

地錢孢子萌發之研究

高中組生物科第三名

省立花蓮高中

作者：陳建志、黃振僑、劉塗中、顏宏城

指導教師：廖美菊、林國豐

一、研究動機

孢子是植物世代交替中，有性世代的第一個細胞，高中生物課程中有小孢子（花粉）萌發的探討，也有蕨類原葉體的觀察，歷屆科展中，也不乏有關花粉或蕨類孢子的研究。但是隸屬無維管束植物的蘚苔類孢子，卻一直未見有關的探討。

課本提到苔類孢子萌發後長成原絲體，卻不曾說明蘚類孢子萌發會長成什麼？而且，它們的孢子萌發和開花植物的異型孢子（花粉）萌發有何差異？我們常說厚壁孢子較能抵抗惡劣環境，究竟它們的忍耐力到何程度？自然環境中，它們必需跟其它的孢子競爭，在競爭下，它又是如何呢？

為便於研究之進行，我們選用當季最容易採到大量孢子的地錢作為研究對象，研究其孢子萌發有關之現象。

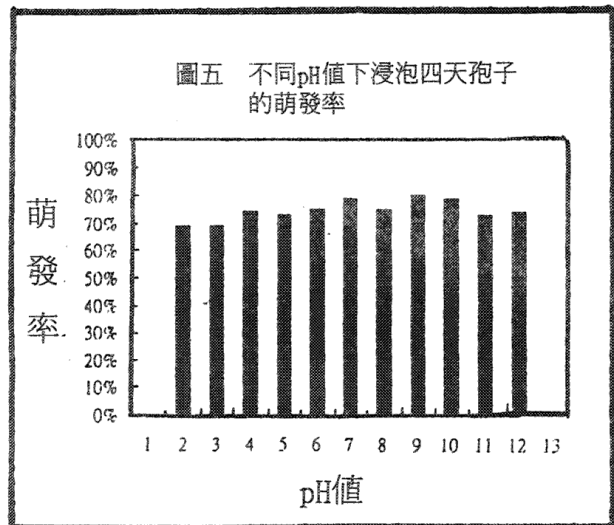
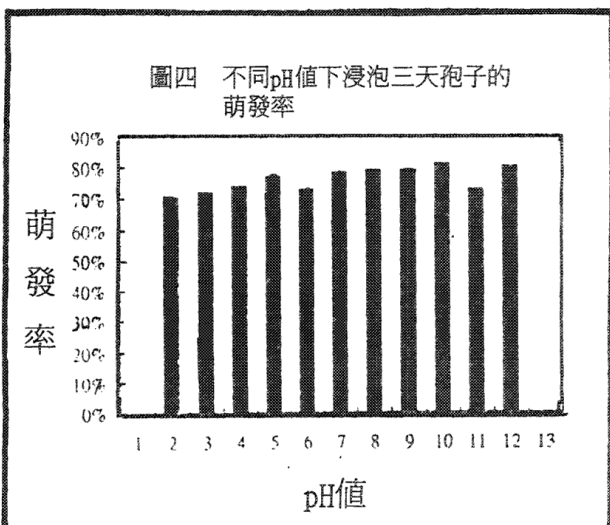
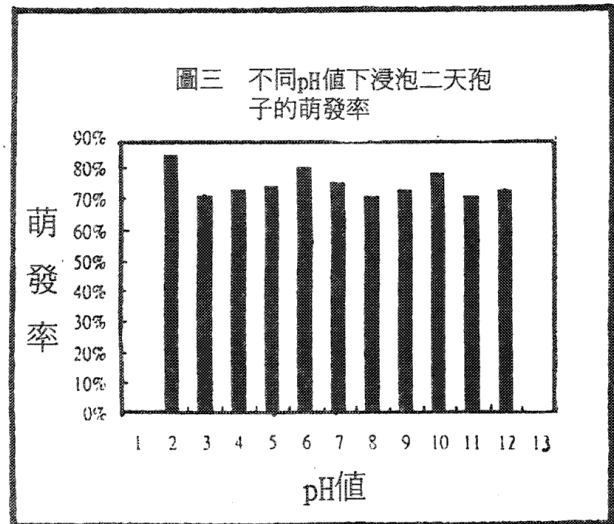
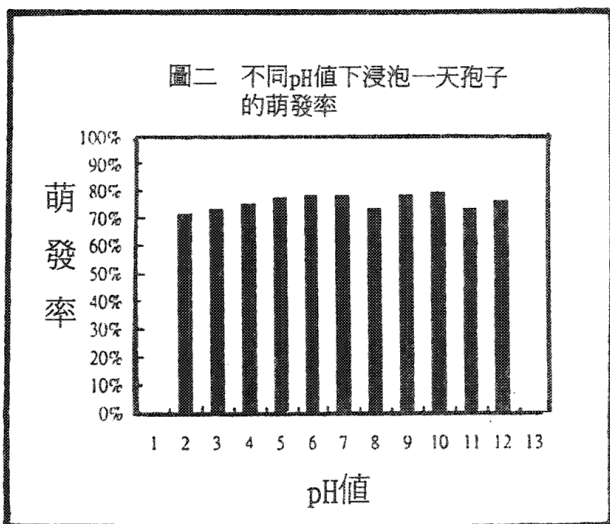
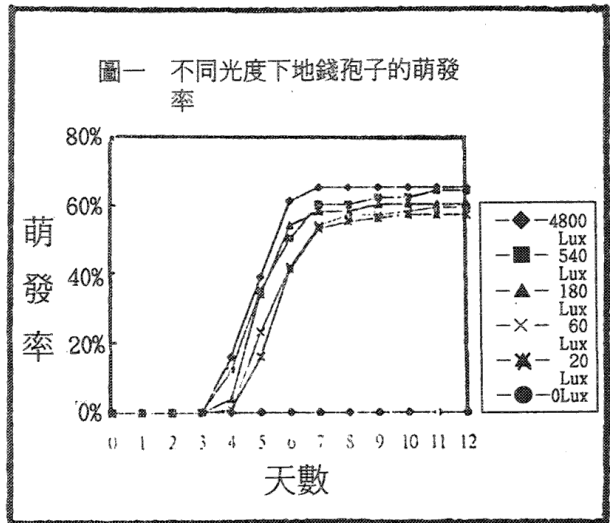
二、研究目的

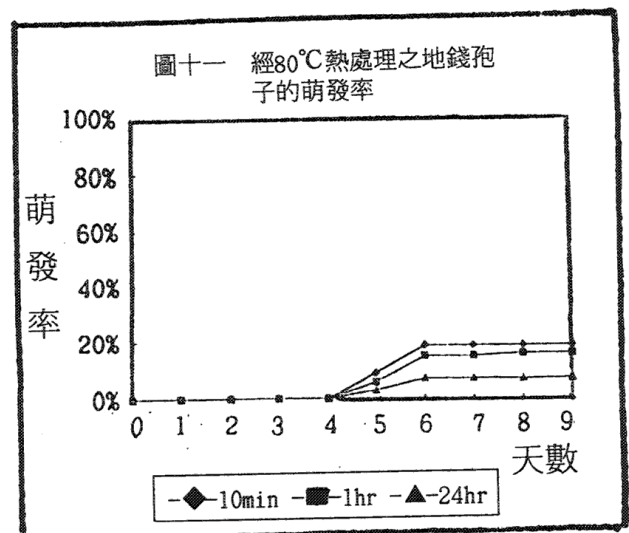
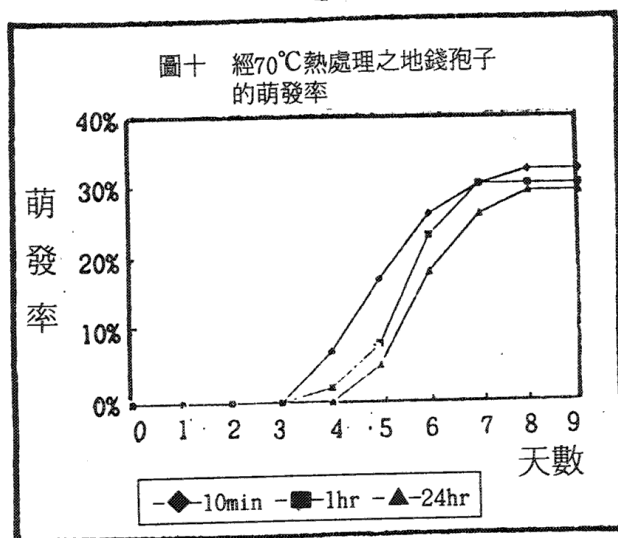
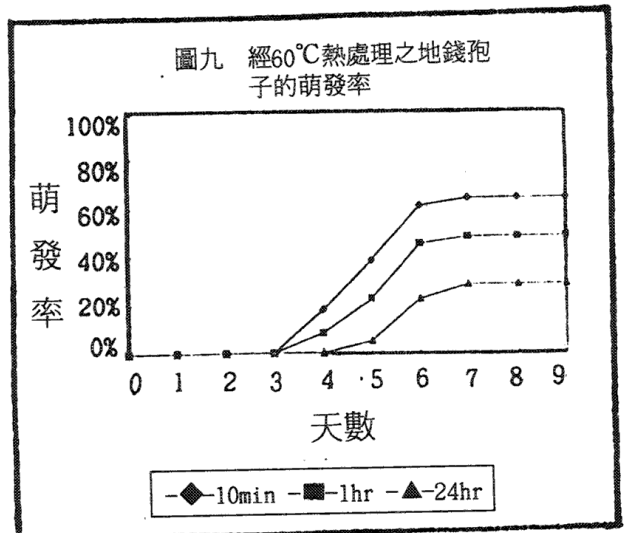
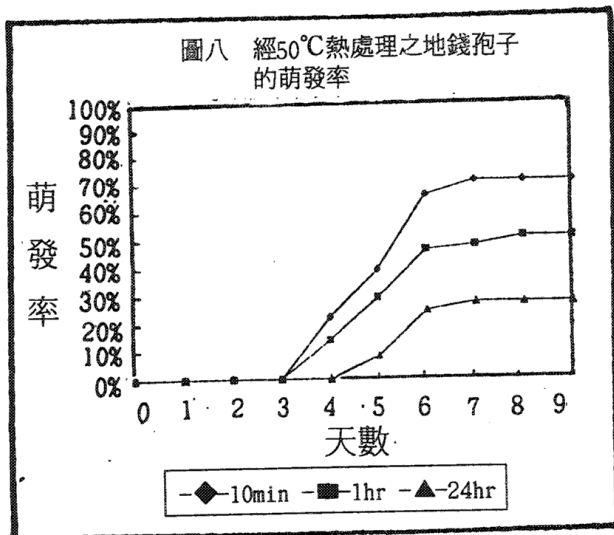
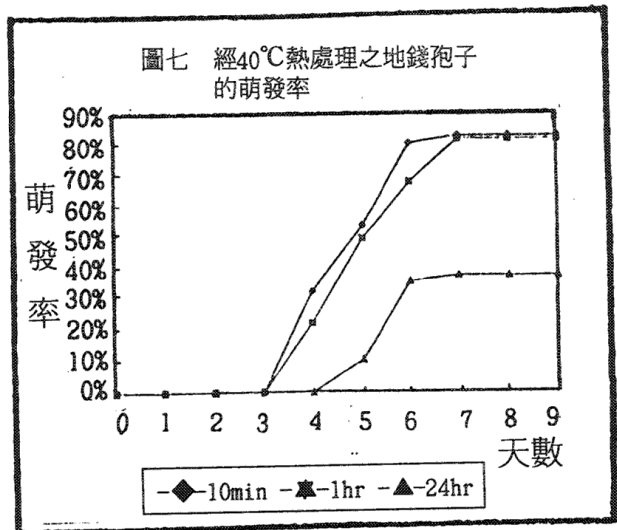
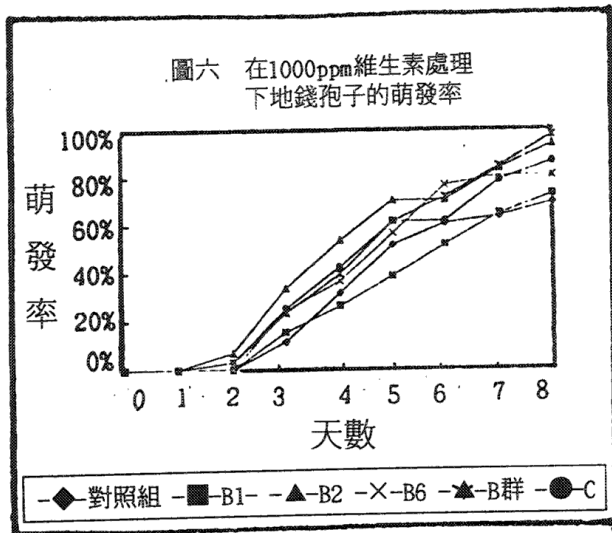
- (一)觀察地錢孢子的形態及萌發情形，並推測其萌發機制。
- (二)探討光線對地錢孢子萌發之影響。
- (三)探討地錢孢子不同酸鹼度之耐受性。
- (四)探討IAA（生長素）、GA（吉貝素）對原絲體萌發生長之情形。
- (五)探討維生素B、C對孢子萌發之影響。
- (六)探討孢子在高溫乾燥環境下的耐受性。
- (七)探討其它植物汁液對地錢孢子萌發是否具有毒他性。
- (八)探討地錢、蕨類（鐵線蕨）、黴菌（黑黴）等孢子萌發時，彼此間的競爭情形。

三、研究過程

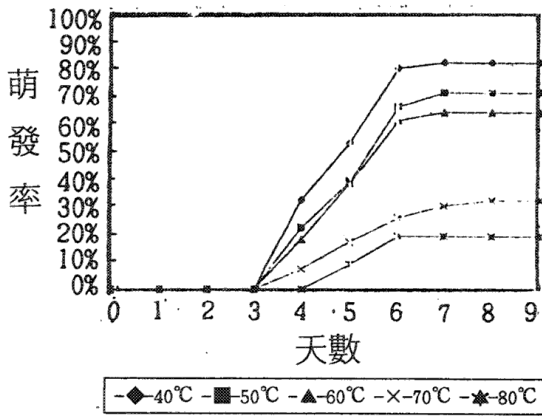
（因篇幅所限，省略）。

四、研究結果

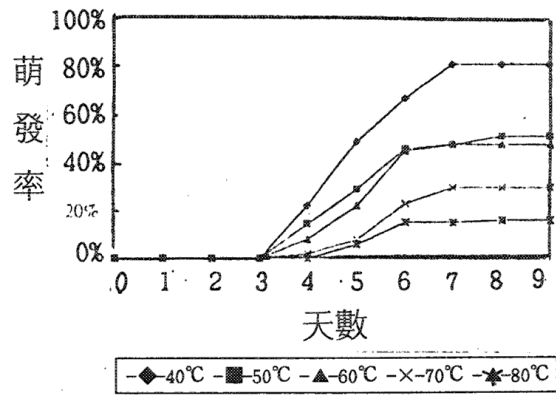




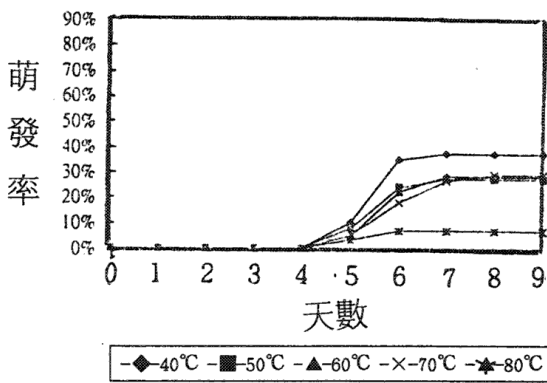
圖十二 經10min熱處理之地錢孢子的萌發率



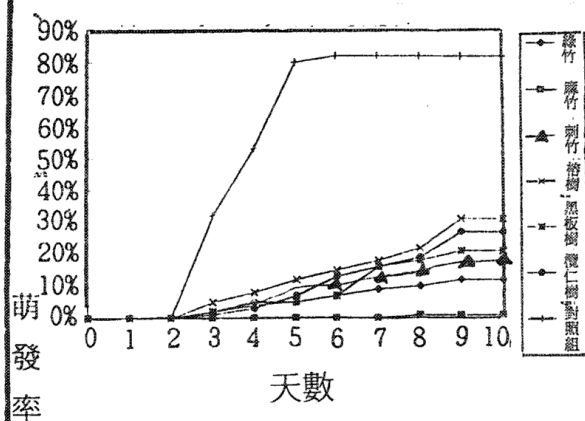
圖十三 經1hr熱處理之地錢孢子的萌發率



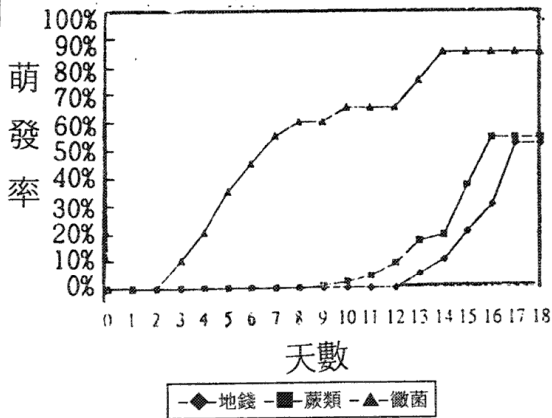
圖十四 經24hr熱處理之地錢孢子的萌發率



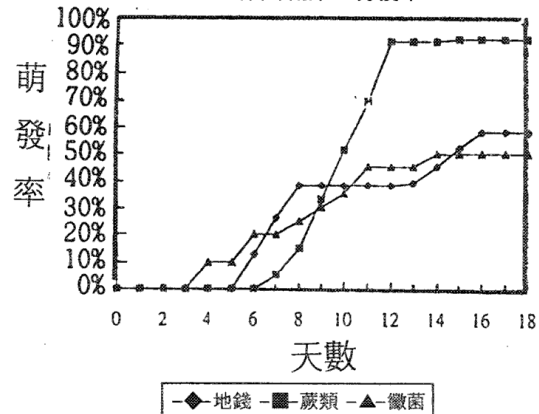
圖十五 在不同植物萃取液中地錢孢子的萌發率

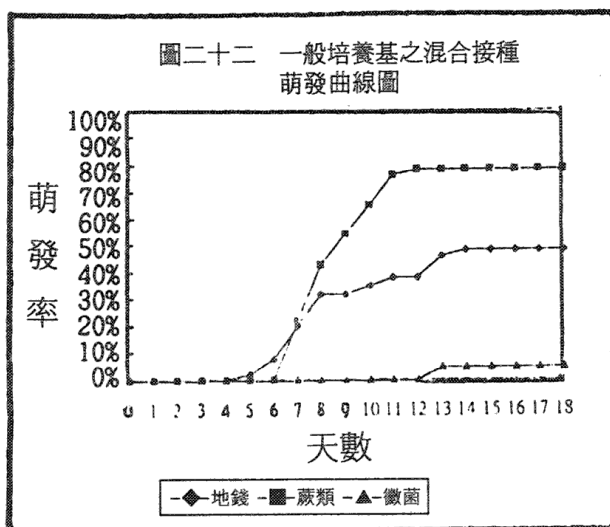
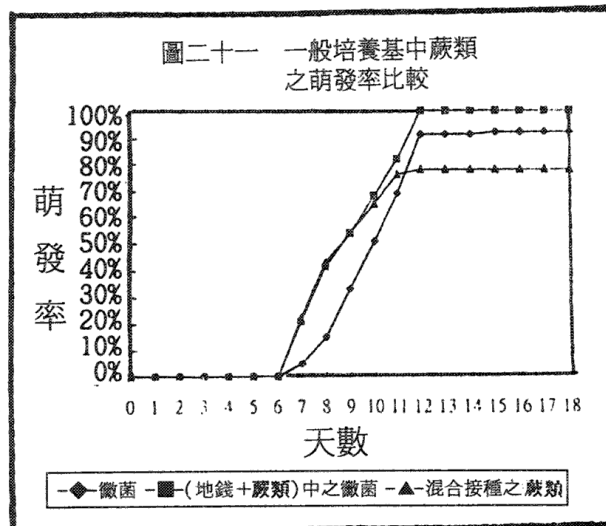
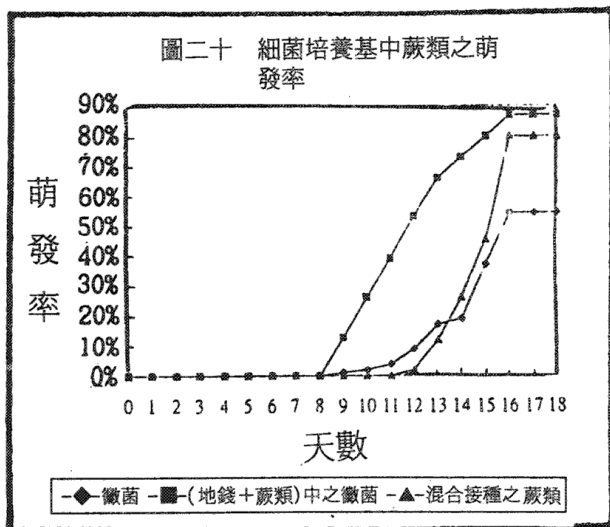
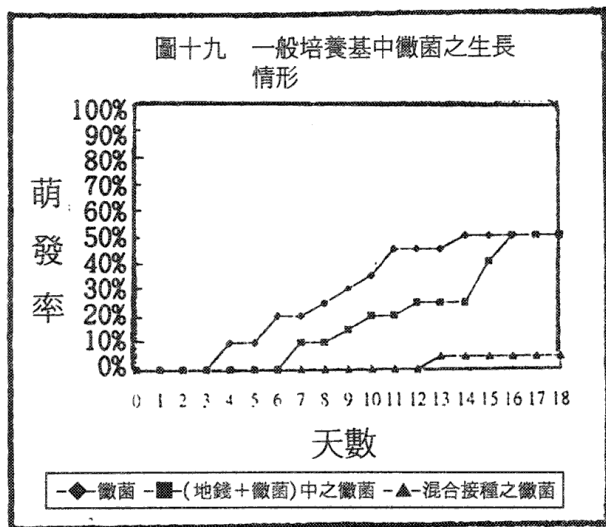
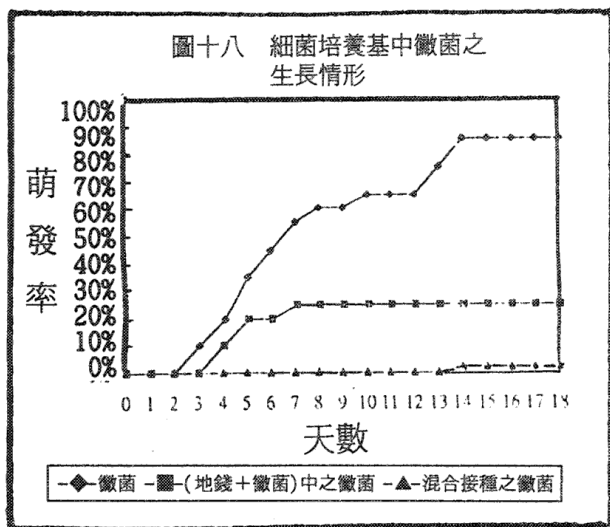


圖十六 細菌培養基中地錢、蕨類、黴菌之萌發率



圖十七 一般培養基中地錢、蕨類、黴菌之萌發率





五、研究討論

(一)地錢孢子的形態與萌發的過程：

自成熟的蒴果中取出孢子，其直徑大約為 $80\mu\text{m}$ ，接種於玻片培養基以後，它會先吸水脹大，內有一明顯的大液泡。以攝氏23度的溫度為例，大約第二天左右開始變綠，孢子內有圓形的葉綠體開始合成。快者第三天，慢者於第四天開始長出綠色的原絲體。大約第五天會分裂出第二個細胞，並開始長出假根，以伸入洋菜培養基中。

若孢子變綠了，只要培養條件不變，它就必然萌發，反之，若孢子不變綠，就一定不會萌發。培養數天後，如果培養基上已無變綠的孢子，我們可以預測萌發率已達到最高峰。

由前述之觀察，我們推測孢子萌發的過程中先藉由孢子內原有的養分，孢子可以吸水脹大。但接下來，它必須藉由葉綠體合成養分，提高孢子內滲透壓，它才可能萌發。因此不變綠便不能萌發。

(二)光線對孢子萌發的影響

由圖一可知地錢孢子在不同照度下萌發情形有些許差距，在4800Lux與540Lux下，孢子於第四天開始萌發，到第七天萌發率便不再變動，至於照度較低的三組，在第四天的萌發率都非常低，但亦於第七天達到穩定，而暗箱中培養的對照組根本就不會萌發。

在不同照度下，原絲體的形態有很大差異。強光下，細胞肥大，葉綠體多，葉綠體遍布整個細胞，但細胞數較少，不過當它橫向分裂後，細胞數就變得相當多。反之，弱光下細胞細長，葉綠體集中在最前面的細胞，近孢子處的細胞中，葉綠體甚為稀少。顯然地，葉綠體的數量和光線強弱有密切關係：光越弱，葉綠體越少。此外，假根的數量也有不同；強光下，假根的數量較多。我們推測光強時，細胞不急著長，它們較早橫向分裂；弱光時，為了快速找到光源，細胞快速向前生長，故顯得細長，且只有前端的細胞得到較多光線，故葉綠體集中在前端。

(三)酸鹼度對孢子萌發的影響：

由圖二、三、四、五可知，孢子浸泡在各種酸鹼濃度中，在四天以內不論浸泡多久，所得結果都很相近。在 $\text{pH}2\sim\text{pH}12$ 之間，孢子的萌發率都高達70~80%，但是酸性強過 $\text{pH}1$ 、鹼性強於 $\text{pH}13$ 的溶液處理下，則孢子完全無法萌發。在實驗設計時，我們預期萌發率會呈鐘形的曲線分布，但逐次的實驗結果大大超出我們的預料之外，這些孢子不是充分萌發，就是都不萌發，這

其中必有特殊的道理在。

在顯微鏡下，我們發現孢子厚壁的顏色有所不同，受pH13以上強鹼處理的孢子，其壁的顏色顯著的變淡，受pH1以上強酸處理的孢子亦有此現象，但顏色變淺程度不像強鹼強烈，至於pH2~pH12處理的孢子，其顏色則深淺均一，看不出差別。

綜合前述所見的現象，我們推測萌發率戲劇性變化的關鍵在於孢子的厚壁：在強酸強鹼處理下，孢子壁受到侵蝕，無法保護裡面的原生質，原生質一碰觸到強酸強鹼，可能就會發生蛋白質變性，因而無法萌發。只要孢子壁沒有破損，則孢子生機尚存，在培養基上便可萌發。在pH2~pH12處理下，孢子壁顏色皆很深，而這些孢子，後來也都有很高的萌發率。至於孢子壁顏色變淺的，則都無法萌發，這一現象與我們的推測相合。

(四) 激素對萌發生長之影響：

在觀察過程中，我們確信IAA與GA對原絲體的生長會有影響。由 10^3 ppm GA處理的原絲體在形態上卻是前所未見的，它的細胞內，葉綠體數量無顯著差異，但細胞卻特別短胖，且原絲體前端細胞也顯得特別小。

在IAA的處理下，我們發現濃度在 10^{-1} ppm以下時原絲體的形態沒有太顯著的變化，但原絲體普遍顯得較長，當濃度在10 ppm以上時，原絲體的細胞數較少，總長度亦較短，濃度越高，它們的生長越不良，而且萌發率也顯著下降，甚至濃度達 10^3 ppm時，培養基上無任何孢子的萌發。由此實驗可知IAA對地錢孢子萌發及原絲體的生長有影響，且濃度太高時對生長與萌發有抑制性。

(五) 水溶性維生素對孢子萌發之影響：

根據前人實驗知道維生素會影響花粉的萌發，我們也想了解維生素是否會影響地錢孢子的萌發。由圖(六)可知在1000 ppm的情況下，除了B₁的萌發率與對照組相差不大以外，其他的處理都能促進孢子的萌發，尤其B₂和B群處理下，萌發率竟高達90%，而且；大致說來，有些孢子還能提早萌發（對照組第三天開始萌發，而有些實驗組在第二天便開始冒出來了）。

由前述結果，我們推測其理由可能是孢子在萌發時，需先自行合成必備的維生素，若由外添加，它們可以省掉自行合成所需的時間，因此可使部分孢子提早萌發。而有些孢子可能因成熟度不夠，或合成維生素能力不足致使無法萌發，當我們添加維生素以後，這些孢子便可萌發了，若此推理為真，則B群處理的萌發力應大於B₁， B₂， B₆各別的萌發力，由實驗成果證實B群確實是萌發率最高的，我們的解釋是：不同的孢子分別缺少合成某種維生素的

能力，而B群可以彌補所有這類孢子之所需，因此萌發率最高。

在實驗過程中，我們還發現了一個非常特別的現象，在B₁處理的培養基上，竟然有許多孢子長了二個芽！一般情形是一個孢子只萌發出一個芽，但是B₁培養基中，約有近一成的孢子長得像連體嬰，爲了確認這種現象，我們假設濃度越高雙芽的情形會越多，於是我們進一步觀察10⁵ppm B₁處理的孢子，在此實驗中發現，竟然有高達41%的孢子是雙芽性萌發。這真是一個奇特的現象，爲何維生素B₁會促使孢子作這種特殊的萌發呢？

(六)孢子對高溫乾燥環境的耐受性：

由常理推斷，受熱時間越久，會有越多的孢子受到熱傷害，致使萌發率下降。由圖（七～十一）可知不論在何種溫度的處理下，受熱時間越久，孢子的萌發率便越低。

一直到攝氏60度的情況下，受熱1小時，仍有一半以上的孢子可萌發，這種熱度在自然界中很少發生，可見大部分孢子對熱的耐受性都很好，一直到攝氏70度以上，孢子的萌發率才顯著下降，但是不容忽視的即使溫度高達攝氏80度，連續受熱24小時，仍有7%的孢子可萌發，這些厲害的孢子，真是令人驚訝它的生命力。

由圖（十四～十五）可以發現，很特別的是24小時處理的孢子，不論何種溫度處理，其萌發的時間都延遲一天，我們推測在連續受熱24小時後，孢子失水太多，在接種後，必須花更長的時間才能吸足水分來萌發，因此萌發延遲了一天，至於攝氏80度處理者，不論處理時間之長短，萌發時間亦延後一天，由圖顯示攝氏80度處理者，萌發率都很低，是否可較早萌發的孢子易於受熱死亡，或是另有原因，就值得另行探討了。

(七)植物汁液對孢子萌發的影響：

由實驗結果之曲線（圖十五）發現：在各種植物汁液處理下，孢子的萌發率都顯著下降，由對照組可知，無特殊處理下，孢子的萌發率可高達80%，但是在植物汁液處理下，孢子萌發率皆很低；由前人的研究知道許多植物具有毒它性，一般的研究多以維管束植物爲對象，本實驗可知毒它作用對地錢也有效，其中尤以竹類最爲顯著。尤其麻竹，整個過程中萌發率只有1%，至於黑板樹等雙子葉植物對地錢也有抑制力，萌發率最多只有30%，因取樣有限，不知道還有何種植物是地錢不怕的？

(八)不同孢子間的競爭：

由圖（二十二）可知地錢、鐵線蕨和黑黴菌分別接種於富含有機質的細菌培養基中，三者的萌發率有所不同。我們推測黑黴菌爲腐生性真菌，生長

需依賴現成有機質，故在細菌培養基中，可以快速生長。因細菌培養基中有水溶性養分，可增高溶液的滲透壓，可能會延緩地錢與鐵線蕨孢子的水分吸收，故後兩者的萌發便延遲了。

由圖（二十二、二十三）也可知道黑黴菌對低溫的耐受性比自營的蕨類、地錢還要廣，即使寒流來了，也照樣可以萌發。關於黑黴菌的萌發，因其菌絲生長快速，很難由孢子萌發數目去評估它的生長情形，所以改由它在培養基上的覆蓋度作為參考數據，由圖（二十四）和圖（二十五）的對比，可以發現在細菌培養基中單獨接種對黑黴菌生長最為旺盛，但在與地錢混合培養時，它的生長便受到抑制。若再增加鐵線蕨，黑黴菌就更難立足了。它一開始不萌發，直到很多天以後，才有一點點菌絲生長。原先預期：剛剛開始時黑黴菌會大量生長，最後會因養分耗盡而衰退，最後培養基就成了地錢、鐵線蕨的天下了，不料預期與事實不符，黑黴菌一開始就不能生長，這就奇怪了！在一般培養基中，蕨類萌發率都很高，其中地錢與鐵線蕨混合接種者，因生長太密，到後來已無法看到未萌發的孢子，所以第十二天以後的數據無法精準，但可知萌發率很高。在細菌培養基中，萌發率也相當高，但比一般培養基略差，可能是太多的有機養分造成細菌的繁盛生長多少造成不利的影響，但是由如此高的萌發率可知蕨類在這種環境中，族群仍可以有效的維持下去。

三者混合接種的情況（圖二十二），一般培養基中，地錢比蕨類先萌發，但是最後培養基中仍以蕨類佔優勢，而黴菌則仍生長不良。過去，我們以為自然界中，蕨類得以佔優勢是因為它有維管束，可以長的高，能搶到較好的空間與陽光，但由本實驗發現，其實即使在不長維管束的配子體世代，鐵線蕨的生長勢仍優於地錢。可見蕨類的優勢不全來自維管束。

六、研究結論

- (一)光會誘導地錢孢子的萌發，並影響其形態的發展，原絲體具向光性，無光時，孢子不能萌發。
- (二)地錢孢子的厚壁在pH2至pH12之間，不會受到侵蝕，若超過此範圍，孢子的厚壁便無法承受，致使內部的原生質受損而無法萌發。
- (三)IAA和GA不僅對高等植物有促進或抑制性，對地錢亦有影響。GA可促使原絲體的細胞分裂，高濃度的IAA會抑制地錢孢子的生長。
- (四)維生素B及C皆可促進萌發，尤以綜合維生素B的效果最佳，其中維生素B₁可使孢子萌發出兩個芽。

- (五)植物的萃取汁液能抑制地錢孢子的萌發，其中以竹類的抑制力最強。
- (六)在分別接種時，黑黴菌在細菌培養基中生長迅速，且對低溫的耐受性比地錢高，但於混合接種時，生長勢明顯下降，可能地錢與鐵線蕨的孢子會分泌抑制物質。
- (七)在一般培養基中，地錢較鐵線蕨早萌發，但數天後，鐵線蕨的原葉體生長會超過地錢。

七、參考資料

- 1.賴明洲 苔蘚植物研究手冊 臺大實驗林管理處 1995年11月。
- 2.孫蘭芳 蘚苔植物及蕨類植物（資優生補充教材） 教育部中教司1995年12月。
- 3.諸亞儂等 高中生物第一冊第八章 國立編譯館。
- 4.劉玳等 從綠竹的相剋作用到殺蟲劑的應用 科展作品專輯（第三十六屆）。
- 5.廖美菊 自然花蓮 洄瀾文教基金會 1995年5月。

評 語

本研究探討地錢孢子的形態及萌發，並觀察光線、酸鹼度、IAA, GA, 及維生素B及C等對地錢孢子萌發之影響。並用綠竹、麻竹、刺竹、欖仁及榕樹之抽取液作對孢子萌發之影響，觀察微細，成果豐碩。