洋菇胞子與組織之繁殖優勢比較

胡開仁　宋細福

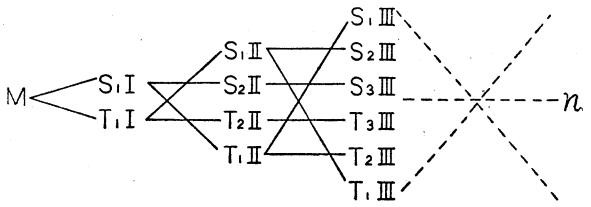
一、前　　言

有關洋菇種菌繁殖方法，在1894年，法國 Costantin 與 Matruchot 等氏[2] 以胞子分離純粹培養成功，但由於胞子發芽率甚低，繁殖培養極爲不易，至1905年，美國 Dugger 氏[2] 發明菇體組織人工培養法得到理想的結果，此兩種繁殖方法迄今均爲世界洋菇業者所採用，爲明瞭此兩種方法之優劣；1943年 Kligman 氏[3] 曾將洋菇之單胞、多胞或菌體的某部份分離培養，每隔6天移植一次，經過28次繁殖培養其後代的菌絲外表，及洋菇之產量均無顯著之差異。惟以胞子，與組織個別連續或交替繁殖若干世代後，其菌絲之生長發育及子實體之產量是否有影響，筆者曾有三年試驗結果，今整理成文，以供同好之參考。

本試驗承蒙農復會贊助試驗費用，在技術上仰徐所長水泉及農復會陸技正之琳熱忱指導與鼓勵，以及本所同仁黃添福、彭振武諸先生之協助，得以順利完成，在此特申謝忱。

二、材料及方法

本試驗採用 Agaricus Campestris L et Fr, Sw-34 品系洋菇作爲種原，第一年用胞子與組織各別純粹分離培養作種栽培，以後每年按順次與交替及交替後再順次方式分離培養繁殖栽培，每年調查其菌絲生長發育狀況及子實體之產量，其程序如下圖：



圖一　洋菇胞子與組織繁殖比較試驗程序。

附註：代表符號M：洋菇

S：胞子

T：組織

——：順次繁殖

><：交替繁殖

Ⅰ,Ⅱ,……n：試驗次（年）數

1,2,……n：繁殖代數

三、試驗成績

Ⅰ　菌絲生長發育調查：

1. 洋菜平面培養部份：

本試驗在第一年次與第二年次將洋菇胞子與組織同時分離培養在 P. D. A. 培養基（馬鈴薯 200gm. 糖 20gm. 洋菜 20gm. 水 1000cc.）上，置於 25°C. 定溫培養二週後，再分別移植大小約四公厘之菌絲塊放於四角瓶 P. D. A. 培養基上，在 25°C. 定溫箱內經二、四週間平面培養後，取

出各別調查菌絲生長速度平均結果如表一。

第三年次爲明瞭洋菇胞子與組織分離培養繁殖之菌絲，在菌絲生長速度快慢不同之兩種培養基上，（生長速度慢之培養基配量：玉米 100gm. 糖 20gm. 洋菜 20gm. 水 1000cc. 生長速度快之培養基配量：玉米 50gm. 乾堆肥 25gm. 糖 20gm. 洋菜 20gm. 水 1000cc.）。或同一種菌原，因移植時間不同及原種經玻璃環隔離法 (Van Tieghem Cell) [1] 企以除去分離時可能附帶之細菌，是否還呈現胞子繁殖之菌絲生長速度快於組織繁殖者之趨勢。

本試驗均用四角瓶平面培養，每一處理重覆六次，置於 25°C. 定溫培養，調查結果如表圖二、三、四、五。

表一　洋菇胞子與組織繁殖菌絲生長發育比較表 (cm.)

處理 \ 調查日期	14 日	28 日	備考
S_1 I	1.85	7.65	
T_1 I	1.8	4.0	
S_1 II	1.95	8.0	
S_2 II	2.1	7.7	
T_1 II	2.0	3.9	
T_2 II	2.0	4.15	

表二　玉米洋菜培養基上菌絲發育長度之比較 (cm.)

處理 \ 調查日期	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	備考
T_1 III	1.11	1.19	1.26	1.30	1.36	1.55	1.64	1.77	1.91	2.06	本試驗供試原
T_2 III	1.03	1.11	1.26	1.35	1.47	1.59	1.70	1.85	2.00	2.15	菌種培養14天
T_3 III	1.52	1.59	1.71	1.81	2.01	2.13	2.38	2.44	2.51	2.61	卽行移植試驗
S_1 III	2.17	2.39	2.63	2.92	3.22	3.58	4.10	4.43	4.76	5.04	培養
S_2 III	1.72	1.83	2.11	2.31	2.58	2.74	2.99	3.22	3.45	3.61	
S_3 III	1.78	2.05	2.34	2.61	2.95	3.15	3.43	3.73	4.02	4.22	

表三　玉米堆肥洋菜培養基上菌絲發育長度之比較 (cm.)

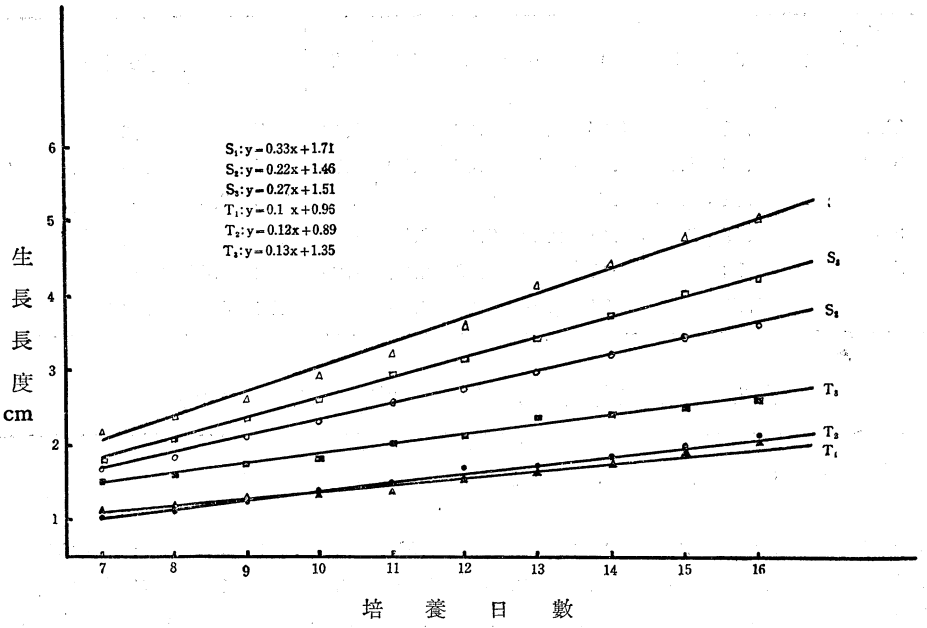
處理 \ 調查日期	6	7	8	9	10	11	12	13	備考
T_1 III	1.58	1.83	2.13	2.40	2.57	2.85	3.35	3.42	本試驗供試原種
T_2 III	1.31	1.46	1.76	2.08	2.40	2.65	2.94	3.27	培養14天卽行移
T_3 III	1.70	1.96	2.35	2.57	3.03	3.24	3.65	3.94	植試驗培養
S_1 III	2.28	2.63	3.14	3.57	4.10	4.38	4.80	5.10	
S_2 III	2.07	2.35	2.70	3.13	3.50	3.97	4.33	4.70	
S_3 III	1.90	2.25	2.60	2.93	3.55	3.88	4.13	4.60	

表四　原菌種經貯存60天後移植培養菌絲發育長度之比較（cm.）

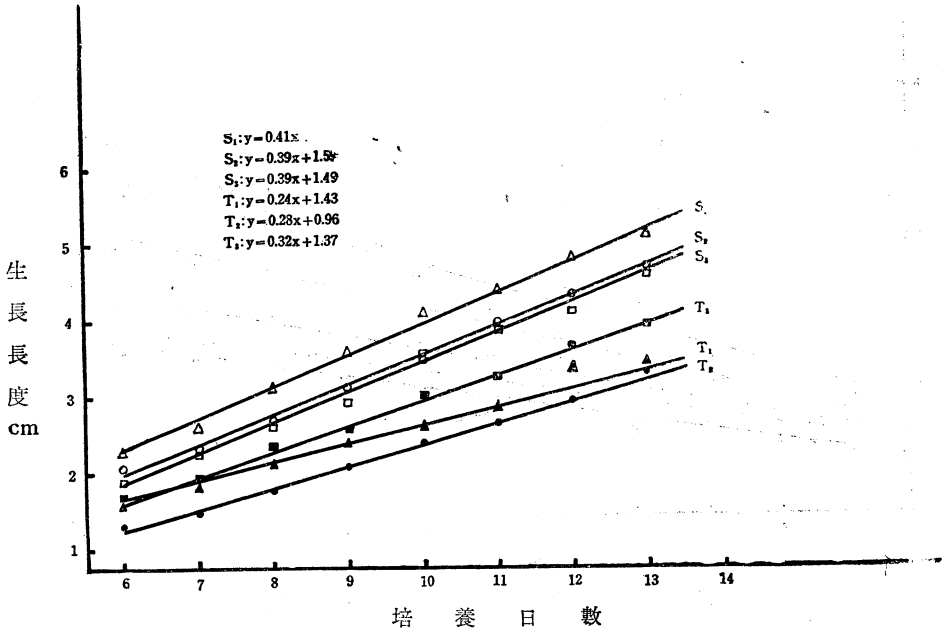
處理＼調查日期	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	備考
T_1Ⅲ	1.60	1.75	1.90	2.00	2.10	2.17	2.27	2.33	2.57	2.60	2.60	2.70	2.80	2.90	3.04	3.10	3.15	本試驗採用玉
T_2Ⅲ	1.70	1.95	2.15	2.20	2.35	2.55	2.65	2.85	3.01	3.14	3.23	3.35	3.50	3.60	3.69	3.70	3.75	米洋菜培養基
T_3Ⅲ	2.00	2.15	2.30	2.35	2.52	2.60	2.70	2.91	2.97	3.12	3.16	3.30	3.50	3.60	3.65	3.71	3.75	
S_1Ⅲ	1.70	1.80	2.10	2.30	2.60	2.60	2.80	3.02	3.15	3.26	3.27	3.49	3.55	3.65	3.79	3.87	4.30	
S_2Ⅲ	1.70	1.75	2.05	2.05	2.32	2.40	2.50	2.75	2.90	3.10	3.20	3.35	3.45	3.55	3.75	3.80	4.10	
S_3Ⅲ	2.00	2.15	2.50	2.55	2.60	2.70	2.80	3.14	3.20	3.50	3.60	3.74	3.87	4.00	4.15	4.24	4.35	

表五　經玻璃環法隔離後移植培養菌絲發育長度之比較（cm.）

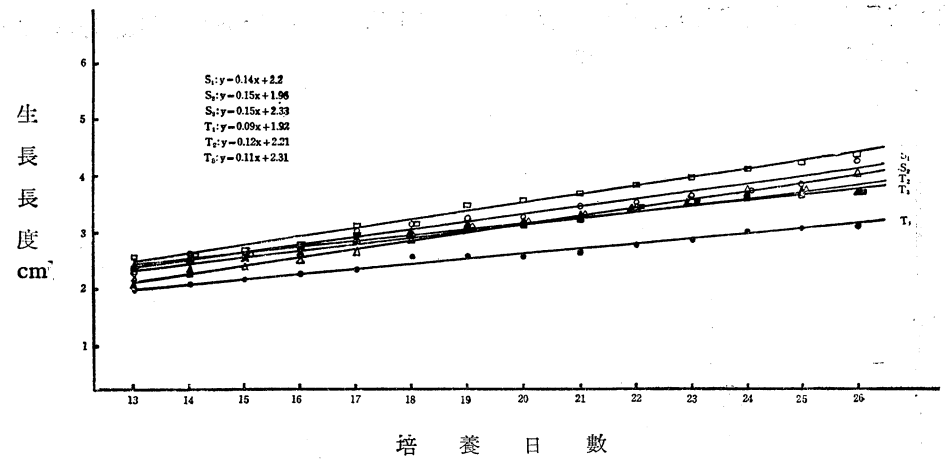
處理＼調查日期	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	備考
T_1Ⅲ	1.23	1.40	1.65	1.85	1.90	2.20	2.25	2.40	2.48	2.60	2.80	1.本試驗供試原種
T_2Ⅲ	1.06	1.20	1.42	1.68	1.70	1.85	2.04	2.25	2.33	2.40	2.48	培養14天即行移
T_3Ⅲ	1.36	1.52	1.77	2.02	2.30	2.35	2.51	2.70	2.93	3.00	3.15	植試驗培養
S_1Ⅲ	1.50	1.70	2.05	2.56	2.75	2.95	3.59	4.15	4.62	4.80	5.20	2.供試培養基爲玉
S_2Ⅲ	1.56	1.75	1.95	2.50	2.55	2.85	3.08	3.60	3.65	3.70	3.90	米洋菜培養基
S_3Ⅲ	1.82	2.25	2.35	3.00	3.24	3.30	3.55	3.90	4.34	4.45	4.60	



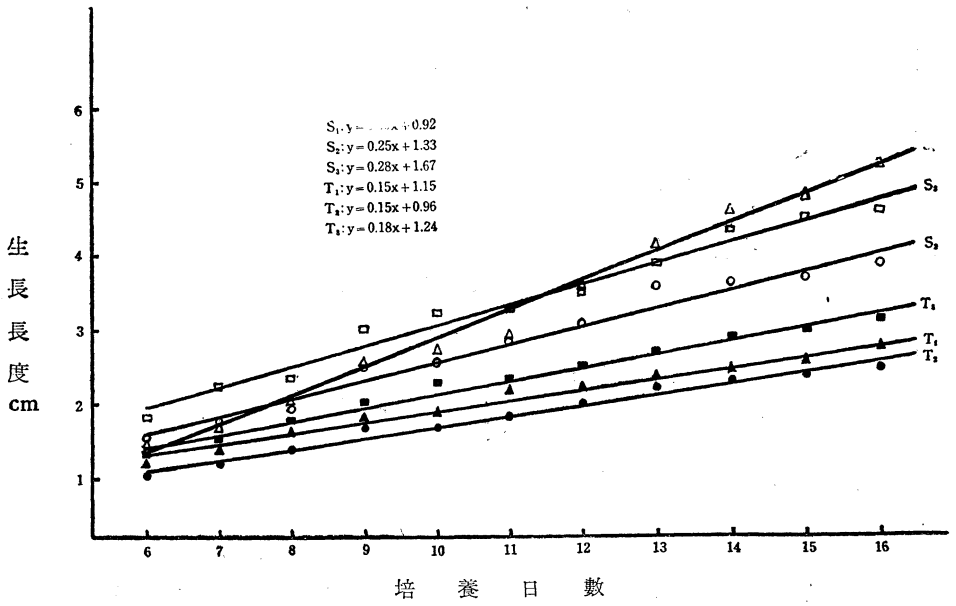
圖二　玉米洋菜培養基上菌絲生長之趨勢



圖三　玉米堆肥洋菜培養基上菌絲生長之趨勢



圖四　原菌種經貯存60天後移植培養菌絲生長之趨勢

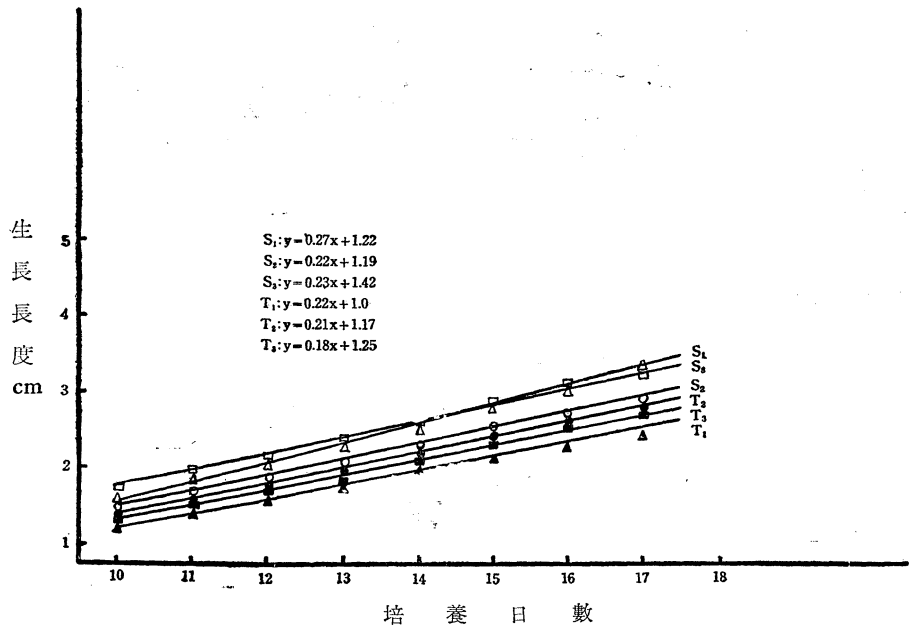


圖五　經玻璃環法隔離後移植培養菌絲生長之趨勢

由上面各圖表觀察得知洋菇種菌以胞子繁殖之各處理，其菌絲生長速度均快於組織繁殖之各處理。

2. 瓶裝堆肥培養 (Spawn) 部份：

本試驗採用一般栽培洋菇用人工合成堆肥，乾燥切碎後加20%之玉米粉並調節適當水分裝入試管塞妥棉栓，經 120°C. 殺菌一小時，冷却後將胞子與組織繁殖培養之菌絲，用白金耳切取同等大之菌絲塊，接種於堆肥培養基上。每處理重覆六次，置於 25°C. 定溫培養，經10天後逐日調查其生長情形如表圖六：



圖六　堆肥培養基上菌絲生長發育比較圖

表六　堆肥培養基上菌絲生長發育比較表 (cm.)

處理＼調查日期	10	11	12	13	14	15	16	17	備考
T_1Ⅲ	1.34	1.49	1.58	1.76	2.03	2.11	2.21	2.46	
T_2Ⅲ	1.31	1.62	1.81	2.01	2.23	2.50	2.61	2.84	
T_3Ⅲ	1.32	1.61	1.76	1.84	2.27	2.37	2.56	2.80	
S_1Ⅲ	1.58	1.90	2.10	2.19	2.64	2.81	3.10	3.40	
S_2Ⅲ	1.38	1.60	1.85	2.13	2.31	2.60	2.71	2.87	
S_3Ⅲ	1.60	1.89	2.09	2.37	2.61	2.83	3.06	3.24	

由圖表六觀之，在堆肥培養基上菌絲之生長速度，仍以胞子繁殖快於組織繁殖者。

Ⅱ　產量比較：

本試驗自1962～1964年止，連續三年，每年試驗栽培一次，將供試品種 Sw-34 ，胞子與組織分離培養之種菌栽培於人工堆肥上（配合量爲每坪用稻草 120 公斤，硫安 2.4公斤，尿素1.2公斤，過磷酸鈣 3.6公斤，炭酸鈣 3 公斤），第一年用駢對法，第二、三年均採用隨機排列法各作四重覆，試驗結果如下各表：

表七　第一年栽培試驗產量統計表

重覆＼處理	T_1 I (kg/坪)	S_1 I (kg/坪)	D	D^2
1	11.66	13.66	-2	4
2	13.33	16.09	-2.76	7.62
3	16.00	13.00	3	9
4	16.16	16.66	-0.50	0.25
總計	57.15	59.41	-2.26	20.87
平均	14.29	14.85	-0.56	

駢對法 (Pairing Method) 公式：

$$S(\bar{X}_1-\bar{X}_2)=\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n}D_i^2-\frac{(\sum D_i)^2}{n}}{n(n-1)}}=S\bar{D}$$

$$t=\frac{\bar{X}_1-\bar{X}_2}{S(\bar{X}_1-\bar{X}_2)}=\frac{\bar{D}}{S\bar{D}}$$

代入公式測定其差異顯著性

$$S(\bar{X}_1-\bar{X}_2)=\sqrt{\frac{20.87-\frac{(-2.26)^2}{4}}{4(4-1)}}=\sqrt{1.63}=1.28$$

$$t=\frac{-0.56}{1.28}=-0.44>t\binom{v=3}{p=0.05}=-3.182$$

表八　第二年栽培試驗產量統計表

處理	每小區產量 kg/坪				處理和
	1	2	3	4	
T_1Ⅱ	7.80	11.37	12.00	13.95	45.12
T_2Ⅱ	8.36	8.75	8.00	17.38	42.49
S_1Ⅱ	7.40	14.79	16.78	16.88	55.85
S_2Ⅱ	8.36	11.64	13.12	14.50	47.62
區集和	31.92	46.55	49.90	62.71	191.08

表九　第三年栽培試驗產量統計表

處理	每小區產量 $g/^1/_{18}$坪				處理和
	1	2	3	4	
S_1Ⅲ	927.5	578.5	993.5	775.0	3274.5
S_2Ⅲ	980.5	687.5	1054.0	765.5	3487.5
S_3Ⅲ	1641.0	715.0	1200.0	683.0	4239.0
T_1Ⅲ	844.5	552.0	1311.5	759.5	3467.5
T_2Ⅲ	1045.0	502.0	977.0	513.0	3037.0
T_3Ⅲ	700.0	772.0	730.0	650.0	2852.0
區集和	6138.5	3807.0	6266.0	4146.0	20357.5

表十　第二、三年栽培試驗產量變量分析表

年次	變因	自由度	平方和	均方	F值
第二年	處理	3	26.48555	8.83	1.96
	機差	9	40.4351	4.49	
第三年	處理	5	291567.68	58301.53	1.601
	機差	15	546066.41	36404.42	

由上面各表分析得知胞子繁殖與組織繁殖在栽培試驗產量比較上尚無顯著之差異。

Ⅲ　出菇時間比較：

本試驗爲明瞭胞子與組織所繁殖之種菌在出菇時間上是否有快慢不同之差異，乃將三年栽培試驗所得，第一年用駢對法，第二、三年用變量分析法，統計分析如下：

表十一　第一年栽培試驗下種至採收日數統計表

重覆 \ 處理	T_1 I	S_1 I	D	D^2
1	46	42	4	16
2	50	43	7	49
3	44	40	4	16
4	44	42	2	4
總計	184	167	17	85
平均	46	41.8	4.25	

以駢對法 (Pairing Method) 測得

$$t=\frac{4.25}{1.28}=3.3>t=\begin{pmatrix}v=3\\p=0.05\end{pmatrix}=3.182$$

故其差異爲顯著

表十二　第二年栽培試驗下種至採收日數統計表

處理	每小區日數 1	2	3	4	處理和	平均
S_1Ⅱ	45	48	45	49	187	47
S_2Ⅱ	46	47	46	45	184	46
T_1Ⅱ	43	46	44	43	176	44.6
T_2Ⅱ	44	45	43	42	174	43.5
區集和	178	186	178	179	721	

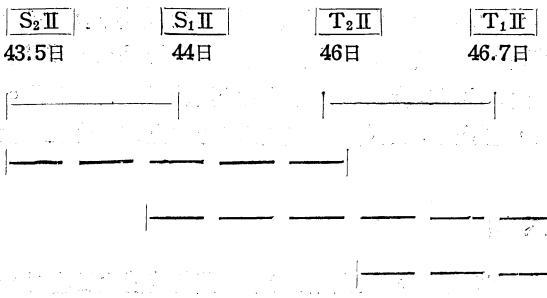
表十三　第三年栽培試驗下種至採收日數統計表

處理	每小區日數 1	2	3	4	處理和	平均
S_1Ⅲ	41	52	45	44	182	46
S_2Ⅲ	42	55	42	53	192	48
S_3Ⅲ	40	50	41	41	172	43
T_1Ⅲ	40	60	42	45	187	47
T_2Ⅲ	45	79	51	64	239	60
T_3Ⅲ	57	55	43	64	219	55
區集和	265	351	264	311	1191	

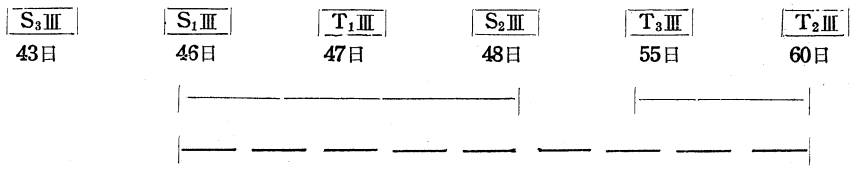
表十四　第二、三年栽培試驗下種至採收日數變量分析表

年次	變因	自由度	平方和	均方	F 值
第二年	處理	3	29.55	9.849	6.2**
	機差	9	14.202	1.578	
第三年	處理	5	802.375	160.475	3.24*
	機差	15	740.792	49.386	

表十五　第二年栽培試驗下種至採收日數差異比較



表十六　第三年栽培試驗下種至採收日數差異比較



註：1. 實線爲5％顯著變異區

2. 虛線爲1％顯著變異區

由上各表統計分析得知用胞子繁殖之種菌其發菇時間均有顯著快於組織繁殖者之現象。

四、討　　論

洋菇種菌之繁殖，不外採用胞子與組織純粹分離培養而得，關於胞子與組織繁殖後代變化之研究，Kligman 氏 (1943)[3] 曾以洋菇單胞或多胞及菌體之一部份所育成之菌絲，其後代之外表，及產量都沒有顯著差異。同時又以菌體之一部份與用胞子剛長出之芽狀體繁殖作爲種菌，二者並無不同，惟前者往往感染細菌的機會較多。

本試驗觀察所得，胞子與組織繁殖之菌絲外表及產量與 Kligman 氏指出相似，均無顯著之差異。但菌絲生長速度無論順次繁殖或交替繁殖，胞子繁殖部份之菌絲生長速度均快於組織繁殖部份。又以顯微鏡檢視組織繁殖較胞子繁殖感染細菌機會較多，經用玻璃環隔離法隔離後，在細菌的數量上是減少了許多，但仍不能絕跡。玆爲便於明瞭上述二、三、四、五各表以同一直線公式推定在15日時菌絲發育生長長度如下表。

表十五　各處理培養日數推定爲15日時菌絲發育長度 (cm.)

處理 \ 培養類別	A	B	C	D
S_1Ⅲ	4.68	6.00	2.62	4.82
S_2Ⅲ	3.44	5.49	2.41	3.83
S_3Ⅲ	3.94	5.39	2.78	4.47
T_1Ⅲ	1.86	3.83	2.19	2.67
T_2Ⅲ	1.97	3.76	2.57	2.46
T_3Ⅲ	2.52	4.57	2.64	3.04

附註：代表符號A：玉米洋菜培養基。

B：玉米堆肥洋菜培養基。

C：原菌種經貯存60天後移殖培養者。

D：經玻璃環 (Van Tieghem Cell) 法隔離者。

由上表觀察得知胞子與組織繁殖之菌絲，用A、B兩種不同營養之洋菜培養基培養，及同一試管接種原分14天與60天兩種不同時間移植與培養，或將接種原經玻璃環 (Van Tieghem Cell) 法隔離等方法，其菌絲生長發育上雖有不同，但菌絲生長速度的趨勢均以胞子快於組織繁殖部份。

同時由上述三年栽培試驗統計分析得知，胞子繁殖之種菌一般在出菇時間上亦快於組織繁殖者。

五、摘　　要

本試驗洋菇種菌用胞子與組織連續繁殖或交替繁殖，在三個世代中，菌絲培養生長速度，無論

在洋菜培養基或堆肥培養基及經過玻璃環隔離培養或同一試管之接種原經不同時間之移植培養者，均以胞子繁殖部份之菌絲生長速度快於組織繁殖部份。而子實體之產量却無顯著之差異，惟出菇時間胞子繁殖部份有提早之趨勢。

六、參考文獻

(1) 瀧元清透（1958）絲狀菌と細菌とを分離培養する法，微生物學及植物病理學實驗法 p 227

(2) 賀陽徹生（1961）マッシュルーム栽培技術 p 21～22

(3) Kligman, A.M. (1943) Some genetic problems in the cultivation of the Mushroom, *Agaricus Campestris* Fr. Am. Jour. Bot, 30: 745～762.

COMPARISON OF THE VITALITY OF MUSHROOM MULTIPLIED BY SPORES AND TISSUES

by

K. Z. Hu and S. F. Song

English Summary

The vitality and yield of mushrooms multipled were continued to study by different methods. A number of mushroom varieties and strains have been obtained from various countries since the culture method and synthetic composting technique were developed with the effort of our workers. Up to now, mushrooms are generally perpetuated by tissue-cultures or spore-cultures or by both alternating-cultures. To compare the effects of different methods of multiplication on the sporephore growth we have made observation on three generations. According to the velocity of mycelia growth, we have observed in the previous studies that the growth of mycelia of spore-cultures are more vigorous than that of tissue-cultures under whatever ways of cultures; such as Agar-culture, Composting-culture and Glass-ring insulated culture (Van Tieghem Cell) or the original strain transfered under different periodic time with the same tube. The results obtained from the three alternating generations of observation tests proved to be of no significant difference on the yield of fruiting body. But by using the sporecultures, it shows an earlier tendency to produce fresh mushroom.