

簡介細胞黏菌

國立臺灣師範大學生物學系 葉增勇

細胞黏菌 (cellular slime molds) 是具備特殊生活史的一群有趣生物，它們在生活史中均能顯現動物及植物性狀，因此在生物界中，多年來一直成為動物學家及植物學家們熱烈討論與研究之課題。由於細胞黏菌是屬於一種真核類 (eukaryotes)，構造簡單，並且容易培養，因此常被選為細胞學及生理、生化學等實驗之良好材料。本文以下就它們的生活史、研究歷史、分類地位及其採集與培養作一簡介。然後再介紹觀察的方法，最後討論它們的重要性以爲結語。

一、生活史

一般細胞黏菌的生活史中，可以明顯地表現出二個時期，即是(1)動物性的營養期 (vegetative or trophic stage)，及(2)植物性的子實期 (fruiting stage)。在動物性的營養期可以產生原生動物的阿米巴細胞 (amoeba)，特稱爲黏菌變形細胞 (myxamoeba) (圖一)*，含有單個細胞核，不具細胞壁而只有質膜，通常具有單套 (haploid) 的染色體。阿米巴細胞均能伸出偽足 (pseudopodium)，攝取細菌、酵母菌或真菌的分生孢子 (conidium) 以滋養長大，再行有絲分裂而不斷增殖。當族群的細胞繁殖至某一階段時，這些細胞會發生聚集現象 (aggregation) (圖二)*。此時，在聚集中心的黏菌變形細胞可分泌某些化學物質 (例如：cyclic AMP)，使得周圍的黏菌變形細胞，受這種物質的誘引，而聚集形成偽原生質體 (pseudoplasmodium) (圖三)*，因爲這時變形細胞仍然各自保有它們獨立的特性，其質膜並不融合在一起，所以和黏菌 (myxomycetes) 的原生質體 (plasmodium) 有區別。這些偽原生質體復能在水中分散，而不失原有細胞之個性。多數的偽原生質體會轉移 (migration) 位置，轉移時有的種類形成長柄 (stalk) (圖四)*，當轉移停止之後，偽原生質體便分化形成孢子囊體 (sorocarp)，這是相當於真菌的子實體 (圖五)*，此時期亦被稱爲植物性之子實期。孢子囊體的頂端具有一個孢子囊堆 (sorus)，用以支持孢子囊堆的柄，稱爲孢子囊柄 (sorophore)，是由許多薄壁狀的空細胞所組成 (圖六)*。孢子囊堆裏面含有許多孢子 (spore) (圖七)*，孢子的長寬大小約爲 4 微米 $\times$ 10 微米 (μm) 不等，孢子壁通常是由纖維素構成的，孢子萌發 (germination) 時可形成黏菌變形細胞，細胞脫離孢子壁後，便完成了生活史。

*附圖見文後

在公元 1957 年，科學家們曾經報導某些細胞黏菌的變形細胞，在不良環境之下（例如：培養基周圍滲透壓的增加），會有休眠現象產生，它們能分泌一層薄而堅韌的囊壁把細胞圍住，這種休眠細胞特稱為微孢囊（microcyst），形狀似球，直徑可達 5 至 10 微米左右（圖八）。但祇要環境適合時，微孢囊可以再萌發形成黏菌變形細胞，使其營養時期又得以繼續。

後來專家及學者們再相繼發現，某些黏菌變形細胞能形成多細胞的胞囊，這種多細胞的構造被稱為大胞囊（macrocyt）。當黏菌變形細胞聚集成一團時，在中心位置便有一個巨大細胞（giant cell）產生，此巨大細胞專司吞食周圍的黏菌變形細胞，而形成整個厚壁胞囊（圖九），其直徑可達 25 至 50 微米左右。大胞囊經數週或數月以後，便行減數分裂和有絲分裂，然後釋放出大量的黏菌變形細胞。因此，這一過程專家們認為是細胞黏菌也具有有性生殖（sexual reproduction）的特殊現象。

到了公元 1973 年，美國有幾位研究細胞黏菌學者們，發現某些菌株（strain）須要交配型（mating type）才能形成大胞囊。非配對在一起不能形成者概屬於雌雄異株性（heterothallic），而無須配對即可形成大胞囊者則屬於雌雄同株性（homothallic），由此顯示細胞黏菌也有性別。

綜合以上所述，關於細胞黏菌之生活史，謹以繪製圖十做為闡明，使大家更能明瞭其有性生殖以及大胞囊之形成。

二、研究歷史及分類地位

公元 1869 年德國人 Brefeld 氏首先從糞物裏分離一種細胞黏菌：結果他發現這種生物的子實體和真菌的毛霉屬（Mucor）極為類似，因此給它命名為 *Dictyostelium mucoroides*，後來他陸續發現過數種細胞黏菌。到了公元 1880 年，法國人 Van Tieghem 氏將細胞黏菌的分類地位提升成目，首創細胞黏菌目（Order Acrasieae）。公元 1887 年德國人 De Bary 氏又將細胞黏菌目和原有的黏菌綱（Myxomycetes）合併成為菌動物綱（Class Mycetozoa），這裏“Myceto”是菌類的意思，而“Zoa”原意即為動物，亦即這一類的生物可合稱為“菌動物類”。此後，細胞黏菌的分類地位常處不定，有時被置於植物界，有時被置於動物界。

近代，Copeland 氏（1956 年）將生物分成四個界，包括動物、植物、原生生物及原核界。這時 Copeland 曾經將細胞黏菌歸在原生生物界（Kingdom prototista），原生動物門（Phylum Protoplasta）中。後來 Whittaker 氏（1969 年）創設生物五界之說，又多出了一個菌界（Kingdom Fungi）。從此以後細胞黏菌始被置於菌界的裸菌亞界（Subkingdom Gymnomycota），其中細胞黏菌門（Phylum Acrasiomycota）和黏菌門（Phylum Myxomycota）被並列一起。然而 Olive 氏則主張將裸菌亞界移至原生生物界中，乃是因為他確認細胞黏菌的營養方式是全動物性的（holozoic nutrition），不若真菌的營養方式是吸收性的（absorptive nutrition）。因此，Olive 氏（1975 年）的分類系統是把原生生物界分成二門，第一門是真原生動物門（Phylum Euprotista）包括：原生動物及藻類，第二門是裸菌門（Phylum Gymnomyxa）包括：黏菌、細胞黏菌及其他相關生物。從以上看來，細胞黏菌在生物系統學上的地位更顯特殊。

依照 Olive 氏的分類系統，細胞黏菌共含八屬，亦即：(1)*Acytostelium* (2)*Dictyostelium* (3)*Polysphondylium* (4)*Coenonia* (5)*Acrasis* (6)*Copromyxa* (7)*Pocheina* 及(8)*Guttulinopsis*。目前，全世界在這八屬之中共已發現六十多種，其中以 *Dictyostelium* 一屬種類佔最多數，約有三十多種。

三、採集與培養

細胞黏菌生活範圍極廣，它可以生存於土壤表層，落葉、落花、落果及動物的糞物中。但由於細胞黏菌個體極小，成熟的孢子囊體之長度，通常介於 0.5 至 20 毫米 (mm) 之間，在自然界中不易以肉眼發現，必須在實驗室內分離及培養，才容易獲得觀察。

1. 採集

採集的樣品 (sample) 以稍具腐植質的土壤為最佳，落葉和落花也是良好分離材料。因此可以就近從校園的土壤或落葉堆中先行嘗試分離，甚至到府上庭園後院採集樣品，若能前往郊區、苗圃、山野或森林等地採集，則更為理想。

2. 培養基

關於細胞黏菌分離及培養時使用的培養基 (配方) 有數種，一般經常使用的培養基則有下列四種。

(1) 乾草浸液培養基 (Hay Infusion Agar)

乾草	2.5 克
洋菜	17 克
蒸餾水	1 公升

把乾草切成 2 至 3 公分小段，置於燒杯中煮沸一小時後，使用紗布過濾至 2 公升的三角錐心瓶內，將濾液冷卻之後添加蒸餾水，使乾草煎汁增至 1 公升 (1000 毫升)，然後加入洋菜 17 克，並使用高壓滅菌器 (autoclave)，於 1.2 kg/cm^2 壓力及 121°C 溫度下滅菌 20 分鐘。完全滅菌後，取出錐瓶緩緩地倒入無菌的培養皿 (每皿盛入 20 毫升即可)，待凝固後備用之。若沒有高壓滅菌器時，可以選用燒杯盛入上述乾草煎汁，在電鍋中間歇地煮沸 2 至 3 次，但其效果仍沒有高壓滅菌器來得佳。

(2) 乳糖蛋白肥培養基 (Lactose Peptone Agar)

乳糖	1 克
蛋白胨	1 克
洋菜	15 克
蒸餾水	1 公升

使用 2 公升三角錐心瓶盛入蒸餾水，並加入乳糖和蛋白胨使共同成為一公升後，攪拌之，再加入洋菜，如同上述方法經置於高壓滅菌器中，滅菌 20 分鐘並倒入培養皿，俟凝固以後備用。

除了上述兩種培養基以外，也可改用 (3) 乳糖酵母抽出物培養基 (Lactose Yeast-Extract Agar) 及 (4) 葡萄糖蛋白胨培養基 (Glucose Peptone Agar)，稱量和操作步驟同 (2) 法製備即可。

3. 分離及培養

採取之樣品（如：土壤粒、落花及落葉則須磨成碎塊）直接撒佈於培養基上，將培養皿置於室溫下，夏天太熱或冬天太冷時，則可使用恒溫箱（或烘箱）調整至 24°C 左右。第四天開始，可用解剖顯微鏡觀察（如有倍率為 $20\times$ 或 $30\times$ 則更佳）。每天鏡檢如有發現孢子囊體形成時，便使用無菌針挑起孢子囊堆或整株孢子囊體，種植於新鮮的培養基上，這時須預先加入大腸桿菌（*E. coli*）來餵飼。有關大腸桿菌可先製成懸浮液撒佈在培養基上，也可用無菌針直接在培養基上劃線種植，然後再將細胞黏菌的孢子以交叉法種植，並置於 24°C 的恒溫箱內培養。若是種植過程中，培養基受到污染時，可以試行第二次或第三次操作，直到獲得純培養為止。這時候的純培養便可進行觀察它們的生活史和形態特徵了。

四、形態觀察

由於細胞黏菌種類很多，完成生活史的時間亦有顯著的差異，一般常見的細胞黏菌，通常在接種後 3 至 6 天內即可完成，因此培養基可繼續留用二星期，在這段時間內，使用解剖顯微鏡即可觀察生活史中的各個階段。例如：聚集、偽原生質體、孢子囊的形成及成熟的孢子囊體等（圖二、三、四及五）*。

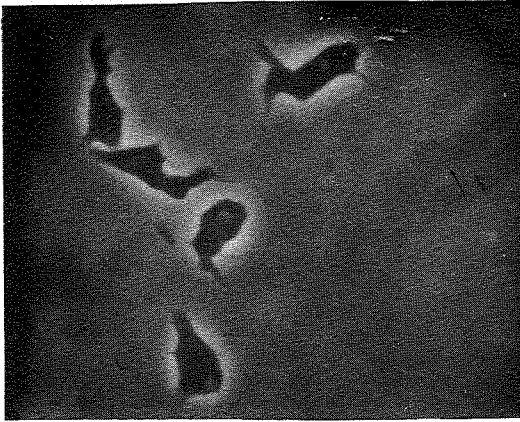
然而孢子及孢子囊柄細胞的觀察，則須使用無菌接種針，挑起一株孢子囊體放置於載玻片上，加二壹滴水蓋上玻片，然後移至光學顯微鏡下觀察， $400\times$ 或 $600\times$ 始得觀察清楚（圖六及七）*。

如欲觀察黏菌變形細胞，除了在培養基上用接種針挑些正形聚集的部份，移至光學或相位差顯微鏡下觀察，此外，也可將含有孢子的載玻片放置於空培養皿內，皿內加點水維持濕度，再置於 24°C 恒溫箱中，大約經過十六小時左右，孢子萌發成黏菌變形細胞時，即可明顯觀察到原生質的流動及偽足的伸展了（圖一）*。

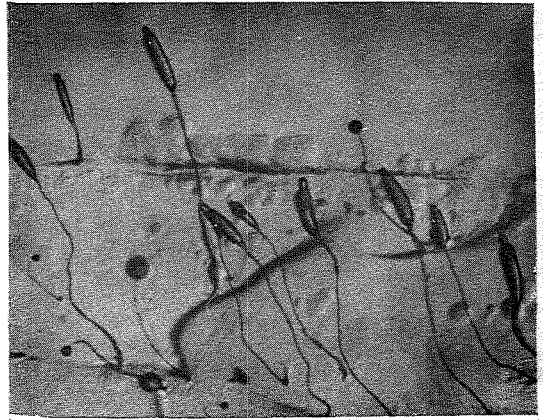
五、結 語

細胞黏菌能夠形成類似原生動物的變形細胞，所以是一種極佳的教學實驗材料，它除了可以代替阿米巴來觀察原生質流動情形外，又因細胞黏菌容易培養，生活史較短，故成為生物學家、細胞學家、遺傳學家及形態發生學家們所爭相研究之對象。最近它已被利用於分子生物學和遺傳工程上研究細胞融合現象，又 Ramapogol 氏（1980 年）曾經發表有關細胞黏菌的核糖體蛋白（ribosomal protein）之組成，而已獲得國際學術研究上的重視，足見細胞黏菌在國際學術地位上所佔的重要性。再者，研究細胞黏菌將有助於人類對真核類更進一步的瞭解。

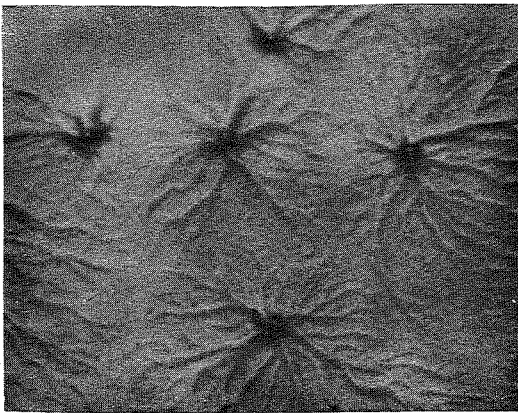
附記：筆者目前已分離出五種細胞黏菌，均屬於臺灣新記錄種。今後倘有機會時將與各位讀者介紹屬種之分類，敬請諸位專家及先進常能指正，是為至盼。



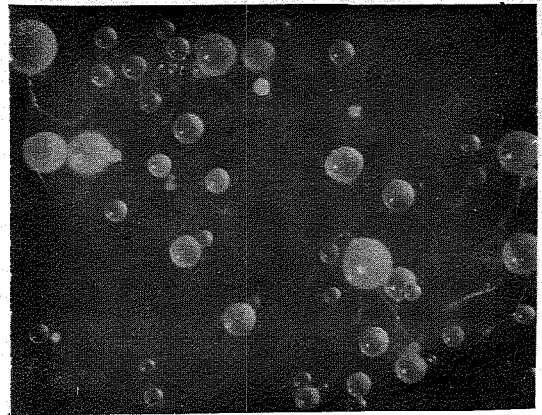
圖一 黏菌變形細胞 (*Polysphondylium* spp.)



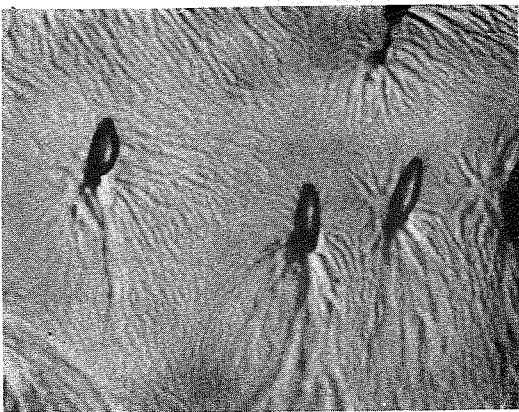
圖四 移動之偽原生質體，產生長柄 (*Dictyostelium* spp.)



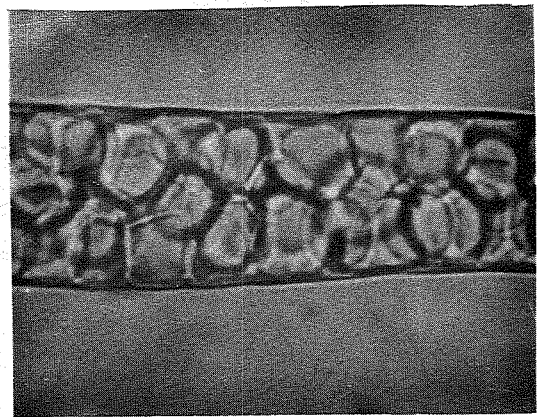
圖二 黏菌變形細胞之聚集現象 (*Dictyostelium* spp.)



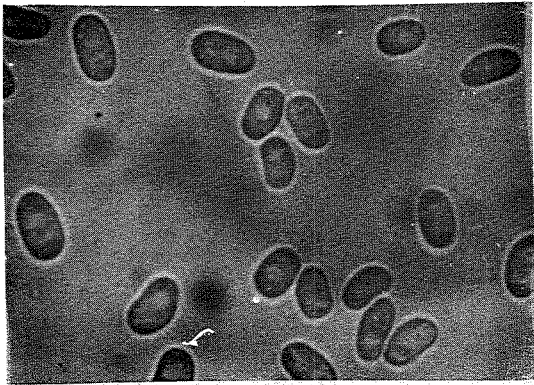
圖五 成熟的孢子囊體 (*Dictyostelium* spp.)



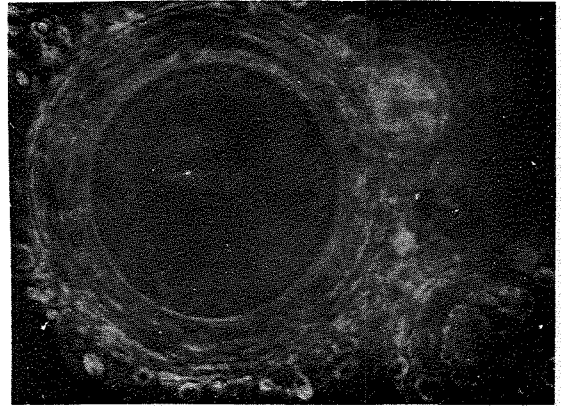
圖三 偽原生質體 (*Dictyostelium* spp.)



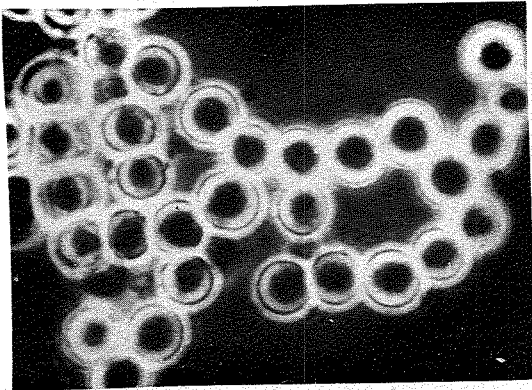
圖六 孢子囊柄細胞 (*Dictyostelium* spp.)



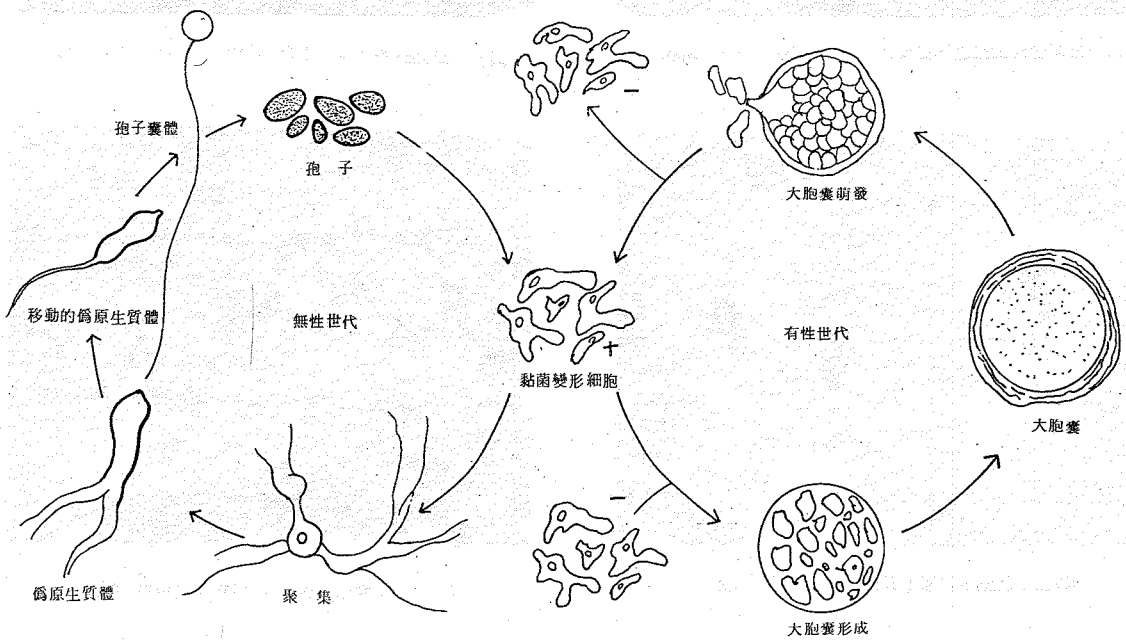
圖七 孢子 (*Polysphondylium* spp.)



圖九 具厚壁的大胞囊 (*D. giganteum*)



圖八 微胞囊 (*Polysphondylium* spp.)



圖十 細胞黏菌 (*D. giganteum*) 之生活史