毛黴菌目之分離、培養及觀察
——一種針刺弓黴菌（*Abidia spinosa*)之研究

何小曼•簡秋源•

緒 言

在自然界的所有菌中，毛黴菌目分布很廣，卻不為一般人所注意。它們大部分是土壤中的腐生菌，在有機物上也隨處可見。高中生物教科書上，曾經提到黴菌（黴髮）這種具有假根、匍匐枝及棕黑色孢子囊之黴菌，常可在丢棄了的果皮、黴包屑上發現，此種黴菌即為毛黴菌目之一屬。毛黴菌目之一般特徵是菌絲發達，生長迅速，並具有顯著的有性和無性生殖器官之分化。在實驗室中分離、培養及觀察都很容易，只要有簡單的顯微鏡設備即可研究，並不必特殊精密儀器，因此可做為中學教師和學生之良好課外研究材料。

毛黴菌目係屬低等真菌—繭狀菌，其特徵略述如下：(56)

(一) 具有生長迅速，發育良好，有分枝及無隔板（septum）之菌絲，但在較老的黴絲或生殖器官下方可發現有隔膜。

(二) 無性生殖：在黴絲頂端形成圓形或管狀孢子囊，孢子囊內產生無鞭毛，不能游動之孢囊孢子，通常孢子數目很多，也有只含少數或一個孢子的。孢子囊中央有頂頂狀或各種不同形狀之頂部（columella）。

(三) 有性生殖：由配對黴絲相對突出形成假面孢子囊（progametangium），演變成配子囊（gametangium），最後互相結合形成厚壁之結合子（zygosporone）。結合子可分兩種：H型和E型，但H型較多。這些同種或異種黴菌，大多數屬於後者。

以下先就毛黴菌目之分離、培養及認定方法加以說明，並舉較常見於錦年六十八年四月間由黑田菌

國土分離之針刺弓黴菌（*Abidia spinosa* Lentner）為例：

材料與方法

1. 材料：

分離毛黴，通常以森林或耕地土壤、落花、落葉、鼠糞或動物之排泄物為來源。土壤以較潮濕之荒土為佳，挖取表土五公分下土壤，放置於塑膠袋中封閉即可。土壤和落葉及捕得於裸露處者，牛、馬、狗、鼠等之糞粒均採用，盛入塑膠袋內，密閉實驗室備用。若不立刻使用，應置於冰箱中，並避免水份散失。

2. 分離方法：

a. 培養基之製備

於石炭酸中加入水於三十分鐘，再經兩層紗布過濾，將澄清之濁液倒入兩公升之三角瓶中，加入洋菜 16 克及蒸馏水 1000 毫升，分置於溫箱 121°C，壓力在 1.2 公斤／平方公分之情況下，滅菌 15 分鐘，即成。若無高壓滅菌器，可用電鍋代替，每次高壓 15 分鐘，間歇性進行三次，但效果較不理想。滅菌後取出培養基即可接至水滅菌中，每一皿約倒 20 毫升左右。培養皿需先以烤箱烤於 150°C 下滅菌 3 小時，若無烤箱，可用 75％酒精清潔，乾燥後使用之。俟培養基凝固後，即可使用。

b. 合成毛黴培養基（Synthetic Mucor Agar）：簡稱 SMA，此種培養基是專門用來培養

*國立台灣師範大學生物研究所
毛徽菌，並供鑑定時使用的。其組成如下：

- 葡萄糖（Dextrose） 40 克
- 天門冬醣胺（Asparagine） 2 克
- 磷酸二氫鈉（KH₂PO₄） 0.5 克
- 硫酸鉀（MgSO₄）* 0.25 克
- 氯化膽礆（Thiamine Chloride） 0.005 克
- 洋菜（Agar） 15 克
- 蒸餾水（Distilled Water） 1 升

其菌莖及培養基製備手續與玉蜀黍培養基相同，此處不再重複。

b. 若採用之材料為落花，落葉則先將一張濾紙置於無菌培養皿中，加入約 3 毫升蒸餾水，使濾紙溼潤，次將花、葉置於濾紙上，蓋好，置於室溫下培養，每天觀察之。若採用之材料為土壤或稈粒，則採取少許土壤或一、二粒穏粒，放置於 CMA 培養基上，蓋好，經數日後，隔天觀測之，連續進行 1～2 個月。

c. 毛雛菌在 CMA 上之生長迅速，但兩、三天後即可看到毛雛菌之菌絲長出，並有數少孢子囊。

趁此時已解剖願鱗或放大鏡下，以兩根解剖針夾取一個孢子囊，並置於 SMA 培養基上，於 24℃ 下，培養數日後即可獲得純培養（pure culture），此時培養基即可供觀察及鑑定。將外觀不同之種類均加以分離，致成純培養，由同一材料可以得到數株不同的菌種。

3. 觀察與鑑定

以接種針由純培養上挑取培養四～五天之菌絲及孢子囊少許，置於滑片之載玻片上，加一滴乳酸酚與棉花藍（lactophenol-cotton blue）之混合液染色，加上蓋玻片後即可用顯微鏡觀察。如有解剖願鱗，也可將培養皿打開，置於鏡台下觀察菌絲分枝情形。若有深褐色之菌膜凸起構造，則可能為結合子，通常此種結合子用肉眼亦可見。願鱗之目鏡中應添加目鏡標尺（ocular micrometer），以測量孢子囊、孢子、中樞和結合子之大小，及菌絲之寬度，並逐日詳細記錄，以為鑑定之依據。

茲列表筆者於民國六十八年四月間，於墾丁苗圃台灣三葉松根函土壌分離之一種針剎弓黴菌說明如下：

- 針剎弓黴菌（Absidia spinosa Lendner）:
  - 孢子頭橫切面呈棱灰色，約四～五天後變為深褐色，十天之後變為褐色。菌絲體在 24℃ 生長很快，著根莖及根部向外側生長，不具特殊香味。菌絲長達 2.7 公分。孢子囊柄長 5～12.5 微米，平均約 7.2 微米，長 170～278 微米，平均 226 微米，單生或 2～6 成束輪生在菌根莖的細胞間上（圖 6）。
  - 孢子囊柄表面平滑，距離孢子囊約 17～25 微米處有一隔板（圖 3）。
  - 孢子囊頂生，卵形，長 22.8～30.0 微米，寬 19～26.6 微米（圖 1）。

結合子呈暗褐色，長在空中菌絲上，初呈透明，後變暗灰色，成熟後即菌體，基部留下隔膜（collar）。中軸呈圓形，直徑 15～22.5 微米，表面平滑，透明，頂端有芽狀突起，下方有囊托（apophyses）包圍著（圖 3）。孢子囊孢子圓形，透明，表面平滑，長 5 微米，寬 2.5～3.75 微米，在腹部常有凹入現象，兩端圓弧型（圖 4）。

結合子呈暗褐色，長在空中菌絲上，結合子通常 60～89 微米長，圓形，兩端有大小不等之結合柄細胞（suspendor），大者約 32～34 × 20～24 微米，小者約 6～8 × 18～20 微米，由大結合柄細胞長出指狀彎曲附著物，寬 7～10 微米，包圍整個結合子，初呈透明，後變暗褐色（圖 2，圖 5）。

分類學上的位置：

- 鬱菌門（Division Eumycota）
  - 結合孢菌（Class Zygomycetes）
  - 毛黴菌目（Order Mucorales）
  - 毛黴菌科（Family Mucoraceae）
  - 弓黴菌屬（Genus Absidia）

毒性：此菌通常分佈於土壤中，是根黴土壌常見之一種黴菌。全世界各地如瑞士、德國、英國、法國、奧地利、印度、以色列和美國等均曾分離過，在台灣則為首次發現者，存於台灣二葉松幼苗。根黴土壌中。

結論

毛黴菌目包括十一科之多，形態變化甚細，分布在許多不同的基質上，如水果皮、冷凍肉上亦均可見。其中很多與人類的生存有密切關係，例如黑黴菌能長在食物上並引起腐敗現象，有些毛黴菌、黴黴菌或靈黴黴菌在發酵工業及實驗上極有應用價值。
1. 針狀弓錐菌（*Absidia spinoa*)之成熟孢子囊，375X。
2. 成熟之褐色孢子囊，有指狀附屬物由大孢子囊細胞長出。320X。
3. 中軸，頂端有針狀突起，孢子囊柄上有透明隔板。750X。
4. 柱狀孢子囊。1000X。
5. 未成熟之孢子囊。320X。
6. 孢子囊柄在菌體莖上成輪狀排列，70X。

自顯微鏡之發明以來，世界各地研究毛徹菌之報告很多，早期偏重於以光學顯微鏡觀察其外部形態，較及於生理方面之研究，如菌體之光性，及荷爾蒙對菌錐菌株能否結合之影響等，均甚為有趣。日人小谷昭明（1972）曾以弓錐菌屬*Absidia glauca*為材料，研究其菌錐抽出液對配子原基（gamete initial）之誘導作用，此物質後被認爲類似Trisporic acid。目前有很多研究則採用電子顯微鏡對其菌錐或結合子之超微構造作更進一步之探討。

毛徹菌目的研究方法簡易，材料也隨手可得，且台灣迄今對毛徹菌目之研究尚少，特別是有關荷爾蒙之作用方面，故對有興趣研究的人士而言，實為一最佳之研究對象。
後 記

筆者所分離之菌種，今存於師大生物研究所菌類實驗室內，有興趣的國中、高中教師，可來函索取，至為歡迎。

參考文獻


