

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 21 日現在

機関番号：13401

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22500805

研究課題名（和文） 水を注ぐだけで始まる生殖現象観察実験教材の研究開発

研究課題名（英文） A general survey for teaching-aid kit design of biological teaching-materials and their apparatus by sterile condition

研究代表者 前田 柁夫 (MAEDA MASUO)

福井大学・生命科学複合研究教育センター・シニアフェロー

研究者番号：10020140

研究成果の概要（和文）：水を注ぐだけで生殖現象を観察できる教材をシダ植物ミズワラビ (*Ceratopteris richardii*) と日本在来種のカニクサ (*Lygodium japonicum* Sw.) を材料としてプロトタイプを作製した。観察キットは容器底面に虫眼鏡を当てることにより孢子から発芽し前葉体(配偶体)の成長を観察することができる。さらに、反射鏡を介して倒立型の簡易型複合顕微鏡としての観察ができることも検討した。児童生徒は注射器を使って、フィルターを通して水道水を注げば、実験が開始されるシステムになっている。継続的、発展的な実験への展開のために安価で簡易型のクリーンベンチの試作も試みた。その他、裸子植物イチョウの精母細胞の段階の花粉管を単離・培養し、精母細胞の分裂から2つの精子の形成、成熟精子の過程を容易に観察できるハンギングドロップ法を開発した。

研究成果の概要（英文）：A general survey for design of biological teaching-materials and their apparatus were especially experimented on reproduction process in plant. Subsequently, an in vitro kit was assembled and designed for biological teaching. Two species of fern (*Ceratopteris richardii*, and *Lygodium japonicum* Sw.) were used for in vitro culture. The spores sterilized with routine techniques and subsequently desiccated spores were settled with pre-sterilized 1/2 Murashige and Skoog medium's salts into the polystyrene vessel installed with ED-sterilized syringe filter on top portion of the vessel. The developing gametophyte (archegonium, antheridium, and sperm) can easily observe attaching the bottom of culture vessel with a magnifier or binocular.

Sperm of *Ginkgo biloba* were skillfully observed with hanging-drop culture method of pollen tube (spermatocyte) derived from young female seeds.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2012年度	100,000	30,000	130,000
年度			
年度			
総計	2,300,000	690,000	2,990,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：科学教育・教育工学 科学教育

キーワード：科学教育、植物生殖現象、教材キット、シダ・裸子植物、ミズワラビ・カニクサ、イチョウ、顕微鏡、無菌技術

## 1. 研究開始当初の背景

無菌技術は現代生命科学分野の実験において特別、意識することなく当たり前の技術として取り入れられている。この方法論は Pasteur や Koch により確立された *in vivo* と *in vitro* という自然発生説の検討と(病原性)微生物学の確立を導き、その後の現代生物学の発展を築いた重要な概念であるが、学校教育の理科、生物教育分野では十分に扱われることなく、実験に至ってはほとんど取り入れられていない現状を見ることが出来る。その原因の一つには、生物分野の実験実習が材料の観察のみに終わるものが多いこと、また、限られた授業時間内に時間のかかる生物現象の実験を取り組みにくいことなどが考えられる。さらに、無菌技術を行うには一定の実験器具の環境が整っていることが必要であることも学校現場での展開を困難にしている。このような学校現場の諸条件下で時間のかかる生物現象も無菌技術を利用することにより、教師と児童生徒にほとんど負担をかけることなく、失敗のない、クリアーな実験結果を得ることが出来る具体的な例を示し、展開を図ることは重要である。

学校現場での無菌技術を用いる実験の利点として

- ①現象をクリアーにすることが出来る。
- ②現象をグローブアップすることが出来る。
- ③季節にとらわれず、メンテナンスフリーである。
- ④模式図でしか見ることができないものを生きた実物として観ることが出来る。
- ⑤周密な教育現場でも、負担をかけず実験の失敗リスクを回避できる。 などである。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は学校教育の理科、生物教育分野において、無菌技術を用いた実験を展開

することにある。無菌技術を用いることにより実験の精度を上げることができ、教師の実験準備の負担を取り除くだけでなく、理科分野の苦手な教員においても当初の結果を確実に得ることが出来る。さらに、季節にとらわれることなく、失敗のない実験は児童生徒への興味関心を高めることも出来る。児童生徒と教師への理科教育、特に生物教育分野の興味関心を飛躍的に高める無菌技術を利用した実験教材としてのキットの考案とその展開を研究目的とする。

## 3. 研究の方法

生物教育分野の実験に無菌技術を取り入れた実験を展開する第一歩として植物の生殖現象を観察するキットを研究開発する。

生殖現象観察材料として、シダ植物を取り上げた。シダ植物はその生活史が核相交代をともなって、孢子から前葉体(配偶体)に、配偶体には生殖器官である造卵器と造精器が形成され、配偶子としての卵細胞と精子が誘導されて、それらの受精による受精卵は胚として孢子体の幼植物となる。成長すると孢子葉には孢子嚢が形成されて、減数分裂により孢子が形成され、配偶体と孢子体が別個の明瞭で植物の生殖過程を学ぶに好適な材料である。同形孢子シダであるカニクサ、モエジマシダ、ミズワラビ、アネミア、ハウライシダ を検討した。

これらの植物の中で、培養容器内で全ての生活史を完結できるのはミズワラビで、孢子から前葉体(配偶体)、受精による孢子体の誘導、孢子体上の孢子嚢形成、孢子の形成まで全生活史を誘導できる。理想的な条件下では100日で全生活史を完結することができる。カニクサは理科や生物学の教科書にシダ植物の生活史図にあるような典型的なハート状の前葉体(配偶体)を形成し、模式図的な

生活史をおこなう植物ではあるが、培養環境下で孢子体までは誘導できるが、孢子嚢までを誘導することは困難である。以上からミズワラビ *Ceratopteris richardii* とカニクサ *Lygodoium japonicum* Sw. を材料として、種子をもたない植物の生活史と核相交代の全段階を観察し、生殖の過程を実験観察できる教材の開発を行った。裸子植物についてはイチョウを用いて雌株から若い種子を採取して精子の観察法の改良を試みた。

#### 4. 研究成果

本研究の教材開発の基礎的なコンセプトはすでに「理科の教育」45, 46-49(1996)(モデル植物・ミズワラビを用いた生殖現象の教材開発)にて報告した成果を元に研究を行った。数種類のシダ植物を検討し、2種類のシダ植物孢子(カニクサ *Lygodoium japonicum* Sw., ミズワラビ *Ceratopteris richardii*)を用いて実験を進めた。培養キットは予め滅菌処理をして乾燥させたシダ植物孢子を無菌培地塩類(1/2 Murashige and Skoog, 1962)の入った透明なスチロール管に入れ、上部にはポアサイズ0.2 $\mu$ のフィルター(syringe filter)を装着する。児童生徒や教師は2-5mLの水道水を注射器を使ってフィルターに注入することにより、シダ孢子は発芽し始め、無菌培養が開始される。直射日光の射しこまない明るい場所に培養容器を置くだけで育てる(培養)ことができる。シダ植物の生殖器官は前葉体(配偶体)底面に形成されてくるので実験観察は①小学校レベルでは培養容器底面からルーペにより孢子、孢子発芽、原糸体から前葉体の成長を観察することができる。②中学校レベルではルーペとレンズを組み合わせることで、より高倍率な観察が可能となり、造卵器や造精器を観察することができる。また、造精器から放出される精子も観察できる。③高等学校レベルでは無菌技術の発展的な実験を展開するために、無菌操作を行うための簡易型のクリーンベンチ試作をおこなった。また、培養容器を底面から観察するためにプリズムを介して正立像が観察できる簡易型の倒立顕微鏡構造を検討した。簡易型クリーンベンチの利用により、キットの培養容器から無菌的に前葉体を取り出して、造卵器を詳細に観察できるとともに、造卵器内に存在する一個の卵細胞を観察することができる。2-5mLの培地量では培養期間は前葉体

段階の成長まで(約60日)であるが、前葉体をさらに別の新しい培地に移植することにより、孢子体形成まで観察することができる(継代培養)。その他、学校種にとらわれずに、無菌技術の利用や応用が単に、生命科学分野だけでなく児童生徒の生活環境や食生活など実際の生活の場面に密接に関わり合いをもっていることを簡明に記述した、無菌についての副読本を作成することにより無菌技術の応用的な展開へと児童生徒の興味関心を高めることが期待されるため、関連資料を収集した。

裸子植物の生殖現象についてはイチョウを選択した。イチョウは花粉で受精し雌花の珠孔内で花粉は発芽分化して雄性配偶体として4ヶ月にわたり花粉管として成長したのち、花粉管内で精母細胞を形成し、その分裂により2つの精子を形成し、一つの精子と卵細胞が受精し受精卵は胚を形成し種子として成長し、いわゆるギンナンとなる。イチョウはシダ植物の精子による受精から花粉による花粉管内の精細胞による植物の生殖進化過程の過渡的な花粉であるけれども精子での受精現象を観察することができるソテツとともに唯一の植物である。イチョウの精子を観察することは極めてその精子形成とその寿命が短い(精子と卵細胞との受精が短い期間で終了することから)ことから観察が非常の困難である。本研究ではまだ精母細胞の段階の花粉管を無菌的に単離し花粉管をごく微量の培養液の懸滴中で培養するハンギングドロップ法を開発した。懸滴を顕微鏡により観察することにより、精母細胞の分裂に始まる2つの精子の形成、続いて成熟精子の過程を容易に観察でき、ビデオに一連の過程を録画した。

今回、研究開発したシダ植物を用いた無菌技術を利用した実験キットは理科教育分野の実験では無菌技術を本格的に利用したものになる可能性があり、今日の学校現場の周密化や幅広い教育内容からすると、既定の授業時間内での実験や観察に別個の時間を取り入れることは困難であると考えられ、児童生徒が授業中に数秒で水道水を注ぐだけの操作で実験を開始できる本研究開発での教材キットは学校現場で、学習指導要領に沿って、教師と児童生徒の実験として取り入れられるものと考えられる。教師にも児童生徒にも負担をかけることなく一人ひとりに行渡るように安価で、生殖という生物の最重要な現象をじかに観察できるキットの研究開発とその教育への展開は科学教育のより幅広い振興を可能とするものと考えられる。

5. 主な発表論文等  
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者に  
は下線)

〔雑誌論文〕 (計 0 件)

〔学会発表〕 (計 0 件)

〔図書〕 (計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等 なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

前田 柁夫 (MAEDA MASUO)

福井大学・生命科学複合研究教育センタ

ー・シニアフェロー

研究者番号：10020140