

8 『オタマジャクシ、尾の消失の観察』

1 動機 1学期の探究の授業でオタマジャクシの、尾の消失過程の映像が紹介された。この映像ではオタマジャクシの前足が生えてからの尾の消失があまりにも速く起こることに興味を持った。

2 目的

平成17年(昨年)の春に学校の近くにある池でオタマジャクシを採集した。オタマジャクシはある時期になると後ろ足が生え、次に前足が生える。前足が生えるころになると尾の消失が始まりカエルへと姿が変わる。

この現象には変態ホルモンであるチロキシンが関与していることが知られている。学校には、このチロキシンがあるということなので、正常に発生した場合とチロキシンを作用させた場合について尾の消失の仕方にとどのような違いが見られるかを調べることにした。

また、この現象は数日間に及ぶ現象なのでこれを連続的に画像として記録し、その変化を数値的に表すための工夫をすることにした。

《目的と実験名称》

○オタマジャクシの体形変化を記録し分析するための工夫を行う。⇒ 実験1『記録の為の工夫・分析の為の工夫』

○正常に発生した場合の体形変化の分析とチロキシンを作用させた場合の違いを分析する。
⇒実験2『正常発生の過程とチロキシンの影響』

3 準備と方法

- 1)実験材料：オタマジャクシ(トノサマガエルの幼生)→学校近くの駿河台公園にて採集、チロキシン粉末、瞬間接着剤
フォトプリント用紙・画用紙・セロテープ
- 2)器具：観察水槽(上から観察→100ml、200mlビーカー、横から観察→4cm径、5cm径シャーレとスライドガラス)

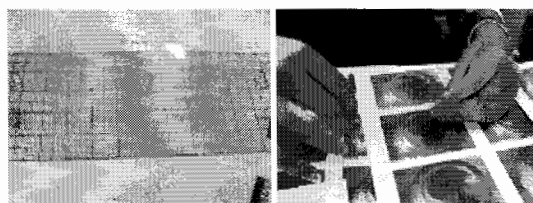
※シャーレは、横倒しにして下半分にスライド

ガラスを瞬間接着剤で貼り付け、小型水槽部分を作る。その上に数mm空けてもう一枚スライドガラスをセロテープで固定する。

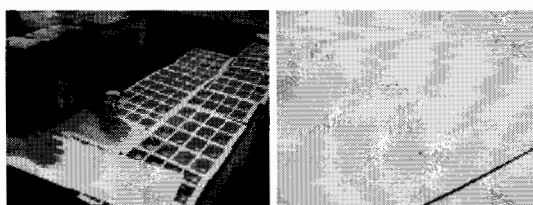


チロキシン水溶液 捕獲したオタマジャクシ

- 3)記録装置：・ビデオカメラ(ソニー-vx1000)
→インターバル撮影機能付き
・PCカメラ2個(ロジクール)とPC(パソコン)2台→2~3cmの距離でオタマジャクシを撮影可能
・定時観察用ソフト(Live Capture:フリーソフト)→30~60分毎の撮影が制御可能
・ライト(顕微鏡用ライト20W)2個→オタマジャクシを24時間照明
- 4)分析器具：・プリンター→PCカメラで撮影した画像をプリントアウトする。
・画像閲覧・印刷ソフト→VIX(フリーソフト)
・方眼メモリ付きOHPシート→出力した画像上で胴体や尾の長さを曲線として計測



メモリ付きOHPフィルム 各部の測定風景



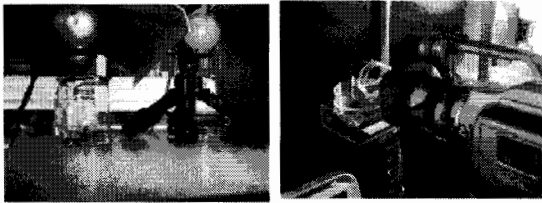
測定結果の記入

(HMT点)記入

・柄付き針→出力写真上で全長や胴と尾部の境に穴を開け、長さを測るポイントを示す

5) 実験装置

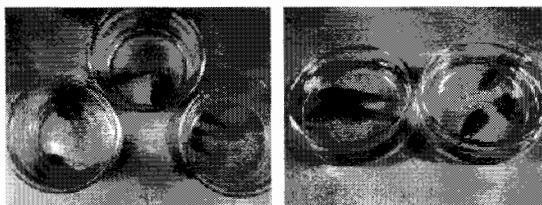
実験1『記録の為の工夫・分析の為の工夫』



上から観察の場合

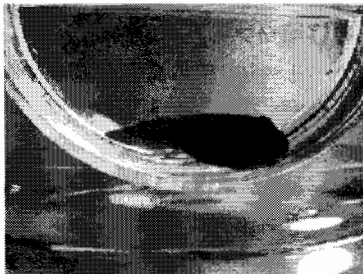
横から観察の場合

実験2『正常発生の過程とチロキシンの影響』
予備実験



チロキシシン3濃度

正常、チロキシシン処理



チロキシシン処理個体、処理5日目拡大

6) 実験方法

実験1〔上から観察の場合〕

①100ml又は200mlビーカーに、2cm程度の深さに水を入れる。②記録期間中は餌を与えない。③水は汚れたらスポイトを使い新鮮なものに換える。④三脚でビデオカメラ・PCカメラを固定し、照明状態を確認後、30分～60分間隔で録画・撮影する(PCカメラの場合は撮影する画像のサイズを1枚当たり10～50KBに設定する)。ビデオカメラの場合はインターバル機能を設定し、5分間隔0.2秒撮影を繰り返す。⑤分析対象とする条件と個体数は次に示す。

☆正常個体・横から観察 ⇒ 4個体

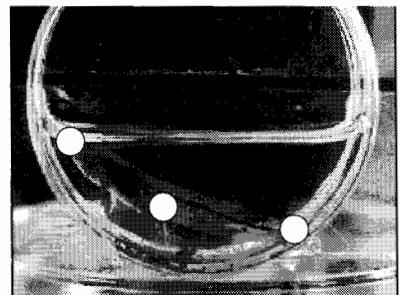
☆正常個体・上から観察 ⇒ 1個体

☆チロキシシン処理・横から観察 ⇒ 1個体

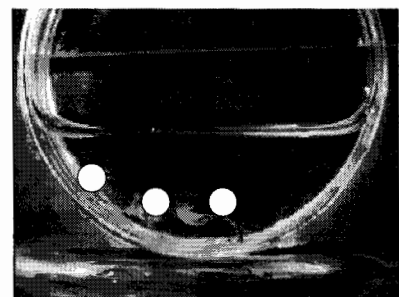
⑥尾の消失の様子をビデオ再生やPCカメラの記録静止画の高速提示動画として観察する。(ここで、消失の様子を動画として観察する。そして、分析の処理手順・方針を考えた)

⑦記録したビデオ、PC画像から1時間毎の体形の変化を静止画として取り出し、プリンターで出力する(A4用紙に8枚ずつプリントする⇒分析処理のしやすさからこの大きさに決めた)。

⑧出力した写真に、頭の先端H、尾の先端T、尾と胴部境界部M(後ろ足の付け根で尾が胴体に接続する部位)に柄付き針で正確に穴を開ける。針で穴を開ける部位は担当の者一人が同じ基準で判断し行う。⑨写真の下には画用紙を貼り付け、柄付き針で写真に穴をあけたときにその穴がこの画用紙にも付くようにする。この用紙“(HMT点)記入用紙”に頭部先端(H)胴部尾部境界(M)尾部末端(T)の点とH-M、M-Tの測定値を記入した。



正常個体



チロキシシン処理個体

{プリント上で、頭部先端(H)胴部尾部境界(M)尾部末端(T)に針で印を付け距離を測定}

⑩各写真には、カメラに対して正確に横を向いているか、または動きのせいで画像がブレていないかを調べ、その測定精度により○(良好)・●(利用可能)・△(予想的な分部が含まれる)・×(計測不能)を記入する。⑪測定は胴部の長さ、

尾部の長さの2点について行う。これらの数値はエクセルに表として入力する。表の項目は胴部の長さ、尾部の長さ、全長(胴部の長さ+尾部の長さ)、胴部の長さ/全長、尾部の長さ/全長、信頼度の項目について入力数値を使い自動で算出する。尾部の長さの測定は体軸の曲がり具合にあわせてそれに沿った計測を行う(メモリ付きOHPシートを適当な長さに切って利用する)。**[横から観察の場合]**

①シャーレとスライドガラスで製作した特殊小型水槽に水とオタマジャクシを入れる。②後は上記“①~⑪”と同様に行う。

実験2『正常発生の過程とチロキシンの影響』

[予備実験]チロキシン濃度200mg/lの水溶液(原液)を作製し、それを希釈して20mg/l、2mg/l、0.2mg/l、真水の4段階をビーカーに満たしそこに生育段階の等しいオタマジャクシ(後ろ足がまだ生えていない体長4cm程度の個体)を3匹ずつ入れて形態の変化を1日毎に観察する。

[本実験]：予備実験の結果から真水での尾の消失の分析を研究の中心として、真水とチロキシン濃度0.02mg/l水溶液について尾の消失過程の違いについても調べることにした。(予備実験より、チロキシン濃度20mg/l、2mg/l、0.2mg/l水溶液では効果が強過ぎて、異常な変態と急激な体の萎縮が起き、尾が消える前に死んでしまうことがわかった。そこで本実験では、死なない程度のチロキシン0.02mg/lを使い連続的な尾の消失過程を調べることにした)

4 実験結果

実験1『記録の為の工夫・分析の為の工夫』

[上から観察の場合]：主にPCカメラを利用して撮影した。



シャーレにスライドガラスを接着

[全般的工夫]：観察の途中でオタマジャクシが死亡する場合があった。また、水が濁ることで

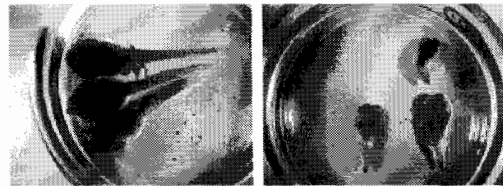
輪郭の確認ができなくなる場合があった。そこで、定期的に小型スポイトを利用して水の入替えを行った。水が汚れると死亡する確率が高まることがわかったので、録画している期間は、餌は与えなかった(事前の観察から、後ろ足が生じる時期になると餌を与えなくても変態が進みカエルになることがわかっていった)。24時間観察するためにライトを照射する必要があった。ライトが近すぎると水槽の温度が上がるため、水槽付近の通気を良くした。

実験2『正常発生の過程とチロキシンの影響』

[予備実験]の結果



4濃度のチロキシン水溶液に同じ発生段階のオタマジャクシを3匹ずつ入れた



真水

チロキシン投入5日目

○チロキシンを作用させると・体が急速に小さくなる”・“胴体はオタマジャクシの形態を保ちながら尾が急速に消失していく”・“泳ぎ方はぎこちなくなり小型化した後死に至る・前脚は小さいながら急速に形成される”などの変化が起こる。○3濃度のチロキシンの効果については、100倍(0.2mg/l~20mg/l)の濃度変化にもかかわらず、オタマジャクシの体への影響はそれほど変わらない。

[本実験]の結果

[分析した個体とその設定条件]詳細一覧

《記号の説明 N:正常、T:チロキシン処理、U:上から観察、S:横から観察》

- ・正常個体・横から観察 ⇒ 4個体
 - ・個体NS 1 33時間記録PCカメラ利用
 - ・個体NS 2 58時間記録ビデオカメラ利用
 - ・個体NS 3 22時間記録ビデオカメラ利用
 - ・個体NS 4 30時間記録PCカメラ利用

正常個体・上から観察 ⇒ 1個体

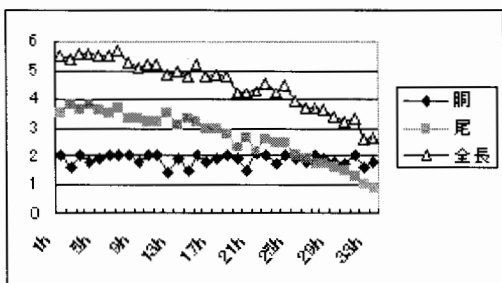
- ・個体NU 1 155時間記録PCカメラ利用
- チロキシン処理・横から観察 ⇒ 1個体
 - ・個体TS 1 42時間記録ビデオカメラ利用

次に各分析個体の分析結果を示す。

※各個体とも分析用プリント上での長さの測定値 (cm)を利用して、①[胴・尾・全長の変化:印刷プリント上での長さ、単位(cm)]、②[胴・尾の長さの、全長に対する割合]をグラフで示した。

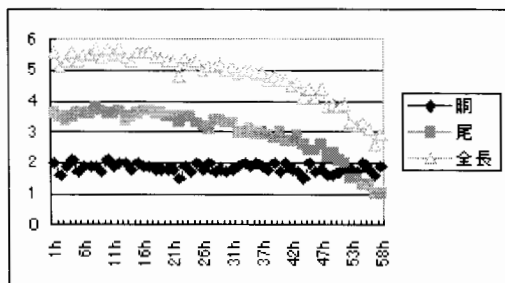
《各観察個体の長さ変化のグラフと、その特徴》

A: 正常個体・横から観察 ○個体NS 1



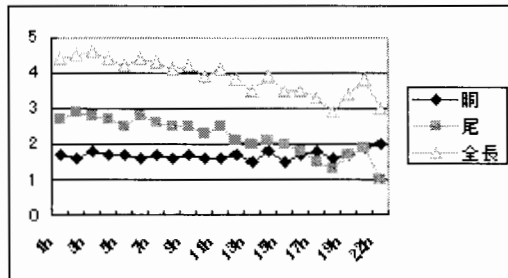
- ・胴体の長さはほとんど変化しない。・尾の長さが減少し始めるのは最終分析画像から25時間前ころである。・急激な減少は3時間前からである。

○個体NS 2



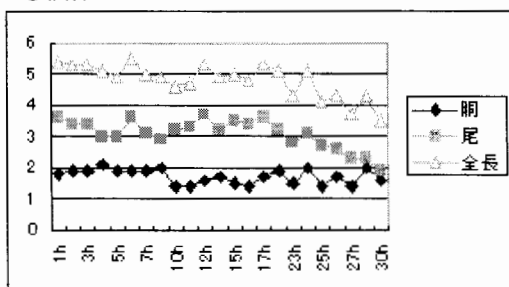
- ・胴体の長さはほとんど変化しない。・尾の長さが減少し始めるのは最終分析画像から25時間前からである。・急激な減少は6時間前から起こった。

○個体NS 3



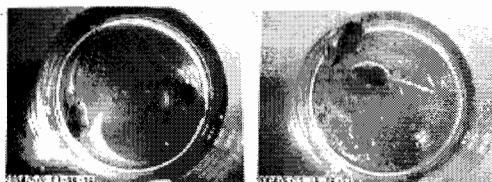
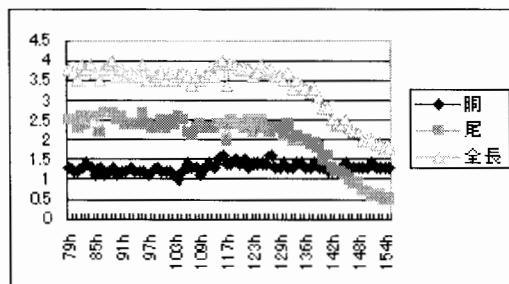
- ・胴体の長さはほとんど変化しない。・尾の長さが減少し始めるのは最終分析画像から20時間前からである。・急激な減少は7時間前から起こった。

○個体NS 4



- ・胴体の長さはほとんど変化しない。・尾の長さが減少し始めるのは最終分析画像から25時間前からである。・急激な減少は6時間前からである。

B: 正常個体・上から観察 ○個体NU 1

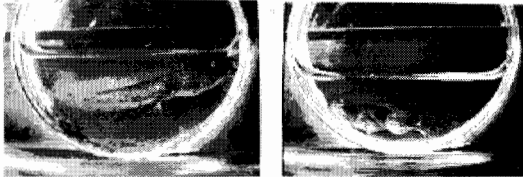
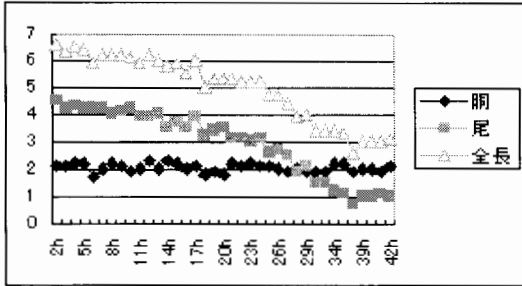


変態前

変態後

- ・胴体の長さはほとんど変化しない。・尾の長さが減少し始めるのは最終分析画像から29時間前からである。・急激な減少は15時間前からである。

C:チロキシン処理・横から観察 ○個体TS 1



変態前

変態後

・胴体の長さはほとんど変化しない。・尾の長さが減少し始めるのは最終分析画像から38時間前からである。・急激な減少は17時間前と10時間前から、2回見られた。

5 結論

実験1〔上から観察の場合〕

・長時間観察する場合の問題点は、水分が減少することである。ここで多量の水を入れると、水深が深くなりオタマジャクシが上下方向に斜めになるために長さの測定値の信頼度下がる。水を少なくすると蒸発によりオタマジャクシの死ぬ率が高まる。さらに、水の汚れも加速するため死ぬ率が高まる。これを改善するために、ガラスのふたをし、その上から撮影をした。しかし、ガラスにカメラの姿が反射して映ったり、蒸発した水分が曇りとしてついたり、いろいろな失敗が生じた。また、スポイトを使った水換えも頻繁に行った。

・撮影された画像を見ると尾が動いたときの映像では、画像がぶれていて測定不能(×)の写真データが多かった。これは、撮影間隔を狭くして鮮明に映っている画像の割合を高くすることで対処した。いろいろな問題が生じたが、本実験ではほとんどの個体で信頼度の高い観察結果を得ることができた。

〔横から観察の場合〕

☆シャーレ利用の自作小型水槽について

今回は、オタマジャクシの側面をなるべく大きく撮影する必要があった。いろいろな水槽を考案

したが、材質がプラスチックの場合は接着剤の影響で透明な部分に曇りができるなど観察しづらくなった。そこで、小型のガラス製シャーレを横倒しにして、スライドガラスで壁を作り、水換えもし易く、しかも鮮明に観察できる自作水槽を完成させることができた。さらに、この水槽は、中央が凹んでいるのでオタマジャクシがいつも中央にいるため、側面を視野一杯に大写しに撮影することができた。

この水槽は、接着剤の関係で2～3回の使用でスライドガラスが外れてしまったが、十分使えることがわかった。

実験2〔予備実験〕チロキシンの作用について

20mg/l、2mg/l、0.2mg/l濃度のチロキシ水溶液で飼育すると3～5日の短期間で、①“体の急激な小型化”、②“オタマジャクシの胴体を持ちながら尾だけが縮小した形になる形態変化”などの明確な変化が起こり、その後死亡することがわかった(決して“通常の変態が急速に進むだけ”ではなく、異常な形態変化を起こすといえる)。

20mg/l、2mg/l、0.2mg/l濃度の範囲では、濃度が高くなるにつれて上記の傾向が強くなることがわかった。

〔本実験〕☆正常個体の形態変化について

・正常な変態を行わせた場合、尾の消失や胴体の形の変化が起こるが、胴体の長さの変化はほとんどない。

・全般的な観察から、“カエルになる前25時間ころから尾が急速に縮小を始め、カエルになる直前の6時間前ころからさらに勢いを増して尾が消失する”という傾向が見られる。

☆チロキシ処理個体について

・チロキシを作用させると、正常な個体より尾が消失を始める時間が早くなり、2回目のより急激な消失の始まる時間も早くなる傾向がある(ただし、実験個体が少ないので断定はできないが予備実験の観察結果と一致する分析結果と考えられる)。

6 参考文献

- ・『図解実験観察大辞典(生物)』(東京書籍)
- ・『身近な自然を生かした 生物教材の研究』
全国理科教育センター研究協議会編