

植物プランクトンと動物プランクトン マニュアル 2022年度版

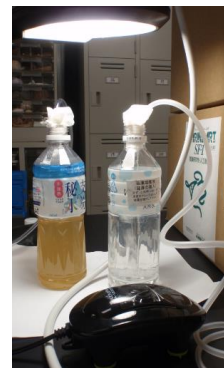
まず、代表的な海の植物プランクトンである珪藻を培養します。
それを餌に、動物プランクトンであるウニの幼生を成体のウニまで育てます。

植物プランクトン(珪藻の培養)

珪藻 *Chaetoceros gracilis* (キートセロス グラシリス)

送付するもの

- ・培養液の元(緑の袋)
 - 赤い液体(KW21) 4℃保存
 - 白い粉末(メタケイ酸ナトリウム)
粉は室温で良いが吸湿しやすい
- ・珪藻培養液(珪藻の種入)のペットボトル
- ・エアポンプとチューブ、分岐コック



1 ペットボトルの中のガラス管に、エアポンプにつないだチューブを差し込む(ガラス管をボトルから出さないように)。ボトルにゴミが入らないように、キムタオルやティッシュなどでチューブをまいて栓にする。電気スタンドなどの光を当て、エアレーションして培養開始。エアーの量は分岐コックで調節する(あまり激しいと蒸発が早くなります)。

2 4~5日で茶色く珪藻が増える。(増えないときには連絡ください)。濃くなりきる前に植継ぐ。きれいなペットボトルや三角フラスコ(500ml)などに、KW21 0.3ml, メタケイ酸ナトリウムの粉末 耳かき1杯、海水300mlを入れる。湯煎などで80℃程度、20分間、滅菌する(電子レンジで沸騰しないくらいに加温しても良いかも)。

3 冷えてから、茶色く増えた珪藻の液を5mlくらい入れ、光を当て、エアレーションしながら培養する。

濃縮珪藻と培養液について

アイエスシー <http://www.isc1960.co.jp/>

・KW21 (1本1リットル~ 第一製網株式会社)

<http://www.isc1960.co.jp/menu/kw-21-algaevirus-culture-liquid/>

・濃縮珪藻(100ml 5200円~)

<http://www.isc1960.co.jp/menu/chaetoceros/>

動物プランクトン(ウニ幼生の飼育)

貸与器具(終了後は速やかに返送してください)

幼生飼育用品(モーター、アクリル板、羽根、3リットルビーカー)

(参加人数が100人以下の場合は1セット、それより多い場合は2セット)

メッシュ付きボトル(サイホン用チューブを装着済み)

提供品(返送不要)

人工海水(粉末、蒸留水やミネラルウォーターで溶かす)

珪藻の種、珪藻培養液の素(液体と粉末)

ウニの幼生の飼育用容器(蓋付き試験管人数分)、変態誘導用の藻類

人工海水について マリンアートSF 1袋25リットル

・カルキ抜きした水道水では、発生が異常になり、うまく育ちませんでした。

蒸留水があれば、それに溶かして下さい。

・蒸留水がない場合は、市販のミネラルウォーターに溶かして使って下さい。

(いくつか試したところでは大丈夫でした)

・粉を小分けにすると使いやすいと思います。

参考に2リットル分を小分けしたものも1つ同封します。

・粉は吸湿しやすいので、袋を開けたり、小分けにした後は、密封の上、除湿剤(シリカゲルなど)の使用をお勧めします。

幼生飼育装置(モーター、ふた、羽根) 8,000円(税別)

IDE 043-250-8483 kazu_i@gk9.so-net.ne.jp

実験の流れとプルテウス幼生の成長

→ 濃縮珪藻 送付 培養開始

→ 実験器具、海水 送付

受精の実験

(受精後)

2日目 ビーカーとポケット容器で飼育開始 4腕幼生

(以降、週に3回給餌)

7日目 水換え 6腕幼生に

14日目 水換え 8腕幼生に

21日目 水換え ウニ原基形成開始

28日目 水換え 原基の中に管足形成

35日目 水換え

(原基の中に棘ができ、原基が胃と同じ大きさになったら変態可能)

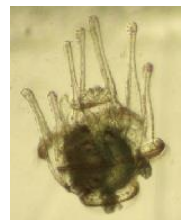
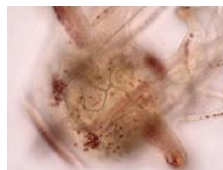
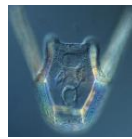
← 湾岸研究所へ連絡

→ 変態誘導のための付着藻類 送付

変態誘導 稚ウニ

実験終了

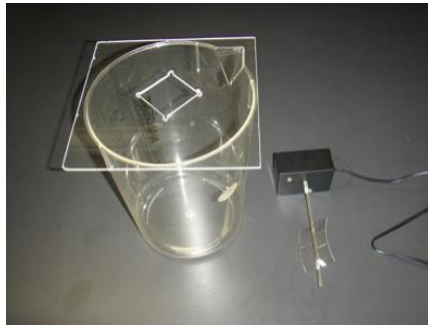
← 報告書・写真の送付、実験器具の返送は速やかに



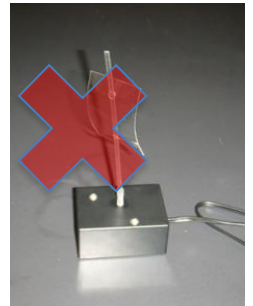
3リットルビーカーでの飼育

- ・プルテウス幼生になったら、3リットルのビーカーで飼育開始
プルテウス幼生はシャーレで長くは飼えません。時間に余裕の無いときは、ふ化後の胞胚、原腸胚、プリズム等の若い時期にビーカーで飼育を始めても問題はありません。
- ・3リットルビーカーで飼育。空いたビーカーは水換えの時に使用。
- ・飼育密度は、最終的に変態まで飼えるのは海水10mlあたり3匹程度。3リットルには1000匹になります。
- ・これよりも高い濃度(10mlあたり30匹程度)で飼育を始め、水換えの時に半分捨てて薄めると水換えは簡単にできます。
- ・幼生の密度については、口先の太い5-10mlの駒込ピペットなどで、飼育海水の10mlをシャーレ等に取り、数をチェックして下さい。

モーターの軸に羽根をとりつける。ビーカーにアクリル板のふたを載せ、中央の穴から羽根をおろすようにモーターを載せる。攪拌しながら飼育を開始する。



注) 水替えなどでモーターを止めてビーカーから外すときに、羽根をつけたままモーターを裏返しにしないでください。羽根から軸を伝って海水がモーターに入り、モーターがダメになります。羽根を付けたまま置きたいときは、横向きにしてください。



幼生の餌 培養した浮遊珪藻 キートセロス・グラシリス

- ・3リットルビーカーには珪藻20ml、2日に1回のペースで。
(8腕幼生には給餌の頻度をあげると早く発生、水換えもその分気をつけて、)
- ・後述のポケット飼育の容器には珪藻を数滴、2日に1回のペースで。
- ・購入した濃縮珪藻は、冷蔵庫(4℃)に保存、毎日容器をふって沈殿を攪拌してください。濃縮珪藻は、必要量だけ、海水で100倍に希釈してから、上記の分量を使用してください。余った餌は廃棄し、使用する度に新しく希釈してから使用してください。

飼育温度

18℃から22℃程度がベストです。25℃以下に保ってください。直射日光が当たらない、温度の安定したところがいいでしょう。

水換え

特に問題がなければ水替えは1週間に1回で十分です。
水換えのときは、ビーカー自体も洗った方がいいので、ビーカーも換えます。
少し濃い密度で飼育はじめた場合(10mlあたり30匹)、半分を捨て、新しい海水で薄めて終わりです。

- 1 空のビーカーに幼生を海水ごと移す
(底のゴミは入れないように、)
- 2 メッシュを張ったペットボトルの底の方(メッシュの方)を、ビーカーの中の飼育水に入れます。
- 3 ボトルに固定されていない方のチューブの端をビーカーより低い位置に置いたバケツなどで受けながらチューブ内を海水で満たします(口で吸うなどして)。
そのままサイホンの原理で2リットルを吸い出し、1リットル残します。
新しい海水を2リットル加え、モーターをセットします。



注1) 幼生が吸い出す水流でメッシュに張り付かないように、メッシュを張ったペットボトルはゆっくり動かす。

注2) 水を吸引するサイホン用チューブの先端をメッシュにつけると、メッシュの表面に幼生が吸いついて痛むので、チューブ先端がメッシュにあたらないように気をつける。

水替えから1週間たたなくても、ビーカーの底に食べ残しの珪藻がついて汚れが見えるようになったら、水替えをした方がいいです。原因は、一回に与える餌の量が多すぎるのが考えられます。

チューブはビニールテープで軽く固定してあるだけなので位置は適宜調整してください。

川口実 バフンウニの受精・発生からプルテウスのポケット飼育へ サイエンスネット 12号2001年9月
https://www.chart.co.jp/subject/rika/rika_scnet.html

千葉県高等学校教科研究員研究報告書 平成19・20年度理科 マイ・ポケットウニを使った発生、変態の観察—
生物の授業での継続的な観察・飼育— <https://www.chiba-c.ed.jp/shidou/k-kenkyu/h20.html#rika>
小川博久 ウニの受精から成体まで一生命を実感するマイウニ飼育の実践 生物の科学遺産 71巻4号 360-369

↑↑↑↑ ポケット飼育について ↑↑↑↑

ポケット飼育

海水とウニの幼生を入れた小さな容器を生徒に渡し、自分で水換えや餌やりなどの世話をさせます。”自分のもの”という意識から、より興味を持つようになり、また実験について家族や友達との話題作りにもなるなどの効果がみられるようです。今回、学校には試験管(15ml)を受講する生徒数に応じて提供、一般には培養フラスコと試験管のセットを提供します。以下の手順を参考に育ててください。

- ①培養フラスコ(容積約75 ml)
容器に海水を入れ、幼生を15匹程度入れる。
容器には、海水をいっぱい入れ、気泡が小さくなるようにし、キャップをしっかりと締める。



- ②試験管(15ml)
容器に海水を入れ、幼生を3匹程度入れる。気泡が小さくなるように海水をいれ、しっかりとフタを締める。

餌は希釈した珪藻を数滴、2日に1回与える。

水換えは週に1回。

駒込ピペットで

海水だけを吸い出す。

幼生を吸ってしまっても容器に戻せるように、吸い出した海水は一度シャーレにためておく。

3分の2の海水を捨て、新しい海水を加える。



幼生が十分成長したら(ウニ原基が胃と同じ大きさ)、付着藻類のついたプラスチック片を小さく切って1個入れる。

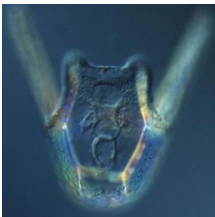
→ 稚ウニに変態する様子を観察する。
(早ければ数時間、たいてい一晩で)

注意: ポケット飼育(という名前)ですが、いつも持ち歩く必要はありません。

振ったり傾けたりして攪拌を長く続けると幼生がうまく育たないことがありますので、普段は静置して、1日に数回優しく傾けて攪拌するだけの方がいいかもしれません。

18~22℃が適温です。空調やポケットに入れた時の体温には注意しましょう。

幼生の成長と稚ウニへの変態



4腕幼生(2日目)

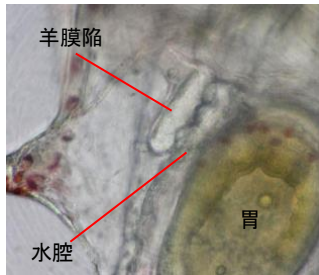
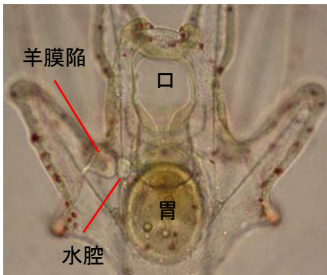
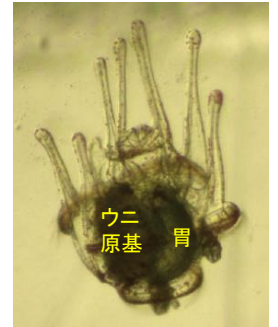


6腕幼生(1週間)



8腕幼生(2-3週間)

ウニ原基が胃と同じ大きさになった8腕幼生。ウニ原基の中には管足の他に、成体の棘もできている



8腕幼生のウニ原基の形成過程(胃の左側に、水腔と羊膜陥から成体の原基が形成される)

ウニ原基が胃と同じ大きさまで成長したら、

- ・湾岸研究所へ付着藻類の送付を依頼
- ・付着藻類のついたプラスチック板を送付
- ・3リットルビーカーの幼生は、海水を減らして集め、シャーレに移す

→ 付着藻類(プラスチック小片)を入れ変態を誘導

- ・ポケット飼育の容器には、直接、付着藻類(プラスチック小片)を入れて変態を誘導

付着藻類を入れると数時間から一晩で稚ウニに変わります。付着藻類は稚ウニの餌になります。



お茶の水女子大学

湾岸生物教育研究所

〒294-0301千葉県館山市香11

wangan@cc.ocha.ac.jp

Tel 0470-29-0838 Fax 0470-20-9011