

温度刺激によるシオミズツボムシの耐久卵採集方法

メタデータ	言語: Japanese
	出版者:
	公開日: 2025-04-24
	キーワード (Ja):
	キーワード (En):
	作成者: 今村, 茂生, 芦立, 昌一, 東條, 英雄
	メールアドレス:
URL	所属:
	https://fra.repo.nii.ac.jp/records/2014161

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.



温度刺激によるシオミズツボワムシの 耐久卵採取方法について

今村茂生・芦立昌一^{*}・東條英雄^{**}

(日本栽培漁業協会・屋島事業場)

シオミズツボワムシ (*Brachionus plicatilis* O.F. MÜLLER 以下ワムシと記述) の種株を周年保持することは量産技術の中で重要な課題のひとつになっている。特に近年生産課程でしばしば小型ワムシ (被甲長 150 μ 前後) が混入することがあり, 周年同一の種株を維持することが難しくなってきた。そこで屋島事業場では大量にワムシの耐久卵を採取し, 量産の元種としていつでも使用できるように保存している。

当场における耐久卵の採取は昭和48年の冬期のカレイ類の生産時に低水温 (15℃ 前後) でワムシを培養していたところ, 耐久卵の出現を見たことにより始まった。その後52年まで毎年冬場にワムシ培養タンク底に沈んだ耐久卵を採取し, 保存してきたが, これは耐久卵の自然発生を期待する手法でしかなかった。

ところが52年のマダイ生産期の直前に低水温培養のワムシを高水温培養に切り換えたところ, 多量に耐久卵が出現した。これを契機に培養水温を急激に上げ, 刺激を与えることで, ワムシの耐久卵を計画的に採取することを考え, 試験した結果, 一応の成果を得たので, ここに取りまとめて報告する。

1 耐久卵の採取方法

(1) 元種の培養

培養水槽は 2 × 1.5 × 1.2 m (容積 3.5 m³) のコンクリート水槽 3 面を使用した。通気は ϕ 30 × 50mm のエアーストン 1 個で行ない, 脱糞処理のフィルターは付けなかった。加温は 0.5 kW の電熱ヒーター 1 本 (制御無し), あるいはボイラーで間接加温とし, 培養水温は 15℃ を越えないようにした。餌料はクロレラ SP. (以下クロレラと記述) のみで, 毎日培養水量の 1/3 ~ 1/2 を抜き, その分クロレラを添加し, ワムシはもとの水槽へ戻した。ワムシ密度は 50 ~ 150 個体 / ml ほどを維持し, 150 個体 / ml を越えた場合は間引いて 50 個体 / ml まで密度を下げた。水槽はワムシの抱卵率が低下して, 増殖が止まらない限り一切洗浄せず, 連続的に使用した。

(2) 耐久卵採取試験培養

試験に用いた水槽は 5 × 1 × 0.8 m (容積 4 m³) のコンクリート水槽で, 通気は ϕ 13mm の塩ビパイプに ϕ 1.5 mm の穴を約 10cm 間隔に 49 個あけたものを 1 本使用した。フィルターは底に穴を開けた 35 ℓ 容のバケツに, 80 × 35cm のエアフィルターを 2 つ折にして 5 枚を入れ, エアリフトで汜過した。1 槽に上記のフィルターを 2 個設置し, 2 日毎の植え替え時に洗浄した。

各試験の温度刺激の方法とワムシ密度について表 1 にとりまとめて示した。クロレラは蒸気ボイラーで 29 ~ 30℃ に加温し, その中に低水温で培養したワムシを直接植種し試験培養を行った。培養は 2 日間のバ

* 日本栽培漁業協会宮古事業場, ** 徳島県栽培漁業センター

表 1

試験No.	元種の水温と加温方法	温 度 刺 激	ワムシ密度 (個 / ml)
1	0.5 kW電熱ヒーター 1 本で加温, WT 8~14℃	1 回目23~24℃に上昇, 2 回目以降29~30℃を維持	58 → 556 3 回目より200個/mlに間引く
2	〃	〃	60 → 581 〃
3	加温せず, WT 4~8℃	1 回目20~25℃に上昇, 2 回目以降29~30℃を維持	110 → 686 4 回目に2/3 間引く
4	0.5 kW電熱ヒーター 1 本で加温, WT 8~14℃	〃	70 → 418 3 回目に1/2 分槽
5	〃	1 回目より29~30℃に上昇	134 → 778 間引かず
6	加温せず, WT 4~8℃	〃	77 → 446 〃
7	ボイラー間接加温, WT 14~15℃	〃	82 → 629 〃
8	〃	〃	54 → 466 〃
9	〃	〃	39 → 194 〃
10	〃	〃	172 → 630 〃
11	〃	〃	180 → 1106 〃
12	〃	〃	178 → 1091 〃

ッチ培養で、2 日毎に全水量水中ポンプで抜き取り、加温した新しいクロレラへ再植種する方法で、一試験に3~5 回くりかえし行なった。

餌料にはクロレラとパンイーストを使用し、クロレラは2,000~3,000 万 cells/ml のものを使用した。イーストはクロレラが食い尽されてから定量ポンプで投与した。その量はワムシ密度100 個体/ml でセットした場合で、1 日目1.0 kg、2 日目1.5 kg を基準とし、生産期の量(1 日目1.5 kg、2 日目2.0 kg) よりやや少なめに与えた。

耐久卵はワムシを取りあげた後、タンク底を水道水で流し、ネット汙過して集め、容積法により計数した。

2 試験結果

試験により得られた耐久卵量と試験年月日について表2 に示した

(1) 52年の試験結果(試験No. 1, 2)

52年3 月に低水温培養していたワムシを高水温培養に切りかえたところ多量に耐久卵が出現した。その時のワムシ密度は図1 に示したように58個体/ml でセットし、1 回目は間引かずそのまま植替えし、2 回目よりセット密度を200 個体/ml に合わせた。

水温については図2 に示した。この時の元種は0.5 kW電熱ヒーター1 本で行なっていたので水温の上昇はおそく、培養水の1/3 を抜き、クロレラを添加すると12℃前後の水温が

表2 採取した耐久卵量

試験No.	採取した耐久卵量	試 験 年 月 日
1	3,182 × 10 ⁴ 粒	52. 3. 6 ~ 16
2	491	52. 3. 27 ~ 4. 4
3	612	53. 2. 13 ~ 21
4	876	53. 2. 20 ~ 28
5	1,721	53. 3. 4 ~ 12
6	139	53. 3. 4 ~ 10
7	229	53. 12. 5 ~ 11
8	741	53. 12. 28 ~ 54. 1. 5
9	286	54. 1. 14 ~ 20
10	330	54. 3. 9 ~ 13
11	1,799	54. 3. 13 ~ 21
12	1,571	54. 3. 14 ~ 22

8℃前後まで下降し、丸1日位かかって12℃前後まで上昇する状態がくりかえされていた（外気、添加クロレラの水温で多少変動がある）。このような状態で培養していたワムシを水温23℃に加温したクロレラに入れ、1回目の培養後、2回目より水温29～30℃に上げて培養した。

雄卵、雄ワムシ密度を図3に示した。1回目の培養で雄卵が最大28個/mlまで増え、その後漸減している。雄ワムシは2回目に最大22.5個体/mlとなったが、雄卵の減少に伴い少なくなっている。

耐久卵の出現状態を図4に示した。バッチ培養の1回目は水槽底の耐久卵を採取せず、そのままワムシとともに全量移し替えたので、その分が2回目に加算されたと考えると、培養を始めて3回目に最も多く採取でき、従って雄ワムシの出現の1～2日後に耐久卵が最も多く採取できたといえよう。

試験No.2では前記の試験の再現を試みたが、時期的に見ておそく、元種の水温が上がったことと、クロレラの培養条件が良かったためか、雄ワムシ、耐久卵とも試験No.1より少なかった。しかし、その出現傾向は試験No.1と同様で再現性のあることが確認できた。

(2) 53年の試験結果

(試験No.3～6)

53年の試験は元種の培養水温に差をつけて耐久卵の出現状態に差が出るかどうかの試験を行った。

種ワムシは52年11月17日に耐

図1 ワムシ密度(試験No.1)

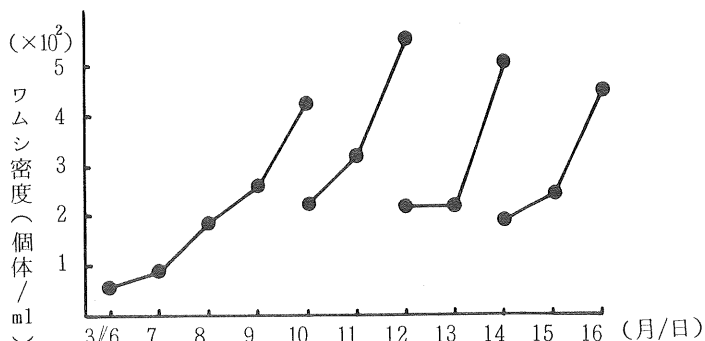


図2 水温(試験No.1)

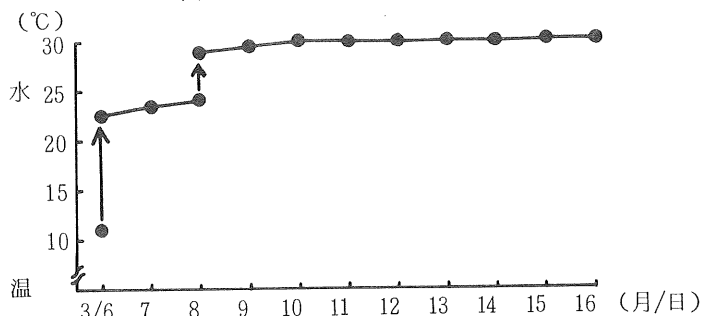


図3 雄卵と雄ワムシ密度(試験No.1)

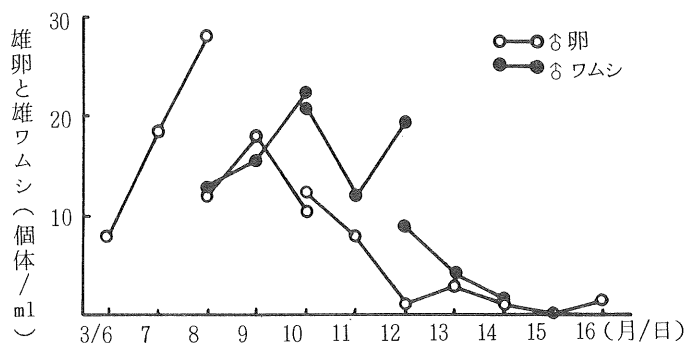
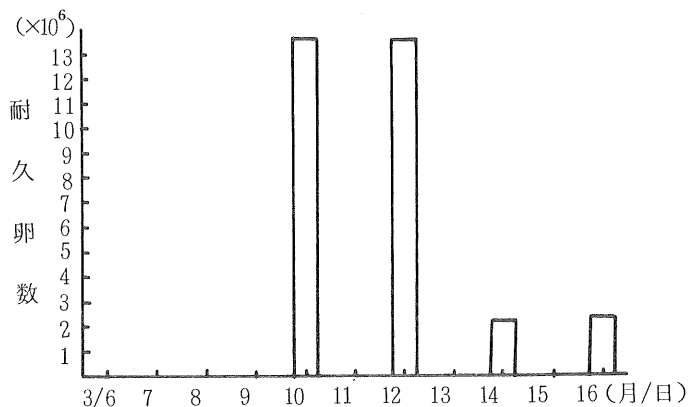


図4 採取した耐久卵数(試験No.1)



久卵よりふ化させて、ふ化後増殖に合わせて徐々に水量を増し、53年1月22日まで3.5 m³コンクリート水槽で、2面を0.5 kW電熱ヒーター各1本で加温し、1面を無加温とした。水温は加温区で8～12℃、無加温区で4～8℃であった。

試験No.3の元種は無加温区のもので、供試時の培養水温は5.6℃であった。温度刺激は1回目20～25℃に上げ、2回以降29～30℃と2段階で行った。ワムシ密度は110 個体/mlでセットし、3回目686 個体/mlになった時点で間引き、4回目は200 個体/mlでセットした。

雄ワムシは2～3回目に23 個体/mlと最大値を示したが、耐久卵は3回目に562 万粒採取できただけで、1, 2, 4回はほとんど採取できなかった。

試験No.4の元種は加温区のもので、供試時の元種の培養水温は8.2℃であった。温度刺激は前回同様1回目25℃、2回目29～30℃と2段階で上げた。ワムシ密度は70 個体/mlでセットし、3回目に1/2分槽し、同様の培養を行った。

雄ワムシは2回目に最大値16.5 個体/mlと前回より少なかった。しかし、耐久卵は1回目より徐々に増え、3回目には分槽した分も合わせて569 万粒採取でき、総計で876 万粒と前回よりも多かった。

試験No.5については図5～8に示した。元種は加温区のもので、供試時の培養水温は10.7℃で、温度刺激は前回までの2段階刺激と異なり、低水温より一度に29度℃まで上げて培養した。ワムシ密度は134 個体/mlでセットし、4回目778 個体/mlになる間、一切間引かず、そのまま植え継いだ。

雄卵、雄ワムシは図7に示すように比較的に高密度を維持し、雄ワムシは最大33 個体/mlと良く出現した。それに伴って耐久卵も2回目638 万粒をピークに安定して採取され、総計で1,721 万粒採取できた。

試験No.6の元種は無加温区のもので、供試時の培養水温は8.4℃であった。温度刺激は前回と同様に一段階で29℃まで上げて培養した。ワムシ密度は77 個体/ml

図5 ワムシ密度(試験No.5)

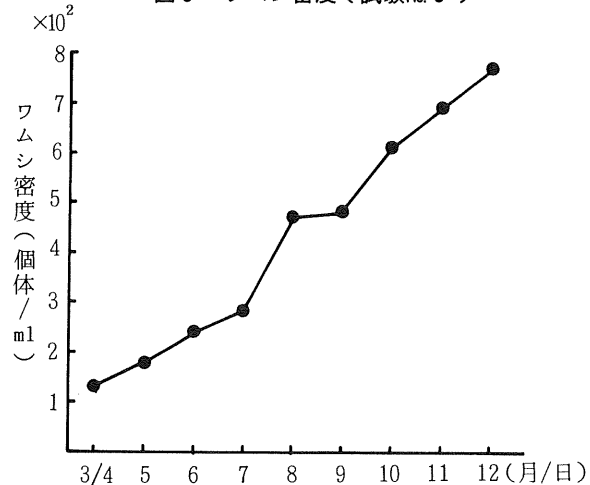


図6 水温(試験No.5)

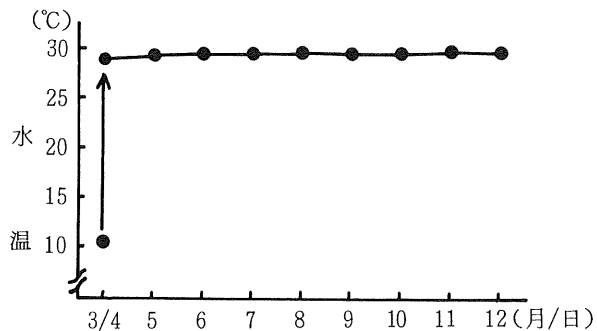
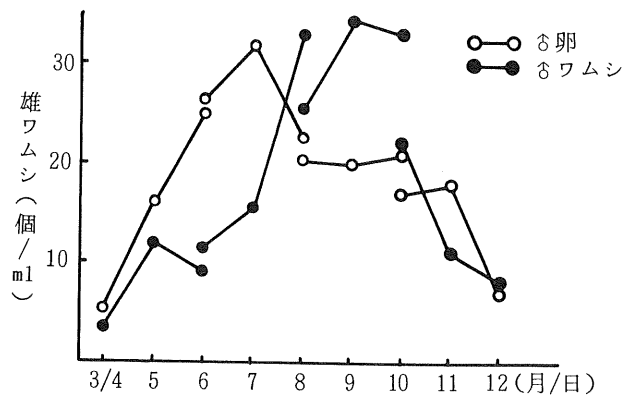


図7 雄卵と雄ワムシ密度(試験No.5)



m1でセットし、3回目最大446個体となる間、一切間引かずに培養した。

雄ワムシは2～3回目に26.5個体/mlと良く出たが、耐久卵の形成までには至らず、3回目で試験を中止した。

以上試験No.3～6を通して考えると、元種の培養水温は10℃以上に加温した方が良く、あまり低水温でも耐久卵は形成されないことがわかった。また水温の刺

激は一度に高水温の条件を与えてもさしつかえないと思われる。ワムシ密度は間引かず、継続植え替えの方が良く、特に雄卵が多く出現した後は間引かない方が良いと思われる。

(3) 54年の結果(試験No.7～12)

54年の試験は低水温でどのくらいの期間置けば温度刺激により耐久卵の採取が可能かどうかを検討した。以下の試験の温度刺激は全て1回とし、ワムシは植え替え時一切間引かなかった。

種ワムシは53年11月1日に耐久卵をセットし、ふ化後増殖に合わせて水量を増し、11月19日に3.5 m³のコンクリート水槽へ移した。培養水の加温は11月24日よりボイラーで間接的にを行い、水温15℃前後に保った(水温制御付き、±0.5℃)。耐久卵の出現は早く、ふ化後8日目より観察された。

試験No.7では耐久卵よりふ化後1ヶ月後に温度刺激を与えて耐久卵の出現の有無を見た。元種の供試時培養水温は14.8℃で、一度に30℃まで水温を上げた。

雄ワムシは1回目より徐々に増え、2回目植え替え時には26個体/mlまでなり、そのまま3回目まで持続した。ワムシ密度は82個体/mlでセットし、3回目最大665個体/mlと良く増殖した。しかし耐久卵は3回の合計で229万粒と少なかったので3回目で中止した。

同様に試験No.8では耐久卵よりふ化後2ヶ月後の耐久卵の形成量を見た。温度刺激は前回と同様とし、供試時の培養水温14.2℃から一挙に29℃まで水温を上げた。

雄ワムシは2回目で最大17.5個体/mlと前回より少なかったが、耐久卵は前回より多く、2回目で480万粒と最大を示し、4回の総計で741万粒採取できた。

以上2回の試験の結果、低水温で2ヶ月間ほどの培養後、温度刺激を与えて十分耐久卵の採取が可能であることがわかった。この試験はその後継続して定期的に行う予定であったが、スズキの種苗生産用にワムシを生産したため施設があらず、2回で中止した。以下4例セット密度を変えて試験した。

図8 採取した耐久卵数(試験No.5)

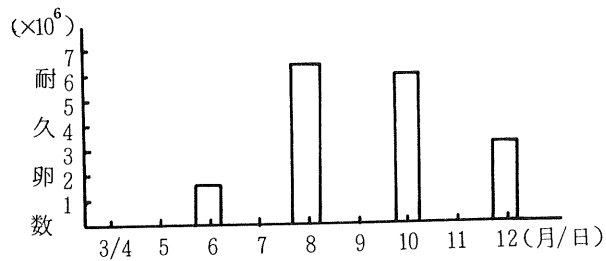
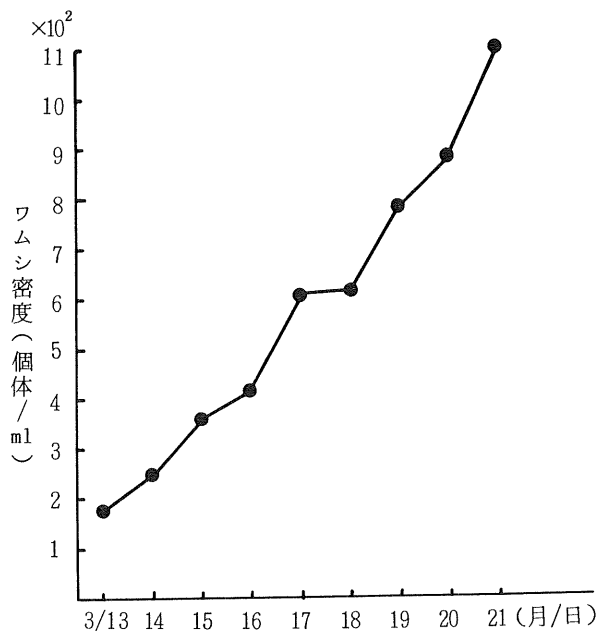


図9 ワムシ密度(試験No.11)



試験No.9 ではワムシセット密度を39個体/mlと従来の試験より下げ、更に使用クロレラも3,600万cells/mlと濃いものを使用した。供試時の培養水温は14.0℃で、一抛に29℃まで上げて培養した。しかしワムシの増殖率は低く、6日間3回の培養で最大199個体/mlとなり雄ワムシも最大6.0個体/mlと少なかった。従って耐久卵の出現も少なく、3回の培養で286万粒採取できたとどまった。

試験No.10ではワムシセット密度を172個体/mlと上げ、前回と同様にクロレラは3,500万cells/mlと濃いものを使用した。供試時の培養水温は16.0℃で、29℃まで上げて培養した。ワムシは2回目に最大630個体/mlに達したが、雄ワムシが少なく2回目です試験を打ち切った。耐久卵は2回の計で330万粒であった。

この試験に供したワムシはスズキの生産用に水温16℃、ワムシ密度300個体/mlで、2日間のバッチ方式により培養していたもので、従来の低水温培養の条件とは少し異なる。

試験No.11の結果について図9～12に示した。元種の水温は供試時13.0℃で、温度刺激は一抛に29℃まで上げて行った。

ワムシ密度は180個体/mlでセットし、4回目最大1,106個体/mlと良く増えたが、雄ワムシは図11に示すように非常に少なく、最大6個体であった。しかし耐久卵は多く、1回目に1,000万、2回目に515万粒と徐々に少なくなっている。この出現傾向は従来見られなかったことで、試験No.12でも全く同様であった。

3 考 察

以上12回の試験結果より、温度刺激による耐久卵の採取方法は有効な手法であることがわかった。温度刺激の効果を見るため表3に試験No.11に用いた元種の低水温での培養例を示した。2月26日より3月13日までの15日間の培養で、450万粒の耐久卵が出現し、そのワムシに温度刺激を与えて培養した結果8日間で1,799万粒の耐久卵が採取できている。これを見ても明らかに低水温で継続的に培養するより、温度刺激を与えた方が効率的に採取できることがわかる。

耐久卵の形成要因として現在考えられている主なものは、ワムシ密度、培養水温、内部的要因、餌料、

図10 水温(試験No.11)

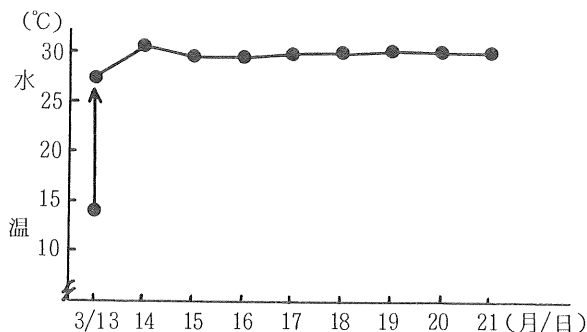


図11 雄卵と雄ワムシ密度(試験No.11)

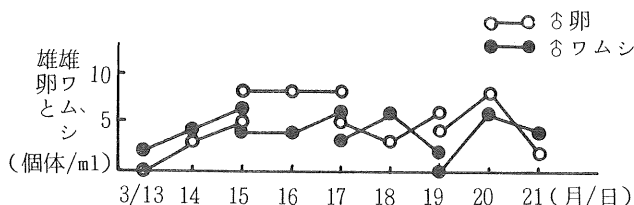


図12 採取した耐久卵数(試験No.11)

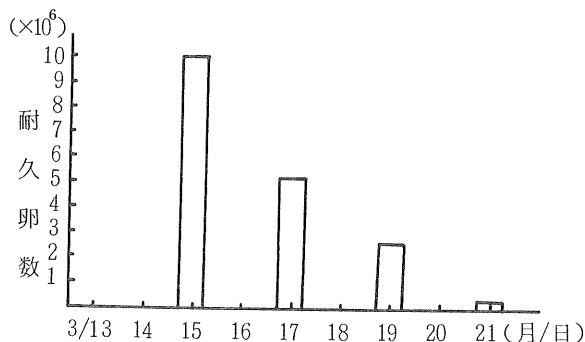


表3 低水温培養例

月 日	水 温 ℃	ワムシ密度 /ml	卵密度 /ml	♂卵 /ml	♀ /ml	耐久卵 /ml	使 用 ク ロ レ ラ		備 考
							×10 ⁴ cells/ml	水量m ³	
2/26							3,300	3.5	
27	17.0	77	31	0	0	0			
28	13.2	91	34	0	0	0	3,500	1.0	1.0 間引き
3/ 1	13.0	94	45	0	0	0			
2	13.2	81	49	1	0	0	3,500	1.2	
3	13.8	89	50	0	0	0			
4	12.7	112	34	3	6	0	3,400	1.2	
5	13.0	108	57	1	1	0	3,400	1.2	
6	13.0	99	41	4	0	0	3,500	1.2	
7	13.0	80	42	1	1	0			
8	12.9	99	70	3	0	0	3,600	1.2	
9	13.1	153	63	0	0	0	3,600	1.2	
10	13.2	132	67	1	0	1	3,700	1.2	
11	12.7	153	43	11	12	0	3,700	1.5	
12	13.0	162	58	10	4	0	3,700	1.5	
13	13.0	173	98	13	0	0*			試験No.11へ

* 水槽の底に 450 万粒の耐久卵があった。

1)2)3)4)
水質等があげられているが、未だ詳細については明らかになっていない。今回行った温度刺激による耐久卵の採取方法も、水温の変化が直接的要因でなく、これらの複合的要因の上に、単なる刺激として作用したと考えるのが妥当であろう。従って今回の試験で各試験での耐久卵の形成量に差が出たことにより、耐久卵がどの程度形成されるかは、低水温培養時にどのような条件を与えるかで決定されていたと考えられる。

それらの条件のひとつとして、クロレラの量と質の問題がある。今回の試験ではクロレラの培養条件や、栄養分析等のデータは集めていないが、耐久卵の形成がクロレラ細胞のαトコフェロール(ビタミンE)に起因するとすれば、低水温時に与えるクロレラの量と質を検討する必要がある。試験No.3・6のように無加温で培養したワムシに温度刺激を与えた結果耐久卵の出現量が少なかったことは、低水温のためクロレラの摂取量が少なかったことに起因するのではないだろうか。またこれはワムシ密度についていえることであり、試験No.10のように高密度で種培養してもクロレラの摂取量が少なくなり、耐久卵の形成量に影響を与える結果となったと考えられる。

5)
クロレラを質的に見ると、培養条件によりビタミン組成が大巾に変化することがいわれており、どのような培養条件を与え、どのような状態のクロレラを与えるのが最適かという点についても今後検討する必要がある。

2)
日野・平野の研究結果から考えると、ワムシ密度を上げた方が耐久卵の形成量が増えることが予想されるが、反面クロレラの消費量も増し、換水率も上がることから、今後低水温培養時にはクロレラを遠心分離し、換水せずに投与する方法も考える必要がある。

また協会の他の事業場での耐久卵採取の事例が少なく、当場のワムシの系統が耐久卵をつくりやすい系統であることも考えられるので、今後他場でも同一の方法で採取試験を行いこの点を確かめたい。

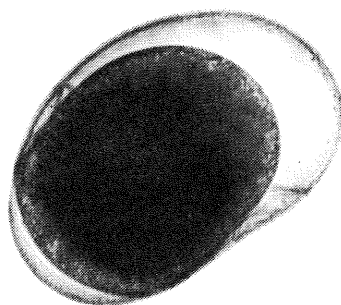
なお、今回は温度刺激の逆、つまり高水温培養していたワムシを低水温培養に切り替えて耐久卵の形成を観察したが、すぐには形成されなかった。

以上の試験結果より、現状では元種の培養水温として12～13℃、ワムシ密度50～100 個体 / mlで培養するのが作業上管理しやすい条件と考えられる。

採取された耐久卵の形態については図13に示した。当场で採取された耐久卵の大きさは長径で平均 151 μ (134 ～ 164 μ) で、雌卵が 133 μ (113 ～ 144 μ)

図13 耐 久 卵

なので、それより20 μ ほど大きかった。この大きさも培養条件で多少差があり、今回の試験のように水温を上げて培養したばあいにはやや小型になる傾向にある。耐久卵の色は餌料により異なり、クロレラのみで培養したばあい、鮮かな橙色となるが、イーストを使用すると濃い肌色となり、条件により変化することがわかった。



6) 耐久卵は当初、伊藤隆等の報告から被甲内に持っているのが常態と考えていたが、今回の採取時の観察では、体外に1～2 個持っているものが多く、被甲内に入ったまま斃死しているワムシは非常に少なかったもので、体外に持つのが常態と思われる。

水槽底よりネット汙過して集めたものには耐久卵のほか、生きたワムシ、雌卵、雄卵、斃死したワムシ、砂、クロレラの汚れ、その他の夾雑物が多く、その中より耐久卵だけ分離するのはそのままでは困難である。そこでネット汙過したものを10 ℓ 容バケツに入れ、2 週間ほど放置し、ワムシや汚れを還元分解させてから、水洗後 ϕ 15cmの時計皿で分離している。ただしこの分離方法は時間がかかるので、今後更に検討する必要がある。

耐久卵の保存は52年までは風乾後冷凍保存していたが、経時的にふ化率が下がる欠点があり、東大日野明德助教授の御指導により、53年からは海水、あるいは真水に入れ冷蔵保存する方法に切り替えたところ、ほぼ100 %のふ化率が得られるようになった。

培養上の問題点として、2 日間のバッチ培養の植え替え時に雄ワムシの約1/3が流出すること。低水温では雄ワムシの増殖に期日を要することなどがあげられる。また今後の検討事項として、低水温培養時にどのような条件を与えるのが最も良いかを検索すること、また耐久卵と夾雑物との分離方法の確立等があり、更に試験を重ねてゆきたいと考えている。

終りにのぞみ、終始懇切な御指導をいただいた東京大学農学部日野明德助教授ならびに御校閲を賜った日本栽培漁業協会大島泰雄常務理事に深謝の意を表する。

参考文献

- 1) 日野明德・平野礼次郎 (1975) 輪虫類の生活史. 化学と生物 Vol 13, No.8
- 2) Akinori Hino and Reijiro Hirano (1976)

Ecological Studies on the Mechanism of Bisexual Reproduction in the Rotifer *Brachionus plicatilis* - I, General Aspects of Bisexual Reproduction Inducing Factors. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 42 (10) 1093 - 1099

3) Akinori Hino and Reijiro Hirano (1977)

Ecological Studies on the Mechanism of Bisexual Reproduction in the Rofifer *Brachionus plicatilis* - II, Effects of Cumulative Parthenogenetic Generation on the Frequency of Bisexual Reproduction. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 43 (10) 1147 - 1155

- 4) 日野明德・平野礼次郎 (1977) シオミズツボウムシの有性 (両性) 生殖誘導要因に関する研究 III, 飼育温度と両性生殖発現頻度の関係について. 日本水産学会講演要旨
- 5) 武智芳郎 (1971) クロレラーその基礎と応用・学習研究社
- 6) 伊藤 隆・岩井寿夫 (1956) 養鰻池の水変わりに関する研究 - V, *Brachionus plicatilis* による水質の変化. Rept. Fac. Fish., Pref. Univ. Mie, Vol 2, No 2