

黏菌的研究

高中組生物科第二名

國立台灣師大附中

作者：牛立德

指導教師：江美惠

一、研究動機

「黏菌」實在是一種很奇異的生物。在詳讀中山科學大辭典第八冊植物學的「黏菌植物群」後，發現很多問題值得研究。如：

- (一)黏菌子實體形態到底如何？孢子又是什麼呢？什麼是細絲體？偽細絲體又是什麼？孢子萌發法如何呢？
- (二)原生質體構造如何呢？在顯微鏡下又是什麼樣子？原生質如何流動呢？
- (三)同種黏菌真的可以癒合嗎？同種但不同品種可癒合嗎？又不同種可癒合嗎？
- (四)平常培養黏菌時，若水加多了，原生質體生長會受阻礙。當水分散失後，會形成休眠體（*sclerotium*）。如果將原生質體放在不同滲透壓的溶液中培養，其生長情況又如何呢？
- (五)「黏菌植物群」一文中，提到原生質體流動時之極性（*Polarity*）與 K^+ 離子濃度有關，而且前端濃度較大（註1）。那原生質體有趨化性嗎？
- (六)一般教科書上，都提到原生質體平時長在背光處，等到成熟後，就爬到有光處形成子實體。那黏菌有負趨光性嗎？形成子實體真的是要爬向光照下嗎？
- (七)一般培養基，都是用乾葉培養基，但是却避免使用有乳汁或有芳香氣味的樹葉。爲什麼呢？有乳汁或有芳香氣味的樹葉真得對黏菌有害嗎？
- (八)休眠體到底是什麼呢？成因如何？又是如何形成的呢？
- (九)子實體如何形成？

根據以上種種問題，使我產生研究的動機，展開下列各項實驗。

二、研究目的

- (一) 1. 子實體外形。
- 2. 孢子形態、顏色。
- 3. 細絲體(*capillitium*)與偽細絲體(*Pseudocapillitium*)的形態與差異。
- 4. 孢子萌發法。
- (二) 在顯微鏡下觀察原生質體，探討原生質體的構造與活動。
- (三) 1. 同種。
- 2. 同種但不同品種。
- 3. 不同種。癒合的可能性。
- (四) 原生質體在不同百分濃度的 $NaCl$ (aq) 溶液中，生長情況如何？
- (五) 1. 黏菌對 Na^+ 、 K^+ 、 Mg^{2+} 或是 Cl^- 是否有趨性？
- 2. 黏菌原生質體，在何種濃度下有趨化性？
- 3. 原生質體趨向何種濃度的溶液？
- (六) 黏菌的負趨光性與子實體的形成是否要在光照下。
- (七) 有乳汁或有芳香氣味的乾葉是否對黏菌原生質體有害。
- (八) 何種因素促使原生質體休眠與休眠形成過程。
- (九) 子實體形成過程。

三、研究設備器材與藥品 (略)

四、實 驗

實驗一：子實體、孢子、細絲體與孢子萌發的觀察：

(一) 觀察材料：

- Didymium nigripes* (1)
- Physarum* (2)
- Lycogala epidendrum* (3)
- Hemitrichia serpula* (4)

(二)方法：

- 1.用鑷子細心夾取D. (夾柄)，放至懸滴玻片凹槽水滴中，再由蓋玻片小心壓破孢子囊，並再加兩滴煮沸過蒸餾水，加上蓋玻片。
2. *Physarum* 和 *S. splendens* 用 2 法。
- 3.取白金絲針弄破 *L. epidendrum* 的衆合孢子囊壁，取出孢子和偽細絲體放入懸滴玻片的凹槽水滴中。再加兩滴蒸餾水及蓋玻片。
4. *H. serpula* 同 4 法。
- 5.在不觀察時，置於有濕棉花的培養皿中保持潮濕，以免形成小囊孢 (*microcyst*) (註 2)。

(三)觀察結果：(略)

(四)討 論：

1. *D. nigripes* 孢子囊表面乾燥時如白粉狀，一遇水、酒精等液體，就轉變成黑褐色。因為表面的石灰質結晶脫落。石灰質結晶為 *Didymium* 屬特徵。
- 2.基盤為原生質體的痕跡。
- 3.在我採集到 *D. nigripes* 的子實體中；發現大部分是有柄的 (*stalked*)，但也有部份是無柄的 (*sessile*)，更有部分竟然孢子囊癒合。其實柄是分類的依據，在環境因素下也會產生一些畸形 (註 3)。
4. *Stemonitales* 目的特徵是，子實體中央有明顯中柱，細絲體由中柱延伸出，在表面或網絡狀。但表面不具外套 (*Peridium*)，當風一吹或其他外力，孢子即散落。
- 5.子實體大小、形態、顏色皆不同，共分三型 (註 4)。

(1)孢子囊型 (*Sperangial forms*)

大部分的子實體為此型。成因為原生質體中腫節聚集周圍原生質而成。孢子囊叢生，有一基層薄膜 (基盤 *hypothallus*)，但不一定觀察得到。大部分種類有柄，但也有

些無柄，可是有些種類因為環境因素而有時有柄、有時無柄。

(2) 衆合孢子囊型 (*aethalium*)

為大型子實體，不具柄。是為原生質體粗大部分聚集周圍原生質而成。大小型態不一，有卵型、半球型，形態可為分類依據。大小全由聚集原生質多寡而定。又 *aethalium* 有休眠之意。

(3) 原生質果型 (*Plasmodiocarp*)

形成網狀、不規則狀、或長型。無柄，保留原生質體的形態，由原生質體直接變態而成。

6. 孢子為圓球狀，但表面形態和顏色皆不同。像 *D. nigripes* *S. splendens* 較平滑，只在 15×40 下細心調焦距才可看到。表面有樹疣突起。*H. serpula*，和 *L. epidendrum* 就有明顯的網狀脊，*H. serpula* 的網狀脊，較明顯且大。*Physarum* 表面平滑。

7. 細絲體形態差異也大。

(1) *Didymium* 成樹枝狀；有分叉，透明，但無板狀節。

(2) *Physarum* 透明，有板狀節。

(3) *H. serpula* 細絲體粗大明顯，表面有花紋，為 *Trichiales* 目的特徵。

(4) *L. epidendrum* 有偽細絲體。偽細絲體和細絲體不同處在於細絲體粗細相同；而偽細絲體有膨大處。偽細絲體為 *Liceales* 目的特徵，見於衆合孢子囊內。

(5) *S. splendens* 的細絲體有中柱，延伸成網絡狀。為 *Stemonitales* 目的特徵。

(6) 細絲體由液泡或類似液泡之物分泌而來（註5）。細絲體對水敏感，可彈出孢子。

8. 孢子萌發法有二：一為開V字型口法，二為開孔法。*D. nigripes* 和 *Physarum* 為前法。*H. serpula* 和 *S. splendens* 為後法。但為 *S. splendens* 開孔較大。二法不同處在

於裂法，其他偶同。

9. 將 *D. nigripes* 和 *Physarum* 放在 20% 乳酸中，可見到微小氣泡冒出。（註 6）

以下實驗均用 *D. iridis*

實驗二：原生質體的顯微鏡觀察

(一) 實驗步驟：

1. 移植一片原生質體連同 Agar 於載玻片中央。
2. Agar 外圍灑上酵母孢子。
3. 於玻片兩側稍遠處放置兩簇濕棉花，以保持濕潤蓋上蓋子，靜置於 27 °C 中。
4. 一天後，觀察原生質體是否已爬行到玻片上，若爬上了就置於顯微鏡中觀察。

(二) 觀察結果：

若放置在立體解剖顯微鏡中，只能看到一條條膠著狀管導 (vein) 或隱約看到顆粒狀。然而在光學顯微鏡下，60 倍就可清楚看出原生質體的詳細構造。更可清晰看出原生質體的流動。

1. 原生質體的管導 vein，由顆粒狀物質聚集成，分成二層。在外為不流動、靜止，成膠著狀的原生外質 Plasmagel，而中間有一條或多條的可動顆粒在流動不止，是為原生內質 plasmasol。gel. 和 sol. 之成分大致相同，在每條管導中 gel. 和 sol. 的比例一致。gel. 色澤較淺，sol. 較深。gel. 外有一層膜，膜外為黏液鞘，為纖維質，是原生質體不斷分泌的分物，故在扇狀的原生質體前端黏液鞘才剛分泌，比較薄，不易見到。而於管狀的管導，為原生質體的後端，黏液鞘已堆積得很厚了。當原生質體爬行過後，黏液鞘就遺留在基層物質上，隨後崩潰，在 15 × 10 下可清楚看到纖維狀條紋。
2. 如果用針刺原生質，若刺得太淺，只刺到 gel. 部分，原生質體維持原狀。若用力刺到 sol. 部分，可見原生質一湧而

出，湧出來的原生質形成兩三個小球後，馬上就膠著了。第二天，就發現形成了扇狀體，可能是湧出來的 sol. 外圍形成 gel. 和一層膜，成爲原生質體的分枝。

3. 關於原生質的流動，在黏菌綜論中，得知在於 ATP-sensitive protein 分解後，肌動蛋白 (actin) 和肌凝蛋白 A (myosin A) 此二者交互作用；產生動力。

推測與肌肉收縮機制相同，或者更原始。而我觀察到：同一原生質體內各分枝，流動方向、流速，都不一致。當原生質體往後流時，前端的扇狀體和管導就回縮。流動；情況爲：停→慢→快→慢→停→換方向→慢→快→慢→停→變換方向→慢→。

當原生質體往前流時，就可看到前端原生質體往前伸出。有時發現衝破膜而原生質體 sol. 流出，但流出後就不動了，最後形成了 gel.、sol. 和膜，與一般原生質體管導相同。於是原生質體爬向前端，並於後面留下黏液鞘。流動時可見食泡。

實驗三：原生質體癒合的探討

(一)同種原生質體的癒合

1. 材料：Didymium iridis

2. 方法：

- (1)使用玻片夾連同 Agar 挑起生長情況良好的原生質體。
- (2)放入一個內附濕濾紙的培養皿中二至四塊。(注意：要使原生質體前端朝向中心且兩兩相對)。
- (3)於中央灑下一些酵母孢子，以誘使原生質體朝向同一地點爬行。

3. 結果：(略)

4. 討論：

- (1)原生質體前端成扇狀體，不斷分枝，越分越細，尤其在碰到營養良好時(如Yeast)分枝繁多且微細。同時在立體解剖顯微鏡仔細觀看，可看到扇狀體中的每一條小枝都連

成一片。這是因爲接觸到了豐富營養，原生質體分佈成無數細枝連合成的扇狀體才可增加與營養接觸面積，以便吸收更多營養，同時各小枝相連合，才可使 Sol. 的循環溝通。

(2)由實驗的結果可知，原生質體先朝向中心 Yeast 形成扇狀體，不斷延伸，於是和另一塊原生質體相接觸，最後扇狀體癒合，在顯微鏡下也可看到原生質流動暢通無阻。

(3)除了本次實驗外，在一般培養經驗中，也可確認原生質體癒合之可能。尤其是有一瓶培養皿中的原生質體全部分散成無數小塊，然而加上一些麥片粉後靜置幾天，發現形成「一塊」大形原生質體。

實驗四：滲透壓的探討

(一)方法：

1. 取滅菌消毒好的 9 cm 的培養皿十三組，內放 9 cm 濾紙。
2. 於每一組培養皿中，移植入數塊原生質體連同 Agar。
3. 分別加上不同濃度的 NaCl (aq) 到完全淹沒住原生質體。共作成 10 %、5 %、1 %、0.9 %、0.8 %、0.7 %、0.6 %、0.5 %、0.4 %、0.3 %、0.2 %、0.1 % 等 NaCl (aq) 和純水共十三組。
4. 加蓋後，用膠帶封好，置於恆溫箱中保持 27 °C。
5. 於處理後第二天與第四天觀察。
6. 第七天把鹽水倒掉，僅使濾紙潮濕。
7. 第八天觀察。

(二)結果：(略)

(三)討論：

1. 10 %、5 % 的 NaCl (aq) 中，因滲透壓高，致使水分散失，濃縮成一團，軟癱癱的，但是離棕色硬塊狀、休眠體仍有差別，在於不能乾化。
2. 1 %、0.9 %、0.8 %，原生質體雖有生長現象，但發育不良，形體小，因滲透壓略高，不適合生存。

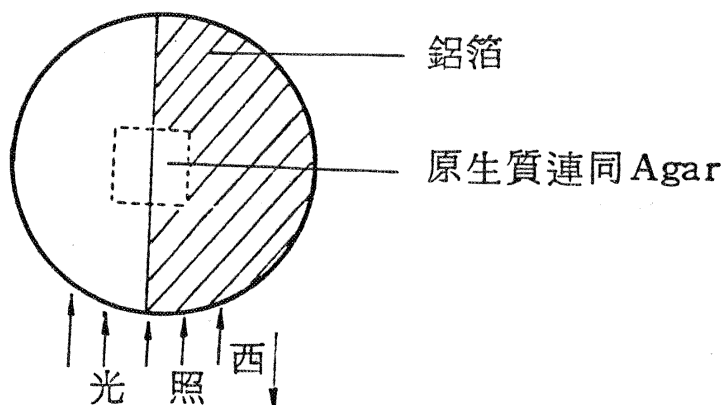
3. 0.7%~0.1%生長情況良好，管導延伸範圍大，很適合原生質體生存，0.6%例外，但照理論是該同0.7~0.1%其他各組一樣好。
4. 純水中，原生質體不適生存，生長受阻。
5. 本實驗不餵食任何營養，因為怕在不同NaCl (aq) 中，酵母發育情況不一，產生另一變因。
6. 在培養皿中，水過多，生長受阻，又加上飢餓遮光處理造成原生質體在第七天後大部分都濃縮。於是將水倒掉，有些組生長情況又良好。尤其是0.7%、0.3%、0.2%、0.1%。
7. 本實驗中，發現原生質體大都爬向四周壁上，再形成大形原生質體。

實驗五：趨化性的探討（略）

實驗六：負趨光性的探討

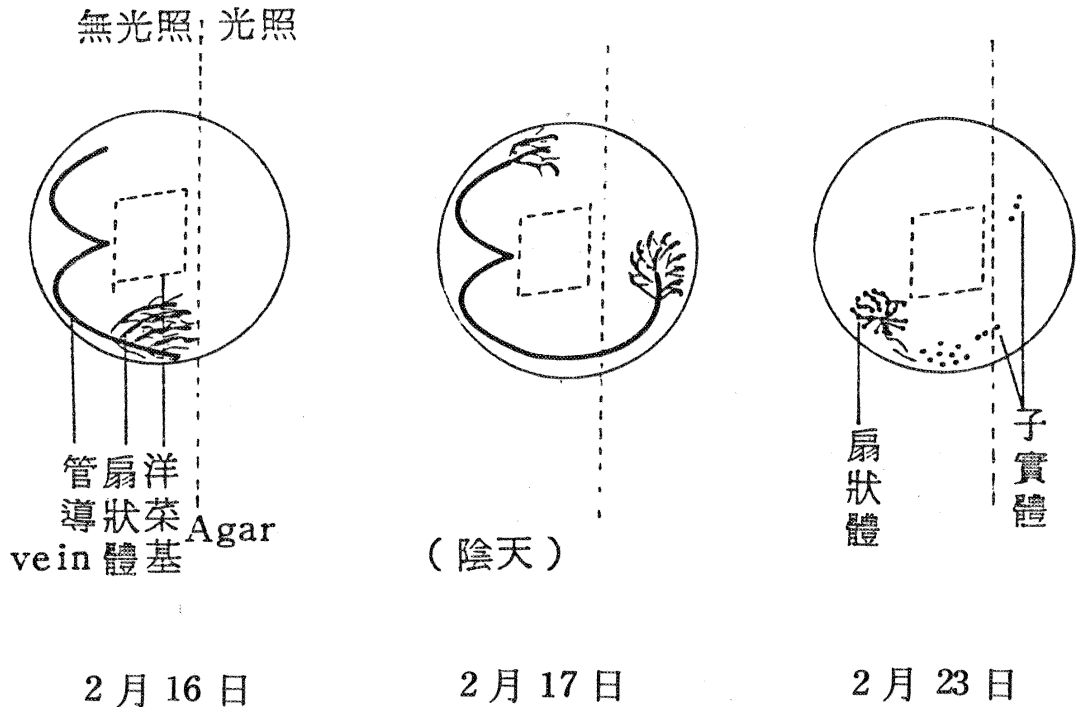
(一)實驗步驟：

1. 使用濾紙移植法（如同滲透壓組）。
2. 用鋁箔包住一半。
3. 置於窗口接受日光照射。

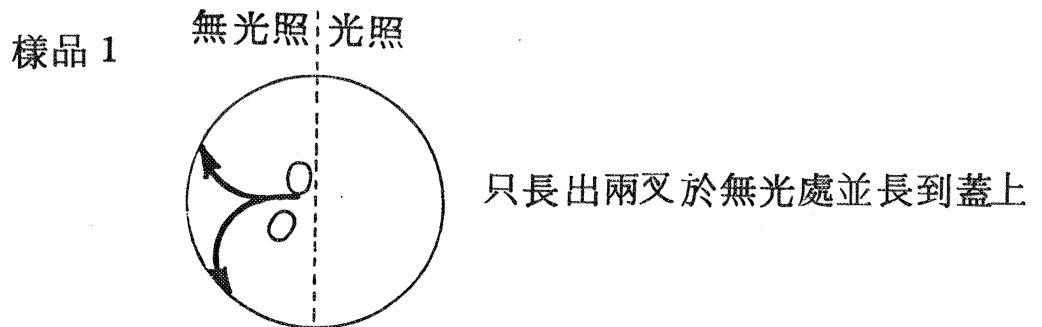


(二)結果與討論：（附照片第六集及標本）

樣品 1



原生質體起初是往無光處生長，且形成扇狀體。雖然在 2 月 17 日天氣轉陰，使原生質體長出鋁箔覆蓋範圍外，充分表示在陰天光度不强，不致驅使原生質體遠離。所以負趨光性是在光強時才顯現出。在 2 月 23 日時，因為原生質體已經發育成熟，她就會往有光處爬行，並且利用光的熱度（光能），轉變成本身的能量以促使變態形成子實體。



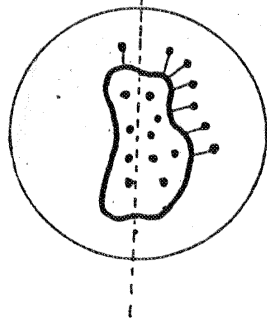
原生質體長到無光處，顯示負趨光性。

樣品 3

只盤據在 Agar 上，沒有長到濾紙上。

樣品 4

無光照 | 光照

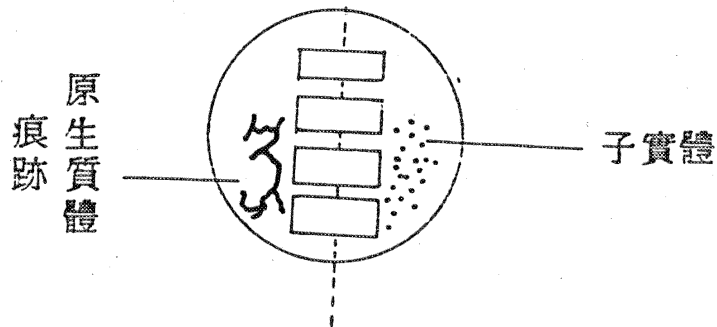


於洋菜基上形成子實體

於洋菜基上偏有光照處形成大量的孢子囊（只一子實體）。並且偏向有光處的孢子囊較無光處多很多。顯示光照對子實體形成有很大關係。

樣品 5

無光照 | 光照



於無光處只見到原生質體的不明顯痕跡，而在有光處看到一堆孢子囊。此表示：原生質體本在無光處，當其成熟時，便爬到有光處以形成子實體。

實驗七：乾葉培養基的異議（略）

實驗八：休眠體休眠因素之研究（略）

實驗九：子實體形成過程（略）

五、結 論

- (一) 1. 子實體形態、大小和顏色皆不同。
2. 孢子的形狀、顏色皆不同。而且孢子表面有突起或凹陷或網狀脊或平滑是為厚壁孢子。
3. 細絲體形態差異大。
4. 孢子萌發方法觀察到三種即：D. 和P. 為縫裂法，H. 和S. 大略相似為孔裂法，孔之大小不同。
- (二) 原生質體的管導 (Vein) 中可流動的管脈不一定只有一條，有很多，有大有小，甚至有彎曲連接。整個原生質體中，導管內原生質流動之方向、速度並不一致。
- (三) 同種黏菌原生質體可癒合，但產生的變異原生質體不能和原正常原生質體癒合，僅僅交互而過，不同種黏菌也不能癒合。
- (四) 滲透壓實驗中 (不同濃度 $\text{NaCl}_{(aq)}$)
1. 10 % 和 5 % 中，原生質體濃縮，不再生長，1 %、0.9 %、0.8 % 可生長，但生長不良。0.7 % ~ 0.1 % 皆適合原生質體生長。
 2. 水分過多，易使原生質體漂浮，固著不定，不易生長，而且原生質體有背水性。
- (五) 負趨光性實驗得知
原生質體往沒有光處爬行 (背光性) 若原生質體成熟後即爬到有光處，形成子實體。
- (六) 有乳汁或芳香氣味的乾葉，不如一般傳統上所謂不適合作培養基，反而比較好，不但透光性大，生長也良好。
- (七) 1. 0.1M 的 NaCl 、 KCl 、 MgCl_2 最適宜原生質體的生長 0.5 M 以上則不適宜生長。
2. 在 MgCl 、 KCl 、 MgCl_2 中，原生質體往 MgCl_2 爬行機率最大，表示原生質體有朝 MgCl_2 爬行之習性。且比例上是 $[\text{Mg}^{++}] > [\text{K}^+] > [\text{Na}^+]$ 。其中 $\text{MgCl}_{2(aq)}$ 的 $[\text{Cl}^-]$ 濃度為 KCl 和 NaCl 的兩倍。推測原生質體有趨向

[Cl⁻] 的傾向。

3. 在 1.0M 和 0.5 M 的 [K⁺]、[Mg⁺⁺]、[Na⁺] 溶液中，原生質體爲負趨化性，0.05 M 和 0.01 M 溶液爲正趨化性。低溫 8 °C 以下，飢餓遮光或乾燥處理，可致使原生質體休眠。但水分不缺乏或再補充就不致硬化成塊狀休眠體。

評語：本作品研究之動機，全部均係作者個人之自發性尋求生物學問題，實際觀察所獲得之結果，實屬難能可貴。作者已具備基礎生物學上之學識即以高中學生的程度，利用學校現有之設備，其收獲可稱豐碩，盼日後作者能對黏菌的重要問題，例如黏菌植物群之廣泛知識及其生物學包括孢子、原生質體及核生活史 (nuclear cycle) 等方面做進一步之探討。