

理科室を拠点とした実験用ウニの累代飼育と理科室産ウニの活用

実施担当者 聖ウルスラ学院英智小・中，高等学校
教諭 表 潤一



研究発表の様子

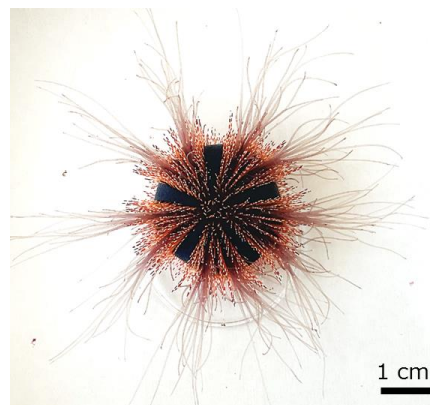


図1 コシダカウニ

1 はじめに

中学理科では「生物の成長と殖え方」で⁽¹⁾、高等学校生物では「発生と遺伝子発現」の単元で動物の有性生殖や体細胞分裂について学習する⁽²⁾。現行の学習指導要領解説では、いずれの単元でも観察や実験を通して、配偶子形成から複雑な体の形態形成までの過程を理解させることが望ましいと記載されている⁽³⁾。加えて、観察や実験による検証、データの解析等を通して探究の過程を経験し、生物学的に探究する能力を高めることも重要視されている。以上のことから、動物の発生を実際に観察・実験することは教育上必要不可欠なものと考えられる。この中で教材としてのウニは、形態観察および発生、化学物質による変態、そして海域の生態系と生物の生存戦略といった一連の思考学習に繋げることができ、教育的価値は非常に高い。

市販のバフンウニ発生キットは1クラス分の観察実験に約1万円かかり、複数クラスの実験展開では実験経費を毎年捻出することは困難である。また、バフンウニは低温で卵割するため、高水温に弱いことや発生速度が遅い（1回の卵割に1時間近く要する）といったデメリットもある。この状況を解決するために学校の理科室で実験用ウニを維持し累代飼育することを目指した。学校でウニの累代飼育をしている例はこれまでになく、成功すれば、任意のタイミングで授業に活用することが可能になる。また、授業外の探究活動等でも、実験動物としての汎用性が高くなることも予想される。

2 ウニの累代飼育

2-1 研究材料

本研究では沖縄県近海で採集されたコシダカウニ (*Mespilia globulus*) (図1) と青森県浅虫で採集したハスノハカシパン (*Scaphechinus mirabilis*) (図2) の2種を研究材料として用いた。コシダカウニは成体で直径2~3cm程度と小さく、食用の種と比べると少ない海水で維持することができる。ハスノハカシパンは砂泥

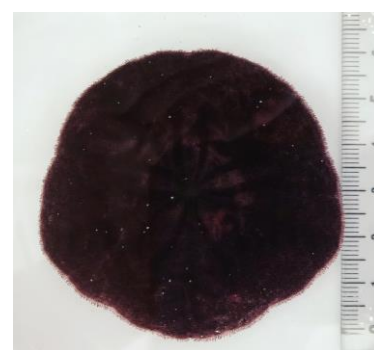


図2 ハスノハカシパン

質の浅瀬に生息し、デトリタスを食べて生活する。両種とも水温 25℃前後で発生が可能（ハスノハカシパンは初秋、コシダカウニは初夏に成熟する）であり、30～45 分前後で 1 回卵割を行うため授業内での卵割が観察しやすい。以上の理由から上記の 2 種を実験用ウニとして使用した。

2-2 累代飼育の方法

〈1〉飼育海水について

本研究における生体の飼育には、全て人工海水を使用した。シーライフ（マリントック社）を使用し、粉末を溶かしてから 24 時間以上エアレーションしたものを発生過程の観察や飼育に使用した。

〈2〉採卵・採精と受精

以下の手順で採卵・採精を行った。

- (1) 0.1mol/L のアセチルコリンを注射（ハスノハカシパンは肛門から 1mL・コシダカウニは口周辺から 0.3mL）して放卵・放精を誘起した。
- (2) 雌の生殖孔から卵を回収し、雄は精液を回収した。
- (3) 海水で精液を希釈し、回収した未受精卵に数滴加えて受精させた。
- (4) 25℃で静置しながら、一定時間ごとに発生状況を観察した。

〈3〉幼生の飼育

プルテウス幼生の飼育には Yaguchi⁽⁴⁾やお茶の水女子大学のウニ幼生飼育マニュアル⁽⁵⁾を参考にして、図 3 のような装置を作成し使用した。これまでの飼育の経験から、プルテウス幼生は水流が無いと成長にばらつきが出ることで、死亡率が高くなることから、それを防ぐため、低速モーターを使用してビーカー内に水流を発生させた。装置には毎分 15 回転の DC モーターと物理実験用の電源装置を接続して使用した。フタやプロペラはアクリル板、軸はアクリル製のパイプを使って作成した。

飼育装置はインキュベーター(25℃)内に設置し、プルテウス幼生の飼育密度は 2000 匹/L に設定して飼育した。餌は浮遊珪藻のキートセラス（アイエスシー社製「Kくん」）を 2 日に 1 回与えた（給餌後に顕微鏡で観察したとき、プルテウス幼生の胃が茶色になる程度の量）。また、週に 1 回程度の頻度で全水量の半分を換水した。

〈4〉稚ウニの飼育

稚ウニは 200mL の人工海水を入れた飼育容器で飼育した（図 4）。飼育容器は 25℃に設定したインキュベーター内に静置した。餌は成体を飼育している水槽で自然発生した付着珪藻や藻類を与えた。稚ウニは自身の移動や容器を移動したときの振動によって餌付きのプラスチック板から落ちてしまうことがあるため、換水の際に適宜稚ウニを回収してプラスチック板の上に乗せた。水替えは 2 日に 1 回の頻度で全水量を換水した。稚ウニの直径が 5～10mm になるまで、この方法で飼育した。

〈5〉成体の飼育

一定以上の大きさに成長した稚ウニと成体のウニは水温 25℃に設定した 60cm 水槽で飼育した（図 5）。濾過装置にはプロテインスキマーを使用した。餌は市販の塩蔵ワカメを水で戻してから、できるだけ残りが出ないように毎日与えた。水替えは糞やワカメの残りを除去すると共に、合計 500mL 程度毎日換水した。

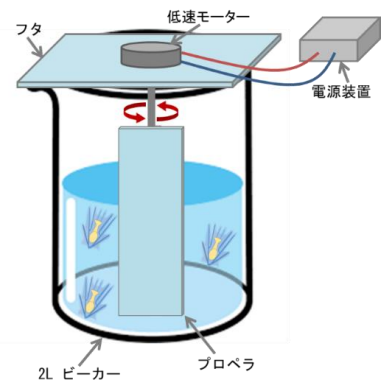


図 3 プルテウス幼生の飼育装置

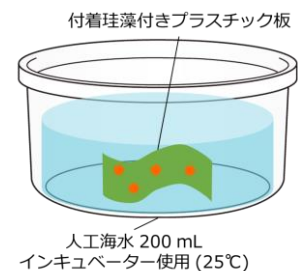


図 4 稚ウニの飼育容器

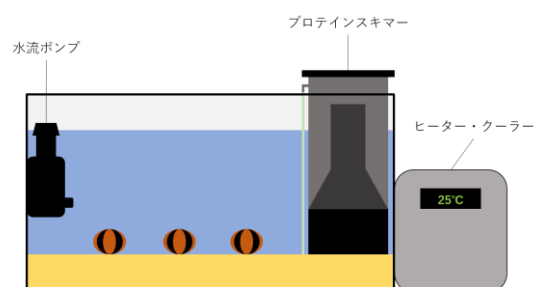


図 5 成体の飼育水槽

2-3 累代飼育の結果

コシダカウニでは理科室産ウニ第3世代まで代を重ねることができた。本研究では昨年度から継続飼育していた、購入したウニから生まれた第1世代のウニからのスタートだった。2021年6月には第2世代のウニが生まれ、約20匹を成体まで成長させることができた。2022年の2月には第2世代のウニから第3世代のウニが生まれ、2022年3月現在では直径1mm程度の稚ウニまで成長させることができた。

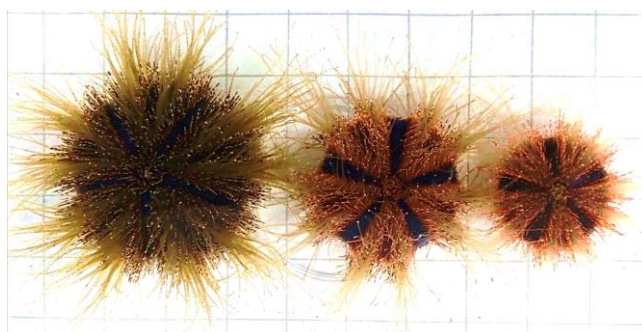


図6 各世代の比較
(左から野生個体・第1世代・第2世代)

3 コシダカウニの変態誘起実験

3-1 実験方法

ウニ原基のある8腕プルテウス幼生を20匹ずつ人工海水の入った容器に入れ、4つの条件(人工海水のみ、ジブロモメタン、チロキシン、水槽で自然発生した付着ケイ藻)を設定した(図7)。これらの物質は、他種のウニやカシパンで変態誘起作用が確認されているものである。実験は各条件で5セットずつ行い、24時間後に何匹の稚ウニが変態したかを計測し、変態率を算出した。

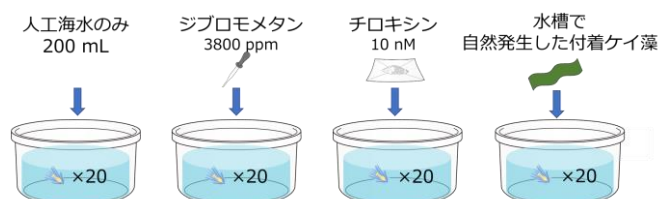


図7 変態誘起実験

3-2 実験結果

実験結果を図8のグラフにまとめた(error barは標準誤差を示している)。ジブロモメタンでは約90%、付着ケイ藻では約60%の個体に変態した。一方で、チロキシンではほとんど変態しなかった。

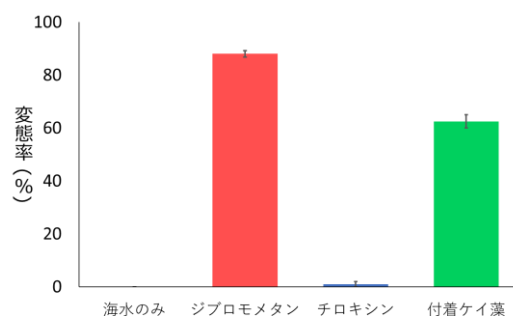


図8 24時間後の変態率

3-3 変態誘起物質に関する考察

プルテウス幼生は藻類から分泌されるジブロモメタンで変態することが知られている⁽⁶⁾。コシダカウニのプルテウス幼生はジブロモメタンに高い変態誘起活性を示すことが分かった。多くのプルテウス幼生を変態させ、稚ウニを得るにはジブロモメタンを添加することが効率的だと考えられる。シラヒゲウニはチロキシンで変態し、ムラサキウニとアカウニはジブロモメタンで変態することが知られている⁽⁷⁾。コシダカウニはチロキシンで反応せず、ジブロモメタンで高い反応性を示したため、種によって変態誘起物質が異なる可能性が示唆された。また、変態誘起実験について研究発表を行った棘皮動物研究会では「ジブロモメタンの濃度が濃すぎるのではないか。低い濃度でも同じような結果になるかもしれない。」というご意見を頂いた。こうしたご意見も取り入れ、今後は低い濃度での再検討も行いたい。

4 授業での発生実験の様子と生徒の取り組み

中学3年生の理科と高校2年生の生物の授業で、ウニの卵や精子の観察、初期発生の様子の観察などを行った。初期発生の観察では主にハスノハカシパンを使用した実験を実施した(図9, 図10)。コシダカウニは主に幼生の観察で使用した(図11)。



図9 ハスノハカシパンを
手にとる生徒

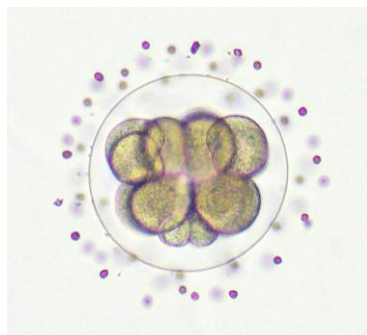


図10 ハスノハカシパンの
16細胞期



図11 コシダカウニの
8腕プルテウス幼生

一部の有志の高校2年生では動物学会東北支部大会と棘皮動物研究集会での研究発表にも参加した。現役大学生の研究発表や大学教員の最先端の研究発表を直接聞く機会となり、高校生自身も自身の研究についての活発な議論を交わす様子がみられた。

5 まとめ

累代飼育に関する研究では、理科室産ウニ第1世代から第3世代まで代を重ねることができた。コシダカウニを系統化できれば、遺伝子導入やノックアウトなどの遺伝子研究にも応用できる可能性があるため、これから第4世代を経て、今後も継続して代を重ねていくことを目標に飼育していきたい。ハスノハカシパンについては初期発生の実験で使用することができたものの、成体から得られた卵や精子の数が例年よりも非常に少なく、稚ウニを得るところまでたどり着くことができなかった。次年度以降、ハスノハカシパンにおける累代飼育についても改めて検証していきたい。

コロナ禍により、研究材料の入手すら危ぶまれたが、ハスノハカシパンは取り寄せることで観察実験に使用することができた。一方で、実施を予定していた青森県浅虫での臨海実習は、2021年9月に宮城県に適用されたまん延防止等重点措置のため実施できなかった。制約が多い中でも、実際に生きている生物を使用する実験は生徒の反応も良く、生徒に強く印象付けることができたと感じている。生徒が生物を学習するモチベーション向上にも繋がった。今後は野生個体の利用も取り入れながらも、理科室産のコシダカウニを活用して授業に役立てていきたい。

謝辞

本稿で用いたハスノハカシパンは東北大学大学院生命科学研究科附属浅虫海洋生物学教育研究センターから提供して頂いた。同センターの美濃川拓哉先生、宮城教育大学の出口竜作先生には、ウニの生態や発生についてご教授頂いた。これらの方々はこの場を借りて御礼申し上げます。

参考文献

- (1)東京書籍 (2019). 新編 新しい科学, 78-86.
- (2)第一学習社 (2018). 改訂高等学校生物, 174-189.
- (3)文部科学省 (2018). 高等学校学習指導要領解説 理科編 理数編, 140.
- (4)Shunsuke Yaguchi (2019). *Temnopleurus* as an emerging echinoderm model. *Methods in Cell Biology*, 150, 71-79.
- (5)お茶の水女子大学湾岸生物教育研究センター (2017). ウニの幼生飼育マニュアル 2017年度版.
- (6)吾妻 行雄 (2009). ウニの生態学的な役割. ウニ学 本川達雄編, 東海大学出版会, 221-246.
- (7)高 炯範, 土田 徹, 北村 等, 平山 和次 (1996). ジブロモメタンのムラサキウニおよびアカウニ幼生に対する変態誘起作用. *SESSILE ORGANISMS*, 13(1), 7-9.