

国内の種苗生産機関で利用されている主要なシオミズツボワムシ複合種6株の異なる水温と塩分での日間増殖率

誌名	水産増殖 = The aquiculture
ISSN	03714217
著者	小磯, 雅彦 手塚, 信弘 榮, 健次
巻/号	61巻1号
掲載ページ	p. 1-7
発行年月	2013年3月

国内の種苗生産機関で利用されている主要な シオミズツボワムシ複合種6株の 異なる水温と塩分での日間増殖率

小磯雅彦^{1,*}・手塚信弘²・榮 健次²

Daily Population Growth Rate of Six *Brachionus plicatilis* sp. Complex Strains under Different Water Temperatures and Salinities

Masahiko KOISO^{1,*}, Nobuhiro TEZUKA² and Kennji SAKAE²

Abstract: To establish a stable and effective production of live-food, the effect of temperature and salinity on the daily population growth rates among 6 strains of the rotifer *Brachionus plicatilis* sp. complex were investigated. The L-type showed positive growth at 15°C, while the SS- and S-types did not. The daily population growth rates increased at higher temperatures and lower salinities among all the 6 strains examined in this study. The highest growth rate of over 300% was observed when the SS- and S-types were cultured under the condition of 20 psu and 30°C, but that of the L-type was below 200%. It was found that high temperature and low salinity conditions were more effective to enhance the population growth of each of the L-type and SS- and S-types, respectively. The findings of this study will be important to determine the specific culture conditions for various strains of rotifer used in the Japanese hatcheries.

Key words: *Brachionus plicatilis* sp. complex; Daily population growth rate; Temperature; Salinity

海産魚の種苗生産で初期餌料に用いられているシオミズツボワムシ（以下ワムシ）は、複数の種から構成される複合種（*Brachionus plicatilis* sp. complex）で、形態的な特徴からいわゆる SS, S, L 型の3つのグループに大別され（大上 1976; Fu et al. 1991a; Segers 1995; Kotani et al. 2005）、グループ内でも株名によって細分化されている。これらのワムシ類は、形態的な違い以外にも生態的ならびに遺伝的な差異が認められ（Fu et al. 1991b; Kotani et al. 1997; Gomez 2005）、大量培養において重要な要素である増殖率も異なることが知られている（大上 1977; 伊藤ら 1981; Hagiwara et al. 1995）。

ワムシの増殖率は、種苗生産現場では培養の規模や

条件などの培養計画を立案する際や培養状態の診断には欠かせない情報であり、さらに、近年普及しつつある連続培養法（Fu et al. 1997; 小磯 2007）では収穫率の決定に用いられる（日野 2000）など、適正な培養管理を行う上でも重要である。このように増殖率の情報は必要性が高いことから、これまでも数多くの実験が行われてきた。（大上 1977; 伊藤ら 1981; Korstad et al. 1989; Hagiwara et al. 1995）、しかしながら、当時実験されたワムシ株は、その後種苗生産機関の間でしばしば行われたワムシ株の分与によって由来が分からなくなり、現在では異なる株名で呼ばれていることがある。また、過去の実験では培養用餌料にナンノクロロプシスが用いられており（大上 1977; 伊

2012年5月21日受付；2012年11月3日受理。

¹独立行政法人水産総合研究センター西海区水産研究所八重山庁舎（Yaeyama Laboratory, Seikai National Fisheries Research Institute, Fisheries Research Agency, Ishigaki, Okinawa 907-0451, Japan）。

²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能登島庁舎（Notojima Laboratory, Japan Sea National Fisheries Research Institute, Fisheries Research Agency, Nanao, Ishikawa 926-0216, Japan）。

*連絡先（Corresponding author）: Tel, (+81) 980-88-2136; Fax, (+81) 980-88-2138; E-mail, koisoma@fra.affrc.go.jp（M.koiso）。

藤ら 1981), 近年大量培養用の餌料として主餌料になりつつある市販の濃縮淡水クロレラを利用した事例は少ない (Hagiwara et al. 1995)。ワムシの増殖率が株の種類や、水温、塩分、餌料種などの培養条件によって大幅に変化することが知られており (伊藤 1960; 大上 1977; 伊藤ら 1981; Korstad et al. 1989; Miracle and Serra 1989; Hagiwara et al. 1995; 小磯・日野 2001), 当時の実験で用いた培養条件と現在の実用上の培養条件が異なることから、過去の実験で得られた増殖率を現行のワムシ培養へ直接応用することは適切ではない。一方、種苗生産現場では、各機関によって飼育対象魚種や立地条件、培養設備などが異なり、利用するワムシ株の種類や大量培養条件も様々であるため、種苗生産で利用する際の環境条件に対応できる増殖率の情報が求められている。これらのことから、現状のワムシ培養条件の視点から増殖特性を再度求めて記載することは、応用研究としての水産増殖学分野にとって有用な情報になると考えられる。

そこで本研究では、近年国内の種苗生産機関のワムシ大量培養で主に利用されている SS 型 1 株, S 型 2 株, L 型 3 株の合計 6 株を用いて、培養用餌料には市販の濃縮淡水クロレラを利用し、異なる水温と塩分を組み合わせる培養実験を行いそれぞれの日間増殖率を調査した。

材料および方法

供試ワムシ株

SS 型タイ株は 2001 年に東京大学日野明德教授より、S 型岡山株は 2001 年に旧日本栽培漁業協会玉野事業場 (現: (独)水産総合研究センター瀬戸内海区水産研究所玉野庁舎) より、S 型八重山株は 2001 年、L 型奄美株は 1999 年に共に旧日本栽培漁業協会奄美事業場 (現: (独)水産総合研究センター西海区水産研究所奄美庁舎) より、L 型小浜株は 1999 年に旧日本栽培漁業協会小浜事業場 (現: (独)水産総合研究センター日本海区水産研究所小浜庁舎) より、L 型静岡株は 2000 年に長崎大学萩原篤志教授より、それぞれ譲渡された。各ワムシ株は、(独)水産総合研究センター日本海区水産研究所能登島庁舎において、10 年間以上にわたり株ごとに分けて継代培養した。継代培養は、砂ろ過海水と水道水を混合した塩分 20 psu の希釈海水 300 ml を入れた蓋付き培養容器 (角形カルチャーボトル, 80×80×123 mm, SIBATA 社製) を加熱滅菌処理 (121°C, 15 分間) し、新たな培養容器に古い培養容器のワムシを含む培養水約 30 ml を移して植え替えし、25°C に設定した恒温器内で約 10 日間の植え継ぎ式培養を繰り返した。餌料には市販の濃縮淡水クロレラ *Chlorella*

Table 1. Parthenogenetic egg length and lorica length of egg-bearing female of six *Brachionus plicatilis* sp. complex strains used in the present study

Strain	Egg length (μ m)	Lorica length (μ m)
Thai (SS-type)	95 \pm 3	160 \pm 10
Okayama (S-type)	93 \pm 4	161 \pm 10
Yaeyama (S-type)	97 \pm 4	185 \pm 9
Obama (L-type)	127 \pm 6	240 \pm 13
Amami (L-type)	130 \pm 5	258 \pm 15
Shizuoka (L-type)	130 \pm 4	263 \pm 15

Mean \pm standard deviation ($n=100$).

Rotifers were cultured in 2/3 diluted seawater (20 psu salinity), at 25°C.

vulgaris (生クロレラ V12, クロレラ工業社, 以下クロレラ) を 2 日間隔で適宜給餌した。なお、2011 年 7 月測定 of 各株の複相単性生殖卵 (以下卵) の長径と携卵個体の背甲長 (共に 100 個体) を Table 1 に示した。

異なる水温と塩分での各ワムシ株の日間増殖率

異なる培養条件での実験に先立ち、継代培養中の各ワムシ株を用いて恒温室内の蓋付き培養容器 (培養水量: 300 ml) で実験と同じ水温と塩分の培養条件下で、餌料には製造後 2 週間以内のクロレラを給餌して植え継ぎ式により約 1 週間馴致培養した。温度は温度勾配恒温器 (MTI-202B, EYELA 社) で制御し、塩分はろ過海水と蒸留水を用いて塩分計 (model 85, YSI/Nanotech 社) により調整した。馴致培養したワムシ個体群から、小磯ら (2005) の方法に準じて卵を分離してふ化させ、ふ化後 2 時間以内の仔ワムシを得て実験に用いた。培養実験は、水温を 15, 20, 25, 30°C の 4 段階、塩分を 20, 26, 32 psu の 3 段階として、それぞれ組み合わせる合計 12 通りで行った。培養は、6 穴マイクロプレートを用い、1 穴にクロレラを 500 万細胞/ml の密度に調整した各塩分の培養水 10 ml と仔ワムシを 10 個体ずつ収容し、各温度に調整した恒温器内で 4 日間行った。株ならびに実験条件ごとに 6 穴ずつ設けた。餌料の質的劣化と不足を防止するために、ワムシを入れたマイクロプレートはシェーカー (MTS-4, 回転数 50 rpm, IKA 社) の上に置いてゆっくり攪拌して培養水中の餌料の沈降を防ぐとともに、培養 2 日目には同じ実験条件の新たな餌料懸濁培養水 10 ml を入れたマイクロプレートを準備し、そこへ各穴のワムシと卵をそれぞれパスツールピペットで移送した。培養 4 日目に各穴の生存ワムシ数を計数して、下記の式から比増殖率 (r) を求めて日間増殖率 (%) を算出した。

$$\text{比増殖率}(r) = \ln [(\text{培養終了時の生存ワムシ数} /$$

開始時のワムシ数) / (培養日数)

$$\text{日間増殖率 (\%)} = (e^r - 1) \times 100$$

また、各ワムシ株共に増殖が認められた水温20℃～30℃の範囲における各塩分での日間増殖率のデータを利用して、各ワムシ株での水温上昇と塩分低下による日間増殖率の変化を推定した。具体的には、水温上昇に関しては、20℃と25℃の間ならびに25℃と30℃の間において、各ワムシ株の同一塩分での日間増殖率からそれぞれの増加倍率を算出して平均値を求めた。一方、塩分低下に関しては、32 psu と26 psu の間ならびに26 psu と20 psu の間において、各ワムシ株の同一水温での日間増殖率からそれぞれの増加倍率を算出して平均値を求めた。

統計処理

各ワムシ株の同一培養条件下での比増殖率と日間増殖率、ならび各ワムシ株の水温上昇と塩分低下による日間増殖率の増加倍率の平均値に違いがあるかどうかを調べるために、一元配置分散分析 (One-way ANOVA) を行った。同時に、株間での比増殖率と日間増殖率ならびに増加倍率の大小を比較することを目的として、多重比較検定 (Tukey-Kramer test) を行った。各検定ともに有意水準 5%で行った。なお、統計処理は、4Steps エクセル統計【第3版】の統計ソフト Statcel 3 を用いて行った。

結 果

日間増殖率は、水温15℃では、全ての塩分で SS 型株と S 型 2 株が-26.1～-2.8%と負の増殖を示したのに対し、L 型 3 株は3.8～23.5%と増殖して、SS, S 型と L 型との間で有意差が認められた (各 $P < 0.05$, Table 2)。なお、SS 型株と S 型 2 株の間ならびに L 型 3 株の間では共に顕著な違いは認められなかった (Table 2)。また、全てのワムシ株で日間増殖率が塩分低下に伴って顕著に高くなったが、この現象は他の水温においても確認された (Table 2～5)。

水温20℃では、全ての塩分で SS 型株と S 型 2 株が30.8～70.8%, L 型 3 株も26.5～76.7%と共に増殖して、水温15℃でみられた SS, S 型と L 型との間での有意差は認められなかった (Table 3)。なお、SS 型株と S 型 2 株の間では S 型岡山株, L 型 3 株の間では小浜株がそれぞれ有意に高かった (各 $P < 0.05$, Table 3)。

水温25℃では、全ての塩分で SS 型株と S 型 2 株が68.0～184.5%で、L 型 3 株が43.1～130.5%となり、水温15℃とは逆に SS, S 型が L 型よりも有意に高かった (各 $P < 0.05$, Table 4)。なお、株間の差異は、L 型 3 株の間では顕著な傾向が認められなかったが、SS 型株と S 型 2 株の間では S 型八重山株が有意に高かった (各 $P < 0.05$, Table 4)。

水温30℃では、全ての塩分で SS 型株と S 型 2 株が

Table 2. Population growth rate of six *Brachionus plicatilis* sp. complex strains in different salinities at 15℃

Salinity (psu)	Strain	Number of individuals		Specific population growth rate (r)	Daily population growth rate (%)
		Initial	After 4 days		
20	Thai (SS)	10	9 ± 1	-0.038 ± 0.035 ^a	-3.7 ± 3.4 ^a
	Okayama (S)	10	9 ± 1	-0.032 ± 0.021 ^a	-3.1 ± 2.1 ^a
	Yaeyama (S)	10	9 ± 1	-0.029 ± 0.037 ^a	-2.8 ± 3.6 ^a
	Obama (L)	10	23 ± 2	0.211 ± 0.026 ^b	23.5 ± 3.1 ^b
	Amami (L)	10	21 ± 2	0.189 ± 0.020 ^b	20.8 ± 2.5 ^b
	Shizuoka (L)	10	19 ± 1	0.160 ± 0.014 ^b	17.4 ± 1.7 ^b
26	Thai (SS)	10	7 ± 2	-0.084 ± 0.061 ^a	-7.9 ± 5.6 ^a
	Okayama (S)	10	7 ± 2	-0.103 ± 0.067 ^a	-9.6 ± 6.1 ^a
	Yaeyama (S)	10	7 ± 2	-0.083 ± 0.059 ^a	-7.8 ± 5.4 ^a
	Obama (L)	10	19 ± 3	0.154 ± 0.036 ^b	16.7 ± 4.3 ^b
	Amami (L)	10	17 ± 3	0.121 ± 0.049 ^b	13.0 ± 5.5 ^b
	Shizuoka (L)	10	17 ± 2	0.126 ± 0.032 ^b	13.5 ± 3.6 ^b
32	Thai (SS)	10	3 ± 2	-0.313 ± 0.162 ^a	-26.1 ± 11.5 ^a
	Okayama (S)	10	3 ± 2	-0.309 ± 0.157 ^a	-25.9 ± 11.0 ^a
	Yaeyama (S)	10	6 ± 1	-0.124 ± 0.041 ^b	-11.8 ± 3.6 ^b
	Obama (L)	10	14 ± 2	0.072 ± 0.039 ^c	7.6 ± 4.2 ^c
	Amami (L)	10	12 ± 1	0.037 ± 0.029 ^c	3.8 ± 3.0 ^c
	Shizuoka (L)	10	14 ± 1	0.074 ± 0.020 ^c	7.7 ± 2.1 ^c

Mean ± standard deviation ($n = 6$).

Different alphabetical letters indicate the results of Tukey-Kramer test ($a < b < c$, $P < 0.05$).

Table 3. Population growth rate of six *Brachionus plicatilis* sp. complex strains in different salinities at 20°C

Salinity (psu)	Strain	Number of individuals		Specific population growth rate (r)	Daily population growth rate (%)
		Initial	After 4 days		
20	Thai (SS)	10	85 ± 6	0.535 ± 0.018 ^c	70.8 ± 3.1 ^c
	Okayama (S)	10	82 ± 5	0.524 ± 0.016 ^{bc}	68.9 ± 2.6 ^{bc}
	Yaeyama (S)	10	67 ± 6	0.475 ± 0.025 ^{ab}	60.8 ± 4.0 ^{ab}
	Obama (L)	10	98 ± 8	0.569 ± 0.021 ^c	76.7 ± 3.7 ^c
	Amami (L)	10	85 ± 7	0.535 ± 0.021 ^c	70.8 ± 3.6 ^c
	Shizuoka (L)	10	63 ± 6	0.457 ± 0.024 ^a	58.0 ± 3.8 ^a
26	Thai (SS)	10	52 ± 5	0.412 ± 0.025 ^{ab}	51.0 ± 3.8 ^{ab}
	Okayama (S)	10	66 ± 4	0.470 ± 0.014 ^c	59.9 ± 2.3 ^c
	Yaeyama (S)	10	46 ± 3	0.363 ± 0.018 ^a	46.7 ± 2.7 ^a
	Obama (L)	10	63 ± 7	0.459 ± 0.028 ^{bc}	58.2 ± 4.4 ^{bc}
	Amami (L)	10	49 ± 6	0.396 ± 0.032 ^a	48.6 ± 4.7 ^a
	Shizuoka (L)	10	43 ± 5	0.361 ± 0.026 ^a	43.5 ± 3.8 ^a
32	Thai (SS)	10	33 ± 5	0.296 ± 0.037 ^b	34.6 ± 5.0 ^b
	Okayama (S)	10	42 ± 6	0.358 ± 0.036 ^c	43.1 ± 5.2 ^c
	Yaeyama (S)	10	29 ± 2	0.269 ± 0.015 ^{ab}	30.8 ± 2.0 ^{ab}
	Obama (L)	10	42 ± 2	0.357 ± 0.010 ^c	42.9 ± 1.4 ^c
	Amami (L)	10	29 ± 3	0.264 ± 0.026 ^{ab}	30.2 ± 3.3 ^{ab}
	Shizuoka (L)	10	26 ± 2	0.235 ± 0.020 ^a	26.5 ± 2.5 ^a

Mean ± standard deviation (n = 6).

Different alphabetical letters indicate the results of Tukey-Kramer test (a < b < c, P < 0.05).

Table 4. Population growth rate of six *Brachionus plicatilis* sp. complex strains in different salinities at 25°C

Salinity (psu)	Strain	Number of individuals		Specific population growth rate (r)	Daily population growth rate (%)
		Initial	After 4 days		
20	Thai (SS)	10	502 ± 59	0.978 ± 0.029 ^c	165.9 ± 7.7 ^c
	Okayama (S)	10	544 ± 55	0.998 ± 0.025 ^{cd}	171.4 ± 6.9 ^c
	Yaeyama (S)	10	659 ± 85	1.045 ± 0.033 ^d	184.5 ± 9.4 ^d
	Obama (L)	10	282 ± 11	0.835 ± 0.010 ^b	130.5 ± 2.3 ^b
	Amami (L)	10	264 ± 14	0.818 ± 0.014 ^b	126.5 ± 3.1 ^b
	Shizuoka (L)	10	207 ± 16	0.757 ± 0.019 ^a	113.1 ± 4.0 ^a
26	Thai (SS)	10	194 ± 12	0.741 ± 0.016 ^b	109.8 ± 3.3 ^b
	Okayama (S)	10	178 ± 16	0.719 ± 0.022 ^b	105.2 ± 4.5 ^b
	Yaeyama (S)	10	314 ± 34	0.860 ± 0.027 ^c	136.4 ± 6.4 ^c
	Obama (L)	10	100 ± 10	0.576 ± 0.024 ^a	77.8 ± 4.3 ^a
	Amami (L)	10	97 ± 15	0.564 ± 0.038 ^a	75.9 ± 6.7 ^a
	Shizuoka (L)	10	94 ± 11	0.560 ± 0.028 ^a	75.1 ± 4.9 ^a
32	Thai (SS)	10	100 ± 17	0.573 ± 0.041 ^c	77.5 ± 7.3 ^d
	Okayama (S)	10	80 ± 7	0.518 ± 0.023 ^c	68.0 ± 3.9 ^{cd}
	Yaeyama (S)	10	150 ± 10	0.676 ± 0.017 ^d	96.6 ± 3.3 ^e
	Obama (L)	10	58 ± 6	0.439 ± 0.027 ^b	55.2 ± 4.2 ^b
	Amami (L)	10	42 ± 3	0.358 ± 0.020 ^a	43.1 ± 2.8 ^a
	Shizuoka (L)	10	60 ± 12	0.446 ± 0.046 ^b	56.3 ± 7.3 ^{bc}

Mean ± standard deviation (n = 6).

Different alphabetical letters indicate the results of Tukey-Kramer test (a < b < c < d < e, P < 0.05).

169.6~333.6%で、L型3株が63.3~199.2%となり、水温25°CよりもさらにSS、S型とL型との間における差が拡大した(各P < 0.05, Table 5)。株間の差異は、L型3株の間では顕著な傾向はみられなかったが、SS型株とS型2株の間では塩分26 psu と32 psu でSS型

タイ株とS型岡山株が有意に高かった(各P < 0.05, Table 5)。

日間増殖率の増加倍率は、水温上昇に関して20°C → 25°Cでは、S型八重山株が3.03倍と有意に高く、次にSS型タイ株、S型岡山株、L型静岡株、L型奄美株が

Table 5. Population growth rate of six *Brachionus plicatilis* sp. complex strains in different salinities at 30°C

Salinity (psu)	Strain	Number of individuals		Specific population growth rate (r)	Daily population growth rate (%)
		Initial	After 4 days		
20	Thai (SS)	10	3,539 ± 262	1.467 ± 0.018 ^c	333.6 ± 8.0 ^e
	Okayama (S)	10	3,242 ± 289	1.445 ± 0.022 ^c	324.1 ± 9.4 ^{de}
	Yaeyama (S)	10	2,977 ± 250	1.423 ± 0.022 ^c	315.2 ± 8.9 ^d
	Obama (L)	10	557 ± 86	1.002 ± 0.040 ^a	172.6 ± 10.8 ^a
	Amami (L)	10	643 ± 62	1.040 ± 0.025 ^a	183.0 ± 6.9 ^{ab}
	Shizuoka (L)	10	801 ± 23	1.096 ± 0.007 ^b	199.2 ± 2.1 ^{bc}
26	Thai (SS)	10	2,057 ± 151	1.331 ± 0.018 ^d	278.5 ± 6.9 ^c
	Okayama (S)	10	1,795 ± 115	1.297 ± 0.016 ^{cd}	265.9 ± 5.9 ^c
	Yaeyama (S)	10	1,340 ± 247	1.221 ± 0.047 ^c	239.3 ± 15.9 ^b
	Obama (L)	10	198 ± 26	0.745 ± 0.031 ^a	110.6 ± 6.6 ^a
	Amami (L)	10	213 ± 18	0.764 ± 0.021 ^{ab}	114.6 ± 4.4 ^a
	Shizuoka (L)	10	209 ± 39	0.757 ± 0.047 ^{ab}	113.3 ± 10.0 ^a
32	Thai (SS)	10	951 ± 118	1.137 ± 0.032 ^c	211.9 ± 9.8 ^c
	Okayama (S)	10	787 ± 69	1.091 ± 0.022 ^c	197.7 ± 6.6 ^c
	Yaeyama (S)	10	531 ± 64	0.991 ± 0.029 ^b	169.6 ± 7.9 ^b
	Obama (L)	10	84 ± 7	0.530 ± 0.022 ^a	69.9 ± 3.7 ^a
	Amami (L)	10	85 ± 6	0.534 ± 0.017 ^a	70.5 ± 2.9 ^a
	Shizuoka (L)	10	72 ± 12	0.490 ± 0.040 ^a	63.3 ± 6.7 ^a

Mean ± standard deviation (n = 6).

Different alphabetical letters indicate the results of Tukey-Kramer test (a<b<c<d<e, P<0.05).

Table 6. The increase magnification of daily population growth rate of six *Brachionus plicatilis* sp. complex strains in rising water temperature and salinity decrease

Strain	Increase magnification of daily population growth rate			
	Temperature (°C)		Salinity (psu)	
	20 → 25	25 → 30	32 → 26	26 → 20
Thai(SS)	2.25 ± 0.10 ^b	2.43 ± 0.37 ^b	1.40 ± 0.08	1.37 ± 0.16
Okayama(S)	1.94 ± 0.48 ^b	2.44 ± 0.51 ^b	1.43 ± 0.11	1.33 ± 0.26
Yaeyama(S)	3.03 ± 0.11 ^c	1.74 ± 0.03 ^{ab}	1.45 ± 0.06	1.32 ± 0.03
Obama(L)	1.44 ± 0.23 ^a	1.34 ± 0.08 ^a	1.45 ± 0.12	1.52 ± 0.18
Amami(L)	1.59 ± 0.18 ^{ab}	1.53 ± 0.10 ^a	1.67 ± 0.08	1.57 ± 0.11
Shizuoka(L)	1.93 ± 0.20 ^{ab}	1.46 ± 0.32 ^a	1.59 ± 0.23	1.53 ± 0.21

Mean ± standard deviation (n = 3).

Different alphabetical letters indicate the results of Tukey-Kramer test (a<b<c, P<0.05).

続き, L 型小浜株が1.44倍と有意に低かった (各 P < 0.05, Table 6)。25°C→30°Cでは, SS 型タイ株と S 型岡山株が2.43倍と2.44倍と有意に高く, L 型 3 株は1.34~1.53倍に留まった (P<0.05, Table 6)。一方, 塩分低下においては全株共に32 psu→26 psuでは1.40~1.67倍, 26 psu→20 psuでは1.32~1.57倍となり, 株間の差異は認められなかった (Table 6)。

考 察

通常ワムシの増殖率は, 学術論文などにおいては比増殖率 (r) = ln(N_t / N_{t-1}), N_t は t 日目の個体密度, で示されることが多いが, 種苗生産現場では比増殖率よりも日間増殖率 (%) = (e^r - 1) × 100, の方が利用さ

れているため, 本論文では種苗生産現場での活用に配慮して, 以下の論議は日間増殖率で行った。本研究では, 水温範囲が15~30°Cで塩分範囲が20~32 psu の条件において, 餌料にクロレラを用いて, 国内の種苗生産機関で利用されている主要なワムシ株 SS 型 1 株, S 型 2 株, L 型 3 株の合計 6 株の日間増殖率を明らかにした。得られた日間増殖率からは, SS 型株と S 型 2 株はほぼ同様な増殖傾向が示され, 各株共に水温15°Cでは負の増殖がみられたものの, 20°C以上では水温上昇に伴って顕著に高くなり, また, 低塩分ほど高増殖率が得られ, 水温30°C, 塩分20 psu の条件では300%を超えることがわかった (Table 2~5)。一方, L 型 3 株は, SS 型株や S 型 2 株では増殖が認められなかった水温15°Cでも3.8~23.5%の増殖がみられると

共に、SS, S型と同様に高水温・低塩分の条件で高増殖率が示され、水温30℃, 塩分20 psu の条件で最も高い日間増殖率が示されたものの200%以下に留まった (Table 2~5)。

ワムシ増殖と水温に関しては、SS型は水温35℃付近に至適水温があり (Hagiwara et al. 1995), S型は20℃から増殖し始め30℃付近に至適水温があること, L型は10℃前後から増殖して20~25℃に至適水温があること (大上 1977; 伊藤ら 1981), L型でも一部の株では30℃付近に至適水温があることも (Hagiwara et al. 1995) 示されている。一方、塩分に関しては、L型は1~97 psu の広範囲の塩分に耐性があるものの (Epp and Winston 1978; Walker 1981), 至適塩分は10~16 psu の低塩分であり (伊藤 1960; Hirayama and Ogawa 1972; 山形 1973), これはSS, S, L型の全てのワムシ株に共通すること (Hagiwara et al. 1995) が示されている。日間増殖率に関しては、大上 (1977) によれば、50%希釈海水を利用した場合には、S型では15℃が1.3%, 20℃が60%, 30℃が190%で、L型では15℃が21%, 20℃が50%, 25℃が170%であることが報告されている。これらの水温ならびに塩分に対する増殖特性の知見は、本実験で得られた結果と多くの点で類似していることから、現在国内の公的機関で利用されている主要な株の増殖特性は、過去に利用されていた株とは顕著な差異はないものと推測される。このことは、株名は異なるものの、過去のワムシ培養で増殖特性に優れた株が時代を経た現在においても引き継がれていることが想像される。なお、ナンノクロロプシとクロレラの餌料種の違いが増殖率に及ぼす影響については、両餌料種のワムシ増殖への餌料価値が同等である可能性が示されていることや (Maruyama et al. 1997), 本研究で得られた増殖特性が過去の結果と類似していることを考慮すると、顕著な影響はないものと推察される。

また、今回供試したL型株3種類が全て水温30℃付近に至適水温があることについては、L型は培養条件によってアイソザイムパターンが変化して変異する可能性があることを報告しており (ムスタハルら 1991; 四元ら 1994), 大上 (1977), 伊藤ら (1981) の実験が行われた時代以後、長年にわたる継代培養によって高水温への適応が生じた可能性も否定できない。

本研究では、SS型株とS型2株の中では水温20℃でS型岡山株, 25℃でS型八重山株, 30℃でSS型タイ株とS型岡山株が、L型3株の中では水温20℃で小浜株が、それぞれ他の株よりも日間増殖率が有意に優れることが示された (Table 3~5)。同様のことを伊藤ら (1981) も報告しており、同グループ内のワムシでもその系統により増殖の好適水温が幾分異なること

が本研究でも再確認された。なお、高い増殖能を有するワムシ株を大量培養で利用する利点としては、植え継ぎ培養法では培養日数の短縮化、連続培養法では収穫率を高く設定できることで培養環境の維持による培養の長期安定化などが挙げられる。このため、培養水温に応じて適切なワムシ株を選択し利用することは、培養の安定性や効率性の向上に寄与すると考えられる。

水温上昇と塩分低下の環境変化によりワムシの増殖率が向上することはこれまでも数多くの研究で示されている (伊藤 1960; 大上 1977; 伊藤ら 1981; Miracle and Serra 1989; Hagiwara et al. 1995; 小磯・日野 2001)。本研究の日間増殖率の増加倍率でも、全てのワムシ株で増殖率の向上効果が確認され、特にSS型株とS型2株はL型3株よりも水温上昇でその効果が優れる傾向が示された (Table 6)。水温上昇による増殖率の向上効果がL型よりもSS, S型で優れることはこれまでも知られており (大上 1977; 伊藤ら 1981), 種苗生産現場でしばしば認められる高水温下でのワムシ培養でS型とL型のワムシが混在すると、培養経過に伴って徐々にS型が優占する現象からも裏付けされる。SS, S型とL型でこのような違いが生じた理由としては、それぞれの本来の生息環境の違いやそれに伴う生理的機能の作用などが関連していることが推察される。なお、ワムシの増殖率が改善される水温上昇や塩分低下においても、実際に急激な変化を与えた場合には、ワムシは一時的なショック状態に陥り、運動性が低下することが確認されている (Øie and Olsen 1993; Fielder et al. 2000)。このことはワムシの増殖率にも多少は影響を及ぼすものと思われるため、環境変化を与える場合には、時間をかけて徐々に変化させるなどの操作が必要と考えられる。

本研究で得られた日間増殖率は、小型容器を用いて日齢を揃えたふ化ワムシで得られたものであり、実際の種苗生産現場での大量培養事例とは条件設定が異なることから多少誤差が生じることが懸念されるが目安にはなると思われる。これらの日間増殖率の情報を今後のワムシ培養での培養計画の立案や培養状態の診断などに活用することで、さらなるワムシ培養の安定性や効率性の向上が期待される。

要 約

国内の種苗生産機関のワムシ大量培養で利用されている主なSS型1株, S型2株, L型3株の計6株を用いて、市販の濃縮淡水クロレラを給餌し、水温範囲が15~30℃, 塩分範囲が20~32 psu の条件で日間増殖率を調べた。SS, S型は、水温15℃では負の増殖がみ

られたが、20℃以上では顕著に高くなり、また、低塩分ほど高増殖率が得られ、水温30℃、塩分20 psu では300%を超えた。一方、L型は、水温15℃でも増殖し、SS、S型と同様に高水温、低塩分の条件で高増殖率が得られたが、最大の日間増殖率は200%以下に留まった。これらの増殖特性は過去の利用株と多くの点で類似していた。水温上昇と塩分低下による日間増殖率の向上効果は全ワムシ株で認められ、特に、水温上昇ではL型よりSS、S型が優れる傾向が示された。本研究での日間増殖率を培養計画の立案や培養状態の診断などに活用することで、今後のワムシ培養の安定性や効率性の向上が期待される。

謝 辞

本研究の実施にあたり、実験の準備などでご協力をいただいた(独)水産総合研究センター日本海区水産研究所能登島庁舎の北川貴子氏ならびに有益なご助言・ご協力をいただいた北里大学海洋生命科学部 吉永龍起博士に深く感謝の意を表する。

文 献

- Epp, R. W. and P. W. Winston (1978) The effects of salinity and pH on the activity and oxygen consumption of *Brachionus plicatilis* (Rotatoria). *Comp. Biochem. Physiol.*, **59A**, 9-12.
- Fielder, D. S., G. J. Purser and S. C. Battaglene (2000) Effect of rapid changes in temperature and salinity on availability of the rotifer *Brachionus rotundiformis* and *Brachionus plicatilis*. *Aquaculture*, **189**, 85-99.
- Fu, Y., K. Hirayama and Y. Natsukari (1991a) Morphological differences between two types of the rotifer *Brachionus plicatilis* O. F. Müller. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **151**, 29-41.
- Fu, Y., K. Hirayama and Y. Natsukari (1991b) Genetic divergence between S and L type strains of the rotifer *Brachionus plicatilis* O. F. Müller. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **151**, 43-56.
- Fu, Y., A. Hada, T. Yamashita, Y. Yoshida and A. Hino (1997) Development of a continuous culture system for stable mass production of the marine rotifer *Brachionus*. *Hydrobiologia*, **358**, 145-151.
- Gomez, A. (2005) Molecular ecology of rotifer: from population differentiation to speciation. *Hydrobiologia*, **546**, 83-99.
- Hagiwara, A., T. Kotani, T. W. Snell, M. Assava-Aree and K. Hirayama (1995) Morphology, reproduction, genetics, and mating behavior of small tropical marine *Brachionus* strains (Rotifera). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **194**, 25-37.
- 日野明德 (2000) 3 新しく開発された連続培養法. 海産ワムシ類の培養ガイドブック. 栽培漁業技術シリーズ No. 6, 日本栽培漁業協会, 東京, pp. 80-81.
- Hirayama, K. and S. Ogawa (1972): Fundamental studies on physiology of rotifer for its mass culture-I. Filter feeding of rotifer. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **38**, 1207-1214.
- 伊藤史郎・坂本 久・堀 正和・平山和次 (1981) 系統の異なるシオミズツボワムシの形態および増殖適温. 長崎大学水産学部研究報告, **51**, 9-16.
- 伊藤 隆 (1960) 輪虫の海水培養と保存について. 三重県立大学研報, **3**, 708-740.
- 小磯雅彦 (2007) ワムシ培養に関するアンケート調査結果 (2006年度). 栽培技研, **35**, 63-71.
- 小磯雅彦・日野明德 (2001) 培養水の塩分がシオミズツボワムシの増殖, 培養コスト, 栄養強化に及ぼす影響. 水産増殖, **49**, 41-46.
- 小磯雅彦・桑田 博・日野明德 (2005) 短時間の飢餓がシオミズツボワムシの生残, 発達, 生物学的最小形および卵の大きさに及ぼす影響. 水産増殖, **53**, 1-5.
- Korstad, J., Y. Olsen and O. Vadstein (1989) Life history characteristics of *Brachionus plicatilis* (Rotifera) fed different algae. *Hydrobiologia*, **186/187**, 43-50.
- Kotani, T., A. Hagiwara and T. W. Snell (1997) Genetic variations among marine rotifer strains and function of mate recognition pheromone (MRP). *Hydrobiologia*, **358**, 105-112.
- Kotani, T., A. Hagiwara, T. W. Snell and M. Serra (2005) Euryhaline *Brachionus* strains (Rotifera) from tropical habitats: morphology and allozyme patterns. *Hydrobiologia*, **546**, 161-167.
- Maruyama, I., T. Nakao, I. Shigeno, Y. Ando and K. Hirayama (1997) Application of unicellular algae *Chlorella vulgaris* for the mass-culture of marine rotifer *Brachionus*. *Hydrobiologia*, **358**, 133-138.
- Miracle, M. R. and M. Serra (1989) Salinity and temperature influence in rotifer life history characteristics. *Hydrobiologia*, **186/187**, 81-102.
- ムスタハル・西岡義晃・山崎繁久・平田八郎 (1991) 温度制御と安定給餌によるシオミズツボワムシ (*Brachionus plicatilis*) の順応特性. 水産増殖, **39**, 295-301.
- 大上皓久 (1976) シオミズツボワムシの形態について, 静岡水試伊豆分場だより, **184**, 2-5.
- 大上皓久 (1977) シオミズツボワムシの摂餌量および増殖率と培養水温との関係. 静岡水試伊豆分場だより, **187**, 2-5.
- Øie, G. and Y. Olsen (1993) Influence of rapid changes in salinity and temperature on the mobility of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Hydrobiologia*, **255/256**, 81-86.
- Segers, H. (1995) Nomenclature consequences of some recent studies on *Brachionus plicatilis* (Rotifera, Brachionidae). *Hydrobiologia*, **313/314**, 121-122.
- Walker, K. F. (1981) A synopsis of ecological information on the saline lake rotifer *Brachionus plicatilis* Müller 1786. *Hydrobiologia*, **81**, 159-167.
- 山形陽一 (1973) 生酵母によるシオミズツボワムシの培養 - II 増殖に対する培養液の塩素量の影響. 昭和48年度三重県内水試年報, 8-10.
- 四元忠博・西岡義晃・山崎繁久・平田八郎 (1994) 継代培養におけるL型シオミズツボワムシ *Brachionus plicatilis* の温度順応特性. 水産増殖, **42**, 433-438.