，因而段木香菇栽培過程中之病蟲害問題也漸受重視。本研究自嘉義縣阿里山鄉栽植香菇之段木上，進行炭角菌之採集與分離，經田間子實體外觀比較和 internal transcribed spacer (ITS) 序列分析後，初步鑑定為 *Xylaria* 屬之真菌。以平板進行對峙培養試驗得知，炭角菌和香菇之菌絲接觸時，香菇菌絲除生長受影響外，更出現弱化之情形，再經 2 wk 培養，炭角菌菌絲甚至包覆香菇菌絲繼續生長，顯現所分離之炭角菌可對香菇菌絲造成危害。進一步以 60% 腐絕水懸劑進行藥劑試驗，結果顯示炭角菌於含 30 ppm 腐絕之 potato dextrose agar (PDA) 培養基和稀釋 1,000× 腐絕 [60% suspension concentrates (SC)] 之濾紙圓片處理組中其生長皆受抑制，顯示此藥劑具有可作為防治炭角菌之化學藥劑的潛力。本研究為台灣首篇探討炭角菌影響台灣段木香菇生產之報導，未來也將持續調查國內各段木香菇產區的炭角菌發生情形，以作為擬定香菇段木上炭角菌防治策略之參考依據。

關鍵詞：炭角菌、段木香菇、林下經濟、腐絕。

前言

美味多元的菇類，為餐桌上常見的珍饈，是國人攝取豐富蛋白質、維生素、礦物質及膳食纖維等營養素之重要來源，更是世界各國料理不可或缺的食材之一。目前台灣菇類產值已達 130 億元新台幣，占整體蔬菜產值 18%，為蔬菜產業重要之一環 (Shih *et al.* 2019)。台灣菇類栽培之歷史可溯源自 1909 年，至今已超過百年歷史，其中菇類生產的模式可分成三類，分別為段木栽培、木屑栽培及堆肥栽培。以段木栽植香菇為最早的栽培模式，於 1983 年達國內發展高峰，後續則因 1970 年代中期開發出太空包栽培技術與段木取得不易等原因，造成段木生產模式逐漸沒落 (Huang *et al.* 1988)。但近年來由於觀光產業的盛行，加上段木所栽植出

的香菇不管是香氣和口感皆比太空包香菇更為獨特，因此少數原住民部落或客家族群仍持續栽植。目前台灣段木香菇產量約 264 Mg，占香菇產量的 0.6%，栽植戶數約有 160 戶，主要分布於宜蘭縣南澳和大同鄉、桃園市復興區、新竹縣關西鎮、苗栗縣南庄鄉、南投縣埔里鎮與信義鄉及屏東縣大武鄉等地，合計每年約有 1 萬噸段木之栽培量 (Hung 2019)。

台灣屬於亞熱帶氣候，高溫多濕的環境容易衍生病蟲害問題，菇類生產過程中也不例外。目前已知危害香菇之真菌有綠黴菌 (*Trichoderma harzianum*、*Trichoderma koningii*、*Trichoderma pleuroticola*、*Trichoderma pseudokoningii*、*Trichoderma polysporum*、*Trichoderma viride*)、紅麵包黴菌 (*Neurospora*

投稿日期：2022 年 5 月 10 日；接受日期：2022 年 8 月 5 日。

* 通訊作者：yunsheng@tari.gov.tw

¹ 農委會農業試驗所植物病理組助理研究員。台灣 台中市。

spp.)、白黴菌 (*Cladobotryum varium*)、青黴菌 (*Penicillium* spp.)、黃麴菌 (*Aspergillus* spp.)、放線菌 (*Actinomyces* spp.) 等 (Liao 1985; Miyazaki 2018; Gea *et al.* 2021)；而在段木香菇栽培上常見的有害真菌更包含炭團菌 (*Hypoxylon* sp.)、髮網菌 (*Stemonitis* sp.)、裂褶菌 (*Schizophyllum* sp.)、炭角菌 (*Xylaria* sp.)、多孔菌 (*Polyporus* sp.)、肉座菌 (*Hypocrea schweinitzii*、*Hypocrea lactea*、*Hypocrea peltata*) 和綿腐病菌 (*Hypomyces pseudocorticicola*) (Okuda *et al.* 2016; Miyazaki 2018) 等木材腐朽菌；細菌則有腐敗病菌 (*Ewingella americana*) (Arima *et al.* 2010)、褐變腐敗病菌 (*Pseudomonas fluorescens*)、黑腐病菌 (*Pseudomonas tolaasii*) (Miyazaki 2018) 等；害蟲則大部分以白蟻、甲蟲等昆蟲為主 (Okabe 2006)。過去國內並未針對段木上有害菌類與昆蟲造成段木香菇產量與品質之影響進行詳細研究。行政院農業委員會於 2016 年起為達山林永續經營之效益，開始推動林下經濟 (under-forest economy) 政策，此概念於美國、中國及日本等國已行之有年，主要希望透過林地優良的環境條件栽培高經濟價值作物，創造農林永續經營的生產模式，以提升森林的附加價值 (Hou *et al.* 2017)。經過多方的討論和評估後，目前台灣已容許在林業用地之森林冠層下合法經營「森林蜂產品」、「金線連」及「段木香菇、木耳」等 3 項森林副產物，鼓勵林農在不傷害林地的情形下進行栽植生產，以取得短期收入，此舉使段木香菇栽種面積逐年增加，因而段木香菇栽培過程中之病蟲害問題也開始備受重視。

段木栽培過程中所遭遇的有害真菌大部分屬於木材腐朽菌，經初步調查後發現炭角菌 (*Xylaria* sp.) 常發生於段木香菇栽培過程中，且出現炭角菌之段木產量有明顯下降之情況，顯示炭角菌可能為影響段木香菇產量不良的因子之一。炭角菌屬於真菌界 (Fungi)、子囊菌門 (Ascomycota)、囊殼菌綱 (Sordariomycetes)、炭角菌目 (Xylariales)、炭角菌科 (Xylariaceae) 之真菌，全世界已被記載者有 100 餘種，主要生長於腐爛的樹樁或木頭上，如：山毛櫸 (*Fagus*)、楓樹 (*Acer*) 和橡樹 (*Quercus*)

等皆為其寄主 (Robinson & Laks 2010)。該菌菌絲無色透明，分支具 90° 直角且有隔膜 (Cañón *et al.* 2019)；子實體型態為高度約 5–7 cm 的棒狀或叢枝狀，又俗稱為「死者手指」(dead man's fingers) (Hacioglu *et al.* 2011)，其子實體不似其他菇類具有肉質質地，較偏向木質化，因此並不適合食用，且部分物種可和白蟻巢共生，具有醫藥用價值 (Wangsawat *et al.* 2021)。此外，炭角菌屬於白腐菌，可分泌木質分解酵素自木頭中取得自身生長所需的養分，導致木材腐朽 (Liers *et al.* 2006)，而目前國內對於炭角菌與段木香菇間之交互關係瞭解甚少，也無相關研究報導。因此，本研究將以嘉義縣阿里山鄉栽植香菇的段木上著生之炭角菌進行分離與分類鑑定，並釐清炭角菌對香菇菌絲生長之影響，最後測試 60% 腐絕水懸劑是否具有抑菌潛力，以提供未來擬定相關防治方法之重要參考依據。

材料與方法

炭角菌採集、分離及保存

2021 年 11 月間於嘉義縣阿里山鄉達邦村之段木香菇園進行炭角菌採集，採得之子實體樣品置於夾鏈袋中保濕，於室溫下送回實驗室進行組織分離。將採集之子實體以無菌水進行表面清洗後，利用滅菌過之解剖刀切取子實體的內部組織，並以馬鈴薯葡萄糖培養基 (potato dextrose agar; PDA, Becton Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ, USA) 進行純化培養，靜置於 25°C 之恆溫箱中。7 d 後待菌絲長出，以 5 mm 打孔器切取較完整的菌落邊緣，並再次以 PDA 培養基進行繼代培養。在 25°C 下培養 7–10 d，並同步觀察菌落生長速度與菌絲狀態，挑選生長勢良好且菌落圓整的菌株 CYX-1 作為後續試驗菌株，並切取所挑選菌株之菌絲塊，以 1% 海藻糖保存於 4°C 中。於實驗前，將供試菌株自保存管中取出，再以 PDA 培養基進行活化，待 7–14 d 後即可進行後續試驗。

炭角菌之鑑定

將在 PDA 培養基生長 7 d 之炭角菌 CYX-1

的菌絲進行基因組 DNA 萃取。以真菌核醣體內部轉錄間隔 (internal transcribed spacer; ITS) 作為鑑定序列，使用正向引子 ITSa (GGAAGGAGAAGTCGTAACAAGG) 和反向引子 ITSb (CTTTTCCTCCGCTTATTGATATG) 進行聚合酶鏈鎖反應 (polymerase chain reaction; PCR) (Blattner 1999)。增幅反應過程為以 94°C 進行初次的 DNA 解旋反應 (denature) 2 min；進入增幅循環後，以 94°C 進行 DNA 解旋反應 30 s，以 54°C 進行 DNA 黏合反應 (annealing) 20 s，72°C 進行 DNA 延長反應 (extension) 60 s，循環過程重複 33 個循環；72°C 進行 DNA 最終延長反應 5 min；最後將 PCR 產物委由基龍米克斯生物科技股份有限公司 (Genomics Biotech Inc., New Taipei, Taiwan) 進行純化和定序。得到的序列資料再與 National Center for Biotechnology Information (NCBI) 網站中之基因資料庫進行序列分析比對。

炭角菌與香菇之交互關係

為瞭解炭角菌對香菇菌絲生長之影響，將自阿里山鄉所分離之炭角菌菌株 CYX-1 和香菇菌株 Br-1 進行 PDA 與木屑平板之對峙培養，本研究之供試香菇菌株 Br-1 係由行政院農業委員會農業試驗所植物病理組菇類研究室所提供。木屑培養基製作乃以乾重比 85:15 混合雜木屑與米糠後，將含水量調整至 60–65%，分裝於玻璃培養皿中，進行高溫高壓 (121°C, 1.2 kg cm⁻²) 滅菌 1 h，靜置室溫下備用。將炭角菌和香菇之供試菌株分別自保存管中取出，以 PDA 培養基進行活化，並放置於 25°C 之恆溫箱中黑暗培養 7–14 d。以 5 mm 打孔器切取炭角菌和香菇之菌絲塊，分別置於距 PDA 培養基和木屑培養基 (直徑 9 cm) 直徑兩端點 2.5 cm 處，並於全黑暗 25°C 環境中進行培養，每處理 5 重複。以接種後 7 d 之菌落半徑變化進行影響評估，並計算兩菌交接處和無交接處的菌落半徑比例 (菌落中心至交接處半徑/菌落中心至無交接處半徑)。本試驗進行 2 次重複。

炭角菌對腐絕藥劑之感受性試驗

《植物保護手冊》可允許使用於段木香菇之

推薦用藥為 60% 腐絕可濕性粉劑，本試驗基於後續產業應用需求，選用腐絕作為供試藥劑。藥劑使用劑量將依現行公告於《植物保護手冊》中，推薦使用於段木香菇上防治綠黴病之施用量作為基準進行稀釋倍數設計，分別製備含有約 1,200、600、300、120、60、30 ppm 腐絕的 PDA 培養基進行測試，以確認可有效抑制炭角菌之藥劑濃度。以 5 mm 打孔器切取炭角菌之菌絲塊，並置於上述含有不同濃度腐絕的 PDA 培養基中，以 25°C 之恆溫箱進行黑暗培養，並於培養後 7 d 記錄菌落直徑。另，將直徑 5 mm 之炭角菌菌絲塊置於 PDA 培養基中央，再將含有不同稀釋倍率的 60% 腐絕水懸劑 (稀釋 1,000×、10,000× 和 20,000×) 之濾紙圓片擺放於培養基四端點進行藥劑試驗，於生長 14 d 後，測量菌落邊緣至濾紙圓片邊緣之距離，每處理 5 重複。

數據分析方法

本次試驗所得數據，以 SAS (Statistical Analysis System) 7.1 版統計軟體進行分析，處理組間以單因子變異數分析，並以 Tukey's studentized range (honestly significant difference; HSD) 於 95% 信賴區間進行檢驗，評估處理組間有無統計學上顯著差異。

結果

炭角菌之鑑定

嘉義縣阿里山鄉達邦村菇場所採集之炭角菌子實體，在段木上以簇生或叢生發生，外觀呈棍棒狀或圓柱狀，長約 3–5 cm，直徑約 2–5 mm，表面光滑 (圖 1A)。經於實驗室組織分離後，可於 PDA 平板上進行人工培養，選取供試菌株 CYX-1 之菌落初期呈現白色，菌絲濃密生長，培養 7–14 d 後菌絲可轉為墨綠色 (圖 1B)。菌絲經光學顯微鏡觀察，可發現菌絲無色且具有隔膜 (septate) 等構造 (圖 1C)，但無分生孢子或子囊孢子之產生。為進一步鑑定該菌株，將此真菌之 ITS 序列與 NCBI 基因資料庫進行分析比對，發現供試菌株 CYX-1 和 *Xylaria scruposa*、*Xylaria polymorpha* 等炭角菌科真菌之 ITS 序列具有 89–90% 的相似度。

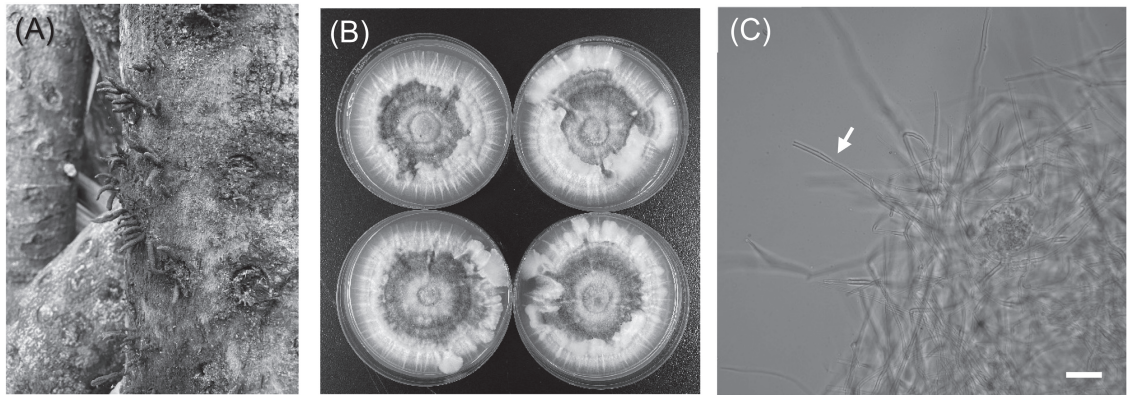


圖 1. 炭角菌之外觀。(A) 段木上炭角菌之子實體型態；(B) 培養於 PDA 培養基之菌落形態；(C) 於光學顯微鏡下之炭角菌菌絲具有隔膜(箭頭處)。

Fig. 1. Appearance of *Xylaria* sp. (A) Fruiting bodies on shiitake wood log; (B) colonies on potato dextrose agar (PDA) media; and (C) the regular septate hyphae (arrowed) with branches (scale bar = 10µm).

因此，依據田間子實體外觀和 ITS 序列分析結果，初步將阿里山鄉段木上所分離之菌株 CYX-1 鑑定為 *Xylaria* 屬之真菌。

炭角菌與香菇之交互關係

為瞭解炭角菌和香菇間之交互影響情形，將兩菌之供試菌株 CYX-1 與 Br-1 於 PDA 和木屑平板上進行對峙培養，結果顯示，經於 25°C 下靜置培養 7 d 後，不管於 PDA (圖 2) 或木屑 (圖 3) 培養基上，兩菌之菌落邊緣即互相接觸，其中炭角菌相較香菇，菌絲更為潔白且濃密，而香菇菌絲於接觸後除生長受影響外，菌絲更出現弱化；此外，由培養基背面觀察菌絲交接處，出現些許菌絲褐化之現象。此時，香菇菌絲自菌落中心點至交接處平均長為 1.2700 ± 0.1250 cm，與正常生長之菌絲長度 3.1200 ± 0.0920 cm 具有顯著差異；而炭角菌於上述兩種培養條件下，菌絲長度雖也具有顯著差異 (分別為 2.1200 ± 0.0490 cm 及 2.5600 ± 0.0340 cm)，但影響幅度較小，如表 1。經 28 d 培養後，發現炭角菌菌絲甚至包覆香菇菌絲繼續生長，且交接處之香菇菌絲褐化情形更為明顯。

炭角菌對腐絕藥劑之感受性試驗

在測試炭角菌 CYX-1 對 60% 腐絕水懸劑的感受性試驗中，結果顯示炭角菌在含有不同濃度腐絕 PDA 培養基上之菌落生長 14 d 後，

於供試最低濃度之 30 ppm 腐絕處理下菌絲完全受到抑制，而對照組菌落大小則為 8 ± 0.1 cm (圖 4)。此外，為進一步釐清藥劑之擴散抑制效果，使用含有不同稀釋倍數腐絕的濾紙圓片進行試驗，並以菌落至濾紙圓片的距離作為判定抑制效果。經 21 d 培養後，結果顯示炭角菌在稀釋 1,000× 腐絕和對照組 (無菌水) 處理下抑制帶大小具有顯著差異，於稀釋 10,000× 和 20,000× 的處理間亦具有顯著差異，但此兩種稀釋倍數的處理和對照組則無顯著差異，結果如圖 5 所示。由炭角菌對藥劑感受性試驗結果可知，腐絕具有防治炭角菌之潛力。

討論

段木在長期高溫多濕的環境中，易受到如褐腐、白腐和軟腐等真菌或細菌的侵染而導致自然劣化分解 (Schwarze 2007)，進而影響段木香菇的品質或產量。依台灣嘉義縣阿里山鄉於 2021–2022 年間田間調查結果，發現段木香菇栽培時常見之有害真菌，經初步診斷後，以真菌性病原菌為主，其中大多屬於子囊菌和擔子菌門，包含多孔菌、炭團菌、裂褶菌、炭角菌、薄多孔菌及綠黴菌等，多數屬於木材腐朽菌 (Abe 1989)。

依據前人研究指出炭角菌之子實體外觀為圓柱形，高度和寬度約為 30–40 mm × 2–5 mm，成熟後，子座上之子囊殼內著生子囊，

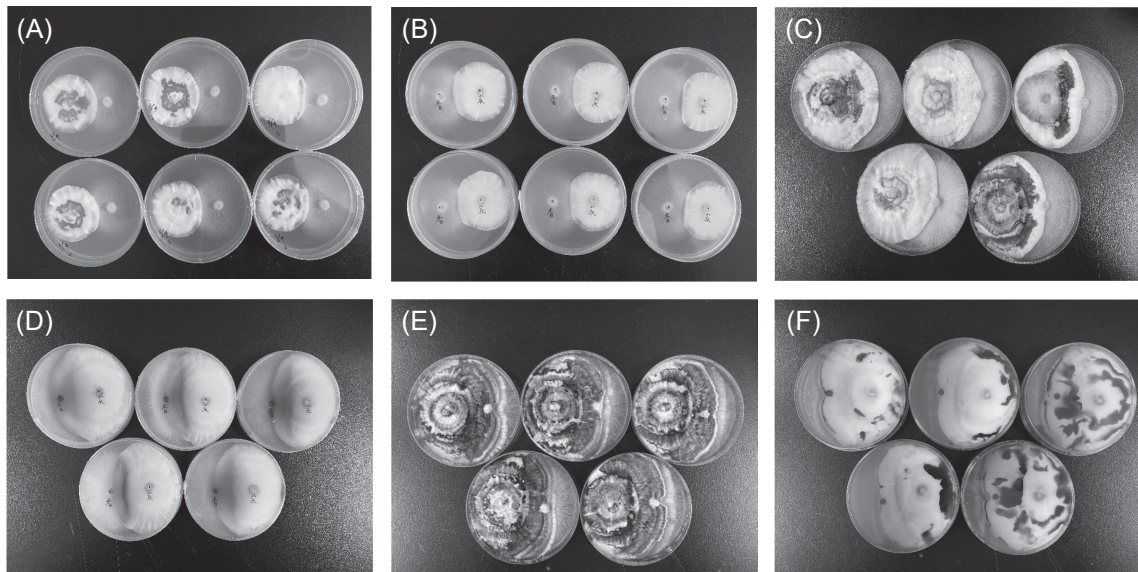


圖 2. 炭角菌和香菇於 PDA 培養基上對峙培養 (A、C、E 左和 B、D、F 右為炭角菌)。(A-B) 於培養後 7 d 兩菌落接觸；(C-D) 培養 14 d 後，炭角菌菌絲覆蓋香菇菌絲，且背面出現褐化現象；(E-F) 28 d 後，炭角菌菌落墨綠化，且背面褐化更為明顯。

Fig. 2. The dual culture assay between *Xylaria* sp. CYX-1 and *Lentinula edodes* Br-1 on potato dextrose agar (PDA) media (A, C, E left and B, D, F right was *Xylaria* sp.). (A-B) Two colonies contacted each other 7 d after inoculation; (C-D) mycelium of shiitake was covered by that of *Xylaria* sp., and the backsides of the PDA media of the former turned brown 14 d after inoculation; (E-F) surfaces of the colony of *Xylaria* sp. turned green, and browning of the backside of media became significantly 28 d after inoculation.

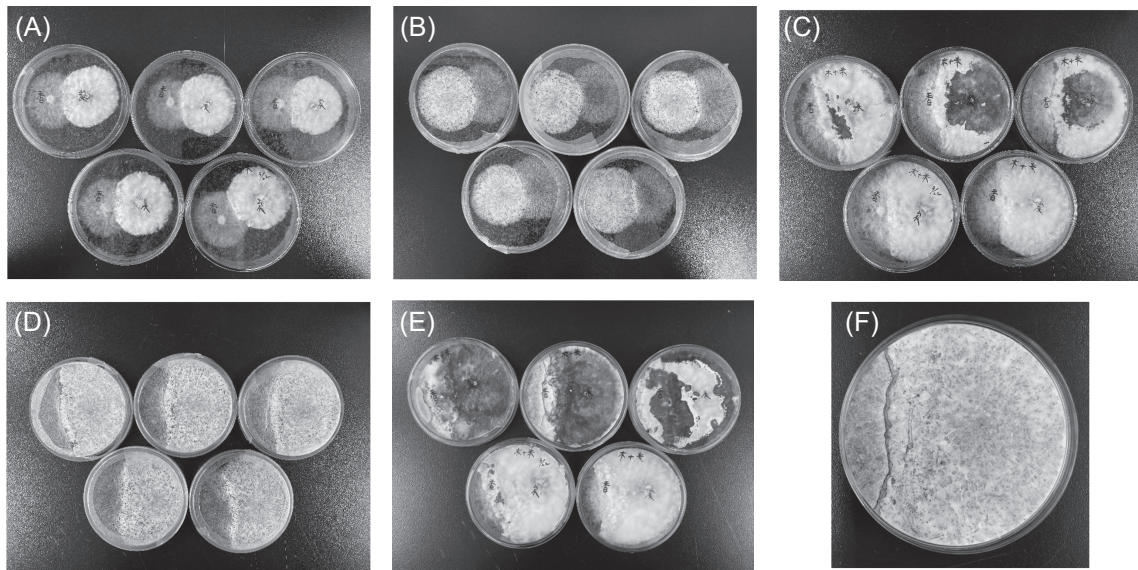


圖 3. 以 15% 米糠之木屑培養基對峙培養測試炭角菌 CYX-1 對香菇 Br-1 菌絲生長之影響。培養 (A-B) 9 d；(C-D) 16 d；(E-F) 28 d 之菌落形態。

Fig. 3. The effect of *Xylaria* sp. CYX-1 on mycelial growth of *Lentinula edodes* Br-1 by dual culture on a sawdust medium supplemented with 15% of rice bran. The colony morphology of two isolates (A-B) 9 d; (C-D) 16 d; and (E-F) 28 d after inoculation.

表 1. 炭角菌和香菇於 PDA 培養基上對峙結果 (單位: cm)。

Table 1. The dual culture of *Xylaria* sp. CYX-1 and *Lentinula edodes* Br-1 on potato dextrose agar (PDA) plates.

Isolate	Colony radius (cm)		
	A ^z	B	B/A
CYX-1	2.5600 ± 0.0340 b ^y	2.1200 ± 0.0490 a	0.8300 ± 0.0270 a
Br-1	3.1200 ± 0.0920 a	1.2700 ± 0.1250 b	0.4100 ± 0.0146 b

^z A: The colony radius was measured 7 d after mycelial growth along in normal; B: the colony radius was measured 7 d after mycelial growth with dual culture on media.

^y Data (means ± standard error) with different letters in each column are significantly different according to Tukey's studentized range (honestly significant difference; HSD) test at $P < 0.05$.

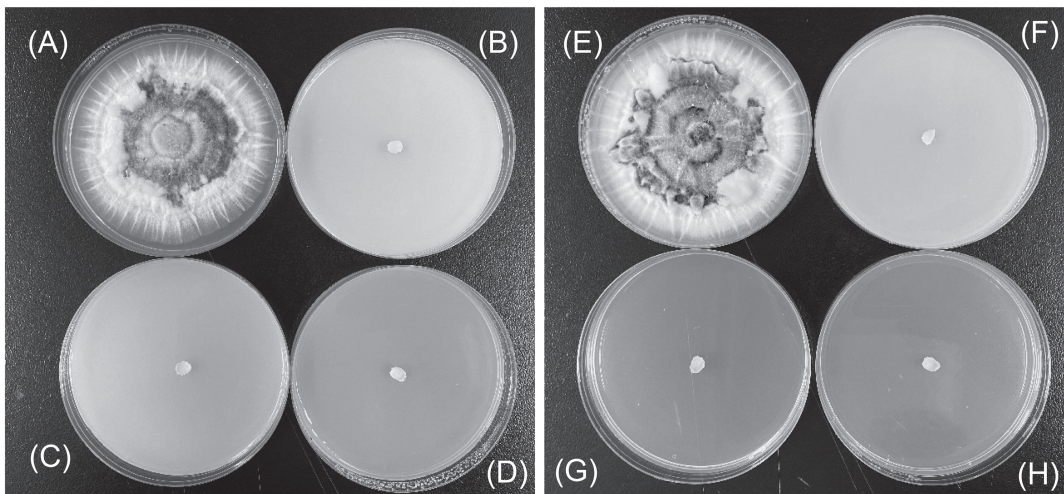


圖 4. 炭角菌在含有不同濃度腐絕的 PDA 培養基上之生長情形。

Fig. 4. The mycelial growth of *Xylaria* sp. CYX-1 grown on potato dextrose agar (PDA) media with different concentrations (A, E: 0 ppm; B: 1,200 ppm; C: 600 ppm; D: 300 ppm; F: 120 ppm; G: 60 ppm; and H: 30 ppm) of thiabendazole.

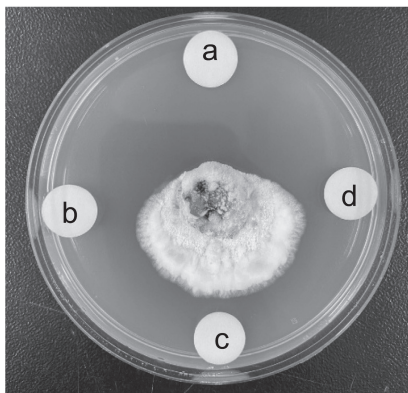
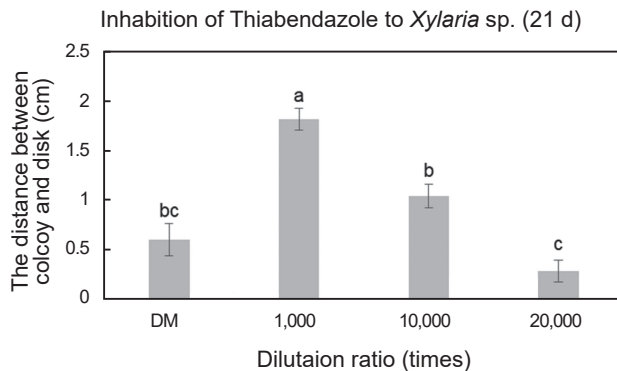


圖 5. 以濾紙圓盤法測試不同稀釋倍數腐絕 (60% SC) 對炭角菌菌絲抑制之情形。(a: 稀釋 1,000×; b: 稀釋 10,000×; c: 稀釋 20,000×; d: 無菌水)。

Fig. 5. The inhibition of thiabendazole [60% suspension concentrates (SC)] at different dilution folds on mycelial growth of *Xylaria* sp. CYX-1 with filter paper-disk method [a: 1,000 dilution fold; b: 10,000 dilution fold; and c: 20,000 dilution fold; d: distilled water (DW)]. Data (means ± standard error) with different letters are significantly different according to Tukey's studentized range (honestly significant difference; HSD) test at $P < 0.05$.



大小約 180–220 $\mu\text{m} \times 7\text{--}8 \mu\text{m}$ 。每個子囊上具有 8 個子囊孢子，孢子為褐色橢圓形，18–20 $\mu\text{m} \times 6\text{--}7 \mu\text{m}$ (Raymundo *et al.* 2014; Hashemi *et al.* 2015)，和本研究自阿里山鄉所採集之供試菌株 CYX-1 於田間的子實體型態一致，而過往炭角菌之鑑定多仰賴有性構造和子囊孢子之形態特徵進行區分，但由於本試驗未能取得子囊孢子的相關資料，僅能由 ITS 序列分析結果初步將試驗菌株鑑定為 *Xylaria sp.*，後續為進一步鑑定此菌株，將擴大調查該區所產生之炭角菌子實體之巨觀與微觀性狀，包含子實體、子座、子囊殼、子囊及子囊孢子之大小，形狀及顏色等；同時亦將已分離之菌株接種於段木或木屑太空包中，並誘導其子實體產生，以蒐集其子囊孢子進行鑑定，並規劃利用多基因解序之方法，進行更進一步之親源分析。

在木材腐朽菌之生長過程中，所需的主要養分可分成碳素源與氮素源兩類，其中段木中之纖維素與木質素即是作為碳素源的主要來源。真菌可透過所產生孢子萌發生成菌絲所分泌的酵素，包括纖維二糖水解酶 (cellulohydrolase)、內切型葡萄糖分解酶 (endoglucanase) 及外切型葡萄糖分解酶 (exoglucanase) 等，降解植物細胞壁中的木質素和纖維素 (Baldrian & Valášková 2008)，亦會透過鐵離子以芬頓反應生成氫氧自由基 (hydroxyl radical)、超氧自由基 (peroxyl radical) 及過氧化氫自由基 (hydroperoxyl radical) 等活性氧，降解木質細胞組成 (Kumar *et al.* 2021)。而香菇也是利用段木中之木質素等進行生長，因此在有機物資源有限的情況下，木材腐朽菌勢必會和香菇競爭段木中的營養與生長空間，導致香菇菌絲生長受阻，甚至影響後續的出菇量。在競爭相同生態位 (niche) 之情況下，菌勢較強的一方可能因其孢子具有快速的傳播和發芽能力、菌絲生長較為快速及良好的物質分解能力等優勢使其可快速擴展，並造成菌勢較弱的一方菌絲弱化，甚至出現死亡現象。Boddy (2000) 研究指出真菌間的競爭關係，可依生態位事先是否已被其他真菌占據區分為初級資源掠奪 (primary resource capture) 和次級資源掠奪 (secondary resource capture)，而影響的機制則包括分泌抗生物質、菌絲的干擾及超

寄生。其中大量的菌絲相互接觸 (gross mycelium contact)，使接觸面之菌絲產生形態變化亦為木材腐朽菌常見的交互影響結果 (Boddy 2000)。

炭角菌於自然界中以腐生為主，兼具寄生的能力，屬於兼性寄生，主要生長在腐朽的木頭、落葉或土壤等有機質中。在 Wang & Cui (2010) 和 Du & Cao (2007) 等人的研究中指出總狀炭角菌 (*Xylaria pedunculata*) 之菌絲與平菇 (*Pleurotus ostreatus*)、香菇、毛木耳 (*Auricularia polytricha*)、杏鮑菇 (*Pleurotus eryngii*) 及白靈菇 (*Pleurotus nebrodensis*) 等菇類菌絲接觸後，後者之菌絲初期皆能與總狀炭角菌形成明顯的拮抗線，但經進一步的培養後，菇類菌絲甚至可覆蓋炭角菌之菌絲繼續向前生長，具有較強的拮抗和抑制能力。惟有雞腿菇 (*Coprinus comatus*) 對其無競爭優勢，起初於交界處出現模糊的淺褐色拮抗線，但隨時間的推展，雞腿菇之菌絲將會逐漸被炭角菌包圍，甚至可於雞腿菇原本的生長點形成炭角菌子座。進一步透過光學顯微鏡可發現交界處菌絲出現扭曲、侵入和纏繞等現象，因此推測炭角菌屬真菌對部分食用菌仍具有病原性 (Du & Cao 2007; Wang & Cui 2010)。本試驗分離得到的炭角菌 CYX-1 在與香菇 Br-1 對峙培養的結果，和 Boddy (2000) 研究指出的菌絲相互接觸 (gross mycelium contact) 現象及上述以總狀炭角菌與雞腿菇菌絲接觸後所產生的反應一致，於接觸面會形成明顯的阻隔帶，並隨著培養時間的拉長，炭角菌將持續朝香菇菌落生長，尤其在木屑培養基上更可觀察到明顯的炭角菌逐漸覆蓋香菇菌絲之過程，亦可發現香菇菌絲出現弱化情形。因此，由本研究之木屑和 PDA 培養基的對峙實驗結果可知，在具有豐富的碳素源和氮素源的營養條件下，炭角菌 CYX-1 之生長勢和香菇具有顯著差異，甚至可覆蓋香菇菌絲繼續生長，初步推測所分離之炭角菌於環境適宜時，不僅具有與香菇競爭段木上生長空間與營養之能力，更可能對香菇產量造成危害，成為香菇之競爭菌。此外，於 PDA 培養基背面交接處，香菇菌絲顏色會從原先的淺白色轉為深褐色，推測可能和細胞內和細胞間色素的產生，或香菇菌絲受到影響，

如：酚類氧化活性改變等，並分泌防禦之二次代謝物有關 (Boddy 2000)。由於香菇屬於擔子菌門真菌，可生成扣子體構造，但炭角菌無此特性，因此未來可利用此差異，再使用光學顯微鏡或掃描式電子顯微鏡觀察炭角菌和香菇之菌絲互相纏繞和兩者菌絲是否出現型態上的變化，以驗證炭角菌對香菇之病原性。

炭角菌之子實體成熟後，子座上之子囊殼內可產生大量子囊孢子，而子囊孢子會隨風、雨或空氣進行傳播，於環境適宜時侵染周邊健康段木 (Thomas *et al.* 2016)。為降低炭角菌對段木香菇造成擴大影響，優先選用在《植物保護手冊》中可使用於段木香菇栽培的推薦用藥-腐絕測定炭角菌對本藥劑之感受性，試驗結果顯示本菌對腐絕的感受性高，在極低濃度下即可有效抑制炭角菌的生長。據此，菇農如栽種前於環境中施用少量的腐絕，且配合上適當的田間衛生管理，除可有效抑制炭角菌外，還可同時抑制其他環境中之子囊菌或不完全菌的病原菌，如：綠黴菌、紅色麵包黴及木黴菌等。此外，炭角菌對香菇產量之影響取決於其在生產過程中的侵入時機，因此後續也將針對炭角菌侵入段木後的繁殖至子實體之產生過程進行深入調查與研究，盼能提供最佳的藥劑施用時間與藥效做為防治參考，使段木香菇之產量與品質有所提升。

近年來，炭角菌的研究多著重於分類與鑑定等方面，對於其二次代謝物之生物活性亦有所研究 (Liu *et al.* 2007)。此外，目前已發現炭角菌可產生真菌上常見的氣態和非氣態的物質，前者包含 sesquiterpenoids、esters 和 alcohols，而後者則有 terpenoids、cytochalasins、mellein、alkaloids、polyketides 和 aromatic compounds，而其他二次代謝物也被發現具有和農業與醫藥相關的生物用途。醫療上可分成抗生素、細胞毒性和抗氧化等部分，其中炭角菌所分泌的抗生物質，如 xylabissocin A 和 B、methylmellein 及 ergosterol peroxide 等，對於人體病原菌 *Staphylococcus aureus*、*Trichophyton rubrum*、*Hormodendrum compactum* 及 *Candida albicans* 等皆具有抑制的效果。而在農業上則可應用於開發病蟲害防治，目前已知炭角菌之代謝物對於秋行軍蟲 (*Spodoptera frugiper-*

da)、小菜蛾 (*Plutella xylostella*) 等害蟲及稻熱病菌 (*Pyricularia oryzae*)、小麥赤霉病菌 (*Gibberella saubineti*)、猝倒病菌 (*Pythium ultimum*) 等作物病原菌具有抑制的效果 (Jang *et al.* 2007; Macías-Rubalcava & Sánchez-Fernández 2017)，因此本研究於未來也可進一步探討國內炭角菌用於醫療和作物病蟲害防治上之潛力。

目前在段木香菇之有害生物方面研究甚少，本研究為第一篇探討炭角菌發生於台灣段木香菇的報導，後續將持續調查台灣其他產區的炭角菌於段木香菇上發生之情形，並進行段木接種試驗以釐清炭角菌和香菇在自然環境中實際的交互影響。另也將進一步的探討在對峙培養時香菇菌絲出現褐化反應時的防禦基因表現，此外，本研究亦發現利用腐絕可有效抑制炭角菌之菌絲生長，盼於未來能作為段木香菇炭角菌防治策略擬定之參考依據。

引用文獻

- Abe, Y. 1989. Effect of moisture on the colonization by *Lentinus edodes* and *Hypoxylon truncatum* in wood. *Eur. J. For. Pathol.* 19:423–434. doi:10.1111/j.1439-0329.1989.tb00280.x
- Arima, S., T. Nanaumi, H. Shinohara, and H. Negishipi. 2010. Bacterial brown rot, a new disease of Shiitake (*Lentinula edodes*) caused by *Ewingella americana*. *Jpn. Soc. Mushroom Sci. Biotechnol.* 18:139–144. (in Japanese with English abstract) doi:10.24465/msb.18.4_139
- Baldrian, P. and V. Valášková. 2008. Degradation of cellulose by basidiomycetous fungi. *FEMS Microbiol. Rev.* 32:501–521. doi:10.1111/j.1574-6976.2008.00106.x
- Blattner, F. R. 1999. Direct amplification of the entire ITS region from poorly preserved plant material using recombinant PCR. *Biotechniques* 27:1180–1186. doi:10.2144/99276st04
- Boddy, L. 2000. Interspecific combative interactions between wood-decaying basidiomycetes. *FEMS Microbiol. Ecol.* 31:185–194. doi:10.1111/j.1574-6941.2000.tb00683.x
- Cañón, E. R. P., M. P. de Albuquerque, R. P. Alves, A. B. Pereira, and F. D. C. Victoria. 2019. Morphological and molecular characterization of three endolichenic isolates of *Xylaria* (Xylariaceae), from *Cladonia curta* Ahti & Marcelli (Cladoniaceae). *Plants* 8:399.

- doi:10.3390/plants8100399
- Du, A. and Z. Cao. 2007. Influence of *Coprinus comatus* on the growth and extracellular enzyme activity of *Xylaria pedunculata*. J. Northwest A&F Univ. (Nat. Sci. Ed.) 35:115–119. (in Chinese with English abstract)
- Gea, F. J., M. J. Navarro, M. Santos, F. Diáñez, and J. Carrasco. 2021. Control of fungal diseases in mushroom crops while dealing with fungicide resistance: A review. Microorganisms 9:585. doi:10.3390/microorganisms9030585
- Hacioglu, N., I. Akata, and B. Dulger. 2011. Antimicrobial potential of *Xylaria polymorpha* (Pers.) Grev. Afr. J. Microbiol. Res. 5:728–730.
- Hashemi, S. A., R. Zare, S. A. Khodaparast, and S. A. Elahinia. 2015. A new *Xylaria* species from Iran. Mycol. Iran. 2:1–10. doi:10.22043/MI.2015.13603
- Hou, F. M., J. Wu, H. X. Li, Y. L. Yang, X. J. Luo, and Y. Shen. 2017. Analysis on the development of Chinese under-forest economy and its effect on the increase of farmers' income. J. Discrete Math. Sci. Cryptogr. 20:1263–1268. doi:10.1080/09720529.2017.1392432
- Huang, S. G., J. C. Shieh, C. C. Sun, and S. Cheng. 1988. Wood of different fast-growing tree species on shiitake production and quality. Bull. Taiwan For. Res. Inst. 3:183–194. (in Chinese with English abstract) doi:10.7075/BTFRI.198809.0183
- Hung, C. H. 2019. Current development and prospect of mushroom industry in Taiwan. p.1–20. in: Proceeding of Smart Mushroom Production and Farm Management Conference. June 5, 2019. Chiayi, Taiwan. Taiwan Agric. Res. Inst. Publ., Taichung, Taiwan. (in Chinese)
- Jang, Y. W., I. K. Lee, Y. S. Kim, S. Lee, H. J. Lee, S. H. Yu, and B. S. Yun. 2007. Xylarinic acids A and B, new antifungal polypropionates from the fruiting body of *Xylaria polymorpha*. J. Antibiot. 60:696–699. doi:10.1038/ja.2007.89
- Kumar, A., B. Biswas, R. Kaur, B. B. Krishna, and T. Bhaskar. 2021. Hydrothermal oxidative valorisation of lignin into functional chemicals: A review. Bioresour. Technol. 342:126016. doi:10.1016/j.biortech.2021.126016
- Liao, Y. M. 1985. Efficacy of fungicides on the control of *Trichoderma* spp. in sawdust cultivation of shiitake. J. Agric. Res. China 34:329–340. (in Chinese with English abstract) doi:10.29951/JARC.198509.0010
- Liers, C., R. Ullrich, K. T. Steffen, A. Hatakka, and M. Hofrichter. 2006. Mineralization of ¹⁴C-labelled synthetic lignin and extracellular enzyme activities of the wood-colonizing ascomycetes *Xylaria hypoxylon* and *Xylaria polymorpha*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 69:573–579. doi:10.1007/s00253-005-0010-1
- Liu, X., M. Dong, X. Chen, M. Jiang, X. Lv, and G. Yan. 2007. Antioxidant activity and phenolics of an endophytic *Xylaria* sp. from Ginkgo biloba. Food Chem. 105:548–554. doi:10.1016/j.foodchem.2007.04.008
- Macías-Rubalcava, M. L. and R. E. Sánchez-Fernández. 2017. Secondary metabolites of endophytic *Xylaria* species with potential applications in medicine and agriculture. World J. Microbiol. Biotechnol. 33:1–22. doi:10.1007/s11274-016-2174-5
- Miyazaki, K. 2018. Through studies on harmful microorganisms to mushroom cultivation-points of countermeasure against harmful microorganisms and influences of global warming on mushroom cultivation. Mushroom Sci. Biotechnol. 26:10–17. (in Japanese with English abstract) doi:10.24465/msb.26.1_10
- Okabe, K. 2006. Pests on commercial mushrooms in Japan. Bull. For. For. Products Res. Inst. 5:119–133. (in Japanese with English abstract)
- Okuda, Y., E. Nagasawa, T. Tokiwa, K. Hase, and S. Murakami. 2016. Cottony leak on cultivated *Auricularia nigricans* caused by *Hypomyces pseudocorticicol*. Rep. Tottori Mycol. Inst. 46:23–29. (in Japanese with English abstract)
- Raymundo, T., E. Escudero-Leyva, I. Ortega-López, D. Castro-Bustos, H. León-Avedaño, and R. Valenzuela. 2014. Ascomycetes of the tropical dry forest in the Lagunas Chacahua National Park, Oaxaca, Mexico. Bol. Soc. Micol. Madrid 38:9–21. (in Spanish with English abstract)
- Robinson, S. C. and P. E. Laks. 2010. Wood species and culture age affect zone line production of *Xylaria polymorpha*. Open Mycol. J. 4:18–21. doi:10.2174/1874437001004010018
- Schwarze, F. W. 2007. Wood decay under the microscope. Fungal Biol. Rev. 21:133–170. doi:10.1016/j.f-br.2007.09.001
- Shih, H. D., Y. S. Lu, H. W. Chiu, R. Y. Jou, C. T. Lu, W. H. Hsu, M. H. Chen, W. S. Li, and C. Y. Huang. 2019. The current situation and aspect on the mushroom smart production. p.29–34. in: Proceeding of Smart Mushroom Production and Farm Management Conference. June 5, 2019. Chiayi, Taiwan. Taiwan Agric. Res. Inst. Publ., Taichung, Taiwan. (in Chinese)
- Thomas, D. C., R. Vandegrift, A. Ludden, G. C. Carroll, and B. A. Roy. 2016. Spatial ecology of the fungal genus *Xylaria* in a tropical cloud forest. Biotropica 48:381–393. doi:10.1111/btp.12273
- Wang, Y. H. and S. Y. Cui. 2010. Study on the pathogenesis of *Xylaria furcata* of *Coprinus comatus*. J. Liaoning Agric. Coll. 12:12–13. (in Chinese)
- Wangsawat, N., Y. M. Ju, C. Phosri, A. J. S. Whalley, and

N. Suwannasai. 2021. Twelve new taxa of *Xylaria* associated with termite nests and soil from north-

east Thailand. *Biology* 10:575. doi:10.3390/biology10070575

Identification and Fungicide Sensitivity of *Xylaria* sp. Grown on Shiitake Wood Log in Taiwan

Shiang-Shiuan Yu¹ and Yun-Sheng Lu^{1,*}

Abstract

Yu, S. S. and Y. S. Lu. 2022. Identification and fungicide sensitivity of *Xylaria* sp. grown on shiitake wood log in Taiwan. *J. Taiwan Agric. Res.* 71(4):331–341.

In recent years, the average production of wood log shiitake in Taiwan was 264 tons, accounting for 0.6% of the market share in shiitake. The planting areas are mainly distributed in indigenous community of Yilan, Taoyuan, Hsinchu, Miaoli, Nantou, and Pingtung. Common microorganisms occurring during wood log cultivation belong to wood-decaying fungi. In addition, there was little domestic research about the effect of wood-decaying fungi on the yield and quality of wood log shiitake. Due to the “under-forest economy” policy promoted by the Council of Agriculture, Executive Yuan, ROC, the planting area of wood log shiitake has increased yearly. The government has also paid the attention to the diseases and pests or competitors that occurred during the cultivation of wood log shiitake. In this study, a fungus was isolated from the shiitake wood log collected from Alishan, Chiayi, and evaluated in our Mushroom Research Laboratory. After comparing the appearance of the fruiting bodies in the field and analysis of its ITS sequence, the fungus was preliminarily identified as *Xylaria* sp. A dual culture assay showed when the mycelium of *Xylaria* sp. CYX-1 confronted with that of *Lentinula edodes* Br-1 on a potato dextrose agar (PDA) medium, the mycelial growth of the latter was significantly inhibited. After two weeks of culturing on the medium, the mycelium of *Xylaria* sp. could cover that of *L. edodes*. It showed that *Xylaria* sp. CYX-1 was detrimental to the mycelial growth of *L. edodes* Br-1 and could be the competitor of the latter. The recommended fungicide thiabendazole for application in the cultivation of shiitake was used in this study to test the fungicide sensitivity of *Xylaria* sp. CYX-1. The result showed that the mycelium of *Xylaria* sp. CYX-1 was totally inhibited on the PDA medium with 30 ppm of thiabendazole and in a filter paper-disk test with 1,000 dilution fold of thiabendazole [60% suspension concentrates (SC)]. Therefore, thiabendazole could potentially be used to control *Xylaria* sp. This is the first report on the possibility of *Xylaria* sp. as a competitor of shiitake cultivation on the wood log in Taiwan. Further surveys of the damage caused by *Xylaria* sp. in other planting areas of wood log shiitake will be needed. The results of the fungicide sensitivity of *Xylaria* sp. to thiabendazole may provide an important reference to control *Xylaria* sp. during shiitake wood log cultivation.

Key words: *Xylaria* sp., Wood log shiitake, Under-forest economy, Thiabendazole.

Received: May 10, 2022; Accepted: August 5, 2022.

* Corresponding author, e-mail: yunsheng@tari.gov.tw

¹ Assistant Research Fellows, Plant Pathology Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung City, Taiwan, ROC.