

第2回研究会(1995年1月28日)

アカパンカビを用いての生殖・遺伝に関する実験

神奈川県立大原高等学校 原 誠 五

はじめに

現在, 高等学校の生物の授業では, 実験材料として「動物」と「植物」が主に使われている。しかし, 年間を通じた材料の確保・維持には, 手間がかかり, 実験できる期間が限られている等の困難な問題も多い。その点, 「微生物」(カビ・細菌)は維持管理が容易であり, 短時間で結果が得られ, 時季を問わない等実験材料として非常に優れていると思われる。しかし, 微生物実験の方法は高等学校用にはあまり検討されておらず, また滅菌・無菌操作など特別な設備と指導を必要とするためか, 目下のところほとんど行われていない。

そこで, アカパンカビを用いた, 生殖・遺伝に関する生徒実験の可能性について, 操作が簡単で結果を視覚的にとらえることができる実験・観察の方法について検討した。

1. 生殖の観察教材としての検討

1. 無性生殖の観察

(1) 実験方法

完全培地(NYPS)が入ったシャーレの一端にアカパンカビの分生胞子を植えつけ, 25℃で培養する。菌糸や分生胞子は, 生長の旺盛な1~2日目に観察する。カミソリで寒天ごと1cm角程度に切り出してスライドガラスにのせる。菌糸は1日目の材料に水を滴下し, カバーガラスをかけて検鏡する。分生胞子は2日目の材料をそのまま検鏡する。

(2) 結果と考察

1日目の状態は菌糸の生長が著しく盛んで, 先端を視野の中心に置いておくと, 菌糸が生長するのが確認できる。この時期の菌糸生長速度は3mm/hrにも達している。また, 太めの菌糸では, 菌糸内で原形質が先端へ激しく流動している様子もはっきりと観察できる。隔壁も観察され自由に原形質を通して様子もよく理解できた。大きさの異なる多くの核が観察でき, 菌糸が多核体であることも確認できた。さらに, 枝分かれした菌糸の先端に多くのくび

れが入り, 分生胞子が出来始めている様子も観察できた。2日目のシャーレの状態は培地表面がすべて菌糸, 分生胞子で覆われ, 光の作用でアカパンカビ特有の美しい橙赤色になっている。一方, 菌糸の生長は止まり原形質流動もみられず, 分生胞子は多数完成し, カビの典型的な無性世代を観察できる。

2. 有性生殖の観察

(1) 実験方法

①培地と植えつけ: 交配用のYKS培地を用いる。シャーレの中央にwild Aの分生胞子を植えつけ, 25℃で, 3~4日間培養する。

②交配: シャーレ全体に菌糸が伸びたところに, wild aの分生胞子懸濁液(滅菌水に胞子を懸濁した液)を約1~2mlふりかけ, さらに25℃で培養を続ける。

③子囊中の子囊胞子の観察: 双眼実体顕微鏡の下で1つの子囊殻を柄付き針で取り出し, スライドガラスにとって, 水を滴下する。カバーガラスをかけた指で強く押しつぶすと, 子囊殻は破れ中から子囊の塊がゼラチン様になって吹き出る。これを100~600倍で検鏡する。

(2) 結果と考察

①原子囊殻の形成: 胞子懸濁液をふりかけて4~5日ほどたつと, 1~2mmのうすい褐色の粒が認められるが, これが原子囊殻で, 雌器に相当する有性生殖器官であり, 受精毛とよばれる構造があり, これによって受精(有性生殖)が行われる。

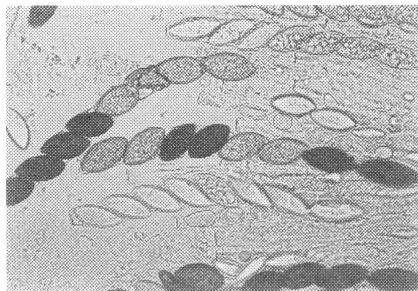
②子囊殻の形成: 原子囊殻がつくられ始めると, 1日ごとにその数は増える。色もうすい褐色であったものが次第に黒色に変化してはっきりと認められるようになり, 子囊殻になる。その中に数十個の子囊が形成される。

③子囊: 細長い形の袋で, 減数分裂に引き続いて体細胞分裂が行われる。その結果生じた8個の胞子(子囊胞子)は各子囊の中に1列に順序よく並んだ状態で観察される。

II. 遺伝教材としての検討

1. 子嚢胞子の色の遺伝に関する実験

asco株は、wild株に比べ子嚢胞子のできる時期が僅かに遅れる。そのため、子嚢中の子嚢胞子が未熟で一時的に白い状態の時期がある。wild株とasco株を交配すると子嚢中の子嚢胞子の色は黒と白が4：4に現れる。この性質を利用して、遺伝の法則を証明するための実験の教材化を検討した。



第1図 子嚢と子嚢胞子 (×400)

(1) 実験方法

有性生殖の観察の場合と同様、先に wild A を植えつけ、3日後、これに asco a の胞子懸濁液をふりかける。

(2) 結果と考察

18日目の子嚢殻では黒い胞子と白い胞子が4個ずつ入った子嚢が数多く観察できた。高倍率で見たのが第1図である。白い胞子では asco の形質がはっきりと発現している。しかし、それら白い胞子も時間がたてば黒くなり、子嚢中で asco の形質が発現しているのを確認できたのは、ごく短い期間であった。

2. 一遺伝子一酵素説の検証実験

アカパンカビの栄養要求物質を確認する方法として、アルギニン要求株の胞子懸濁液を濾紙片にしみ

こませ、この濾紙片をアミノ酸の入った平板培地に置き、生育させるという濾紙片法をとりいれた。

(1) 実験方法

①使用菌株

- wild a
- arg.1a：シトルリンをアルギニンに変換する酵素が欠損。
- arg.3a：オルニチンをシトルリンに変換する酵素が欠損。
- arg.4a：オルニチンができる直前の酵素が欠損。

②使用する菌株を完全培地に植えつけ、4日間前培養する。

③4種類の平板培地と用意する。

- 最少培地
- +arg.培地
- +cit.培地
- +orn.培地

④各菌株の分生胞子懸濁液をつくり、この液に直径4mmの滅菌済み濾紙片を浸す。この濾紙片を滅菌したピンセットで各平板培地表面に置く。

⑤25℃で、3日間培養する。

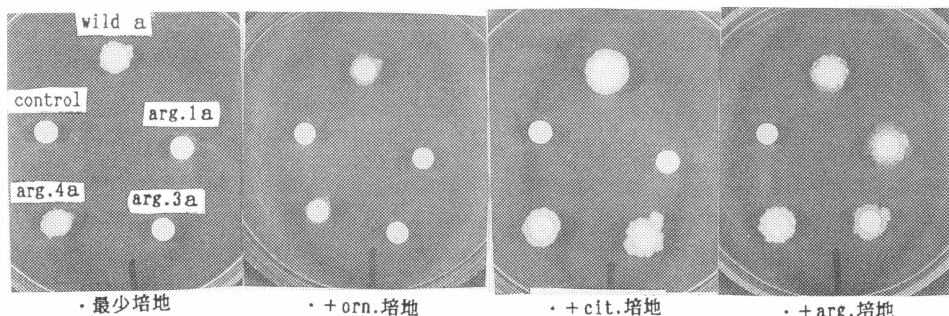
⑥培養後、菌が濾紙片を中心に生育した状態を+で判定する。

(2) 結果と考察

最少培地、+arg.培地、+cit.培地、+orn.培地の各シャーレの3日目の結果を第2図に示す。

これらの結果から、突然変異株である arg.1a, arg.3a, arg.4a のアルギニン合成系での異常箇所が理解でき、一遺伝子一酵素説を簡単に検証できた。

なお本研究は、平成5年度の教育センター長期研修の研究テーマとして実施したので、詳細は教育センター研究集録13：115～118、1994を参考にして頂きたい。



第2図 アルギニン要求株の各培地での培養結果