

新しい生物実験の開発

—創造と発見の喜びのある実験—

大阪府高等学校生物教育研究会

発刊にあたって

大阪府高等学校生物教育研究会 会長 野上茂郎

高等学校の生物教育のなかで、実験の役割はひじょうに大きく、従来から極めて重視されてきました。新しい教育がねらっている、生徒が創造と発見の喜びを感じ得ることを十分に達成するためには、教授者の絶えない努力と創意、そして、周到な準備が不可欠であります。そのためには、豊富で適切な実験資料が必要になります。

本書は、本会員が、足掛け5年にわたって、「新しい生物実験」を主題として開発してきたものを整理し、新しい観点から全面的な修正、加筆をして、生物教育担当者に、実験指導の資料を提供するために編集したものです。

したがって、資料は手近かで意味のあるもの、実験器具の創意や便覧的なものを採録しました。生物教育担当者が、本書を座右におかれて、なんらかの参考にしていただけたら、本会の喜びとするところであります。

この研究、発刊あたって、大阪府科学教育センターの元所長、久世源太郎先生をはじめ、同センターの諸先生から多大なご指導を賜りました。ここに厚くお礼を申しあげるとともに、終始熱心にご協力いただいた会員の方々に謝意を表します。

発刊を祝して

大阪府高等学校生物教育研究会 顧問 久世源太郎
元 大阪府科学教育センター 所長

このたび、大阪府高等学校生物教育研究会が本書を発刊されますことを心からお喜び申します。

私、当研究会とは大阪府科学教育センター在職15年間と退職後5年間、20年にわたり長いおつきあいを頂いておりますが、この5年間「新しい生物実験」の開発に示された会員の先生方の熱意には、会合に出席するたびに心を打たれるものがありました。この研究はもともと会員相互の勉強のために始められたことを知っているだけにその感を深くします。その結果を一冊に纏められたことは大変喜ばしいことです。本書を手にされる先生方はさらに工夫され、創意を盛り込まれ、先生方御自身の実験として生徒の前に展開されることが大切と思います。一言お祝いの言葉に添えて申しあげました。

「新しい生物実験の開発」発刊に際して

理科教育をめぐる最近の動きは実にめまぐるしい。例えば、現代化、探究学習、共通一次、理科Iと選択生物……など。つまり、「何を」、「どのように教えるか」、云いかえると「内容」、「方法」ともに変化しつつある。加えて、95%を越える進学率の中で多様化してきた生徒に、常に興味をもたせつつ実験・実習を通して知識を得させ、同時に自然科学の方法を学ばせるためには、かなりの準備と工夫が必要である。しかも、1学級47名の生徒に対し、50分間で授業は終らねばならない。これは容易なことではないが、でも、やらねばならない。やる以上は、満足できる結果を得たい。生徒達が目を輝かしながら実験・実習にとり組み、そして得た結果を語りあっているのを見たとき、私達は実験をしてよかったという喜びを味わう。そのような実験とは、生徒達にとって、新鮮な感動のあるものでなければならないし、創造と発見の喜びのあるものであると思う。決して容易なことではないが、このような楽しい実験・実習を工夫し開発することが必要である。そのためには、実験材料を確保したり、装置や器具も自作したり工夫する必要がある。私達は、これらを「実験開発」と呼んだ。つまり、実験開発とは、「教材生物の開発」、「教材化の研究と実践」、「実験方法の改良や工夫」、「装置・器具の改良や自作」、「評価の工夫」など、広い範囲にわたる。

実験開発のための研究は、昭51年から、数名の有志によってスタートした。翌年からは大阪府高等学校生物教育研究会の研究活動の1つの柱として位置づけられ、以来、ほぼ毎月1回の割合で会合を重ね、今日に至っている。発足当初は新しい実験開発のためのプロジェクトチームという意味から、「実験開発委員会」と呼んでいたが、昭和55年度からは「実験開発研修会」と改めた。定例の会合では、2～3名の方から話題提供をうけ、討論と経験交流をする。その後、学校施設の見学と教材生物の交換をすることが主な内容である。話題提供をうけたものは中間報告集に掲載すると共に、日本生物教育会全国大会に報告し、全国の先生方のご批判を得るように努めた。今回の出版は、6年間の研究の成果を集大成したもので、私達は、次の新しい研究活動への礎にしたいと考えている。ぜひ全国の先生方のご意見、ご批判をお願いしたい。

なお、この実験開発の活動に対し、昭和53、54年度、文部省より奨励研究費をうけたことを報告し感謝の意を表したい。また、終始ご指導をいただいた前大阪府科学教育センター所長、久世源太郎先生、貴重なご意見をいただいた前大阪大学教授 今堀宏三先生、大阪府立大学教授 松谷幸司先生、研究会の活動をご指導ご支援願った大阪府科学教育センター生物室長、矢部晨先生をはじめ、同教室の諸先生方に対し、深甚の謝意を表する次第である。 (府立岸和田高校 萱村善彦 記)

目 次

I. 実験材料

1. 野外の材料

1. 雑草種子の教材化 — 発芽の生態を中心に — 7
2. 身近な自然から入手できる教科生物とその利用法 9
3. タンポポの教材化 — 多目的教材としての活用 — 13
4. 雑草の花ごよみを作る 18
5. ミツバチの飼育と教材化の試み 20

2. 飼育・培養・購入

6. 種子・飼料・卵・小動物とそれらを使った実験一覧 22
7. 教材生物開発のための基礎的検討 24

II. 実験指針

8. 薬品の管理・実験後の処理・事故対策 27
9. 生物体を構成する物質の分析 31
10. 実験データの検討 36

III. 実験編

A. 生物体の形成

1. 細胞とその分裂

11. タマネギの細胞観察の新しい展開 41
12. 動物細胞の培養とその教材化 43
13. 多核細胞の観察 — ネダシグサを使って — 45
14. 体細胞分裂の観察 — ヌمامラサキツクサの扱い — 48
15. フォイルゲンの核染色法による体細胞分裂の観察 50
16. 細胞膜の性質 — 透過性を目で見る — 52
17. 原形質分離と吸水 — ツツジ花卉細胞の浸透圧測定 — 54
18. 原形質流動 — 興味ある細胞観察 — 56

2. 細胞から組織へ

19. 気孔の分化の観察	58
20. ボルボックスの生長	62
21. 細胞性粘菌の教材化	64
22. 植物の組織培養 — 授業への導入 —	66
23. 植物の組織培養の生徒実験での扱い	70
24. 分離根の培養 — エンドウの根の生長 —	73
25. 植物の形態の観察の一方方法	75
26. 菌糸体の生長の簡単な測定 — エノキダケの菌糸について —	77
27. ウニの殻の成長を殻板の計測から推測する方法	79
28. プラナリアの再生	81

3. 生殖

29. 遊走子・配偶子の観察 — ミゾジュズモを使っての方法 —	83
30. 糸状菌の簡単な分離と培養法 — ピンホールカバーグラス培養法と孔あきセル法 —	86
31. コケ植物の教材化	90
32. シダの培養 — 無菌的に孢子を播くために —	92
33. 減数分裂 — 古い教材生物と新しい教材生物 —	94
34. 花粉を使った実験	96
35. ミズクラゲの教材化	98

4. 発生

36. 植物の胚発生の観察と実験について	103
37. ウニの発生	106
38. 両生類の発生 — 胚内部構造の簡単な観察法 —	108
39. ニワトリの発生	110

B. 物質交代

1. 酵素

40. だ液アミラーゼの個人差	113
41. 酵素反応と水素イオン濃度の関係 — オブラートを使った実験 —	115
42. 酵素のはたらきをしらべるいろいろな定性実験	116

2. 発酵と呼吸

43. フェノールフタレンを使ったアルコール発酵の実験	120
44. 簡易検容計によるアルコール発酵の測定	122
45. 呼吸の測定 — 簡易装置の工夫 —	124
46. 呼吸の実験の1つの試み — バリタ水を使用して —	126

3. 光合成

47. 光合成に関する定性実験	128
48. 陸生植物葉の光合成の測定 — 自作検容計 —	130
49. 光合成明反応の実験 — 葉緑体の分離と DCIP の還元 —	132
50. C ₃ 植物と C ₄ 植物の光合成活性の組織化学的観察	134

4. 窒素代謝

51. 植物の硝酸塩に関する実験	138
52. 空中窒素固定細菌：アゾトバクターの教材化	140

C. 遺伝

1. 遺伝と変異

53. 動物の染色体の観察 — 姉妹染色体の分染法 —	146
54. カエルの染色体 — 鮮明な染色体像を観察するために —	148
55. 酵母菌を用いての菌の分離と栄養要求の実験	150
56. 紫外線による酵母の呼吸欠損菌の誘導	153
57. 環境変異原の生物への影響 — 突然変異と個体の死 —	155

2. 遺伝子と形質発現

58. アカパンカビ — 変異体のいろいろとその保存を中心に —	157
59. キイロショウジョウバエの眼色々素に関する実験	159
60. 大腸菌からの DNA の抽出とその性質についての実験	161
61. 大腸菌を用いて DNA の働きをさぐる実験 — DNA 修復能と細胞の生死・突然変異 —	163
62. 植物からの RNA の抽出とゲル電気泳動法による分離	165
63. ファージの頭部と尾部の試験管内での組み立て	169

D. 恒常性と調節

1. 動物の行動

64. アルテミアの教材化 — 耐塩性・走光性を調べる実験 —	171
65. ハエトリグモの行動実験 その1 縄張り制の実験教材 その2 生得的行動について	176 178
66. 蚊類成虫の日周活動と季節的変動 — ライト・トラップの作成 —	180
67. ミールウォームを使った行動の実験	182
68. チャバネゴキブリのフェロモン — 集合フェロモンと性フェロモン —	184
69. ヒヨコの行動の実験 — インプリンティング (刷りこみ) —	187
70. 動物行動 (周期性) の自動記録 — 装置の自作と周期性の扱い方 —	189

2. 植物の調節

- 71. イネの教材化 — 芽ばえを用いた生理実験 — 193
- 72. 「生長」の実験的な扱い — 特に節間生長についてしらべる — 199
- 73. 植物の成長と環境条件 — 簡易な環境条件制御法とデータの解析 — 204
- 74. 植物ホルモンのいろいろな作用を調べる実験 206
- 75. 蒸散量の測定とモデルによる解析 — 天秤だけでできる探究実験 — 214

3. 動物の恒常性と調節

- 76. アルテミアの塩分調節をしらべる実験 216
- 77. プラナリアの運動と温度 220
- 78. Na^+ , K^+ に対する生物の反応 — タマキビ、ウニ、フナなどを使った実験 — ... 222
- 79. 環境適応現象の観察 — メダカやグッピーを用いた温度および浸透圧適応 — 224
- 80. フナの体色変化と交感神経の働き 232
- 81. 「免疫」を具体的に理解させる実験 — 食細胞、血球凝集反応、皮ふ移植 — 234

E. 生物の集団

1. 生物集団の成り立ち

- 82. 生育型を用いる植生調査 236
- 83. セイタカアワダチソウの生産構造 238
- 84. 土壌動物 — ツルグレン装置による採集 — 240
- 85. 小動物の集合性 — 動きのある教材と統計的解析法 — 244

2. 生物集団の変動

- 86. タンポポ類の生態特性の比較実験 246
- 87. ダイコンの成長と密度の影響 248
- 88. ニホンザルの生態観察 — 主として餌付け群について — 250
- 89. ショウジョウバエを材料とした個体群の調節機構の教材化 253
- 90. 酵母の個体群の成長 — 成長曲線と還元糖の消長 — 259

3. 生態系の物質循環

- 91. 湖沼におけるリンの消長 — 富栄養化の指標として — 261
- 92. ウィンクラー法による水中溶存酸素量の測定 263
- 93. タマキビの出殻反応による水質の生物検定法 265

F. 進化と系統

- 94. 進化教材としての骨格標本 — 小型魚類の透明標本の作り方 — 267
- 95. ニワトリ胚の血球分化 — 原始系血球からいろいろな血球へ — 271

IV. 器具・装置の工夫と自作

96. 小さな重さの変化を計測する自作はかり — 植物の吸水圧測定 —	275
97. トーマの血球計数器および対物マイクロメーターの自作法	277
98. 電気泳動装置の自作	280
99. 薄層クロマトグラフィーの利用	283
100. プラスチックケースの便利な使い方	285
101. 旋光計の自作と各種物質の測定	287
102. 教材生物を飼育・培養するための環境制御	289
103. 恒温器具自作のヒント	291
104. 実験室でのアイデア	293

V. 野外調査法

105. 潮間帯における生物群集構造の調査	298
106. 湖沼の調査	302
107. 河川の調査 — 底生動物の観察 —	304
108. 森林における植生調査	308
109. タンポポ類の生育環境比較調査	310
110. アサガオを指標とするオキシダントの観測	312
111. 墓石上の地衣類による大気汚染調査	316
112. サギコロニーの生態と生息数調査	318
113. 鳥の生態調査 — セグロセキレイを中心に —	322
114. 方形わく法による植物群落調査	327
115. 哺乳動物の分布調査	329
116. 生態観察会 — 箕面の自然とニホンザル —	332
117. いくつかの野外実習の試み	335

VI. 機器の利用と評価

118. 視聴覚機器の利用	338
119. 実験・実習の評価の能率化	341

1. 雑草種子の教材化

—— 発芽の生態を中心に ——

府立上神谷高校 木村 進

はじめに どこでも手軽に入手できる雑草種子は、うまく教材化すればきわめて利用価値の大きいものであるが、大部分の種は休眠性を持つために播いてもすぐに発芽しない上、種子が小さく扱いくにくい。あるいは、脱粒性が強く採取時期が限定される、などの問題点も多く、教材としてはあまり用いられていないのが現状だと思われる。その点では農耕作物や園芸植物の種子の方が入手しやすく、発芽も容易で、単に発芽実験だけをするには便利である。しかし、野外での植物の生活史と関連づけて発芽の習性を検討するためには、野生種の方が教材として望ましいことは言うまでもない。そこで、市街地の路傍や空地・校庭・農耕地にみられる主要な雑草、約100種を対象に、教材化の基礎として、発芽習性、ことに休眠性についての検討を行ない、それに基づいて試みた実験のうち、比較的簡単で、授業やクラブ活動でもとりあげられる実験をいくつか紹介したい。

種子の採取と保存 発芽実験の結果がうまくそろうためには、採取した種子がよく成熟していることが必要である。そのためには、次のような時期の種子を採取すべきである。

- 1) 乾果では、冠毛のあるものは冠毛が開ききったものを手でつかんで、その他のものは手でゆすぐたくと自然に落下する状態のものを下に袋を受けて集めること。
- 2) 果肉をもつ液果は、よく熟し、その果実本来の色に色づいたときに採取すること。

保存については、前者1)のものは、冠毛や果皮など不必要な部分を除いて風乾し、種名・採取地・月日を書いた紙袋に入れておく。また、後者2)は、果肉をとり除いてよく水洗し、ナイロン袋に密封するか、土中に埋めるなど乾燥させないようにして保存する。なお、種子の寿命は種類により、また保存条件により大きく変わるが、一般的によく熟した種子の寿命を伸ばしたいときは、紙袋のままか、フィルムケースなどに入れて、冷蔵庫内に入れておく方法が最も有効である。たとえば、室内に放置しておくとも2~3ヶ月で死亡してしまうセイヨウタンポポの種子も、冷蔵庫内では現在まで5年以上は100%近い発芽率を示している。

種子の発芽実験の方法

- ①直径9cmのシャーレに円形ろ紙をひき、水5~7mlを注ぎ、ろ紙をよく湿らせる。
- ②種子を50~100粒ずつろ紙上に並べる。
- ③毎日、あるいは数日おきに、発根種子(幼根がでている種子)と発芽種子(果皮が破れ、緑色の子葉がみえている種子)の数をそれぞれ数えて記録する。発芽種子はピンセットで除去する。
- ④ろ紙が乾燥しかけると適宜給水し、常時ろ紙が湿っている状態に保つ。
- ⑤発芽種子数の計数はできるだけ長期間継続し、最後に未発芽の種子を切断して生死を判断する。

実験1. 種子の休眠について 雑草種子を扱う上での最大の問題は休眠性であろう。そして、これはまた野外で雑草が生きていく上での重要な戦略でもある。たとえば、1年生植物であるブタクサなどは、秋に開花・結実するが、その種子が落下直後に発芽したのでは冬の寒さにより枯れてしまう。それゆえ、強い休眠性をもち、冬の低温に何日間かささらされて初めて休眠から解かれ、温度

が上がり始める春に発芽する習性をもっている。一方、越年生植物はその逆で、春に結実しても、秋までは休眠している。そして、それらの休眠の深さは、雑草の種類によって違いが大きく、全く休眠性がなく、すぐに発芽するものから、数年間も休眠をしているものまであり、それぞれの生育地の環境条件に対応した休眠性を示すのである。実験は、春～夏に結実する植物については、前述の方法で採取した種子をとりまきし、残りを紙袋に入れ室内で保存した。そして、2ヶ月・5ヶ月・10ヶ月後にそれぞれ播種し、16°Cの恒温器内に置いた。紙面の都合で結果は省略するが、休眠性がないか浅いものはとりまきでも発芽するが、深いものは10ヶ月後になって初めて高い発芽率に達する。一方、夏～秋に結実する植物は、前者と違い、結実後一定期間以上低温条件下にあって発芽するものが多いと思われるので、とりまきに加え、1ヶ月の低温処理を行なって後に16°Cと25°Cに置いて発芽率を調べた。その結果、実験に用いた80種余りのうち約半数が低温処理によって発芽が促進された。以上より、春～夏に結実するものは、風乾して2～5ヶ月放置した種子を、夏～秋に結実したものは、1ヶ月以上低温処理（冷蔵庫内で）したものをまくことがよいといえる。

実験2. 環境条件と発芽 ①光条件 雑草種では、光によって発芽が促進される光発芽種子が多い。これは、土中に深く埋もれている時は発芽しても生存の確率が低いので発芽が抑制され、耕されたりして地表に種子が出されると光があたるので発芽することで、実生の生存確率を高めようとする意義がある。実験は、明区として種子をまいたシャーレを室内散光下に放置、一方暗区として、同じシャーレをアルミホイルでくるんで同じ場所に放置し、明区で大部分の種子が発芽したところに、それぞれの発芽種子数を数える。結果は、実験に用いた約120種のうち3分の2以上が光によって発芽が促進された。発展実験として、アルミホイルのかわりに、色セロハンや布の枚数をかえてシャーレをつつんでおくことで、色光や照度の発芽におよぼす影響を調べることができる。

②水分条件 乾燥地に多い種は低含水率でも発芽し、低湿地を好む種は充分な含水率の土壌でないと発芽しない。これは実生がうまく育っていくためにも重要な反応である。実験としては、シャーレに充分乾燥させた細砂か真土を入れて重量をはかっておく。そこへ砂の表面まで達する水をメスピペットで加え、以下加える水量を数段階にわたって減らしていく。そして、そのそれぞれに種子をまき、ふたをしておく。2日おきぐらいに、てんびんにシャーレをのせて、重量をみながら失われた水分を補うことで含水率を調節する。その他、pH、温度・浸透圧を変えた実験を行なったが、誌面の都合で省略。

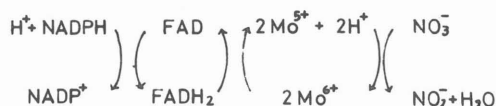
実験3. 発芽における種間相互作用 ①シャーレあたりの播種種子数を数段階設定してまくと、種によって高密度で発芽が促進されるものと低密度で促進されるものとがみられる。②その時に、シャーレのふたと身とをビニールテープで封じることでシャーレ内のCO₂を増加させると発芽が促進されることが多い。また、その内に小さな容器にKOHのようなアルカリ溶液を入れておくと、CO₂が吸収されて、発芽数は減少する。③他の植物体をハサミで一定量を切りきざんで入れておき、その上にもろ紙をひいて水を加えて播種する。植物体より抽出された物質によって発芽が阻害される。材料としては、他感作用の強いセイタカアワダチソウがよい。入れる量や、部位、種類を変えることで、容易に発芽におよぼす影響を調べることができる。（以下省略）

51. 植物の硝酸塩の利用に関する実験

府立岸和田高校 萱村善彦

植物が通常、外界から吸収する窒素源は硝酸塩 (NO_3^-) か、アンモニウム塩 (NH_4^+) である。そのうち、 NO_3^- をとり込んだ場合は、硝酸還元系、亜硝酸還元系を経て NH_4^+ となり、そしてアミノ酸へと変化していく。この実験では、 NO_3^- の利用系の初期、つまり、植物体の中に、吸収した NO_3^- が存在すること、および、 NO_3^- を還元して NO_2^- を形成する硝酸還元系のあることを証明する。

なお硝酸還元酵素（同化型）はモリブデンとフラビンをもつ酵素で、そのエレクトロントランスポート系は次の通りである。



実験1. 植物体に含まれる硝酸塩の検出

材料と方法： ジフェニルアミン溶液（75～80%の特級硫酸にジフェニルアミンを1%の割合に溶解する）を、よく水洗し、小さく切った植物組織の上に1～2滴、滴下する。硝酸塩が存在すれば、濃青色を示す。植物の種類や、根、茎、葉について調べるとよい。硝酸塩植物として、どんな種類があるか、調べると面白い。

実験2. 亜鉛末による NO_3^- の還元と NO_2^- の検出

材料と方法： 0.0002M KNO_3 溶液を、2本の試験管に5mlづつとる。一方の試験管に少量の亜鉛末を加え、よく振盪する。その後、両方の試験管に0.5mlスルファニル酸* 次いで0.5mlの α -ナフチルアミン溶液**を加える。この試薬は、亜硝酸 (NO_2^-) が存在すれば、その量に応じた赤紅色の反応がみられる***

* スルファニル酸溶液 2.1gスルファニル酸+1.3g酢酸ナトリウム+60ml氷醋酸、水を加えて計200mlとする。

** α -ナフチルアミン溶液 1g α -ナフチルアミン+1ml特級濃塩酸+200ml水

*** NO_2^- の定量 赤紅色の吸収は530～550nmであるから、 NaNO_2 (69)を用いて検量線を作れば比色定量が可能である。この反応は非常に鋭敏で、0～50 μM の範囲が直線になる。

実験3. 植物組織による硝酸塩の還元

材料と方法： ツンベルグ管、あるいは試験管に、0.2 M KNO_3 溶液を5 mlとる。その中へコルクボーラーで打ち抜いた緑葉を0.3 g 入れ、溶液中に沈めるため、軽く吸排気をくり返す。排気した状態でなくとも反応はするが、ツンベルグ管の場合には排気しておく方がよい。光をあてないようにして30℃で30～60分間反応させる。反応後、溶液を1 mlとり、0.5 mlスルファニル酸と0.5 ml α -ナフチルアミン溶液を加える。 NO_3^- を還元して NO_2^- が形成されていれば、その量に応じて、赤紅色の反応がみられる。次のような組み合わせで実験するとよい。植物材料は、ポプラの葉、ダイズの葉、ハツカダイコン、トマトなどが適当である。

	植物組織	0.2 M KNO_3	水
1	0.3 g	—	5 ml
2	0.3 g	5 ml	—
3	—	5 ml	—
4	煮沸したもの0.3 g	5 ml	—

実験4. 硝酸還元に対する阻害剤の影響

実験3の反応液の中へ、いろいろな薬剤を共存させ、生成する NO_2^- の量を測定すれば、硝酸還元酵素や、その反応と密接に関連している反応に対する影響を調べることができる。表1はその結果を示したもので、ハツカダイコンとトマトでは反応に違いがみられる。 NH_4^+ の共存は終末産物による影響を、パラクロロマーキュリック安息

表1 硝酸還元の働きに対する阻害剤の影響

Assay medium	Nitrate reductase activity ($\text{NO}_2^- \mu\text{g}/\text{F.wt.g}/\text{hr.}$)	
	Radish	Tomato
Water	31.4	43.2
0.2M KNO_3	72.4	256.0
+ 5mM NH_4^+	86.2	69.0
+ 10 μM PCMB	27.6	224.3
+ 0.5mM MIA	15.5	51.8
+ 1mM NaN_3	6.9	1.0

香酸 (PCMB) やモノヨード酢酸 (MIA) は、SH基に対する影響を、アジ化ナトリウム (NaN_3) は、呼吸系等との関係を見るためのものである。

実験5. 硝酸還元系の形成

ハツカダイコンを水だけで明所、および暗所で発芽させる。約1週間ののち、子葉をとり、明所で水に浮べたもの、明所で0.2 M KNO_3 溶液に浮べたもの、および、暗所で育ったものは暗所で KNO_3 溶液に浮べる。15分ごとにとり出し、実験3の方法で硝酸還元活性を調べると図1のようになる。つまり、 NO_3^- の存在下で光があれば、硝酸還元酵素が形成されることがわかる。

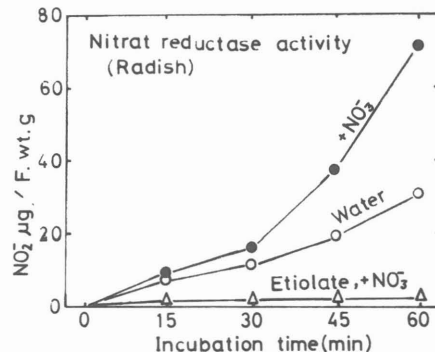


図1 明、または暗所での硝酸還元系の形成

58. アカパンカビ *Neurospora crassa*

—— 変異体のいろいろとその保存を中心に ——

府立柴島高校 中原 円

遺伝学の発展に大きく貢献したアカパンカビは、ショウジョウバエと同様学校に常に保存しておきたい教材の一つである。遺伝実験までには至らなくとも、観察材料として実物を教室に持ち込むだけでも、学習に対する効果は大きいと思う。

1 変異株

阪大の桑名氏（現在関学）の好意により1956年頃は筆者も多くの変異株を保存していたが、現在はかなり少なくなって次に示す程度となった。（必要な場合は申し出によって配付している）

保 存 株

- 形態的変異体：①先端がそろう ②小分生子を多数つくる ③大分生子をつくらない ④白色 ⑤ちぢれ
⑥コロニーをつくる ⑦分生胞子をつくらないで不規則に培地の表面に生える
⑧分生子が黄色 その他若干
- 栄養要求変異体：⑨パントテン酸 ⑩ニコチン酸 ⑪リジン ⑫ビタミンB₁ ⑬イノシトール
⑭トリプトファン ⑮ピリミジン ⑯ウラシル ⑰ロイシン 各要求
- その他：⑱3% NaClがあると生えない ⑲ 原としてNO₃⁻では生えないでNH₄⁺で生える 等。

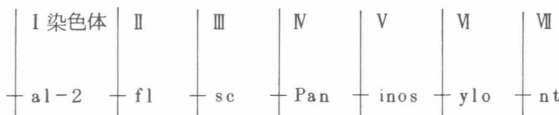
一つの株で幾つもの突然変異遺伝子をかかえているもの（multiple mutant）は、保存に手間がかからず便利である。これは交配をかきね遺伝子の組かえをいくつも行って、多数の突然変異遺伝子をまとめてもっている個体である。これ等は正常と交配することにより、一株で1つの突然変異をもつ個体になることもできる。本校にある1Ra, LT2a（各略号）を紹介すると次のようである。

1Ra という株は、第1染色体の遺伝子6こが変異を起こしているもので、上記 中の保存株番号⑤でCr, ⑫= thi-1, ⑱= nit, ⑩= nic-1, ⑱= os と aur (aurescent) という遺伝子を保有している。（つまり⑤ちぢれで⑫ビタミンB₁要求で……という個体。）



LT2a という株は、7本の染色体（n=7）のそれぞれに突然変異遺伝子1こずつを保有するものである。

LT2a :



al-2:④ . fl:③ . sc:⑦ .
Pan:⑨ . inos:⑬ (イノシトール少ない時はコロニーになる)
Ylo:⑧ . nt:⑩⑭ (ニコチン酸でもトリプトファンでもよく生育する。
数字は上記保存株の番号を示す
例えば al-2:④は白色を表す

2 培養

① 簡易完全培地：食パン1枚(70g)を2枚のガーゼに包み、1ℓの水で30分煮沸し、しぼり汁をとって(約600mlとなる)6gのブドウ糖と寒天10gを加えて煮る。

② 最小培地：ブドウ糖20g、硝酸カリ1g、リン酸2水素カリ1g、硫酸マグネシウム0.5g、塩化ナトリウム0.1g、塩化カリウム0.1g、ビオチン5/1000mg、☆微量元素1ml、水1ℓ、寒天15g(微量元素は下記の通りであるが、この液の代わりに古釘1本を培地に入れて煮てもよい)

☆ 微量元素の組成(水1000ccに溶解) pH 6.0(特別調整する必要なし)

{	Zn 2000 mg (硫酸亜鉛で 8800 mg)	Mn 20 mg (塩化マンガんで 72 mg)
	Fe 200 mg (塩化第二鉄で 970 mg)	Mo 20 mg (モリブデン酸アンモンで 37 mg)
	Cu 100 mg (硝酸銅で 393 mg)	B 10 mg (ホウ砂で 88 mg)

③ 完全培地：②最小培地1ℓに酵母エキス10g、またはカゼイン加水分解物10gを加えたもの。純物質を添加する場合は②最小培地1ℓにV.B₁なら1mg、ニコチン酸アミド2mg、パントテン酸2mg、イノシトール4mg、ウラシル50mg、その他アミノ酸類は各50mg程度を加えればよい。(保存用培地の場合は、これらを混合した完全培地が便利)。殆どの栄養要求株は、②でも①のパン培地でも生育する。

以上の培養基を熱し、試験管に分注し滅菌する。圧力がまの場合は1kg、120℃15分。植かえは2～3か月ごとに、菌糸または分生子を新培地に移す。25℃で1週間程培養し、橙赤色の分生子ができたら、冷蔵庫で保存する。

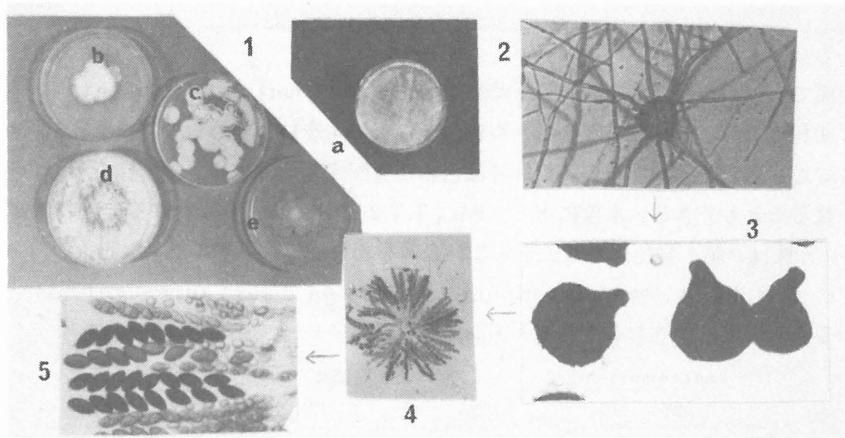


図 アカパンカビ 1：野生型と変異体のいろいろ (a：野生型、b：1Ra、c：ちぢれ、d：白、e：LT2a) 2：原子のう殻 3：交配後大きな子のう殻となる 4：子のう殻をつぶすと中味が出る 5：子のうの中に8この子のう胞子が並んでいる(成熟すると飛散する)

3 かけあわせ

アカパンカビには接合型Aとaがある。両者を別々に試験管培養し、1週間後Aの試験管に滅菌水を少量入れ、よく振ってからその液をaの試験管に入れる(この逆もよい)。25℃で10日後には、黒い子のう胞子が試験管壁にススのように飛散してみえる。この胞子を1こずつとって60℃20分熱処理すれば発芽する。1回の交配(F₁)で組かえ率が計算できる。

編 集 後 記

本研究会の過去数年間の「実験開発」の活動のまとめとして、このような本が完成したことを喜びたいと思います。アイディアに富んだすばらしい実験を心よく執筆して下さいました会員の方々の協力は、編集の仕事をしながら心強く感じました。

なお、各項目ごとに体裁や文体に少し不統一がみられますが、執筆者の個性と考え、あえて無理に統一しませんでした。また、本誌は「新しい生物実験の開発（中間報告）」その1～その4をもとにし、それに新しく多くの項目を加えて作りあげたものです。したがって、スタイルも「中間報告」と同様1段組みにしました。また、期日や予算の関係で図表など十分でない面もありますが、ご容赦いただきたく思います。

最後に、全国の多くの生物教育関係者が本誌をご一読され、ご批判下さることを希望します。問題点や疑問点などを指摘いただき、ご一報下されれば幸いです。(芥川高 辻本記)

編集委員 足立・有馬・折井・萱村・木山・新城
辻本・中原・西河・西村・橋本・原田
原本・牧野・松崎・松本(裕)・松本(豊)
山岸・山田

新しい生物実験の開発

昭和57年6月30日 発行

編集・発行 大阪府高等学校生物教育研究会
代表者 野上茂郎

事務局 大阪府立大手前高等学校内
〒540 大阪市東区大手前之町2
電話 06(941)-0051代
振替 大阪 310680

印刷所 光文社
高槻市高槻町9-17
電話 0726(85)-0639

