

令和4年度栽培漁業若手研修会-2
-水産研究・教育機構宮津庁舎で
ワムシ培養を考える-

① ワムシの生物学

- ワムシが生物餌料として
“位置付け”される経緯
- ワムシの生物学的特性

1

- ワムシが生物餌料として
“位置付け”される経緯

2

初期餌料としてワムシが
導入される**1960年以前**には



(フジツボ幼生)



(二枚貝幼生)



(天然コペポダ類)

海産魚の初期餌料生物として、フジツボ幼生、
二枚貝幼生、天然コペポダ類等を利用。



これらの餌料生物は、1) 入手に多くの労力を要する
2) 生産が不安定、等の問題有り。このため、大量かつ安
定的に確保できる**”餌料生物”**が切望。

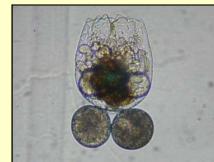
3



(三重県の汽水養鰻池)

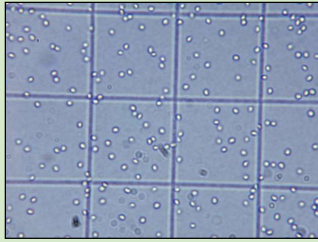
そのような中、

三重県立大学の
伊藤 隆教授は
夏場の養鰻池で大量発生
して水質悪化の原因となっていた
シオミズツボワムシに注目。



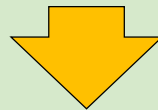
伊藤 隆教授は、
1960年にシオミズツボワムシが 1) 海水でも培養できること、
2) 微細藻類で培養できること等を明らかにし、
海産魚の初期餌料生物として有力候補であることを提唱。

4



(ナンノクロロプシス)

1964年には、香川県屋島で微細藻類の海産クロレラ(多くはナンノクロロプシス)を発見。農業用肥料で容易に大量培養でき、ワムシの培養用餌料に利用できることを解明。



これらの情報を受けて、瀬戸内海周辺の栽培漁業センターでは、直ちにワムシとナンノクロロプシスを導入して、ワムシの大量培養が試みられる。

5



(パン酵母)

しかしながら、ワムシの量産化を進める過程で培養用餌料であるナンノクロロプシスの量的不足が深刻な問題となった。そこで登場するのが“パン酵母”。



1967年にパン酵母がワムシの培養用餌料として代替できることを解明。これによって、ワムシの生産量が拡大し、1970年代には栽培漁業センター1機関あたりのマダイ種苗生産数がそれ以前の数100尾から100万尾を超えるようになった。

6

マダイの種苗生産過程で、形態異常や大量死亡が多発した。


この原因については、当時不明でしたが、この対応として、**1974年**にはパン酵母で培養したワムシをナンクロロプシスで2次培養する方法（現在の栄養強化法）や、**1979年**にはパン酵母とナンクロロプシスを併用給餌する方法を開発。

7

この大量死亡の原因については、**1978年**に海産仔魚の必須脂肪酸である**エイコサペンタエン酸(EPA)**の欠乏症であることを解明。パン酵母のみで培養したワムシにはEPAがなく、ナンクロロプシスで培養したワムシにはEPAが含まれる等を解明。

これらの一連の研究により、餌料における**栄養学的な要素の重要性**を認識。その後の**ドコサヘキサエン酸(DHA)**や**タウリン(遊離アミノ酸)**、**ビタミン類**等の栄養学的な研究に繋がる。

8



(市販の濃縮淡水クロレラ)

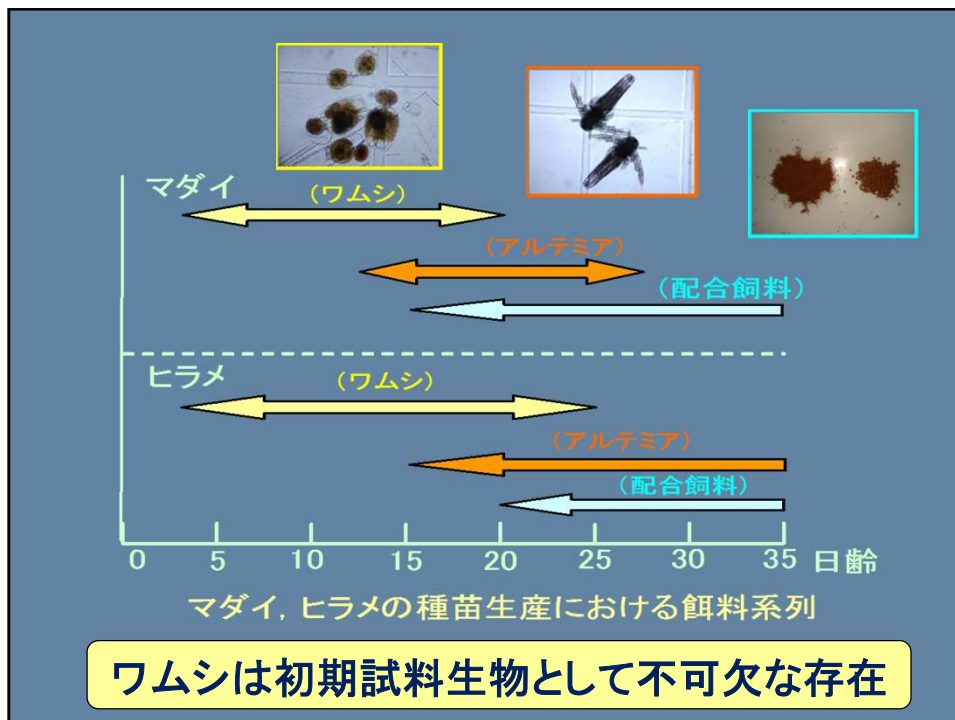
1989年に、ビタミンB₁₂を添加した淡水クロレラがワムシの培養用餌料として開発、市販される。

濃縮淡水クロレラの利点

- 1) 有機培地で工場生産されるため品質が安定
- 2) 市販品であるため入手が容易
- 3) 濃縮品であるため使い勝手が良い

直ちに種苗生産現場で普及し、現在では主餌料になった。
この餌料の利用により、新たな培養法として、1992年に高密度培養法、1997年に連続培養法が開発。

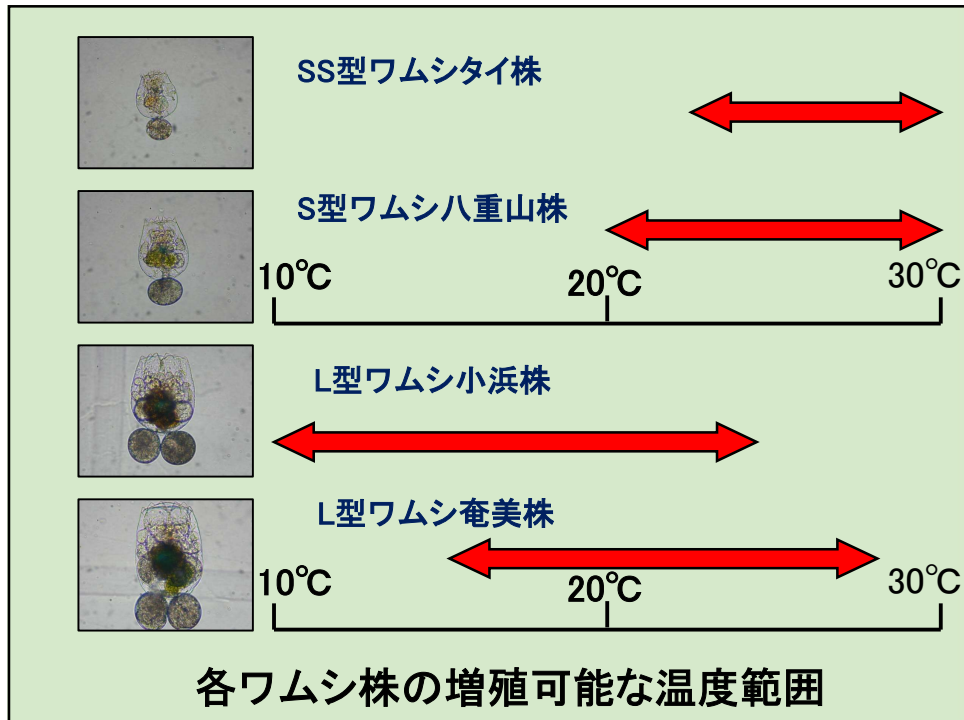
9



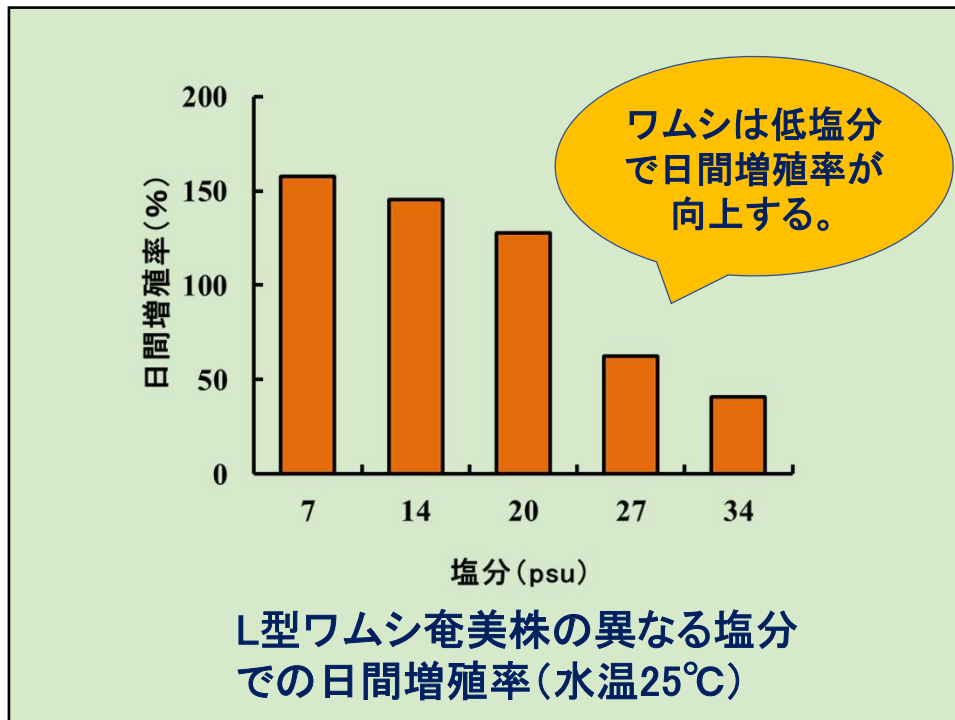
10

●ワムシの生物学的特性

11



12



13

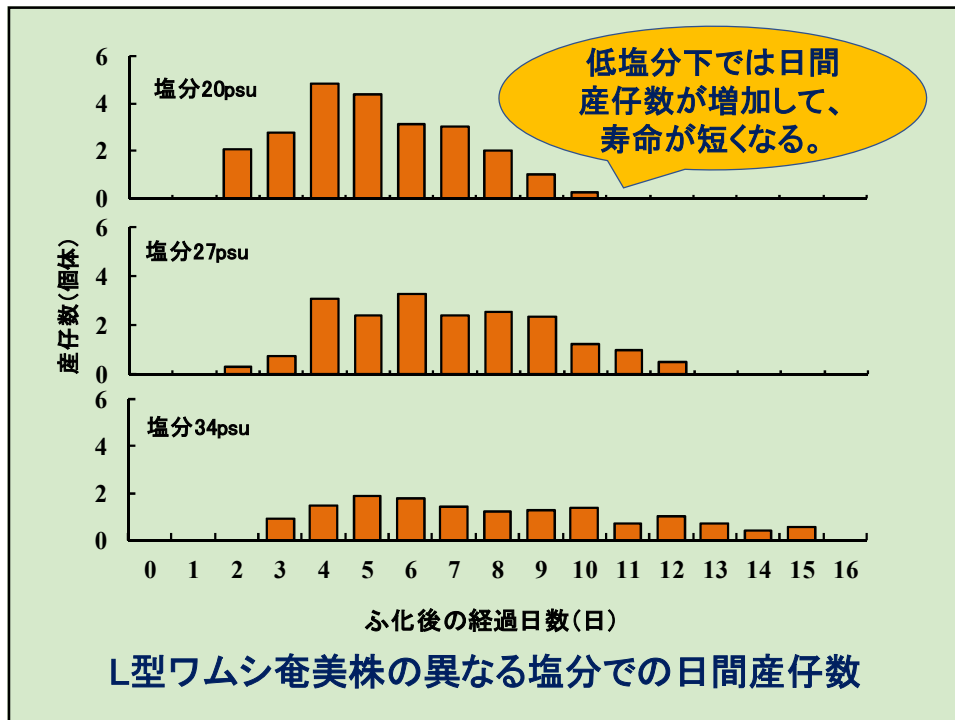
表1. 各水温と塩分の培養条件におけるS型ワムシとL型ワムシの飽食下での日間増殖率

水温 (°C)	塩分 (psu)	日間増殖率 (%)	
		S型ワムシ	L型ワムシ
20	32	43	43
	26	60	58
	20	69	77
25	32	56	55
	26	99	78
	20	171	131
30	32	198	70
	26	266	111
	20	324	167

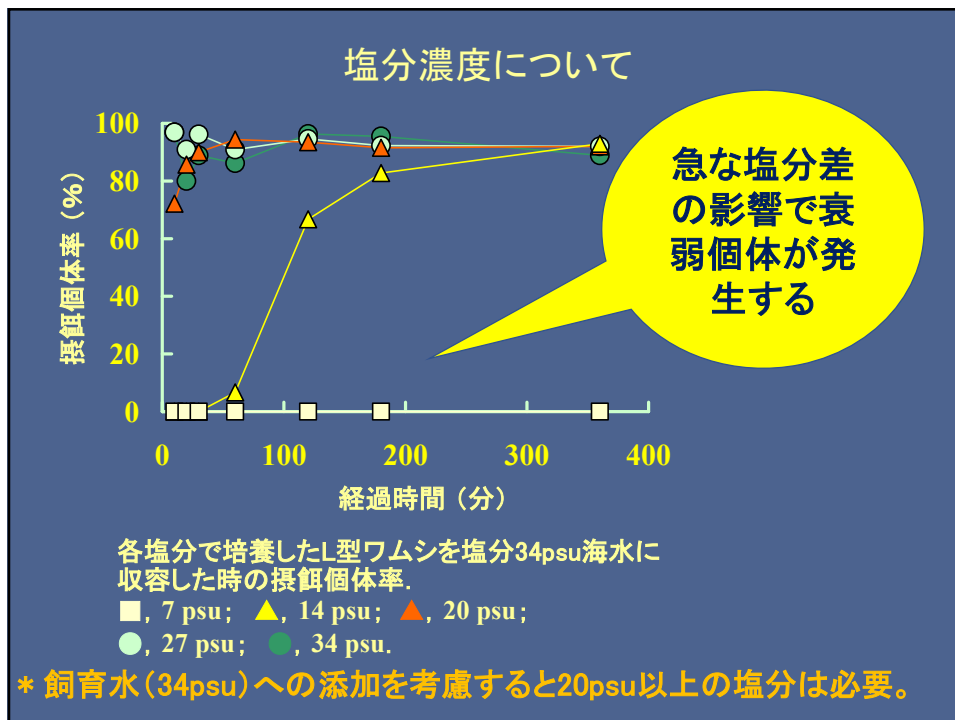
塩分の32psuは全海水, 26psuは80%希釈海水, 20psuは60%希釈海水。

水温、塩分、ワムシ株の種類によって、日間増殖率は大きく変化する

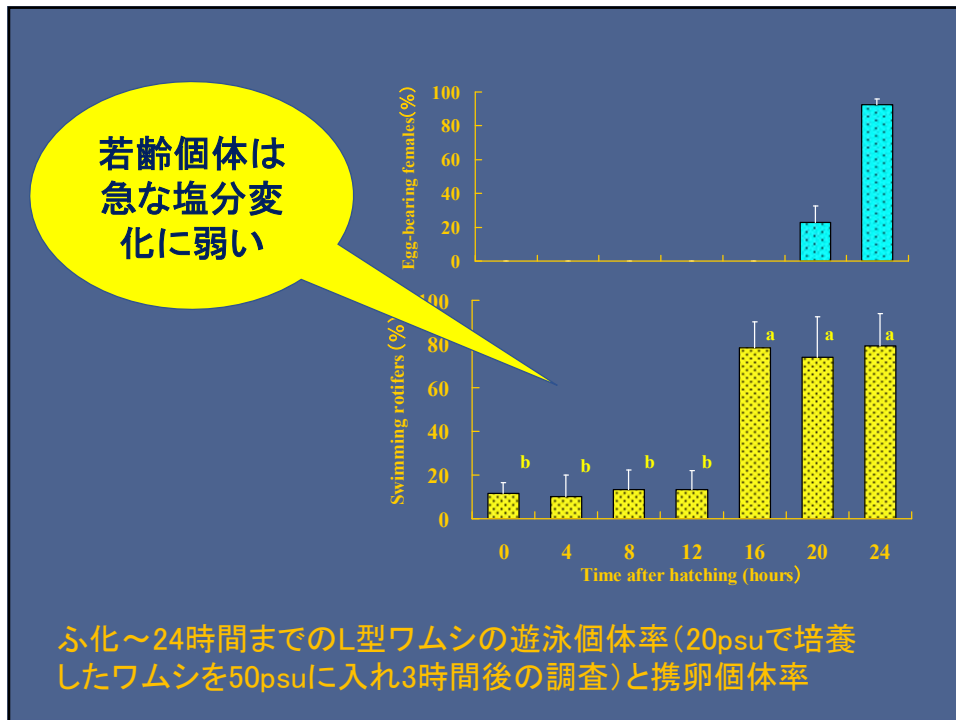
14



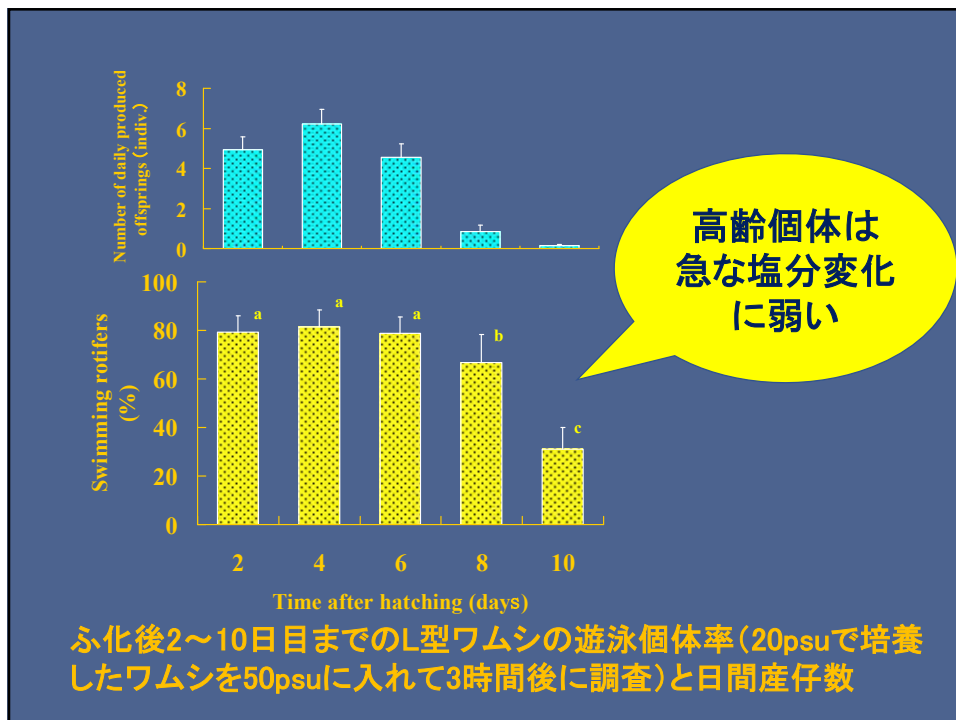
15



16



17



18

総アンモニアに対する非解離アンモニアの割合 (%)

塩分28-31pptの場合

ph	水温 (°C)			
	15	20	25	30
6	0.02	0.03	0.05	0.07
7	0.22	0.32	0.47	0.67
8	2.2	3.1	4.5	6.4
8.5	6.6	9.3	12.9	17.7

Bower(1978) を参照して計算した

仮にワムシ培養条件が、水温25°C、ph7、塩分28pptの場合に、総アンモニア濃度が30ppmの場合には、非解離アンモニアの割合は0.47%なので、 $30\text{ppm} \times 0.0047 = 0.141$ となり、非解離アンモニアの濃度は0.141ppmと計算される。

ワムシに対する非解離アンモニアの慢性毒性は2ppm、急性毒性は17ppm

19

溶存酸素濃度について

異なる溶存酸素濃度で24時間培養したL型ワムシの培養結果

	溶存酸素濃度 (mg/L)				
	6.8 ± 0.1 (対照区)	4.6 ± 0.5	1.3 ± 0.1	0.7 ± 0.1	0.3 ± 0.1
日間増殖率 (%)	49.7 ± 9.7 ^a	52.8 ± 15.1 ^a	40.4 ± 4.6 ^{ab}	20.8 ± 9.5 ^b	-22.7 ± 3.5 ^c
総卵率 (%)*	75.8 ± 10.3 ^a	75.0 ± 1.3 ^a	75.5 ± 1.3 ^a	42.6 ± 5.5 ^b	40.3 ± 3.7 ^b
分離卵率 (%)**	1.1 ± 1.2 ^b	1.6 ± 0.6 ^b	0.6 ± 1.1 ^b	0.6 ± 1.0 ^b	39.4 ± 2.9 ^a
クロレラ摂餌量 (×10 ⁴ 細胞/個体/日)	14.2 ± 0.5 ^a	12.8 ± 0.8 ^a	11.3 ± 1.7 ^a	5.4 ± 1.6 ^b	2.8 ± 0.5 ^b

値は平均値±標準偏差で示した。

* 総卵率 (%) = (卵密度 / ワムシ密度) × 100.

** 分離卵率 (%) = (分離卵密度 / 総卵密度) × 100.

分離卵は、ワムシ虫体から離れた卵のことである。

上付文字が異なる場合は有意差あり (a>b>c, P<0.05).

- 溶存酸素濃度は、2mg/L以上を維持する必要がある。

20

表4. 溶存酸素濃度を变化させた時の開始後3時間におけるL型ワムシの淡水クロレラの摂餌量

溶存酸素濃度 の変化	淡水クロレラの摂餌量 ($\times 10^4$ 細胞/個体/時間)
6.3mg/L → 6.8mg/L (対照区)	1.07 \pm 0.05 ^a
6.3mg/L → 4.6mg/L	0.60 \pm 0.12 ^b
6.3mg/L → 1.3mg/L	0.26 \pm 0.12 ^c
6.3mg/L → 0.7mg/L	0.11 \pm 0.02 ^c
6.3mg/L → 0.3mg/L	0.08 \pm 0.02 ^c

上付き文字が異なる場合、有意差あり(Scheffe's 検定、 $a > b > c$ 、 $P < 0.05$ 、小磯・日野 2006を改変)。

溶存酸素濃度が2mg/L以上でも、急に6.3mg/Lから4.6mg/Lに低下すると、摂餌量が有意に低下する

21

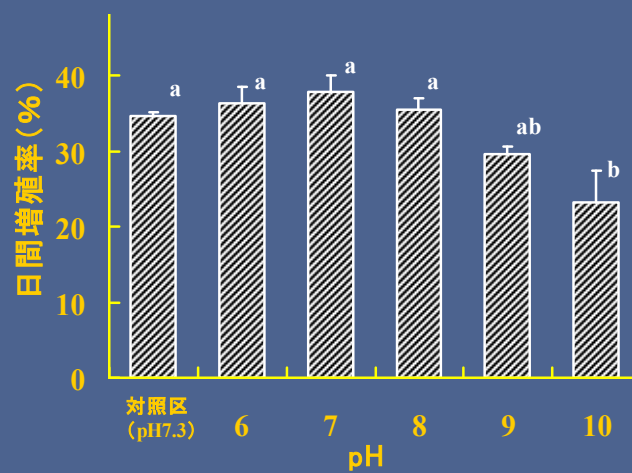
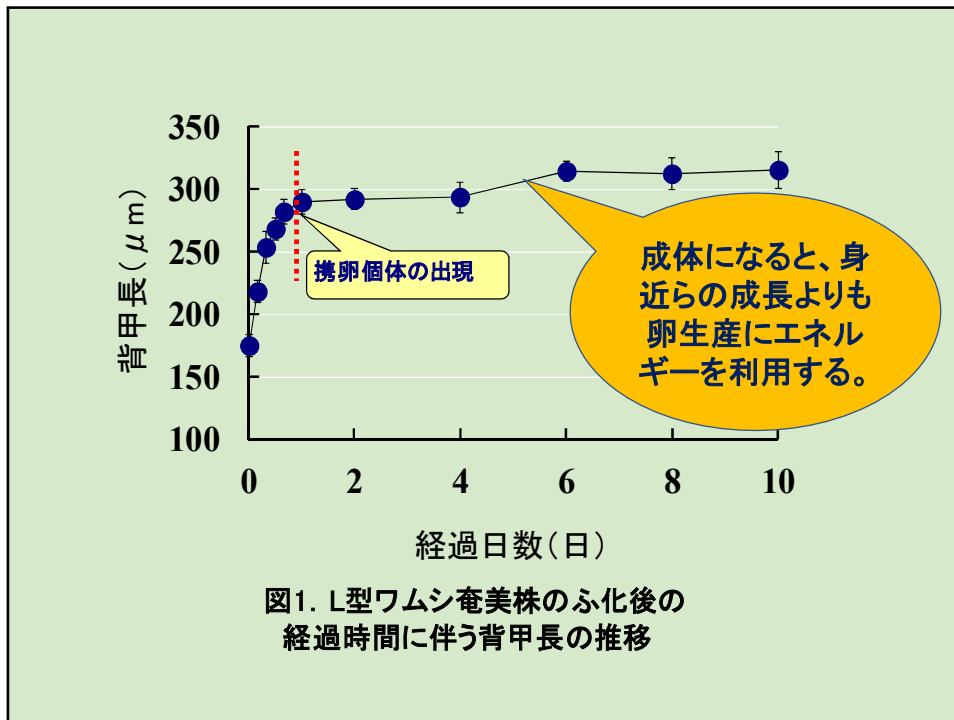
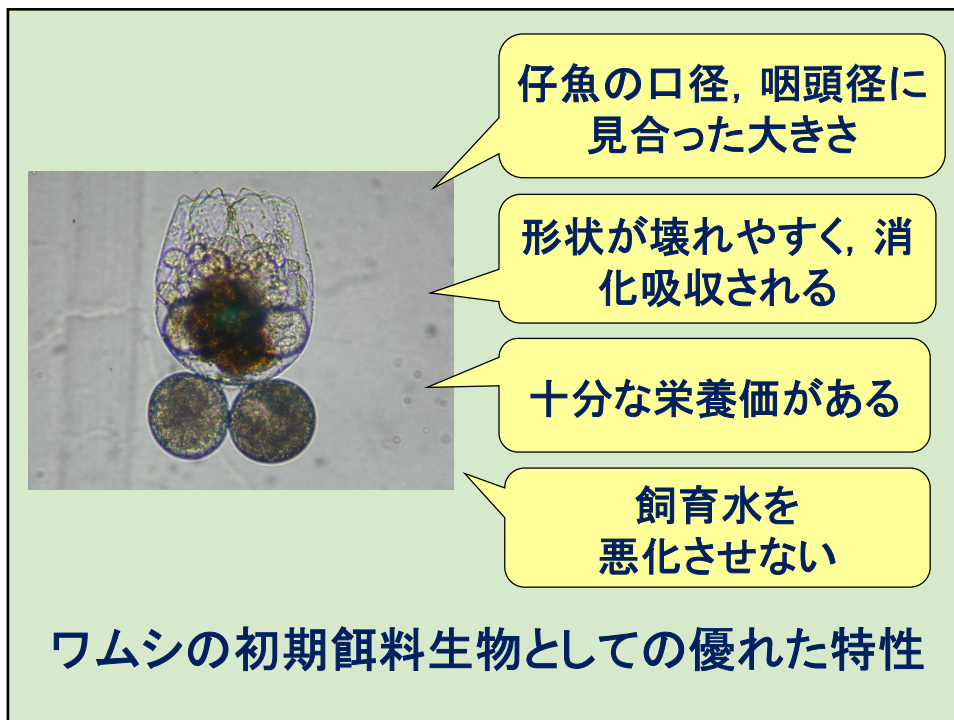


図1.異なるpHによるL型ワムシの日間増殖率
多重比較検定(Scheffe's検定、 $P < 0.05$ 、 $a > b$)

22



23



24

ワムシは、ワムシ株によって適正な培養条件が異なるため、使用するワムシ株の生物学的特性を理解して、適切な培養管理を行う必要がある。

日本海区水産研究所とは

組織の概要

研究情報

データベース等

オープンラボ

公開情報

会議報告等

職員採用

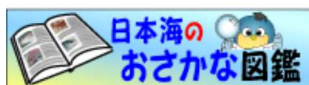
お知らせ

イベント情報

大型クラゲ関連情報

日本海ブロック

刊行物等



私たちが研究対象としている日本海のおいしいさかなたちを紹介しています。皆さんは、どんな料理が好きですか？

研究情報

ワムシの種を存続させるためのもう1つの戦術 ～両性生殖による耐久卵形成～

(資源生産部 初期餌料グループ 小磯 雅彦)

自然界に現存する生物は、厳しい生存競争に打ち勝って種を存続させるために巧みで特有な戦術を持っています。海産魚の種苗生産で初期餌料として利用されているシオミズツボワムシ(以下ワムシ)も、例外ではなく、実は2つの戦術を効果的に使い分けています。その1つは、種苗生産現場のワムシ大量培養でみられる交尾行動や受精を伴わない単性生殖により、効率よく個体数を増やす戦術です。そしてもう1つが、両性生殖により低温や乾燥などの不適な環境に強い耐久卵を形成して、ワムシ虫体や単性生殖卵では生きられない環境を乗り切る戦術です。この2つの戦術は実にうまく連結しており、単性生殖の遂行によって両性生殖の発現しやすい環境が整います。

単性生殖は通常のワムシ培養で行われているため、培養担当者はいつも観察しています。一方、両性生殖は最近のワムシ培養ではあまり気にしておらず、種苗生産現場でもほとんど話題になることはありません。しかし、近年のワムシ培養過程においても、両性生殖による耐久卵形成は行われている可能性があります。このため、このメカニズムを再確認するとともに、現在主に利用されているワムシ株による両性生殖実験の結果の概要についても報告します。

耐久卵形成のメカニズム

ワムシの生活史では、大量培養で普通にみられるamictic female(単性生殖雌:AF) 以外にも、mictic female(両性生殖雌)、雄個体、ならびに耐久卵 が登場します。さらにmictic femaleには、雄個体を産出するタイプ(MF1) と、雄個体と交尾し受精可能なタイプ(MF2) があります(図1)。

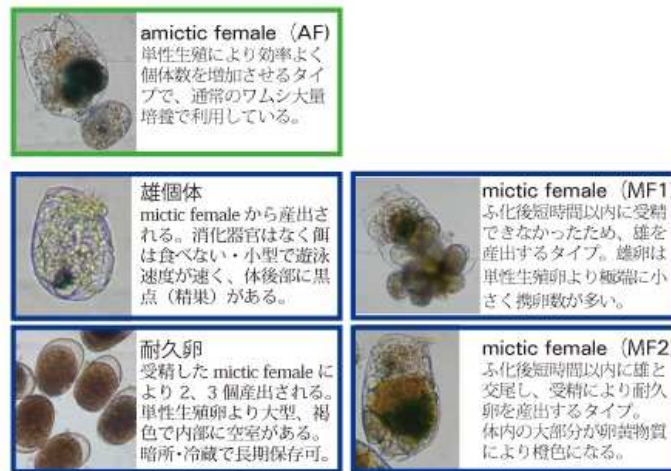


図1 ワムシの生活史に登場する各ワムシと耐久卵の写真とその特徴 (L型奄美株)

また、これらのワムシがどのような生活史を送っているのかを、図2に示しました。

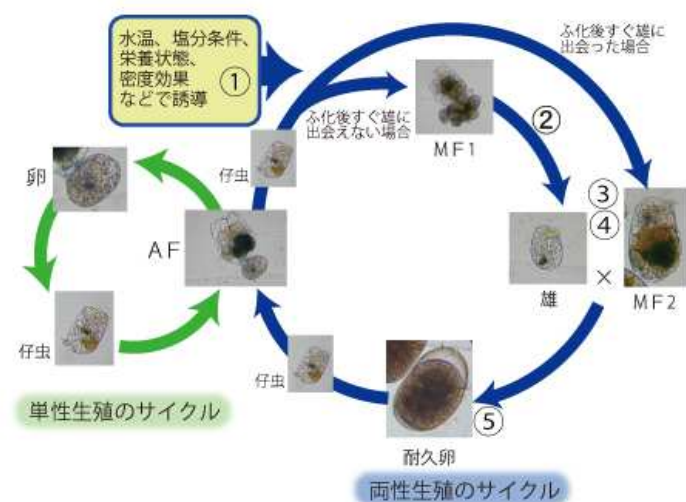


図2 シオミズツボワムシの生活史 (L型奄美株)

ここでは、少し分かりにくい両性生殖による耐久卵形成の工程を以下の5段階に整理して紹介します。

- ① amictic female によるmictic femaleの産出
- ② mictic female による雄個体の産出
- ③ 雄個体 とふ化後短時間のmictic female との交尾
- ④ 受精
- ⑤ 耐久卵 形成

まず①は、水温(S型は30℃、L型は15℃以下)や低塩分(20psu以下)の培養条件、栄養状態(飢餓状態では起こりにくい)、密度効果(培養水中の代謝物の蓄積)などの複合的な影響によって誘導されます。

②では、本来、mictic femaleは雄個体 と交尾受精して耐久卵 を形成する役割があります。しかし、両性生殖が誘導された当初には、培養水中に交尾するための雄個体 がいません。ふ化後短時間以内(25℃ではふ化後8時間以内)に交尾できなかったmictic femaleは、耐久卵形成をあきらめて雄個体を産出する個体(MF1) にその役割を変化させます。この個体の特徴は、携荷している雄卵が単性生殖卵の1/3程度と小さく、その数が多いことです。ちなみに雄個体 の特徴は、L型の場合、大きさが120μmと通常のamictic female の大きさ(130~320μm)に比べて小さく、体後部に黒点(精巢)があります。消化器官はなく餌を食べずに、交尾可能なmictic female(MF2) を探すために活発に遊泳します。

③のmictic female(MF2) は、②のmictic female(MF1) のおかげで、培養水中に存在する雄個体と交尾することができ、④の受精が可能となります。そして受精したmictic female(MF2) によって、最後の⑤の耐久卵 形成に至ります。

耐久卵 は受精したmictic female(MF2) 1個体あたり2~3個が産出されます(amictic female は1個体あたり生涯で20~25個を産出する)。耐久卵 の特徴は、単性生殖卵に比べてやや大型で、色は褐色で、卵内部に空室があります。不適な環境(低水温、低酸素、乾燥など)に耐久性があり、また、暗所で冷蔵状態により1年以上の長期保存ができます。

ワムシの両性生殖による耐久卵 形成について、さらに詳しく知りたい方は、萩原篤志(1996)海産ワムシの大量保存と休眠卵の利用. 栽培技研, 24(2).109-120. や、養殖の餌と水(恒星社厚生各関、第4章pp.59-99、2008)を参照してください。

国内で主に利用されている6種類のワムシ株での両性生殖実験

【目的】

国内で主に利用されている6種類のワムシ株を用いて、両性生殖による耐久卵形成の有無を検討しました。

【材料と方法】

実験に用いたワムシは、SS、S、L型の計6株で、いずれも国内の種苗生産機関で利用されているものです(表1)。培養には500ml容器を用い、SS、S型群は水温30℃、塩分20psuの条件で、一方、L型群は水温15℃、塩分20psuの条件で、それぞれ15日間培養しました。餌料には市販の濃縮淡水クロレラを用い、飢餓状態にならないように適宜給餌しました。培養開始時にはワムシ密度を10個体/mlとして、300個体/mlに達した段階で植え替えました。実験期間中は毎日各試験区におけるamictic female数、mictic female数、雄個体数を計数して、全個体数あたりのmictic female数ならびに雄個体数

をそれぞれの出現率(%)としました。なお、培養終了時には培養容器の底を調べて耐久卵の有無を確認しました。

【結果及び考察】

SS型タイ株、S型岡山株、L型小浜株、L型奄美株でmictic femaleと雄個体が確認され、そのうちSS型タイ株とL型奄美株で耐久卵が確認されました(表1)。

表1. ワムシ株ごとのmictic femaleと雄個体の出現率ならびに耐久卵の有無

株名	mictic femaleの出現率(%)	雄個体の出現率(%)	耐久卵の有無
SS型タイ株	1.2 (0~3.0)	1.1 (0~2.4)	有
S型岡山株	0.4 (0~2.1)	0.4 (0~1.0)	無
S型八重山株	0	0	無
L型小浜株	0.1 (0~1.5)	0.3 (0~1.5)	無
L型奄美株	2.0 (0~5.0)	0.3 (0~1.8)	有
L型静岡株	0	0	無

各株とも500ml容器を用い、市販の濃縮淡水クロレラで15日間培養した(植え替えあり)。培養条件は、SS、S型群は水温30℃、塩分20psuで、L型群は水温15℃、塩分20psuであった。出現率は、全個体数に対する割合。

このことから、近年のワムシ培養でも環境条件を整えば、両性生殖による耐久卵形成が起こることが分かりました。なお、mictic femaleと雄個体の出現率は最大でも5%と低いことから、ワムシ培養担当者が危惧する両性生殖による増殖不良の心配はなさそうです。

また、過去にも報告されていますが、S型岡山株やL型小浜株のように、培養水中にmictic femaleや雄個体が確認されてもかならずしも耐久卵形成が起こるとは限らないことや、S型八重山株やL型静岡株のように、両性生殖が誘導されにくい株があることが再確認されました。

ワムシ計数時に図1の写真で示した両性生殖に関与するワムシのタイプが見つかった場合には、もしかしたら耐久卵形成が起こっている可能性があるため、耐久卵を探してワムシ株の保存に利用してはいかがでしょうか。

独立行政法人 水産総合研究センター 日本海区水産研究所

〒951-8121 新潟市中央区水道町1丁目5939-22 TEL:025-228-0451(代表) FAX:025-224-0950

職員専用

© Copyright Japan Sea National Fisheries Research Institute, Fisheries Research Agency All rights reserved.