

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 15 日現在

機関番号：14503

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2016

課題番号：26560090

研究課題名(和文)環境教育の視点を伴った小学校教材としてのミジンコに関する基礎的研究および教材開発

研究課題名(英文) Fundamental research and teaching material development on Daphnia which is an elementary school teaching material with a viewpoint of environmental education

研究代表者

笠原 恵 (Kasahara, Megumi)

兵庫教育大学・学校教育研究科・准教授

研究者番号：20243347

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,900,000円

研究成果の概要(和文)：学習指導要領では、環境教育推進の視点から、地域の特性を活かし、環境学習の充実を図ることが重要視されている。そこで、小学校5学年の教材である"水中の小さな生物"の単元に出てくる動物プランクトンであるミジンコに着目し、教材開発を行うための基礎研究を行った。

身近な生態系の一つとして兵庫県内の小学校プールのプランクトン調査を2年間行った。周囲に自然環境が残っているプールにおいてのみDaphniaが採取できた。その形態観察とミトコンドリアDNAの解析からDaphnia pulex であると同定した。次に長日条件下(明14h, 暗10h)でのライフサイクル, 雄の産出条件および休眠卵の産出条件を決定した。

研究成果の概要(英文)：According to the current guidelines for teaching, from the viewpoint of promoting environmental education, it is important to enrich environmental learning by making full use of the characteristics of the area. Therefore, we focused on Daphnia, a zooplankton that appears in the unit of "small organism in water" which is a teaching material of elementary school 5th grade, and conducted basic research to develop teaching materials.

As one of familiar ecosystems, we conducted a plankton investigation of elementary school pools in Hyogo prefecture for two years. Daphnia was collected only in the pool where the natural environment remained around. From its morphological observation and analysis of mitochondrial DNA, it was identified as Daphnia pulex. And we decided the life cycle at long day conditions (light 14h, dark 10h), the production conditions of males and the production conditions of resting eggs.

研究分野：生物教育

キーワード：ミジンコ 小学校プール 環境教育 教材開発

1. 研究開始当初の背景

小学校理科 5 学年においては、『動物の誕生』の単元に、“水中の小さな生物”の学習がある(文部科学省,2008)。この単元では、魚の発生を学習する中で、魚が育つための餌としてプランクトンの観察を行う。生きたプランクトンの観察は、児童にとって実感の伴った情報として得ることができる重要な機会である。また、ミクロの世界においても、食う-食われるの関係だけでなく、お互いが関連し合いながらバランスのとれた生態系を維持していることを学ぶ機会でもある。一方、教員にとって、この学習は試料の準備が難しい分野の一つである。プランクトンの中でも、児童が特に興味を持つものは大型動物プランクトンのミジンコ類である。ミジンコ類は、その生活環の全てを水中で過ごすことから、環境の指標としても重要な生物である。

ミジンコ類は、これまでの研究で、環境条件が良い時は、単為生殖で雌だけが殖え、環境が悪化すると雄を産み受精することにより休眠卵を作ることが知られている。この悪環境としては、餌不足や低温、補食者の存在などがあり、また、人工的な幼若ホルモンによって雄が誘発されることも知られている(Imai *et al.* 2009, Miyakawa *et al.* 2010)。

また、近年、ミジンコ(*Daphnia pulex*)のゲノム解析が行われ、ミジンコのゲノムの1/3がミジンコ独自の遺伝子群を持ち、線虫ゲノムと共通性が高いことなどが解明されてきている(Colbourne *et al.* 2011)。さらに、オオミジンコを用いた研究で、雄特異的に発現する *Doublesex* 遺伝子(*dsx*)の解析も行われており、ミジンコの性分化についても明らかになりつつある(Kato *et al.* 2011, Toyota *et al.* 2013)。

一方、学校教育関連の研究では、溜め池等に生息するプランクトンの観察などでミジンコ類が取り上げられていることはあっても、ミジンコを使った教材についての研究報告はなく、本研究が最初のものである。

2. 研究の目的

身近な生態系の一つとして、また実験材料を入手しやすい場所として学校プールを想定し、そこで採取できるであろう動物プランクトンであるミジンコに着目し、飼育条件を確立することやライフサイクルなどの基礎的研究を行うことにより教材開発を行うことを目的とする。

3. 研究の方法

(1)小学校プールにおけるプランクトン調査
兵庫県内の小学校(都市部と自然豊かな所)2校について1年間を通してプランクトン調査を行った。そしてミジンコの出現の有無を調査した。

(2)ミジンコの飼育条件の検討

ミジンコの基礎実験を行うための飼育条件の検討を行った。ここでは、*Daphnia pulex* (Iwaya strain)を使用した。そして、飼育溶液の量とミジンコ数の最適条件を決定した。以後の実験は、この飼育条件を用いて行った。

(3)兵庫県で採取したミジンコのライフサイクルの決定

Elendt M4 飼育溶液(オオミジンコを使用したミジンコ急性遊泳阻害実験に使用)を用いて、長日条件下(明:14時間、暗:10時間)でのライフサイクルを決定した。ここで使用したミジンコは、兵庫県加東市平池で採取した *Daphnia pulex*(*D. pulex*)と *Daphnia similis*(*D. similis*)である。

(4)環境条件の変化による雄および休眠卵の産出条件の検討

M4 飼育溶液を用い、日長および温度を変化させて雄および休眠卵の産出条件を調べた。

4. 研究成果

(1)小学校プールにおけるプランクトンの調査結果

兵庫県南部にある小学校2校での調査を行った。2校とも秋にはウスバキトンボのヤゴ、マツツムシ、ワムシ、緑藻、珪藻など多くのプランクトンが見られ、水泳指導後のプールには、多くの生物を育む生産力があることが明らかとなった。ミジンコについては、周囲に自然環境が残っている小学校のプールからのみ採取できた。そのミジンコについては、形態観察とミトコンドリアDNAのCOI領域の解析から *D. pulex* であると同定した。しかし、毎年ミジンコが出現するかどうかは地域により異なると考えられるため、ミジンコの確保に関しては、必ずしもプールが適しているとは言えない結果であった。

(2)ミジンコの飼育条件の決定

Daphnia の最適飼育液に関しては、生まれてから産仔までの期間が最も短かったこと、2週間での増殖数が最も多かったこと、生存

数が多かったことから Elendt M4 が最適であり、1 匹あたり 50 mL が適していることが明らかとなった。また、飼育温度条件は、30 で最長 10 日しか生存できなかったことからおよそ 26~29 日が生存の上部限界であると考えられた。15, 20, 25 では高温ほど发育速度が速く、産卵周期は短かった。25 日間での総産仔数が最も多かったのは、20 であり、*D. pulex* (Iwaya strain) の最適温度は 20 前後であると考えられる。また、15, と 20 では、生存個体数が変わらないことから、生存の下部限界は 15 より下にあると考えられる。

(3) 兵庫県で採取したミジンコのライフサイクルの決定

ライフサイクルの決定については、20, 長日 (L14:D10), 光量 1750 lx 条件下においての *D. pulex* (Hiraike strain) と *D. similis* (Hiraike strain) のライフサイクルを明らかにした (図 1, 2)。*D. pulex* については、産仔から約 9.3 日間 3~4 回の脱皮を行って成長し、仔虫を産仔するようになる。産仔開始時の胴体長は約 1.3 mm であり、最大では胴体長が約 1.8 mm, 体長が約 2.6 mm に達した。成長後も約 2.5 日ごとに産仔し、1 回で約 11 匹の仔虫を産仔する。最長で 44 日間生存し、一生のうち約 11 回産仔して、総産仔数は約 115 匹になった。*D. similis* については、産仔から約 7.8 日間 3~4 回の脱皮を行って成長し、仔虫を産仔するようになる。産仔開始時の胴体長は約 1.8 mm であり、最大では胴体長が約 2.5 mm, 体長が約 4.0 mm に達した。成長後も約 2.8 日ごとに産仔し、1 回で約 7 匹の仔虫を産仔する。最長で 62 日間生存し、一生のうち約 15 回産仔して、総産仔数は約 101 匹になった。

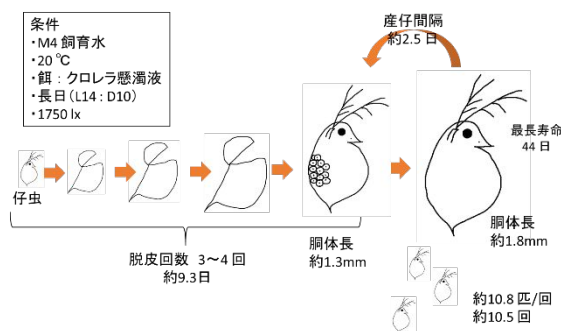


図 1. *D. pulex* (Hiraike strain) のライフサイクル

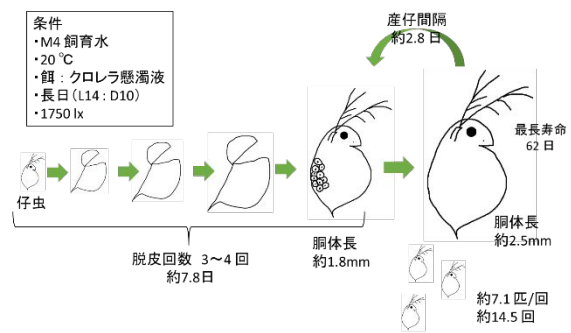


図 2. *D. similis* (Hiraike strain) のライフサイクル

(4) 環境条件の変化による雄および休眠卵の産出条件

D. pulex (Iwaya strain) においては、15 短日 (L10 : D14), 20 短日 (L10 : D14), 15 暗 (L0 : D24) で雄仔虫の産出が確認でき、特に短日 (L10 : D14) で雄仔虫の産出が増加した。このことより *D. pulex* においては、短日 (L10 : D14) が有性生殖開始の一つのきっかけとなることが考えられる。また、農薬の一種であるフェノキシカルブを添加した場合には、以前報告された *D. magna* の場合と同様に、*D. pulex* (Iwaya strain) においても、フェノキシカルブの最終濃度が 10 mg/L で産仔数の減少や産仔される雄の割合の増加が見られ、濃度依存的に産仔数の減少や雄仔虫の増加が見られた。しかし、20 と 25 でフェノキシカルブへの反応が異なっていたことから、高温によってフェノキシカルブへの感受性が異なることが考えられた。

D. pulex (Hiraike strain) を用いた休眠卵誘導のための条件検討については、短日 (L10 : D14) と低温 (15) の条件で休眠卵の産出が確認できた (図 3)。また、雄はどの条件でも産出されなかったことから、産出された休眠卵はどれも単為生殖によって作られたものである。短日 (L10 : D14) と同じく明期を短くした短日 (L8 : D16), 暗 (L0 : D24) では、休眠卵が産出されなかった。これは、採取場所である加東市の日照時間に関係している可能性が考えられる。また、餌状況を変化させた条件下では休眠卵は産出されなかった。さらに、休眠卵が産出された短日 (L10 : D14) と低温 (15) の 2 つの条件を組み合わせただけでも、休眠卵は産出されなかった。

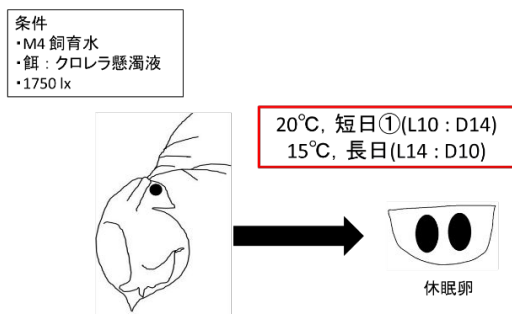


図3. *D. pulex* (Hiraike strain) の休眠卵産出条件

一方, *D. similis* (Hiraike strain) は, 循環単為生殖タイプであると予想されたため, 有性生殖をせずに休眠卵を産出することはできない個体群であると考えられる。本研究でも, 1 個体飼育で休眠卵が産出されなかったことから, 循環単為生殖タイプであることが強く示唆された。しかし, 有性生殖を行うために産出されると予想された雄についてもすべての条件で産出されなかった。*D. similis* については, 雄や休眠卵の産出条件は明らかになっていないが, *D. magna* においては, 高密度と短日 (L8 : D16) の組み合わせや幼若ホルモン, 幼若ホルモン類似体の添加がオスを誘導することが分かっていることから (Hobæk *et al.*, 1990 ; Oda *et al.*, 2005), *D. similis* についても今後, 高密度条件を検討する必要がある。幼若ホルモンや幼若ホルモン類似体の添加については, *D. pulex* (Iwaya strain) において雄を誘導できているため, *D. similis* についても幼若ホルモン類似体の添加によって雄の産出を誘導することで休眠卵の産出につなげることができる可能性がある。また, 本研究では 1 個体飼育を行ったが, *D. similis* に関しては休眠卵産出に有性生殖が必要であるため, 個体数を増やした複数個体での飼育が休眠卵の産出には適していると考えられる。20 で継代飼育している際には, 休眠卵も確認されていることからその可能性は高い。今後は, 個体数を増やした条件で休眠卵の産出を誘導する条件を検討する必要がある。

今後の展望としては, 学校現場での *Daphnia* の簡易飼育方法の検討や餌の検討を行うと共に, 休眠卵からの孵化条件の検討を行い, 学校現場で利用可能なミジンコ飼育システムを構築したい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計2件)

1 吉田愛美、渥美茂明、笠原恵、山野井昭雄、

小学校プールの生産力とその利用法について、兵庫教育大学学校教育学研究 査読無、Vol.27、2015、pp77-80、<http://repository.hyogo-u.ac.jp/dspace/kiyo/jse/10132/15585>

2 吉田愛美、山野井昭雄、渥美茂明、笠原恵、小学校プールにおける水生生物の動向調査と教材化の検討、兵庫教育大学学校教育学研究 査読無、Vol.28、2016、pp107-111、<http://repository.hyogo-u.ac.jp/dspace/kiyo/jse/10132/16080>

〔学会発表〕(計10件)

1 吉田愛美、横山美奈、笠原恵、渥美茂明、山野井昭雄、小学校プールの生産力と教材化について、日本生物教育学会、2014年1月12日、筑波大学(茨城県・つくば市)

2 吉田愛美、笠原恵、渥美茂明、山野井昭雄、小学校プールの生産力と教材化について-Part2-、日本生物教育学会、2015年1月11日、愛媛大学(愛媛県・松山市)

3 笠原恵、工古田伊代、横山美奈、渥美茂明、小学校のプランクトン教材として扱うミジンコの種についての検討、日本生物教育学会、2016年1月11日、東京理科大学(東京都・新宿区)

4 三木美奈、工古田伊代、渥美茂明、笠原恵、小学校における簡易ミジンコ飼育法に関する研究、日本生物教育学会、2016年1月11日、東京理科大学(東京都・新宿区)

5 工古田伊代、渥美茂明、笠原恵、高等学校生物におけるPCR法教材の開発 身近な生物を用いたサンプル採集からプライマー設計まで、日本生物教育学会、2016年1月11日、東京理科大学(東京都・新宿区)

6 山野井昭雄、渥美茂明、笠原恵、小学校におけるミジンコ飼育セットの効果について、日本生物教育学会、2017年1月8日、東京学芸大学(東京都・小金井市)

7 泉水麻裕、工古田伊代、渥美茂明、笠原恵、教材としてのミジンコの休眠卵を用いた孵化方法の検討、日本生物教育学会、2017年1月8日、東京学芸大学(東京都・小金井市)

8 三木美奈、渥美茂明、笠原恵、高密度条件

下におけるミジンコのライフサイクルについて、日本生物教育学会、2017年1月8日、東京学芸大学（東京都・小金井市）

9 工古田伊代、渥美茂明、笠原恵、高等学校生物における PCR 法教材の開発 PCR 法による DNA 断片の増幅とアガロースゲル電気泳動法によるミジンコ種の判別、日本生物教育学会、2017年1月8日、東京学芸大学（東京都・小金井市）

10 笠原恵、泉水麻裕、工古田伊代、渥美茂明、小学校のプランクトン教材として扱うミジンコの種についての検討（2）－ ミジンコ体長の視点から －、日本生物教育学会、2017年1月8日、東京学芸大学（東京都・小金井市）

6 . 研究組織

(1)研究代表者

笠原 恵 (KASAHARA Megumi)
兵庫教育大学・学校教育研究科・准教授
研究者番号：20243347