

# 粘菌 *Physarum* の細胞質と着色について

## *Physarum*

### Protoplasm and coloring

荒谷 寧音 前田 彩乃 間嶋 知葉 山本 萌加

Neo ARAYA, Ayano MAEDA, Tomoha MASHIMA, Moeka YAMAMOTO

## 1. 概要

変形菌の一種モジホコリ (*Physarum*) は単細胞生物でありながら記憶能力をもち、融合することで記憶を共有する。この記憶の共有は細胞質内に記憶物質が存在し、融合によって記憶物質が移動することによるものと考え、融合時に2個体を区別するために細胞質の着色実験を行った。

### 変形菌とは

菌類に似るがアメーバ状の時期とキノコ状の時期を繰り返す多核の単細胞生物である。アメーバ界、アメーバ動物門、変形菌綱に分類される。真性粘菌ともいう。いわゆる粘菌には運動性を持つアメーバ状の時期があるが、キノコ状になって胞子をつくる時期もあるため、古くは菌類の仲間と考えられた。粘菌のうち、アメーバ状の時期もキノコ状の時期も多核の単細胞のものを変形菌、両時期とも単核の多細胞のものを細胞性粘菌として区別された。体は変形体と呼ばれ、隔壁のない原形質塊をなし、湿地・朽木・枯葉上などでアメーバ運動を行い、従属栄養を営んでいる。また、世代交代が見られる。まず子実体をつくり、胞子を生じる。胞子は発芽し、粘菌アメーバが出現して、細菌を食べて増殖する。粘菌アメーバは接合し、細菌などを食べて変形体に成長する。変形体は核分裂はするが、細胞質分裂はせず多核の巨大な単細胞生物となる。

## 2. 研究動機・目的

本校の先輩の研究発表を聞いて、粘菌の生態について興味を持ち、粘菌が知性(学習能力)を持つこと、同種別個体が融合することで記憶が共有されることを知った。

記憶の共有は細胞質内に記憶物質が存在し、融合によって記憶物質が移動することによるものと仮定し、粘菌の結合時の細胞質の動きを観察するために個体を識別する方法として粘菌への着色を考えた。しかし、着色に関する先行研究はなかった。そこで、粘菌に害がなく着色できる物質・方法を調べる。

### 記憶とは

粘菌(変形体)は低温、乾燥などで環境が悪くなると分裂し子実体となる。この悪い環境は粘菌にとって刺激になり、この刺激に対する周期的な反応が見られることを記憶とした。

<低温を刺激とした場合の一例>

粘菌変形体は、好ましい環境下(気温25℃、湿度90%)では活発に移動する。あまり好ましくない環境(気温22℃、湿度60%)になると立ち止まる。この好ましくない環境を一定時間毎に3回繰り返すと、その都度粘菌は立ち止まった。その後、好ましい環境を維持していても、粘菌は自発的に立ち止まることがある。立ち止まるタイミングは、4回目や5回目の環境変化がくるであろうタイミングだった。これは、粘菌が3回の環境変動に続いて4回目、5回目を予測し、あらかじめ積極的に立ち止まったと考えられる。環境変動の後、しばらくすると粘菌は元通りに移動するようになった。その頃を見計らってもう一度だけ環境変動を与えた(1回だけの刺激なので周期性の情報はないことに注意)。すると、また周期的な自発的立ち止まりを見せた。しかも、その周期が先に経験した環境変動の周期と同じだった。これは、経験した周期を覚えていて再び思い出したと見なせる。粘菌にも、周期イベントを予測したり、記憶したり、想起する能力があることがわかった。(中垣.2010.参考文献①)

### 粘菌の細胞質流動とは

粘菌の変形体の表層はゲル状の原形質からなり、内部の分岐した流路をゾル状の原形質が極めて活発に流れている。変形体の細胞質流動はいわゆる往復原形質流動と呼ばれる型の原形質流動である。顕微鏡の下でゾルの流動を観察していると、流動は徐々に速くなり、もっとも速い時には1mm/秒程度にも達する。(中島.1960.参考文献②, 秦野.1988.参考文献③)

## 3. 研究方法・結果・考察

### 予備実験

粘菌を採集する。

(方法①)

5月~6月頃山で朽木や落葉を重点的に探索した。

(結果①)

アメーバ状の粘菌はみつけることができなかった。

(考察①)

- ・私たちの住む地域の近隣の山には生息していなかったのではないか。
- ・当時、粘菌に対する知識量が不足していたためではないか。

(方法②)

校内の倒木から樹皮を採取した。採取した倒木の種類はわかっていない。これを水のみで湿らせたキムワイプの上に置き、室温（約 20℃）の密閉容器内で暗室に放置した（湿室培養）。キムワイプが乾燥しないように定期的に水で湿らせた。（図 1）

(先行研究)

粘菌の湿室培養の方法について（松本・伊沢・2007.参考文献④）

(結果②)

約 1 ヶ月で粘菌がキムワイプの上に発生または成長した。（図 2）この粘菌を濃度 2%の寒天培地に移し、27℃の暗室で培養を続けた。

(考察②)

この実験で発生または成長した粘菌は、変形体の広がり方からモジホコリ属だと思われる。本研究の実験はすべてこの粘菌を用いて行った。



図 1 湿室培養の様子



図 2 発生・成長した粘菌

### 実験 1

粘菌の着色の方法を調べることを目的として、さまざまな着色方法、着色物質を試し、その後の粘菌の様子を観察した。

(先行研究)

変形体が原形質内に鉄粉のナノ粒子を取り込むことが確認されている。（Alice.2014.参考文献⑤, Richard.2013.参考文献⑥）

(方法)

・この実験では、パプリカ粉末（橙）、鉄粉（黒）、食紅（赤）、食紅（緑）の 4 種類の色素粒子を用いた。

・これらの色素粒子を用いた理由は、パプリカ粉末(橙)は身近であり植物由来の物質だったこと、鉄粉（黒）は先行研究に前例があったこと、食紅は代表的な着色料だったことである。

・また、用いた粘菌のエサはオートミールである。

観察方法は粘菌の細胞質内に色素粒子が取り込まれたかを実体顕微鏡を使って調べる。粒子の取り込み確認は細胞質流動中に色素粒子が共に流れているかで判断する。

〈色素粒子の説明〉

- ・パプリカ粉末（橙）

原材料：パプリカ

販売者：株式会社キャメル珈琲

- ・鉄粉（黒）

製造者：石津製薬株式会社

- ・食紅（赤）

原材料：コーンスターチ 90.0%、食用赤色 102 号 10.0%

製造者：つげもと株式会社

・食紅（緑）

原材料：コーンスターチ 94.0%、食用黄色 4 号 3.5%、食用青色 1 号 2.5%

製造者：つげもと株式会社

・食紅（青）

原材料：デキストリン 92%、食用青色 1 号 8%

製造者：共立食品株式会社

〈オートミールの説明〉

・日食プレミアム ピュア オートミール 300 g（実験 1 で使用）

原材料：オーツ麦（えん麦）

製造者：日本食品製造合資会社

・グラノーラ上級者さんのオートミール（実験 2、3、5 で使用）

原材料：オーツ麦

製造者：株式会社ライスアイランド

・具体的な着色の方法は以下の①～④である。

① 寒天に食紅（赤）、食紅（青）、食紅（緑）をそれぞれ混ぜて作った培地の上で粘菌を培養した。（図 3）

② 粘菌に食紅をかけて、葉さじで混ぜた。（図 4）

③ 水で溶かした食紅（赤）につけて着色したエサを乾燥させ、粘菌に与えた。（図 5）

④ 粉末状にしたエサにパプリカ粉末（橙）、鉄粉（黒）をそれぞれ混ぜ、数日間エサとして与えた。この時、エサと色素粒子との重量比は 1 : 1 とした。

・実験には、①～③は 2 個体、④は 3 個体の粘菌を使用した。



図 3 培地に色素を添加



図 4 粘菌に色素を混ぜる

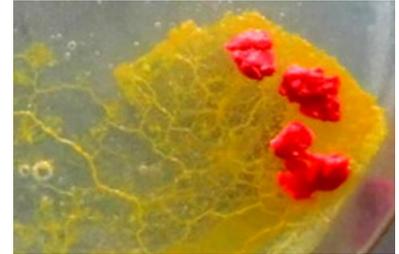


図 5 エサを着色し与える

（結果）

・①～③では着色されなかった。また、粘菌に変化はみられなかった。

・④ではパプリカ粉末（橙）、鉄粉（黒）ともに細胞質流動内にそれぞれの色素粒子の移動が観察され、取り込みが確認できた。しかし、数日間与え続けたところ子実体になってしまった。

（考察）

・(a)方法①～③より粘菌に直接色をつけるという意味での着色は難しいと考え、粘菌の細胞質内に粒子が取り込まれた状態を「着色された」として、実験することにした。

・(b)方法④で子実体になってしまったのは、色素粒子を混ぜたことでエサであるオートミールの密度が減り、粘菌が飢餓状態になってしまったからだと考えられる。

## 実験 2

粉末状にしたエサと色素粒子とを混ぜる際の適切な重量比を見つける。ここでの適切な比とは、粘菌に与え続けても子実体になってしまわない比とする。

（方法）

・粉末状にしたエサと色素粒子の重量比を変えて混ぜたものを粘菌に与えた。

・このとき用いた色素粒子はパプリカ粉末（橙）、鉄粉（黒）である。

・パプリカ粉末（橙）：エサの重量比は、1 : 3、1 : 4、1 : 5、1 : 6、1 : 7、1 : 10 のものをそれぞれ与えた。鉄粉（黒）：エサの重量比も同じ比でそれぞれ与えた。この実験は 1 週間行い、その期間内の粘菌の様子を観察した。

(結果)

1:10 のみがパプリカ粉末 (橙)、鉄粉 (黒) とともに子実体にならなかった。(表 1)

	エサ : 色素粒子 (重量比)					
	1 : 3	1 : 4	1 : 5	1 : 6	1 : 7	1 : 10
パプリカ粉末 (橙)	×	×	×	×	×	○
鉄粉 (黒)	×	×	×	×	×	○

×…子実体になってしまったもの      ○…子実体にならなかったもの

表 1 実験 2 の結果

(考察)

色素粒子 : エサの重量比は 1 : 10 が最適であると考えられる。

### 実験 3

適切な比で着色方法、着色物質を試し、その後の粘菌の様子を観察する。

(方法)

粉末状にしたエサにパプリカ粉末 (橙) を混ぜて、粘菌①~③に与え 1 時間ごとに計 7 時間実体顕微鏡で色素粒子の取り込みを観察した。鉄粉 (黒)、食紅 (赤)、食紅 (緑) も同様に粘菌に与えた。色素粒子とエサの重量比は**実験 2**の結果より 1:10 とした。(図 6~9)



図 6 パプリカ粉末 (橙)



図 7 鉄粉 (黒)

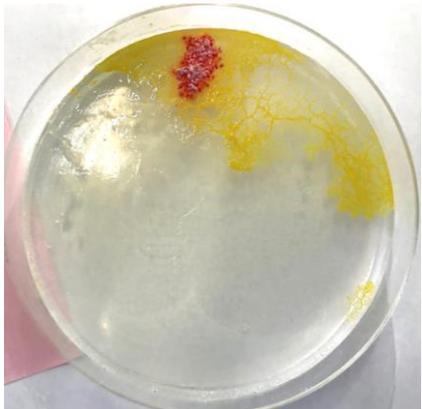


図 8 食紅 (赤)

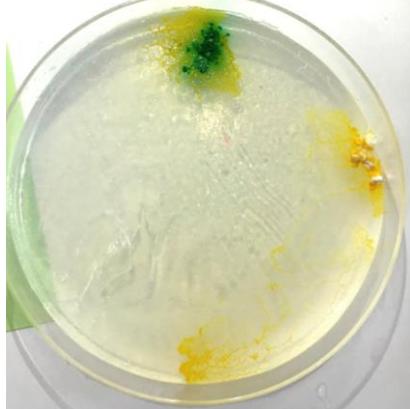


図 9 食紅 (緑)

(結果)

- どの色素粒子も一度は取り込みが確認できた。(表 2)
- 鉄粉 (黒)、食紅 (赤) は比較的早くからの取り込みが確認できた。パプリカ粉末 (橙) では取り込みが確認できない個体もあった。また、最も安定した取り込みが確認できたのは食紅 (緑) だった。
- 食紅 (赤) は目視で数が数えられない程度多く、均等に取り込まれていた。
- 食紅 (緑) は最も多く取り込まれていた。実体顕微鏡を使わなくても緑だとわかる程度取り込まれていた。(図 10)

- ・パプリカ粉末（橙）は取り込まれた粒子の数が少なく、目視で数えられる程度だった。
- ・鉄粉（黒）は目視で数えられる程度だが、パプリカ粉末（橙）に比べて取り込まれた粒子の数は多かった。
- ・どれも主にエサを置いた所の周辺で取り込みが確認できた。

		1h 後	2h 後	3h 後	4h 後	5h 後	6h 後	7h 後
パプリカ粉末（橙）	①							
	②							
	③							
鉄粉（黒）	①							
	②							
	③							
食紅（赤）	①							
	②							
	③							
食紅（緑）	①							
	②							
	③							

■ ...取り込みが確認された個体 □ ...確認されなかった個体

①～③は、個体番号

表 2 実験 3 の結果

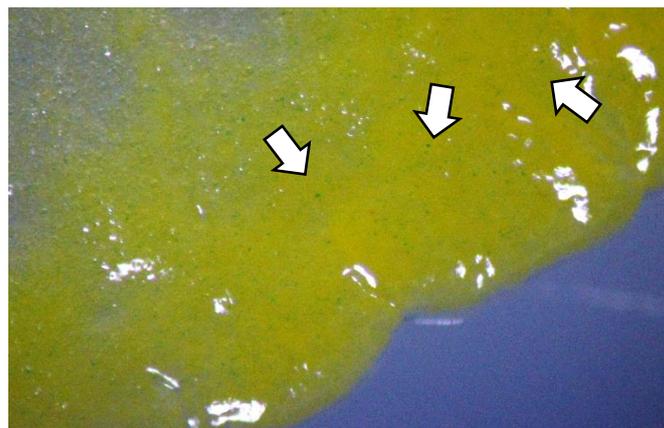


図 10 食紅（緑）（矢印）が取り込まれた様子

（考察）

- ・ (a) 色素粒子によって取り込まれ方に差が見られたのは、各色素粒子の特性によるものではないかと考えられる。
- ・ (b) エサを置いた所の周辺以外の細胞質の外で色素粒子が見られたので、一度取り込まれ、流入してきた色素粒子が排出されたと考えられる。そのため食紅赤③のように 1h 後に取り込みが確認できたが、2h 後には排出され、確認出来なかったものが生じたと思われる。
- ・ (c) (b)よりエサを一箇所において粘菌全体に取り込ませるのは難しいと考える。ただし、食紅（緑）は比較的広い範囲で細胞質流動内を粒子が移動していて、翌日の観察でも取り込みが確認されたため、着色において有効な物質だと考えられる。

#### 実験 4

実験 3 の考察(a)について、色素粒子の特性を探るために観察を行った。

（方法）

生物顕微鏡を使い、実験 3 で用いたパプリカ粉末（橙）、食紅（赤）、食紅（緑）を観察し、マイクロメーターで色素粒子の大きさ（直径）を測定する。鉄粉（黒）については特性が判明していたため観察を行っていない。（鉄粉（黒）の大きさ：45 $\mu$ m）

(結果)

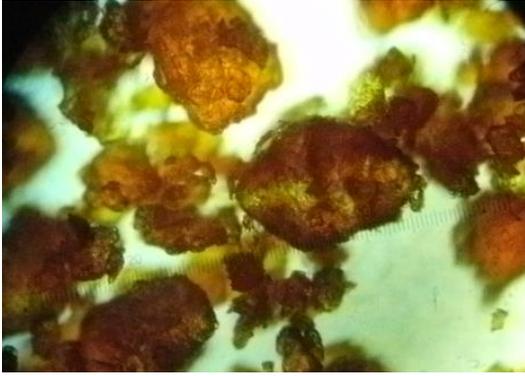


図 11 パプリカ粉末 (橙)

- ・パプリカ粉末 (橙) (図 11)  
原材料：パプリカ  
濃度：高い  
粒子の大きさ：1.3 $\mu\text{m}$ ~5.5 $\mu\text{m}$  と大きさの幅が大きく、平均は無意味と考えられる  
様子：食紅に比べてはるかに大きいものがあり、形がいろいろであった  
全体的に形、大きさが不揃いだった

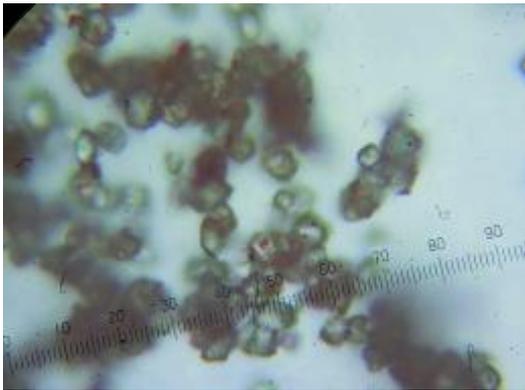


図 12 食紅 (赤)

- ・食紅 (赤) (図 12)  
原材料：コーンスターチ、食用色素 102 号  
濃度：低い  
粒子の大きさ：平均 2.5 $\mu\text{m}$   
様子：粒子の大きさは均一だった

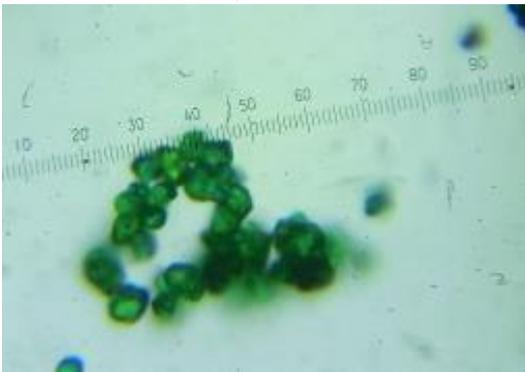


図 13 食紅 (緑)

- ・食紅 (緑) (図 13)  
原材料：コーンスターチ、食用黄色 4 号、食用青色 1 号  
濃度：高い  
粒子の大きさ：平均 6.2 $\mu\text{m}$   
様子：粒子の大きさは均一だった

(考察)

実験 3、実験 4 の結果から、食紅 (緑) の取り込みが最も安定していたのは、食紅 (緑) 中の色素粒子の濃度が高かったからではないかと考えられ、食紅 (赤) で取り込みが不安定な個体が見られたのは、食紅 (赤) 中の色素粒子の濃度が低かったからではないかと考えられる。また、パプリカ粉末 (橙) の取り込みがあまり確認できなかったのは、パプリカ粉末 (橙) が食紅 (赤、緑) と比較して粒子が大きかったからではないかと考えられる。ただし、私たちが用いた食紅 (赤) での結果は、劣化によるものである可能性も考えられる。

## 実験 5

異なる色素粒子で着色した 2 個体を融合させ、そのときの細胞質の様子と色素粒子の動きを実体顕微鏡で観察する。また、用いる粘菌は、予備実験で採集した変形体 1 個体を分けて培養したもので、これらを融合させる。

(方法)

食紅 (緑) で着色した個体 (図 14) と鉄粉 (黒) で着色した個体 (図 15) を同じ寒天培地の上に移動させ (図 16)、融合させた (これを 1 セットとする)。着色方法は実験 3 の方法を用いた。実験は 3 セット行い、1 時間毎に観察した。色素粒子を取り込んでも随時排出してしまうため、粘菌が移動している部分に 1 時間毎に色素粒子を混ぜたエサを与え続けた。

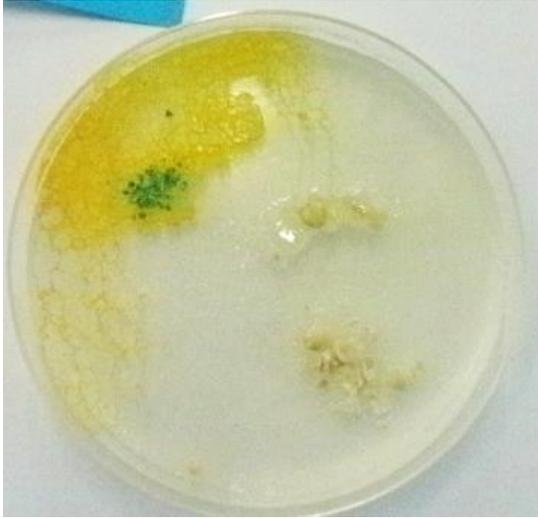


図 1 4 食紅（緑）を取り込ませた粘菌

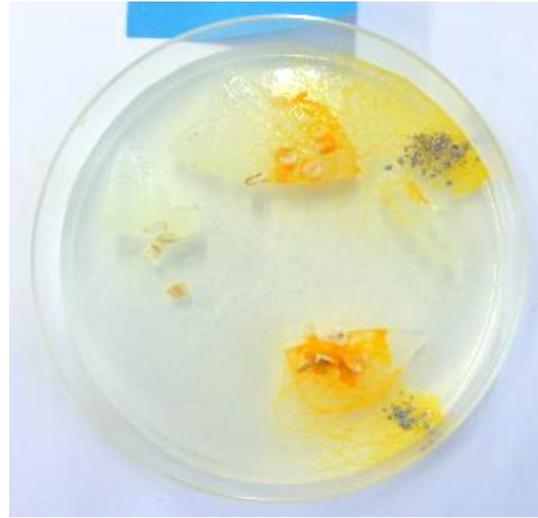


図 1 5 鉄粉（黒）を取り込ませた粘菌



図 1 6 同じ培地上に移動した後の様子  
上：食紅（緑）を取り込ませた粘菌  
下：鉄粉（黒）を取り込ませた粘菌

(結果)

- ・ 同じ培地に移動させてから約 6 時間で融合した。(図 17)
- ・ 融合した部分が厚くなり、その部分で活発な細胞質流動が見られた。
- ・ 食紅（緑）で着色した個体側に鉄粉（黒）が流入した。鉄粉（黒）で着色した個体側も同様に食紅（緑）が流入した。これは一部分のみが融合したときにも見られた。



図17 融合させたときの様子  
左：食紅（緑）を取り込ませた粘菌  
右：鉄粉（黒）を取り込ませた粘菌

（考察）

- ・粘菌は融合したとき、色素粒子が流入したことから細胞質が共有されていると考えられる。
- ・粘菌の変形体で行われる細胞質流動によって、互いに色素粒子が流入したと考えられる。

#### 4. 結論

- ・粘菌に害がなく着色するには、色素物質として、食紅（緑）、鉄粉（黒）が有効である。
- ・着色方法として、色素粒子と粉末状にしたエサを重量比 1:10 で混ぜたものを与えて色素粒子を取り込ませる方法が最適である。
- ・粘菌は融合したとき、細胞質を共有する。

#### 5. 参考文献

- ① 中垣俊之“粘菌の記憶と迷いのエソロジカルダイナミクス”数理解析研究所講究録 第 1704 巻 2010,p.165-171
- ② 中島宏通“粘菌の原形質流動—収縮性蛋白質と ATP との相互作用”生体の科学 1960.4.15,11 巻 2 号,p.67-73
- ③ 秦野節司“往復原形質流動：粘菌”生体の科学 1988.4.15,39 巻 2 号,p.138-142
- ④ 松本淳、伊沢正名“粘菌～驚くべき生命力の謎～”（株）誠文堂新光社 2007.4.30
- ⑤ Alice Dimonte “Magnetic Nanoparticles-loaded Physarum Polycephalum: Directed Growth and Particles Distribution” Interdiscip Sci Comput Life Sci 2014 6: 1–9
- ⑥ Richard Mayne “On the internalisation, intraplasmodial carriage and excretion of metallic nanoparticles in the slime mould Physarum polycephalum”  
<https://www.researchgate.net/publication/258083274>, October 2013

#### 6. 謝辞

この研究にあたり、スクレロチウム（皮体、菌核）の譲渡及び粘菌についての資料の提供など、様々な面でアドバイスをくださった琉球大学工学部工学科知能情報コース國田助教にこの場を借りて深くお礼申し上げます。また、担当教員として私たちの研究を見守ってくださった大砂古先生、林先生、本当にありがとうございました。