

混合族羣的相互關係

高中教師組生物科第二名

北一女中

作者：林英子

一、研究動機與目的

本校爲新教材實驗學校之一，故對新教材內各個實驗都按照預定進度進行。作完有關族群研究很重要的基本實驗——酵母菌族群的生長，任課老師和各同學，都覺得是一項很有意義的實驗。這項實驗看來很複雜，特別在準備材料方面。我們製備一千隻培養試管，供應16班，128組進行實驗，共有八百多位學生參與，獲得許多寶貴的數據和經驗。所以像這種有組織的科學實驗，確實值得排除困難一試。

在自然界中，沒有一種族群能單獨存在，族群與族群間有密切的交互作用，如果在酵母菌群中，加入另一族群，就可以探討混合族群的交互作用。本實驗乃選用一種單細胞的綠藻——單胞藻及另一種有固氮能力的藍綠藻——念珠藻。設計各種培養環境，研討混合族群間之相互關係。

二、實驗材料與方法

(一)材料：

單胞藻 (*Chlamydomonas*) 由中央研究院植物研究所吳俊宗博士提供。

念珠藻 (*Nostoc*) 由中央研究院植物研究所黃壇溪博士提供。

酵母菌由本校實驗用麵包酵母經純化而來。

(二)培養基的製備：

1. 綠藻培養基的製備：

取 NH_4Cl 0.5 g , K_2HPO_4 1.44 g , KH_2PO_4 0.72 g , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.02 g , $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.01 g , Trace elements mix 1 ml 最後加水至 1 公升, $\text{PH} = 7$, 經高壓滅菌後備用。如欲配成固體培養基, 可採用 1.5 % 洋菜濃度。

2. 藍綠藻培養基的製備:

取 NaNO_3 1.5 g , K_2HPO_4 0.04 g , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.075 g , $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.036 g , citric acid 0.006 g , Ferric ammonium citrate 0.006 g , EDTA 0.001 g , NaCO_3 0.02 g , Trace elements mix 1 ml , charcoal 1 g , 最後加水至 1 公升, $\text{PH} = 7$, 經高壓滅菌備用。如欲製備缺氮的培養基, 省略 NaNO_3 即可。

3. 酵母菌培養基的製備:

Glucose 20 g , Yeast extract 15 g ; Bactopeptone 5 g , 加水至 1 公升, 分裝後經高壓滅菌備用。

(三) 生長的測定:

1. 單細胞生長的測定:

酵母菌及單胞藻經培養後, 間隔時間取樣, 以血球計數器 (Hemacytometer) 計數細胞數目。

2. 念珠藻生長的測定:

定量葉綠素 a (Chlorophyll a) 。

(四) 葉綠素 a 的測定:

念珠藻以玻璃纖維 (glass fiber filter) 過濾, 用培養基洗二次, 取出玻璃纖維放入離心管, 加入 80 % 丙酮 2 ml , 置 4°C , 暗處 (冰箱) 內抽取 24 小時。離心後測定 660 , 730mm 之吸光。

計算: $\text{Chl a (mg)} = (\text{OD}_{660} - \text{OD}_{730}) \times v \times f \times 10 / 890$

(v : 溶液體積, f : 稀釋倍數, $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 890$)

(五)固氮能力的測定：

每瓶固氮測定瓶（內有念珠藻）灌入乙炔（Acetylene）5 ml，繼續照光培養5小時後，再用GC-3BF（Gas Chromatograph）測定乙烯（Ethylene）之含量。

(六)異孢子（Heterocyst）數量的測定：

用血球計數器，以0.2mm為單位，計數其平均值。

(七)培養環境：

振盪培養：在迴轉式振盪培養箱中，每分鐘150轉之速度連續照光培養，溫度為28°C。

靜置培養：置於連續照光之28°C定溫培養箱中培養。

三、結果與討論

(一)酵母菌與單胞藻族群間的相互關係：

1. 混合培養：

(1)單胞藻對酵母菌族群的影響：

在酵母菌的培養基中，酵母菌生長迅速，故酵母菌單獨培養的生長曲線，與酵母菌加入單胞藻混合培養曲線相似（圖一）。顯示單胞藻並未提供其光合作用產物給酵母菌生長。

在綠藻培養基中，酵母菌生長較緩慢，但加入單胞藻之混合培養曲線，不但未受單胞藻促進，反而較單獨培養為低（圖一）。亦證明單胞藻未提供其光合作用產物給酵母菌，反而因空間競爭或其他因素，致酵母菌的生長較單獨培養為差。進一步由不同比例混合培養（表一）亦得到相同結果。

(2)酵母菌對單胞藻族群的影響：

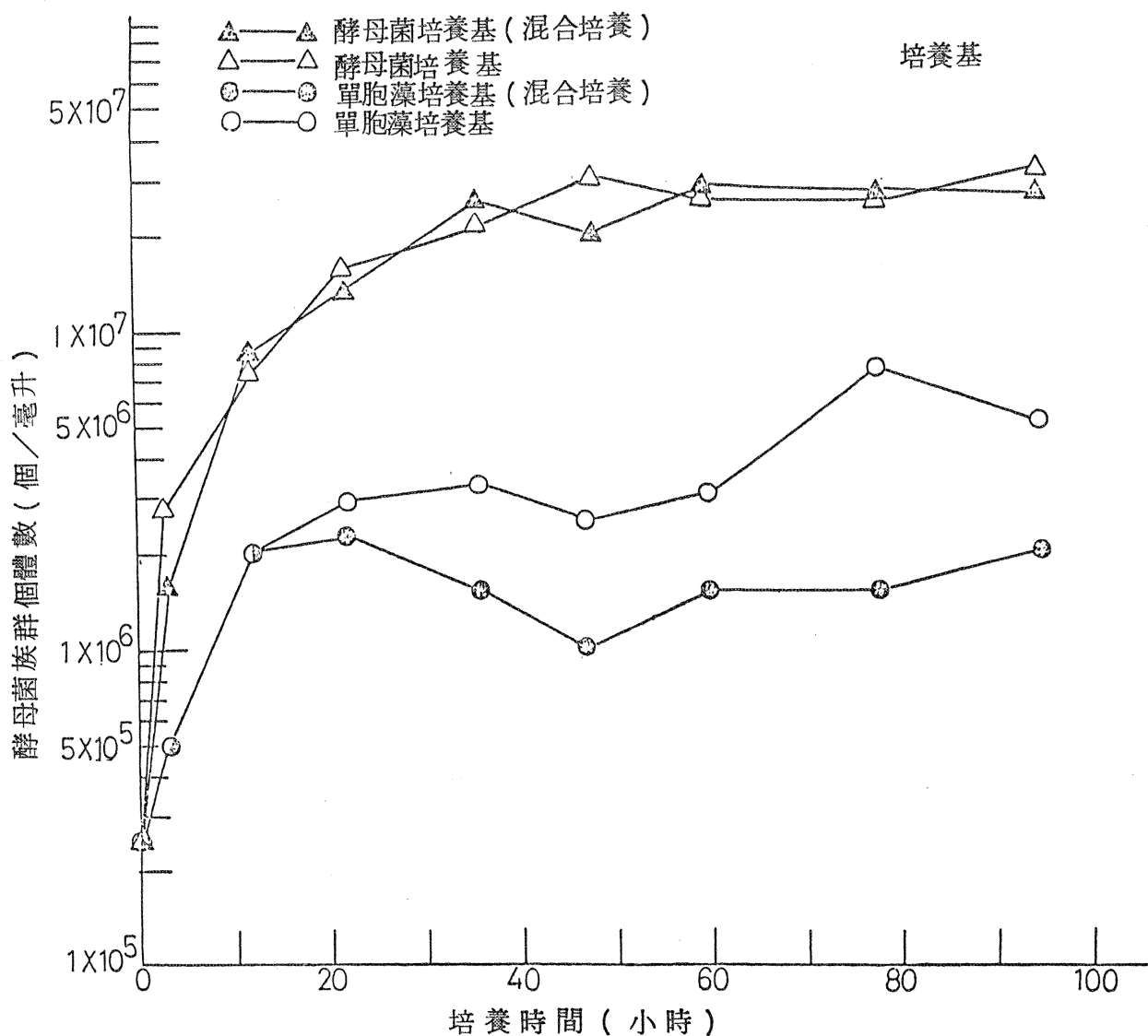
單胞藻單獨在綠藻培養基或酵母菌培養基中培養，生長都相當良好（圖二）。

單胞藻與酵母菌混合培養於綠藻培養基中，則發現酵母菌對單胞藻的生長有明顯的促進作用（圖二）。

但混合培養於酵母菌的培養基中，則因酵母菌生長迅速

表一 單胞藻與酵母菌混合培養實驗

組別	單胞藻 酵母菌		0.005		0.330		4	
	時 (小時)	間	單胞藻 (個/毫升) 酵母菌		單胞藻 (個/毫升) 酵母菌		單胞藻 (個/毫升) 酵母菌	
(I) 振盪培養	0		5×10^3	1.00×10^6	3.3×10^5	1.00×10^6	5.00×10^6	1.00×10^6
	6		$< 10^3$	3.50×10^6	3.1×10^5	2.78×10^6	4.80×10^6	1.80×10^6
	23		$< 10^3$	2.32×10^8	2.5×10^5	2.00×10^8	3.50×10^6	2.72×10^8
	30		$< 10^3$	1.92×10^8	2.5×10^5	2.16×10^8	3.75×10^6	1.32×10^8
	47		$< 10^3$	3.12×10^8	1.0×10^5	3.36×10^8	2.50×10^6	1.64×10^8
	54		$< 10^3$	2.70×10^8	1.8×10^5	2.36×10^8	3.00×10^6	2.24×10^8
	78		$< 10^3$	3.44×10^8	1.5×10^5	1.92×10^8	2.50×10^6	1.64×10^8
(II) 靜置培養	6		$< 10^3$	2.20×10^6	4.0×10^5	2.60×10^6	6.50×10^6	1.40×10^6
	23		5.00×10^4	5.20×10^7	7.0×10^5	1.60×10^7	1.07×10^6	5.90×10^6
	30		8.80×10^4	1.76×10^8	2.5×10^6	2.08×10^8	1.55×10^7	9.05×10^7
	47		3.25×10^5	2.80×10^8	5.5×10^6	1.70×10^8	3.75×10^7	2.04×10^8
	54		5.00×10^5	1.78×10^8	1.0×10^7	2.56×10^8	3.80×10^7	1.84×10^8
	78		1.00×10^6	2.08×10^8	2.7×10^7	1.56×10^8	3.70×10^7	8.10×10^7

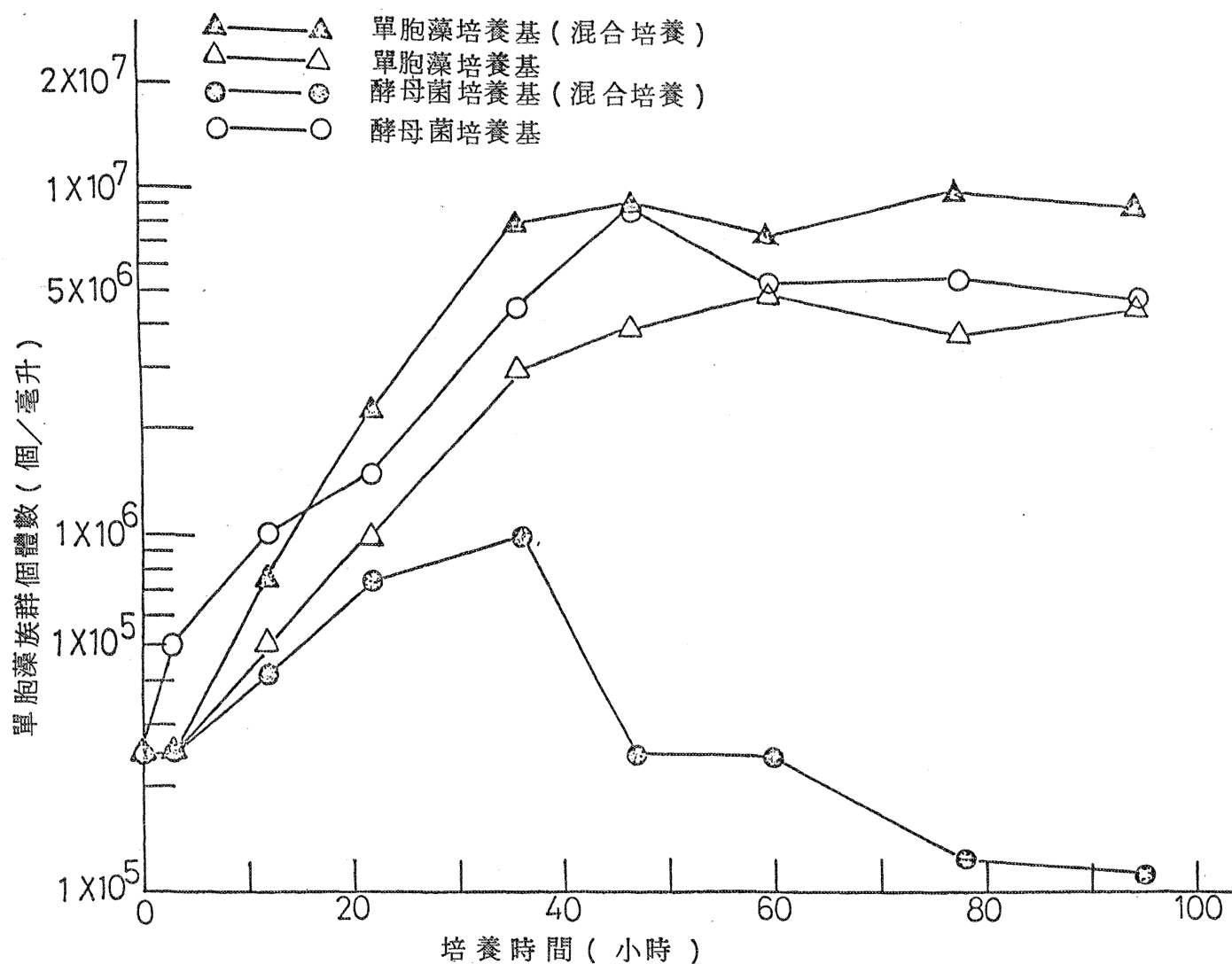


圖一 單胞藻對酵母菌族群的影響

，反而阻礙單胞藻的生長，並有下降趨勢（圖二），更由顯微鏡觀察亦發現單胞藻葉綠素消失。表一的振盪培養顯示相同的結果，但在靜置培養中，單胞藻生長良好，因單胞藻可用鞭毛游至上層，故光線不被酵母菌阻擋，同時顯示酵母菌能促進單胞藻的生長（圖二）。

2. 半透膜分隔培養：

由前段實驗發現酵母菌對單胞藻生長確實有促進作用，更由表一的靜置培養中（使用酵母菌培養基），顯示該促進生長的物質，並非培養基中的酵母菌萃取物（Yeast extract）或其他成分，而是由加入培養的酵母菌所產生的，為進一步證



圖二 酵母菌對單胞藻族群的影響

明，乃將酵母菌包在半透膜中與單胞藻分隔培養，結果發現該促進生長物質，可經過半透膜擴散出來，促進單胞藻生長（圖三），顯然是一種小分子物質，現正進一步分析中。

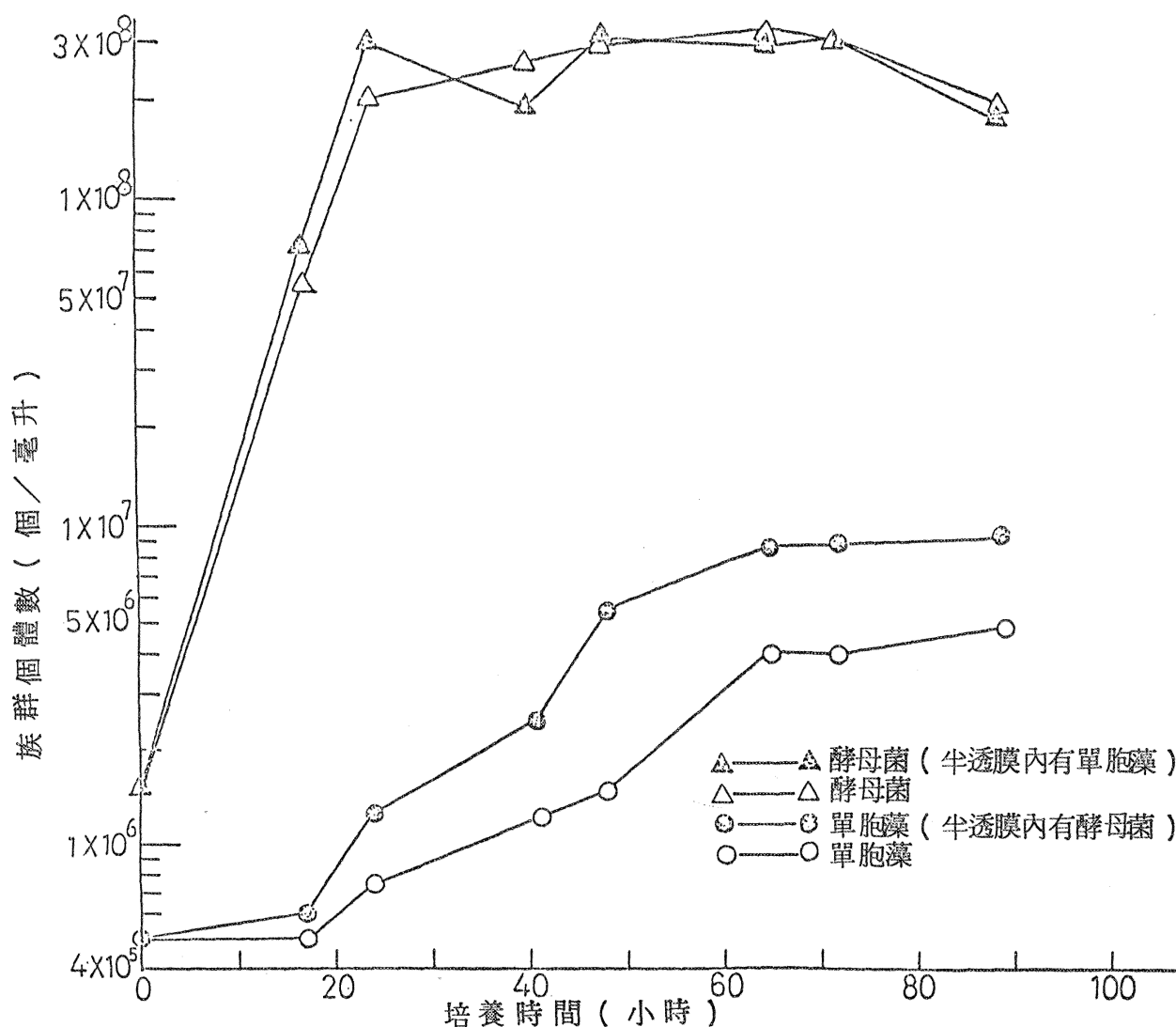
又由類似實驗，將單胞藻包在半透膜內，對酵母菌的生長並無促進作用（圖三）。

(二) 酵母菌與念珠藻族群的相互關係：

1. 酵母菌對念珠藻營養細胞的影響：

念珠藻為一種絲狀之藍綠藻，具營養細胞及異孢子，僅異孢子具有固氮的功能。

由於絲狀的念珠藻常常長成塊狀，不易分瓶及定量，若先在 28°C 振盪培養 24 小時，絲狀體的細胞會分離成單細胞，



圖三 半透膜分隔培養中酵母菌及單胞藻族群的生長曲線

經靜置培養後，可長成幾乎相等長度的小片段，可視為一種同步培養。經過分瓶培養，即可進行固氮分析或測定葉綠素 a 的含量。

表二顯示酵母菌對念珠藻營養細胞（即葉綠素 a 的含量）的生長有促進作用。

念珠藻對酵母菌生長沒有明顯的影響。

2. 酵母菌對念珠藻固氮能力的影響：

在固氮瓶中培養念珠藻，經固氮分析結果（圖四），計算出固氮能力列於表二。

念珠藻在酵母菌存在下，族群生長較快，但由表二顯示，酵母菌明顯地抑制念珠藻的固氮能力。

表二 念珠藻的固氮能力

組別	培養 天數	培 養 條 件	固 氮 (n mole/5hr)	Chlorophylla (mg)	固 氮 能 力 (n mole/mg Chla/hr)	0.2mm 內異孢 子數量	異孢子 出現的 頻率 a
I	2 天	-N+Glucose	6.47598	0.00766	169.080	14 個	8~10
		-N+Glc+Yeast	3.80940	0.01350	56.4350	4 個	15~20
II	2 天	-N	0.38094	0.00310	24.5760	3 個	8~10
		-N+Yeast	0.09047	0.00586	3.0877	2.5 個	31
III	1 天	-N	2.09517	0.00366	114.49	-	-
		-N+Yeast	2.09517	0.00395	81.36	-	-
IV	2 天	+N+Glucose	-	-	-	2 個	40
		+N	-	-	-	3 個	25

【註】 a : 異孢子的頻率為二個異孢子間營養細胞的平均數。

又由異孢子出現的頻率，也顯示與酵母菌混合培養下，念珠藻的異孢子數目顯著減少，同時也證明異孢子的數目與固氮能力有直接關係（表二）。

四、結 論

(一) 酵母菌與單胞藻的混合培養中，酵母菌的存在能促進單胞藻族群的生長（圖二、三）。

(二) 由半透膜分隔實驗，證明促進單胞藻生長的物質，是一種可通過半透膜的物質（圖三），現在正進一步的分析中。

(三) 在連續照光情況下，單胞藻或念珠藻均未能促進酵母菌族群的生長（圖一）。

(四) 酵母菌對念珠藻的族群生長（營養細胞生長），有促進能力（表二）。

(五) 酵母菌對念珠藻的固氮能力有顯著的影響（表二；圖四），並減少異孢子的數目。

- 評語**
1. 利用簡單之培養設備，發現酵母菌與單胞藻混合培養時，酵母菌有一促進單胞藻之生長因子，有學術價值，唯尚未將該因子純化出來做定性之化學分析為其小缺點。
 2. 該論文題目太大，例如，是否可以改為「酵母菌與單胞藻在培養基中的競爭」等，較為切題。
 3. 本論文已知利用植物生理之基本原理與原則，向未知物之科學探討做了初步研究，如再假以時日，當有大成，故給予獎勵。