

目的

1. 自然界のつりあいを理解させる素材として土壌微生物（細胞性粘菌）を教材化する。
2. 自然界から手軽に分離でき、多目的に利用できる生物教材として細胞性粘菌を教材化する。

概要

1. 細胞性粘菌の特徴

(1) 分類上の位置は、植物としては変形菌植物門の無遊走子類に、動物としては原生動物門、菌虫目の無遊走子亜目と両界に属している。

菌類—変形菌 { 細胞性粘菌 (Acrasiales, cellular slime molds.)
真性粘菌 (粘菌)

真性粘菌とは発生の上で異なり、遊走子の時期がなく、増殖期は孢子から発芽したアメーバが動物的栄養のとり方によって単細胞のまま2分裂して増殖し、形態形成期に入ると1点を中心に多数のアメーバが集合し、細胞集合塊となって図1のように子実体となる。

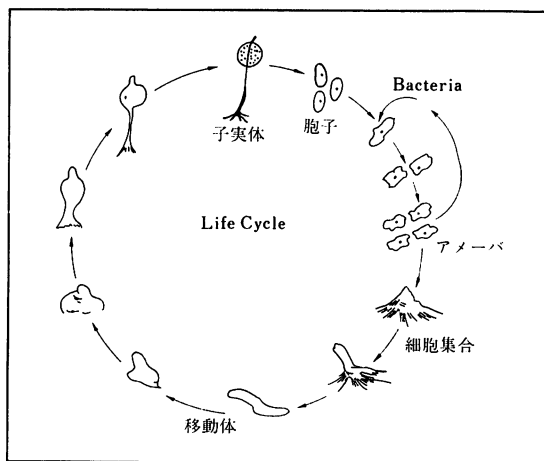


図1

このような特異な生活史をもっていることは、単細胞から多細胞性物への橋渡しの存在を意味し、また動物と植物の分岐点に位置していると考えられることから生物の進化と系統、生物の分類等の教材に取り入れ生物は進化すると同時にその系統は進化の所産でもあるという立場から種の起源について考察するのに極めて優れた素材となる。

(2) 多少の有機物を含む土壌であればどこにでも分布しており、季節に関係なく分離できる。

(3) 1世代が短いので(3~4日)回転が速い。

(4) 生育条件をコントロールすることによって種々な実験ができる。

(5) 低温に強く系統保存が容易である。

(6) 中学校レベルの能力と設備で実験観察ができる。

2. 細胞性粘菌の種類

現在4科11属28種に分類されているが、広く分布し形態が比較的単純で同定しやすく、教材として発展的に利用できると考えられるのは図2の種類である。

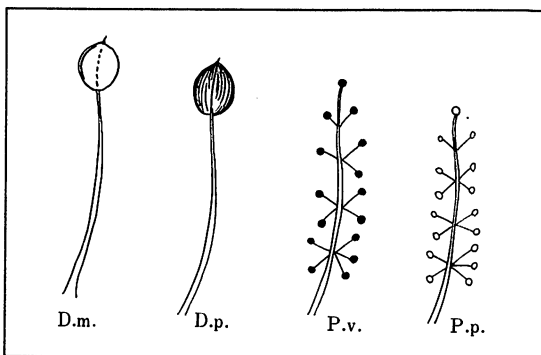


図2 細胞性粘菌の種類

- D.m.=Dictyostelium mucoroides. タマホコリカビ(白-クリーム色)
 D.p.=D. purpurem. ムラサキタマホコリカビ(紫色)
 P.v.=Polysphondylium violaceum. ムラサキカビモドキ(紫色)
 P.p.=P. pallidum. シロカビモドキ(白-クリーム色)

学習指導法

1. 自然からの分離

(1) 土の採集

多少の有機物を含む土であれば必ずといってよいほど分布しているので、できるだけ腐葉土を採集する。

(2) 分離と培養

採集した資料と等量の滅菌水を加えてガラス棒でよくかくはんし、細胞性粘菌を水中に遊離しろ過する。このろ液0.2gを無栄養寒天培地(2%)に入れ図3のようにあらかじめ培養しておいた細菌を加えグラスロットで均一にぬりひろげ(22~24℃)4日位経過すると子実体が形成されるのでこれを継代培養して増殖させる。

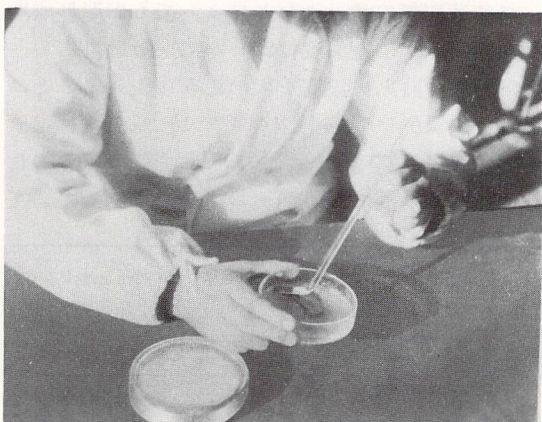


写真1 分離

(3) 細菌の培養

餌とする細菌は大腸菌やエアロバクターがよいがイーストのように市販されていないので表1の栄養培地にだ液、または少量の土壌ろ過液を接種し黄白色のコロニーを継代培養し、これをペースト状にして冷蔵庫に保存しておく。

表1 栄養培地の組成

イーストエキス (0.5g)	K ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O (1.5g)
ペプトン (5.0g)	MgSO ₄ ·7H ₂ O (0.5g)
ブドウ糖 (5.0g)	寒天 (20.0g)
KH ₂ PO ₄ (2.25g)	水 (1000g)

(4) 簡易無菌室

学校の実験室ではいろいろな微生物が雑居しているので、写真2のように生徒用机2個を重ね、まわりをビニールで囲み、中に15Wの殺菌灯を生徒が直視しないようにななめにとりつけ無菌室とし、この中で栄養培地の操作をする。

他の微生物分離にも利用でき有効である。

2. 分布の実態

(1) 水平分布

昭和48年8月において52の場所を無作為抽出によって分離した結果、73.1%の分離率で教材化を考えた4種は、本県全域から分離された。

表2 栃木県における分布 S48.8

種類	D.m.	D.p.	P.v.	P.p.
割合%	67.3	13.5	5.8	17.3

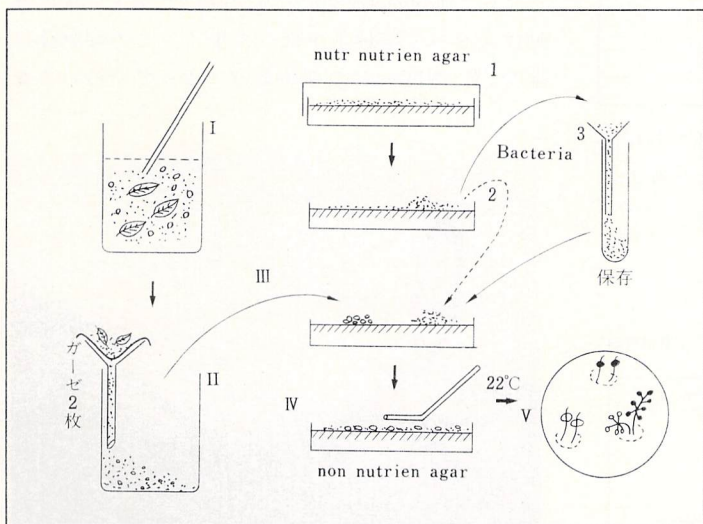


図3 分離法

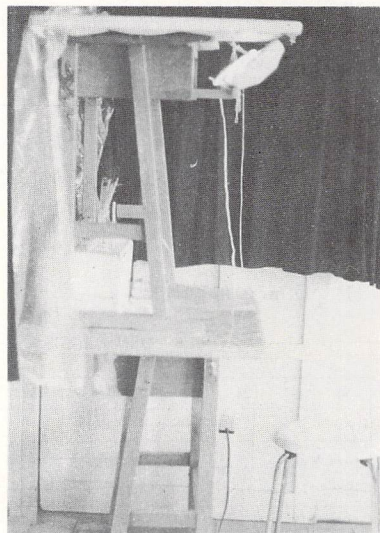


写真2 簡易無菌室

(2) 垂直分布

採集地 宇都宮市野沢町雑木林
 期 日 昭和48年 8 月20日
 気 温 32℃ 培養温度24℃

表 3 垂直分布 I

高さ	種類	D.m.	D.p.	P.v.	P.p.
0 (地表)		+	-	-	+
- 5 cm		#	-	-	-
-10 "		+	-	+	-
-13 "		-	+	-	-
-15 "		-	-	-	-

採集地 日光白根山
 期 日 昭和48年 8 月 6 日

表 4 垂直分布 II

高さ	種類	D.m.	D.p.	P.v.	P.p.
1600m		+	-	-	+
1800		-	-	-	-
2000		-	+	+	-
2240		+	-	+	-
2300		+	-	-	-
2340		+	+	-	-

(3) 植物相と分布

採集地 栃木県烏山町 (青年の家)
 期 日 昭和48年 8 月30日
 気 温 28℃

表 5 植物相と分布

腐葉土	種類	D.m.	D.p.	P.v.	P.p.
	ヒメヤブラン	#	-	-	-
	スギ	+	+	-	-
	カシ	+	-	-	+
	ススキ	#	-	-	-
	赤松	+	-	+	-

表 2 ~ 5 のように有機物を含んだ土壤であれば必ずといってよいほど広く分布していると考えられる。

3. 形態形成期間

(1) D.m. の形態形成

表 6 D.m. の形態形成 培養温度24℃

時間	24	36	48	60	72	84	96	108	120
ブランク	○	○	○	○	○	○	○	○	○
細胞集合			○	○	○	○	○	○	○
指状突起				○	○	○	○	○	○
移動					○	○	○	○	○
子実体							○	○	○

(2) 温度差による形態形成期間

表 7 P.p. の形態形成

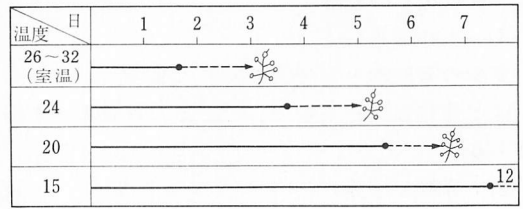
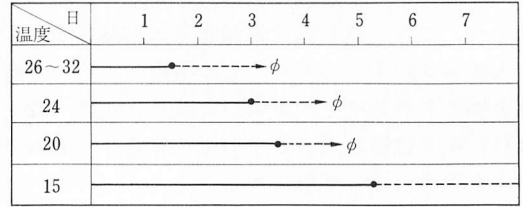
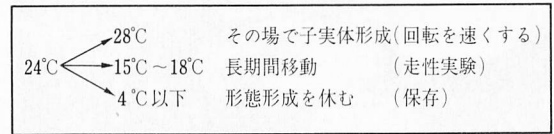


表 8 D.m. の形態形成



バクテリアの量、光などによっても形態形成期間が異なるが培養温度は20~24℃が最適である。

移動体の時期に温度を次のように変えることによって人為的に回転を速くしたり、低温で休眠することから、観察させたいステージで低温保存すれば数日間の培養で全生活史の準備ができる。



4. 走性実験

増殖期のアメーバは周囲の餌(バクテリア)がなくなると細胞の集合塊となり、やがてナメクジ状の移動体となって培地上をはって歩く。この移動体は温度、光、湿度などの環境条件によっていろいろな

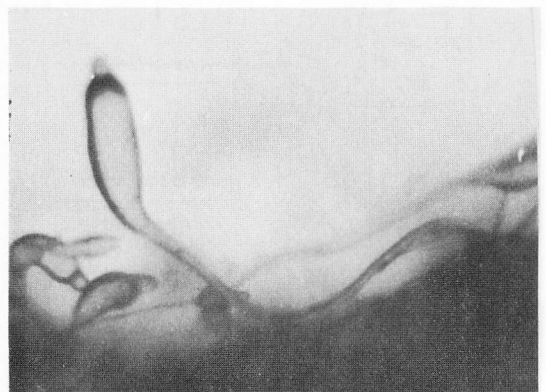


写真 3 D.m. D.p の移動体

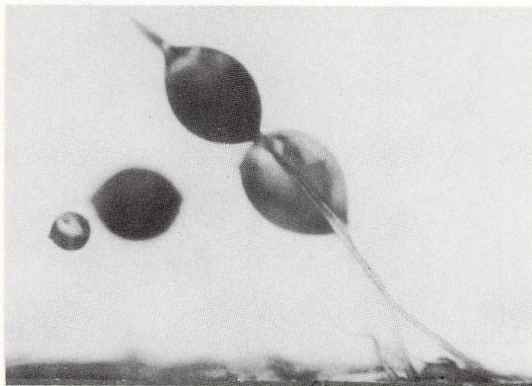


写真4 D.p.の子実体

走性を示す。特にD.m. D.p.は、この時期にセルローズ性の柄が分化しこれを移動の跡に残すので、移動の起点、方向、距離が明確で定量的な実験ができる。

(1) 走光性

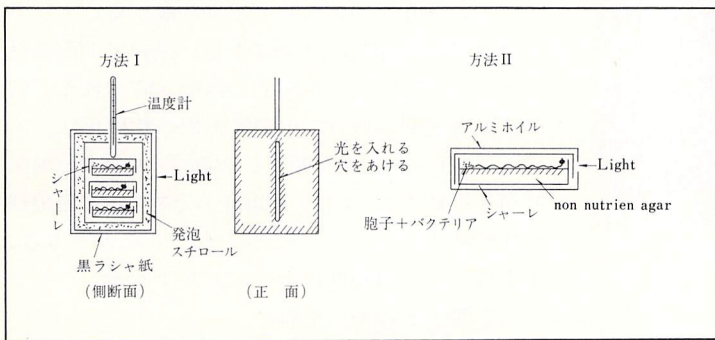


図4 簡易暗室

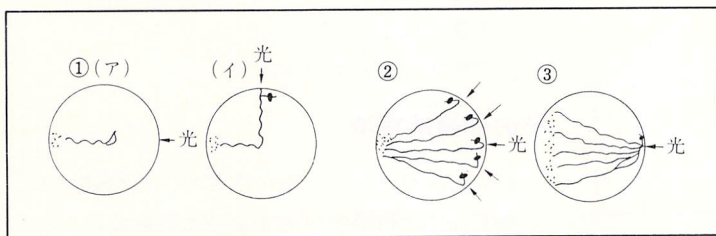


図5 走光性実験 I

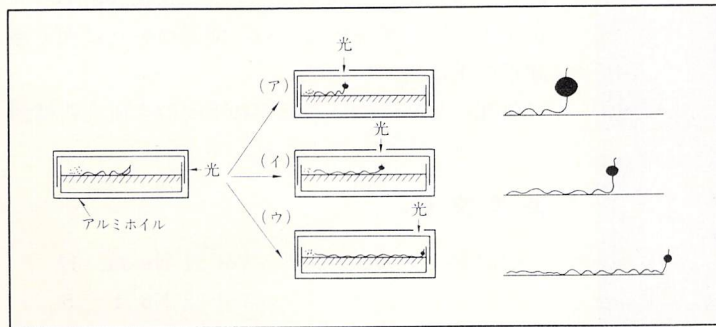


図6 走光性実験 II

無栄養寒天培地に細菌シロップを滴下し、そこに実験する系統の孢子を接種し図4の方法IまたはIIの暗室で実験する。

移動体は光に対して正の走性を示す。途中から光をあてる方向を変えると進路も正の方向へ変える。

移動体に上方から光をあてると図6のようにその場で子実体を形成する。

図6のように光を当てる位置を変えると移動距離も変化し、そのため柄と孢子細胞の比率が変わり、しかも形態形成期間が人為的に変えられる。

(2) 移動速度

表9 移動距離

種類	距離	1	2	3	4cm
D.m.		→			
D.p.		→			

表10 移動速度

種類	日	第1日	第2日
D.m.		0.92mm/h	0.75mm/h
D.p.		1.00	0.88

24°C→20°C

系統によって移動速度、距離が異なるが第1日目の方が第2日目より速い。

以上のように生物にとって環境要素は重要な意味を持つということを理解させる興味深い実験ができる。

5. アメーバの観察

細胞性粘菌の孢子のうちには数千の孢子があり発芽すると寒天培地上を運動する粘菌アメーバとなる。(方法1)寒天培地に少量のバクテリアと孢子を接種し45°Cで30分処理するとアメーバが発芽する。(方法2)寒天培地にバクテリアと孢子を接種し22°Cで培養するとブランクができる。このブランクの周辺の細胞を遠心分離機で分離し無栄養寒天培地に移すと球形になったアメーバがやがてアメーバ運動をはじめる。

6. 簡易培養法

形態形成の第1歩は細胞の集合で無栄養寒天培地による方法が最も確実であるが3、4日前に準備しておかなくてはならない。そこで細胞が集合でき手軽に入手できるコンニャクを生理食塩水または水に入れ煮沸し冷却後、アイスや



写真5 胞子



写真6 アメーバ

ブリンの容器に並べ牛乳またはバクテリアを加え寒天培地と同じ要領で分離した。

生徒分離の D.p. D.m. を継代培養した結果いずれも正常な子実体が増殖した。

表11 生徒の分離率

	D.m.	D.p.	P.p.	その他
第1回 (S48.11)	26%	8%	2%	12%
第2回 (S49.7)	59	3	3	5
第3回 (S49.9)	94	33	33	12



写真7 分離実験



写真8 生徒分離 D.p.

また実験後胞子を採集地に撒いておくと分離率も高くなる。

〔注〕写真9～19は93～94頁に掲載

効果

ひとにぎり土から自分の手で分離することにより、教科書から得ることのできない感動と問題発見のチャンスによって、科学的自然観が育まれた。特に授業の展開において土壤微生物の教材化は、太陽エネルギーの変遷を軸として生物学的事象と地学的事象をアプローチし、地球上の万物の流転を地球生化学的サイクルとして把握させることができる。中学校での利用範囲は次のとおりである。

- 自然とその中の生物
- 生物の種類と生活
- 生物の反応
- 生物と環境
- 自然界のつりあいと保護

その他補遺事項

本研究は教材化の一部にすぎず、まだ教材として効率の高い利用法があると考えられる。

最後に、本研究について熱意あるご指導、ご援助を下さいました都立アイソトープ総合研究所、山田卓三理学博士をはじめ、関係の方々に深く感謝申し上げます。

研究の一部は文部省昭和49年度科学研究費補助金によって行なわれました。

参考文献

- 山田卓三：採集と飼育 Vol.31 No.11, 12
Vol.32 No. 1～5

1. 細胞性粘菌の培地での生態



写真9. タマホコリカビ (D.m.)
いたる所に分布し、腐葉土からは多量に分離される。

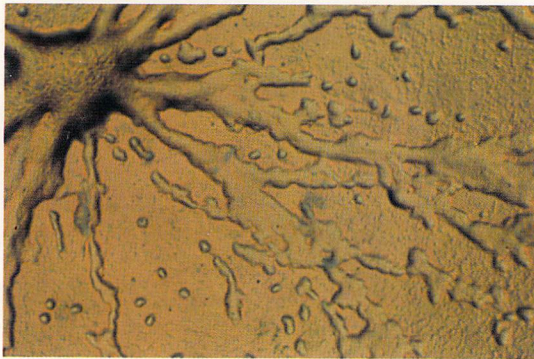


写真10. 寒天培地上におけるアメーバ細胞の集合

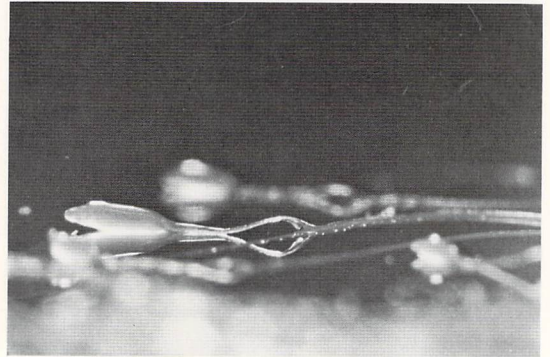


写真11. 寒天培地上における D.m、D.p. の移動体



写真12. コンニャク培地で分離した D.p. の子実体



写真13. コンニャク培地で増殖した D.m. の移動体と子実体

2. 採集と分離

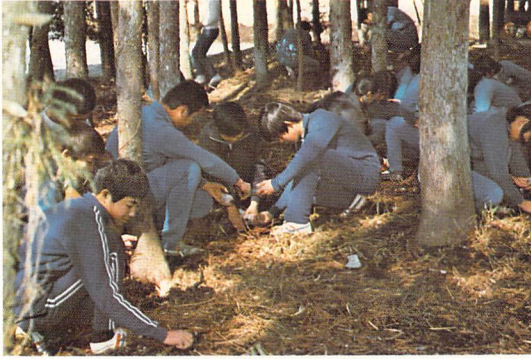


写真14. 腐葉土採集
実験後水洗いして胞子をこの地点に撒いておく。



写真15. コンニャク培地での分離

3. 準備

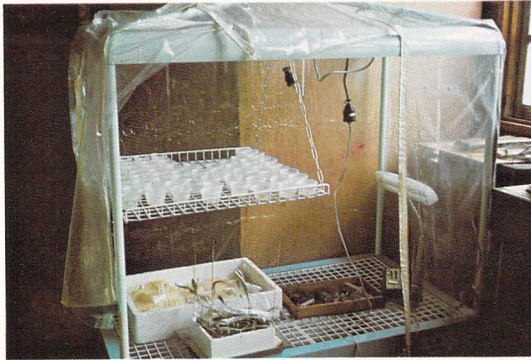


写真16. 簡易恒温温室
容積が大きいので生徒全員が培養できる他、道具一式を入れ実験できる。

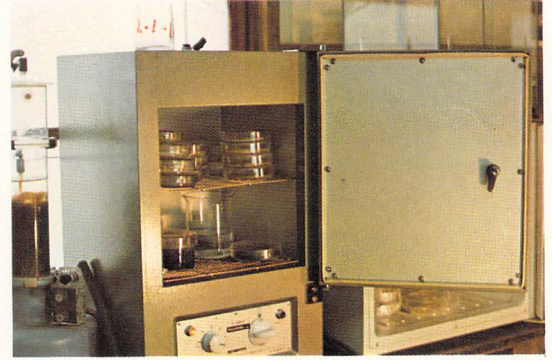


写真17. 恒温乾燥器
低温にして培養用、高温にして容器の滅菌

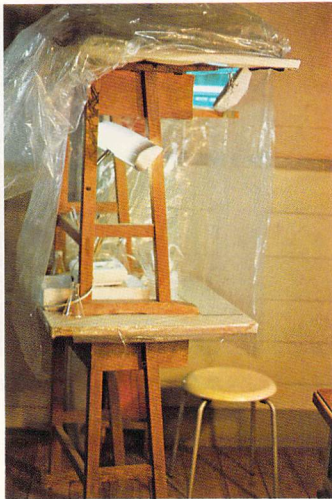


写真18. 簡易無菌室



写真19. 低温恒温器
3℃以下にして休眠、系統の保存