



RRPA89010055 (Z.P)

NSC89-2211-B-034-001

陽明山(鹿角坑溪、小油坑)地區土壤高溫真菌(子囊菌瓶狀子囊果)

生物多樣性調查之研究

(All taxa biodiversity inventory of Ascomycetes (perithecium) in Yangmingshan)

中國文化大學

陳桂玉

陽明山(鹿角坑溪、小油坑)地區土壤高溫真菌(子囊菌瓶狀子囊果)

生物多樣性調查之研究

(All taxa biodiversity inventory of Ascomycetes (perithecium) in Yangmingshan)

摘要：

陽明山國家公園具有特殊之火山地形景觀，動植物相有許多相關資料，卻少有土壤真菌相之相關研究。基於棲地多樣性會影響土壤真菌相之分佈及種類，雖陽明山年均溫度為 16°C，但因真菌相分佈是鑲嵌現象，因此並不能否定耐高溫真菌不會出現。耐高溫真菌之分佈及生存與棲地溫度和基質亦有相當密切之關係。故本實驗於陽明山國家公園區域內進行土壤高溫真菌相之調查，採樣區域包括鹿角坑溪闊葉林區、小油坑矢竹原區及芒屬區、小油坑硫磺區的土壤進行採樣。以兩種方法(熱水浴、未處理)處理後，培養在 CYA medium(CZA+ 4g yeast extract)、玉米培養基(CMA)、馬鈴薯(PDA)、澱粉培養基(YpSs)和纖維素培養基(cellulose medium) 等五種培養基，並置於 45°C 之生長箱，進行土壤高溫真菌之分離及篩選。共分離出十二屬，其中以 *Aspergillus* sp.(51%)、*Thermoascus aurantiacus*(5%)、*Thermomyces lanuginosus*(3%)、*Myceliophthora thermophila*(2%)、及 *Paecilomyces* sp.(0.5%)為主要分離菌種。五種培養基中，不完全菌(Deuteromycetes) 在玉米培養基中種類最多，而子囊菌(Ascomycetes) 在澱粉培養基中最多，而接合菌(Zygomycetes)在五種培養基中差異性不大。對於各個樣區之間，闊葉林區與芒草區之間並無明顯之差異，而箭竹林中所分離之菌種則有明顯的數量差異。

前言：

陽明山國家公園具有火山地形及後火山作用之特殊景觀，並與三項主要環境因子：氣候、水質及人文配合探討，將更能深入認識陽明山國家公園植被的由來。

氣候據長達半年東北季風吹襲，帶來潮濕陰寒的雨。豐富雨量，造成本區特殊之植被生態，大部份為矢竹及芒草。尤其雨量決定矢竹天然拓長之力量(韓，1992；李，1988)，可說台灣矢竹林為陽明山國家公園部分區域之地形或土壤極盛相(徐，1986)。濕度 70%~75%，影響芒草花粉之散播(周和李，1991)。

地質因子中發現氣體中的硫化物成分為植物、微生物分佈的主要限制。陽離子最為顯著。由安山岩所風化形成的壤呈酸性，這種立地基質，不只使得土壤細菌的種類數量較少，腐植分解速度較慢，同時也助長耐酸植物的大量拓展，限制酸性敏感植物的入侵與分佈。由土壤剖面分析，矢竹林之生育以濕潤性黑色土為主，屬火山灰土(andosols)，酸鹼值(pH)為 4.1~4.5。芒草屬之生育地，其土壤之化性亦相似。有效養分呈缺乏狀態(徐，1986；李，1988)。硫化物含量特別高之硫磺噴氣孔，周圍環境普遍有酸化現象，土壤及溫泉水，甚至低達 pH 值 1.7，加上此種地區岩石裸露，僅有少數耐性極強之植物能生存，如小油坑區以中國芒為最優勢(周和李，1991)。土壤中硫化物除了無機硫化物外，還有許多有機硫化物。有機硫化物是通過微生物的作用而硫化的。當厭氧微生物在降解有機碳化合物時，往往同時放出無機硫，因此降解過程完全不具有專一性。由微生物形成的 H_2S 對環境的影響十分重要。有人計算，地球上通過有機物的腐化而放出的 H_2S ，每年約有 11.2×10^7 噸進入大氣層。 H_2S 是與氰化氫具有同樣水平的毒性物質，水中含 H_2S 到 0.1ppm 時，即放養新放養的魚苗(影響魚苗的生長和魚卵的存活)。 H_2S 對高等植物根的毒害作用也很大，2--3ppm 即對柑桔類根產生影響。由脫硫弧菌分解有機硫化物產生的 H_2S 能直接混凝土和損害下水道，這種損害主要通過 H_2S 氧化為 SO_4^{2-} 的酸腐蝕而造成的。而土壤是微生物生長繁殖的天然基質(翁等，1991)。最先研究土壤真菌為 Adametz (1886)。Parkinson and Waid(1958)分析土壤真菌在生態上之重要性(Gams *et al.*,

1987)。土壤真菌 (soil fungi) 雖然數目少於細菌，但卻具有較大之 biomass (Anderson and Domsch, 1978)。並為土壤中之重要分解者，特別是森林土壤。多數腐生性(saprophyte: soil-born fungi)，愈近根圈 (rhizosphere) 密度愈大。一般以菌絲 (mycelium)、孢子 (conidia) 及厚壁孢子 (chlamydozoospores) 形式存於土中，通常為露菌目 (Peronosporales)、毛黴目 (Mucorales)、子囊菌 (Ascomycetes) 和不完全菌 (Deuteromycetes)，另有擔子菌類 (Basidiomycetes)，但以菌絲狀態存於土壤中 (Gams et al., 1987)。

真菌對有機質 (organic substances) 之利用具高度特化 (specialized) 不同土壤或同一種土壤不同深度真菌相變化極大，亦即微生物都集中存在於有機質豐富的土壤表層 (upper soil layer)，如土壤真菌受土壤表層之纖維素 (cellulose)、幾丁質 (chitin) 及木質素 (lignin) 之影響而有所變異 (Malloch, 1981; Gams et al., 1987; 翁等, 1995)。真菌對土壤濕度、pH 值、土壤中有機質相當敏感 (Malloch, 1981)，所以 Soil fungal communities 隨不同植被區，而有相當的不同 (diverse) (Dix and Webster, 1995)。因此將進行矢竹林區及芒草屬區、小油坑硫磺區。另選擎天崗草原區，因它以毯草及五節芒為主之草原區，因地勢平坦，清末已有人放牧至今，張等人 (1991) 曾調查此區發現放牧會影響毯草之繁衍，此外牛之排泄物等間接影響地質改變。因此將進行矢竹林區及芒草屬區、小油坑硫磺區。另選擎天崗草原區土壤 A 層 (土壤表面，有機物多，色深，植物與微生物在此段生長) 之調查。

除上述因子以外，溫度係生物生活所必需之重要環境因子之一。一般生物生活所需之溫度範圍相當狹小，真菌也不例外，因本身無法調節體溫以適應外界溫度的變化，真菌之分佈則受到溫度之限制。大多數的真菌屬於中溫性 (mesophiles)，其生長溫度範圍為 10~40°C，而最適生長溫度為 25°C 左右，在 40°C 以上則生長停止甚至死亡。但是自然界確有一群真菌不但能於 20~60°C 間生存，並於 40~50°C 間為其最適生育溫度。屬於此種特異生態的真菌群則稱為嗜熱性真菌 (thermophilic fungi)。至於最低生長溫度低於 20°C，且 50°C 以上仍能生長者，則稱為耐熱性真菌 (thermotolerants)。

前人的研究結果判斷，耐高溫真菌之分佈及生存與溫度及棲息地之基質具有相當密切之關係。機質是影響嗜熱性真菌分佈因子之一，能以葡萄糖蔗糖木質糖(xylan)澱粉和木質素(Lignin)等有機物，當“碳”的來源(Emerson,1968; Fergus,1969a; Gupta & Gautam,1993; 劉, 1987)，而自然界中，真菌對“碳”的需求，幾乎都來自纖維素，並且發現耐高溫真菌經常出現的自熱性有機物中，均富含纖維素或木質素。Eggins 及 Malike (1969) 曾提出在牧草及土壤內，存在著具有分解纖維素活性的耐高溫真菌。另外，有些耐高溫真菌能產生木質酵素(xylase)分解木質糖或植物細胞壁(Maheshwari 及 kamalam,1985; Latif 等,1995)。故不同落葉基質及土壤中之有機質將影響真菌種類。雖陽明山年均溫度為 16°C，但因生物分佈是鑲嵌現象，所以不能否定耐高溫真菌不會出現，其出現可能有其生物現象意義，本人曾於擎天崗草原區牛糞中分出一中種耐高溫擔子菌 *Coprinus cinereus*、小油坑硫磺區土壤篩選出 *Aspergillus fumigatus* 和 *Malbranchea cinnamomea*。甚至於冷水坑區杜鵑花下之土壤亦分到三種子囊菌及不完全菌。

但是對於陽明山特殊地形的相關研究，大多數以探討植群分佈如芒草生態研究(周和李, 1991)、臺灣矢竹之生態研究(徐, 1986)或地形生態區之研究(巫, 1990)等及植物對硫化氫之耐性。本人曾於八十五至八十六年進行小油坑和冷水坑空中真菌孢子相之探討。八十七年進行陽明山硫磺區嗜熱性及耐熱性真菌之分離，從無植物區開始至芒草生長區，每隔一公尺採樣，只篩選出 *Aspergillus*、*Penicillium*、*Trichoderma*、yeast、*Mucor*。以 *Aspergillus* 出現頻度(%)最高。*Mucor* 僅於第四及六公尺樣區土壤才篩選到。高溫菌以 *Aspergillus fumigatus* 為主，而 *Malbranchea cinnamomea* 僅於第六公尺樣區土壤才篩選到。然而尚未探討矢竹林區及芒屬落葉層下、擎天崗草原區真菌相之種類和分佈，並與小油坑硫磺區土壤之真菌相比較。本研究之目的將作季節性採集調查此三區土壤之真菌相類和分佈。由於小油坑硫磺區土壤土溫高於其它二區，故同時做不同溫度(25°C 及 45°C)來篩選土壤之真菌。

材料與方法：

（野外調查）：

調查對象：鹿角坑溪闊葉林區、小油坑矢竹林區及芒屬落葉層下、小油坑硫磺區土壤真菌相之種類和分佈。

採集地區：採樣區域選定於較不受干擾的區域陽明山國家公園鹿角坑溪之闊葉林區、小油坑矢竹林區及芒屬落葉層下、小油坑硫磺區。箭竹、芒草、硫磺噴氣孔區位於小油坑景觀區，闊葉林區位於鹿角坑溪溪流生態保護區內。箭竹林與芒草原植被較為單一，噴氣孔區則無植被覆蓋。闊葉林區則為原生之闊葉林。

調查時間：每兩個月採集一次，觀察真菌相之種類和分佈。

取樣方法：每一樣區內設立一永久樣區，大小 20 X 100m(Rossmann *et al.*, 1998) 並在設立時使每一樣區內之變化不大，以便以後能與其他樣區比較。利用土壤採集器從小樣區採取土壤。將樣品全部貯存於 4°C 之冰相，以備分離時，抽出作為實驗材料。

（真菌分離及鑑定）

分離法：Warcup's soil plate method

採回的土樣經陰乾後，分為兩組：一為進行熱水浴處理，另一為對照組。每組土壤培養於五種培養基(Potato dextrose agar; Malt extract agar ; CDYA ; YPSS)之中，加抗生素 chlorophenicol (100 mg/1000 ml)，分別置於 25°C 及 45°C 生長相中。培養三至五天後觀察並計算菌落數 (CFU)並分離菌種。等純培養後，接至試管中以保留菌種。

（資料分析）

Simpson's method 和 Shannon's method 分析整個群落的歧異度 (diversity)

結果與討論：

由表一及圖一，知鹿角坑溪闊葉林區 (S1)、小油坑矢竹林區 (S2)及芒屬落葉層下(S3)、小油坑硫磺區(S4)各樣區所分離之菌種數目，以闊葉林區種類和數目均為最多，其次芒草區，矢竹林區，而以小油坑硫磺區為最少。可能與土壤之 pH 值有關，小油坑硫磺區 pH 值約為 2-4 間，而多數微生物生長之最適 pH 值偏微酸性(pH 6-7)，由圖二知小油坑硫磺區為最少。

菌種以不完全菌(Deuteromycetes)佔最多，依次子囊菌(Ascomycetes)、接合菌(Zygomycetes) (圖一)。若以前五屬比較，分別為 *Aspergillus fumigatus*、*Aspergillus sp.*、*Thermoascus aurantiacus*、*Myceliophthora thermophila*、*Paecilomyces variotii*。(圖三)。*A. fumigatus* 對 pH 值及溫度耐受力相當廣，四個樣區都分離到，為廣佈種。其於菌種僅出現闊葉林區、坑矢竹林區及芒屬落葉層下，與土壤之地上植被和土壤有機質有關，更進一步探討土壤有機質等環境因子。

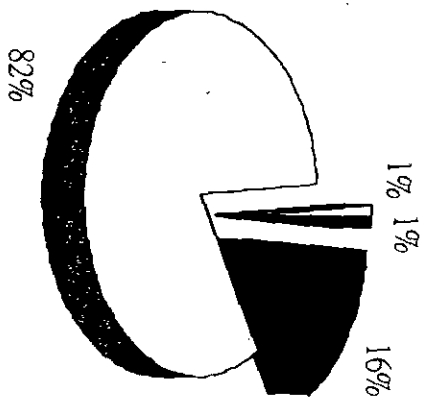
參考文獻：

- Aderson, J.P.E. and K.H. Domasch. 1975. Measurement of bacterial and fungal contributions to respiration of selected agricultural and forest soils. *Can. J. Microbiol.* 21:314-322.
- Chen, G. Y. and Z. C. Chen. 1990. Thermophilic and thermotolerant fungi in Taiwan (II) *Taiwania* 35: 191-197.
- Dix, N.J. and J. Webster. 1995. *Fungal ecology*. Chapman & Hall. 549pp
- Eggins, H.O.W. and K.A. Malik. 1969. The occurrence of thermophilic cellulolytic fungi in a pasture land soil. *Antonie van Leeuwenhoek* 35: 178-184.
- Emerson, R. 1968. *Thermophiles. The Fungi III*. Academic press, London.
- Fergus, C. L. 1964. Thermophilic and thermotolerant molds and actinomycetes of mushroom compost during peak heating. *Mycologia* 56: 267-284.
- Fergus, C. L. 1969. The cellulolytic activity of thermophilic fungi and Actinomycetes. *Mycologia* 61: 120-129.

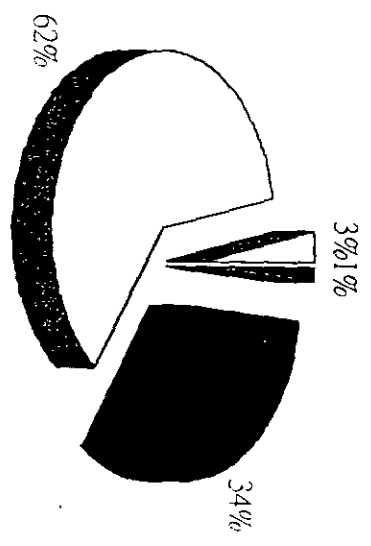
- Gams W., H.A. van der Aa, A.J. vander Plaats-Niterink, R.A. Samson and J.A. Stalpers. 1987. CBS course of mycology. Centraalbureau voor Schimmelcultures.- III. 136pp.
- Gupta, A. K. & S. P. Gautam. 1993. Production of extracellular amylase by thermophilic and thermotolerant fungi. *Cryptogamic Botany* 3(4): 303-306.
- Latif, F., M. I. Rajoka & K. A. Malik. 1995. Short communication: Production of cellulases by thermophilic fungi grown on *Leptochloa fusca* straw. *Word Journal of Microbiology & Biotechnology* 11(3): 347-348.
- Maheshwari, T. K. and P. I. Kamalam, 1985. Isolation and culture of a thermophilic fungus, *Melanocarpus albomyces*, and factors influencing the production and activity of xylanase 131: 3017-3027.
- Malloch, D., 1981. Moulds-their isolation, cultivation and identification. University of Toronto Press, Toronto Buffalo London. 97pp.
- 韓志武，1992，陽明山國家公園永久樣區生態之調查研究，內政部營建署陽明山國家公園管理處印製，48pp。
- 周昌宏、李瑞宗，1991，陽明山國家公園芒草生態之調查研究，內政部營建署陽明山國家公園管理處委託中央研究院植物研究所研究，200pp。
- 張新軒、陳茂墻、卜瑞雄，1991，磺嘴山（含擎天崗）地區動物（放牛）對環境影響之研究與管理，內政部營建署陽明山國家公園管理處印製，21pp。
- 翁酥穎、戚蓓靜、史家樑、徐併同、顧祖宜和周芭文，1991，環境微生物學，辭學出版社。
- 巫宗南、張石角，1990，陽明山國家公園之地形分類即其成因，內政部營建署陽明山國家公園管理處委託國立臺灣大學地理學研究所研究111pp。
- 李瑞宗，1988，丹山草欲燃（陽明山國家公園步道植群），內政部營建署陽明山國家公園管理處印製，170pp
- 徐國士，1986，陽明山國家公園台灣矢竹生態之調查研究，內政部營建署委託林業試驗所及湖田國小研究，74pp。
- 劉桂郁，1987，嗜高溫真菌之分離及嗜熱毛殼菌纖維素水解酵素活性之研究、國立師範大學生物學研究所碩士論文。

表一：鹿角坑溪闊葉林區 (S1)、小油坑矢竹林區 (S2)及芒屬落葉層下(S3)、小油坑硫磺區(S4)各樣區所分離之菌種

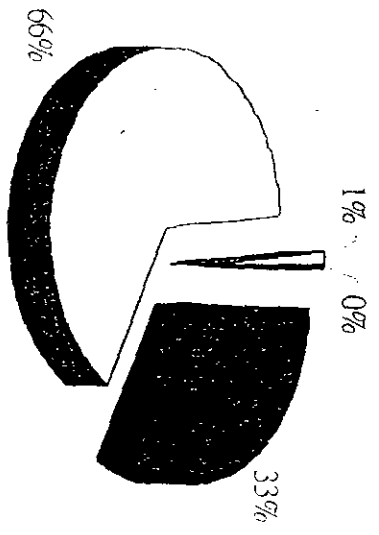
Genera	Site			
	S1	S2	S3	S4
Zygomycetes				
<i>Rhizomucor pusillus</i>	+	+	+	
<i>Rhizopus rhizopodiformis</i>	+	+		
Ascomycetes				
<i>Emericella nidulans</i>	+			
<i>Neosartorya fischeri</i> var. <i>spinosus</i>	+	+	+	
<i>Melanocarpus</i> sp.	+	+	+	
<i>Thermoascus aurantiacus</i>	+	+	+	+
<i>Thielavia heterothalica</i>			+	
<i>Thielavia</i> sp.	+	+	+	
unidentified	+	+		
Deuteromycetes				
<i>Acremonium</i> sp.	+	+		
<i>Aspergillus fumigatus</i>	+	+	+	+
<i>Aspergillus</i> sp. (white)	+	+	+	
<i>Aspergillus</i> sp. (gray white in YpSs)	+	+	+	
<i>Aspergillus</i> sp. (gray green in YpSs)	+	+	+	
<i>Aspergillus</i> sp. (straw color in YpSs)	+			
<i>Humicola hyalothermophila</i>	+			
<i>Humicola insolens</i>	+			
<i>Malbranchea sulfurea</i>	+	+	+	
<i>Myceliophthora thermophila</i>	+	+	+	
<i>Paecilomyces variotii</i>	+	+	+	
<i>Penicillium</i> sp.	+	+		
<i>Thermomyces lanuginosus</i>	+	+	+	
<i>Mycelia sterilia</i>	+	+	+	+
<i>Mycelia sterilia</i> (purple excudate)		+		
unidentified 1 (pale yellow color)	+	+	+	+



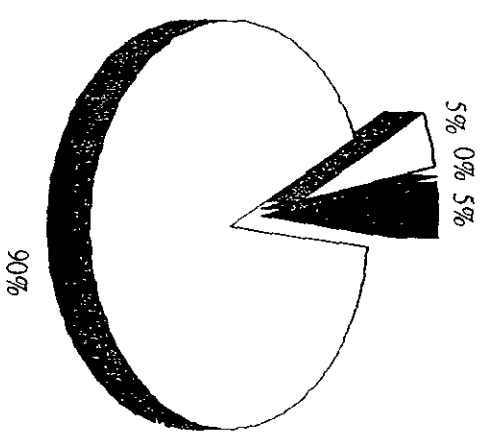
闊葉林區



芒草區



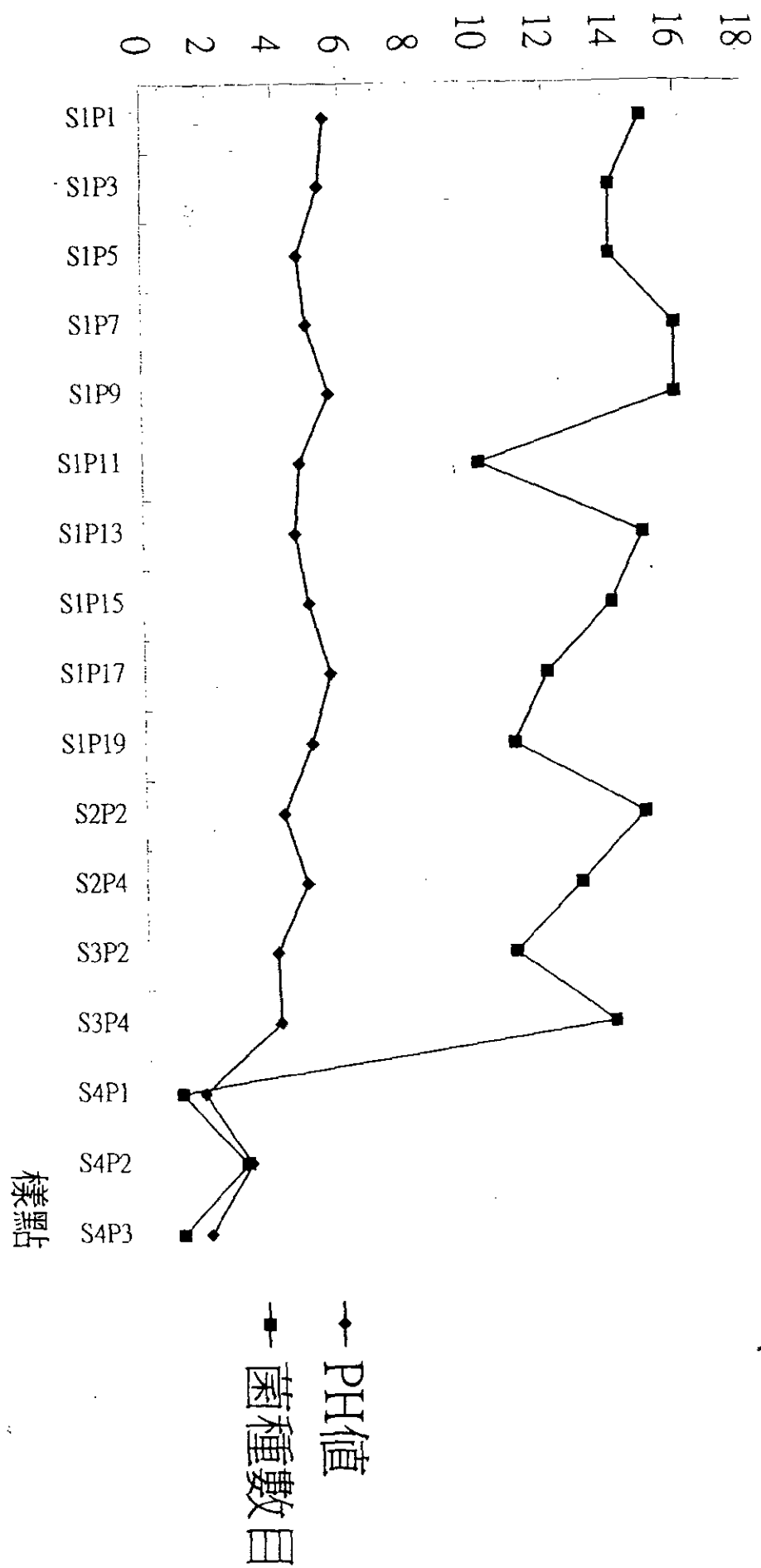
箭竹區



硫磺噴氣孔區

- Zygomycetes
- Ascomycetes
- Deuteromycetes
- Unidentified

圖一：比較鹿角坑溪闊葉林區、小油坑箭竹林區及芒草區、小油坑硫磺區各樣區所分離之菌種數目



圖二：pH 值與各樣區所分離總菌數之對應圖

