

Title	新しい生物学学生実験の開発II：分光光度計を使ったミジンコの採餌能力の測定
Sub Title	Development of a new student experiment program II : measurement of feeding efficiency on Simocephalus vetulus, using spectrophotometer
Author	片田, 真一(Katada, Shinichi)
Publisher	慶應義塾大学日吉紀要刊行委員会
Publication year	2010
Jtitle	慶應義塾大学日吉紀要. 自然科学 (The Hiyoshi review of the natural science). No.47 (2010.) ,p.111- 125
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	研究ノート
Genre	Departmental Bulletin Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN10079809-20100331-0111

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

新しい生物学学生実験の開発Ⅱ ——分光光度計を使ったミジンコの採餌能力の測定——

片 田 真 一

Development of a new student experiment program, II — measurement of feeding efficiency on *Simocephalus vetulus*, using spectrophotometer —

Shin'ichi KATADA

はじめに

慶應義塾大学日吉キャンパス特色 GP「文系学生への実験を重視した自然科学教育」の事業 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)の一環として、ミジンコ(オカメミジンコ *Simocephalus vetulus*: Daphniidae)を使った学生実験テーマが開発された(片田2008a, b)。開発された実験の実施にあたり、2008年度部門内調整費「自然科学実験科目の新しい取り組みと教育環境の充実Ⅱ」の支援を受け、分光光度計を導入し、新しい実験テーマとして実施できる段階となった。本実験プログラムを慶應義塾大学日吉キャンパス「生物学(実験を含む)Ⅱ」の2クラス計83人の文系学生を対象に実際に行い、学生の反応や実習の効果を探ると共に、実施における問題点の抽出を試みた。そこで本論では、この実験の背景や目的、実際の実験手順、結果の解釈やレポート作成法とともに、上記試行授業の結果を報告したい。あわせて、本テーマを実施するうえでの注意点等も記した。今回紹介する「学生実験」の所要時間は講義時間内に収まるように、実験ガイダンスも含めて180分を想定している。なお、ミジンコの維持や増殖法については片田(2008b)を参照されたい。

1. あたらしい学生実験「ミジンコの採食能力=水浄化に果たす役割」

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、学生のほとんどはその存在を知っているし図1のような絵もよく知っている。しかし実際にミジンコを手にと

慶應義塾大学生物学教室(〒223-8521 神奈川県横浜市港北区日吉4-1-1): Dept. of Biology, Keio University, 4-1-1 Hiyoshi, Kohoku-ku, 223-8521, Japan. [Received Oct. 26, 2009]

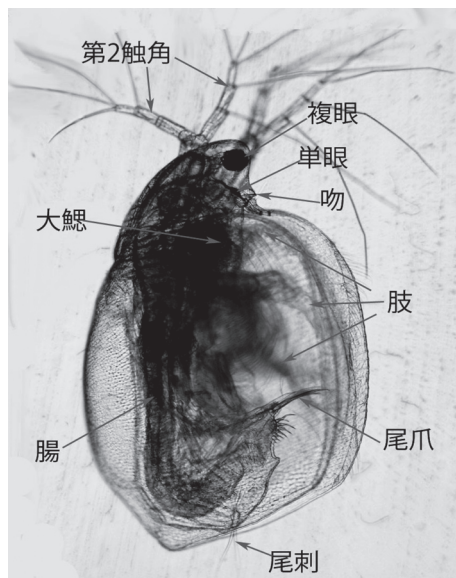


図1. オカメミジンコ *Simocephalus vetulus*.

成熟個体の体長は1.2～2 mm程度。吻の先に小さな第一触角が1対ある。頭部の左右にある第二触角で遊泳する。吻が採食に無関係なことや単眼、複眼がそれぞれひとつずつしかないことについては片田 (2009b) を参照。

って見たことのある学生はほとんどいない。この実験では、自然界でミジンコが緑藻を食べる様子を試験チューブ内で再現し、水生生態系におけるミジンコの役割を理解することを目指した。実際、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。これらをもとに、生物の世界が「生態系」で形作られていることを理解することが本実験の目的である。

2. 実験に先立つガイダンス

2-1 生態ピラミッドと微生物ループ、生態系内でのミジンコの位置

食物連鎖の栄養段階を示したものに、生態系ピラミッドがある。光等の外部エネルギーを吸収し有機物を合成する「生産者」、それを食物とする「一次消費者」、さらにそれを食物とする「高次の消費者」というように表される (図2)。しかし水生微生物の世界は、食う一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3左) (微生物ループの解説については例えば永田, 1993を参照)。一般に中・大型の魚類は、この微生物ループ内の生物や有機物を利用することはできない。この中においてミジンコ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右)。もしミジンコやワムシ類といった生物がいなければ、微生物ループ内の「栄養素・エネルギー」は小型魚類や大型魚類

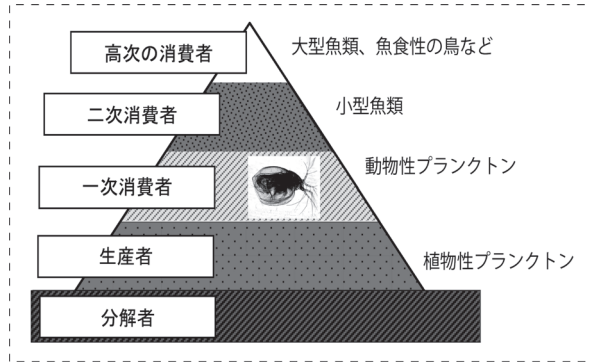


図2. 水中の生態系ピラミッド例

各生物の死骸、排泄物などは分解者によって分解される。生産者はこれらを栄養源に、光エネルギーを取り込み光合成を行う。産物はミジンコなどの消費者によって取り込まれより高次の栄養段階へと運ばれる。エネルギー量は1段階登るたびに1/10~1/20ずつ減るため、ピラミッド状に表されることが多い。

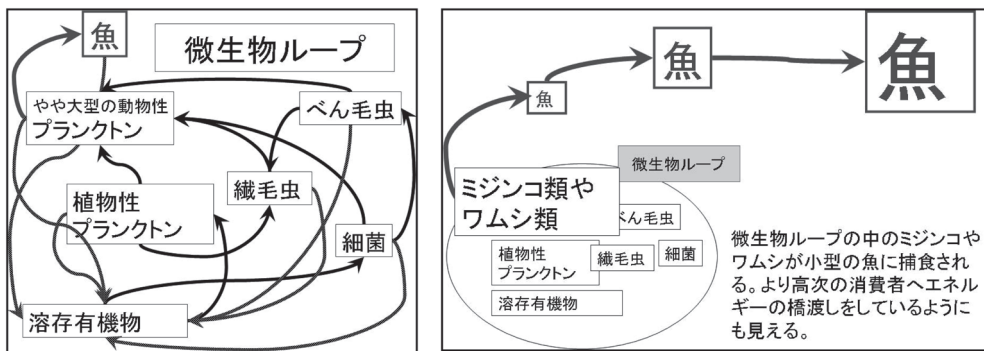


図3. 微生物ループ (左) と食物連鎖 (右)

水界生態系の微生物の間には、微生物ループと呼ばれるループ状の食物連鎖網があると考えられている (左)。微生物ループ内の栄養 (エネルギー) はミジンコやワムシなどが小魚に捕食されることによって、高次の消費者へと受け渡されていく。

といった高次の消費者へ受け継がれることは無い。つまりミジンコやワムシ類は、水系生態系の中で微生物ループ内のエネルギーを高次の消費者へと受け渡す架け橋的な役割を担っているといえるかもしれない。この実験ではミジンコ類が何をどの程度探餌しているのか、実験的に検証する。加えて、ミジンコがいることでどの程度水が浄化されるのかを数値化して体験する。

2-2 一次消費者ミジンコ

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、第一および第二触角、心臓、腸と肛門、葉状の付属肢が見られる (上野, 1973)。一般にはあまり知られていないことだが、複眼、単眼はともに一つずつしかない (片田, 2008b)。餌が豊富

で水質にも問題が無ければ、単為生殖（メスがメスを産む）で増殖する。環境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耐久（休眠）卵が作られ、条件が好転するまで休眠に入ることもある（水野，1964；田中，2002；滋賀の理科教材研究委員会編，2005）。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。本実験で使用したオカメミジンコは成熟すると体長1.2～2.0mmほどになり、肉眼でも容易に確認できる。学生実習で使用される一般的な光学顕微鏡100倍での視野直径は1.5～2.0mm程度であるため、これでちょうど体全体が見える大きさで、淡水性プランクトンとしては比較的大型な種である。

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。

2-3 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（実験区）と入れなかった水（対照区）で比較し、ミジンコの採餌能力（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、その指標とする。手順の詳細を表1に、概略を図4に示した。

材料：

緑藻類で緑色に濁った水（図5）、オカメミジンコ（図6）。オカメミジンコは1クラス55人につき300～500匹ほどを用意した。

使用器具：

シャーレ、PCRチューブ（200 μ L×2個）、パスツールピペット、マイクロピペッター（P200）、イエローチップは2人一組で用意、分光光度計（GE Healthcare社 GENE QUANT 100、図7）はクラスで1台を順番に使用した。吸光度の測定にはBrandTech Scientific社のUV-Cuvette micro（70 μ L用のディスポーザブル・キュベット）を使用した。

3. 実施結果

3-1 実験結果と解釈

2008年度秋学期に慶應義塾大学日吉キャンパスで開講された「生物学（実験を含む）」の2クラスを対象に、この実験「ミジンコの採餌能力の測定」を試験的に実施した（2008年12月16日上野健先生（2008年度経済学部非常勤講師）担当午前クラス14班（表2）および同午後クラス28班（表3））。ここでは、薄緑水200 μ L、ミジンコ3匹、採食時間30分の条件で実験を行った。本実験に先立ち、緑水濃度と吸光度の関係を知るために、緑水原液、1/2濃度、1/4濃度、

表 1. 実験の手順

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. パスツ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(1mm以上が好ましい)。
4. パスツールピペットを使い、ミジンコ入りチューブ内の水を200 μ Lにする(200 μ 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100 μ L取って捨てる(チューブ内の水は100 μ Lになる)。
6. マイクロピペッターを使い、緑水100 μ 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 μ 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。(ミジンコが弱ってしまわない程度に、しかし十分に攪拌する)
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 μ Lの内100 μ 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 μ 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. 両チューブを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 μ 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7)100 μ 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7)1000cc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?(1cc = 1ml = 1000 μ L)

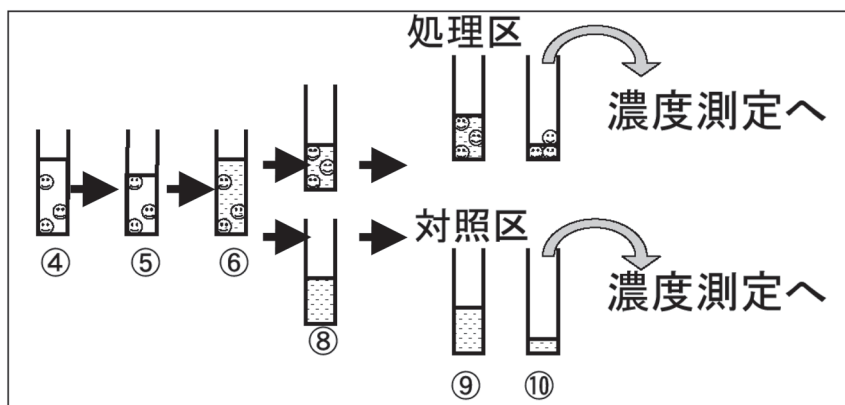


図 4. 実験の概略

図中の数字は表 1 の手順(数字)に対応している。

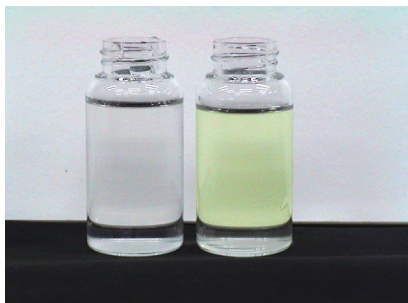


図5. ミジンコ飼育水 (左) と緑藻を含んだ水 (右)

ミジンコへの餌やりを絶って2週間以上飼育槽を放置すると、水は見た目にはほぼ透明になる (左)。今回は「緑藻を含んだ水」として、日吉キャンパス第二校舎のベランダで金魚を飼育している水を使用した。検鏡したところ、大きさ形態ともにクロレラ様の緑藻、ゴレンキニア属 (*Golenkinia*) に似た緑藻および同大の鞭毛虫類が多数認められた。この緑水の濃度は気候や季節などによる変化が大きいため、学生実験に用いる際にはそのたびごとに「適当な濃度」に調整する必要がある (本文参照)。

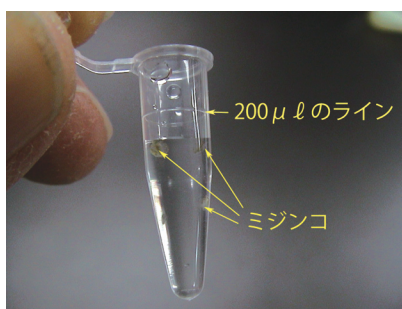


図6. PCRチューブとミジンコ

ミジンコは大型個体を用いた方が明瞭な結果が得られやすい。本種の場合、体長1mm以上の個体を使用したい。

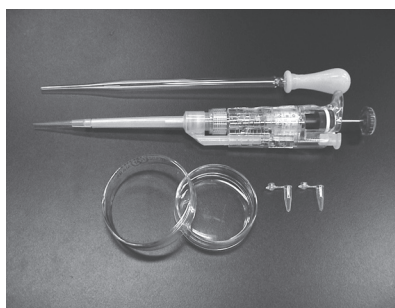


図7. 実験に用いた用具

左：パスツールピペット，マイクロピペッター，ミジンコ入りシャーレ，PCRチューブ
右：分光光度計

表 2. 600nm の吸光度—午前クラス14の班の結果

班	実験区	対照区	差
1	0.014	0.052	0.038
2	0.034	0.054	
3	0.014	0.048	0.034
4	0.060	0.076	0.016
5	0.020	0.072	0.052
6	0.032	0.034	0.002
7	0.038	0.086	0.048
8	0.024	0.070	0.046
9	0.020	0.068	0.048
10	0.032	0.078	0.046
11	0.014	0.058	0.044
12	0.024	0.050	0.026
13	0.024	0.078	0.054
14	0.026	0.058	
avg	0.026	0.064	0.038

減少↑

表 3. 600nm の吸光度—午後クラス28の班の結果

班	実験区	対照区	差	班	実験区	対照区	差
1	0.034	0.060	0.026	15	0.036	0.060	0.024
2	0.028	0.028	0.000	16	0.066	0.092	0.026
3	0.016	0.030	0.014	17	0.032	0.062	0.030
4	0.014	0.052	0.038	18	0.038	0.092	0.054
5	0.030	0.062	0.032	19	0.040	0.096	0.056
6	0.024	0.046	0.022	20	0.068	0.130	0.062
7	0.076	0.066	-0.010	21	0.054	0.062	0.008
8	0.028	0.050	0.022	22	0.042	0.104	0.062
9	0.026	0.026	0.000	23	0.068	0.158	0.090
10	0.074	0.064	-0.010	24	0.084	0.148	0.064
11	0.048	0.046	-0.002	25	0.046	0.082	0.036
12	0.106	0.104	-0.002	26	0.040	0.054	0.014
13	0.014	0.088	0.074	27	0.072	0.140	0.068
14	0.088	0.058	-0.030	28	0.060	0.138	0.078
avg	0.048	0.079	0.030	avg	0.048	0.079	0.030

減少↑

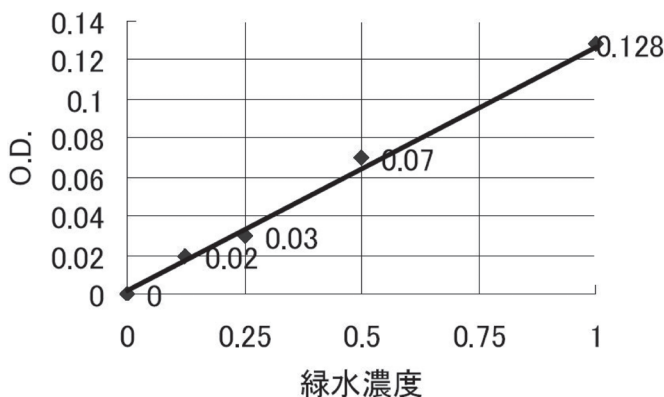


図8. 緑水濃度と Optical Density (O.D.)

実験に使用した緑藻で濁った緑水のO.D.を、原液, 1/2濃度, 1/4濃度, 1/8濃度で測定した。ミジンコを飼育していた水(図5)を濃度ゼロの水として、緑水を希釈するために用いた。

1/8濃度の緑水の吸光度を測定し、学生に図示させた(図8)。このとき「ブランク」にはミジンコを飼育していた水を用いた。午前クラスと午後クラスとで、実験に用いた緑水の濃度(吸光度)が若干異なっていた。そのため、以下の実験結果については午前午後で別々に表示した。

午前クラスの第2班および第14班は実験中に手違いがあったと学生から申し出があったため、その後の解析から除外した(表1)。

午前クラスで解析にデータが使用された12班すべてで、(対象区) — (実験区)の値がプラスになった(すべての班で吸光度が減少した)。対照区の吸光度の平均値が0.064, 実験区の平均が0.026, 差の平均(すなわちミジンコが入ったことによって減少した吸光度の平均)は0.038であった(Wilcoxonの符号順位検定, $V=78$, $p<0.003$)。100 μL の緑水の濁りの程度が、ミジンコ3匹30分で60%近く低下したことを示している。

問A: 今回使用した薄緑水(表1の7) 100 μL 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? Ans: 30分で濃度が60%減少したのだから, 100 μL の濃度を50%にするために本種3匹で要する時間をX分とするなら,

$$30\text{分} : 0.6 = X\text{分} : 0.5,$$

$$X = 1500 \div 60 = 25\text{分} //$$

問B: 今回使用した薄緑水(表1の7) 1000cc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? Ans: 1リットルの水を3匹で処理すると仮定したとき要する時間は, 100 μL : 25分 = 1000000 μL : X分。よって $X = 250000$ 分。時間に直すと $250000 \div 60 \approx 4167$ 時間。24時間ですませるのに何倍のミジンコが必要かという $4167 \div 24 \approx 173.6$ 。3匹 \times 173.6 = 520.8, つまりおおむね520匹程が必要であることが分かる。

午後クラスでは28班が実験に参加し、(対照区) — (実験区) の値がマイナスの班 (すなわちミジンコ投入区の水が、実験後濁りが増したもの) が5班あった。これらも含めた吸光度の変化は、対照区の平均吸光度0.079, 実験区の平均吸光度0.048, 差の平均は0.030となった (Wilcoxon の符号順位検定, $V=0$, $p<0.0001$)。前述の方法にならって計算すると、問Aは38～40分、問Bは790～800匹ほどとなった。

3-2 タイムテーブル

この学生実験に要した時間は、ガイダンスが40分、実験が80分 (マイクロピペッターの練習を含む)、計算/作図/レポート作成が60分でトータル180分であった。学生は問Aと問Bの計算に多くの時間を割いていたようだが、班 (今回は2名) 内で相談しながら多くが正答にたどり着いていた (正解率は7～8割程)。

3-3 ミジンコの選定と使用器具

この実験ではより大型のミジンコを使った方が明瞭な結果が得られると期待できる。そのため大型他種のミジンコの使用についても検討したが、今回は飼育や取り扱いの容易さから、オカメミジンコを採用した。その結果、本種1mm程度の個体を用いれば十分な結果が得られることが明らかとなった。ただ、ミジンコの体サイズ測定は実施しなかったため、サイズと吸光度減少の間に明瞭な相関関係はまだ見出されていない。

なお、ミジンコのサイズが1.5mmを超えるとパストールピペットでの取り扱いが困難となる (ミジンコが管内に詰る)。その場合は、より太い管のピペットを用いるべきであろう。

3-4 トラブルシューティング

様々な要因で、期待された結果が得られないことがある。

はじめの緑水濃度が高すぎると、十分な時間を与えても吸光度の減少が見られないことがある。これは緑藻 (餌) の量がミジンコの採食能力を超えているためだと思われる。逆に、はじめの濃度が薄すぎても期待した結果が出ない場合がある。この場合、分光光度計の分解能を疑うべきである。

これらの失敗を避けるためにも、学生実験の実施に先立って毎回、どのような緑水濃度で実験を行うべきか検討するために、予備実験を行う必要がある。表1実験手順の4～5のステップで緑水濃度を調節し、ミジンコの採食がデータとして現れやすい状態を準備する。本実験で採用した緑水濃度を参考にすれば、大きな失敗は避けられよう。

4. おわりに一本実験で分光光度計を使ったことの効果、学生の反応

本実験のねらいは、ミジンコの採餌行動を「計測する」ことを通して (1) 水系生態系の中におけるミジンコの位置と役割を実験によって理解すること、(2) 生物が回りの環境に及ぼ

す影響を観察し生物の世界が「生態系」というシステムで形作られていることを理解すること、そして(3)より広い視野に立って地球環境についての考えを深める足がかりを作ること、である。付表1に学生がレポートに書いた考察・感想を抜粋で挙げた。体長1mmしかないミジンコが緑色に濁った水を浄化していく様子を分光光度計で濁度を数値化することで確認できたこと、最新の機器に触れて実験できたことに対する喜び、(実験結果と計算から)水が多く時間が長かったときに水浄化がどうなるか予測した場合の感想などがあり、さらに、身の回りには実は多くの生物が一生懸命暮らしていると気付いたとか、その中に複雑な生物間相互作用があることに思いを馳せたものなど、実に様々な視点から感想が述べられている。彼らの文章を読むと、本実験の当初の目的が達成できたといつて良さそうだ。付表2に学生配布プリントを載せておく。

謝辞

この「学生実験、ミジンコの採食能力の測定」を開発するにあたっては、慶應義塾大学日吉キャンパス特色GP「文系学生への実験を重視した自然科学教育」と慶應義塾大学2008年度部門内調整費「自然科学実験科目の新しい取り組みと教育環境の充実II」から援助を受けました。図5, 6, 7の写真は菊江佳世子博士に提供して頂きました。慶應義塾大学生物学教室の岸由二教授、長沖暁子准教授、福山欣司准教授からは、実験開発のアイデア段階から多くの有益な助言を受けました。また経済学部非常勤講師の上野健博士は本実験の試演の場を提供してくださいました。重ねて、お礼申し上げます。

引用

上野益三(1973) 枝角目, 川村多實二原著, 上野益三編修『日本淡水生物学』, 409-430, 北隆館。

片田真一(2008a) 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の開発。In: 慶應義塾大学日吉キャンパス特色GP, 文系学生への実験を重視した自然科学教育平成19年度活動報告書, 55-74.

片田真一(2008b) 新しい生物学学生実験の開発I —仮説検証的要素をもったミジンコの観察—。Hiyoshi Review of Natural Science, Keio University, 45, 55-68.

滋賀の理科教材研究委員会 編(2005) 日本の淡水プランクトン, 図解ハンドブック, 合同出版。

田中正明(2002) 日本淡水動植物プランクトン図鑑, 名古屋大学出版会。

永田俊(1993) 微生物ループと水圏物質循環—溶存有機物の生成と分解をめぐって, Bulletin of Japanese Society of Microbial Ecology, 8, 149-155.

水野壽彦(1964) 日本淡水プランクトン図鑑, 保育社。

付表1：実験に参加した学生の感想（抜粋）

AMクラス

1. 僕の班のミジンコは1/8まで濃度を薄めることができた。ミジンコは高次の消費者へ有機物を受け渡していく架け橋的存在であるが、たった3匹でもこれほど目に見えるくらいの数値まで採食していることに驚いた。
2. 計算が大変でした…。でもミジンコの採食能力をすごく身近に感じることができたので新鮮でした。
3. ミジンコの採食スピードの測定という大変めずらしく興味深い内容の実験であった。結果から、ミジンコはとても速く採食することが分かった。これならば、ミジンコで水の浄水が出来ると思った。でももし問Bの計算があっていたとして、牛乳パック一杯分の水の浄水にミジンコ400匹弱で24時間もかかってはあまり実用的ではないな、とも感じました。なかなか、計算が合わなかったり、自分のグループの結果がいまひとつふるわなかったりと今回も苦労しましたが、なかなか得るものも多かったと思います。
4. こんな感じにミジンコが観察できるなんて、とても面白かったです。でも計算がちょっとやっかいでした。最後の最後に本格的な実験という実験でこういうものなのかなあとちょっと理系の人になった気分でした。
5. ミジンコが浄水化をしている所は小さすぎてわかりませんでした。分光光度計を使い班ごとに値が変わっていたことも面白かったです。計算なども難しかったです。1リットルの水を半分の濃度にするためにこんなにたくさんのミジンコが必要なことがわかり、興味深かったです。
6. ミジンコの吸収力のすごさを感じました。「対照実験」という言葉は教科書にのっていたけど、実際にしたのは初めてだったような気がします。また、この実験も大学で行う初の実験だと知り驚きました。生物学ってすばらしいですね。
7. 私たちのグループのミジンコは元気が良かったみたいで、数値もはっきりと出てきてとても面白い実験でした。最新の機械がみられる機会もあまりないことなので今日は貴重な経験だったと思います。何よりミジンコの浄化能力に驚きました。
8. マイクロビクターが楽しかったです。あと、ミジンコががんばってみたいで、すごい吸光度が変化してびっくりしました。
9. 私の班のミジンコはあまり藻を食べなかったみたいで、数値があまり変わらなかったの、他の班の数値もみれてよかった。改めて、実験はむずかしいと感じた。計算も、今回はむずかしくて、大変でした。
10. 自分のグループはあまり濃度が減らなかったの残念だった。タッピング不足だと思われる。
11. 日本の大学ではじめて実施されるこの実験に参加できて非常にうれしい。
12. 計算は割りとたのしいです。513匹もいたらちょっと嫌だなと思いました。対照チューブを必ず実験の時には要るんだなあと思いました。
13. 前半の作業は単純だったけど、後半のグラフ作成や計算問題は難しかったです。共同作業だったので相談しながら実験することが出来た点で、前回の虫を探す実験と同じくとても楽しかったです。このミジンコの実験は初めてということで、何だかうれしいです。
14. グラフと計算が難しかった。ミジンコが水を浄化していることが吸光計を使って数字で示されて、より深くわかった。
15. 最後の実験なのに手順を間違えてしまって本当に申し訳なく思った。計算してみると、1リットルあたりの水の濃度を半分にするのにすごく時間がかかるようだけど、ミジンコ1匹の大きさを考えるとすごいことなんだろうなと思った。ミジンコっておなかいっぱいになったりしないのだろうかと思った。
16. 初めての実験に参加できて嬉しかった。思っていた以上にミジンコの探餌能力が高いので水質汚染の対策などに応用できないかと考えた。
17. ミジンコが想像以上に元気で、これほどの水を浄化できるとは知らなかった。捕食者としてのミジンコがもしその数を減らすようなことがあれば、生態系にとつもない影響を与えてしまうということが、今回のミジンコが浄化できる水の量を実際計算したことで改めてわかった気がする。

PMクラス

18. 普通はミジンコを顕微鏡で観察し、それをスケッチするという実験でしたが、今回はミジンコの採食能力を測定するという実験は私にとって新鮮でとても興味深かったです。ただ、濃度や時間を計算するのは時間がかかって難しかったです。
19. ミジンコの採食能力が、薄緑水の吸光度で調べられるというのが興味深かったです。ミジンコの体のつくりを観察したときは違い、実際にミジンコが生きて植物プランクトンを食べ、それを小魚が食べ…という流れがあるのだなと感じました。
20. 以前、ミジンコを観察してその採食能力に驚かされました。今回、計算を実際に行ってみると改めてその能力の高さを感じました。あの小さな体で常に食物を採り入れてなければいけない大変さを感じました。
21. ミジンコの採食能力で、水質浄化につながるかと思ったが、1リットル中に625匹いないと濃度が半分にならないというのでいまひとつかなと思った。しかし、1週間や1ヶ月で考えてみると、1リットル中にわずか20匹程度で水がきれいになるので、やはりミジンコの力は偉大なのかなと思う。でも川の中とかだと絶えず水が流入してくるし、そう大した力は発揮できないのかも。いずれにしても、浄化の一翼を担っているということが分かってよかったと思う。
22. 今まで使ったことのない器具を使うのは結構面白かった。また、これまで実験データに基づいて計算するということがなかったが、実際に自分で計算して数字を導き出すのは楽しいものだった。今後の人生では実験をすることはないかもしれないので、そうすると今日のこの授業が人生最後の実験ということになる。最後にふさわしく面白い実験で良かったと思う。
23. ミジンコはすぐ死んでしまうので大変でした。ミジンコはすごく小さいのに結構多い量を食べることができるのだと思いました。
24. 私が行った実験の結果ではミジンコ有り無しと吸光度に変化はありませんでしたが、平均値を見てミジンコの浄化能力のすごさを知ることが出来ました。
25. 予想以上にミジンコの採食能力が高かった事に驚かされた。1リットルの水を24時間で浄化するには当然何万匹と途方もない数のミジンコが必要だと思ってた。自然に生棲（ママ）している生物は思った以上に力強く、周囲の環境をあっという間に変えてしまう種の力をひめていると知りました。
26. ミジンコが水をきれいにするというのを実際に数値で目のあたりにして、自然の持つ力を垣間見た気がします。現実にある水の量は膨大だけど、ミジンコも多く存在し、ミジンコ以外の生物も似た効果を持つとしたら、大きな力を持つはずです。食物連鎖しかり、浄化作用しかり、私たち大型動物は目に見えないほどの小さい動物に支えられているのだと強く実感しました。ミジンコ本当に好きになりました。
27. 事前にミジンコの構造、はたらきを実習で学んで、今回ミジンコの採食能力に焦点を当てて、実際に数値を出して、ミジンコのはたらきを客観的に見る、という流れだったので、実験もやりやすく理解しやすいものでした。さらに、ミジンコの採食能力を水溶液の濁り具合で計測し、それを分光光度計で測定するというのには驚きました。
28. ミジンコの採食能力が目で見える数値で判明したので面白かった。池の中などの全体からすれば、あまりに小さな生物だが、その役割は生体系（ママ）の中で必須なものであり、またミジンコも数百匹と集まれば、大きな洗浄効果が発揮されると分かった。いかなる生命体も決してあなどることはできず、地球全体では大切な存在であると実感し、人間もミジンコも大して変わらない、もしかしたら、メリットをもたらすミジンコの方がより認められるべき生物のようにも感じた。
29. 自分たちの結果は差がマイナスになってしまったので実験は失敗してしまった。これはきちんと攪拌されていなかったためにおきたのではないかなと思う。
30. ミジンコの水浄化能力が想像以上に高いことに驚いた。実際に値を計算してみて、1匹のミジンコが一日もしくは数時間活動し続けた場合、濃度が以外にも小さくなっていくことが実感できた。この実験を通じて、ミジンコの水浄化能力の高さとともに、改めて生態系の中で重要な存在であるミジンコの役割を実感できた。
31. 目でやっと見えるくらいのミジンコがたった数匹で短時間の内に水を清浄にしていくのを見て、生物の環境に対する影響力を感じました。
32. 自分の結果はミジンコがおりの方が濃度が濃くなってしまっって残念。いっぱいふんをだしたん

- だと思う。ミジンコにがんばってもらってもっと水をきれいにしてほしいです。
33. 対照チューブよりも、ミジンコを入れておいたチューブの方が減少した。今回の実験は、今まで使ったことのない実験器具が使って楽しかったです。AとBで、計算するのが難しかったけど、皆で協力してできました。ミジンコが1日または数時間のうちにどれくらいの食物をとっているのかがよく分かりました。
 34. 私達のミジンコはメシを食わなかった。しかしミジンコも、処理能力が高いと分かったのでこのように小さな生物達が世界の歯車を動かしていることが分かった。人間の生活はこのような小さな生物に支えられて生きているので、彼らの生命の源である森などの自然を人類は自分達が生きていくために守るべきだと感じた。
 35. ミジンコの浄化能力を強く感じた。このようなことからミジンコがいかに重要であるかが分かった。
 36. 計算が難しかった。ミジンコの採食能力が数値で見ることができ、ミジンコなどの微生物の動きを感じた。グループによって数値に差があったのはミジンコの間にも調子の違いがあるということであり、生物の個性を感じた。
 37. 今回の実験はいかにも実験らしく楽しかった。ミジンコは今回の結果より浄化能力を持っていることがわかった。数十分で濃度を半分にするなんてすごいなと思った。どんなに小さな生物でもこのような能力があるということは発見だった。
 38. やはり教科書などで読んで知識を入れた程度じゃそのことを知ったことにはならないなあと思った。
 39. ミジンコを生きのまま入れるのが難しかった。しかし、かなり正確な値が出たので、苦労したかいがあった。ミジンコの動きを肌で実感できてあらためてすごいと思った。
 40. ミジンコの採食能力については、以前の実験で観察したので知っていたが、具体的に数値を出したことで、吸ってたど吐いていたのではなく、浄化していたことがわかり、驚いた。この実験の規模では自然界におけるミジンコの能力がどのくらい影響しているのか想像できないが、ただ漠然と重要な役割をもっているのだということは感じた。そしてその役割についてより詳しく知りたいとも思った。

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いると言えよう。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（「字型」）に反して腹腹が一つしかないとことや、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〜第二腹膜付近でエサを濃縮した後は大腸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と比較し、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 μ l \times 2個）、ビベット（六）、パスツールピペット、マイクロピペット（P200）、イエローチップ、分光光度計。

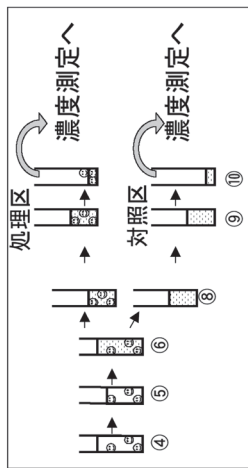
<実験手順>

1. 実験は2人一組で行う。
2. シャーレにミジンコを数四とり、皿に着く。
3. 大きいビベ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。（パスツールビベットでは大きなミジンコが通過できません。大きいビベットを使ってください）
4. パスツールピベットを使い、ミジンコ入りチューブ内の水を200 μ lにする（200 μ lのところに目盛りがあるのでこれに合わせろ）。この時、必ず二人で確認して下さい。
5. マイクロピペットを使い、ミジンコ入りチューブ内の水を100 μ l取って捨てる（チューブ内の水は100 μ lになる）。
6. マイクロピペットを使い、緑水100 μ lをミジンコのチューブに入れる（ミジンコ入りチューブ内の水は200 μ 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トを使い、ミジンコ入りチューブの薄緑水200 μ lの内100 μ 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 μ 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分静置する。
10. チップ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 μ lの濃度を半分にするのに、オカメミジンコ3匹で何時間必要だと考えられるか？
- B. 今回使用した薄緑水（上記6）1リットルの濃度を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リットル=1000ml, 1ml=1000 μ 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倍とします。



<実験開始前に、実際にマイクロピペットを使ってみよう>

本実験に入る前に、マイクロピペットの使い方を練習します。1ml以下の液体を測り取る時には、マイクロピペットと呼ばれる特別な器具を使います。マイクロピペット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。マイクロピペット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「マイクロピペットP200」の使用可能範囲は「20 μ l~200 μ 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。

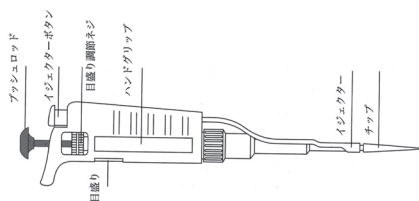
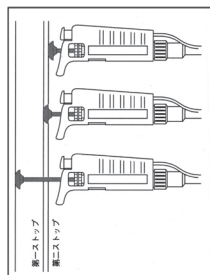
注意点

- ★液体の出し入れはゆっくりと。
- ★ピペット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 μ 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200μl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つけて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、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知れば、未知の溶液の濃度を測定することができる。

吸光度に OD (Optical Density, 光学密度) という単位を用いる場合もある。

