

第4章 微生物を見る

第1節 海産大型藻類の観察

1.1 目的

海産大型藻類（海藻類）の各グループごとにいくつかの種類を材料として、実際に海藻類の形態や構造を観察する。観察には、肉眼による藻体の観察と、顕微鏡を使った表面や内部構造の観察とがあり、スケッチが主となる。観察する部位は、海藻類の種類により異なる。また成熟した海藻類が材料として手にはいれば生殖器官を観察するが、海藻類の種類や生活史のどのステージにあるかによって生殖器官の形態が異なる。成熟していない材料では、できるだけその種の特徴がみられる器官や細胞形態などを観察する。

なお、海藻類はその生育時期により、採集できる種類が異なり、また成熟した生殖器官の種類も異なる。年4回おこなう本実験ではできるだけ観察材料をそろえるよう努力しているが、実験の時期により使用する材料が異なる場合がある。また、生材料が一番観察に適しているが、これも上と同じ理由により、場合によっては冷凍した材料、あるいはホルマリン固定した材料を使用することがある。

1.2 準備等

【安全上の注意】 徒手切片法では薄いカミソリの刃を使用するので、指を切ることがある。また、薄いスライドグラスなどのガラス器具が割れたりするので怪我をしないように注意する。

【実験で使用する予定材料】

緑藻類：アナアオサ、ヒトエグサ、ミル類、シオグサ類、アオモグサ

褐藻類：アミジグサ類、ワカメ（コンブ類）、モズク類、ホンダワラ類

紅藻類：マクサ類、ショウジョウケノリ、カバノリ類、ツノマタ類

【準備する器具と筆記具など】

バット、シャーレ（大／小）、カミソリの刃（両刃のうすいもの）、解剖用ハサミ、スポイド（またはゴム管とキャピラリーピペット）、ピス（ニワトコの髄）、ピンセット（先端の鋭いものと、鋭くないもの）、解剖針、スライド、スライドグラス、生物顕微鏡、ケント紙、鉛筆（H4程度の硬いもの）、消しゴム、ノート、レンズペーパー、バンドエイド

【最初の準備】

- 1) スケッチ用紙をもらったら、まず上に学籍番号と名前を記入する。
- 2) 顕微鏡をセットする。
- 3) 各自使用する器具を1セットもらう。
- 4) バットかシャーレに材料とする海藻をそれぞれ確保する。
- 5) 小さなシャーレには海水を少し入れておく。

1.3 肉眼による観察とスケッチ

- 1) 材料として与えられた海藻では、藻体が大きい場合はバットに海水をはり、そのなかで海藻を広げて、全体を観察する（図1参照）。小さい藻体の場合には、シャーレを使用する。

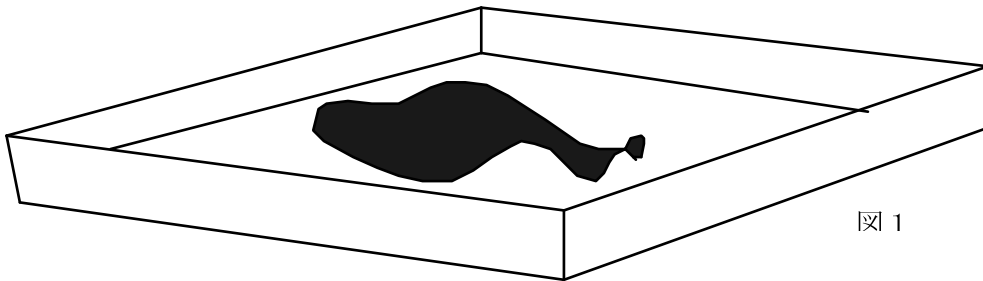


図1

- 2) 肉眼で見ながら、全体の形をスケッチする。（スケールも入れる）
- 3) 重要な部位の名称を入れる。（モノサシを使って、線をいれる）（図2参照）

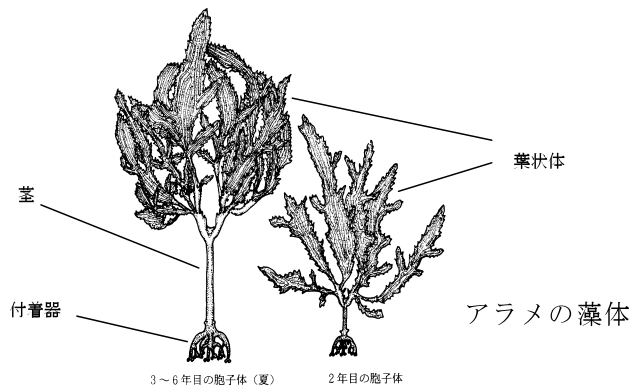


図2

1.4 顕微鏡による観察とスケッチ

【表面からの観察】 (図3参照) 例: アナアオサ

とくに薄い膜状の海藻(アナアオサ, ヒトエグサ, アミジグサ)や繊細な糸状の海藻(ショウジョウケノリ, イギス類)などで有効な方法である。

- 1) 海藻の一部をカミソリか解剖用ハサミを使って5mm四方に切り取る。
- 2) ピンセットでそれをはさみ, ガーゼなどできれいにふいておいたスライドの中央にのせる。
- 3) 資料の上にスポイドなどで海水(あるいは淡水でも可能)を1滴たらす。
- 4) カバーガラスをしずかにその上にかけて, 顕微鏡で観察する。顕微鏡の観察では, まずスライド資料に低倍率で焦点をあわせる。つぎに, 材料によって細胞の大きさが異なるので, できるだけ観察やスケッチがしやすい大きさに対物レンズをあわせる。

ケント紙にスケッチする時にできるだけ大きくスケッチするようにする。(図3参照)

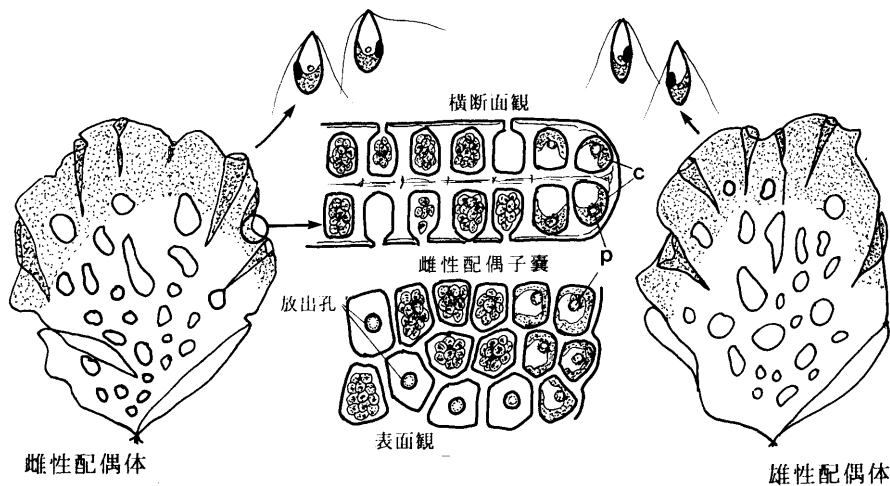


図3. アナアオサ藻体と表面および断面図 (p ピレノイド; c 葉緑体)

【内部構造の観察-1 徒手切片法】 (図4参照)

とくに厚い海藻類(マクサなど)や内部構造の様子を観察するときに有効な方法である。

- 1) 海藻の一部をカミソリか解剖用ハサミで約5mm四方に切り取り資料とする。
- 2) ピス(ニワトコの髄)をまず適当な大きさに切る。片方の先端を斜めに切る。
- 3) 斜めの面の中央に高い位置から低い位置まで直角にカミソリで深さ1cm位の切れ込みを入れる。
- 4) 切れ込みを親指のつめを使ってひろげながら, 片方の手でピンセットにはさんだ資料をはさみ込む。
- 5) ピスからはみだした不要な部分をカミソリで切り落とす。
- 6) ピスの斜めの面に沿って, カミソリをしずかにすべらせ, ピスと一緒にできるだけうすい切片をつくる。このときにできるだけ表面をなげるようにすべらせると, 薄く切れる。
- 7) 手元に用意した, 海水(水)をはったシャーレ内に切片をピスごと落とす。

- 8) たくさんできた切片のうち、できるだけうすく切れた切片をピンセットではさんで、スライドグラスの中央にのせる。
- 9) いくつか切片がのった状態で、切片の上にスポイドなどで海水を1滴たらす。
- 10) カバーグラスをしずかにかけて、顕微鏡で観察する。

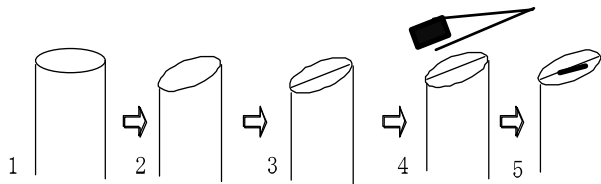


図4. ピスに切片をはさみこむ方法の図解

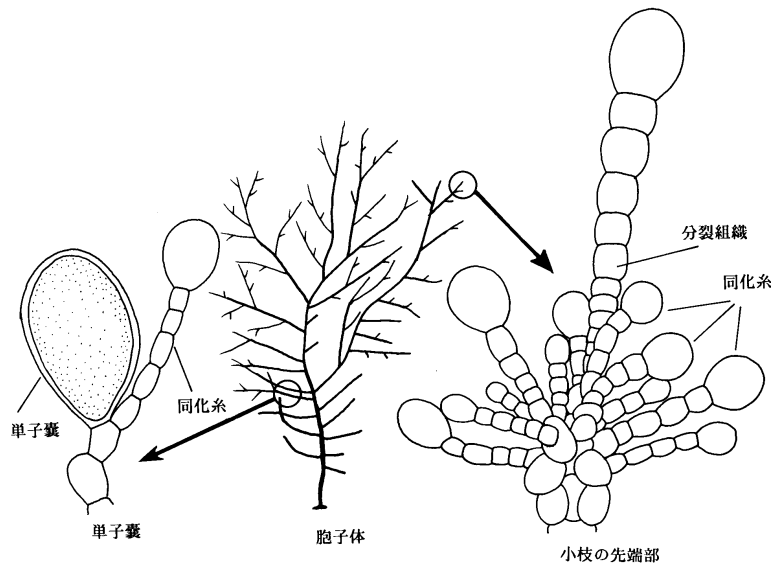


図5. 押しつぶし法でみたイシモズクの組織（内部構造）

【内部構造の観察ー2 押しつぶし法】（図5参照）

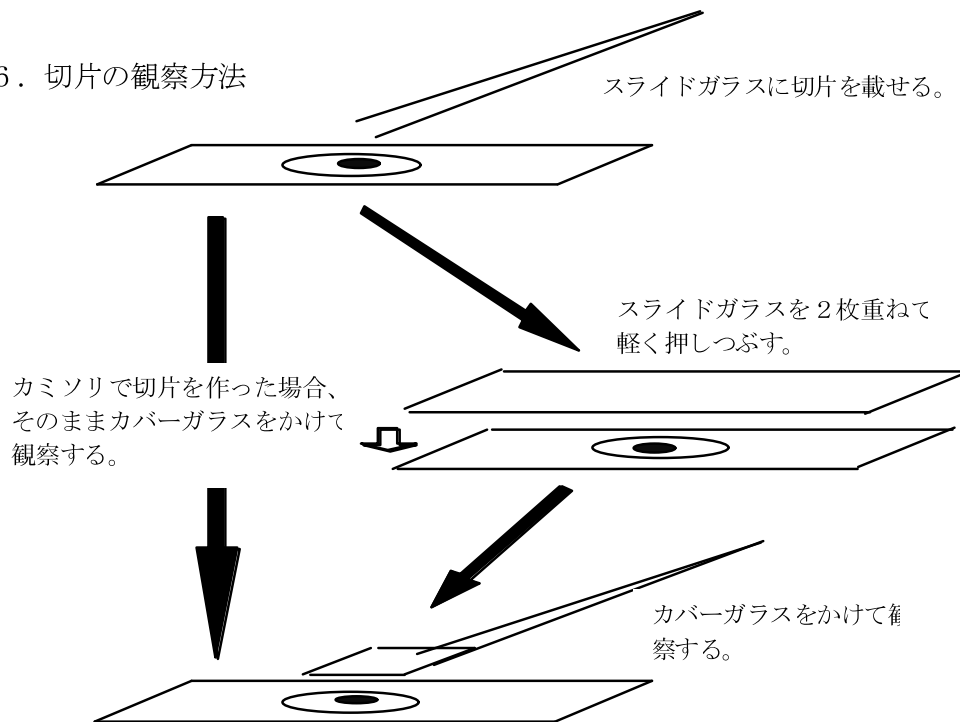
モズク類などのとくに柔らかくて、細胞が簡単に分解する「偽柔組織」の海藻を観察するときには有効な方法である。

- 1) 海藻の一部をカミソリか解剖用ハサミで長さ2-3mm程度に切り取り資料とする。
- 2) ガーゼなどできれいにふいておいたスライドの中央に資料をのせる。
- 3) もう1枚のスライドを資料の上に重ねて、少し力を加えて押しつぶす。
- 4) 片一方のスライドに残った資料の上にスポイドなどで海水を1滴たらす。
- 5) カバーグラスをしずかにかけて、顕微鏡で観察する。

【観察およびスケッチ】 上記の顕微鏡観察では、まずスライド資料に低倍率で焦点をあわせる。低

倍率の対物レンズからしだいに高倍率にあげていき、視野を観察やスケッチがしやすい大きにする。目的とする横断面や生殖器官の構造がみえたら、微調整をしながら、まずじっくりとその様子を観察する。目的の構造を把握できたら、微調整をしながら内部構造をスケッチする（図3、図5参照）。スケッチ用紙には、顕微鏡で見た場合には何倍で見たかをかいておく（顕微鏡にスケールが内臓されている場合には、実際のスケールを入れる）。重要な部位にはモノサシで線をいれて名称を入れ、観察で気付いたことなどもケント紙にメモしておく。

図6．切片の観察方法



1.5 実験終了と後始末

課題のスケッチがすべてできた時点で、スケッチ用紙を提出して、後始末にかかる。ガラス器具はよく洗浄したあと、ガーゼなどでよく水分をとって、もとの場所に収納する。顕微鏡も濡れた部分はよく水分をふきとり、レンズはレンズペーパーでよくふいておく。使用済みのカミソリとカバーガラスの破片などは燃えるゴミとは別に集めて、廃棄する。実験机の上をよくふいて、顕微鏡を収納し、借りた器具類をよく清掃して返却する。最後に当番が床の上を清掃する。