

# 台灣牙刷黴菌之探討

## 國中教師組生物科第一名

台北縣立江翠國中

作者：廖玉意

### 一、研究動機及目的

生物圈內有許多腐生性的微生物，它們在自然界中扮演著極重要的角色：同時也在顯微鏡底下呈現出美麗的世界。其中有一群具有金黃色菌絲，並有孢子堆柄形如牙刷的真菌更是美妙無比，在實驗室中，只要有顯微鏡即可研究之。因此，我拿它來作為課外之研究題材，想藉此研究以了解其生活史；且據文獻所載：世界上目前被鑑定出之牙刷黴菌有12種，而我在實驗中只發現三種，希望能繼續發現在台灣的其他種，使台灣之牙刷黴菌有更完整的資料。

### 二、設備及器材

解剖顯微鏡、光學顯微鏡、高壓滅菌器、無菌吹氣箱、接種針、酒精燈、恆溫箱、烘箱、培養皿、錐形瓶、燒杯、量筒、乳頭吸管、漏斗、果汁機、試管、試管架、藥品、玻片、酸鹼度計、顯微攝影機

### 三、材料和方法

#### (一) 材料：

分離牙刷黴菌通常以森林表層五公分下之腐植土或動物排泄物，昆蟲遺體或其他有機廢物為來源，腐植土以較潮溼的較佳，將之挖取後置於塑膠袋中，並加標記後携回備用，若不立刻使用，可放置於低溫貯藏，並避免水分之散失。本實驗用的牙刷黴菌是由台中縣谷關之森林腐植土及高雄六龜取得之鳥糞中分離出的

#### (二) 分離方法：

##### a. 培養基之製備：

將配製好之培養液置於兩公升之三角錐形瓶中，加入洋菜16.

克及蒸餾水，使其體積恰為 1000 毫升，瓶口加上棉花塞並用鋁箔紙包口，然後置於高壓滅菌器中，使溫度在 120°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，每次煮 15 分鐘，間歇進行三次（但效果較不理想）。滅菌後取出培養基即可倒入無菌培養皿中，每一皿約倒 20 毫升左右，培養皿需先以烘箱於 180°C 下滅菌 3 小時，若無烘箱，可用 75% 酒精沖洗，乾後使用之。俟培養基凝固後即可使用。

[註] 培養基之成分及用量：

1. 乳糖蛋白胨培養基

蛋白胨 1 克  
乳 糖 1 克  
洋 菜 15 克  
蒸 餾 水 1 升

2. 麥芽糖培養基

麥芽抽出物 25 克  
洋 菜 20 克  
蒸 餾 水 1 升

3. 合成毛黴培養基

葡 萄 糖 40 克  
天門冬醯胺 2 克  
磷酸二氫鉀 0.5 克  
硫 酸 鎂 0.25 克  
氯化噻胺 0.005 克  
洋 菜 15 克  
蒸 餾 水 1 升

4. 馬鈴薯培養基

去皮切塊的馬鈴薯 200 克  
葡 萄 糖 10-20 克  
洋 菜 12 克

5. 紅蘿蔔培養基

紅 蘿 蔔 200 克  
洋 菜 16 克  
蒸 餾 水 1 克

b. 牙刷黴菌之分離

若採用腐植土為材料，則將土粒少許以勺子分散於上述之無菌培養基中，蓋好，寫上土壤樣品之來源、日期、置於室溫中培養，一週後觀察之，之後連續觀察一個月，若有金黃色帶孢子囊之菌絲，則可用兩支滅菌之接種針在解剖顯微鏡鏡下挑出孢子囊柄或菌絲體，移至培養基中（此步驟要在無菌吹氣箱中操作）培養數天後即可得純培養。此純培養可供觀察和鑑定。將外觀不同之種類，均加以分離，分別作成純培養，其方法是將純分離之菌枝上的孢子囊用兩支接種針垂直夾取，接種於斜面培養基上；或

在培養基中以接種針切取一小塊三角形之洋菜，在純分離之成熟菌枝頂端沾粘過，而將成熟之孢子囊或已成熟而聚成圓水珠形之孢子囊沾粘出，並將之接種於斜面培養基中，置於 $20^{\circ}\text{C}$ 之恒溫箱中培養，俟成熟以後即可置於 $10^{\circ}\text{C}$ 之恒溫箱中存留。（註：接種針之作法取圓柄竹筷，一頭切深入之十字，插入長約6公分之新針，而後以縫衣之棉線密繞綁緊，再用膠粘住，待膠乾而粘着即可使用）。

#### 四、觀察與鑑定

以接種針由純培養上挑取培養7~14日之菌絲及孢子囊穗，置於潔淨之載玻片，加一小滴乳酸酚，加上蓋玻片後即可用顯微鏡觀察；另可將培養皿打開，置於解剖顯微鏡之鏡台上，用低倍顯微鏡觀察菌絲生長分枝之情形及孢子堆柄着生於孕性菌枝之位置。以顯微鏡中之目鏡標尺測量孢子之大小、孢子堆柄、分生小柄、分生孢子柄、菌絲之長寬，並逐加詳細記錄，以為鑑定之依據。






顯微鏡下觀察之培養皿或玻片上的菌枝、孢子堆柄之着生情形，亦可用顯微鏡全自動攝影拍攝照片，底片經D-76顯影7分鐘後沖水，而立即經定影（Fixer）10分鐘，而後以流水沖泡20分，俟陰乾後即可到暗房洗照片。



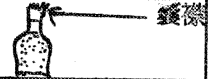
#### 五、實驗結果

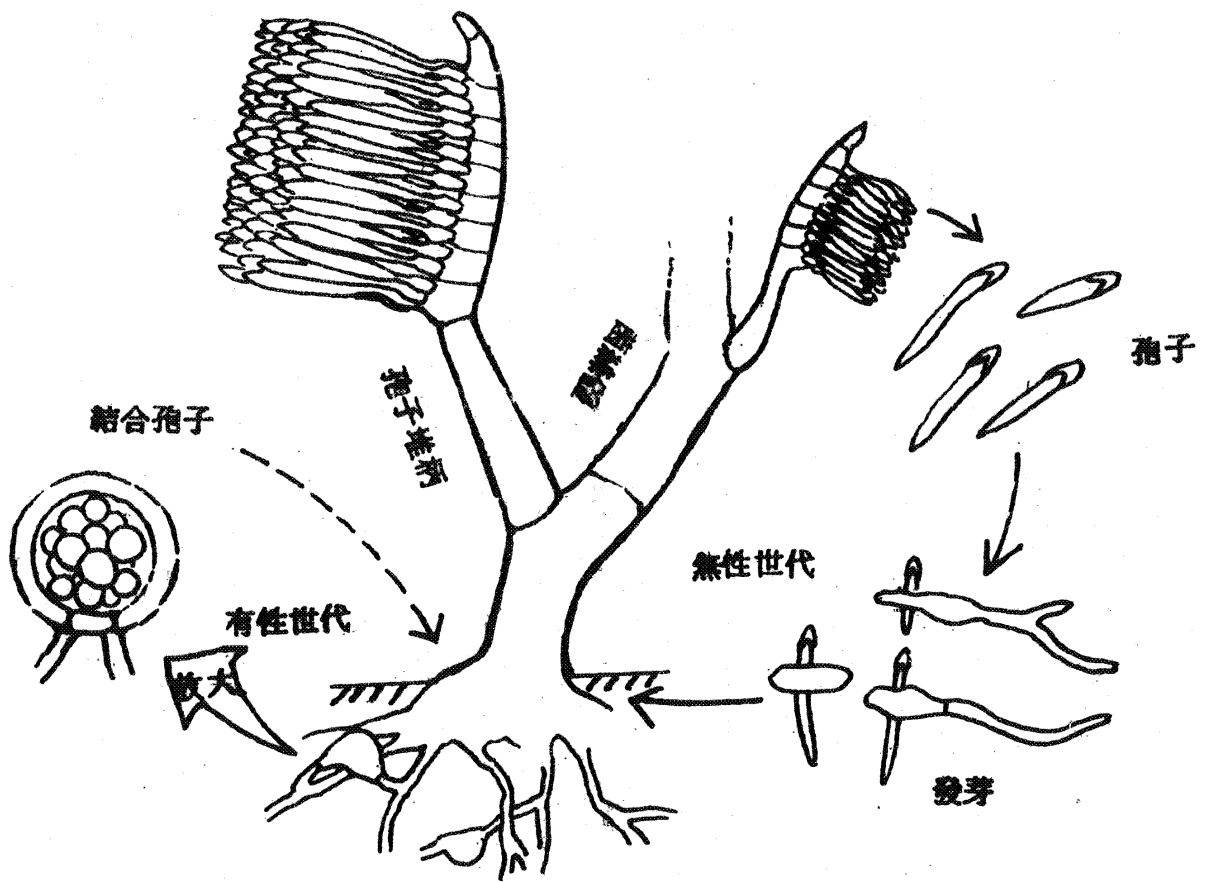
(一)三種牙刷黴之比較

實驗結果：

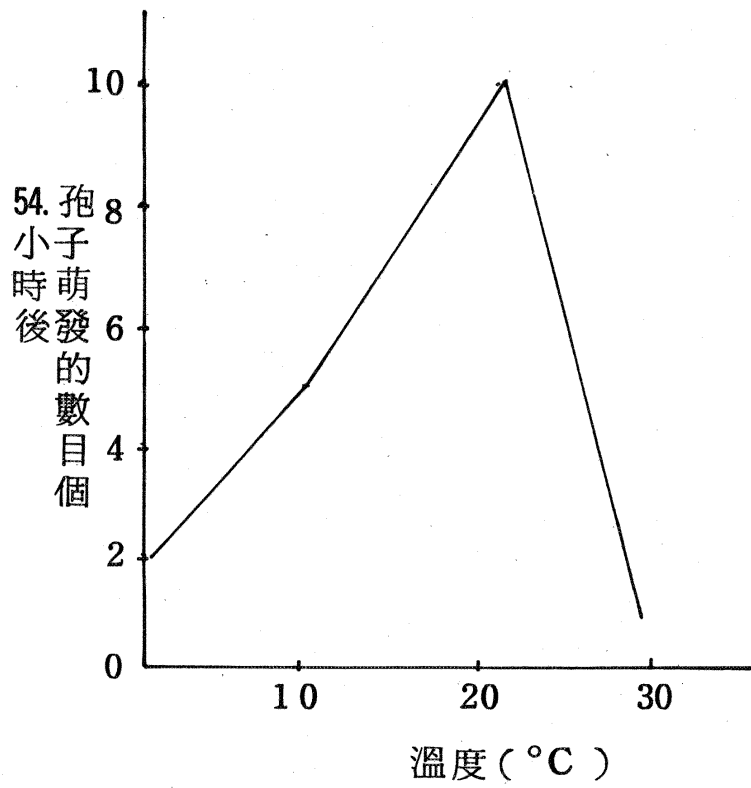
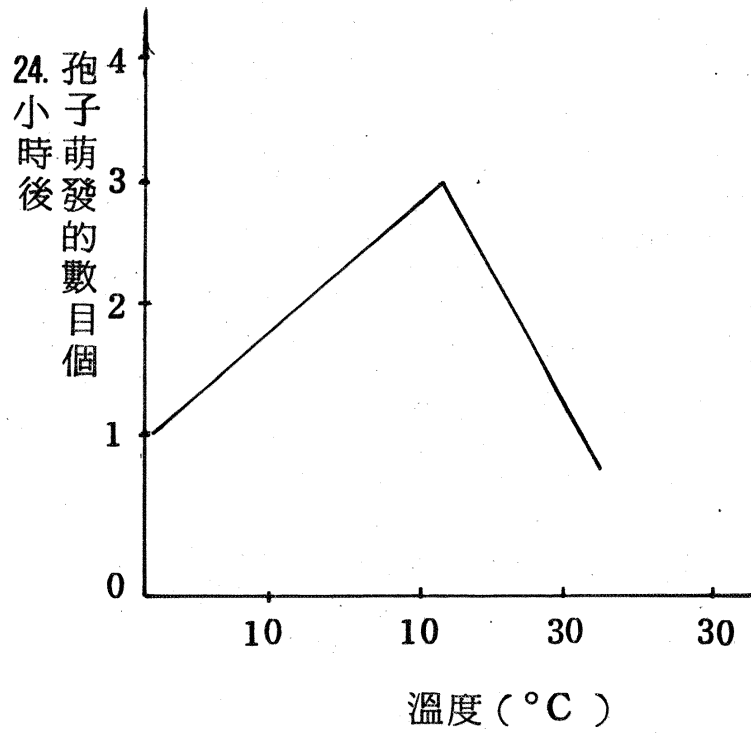
(一)三種牙刷黴之比較

種 性 別 狀	髮止針牙刷黴 <i>Coemansia aciculifera</i>	巴西牙刷黴 <i>Coemansia brasiliensis</i>	摩合比牙刷黴 <i>Coemansia mdjavensis</i>	備 註
菌落顏色	淡金黃色	淡金黃色	淡金黃色	
菌落直徑(公分)	3~48	3.6~4.8	3.2~4.6	
菌絲著生情形	直立	直立	直立	
菌絲形狀	纖細之髮絲狀	絲狀	絲狀	
菌絲生長之最適溫度	20℃	20℃	20℃	
菌叢高(公分)	1~2.5	1~2	1~2.1	
孢子堆柄長(微米)	121~221	20.4	19.8	 指孢子柄長
孢子堆柄寬(微米)	13.6~16	13.0~13.2	11.7~11.9	 指孢子柄寬
孢子堆柄上具有之細胞數目(個)	8	9~13	8	指此處之細胞 → 
孢子囊柄長(微米)	100~130	84~106	95~175	 孢子囊柄
孢子〔長×寬〕(微米)	8.5×0.2~0.8	6.8×0.8~1.7	6.8×0.51×1.7	
分生小柄〔長×寬〕(微米)	4×2	6×2	3.5×2	 分生小柄
孢子之形狀	長舟形 (髮止針形)	舟形 (兩端有圓凸)	舟形 (兩端有圓頭)	
孢子堆之直徑(微米)	10.2~13.6	16~32	11.9	
菌絲寬(微米)	5.1	4.3	6.6	
菌絲具有假隔板否	有	有	有	
孕性菌絲的兩假隔板之距(微米)	46.2~85.8	33~39.6	66~105	

孢子堆柄基部細胞的長(微米)	13.6~17	8.5	6.6	
孢子堆柄中央細胞的長×寬(微米)	3.4×1.7	3.4×1.7	3.4×1.7	
孢子堆柄尖端細胞的長(微米)	1.7	3.4	5.1	
孢子堆柄在菌絲上的距離(微米)	88.5~140	6.8	25.4~80	
孢子囊分叉否	單一無分叉	二分叉	單一、二、三分叉	
生於孢子堆柄的孢子數目(個)	9~13	20~34	15~17	
孢子堆柄在孢子囊的着生情形	稀疏的着生於菌絲之間，且稍螺旋而上的大約本場着生，未集中在頂	緊密而扭曲的交替着生於二分叉的菌絲頂端。並未由分叉處開始產生	稍微密集的由分叉處開始着生，不扭曲。	
孢子堆柄在尖端細胞有否反曲	尖銳反曲	向外或向下反曲	向外或向下反曲	
假根的長度(微米)	18.7~32.3	33~46.2	34	
孢子囊柄一分叉的長度(微米)	未具分叉	第一回分叉; 198-330 第二回分叉; 34	16.5~720	
孢子囊柄與基部間的距離(微米)	≈2300	≈1189	≈8250	
一孢子囊着生之孢子數目(個)	1	1	1	
有囊襟之形成否	有	有	有	
許多孢子堆柄着生之形態	分散不呈穗狀	穗狀	穗狀	



(三) 溫度與孢子萌發的關係：



(四) 酸鹼度與孢子萌發的關係：

萌芽狀況	酸鹼度										
	4	4.5	5	5.5	6	6.2	6.6	7	7.5	8.1	
24. 小時後 孢子萌芽數目(個)	0~1	0~1	0~1	0~6	0~2	0	0	0	0	0	
孢子萌芽的長(微米)	0	0	0	1.7~8.5	3.4~6.8	0	0	0	0	0	
54. 小時後 孢子萌芽數目(個)	2~8	0~10	0~20 ≒50%	5~8 ≒50%	2~4	10~40 ≒100%	10~20	5~9	5	0~1	
孢子萌芽的長(微米)	<1.7	25.5	>170	37.4	30.6	60	<51	<5.1	<170	<5.1	
孢子萌芽分支否	尚未	尚未	有分支	尚未	尚未	叉狀分支	尚未	尚未	有分支	尚未	
備	註：孢子萌發之最適酸鹼度為PH5~6										



## 五、結 論

牙刷黴菌的特性：

- (一)營養菌絲：爲纖細、薄壁。
- (二)子實體：直立升起爲單一或具分枝。
- (三)孕性菌絲：上有孢子堆柄，柄上有分生小柄，每一小柄著生一個小孢子囊，每一小孢子囊僅產生一個分生孢子（即孢囊孢子）。
- (四)孢子堆柄之尖端一、二個細胞爲不孕性而且反曲。
- (五)分生孢子：爲舟形或長橢圓形、淡金黃色。
- (六)孢子成熟（約需10.~14.天）則融合成水珠狀。
- (七)孢子囊掉落後在分生小柄上留下一囊襟。
- (八)菌絲具有假隔板，係特殊中凹而兩邊凸出的隔栓。
- (九)該菌可在一般之洋菜培養基上生長，其中以紅蘿蔔培養基最好，次爲馬鈴薯培養基和麥芽培養基。
- (十)該菌常生存於森林腐植土、糞物和生物遺體及其他有機廢物上。爲腐生性微生物，在生物圈中擔任分解者之角色。

## 六、討論

(一)牙刷黴菌的分類地位：

真菌界、無鞭毛亞門、結合菌綱、毛黴菌目、牙刷黴菌科、牙刷黴菌屬。

牙刷黴菌科可被分爲八屬，其中牙刷黴菌屬含有十二種。

(二)牙刷黴菌之孢子萌發甚緩，而且也有個別差異。（註：有的孢子在PH=7.5亦可萌芽，培養54.小時亦可長達170微米。）當萌芽之長度未達60.微米則不分叉；當達到60.微米則開始有分叉；若再長於170微米則除分叉外有許多分支。

(三)溫度對於牙刷黴菌的生長有影響，由實驗得知20°C是最好。

(四)酸鹼度是對於牙刷黴菌之孢子萌發亦有影響，由實驗得知酸鹼度爲5~6時生長最好，鹼性環境對其較不利。

(五)牙刷黴菌可用結合孢子行有性生殖和用孢子行無性生殖。

評 語

所選材料適合做培養研究且有代表性。

培養及觀察尚屬細心，但希望能對生活史再做完整研究。