ゾウリムシの飼育法

■はじめに

ゾウリムシは、薄めた麦茶やウーロン茶でも比較的簡単に飼育することができるが、研究の現場では、稲わら培養液やレタスジュース培養液が用いられる。ここでは、稲わら培養液とレタスジュース培養液による飼育方法を記述する。

＜稲わら培養液による飼育法＞

■材料

・**ゾウリムシ**（*Paramecium caudatum*）

・**稲わら**：無農薬のものが望ましい。

■器具

・**鍋または、ビーカー**

・**培養瓶**：三角フラスコなど　（コーヒーの空きビンなどでも良い。）

■手順

（１）ゾウリムシ培養液の調整法

①稲わら５本程度を約 8 cm 程度に切る。

②1000 ml の蒸留水が入った鍋に切ったわらを入れる。

③鍋を火にかけ、15 分沸騰させる。

④完全に冷ます。

（２）ゾウリムシの植え継ぎ

①約 300 ml の容器に冷ました培養液を 200 ml 入れる[注1]。

②ゾウリムシの懸濁液 1-2 ml [注2]を、①の培養液に入れる。

③蓋[注3]をして、直射日光のあたらない室温で培養する（図１）[注4]。

図１　稲わら培養液による飼育

④ゾウリムシを維持する目的ならば、１～３か月に１回の頻度で植え継ぐ。実習などで、大量にゾウリムシが必要な場合には、必要な日の２週間前くらいに植え継ぐとよい。

■ポイントとトラブルシューティング

注1：ゾウリムシの餌となるバクテリアの繁殖のために、稲わらを入れたまま培養液として使用する。

注2：負の走地性のため、水面近くの培養液に、ゾウリムシが集まっているので、この部分をゾウリムシ懸濁液として植え継ぐ。

注3：密閉せず、通気性のよい状態を保つため、スポンジや紙で蓋をする。

注4：増殖最適温度は、26℃といわれているが、維持する目的なら、室温で増殖した後、10℃くらいの低温で維持する。

＜レタスジュース培養液による飼育法＞

■材料

- **ゾウリムシ**（*Paramecium caudatum*）
- **エサ用バクテリア　桿菌　（*Klebsiella pneumoniae*）**
- **レタス**：無農薬のものが望ましい。
- $CaCO_3$
- **グルコース**
- **アガロース**
- **イーストエクストラクト**

■器具

- **鍋**：レタスをゆでる時に使用。
- **ピンセット、箸**：レタスをゆでる時に使用。
- **濾紙、キムワイプ®**
- **ビニール袋**
- **乳棒・乳鉢**:乾燥レタスを粉末にする時に使用。
- **乾燥剤**
- **培養瓶**：三角フラスコなど
- **三角フラスコ**：寒天培地、ゾウリムシ培地作成時に使用。
- **オートクレーブ**
- **オーブン**
- **滅菌シャーレまたは、栓つき滅菌試験管**：バクテリア培養用
- **白金耳**：バクテリア植え継ぎ用

■手順

（１）乾燥レタス粉末の調整法

①レタスの葉は、変色した部分や硬く白い部分は除き、よく洗う。

②沸騰水で、30～60 秒茹で、すぐに冷水にとり、その後、水気を切る。

③水切りした葉は、濾紙の上に１枚ずつ丁寧に広げ、キムワイプ®等で水分をふき取る。

④濾紙ごと 120℃のオーブンに入れ、焦がさないように完全に乾燥させる。[注5]

⑤乾燥した葉は、乾いたビニール袋に入れ、よくもんで粉にする。さらに、乳棒と乳鉢で細かい均一な粉末する。

⑥乾燥剤を入れた容器に入れて室温で保存する(図２)。[注6]

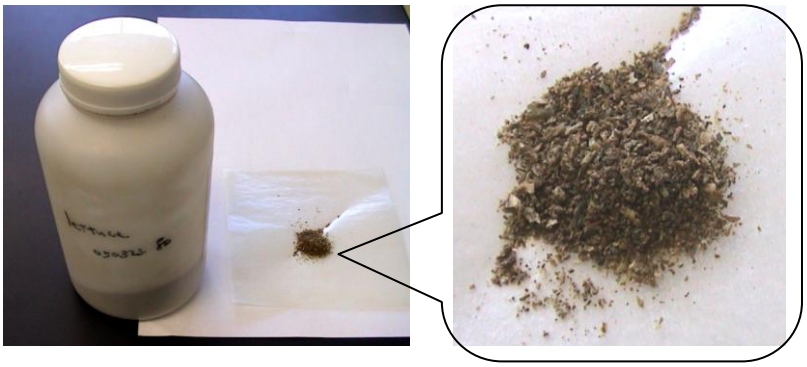

図２　乾燥レタス粉末保存瓶と粉末

（２）レタスジュース培養液の調整法

①１ℓのフラスコに 700～800ml の蒸留水と乾燥レタス粉末 0.5g を加え、加熱し、5 分沸騰させる。

②$CaCO_3$ 少量（耳かき１杯程度）を加え、蒸留水で１リットルにメスアップする。

③アルミ箔で蓋をして、オートクレーブ（121℃、15 分）で滅菌する(図３右)。

（３）桿菌（*Klebsiella pneumoniae* ）の培養法

①アガロース 20g、グルコース 0.16g、イーストエクストラクト 4g[注7]を 800ml の水に溶かし、121℃ 15 分　オートクレーブにかけ、寒天培地を作る。

②滅菌したシャーレや試験管に寒天培地を分注し、固める。試験管を使用する場合は、試験管の高さの半分くらいまで寒天培地を注ぎ、寒天が固まる前に、試験管の口のほうをやや高くして、横に倒し、スラントをつくる。

③クリーンベンチ内で、*K. pneumoniae* を白金耳で寒天面に塗布し室温で培養する(図３左)[注8、注9]。

図３　レタス培養液（右）と *Klebsiella pneumoniae* 培養プレート･白金耳(左)

（４）ゾウリムシの植え継ぎ

①餌バクテリアとして *K. pneumoniae* の培養容器にゾウリムシ培養液を少量加え、バクテリアを洗い流すようにして、バクテリア懸濁液を作る。

②レタスジュース培養液に、バクテリア懸濁液とゾウリムシを入れる。

③蓋をして、直射日光のあたらない室温で培養する。

④ゾウリムシを維持する目的ならば、１～３か月に１回の頻度で植え継ぐ。実習などで、大量にゾウリムシが必要な場合には、必要な日の 2 週間前くらいに植え継ぐとよい。

■ポイントとトラブルシューティング

注5：オーブンでの乾燥は、場所によって温度ムラがでるため、5～１０分置きに場所を移動させながら、乾燥状態をチェックする。普通 10～30 分くらいで乾燥する。

注6：温度差があると湿気を帯びやすいので、室温で保存する。

注7：*K. pneumoniae* は、最低培地で育つので、グルコースと無機塩類が含まれていればよい。

注8：乾燥に気をつけて、室温で培養し、２～３か月ごとに植え継ぐとよい。

注9：*K. pneumoniae* を培養した培地は、オートクレーブにかけ滅菌後、廃棄する。

■参考文献

重中義信　監修　(1988)　原生動物の観察と実験法、共立出版