

ヤマトヒメミミズ無性生殖の教材化に向けた観察・実験の工夫

Study on the Culture Media for Induction of Asexual Reproduction through Segment Separation of Yamatohimemimizu, *Enchytraeus japonensis*

高 橋 朋 之

Tomoyuki TAKAHASHI

西 野 秀 昭

Hideaki NISHINO

福岡教育大学・理科教育講座（生物）

（平成22年9月30日受理）

Abstract

A species of soil worm, Yamato-hime-mimizu, *Enchytraeus japonensis* (*E. japonensis*), proliferate themselves through unique asexual reproduction besides sexual reproduction observed also in the soil worm in general. Induction of the segment separation needs artificial treatment, such as the cut of *E. japonensis* to two pieces or the electrical stimulation. However, the simple and successful induction method was developed in this study by using food agar, which can be in hand at any city food shop. Introduction of this induction way makes the student experiment more interesting and impressive. It can be also expected that the experiment shall cultivate the respectful concept of students for life or life beings.

要約

ヤマトヒメミミズ *Enchytraeus japonensis* は、雌雄同体どうしによる精子の交換を経た、卵から孵化する有性生殖の他に、破片分離というユニークな無性生殖によっても個体数を増やすことができる。中学校理科の「生物のふえかた」の単位において、有性生殖は人間に身近でもあり、また学習における類例には事欠かない。しかし無性生殖については、単細胞生物の細胞分裂などの類例しかなく、有性生殖は多細胞生物で行い、無性生殖は単細胞生物で行うような印象になってしまう。生殖の方法は、生物種の多様性と同様に多様であり、その子孫の残し方の工夫は、生命尊重の概念や生命への畏敬の念にもつながる学習の対象となるものと考えられる。そこで、本研究において、ヤマトヒメミミズの破片分離を導く方法の一つとして、培地の寒天を市販の食用寒天に置き換える方法を見いだした。この方法では、高価な実験研究用の寒天ではなく、市販品として手に入る安価な寒天を用い、また生徒各人が自分の寒天培地上でヤマトヒメミミズの破片分離を確実に導くことができると考えられる。「生物のふえかた」の単位では、生殖の多様性を実感できる観察・実験の導入は難しいと思われるが、本研究で示す観察・実験は寒天培地にミミズを移して観察するのみで容易であり、実験の成功体験もほぼ確実であることから、中学校理科授業での効果が期待される。

1. はじめに

ヤマトヒメミミズ (*Enchytraeus japonensis*) は、1991年に福島県で発見され、1993年に新種記載された小さな白いミミズである (図1)。その分類はCrinkhurst (1982) の分類体系によると、環形動物門 Phylum Annelida
貧毛綱 Class Oligochaeta
イトミミズ目 Order Tubificida
ヒメミミズ亜目 Suborder Enchytraeina
ヒメミミズ科 Family Enchytraeidae
の、属種名は、*Enchytraeus japonensis* である¹⁾。



図1 ヤマトヒメミミズ (スケールバー: 1 mm)

ヤマトヒメミミズは、有性生殖に加えて、無性生殖の両方を行うという珍しい、種を残す個体数増加の方法を持っている¹⁾。有性生殖は、個体数を低密度に保ち、十分な給餌を行うことで初めて可能になる。このような飼育条件の下、ヤマトヒメミミズの生殖巣が発達し、有性個体となり、通常のミミズに見られるように有性生殖を行うようになる。個体数が多い通常の飼育環境では、無性生殖、すなわち破片分離とその後の組織再生によってのみ増殖する無性生殖サイクルを繰り返す²⁾。

破片分離では、自ら体を切断 (自切と呼ばれている) することによって10個ほどの複数の小さな断片となり、それぞれの断片から頭や尾を再生して完全な個体となる生殖法である。自切後、各断片は約4日で頭・尾の再生が完了し、その後、10日ほどで元の大きさまで成長する。この1サイクルを実際に生徒たちが飼育・観察することで、動物における無性生殖を身近に学ぶことが可能になると考えられる。十分に成長した個体は、再び破片分離を行い増殖していくため、生活環も学ぶことが出来る、優れた生物教材となる可能性が高いと考えられる³⁾。

現行の中学校理科教科書における無性生殖に関しては、生物の多様性を示せるよう記載が少なく、取りあげられている生物教材はほとんどないのが現状である。高校生物における無性生殖の扱いに

関しても、取り上げられているのはジャガイモの栄養生殖やさし木など植物のみであり、動物の生殖方法としては扱われていない。また、原生生物であるゾウリムシやアメーバの細胞分裂、酵母菌の出芽などが教科書に記載されているが、生徒が実際に観察・実験において確認するには顕微鏡で長時間の観察が必要になり、授業に实际的とは言い難い。

このようなこれまでの無性生殖に関する取り上げられ方や観察・実験の困難な現状を踏まえた上で、教育現場において飼育・観察を含め、破片分離という珍しい無性生殖を行うヤマトヒメミミズに注目し、教材化への手法を探究することが本研究の目的である。ヤマトヒメミミズを生物教材として取り上げやすくすることで、無性生殖による種の保存法への理解を生徒が観察・実験を通じてより深められるとともに、生物の生殖方法の多様さ、生命の連続性をよりよく理解することができるようになる一助となるものと考えられる。

生物教材化にあたって、中学校の教師が理科の授業においてどのような事に悩みを抱えているか、日本科学技術振興機構 (JST) によって全国レベルでアンケート結果がまとめられている⁴⁾。その結果によると、実験や観察の準備・片付けに手間がかかる点や、実験に失敗するなど教科書通りに教えられない点、生物分野が苦手分野であることなどが挙げられている。これらのことから、生物教材化を行うにあたって特に気をつけることとして、①準備・片付けの過程を出来る限り単純化する、②生徒が必ず変化を観察できること、に重点を置き生物教材化を進めていくこととした。

これらの注意点を踏まえた上で、中学校理科の授業において観察・実験を行う上での問題点として、予算の不足が挙げられる。本研究でも用いているが、ヤマトヒメミミズの培養に必要な寒天 (agar) は、大学などでの研究で細菌類の培養に使うグレードのものをを用いている。しかし、中学校の経費で購入するには、本研究でも用いている250~500 gで2万円ほどというagarは高価すぎると考えられる。そこで本研究では、市販の食品用として販売されていて、一般にも手に入れやすい安価な寒天が飼育培地として使えないか、検討した結果と、偶然見つけた、簡易な無性生殖の誘導方法について報告する。

2. 研究方法

ヤマトヒメミミズの基本的培養法

ヤマトヒメミミズの提供元である北海道大学大学院理学研究科生物科学専攻系統進化学講座ヤマトヒメミミズ研究グループの培養法²⁾を基本にして培養を行った。

スタインバーグ溶液（20倍濃度）の調製

スタインバーグ溶液は20倍濃度を調製しておき、使用時に1倍濃度に希釈して使用する。1倍濃度では10ℓに相当するスタインバーグ溶液を、20倍濃度として20分の1の体積である500mlに調製する。

薬品

NaCl ……34.0 g

MgSO₄・7H₂O ……2.1 g

KCl ……0.5 g

Ca(NO₃)₂・4H₂O ……0.8 g

2-アミノ-2 ヒロキシメチル 1,3-プロパンジオール (Tris) ……5.6 g

以上の薬品を適量の蒸留水に溶かし、希塩酸でpHを7.5に調整する。蒸留水を加えて最終的に500 mlにする。このスタインバーグ溶液（20倍濃度）はオートクレーブ（121℃，20分）後、冷蔵保存する。

ヤマトヒメミミズ寒天培地の作製方法

薬品

Bacteriological agar (Sigma), かんてんクック（伊那食品工業），スタインバーグ溶液（20倍濃度）

手順

- ①20倍濃度スタインバーグ溶液20mlと蒸留水380 ml（合計400ml）を加えて1倍濃度に希釈。
- ②希釈した1倍濃度スタインバーグ溶液100mlをビーカーに移す。
- ③agar 0.8 g（Sigma, A7002, 500g）を計り取る。
- ④はかり取ったagarを②の1倍濃度スタインバーグ溶液100mlに入れる。
- ⑤電子レンジで加熱・溶解する（約2分，30秒毎にビーカーを軽く振って溶解状況を観察する）。
- ⑥agarが完全に溶けたらペトリ皿（滅菌済φ150 mm×15mm）に流し込み固まるまで待つ。
- ⑦ペトリ皿のフタには電気ハンダごてで、空気穴をいくつか開けておく。
- ⑧寒天培地が固まるまで待つ。

- ⑨寒天培地が固まったら、カッターナイフで切れ込みを入れ、最後に駒込ピペットでミミズをのせる（寒天の切れ込みは、ヤマトヒメミミズが寒天中に潜りやすくするために入れる）。

ヤマトヒメミミズの植え継ぎ方法

手順

- ①新しい寒天培地のペトリ皿を作成する。
- ②飼育中の寒天培地が柔らかくなってきている頃が植え継ぎ時期である。培地に蒸留水を加え、葉さじで少しずつ崩す。
- ③崩した部分からヤマトヒメミミズだけを駒込ピペットですくい、ビーカー（100ml）に移す。
- ④ペトリ皿に絶縁テープを張り、日付と寒天培地の番号を絶縁テープに記入する。
- ⑤すくい取ったヤマトヒメミミズを駒込ピペットで寒天培地にまく。

ヤマトヒメミミズ培養方法

蒸留水を霧吹きで与え、適度な湿度を保つようにする（寒天が乾燥するとミミズが干からびてしまう事がある）。餌は粉末のオートミールを少量与える（ここでは、『QUAKERオートミール』雪印乳業，を使用）。一ヶ月ほどすると、寒天培地が液状化してくる。液状化してきたら新しい寒天培地にヤマトヒメミミズを移す。また、ヤマトヒメミミズは酸性環境を嫌うため、あまり長期間同じ寒天培地では飼育しない方がよい。20℃前後の飼育環境が望ましい。

かんてんクックで作成した寒天培地での培養

手順

- ①agar（Sigma, A7002, 500g, 16,800円），かんてんクック（伊那食品工業，30g, 300円）それぞれを使用した寒天培地を作成する（手順は寒天の作成法の通り）。かんてんクックは、スーパーマーケットから購入したもので、ポットのお湯でサッと溶ける顆粒タイプで、寒天100%との成分表示ある。
- ②現在飼育している寒天培地からヤマトヒメミミズを移動させる手順に従ってミミズを回収する。
- ③回収したヤマトヒメミミズをメスシリンダーに入れて、蒸留水を加えて10mlほどにする。
- ④メスシリンダーに入ったミミズを同じ数ずつ各寒天培地に撒く。
- ⑤毎日観察して、変化を記録する。

3. 結果と考察

表1に結果を示す。3週間に渡って飼育し、増殖の程度を観察したところ、agar、かんてんクック両方の寒天培地とも、1週間程度ではほとんど増殖せず、同様な生育状況であった。しかし、2週間目では、agarはわずかな個体しか破片分離は起こらなかったが、かんてんクックでは元の4～5倍ほどの増殖がみられた。ここでは破片分離したその破片も1個体と数えている。3週間目にはagarに比べると6倍ほどの差になった。このことから、ヤマトヒメミズは市販の寒天でも飼育することが可能であるだけでなく、二つの断片への切断や電気刺激などの人為的な処理による破片分離の誘導も必要なく、ヤマトヒメミズの増殖の観察実験には優れた方法と言えるだろう。かんてんクックの成分は100%寒天と記載されているのみなので、何故、かんてんクックだと自然に破片分離が起こるのかは不明である。今後、未知の成分の抽出実験などが必要になるであろう。

表1 Bacteriological agarとかんてんクックで作成した寒天培地でのヤマトヒメミズの培養

	0日	7日	14日	21日
Agar 1	39	38	40	48
Agar 2	39	40	45	55
Agar 3	39	39	39	47
Agar 4	39	39	39	48
Agar 5	39	38	41	51
平 均	39	39	41	50
クック 1	39	48	221	305
クック 2	39	39	114	308
クック 3	39	39	204	306
クック 4	39	41	234	319
クック 5	39	47	107	296
平 均	39	43	176	307

0日は各寒天培地とも、39匹から培養を開始した。0日で培養を開始したヤマトヒメミズの体長は、いずれも6～8mmほどである。

ヤマトヒメミズの培養に際して、寒天の崩れやすさについても、agarよりもかんてんクックのほうが早く崩れているように感じられた。これは、かんてんクックで育てているヤマトヒメミズの方が、より活発に寒天の表面や寒天中を活動し、破片分離を盛んに行って増殖していることと関連しているのかもしれない。そのことによって、新

しい寒天培地へのヤマトヒメミズ植え継ぎも容易になることから、培地の酸性化が進む前の植え継ぎが可能と考えられる。

4. 結論

中学校での教材化にあたって、教材費の節約のため、ヤマトヒメミズの培養に要する寒天を市販品でまかなえないか検討したところ、飼育可能であるだけでなく、人工的にしか誘導しづらかった破片分離を培地だけで起こすことができた。そのことで、中学校での無性生殖の観察・実験に適した生物教材となる可能性が大いに感じられた。

5. 今後の課題

今後は、中学校での理科授業へ実際にヤマトヒメミズを導入する試みを行い、生徒の学びへの影響・効果を検討してゆく必要がある。

6. 参考文献

- 1) ヤマトヒメミズとは？～その生殖と再生～
栃内 新 (2001)
<http://bio2.sci.hokudai.ac.jp/bio/shinka3/mimizu/what-ej/asexual%20reproduction.html>
- 2) 北海道大学 大学院 理学研究科 生物科学
専攻系統進化学講座Ⅲ ヤマトヒメミズ研究グループ
<http://bio2.sci.hokudai.ac.jp/bio/shinka3/mimizu/what-ej/asexual%20reproduction.html>
- 3) 再生研究の新しいモデル実験動物ヤマトヒメミズ
<http://www.nises.affrc.go.jp/pub/library/se1103.htm>
- 4) JST：理数大好きモデル地域事業アンケート
(平成17年度)