

ホウネンエビの孵化条件

静岡県立磐田南高等学校

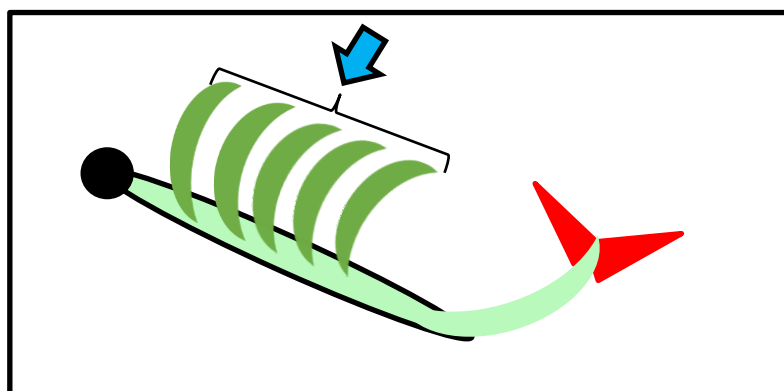
生物部 1 年 津田あずみ 2 年 古田義孝 1 年 米倉杏

1 動機

私は幼少期から、祖父母の田に生息していた、仰向けで優雅に泳ぎ、鰓脚が綺麗な緑色をしているホウネンエビに興味を持っていた。中学生体験入学の際、磐田南高校でホウネンエビの研究しており、ホウネンエビの綺麗な緑色は鰓脚に付着する藻類によるものと知ったため、ホウネンエビと藻類の関係を研究するために生物部に入部した。

本校生物部では 2020 年度より、ホウネンエビの鰓脚に付着する「藻類」が、「ホウネンエビ」と共生しているのではないかと考え研究を進めてきた。2021 年には、付着藻類の同定、および光合成に対する悪条件で藻類が剥がれ落ちることがわかった。ところが、2022 年の研究では、様々な方法を試したのにも関わらず、飼育しているホウネンエビの鰓脚に藻類が付着せず、共生藻類の研究が一步も進められなくなった。

そこで私たちは、基本に立ち戻り、ホウネンエビの孵化条件や藻類の共生条件について研究することにした。



資料 1

2 ホウネンエビとは

ホウネンエビは田の水中に生息し、脚を上にして泳ぐ 20 mm の甲殻類である。資料 1 の矢印で示した部分を鰓脚（さいきやく）といい、えらと遊泳運動器官を兼ねる。正の光走性を持ち、光に向かって移動する。

5 月ごろに成体が多くみられるようになり、交尾産卵を行う。産卵を終えた成体は 7 月ごろには姿を消す。田に産み落とされた卵はその後、水の無くなった田の土の中で乾燥状態で冬を越し、春に田に水が入る時期に一斉に孵化する。

3 2021 年度の研究

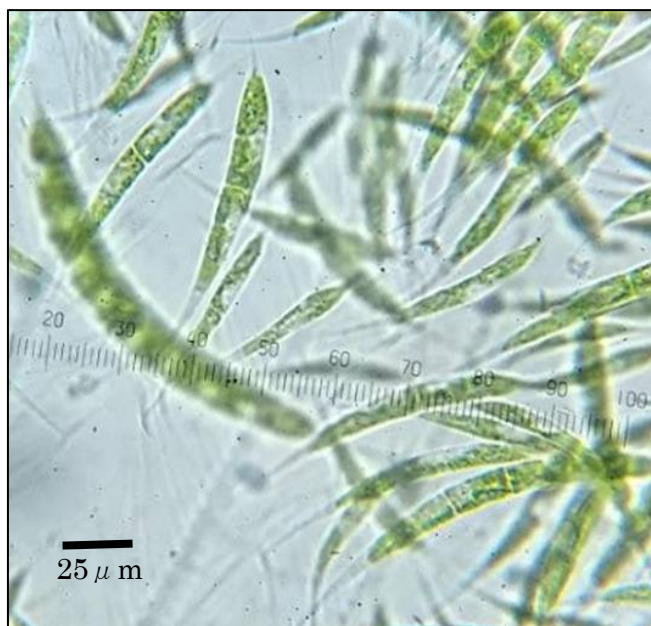
2021 年度は、ホウネンエビと藻類は共生か、を明らかにすることを目的に、まずは藻類が付着によって利益を得られているかを、CO₂利用の面で研究した。

研究の結果、(1)「明所での CO₂ 利用」、(2)「暗所でホウネンエビに付着する不利益」は、藻類にとってはかなり可能性が高いと考えられる結果が出た。ただし、ホウネンエビにとって暗所で不利益になるかは証明されていない。また藻類が、(3)「条件により藻類自ら付着や剥がれ落ちを行う」仮説は、正し

い可能性はあるが、藻類自身が能動的に剥がれ落ちたという確証は得られていない。

資料 2 は、2021 年に同定したハウネンエビに付着した緑藻の写真である。資料 2 から、幅 $20\mu\text{m}$ 程度の細胞が数個、群体を作っていることがわかる。先端のとがった部分が、ハウネンエビの鰓脚に付着する際に Y 字型となる。

Korshikoviella gracilipes (クロロコックム科) に酷似しているが、2021 年に *psbA* 遺伝子と *rbcL* 遺伝子で解析したところ、スファエロプレア科であることがわかった。クロロコックム科はハウネンエビやミジンコなどの外骨格上に付着する表在生物として有名である一方、スファエロプレア科は紡錘形で先端が Y 字型になる などの特徴が一致する。



資料 2

そこで、付着藻類を採取して種の同定を行い、藻類の能動的な反応がありうるか調べることを、次の課題とした。

4 藻類付着実験

2021 年までは、田で採取し一度乾燥させた土に、汲み置き水を入れると、土中のハウネンエビの卵が孵化し、藻類が付着した。このことから、土中にハウネンエビの卵と藻類の対乾燥形態の両方が含まれていると予想できる。2021 年度は、照度が高いほどハウネンエビに付着する藻類が多くなることから、ハウネンエビが入った水槽を、屋根がなく日光の当たる 2 階渡り廊下等において藻類を付着させていた。

2022 年度上半期に、自然界において、例年藻類が付着しているハウネンエビが見られる 2 か所の田を観察したところ、ハウネンエビは生息しているが、鰓脚に藻類が付着している個体が見られなかった。次に、人工的に、田で採取した土を乾燥させて汲み置き水を入れたところ、ハウネンエビは孵化したが、照度を上げてても藻類が付着しなかった。藻類が含まれていると思われる乾燥をさせていない湿った土を加えて観察しても、ハウネンエビに藻類が付着することはなかった。付着藻類が採取できないため、基本に立ち戻り、自然界の田の土を利用して、ハウネンエビの孵化条件や藻類の共生条件について研究することにした。

5 仮説

2022 年度下半期には、まず、自然界の田の土によるハウネンエビの孵化条件を探ることにした。ハウネンエビは越冬し、春に田に水が入ると一斉に孵化する。そのため、ハウネンエビが孵化するた

めに最適な温度があると考えた。植物が春化により開花が促進されるのと同じように、冬の気温低下を経験することで孵化率が向上すると仮説を立てた。

6 方法

植物の春化のように、ハウネンエビが生息している田で採取した土を低温に置いたのちに、温度を上げ、孵化率を比較した。土の中の卵の数を統一することは難しいため、土をよく混ぜて偏りがないようにした。温度は静岡市の5月の平均気温25℃をもとに10℃ごとに下げ、設定した。

＜実験1＞

- (1) 卵の含まれる土を-22℃の冷凍庫で5日間冷却した。以後「冷却卵」と呼ぶ。また比較用に常温保存の土を用意した。以後「常温卵」と呼ぶ。
- (2) 6.0×6.0×8.0(cm)の透明なプラスチック容器に、(1)の土を50gずつ入れ、くみ置きの水を250mL加える。それぞれの条件で、3個ずつ用意した。
- (3) 定温装置5℃、15℃、25℃の条件下に置き孵化を試みた。比較用の常温卵は25℃条件下においた。
- (4) ハウネンエビの孵化個体の数を5日おきに計3回計測した。

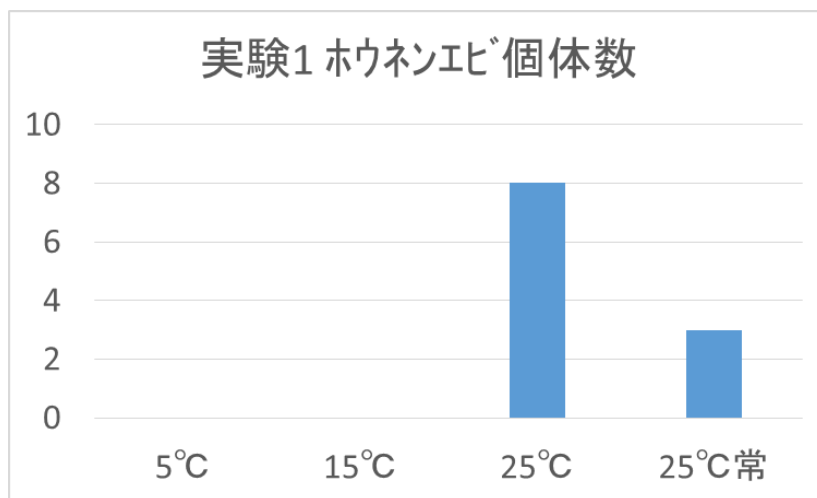
＜実験2＞

5℃、15℃では孵化を確認できなかったため、25℃をより詳しく測定した。容器を6個体ずつ用意し、個体数を平日5日、2週間計測した。

7 結果

＜実験1＞ 資料3

- (1) 5℃、15℃の容器では孵化が確認できなかった。
- (2) 初期は25℃では「常温卵」も「冷却卵」も孵化した。ハウネンエビの生息する田の土にはミジンコの卵が混在している場合が多く、10日まではミジンコとハウネンエビの幼生を識別することは大変難しい。そのため、15日目にカウントした数を比較した。

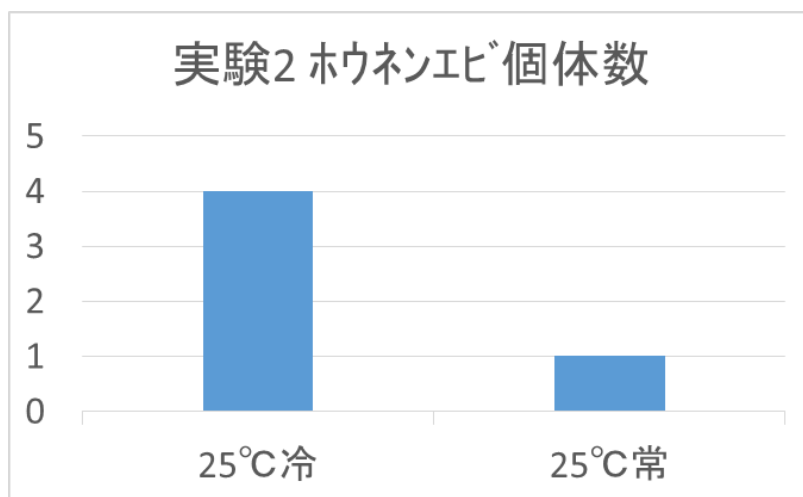


資料3

- (3) 15日後には25℃の「冷却卵」で合計8匹、25℃「常温卵」で合計3匹の個体を確認できた。冷却することで、孵化率が上がることがわかる。

＜実験2＞資料4

- (1) 「常温卵」と「冷却卵」それぞれ6個の容器での孵化個体数を比較したが、孵化率は高くなかった。
- (2) 2週間後のホウネンエビ個体数を比較したところ、実験1と同じく、冷却卵の個体数が多くなった。



資料4

8 考察

- (1) 5℃、15℃の環境で孵化が確認できなかったことからホウネンエビは、5月の平均気温程度の温度に達しないと孵化しないことが考えられる。
- (2) 実験1、2両方とも「冷却卵」の方が「常温卵」に比べ孵化率が高く、ホウネンエビの孵化には植物の春化と同じように、低温を経験し、その後温度が上昇することで孵化率が上がると考えられる。これにより、仮説の「冬の気温低下を経験することで孵化率が向上する」は証明されたことになる。

また、今回の実験において、人工気象機にいて、照度を上げても、藻類がホウネンエビに付着することはなかった。藻類が付着するためには、ホウネンエビの孵化条件とは違う温度や光や、その他の条件があるのかもしれない、土の中に付着藻類の胞子が微量しかない可能性も視野に入れる必要がある。

9 緑藻の生活環

藻類が乾燥した土の中で悪条件を耐えていると考えられることから、藻類の耐久性について論文を調べた。緑藻の中にはアキネート(厚膜胞子)と呼ばれる耐久性細胞を形成する種があり、乾燥や凍結などの悪条件に耐えることができるものがある。付着藻類がアキネートを形成するかどうかは論文などの資料が見つからないが、冬の乾燥した田の土中にホウネンエビの卵と藻類の耐乾燥形態の両方が含まれていると予想できる以上、藻類もアキネートに近い形状で冬越しをしている可能性がある。

10 今後の課題

2022年にはホウネンエビは孵化したにも関わらず、付着藻類が出現しなかった。ホウネンエビの鰓脚に藻類を付着させる条件を探る。

- (1) 冬の乾燥した田の土の中から、アキネート状態かそれに近い胞子状態の藻類を見つけて培養し、スファエロプレア科であるかを確認する。
- (2) 土中の藻類を、孵化させたホウネンエビの水槽にいれ、付着できるかどうか観察する。
- (3) 来年2023年度春に、ホウネンエビの生息する田の土を採取して、ホウネンエビに藻類が付着する過程を、日を追って観察する。

11 参考文献

- ・黄緑色藻類 *Tribonema bombycinum* のアキネート形成による耐凍性の上昇
北海道大学低温科学研究所 長尾学、藤川清三(1999)
- ・ *Ulothrix acrorhiza* KORNMANN のアキネート形成について 大貝政治、藤山虎也(1980)
- ・魚類の寄生性カイアシ類の表在生物：ユニークな付着基盤
大塚攻・宮川千裕・平野勝士・近藤裕介(2018)
- ・緑藻カプサアオノリの生活環について 長崎大学水産学部 右田清治(1967)
- ・コディオルム体(複相世代)の核の挙動からみたヒビミドロ目緑藻の生活環
堀之内裕介(2021)