

特集：SS リーグ研究報告

変形菌モジホコリの生きていく戦略とは～酸性の環境と微生物との関係について～

吉橋 佑馬（兵庫県立三田祥雲館高等学校 1年）

■背景

変形菌モジホコリ *Physarum polycephalum* の変形体はある種の食品に対し、阻止円を作る。これまでの研究で、阻止円形成には塩分と酸が関係していることを明らかにしたが、その過程で不思議だったのは、一見、塩分も酸も含まれていないように見える納豆に対し阻止円が形成されたことである。そこで、納豆に対する阻止円形成要因を調べた結果、納豆特有のにおい成分のイソ酪酸など酸性物質が関与していることがわかった。

■目的

モジホコリの変形体は酸に対し強い拒否反応を示すが、このことが自然界で生きている「生き物としての変形菌」にどのような意味があるのか。これまでの結果を進展させ、阻止円形成に関与する酸性の条件と、変形体と他の微生物との関係を明らかにし、変形菌が自然界で生きていく戦略を探る。

■テーマ1：変形体に影響を与える酸性の条件

1) 酸の濃度勾配と阻止円形成の関係

物質が寒天培地に浸透していく際、原点から遠ざかるにつれ濃度に勾配ができる。阻止円内では、この濃度勾配が生じていると考えられる。変形体が濃度勾配のどの地点で阻止円を形成しているのかを検証し、酸の濃度との関係を明らかにする。

◇方法

寒天培地上に A (100%穀物酢)、B (10%穀物酢、0.3%酢酸) の濃度勾配を作り、メチルオレンジ入り寒天培地と比較し、阻止円形成部位の pH を推定する。

◇結果と考察

A の結果より、酢の進捗と阻止円形成地点はほぼ同じで、メチルオレンジ培地が pH3~4 の反応色を示したことから、阻止円は pH3~4 で形成するといえる (図1)。また、B の結果をみると、阻止円の半径が極端に小さくなったことから (図2)、阻止円の形成には一定濃度の酸が関係していると考えられる。

図1：Aの結果



(100%穀物酢)

図2：Bの結果



(10%穀物酢) (0.3%酢酸)

2) 酸性雨 (自然環境での酸性環境) は変形体に影響するか

モジホコリの変形体は、酸に弱い。自然界における酸性環境として、近年、問題になっている酸性雨の影響を検証する。

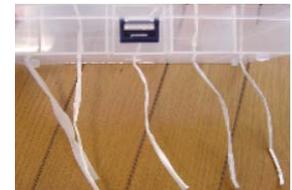
◇方法

降雨状態を再現するため、試料をこより状にしたろ紙から滴下する装置を考案した (図3)。酸性雨の硫酸濃度 20 μ N の近似値 1.4/100mN と、酸性雨の硝酸濃度 25 μ N の近似値 0.42/10mN を基準として (※1) 酸性雨濃度、その 10 倍、100 倍、500 倍、1000 倍、5000 倍の濃度の酸に対する変形体の反応を観察した。

図3：実験装置 (装置俯瞰)



(装置上部)



◇結果と考察

変形体は酸性雨濃度の酸に対して顕著な変化を示さなかった。唯一、5000 倍の濃度の硝酸に対しては反応が認められたが、このような濃度は実際の酸性雨では考えられない。本実験により、変形体は短期的には酸性雨の影響を受けていないと考えられた。ただし、生育環境に長期にわたり酸が蓄積した際などに影響を受けている可能性も否定できず、この結果だけから酸性雨は影響が無いと判断することはできない。

3) 濃度以外にどのような条件が阻止円形成に関与するのか

納豆のにおい成分である低級分岐脂肪酸の主要 3 成分 (イソ吉草酸、イソ酪酸、2-メチル酪酸) に対する前回の実験では、0.3% の同濃度の溶液を使ったにもかかわらず、イソ酪酸しか反応しなかった。イソ酪酸とイソ吉草酸は、pKa (酸度) は 4.8 で同じだが、分子量が異なる (イソ酪酸の分子量は 88.11、イソ吉草酸は 102.05)。分子量は阻止円形成に関係があるかを検証する。

◇方法

イソ酪酸は酪酸の構造異性体である。そこで、pKa がイソ酪酸、酪酸と同じ 4.8 であるが、分子量の異なるプロピオン酸に対する反応を比較観察する。

※酪酸の分子量は 88.11、プロピオン酸の分子量は 74.08

◇結果と考察

酪酸にもプロピオン酸にも半径 3 cm~3.5 cm の阻止円を形成した。

変形体の阻止円形成には分子量は直接には影響しておらず、濃度が重要だとわかった。しかし、濃度だけでは反応の違いが説明

できないため、酸の性質の違いを調べたところ、イソ酪酸、酪酸、プロピオン酸には腐食性があり、イソ吉草酸には腐食性がないことがわかった。細胞壁を持たない変形体にとって、腐食性は危険要因である。腐食性の有無が反応の違いを生じたと考えられる。阻止円形成には、腐食性という酸の性質が関係している可能性が考えられる。

■テーマ2：他の微生物と変形体の関係について

1) 微生物と変形体との関係(培地の違いによる反応の検証)

◇実験に使った微生物

カビ：アオカビ *Penicillium roqueforti*、クサレケカビ *Mortirella elongata*、キコウジカビ *Aspergillus oryzae*、ヒゲカビ *Phycomyces nitens*

細菌：枯草菌(納豆菌) *Bacillus subtilis*

◇方法

I：ポテトデキストロース液体培地で、5種の微生物それぞれと変形体を対峙培養し、比較観察。

II：コーンミール寒天培地で対峙培養し、比較観察。

III：麦芽エクストラクト液体培地で対峙培養し、比較観察。

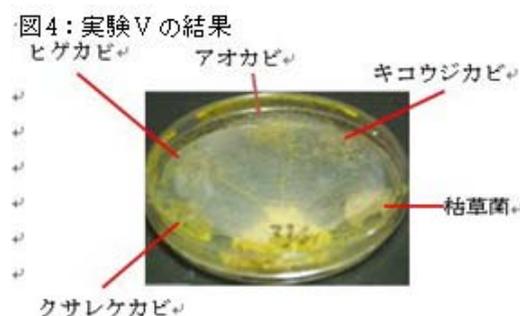
IV：微生物を投入後2日おいて変形体を投入し、比較観察。

V：1つのシャーレに5種の微生物を混在させ、変形体を投入。

※I～IIIは、培地(環境)の違いによる優劣の比較検証。IVは、微生物に成長の猶予を与えるとどうなるか。Vは、自然に近い状態での比較を意図した。

◇結果と考察

実験I～Vのいずれの場合も、変形体が培地を占領した。特に実験Vでは、変形体が他の微生物を標的として摂食しているかの様子が認められた(図4)。移植後2日程度の時間差なら、移動速度が圧倒的に速い変形体の方が有利であると考えられる。



2) 微生物の酸性環境に対する反応

変形体は酸に弱いですが、他の微生物はどうかを検証した。

2-1) 変形体が反応しない酸濃度(酸性雨濃度の検証)

◇方法

5種の微生物それぞれに、24時間ごとに酸性雨濃度の硫酸と硝酸の混合溶液を1mlずつ滴下し、2日間観察。

◇結果

どの微生物も顕著には反応せず、生育にはほぼ影響が無かった。

2-2) 変形体が反応した酸濃度(穀物酢での検証)

変形体を穀物酢入りの培地で培養するとオレンジ色に変色し動かなくなる(図5)。この濃度での反応を比較検証する。

図5：酸の影響を受け変色した変形体



◇方法

5種の微生物のコロニーに希釈していない穀物酢を1mlずつ滴下し、2日間観察。

◇結果

影響なく増殖したので、カビと枯草菌は今回実施した程度の酸に対しては十分に耐性があると考えられる。

■全体の考察

阻止円の形成には、pH3～4の一定濃度以上の酸が関わること、また、特に酸の濃度が大きな要因となっていることがわかった。では、同濃度のイソ酪酸とイソ吉草酸に対する反応はなぜ違うのか。イソ吉草酸にはなくイソ酪酸には認められる腐食性が反応の違いに関係していると考えられる。細胞壁がなく細胞膜がむき出しの変形体にとって腐食性は大きな危険要因だろう。ある種の酸が有する「腐食性」も阻止円形成に関与している可能性がある。

今回の条件下では変形体は他の微生物より旺盛に生育したが、細胞壁を持つ微生物は変形体よりも酸に対して耐性があった。温度、湿度、土壌の性質など他の様々な環境要因についても今後、比較が必要だが、変形体は「動く」という特質を活かし、他の微生物が勢力を増す前に、素早く移動して危機を回避するのではないかと。つまり、変形体は細胞壁で身を守るのではなく、「動く」ことで阻止円を形成して、危険因子(濃い酸、腐食性など)を回避している。より良い環境に能動的に移動し成長するという点で変形体は動物的な戦略を選んだと結論づけられる。

■今後の展開

イソ吉草酸とイソ酪酸の反応の違いの要因として考えられる腐食性についての検証が不十分なので、今後さらなる検証が必要である。また、これまで酸性環境に絞って実験を行ってきたが、アルカリ性など様々な条件下での検証も必要と考えられる。

今回、着手したばかりの他の微生物との相互作用については今後、様々な条件下での検証が不可欠である。シャーレ内という特殊環境に加え、より自然に近い状態での比較観察が必要と考える。

■参考ホームページ

(※1) 富山県立大学川上研究室「酸性雨の分析と評価」<http://www.pu-toyama.ac.jp/ES/kawabac/anal.htm>

Communicated by Yosuke Degawa, Received June 6, 2012.