
学校内の植物と菌類を使用した進化教材の開発



実施担当者 茨城県立竹園高等学校
教諭 飯田 仁
共同実施者 茨城県立竹園高等学校
教諭 重永 由起子

1. はじめに

生物教育にとって進化は必要かつ重要な分野であり、高校生物の新教育課程でも注目されている。しかし、高校生物における進化の実験教材は開発が難しく少数しかない。校内の植物や菌類、動物を使用した教材の多くが生態分野の教材であり、進化の教材はまれである。また、公共の植物園での展示の形態は、生態面での展示がほとんどである。現在、系統分類学の研究の場では、種の系統を議論する場合、形態的特徴(細胞小器官も含む)や生活環、さらに特定な遺伝子の塩基配列を比較し、形態面と遺伝子面から総合的に議論しているが、高校の教材としてこのような手法を扱ったものはあまりない。

そこで、本教材では、この系統分類学の研究方法に則り、形態面と遺伝子面の両面から校内の植物の進化の教材の作成を試みた。

今回、開発した植物の進化の教材は大きく3つの部分から成り立っている。第一は、身近な植物を丹念に観察し、それらについて書物やインターネットで調べることによって形態的特徴や生活環を知り、形態面からの進化を考える部分である。第二は、使用した植物について、アメリカ遺伝子

情報研究機構 (NCBI) から遺伝子情報を取得し、遺伝子情報から進化を考える部分である。第三は、形態的特徴からの系統関係と遺伝子情報からの系統関係を総合的に比較検討し進化を考える部分である。校内の植物という身近な植物を観察する方法と、ワールドワイドな視点から遺伝情報を入手するという2つの方法を総合的に使いながら進化を考える点に本教材開発の要点がある。今後は、取り上げる植物種や種類数、使用する遺伝子に改良を加えながら教材を作成していきたい。また、校内の菌類を使った進化実験も植物同様に開発していく予定である。

2. 方法

1年生の生物基礎1クラス(39名)において、校内に生育あるいは実験室で培養中の植物を使用し、まず形態的系統樹、次に遺伝子から作成した分子系統樹を作成し、比較検討を行った。また、実験終了後にアンケート実施し生徒の反応を確認した。

1) 準備

① 以下の校内の植物には、あらかじめ和名と科名の書かれたプレートを付けておいた。

被子植物 (クスノキ, コナラ, シロイヌナズ

ナ), 裸子植物 (イチョウ, ソテツ, サワラ), シダ植物 (イヌワラビ), コケ植物 (スギゴケ), 藻類 (クラミドモナス, シヤジクモ)。

② 使用した植物種について, あらかじめ 18 s リボソーム RNA 遺伝子のデータが NCBI に登録されているか調べておいた。

2) 生徒実験

[形態的系統樹の作成]

① 1) ①の 10 種の植物について, 生徒は, その植物の校内の生育場所に行き (図 1), 植物の大きさ, 枝, 葉, 花や胞子のようすを観察し, ワークシートに記入した (図 7 の「ワークシート」中の表 1)。



図 1 校舎の近くにあるサワラの観察を行う生徒

② 次に, 「維管束がある」「種子をつくる (胞子を作らない)」「種子が子房に包まれている」「精細胞を作る (精子を作らない)」「陸上で生活する」の項目について調べ, 獲得形質得点表 (図 7 「ワークシート」中の表 2) に記入し, 得点合計を求めた。

③ 獲得形質得点表を元に, 得点合計の大きい植物を, より進化したものと見なし, 形態面における系統樹を作成した (図 7 「ワークシート」中の図 1 に記入した。図 2)。



図 2 形態的系統樹を作成しているようす

[分子系統樹の作成]

① 1) ①の 10 種の植物について, 18 s リボソーム RNA 遺伝子の塩基配列を, NCBI より取得し DNA データをメモ帳ファイルに保存した。その際, DDBJ ClustalW (国立遺伝学研究所のソフト) をインターネットから開き, アライメント (塩基の配列比較) を行った。次に, アライメントしたデータに名前をつけてファイルを保存した。

② 近隣結合法 系統樹作成ソフトを用い, ①でアライメントしたファイルをもとに分子系統樹を描き, 作成した分子系統樹を印刷した。

[形態的系統樹と分子系統樹との比較検討]

形態観察から作成した系統樹と遺伝子より作成した分子系統樹を比較し, 異なる点はどのような点か確認した。また, その違いについての理由をどのように考えるか考察した。

3) 生徒アンケートの実施

進化に対する興味や実験内容についての理解, 実験操作について確認するため, 実験後に下の資料 (図 8) のようなアンケートを行った。

4) 実施後に以下の 3 点について検討を行った。

- ・使用した校内植物の植物種と種類数の検討
- ・形態的系統樹作成方法の指導法の検討
- ・使用した遺伝子の検討

3. 結果と考察

1) 生徒実験

[形態的系統樹の作成]

① 生徒は, 指定された 10 種の植物の場所に行き, シロイヌナズナの例にしたがい, 植物名, 大きさ, 枝・葉の区別, 花や胞子のようすを表に記入していた。野外観察に慣れていない生徒が多く, 予定時間より多くかかった。

② 観察した植物の各形質をいくつ保有しているかを資料集で調べさせ, 獲得形質得点表上で形質保有数を算出させた。生徒は, これまでの学習で取り上げられていない植物について, 獲得形質の有無について答えるのに苦労して

いた。事前に使用した植物の生活環について教えておく必要があった。

③ 獲得形質得点表を元に形態面における系統樹を作成したが、うまく作れない生徒もいた(図3)。

また、被子植物は3種使用したが、大まかな大きさを記録したので、被子植物内での進化の上位下位を確認させることができ、個体の大きさも進化と関係することを考察させることができた。

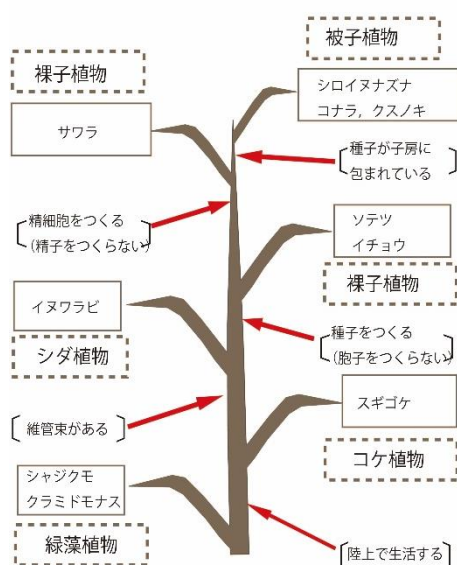


図3 校内植物10種の形態的系統樹

[分子系統樹の作成]

10種の植物について、18sリボソームRNA遺伝子の塩基配列により作成した分子系統樹が図4である。図より、基部から上部の枝に次の植物が位置した。クラミドモナス→シャジクモ→イヌワラビ、スギゴケ→ソテツ→イチョウ、サワラ→シロイヌナズナ→コナラ、クスノキ。これは、緑藻植物→シダ植物、コケ植物→裸子植物→被子植物と進化しており、ほぼ形態的系統樹と同じに見える。また、被子植物3種と裸子植物3種内でも、下位から上位への系統関係が示された。なお、図4に示されているブーツ・ストラップ値(系統樹の各枝の分かれ方の確かさを表した数字。最大値は1000になる。)について、裸子植物の系統

関係以外は高い値なので、信頼できる分子系統樹ができたと考えられる。また、進化速度は枝の長さで表され、10種のうち最も遅いのは、イヌワラビ(*Athyrium filix*), イチョウ(*Ginkgo biloba*), コナラ(*Quercus rubra*)の3種で、これらの植物は各植物門に分岐してからあまり変化していないことになる。一方、最も速いのはシャジクモ(*Chara globularis*)であった。陸上植物に最も近いと言われているように、多くの形質を獲得しつつあるものと考えられる。

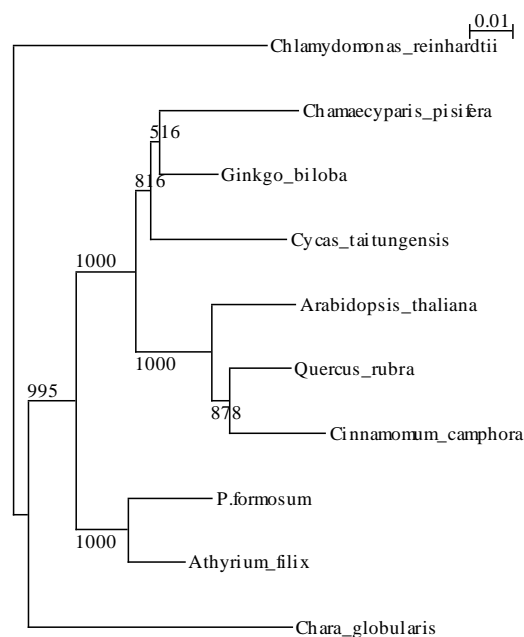


図4 校内植物10種の分子系統樹とブーツ・ストラップ値(枝の下の数値)

[形態的系統樹と分子系統樹との比較検討]

今回の形態的系統樹と分子系統樹を比較すると、大きな相違点がある。それは、イヌワラビ(*Athyrium filix*)とスギゴケ(*Polytrichum formosum*)についてである。形態的系統樹では、イヌワラビがスギゴケより上位に位置していた。この相違については、ほとんどの生徒が確認できたが、その原因について考えられた生徒は少なかった。

2) 実験終了後の生徒アンケート

今回使用した10種の植物のうち、何種の植物を観察したことがあるかという質問の答えでは、

「2種以下」10.2%、「3または4種」12.8%、「5または6種」35.9%、「7または8種」17.9%、「9種以上」23.1%で、「5または6種」と回答した生徒が最も多かった。

また、被子植物やコケ植物、藻類の形態についての知識はあるが、イチョウとソテツ、シャジクモ、クラミドモナスの生活環を知らない生徒がそれぞれ82.0%、89.7%、97.4%であった。このアンケート結果からも、事前にこれらの植物についての生活環の資料を配付し教える必要がある。

遺伝子による系統樹の作成に使用したパソコンの操作が、上手に行えない生徒が半分ほどいることがわかり予想外の結果であった。

形態的系統樹と分子系統樹との相違点について97.4%の生徒が確認できたが、その原因については46.2%の生徒しか考えられず、十分に考察できていないことがわかった。

また、生徒の実験についての記述の質問について、「植物の進化の方向から考えて、今後、被子植物はどのような形質を獲得し、どのように進化していくと予想されるか。あなたの考えを述べよ。」の質問の回答として、「乾燥に耐えられるようになる」28.7%、「温度変化に適応できるようになる」17.9%、「種子以外で増殖できるようになる」7.7%、「種子が変化する」7.6%、「動物を餌にするようになる」5.1%、「その他」10.2%であった。

次に「今回の実験の感想を書け。」の質問の回答の記述として、形態的系統樹と分子系統樹の違いに触れたものが、15.4%いた。

時間が足りなかったと書いた生徒もいたのもう少し時間をとるか、内容を精選する必要がある。

3) 実施後の実験内容の検討

以下の3点について検討を行った。

〔使用した校内植物の植物種と種類数の検討〕

今回は、学校内に生育している植物10種（緑藻植物2種、コケ植物1種、シダ植物1種、裸子植物3種、被子植物3種）を進化実験に取りあげた。この10種を使用し、18sリボソームRNA遺

伝子の塩基配列より分子系統樹を作成すると、よりブーツ・ストラップ値の高い系統樹が描けた。これを単純化して9種で同様に分子系統樹を描くと、10種の植物のうちどの植物を一つ除くかで、ブーツ・ストラップ値が大きく変化した。最もブーツ・ストラップ値が高い値が維持できたのは、裸子植物のソテツを削除した場合である。その分子系統樹を図5に示した。ソテツを除いた9種でより信頼できる分子系統樹を作成し、その分子系統樹に使用した植物を形態的系統樹の作成にも使用することで、より信頼できる進化の流れを学習させることができる。

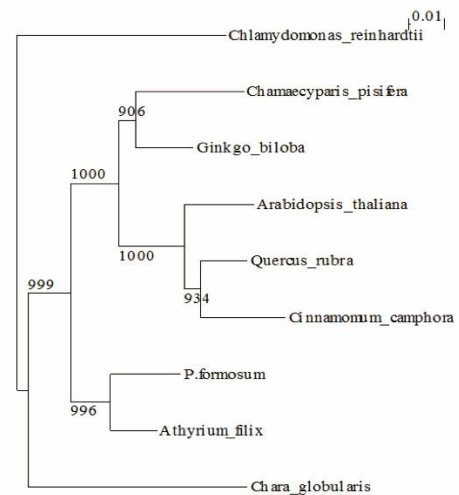


図5 ソテツを除いた9種の分子系統樹とブーツ・ストラップ値

〔形態的系統樹の検討〕

実験終了後の生徒アンケートからもわかるように、多くの生徒が、今回使用した10種の植物のうち5種ほどしか見たことがないと答えている。また、イチョウやソテツ、シャジクモ、クラミドモナスの生活環を知らない生徒がほとんどであった。さらに、系統樹を作る作業を初めて行う生徒がほとんどだった。これらを克服する方法として獲得形質得点表を元に、表の獲得形質と各植物種による集合図を作成し、各植物種の類縁関係をまとめる過程を置くと、より適切な系統樹になったと思われる（図6参照）。

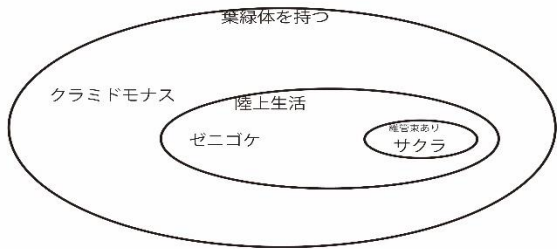


図6 獲得形質と各植物種の類縁関係を表す集合図

〔使用した遺伝子の検討〕

今回使用した遺伝子18sリボソームRNA遺伝子は、原生生物界、植物界、動物界、菌界の生物が広く保有している遺伝子であるため、系統樹の作成には適した遺伝子だと考える。この他に、葉緑体DNA中に含まれる $rbcL$ 遺伝子が良く用いられているので、さらに、分子系統樹の信頼度を上げるには、これら複数の遺伝子を使用する必要がある。

4. まとめ

今回行った進化の実験教材の開発において、担当した教諭の感想や生徒のアンケート結果より、事前の指導方法や「学校内植物を使用した進化実験」の生徒実験プリントをさらに改良した。

1) 実験実施前の予備知識をつける。

イチョウ、ソテツ、シャジクモ、クラミドモナスの生活環を、プリントや参考資料で生徒に示してから実験に臨む。

2) 改良した生徒実験プリント(図7)

図7 改良した生徒実験プリント

竹園高校内の植物しらべ (進化編)

(目的)
校内の植物を観察し、植物の和名や形態、生活の特徴について調べる。また、それらの植物がどの分類群に属し、どのように進化したかを形態における系統と遺伝子による分子系統で表し、校内に生育している植物の進化を考える。

(方法)
1) 資料
植物図鑑、インターネット
2) 方法
《形態における系統樹の作成》
1. 実験書(プリント)の地図にある番号(①, ③, ⑥, ⑧, ⑨, ⑩, ⑫, ⑬, ⑭)の所へ行き、その場所に生えている植物の大きさ、枝・葉、花や胞子のようすを観察し表1に記入する。ただし、21~24は生物室にある。
2. 植物のプレートを確認して実験書(プリント)の表に植物の和名を書き込む。
3. 観察した番号の植物の各形質について、保有していれば○を、保有していなければ×を表2に記入せよ。観察結果や資料を参考に判定せよ。
4. 表2の結果をもとに、進化により獲得した形質によるグループ分けを参考図のように行う。
5. 獲得形質によるグループ分けの図を参考に、表2にある進化段階の形質を一に記入し、種名を口に入れて記入し、また、被子植物、裸子植物、シダ植物、コケ植物、藻類の区別を記入せよ。形態における系統樹を完成する。さらに、表1の植物の大きさを図1の各植物名の下に書き加えてみよう。
《遺伝子による分子系統樹の作成》
1. 観察した番号の植物10種について、下の学名を参考に、18sリボソームRNA遺伝子の塩基配列をインターネットでNCBI(アメリカ遺伝子情報研究機関)より取得する。NCBIより取得したDNAデータはメモ帳ファイルに保存する。
2. 国立遺伝学研究所のソフト(DDBJ ClustalW)をインターネットより開き、塩基の並び替え(アライメント)を行う。DDBJ ClustalWをインターネットから開き、Sequence欄にDNAデータを貼り付け"Send to ClustalW"をクリックする。アライメント(塩基配列の対比作業)が完了したら、"Download Bootstrapped Tree File"をクリックし、名前をつけてファイルを保存する。
3. それらの塩基配列のデータより系統樹作成ソフト(njplot)を使用して分子系統樹を作成する。njplotを立ち上げ、2.のファイルを開き系統樹を書く。できた系統樹は印刷すると良い。
※ 18sリボソームRNA・・・リボソームのスマールサブユニット中にあるRNAの一つ

1

※ 和名と学名
クスノキ *Cinnamomum camphora* コナラ *Quercus serrata*
イチョウ *Ginkgo biloba* ソテツ *Cycas revoluta*
サワラ *Chamaecyparis pisifera* イヌワラビ *Athyrium niponicum*
スギゴケ *Polytrichum juniperinum* シャジクモ *Chara braunii*
クラミドモナス *Chlamydomonas reinhardtii* シロイヌナズナ *Arabidopsis thaliana*

(結果)
1. 形態的系統関係について
② 観察した番号の植物について、シロイヌナズナの例のように、植物名、大きさ、枝・葉の区別、花や胞子のようすを表に記入せよ。

表1

植物番号	植物名	植物の大きさ(草丈)	枝・葉の区別	花や胞子のようす
①				
③				
⑥				
⑧				
⑨				
⑩				
⑫				
⑬				
⑭				
⑮	シロイヌナズナ	10cm	区別あり	花

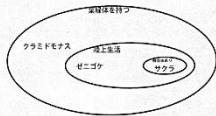
② 観察した植物について、表の項目について保有している形質であれば○を、保有していなければ×を記入せよ。

2

表 2

進化により獲得した形質	植物名	維管束がある	種子をつくる(胞子を作らない)	種子が子房に包まれている	精細胞を作る(精子を作らない)	陸上で生活する	○の合計
①							
②							
③							
④							
⑤							
⑥							
⑦							
⑧							
⑨							
⑩							
⑪							
⑫							
⑬							
⑭							
⑮							
⑯							
⑰							
⑱							
⑲							
⑳							

◎ 表 2 をもとに、進化により獲得した形質によるグループ分けの図を作成する。
参考図



◎ 観察した番号の植物を表の結果を参考にして下の□内に植物名を、〔 〕内に進化によって獲得した形質を記入し、また、〔 〕に被子植物、裸子植物、シダ植物、コケ植物、緑藻植物のいずれかの分類群を、さらに、植物名の下に表 1 の植物の大きさを記入し系統樹を完成させよう。

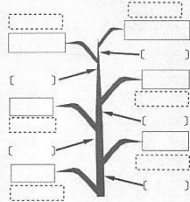
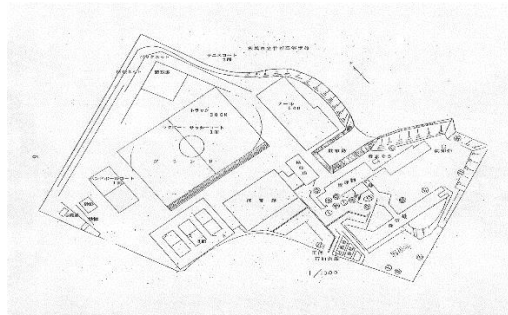


図 1

2. 遺伝子による分子系統関係について
- ◎ できた分子系統樹は印刷し、下に貼り付ける。
3. 形態観察から作成した系統樹と遺伝子より作成した分子系統樹との相違点を記せ。

(考察)

1. 藻類、コケ植物やシダ植物はどのような環境の場所に生えていたか(水分条件など)。このことから、植物の進化はどのような環境条件への適応と考えられるか。
2. 形態観察から作成した系統樹と遺伝子より作成した分子系統樹を比較した結果、形態での系統樹と遺伝的な系統樹で異なっていた場合、その違いがなぜ生じたか考えよ。
3. 被子植物の 3 種は、みな植物の大きさが異なるが、この 3 種の系統関係はどのようになると考えられるか、また、その理由を記せ。
4. 分子系統樹の分岐後の枝の長さは、その生物の進化速度に相当している。進化速度が最も大きいものと最も小さいものを答えよ。
5. その他



3) 今後の課題

校内の菌類については、担子菌類やペニシリウム類、コウジカビ類、酵母菌などの採集や培養を行った。今後、菌類を使った進化の実験も植物同様に開発していく予定である。

5. 謝辞

今回の研究において、筑波大学生命環境系の平川泰久先生に多大なるご支援をいただき、また、今回の研究に対しまして、公益財団法人中谷医工計測技術振興財団から奨励金をいただきました。深く感謝申し上げます。

6. 参考文献

- 1) 岩槻邦男, 馬渡峻輔 1996 生物の種多様性 豪華房
- 2) 堀輝三 1994 藻類の生活史集成 内田老鶴圃
- 3) 本川達雄, 谷本英一 2013 生物 啓林館
- 4) 池田博明 2015 ヒトとサルのはじめは共通 生物の科学 遺伝 エヌ・ティー・エス

竹園高校内の樹木しらべ (進化編) アンケート

◎ 各項目の質問の答えの数字は、マークカードの数字をマークせよ。

1. この実験で取り上げた 10 種の植物のうち、実物を見た(観察することのある)数を答えよ。9 種類以上は 5 に、8 または 7 種類は 4 に、6 または 5 種類は 3 に、4 または 3 種類は 2 に、2 種類以下は 1 にマークせよ。

5 4 3 2 1
非常に 普通 まったく

2. コケ植物と藻類に維管束が存在しないことをこの実験の前に知っていたか、「はい」の場合は 1 を、「いいえ」の場合は 2 をマークせよ。

2 1

3. 裸子植物に花が咲くことをこの実験の前に知っていたか、「はい」の場合は 1 を、「いいえ」の場合は 2 をマークせよ。

2 1

4. 被子植物の種子が子房に包まれていることをこの実験の前に知っていたか、「はい」の場合は 1 を、「いいえ」の場合は 2 をマークせよ。

2 1

5. イチョウとソテツが精子を作ることをこの実験の前に知っていたか、「はい」の場合は 1 を、「いいえ」の場合は 2 をマークせよ。

2 1

6. ジャコモが水中で生活することをこの実験の前に知っていたか、「はい」の場合は 1 を、「いいえ」の場合は 2 をマークせよ。

2 1

