

# 科博館真菌的秘密基地—真菌菌種種原庫

文·圖—黃俞菱



圖1 本館人員正將菌種放入液態氮凍存系統中



圖2 培養在平面培養基上之真菌菌絲體，切取適當大小之菌絲塊。



圖3 放有菌絲塊與抗凍劑之冷凍小管



圖4 可程式溫度遞降儀



圖5 液態氮凍存系統內部樣貌

科博館的真菌標本蒐藏庫中保存有3萬份以上的乾燥標本，是臺灣屈指可數的真菌標本館之一，但大多數的民眾或是真菌研究者並不知道，本館另設有不對外開放的真菌菌種種原庫。相對於真菌標本蒐藏庫保存的是乾燥死亡的真菌標本，菌種種原庫保存的是活的真菌菌株，保存活的菌種對保存生物多樣性非常重要，並可以作為未來真菌相關研究與應用的材料。

## 科博館真菌菌種種原庫

由本館人員自野外採集回來的大型真菌子實體，趁其仍有活性時，將產孢的菌褶或其他部位朝下放置於乾淨的紙上，經過一夜就能收集到孢子印。孢子印是由大量的孢子堆積而成，除了可作為真菌形態鑑定之依據外，將仍具有活性的孢子，以無菌水稀釋並沈澱在培養基上後，在適當的溫度和濕度下，孢子就會萌芽並長出菌絲，待菌絲大量增生後，即可進行後續的實驗觀察或選擇適合的方式保存菌種。若孢子無法成功萌芽，可能是該真菌無法單獨生長於培養基上，或是所使用的培養基不適合該菌株，也可能是孢子已失去活性。木生真菌因菌絲生長於作為基質的木頭內，可將與標本一同採集到的木頭部分剝開，取其內部的組織置於培養基上培養，也能得到活的菌種。自野外分離培養出的真菌菌種，經過本館研究人員鑑定與進行相關研究後，會再進行適當處理並放入液態氮凍存系統予以長期保存(圖1)。本館的真菌菌種採用超低溫冷凍法保存，將真菌培養在平面培養基上，切取適當大小之菌絲塊放入冷凍小管內並加入抗凍劑(圖2、3)，經可程式溫度遞降儀(圖4)降溫至 $-70^{\circ}\text{C}$ ，並放入液態氮槽中長期保存(圖5)，待需要進一步使用活

的真菌進行研究時，取出菌種以 $37^{\circ}\text{C}$ 水浴回溫，於適當培養基上培養活化即可。目前本館正式保存的真菌菌株約3000多株，最早的菌株已經保存長達30年以上，經回溫培養後仍然活著！

## 常見菌種保存法

真菌的生命力很強，通常只需要有水和最低限度的養分就可以供其生存。實驗室的菌株大多生長在培養基中，並維持適當的溫度和濕度。雖然保存菌株並非難事，但當需要長期保存大量的真菌時，礙於有限的人力無法頻繁的更新轉接菌株，因此真菌學家們發展出各種便利的方式，使真菌能在低活性的狀態下存活多年，且不改變其特性。

1. 繼代保存法：將真菌接種於含有適當斜面培養基的試管中，並定期將菌種轉移至新的培養基上以維持菌種活性，可置於室溫保存，需每2至3個月轉移繼代一次。若存於 $4^{\circ}\text{C}$ 冰箱中冷藏保存，可約4至6個月後再進行繼代轉接，有些菌種的轉接期甚至可以達1至2年之久。此法不需特殊設備且方法簡單，適合一般實驗室用來短期保存真菌菌株，但菌種經多次轉移後，可能會失去其活性特徵，且多次轉接菌種的操作過程中，一不小心就可能造成污染。
2. 無菌水保存法：以螺旋試管裝入無菌水，將生長於平面培養基上的菌絲切成適當大小的立方體，將菌塊放入無菌水中，再將試管鎖緊並以石蠟紙密封，置於室溫保存，通常可保存2-3年，大多真菌不會失去活性。此方法非常簡單，但仍需要定期繼代移植，故不適合用於超長期保存。
3. 礦物油保存法：在裝有斜面培養基的菌株試管

內，加入已滅菌的礦物油，油量需蓋過培養基，礦物油可減少水分散失並隔絕空氣，降低真菌的生長代謝活動。若礦物油過多，反而可能造成真菌無法呼吸而死亡。重新活化菌株時，必須減少培養基塊上沾附的礦物油，初次活化的菌株生長緩慢，再次轉接可恢復菌株生長速度。此法保存之菌株可存活5-10年。

4. 冷凍乾燥保存法：用於保存真菌孢子。以脫脂牛奶作為冷凍保護劑製作孢子懸浮液，滴入玻璃安瓶內，以無菌棉花填充暫時封口，使用冷凍乾燥機進行乾燥，乾燥後密封安瓶，並冷藏保存。以此法保存真菌可存活數十年，活化時僅需以無菌水回溶乾燥孢子。
5. 超低溫冷凍保存法：此法為目前最佳的菌種保存法，各大菌種保存中心多採用此法保存菌種，本館亦採用此法保存菌株。