### 行政院及所屬各機關出國報告

(出國類別:研習)

# 加強與法國之農業科技合作交流-(3)研習 洋菇堆肥室內發酵製程及品質研究

服務機關:農業試驗所

出國人職稱:助理研究員

姓 名:陳美杏

出國地區:法國波爾多

出國期間:90年8月29日至9月22日

報告日期:90年12月21日

# 摘要

法國農業研究院位於波爾多的之研究站係舉世聞名之 菇類研究中心,該研究站開發完成洋菇堆肥室內發酵技術, 不僅有效避免洋菇堆肥戶外堆積產生之臭氣所造成環境污 染,並可縮短一半之堆肥製作時間,同時製作完成之堆肥與 傳統堆肥同樣具備高生產力,目前在法國與義大利均有實際 商業應用。並且開發堆肥品質分析技術,以評估堆肥之良 瓠。此次前往研習,主要項目為堆肥製程及品質分析研究, 在堆肥品質分析方面,有生物分析、化學分析和酵素分析等 方法。至於在菇類病原學方面,有關洋菇褐枯病和褐斑病, 香菇和洋菇之木黴菌所引起的病害之病原生態及抗病菌株 篩選方法,均有深入之探討,另外,在洋菇遺傳學之研究上, 發現多個基因相互連結,同時藉由基因標定,瞭解其遺傳特 性,此外,在菌根菌方面,松露和牛肝菌已可達商業化生產 階段。

# 目 錄

-,	目的・・・・・・・・・・			•	•	•	•	. 3
_,	過程							
	(一)研習行程 · · · · · · ·		• •		-			3
	(二)主要研習內容・・・・・・							4
	1. 法國農業研究院波爾多研	究中	心苑	吉类	頁句	F S	<b>飞</b> 站	5
	介紹							
	2.洋菇堆肥室內發酵製程及問	品質:	分析	Í				
	3.洋菇遺傳學之研究							
	4.菇類病原學研究及抗病菌	<b>洙</b> 篩	選					
	5.利用酵素之活性評估香菇	對基質	質之	適	應	性	Ξ	
	6.內生菌根菌之研究							
三、	心得・・・・・・・・・						. ′	17
四、	建議・・・・・・・・・				•	•	. ′	19
五、	附錄						. 2	20

# 一、目的

由於環保意識抬頭,為避免傳統洋菇堆肥在戶外堆積發酵所產生的氨氣及具有惡臭之揮發性含硫化合物,歐美各國已逐漸將洋菇堆肥移至室內進行發酵。法國農業科學院在波爾多研究中心之菇類研究站在室內堆肥發酵技術開發上甚為先進,並已商業化生產,此外,在堆肥中添加酵素及生物活性劑促進堆肥原料分解速度,縮短堆肥製作時間,業已有商業化產品上市,惟國內和歐美各國所使用的材料及所添加的有機營養成分並不相同,因此發酵進行的方式及流程的設計亦不相同,需互相討論與觀摩,以其經驗做為國內發展此一技術之參考。此外,法國菇類研究學者已開發一套堆肥品質分析方法,值得前往研習,以作為堆肥品質判斷之參考。另外,菇類遺傳育種技術研習,包括分子育種技術及抗病菌株快速篩選方法等及蒐集其他菇類栽培相關資訊。

# 二、過程:

# (一) 研習行程

日	期	星期	起迄址	也點	任務
90.08.	29	Ш	桃園-巴黎		往程
90.08.	30	曰	巴黎-波爾	3	往程
90.08.	31 至	五	波爾多		研習洋菇堆肥室內發酵
90.09.	21	五			製程及品質研究
90.09.	22	六	波爾多-巴黎	黎-桃園	返國

# (二) 主要研習內容

### 1.法國農業研究院波爾多研究中心菇類研究站介紹

法國農業研究院簡稱 INRA (Institut National de la Recherche Agronomique), 在法國 21 個地區均設有研究中 心,總共分成17個研究部門,員工總數超過一萬人以上, 其中 3800 個研究人員和工程師,其他則是技術人員和協助 研究工作人員,同時接受大學或研究所學生至各地之研究 中心進行研究,及歡迎國內外研究學者至研究中心訪問與 接受訓練。每年預算總經費為 33 億法郎。在波爾多主要的 研究項目,包括土壤分析、氣候調查、水果、葡萄酒、森 林、菇類、玉米、昆蟲、植物病害、植物生理學、植物分 析、魚類及鵝等等,其中一個主要的部分就是菇類,菇類 主要分成三部分:第一部份為擔子菌之生態研究,主要負 責人是 Dr. Olivier, 下面有兩個研究人員,從事菌根菌,如 松露和牛肝菌之研究,並進行野生菇之調查,評估可以作 為食用菌類之參考。第二部分為具競爭力之菇類育種,主 要有四個研究人員,由 Dr. Callac 負責,目前主要的工作仍 是洋菇品系、鮑魚菇和紫丁香蘑,第三部分為菇類的病理 學研究與開發室內堆肥發酵技術方面,由 Dr. Savoie 負責, 目前仍在進行的有洋菇褐枯病(由 Pseudomonas tolassii 引 起)和褐斑病(由 Verticillium fungicola 引起), 香菇和洋菇 的綠黴病(由 Trichoderma harzianum 引起)。另外,有兩個 博士學生在此從事有關博士論文之研究,尚有大學畢業短 期進修一年的學生也在此從事有關洋菇遺傳方面之研究。

#### 2.洋菇堆肥室內發酵製程及品質分析

堆肥製作之目標是藉由管理一連串微生物之活動將農 業廢棄物轉化成洋菇或其他菇類可利用之高產營養物質, 同時具有高度的選擇性。在堆肥材料中所含之養分可以分 成三個部分:第一部份為可立即利用(readily available),大 部分為水溶性,包括氨基酸、簡單之醣類,在堆肥的製作 過程中首先被微生物消耗掉,第二部份為中度可用性 (intermediately available),包括蛋白質、含銨之醣類等,此 一型式的氮可以用 6N 之濃硫酸萃取,第三部分為緩慢分解 (slowly available),主要是不易被微生物分解之碳水化合 物,如木質素,在堆肥之製作過程中,部分的氮會從微生 物分解中釋放出來,吸附或聚合腐植質類似物質,此一部 分無法利用濃硫酸萃取。堆肥發酵過程主要分成兩個階 段,第一階段為高溫發酵期,維持80 一至兩天,第二階 段為低溫殺菌及後發酵,約十至十四天左右。由於在室內 發酵槽中,可以控制堆肥通氣量,不會變成無氧發酵,因 此可以降低含硫化合物等惡臭氣體之產生,但由於溫度非 常均匀,因此第一階段的高溫會殺死有益的微生物,因此 在進行第二階段前,需將堆肥拉出混合 5-8%(w/w)完熟之 堆肥。第一階段主要的目的是改變營養物質之可用性,讓 草桿變得較為柔軟,同時顏色較深,第二階段則是提供特 定微生物之纏據,包括細菌、真菌和放射菌,而使堆肥具有選擇性。為了瞭解堆肥之生產力,Dr. Savoie 等人發展一套堆肥分析方法。堆肥分析分為物理分析,包括溫度、含水量之測定,化學分析主要是分析含氮量和灰份分析,含氮量分析分成水溶性、硫酸溶解性和均不溶於兩者等三種,生物分析則包括細菌和真菌,利用不同培養基分別置於不同溫度培養,酵素分析則包括過氧化酵素等等。以下僅針對生物、化學與酵素分析法做詳細說明:

#### (1) 生物分析:

將 20 克之堆肥樣品加入 180 毫升之培養液體中(蛋白棟 1.2 克、磷酸一氫鈉 6 克、1 公升的蒸餾水中,120 消毒 20 分鐘)以果汁機攪拌 10 秒,停 1 分鐘,再攪拌 10 秒,然後加入 200 毫升無菌水,再攪拌 10 秒,取 20 毫升之懸浮液,加到 80 毫升之無菌水中,充分混合後,作 10 倍系列稀釋,稀釋後取 0.05 毫升做塗佈於平版上,以細菌和真菌兩種培養基(詳見附錄一、二)分離,並分別置於 25 和 48 ,觀察不同菌落之產生。細菌觀察 1 天,真菌觀察 2 3 天。特別是轉化菌(Scytalidium thermophilum)的產生,其菌量和洋菇之產量具正相關。

(2) 化學分析:主要分成含氮量之測定及灰份分析。

A.含氮量之測定:將堆肥樣品放在乾燥器內烘乾 25 小時 48 小時,然後秤重,測定含水量,然後以磨粉機磨粉, 並以 0.5mm 之篩子過篩,並進行下列之實驗:

- a.水溶性萃取法(water soluble):總共6個玻璃瓶,每瓶秤取 1 克之堆肥樣品粉末,加入 20 毫升 0.05%之 micro-protect,振盪 1 小時,每隔 15 分鐘取下兩個玻璃瓶。然 後再加入 30 毫升 0.05%之 micro-protect,經振盪 1 小時後,以抽氣過濾之方式將水濾除,並在乾燥器中乾燥,乾燥完後秤重。
- b.濃硫酸萃取法(6N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> hydrolysable):總共 5 個冷擬管, 在管底分別放入 500 毫克之堆肥樣品粉末,然後加入 20 毫升之 6N 濃硫酸(85 毫升之濃硫酸加 500 毫升之蒸餾水 稀釋),慢慢沸騰 16 小時,不要太強烈,不要超過 100 度,然後放在 80 度乾燥,乾燥後秤重。
- c.礦物化作用(mineralisation):稱取 500 毫克之堆肥樣品粉末以及上述兩種方法萃取之堆肥粉末,加入4毫升的蒸餾水,再加入5毫升95%的濃硫酸及4毫升之雙氧水,放置於抽器櫃中,設定360度1小時30分鐘,在大試管上加一漏斗,上面放一個玻璃珠,以減少蒸發,時間到之後,關掉電源,隔夜冷卻,然後放到分液漏斗中,加水至100毫升。
- d.氮含量的定量: 將上述之容液做 10 倍稀釋,每一稀釋液取 500μl,加入 150μl之 EDTA(6g/100ml蒸餾水 pH7.0),以及 1.5ml 0.1N 氫氧化鈉(0.4g/100ml蒸餾水),每一處理三重複,並以水作為對照,混合均勻後移入抽器櫃中,每一樣品再加入 250μl之 phenolnitroprussiate(34mg sodium

nitroprussiate pentacyanoitrosylferrate 加入 9 毫升之甲醇中,以蒸餾水調成 100 毫升)及 500µl 之 hypochlorite(1.48g 氫氧化鈉溶在 7 毫升之蒸餾水中,再加入 5.5 克之磷酸氫二鈉、7ml 15%之次氯酸鈉),40 水浴 30 分鐘,以 636nm之波長測定吸收光值。

利用不同化學方法萃取堆肥,可以瞭解氮在堆肥製作 過程中之轉化情形,一般而言,水溶性氮含量會隨著堆肥 製作時間而減少,而以濃硫酸萃取及無法以濃硫酸萃取之 氮含量會隨著時間而增加,濃度幾乎為原來的兩倍。

- B 灰份分析: 將 300 毫克之堆肥樣品粉末置於 550 度 4 小時 30 分鐘後冷卻並秤取重量。
- (3)酵素分析: 將堆肥樣品冷凍乾燥後秤重, 測定含水量, 然後以磨粉機磨粉, 並以 0.5mm 之篩子過篩, 並進行下列之實驗:
- a.錳過氧化酵素 (manganese-dependent peroxidase) 活性測定: 0.05 克之堆肥粉末加 0.1 克之 PVP(polyvinyl polyrrolidone)及 4 毫升的緩衝液(KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 3.4g/250ml, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 4.295g/250ml, pH6.0), 然後在 30 度水浴 15 分鐘, 以 12000g 離心 10 分鐘 (4 ), 取上清液 1 毫升, 然後加入 40μlPEI(polyethylenimine)(1%)震盪均匀, 靜置 5 至 15 分鐘,以 12000g 離心 5 分鐘(4 ), 然後放在冰上,取 0.25ml 上清液加入 0.5 毫升之 DMAB (3-dimethy-

laminobenzoic acid) (0.12395g/100ml 磷酸緩衝液)、0.125 毫升之 MBTH (3-methyl- 2-benzothiazolinone hydrazone hydrochoride) (0.007g/50ml 磷酸緩衝液)及 0.25 毫升之 peroxydase(5mg/25ml 磷酸緩衝液) 混合均匀,以分光光度計 590nm 之波長測定其吸收光值。

- b.漆氧化酵素(laccase)活性之測定: 0.05 克之堆肥粉末加 4 毫 升 的 緩 衝 液 (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 3.4g/250ml , K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 4.295g/250ml, pH6.0),然後在 30 度水浴 15 分鐘,以 12000g 離心 10 分鐘 (4 ),取上清液 0.2ml,加入 2.8 毫升之磷酸緩衝液(32 )及 60μl 之 syringaldazine 溶液(6.4mg/4ml 甲醇),充分混合均匀後,以分光光度計 526nm 之波長測定其吸收光值。
- c. 纖維分解酵素(cellulases) 木聚醣酵素(xylanases)和昆布多醣酵素(laminarinase):以 0.1M 醋酸緩衝液(pH5.0) 萃取堆肥樣品後,取上清液,分別和纖維素、木聚醣和昆布多醣等基質溶液反應,以 dinitrosalicylic acid 呈色,以分光光度計 540nm 之波長測量從基質釋放還原糖之量。
- d.蛋白酵素 (protease): 以 0.1M 醋酸緩衝液(pH5.0)萃取堆肥樣品後,加入 azocoll 溶液,反應 2 個小時後,離心後取上層液,以分光光度計 520nm 之波長測定吸收光值。
- e.配醣脢( -glucosidase)、木醣甘脢( -xylosidase) -galactosidase 和 N-乙醯胺基葡糖脢( -N-acetylglucosaminidase):以 0.1M 醋酸緩衝液(pH5.0) 萃取堆肥

樣品後,取 0.1 毫升上清液分別和 0.5 毫升之 *p*-nitrophenyl--D-glucopyranoside、*p*-nitrophenyl--D- xylopyranoside及 *p*-nitrophenyl-*N*-acetyl-D- glucosamine 等基質溶液在 32 反應 1 小時候,加入 0.5 毫升之碳酸鹽溶液, 以分光光度計 412nm 之波長測量從基質中釋放 *p*-nitrophenol 之量。

酵素分析可以瞭解在堆肥製作過程中,微生物之活動量和基質被分解之情形,因此發展出商業化酵素添加劑(Cyzm),主要為多醣體酵素,可以在高溫階段產生較多的biomass,縮短堆肥製作時間。

#### 3.洋菇遺傳學之研究:

洋菇可分成兩個不同之亞種,分別是 Agricus bisporus var. bisporus 和 A. bisporus var. burnetii,前者後代主要是擔子柄產生兩孢,染色體數目為 n+n,後者擔子柄主要產生四孢,染色體數目為 n,後者是在 California 的 Sonoran Desert 發現,並於 1993 由 Dr. Callac 等人命名為 A. bisporus var. burnetii,由於使用原生質體方式,可以讓洋菇 (A. bisporus var. bisporus)孢子由雙核分離成單核,再和單核的 A. bisporus var. burnetii 孢子雜交,產生之後代,易於作基因遺傳分析。洋菇基因總共有 13 條染色體,大小為 34Mb,結果發現洋菇為單因子不親和性系統,目前已知由有 14 個不同之交配型基因(MAT)所控制,位在第一條染色體上,接

近 PEP2 基因座,在孢子數目方面,Bsn 基因和 MAT 基因連結,兩者相距 18-23cM,亦位於第一條染色體上,擔子柄四孢為顯性遺傳,二孢為隱性。在顏色基因 (PPCI),位於 第四條 染色體上,靠近酒精去氫脢 (alcohol dehydrogenase,簡稱 ADH)基因,兩者相距 9-10cM,黑色基因為顯性,白色基因為隱性。另外有些遺傳特性並不事由單一基因所控制,如抗細菌性褐枯病、褐斑病係屬於水平抗病,由許多基因所調控,是一種量的性狀遺傳,稱為 a quantitative trait locus,簡稱 QTLs,較為複雜。位於第四條染色體上,如一未命名之 QTLs,對細菌性褐枯病菌之抗性為 30%,對細菌所產生毒素之抗性則為 55%,和控制菇體顏色之基因座非常靠近。另外調控生長速率之基因座位於第三條染色體上,亦屬於 QTLs。

在此抽取洋菇的染色體,只將兩個單孢菌絲培養在平面培養基上(培養基配方詳見附錄三),待兩單孢菌絲產生融合,取表面之氣生菌絲約0.1 1克進行冷凍乾燥,然後用試劑(kit)抽取染色體,同時配合聚合脢連鎖反應(PCR)技術,即可進行菇體遺傳學之研究,因此染色體所需的量很少,並不利用液體培養基,且較以往簡單方便。

# 4. 菇類病原學研究及抗病菌株篩選

# (1) 洋菇細菌性褐枯病

洋菇褐枯病係屬於細菌性病害,由 Pseudomonas tolaasii 所引起,篩選抗病菌株主要以細菌菌體接種和以 毒素(tolassin)接種兩種為主,由於此一細菌常會產生自 發性突變,由具病原性之平滑型菌落轉成非病原性的粗糙 型菌落,因此,只要病原菌保存方法不恰當,隨時會遺失 具病原性之菌株,而影響試驗之進行,在筆者回國前,亦 有此一情形發生,有關此一病原,尚有一非常特殊現象, 即是在寄主上有產生病斑,但是從病斑上再分離所得到的 病原菌,仍是屬於非病原性型態,因此,如果以毒素接種 作為抗病菌系之篩選,較無此一問題,然學者之研究發 現,造成病徵並非完全由毒素所引起,因為比較用菌體和 毒素接種,其中一個菌系利用毒素接種病徵較嚴重,另一 個菌系以毒素接種,病徵較輕微,顯示除了毒素外,尚有 其他因子影響病勢之擴展。因此,以毒素接種作為抗病篩 選,並不是具完全之代表性。但其優點為並無菌系之變異 性和失去病原性等問題之干擾。此一病原菌,不僅可以感 染洋菇, 鮑魚菇、杏鮑菇及金針菇亦都是它的寄主, 目前 在日本造成的危害也很嚴重。另一評估病害擴展的方法為 使用色度計,以顏色對比的方式作為評估病害嚴重程度之 指標之一。

在病原學方面,洋菇老化和細菌感染後所造成的褐化不同,兩個所形成之褐化機制不同,以水處理,所偵測到的酪氨酸酵素(tyroasinase)之等電點在 pH4.4-4.5,

以毒素處理所偵測到的酪氨酸酵素等電點在 pH5.7。在接種細菌或毒素抽出物,較高全酪氨酸酵素(tatol tyroasinase)的被偵測到,同樣地,活化的酪氨酸酵素 (active tyroasinase)也增加,活化的酪氨酸酵素氧化酚類物質,是造成病徵褐化之主因。酪氨酸酵素大部分存在於菇類子實體中,而漆酵素(laccase)則存在於菌絲中。因此,在堆肥培養洋菇產生子實體時,漆酵素被強力調節。酪氨酸酵素參與孢子的形成,所形成之黑色素可以增加細胞壁對細菌所產生之水解酵素(如 glucanase、chitinase)之抗性。漆酵素僅存在洋菇小菇體之階段,在子實體發育階段3.5至階段4.0,在階段4至6時,僅有酪氨酸酵素之存在,此一酵素在菇體採收後活性大,容易引起菇體之褐化。

(2)洋菇褐斑病:洋菇褐斑病(dry bubble)由 Verticillium. fungicola (Pruess) Hassebrauk 所引起,根據型態和病原性的不同將 V. fungicola 分成三個不同之亞種: V. fungicola var. fungicola 適合菌絲生長的溫度在 20 24 度,主要發生在歐洲地區, V. fungicola var. aleophilum 適合菌絲生長的溫度則為 30 度,主要發生在美洲地區, V. fungicola var. flavidum 不感染洋菇,溫度較低,具菌核,菌落顏色略帶黃色,和前二者不同。利用 ITS-1、ITS-2 及 5.8s rDNA作為引子(primer),以及 RAPD 方法分析此三亞種之褐斑病菌之間的差異,結果在核醣體的基因序列方面, V.

fungicola var. fungicola 和 V. fungicola var. flavidum 有 16.4%之差異, V. fungicola var. aleophilum 和 V. fungicola var. flavidum15.5%之差異, V. fungicola var. fungicola 和 V. fungicola var. aleophilum 僅有 1.5%之差異。為了育成 抗病品種,發展快速、一致及有效抗病菌株篩選方法非 常重要,過去的方法是在洋菇的覆土層噴灑褐斑病菌之 孢子懸浮液,但此一方法並不適用於大量的菌株篩選, 因此訂出一套模式,即在子實體發育的第二階段,將子實體採下,噴霧接種洋菇褐斑病菌之孢子懸浮液,接種 後 54 小時,調查發病情形。

(3)洋菇及香菇之綠黴病:木黴菌(Trichoderma harzianum)在植物病害上具有很好之生物防治效果,但在最近幾年在美洲和歐洲卻發現嚴重危害洋菇及香菇。香菇這幾年在歐洲的產量逐漸在增加之中,深受消費者的喜愛,過去在亞洲主要以段木栽培香菇,後因木材來源減少,遂以木屑太空包代替,在歐洲則是利用豐富的麥桿,或經高溫殺菌或以低溫殺菌方式,即可下種栽培。目前栽培香菇之最大障礙是感染木霉菌,T. harzianum也因地區而有 Th2 和 Th4 兩型。Th2 在 1997 年出現在法國北部,其所產生之孢子對洋菇菌絲具有毒性。香菇被木黴菌感染後,會在香菇菌絲和木黴菌菌絲交接處形成明顯褐色帶,經過酵素分析的結果,發現漆氧化酵素(laccase)之活性增加,但此一酵素之活性並未和抗病菌株

有關。為了降低香菇菌絲被木黴菌感染之機會,在麥稈中添加 10%之泥碳土(peat)及在香菇原種製作過程中添加些許之養分,包括橡樹樹皮粉(oak bark powder)、corn cob beads 及泥碳土等,讓菌絲可以快速纏據基質。

#### 5.利用酵素之活性評估香菇對基質之適應性

為有效利用農業廢棄物,在歐洲和美洲發展以麥桿 取代木屑栽培香菇及鮑魚菇,由於栽培基質不同,經過 幾年菌株的篩選,目前已有商業化栽培品種。一般是將 麥桿切成 4-6 公分長,在常溫下進水 24 小時後,瀘除多 於水分,添加10%(w/w)之石膏,以121 殺菌1小時, 或以低溫殺菌後即可混合麥粒菌種。香菇培養在 25 6 週後,即可將溫度降至17 刺激出菇,不論栽培或出菇 其間,均需12小時照光處理。研究發現可以利用麥桿栽 培之香菇菌株,可以產生 polyphenol oxidase,其活性有 助於基質之分解及提高菌絲和其他雜菌之競爭力。將不 同香菇菌株栽培於殺菌過之麥稈中,觀察是否產生子實 體,並測量其酵素活性,6個菌株產生相同之酵素,共 有兩個高峰期,一是在菌絲剛開始生長前幾天的走菌 期,另一個高峰則是在菇柄的延伸時期,漆氧化酵素之 活性和分解早期存在麥稈中可溶性的酚化物有關,使菌 絲可以成功纏據基質,而錳過氧化酵素則和菌絲之生長 有關。出菇時間短和產量高之菌株在接種麥桿後,其代

謝活動較產量低之菌株來得快,顯示其可以迅速水解並能利用麥桿細胞之成分。

#### 6.內生菌根菌之研究

松露(truffle)目前調查發現有 24 個種,其中 26 個種 分佈在歐洲,另外兩個種則在中國大陸。松露其中非常 著名的是黑色塊菌(black truffle), 學名為(Tuber melanosporum),它會造成在寄主植物周圍一圈的雜草無 法生存,法語稱為"brûle",即燒焦之意,學者提出許多 假說,如松露的菌根和雜草競爭水分或養分,或是對這 些雜草具有病原性,學者證明黑色塊菌可以感染雜草, 而生長在外圍之雜草可以促進松露之產生。牛肝菌 (Boletus aereus)自然發生於法國中部 , 過去利用組織培 養苗和松露之子囊孢子在無菌狀態下一起接種,形成菌 根後再種植至田間,需要五到十年才能採收,產期在每 年的十一月至翌年的三月。牛肝菌亦循此模式,大約三 至五年即可採收,目前為了縮短栽培時間,試著在溫室 以幼苗接種松露和牛肝菌,定期分析不同樹種形成菌根 的情形,目前仍在評估階段。

# 三、心得

在法國洋菇每年生產約 180,000 公噸, 佔所有菇類的大部分, 其次是鮑魚菇, 合計約有 2,000 公噸, 第三名為香菇, 約有 800 公噸, 紫丁香蘑則有 50 公噸, 其他菇類則有 2,800 公噸。法國菇類之產量佔全歐洲的 37%, 僅次於荷蘭, 因此法國投入非常多的人力進行菇類研究。今年有機會到法國著名的菇類研究中心, 看到非常著名的松露及其子囊孢子真是令人興奮,雖未嚐到其美味,但得以見廬山真面目,即覺得心滿意足。法國的語言主要是法語,雖然我只會說早安、謝謝、再見等簡單法語,其他部分均是用英語和他們溝通,由於法國研究站非常歡迎國外學者至該地進行研究或交流,因此人們非常和善,樂於和我分享他們的研究成果與經驗。

此研究站的研究人員只從事某一計畫主題之研究,如酵素分析和基因分析是不同領域的人在進行,非常注重團隊及彼此間的密切合作,不似國內研究人員,需兼顧各方面之專業知識,有時無法針對某些研究作深入探討。

在歐洲有豐富的麥桿,在台灣則有豐富的稻草,若能有效利用稻草來栽培菇類,不僅能有效降低成本,提高菇類之商業競爭力,同時亦可解決部分農業廢棄物之問題。往昔國內亦曾以目前栽培之香菇品種以稻草栽培,但結果並不理想,必須參考法國的方式蒐集國內外菌株重新篩選,找出適合以稻草栽培之菌株,減少我國加入世界貿易組織後對香菇

#### 之衝擊。

菇類易於以組織分離取得菌種,因此對於辛苦致力於品種改良者並無直接的保障,甚至有些品種被不肖之商人拿至大陸或國外生產,打算進口打擊國內市場。法國菇類學者在研究洋菇遺傳時,透過對單孢菌株之基因標定,可以鑑定出該一栽培品系係出自何處,對於智慧財產權較有保障,而國內目前較著重於產業之栽培,並未發展此一方面之技術,將無法保護國內專家之研究及菇類產業。

法國不僅經費來自政府,亦來自歐洲其他機構,同時亦接受教育訓練,所以會有來自其他國家之菇農帶其生產之菇類至法國,請其協助做栽培菌株抗病篩選或病害鑑定。國內目前除了定期舉行菇類栽培訓練班外,但開放對象僅針對國內菇農,亦有海外僑民歸國要求至當地指導菇類栽培技術或提供菇類栽培資訊,如此不僅促進雙方之交流,亦可促進僑胞對祖國之向心力。

另一個令我印象深刻的是他們對於實驗安全的注重與嚴格執行,在檢測含氮濃度時,因需用到甲醛,不但在抽氣櫃中進行試驗,同時操作人員亦戴上簡易防毒面具,同時反應完成後,先在抽氣櫃中抽去有機溶劑,第二天再取出測定吸光值,為避免仍有一些有機溶劑尚未完全揮發,依然得戴上防毒面具操作。

# 四、建議:

- 1. 我國即將在明年加入世界貿易組織(WTO),對農業所造成的衝擊很大,然而菇類應仍是具競爭力之產業,積極和國外研究機構合作研究,如菌種之交換、經驗之交流,同時可以促進兩國民間之友好。
- 為提高菇類在市場上之競爭力,宜考慮採授權之生產模式,或讓菇農組織共同產銷班,除了品牌認證外,並調節產期,不宜無選擇性盲目開放推廣栽培,致使產銷失調,同時,確保生產品質並拓展外銷。
- 3. 部分洋菇生產業者由國外直接進口機械設備外,亦進口 泥碳土作為覆土材料,目前國內檢疫只禁止攜帶泥土,對 於栽培介質並未實施任何檢疫措施,有可能在泥碳土中攜 帶有害線蟲或是對菇類具有危害之木黴菌,建議以後對於 泥碳土之進口應取得生產地區之檢疫證明,以保護國內之 菇類產業。
- 4. 菇類產品在台灣所佔之生產總值及食藥用菇類在未來保健食品之發展潛力,目前國內從事菇類專業研究人力,實顯得過於單薄,國內大學或學院之教育人員參與菇類研究者極少,宜充實研究人力,鼓勵研究發展。
- 5. 建議今後仍繼續遊派食藥用菌研究人員參加國際食用菌會議或至國外重要食用菌研究機構研習,以迅速取得食藥用菌研究之資訊,增加與國外著名研究學者交流與合作機

# 會,以促進國內食藥用菌類之發展。

附 錄

# 一、細菌分離培養基

酵母粉抽出物5 克蛋白棟5 克葡萄糖10 克洋菜粉15 克蒸餾水1 公升氫氧化鈉(1N)3 毫升

pH 7.6 120 消毒 20 分鐘後加入 1 毫升之藥劑 (cycloheximide 0.25g、alcohol 50ml) 倒成平版。

### 二、真菌分離培養基

麥芽抽出物10 克洋菜15 克蒸餾水1 公升

消毒後加入 5 毫升之藥劑混合液 (chlortetracycline 0.1g、sulfate streptomycin 0.5g、penicillin 0.25g、蒸餾水 100 毫升) 倒成平版

# 三、洋菇堆肥培養基配方:

堆肥抽出物 750 毫升(300 克的冷凍堆肥加入 1 公升的水中,水滾後 30 分鐘,過濾)

葡萄糖10 克洋菜20 克蒸餾水250 毫升