

蛙糞菌菌絲生長與分支的觀察

簡秋源

理學院生物研究所

摘 要

本文係利用光學與干擾顯微鏡的攝影技術，以巨大蛙糞菌 (*Basidiobolus magnus*) 為材料，對真菌營養菌絲生長及分支的形成做一形態及生理學上之記述。細胞具有完全 (complete)、沒有孔 (unperforated) 的隔板，長達數百微米，且具有一個明顯的大核，隨著細胞生長，原生質的川流趨向細胞頂端轉移。分支的形成則經細胞核的有絲分裂 (Mitosis)、細胞分裂 (cell division)、隔板的生成之後才發生，依此順序重覆恒定不變的。

一、前 言

真菌菌絲分支的形成，經過實驗觀察，可以歸納出幾項通則 (Deacon, 1984)：第一，頂端優勢 (Apical dominance) 的原理，在外形上與高等植物相似，分支通常是自生長中的細胞，稍與頂端有些距離的地方生成，但對真菌如何維持頂端優勢的機制，我們並不十分清楚，也許與荷爾蒙、頂端細胞競爭內外營養及頂端生長時釋放的代謝產物有關。第二，菌絲分支是朝向菌落邊緣生長。第三，分支的形成與細胞質容量、細胞核的有絲分裂相關。

由蛙糞菌的分離與鑑定的研究過程中，作者認為該菌適合用來觀察營養細胞的複製及分支的形成，在本文中便記述以光學及干擾顯微鏡的研究結果，乃有關其生長大小、原生質川流 (streaming)、細胞分裂與複製和分支的形成。

二、材料及方法

作者所採用的材料為巨大蛙糞菌 (*B. magnus*)，是屬於接合菌綱、螟蛉菌目、螟蛉菌科、蛙糞菌屬的一個成員，通常在青蛙的後腸道生長，取其排泄物於玉米培養基 (玉米

粒40克，煮過，濾液加水至1000毫升，洋菜20克）上培養數天，使用解剖顯微鏡取其分生孢子後即可純化分離。一般的蛙糞菌皆易於培養而且生長快速，在查氏培養基（Sabouraud dextrose agar：葡萄糖40克、蛋白胨10克，洋菜20克，水1000毫升）上測得菌落的生長速度，每天約為18毫米（mm）。

蛙糞菌菌絲細胞具有完全、沒有孔的隔板，在光學顯微鏡下，可以看出明顯的核，作者以蛙糞菌在玻片培養，同時應用光學及干擾顯微鏡（Interference microscope）技術，對細胞分裂、核轉移及分支形成做較詳細的記述和圖片說明。

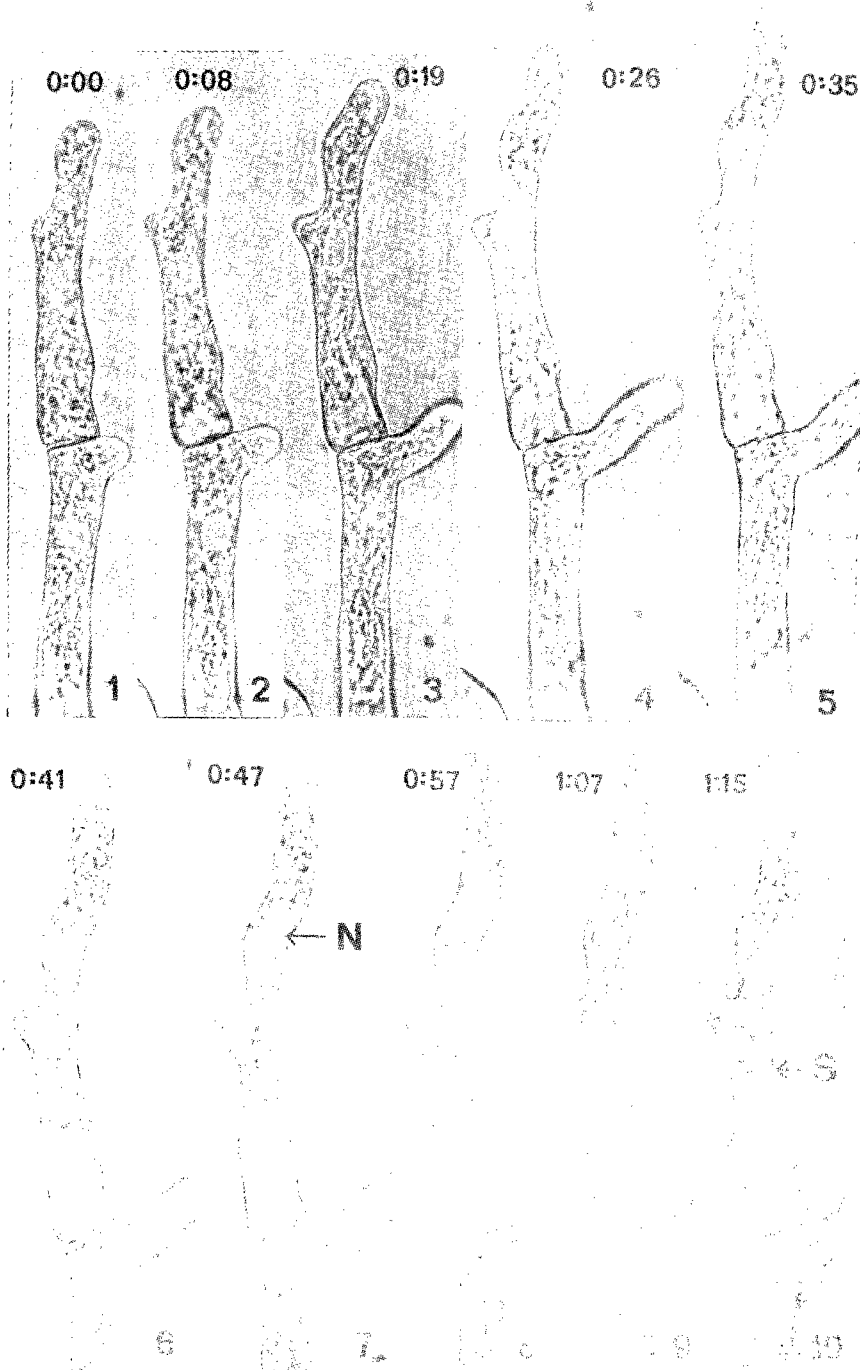
三、結 果

頂端細胞的核大而明顯易見，為長圓形，長12-24微米（ μm ），細胞質密，充滿多數小型、桿狀的粒線體及許多顆粒、空泡，（圖11）生長時原生質合成，可以看到原生質顆粒迅速的前後流動，好像有一定的流動管道般，細胞中央部份流空後再沿細胞壁流動，核也隨著細胞質流動及菌絲伸長而向前（圖6～8及圖12～16），菌絲生長每分鐘約3.3微米，當細胞質往菌絲頂端集中，胞質長度生長到約165微米長度時，便有一橫向的隔板，自濃細胞質體的下緣產生，將細胞空的部份隔離起來（圖9～10），這個充滿細胞質的菌絲片段，即可稱為菌絲體（hyphal body），是蛙糞菌屬獨有的特性（Webster, 1980），空菌絲的長度為52～70微米，當菌絲體的細胞質繼續向前移動時，橫向隔板也不斷的被生成。

當胞質的合成至一臨界容量，且細胞伸長至180～240微米時，可清楚的看見細胞變得粗糙，細胞質顆粒緻密聚集（圖17），長形的核縮成圓球狀，核區逐漸消失，在視野上看不出明顯的核（圖17），這時便是有絲分裂的發生，在顯微鏡下可觀察到中期板，甚至後期及末期，有絲分裂的後期，胞核分裂產生兩個子核，形狀較圓，離分裂點較遠的子細胞核朝向頂端移動，而較近的核則以相反方向移動，這時便可觀察到核分裂後形成的兩個子細胞核分開了（圖18）。經短暫的雙核時期後，隔板（也就是細胞板）自分裂處由外向內生成，開始了細胞的分裂，形成兩個充滿細胞質的單核細胞，細胞分裂才告完成（圖19～20）。細胞分裂至隔板完全形成所需時間約為10分鐘。

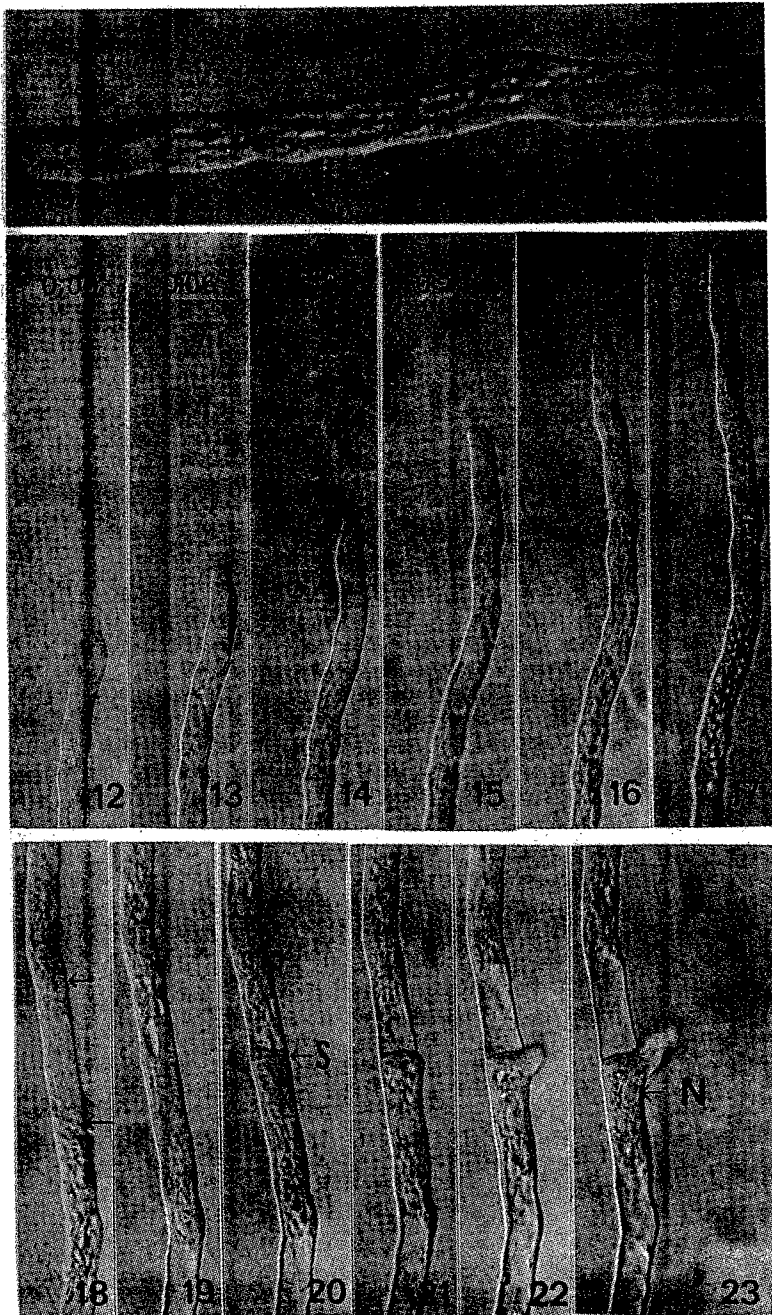
頂端細胞繼續生長，次頂端細胞則在隔板之後，有突起生起（圖1及21），這就是分支的起源。一般學者都認為此生長點的細胞壁較薄弱，因膨壓的結果，使得細胞質向此川流湧動（Webster, 1980），細胞核也朝向生長的分支轉移（圖2～5及圖22～23），而產生分支。此新形成的分支細胞又成爲一個頂端細胞，再重覆上述的過程生長。大約40分鐘之後，分支的橫向隔板產生，所以自細胞分裂至分支隔板的形成約需時50分鐘。以同一營養菌絲觀察，間隔240分鐘後，又可見到細胞分裂的發生，也就是細胞分裂週期的時間。

在整個菌絲分支過程中，作者可以觀察到細胞質容量、核分裂及頂端細胞個數與分支的關係。營養菌絲只有頂端細胞充滿細胞質，維持生長，而分支的形成一定是在頂端細胞經細胞分裂，隔板生成後，自次頂端細胞發生的。



四、討 論

蛙糞菌於公元1886年首先由 Eidam 自青蛙及蜥蜴等兩生類、爬蟲類的腸道含物中發現並記載，而後的80幾年中，先後分別有六個種類已被發現。最近在台灣已經有三種蛙糞菌在日本菌類誌報導 (Chien, 1987)，並對其生活史做了詳細的描述 (Chien, 1974)。因為從自然界可以採集到這種材料並容易培養的關係，應用在微生物教學中來觀察真菌細胞生長及分裂，是很適合而理想的實驗材料。



圖片說明

圖 1 ~ 10 光學顯微鏡下拍攝，圖示蛙糞菌菌絲生長、分支及隔板的形成（全部歷程 1 小時 15 分鐘）

圖 1 自隔板後分支突起的外貌

圖 2 ~ 4 菌絲生長隨著原生質的川流

圖 5 核的移轉正要進入分支。

圖 6 核的移轉已進入分支內。

圖 7 ~ 8 菌絲繼續生長，原生質川流更加明顯。（細胞核以箭頭指出）

圖 9 隔板形成的前期

圖 10 一個完全、無孔的隔板（S，箭頭指示）已被形成。

圖 11 ~ 23 干擾顯微鏡下拍攝，圖示蛙糞菌菌絲生長、分支及隔板的形成

圖 11 蛙糞菌菌絲先端生長中的微細構造，細胞核（N）大而明顯，細胞內充滿多數的粒線體（M）及空泡（Va）

圖 12 ~ 17 先端菌絲的生長及核的轉移，有絲分裂的進行時，可以看出菌絲的表面變為粗糙，而核呈為不明顯，如圖 17 所見。全部歷時 38 分鐘

圖 18 ~ 23 菌絲分支的形成，同上歷時 38 分鐘

圖 18 有絲分裂後的外貌，兩個子細胞已形成。（箭頭指示）

圖 19 隔板的還在準備形成

圖 20 隔板（S）已形成

圖 21 分支突起已開始

圖 22 分支生成的雛型

圖 23 細胞核（N）向分支移轉的情形

誌 謝

本文中蛙糞菌材料之分離、培養及光學和干擾顯微鏡攝影等技術承獲實驗室內研究生兼助理許照紅小姐全心之幫助得以完成，謹致以最大之謝忱。

參考文獻

1. Callaghan, A. A. (1969). Morphogenesis in *Basidiobolus ranarum*. Trans. Br. mycol. Soc. 53(1): 132-137.
2. Chien, C. Y. (1974). *Basidiobolus ranarum* and its life history. Biol. Bull. 9:29-45.
3. _____. (1987). Three species of the genus *Basidiobolus* from Taiwan. Trans. Mycol. Soc. Japan 28: 445-452.

4. Deacon, J. W. (1984). Introduction to modern mycology. 2nd ed. 51 p. Blackwell Scientific Publ, London.
5. Drechsler, C. (1964). An odorous *Basidiobolus* often producing conidial plurally and forming some diclinous sexual apparatus. Amer. J. Bot. 51(7): 770-777.
6. Robinow, C. F. (1963). Observation on cell growth mitosis, and division in the fungus *Basidiobolus ranarum*. J. Cell Biol. 17: 123-152.
7. Webster, J. (1980). Introduction to fungi. 2nd ed. Cambridge Univ. Press, London, p. 64 and pp. 236-240.

OBSERVATION OF THE FORWARD STREAMING, GROWTH
AND DIVISION OF THE HYPHAL CELL OF *BASIDIOBOLUS MAGNUS*

Chiu-Yuan Chien

Abstract

This paper deals with the forward streaming, growth and division of the hyphal cell of *Basidiobolus magnus* by using a light and interference microscopies. An unperforated, complete septum forms at the site of nuclear division and bisects the apical cell, followed by the cytoplasmic streaming and a new branch is initiated. The branching pattern is invariably repeated in order and appears in two apical cells.