

# タマホコリカビ

—— 細胞性粘菌は、土の中で社会をつくるアメーバ ——

埼玉県立熊谷西高等学校 細野春宏

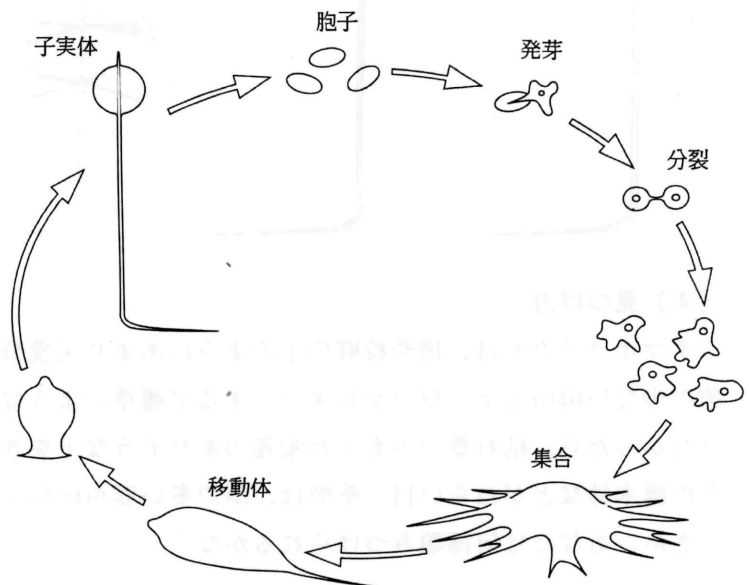
## 目 次

1. 紹介編 .....	1
2. 培養準備編 .....	2
3. 入手・採集編 .....	4
4. 観察・実験編 .....	6

## 1. 土の中にある粘菌アメーバ

### (1) タマホコリカビの一生

土の中には、細菌がいっぱい。でも、それを食べる生物もいるんです。細胞性粘菌は、少しでも有機物のある土の中にならいます。よく見られるのがタマホコリカビという種類です。そして、アメーバの状態で、土の中の細菌を食べながら分裂して増えてゆきます。まわりの細菌を食べつくすと集合し、ナメクジのような形の生物になります。そして光の方に移動してゆき、やがて、カビのような子実体<sup>しじつ</sup>をつくります。その胞子が発芽すると、またアメーバに戻るので。



### (2) アメーバが作る社会って？

単細胞生物のアメーバは、一つ一つはまったく同じ形で、一つの細胞だけで生きています。それに対して、私たち人間の体は、皮膚や骨や筋肉、神経などいろいろな形の細胞が、それぞれの仕事を分業して成り立っ

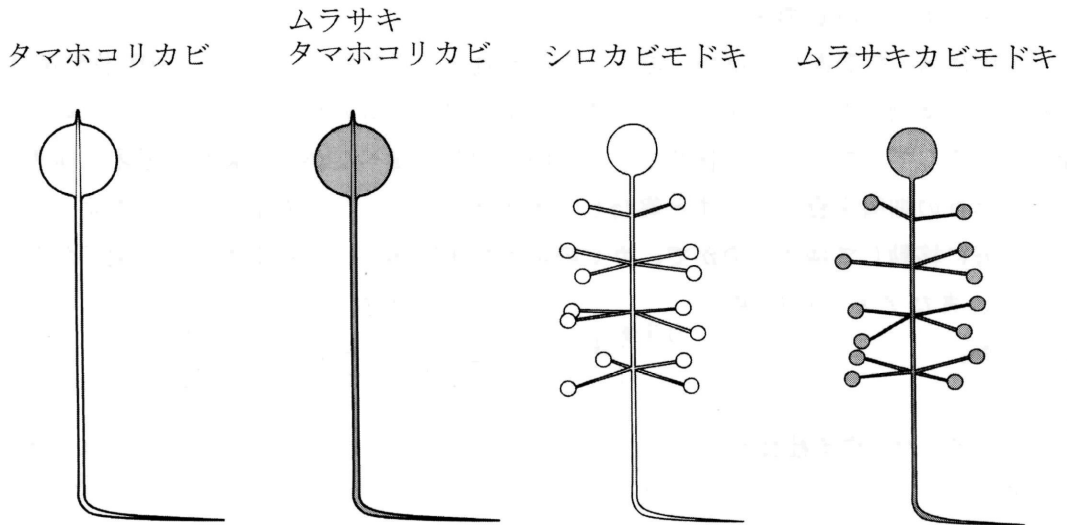
ているのです。このことを「分化」といいます。細胞性粘菌の子実体の細胞は、胞子とその下の柄の2種類の仕事を分業し、形も違います。

その分化のメカニズムは、現代の生物学でも完全には解明されていません。細胞性粘菌のように、一生の間に単細胞生物から多細胞生物へ変化する生物は、珍しいのです。

そして、その分業も2種類くらいの単純なものなので、そのしくみを研究しやすいのです。そこで、多くの生物学者が実験材料に利用しています。

(3) 種類は豊富、見つけてみよう

実は、土の中にはいろいろな種類のアメーバがいるのです。これらは、見つけるのも大変。細胞性粘菌は、1 cm くらいの子実体をつくるので見つけられます。分類は大変です。下に、よく見かけられる細胞性粘菌を示しました。枝分かれするかどうかで、「…タマホコリカビ」という仲間と「…カビモドキ」という仲間に、大きく分けられます。この仲間のことを「属」といいます。タマホコリカビ属の仲間は、似たような種類が大小20種くらいいるので、完全に分類することはムリです。色が違うムラサキタマホコリカビ以外は、すべて「タマホコリカビ」としておきましょう。畑の土など、あまり栄養のなさそうな場所では、このタマホコリカビという種類が取れます。



(4) 見つけ方

タマホコリカビは、畑や校庭の土のようにあまり栄養分のない、つまりエサである細菌の少ない場所でよく見つかります。まるで雑草のような種類ですね。他の種類を見つけたかったら、枯れ葉のつもった栄養のありそうな土をさがしましょう。神社やお寺などの雑木林などがねらい目。季節は、雨の多い春か秋がよいでしょう。

さあ、あなたは何種類みつけられるかな？

2 エサを準備しよう (培養準備編)

何とんでも「カビ」ですので、十分な湿り気が必要です。普通は直径9 cmのシャーレに、1.5~2%の寒天を溶かしたもの(無栄養寒天培地)を使います。

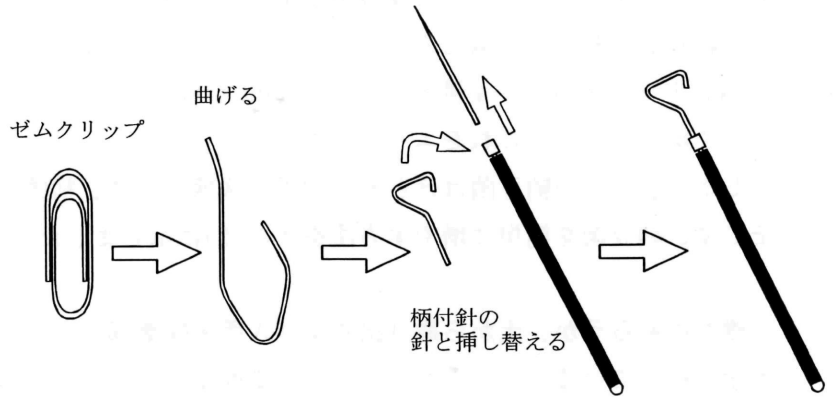
温度は、20~22℃がベストなので、10℃以下や27℃以上になる季節は培養には向いて

いません。やはり、春と秋がいいと思います。

エサは細菌ですが、これを用意するのめっぽう大変。研究者は大腸菌を使っていますが、無菌操作や滅菌処理、そのための機材が必要です。そもそも大腸菌を入手するのもめんどろです。そこで、口の中にいる細菌、口内細菌をおすすめします。

材料：滅菌済み 9 cm シャーレ、白金耳（新品のように焼き鳥用の竹串でも可）、ガラスロッド、パスツールピペットか 1 ml 駒込ピペット、70%エタノールが入ったスプレー、蒸留水、栄養培地のための以下の薬品類

\*ガラスロッドのかわりに、ゼムクリップを図のように曲げて、柄付き針などの柄につけてつくった方が滅菌などがやりやすいかも知れません。そのまま、炎で加熱すればいいです。



①一般的な細菌を培養するための普通寒天培地を調整します。右は簡単なブイヨン寒天培地の例です。

乾燥ブイヨン 6 g  
寒天末 5 g  
蒸留水 200 ml

②これを三角フラスコに入れ、アルミホイルでふたをします。大学では、オートクレーブという蒸気高圧滅菌の装置を使いますが、圧力釜でもいいです。120℃、2気圧で15～20分処理します。かわりに、湯せんで（もしくは電子レンジで）何回かに分けて十分溶かせばなんとかなるでしょう。電子レンジの場合は、突然に沸騰するので気をつけましょう。口が広いビーカーの方が沸騰はしにくいですが、でも、泡が出始めたら、すぐに止めましょう。

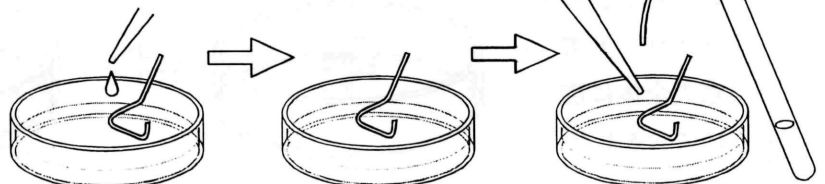
③溶かした培地を、カビなどの雑菌が入らないよう気をつけて、滅菌したシャーレに注ぎます。冷えて固まったら、逆さまにして冷蔵庫に保存します。1ヶ月程度保存するのならタッパーなど、ある程度密封できる容器に入れると乾燥を防げます。

④だ液を上記の栄養培地にガラスロッドでぬり広げて、一日室温で培養します。

だ液をガラスロッドで塗り広げ、培養（室温 1日）

白くて滑らかなコロニーを別売培地に塗り、培養する（37℃ 1～2日）

細菌を蒸留水でシロップ状にして試験管に入れ、冷蔵保存



⑤生じたコロニーの内、白くてなめらかなも

#### 4 タマホコリカビ

のをガラスロッドで取り、別の栄養培地にぬり拡げ、37℃で1, 2日間(低温ならもっと長く)培養します。

⑥表面が白くなってきたら、蒸留水を約10ml程度加えて、ガラスロッドで、細菌を溶かしてかき集め、シロップ状にして、試験管などに入れ、冷蔵庫に保存します。こうして得られた細菌は数ヶ月くらい冷蔵庫で保存できます。

#### \*超簡単エサの用意法

エサは、納豆の納豆菌という方法もあります。スーパーなどで3, 4個のパックで売っている納豆をエサとして使う方法です。用意するものは、200ml以上の容積の容器、納豆、割りばし、湯冷まし、ピペット。

納豆1パックの1/4量を、100~150mlくらいの湯冷ましに入れ、割りばしなどでよく溶かします。これをエサとします。

しかし、その納豆菌はほとんど孢子の状態なので、粘菌の出は良くはありません。そこで、納豆菌を簡単に増やす方法を4の(2)に示しました。

### 3. 誰かにもらうか、土から取り出すか(入手・採集編)

大学や持っている先生からもらうのが一番簡単。もらったら(4)を見て下さい。

でも、ぜひ、いろんな場所の土から採集する実験もやってみてください。採集法には2つの方法があります。直まき法とけんたく法です。ただし、①②と⑤⑥は共通の操作です。

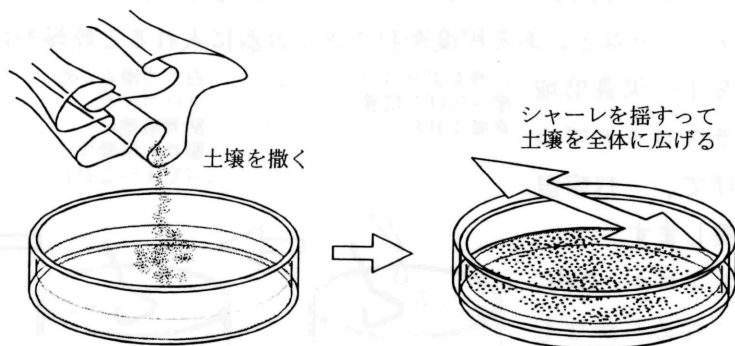
#### (1) 土壌の採取

①9cmくらいの清潔なシャーレを何枚か用意してください。こちらは、洗って熱湯で消毒するくらいでいいです。1.5~2%の無栄養寒天培地をつくります。さめて固まったら、逆さまにして冷蔵庫に2, 3日おいて、水滴を少し蒸発させてからの方が使いやすいです。

②土をビニル袋などで取ります。手が汚れないように、袋を裏返して手を入れ、ワシづかみで取るといいです。雑木林の場合は、林の湿った場所を選び、落ち葉の下側と土の表面の部分をいっしょに取ります。

#### (2) 直まき法

③細菌の溶液を5, 6滴くらいらし、ガラスロッドで寒天全体に広げておきます。



ずみずみまで全面に広げるより、多少デコボコがあった方が、粘菌が出やすいようです。

- ④その表面に②の土壌をパラパラとまきます。フタをして水平に振動させ、土壌が全体に広がるようにしてください。こぼれるので、古い新聞紙の上などでやるといいです。また、土が多く入れすぎた場合は、観察しにくいので、ゴミ箱にシャーレを逆さまにしてすててください。

### (3) けんだく法

- ③目安として、10gの土に20mlの蒸留水か湯冷ましを加え、割り箸などでよくかき混ぜ、胞子を溶け出させます。土が沈殿したら、上の方の砂粒の少ない部分を使います。
- ④これを0.3～0.5ml、無栄養寒天培地に加え、次に細菌のシロップを5滴くらい加えガラスロッドで全体にぬり拡げます。量は、寒天が薄く白くなる程度が良いでしょう。
- \*共通（直まき法とけんだく法で同じです）
- ⑤これを、20～24℃で培養すると、3～4日でアメーバ細胞が集合し始め、4～5日で子実体になります。1週間目に双眼実体顕微鏡かルーペで観察しましょう。
- ⑥カビが発生していたり、いろいろな種類が混ざって出てくるので、種類別に分けます。

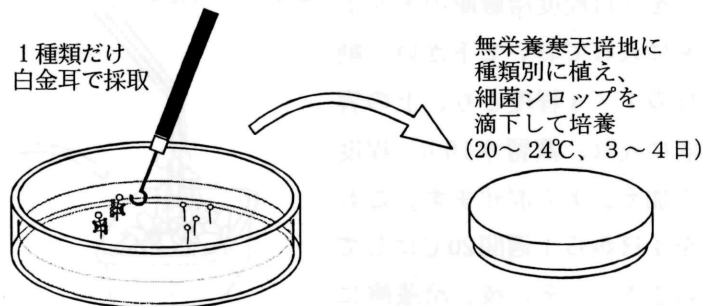
### (4) 単離培養法

カビや他の種類から、粘菌の1種類だけを取り出して培養します。

無栄養寒天培地の9cmシャーレ1枚で、4～5種類を単離できます。この程度の距離であれば混ざりません。

- ①双眼実体顕微鏡やルーペで観察しながら、子実体の胞子を、白金針か白金耳（新品のツマヨウジか焼き鳥用の串でも良い）で取ります。
- ②無栄養寒天培地の表面に、種類別に突き刺して傷をつけるようにします。1つのシャーレに4、5カ所つけられます。そこに、細菌のシロップを2滴くらいたらします。
- ③20～24℃で3、4日～1週間、培養します。

\*実験後、使い終わったシャーレの洗いを一定地点（校庭の日陰になる落葉樹の下など）にまいておくと、その後、その土から手軽に分離できます。



### (5) 継代培養と保存

これを一ヶ月くらいの割合で、新しい無栄養寒天培

地に植え継いで行きます。長期保存したい場合は、シャーレをビニールテープで密封して冷蔵庫で約1年間は保存できます。逆さまにして、胞子のうに水滴がつかないようにして下さい。

もっと簡単な方法は、子実体の胞子のうを、ろ紙にしみつかせて、アルミはくにつつまみ、シリカゲルなど乾燥剤の入った容器に入れて冷蔵庫に保存します。長期間保存したい場合は、冷凍します。

#### 4. 実験する（観察・実験編）

##### （1）いろいろな場所で採集しよう～種類と季節変化

校庭の土や畑の土のように、あまり栄養分のなさそうな場所を好む種類もあります。しかし普通は、枯れ葉など栄養分の多い土には、細菌の種類も数も多いので、いろいろな細胞性粘菌がいます。困ったことにカビも多く、区別がつけづらいです。そこで、上記の4種類に分類してみましょう？

どんな所に、どんな季節、どんな細胞性粘菌がいるのか調べてみましょう。

##### （2）えさを変えてみよう～納豆菌の簡易培養

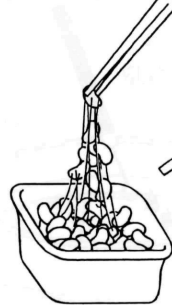
納豆を使う方法は超簡単です。しかし、大腸菌や口内細菌に比べると、ずいぶん出は悪いです。実は、売っている納豆に納豆菌はあまりいません。でも、胞子はずいぶんいます。そして無栄養寒天培地上でも、けっこう発芽して、増殖します。しかし、胞子から成長した納豆菌はネバネバをつくり、その中にいるので食べにくいです。あの納豆のネバネバは、粘菌アメーバのような自分を食べる天敵の生物から身を守る意味もあったのです。

そこで、納豆菌をばらばらに培養する方法を書きます。これをエサに、粘菌を培養してみましょう。

100円ショップなどで、液体を1滴づつこぼせるような調味料容器を買っておきます。内部を70%エタノールで消毒しておきましょう。

市販の3個100円程度の納豆を3日程度冷蔵庫のチルド室に入れておいて下さい。納豆の1/4程度とり、上の容器に入れ、蒸留水100cc程度を加え、よく混ぜます。これを4日から1週間20℃にしておきます。その後、冷蔵庫に

納豆を1/4程度



調味料容器に入れ、蒸留水を100mL加えよく混ぜて培養(20℃1週間)

保存します。高倍率の顕微鏡があれば、水中を泳ぎ回る納豆菌を見ることができるかも知れません。

### (3) 形態形成と温度条件

細菌の量や光条件によっても形態形成の時間は変化しますが、培養温度は20～22℃が最適です。低温にすれば成長が止まるので、観察したい時期のものを準備できます。いろいろな時期の形や細胞の様子を観察しましょう。

粘菌アメーバは、本物のアメーバに比べると、ちょっと小さいので倍率を高くしてみる必要があります。800～1000倍で見ると粘菌アメーバの発芽や動きが観察できます。

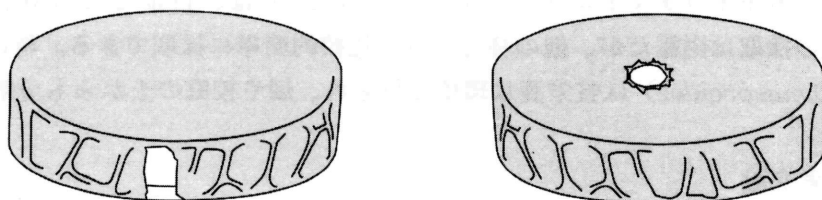
### (4) 種間競争

2種類の胞子を1つの細菌シロップにつけてみたら、どうなるでしょう？ 生じる子実体の数はどちらが多いか数えるのです。見分けるためには、色違いの種類がいいです。ムラサキタマホコリカビかムラサキカビモドキを、タマホコリカビなど白い種類と混合培養してみましょう。培養温度やpHなど環境条件の違いで結果が変わるかも知れません。

### (5) 光走性

シャーレをアルミホイルで包み、一ヶ所だけ穴を開ける

ほとんどの種類が移動するとき、後ろに柄を残して移動するので、どう移動



したのかを知ることができます。培養しているシャーレをアルミホイルなどで包み、一ヶ所だけ開けておいて光を当ててみましょう。

水平方向の光に対しては走性を示すでしょうか？ また、垂直方向の光にはどうでしょうか？ また、光を感じ取るのはどの部分でしょうか？

### (6) 子実体形成

移動体から子実体の変化も面白いです。移動体のどの部分が柄になり、どこが胞子になるのかをじっくり観察してみましょう。

子実体になりかけの細胞のかたまりをスライドガラスに取り、水を1滴たらし、カバーガラスをかけて軽く押しつぶして観察します。液胞化して柄になりつつある細胞や、楕円形の胞子になりつつある細胞が観察できます。どちらも先端部から進行しているようです。

## 指導のための基礎知識

高校の参考書に、細胞分化の例として細胞性粘菌のキイロタマホコリカビの生活史が示されていた。真性粘菌も細胞性粘菌もどちらも、単細胞生物の時期と多細胞生物の時期があり、また植物（菌類）と動物の性質をあわせ持つ、大変ユニークな生物である。

孢子が発芽すると、単細胞のアメーバ状態の細胞が生じる。そして、土壤中の細菌を食べながら分裂して増える。細菌を食べつくすと、集合して多細胞のナメクジのような移動体になり、水平方向の光に対しては正の光走性を示して移動する。しかし、垂直方向の光には移動体形成を促される。柄と孢子塊の細胞に分化し、子実体を形成する。この間、細胞分裂はしない。このように、増殖期と形態形成の時期がはっきりと分かれており、しかも子実体の体制が簡単で、柄と孢子の2タイプしかないので形態形成や細胞分化の研究に極めて良い材料である。また、単細胞生物から多細胞生物の中間的な位置にあり、系統学上も非常に興味のある生物である。

ここで扱った細胞性粘菌（正確には、ディクトオ型細胞性粘菌）は、タマホコリカビ目 (Dictyosteliales)、タマホコリカビ科 (Dictyosteliaceae) に属している。属は、タマホコリカビ属 (Dictyostelium) とムラサキカビモドキ属 (Polysphondylium) の2つが主なものであり、子実体が、輪生枝を形成するかどうかで分ける。多くの種の移動体は、カビの菌糸のような柄を残して移動する。教科書によく出てくる、柄を残さず移動するキイロタマホコリカビ (*D.discoideum*) は、日本では高山帯に分布し、野外からの採取は困難だが、他の種であれば比較的簡単に採取できる。特に、タマホコリカビ (*D.mucoroides*) は貧栄養な環境で見られ、畑や校庭の土からも分離できる。

### 参考文献

- (1) 小筆恵美子, 1977. 細胞性粘菌の教材化. 教材生物ニュース 20:269-272
- (2) 前田みね子・前田靖男, 1978. 粘菌の生物学. 東京大学出版会
- (3) 山田卓三, 1978. 細胞性粘菌の分類と生活史. 遺伝 32(5), 10-15.
- (4) 山田卓三, 1980. あたらしい教材生物の研究. 講談社:137-147
- (5) J・W・アッシュウォーズ, J・ディー, (1980) 粘菌の生物学. 朝倉書店
- (6) 山田卓三, 1982. 細胞性粘菌の採集と観察. 遺伝 36(6), 63-68.
- (7) 高橋和成, 2000. 身近な細胞性粘菌を利用した教材の開発.  
平成12年東レ理科教育賞 受賞作品集.財団法人東レ科学振興会.
- (8) 高橋和成, 2005. 身近な細胞性粘菌の分離培養と野生種を利用した観察・実験.  
遺伝 59(1), 10-14.
- (9) 細野春宏, 2008. 納豆菌を使った細胞性粘菌の簡易培養法. 生物教育,  
48(3), 128-135. 日本生物教育学会
- (10) 京都大学 大学院理学研究科 植物学教室 形態統御学学科 細胞性粘菌グループ,  
<http://cosmos.bot.kyoto-u.ac.jp/csm/index-j.html> (2010年5月接続)