

ネギ *Allium fistulosum* の

根端細胞の分裂指数

三橋 遼太 篠原 良彰

【概要】

生物の授業で習った細胞分裂に興味を持ち、ネギを用いて根の長さで分裂指数の関係について調べてみようと思った。ネギの種子を恒温器で発芽させ、生育させる時間を変えて根の長さを調節した。その根端 1mm を取り、酢酸ダーリアを用いて染色して根端細胞を観察した。観察するネギの根は長さが 2~10mm までは 2 ミリずつ(誤差±0.5 ミリ)で区切って測り、12mm からは 5 ミリ間隔(誤差±1 ミリ)で測った。1 枚のプレパラートあたり 1000 個の細胞を観察し、前期・中期・後期・終期・間期の数を数えた。この実験の結果から、ネギの「細胞分裂の開始時期」と「ネギの根の長さで分裂指数の関係」について考察した。ネギの長さで分裂指数の関係は、成長初期に大きく増加し、ピークを迎えた後、徐々に小さくなっていった。また、ネギの細胞の分裂が始まる根の長さは、4mm 付近であると推察した。

Abstract

We were interested in the cell division, which we learned in the biology class. Then we decided to study the relation between the root length of a green onion and the mitotic index. We germinated the seed of a green onion in an incubator to control the growing period and the root tip was sliced, stained by Dahlia acetate, and the cell of the root tip was observed. The length of the root was measured by 2mm when the root length was from 2mm to 10mm with ± 0.5 error, and by 5mm when the root length was 12mm and longer than 12mm with ± 1 mm error. 1,000 of the cell per one prepared specimen was observed, and the number of the cell in prophase, metaphase, anaphase, telophase, interphase was counted.

Based on the result of this experiment, “the beginning period of the cell division of a green onion” and “the relation between the root length of a green onion and the mitotic index” were studied. The cell division index was greatly increased in the early phase of the root growth, and reached a peak, and then decreased gradually. It was also observed that the cell division of a green onion began when the root length became around 4mm.

【研究の目的】

僕たちは学校の生物の授業で動物や植物の細胞の分裂を勉強して興味を持ち、もっと細胞分裂について調べてみたいと思った。

トマトが好きだったので、当初はトマトを使って実験をしようと思った。そこで、トマトの苗を先生に買ってきてもらい、屋外で栽培して、その根を用いて体細胞分裂を観察した。しかし、実験を始めた時期が秋からだったので、トマトの成長が悪く、観察に適した根が得られにくかった。また、トマトの細胞

の核は小さいので、顕微鏡で観察するのが難しかった。

そこで、近くのスーパーなどで簡単に手に入れることができるネギを使うことにした。ネギの細胞の核はトマトに比べて大きいので、学校にある光学顕微鏡を使って十分観察することができる。また、ネギの種子を用いて恒温器で発芽させることができるので、確実に観察可能な根を数多く得ることができる。このように使い勝手のよい「ネギ」を使って実験をしようと思った。

また、学校の先生に分裂指数について教えていただき、興味を持った。ネギの成長と分裂指数の関係と根の伸長における細胞分裂の開始時期について調べてみようと思った。

【仮説】

1. ネギの細胞分裂の開始時期について

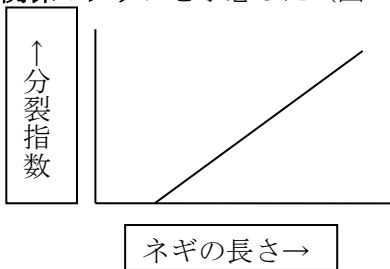
植物の種子が発芽する場合、発芽のごく初期の段階では細胞分裂が行われず、単純に細胞の成長によってのみ植物が伸長することが知られている。このことから細胞分裂はネギの全長が2mm付近のころから始まるだろうと予想した。

ネギの細胞分裂の開始時期が2mm付近であると予想したのは、種子の中に含まれている細胞数には限りがあり、その細胞数もあまり多くないと推測し、ネギの種子は2~3mmの大きさなので、細胞の成長だけではその1/3程度の成長が限界ではないか。そのため、その細胞の成長が一端終わると細胞分裂が終わると考えたからである。

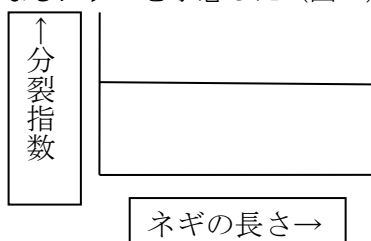
2. ネギの長さで分裂指数の関係について

1の分裂開始時期も考慮に入れて、ネギの長さで細胞分裂の関係のグラフを一定、比例、S字形、法則なしの4パターンの結果を予想した。

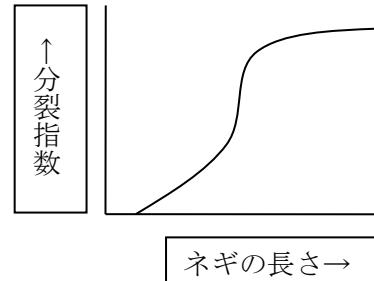
① 根の長さが長くなるにつれて分裂指数も同じ割合で大きくなりつづけると考えて**比例関係のグラフ**を予想した(図3)。



② 細胞分裂を始めてからの**分裂指数は一定**であるつまり、ネギの根の長さが伸長してもいつの時期も分裂の頻度は同じと考えて**一定になるグラフ**を予想した(図4)。



③ 一般に生物の個体群の増加はこのようなS字形の成長曲線がみられるため、分裂指数においてもこのような傾向が見られるかもしれないと考え、このようなグラフを予想した(図5)。



④ ネギの分裂指数はネギの成長に関係なくばらばらで、ネギの体長と関係はない、とも考えられる。

【実験器具・装置・材料】

(1) 栽培

- 一本太ネギの種(市販)
- インキュベーター
- シャーレ
- 純水
- ろ紙

(2) 酢酸ダーリア染色

- 一本太ネギの発芽種子
- シャーレ
- ろ紙
- 時計皿
- 爪楊枝または割り箸
- 0.5%酢酸ダーリア溶液
- 1 mol/L 塩酸
- グリセリン水(酢酸ダーリア液、塩酸、グリセリン水については1滴の体積が容易にほぼ正確に滴下できるため、目薬用の容器を用いた。グリセリン：水=1：1)
- フィルムケース
- ビーカー
- 加熱器具
- 温度計
- ピンセット類

(3) 観察

光学顕微鏡

カウンター

【分裂指数について】

- ◇ 分裂指数とは細胞集団内の分裂期(M期) [前期、中期、後期、終期]の割合のことで、細胞の分裂指数は、集団内の細胞総数における分裂の頻度を示す。
- ◇ 分裂指数は「放射能による細胞への影響」や、「ヒト心筋細胞が心筋梗塞後に分裂することを示す証拠」、また「染色体異常による小核の発生」などについての実験に用いられている。
- ◇ 今回の実験ではネギの長さとその分裂指数の関係について調べる。
- ◇ 分裂指数 (%) = (分裂期の細胞数/分裂組織中の全細胞) × 100

【実験方法】

(1) ネギの根の長さの測定について

ネギの種子を恒温器に一定時間に入れてネギを発芽・伸長させた。観察したいネギの長さによって、2mm付近なら24時間後、4~6mmなら48時間後、それ以上なら72時間以上後に取り出しネギの全長を測定した。

観察するネギの根は長さが2~10mmまでは2ミリずつ、誤差±0.5ミリで区切って測り、12mmからは5ミリ間隔で誤差±1ミリで測った。

また、測るネギの全長は図に示している矢印から矢印までの長さとした。また、まがっているところはピンセットなどでまっすぐにして測った。

上記の操作によって種子の発芽後の伸長の伸び具合を調べた。次に各分裂期(前期、中期、後期、終期)と間期の細胞数を数えた。1つのプレパラートあたり1000個の細胞を観察し、根の長さごとに分裂指数を算出した。

(2) 染色方法

- ① 一方のフィルムケースに、酢酸ダーリ

ア液と1mol/L塩酸を7:3の割合で入れて、よく混合する。溶液の混合は実験の直前に行い、実験後は溶液を廃棄する。同じ溶液は次回からは使わない。

- ② 染色液を35℃に温める。次に湯に1~2分程度つける。ビーカーを使って温めるので、温度の低下を考えて最初は少し温かめのお湯を準備する。
- ③ 染色液にネギの根端をつけ、15分間染色する。その後フィルムケースを湯につけて35~38℃に保つ。
- ④ 染色が終わったら、時計皿に入れた水で2分間以上(~30分間)洗う。

(3) プレパラート作り

- ① スライドガラス上で、根端1mm程度を切り取る。
- ② 根端にグリセリン水を1滴かけ、カバーガラスをかける。このとき、根端をできるだけ真ん中に寄せておく。また、カバーガラスを書ける際に気泡が入らないように気をつける。
- ③ カバーガラスの端を濾紙で軽く押さえて、爪楊枝または割り箸の先で軽くたたいて細胞を散らす。このときに散らしすぎると細胞が一つ一つ離れすぎて観察しづらくなり、よく散らせていないと細胞が重なってしまい、観察できなくなる。薄く紫色が見えるくらいになるまで散らす。また、カバーガラスがずれないように反対の手でカバーガラスを軽く押さえておく。
- ④ 細胞がうまく散らばったら、プレパラートを濾紙の間にはさみ、カバーガラスがずれないように気をつけながら、親指の先で強く押しつぶす。全身の体重をかけて押しつぶすようにする。

(4) 観察

- ① 顕微鏡で100倍または400倍で観察する。図24は400倍のサンプルである。
- ② 分裂期の細胞を判定し、カウンターで数

える。記録用紙に数を記録し 1000 個をこえたところでやめる。

【実験結果・考察】

今回の実験では、ネギの根端の分裂期の細胞が 3.8mm から見られるようになった。根端細胞の分裂開始時期は 2~4mm の間であると推測される。

予想では分裂開始時期はネギの種子の大きさが 2mm 付近としていた。今回の結果からはその数値の 2 倍くらい 4mm と推測された。発芽後ごく初期の段階では細胞分裂が行われないことが確かめられたが、4mm 付近まで細胞の成長によってのみ伸長ということになる。また、分裂指数は 8mm 付近で最大となって 15mm まで続き 20mm からは少なくなっている。グラフ 1 と 2 からネギの長さで分裂指数の関係は、初期に大きく増加し、ピークを迎えた後、徐々に小さくなっていった。

分裂が開始されてから、分裂はすぐに活発に行われるのではなく、約 48 時間後、体長

8mm にその頻度が最大になる。それが体長 15mm まで続いた後、分裂期細胞の割合が少なくなっていく。予想とはどれも違っていたが、常に同じ活発さで分裂がされているのではなく、細胞数を早いスピードで増やす時期があると推察した。

生物分野における研究および実験の、かならずしも思った通りの結果が得られないという先哲の教えを改めて噛み締めるに至った。

今後の課題を設けるならば、観察方法を何度も試行し、ネギの発芽個体の扱いに慣れることや観察個体数をより増やすことがあげられる。当然、その結果の正確さを裏付ける根拠となりうる工夫、方法も再考しなくてはなるまい。さらに予め実験に対する十分な学習を怠ってはならないだろう。

以上をふまえた上で、今回の実験に一応の区切りをつけるものとする。

