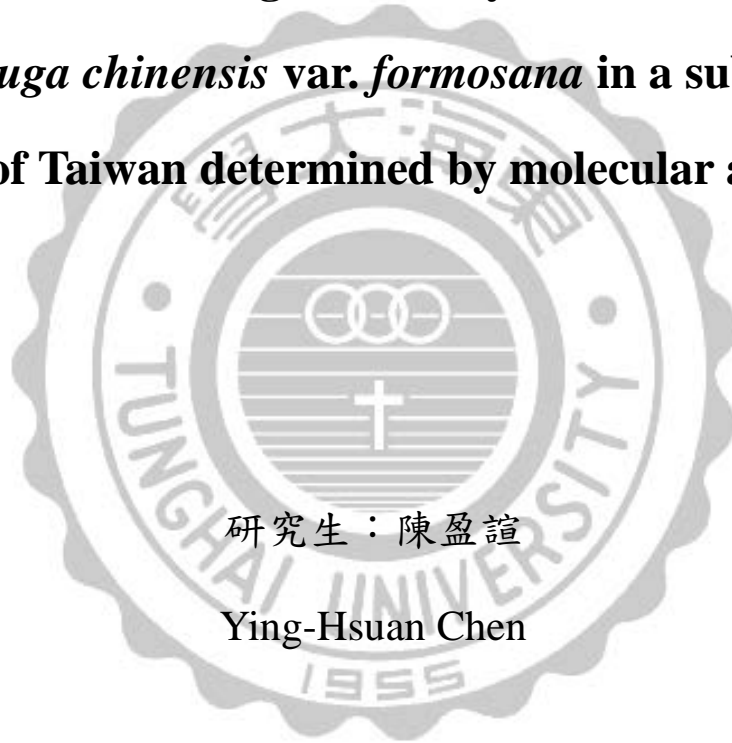


東海大學生命科學系碩士論文

以分子生物方法調查台灣亞高山生態系  
台灣冷杉與台灣鐵杉之外生菌根真菌多樣性

**Ectomycorrhizal fungal diversity of *Abies kawakamii*  
and *Tsuga chinensis* var. *formosana* in a subalpine  
forest of Taiwan determined by molecular analysis**



研究生：陳盈誼

Ying-Hsuan Chen

指導教授：汪碧涵

Pi-Han Wang, Ph.D.

中華民國一〇二年二月

## 誌 謝

在我完成碩士論文的過程中得到許多人的協助與精神支持，首先感謝恩師 汪碧涵教授，在課業和生活上耐心指導、包容並鼓勵我，讓過去從未接觸微生物學和分子生物學的我，有機會學習相關知識及實驗該有的嚴謹態度。

感謝國立台灣大學植物病理與微生物學系 曾顯雄教授及國立自然科學博物館真菌地衣學門 吳聲華博士，兩位老師在百忙之中撥空擔任我的口試委員，費心審閱論文，提供寶貴的指導與建議。

感謝本系 林良恭教授、林仲平教授、蔡玉真老師和東華大學自然資源與環境學系 孫義方老師的指導與支援，Dr. Cara Lin Bridgman 在每次的討論中提供我許多建議，協助我撰寫英文摘要和報告，以及系上的老師和同學們在 Seminar 課堂上多方面的討論與建議。

感謝特有生物研究保育中心林旭弘組長和許再文主任，提供調查期間的住宿與工作環境，以及林組長提供詳細的每木調查資料，感謝駐站的大哥大姊艾台霖、蔡銘源、張錫樑和段云青的協助。

感謝陪我上合歡山設置樣區和採樣的高明脩、王玉婷、張海寧、陳峻豪、陳芬嬌、徐鉉芳、戴筱瑩、曾令偉、林泰康、蘇文嵩、王威勝和謝嘉駿，以及陳淑芬學姊協助我學習基因選殖和黃博森學長在數

據分析上給予的建議。

感謝真菌實驗室的學長姊蕭詩菁、田志仁、林宛柔、陳文政、高明脩以及歷屆的學弟妹，白宗祐、李毓文、曹嘉真、林伊虹、謝嘉駿、周文奕、曾麒逢、張藝平、吳惠琳、黃政欽、蔡季瑄、謝佳蓉、石豐銘、盧金滿、孫華駿、沈采葳、顏愛倫、黃庭陞、胡凱強和葉子瑞，在研究上或生活中給予我的協助與鼓勵。

尤其感謝我的父母和弟弟，在經濟上與精神上給予的支持，讓我能夠順利地完成碩士論文。

# 目 錄

	頁次
中文摘要.....	I
Abstract.....	III
前言.....	1
一、 何謂外生菌根真菌.....	1
二、 外生菌根真菌在森林生態系的重要性.....	3
三、 研究外生菌根真菌群落的方法.....	5
四、 外生菌根真菌的文獻回顧.....	9
4.1 外生菌根真菌在世界上的分布.....	9
4.2 不同尺度下的外生菌根真菌的多樣性.....	11
4.3 影響外生菌根真菌的因子.....	13
4.4 國內文獻回顧.....	17
五、 研究目的.....	19
材料與方法.....	20
一、 研究地點.....	20
二、 實驗設計.....	21
2.1 四個徑級的台灣冷杉和台灣鐵杉外生菌根菌群落組成.....	21
2.2 採樣頻度測定.....	22
2.3 各菌根形態的外生菌根真菌組成.....	22
三、 菌根採樣方法與樣本處理.....	23
四、 菌根 DNA 的萃取.....	24
五、 聚合酶鏈鎖反應和瓊脂凝膠電泳.....	25
六、 限制內切酶片段多型性分析.....	26
七、 變性梯度膠體電泳.....	26
八、 PCR 產物純化.....	27
九、 基因選殖.....	28
十、 定序與序列排列比對.....	29
十一、 統計與分子親緣關係分析.....	30
結果.....	31
一、 樣本數的決定.....	31
二、 四個徑級台灣冷杉與台灣鐵杉外生菌根真菌的遺傳多樣性.....	31
三、 台灣冷杉與台灣鐵杉之外生菌根真菌群落組成比較.....	32
四、 各徑級台灣冷杉的外生菌根真菌多樣性與群落組成.....	33

五、 各徑級台灣鐵杉的外生菌根真菌多樣性與群落組成 .....	34
六、 台灣冷杉和台灣鐵杉的菌根形態 .....	35
七、 六種菌根形態的外觀描述 .....	36
八、 六種菌根形態型的外生菌根真菌組成 .....	37
九、 紅菇科與絲膜菌科的親緣樹分析 .....	38
討論 .....	41
一、 台灣冷杉與台灣鐵杉混合林的外生菌根真菌豐度 .....	41
二、 子實體調查與菌根核酸分析結果比較 .....	41
三、 本研究外生菌根真菌在世界的地理分布和功能群分類 .....	42
四、 宿主物種與外生菌根真菌多樣性 .....	44
五、 樹齡、樹徑與外生菌根真菌多樣性 .....	46
5.1 外生菌根真菌遺傳多樣性 .....	46
5.2 優勢菌種之外生菌根真菌豐度 .....	47
六、 一棵樹的外生菌根真菌多樣性 .....	48
七、 各形態菌根之共生菌種 .....	49
八、 單一菌根根尖的外生菌根菌多樣性 .....	51
九、 變性梯度凝膠電泳分析之探討 .....	52
十、 多源基因體學的可行性 .....	52
結論 .....	54
參考文獻 .....	56
表目錄 .....	72
圖目錄 .....	73
附錄目錄 .....	74
表 .....	75
圖 .....	87
附錄 .....	100
個人資料 .....	113

## 中文摘要

林木外生菌根真菌多樣性及群落組成的研究以歐美的溫帶森林為主，且多採子實體調查，但子實體調查受出菇物候限制，未必能如實呈現宿主的外生菌根真菌多樣性。本研究以變性梯度凝膠電泳 (DGGE) 與 rDNA ITS 序列分析，調查台灣亞高山生態系的台灣冷杉與台灣鐵杉菌根之外生菌根真菌多樣性，探討各胸徑林木的菌根菌群落組成與各形態菌根的外生菌根真菌。由合歡山的台灣冷杉與台灣鐵杉混合林，分別選取面積 100 m<sup>2</sup> 的台灣冷杉和台灣鐵杉樣區各一個，樣區內為單一樹種與玉山箭竹混生。每個樣區選取四個不同徑級樣木，收集菌根樣本，經變性梯度凝膠電泳分析，發現各胸徑林木之外生菌根真菌遺傳多樣性差異不大，胸徑大小相近的樹木菌根菌群落組成相似度較高。將 24 個主要 DGGE 條帶進行基因選殖及定序，共獲得 6 科 25 種外生菌根真菌，台灣冷杉和台灣鐵杉各有 24 種和 23 種外生菌根真菌，有 22 種菌跨兩種宿主共生，相似度分析 (ANOSIM) 顯示，二樹種的外生菌根菌群落組成沒有顯著差異。此外，分別在台灣冷杉和台灣鐵杉的最大樣樹採取八份菌根樣本，以基因選殖和定序分析六種形態菌根共 36 個單一根尖樣本，共比對出 13 種外生菌根真菌核酸序列，DGGE 測得其中的 6 種。在六種菌

根形態中，四種形態測得 1~2 種外生菌根真菌，有兩種菌根形態分別測得 4 種和 6 種菌。其中一種蠟蘑 (*Laccaria* sp. 1) 由台灣冷杉的二種菌根形態測得；皮氏紅菇 (*Russula peckii*) 與兩種宿主均可形成 2 種以上菌根形態。本研究以兩種方法共測得 32 種外生菌根真菌，其中 29 種外生菌根真菌沒有子實體記錄，只有李達鵝膏 (*Amanita liquii*)、正紅菇 (*Russula vinosa*) 和皮氏紅菇的子實體記錄 (高明脩，2012)，而有子實體記錄的辣乳菇 (*Lactarius piperatus*)、松塔牛肝菌 (*Strobilomyces strobilaceus*) 和蠟傘 (*Hygrophorus* sp.) 未在菌根樣本中測得。本研究獲得結論如下：一、台灣亞高山森林生態系針葉樹擁有高多樣性的共生菌。二、此針葉混合林以跨宿主的外生菌根真菌為主，且兩種林木的外生菌根真菌群落組成無顯著差異；三、各徑級林木的外生菌根真菌豐度未見差異，群落組成則隨樹徑、樹齡而變化；單株林木有近 20 種外生菌根真菌；四、子實體調查與菌根核酸分析並行，更能呈現實際的外生菌根真菌多樣性；五、四種菌根形態測得 1 或 2 種外生菌根真菌，二種菌根形態分別測得 4 或 6 種菌種；六、蠟蘑 (*Laccaria* sp.1) 和皮氏紅菇 (*Russula peckii*) 能由宿主不同形態的菌根中測得。

**關鍵字：**跨宿主、胸高直徑、樹齡、菌根形態、變性梯度凝膠電泳、

合歡山、高海拔

## Abstract

Studies of ectomycorrhizal (ECM) fungal communities and diversity on forest trees are mainly restricted to fruitbody surveys in Europe and North America. Fruitbody surveys, however, are limited by fruiting phenology and may not reveal true ECM fungal diversity. I used denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and analysis of internal transcribed spacer sequences of ribosomal DNA to investigate ECM fungal diversity from ectomycorrhizae of *Abies kawakamii* and *Tsuga chinensis* var. *formosana*. I examined ECM community composition on trees with different diameters breast height (DBH) and ECM fungi of different ectomycorrhizal morphotypes. In a mixed forest of *Abies kawakamii* and *Tsuga chinensis* var. *formosana* in the subalpine ecosystem at Mt. He-Huan, I chose a 100 m<sup>2</sup> plot for each tree species. In each plot, I selected four conspecific trees with varying DBHs. From each tree, I collected ectomycorrhizae samples and analyzed their DNA. The DGGE patterns showed similar ECM genetic diversity among trees with different DBH, but ECM community composition had the highest similarity on trees with similar DBH. Cloning and sequencing of 24 major DGGE bands identified 25 ECM fungal species in six families. *Abies kawakamii* and *Tsuga chinensis* var. *formosana* had 24 and 23 ECM fungi respectively. Twenty-two ECM fungi were in symbiosis with both tree species. Analysis of similarity (ANOSIM) shows there was no significant difference in ECM community composition between tree species. On the other hand, six ectomycorrhizal morphotypes were observed in sixteen ectomycorrhizae samples, eight samples each from the largest *Abies* and *Tsuga* trees. Restriction fragment length



polymorphism analysis, cloning, and sequencing of 36 root tips revealed 13 ECM species, including six species detected in the DGGE analysis. I detected 1–2 ECM fungal species from each of four morphotypes. The remaining two morphotypes had 4 and 6 ECM species. *Laccaria* sp. 1 formed 2 morphotypes with *Abies kawakamii*. *Russula peckii* formed more than 2 morphotypes with both tree species. By combining these two methods, I identified 32 ECM species, 29 of which have no fruitbody record. *Amanita liquii*, *Russula vinosa* and *Russula peckii* were identified in a fruitbody survey conducted in the same area (Kao, 2012). *Lactarius piperatus*, *Strobilomyces strobilaceus* and *Hygrophorus* sp. have fruitbody records, but were not detected in this study. In summary, 1) dominant ECM fungi were in symbiosis with both tree species in this mixed conifer forest as there is no significant difference in ECM community composition between the two tree species; 2) ECM genetic diversity among trees with different DBH were similar, but ECM community composition varied with tree DBH and age; 3) for most ectomycorrhiza morphotypes, each type was formed by 1–2 ECM fungi, but a few morphotypes had 4–6 ECM fungi; 4) *Laccaria* sp. 1 and *Russula peckii* formed different ectomycorrhiza morphotypes on the same host. Use of both fruitbody survey and ectomycorrhizae analysis may give a better view of ECM fungal diversity. Combining fruitbody survey with ectomycorrhizae analysis demonstrated that this subalpine ecosystem in Taiwan had high ECM fungal diversity.

**Keywords:** Multi-host, diameter at breast height (DBH), tree age, ectomycorrhizal morphotype, denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE), Mt. He-Huan, high elevation

# 前 言

## 一、何謂外生菌根真菌

菌根真菌 (mycorrhizal fungi) 為植物根部的共生菌，它們從宿主的根部獲取碳水化合物及有機物，同時幫助宿主由根圈土壤吸收水分和無機鹽、抵抗病原菌，並在重金屬汙染或乾旱等嚴苛環境下，提高宿主的耐受度 (Smith and Read, 1997; Futai et al., 2008)，有利於樹木生長及提升森林生產力，因此，菌根菌在森林生態系中是不可或缺的 (DeBellis et al., 2006)。

菌根 (mycorrhiza) 一詞最早由德國學者 Frank (1885) 提出，指的是植物根部與真菌共生形成的特化器官 (胡弘道，1990)。依據菌根形態及解剖特徵，主要分為三類：外生菌根 (ectomycorrhiza)、內生菌根 (endomycorrhiza) 和外內生菌根 (ectendomycorrhiza) (Harley and Smith, 1983)。真菌菌絲在植物根部的皮層細胞 (cortex cell) 間隙形成哈氏網 (Hartig net)，並於菌根表面形成菌氈 (mantle) 者，稱為外生菌根菌 (ectomycorrhizal fungi, ECM fungi)；真菌菌絲進入皮層細胞內，通常形成叢枝體 (arbuscule) 和囊泡 (vesicle)，而不產生哈氏網和菌氈者，稱之內生菌根菌 (endomycorrhizal fungi)；菌絲能侵入皮層細胞內，又能於細胞間隙形成哈氏網的真菌，則稱為外內生菌根

菌 (ectendomycorrhizal fungi) (弓明欽等, 1997)。其中, 數量最多及分布最廣的是內生菌根菌及外生菌根菌 (Smith and Read, 1997; Allen et al., 2003)。此外, 部分植物具有特殊解剖特徵的菌根, 如: 楊梅 (arbutoid)、水晶蘭 (Monotropoid)、杜鵑 (Ericoid)、蘭花 (Orchid) 等 (Smith and Read, 2008)。

已知世界上有 5,000–6,000 種外生菌根真菌 (Futai et al., 2008), 它們多為擔子菌綱 (Basidiomycete) 真菌, 其餘則為子囊菌 (Ascomycota) (Molina et al., 1992) 和極少數的接合菌 (Zygomycota) (Smith and Read, 2008; Futai et al., 2008)。全球約有 6,000 種植物與外生菌根菌共生, 被子植物和裸子植物各有 5,600 和 285 種 (Brundrett, 2009), 其中, 松科 (Pinaceae)、柏科 (Cupressaceae)、殼斗科 (Fagaceae)、樺木科 (Betulaceae)、楊柳科 (Salicaceae)、龍腦香科 (Dipterocarpaceae) 和桃金娘科 (Myrtaceae) 等植物的根部, 擁有多樣性的共生真菌 (Futai et al., 2008), 尤其是松樹 (Pines), 沒有菌根真菌就無法存活 (Allen, 1991)。這些植物橫跨溫帶到熱帶, 是多數森林的優勢種 (Allen, 1991; Read, 1991), 有些甚至是寒帶森林的重要經濟來源 (Brundrett, 2009; Tedersoo et al., 2010)。

## 二、外生菌根真菌在森林生態系的重要性

在森林生態系的營養循環中，外生菌根真菌能夠利用土壤中各種形式的氮源，例如：銨鹽、硝酸鹽、胺基酸、蛋白質、多肽及次級代謝產物，並轉移給植物宿主 (Smith and Read, 2008; Talbot and Treseder, 2010)。雙色蠟蘑 (*Laccaria bicolor*) 的基因組定序顯示，外生菌根真菌能夠產生有機氮和無機氮的運輸蛋白，間接支持了這項說法 (Lucic et al., 2008; Martin et al., 2008)。土壤中的磷源，除了表土有機質外，長時間則是經由礦土層的風化作用釋出，外生菌根真菌能夠直接利用這些磷灰石 (apatite)，進一步供給植物宿主 (Wallander et al., 1997)。除了氮、磷元素外，外生菌根真菌也能促進宿主對鉀的吸收 (Mahmood et al., 2003)。在碳循環中，外生菌根菌的菌絲從植物宿主根部獲得 10~20% 植物的光合作用產物 (Hobbie, 2006)，而這些菌絲佔 20~30% 土壤微生物的生物量 (biomass) (Futai et al., 2008)。另外，外生菌根真菌形成的子實體，能夠提供昆蟲、節肢動物、小型哺乳類動物及鳥類營養來源 (Maser and Trappe, 1984; Johnson, 1996)。

在森林面臨環境壓力時，外生菌根真菌能夠幫助林木度過難關。遇上乾旱時，有些外生菌根菌透過液壓升降 (hydraulic lift)、真菌菌絲的傳輸 (mycelial translocation)，幫助宿主獲得深層土壤中的水資源

(Lilleskov et al., 2009)。在操作型實驗中也證實，楊樹 (*Populus tremula* x *tremuloides*) 與毒蠅傘 (*Amanita muscaria*) 共生後，其水通道蛋白 (water channel proteins, aquaporins) 的表現比無共生菌的楊樹好 (Marjanović et al., 2005)。此外，當林木遇上病原菌，外生菌根菌能形成菌氈能防止土壤病原菌入侵，同時提高罹病宿主的存活率。例如：日本黑松 (*Pinus thunbergii*) 感染松樹萎凋病 (pine wilt disease) 時，生長在山坡頂端的黑松，因為外生菌根真菌拓殖主根的比率較高，而罹病存活率提高，推測是外生菌根真菌提高了宿主水分吸收的效率，進而防止宿主萎凋死亡 (Akema and Futai, 2005)。

外生菌根真菌在森林演替亦扮演關鍵性的角色。在富士山火山沙漠的演替早期，柳樹 (*Salix reinii*) 幼苗的生長及氮源吸收，皆與外生菌根真菌物種數、外生菌根數量呈顯著正相關 (Nara and Hogetsu, 2004)，顯示外生菌根真菌有助於柳樹族群的建立。柳樹提供外生菌根真菌種源，讓岳樺 (*Betula ermanii*) 和日本落葉松 (*Larix kaempferi*) 進入，促使林木演替 (Nara, 2006)，甚至在亞高山冰河 (Cázares et al., 2005) 和海岸沙丘 (Ashkannejhad and Horton, 2006) 的森林演替也有相同情形。

外生菌根真菌群落的豐度 (richness) 和組成 (composition)，影響了林木的生長和養分吸收 (Baxter and Dighton, 2001; Jonsson et al.,

2001)。在操作型實驗中，以植物的根莖乾重來檢視其生長情況，垂枝樺 (*Betula pendula*) 幼苗在肥力低的土壤生長時，擁有八種外生菌根菌的樹苗比只有一種菌的樹苗生長得好；歐洲赤松 (*Pinus sylvestris*) 幼苗在肥力高的土壤生長時，幼苗的生長與外生菌根真菌物種數卻呈負相關 (Jonsson et al., 2001)。而灰樺 (*Betula populifolia*) 幼苗的根莖乾重、氮磷含量也受到外生菌根真菌豐度及物種組成的影響產生差異 (Baxter and Dighton, 2001)，顯示在不同環境中，外生菌根真菌多樣性對林木的重要性。

外生菌根真菌群落組成和物種多樣性影響了整個森林生態系的營養循環、森林演替、林木生長以及對環境壓力的耐受度。因此，研究外生菌根菌群落有助於了解森林狀況，維持森林生態系的功能，並進而達到整個森林生態系的保育。

### 三、研究外生菌根真菌群落的方法

環境中的外生菌根真菌分為四個不同階段：孢子、菌絲、菌根和子實體 (Suz et al., 2008)。而外生菌根真菌群落的研究，主要透過地上 (above-ground) 的子實體調查和地下 (below-ground) 土壤中的菌絲和外生菌根核酸分析。

傳統的子實體調查，是在野外觀察、拍照並記錄蕈菇的外觀形態

和生態資料，並將蕈菇帶回實驗室，製作孢子印和切片鏡檢觀察，鑑定物種，並進而了解外生菌根真菌的多樣性與分佈。然而，許多重要的外生菌根真菌不形成子實體或子實體不明顯，例如：在地下菌根經常偵測到的 *Cenococcum geophilum*，雖然頻繁出現，卻不產生子實體，容易低估了地下的外生菌根真菌的多樣性。加上各菌種的子實體出菇物候相異，同時受到光照、溫度和濕度影響 (Gardes and Bruns, 1996; O'Dell et al., 1999; Durall et al., 2006)，出菇記錄不足以表示外生菌根真菌實際多樣性 (Gardes and Bruns, 1996; DeBellis et al., 2006)。此外，有些研究觀察到外生菌根真菌與多種宿主植物伴生，無法得知確切宿主 (Bill et al., 1986; Villeneuve et al., 1989)，需要追蹤地下菌絲及菌根確認共生。

菌根可以用肉眼辨認，並依據顯微鏡下觀察到的形態特徵，例如：顏色、光澤、質地、分枝、根尖尺寸、菌氈表面特徵、菌絲或菌索的顏色及附著方式，或者利用解剖特徵，如：扣子體 (clamp connections) 的形態、菌絲構造、菌絲細胞的隔膜孔 (septal pores)、囊狀體、剛毛等，輔以化學試劑反應後的呈色，進行形態分類 (Agerer, 1995; Trappe, 1967; Dominik, 1969)。然而，菌根形態隨著植物宿主和生長情況的不同而有差異 (Agerer, 1991)，尤其是紅菇屬 (*Russula*)、乳菇屬 (*Lactarius*) 和絲膜菌屬 (*Cortinarius*) 的外生菌根 (Suz et al.,

2008)。加上多數外生菌根菌無法在實驗室培養，使鑑定變得困難。

DNA 分析技術克服了上述問題，使菌根菌研究有所突破 (Horton and Bruns, 2001)。近年來，研究菌根真菌群落時，多將採集到的子實體、土壤中菌絲或菌根萃取 DNA，經由 PCR 增幅外生菌根真菌的核糖體 RNA 基因 (rDNA) 後，以基因選殖 (cloning) 搭配定序 (sequencing)、變性梯度凝膠電泳 (denaturing gradient gel electrophoresis, DGGE)、變溫梯度凝膠電泳 (temperature gradient gel electrophoresis, TGGE) 或末端螢光標定限制片段長度多型性 (terminal restriction length polymorphism, T-RFLP) 分析等方式了解外生菌根真菌群落組成。

直接定序的程序簡單又節省成本 (Horton and Bruns, 2001)，然而，樣本中若有多種外生菌根真菌存在，可能導致定序失敗。若先經由基因選殖，挑取內含單一序列的 clone 後定序，便能獲得單一的核酸序列與現有資料庫比對，鑑定外生菌根菌種，並瞭解外生菌根真菌的群落組成。此法缺點是基因選殖對於空氣及試劑中污染物敏感度極高 (Linder and Banik, 2009)。

變性梯度凝膠電泳原用於點突變偵測，直到 1990 年代開始應用在微生物群落的分析 (Muyzer et al., 1993)。變性梯度凝膠電泳以尿素 (urea) 和二甲基甲醯胺 (formamide) 作為化學變性劑，在丙烯醯胺



(acrylamide) 膠體製作濃度由低到高的變性梯度，利用各物種 DNA 序列結構差異，AT 鍵結較多的序列在低濃度下部分變性，造成泳動速度減緩，而 CG 鍵結較多的序列則泳動至較高濃度變性，因此能有效區分長度相同但結構不同的序列。偵測敏感度高 (Myers et al., 1985)，能夠分析大量的混合樣本，並能切下電泳條帶，搭配定序以鑑定物種，但是在不同片電泳膠之間可能產生誤差 (gel-gel variation) (Valášková and Baldrian, 2009)。

溫度梯度凝膠電泳與變性梯度凝膠電泳相似，以溫度梯度取代化學變性梯度，兩者擁有共同的優缺點，但是溫度梯度凝膠電泳只適用於片段大小低於 400 bp 的樣本分析 (Valášková and Baldrian, 2009)。

末端螢光標定限制片段長度多型性分析 (terminal restriction length polymorphism, T-RFLP) 是由限制片段長度多型性 (restriction length polymorphism, RFLP) 演變而來，原用於分析環境樣本的細菌多樣性及群落組成 (Liu et al., 1997; Marsh, 1999; Lukow et al., 2000; Kitts, 2001)。當樣本進行 PCR 增幅時，在其中一個引子的末端 (5') 加上螢光標記，以限制內切酶切割 PCR 產物後，進行電泳分析。利用物種間序列組成差異而產生不同酶切點，獲得不同長度的片段。經定序儀掃描後，偵測出末端有螢光標記的片段，不同長度的片段視為不同物種，因此能反映群落結構。此分析的操作簡單，再現性佳

(reproducible)，但是當內切酶沒有作用或切點靠近引子附近，可能會流失變異資訊 (Valášková and Baldrian, 2009)。

上述方法各有優缺點，若能同時搭配數種方法來分析外生菌根真菌的群落組成，將獲得較完善的資訊 (Bougoure and Cairney, 2005; Allmer et al., 2006; Dickie and FitzJohn, 2007)。

#### 四、外生菌根真菌的文獻回顧

##### 4.1 外生菌根真菌在世界上的分布

目前已知外生菌根真菌的分布分為三大類，一是世界廣佈的類群，包含：鵝膏屬 (*Amanita*)、絲膜菌屬 (*Cortinarius*)、絲蓋傘 (*Inocybe*)、口蘑屬 (*Tricholoma*)、牛肝菌屬 (*Boletus*)、豆馬勃屬 (*Pisolithus*)、硬皮馬勃屬 (*Scleroderma*)、雞油菌屬 (*Cantharellus*)、鎖瑚菌屬 (*Clavulina*)、叢枝瑚菌屬 (*Ramaria*)、高腹菌屬 (*Gautieria*)、輻片包屬 (*Hysterangium*)、粉褶菌屬 (*Entoloma*)、黏滑菇屬 (*Hebeloma*)、*Alnicola* 屬、集毛菌屬 (*Coltricia*)、蠟殼耳屬 (*Sebacina*) 等 (Tedersoo et al., 2010)。其中，紅菇屬 (*Russula*)、乳菇屬 (*Lactarius*)、棉革菌屬 (*Tomentella*)、革菌屬 (*Thelephora*) 等數量最多，擁有最多的物種 (species-rich)，並且與生態系中最主要的植物類群共生 (Buyck et al., 2008)。

第二類外生菌根真菌主要分布在北半球的溫帶，例如：地孔菌屬 (*Geopora*)、腔塊菌屬 (*Hydnotrya*)、乳頭菇屬 (*Catathelasma*) 等，它們多為廣宿主的菌根菌，少數種類如乳牛肝菌屬 (*Suillus*) 和鬚腹菌屬 (*Rhizopogon*)，只和松科 (*Pinaceae*) 植物共生，因而侷限於北半球溫帶。此外，本類群還包含了分布在北半球溫帶和南半球的空團菌屬 (*Cenococcum*)、蠟蘑屬 (*Laccaria*)、*Pseudotomentella* 屬、*Piloderma* 屬等，或者分布在北半球溫帶和非洲的棒瑚菌屬 (*Clavariadelphus*) 等 (Tedersoo et al., 2010)。

第三類則是只出現在紐西蘭、澳洲和南美洲的外生菌根真菌。例如：可能以南半球為起源中心的牛肝菌 *Austropaxillus* 屬 (Horak, 1983)，以及只分布在南半球和亞洲的絲膜菌鱗傘屬 (*Descolea*) (Tedersoo et al., 2010)。

熱帶地區有豐富的生物多樣性，外生菌根真菌的宿主植物也很豐富，有松科、殼斗科 (*Fagaceae*)、楊柳科 (*Salicaceae*)、龍腦香科 (*Dipterocarpaceae*)、蘇木亞科 (*Caesalpinioideae*)、木麻黃科 (*Casuarinaceae*)、海葡萄屬 (*Coccoloba*)、草莓樹亞科 (*Arbutoideae*)、南青岡科 (*Nothofagaceae*)、細籽亞科 (*Leptospermoideae*) (Tedersoo et al., 2010)，這些宿主植物雖然長在熱帶，卻未發現獨特的外生菌根真菌與它們建立共生關係，且在熱帶植物的外生菌根真菌多樣性也不如

在溫帶地區的近緣宿主 (Sanmartin and Ronquist, 2004)，可能因為土壤沃度高時，植物宿主不需要菌根菌共生，外生菌根真菌在土壤低沃度較能與植物建立共生關係 (Janos, 1980)。經真菌學家整理，截至 2008 年在 Web of Science 資料庫所獲得的 2,495 篇研究地點集中在歐洲和北美洲，有 62% 為北半球松科植物的外生菌根真菌，22% 為殼斗目 (Fagales) 植物 (Dickie & Moyersoen, 2008)，對熱帶植物的外生菌根真菌研究與認識較有限。

#### 4.2 不同尺度下的外生菌根真菌的多樣性

溫帶地區的森林已有許多外生菌根真菌群落組成及多樣性的調查，在植被設置穿越線或樣區 (Bahram et al., 2011)，研究對象包含各種森林類型，如：芬蘭的挪威雲杉 (*Picea abies*) 針葉純林，在 864 平方公尺的樣區內採集菌根並利用核酸分析，共發現 34 種外生菌根真菌 (Korkama-Rajala et al., 2008)；德國東北的紅橡木 (*Quercus rubra*) 闊葉純林，大於 0.2 公頃的樣區內以子實體調查發現 10 種外生菌根真菌，以菌根的核酸分析鑑定出 25 種外生菌根真菌 (Gebhardt et al., 2007)；加拿大西部鐵杉 (*Tsuga heterophylla*) 和黑松 (*Pinus contorta*) 的針葉混合林，在 3.6 公頃的樣區內，持續三年的子實體調查共獲得 128 種外生菌根真菌 (Kranabetter et al., 2005)；以及位於

日本的針闊葉混合林調查中，將不同形態的菌根進行 DNA 分析，面積 4 公頃和 5.8 公頃的森林分別發現 137 種和 121 種外生菌根真菌 (Ishida et al., 2007)。各研究的氣候、樹種、面積、採樣方式、分析方法相異，難以比較，但根據 Bruns (1995) 的定義，在 0.1 公頃的面積內調查到 13~35 種以上的外生菌根真菌，即是高多樣性的樣區。

過去鮮少研究針對單棵宿主調查外生菌根真菌多樣性 (Bahram et al., 2011)。Cline (2004) 的研究顯示，一棵成熟的樹木擁有的外生菌根真菌在 25 種以下，例如：分析花旗松 (*Pseudotsuga menziesii*) 的 10 個菌根樣本，共獲得 10~24 種外生菌根真菌；歐洲赤松 (*Pinus sylvestris*) 的 22 個菌根樣本中，發現 16 種外生菌根真菌 (Saari et al., 2005)；塞舌耳香屬植物 (*Vateriopsis seychellarum*) 的 10 份菌根樣本，只發現 5 種外生菌根真菌 (Tedersoo et al., 2007)；一直到 2011 年的一篇研究，調查一棵百年歐洲山楊 (*Populus tremula*) 的外生菌根真菌多樣性，在 784 平方公尺內高密度採集 130 份樣本，分析了 495 種菌根形態，共獲得 122 種外生菌根真菌 (Bahram et al., 2011)。而這樣的高多樣性，超出許多調查整片森林的研究，顯示採樣密度強烈影響多樣性的調查結果。

由於近年來分子生物技術的蓬勃發展，少數研究 (Lindner and Banik, 2009; Morris et al., 2008) 開始探討單一菌根根尖 (root tips) 的外生菌根菌種組成。以基因選殖 (cloning) 搭配定序 (sequencing) 分析 40 個白雲杉 (*Picea glauca*) 的菌根根尖，發現長度介於 1.0~2.0 mm 的單一根尖存在 1~3 種外生菌根真菌，而長度介於 5.0~6.0 mm 的單一根尖，有 1~4 種外生菌根菌 (Lindner and Banik, 2009)。而在闊葉樹也有相同的例子，櫟樹 (*Quercus* sp.) 林 104 個單一根尖，有 26% 的根尖含有 2 種以上外生菌根真菌，最多到達 4 種 (Morris et al., 2008)。顯示在自然環境中，很少有樹種的菌根根尖全由一種外生菌根真菌構成，也呈現了外生菌根真菌在森林生態系、單株林木根系和單一根尖等尺度下的高多樣性。

#### 4.3 影響外生菌根真菌的因子

目前對於影響外生菌根菌群落結構和多樣性的因子了解不多，因為過去的研究多半關注環境的短期變動對外生菌根菌群落的影響，例如：森林大火、汙染物增加或者實施森林經營策略造成的擾動等 (DeBellis et al., 2006)。外生菌根真菌與植物的共生關係，取決於土壤性質、棲地環境、植物宿主的年齡、健康和基因型、菌種的來源、棲地內的微生物以及真菌之間的競爭 (Deacon and Fleming, 1992)，而外

生菌根真菌的群落組成與多樣性同時受到了複雜的生物因子 (Dahlberg et al., 1997; Visser, 1995) 與非生物因子 (Erland and Taylor, 2002; Gehring et al., 1998) 的影響。

影響外生菌根真菌群落組成與多樣性的非生物因子包含了土壤類型 (Moser et al., 2005; Walker et al., 2005)、土壤養分 (Nantel and Neumann, 1992; Avis et al., 2003)、氣候 (O'Dell et al., 1999) 等。Moser 等人 (2005) 在奧勒岡州的櫟樹 (*Quercus garryana*) 森林選取三個樣區，每個樣區都有兩種土壤分布：蛇紋石土壤 (serpentine soil) 和非蛇紋石土壤 (nonserpentine soil)，之後進行菌根調查分析外生菌根真菌多樣性，三個樣區的蛇紋石土壤區都擁有較高的外生菌根真菌多樣性，調查到的 74 種外生菌根真菌中，有 46 種出現在蛇紋石土壤區，其中有 32 種外生菌根真菌只在蛇紋石土壤區調查到，顯示土壤對於外生菌根真菌的多樣性是一個重要的因子。除了土壤類型外，土壤的溫度、濕度、酸鹼值也會影響外生菌根真菌群落。此外，不同的土壤層級 (soil layers) 中，能獲得的資源分配不同，外生菌根真菌能夠沿著宿主根系拓殖到不同的層級 (Bruns, 1995)，因此外生菌根真菌群落組成也隨之變化 (Dickie et al., 2002; Tedersoo et al., 2003)。

在美國西北方的奧林匹克島 (Olympic Peninsula) 的西部鐵杉 (*Tsuga heterophylla*) 和花旗松 (*Pseudotsuga menziesii*) 混合林中，設

置了八個濕度由低到高的樣區，並且進行為期兩年的子實體調查。迴歸分析顯示，樣區雨量與外生菌根真菌物種多樣性和豐量 (abundance) 呈現正相關 (O'Dell et al., 1999)；而在巴西南方的火炬松 (*Pinus taeda*) 森林和鄧恩桉 (*Eucalyptus dunnii*) 森林進行一整年的子實體調查發現，外生菌根真菌的物種多樣性和豐量 (abundance) 隨季節而改變 (Giachini et al., 2004)，在日本的冷杉 (*Abies*) 林也有相同情形 (Matsuda and Hijii, 1998)，每個季節的溫度和雨量不同，加上各菌種的出菇物候相異，說明了氣候對外生菌根真菌群落組成的影響。

除了上述環境因子外，生物因子對於外生菌根真菌群落組成的影響似乎更大 (Twieg et al., 2009)，其中包含了宿主種類和年齡 (Twieg et al., 2007)、森林結構 (Villeneuve et al., 1989; Nantel and Neumann, 1992; Ishida et al., 2007)、外生菌根真菌間的交互作用 (Nara et al., 2003; Koide et al., 2005) 等。

由於外生菌根真菌有不同程度的宿主專一性 (host specificity) 或宿主喜好 (host preference)，使植物種類直接影響外生菌根菌的群落結構 (Massicotte et al., 1994; Massicotte et al., 1999)。Nantel 和 Neumann (1992) 根據在針闊葉混合林中的子實體調查，排除土壤因子後，發現外生菌根菌的群落組成和植物宿主的群落組成具有高度相關。宿主植物的根分泌物或落葉，會釋放特殊的有機物質，例如：



胺基酸 (amino acids)、核苷酸 (nucleotides)、酚類 (phenols)、醛類 (aldehydes) 等 (Koske and Gemma, 1992)。這些物質能夠影響部分外生菌根菌種的孢子萌發和菌絲生長 (Fries, 1983)，進而影響外生菌根真菌的宿主專一性 (Conn and Dighton, 2004; Kernaghan, 2005)。

除了宿主種類外，植物宿主的年齡也是一個重要的影響因子。在加拿大的西部鐵杉 (*Tsuga heterophylla*) 和海灘松 (*Pinus contorta*) 針葉混合林中，選取四個平均年齡分別為：20 年、59 年、109 年和 205 年的森林各三個樣區，進行為期三年的子實體調查。迴歸分析顯示，在森林年齡未達 150 年前，外生菌根菌的豐度 (richness) 與森林年齡呈現正相關。當森林年齡超過 200 年後，外生菌根真菌的豐度有減少的趨勢 (Kranabetter et al., 2005)。在闊葉林也有相同的趨勢。德國的紅橡木 (*Quercus rubra*) 森林中，分別在 5 年、21 年、33 年、43 年的林分進行子實體和菌根調查，結果顯示，菌根形態的多樣性與林分年齡呈現正相關。然而在子實體調查中，因為時逢乾旱，在 21 年和 33 年林分各有 3 種外生菌根真菌，43 年林分只有 1 種，5 年的林分沒有發現子實體 (Gebhardt et al., 2007)，但這樣的調查結果受限於氣候，未必能如實反映地下的外生菌根真菌多樣性。此外，以森林或林分的尺度比較其外生菌根真菌多樣性，無法排除空間異質性 (spatial heterogeneity) 和菌種來源可及性 (inoculum availability) 造成

的差異。

#### 4.4 國內文獻回顧

台灣位處北回歸線上，為熱帶與亞熱帶交界。由於歐亞板塊與菲律賓海板塊運動造成山脈隆起，近 4,000 公尺的垂直高度差，造就了從熱帶到寒帶氣候區的多樣化棲地 (楊國禎等, 2011)，孕育了豐富的生物資源，更有台灣冷杉 (*Abies kawakamii*) 和台灣鐵杉 (*Tsuga chinensis* var. *formosana*) 等特有種及變種。但是，相較於植物，植物外生菌根真菌的研究並不多。

台灣的大型真菌研究，最早為日本學者澤田兼吉所報導 (Sawada, 1959)，但其研究以植物病原菌為主。而後陸續有各類群的分類研究，包括：牛肝菌科 (Boletaceae) (Yeh and Chen, 1980, 1981, 1982, 1983, 1985；沈義隆，2001；Chen and Yeh, 2000；Chen et al., 1997 a, 1997 b, 1997 c, 1998 a, 1998 b)、紅菇屬 (*Russula*) (Chou and Wang, 2005；陳復琴，2004)、鵝膏屬 (*Amanita*) (Yang and Chen, 2003；Chen et al., 2002)、炭角菌科 (Xylariaceae) (Ju and Tzean, 1985 a, 1985 b)、口蘑科 (Tricholomataceae) (Chou and Wang, 2004)、多孔菌目 (Polyporales) (張東柱，2009)、皮殼菌科 (Corticaceae) (Wu, 2000)、無褶菌目 (Aphyllporales) (Chou, 2000；Wu, 1995)、盤菌 (Discomycetes) (Wang,

1993; Wu et al., 2007) 等。

近二十年來，台灣大型真菌的調查遍布各地，從陽明山 (吳聲華, 2000)、桃園縣中低海拔 (何源三, 2003)、大礁溪實驗林 (曾詩涵, 2010; 游婉婷, 2010)、福山植物園 (張東柱等, 2000)、觀霧 (王也珍和周文能, 2004)、雪霸國家公園 (王也珍和周文能, 2009)、雪山東峰 (曾璿融, 2012)、雪山坑溪 (曾顯雄等, 2006)、合歡山 (高明脩, 2012)、瑞岩溪 (張東柱, 2004)、關刀溪 (Tschen et al., 2004)、蓮華池 (周文能, 2000)、元埔農場 (林彥辰, 2008; 高琇慧, 2010; 許秀玲, 2010; 陳淑榆, 2010)、人倫林道 (Lin et al., 2011)、溪頭 (蕭文偉等, 2010)、玉山國家公園濁水區 (吳聲華等, 1996)、北大武山 (陳朝圳, 2006)、南仁山 (王也珍, 1999)、蘭嶼 (Wu and Chen, 2002; Wang, 2002), 到墾丁國家公園 (簡秋源和葉開溫, 1986) 都有報告，其中僅高明脩 (2012) 和曾璿融 (2012) 研究特定樹種的外生菌根真菌。

過去，台灣林木外生菌根的野外調查僅有一篇，胡弘道 (1981) 記錄了高山造林樹種台灣鐵杉 (*Tsuga chinensis* var. *formosana*)、台灣冷杉 (*Abies kawakamii*)、台灣二葉松 (*Pinus taiwanensis*)、華山松 (*Pinus armandii*) 和台灣雲杉 (*Picea morrisonicola*) 的菌根形態多樣性。然而，由菌根形態無法得知外生菌根的菌相。許多研究將經濟價值高的菌根菌分離並培養 (高嘉鴻, 2005; 胡弘道等, 2008)，接種

在琉球松 (*Pinus luchuensis*) (顏江河等, 1997)、赤桉 (*Eucalyptus camaldulensis*) (林芳如, 2002)、青剛櫟 (*Cyclobalanopsis glauca*) (胡弘道和黃鏡諺, 2004; 陳怡君, 2004; 劉啟福, 2010) 等林木, 觀察其菌根形態, 測試菌根形成的最適條件 (胡弘道等, 2007), 了解菌根形成對於植物宿主的影響 (陳潔音和顏江河, 2004)。目前對林木外生菌根真菌多樣性的了解有限。

## 五、研究目的

近年, 歐美地區研究探討溫帶森林的外生菌根真菌群落結構、物種多樣性以及真菌與宿主的共生關係, 多比較不同樹種的森林或不同的林分。台灣位處亞熱帶, 擁有海拔 3,000 公尺以上、類似溫帶森林的亞高山生態系。本研究調查台灣亞高山生態系之台灣冷杉 (*Abies kawakamii*) 與台灣鐵杉 (*Tsuga chinensis* var. *formosana*) 混合林, 以林木個體作為研究對象, 以核酸分析兩種林木菌根中, 外生菌根真菌多樣性, 同時探討各胸徑林木之外生菌根真菌豐度與各形態菌根之外生菌根真菌物種組成。

# 材 料 與 方 法

## 一、研究地點

研究地點位於南投縣與花蓮縣交界的合歡山地區，隸屬太魯閣國家公園。春夏間的梅雨、夏秋颱風挾帶的西南氣流以及冬季的東北季風，均為此處帶來豐沛雨量。加上東北季風的水氣受到地形阻隔，隨海拔高度提升而溫度驟降，造成數月至半年的積雪，集中在合歡山的昆陽到小風口（曾盛堂，1996）。除了少數山峰被玉山圓柏 (*Juniperus squamata*) 和杜鵑冠叢盤據外，此地區主要的木本植物為台灣冷杉 (*Abies kawakamii*)、台灣鐵杉 (*Tsuga chinensis* var. *formosana*)、台灣二葉松 (*Pinus taiwanensis*)、台灣刺柏 (*Juniperus formosana*) 和玉山杜鵑 (*Rhododendron pseudochrysanthum*)，主要的草本植物則為玉山箭竹 (*Yushania niitakayamensis*)。

省道台十四甲 36.6 K 處，特有生物研究保育中心 (Taiwan Endemic Species Research Institute) 高海拔試驗站後方，選擇有一公頃每木調查紀錄的混合林樣區 (林旭宏和賴國祥，2000) 進行研究 (圖一 A)。該森林的林相單純，83.24% 的木本植物為台灣冷杉，台灣鐵杉佔 15.82%。林下布有高度 2 m 以上的玉山箭竹 (*Yushania niitakayamensis*) (林旭宏和賴國祥，2000)，海拔高度約為 3,005 m。根據鄰近的小風口氣象測站資料，2009 年的林內月均溫介於 -0.6~

11.1°C，年均溫為 6.4°C，相對溼度為 83.2%，林外的年雨量為 3,153.6 mm (特有生物中心高海拔試驗站 <http://hm.tesri.gov.tw/>)。

## 二、實驗設計

在一公頃台灣冷杉與台灣鐵杉混合林內，分別選取面積 10 公尺 X 10 公尺的一個台灣冷杉樣區和一個台灣鐵杉樣區，樣區內只有單一樹種和玉山箭竹混生，且樣區內有該樹種四個胸高直徑 (diameter at breast height, DBH) 徑級的林木。根據張惠珠和古心蘭 (2000) 在鄰近地區台灣冷杉森林的研究顯示，台灣冷杉的樹齡和 DBH 呈現對數關係。本研究以 DBH 代表樹齡，在兩個小樣區內，分別選取 4 棵不同 DBH 的同種樣樹 (表一，圖一 B)，排除地理上菌種可及性所造成的差異，使用核酸技術分析比較四個年齡台灣冷杉與台灣鐵杉的外生菌根真菌群落組成，同時進行採樣頻度與多樣性相關性測定，並了解各形態型菌根的外生菌根真菌組成。

### 2.1 四個徑級的台灣冷杉和台灣鐵杉外生菌根菌群落組成

本實驗以變性梯度膠體電泳 (Denaturing gradient gel electrophoresis, DGGE) 分析四個胸高直徑的台灣冷杉與台灣鐵杉共 8 棵樹的外生菌根真菌群落組成，並結合基因選殖 (cloning) 和定序 (sequencing)，了解主要 DGGE 核酸條帶的外生菌根真菌種類。於

2009 年 8 月在樣樹冠幅面積 (crown area) 對應的表土上，以樹幹為中心，沿東、南、西、北四方的半徑軸線 (crown radius) 取 8 個等距的採樣點，每棵樹有 32 個菌根樣本。為降低日後核酸分析的工作量，每個樣本隨機取 15 個菌根根尖，來自同方向的 8 個樣本，前 4 個和後 4 個分別混合成兩個樣本 (圖二 A)，每個混合樣本有 60 個菌根根尖，每棵樹有 8 個混合樣本，八棵樣樹有共有 64 個混合樣本。

## 2.2 採樣頻度測定

為測定採樣努力量 (sampling effort)，以 DGGE 分析一棵樣樹各取樣點的外生菌根真菌群落組成，並使用統計軟體 Primer 5 (Clarke and Warwick, 2001) 的相似度分析 (Analysis of similarity, ANOSIM) 比較各樣點的差異。2009 年 6 月於編號 A4 冷杉樣樹冠幅面積對應的表土上，以樹幹為中心，沿著東、南、西、北四個方位的半徑軸線，各取 5 個等距的採樣點，共 20 個樣本 (圖二 B)，每個樣本隨機取 15 個菌根根尖，進行核酸分析。

## 2.3 各形態型菌根的外生菌根真菌組成

為了解台灣冷杉與台灣鐵杉樣樹各形態型菌根的外生菌根真菌組成，2011 年 8 月於編號 A4 台灣冷杉及編號 T4 的台灣鐵杉樣樹冠幅面積對應的表土，以樹幹為中心，沿東、南、西、北四方的半

徑軸線各取 2 個等距的採樣點 (圖二 C)。每棵樹有 8 個樣本，共 16 個樣本。每棵樹的 8 個樣本先予混合，以解剖顯微鏡觀察菌根形態後，參考 Agerer (1995) 的分類方式與胡弘道 (1981) 的形態型比對，記錄各菌根形態之根尖顏色、根尖長寬、菌絲顏色和包覆根尖狀況。兩棵樹的每種形態型取 6 個根尖，分別放入微量離心管 (ependorf tube) 萃取 DNA，以聚合酶鏈鎖反應增幅擔子菌 rDNA 的 ITS 片段，再以限制內切酶片段多型性 (restriction fragment length polymorphism, RFLP) 分析將產物初步分群，將各菌根形態不同 RFLP 型的核酸 PCR 產物再進行 DNA 選殖並定序，並與現有資料庫的核酸序列比對，進而鑑定菌種。

### 三、菌根採樣方法與樣本處理

採集菌根時，以鏟子撥開枯枝落葉層，在採樣點挖取深度 15 cm 以內、面積 10 X 10 cm 的表土。剝除非根圈土壤，將菌根連同附著的土壤以夾鏈袋封存帶回實驗室，貯藏於 4°C (Goodman et al., 1996)。爾後使用 2.5 mm 篩網篩除土壤，菌根以自來水清洗，再以尖鏟移除菌根上殘留的細微顆粒，以紙巾壓乾，再裝入微量離心管。



#### 四、菌根 DNA 的萃取

參考 Doyle 和 Doyle (1990) 的 CTAB (Cetyl trimethyl ammonium bromide) 萃取法，將滅菌的金鋼砂 (Sea sand C, Nacalai tesque, Japan) 加入裝有菌根樣本的微量離心管，以研磨棒 (polypropylene conical tissue grinder, Scienceware, USA) 研磨，破碎細胞。加入 65°C 預熱的 500 µl CTAB buffer (20 mM CTAB, 1.4 M NaCl, 100 mM Tris-HCl [pH 8.0], 20 mM EDTA, 10 g PVP-40 solid)，防止細胞內酵素與 DNA 反應，再加入 3 µl 2-Mercaptoethanol (Sigma, USA) 振盪數秒，使蛋白質變性。在 65°C 水浴 30 min 後，加入 500 µl dichloromethane/isoamyl alcohol (24:1)，輕微地混合後，使用桌上型超高速離心機 (260D brushless microcentrifuge, Denville, USA)，以 14,000 rpm 轉速離心 3 min，分離蛋白質和有機層，吸取含有核酸的上層液至新的離心管。在上層液中加入 300 µl 異丙醇 (Isopropanol, Mallinckrodt Baker, USA) 並輕微地混合，使 DNA 沉澱，再次以 14,000 rpm 離心 2 min，倒掉上清液。離心管底部的 DNA 沉澱加入 500 µl Wash buffer (76% ethanol, 10 mM ammonium acetate)，靜置 2 min 後，以 14,000 rpm 離心 2 min，倒掉上清液去除鹽類，在無菌操作台內倒置風乾。單一菌根根尖 DNA 加入 20 µl 無菌水，混合菌根 DNA 則加入 30 µl 無菌水。以 37°C 回溶後，貯藏於 -80°C。

## 五、聚合酶連鎖反應和瓊脂凝膠電泳

進行聚合酶連鎖反應 (Polymerase Chain Reaction, PCR) 時，以擔子菌廣效性引子對 ITS1F (5'-CTT GGT CAT TTA GAG GAA GTA A-3') 與 ITS4B (5'-CGC CCG CCG CGC CCC GCG CCC GGC CCG CCG CCC CCG CCC CAG GAG ACT TGT ACA CGG TCC AG-3') (Gardes and Bruns, 1993) (明欣生物科技公司，台灣) 增幅外生菌根擔子菌 rRNA 基因的 ITS (internal transcribed spacer) 區域。每管 50  $\mu$ l 的 PCR 反應中，包含 10 mM 引子各 0.5  $\mu$ l，模板 DNA 5  $\mu$ l，25 mM  $MgCl_2$  3  $\mu$ l，5  $\mu$ l 10X *Taq* buffer，2 U *Taq* DNA Polymerase 及 10 mM dNTPs 0.5  $\mu$ l (MBI Fermentas, USA)。反應條件如下：95°C 下變性 3 min，1 個循環；95°C 30 sec，55°C 30 min，72°C 1 min，共 35 個循環；72°C 10 min，1 個循環。反應完成後，每個樣本取 5  $\mu$ l PCR 產物，注入含有 EtBr (Ethidium bromide, Sigma, USA) 的 1.2% 瓊脂膠體 (Agarose I<sup>TM</sup>, Amresco, USA) 上，並以 100 bp 分子量標幟 (marker) (GeneRuler<sup>TM</sup> 100 bp Plus DNA Ladder, Fermentas, USA) 做對照，使用 0.5X TAE buffer (20 mM Tris-acetate, 0.5 mM EDTA) 在 100 V 下進行電泳 30 min，最後使用照相系統 (BioDoc-It Imaging System, UVP, USA) 拍照存檔。

## 六、限制內切酶片段多型性分析

PCR產物以兩種內切酶 *Hae*III 和 *Hinf*I (New England Biolabs, UK) 進行限制內切酶片段多型性 (Restriction fragment length polymorphism, RFLP) 分析，進行 PCR 產物純化，每個樣本的反應量為：1  $\mu$ l 的內切酶、1  $\mu$ l 的 NE buffer 和 8  $\mu$ l 的 PCR 產物。在 37°C 下反應 16 hr 後，將產物進行瓊脂電泳分析，以 UV 照相系統 (BioDoc-It Imaging System, UVP, USA) 存檔並比對圖譜，各菌根形態的不同 RFLP 型 PCR 產物均予定序分析。

## 七、變性梯度膠體電泳 (denaturing gradient gel electrophoresis, DGGE)

分析菌根樣本的 PCR 產物再以 ITS1F-GC (5'-CGC CCG CCG CGC GCG GCG GGC GGG GCG GGG GCA CGG GGG GCT TGG TCA TTT AGA GGA AGT AA-3') (Gardes and Bruns, 1993) 和 ITS2 (5'-GCT GCG TTC TTC ATC GAT GC-3') (White et al., 1990) 進行 semi-nest PCR，PCR 條件同前述，目的為縮短片段長度並在末端加上 GC-clamp。以瓊脂電泳確認產物後，將 semi-nest PCR 產物進行變性梯度膠體電泳分析。

電泳膠成份為 8% 丙烯醯胺 (Acrylamide, Bio-Rad Laboratories,

USA)，變性劑為尿素 (Urea, Bio-Rad Laboratories, USA) 和甲醯胺 (formamide, Bio-Rad Laboratories, USA)，採樣頻度測定實驗所使用的變性梯度為 20~40%，分析四個年齡台灣冷杉與台灣鐵杉的菌根樣本時，變性梯度調整為 25~50%。每個樣本取 45  $\mu$ l PCR 產物分別注入電泳膠，以 60°C 70 V 電泳 16 hr，膠體以 EtBr 染色 15 min 後，放入去離子水中褪染 30 min，以 UV 照相系統 (BioDoc-It Imaging System, UVP, USA) 記錄。照相存檔後，以解剖刀切取 DGGE 圖譜中主要核酸條帶，分別裝入離心管，加入 20  $\mu$ l 無菌水，37°C 回溶 30 min 後，再以引子對 ITS1F 和 ITS2 增幅回溶的 DNA，以備後續選殖用，使用 Quantity One 膠體定量軟體 (Bio-Rad Laboratories, USA) 分析 DGGE 圖譜。

## 八、PCR 產物純化

各 RFLP 型的單一根尖樣本的 PCR 產物和 DGGE 核酸條帶的 PCR 產物經電泳 30 min 後，使用紫外光照相系統，以解剖刀切取個別條帶裝入微量離心管。PCR 產物以套組 Gel / PCR DNA Fragments Extraction Kits (Geneaid, USA) 純化 DNA。參考使用手冊，在裝有凝膠條帶的離心管內加入 500  $\mu$ l 的 DF buffer 並振盪混勻，置於 60°C，每隔 3 min 旋轉一次離心管，待凝膠完全溶解，在

室溫下冷卻。將溶解的凝膠全數置入組裝在 collection tube 內的 DF column，以 14,000 rpm 轉速離心 30 sec 後，倒掉 collection tube 內廢液。接著，將 400  $\mu$ l W1 buffer 加入 DF column，離心 30 sec 後，倒掉 collection tube 內廢液，再加入 600  $\mu$ l Wash buffer，放置 1 min 後，離心 30 sec，去除雜質，再次離心 3 min，使 DF column 乾燥。最後，將 DF column 放入新的離心管內，加入 20  $\mu$ l 無菌水放置 2 min 回溶 DNA，再離心 2 min 即完成 DNA 純化。

## 九、基因選殖

PCR產物純化後，進行基因選殖 (Cloning)。用 TA Cloning Vector Kit (RBC Bioscience, USA) 做 DNA 接合反應 (Ligation)，參考使用手冊，在微量離心管內依序加入 1  $\mu$ l buffer A、1  $\mu$ l buffer B、2  $\mu$ l vector、5  $\mu$ l DNA 和 1  $\mu$ l T4 DNA ligase，經過振盪離心後，在 4°C 下接合反應 16 hr。進行大腸桿菌細胞轉型 (Transformation)，加入 20  $\mu$ l 勝任細胞 (Fast-Trans Competent *E. coli* DH5 $\alpha$ , Protech Inc, Taiwan)，混合後在 4°C 下放置 1 hr，接著於 42°C 下進行熱休克反應 (Heat shock) 50 sec，使 DNA 進入細胞，將離心管放回 4°C 2 min，加入 500  $\mu$ l LB broth (Luria-Bertani broth, Difco™, USA)，以 37°C 100 rpm 振盪培養大腸桿菌 1 hr，再以 8,000 rpm 離心 50 sec，移除 400  $\mu$ l

上清液，剩餘菌液分別加入三皿表面塗布 IPTG 和 X-gal、且含有 Ampicillin 的 LB 培養基上，以曲玻璃棒塗抹至乾。在 37°C 下培養 16 個小時後，進行藍白篩選 (Blue-white screening)。每個樣本挑取 10 個菌落大而明顯的白色菌株，以接種環 (loop) 純化到新的 LB 培養基上，之後以 TA Cloning Vector Kit (RBC Bioscience, USA) 所附的引子對 M13F (5'-GTT TTC CCA GTC ACG ACG TTG TA-3') 和 M13R (5'-CAG GAA ACA GCT ATG ACC-3')，進行 PCR，增幅條件如同上述，反應量改為一半。經瓊脂電泳確認產物大小後，將成功選殖的樣本 PCR 產物進行限制內切酶片段多型性分析，反應條件和使用內切酶如同上述。

## 十、定序與序列排列比對

將各基因選殖樣本中，核酸帶有不同 RFLP 型的菌落送交明欣生物科技公司 (台灣) 定序。序列使用 ChromasPro (Technelysium Pty Ltd, Australia) 軟體排比雙股序列。之後使用 NCBI (National Center for Biotechnology Information) 網站 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 的 BLAST 功能，進行序列比對，找出最近緣物種，以 MultAlin 網站 (<http://multalin.toulouse.inra.fr/>) 比較各樣本序列間差異。

## 十一、統計與分子親緣關係分析

變性梯度膠體電泳圖譜分析獲得的數據，以有/無類型資料 (presence/absence data) 格式，使用統計軟體 Primer 5 (Clarke and Warwick, 2001) 分析，計算 Bray-Curtis 相似度，以 MDS (Multidimensional scaling) 呈現樣本間的外生菌根菌群落組成相似度。以相似度分析 (Analysis of similarity, ANOSIM) 分析組間的差異，以 Global R 和 P value 顯示組間差異大小及顯著程度，再以 Pairwise test 比較兩組間差異；採樣頻度測定使用軟體 R (version 2.15.0) 繪製稀釋曲線 (Rarefaction curve)，顯示累積 DGGE 條帶數和樣本數的關係；另外，將 DGGE 核酸條帶的序列和 NCBI 上最近緣序列轉置成 FASTA 格式，使用 Cluster X 1.83 (Thompson et al., 1997) 進行多條序列比對。接著使用 Phylip (Phylogeny Inference Package, version 3.69) (Felsenstein, 1995) 套件中的 SEQBOOT 進行 1,000次 bootstrapping，以 DNADIST (Jukes and Cantor, 1969) 計算遺傳距離，再以 NEIGHBOR 程式建構鄰接法 (Neighbor-joining method, NJ) (Saitou and Nei, 1987) 親緣樹，最後以 MEGA (Molecular evolutionary genetics analysis, version 4.0) (Tamura et al, 2007) 軟體繪製親緣樹。

## 結 果

### 一、樣本數的決定

變性梯度凝膠電泳 (denaturing gradient gel electrophoresis, DGGE) 分析台灣冷杉 A4 (DBH = 78.0) 的 19 個菌根樣本 DNA, 共獲得 23 個外生菌根真菌核酸條帶。稀釋曲線 (rarefaction curve) 顯示, 累積樣本數達 14 個以上時, 累積條帶數曲線漸趨平緩 (圖三)。在一棵樹的根圈採集 14 個樣本足以代表該樹的外生菌根真菌多樣性。

### 二、四個徑級台灣冷杉與台灣鐵杉外生菌根真菌的遺傳多樣性

變性梯度凝膠電泳 (denaturing gradient gel electrophoresis, DGGE) 分析四個胸高直徑 (Diameter at breast height, DBH) 的台灣冷杉與台灣鐵杉, 64 個混合樣本共獲得 37 個外生菌根真菌核酸條帶 (圖四)。台灣冷杉四棵樣樹 (DBH 分別為 13.0, 29.2, 49.5, 78.0) 的樣本各有 23, 23, 24, 24 個條帶; 台灣鐵杉四棵樣樹 (DBH 分別為 19.5, 52.7, 86.0, 117.0) 的樣本各有 22, 24, 25, 26 個條帶 (表二), 兩個樹種間的外生菌根真菌的遺傳多樣性差異不大。在 37 個 DGGE 條帶中, 第 12、15、31、32 和 34 號條帶在八棵樹的樣本都有測到, 第 2、11、37 號條帶只在台灣冷杉樣本偵測到, 第 33 號條帶只在台灣鐵



杉樣本偵測到 (圖四，表二)。

在 37 個條帶中，切取 24 條明亮清晰的主要條帶 (major bands) 回收 DNA，以基因選殖 (cloning) 獲得單一序列，與 GenBank 資料庫比對，菌種相似度高於 98% 以上的序列視為同種，其中，紅菇科 (Russulaceae)、牛肝菌科 (Boletaceae)、鵝膏科 (Amanitaceae) 另與合歡山的子實體序列 (高明脩，2012) 比對，序列相似度高於 98% 者列入表中，本研究共測得 6 科 25 種外生菌根真菌 (表三)，其中包含絲膜菌科 (Cortinariaceae) 10 種，紅菇科 9 種，耳匙菌科 (Auriscalpiaceae) 1 種，鎖瑚菌科 (Clavulinaceae) 2 種，革菌科 (Thelephoraceae) 有 2 種，鵝膏科 1 種。利用分子鑑定到種的有緻密紅菇 (*Russula compacta*)、皮氏紅菇 (*R. peckii*) 和正紅菇 (*R. vinosa*)、齒菌 (*Hydnum ellipsosporum*) 和李達鵝膏 (*Amanita liquii*)。

### 三、台灣冷杉與台灣鐵杉之外生菌根真菌群落組成比較

利用八棵樹樣本之 37 個 DGGE (denaturing gradient gel electrophoresis) 條帶的有/無資料 (presence/absence data) 進行相似度分析 (analysis of similarity, ANOSIM)，顯示台灣冷杉和台灣鐵杉的外生菌根真菌群落組成沒有顯著差異 (Global R=0.073,  $p>0.05$ )。在多元尺度分析 (multidimensional scaling, MDS) 和相似度分析的結果顯

示，兩種樹種的外生菌根真菌群落組沒有明顯分群（圖七）。

變性梯度凝膠電泳主要條帶獲得的 25 種外生菌根真菌分類群中，23 種真菌的對應條帶在兩個樹種均有測到（表四），其中 10 種真菌對應的條帶，在八棵樹的樣本均有偵測到，分別為：李達鵝膏、緻密紅菇、皮氏紅菇、正紅菇、*Russula* sp. 2、*R.* sp. 3、*Cortinarius* sp. 6、*Cortinarius* sp. 7、*Cortinarius* sp. 8 和 *Clavulinaceae* sp. 1，是樣區的優勢菌種。唯 *R.* sp. 1 和 *Cortinariaceae* sp. 2 對應條帶只在台灣冷杉偵測到，*Thelephoresis* sp. 1 對應的條帶只在台灣鐵杉偵測到，顯示本研究樣區中，多數的外生菌根真菌可與這兩種樹種共生，沒有宿主專一性 (host specificity)。

#### 四、各徑級台灣冷杉的外生菌根真菌多樣性與群落組成

以變性梯度凝膠電泳圖譜顯示，四個徑級的台灣冷杉 A1、A2、A3、A4，分別有 23、23、24、24 個外生菌根真菌核酸條帶（圖八），其菌根菌遺傳多樣性豐度差異不大。而在優勢菌種的多樣性上，已知的 25 種外生菌根真菌分類群中，四棵台灣冷杉樣本條帶分別對應到有 22、17、21、19 種真菌（表四），顯示外生菌根真菌的物種多樣性未隨宿主徑級增減而有一定變化趨勢。此外，以變性梯度凝膠電泳分析各徑級的 8 個樣本，根據各樣本外生菌根真菌群落組成繪製的樹

狀圖顯示，第一個分支多為冷杉 A1、A2 樣本，有 25% 相似度；第二個分支多為 A3、A4 的樣本，有 27% 相似度（圖十）。其中，冷杉 A1 的樣本最為聚集，有 6 個樣本間的相似度達 33%。整體而言，A1 樣本與半數 A2 樣本有 25% 相似度，與 2 個 A3 樣本有 33% 以上的相似度，僅 1 個樣本與 1 個 A4 樣本相似度達 57%。徑級大小較相近的台灣冷杉，擁有較多菌根菌群落組成相似的樣本。

條帶定序的結果中（表四），李達鵝膏、緻密紅菇、正紅菇、正紅菇、*Russula* sp. 1、*R.* sp. 2、*R.* sp. 3、*Cortinarius* sp. 6、*C.* sp. 7、*C.* sp.8、*Tomentella* sp. 1 和 *Clavulinaceae* sp. 1 等十二種外生菌根真菌對應的條帶在四棵冷杉樣樹都有偵測到，顯示它們都是台灣冷杉的優勢菌種。

## 五、各徑級台灣鐵杉的外生菌根真菌多樣性與群落組成

以變性梯度凝膠電泳圖譜顯示，四個徑級的台灣鐵杉 T1、T2、T3、T4，分別有 22、24、25、26 個外生菌根真菌核酸條帶（圖八），各徑級鐵杉的菌根菌遺傳多樣性差異不大。然而，在已知的 25 種外生菌根真菌分類群中，四棵台灣冷杉樣本條帶分別對應到有 16、21、19、19 種真菌（表四），外生菌根真菌的物種多樣性未隨台灣鐵杉徑級增加而變化。根據四棵台灣鐵杉各樣本外生菌根真菌群落組成繪製

的樹狀圖顯示，T1 有 4 個樣本分別與 T2 樣本相似度超過 40%，T2 有 3 個樣本與 T3 的 3 個樣本相似度達 36%，T3 樣本有 3 個樣本與 T4 樣本的 5 個樣本相似度達 31%，T4 的樣本多與 T2、T3 樣本較相似。整體而言，在各級鐵杉間，彼此各有少數樣本較為相似，但徑級大小較相近的台灣鐵杉，擁有較多菌根菌群落組成相似的樣本。

而條帶定序的結果中 (表四)，李達鵝膏、緻密紅菇、正紅菇、正紅菇、*Russula* sp. 1、*R.* sp. 2、*R.* sp. 3、*R.* sp. 5、*Lactarius* sp. 1、*Cortinariaceae* sp. 1、*Cortinarius* sp. 5、*C.* sp. 6、*C.* sp. 7、*Clavulinaceae* sp. 1、*Thelephoraceae* sp. 1 等十五種外生菌根真菌的核酸條帶在四棵鐵杉都有測到，顯示它們是台灣鐵杉重要的優勢共生菌。

## 六、台灣冷杉和台灣鐵杉的菌根形態

以解剖顯微鏡觀察分別由 A4 台灣冷杉及 T4 台灣鐵杉採集的 8 個菌根樣本，共記錄六種形態菌根，分別為黃色菌根 I 型、黑色菌根型、白色菌根 II 型、白色菌根 I 型、白色菌根 III 型、黃色 II 型菌根 (圖九)。其中，黃色 I 型、黑色型、白色 I 型、白色 II 型四種菌根形態在兩種樹種都有，白色菌根 III 型採自台灣冷杉，黃色 II 型採自台灣鐵杉。

## 七、六種菌根形態的外觀描述

黃色菌根 I 型出現頻率最高，表面平滑 (smooth)，為單根 (simple, unramified) 或單軸一羽狀 (monopodial pinnate) 分枝的橘黃色菌根 (圖九 A)，根尖長度 (tip length) 500~4,500  $\mu\text{m}$ ，根尖直徑 (tip width) 300~500  $\mu\text{m}$ 。

黃色菌根 II 型為表面粗糙的橘黃色菌根 (圖九 B)，呈單根型無分枝，根尖長度長達 3,500~5,600  $\mu\text{m}$ ，根尖直徑 500~700  $\mu\text{m}$ 。

黑色菌根型在許多樣點都有採到，為單根型或不規則羽狀型 (irregularly pinnate) 分枝 (圖九 C)，菌氈 (mantle) 表面有黑色放射絲 (emanating hyphae) 向外延伸，根尖長度 1,000~3,600  $\mu\text{m}$ ，根尖直徑 400~500  $\mu\text{m}$ 。

白色菌根 I 型是單根或單軸一羽狀分枝的橘色菌根，菌根表面有一層白色菌絲覆蓋，進入水中則變為淺棕灰色 (圖九 D)，根尖長度 2,500~3,200  $\mu\text{m}$ ，根尖直徑 500~600  $\mu\text{m}$ 。

白色菌根 II 型的菌根表面粗糙，有大量白色放射絲 (圖九 E)，菌根為單根或不規則羽狀分枝，根尖長度 600~3,500  $\mu\text{m}$ ，根尖直徑 300~500  $\mu\text{m}$ 。

白色菌根 III 型為表面平滑的白色菌根 (圖九 F)，有少許白色菌絲向外延伸，根尖短胖，根尖長度 600~2,500  $\mu\text{m}$ ，根尖直徑 500~

800  $\mu\text{m}$ ，菌根呈現單根或單軸羽狀分枝。

## 八、六種菌根形態型的外生菌根真菌組成

六種菌根形態由二個樹種隨機挑選各 6 個根尖，其中，黃色菌根 II 型只採集到 4 個根尖，共 58 個根尖樣本萃取 DNA。以擔子菌廣效性引子 PCR 增幅外生菌根真菌 rDNA 的 ITS 片段，成功率為 69%。將增幅成功的產物以限制內切酶片段多型性 (restriction fragment length polymorphism, RFLP) 分析、基因選殖 (cloning) 和定序，共獲得 19 個外生菌根真菌序列。

分別與 NCBI 網站、同一森林採集的紅菇科子實體序列比對後，共獲得 7 科 13 種外生菌根真菌分類群 (表六)，分別為：皮氏紅菇 (*Russula peckii*)、正紅菇 (*R. vinosa*)、紅菇 (*R. sp. 1*)、乳菇 (*Lactarius sp. 2*)、*L. sp. 3*、絲膜菌 (*Cortinarius sp. 9*)、*C. sp. 10*、齒菌 (*Hydnum ellipsosporum*)、鎖瑚菌 (*Clavulina sp. 1*)、蠟蘑 (*Laccaria sp. 1*)、革菌 (*Thelephoresis sp. 1*)、*T. sp. 2* 和牛肝菌 (*Boletaceae sp.1*)，在台灣冷杉菌根測到 8 種菌，台灣鐵杉測到 7 種。其中，有六種在變性梯度凝膠電泳的核酸條帶有測到。

由表五得知，不同形態菌根能偵測到同一種外生菌根真菌，如出現頻率最高的皮氏紅菇，在台灣冷杉的黃色 I 型和黑色菌根型測到，

在台灣鐵杉的黃色 I 型、黃色 II 型和黑色菌根型偵測到。而蠟蘑 *Laccaria* sp. 1，在台灣冷杉的白色 II 型和白色 III 型菌根測到。

同一種菌根形態的不同根尖樣本，可測得多種外生菌根真菌。如黃色 I 型菌根，於台灣冷杉樣本偵測到的皮氏紅菇、*Russula* sp. 1、*Lactarius* sp. 1，以及台灣鐵杉樣本偵測到的皮氏紅菇、*Clavulina* sp. 1、*Boletaceae* sp. 1 和 *Thelephoraceae* sp. 1。黑色菌根型可測得正紅菇與皮氏紅菇。白色 I 型菌根可測得齒菌 *Hydnum ellipsosporum* 和 *Thelephoraceae* sp.2，*Cortinarius* sp. 9、*Cortinarius* sp. 10、*Laccaria* sp. 1、*Lactarius* sp. 3 皆從白色 II 型菌根測得。

另外，在單一根尖上，可能有兩種以上外生菌根真菌。如黃色 I 型菌根的 5 號樣本，偵測到皮氏紅菇和 *Lactarius* sp. 1。白色 I 型的 8、9、10、11、12 號樣本，偵測到 *H. ellipsosporum* 和 *T. sp. 2*。而根尖較為短小的白色 III 型菌根（表五），六個樣本都只測到 *Laccaria* sp. 1。

## 九、紅菇科與絲膜菌科的親緣樹分析

本研究由變性梯度凝膠電泳的條帶序列分析和單一根尖的序列分析，共獲得 32 種外生菌根真菌。其中，紅菇科 (*Russulaceae*) 和絲膜菌科 (*Cortinariaceae*) 的豐度最高。為確認各菌種之分子鑑定正確，將本研究獲得的序列、GenBank 中最近緣種序列（附錄二）共同

繪製親緣樹 (圖五、圖六)，紅菇科的親緣樹亦加入樣區內子實體序列 (高明脩，2012)。

紅菇科的親緣樹共有 51 個樣本，比對的序列長度為 157 bp (圖五)。參考 Lebel 和 Tonkin (2007) 繪製的紅菇科親緣樹，以紅菇目 (Russulales) 的 *Albatrellus ovinus* 作為外群。其中，在緻密紅菇 (*Russula compacta*) 的分支，子實體與核酸條帶定序獲得的序列相似，但與 GenBank 的緻密紅菇則有 11 bp 的不同，兩條來自 GenBank 的緻密紅菇序列間差距 6 bp。*Russula* sp. 1 最接近的物種為 *Russula crassotunicata*，序列比對差距 12 bp。*Lactarius* sp. 1 與 *Lactarius* sp. 2 的序列都在乳菇屬分支中。皮氏紅菇 (*Russula peckii*) 的分支中，來自子實體、核酸條帶定序或單一根尖分析的序列間相似度高，僅有第 33 個條帶定序獲得的序列跟其餘序列差距 1 bp，而這些樣本與 GenBank 的皮氏紅菇序列差距 3 bp。正紅菇的序列中，無論序列來源為子實體、條帶定序或單一根尖分析，序列間只差 1 bp，與 GenBank 的序列則差了 4 bp。*Russula* sp. 3 與 *Russula puellaris* 序列較為相近，264 bp 的序列中有 8 bp 的差異。此外，兩個 *Russula* sp. 2 的序列在長度 277 bp 中，有 2 bp 的差異。由序列比對可以知道共生紅菇的分類位置。

絲膜菌科的親緣樹共有 56 個樣本，比對的序列長度為 306 bp。



參考 Peintner 等人 (2002) 繪製的絲膜菌科親緣樹，以滑銹傘屬的 *Hebeloma cistophilum* 作為外群 (圖六)。其中，*Cortinarius* sp. 3、*Cortinarius* sp. 6、*Cortinarius* sp. 7、*Cortinarius* sp. 8、*Cortinarius* sp. 9、*Cortinarius* sp. 10、*Cortinariaceae* sp. 1 和 *Cortinariaceae* sp. 2 都與 GenBank 中的相關序列差距很大。而 *Cortinarius* sp. 1 與 *Cortinarius* cf. *multiformis* 的序列較相似，差距 10 bp。與 *Cortinarius* sp. 4 序列最接近的 *Cortinarius costaricensis*，則差距 13 bp。多數的絲膜菌科序列無法鑑定至種，以 *Cortinarius* sp. 5 與 GenBank 的 *Cortinarius acutus* 序列相似度較高，僅 5 bp 的差異。

## 討 論

### 一、台灣冷杉與台灣鐵杉混合林的外生菌根真菌豐度

本研究在合歡山 0.02 公頃的台灣冷杉與台灣鐵杉混合林，調查到 32 種外生菌根真菌，這個混合林的外生菌根真菌有很高的豐度。儘管各研究之氣候、林相、面積與採樣方式有別，對照同樣使用菌根核酸分析混合林的外生菌根真菌研究的三個例子：一、2.85 公頃的針葉混合林，由 95 棵亞高山冷杉 (*Abies lasiocarpa*) 各 200 個根尖樣本，分析各形態菌根共獲 74 種外生菌根真菌 (Kranabetter et al., 2009)；二、0.0625 公頃的花旗松 (*Pseudotsuga menziesii*) 和放射松 (*Pinus muricata*) 混合林的 25 個土柱，分析各形態的菌根，共獲得 16 種外生菌根真菌 (Horton and Bruns, 1998)；三、在三個面積 0.01 公頃的海岸松 (*Pinus contorta*) 和恩氏雲杉 (*Picea engelmannii*) 混合林的 27 個土壤樣本，共分析 726 個根尖，獲得 28 種外生菌根真菌 (Cullings et al., 2000)。這些研究顯示針葉林木有高多樣性的外生菌根真菌與之共生。

### 二、子實體調查與菌根核酸分析結果比較

相較於子實體調查，菌根核酸分析更能反映實際的外生菌根真菌群落 (Horton and Bruns, 2001)。在本研究調查的 32 種外生菌根真菌

中，僅 3 種有子實體記錄 (高明脩, 2012)，分別為李達鵝膏 (*Amanita liquii*)、正紅菇 (*Russula vinosa*) 和皮氏紅菇 (*Russula peckii*)，它們無論是地表的子實體或地下菌根偵測頻度，都是最優勢的菌種。其餘 29 種，沒有子實體調查記錄，表示許多外生菌根真菌即使存在菌根中，但是卻不產生明顯的子實體 (Gardes and Bruns 1996; Gehring et al., 1998; Jonsson et al., 1999)，可能由於這些菌種的生物量小，尚不足以產生子實體，或子實體不易被發現、較為罕見，也可能不具有性世代。

樣區內有辣乳菇 (*Lactarius piperatus*)、松塔牛肝菌 (*Strobilomyces strobilaceus*) 和蠟傘 (*Hygrophorus* sp.) 的子實體記錄 (高明脩, 2012)，而核酸分析未測到，也有幾個可能原因，它們可能分布侷限在小範圍內、菌根較罕見、在菌根的拓殖比例低、核酸序列與 PCR 引子的同源性 (homology) 較低。因此，不同的調查方法都有其價值。

此外，多數由菌根分析獲得的外生菌根真菌核酸序列，與現有資料庫的序列相似度低，只能鑑定到屬或科 (表三、表六)，顯示我們對外生菌根真菌的了解有限，還有許多有待探索。

### 三、本研究外生菌根真菌在世界的地理分布和功能群分類

外生菌根真菌依其分布分為三大類：世界性廣布種、北半球溫帶

分布種和南半球分布種 (Tedersoo et al., 2010)。本樣區調查到的外生菌根真菌多為世界性廣布的菌科或菌屬，包含：紅菇屬 (*Russula*) 8 種、乳菇屬 (*Lactarius*) 3 種、鵝膏屬 (*Amanita*) 1 種、齒菌屬 (*Hydnum*) 1 種、絲膜菌科 (Cortinariaceae) 13 種，鎖瑚菌科 (Clavulinaceae) 2 種，革菌科 (Thelephoraceae) 3 種，牛肝菌科 (Boletaceae) 1 種，它們通常與森林生態系中最主要的植物類群 (如：松科) 共生，擁有最高的物種多樣性和豐量 (Buyck et al., 2008)，屬於世界性的優勢物種。本樣區內有 1 種蠟蘑屬 (*Laccaria*) 真菌，該屬主要分布在北半球溫帶地區、澳洲、紐西蘭和南美洲南方 (Tedersoo et al., 2010)，在這個氣候類似溫帶地區的亞熱帶亞高山森林，也有蠟蘑在此生長。

外生菌根真菌依照其子實體出現的演替時期，分為早期 (early stage) 物種和晚期 (late stage) 物種兩大功能群 (Mason et al., 1982; 1983)。本樣區最佔優勢的紅菇屬、乳菇屬、絲膜菌科、鵝膏屬、牛肝菌科、革菌科真菌，皆為典型的晚期物種 (Deacon & Fleming, 1992)，它們藉由孢子傳播進入棲地，接著拓展菌絲網路，這類菌對碳源、氮源的需求量高 (Bruns, 1995)，通常環境耐受度高、較有競爭力 (Grime, 1979; Cooke and Rayner, 1984)。而蠟蘑屬真菌是本研究唯一調查到的早期物種 (Mason et al., 1982)，早期物種能夠利用孢子快速地在森林中生長拓殖 (Deacon et al., 1983; Fox, 1983)，經常拓殖在

根系的邊緣，多為 R 選擇型物種 (R-selected species) (Deacon & Fleming, 1992)。在合歡山海拔 3,000 公尺左右的森林，台灣冷杉為先驅樹種，建構森林並穩定環境條件後，台灣鐵杉才逐漸拓展族群 (高文靜，2010)，而本研究的混合林，擁有 83.24% 的台灣冷杉和 15.82% 台灣鐵杉，二者都有的 100 公分以上大徑級的林木，加上本研究調查到的外生菌根真菌多為晚期物種，無論從林相或菌相來看，此混合林是一個演替後期的森林。

#### 四、宿主物種與外生菌根真菌多樣性

台灣冷杉與台灣鐵杉的外生菌根真菌群落組成沒有顯著差異 (圖七)，顯示在此混合林中，二個樹種之外生菌根真菌遺傳多樣性相似，有兩個可能性：在此森林中，多數的外生菌根真菌跨宿主共生，或者在樹種內的外生菌根菌群落組成差異大於樹種間差異。

過去物種多樣性研究顯示，在針闊葉混合林與闊葉混合林中，多數外生菌根菌種具有宿主偏好 (host preference) (Kennedy et al., 2003; Lang et al., 2011)，樹種是影響外生菌根真菌群落的重要生物因子。然而在美國的兩個研究中，以菌根核酸分析，花旗松 (*Pseudotsuga menziesii*) 和放射松 (*Pinus muricata*) 混合林測得 16 種外生菌根真菌，有 12 種可跨兩種宿主共生，其中 5 種為樣區中豐量 (abundance)

最高、佔整體生物量 (biomass) 80% 的菌種 (Horton and Bruns, 1998); 在海岸松 (*Pinus contorta*) 和恩氏雲杉 (*Picea engelmannii*) 混合林豐量最高的 18 種外生菌根真菌中，有 14 種跨兩種林木共生 (Cullings et al., 2000); 以及本研究在台灣冷杉和台灣鐵杉混合林測得 25 種優勢外生菌根菌，台灣冷杉和台灣鐵杉分別有 24 和 23 種外生菌根真菌，其中有 22 種可跨宿主共生 (表四)。由上述三個研究歸納，松科混合林的外生菌根真菌可跨宿主共生，這些優勢菌種能夠在不同宿主的根部間形成菌絲連結，促使宿主間的光合作用產物和養分交換 (Molina et al., 1992)，相較於宿主專一性的菌種，獲得較多的營養來源，因此成為最優勢的菌種。在針闊葉混合林，因宿主很不相同，具有宿主偏好的外生菌根菌，對特定宿主的生理機制適應力較好，進而提升營養交換效率 (Baxter and Dighton, 2001; Hobbie et al., 2005)，可能導致多數的共生菌種有宿主偏好。

紅菇科 (Russulaceae) 和革菌科 (Thelephoraceae) 真菌經常是森林生態系的優勢種，它們的成員有許多是廣宿主 (generalist) 的外生菌根菌 (Gardes and Bruns, 1996; Horton and Bruns, 1998; Horton et al., 1999; Stendell et al., 1999; Taylor and Bruns, 1999)。有宿主專一性的外生菌根真菌，如乳牛肝菌屬 (*Suillus*) 和鬚腹菌屬 (*Rhizopogon*) 成員，多數只與松科 (Gardes and Bruns, 1996; Molina and Trappe, 1982)

植物共生。在本研究測得的 25 種外生菌根真菌中，*Russula* sp. 1 和 *Cortinariaceae* sp. 2 只在台灣冷杉偵測到，*Thelephoraceae* sp. 1 只在台灣鐵杉偵測到，它們可能具有宿主專一性，也可能是子實體調查和菌根核酸分析未測到。以上推測，皆需要更多數據支持。

研究菌種宿主範圍的生態調查無法完全排除空間異質性和取樣造成的差異。過去研究利用菌根純合成 (pure culture synthese) 的方式 (Melin, 1921; HacsKaylo, 1953; Marx and Zak, 1965; Molina, 1979)，觀察各菌種的菌根形態。此法製作孢子懸浮液或培養基長出的菌絲體，接種於無菌的苗木，或許能應用在菌種的宿主範圍測試。然而，許多菌根真菌的子實體取得不易，也無法培養，因此目前對於外生菌根真菌的宿主範圍了解仍有限。

## 五、樹齡、樹徑與外生菌根真菌多樣性

### 5.1 外生菌根真菌遺傳多樣性

本研究的台灣冷杉四個徑級代樹齡分級，根據張惠珠和古心蘭 (2000) 之徑級與樹齡之推算，樹齡分別為 27, 109, 148, 264 年，這四個齡級台灣冷杉外生菌根真菌變性梯度凝膠電泳分析的遺傳多樣性相似 (圖八)，但是各齡樹的菌根菌群落組成有差異 (圖七)，年齡相近的台灣冷杉，它們樣本間的外生菌根真菌群落組成較為相似 (圖

十)。以上顯示，台灣冷杉的外生菌根真菌群落組成隨樹齡有所變化，但外生菌根真菌的遺傳多樣性不受影響；四個徑級台灣鐵杉的外生菌根菌遺傳多樣性差異不大（圖八），且台灣鐵杉間的外生菌根真菌群落組成較四棵台灣冷杉間的差異小（圖七），但徑級較小的鐵杉 T1 和 T2 的樣本較相似，最大徑級的鐵杉 T4 與 T2、T3 的較多樣本相似（圖十一），顯示台灣鐵杉的外生菌根真菌群落組成隨樹徑大小而變化，但菌根菌遺傳多樣性不受影響。綜合以上兩者，在此混合林中，林木的樹齡和樹徑影響了外生菌根真菌群落組成。樹徑和樹齡對於外生菌根真菌的影響，可能與樹冠鬱閉 (crown closure) 程度有關。樹冠鬱閉度影響了宿主光合作用效率，各齡樹能夠供給的養分多寡相異。加上有些菌種在樹冠疏開 (opening) 時，無法維持根尖拓殖率 (root colonization)，必須要在根系密度高、菌絲接觸多的情況下，才能夠存活 (Kranabetter and Friesen, 2002)，可能因此導致各徑級、各齡樹外生菌根真菌群落組成之差異。

## 5.2 優勢菌種之外生菌根真菌豐度

台灣冷杉與台灣鐵杉的優勢外生菌根真菌豐度 (richness) 在各徑級林木間變化不大（表四），與子實體調查結果相似（高明脩，2012）。在此森林中，各徑級台灣鐵杉的菌根菌豐度也沒有顯著差異



差異；本研究四棵台灣冷杉的徑級皆介於 30~100 公分，子實體調查則顯示，台灣冷杉樹苗的菌根菌豐度最低，徑級 30~100 公分之菌種數沒有顯著差異，徑級 100 公分以上則擁有最高豐度。加拿大的西部鐵杉 (*Tsuga heterophylla*) 和海灘松 (*Pinus contorta*) 混合林研究則有不同的結果，Kranabetter 等人 (2005) 的子實體調查結果，顯示林分年齡未達 120 年以前，外生菌根真菌的豐度與林齡呈現正相關，推測是老齡林的森林建構較久，隨時間累積，可能擁有豐富的外生菌根菌種；而年輕的林分，森林建構不久，因而菌種較少。本研究調查的各齡林木都生長在同一個小樣區內，沒有林分建構時間、空間異質性 (spatial heterogeneity) 和菌種可及性 (inoculum availability) 的差異，因而能直接比較各齡林木的外生菌根真菌多樣性。在已知這 25 種外生菌根真菌中，有 20 種可跨三個徑級以上的台灣冷杉，有 17 種可跨三個徑級以上的台灣鐵杉，多數的優勢菌種無論林木徑級大小如何，都能夠與之共生。

## 六、一棵樹的外生菌根真菌多樣性

Cline (2004) 的菌根核酸分析研究顯示，一棵花旗松 (*Pseudotsuga menziesii*) 有 10~24 種外生菌根真菌；Saari 等人 (2005) 的研究顯示，一棵歐洲赤松 (*Pinus sylvestris*) 有 16 種外生菌根真菌。

本研究中，單株台灣冷杉和單株台灣鐵杉分別測得 17~22 種和 16~21 種優勢外生菌根真菌。綜合以上三個研究，一棵針葉樹有近 20 種外生菌根真菌與之共生。這些林木與多種外生菌根真菌形成菌根，可能促進它們的光合作用和增加養分獲得的能力，進而提升林木個體的適存度 (fitness) (Harley and Smith, 1983)。

## 七、各形態菌根之共生菌種

胡弘道 (1981) 報告台灣各地山脈的台灣冷杉和台灣鐵杉的菌根，分別有 7 種和 9 種菌根形態。其中，合歡山地區的台灣冷杉和台灣鐵杉，各有 6 種菌根形態。文中敘述台灣冷杉的黃色菌根、黑色菌根、白色 I 型菌根、白色 II 型菌根在本研究也有發現，本研究觀察到白色 III 型，卻未觀察到薔薇色菌根；在台灣鐵杉的樣本，本研究發現較為罕見的黃色 II 型菌根，卻未發現褐色 I 型。

本研究結果顯示，有 2 種菌根形態各由一種外生菌根真菌共生形成：蠟蘑 (*Laccaria* sp.1) 和台灣冷杉共生形成表面白色平滑而根尖粗短的白色 III 型菌根，皮氏紅菇 (*Russula peckii*) 與台灣鐵杉形成根尖較長的黃色 II 型菌根 (表六)，它們為樣本中較為罕見的菌根形態。

有二種菌根形態各由 2 種外生菌根真菌形成：正紅菇 (*Russula vinosa*) 與台灣冷杉形成根尖表面有黑色放射絲的黑色菌根，皮氏紅菇

亦可與兩種宿主形成該形態菌根。齒菌 (*Hydnum elliposporum*) 與台灣冷杉形成外表包覆淡棕色菌絲的白色 I 型根尖，與台灣鐵杉共生亦能和革菌 (Thelephoraceae sp. 2) 共同形成相同形態。目前發現黑色菌根型由紅菇屬真菌形成，白色 I 型菌根由齒菌形成。

另外，在各菌根樣本佔 60% 以上的黃色 I 型根尖，可由 6 種外生菌根真菌個別形成，其中，皮氏紅菇與兩種宿主共生，無論是單獨存在或與乳菇 (*Lactarius* sp. 2) 共同形成菌根，皆可形成黃色 I 型菌根。而紅菇 (*Russula* sp. 1)、乳菇 (*Lactarius* sp. 2) 分別與台灣冷杉共生，鎖瑚菌 (*Clavulina* sp. 1)、牛肝菌 (Boletaceae sp. 1) 和革菌 (Thelephoraceae sp. 1) 分別與台灣鐵杉共生，也都能形成黃色 I 型菌根，顯示多科外生菌根真菌可形成此菌根形態，可能因此在樣區內較常見。白色 II 型菌根在樣本中出現頻率稍低，由 4 種菌分別形成：絲膜菌 (*Cortinarius* sp. 9)、*Cortinarius* sp. 10 和蠟蘑 (*Laccaria* sp. 1) 與台灣冷杉形成白色 II 型，乳菇 (*Lactarius* sp. 3) 與台灣鐵杉形成該形態。

各菌根形態由特定菌種共生構成，多數菌根形態分別由 1~2 種外生菌根真菌所決定。在海岸松 (*Pinus pinaster*) 的 15 種菌根形態中，有 10 種形態僅測得 1~2 種外生菌根真菌 (Nieto and Carbone, 2009)，亦支持這項觀察。有少數菌根形態測得較多菌種，使外生菌根真菌物

種多樣性高於菌根形態多樣性。

有些外生菌根真菌可以與同一宿主形成多態的菌根：皮氏紅菇與兩種宿主均可形成兩種以上菌根形態；蠟蘑 (*Laccaria* sp. 1) 和台灣冷杉共生可以形成兩種菌根形態。

#### 八、單一菌根根尖的外生菌根菌多樣性

Linder 和 Banik (2009) 的研究顯示，根尖長度在 1.0~2.0 mm 的白雲杉菌根可測得 1~3 種外生菌根真菌，長度 5.0~6.0 mm 的根尖測得 1~4 種菌。本研究分析根尖長度介於 0.5 mm~5.6 mm 的菌根，每個根尖個別測得 1~2 種菌。在很小的一個根尖，都能有一種以上的外生菌根真菌共生。

Morris 等人 (2008) 分析櫟樹的 104 個單一根尖，26% 的根尖可測得兩種以上外生菌根真菌。本研究有 17% 的根尖 (6 個) 測得 2 種外生菌根真菌，台灣冷杉的黃色 I 型有 1 個根尖由皮氏紅菇和乳菇 (*Lactarius* sp. 2) 形成，台灣鐵杉的白色 I 型有 4 個根尖由齒菌 (*Hydnum ellipsosporum*) 和革菌 (Thelephoraceae sp. 2) 形成，這些菌種在自然環境中共同形成菌根。異種共生真菌能夠共同形成菌根。

## 九、變性梯度凝膠電泳分析之探討

本研究以變性梯度凝膠電泳 (DGGE) 分析外生菌根真菌 rDNA ITS 序列之遺傳多樣性，進而結合基因選殖 (cloning) 定序，鑑定優勢物種。DGGE 電泳膠的解析度佳，利於比對，能夠回收條帶進行序列分析 (Valášková and Baldrian, 2009)。DGGE 有許多優點，不需依賴培養方法，能夠快速分析大量的混合 DNA 樣本的遺傳多樣性，連同種外生菌根真菌之遺傳變異都可以表現在不同的電泳條帶，如條帶 7、條帶 16、條帶 20 和條帶 30 的 DNA 序列分析都是正紅菇 (*Russula vinosa*) (表三)。然而，DGGE 如同其他分子生物方法，容易在 PCR 過程中產生的偏差，且僅能呈現環境中相對優勢的菌種 (Muyer et al., 1993)。此外，本研究挑取的 24 個主要條帶中，有 14 個條帶分析出 2 種以上菌種 (表三)，可能是這些核酸序列的分子量大小相近、擁有相似比例的序列組成，以及核酸序列變性後的構型，致使它們停留在相同位置。此時可搭配基因選殖再行序列分析，便能同時獲得外生菌根菌的遺傳多樣性、物種多樣性和群落組成。

## 十、多源基因體學的可行性

多源基因體學 (Metagenomics) 的概念最早由 Handelsman 等人 (1998) 提出，可直接由環境中取得樣本，萃取的 DNA 經由酶切或震

盪成短片段再定序。這些短片段 (reads) 可以直接分析，亦可組裝成較大片段 (contigs) 再與資料庫進行比對，目前已成功應用在腸道菌 (Kurokawa et al., 2007) 及海洋微生物 (Venter et al., 2004) 等研究。若應用在外生菌根真菌的研究，萃取土壤菌絲或菌根的 DNA 進行分析，Metagenomics 的高輸出量或許更能完整呈現外生菌根菌相。但以現況而論，有以下幾個問題：一、外生菌根真菌的核酸資料庫尚未完備，可能導致多數序列只能比對出近緣種或屬。二、直接以較短序列長度的 reads 比對，有效資訊較少，準確度較低。三、以 contigs 比對，可獲得較多資訊，也有可能組裝錯誤。四、過去研究多以原核生物為主，真核生物基因體學的組裝系統正在開發。因此，目前最重要的仍是外生菌根真菌序列資料的累積，以利後續研究參考，也有助於菌根菌 Metagenomics 分析系統的開發與應用。

## 結 論

- 一、在台灣亞高山森林生態系 200 平方公尺的冷溫帶森林中有 36 種外生菌根真菌，顯示高海拔林木擁有多樣性的共生菌。
- 二、由變性梯度凝膠電泳條帶序列分析所獲的 25 種外生菌根真菌中，22 種跨台灣鐵杉與台灣冷杉兩種宿主共生，顯示在針葉混合林以跨宿主的外生菌根真菌為主，且兩種林木的外生菌根真菌群落組成無顯著差異。
- 三、同一樣區生長的胸高直徑 13.0~78.0 cm 的台灣冷杉分別有 17~21 種外生菌根真菌，胸徑 19.5~117.0 cm 的台灣鐵杉分別有 16~22 種外生菌根真菌，顯示各徑級的林木外生菌根真菌物種數未見差異。
- 四、菌根分析獲得的 32 種外生菌根真菌中，僅李達鵝膏 (*Amanita liquii*)、正紅菇 (*Russula vinosa*) 和皮氏紅菇 (*Russula peckii*) 有子實體記錄，且蕈菇調查獲得的辣乳菇 (*Lactarius piperatus*)、松塔牛肝菌 (*Strobilomyces strobilaceus*) 和蠟傘 (*Hygrophorus* sp.) 未在菌根樣本中測得，顯示以兩種調查方法更能呈現實際的外生菌根真菌多樣性。
- 五、以基因選殖與定序分析六種形態菌根共 36 個單一根尖樣本，共比對出 13 種外生菌根真菌，其中四種形態僅測得 1~2 種外生

菌根真菌，顯示共生菌種與菌根形態有關；但有兩種菌根形態分別測得 4 種和 6 種菌。

六、蠟蘑 (*Laccaria* sp.1) 和台灣冷杉共生可以形成兩種菌根形態；皮氏紅菇 (*Russula peckii*) 與兩種宿主均可形成兩種以上菌根形態，顯示它們能與宿主形成不同形態的菌根。



## 參考文獻

1. 弓明欽、陳應龍、仲崇祿。1997。菌根研究及應用。中國林業出版社。223頁。
2. 王也珍。1999。南仁山森林生態系研究—大型真菌生態之研究 (III)。行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告。計畫編號 NSC 88-2621-B-178-001-A10。
3. 王也珍、周文能。2004。環境生態指標之探討—觀霧地區大型真菌相調查。內政部營建署雪霸國家公園管理處委託研究報告。計畫編號 093301020500G1003。
4. 王也珍、周文能。2009。雪見地區大型真菌相調查。雪霸國家公園管理處委多辦理報告。
5. 何源三。2003。台灣北部地區野生菇菌資源之調查研究 (II)。桃園縣野生菇菌資源之調查研究。行政院農委會特有生物保育中心九十二年度科技計畫研究報告。計畫編號 92 農科-2.2.1-生-w2(8)。
6. 吳聲華。2000。陽明山地區菌類生物多樣性綜合調查之研究—陽明山地區無褶菌生物多樣性調查之研究 (I)。行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告。計畫編號 NSC89-2311-b178-003。
7. 吳聲華、周文能、王也珍。1996。玉山國家公園濁水區真菌相調查。玉山國家公園研究叢刊。1062: 82。
8. 沈義隆。2001。台灣地區牛肝菌之分子鑑定。國立中興大學植物系研究所，碩士論文。台中。
9. 林旭宏、賴國祥。2000。合歡山地區臺灣冷杉更新特性之探討。太魯閣2000高山生態多樣性研討會。47-52。
10. 林芳如。2002。不同菌劑對桉樹幼苗外生菌根形成之影響。國立台灣大學森林學系研究所，碩士論文。台北。
11. 林彥辰。2008。元埔農場人造林大型真菌之調查研究。國立中興大學生命科學系研究所，碩士論文。台中。
12. 周文能。2000。蓮華池分所泛傘菌類的資源調查。真菌學會會刊。15: 27-30。
13. 胡弘道。1981。台灣高山造林重要樹種菌根之研究。科學發展月刊。9: 303-334。
14. 胡弘道。1990。林木菌根。國立編譯館。台北。666頁。
15. 胡弘道、王亞男、劉啟福。2008。溫度及pH對臺灣塊菌與印度塊菌菌落在洋菜培養基上生長之效應。中華林學季刊。41: 43-58。
16. 胡弘道、黃鏡諺。2004。印度塊菌及台灣塊菌與青剛櫟形成菌根形態之比較。中華林學季刊。37: 259-267。
17. 胡弘道、黃鏡諺、沈偉強、林虔隆。不同溫度對青剛櫟接種兩種塊菌在菌根

- 形成與苗木生長之影響。臺灣大學生物資源暨農學院實驗林研究報告。21: 65-77。
18. 高文靜。2010。合歡山區亞高山針葉樹台灣冷杉林的族群結構與空間分佈之研究。靜宜大學生態學系研究所，碩士論文。台中。
  19. 高明脩。2012。合歡山地區台灣冷杉與台灣鐵杉的外生菌根真菌多樣性及生態。東海大學生命科學系研究所，碩士論文。台中。
  20. 高琇慧。2010。元埔農場台灣欒樹人造林大型真菌之調查研究。國立中興大學生命科學系研究所，碩士論文。台中。
  21. 高嘉鴻。2005。中果塊菌 (*Tuber mesentericum* Vitt.) 之分離、菌落生長及半無菌菌根合成。國立台灣大學森林環境暨資源學研究所，碩士論文。台北。
  22. 許秀玲。2010。元埔農場鐵刀木人造林大型真菌之調查研究。國立中興大學生命科學系研究所，碩士論文。台中。
  23. 張東柱。2004。瑞岩溪野生動物重要棲息環境大型真菌調查 (二)。行政院農委會林務局委託保育研究系列。計畫編號 93-04-8-01。
  24. 張東柱。2009。台灣多孔菌類多樣性及其應用。林業研究專訊。16: 18-21。
  25. 張東柱、周文能、吳聲華。2000。福山森林之大型擔子菌資源及監測種之族群變異。真菌學會會刊。15: 15-26。
  26. 張惠珠、古心蘭。2000。從合歡山台灣冷杉永久樣區之調查研究談起。太魯閣2000高山生態多樣性研討會。53-64。
  27. 陳怡君。2004。意大利白塊菇之半無菌菌根合成與不同pH介質對其菌根形成與青剛櫟葉部大量養分元素之效應。國立台灣大學森林學系研究所，碩士論文。台北。
  28. 陳淑榆。2010。元埔農場混合林大型真菌之調查研究。國立中興大學生命科學系研究所，碩士論文。台中。
  29. 陳復琴。2004。台灣產紅菇屬真菌分類學之研究。國立中興大學生命科學系研究所，博士論文。台中。
  30. 陳朝圳、王慈憶。2009。氣候變遷對台灣森林之衝擊評估與因應策略。林業研究專刊。16: 1-5。
  31. 陳潔音、顏江河。2004。菌根於重金屬污染土壤之復育效應。台大實驗林研究報告。18: 101-113。
  32. 游婉婷。2010。應用核糖體DNA片段鑑別宜蘭大學實驗林場木棲性大型真菌。國立宜蘭大學森林暨自然資源系研究所，碩士論文。宜蘭。
  33. 曾盛堂。1996。太魯閣國家公園合歡山地區危險因子之調查與分析。中興大學水土保持學研究所，碩士論文。台中。
  34. 曾詩涵。2010。大礁溪實驗林場疏伐木初期木棲性真菌調查。國立宜蘭大學森林暨自然資源系研究所，碩士論文。宜蘭。
  35. 曾璿融。2012。雪山東峰針闊葉混交林外生菌根菌研究。國立中興大學森林系研究所，碩士論文。台中。

36. 曾顯雄、林暉峻、袁如凌、周子禾、黃學聰。2006。雪山坑溪野生動物重要棲息環境之真菌資源調查。行政院農委會林務局東勢管理處委託。計畫編號 94-03-08-02。
37. 楊國禎、李笈克、黃江綸、何政賢。2011。合歡山台灣冷杉林永久樣區地被植物組成與長期動態變化之研究。太魯閣國家公園管理處委託研究報告。計畫編號 100301020400G1001。
38. 劉啟福。2010。歐亞主要塊菌在洋菜培養基生長之比較及其與青剛櫟形成菌根形態之研究。臺灣大學森林環境暨資源學研究所，博士論文。台北。
39. 顏江河、胡弘道、鍾旭和。1997。琉球鬆菌根造林木在煤礦棄土地對硫的吸收。臺灣林業科學。12: 475–480。
40. 蕭文偉、朱珮綺、王亞男、陳潔音。2010。溪頭鳳凰山之大型真菌調查。國立台灣大學實驗林研究報告。24: 209–215。
41. 簡秋源、葉開溫。1986。墾丁國家公園菌類植物之調查研究。內政部營建署墾丁國家公園管理處。保育研究報告第31號。
42. Agerer R (1991) Characterization of ectomycorrhiza. In: Norris JR, Read DJ, Varma AK (eds.) Techniques for the study of mycorrhiza. Methods Microbiology. Academic press, London, 23: 25–73
43. Agerer R (1995) Index of unidentified ectomycorrhizae IV. Names and identifications published 1993–1994. Mycorrhiza 5: 449–450
44. Akema T, Futai K (2005) Ectomycorrhizal development in a *Pinus thunbergii* stand in relation to the location on a slope and their effects on tree mortality from pine wilt disease. J For Res 10: 93–99
45. Allen MF (1991) The ecology of mycorrhizae. Cambridge university press, Cambridge, UK
46. Allen MF, Swenson W, Querejeta JJ, Egerton-Warburton LM, Treseder KK (2003) Ecology of mycorrhizae: a conceptual framework for complex interactions among plants and fungi. Annu Rev Phytopathol 41: 271–303
47. Allmer J, Vasiliauskas R, Ihrmark K, Stenlid J, Dahlberg A (2006) Wood-inhabiting fungal communities in woody debris of Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.), as reflected by sporocarps, mycelial isolations, and T-RFLP analysis. FEMS Microbiol Ecol 55: 57–67
48. Anderson IC, Campbell CD, Prosser JI (2003) Potential bias of fungal 18S rDNA and internal transcribed spacer polymerase chain reaction primers for estimating fungal biodiversity in soil. Environ Microbiol 5: 36–47
49. Ashkannejhad S, Horton TR (2006) Ectomycorrhizal ecology under primary succession on coastal sand dunes: interactions involving *Pinus contorta*, suilloid fungi and deer. New Phytol 169: 345–354
50. Avis PJ, McLaughlin DJ, Dentinger BC, Reich PB (2003) Long-term increase in

- nitrogen supply alters above- and below-ground ectomycorrhizal communities and increases the dominance of *Russula* spp. in a temperate oak savanna. *New Phytol* 160: 239–253
51. Bahram M, Põlme S, Kõljalg U, Tedersoo L (2011) A single European aspen (*Populus tremula*) tree individual may potentially harbour dozens of *Cenococcum geophilum* ITS genotypes and hundreds of species of ectomycorrhizal fungi. *FEMS Microbiol Ecol* 75: 313–320
  52. Baxter JW, Dighton J (2001) Ectomycorrhizal diversity alters growth and nutrient acquisition of grey birch (*Betula populifolia*) seedlings in host-symbiont culture conditions. *New Phytol* 152: 139–149
  53. Beiler KJ, Durall DM, Simard SW, Maxwell SA, Kretzer AM (2010) Mapping the wood-wide web: mycorrhizal networks link multiple Douglas-fir cohorts. *New Phytol* 185: 543–553
  54. Bills GF, Holtzman GI, Miller OK (1986) Comparison of ectomycorrhizal-basidiomycete communities in red-spruce versus northernhardwood forests of West Virginia. *Can J Bot* 64: 760–768
  55. Bougoure DS, Cairney JWG (2005) Fungi associated with hair roots of *Rhododendron lochiaie* (Ericaceae) in an Australian tropical cloud forest revealed by culturing and culture-independent molecular methods. *Environmental Microbiology* 7: 1743–1754
  56. Brundrett MC (2004) Diversity and classification of mycorrhizal associations. *Biol Rev Camb Philos Soc* 79: 473–495
  57. Brundrett MC (2009) Mycorrhizal associations and other means of nutrition of vascular plants: understanding the global diversity of host plants by resolving conflicting information and developing reliable means of diagnosis. *Plant Soil* 320: 37–77
  58. Bruns TD (1995) Thoughts on the processes that maintain local species diversity of ectomycorrhizal fungi. *Plant Soil* 170: 63–73
  59. Burke DJ, Martin KJ, Rygielwicz PT, Topa MA (2005) Ectomycorrhizal fungi identification in single and pooled root samples: terminal restriction fragment length polymorphism (TRFLP) and morphotyping compared. *Soil Biol Biochem* 37: 1683–1694
  60. Buyck B, Hofstetter V, Eberhardt U, Verbeken A, Kauff F (2008) Walking the thin line between *Russula* and *Lactarius*: the dilemma of *Russula* sect. *Ochricompactae*. *Fungal Diversity* 28: 15–40
  61. Cázares E, Trappe JM, Jumpponen A (2005) Mycorrhiza-plant colonization patterns on a subalpine glacier forefront as a model system of primary succession. *Mycorrhiza* 15: 405–416

62. Chen CM, Huang HW, Yeh KW (1997a) The Boletes of Taiwan (VI). *Taiwania* 42: 154–160
63. Chen CM, Huang HW, Yeh KW (1997b) The Boletes of Taiwan (VI). *Taiwania* 42: 174–179
64. Chen CM, Peng JJ, Lin TC (2002) Three New Records to Amanitae of Taiwan. *Endemic Species Research* 4: 53–59
65. Chen CM, Perng JJ, Yeh KW (1997c) The Boletes of Taiwan (VIII). *Taiwania* 42: 316–323
66. Chen CM, Peng JJ, Yeh KW (1998a) The Boletes of Taiwan (IX). *Taiwania* 42: 132–139
67. Chen CM, Yeh KW, Hsu HK (1998b) The Boletes of Taiwan (X). *Taiwania* 43: 140–149
68. Chen CM, Yeh KW (2000) The Boletes of Taiwan(XI). *Taiwania* 45: 201–206
69. Chou WN (2000) Nine species of fleshy Aphyllophorales (Basidiomycotina) new to Taiwan. *Fung Sci* 15: 147–152
70. Chou WN, Wang YZ (2004) Six Species of Tricholomataceae (Basidiomycotina) New to Taiwan. *Fung Sci* 19: 89–96
71. Chou WN, Wang YZ (2005) Nine species of *Russula* (Basidiomycotina) new to Taiwan. *Taiwania* 50: 93–100
72. Clarke KR, Warwick RM (2001) Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation. 2nd ed. PRIMER-E. Plymouth, UK.
73. Cline ET (2004) Mycorrhizal fungus communities of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*) seedlings and trees: effects of proximity to residual trees. Ph D thesis, College of forest resources, Seattle, WA.
74. Cline ET, Ammirati JF, Edmonds RL (2005) Does proximity to mature trees influence ectomycorrhizal fungus communities of Douglas-fir seedlings? *New Phytol* 166: 993–1009
75. Conn C, Dighton J (2004) Litter quality influences on decomposition, ectomycorrhizal community structure and mycorrhizal root surface acid phosphatase activity. *Soil Biol Biochem* 32: 489–496
76. Cooke RC, Rayner ADM (1984) Ecology of saprotrophic fungi. Longman, London and New York.
77. Courty PE, Franc A, Pierrat JC, Garbaye J (2008) Temporal changes in the ectomycorrhizal community in two soil horizons of a temperate oak forest. *Appl Environ Microb* 74: 5792–5801
78. Cullings KW, Vogler DR, Parker VT, Finley SK (2000) Ectomycorrhizal specificity patterns in a mixed *Pinus contorta* and *Picea engelmannii* forest in Yellowstone National Park. *Appl Environ Microbiol* 66: 4988–4991

79. Dahlberg A, Jonsson L, Nylund J (1997) Species diversity and distribution of biomass above and below ground among ectomycorrhizal fungi in an old-growth Norway spruce forest in south Sweden. *Can J Bot* 75: 1323–1335
80. Deacon JW, Donaldson SJ, Last FT (1983) Sequences and interactions of mycorrhizal fungi on birch. *Plant Soil* 71: 257–262
81. Deacon JW, Fleming LV (1992) Interactions of ectomycorrhizal fungi. In: Allen MF (ed.) *Mycorrhizal functioning an integrative plant-fungal process*. Chapman and Hall, New York, 249–300
82. DeBellis T, Kernaghan G, Bradley R, Widden P (2006) Relationships between stand composition and ectomycorrhizal structure in boreal mixed-wood forests. *Microbial Ecol* 52: 114–126
83. Dickie IA, Bing X, Koide RT (2002) Vertical niche differentiation of ectomycorrhizal hyphae in soil as shown by T-RFLP analysis. *New Phytol* 156: 527–535
84. Dickie I, Moyersoen B (2008) Towards a global view of ectomycorrhizal ecology. *New Phytol* 180: 263–265
85. Dickie IA, FitzJohn RC (2007) Using terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) to identify mycorrhizal fungi: a methods review. *Mycorrhiza* 17: 259–270
86. Dickie IA, Reich PB (2005) Ectomycorrhizal fungal communities at forest edges. *J Ecol* 93: 244–255
87. Dominik T (1969) Key to ectotrophic mycorrhizae. *Folia For Pol Ser A Lesn* 15: 309–328
88. Douhan GW, Petersen C, Bledsoe CS, Rizzo DM (2005) Contrasting root associated fungi of three common oak-woodland plant species based on molecular identification: host specificity or non-specific amplification? *Mycorrhiza* 15: 365–372
89. Doyle JJ, Doyle JL (1990) Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12: 13–15
90. Durall DM, Gamiet S, Simard SW, Kudrna L, Sakakibara SM (2006) Effects of clearcutting and tree species composition on the diversity and community composition of epigeous fruit bodies formed by ectomycorrhizal fungi. *Can J Bot* 84: 966–980
91. Erland S, Taylor FS (2002) Diversity of ectomycorrhizal fungal communities in relation to the abiotic environment. In: van der Heijden MGA, Sanders IR (eds.) *Mycorrhizal Ecology, Ecological Studies*. Springer, Berlin Heidelberg New York, 163–200
92. Felsenstein J (1995) PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.57c.

- Seattle: Department of Genetics, University of Washington.
93. Fierer N, Hamady M, Lauber CL, Knight R (2008) The influence of sex, handedness, and washing on the diversity of hand surface bacteria. *P Natl Acad Sci USA* 105:17994–17999
  94. Fox FM (1983) Role of basidiospores as inocula of mycorrhizal fungi of birch. *Plant Soil* 71: 269–273
  95. Frank AB (1885) Über die auf Wurzelsymbiose beruhende Ernährung gewisser Bäume durch unterirdische Pilze. *Ber Dtsch Bot Ges* 3: 128–145
  96. Fries N (1983) Spore germination, homing reaction, and intersterility groups in *Laccaria laccata* (Agaricales). *Mycologia* 75: 221–227
  97. Futai K, Taniguchi T, Kataoka R (2008) Ectomycorrhizae and their importance in forest ecosystems. In: Siddiqui ZA, Akhtar MS and Futai K (eds.) *Mycorrhizae: Sustainable Agriculture and Forestry*. Springer, Berlin, 241–285
  98. Gardes M, Bruns TD (1993) ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes—application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Mol Ecol* 2: 113–118
  99. Gardes M, Bruns TD (1996) Community structure of ectomycorrhizal fungi in a *Pinus muricata* forest: above- and below-ground views. *Can J Bot* 74: 1572–1583
  100. Gebhardt S, Neubert K, Wöllecke J, Münzenberger B, Hüttl RF (2007) Ectomycorrhiza communities of red oak (*Quercus rubra* L.) of different age in the Lusatian lignite mining district, East Germany. *Mycorrhiza* 17: 279–290
  101. Gehring CA, Theimer TC, Whitham TG, Kein P (1998) Ectomycorrhizal fungal community structure of Pinyon pines growing in two environmental extremes. *Ecology* 79: 1562–1572
  102. Giachini AJ, Souza LAB, Oliveira VL (2004) Species richness and seasonal abundance of ectomycorrhizal fungi in plantations of *Eucalyptus dunnii* and *Pinus taeda* in southern Brazil. *Mycorrhiza* 14: 375–381
  103. Goodman DM, Durall DM, Trofymow JA, Berch SM (1996) A manual of concise descriptions of North American ectomycorrhizae: including microscopic and molecular characterization. Mycologue Publications, B C Min of For, and the Can For Serv P F C, Victoria, Canada
  104. Grime JP (1979) *Plant Strategies and Vegetation Processes*. 1st edn. Wiley, New York, 222 pp
  105. Hacskaylo E (1953) Pure culture synthesis of pine mycorrhizae in Terra-lite. *Mycologia* 45: 971–975
  106. Handelsman J, Rondon MR, Brady SF, Clardy J, Goodman RM (1998) Molecular biological access to the chemistry of unknown soil microbes: a new frontier for natural products. *Chem Biol* 5: 245–249

107. Harley JL, Smith SE (1983) Mycorrhizal symbiosis. Academic Press, New York, 483
108. Hobbie EA, Jumpponen A, Trappe J (2005) Foliar and fungal (15) N: (14) N ratios reflect development of mycorrhizae and nitrogen supply during primary succession: testing analytical models. *Oecologia* 146: 258–268
109. Hobbie EA (2006) Carbon allocation to ectomycorrhizal fungi correlates with belowground allocation in culture studies. *Ecology* 87: 563–569
110. Horak E (1983) Mycogeography in the South Pacific Region: Agaricales, Bolctales. *Aust J Bot, Supplementary Series* 10: 1–41
111. Horton TR, Bruns TD (1998) Multiple-host fungi are the most frequent and abundant ectomycorrhizal types in a mixed stand of Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii*) and bishop pine (*Pinus muricata*). *New Phytol* 139: 331–339
112. Horton TR, Bruns TD (2001) The molecular revolution in ectomycorrhizal ecology: peeking into the black-box. *Mol Ecol* 10: 1855–1871
113. Horton TR, Bruns TD, Parker T (1999) Mycorrhizal fungi associated with *Arctostaphylos facilitate* the establishment of *Pseudotsuga menziesii* during succession. *Can J Bot* 77: 93–102
114. Ishida TA, Nara K, Hogetsu T (2007) Host effects on ectomycorrhizal fungal communities: insight from eight host species in mixed conifer-broadleaf forests. *New Phytol* 174: 430–440
115. Janos DP (1980) Mycorrhizae influence tropical succession. *Biotropica* 12: 56–64
116. Johnson CN (1996) Interactions between mammals and ectomycorrhizal fungi. *Trends Ecol Evol* 11: 503–507
117. Johnsen K, Maier C, Kress L (2005) Quantifying root lateral distribution and turnover using pine trees with a distinct stable carbon isotope signature. *Ecology* 19: 81–87
118. Jonsson T, Kokalj S, Finlay R, Erland S (1999) Ectomycorrhizal community structure in a limed spruce forest. *Mycol Res* 103: 501–508
119. Jonsson L, Nilsson M, Wardel DA, Zackrisson O (2001) Context dependant effects of ectomycorrhizal species richness on tree seedlings productivity. *Oikos* 93: 353–364
120. Ju YM, Tzean SS (1985a) Investigations of Xylariaceae in Taiwan. II. The teleomorph of *Hypoxylon*. *Trans Mycol Soc R O C* 1: 13–27
121. Ju YM, Tzean SS (1985b) Investigations of Xylariaceae in Taiwan. I. The teleomorph of *Xylaria*. *Trans Mycol Soc R O C* 1: 103–128
122. Jukes TH, Cantor CR (1969) Evolution of Protein Molecules. In Munro HN (ed.) *Mammalian protein metabolism*. Academic Press, New York, 21–132



123. Jumpponen A (2003) Soil fungal community assembly in a primary successional glacier forefront ecosystem as inferred from rDNA sequence analysis. *New Phytol* 158: 569–578
124. Jumpponen A (2007) Soil fungal communities underneath willow canopies on a primary successional glacier forefront: rDNA sequence results can be affected by primer selection and chimeric data. *Microb Ecol* 53: 233–246
125. Kennedy PG, Izzo AD, Bruns TD (2003) There is high potential for the formation of common mycorrhizal networks between understorey and canopy trees in a mixed evergreen forest. *J Ecol* 91: 1071–1080
126. Kernaghan G (2005) Mycorrhizal diversity: cause and effect? *Pedobiologia* 49: 511–520
127. Kernaghan G, Widden P, Bergeron Y, Légaré S, Paré D (2003) Biotic and abiotic factors affecting ectomycorrhizal diversity in boreal mixed-woods. *Oikos* 102: 497–504
128. Kitts CL (2001) Terminal restriction fragment patterns: a tool for comparing microbial communities and assessing community dynamics. *Curr Issues Intest Microbiol* 2: 17–25
129. Koide RT, Xu B, Sharda J, Lekberg Y, Ostiguy N (2005) Evidence of species interactions within an ectomycorrhizal fungal community. *New Phytol* 165: 305–316
130. Korkama-Rajala T, Mueller MM, Pennanen T (2008) Decomposition and fungi of needle litter from slow and fast-growing Norway spruce (*Picea abies*) clones. *Microb Ecol* 56: 76–89
131. Kranabetter JM, Friesen J (2002) Ectomycorrhizal community structure on western hemlock seedlings transplanted from forests into openings. *Can J Bot* 80: 861–868
132. Kranabetter JM, Friesen J, Gamiet S, Kroeger P (2005) Ectomycorrhizal mushroom distribution by stand age in western hemlock–lodgepole pine forests of northwestern British Columbia. *Can J Forest Res* 35: 1527–1539
133. Kranabetter JM, Durall DM, MacKenzie WH (2009) Diversity and species distribution of ectomycorrhizal fungi along productivity gradients of a southern boreal forest. *mycorrhiza* 19: 99–111
134. Kurokawa K, Itoh T, Kuwahara T, Oshima K, Toh H, Toyoda A, Takami H, Morita H, Sharma VK, Srivastava TP, Taylor TD, Noguchi H, Mori H, Ogura Y, Ehrlich DS, Itoh K, Takagi T, Sakaki Y, Hayashi T, Hattori M (2007) Comparative metagenomics revealed commonly enriched gene sets in human gut microbiomes. *DNA Res* 14: 169–181
135. Landeweert R, Leeflang P, Kuyper T, Hoffland E, Rosling A, Wernars K, Smit E

- (2003) Molecular identification of ectomycorrhizal mycelium in soil horizons. *Appl Environ Microbiol* 69: 327–333
136. Lang C, Seven J, Polle A (2011) Host preferences and differential contributions of deciduous tree species shape mycorrhizal species richness in a mixed Central European forest. *Mycorrhiza* 21: 297–308
137. Last F, Dighton J, Mason P (1987) Successions of sheathing mycorrhizal fungi. *Trends Ecol Evol* 2: 157–160
138. Lebel T, Tonkin JE (2007) Australasian species of *Macowanites* are sequestrate species of *Russula* (Russulaceae, Basidiomycota). *Aust Syst Bot* 20: 355–381
139. Lilleskov EA, Bruns TD, Dawson TE, Camacho FJ (2009) Water sources and controls of water-loss rates of epigeous ectomycorrhizal fungal sporocarps during summer drought. *New Phytol* 182: 483–494
140. Lin WR, Chen WC, Wang PH (2011) Effects of forest thinning on diversity and function of macrofungi and soil microbes. *Sydowia* 63: 67–77
141. Lindner DL, Banik MT (2009) Effects of cloning and root-tip size on observations of fungal ITS sequences from *Picea glauca* roots. *Mycologia* 101: 157–165
142. Liu WT, Marsh TL, Chen H, Forney LJ (1997) Characterization of microbial diversity by determining terminal restriction fragment length polymorphisms of gene encoding 16S rRNA. *Appl Environ Microbiol* 63: 4516–4522
143. Lucic E, Fourrey C, Kohler A, Martin F, Chalot M, Brun-Jacob A (2008) A gene repertoire for nitrogen transporters in *Laccaria bicolor*. *New Phytol* 180: 343–364
144. Lukow T, Dunfield PF, Liesack W (2000) Use of the T-RFLP technique to assess spatial and temporal changes in the bacterial community structure within an agricultural soil planted with transgenic and non-transgenic potato plants. *FEMS Microbiol Ecol* 3: 241–247
145. Mahmood S, Finlay RD, Fransson A-M, Wallander H (2003) Effects of hardened wood ash on microbial activity, plant growth and nutrient uptake by ectomycorrhizal spruce seedlings. *FEMS Microbiol Ecol* 43: 121–131
146. Marjanović Ž, Uehlein N, Kaldenhoff R, Zwiazek JJ, Weiß M, Hampp R, Nehls U (2005) Aquaporins in poplar: what a difference a symbiont makes! *Planta* 222: 258–268
147. Marsh TL (1999) Terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP): an emerging method for characterizing diversity among homologous populations of amplification products. *Curr Opin Microbiol* 2: 323–327
148. Marx DH, Zak B (1965) Effect of pH on mycorrhizae formation of slash pine in aseptic culture. *For Sci* 11: 66–75

149. Maser C, Trappe JM (1984) The seen and unseen world of the fallen tree. USDA Forest Service, Pacific Northwest Forest and Range Experiment Station, General Technical Report PNW-164, 56 pp
150. Martin F, Aerts A, Ahren D, Brun A, Danchin EGJ, Duchaussoy F, Gibon J, Kohler A, Lindquist E, Pereda V, Salamov A, Shapiro HJ, Wuyts J, Blaudez D, Buee M, Brokstein P, Canbäck B, Cohen D, Courty PE, Coutinho PM, Delaruelle C, Detter JC, Deveau A, DiFazio S, Duplessis S, Fraissinet-Tachet L, Lucic E, Frey-Klett P, Fourrey C, Feussner I, Gay G, Grimwood J, Hoegger PJ, Jain P, Kilaru S, Labbe J, Lin YC, Legue V, Le Tacon F, Marmeisse R, Melayah D, Montanini B, Muratet M, Nehls U, Niculita-Hirzel N, Oudot-Le MP, Peter M, Quesneville H, Rajashekar B, Reich M, Rouhier N, Schmutz J, Yin T, Chalot M, Henrissat B, Kues U, Lucas S, Van de Peer Y, Podila G, Polle A, Pukkila PJ, Richardson PM, Rouze P, Sanders IR, Stajich JE, Tunlid A, Tuskan G, Grigoriev IV (2008) Symbiosis insights from the genome of the mycorrhizal Basidiomycete *Laccaria bicolor*. *Nature* 452: 88–92
151. Massicotte HB, Molina R, Luoma DL, Smith JE (1994) Biology of the ectomycorrhizal genus, *Rhizopogon*. II. Patterns of hostfungus specificity following spore inoculation of diverse hosts grown in monoculture and in culture. *New Phytol* 126: 677–690
152. Masicotte HB, Molina R, Tackaberry LE, Smith JE, Amaranthus MP (1999) Diversity and host specificity of ectomycorrhizal fungi retrieved from three adjacent forest sites by five host species. *Can J Bot* 77: 1053–1076
153. Mason PA, Last FT, Pelham J, Ingleby K (1982) Ecology of some fungi associated with an ageing stand of birches (*Betula pendula* and *B. pubescens*). *For Ecol Manage* 4: 19–39
154. Mason PA, Wilson J, Last FT, Walker C (1983) The concept of succession in relation to the spread of sheathing mycorrhizal fungi on inoculated tree seedlings growing in unsterile soils. *Plant Soil* 71: 247–256
155. Matsuda Y, Hijii N (1998) Spatiotemporal distribution of fruitbodies of ectomycorrhizal fungi in an *Abies firma* forest. *Mycorrhiza* 8: 131–138
156. Melin E (1921) Uber die Mycorrhizempilze von *Pinus sylvestris* and *Picea abies*. *Sv Bot Tidskr* 15: 192–203
157. Molina R, Masicotte HB, Trappe JM (1992) Specificity phenomena in mycorrhizal symbiosis: community-ecological consequences and practical implications. In: Allen MF (ed.) *Mycorrhizal Functioning—an Integrated Plant–Fungus Process*. Chapman and Hall, New York, USA, pp 357–423
158. Molina R (1979) Pure culture synthesis and host specificity of Red Alder mycorrhiza, *Can J Bot* 57: 1123–1125

159. Molina R, Trappe JM (1982) Patterns of ectomycorrhizal host specificity and potential among Pacific northwest conifers and fungi. *Forest Sci* 28: 423–458
160. Morris MH, Pérez-Pérez MA, Smith ME, Bledsoe CS (2008) Multiple species of ectomycorrhizal fungi are frequently detected on individual oak root tips in a tropical cloud forest. *Mycorrhiza* 18: 375–383
161. Morris MH, Pérez-Pérez MA, Smith ME, Bledsoe CS (2009) Influence of host species on ectomycorrhizal communities associated with two co-occurring oaks (*Quercus* spp) in a tropical cloud forest. *FEMS Microbiol Ecol* 69: 274–287
162. Moser MA, Petersen CA, D’Allura JA, Southworth D (2005) Comparison of ectomycorrhizas of *Quercus garryana* (Fagaceae) on serpentine and nonserpentine soils in southwestern Oregon. *Am J Bot* 92: 224–230
163. Muyzer G, De Waal EC, Uitterlinden AG (1993) Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction–amplified genes coding for 16S rRNA. *Appl Environ Microbiol* 59: 695–700
164. Myers RM, Fischer SG, Lerman LS, Maniatis T (1985) Nearby all base substitution in DNA fragments joined to a GCclamp can be detected by denaturing gradient gel electrophoresis. *Nucleic Acids Res* 13: 3131–3145
165. Nantel P, Neumann P (1992) Ecology of ectomycorrhizal–basidiomycete communities on a local vegetation gradient. *Ecology* 73: 99–117
166. Nara K (2006) Pioneer dwarf willow may facilitate tree succession by providing late colonizers with compatible ectomycorrhizal fungi in a primary successional volcanic desert. *New Phytol* 171: 187–198
167. Nara K (2009) Spores of ectomycorrhizal fungi: ecological strategies for germination and dormancy. *New Phytol* 181: 245–248
168. Nara K, Hogetsu T (2004) Ectomycorrhizal fungi on established shrubs facilitate subsequent seedling establishment of successional plant species. *Ecology* 85: 1700–1707
169. Nara K, Nakaya H, Wu B, Zhou Z, Hogetsu T (2003) Underground primary succession of ectomycorrhizal fungi in a volcanic desert on Mount Fuji. *New Phytol* 159: 743–756
170. Nieto MP, Carbone SS (2009) Characterization of juvenile maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.) ectomycorrhizal fungal community using morphotyping, direct sequencing and fruitbodies sampling. *Mycorrhiza* 19: 91–98
171. O’Dell TE, Ammirati JF, Schreiner EG (1999) Species richness and abundance of ectomycorrhizal basidiomycete sporocarps on a moisture gradient in the *Tsuga heterophylla* zone. *Can J Bot* 77: 1699–1711
172. Peintner U, Horak E, Moser MM, Vilgalys R (2002) Phylogeny of Rozites,

- Cuphocybe and Rapacea inferred from ITS and LSU rDNA sequences. *Mycologia* 94: 620–629
173. Perry DA, Amaranthus MP, Borchers JG, Borchers SL, Brainerd RE (1989) Bootstrapping in ecosystems. *BioScience* 39: 230–237
174. Read DJ (1991) Mycorrhizas in ecosystems. *Experientia* 47: 376–391
175. Renker C, Weisshuhn K, Kellner H, Buscot F (2006) Rationalizing molecular analysis of field-collected roots for assessing diversity of arbuscular mycorrhizal fungi: to pool, or not to pool, that is the question. *Mycorrhiza* 16: 525–531
176. Rumberger MD, Münzenberger B, Bens O, Ehrig F, Lentzsch P, Hüttl RF (2004) Changes in diversity and storage function of ectomycorrhiza and soil organoprofile dynamics after introduction of beech into Scots pine forests. *Plant Soil* 264: 111–126
177. Saari S, Campbell C, Russell J, Alexander I, Anderson I (2005) Pine microsatellite markers allow roots and ectomycorrhizas to be linked to individual trees. *New Phytol* 165: 295–304
178. Saitou N, Nei M (1987) The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol* 4: 406–425
179. Sanmartin I, Ronquist F (2004) Southern Hemisphere biogeography inferred by event-based models: plant versus animal patterns. *Syst Biol* 53: 216–243
180. Sawada K (1959) Descriptive catalogue of Taiwan Fungi. Part XI. Special Publication no. 8, College of Agriculture, National Taiwan University, Taipei, 268 pp
181. Smith SE, Read DJ (1997) *Mycorrhizal Symbiosis*, 2nd ed. Academic Press, London, UK, 605 pp
182. Smith SE, Read DJ (2008) *Mycorrhizal symbiosis*, 3rd ed. Academic Press, London, UK
183. Smith ME, Douhan GW, Rizzo DM (2007a) Intra-specific and intra-sporocarp ITS variation of ectomycorrhizal fungi as assessed by rDNA sequencing of sporocarps and pooled ectomycorrhizal roots from a *Quercus* woodland. *Mycorrhiza* 18: 15–22
184. Smith ME, Douhan GW, Rizzo DM (2007b) Ectomycorrhizal community structure in a xeric *Quercus* woodland based on rDNA sequence analysis of sporocarps and pooled roots. *New Phytol* 174: 847–863
185. Stendell E, Horton TR, Bruns TD (1999) Short-term effects of a ground fire on the ectomycorrhizal community. *Mycol Res* 103: 1353–1359
186. Suz LM, Martin MP, Oliach D, Fischer CR, Colinas C (2008) Mycelial abundance and other factors related to truffle productivity in *Tuber melanosporum*–*Quercus ilex* orchards. *FEMS Microbiol Lett* 285: 72–78

187. Talbot JM, Treseder KK (2010) Controls over mycorrhizal uptake of organic nitrogen. *Pedobiologia* 53: 169–179
188. Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S (2007) MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Mol Biol Evol* 24: 1596–1599
189. Taylor AFS, Alexander I (2005) The ectomycorrhizal symbiosis: in the real world. *Mycologist* 19: 102–112
190. Taylor DL, Bruns TD (1999) Community structure of ectomycorrhizal fungi in a *Pinus muricata* forest: Minimal overlap between the mature forest and resistant propagule communities. *Mol Ecol* 8: 1837–1850
191. Tedersoo L (2007) Ectomycorrhizal fungi: diversity and community structure in Estonia, Seychelles and Australia. Ph D Thesis. University of Tartu, Estonia.
192. Tedersoo L, Koljalg U, Hallenberg N, Larsson KH (2003) Fine scale distribution of ectomycorrhizal fungi and roots across substrate layers including coarse woody debris in a mixed forest. *New Phytol* 159: 153–165
193. Tedersoo L, Suvi T, Larsson E, Kõljalg U (2006) Diversity and community structure of ectomycorrhizal fungi in a wooded meadow. *Mycol Res* 110: 734–748
194. Tedersoo L, Suvi T, Beaver K, Kõljalg U (2007) Ectomycorrhizal fungi of the Seychelles: diversity patterns and host shifts from the native *Vateriopsis seychellarum* (Dipterocarpaceae) and *Intsia bijuga* (Caesalpinaceae) to the introduced *Eucalyptus robusta* (Myrtaceae), but not *Pinus caribea* (Pinaceae). *New Phytol* 175: 321–333
195. Tedersoo L, Suvi T, Jairus T, Kõljalg U (2008) Forest microsite effects on community composition of ectomycorrhizal fungi on seedlings of *Picea abies* and *Betula pendula*. *Environ Microbiol* 10: 1189–1201
196. Tedersoo L, Gates G, Dunk C, Lebel T, May TW, Dunk C, Lebel T, Kõljalg U, Jairus T (2009) Establishment of ectomycorrhizal fungal community on isolated *Nothofagus cunninghamii* seedlings regenerating on dead wood in Australian wet temperate forests: does fruit-body type matter? *Mycorrhiza* 19: 403–416
197. Tedersoo L, May TW, Smith ME (2010) Ectomycorrhizal lifestyle in fungi: global diversity, distribution, and evolution of phylogenetic lineages. *Mycorrhiza* 20: 217–263
198. Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins DG (1997) The CLUSTAL\_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res* 25: 4876–4882
199. Trappe JM (1967) Pure culture synthesis of Douglas fir mycorrhizae with species of *Hebeloma*, *Suillus*, *Rhizopogon* and *Astraeus*. *For Sci* 13: 121–130
200. Tschen JSM, Ho IC, Hsu HS, Tschen EFT (2004) Distribution of macrofungi in the Quantaushi forest, a long-term ecological research site in Taiwan. *Fung Sci* 19:

201. Twieg B, Durall DM, Simard SW (2007) Ectomycorrhizal fungal succession in mixed temperate forests. *New Phytol* 176: 437–447
202. Twieg B, Durall DM, Simard SW, Jones MD (2009) Influence of stand age and soil properties on ectomycorrhizal communities in mixed temperate forests. *Mycorrhiza* 19: 305–316
203. Valášková V, Baldrian P (2009) Denaturing gradient gel electrophoresis as a fingerprinting method for the analysis of soil microbial communities. *Plant Soil Environ* 55: 413–423
204. Venter, JC, Remington, K, Heidelberg, JF, Halpern, AL, Rusch, D, Eisen, JA, Wu, DY, Paulsen, I, Nelson, KE, Nelson, W, Fouts, DE, Levy, S, Knap, AH, Lomas, MW, Neelson, K, White, O, Peterson, J, Hoffman, J, Parsons, R, Baden-Tillson, H, Pfannkoch, C, Rogers, YH, Smith, HO (2004) Environmental genome shotgun sequencing of the Sargasso Sea. *Science* 304: 66–74
205. Villeneuve N, Grandtner MM, Fortin AJ (1989) Frequency and diversity of ectomycorrhizal and saprophytic fungi in the Laurentian mountains of Quebec. *Can J Bot* 67: 2616–2629
206. Visser S (1995) Ectomycorrhizal fungal succession in jack pine stands following wildfire. *New Phytol* 129: 389–401
207. Walker JF, Miller OK, Horton JL (2005) Hyperdiversity of ectomycorrhizal fungus assemblages on oak seedlings in mixed forests in the southern Appalachian Mountains. *Mol Ecol* 14: 829–838
208. Wallander H, Wickman T, Jacks G (1997) Apatite as a P source in mycorrhizal and non-mycorrhizal *Pinus sylvestris* seedlings. *Plant Soil* 196: 123–131
209. Wang YZ (1993) Coprophilous discomycetes in Taiwan (I). *Bull Natl Mus Nat Sci* 4: 113–123
210. Wang YZ (2002) Investigations of Ascomycetes at Lanyu. *Coll and Res* 15: 81–85
211. White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Inniss MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ (eds) *PCR Protocols*. Academic Press, San Diego, 315–322
212. Wu ML, Su YC, Baral HO, Liang SH (2007) Two new species of *Hyalorbilia* from Taiwan. *Fungal Diversity* 25: 233–244
213. Wu SH (1995) Twelve species of the Aphyllophorales new to Taiwan. *Fung Sci* 10: 9–22
214. Wu SH (2000) Survey of the Corticiaceae in Taiwan, to 2000. *Fung Sci* 15: 69–80
215. Wu SH, Chen HC (2002) Preliminary survey of wood-decaying Basidiomycota

- in Lanyu, Taiwan. Coll and Res 15: 77–80
216. Yang ZL, Chen CM (2003) *Amanita yenii*, a new species of *Amanita* section *Lepidella*. Mycotaxon 88: 455–462
217. Yeh KW, Chen ZC (1980) The Boletes of Taiwan (I). Taiwania 25: 166–184
218. Yeh KW, Chen ZC (1981) The Boletes of Taiwan (II). Taiwania 26: 100–115
219. Yeh KW, Chen ZC (1982) The Boletes of Taiwan (III). Taiwania 27: 52–63
220. Yeh KW, Chen ZC (1983) The Boletes of Taiwan (IV). Taiwania 28: 122–127
221. Yeh KW, Chen ZC (1985) The Boletes of Taiwan (V). Trans Mycol Soc R O C 1: 71–76



## 表目錄

表一、樣樹的胸高直徑、冠幅半徑與估算樹齡 .....	75
表二、以變性梯度凝膠電泳分析菌根樣本外生菌根真菌 rDNAITS 核酸條帶分佈 .....	76
表三、外生菌根真菌 rDNA ITS 片段之變性梯度凝膠電泳主要條帶 序列與 GenBank 比對相似度最高之序列資訊 .....	78
表四、外生菌根真菌變性梯度膠體電泳圖譜中，25 種外生菌根真 菌對應條帶的偵測情形 .....	81
表五、六種菌根形態型的外觀描述與其宿主 .....	83
表六、台灣鐵杉和台灣冷杉的六種形態菌根之外生菌根真菌 rDNA ITS 序列與 GenBank 比對相似度最高之序列資訊 .....	84

## 圖目錄

圖一、樣區地理位置圖 .....	87
圖二、各樣樹菌根採樣與混樣方法 .....	88
圖三、以變性梯度凝膠電泳分析單株台灣冷杉外生菌根真菌的遺 傳多樣性與累積樣本數之稀釋曲線 .....	89
圖四、四個徑級台灣鐵杉與台灣冷杉菌根樣本的外生菌根真菌的 變性梯度膠體電泳圖譜 .....	90
圖五、以鄰接法繪製紅菇科 rDNA ITS 序列的親緣樹 .....	91
圖六、以鄰接法繪製絲膜菌科 rDNA ITS 序列的親緣樹 .....	93
圖七、台灣冷杉和台灣鐵杉外生菌根真菌變性梯度凝膠電泳圖譜 繪製其群落組成之多元尺度分析 .....	95
圖八、台灣鐵杉與台灣冷杉四棵樣樹變性梯度凝膠電泳的條帶數 與操作分類單元 (OTUs) 比較 .....	96
圖九、台灣冷杉和台灣鐵杉的六種菌根形態照片 .....	97
圖十、各徑級台灣冷杉樣本以變性梯度凝膠電泳條帶相似度分析 所繪製的樹狀圖 .....	98

圖十一、各徑級台灣鐵杉樣本以變性梯度凝膠電泳條帶相似度分析  
所繪製的樹狀圖 .....99

### 附錄目錄

附錄一、培養基製備 .....100

附錄二、本研究的 rDNA ITS 序列資料 .....101

附錄三、繪製親緣樹使用的 GENBANK 序列序號..... 111

表一、台灣冷杉與台灣鐵杉樣樹的胸高直徑、冠幅半徑與台灣冷杉的  
 估算樹齡 (張惠珠和古心蘭, 2000)。

Table 1. Diameter at breast height (DBH), crown radius, and estimated age (Chang and Gu, 2000) of *Abies kawakamii* and *Tsuga chinensis* var. *formosana* sampled trees.

Plot	Tree no.	DBH (cm)	Crown radius (m)	Estimated age (yr)
<i>Abies kawakamii</i>	A1	13.0	1.0	27
	A2	39.2	2.0	109
	A3	49.5	2.5	148
	A4	78.0	5.0	264
<i>Tsuga chinensis</i> var. <i>formosana</i>	T1	19.5	2.0	–
	T2	52.7	3.5	–
	T3	86.0	5.0	–
	T4	117.0	7.0	–

表二、台灣冷杉 (A) 與台灣鐵杉 (T) 菌根樣本的外生菌根菌變性

梯度凝膠電泳條帶分佈，數字 1~4 表示徑級由小到大。

Table 2. Ectomycorrhizal denaturing gradient gel electrophoresis bands from ectomycorrhizae samples of *Abies kawakamii* (A) and *Tsuga chinensis* var. *formosana* (T). Numbers 1–4 represents DBH category of each tree from small to large.

Band number	<i>Abies kawakamii</i>				<i>Tsuga chinensis</i> var. <i>formosana</i>			
	A1	A2	A3	A4	T1	T2	T3	T4
1		+		+				+
2		+	+					
3		+						+
4			+			+	+	
5			+	+		+	+	
6	+	+	+			+	+	+
7	+		+	+		+	+	+
8		+	+	+	+	+		+
9	+			+			+	
10			+	+	+	+	+	+
11	+			+				
12	+	+	+	+	+	+	+	+
13	+	+	+			+		+
14	+	+	+	+	+	+		
15	+	+	+	+	+	+	+	+
16	+			+		+	+	+
17	+	+		+	+	+		
18	+	+	+				+	+
19	+			+	+		+	+
20	+	+	+		+	+	+	+
21		+			+		+	
22	+		+	+	+		+	+
23		+	+	+	+	+		+

Table 2. Continued.

Band number	<i>Abies kawakamii</i>				<i>Tsuga chinensis</i> var. <i>formosana</i>			
	A1	A2	A3	A4	T1	T2	T3	T4
24	+	+			+		+	+
25	+	+			+	+	+	+
26	+	+		+	+		+	+
27	+		+	+	+	+	+	+
28				+		+	+	
29		+	+	+	+	+	+	+
30	+	+	+	+	+		+	+
31	+	+	+	+	+	+	+	+
32	+	+	+	+	+	+	+	+
33					+	+	+	+
34	+	+	+	+	+	+	+	+
35	+		+			+		+
36			+		+			
37		+	+	+				

表三、菌根樣本之外生菌根真菌 rDNA ITS 片段變性梯度凝膠電泳主要條帶，及其序列經 GenBank 比對所獲相似度最高之序列資訊。紅菇屬之條帶序列並與該樣區子實體之序列（高明脩，2012）比對。

Table 3. Best match results of ectomycorrhizal fungal internal transcribed spacer sequences recovered from main DGGE bands to sequences in GenBank; sequences of *Russula* also compared with fruitbody sequences from the same site.

Band no.	Taxon	Best match in GenBank			Best match with Kao (2012)	
		Closest species	Similarity (%)	Accession no.	Closest species	Similarity (%)
4	Clavulinaceae sp. 1	Clavulinaceae sp.	250/260	(96)	AJ534708	
	<i>Cortinarius</i> sp. 1	<i>Cortinarius</i> cf. <i>multiformis</i>	304/314	(97)	EU525959	
6	<i>Russula</i> sp. 4	<i>Russula subnigricans</i>	118/121	(98)	AB154712	
7	<i>Russula vinosa</i>	<i>Russula</i> sp.	192/205	(94)	DQ777988	<i>Russula vinosa</i> 166/166 (100)
	<i>Cortinarius</i> sp. 2	<i>Cortinarius</i> sp.	241/249	(97)	JF960739	
8	Cortinariaceae sp. 1	<i>Cortinarius scaurus</i>	307/335	(92)	AY174808	
9	<i>Clavulina</i> sp. 1	<i>Clavulina castaneipes</i>	244/255	(96)	EU669210	
	<i>Cortinarius</i> sp. 3	<i>Cortinarius badiovinaceus</i>	333/347	(96)	HQ845169	
10	Cortinariaceae sp. 1	<i>Cortinarius scaurus</i>	307/335	(92)	AY174808	
11	<i>Russula</i> sp. 1	<i>Russula crassotunicata</i>	268/280	(96)	EU597082	
	Cortinariaceae sp. 2	<i>Dermocybe</i> sp.	299/328	(91)	EU668227	

Table 3. Continued.

Band no.	Taxon	Best match in GenBank			Best match with Kao (2012)	
		Closest species	Similarity (%)	Accession no.	Closest species	Similarity (%)
13	<i>Cortinarius</i> sp. 4	<i>Cortinarius costaricensis</i>	314/327	(96)	EF420147	
	<i>Cortinarius</i> sp. 5	<i>Cortinarius acutovelatus</i>	312/317	(98)	AY669655	
14	<i>Tomentella</i> sp. 1	<i>Tomentella</i> sp.	289/297	(97)	EU668250	
15	<i>Cortinarius</i> sp. 6	<i>Cortinarius</i> sp.	253/270	(94)	EU668911	
16	<i>Russula vinosa</i>	<i>Russula vinosa</i>	277/291	(95)	AJ534938	<i>Russula vinosa</i> 193/193 (100)
	Cortinariaceae sp. 1	<i>Dermocybe cramesina</i>	316/343	(92)	GU233320	
18	<i>Russula compacta</i>	<i>Russula</i> sp.	272/272	(100)	FJ196294	<i>Russula compacta</i> 264/264 (100)
	Clavulinaceae sp. 1	Clavulinaceae sp.	224/233	(96)	AJ534708	
19	<i>Amanita liquii</i>	<i>Amanita liquii</i>	212/212	(100)	AY436462	
	<i>Russula peckii</i>	<i>Russula</i> sp.	254/264	(96)	EU819429	<i>Russula peckii</i> 217/218 (100)
20	Clavulinaceae sp. 1	Clavulinaceae sp.	224/233	(96)	AJ534708	
	<i>Russula compacta</i>	<i>Russula</i> sp.	267/268	(99)	FJ196294	<i>Russula compacta</i> 263/264 (100)
	<i>Russula vinosa</i>	<i>Russula vinosa</i>	274/288	(95)	AJ534938	<i>Russula vinosa</i> 191/191 (100)
22	<i>Russula</i> sp.5	<i>Russula bicolor</i>	105/107	(98)	FJ845435	
	<i>Cortinarius</i> sp. 7	<i>Cortinarius junghuhnii</i>	299/316	(95)	HQ604666	
23	<i>Hydnum ellipsosporum</i>	<i>Hydnum ellipsosporum</i>	257/263	(98)	AY817138	
	<i>Russula compacta</i>	<i>Russula</i> sp.	266/267	(99)	FJ196294	<i>Russula compacta</i> 262/264 (99)
26	<i>Cortinarius</i> sp. 8	<i>Cortinarius</i> sp.	254/263	(97)	FJ554382	
27	<i>Russula</i> sp. 2	<i>Russula aeruginea</i>	247/256	(96)	EU819421	
	<i>Lactarius</i> sp. 1	<i>Lactarius rufus</i>	295/316	(93)	GQ267478	



Table 3. Continued.

Band no.	Taxon	Best match in GenBank			Best match with Kao (2012)	
		Closest species	Similarity (%)	Accession no.	Closest species	Similarity (%)
30	<i>Russula vinosa</i>	<i>Russula vinosa</i>	245/259 (95)	AJ534938	<i>Russula vinosa</i>	162/162 (100)
31	<i>Russula</i> sp. 3 <i>Russula peckii</i> <sup>1</sup>	<i>Russula</i> sp.	257/264 (97)	DQ777981		
32	<i>Cortinarius</i> sp. 8 <sup>2</sup> <i>Russula peckii</i> 1					
33	Thelephoraceae sp. 1 <i>Russula peckii</i>	Thelephoraceae sp. <i>Russula</i> sp.	255/259 (98) 276/286 (97)	AF184748 EU819429	<i>Russula peckii</i>	263/264 (100)
34	<i>Russula</i> sp. 2	<i>Russula aeruginea</i>	253/262 (97)	EU819421		
37	<i>Russula peckii</i> <i>Russula</i> sp. 1	<i>Russula</i> sp. <i>Russula crassotunicata</i>	253/264 (96) 274/285 (96)	EU819429 EU597082	<i>Russula peckii</i>	263/264 (100)

1: Sample has same RFLP (restriction fragment length polymorphism) pattern as band 19 *Russula peckii*.

2: Sample has same RFLP pattern as band 26 *Cortinarius* sp. 8.

表四、台灣冷杉 (A) 與台灣鐵杉 (T) 樣樹的外生菌根真菌變性梯度膠體電泳圖譜中，25 種外生菌根真菌對應條帶的偵測情形。數字 1~4 表示徑級由小到大。

Table 4. Presence (shaded area) of bands corresponded to 25 ectomycorrhizal species detected in denaturing gradient gel electrophoresis of samples from *Abies kawakamii* (A) and *Tsuga chinensis* var. *formosana* (T). Numbers 1–4 represent DBH class of each tree from small to large.

Ectomycorrhizal taxon	Sample trees							
	<i>Abies kawakamii</i>				<i>Tsuga chinensis</i> var. <i>formosana</i>			
	A1	A2	A3	A4	T1	T2	T3	T4
<i>Amanita liquii</i>								
<i>Russula compacta</i>								
<i>Russula peckii</i>								
<i>Russula vinosa</i>								
<i>Russula</i> sp.2								
<i>Russula</i> sp.3								
<i>Russula</i> sp.5								
<i>Russula</i> sp.4								
<i>Lactarius</i> sp.1								
<i>Hydnum elliposporum</i>								
<i>Cortinarius</i> sp.6								
<i>Cortinarius</i> sp.7								
<i>Cortinarius</i> sp.8								
<i>Cortinarius</i> sp.4								
<i>Cortinarius</i> sp.5								
<i>Cortinarius</i> sp.2								
<i>Cortinarius</i> sp.3								
<i>Cortinariaceae</i> sp.1								
<i>Cortinarius</i> sp.1								
<i>Tomentella</i> sp.1								
<i>Clavulinaceae</i> sp.1								

Table 4. Continued.

Ectomycorrhizal taxon	Sample trees							
	<i>Abies kawakamii</i>				<i>Tsuga chinensis</i> var. <i>formosana</i>			
	A1	A2	A3	A4	T1	T2	T3	T4
<i>Clavulina</i> sp.1	■			■			■	
<i>Russula</i> sp.1	■	■	■	■				
Cortinariaceae sp.2	■			■				
Thelephoraceae sp.1					■	■	■	■

表五、六種菌根形態型的外觀描述與其宿主。

Table 5. Morphological characteristics and host of six ectomycorrhizal morphotypes.

Morphotype	Tip color	Surface habit	Branching	Length, width	Host species
Yellow I	yellow-orange	smooth, lacks hyphae	unramified to monopodial pinnate	500–4,500 $\mu\text{m}$ 300–500 $\mu\text{m}$	both
Yellow II	yellow-orange	coarse, lacks hyphae	unramified	3,500–5,600 $\mu\text{m}$ 500–700 $\mu\text{m}$	<i>Tsuga chinensis</i> <i>var. formosana</i>
Black	black	black surface, not smooth, black emanating hyphae	unramified to irregularly pinnate	1,000–3,600 $\mu\text{m}$ 400–500 $\mu\text{m}$	both
White I	orange	abundant, light grayish-brown hyphae	unramified to monopodial pinnate	2,500–3,200 $\mu\text{m}$ 500–600 $\mu\text{m}$	both
White II	orange	coarse, white emanating hyphae	unramified to irregularly pinnate	600–3,500 $\mu\text{m}$ 300–500 $\mu\text{m}$	both
White III	white	smooth, infrequent, white hyphae on restricted point	unramified to monopodial pinnate	600–2,500 $\mu\text{m}$ 500–800 $\mu\text{m}$	<i>Abies kawakamii</i>

表六、台灣鐵杉和台灣冷杉的六種形態菌根之外生菌根真菌 ITS 序列與 GenBank 比對相似度最高之序列資訊，紅菇屬序列並與該樣區子實體之序列（高明脩，2012）比對。

Table 6. Best match result of ectomycorrhizal fungal internal transcribed spacer sequences from six ectomycorrhizal morphotypes from an *Abies kawakamii* tree and a *Tsuga chinensis* var. *formosana* tree to sequences in GenBank; sequences of *Russula* also compared to fruitbody sequences from the same site.

Type	Tip no.	Taxon	Best match in GenBank			Best match with Kao (2012)		Host Tree
			Closest species	Similarity (%)	Accession no.	Closest species	Similarity (%)	
Yellow I	2	<i>Russula</i> sp. 1	<i>R. crassotunicata</i>	781/800 (98)	EU597082			<i>Abies</i>
	3	<i>Lactarius</i> sp. 2	<i>Lactarius rufus</i>	715/752 (95)	HQ604828			<i>Abies</i>
	4	<i>Lactarius</i> sp. 2 <sup>1</sup>						<i>Abies</i>
	5	<i>Russula peckii</i>	<i>R. peckii</i>	652/662 (98)	EU598174	<i>R. peckii</i>	585/586 (100)	<i>Abies</i>
		<i>Lactarius</i> sp. 2	<i>Lactarius rufus</i>	718/752 (95)	HQ604828			
	6	<i>Russula peckii</i>	<i>R. peckii</i>	651/662 (98)	EU598174	<i>R. peckii</i>	585/586 (100)	<i>Abies</i>
	7	<i>Clavulina</i> sp. 1	<i>Clavulina castaneipes</i>	731/750 (97)	EU669209			<i>Tsuga</i>
	8	Boletaceae sp. 1	<i>Xerocomus pruinaus</i>	578/650 (89)	AF402140			<i>Tsuga</i>
	9	<i>Russula peckii</i> <sup>2</sup>						<i>Tsuga</i>
	10	Thelephoraceae sp.1	Thelephoraceae sp.	772/782 (99)	FJ236853			<i>Tsuga</i>
Black	3	<i>Russula vinosa</i>	<i>R. vinosa</i>	836/890 (94)		<i>R. vinosa</i>	596/598 (100)	<i>Abies</i>
	5	<i>Russula peckii</i>	<i>R. peckii</i>	652/662 (98)		<i>R. peckii</i>	586/586 (100)	<i>Abies</i>

Table 6. Continued.

Type	Tip no.	Taxon	Best match in GenBank			Best match with Kao (2012)		Host Tree
			Closest species	Similarity (%)	Accession no.	Closest species	Similarity (%)	
Black	8	<i>Russula peckii</i> <sup>3</sup>						<i>Tsuga</i>
	11	<i>Russula peckii</i> <sup>3</sup>						<i>Tsuga</i>
	12	<i>Russula peckii</i> <sup>3</sup>						<i>Tsuga</i>
White I	1	<i>Hydnum ellipsosporum</i>	<i>H. ellipsosporum</i>	813/824	(99)	AY817138		<i>Abies</i>
	4	<i>Hydnum ellipsosporum</i> <sup>4</sup>						<i>Abies</i>
	5	<i>Hydnum ellipsosporum</i> <sup>4</sup>						<i>Abies</i>
	7	<i>Hydnum ellipsosporum</i> <sup>4</sup>						<i>Tsuga</i>
	8	<i>Hydnum ellipsosporum</i>	<i>H. ellipsosporum</i>	767/778	(99)	AY817138		<i>Tsuga</i>
		Thelephoraceae sp. 2	Thelephoraceae sp.	758/787	(96)	FJ196898		
	9	<i>Hydnum ellipsosporum</i> <sup>5</sup>						<i>Tsuga</i>
		Thelephoraceae sp. 2 <sup>5</sup>						
	10	<i>Hydnum ellipsosporum</i> <sup>5</sup>						<i>Tsuga</i>
		Thelephoraceae sp. 2 <sup>5</sup>						
	11	<i>Hydnum ellipsosporum</i> <sup>5</sup>						<i>Tsuga</i>
		Thelephoraceae sp. 2 <sup>5</sup>						
	12	<i>Hydnum ellipsosporum</i> <sup>5</sup>						<i>Tsuga</i>
		Thelephoraceae sp. 2 <sup>5</sup>						
White II	1	<i>Cortinarius</i> sp. 9	<i>C. cf. barlowensis</i>	785/807	(97)	FJ157134		<i>Abies</i>
	3	<i>Laccaria</i> sp. 1	<i>Laccaria bicolor</i>	608/622	(98)	DQ367906		<i>Abies</i>
	4	<i>Cortinarius</i> sp. 9 <sup>6</sup>						<i>Abies</i>

Table 6. Continued.

Type	Tip no.	Taxon	Best match in GenBank			Best match with Kao (2012)		Host Tree
			Closest species	Similarity (%)	Accession no.	Closest species	Similarity (%)	
White II	6	<i>Cortinarius</i> sp. 10	<i>C. cicindela</i>	725/769 (94)	EU266664			<i>Abies</i>
	11	<i>Lactarius</i> sp. 3	<i>Lactarius leonardii</i>	621/641 (97)	GU258288			<i>Tsuga</i>
White III	1	<i>Laccaria</i> sp. 1 <sup>7</sup>						<i>Abies</i>
	2	<i>Laccaria</i> sp. 1 <sup>7</sup>						<i>Abies</i>
	3	<i>Laccaria</i> sp. 1	<i>Laccaria bicolor</i>	804/857 (94)	AY817138			<i>Abies</i>
	4	<i>Laccaria</i> sp. 1 <sup>7</sup>						<i>Abies</i>
	5	<i>Laccaria</i> sp. 1 <sup>7</sup>						<i>Abies</i>
	6	<i>Laccaria</i> sp. 1 <sup>7</sup>						<i>Abies</i>
Yellow II	1	<i>Russula peckii</i>	<i>R. peckii</i>	652/662 (98)	EU598174	<i>R. peckii</i>	586/586 (100)	<i>Tsuga</i>
	4	<i>Russula peckii</i> <sup>8</sup>						<i>Tsuga</i>

1: Sample has same RFLP (restriction fragment length polymorphism) pattern as tip 3 of morphotype Yellow I.

2: Sample has same RFLP pattern as tip 6 of morphotype Yellow I.

3: Sample has same RFLP pattern as tip 5 of morphotype Black.

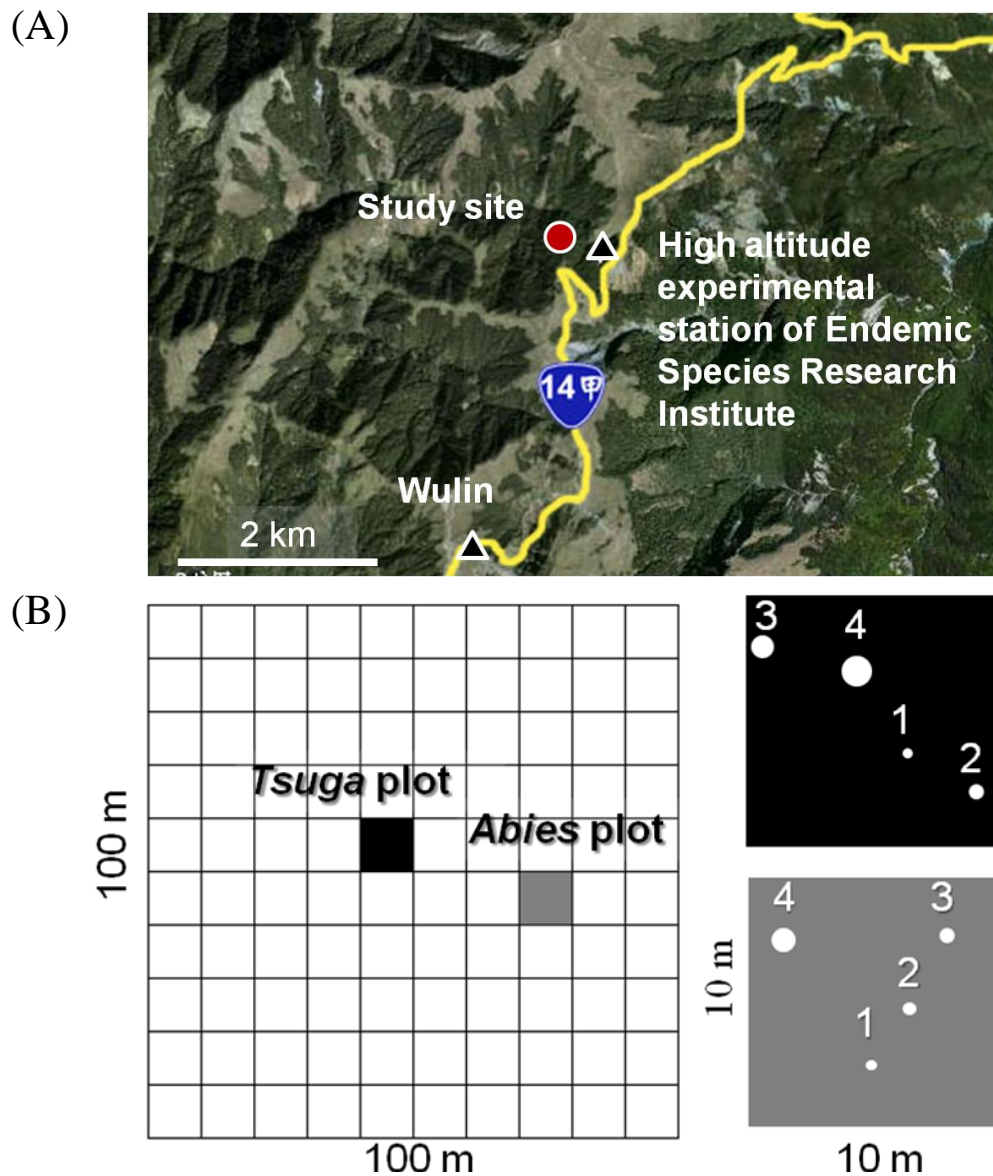
4: Sample has same RFLP pattern as tip 1 of morphotype White I.

5: Sample has same RFLP pattern as tip 8 of morphotype White I.

6: Sample has same RFLP pattern as tip 1 of morphotype White II.

7: Sample has same RFLP pattern as tip 3 of morphotype White III.

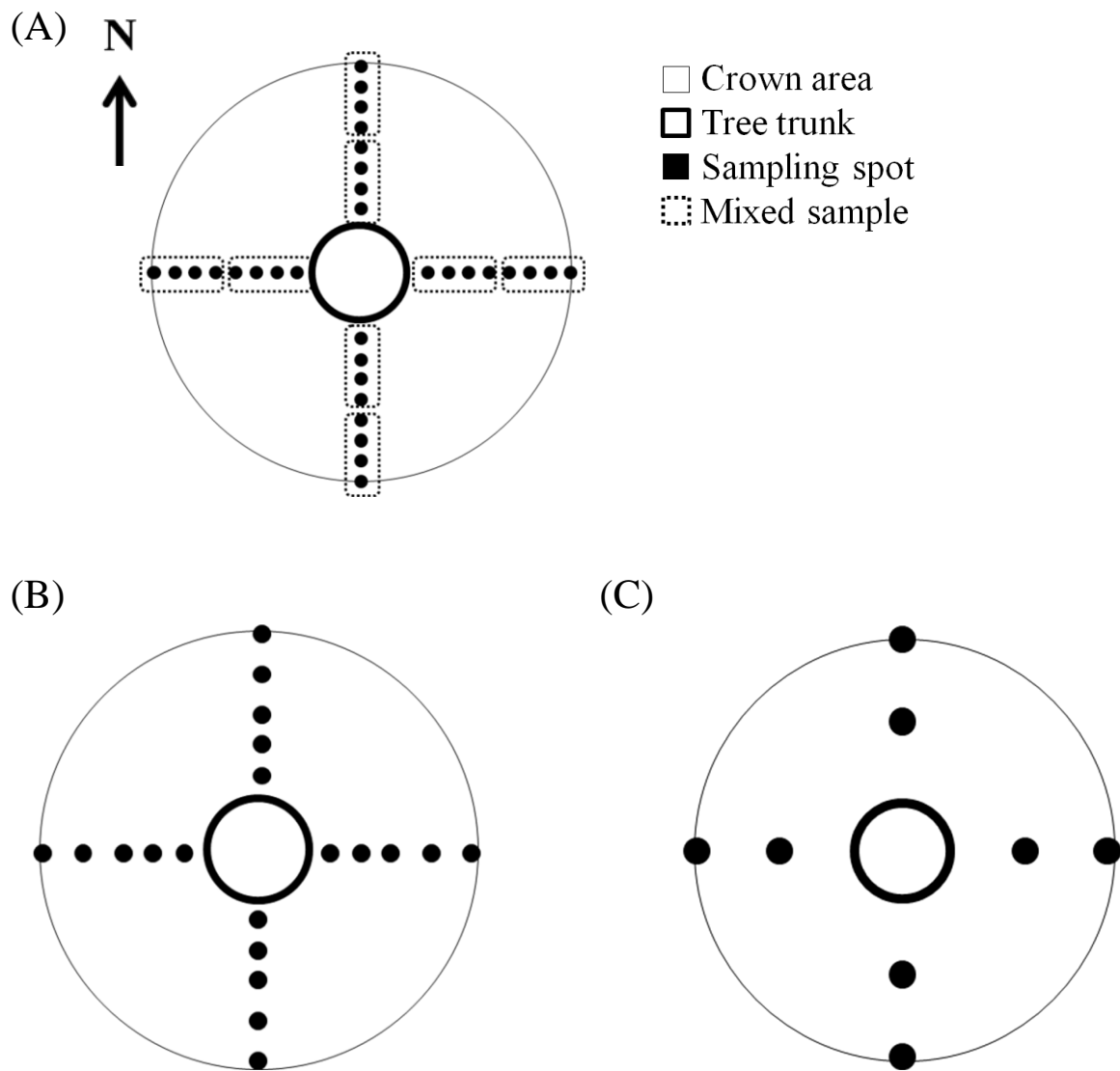
8: Sample has same RFLP pattern as tip 1 of morphotype Yellow II.



圖一、樣區地理位置圖 (A)。一公頃台灣冷杉與台灣鐵杉混合林中兩個 10 x 10 公尺單一樹種樣區及樣樹位置圖 (B)，白色圓形代表樣樹。數字 1~4 表示胸高直徑由小至大。

Fig. 1. Location of study site (A). Two 10 X 10 m<sup>2</sup> plots within a 1 ha mixed *Abies kawakamii*-*Tsuga chinensis* var. *formosana* forest (B). White circles show position of sampling trees. Numbers 1-4 represent the DBH classes from small to large.

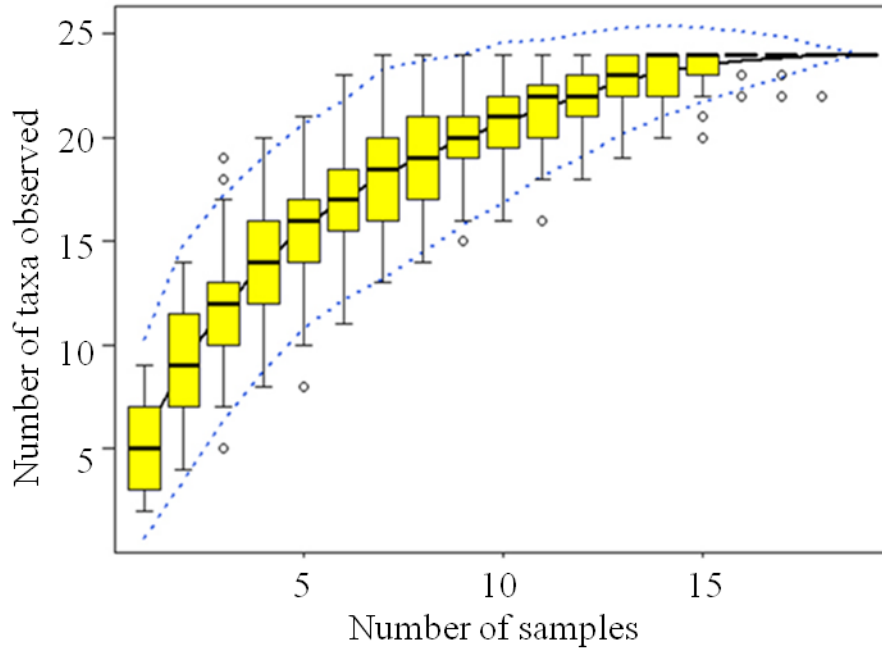




圖二、樣樹菌根的採樣方法。分析單株林木外生菌根真菌群落組成

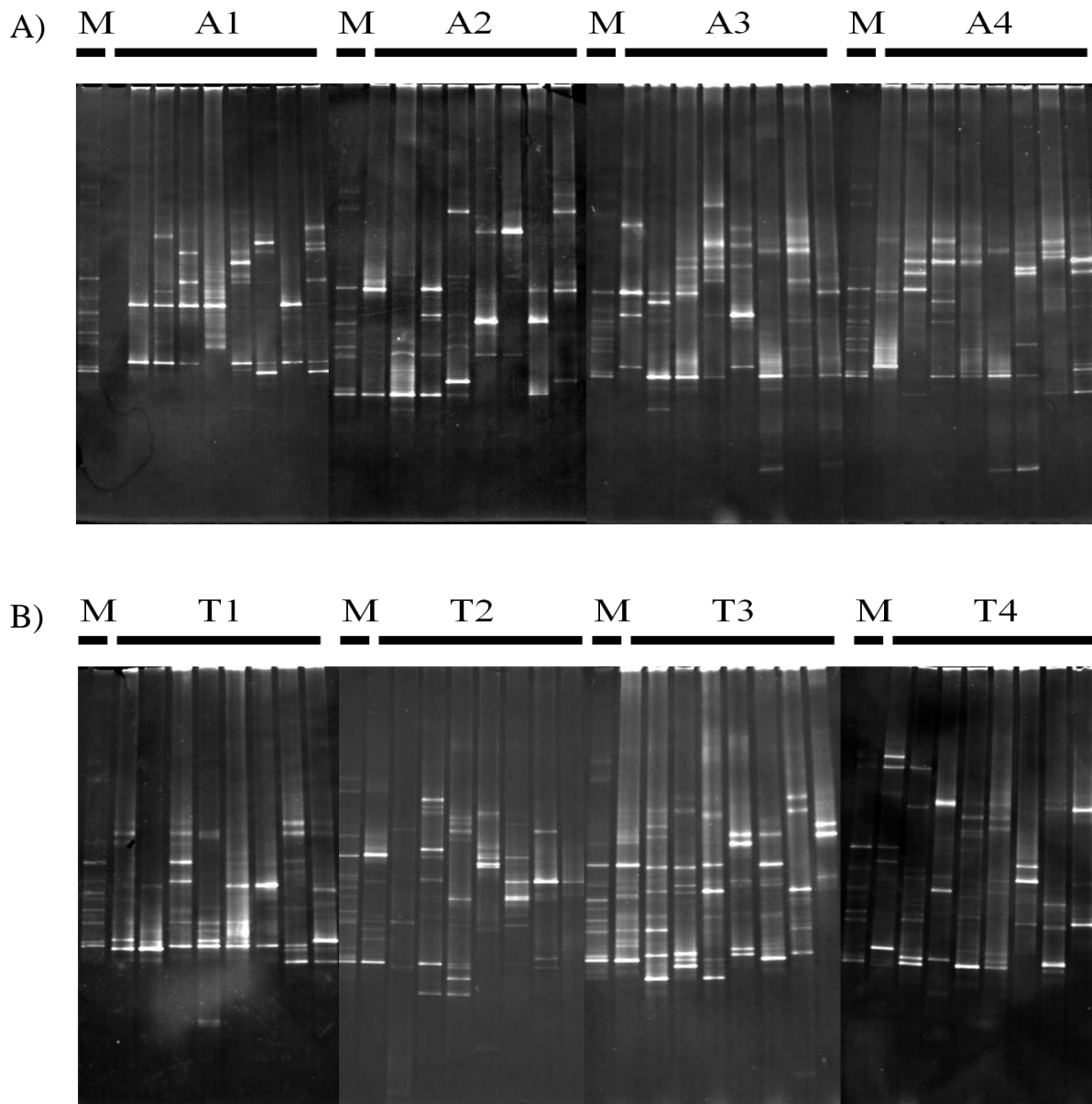
(A)、單株林木的採樣努力量 (B) 和各形態菌根之菌種 (C) 分別使用的的採樣方式。

Fig. 2. Sampling array: A) ectomycorrhizae samples taken from each of eight trees for test of effect of tree species and diameter at breast height on ectomycorrhizal (ECM) community composition, B) sampling effort test, and C) ECM fungi of each ECM morphotype.



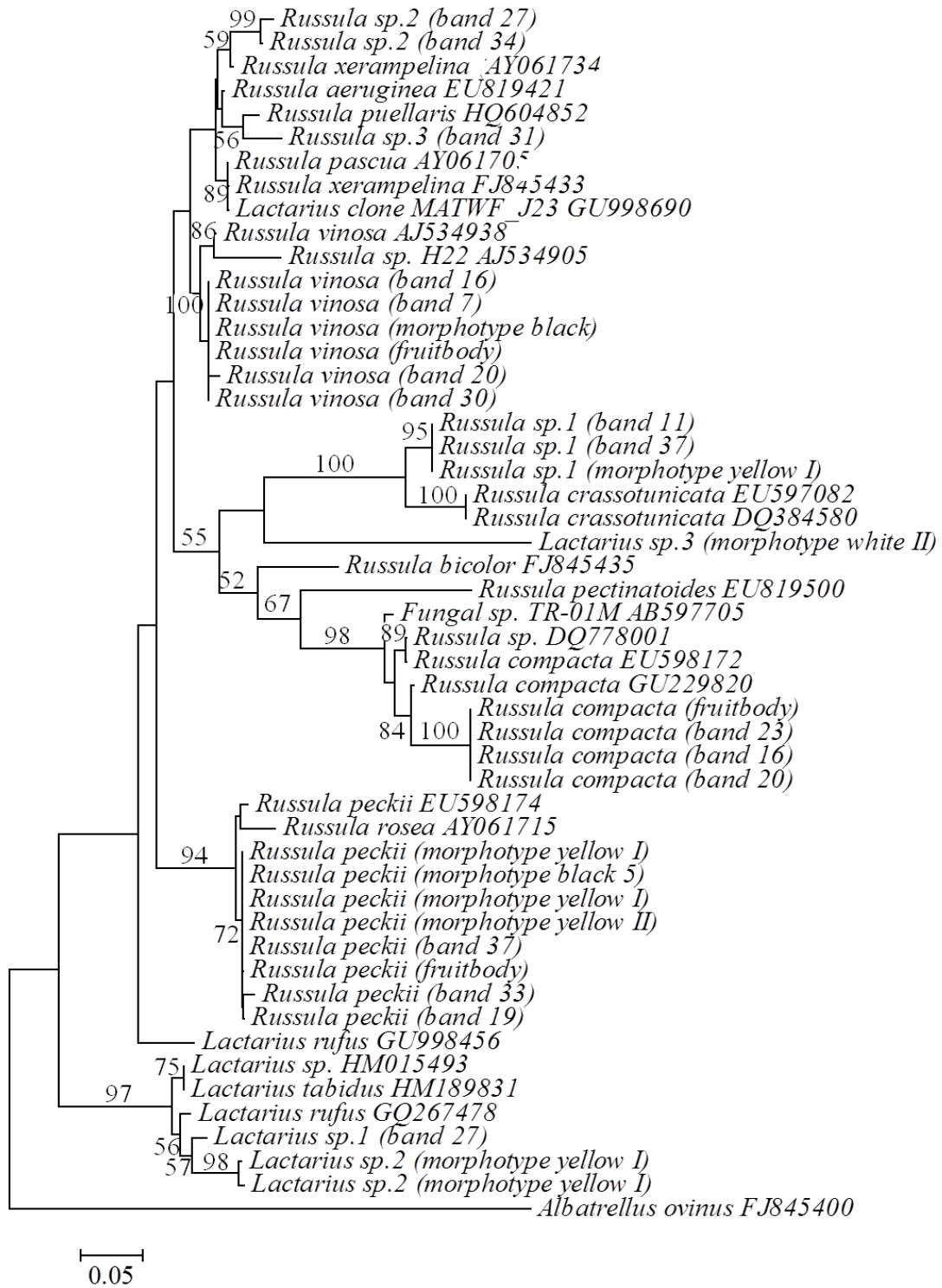
圖三、以變性梯度凝膠電泳分析單株台灣冷杉外生菌根真菌的遺傳多樣性與累積樣本數之稀釋曲線。

Fig. 3. Rarefied species accumulation curve of accumulated ectomycorrhizal fungal taxon and ectomycorrhizae samples taken from an *Abies kawakamii* tree.



圖四、八棵樣樹外生菌根真菌的變性梯度膠體電泳圖譜，上方四張為台灣冷杉的圖譜，下方四張為台灣鐵杉的圖譜。數字 1 到 4 表示胸徑由小到大，M 表示各電泳膠的 DNA 標幟。

Fig. 4. Denaturing gradient gel electrophoresis fingerprint of ectomycorrhizal fungi from A) four *Abies kawakamii* and B) four *Tsuga chinensis* var. *formosana*. Numbers 1–4 represent DBH class from small to large. M represents DNA marker for each gel.

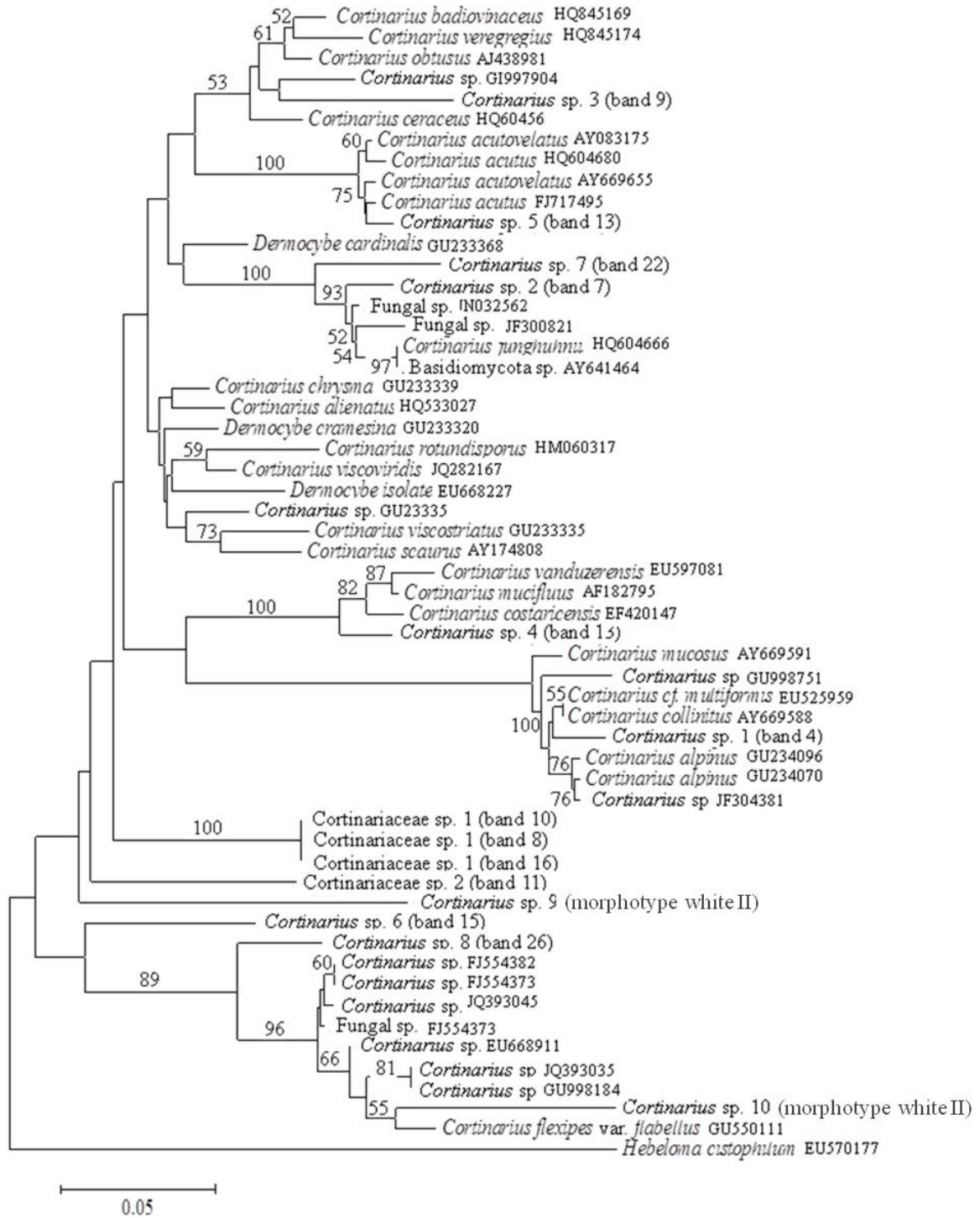


圖五、紅菇科以鄰接法繪製 rDNA ITS 序列參考目錄的親緣樹。經

1,000 次 bootstrap，支持度 > 50% 者標示於節點上。各分支

的相似度百分比以長度表示。有 Accession number 的樣本來自 GenBank；樣本後有括號者來自本研究，括號內為樣本編號。

Fig. 5. Neighbor-joining tree for Russulaceae species based on internal transcribed spacer (ITS) sequence data. Numbers represent bootstrap values for a particular node. Only values > 50% are shown. Branch lengths are proportional to distance. Samples with accession numbers are sequences from GenBank. Samples in parentheses are sequences from this study. Band numbers inside parentheses represent samples described in Table 3. Morphotype letters in parentheses represent samples described in Table 6.



圖六、根據 rDNA ITS 序列，以鄰接法繪製的絲膜菌科親緣樹。經 1,000

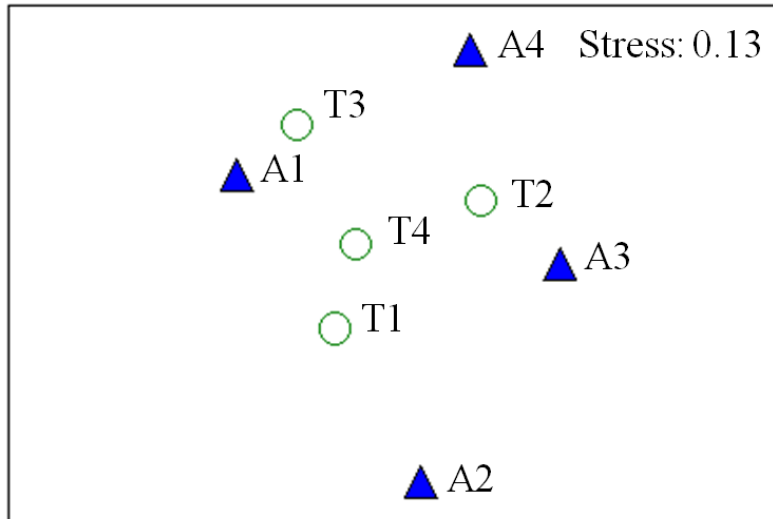
次 bootstrap，支持度 > 50% 者標示於節點上。各分支的相

似度百分比以長度表示。有 Accession number 的樣本來自

GenBank；樣本後有括號者來自本研究，括號內為樣本編號。

Fig. 6. Neighbor-joining tree generated for the Cortinariaceae species internal transcribed spacer (ITS) sequence data. Numbers represent bootstrap values for a particular node. Only values > 50% are shown. Branch lengths are proportional to distance. Samples with accession numbers are sequences from GenBank. Samples in parentheses are sequences from this study. Band numbers inside parentheses represent samples described in Table 3. Morphotype letters in parentheses represent samples described in Table 6.

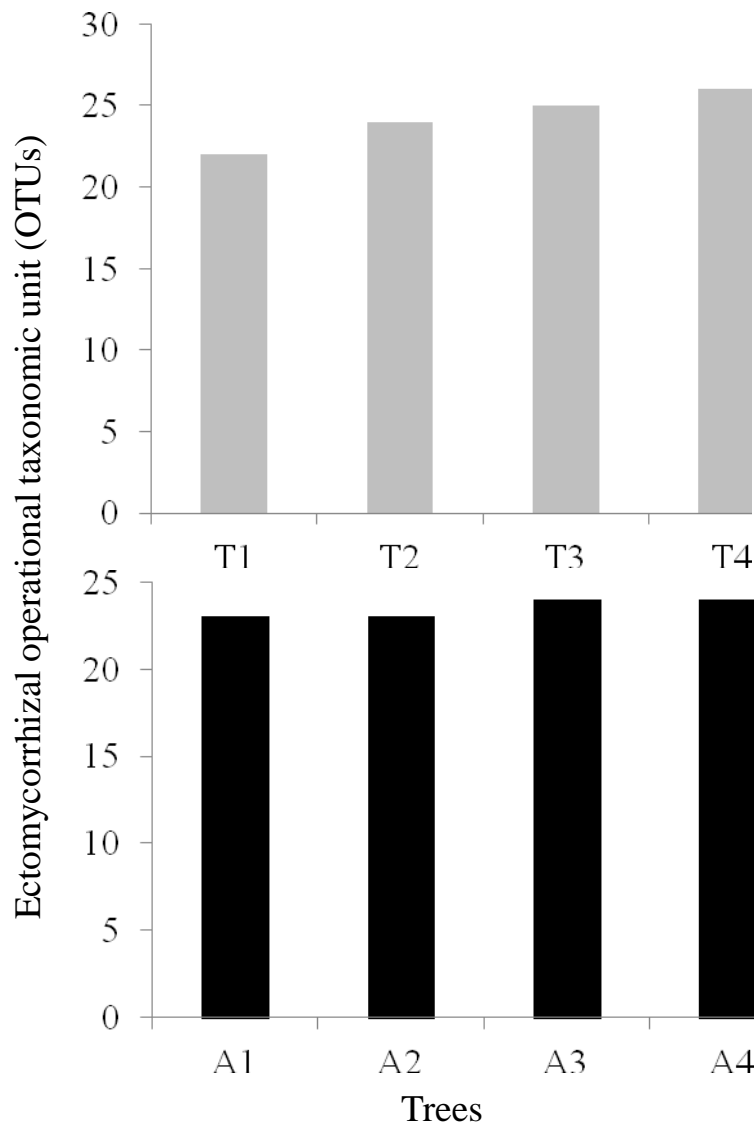
- ▲ *Abies kawakamii*
- *Tsuga chinensis* var. *formosana*



圖七、根據變性梯度凝膠電泳圖譜繪製台灣冷杉和台灣鐵杉外生菌根真菌群落組成之多元尺度分析。

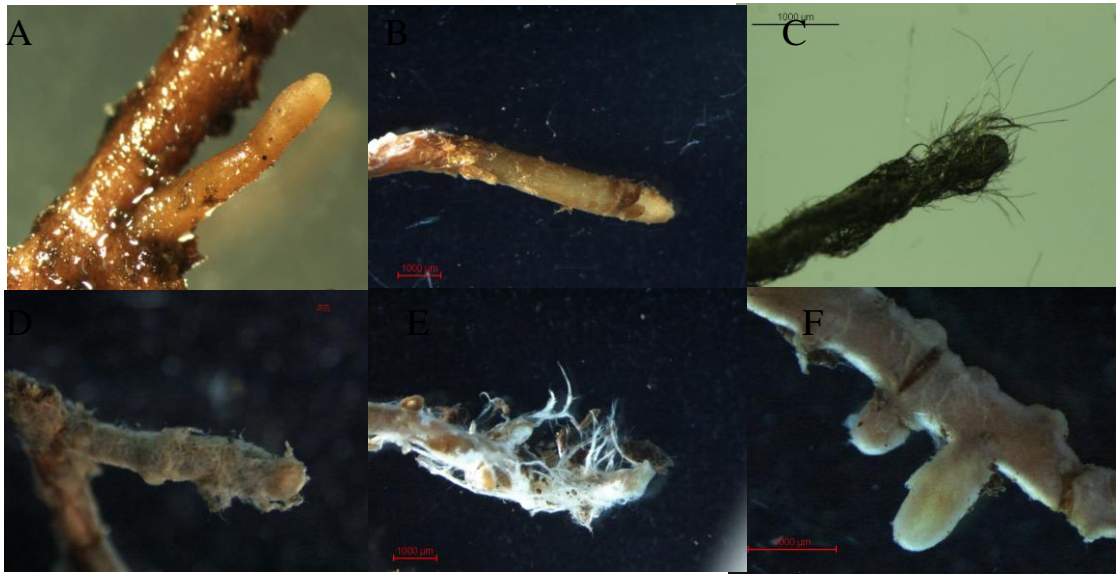
Fig. 7. Multidimensional scaling of ectomycorrhizal fungal community composition on four *Abies kawakamii* trees and four *Tsuga chinensis* var. *formosana* trees based on denaturing gradient gel electrophoresis fingerprinting.





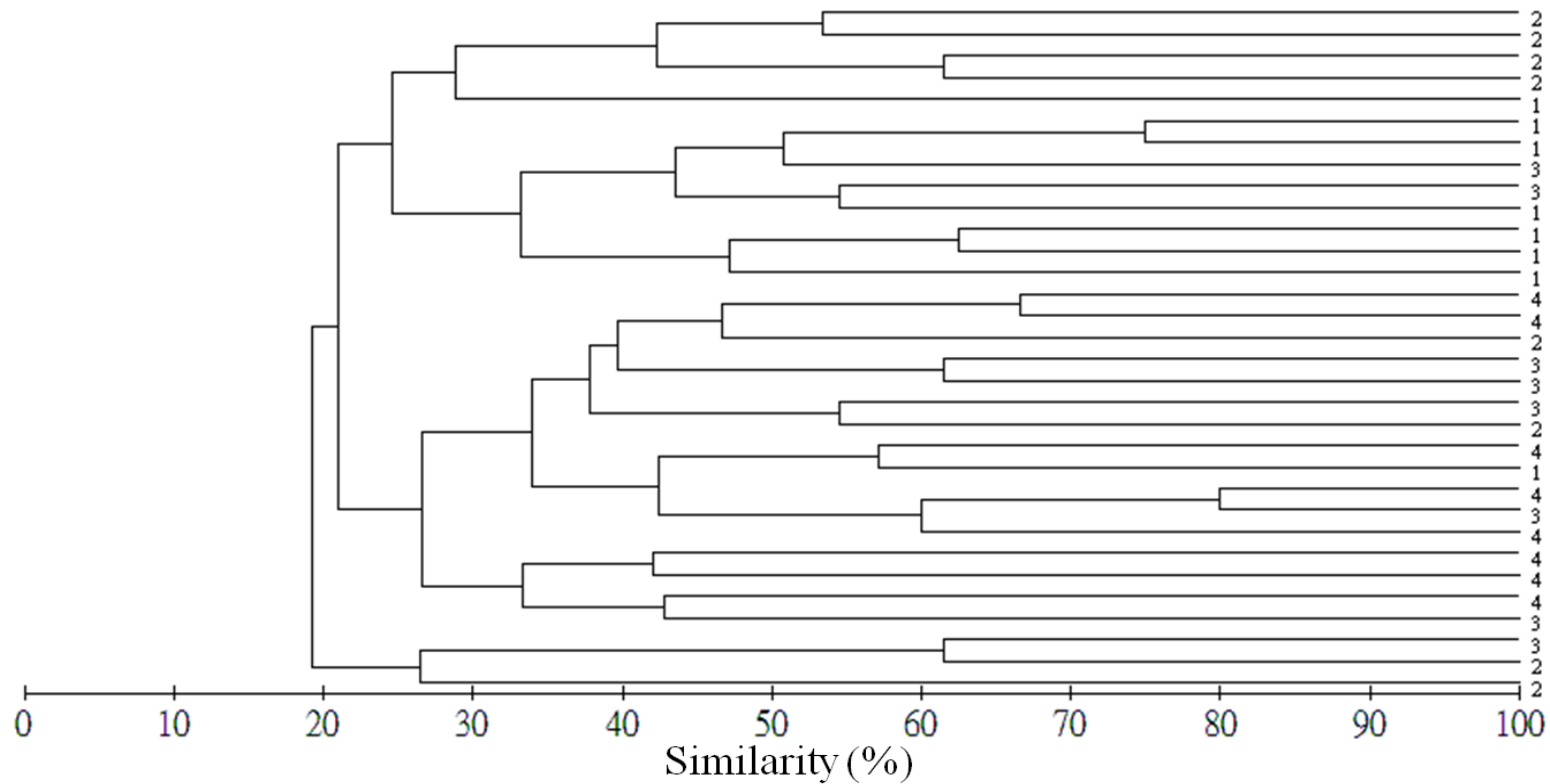
圖八、台灣鐵杉 (T，上圖) 與台灣冷杉 (A，下圖) 四棵樣樹變性梯度凝膠電泳的條帶數與操作分類單元 (OTUs) 比較。徑級 1~4 表示徑級由小到大。

Fig. 8. Ectomycorrhizal genetic diversity on eight trees based on denaturing gradient gel electrophoresis banding. Tree species are *Abies kawakamii* (black) and *Tsuga chinensis* var. *formosana* (grey) in four diameter at breast height classes from small (1) to large (4).



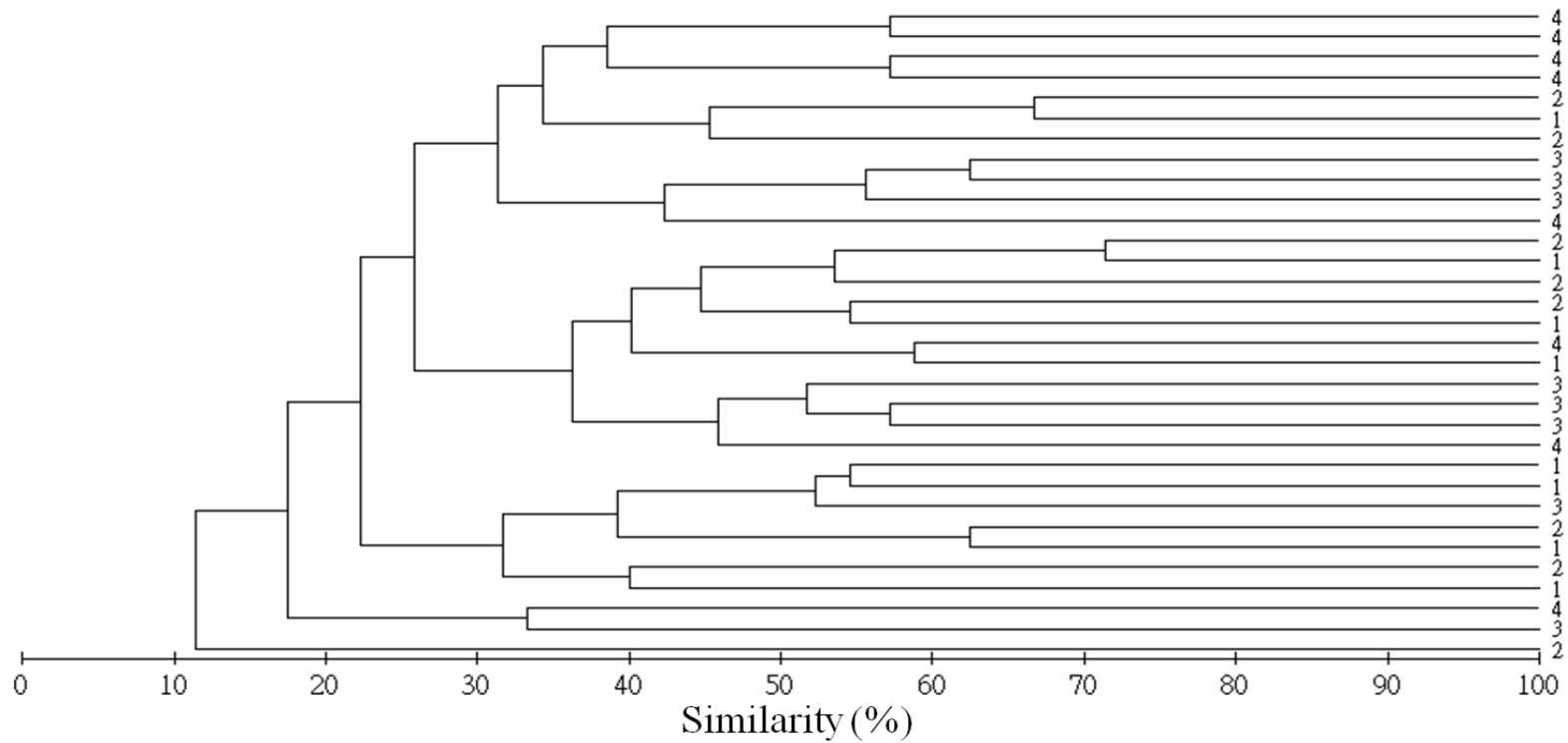
圖九、台灣冷杉和台灣鐵杉的六種菌根形態。兩種樹種都有黃色 I 型 (A)、黑色菌根型 (C)、白色 I 型 (D) 和白色 II 型 (E)。白色 III 型 (F) 只在台灣冷杉發現，黃色 II 型菌根 (B) 在台灣鐵杉發現。

Fig. 9. Six ectomycorrhizae morphotypes– Types A) Yellow I, C) Black, D) White I, E) White II were observed on both *Abies kawakamii* and *Tsuga chinensis* var. *formosana*, F) type White III was observed on *A. kawakamii* only, and B) type Yellow II was observed on *T. chinensis* var. *formosana* only.



圖十、各徑級台灣冷杉樣本間外生菌根真菌群落組成相似度樹狀圖。數字 1~4 表示徑級由小到大。

Fig. 10. Similarity tree of samples from four *Abies kawakamii* trees with different diameters at breast height (DBHs) based on denaturing gradient gel electrophoresis profile. Numbers in parentheses represent DBH class from small (1) to large (4).



圖十一、各徑級台灣鐵杉樣本間外生菌根真菌群落組成相似度樹狀圖。數字 1~4 表示徑級由小到大。

Fig. 11. Similarity tree of samples from four *Tsuga chinensis* var. *formosana* trees with different diameters at breast height (DBHs) based on denaturing gradient gel electrophoresis profile. Numbers in parentheses represent DBH class from small (1) to large (4).

## 附錄一、培養基製備

### Appendix 1. Medium preparation

#### **LB (Luria-Bertani)**

LB broth powder (Difco™, USA) 25 g

Agar (Difco™, USA) 15 g

加入蒸餾水至 1 公升，完全溶解後，以 121°C 濕熱滅菌 15 分鐘。待培養基冷卻至 45°C，加入 Ampicillin，使 Ampicillin 最終濃度為 100 µg/ml，混勻後倒入培養皿。液態培養使用的 LB broth 則不加洋菜 (Agar) 和 Ampicillin，滅菌冷卻後，存放至 4°C。

附錄二、本研究的 rDNA ITS 序列資料

Appendix 2. DNA sequences in this study

*Amanita liquii* (band 19)

GCCCTGGACCGTGTACGAGTCTCCTGAGCTCTTGGTCATTTAGAGGAAGTAAAAGTCGTAA  
CAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATCGAAAGAACTTCTGGCTGGATG  
CTTGTTGTGCTGGCCCTTTGCGGCAGCGTGCACACCTCCGGTCGTTTGTTCCTCTGTTCCA  
CCTGTGCACTGCCTGTAGACACCCAGTGTCTATGATATGGTCACACACACATGATGTTTTGC  
ATATTGGTTGGCATATTACACATGTATTATAATAACAACCTTCAACAATGGATCTCTTGGCTCTC

*Russula compacta* (band 16)

CTGGACCGTGGACAAGTCTCCTGAGGTCTTGGTCATTTAGAGGAAGTAAAAGTCGTAACAA  
GGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATCATACAACTGAGGTGCGAGGGCTGTC  
GCTGACTTTTTTAAAAGTCGTGCACGCCCAAGTGCTCTCACATATATCCATCTCACCCATTG  
TGCATCATCGCGTGGGTCTGCTCTTTGGCTTGTTCCAAAGGAGGGGGGCTTGCCTTTTCATA  
CAAACACCCCTTTAATGGAATGTAGAATGTTCTTGCAATGACTTGCAATATAAATACAACCTT  
CAACAACGGATCTCTTGGCTCTCGCAT

*Russula compacta* (band 20)

TAATACTGGACCGTGTACAAGTCTCCTGAGCTCTTGGTCATTTAGAGGAAGTAAAGCTGGACC  
GTGTACAAGTCTCCTGGCTCTTGGTCATTTAGAGGAAGTAAAAGTCGTAACAAAGGTTTCCGT  
AGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATCATACAACTGAGGTGCGAGGGCTGTGCTGACTTT  
TTTTAAAAGTCGTGCACGCCCAAGTGCTCTCACGTATATCCATCTCACCCATTGTGCATCATC  
GCGTGGGTCTGCTCTTTGGCTTGTTCCAAAGGAGGGGGGCTTGCCTTTTCATACAAACACC  
CTTTAATGGAATGTAGAATGTTCTTGCAATGACTTGCAATATAAATACAACCTTCAACAACG  
GATCTCTTGGCTCTC

*Russula compacta* (band 23)

AAGTCGTGACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATCATACAACTGAGGT  
GCGAGGGCTGTGCTGACTTTTTTTAAAAGTCGTGCACGCCCAAGTGCTCTCACATATATCC  
ATCTCACCCATTTGTGCATCATCGCGTGGGTCTGCTCTTTGGCTTGTTCCAAAGGAGGGGGG  
CTTGCCTTTTCATACAAACACCCCTTTAATGGAATGTAGAATGTTCTTGCAATGACTTGCAAT  
ATAAATACAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCCC

*Russula peckii* (band 19)

AAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATCGTACAACGGAGGT  
GCAAGGGCTGTGCTGACCTTCAAAGGTTGTGCACGCCCAAGCGCTCTCTCACATCCTTCT  
CACCCCTTTGTGCATCACCGCGTGGGCCCTCTTTGCGGAGAAGGCCTGCGTTTTTCACATAA  
AACTTGATACAGTGTAGAATGTCTTTTTGCGGTACACGCAATCAATACAACCTTCAACAAC  
GAATCTCTTGGCTCTC

*Russula peckii* (band 33)

GCTGGACCGTGTACAAGTCTCCTGAGCTCTTGGTCATTTAGAGGAAGTAAAAGTCGTAACA  
AGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATCGTACAACGGAGGTGCAAGGGCTGT  
CGTACCTTCAAAGGTTGTGCACGCCCAAGCGCTCTCTCACATCCTTCTCACCCCTTTGTG  
CATCACCGCGTGGGCCCTCTTTGCGGAGAAGGCCTGCGTTTTTCACGTAACCTTGATACA  
GTGTAGAATGTCTTTTGGCGTACACGCAATCAATACAACCTTCAACAACGGATCTCTTGG  
CTCTC

*Russula peckii* (band 37)

AAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATCGTACAACGGAAAGT  
GCAAGGGCTGTGCTGACCTTCAAAGGTTGTGCACGCCCAAGTGCTCTCTCACATCCTTCT  
CACCCCTTTGTGCATCACCGCGTGGGCCCTCTTTGCGGAGAAGGCCTGCGTTTTTCACATAA  
AACTTGATACAGTGTAGAATGTCTTTTTGCGGTACACGCAATCAATACAACCTTCAACAAC  
GGATCTCTTGGCTCTC

*Russula vinosa* (band 7)

GATCATTATTGTGCAACCGAGGTGCAAGGGCTGTGCTGAGCTTCAAGGCTTGTGCACGCT  
CAAGCACTCTCATAATCCATCTCACCCCTTTGTGCATCACCGCGTGGGCCCTCTTTGCGG  
GAGGGCTTGCCTTTTCATAAAAACCTTGATACAGTGTAGAATGTTTTCTTTTGGCGGTACAC  
GCAATCAATACAACT

*Russula vinosa* (band 16)

CTGGACCGTGTACAAGTCTCCTGAGTCTTGGTCATTTAGAGGAAGTAAAAGTCGTAACAAG  
GTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATTGTGCAACCGAGGTGCAAGGGCTGTG  
CTGAGCTTCAAGGCTTGTGCACGCTCAAGCACTCTCATACATCCATCTCACCCCTTTGTGCA  
TCACCGCGTGGGCCCTCCTTTGCGGGAGGGCTTGCCTTTTCACATAAACTTGATACAGTGT  
AGAATGTTTTCTTTTGCGGTCACACGCAATCAATACAACCTTTCAACAACGGATCTCTGGCT  
CTCGC

***Russula vinosa*** (band 20)

TGTAAGTGTACAAGTCTCCTGAGCCCTTGGTCATTTAGAGGAAGTAAAAGTCGTA  
ACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATTGTGCAACCGAGGTGCAAGGGC  
TGTCGCTGAGCTTCAAGGCTTGTGCACGCTCAAGCACTCTCATACATCCATCTCACCCCTTT  
GTGCATCACCGCGTGGGCCCTCCTTTGCGGGAGGGCTTGCCTTTTCACATAAACTTGATAC  
AGTGTAGAATGTTTTCTTTTGCGGTCACACGCAATCAATACAACCTTTCAACAACGGATCTCT  
TGGCTCTC

***Russula vinosa*** (band 30)

TATACTGGACCGTGTACAAGTCTCCTGAGCTCTTGGTCATTTAGAGGAAGTAAAGACTGGA  
CCGTGTACAAGTCTCCTGAGCCCTTGGTCATTTAGAGGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTTT  
CCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATTGTGCAACCGAGGTGCAAGGGCTGTGCTGA  
GCTTCAAGGCTTGTGCACGCTCAAGCACTCTCATACATCCATCTCACCCCTTTGTGCATCAC  
CGCGTGGGCCCTCCTTTGCGGGAGGGCTTGCCTTTTCACATAAACTTGATACAGTGTAGAA  
TGTTTTCTTTTGCGGTCACACGCAATCAATAC

***Russula sp. 1*** (band 11)

AAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATCGTGCAACAGAGGC  
GCGAGGGCTGTGCTGACTCGAAAAGGTCGTGCACGCCCCGAGCGCTCTCACGCATCCATTT  
CACCCCTTTGTGCACCACCGCGTGGGTCTCCTCCCTCCGAGGGCGGGCGGCTTGCCTTTT  
TACACAAACCCCTCGTAACGCAGCGTTAGAATGATTTACCCTTTGCGGTGACACGCAATCA  
ATAAATTTCAACAACGGACCTCTTGGCTCTC

***Russula sp. 1*** (band 37)

GCTGGACCGTGTACAAGTCTCCTGAGCTCTTGGTCATTTAGAGGAAGTAAAAGTCGTAACA  
AGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATCGTGCAACAGAGGGCGGAGGGCTGT  
CGCTGACTCGAAAAGGTCGTGCACGCCCCGAGCGCTCTCACGCATCCATTTCACCCCTTTGT  
GCACCACCGCGTGGGTCTCCTCCCTCCGAGGGCGGGCGGCTTGCCTTTTACACAAACCC  
CCTCGTAACGCAGCGTTAGAATGATTTACCCTTTGCGGTGACACGCAATCAATACAACCTTT  
ACAACGGATCTCTTGGCTCTC

***Russula sp. 2*** (band 27)

AAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATCGTACAACACTGAGGT  
GCAAAGGCTGTGCTGACCCTCAAGGGTCGTGCACGCCCCGAGCGCTCTCACACAATCCATC  
TCACCTTTGTGCATCACCGCGTGGGTCTCCCTTTGCGGGGGGGCTCACGTTTACACATAAAA  
CTCGATACGGTGTAGAATGTTTCTTTTGCGGTCACACGCAATCAATACAACCTTTCAACAACG  
GATCTCTTG

***Russula sp. 2*** (band 34)

AAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATCGTACAACACTGAGGT  
GCAAAGGCTGTGCTGACCCTCAAGGGTCGTGCACGTCGAGCGCTCTCACACAATCCATC  
TCACCTTTGTGCATCACCGCGTGGGTCTCCCTTTGCGGGGGGGCTCACGTTTTCACATAAAA  
CTCGATACGGTGTAGAATGTTTCTTTTGCGGTCACACGCAATCAATACAACCTTTCAACAACG  
GATCTCTTGGCTCTC

***Russula sp. 3*** (band 31)

GAGAGCCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTGTATTGATTGCGTGTGACCGCAAAAATAAACA  
TTCCAGACTGTATCGAGTTTATGTAAAACGCGAGCCCTCCCGCAAAGGGGGACCCACGC  
AGTGATGCACAAAGGGGTGAGATGGATTGTGTGAGAGCGCTCGGGCGTGCACGACCCTTG  
AAGGTCAGCGACAGCCCTCGCACCTCGGTTGTACGATAATGATCCTTCCGCAGGTTACCTA  
CGAAACCTTGTTACGACTT

***Russula sp. 4*** (band 6)

ACTCTAGAGGGGATCCAGATCTCAGGAGACTTGTACACGGTCCAGCGCGGAAGACGCTTCT  
CTAAATTACAACCTCGGGCAACCAAAGGCCACCAGATTTTAAATTTGAGCTTTTCCCGCTTCA  
CTCGCAGTTACTAGGGGAAT

***Russula sp. 5*** (band 20)

GACTTTTAAAAAAGTCAGCGACAGCCCTCGCACCTCAGTTGTATGATAATGATCCTTCCGCA  
GGTTCACCTACGGAAACCTTGTTACGACTTTTACTTCTTAAATGACCAAGGGCTCAGGA

GACTTGTACACGGTCCAGTTACTTCCTCTAAATGACCAAGAGCCCAGGAGACTTGTACACG  
GTCCAGTCGTATTACTTCCTCTAAATGACCAAGAGTCAGGAGACTTGTACACGGTCCAGTTA  
CTTCTCTAAATGACCAAGAGTCAGGAGACTTGTACACGGTCCAGTATTATTACTTCCTCTA  
AATGACCAAGGGCTCAGGAGACTTGTACACGGTCCAGTATTATTACTTCCTCTAAATGACCA  
AGAGTCAGGAGACTTGTACACGGTCCAGTTACTTCCTCTAAATGACCAAGAGGTCAGGAG  
ACTTGTACACGGTCCAGGAGACTTGTACACGGTCCAGC

***Lactarius* sp. 1** (band 27)

CTGGACCGTGTACAAGTCTCCTGGCCCTTGGTCATTTAGAGGAAGTAAGCTGGACCGTGTA  
CAAGTCTCCTGACTCTTGGTCATTTAGAGGAAGTAAGTGGACCGTGTACAAGTCTCCTGGA  
CCGTGTACAAGTCTCCTGAGTCTTGGTCATTTAGAGGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTTTC  
CGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATCGTACAAAATGTGAGAGGCATGCCAGGGCTGT  
CGCTGACTTCAAAGTCGTGCACGCCCGGGTGTGTCCCTCACATAACAATCCGTCTCACCC  
TTTGTGCATCACCGCGTGGGCACCCCTTTGGGATCATCTCGGAGGGGGCTCGCGTTTTACAC  
AAACCCCCCTTTTAAAAGTGTAGAATGACCTCATATATGCAATCAATACAACCTTTCAACAA  
CGGATCTCTTGGCTCTC

***Cortinarius* sp. 1** (band 4)

AAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATTGAAATAAACCTGA  
TGAGTTGTTGCTGGTTCTCTAGAGAGCATTGTGCACGCTTGTGCATCTTTATGTCTCCACCTGT  
GCATATTTGTAGACCTGGATTACTCTCTGAAATGCTAACAGCATTTTAGGTTGGAGGA  
GTTTGACTTTGCCGCTTTCCCTTGCATTTCTAGGTCTATGTTCTTTTTCATATAATCTTATTGTG  
ATATAATGGGCCCTATATAATAAACTTATACAACCTTTCAGCAACGGATCTCTTGGCTCTC

***Cortinarius* sp. 2** (band 7)

GATCATTATTGAAATAAACCTGATAGGTTGTTGCTGGTTTCCTCGGGAGCATGTGCACACTT  
GTCATCTTTATATCTCCACCTGTGCACCTTTTGTAATCTGAATATCTTTCTGAATGCATGCCA  
TTCAGGTTTTGAGGATTGATCTTTTTCTTCCCTTACATTTTCAGGTTTATGTTTTCATATAACC  
CCAAGTATGTTATAGAATGTTATAAACGGGCCCTTTGTGCCTATAAATTTATACAACCTT

***Cortinarius* sp. 3** (band 9)

CTGGACCGTGTACAAGTCTCCTGGGCCCTTGGTCATTTAGAGGAAGTAAAAGTCGTAACAA  
GGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATTGAAATAAACCTGATGGGTTGTTGCTG  
GTTCTCTAGGGAGCATGTGCACACTTTGTCATCTTTATATCTCCACCTGTGCACCTTTTTGTAG  
ATTTGAATAGCTTTCCGAATGCCTAGCATTGGGTTTGAAGATTGACTTTTCTGTCTTTCTTT  
ACTTTCAGGTCTATGTTTTCTCCATATAACCCAATGTATGTCATAGAATGTAATAAATATGGGC  
CTTTGGTGCCTATAAATTTATACAACCTTTCAGCAACGGATCTCTTGGTTCTCGCATCGATGAA  
GAACGCAG

***Cortinarius* sp. 4** (band 13)

TCTGGACCGTGTACAAGTCTCCTGGGGCTTGGTCATTTAGAGGAAGTAAAAGTCGTAACA  
AGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATTGAAATAAACCTGATGAGTTGCTGCT  
GGCCCTCATTGAGAGCATGTGCACACTTGTGCTCTTTATATCTCCACCTGTGCACCTATTGTA  
GACCTGGATAACTCTCTGAATGCACTAGCATTAGGTTATGAGGATTGACTTTCTGCCTTTCTC  
TACATTTTCAGGCCTATGTTTCTTTTATATAACCTCAATGTATGTTATGGAATGTAATAATATG  
GGCTTCTGTGCCTATAAATTTATACAACCTTTCAGCAACGGATCTCTTGGCTCTC

***Cortinarius* sp. 5** (band 13)

AAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATTGAAATAAACCTGA  
TGAGTTGCTGCTGGTTCTCTAGGGAGCATGTGCACACTTGTGCATCTTTATATCTCCACCTGTG  
AACCTTTTGTAGACCTGGATATCTCTCTGAATTTGCCTGGCAGATTCGGGTTTAAAGGATTGAT  
CTGTTCTTTCTTGTGCTTTCAGGTCTATGTTTTTATATAACCCAATGTATGTTTATAGAATGT  
AATAAACAGGCCTTTGTGCCTATAATAAGCTTATACAACCTTTCAGCAACGGATCTCTTGGCTC  
TC

***Cortinarius* sp. 6** (band 15)

GCTGGACCGTGTACAAGTCTCCTGAGCTCTTGGTCATTTAGAGGAAGTAAAAGTCGTAACA  
AGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATTGAAATAAACCTGATGGGTTGTGCTG  
GGTTCTCTAGGGAGCATGTGCACGCTTGTGCATCTTTATATATCTCCACCTGTGCACCTTTTT  
GTAGACCCTTCAAAGTCTATGTTGCTTACATCTACCCCAATAATAATAAGATGTTGTGCCTT  
TTTGAATATATAACCTTTCAGCAACGGATCTCTTGGCTCTCGC

***Cortinarius* sp. 7** (band 22)

AAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATTGAAATAAACCTGAT  
AGGTTGTTGCTGGTTCTCTCGGGAGCATGTGCACGCTTGTGCATCTTTATATCTCCACCTGTGC  
ACCTTTTGTAAAGCCTGAATATCTTTCTGAATGCTTCTCGCATTTTCAGGTCTGAGGATTGATAT  
TCTTCTTCCCTCACATTTTCAGGTTTATGTTTTTATATAACCCAAGTATGTTATAGAATGTCAT



AAACAGGCCTTTGTGCCTATAAATTTAAATACAACCTTTCAGCAACGGATCTCTTGGCTCTC

***Cortinarius* sp. 8** (band 26)

CTGGACCGTGTACAAGTCTCCTGACTCTTGGTCATTTAGAGGAAGTAAAAGTCGTAACAAG  
GTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATTGAAATAAACCTGATGGGTGCTGCTGG  
TTCTCTCGGGAGCATGTGCACACTTGTTCATCTTTATATCTCCACCTGTGCACCTTTTGTAGAC  
CTTTTCAGGTCTATGTTGCTTCATTTACCCCAATGTATGTCGATAGAATGTTGTGCCTATAATA  
TTTATAACAACCTTTCAGCAACGGATCTCTTGGCTCTC

**Cortinariaceae sp. 1** (band 8)

GCTGGACCGTGTACAAGTCTCCTGAGTCTTGGTCATTTAGAGGAAGTAAAAGTCGTAACAA  
GGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATTGAAATAAACCTGATGAGTTGCTGCTG  
GCTCTCTAGGGAGCATGTGCACACTTGTTCATTTTTATATTTCCACCTGTGCACCTTTTGTAGA  
CTTTGGATATCTTTCTGACACATGTCAGGTTTGGAGATTGACTTTCTTGGTCTGTCCTTACAT  
TTCCAAGTCTATGTTTTTCACTATAACCCCAATGTATGTTATAGAATGTAATAAGCGGGCCTT  
TGTGCCTATAAATCTTATAACAACCTTTCAGCAACGGATCTCTTGGCTCTC

**Cortinariaceae sp. 1** (band 10)

TAAAAGAACAGCTGGACCCGTGTACAAGTCTCCTGACTCTTGGTCATTTAGAGGAAGTAAA  
AGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATTGAAATAAACCTGAT  
GAGTTGCTGCTGGCTCTCTAGGGAGCATGTGCACACTTGTTCATTTTTATATTTCCACCTGTGC  
ACTTTTGTAGACTTTGGATATCTTTCTGACACATGTCAGGTTTGGAGATTGACTTTCTTGGT  
CTGTCCTTACATTTCCAAGTCTATGTTTTTCACTATAACCCCAATGTATGTTATAGAATGTAAT  
AAGCGGGCCTTTGTGCCTATAAATCTTATAACAACCTTTCAGCAACGGATCTCTTGGCTCTC

**Cortinariaceae sp. 1** (band 16)

CTGGACCGTGTACAAGTCTCCTCTGGACCGTGTACAAGTCTCCTGAGCCTTGGTCATTTAGA  
GGAAGTAACTGGACCGTGTACAAGTCTCCTGGCTCTTGGTCATTTAGAGGAAGTAACTGGA  
CCGTGTACAAGTCTCCTGGCCCTTGGTCATTTAGAGGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTTTCC  
CGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATTGAAATAAACCTGATGAGTTGCTGCTGGCTCTC  
TAGGGAGCATGTGCACACTTGTTCATTTTTATATTTCCACCTGTGCACCTTTTGTAGACTTTGG  
ATATCTTTCTGACACATGTCAGGTTTGGAGATTGACTTTCTTGGTCTGTCCTTACATTTCCAA  
GTCTATGTTTTTCACTATAACCCCAATGTATGTTATAGAATGTAATAAGCGGGCCTTTGTGCC  
TATAAATCTTATAACAACCTTTCAGCAACGGATCTCTTGGCTCTC

**Cortinariaceae sp. 2** (band 11)

CTGGACCGTGTACAAGTCTCCTGGACCGTGTACAAGTCTCCTGAGTCTTGGTCATTTAGAG  
GAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATTGAATAA  
ACCTGATGGGTGCTGCTGGTTCTCTAGGGGGCATGTGCACACTTGTTCATTTTTATATCTCTC  
CACCTGTGCACCTTTTGTAGACCTGGATATCTTTTCTGAATGCCATACTAGCATTTCAGGTTT  
GGGACTGACTTCTTCTGTCTTTCCTTATATTTCCAGGTCTATGTTTCTCCATATACACCCTAA  
TGATGTTATAGAATGTAATGAATGGGCTTTTGTGCCTATAAACCTTATAACAACCTTTCAGCAAC  
GGATCT

***Hydnum ellipsosporum*** (band 23)

AAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTAAATGGATTTACAGAGG  
GTTGATGCTGGATGTTATCTACATGTGCTCACTCTTCTGATTTATTACACCTGTGCACTTAA  
TTTTTTTTTCAAGGGTCAGGGTAGAACCTGCCTTTGGACTTATAAGCCCCTAACCCCTATTT  
TGGAACAATGGATGTTTATTTGCCGCAAGGCCAAATTTTTGATACAACTTTTAACAACGGAT  
CTCTTGGCTCTC

**Thelephoraceae sp. 1** (band 33)

GAGAGCCAAGAGATCCGTTGCTGAAAGTTGTATTGTATTGCGTTAAACGCGGTGCACACTC  
CATAAGACTTCGCTACGGTGTATGTGTAAGACATAGAACTACAGGAGGAAGACAAGGTGT  
CCCCAGACCATAGAACTACGGAGGGTGCACAGGTGTGAGTGGATTGCATGAACAGAGCG  
TGCACATGCCCCATGTTTGGAGACCAGCAACAGCTCATGTCAACAAATCAGTAATGATCCT  
TCCGACGGTTCACCTACGGAAACCTTGTTACGACTT

***Tomentella* sp. 1** (band 14)

GAGAGCCAAGAGATCCGCTGCTGAAAGTTGTATTGTATTGCGTTGAACGCGGCATGCATTCC  
CATTAGACTTTATCACAGCGTGAGTGTAAAGATGCAGAACCACAGCAGGAGGACGAGTCCC  
CTGGGGCCACAGAACTACAGAAGGTGCACAGGTGTGAGTGGATGCACAAACAGAGTGTGCA  
CATGCCCCGTTTGGAGACCAGCAACAACCTCATGTTCAGCAGTTTCAGTAATGATCCTTCCGC  
AGGTTACCTACGGAAACCTTGTTACGACTTTTACTTCTCTAAATGACCAAGAGCTCAGG  
GAGACTTGTACACGGTCCAGCTTACTTCTCTAAATGACCAAGACTCAGGAGACTTGTACA  
CGGTCCA

**Clavulinaceae sp. 1 (band 4)**

GAGAGCCAAGAGATCCGTTGTAAAAGTTGTATTAATATTAAGGCCTCACGGCACAATCACG  
TTCAATATAAAATAAAGTGTATAATGAGAGGAAGGGACTCCAAGGAGAACTCGGAGACCC  
TCTCTAAATGTGCACAGGTGTTTGGATGAAGATTGTTAGGAGTGAGCACATGCAGCCAAGC  
TGCCAGCATCAACTCCGATTACAATTCATTAATGATCCTTCCGCAGGTTACCTACGGAAAC  
CTTGTTACGACTT

**Clavulinaceae sp. 1 (band 18)**

GAGAGCCAAGAGATCCGTTGTAAAAGTTGTATTAATATTAAGGCCTCACGGCACAATCACG  
TTCAATATAAAATAAAGTGTATAATGAGAGGAAGGGACTCCAAGGAGAACTCGGAGACCC  
TCTCTAAATGTGTACAGGTGTTTGGATGAAGATTGTTAGGAGTGAGCACATGCAGCCAAGC  
TGCCAGCATCAACTCCGATTACAATTCATTAATGATCCTTCCGCAGGTTACCTACGGAAAC  
CTTGTTACGACTTTTACTTCCTCTAAATGACCAAGACTCAGGAGACTTGTACACGGTCCAG

**Clavulinaceae sp. 1 (band 19)**

GAGAGCCAAGAGATCCGTTGTAAAAGTTGTATTAATATTAAGGCCTCACGACACAATCACG  
TTCAATATAAAATAAAGTGTATAATGAGAGGAAGGGACTCCAAGGAGAACTCGGAGACCC  
TCTCTAAATGTGCACAGGTGTTTGGATGAAGATTGTTAGGAGTGAGCACATGCAGCCAAGC  
TGCCAGCATCAACTCCGATTACAATTCATTAATGATCCTTCCGCAGGTTACCTACGGAAAC  
CTTGTTACGACTTTTACTTCCTCTAAATGACCAAGACTCAGGAGACTTGTACACGGTCCAG

**Clavulina sp. 1 (band 9)**

GAGAGCCAAGAGATCCGTTGTCAAAGTTGTATTATGTTAAGCCTTGACGGCACAATGCATT  
CAACATTACAAACAGCGTTTATGAATCATGAGACGAGATAAAAAGAGACAAGCCCTTTCTCT  
CCCATTCTACAAGGTAGGTGCACAGGTGTTTGGAAAAGGACTGCTGGGGCGAGCACATG  
CAGCCAAAGGATGACAAGCCAGCATCAAGCCCCATTCAATCAATAATGATCCTTCCGCAG  
GTTACCTACGGAAACCTTGTTACGACTGTTACTTCCTCTAAATGACCAAGAGCTCAGGAG  
ACTTGACACGGTCCAGTTACTTCCTCTAAATGACCAAGAGCCCAGGAGACTTGTACACGG  
TCCAG

**Russula peckii (Morphotype yellow I no. 5)**

CGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATCGTACAACGGAGGTGCAAGGGCTGTGCGTGAC  
CTTCAAAGGTTGTGCACGCCAAGCGCTCTCTCACATCCTTCTCACCCCTTTGTGCATCACC  
GCGTGGGCCCTCTTTGCGGAGAAGGCCTGCGTTTTTACATAAAAACCTTGATACAGTGTAGA  
ATGCTTTTTGCGGTCACACGCAATCAATACAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTCGC  
ATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATACGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATC  
GAATCTTTGAACGCACCTTGCGCCCTTGGCATTCCGAGGGGCACACCCGTTTGAGTGTGCG  
TGAAATTATCAAAAACCTTTCTTTGAGAAAAGGATTTTGGACTTGGAGGTTTTATGCTCGC  
TTTTCGTGTCTCGAAAGTGAGCTCCTCTCAAATGAATTAGTGGGGTCTGCTTTGCTGGTCTT  
GACGTGATAAGATGTTTTGACGTTTTGGACTTGGCACTGTCTCTTGGATGGCTTCTAAC  
TGTCATCTCATGGACAATGATGGTGTCTGTGCTCTTCCATCCACATTGGTGGGAGGCTGG  
ACCCACAAAAACCTTGACCTCAAATCGGGTGAGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAA  
TAAGCGGAGGAAAAGAACTAACAAGGATTCCTTAGTAACTGCGAGTGAAGCGGAAAA  
GCTCAAATTTAAAATCTGGTGGTCTTTGGCCATCCGAGTTGTAATTTAGAGAAGCGTCTTCC  
GCG

**Russula peckii (Morphotype yellow I no. 6)**

CTTGGTCAATTTAGAGGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGG  
ATCATTATCGTACAACGGAGGTGCAAGGGCTGTGCGTGACCTTCAAAGGTTGTGCACGCC  
AAGTGCTCTCTCACATCCTTCTCACCCCTTTGTGCATCACCAGCGTGGGCCCTCTTTGCGGA  
GAAGGCCTGCGTTTTTACATAAAAACCTTGATACAGTGTAGAATGCTTTTTTGCGGTCACACGC  
AATCAATACAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAA  
ATGCGATACGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGC  
GCCCTTGGCATTCCGAGGGGCACACCCGTTTGGTGTGCGTGAATTTATCAAAAACCTTTTCT  
TTGAGAAAAGGATTTTGGACTTGGAGGTTTTATGCTTGTCTTTCGTGTCTCGAAAGTGAGCT  
CCTCTCAAATGAATTAGTGGGGTCTGCTTTGCTGGTCTTGGACGTGATAAGATGTTTTGACG  
TTTTGGACTTGGCACTGTCTCTTGGATGCCTGCTTCTAACTGTCCATCTCATGGACAATGATG  
GTGCTCTGGTCTCTTCCATCCACATTGGCGGGAGGCTGGACCCACAAAAACCTTGACCTC  
AATCGGGTGAGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAAAAGAACTAA  
CAAGGATTCCTTAGTAACTGCGAGTGAAGCGGAAAAGCTCAAATTTAAAATCTGGTGGT  
CTTTGGCCATCCGAGTTGTAATTTAGAGAAGCGTCTTCCGCGCTGGACCGTGTACAAGTCTC  
CTG

**Russula peckii (Morphotype black no. 5)**

GTCATTTAGAGGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCA

TTATCGTACAACGGAGGTGCAAGGGCTGTCGCTGACCTTCAAAGGTTGTGCACGCCCAAGC  
GCTCTCTCACATCCTTCTCACCCCTTTGTGCATCACCGCGTGGGCCCTCTTTGCGGAGAAG  
GCCTGCGTTTTTACATAAACTTGATACAGTGTAGAATGTCTTTTTGCGGTACACGCAATC  
AATACAACCTTCAACAACGGATCTCTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGC  
GATACGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCGCCC  
CTTGGCATTCCGAGGGGCACACCCGTTTGAGTGTCTGAAATTATCAAAACCTTTTCTTTGA  
GAAAAGGATTTTGGACTTGGAGGTTTTATGCTTGGCTTTCGTGTCTCGAAAGTGAGCTCCTC  
TCAAATGAATTAGTGGGGTCTGCTTTGCTGGTCCTTGACGTGATAAGATGTTTTGACGTTTT  
GGACTTGGCACTGTCTCTTGGATGCCTGCTTCTAACTGTCCATCTCATGGACAATGATGGTG  
CTCTGGTCTCTTCCATCCACATTGGCGGGAGGCTGGACCCACAAAAACCTTGACCTCAA  
TCGGGTGAGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAAAAGAACTAACAA  
GGATTCCCCTAGTAACTGCGAGTGGAGCGGAAAAGCTCAAATTTAAAATCTGGTGGTCTT  
TGCCATCCGAGTTGTAATTTAGAGAAGCGTCTTCCGCG

***Russula peckii*** (Morphotype yellow II no. 1)

CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGG  
ATCATTATCGTACAACGGAGGTGCAAGGGCTGTCGCTGACCTTCAAAGGTTGTGCACGCC  
AAGCGCTCTCTCACATCCTTCTCACCCCTTTGTGCATCACCGCGTGGGCCCTCTTTGCGGA  
GAAGCCCTGCGTTTTTACATAAACTTGATACAGTGTAGAATGTCTTTTTGCGGTACACGC  
AATCAATACAACCTTCAACAACGGATCTCTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAA  
ATGCGATACGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGC  
GCCCTTGGCATTCCGAGGGGCACACCCGTTTGAGTGTCTGAAATTATCAAAACCTTTTCT  
TTGAGAAAAGGATTTTGGACTTGGAGGTTTTATGCTTGGCTTTCGTGTCTCGAAAGTGAGCT  
CCTCTCAAATGAATTAGTGGGGTCTGCTTTGCTGGTCCTTGACGTGATAAGATGTTTTGACG  
TTTTGGACTTGGCACTGTCTCTTGGATGCCTGCTTCTAACTGTCCATCTCATGGACAATGATG  
GTGCTCTGGTCTCTTCCATCCACATTGGCGGGAGGCTGGACCCACAAAAACCTTGACCTC  
AAATCGGGTGAGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAAAAGAACTAA  
CAAGGATTCCCCTAGTAACTGCGAGTGAAGCGGAAAAGCTCAAATTTAAA

***Russula vinosa*** (Morphotype black no. 3)

CCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATTGTGCAACCGAGGTGCAAGGGCTGTCGCTGA  
GCTTCAAGGCTTGTGCACGCTCAAGCACTCTCATACTCCATCTCACCCCTTTGTGCATCAC  
CGCGTGGGCCCTCCTTTGCGGGAGGGCTTGCCTTTTACATAAACTTGATACAGTGTAGAA  
TGTTTTCTTTGCGGTACACGCAATCAATACAACCTTCAACAACGGATCTCTGGCTCTCG  
CATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATACGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAACCA  
TCGAATCTTTGAACGCACCTTGCGCCCTTGGCATTCCGAGGGGCACACCCGTTTGAGTGT  
CGTGAATCATCAAAACCTTTTCTTTAAACCTTTTTTTCGGTCAGGGAAGGGATTTTTG  
GACTTGGAGGTTCCATGCTCGCTTTTGCCCTTGAAGTGAGCTCCTCTCAAATGAATTAGTG  
GGTCCGCTTTGCTGATCCTTGACGTGATAAGATGTTTCTACGTTTTGGATTTGGCACTGTCC  
CTTGGATGCCTGCTCCTAATTGTCTCTTGGGACATTGATGGTGCTTCGGTCACCGCCATCTAC  
ATTGGTGGAAGGCCGAGCCACATAAAAAACCTTGACCTCAAATCGGGTGAGACTACCCG  
CTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAAAAGAACTAACAAGGATTCCCCTAGTAACT  
GCGAGTGAAGCGGAAAAGCTCAAATTTAAAATCTGGTGGTCTTTGGCCATCCGAGTTGTA  
ATTTAGAGAAGCGTCTTCCGCG

***Russula sp. 1*** (Morphotype yellow I no. 2)

AAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATCGTGCAACAGAGGC  
GCGAGGGCTGTCGCTGACTCGAAAAGGTCGTGCACGCCCGAGCGCTCTCACGCATCCATTT  
CACCCCTTTGTGCACCACCGCGTGGGTCTCCTCCCTCCGAGGGCGGGCGGCTTGCCTTTT  
TACACAAACCCCTCGTAACGCAGCGTTAGAATGATTTACCCTTTGCGGTGACACGCAATCA  
ATACAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCG  
ATACGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTC  
TTGGTATCCGAGGGGCACACCCGTTTGAGTGTCTGACATCCTCAACCTTCTCGATCTTTG  
CGATCGGGGAAGGTTTGGACTTTGGGGTTTATGCTGGCTCCTCGAAGCCAGCTCCCCCT  
AAATGGATTAGTGGGGTTCGCTTTGCCGATCCTCGACGTTGATAAGATGTTTCTACGCTTG  
GGTTGGCACTGTCTTTCCGGAACCTGCTTCTAACCGTCTCGCGAGAGACGACGCGTTTTGA  
ACCTTGACCTCAAATCGGGTGAGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGA  
AAAGAACTAACAAGGATTCCCCTAGTAACTGCGAGTGAAGCGGAAAAGCTCAAATTTA  
AAATCTGGTGGTCTCTGGCCGTCAGGTTGTAATTTAGAGAAGCGTCTTCCGCG

***Lactarius sp. 2*** (Morphotype yellow I no. 3)

CAGGAGACTTGTACACGGTCCAGCGCGGAAGACGCTTCTCTAAATTACAACCTCGGGCAACC  
AAAGGCCACCAGATTTTAAATTTGAGCTTTTCCCGCTTCACTCGCAGTTACTAGGGGAATCC

TTGTTAGTTTCTTTTCTCCGCTTATTGATGTGCTTAAGTTCAGCGGGTAGTCTCACCCGATT  
TGAGGTCAAGGGTTCGTGGGGGTCAAGGGAGCTTCCCGAGAAGGGAGACATGCTCGAACA  
TTGTCTCGACGCGAGGTCCAGACGGTTAGAAGCGGGTCCCAAAAGTGACAGAGCCAGAAA  
CCAAGACATGGAAGCATCTTATCACACGTCAAGGATCAGCAAAGGGGCCCTGCTAATCTG  
TTAAGAGGAGCTGGCAGAGGTGCCAGCAAAGGCCTCCAAAGTCCAAGCCTGCTTTGGTC  
TCCAGAAGAAACCAAGGAGGTTGAGGTTTTACGACACTCAAACGGGTGTGCCCCCCGGA  
ATACCAAGGGGCGCAAGGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACAT  
TACGTATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCGAGAGCCAAGAGATCCGTTGTTGAAAG  
TTGTATTGATTGCGTGTAGCGCATATATGAGGTCAATTCTACACTTTTAAAAGGGGGGGTTT  
TGTGGAAAACATGAGCCCCCCCCGAGGTGATCCCAAAGGGTGCCACGCGATGATGCACA  
AAGGGTGAGATGGACTGTTATGTGAGGGGACACGCTCAGGCGTGCACGACTTTGAGGTCA  
GCAACAGCCCTCGCATGTCCCTCACATTTGGTACGATAATGATCCTTCCGCAGGTTACCTA  
CGAAACCTTGTACGACTT

***Lactarius* sp. 2** (Morphotype yellow I no. 5)

CGCGGAAGACGCTTCTCTAAATTACAACCTCGGGCAACCAAAGGCCACCAGATTTTAAATTT  
GAGCTTTTCCCGCTTCACTCGCAGTTACTAGGGGAATCCTTGTTAGTTTCTTTTCTCCGCTT  
ATTGATATGCTTAAGTTCAGCGGGTAGTCTCACCCGATTTGAGGTCAAGGGTTCGTGGGGGT  
CAAGGGAGCTTCCCGAGAAGGGAGACATGCTCGAACATTGTCTCGACGCGAGGTCCAGAG  
GGTTAGAAGCGGGTCCCAAAAGTGACAGAGCCAGAAAACCAAGACATGGAAGCATTTATC  
ACACGTCAAGGATCAGCAAAGGGGACCCCTGCTAATCTGTTTAAAGAGGAGCTGGCAGAGGT  
GCCAGCAAAGGCCTCCAAAGTCCAAGCCTGCTTTGGTCTCCAGAAGAAACCAAGGAGGTT  
GAGGTTTTACGACACTCAAACGGGTGTGCCCCCCGGAATACCAAGGGGCGCAAGGTGCG  
TTCAAAGATTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACATTACGTATCGCATTTTCGCTGCGTT  
CTTCATCGATGCGAGAGCCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTGTATTGATTGCGTGTAGCGC  
ATATATGAGGTCAATTCTACACTTTTAAAAGGGGGGGTTTGTGTGGAAAACATGAGCCCCCTC  
CGAGGTGATCCCAAAGGGTGCCACGCGATGATGCACAAAGGGTGAGATGGACT

***Lactarius* sp. 3** (Morphotype white II no. 11)

AAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATCGTATGACAAGAGG  
CACCCAGGGGCTGTGCTGACCCCTCAGGTCGTGCACGCCTCGAGTGTTCTTTCCCGTC  
CATCTCACCCCTTTGTGCACCACCGCTCGGCCTTTCTCTTTAAAGAGGGGGGCTTACGTTT  
TTTTACACAGACACGTCTTACGTAGAATGGGTTACCTTTGCGATCACACGCAATTTAAACA  
ACTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATACG  
TAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCGCCCTTGGC  
ACTCCGAGGGGCACACCCGTTTGTGAGTGTGTAATTTCTAACCTCCCTAATTTTTGGGGA  
AGGCTTGGAGTTTGGAGGCTTTTGGTGGCTTTTCTGGAAGCCAGCTCCTCTTAAATGGATT  
AGTAGGGTCTCTTTGCCGATCCCTTGACGTGATAAGAATTTTCTTACGTCCGAGGTTTGGC  
AAGACCTGCTTCTAATCGTCAATGAACTCTTTGGCCTCAAATCGGGTGAGACTACCCG  
CTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAAAAGAACTAACAAGGATCCCTAGTAACT  
GCGAGTGAAGCGGAAAAGCTCAAATTTAAAATCTGGTAGCCTTTGGCCATCCGAGTTGTA  
ATTTAGAGAAGCGTTTTTCCGCG

***Cortinarius* sp. 9** (Morphotype white II no. 1)

CAGGAGACTTGACACGGTCCAGCGCAGATAACAACCTTCTTAGATTACAACCTCGGACAGCC  
AAAGACTGACAGATTTTAAATTTGAGCTTTTCCCGCTTCACTCGCAGTTACTAGGGGAATCC  
TTGTTAGTTTCTTTTCTCCGCTTATTGATATGCTTAAGTTCAGCGGGTAGTCCCTACCTGATTT  
GAGGTACATTAATAAATAAAATTTGTTCCAAGTCAATGGACTGTTAGAAGCTGAACTGCTTCA  
CGTCAATAGCATAGATAATTATCACACCAATGAACGGTCAAGCAAATTTCCGCTAATATATT  
TTAGGGGAGCTGATCTTTTAAAAGACCAGCAAAAAGACCCCCACATCCAGCACTCAACAA  
GCAAAAGCTGAAGAGGTTGATATATTAATGACACTCAAACAGGCATGCTCCTCGGAATACC  
AAGGAGCGCAAGGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACATTA  
ATCGCATTTTCGCTGCTTCTTCATCGATGCGGGAGCCAAGAGATCCGTTGCTGAAAGTTGTA  
TAGTGTATAGGCACAGAGGCCCATTTAATACATTTCTATTACATACATTAGGGTATATGAATAA  
ACATAGACCCAGAAATATAAGGAAAGACAAAAGTCAATCCCAAAACCTTAATGCTAGCATT  
AAGAAACTTGTCTAGGTCTACAAAAGGTGCACAGGTGGAGATACAAAGATGACAGGCGTG  
CACATGTCCATTAAGAACCAGCAGCAACCTATCAAGTTTATTTCAATAATGATCCTTCCGC  
AG

***Cortinarius* sp. 10** (Morphotype white II no. 6)

CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGG  
ATCATTATTGAAAATAAACCTGATGGGGTTGCTGCTGGCTCTCCAGGGAGCATGTGCACGCC  
TTGTCATCTTTATATCTCCACCTGTGCACCTTTTGTAGACATCCTTTCCAGGTTGTCTATGTTT

GATTCTTCATGTGCCCAAATAAAAATGTATGTCAATAGAATGTTGTGATAAAATAAAATCTAT  
ACAACCTTTCAGCAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGAT  
AAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTT  
GGTATCCGAGGAGCATGCCTGTTTGGAGTGTGATTAATATTATATATCAAACCTCTGTGTTT  
GATGTGGGGGTTGCTGGCCTCTTTGAAAGAGGTGAGCTCTCCTGAAATGCATTAGCAGAAC  
AACCTGTTTCGTTTCATTGGTGTGATAACTATCTACGCTATAGAACCCTGAAGGCAGTTCAGC  
TTTCTAACTGTCTTTGGGACAATTCATTATCTATGTGACCTCAAATCAGGTAGGACTACCCG  
CTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAAAAGAACTAACAAGGATTCCCCTAGTAACT  
GCGAGTGAAGCGGAAAAGCTCAAATTTAAAATCTGGCGGTGTTTGGCTGTCCGAGTTGT  
AATCTAGAGAAGTGTATCCGCGCTGGACCGTGTACAAGTCTCCTG

***Hydnum ellipsosporum*** (Morphotype white I no. 1)

AAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTAAATGGATTTACAGAGG  
GTTGATGCTGGTAGTTTATCTACATGTGCTCACTCTTCTGATTTATTTACACCTGTGCACTTAA  
TTTTTTTTCAAGGGTCAGGGTAGAACCTGCCTTTGGGACTTATAAGCCCCTAACCCCTATTTT  
GGAACAATGGATGTTTATCTGCCGCAAGGCCAAATTTTTGATACAACCTTTTAAACAACGGATC  
TCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAA  
TTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCATCTTGCCTCTCTGGTATTCGGGGGAGCACACC  
TGTTTCGAGTGTCAATTAAGACTCTCAAATAAAGGTGGCTTTTGCAGCCATCTCTGTTTGGACT  
TGGGCTTTGTGCATTAATGTGGCTAGTCTTAAATCTATTAGCTGATCCTTGTGGGATTTT  
GTTCTACTCAGTGTGATAATTAATCTAGCATTGAGGACAGTCTCAGAAGTGGCCATAGCTCT  
CTCTGGATTGCTTCTAAAGTGTCTTGGGGACAATTGCTTAATTTCTGACCTCGAATCAGGTG  
GGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAAAAGAACTAACAAGGATTCC  
CTTAGTAACTGCGAGTGAAGTGGGATGAGCTCAAATTTGAAATCTGGTAGTCCTTGGCTGC  
CCGAGTTGTAAT

***Hydnum ellipsosporum*** (Morphotype white I no. 8)

CACAGAAAACACTTCTCTAGATTACAACCTCGGGCAGCCAAGGACTACCAGATTTCAAATTT  
GAGCTCATCCACTTCACTCGCAGTTACTAAGGGAATCCTTGTTAGTTTCTTTTCCCTCCGCTT  
ATTGATATGCTTAAAGTTCAGCGGGTAGTCCACCTGATTGAGGTCAGAAATTAAGCAATTG  
TCCCCAAGACACTTTAGAAGCAATCCAGAGAGAGCTATGGCCAGTTCTGAGACTGTCTCA  
ATGCTAGATTAATTATCACACTGAGTAGAACCAAAATCCCAACAAGGATCAGCTAATAGATT  
TAAGACTAGCCACATTAATGCAGCAAAGCCCAAGTCCAAACAGAGATGGCTGCAAAAAGCC  
ACCTTTATTTGAGAGTCTTAATGACACTCGAACAGGTGTGCTCCCCGGAATACCAGAGAGC  
GCAAGATGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACATTACTTATCGCATT  
TCGCTGCGTTCTTCATCGATGCGAGAGCCAAGAGATCCGTTGTTAAAAGTTGTATCAAAAAT  
TTGGCCTTGCAGGAGATAAACATCCATTGTTCCAAAATAGGGGTTAGGGGCTTATAAGTCCC  
AAAGGCAGGTTCTACCTGACCCTTGAAAAAAAATTAAGTGCACAGGTGTAAATAAATCAG  
AAGAGTGAGCGCATGTAGATAAACTACCAGCATCAACCCTCTGTAAATCCATTAATGATCCT  
TCCGAGGTTACCTACGGAAACCTTGTTACGACTT

**Thelephoraceae sp. 1** (Morphotype yellow I no. 10)

AAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACTGATTTGTTGACATG  
AGCTGTTGCTGGTCTCAAACATGGGGGCATGTGCACGCTCTGTTTCATGCAATCCACTCACA  
CCTGTGCACCTCCGTAGTTCTATGGTCTGGGGGACACCTTGTCTTCCCTCCTGTAGTTCTATG  
TCTTTACACATACACCGTAGCGAAGTCTTATGGAATGTGCACCGCGTTTAAACGCAATACAAT  
ACAACCTTTCAGCAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGAT  
AAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTT  
GGCTATTCGAGGGGCATGCCTGTTTGGAGTATCATGAACACCTCAACTCTCATGGTTTGCCA  
TGATGAGCTTGGACTTTGGGGGTTTTGCTGGCCTGCGGTGAGCTCCTCTCAAACGGATCAG  
CTTACCAGTATTTGGTGGCGTACGGGTGTGATAATTATCTACACTTGTGGTTGTCTGCCGAG  
CAACCTTTGGTGACAGGGGTTTTGCTGGAGCTTATAAATGTCTCTCCCAGCGAAGACAGCT  
TTTTGACCGTTTCGATCTCAAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGC  
GGAGGAAAAGAACTAACAAGGATTCCCCTAGTAACTGCGAGTGAAGCGGGAAGAGCTCA  
AATTTAAAATCTGGCATGCCTCTGGCTGTCCGAGTTGTAGTCTGGAGAAGTGTTTTCCGCG

**Thelephoraceae sp. 2** (Morphotype white I no. 8)

AAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTAAATGAAATGTTTGTG  
AGAAGGTTGTAGTCTCCAGAGGCTGTGCACACCTGATCGCATCCACCTCCACA  
CTTGTGCACCGCTGTAGCTTGGGATGATCAGGAGCCCTATGGGTGACGAATGCCCTTGT  
TATGAATATTTTACACACGCTCAAAGCATGACAGAATGTACATCATATTGCGTCTGATAAAC  
GTGACAAATAAATTTTCAAACAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCG  
AAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTT

GCGCTCCTTGGTATTCCGAGGAGCATGCCTGTTTGGAGTGTGCATGAAATTCTCAACTGCCCCC  
AGGCTTTTGTGGCTTGGGGTGAAGTTGGATTTGGAGGCATGCTGGCGCATGAATGGGTTT  
TGTGCCCTGCTGTGCTTGTGCGGCTCCTCTTAAATGCATGAGCTTTCCGATCCTTGGCAAAGT  
ATCGTCGATGTGATAATTATCTGCATCGCCGAGAAAGCCTAACAGGGGAAATCTTTGATCA  
CGCTGGGGTGACCCACGTCTGACAAATTCGACCTCAAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAAC  
TTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAAAAGAACTAACAAGGATTTCCCTAGTAACTGCGAGT  
GAAGCGGAAAAGCTCAAATTTAAAATCTGGTGGCCTTTGGCCGTCCGAGTTGTAGTCTGG  
AGAAGCGTTTTCCGTG

***Clavulina* sp. 1** (Morphotype yellow I no. 7)

CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGG  
ATCATTATTGAATTGAATGGGGCTTGTATGCTGGCTTGTGCATCCTTTGGCTGCATGTGCTCGCC  
CCAGCAGTCCTTTTCCAAACACCTGTGCACCTACCTTGTGAGAATGGGAGAGAAAGGGCTT  
GTCTCTTTTATCTCGTCTCATGATTCATAACGCTGTTTGAATGTTGAATGCATTGTGCCGTC  
AAGGCTTAACATAATACTTTTGAACAACGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACG  
CAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGC  
ACCTTGCCTCCCTGGTATTCCGGGGAGCACGCTGTTTCGAGTGTGCGTGAACCTATCAAGC  
CAGGATGCTTTCTGCTTCCCTGGCCTTGGTTTATTGGGCTTTGCCGTGCCCTTTCATTGGGA  
ACGGCTGGCCTTAAAAGCATTAGCTGACTCCATGTGGTTATTGGTATTCTACTTGGCGTGATA  
ATGATCTGACCGTGTGATAGTGTCTTTTCGGGGATGGCCAATTTTCATCTGGGGTTGCTTC  
CAATCTCTGGAGCTCATGTTCCATTTTCAACTTTGGCCTCGAATCAGGTGGGACTACCCGCT  
GAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAAAAGAACTAACAAGGATTTCCCTAGTAAACGGC  
GAGTGAAGCGGAAAAGCTCAAATTTAAAATCTGGCAGTCTTCAGCTGTCCGAATTGTAAT  
CTAGAGAAGTGTCTTCTGCGCTGGACCGTGTACAAGTCTCCTG

***Boletaceae* sp. 1** (Morphotype yellow I no. 8)

CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAAAAGCCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGG  
ATCATTATAGATAAGAGGGGGGAAGATCGAGACTGTGCTGGCTTGTGATGCATGTGCACGT  
CTTTGTCTTCTTCTTTTGTTCGTTTACACCCACACCTGTGCACCTGTTGTAGGTTGCTCGCA  
AGAGCGATCTATGTCTTTCTACATCCCTTTGTGCTATGGCTATAGAATGTGATATAAATATAAT  
ACAACCTTTCAGCAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAATTGCGAT  
AAGTAATGTGAATTGCAGATTTTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCT  
TGGTATTCCGAGGAGCATGCCTGTTTGGTGTGATTTGAATTTCAACCATTGTCTCGCTCG  
AGTGATGGATTGGATTGTGGAGGTTGCTGGCGGCGACAAGCTGGTCGGCTCTTCTGAAAAG  
CATTAGCAAAGGACCAAGCAAGTCTTGGACGTGCACGGCCTCCGACGTGATAATGATCGT  
TGATGGGCTGGAGCGTCTGACATGCATGAATGGATTCCATGCTTCTAATCATTCTGTGTGCTT  
AGCTACTAGTTGGTCTACGACGAACGCGGCACCCTTTTGGACCTTGCCTCAAATCAGG  
TAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAAAAGAACTAACAAGGATTT  
CCCCTAGTAACTGCGAGTGAAGCGGGAAGAGCTCAAATTTTGAATCTGGCGGTCTTTCGGC  
CGTCCGAGTTGTAATCTAGAGAAGCGTTTTCCGCGCTGGACCGTGTACAAGTCTCCTG

***Laccaria* sp. 1** (Morphotype white II no. 3)

CAGGAGACTTGTACACGGTCCAGCGCGGATAATACTTCTCTAGATTACAACCTCGGACAGCC  
AAAGACTGCCAGATTTTAAATTTGAGCTTTTCCCGCTTCACTCGCAGTTACTAGGGGAATCC  
TTGTTAGTTTCTTTTCTCCGCTTATTGATATGCTTAAAGTTTCAAGCGGGTAGTCTACCTGATTT  
GAGGTCAAATTTGTCAAGAATTGTCCAAGTCAAGGGACGGTTAGAAGCTGAACTTCATAAAG  
CTGCTTACATCCACGGCGTAGATAATTATCACACCAATAGACGGTTTACAAAAGTTCCGCT  
AATACATTTAAGGAGAGCCGACCTCGTTAATGAAGCCCGCAACCCCCACATCCAAGCCTAA  
CCAAGCTAATAAAAAGTTGGAAGGTTGAGAATTTAATGACACTCAAACAGGCATGCTCCTCG  
GAATACCAAGGAGCGCAAGGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACTGAATTTGCAATTCA  
CATTACTTATCGCATTTTCTGCTGCGTTTCTCATCGATGCGAGAGCCAAGAGATCCGTTGCTGA  
AAGTTGTATAATTTATAGAAAACAAGTTTCTTATTGATGACATTTTAAACATACTTTGGGG  
TATATAAAAACATAGTCTTGGAAATGAAAAGAAAGCTGATGCGATCCTAAAATGTCCAAGAC  
TACAAAATGTGCACAGTGGAGATATAAAGATGACGGACGAGCACATGCTCCGAAAAGCC  
AGCTAACAGCCACATCAGGTTTATTCAATAATGATCCTTCCGAGGTTACCTACGGAAACC  
TTGTTACGACTTTTACTTCTCTAAATGACCAAGCC

***Laccaria* sp. 1** (Morphotype white III no. 3)

CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGG  
ATCATTATTGAATAAACCTGATGTGGCTGTTAGCTGGCTTTTCCGAGCATGTGCTCGTCCGTC  
ATCTTTATATCTCCACCTGTGCACATTTTGTAGTCTTGGACATTTTAGGATCGCATCAGCTTTC  
CTTTCATTTCCAAGACTATGTTTTTATATACCCCAAAGTATGTTTAAAGAATGTCATCAATAGG  
AACTTGTCTTCTATGAAATTATACAACCTTTCAGCAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGA

AGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTT  
GAACGCACCTTGCGCTCCTTGGTATTCCGAGGAGCATGCCTGTTTGAGTGTCAATTAATTCT  
CAACCTTCCAACTTTTATTAGCTTGGTTAGGCTTGGATGTGGGGGTTGCGGGCTTCATTAAC  
GAGGTCGGCTCTCCTTAAATGTATTAGCGGAACTTTTTGTGAACCGTCTATTGGTGTGATAATT  
ATCTACGCCGTGGATGTGAAGCAGCTTTATGAAGTTCAGCTTCTAACCGTCCCTTGACTTGG  
ACAATTCTTGACAATTTGACCTCAAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAA  
TAAGCGGAGGAAAAGAACTAACAAGGATTCCCCTAGTAACTGCGAGTGAAGCGGGAAAA  
GCTCAAATTTAAAATCTGGCAGCCTTTGGCTGTCCGAGTTGTAATCTAGAGAAGTATTATCC  
GCGCTGGACCGTGTACAAGTCTCCTG

附錄三、繪製親緣樹使用的 GenBank 序列序號

Appendix 3. List of samples whose sequences retrieved from GenBank.

Taxon	Accession no.	Taxon	Accession no.
<i>Russula aeruginea</i>	EU819421	<i>Cortinarius chrysuma</i>	GU233339
<i>Russula bicolor</i>	FJ845435	<i>Cortinarius collinitus</i>	AY669588
<i>Russula compacta</i>	EU598172	<i>Cortinarius costaricensis</i>	EF420147
<i>Russula compacta</i>	GU229820	<i>Cortinarius flexipes</i> var. <i>flabellus</i>	GU550111
<i>Russula crassotunicata</i>	EU597082	<i>Cortinarius junghuhnii</i>	HQ604666
<i>Russula crassotunicata</i>	DQ384580	<i>Cortinarius mucifluus</i>	AF182795
<i>Russula pascua</i>	AY061705	<i>Cortinarius mucosus</i>	AY669591
<i>Russula peckii</i>	EU598174	<i>Cortinarius obtusus</i>	AJ438981
<i>Russula pectinatoides</i>	EU819500	<i>Cortinarius rotundisporus</i>	HM060317
<i>Russula puellaris</i>	HQ604852	<i>Cortinarius scaurus</i>	AY174808
<i>Russula rosea</i>	AY061715	<i>Cortinarius vanduzerensis</i>	EU597081
<i>Russula</i> sp.	AJ534905	<i>Cortinarius veregregius</i>	HQ845174
<i>Russula</i> sp.	DQ778001	<i>Cortinarius viscostriatus</i>	GU233335
<i>Russula vinosa</i>	AJ534938	<i>Cortinarius viscoviridis</i>	JQ282167
<i>Russula xerampelina</i>	AY061734	<i>Cortinarius</i> sp.	EU668911
<i>Russula xerampelina</i>	FJ845433	<i>Cortinarius</i> sp.	GU997904
<i>Lactarius rufus</i>	GU998456	<i>Cortinarius</i> sp.	GU998184
<i>Lactarius rufus</i>	GQ267478	<i>Cortinarius</i> sp.	GU998751
<i>Lactarius</i> sp.	HM015493	<i>Cortinarius</i> sp.	GU23335
<i>Lactarius</i> sp.	GU998690	<i>Cortinarius</i> sp.	JF304381
<i>Lactarius tabidus</i>	HM189831	<i>Cortinarius</i> sp.	FJ554382
Fungal sp.	AB597705	<i>Cortinarius</i> sp.	FJ554373
<i>Albatrellus ovinus</i>	FJ845400	<i>Cortinarius</i> sp.	JQ393035
<i>Cortinarius acutovelatus</i>	AY083175	<i>Cortinarius</i> sp.	JQ393045
<i>Cortinarius acutovelatus</i>	AY669655	Fungus sp.	JN032562
<i>Cortinarius acutus</i>	FJ717495	Fungus sp.	JF300821
<i>Cortinarius acutus</i>	HQ604680	Fungal sp.	GU817073
<i>Cortinarius alienatus</i>	HQ533027	Basidiomycota sp.	AY641464
<i>Cortinarius alpinus</i>	GU234070	<i>Dermocybe cardinalis</i>	GU233368



Appendix 3. Continued.

Taxon	Accession no.	Taxon	Accession no.
<i>Cortinarius alpinus</i>	GU234096	<i>Dermocybe cramesina</i>	GU233320
<i>Cortinarius badiovinaceus</i>	HQ845169	<i>Dermocybe</i> sp.	EU668227
<i>Cortinarius ceraceus</i>	HQ604656	<i>Hebeloma cistophilum</i>	EU570177
<i>Cortinarius</i> cf. <i>multiformis</i>	EU525959		

## 個人資料

姓名：陳盈誼

通訊方式：

E-mail: yingbethany@hotmail.com

手機：0988-562506

學歷：

東海大學生命科學系 生態暨生物多樣性組 碩士

國立宜蘭大學 森林暨自然資源學系 學士

研討會論文摘要：

陳盈誼、汪碧涵 (2012) 以分生方法調查台灣亞高山生態系的台灣冷杉與台灣鐵杉菌根之外生菌根真菌多樣性。中華民國真菌學會 101 年度年會暨會員大會。