

豆苗を活用するシリーズ第2弾

豆苗を用いた茎頂分裂組織の観察

「豆苗」はエンドウの芽生えで、季節を問わずスーパーなどで安価に簡単に手に入る材料です。新鮮で状態の揃った材料を生徒人数分すぐにそろえることができます。植物の茎頂から根端まで、根、茎、葉がすべて得られ、まだ、茎の枝分かれが少ないシンプルなつくりであるのも特徴です。

豆苗を用いて、重力屈性の観察と、茎の内皮や根の根冠にある平衡細胞とアミロプラストを観察する実験をこちらに提案しています。

高校生物 実験教材の広場

<https://bioeve88.web.fc2.com/>

2018年日本生物教育会全国大会 発表スライド 豆苗を使ったアミロプラストの観察

https://bioeve88.web.fc2.com/JABE_2018_usui.pdf

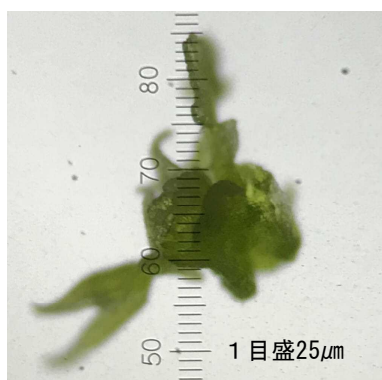


今回は、この豆苗を用いて、茎頂分裂組織の観察を行ったので、その手法を紹介します。

1. 茎頂の観察と切り出し

エンドウは子葉が根元に残るので、伸びていく茎は上胚軸、葉は全て本葉です。

「茎頂」という語のイメージだけで、伸びた豆苗の一番先を探していると見つかりません。先端部分は分裂組織で作られた葉と巻きひげです。その付け根をたどっていくと、次に伸びる葉と、それに包まれてその次の葉を作っている膨らみが見つかります。茎頂はその中です。実体顕微鏡下でピンセットを使って葉を開いて行くと見つかります。



小さな塊なので、周囲も含めて取り出し、スライドガラスに乗せます。

2. プレパラートの作成 ～固定・解離・染色・押しつぶし～

準備： 45% 酢酸 サフラニン・ファストグリーン二重染色液（下記参照） 1mol/L 塩酸

試料が小さいので、作業を全てスライドガラスの上で行います。

① 45% 酢酸を滴下し、数分置く。ろ紙で酢酸を吸い取る。…固定

② スライドガラス上の材料を置いていない場所に染色液と塩酸を1滴ずつ滴下し、つまようじで混ぜ合わせる。

つまようじを使って混合液を試料のところに誘導するか、試料を混合液の中に移動させる。室温で10分間置く。

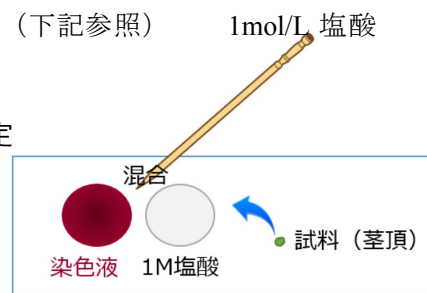
スライドガラスの端をバーナーで少し温めると3～4分間でよい。…解離・染色

③ ろ紙で解離染色液を吸い取る。水1滴を落として吸い取りを2回行う（洗い）。

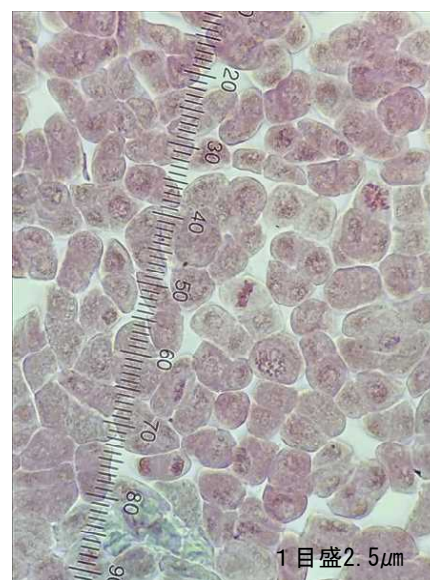
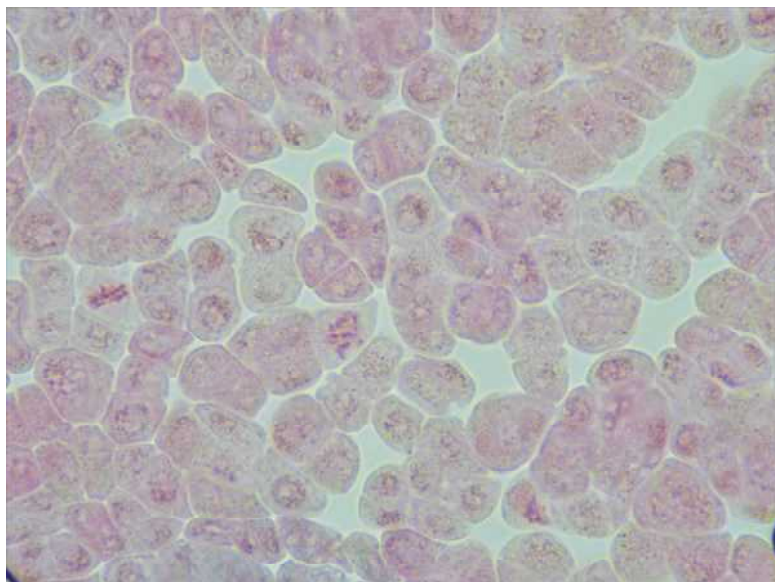
④ 水1滴を落とし、カバーガラスをかけ、上からろ紙をかぶせて、指の腹で一気に強く押しつぶす。必要に応じて、カバーガラスの上からつまようじの頭でコツコツと叩いて細胞を広げる。

最初の一撃が肝心なのは、根端のときと同様。細胞が小さいのでかなり強く押しつぶしてもよい。

「一気に」「強く」「真上からズレないように」の鉄則を守れば、慣れた方法で良い。



観察例（左右の写真は撮影方法・倍率が異なります）



サフラニン・ファストグリーン二重染色液の調製

サフラニン 0.30 g とファストグリーン 0.05 g をエタノール 10mL に溶かし
水で5倍に薄める

サフラニン、ファストグリーンそれぞれを別々の器に入れたエタノールでしっかりと
溶かしてから合わせた方がよい。

解離用の1M塩酸 と 1 : 1 で混合すると、解離・染色を同時に行うことができる。
塩酸と混ぜると長く持たないので、使用前に混ぜ、数日で使い切るようにする。

サフラニンが核・染色体を赤色に、ファストグリーンが細胞質を薄く青色に染めるため、
細胞1個1個の輪郭が見分けやすくなる。短時間でよく染まり、授業で行う根端分裂組織
の観察には大変優れた染色液。サフラニン単独でも細胞分裂はよく観察できる。

ネギ根端分裂組織の観察方法

https://bioeve88.web.fc2.com/mitosis_sf.pdf