

# 厚岸産エゾバフンウニの人工種苗に関する基礎研究

—受精卵から稚ウニまで—

阪 口 正 樹<sup>1)</sup>  
秋 山 慶 市<sup>2)</sup>

## はじめに

受精卵から稚ウニに育てるまでの解説書は、皆無に等しい現状である。ウニの初期発生については多くの記述があるが、この基礎研究の結果が稚ウニに育てるための一つの解説書となれば幸いである。今後、この基礎研究をもとにエゾバフンウニの各地域での実態に即した研究や、各地方での各種のウニについての研究がなされることを期待する。

理論的には、自然状態と同じ環境を設定すれば、いかなる動物でも飼育が可能であろう。しかるに、海産動物についてはその環境である海洋、海底の詳細な資料を得ることが難しいため、人工飼育は困難なものとなる。特に、人工受精卵から稚ウニを得ようとする場合、ウニの体が日毎に生長してゆくのに合わせ、環境を微妙に変化させることが必要である。そのため、飼育環境の設定がこの基礎研究の柱の一つとなった。

人工受精卵から稚ウニを得る研究は、20世紀初頭に特に発展した。その後、採卵に電気刺激を使う方法、KClで化学的刺激を与える方法、アセチルコリンを使う方法が開発されてきた。ウニの飼育、養殖については福島、山口、三崎などで、また道内でも多くの貴重な成果をあげている。それによると、人工的に稚ウニを得ることは不可能なことではなく、各種の条件を適切に整えれば成功することが明らかとなった。我々は各地で得られた飼育に関する資料をもとに、厚岸湾での飼育、養殖の条件の解析を行い、一応のまとめを得た。

この基礎研究は、1974年5月20日より8月23日までの期間に北海道大学理学部付属厚岸臨海実験所および厚岸漁業協同組合築紫恋採苗所で行った実験結果に、最近の知見を加えたものである。この研究を行うに際し、同臨海実験所の奥村浩氏、中村浩之氏、採苗所の児玉茂氏に多大の御援助を頂いた。また、北海道大学大学院生（当時）高橋恒夫君、東京大学大学院生（当時）佐野清君に

も御助力を頂いた。ここに、感謝の意を表します。

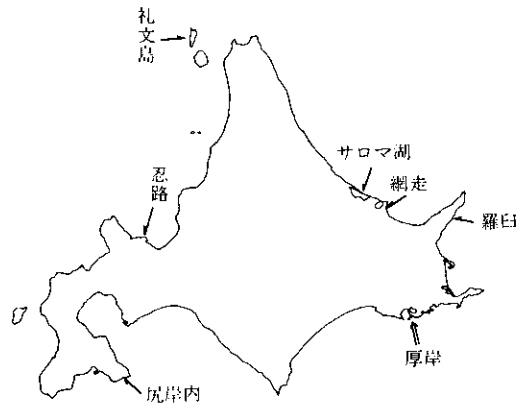


図1 北海道地図

## 目次

1. 雌雄の判別
2. 人工採卵の方法および良質な卵の選び方
3. 人工採精の方法および精子濃度の決め方
  - (1)採精の方法
  - (2)使用可能な精子の判定法
  - (3)媒精および精子の濃度
4. 飼育環境の設定
  - (1)温度
  - (2)餌
  - (3)光線
  - (4)飼育水槽
  - (5)塩分濃度
  - (6)水質管理と換水
5. エゾバフンウニの正常発生と飼育条件
  - (1)初期発生期
  - (2)浮遊幼生期
  - (3)ウニ原基の形成
  - (4)変態期
6. 幼生の死亡
  - (1)4腕ブルテウス期の発育不全個体

1) 西宮市立西宮東高等学校

2) 釧根地区潜水器ウニ漁業部会連合会会長

- (2) 8 腕プルテウス期の死亡
- (3) 変態期の死亡
- (4) 解決の方向
- 7. 変態の条件解析
  - 天然採集個体による実験
- 8. プランクトンネットによる湾内調査
  - (1) 湾内で採集されたウニの幼生
  - (2) 天然プルテウス幼生の餌
- 9. 今後の課題
  - (1) 良質な卵と精子の確保
  - (2) 湾内で採集される 8 腕後期プルテウス幼生および稚ウニの人工飼育
  - (3) プルテウス幼生の餌の確保
- 10. 文献

実験に先立ち飼育槽が正常に作動しているか、ガラス器具類およびハサミ、ピンセットなどの解剖器具が真水でよく洗われているか、海水が完全に濾過されているかを確認し、材料は、採集直後の元気の良いものを選び使用する。

### 1. 雌雄の判別

採卵、採精の前に雌雄の判別ができれば便利である。エゾバフンウニではガラス器に入れて側壁に付着させ、外側からみて管足と周口部が卵巣の色（オレンジ色）に似ているのが雌で、白のは雄である。ウニによってはオレンジと白の中間でどちらとも判定し兼ねるものもある。このような時、卵子と精子の両方がほしければまず最初に使用する。雌雄のどちらであっても良い訳であるから材料の無駄にならない。

### 2. 人工採卵の方法および良質な卵の選び方

良質な卵および精子を得るには自然の放卵放精を待たばよいのであるが、この様な機会はあるにない。多くの動物では人工的に得られた卵では人工受精が困難であるが、ウニでは容易に受精するので、卵を人工的に採集する方法が多く開発されている。

今回我々が使用した方法は 0.5 モル塩化カリウム水溶液で刺激する方法である。この方法の特徴は、無理に卵巣をこわす「切り出し法」よりも未熟卵の混合率が少ないことおよび手軽なことである。

#### 塩化カリウム水溶液による採卵法

- ① 精子は真水で死ぬので、ウニの表面を真水でよく洗いウニの表面に付着している古い精子を殺す。
- ② 口器（アリストテレスの提燈）と殻の間の軟

らかい部分にハサミを入れ、口器をえぐりとり、中の体腔液を充分すて去る。卵に体腔液が付着すると受精がさまたげられることがある。

③ ビーカーに海水を満し、口器側を上、生殖口側を下に（従って生殖口が海水につかる）してビーカーにのせる。（図 2）

④ 0.5 モル塩化カリウム水溶液をピペットで少量ずつ体腔内に注ぐ。

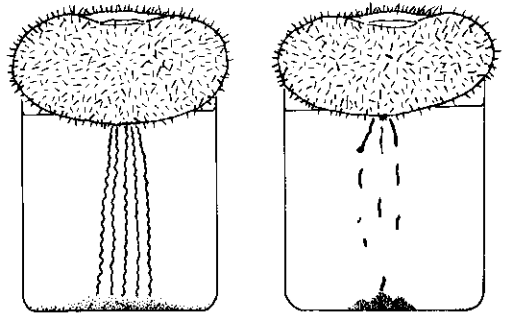


図 2 良質な卵の放出状態 図 3 不良な卵の放出状態  
5 列の連続した放卵 放卵が不均等で中断する

良く成熟した雌ならば、まもなく卵を放出する。最初は食物のカスが出てくるが、これが出なくなってからウニを別のビーカーに移す。卵が適量出たら最後まで放卵させておかず途中で採卵を止める。この時点での良質の未受精卵か否かの判定基準は次の 3 点である。

① 5 個の生殖口から均等に、中断することのない 5 列の連続した放卵をする。したがって、海水中に 5 本の糸を引いた様な光景がみられる（図 2）。

② 放出された未受精卵は、濁りのないオレンジ色を呈し、白色がかったり褐色じみていない。

③ ビーカーの底に沈澱した卵はサラサラしており粘稠性がない。

このようにして得た未受精卵は必ず次の 3 点を顕微鏡で調べる。

① 未受精卵の直径が  $96 \sim 98 \mu$  である（厚岸産のエゾバフンウニの成熟卵の直径は  $96 \sim 98 \mu$  である）。

② 胚胞とよばれる大きな核を持つ卵が混在していない。

③ 少量の卵をとって試験的に受精させた時、受精膜の上りが 30 秒以内で終り、その同調性がよい。

胚胞をもつ卵が含まれていたなら、同一個体からの卵は全て捨て去り、別のウニを使用する。この胚胞をもつ

卵は未熟卵で受精反応をおこさない。したがって、この個体がたとえ成熟卵を含んでいたとしても、卵巣全体の発育は未だ完了していないとみて、このような卵を含む個体の多い時には、採集する日時、場所を変えなければならない。

#### 良質な卵の5つの基準

- ①卵は5個の生殖口より均等に連続して落ちる。
- ②卵の色は濁りのないオレンジ色をしている。
- ③沈澱した卵には粘稠性がない。
- ④胚胞をもたず、卵の直径が96~98 $\mu$ である。
- ⑤受精膜の上りが媒精後30秒で終了し、同調性がよい。

この5基準を満たした卵を2~3回海水で洗い(図4)、体腔液やKCl液を除去し、沈澱したところで4mlの卵をピペットでとり人工受精に使用した。なお、海水中に放出された卵は受精能力を次第に失うので、手際よく次の媒精を行う。

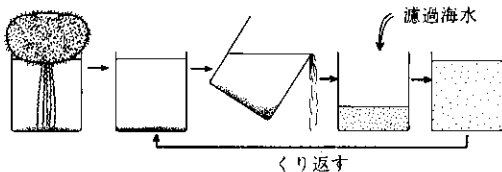


図4 卵の洗い方

### 3. 人工採精の方法および精子濃度の決め方

#### (1)採精の方法

成熟した精子は、海水に触れることで活発に運動して養分を使い果し、まもなく動かなくなるので、卵と異なり海水中に放精させることができない。そのため、採精の方法は「切り出し法」ということになる。今回我々が使用したのもこの方法である。口器(アリストテレスの提燈)を除去したあと体腔液をすて去り、ハサミを入れて赤道部分を円く切って殻を上下に切り分ける。内部には5片の精巣が放射状にならんでいるが、成熟したものではみずみずしく淡黄色であり、放精後のものは褐色じみてちぢんだ状態にある。良好な精巣なら傷を与えておくと、きれいな乳白色の精液が浸出する。このような精巣をピンセットで時計皿に移す。大きなシャーレの底に水を含ませた濾紙を敷きその上にこの時計皿を置く。ふたをして乾燥を防ぎ、室内の冷所に置く。2~3分後、濃い乳白色の精液(精子原液, dry spermとも言う)が時計皿にあふれてくる。海水の混在には十分注意すること。

#### (2)使用可能な精子の判定法

精子はすべて減数分裂を終えているので、卵において胚胞の有無で判定するには、精子の核の状態を判定することはできない。それならば形態的に完成している精子はすべて受精能力をもっているかといえば必ずしもそうではない。このように形態の上では見分けることのできない精子の成熟度の差異はほとんどの例において精子の運動の程度と並行関係にある。精子原液を海水でうすめ直ちにこれを顕微鏡でみると、活発に動き回っている精子は受精能力が高く、動きのふいものはほとんど受精しない。したがって、良質な精子を得る基準は次の2点である。

#### 良質な精子の2つの基準

- ①淡黄色の精巣が良く発達して、傷をつけた時浸出する精子原液が濃い乳白色をしている。
- ②精子原液を海水でうすめ、直ちに検鏡した時、精子が活発に動き回っている。

#### (3)媒精および精子の濃度

ウニの受精は一卵一精である。放卵後長時間経過した卵を使った場合、あるいは精子が濃過ぎた場合には一つの卵に数個の精子が入り、多精卵になることが多い。多精卵では細胞分裂が不規則となり正常に発生しない。また、反対に薄すぎると卵に到達するまでに動きすぎ受精能力が低下し受精率が低くなる。このように適正な濃度の決定はウニ卵の正常な発生にとって大切な条件である。我々は40万分の1の濃度を使用し良い結果を得た。

#### 精子原液稀釈の方法(40万分の1の場合)と媒精

- ①ピーカーに50mlの海水を入れ、微量ピペット(1ml)を用い精子原液0.06mlをとり、海水に入れてよく混合する。
  - ②他のピーカーに4mlの未受精卵を含む50mlの海水を入れ、①液の0.1mlを加えてよく混合する(媒精)
- ①→②は30秒以内に完了すること(図5)。

精子の濃度は①あるいは②で数値を操作すると変化する。たとえば、①で原液を0.03mlとすると80万分の1、0.1mlでは25万分の1、0.13mlでは20万分の1というようになる。今回の場合、このようにして得られた各種の精子濃度で媒精した受精卵を検鏡した結果、40万分の1で最も受精率が高く、しかも受精卵の回りに4~5匹の精子がいる状態であったので、この濃度を採用した。

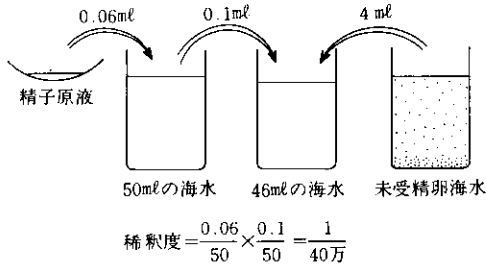


図5 40万分の1精子液による媒精

ウニ卵を扱っている初期発生の専門家によると、受精膜の上った後の卵の回りには精子の数は数匹が良いということであるが、今回の実験の結果もこれと一致した。以上、媒精時の要点をまとめると、

#### 媒精時の3つの注意

- ①精子原液を40万分の1に薄めて媒精する。
- ②精子原液の稀釈から媒精までを30秒以内に行う。
- ③海水の温度は12~13°Cに保つ。

これまでに記した種々の考慮をはらって得た成熟度良好な未受精卵(4 ml)と活性度良好な精子を40万分の1の濃度で媒精すると100%の率で直ちに受精反応がおきる。媒精後は直ちに30 lの海水に移す。20時間後には孵化して泳ぎ出すので、さらに大きい飼育槽に入れる。

#### 4. 飼育環境の設定

##### (1) 温度

飼育海水の温度は最も重要な要因である。卵割の開始あるいは胚前期までの到達時間は高温(17~18°C)の方が早い、発生の後期になると著しい個体差を生ずる。各種の温度で試験したところ、12~13°Cで媒精、飼育した時に最も安定した結果を得た。ところで実験所の年間データによると、厚岸湾内の表層海水温の6月の平均水温は11.9°Cであり、上記の温度と一致している。飼育温度は湾内の海水温度と一致させるとよい。図6に1973

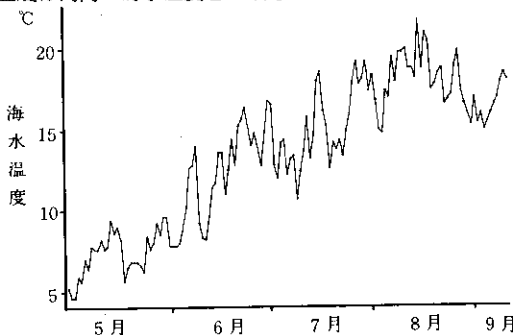


図6 厚岸湾の表層海水温度1973年5月1日より9月11日まで午前10時観測、臨海実験所棧橋にて

年の湾内表層海水温度の変化を示した。

媒精は6月5日に行い、媒精時および6月中の飼育温度を12~13°Cとした。これ以後7月は15°C、8月は17°Cまで徐々に温度を上げる。

##### (2) 餌

発生後期、成長期の動物を飼育するには必ず餌が必要であり、餌の大量にあることがウニの人工種苗の成功を左右する大きな要因である。

我々が使用した餌は厚岸漁業協同組合筑紫恋採苗所で培養を続けていた浮遊珪藻の *Phaeodactylum tricoratum* および黄色べん毛藻の *Monochrysis lutheri* である。この二種の浮遊藻類を下記の方法で別々に培養し餌とした。培養時に留意しなければならないのは次の点である。

##### 浮遊藻類培養のポイント

- ①ガラス容器、ガラス管、ゴム栓など使用器具はすべて高温殺菌をする。
- ②使用海水は1μのメンブレンフィルターで濾過し、次にそれを70°C、20分間熱処理を加え冷却した後、培養に使用する。

藻類培養には3 lの三角フラスコを使用した。常時、培養液に送気し、昼間は直射日光を避けた明るい場所に置き、夜間は蛍光灯照射を行い、15°Cで培養した。培養液が濃い茶色になると、その一部を遠心分離機(毎分2000回転、1分間)にかけ、培養液から浮遊藻類を分離した。このようにして得た二種の藻類を等量ずつ2日毎に飼育槽内に投入し、海水がわずかに茶色になるように餌の量を調節した。

##### 培養液

- |    |  |           |
|----|--|-----------|
| 1液 | 硝酸ナトリウム NaNO <sub>3</sub>  | 200 g / l |
| 2液 | リン酸二ナトリウム<br>Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> · 12H <sub>2</sub> O | 50 g / l  |
| 3液 | メタ珪酸ナトリウム<br>Na <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub> · 9H <sub>2</sub> O  | 2 g / l   |
| 4液 | P 6 Metal  |           |

海水1 lに対し、1~4液を1 mlずつ加える。なお、トリスアミノメタン-HCl緩衝液によってpH 7.5に調整すると結果はさらに良くなる。P 6 Metalとは下記のものである。

##### P 6 Metal

- |    |   |         |
|----|---|---------|
| 1. | ホウ酸 H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>          | 3.43 g  |
| 2. | エチレンジアミン四酢酸                                 | 3.0 g   |
| 3. | 塩化第二鉄 FeCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O | 0.387 g |

4. 塩化マンガン  $MnCl_2 \cdot 4H_2O$  0.432 g
5. 塩化亜鉛  $ZnCl_2$  0.0313 g
6. 塩化コバルト  $CoCl_2 \cdot 6H_2O$  0.0121 g
7. 硫酸銅  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$  0.00472 g
8. モリブデン酸ナトリウム  
 $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$  0.126 g

蒸留水 1 l に以上を溶かす。ホウ酸は最初に溶かす。

餌とする浮遊藻類は上記の培養液などで培養した藻類を投与する。文献によると餌としては、*Nitzschia closterium*, *Chaetoceros simplex*, *Ch. calcitrans*, *Skeletonema costatum*, *Navicula sp.*, *Chlamydomonas sp.*, *Licmophora sp.* などを使用し、稚ウニを得ている。餌の密度については、山辺 (1962) はアカウニにおいて *Chaetoceros* を用い  $10^4$  および  $10^5$  cells/cc のときに最良の結果を得ている。

### (3) 光線

餌に植物プランクトンを用いたので光合成のため光源を置いた。自然条件に合わせるため、午後6時より翌朝6時まででは消灯した。自然光が充分に入る条件で飼育している場合には、光源は特に必要としない。

### (4) 飼育槽

海産動物を飼育するには、酸素の供給や、塩分濃度および水素イオン濃度を一定に保つ点からみて、流水飼育が最も好ましい。しかし、ウニの幼生はプランクトンであるため、このような飼育法には複雑な装置が必要である。そこで普通の止水槽に種々の工夫をし、飼育海水を自然に近い状態に保つ方法を述べる。

①止水飼育の場合、水が動かないので表層だけは酸素が充分あるが、下層は欠乏しがちである。特に餌の大量投与(餌も呼吸する)やバクテリアの繁殖によって酸素が欠乏する。そこで水を動かすことや空気を送りこむことで酸素を供給する。この二つの方法は、同時にもう一つの大きな問題を解決する。それは、止水飼育の場合ウニ

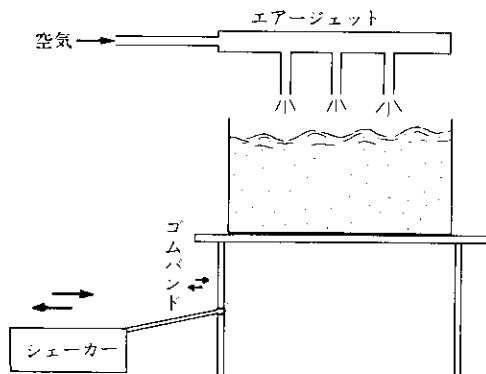


図7 飼育装置(I)

の幼生は海水表面に浮いたまま沈降できず、やがて餌不足などで死ぬが、送気・造波によりその欠点が克服できることである。そこで送気のためエアージェットを装置し、同時に飼育槽全体を太いゴムバンドを伸介として薬品シェーカーに接続し振動させる。幼生は静かに対流をおこし、酸素の供給ができると同時に表面での死亡個体数は激減する(図7)。

②一方、エアーストーンを使って空気を送る送気式の水槽の是非を試みた。しかし、送気が直接幼生に機械的刺激を与える可能性が考えられたので次のような予備実験を行った。

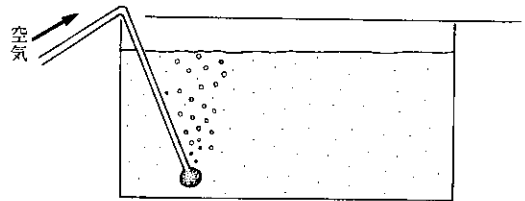


図8 飼育装置(II)

20×40×20cmの水槽に4腕プルテウス幼生を適量入れ送気し、時間の経過による幼生の密度変化を調べた。水槽をよくかきまぜ均等にした後、ピーカーで海水をとり、メスシリンダーでその100mlをとり幼生の数を調べた。結果を次に示す。

経過日数	密度	温度
初日	10個体 / 100ml	15.0°C
2日後	8個体 / 100ml	14.7°C
5日後	7個体 / 100ml	14.7°C
6日後	7個体 / 100ml	14.0°C

以上の結果から、空気を送っても機械的な刺激による死亡個体はほとんどないと考えた。空気圧を調節すれば、酸素の供給量と同時に対流速度も調節できる。この送気式は造波のための振動装置のない場合、簡便かつ有効な方法である(図8)。

③また、飼育密度が小さく、空気を送りこむ必要のない時には、低速回転モーターを用い毎分30回転でプロペラを回し海水を攪拌することで目的を達することができる(図9)。

### (5) 塩分濃度

止水飼育の場合、水が蒸発して塩分が濃くなりがちである。ムラサキウニの初期発生では海水の比重1.020~1.028の範囲で正常発生をするが、この範囲外では異常発生が増加する。良質海水の比重は1.025である。

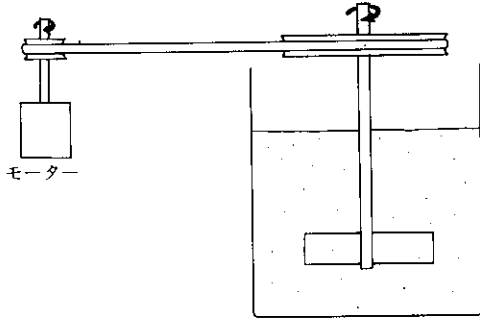


図9 飼育装置(Ⅲ)

(6)水質管理と換水

自然界の海水は pH 8.2 を中心として割に狭い範囲内にあるが、止水飼育の場合にはかなり変化し易い。pH が下った時には炭酸水素ナトリウムなどを加えて上げる方法もあるが、海水の比重（浸透圧にも影響）が大きくなるので良質な海水と入れ換える方がよい。ムラサキウニの初期発生では pH 7.8~8.6 の範囲で正常な発生が確認されている。

①ウニの幼生は浮遊性であり、しかも小さい(200~900 $\mu$ )ので換水を何度も行うことは手間のかかるものである。pH が下った時には8 $\mu$ のメンブレインフィルターを使用し、徐々に古い海水を除くとよい。飼育槽の3分の2の海水を換水する。フィルターにはほとんど幼生は付着しない(図10)。また、目の大きさが100 $\mu$ のミューラーガーゼを使っても可能である(図11)。

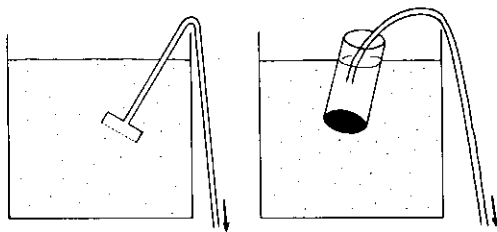


図10 換水法(I)

メンブレインフィルター使用

図11 換水法(Ⅱ)

ミューラーガーゼ使用

②照度によるプルテウス幼生の垂直運動を利用する方法もある。多くの動物プランクトンと同様に、プルテウス幼生も暗くなると繊毛の運動が活発になり海面近くに浮上する。そのため、換水しようとするときは、送気などによる人為的な対流を中止し、飼育槽全体を暗くする。1~2時間後、飼育槽の下半分の海水を捨て去り、新鮮な海水を加えるとよい。その際、飼育槽の底に沈澱して

いるプルテウスの死骸なども同時に除去すれば一石二鳥である。また、暗くすると繊毛運動が活発になり、餌をよく摂るので成長を促進することにもなる。換水のための特別な容器(図12)を用いると便利である。

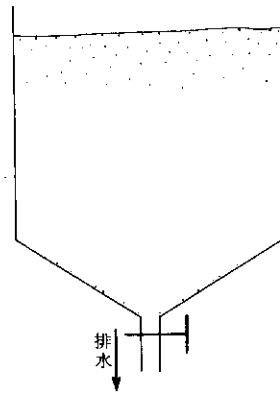


図12 換水法(Ⅲ)  
約1時間暗所に静置すると幼生は上層部に集まる

③ピーカーなどで飼育する場合の簡便な換水法としては、海水面近くに集まったプルテウス幼生を含む上澄み海水を別のピーカーにとり新鮮海水を加えればよい(図13)。

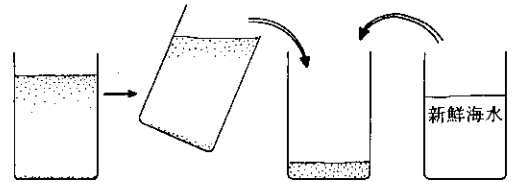


図13 換水法(Ⅳ)

④換水が充分行えない場合は底に沈んだ死骸を早急にピペットなどで取り除き、新鮮海水を加えるとよい(図14)。

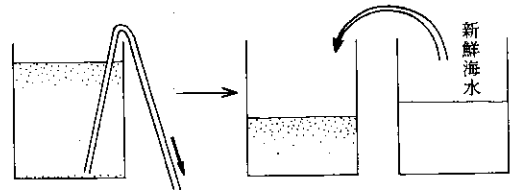


図14 換水法(Ⅳ)

換水に使う新鮮な海水は、飼育水槽の海水と同じ温度にする。水温差1°は気温差10°に匹敵するといわれ、換水による温度ショックでのプルテウス幼生の死亡を極力減らす。また、骨格形成のためのカルシウム補給のため、貝殻を数個入れてやるとよい。

## 5. エゾバフンウニ (*Strongylocentrotus intermedius*) の正常発生と飼育条件

ウニ幼生を管理するためには、発生の各段階について正確な形態と色調などの特徴を知っておくことが必要である。以下に発生の各段階を詳細に記述し、また厚岸湾の環境に合わせた飼育条件を付記する。

### (1) 初期発生期

#### ① 卵割期

媒精後、第1回の卵割までの時間はウニの種類および温度により異なる。エゾバフンウニでは13°C前後で70~90分である。卵割は卵軸を含み等割(図版1の5)。

第2卵割も等割で、卵割面は卵軸を含んでおり、生じた4つの割球は卵軸をとりまく。第2卵割は第1回の卵割面に直角におこり、第1卵割から第2卵割までの時間は約60分である(図版1の6)。

第3卵割も等割であるが、この卵割は卵軸と直角におきるので4つの割球は各々上下二つに分かれ、おのおの4割球を含む上段と下段になる。8細胞期までは割球が等大であり動物極、植物極は見分けられない(図版1の7)。

第4卵割ではじめて動物極側の割球と植物極側の割球で卵割の仕方に差が認められる。上段(動物極側)の4つの割球は縦に等割し、下段(植物極側)の4つの割球は水平に割れて2段に分れるが、不等割であるため上の段が大きな割球、下は小さい4つの割球となる。16細胞期では割球が3段になり、上段が8個の中割球、中段が4個の大割球、下段が4個の小割球となる(図版2の1)。

第5卵割では中割球の環が上下2段に分れる。中央の大割球は縦に分裂し8個の環になる。小割球は2層になり、幼生全体で5層総計32個の割球からなる。

第6卵割では上段2層が水平に分れて計4層となり、大割球がはじめて上下に分裂する。小割球は分裂しないので総計56細胞からなる。32細胞期と56細胞期を桑実胚期と呼ぶ。幼生の外観がブツブツして桑の実に似ているからである(図版2の2)。

第7卵割の頃になると細胞数の倍加と共に細胞が一段と小さくなり、胚の輪郭はますますなめらかとなって胞胚期に入る。胚の大きさは次第に大きくなっていくが、この見かけ上の形の増大は細胞質の量の増大ではなく、卵割腔の拡大によるものである。エゾバフンウニでは卵割腔はよく発達し、細胞はその周囲を扁平になってとりかこみ中空な球状体となる(図版2の3、4)。

#### ② 孵化

第8、第9卵割を通して、生理的には孵化酵素の分泌がはじまる。第10卵割で割球1個に1本の繊毛をもつ。やがて胚は胞胚腔内を回転しはじめる。媒精後20時間で

胚は受精膜を破り外に泳ぎ出る。孵化した胞胚はほとんど球形であるが、まもなく胚は卵軸にそってやや長くなる。動物極の細胞層は長い繊毛を有するようになり、感覚性の細胞に変化する。これを頂器と呼び、幼生はこの頂器を先頭に卵軸の周囲を回転しながら前進する(図版2の5)。

### (2) 浮遊幼生期

#### ① 第一次間充織細胞群の出現

媒精後24時間で胚はすべて泳ぎ出す。この時点で飼育槽の底には正常な発生のできなかつた胚が多数沈澱している(図版2の7)。これらは放っておくと腐り、海水を汚すので取り除くこと。

媒精後40時間で正常な胞胚の植物極側(頂器のあるのが動物極なので、その反対側)の壁に変化がおきる。なめらかであった植物極側の卵割腔に細胞が頭を出しはじめ、ついに壁から抜け出して卵割腔内に遊離する。遊離後は第一次間充織細胞と呼ばれ、ウニ幼生の骨格ともいふべき骨片をつくる重要な任務をもっている(図版2の6)。

媒精後45時間で原口陥入が始まり、のう胚期となるが、原口陥入開始後20時間以内に餌を与えなければならない。そこで、この時期になったら餌の管理は一段と注意深くしなければならぬ。また、飼育槽の水温やpHなど海水の管理に特に注意を払うこと。

#### ② のう胚期：原口陥入と骨片形成

13°Cで媒精後45時間で胚はのう胚期へ移行する。陥入の最初は植物極側の細胞群がよくまとまって背が高くなり、他の平らな外胚葉性細胞から区別できるようになり、次にその塊りは少しずつ壁面から中におちこんでゆく(図版3の1)。陥入後、原腸先端より第二次間充織細胞を生ずる。原腸は細い円筒の形をして動物極側へ成長する。第二次間充織細胞は原腸先端に位置するが、それに導かれるように原腸先端は動物極と連絡する。のう胚期では原口陥入の他に第一次間充細胞による骨片の形成がおきる。(図版3の2)。

#### ③ プリズム期

媒精後65時間で、プリズム期(ピラミッド期)に入る。この時期は体制が確立する重要な時期で、骨格の成長、口陥の形成、消化管の分化などがおきる。原腸が傾いてゆくと、その側の外胚葉にくぼみを生ずる。これが口陥で原腸はやがて口陥に接し開口する。これが幼生の口である。同時に体表には口を囲んで強い繊毛帯ができる。口を除いた原腸は単なる円筒形ではなく、口に続いて食道部は細く、中部は広がって胃になり、最後の

部分はまた細くなって腸になる。原口は幼生の肛門となる(図版3の3, 図15)。

プルテウス期に入る前にすでに消化器系ができていたので、プリズム期には餌を与えなければならぬ。プルテウス期以降になってはじめて餌を与えるようでは発育不全個体を多量に生ずる。

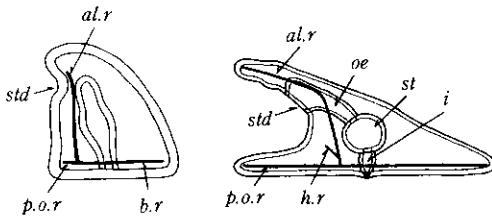


図15 プリズム幼生(左)および4腕プルテウス幼生(右)の模式図  
al.r.: 前側桿 b.r.: 体桿 h.r.: 水平桿 p.o.r.: 口後桿 i.: 腸 oe.: 食道 st.: 胃 std.: 口陥

#### ④プルテウス期

③4腕プルテウス期 4腕プルテウス期は外見的にはプリズム期の延長であるが、骨格が著しく伸びるため、反口側は長く尖り、口側には1対の口後腕と口陥をはさむ1対の前側腕が出てくる。正常な発生では口後腕の方が前側腕より早く出てくる。プルテウス幼生になって後、口および肛門の向いている側を腹面とよぶ。頂器部分は口陥のある面の上縁を占める(図版3の4, 図15, 16)。

4腕プルテウス幼生は200 $\mu$ から成長して500 $\mu$ になる。この時期は体制確立の上から最も重要である。餌の不足および投与時期のおくれは大量の発育不全のプルテウス幼生を生ずる。すなわち、骨の成長が純粋に結晶形成と思われる物理現象なのに、餌不足のため腕のタンパク質形成がおいつかず、骨が裸出し三角形の形をなかなか脱しきれない。さらに時間を経ると腕がのびないで“こもりがさ(アンブレラ)”のように屈曲がふくらんでくる。このような個体は消化器系は形成されているが、餌をとらずにやがて死んでしまう(図版3の5~7)。

プルテウス期は受精後数日で達するが、その後変態を終えるまでの約40日間浮遊幼生として過す。この間の変化は餌を与えなければ死滅してしまうので、発生の専門家が多くのウニ研究の歴史の中でも比較的なおざりにされてきた。久米・団(1957)はこの長い浮遊幼生期を通じての形態変化は浮力を増すためのものに尽きているという。浮力を増すため次の2つの方法がある。1つは強力

な繊毛を持つことであり、8腕プルテウス期に背面、腕の基部をまわって水平方向に密な繊毛帯(エポレット)があらわれる。2つは腕の数を増し繊毛の生える体表面積を増すことである。4腕プルテウス期以降、新しい腕が2対加わる。1対は前側腕の間、口の前方に生ずる口前腕で、他は側面にできる後背腕である。(図16)。

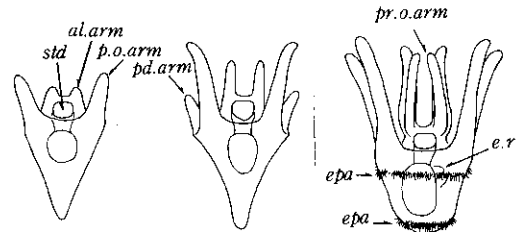


図16 4腕プルテウス幼生(左), 6腕プルテウス幼生(中)および8腕プルテウス幼生(右)の模式図  
al.arm: 前側腕 epa: 繊毛帯(エポレット)  
e.r.: ウニ原基 pd.arm: 後背腕 p.o.arm: 口後腕  
pr.o.arm: 口前腕 std.: 口陥

⑤6腕プルテウス期 早いものでは受精後8日で、平均して10日でこの期に到達する。新しく1対の後背腕が、すでに長く成長している口後腕と前側腕の間から形成される。胃は体の中央部に大きく位置を占め多量の浮遊藻類を満たし、常時収縮をくり返している。口の部分の繊毛はさかんに運動して浮遊藻類をとり入れている。同時に肛門からの排出量も多い(図版4の1, 図16)。

6腕プルテウス期の幼生の大きさは約550 $\mu$ である。プルテウス幼生の時期で2.5倍の大きさに変化するはこの4腕期から6腕期へ成長する時期しかなく、いかにこの時期が体制の確立に重要かがわかる。飼育水槽内の死亡率はこの時期に高くなる。

餌の不足と水温の上昇には特に注意すること。

海水温度の上限は、この時期14 $^{\circ}$ Cである。

⑥8腕プルテウス期 受精後17日目、8腕前期のプルテウス幼生を確認した。前年の採苗所の報告書では15日目に確認しているので、厚岸湾産エゾバフンウニの場合、およそ2週間て8腕前期に到達すると考えてよい。幼生の大きさは600 $\mu$ から650 $\mu$ である。

8腕プルテウス期は次の変態期までの約25日の長きにわたり、体の変化は特徴的である。発生学の教科書では繊毛帯(エポレット)の形成を基準に前期、後期と区分しているが、ここでは体桿部分の吸収の度合、腕の成長の度合および繊毛帯の有無によって、前期、中期、後期に分ける。



前期ではまず新たに口の前方に1対の口前腕が形成される。前側腕のとなり、口部の周辺に口前腕の芽が確認できる。体桿部分はよくのびており6腕期と大差はない(図版4の2)。

中期になると口前腕はよくのび、それにともなって体桿部の後端部分が少し吸収され短くなる。前繊毛帯の発達もよく観察できる。前期、中期ともに胃の中は餌で満ちている。(図版4の3)。

後期のはじめは口前腕はまだ口後腕や前側腕の長さに達しない。体桿部は鋭さがなくなり、後繊毛帯がよく観察される。この時期から胃の周囲に新しい構造物(ウニ原基)が生ずるため、胃を観察することが困難になる(図版4の4, 5, 図16)。

### (3)ウニ原基の形成

8腕プルテウス中期より幼生の胃の左側に接して水腔と呼ばれる小さな袋と羊膜陥ができる。羊膜陥は水腔と接するようになり、羊膜腔となる。この羊膜腔と水腔とがウニの口と開口部とを形づくるのでウニ原基とよばれる。また羊膜陥の形成と共に、幼生の体表を水平にとりまく前後の繊毛帯を生ずる。このため幼生の運動は一段と強力となる(図版4の6, 7)。

変態期が近づくと、これらウニ原基から管足が形成される。

中期からはじまる胃の周辺部の変化は8腕プルテウス期のなかで最も重要である。それはウニ原基の形成である。変態期に入るまでの約2週間、内部でおきる形態的および生理的変化の激しさは死亡率の上昇となってあらわれる。餌の補給と換水に留意すること。15℃。

### (4)変態期

①変態期直前の特徴 ウニ原基が形も大きくなり、胃を圧迫しながら動いているのが、双眼実体顕微鏡を通して観察できる。8腕後期になると色調の変化があらわれ、6腕期、8腕前期にはみられなかった小さくて丸い赤い色素粒が、胃とウニ原基を囲んで円をえがくようになる。やがて透明であったウニ原基は、大きさを増すと同時に不透明になり、胃の周辺部は透明のまま、濃いみどり色に囲まれる。特に元気な個体では赤色素が赤紫色に変化し、胃の周辺部の緑色とコントラストをなす。8腕前期に黄色であった胃は、この時期になっても黄色のままでもなお多量の餌を認める(図17)。

2, 3日後ウニ原基の部分に管足を認める。媒精後42日目である。この管足の出現でプルテウス幼生は変態期に入り、浮遊幼生期を通して最も大きかった8腕後期プルテウス幼生(約900μ)は小さくなってゆく。飼育槽

の個体で認めたこれらの変態期直前の特徴、特に色調変化は厚岸湾内からプランクトンネットで採集した天然個体でも同様であった。

### 変態期直前の5つの特徴

- ①幼生の胃およびウニ原基のまわりを赤い色素粒がかこむ。
- ②ウニ原基が大きくなり、胃を圧迫する。
- ③赤い色素粒が赤紫色に変化し、胃の周辺部の濃い緑色と強い対比をなす。
- ④腕が短くなる。
- ⑤ウニ原基に管足ができはじめる。

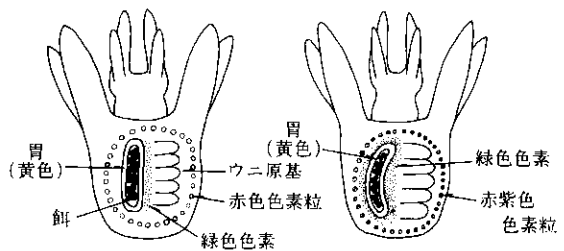


図17 変態期直前の幼生の色調の変化

ウニ原基がよく発達し、胃を押しやる。黄色の胃とその周囲の緑色部および赤紫色色素粒が鮮かである。

変態に備えるため、湾内の海水温上昇にあわせて徐々に17℃にまで上げる。餌は充分に与え、換水はひんぱんに行うこと。

②管足の出現 ウニ原基にできた管足は、ある程度成長すると体表を破って外に突き出し、羊膜腔は再び外界に開く。胃の部分とウニ原基は大きさを増し、しだいに不透明になる。腕の長さは8腕後期から比べてずっと短くなる。管足を生じた個体も胃の内容物は多く、さかんに収縮運動をする。やがて管足は2個から3個、4個、5個と連続的に観察される。管足は全部で5つある。この時期においても繊毛帯の運動は活発で、双眼実体顕微鏡下でもかなりの速さで移動する。大きさは約800μ(図版5の1, 2)。

プルテウス期を通して最大であった8腕後期以降、腕は萎縮しはじめていたが、ついに骨が露出する個体も出てくる。

管足が出た時点で、飼育槽から一定数の個体を取り出し、附着硅藻のついたプラスチック製波板の入った新しいピーカーに移すと、管足を長く伸ばし、その先端にある吸着盤によって波板上を移動するのが観察できる。

③プラスチック板上の変態 変態期が近づき管足を出

しはじめた幼生に、稚ウニとなって付着するための基物を人工的に与える試みをおこなった。コンブ、アオサ、アナメなどの海藻、また海藻のついた小石で試みたが、付着したウニの幼生を探ることが不可能であった。最終的にプラスチック板が好適であることが判った。この板上で移動しながら変態する個体を観察した。また付着後の追跡調査のためには透明なプラスチック板に付着硅藻をつけることよきことも判明した。ただし稚ウニになるまでの期間の餌は浮遊藻類も同時に与えたと、浮遊藻類を捕食していた。

④変態のメカニズム　ウニ原基が8腕プルテウスの体表を破って出る過程を変態という。発生学の教科書等では数時間を要するというが、今回、我々はこの変態の過程が20分で終了することを確認した。

変態期になると、先端の尖った棘と、尖っていない棘の二種がで、腕は8本とも短くなり本体の約3分の2になる。これらの変化はプランクトン性の幼生でもみられ、かならずしも、プラスチック板に付着してなくてもよい。後繊毛帯の動きはまだ活発であり、管足が他物に付着することが変態の引き金となる訳ではなさそうである。

体長約750 $\mu$ になり腕がますます吸収されて短くなる。羊膜腔のうち返りがはじまると同時にプルテウスの腕はみるまに吸収され、吸収の遅い骨片は裸になって体表に残される。残された骨片は捨てられて体全体が丸くなる。体全体が丸くなるにしたがい、管足、棘が完全に体表面にあらわれ、次第に成体のウニの形となる。やがて骨片もみえなくなるとほぼウニの形となる。大きさは約400 $\mu$ である。

我々はプランクトンネットを引いて得た天然の幼生の変態を連続的にとらえた。巻末に21時05分にはじまり21時25分に終了した20分間の記録写真を示した。(図版5の3~7)。

変態終了後のこれらの個体は管足で基物に付着し底棲生活に移行すると思われるが、今回の研究の目的は「変態期までの飼育」であったので以後の観察はうちきった。ただし、変態個体のうち、一部を硅藻付着板上で飼育(ピーカー内、17 $^{\circ}$ C)したものがあつたので、簡単に成長の度合を示す。

硅藻付着板と共に浮遊藻類も与えておいたところ、10日目まで直径約650 $\mu$ になった。また、側面からみると、先端が4つに枝分れた棘がすべて上を向き、先端の分かれてない棘がすべて下を向き、二種の棘が分かれて分布していることがわかる(図版6の1~6)。

管足で付着している個体を人為的に基物からひき離しピーカーの底におくと移動する。この期以後のウニの正常な成長にとっては、付着できる基物と付着硅藻が必要である。

## 6. 幼生の死亡

今回の飼育実験に特徴的なことは、4腕プルテウス期で成長が停止し、プルテウスの形が変形する、いわゆる「發育不全個体」が生じたことである。發育不全個体は以後多く餌を与えても、また環境を良好にしても、決して6腕期以後に進まず、結局この個体の多いグループは捨てざるを得なかった。發育不全個体は7月に入ってから媒精したもののおよび餌を与える時期が遅れたものに多く生じることがわかった。發育不全個体の発生原因の糾明とその解決策については取組まねばならない課題である。以下にプリズム期以降の死亡について順を追ってのべる。

### (1) 4腕プルテウス期の發育不全個体

発生学の教科書によると「受精から4腕期までの幼生は餌をとらずに發育し、浮遊生活に適応する時期である…」とよく書かれている。しかし、今回の調査によると少なくとも厚岸湾のエゾバフンウニでは消化管の形成されるプリズム期にはすでに多量の餌が与えられていなければならない。消化管ができあがっているプリズム期に餌を与えず、4腕プルテウス期に餌を与えても、腕がよく成長せず、胃の中に餌をとりこまない個体が増加する。このような個体の特徴は、骨の成長に腕の肉質部の成長がおいつかないことである。おそらく、骨の成長が結晶形成を含む物理現象であるのに対し、肉質部分は餌不足のためタンパク質形成がおくれるためであろう。また、餌は消化管の形成が終了すると同時に口部の運動をおこす引き金としての役割も果していることが考えられる。プリズム期に餌を与えないと、時間が経つにつれて腕の骨も短くなり典型的なアンブレラ形となる。

發育状態のよい4腕プルテウス幼生であっても飼料条件が悪化すると、胃の周辺部にアンブレラ形の特徴があらわれる。より進むと、胃の中にほとんど食物がなくなり、アンブレラ形が固定し、特に前側腕の萎縮がはじまり、骨の先端が突き出る。以上のように、發育不全個体の出現は、餌を与える時期と餌の量が大きな要因である。

また、媒精時期が遅くなっても發育不全個体を多く生じている(図版7の1~5)。

### (2) 8腕プルテウス期の死亡

8腕前期から変態開始までの約25日間、プルテウス幼生の体内では大きな形態的变化が進んでいる。この時期には4腕期から6腕期へ到る時よりもさらに大きな値で死亡個体数が増える。この時期の飼育環境は、変態を誘導するために少し高温にする方がよいとの実験結果に基づいて、徐々に15 $^{\circ}$ Cまで上げる。そのため特に水質管理には留意し、温度、pH、餌について連日チェックし、換水をひんばんにする。このような管理をしながら、幼生

の形態変化に注意を払う。

この期の死亡個体を調べると、一定の法則がある。まず、①胃のある個体でも餌をとっていないものが出現する。このような個体は概して、腕、特に外側の4腕に萎縮があり、腕の先端に骨が突出する。次に、②変態期の近づいた個体でもないのに（体桿の先端部が丸くなっていない）、外側の腕が短くなって骨が突出し、胃の形が不明確になり、胃の上部に“うろこ”状構造が認められる。また、③腕の伸張が一見してアンバランスになり、胃は消えたようにまったく認められなくなる。さらに、④健康な幼生ならば自己の排出した糞を体表に付着させることはないが、このような個体ではしだいに付着してくる。さらに、⑤時間がたつと細菌の感染によって体のところどころが赤紫色に変色し、腕はますます小さくなって骨がとび出してくる（図版7の7、図版8の1～5）。

形態的变化が以上のような過程をたどるものは、まもなく死滅するので、早急に飼育槽から捨て去ることが必要である。

#### (3)変態期の死亡

変態期直前になると、小さくて赤色の色素があらわれ、やがてウニ原基が胃を圧迫し、胃の周辺が緑色になり腕が開かれるようになりながら短くなる。このなかで腕が内側にまきこまれたような幼生がでてくる（図版7の6）。

このような幼生でも管足は生じており変態ははじまっているが、やがて胃、ウニ原基の区別がなくなり死亡する。また、形態的には完全な稚ウニになっても死ぬことがある。珪藻附着板の上で棘、管足を動かして元気なようにみえても、体に排出物などが付着しだすとその個体は死ぬ。8腕前期の個体の場合も同じであるが、体に付着物などが付きはじめると大多数のものは死滅する。現在のところ死亡の原因およびその対策は不明である。このような状態になったらなるべく早く除去することである（図版8の6、7）。

#### (4)解決の方向

海産無脊椎動物のプランクトン期の死滅の主な原因は餌不足である。すでに述べたように、エゾバフンウニの4腕プルテウス幼生はプリズム期以後の摂餌状態が悪いと成長が止まり、6腕プルテウス幼生に発達しない。したがって、エゾバフンウニにおいてもこの幼生期における飼料条件が正常な生長にとって重要な要因であることは間違いない。

しかし、飼料条件および飼育槽の環境を同一に設定しても7月に入ってから（特に7月中旬以降）媒精したもものには発育不全個体が生じ易い。卵や精子の成熟度が合

関与することが考えられる。それは湾内のプランクトンの調査でも確認された。7月31日のプランクトン調査によると、46個体の4腕プルテウス幼生のうち、大部分は発育不全個体であった。これらの結果は湾内でも産卵のおくれた個体では多くの発育不全個体を生じていることを示唆している。

今回の飼育実験では42日目に稚ウニを得た。また、プランクトン調査によって7月31日、8月1日、2日の段階で天然で変態した直後の稚ウニ（約400 $\mu$ ）が浮遊している事実をつきとめた。したがって、湾内では6月20日以前に良好な産卵、受精がなされたとみるのが妥当であろう。今後の課題としては更によりよい媒精時期と受精に適するウニの年令の解明がある。

生殖巣の成熟度を知る方法として生殖巣指数（生殖巣重量÷全重量×10）がある。津軽海峡に面する尻岸内でのエゾバフンウニでは9月が最高値を示している。10月には激減し、11月に最低値を示している。ここでの産卵期は9—11月といわれている。また、サロマ湖では7—8月、網走では6—7月、礼文島の船泊、忍路では9月にそれぞれ生殖巣指数の最高値があらわれる。また少数の地域ではあるが生殖巣組織化学的検査もおこなわれ受精に適した卵と精子を得る解析がなされている。

#### 今後の課題

- ①浮遊藻類の大量培養と効率のよい餌の開発
- ②良質な生殖細胞の確保

#### 7. 変態の条件解析——天然採集個体による実験

変態期に入ると一般に動物は生理的に不安定となり、陸生動物や両生類では餌の質、量に変化がおきる。ウニの場合、飼育温度と、与える餌の量が二つの大きな問題である。

これを解決するための実験には、プランクトンネットによる湾内採集の8腕後期の幼生を用いた。その結果、よく発達した後期の幼生は餌を十分にとっていることがわかった。次に、低温（12℃）で継続飼育した人工飼育の実験幼生群には変態の特徴が現われないこと、および海水の温度が上昇する8月に変態期をむかえる厚岸湾の環境を考え、高温が変態の引き金になることを予想した。

#### 実験の内容

目的：①飼育温度により変態する割合が変わるか

②餌の量により変態する割合が変わるか

材料：1974年8月5日、実験所沖100メートルの地点よりバラサン岬に向け海面より1メートル以浅でネット採集した個体のうち、8腕後期のプルテウスを使用した。

実験群	温度	餌の与え方
No 1	17°C	毎日与える
	17°C	2~3日毎に与える
	19°C	毎日与える
	22°C	毎日与える

方法：②については17°Cとして、連日餌を与える場合と、2, 3日毎に与える場合とした。海水は8μのメンブレンフィルターを通し毎日交換した。従って、実験群は下の4つであり、各8個体を200mlの腰高シャーレで飼育した。実験開始は8月6日である。

結果：観察の結果は次の表のとおりである。

実験群	月日									
	8/6	8/7	8/8	8/10	8/11	8/12	8/15	8/21	8/23	
No 1	8個体	8	8注2(7)	8	8	8	8	8注4(2)	6	
No 2	8	8	8注2(4)	8	8	8	8	8	8	
No 3	8	8	8注2(6)	8	8	8	8	8注4(2)	6注6	
No 4	8	8	注1注2(7)	7	7	7	注3(7)	注5(0)	—	
餌	No 1~4	1, 3, 4	1~4	1, 3, 4	1~4	1, 3, 4	1~4	1~4		

- 注1. 1個体は消化管がなくなっており、経験的にこのような個体は必ず死ぬことが知られているのですぐに捨てた。
- 注2. ( )内の数値は消化管に藻類の入っている幼生数である。No 2の4個体は食べているが他のグループと比較すると少ない。
- 注3. No 1~3は8個体とも発生段階が似ているが、No 4は腕が短くなっている割に発育が不良かつ発生段階が不ぞろいである。No 1~3ではみられない形のものも多くなっている。
- 注4. No 1の2個体、No 3の2個体に管足を生ずる。これら変態個体は隔離し、別のシャーレに移した。
- 注5. 死骸3個体みつかると。1個体はまだ生きていたが腕がなくなり丸くなっていた。消化器官はあるが餌は食べていない。残りの3個体はとけてしまったのか死骸はみつからない。No 1~3のプルテウス幼生はほとんど餌を食べている。
- 注6. No 3の発育状態が不ぞろいになってきた。

結論：変態を誘起するには媒精時の12~13°Cより高温にした方がよいが、17~18°Cをこえてはならない。厚岸湾では8月の平均水温が19°Cであるので、変態完了は8月前半に終わるものと考えられる。

餌は変態期にも必要でNo 2が変態しなかったこと、湾内で採集した8腕後期の個体が餌を十分とっていたことから餌はプリズム期より変態期まで途切れる

ことなく与えることが必要である。

#### 8. プランクトンネットによる湾内調査

7月に入って媒精したものに多くの発育不全個体を生じたので、湾内での天然受精個体の発育状況について調査した。

プランクトンネットで図のように海面より1メートル以浅の水平引きを行った。多数のプランクトンの中より各種発生段階のプルテウス幼生の数を測定すると共に餌の捕食程度および餌の種類を調べた。この過程で浮遊稚ウニの発見、および良好な放卵放精の時期が逆算できた。

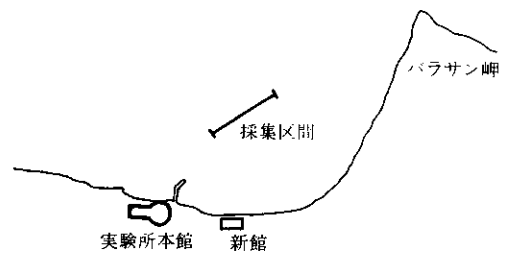


図18 プランクトン採集地点  
実験所機橋の100メートル沖よりバラサン岬へ向けて直線で100メートルの区間で採集

#### (1)湾内で採集されたウニの幼生

結果を表にまとめると次の様になる。

1974年	4腕プル テウス	6腕プル テウス	8腕プル テウス	稚ウニ	計
7月31日11:30	46	22	4	3	75
8月1日11:00	3	4	2	3	12
15:00	0	0	1	1	2
2日11:00	0	0	0	0	0
11:50	0	2	1	1	4
12日15:00	1	0	0	0	1
計	50	28	8	8	94

この結果から次のことが考察できる。7月31日、8月1、2日に採集のプランクトン群のなかから変態直後の稚ウニを得た。飼育実験のものでは変態までに42日要したことから推算して、この稚ウニ群はほぼ6月20日以前に受精したものである。同時に4腕、6腕、8腕のプルテウス幼生もいることから湾内の放卵放精は何回かにわたってなされている。発育不全個体は全て4腕期で停止しているので恐らく受精時を異にした個体が混在しているのであろう。したがって6腕期のものは7月20日前後、8腕期のものは7月10日前後に受精した個体であらう。

8月後半、9月前半の資料を欠くので推定となるが、稚ウニは7月後半から8月前半にしか採集できないと思われる。その理由は、実験室での結果によると7月以後に媒精した場合、発育不全個体の出現が多く、6月5日に媒精したウニではそれが極めて少なかったことから、湾内での放卵放精がたとえ数度なされていても、最も多くの稚ウニを生ずる良好な発育をする幼生は6月中に放卵放精されたものと推定できるからである。

採集した50個体の4腕プルテウス幼生は発育不全個体が大部分であり、餌もほとんどとっていない。自然環境の中でも餌の不足や時期おくれの産卵は発育不全個体を出現させるのだろう。また、変態した稚ウニは底生に移行するものであるが、浮遊している稚ウニがみられることは人工種苗上二つの問題を提起している。一つはこの浮遊性の稚ウニを捕獲して人工飼育すること、もう一つは、海底に稚ウニが附着しやすい構造物をつくってやることである。

## (2)天然プルテウス幼生の餌

天然プルテウス幼生は全般的に餌のとり方が少なく、発育不全のまま4腕プルテウス期で変形している個体が多い。しかし、6腕期を経、8腕期になり腕が伸張し色素を持ちよく発育しているものでも必ず胃の中に多量の藍か、数は少なくとも形の大きな餌をとりこんでいる。この餌の内容を調べるために次の方法を用いた。

## プルテウス幼生の摂餌物の観察

方法：よく発達した6腕あるいは8腕前期の幼生をスライドガラス上にとる。周囲の海水を吸水紙で吸い取り淡水をおとす。幼生の内部が外液に対して高張になるので膨潤してくる。その上にカバーガラスを静かにのせる。胃の内容物が余り散乱することもなく、こわれた胃の周囲に出てくる。検鏡する。

結果：浮遊硅藻もあるが、最も目につくのは原生動物である。動き回る速さや形からして繊毛虫類であろう。胃内には平均して2~3個あるにすぎないが、直径約30μの球形である。種名については不明である。

プルテウス幼生が原生動物をとりこんでいるのは今後餌を考える上で非常に参考となる。なぜならば、浮遊藻類が余りにも小型なため大量に培養しなければならぬこと、また、飼育槽の中に大量投入しなければならず、飼育海水の水質維持の面からも問題となっているからである。さらに藻類培養液に含まれる金属イオンが餌を通してプルテウス幼生に入る恐れがある。Cu<sup>2+</sup>、Zn<sup>2+</sup>、Mn<sup>2+</sup>、Co<sup>2+</sup>は奇形をはじめ発育不良個体を起こすことが知られている。したがって、大量に培養しなくてもすむ体積の大きな餌の開発、それも自然海水の中で増殖する餌の開発が望まれている。ただし、繊毛虫類の中には幼生を食害する種類もいる。

## 9. 今後の課題

今回の飼育実験の結果、エゾバフンウニのプルテウス幼生はプリズム期以降の摂餌条件が悪いと発育不全となり4腕期にとどまり変形すること、また、6腕期から8腕期まで進んでいた個体も餌不足になると変態しないことが判った。また、豊富な飼料条件においても、7月に入ってから媒精したものには発育不全個体が多くなることから、媒精時の卵、精子の生理的活性度も正常な発育にとって重要な条件であることも判った。

ここでは、浮遊幼生が減耗する上記二つの原因を中心として、今後解決しなければならない問題を整理し、解決策を述べてみたい。

### (1)良質な卵と精子の確保

変態直後の稚ウニが採集された月日と飼育実験の結果から、厚岸湾では6月20日以前に一つの良好な放卵放精の時期があるものと思われる。

しかし、卵巣、精巣の成熟度はウニの生育場所、水深・水温、年齢によって異なるから、各時期における「厚岸湾内産ウニの成熟度を示す地図」をつくる必要がある。

そのためには、より詳細なプランクトン調査を主体とした生態学的調査と、生殖巣の質的量的変化の調査が必要となる。

①生態学的調査 湾内での放卵放精はかなりの回数におよぶであろう。このうちウニにまで成長する卵の放卵時期と放卵場所等を確認する必要がある。そのために、5月以降9月末まで毎週、湾内のプランクトン調査を行い、胞胚やのう胚の出現場所と時期、および変態直後の稚ウニ(400 $\mu$ )の出現期を解明する。これは最良の放卵放精時期を推測する上で重要な手掛りとなる。また、成熟ウニの出現時期・場所における水深、水温、生育海藻の種類、地形底質などを知る必要がある。これらの調査によって、湾内における成熟ウニの出現時期、場所を予測することが可能となるだろう。

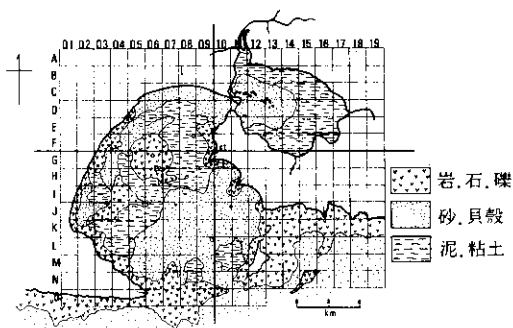


図19 厚岸湾底質図 stは臨海実験所

②生殖巣の質的量的変化の調査 他の動物と同じように、ウニも一生のうちどの年齢で最良の卵、精子を出すかが定まっていると思われる。どの年齢(殻径で示してもよい)のウニが最良の卵・精子を形成するかは生殖巣の組織学的および組織化学的解明と飼育実験によってのみ可能である。

同一場所で捕獲されたウニについて、年齢別に生殖巣を調べ、回復期、成長期、成熟前期、成熟期、放出期に分類し、卵、精子の状態を顕微鏡レベルで調べれば判明すると思われる。

川村(1973)は、忍路において生殖巣の発達の良いウニ(生殖巣指数1.5以上、殻径36mm以上)の卵から、多くの稚ウニを得たが、生殖巣の発達は良好でも初産卵群に属する小型のウニ(殻径27.1mm)の卵からは稚ウニを得ることができなかったこと、および、浅い場所に生息しているウニの方が、深い場所に生息しているウニより早く生殖細胞を放出することを報告している。

(2)湾内で採集される8腕後期プルテウス幼生および稚ウニの人工飼育

今回のプランクトン調査により、湾内には7月後半より、8腕後期プルテウスと変態後底生に移行できない稚

ウニが多量に浮遊していることが明らかになった。修煉すれば、双眼実体顕微鏡の下でプランクトン群からかなりの早さでそれらを分離できるであろう。変態後の定着条件および飼料の開発が解決できるなら、天然採集のこれらの個体を人工飼育に切りかえ育生する方法が可能となる。天然環境の中で生きのこったプルテウス幼生と稚ウニであるから、変態の率および生存率のよい個体であることが予想される。検討すべき課題であろう。

### (3)プルテウス幼生の餌の確保

4腕プルテウス幼生までの発生は餌なしで進行するが、我々の実験によると、消化器系の形成されるプリズム期までには餌を与えておくことが必要で、のう胚期に与えておいても早すぎるということはないと思われる。

餌はプリズム期から変態終了までの約50日間飼育水がわずかに色づく程度に与え続ける。この間、どの発生段階においても餌不足は致命的である。餌自体も生物なので、餌として使用可能な濃度にまで増やすには良好な条件と日数が必要である。絶えず使用できる濃度でこれを50日間培養を続けることは一つの大きな仕事である。今回、浮遊藻類を培養して気づいたことは次の2点である。これの解決が餌の大量培養の合理化につながる。

- ①浮遊藻類の純粋培養法の確立
- ②プルテウス幼生と同居して飼育海水中で増殖できる餌の発見

①について 今までの方法では、原生動物がなぜか混入することが多い。混入すると必ず培養容器の所々に藻類の沈澱を生ずる。これを顕微鏡で調べると、藻類が付着しあい固まりとなり、その中に数種の原生動物が動き回っている。この原生動物は運動能力からみて繊毛虫類(体表に運動器官としての繊毛がある)と思われる。初期の沈澱を生じて2~3日後、濃い茶色をしていた培養液は透明になり、浮遊藻類は大部分沈澱してしまう。なによりも原生動物の混入を物理的に防ぐことが大事である(図20)。

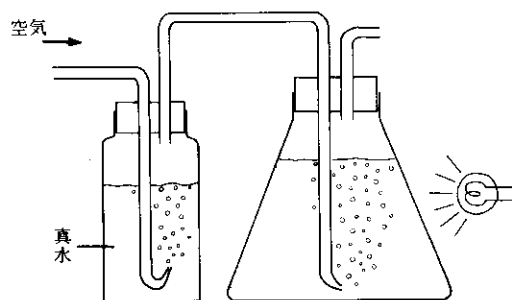


図20 浮遊藻類培養装置  
空気を真水に通し原生動物を殺す

②について 浮遊藻類を餌とする場合の非能率的なことは、ウニの飼育海水で藻類を培養できないことである。実験発生学の成果として、金属イオン、特に  $\text{Li}^+$ 、 $\text{Hg}^{2+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$  などがウニの初期発生に悪影響をおよぼすことが知られている。今回使用した培養液は極めて有効であったが、 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Mn}^{2+}$ 、 $\text{Co}^{2+}$  を含むため特に遠心分離器にかけて藻類を分離した上で使用せざるを得なかった。しかし、それでも藻類自体がこれらの金属イオンを含有していることは否定できない。そこで、ウニの幼生と同居でき、飼育海水の中でも十分に増殖可能な餌の開発が期待される。おそらく天然採集のプルテウス幼生の餌になっている繊毛虫類のように運動性がある浮遊性の原生動物の中から得られるだろう。あるいは、金属イオンの入らない培養液や金属イオンを必要としない種類の餌を探すことも一つの方法である。

## 10. 文献

- Hinegardner, R. T. (1969) Growth and development of the laboratory cultured sea urchin. *Biol. Bull.* 137, 465-475.
- 川村一広 (1970) エゾバフンウニとキタムラサキウニの浮遊幼生の形態変化について 北海道立水産試験場報告第12号: 25~32.
- (1973) エゾバフンウニの漁業生物学的研究 同上 第16号 1~54.
- Kobayashi, N. (1971) Fertilized sea urchin eggs as an indicatory material for marine pollution bioassay, preliminary experiments. *Publ. Seto Mar. Biol. Lab.*, XVIII (6) 379-406.
- (1973) Studies on the effects of some agents on fertilized sea urchin eggs, as a part of the bases for marine pollution bioassay I. *Ibid.* XXI (2) 109-114.
- 久米又三, 団 勝磨 (1957) 無脊椎動物発生学 培風館
- 松井 魁 (1966) ウニの殖増 日本水産資源保護協会
- 沼野井春雄 (1980) 現代生物学大系 第11巻 b 中山書店

大久保勝夫, 大久保孝子 (1961) 水質汚濁の生物学的判定法の研究 II, 東海区水産研究所研究報告 32: 131-140.

Onoda, K. (1931) Notes on the development of *Helicodaris Crassispira* with special reference to the structure of the larval body. *Mem. Col. Sci. Kyoto Imp. Univ. Ser. B*, 7: 103-134.

— (1936) Notes on the development of some Japanese echinoids with special reference to the structure of the larval body. *Jap. J. Zool.* 6: 637-654.

— (1938) Notes on the development of some Japanese echinoids with special reference to the structure of the larval body, Report II, *Ibid.* 8: 1-13.

佐々木, 干場, 吉岡 (1967) 尻岸内産ウニに関する研究 1. エゾバフンウニ及びキタムラサキウニの年生殖周期 生物教材第5号: 21-34.

内田 享, 岡田弥一郎 (1960) 動物の解培・組織・発生 (1) 無脊椎動物 中山書店

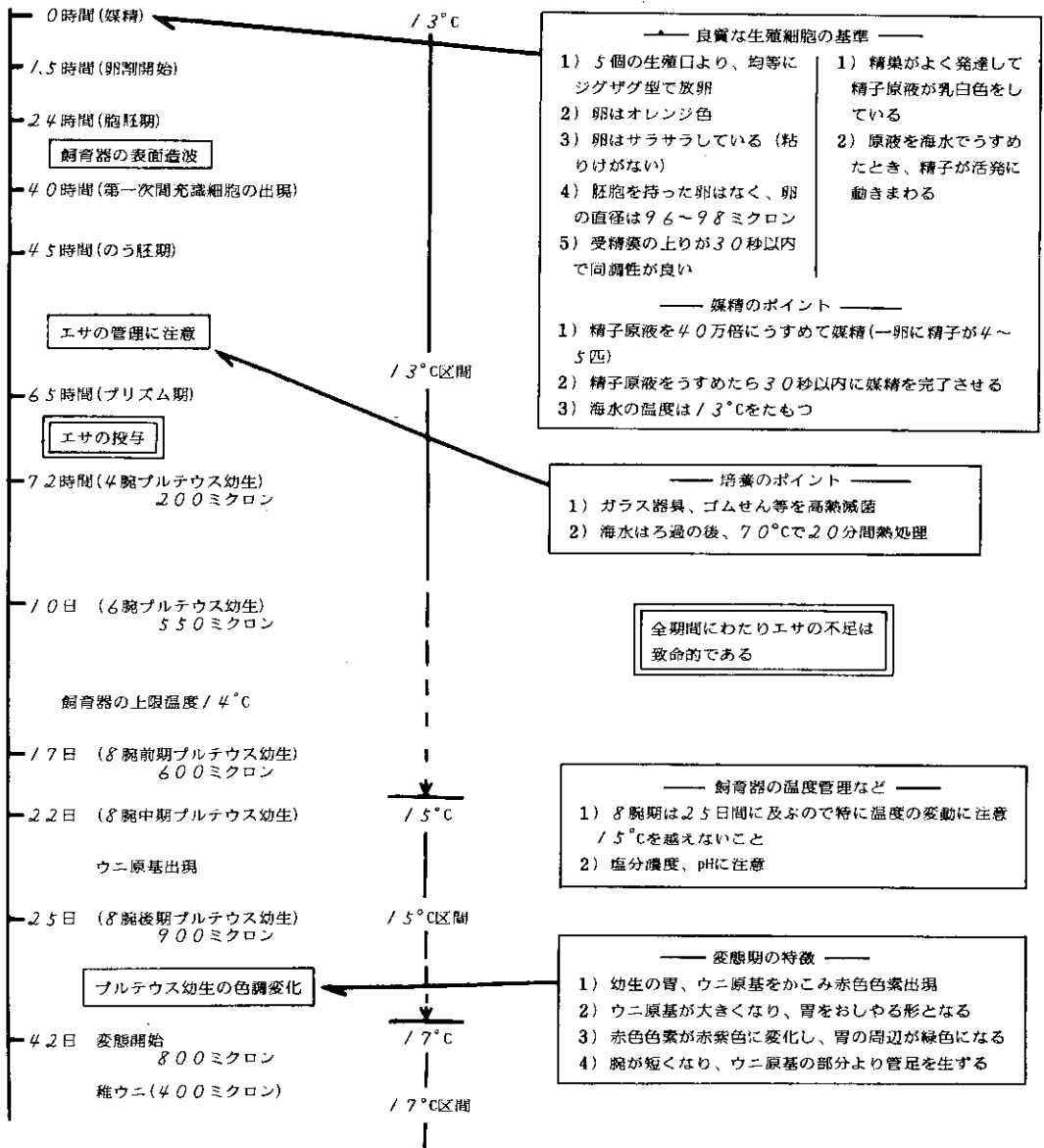
山辺 晃 (1962) アカウニ幼生の飼育について 水産増殖10 (4): 213-219.

## おわりに

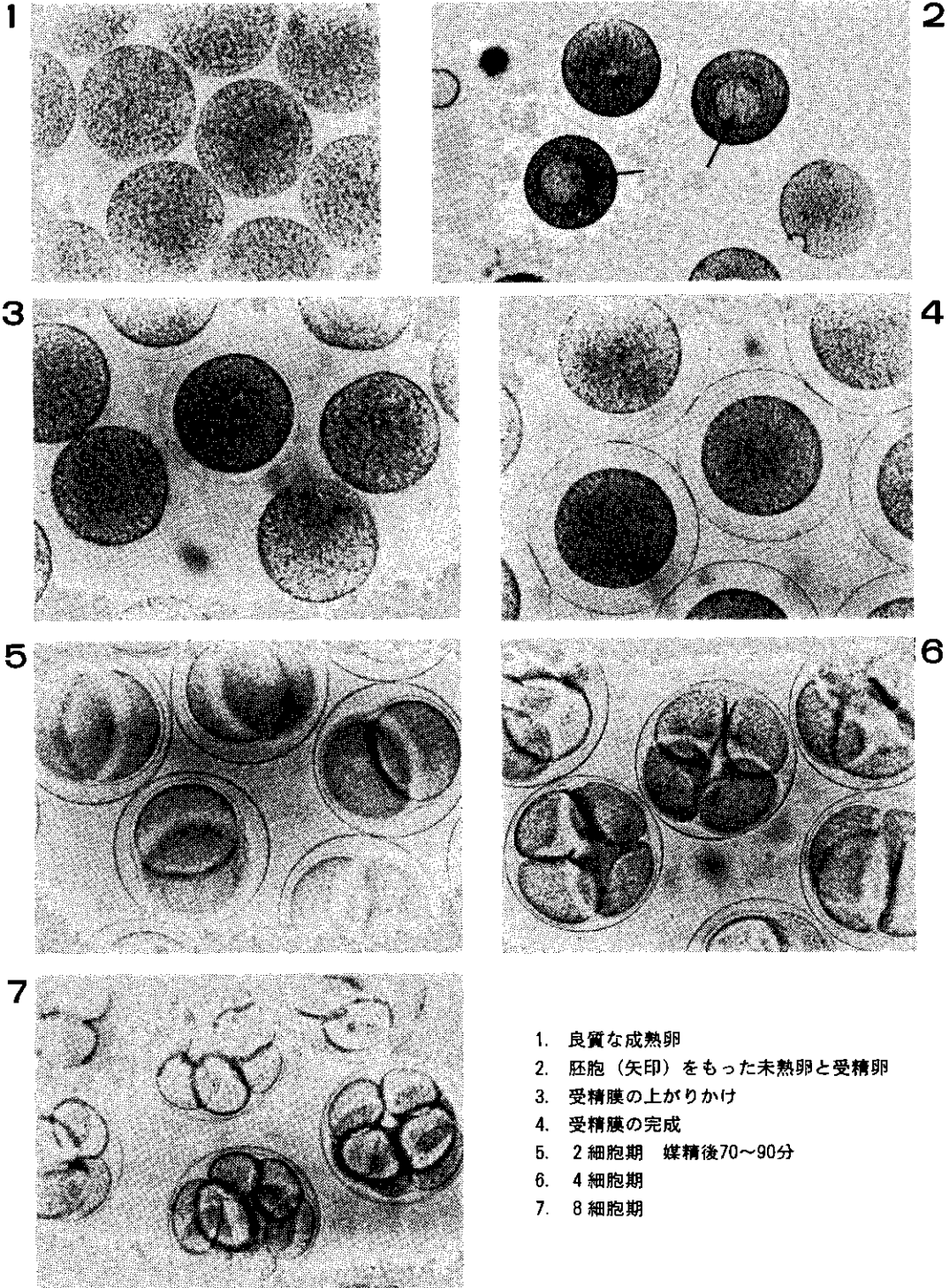
今回の基礎研究は厚岸湾のエゾバフンウニについてのものである。同じエゾバフンウニでも地域により最適受精期が異っている。また、地方によっては異種のウニが漁業資源となっている。今回の我々の基礎研究を生かせて頂ければ幸いである。

最近、とみに厚岸湾内の海水の汚れが進んでおり、また、大規模な埋立てにより自然海浜による浄化作用が損なわれることが心配である。ウニの発生を使って海水の汚染度をはかる研究がなされるぐらいウニは良質の海水を必要とする。環境を保全する努力も人工採苗と同様に漁業資源確保の上で重要であることを付記しておく。

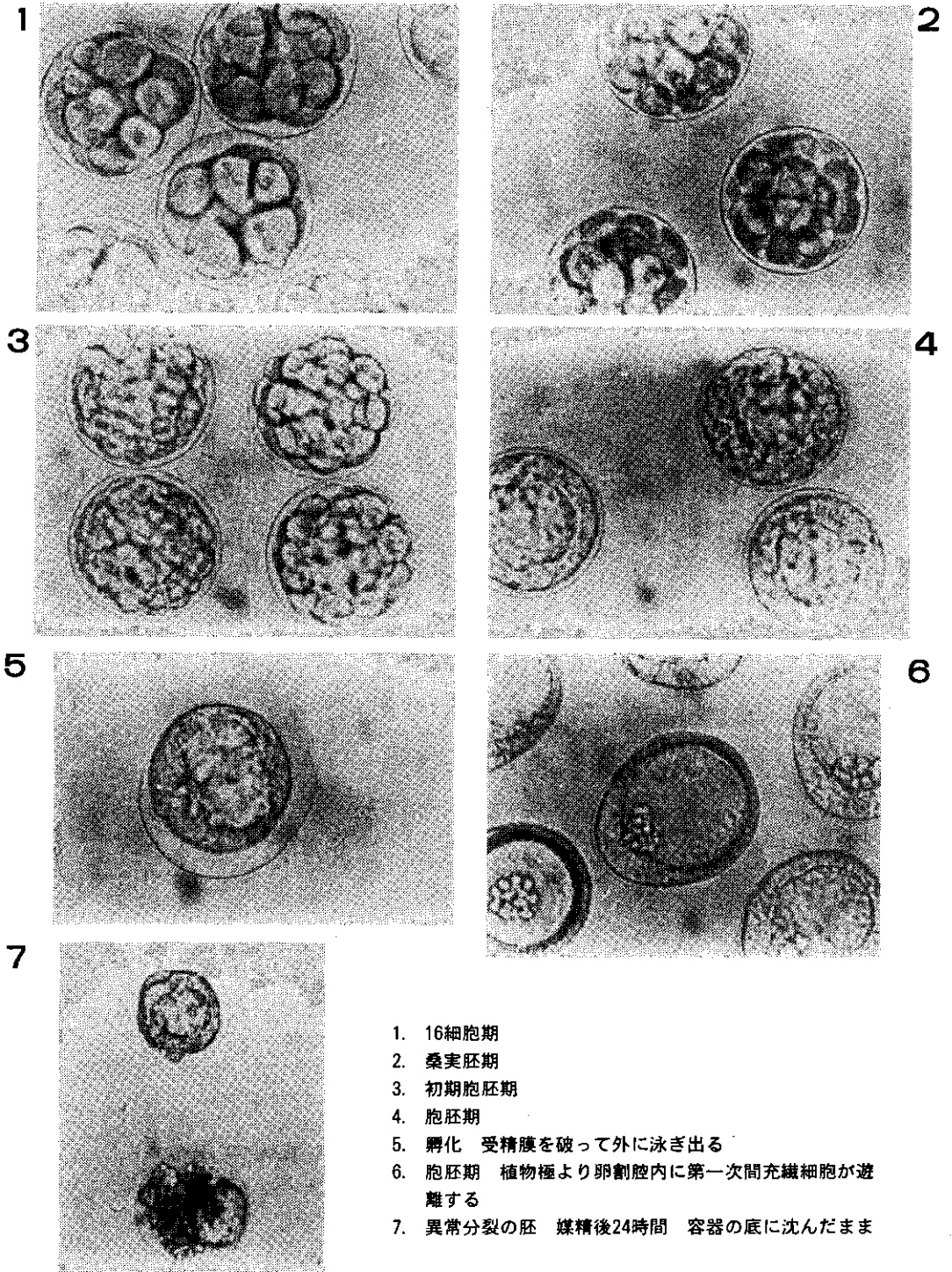
厚岸産エゾバフンウニの飼育についての一覧表



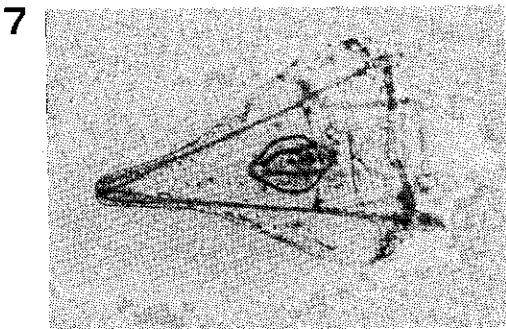
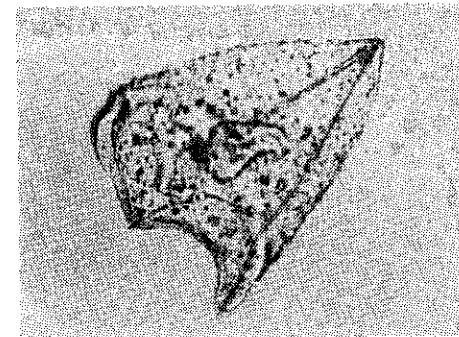
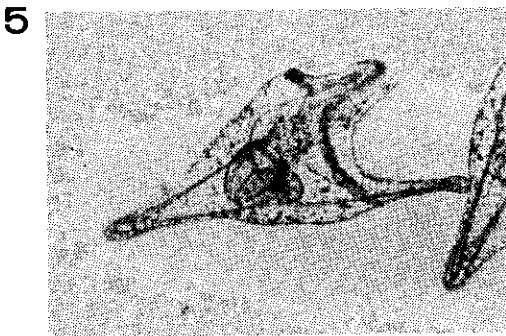
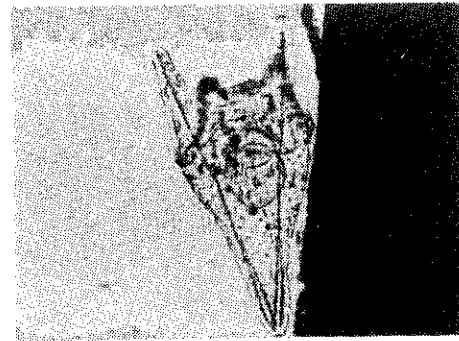
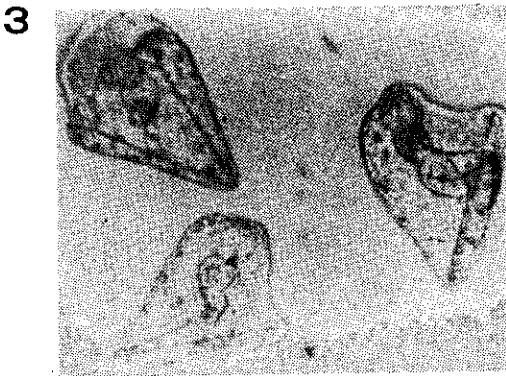
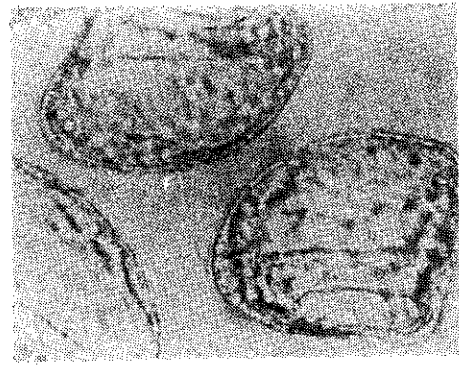
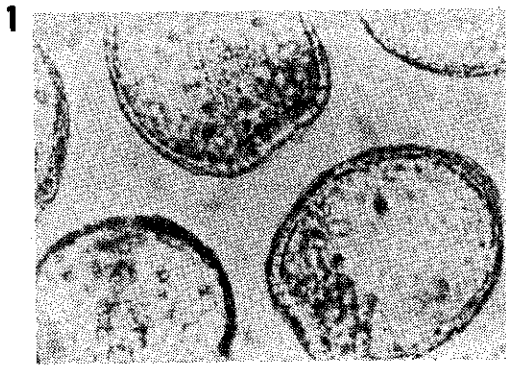




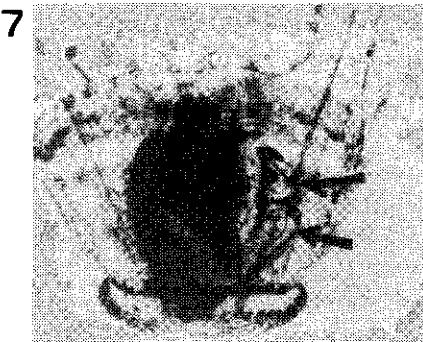
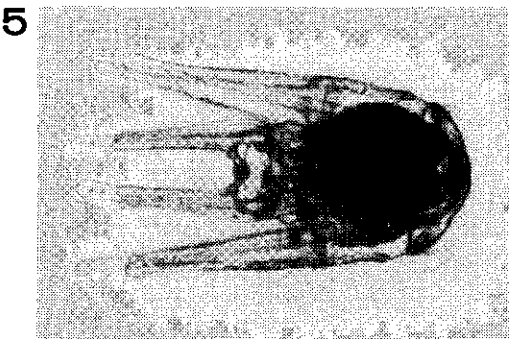
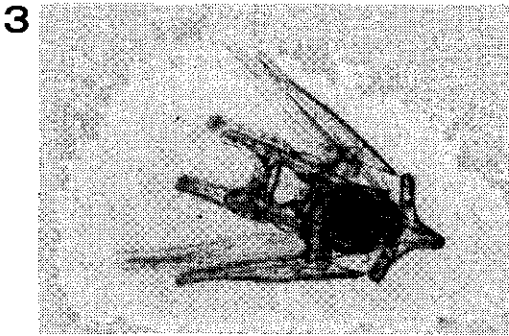
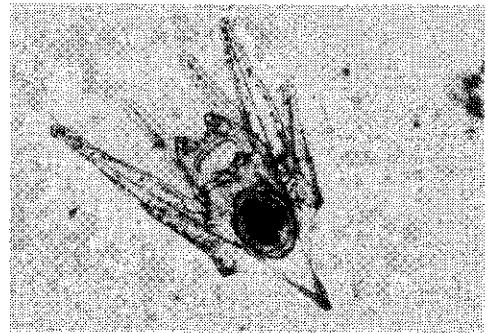
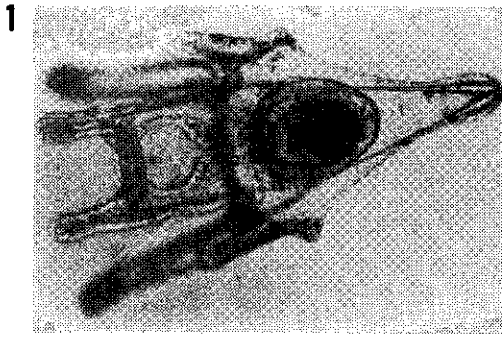
1. 良質な成熟卵
2. 胚胞 (矢印) をもった未熟卵と受精卵
3. 受精膜の上がりかけ
4. 受精膜の完成
5. 2細胞期 媒精後70~90分
6. 4細胞期
7. 8細胞期



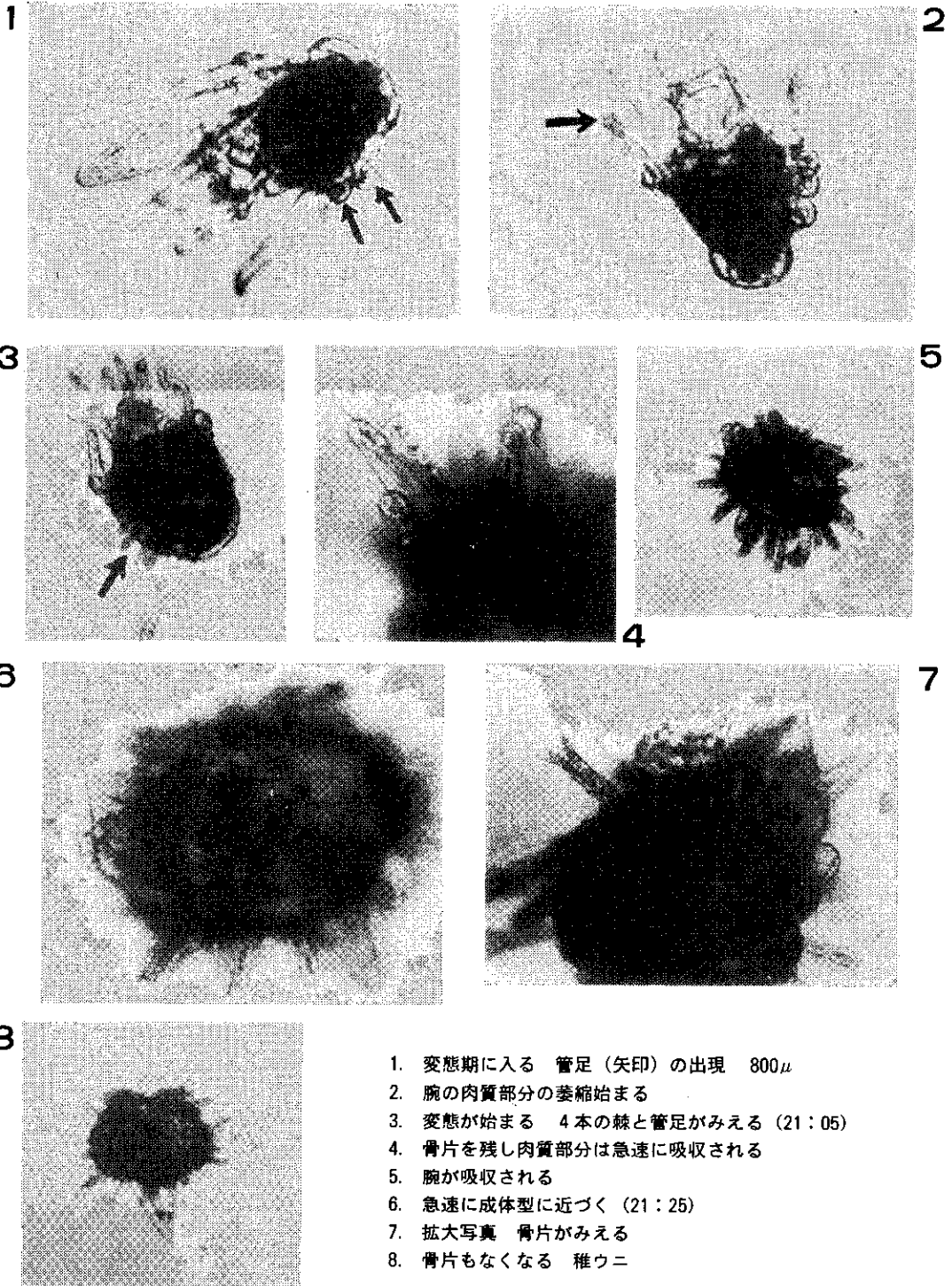
1. 16細胞期
2. 桑実胚期
3. 初期胞胚期
4. 胞胚期
5. 孵化 受精膜を破って外に泳ぎ出る
6. 胞胚期 植物極より卵割腔内に第一次間充織細胞が遊離する
7. 異常分裂の胚 媒精後24時間 容器の底に沈んだまま



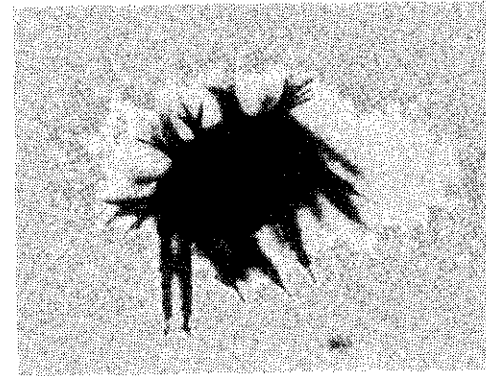
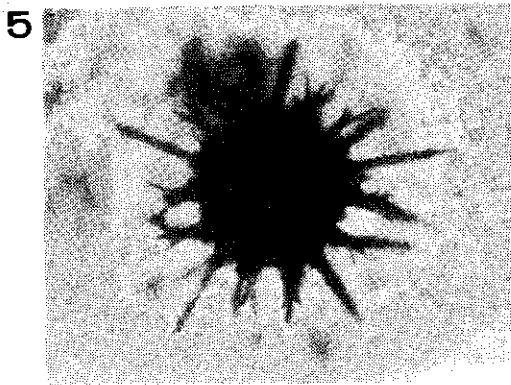
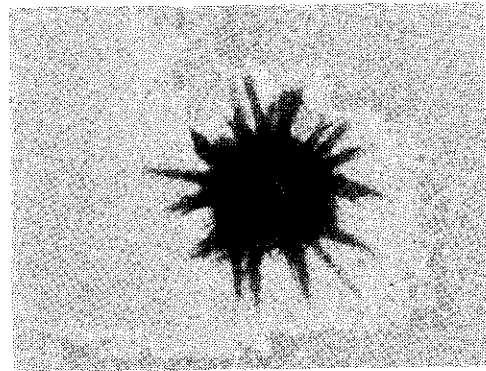
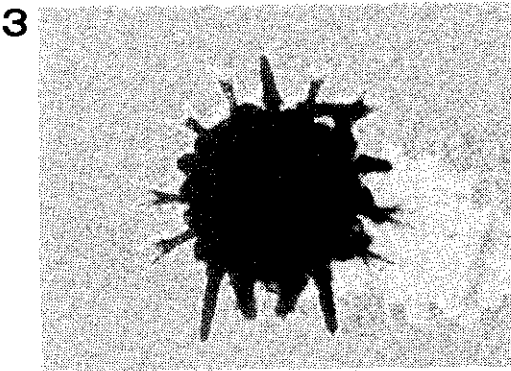
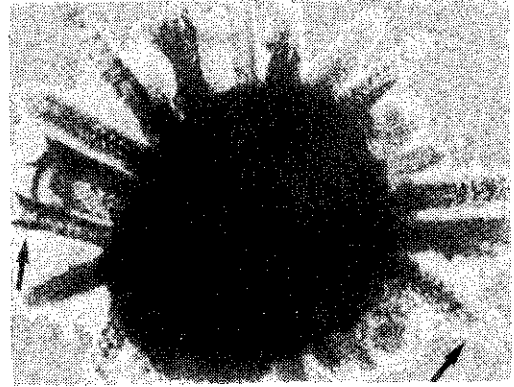
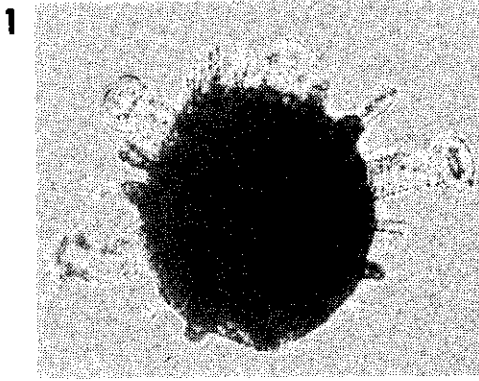
1. 初期のう胚期 媒精後45時間 原口陥入の開始
2. 後期のう胚期 原腸先端が動物極と接する
3. プリズム幼生
4. 4腕プルテウス幼生
5. 發育不全個体になりかけの4腕プルテウス幼生
6. 前アンブレラ型個体 腕の蛋白形成おいつかず
7. 發育不全個体の典型「アンブレラ型幼生」



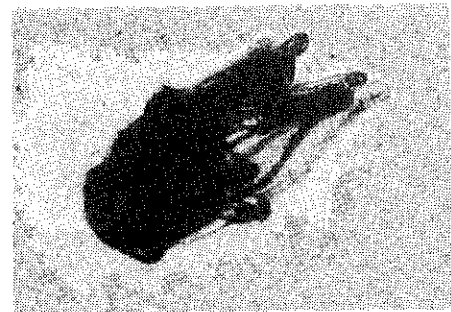
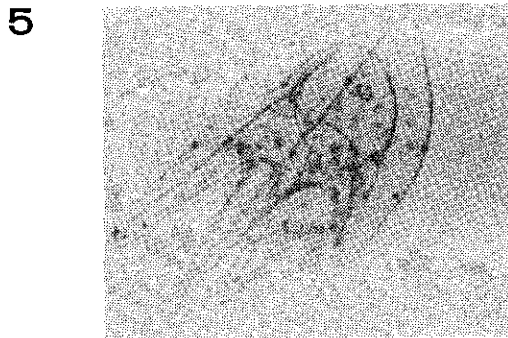
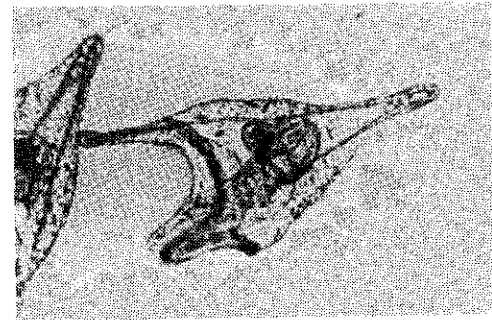
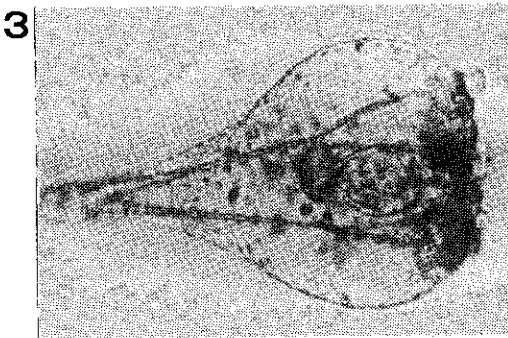
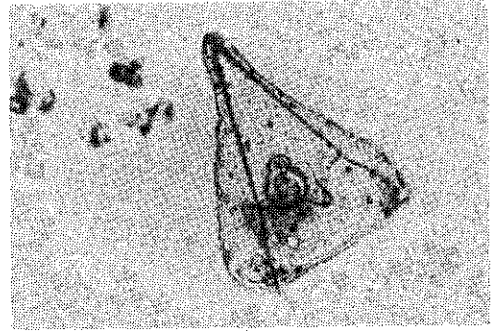
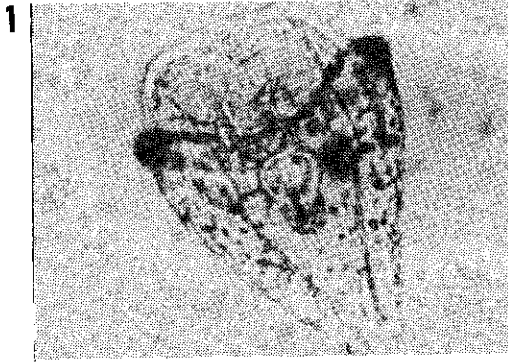
1. 6腕プルテウス幼生 550  $\mu$
2. 8腕前期プルテウス幼生 口部周辺に前口腕がみえる 650  $\mu$
3. 8腕中期プルテウス幼生 エポレットがみえる
4. 8腕中期プルテウス幼生 体桿部が丸くなる
5. 8腕後期プルテウス幼生 幼生期間中最大の大きさ 900  $\mu$
6. ウニ原基形成期
7. ウニ原基形成期 管足原基 (矢印) がみえる 左は胃



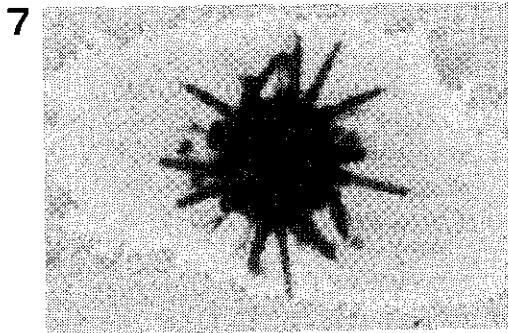
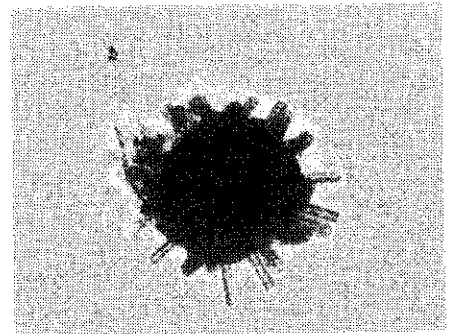
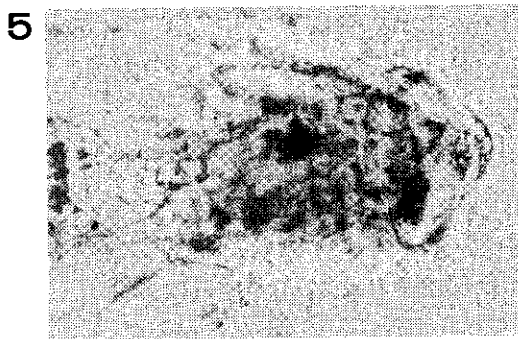
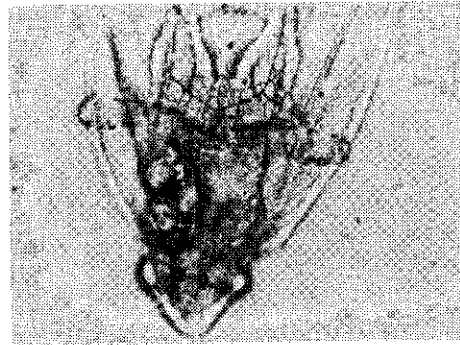
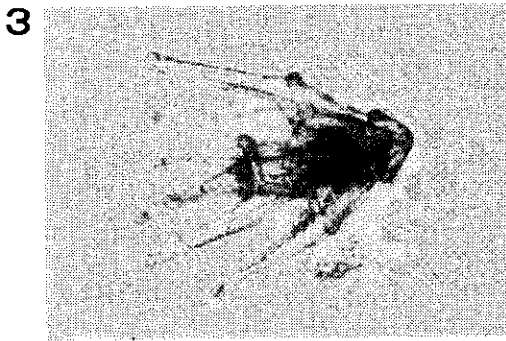
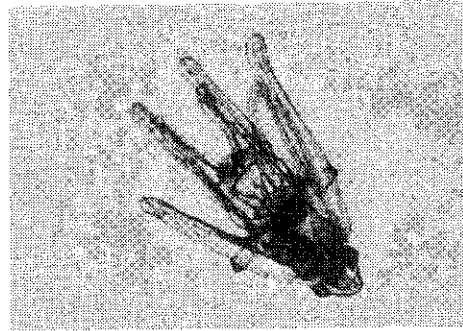
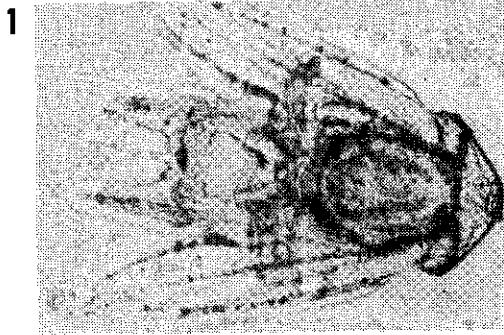
1. 変態期に入る 管足 (矢印) の出現 800 $\mu$
2. 腕の肉質部分の萎縮始まる
3. 変態が始まる 4本の棘と管足がみえる (21:05)
4. 骨片を残し肉質部分は急速に吸収される
5. 腕が吸収される
6. 急速に成体型に近づく (21:25)
7. 拡大写真 骨片がみえる
8. 骨片もなくなる 稚ウニ



1. 変態を終えた稚ウニ 400  $\mu$
2. 稚ウニの2種の棘と管足
3. 変態終了後5日目の稚ウニ
4. 変態終了後8日目の稚ウニ
5. 変態終了後10日目の稚ウニ 650  $\mu$
6. 側面からみた稚ウニ 先端が4つに分かれた棘は背中側に分布する



1. アンブレラ型への過程
2. 腕が成長せず胃の中には餌がない
3. アンブレラ型幼生 6腕プルテウスにならず死亡する
4. 胃の周辺部にアンブレラ型の特徴
5. 胃に餌がない やがて腕の縮小が始まる
6. 変態期の發育不全個体 腕が内側にまきこまれる
7. 細菌感染をおこした幼生



1. 8 腕ブルテウス期の發育不全 胃の中が空になっている
2. 胃の形が不明確
3. 胃がなく腕もアンバランス 排出物が付着
4. 胃がなく“うろこ状”の骨格がみえる
5. 胃がない
6. 変態後に死亡 骨片がまだ残っている
7. 自己の排出物が付着し始めると死亡する