

土壌線虫の教材化に関する研究
—マイ土壌線虫を使った実験・観察—

千葉県立 ○○○○ 高等学校 ○○ ○○ (生物)

1 はじめに

生き物を使った実験は、生命の神秘に触れることで生徒に感動を与え、いろいろな示唆をもたらしてくれる。しかし、生き物を飼育・培養し、維持していくには、大変な労力と費用が必要となる。そこで、教材として季節を選ばず簡単に活用できる生物の研究を行った。

土壌線虫は、身近な土壌中に大量に生息し、生育サイクルもとても短く、高校の生物実験に有効に活用できると考えるが、現在高校では土壌線虫を使った実験についてほとんど研究されていない。大学等における最先端の研究では飼育方法が確立された *C.elegans* とよばれる線虫（モデル生物）が用いられている。しかし、維持管理していくには、費用と施設が必要となり、また、発生時の観察方法も卵を持った1 mm 前後の線虫を探し、それをスライドガラスにのせ、カミソリで細かく切断し、卵を取り出し観察するというものである。高校の生物実験では、技術的な面、時間的な面において実施が難しいのが現状である。

そこで、生物の「生殖と発生」、「生物の系統と分類」で実験することができる教材として身近にいる土壌線虫の活用を考えた。ある土壌線虫は、受精から約14時間でふ化し幼虫となる。また、1回の卵割が10分から15分程度で進むため、1時間の授業の中で卵割の様子を観察させ、発生のメカニズムを学習させることができる。

本研究では、身の周りにある土壌からベールマン法を用いて土壌線虫を抽出し、生徒一人ひとりに培養・増殖させ、簡単に実験・実習することができる方法を提案し、これらを使った実践を検証することを主題とする。

2 研究の方法

(1) 実験方法・マニュアル・資料の開発

ア 生徒一人ひとりが採取した土壌を手作りベールマン装置にかけ土壌線虫を抽出する方法を開発する。

イ 土壌線虫を小型シャーレで培養する方法を開発する。

ウ 土壌線虫の形態や卵が卵割する様子を観察する方法を開発する。

エ ベールマン装置で観察するための資料を作成する。

オ 土壌線虫の中でモデル生物として研究されている *C.elegans* についての授業資料を作成する。

(2) 授業（実験）の実践

実験用プリントを作成し、生徒実験を行う。

(3) 授業での検証

授業に取り組む様子等に基づき検証を行う。

3 研究内容

(1) 実験方法・マニュアル・資料の開発

ア 抽出法

(ア) 手作りベールマン装置の開発

ペットボトルを用い、土壌線虫の抽出効率がよく、簡単に製作できる手作りベールマン装置を開発する。

- a 500mL ペットボトルを半分に切断したものが、安定性、抽出効率が高かった (図1)。
- b 抽出に使用する水量

手作りベールマン装置では、たくさんの水を入れることができる。しかし、多く入れすぎると抽出液を入れる直径9cmのシャーレからあふれてしまうので、抽出時に入れる水量は80~100mL前後が適当である。



図1 手作りベールマン装置

(イ) 土壌線虫を抽出するために用いる土壌等について

コンクリート上に生えるコケと土壌上に生えるコケを同量ベールマン装置にかけ、抽出したものから土壌線虫を生徒に選び取らせる。

a 結果

- ・土壌上に生えるコケからは、ほとんど土壌線虫を発見することができなかった(図2)。
- ・コンクリート上に生えるコケから30匹前後の土壌線虫を発見することができた(図3)。



図2 土壌上のコケ



図3 コンクリート上のコケ

同様の設定で、教員が土壌線虫を探したところ、土壌上のコケ、コンクリート上のコケから30匹前後の土壌線虫を発見することができた。土壌上から手作りベールマン装置を使って抽出したものには、たくさんの土が混入するため、双眼実体顕微鏡で探すときに邪魔になり、生徒には発見しづらくなっていると思われる。

b 結論

今回は、土壌があまり付着していないコンクリート上のコケを用いることにより、簡単に土壌線虫を探することができる方法を提案する。

(ウ) 土壌線虫を抽出するためのガーゼについて

ガーゼを2枚に重ね実験したところ、土壌線虫の抽出数が少なかった。効率よく抽出するため、ガーゼは重ねず1枚のまま使用する。

(エ) 手作りベールマン装置で土壤線虫を抽出する流れ

- ① 手作りベールマン装置を製作する (図4)。
- ② コンクリート上のコケを採取する (図5)。
- ③ コケをアルミ缶で作った切り抜き器を用い 50~80mL 程度切抜く (図6)。
- ④ ペットボトルのキャップ側を下にし、ガーゼを1枚かけ、コケを砕き入れる (図7)。
- ⑤ ペットボトルの下半分に④を入れ安定させ、80~100mLの水をコケに注ぐ (図8)。
- ⑥ 24時間抽出する。
- ⑦ 直径9cm シャーレを下におき、キャップをあげ、抽出液を取り出す (図9)。
- ⑧ 双眼実体顕微鏡を使い、抽出液から土壤線虫を探し、パストゥールピペットで吸い上げ時計皿に入れる。
- ⑨ ⑧を水と一緒に直径3.5cm 培養用シャーレに移す (培養用シャーレについては次項イで説明する)。

<抽出の流れ>



図4 手作りベールマン装置



図5 コンクリート上のコケ



図6 コケの切り抜き



図7 ベールマンにコケをセット



図8 水を入れ抽出



図9 シャーレに抽出液を取り出す

イ 培養法

(ア) 培養用寒天培地の作成 <教員準備>

寒天培地の寒天濃度は約1.5%とした。通常よく用いられる直径9cmのガラスシャーレは、場所をとり、破損しやすい欠点があるため、直径3.5cmのプラスチック製のシャーレを用いた。こちらの方が、コスト的にも優れている (図10)。

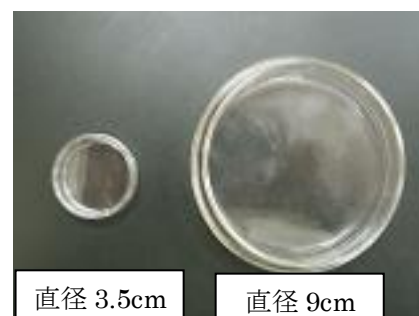


図10 培養用シャーレ

- ① 40枚分の分量は、寒天 30g に 197g の水（水道水）を加える。
- ② 加熱し寒天を溶かす。冷めたら、シャーレの 1/3 ぐらいの高さに分注する。

<寒天培地の工夫>

線虫用の寒天培地は通常 2% でつくる場合が多い。しかし、2% 培地ではカバーガラスで押しつぶした時、硬すぎて十分につぶれない。その為、今回は形状が安定し、押しつぶすことができる 1.5% 寒天培地を使用することとした。

(イ) 培養用培地の作成（エサとなる生物の培養） <教員準備>

エサは、*C.elegans*（モデル生物として使われる土壌線虫）では、大腸菌である。土壌線虫は細菌などをエサとしてしていると考えられている。今回は、土壌や草などに付着している枯草菌で、より身近で簡単に手に入り、培養の簡単な納豆菌を用いた。

- ① 納豆パック（30g 程度）1つを 250mL の水に入れ攪拌する。300mL のフタ付き三角フラスコに移し、冷蔵庫で保管する。これをエサ用細菌とした（図 11）。
- ② 培養用寒天培地にパストゥールピペットを用い、エサ用細菌を 2, 3 滴加える。クリップをトンボ状にした手作りコンラージ棒で全体に広げる（図 12）。
- ③ 使用時まで 5 枚前後を一組とし乾燥を防ぐため食品包装用ラップフィルムで包み、冷蔵庫で保管する（図 14）。



図 11 エサ用細菌



図 12 培地とコンラージ棒

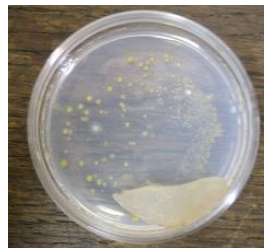


図 13 納豆菌コロニー



図 14 保存用培地

<土壌線虫のエサ> 「大腸菌と納豆菌について」

大腸菌は、グラム陰性菌で細胞壁が薄く、外層にリポ多糖を持つ。毒素としてエンドトキシン（内毒素）を産生する。それに対し、納豆菌は、枯草菌の仲間のグラム陽性菌である。細胞壁が厚く、外層にリポ多糖を欠く。毒素は外毒素を放出する。納豆菌は外毒素を放出するため、土壌線虫などの土壌生物の培養には不適と考えたが、実際に培養用のエサとして与えてみると問題なく生育した。

雑菌が混入しないように培養培地を作成すると、金色の納豆菌コロニーができる。この純粋納豆菌培地に土壌線虫を入れてみたところ、ほぼ 1 日で納豆菌コロニー中にたくさんの土壌線虫と卵が見られるようになった。納豆菌はエサとして活用でき、スライドガラスへ移して観察する時にも卵を見つけやすくし、実験をスムーズに進められることがわかった（図 13, 16）。

(ウ) 土壤線虫の培養 <教員作業>

土壤線虫を入れた培養用シャーレを 20℃前後の人工培養器に入れ培養する。1 週間程で、たくさんの土壤線虫と卵を培養用培地中に見つけることができるようになる。

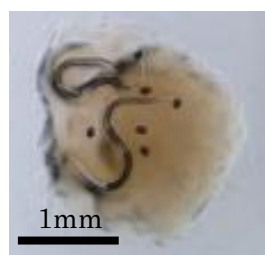
(エ) 土壤線虫の継代培養 <教員作業>

生徒の土壤線虫が増えなかったときのため、教員がバックアップ用を培養しておく必要がある。そのためにペールマン装置から抽出しては手間と時間がかかってしまう。シャーレの中で土壤線虫や卵が密集しているところを 5 mm～1 cm 角の立方体で取り出し、納豆菌をまいた新しいシャーレに移すことで継代培養を簡単に行える。1 週間ほどで土壤線虫が増殖する (図 15, 16)。



土壤線虫が
たくさんい
る 5 mm 角
の立方体

図 15 継代培養用シャーレ



納豆菌コロニー
に繁殖する土壤
線虫と発生途中
の卵

図 16 納豆菌コロニー

増殖した土壤線虫は、シャーレ内の寒天培地が乾燥してなくなる限り、数ヶ月間生き延びることができる。また、第 1 齢幼虫期に悪条件 (エサがないなど) にあうと第 2 齢幼虫から耐性幼虫となり、更に数ヶ月間生き延び、環境がよくなると脱皮し、第 4 齢幼虫となることができる。長期間保存する場合は、シャーレの周りを薄膜フィルムなどで覆うことにより乾燥を防ぐことができる。

今回の実験では、夏 30℃以上になったが、土壤線虫は死滅することがなかった。これは、抽出した土壤が乾燥したコケを中心としたものであったためと考えられる。乾燥したコケでは、日常的に高温状態にさらされ、それでも生き残っている種が優先種となっているためと思われる。

ウ 形態・発生の観察法

専門の研究者が行っている土壤線虫を 1 匹ずつ培養シャーレから取り出し、スライドガラスに移す作業は、技術が必要であり、時間がかかってしまう。また、卵を持つ土壤線虫を探し、体内にある卵を取り出すためにカミソリを使い切断するのも難易度が高い。この欠点を克服するため、培養シャーレから高密度に土壤線虫が生育し、卵がある部分を選択的に寒天ごとピンセットで取り出し、観察する方法を開発した。これにより技術の習得が不要になり、観察にかかる時間が十分に確保できるようになった。

- ① 光学顕微鏡を使い、培養用シャーレを観察し、高密度に土壤線虫が生育し、卵がある部分を見つける (図 17)。

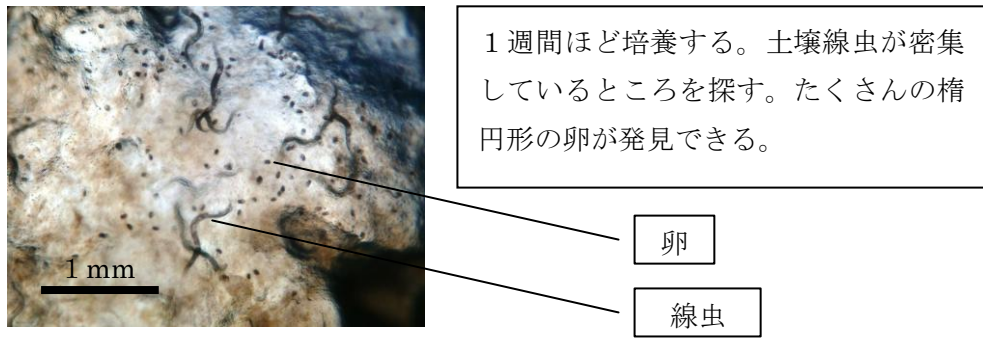


図 17 土壤線虫と卵

② ピンセットを用い①の部分から5 mm 角の立方体を取り出し、スライドガラスにのせ、カバーガラスをかける (図 18)。

③ カバーガラスの圧力を調節し、動いている土壤線虫を観察する (図 19)。



図 18 動作観察用プレパラート



図 19 形態観察用に加圧

④ カバーガラスの圧力を強め、土壤線虫の動きを止め、形態を観察・スケッチする (図 20, 21, 22)。図 20 では陰門付近に卵が見え、図 21 ではその卵が体外に放出されている。

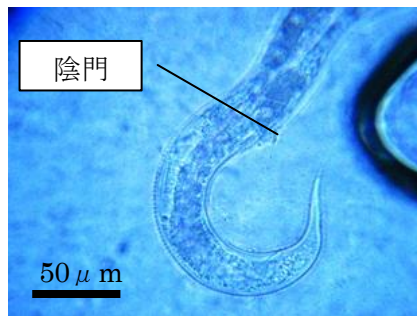


図 20 産卵前の土壤線虫

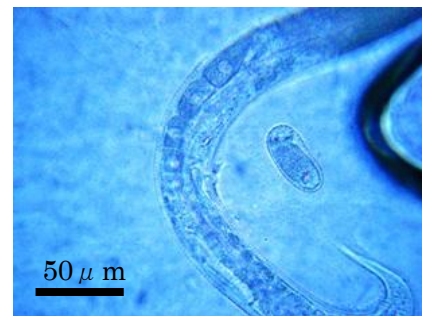


図 21 産卵後の土壤線虫



図 22 土壤線虫の全体像

⑤ 土壤線虫の卵を探し，卵割している卵を観察・スケッチする（図 23, 24, 25, 26, 27）。

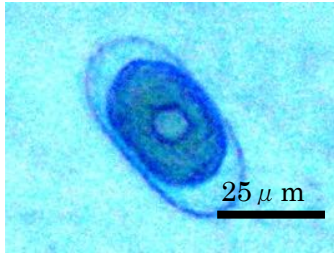


図 23 受精卵



図 24 2細胞期



図 25 4細胞期

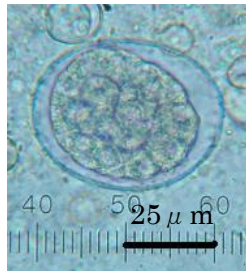


図 26 多細胞期



図 27 卵内の土壤線虫

土壤線虫は，旧口動物のため，らせん卵割をする。4細胞期なのに細胞は3つしか見えない場合がある。放射卵割のウニなどとの比較ができる。

<土壤線虫の増殖，卵の確認時のコツ>

落射光では，寒天とエサ用細菌層内部の様子が詳しく見えない。透過光を用いると内部の様子が確認でき，土壤線虫や卵を簡単に確認できる。土壤線虫は1 mm 前後で肉眼でも確認できるが，20～40 倍程度の透過光を用いることができる双眼実体顕微鏡（ステージの下から光源により照らすことができるタイプのもの）を使うとより確認しやすい。なければ光学顕微鏡（40～60 倍程度）で観察しても確認しやすい。

土壤線虫の種によっては，図 23 から 25 までは，それぞれ 15 分前後ですすむため，変化を見逃さぬよう注意させる。

エ ベールマン装置で観察するための資料の作成

(ア) 校内の土壤線虫調査

校内のコケや土壌を調査し，多く見られる種を特定した。同定に使用した書籍は，「日本土壤動物図鑑」（2011 年現在では絶版）である。校内の土壤線虫は，「*Plectidae*」が藨類に多く見られ，土壌中には「*Rhabditidae*」が多く，生息していた。藨類で見られる「*Plectidae*」は，あまり大型ではないため同定には 1000 倍の光学顕微鏡が必要だった。「*Rhabditidae*」は 600 倍の光学顕微鏡で同定することができた。

(イ) ベールマン装置で抽出される生物について

ベールマン装置からの抽出液や培養シャーレを低倍率（20～40 倍）の双眼実体顕微鏡で観察すると土壤線虫以外のさまざまな生物が観察できる。生徒は，とても熱心に観察を行う。補助資料として，主なものを紹介する。

・クマムシ（緩歩動物）

藓類のコケを使つての抽出では、高頻度で見られる。とても愛らしいスタイルと歩き方が特徴で、生徒たちには人気がある。そのイメージとは裏腹に脅威の生命力を持っている。乾燥や飢餓などの状態になった時には、体内の水分を糖（トレハロース）に置き換え浸透圧を高め、乾眠状態（クリプトビオシス）となる。この状態では、真空状態で生き抜くこともできる。クマムシは4対8脚の脚をもちクマのように歩くことからこの名がついたと言われる。クマムシだけで1つの門（緩歩動物門）をつくる特殊な生き物である。通常のコケなどから発見されるのは、大型で肉食のオニクマムシや小形でコケの葉緑素をエサとするコガタチョウメイ属のクマムシなどである（図28）。

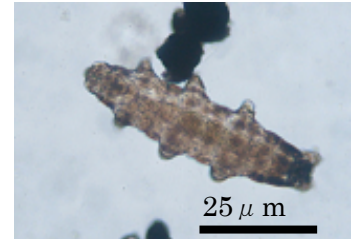


図28 クマムシ

・ワムシ（原生動物）

必ずといっていいほど、見られるのがワムシの仲間である。シストを形成し、空気中をただよっている。水分などの条件があるとそこで繁殖し、増殖する。ゾウリムシやミドリムシなどを培養していると混入してしまうやっかいものである。動き方がおもしろく興味を引く生き物である。写真のヒルガタワムシは、ヒルのように体が柔らかく伸縮することができる。



図29 ヒルガタワムシ

大きさは約100~1000 μmで、頭、頸、胴、足の4つに分かれ、頭部には1対の眼点がある。水草などに付着するために足の端には趾（あしゆび）が何本かある（図29）。

・星状毛（植物の一部）

たまに見られる。ケイソウ類の仲間似ているが、植物の茎の表面に生えている毛の一種である。いろいろな形のものが抽出されることがある（図30）。



図30 植物の星状毛

・ヒメミミズ（環形動物）

土壌線虫に形状は似ているが、明らかにサイズが大きく、体に環（体節）がある。体表に短い剛毛が並列することで区別することができる（図31）。

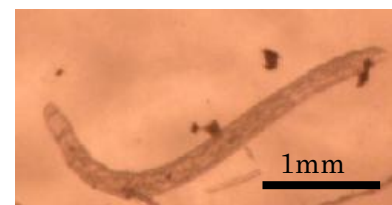


図31 ヒメミミズ

・コナダニ（クモ綱）

ダニの仲間である。抽出時は見られないが、培養をしていくとどこからか必ず侵入し、数を増やしていく。長い毛が特徴的である（図32）。

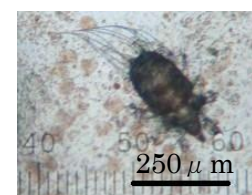


図32 コナダニ

オ 土壌線虫の中でモデル生物として研究された *C. elegans* についての授業資料を作成する。

モデル生物として研究されている *C. elegans* という線虫は、雌雄同体と雄の個体がいる。細胞数は 959 個（雌雄同体の個体）で、世代期間は約 3 日と非常に短い。受精から成虫ができるまでの時間は、約 14 時間である。P 2 レベルの研究室では、DNA に結合するヒストンタンパク質と紡錘糸を構成するチューブリンというタンパク質に GFP（緑色蛍光タンパク質）をつけることにより、細胞を生かしたまま染色体の移動を観察することができる。1 回の細胞分裂の時間は約 15 分である。蛍光顕微鏡を使うとリアルタイムで分裂の様子を見ることができる。図 34 の写真で光っているのは染色体や紡錘糸である。（図 33, 34）。

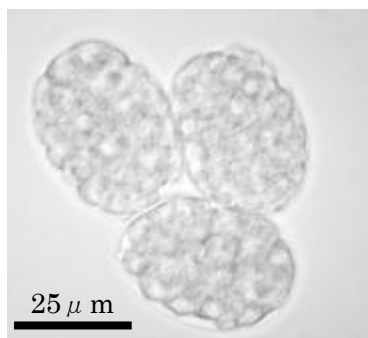


図 33 光学顕微鏡写真

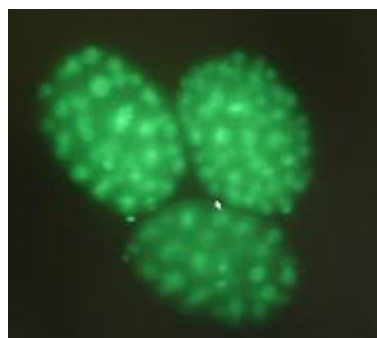


図 34 蛍光顕微鏡写真

(2) 授業（実験）の実践

ア 指導計画と授業展開

(ア) 指導計画

単元名 「生殖と発生」

ベールマン法を用いて、土壌生物を抽出し観察すると共に、自ら抽出した土壌線虫を培養し、卵の発生の様子を観察し、発生の導入とする。

- a 手作りベールマン装置の製作と土壌生物の抽出… 1 時間
- b 土壌生物の観察・同定・選別… 1 時間
- c 土壌線虫の発生観察… 1 時間

(イ) 授業展開

a 手作りベールマン装置の製作と土壌生物の抽出

(a) 本時の目標

- ・ 500mL ペットボトルを使用し、手作りベールマン装置を製作する。
- ・ 乾燥しているコケと湿っているコケの生物数について仮説を立てさせる。
- ・ 蘚類のコケを採取し、コケの生育環境について知る。
- ・ ベールマン法の原理について理解する。

(b) 展開

学習内容	学習活動
実験の目的を知る 実験の流れを確認する	・ 土壌採取のため、外に集合させる。 ・ 実験の必要性と意義を説明する。 ・ 乾燥しているコケと湿っているコケでどちらに生物が多いか班毎に仮説を立てさせる。

コケ（蘚類）の採取	<ul style="list-style-type: none"> コケ（蘚類）について簡単に説明する。各班で乾燥しているものと湿っているものを採取させる。 取ってくる量は約 100mL。 抽出後の選別をスムーズにするため、コンクリート上のコケを採取し、実験室に戻る。
手作りベールマン装置の製作	<ul style="list-style-type: none"> 500mL のペットボトルの中央付近を切断し、手作りベールマン装置を製作させる。 ガーゼを 15cm×15cm にカットさせる。
土壌生物の抽出	<ul style="list-style-type: none"> 採取してきたコケ約 80mL を 1～2 cm 程度に碎き、ガーゼで包ませる。手作りベールマン装置にセットし、水をガーゼが浸るくらい入れさせる。
ベールマン装置について解説	<ul style="list-style-type: none"> 全体が落ち着いたところで、ベールマン装置について解説を行う。ワムシやクマムシなどのクリプトバイオシス（乾眠状態）についても触れる。
次回の実験の確認	<ul style="list-style-type: none"> ベールマン装置で 24 時間抽出を行い、次回、土壌生物を観察することを確認する。
後片付け	<ul style="list-style-type: none"> ペットボトルの切断片に注意し、後片付けをさせる。

b 土壌生物の観察・同定・選別

(a) 本時の目標

- 土壌生物を観察し、同定する。
- 土壌線虫を選別し、培養用シャーレに移植する。

(b) 展開

学習内容	学習活動
実験の目的を知る 実験の流れを確認する	<ul style="list-style-type: none"> 実験の必要性和意義を説明する。 実験の流れを確認し、実験がスムーズに進行するよう先を見て行動できるようにさせる。
土壌生物の観察、同定 土壌線虫の選別	<ul style="list-style-type: none"> 手作りベールマン装置から抽出液をシャーレに移させる。 双眼実体顕微鏡を使い、土壌生物を探させる。 簡易検索表を使い、土壌生物を同定させる。 スケッチ等を行わず、どんな生物がいたかチェックさせる。 土壌線虫をパストゥールピペットでシャーレから時計皿に移させる。 土壌線虫が 10 匹前後になったら、3.5cm 培養用シャーレに移させる。 土壌線虫を入れたシャーレを 1 週間培養する。
後片付け 実験したい生徒への連絡	<ul style="list-style-type: none"> カバーガラスの破片等に気をつけ、後片付けをさせる。 もっと実験をしたい生徒へ、放課後等の実験室開放を連絡する。追加実験時は、必ず予約を取るようにさせる。

c 土壌線虫の発生観察

(a) 本時の目標

- 土壌線虫の形態を観察する。
- 土壌線虫の卵の発生を観察する。
- 旧口動物はらせん卵割をすることを確認する。

(b) 展開

学習内容	学習活動
実験の目的を知る	<ul style="list-style-type: none"> 実験の必要性和意義を説明する。

実験の流れを確認する	<ul style="list-style-type: none"> ・実験の流れを確認し、実験がスムーズに進行するよう先を見て行動できるようにさせる。
土壌線虫の卵の発見	<ul style="list-style-type: none"> ・教卓の周りに生徒を集め、卵の見つけ方について説明する。 ・透過型双眼実体顕微鏡を使用させ、土壌線虫がたくさんいるところに卵がある可能性が高いことを伝える。 ・発見された卵は、ピンセットを使い5mm角の立方体を取り出すイメージで寒天ごとスライドガラスへ移させる。 ・カバーガラスをかけ、寒天が軽くつぶれる程度に圧を加えさせる。
土壌線虫の卵の観察	<ul style="list-style-type: none"> ・光学顕微鏡を使い、低倍率（60倍程度）で卵を見つけ、高倍率（600倍程度）で卵を観察させる。 ・複数の卵を観察し、スケッチさせる。
考察	<ul style="list-style-type: none"> ・観察をしていると4細胞期なのに3つの細胞しか見えない場合が多い。なぜか考えさせる。 ・我々のような新口動物は放射卵割だが、土壌線虫のような旧口動物はらせん卵割で、卵軸からずれて卵割が起こることに気づかせる。
次回の実験の確認	<ul style="list-style-type: none"> ・これ以降も土壌線虫の培養、観察を行いたい場合は、放課後等を利用して実験できることを伝える。
後片付け	<ul style="list-style-type: none"> ・ガラスの破片等に気をつけさせる。

(3) 授業での検証

ア 授業の分析

(ア) 土壌線虫の抽出と培養について

パスツールピペットを使って土壌線虫を選択的に時計皿に移動させることが難しかったようだ。それでも約半数の生徒が10匹前後取り出すことができた。

土壌線虫の数が、10匹以下で培養した場合には、十分に増えず、卵の数もまばらであった。

(イ) 土壌動物の観察について

ほとんどの生徒が、土壌線虫以外の土壌生物を発見することができた。

(ウ) 土壌線虫の卵の観察について

半数以上の生徒が、教員側から提供した培養土壌線虫シャーレを使い、卵を観察することができた。

イ 授業の課題

(ア) 土壌線虫の抽出と培養について

手作りベールマン装置1つでは、十分な土壌線虫を確保できない生徒がいた。2つのベールマン装置で抽出を行うことにより抽出数を増やす必要がある。

(イ) 土壌動物の観察について

土壌線虫以外のよく見られる土壌動物の解説について資料を作成できたが、さらに多くの資料の作成をし、生徒の要求に応えられるようにしていきたい。

(ウ) 土壤線虫の卵の観察について

透過型の双眼実体顕微鏡を使うことにより、成功率が格段に上昇した。多くの高校では透過型双眼実体顕微鏡の台数が少ない。落射型双眼実体顕微鏡を簡単に透過型にできる装置を開発し、この実験がスムーズにできるようにしていきたい。

4 おわりに

今回の研究は、生物分野の実験では費用や季節、時間の制約で実施が難しいという悩みを少しでも解決できればと思い取り組んだ。身近にたくさんいるがあまり知られていない土壤線虫を使い、生物の発生や分類などで活用できる実験教材を提案することができたと思う。まだ改善の余地は残されているものの一定の成果をあげることができた。私自身は生徒が真剣に実験に取り組み、新しい体験や発見をしている姿を見ることができ、充実感でいっぱいである。今後も研究に励み、新しい実験を開発し、わかりやすく感動体験がある授業を提供していきたい。

最後に、本研究を進めるにあたり御指導・御助言をいただいた教育庁教育振興部指導課小芝一臣先生、尾竹良一先生、前指導課の高野義幸先生、本宮照久先生、教科指導員の岡田実先生、秋本行治先生並びに教科研究員の諸先生方には心よりお礼申し上げます。

<参考文献>

- 日本線虫学会編 (2004) 「線虫学実験法」 日本線虫学会
- 三谷昌平編 (2003) 「線虫ラボマニュアル」 シュプリンガーフェアラーク東京
- 吉川寛, 堀寛編 (2009) 「研究をささえるモデル生物 実験室いきものガイド」 化学同人
- 内海邑 (2008) 「陸生クマムシの生態」 東葛飾高校
- 青木淳一編 (1999) 「日本土壤動物図鑑」 東海大学出版会
- 田中隆荘編 (2009) 「高等学校改訂生物Ⅰ」 第一学習社
- 田中隆荘編 (2009) 「高等学校改訂生物Ⅱ」 第一学習社