

ウニの幼生飼育マニュアル 2015 年度版

お茶の水女子大学湾岸生物教育研究センター編

実験の流れとプルテウス幼生の成長

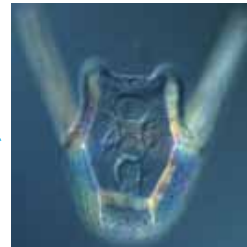
- 実験器具、海水 送付
- ウニ、濃縮珪藻 送付

当日 受精の実験

(受精後)

2日目 ビーカーと培養フラスコで飼育開始

プルテウス幼生 (4腕初期)



(以降、週に3回給餌)

7日目 水換え (ビーカー、培養フラスコとも)

6腕幼生に



- 濃縮珪藻 送付

14日目 水換え (ビーカー、培養フラスコとも)

8腕幼生に



21日目 水換え (ビーカー、培養フラスコとも)

ウニ原基形成

- 濃縮珪藻 送付

28日目 水換え (ビーカー、培養フラスコとも)

原基の中に管足形成

35日目 水換え (ビーカー、培養フラスコとも)

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



- ← 高校より湾岸センターへ連絡

- 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

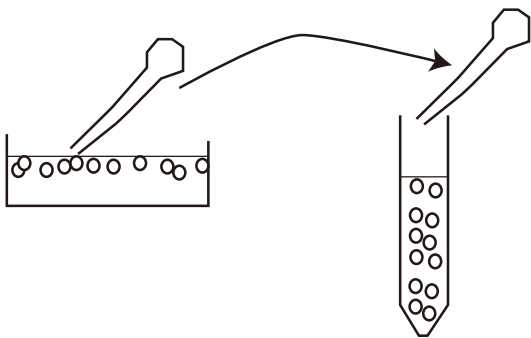


- ← 実験器具の返送、報告書・写真の送付
(速やかをお願いします)



その1 シャーレで発生させた幼生を3リットルビーカーに移す

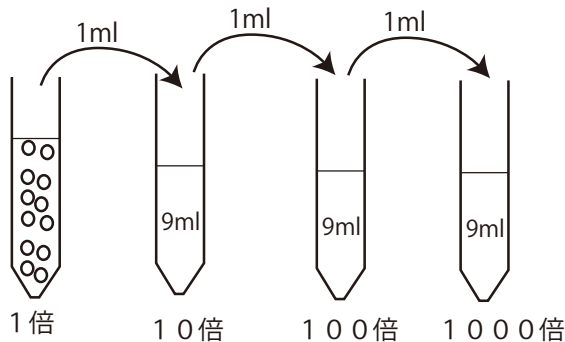
- ・プルテウス幼生になったら、3リットルのビーカーで飼育開始
プルテウス幼生はシャーレで長くは飼えません。時間に余裕の無いときは、ふ化後の胞胚、原腸胚、プリズム等の若い時期にビーカーで飼育を始めても問題はありません。
- ・3リットルビーカー2セットで飼育。もう一つのビーカーは水換えの時に使用。
- ・飼育密度は、最終的に変態まで飼えるのは海水10mlあたり3匹程度。3リットルには1000匹。幼生の数の確認方法の1例。目盛り付き試験管と時計皿は他の器具と一緒に送付。これよりも高い濃度で飼育を始め、水換えの時に捨てて薄めると水換えは簡単。



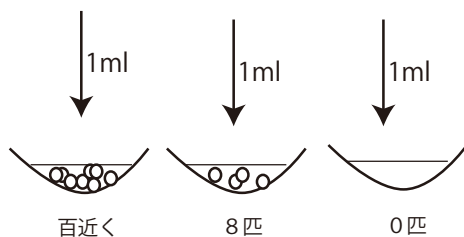
水面近くの幼生をスポイトで集め、お送りしたメモリ付き試験管に10ml入れる。

プルテウス幼生になったらすぐにビーカーに移して餌を与えます。原腸胚やプリズムの時期に移しても問題はありません。

胚や幼生は水面近くに上がっています。底に沈んでるのは状態の良いものなので、水面近くのものだけを取ります。



他の試験管3本に、海水を9mlの目盛りまで入れておく。幼生の入った試験管の海水をスポイトで均一に攪拌したあと、その1mlを、海水9mlの試験管に移す（これが10倍希釈）。10倍希釈の試験管の海水をスポイトで均一に攪拌したあと、その1mlを、海水9mlの試験管に移す（これが100倍希釈）。以下同様に、1000倍希釈も作る。



1000倍希釈、100倍希釈、10倍希釈のそれぞれを時計皿に1ml取り、実体顕微鏡で幼生の数を数える。

たとえば、

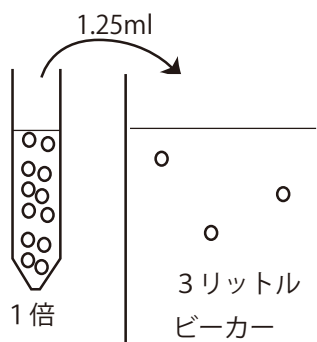
1000倍希釈が0匹

100倍希釈は8匹

10倍希釈は100匹近くでとても数えられない

ような状態になります。

もし1000倍希釈でも多すぎたら10000倍希釈まで作って下さい。



元の1倍の試験管の中の幼生の密度は、1mlあたり

$$8匹 \times 100 = 800匹$$

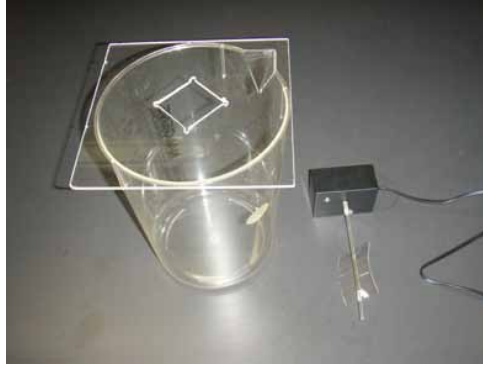
となります。従って、3リットルビーカーに入れる1000匹は

$$1000 / 800 \times 1ml = 1.25ml$$

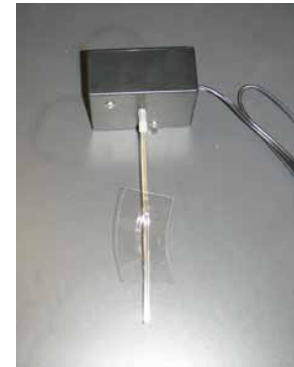
1倍の試験管の海水をよく攪拌して幼生を均一にしてから、1.25mlをスポイトで取って、3リットルビーカーに入れればよいこととなります。

その2 3リットルビーカーでの飼育

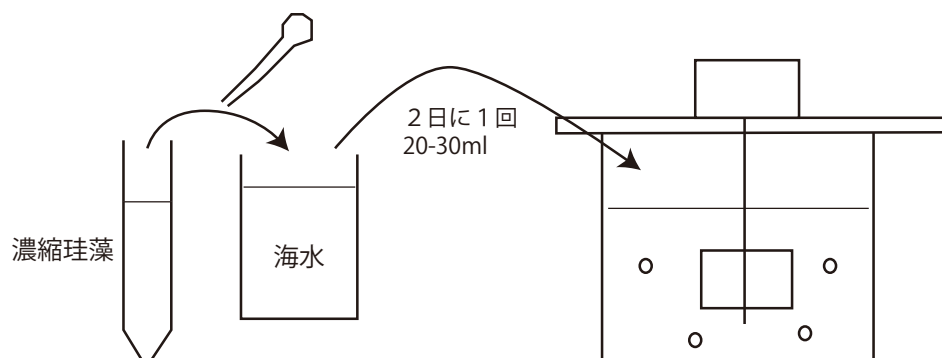
モーターの軸に羽根をとりつける。ビーカーにアクリル板のふたを載せ、中央の穴から羽根をおろすようにモーターを載せる。攪拌しながら飼育を開始する。



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 浮遊珪藻 キートセラス・カルシトランスの濃縮液



濃縮珪藻は、業者 (30 倍濃縮) から、もしくはセンター (100 倍濃縮) から高校へ直送されます。

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、必ず海水で 30 倍もしくは 100 倍に必要な分を希釈してから使用してください。

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。

3リットルビーカーには希釈した珪藻 20-30ml、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、)

ポケット飼育の容器には希釈した珪藻を数滴、2日に1回のペースで。

3リットル
ビーカー

その2 3リットルビーカーでの飼育 つづき

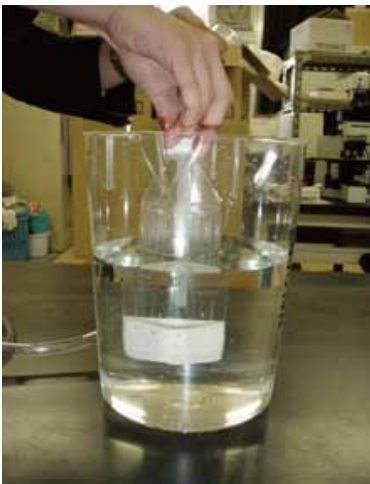
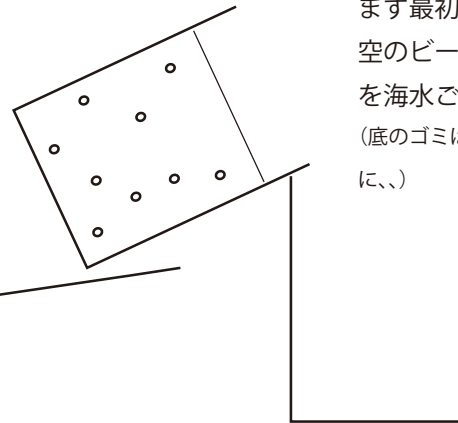
飼育温度

15度から18度程度がベストですが、無理にエアコンなどで調節しなくても大丈夫です。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。

まず最初に、
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、)

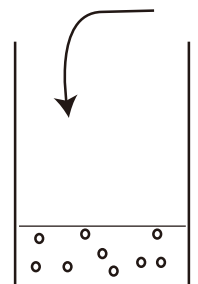


メッシュの張ったペットボトルの底の方(メッシュを張った方)を、ビーカーの中の飼育水に入れます。



水流ポンプからの、水を吸引する管に取り付けたピペットを、ペットボトルの中に入れ、海水を吸い出します。
2リットル吸い出し、1リットル残します。

海水2リットルを加える



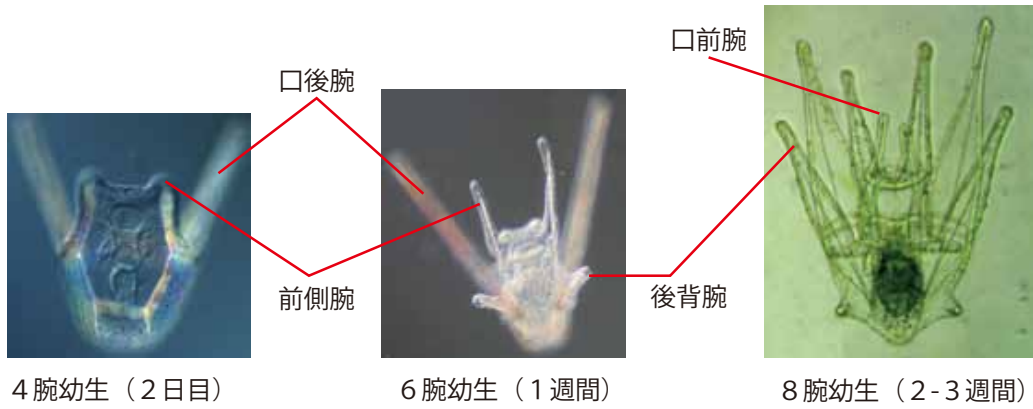
あとは、、、
餌やり
モータを載せて攪拌

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。

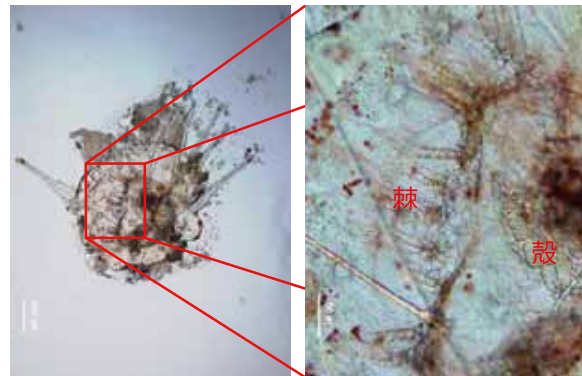
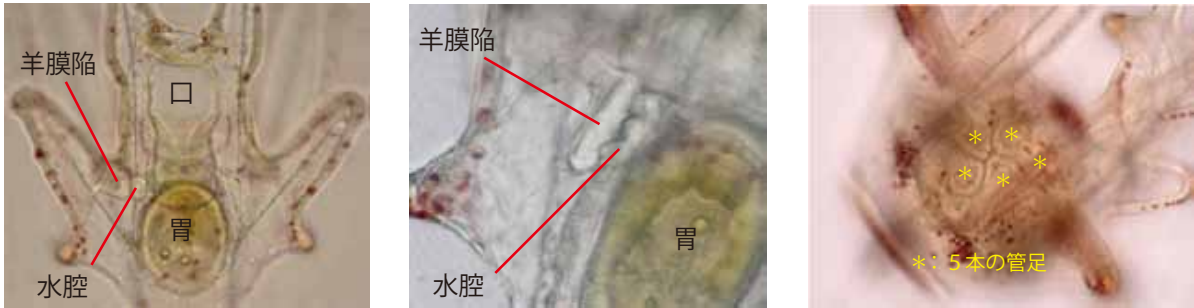
注2) 水を吸引するピペットの先端をメッシュにつけると、メッシュの表面に幼生が吸いついて痛むので、
ピペットの先端はメッシュにあたらぬように気をつける。

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ことが考えられます。

幼生の成長と稚ウニへの変態



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)



附着藻類は稚ウニの餌になります。附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。

幼生をカバーガラスでつぶすと、成体原基の中が観察しやすい



ウニ原基が胃と同じ大きさまで成長したら、

- ・ 湾岸センターへ附着藻類の送付を依頼
- ・ 屋外水槽につけたプラスチック板に生えた藻類を板ごと送付
- ・ 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
→ 附着藻類 (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、附着藻類 (プラスチック小片) を入れて変態を誘導

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、2種類の飼育容器を用意し、受講する生徒数に応じて提供いたします。形状は異なりますが、飼育方法は基本的に同じです。以下の手順を参考に育ててください。

幼生が育って来ると肉眼でも比較的はつきりと見えます。

ルーペや実体顕微鏡で容器ごと観察できます。



①培養フラスコ（容積約 30 ml）

容器に海水を入れ、幼生を 5 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。



②PP チューブ（容積約 12 ml）

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、カチッと音がするまでフタを締める。口の所に、ビニールテープをまいてもよい（写真下段参照）。

受精 2 日後など、発生の早い時期の幼生から飼育を開始する場合、始めに容器に入れる幼生の数を、培養フラスコなら 10 匹程度、PP チューブなら 6 匹程度から始めてみてもいいかもしれません。肉眼で幼生が確認できる大きさになってきたら、上記の幼生密度にしてください。

餌は希釈した珪藻を数滴、2 日に 1 回与える。

途中でいなくなってしまうたら、
3 リットルビーカーで飼っている幼生で
再チャレンジ！！

最初の 1 週間程は小さくて見にくいので、ある程度 3 リットルビーカーで飼育して、肉眼で観察しやすくなってからポケット飼育を開始してもいいかもしれません。

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た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。

15～20℃が適温です。暖房やポケットに入れた時の体温には注意しましょう。

幼生は、ある程度の水流がないとうまく育ちません。ビーカーの飼育では羽根をモーターで回しますが、ポケット培養では、容器を持ち歩くことで攪拌されます。ただ、頻りに攪拌すると幼生が傷つきます。特に瓶をひっくり返して気泡を何度も動かしているとダメになることが多いようです。これまでうまくいった試みでも、稚ウニまで育った生徒はおよそ 3 割でした。途中でダメになっても、ビーカーで飼育している幼生を入れて飼育をつづけてもらいたいと思います。