

No.8805 海産生物の飼育および大量培養用媒液としての食塩の利用

日野明徳(東京大学農学部)

我が国の漁業は、「とる漁業」から「造り育てる漁業」へと転換したが、その根幹を成す海産動物種苗生産では、おびただしい量の微小動物プランクトン・シオミズツボウムシ *Brachionus plicatilis* (袋形動物門、輪虫綱、以下ウムシと略す) が必須の餌料となっている。しかし、その大量培養には依然として不安定要素が存在し、大きな問題となっているが、その原因の大部分は用水の適正な管理によって除くことが出来ると思われる。本研究では、ウムシ培養用媒液を、従来天然海水から、原生動物や細菌類による障害の起こりにくい人工媒液に切換えることを目標として、食塩を基本とする簡易な人工海水の検討を行なった。さらに、その媒液によって、アサリおよびボラを飼育し、高等動物への応用の可能性を論じた。

ウムシについては、ウムシ特有の高摂餌、高排泄率により、餌料に由来するイオンが飼育水中に急速に現れ、給餌下での実験は不可能であったため、飢餓状態での生残状況を天然海水の対照区と比較する方法で各種人工媒液の適性を調べた。

その結果、天然海水中の主要イオン組成に基づき、NaClを基本に Ca^{2+} 、 SO_4^{2-} 、 Mg^{2+} を添加した場合、ウムシの生残は NaCl のみのA液が最も低く、(半数致死時間 LT50 : 1.1 日)、ついで Mg^{2+} 、 SO_4^{2-} を加えたB液(同 3.2 日)、 Ca^{2+} を加えたC液(同 3.5日)、すべて加えたD液(同 3.8日)、天然海水(同 5.3日)の順となった。一方、これらの人工媒液に天然海水を1/5または1/20量添加した場合、いずれの実験区でも生残は著しく改善され、特にD液区では天然海水に匹敵する結果となった。天然海水の添加量については、減少させると生残は次第に悪くなったが、1/1000の添加でも、D液そのものよりは明らかな改善が見られた。当然のことながら、ウムシの大量培養が給餌下で実施されることを考えると、より広範なイオンが媒液中に出現することから、NaCl水に塩化カルシウムまたは硫酸マグネシウムのみを添加した溶液でも十分な媒液になるものと考えられるが、詳細な処方は、種苗生産機関毎の生産形態に応じて決定する必要がある。

ウムシにおいて良好な成績がえられた簡易人工海水すなわちD液中でアサリおよびボラを飼育したところ、ボラでは、24 時間以内にほとんどの個体が死亡し、媒液のイオンバランスが問題であろうと考えられた。一方、アサリでは、1/100量の天然海水を添加した場合、5日間の生残率は天然海水とほぼ同等で、短期の蓄養には十分利用できることが明らかになったが、生理的に何らかの異常状態にあったことも示された。

動物が高度に進化しているほど、体液の恒常性が重要であり、人工海水はより複雑化されねばならないと考えられた。

No.8805 海産生物の飼育および大量培養用媒液としての食塩の利用

日野明徳(東京大学農学部)

I、シオミズツボウムシ(袋形動物門・輪虫綱)培養用媒液の塩類組成に関する研究

「序論」

「200海里問題」以後、我が国の漁業は「とる漁業」から「造り育てる漁業」へと転換し、資源生物の繁殖や成長など、生物生産を人為的に管理・助長する増殖事業が以前にも増して積極的に行なわれるようになった。その一つである種苗放流は、水生動物が最も多く死亡する幼弱な時期を人為管理下に置き、生産される多数の種苗を放流することにより、良好な生残りと、天然の豊かな生産力に支えられた高い成長率を期待するものである。ちなみに、1987年には4千万尾を超えるマダイや5億を超えるクルマエビの人工生産種苗が国営、県営または第三セクター方式の事業場により

表1. 我が国の主要魚種種苗生産数(昭和62年度)

魚類	単位	100万尾	サイズ
マダイ		40.2	全長 20mm
ヒラメ		16.5	30
甲殻類			
クルマエビ		528.9	全長 15
ガザミ		43.8	甲幅 5
ヨシエビ		39.0	全長 15
貝類			
ホタテ		2567.0	殻長 30
アワビ		38.3	61
アカガイ		11.6	2
その他			
ウニ類		9.9	殻径 5

放流され(表1)、漁獲される割合も年々向上するなど、水産増殖先進国の名をほしいままにしている。しかしこの種苗生産面での輝かしい実績もわずかここ20年足らずのものであり、1事業場当りの生産尾数で100万を容易に生産するマダイに例をとってさえ、1965年にはわずか数100尾の、そして1974年にようやく10万尾の生産記録が残されているにすぎない。

一般に海産動物の繁殖戦略は数多くの卵を生むことによってなされるが、マダイ、ヒラメ、マグロなどの海産魚も例外ではなく、1尾の雌が数10万から数100万粒を産卵するが、いきおい卵は小型になり、直径1mmに達しないものも多い。このような卵から孵化する仔魚も当然小型であり、人工飼育に際しては物理化学的環境の維持に高度の管理を必要とすることも、これら生物の飼育確立を妨げてきた要因であるが、それ以上に、僅か2mm程度の初期仔魚に与えるべき微小な餌料の確保のままならなかった事が、魚類、甲殻類を問わず海産動物種苗生産の確立を遅らせた主な原因であると考えられている。

1960年前後、世界に先駆けクロダイ(笠原ら 1960)、マダイの人工孵化と飼育に成功した当初、数多くの微小生物を餌料として応用することが試みられたが(平野 1963)、「活きたものを比較的容易に確保できる」、また「仔魚の生残率」等の面から、その後、孵化仔魚に対してはマガキの幼生を、やや成長した仔魚にはフジツボ類の幼生を、さらに成長したものには *Artemia* の幼生を与え、次第に魚肉ミンチなど人工的な餌に切換えてゆく餌料の系列が一応の確立を見た。しかし、マガキもフジツボも天然に成育する親を採集後人工採卵する必要があり、また幼生がすぐに成長する結果、仔魚が摂餌できないサイズになってしまうなどの欠点があり、多くの労力を必要とする割には、計画的な確保が出来ない、産卵期に限られており周年の利用が不可能であるなどの問題が依然として残されていた。

一方、三重県地方の汽水養鰻池には、物理化学的環境の維持に必要な植物プランクトンを一夜にして食いつくす外敵動物プランクトン、すなわちシオミズツボウムシ *Brachionus plicatilis* (以下ウムシ) がしばしば出現していたが、このウムシは海水中でも繁殖し、また爆発的とも言える増殖を示す処女生殖のほか、両性生殖によって作られる受精卵が長期の保存に耐えるなど、餌料生物としての可能性の高いことが注目されていた

(伊藤 1960)。この伊藤によるウムシ利用の提唱及び基礎研究以後、各方面で精力的に研究がなされた結果、ウムシのすぐれた特性が次々と明らかにされ、数年後には従来の海産魚初期餌料系列の大半がウムシに置き換えられ、それとともに種苗の生産尾数も飛躍的な伸びをみせることとなった。それらの理由は、

1. 体長 70-150 μm (S型) または 150-300 μm (L型) の個体が混在するので、初期仔魚から後期仔魚にまで使用することが出来る、
 2. 処女生殖によって急激に増殖する能力がある (3倍/日)、
 3. 元来が汚水生物であり、環境耐性が高いので、2. の理由と合せて周年にわたる大量培養が可能である、
 4. 両性生殖によって作られる受精卵は長期 (数年間) 保存に耐える、
 5. 形状が単純で摂餌されやすい、
 6. 生き餌であるから仔魚飼育槽の水質を悪化させない、
 7. 培養用餌料を変えることによって栄養価のコントロールができる、
- 等であり、今やワムシを欠いては海産魚類及び甲殻類の種苗生産は不可能であるとまで言われている。

「目的」

ワムシの導入によってはじめて可能になった1事業場当りマダイのみでさえ100万尾を超える種苗生産も、5年後の倍增計画、新魚種の開発などを控えて新たな問題を抱える現状にある。その一つとして、ワムシ安定供給の問題が挙げられ、大量に摂餌する仔魚 (全長10 mm で 2500 個体ワムシ/日) が健全に発育するための鍵を握るものとみなされている。このワムシ培養も一種の生物生産行為であり、様々な不安定要素を抱えているものであるが、しばしば起こるワムシの増殖不良や大量弊死が直接、間接を問わず、培養槽中に出現する細菌類に由来するものであることが近年明らかにされてきた (Yu ら 1988、Yu ら 1989)。また、収穫したワムシが魚病細菌を含む大量のビブリオ菌を保有している例も報告されており (宮川ら 1988)、微生物学的な研究のより一層の発展がワムシ安定供給、ひいては種苗の安定供給に不可欠であると考えられている。しかしながら、細菌相の人為的制御は事実上不可能と言わざるを得ない現状から見て、近未来的に最も効果的と考えられる対策の一つとして、滅菌など、用水に由来する増殖阻害細菌の排除を検討することが適当と思われる。

一般に、動物プランクトン培養液の滅菌には加熱あるいは精密濾過といった方法がとられるが、1日に数10億尾のワムシを必要とする種苗生産現場では用水量も10m³/日前後になるため、大型の夾雑物を除く数 μm レベルの濾過が行なわれているに過ぎない。一方、蒸留水、脱イオン水あるいは水道水に試薬を溶解して作られる人工海水は、当然の事ながら、ワムシ培養槽の様な海水中で増殖する細菌群を殆ど含まないため、コストの問題を無視すれば微生物学的にはすぐれた媒液であると考えられる。また、常

に一定の性状の海水が得られるという面から、海水水質の季節的変動あるいは日変動、また汚染物質の混入など自然海水のもつ欠点を克服できるという利点もある。しかし現在市販されている人口海水では、1 m³ 当り

表 2。自然海水中の主要イオン

	濃度 (g/Kg)	濃度 (mmol/Kg)
Cl ⁻	19.353	545.9
Na ⁺	10.76	468.3
SO ₄ ²⁻	2.712	28.23
Mg ²⁺	1.294	53.22
Ca ²⁺	0.413	10.12
K ⁺	0.387	9.90
HCO ₃ ⁻	0.141	2.33
Br ⁻	0.067	0.84
Sr ²⁻	0.008	0.09
B ³⁻	0.004	0.44
F ⁻	0.001	0.05

数万円の経費を要するため。論議の対象とはなり得ない。これは、市販品が出来るだけ天然海水に近いイオン組成(表2)を追求しているためであり、必ずしも飼育対象生物の生理学的な要求に基くものではないからである。したがって、ワムシ培養に必要なかつ十分な、最低限の(安価な)塩類で構成される人工媒液の完成が望まれる。またこのことは、海水の入手が困難な内陸部においてワムシ生産を行なわざるを得ないア

ユ種苗生産施設にとっても有力な情報となるであろう。

本研究ではワムシのみを飼育対象とし、出来るだけ低コストで大量培養が可能な人工海水を開発することを目標として、飼育水に対するワムシのイオン要求性を調べ、さらにその結果に基づいて、食塩を基本とした主要イオン添加溶液中でワムシを飼育し、実用化への予備的検討を行なった。なお、塩素イオン Cl⁻ およびナトリウムイオン Na⁺ については、基本的に必要なイオンとみなしたので、これらについての要求性は検討しなかった。

「材料及び方法」

海産クロレラ Nannochloropsis を餌料として、25℃で前培養されたワムシを 50 ml の各種塩類液に200個体/ml 前後の密度で収容し、25℃、暗黒、かつ無給餌条件下での生残率の推移によって、各種溶液の媒液としての適否を評価した。なお、ワムシの生死については、体内のどの器官も停止している状態を「死亡」とし、毎日 100個体程度をぬき取り、顕微鏡下で判定した。実験に先立ち、前培養からぬき取ったワムシを40 μm メッシュのネット上で、それぞれの実験溶液を用いて充分洗浄した。なお、本種ワムシは極めて広い塩分耐性を示すので、各実験区の塩分濃度について、

特には調整を行なわなかった。比較のために用いた天然海水は、八丈島沖で採集されたもの(塩分量 34.7 ppt)である。なお、試薬の溶媒には脱イオン水を用いた。

1. 飼育水に対するワムシのイオン要求性

① 主要イオン除去海水中でのワムシ生残率 簡易な組成でありながら比較的良質の人工海水として知られている Brujewicz の人工海水(表3)を標準媒液とし、この中の構成イオンを一つづつ除いた溶液中でのワムシ(タイ株)生残の推移によって、各イオンに対する要求性を評価した。なお、比較のため、天然海水および市販の並塩の溶液(35.0 g/kg)も使用した。

表3. Brujewicz の人工海水の組成

NaCl	26.5 g/l
MgCl ₂	2.45
MgSO ₄	3.31
CaCl ₂	1.14
KCl	0.725
NaHCO ₃	0.202

原法にあるNaBrは省略した。

② 飼育水中の必須イオンに対する要求限界 飼育水に欠かせないイオンであることが明らかになったカルシウム Ca⁺、マグネシウム Mg⁺、カリウム K⁺の各イオンについて、飼育水に必要な最少の濃度を知るために、Brujewicz の人工海水のうち、一つだけの濃度を段階的に変えた溶液中にワムシを収容し、生残率の推移を観測した。

2. 実用化媒液の予備的検討

① 主要塩類添加媒液中でのワムシの生残 自然海水中の主要成分(表2)のうち、これまでに明らかになったNa⁺、Cl⁻以外の必須イオンについてMg²⁺、Ca²⁺を順次脱イオン水に加えることとし(表4)、A液ではNa⁺とCl⁻を海水と同濃度に、B液ではNa⁺、Cl⁻を海水と同濃度、かつMg²⁺を海水の1/2に、C液ではNa⁺、Cl⁻、Ca²⁺を海水と同濃度に、D液ではNa⁺、

表4. 主要塩類添加媒液の組成

溶液	作成方法	溶液の概略
A	水500mlにNaCl 15.95g を溶解	Na ⁺ , Cl ⁻ ...海水と等量 他の成分...なし
A ₅	溶液A 40mlに海水 10mlを加えた	他の成分...海水の1/5
A ₂₀	溶液A 47.5mlに海水 2.5mlを加えた	他の成分...海水の1/20
B	水500mlにNaCl 15.95g MgSO ₄ ·7H ₂ O 3.39gを溶解	Na ⁺ , Cl ⁻ , SO ₄ ²⁻ ...海水と等量 Mg ²⁺ 海水の1/2、他の成分...なし
B ₅	溶液B 40mlに海水 10mlを加えた	他の成分...海水の1/5
B ₂₀	溶液B 47.5mlに海水 2.5mlを加えた	他の成分...海水の1/20
C	水500mlにNaCl 15.95g CaCl ₂ ·2H ₂ O 0.76gを溶解	Na ⁺ , Cl ⁻ , Ca ²⁺ ...海水と等量 他の成分...なし
C ₅	溶液C 40mlに海水 10mlを加えた	他の成分...海水の1/5
C ₂₀	溶液C 47.5mlに海水 2.5mlを加えた	他の成分...海水の1/20
D	水500mlにNaCl 15.95g MgSO ₄ ·7H ₂ O 3.39g CaCl ₂ · 2H ₂ O 0.76gを溶解	Na ⁺ , Cl ⁻ , SO ₄ ²⁻ , Ca ²⁺ ...海水と等量 Mg ²⁺ 海水の1/2、 他の成分...なし
D ₅	溶液D 40mlに海水 10mlを加えた	他の成分...海水の1/5
D ₂₀	溶液D 47.5mlに海水 2.5mlを加えた	他の成分...海水の1/20

Ca^{2+} , Cl^- を海水と同濃度、かつ Mg^{2+} を海水の1/2とした。またA液に自然海水を1/5または1/20加えた溶液を A_5 , A_{20} とし、以下B, C, D各液についても、同様の天然海水添加区を設け、これらをA, B, C, D各系列と称した。

② 主要イオン添加溶液に対する自然海水添加効果 主要イオン添加溶液中でのワムシの生残は、添加するイオンの種類が増加するに従って良好になったが、どの実験区でも、天然海水を若干量加えた場合により対照区(自然海水)に近い値が得られた。ここでは、主要イオンのみの実験で最も生残が良好であったD液を基本溶液とし、出来るだけ少量の天然海水の添加でワムシの生理状態の維持を図ることを目標として、1/20、1/100、1/1000量の天然海水添加区を設けた(表5)。なお、ワムシには石川L型株を使用した。

表5. 主要イオン添加溶液に対する自然海水添加方法

溶液	溶液の作成方法
D	水500mlに NaCl 15.95g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 3.39g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.76gを溶解
D_{20}	溶液Dと海水を19:1に混合した
D_{100}	溶液Dと海水を99:1に混合した
D_{1000}	溶液 D_{100} を溶液Dで10倍希釈した

「結果」

1. 飼育水に対するワムシのイオン要求性

各溶液の pH は 7.77~8.20 の範囲にあり、ワムシへの影響は無視し得ると考えられた。

図1に示すように、天然海水、Brujewicz人工海水及び SO_4^{2-} 除去海水中でのワムシ生残率はほとんど同様に推移したが、 K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} 除去海水中での生残率の低下は顕著であり、とくに Ca^{2+} 除去海水中では即死とも言える状況を呈した。また、 Na^+ , Cl^- 以外のイオンをほとんど含まない並塩の溶液でも同様であった。これらに対し、 SO_4^{2-} イオン除去海水中での生残の状況は、天然海水、Brujewicz人工海水中のそれと変らなかった。

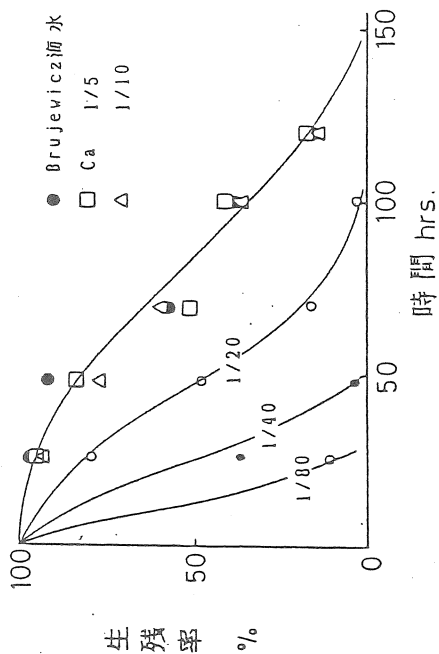


図2. カルシウムイオン濃度とワムシの生残

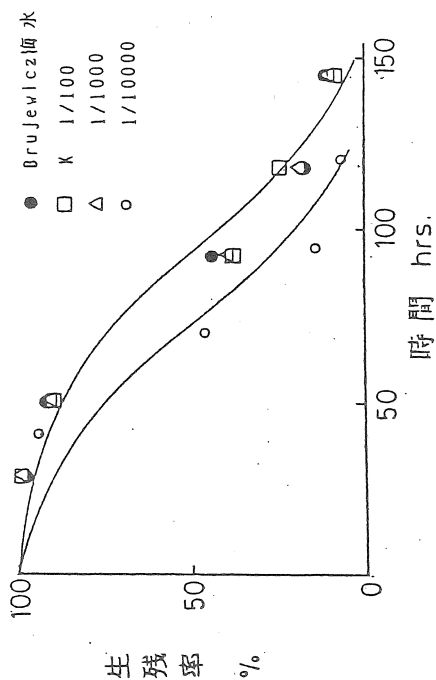


図4. カリウムイオン濃度とワムシの生残

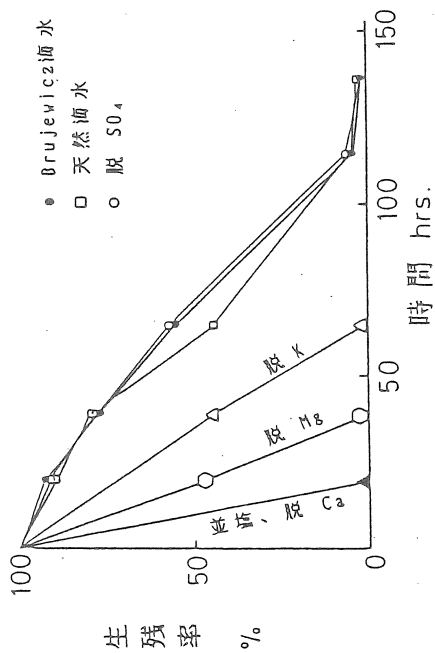


図1. 各イオン除去海水中でのワムシの生残

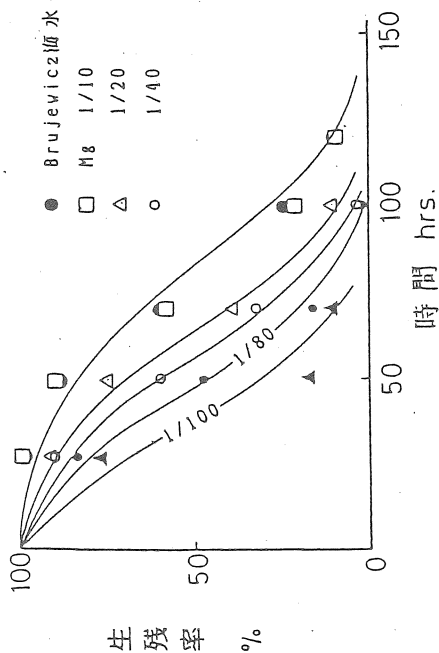


図3. マグネシウムイオン濃度とワムシの生残

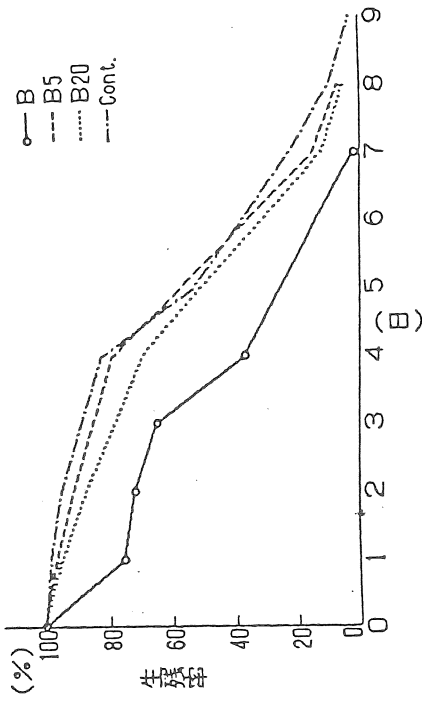


図6. B系列溶液中のワムシ生存率

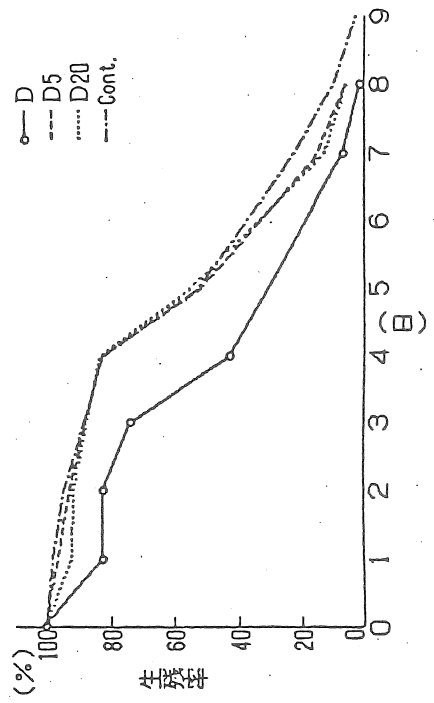


図8. D系列溶液中のワムシ生存率

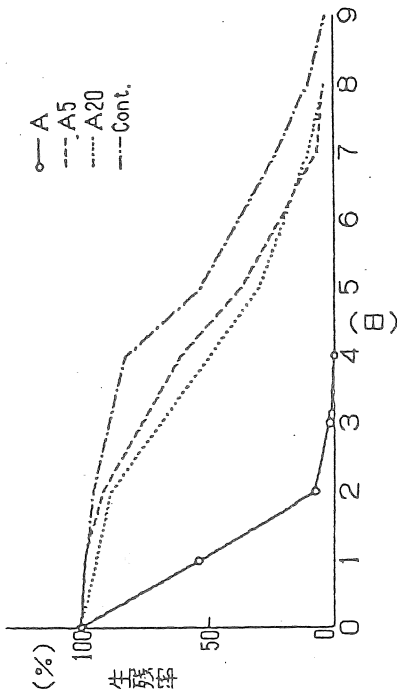


図5. A系列溶液中のワムシ生存率

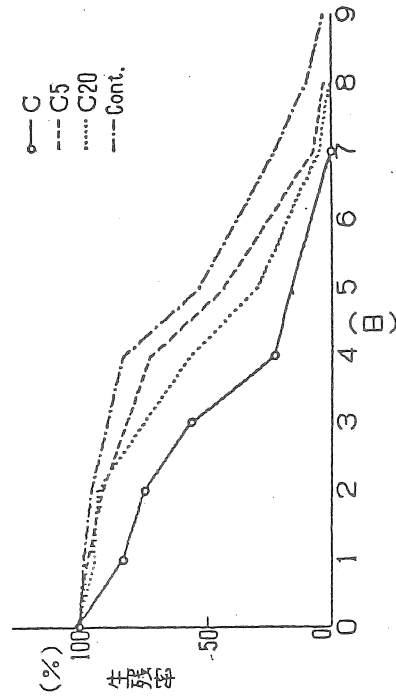


図7. C系列溶液中のワムシ生存率

Brujewicz人工海水中の Ca^{2+} イオンのみを 1/5, 1/10, 1/20, 1/40, 1/80 に調製した溶液中では、1/10 濃度までは生残率の推移に差が見られなかったが、それ以下では、濃度が下がるにしたがって生残率の低下が顕著であった(図2)。この結果から、 Ca^{2+} イオンの限界濃度は 1/10~1/20 濃度の範囲にあると推定された。 Mg^{2+} イオンについても同様に、限界濃度は 1/10~1/20 濃度の範囲にあると推定された(図3)。 K^+ イオンについては、濃度の変化と生残率の変化との間に顕著な相関は見られなかったが、限界濃度は 1/1000 ~ 1/1000 の間にあると推定された(図4)。

2. 主要塩類添加媒液中でのワムシの生残。

図5~8に、各A, B, C, D, 液及びそれぞれ1/5、1/20量の天然海水を添加した溶液中でのワムシ生残率の経時的变化を、また、表6に半数致死時間 LT_{50} を示した。

表6. 主要イオン添加溶液中でのワムシの半数致死時間 (LT_{50} ・日)

溶液	半数致死時間(日)	溶液	半数致死時間(日)
天然海水	5.3		
A	1.1	C	3.2
A ₅	3.9	C ₅	4.2
A ₂₀	4.5	C ₂₀	4.7
B	3.5	D	3.8
B ₅	5.0	D ₅	5.2
B ₂₀	5.2	D ₂₀	5.3

対照区である天然海水中では、飢餓状態での典型的な生残曲線が示され、半数致死時間 LT_{50} は5.3日となった。一方、対照区と大きく異なる生残率の推移を示したのは、Na、Clのみを含むA液区で、24時間後にはほぼ半数が、48時間後には殆ど全数が死亡した。A液にCaイオンが加わるC液および、A液にMg、 SO_4 イオンが加わるB液では生残が改善され、 LT_{50} はそれぞれ3.2および3.6日になったが、それらのイオンをすべて含むD液では3.8日になり、含まれるイオンの種類を多くした溶液で生残が良好で

あることが示された。一方、A、B、C、D各溶液に1/5および1/20の天然海水を添加した場合、元の溶液に比べて生残率は著しく改善されたが、特にBおよびD系列では添加効果が天然海水とほぼ同様の生残率にまで及んだ。

B系列とC系列を比較すると、基本溶液すなわちB液およびC液でLT₅₀がそれぞれ3.5および3.2日であり、あまり顕著な違いは検出されなかったが、それぞれに天然海水を添加した場合のLT₅₀改善効果には両系列間に明らかな差が見られ、1/20および1/5添加区のLT₅₀がC系列では4.2および4.7日であったのに対し、B系列では5.0および5.3日と、100%天然海水の対照区と近似する値となった。このことは、NaClのみを溶解したA液に海水と等量のCaイオンを添加した場合(C液)よりも、等量のSO₄と1/2量のMgイオンを加えた場合(B液)の方がワムシに対し生理学的な効果が高いことを意味している。同様の解釈は、C系列は「D系列からMgとSO₄を除いたもの」、B系列は「D系列からCaを除いたもの」と考えて、生残率の違いの程度を比較した場合にも成立する。

主要イオン添加溶液に対する天然海水添加効果

D溶液を元に、天然海水添加量を少なくした溶液中での生残率の推移を図9に示した。

1/1000のみ天然海水を加えた場合でも、D液と比べてワムシの生残率改善の効果は大きく、4日後まで1/100区、1/20区と生残曲線は一致した。しかし、5日後から、天然海水添加量の少ない順に生残率は低下し始め、D、D₁₀₀₀、D₁₀₀、D₂₀のLT₅₀は5.7、6.7、7.3(外挿値)、7.8(外挿値)日となった。

「考察」

図1に示した結果から、Na⁺、Cl⁻以外で飼育水に必要なイオンはCa²⁺、Mg²⁺、K⁺と判断した。それらの各イオンの濃度を変えた実験(図2、3、4)から、それら必須イオンに対する要求限界をまとめたものを表7に示した。実際のワムシ培養が大量の給餌を伴うことを考慮すると、限界濃度が海水比1/1000以下であるK⁺については、とくに添加する必要は無いと考えられる。

本研究では、飢餓状態での生残率を指標としたが、これは、給餌下では餌料に由来する様々な無機塩が水中に溶出する、あるいはワムシの摂餌と排出によって間接的に水中に出る等の妨害が生じ、実験結果の解析が不可能であった初期の経験に基づくものである。

表7. ワムシの必須イオンに対する要求限界

イオン	限界濃度	
	海水比	濃度 mg-at/ l
Mg ²⁺	1/10-1/20	5.4-2.7
Ca ²⁺	1/10-1/20	1.0-0.50
K ⁺	1/1000-1/10000	0.010-0.001

一方、ワムシの大量培養には当然ながら給餌が行なわれ、餌料として用いられる単細胞藻類や酵母類の原形質や培地（海水主体）に由来するさまざまなイオンが、ワムシに特有の高い摂餌率、排泄率に助けられてすみやかに水中に出てくるものと考えられる。現在、内陸部にある一部の種苗生産機関では、市販の食塩を井戸水に溶解してワムシ培養を行ない、相当程度のワムシ生産量を得ているが、おそらくは、給餌に由来する無機イオンや井戸水に由来する無機イオンによって、媒液のイオン欠陥が補われているものと思われる。しかしながら、どのイオンが主要であるかなど、媒液に対するワムシ自身の無機イオン要求性についての系統立った研究が行なわれてこなかったことは、使用する食塩の種類（夾雑イオンの種、量が異なる）や用水の質についてのマニュアル化を阻むものであった。

本研究の結果は、生理学的な論議を行なうには不十分であるが、塩化ナトリウム、硫酸マグネシウム、塩化カルシウムを混合した簡易人工海水に微量の天然海水を添加することによってワムシの生理状態がほぼ正常に保たれることが証明され、実用上安価に人工媒液を調製し得ることが示唆された。すなわち、上記三種の試薬のほか、1/20程度の天然海水の添加があればほぼ100%天然海水に匹敵する媒液が得られるが、実際のワムシ培養で大量の給餌が行なわれることを考慮すれば、飢餓状態での生残を指標とした実験ほどの厳密さは必要ないと考えられる。種苗生産機関の培養では使用する餌料や給餌率、抜取り率（収穫率）、摂餌・排泄に係る水温などが様々であるため、本研究で比較的良好な結果を得たB、C、およびその系列の溶液を基本とした上で、モデル実験により媒液の組成簡略化を検討する必要がある。

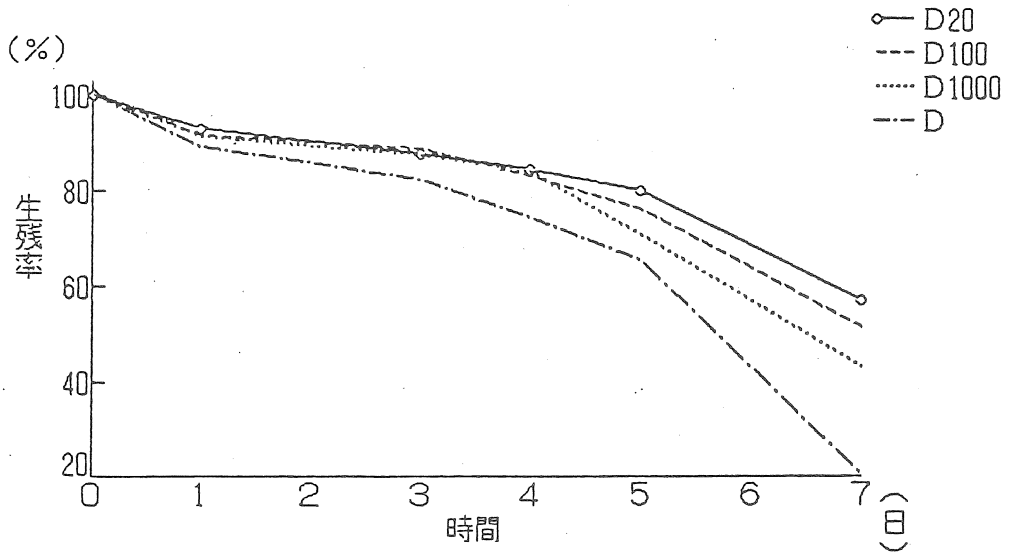


図9. 天然海水添加率を少なくした場合のワムシ生残率

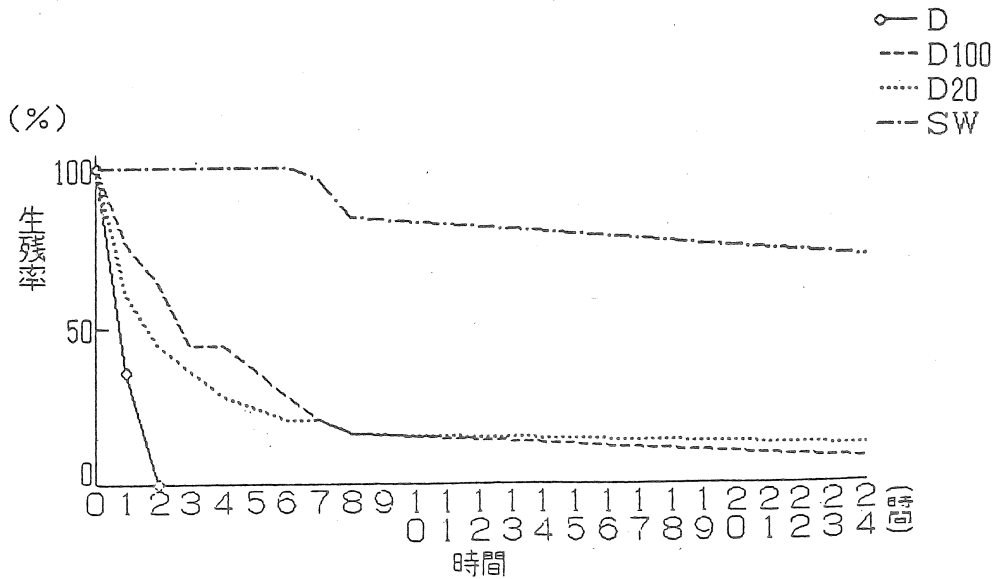


図10. D系列溶液中のボラの生残率

11、アサリ、およびボラ飼育用媒液としての簡易人工海水の検討

「目的」

先に、シオミズツボムシに対して比較的良好な媒液であることが示されたD系列溶液の他生物に対する適性を検討するため、アサリ Tapes philippinarum およびボラ Mugil cephalus を用いて、無給餌下での飼育実験を行なった。両生物とも汽水域の代表的な生物であり、塩分濃度に対する耐性が広いので、実験が容易であると考えられた。

アサリは、採捕後も活かして流通・販売されることが多く、内陸部や都市部ではとくに飼育用海水の不足が問題となるため、食塩などで代用される例が多い。しかしながら、純粋な塩化ナトリウム溶液中ではアサリが砂を吐かない、すなわち正常な呼吸を行なわないという事が早くから知られており、少なくとも、流通経路における飼育用媒液の開発が必要と考えられる。

「材料および方法」

アサリ

浜名湖沿岸部において採集したアサリから殻長35mm前後の個体を選別し、D、D₁₀₀、D₂₀各実験溶液に1時間収容後、正常に呼吸が行なわれているもの各30個体を用いた。飼育には30l容の水槽を用い、底部に砂を約6cmの厚さに敷き詰めたのち、それと等しい厚さになるよう7lの実験溶液を満たした。なお、砂は、前もって各溶液で十分に洗浄、後さらに24時間浸した物を用いた。実験に際しては各水槽に通気を施し、また水質の悪化を防止するため24時間毎に2lずつの飼育水を更新した。観察は24時間毎に行ない、砂上個体数から、潜入して正常な生理状態にある砂中個体数を推定するとともに、潜入しているものを掘出して生死の確認を行なった。対照区には、浜名湖より採水した海水を用いた。水温は15℃とした。

ボラ

静岡県 舞阪漁港附近で岸壁より採捕した全長35mm前後のボラ稚魚を1日、海水(浜名湖)にて飼育後、各実験溶液中に30分収容することで洗浄後、正常な遊泳を行っていた個体をそれぞれ25尾取り出して実験に用いた。飼育は30l容の水槽に25lの溶液を満たして行ない、通気を施した。水温は15℃とした。

「結果」

アサリ(表8)

3日後までは、各実験区および対照区とも違いは見られず、全個体が砂中において砂上に水管を伸している、外見上正常な状態にあった。しかし、4日後より実験区では砂上に出てくる個体が出現し始め、5日後には殆どの個体が砂上にあった。また、D溶液区では1個体の死亡が確認された。

表8. 各媒液中でのアサリ砂中個体の割合

溶液	4日後	5日後
D	2/30	0/29
D ₁₀₀	6/30	1/30
D ₂₀	5/30	0/30
海水	29/30	26/30

ボラ(表9、図10)

一般に、自然環境下で発生した海水魚稚魚は比較的飼育しにくいことが知られているが、ボラも例外ではなく、対照区(天然海水)においても、正常な遊泳行動を示さない個体が当初より若干見られ、また7時間後からは死亡も確認されるなど、捕獲されて間も無いために、人工飼育条件に対する馴化の不十分であったことがうかがわれた。しかし、各実験区での媒液の影響は、それら飼育環境のストレスを上回るかたちで現れ、塩化ナトリウム、硫酸マグネシウム、塩化カルシウムを混合したのみのD液区では、殆どの個体がほぼ即死に近いかたちで死亡し、1/100, 1/20の天然海水を添加したD₁₀₀、D₂₀区においても、若干の改善は見られるものの死亡する個体が相次ぎ、両実験区とも24時間後にはそれぞれ2尾、3尾を残すのみとなった。一方、対照区では18尾が生残り正常な遊泳状態にあった。

表9. 各媒液中のボラの生残個体の割合

	0	1時間	2	3	4	5	6	7
D	25(25)	9(0)	0					
D ₁₀₀	25(25)	19(13)	16(10)	11(8)	11(8)	9(7)	7(6)	5(5)
D ₂₀	25(25)	15(10)	11(10)	9(6)	7(6)	6(5)	5(4)	5(4)
海水	25(25)	25(25)	25(22)	25(22)	25(22)	25(21)	25(21)	24(20)

8	24
4(4)	2(2)
4(4)	3(3)
21(20)	18(18)

() 内は正常に遊泳している尾数

「考察」

ワムシにとって実用上十分な媒液であると考えられたD系列溶液を用いた飼育実験で、アサリおよびボラのいずれにおいても生理的になんらかの異常状態を招いていることが示唆された。それら媒液の不十分さはボラではきわめて深刻であるが、アサリでは相当期間の飼育が可能と思われるものであった。ワムシ、アサリ、ボラのいずれも広塩分耐性を示す動物であり、媒液の浸透圧の相違は考慮する必要がないと考えられるので、この3種の生物の示した反応の相違はイオンの組成によるものと判断される。

無脊椎動物の中でかなり下等な分類群に属し、体液がつねに体外の媒液の組成に近く変化するにもかかわらず細胞自体に耐性のあるワムシなどを除けば、アサリ、ボラでは高度に発達した調整機構が外界の通常の変化に抗して体液の組成を一定に保っており、それによって細胞の生理機能が保たれていると考えられる。しかしながら、D系列溶液のようにイオン組成が海水と比較して異常である媒液に出会った場合、鰓など、透過性の高い上皮細胞の内外でイオンのアンバランスに起因する水の出入りや、細胞の機能を阻害する過剰のナトリウムや塩素イオンの侵入等が起こるものと思われる。したがって、動物が高等になり、複雑な調整機構を有する場合ほ

ど媒液の組成を天然海水に近づける必要があるだろう。

本研究ではカリウムイオンについて特別の注意を払わなかったが、これは、ワムシの培養においては餌料とする植物プランクトンや酵母類の細胞原形質が多量のカリウムイオンを含有しており、ワムシの摂餌によってきわめて短時間のうちに水中に溶出するので、当初より実験配置に組込まなかったためである。一方、無給餌、すなわちカリウムイオンの供給が無いにもかかわらず、若干の天然海水を加えただけでワムシの生残が対照区と同等にまで改善された。これについての明確な論議は、無脊椎動物の体液に関する情報が著しく不足している現状では困難であるが、高等動物とはかなり異なった調節機構をもっているものと考えられる。

「今後の課題」

ワムシに関しては、培養下では給餌によるイオンの供給が見込まれるため、本研究結果から示された媒液組成よりもさらに単純な塩類溶液中での培養が可能であると思われる。それらは、各種苗生産機関の培養形態、用水などに合せて決定する必要があるため、給餌率、餌料の種類、間引き率などを再現したモデル実験を行なうことが望ましい。

高等無脊椎動物では高度に組織化、系統化された体制・機能を維持するため体液の恒常性が不可欠であると思われる。したがって、あまり単純な媒液では正常な生理機能が発揮出来ないことが多いと考えられる。今回の研究では、カリウムイオンについて考慮しなかったが、カリウムは海水中の主要イオンのひとつであり、ボラやアサリの体表の内外でイオンのアンバランスを起こす原因になったとも考えられる。今後は、主要要素、すなわちナトリウム、マグネシウム、カルシウム、塩素、硫酸の各イオンを含む塩類溶液を基本と考えることが必要であろう。

「参考文献」

伊藤 隆 1960：輪虫の海水培養と保存について、三重大学水産学部紀要 3、708-740。

笠原 正五郎、平野 礼次郎、大島 泰雄 1960：クロダイの人工孵化仔魚の飼育とその成長について、日本水産学会誌 26、239-243。

平野 礼次郎 1963: 種苗生産用餌料の問題点・・・マダイを中心として、
水産増殖 臨時号2、93-99。

宮川 宗記、室賀 清邦 1988: シオミズツボウムシの細菌相、水産増殖
35、237-243。

Yu Jiang-ping, A.Hino, R.Hirano, K.Hirayama 1988: Vitamine B₁₂-
Producing Bacteria as a Nutritive Complement for a Culture of
the Rotifer *Brachionus plicatilis*, *Nippon Suisan Gakkaishi* 54
1873-1880。

Yu Jiang-ping, A.Hino, M.Ushiro, M.Maeda 1989: Changes of
Vitamine B₁₂ Concentration, B₁₂ Balance and B₁₂-Producing
Bacteria during Mass Culture of the Rotifer *Brachionus*
plicatilis, *Nippon Suisan Gakkaishi*(in press)。