

# 行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

## 台灣地區壺菌群資源調查及其生物多樣性

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC93-2621-B-041-002-

執行期間：93年08月01日至94年07月31日

執行單位：嘉南藥理科技大學保健營養系

計畫主持人：陳淑芬

報告類型：精簡報告

處理方式：本計畫可公開查詢

中華民國 94 年 10 月 18 日

# 行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

※※※

※ 台灣地區壺菌群資源調查及其生物多樣性 ※

※※※

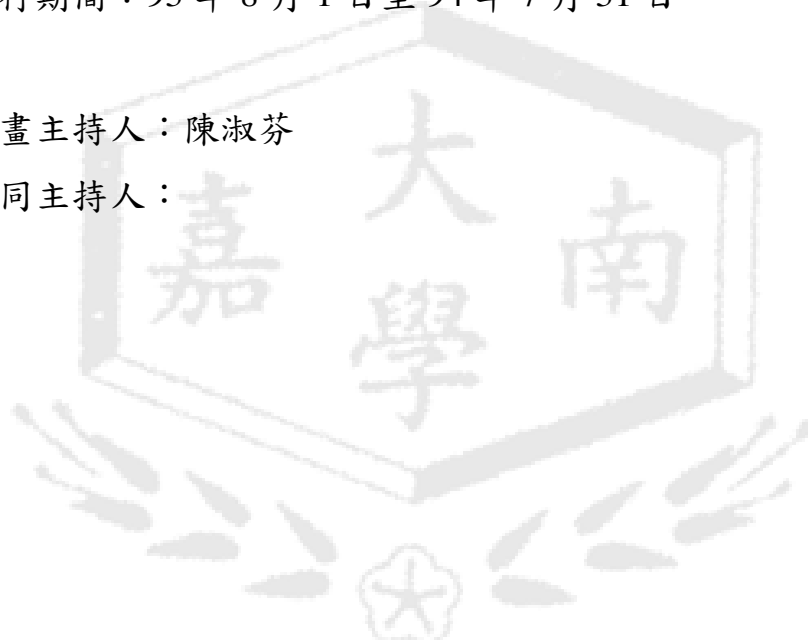
計畫類別：個別型計畫 整合型計畫

計畫編號：NSC 93-2621-B-041 -002-

執行期間：93 年 8 月 1 日至 94 年 7 月 31 日

計畫主持人：陳淑芬

共同主持人：



本成果報告包括以下應繳交之附件：

- 赴國外出差或研習心得報告一份
- 赴大陸地區出差或研習心得報告一份
- 出席國際學術會議心得報告及發表之論文各一份
- 國際合作研究計畫國外研究報告書一份

執行單位：嘉南藥理科技大學保健營養系

中華民國 94 年 10 月 16 日

# 行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

計畫名稱：台灣地區壺菌群資源調查及其生物多樣性 (Survey and Biodiversity of Chytridiomycota in Taiwan)

計畫編號：NSC 93-2621-B-041-002

執行期限：93 年 8 月 1 日至 94 年 7 月 31 日

主持人：陳淑芬

執行機關：嘉南藥理科技大學保健營養系

## 一、中文摘要

壺菌為鞭毛真菌中種類及數量相當龐大的一群，腐生或寄生生活，生態上包括：水生與土棲兩大類。本研究進行台灣地區的單鞭毛真菌之多樣性調查，自 2004 年 8 月至 2005 年 7 月在各地區採集水樣、底泥及土壤，經由誘鈎、分離共純培養了 27 個菌株，並鑑定為：

*Chytriomycetes*,  
*Cladochytrium*,  
*Phlyctochytrium*,  
*Rhizidiomyces* 及 *Rhizophyidium* 等 2 目 7 屬

共約 15 種壺菌，其中 *Podochytrium* 為台灣新紀錄屬，而 *Cladochytrium aurantiacum* 及 *Podochytrium sp.* 為台灣新紀錄種。此外，將近三年保存的種類共 110 個菌株抽取、純化 DNA，選用細胞核糖體基因之短片段 (18S DNA) 作為分子標誌，進行聚合酵素連鎖反應 (PCR)，目前仍繼續進行核酸序列自動定序 (DNA sequencing)，未來將經由分析軟體處理 DNA 分子序列，探討不同科、屬菌株的親緣關係。

**關鍵詞：**壺菌群、多樣性、親緣關係、台灣

## Abstract

The members of chytrids are a large group of Mastigomycota (zoosporic fungi). They are capable of living either as saprophytes or parasites, which play the

decomposer in food chain. We still know little about the biodiversity and phylogeny of these fungi in Taiwan. This project is investigate the chytrids in southern area of Taiwan from Aug. 2004 to July 2005. The samples of water, sediment and soil were collected periodically. The isolates of this study have 7 genus 15 species of Chytridiomycota. The *Podochytrium* is newly genus in Taiwan. The *Cladochytrium aurantiacum* and *Podochytrium sp.* are newly records from Taiwan. The phylogeny of Chytridiomycota was studied by biochemical methods. The analysis of 18S rDNA sequences within different family and genus of Chytridiomycota is in the process.

**Keywords :** Chytridiomycota, Diversity, Phylogeny, Taiwan

## 二、計畫緣由與目的

單鞭毛真菌的種類很多、形態歧異，分離、鑑定方法各不相同，而其中種數最多的壺菌體積極微小、構造簡單、鑑定困難，台灣地區從事這群真菌的分類研究者相當少，截至目前仍然缺乏完整的多樣性 (biodiversity) 調查，過去的研究多僅限於種類的分離及形態描述，其中以 Chytridiales 與 Spizellomycetales 的記錄約 58 種為最多，包括：寄生性 (Sawada, 1919,

1922, 1943)、海水生 (Volz et al., 1976; 陳, 1999)、土壤及爛葉分離 (Konno, 1984; 陳, 1996)、溪流、池塘、湖泊的水中或藻類上棲息的種類 (許, 1992; 王, 1994; 陳, 1996; Chen & Chien, 1995; 1998; Chen et al., 2000; Chen, 2002)。根據 Waterhouse 調查英國河川的水生真菌指出：腐生的藻狀菌具有季節性的周期變化，而池塘比溪流具有較豐富的菌類相 (Sparrow, 1960)，我們過去幾年對於破囊壺菌的調查研究也得到相同結論 (陳 2000, 2002)；台南地區池塘、湖、埤、水庫居全省之冠，本人曾隨機調查官田的菱角田、白河的荷花池等特殊水域的單鞭毛真菌，結果分離鑑定出 8 屬 12 種，是壺菌類群分佈相當多樣化的地區之一；台灣地區擁有亞熱帶特殊的生態景觀與環境資源，氣候、水質及土壤造成植物相多樣的分布現象，據以推測台灣地區也應存在豐富的土棲與水生的單鞭毛菌類相，加上隨著季節更替，土壤與水中的種類應該更豐富且多樣，此為本計畫的研究動機之一。

Timothy 等人 (2000) 嘗試以分子生物學的方法探討壺菌目與其他類群真菌間的親緣關係，結果仍支持 Barr (1980) 提出的電子顯微鏡超微構造特徵所建立的分類架構；但同時也發現，早期被視為 genus 及 family 的分類特徵，例如：囊蓋(operculum)有無、菌體的發育類型..等卻不再適合。其實，目前僅根據形態界定某些genus時仍然有困難，因此在定義genus及family之前增加類群的代表性是必需的，而尋找演化上穩定的特徵重新定義family成為壺菌系統分類的首要之務。本人曾經針對五屬十四種純培養的壺菌菌株進行同功酵素探討 (尚未發表)，初步找出ALD、SOD、IDH、PGD及PGI等酵素呈現有分類意義的電泳型；如今分離的菌株種類漸增，若能分析不同科及屬間的DNA分子序列，應可提供更多穩

定的輔助壺菌分類特徵，此為本計畫的研究動機之二。

本研究的目的是(一)：由南向北、由西向東進行全面性的單鞭毛真菌之多樣性調查，預計採集沼澤、溪流、池塘及湖泊水樣及土壤、底泥，經由特定之誘釣、分離技術、純培養、鑑定更多種類，並綜合彙整各相關類群，以充實台灣地區壺菌群的記錄與多樣性。目的(二)：在擴大篩選並比較所有菌株，選擇在family及genus的階層有分類意義的細胞核糖體之短片段基因 (18S DNA) 作為分子標誌，進行聚合酵素連鎖反應 (PCR)、核酸序列自動定序 (DNA sequencing)，經由分析軟體處理DNA分子序列，探討壺菌各科及屬菌株間的親緣關係，並協助鑑定形態分類上有疑問的菌株，經由遺傳相似性的比較，在形態特徵之外增加有力的生理、生化佐證，期能為壺菌群的親緣關係研究增加另一項方便且有助益的方法。

### 三、研究結果：

#### (1) 壺菌群多樣性調查

在各地區共進行 11 次採集，將各種水樣、底泥及土壤經由特定之誘釣、分離技術、共純培養了 27 個菌株，其中已經完成鑑定分屬於壺菌目及前生壺菌目 2 目，包括：*Chytrium*, *Cladochytrium*, *Diplochytridium*, *Phlyctochytrium*, *Podochytrium*, *Rhizidiomyces* 及 *Rhizophyidium* 等 7 屬約 15 種壺菌 (表一)，其中 *Podochytrium* 為台灣新紀錄屬，而 *Cladochytrium aurantiacum* 及 *Podochytrium sp.* 為台灣新紀錄種。

#### (2) 壺菌各科及屬親緣關係研究

選擇近三年來分離的種類中純培養保

存的 110 個菌株，抽取、純化 DNA，選用細胞核糖體基因 (rDNA) 之短片段 (8S) 作為分子標誌，進行聚合酵素連鎖反應 (PCR) 及核酸序列自動定序 (DNA sequencing)，將 DNA 分子序列比對、排序後，以 MEGA2.0 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 2.0) 比較並計算序列變化，經由分析軟體處理，探討壺菌各科及屬間的親緣關係，初步印證：壺菌是一個多源性 (polyphyletic) 的分類群；此外，根生壺菌屬與其他相關屬的親類關係也有待進一步的釐清。

#### 四、參考文獻

- 許美蓮，1992。陽明山國家公園壺菌目形態、分類學之研究。國立台灣師範大學生物研究所碩士論文。pp.95。
- 王美玲，1994。壺菌之形態分類及不同基質上菌體變異之研究。國立台灣師範大學生物研究所碩士論文。pp.114。
- 陳淑芬，1996。台灣產壺菌目形態、分類之研究。國立台灣師範大學生物研究所博士論文。pp.133。
- 陳淑芬，2000。曾文溪感潮河段海生鞭毛真菌—破囊壺菌種類及消長關係研究。國科會專題研究計畫期末報告。計畫編號 NSC 89-2313-B-041-004。
- 陳淑芬，2002。四草生態保護區海生鞭毛真菌相調查及消長關係研究(2/2)。國科會專題研究計畫期末報告。計畫編號 NSC 90-2313-B-041-015。
- Barr, D. J. S. 1980. An outline for the reclassification of the Chytridiales, and for a new order, the Spizellomycetales. *Can. J. Bot.* 59:2380-2394.
- Chen, S. F. and C. Y. Chien 1995. Some chytrids of Taiwan (I). *Bot. Bull. Acad. Sin.* 36:235-241.
- Chen, S. F. and C. Y. Chien 1998. Some chytrids of Taiwan (II). *Bot. Bull. Acad. Sin.* 39:47-56.
- Chen, S. F., M. L. Hsu and C. Y. Chien 2000. Some chytrids of Taiwan (III). *Bot. Bull. Acad. Sin.* 41:73-80.
- Chen, S. F. and C. Y. Chien 2002. Six proliferous species of *Thraustochytrium* from Taiwan. *Taiwania* 47:106-114.
- Chen, S. F. 2002a. The fluctuation of marine Mastigomycota in estuary tidewater of Tsengwen River. The 7th International Mycological Congress, Oslo, Norway.
- Chen, S. F. 2002b. New records of chytrids from Taiwan. *Fung. Sci.* 17:77-82.
- Karling, J. S. 1977. *Chytridiomycetorum Iconographia*. Lubrecht and Cramer, New York. pp.414.
- Konno, K. 1984. Water moulds from Taiwan. *Bull. Natn. Sci. Mus.* 10(2):87-99.
- Lozupone, C. A. and D. A. Klein. 2002. Molecular and cultural assessment of chytrids and *Spizellomyces* populations in grassland soils. *Mycologia* 94:411-420.
- Sawada, K. 1919. Descriptive Catalogue of the Formosan Fungi I. *Taiwan Agric. Exp. St. Spec. Bull.*, 695pp.
- Sawada, K. 1922. Descriptive Catalogue of Taiwan (Formosan) Fungi. Pt. II. *Spec. Publ. Coll. Agric., Natl. Taiwan Unvi.*, 173pp.
- Sawada, K. 1943. Descriptive Catalogue of Taiwan (Formosan) Fungi. Pt. IX. *Spec. Publ. Coll. Agric., Natl. Taiwan Unvi.*,
- Sparrow, F. K. 1960. *Aquatic Phycomycetes*. 2nd ed. pp.1187. Univ. of Michigan Press, Ann Arbor.

- Timothy Y. J., D. Porter, C. A. Leander, R. Vilgalys, and J. E. Longcore. 2000. Molecular phylogenetics of the Chytridiomycota supports the utility of ultrastructural data in chytrid systematics. *Can. J. Bot.* 78:336-350.
- Volz, P. A., Y. C. Hsu and C. H. Liu. 1976. The Thraustochytriaceae and other intertidal fungi of Taiwan. *Taiwania* 21(1):1-5.



(表一) 壺菌群 (Chytridiomycota) 調查記錄

序號	目名	屬名	種名	種下命名	次數
1	Chytridiales	<i>Chytriumyces</i>	<i>hyalinus</i>		3
2		<i>Cladochytrium</i>	<i>aurantiacum</i> *		1
3		<i>Diplochytridium</i>	<i>lagenaria</i>		1
4		<i>Phlyctochytrium</i>	<i>planicorne</i>		1
5		<i>Podochytrium</i> *	<i>sp.</i>		1
6		<i>Rhizophyidium</i>	<i>chaetiferum</i>		3
7			<i>chlorogonii</i>		1
8			<i>haynaldii</i>		3
9			<i>laterale</i>		4
10			<i>patellarium</i>		2
11			<i>sphaerocarpum</i>	<i>var. sphaerocarpum</i>	2
12			<i>sphaerotheca</i>		1
13			<i>sp. 1</i>		1
14			<i>sp.2</i>		2
15	Hyphochytriales	<i>Rhizidiomyces</i>	<i>sp.</i>		1
	2 目	7 屬	15 種		27 株

(註)\* 為台灣新紀錄屬、種