
 報文

教材としての原生動物（1）

丸岡 禎*

香川県立丸亀高等学校 〒763-8512 香川県丸亀市六番丁1番地

はじめに

現在、高等学校では「中高連携」や「高大連携」が課題になっている。中学校での学習を受けて高等学校の学習があり、高等学校での学習を受けて大学での学習があるの言うまでもない。しかし、謙虚に反省するとそのことにあまり配慮してこなかったのは事実であろう。その主な原因は、互いの情報交換が不十分であり、そこで何をしているのか見えなかった（あるいは見ることに努力を払わなかった）ことにある。

今日では様々なマスメディア、とりわけインターネットの発達によりいろいろな社会をかなり身近に知ることができるようになった。とはいえ、膨大な情報から信頼性や質の高い情報を選択するのはなかなか骨の折れることである。

今回、本誌編集担当の方から「高等学校における原生動物の教材化」について書かないかとの話があり、ありがたくお受けした。そこで、筆者は、これまでいくつかの原生動物でその教材化を試みてきた経験から、その実践内容と教材化に関して知りえた情報を紹介したいと思う。大学の先生方には、高等学校の現状を紹介し、高等学校の先生方や大学生の皆さんには、初歩的な内容に限られるものの、できるだけ役に立つ情報を提供したいと考えている。

これから何回かのシリーズで書かせていただくこととし、第1回目は高等学校理科における「原生動物」を取り巻く状況を多面的に、次回からは具体的な教材化への取り組みを紹介したい。

新教育課程下における「高等学校理科」について

2003年度から、高校では新しい学習指導要領による教育課程がスタートし、現高校1年生は2006年度に大学生となる。ここでは、新しい「高等学校理科」の概略を紹介する。

新学習指導要領では、「生きる力」・「確かな学力」の育成のため、①自ら学び、自ら考える力の育成、②ゆとりのなかで基礎・基本の確実な定着、などをねらいとして挙げている。そして、「理科」の改訂の要点として、知識詰め込み教育から、実験や実習を通して自ら取り組み考える力を養成する教育を推進すること、また、内容の精選をして基礎的な知識の定着を図りながら、現代科学の目覚ましい進歩や生活の中の科学、環境教育など、理科教育の中に「科学リテラシー」を導入することが盛り込まれている。

「理科」の科目は、「理科基礎」(2)、「理科総合A」(2)、「理科総合B」(2)、「物理Ⅰ」(3)、「物理Ⅱ」(3)、「化学Ⅰ」(3)、「化学Ⅱ」(3)、「生物Ⅰ」(3)、「生物Ⅱ」(3)、「地学Ⅰ」(3)、「地学Ⅱ」(3)の11科目から構成されている(()内の数字は標準単位数)。履修の条件は、①必修科目として「理科基礎」、「理科総合A」、「理科総合B」、「理科のⅠを付した科目」の中から2科目（ただし「理科基礎」、「理科総合A」、「理科総合B」から少なくとも1科目以上を含む）を選択し、②「Ⅱを付した科目」は「Ⅰを付した科目」の履修後に履修する、となっている。

また、各科目の特徴は次のようである。「理科基礎」は理科4分野について科学史や人間生活とのかかわりなどを学び、また、「理科総合A」、「理科総合B」はそれぞれ「エネルギーと物質の成り立ち」、「生物とそれを取り巻く環境」を中心として、前者は物理・化学、後者は生物・地学の基本的な内容を観察・実験などを通して学習する。これらはともに選択必修科目で、高校理科の導入的な色彩が強い。「ⅠまたはⅡを付した各科目」は、学問体系を重視した従来の「ⅠB、Ⅱ」に相当する科目である。

*Corresponding author

Tel: +81-877-23-5248

Fax: +81-877-23-6013

E-mail: nt-maru@mail2.netwave.or.jp

表1 高校理科教科書で扱われる原生動物

	理科基礎	理科総合B	生物I	生物II
【鞭毛虫類】		ボルボックス (1) ヤコウチュウ (1)	クラミドモナス (16) ミドリムシ (12) ボルボックス (7) ユードリナ (4) バンドリナ (3) ヤコウチュウ (2) ゴニウム (2) ヨツメモ (1)	ミドリムシ (5) ツノオビムシ (2) ボルボックス (1) ウチワヒゲムシ (1) クラミドモナス (1) ヤコウチュウ (1) トリバノゾーマ (1) シャットネラ (1) ギムノディニウム (1)
【肉質虫類】	アメーバ (1)	アメーバ (2)	アメーバ (23)	アメーバ (4) タイヨウチュウ (1)
【繊毛虫類】	ゾウリムシ (3) ツリガネムシ (1) ラップムシ (1)	ゾウリムシ (2) ツリガネムシ (2) ラップムシ (1)	ゾウリムシ (31)	ゾウリムシ (17) ヒメゾウリムシ (4) ディディニウム (3) ミドリゾウリムシ (2) ツリガネムシ (2) ラップムシ (1)

() 内の数字は記載頻度の目安

ところで、大学進学を希望する高校生の典型的な履修パターンの一例を示してみる。まず、1年次に「理科総合A」で物理と化学の基礎の一部を学ぶ。そして、2年次から文系と理系に別れ、文系では2・3年次継続して「生物I」1科目だけを履修し、理系では「化学」を全員履修、「物理」と「生物」は選択履修し「IとIIを付した科目」2科目を学ぶ。昨今、大学からは理系生徒には物理・化学・生物の3科目を履修してほしいという要望がある。ただ、高校現場では、完全学校週5日制のもと授業時間数がどの科目も不足している現状では、理科3科目履修への対応は難しい。

最後に、各科目の「生物関連内容」を調べてみた結果は次のようである。

- ① 理科基礎:(1)細胞の発見と細胞説、(2)進化の考え方 ((1)または(2)を履修)
- ② 理科総合B:進化、遺伝、生物の多様性、生態系、植物の遷移 (基礎的な内容)
- ③ 生物I:(1)生命の連続性—細胞、生殖と発生、遺伝 (主としてメンデル式遺伝)、生命の連続性に関する探究活動、(2)環境と生物の反応—環境と動物の反応、環境と植物の反応、環境と生物の反応に関する探究活動
- ④ 生物II:(1)生物現象と物質—タンパク質と生物体の機能 (酵素、同化と異化、タンパク質の機能)、遺伝情報とその発現 (遺伝情報とタンパク質の合成、形質発現の調節と形態形成、バイオテクノロジー)、(2)生物の分類と進化—生物の分類と系統、生物の進化、(3)生物の集団—個体群の構造と維持 (個体群の維持と適応、物

質生産と植物の生活)、生物群集と生態系 (生物群集の維持と変化、生態系とその平衡)、(4)課題研究 (特定の生物や生物現象に関する研究、自然環境についての調査) (ただし(2)と(3)は一方を選択できる)

新学習指導要領では実験・実習や体験を重視しているので、教科書の“探究活動”や“課題研究”では、対照実験などの操作や実験上の注意点、レポートや発表上の留意点などについて丁寧に記載している。

高校教科書での原生動物の取り扱い

平成16年度用高等学校理科教科書として出版されている「理科基礎」4社4種のうち3社3種、「理科総合B」8社9種のうち7社8種、「生物I」8社12種のうち8社11種、「生物II」6社6種のうち5社5種について、「原生動物」がどのように取り扱われているかを調べた。これは、採択数を考慮すると、高校生9割以上が使用する教科書にあたる。

表1は、上記4科目の教科書で記載のあった原生動物調べ、鞭毛虫類、肉質虫類、繊毛虫類に分類し、その記載頻度の高い順に並べたものである。

これを見てわかることは、頻度の高い種はゾウリムシ、アメーバ、ミドリムシなど中学校からなじみの深いものに限定されているということである。例外的に、中学校でほとんど登場しないクラミドモナスが「生物I」では高い頻度で扱われている。

さらに科目ごとに詳しく見ていくことにする。

「理科基礎」では、調べた3社のうち1社は原生動

表2 高校教科書「生物I」で扱われる原生動物とその項目

原生動物名	学習項目	観察・実験項目
【鞭毛虫類】 クラミドモナス (16) ミドリムシ (12) ボルボックス (7) ユードリナ (4) パンドリナ (3) ヤコウチュウ (2) ゴニウム (2) ヨツメモ (1)	単細胞生物 (細胞群体との関連) (8) 接合 (5) 二分分裂 (1) 単細胞生物 (7) 鞭毛運動 (1) 二分分裂 (1) 細胞群体 (7) 細胞群体 (4) 細胞群体 (3) 単細胞生物 (2) 細胞群体 (2) 細胞群体 (1)	
【肉質虫類】 アメーバ (23)	二分分裂 (6) 単細胞生物 (4) 除核または切断実験 (5) アメーバ運動 (4) 飲食用 (1)	
【繊毛虫類】 ゾウリムシ (31)	単細胞生物 (10) 二分分裂 (7) 収縮胞による浸透圧調節 (3) 重力走性 (2) 回避反応 (2) 繊毛運動 (1) 走査電顕像 (1)	収縮胞による浸透圧調節 (9) 行動 (泳ぎ方) (3) 重力走性 (3) 化学走性 (2) 細胞構造 (2) 食胞形成 (1) 採集 (1) 培養 (1)

() 内の数字は記載頻度の目安

物を扱った記載がまったくなく、あとの2社は“ゾウリムシの観察”、“水中の微生物の観察”で「細胞分野」の観察教材として原生動物を扱っていた。1社は“読み物”でレーウエンフックを取り上げ、彼の観察した原生動物のスケッチ (種名は挙げられていない) を掲載している。

「理科総合B」では7社のうち4社ではまったく記載がない。3社のうちK社とS社は観察教材として原生動物が扱われている。すなわちS社は“光学顕微鏡観察”でゾウリムシを、K社は「探究」として“ミニ生態系における変化と平衡”を取り上げている。特にK社の内容は、稲わら煮出し液に水槽の水・土・沈殿物などを加えたものを準備し、日ごとに生物など (にごり、におい、pH、藻類、原生動物、ワムシなど) の変遷を観察するもので目新しい。また、D社は実験教材としての扱いはないが、“生物と環境”でオオヒゲマワリ (ボルボックス)、ゾウリムシ、アメーバ、ツリガネムシ、ヤコウチュウ、“水をめぐる環境問題”の活性汚泥でラップムシ、“河川調査”でツリガネムシなど一番多く種名を挙げていた。

概して、「理科基礎」および「理科総合B」における原生動物の取り扱いが少ない。

「生物I」は文系、理系を問わず履修者の最も多い科目で、いわば高校生物の核をなす科目である。表2に、「生物I」で記載されている原生動物を種ごとに分類し、それぞれがどのような「学習項目」、「観察・実験項目」で扱われているかがわかるように示した。

これを見ると、「生物I」で原生動物が例示される学習項目は、極めて限られていることがわかる。すな

わち、細胞運動、アメーバの除核または切断実験による核の働き、単細胞生物と細胞小器官、細胞群体、無性生殖 (二分分裂)、収縮胞による浸透圧調節、行動 (走性など) の7項目である。この科目でクラミドモナスの記載頻度が高いのは、接合をする生物例としてのほか、ボルボックスなどの植物性鞭毛虫とともに“細胞群体への進化”を説明する教材としてほとんどの教科書が扱っているからである。また、観察・実験教材として扱われているのが、唯一“ゾウリムシ”だけである、というのも驚きである。

最後に「生物II」の教科書である。この科目の履修者のほとんどは、理系の生物選択者で、「生物I」の履修後に学ぶことになっている。特に、“タンパク質の機能”や“DNAの機能”を分子生物学的に扱うため、「化学」の知識も要求される点で「生物I」とは性質を異にする。そのほか“系統分類”、“進化”および“生態”も学ぶ。これは、文系学生など「生物I」のみの選択者は、「分子生物、分類、進化、生態」に関する知識はまったく無いか、あっても極めて乏しいことを意味する。また、「生物II」では“探究活動”をさらに発展させた“課題研究”を行うのも特徴である。

ところで、「生物II」(5社)で原生動物がどう扱われているのかを表3に示した。

関連する学習項目は、①生態—個体群の変動、②系統分類—原生生物、③環境汚染—生物濃縮、④課題研究—特定の生物や生物現象に関する研究および自然環境に関する調査の4項目である。①については、ガウゼの実験が広く紹介されていて、ゾウリムシ—ヒメ

表3 高校教科書「生物II」で扱われる原生動物とその項目

原生動物名	学習項目	観察・実験項目
【鞭毛虫類】 ミドリムシ (5) ツノオビムシ (2) ボルボックス (1) ウチワヒゲムシ (1) クラミドモナス (1) ヤコウチュウ (1) トリパノゾーマ (1) シャットネラ (1) ギムノディニウム (1)	系統分類 (5) 系統分類 (2) 系統分類 (1) 系統分類 (1) 系統分類 (1) 系統分類 (1) 系統分類 (1) 赤潮の原因 (1) 赤潮の原因 (1)	
【肉質虫類】 アメーバ (4) タイヨウチュウ (1)	系統分類 (3) 系統分類 (1)	水中微生物の観察と分類 (1)
【繊毛虫類】 ゾウリムシ (17) ヒメゾウリムシ (4) ディディニウム (3) ミドリゾウリムシ (2) ツリガネムシ (2) ラッパムシ (1)	種間競争 (7) 系統分類 (5) 捕食者-被食者関係 (3) 食作用 (1) 種間競争 (4) 捕食者-被食者関係 (3) 種間競争 (2) 系統分類 (1)	採集法 (1) 培養法 (1) 観察法 (1) 培養条件 (1) 走性などの行動 (1) 浸透圧調節 (1) 消化 (1) 接合 (1) 除膜細胞での繊毛運動 (1) 水中微生物の観察と分類 (1) 水中微生物の観察と分類 (1) 水中微生物の観察と分類 (1)

() 内の数字は記載頻度の目安

ゾウリムシによる競争の排除則 (4社)、ディディニウム-ゾウリムシの捕食者-被食者関係 (3社)、ゾウリムシ-ミドリゾウリムシの共存関係 (1社) の記載がある。②では、「二界説」、ヘッケルの「三界説」に簡単に触れ、その変遷理由などを説明し、最終的にはホイタッカーあるいはマーグリスの「五界説」に基づいて原生動物を“原生生物”の一部として扱っているものが多い。“原生生物界”を最も詳しく扱っているS社の教科書は、ホイタッカーの「五界説」に基づき、原生動物をミドリムシ類、渦鞭毛藻類、ペン毛虫類、根足虫類、繊毛虫類に分け、多くの種名を例示しているが、他の教科書では「生物I」と同程度の限られた種を記載しているに過ぎない。③では、D社が“赤潮”の原因でシャットネラ、ギムノディニウムを挙げているが、“生物濃縮”や“水質浄化”では具体的な種名は出てこない。観察・実験では、J社が「実習：水中の微生物の観察と分類」、T社が「課題研究：ゾウリムシを用いたさまざまな研究」を取り上げている。前者は、微生物の広範な分類学習のなかで原生動物を扱っているに過ぎないが、後者は、ゾウリムシの採集、培養、観察法にはじまり、探究課題 (培養条件、行動、浸透圧調節、消化、接合、トライトンモデルによる繊毛運動) を多岐に示し、ゾウリムシを多目的教材として扱っている点で興味深い。

観察・実験教材としての原生動物

教科書によく登場する種や観察・実験教材としてよく扱われる種は、鞭毛虫類ではクラミドモナス、ミドリムシ、ボルボックス、肉質虫類ではアメーバ、繊毛虫ではゾウリムシに限られていることは前述のとおりである。では、実際に学校現場から観察・実験材料としてニーズの高い原生動物はどのようなものであるか。

筆者も時折、県内の先生方から株の分譲を依頼されるが、主なものはゾウリムシ、アメーバ、ブレファリスマ、ボルボックスである。ミドリムシは意外と少ない。これは客観的に事実なのか、事実とすれば理由は何か、をまず検討したい。

資料として「生物教材の支援に関する研究」(岡山県教育センター2002、ホームページ上で公開)を利用した。これによると、まず、県下の高等学校で“飼育保持されている生物”は22種で、そのうち原生動物はゾウリムシ(3)、ボルボックス(1)、ブレファリスマ(1)、関連したものとして細胞性粘菌(1)、変形菌(1)、活性汚泥(1)であった(()内の数字は学校数)。飼育にスペースをとらない原生生物または原生動物が比較的大きな部分を占めていることがわかる。次に、“提供を求めている生物”は12種で、そのうち原生動物はアメーバ(5)、ボルボックス(5)、ゾウリムシ(3)、ミドリムシ(2)

の4種が占め、これは全体の3分の1に当たる。この理由としては、高校実験では顕微鏡観察が大きな比重を占め、原生動物はこの場合の観察教材としてニーズが高いと考えられる。

アメーバは、何といても“アメーバ運動”の観察材料である。観察後の生徒の反応も上々である。アメーバは飼育している学校が少ない反面、提供希望は多い。これは*Amoeba proteus*の採集や培養がゾウリムシほど簡単でないのが理由であろう。ボルボックスは、“細胞群体”として、例外なく(といってよいほど)教科書で紹介されているが、生息する水質に敏感で採集や培養がそれほど簡単とはいえない。しかし、大形で屈折に美しいので観察材料として魅力的である。これがアメーバ同様、飼育している学校は少ないが提供希望の多い理由であろう。ゾウリムシは数少ない多目的教材生物として人気が高い(しかし、実際は形態観察でとどまる場合が多い)のに合わせ、採集・培養ともに容易なことから、学校で飼育され教材利用されることが一番多くなっている。ミドリムシは採集・培養ともに簡単であるにもかかわらず飼育している学校は少なく、また提供を求める声も多いとはいえない。これは、高校ではミドリムシが単に形態観察材料として扱われることが多く、たとえば*Euglena gracilis*では50 μm 程の大きさしかなく、生徒用顕微鏡では鞭毛や細胞内部の細かい構造まで見るのが難しいのが主な原因と思われる。また、この資料には現れていないが、筆者のもとにはプレファリスマの分譲要望も多い。プレファリスマは、①約200 μm と大形で、②ゾウリムシよりも動きが緩慢なので運動抑制処理をしなくてもよく、③細胞小器官である収縮胞・食胞や囀口部の波動膜の動きが明瞭に観察でき、④細胞全体が紅色を呈して美しいなどの長所があり、ゾウリムシに代わる“単細胞生物の形態観察材料”として人気がある。特に一度教材として利用した経験をもっている先生方から好評である。岡山県でプレファリスマの提供があまりなかった理由としては、①学校現場に広く浸透していないこと、②教科書に出ない種であることなどが理由として考えられる。

以上のように、原生動物は教材生物として重要な地位を占めているにもかかわらず、学校での利用はまだ不十分である。これを克服するには、①入手が容易になること、②採集・培養法や実験についての適切な情報が得やすく、また具体的な実践サポートがあること、③そうした機会を教師が積極的に利用し必要最小限の技量を身につけること、が挙げられる。

現在、そうした考えに立って、各地の県教育センターや大学関係者などによって教材生物の分譲や実験講習会が行われたり、すぐれた書物や文献等で実践報告がなされたり、公共機関や個人から情報が発信さ

れたりしているが、今後もっとこうした環境が整備されることが望まれる。

新しい情報源としてのインターネット

従来、高校教師が新たに原生動物の実験に取り組もうとする場合、講習を受けたり、参考図書だけを頼りに自己流でやってみるのが普通であった。

しかし、急速なインターネットの発達には予想以上にいろいろな情報をもたらしてくれるようになった。たとえば、この記事を書くために、先日、「ゾウリムシ 収縮胞」などとキーワードを入力、検索してみた。すると、次々と芋づる式に思いがけない情報に出会うではないか。「原生生物の写真集」、「実験観察のページ」、生物関係の「リンク集」、「生物教材文献検索データベース」、大学の“生物実験”関連など実に有効なものが多い。細かく見ると、内容の正確さや程度はさまざまであるが、一般的に、学校教育の観点から、質が高く利用価値が大きいのは「大学関係」や博物館などの「公共機関」のHPで、小中学校生から専門家向けまでいろいろある。教員などの個人が、一人であるいは仲間で開催しているHPにも興味深いものは多い。中には「教材生物の提供」に関する情報もある。大学の先生に質問があるときは、直接メールを送りコンタクトをとることもできる。なんと恵まれた環境であろうか。

一方、教育現場では、授業中に普通教室でパソコンを日常的に活用することが進められている。この場合、実験ツールとしてより、有益なHPの活用が課題のようである。実際、T社の「生物II」の教科書には、“学習に役立つウェブサイト”として、原生生物情報サーバ「原生生物図鑑」、筑波大学生物科学系植物分類学研究室「藻類画像データ」など4つのサイトが紹介されている。

このように教育においてもインターネットの持つ魅力や果たす役割はますます拡大しつつある。原生動物関係でも、さらに多くの方々からの質の高い情報発信・提供をお願いしたい。

原生動物を教材化するためのABC

原生動物の取り扱い方や観察・実験については、いくつかの実験書やHP「原生生物情報サーバー研究資料館—DataBook—微小生物の培養・観察法」(法政大・月井)および「見上研究室—水中微小生物図鑑」(宮城教育大・見上)にわかりやすく親切にまとめられているので参考にしてほしい。ここでは、主として筆者の体験をもとに、学校現場ならではのコツ(手間の省き方など)も含めて、いくつかの基本的な知識や技術

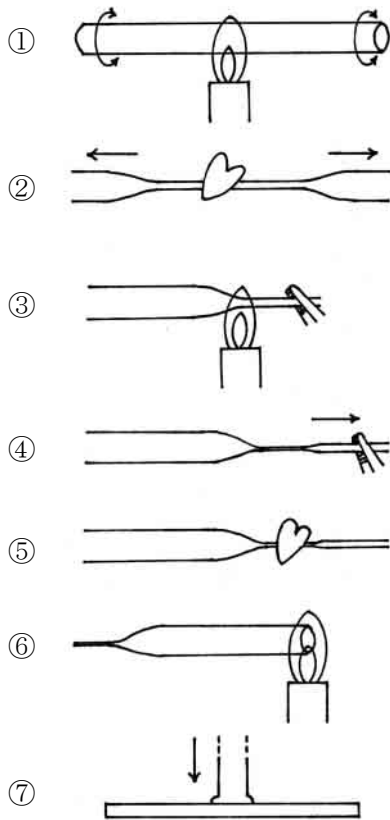


図1 ミクロピペットの作り方

①ガラス管の両端を持ち、中央部を一様に赤熱する。②柔らかくなった後炎から出し、一気にまっすぐ引き伸ばし、中央部をアンプルカッターで切り離す。③チップの付け根を再度赤熱する。④柔らかくなった後炎外に出してすばやく引き伸ばし、さらに先端を細くする。⑤チップを適当な長さ、太さのところまで切り、完成。⑥安全のため他端を熱し切断面を丸める。⑦柔らかい状態でガラス板に押し付けるとストッパーができる。

を紹介したい。

(1) ミクロピペットの作り方・扱い方

多くの方にとって、最初、ミクロピペットの扱い方が難しいようである。これは細胞の単離、培養や実験において一番の基本になる技術である。初めての人には「細胞1個を少量の液とともに吸って吐き出す」というと至難の業のように思える。しかし、ピペットの正しい持ち方さえ分かれば、あとは慣れ。使用回数を重ねていくことで自然に身につく。

ところで、今どきミクロピペットといえば、試薬などを μl 単位で微量に扱うものを連想するが、原生動物用は単に先端が細いからミクロピペットというの



図2 ピペットの持ち方

であって、ガラス管から手作りするのがふつうである。原生動物を扱う際のミクロピペットの先端の径は、細胞サイズの2倍位が目安で、アメーバ、ゾウリムシなど比較的大きな細胞を扱う場合は、0.5mm径ほどが扱いやすい。

高校生や大学生のほとんどは、簡単なガラス細工も未経験なので実習でぜひ作らせた。筆者は「ゾウリムシの成長曲線」の実験で、生徒にミクロピペットや細い試験管などを作らせたことがあるが、非常に好評であった。高校では、ふつうのブンゼンバーナーを使うので、硬質よりも軟質のガラスが扱いやすい。作り方は次のとおりである(図1)。①口径7~8mmのガラス管を目立てやすりで20cmほどの長さに切ったものを必要本数用意し、洗浄しておく。ガラス管の両端を持ち、バーナーの上炎部分にかざしてゆっくりと回転させ、中央部を一様に赤熱する。②柔らかくなった後炎から出し、一気にまっすぐ引き伸ばす。先端の太さは引き伸ばす速さで決まる。適度に引き伸ばし、そのまま冷え固まるのを待って中央部をアンプルカッター(またはやすり)で切り離すと2本のピペットになる。③このままでは先端が長すぎたり太すぎたりするので、チップ(細くなった部分)をピンセットで保持しながら、その付け根を再度赤熱する。④柔らかくなった後炎外に出してすばやく引き伸ばすとさらに先端の細いものになる。⑤チップを適当な長さ、太さのところまで切ると完成である。⑥先端部が冷えたら、安全のため他端を熱してガラス管の切断面を丸める。⑦柔らかい状態でガラス板に押し付けると簡単にストッパーができる(この過程は省いてよい)。なお、市販のパスツールピペットを購入すれば、③~⑤の作業だけで済ませることができる。注意点としては、ガラス管は必ず炎から出して引き伸ばさないと失敗すること、炎から出してからの引き伸ばすタイミングと速

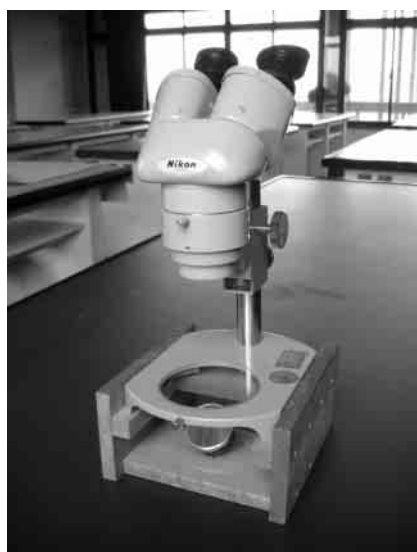


図3 手作り台の実体顕微鏡



図4 照明装置と実体顕微鏡

さで先端部の形状が決まることがあげられる。何度か試行錯誤すれば、すぐにコツを覚えられる。

完成したら、1 mlピペット用のシリコンキャップをつけて用いる。ピペットの持ち方は、キャップの部分を手差し指の付け根と親指の腹側で軽くはさみ、ガラス管部を中指と薬指の間で軽く支持する(図2)。キャップをはさむ親指の力の入れ具合で、吸う液量が決まる。また、実体顕微鏡下で操作する場合など、手首をステージに触れさせ固定すると安定した操作ができる。

(2) 実体顕微鏡と照明

原生動物は透明なものが多いので、落斜照明よりも透過照明を利用する方が、虫体が視野に浮かび上がるようにはっきりと見える。高校には実体顕微鏡として落斜照明で利用するものはあるが、透過照明のものは少ない。そこで筆者は、別売のステージガラスを購入し、ステージガラスの中央下に反射鏡を取り付けた木製の台を自作して用いている(図3)。机の上にはこれと自作の蛍光灯照明が常設してあり、気が向いたときにいつでものぞけるようにしている(図4)。

(3) 株の入手(採集)

採集は数日間晴れの続いた日に行う。小さな水系で大型のコマゴメビペットなどで採水する場合は、ポリ容器に水草、枯葉などの沈殿物などと一緒を持ち帰る。小川、水田などではバケツに汲んだ水を柄つきプランクトンネットで濾したり、池、沼ではふつうのプランクトンネットを引いて採集する。以上が基本である。しかし、いろいろな種を見つけたい場合や生態学的な知見を得たい場合には、とにかく手当たり次第に採集の機会を多く経験することだろう。

さて、教材としてよく扱われるゾウリムシやツリガネムシは有機物の多い環境を好み、溝や水田で採集できる。また、ブレファリスマは水田でよく見つかる。アメーバ・プロテウスやボルボックスは見つかる頻度が低いので、一度見つけたら採集地を記録しておく。ミドリムシは水質によって現れる種が異なるが、種にこだわらなければ人家近くの溝で簡単に採集できる。

持ち帰った水はペトリ皿に移し、すぐに実体顕微鏡下で観察するが、すぐには見つからなかったり個体数が非常に少なかったりする場合も多い。その時は、ペトリ皿に煮沸小麦粒やレタスジュースなどの有機物を少量添加すると、バクテリア増殖に伴って原生動物も増殖するようになる。ペトリ皿の中の様子は毎日変容するので、毎日検鏡する。そして、適当な時期に目的の種を単離し、培養を始める。

大学生にはぜひこの“採集・培養”の体験をしてもらいたい。実験を進める上で、多くの有用な知見を得、経験を積むことになる。しかし、単離をして純粋培養に移すにはそれなりの経験と技術が必要なので、教育現場ではすでに研究機関や教育センターなどで維持されている株を分譲してもらうのが確実である。研究者の厚意による株の分譲情報はHP「原生物情報サーバ」にも掲載されているので参考にされたい。

(4) 単離操作

採集したものから目的の細胞だけを分離したり、除菌操作および実験操作の中で1つの細胞だけを移動させたりする操作を単離操作という。

単離にはマイクロピペットを用いるが、最初は液を吸いすぎたり、つい吐き出してしまったりと、ピペットを持つ親指の力の入れ具合がわからず苦労する。コツ

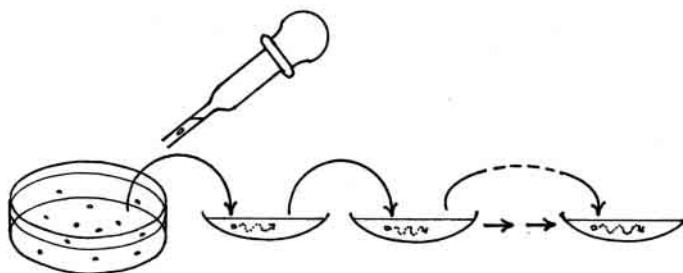


図5 単離操作

細胞1個をマイクロピペットで吸い取り、滅菌水の中を次々と移動させる。

は、ピペットを正しく持ち、シリコンキャップを軽く親指で圧して一定の状態を保つことである。

細胞を単離して培養に移す際には、培養目的によって、採集水からのバクテリアや小型原虫が少々混じってもよい場合と、完全に除菌しなければならない場合がある。しかし、いずれの場合も操作は同じである(図5)。原理は、できるだけ少量の液とともに細胞を吸い取っては滅菌水の中を泳がせる操作を繰り返すことで、バクテリアを洗い落とし、ついには無菌状態にするというものである。筆者は、滅菌水の代わりに市販のミネラルウォーター、容器はデプレッションスライドの代わりに小型ペトリ皿や時計皿を利用している。教育現場では完全除菌の必要がないことが多いが、できるだけ安定した培養を実現するために、野外から採集した細胞を培養に移す場合は、上記の方法で数回洗うようにしている。

(5) 培養

単離・除菌した細胞は、最初はデプレッションスライド、小型ペトリ皿や試験管など小規模な容器で培養し、必要に応じて規模を大きくする。

原生動物には、独立栄養のものと従属栄養のものがある。前者、たとえばボルボックスは、水中の無機塩類などが必要で水質に大きく影響され、また、適度の光が必要である。ミドリムシは無機の培地でも増殖するが、細胞表面から有機物を吸収するので黄な粉などの有機物を少量添加する方が増殖が速い。これらの培養には、簡易には市販のミネラルウォーターやハイポネックス(0.01~0.05%程度)などの園芸肥料あるいは二相培地が利用できる。後者は、主としてバクテリアを食すもの(ゾウリムシなど)と小型原虫を食すもの(アメーバ、ユープロテスなど)、あるいはどちらでもよく増殖するもの(プレファリスマ、ラップムシなど)にわかれるが、バクテリアは*Klebsiella pneumoniae*、小型原虫としてはクロロゴニウム、キロモナス、テトラヒメナなどが広く用いられている。簡易には、バク

テリアも小型原虫も自然界から混入するものをそのまま利用できる。バクテリアを身近なところで調達するには、市販納豆の糸(枯草菌)を利用したり、すでに培養しているゾウリムシの容器などがあれば、その培養液を二重の濾紙でろ過して利用してもよい。小型原虫(キロモナスなど)は、水田の水などに煮沸小麦粒などの有機物を入れておくと、その周りにすぐに高密度で増殖するからこれを利用する。原生動物の培養液は、実験目的、種、または研究者の好みでいろいろあるが、一般的には、無機塩類溶液(ミネラルウォーターはこれの代わり)、小麦浸出液、稲わらの浸出液、レタスジュースなどがよく用いられる。筆者は、ゾウリムシには稲わら浸出液、ボルボックスには二層培地、その他の多くには9cm径のペトリ皿にミネラルウォーターを半分の深さに入れ、煮沸した小麦粒を2~3粒加えた小麦浸出液を利用している。これらの培養液は、植え継ぎの間隔が長くてよいという共通点がある。

なお、飼育水について、市販のミネラルウォーターの多くは培養に適しているが、水質に敏感なボルボックスを用いた市販自然水の検討では、Evian、Laurentians、VittelなどCa²⁺やMg²⁺イオンの濃度の高いものは適さないという報告がある(見上ほか2000)。これは、従来、硬水は適さないとか、井戸水には適さないものがあるという今までの見解を裏付けるものになっている。また、日本の水道水のほとんどは水質的に問題がなく、煮沸して脱塩素すれば利用できる。

培養温度は、10~25°Cくらいの範囲であればほとんどの代表種は培養が可能であるので、室内で十分培養できる。西日本では、夏の理科室が35°Cを超えるので、アメーバやボルボックスなどは季節を越せないが、ゾウリムシ、プレファリスマなどは生き永らえる。もちろん20~25°Cくらいに設定したインキュベーターがあれば申し分ない。

教育現場では、無菌操作や培養での植え継ぎの手

間さえも負担になる。特別なことはせず、月に1回程度、1時間くらいで終わらないと長続きしない。筆者は、ゾウリムシ(稲わら浸出液)1~6ヵ月毎、ブレファリスマ、ラップムシ、アメーバ、ユープロテスなど(小麦浸出液)1~2ヵ月毎、ミドリムシ(ミネラルウォーターに黄な粉を少量添加)は6ヵ月毎に植え継ぐ。その際、必要なとき以外はほとんどピペットさえも使わない。ゾウリムシやミドリムシは、インスタントコーヒーの空き瓶などを利用し、容器から容器へ直接その一部を植え継ぐ。手間を省くことと他の微生物の混入を避けるのが理由である。アメーバなど、ペトリ皿の小麦浸出液は古い液と小麦粒のほとんどを捨て(原生動物と餌はすこし残っている状態)、新しい液と小麦粒を補うだけである。これで、十分維持できる。新しいペトリ皿で培養を始めるとき(もっと増やしたいとき、培養状態が悪くなったときなど)は、熱湯で簡易滅菌したピペットで移植する。

アメーバなど、増殖のピークを過ぎると急激に死滅するものもある。そのため、植え継ぎを忘れないために、培養器に日付を記入するとともに一覧表を作って掲示し、常に目に付くようにしている。また、原因が分からずコンタミが起こったり増殖しないこともあるので、培養器は常に複数維持しておきたい。

(6) 細胞の濃縮法

細胞密度が低いと生徒実験では「見えない!見つかからない!」の声が連呼される。たいていの場合、培養器中で一番増殖した状態あるいはペトリ皿では一番密度の高い部分を生徒に配布することで済む。したがって、一番大事なコツは「自分の培養条件下では、培養開始後、何日目まで細胞密度が一番高くなっているか」を知っておいて、実験日にあわせて準備することである。とくに、アメーバやボルボックスはそれが大切である。

繊毛虫の場合は、手廻し遠心機で沈殿させて密度を高める方法、ろ紙や美濃紙でろ過する方法が用いられる。研究者はあまりやらないが、教師は「負の電気走性」を利用して密度を高める方法を用いることもある。ミドリムシでは「正の光走性」を利用して密度を高めることもできる。

(7) 運動の抑制

ゾウリムシなどで細胞小器官を観察するには、活発な運動が妨げになる。そのため、運動を抑制する工夫が必要になる。

ゾウリムシの場合、一番簡単なのは「正の接触走性」を利用する方法である。まず、スライドガラスの上に脱脂綿のごく少量(またはティッシュペーパーの繊維が長く出るようにちぎった小片)を置き、その上にゾウリムシを含む培養液を滴下し、カバーガラスをかけた検鏡する。ゾウリムシは脱脂綿の繊維に触れて泳ぎ回

るのをやめる。この場合、繊維はゾウリムシがカバーガラスで圧死するのをふせぐ効果もある。しかし、この方法では運動抑制が不十分なので、一般的には次の方法による。

一つは、「粘度の高い物質を利用する方法」で、たとえばアラビアゴム、寒天、フィコール、ポリオックス、ジェランガムなどが利用できるが、教科書ではメチルセルロースが一般的である。メチルセルロースは微粉末で、これをそのままスライドガラス上の細胞を含む培養液に少量加える方法もあるが、たいていは高粘度の水溶液を調整して用いる。この場合、教科書によって2、5、10%と記載濃度がまちまちである。これは、粘度の異なる数種類のメチルセルロースが市販されているためにおこった混乱と考えられる。これについては見上研究室のHPに詳しいが、メチルセルロース100(粘度100cps)で5%、同じく400(粘度400cps)で2%くらいが使いやすい。

もう一つは、「塩化ニッケルを用いる方法」である。Niイオンは繊毛ATPアーゼの阻害剤で、繊毛運動を停止させる。ただし、濃度が高いと細胞が変形したり破裂して死ぬので注意する。培養条件でも適正濃度は変化するようであるが、ゾウリムシでは、教科書によると0.01~0.026%で調整し、最終濃度をその1/3~1/2で利用している。筆者は0.01%で調整し、最終濃度0.005%になるように用いて好結果を得ている。この場合、ゾウリムシを含む培養液と等量の0.01%NiCl₂を加えると2~3分ではほぼ運動が停止する。時計皿を用いると、運動停止後、円を描くようにゆっくり回すことで中央に細胞を集めることができる。この方法は繊毛虫のほかミドリムシなどでも利用できるが、ミドリムシでは最終濃度25~50mMが適しているようである(神奈川県立教育センター1982)。

ゾウリムシの運動停止法として、最近になって教科書に紹介された「5%エタノールで繊毛を刈り取る方法」がある。試験管や遠沈管を利用し、培養液に10%エタノールを等量加え、口を指で押さえて30秒から1分程度激しく振る。ミネラルウォーターなどで洗浄して観察に用いる。これで繊毛のないゾウリムシができる(時間がたてば再生する)。筆者も試してみたが、処理が強すぎると細胞が死ぬので注意する。

(8) 観察のための工夫

カバーガラスによる圧死の防止や長時間の観察のための工夫を紹介する。

圧死の防止には、カバーガラスや綿の繊維などを枕にする方法が一般的であるが、高校教科書ではビニルテープを利用した方法が広く紹介されている。ビニルテープを古いフィルムやトラベンシートなど、ある程度の硬さがあつて、あとではがしやすい材質のものに貼り付け、事務用穴あけパンチで中央に2cm間隔く

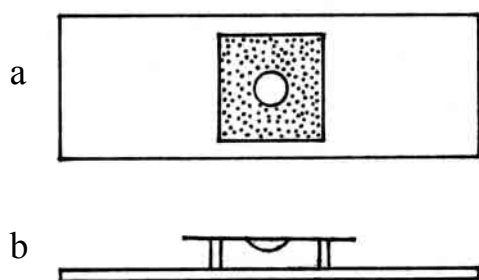


図6 観察のための工夫 a: ビニルテープを貼ったスライドガラス b: 懸滴法

らいて穴を開ける。穴が中心にくるように2cmくらいずつに切ったものをスライドガラスに貼り使用する(図6-a)。ビニルテープは0.3mmほどのちょうどよい厚さで、また、生徒にとっては穴の中に試料があるので、対象を探しやすい長所がある。

長時間の観察の場合は、プラスチック容器に湿らせたろ紙を敷いた湿室(moist chamber)にデプレッションスライドなどを保管して蒸発を防ぎながら、必要に応じて湿室から取り出し検鏡する方法が一般的である。しかし、顕微鏡のステージに載せたまま、長時間観察をするには懸滴法が適している(図6-b)。筆者は、肉厚1mm内径15mmのガラス管を3mmの厚さに切断したガラスリングをエポキシ樹脂系の接着剤でスライドガラスに貼り付けたものを利用している。まず、カバーガラス中央部に少量(1滴未満)の液とともに細胞を置く。次に、ごく少量の水をいれたガラスリングの上にカバーガラスを反転して載せる(カバーガラスとリングの間はワセリン等で封じなくても、両者が密接していれば乾燥の心配はない。むしろ、封じない方が良好であった)。文化祭の日の展示用に、朝セットしてから午後3時すぎの終了時間まで(6時間以上)の間、何も世話をせず、ゾウリムシ、プレファリスマなどの原生動物を活発な状態で維持し、しかも検鏡倍率100倍の視野内に常時納まるようにできた。この方法は研究にも応用が利くものと思う。

参考になる図書・文献とウェブサイトの紹介

○ 参考図書・文献

1. 原生動物の観察と実験法 重中義信監修 共立出版 1988
2. 原生動物細胞—医学・生物学の実験系として 野沢義則編 講談社サイエンティフィック 1981

3. 新しい教材生物の研究—飼育培養から観察実験まで 山田卓三・山極隆編 講談社 1980
4. 特集/教材生物とその確保 遺伝29巻3号 1975
5. 教材開発および確保に関する研究 神奈川県立教育センター紀要 1982

○ ウェブサイト

1. 原生生物情報サーバ
http://protist.i.hosei.ac.jp/Protist_menu.html
2. 見上研究室 水中微小生物図鑑「Microbio-World」
<http://mikamilab.miyakyo-u.ac.jp/index.html>
3. 筑波大学生物科学系植物系統分類学研究室「藻類画像データ」
<http://www.biol.tsukuba.ac.jp/~inouye/ino/contents.html>
4. 日本下水道施設協会—活性汚泥動物園
<http://www.siset.or.jp/doubutu/menu.htm>
5. 北海道立理科教育センター
<http://www.ricen.pref.hokkaido.jp/>
6. 神奈川県立総合教育センター
<http://www.edu-ctr.pref.kanagawa.jp/>
7. 淡水プランクトンのページ
<http://cyclot.hp.infoseek.co.jp/index.html>
8. 愛知教育大学生物教材文献検索データベース
<http://www.bio.aichi-edu.ac.jp/bio.htm>
9. 福原のページ(植物形態学・分類学など)「自習のためのリンク集」
<http://www.fukuoka-edu.ac.jp/~fukuhara/index.html>

おわりに

高校教育の立場で「原生動物の教材化」を実践してきた経験の一端を書かせていただいた。ご意見、ご批評をお願いしたい。また、今回、このような機会を与えてくださり、貴重な紙面を多く費やさせていただいたことに対し、心より深く感謝申し上げます。

参考文献

1. 高等学校学習指導要領解説 理科編 理数編 文部省 大日本図書 1999
2. 生物教材の支援に関する研究—情報の提供による教材の有効利用 岡山県教育センター 2002
3. 見上一幸・村松隆・黒川浩也(2000)環境教育素材としての微小生物ときれいな水—市販自然水を用いたボルボックスの培養—宮城教育大学環境教育研究紀要 2, 7-14