

黏菌(Slime Molds)攝食方式的探討

——胞內、胞外消化的驗證

高中組生物科第三名

台灣省立新竹高級中學

作 者：薛良凱

指導教師：楊良平、林清和



一、研究動機

從高中生物課本中，我學到不少有關黏菌的常識，可是心中仍有許多不解之處，其中最讓我困擾的就是許多的書籍中都有培養黏菌的方法，而且都說加上麥片的目的是為了供細菌或酵母菌生長，而黏菌正是以吃這些細菌或黏母菌來生存。但是黏菌如何吃牠們？黏菌又是怎麼找到的？因此我決定對此作一系列的實驗以找出答案。

二、研究目的

- (一)觀察黏菌的構造及活動方式。
- (二)設計實驗找出黏菌攝食的方式。

三、研究設備器材

- (一)材料：由台灣大學植物研究所劉錦惠老師提供真黏菌(Ture Slime Molds)，經劉老師鑑定為：

門：Myxomycophyta(Mycetozoa)

綱：Myxomycetes(Ture Slime Molds)

目：Physarales

科：Physaraceae

屬：Physarum

種：tenerum (中山自然科學大辭典／植物學)

(二)培養：於本校生物活體培養中心中，21.5°C的黑暗恆溫箱中。

使用培養基：Agar	0.8 g
Water	99.2 g
麥片（麥粉）	2~3 g

註：若溫度超過 30.0 度以上，則在 48 小時內形成子實體(fruiting body)；若低於 10.0 度，則黏菌將死亡。

(三)化學試藥：甲基藍、葡萄糖 95%，剛果紅、麥片、測糖用試紙(Glukotest)、酵母粉、蒸餾水、玉米粉、碘液、本氏液(Benedict's 試液)。

(四)儀器設備：複式顯微鏡、實體顯微鏡、顯微照相設備、顯微攝影機及設備、光源、酒精燈、解剖刀、解剖針、鋁箔紙、高溫高壓蒸汽滅菌設備、光電比色儀、微量天平(readability 0.1mg)。

四、研究過程

全部過程包括兩部分：(一)觀察部分(二)實驗部分：

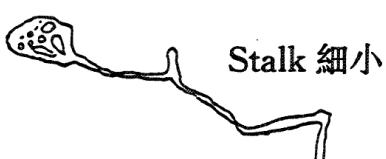
(一)觀察部分：

1. 溫度對黏菌的影響：

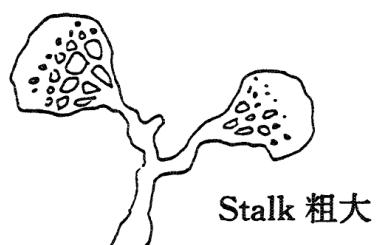
10.0°C下的死菌：



18.0°C的活菌：

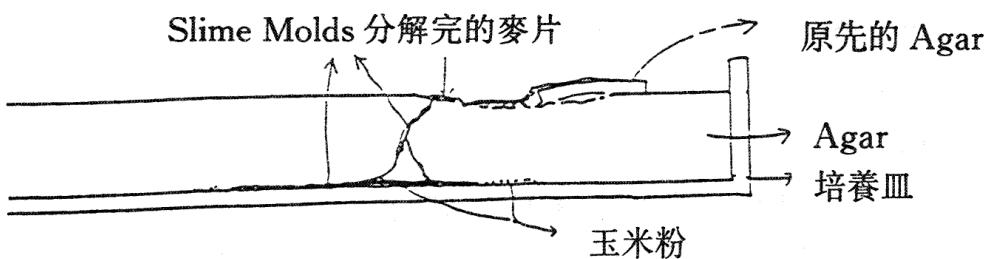


22.0°C的活菌：



2. 黏菌的移動（示意圖）：

圖中所示為將麥片分解完後移向下方玉米粉的縱剖面：



黏菌在均勻 Agar 上移動所留下的痕跡：



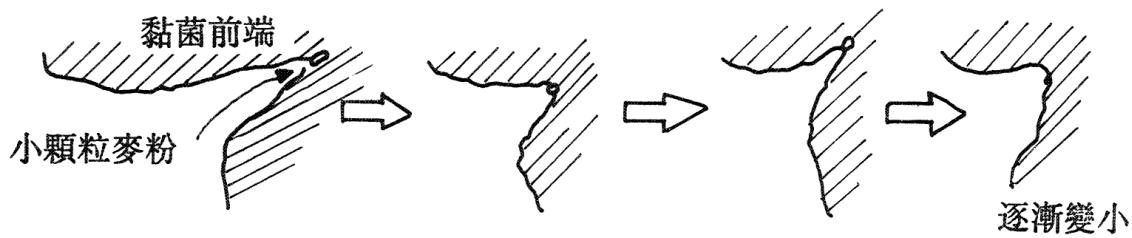
3. 當黏菌盤踞的麥片分解完後（是黏菌還是細菌分解在後有實驗證明），黏菌向下鑽入 Agar 中，向底部預先放置的玉米粉處爬行，如上頁所示。
4. 黏菌移動時，體內有物質流動，經錄影後測量時間，發現流動速度十分快，向前平均每 85.2 秒再換向後流動，而向後平均每 78.2 秒再向前流，如此重覆來回。據 Morphology of Plants and Fungi 一書中指出 Slime Molds 的速度為 1.45mm/sec 而動力為 actin 和 plasmodium myosin A 兩種蛋白質構造。（Harold C. Bold 1980）
5. 黏菌移動記錄：（略）

(二) 實驗部分：

實驗一、黏菌是否胞飲或分泌物質消化麥粉或只吃其上細菌

- 步驟：1. 先將黏菌分植到一新培養基中，並且注意盡可能植在中央。
2. 取兩粒麥片，研磨成粉，然後置入培養基中，盡量以黏菌為圓心以距離 1.0cm 為半徑做一薄麥粉圈。
3. 重覆步驟 1-2 步，做五組以求平均。
4. 靜置等到爬到麥粉時用顯微鏡觀察之。

- 結果：1. 顯微鏡下的黏菌支幹前端一旦遇到小顆粒麥粉將形成一凹口，小顆粒麥粉在凹處被黏菌壓擠，於是小顆粒越來越小終於消失。
2. 黏菌爬行過後，麥粉出現被爬行的痕跡。
3. 由於 Agar 太厚，顯微鏡觀察受到限制，無法確定是否發生胞飲。（如下圖所示為顆粒在黏菌前端的情形）。



實驗二：用葡萄糖誘導實驗

步驟：1. 先將黏菌分植到一新培養基中，並且注意盡可能在中央。

2. 將葡萄糖 2M 溶液 40cc 加入 Agar 0.3 g 製成條狀備用。

3. 把葡萄糖條狀物放置靠培養皿邊緣。

4. 重覆 1–3 步驟，再做十個，以求平均。

5. 連續觀察並記錄。

6. 再分植另一黏菌到一新培養基中，並注意盡可能在中央。

7. 將葡萄糖顆粒 2 g 放置靠培養皿邊緣。

8. 重覆 6–7 步驟，再做五個以求平均。

9. 連續觀察並記錄。

結果：1. 直接向葡萄糖條狀物移動有七組，有一組滯留然後死亡，有兩組尚未開始移動。

2. 黏菌未經錯誤嘗試即可找到葡萄糖條狀物，或許是因為糖濃度吸引黏菌，而得以直接找到糖。

3. 黏菌移向葡萄糖條狀物，最後停留在其上，且分解條狀物。（圖省略）

實驗三：用預先置入麥粉的方式誘導

步驟：1. 取一新培養基，並且把麥粉集中撒在靠培養皿邊緣，靜置黑暗中一日。

2. 將黏菌分植到此培養基中，並且盡可能在中央。

3. 連續觀察並記錄。

4. 重覆 1–3 步驟，再做十次，以求平均。

結果：1. 直接向麥粉移動有七組，有兩組滯留後死亡，有一組尚未開始移動。（圖表省略）

2. 黏菌由軌跡可知大都是直接移向麥粉，預先置入麥粉會增加糖的水解和擴散，使黏菌馬上能感應麥粉方位。

3. 黏菌最後移向麥粉並停留在其上。

實驗四：用無菌麥片誘導實驗。

- 步驟：1. 先將黏菌分植到一新培養基中，並注意盡可能放中央。
2. 取三粒麥片，用高溫高壓蒸氣滅菌，然後置入培養基中，儘量靠邊緣。
3. 重覆 1-2 步驟，做十組以求平均。
4. 靜置並觀察之。

結果：1. 黏菌漸向麥片移動，最後爬滿了麥片。

2. 黏菌直接爬向麥片：有三組
黏菌間接（有轉折出現）爬向麥片：有四組
黏菌停滯原地不動：有三組
3. 由於黏菌和麥片同時植入，此時糖的水解和擴散剛開始，黏菌未立刻能感應到麥片的方位。

實驗五：用本氏液定性測定

- 步驟：1. 先將黏菌分植到新培養基 A 中，不供給任何食物。
2. 取另一培養基 B，其中不含任何東西。
3. 取 A 培養基中黏菌曾爬過之 Agar 用解剖刀細心刮下。
4. 在 B 培養基中，任何面積也細心刮下約 0.5 g 的 Agar。
5. 分別裝進試管加 5mℓ 蒸餾水再加入本氏液加熱至沸騰，若水已蒸乾 2mℓ 以上還不變色時，再如同 3、4 步驟刮取 Agar 再加 2mℓ 水至 5mℓ 加熱直至變色為止。
6. 重覆 3-5 步驟測試三次再記錄其結果。
7. 重覆 1-6 步驟五次再記錄其結果。

結果：1. A 培養基中黏菌曾爬過之 Agar，經測試為含糖反應，顏色變淺綠色。
2. B 培養基中，經測試為不含糖反應，顏色不變，為藍色。（照片省略）

- 實驗六：1. 先將黏菌分植到培養基 A 中，並注意盡可能植在邊緣。培養基中除黏菌外不供給任何食物。
2. 取另一培養基 B，其中不含任何東西。
3. 取 A、B 培養基中，黏菌曾爬過的 Agar，細心刮下。
4. 分別裝進試管加 5mℓ 蒸餾水再加本氏液加熱至沸騰，若水已蒸乾 2mℓ 以上還不變色時，再如同 2、3 步驟，刮取 Agar 再加熱，直至變色為止。
5. 重覆 3-4 步驟測試三次再記錄其結果。

6. 重覆 1–5 步驟測試五次再記錄其結果。

結果：1. A 培養基中，黏菌曾爬過之 Agar，經測試結果為淡綠色。

2. B 培養基中，經測試為不含糖反應，顏色均不變，為藍色。（照片略）

實驗七：用測糖試紙定性、定量測定(Glukotest)

步驟：1. 先將黏菌分植到新培養基中，並注意盡可能在中央。

2. 培養基中除黏菌外不供給任何食物。

3. 培養基中置入測糖試紙。

4. 取另一新培養皿，並加入麥粉 2 g（注意放於邊緣）。

5. 培養基中置入測糖試紙。

6. 取另一新培養皿，加入葡萄糖 2 g（注意放於邊緣）。

7. 培養基中置入測糖試紙。

8. 重覆步驟 1–7，做五組以求平均。

9. 靜置並觀察之。

結果：1. 培養基中有黏菌者呈深綠色反應。

2. 培養基中有麥片者呈淡綠色反應。（照片、圖表省略）

實驗八：光電比色儀測定糖含量

步驟：1. 分別以 0.01 g、0.02 g、0.03 g、0.04 g、0.05 g 葡萄糖 + 40mℓ H₂O + Benedict's 液共五組，分別將這些溶液分別置於沸騰水中隔水加熱，連續加熱 40 秒，若已蒸乾 0.5mℓ 以上時，加入 0.5mℓ 至 4mℓ，再以光電比色儀測定在 600nm sens4 時各試液的吸光度。

2. 將黏菌分植到新培養基中，並注意放於中央。除黏菌外不供給任何食物。

3. 五日後在培養基中，分別在 0.5、1.0、1.5、2.0cm 及 2.5cm 之處以解剖刀取下，以微量天平稱重約 1,000 g 並記錄實際重量。

4. 分別裝進試管加 4mℓ 蒸餾水再加入本氏液於沸騰中隔水加熱，連續加熱 40 秒，若已蒸乾 0.5mℓ 以上時，加入 0.5mℓ 至 4mℓ，記錄其結果。

5. 重覆 1 步驟測試四次再記錄其結果。

6. 重覆 2–4 步驟測試五次再記錄其結果。

結果：省略。（確實數據請向新竹高中活體培養中心索取）

實驗九：糖誘導試驗

步驟：1. 先將黏菌分植到新培養基中，並且注意盡量放中央。

2. 將葡萄糖 2M 溶液 40cc，塗抹在玻璃纖維上備用。

在解剖顯微鏡之下，將塗抹有葡萄糖的玻璃纖維置於黏菌前方右端，新玻璃纖維置於黏菌左端。

3. 以解剖顯微鏡仔細觀察移動情形。

4. 重覆 1-3 步驟，再做一次。

5. 仿 1-4 步驟，將左改成右，右改成左，再做一次。

結果：黏菌均向塗抹有葡萄糖的玻璃纖維移動。（照片省略）

五、討論

(一)由實驗 1 可知黏菌有能力分解麥片，能將麥粉粒分解成小顆粒。黏菌對糖有正趨性。

(二)無菌麥片也能誘黏菌移動，可知細菌並非黏菌唯一食物，但可確知黏菌會感應糖而移動。

(三)黏菌會向麥片處移動，即使是不含任何細菌之麥片，可見黏菌的移動和細菌是否存在毫無關係。但由軌跡可知，黏菌必須要在濃度適當處才感應得到。

(四)黏菌飢餓時便移動，為了生存甚至鑽進含麥粉的底部，若非黏菌有能力可感應到糖存在，牠又怎會知道底部含麥粉的？所以黏菌必定具有某種特殊的構造去感應到麥粉的濃度，進而判定方位。

(五)黏菌如果感應到有葡萄糖存在，會向該處移動，所以黏菌移動是以營養為出發點，反之，若沒有養份出現，黏菌就會四處漫無目的的移動，因而軌道凌亂。黏菌根據微弱的糖份指引向糖份含量高的地方移動，終於到達麥片。

(六)由本氏液測定、試紙測定可知：黏菌會分泌酵素分解麥片或 Agar，所以呈含糖反應。由另一項實驗又指出，麥粉水解後，糖份和距離成反比。（資料指出 Agar「瓊脂」也是一種多糖）。

(七)能在純 Agar 培養基內培養的黏菌細胞外，測得糖反應可間接證明黏菌在飢餓時行細胞外消化以取得養份。

六、結論

(一)黏菌有能力可感應糖的存在而移動過去，如此可避免許多不必要的能量耗損。可見黏菌並非麥片上有細菌或酵母菌才移動。

(二)黏菌可能同時行胞內、胞外消化，但可確定不如一般人認為一定是以胞飲等方式攝食，牠也能自行分泌酵素行胞外消化，用以分解 Agar 等多醣類，使

Agar 形成凹蝕面。

(三)本研究還在尋求更多更好的實驗證明方法，希望藉由本研究找出更圓滿的解答，以補充有關黏菌的資料。

七、誌謝

感謝劉錦惠、簡秋源教授，楊良平、林清和及陳建漢老師指導。

感謝新竹高中媒體製作中心陳清德老師技術支持。

八、參考文獻

- (一)(二)高中生物課本及教師手册第一冊 國立編譯館
- (三)中山自然科學大辭典第八冊植物學第七篇 P.378-385 楊寶瑜
- (四)Morphology of Plants and Fungi 1980, Harold C. Bold
- (五)黏菌的研究(科展報告) 師大附中 牛立德
- (六)植物生理學實驗 1981.7 師大出版社 王月雲、陳是螢、童武夫
- (七)Invertebrate Zoology 1981 紋元出版社 D. Elden Beck, Lee F. Braithwaite
- (八)實驗用活體材料在日本之供應作業之研究 1991 成功高中 陳維壽
- (九)Botany P.306 Mathew Nadaka Vukaven and Perek McCracken
- (十)微生物及細胞生理化學 P.470-473 柳田有道

評語

關於黏菌Slide Mold 的攝食方式(胞內與胞外消化)設計共七個實驗以探討。運用各種糖測定，光電比色儀等測定糖含量等，以證明其胞外消化現象部分，最有創意。

研究態度嚴慎，數據之收集方法，處理方式正確，數據解釋亦中肯、嚴謹，值得獎勵。