

[理 科]

アヤメ科キシウブの花粉を活用した 探究活動を可能とする観察教材の開発及び授業実践

近藤 悠司*

1 はじめに

平成29年告示の中学校学習指導要領解説理科編では「課題の把握（発見）、課題の探究（追究）、課題の解決という探究の過程を通じた学習活動を行い、それぞれの過程において、資質・能力が育成されるよう指導の改善を図る」と示された。また、「探究の過程全体を生徒が主体的に遂行できるようにすることを目指すとともに、生徒が常に知的好奇心を持って身の回りの自然の事物・現象に関わるようになることや、その中で得た気付きから疑問を形成し、課題として設定することができるようになることを重視すべき」と述べられている。科学的な探究活動における一連の過程が、生徒自らの力で進められるよう授業改善を図る必要がある。

中学校第3学年における「生命の連続性」の単元で、植物における生殖の過程について学習する。本単元では、花粉管の中で形成される精細胞と、胚珠の中に存在する卵細胞の核が合体する受精によって受精卵ができることを理解していく。その過程で、花粉からどのようにして精細胞が卵細胞に向かうのか疑問を見出し、被子植物における受精のしくみについて探究する場面がある。しかし、現状の観察手段では、花粉から花粉管が伸長することを確認するに留まり、考察の決め手となる花粉管内における精細胞の存在は、教師側からの資料提示となることが多い。その要因として、花粉管の発芽に要する時間はさまざまな花粉で研究されている一方（島村・増田2017）、花粉管内に精細胞が現れるまでの時間を調べた研究は少なく、かつ、入手しやすい花粉は限られていることが挙げられる。つまり、教材研究の蓄積不足により、生徒主体の探究活動が花粉管観察のみで終了している実情がある。また、ほとんどの被子植物の精細胞は、卵細胞に向かう動きを確認することが困難である。なぜなら、精細胞を観察するためには酢酸カーミン溶液などによる核染色が必要で、染色すると精細胞の活動が停止してしまうからである。このように課題の解決という探究活動の終盤で、花粉管内を卵細胞に向けて流動する精細胞を生徒自らの力で捉えることができない問題が生じている。

被子植物の中には、精細胞の液胞に色素を持ち、染色をせずに光学顕微鏡で精細胞を観察できるものが少数ながら知られている（神山ら2011）。先述の問題の解決策として、そのような花粉をもつ植物を材料に用いる方法がある。しかし、神山ら（2011）が用いた植物は、入手困難な野生種や園芸品種が多く、教材として扱いにくい。重野ら（2016）は、身近な植物であるアヤメ科キシウブ（*Iris pseudacorus* L.）の雄原細胞に色素が含まれていることを報告している。キシウブは西アジア～ヨーロッパ原産の多年草で、明治時代に輸入され栽培されてきたが、今では日本各地の水辺に自生する入手しやすい植物である。近藤ら（2022）は、そのキシウブを材料に用いて、花粉管培養のための液体培地に塩化アンモニウムを加えることにより、雄原細胞から精細胞への分裂を促進させる方法を確立した。

そこで、キシウブを用いて光学顕微鏡で染色をせずに精細胞を観察する教材を作製すれば、単に観察した内容を記録したり整理したりするだけでなく、予想を立て、得られた結果をもとに、生徒自らが被子植物の受精のしくみを考察する探究活動が可能となると考えた。本研究では、染色することなく精細胞の観察が可能なキシウブ花粉の教材化を進め、開発できた教材を用いた授業実践を行い、その効果を従来の観察方法と比較し、検証する。

2 目的

本研究の目的は、中学校第3学年理科で行う花粉管伸長の観察において、キシウブ花粉を用いることにより、中学校で用いる光学顕微鏡で精細胞を染色せずに観察できるよう教材化を図ること、および、花粉管伸長の観察を被子植物の受精のしくみを探究する活動の中に位置づけ、授業実践を通して効果を検証することとする。

* 柏崎市立松浜中学校

3 方法

(1) キショウブ花粉を活用した観察教材の開発

キショウブを用いた花粉管伸長および精細胞の観察において、近藤ら（2022）による先行研究では、液体状のポリエチレングリコール（PEG：Polyethylen Glycol 4,000）培地を用いている。PEG培地の組成は、PEGを15%〔w/v〕、ショ糖を5%〔w/v〕、硝酸カルシウム・四水和物を0.03%〔w/v〕、ホウ酸を0.01%〔w/v〕、塩化アンモニウムを0.005%〔w/v〕含んだものであった。これらは中学校においても教材販売業者から全て購入可能であるが、この学習のためだけにPEG等を購入することは予算上難しいと考える。そこで汎用性のある材料を用いる方法として、食品用の寒天（「食美人 粉末かんてん」、SSKセールズ株式会社）を用いて培地を作製し、花粉培養を試すことにした。寒天培地は固化しているため、これをめしべの柱頭部とみなせば、受粉をイメージしやすい観察法となるものと考えた。さらに、培地に添加する試薬も簡略化するため、硝酸カルシウム・四水和物とホウ酸を除いて花粉管培養が可能か検証することにした。本研究において、キショウブの花粉管伸長および精細胞を観察する寒天培地の組成は、ショ糖10%〔w/v〕、寒天1.5%〔w/v〕、塩化アンモニウム0.005%〔w/v〕とした。

また、近藤ら（2022）は、キショウブ花粉をPEG培地に散布後、23℃（±2℃）に設定した卓上型人工気象器内（LH-55FL12-DT、日本医化機器製作所）にて7時間20分培養すると、1回の体細胞分裂により、雄原細胞が2個の精細胞になることを確認している。そこで本研究では、ポータブル保冷温庫（ACW-600、アピックスインターナショナル）を用いて、庫内を23℃に設定し、先述の方法で作製した寒天培地で花粉管培養を行った。そして、花粉管の発芽率や発芽時間、精細胞の出現時間や出現率を先行研究と比較し、新たに作製した培地の有効性を検証した。

さらに近藤ら（2022）は、キショウブ花粉の長期保存方法として、採取した花粉を薬包紙で包み、純白紙（No.1、HEIKO）に入れて家庭用冷蔵庫の冷凍槽で保管すると、約4か月間教材として活用できることを明らかにした。本研究では、花粉を薬包紙に包んだのち、学校事務用品として一般的なクラフト紙と筋入クラフト紙の2種類の封筒に入れて、家庭用冷蔵庫の冷凍槽で保管し、約2か月後に保管方法の有効性を検証した。

(2) 授業構想

探究の過程全体を生徒が主体的に遂行できるように、花粉管伸長の観察を従来の1時間構成から2時間構成とした。課題の設定・探究・解決の過程を含んだ被子植物の受精のしくみを探究する活動として授業を組み立て、柱頭に受粉後、自ら動かない精細胞がどのように卵細胞まで届けられるかという疑問を見出す時間を十分に確保した。具体的には、図1のようにキショウブの花のつくりを調べ、柱頭から子房までの花柱の長さを観察し、約4.5 cmの花柱の距離をどのように精細胞が移動するのかを問いとした。

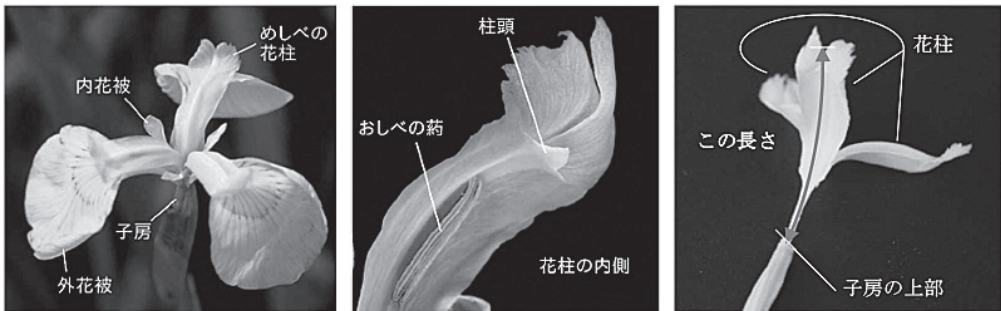


図1 キショウブの花のつくりと各部の様子

また、時間経過による花粉管伸長の様子や花粉管内を流動する精細胞を観察する時間も確保しつつ、精細胞の移動方法について考察し、被子植物の受精のしくみについて振り返る時間を設けた。下表に2時間構成の指導計画をまとめる。

時	内容	学習のねらい(○)と主な活動内容(・)	評価			
			知技	思判表	態度	評価規準
1	植物の	○被子植物の花のつくりを観察し、受粉後、精細胞がどのようにして卵細胞まで届けられるか予想できる。 ・キショウブの花柱を観察し、課題を見出す。 ○被子植物の受精のしくみを探究する。 ・花粉管伸長の様子を観察し、時間を追って記録できる。	○	●		精細胞が卵細胞に届く過程を予想している。 顕微鏡を正しく操作し花粉管伸長を記録している。

2	受精と発生	<p>○花粉管内を移動するキショウブの精細胞を観察し、受精過程や花粉管の役割について考察できる。</p> <p>○植物の有性生殖について花粉管や精細胞、卵細胞といった用語を用いて説明できる。</p> <p>○受粉と受精の違いについて説明できる。</p> <p>・時間経過に伴う花粉管伸長、流動する精細胞を観察し、受精過程や花粉管の役割について考察できる。</p>	○	●	○	<p>流動する精細胞を観察し受精過程や花粉管の役割を考察している。</p> <p>植物の有性生殖について用語を用いて正しく説明している。</p> <p>受粉と受精の違いについて理解している。</p>
---	-------	---	---	---	---	---

*評価の●は評価の重点を示す

この2時間の評価の重点を、科学的な思考力・判断力・表現力等とした。授業のねらいを被子植物の受精のしくみを考察することとしたためである。評価方法とB評価の判断となる生徒の具体的な姿を下表にまとめる。

時	評価規準	評価方法	B評価の判断となる生徒の具体的な姿
1	精細胞がどのようにして卵細胞まで届けられるかを予想している。	ノート記述や口頭での説明で評価する。	精細胞が卵細胞に届けられる一連の流れをノートに記述したり、説明したりしている。
2	流動する精細胞の観察から受精過程や花粉管の役割について考察している。	ノート記述や口頭での説明で評価する。	花粉管内に精細胞があり、花粉管が伸びることによって精細胞が卵細胞に届けられることを観察結果を基に、ノートに記述したり、説明したりしている。

4 結果

(1) 花粉管の培養方法の確認と授業実践に向けた準備

2023年5月に食品用の寒天で作製した培地で花粉管培養試験を計3回行い、のべ71個の花粉を顕鏡した結果、発芽率は74.6%であった。この結果を近藤ら（2022）によるPEG培地での花粉管の発芽率と比較したところ、有意水準5%において有意差は検出されなかった（図2）。また、花粉を寒天培地に散布してから発芽までにかかった時間は約20分で、雄原細胞が体細胞分裂を行い精細胞にいたるまでの時間は約7時間20分であった。これらの時間もPEG培地を用いた場合と同様であった。

近藤ら（2022）によると、PEG培地に花粉を散布してから7時間20分後まで伸長が継続している花粉管のうち、内部に精細胞が確認できたものの割合（精細胞出現率）は27.5%であった。しかし、今回用いた寒天培地では、この値が3%程度（53本の花粉管を顕鏡して2個）に低下することが明らかとなった。PEG培地に比べると大幅に値が低くなるものの、一輪の花から十分な量の花粉を採集できるため、30本以上の健全な花粉管を顕鏡すれば、流動する精細胞を1つは観察できると考えられる。よって、安価な食品用寒天（14g、243円）で培地を作製しても精細胞の観察は可能であることが分かった。

授業実践で使用する培地は、事前に次のように作製した。ショ糖10g、寒天1.5gを測り取り、水を加えて全量を99gにし、電子レンジで温めてショ糖と寒天を溶かした。そこに20mLの水に0.1gの塩化アンモニウムを溶かした溶液を1mL加え、寒天培地の溶液とした。実践時には、生徒がこの溶液をスライドガラスに滴下し、凝固後にキショウブ花粉を散布し、カバーガラスを掛けてプレパラートを作製することとした。事前準備において、プレパラート内の花粉を光学顕微鏡で観察し、花粉散布からの時間経過に伴う変化を確認した（図3）。

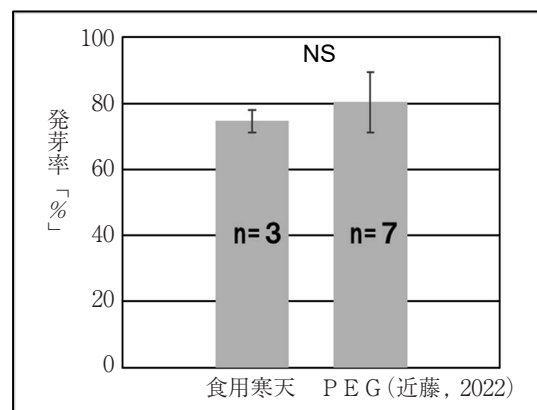


図2 2種の培地におけるキショウブ花粉の発芽率

F検定により等分散性が認められたため ($F=0.052$, $p=0.057$), 等分散性を仮定したt検定を行った結果、有意差は見られなかった (NS: $t=0.392$, $P=0.705$). 図中の誤差線は標準誤差 (SE) を示す。

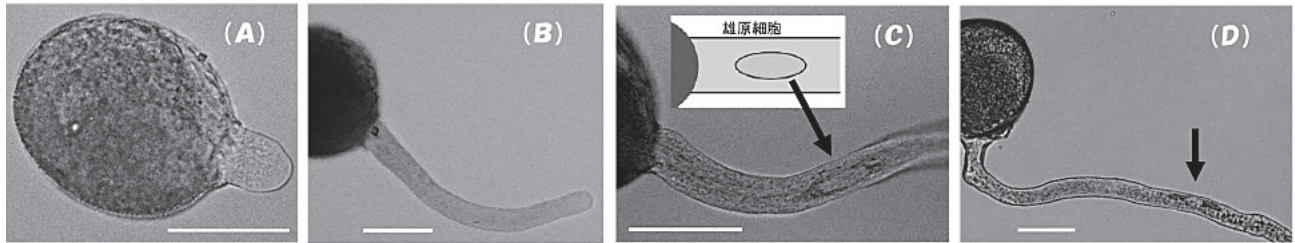


図3 キショウブ花粉の発芽(A), 花粉管伸長(B), 出現した雄原細胞(C:高倍率, D:低倍率)
白帯のスケールは50 μm .

約20分後には花粉管が発芽し(図3-A), 時間経過とともに花粉管が伸長する様子を確認できた(図3-B)。また, 50分後には伸長した花粉管内に雄原細胞が出現する様子が観察された(図3-C, D)。図3-Cのようにプレパラートを高倍率で観察すると, 雄原細胞の輪郭と核を見ることができた。しかし, ピント合わせやコントラストを調節することが難しく, 雄原細胞の観察に慣れた者でないとなかなか捉えることができないものと思われた。一方, 図3-Dのように低倍率で観察すると, 花粉管内の原形質と雄原細胞の色合いの違いがはっきりと分かるので, 生徒でも雄原細胞を比較的容易に捉えることが可能となる。そこで実践時には, まず, 低倍率で花粉管内の雄原細胞を捉える時間を15分程度と十分に確保し, その後, 雄原細胞を視野の中心に捉えながら, 対物レンズを高倍率に変えるよう指導することとした。

精細胞を観察するためには, 花粉散布後7時間20分程度培養する必要があるため, 事前にプレパラートを作製しておく必要がある。午後の授業であれば早朝に, 午前の場合は前日の放課後に事前製作するとよい。長時間の培養となるので, 寒天培地の乾燥を防ぐため, 水を含んだろ紙を入れたペトリ皿(湿室)にプレパラートを置き, ふたをした。培養中は23℃に設定したポータブル保冷温庫で温度管理を行った。7時間20分以上培養した花粉管の中には, 雄原細胞が体細胞分裂を1回行うことで生じた, 2個の精細胞が流動している様子を確認できた(図4)。

また, 授業実践にあたり, 花粉をクラフト紙と筋入クラフト紙の封筒で約2か月保存した結果, クラフト紙の封筒で保管した花粉は, 発芽率が大きく低下することが分かった(図5)。一方, 筋入クラフト紙の封筒で保管した花粉は, 先行研究における純白紙の結果と同程度(約65%)の花粉管の発芽を確認でき, 花粉管内を流動する雄原細胞と精細胞も観察することができたため, 授業実践時には, 5月に採取して筋入クラフト紙の封筒で2か月間保管した花粉を用いることとした。

(2) 開発した観察教材を用いた授業実践

授業実践は, 2023年7月11日に行った。被子植物における受精のしくみについて, これまで行われてきた花粉管伸長の観察のみに留まらず, 課題の把握・探究・解決の場面を設定した授業を実践した。課題の把握では, キショウブの花を用いて, めしべの柱頭に受粉した花粉から, 精子のような動く能力をもたない精細胞がどのように卵細胞まで届けられるかという疑問を見いださせ, 予想を立てさせた。生徒の予想をまとめると次の4つに区分された。

- ① 受粉後, 精細胞が直接めしべの中を通過して卵細胞へ向かう。
- ② 花粉自体がめしべの中を通過して卵細胞へ向かう。
- ③ めしべに精細胞が通ることのできる道ができ, その中を通過して卵細胞へ向かう。
- ④ 花粉から精細胞が通ることのできる道ができ, その中を通過して卵細胞へ向かう。

①と②は花粉や精細胞が卵細胞に向かって沈みこんでいくという意見で, ③と④は精細胞の通れる隙間が花柱内にでき, その隙間を通過して卵細胞に向かうという意見である。生徒の予想としては, 精細胞自体が卵細胞に向かうか, 通り道の中を通過して向かうかの2つに絞られた。これらの予想を検証するためには, 時間経過に伴う花粉の変化を継続的に

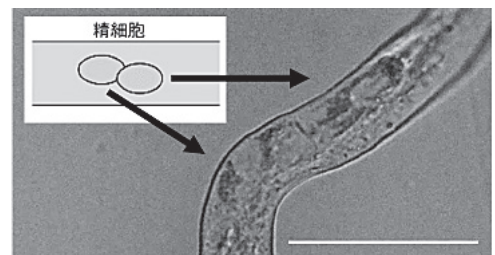


図4 キショウブ花粉管内の精細胞
白帯のスケールは50 μm .

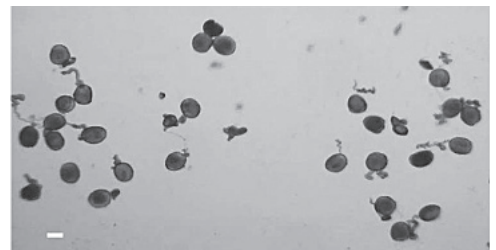


図5 クラフト紙の封筒で保管した花粉の発芽の状況
白帯のスケールは50 μm .

観察する必要がある。しかし、実物のめしべでは観察することが難しいことを生徒と共有し、柱頭とその下の花柱をイメージした寒天培地に花粉を散布し、疑似的な受粉を再現して観察することを提案した。そして、花粉や精細胞自体に動きが生じるのか、または通り道ができるのか、観察の目的を明確化し、花粉の変化について注目させながら観察を行った。

課題の探究の場面では、生徒が花粉を寒天培地に散布してから顕微鏡等の準備を行い、20分後には花粉管が発芽する様子を捉えることができた。花粉管が発芽してから時間経過に伴う花粉管伸長の様子を記録するため、顕微鏡の接眼レンズにタブレット端末のカメラを添えて、一定の時間間隔で写真を撮らせ、観察班でデータを共有した。寒天培地に花粉を散布後約30～50分で、雄原細胞を発見した生徒が現れ始めたので、生徒が撮影した写真を大型モニタに投影し、学級全体で花粉管内の雄原細胞の画像を共有した。その後しばらく観察の時間を確保し、各班で雄原細胞の存在を確認したのち、高倍率でも観察させ、花粉管内を流動する雄原細胞の詳細を写真で記録させた。さらに、事前に準備しておいた7時間20分以上培養したプレバラートの観察に移り、伸長し続けた花粉管の様子を顕鏡させた。花粉の中には、花粉管内の原形質流動が停止していたり、伸長中に花粉管の先端が破裂し、原形質が吐出していたものも見られた。そのため、花粉管が長く伸長している状態の良い花粉に注目させ、花粉管内を詳細に観察させた。雄原細胞の観察時と同様、精細胞を見つけてタブレット端末で撮影できた生徒の写真(図6)を大型モニタに投影し、すべての生徒が精細胞を画像で確認したのち、さらに観察の時間を取り、各班で精細胞の探索を続けさせたり、高倍率で精細胞が流動する様子を観察させたりした。花粉管内を流動する精細胞の様子をすべての生徒が観察できた時点で、考察に移った。

考察では、この日の授業で予想を立て、目的を明確にしながら観察を行い、結果をもとに見いだした問いの答えについて考えさせた。生徒の予想に対する答えとしては、先述の④が正しいという結論に至った。さらに生徒は、課題として挙げていた被子植物の受精のしくみについて考察を行い「花粉から花粉管が伸び、花粉管の中を通過して精細胞が卵細胞に向かい、それぞれの細胞の核が合体すると受精する」ことを表現することができた。授業実践では、すべての生徒がB評価以上に値する表現をノートに記述することができた。

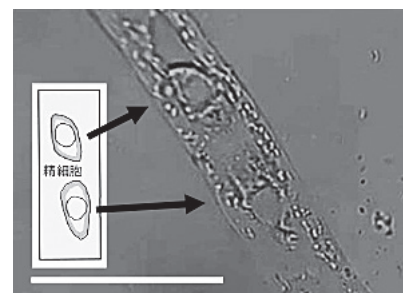


図6 生徒が撮影したキシノウブの精細胞の写真

白帯のスケールは50 μm .

5 考察

(1) キシノウブ花粉の教材化

本研究では授業実践に先立ち、食品用の寒天を用いた培地でキシノウブ花粉を培養し、精細胞の観察が可能かどうか検証した。近藤ら(2022)が先行研究で用いたPEG培地での結果と比較すると、花粉管の発芽率(図2)や発芽時間、精細胞の出現時間には相違が見られなかった。他方、寒天培地を用いるとPEG培地と比べて精細胞の出現率が大きく低下することが明らかとなった。この原因として、ゲル状の寒天培地は、液体状のPEG培地とは異なり、表面が乾燥しやすく、花粉管伸長が妨げられやすいことが挙げられる。しかし、今回用いた寒天培地において、すべての生徒が精細胞を観察できたため、食品用の寒天を用いても、キシノウブの精細胞を観察する教材として問題はないことが分かった。食品用寒天の入手のしやすさから、PEG培地より実用性が高いと言える。著者は予備実験において、理科実験用の粉末寒天(富士フィルム和光純薬製)でも培地を作製し、花粉培養を行ったが、食品用の寒天を用いた時よりも、精細胞の出現率が若干高いように見受けられた。実験用の寒天が手元にあれば、それを使用することが望ましいと思われる。

本研究ではまた、花粉管の培養時に比較的安価で入手しやすいポータブル保冷温庫を用いるとともに、培地に添加する試薬も一部を省略した(研究の方法を参照)。これらの方法も教材化に際して有効であることが明らかとなった。

さらに、花粉の長期保存時の封入媒体について、入手しやすいクラフト紙と筋入クラフト紙の封筒で試した結果、筋入クラフト紙の封筒において、近藤ら(2022)が用いた純白紙と同等の効果を得ることができた。純白紙と筋入クラフト紙は、共に平滑で艶がある表面とざらつきのある裏面からなる紙で、印刷や包装に適している。この紙質の微細な違いが花粉保存時の乾湿の調節に役立ち、キシノウブ花粉の長期保存結果に大きく影響した可能性が考えられる。加えて、花粉を採集するタイミングも重要である。キシノウブの花は1日花で、開花した日のうちに閉花するため(図7)、花粉の採集はその日のうちに行わなければならない。その際に、開花後1～2時間でおしべの葯が裂開し、成熟花粉が出てくるため、このタイミングで採集すると良い。タイミングを逃すと時間経過に伴い、花粉が乾燥し劣化していくため、

花粉管の発芽率も低下していくようである。本研究の方法では、精細胞の出現率が低調なため、できる限り花粉管の発芽率の高い状態で長期保存することが望ましいと言える。

(2) 授業実践による効果の検証

授業実践の効果を検証するため、授業日から5か月後に、定期テストの問題の



図7 キショウブの開花から閉花までの様子

1つとして「被子植物の『受精』について、精細胞と卵細胞の語句を用いて簡単に説明せよ」という問いを出題した。生徒の学習教材の問題集やプリントの模範解答から「精細胞と卵細胞の核が合体すること」を事前の正答例としていた。しかし、生徒の答案を見ると、「花粉から花粉管が伸び、花粉管の中を精細胞が通って～（後略）」のように「花粉管」の語句を入れて正答した生徒が26%（15/58人）も存在した。花粉管内を流動する精細胞の観察や、観察結果に基づいて受精のしくみを考察した内容が印象に残っていたため、5か月前に行った授業実践にも関わらず、テストでの記述につながったと考えられる。この結果が、キシウブ花粉の教材化と授業実践による効果であるかを検証するために、次年度は2024年6月27日に、従来の花粉管伸長の観察および精細胞の資料映像の提示による授業を行い、その3か月後の定期テストにおいて、前述と同一の問題を出題した。その結果、「花粉管」の語句を入れて正答した生徒は9%（2/22）であった。このことから、花粉管の先端に向かって流動する雄原細胞や精細胞を、生徒自らが観察する教材と授業実践の意義が明らかになった。

6 成果と今後の課題

生徒自らが被子植物の受精のしくみを考察する探究活動の実現に向けて、キシウブ花粉の教材化を行った。これまで教師の資料提示による学習が一般的であった花粉管内の精細胞について、中学校の光学顕微鏡で観察するために、安価で汎用性の高い寒天培地を用いる効果を検証し、培地製作や保存方法の簡易化を図った。その結果、これまで花粉管伸長の観察に留まっていた内容が、花粉管内を流動する精細胞の観察にまで広がり、被子植物における受精のしくみを探究する活動に位置づけることができるようになったと考える。つまり、課題の把握、探究、解決という探究過程を通じた学習活動を生徒が主体的に遂行する授業が構築可能となったと言えるだろう。

今後の課題として、著者の勤務地域においてキシウブの生育地と花や花粉を採集可能な場所のリスト化を進め、教材としての実用性をさらに高めていきたい。また、花粉を散布したプレパラートの温度管理を行う実験装置が用意できない場合に備えて、気温が $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ 程度で安定している時期にプレパラートを室内に存置した状態で、花粉管の培養が可能であるか追加検証を行いたいと考える。

【引用文献】

- 1) 神山貴達・浅井良信・小川茂,『高校生物の重複受精に関する授業への活用に向けた中性赤を用いた生体染色法による雄原細胞と精細胞の挙動の観察』,生物教育 第52巻3号,2011年,84~95pp.
- 2) 近藤悠司・山田貴之・谷友和,『キシウブにおける精細胞観察法と花粉保存方法の確立』,生物教育 第63巻2号,2022年,97~103pp.
- 3) 重野奈津子・神山貴達・谷友和・小川茂,『ユリ科,ヒガンバナ科,アヤメ科植物における花粉管内の雄原細胞の観察－高校生物の重複受精に関する授業におけるキシウブ花粉の活用－』,生物教育 第57巻1号,2016年,12~19pp.
- 4) 島村裕子・増田修一,『花粉管の伸長を観察できる植物および最適条件の検討』,理科教育学研究 第58巻1号,2017年,81~88pp.
- 5) 文部科学省,『中学校学習指導要領（平成29年告示）解説 理科編』,学校図書,2018年,99~103pp.