

## 第4章

事業Ⅲ：新しい実験テーマの開発と実験マニュアルの整備〈生物学〉

—マクロ系：生物多様性理解のための実験プログラム開発—



## 事業Ⅲ：新しい実験テーマの開発と実験マニュアルの整備〈生物学〉

### —マクロ系：生物多様性理解のための実験プログラム開発—

報告者 片田 真一

#### 1. はじめに

今年度はミジンコ（オカメミジンコ）を材料とした新しい生物学実験の開発を行った。開発にあたっては（1）学生が親しみやすいテーマであることとしつつも、（2）その実験の中に「仮説検証型の科学実験の手順」を踏んでいることを重視した。

#### 2. 生物学マクロ分野のテーマーミジンコを用いた新しい生物学実験の開発

生物学マクロ分野では、以下の通り 2 つの学生生物学実験を開発した。実験 1 は 6 クラス（およそ 300 名）で試験的授業を実施した。実験 2 については現在まだ開発・改良の途中であるが、秋学期に 2 クラスで試験的授業を行った。

##### 3-1 実験 1 「ミジンコの状態と採食様式の観察」

ヒトの頭の中にはその人が経験してきたことに基づく「常識」がある。多くの生物では顔を横から見ると、眼は一つしか見えない（図 1）が、その裏側には反対側の眼があることが多い。だがこれは狭い見識に基づいた「常識」である。ミジンコという生物は中学、高校等の教科書・参考書への登場回数も多く、学生たちの多くはその存在を知っているし図 1 のような絵もよく見ている。そして学生たちは、これは陸上生活する多くの生物の「眼」が 2 つあるという「経験」に因るのだが、「ミジンコの眼（複眼）も 2 つある」と勝手に

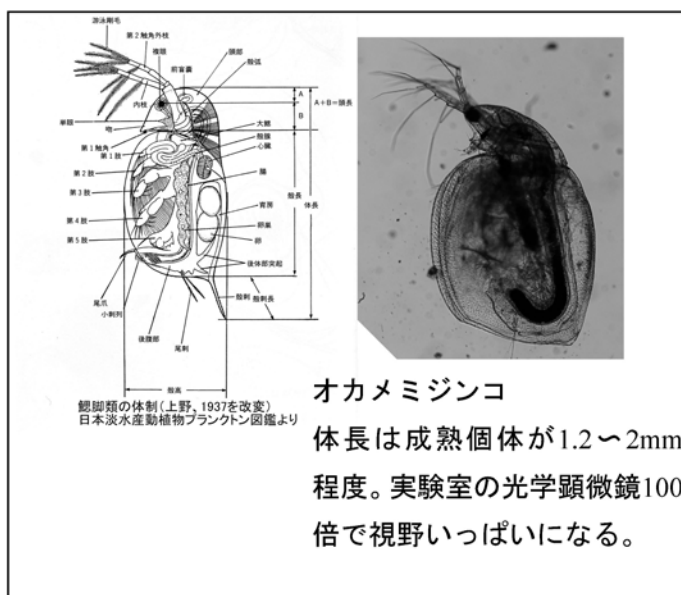


図 1. ミジンコ類の体制

思い込んでいることが多いの。しかし実際には、ミジンコの場合左右の複眼は中央で癒合し見かけ上一つになっている。学生は自分の「常識」に基づいて、つまり眼はきっと2つあるだろうと予測して観察を始めるが、実際には一つであることを「発見」することとなる。課題の2点目は、採食様式の観察である。ミジンコの頭部には突起（吻と呼ばれている）があり、まるで口のように見える。しかし水中に擬似的な餌を入れてミジンコが採餌する様子を観察すると、頭部前面の突起（吻）が採食に無関係であることが判明する。学生たちの「吻は口だろうという予測」はここでも裏切られることとなる。これらの過程は、仮説をたて、実験で検証し、検証結果をレポートにまとめる科学的実験プロセスと同じものと考えることができよう。

### 3-2 実験1に先立つガイダンス

水生微生物の世界は、食う—食われる関係が複雑で、栄養素・エネルギーが循環する「ループ状の構造」になっていると考えられている（微生物ループ、図2）。この中においてミジンコ類やワムシ類といった比較的大型のプランクトンは小型魚類の餌となり、その小型魚類はさらに大型魚類や鳥などの餌となっていく（図3）。こうしてみるとミジンコは、水系生態系の中で微生物ループから高次の消費者へとエネルギーを受け渡す要石的な役割を負っているといえるかもしれない。このミジンコはどのような体制を持っていて、またどのような採餌様式なのか、詳しく観察していく。

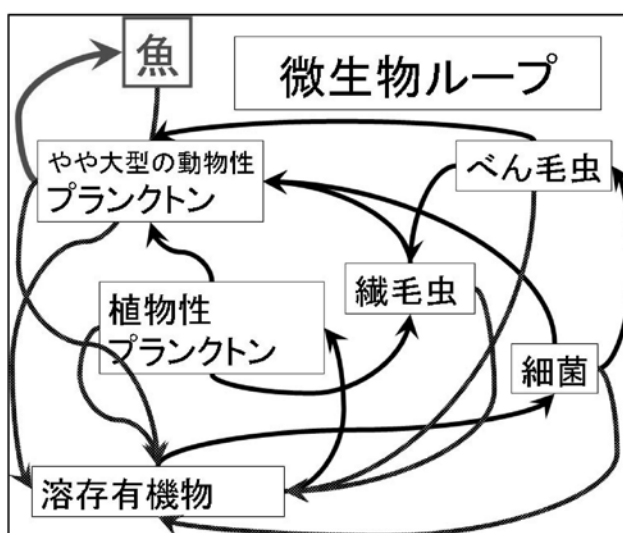


図2. 微生物ループの模式図

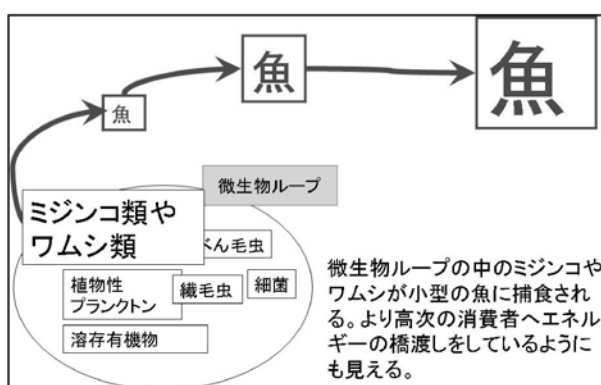


図3. 微生物ループから魚類への食物連鎖の模式図

### 3-3 実験の実際

添付1は学生配布プリントである。

まず光学顕微鏡を使って、ミジンコを横から観察し、スケッチをする。次にミジンコを縦向きにして同様にスケッチをする。このとき複眼の位置と形、単眼の位置と形に注目する。次にミジンコを横向きにした状態で、擬似的な餌（今回は薄めたコンゴローッド水溶

液) を添加し、ミジンコが食物を体内に取り込む様子を観察・記録する。このとき口器の位置や形に注意して観察を行う。ミジンコはホール付スライドグラスを使って観察するが、ピペットを上手に使い水量を調節することで、横向きにも縦向きにもコントロールできる (図 4)。

### 使用器具

光学顕微鏡、ホール付スライドグラス、パストールピペット、コンゴレド水溶液。細かく切った濾紙 (水量調節に使用)。(カバーグラスは使用しない)

### 3-4 学生レポートから

学生は横向きのミジンコをスケッチした後に縦向きの観察を行うので、「縦向きに見ると、きっとこうなるだろう」という「予測」を立てている (図 5)。この思い込みが激しすぎたため、縦から見たミジンコの複眼の位置を正確に描けなかった場合がごく稀に見受けられた。しかし多くの場合学生は「観察の結果、自分の予測が間違いであったことに気がつき」正しいスケッチを行うことができた (図 6)。

### 3-5 実験 1 のまとめ

繰り返し述べてきたように、実験 1 は一見、単なるミジンコの観察・スケッチをしているだけだが、実はその中に科学実験を行う上で必要な「仮説、検証、考察」の要素が含まれたものとなっている。ミジンコという生物の存

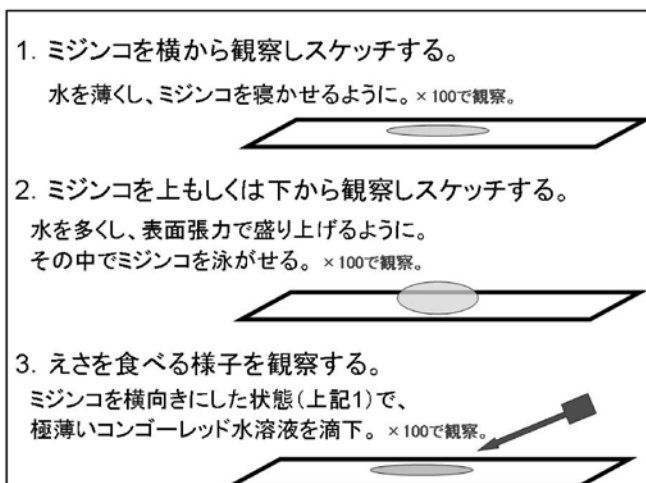


図 4. 実験 1 の 3 つの課題

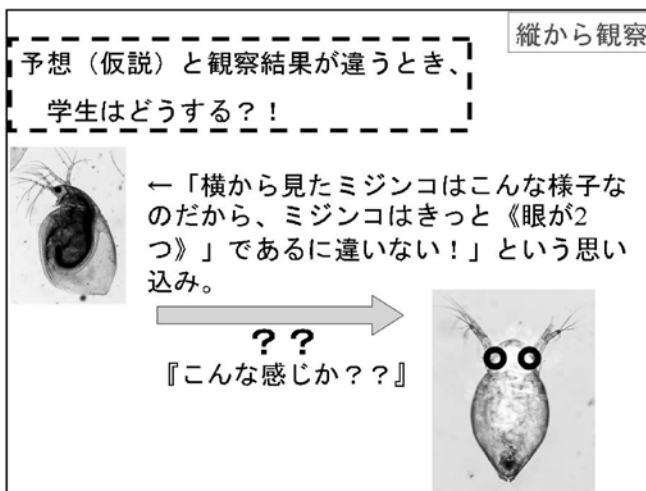


図 5. 学生が考える「縦向きのミジンコ像」

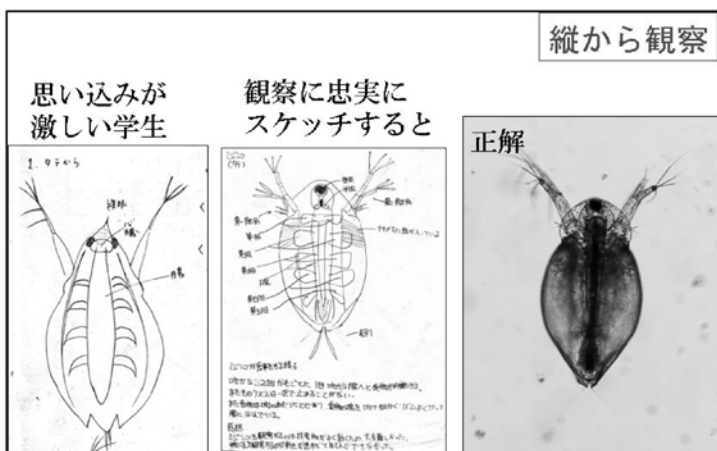


図 6. 学生レポートに描かれた縦向きミジンコ像。眼は 2 つ? それとも 1 つ?

在は知っているもののミジンコの複眼が一つしかないという事実はあまり知られていないため、このような「実験」が可能になった。

この実験に参加した学生の考察・感想の抜粋を付表に挙げた。「結果が前もって予測できてしまう仮説検証型の実験」よりも、良好な反応だったと思うし、学習効果も高かったと考えられる。また、生きている生物に接することができたという充実感が感想には現れている。これも、文系学生向けに「生物学実験」を開講する大きな意義の一つであると、私自身も強く実感した。

#### 4-1 実験2「ミジンコの採食能力=水浄化に果たす役割」

実験2は、ミジンコの採食様式と採餌能力を観察するものである。緑色に濁った水を透き通らせるほどの採食能力を、この実験で体感できる。

#### 4-2 実験2に先立つガイダンス

ミジンコは主に植物プランクトンやバクテリアを食物とする消費者で、小型魚類等（二次消費者）の餌になる生物である。生産者によって作られた大量の有機物を高次の消費者へ受け渡していく「架け橋」的存在で、生態系の中でも重要な位置に在ると言えよう。実験1ではこのミジンコについて詳細な観察を行い、体のつくりや食物を取り込む様式（「予想」に反して複眼が一つしかないことや、口のように見えた頭部前面の突起（吻）が採食に無関係であること、二枚貝状に開いた腹部からエサを取り込み第一～第二肢根元付近でエサを濃縮した後大鰓付近から飲み込むこと、など）を学んだ。さてそれでは、このミジンコは1日もしくは数時間の間に、どれくらいの量の食物を摂るのだろうか？

緑藻類で緑色に濁った水にミジンコを一定時間入れ、吸光度の変化から採食スピードを測定してみよう。

#### 4-3 実験手順

緑藻類で緑色に濁った水にミジンコを入れ、一定時間おいた後に水の濁り具合を測定する。ミジンコを入れた水と入れなかった水で比較し、ミジンコの採食能力（浄水能力）を調べる。水の濁り具合は分光光度計で吸光度(Abs.)を測定し、その指標とした。実験の概要を図7に示した。

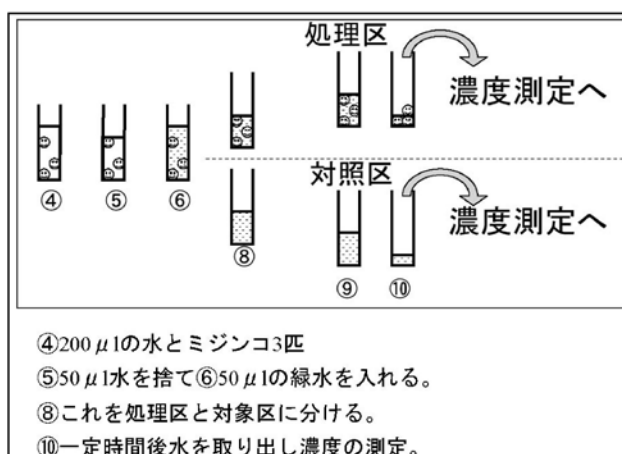


図7. 実験2の模式図

材料：オカメミジンコ、緑藻類で緑色に濁った水（図8）。

使用器具：シャーレ、PCR用チューブ（200 $\mu$ l $\times$ 2個）、パスツールピペット、マイクロピペッター（P200）、イエローチップ、分光光度計。



図8. 実験2で使用した greenwater（緑水）。実際の実験ではこれを4倍に薄めた薄緑水200 $\mu$ リットルにミジンコ3匹を入れ、15～30分後に吸光度の変化を測定した。

#### 4-4 実験2の試験的學生実習

秋学期2クラスを対象に、この実験2を試験的に実施した。薄緑水200 $\mu$ リットル、ミジンコ3匹、15～30分の条件で実験を行ったが、一部のグループを除くと、吸光度の明瞭な減少を観測できなかった。これは予備実験段階では上手く結果が出ていた条件であるため、学生のピペット操作の不確実性の排除、分光度の測定精度を改善するなどの対策を採って、2008年度には成功させたいと思っている。

#### 5. オカメミジンコの大量増殖

今回開発を行った学生実験を実現する上で一番重要になるのが、オカメミジンコを使用する分だけ準備することである。そこで最後に、ミジンコの飼育方法について記しておく。個体数を100～300程度で維持する「累代飼育」と、学生実習準備のため数千匹に個体数を増やす「大量増殖」の方法は以下の通りである。なお、今回用いた材料は、慶應義塾大学日吉キャンパス第二校舎ベランダに長期間設置された水槽の底土50mlほどを室内水槽に持ち込み、ここから発生した個体を別水槽に単離し累代的に増殖させたものである（オカメミジンコ以外にも、この土からはケンミジンコ類、マルミジンコ類も多数ふ化した）。2005年12月に発生した個体の子孫が一度も絶えること無く、2008年3月現在でも室内で生育中である。

#### 生育条件

飼育はすべて自然光が直接当たらない室内で行った。飼育には梅酒用ガラス瓶、もしくは30cm水槽を用いた。本種の飼育には、一年を通して特別な水温管理は行わなかった。研究室の室温は冬は10～20 $^{\circ}$ C程、夏は30 $^{\circ}$ Cを超えない程度に調整されており、（夏期にやや元気が無かったものの）ミジンコは一年を通じて繁殖が確認された。pH調整剤等のサプリメントも行わなかった。蒸発により水面が低下したときには、1日以上汲み置きした水道水を適宜追加した。飼育当初はエアレーションをせずに飼育していたが、水が茶色に濁りミ

ジンコが弱ることがあった。その後弱いエアレーションであればミジンコも元気に育つことが分かり、可能な限り実施することとした。極端な水の濁りが生じることも無く調子よく生育している。

#### 5-1 累代飼育。

基本的にエアレーションは行わなかった。ただ、自然換気を考慮し「表面積／水量」を増やすように、入れる水は瓶の半分程度とした。エアレーションする場合にはエア量を最弱にし、水流が起こらないように気を配った。ミジンコの餌となる微生物や溶存有機物を供給するために、1回／週から1回／月の頻度で鶏糞（ここではヒメウズラの糞尿）を一撮みすり潰して添加した。正確な個体数は数えなかったが、この状態で100～300匹程度の成虫が年間を通して一度も絶えること無く、継続的に維持できた。

#### 5-2 大量増殖

大量増殖には梅酒瓶もしくは30cm水槽を用いた。

水槽に累代飼育した水2～3リットルとともにミジンコ100匹以上を入れ、これに餌（グリーンウォーター）200mlを3～7日に一度のペースで加えた。餌を入れすぎると水が腐りミジンコが酸欠／死滅することがあるため、ミジンコの食べるスピードに応じて餌量の調整を行った（グリーンウォーターを入れた直後は水槽の水が緑色になるが、ミジンコの数に応じて3～7日で緑色は消える。この緑が消えた時に次の餌を与えるようにした）。エアレーションは行わなかったが、行う場合はミジンコの体を傷つけぬようごく弱めにするのが良いと思われる。この操作を1～1.5ヶ月続け、1000匹以上の成虫を得た。本種は個体数が増えた状態でそのまま維持するのは困難で、（餌を与え続けたにもかかわらず）通常2～3週間で個体数は1／10以下に激減した。学生実験に使用する際には、2ヶ月ほど前から計画的に、3～4個の水槽で同時に飼育し、うまく増殖できた水槽を実際に実験に用いるのが良いだろう。

#### 5-3 餌となるグリーンウォーターgreenwater

大型培養瓶（9リットル）に水8リットル、野外水槽で採取した濃緑色の水10ml、ハイポネックス1ml、鶏糞一つまみを入れ、蛍光灯を一日中当てながら強めにエアレーションした（室温）。2週間程度で培養瓶内が濃い黄緑色になり、このgreenwaterを餌とした（図8を大量培養したものもある）。この水を光学顕微鏡で検鏡したところ、大きさ形態ともにクロレラ様の緑藻および同大の鞭毛虫類が多数認められた。



付表：2007年度ミジンコ実験1の感想、考察の抜粋

実施：2007年7月11日

1	(餌を食べる様子) 足を小刻みに震わせて水流をつくり、黒い粒をどんどん吸い寄せていく。そして黒い粒は吸い寄せられて、横から見ると心臓の上のたまに動く器官のところ辺で濃縮され、黒いかたまりになったところで、それを少しずつ吸収している。たまに動く器官は、餌を入れると動きが活発になり、常に動くようになる。縦から見ると吸収するときは真ん中が開くようにも見えた。感想：ミジンコは良く動くので、とくに縦に見たときのスケッチが難しかった。
2	ミジンコを縦から見ようとすると動き回ってしまいスケッチが大変だった。またエサだけでなく何でも取り込んでしまうので、おかしかった。
3	1つの生物を多方向から詳しく観察することができた。単細胞(ママ)にもかかわらず体内には細かい仕組が多数あり興味深かった。
4	目は1つしかない。スケッチしていないミジンコに、卵をかかえているやつがいた。1つ30 $\mu$ mぐらいで、10個ぐらい、背中の、心臓の下あたりにあった。
5	のどとなる部分。飲み込むときに、ゴクゴクと動いているのが分かる。
6	図鑑等では横向きの図ばかりであるため、縦から観察すると複眼単眼が各々1つずつしかないことと、甲殻の構造などがはっきり分かって新鮮だった。
7	体の構造がより複雑で、見るところは他のプランクトンより格段に多かったが、その役割に注目して書いていくと楽しかった。
8	横向きではあいまいなミジンコだがたて向きだとクモのようで少し気持ち悪かった。小さいのにえさを食べる仕組がととのっていてすごいと思った。
9	ミジンコの子供：間もなく生まれそうな子供が親ミジンコの体内にいた。もう複眼はハッキリと分かる。背中にあたる部分に、体細胞と思われる粒が集中していた。感想：ミジンコがエサを取り込み、それが腸へと送られていくのを見られて、ミジンコも人間と同じように食物を消化していくことが実感できました。
10	複眼は2つあるのかと思っていたが、実際は一つであることに一番驚いた。感想：今日は、横からだけでなく、縦からもミジンコを見れたので、ミジンコに対する見方が変わりました。小さな体の中で肢を高速で動かしたり、子を持っていたりと、観察するのは大変でしたが、特にエサを食べたときなどは感動しました！
11	最初はミジンコの瞬敏(ママ)な動きに慣れず気持ち悪かったけど、だんだんそれにも慣れてミジンコの構造がおもしろくてじーっと観察していた。横から見たときと縦から見たときで見え方が異なって「眼が一つだったんだ」気づいた。ミジンコの実体を立体的にとらえることができた。
12	驚いたのが複眼は一つしかないことだ。てっきり2つあるものと思い込んでいたが、どうやらそうではないらしい。しかし、よく考えてみると水中で小さなプラ

	<p>ンクトンを飲み込んでこしとるミジンコに目の力はそんなに必要ないのかもしれない。また単眼が真ん中にあることも上から観察したときに気付いたが、複眼が一つしかないことを考えると、真ん中にあるのももっともなことかもしれない。</p> <p>感想：ミジンコは好きな生物だったので、最後に観察することができて良かったです。複雑な構造にびっくりしたり、複眼が1つしかないという発見もできて充実した観察になりました。</p>
1 3	観察すればするほどエビににていて驚いた。動きが速くてスケッチが大変だった。
1 4	1.2mm程の大きさのミジンコにも、こんな複雑な構造があつて感動しました。肢の動きが速すぎてうまく観察できませんでしたが、心臓が動いている点が身近に感じられました。生きてるんですね。
1 5	消化機能は微生物と呼んではいけないのではないだろうかというくらいに思った。秋からも常になぜ？という疑問の目を持ちながら取組んでいきたい。
1 6	ミジンコのようなモノを見るのは苦手なので、スケッチがつかつた。
1 7	エサを食べさせる：エサをあげると、周りの水とともに、頭と殻との間からエサを吸いこみ出す。すると、腸へエサが行きわたり、それから大腸へ行きわたっていった。腸へ行きわたると、排泄が始まった。
1 8	いくつも見るものがあつて今までで一番大変だった。動くものを見るのは本当に困難だと実感した。何度もプレパラートを作り直さなければならなかった。
1 9	ミジンコがうごくので観察するのが大変だった。水の量の調節がむずかしかった。
2 0	肉眼で見ると点にしか見えないミジンコが実際にはとても細かい体内の構造を持ち懸命に生きていく姿が見てとれた。このような生物が生態系の一端を担い我々の生活にも関係しているとわかり大切な仲間だと思った。
2 1	ミジンコはかなり動き回るし構造も複雑であんまりおもしろい観察ではなかったがエサを食べる様子にはかなり感動しました！
2 2	動きが速く作りが複雑なので改めて生命の奥深さを知った気がする。ミジンコでさえこんなに複雑ならば更に大きい生物はもっと複雑なのだろう。
2 3	観察途中でミジンコが脱皮した。あまり見れるものではないらしいので運が良かった。エサを食べる様子を観察したが、どこから黒い物体（エサ）を取り入れているのか分からなかった。
2 4	ミジンコをタテにして見るのがとても難しかったです。ミジンコを止ませようとして水を減らしてしまうとすぐ横向きになってしまうからです。エサを食べる様子もよく観察できました。エサを機械的に飲み込んでいく様子がとてもかわいかったです。
2 5	横むきのミジンコは中学などの教科書で見たことがあつたが、縦むきのミジンコというものは初めて見た。目の位置や足がどこからはえているかを見ることができてよかった。

26	ミジンコは、複眼などが2つあるのかと思っていたが、1つしかなくておどろいた。ミジンコの食事する様子は面白かった。
27	エサを食べさせるときに、色素を使ってミジンコがどうやって水流を起こしてエサを取り込むかが分かりやすくてよかったです。
28	はじめは気持ち悪いと思っていたミジンコも、観察すればするほど愛着がわきます。ミジンコも生きてるんだな。排便の瞬間も見ることができ、貴重な時間でした。
29	春学期にやった実習の中で一番大変だった気がする。しかし動くものを見ることは植物をみるよりおもしろいと思った。
30	こんな小さな生き物でも人間と似たつくりをしていて驚きました。やはり動物に属するだけあって複雑なつくりをしていました。
31	餌を食べる様子：とがっている口ばしみたいなところは関係なく、単眼の少し下のあたりから、水流をおこして、えさをとりこんでいる。そして、その部分から、ポンプのような動きで腸にえさを送りこんでいる。腸は黒くなっていく。
32	大きくて、見やすいが、すばしっこくて、透明、立体なので、部位が重なっていて、スケッチがしにくい。足がはやくて、だいたいの形しかわからず、2匹使ったので、見えてなかったところがあったことに気づいた。
33	今までした実験の中で1番難しかった。ミジンコの動きが速すぎてなかなかとらえられなかった。食べるころはよく見えておもしろかった。
34	ずっと食べている＝ずっと水流をつくっているということだから、エネルギー消費量は案外多そうだった。
35	本当に図で見るようにはっきり見えて興味深かったが、足の動きが速すぎて細部まで観察できなかった。今までで一番生きている、という感じがして面白かった。
36	ミジンコが食物を取り込む瞬間は目を疑うほど驚いた。
37	今までで一番体内の構造がハッキリとわかったので面白かった。途中で脱皮したり排泄したりしていてそういった様子が観察できたのも良かった。
38	ミジンコがこんなに複雑な生態（ママ）構造をもっていたのでおどろきました。
39	今日のミジンコはとても見やすかった。なんか楽しかったが、卵を生むとも見てみたい。
40	食べる様子：のどの手前から腸の目の近い部分へと食べ物が移動していた。のどで食物をゴリゴリとすり潰しているように見えた。
41	ミジンコは魚のエサとして食べられているらしい。水の中の世界では重要な役割を果たしているんだな、と感じた。またミジンコがいなくなったら大きな影響が及ぶ（ママ）と思う。漁業界には必要な生物だと感じた。意外にも、この小さい生物が日本の経済をささえているのかも？

## 資料：ミジンコ実験 1

### 生物学実験

#### 陸水生態系の一次消費者「ミジンコ」の観察

##### はじめに

これまでの実験では、原核生物界、原生生物界、動物界に属する様々な生物を広く観察してきた。ところで生物の世界は、これとは異なる次元で分類することもできる。生態系の中で果たしている役割に関する分類もその一つである。すわなち、光エネルギーなどを原動力に二酸化炭素や窒素を材料にして有機物を生産する「生産者」、生産者が合成した有機物を利用する「消費者」、これらの生物の排泄物や死骸を無機物に分解する「分解者」という分け方である。今回の実験では「陸水生態系の一次消費者」の代表選手ともいえるミジンコに焦点を当てる。

##### ミジンコ類について

ミジンコ類は、体は小さいが甲殻類の仲間で、複雑な体制が観察できる。複眼と単眼、触角、心臓、腸と肛門、葉状の付属肢が見られる。通常は単為生殖（メスがメスを産む）で増殖する。水条件等によってはオスが出現し、オスとメスの交尾によって卵（耐久卵）が作られ、環境条件が好転するまで休眠に入ることもある。ミジンコは主に植物プランクトンを食物とする一次消費者で、小型魚類等（二次消費者）の餌になる生物である。生産者によって作られた大量の有機物を高次の消費者へ受け渡していく「架け橋」的存在で、生態系の中でも重要な位置に在ると言えよう。

##### 課題

1. オカメミジンコを横から観察しスケッチする。
2. オカメミジンコを上もしくは下から観察しスケッチする。
3. えさを食べる様子を観察する。

##### 材料：

オカメミジンコ (*Simocephalus vetulus*)

##### 動物界

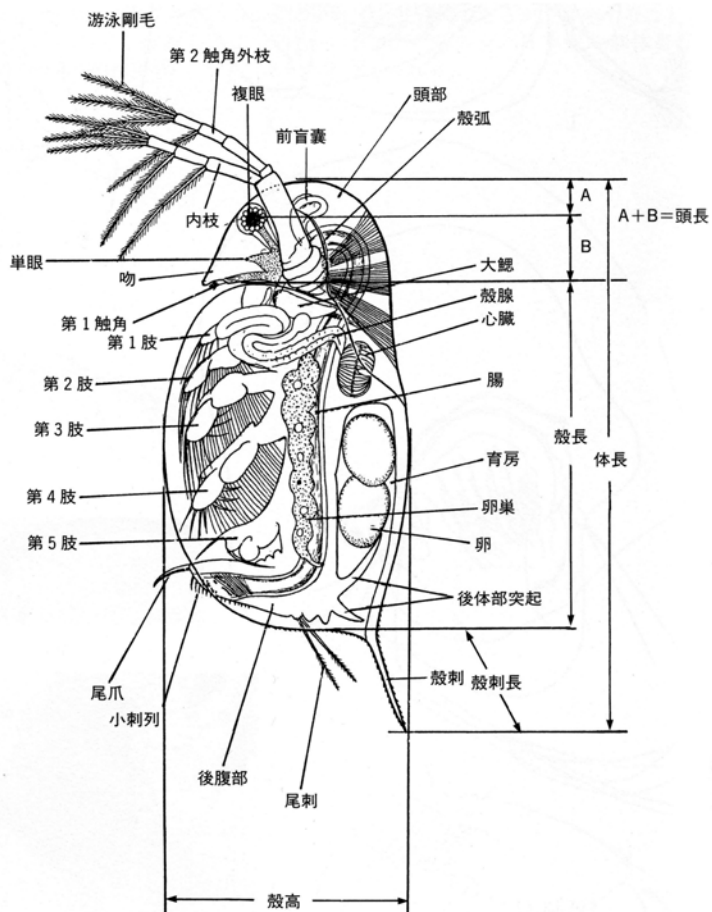
##### 節足動物門

##### 甲殻亜門

##### 鰓脚（さいきやく）綱

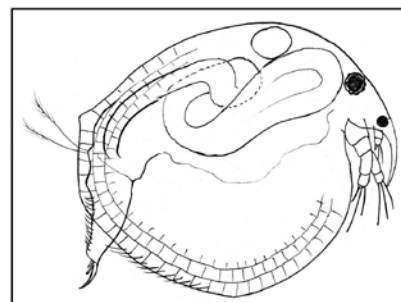
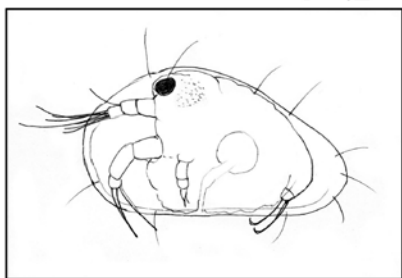
##### 枝角目（シカク目：ミジンコ目）

異脚亜目  
ミジンコ科

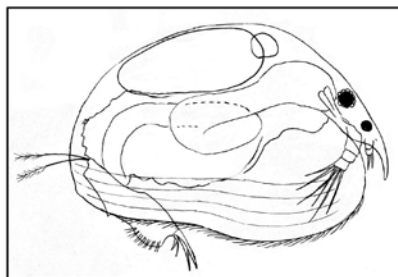


鯰脚類の体制(上野、1937を改変)  
日本淡水産動植物プランクトン図鑑より

その他のミジンコの仲間



カイミジンコ類  
マルミジンコの仲間



使用器具：

ホール付スライドグラス、カバーグラス、蓋付きシャーレ、光学顕微鏡、ピペット、コンゴレッド水溶液。

方法：

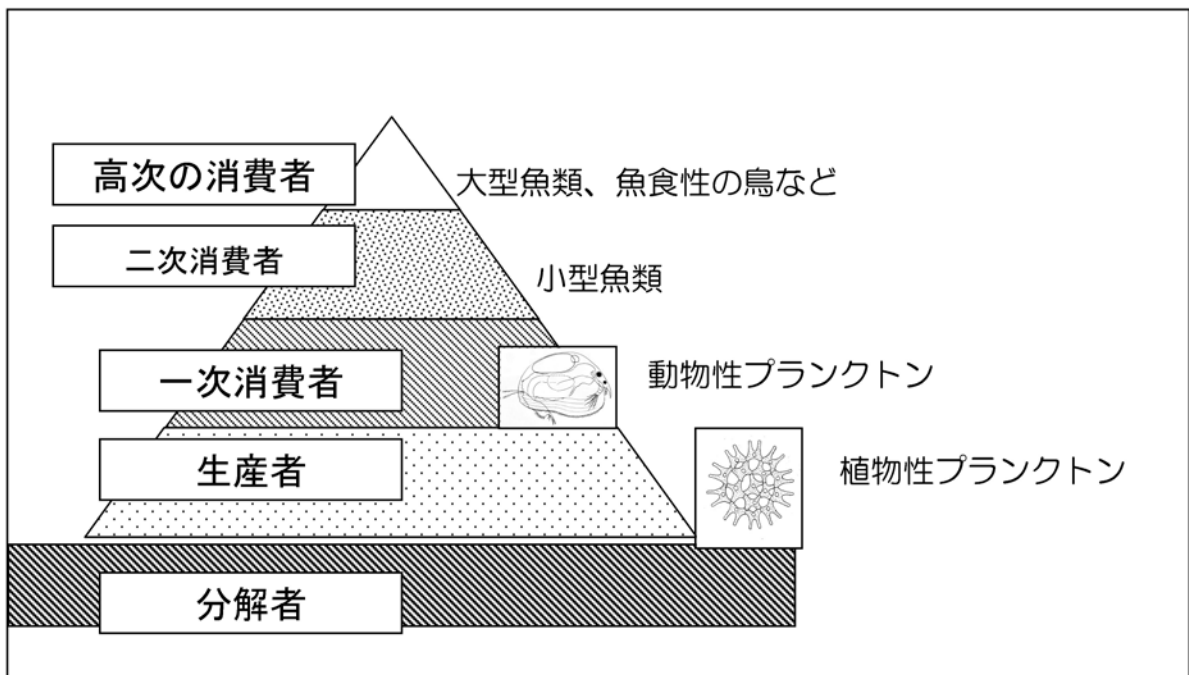
1. (カバーグラスを使わない方法)

ピペットでミジンコを一匹捕り、スライドグラスの平らな部分にのせる。水の量は1滴だけにするとミジンコは横向きに寝た状態になる。体がつぶれてしまうので、ここではカバーグラスは使わない。光学顕微鏡 100~150 倍で観察する。水がなくなると死んでしまうので、適宜水を足しながら観察すると良い。このとき、**絶対に対物レンズを 40 倍にしてはいけない (レンズに水がついてしまう)**。

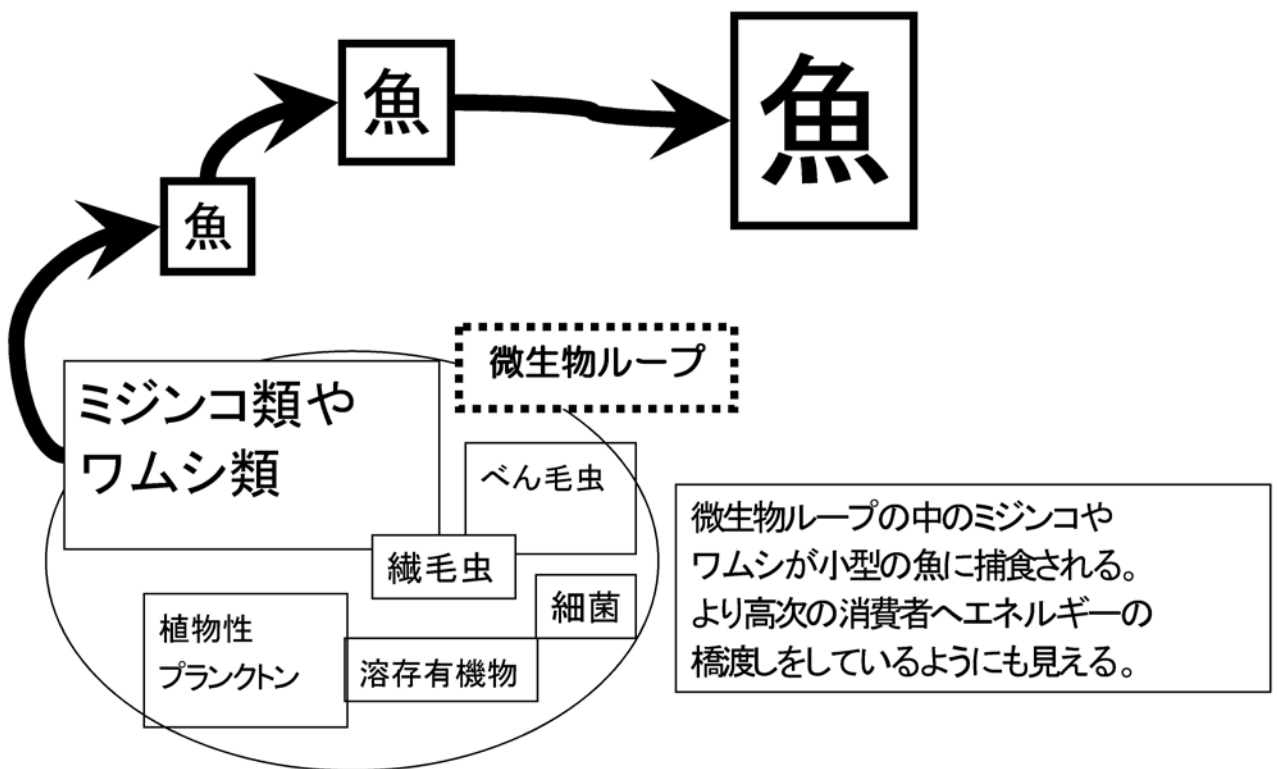
(カバーグラスを使う方法)

ピペットでミジンコを一匹捕り、スライドグラスの平らな部分にのせる。水の量は 2 滴程度がちょうど良い。観察するミジンコの両脇に、水に浸した濾紙片を置き、この上にカバーグラスをかける。こうすると濾紙の厚みがあるためミジンコはつぶれない。

2. 次にミジンコを縦向きにさせる (オカメミジンコは通常、腹面を上に向けて遊泳している)。ミジンコをスライドグラスの凹み (hole) に入れ、水を 3~4 滴入れた後、カバーグラスをかける (ミジンコが大型のときはカバーグラスは使わなくても良い)。ミジンコが元気に泳ぎ、体が縦向きになっている様子を観察する。1で観察した複眼と単眼の位置がどうなっているのかに注意すること。光学顕微鏡 100~150 倍で観察する。カバーグラスを使っていない場合は、**絶対に対物レンズを 40 倍にしてはいけない**。
3. ミジンコが餌を食べる様子を観察するために、今回はコンゴレッド水溶液 (赤色) を使う。1で行ったようにミジンコを横向きにした状態 (水は 1 滴) で、薄めたコンゴレッド水溶液を極少量 (1/2~1 滴)を加えてミジンコを観察する。赤い溶液の流れによってミジンコが起こしている水流が見えるとともに、口から食物が取り込まれる様子、喉と腸を食物が通過するところがはっきりと確認できる。



生態系ピラミッドの例



資料：ミジンコ実験 2

生物学実験

ミジンコの採食能力の測定

ミジンコは主に植物プランクトンや細菌を食物とする消費者で、小型魚類等（二次消費者）の餌になる生物である。生産者によって作られた大量の有機物を高次の消費者へ受け渡していく「架け橋」的存在で、生態系の中でも重要な位置に在ると言えよう。春学期の実習ではこのミジンコについて詳細な観察を行い、体のつくりや食物を取り込む様式（「予想」に反して複眼が一つしかないことや、口のように見えた頭部前面の突起（吻）が採食に無関係であること、二枚貝状に開いた腹部からエサを取り込み第一～第二肢根元付近でエサを濃縮した後に大鰓付近から飲み込むこと、など）を学んだ。さてそれでは、このミジンコは1日もしくは数時間の間に、どれくらいの量の食物を摂るのだろうか？緑藻類で緑色に濁った水にミジンコを一定時間入れ、吸光度の変化から採食スピードを測定してみよう。

目的：オカメミジンコの採食能力（水浄化能力）を測定する。

<実験の概要>

緑藻類で緑色に濁った水にミジンコを入れ、一定時間おいた後に水の濁り具合を測定する。ミジンコを入れた水と入れなかった水で比較し、ミジンコの採食能力（浄水能力）を調べる。水の濁り具合は分光光度計で測定する。

材料：オカメミジンコ、緑藻で緑色に濁った水。

使用器具：シャーレ、PCR 用チューブ（ $200\mu\text{l}\times 2$  個）、パストゥールピペット、マイクロピペッター（P200）、イエローチップ、分光光度計。

<実験手順>

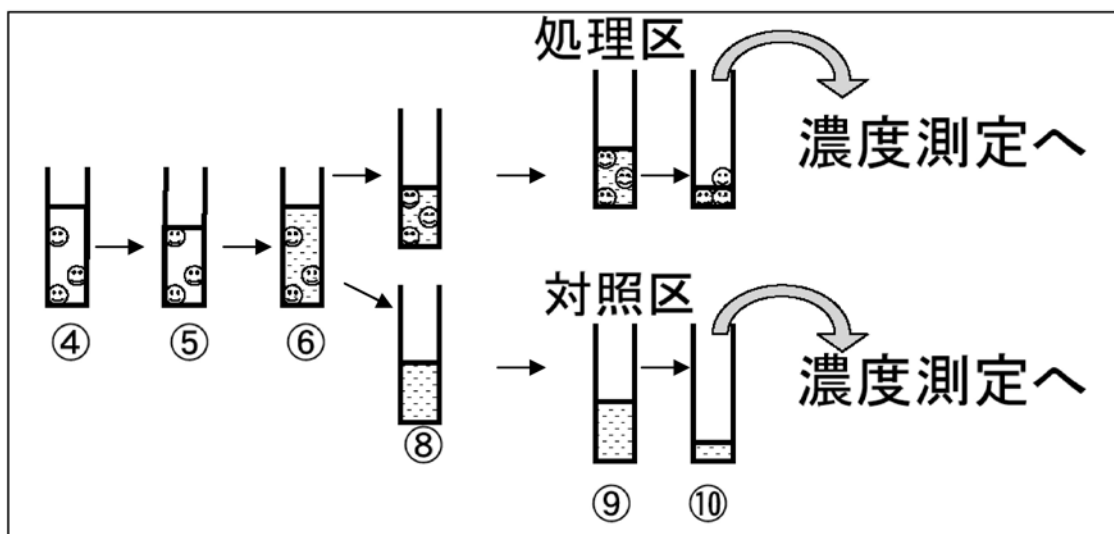
1. 実験は2人一組で行う。
2. シャーレにミジンコを数匹とり、席に着く。
3. パストゥールピペットを使いミジンコ3匹をPCRチューブに入れる。この時ミジンコは出来るだけ大きな個体を選ぶ。
4. パストゥールピペットを使い、ミジンコ入りチューブ内の水を  $200\mu\text{l}$  にする（ $200\mu\text{l}$  のところに目盛りがあるのでこれに合わせる）。



5. マイクロピペッターを使い、ミジンコ入りチューブ内の水を  $50\mu\text{l}$  取って捨てる（チューブ内の水は  $150\mu\text{l}$  になる）。
6. マイクロピペッターを使い、緑水  $50\mu\text{l}$  をチューブに入れる（ミジンコ入りチューブ内の水は  $200\mu\text{l}$  になる）。
7. ミジンコ入りチューブに蓋をし、タッピングで水を攪拌する。（ミジンコが死なない程度に十分に攪拌する）
8. チップを新しくしたマイクロピペッターを使い、ミジンコ入りチューブの薄緑水  $200\mu\text{l}$  の内  $100\mu\text{l}$  を新しいチューブに分注する。ミジンコの入っているチューブ（薄緑水  $100\mu\text{l}$ ）を試験チューブ、ミジンコの入っていないチューブを対照チューブとする。（この時点では両チューブの緑水濃度は同じはずである）
9. 30分放置する。
10. チップを新しくしたマイクロピペッターを使い、試験チューブ、対照チューブのそれぞれから  $80\mu\text{l}$  を取って分光光度計で吸光度を測定する。（違うチューブの水を吸引する前には新しいチップに交換する）
11. 吸光度の変化をもとに以下の点について計算してみよう。
  - A. 今回使用した薄緑水（上記6）  $100\mu\text{l}$  の濃度を半分にするのに、オカメミジンコ3匹で何時間を要すると考えられるか？
  - B. 今回使用した薄緑水（上記6）  $500\text{cc}$  の濃度を24時間で半分にするためには、何匹のオカメミジンコが必要か？（ $1\text{cc} = 1\text{ml} = 1000\mu\text{l}$ ）

★「標準サンプル」の吸光度測定

様々な濃度の「緑色に濁った水」の吸光度を測定し、吸光度と濃度の関係をグラフに描きましょう。濃度は、原液、2倍、4倍、8倍、16倍、32倍とします。



## <実験開始前に、実際にマイクロピペッターを使ってみましょう>

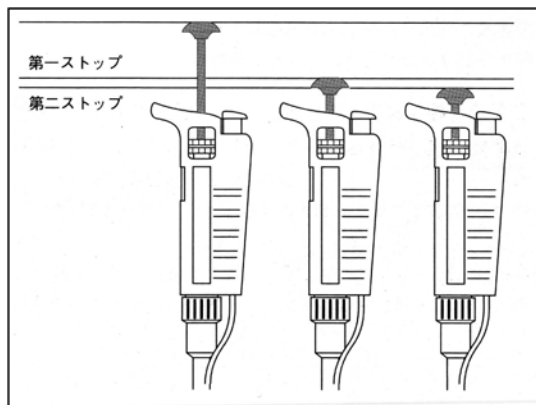
本実験に入る前に、マイクロピペッターの使い方を練習します。1ml 以下の液体を測り採る時には、マイクロピペッターと呼ばれる特別な器具を使います。マイクロピペッターはデリケートな器具なので、無理な使い方をすると正確な計測ができなくなります。乱暴に扱ったり床に落としたりしないよう、十分に気をつけてください。マイクロピペッターは種類ごとに計測できる範囲が決まっています。今回用いる「マイクロピペッターP200」の使用可能範囲は「 $20\mu\text{l}$ ~ $200\mu\text{l}$ 」です。故障の原因になりますので、この範囲を超えて目盛りを設定しないでください。

### 注意点

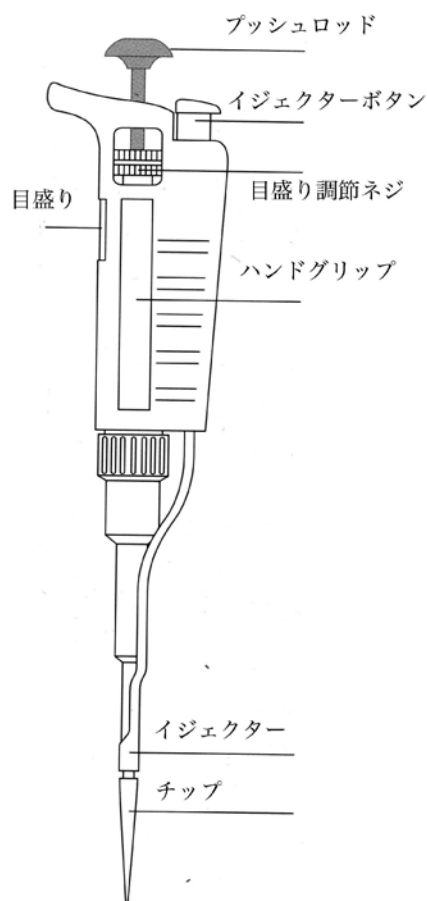
- ★液体の出し入れはゆっくりと。
- ★ピペッターは絶えず縦向きに保持すること。
- ★丁寧な操作を心がける。

### <練習>

1. 目盛りを  $200\mu\text{l}$  にあわせませす。
2. イエローチップを装着します。
3. 第一ストップまでプッシュし、そのままチップの先端を水に入れ、ゆっくりと  $200\mu\text{l}$  の水を吸います。この時、水がチップの中に完全に流れ込むまで数秒待ちましょう。

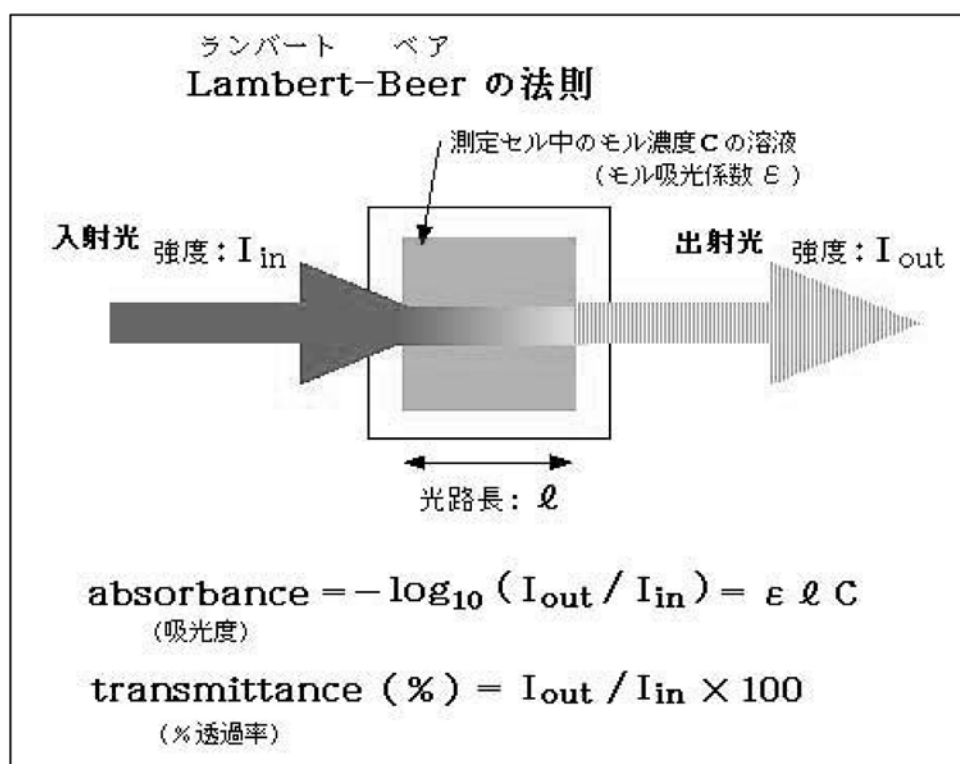


4. この水を PCR チューブに入れます。第一ストップまでゆっくりプッシュし、水を排出します。もし水がチップ内に残っているときは第二ストップまで押し完全に排出してください。
5. 正確に計量できたか、水の入った PCR チューブを周りの人と見せ合って確認してください。



### <吸光度 (abs.) から何が分かるか?>

分光光度計は、ある特定の波長の光を使って、入射光強度と出射光強度の比率から吸光度 (abs.) を計算し、出力する。これによって、測定液に溶けている物質の濃度を測定することができる装置である。この吸光度は測定液に溶けている物質の濃度に比例するため、標準サンプル (濃度の分かっているサンプル) と吸光度の標準直線を予め知っていれば、未知の溶液の濃度を測定することができる。



<http://homepage2.nifty.com/kirislab/index.html>

