

調査報告

琵琶湖に出現した大型ミジンコ *Daphnia pulicaria* の繁殖試験について

一瀬 諭^{*1}, 若林徹哉^{*1}, 水嶋清嗣^{*1}, 野村 潔^{*2}

Reproduction test on *Daphnia pulicaria* appeared in Lake Biwa

Satoshi ICHISE^{*1} Tetsuya WAKABAYASHI^{*1}
Kiyoshi MIZUSHIMA^{*1} and Kiyoshi NOMURA^{*2}

1999年春季, 過去に観察されたことのない大型ミジンコ (*Daphnia pulicaria*) が琵琶湖北湖で急増し, 同時に透明度が各地点で10m程度にまで上昇した。我々は, 琵琶湖生態系の一次生産を考える上で本種が大きな影響を及ぼしていると考え, 化学物質テストガイドラインの一つであるミジンコ繁殖試験法を用い, 本種と他種との繁殖能力の違いを明らかにする試みを行った。その結果, 本種は琵琶湖在来種であるカプトミジンコ (*D. galeata*) より大型で産卵回数も多く, また産仔数も多かったことから, 水温20℃の本培養条件下では, 在来種より繁殖能力が勝っていることが明らかとなった。

はじめに

琵琶湖沖帯に出現する動物プランクトンの中で, ミジンコ類 (*Daphnia*属) は, ここ約20年間, 頭の尖ったカプトミジンコと呼ばれる *Daphnia galeata* がほとんどを占めていた。しかし, 1999年春季から大型のミジンコが濾過中の検体に肉眼でも観察されるようになり, 6月下旬に行った北湖における甲殻類分布調査の結果 (表1) では, 最高14個体/Lの大型ミジンコを計数した。また, 図1に示したように同時期に透明度の急上昇が認められ, 1999年6月の北湖定期調査時では10m以上観測された地点も多く認められた。

我々は, 富山大学の田中晋教授に本種の同定依頼を行い, 本種が *D. pulicaria*¹⁾ であることを確認した。また, 京都大学占部城太郎助教授も本種を *D. pulicaria* と同定し日本陸水学会第64回大会で発表²⁾ した。本種は, 北米やヨーロッパの湖沼に多く分布する種³⁾ である。

一般にミジンコ類は植物食性であるため植物プランクトンの効率の良い捕食者であり, その増加は植物プランクトン量を減少させ透明度を上昇⁴⁾ させることが知られている。

我々は, 本種が琵琶湖生態系の一次生産を考える上で大きな影響を及ぼしていると考え, その基礎的な知見を

得る目的で, 在来種と本種の繁殖力の違いを明らかにする試みを行った。なお, 本種との比較のため国際的指標種⁵⁾ となっている *D. magna* についても同時に比較試験を行ったので報告する。

実験方法

ミジンコの繁殖試験は, 化学物質のテストガイドラインの一つであるOECD改定案⁶⁾ に準じて行った。

1. 供試ミジンコ

本試験に用いたミジンコは, 琵琶湖沖帯から分離したミジンコの *D. pulicaria* や *D. galeata*, 浅い池沼や湖岸部内湖に分布する *D. obtusa* の3種, および, テストガイドラインにおける標準種となっている *D. magna* についても同時に試験を行った。本標準種の *D. magna* は滋賀県立大学の安野正之教授より分譲頂いた。各種類の形態的特徴と分布は次のとおりである。

(1) *Daphnia pulicaria* Fords¹⁾ 1893

ミジンコ類の中でも大型のミジンコに属し, 1999年春季に初めて確認された。図2・写真1~3に示したように尾爪の中部棘刺列が他種より大きいこと *D. pulex* 群に属し, 吻と単眼の間にある網状組織が長く伸びている点が *D. pulex* とは異²⁾ なる。本種は, 北米やヨーロッパ

*1 滋賀県立衛生環境センター 〒520-0834 滋賀県大津市御殿浜13-45
Shiga Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science,
13-45, Gotenhama, Ohtsu, Shiga, 520-0834, Japan

*2 (現) 滋賀県立水環境科学館 〒525-0066 滋賀県草津市矢橋町帰帆2108
Shiga Prefectural Science Museum of Water Environment,
2108, Yabasecyokihan, Kusatsu, Shiga, 525-0066, Japan

の比較的大きな湖沼では普通にみられるミジンコである。
(2) *Daphnia galeata* Sars, 1864⁷⁾

通常カプトミジンコとも呼ばれ図3・写真4に示したように、体は伸長した卵形で、半透明か透明である。殻刺は殻長の約半分と長い。日本では、北海道や本州の湖沼に多く出現する。琵琶湖では年間を通じて沖帯で観察され、特に11月末から2月にかけて増加傾向を示す。

(3) *Daphnia obtusa* Kurz, 1874⁷⁾

通常、ミジンコと呼ばれる *D. pulex* のグループに属し、体殻腹縁の内側に沿って、一列の剛毛を有している点が本種の特徴である。図4・写真5に示したように殻刺は短く、中には消失したものがある。吻は尖るが *D. pulex* に比べるとやや短い。近畿地方や北陸地方の平野部に多く分布する。琵琶湖では内湖の浅瀬に少ないが分布する。

(4) *Daphnia magna* Straus, 1820⁸⁾

オオミジンコと呼ばれる。図5・写真6に示したように、幅広い卵形で殻は黄色かまたは淡紅色。殻刺は短く、時にはほとんど消失していることもある。頭部の幅が広く、頭頂は鈍円、吻はやや突出する。殻弧はよく発達し殻弧の背前方に2条の縦の翼がある。北半球温帯に広く分布し、ステップ、ツンドラにある一時的な浅い水たまりに多く分布する。特に富栄養化した小型藻類に富む湖沼に出現する。日本の湖沼や琵琶湖での分布は確認されていない。

2. 培養条件

培養室内の温度条件は 20 ± 1 , 16時間明 / 8時間暗の明暗周期に設定し、照度800~1,000Lux, 培養期間は21日間、今回のOEC Dミジンコ類繁殖試験の改訂により1頭10連で行った。試験方式は半止水式で週3回飼育水を交換した。餌としては単藻培養した緑藻綱のクロレラ (*Chlorella vulgaris*) およびクロレラ工業株式会社製造の生クロレラ (*C. vulgaris*) を使用した。ミジンコの給餌回数は週に5回以上与えた。なお、クロレラの培養には表2に示したCT培地を使用し、培養液は使用前に遠心分離により除去した。1回の給餌量はミジンコの成長度合に応じ、ミジンコ1頭あたり炭素換算して0.1~0.4mg・C/day与えた。炭素換算方法はコーンターカウンターを用いて総細胞数と平均細胞体積を求め、Strathmann⁹⁾の式によって炭素量の換算を行った。飼育水はサントリー株式会社製造の天然水(硬度約30mg/l, ナトリウム4.9mg/l, マグネシウム1.4mg/l, カルシウム9.7mg/l, カリウム2.8mg/l)を使用した。

3. 繁殖試験方法

試験に用いた幼体は各種とも、開始前に成虫から得られた第3産仔または第4産仔を使用し、生後24時間以内のものを使用した。100mlのピーカーに飼育水を各50ml入れ、各種10連ずつ調整した。各々の容器にミジンコ幼体を1頭入れ、半止水式で21日間飼育を行った。飼育水は週3回(月, 水, 金)交換した。繁殖試験の測定項目は親の生死, 大きさ, 幼体の数, 幼体の異常個体数などを観

察し, pHおよび溶存酸素量は、開始時および終了時に測定した。

結果および考察

ミジンコ幼体の成長は、各試験区で良好であり、試験溶液のpHは7.6~8.9の間で変動し、また溶存酸素量は8.1mg/l以上とミジンコの繁殖試験条件としては良好であった。また、この21日間の繁殖試験期間中では、全頭が正常に成長した。なお、産仔後も親の死亡は認められなかった。文献による各種の体長の記載⁷⁾⁸⁾については種類によって幅が大きく、また、その記載も不明確なものが多いため、本培養条件下での種別に体長測定を行った。各種の成長過程における体長の測定結果を図6に示した。*D. pulicaria* は *D. magna* には及ばないものの、培養19日前後に最大値の3.5mmに達し、琵琶湖に最も多く分布する *D. galeata* の最大値の1.5mm程度に比べ、明らかに大型化することが明らかになった。また、琵琶湖に多い *D. galeata* は成長が早く約10日で最大値となった。次に各種の繁殖試験結果を図7に示した。本培養条件下における各種の産仔状況を知るため、毎日産仔の有無を確認し、総産仔数の計数は週3回実施した。

1. *Daphnia pulicaria*

本種は生まれて約1週間でほとんど成熟し、産仔を開始した。初回の産仔数は平均6頭であった。その後、平均2~3日毎に1度の頻度で産仔した。試験開始19日以降に産仔数の急増が認められ、最高は44頭/回に達した。また、出産後の異常個体数の平均出現率をみると、本種は、平均3.0%(33/1,100頭)であり、*D. magna* 5.7%(89/1,600頭)や *D. galeata* 4.6%(44/970頭)に比べやや少ない傾向が認められた。しかし、*D. obtusa* は出産時の異常個体は1頭も認められなかった。次に、平均産仔回数は6.6回と、*D. magna*(4.5回)や *D. obtusa*(6.0回)よりも多かった。しかし、在来種である *D. galeata* も6.2回と多く、琵琶湖沖帯に出現する種は、比較的浅い池沼に出現する種よりも産仔回数が多いことが推察された。

本種の1頭当たりの産仔数をみると平均110頭であり、在来種の *D. galeata* の平均92頭と比較すると多かった。しかし、*D. magna*(平均155頭)や *D. obtusa*(平均140頭)に比べるとやや少ない傾向が認められた。

琵琶湖沖帯に出現したこの2種類について平均産仔数について有為な差があるかを環境毒性学会配布の解析ソフトによって一元配置分散分析を行った結果、5%の危険率で有為な相関が認められ、本培養条件下では、琵琶湖沖帯に最も多く分布する *D. galeata* よりも、今回出現した *D. pulicaria* の方が繁殖力が勝ることが明らかとなった。

2. *D. pulicaria*以外の種類

琵琶湖に最も多く分布する *D. galeata* の繁殖試験の結果、総産仔数は、4種の中では最も少なかった。また、内湖や平野部の池沼に見られる *D. obtusa* は、産仔時

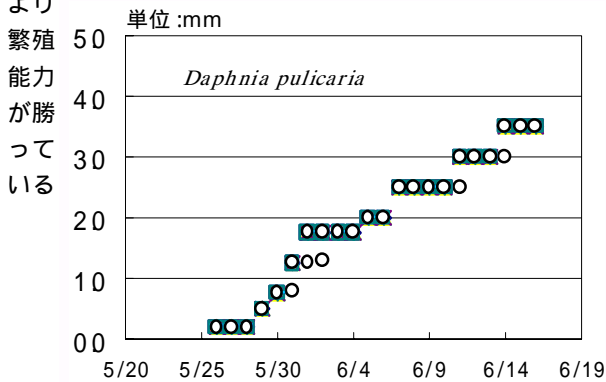
の異常個体が1頭も認められず異常個体が出にくい種類であることが推察された。*D. magna*は、大型で産産回数が最も少なかったが、1度に放出する産仔数は最も多く、最高65頭/回計数された。

3. 雄の出現について

通常、ミジンコは単為生殖を営むため、ミジンコにとって快適条件下では雌のみの出現となる。しかし、環境条件等の変化により雄が出現し、成熟すると有性生殖により通常の卵より大型の耐久卵を形成する。今回の繁殖試験の中で、産仔後の雄の発生についても種別に雌雄の判定を行った結果、池沼に多い *D. obtusa*については全体(1400頭)の約3%(40頭)出現したが、他の3種類については全て雌のみの出現であり、雄は1頭も確認されなかった。

まとめ

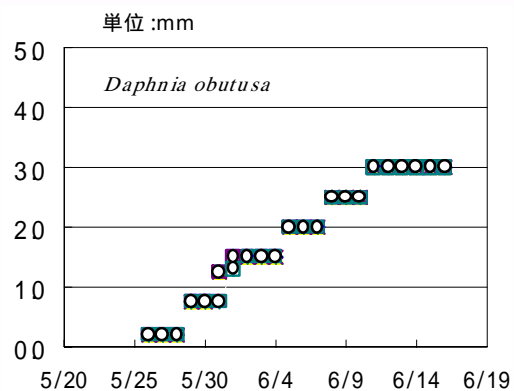
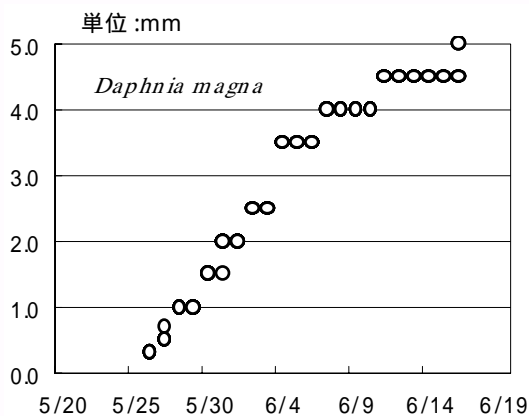
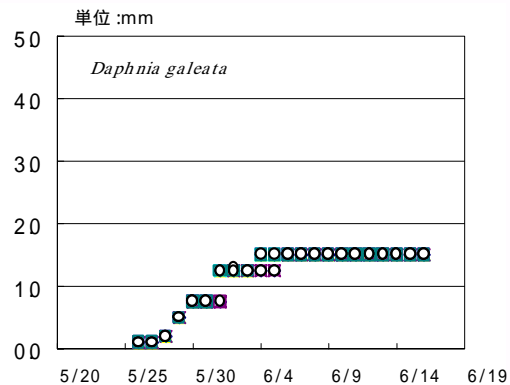
1999年春季、過去に観察されたことのなかった大型ミジンコが琵琶湖北湖で急増し、同時に透明度が各地点で上昇した。このため、本種と在来種を含めた他種との繁殖力の違いを明らかにする試みを行った結果、本種は約1週間で成虫となり、初回の産仔は試験開始後平均8日目であった。その後、2~3日に1回の間隔で産仔を繰り返し、21日間での総産仔数は平均110頭、産仔回数は平均6.6回であった。その産み方は、最初は少ないが、培養19日目前後から急に増加傾向が認められた。また、在来種である *D. galeata*との比較から本種は大型で産産回数が多く、また総産仔数も *D. galeata*より多かったことから、本培養条件下では、在来種の *D. galeata*より



ことが明らかとなった。

参考文献

- 1)Forbs Bull.:US Fish. Comm,11:207 (1983)
- 2)占部城太郎:第64回日本陸水学会要旨集:127 (1999)
- 3)Dodoson:Hydrobiologia,86,:101(1981)
- 4)Horn W.:Hydrobiologia,224,115-120(1991)
- 5)Draft OECD test guideline 202 part , *Daphnia magna* reproduction test to be used in the final ring test (1994)
- 6)OECD test guideline program draft of the final ring test of the *Daphnia magna* reproduction study (1995)
- 7)田中晋:富山大学教育学部紀要B,49,55-66 (1997)
- 8)田中晋:富山大学教育学部紀要B,48,37-42 (1996)
- 9)R.R.Strathmann:Estimating the organic carbon content of phytoplankton from cell volume or plasma volume ,Limnology and Oceanography, 12, 411~418(1967)



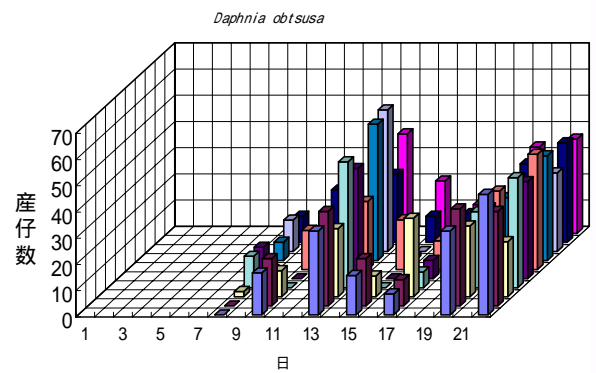
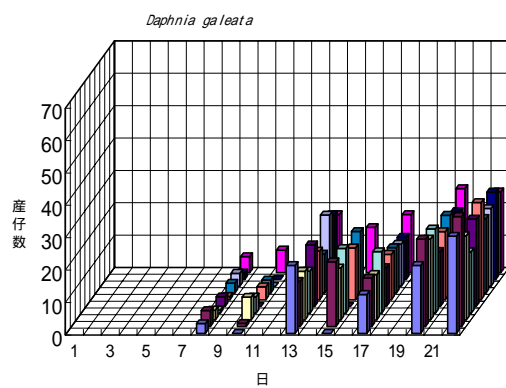
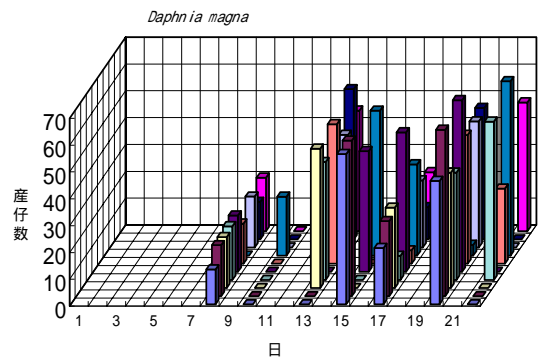
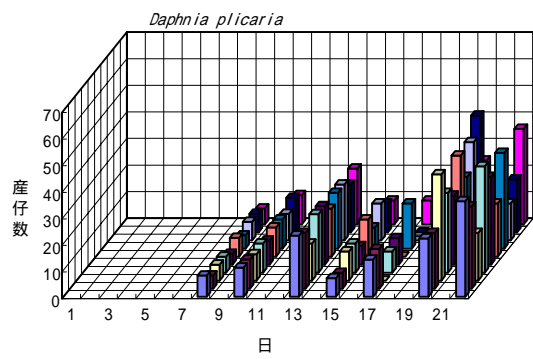


表2 C T培養液の組成

Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	15 mg
KNO ₃	10 mg
MgSO ₄ ·7H ₂ O	4 mg
-グリセロリン酸ナトリウム	5 mg
ビタミンB ₁	1 μg
ビタミンB ₁₂	0.01 μg
ビオチン	0.01 μg
TAPS (グッドの緩衝剤)	40 mg
P 金属混液	0.3 ml
蒸留水	99.7 ml
pH 8.2	

P 金属混液	
FeCl ₃ ·6H ₂ O	19.6 mg
MnCl ₂ ·4H ₂ O	3.6 mg
ZnCl ₂	1.05mg
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.4 mg
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.25mg
Na ₂ EDTA·2H ₂ O	100 mg
蒸留水	100 ml

表1 琵琶湖北湖における甲殻類分布調査

調査日 1999年6月22日

個体数 / L

地 点 水 深 (m)	南比良 - 長命寺中央					今津 - 長浜中央					
	0.5	5	10	20	40	0.5	5	10	20	40	80
<i>Bosmina longirostris</i>	20	4	2			1					0.3
<i>Diaphanosoma brachyurum</i>											
<i>Daphnia pulicaria</i>				4	8	1	2	0.3	14	10	1
<i>Daphnia galeata</i>	2	14	28	28	4	21	15	27	2		
<i>Leptodora kindtii</i>								0.3			
<i>Eodiaptomus japonicus</i>	20	98	136	128	12	8	8	25	20	1	0.3
<i>Cyclops vicinus</i>					20				1	1	3
<i>Mesocyclops dissimilis</i>	48	34	48	32		7	4	2	6		
Nauplius	540	290	134	44	4	146	54	8	15	1	
Copepodid						1	3	3	1	0.3	0.2