

第5章 土の中の微生物－ミズカビの観察－

ねらい

菌類は自然界において分解者としての役割をになっている。菌類のなかには、水中や湿土中に好んで生活している鞭毛菌類のなかまがいる。これらの菌類の生育と生活史の特徴を調べるため、湿土中からミズカビを分離し、生育のようすや造卵器（生卵器）の形成していくようすを観察させる。

準 備

シャーレ、柄つき針、先尖ピンセット、滅菌水（水道水を滅菌したもの）、アサの実（小鳥屋で売っている）、双眼実体顕微鏡、顕微鏡、圧力なべ、電気定温器、コーヒーフィルター（封筒でもよい）、記録ノート、アルミホイル、三角フラスコ（300ml と 50ml）。

方 法

- 1) 池、沼、水田などから湿土を採取し、ビニール袋に入れて持ち帰る。
- 2) 湿土を滅菌シャーレに入れ、滅菌水をシャーレの深さの半分ぐらい入れる。湿土の量は親指の頭ぐらい。

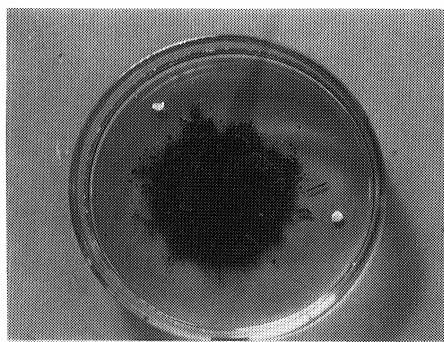


図1 湿土と滅菌水の中にアサの実の子葉を入れたところ

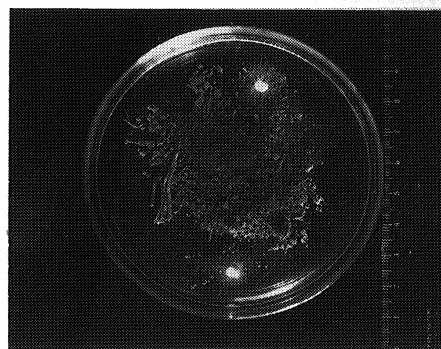


図2 アサの実にミズカビの菌糸が伸びだしたようす

2) で次のような方法もある。

湿土をコーヒーフィルターに入れ、3～5 日風乾する。そのさい乾土をシャーレに入れるので、コーヒーフィルターに入れたあと押さえて 7mm ぐらいの厚さにしておく。この風乾土を親指の頭ぐらいにして、滅菌シャーレにいれ、滅菌水を加えて 1～2 日間室温におく。水の量はシャーレの半分ぐらい。そして 1～2 日後に炎で焼いた（火炎滅菌）柄つき針で土をほぐし、シャーレの半分ぐらいの面積に広げる。数個のシャーレを使って分離する場合、ひとつのシャーレの土をほぐし終わって次のシャーレに移る場合、再度柄つき針を火炎滅菌してから使う。

- 3) アサの実を三角フラスコ（300ml）に入れ、水道水を 200ml ぐらい加え約 20 分煮沸する（あまり火を強くしない）。半数ぐらいのアサの実に白い割れ目が見えたら火を消す。滅菌シャーレにアサの実を水とともに移し、火炎滅菌した柄つき針や先尖ピンセットでアサの実の割れ目から種皮を割り、子葉を取り出す。子葉は 2 つに離しておく。
- 4) 火炎滅菌した柄つき針で、シャーレの土のないところへ 3) の子葉を 2 つずつ沈めておく。
- 5) 室温で培養し、2 日目から毎日肉眼で観察して、子葉上に白色の菌糸ができれば始めるまで観察する。
- 6) 子葉上に菌糸が見つかったら、新しい滅菌シャーレに滅菌水を入れ、火炎滅菌した柄つき針で菌糸を子葉ごとに移す。そのあと毎日 1 回滅菌水の交換を行う。そして造卵器や造精器の形成を待つ。造卵器や造精器の観察には、シャーレを開いたまま顕微鏡のステージにのせ、50～100 倍で検鏡する。

まとめ

- 1) ミズカビ類の生育していくようすを実体顕微鏡（解剖顕微鏡）を使って観察し、スケッ

チする。

- 2) 造卵器や造精器ができたなら、顕微鏡で観察しスケッチする。
- 3) 水中や湿土中にも菌類が生活していることを理解させるとともに水中や湿土中におけるミズカビ類の役割を考えさせる。

指導上の留意点

- 1) 培養中に細菌類や原生動物などが混入するため、造卵器や造精器ができるまでは、毎日滅菌水（水道水を三角フラスコに入れアルミホイルでふたをして、圧力なべで滅菌したもの）を変える。
- 2) シャーレも乾熱滅菌（電気定温器で 120℃、1 時間）したものを使い、柄つき針や先尖ピンセットなどは、使用するたびに火炎滅菌する。
- 3) アサの実の上に菌糸が出てきたら、だいたい一週間ぐらいで造卵器や造精器が形成される（受精後造卵器中に卵胞子が形成される）。
- 4) 室温で培養するが、最適温度が 20～25℃ぐらいのため、冬場に室温で培養するときは生育が悪い。
- 5) 観察が終わったら 50ml の滅菌した三角フラスコに滅菌水 20ml を入れたものに、アサの実と菌糸の集まりを入れて冷蔵庫に保管しておく。ニヶ月後ぐらいまでは、再度アサの実を入れて培養すると、新しいアサの実に再び菌子を形成する。
- 6) ミズカビ類以外にカワリミズカビ類なども出てくる。
- 7) 池や沼などの水からも分離できるが、この方法は採集後直ちに処理しなければならないので、湿土を使う方が確実である。
- 8) アサの実以外に、つり餌としてスルメや米など用いられる。しかし、スルメの小片など動物性のものは、細菌類が付着しやすい。

9) プレパラートを作るときは、火炎滅菌した2本の柄つき針（さびていると菌糸がからみつくので、さびていないもの）を用いて、水中でアサの子葉ごとにつれさせないように小さく分割する。その一つをスライドガラスにのせ、水で封入してカバーガラスをかけ顕微鏡で観察する。

学習の発展

- 1) 池や沼などの水を取ってきて、同じように調べてみよう。
- 2) ミズカビ類以外の水生のカビがでてきたら、これらも観察してみよう。

参考文献

三浦 宏一郎：「目でみる菌類の採集と観察」（講談社 1986）

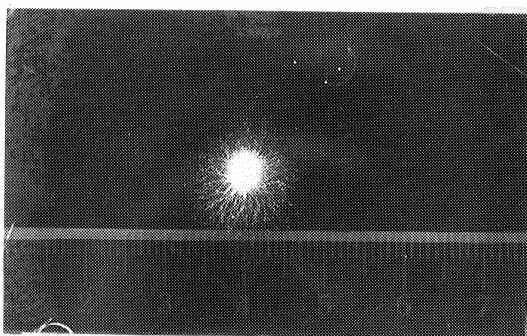


図3 アサの実に付着した集落
(培養4日目)

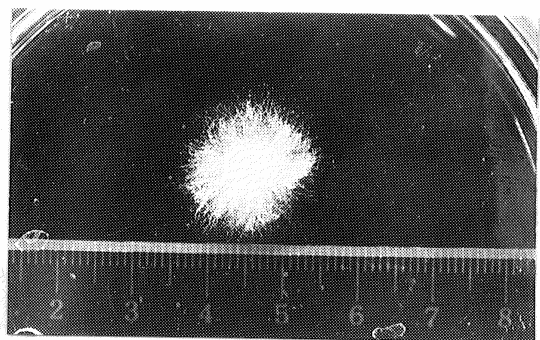


図4 アサの実に付着した集落
(培養5日目)

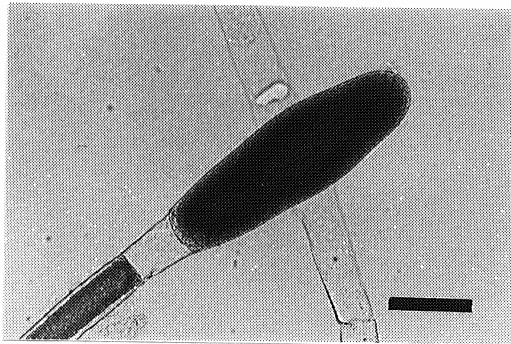


図5 ミズカビの遊走子嚢
(スケールは50 μ m)

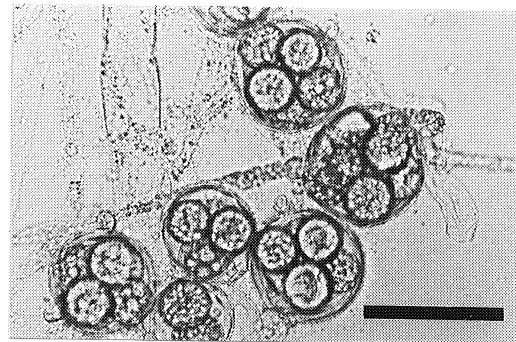


図6 造卵器中の卵胞子
(スケールは50 μ m)

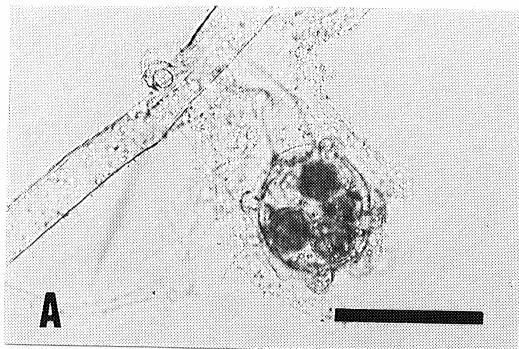


図7 A, B, ミズカビの造卵器と造精器 (造卵器の外側に造精器が
付着している) (スケールは50 μ m)