## ウニの幼生飼育マニュアル 2017 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
- → 濃縮珪藻 送付 (希望者は珪藻の培養開始)

当日 受精の実験

(受精後)

2日目 ビーカーと試験管で飼育開始 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、試験管) 6 腕幼生に

→ 濃縮珪藻 送付(あるいは培養したもので)

14日目 水換え(ビーカー、試験管) 8腕幼生に

21日目 水換え (ビーカー、試験管) ウニ原基形成

→ 濃縮珪藻 送付(あるいは培養したもので)

28日目 水換え (ビーカー、試験管) 原基の中に管足形成

35日目 水換え (ビーカー、試験管)

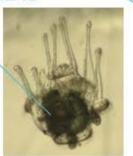
原基の中に棘ができ、原基が胃と同じ大きさになったら変態可能

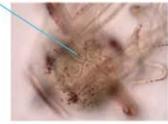
- ← 高校より湾岸センターへ連絡
- → 変態誘導のための付着藻類 送付

変態誘導 稚ウニ、

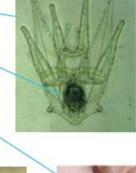
#### 実験終了

実験器具の返送、報告書・写真の送付 (速やかにお願いします)







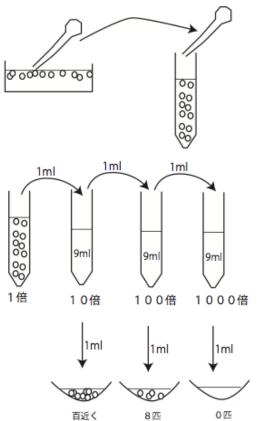






### その1 シャーレで発生させた幼生を3リットルビーカーに移す

- ・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。 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、メモリ付き試験管に10 ml入れる。

プルテウス幼生になったらすぐにピ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。

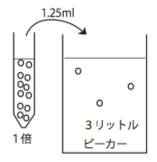
胚や幼生は水面近くに上がっています。底に沈んでるいのは状態の良くない ものなので、水面近くのものだけを取ります。

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撹拌したあと、 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撹拌したあと、 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1000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×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  $1000/800 \times 1$  ml = 1. 25 ml

1 倍の試験管の海水をよく撹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い いことになります。

### 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。





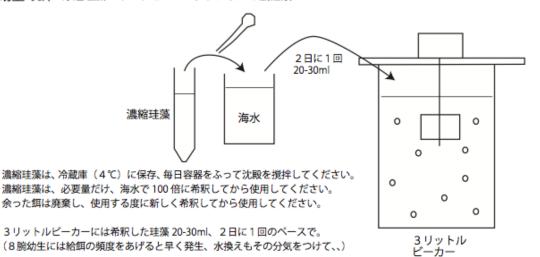


注)水替えなどでモーターを止めてビーカーから外すときに、羽根をつけたままモーターを裏返しにしないでください。羽根から軸を伝って海水がモーターに入り、モーターがダメになります。羽根を付けたまま置きたいときは、横向きにしてください。





#### 幼生の餌 浮遊珪藻 キートセロス・グラシリスの濃縮液



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。

\*\*\*\*\*自分で培養したものは希釈せずに使って下さい\*\*\*\*\*

# その2 3リットルビーカーでの飼育 つづき

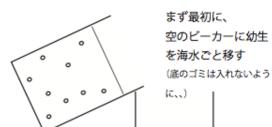
#### 飼育温度

15度から18度程度がベストです。必ず20℃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。



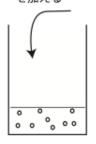


メッシュの張ったペットボ トルの底の方(メッシュを 張った方)を、ビーカーの 中の飼育水に入れます。



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 モータを載せて撹拌

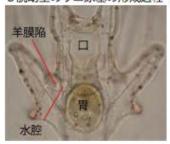
- 注 1) 幼生が吸い出す水流でメッシュに張り付かないように、 メッシュを張ったペットボトルはゆっくり動かす。
- 注2) 水を吸引するピペットの先端をメッシュにつけると、 メッシュの表面に幼生が吸いついて痛むので、 ビペットの先端はメッシュにあたらないように気をつける。

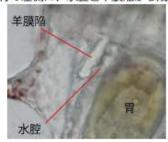
水替えから1週間たたなくても、 ビーカーの底に食べ残しの珪藻がついて汚れが見えるようになったら、 水替えをした方がいいです。原因は、 一回に与える餌の量が多すぎることが考えられます。

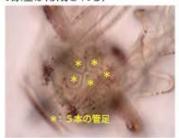
### 幼生の成長と稚ウニへの変態

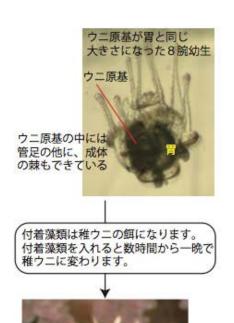


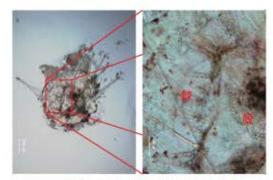
8 腕幼生のウニ原基の形成過程(胃の左側に、水腔と羊膜陥から成体の原基が形成される)











幼生をカバーグラスでつぶすと、 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