

[1] 研究目的

これまでに、化学物質の環境リスクの概念を簡便かつ体感的に修得できる環境教育教材の開発と教育実践を目的とし、貴財団で平成28年度に採択された助成事業に基づき、ハツカダイコンを用いた種子の発芽実験とアルテミアを用いた動物卵の孵化実験教材を開発した。この教材を用いて、小学校5年生に対して環境問題について考察する児童実験を伴う授業を実施した。そこで、環境問題を知る上で必要な考え方である量的関連性を体感的に会得させることができることを明らかにした。次の段階として、平成31年度に採択された事業に基づき、生徒が主体的に環境問題を多角的に考察する探究活動を行える環境教育教材として、近年環境拡散が指摘されつつある抗菌薬(抗生物質)を利用した種子発芽観察実験教材を開発し、教育実践を行った。その結果、抗菌薬の多様な作用機序に基づいて異なる影響をもたらす様子を観察し、化学物質が環境に影響を及ぼすことがありうるという現象を自分ごととして捉えるのみならず、異なる次元で悪影響を与えることがあり得ることを考察できるようになった。しかし、これらの取り組みは、児童・生徒に対して、化学物質が環境に影響を与える可能性を最初から示唆した取り組みと考えることもできる。また、現実的に起こっている環境問題と直接結びつくものではなかった。次の段階として、実際に起こっている環境問題を考察し、それが化学物質により引き起こされていることを見出せるような教材が開発できれば、身近な環境変化を主体的に探究しやすくなると考えられる。

一方、令和4(2022)年度から、高等学校で「総合的な探求の時間」という教科が必修となった。この教科は、生徒が自ら課題を設定し、その課題を解決し考察を加え、さらにスパイラル的に繰り返し深く探求していく学習を行うものである。この教科には、古典探求、日本史探求、世界史探求などいわゆる文系要素を探究する科目もあるが、理数探求、理数探求基礎という、理科の実験などを取り入れて行うものもある。実験を伴う活動は実験結果(情報)を明確に見いだすことができ、それを考察し次の段階の実験を計画できる探究学習を行う上でも好ましい。また、実験結果から得られた事実を社会情勢や政策などを多角的に考察できるものであれば、より深い探究を行うことができる。いわゆる環境問題は、探究学習として適した題材と考えられる。

そこで、実際に目の当たりにする環境問題の現象を解析し、それを解決する糸口を探究できるような教材が開発されると、探究活動も活発に行えるようになる可能性が大きい。本研究においては、中高生でも現象を理解しやすいサンゴの白化に注目し、海洋生態系での化学物質の環境影響を探究できる実験教材を開発し、それを利用して教育実践を行い、教材の妥当性を検討することを目的とした。

[2] 研究の内容・方法

2.1 概要

サンゴの白化は、サンゴに共生している褐虫藻が喪失する、あるいは褐虫藻の光合成能力が下がってしまうことによって引き起こされる。サンゴの白化は、海水温の上昇で起こることは数十年前から知られている。近年、いわゆる日焼け止めに含まれている何種類かの紫外線吸収剤により、サンゴの白化を引き起こす可能性が指摘されている。また、それらは、人体に対しても悪影響を与えるという報告もある。

そこで、化学物質として紫外線吸収剤をとりあげ、それが海洋生態系にどのような影響を与えるかを観察できる実験系をサンゴと共生している褐虫藻を材料として開発し、その実験系を利用して、高校生が主体的に課題を設定・実験立案・実行・結果の考察を繰り返しながら進める探究学習を教育実践を行った。

その結果、生徒は、海洋生態系に対して影響の少ない日焼け止めの開発を最終的な目的と掲げ、我々が開発した実験教材を利用して実験を実施した。さらに、発展的な目標を設定し、探究学習を行うことができた。

2.2 海洋生態系に影響を与えることを観察できる環境教育教材の開発

2.2.1 サンゴ白化と褐虫藻

サンゴに共生している褐虫藻の喪失、あるいは、褐虫藻の機能不全が長く続くとサンゴは死滅する。サンゴの白化は生徒が環境問題として捉えやすい現象であり、関連性が考えられる化学物質の環境影響を探究できる実験教材を開発することは、環境問題を広く考察できる探究学習の実施へと結びつくと考えられる。しかしながら、サンゴを飼育するにはそれなりの設備と飼育環境維持のための制御等が必要であり、一般的な中等教育機関ではなかなか対応することが難しい。そこで、サンゴの白化を探究的に観察するために、サンゴの白化に直接関係する生物である褐虫藻を実験材料とすることにした。褐虫藻は、照明の制御ができる恒温槽があれば培養でき、また細胞培養の基本的な技術を身につければ中高生でも比較的容易に実験を行うことができる。

サンゴの白化が起こる原因として、海水温上昇は以前から指摘されているが、その他に、強い光や紫外線、土砂の流入、低い塩分なども関係している。近年、有機系紫外線吸収剤を代表とする日焼け止めの主成分がサンゴの白化を引き起こす可能性として指摘されており、ハワイなど使用や販売が禁止されている地域もある。

これらのことから、有機系紫外線吸収剤を中心とした化学物質が褐虫藻に対してどのような影響を与えるかを観察できる実験系を開発し、それを利用して、サンゴの白化さらには海洋生態系の環境問題を自分ごととして捉えられるような探究学習を実施できるかを検討した。

2.2.2 褐虫藻を利用した実験教材の開発

2.2.2.1 褐虫藻の培養実験系の確立

材料: 褐虫藻は、国立環境研究所微生物系統保存施設より分譲を受けた NIES-2907 株 (*Durusdinium trenchii*, Clade D1) と NIES-3808 株 (*Breviolum minutum*, Clade B) を利用した。

培養法: 培養培地は、ダイゴ IMK 培地を人工海水に溶解した溶液をろ過滅菌したものを基本培地 (以下 IMK 培地) とした。培養は、96well 細胞培養プレート、または 50 mL 細胞培養用フラスコを利用し、原則、30 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、明暗周期: 14L、10D、25°C で静置培養した。

[2] 研究の内容・方法(続き)

2.2.2.2 紫外線吸収剤による曝露実験

曝露する化学物質として、いわゆる日焼け止め成分として利用されている有機系紫外線吸収剤のオキシベンゾン-3(2-Hydroxy-4-methoxybenzophenone)、メキシケイヒ酸エチルヘキシル(2-Ethylhexyl-4-methoxycinnamate)に加えて、無機化合物の紫外線吸収剤として利用されている酸化亜鉛(ZnO)を取り上げた。

96well 培養プレートに増殖期の褐虫藻を 2.5×10^4 個/well の量をいれ、各薬剤を最終濃度として飽和濃度の 0.01、0.1、1 倍になるよう IMK 培地に加え培養した。24、48、96 h 経過時点の細胞数を計数した。観察には倒立蛍光顕微鏡(BZ-X710、(株)キーエンス)を使用し、培養プレートの底に付着している細胞数を計数した。

図 1 に、オキシベンゾン曝露時の細胞数の変化を示す。3 日以上経過するとオキシベンゾンの濃度が濃い方が細胞数が減る傾向があるようにも見受けられるが、顕著な差はなかった。

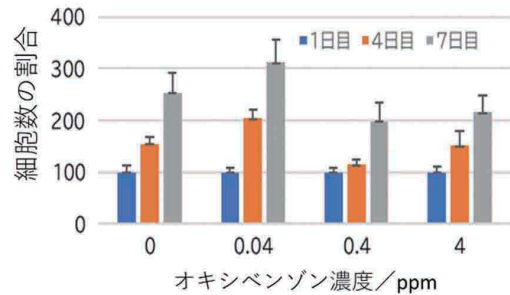


図 1 褐虫藻の培養細胞数の変化

2.2.2.3 褐虫藻の蛍光像観察

蛍光像を観察したところ、興味深い事実を見いだした。葉緑素は、赤色の蛍光を発することが知られている。4 ppm 相当(飽和濃度)のオキシベンゾンを暴露したところ、図 2-B に示すように細胞全体が強く赤色の蛍光を発する細胞が見つかった。、図 3 に示すように、培養時間を長くするにしたがい、赤色を強く発する細胞の割合が増加し、72 時間後には、70% 超える割合で赤色蛍光が強くなった(NIES-3808 株)。これは、オキシベンゾンにより、細胞内の葉緑体に異変が起こったか、あるいは光合成の能力が低下し褐虫藻の赤色光の自家吸収が減少したと推察できる。

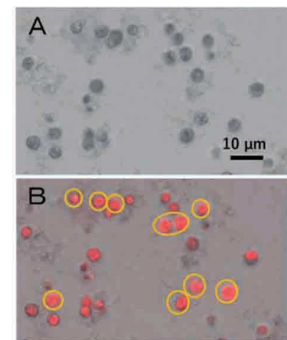


図 2 褐虫藻顕微鏡像

また、緑色蛍光を観察したところ、オキシベンゾン濃度が高いほど、緑色蛍光を強く発する割合が増加した。とくに、NIES-2907 株において顕著に観察できた(図 4)。緑色蛍光が観察される理由が判明していないため、今後検討する予定である。

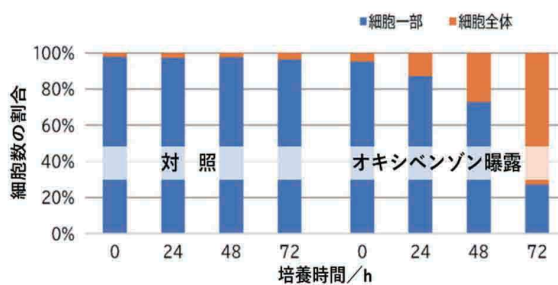


図 3 赤色蛍光を示す細胞数の割合

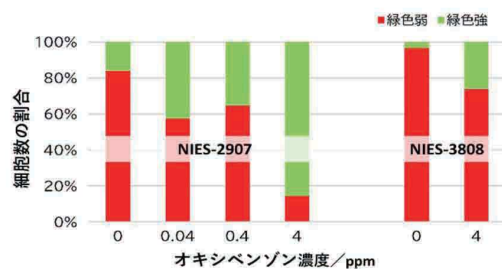


図 4 緑色蛍光を示す細胞数の割合

2.2.2.4 褐虫藻の生死判定

細胞膜の透過性を失った細胞を染色する試薬としてエバンスブルーが知られている。褐虫藻においても、生死の判定としてエバンスブルー染色法が利用されている。紫外線吸収剤を曝露した状態での生死判定を行った。

[2] 研究の内容・方法(続き)

IMK 培地のみと飽和濃度のメキシケイヒ酸エチルヘキシルを加えて培養した場合のエバンスブルーで染色される細胞数の割合(青色)を比較した。HT は、染色直前に 80℃で 1 時間を培養したものである。メキシケイヒ酸エチルヘキシルを加えると、細胞膜の透過性を失った死細胞が 20%を越え、さらに 80℃で処理すると 30%に達した。(図 5 参照)。

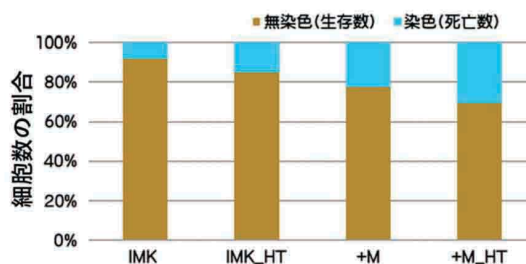


図5 細胞死の割合判定

2.3 高等学校での環境教育教材の開発

2.3.1 探究活動を伴う環境教育教材とは

令和 4 年度から高等学校において、探究活動を伴う「総合的な探究の時間」という教科が必修となった。ここでいう探究活動をともなう探究学習とは、「①課題の設定→②情報の収集→③整理・分析→④まとめ・表現」という 4 段階の“探究プロセス”を繰り返す行なうことがその要であり、生徒が主体的に判断しながら自分が設定した課題に取り組む学習活動のことである。実験を行い多角的に考察する際、生徒自身が課題に対する情報を自分自信の手で見いだすため、まさに主体的な学習活動につながる。ここで環境問題を扱うことは、目の前で起きている環境問題を実感しつつ、環境政策の考察など、いわゆる文系の探究活動に準ずる内容まで踏み込める点で、大変好ましいと考えられる。

自分ごととして理解しやすい「サンゴの白化」というテーマにおいて、本研究で開発した実験教材を利用することは、自分ごととして探究活動を捉えながら実践できると考えられる。また、サンゴの保護活動など環境保全の活動も積極的に行われており、多角的な視点で環境問題に取り組むことに適していると考えられる。

今回開発した実験教材は、サンゴの白化を通じた探究活動を伴う実験に利用できる。ただし、2.2.2.3 で示した褐虫藻の蛍光像観察は、蛍光顕微鏡を備えている高等学校でないと実験を実施できない。

2.3.2 高等学校での教育実践

東京都内の高等学校の 1 年「理数探究(化学・生物選択)」履修の 17 名に対して、今回開発した実験教材を利用した探究活動を伴う授業を、週 2 時間(2 単位)令和 3 年 9 月～令和 4 年 2 月に実施した。“探究のプロセス”を 2 回繰り返すため、9 月～11 月を第 I クール、1 月～2 月を第 II クールとして行った。

「化学物質の環境影響の観察」という大きいテーマの元、5 つの班に分かれて、生徒たちが化学物質を選んだ。5 つの中で 1 つの班(3 名)が“日焼け止めの成分”を選択した。第 I クールは、探究プロセスを現実的に体験するため、以前の研究で開発した植物種子の発芽生長を指標として、実験を行うこととした。第 I クールで探究活動を一通り体験した上で、第 II クールにおいて、本格的に主体的な探究学習を行うこととした。

褐虫藻を利用できることを告げると、日焼け止めの成分を選んだ 3 名は、すかさず褐虫藻を利用する実験を自分らの課題として選び、紫外線吸収剤による褐虫藻の生長影響の観察した。

彼女らは、50 mL の細胞培養用フラスコを利用して、3 種類の紫外線吸収剤を 7 日間曝露させる実験を行った(図 6)。メキシケイヒ酸エチルヘキシル(Octinoxate)は

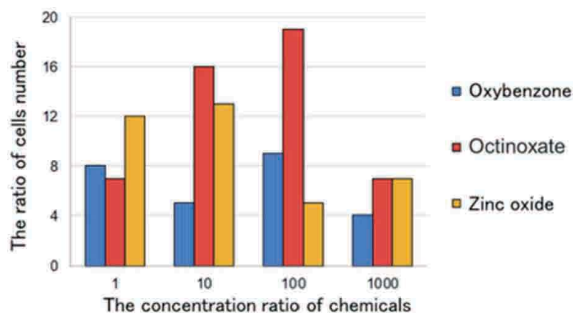


図6 高校生による細胞数の測定

[2] 研究の内容・方法(続き)

ある濃度までは細胞数が増加する傾向を示す結果が得られたが、化学物質の濃度が濃い場合は基本的に細胞数が減少する傾向が観察された。これらのデータは、基本的に施設が整った研究室で行われた実験結果と類似していた。

今回開発した褐虫藻を用いた教材は、一般的な高等学校でも化学物質の環境影響を観察できる実験教材として利用することが可能であると考えられる。なお、エバンスブルーによる染色実験の開発は、令和4年12月に技術確立ができたので、この教育実践では実践することができなかった。