

総説: ウーパールーパー / 虫・魚の飼育係 ①

～飼育の最新情報・学術データまとめ～



2023/4/19 更新版

編: 杉山 遥

※ 許可なく産業・商業への二次利用をすることを固く禁じます。

全ての画像・文章について無許可の商業利用を禁じます！
クリエイティブ・コモンズ・ライセンス・非営利・改変禁止 (CC-BY-NC-ND)



<23/3/10～23/4/19 お詫びと訂正，情報の更新報告>

以下の点について、差し替え・加筆修正・最適化 致しました。

平素より当ラボ関連文献をご愛読の皆様、筆者の不手際による 不正確な情報共有 ならびに ご確認のお手数をおかけしてしまい、大変申し訳ございません。

今後も、常に適宜本文の最適化や加筆修正を実施して参ります。

著者の不手際のため、皆様への報告・共有が遅れてしまう場合も時折ございますが、適宜、更新に関する情報は当ラボの Twitter 等のメディアにて公開するよう努めたく存じます。

まだまだ未熟な点多々ございますが、今後とも ”はるらぼ” とのお付き合いの程、何卒宜しくお願い致します。

23/4/19 追加・修正事項 重複している項目を解消 + 糖質関連の画像を追加。

重複項目 ↓

<360日間における栄養依存的な成長率の比較>



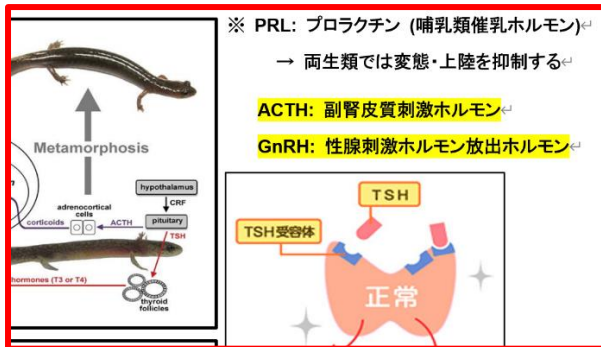
追加項目 (糖代謝関連) ↓

<360日間における栄養依存的な成長率の比較>



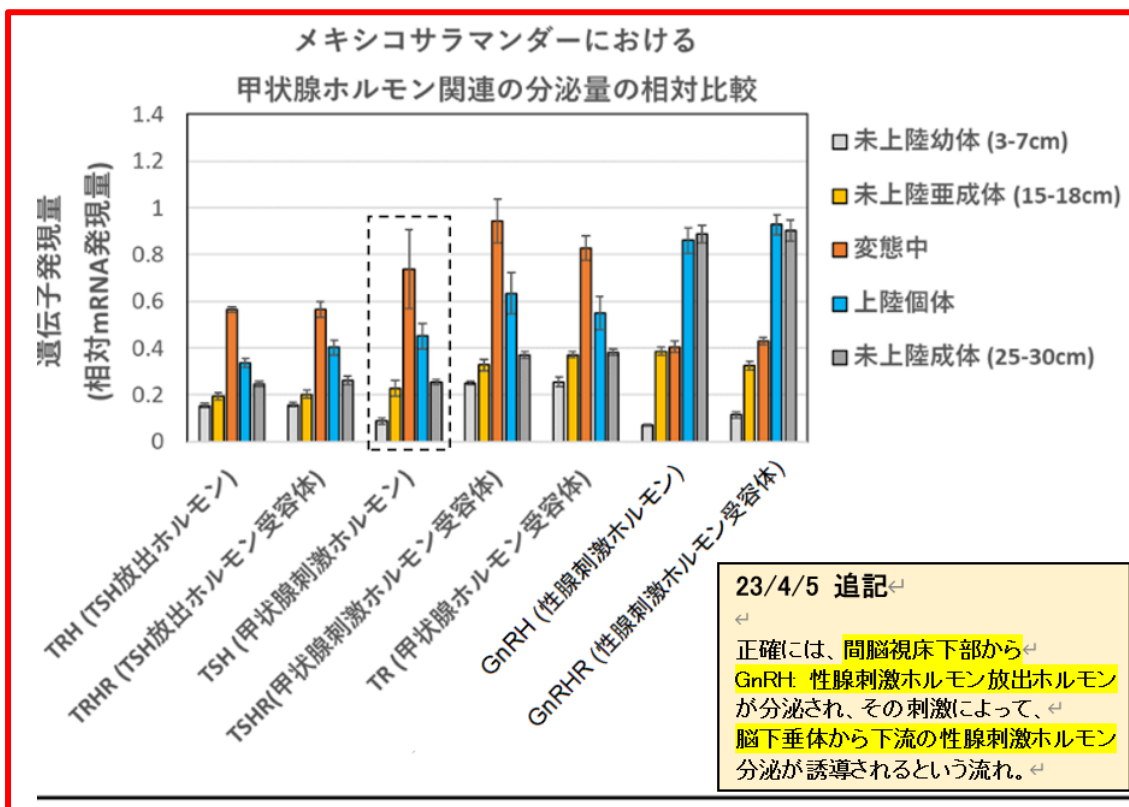
23/4/5 修正

プロラクチン (PRL), GnRH に関する表記を加筆・修正。



プロラクチンを“性腺刺激ホルモン”と記載の誤り箇所あり。

正確には、**プロラクチンは哺乳類では“催乳ホルモン”**
として作用する = 乳腺を刺激する。



23/3/26 修正

差し替え内容 23/3/26

発表の趣旨や結果の解釈には特に影響はございませんが、以下の点修正致しましたので、ご確認の程お願い致します。

※ ラベル誤り; 0.15% ミネ水の画像

0.3% ミネ水飼育 (対照群)



※ 配置の入れ間違い

0.3% ミネ水 + バクテリア入り泥*

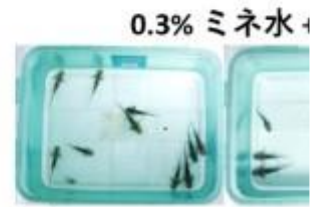


ラベルに該当する写真へ差し替え

0.3% ミネ水飼育 (対照群)



杉山, 2022, 飼育・治療最新案内より引用



0.3% ミネ水

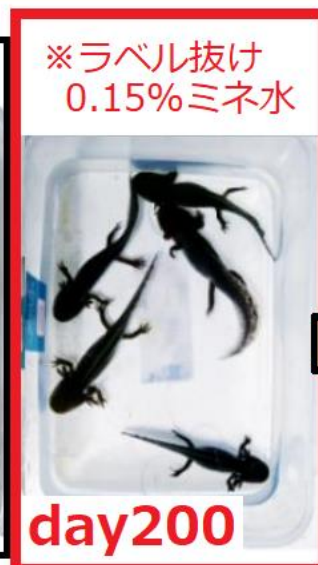
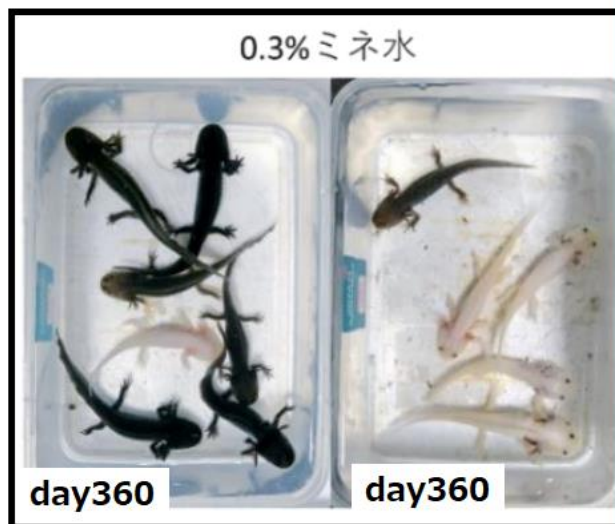
23/3/10, 26 修正

※23/3/26 差し替え後のラベルが書かれていないので追記。

<360日間における栄養依存的な成長率の比較>

オン・金属・鉱物

0.15% ミネ水



23/3/12 修正

- 因子 2) アホートルにおける異種混泳・密度条件依存的な成長率
キイロショウジョウバエやカブトムシなどの昆虫類やメダカなどの魚類において、生長や生育速度と密接な関係があると言われており、広い所で飼育すればそれで、以下の2つの疑問 (1.底面積と水深、どちらを生体は検知しているかで確定して変更できなくなるか。) について、様々な飼育条件を設定することで失われるタイミングについて順次調査を行った。

表: 飼育条件と生育率の相関を調査する

縦長 (メスシリンダー)		
【3023-5441】トラスコ中山 メスシリンダー 1000ml MS1000		JEJア
容器サイズ	φ61x3.14xH400 (mm)	619
アホートル (0.3% ミネ水)	day120 (mm); n=5	2.47
	day360 (mm); n=5	3.39
	(5匹の平均値の比較)	

- 因子 2) アホートルにおける異種混泳・密度条件依存的な成長率
キイロショウジョウバエやカブトムシなどの昆虫類やメダカなどの魚類において、生長や生育速度と密接な関係があると言われており、広い所で飼育すればそれで、以下の2つの疑問 (1.底面積と水深、どちらを生体は検知しているかで確定して変更できなくなるか。) について、様々な飼育条件を設定することで失われるタイミングについて順次調査を行った。

表: 飼育条件と生育率の相関を調査する

縦長 (メスシリンダー)		
【3023-5441】トラスコ中山 メスシリンダー 1000ml MS1000		JEJ
容器サイズ	φ61x3.14xH400 (mm)	619
アホートル (0.3% ミネ水)	day360 (mm); n=5	8.35
	(5匹の平均値の比較)	3.39

目次 (2023/2/25 更新)

青: ラボ案内・番外編

黄色: 飼育案内

緑: 研究・調査報告

- ・ **ウーパールーパー写真集**・・・23/2/18 更新
- ・ **発行開始のご挨拶** ... 2022/5/5
- ・ **【はるらぼ活動に賭ける想い】** ... 2022/9/3

- ・ **ウーパールーパー飼育案内_Part.1**
杉山 遥 2023 年 2 月 4 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者
- ・ **ウーパールーパー飼育案内_Part.2**
杉山 遥 2023 年 2 月 18 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者
- ・ **アホロートル飼育水槽における濾過環境の重要性**
杉山 遥 2022 年 9 月 26 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者
- ・ **アホロートルの飼育・治療最新情報**
杉山 遥 2022 年 12 月 25 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者
- ・ **ウパールパ 飼育水槽の濾過環境と水質管理・維持について**
杉山 遥, 萩原 和晃, 枝豆 やみん, りん 2023 年 2 月 25 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

- ・ **メキシコサンショウウオにおける多頭飼育_他個体認識**
杉山 遥 2022 年 5 月 筆頭著者, 最終著者, 責任著者
- ・ **ウーパールーパーの睡眠 (FBS 博士勉強会・研究発表資料)**
杉山 遥 はるらぼ会報誌・ウーパールーパーだより vol 2.1 2022 年 6 月 筆頭著者, 最終著者, 責任著者
- ・ **土壌成分と生育_ウーパールーパー研究報告**
高橋 慶, 杉山 遥 2022 年 8 月 最終著者, 責任著者
- ・ **メキシコサンショウウオの味覚_ウーパールーパー研究報告**
杉山 遥 2022 年 10 月 2 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者
- ・ **メキシコサンショウウオ等の栄養と成長に関する最新報告_ウーパールーパー研究報告**
杉山 遥 2022 年 10 月 2 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者
- ・ **腸内細菌と成長制御について_ウーパールーパー研究報告**
杉山 遥 2022 年 10 月 31 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者
- ・ **両生類・魚類の”睡眠”と体色制御／メキシコサンショウウオにおけるあくびの習性**
杉山遥, あすみ 悠, 枝豆やみん, うにゃぎ 2022 年 11 月 筆頭著者, 最終著者, 責任著者
- ・ **ネオテニーの上陸化制御に関わる因子_ウーパールーパー研究報告**
杉山 遥, 久木崎 玲美 2022 年 11 月 筆頭著者, 最終著者, 責任著者
- ・ **腸内乳酸菌と神経ペプチド NPY と睡眠・成長_ウーパールーパー研究報告**
杉山 遥 2023 年 2 月 4 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者
- ・ **成長に不可欠な因子の探索・次世代の表現型解析 (孵化後 50 日目)_ウーパールーパー研究報告**
杉山 遥 2023 年 2 月 8 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

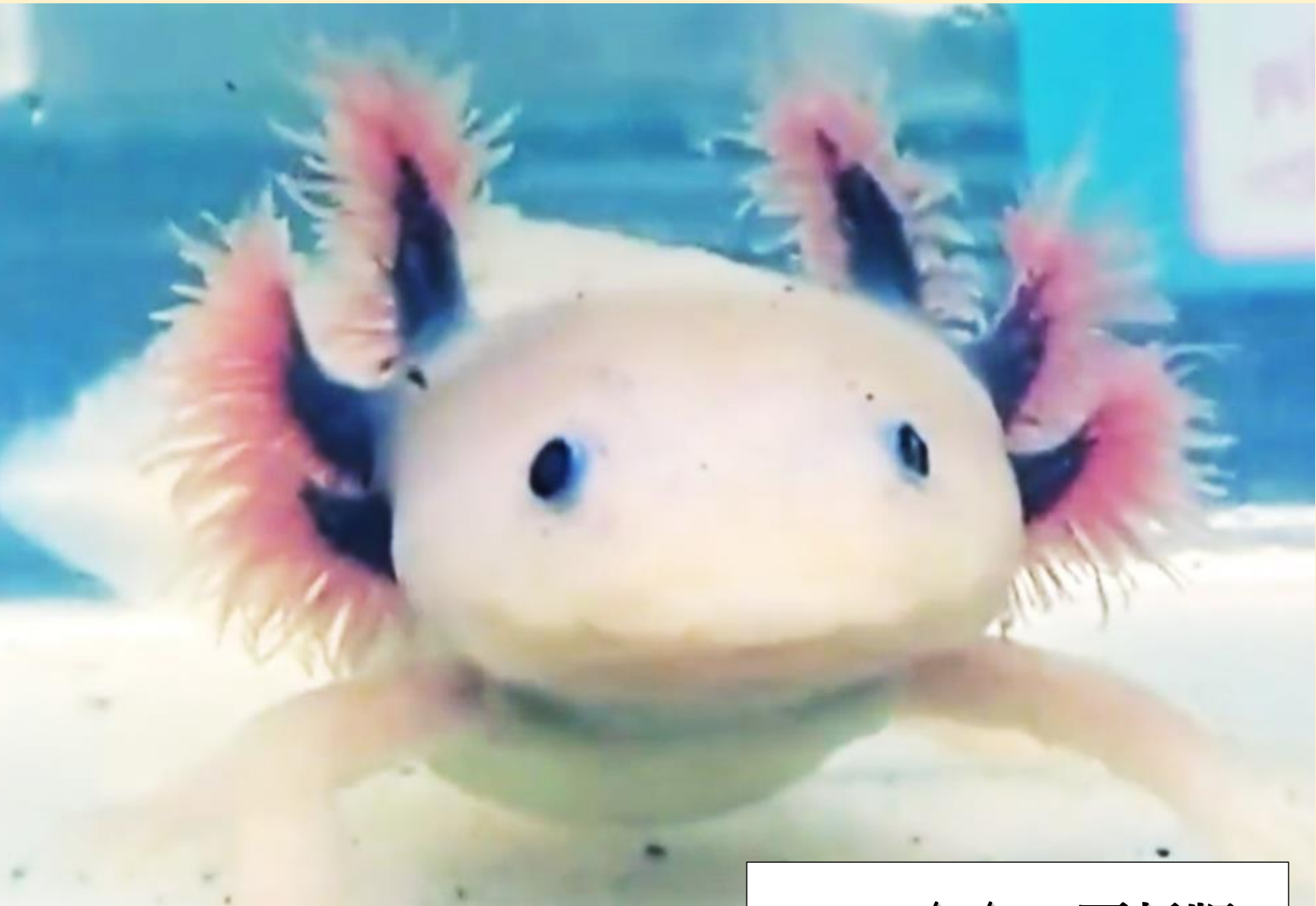
ウーパールーパーだより

～ウーパールーパー写真集～

番外編

Vol.1

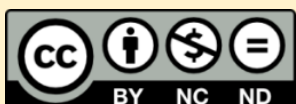
トピック： ウパールパの魅力盛り沢山！



2023/2/18 更新版

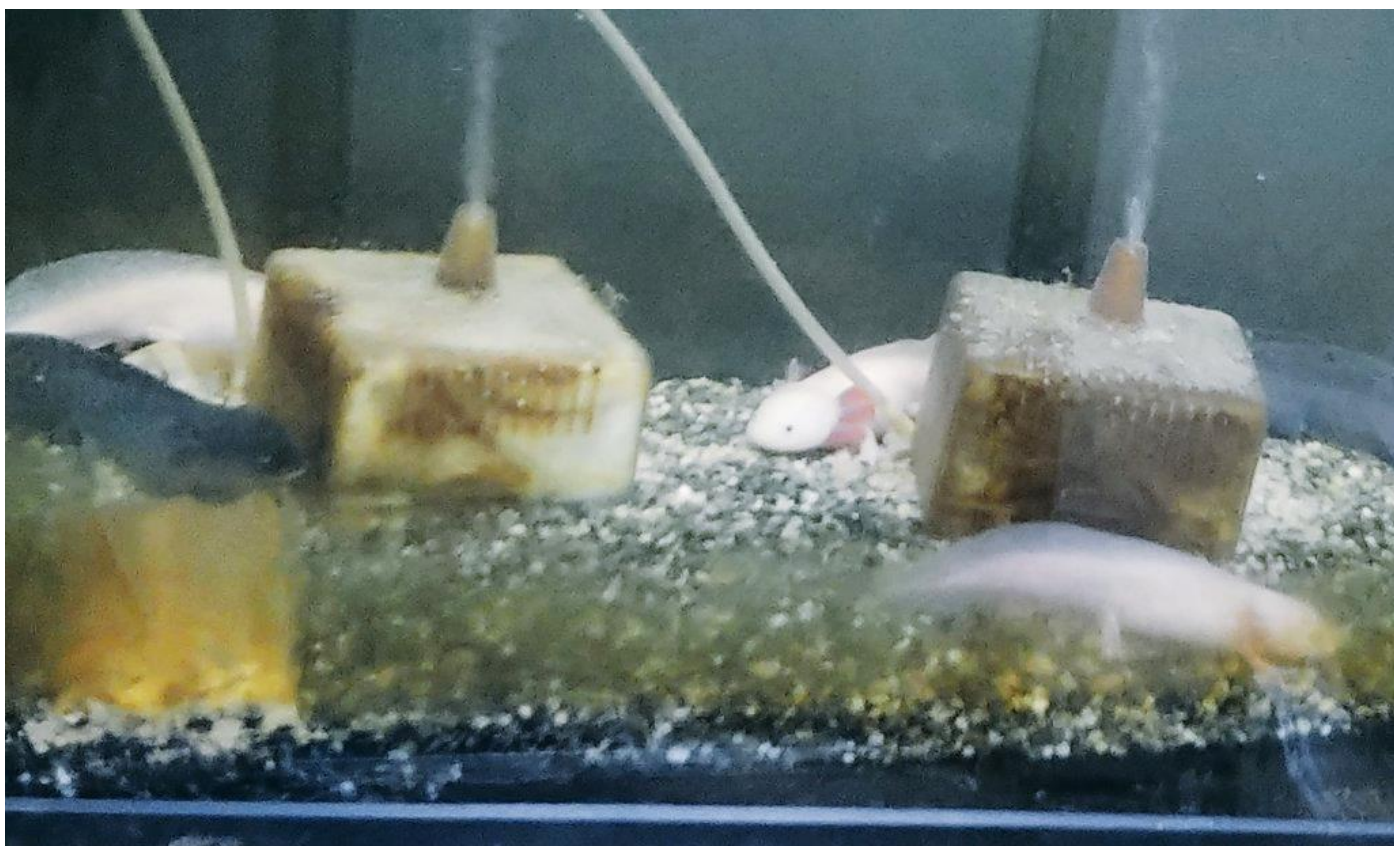
Presented by

ウーパールーパー研究室・はるらぼ



編：杉山 遼

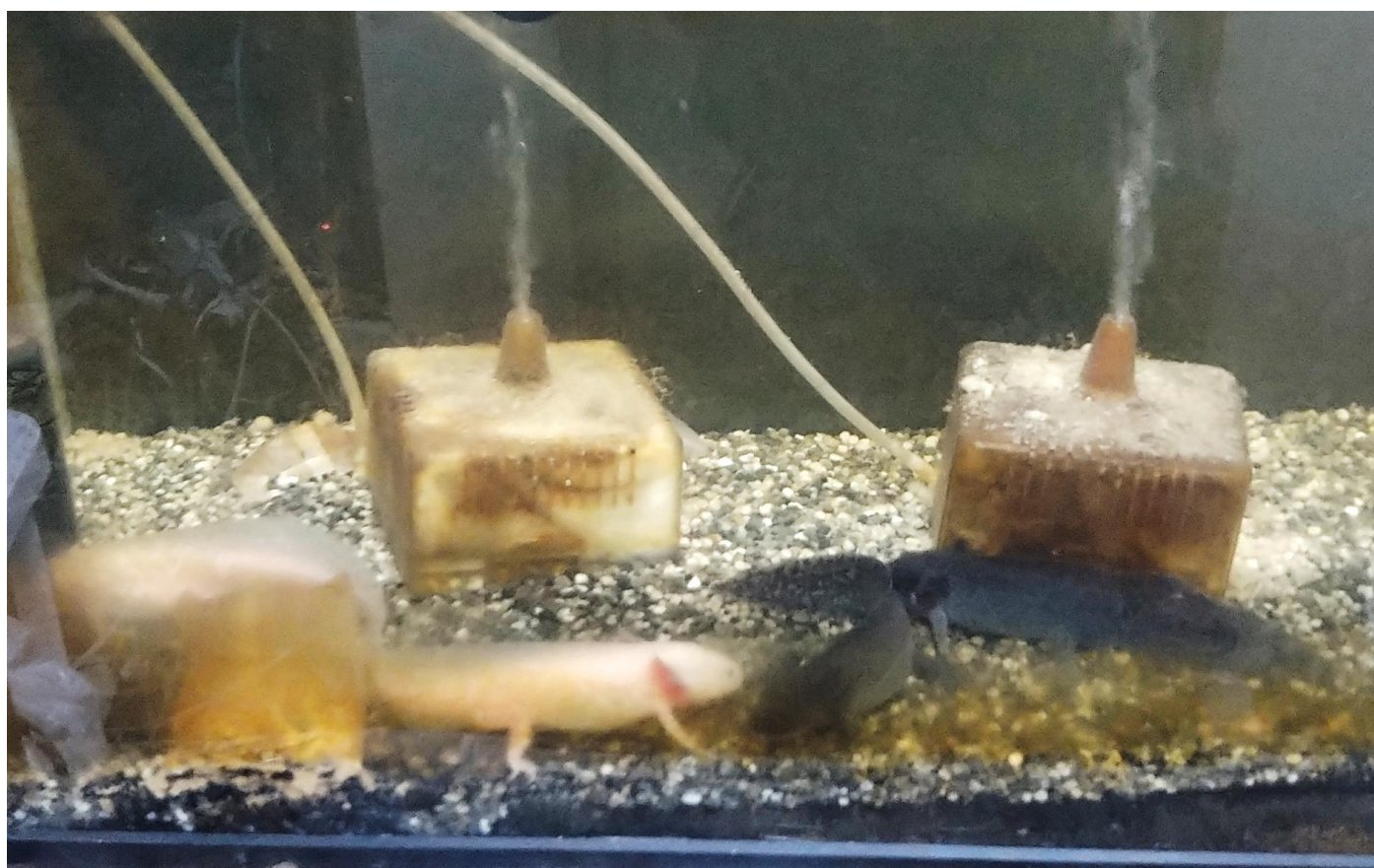
はるらぼの従業員たち（一部）



全ての画像・文章について無許可の商業利用を禁じます！
クリエイティブ・コモンズ・ライセンス・非営利・改変禁止 (CC-BY-NC-ND)



発行元: ウーパールーパー研究室はるらぼ, 監修: 杉山 遥 ほか



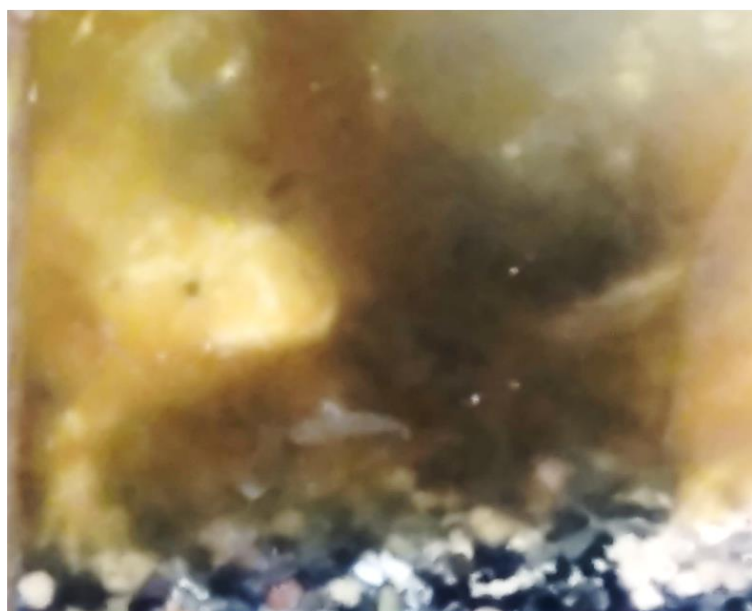
全ての画像・文章について無許可の商業利用を禁じます！
クリエイティブ・コモンズ・ライセンス・非営利・改変禁止 (CC-BY-NC-ND)



発行元: ウーパールーパー研究室はるらぽ, 監修: 杉山 遥 ほか



??? 「ウーパールーパーを覗いている時、
また、向こう側も我々を覗いているのだ。。。」



全ての画像・文章について無許可の商業利用を禁じます！
クリエイティブ・コモンズ・ライセンス・非営利・改変禁止 (CC-BY-NC-ND)



発行元: ウーパールーパー研究室はるらば, 監修: 杉山 遥 ほか



全ての画像・文章について無許可の商業利用を禁じます！
クリエイティブ・コモンズ・ライセンス・非営利・改変禁止 (CC-BY-NC-ND)



発行元: ウーパールーパー研究室はるらぼ, 監修: 杉山 遥 ほか

NPO 研究グループ
ウーパールーパー研究室_はるらぼ
メキシコサンショウウオ生態研究部
の様子



全ての画像・文章について無許可の商業利用を禁じます！
クリエイティブ・コモンズ・ライセンス・非営利・改変禁止 (CC-BY-NC-ND)



発行元: ウーパールーパー研究室はるらぼ, 監修: 杉山 遥 ほか

提供写真（黎羅 様 編集作品）



全ての画像・文章について無許可の商業利用を禁じます！
クリエイティブ・コモンズ・ライセンス・非営利・改変禁止 (CC-BY-NC-ND)



発行元: ウパーパー研究室はるらば, 監修: 杉山 遥 ほか



輝羅ちゃん
@宇海 (sora umiyo) さん

全ての画像・文章について無許可の商業利用を禁じます！
クリエイティブ・コモンズ・ライセンス・非営利・改変禁止 (CC-BY-NC-ND)



発行元: ウーパールーパー研究室はるらば, 監修: 杉山 遥 ほか

その他の提供写真



全ての画像・文章について無許可の商業利用を禁じます！
クリエイティブ・コモンズ・ライセンス・非営利・改変禁止 (CC-BY-NC-ND)



発行元: ウーパールーパー研究室はるらぽ, 監修: 杉山 遥 ほか



全ての画像・文章について無許可の商業利用を禁じます！
クリエイティブ・コモンズ・ライセンス・非営利・改変禁止 (CC-BY-NC-ND)



発行元: ウーパールーパー研究室はるらば, 監修: 杉山 遥 ほか

“総説・ウーパールーパーの飼育係” とは？ (2022/10/15 追記)

会報誌 “ウーパールーパーだより” では、当研究室における研究結果を可能な限り科学的に考察し、学術誌へ投稿する段階までにまとめた原稿（仮掲載；プレプリント）をフォロワーの皆様に向けて先行公開しております。

“ウーパールーパーだより” では、トピックごとに異なるコンセプトでの報告、特に学術的な分野に拘って刊行を行っています。しかしながら、“総説・ウーパールーパーの飼育係” では、もう少し実際の飼育にも活かせるような内容は無いだろうか？という考えに基づき、飼育本と科学雑誌を両立した新しい雑誌！をコンセプトに挑戦してみました！

日々更新された記事を付け足して参りますので、過去記事も気軽に再確認可能です。

皆さまのお好きなタイミングで、いつでもバックナンバーをご確認可能です。是非お気軽に拝見下さいね！

免責事項

とはいえ、**本誌における内容も、あくまでも読者の方の自己責任でお試しいただきますようお願い致します。**

詳細について読んだ情報の中だけでは良く分からない際は、雰囲気を実施せずに、以下のどちらかの連絡先にご連絡・お問い合わせをお願い致します。

- ・ Twitter フォロー → DM でのお問い合わせ（リプライでも可能ですが、私が見落とす可能性大です。。。）

※ ウパ研__はるらぼ Twitter リンク: https://twitter.com/lab_new2

- ・ 杉山 遥（筆者）の Gmail アドレス → sugiyama.haruka.axolti@gmail.com

あまり分からないまま皆様が勝手に実施してしまった後、何か問題が起こったからと言って、貴方のせいだ！と批判を受けても私には対応ができませんので、その点どうぞご理解下さいますようお願い致します。大切なわが子達には、どんな時にもご自身で責任をもって面倒を見てあげましょう。

note への単独記事掲載 (2022/7/15～)

22/7/15 より、単発の短い記事を https://note.com/lab_new2 の方に不定期掲載を開始致しました。

詳細を再度精査し、本誌へ記事のまとめを掲載致します。

是非アクセス、ご閲覧をお願い致します。当然、全記事無料ですのでご安心下さい。

はるらぼ note: https://note.com/lab_new2/n/n60f6fda600fd

杉山 遥 の research map ページ + 論文ダウンロードフォーム作製 (2023/2 月～)

こちらも是非アクセス、ご閲覧をお願い致します。当然、全記事・論文も取得無料ですのでご安心下さい。

杉山 遥 research map (日本学術振興会_研究者ポータルサイト): https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolti

はるらぼ活動紹介 (2022/10/6～)

・発表論文など

ウパールパー 飼育水槽の濾過環境と水質管理・維持について

杉山 遥, 萩原 和晃, 枝豆 やみん, りん 2023 年 2 月 25 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

ウーパールーパー飼育案内_Part.2

杉山 遥 2023 年 2 月 18 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

成長に不可欠な因子の探索・次世代の表現型解析 (孵化後 50 日目)_ウーパールーパー研究報告

杉山 遥 2023 年 2 月 8 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

腸内乳酸菌と神経ペプチド NPY と睡眠・成長_ウーパールーパー研究報告

杉山 遥 2023 年 2 月 4 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

ウーパールーパー飼育案内_Part.1

杉山 遥 2023 年 2 月 4 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

ウーパールーパー研究室はるらぼ・新年集会・目標発表

杉山 遥 2023 年 1 月 20, 22 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

アホロートルの飼育・治療最新情報

杉山 遥 2022 年 12 月 25 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

ネオテニーの上陸化制御に関わる因子_ウーパールーパー研究報告

杉山 遥, 久木崎 玲美 2022 年 11 月 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

両生類・魚類の”睡眠”と体色制御／メキシコサンショウウオにおけるあくびの習性

杉山 遥, あすみ 悠, 枝豆やみん, うにやぎ 2022 年 11 月 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

腸内細菌と成長制御について_ウーパールーパー研究報告

杉山 遥 2022 年 10 月 31 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

メキシコサンショウウオ等の栄養と成長に関する最新報告_ウーパールーパー研究報告

杉山 遥 2022 年 10 月 2 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

メキシコサンショウウオの味覚_ウーパールーパー研究報告

杉山 遥 2022 年 10 月 2 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

アホロートル飼育水槽における濾過環境の重要性

杉山 遥 2022 年 9 月 26 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

土壌成分と生育_ウーパールーパー研究報告

高橋 慶, 杉山 遥 2022 年 8 月 最終著者, 責任著者

ウーパールーパーの睡眠 (FBS 博士勉強会・研究発表資料)

杉山 遥 はるらぼ会報誌・ウーパールーパーだより vol 2.1 2022 年 6 月 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

総説: メキシコサンショウウオにおける多頭飼育_他個体認識

杉山 遥 2022 年 5 月 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

経過報告: アホロートルにおける睡眠・成長・概日リズムを制御する遺伝子群の網羅的解析

杉山 遥 はるらぼ会報誌・ウーパールーパーだより vol 2.0, 2.1 2022 年 5 月 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

アホロートルにおける睡眠と成長および概日リズムの関係性

萩原 和晃, 杉山 遥 はるらぼ会報誌・ウーパールーパーだより vol 2.0, 2.1 2022 年 5 月 最終著者, 責任著者

昆虫の成長・生育はアミノ酸依存的に制御される.

杉山 遥 はるらぼ会報誌・ウーパールーパーだより vol 1.0, 1.2, 1.3 2022 年 4 月 筆頭著者, 最終著者

メキシコサンショウウオの成長・生育を制御する因子の探索.

杉山 遥 はるらぼ会報誌・ウーパールーパーだより vol 1.0, 1.2, 1.3 2022 年 4 月 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

・著書・編集雑誌

総説: ウーパールーパー / 虫・魚の飼育係 ～飼育の最新情報・学術データまとめ～

著, 編集, 監修: 杉山 遥 2023 年 2 月 25 日

はるらぼ会報誌・ウーパールーパーだより vol 2.1

著, 杉山 遥, 萩原 和晃 編集, 監修: 杉山 遥 2022 年 6 月

はるらぼ会報誌・ウーパールーパーだより vol 2.0

著, 杉山 遥, 萩原 和晃 編集, 監修: 杉山 遥 2022 年 5 月

コラム集・総説: ウーパールーパーの飼育係

著, 編集, 監修: 杉山 遥 2022 年 5 月

はるらぼ会報誌・ウーパールーパーだより vol 1.0, 1.2, 1.3

著, 編集, 監修, 杉山 遥ウーパールーパー研究室_はるらぼ 2022 年 4 月

・研究発表

・大阪大学大学院生命機能研究科 (フロンティアバイオサイエンス; FBS) ドクター発表会

2022/2/12 (土)・2022/2/19 (土)・2022/5/15 (日)・2022/6/4 (土)

・第 45 回日本分子生物学会年会 <https://www2.aeplan.co.jp/mbsj2022/schedule.html>

演題名: メキシコサラマンダーの他個体認識能力・色覚認識能力に関する行動解析

Behavioral analysis of ability to recognize other individuals and color vision recognition of Axolotl, Ambystoma mexicanum

A0708 偶数番号 14:45~15:45

発表日: 12 月 2 日 (金) 会場: ポスター会場 (幕張メッセ 国際展示場)

演題名: メキシコサラマンダーの睡眠機構と制御に関する調査報告

Progress Reports of Sleeping Mechanisms and Regulation of Axolotl, Ambystoma mexicanum

A0707 奇数番号 13:45~14:45

発表日: 12 月 2 日 (金) 会場: ポスター会場 (幕張メッセ 国際展示場)

・予算状況

- ・予算: 2019 年度: 約 1,000,000 円 (給与より補填, 内訳: 生体購入, 設備設置費用, 設備維持費)
- ・予算: 2020 年度: 約 1,200,000 円 (給与より補填, 内訳: 生体購入, 設備設置費用, 設備維持費)
- ・予算: 2021 年度: 約 1,200,000 円 (給与, 一部支援金 (永田様), 内訳: 生体購入, 設備設置費用, 設備維持費)
- ・予算: 2022 年度: 約 1,200,000 円 (給与より補填, 内訳: 生体購入, 設備設置費用, 設備維持費, 分析依頼費 等)
- ・予算計画: 2023 年度: 約 1,500,000 円 (給与より補填, 内訳: 生体購入, 設備設置費用, 設備維持費, 分析依頼費, 学会参加・出張費 等)

・寄付・寄贈など

- 2022/5/29 当ラボ研究員の萩原様より、実態顕微鏡・大型モニター等、分析機器を寄贈いただきました。
- 2022/7/24 寄付金 ¥500 を頂戴しました (匿名希望)。
- 2022/7/31 寄付金 ¥3000 を頂戴しました (匿名希望)。
- 2022/9/28 寄付金 ¥5000 を頂戴しました (匿名希望)。
- 2022/10/6 共同出資者 (匿名希望) と、はるらぼ新研究室 および 資材倉庫の運営を開始しました。

【はるらぼ活動に賭ける想い】

杉山 遥 (Ph.D) 2022/9/3

折角なので、私の現在の活動に賭ける想いを改めて記事にさせていただきます。

私は、生物学の博士号を持った研究者の端くれです。私が発足したウーパールーパー研究室はるらぼでは現在、大学や行政・一般企業のような大きな母体を持たず、非営利団体(NPO)として、絶滅の危機に瀕しているメキシコサンショウウオを保護・保全するため、現在十分には明らかになっていない生態を調査・研究活動を行っています。我々の研究チームの構成員は、現役の研究者の方々や有志の一般の方々など多岐に渡ります。加えて、研究成果を自分たちで刊行した会報誌にて報告をし、広く人々に知ってもらふ広報活動も行っております。今年度は、その研究成果を分子生物学会・年会 2022 にて発表することが決定しております。

これに加え、改良メダカブームに端を発し、遺伝子汚染などで問題になっているメダカの生態や行動についても調査・研究を行うことで、今後の対策や在来種の保全につなげていく活動を行っています。こうした活動の中で、ウーパールーパーやメダカのこと多くの方々に理解してもらい、保全・保護のための輪を広げていきたいと考えています。

そこで、これらの研究活動・広報において、研究に必要な一定の資金(資材(新たな実験のための水槽)購入やインフラ導入など)や、今後の学会発表参加費、イベントのための運営費、施設のレンタル費用などに充てる資金を、本当にごく少額でも問題ありませんので、是非ともご支援いただきたく存じます。現在、直接的な寄付への誘導は望ましくない風潮がございますので、ご支援が可能な方は是非とも Twitter の DM または sugiyama.haruka.axolt@gmail.com 宛てに一報下さいましたら幸いです。

前述でも軽く触れましたが、活動の背景には、やはり生き物を守りたいという強い想いがあります。

そのためにはしっかりとした研究活動による生態の理解が必要不可欠です。しかしながら、現在の日本の研究界隈では、“選択と集中”の考え方が横行しており、より生産的かつ強い勢力にのみ公的予算や企業助成が集中し、環境保全や時間がかかるが経済的なリターンの少ない純粋な基礎研究活動への金銭的な補助が非常に少なく、雇用も安定しておりません。

多くの同業者の方も、その現状を嘆き、研究活動から離れしてしまった方も何人もおります。私も生活に困り、大学を離れて企業にて研究職で生計を立てています。その傍ら、ウーパールーパーやメダカなどの多くの生き物達の悲惨な現状を知りました。所謂現代社会において“役に立つ研究課題”ではないために、生き物の保護・環境保全活動自体は各所で話題にはなりつつも、実際にはスポットが十分には当たっていないのが現実であり、人員も予算も十分には割かれていないのが現状です。行政の活動も、ふたを開けてみると実態がともなっておりません。

そこで、研究者であるが機関に属していない我々のような人間たちの知恵を結集し、これらの生き物たちの保護・保全をする活動行うべく、行政にも民会にも属さない第三勢力として結集し、“はるらぼ”を発足しました。一般の方々の活動への理解をまずは必要としたため、現在は研究・調査活動の傍ら、身近なペットとしてのウーパールーパーやメダカの生態を理解し、正しい知識で飼育してもらうことを一つの柱としています。正しい理解が、きっと生き物達の未来、ひいては我々人類の未来を明るくすることと信じております。

活動報告の詳細は、以下(次頁)の URL からご確認下さい。

Twitter: https://twitter.com/lab_new2

Note: https://note.com/lab_new2/n/n60f6fda600fd

はるらぼ活動紹介ページ: https://drive.google.com/file/d/1g4avrtK0FIS78II_595yk_OKFL_u1xgt/view

杉山 遥 research map (日本学術振興会_研究者ポータルサイト)

https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl

【会報誌 ”ウーパールーパーだより”】

Vol.1 栄養と成長: https://drive.google.com/file/d/1DuwEjMVBZiCRTXLzx_xfjvpl4FKe46mI/view

Vol.2 睡眠と成長制御:

<https://drive.google.com/file/d/1CU7Afs67mGaX1DC9v1kachExWjIiqUFZ/view>

【総説: ウーパールーパー / 虫・魚の飼育係】

現在は治療に関する情報にとどまらず、研究報告を取りまとめて報告中。

https://drive.google.com/file/d/1LBlaC6AJF_CP8K-wAC6VHESk0rUG3acA/view



はるらば活動紹介ページ！

NPO 研究グループ HAL_Lab_Axolotl

2020年より、正式に HAL Lab として
本格的に研究活動を開始。



g-mail: sugiyama.haruka.axolotl@gmail.com

note: https://note.com/lab_new2

Twitter: https://twitter.com/lab_new2

HP: https://drive.google.com/file/d/1g4avrtK0FIS78II_595yk_OKFL_u1xgt/view

代表: 杉山 遥 (すぎやま はるか; ペンネーム); Ph.D 理学 (生物学)

Q: はるらばって何？

2020年に正式発足されたNPO 研究チームです。

ウーパールーパーの生態や習性について研究しています。

Q: 何故ウーパールーパー？

メキシコのソチミルコ湖に生息するメキシコサラマンダーは、現在ペットとしてウーパールーパーという名で親しまれている一方で、野生種は絶滅危惧に瀕しています。これは由々しきことです。そこで、我々はこれに注目し、ラボスケールでの生態を研究することで、個体数を増やす糸口を掴みたいと考え、NPO (非営利) の研究チームとしての活動を開始することになりました。

Q: この広告は？

ズバリ、一緒に調査をしてみませんか？というお誘いと当ラボのご紹介です！

ウーパールーパーって、可愛いですよね☆



現在の主な取り組み

- ・ ウーパールーパー (アホロートル) の飼育条件のアップデート
- ・ アホロートルの栄養と成長制御機構の解明
- ・ 生存競争・生育密度と成長の関係性
- ・ 魚類における未知の成長制御・発生調節機構の解明
- ・ 昆虫との相関 (主にショウジョウバエ、フタホシコオロギ)
- ・ 両生類の腸内フローラと成長制御に関する調査

☆ はるらぼ HAL_Lab の HP を今すぐチェック ☆ (Twitter から飛べます！)

↓コンテンツ盛り沢山！↓

主な 取り組み



ウパ飼育 レスキュー



ウパルパ 写真集



ウパルパ カレンダー



全ての画像・文章について無許可の商業利用を禁じます！
クリエイティブ・コモンズ・ライセンス・非営利・改変禁止 (CC-BY-NC-ND)



ご支援のお願い。
はるらぼに贈る想い！
(詳細は左ウパをクリック)

メンバー 紹介



《はるらぼからの提言》

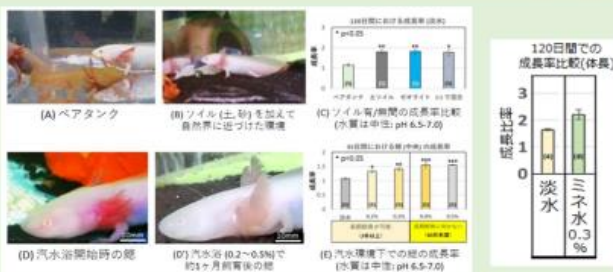
当ラボでは、“ミネ水[※]飼育法”を提唱しています。

※ミネ水は、当ラボで調査・開発した手法です。

汽水条件である0.2~0.3%になるよう、塩水を作成し、そのままウパーパーパーを飼育する方法です。高ミネラルや浸透圧の効果により、成長促進や細菌感染症予防の効果が期待できます。

また、ソイルやゼオライトと併用することで、ミネ水の更なる効果や塩分による影響の緩和を見込めます。

当ラボ発の文献にて、これまでの検証結果を紹介しております。



note: https://note.com/lab_new2

HP: https://drive.google.com/file/d/1g4avrtK0FIS78II_595yk_OKFL_u1xqt/view

《はるらぼ発表書籍1》

ウパーパーパーだより ～アホロートル研究・飼育活動報告～

↓代表(杉山)イチオシ!↓



Vol 2 アホロートルの 睡眠

なんと！
ウパーパーパーって
夜明けと夕暮れ
に起きているんです！



Vol 1 アホロートルの 栄養と成長

はるらぼの原点！
三大栄養素 (アミノ酸・脂肪・糖質)
は、いずれもウパルパの成長には
必要だと分かりました！

Back number >>

《はるらぼ発表書籍2》

↓ HPで無料で読めます！ ↓



役立つ知識本！ + 最新のウパ科学！

リニューアル！

飼育案内から最新の研究まで
幅広い分野を取り扱う雑誌へ！

総説: ウパーパーパー / 虫・魚の飼育係

～飼育の最新情報・学術データまとめ～

記事は日々更新！

※ note への単独記事も掲載開始！

https://note.com/lab_new2

(公開収録 in Twitter スペース: 22/7/21 → 配信日: サイエンマニア 22/9/5 (#85), 22/9/12 (#86))

#ポッドキャスト #サイエンマニア #ウーパールーパー #はるらぼ

画像をクリックすると配信先に飛べます。所見の皆様も、是非ともご視聴をお願い致します。(by 杉山)
杉山自身の研究への想いとはるらぼに関する語り、レンさんの素敵なお声を是非ともご堪能下さい！

(対談内容は、後日テキストに起こして掲載予定。22/10/5)



レン / 科学のポッドキャスト @... · 9月5日
#サイエンマニア 更新！

自宅で行うウーパールーパーの研究とは？睡眠と体色は関係する？【ウーパールーパー前編】 #85

- ・ウーパールーパーとの出会い
- ・再生ブームは繰り返す
- ・ウーパールーパーの睡眠
- ・ペットカメラは宝の山

ポッドキャストで配信中
↓

scientalkclub.wixsite.com/scienmania



レン / 科学のポッドキャスト @... · 13時間
#サイエンマニア 更新！

研究の形はひとつじゃない！
論文の本質と発信の方向性を考える。【ウーパールーパー 後編】 #86

- ・アカデミックの問題点とポストドク
- ・世の中の事象を宝の山として見る
- ・ウーパールーパー飼育の課題
- ・論文を書く本質
- ・発信活動はじわじわ効く

scientalkclub.wixsite.com/scienmania



<ウーパールーパー飼育案内>

ウーパールーパーを飼おう！（23/1/20）

著：杉山 遥（Ph.D; 詳細調査・本記事の主な執筆者）^{1*, **}

所属：¹ウーパールーパー研究室はるらぼ

詳細：^{*}主任研究者 ^{**}責任著者

【参考：ウーパールーパー（アホロートル）とは？】・・・2022/6/1

学名：メキシコサラマンダー (*Ambystoma mexicanum*)



<https://ikimall.ikimonopal.jp/blog/post-1504/>

愛玩動物としてのウーパールーパー

野生型 (WT)

マーブル



リューススティック



ブラック



アルビノ系統

アルビノ



ゴールデン



イエロー



【参考: ウパールパを入手しよう】・・・2023/1/20



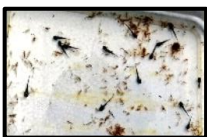
1). 生体の準備と飼育方法

入手方法:

- ・ ペットショップ
- ・ ホームセンター
- ・ インターネット販売
 - オークションサイト (ヤフオク, メルカリ, ジモティー など)
 - オンラインショップ
 - ・ チャーム 様: <https://www.shopping-charm.jp/>
品揃え豊富
 - ・ AMAZON (アマゾン) 様: https://www.amazon.co.jp/ref=nav_logo
必要な備品はここで揃います。
 - ・ 楽天市場 様: <https://www.rakuten.co.jp/>
意外な掘り出し物も
 - ・ うぱるば屋 様: <http://www.uparupaya.com/>
有名店・保護活動も積極的にされています！
 - ・ ウーパールーパーNET 様: <https://www.dog7.net/>
店主の方がとても親切で、良心的な価格です。

2). 生体を手に入れたら

- ・ 針子・稚魚 (孵化直後～孵化後1ヶ月程度)



動く餌を好むので、ミジンコや生きたブラインシュリンプを与えると良い。

冷凍したブラインシュリンプや砕いた顆粒エサも食べなくは無いが、生きている餌の方が食いつきは良い。



・ 体長 2～3cm 程度



冷凍アカムシや冷凍ブラインシュリンプを好む。咀嚼に困難な様子をしめしたら、細かく切って与えると良い。この時期に動かない餌を探させるようにすると、成長しても落ちた餌を拾うように育つ可能性がアップする。

・ 体長 5～7cm 程度



小さいサイズの顆粒エサは食べることができる。冷凍の生餌と併用しつつ、顆粒エサに慣れさせていきたい時期。餌をある程度与えてないと、他の個体に噛みつきやすい時期であるため、混泳時の他個体との接し方に日々注意したい。

・ 体長 10～15cm 程度



雌雄差が見え始めるタイミング。顔や体つきの個性が出始める。

・ 体長 18～25cm 程度



4～10 か月でこの大きさになる。性成熟し、繁殖が可能になる大きさ。

・ 体長 30cm 以上



水槽内では、ここで成長を止めてしまう個体が多い。体表に凸凹が発生するが、特に異常ではない。

ウーパールーパーの繁殖方法 [1-4]

【繁殖の準備 1: 成熟したオスとメスの準備】

繁殖に際して、1～3年目の成熟個体（体調は18～25cm程度に成長した個体）を準備する必要がある。外部生殖器は、

冬～春～秋という涼しい季節の方がより発達しており、繁殖に適したのも低水温の時期であることが知られている。

- ・ オスの特徴: 真っすぐな身体, 排泄口の周辺にある生殖腺が丸く大きい
- ・ メスの特徴: 丸みを帯びた身体, 排泄口の周辺にある生殖腺が小さい

オスの場合

成熟したウーパールーパーのオスは後ろ足の付け根に膨らみが出てきます。いわゆるキンタマがあります。

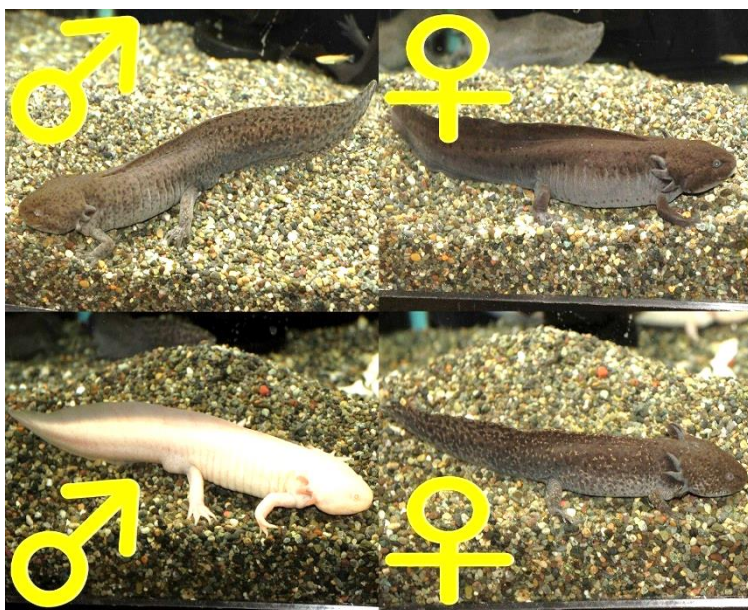
写真の子はまだ10cmぐらいのヤングサイズなので成熟に伴いもっと膨らみは大きくなります。



メスの場合

対してメスだと後ろ足の付け根が全く膨らみません。

オスは膨れてくるので容易に判別しやすいのですが、成熟していないウーパールーパーはまだ膨らむ可能性があるためメスだと断言するのは難しいところがあります。



参考写真: ウーパールーパーの雌雄の判別方法 (←文献[1], 文献[2]→)



【繁殖の準備 2: 繁殖(ペアの形成)の準備】

繁殖用の水槽を用意し、健康な成熟したオスとメスを選択し、飼育容器に入れてつがい (ペア) にする。この時、水槽はある程度の広さがあるようにし、水槽の底にはオスの精包が固定しやすいように凹凸がある方が好ましい。メスがオスの精包を受け取ると産卵を開始し、100～600個程度の卵を周辺に産み付ける。

交尾していない場合でも、無精卵を産卵可能であるが、30～50個程度と、受精した時より数が少なく孵化はしない。

※ 尚、卵や孵化した幼生は、決して自然界に放流しないこと！

繁殖に際して、栄養状態や飼育水の状態（水温、硬度（イオン濃度）、pH）等の影響があるため、繁殖が巧く進まない場合は水質や影響状態を含めた飼育環境を変えることで解決できる場合がある。

参考写真: オスが放出した精包 (文献[3])



【繁殖の準備 3: 繁殖開始】

22/11/20～, 22/12/29 (画像追加)

ウーパールーパーの繁殖行動は、まずメスがオスを刺激する所から開始される。オスの体の上に乗ったり、下に潜ったり、後方から突ついたりなどの身体的に刺激を与える。オスは頭部の先で、メスの腹部を後ろや底から軽くたたくことによって、メスに交尾を訴え始める（交尾ダンス）。このような行動を複数回行いながら、オスは飼育容器の底などに精包を産みつけていく。この時、飼育容器の底は滑らないように凹凸があったほうが滞りなく放出される。メスからの刺激の後、オスはこの時に精包を複数（～15 個程度）放出する。オスはメスの後ろを追いかけて、メスが総排泄口から精包を拾い上げて、体内に入れるように促す。メスが精包取り込んでから数時間後には、メスは底にくっついて精包を探して体内に取り込む。この時、通常、メスはすべての精包を使用しない。また、1匹のオスから出た精包を複数のメス（5匹程度まで）でそれぞれ使用する場合もあり、一度に複数のメスが同時に産卵するのはこれが原因である。

交尾終了後、基本的には12～20時間後にメスが産卵を開始する。メスは通常 1～3 日間 かけて周辺の障害物や水草等に卵を産み付けていく。尚、産卵を数回経験したメスの方が安定して受精卵を産卵できると言われている。

(A) 水草に産卵された卵



(B) 産卵したメス個体



(B') 水草に産卵中



※ 繁殖後は、両親の体調が消耗していることから、回復させるためにもすぐには再度ペアにしないように注意すること。

参考：水草などに産卵された卵の様子：写真提供：かなこ 様 ([Twitter @kanarin0922](https://twitter.com/kanarin0922))

【孵化した幼生の飼育の方法】

202211/29～

18℃～20℃下、ミネ水※ 飼育条件下で初の孵化個体です。(3年目にして初孵化に成功しました！)
他条件も、続々と繁殖に成功しつつありますので、乞うご期待！

※ 0.15～0.3% の汽水で継続的または周期的に飼育する、当独自の手法 (詳細は後述)。

はるらぼ Twitter アカウントに定期的に投稿する生育記録を、こちらに公表しつつ、生育に関する結果を定期的に追記していきます。



参考写真: 汽水飼育 (ミネ水飼育法) 個体の第1世代が孵化するまで.
22/12/12 着々と孵化を開始していく.

【孵化した幼生の飼育の方法】

202212/12～

尚、孵化した稚魚(幼生)は、十分なエアレーションをしてあげながら、毎日水替えで対応していく。
大きなフィルターでの濾過を行うと、濾過器に詰まってしまう場合もあり、非常にリスクと思われる。
餌に関してですが、可能であれば動く飼料(ブラインシュリンプやミジンコなど)を用意してあげることを推奨する。(一応、冷凍ブラインシュリンプでも育成は可能ですが食べ残しが多いのが難点かも。)
活ブラインシュリンプの調達には、孵化器と卵が必要であり、それぞれ事前に準備しておく必要がある。
ブラインシュリンプの孵化のさせ方の詳細は、[文献 5, 6] を参照のこと。



参考写真: 汽水飼育 (ミネ水飼育法) 個体の第1世代の育成 (202212/12～)
22/12/15 孵化が完了した個体たち。

参考文献

- ・1) 即繁殖を狙えるウーパールーパー！; Remix 様 HP <https://remix-net.co.jp/?p=585708>
- ・2) ウーパールーパーの雌雄の見分け方; [アクアハーミット様](#) HP (←クリックでリンク先へ)
- ・3) Mexican Axolotl: A God In Danger <https://www.uw360.asia/mexican-axolotl-a-god-in-danger/>
- ・4) ウーパールーパーの繁殖; ウーパールーパー.net <https://mars7.net/>
- ・5) 活ブラインシュリンプは孵化が面倒? <https://suisanrin.com/brainshrimp>
- ・6) トロピカ様>小さな魚の餌! ブラインシュリンプの孵化と増やし方・魚への与え方を解説
<https://tropica.jp/2018/12/03/post-24472/>

＜ウーパールーパー飼育案内＞

ウーパールーパーを飼おう！ Part.2 (23/2/18)

著: 杉山 遥 (Ph.D; 詳細調査・本記事の主な執筆者)^{1*,**}

所属: ¹ウーパールーパー研究室はるらぼ

詳細: *主任研究者 **責任著者



【参考: ウパルパ水槽を立ち上げよう】・・・23/2/18

皆様は、ウパルパ水槽をどのような構成にするか、非常に悩まれていると思われる。

当ラボでは、全ての試験個体に以下のような構成で飼育を実施しており、長期的に安定した環境で飼育を継続できている実績もあるので、ぜひご参考にしたいいただければ幸いです。

飼育時の構成の例

用いる水槽

GEX マリーナ幅 60cm 水槽 MR600BKST-N ガラス水槽

60cm 水槽

容量: 約 57L

ガラス厚: 3mm

サイズ: 約幅 600mm×奥行 300mm×高さ 360mm



用いるメインフィルター (ろ過機)

- ・Gex メガパワー6090・・・適合水槽: 60～90cm (60～160L)
または
- ・Gex デュアルクリーン 600 (DC-600)・・・適合水槽: 60cm (60L)



飼育水

- ・カルキを抜いた水道水 または 0.15～0.3% の塩水 (汽水); 当ラボでは ミネラル含有水＝”ミネ水” と呼称) [7-8]
→ 二週間毎に 淡水～0.3% の濃度を変動させる (休塩日を設ける) と、
より健康的に飼育が可能 (当ラボ調べ)。[8]

用いるサブ(補助)フィルター

- ・ロカボーイ M～L x1～2 個



※ 実は、ビタミン剤入りの安価で
単純なカルキ抜きがウパには良い。
例: コトブキ工業_カルキ抜き



<ミネラル含有水飼育に用いる粗塩例>

国産原料100% あら塩の恵み
(関東塩業)

塩業 瀬戸内の塩 国産塩
(塩業)



<組成>

- ・塩化ナトリウム 94.0%
- ・他陽イオン 5.0～6.0%
- ・マグネシウム 0.15%

<組成>

- ・塩化ナトリウム 95.0%
- ・他、ナトリウム 4.0～5.0%
- ・カルシウム 0.06%
- ・マグネシウム 0.073%
- ・カリウム 0.09～0.16%

使用する底材 (ソイル, 砂, 砂利)・・・計 20kg 程度を推奨

- ・アクア用の土・ソイル [9～11L(kg)]
- ・アクア用のソイル [5～8L(kg)]
- ・アクア用の砂利 [3～5L(kg)]

- ・エアポンプ+エアチューブ



ウーパールーパーのお迎えと飼育の開始

水槽の準備が出来たら、次は生体を準備します。

尚、生体の購入に関しては、

ラボ論文の“飼育案内_1 (杉山, 2023) https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl/published_papers/41322801”を参照のこと。[9]

前述の **60cm 水槽の構成であれば、最大 5~6 匹までは問題なく飼育可能**である (当ラボにおける検証結果)。

1). 水槽をあらかじめ立ち上げておき、2~3 日程度おいて水質を安定させる。

& 入手したウパールパをその間にタッパーなどの容器に入れておき、3~5 日の間 薬浴し、健康な状態にする。

※ 薬浴の推奨条件: “グリーン F ゴールドリキッド” の規定量の 1/5 量を添加、かつ 毎日水替えする。[8]

↓

2). 水槽の水質が安定し、ウパの薬浴が完了したら、ゆっくりと生体を投入する。

※ 2-1). 餌を水槽内で与える場合は、2~3 日毎に食べるだけ与える。(生餌の場合は、生体をタッパーへ移動して与える。)

※ 推奨水温: 18~20℃, 推奨 pH: 6.8~7.5

(常に 25℃を超える場合は、飼育水の白濁りや pH 変動、生体の充血・炎症などの症状に常に注意を払う。)

↓

3). 週 1~2 回程度水替えする。

※ ミネ水(汽水)飼育の場合は、前述の休塩日を設けながら水替えを実施することが望ましい。

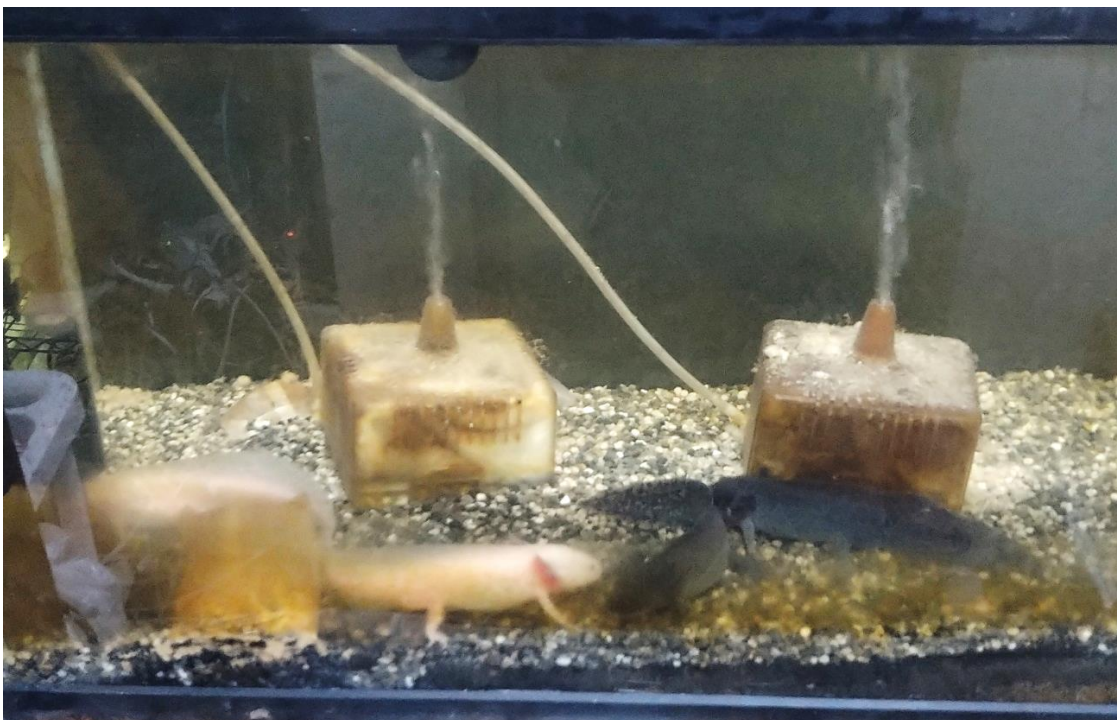
※ 生体の鰓や尻尾が痩せてきたら水質悪化や体長不良のサインなので注意！[8]

↓

4). フィルター交換・フィルター掃除や底砂の掃除は、月に一回程度実施する。

※ 数年に 1 回程度、底材を新しいものと入れ替える/次足すと良い。

※ 基本的に 2).-4). の繰り返し



参考: はるらぼ構成の飼育水槽の状態 (ウパールパもすくすく元気！)

効率的な水替えのテクニック

水替え作業は非常に大変であるが、ここで作業を簡略化するテクニックについて紹介したい。

以下、左写真のようなバスポンプ <https://www.kohnan-eshop.com/shop/g/g4548927023710/> を用いることで、バケツリレーをせずとも、バケツや風呂場などに汲み置きした水を右写真のように水槽へ直接注ぐことができる。同様に、水槽側から水を汲みだすことも可能である。



参考：バスポンプを使えば、より効率的に水替えが可能！

換水時の水の汲み出しの際は、バスポンプのヘッドを以下の写真のような洗濯ネット（粗目）で包むと、底材や汚れで詰まるのを避けつつ、汚れを効率的に回収することが可能である。



例：SP 洗濯ネット 粗目メッシュ 角型 大（東和産業）

参考文献

- ・1) 即繁殖を狙えるウーパールーパー！; Remix 様 HP <https://remix-net.co.jp/?p=585708>
- ・2) ウーパールーパーの雌雄の見分け方; [アクアハーミット様](#) HP (←クリックでリンク先へ)
- ・3) Mexican Axolotl: A God In Danger <https://www.uw360.asia/mexican-axolotl-a-god-in-danger/>
- ・4) ウーパールーパーの繁殖; ウーパールーパー.net <https://mars7.net/>
- ・5) 活ブラインシュリンプは孵化が面倒? <https://suisanrin.com/brainshrimp>
- ・6) トロピカ様>小さな魚の餌! ブラインシュリンプの孵化と増やし方・魚への与え方を解説
<https://tropica.jp/2018/12/03/post-24472/>
- ・7) 杉山 遥 > 2022 年 4 月_メキシコサンショウウオの成長・生育を制御する因子の探索.
はるらぼ会報誌・ウーパールーパーだより vol 1.0, 1.2,1.3
https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl/published_papers/41303617
- ・8) 杉山 遥 > 2022 年 12 月 25 日_アホートルの飼育・治療最新情報
https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl/published_papers/41322797
- ・9) 杉山 遥 > 23 年 2 月 4 日_ウーパールーパー飼育案内_Part.1
https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl/published_papers/41322801

<ウーパールーパー研究報告>

アホロートル飼育水槽における濾過環境の重要性 (2022/9/26)

著: 杉山 遥 (Ph.D; 詳細調査・本記事の主な執筆者)^{1*,**}

所属: ¹ウーパールーパー研究室はるらぼ

詳細: *主任研究者 **責任著者

ウーパールーパーの飼育において、高頻度の水替えは最も手間のかかる作業であるといえる。正直いえば、水替え頻度をもっと少なくできれば、こんなに楽なことは無いのである。しかしながら、結論から先に述べると、当ラボにおける検証結果に基づく結論として、**自然濾過力は確かに水質の保持には重要であるが、ウーパールーパーが健康に育つ上ではそれだけでは不十分であり、常に水中に浮遊しているゴミやバクテリアがフィルターに吸着されている必要がある**、と現在杉山は結論づけている。

過去の杉山は、どうにか水替え頻度の手間を減らせないと悩んだ。そこで、淡水飼育、かつ、ブラックウォーターのビオトープに十分なアナカリスを投入し、十分な量のフルボ酸(水中で分解された葉っぱ等)の産生やソイルをしきつめることで肥沃な泥を作り、濾過バクテリアによる自然濾過の力を借りることでフィルターによる濾過不要な水槽の環境を整え、水替え頻度を極限まで下げようと検証したのである(図 1: (A)-(A''))。

この時設定した条件は、メダカや金魚であれば、最早おつりが来るような最高の生育環境かと思われる。尚、水温は 18-20℃で常に保持していた。

しかしながら、一週間もしない内にウパの鰓がどんどん痩せていき、明らかに血色も悪くなっていったのである(図 1: (B), (C))。

ちなみに、このリュウシさんは 9 カ月目くらいの個体で、18cm 近いアダルトサイズにまで成長していたが、鰓が痩せ気味であったため濾過環境の見直しを目的として、このような**巨大ビオトープ (140L 水槽: 天馬 フタ式収納 ロックス 押入れ用 740-3L クリア 幅 44×奥行 74×高さ 43cm)** を作製した。だがそれでも、想定していた程の効果は得られなかったのである。

画像を見て頂けば明白だが、これだけの広さがありながら、しかも単独飼育だというのに日を追うごとに体調が悪そうなみずぼらしい見た目へと日々変化していったのである。この飼育面積・容積で一体何が汚染されるというのだろうか、と、当時の杉山は発狂したものである。常識的に考えると、透き通った水と安定した土壌環境が整ったはずの水槽内で、アホロートルがどんどん弱っていくのである。どうしてもその事実に納得が行かなかったのを覚えている。

このままにもしておけないため、次の対策として、投げ込みフィルター中型サイズを 6-8 個投入して、自然濾過力を補助することにした。しかし、それでもあまり効果が無かったため、GEX メガパワー6090 という外部フィルターを設置するに至った(図 1: (D))。その後、これまでの状況が嘘のように鰓が回復し、今までの試行錯誤の無意味さを思い知らされるという結果となったのである(図 1: (E)-(G))。

知人や幾つかのアクアリウムに関する情報サイトでも、**“アホトートルは水を著しく汚すため、外部フィルターなどの高い濾過環境が必要不可欠である”** という解説が為されている [] もの、外部フィルター導入前、pH 計や水質確認の指示薬等・濁度計等を用いて水質を確認した際に得られた結果は、濁度は非常に低く pH も 6.8~7.2 の間で安定していた(確かに時間経過に連れて、次第に上昇傾向ではあったが...)。この点から見れば、水は殆ど汚れてなどいないのではないかと当時考えていた。

尚、導入と重複する、**我々の結論として、自然濾過力は確かに水質の保持には重要であるが、ウーパールーパーが健康に育つ上ではそれだけでは不十分であり、常に水中に浮遊しているゴミやバクテリアがフィルターに吸着されている必要がある、と現在は考えている。**

それが何故なのか、その理由については現在も調査中である。



しかしながら、少なくとも 当ラボが提唱する 0.3% の塩水を用いる “ミネ水飼育法” において、水が汚れ始めるまでの時間に圧倒的な差が見られることから、水中に浮遊しているバクテリアの発生が汽水（薄い塩水）環境によって抑制される可能性があることに加え、ミネラルによる生育促進・鰓の伸長促進効果のおかげも相まって、より健康的にアホロートル達を飼育することができているといえる。

またここまで述べた内容と重複するが、当ラボの調査において水槽内には様々な微生物が存在することを明らかとし、過去の章でも報告しているが、非常に種類が多く水温によっては増殖率が非常に高くなることもあるため、状況によってはアホロートルには負担が大きい可能性もある。飼育水中に遊離・浮遊している微生物の集団を、濾過フィルターで一機に吸着することがアホロートルらのストレスを軽減する上でどうしても必要不可欠であるのかもしれない。



図 1: フィルターの濾過力 >> 自然濾過力 であることを思い知らされる.

参考: アホロートルの体調の異変のサインと再発率

以下の表に示す症状がほんのわずかでも見かけられたら、水質異常や感染症の影響で、アホロートルがダメージを受けているサインです。毎日の観察の中で、これらの諸症状に気づいたら、早急な塩浴と薬浴を！ 平時からのミネ水飼育が健康で強いウパを育てます。それでも症状が深刻な場合は動物病院で診察を受けて下さい。

表: アホロートルを飼育する上で常に意識したい症状一覧

(初期)	(進行後)
・ 鰓やヒレの痩せ、ヒレのザラザラ	・ ガリガリに痩せてくる
・ 血管が浮き出る	(変態と見間違いが、体長関係なく起こる)
赤→炎症	・ はだが黒ずむ、ヒレの穴あき
・ 粘膜が手足から出てくる	・ 血管が浮き出る
・ 餌を食べない・吐き出す	黒→浮腫・壊死
・ 暴れる・泳ぎ回る	・ フラフラする・コケる

(はるらぼ調べ: 内外併せて総個体数 76 匹分の結果)

<治療のタイミングと再発率>

・ 炎症 (充血) 発見の段階で塩浴・薬浴治療 (計100匹; 聞き取り調査含む)

気づいて (再発率)

5~7日 → 1/21

10~14日 → 0/18

18~21日 → 5/19

25~30日 → 13/20

60日以上 → 18/22

・ エラ痩せ、身体痩せ

※ 原因 → 摂食障害、腸の機能低下
(餌の吐き戻し、下痢等を伴う)

一方で、突然死(外見に異常少)の
個体も確認できる。

5~7cm の個体で抹消機能を確認 (qPCR)

・ 炎症 (充血) 確認後も塩浴・薬浴なし

30日以上放置 → 鰓痩せ(38匹/56匹)

ここで30日間治療(38匹)後、再発率

5~7日 → 4/8

10~14日 → 4/7

18~21日 → 7/11

25~30日 → 5/6

60日以上 → 6/6

60日以上放置 → 身体も痩せ (46匹/52匹)

ここで30日間治療(46匹)後、再発率

5~7日 → 8/9

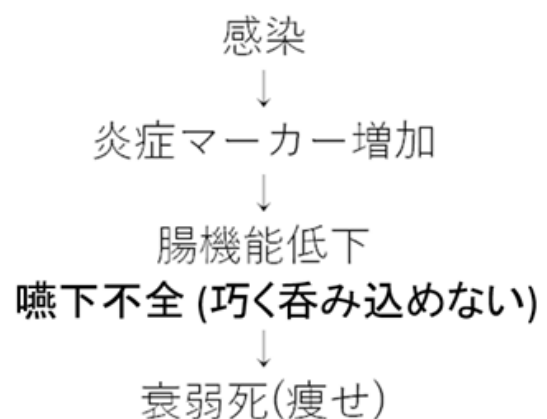
10~14日 → 10/11

18~21日 → 8/8

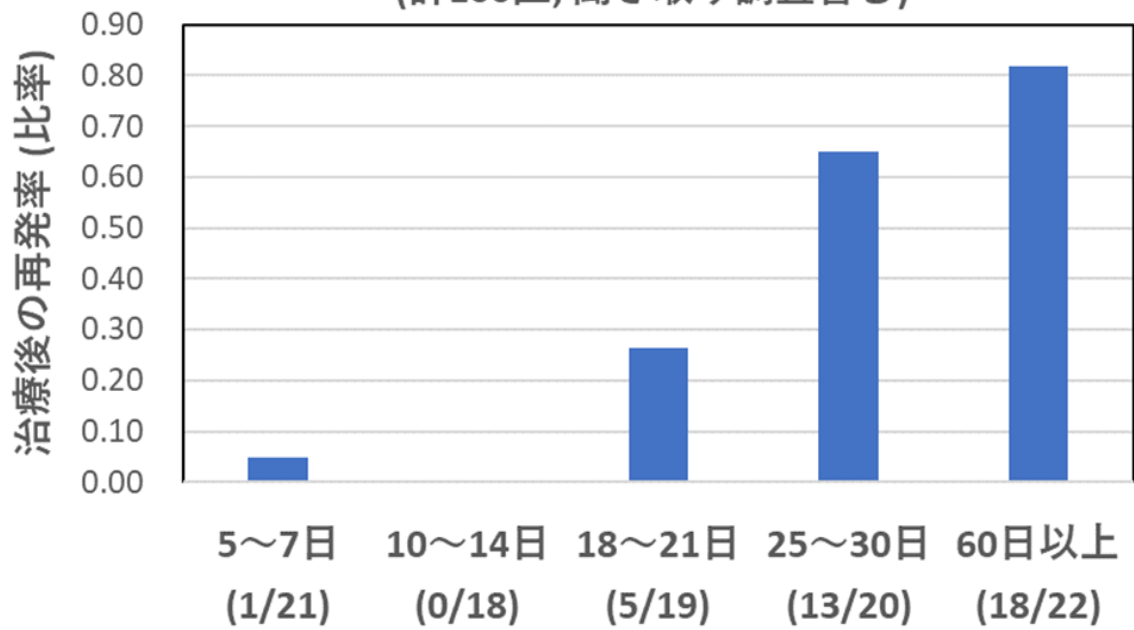
25~30日 → 9/9

60日以上 → 9/9

<細菌感染・発症のプロセス(推定)>



炎症 (充血) 発見の段階で塩浴・薬浴治療
(計100匹; 聞き取り調査含む)



炎症 (充血) 確認後も塩浴・薬浴なし

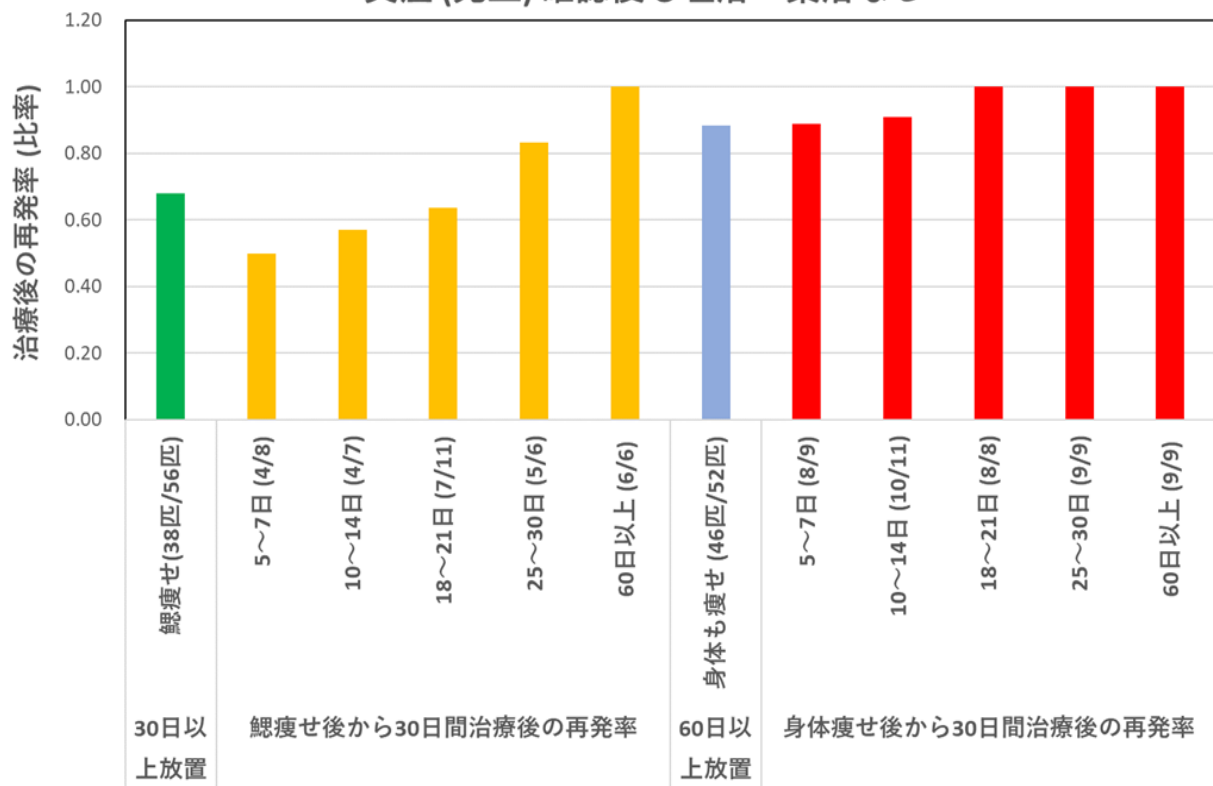


図 2: 治療のタイミングが遅れるとその分回復できる可能性が低下する

参考: 飼育に役立つ機器・測定装置など

GEX メガパワー 6090 水槽用外部

適合水槽: 60~90cm (60~160L)



https://item.rakuten.co.jp/discountaqua/10000073/?scid=af_pc_etc&sc2id=af_113_0_10001868&gclid=Cj0KCQjwsrWZBhC4ARIsAGGUJurdweaMQUqZZEoqwwMXh8zMeZvy



【検査機関も愛用】



<https://item.rakuten.co.jp/berykoko/10000360/?si>

KRK(笠原理化学工業)

濁度・色度センサー



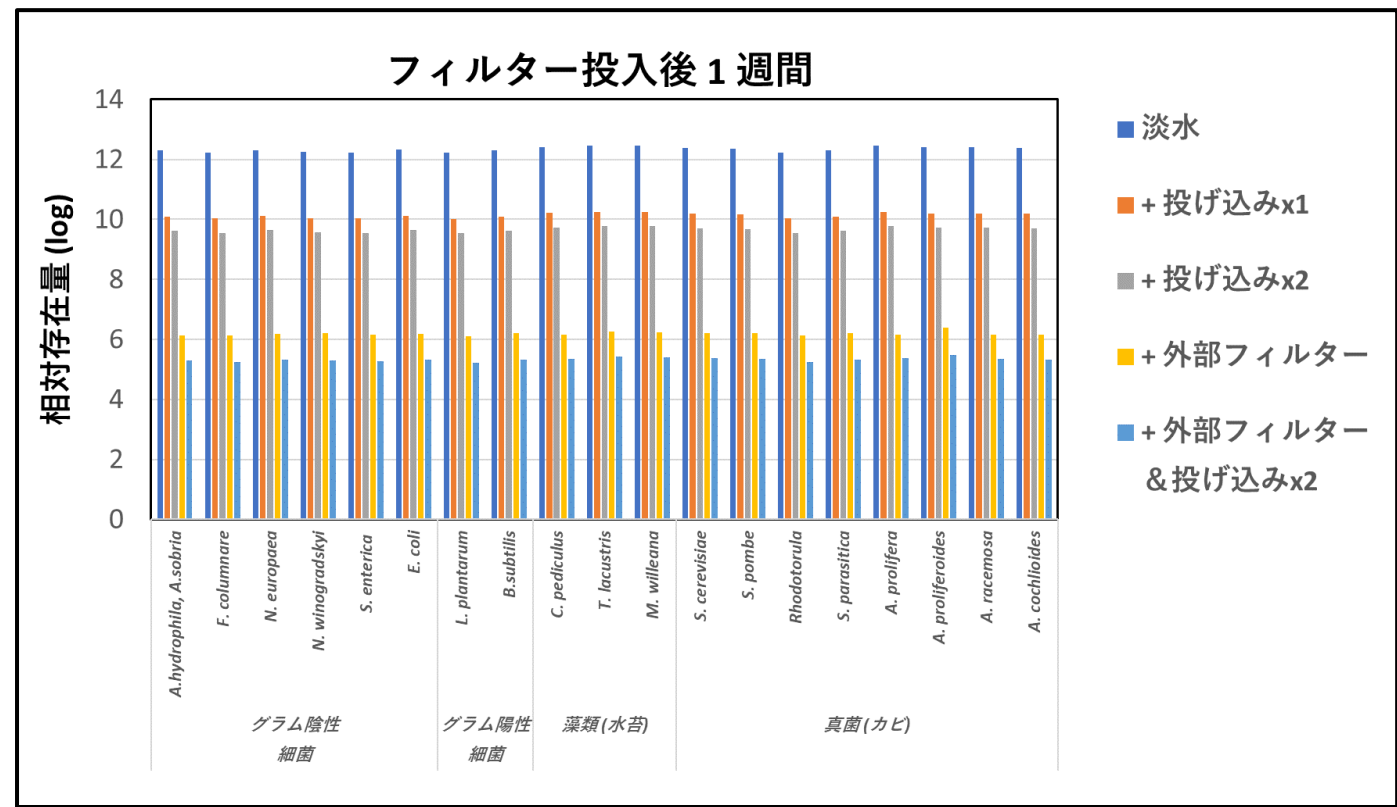
アズワン品番 1-8673-01 寸法(mm) 48×32×320

<https://www.monotaro.com/g/00255827/?displayId=25>



トピック 1: 濾過力と浮遊微生物量の相関

尚、濾過条件と浮遊バクテリア量の変化について比較を行った所、以下に示すように外部フィルターの効果が絶大であることが明らかになった。これらの結果から、外部フィルターによる水中の遊離バクテリアの吸入量がいかに強いのか、前述までの結果と併せて良く理解していただけるかと思う。尚、外部フィルターと投げ込みフィルター（ロカボーイ L）x2個の組み合わせによって、更に濾過効率を上げることが出来ることも明らかになったため、フィルターの併用は飼育水の濾過にとって非常に有効であることも分かる。



実験条件の詳細

上清の菌叢を回収 → バクテリアの 16S rDNA, 真菌類の 18S rDNA を増幅 → バンドの濃さで比較
水 50ml を 3-5 本回収→遠心 2,000xg で 5 分間遠心→十分な沈殿が得られたら ok
18~20℃, 淡水条件で飼育, 1 週間水替え無し→フィルター 設置→1 週間後分析 (60mm 生体x3 匹)

用いた水槽



GEX マリーナ幅 60cm 水槽 MR600BKST-N ガラス水槽
60cm 水槽
容量: 約 57L
ガラス厚: 3mm
サイズ: 約幅 600mm × 奥行 300mm × 高さ 360mm

用いたフィルター

- ・Gex メガパワー-6090
- ・ロカボーイ L



トピック 2: アホロートルの免疫力は低い？

両性類の免疫力については、これまでに色々な議論が交わされている。近年、両生類の免疫力と再生力の関連性に免疫力が重要であることも明らかになってきた[1-3]。ミネ水の効果として再生力の強化と免疫力強化の両立が見られており、これらの報告も汽水条件の重要性を大きく肯定しているといえる（ウーパールーパーの飼育係 Vol 3.0 参照）。

しかしながら、過去の文献において、アフリカツメガエル（*Xenopus*）と比較してリンパ球の働きが弱いという報告が見られており[左表参照; 4-5]、飼育下でのバクテリア繁殖の影響を強く受けてしまうことが推察される。

（※免疫に関するまとめは、文献[6]を参照。）

Immunological feature	<i>Xenopus</i>	<i>Axolotl</i>
Thymus morphology: cortex/medulla	defined	undefined
Spleen morphology: red/white pulp	defined	undefined
Graft rejection (thymectomy)	acute (abrogated)	chronic (abrogated)
<i>In vitro</i> MLR (thymectomy)	strong (abrogated)	poor (?)
T-cell mitogen response	good (FBS ² or BSA) good (BSA)	poor (FBS)
B-cell mitogen response (LPS)	modest	modest (BSA or FBS)
PMA response	good	good (BSA or FBS)
Antibody response (thymectomy)	good (restricted diversity) poor (thymus dependent)	poor (limited diversity) enhanced (SRBC/HRBC) ³
Isotype switching (thymectomy)	yes no (IgY) ⁴	no
Affinity maturation	modest	none
MHC class II antigens	B cells, T cells, thymocytes thymocyte areas of thymic stroma	B cells, T cells, erythrocytes, thymic stroma, endodermal epithelium, skin glands, brain
MHC class I antigens	ubiquitous cell surface	a chain on erythrocytes

¹ adapted from Kaufman et al., 1991
² Refers to protein source in culture medium (BSA = bovine serum albumin; FBS = fetal bovine serum)
³ SRBC = sheep red blood cells; HRBC = horse red blood cells
⁴ Du Pasquier & Wabl, 1977

参照

- 1) Immunity in salamander regeneration: Where are we standing and where are we headed? > Airais et al. (2020), published: 14 September <https://anatomypubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/dvdy.251>
- 2) Identification of immune and non-immune cells in regenerating axolotl limbs by single-cell sequencing > Rodgers et al. (2020), <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014482720303967>
- 3) Advancements to the Axolotl Model for Regeneration and Aging > Vieira et al. (2020), Gerontology; 66:212–222. <https://www.karger.com/Article/FullText/504294>
- 4) Axolotl Immunology: Lymphocytes, Cytokines, and Allpincompatibility Reactions > Cohen et al. (1994) > Axolotl Newsletter Number 23 https://ambystoma.uky.edu/genetic-stock-center/newsletters/Older_archive/Issues-13-23/archive/issue23/24-33cohen%20koniski.pdf
- 5) Immunologic Responses in the Axolotl, *Siredon Mexicanum* > Ching et al. (1967), J Immunol July 1, 99 (1) 191-200; <https://www.jimmunol.org/content/99/1/191>
- 6) 獲得免疫における細胞性免疫とは？液性免疫との違いも詳しく解説！ <https://www.macrophil.co.jp/special/1564/>



<ウーパールーパー研究報告>

アホロートルの飼育・治療最新情報

著: 杉山 遥 (Ph.D; 詳細調査・本記事の主な執筆者)^{1*}, あすみ悠 (ミネ水の追検証)¹,
萩原 和晃 (pH 変化調査)¹, 枝豆やみん (薬浴の追検証)¹

所属: ¹ウーパールーパー研究室はるらぼ

詳細: *主任研究者 **責任著者

はるらぼ式ミネラル含有水飼育法 および 薬浴法のおさらい 2022/9/19

過去の記事にて、ミネ水飼育法(0.2~0.3% 汽水飼育)※ および はるらぼ式薬浴について紹介したところ、実際に試して下さいの方々が40名近く(2022/9/19 現在...Twitter 18人, 他 筆者友人および知人を含む19人; 計37名)おられました。実際に効果があったという方が非常に多かったため、詳細を以下に再掲載致します。更に、薬浴についてはイソジン浴による滅菌も実施したことから、今回そちらの知見も併せて、薬浴治療に関する最新報告をこちらに掲載させていただきます。

※ 尚、薬浴治療関連は、情報掲載の都合上、本特集の後半・第8章～になります。

<ミネラル含有水飼育に用いる粗塩例>

国産原料100% あら塩の恵み
(関東塩業)



<組成>
・塩化ナトリウム 94.0%
・他陽イオン 5.0~6.0%
・マグネシウム 0.15%

塩業 瀬戸内の塩 国産塩
(塩業)



<組成>
・塩化ナトリウム 95.0%
・他、ナトリウム 4.0~5.0%
・カルシウム 0.06%
・マグネシウム 0.073%
・カリウム 0.09~0.16%

トピック 1: ミネ水の組成

はるらぼでは、“ミネ水”の作製に際し、瀬戸内海産の荒塩を用いて調整を行っている。

比率としては、100g 当たりにおいて、塩化ナトリウム NaCl 94.0g、塩化マグネシウム MgCl₂ 150mg、塩化カルシウム CaCl₂ 等を含む。この塩を、カルキ抜きをした水道水に混合し、0.2-0.3% (塩化ナトリウムを 100% と想定した場合の理論値) に調整する。

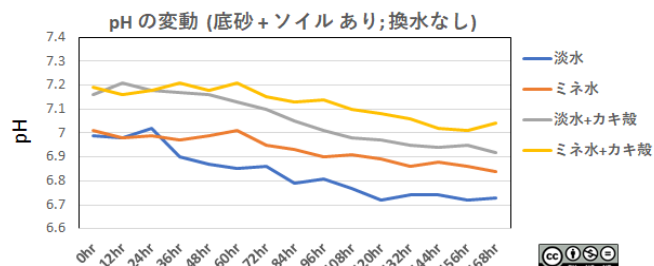
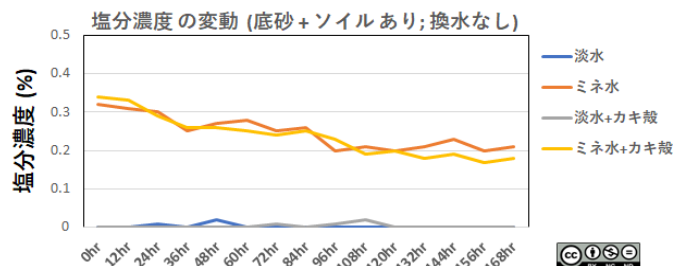
濃度計算は、以下のリンク先のサイトなどでも簡易的に行える。

→ 金魚病気: 塩浴時の塩の量の計算

https://xn--48jwgy65k6z7bz7j.com/kingyo_tips/salt_calc

尚、使用感として、塩化ナトリウム 100% よりも、微弱でも他のミネラルを含む方が生体の調子は良い印象があるが、統計的な根拠は弱い参考程度で。ミネラルの比率を変えることで、生体の成長・生育等に対してどのような変化があるのかについては、今後はるらぼでも鋭意調査していく方針である。

尚余談だが、ソイル・砂が入っていると、それらの吸着効果から、塩分濃度が時間経過と共にある程度低下することで、マイルドな効果になっているというメリットがあることが明らかになっている。



特に、底砂の主成分であるゼオライトにはイオン交換作用があり、既に底砂に吸着されたアンモニウムイオン (NH_4^+) と新たに加えたミネ水中で塩が水に溶けて生じたナトリウムイオン (Na^+) の交換反応が起こることで、水質が一時的に悪化することがあるため、ミネ水での飼育の際はこまめな水替え (週 1~2 回) を実施するか、同日に半量水替え後から数分~数時間後に再度全量換水するとより水質を安定に保つ事が可能である。

また、ミネ水条件下では、淡水条件と比較して pH の低下 (酸化) も緩和されることが明らかになっている。詳細は参考文献の はるらば note 記事 (https://note.com/lab_new2/n/n00721bcab68e) などをご参照のこと。

尚、pH 関連の調査には、当ラボ所属研究員の 萩原 技術主任 を中心に、参考データを随時取得中である。濾材と pH 維持・調節に関する調査・研究も現在実施中。こちらも追って結果を報告する予定である。

ミネ水飼育に関する検証動画: 当ラボメンバー あすみ 悠 氏による検証報告 (YouTube 動画):

<https://www.youtube.com/watch?v=xDMi3p90xYA>

参照: 濾材の吸着特性について (主にゼオライト・イオン交換反応関連)

- <https://t-aquagarden.com/column/zeolites>
- https://nuce.aesj.or.jp/_media/clwt:2_%E5%90%B8%E7%9D%80%E3%83%87%E3%83%BC%E3%82%BF_%E3%82%BC%E3%82%AA%E3%83%A9%E3%82%A4%E3%83%88_4.28.pdf
- <https://www.aquarium-favorite.com/entry/zeolite/>
- <https://kingsbiscuit.exblog.jp/31117762/>
- <https://horti.jp/26045>

トピック 2: ミネ水の効果から見出される希望

以下のまとめ図でも明らかなように、ミネ水飼育 や後述する はるらぼ式薬浴 の併用によって、損傷や感染症の症状を示す個体が健康な状態へと回復することが可能である。とはいえ、全ての個体にそれが保証されている訳ではない点にはご留意を。

とはいえ、わずかでも回復することに希望が見出せるならば、アホロートル飼育者の我々にとって、大きな希望であると言えるのではないだろうか。

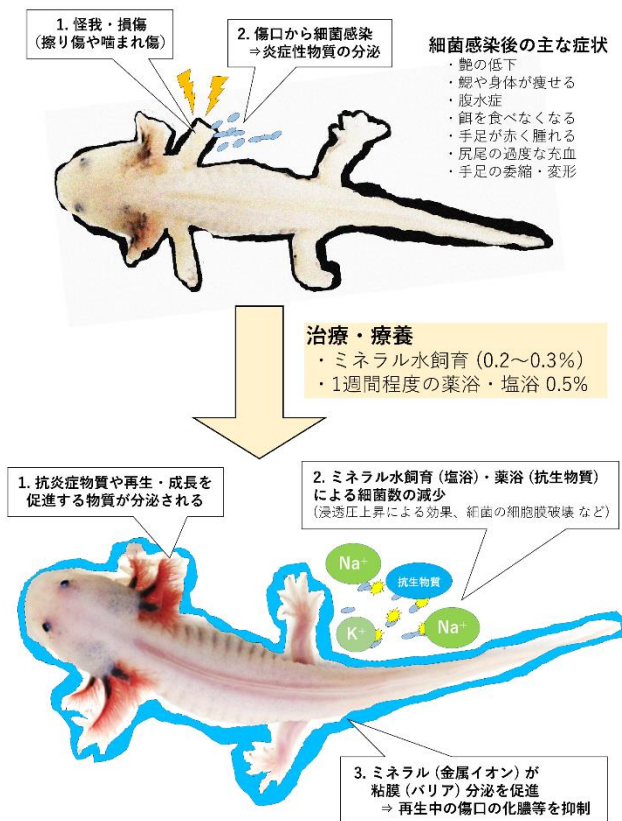


図9: 予想モデル図; 汽水条件・薬浴にがもたらす感染症治療・損傷部位の治療促進効果



許可なき転載・改変
および 商業利用禁止

(A) 健康な成体 300日目



(B) 損傷・失血等の影響で不健康なセミアダルト 約200日目 (依頼にて治療を引き受けた個体)



(B') 一週間程度の薬浴* + 0.3%ミネ水中での長期飼育 (100日間) によって健康な状態にまで回復した例



図1: ミネ水飼育および薬浴による治療と再生・成長促進効果

* 1/5000 オキシリン酸 (グリーンFゴールドリキッド)
+ 1/200イソジン 浴 で、最長1週間程度なら継続投与が可能。

** 各スケールバー: 25mm

参考: ミネ水 および 薬浴の効果



トピック 3: ミネラル水飼育と塩浴の明確な違い https://note.com/lab_new2/n/n89567912a9c7

本当に極稀にはあるものの、ミネ水飼育法普及に際して、塩浴を長期間するのは危険等の指摘があったりする。確かに淡水で飼うと単純に認識している状態で塩を使うのは、知識があまり無い故に不安に感じてしまうかもしれないが、ミネ水 ≠ 塩浴で、安心・安全な手法である。尚、前述のとおり、40 人近くからの実践報告と有用性に関する朗報が届いており、ある程度安全性・有用性が保証されている。

塩水浴（塩浴）の定義: ウーパールーパーの浸透圧である 0.65% に近づけることで、弱った身体への負担軽減や減菌効果などを期待した手法を指す。

尚、エロモナス菌や真菌（カビ類）が死滅する目安の濃度は 0.50% とのこと（以下、参照 2-1）。

ミネ水に用いる 0.05～0.3% の塩分濃度は、所謂汽水に該当し、魚水槽用の岩塩や塩タブレットが 0.1% になるように売られている。

製品例（[画像をクリックすると製品詳細を確認可能](#)）



[吉田飼料 水も健やかに保つ岩塩](#)



水作 塩タブレット

つまり、ある程度の塩を添加する手法は、既にアクアリウム界で普及していることが分かる。ちなみに、はるらぼがこれまで主に参考にしてきたのは、海外で用いられている **Holtfreter' solution** (通称、ホルトフレーター)* である。

* [Holtfreter's solution | Wikiwand Holtfreter's solution is a balanced salt solution that was de www.wikiwand.com](http://www.wikiwand.com/Holtfreter's%20solution)

このホルトフレーターのような塩・ミネラル（一般家庭なら前述で示した粗塩で効果は十分）を用いることで、飼育水への塩分添加による成長促進や免疫力向上、除菌効果などが期待できる。

また、生育地がかつて塩湖と淡水湖が混ざり合っていたとされており、汽水条件で生息していた可能性があり、当ラボでも汽水適応に関連するデータは既に得られている（次章 ”ミネ水による成長・再生促進効果” を参照のこと）。

この点で、日本のサンショウウオたちとウーパールーパーは大きく異なっており、淡水適応はしていない可能性が高いと考えられ、むしろ淡水飼育はウパに無理をさせていることも懸念される。

一方で、当ラボにおける検証により、日本のイモリ・サンショウウオ類は塩に弱いのを確認しました。**0.2%**でも呼吸しづらそうな様子を示した。(**"ミネ水による成長・再生促進効果"** を参照のこと)

このように、調査を進めていく中で、他の日本産両生類とウーパールーパーは同列に語ってはいけない可能性すら出てきてしまっている。今後この点について更に留意していく必要がある。

尚余談だが、塩水が腐りやすいみたいな話をたまに耳にするが、我々の調査の結果から、

- ・淡水 → 微生物がまんべんなく増える。
- ・塩水 → 微生物を抑制するが、耐塩菌やカビ・コケ 等の耐塩性のある微生物がバイオフィーム下で生き残る。

というのがおそらく正しいと考えられる (後述の アホロートル飼育水槽におけるバクテリアの存在比, 水温と微生物の増殖率の違い の中で根拠となる結果が得られている。要参照のこと。)

参照 1: 汽水の定義

- ・フジクリーン工業株式会社> 水の話> 汽水域: www.fujiclean.co.jp
- ・汽水域 – Wikipedia: ja.m.wikipedia.org

参照 2: 両生類の浸透圧と塩水浴

- ・カエル情報室_専門獣医師による飼育と病気の解説> 両生類の塩水浴について解説: <https://exoroom.jp/kaeru/2021/12/18/ennsuiyoku/>
- ・うぱるぱ屋> 塩浴: <http://www.uparupaya.com/blog/2017/03/post-61.php>
- ・<https://xn--gckxbxdtib.com/sick/enyoku/>

トピック 4: ミネ水による成長・再生促進効果

以下に、ウーパールーパーだより Vol 1.3 (https://drive.google.com/file/d/1DuwEjMVBZiCORTXLzx_xfjvpl4FKKe46ml/view) にも掲載したミネ水効果について、更に詳細な調査を継続した結果について幾つか示す。

詳細な機序については現在調査継続中であるが、これまでの研究結果から、成長・再生に関する因子の発現上昇や、塩分上昇に合わせたイオンチャネルの発現上昇など、損傷時の抗菌作用を示す炎症物質・ストレス応答因子の発現上昇などが、ミネ水条件下で顕著に促進されていることが明らかになっている。これらの知見は、ミネ水飼育が損傷部の成長・再生促進だけでなく、患部の抗菌作用・ストレス応答作用等と併せてアホロートルを守るように作用することを大きく肯定する結果であるといえる。尚、ヌメリの元であるムコ多糖類を主成分としたムチンの分泌促進も確認されているため、これら含めてアホロートルの生態解明の大きな一歩となったと考えている。

また、塩分調節に関するイオンチャネルに関する遺伝子発現が通常時からある程度確認でき、塩分濃度上昇へのある程度の適応が可能であることから、メキシコのかつての地形に関する先行文献や記録でも言われているように、元々の生息地がある時期は汽水環境であった可能性が高いことを踏まえると、メキシコサンショウウオの原種がかつて汽水適応するように進化したと考えられる。アホロートルの汽水適応については、追加調査を既に完了しているため、興味のある皆様は是非とも“ウーパールーパーと日本産サンショウウオの耐塩性の違い”の項について確認されたい。

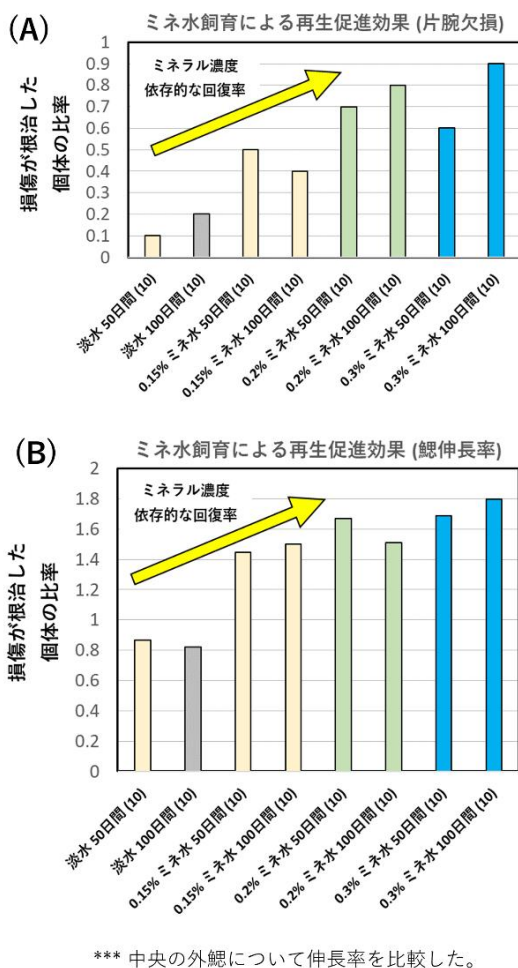


図4: 再生促進効果の定量 (約200日目～)

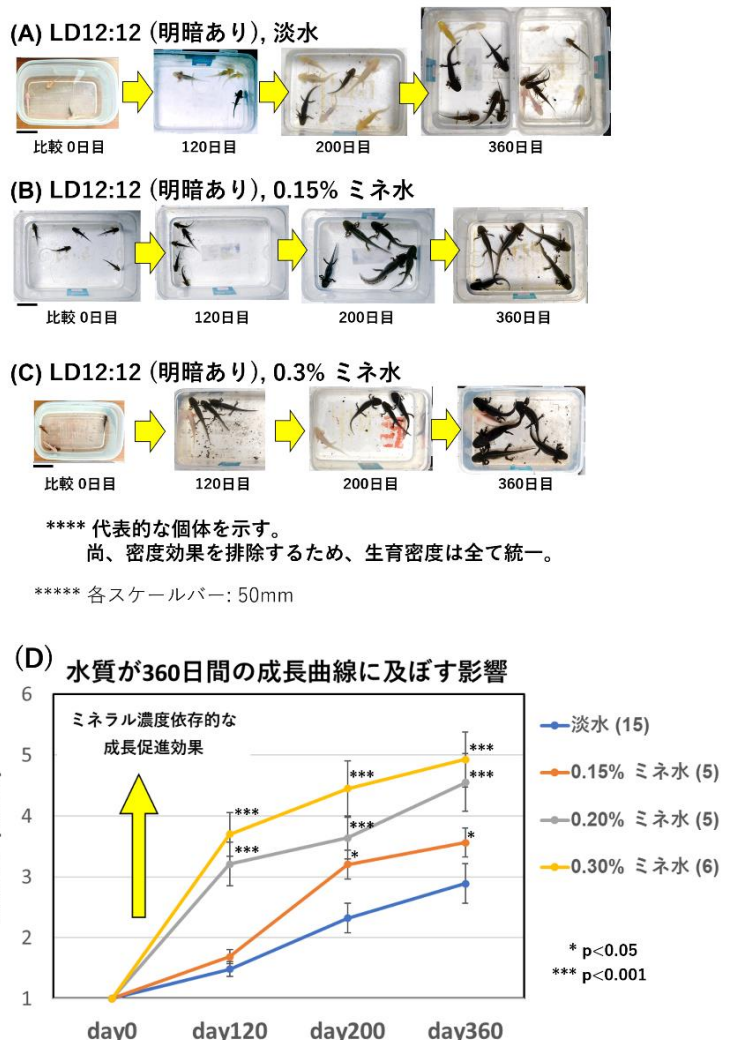
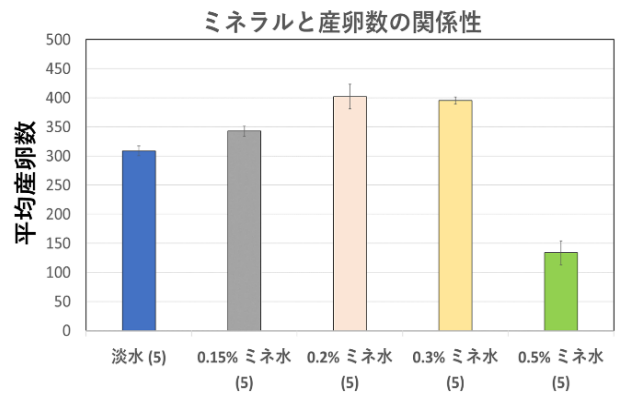


図5: 飼育水へのミネラル添加による成長促進効果



許可なき転載・改変
および 商業利用禁止

尚、ミネラル水存在での産卵数を比較すると、0.2～0.3%下では産卵数が上昇するものの、0.5%まで上昇させてしまうと産卵数が減少するという結果が見られたため、本来の生態として塩分濃度が高い環境下になると産卵することを避けるような性質があると思われる。



流れ: 淡水で飼育された成体を移動
→ 1年間雌雄で分けてミネラル条件調整 → 産卵誘導

単独飼育 → 繁殖誘導後にペアで混泳 (2year old_アダルト5ペア)

図3: 飼育水へのミネラル添加が
妊性 (繁殖力) に与える影響

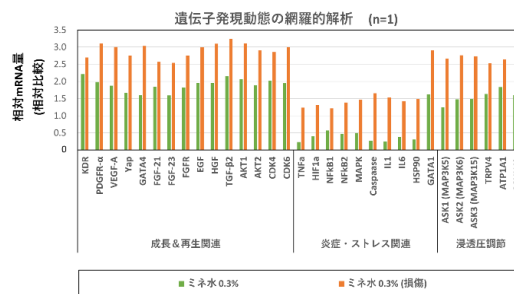
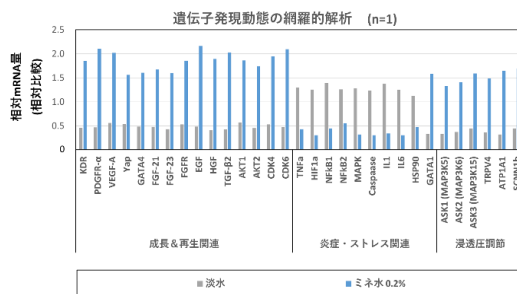
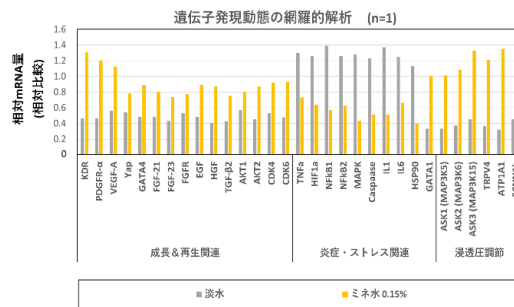
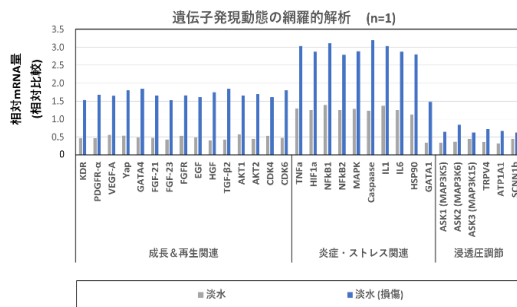
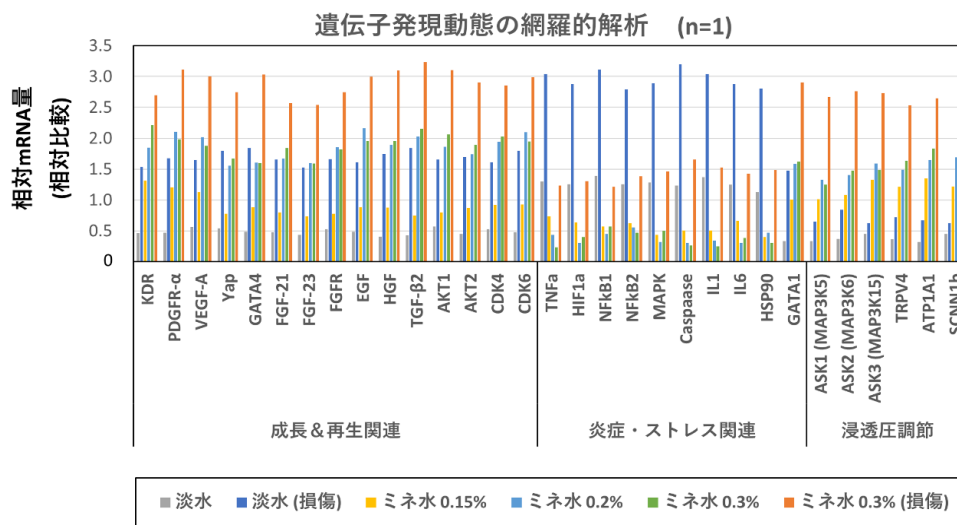


図6: 成長・再生・炎症・浸透圧調節に関連する遺伝子発現動態の網羅的解析

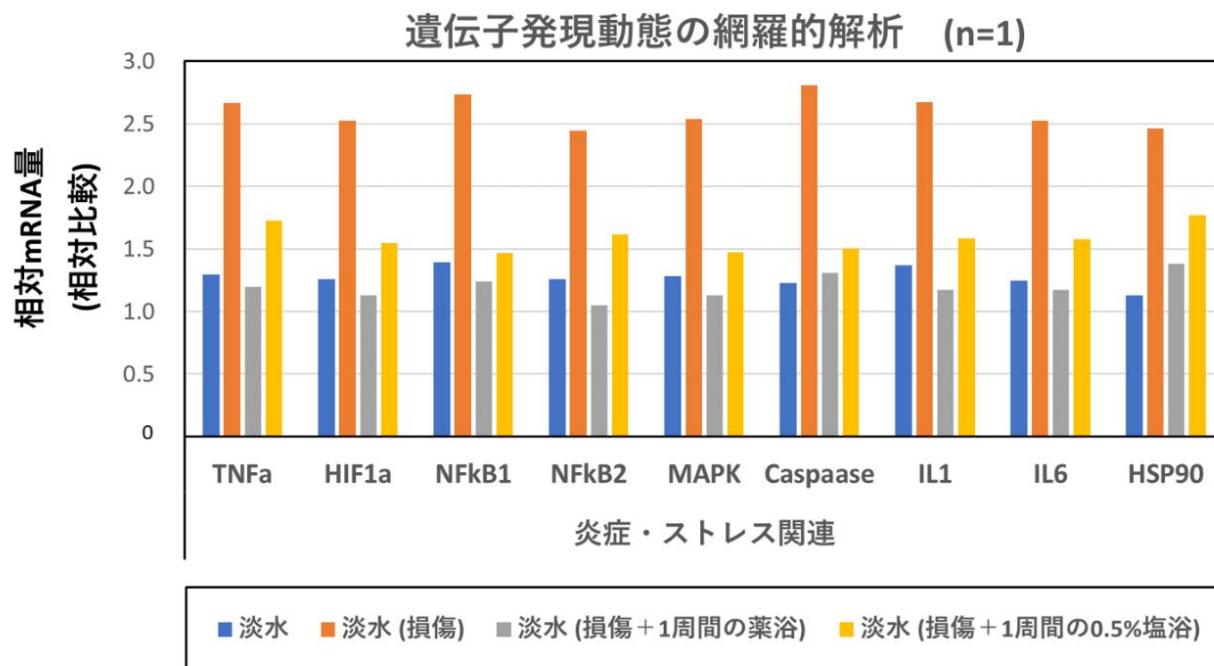


図7: 薬浴処置後の炎症関連遺伝子発現動態

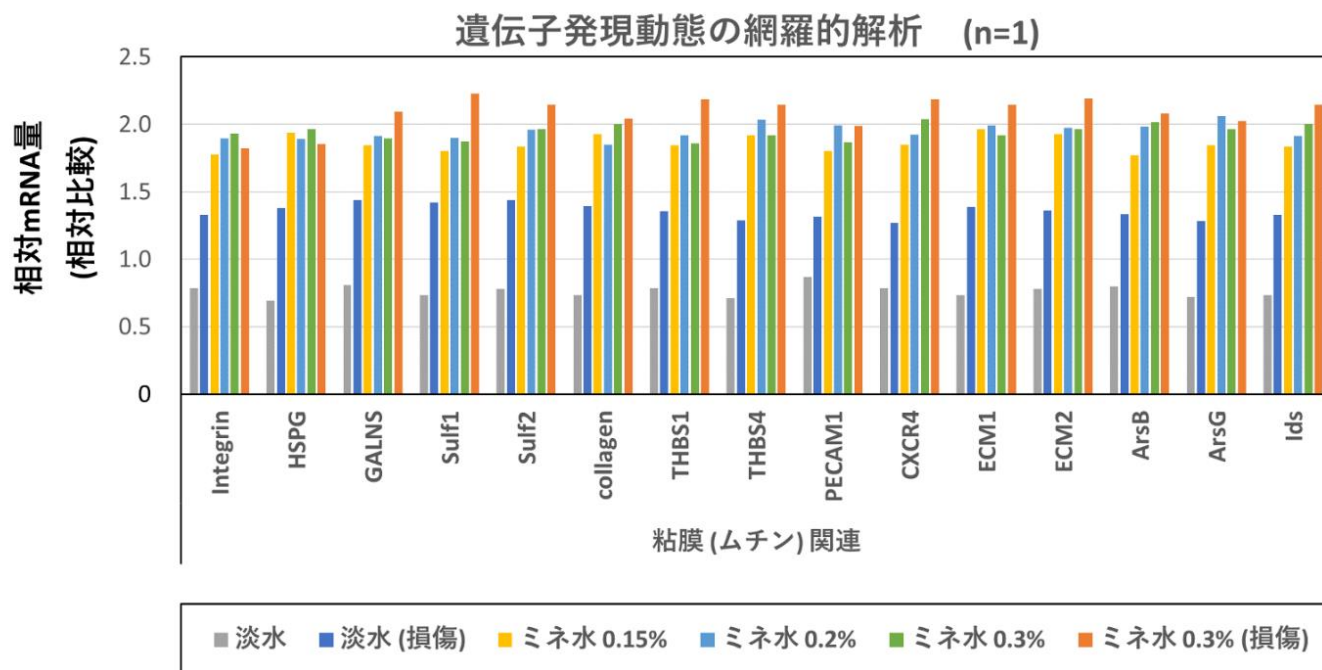


図8: 薬浴処置後の炎症関連遺伝子発現動態



許可なき転載・改変
および 商業利用禁止

トピック 5: ウーパールーパーと日本産サンショウウオの耐塩性の違い

https://note.com/lab_new2/n/nba72c752737f

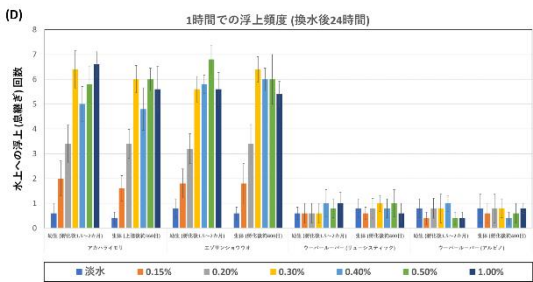
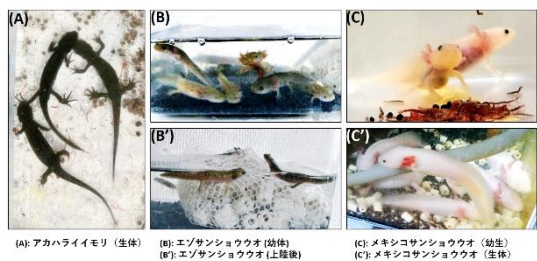
アホロートルが汽水適応の結果、ミネ水の飼育に適していることをより科学的に明確にするため、日本のイモリ・サンショウウオ類とウパの耐塩性がどの程度異なるのか調査した結果について示す。

下図に示すように、汽水環境（ミネ水 0.2～0.3%）～1.0% の塩水条件下での日本産サンショウウオとウパの適応度の違いについて比較をしてみた。

結果を見ていただくと明白で、イモリやエゾサンショウウオはまともに呼吸ができておらず、何度も息継ぎをする結果となっている。

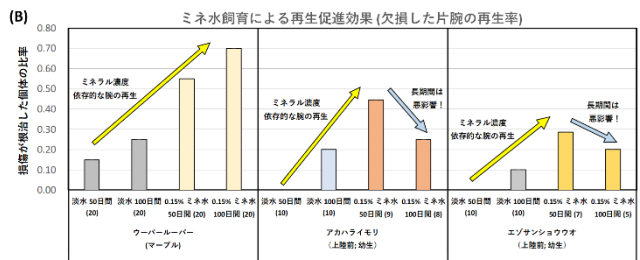
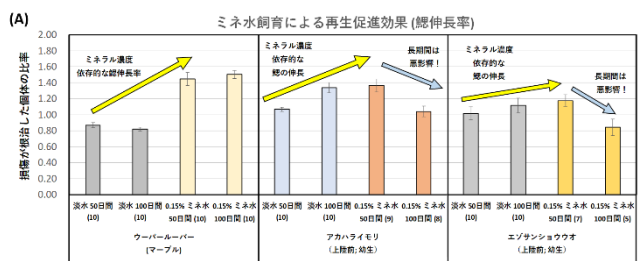
塩分が高いと溶存酸素量が低下することもあり (参考 <https://www.xylen-analytics.jp/blog/affecting-do-measurement-part2/>)、呼吸がし辛いことが一因であると考えられる。これに加え本来晒されることのない塩分に触れていることが大きなストレスになっていることが考えられる。

ミネ水による成長・再生促進効果も、日本産サンショウウオ類にもある程度は見られてはいるが、一定以上の濃度に長期間晒されると、逆に皮膚が荒れてしまうのかあまり効果が得られていない。



補足図1: イモリ・サンショウウオ類の塩水適応に関する調査結果 ①

許可なき転載・改変および商業利用禁止



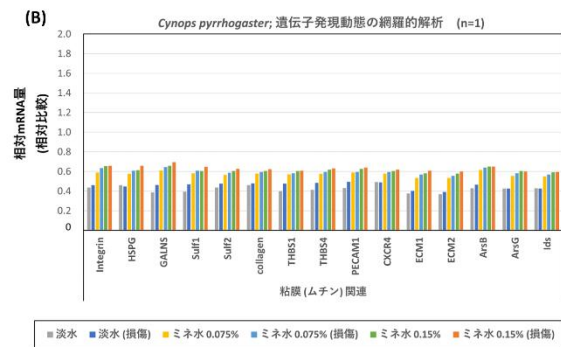
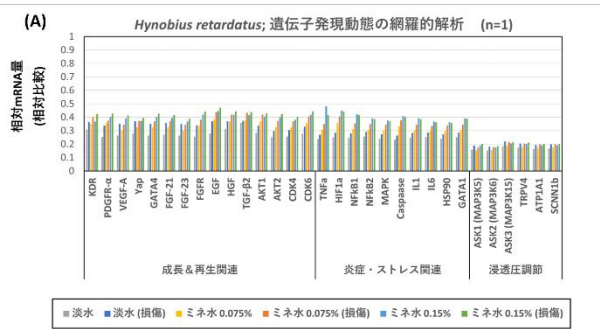
補足図2: イモリ・サンショウウオ類の塩水適応に関する調査結果 ②

許可なき転載・改変および商業利用禁止



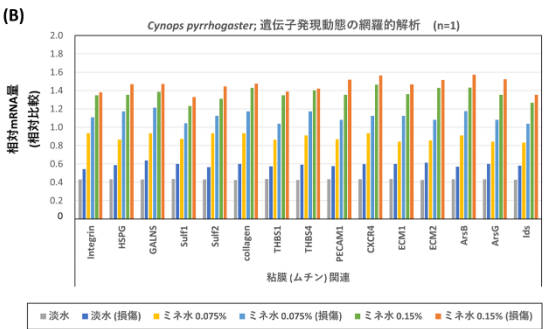
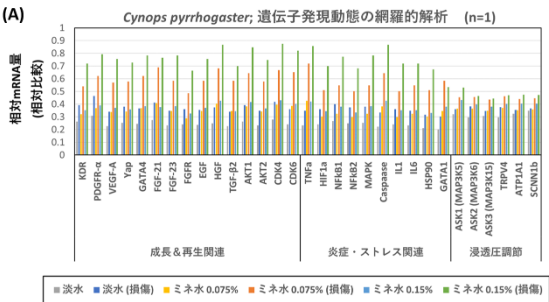
どうやら日本産サンショウウオの耐塩性の低さについては、浸透圧を調節するために働く塩を輸送する因子群がウパと比較してあまり高くないことや、仮に塩水条件下になってもウパのように塩水に適応しようとして塩輸送体に関連する遺伝子の発現が上昇しないことが原因であるようである。

この主題に関しては、まだまだ調査不足の点多々あるため、今後も更に調査を継続していく必要があるといえる。乞うご期待。



補足図3: イモリ・サンショウウオ類の塩水適応に関する調査結果 ④

許可なき転載・改変および商業利用禁止



補足図3: イモリ・サンショウウオ類の塩水適応に関する調査結果 ③

許可なき転載・改変および商業利用禁止

参照: はるらぼ note 関連記事

- ・ ミネラル水によるウーパールーパーの回復・再生促進効果まとめ https://note.com/lab_new2/n/n028ad96a7a49
- ・ ウーパールーパーのミネラル飼育水槽における pH & 塩分濃度の変動について https://note.com/lab_new2/n/n00721bcab68e
- ・ 続報: ミネラル水によるウーパールーパーの回復・再生促進効果まとめ https://note.com/lab_new2/n/nc388a68d2419
- ・ ミネラル水飼育と塩浴の明確な違い https://note.com/lab_new2/n/n89567912a9c7
- ・ ウーパールーパーと日本産サンショウウオの耐塩性の違い https://note.com/lab_new2/n/nba72c752737f



トピック 6: アホロートル飼育水槽におけるバクテリアの存在比

筆者は、腸内環境や水槽内バクテリアの調査の過程で、飼育水内で生息・増殖しているバクテリアについて調査依頼・分析を実施し、その結果の一部を公開している。

表1: 飼育水 (上清) 中で確認できた微生物リスト

性質・種類	学名	属・分類	備考
グラム陰性細菌	<i>A. hydrophila</i> , <i>A. sobria</i>	エロモナス類	感染症の原因菌
	<i>F. columnare</i>	カラムナリス類	感染症の原因菌
	<i>N. europaea</i>	ニトロソモナス類	アンモニア硝化菌
	<i>N. winogradskyi</i>	ニトロバクター類	亜硝酸酸化菌
	<i>S. enterica</i>	サルモネラ類	腸内細菌
グラム陽性細菌	<i>E. coli</i>	大腸菌	腸内細菌
	<i>L. plantarum</i>	乳酸菌	腸内細菌
	<i>B. subtilis</i>	枯草菌類	濾過バクテリア
藻類 (水苔)	<i>C. pediculus</i>	コッコネイス属	珪藻類
	<i>T. lacustris</i>	テトラスポラ属	緑藻類
	<i>M. willeana</i>	ミクロスポラ属	糸状緑藻類
真菌 (カビ)	<i>S. cerevisiae</i>	出芽酵母	パン酵母
	<i>S. pombe</i>	分裂酵母	ビール酵母
	<i>Rhodotorula</i>	赤色酵母	赤色酵母
	<i>S. parasitica</i>	ミスカビ属	水質浄化、 増えすぎると 水カビ病の原因
	<i>A. prolifera</i>	ワタカビ属 (卵菌類)	
	<i>A. proliferoides</i>		
	<i>A. racemos a</i>		
	<i>A. cochlioides</i>		
	アファノマイセス属 (糸状菌類)		

- ・オキシリン酸→グラム陰性菌および一部のグラム陽性菌に有効
- ・メチレンブルー→グラム陽性菌に有効
- ・ペニシリン→グラム陰性の球菌およびグラム陽性菌に有効
- ・イソジン (ポビドンヨード)
 - グラム陽性菌, グラム陰性菌, 結核菌, 真菌, 一部のウイルス 等 広範囲の微生物に対して有効

詳細の内容は、後述の関連記事にも記載しているが、水槽の大半がグラム陰性細菌を中心としたバクテリア (細菌) や菌類 (カビ) 類で占められており、腸内細菌としても作用する乳酸菌の一種である *L. plantarum* などの一部のグラム陽性細菌も見られる (表 1 参照)。

※ 尚、土壌中でも同様のバクテリアが確認できている。

回収した飼育水に餌のペレットを投入すると、通常の淡水条件下では 12 時間程度で微生物が増殖して白濁してしまう。このように、非常に水槽の飼育水に生息している微生物達の増殖速度は思った以上に速いが、汽水条件や塩水条件では塩分濃度依存的に微生物の増殖率を顕著に抑制できることが示唆されている (表 2 参照)。

表2: 飼育水中のバクテリア増殖に起因する水の濁りに関する調査

	餌ペレット添加後 12hr				餌ペレット添加後 24hr				餌ペレット添後 48hr		
	透明	半透明	白濁		透明	半透明	白濁		透明	半透明	白濁
淡水			○	淡水			○	淡水			○
0.15% ミネ水		○		0.15% ミネ水			○	0.15% ミネ水			○
0.2% ミネ水		○		0.2% ミネ水			○	0.2% ミネ水			○
0.3% ミネ水	○			0.3% ミネ水		○		0.3% ミネ水			○
0.5% ミネ水	○			0.5% ミネ水		○		0.5% ミネ水			○
1.0% 塩水	○			1.0% 塩水		○		1.0% 塩水		○	
3.0% 塩水	○			3.0% 塩水	○			3.0% 塩水	○		
8.0% 塩水	○			8.0% 塩水	○			8.0% 塩水	○		

【検証条件】

- ・新品のタッパー容量 2.6L (室温は18-20℃)
- ※ 生体抜き、飼育水を 2L ずつ回収、塩水は淡水水槽由来の水を塩分濃度0%としてに新たに塩を添加して作製した。
- ・ひかりウーパールーパー小粒の10粒を添加

【結果・考察】

- ・餌の溶解だけでなく分解が見られると、一気に白濁する傾向が見られる。
 - 炭水化物などを分解する水中の好気性バクテリア (バシラス類; 乳酸菌類や古葉菌類) が増加したと推察される。
- ・本結果からも改めて、塩浴がバクテリアに対して強い殺菌効果があることが分かる。
- ・また本結果から、ミネラル水飼育はバクテリアの過剰な増殖を抑制し、水質の急激な悪化を抑制する効果があることが推察された。



トピック 7: 水温と微生物の増殖率の違い https://note.com/lab_new2/n/na18fbf071527

水温依存的な飼育水の汚染や、水槽内微生物の存在比等については未解明な点が多いことから、淡水・ミネ水共に、水温上昇と微生物の比率や増殖率への影響について調査を行った。

具体的には、前述の条件に加えて更に、飼育水の温度条件を何点が調整し、増殖した微生物の存在比を比較した。
その結果、水温が低い時でもカビ・コケ類は他のバクテリアと比較して安定して増えており、水温上昇に伴ってその比率がある程度均衡を保つようになることが明らかになった。

本結果から、所謂塩水が腐りやすいというのは、このようなカビやコケ類や耐塩菌のストレス応答によるバイオフィルムの生成によって微生物の存在がより可視化しやすくなってしまうことに起因すると考えられる。

実際は、比率が異なるだけで、汽水条件では全体的に微生物量が減少することには大きく変わりはないと言える。

以下、詳細な結果について順次示す（次頁: 図 1, 2 参照）。

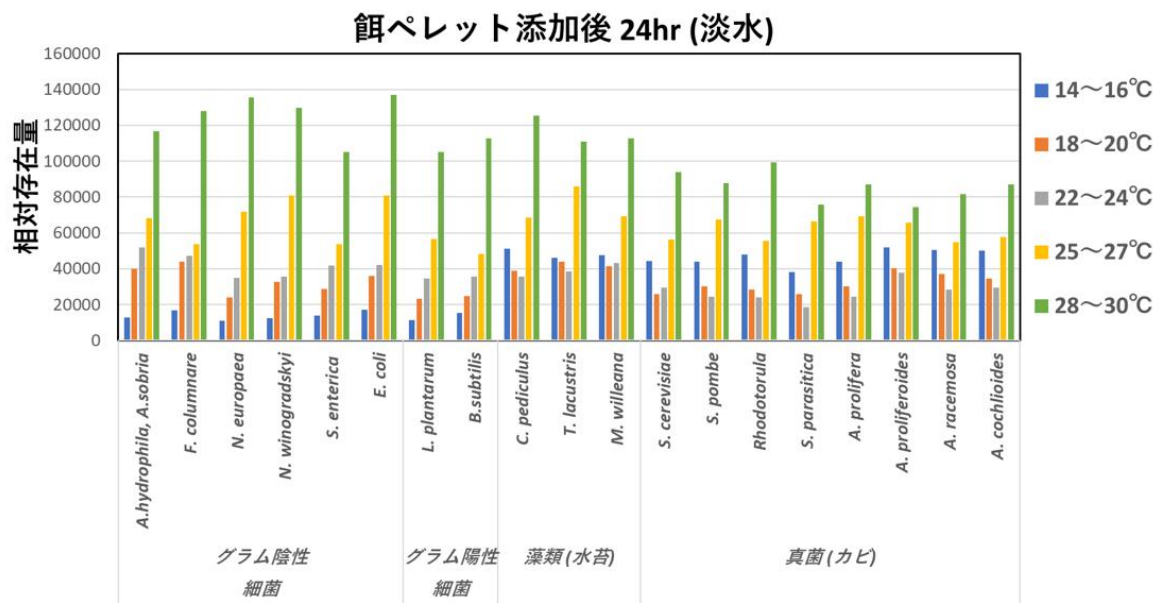


図1: 飼育水内微生物増殖の温度依存性 (淡水)

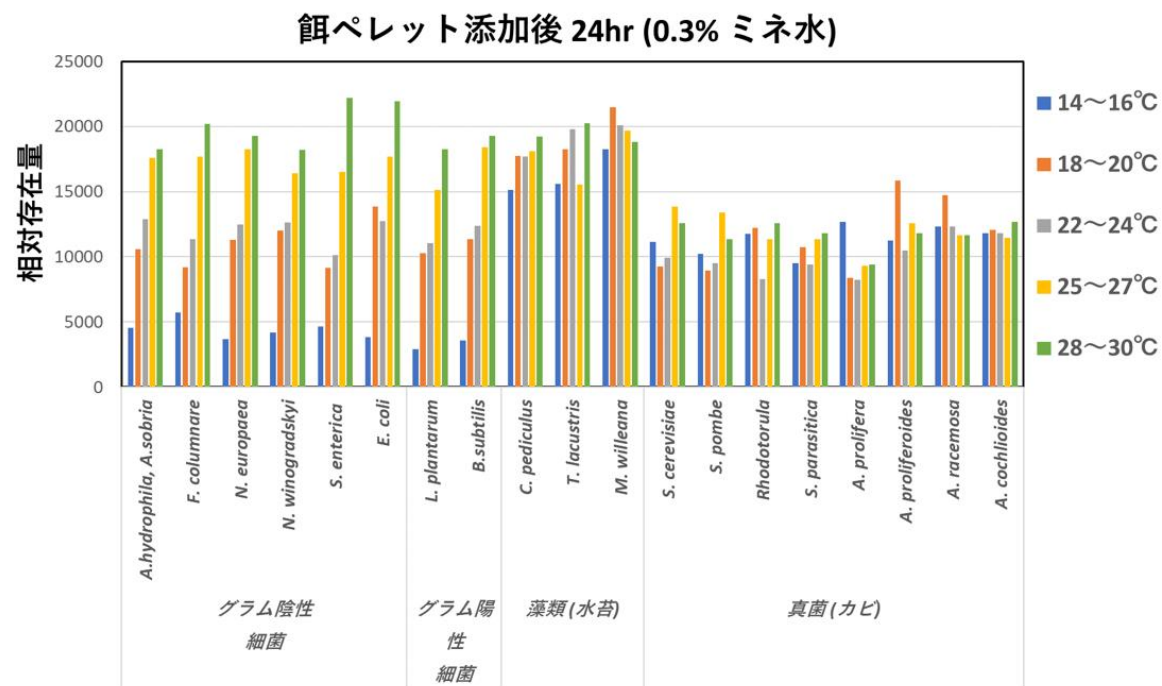


図2: 飼育水内微生物増殖の温度依存性 (汽水)

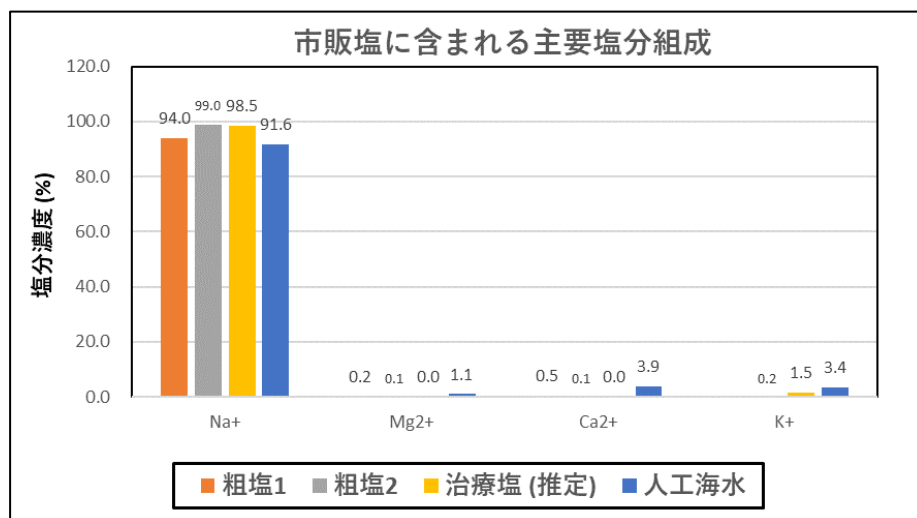


許可なき転載・改変 および 商業利用禁止

汽水飼育（ミネ水）による飼育の本質はどこにあるのだろうか？

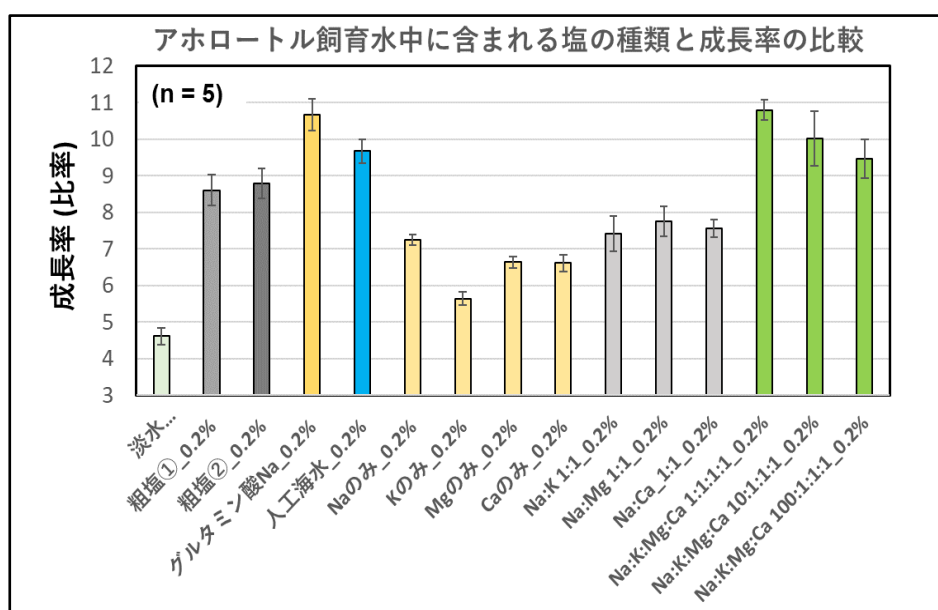
以下のように、既存の塩を扱った製品の中には主に、ナトリウム Na, マグネシウム Mg, カルシウム Ca, カリウム K が含まれていることが分かっており、その組成の一例を見てみると、その 90% が Na であることが分かる（以下のグラフ参照）。

汽水飼育後の効果に関しては、前述のように Na の貢献度が非常に大きいことは推察されるが、他の金属イオンは果たしてどの程度重要なのだろうか？ 逆に、Na の弊害は無いのだろうか？ 当ラボはその疑問についても調査を継続して実施している。



参照：既存の塩に含まれる金属イオン類の存在比

その調査の一環として、当ラボでは複数の比率で、より良い飼育水中に含まれる金属イオンの比率について検証した（下図）。検証の結果、粗塩や人工海水のように、ナトリウム約 90% の環境に微量の K, Mg, Ca を含む条件で非常に良く生育することが明らかになった。更に Na: K: Ca: Mg を 1:1:1:1 の比率で混在した条件が高い成長率を示している。人工海水は塩の比率が製品毎に若干異なるため、必ずしもこれらの結果通りになるとは限らないが、粗塩は塩の組成が記載されている物が多いため、微量の他成分を含む製品を是非とも採用していただければと思う。尚、この比率 1:1:1:1 のミネ水を“ミネ水 4th”と命名した。



参照：飼育水中に含む塩の種類と比率依存的な成長率の比較

VARIABLES	M
Temperature	37
pH	8.6
Tot. Alk.	500
Phenolph. Alk.	20.0
Tot. Hardness	326
Ca ⁺⁺ Hardness	116
Mg ⁺⁺ Hardness	212
CO ₃ ⁻ (1)	12.0
HCO ₃ ⁻ (1)	411
OH ⁻ (1)	0
Cl ⁻	198
SO ₄ ⁻	95
Ca ⁺⁺ (2)	47
Mg ⁺⁺ (2)	52
Na ⁺ and K ⁺ (3)	169
SiO ₂	89
Tot. Solids	946
Susp. Solids	161.0
Dis. Solids	785
K ₂₃	1392
Total Colif.	>2000
Faecal Colif.	>2000
Faecal Strept.	600

水の硬度（水 1000ml に対する無機イオンの含有量）に関して簡単に解説すると、

WHO（世界保健機関）の基準では、

- 硬度が 0～60mg/l 未満を「軟水」
- 60～120mg/l 未満を「中程度の軟水」
- 120～180mg/l 未満を「硬水」
- 180mg/l 以上を「非常な硬水」

と設定されている。メキシコ市内の水は硬水であるとされており、現在で詳細は不明瞭ではあるものの、メキシコサラマンダーも汽水環境で生存していたと考えられている。

ちなみに左表は、メキシコ市内の水道水の組成の一例であるが、pH が 7.5、Mg, Ca の硬度は硬水の範囲に該当する濃度で含まれている。また、Na, K の含有率も高いことが分かる。

水道に結晶ができる程であるとされ、そのまま飲料用での使用には向かない。

(January, 1997, Microbiological study of drinking water in Mexico)

これらの知見から、メキシコサラマンダーの生育にとって、やや硬水の環境、かつ Na, Ca, K, Mg が一定の比率で存在する条件が好ましい可能性があり、検証結果ともある程度一致することが分かる。

ちなみに、前頁グラフ中のグルタミン酸ナトリウムの効果に関しては、アミノ酸としての成長促進効果も含まれていると考えられる。

参考文献・情報

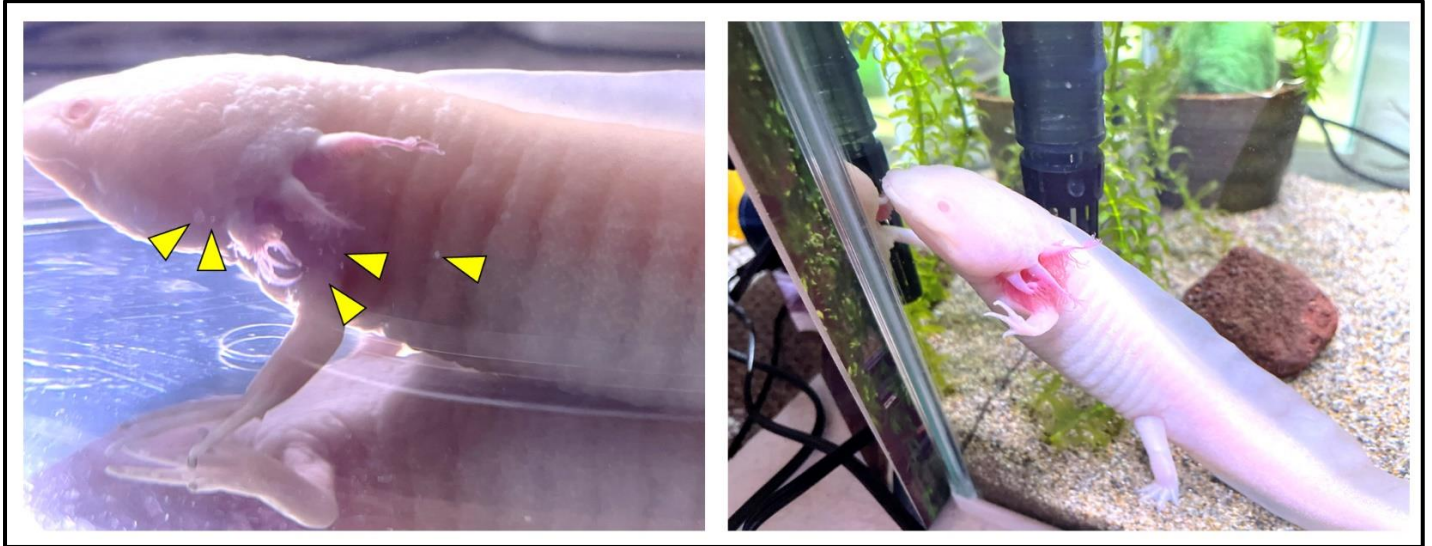
- <https://1023world.net/aqua/salt-ingredient.html>
- <https://www.jiafe.or.jp/merumaga/topics/20150227.pdf>
- http://sabbaticalleave.blogspot.com/2017/02/blog-post_27.html
- <https://www.mexperience.com/bottled-water-in-mexico/>
- <https://www.2hraquarist.com/blogs/ph-kh-gh-tds/how-to-read-local-water-reports>
- https://www.researchgate.net/publication/26474503_Preliminary_study_of_selected_drinking_water_samples_in_Mexico_City
- <https://mexicoct.com/blog/aqua/>
- <https://www.evian.co.jp/mineral/hardsoftwater.html>
- <https://www.carbotecnia.info/learning-center/water-chemistry/hardness-water/?lang=en>

水槽への Mg 添加の有用性に関する情報提供

- ラマシーザリガニ様 (Twitter ID: @catemacoensis, HP: crayfish.blog)

汽水飼育で巧く飼育できない事例 (22/12/25 追記)

汽水飼育について、メリットを多く挙げてきたが、一部、汽水飼育で体調不良を示した個体が見られているとの報告を頂戴した。下の提供写真では、汽水飼育導入から数日後に水泡や充血のような現象が見られている（黄色矢頭）。おそらく塩分濃度による pH 変化や耐塩菌の発生により、生育環境が変化したことに起因すると思われる。こうした症状は、以下で紹介する“休塩日”を実施することで解消できることが多い。



参考写真：汽水飼育導入時に異変を示した個体
(写真提供：野良猫「ソーソー」 様; [Twitter: @HbMunp](#))

“休塩日”の実施とその有効性に関する調査 (2022/10/7～)

これまでの当ラボの研究から、汽水（ミネ水）によるウーパールーパーの飼育によって、バクテリアや菌類・カビの過剰増殖を抑制し、また亜硝酸塩による窒息を阻害することで、より健康的な個体の状態を維持できることが明らかになってきた。

一方で汽水是必ずしも万能ではないことも分かってきており、汽水飼育を行っていたにも関わらず、**尻尾や手足の充血、鰓や身体の痩せ、フカフカ病のような腸内でのガス発生による浮遊**、などの症状を示す個体も少なからず確認されている。

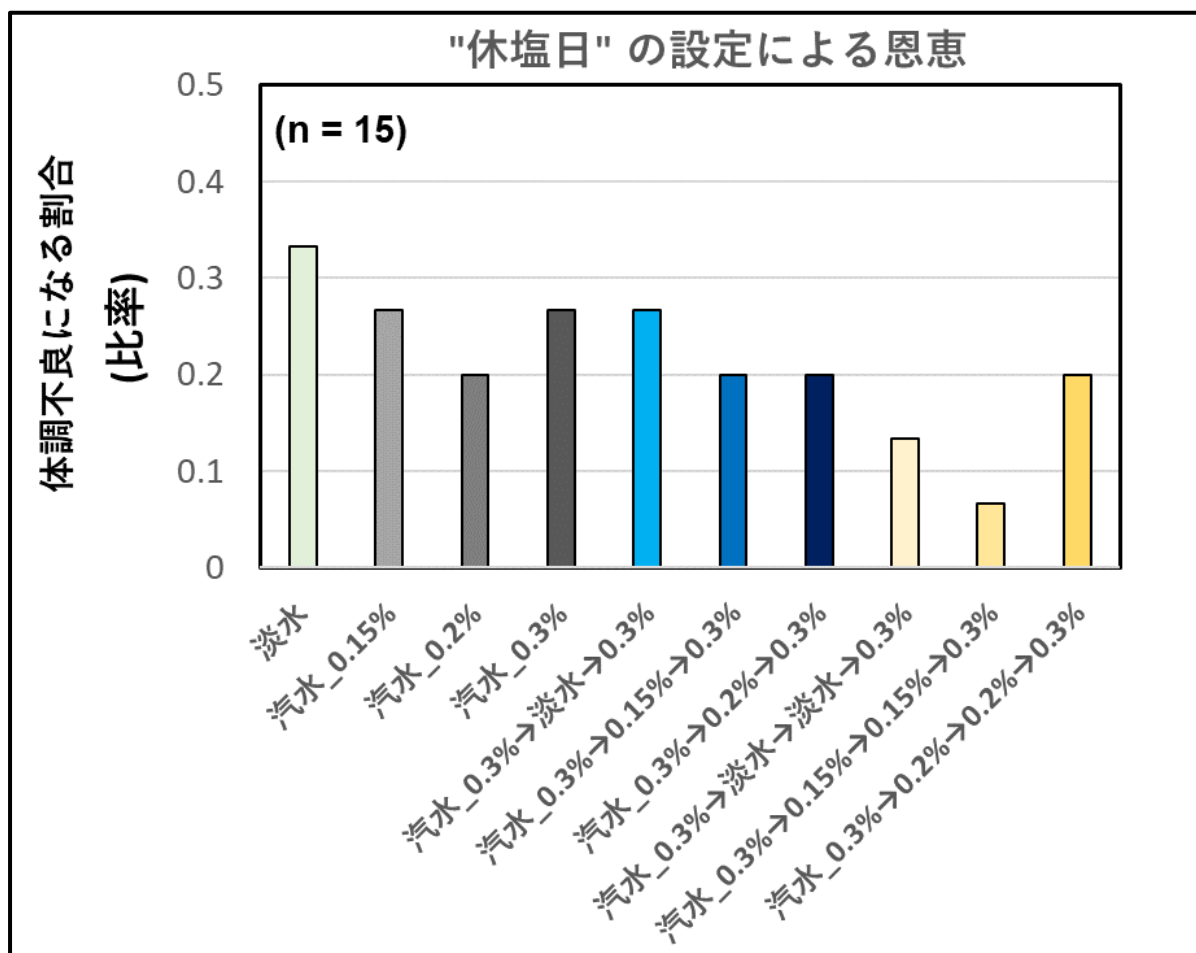
当然、飼育時の濾過不足 や 換水頻度の低さ、耐塩性の微生物の発生 などの複数の体調不良の要因も考えられるため、必ずしも汽水環境が飼育にとって不十分であるとは明言できない。

複数の外部飼育者へ依頼の下、水槽に5匹で混泳し、約1年間継続的に飼育を行った経過について結果、以下のような調査結果が得られた。

飼育環境

[水替え頻度: 7日に1回, $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ 条件下, 60cm 水槽 (GEX マリーナ SLIM MR600BKS), 水替え無し, 生体 (約 10~12cm x 5 体), 上部フィルター (GEX AQUA FILTER デュアルクリーン), 床材: GEX ピュアソイル+ゼオライト]

餌: ひかりウーパールーパー小粒 x 5~10 粒/匹 (2 日毎)]



参考: ウーパールーパーの汽水飼育時における塩分濃度と体調不良が起こる割合

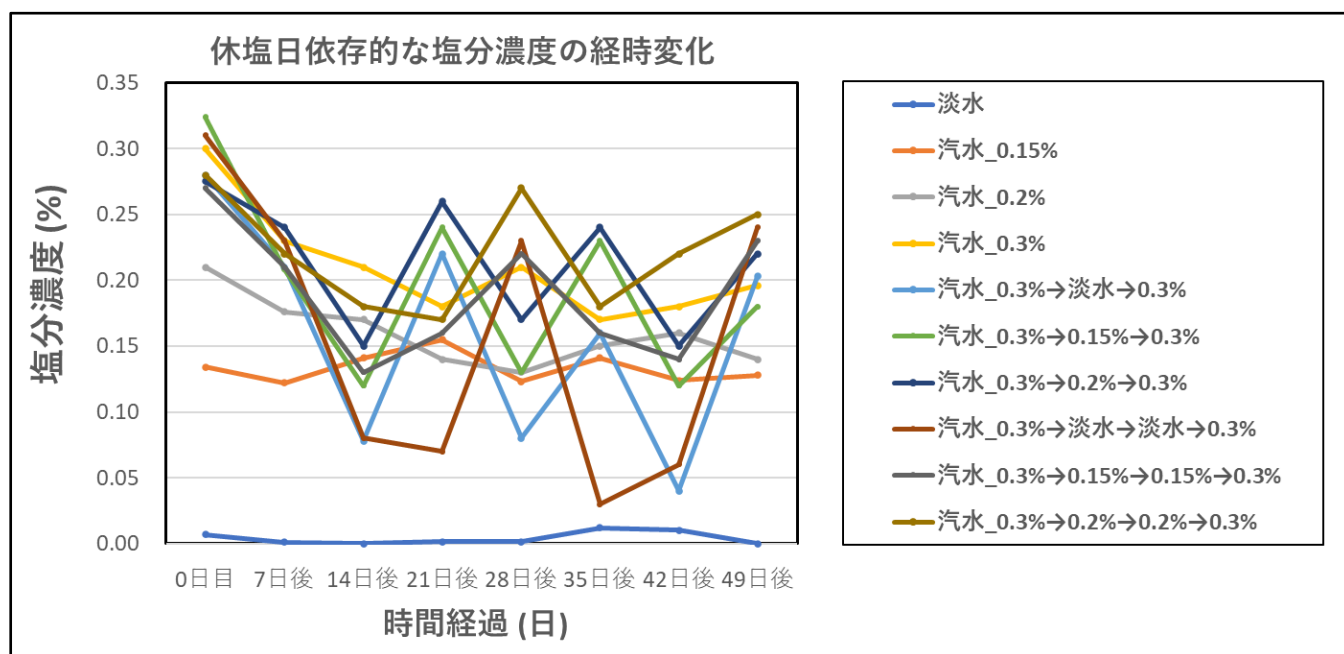
幾つかの条件の中で、**周期的な塩分濃度低下を行う“休塩日”を実施した結果、約14日周期で塩分濃度を低下させることで、長期飼育の中で体調不良が起こりにくなる** という結果が得られた。

更に、水槽の中で実際に起こっている現象の一つとして、塩分濃度が緩やかな勾配で変動できる条件が、14日間かけて塩分濃度を低下させる“休塩日”を設けた際であることが分かった。

底砂や濾材にNaが吸着されることで、ある程度塩分濃度は低下するが、時々塩分濃度をそれよりも飼育水作製の段階で低く設定して調製することで、耐塩菌などの繁殖を抑制したり、感染症を誘導したりすることを結果的に効率的に抑制できると考えられる。また、かといって淡水にしてしまうと、そのことが逆に負担をかけてしまう場合もある印象である。仮に、汽水が体質に合わない個体が混在していたとしても、このような“休塩日”を設けることで、そのような個体の負担を結果的に軽減することができるという副次的な効果も期待できる。

表: ウーパールーパーの汽水飼育時における水槽内の塩分濃度の変動

	休塩日依存的な 塩分濃度 (%) の経時変化							
day	0日目	7日後	14日後	21日後	28日後	35日後	42日後	49日後
淡水	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00
汽水_0.15%	0.13	0.12	0.14	0.16	0.12	0.14	0.12	0.13
汽水_0.2%	0.21	0.18	0.17	0.14	0.13	0.15	0.16	0.14
汽水_0.3%	0.30	0.23	0.21	0.18	0.21	0.17	0.18	0.20
汽水_0.3%→淡水→0.3%	0.28	0.21	0.08	0.22	0.08	0.16	0.04	0.20
汽水_0.3%→0.15%→0.3%	0.32	0.21	0.12	0.24	0.13	0.23	0.12	0.18
汽水_0.3%→0.2%→0.3%	0.28	0.24	0.15	0.26	0.17	0.24	0.15	0.22
汽水_0.3%→淡水→淡水→0.3%	0.31	0.23	0.08	0.07	0.23	0.03	0.06	0.24
汽水_0.3%→0.15%→0.15%→0.3%	0.27	0.21	0.13	0.12	0.22	0.16	0.14	0.23
汽水_0.3%→0.2%→0.2%→0.3%	0.28	0.22	0.18	0.17	0.27	0.18	0.22	0.25
(20±2℃条件下), 60cm水槽 (GEX マリーナ SLIM MR600BKS), 7日毎に水替え (水替え前に測定), 生体 (約10~12cm x 5体), 床材: GEX ピュアソイル+ゼオライト, 上部フィルター (GEX AQUA FILTER デュアルクリーン), 餌: ひかりウーパールーパー小粒 x 5~10粒/匹 (2日毎)								



参考: ウーパールーパーの汽水飼育時における水槽内の塩分濃度の変動

参照 1: はるらぼ note 関連記事

- ・ ウパの水槽に棲む微生物たち https://note.com/lab_new2/n/nb8948dc23f01
- ・ ウパ飼育における濾過環境の重要性 https://note.com/lab_new2/n/n49027f4aa81a
- ・ クーラーの常時稼働について https://note.com/lab_new2/n/n05103e6b1ec8
- ・ 水温と微生物について https://note.com/lab_new2/n/na18fbf071527

参照 2: 水槽内のろ過バクテリアについて

- ・ ろ過に関する研究ーバクテリアについて【GEX Lab.より】
<https://www.gex-fp.co.jp/fish/blog/labo/product-development/gex-lab-20200501/>
- ・ 水質に関する研究ー有機物分解のメカニズム(2/2)【GEX Lab.より】
<https://www.gex-fp.co.jp/fish/blog/labo/study-case/20200429-2/>

※ 関連データ掲載先

- ・ ミネラル水によるウーパールーパーの回復・再生促進効果まとめ
https://note.com/lab_new2/n/n028ad96a7a49
- ・ 続報: ミネラル水によるウーパールーパーの回復・再生促進効果まとめ
https://note.com/lab_new2/n/nc388a68d2419
- ・ ミネ水飼育・薬浴治療後の関連遺伝子動態解析結果まとめ
<https://drive.google.com/file/d/1ZKoNExokkg6mqPkDrir29f5OEPsChIQi/view?usp=sharing>

参考文献

Susan T. Duhon. 1997. The Axolotl and its Naïve Habitat—Yesterday and Today. Axolotl Newsletter Number (Jordan Hall 407 Bloomington, IN 47405). 26. p14-17.

Cecilia Robles Mendoza. Claudia Elizabeth García Basilio. Ruth Cecilia Vanegas Pérez. 2009. Maintenance media for the axolotl *Ambystoma mexicanum* juveniles (Amphibia: Caudata). *Hidrobiológica* 19 (3): 205-210

R. Loh, BSc, BVMS, MPhil, MANZCVS, CertAqV. 2015. Common Disease Conditions in Axolotls. World Small Animal Veterinary Association World Congress Proceedings (The Fish Vet, Perth, WA, Australia).
<https://www.vin.com/apputil/content/defaultadv1.aspx?id=7259254&pid=14365&print=1>

Kristen Meiler. 2016. Effect Of Salinity On Embryonic Axolotl Development. Proceedings of The National Conference On Undergraduate Research (NCUR). University of North Carolina Asheville Asheville, North Carolina April 7-9. p1209-1219



トピック 8: アホロートルの薬浴治療

アホロートルには薬浴はご法度と言われる。しかし、はるらぼでの検討では、必ずしもその通りでは無いという結果が得られている。基本的に当ラボが用いているのは、日本動物薬品株式会社様 http://www.jpnd.com/n_jpd/product/yakuhin.html

から販売されている、“グリーンFゴールド・リキッド”である。

我々の検討から、添加濃度を調整することで、生体に負担をあまりかけることなく、長期的に薬浴することが可能であることが分かっている。

2021年7月頃、当ラボの設備拡大時期において新たに導入した生体の中に、後にレッドレッグ症のような炎症の症状を示す個体があり、感染速度・進行速度が非常に早く、多くの個体が体調を崩すという事態に見舞われた。

これにより、杉山は非常に頭を悩ませ、生体に負担をかけない、かつ効果的に治療をする必要に迫られた。

先ほど出典に挙げたような記事を生物種問わず読み漁り、色々検討の結果、以下の条件ならば5-7日程度なら問題なく元気に過ごせることが分かった。ただし、あまりに疾患が悪化し、今にも亡くなりそうな個体には負担になってしまう可能性があるため、試す場合は迅速かつ慎重に行って欲しい。薬浴が負担と言われている風潮には、濃度の設定ミスによる急死や危篤状態の個体へのドメとなったような事例も含まれているのでは無いだろうか。



尚最近では、新たな個体を迎えた際は、この方法を3日以上適用することで、外部から病気が持ち込まれることの無いように注意・予防処置を施している。

治療情報 1: はるらぼ式、アホロートル用グリーンFゴールド・リキッド溶液調整

飼育時には、2.6リットルのプラスチック弁当箱に薬液を2~4滴添加・混合後に生体を移動するという運用方法をしている。

大体規定量の1/5なら、ある程度生体の体力が温存されていれば、5-7日間処置が可能。

目安としては: 10リットルの水に対して 10-12滴・約2ml 程度 → 約2.6リットルの水中に 2-4滴・約0.25-0.5ml 程度 か。

※ 規定量は、大体1/1000に薬液を希釈; 10リットルに対して、約80滴・10ml添加するので、大体上記の計算になる。

※ はるらぼにおける、約20個体への使用実績からの希釈設定になります。正確な比計算ではありませんのでご注意ください。

※ もし、著しく調子の悪い個体であれば、10リットルに対して8滴程度までは減らしても効果はあるかとは思いますが、一気に

濃度を上げずに、数日毎に少しずつ濃度を上昇させるような対応をした方が生体への負担が少しでも軽くなるかとは思われます。

※ 当ラボ所属の枝豆やみん氏から、グラム陽性菌の治療に関して一部裏取り・追加検証をしていただきました。どうやら、3~5日以上継続して治療を施した方が、あらゆる発生ステージのバクテリア(特にエロモナス菌)に対しても有効である ようである。

治療情報 2: はるらぼ式 イソジン浴 濃度調整

オキシリン酸だけでは十分な回復が見込まれない時、感染症に関する最後の手段がある。

それが**イソジン浴** (参照: <http://papakazu.blog.fc2.com/blog-entry-37.html>) である。イソジンに含まれるポビドンヨード (参照 <https://www.isodine.jp/>) による幅広い殺菌力 (参照 <https://omorimachi.com/pcr/isodine/>) を利用し、強靱な微生物達を一気にやっつけるという戦略である。



製品情報: (左画像にハイパーリンクあり)

※ ポビドンヨード詳細: <https://www.kenei-pharm.com/cms/wp-content/uploads/2018/06/0d401a0029415b60699e1b7e5f1ab8fc.pdf>

はるらぼ式イソジン浴処方

左写真の製品を 1/200 にまで希釈して使用 (生体に負担がかかるので長くても 12~24 時間の間が望ましい)。

治療情報 3: イカリムシ・ウオジラミ感染時の治療・対処法

厄介な病気の一つに、イカリムシ症およびウオジラミ症がある。これらは甲殻類 (エビ・カニ) の仲間であり、産卵から交配を水槽の中で繰り返して、寄生できそうな生体に刺さることでその体液を吸い取り成長する。それ自体はそこまで深刻ではないものの、刺された所が化膿し、細菌感染を併発するという恐ろしい弊害をもたらしてしまう。しかも、エビ・カニの仲間ということもあり、抗生物質が一切効かず駆除することが不可能である。塩水も、卵には効かないため通常はお手上げ状態である。基本的に、購入した際に保有している場合が多く、筆者も一度甚大な被害にあっている。ウーパールーパーの飼育をやめようかと思った程に戦いは壮絶を極めた。



参考 1: アホロートルに寄生したイカリムシ (A-A''; 黄点線囲み), 魚に寄生したウオジラミ (B; 黒点線囲み; 参照: チャーム様)

ウオジラミ写真引用先: https://images.shopping-charm.jp/UserArea/docs/fishdisease_rs.html



カネショウ 殺虫剤 デミリン水和剤 100G (アグロカネショウ)

組成

有効成分: ジフルベンズロン
[1-(4-クロロフェニル)-3-(2,6-ジフルオロベンゾイル)尿素] 23.5%
その他成分: 鉱物質微粉、
界面活性剤等〔PRTR・1種 ポリ(オキシエチレン)
=ノニルフェニルエーテル1.0%〕 76.5%

登録番号: 第16864号
性状: 類白色水和性粉末63 μ m以下

参考 2: イカリムシ・ウオジラミ等、甲殻類系の寄生虫に有効な治療薬の例 (デミリン水和剤)

これらの確実な駆除には、デミリンという農薬にも用いられる薬品が有効である。一般に入手可能であるが、粉塵が舞うため、水に混ぜる際に吸気などをしないように注意をして欲しい。

このデミリンの粉末は水には溶けないため、あらかじめ水に混ぜ、希釈したものを何段階かに分けて希釈すると良い。
1000 倍希釈であり、かなり薄い濃度でも効果が見られる。家庭用の電子天秤等で秤量後、何段階か希釈すると効率的である。
ミネ水と併用し、1～2 か月継続すれば、ほぼ再発の可能性は無い。不安であれば 3～4 か月継続すると良いかも。
ただし、体調を崩した個体に関しては、デミリンを除去した環境へとなるべく早く移動させる点に注意。

参考 1: TOKYO_AQUA_GARDEN 様 >コラム・アクアリウムのすべて>金魚の寄生虫と対処法！

種類と対策を解説！季節の変わり目は特に注意！ https://t-aquagarden.com/column/goldfish_parasite

参考 2: 川合観賞魚へようこそ_錦鯉、金魚、熱帯魚の病気の治療法:

<http://www.katch.ne.jp/~koikawai/help.htm>

参考 3: <http://farmer803.blog.fc2.com/blog-entry-587.html>



参考 3: 治療したアホロートル×2匹の経過観察 (約 1 ヶ月)

治療の流れ: イカリムシの外科的除去 (目視で除去できる限り; 左側写真) → 0.5% 塩浴 + 1/5000 オキシリン酸薬浴 (約 12 時間) → ミネ水 (0.2% 汽水) 飼育 約 1 ヶ月 (右側写真) → 1 匹は完治。炎症と衰弱が酷いもう 1 個体は外科的除去から 8 日後に死亡。

治療当時の記録 (一部抜粋; 2020 年 1 月頃～)

20/1/12 二匹のウパのイカリムシ症が発覚。治療しなければ。。。

20/1/21 ピンセットでとつてもすぐに再発してしまう。これは以前に拝見したデミリンを試してみよう!

20/1/28 デミリンが届いたので、さっそく入れてみました!

比率としては、1000 リットルに 1g (つまり 1000 倍希釈) らしいので、かなり薄くても効きますね...

水槽が 20 から 30 リットル程度なので 0.02g 入れるべきですが、精密な秤が無いので 2g の粉を 100 倍に予め希釈し、この希釈液を 2g 水槽に入れました。

デミリンの 100 倍希釈液 2g は 大体小さじ 1 杯分が目安(らしい)。水槽に活性炭入りフィルターが入ってるけど、フィルターの中も効いて欲しいのと、マイルドに効いてほしいのでそのまま行きます!

20/2/3

デミリン投与から約 6 日目。イカリムシが駆除し切れない。薬剤が活性炭フィルターに吸着されたことが原因と考えられる。そこで、半分水替え後、フィルターを外してからデミリン再投与! ソイルと水替だけで、どうにか持ちこたえてもらおう。

20/2/9

飼育の近況です。最善を尽くしましたが、イカリムシ寄生部の感染症のためか、炎症が酷かった方が亡くなりました。二匹の内、もう一匹は時間経過の末、無事に一命をとりとめました (デミリン処置は 1 ヶ月継続)。

20/2/5～20/3/21

イカリムシの外科的治療痕の早期回復・感染症予防のため、過去の文献・論文等を頼りに、**塩水飼育 (ハルトフレーターズ塩飼育)** を模した手法; **0.15% 汽水飼育*** をデミリン治療と併せて試してみました。常時塩浴の効果があったためか、傷の治りも早く、炎症もすぐに収まりました。この操作に関しては、以下の文献 1-3 が主な参考になっています。メキシコサンショウウオの生息地が汽水環境であった可能性も報告があるので、ダメ元で試した結果、無事に回復して本当によかった。。。“ウパが薬に弱い” というのも眉唾なのかも?

文献 1: Susan T. Duhon. 1997. The Axolotl and its Naïve Habitat—Yesterday and Today. Axolotl Newsletter Number (Jordan Hall 407 Bloomington, IN 47405). 26. p14-17.

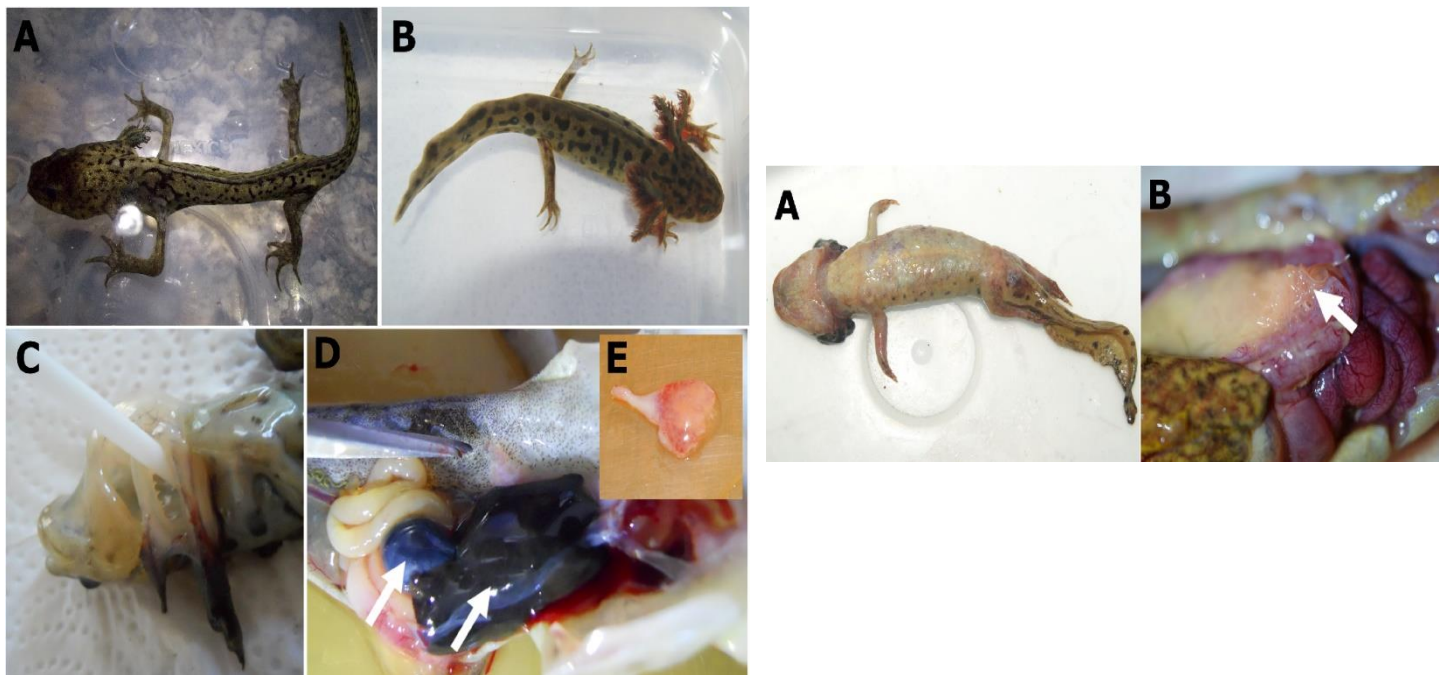
文献 2: Cecilia Robles Mendoza. Claudia Elizabeth García Basilio. Ruth Cecilia Vanegas Pérez. 2009. Maintenance media for the axolotl *Ambystoma mexicanum* juveniles (Amphibia: Caudata). *Hidrobiológica* 19 (3): 205-210

文献 3: R. Loh, BSc, BVMS, MPhil, MANZCVS, CertAqV. 2015. Common Disease Conditions in Axolotls. World Small Animal Veterinary Association World Congress Proceedings (The Fish Vet, Perth, WA, Australia). <https://www.vin.com/apputil/content/defaultadv1.aspx?id=7259254&pid=14365&print=1>

* これが、後日、“はるらぼ” と “ミネ水” 誕生のきっかけとなっていきます。

【注意喚起！ 線虫類寄生の危険性について】 22/11/1

以前の記事で、ウーパールーパーの“痩せる”症状の原因として細菌感染を取り上げたが、線虫 (*Hedruris*) のような寄生虫が原因となってしまう場合がある。ミズミズのように無害な品種も存在するが、一部は生体に寄生し、疾患や死亡の原因となってしまうため注意が必要である。以下の参考文献[1] などに取り上げられているのは *Hedruris siredonis* という線虫の一種 (全体像; 参考文献[4]) であり、体内で卵が孵化し、宿主の腸管に棲みついてイカリムシのように組織に噛みつき、体液を吸いつつその傷口から感染症を引き起こしてしまうとのことである。同様の、魚類・両生類に寄生する線虫類の報告が上がっており、淡水魚に感染する線虫の仲間 (文献[6]) や、カエル類に寄生する仲間 (文献[7]) などの報告も見られている。危険な線虫類の一例として、カマラヌスという吸血線虫の仲間も知られており、これらが発生して痩せた個体が多く確認された場合は、水槽をリセットする または 廃棄する処置を行った方が良いとも言われている。(文献[8])



参照: *Hedruris siredonis* に寄生されたアホロートル [1; A] および 体内潜伏の様子 [1; D, E]



参照: *Hedruris siredonis* の全体像 [4] および 各器官の拡大図 [5]

参考文献

- 1) C. Michaels 他 (2016); **Environmental Science**> Fatal parasitosis caused by *Hedruris siredonis* (Nematoda) Baird, 1858 in the Alchichica salamander *Ambystoma taylori* Brandon, Maruska and Rumph 1982 <https://www.semanticscholar.org/paper/Fatal-parasitosis-caused-by-Hedruris-siredonis-1858-Michaels-D%C3%ADaz/5cd7fcf603ea085e153b29cf91bc782f716eb127>
- 2) *Hedruris siredonis*-1 https://www.google.com/search?q=Hedruris+siredonis&rlz=1C1QABZ_jaJP919JP919&sxsrf=ALiCzsbaw5aRh0IjcgBR3XENkJP9kkUzBQ:1668692469089&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=2ahUKEwjK2e_uq7X7AhVIM94KHWgPAboQ_AUoAXoECAIQAw&biw=1707&bih=812&dpr=1.13#imgrc=PzmHUFuNXH2-mM
- 3) *Hedruris siredonis*-2 https://eol.org/pages/1019571/articles?locale_code=show_all
- 4) *Hedruris siredonis*-3 <https://www.wikidata.org/wiki/Q83371513>
- 5) *Hedruris siredonis*-4 https://www.researchgate.net/publication/309570665_A_new_species_of_Hedruris_Nitzsch_1821_Nematoda_Hedruridae_parasitic_in_the_freshwater_fish_Oligosarcus_jenynsii_Gunther_1864_Characidae_from_Argentina
- 6) 嶋津 武 (1998). 日本産淡水魚類の線虫類:総説 * 長野県短期大学紀要第 53 号
1－19 頁 1998 年 12 月 Journal of Nagano Prefectural College, No. 53, pp. 1－19, December
https://u-nagano.repo.nii.ac.jp/?action=repository_action_common_download&item_id=289&item_no=1&attribute_id=22&file_no=1
- 7) 浅川 満彦 (2007). 日本産カエル類に寄生する線虫類の保全医学的なコメント
酪農学園大学紀要 別刷 第 31 巻 第 2 号
https://rakuno.repo.nii.ac.jp/?action=repository_action_common_download&item_id=4519&item_no=1&attribute_id=21&file_no=1
- 8) トロピカ様 HP> 熱帯魚につく寄生虫の種類と治療方法 <https://tropica.jp/2018/03/04/12402/>

治療報告 1: ともちん様

【ウーパールーパーの状態】

リューススティック黒目をホームセンターで購入。4 cmほどで後ろ足が生えかけていた。前足の指先に黒っぽい綿埃のような汚れが付着している。

【飼育方法】

5ℓの発泡容器で全換水。水温、20℃前後。毎回、容器にヌルヌルした汚れあるためスポンジで擦り洗う。

【薬浴に至った経緯】

餌は朝に赤虫 3 本程度。排便は毎日出ていたがぶかぶか病になり、腹を上にして浮かんでしまう。32 cm 水槽、ファンを使用して水温を 20℃～17℃にする。

ぶかぶか病は改善されたが足の粘膜の汚れや水槽内に白い汚れが多く見られる。

はるさんに相談したところ、薬浴を勧められる。

【薬浴方法】

参考: はるらぼ式、アホロートル用グリーン F・リキッド(以下、薬)溶液調整

ダイソーの密閉容器、2.6 リットルにウーパールーパーと共に塩水 0.3%(以下、ミネ水)の飼育水を入れる。

飼育水を 100ml ほどカップに取り、薬を 2 滴入れて30分おき 4 回に分けて投入。

水換えは毎日、同じ容器・組成のものを用意して、網などで移動させる。

【薬浴の実施】

6/9 〈薬浴 1 日目〉

塩水 0.3%へ。夕方から薬浴開始。

6/10 〈薬浴 2 日目〉

ウパの様子は、いつもよりじっとしている。朝の赤虫は食欲旺盛。排便あり。夕方、こちらに寄ってくる様子がないので夕分のペレットは与えず。

指先の粘膜の汚れの部分がかさぶたのように黒っぽく変化している。水の沈澱汚れもない。

6/11 〈薬浴 3 日目〉

指先の汚れはほとんど無くなっている。後ろ足に僅かに残っている程度。朝の赤虫、食欲旺盛、排便あり、元気に泳ぐ姿が見られる。

夕分のペレット 2 粒与える。

はるさんに薬浴終了のタイミングについてアドバイスをいただく。

6/12 〈薬浴 4 日目(最終日)〉

指先の汚れなくなったため朝の水替え時より薬浴終了。

食欲、排便共に異常なし。元気に泳いでいる。

6/13 〈薬浴終了後〜〉

水底の粘膜汚れがなくなっている。食欲、排便ともに良好。

【まとめ】

はるらぼ式の薬浴方法により購入時から起きていた粘膜異常(水カビ?)が改善された。体内にまだ菌が潜伏しているとすれば免疫低下やストレスにより再発する可能性もあるため、今後も粘膜の汚れやぷかぷか病などの異常があれば早めに薬浴を行う。成長に合わせて薬の濃度も上げていく必要性もあるかもしれない。

【オマケ】

以降もミネ水、砂利を使用した飼育を行う。水質悪化防止やストレス軽減のため水草も使用してみる。水草に関しては pH、硬度、水温、光量に注意して育成する。

治療報告 2: 武庫川女子大学薬学部_吉田 綾香 様(ph.D 薬学)



ウーパールーパー ブラック(ひじき)

2021 年 4 月 孵化

体長 17cm(2022 年 4 月時点)

----飼育環境(発病時)----

40cm 水槽、単独飼育

スリムフィルター(活性炭フィルター1 + バクテリアフィルター1)

ソイルなし

週に一回の換水とフィルター清掃

餌: ウーパールーパーの主食、冷凍赤虫

<2022 年 1 月 19 日>



生まれつき右手・右足に奇形あり。

この時は左右のエラサイズに違いはない。

<2022 年 3 月 1 日>



左右のエラの成長サイズに違いが出始める。
保持姿勢や遊泳姿勢に異常なし。

<2022 年 4 月 7 日>



餌を食べなくなる。

強制的に給餌しても吐き出す。

上半身の保持ができなくなる。遊泳時に傾く。

※数日前に、紫色のカビのようなものが水槽の底に生えていた

対処: 毎日換水し、絶食を始める。

<2022 年 4 月 11 日>



絶食 3 日目。全身の姿勢保持ができなくなる。
排泄あり。

対処：絶食・換水を継続。

<2022 年 4 月 13 日>



安静時も姿勢保持ができない。
時折、発作のように水槽中をのたうちまわる。
上半身の保持ができず、呼吸時に顎が動く。

対処: 絶食・換水を継続。

<2022 年 4 月 14 日>



全身に力がなく、依然として鰓呼吸。
グリーンFゴールドリキッドを購入。
対処:フィルターを撤去し、換水、薬浴を開始。
絶食は継続

----薬浴スケジュール----

4/14: 1/20 を添加。

4/15: 換水して 1/15 を添加。

4/16: 換水して 1/10 を添加。5 日間継続

<2022 年 4 月 15 日>



薬浴 2 日目。
上半身の保持ができるようになった。
若干の鰓呼吸。

対処:スケジュール通り薬浴を継続。

<2022 年 4 月 20 日>



薬浴 7 日目。
全身の姿勢保持が正常になる。
自発的に餌を食べることができるようになった。
呼吸も正常になる。

対処:薬浴終了。毎日 1/3 換水を続ける。

<2022 年 5 月 10 日>



エラの左右差が目立たなくなってきた。
食欲・呼吸・姿勢に異常なし。



治療報告 3: みかんかん DX 様

8/24 購入 大きさ約 8cm 黒

8/26 ふかふか病かも？と気付く

8/27 汽水飼育開始→ふかふかには効果なし 左側を上にして体をくの字に曲げて水面に浮いていたり、ひっくり返っていたり。

9/11 薬(グリーンFゴールドリキッド)による治療開始 既定(水 5l に対し 5ml)の 1/5(水 5l に対し 1ml)の濃度

9/12 早速効果が出る。明らかに浮くスピードが遅くなっている。まだしっぽの方から浮き上がるが、横倒しにはならなくなる。
1/5 濃度で治療継続。



9/13 ほぼ浮かなくなる。時々尻が浮いている感じはあるものの、ウーパールーパー本来？(先住リュースと似たような)動き方になる。1/5 濃度で治療継続



9/14 治療終了。汽水で飼育。

9/15 今のところ異常は見られず。

餌

8/24-9/11 3-4 日に1度冷凍赤虫を5-10匹程度。

9/12- 毎日冷凍赤虫を1/4キューブ程度

いずれも完食。食欲あり。治療前は食べた後に浮きが大きくなる感じが見られた。

水換え

8/24-26 毎日10l(水道水にカルキ抜きをいれたもの)全交換

8/27-9/10 毎日5lずつ(水道水にカルキ抜きと塩を入れたもの)交換。ヌルヌルが酷くなったら全交換。途中でろ過装置(GEX サイレントフロー)を付ける。

9/11-13 毎日5l薬浴。全交換

9/14- 汽水。毎日3リットル交換。様子見中。

治療報告 4: 黎羅 様

引っ越し前の状態 (健康な個体)。



22/4/2 これまで実家で飼育していたが、別の場所へ引っ越し。

引っ越した事によるストレスからか、食欲がいまいちな状況が続く。エラが短くなる。



22/4/19 夜、嘔吐

はるラボの杉山遥さんへ相談→汽水飼育を教えて頂く。また、石を吐き出そうとしてるのではないかとということで、もともと敷いていた砂利をもっと粒が小さい砂利にすることに。体調を考慮してしばらくの間断食。



22/4/29 塩タブレットを使用して汽水飼育開始。砂利を大磯砂細目に変更。



22/5/7 汽水飼育にしてから初めての水替え・餌やりを実施した。
餌はアカムシの食いつきはよかったが人工餌はいまいち。

22/5/23 引っ越し前と比べると量は少ないが、人工餌も食べるようになる。



22/5/29 引っ越し前と同量の人工餌を食べれるようになった。

排便するようになる。体調が回復してきたようだ。



22/6/19 粗塩を使用して 0.3%での汽水飼育開始

食欲が増し、さらに人工餌を食べてくれるようになった。エラも長くフサフサになる。体調完全回復。



ウーパールーパーの水カビ病治療記録

2022/09/24 枝豆やみん

1. 記録の目的

飼育中のウーパールーパーにおいて、ろ過システムの不備が原因と推測される水カビ病の発生が観察された。その際、粘液の付着か水カビ病かの判別に始まり、治療方法の検討に非常に難儀した。

水棲の生体にとっては比較的メジャーな病気であるがウーパールーパーについては詳しい治療法や判別方法を見つけることが難しく、今後も同様のケースが発生することが考えられるため記録を残す。

2. 水カビ病の目視による判別

飼育下のウーパールーパーは外鰓に水カビ病を患った。当初は繊維質を目視できず、半日程度の時間をおいて組織の発達を待ち、患部の拡大、及び末端の繊維質を確認したことで水カビ病と断定した。
(詳細は 3.治療の時系列を参照)

3. 治療の時系列

2022/08/20 17:30 頃

左の外鰓、2 番目の末端にワタ上の物体を確認。(Fig.1)

同日 24 時頃までに外傷による粘液分泌か水カビ病か判断がつかなかった為様子見。



Fig.1 発症当初に確認した患部

外鰓の形が僅かながら残っているのが確認できる

2022/08/21 08:30 頃

ワタの拡大及び半透明のモヤを確認。(Fig.2) 末端に繊維質も観察でき、水カビ病と断定。



Fig.2 発症翌日の様子

前日と比べ、半日程度で大きく拡大しているのがわかる

同日 10:00 頃

水温管理の為飼育水槽に 4L のプラケースを浮かべ、グリーン F リキッド(Fig.3)を規定量 (10mL/12L)の 1/3(約 1ml)を投与し、経過を観察。(Fig.4) 薬浴中は絶食とした。



Fig.3 グリーン F リキッド

(日本動物薬品 株式会社 http://www.jpnd.com/n_jpd/product/yakuhin.html より引用)

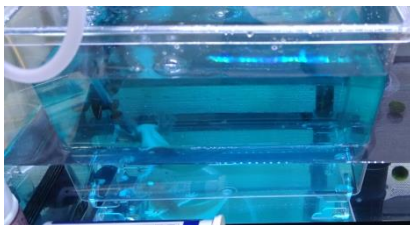


Fig.4 飼育水槽内に浮かべたプラケース

規定量 1/3 のグリーン F リキッド投与の為薄い青に染まっている。エアレーションも行っている

また水温はゼンスイ社製クーラーZC-100 α で 22℃に設定した。20 年余りの熱帯魚飼育においてこれまでの飼育水温であった 21℃以下では水カビの進行が早く、逆に 25℃以上で遅くなる経験があった為だが、急激な設定水温の変更は治療中に余計なストレスを与える為少ない水温変化とした。

同時に濾過槽の洗浄を実施。詳細は 4.推定される原因を参照。

同日 13:30 頃

プラケース内で排泄した為スポンジで糞を吸い出したところ患部のワタが剥離。(Fig.5)



Fig.5 剥離したワタ

外縁部に繊維質が見られ、色に濃淡がある。患部から綺麗に剥がれ、残りも無かった。

同日 16:00 頃

数時間おいてワタの再発、再拡大も見られなかった(Fig.6)為薬剤の濃度を規定量の 1/6 に変更。



Fig.6 ワタが剥離した後の患部

外鰓が患部のみ消失していることがわかる

2022/08/22～23

再発も見られない為薬剤を日ごとに薄めていく。水カビ病の発生は外傷による場合であることも考慮し、他の細菌性、真菌性の予防を兼ねて 72 時間以上の薬浴を実施した。

2022/08/24

薬浴を終了し、リセット済みの飼育環境へ生体を戻した。(Fig.7)

その後1カ月経過した09/24現在も再発はしておらず、薬浴での水カビ病治療は成功したと考える。



Fig.7 飼育環境へ戻したウーパールーパー

余談

代表的なエロモナスやウーディニウムを含め、体表に作用する原因菌は3～7日のサイクルで世代交代しているとアクアリウムの飼育界隈で言われており、詳細な記録はないものの薬浴=1週間が一般化している。このことから個人的に浮遊性で未発症の病気を予防する場合は最低3日程度のトリートメントが良いと考えている。

4. 推定される原因

本生体は 2022/07/18 に体長 8cm 程度で導入し、飼育環境は低硬度の純淡水、水温はゼンスイ社製 ZC-100 α 及びヒーターにて水温 $20\pm 1^{\circ}\text{C}$ で設定していた。餌は朝晩 2 回、キョーリン社 ひかり ウーパールーパー小粒を 3〜5 粒、キョーリン社 クリーン赤虫を冷水で解凍し 1/4 程度の一口サイズに再冷凍したものをピンセットで与えている。水換えはテトラ社 6in1 で計測した栄養塩の結果から頻度と水量を調整し、概ね週に一度、10〜20L 程度である。濾過システムはオーバーフローを採用しており、ろ材容量は 10L 程度、主にカミハタ社 バイオボールを用いている。

水カビ病発生時にリセットした濾過槽(Fig.8)から、水カビに覆われた赤虫 1 本が見つかった。直前に濾過槽のデトリタス吸い出しを行っており、これにより巻き上げられた水カビの破片が飼育水槽内に流入、生体に付着したことが主原因と推測される。また前述の通り水カビは 21°C 以下の低水温で進行が早くなると考えられ、クーラーにより 20°C 前後に維持されていたことも一因と考えられる。

これらのことから、再発防止策として①設定水温を 22°C に変更、②オーバーフローの排水パイプに園芸用ネットを設置し濾過槽への赤虫落下を防ぎ、対策とした。



Fig.8 リセットした濾過槽

右の排水パイプの直後から赤虫が見つかった

5. まとめ

いざ治療しようとするネット情報の多くが「ウーパールーパーに薬浴は厳禁」としていることが多く、検索上位に来るのはまとめサイトばかりで意図的に治療法を明記することを避けているかのようなものばかりであった。私個人の経験上、薬浴は短期決戦、徐々に薬剤濃度を上げるより一発目で効かせて抜いていく方が治療の成功率(≒生体の生存率)が高かったことから同様の手法を採ったが、塩浴、薬浴どちらも具体的な濃度を記している記録がなかなか無かったことに加え、両生類での治療は初めてであった為ワタが落ちるまで不安が絶えなかったことを覚えている。

この記録が役に立たないに越したことはないが、万が一の際に参考になれば幸いである。

＜ウーパールーパー研究報告＞ (23/2/25)

濾過環境の仕組みと pH や水質の維持, 濾材の重要性

関連 Note 記事: https://note.com/lab_new2/n/nef2cee869027

著: 杉山 遥 (Ph.D)^{1*,**}; 萩原 和晃 (牡蠣殻 pH 調査)^{1***}; 枝豆 やみん (一部監修)^{1***}; りん (pH 情報提供)^{***}

所属: ¹ウーパールーパー研究室はらば

詳細: *主任研究者 **責任著者 ***data 提供者

皆様、飼育環境には気をつけていますか？

当ラボの調査結果としては、硬水・汽水環境(ミネ水※)+強いフィルター過の構成が好ましいと報告してきました。
また、週一程度の頻度で水換え、月1のフィルター掃除をするとより一層安心であるとも、一部お伝えしてきました。

世話が行き届かないと、ともすれば以下の過去記事のような惨事になり得ます…。

分析は不十分ですが、トラブルの原因として色々な可能性が挙げられました。

Note 過去記事: https://note.com/lab_new2/n/nc8d6f2b09b8d

ウーパールーパーの飼育水槽における苔発生との格闘 2022 年 7 月 15 日

そんなこんなで、今回は、幾つかの飼育相談や治療相談から見てきた、ウーパールーパーの飼育個体が体調を崩しやすい条件と原因について、今回は簡単に紹介していきます！ さて、皆様の飼育環境はいかがでしょうか…？

1. 水槽に関する各用語のおさらい [1-27]

今回の報告を読むに当たって、水質に関する用語についておさらいしましょう。

pH・・・Potential Hydrogen. 水素イオン指数。

水溶液にどれだけの割合で水素イオンが電離しているか (溶けているか) を示す値。

pH は 0~14 の数値で表され、pH7 を中性とし、7 より小さい場合は酸性、大きい場合はアルカリ性となる。

※ 水槽内の pH が減少するのは、生息している微生物の酸性する有機酸や硝化バクテリア類の出す亜硝酸塩や硝酸塩が増大することに起因する。

逆に pH の上昇は水中のアンモニア量や水中に含まれるミネラル量 (硬度) の増大に起因する。

※ 水中が酸性に傾いている時、水素イオン (H⁺) が発生するため pH が高くなり、生体の食べ残しや糞等の有機物から産生されるアンモニア (NH₃) がアンモニウムイオン (NH₄⁺) となり水に溶解するようになる。[10]
一方で、水中がアルカリ性に傾いている時は、水中の水酸基 (OH⁻) が増大しているため、水素と水酸基が反応して水 (H₂O) を発生させる反応が起こり、アンモニウムイオンは水素イオンを放出してアンモニアとなる。

※ アンモニア自体には毒性があり、あまり水槽内に多く含まれるのは好ましくない。すなわち、水槽の pH が上昇した際に、水中に多くアンモニウムイオンが溶解しているとアンモニア量が急激増大し、生体に大きなダメージを与えてしまうので注意が必要である。

※ アンモニアが水に溶解したタイミングでは水酸基 (OH⁻) が増大し、アルカリ性 (pH 上昇) の方向へ傾く。

一方で、アンモニウムイオンは水中に溶けると水素イオン (H⁺) を発生させるため、pH は低下し酸性を示す。

※ このようなイオン化反応が水中では常に一定の平衡状態を保っており、水質がある程度一定に保持されている。



KH・・・炭酸塩硬度. アルカリ度 (水の硬度 $\div$ 溶けている金属イオンの程度) を表す指標。

飼育水に含まれるミネラルと二酸化炭素から生成される HCO_3^- を測定している。

GH・・・総硬度. カルシウムイオン(Ca^{2+}) とマグネシウムイオン(Mg^{2+})の合計量から示される値。

※ 水中のミネラルは、生体や水槽内の微生物によって常に一定量消費されているため、pH と KH, GH の増減はある程度連動している場合が多い。

硝化サイクル・・・水中に発生する有機物が分解者 (硝化バクテリア類) によって分解され、毒性が低い硝酸へと変換される一連の流れ。[4, 15]

■硝化サイクル

アンモニア (猛毒) $\rightarrow$ 亜硝酸塩 (毒性強) $\rightarrow$ 硝酸塩 (ほぼ無害)

硝化バクテリア類

- ・ アンモニア酸化バクテリア: ニトロソモナス (*Nitrosomonas europaea*) [5, 16, 17]
 $\rightarrow$ アンモニアを酸化して亜硝酸を産生する。
- ・ 亜硝酸酸化バクテリア: ニトロバクター (*Nitrobacter winogradskyi*) [14, 17]
 $\rightarrow$ 亜硝酸を酸化して硝酸を産生する。
- ・ 脱窒菌 [16, 18]
 $\rightarrow$ 有機物を利用して増殖する従属栄養細菌 かつ 通性嫌気性細菌の総称。水槽の濾材が密な所でも生息できる。好氣的 (酸素が十分に水中に溶けている) 条件下では水中の遊離酸素を利用する一方で、溶存酸素量が不足した際 (嫌気条件) は、亜硝酸イオン (NO_2^-) や硝酸イオン (NO_3^-) に結合している酸素を用いて呼吸を行う。
- ・ 脱窒: 脱窒菌類の嫌気状態の呼吸の性質を利用して、水中 (水底材に含まれる) の硝酸イオンを、亜硝酸イオンを経て窒素 (N_2) に変換する作用。水槽中でこの作用を利用することで、残留した硝酸塩を減らすことが出来る。

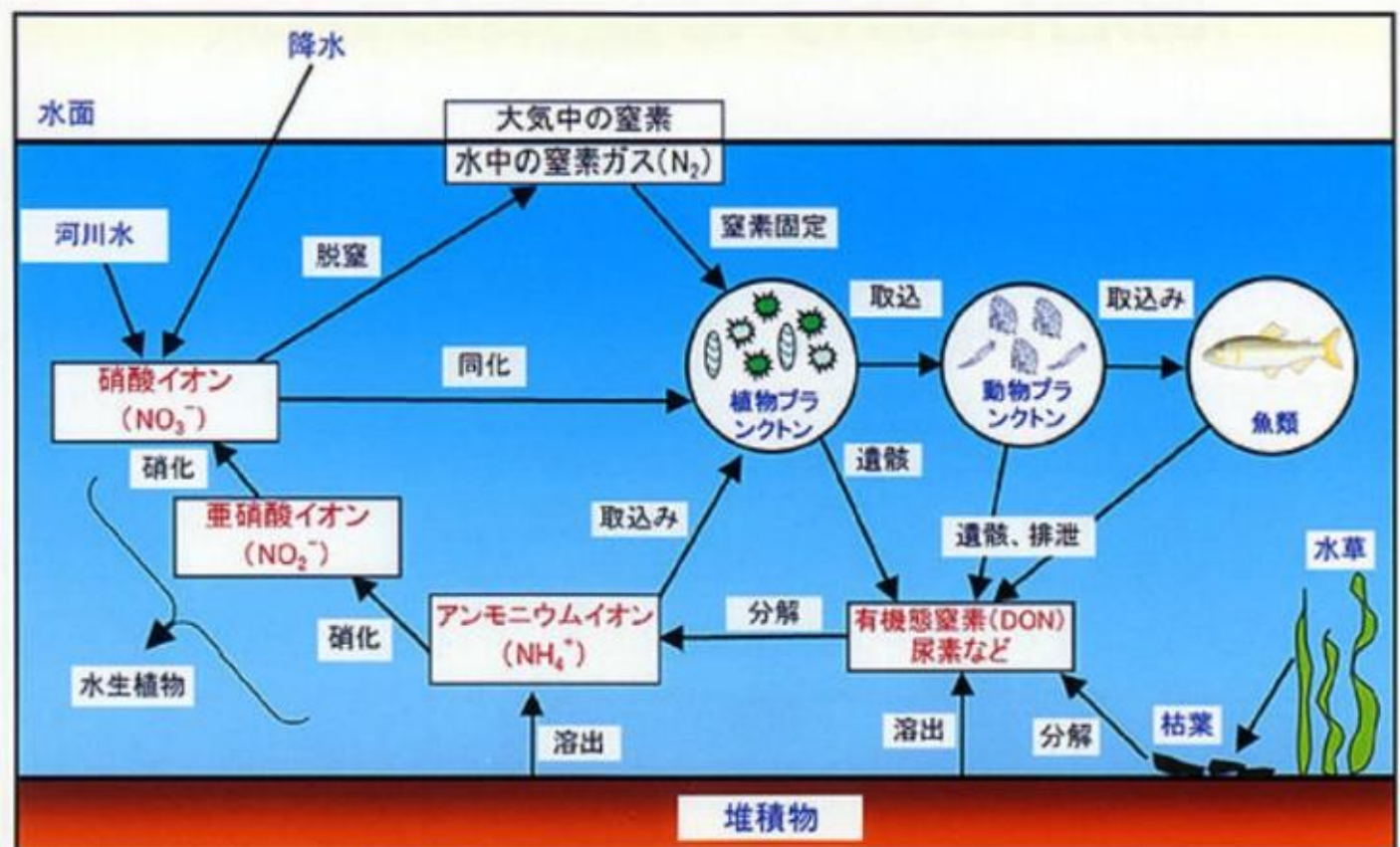


図 湖沼における窒素循環の模式図

金属イオン (濾剤や水中に含まれ、生体や濾過バクテリアの生命活動に利用される。)

・ Na^+ : ナトリウムイオン ・ K^+ : カリウムイオン ・ Ca^{2+} : カルシウムイオン ・ Mg^{2+} : マグネシウムイオン

濾材・床材(多孔子)・・・[11, 13]

濾材表面の孔子の中で、前述の濾過バクテリア類が生息し、窒素源の濾過を行う。

また、無機成分がごく少量水中へと溶出し、水のミネラル含有率≒硬度 (KH, GH) を少し上昇させる作用を持つ。

・ゼオライト (沸石; 化学式 $\text{Mn}+1/n(\text{AlO}_2)-(\text{SiO}_2)_x \cdot y\text{H}_2\text{O}$)

規則的なチャンネル(管状細孔)とキャビティ(空洞)を有する剛直な陰イオン性の骨格からなるアルカリまたはアルカリ土類金属を含む含水アルミノケイ酸塩類全般を指す。以下の優先順位で陽イオンを吸着する作用がある。

組成: (アルカリ性; 組成: ケイ素 Si、アルミニウム Al、鉄 Fe、カルシウム Ca、カリウム K、ナトリウム Na、マグネシウム Mg、マンガン Mn)

■陽イオン交換優先順位 (ゼオライト)

$\text{Cs} \rightarrow \text{Rb} \rightarrow \text{K} \rightarrow \text{NH}_4 \rightarrow \text{Ba} \rightarrow \text{Sr} \rightarrow \text{Na} \rightarrow \text{Ca} \rightarrow \text{Fe} \rightarrow \text{Al} \rightarrow \text{Mg} \rightarrow \text{Li}$

交換優先順位からナトリウム (Na) よりも、アンモニウムイオン (NH_4) を優先的に吸着することが分かります。

・ソイル (黒土, 赤土)

- 黒土: 弱酸性の土壌。

組成: 火山灰 (ケイ素 Si, アルミニウム Al など) + 枯れた植物 (タンパク質, 炭水化物, 脂質, 葉緑素に含まれる ヨウ素 I)

- 赤土: 弱酸性～弱アルカリ性の土壌。

組成: 火山灰 (塩素イオン Cl^- , 硝酸イオン, 亜硝酸イオン, 硫酸イオン SO_4^{2-} , 重炭酸イオン HCO_3^- , アンモニウムイオン NH_4^+ , 鉄 Fe、カルシウム Ca、カリウム K、ナトリウム Na、マグネシウム Mg)

・セラミック製リング濾材; 表面に多くの孔子があり、濾過バクテリアや汚れの吸着効果等を持つ濾材 (例は右下)。

セラミックス: 非金属・無機固体材料全般 (いわゆる陶磁器などの焼き物もセラミックスに含まれる) [20]

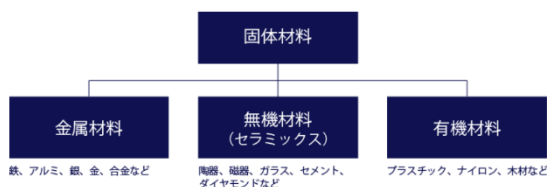
・牡蠣殻・貝殻; 主成分は炭酸カルシウム (CaCO_3) [21]

作用: セラミック同様、表面に多くの孔子があり、濾過バクテリアや汚れ・無機イオンの吸着効果等を持つ。



セラミックスは非金属・無機固体材料

固体材料のうち、非金属元素からなる材料 (例: シリコンやダイヤモンド) と、金属元素と非金属元素の組合せである無機化合物材料 (酸化物、炭化物、窒化物など) がセラミックスです。



セラミックスの特徴

金属・プラスチックと比べて…

- ・硬くて強い・摩耗にくい
- ・耐熱性がある
- ・腐食に強い

組成: 90%以上が炭酸カルシウム (CaCO_3), 窒素 N_2 0.09%, リン酸 H_3PO_4 0.1%, カリウム K 0.03%, マグネシウム Mg 0.2%, 珪酸 Si 0.48%, 鉄 Fe 1,750ppm 等

・活性炭; 石炭やヤシ殻などの炭素物質を原料とし、高温でガスや薬品と反応させて作られる網目状の微細孔 (直径 $10 \sim 200 \text{\AA}$ ※ $10 \text{\AA} = 1 \text{nm}$, 壁の表面積 ($500 \sim 2500 \text{ m}^2/\text{g}$))を持つ炭素の総称。[22]

作用: 活性炭は、水道水中の塩素, アンモニア性窒素, 界面活性剤 (陰イオンを生じるタイプ), 農薬等に含有される水中の有害物質や悪臭 (臭気物質等) を吸着・除去し、水の濁りを低減させて水を透明にする。

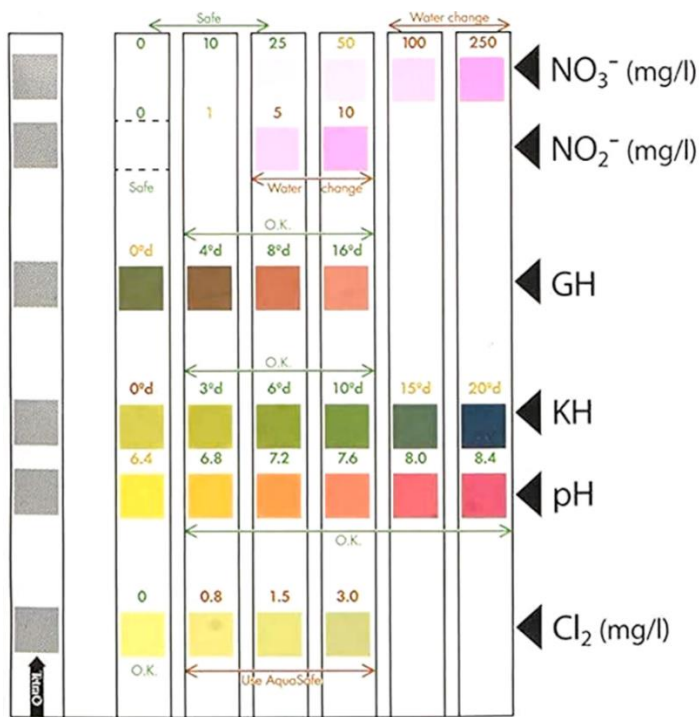
組成: 90%以上が炭素。一部の炭素は、酸素・水素との化合物となっている。また、灰分は原料固有の成分で

濾過方法・フィルター

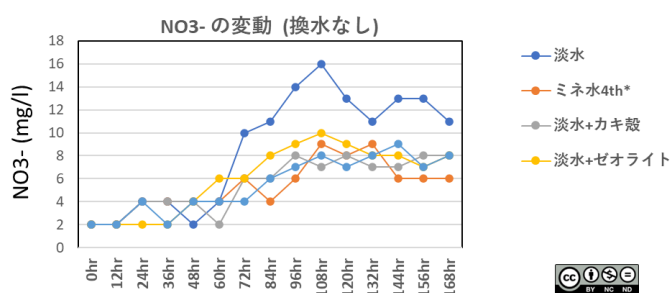
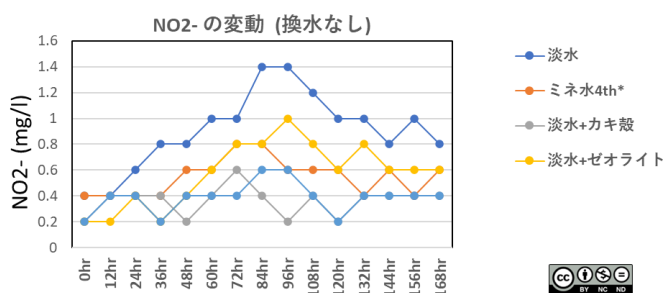
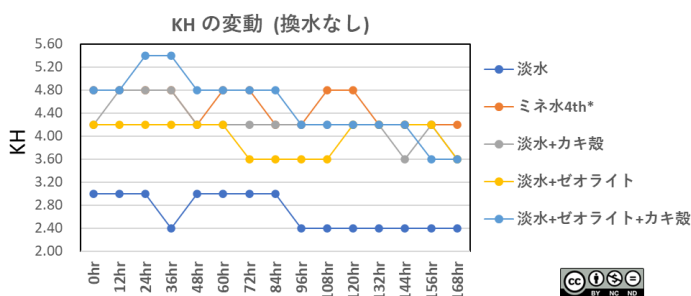
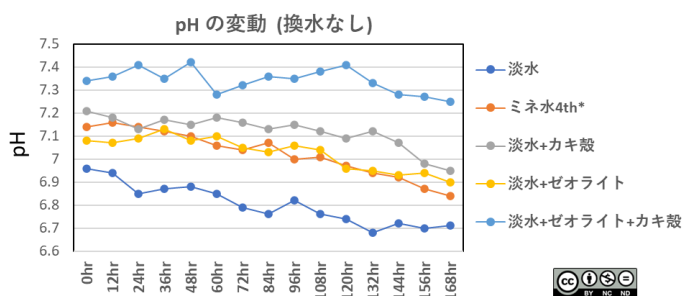
- ・ 外部フィルター: 外部のタンク状の構造の中で、物理的なフィルター濾過と生息している微生物による生物濾過を並行可能。
- ・ 上部フィルター: 上部設置型のフィルター。原理は外部式と類似であるが、濾過力は外部式と比較するとやや劣る。
- ・ 投げ込み式フィルター: 所謂ブクブク。安価で設置は楽であるが、濾過効果は限定的。ウパルパに対しては濾過不足。

はらば式の水槽構成における水質変化に関する調査結果

本項では、当ラボの推奨している飼育水槽の構成および飼育水における水質の変動について調査を行った結果について示す。
検討の結果、汽水飼育やカキ殻でも一定の pH・GH の維持効果があるが、ゼオライトと併用することでより高い効果が得られた。



	弱酸性を好む熱帯魚 代表種 ネオンテトラ・エンゼルフィッシュ・ディスカス 水温目安 24~28℃ pH 値 6~7 総硬度目安 6~8° d GH 炭酸塩硬度目安 3~4° d KH	熱帯性 弱酸性
	弱アルカリ性を好む熱帯魚 代表種 グッピー・プラティ・ソードテール 水温目安 24~28℃ pH 値 7~8 総硬度目安 8~16° d GH 炭酸塩硬度目安 6~10° d KH	熱帯性 弱アルカリ性
	弱アルカリ性を好む冷水性淡水魚 代表種 金魚・鯉・メダカ・タナゴ 水温目安 15~30℃ pH 値 7~8 総硬度目安 10~20° d GH 炭酸塩硬度目安 8~14° d KH	冷水性 弱アルカリ性
	アルカリ性を好む熱帯魚 代表種 ビーコックスリッド・フロントーサ 水温目安 24~28℃ pH 値 8.0~9.0 総硬度目安 8~18° d GH 炭酸塩硬度目安 6~12° d KH	熱帯性 アルカリ性
	アルカリ性を好む熱帯性海水魚 代表種 カクレマノミ・ルリスメダイ・ヤッコ各種 水温目安 22~26℃ pH 値 8~8.5 総硬度目安 とても高い 炭酸塩硬度目安 8~10° d KH	熱帯性 アルカリ性



参考: 水質試験紙 (テトラ 6 in 1) による飼育水槽の水質変化の調査 (右上は文献 [6-8] より引用)

調査数: N = 5 ずつ。

水替え後 12hr 後から測定開始 (水が綺麗な状態から開始)

替水無で、7 日間、上記の数値変動を測定・定量した。

" *ミネ水 4th: Na, K, Mg, Ca = 1:1:1:1 (0.3%) "

水温: 18~20℃, 水槽: GEX マリーナ 60.0cm 水槽

飼育: 生体 (12~15cm) x 2 匹

ベアタンク + 外部フィルター (GEX メガパワー6090)

2. 水槽の状態と水質管理の注意点 [12-13]

[危険な例 1]

【狭い水槽＋外掛けフィルター】

のような構成はウーパールーパーに悪い可能性が高い。

1. 濾過力が足りない
2. バクテリアが酸を出して pH が下がる or アンモニアで残り pH が上がる
3. 皮膚が特に酸にダメージを受ける
4. 細菌感染症になる
5. 気づかず放置になる
6. 免疫力が低いので手遅れに...

となる可能性が想定される。

これは、濾過力が低すぎると、生体由来の排泄物で雑菌が増えるためである。

勿論、水槽が安定していても、濾過バクテリアが酸を生み出すので、ちゃんと水換えや管理をしないと pH がまた低くなる。

この事象自体は、砂や石を入れて、カルシウム等の無機イオンを補ったりすることでもやや抑制することができる。

いわゆる KH 値（水中に溶けている炭酸カルシウムイオン；硬度の指標）の最適化という作業である。

すなわち、ちゃんとした環境であっても、水槽の管理自体が行き届いていないと生体に良くないと言える。

ろ過不足よりは多少安全・・・といった所であろうか。

[危険な例 2]

【オーバーフロー水槽の設置等の過剰なろ過をしたり、水を変えずに長期間放置した場合 ...】

濾過は促進され、濾過サイクル自体は回る

↓

しかし、濾過が進みすぎて大量の硝酸が蓄積する

↓

(pH が低くなり肌荒れ)

↓

細菌感染症になる

(濾材にいる有益なろ過バクテリアも、勿論増えすぎると免疫系に刺激になる場合も有り得る)

↓

気づかず放置になる

↓

免疫力が低いので手遅れになる

となり得ますね。

[危険な例 3]

【塩分やミネラル調整を誤った場合】

既存の添加剤やサプリには、麦飯石の粉末や塩化ナトリウム等の塩分を含む。

また、外部フィルターにも塩分がヘッドと一緒に蓄積する場合もある。

すなわち、掃除を全くしなかったり、サブリやミネラルに頼りすぎると、水の硬度や塩分濃度の過剰な上昇が起こる場合もあるかもしれないと言える。

定期的に、

- ・汽水飼育なら定期的に塩分を測定する (月 1)
- ・定期的な全替水(特に汽水の場合は週 1 回以上)
- ・定期的に塩分濃度を半分以下にする(2 週間毎)
- ・定期的なフィルター掃除 (月 1 くらい?)
- ・ヘドロの除去などする (月 1 回~2 か月に 1 回)
- ・カルキ抜きやサブリ液に塩分が含まれる場合があるので、
 - 単独で効果が強い製品とミネラル水を併用しない
 - 併用する場合は 0.2% 以下まで添加する塩分濃度を下げる

等の対処をすると、より安心かもしれない。

市販サブリの場合、(未記載でも) 希釈すると塩分が 0.05~0.1% 程度になるように調整されている場合が多いため、汽水と併用の際は 高くても 0.15~0.2% の塩の追加に留めておきたい。

余談ではあるが、過去の調査の中で、

水の硬度補助としての牡蠣殻による pH 上昇効果が、 CaCO_3 が溶出するから、というのは本当?

という疑問について調査を行ってきた。

アルカリ化で pH を上げるとされる牡蠣殻であるが勿論、粉末や断片ならば 一部 Ca が補填される可能性はあれど、一部検証の結果、pH をそこまで上昇させる程の効果は無さという結果が得られた。

石灰石単体を濾過剤として用いても pH を上昇させる効果は余り強くない。

→ すなわち、牡蠣殻の構造・凹凸のある貝殻表面の持つ吸着力も共に重要な要素である。

と考察している。

尚、以降に示す“トピックの 3”において、先程の余談にて取り上げた調査結果の詳細を紹介したいと思う。

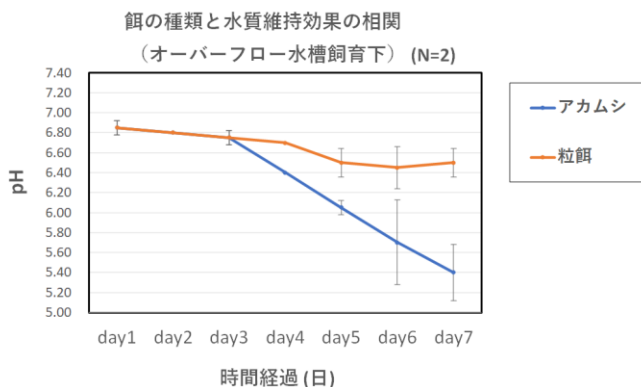
調査依頼結果: オーバーフローによる過剰濾過環境下での飼育検討

今回、当ラボメンバーである枝豆やみん氏が、汽水飼育（ミネ水）の導入と併せて、オーバーフロー濾過の条件にてウパルパの飼育を検討されており、ウパルパの飼育水槽への直接投入は基本 NG とされている生餌、特に飼育水槽への投入は基本的に非推奨であるアカムシを投入した際の水質変化を記録して下さったため、本項にて詳細したいと思う。

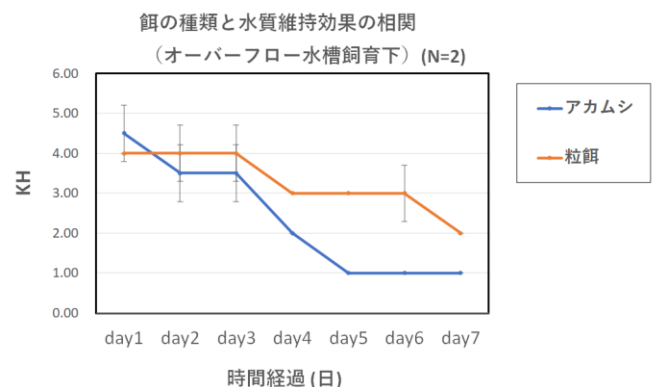
尚、検討の結果、アカムシを水槽内に直接添加後、pH や KH が数日後に急激に低下することが明らかになった。これは、オーバーフローの濾過槽内で急激な濾過を行った結果、残留した餌や糞等に含まれる有機物が急激に濾過されることで硝化サイクルが回り、飼育水中に含まれる硝酸イオンの含有量が増大したことに起因すると考えられた。水の硬度 KH に関しても、水中に含まれる無機イオンが過剰濾過と並行して顕著に消費された結果、pH の減少と並行して顕著に低下することが考えられた。pH の急激な変動が見られながらも、ヶ月の期間、無事に生体は生育しており、特に生体に悪影響は見られないとのこと。

これらの結果から、実際は pH の変動や低 pH 自体はアホロートルの生育には大きな影響を与えない可能性が示唆された。本結果や他の方々からの情報提供を踏まえ、中性付近の pH の安定化・維持がアホロートルの生育にとって必須な要素では無い可能性について、本論文の後半にて、改めて解説したいと思う。

餌の種類依存的な pH の経時変化（オーバーフロー下）								
day	day1	day2	day3	day4	day5	day6	day7	
アカムシ	6.85	6.80	6.75	6.40	6.05	5.70	5.40	
粒餌	6.85	6.80	6.75	6.70	6.50	6.45	6.50	



餌の種類依存的な KH の経時変化（オーバーフロー下）								
day	day1	day2	day3	day4	day5	day6	day7	
アカムシ	4.50	3.50	3.50	2.00	1.00	1.00	1.00	
粒餌	4.00	4.00	4.00	3.00	3.00	3.00	2.00	



参考: オーバーフローによる過剰濾過環境下における飼育水槽の水質変化の調査

(データ提供: 枝豆 やみん 研究員 Twitter @yamin_Beans)

調査数: N = 2 ずつ.

水替え後 12hr 後から測定開始 (水が綺麗な状態から開始),

替水無で、7 日間、上記の数値変動を測定・定量した。

汽水 (ミネ水) 飼育 0.25~0.30%

水温: 20~22℃, 水槽: 45.0cm スリム水槽

水換え頻度: 週 1 回

(真水で塩分濃度調整後、足し抜きで水換え)

アカムシ: ミニキューブ, 粒餌: ひかりウーパールーパー(粒)

pH 計測: Fukurow2, KH: Sera_淡水海水両用 KH テスト

飼育期間: 約 7 カ月 (約 8.0cm→約 20cm まで成長した。)

※ 汽水飼育 7 か月間にて、約 2.5 倍も成長したことが分かる。

※ 尚、水質確認時: 生体 約 20.0 cm x 1 匹 (右写真を参照)

濾過環境: オーバーフロー※ [9]

※ オーバーフロー式の濾過: フロー管と呼ばれる配管の作用により、水槽内の水位を常に一定に保つことができるろ過方式のこと。



3. 牡蠣殻やサンゴ石は、本当に炭酸カルシウム塩 HCO_3^- (KH) として pH を低下させるのか？

次に、水の硬度補助としての牡蠣殻による pH 上昇効果が、 CaCO_3 が溶出するから、というのは本当？という疑問について追究した。経緯としては、炭酸カルシウム CaCO_3 自体は水への溶解度が非常に低く、本当に通説のように水中に Ca^{2+} を溶出されるのか？ [24] という疑問が浮かび、今回の調査の実施に至っている。研究員の萩原氏を含む複数名での調査を実施した。

以下、萩原 和晃 研究員 による調査報告の結果を示す。



iBowl 5.0Pro によるpH測定

- ・微アルカリろ材
- ・石灰石
- ・牡蠣殻

測定環境



外部フィルターに各ろ材をセットし、測定を行った

微アルカリろ材



- 測定期間7日
- pH6.7→pH6.5



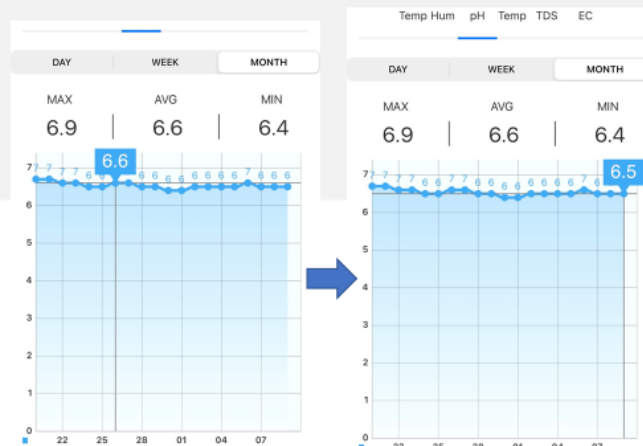
石灰石(500g)

※ セット内容のご紹介! ※



3種類セットで500gお届け!

- 測定期間14日
- pH6.6→pH6.5



牡蠣殻(50g×5袋)



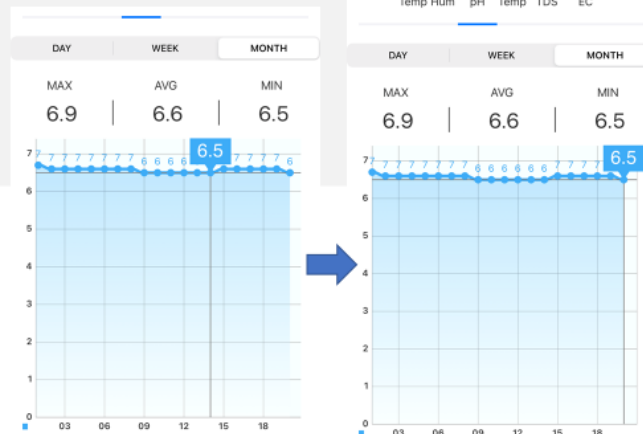
- 測定期間14日
- pH6.5→pH6.9



サンゴ石(500g)



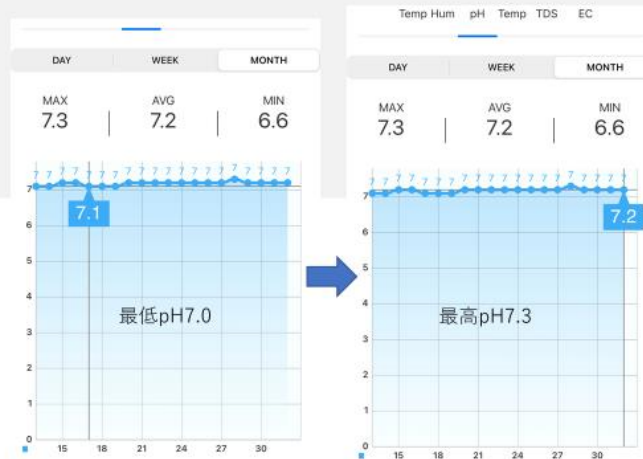
- 測定期間6日
- pH6.5→pH6.5



牡蠣殻(50g × 5袋)



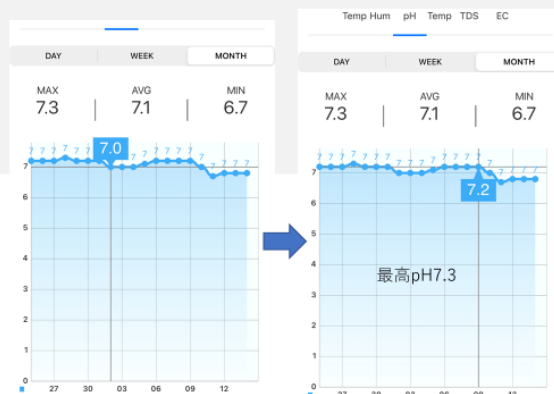
- 測定期間14日
- pH7.0→pH7.3



吸着系多機能リングろ材(700g)



- 測定期間7日
- pH7.0→pH7.3

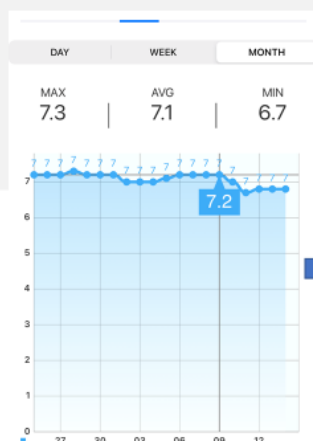


校正後

吸着系多機能リングろ材(700g)
マグロの切り落としを餌として
入れた



- 測定期間2日
- pH7.2→pH6.7



通常のタブレット状の餌ではpHは下がらなかったが、
マグロの切り落としを餌として入れた場合は明らかにpHが下がった

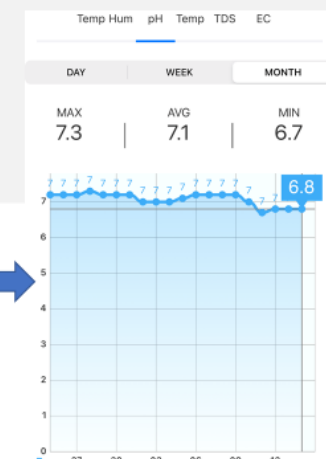
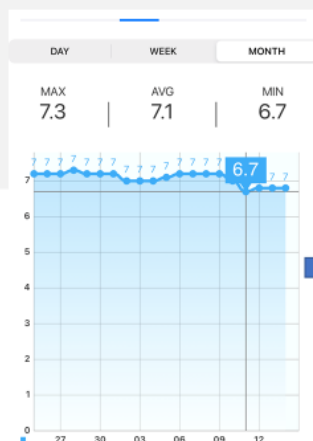
→ 枝豆 やみん 氏 のアカムシ投与の結果と類似傾向か。

校正後

吸着系多機能リングろ材(700g)
マグロの切り落としを餌として
入れた後



- 測定期間2日
- pH6.7→pH6.8



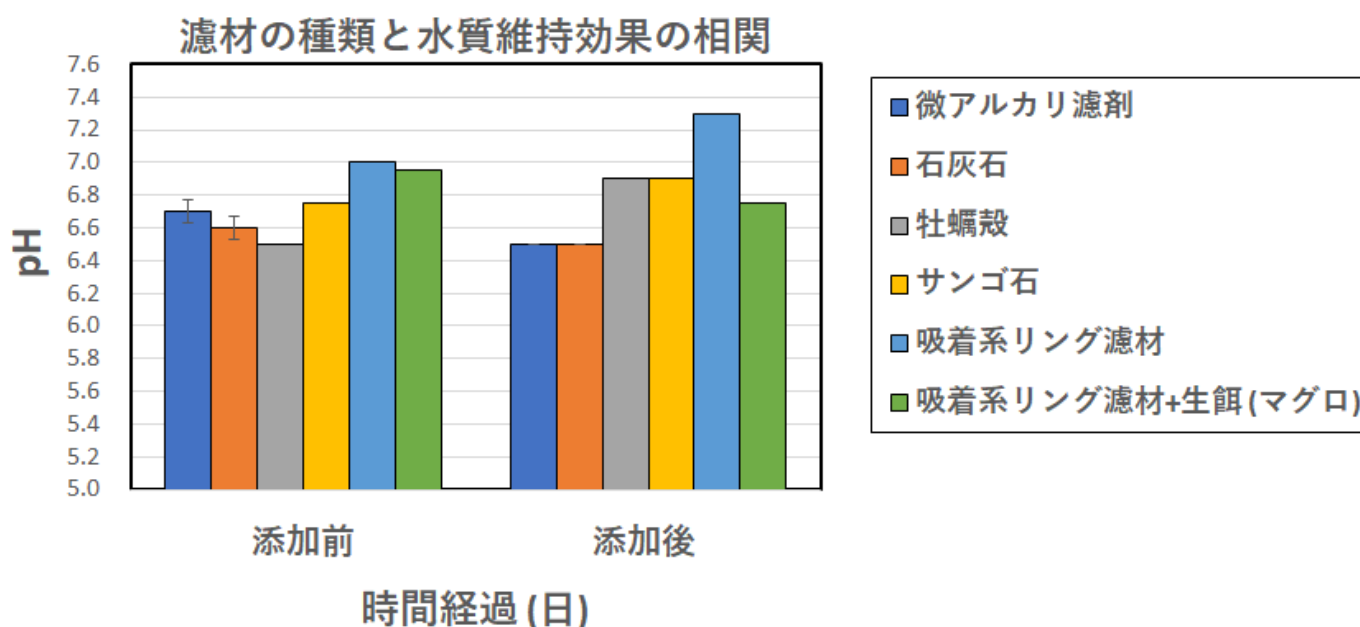
マグロの切り落としを入れた後、2日で若干改善

検討の結果、石灰石単独をフィルターへと導入した場合と、牡蠣殻を同程度の量フィルターへと導入した場合で、pH への影響が顕著に異なることが明らかとなった。

全体的な傾向として、多孔子を持つリング濾材は、添加から 7～14 日経過することで 0.2～0.4 程 pH を上昇させることから、多孔子によるアンモニア類に対する吸着効果による pH の調整効果が高いことが推察された。

こうした吸着効果は、牡蠣殻効果の産業的利用意義としても古くから捉えられており、今回比較した石灰石と組成成分が近く、水への溶解度や硬度への影響が同程度であることを想定すると、(あくまで組成が近い場合において) 貝殻の持つ多孔子による吸着効果は、石灰石の主成分である炭酸カルシウムによる水の硬度の調整効果よりも優先的に pH の調整に関与している可能性が考えられた。尚、今回の調査条件下における水の実際の硬度 (KH, GH) に関しても、再度調査することで、本調査結果・考察の再度の裏付けをする予定である。

	添加前	添加後
微アルカリ濾剤	6.7	6.5
石灰石	6.6	6.5
牡蠣殻	6.5	6.9
サンゴ石	6.8	6.9
吸着系リング濾材	7.0	7.3
吸着系リング濾材+生餌(マグロ)	7.0	6.8



参考: 萩原 研究員による濾材と水質維持効果に関する調査結果まとめ

4. アホロートルの水温と pH は、本当にアホロートルに重要なのか？

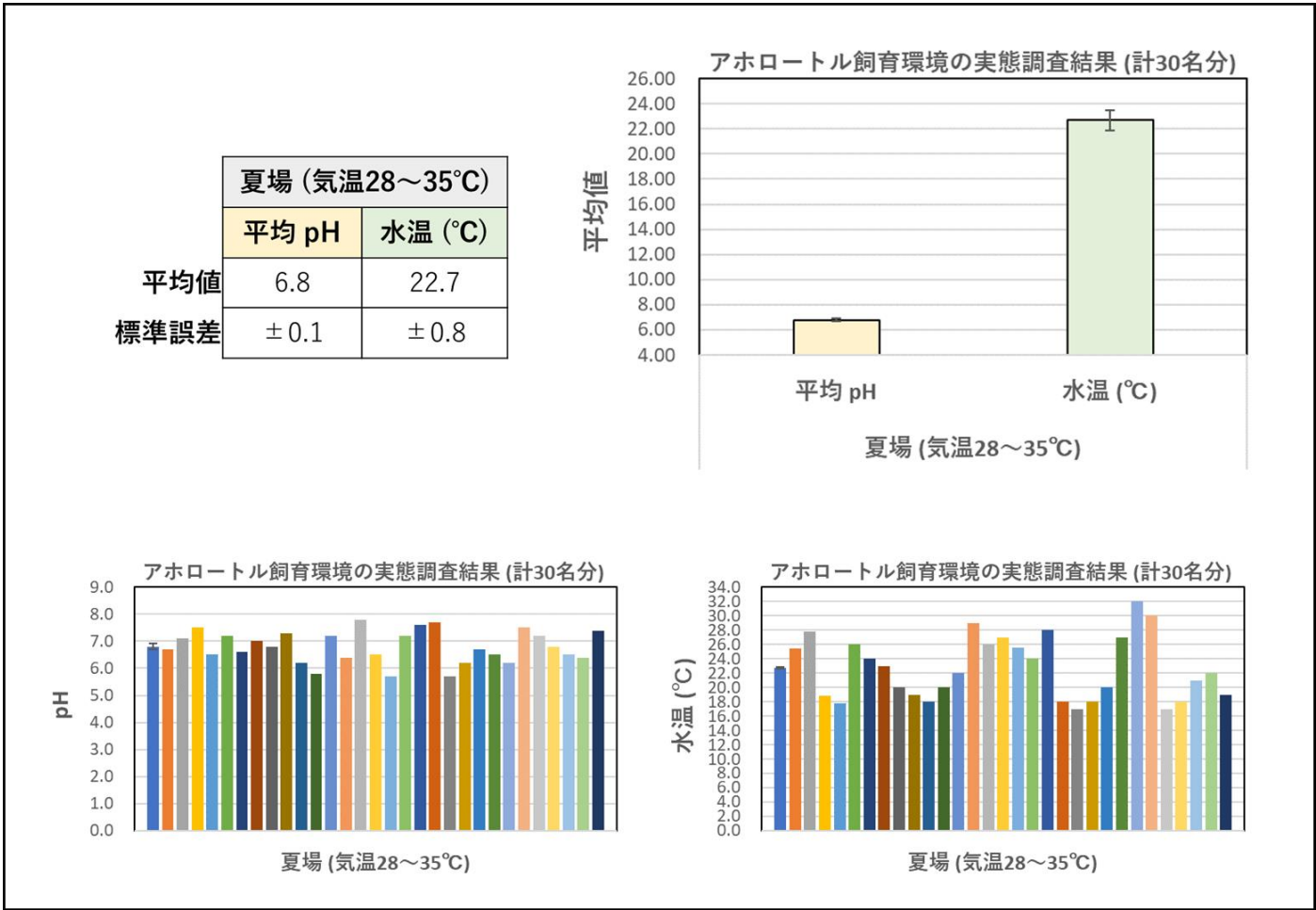
過去に当ラポでは、Twitter を含むメディアにて、飼育環境に関する情報提供を依頼したことがあるが、提供いただいた情報の中で、通説とは異なる面白い報告も見られている。

本項では、ウーパールーパーにとって重要であると巷で言われている、“**低水温**” および “**やや高めの pH (弱アルカリ性)**” という条件の真偽の判断に一石を投じたいと思う。

提供情報の集計結果 (計 30 人)

集計の結果、日本の夏、特に近年は気温が高い中ででの生育環境として、ファンや空調によって平均約 23℃で維持されていることが明らかとなった。また、pH も 6.8 と、平均的には中性であることが明らかとなった。今回の集計結果に含まれる多くの個体が基本的には問題なく飼育されており、一部繁殖を成功させているご家庭も含まれている。一方で、その内訳をみると、30℃付近まで到達している方もおられれば、pH 6 代を切ってしまう方もおられ、これまでに言われていたウーパールーパーの水温や pH 管理に関する考え方に疑問を感じざるを得ない。

すなわち、実は pH が高くても水温が高くてもそれほど彼らにとっては問題が無いのでは無いのだろうか？



参考：夏場実施したアンケート (結果の一部) による飼育水槽の平均 pH および水温の集計結果

りん様からの提供情報 および それに基づく考察

これらの飼育水の水質調査の過程で、非常に面白い報告が得られたため、こちらで取り上げたいと思う。

調査の結果、時間帯に関わらず水温とが非常に高く、りん様曰く水替え前には水面に苔状の油膜が確認されたとのことで、pH も 8 付近と非常に高いという結果が得られた。一方で、生育は順調、かつ大きな不調なども見られずに順調に生育してきたとのことであった。これらの結果から、多少の個体差はあれど、水温自体はウーパールーパーにとっては重要でないことが示唆された。過去の調査結果から、水温が高くなると水槽内の微生物の増殖率が增大することが明らかになっており [12, 13]、今回の結果を踏まえると pH が低下し、水の濁りや細菌感染症なども見られることが想定された。しかしながら、pH はむしろ上昇傾向にあり、そのような環境下では水の硬度も高くなっている可能性があり、フィルター内外に発生している水苔類の持つ抗菌成分が生死を問わずに水槽内に多く抽出され、その結果水温が高いにも関わらず生体の健康には問題がなかったと考えられた。

ちなみに、硬水環境では、より植物由来の抗菌成分が抽出されるという報告もあることから、同様の効果が水苔類に対しても見られる可能性は十分にあると考えられる。この効果は、水槽の土壌に蓄積されたフルボ酸・フミン酸や無機成分等の生成・蓄積にも関与している可能性が考えられた。また、水温が高くなると植物内の成分が抽出されやすくなることが、一連の効果を更に後押ししているのかもしれない。[12-13, 25-27]

高水温条件下での水質変化の記録 (りん様)						
	day	day1	day2	day3	day4	day4 (換水後)
水温 (°C)	水温 (朝 7時 頃)	26.4	27.2	28.3	27.4	28.2
	水温 (正午)	27.7	28.5	27.5	27.6	28.7
	水温 (夜間 19時 頃)	27.0	27.2	27.2	27.5	28.5
高水温条件下での水質変化の記録 (りん様)						
	day	day1	day2	day3	day4	day4 (換水後)
pH	pH (朝 7時 頃)	7.7	8.2	8.1	7.6	7.8
	pH (正午)	7.9	7.8	7.9	8.2	7.8
	pH (夜間 19時 頃)	8.1	7.7	7.6	7.6	8.0

参考: 高水温環境の飼育水槽における水質変化の調査

(データ提供: りん様 Twitter @rinda_himajin)

約 4 日間、上記の数値変動を測定・定量した。

pH 計測: テトラ 6 in 1 (試験紙による測定)

生体 約 20.0 cm x 3 匹 (右写真を参照)

濾過環境: VX-75 (テトラバリュー-X75 パワーフィルター; 外部式)

濾材: パワーソフト_M サイズ_1 リットル (太平洋セメント)



5. 総括

ここまでの調査結果・考察を踏まえると、水温の高さによるウーパールーパーの不調は、あくまでも発生した雑菌の及ぼす影響で (細菌感染) あり、pH も急激な変動さえ見られなければ、例え低くても生体にとっては大きな影響が見られないのかもしれない。ウーパールーパー もとい メキシコサンショウウオ の耐久性の高さに驚くと同時に、既存のウパールパ飼育に関する様々な情報の不正確さが蔓延している問題を再認識するに至った。今回の調査結果が皆さまのお役に少しでも立つ事を切に願う。

参考文献

- 1). pH について> [株式会社トーケミ](#)
- 2). KH について> [株式会社セラジャパン](#)
- 3). KH, GH について> [ビーシュリンプの専門店](#)
- 4). 硝化サイクルについて> [アクアリウム情報メディアサイト「トロピカ」](#)
- 5). 硝化バクテリア類: [ニトロソモナス属](#)
- 6) https://sera.co.jp/?page_id=1284
- 7) <https://www.precoprecopreco.com/2018/02/blog-post.html>
- 8) <https://hoboking.exblog.jp/23142168/>
- 9) https://t-aquagarden.com/column/of_aquarium
- 10) 科学通信_コラム_分子で地球を読む_No.25 https://www.jamstec.go.jp/biogeochem/pdf/kagaku_87_12.pdf
- 11) 杉山 遥>2022 年 10 月 31 日__腸内細菌と成長制御について_ウーパールーパー研究報告
https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl/published_papers/41322789
- 12) 杉山 遥>2022 年 9 月 26 日__アホロートル飼育水槽における濾過環境の重要性
https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl/published_papers/41322790
- 13) 杉山 遥>2022 年 12 月 25 日__アホロートルの飼育・治療最新情報
https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl/published_papers/41322797
- 14) ヤクルト中央研究所_菌の図鑑_ニトロバクター
<https://institute.yakult.co.jp/bacteria/4221/>
- 15) <https://aquarium.piapia.work/ill-tell-you-about-the-nitric-cycle-and-the-bacteria-make-the-fish-where-they-can-live/>
- 16) ヤクルト中央研究所_菌の図鑑_用語解説
<https://institute.yakult.co.jp/bacteria/note.php#18>
- 17) 光合成辞典
<https://photosyn.jp/pwiki/index.php?%E3%82%A2%E3%83%B3%E3%83%A2%E3%83%8B%E3%82%A2%E9%85%B8%E5%8C%96%E7%B4%B0%E8%8F%8C>
- 18) 水槽管理について_有限会社 翠水_最新の水生生物飼育法・フコイダン・二価の鉄・マイクロナノバブラー
<https://www.suisui52.co.jp/management/33902.html#:~:text=%E8%84%B1%E7%AA%92%E8%8F%8C%E3%81%AF%E6%9C%89%E6%A9%9F%E7%89%A9%E3%82%92.%E8%84%B1%E7%AA%92%E3%81%AE%E7%9B%AE%E7%9A%84%E3%81%A7%E3%81%99%E3%80%82>
- 19) 環境研ニ百科 (第 50 号)_湖沼における窒素の循環
https://www.ies.or.jp/publicity_j/mini_hyakka/50/mini50.html
- 20) Ceramic Academy_course 01_セラミック材料基礎講座・入門編
<https://www.ngk.co.jp/academy/course01/00.html#:~:text=%E3%82%BB%E3%83%A9%E3%83%9F%E3%83%83%E3%82%AF%E3%82%B9%E3%81%AF%E9%9D%9E%E9%87%91%E5%B1%9E%E3%83%BB%E7%84%A1%E6%A9%9F.%E7%89%A9%E3%81%AA%E3%81%A9%E3%81%8C%E3%82%BB%E3%83%A9%E3%83%9F%E3%83%83%E3%82%AF%E3%82%B9%E3%81%A7%E3%81%99%E3%80%82>
- 21) フジクリーン株式会社_海と山を繋ぐ生態系 <https://www.mlit.go.jp/kowan/recycle/2/13.pdf>
- 22) 株式会社クラレ_環境ソリューション事業部_活性炭入門 <http://www.kuraray-c.co.jp/activecarbon/about/>
- 23) 大阪ガスケミカル株式会社_活性炭事業部 <https://www.ogc.co.jp/shirasagi/usage/liquid-treatment.html#>
- 24) You-iggy_炭酸カルシウム <https://www.you-iggy.com/ja/chemical-substances/calcium-carbonate/>
- 25) 池 晶子 他 (2017)_日本食品微生物学会雑誌_緑茶の抗菌効果に及ぼす水の硬度の影響
Jpn. J. Food Microbiol., 34(1), 7-12 https://www.jstage.jst.go.jp/article/jsfm/34/1/34_7/_pdf
- 26) 浅川義範_苔類の生理活性物質_J-stage_Vol. 22_No.8
https://www.jstage.jst.go.jp/article/kagakutoseibutsu1962/22/8/22_8_495/_pdf
- 27) <https://happymoss.com/blog/happymoss/kiji625/>



以下、経験豊富なアクアリストでもある 枝豆 やみん 氏 による解説記事を掲載させていただきます。

尚、次頁に掲載する記事は、当ラボにおける知見や結果・推奨条件と一致しない点もいくつか見られます。しかしながら、ウパールパの飼育環境に関して、“意見を偏らせないためにも是非ともご参考になれば” という杉山の思いから、そのまま掲載する判断に至りました。是非ともご一瞥の程、宜しくお願い致します。

1. おことわり

筆者のことなんて知らんがな、要点だけ読ませろ！という至極もつともな方は2ページまでスキップください。興味があるという稀有な方はお付き合いくださると幸いです。

当記事の内容は筆者が1980年代の出版本、お世話になってきた埼玉県内の数々のアクアリウムショップ、そして現時点で23年間続けてきたアクアリウムの経験から得た主観的な内容であり、学術的な裏付けはありません。内容もありふれた内容を初心者向けにかみ砕いている為、「ああ、こんなやり方だとうなるんだな」程度にお受け取り下さい。間違っている内容も含んでいると思いますので全て鵜呑みにせず、皆さんの手で調べなおして頂くことでアクアライフの一助となることを目的としています。

2. 経歴

私のアクアライフは多くの人と同様、地元の縁日の金魚すくい(今ではメダカかも?)から始まりました。小学生時代から始まり、ホームセンターのペットコーナーで熱帯魚に目覚め、水草に手を出し、より専門性の高い魚種や陸上植物に広がる、そんなありふれた経歴です。

やや特殊な点としては、「維持管理が億劫な事」「過密飼育をメインとしていたこと」でしょうか。いやいや、維持管理が面倒くさくてアクアをやるな！というご意見はもっともです。しかしこういう性格なのですからどうしようもありません。

これまでの長い間、数百では済まない生体の子供の頃から住宅ローンと共に両親から譲り受け、今でも住んでいる自宅の庭に埋葬して参りました。小学生の子供ながら、近所の図書館で借りた本で硝化サイクルのさわり程度は理解していました。が、それを実践する術も、応用する金銭も持ち合わせておりません。当然です、月500円でも貰えれば御の字の小学生ですから。

意味も解らないまま数か月で死んでしまっていく生体達に罪悪感を持ち、時折いい加減やめようかと考えつつ高校生になりバイトを始めると爆発します。それまで中学生の誕生日プレゼントで貰ったテトラ社のユーロエクスパワーフィルター(呼び水ボタンが欲しいだけだった)を尻目にエーハイム社のクラシックフィルラーやミドボンに手を染め、安売りされていたショップ中古のADA社のメタルハイドランプ等設備の拡充は止められません。しかしいくら設備にお金をつぎ込んでもポツポツ死は止まりません。むしろ多くの生体を迎える金銭が手元にあった分、更に悪手で犠牲になる生体の数は加速していきました。当然です。今まで溜まっていた欲求を吐き出すあまりで知識が追い付いてなかったのですから。通っていた学科が工学系だったこともあり、実験、観測の基礎はある程度身に着けていたのでいよいよ小学生から進歩していなかった知識をアップデートする段階になりました。まだニコニコ動画が出来たばかり、有用な情報を発信してくれるYouTubeもなく在るのは個人系のまとまりが薄い昔ながらの「●●の部屋」や掲示板が多数の状況で、頼れるのはアクアリウムショップでしたがちょうどその頃に通っていた近所のかねだいが閉店、運転免許もないのでクーラーボックスを載せたキャリーを転がして電車で八潮や春日部のショップに通い、基礎を学ぶことになりました。

そうして得た知識と私なりの生体の飼育方法を次のページから記します。

3. 私の飼育方法

前述の通り、私は熱帯魚の過密飼育をメインにしてきました。皆さんが水槽や用品を購入するときにこんな記述を見たことはありませんか？「小型カラシンで1Lあたり1匹、多くても3匹」。例えば60cm水槽であれば60匹程度などなど。初心者向けの物なら20匹などと書いてあるものもあるかもしれません。これらは「60cm規格水槽と適した外部フィルター」という如何にもオーソドックスな構成でよく見る数字です。

アクアリウムの経験がなく、ウーパールーパーが初めてという方も多く居られるでしょう。ましてや過密飼育という一部の方々からは「外道だ」「生体がかわいそう」と批判も受けるジャンルを経験した方はそう多くないと思います。

ハッキリ言うと、「ウーパールーパーを60cm規格水槽で飼うというのは異常」です。遊泳スペースの問題でなく、「システムに投入する有機物に対する水量と濾過能力」の問題です。

初心者は比較的水を汚しにくい人工飼料で済む小型魚20匹がせいぜいと言うところを、アカムシが大好きで1日4ミニキューブも平気で平らげるウーパールーパーを同じ水量で飼うのです。だからこそ、「餌は水を汚しにくい人工飼料を数日～週に1回」、「アカムシを上げるなら別の容器に移してから」とならざるを得ません。

私のスタンスは「明らかに太りすぎにならない範囲でより多くの餌をあげる」「極力生体に触らない」です。特に後者は大切で、底砂で擦れただけですぐさま感染症になり3日も持たず亡くなってしまう魚種も飼育してきた

身としては給餌の度にネットやタッパーで掬うのは恐怖極まりません。また小麦粉(グルテン)を使った人工飼料は消化ができないことが多く、上げすぎは当然、水質悪化や飼育者の夜更かしが続いて照明サイクルが変わったことなどの微小な理由からくるストレスでも転覆病(ウーパールーパーではふかふか病などと呼ばれる)となり亡くなる生体も居ます。ウーパールーパーの餌として売られてる人工飼料もツナギとして小麦粉を含んでいますので、無用な心配はしたくありません(GLOWなど一部には小麦粉を含まないと謳っている製品もあります)。

そこで辿り着いた飼育方法は「過剰ろ過」です。総水量に対し圧倒的に多い生物ろ材で毒性物質を無害化するのです。

4. ろ過(硝化サイクル)

まずは硝化サイクルからおさらいしましょう。

生体の呼吸によりエラから、また食べ残しや糞からアンモニアが発生します。私はこの総量を「投入した有機物量」と表現しています。アンモニアは猛毒であり、酸性ではアンモニウムイオン(NH_4^+)と比較的毒性の低いものが多くなり、アルカリ性では猛毒のアンモニア(NH_3)が多くなるといった比率的に水中内に存在する窒素分です。ろ過が不足するとアンモニアが増え続けますが、このアンモニアは水と反応することでpHをアルカリ性に傾けます。ザックリ言うと、アンモニアの毒性はpHが高いほど高く、溜まれば溜まるほど加速度的に毒性が強い飼育水になるということです。

これらの問題をどうにかしてくれるのが有機物分解菌及び硝化菌というバクテリアで、アンモニア類を亜硝酸塩、硝酸塩と比較的毒性が低い物質に処理してくれます。ハッキリ言います、飼育水槽に入れている生体はおまけです。私やあなたが大事に飼っているのはバクテリアです。十分な量の硝化菌が居ないとアンモニアが溜まる一方で、すぐさま生体は目も当てられない状態になります。

バクテリアはバイオフィーム、コロニーと呼ばれるヌルヌルドロドロしたモノに住んでいます。これらはろ材に住み着くため、この住処を可能な限り多く用意してあげようというところからスタートです。

5. バクテリアを増やすためには

有機物分解菌及び硝化菌は好気性バクテリアとしてくられており、頑張ってもらうためには酸素が必要です。酸素がないと多くの生体と同様に酸欠となり、酸素供給を水草に頼りがちな水草水槽では一晩にして酸欠となった水槽が朝には真っ白に濁り、分厚い油膜と生体が浮いているということが起きがちです。水草も消灯時は光合成を止めて呼吸を行うため、茂りすぎたり生体の導入などで酸素の需給バランスが崩れるとバクテリアもろとも生体が酸欠となって死滅してしまう為です。

大量の有機物に見合わず明らかに能力不足な外掛け式フィルターなどは置いておくとして、過剰ろ過の場合も同様です。餌となる有機物も大量に投下され、住処となるろ材が豊富だったとしても酸素がなければバクテリアが増えることはできません。また硝化菌の代表とされているニトロソモナス、ニトロバクターは温度変化に弱く、ついでに増殖速度が非常に遅いと言われています。せっせと立ち上げたとしても、ろ材そのものの交換が必要な投げ込み式、外掛け式フィルターは過密飼育やウーパールーパー飼育には全くもって向いていないと断ぜざるを得ません。

では何が適しているか、それは

- ①エアリフト式底面フィルター+粒径の大きな床材
- ②テトラ社やLSS研究所社のスポンジフィルター
- ③外部フィルター+水上設置シャワーパイプorディフューザー
- ④上部フィルター
- ⑤オーバーフロー

です。それぞれ見ていきましょう。

①底面フィルター

昔ながらのろ過方式で、初心者の方はあまりにも陳腐な見た目と安さから低性能かと思われるかもしれませんが、正しく使えば最高にコスパの良いろ過方式です。

ろ材は床材、水槽に敷いた砂利です。多くの場合は大磯砂が使われます。この大磯砂はミネラル分の溶出という副次的な作用もあるのですがそれは後述するとして、例えば60cm規格水槽に3cmの厚みで敷いたとすると5L近くの多孔質ろ材を使えることになります。砂利の小さな凹凸にバクテリアが住み着くので性能としても十分、更にエアリフト式であれば豊富な酸素を供給できるので好気性バクテリアが増えるのにとても適した環境となります。

消費電力も少なく、値段も安く、メンテナンスもプロホースで水替えがてら余剰な有機物を吸い出して詰まりを取ってあげるだけ。とてもウーパールーパーに適したフィルターです。

ただし砂利食い等、余計な心配をしたくない方には縁がないろ過方式でしょう。私もその一人です。

②スポンジフィルター

ぶっといスポンジの中にバクテリアを住まわせるフィルターです。長期間交換が必要のない投げ込み式フィルターというイメージが伝わりやすいかもしれません。

他の方式に比べると飼育水槽内の場所をとる為スペースに余裕がないと設置出来ませんし、循環量もろ材

量も多くない為濾過能力も比較的高くありません。幼体の育成や補助的な役割を期待して設置するのが良いでしょう。しかし侮ることなかれ、生体飼育数が多いベテランほど気軽に設置や撤去が出来てメンテもモミモミ洗いでよく、安くて数も揃えられるので大量に用意するフィルターだったりするのです。

特に底部設置の投げ込み式とは異なり吸盤や台座等で底部から浮かして設置出来るため、幼魚(幼体、卵)の吸い込みやストレスを気にせず使えるためベアタンクでの初期飼育に適しています。繁殖するのならいくら持っていても足りない、そんなフィルターです。

③外部フィルター

パイプの設置方法で大きく用途と性能が変わります。バシャバシャブブブといった水音がせず静かになるようにパイプを設置しがちですが、見落としがちなのが酸素の供給です。

前述の通り、有機物分解菌及び硝化菌は好気性バクテリアです。水面を大きく揺らすか、シャワーパイプで水面を叩く、ディフューザーで強制的に酸素を供給しないと最大限の性能は発揮できません(好気性バクテリアに限った話)。

ろ材容量の自由度は底面式に劣るものの、利用できるろ材の種類と循環量が大きなメリットです。天然砂利と比べて大きな表面積を持つセラミックろ材や通水性に優れるプラスチック系ろ材、吸着系ろ材など多様な選択肢を採ることが出来ます。最近はゲル系と呼ばれ圧倒的な性能を誇るバイオメディアやゲルキューブなどの商品も発売されていますが、これらは詰まりに非常に弱いので遮光が必要であることも外部フィルターを採用するメリットになるでしょう。

またろ材のレイアウトであえて通水性が悪い場所を作り、嫌気性バクテリアの住処とする手段も採れます。値段は比較的高いですが、一番現実的な選択肢でしょう。

但し、くれぐれも酸素供給はお忘れなく。水草水槽では二酸化炭素を逃がさないよう水面を叩かないレイアウトに出来るのが外部フィルター一番のメリットですが、今回は生体のお話ですので。

④上部フィルター

正直生体メインなら全部これで良いのではないのでしょうか。

ろ材容量も多く、メンテ性も良く、値段もそこまで高くない、落水で酸素供給も出来る。グランデカスタムなら上に積んで拡張だって出来ちゃう。なんなら底面フィルターとも繋がる。良いことづくめです。

デメリットを上げるとすればオールガラス水槽では使えない(ことが多い)、飼育水槽の上見がしづらくなる、見た目が悪いことでしょうか。鑑賞性を重視するなら致命的ですが。私も使いません。

⑤オーバーフロー

やりたい放題です。ろ材容量は数Lぽっちしか入らない他のフィルターなんぞ比べるべくもなく、メンテナンス性も良く、落水での空気の巻き込みで溶存酸素量も常に膨大。ポンプやバルブで循環量も自由自在、水槽をもうひとつ繋げるので総水量も多くなり水温、水質も変化しづらくなります。ヒーターを入れたり、簡単にクーラーや殺菌灯にだって繋げるし、ドライ&ウェット槽にだって出来ちゃう。

ただ美味しい話ばかりではない。ウーパールーパーなら5000~10000円くらいのポンプで十分でしょうが、マグネットポンプともなれば10万は余裕で超えます。濾過槽も安い30cmのGEX(旧ファイブプラン、五味商事)マリーナ水槽で作るとしても設計にはそれなりの知識がないとすぐにポンプ槽の水が干上がったりメンテ性が悪くなったり、狙ったろ過能力が得られなかったりします。そもそも加工に必要な工具を揃えるだけで安く3万円くらいはかかるし、アクリルやガラスを切ったり穴開けたりの技術が必要です。慣れればポンポン作れますが。濾過槽を買うとなれば更にお金が必要でしょう。

但しそれを補って余りある濾過能力が得られるでしょう。ついでに大抵の場合でゴボゴボ、バシャバシャと言った落水音が常に部屋に響き渡ることになります(消音出来たら上級者)。ケチれば停電で濾過槽から、排水が詰まれば飼育水槽から洪水が起きたり、良いことづくめではありません。でも私はオーバーフロー信者です。管理が楽ですので。

6. 過剰ろ過のデメリット

硝化サイクルを思い出してください。

有機物が分解されアンモニア類(NH_3 & NH_4^+)に、更に亜硝酸塩(NO_2^-)、硝酸塩(NO_3^-)となります。更にろ材中に酸素が少ない止水域があり嫌気性バクテリアが十分であると脱窒が行われ、最終的に窒素として無害化されます。しかしこの時にメンテナンスが不十分で嫌気層にデトリタスなどの老廃物が溜まっていると硫化水素が発生します。

硝酸塩や硫化水素は水質を酸性に傾けます。狙って脱窒を行うには比較的大型の設備が必要となるため多くの場合は偶然の産物ですが、これらが蓄積するとpHは一気に低下していきます。特に有機物の投下量が多い過密飼育やマンション飼育、大型魚、漏れなくウーパールーパーでもろ過が十分に効いていればいるほど一気に酸性に傾きます。私のウーパールーパー水槽も1週間でpHは2下がって5.1まで下がります。

この時、蓄積する先は水中はもちろん、床材やフィルター内の老廃物です。特に床材が止水となっている場

合は硫化水素の溜まり場となっていることが多く、生体やメンテで動かして通水が起こると極々短時間で急激にpHが低下し生体はすぐさま死に至ります。これを防ぐにはこまめな床材の清掃が必要ですが、そもそもベアタンクなら心配する必要すらありません。また通水性の良いプラスチック系ろ材を主体にし、隔壁の間隔を狭く循環量を多くしたオーバーフローなら止水域も発生しづらくなります。その分嫌気性バクテリアの働きには期待できなくなりますが、管理(コントロール)のしやすさを優先したシステムを私は採用しています。

極々短時間での急激なpH低下は免れるものの、結局pHの低下は避けられません。これが過剰ろ過最大のデメリットです。海水であれば粘性を利用して有機物そのものを分離するプロテインスキマーを用いて対策できますが淡水では不可能です。そこで必要なのは水換えですが、多くの方が言われる「毒を排出するため」の水換えではなく、pHを維持するための水換えです。まあ結果的には同じなんですけども。

ノーメンテでの維持はできません。私も6年間、オーバーフローに足し水だけでコリドラスメインの水槽を維持した経験があります。結果は上で書いた通り、一晩でpHが4代まで急激に低下したことによる崩壊でした。運よく脱室も発生していたのか硝酸塩も検出されない状況に気を良くしていた結果です。生体は死滅し、バクテリアは元気だったのか発見が遅れた遺体は分解されかけ、まるで溶けているかの様な状態でした。脱室の維持にもメンテが必要です。

我が家のウーパールーパーはpHの変動をものともせず、肌荒れや感染症もなく、1日2回、計4個のアカムシミニキューブを平らげ(お代わりを要求しながら)順調に大きくなっています。但し長期的にこのpHの変動がどう影響するかは不明です。

アンモニアや硝酸塩等が検出されないままpHが安定するのは有機物の投入量とろ過能力が釣り合っている場合であり、それが理想です。当然ながら過密飼育である場合もそれを目指して生体量と給餌量を調整します。が、我が家のウーパールーパーが要求する給餌量や前述の理由を考慮するとそれは非常に困難です。現実的などころで人工飼料を数日に何粒、とかなのでしょうか。どちらがウパにとって良い環境かどうかはより長期的な経験と観察が必要でしょう。

最初に述べた通り、「ああ、こんなことをやってる変人が居るんだな」程度の小話でした。少しでもお読みになられた方の知識の肉付けになることを祈ります。

7. おまけ

①汽水の水換えについて

我が家のウパは汽水飼育です。汽水を使うにあたり、塩分濃度に注意する必要があります。

水換えに用いる新水は10Lあたり何%の塩、で十分です。が、飼育下では何%というのは用いることが出来ません。厳密な場合はPSU、一般的には‰、比重を用います。

私の仕事では実用塩分濃度(PSU)を用います。測定した電気伝導度(EC)から換算したもので、比較的新しいながらもより実用に即し厳密という意味で業界標準とされています。

‰は一昔前の単位とされていますが、海水では一般的に使用されます。比重は更にザックリとしたものですが安い塩分濃度計は大方比重で測定されます。またこれらの単位は水温に影響を受け、塩分濃度の計測は実は難しいということをおきします。

マリンアクアでも同様で、多くは数百円の単純な比重計、ちょっとお金を出して3~5000円程度で温度補正付きの屈折式塩分濃度計が普及しています。これら比重&‰での計測です。更にお金を出して工業試験用のものでも‰が主で、%での計測機器は見たことがありません。研究向け機材はわかりませんが。

これが水換えにどう効いてくるかと言うと、水換えに用いる新水ではなく飼育水槽内の塩分濃度が重要だからです。多くの環境では多少なりとも水は蒸発し煮詰まることで塩分濃度は上昇します。そこへ水換えの度に同じ塩分濃度の新水を投入すれば、飼育水の塩分濃度は上昇し続けます。

これを防ぐには水換えの前に蒸発分を真水で足してから水換えすることが一般的ですが、塩だれ等で多少なりとも減少していたりすることもあるでしょう。そこで飼育水の塩分濃度を測る必要が出てくるのです。

本来汽水飼育は難易度が高いものです。多少塩分濃度が上振れても問題がないマリンアクアと異なり、非常に狭い範囲での飼育を狙います。であるからこそ、決まった濃度の新水を投入し続けることよりも飼育水の測定と調整を重視すべきと考えています(全量換水はバクテリアや生体へのダメージが非常に大きく最終手段とすることが多いです。この場合はエアレーションだけでむしろフィルターを設置しない)。

つまるところ、塩分濃度の%表示は比重の方が生体飼育において現実的かと思います…。

②炭酸塩硬度について

pH低下を抑制する指標としてKH(炭酸塩硬度)が用いられます。カルシウムのみで計測した値であり、詳細は理解していませんが嫌気性バクテリアの硫黄酸化菌が硫黄と共に消費して硝酸塩呼吸による脱室を行いpH低下を抑えるという認識です。つまるところ、pH7以上の水をアルカリ性に傾ける効果はなく、6.8程度でもそこまで効果はないと考えています。

嫌気層は牡蠣殻、サンゴ砂などをろ材に用いて通水性を下げ、酸性に傾いた水質によってカルシウムが溶

出することで嫌気層の能力を上げる方法がオーバーフローでも取り入れられています。

大磯砂やサンゴ砂を用いた底面フィルターも同様ですが、性質上有機物、老廃物が溜まりやすく循環量もそこまで大きくないことから脱窒が起こりやすいです。脱窒そのものは前述の通りとても有用なものです、管理を怠ると大きなデメリットが付きまといますのでプロホース等による低床掃除は少なくとも数か月に1度程度は行いましょう。

私も以前使用していましたが、熱帯魚の多くが低硬度を好むため牡蠣殻の使用でKHが想定以上に上昇して発色が悪くなり、調節が難しかったのもあって以来使用していません。ウーパールーパーの単独飼育であれば有用かもしれません。ちなみに数年使用したサンゴ砂はボソボソと表面から崩れ、吸い出しに苦勞することになったのは完全な余談です。

③循環量と水流について

市販のフィルターを使用する上ではあまり意識されず、1時間に何Lという流量は製品ごとに多少異なるものの「●●cm水槽用」などとカテゴライズすればだいたい似たり寄ったり、つまり最適化されています。ただしフィルターの仕組み自体によっては大きく異なるでしょう。オーバーフロー水槽では揚程(吐出圧力)とともにキープポイントになります。

循環量は濾過槽の断面積あたりで最適化するのがとても重要ですが、それにばかり気を取られると飼育水槽での水流が強くなりすぎて洗濯機となることも珍しくありません。渓流域などの流れが速い水域に生息している生体なら良いですが、ウーパールーパー等にとっては強すぎる水流はストレスにしかありません。この点は外掛け式、外部式、オーバーフローにとって致命的であったりします。

エーハイム社であればナチュラルフローパイプを用いたり、吐出口を水面方向に寄せて底部の水流を抑える工夫が必要です。

④結局のところ何のフィルターが良いか

お金をかければいくらでもやりようはありますが、そうもいかないのが趣味というものです。現実的なところ、2000円程度でも入手できるウーパールーパーに対して最初から外部フィルターやオーバーフローを用意する方はそう居ないでしょう。薦められたとしてもなかなか踏み切れないと思います。

初めに外掛け式フィルターは適していないと断じましたが、それは純正使用ではせっかく育てたバクテリアが住んでいるろ材そのものを捨てる必要がある為です。世の中にはコブキ社のビッグフィルターやプロフィットフィルター、シーケム社のTidalなど大きな濾過槽を持ち、カスタム性に富んだ製品も出ています(後者は外部フィルターと同様の価格ですが)。

メンテナンス性も良く循環量もソコソコ、導入費用も安価である比較的大きな外掛け式フィルターのろ材を入れ替えて使用する、これが無難な落としどころでしょう。底面フィルターは初心者には使いづらく、上部フィルターは鑑賞性に難ありですので....。

＜総説: アホロートルの多頭飼育について＞

著: 杉山 遥 (Ph.D; 詳細調査・本記事の主な執筆者)^{1*, **}

所属: ¹ウーパールーパー研究室はるらぼ

詳細: *主任研究者 **責任著者

概要: アホロートルの多頭飼育・他個体の認識について科学的に理解を深めよう 2022/5/14

飼育界限において、ウーパールーパー（アホロートル）の飼育では混泳はご法度、などと言われている。[1-3]
筆者も、かつてペットショップなどで店員の方と話すと、多頭飼育は危険であるが相性もある、と言われていた。しかしながら、当ラボでは、栄養と成長の機構解明の研究を行う中で、複数の個体による結果収集・統計学的解析を必要としており、多頭飼育でなければ管理が難しい問題を抱えている。ペットの飼育においても、色々な色の個体を一緒に飼って、水槽をより煌びやかにしたいという方も多々おられると思う。そこで、多頭飼育に不安を感じている方々への参考情報提供として、当ラボにおける多頭飼育の影響について得られている結果について共有したいと思う。

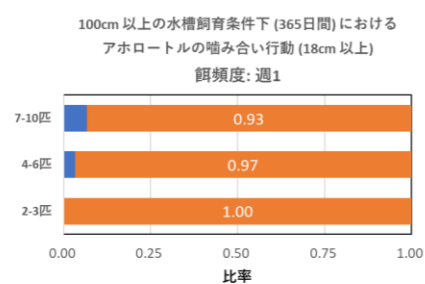
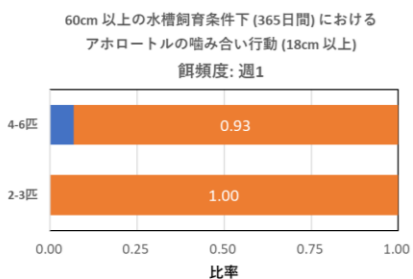
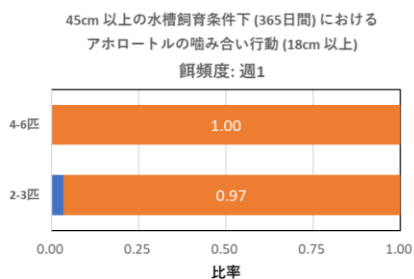
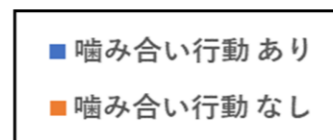
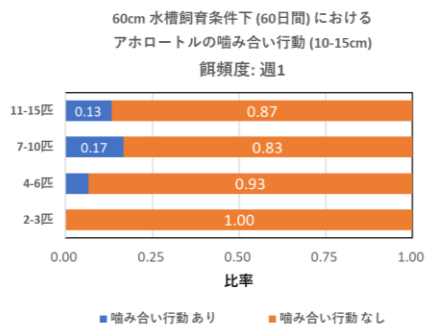
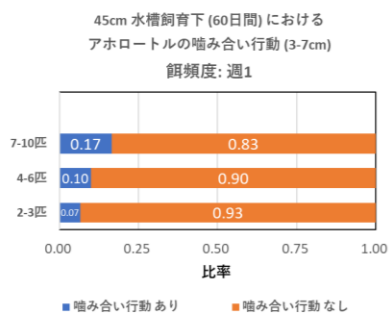
トピック 1: アホロートルの多頭飼育と噛み合い行動

これまでの我々の検討から、多頭飼育はそれほどリスクではないことが明らかになってきた。以下の結果に示すように、やや小さな個体を低餌頻度(週一回程度)にて過密飼育すると、2割未満の個体が噛み合い行動を示した。特に、個体が小さいころにこの傾向が見られたが、成長するにつれて殆ど噛み合いも示さなくなることが分かった。

これらの結果は、餌を週3回程度まで上げると殆ど見られなくなることが分かった。すなわち、水槽に2-3匹程度混泳させる程度であれば、餌頻度や水替え頻度をある程度確保していれば、噛み合い行動は殆ど起こさないことが推察された。

今回示した結果が、飼育者の方々のわずかな希望にでもなれば幸いである。





参考: 多頭飼育と噛み合い行動の比率に関する集計結果

尚、今回調査した条件では、色に関する条件は揃えていないが、マーブルやリューシ、ブラックなど野生型に近い個体が大半を占めており、1/5 程度アルビノ系統の個体も含まれている。しかしながら、他個体から噛まれてしまった個体の色については法則性が見いだせなかった。そこで、色認識と噛み合いについても更に詳細な解析を行いつつ、次の項にて考察を行う。

トピック 2: アホロートルの色認識と噛み合い行動 (2022/5/16-18, 25 追記, データ追加など修正)

魚類や両生類は目が扁平である構造から、あまり相手をくっきりとした像で捉えることはできず、像がぼやけていると言われている。[4-5] また、先程の項において、アホロートルが色認識を行っているかどうかという疑問が浮かんだが、これについては実は明らかになっていなかった。また、はるらぼでは、アホロートルや昆虫の睡眠や体内時計の制御に関わる様々な遺伝子について解析を行っており、アホロートルの光受容細胞についても調査を実施した。更に魚類や両生類においても、目から受容された光が体内時計の制御に関わっていることが明らかになっており[6-7]、生物種によっては青色波長域の光が特に時計の制御には重要であるとされているため、アホロートルにも同様の機構や色認識に関するタンパク質の発現があるかどうか確認を行った。

調査の結果、マウスやヒト・魚類などにおいて網膜や脳において光を受容する神経細胞で発現があるとされる **OPN3, OPN5 [15-16] の相同因子 (働きがこれらの生物種と全く同じとは限らない) については発現を確認した**が、色を感知する視細胞 (錐体細胞) で発現するとされるタンパク質 (OPN1LW(赤 565nm), OPN1MW(緑 535nm, OPN1SW(青 440nm)) については遺伝子の配列自体が確認できなかった。[17] では、アホロートルは色認識が全くできないか? という複数の詳細な調査の中で、議論の余地が出てきた。ただし、トラフグ由来の OPN3 は、培養細胞中でビタミン A 誘導体と反応することで、青色感受性、緑色感受性光受容タンパク質の合成に疑似的に関与する可能性があることが分かっている。[18] これに加え、ヒトの OPN3 はエンセファロプシンと呼ばれ、ヒトにおいては青色光の受容に関与していると考えられている。また、OPN5 は、ヒトにおいては紫外光・紫色光を受容できることが分かっている。[19-20] すなわち、**アホロートルは日中、OPN3 で主に青色光を受容し、OPN5 にて紫外線・紫色光を受容する**。実際に、我々の調査の中でも、**アホロートルは青色光を好む傾向があるようで、青色 LED を照射するとそちらの方に高い関心を示していた**。ちなみに青色光・紫色光 (波長域:380-430 nm) ・紫外光の 3 色の光は波長域が一部重複しており、ヒトを含むいくつもの生物の体内時計のリセットに用いられている。[21-24]

これらの参考文献における知見を踏まえ、青色光とそれ以外の光を暗期に 2 時間程度照射し、アホロートルの光に対する応答性・行動に違いが見られるかどうか、実際に追加調査を行った (参考 2-3)。その結果、幅広い波長の光を含む**可視光 (ハロゲンランプ) の照射・青色光 (LED)・UV (紫外線ライト) では、野生型 (リューシスティック)・アルビノ** に関係なく光の照射方向から反対側へ移動し、忌避するような行動を示した。一方で、**紫外線ライト** の照射にはあまり反応を示さなかった。ちなみに、両目形成不全の個体 (eyeless) や 飼育の過程で両目が傷ついてしまった個体などでは、光への応答性が顕著に低下した。ちなみに、各条件における波長域は、**可視光 (ハロゲンランプ 350nm~3500nm)、青色 LED (460~500nm)、紫外光 = UV (UVA: 320-400nm + UVB: 280-320nm)、赤外線 (780nm-1000nm)** となっている。

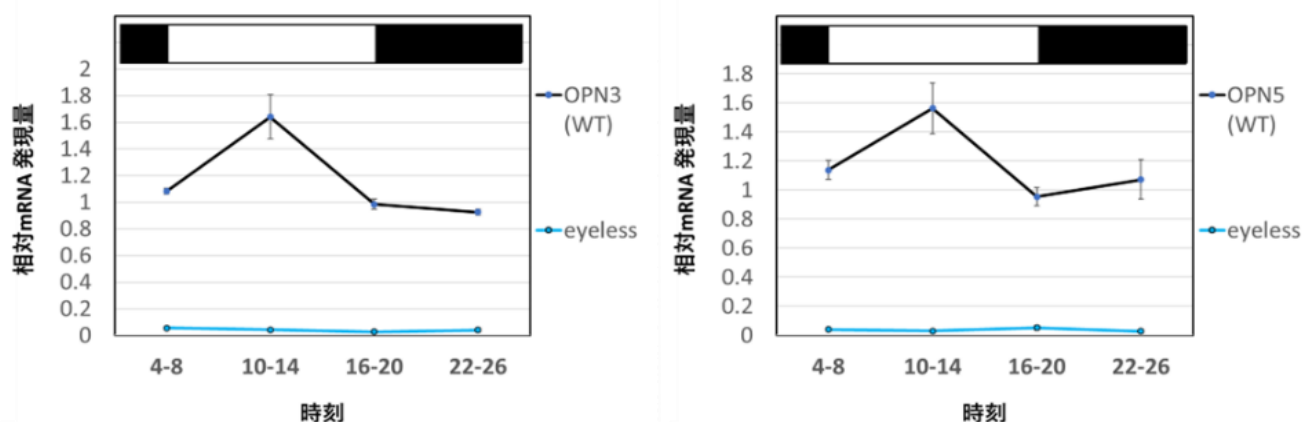
今回の追加調査において、アホロートルは青色光や紫光に反応し、長時間の照射を行うと逃避反応を示した。これらの結果から、アホロートルの体内時計のリセットにおいて青色光や紫外光が用いられている可能性が高いと考えられる。尚、体内時計の振動に関しては、後述の参照 3 を見ていただくとより明解に理解できるかと思う。

逆に、他の波長域の色については、日中はあまり感知できずに夜間はモノクロに見えることが考えられ、体色が白いからといってアホロートル間ではそれ程大きな影響が無いことが推察された。

ここまでの内容を踏まえて、一部で実しやかに言われているように **"アルビノやゴールデンという野生型と比較して目立つ体色であることで、同居している他個体から狙われて攻撃を受ける"** という主張は、現状の判断材料のみではやや無理がある と杉山は考えている。ただし、自然界において、色分解能の高い鳥類からの標的に遭うという意味であれば間違っていない。



また、アホーートル同士は、上記で示すように（たとえ色が認識できていたとしても）互いの映像がぼやけて見え、そもそも視覚を頼って相手に標的を合わせていない可能性が高いといえる。尚、遺伝子を含めた詳細な解析は追って行うが、現状の観察結果収集・統計解析においては、色が白い個体が集中的に他個体から狙われるといった傾向は見られなかった（参考 2-4）。この結果も、今回の考察を肯定する材料であると言える。

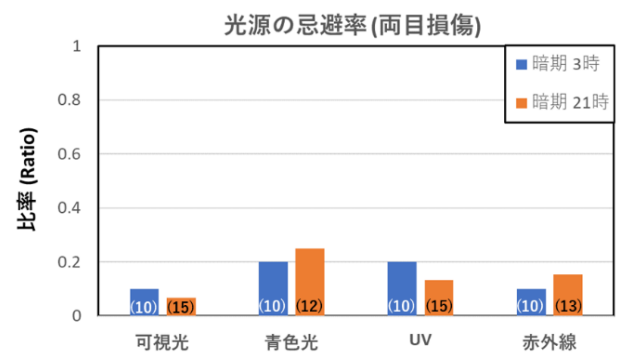
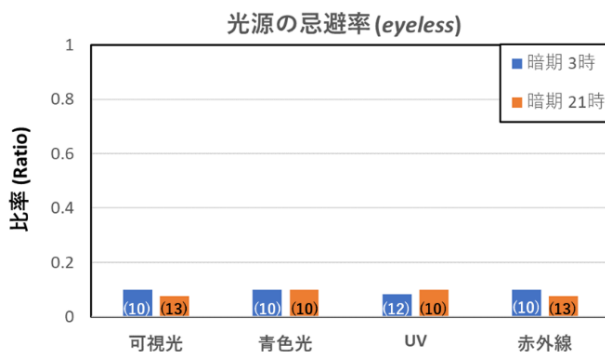
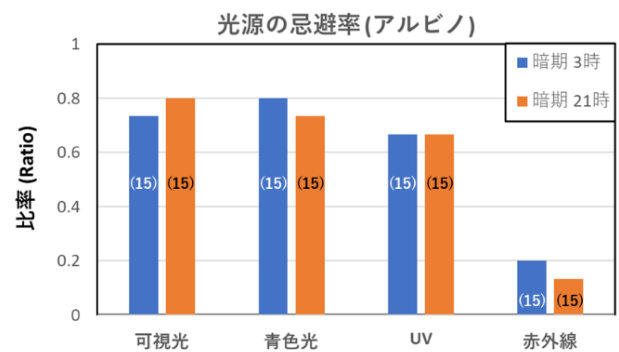
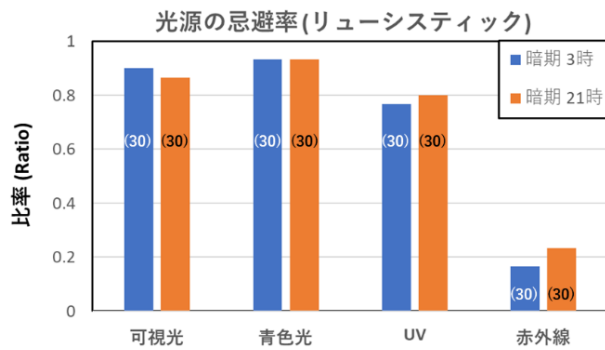
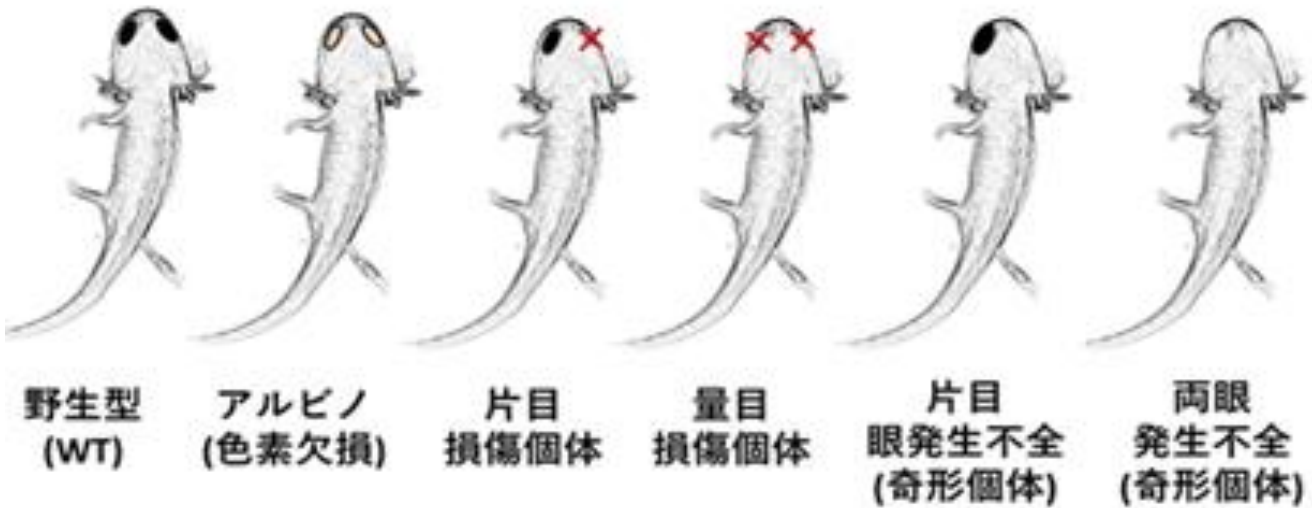


参考 2-1: 当ラボにおける 0.5～2cm の個体（幼生）での光受容タンパク質 OPN3,5 の発現に関する解析結果

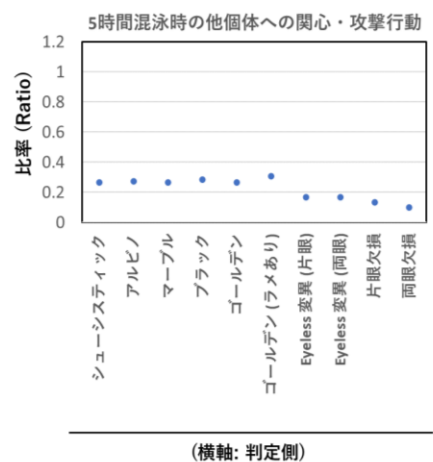
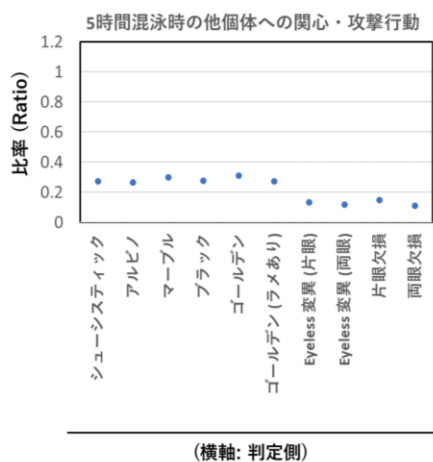
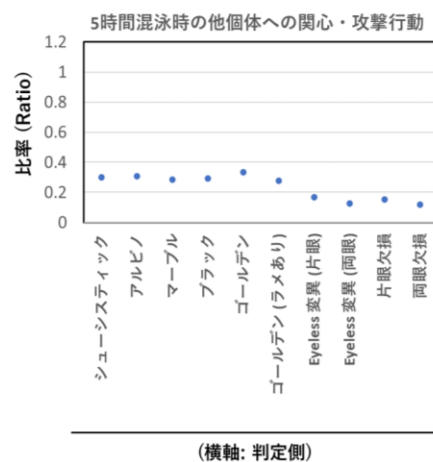
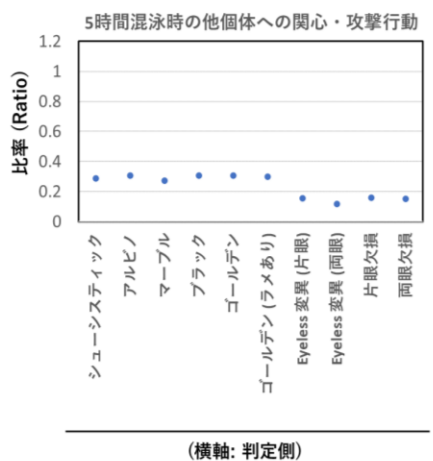
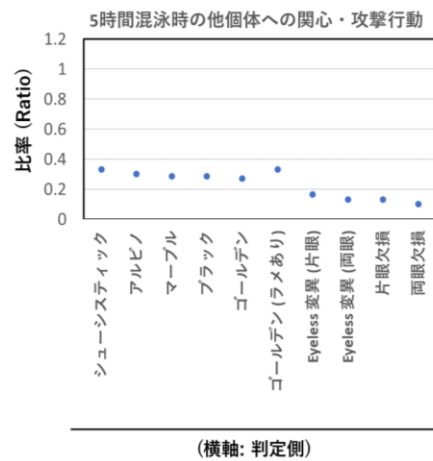
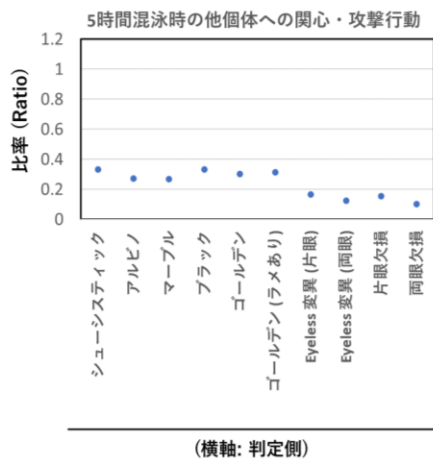
※ 本調査には、残念ながら無くなってしまった幼体を複数ご提供いただき、リアルタイム PCR によって遺伝子発現の解析を実施している。

参照 2-2: 遺伝子・ゲノム・mRNA（転写産物）配列情報 [8]

アホロートルの眼の特徴モデル



参考 2-3: 当ラボにおける 0.5~2cm の個体 (幼生) での品種間における光の種類への応答性の比較
 (2 時間照射している間に、各個体が光から逃げる割合を比較した。
 一部、外部の方々にも依頼の上、集計・解析した。)



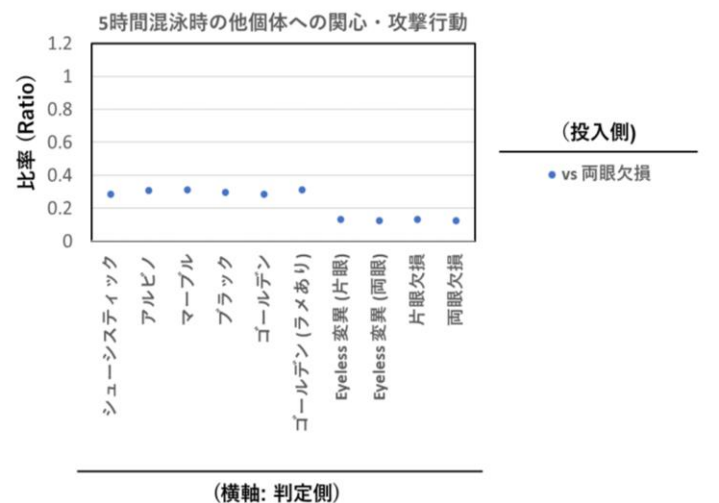
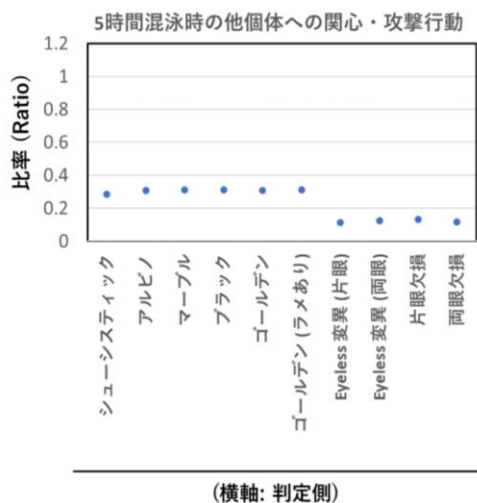
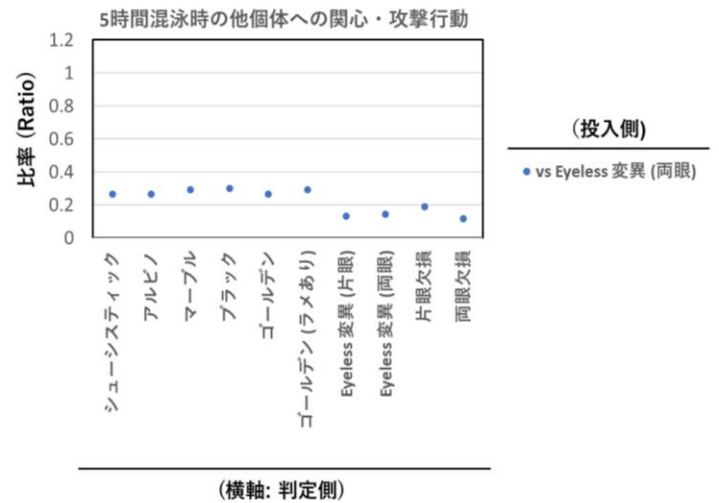
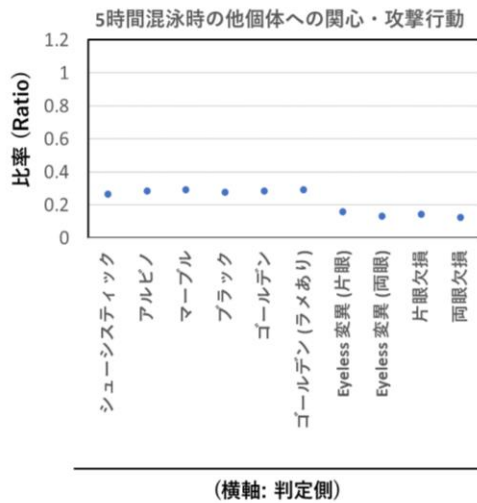
参考 2-4 (A): 色と個体認識・関心・攻撃行動との相関 (2022/5/25 結果更新)

7-10cm 程度の個体. 5-8 ペア. タッパー内に 1vs1 で 5 時間混泳.

【試験の流れ】 vs 側 の個体に対して横軸側の個体をそと投入 → 反応を見る

※ 相手への頭突き・標的を定めてからの噛みつき・視線を向けるなど、対象への意図的な行動のいずれか または 複数、5 時間の中で複数回行った場合に関心ありとする。

※ この時、上から投入された際の物体の動きに反応して飛びつかないように、投入する側の個体または物体を網でそとすくいあげた後、ゆっくりと投入した。

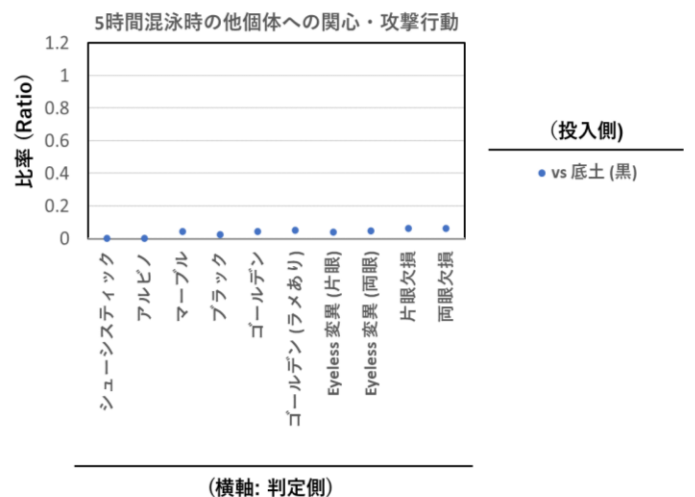
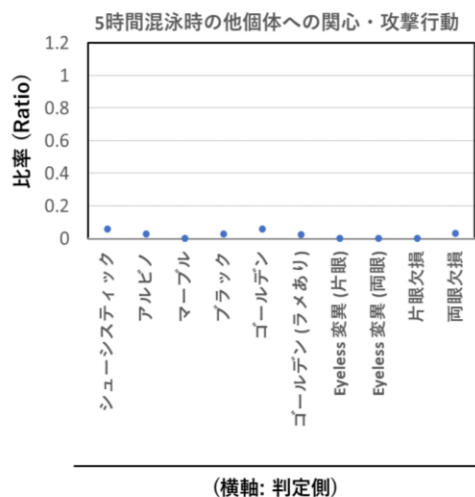
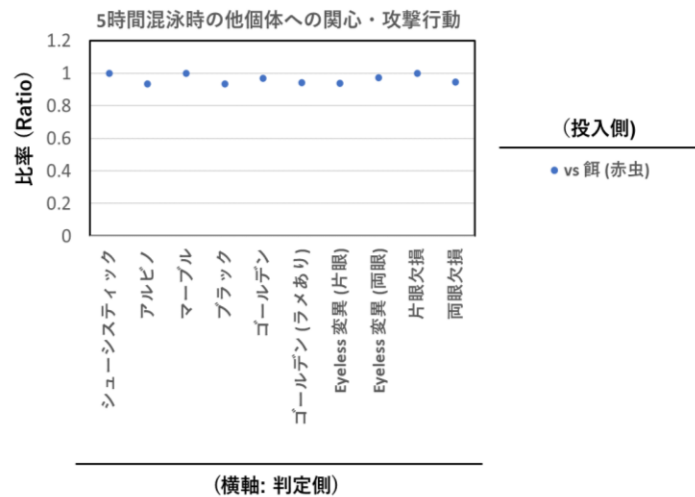
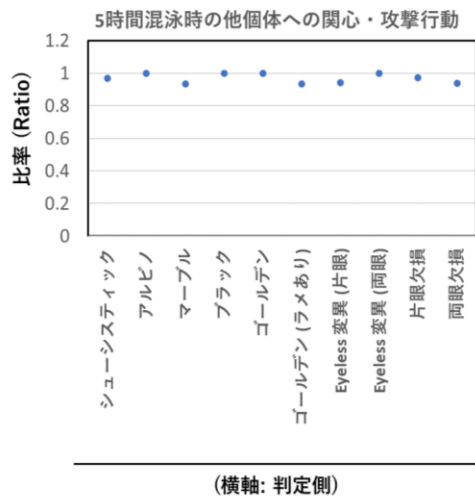


参考 2-4 (B): 色と個体認識・関心・攻撃行動との相関 (2022/5/25 結果更新)

7-10cm 程度の個体. 5-8 ペア. タッパー内に 1vs1 で 5 時間混泳.

【試験の流れ】 vs 側 の個体に対して横軸側の個体をそと投入 → 反応を見る

※ 詳細は 2-4 (A) と同様。最初から機能的な眼を持っていない変異体 (*Eyeless* 変異体) や、眼を損傷してしまい視力が低下した個体を用いて、視力が正常な個体との違いについて確認を行っている。



参考 2-4 (C): 色と個体認識・関心・攻撃行動との相関 (2022/5/25 結果更新)

7-10cm 程度の個体. 5-8 ペア. タッパー内に 1vs1 で 5 時間混泳.

【試験の流れ】 vs 側 の個体に対して横軸側の個体をそっと投入 → 反応を見る

※ 餌や砂・ソイルなど、生体では無いものを投入した時の反応について確認を行った。
やはり、餌に対しては視覚が不十分でも反応しており、アホロートルにおける嗅覚の重要性が示唆された。

トピック 3: アホロートルにおける光受容と体内時計の制御

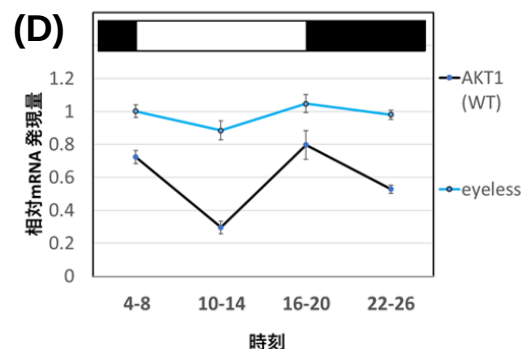
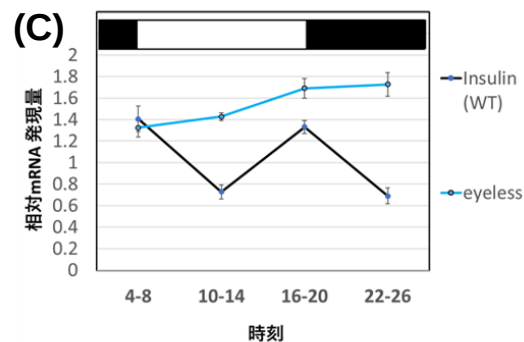
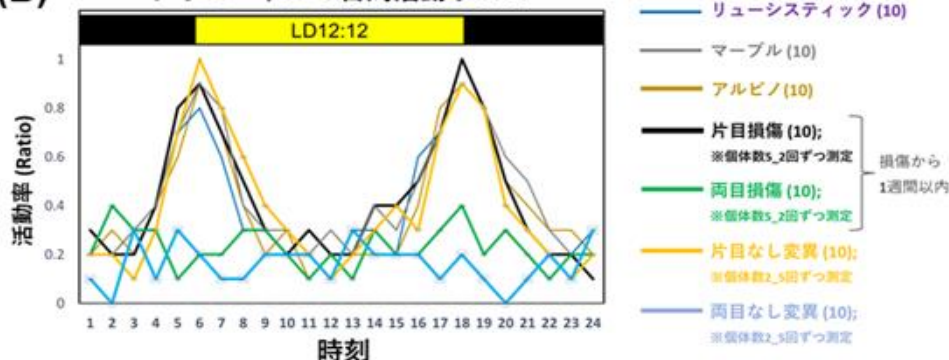
当ラボにおける調査の結果、アホロートルは夜明けと日が沈む薄暗い時間帯に行動を開始することが分かってきた(下図 (B))。これについては近日中に詳細報告を予定している。また我々の調査結果から、視力が完全に失われてしまった個体では、光の情報が適切に受容できず、体内時計の調節に関わる遺伝子の発現に異常が起こることが明らかになっている(詳細は追って報告予定)。一方で、アルビノバックグラウンドの個体における解析結果を見ても、リューススティックやマーブルのような、ある程度色素を持っている品種と同様の活動リズムを示した(下図 (A)-(B))。このことから、色素を欠損しているアルビノ個体も、光を受容する能力を失わず保持していることが推察された。アホロートルが、“色に関する認識能力が元々あまり高くなく、光を十分に受容可能である”ことに基いて考えると、活動リズム制御の観点で見れば、アルビノ個体は目を失っている条件の個体と比べると、日常の活動にはあまり障害を持ってはおらず、体内時計の制御もある程度ちゃんと行えているので、大きな疾患やリスクもなく生きられる可能性が高いと言える。また、参考 2-3 における結果を見ても、アルビノ個体も可視光、青色光 および 紫外光への応答性を示していることから、アルビノ個体は光を十分に受け取ることができていることが推察できる。

ま参考 2 および 3 にて示した一連の結果からも、“アルビノは他の品種と比較して視力がとても弱いのでストレスを感じやすい”説はあまり根拠がないことのように思われる。どちらかと言えば、“変態していないアホロートル自体、光の感知能力はある程度ある一方、同程度にくっきり映像を見えるような視力自体は持っていない”可能性が高いため、アルビノ個体における眼のメラニン色素欠損自体は彼らの生活リズム自体にはあまり影響は無い”と推測できるであろう。

(A) アホロートルの眼の特徴モデル



(B) アホロートルの日周活動リズム



参考 3: アホロートルにおける光受容と活動リズム制御およびインスリン分泌について

逆に両目が傷ついてしまった個体や eyeless 変異体は、一切光を検知できないので体内時計が制御できない可能性が高く、非常にストレスを感じている可能性がある。我々の調査結果からも、インスリンなどの代謝に関わる因子の合成・分泌も野生型と比較して異常に上昇する（下図（C）-（D））ことから、内分泌的には人間の糖尿病・内分泌疾患などに近い症状を示している可能性があるので、更に調査を継続し、詳細については改めて追加報告したいと思う。

尚，次ページにて、アルビノに関する考察について補足を行ったので、良ければ一瞥の程お願いしたい（2022/5/15 追記）。

参照: ヒトなどのアルビノ症に関する補足 (2022/5/15 追記)

先程、アホロートルのアルビノについて触れたが、ヒトの場合のアルビノについても念のため再度おさらいしておきたい。

白子症（アルビノ albinism）とは、全身または目でのメラニン黒色色素が生まれつき不足している状態であり、全身で起こっている場合は眼皮膚白子症、眼だけ不足している場合には眼白子症と呼称される。メラニン色素は網膜色素上皮と呼ばれる領域にも局在し、目が像を結ぶ上で重要であるとされている。アルビノの方々は、視細胞の集合している領域である黄斑が正常に形成されない（黄斑低形成）ために弱視になり、成人しても視力は 0.95-0.5 程度と低い。また、羞明（極端に光を眩しく感じる症状）や、眼が振動する症状（眼振）を示すという。[11-13]

しかし、夜間の光感知にも関わるタンパク質である OPN3, OPN5 を主に発現し、色に関する視細胞を発現していない可能性の高いアホロートルにおいて、日中の強い光を受容しない以上、やはりアルビノ変異体であってもあまり他の品種と視力差は無い可能性が考えられた。

また近年、マウス（遺伝子改変マウス PKAchu）を用いた研究において、

“網膜を構成する神経細胞群の多くが光に応答し、光受容タンパク質非依存的に、環状 AMP 依存性キナーゼ（PKA）を活性化する現象を示す。一方で、一種類の桿体細胞（光の感知のみを行い、色は識別できない細胞。暗闇における案順応において主に機能する）でのみ 光が消えたタイミングで PKA を活性化する。”

という結果が明らかとなったことから、夜間から夜明けにおける暗闇条件下での光の情報伝達が、光受容タンパク質非依存的に十分行える可能性があると考えられた。すなわちアホロートルが、光応答による行動の制御や体内時計のリセット・光情報の脳や全身への伝達を十分に機能させるために、一般的な脊椎動物の持つ光受容細胞を介した機構を用いなくても問題ない可能性も十分にあるのである。つまり、**たとえアホロートルのアルビノも他品種も目が悪くても、PKA を介した機構をもっているならば、光の情報を元に体内時計を制御できるので特に問題はない、という可能性も十分に考えられるということである。[14]**

トピック 4: はるらぼにおける密度・混泳効果に関する研究

なお余談ではあるが、はるらぼでは、高密度の多頭飼育は成長に対して抑制的に作用することを明らかにした。また、2-5cmの個体を、高密度条件で1ヶ月程度の期間飼育しても、成長の可塑性は残されており、密度条件の改善（飼育面積を倍以上にまで拡大すること）によって成長が再開することが明らかになった。

逆に、密度が高い条件では成長を抑制することで、噛み合いや餌の取り合いなどのリスク回避の対応をすることが考えられた。

またこれに加え、密度に応じて二型（多種のオタマジャクシと共存する条件下では頭が倍以上に大きな個体が出現する）を示すエゾサンショウウオというサンショウウオ [9-10] と混泳飼育した条件では、その影響を受けてなのか、密度の影響を無視して顕著に成長・肥大が促進された。このことからアホロートルは、自分たちとは異なる品種の個体が存在する時、自身の成長を促進することで自らが優位に立てるように制御していることが考えられた。尚、これらの知見は世界初であり、はるらぼチームにおける追加調査についても改めて報告する機会を得たいと考えている。

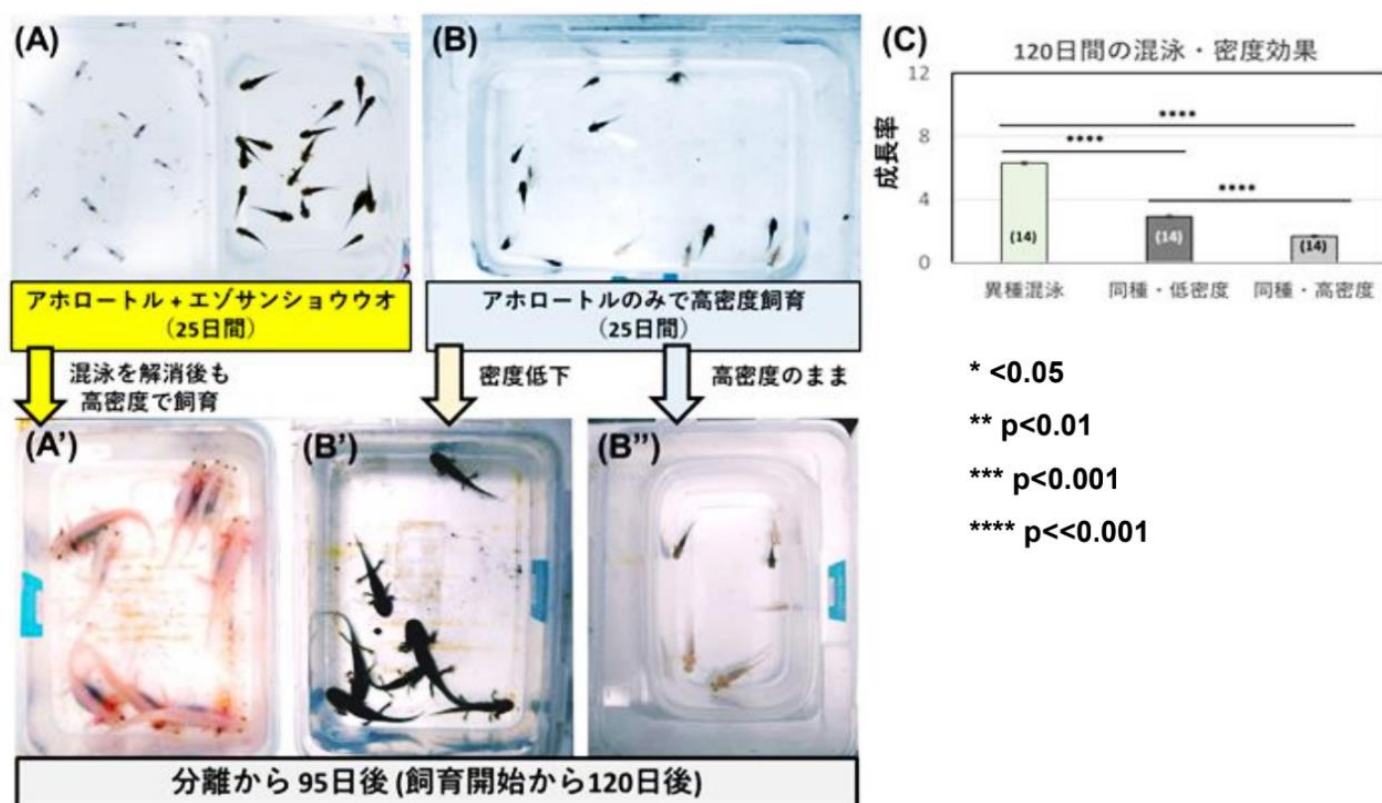


図5: 異種混泳および生育密度が成長に与える影響

参考: ウーパールーパーだより vol. 1.3 (2021-2022) より

https://drive.google.com/file/d/1DuwEjMVBZiCRTXLzx_xfjvpl4FKe46mI/view?usp=sharing

余談

尚、余談ではあるが、調査の裏付け確認のために情報収集を行うにつれ、いかに人々が科学的な根拠なく不正確な情報を流布させているかというのを感じて非常に嘆かわしく思った。何より、“それっぽい” 話が一番危険であるように思う。

読者のあなたやご家族は、あまり根拠のない効果をうたった薬やドリンク・情報商材を購入してはいないだろうか？ 非科学的な情報の拡散は、これと同様の問題をはらんでいるのではないだろうか。

出典

- 1). <https://www.aquahermit.com/uparupas>
- 2). <https://xn--gckxbxdtib.com/how-to/tatougai/>
- 3). <https://note.com/0707note/n/n54e4c3d375d6>
- 4). https://www.santen.co.jp/ja/healthcare/eye/eyecare/wonders/fish_eye.jsp
- 5). <https://fishsearch.net/%E9%AD%A%E3%81%AE%E8%A6%96%E5%8A%9B/>
- 6). 佐藤 恵太 他 (2019). 総説「光受容体」Opn5 が示す多様な分子機能. 生物物理 59 (3). 132-136. DOI: 10.2142/biophys. 59. 132. https://www.jstage.jst.go.jp/article/biophys/59/3/59_132/pdf
- 7). Wayne I. L. Davies 他 (2021). Distinct Opsin 3 (Opn3) Expression in the Developing Nervous System during Mammalian Embryogenesis. eNeuro 20 August, 8 (5) ENEURO.0141-21.2021; DOI: <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0141-21.2021>
- 8). Sergej Nowoshilow 他 (2018). The axolotl genome and the evolution of key tissue formation regulators. Nature. Jul;559(7712):E2. doi: 10.1038/s41586-018-0141-z.
- 9) 若原 正己. 2006. ところ変われば頭でっかち
エゾサンショウウオの表現型可塑性-そのしなやかな生存戦略.
季刊生命誌 49 号 BIOHISTORY 2006:
https://www.brh.co.jp/publication/journal/049/research_11_2
- 10) 道前 洋史. 若原 正己. 2007. エゾサンショウウオの適応的な表現型可塑性—「頭でっかち型」
日本生態学会誌 57:33 – 39
- 11) 日本小児科学会記事 http://www.japo-web.jp/info_ippan_page.php?id=page08
- 12). 矢吹 康夫 (2014). 一人でアルビノの多様性を語る. 応用社会学研究. No.56. 177.
file:///C:/Users/saida/Downloads/AN00026486_56_17.pdf
- 13). 水野 有武 (2000). 網膜色素上皮細胞. 比較眼科 19, 43–47, 教育講演
https://www.jstage.jst.go.jp/article/jscvo/19/0/19_43/pdf-char/en
- 14). Shinya Sato. (2020). Rhodopsin-mediated light-off-induced protein kinase A activation in mouse rod photoreceptor cells. PNAS. October 12, 17 (43) 26996-27003 |
<https://doi.org/10.1073/pnas.2009164117>
- 15). 羽鳥 恵 (2013). 光受容体メラノプシンに対する阻害薬の同定および視覚以外の光応答にあたえる影響の解析. ライフサイエンス新着論文レビュー. (米国 Salk Institute for Biological Studies, Regulatory Biology Laboratory)
DOI: 10.7875/first.author.2013.110 <http://first.lifesciencedb.jp/archives/7595>
- 16). 小柳 光正 他. (2014). “非視覚”型光受容タンパク質 Opn3 とその GPCR 研究への応用. ファルマシア. Vol.50 No.9. P. 893-895.
- 17). 花井 修次. (2009). 時計遺伝子. 産業技術総合研究所 生物機能工学研究部門 生物時計研究グループ.
https://staff.aist.go.jp/s-hanai/clock_gene.html
- 18). 小島 慧一. (2021). Vol. 141, No. 10 YAKUGAKU ZASSHI 141, 1155-1160. 光受容タンパク質・ロドプシンの生物物理化学研究. https://www.jstage.jst.go.jp/article/yakushi/141/10/141_21-00144/pdf



- 19). https://www.jstage.jst.go.jp/article/yakushi/141/10/141_21-00144/_pdf
- 20). https://www.jstage.jst.go.jp/article/kagakutoseibutsu/50/5/50_325/_pdf/-char/ja
- 21). <https://kenko.sawai.co.jp/theme/202003.html>
- 22). https://brightlight-store.ovtp.net/topics2/post_16.html
- 23). https://www.aist.go.jp/Portals/0/resource_images/aist_j/aistinfo/science_cafe/pdf/ev20071220_3.pdf

FBS_Ph.D 勉強会・研究発表 ～ウーパールーパーの睡眠について～



2022/6/4

杉山 遥 (Ph D)*

*ウーパールーパー研究室はるらぼ HAL_Lab_Axolotl

ウーパールーパー(アホロートル)とは？

学名: メキシコサラマンダー (*Ambystoma mexicanum*)

ウーパールーパーの生態

分類 両性綱有尾目トラフサンショウウオ科トラフサンショウウオ属 有尾類 別名 アホロートル メキシコサラマンダー 幼体のまま成長 幼形成熟(ネオテニー) 特徴 再生能力が高い 7日～40日程度 手足のみならず臓器や目も 絶滅危惧IA類(CR)に指定されている ↳ 生息地の減少・水質悪化・外来種の被害 野生の個体はわずか100匹程度		原産地 メキシコ・ソチミルコ湖 体の色 品種改良により5種 リューシスティック…ピンクがかかった白・黒目 アルビノ…ピンクがかかった白・赤目 ゴールデン…黄色 マーブル…黒褐色の斑点 ブラック…黒 生活環境 生涯水中 変態すれば陸上生活のケースも 少しずつ陸に慣らす 甲状腺ホルモンを注射 寿命 通常10年以上 陸生化すると3～5年に短くなる
--	--	---

<https://ikimall.ikimonopal.jp/blog/post-1504/>

ウーパールーパー(アホロートル)とは？

学名: メキシコサラマンダー (*Ambystoma mexicanum*)
<https://ikimall.ikimonopal.jp/blog/post-1504/>

愛玩動物としてのウーパールーパー

野生型 (WT)

マーブル



リューシスティック



ブラック



アルビノ系統

アルビノ



ゴールデン



イエロー



NPO: ウーパールーパー研究室・はるらぼ

2020年より、正式に HAL Lab として本格的に研究活動を開始。



プロフィールを編集

【ウーパールーパー研究室_はるらぼ】

@lab_new2

https://twitter.com/lab_new2

【代表: 杉山 遥 (すぎやま はるか); 理学博士 (生物学)】 NPO研究チームです。ウバ活・ウバ研究の輪、絶賛拡大中! 『ウバ従業員×50匹超』 『アイコン: セサミンR1号君 (大豆育ち)』 『人間の研究員×6名』 『人間のサポーター×15名超』 #ウーパールーパー #生物学 #両生類 #社会貢献

自己紹介

来歴

杉山 遥: 男性 1987年生れ (35歳)
 幼少時代より研究者を志す
 ～2017年 学士・修士 (ショウジョウバエ → ES/iPS細胞)
 2020年 3月 博士号 (理学・生物学) 取得
 2020年 ポスドク (非常勤) + 私大の実習担当講師 (非常勤)
 2021年～ 製薬会社研究員・ポスドク (非常勤) → (無給)
 2022年 ポスドク (無給) + 一部上場企業の研究職

NPO設立の経緯

2018年～ ウーパールーパーの飼育に興味を持つ
 2019年～ 知人との話の中で、海外で実例のある個人研究活動に触れ、自らもその可能性を考えるようになる。
 2019～2020 “はるらぼ”の事実上設立・運営開始。
 2021年より本格始動、複数の研究報告・発表を達成。

ウーパールーパー研究室・はるらぼ

現在の主な取り組み

- ・ウーパールーパー (アホロートル) の飼育条件のアップデート
- ・アホロートルの栄養と成長制御機構の解明
- ・生存競争・生育密度と成長の関係性
- ・魚類における未知の成長制御・発生調節機構の解明
- ・昆虫との相関 (主にショウジョウバエ、フタホシコオロギ)
- ・両生類の腸内フローラと成長制御に関する調査



何故ウーパールーパーなのか？

睡眠や成長制御の関連遺伝子や作用機序等、アホロートルでは殆ど解明されていない。
(研究テーマのブルーオーシャン)

目的：アホロートルの成長メカニズムについて明らかにする。
意義：生態を理解することで、絶滅から救う糸口が掴める。

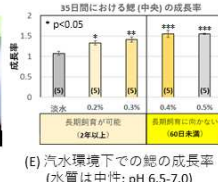
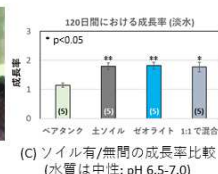


＜実験課題＞
アホロートルの成長にとって
必要な因子は何か？

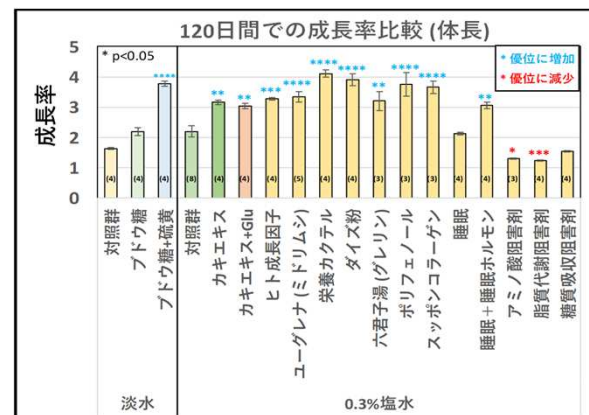


＜実験内容＞
成長率を定量して同定する

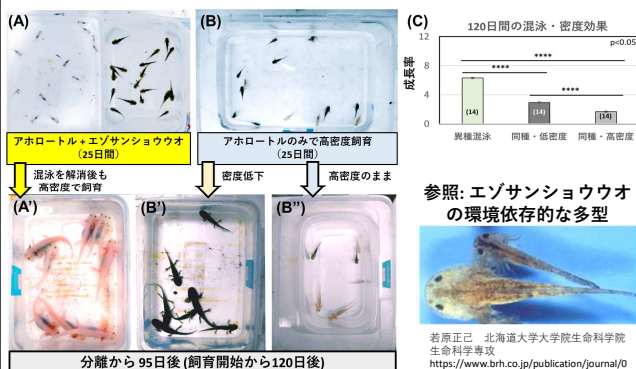
生育・成長に適した飼育 (生育) 環境の調査



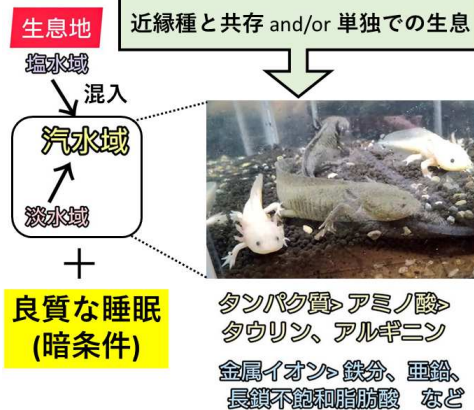
成長制御に重要な因子のスクリーニング



異種混泳および生育密度が成長に与える影響



これまでの知見のまとめ

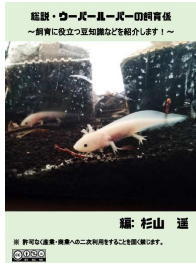


書籍・会報誌 編纂および情報発信

研究論文のまとめ
・研究の公知化



一般飼育者向けの
総説・情報共有



国内誌などへの
投稿・発信



次の課題・・・両生類の睡眠

次の課題・・・両生類の睡眠

疑問1



アホロートル (ウーパールーパー)
って寝るの？

次の課題・・・両生類の睡眠

疑問1



アホロートル (ウーパールーパー)
って寝るの？

疑問2



アホロートル (ウーパールーパー)
っていつ起きてるの？
昼行性？ それとも 夜行性？

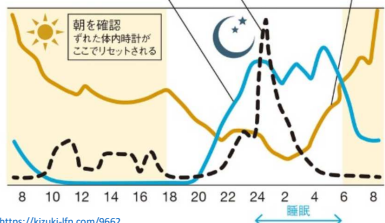
良質な睡眠



メラトニン
全身に「夜が
来た」と伝える

成長ホルモン
深い眠りに入ると出る

コルチゾール
目覚めの
準備を始める



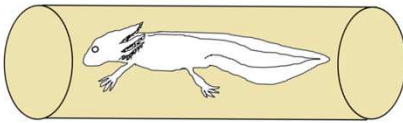
良質な体内時計の
リズム
↓
良質な睡眠
↓
成長ホルモン (GF)
↓
成長促進

体内時計とは？

- 生物が体内に持っている時計機能 (生物時計)
⇒ 恒常性, 生命活動の維持に関わる。
- 階層的な信号伝達: 細胞 → 中枢 (眼・脳・脊髄) ⇒ 末梢 (消化器官)
- 生物活動の示す様々なリズム ≡ 生物時計
例: 概日リズム = サーカディアンリズム (約24hr 周期), (概)潮汐リズム etc...
- 生物時計を扱う学問 = 時間生物学 (Chronobiology)
* 2017年10月2日、ノーベル生理学・医学賞
(キイロシヨウジョウバエ *Drosophila* 時計遺伝子の cloning など)
Jeffrey C. Hall, Michael Rosbash, Michael W. Young

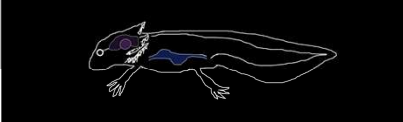
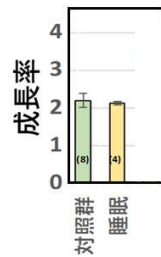
暗闇: 疑似的睡眠の状態の再現

光を忌避する性質



終日暗幕

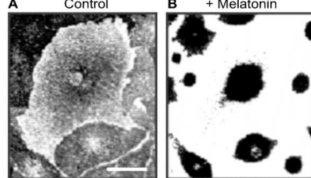
→ 疑似的な夜間 (睡眠) 状態を再現

120日間における
成長率アホロートルは
睡眠導入因子メラトニンに応答する

<睡眠導入因子メラトニンと体色変化>

血中のメラトニン濃度上昇
(トリガーは生物毎に異なる)

メラニン細胞中 (メラノサイト) の黒色素胞が収縮

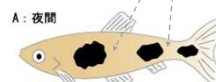
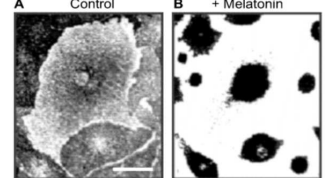
↓
体色の薄化アフリカツメガエルの体色変化
(1nM, 60min)
+ Melatonin
<https://www.mnc.toho-u.ac.jp/v-lab/fish/soho/change3.htm>

(David et.al., 2004)

<睡眠導入因子メラトニンと体色変化>

血中のメラトニン濃度上昇
(トリガーは生物毎に異なる)

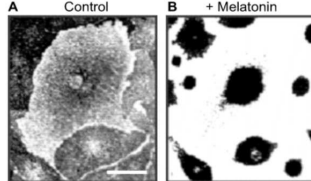
メラニン細胞中 (メラノサイト) の黒色素胞が収縮

↓
体色の薄化メラトニン
↓
MSH
(メラニン細胞刺激ホルモン)アフリカツメガエルの体色変化
(1nM, 60min)
+ Melatonin
<https://www.mnc.toho-u.ac.jp/v-lab/fish/soho/change3.htm>

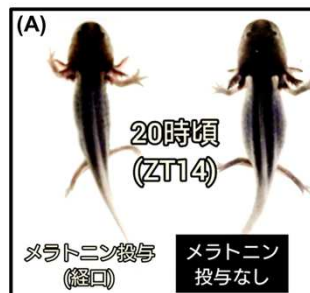
(David et.al., 2004)

<睡眠導入因子メラトニンと体色変化>

アホロートルは、
メラトニンを投与された場合、
それに応答して
活動量の低下や体色変化を示すのか？

メラトニン
↓
MSH
(メラニン細胞刺激ホルモン)アフリカツメガエルの体色変化
(1nM, 60min)
+ Melatonin
<https://www.mnc.toho-u.ac.jp/v-lab/fish/soho/change3.htm>

(David et.al., 2004)

アホロートルは
睡眠導入因子メラトニンに応答する

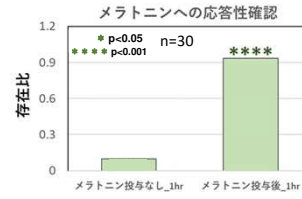
* 2-3mg 程度を経口摂取させた。

摂取量の参照 <http://www.myojin-kan.jp/meratonin/>

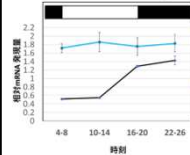
アホロートルは 睡眠導入因子メラトニンに応答する



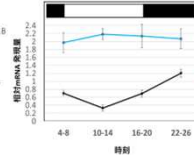
アホロートルは 睡眠導入因子メラトニンに応答する



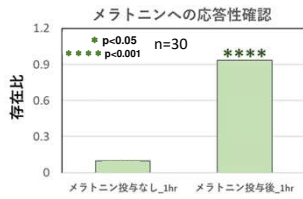
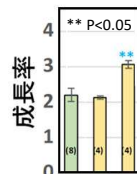
メラトニン受容体 (中枢)



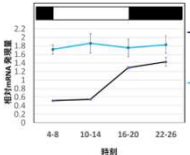
メラトニン受容体 (末梢)



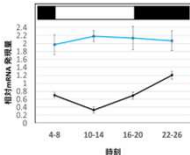
アホロートルは 睡眠導入因子メラトニンに応答する

120日間における
成長率

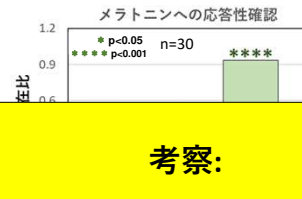
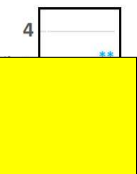
メラトニン受容体 (中枢)



メラトニン受容体 (末梢)

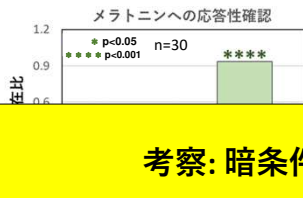
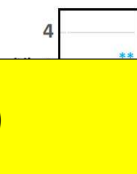


アホロートルは 睡眠導入因子メラトニンに応答する

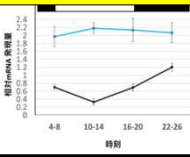
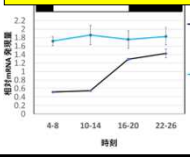
120日間における
成長率

考察:

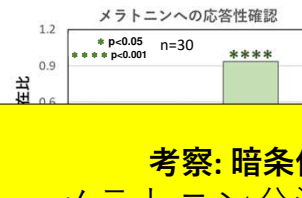
アホロートルは 睡眠導入因子メラトニンに応答する

120日間における
成長率

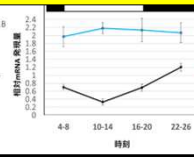
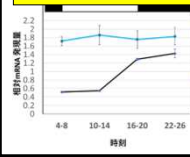
考察: 暗条件下 (夜間)



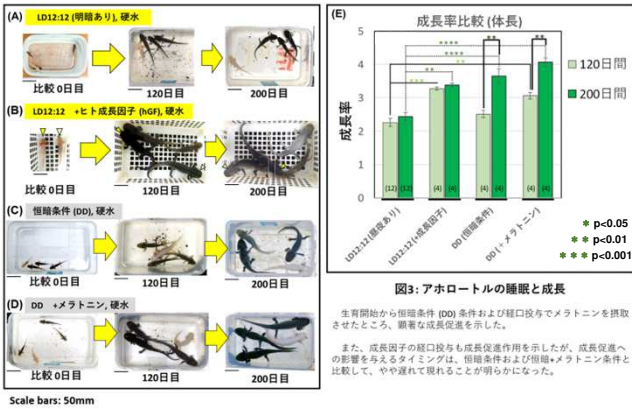
アホロートルは 睡眠導入因子メラトニンに応答する

120日間における
成長率

考察: 暗条件下 (夜間)
メラトニン分泌 → 成長促進



睡眠と成長の関係性



アホロートル睡眠の調査

両生類って寝ているの？
↓
睡眠導入因子 (メラトニン) への
応答性を調査

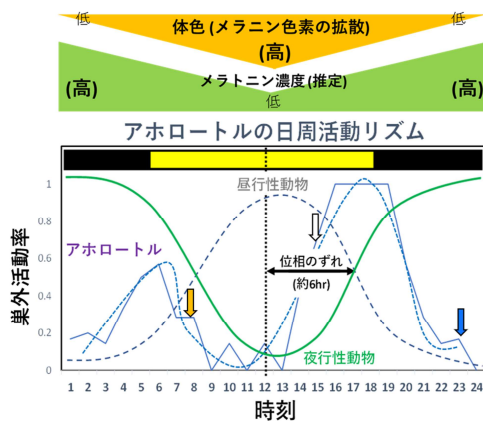
アホロートル睡眠の調査

両生類って寝ているの？
↓
睡眠導入因子 (メラトニン) への
応答性を調査
↓
メラトニン分泌・活動リズムの調査

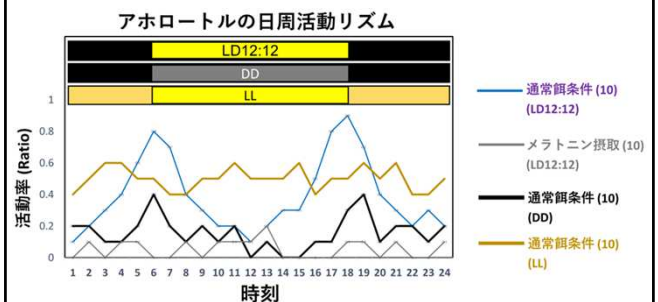
アホロートル体色変化リズム



アホロートル日周活動リズム

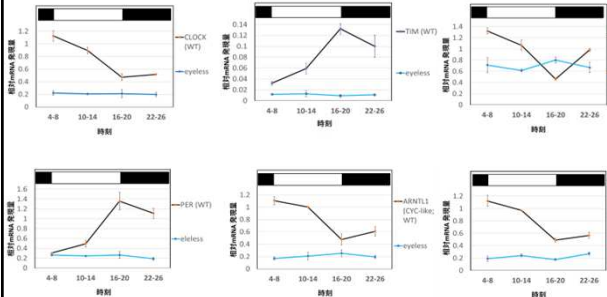


アホロートル日周活動リズム



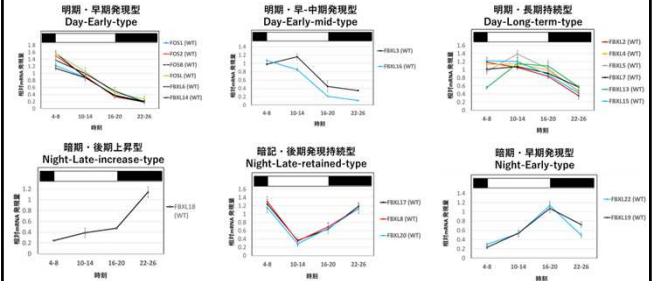
アホロートルにおける時計遺伝子の発現

我々の調査 (qRT-PCR) で、中枢・末梢共に、マウスやヒトと相同的時計遺伝子産物 **CLOCK**, **TIM**, **CRY2**, **PER**, **ARNTL1**, **ARNTL2** の発現が見られた。また、光受容タンパク質 **OPN3** (青色光受容), **OPN5** (紫外線受容) の発現も確認された。



アホロートルにおける時計遺伝子の発現

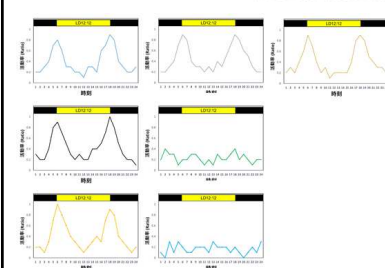
タンパク修飾に関わる因子 **FBXL family** や **BRWD family** の発現。
⇒ 6通りの周期的な発現パターンを示した。



アホロートルにおける光受容と活動リズム調節



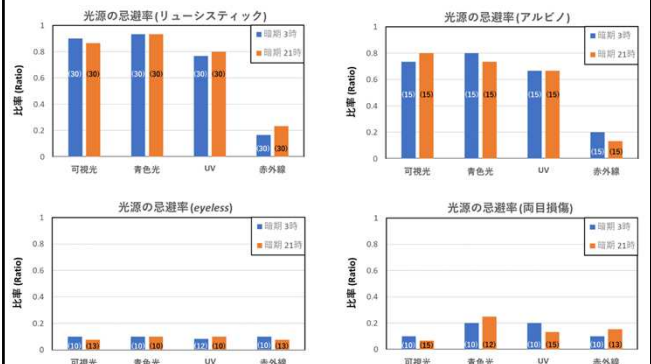
眼が機能しない
↓
光受容できない
↓
活動リズム調節ができない



— リュシステック (10)
— マーブル (10)
— アルビノ (10)
— 片目損傷 (10); ※個体数2, 5回ずつ測定
— 両目損傷 (10); ※個体数2, 5回ずつ測定
— 片目なし変異 (10); ※個体数2, 5回ずつ測定
— 両目なし変異 (10); ※個体数2, 5回ずつ測定

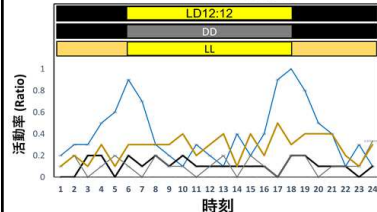
アホロートルの光受容と色分解能

光受容タンパク質 **OPN3** (青色光受容), **OPN5** (紫外線受容) の発現あり。
⇒ 実際に、青色光とUVに対する反応性を示した。



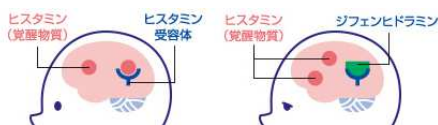
強制的に睡眠を促進させた場合

ヒスタミン阻害剤投与 (睡眠促進) 時におけるアホロートルの日用活動リズム



メラトニン摂取時と同様の活動量の低下が見られた。

— 通常飼条件 (10) (LD12:12); 再測定結果
— ヒスタミン阻害剤 (10) (LD12:12)
— ヒスタミン阻害剤 (10) (DD)
— ヒスタミン阻害剤 (10) (LL)

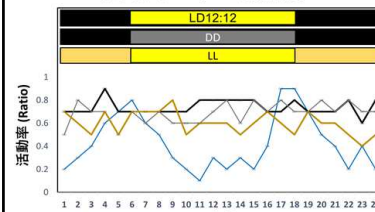


※ ヒスタミン拮抗阻害剤: ジフェンヒドラミン

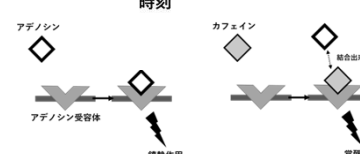
<https://www.ssp.co.jp/drew-ell/products/efficacy.html>

強制的に覚醒させた場合

カフェイン投与 (覚醒促進) 時におけるアホロートルの日用活動リズム



活動リズムが消失し、過剰な運動量を示した。



https://www.dnszone.jp/nutriti-on_guide/6-4

総括1

- ・ アホロートルには時計遺伝子やメラトニン受容体の発現が見られる。
- ・ アホロートルはメラトニンへの応答性を示し、体色を薄化させる。
- ・ ウーパールーパーの活動リズムは、夜明けと日暮れ、すなわち薄暗いタイミングにピークを迎える。
- ・ メラトニンを摂取した個体の活動量は低下する。

総括1

- ・ アホロートルには時計遺伝子やメラトニン受容体の発現が見られる。
- ・ アホロートルはメラトニンへの応答性を示し、体色を薄化させる。
- ・ ウーパールーパーの活動リズムは、夜明けと日暮れ、すなわち薄暗いタイミングにピークを迎える。
- ・ メラトニンを摂取した個体の活動量は低下する。

アホロートルは睡眠を摂っている可能性がある！

総括1

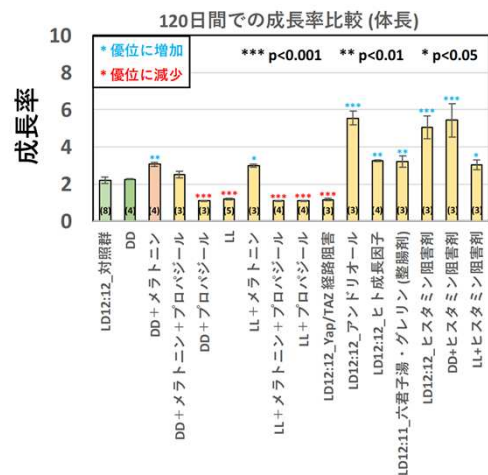
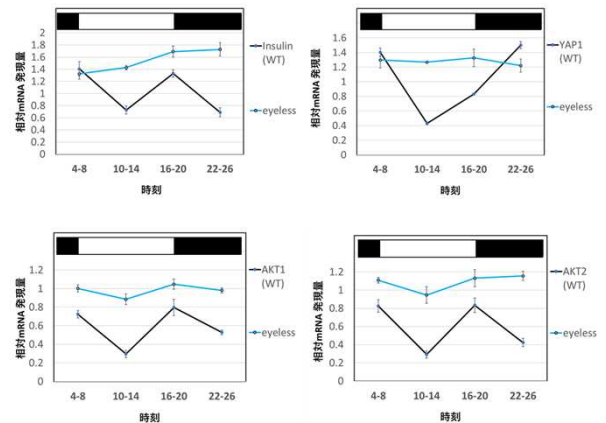
- ・ アホロートルには時計遺伝子やメラトニン受容体の発現が見られる。
- ・ アホロートルはメラトニンへの応答性を示し、体色を薄化させる。
- ・ ウーパールーパーの活動リズムは、夜明けと日暮れ、すなわち薄暗いタイミングにピークを迎える。
- ・ メラトニンを摂取した個体の活動量は低下する。

アホロートルは睡眠を摂っている可能性がある！



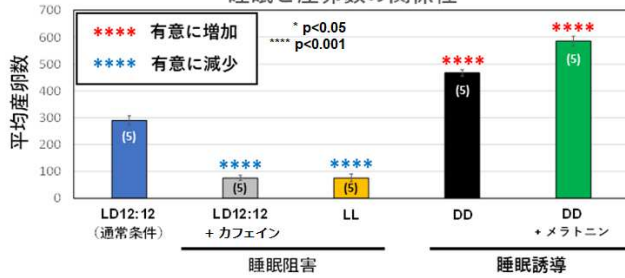
睡眠を摂ることは分かったが、
結局、睡眠を摂る意義は？

末梢における栄養制御関連因子の発現動態



睡眠と成長・妊性

睡眠と産卵数の関係性



産卵数 (低温処理から1ヶ月間処置を行い, 経過観察した.)
単独飼育 (day360_アダルト5ペアずつ)

睡眠と成長・妊性

睡眠と栄養状態と妊性の相関

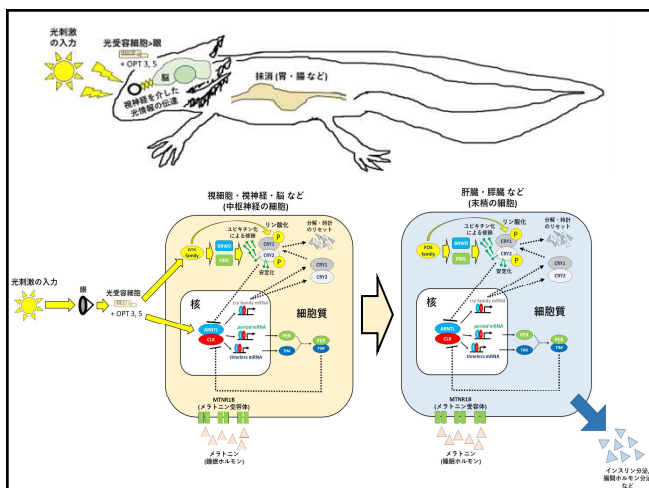
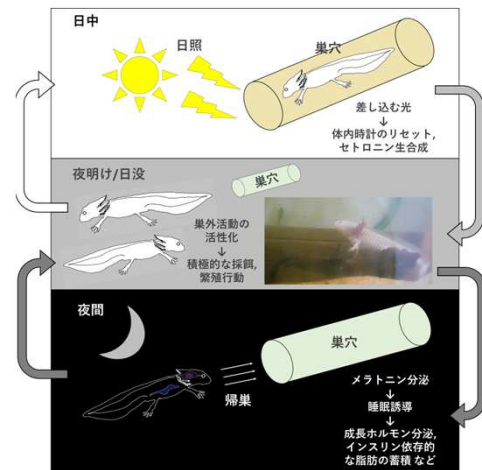


産卵数 (低温処理から1ヶ月間処置を行い, 経過観察した.)
単独飼育 (day360_アダルト5ペアずつ)

総括2

アホロートルにおける睡眠の意義とは？

- アホロートルは活動が活発になる薄暗い時間帯に積極的に巢外へ移動し、摂食を行うことで成長因子 (GF) を生成・分泌する。
- アホロートルは適切な睡眠を摂ることで高い妊性を示す。



＜ウーパールーパー研究報告＞

アホロートルのフミン酸、フルボ酸及び葉の分解者との関係 22/8/27

著: 高橋 慶 監修: 杉山 遥

実験目的

アホロートルの生息地であるソチミルコではチナンパ(水草を集め、その上に泥を乗せることで野菜を育てる)農法 [1] が行われており、その周囲を住处としているため水槽内で再現することによりアホロートルの健康の維持、増進をはかるため。

実験内容

水草の代わりに柿の葉を 5 枚入れ、観察する。

外鰓の長さを確認する。

非常に良い、良い、悪い、非常に悪いをそれぞれ 4～1 として 2 月 23 日からの 30 日間観察する。

※柿の葉を利用した理由

水草などの植物が腐り、分解されていく過程を柿の葉を使用することにより早く再現出来、植物から抽出されるフミン酸 [2] 及びフルボ酸 [3] を多く含むため。

使用したもの

ソイル(supple soil スーパーパウダー)

スポンジフィルター(xy-2835)

柿の葉(自然採取:農薬の使用無し)

カルキ抜き剤(コトブキ工業 500 ビタミン入り)

水槽(GEX サイレント fit400)

仮説(効果に対する期待)

ソイルと柿の葉によりフルボ酸、フミン酸。柿の葉から分解者が生まれることにより現地の元の水を再現することにより、ストレスをかけにくい育成ができ、体調、外鰓共に良い方向に進むのでは無いだろうか。



実験期間 2022 年 2 月 23 日～3 月 23 日

日付	ウパ1	ウパ2	ウパ3	水温	餌	その他
2022.2.23	1	0	-2	13.5	×	
24	2	0	-1	14	○	
25	2	1	-1	13.5	×	
26	2	1	-1	13.5	○	ウパ3が左前足欠損
27	2	1	-1	15	×	
28	2	1	-1	15.5	○	ウパ3欠損部にカビ
3. 1	2	1	-1	14.5	×	ウパ3カビの一部が取れる。 壁面にコケが発生
2	2	2	-1	15	○	
3	2	2	-1	14.5	×	
4	2	2	-1	15	○	
5	2	2	-1	15	×	
6	2	2	-1	15	○	
7	2	2	-1	15	×	
8	2	2	-1	15.5	○	
9	2	2	-1	15	×	
10	2	2	-1	16	○	
11	2	2	-1	17	×	
12	2	2	-1	16.5	○	スポンジフィルターの掃除 水草のコケ取り
13	2	2	-1	17	×	
14	2	2	-1	17	○	
15	2	2	-1	17.5	×	
16	2	2	-1	17.5	○	
17	2	2	-1	17.5	×	
18	2	2	-1	18	○	
19	1	2	-1	18	×	
20	2	2	-1	19.5	○	
21	2	2	-1	20.5	×	
22	2	2	-1	20	○	
23	2	2	-1	19	×	

観察結果

実験中の餌を食べる量は実験開始前と同様によく食べ、外鰓も綺麗であったことから、チナンパ農法の再現は飼育下において有用であった。

また、チナンパ農法においてウーパールーパー隠れ家としてだけでなく、植物から抽出される成分の影響により住みやすい環境であったと予想できる。

結果を踏まえ

今回の実験では植物を分解するバクテリアとの関係性は分からなかった。

また、ブラックウォーターを希釈して使用した時の結果とあまり変わらないことから、飼育の手軽さから見てブラックウォーターを用いるほうが適していると感じた。

今後の実験としては、流木と水草を使用し、餌を魚やエビに変えることでチナンパ農法とウーパールーパーとの関係性についてより詳しく調べていきたい。

参考文献

チナンパ（ティナンパ）農法 [1]

- ・http://www.y-history.net/appendix/wh0204-007_2.html
- ・<https://www.kankyo-ryokka.com/blog/hydroponic-history01/>
- ・<https://ja.wikipedia.org/wiki/%E3%83%81%E3%83%8A%E3%83%B3%E3%83%91>

フミン酸（腐植酸）[2]

- ・株式会社 日本フルボ酸総合研究所 <https://furubo.net/fulvic/>
- ・<http://www.telnite.co.jp/recruit/img/huminreview.pdf>

フルボ酸 [3]

- ・株式会社 日本フルボ酸総合研究所 <https://furubo.net/fulvic/>
- ・<https://ja.wikipedia.org/wiki/%E3%83%95%E3%83%AB%E3%83%9C%E9%85%B8>

<ウーパールーパー研究報告>

アホロートルの栄養・味覚の不思議 (2022/10/2)

著: 杉山 遥¹ (Ph.D; 詳細調査・本記事の主な執筆者)

所属: ¹ウーパールーパー研究室はるらぼ

トピック 1: アホロートルの味覚について

アホロートル (ウーパールーパー) って味を感じているの? そんな疑問が浮かぶ方も居るかもしれない。

結論から言うと、塩味は好き、苦味や酸味は嫌い のようである。

[静岡大学の竹内浩昭先生の研究](#) から、ウパの摂食や味覚については以下のような知見が得られている。

- ・ 基本的には肉食性。
- ・ イトミズや水棲昆虫、小魚など水中で動くものに反応して、捕食行動を示す。
- ・ 餌が動いた時に生ずる水の微小振動や餌動物の筋肉が発する微弱電流を、体表にある側線器官で検出して餌捕りに役立てる
- ・ 餌を捕らえた後は、餌の味(味覚情報)や硬さ(機械感覚情報)が飲み込むか吐き出すかの決め手になる。

更に、味覚神経の神経応答と行動実験の吐き出し率の関係について調査が行われた結果、以下のような傾向を示すことが明らかとなっている。

- ・ ウパは甘味をほとんど感じない。
- ・ 苦味や酸味は低濃度でも嫌う。
- ・ 塩味を好み、低濃度で積極的に摂取する。

また、文献 (Electrophysiological and behavioral studies of taste discrimination in the axolotl (*Ambystoma mexicanum*)) の中で、旨味成分の一つであるグルタミン酸やグリシン等には 10~25% 程度とあまり高くない応答性を示したという結果が示されているが、旨味への応答性・嗜好性については更に詳細な調査を実施できる余地があるようであった。

そこで当ラボでは、これらの知見に加えて ”旨味” に該当するグルタミン酸やイノシン酸、近年第3の旨味と言われている不飽和脂肪酸等の脂質による旨味への応答性について行動観察調査を行った。

市販の餌には魚粉等が用いられており、餌を投入すると良く臭いをかぐようなしぐさをしたのち、丸飲みするような摂食行動を行う。文献にある通り、塩分に対しては、非常に顕著な反応(積極的に匂いを嗅ぎ、食べようとする反応)を示した。

今回の主な調査対象である肉・魚には旨味成分であるイノシン酸が多く含まれますが、これらの食品に対する応答性を確認した所、非常に顕著な反応(積極的に匂いを嗅ぎ、食べようとする反応)を示した。

また、ごま油 (リノール酸, オレイン酸) や魚油 (DHA, EPA) への応答性についても、同様に高い嗜好性を示した。

一方で、苦手とされる酸味や苦味は、やはりこの調査方法でも忌避することが分かった。

糖質については、やはり報告の通り特に反応しない個体が多く、特段嫌ってはいないが、特に好物でも無いという印象であった。



これらの結果から、ウーパールーパーは、旨味とされるもののうち、グルタミン酸以外の旨味成分（イノシン酸や油脂）に対して、高い嗜好性を示す可能性があることが示唆された。

過去の調査においても、塩味と旨味（イノシン酸、油、脂肪）に対する高い嗜好性があることが明らかになっており、高タンパク・高脂質のアカムシ、昆虫類、環形動物類（ゴカイ・ミズ・ユムシ）等を好むことは、今回の調査結果とも相関があるといえる。

ちなみに、今回グルタミン酸 Na（所謂、味の素）に対しても応答性を示しているのは文献に記載のあるグルタミン酸への嗜好性の低さと矛盾するようにも見えるが、どちらかというと Na（すなわち塩味）に対する嗜好性の高さが主な理由となっていそうである。

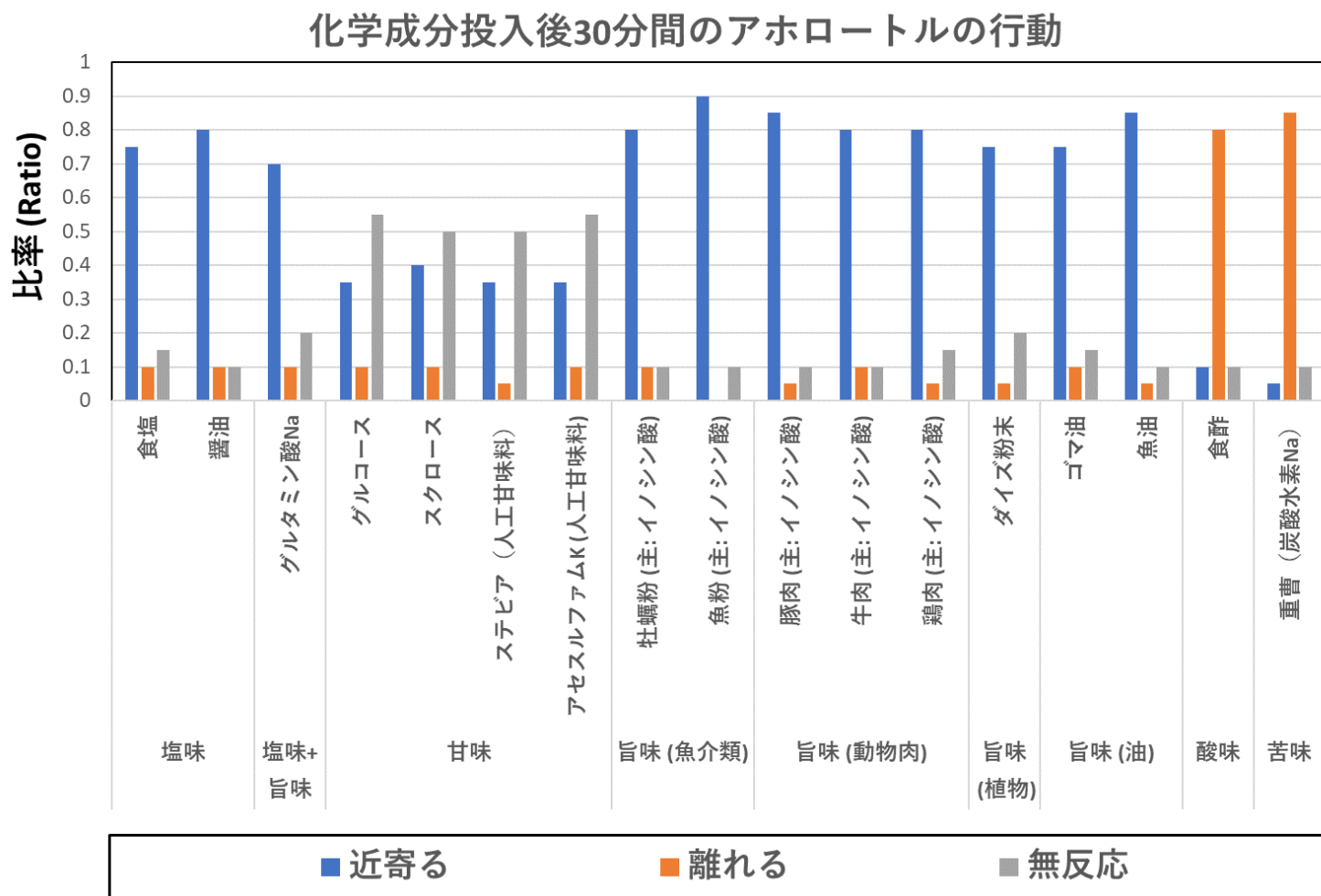
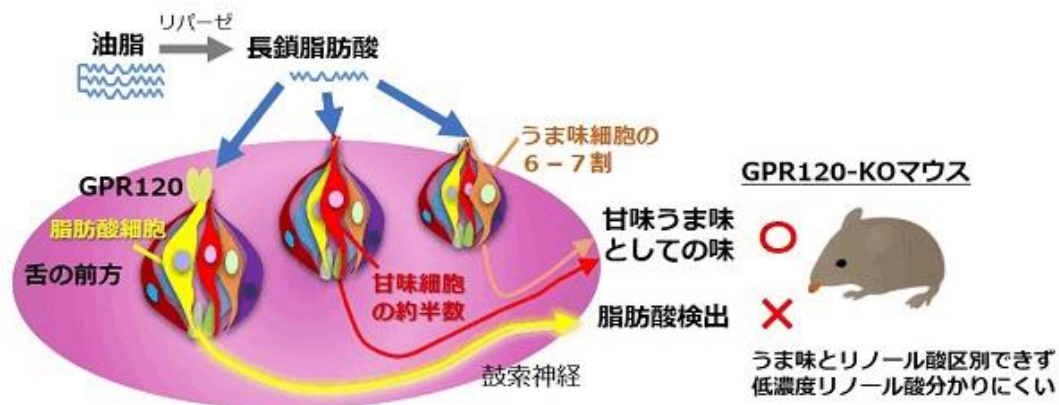


図: ウパの餌に対する嗜好性調査結果

出典

- ・竹内 浩昭 先生 <https://tdb.shizuoka.ac.jp/RDB/public/Default2.aspx?id=11056&l=0&ex=all>
- ・アホロートルの味覚について Electrophysiological and behavioral studies of taste discrimination in the axolotl (*Ambystoma mexicanum*), Nagai et al (1994)., Physiology & Behavior 56/ 121-127 <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031938494902690>
- ・味覚の受容 <https://www.umamikyo.gr.jp/knowledge/physology.html> <https://optronics-media.com/news/20140722/24508/>
- ・旨味成分 <https://rimfuu.wakasa.jp/contents/glutamic-acid/%E3%82%B0%E3%83%AB%E3%82%BF%E3%83%9F%E3%83%B3%E9%85%B8>
- ・グルタミン酸 (非必須アミノ酸; 旨味成分; 神経伝達物質) <https://bsd.neuroinf.jp/wiki/%E3%82%B0%E3%83%AB%E3%82%BF%E3%83%9F%E3%83%B3%E9%85%B8>
- ・イノシン酸 ()
<https://www.kobayashi-foods.co.jp/washoku-no-umami/inosinic-acid> <https://www.umamiinfo.jp/richfood/foodstuff/meat.html>
- ・脂肪酸 <https://shozankan-shop.com/lab/?p=5115> <https://shozankan-shop.com/lab/?p=5115>
https://www.maff.go.jp/j/syouan/seisaku/trans_fat/t_kihon/fatty_acid.html
- ・オレイン酸 (オメガ 9 不飽和脂肪酸) https://www.maff.go.jp/j/syouan/seisaku/trans_fat/t_kihon/fatty_acid.html
油脂等からの摂取, 人体で生合成可能。
血液中の悪玉 (LDL) コレステロールのみを下げるといわれており、動脈硬化や心疾患の予防に効果が期待できる。
オレイン酸が含まれる代表的な食品: ひまわり油, オリーブオイル, 紅花油アーモンド
- ・リノール酸 (オメガ 6 不飽和脂肪酸)
植物油に多く含まれている。人体で生合成不可能。必須脂肪酸。不足すると皮膚障害が生じることがある。血中コレステロールを上げにくい。
オレイン酸が含まれる代表的な食品: グレープシードオイルやコーン油、綿実油、ごま油、大豆油に多く含まれる。
<https://www.nisshin-oillio.com/oil/healthy/linoleic.html>
- ・α-リノレン酸 (オメガ 3 不飽和脂肪酸) https://www.maff.go.jp/j/syouan/seisaku/trans_fat/t_kihon/fatty_acid.html
脳や神経の機能を維持したり、血液の流れをスムーズにするためには欠かせない。
主な効果: 悪玉コレステロールの減少と善玉コレステロールの増加, 同じオメガ 3 系脂肪酸の DHA や EPA を体内で生合成する際にも使われる。
体内での生合成不可→食品から摂取する必要がある「必須脂肪酸」
α-リノレン酸が含まれる代表的な食品:
えごま油, あまに油, くるみ, チアシード
- ・不飽和長鎖脂肪酸 <https://shozankan-shop.com/lab/?p=5115>
- DHA (ドコサヘキサエン酸) / EPA (エイコサペンタエン酸)
<https://www.bee-lab.jp/megumi/dha-epa/index.html> <https://lpi.oregonstate.edu/book/export/html/2431> <https://www.orthomolecular.jp/nutrition/linolenic-acid/>
- ・油は何故旨いのか? <https://aissy.co.jp/ajihakase/blog/archives/17412>



出典 <https://academist-cf.com/journal/?p=10467>

<23/3/10, 12, 26 お詫びと訂正>

以下の点について、差し替え・修正致しました。
平素より当ラボ関連文献をご愛読の皆様、大変申し訳ございません。
まだまだ未熟な点多々ございますが、今後とも ”はるらぼ” とのお付き合いの程、何卒宜しくお願い致します。

23/3/10, 26 修正

<360日間における栄養依存的な成長率の比較>



23/3/12 修正

・ 因子 2) アホロートルにおける異種混泳・密度条件依存的な成長率
キイロショウジョウバエやカブトムシなどの昆虫類やメダカなどの魚類において、生
長や生育速度と密接な関係があると言われており、広い所で飼育すればそれ
そこで、以下の2つの疑問 (1.底面積と水深、どちらを生体は検知している
かで確定して変更できなくなるか。) について、様々な飼育条件を設定すること
失われるタイミングについて順次調査を行った。

表：飼育条件と生育率の相関を調査する

縦長 (メスシリンダー)		
【3023-5441】トラスコ中山 メスシリンダー 1000ml MS1000		
容器サイズ	φ 61x3.14xH400 (mm)	619
アホロートル (0.3% ミネ水)	day120 (mm); n=5	2.47
(5匹の平均値の比較)	day360 (mm); n=5	3.39

・ 因子 2) アホロートルにおける異種混泳・密度条件依存的な成長率
キイロショウジョウバエやカブトムシなどの昆虫類やメダカなどの魚類において、生
長や生育速度と密接な関係があると言われており、広い所で飼育すればそれ
そこで、以下の2つの疑問 (1.底面積と水深、どちらを生体は検知している
かで確定して変更できなくなるか。) について、様々な飼育条件を設定すること
失われるタイミングについて順次調査を行った。

表：飼育条件と生育率の相関を調査する

縦長 (メスシリンダー)		
【3023-5441】トラスコ中山 メスシリンダー 1000ml MS1000		
容器サイズ	φ 61x3.14xH400 (mm)	619
アホロートル (0.3% ミネ水)	day120 (mm); n=5	2.47
(5匹の平均値の比較)	day360 (mm); n=5	3.39

<ウーパールーパー研究報告>

メキシコサンショウウオや昆虫類の栄養状態と成長に関する最新・追加報告 (22/10/2)

著: 杉山 遥¹ (Ph.D; 詳細調査・本記事の主な執筆者)

アホロートルの味覚 (杉山, 2022) については、塩味と旨味 (イノシン酸, 油, 脂肪) に対する高い嗜好性が明らかになりました。

高タンパク・高脂質のアカムシ、昆虫類、環形動物類 (ゴカイ・ミズ・ユムシ) 等を好むのは納得いくような気がします。

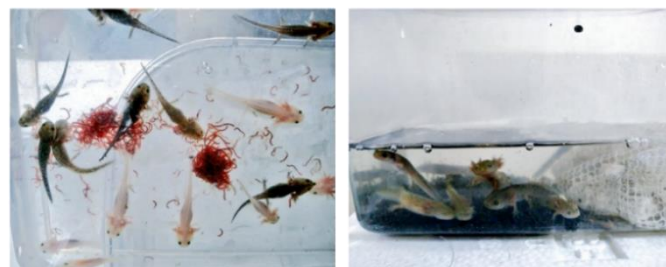
これらの食物等の要因を含めてアホロートルの成長制御・生育との相関について、本項では触れていきたいと思う。

当ラボにおけるこれまでの調査の中で、アホロートルの成長制御にとって必要不可欠な因子は以下の3つあると考えている。

- ・ **因子1) 摂食頻度・量・代謝など (摂食 および 代謝・内分泌)**
- ・ **因子2) 生育環境・密度 (水質・生息地の広さ)**
- ・ **因子3) 両親からの遺伝 (成長時の最大サイズを決める遺伝的要因) → 繁殖後に経過を確認予定。**

今回、上記の大きく3つの要因の中で、主に **因子1), 2)** と成長制御の相関について可能な範囲で詳細な調査を実施した。

以下、その結果・経過について順次報告する。



参考 1: アホロートルの成長・生育に重要な複数の因子:

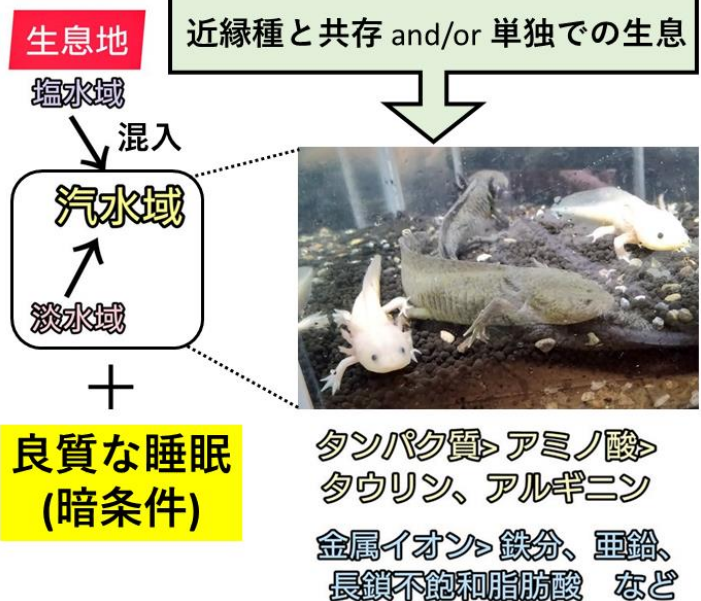
上図: 様々な栄養成分, 中断左: 牡蠣粉,
中断右: グルタミン酸ナトリウム (味の素の主成分),
下段左: 異種との混泳 下段右: エゾサンショウウオ
(小型のサンショウウオ。環境依存的に二型を示す。)

参照: エゾサンショウウオ の環境依存的な多型



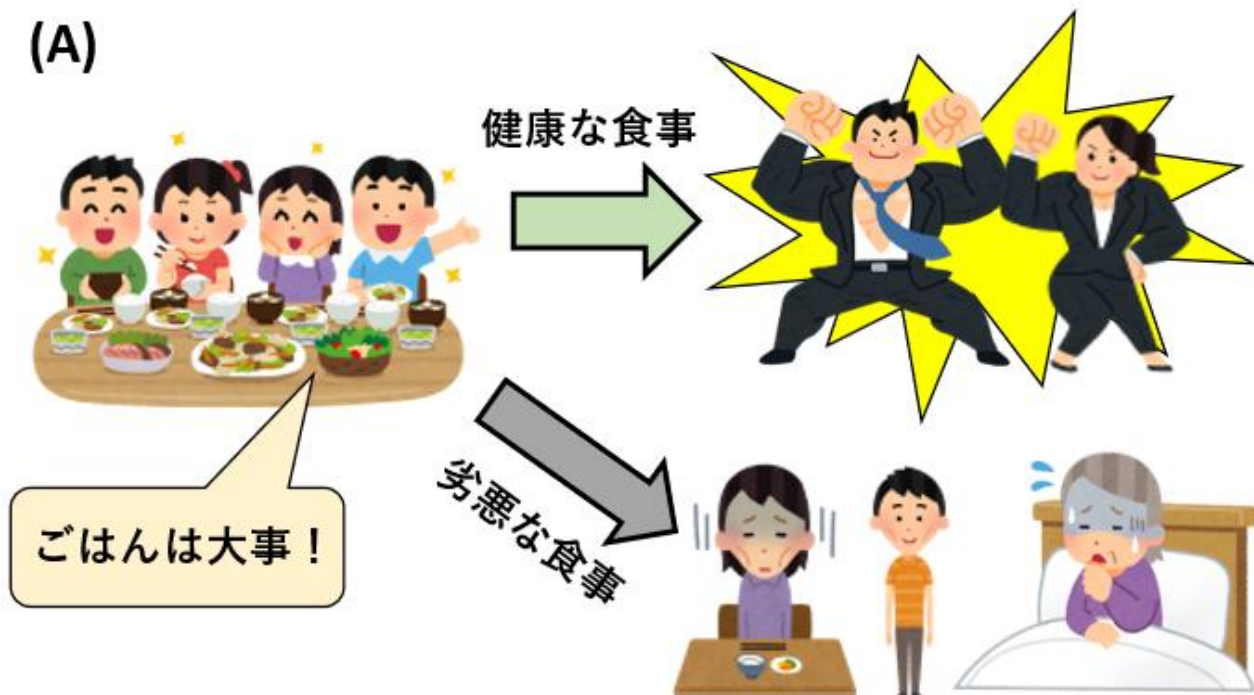
若原正己 北海道大学大学院生命科学院
生命科学専攻

https://www.brh.co.jp/publication/journal/049/research_11_2



参考 2: アホロートルの成長制御と周辺環境

(A)



(B)



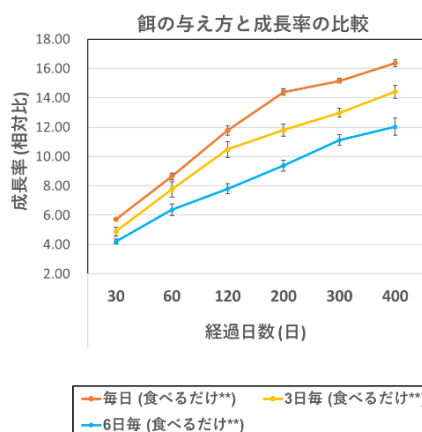
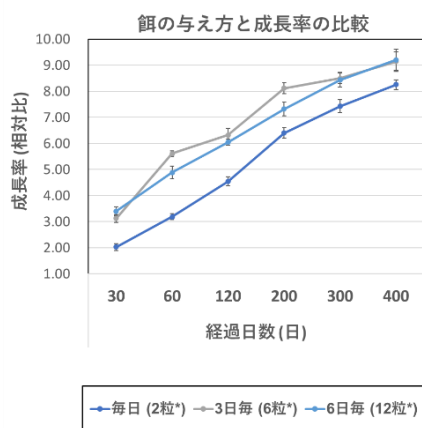
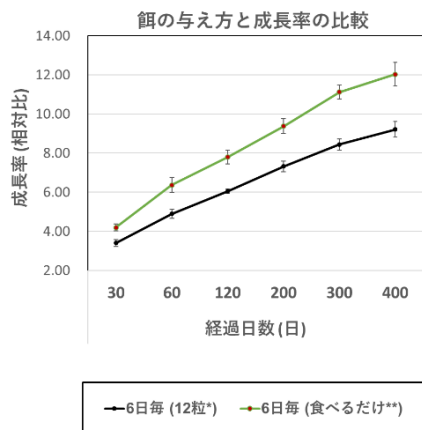
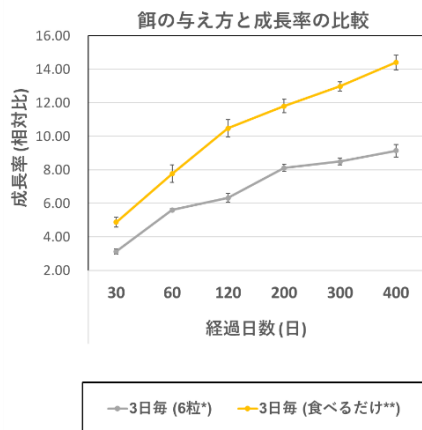
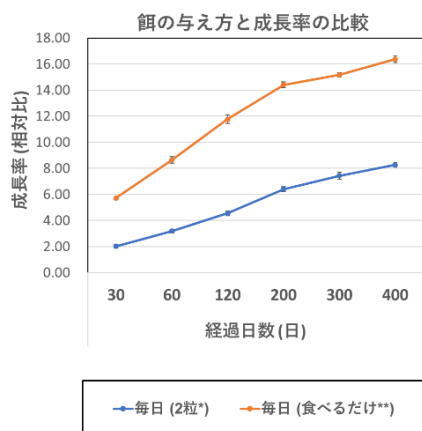
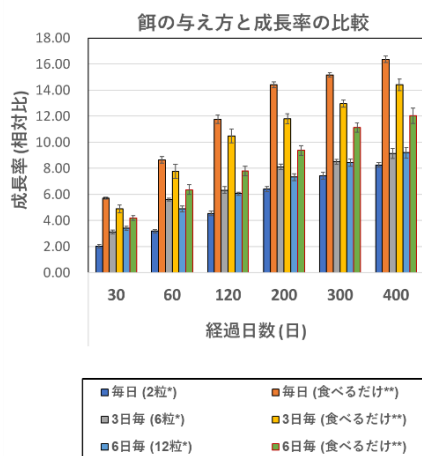
参考 3: モデル図; 適切な食事環境はあらゆる生物にとって適切な生育にとって必要不可欠である。

(A) 適切な食事は健康と成長に繋がる。

(B) ウーパールーパーもきっと同じ。何を食べたら良く育つ？

・ 因子 1) 摂食頻度・量・代謝など (摂食 および 代謝・内分泌) と成長・生育の相関-1

以下、餌摂取頻度や量と成長率の相関について調査した結果を示す。今回の調査結果を踏まえ、摂食後の消化時の生体への負担等を考慮すると、“**3日毎に各個体が食べられる量だけ餌を与える**”手法が最もウーパールーパーを生育させるのにふさわしい手法であることが推察された。尚、成長率だけを考慮すれば、最も効果があるのは“毎日食べられるだけ餌を与える”手法ではあるが、腸への負担や寿命への影響・生育コストなどを踏まえると、前述の“3日毎に与える”という頻度が最良といえる。



* エサ: ひかりウーパールーパー (小粒)

** 30~60 日; 6~30 粒程度

120~200 日; 30~40 粒程度

300~400 日; 35~50 粒程度



・ 因子 1) 摂食頻度・量・代謝など (摂食 および 代謝・内分泌) と成長・生育の相関-2

以下、過去の調査時においてスクリーニング時に選択された栄養成分を含む複数の成分を加えた餌を投与した個体の成長・生育率について比較を行っている。

これまでに注目してきた栄養成分は、**金属イオン (鉱物)**、**糖質**、**タンパク質**、**脂肪 (脂質)** の 4 つに大別できる。また、成長に関わるその他の因子としては**腸内環境**や**睡眠**を取り上げてきた。

参照 (青字のハイパーリンクから論文閲覧可能)

- ・ 成長制御因子のスクリーニング … [ウーパールーパーだより vol. 1.3 \(2021-2022\)](#)
- ・ アホロートルの睡眠と成長 … [ウーパールーパーだより vol 2.4 \(2022\)](#)

これらの関連因子について、当ラボの先行研究の続報をこちらに示すので、是非ともご覧いただきたい。

< 360日間における栄養依存的な成長率の比較 >



< 360日間における栄養依存的な成長率の比較 >

腸内環境

0.3%ミネ水
六君子湯 (グレリン)



0.3%ミネ水
生乳酸菌摂取



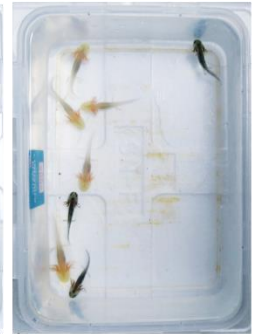
0.3%ミネ水
通常エサ+糞
(腸内細菌摂取)



0.3%ミネ水
+オキシリン酸



0.3%ミネ水
+ペニシリン



脂肪・脂質

0.3%ミネ水
ユーグレナ



0.3%ミネ水
ポリフェノール



0.3%ミネ水
DHA・EPA



0.3%ミネ水
ベザトール
(脂質代謝阻害)



当ラボ開発品

0.3%ミネ水
人工合成餌



成長ホルモン

0.3%ミネ水
+ hGF



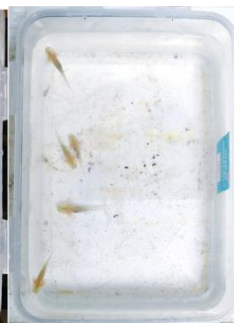
0.3%ミネ水
DD



0.3%ミネ水
DD+メラトニン



0.3%ミネ水
LL

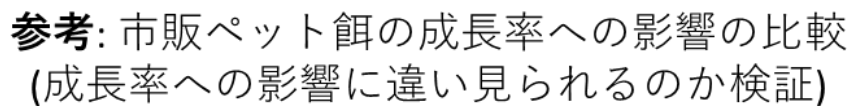


0.3%ミネ水
カフェイン

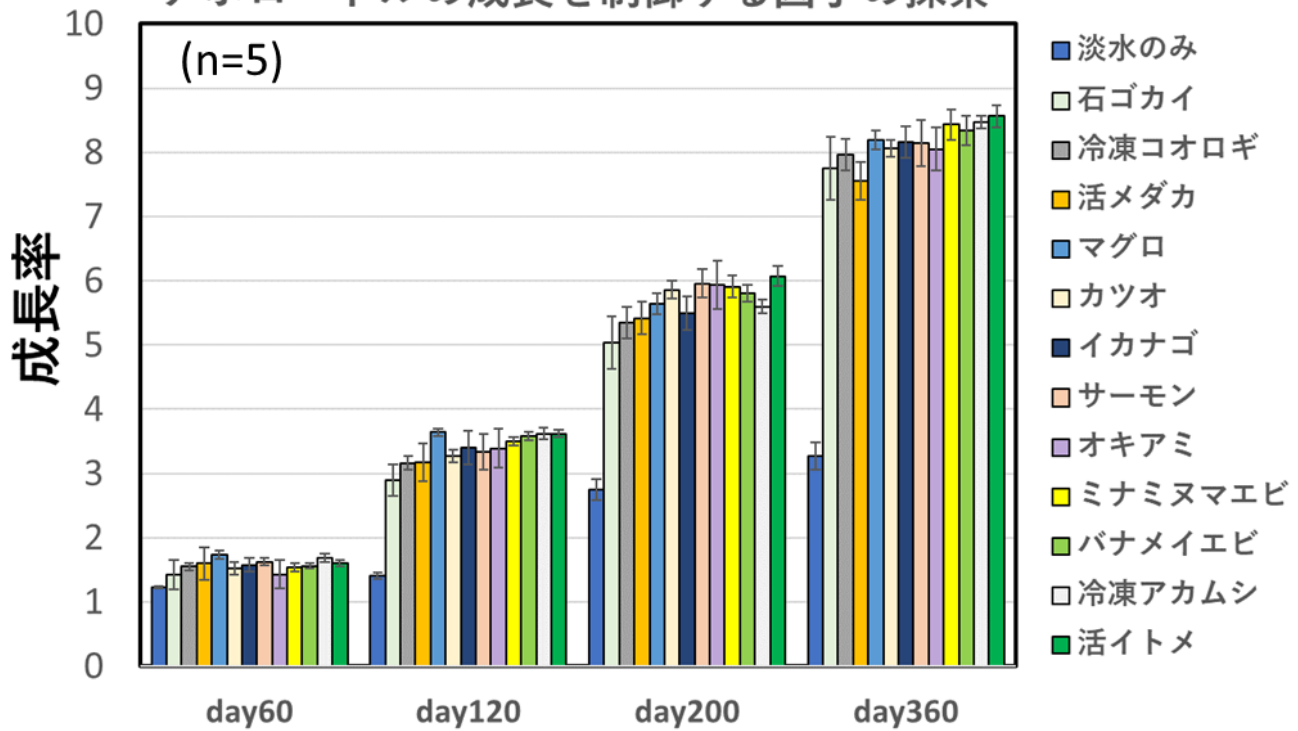


睡眠

なので 実験開始〇〇日目、と書きかえるなら、30日間を引いた値となります。



アホロートルの成長を制御する因子の探索



参考: 生餌・活き餌の成長率への影響の比較
(成長率への影響に違い見られるのか検証)

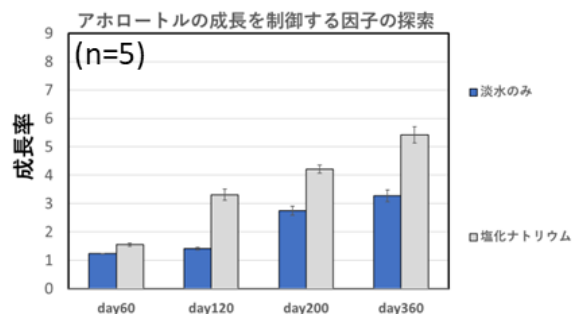
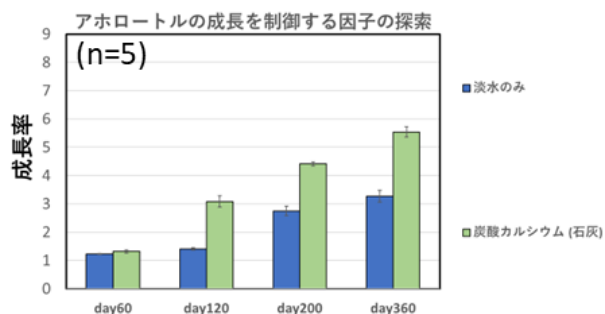
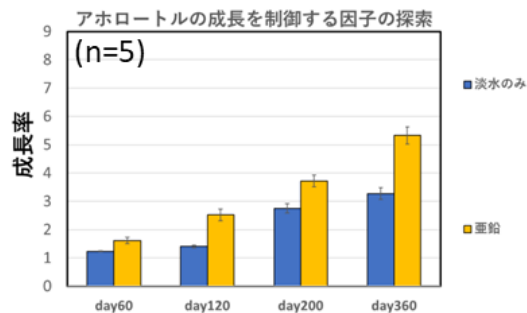
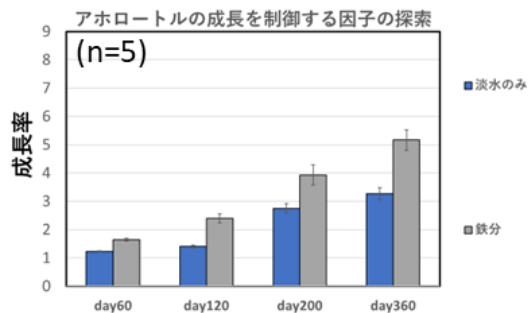
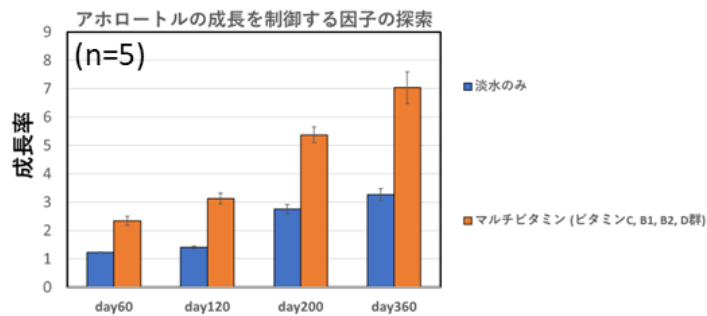
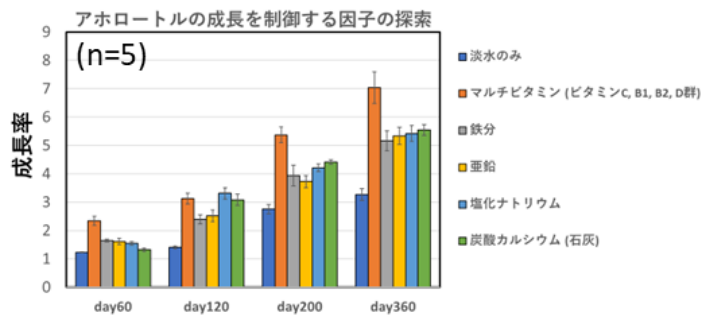


図3: ビタミン, 金属イオン関連 はウーパールーパーの成長促進に関わる

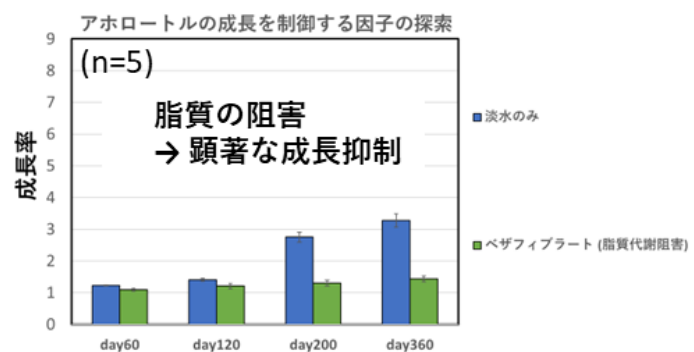
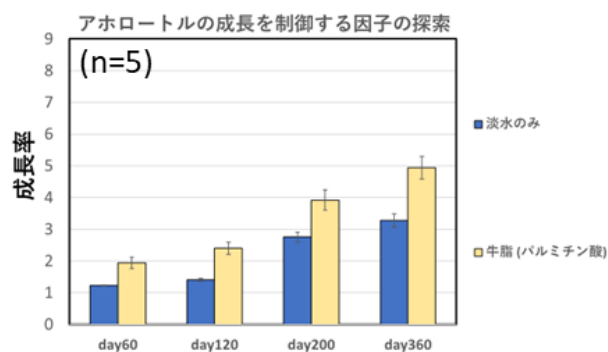
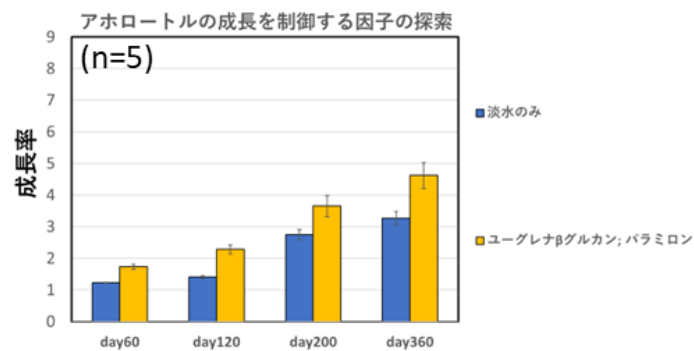
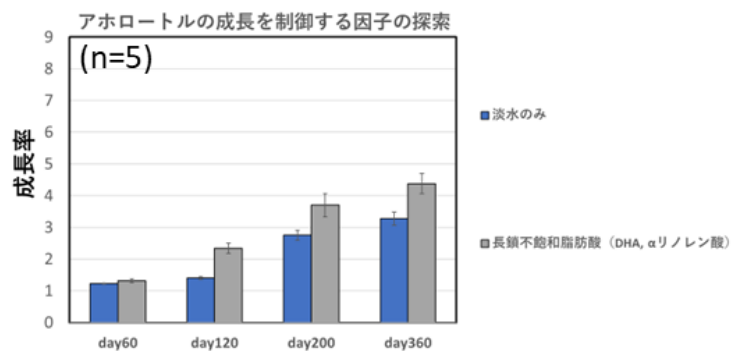
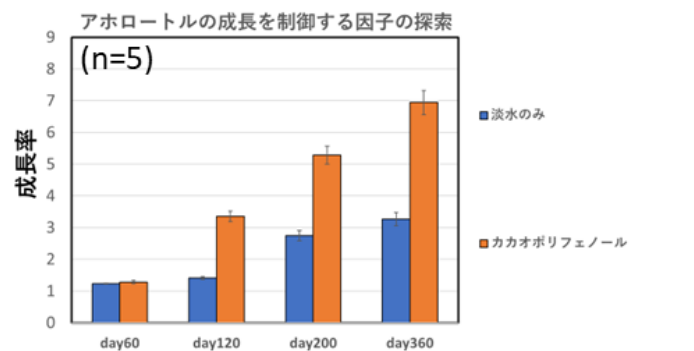
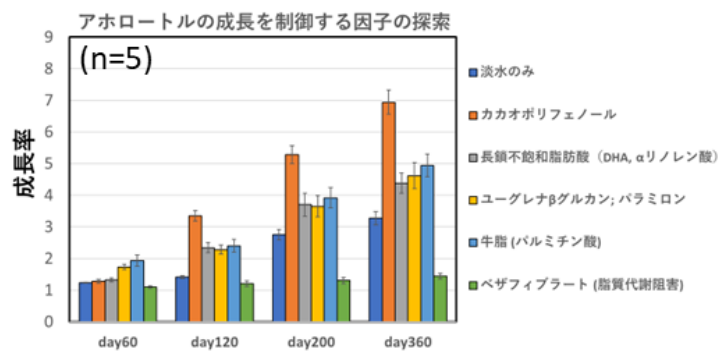


図4: 脂質の摂取はアホロートルの成長を促進する

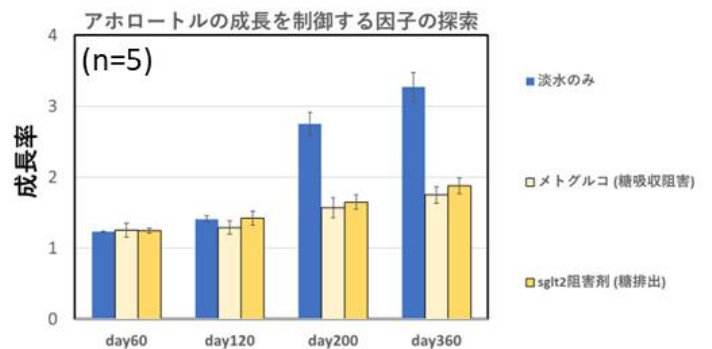
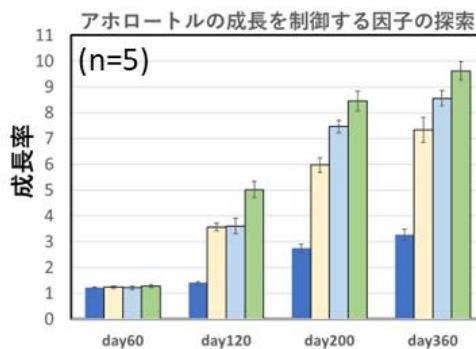
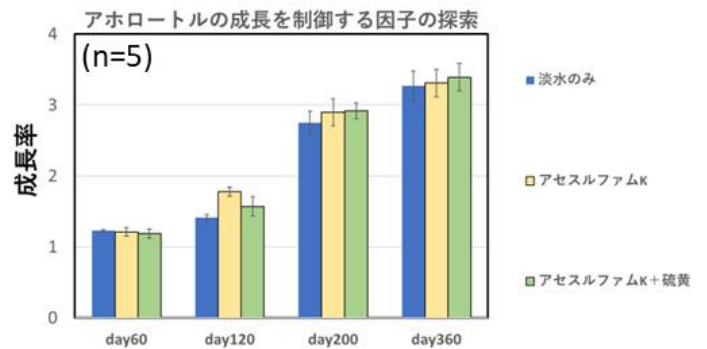
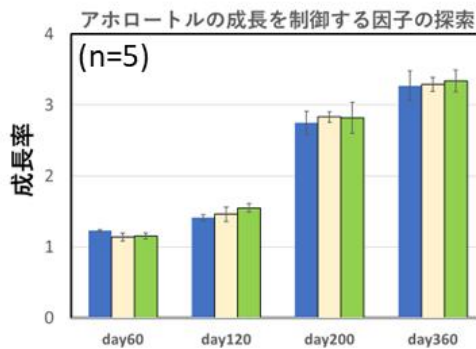
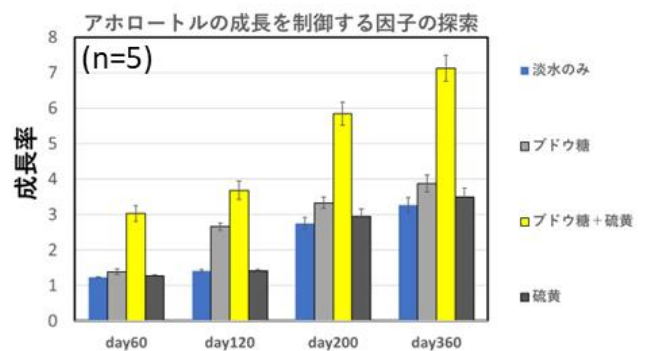
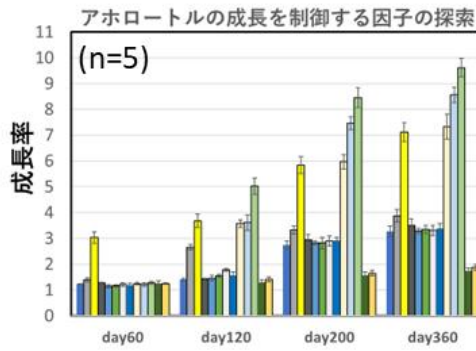


図5: 糖質・脂肪はウーパールーパーの成長促進に関わる

糖質・脂肪の阻害
→ 顕著な成長抑制

人工甘味料: エリスリトール, アセスルファムK

硫黄呼吸 (硫黄代謝): 硫黄を介した糖代謝経路によるATP生成
→ とはいえ、人工甘味料ではこの恩恵は得られない。

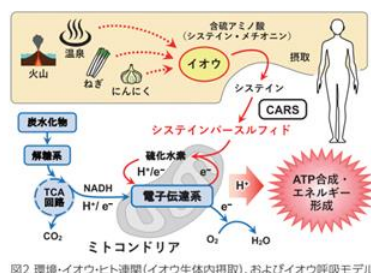
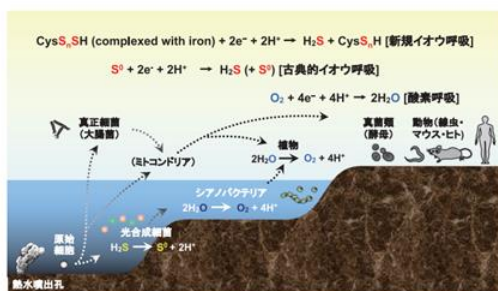


図2 環境-イオウヒト連関 (イオウ生体内摂取、およびイオウ呼吸モデル)

正常マウス 硫黄代謝不全マウス



(参照:イオウ呼吸:創薬の新たな標的)

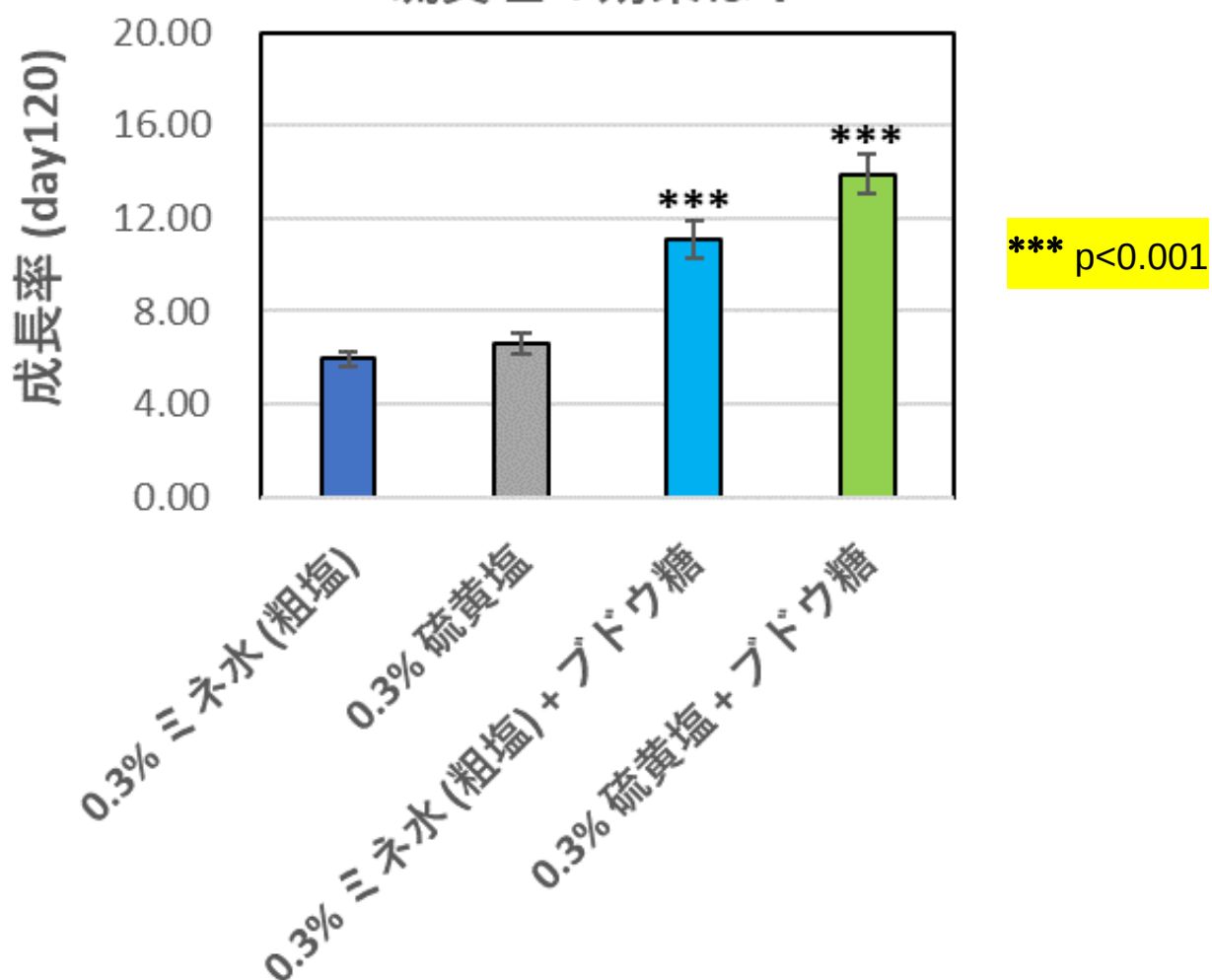
https://www.jaima.or.jp/resource/media/souyakunohoriba_vol10.pdf

<https://www.itmedia.co.jp/news/articles/1710/31/news126.html>

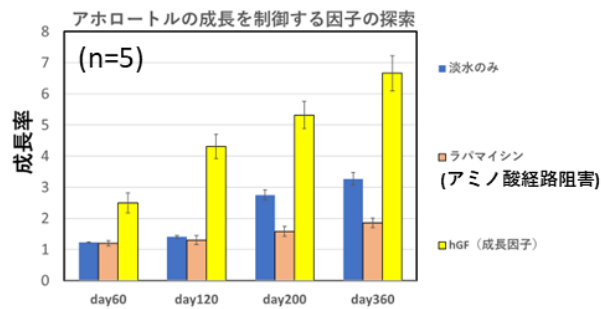
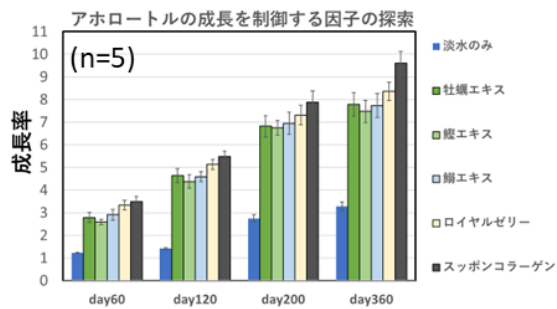
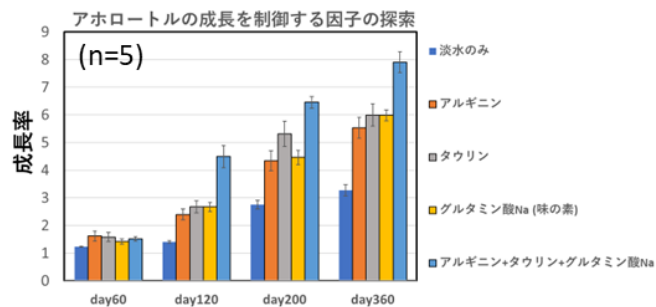
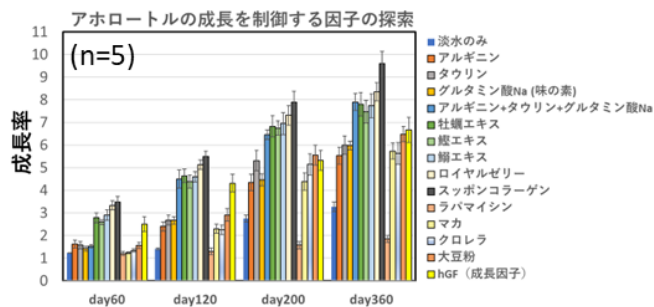
補足: 硫黄を含有する塩を用いた場合の成長率に関する詳細情報

	0.3% ミネ水 (粗塩)	0.3% 硫黄塩	0.3% ミネ水 (粗塩) + ブドウ糖	0.3% 硫黄塩 + ブドウ糖
容器サイズ	600×275×H360 (mm)	600×275×H360 (mm)	600×275×H360 (mm)	600×275×H360 (mm)
開始日 (mm); n=5	2.56	2.55	2.49	2.52
day360 (mm); n=5	15.19	16.75	27.37	34.92
成長率 (5匹の平均値の比較)	5.94	6.60	11.06	13.91

硫黄塩の効果は？



尚、硫黄入りの岩塩を飼育に用いることで、硫黄呼吸と汽水による成長促進の相乗効果が狙えるという結果が得られたが。長期的な副作用・リスクについても継続して確認していきたい。



アミノ酸経路の障害
→ 顕著な成長抑制

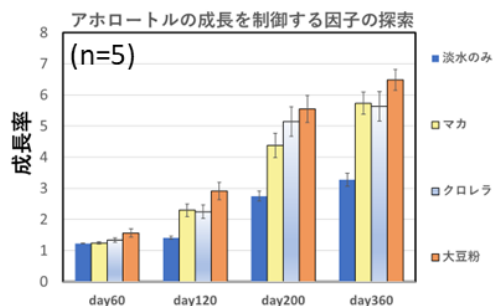


図6: タンパク質・アミノ酸はウーパールーパーの成長促進に関わる

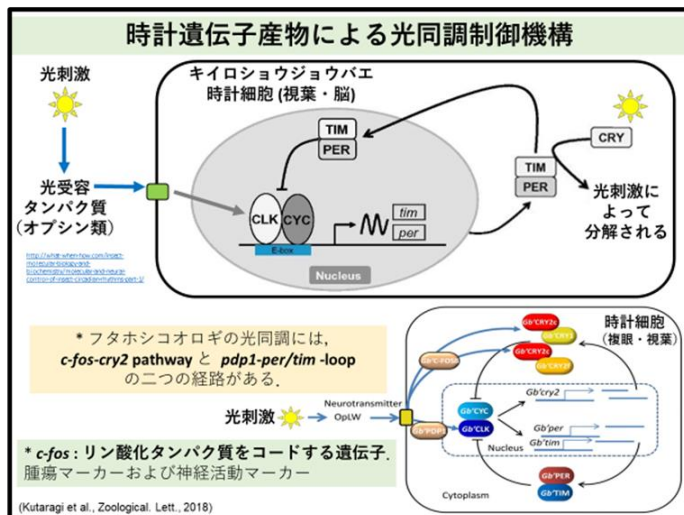
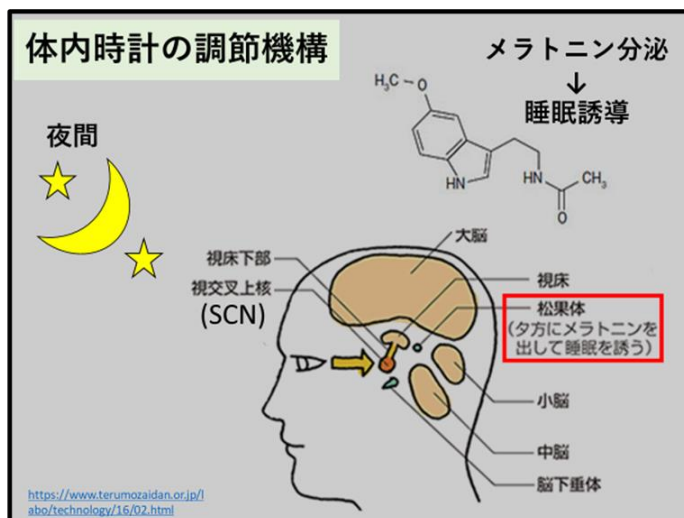
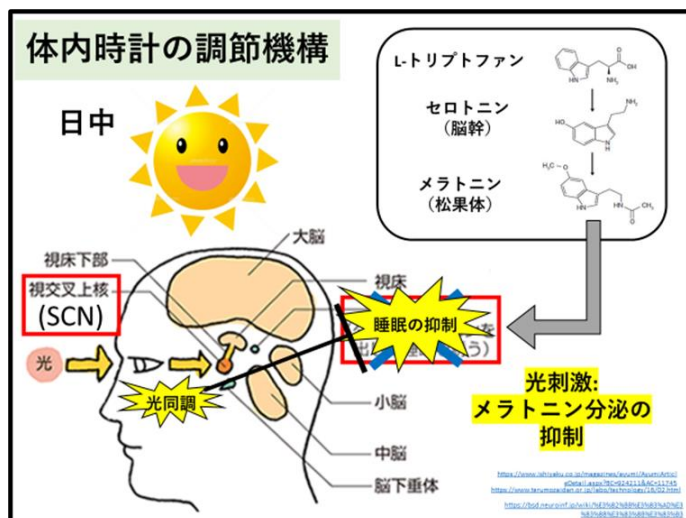
・ 因子 1) 昆虫類の栄養と睡眠・成長に関する最新・追加報告

当ラボから過去に、昆虫類の生育に関しても報告を行ったことがある(杉山 2021-2022; 以下のリンク先を参照)。この選考報告にひき続き、過去の検討結果に新たな結果を加えて、昆虫の成長制御に関わる因子として、睡眠やアミノ酸を含む代謝経路について複数の追加検証を実施したため、本項にて追加報告したいと思う。

参照(青字のハイパーリンクから論文閲覧可能)

- ・ 昆虫の成長・生育はアミノ酸依存的に制御される・・・[ウーパールーパーだより vol. 1.3 \(2021-2022\)](#)

以下、昆虫類(ショウジョウバエ・フタホシコオロギ)における睡眠制御や、Hippo 経路, Yap/TAZ シグナル経路等に代表されるアミノ酸依存的な成長制御に関わる TOR シグナルと相互作用する分子について挙げる。今回、これらの因子に注目し、昆虫の成長制御や繁殖能力(妊性)の制御との関連性について調査を行った。



参照: 昆虫における時計遺伝子と体内時計の制御機構

摂食・栄養摂取

脳の細胞における
インスリン産生

血流から全身へ

生殖腺 (オス)

インスリン受容体,
Slimfast

栄養シグナル分子
TOR

(?)

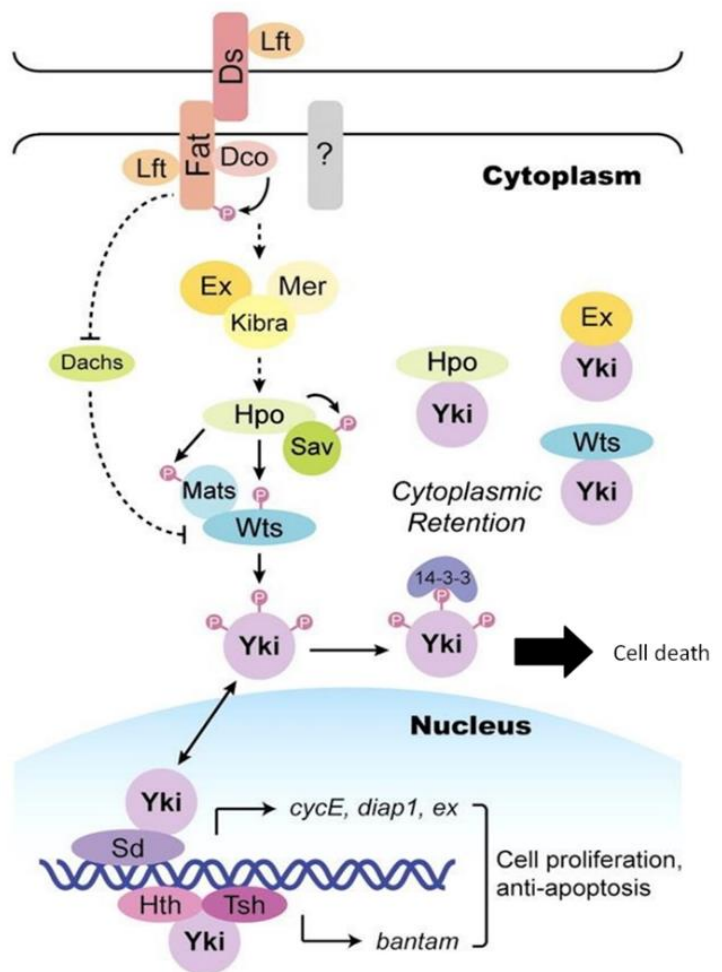
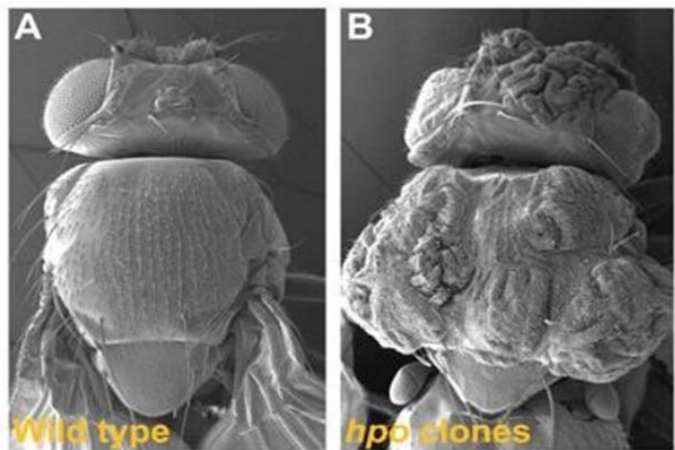
dSat

生殖腺第二細胞の
数決定

エクダイソン
(脱皮ホルモン)
シグナル受容体

第二細胞調節因子
Abd-B

第二細胞の
大きさ制御

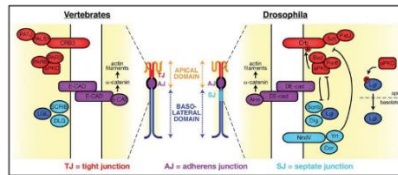
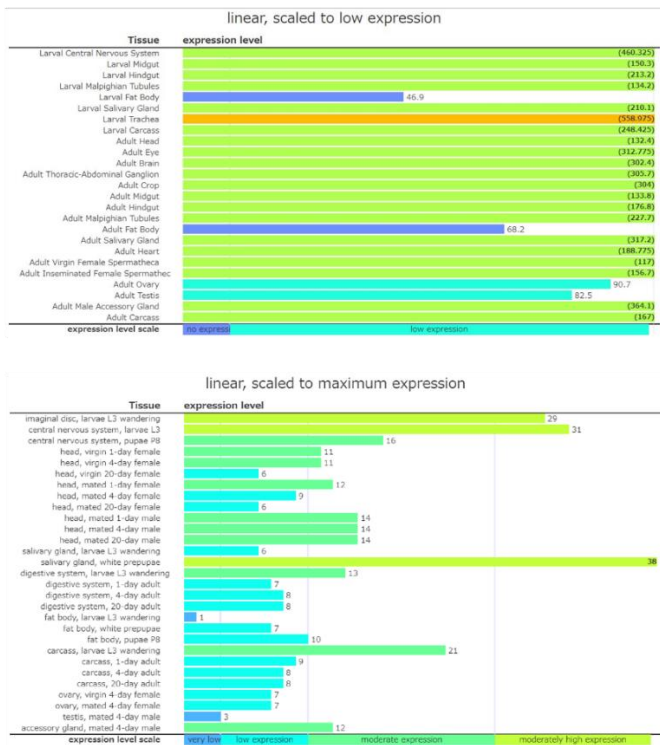


(Halder et al., Development, 2011)

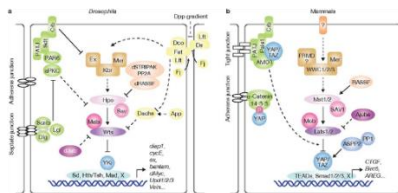
(Zhao B et al., Genes. Dev., 2010)

参照: 栄養シグナルによる昆虫の生殖制御には、シグナル分子 TORと dSat を仲介する分子が必要である。

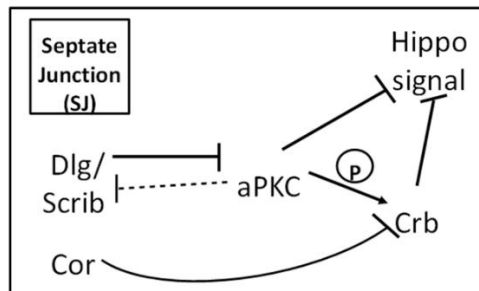
Flybase による発現確認



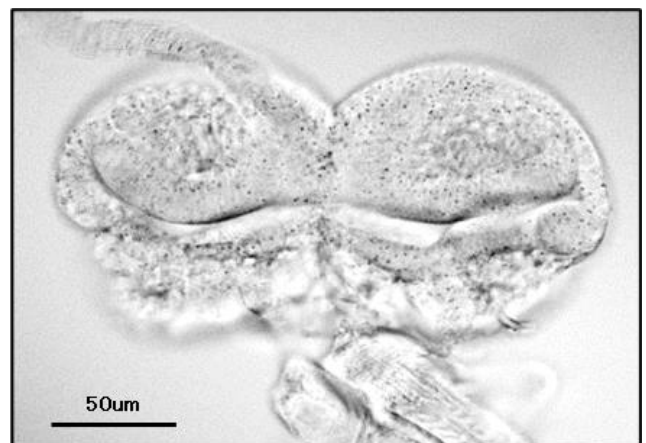
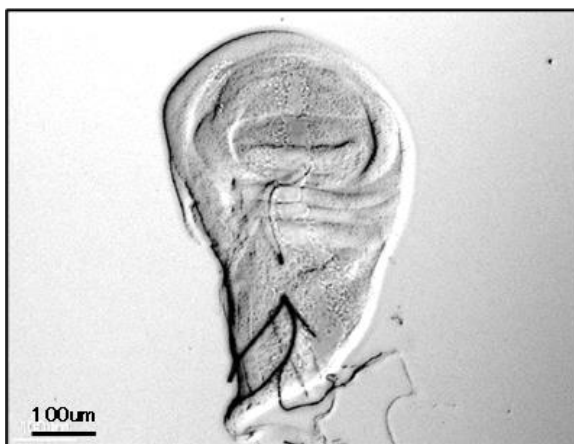
REVIEW ARTICLE
The Hippo pathway and apical-basal cell polarity
Alice Genevet, Nicolas Tapon
Biochemical Journal Jun 01, 2011, 436(2):213-224, doi: 10.1042/BJ 20110217



The Hippo pathway in organ size control, tissue regeneration and stem cell self-renewal
Bin Zhao, Karen A. Tumaneng, Kun-Liang Guan
Published in Nature Cell Biology 2011
DOI: 10.1038/nrcb2303

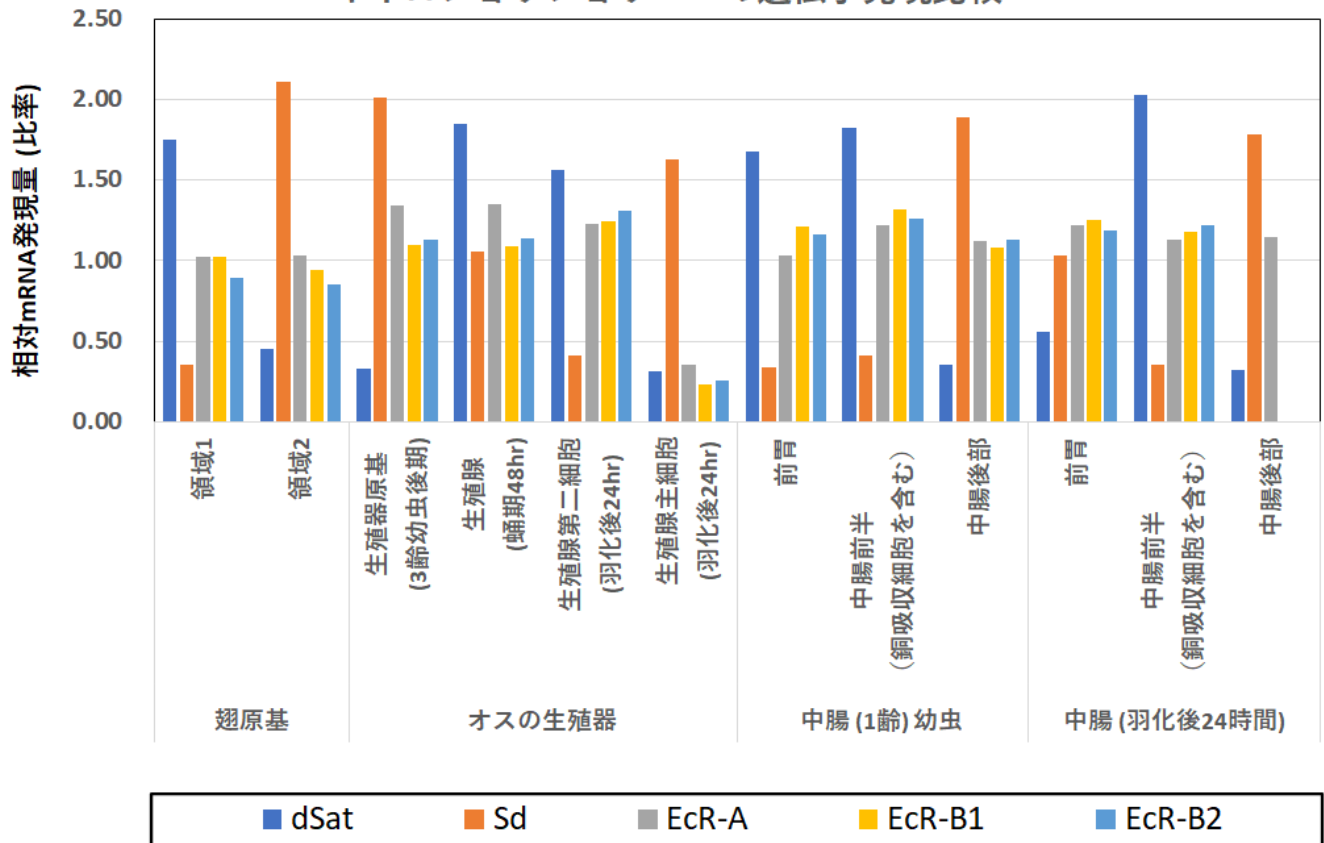


参照: ショウジョウバエデータベース "Flybase" <https://flybase.org/>



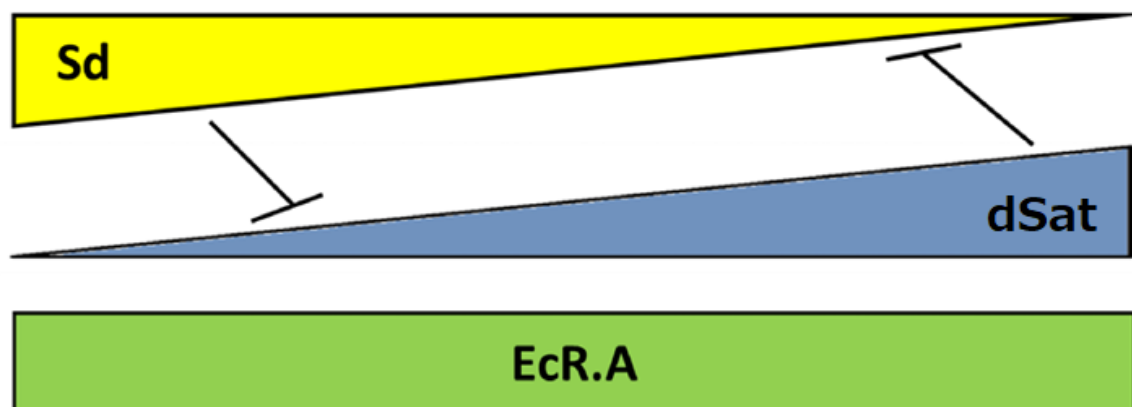
参照: 左; ショウジョウバエの羽原基, 右; ショウジョウバエの生殖器原器

各生育時期・領域別における キイロショウジョウバエの遺伝子発現比較



参照: オスの各組織において作用する遺伝子の発現パターン

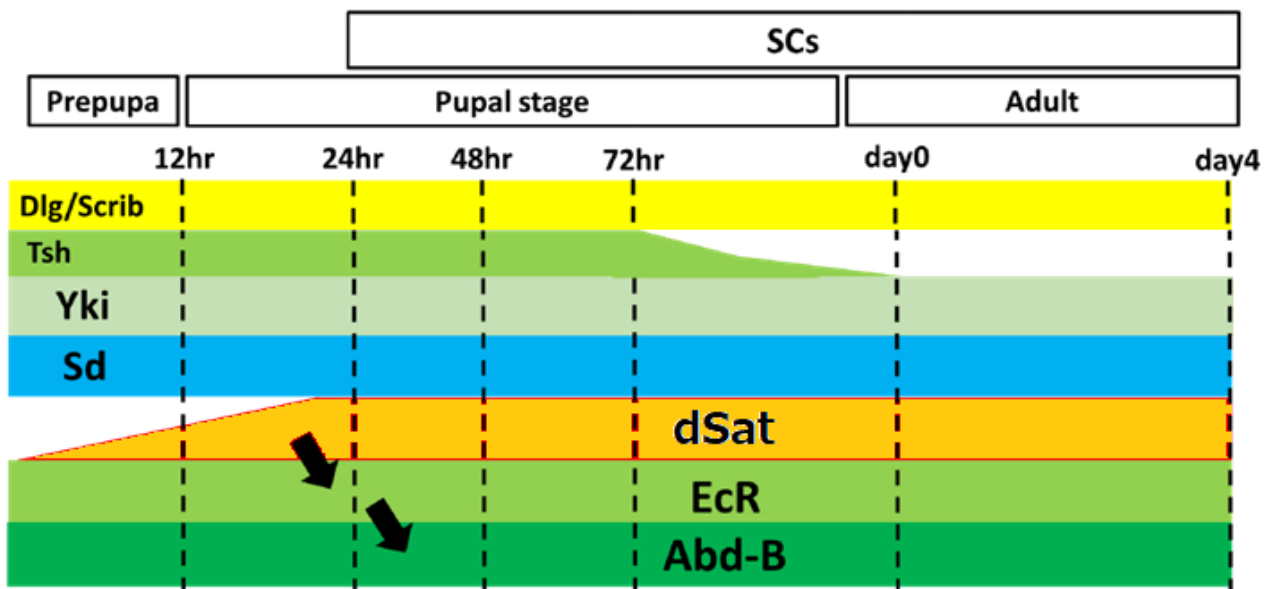
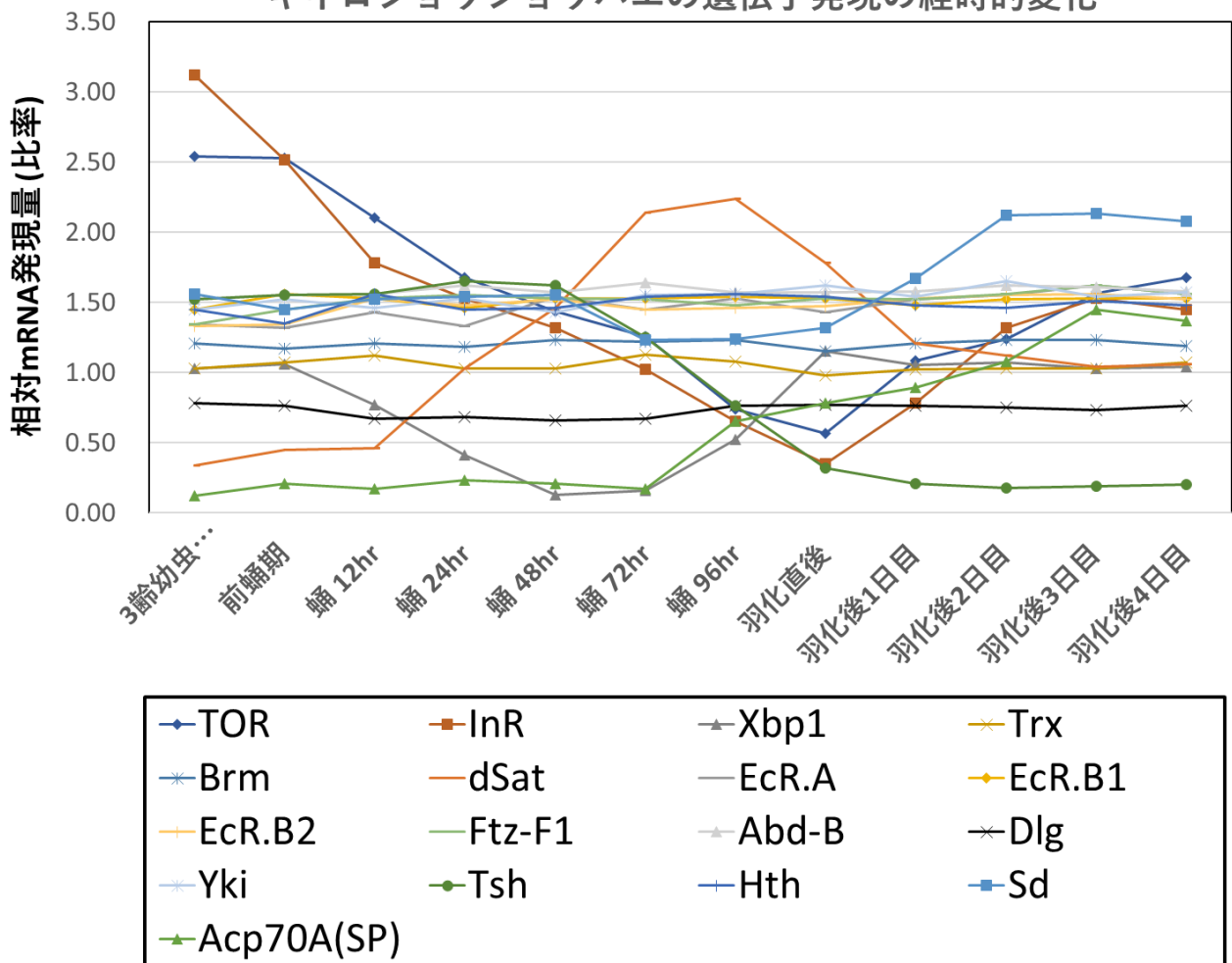
- ※ 転写制御因子である Sd と dSat は相互抑制している。
- ※ 領域 1・・・Wing pouch の周辺部分 (dSat を高発現している)
- ※ 領域 2・・・Wing pouch mの中央部分 (dSat を高発現していない)



参照: オスの各組織において作用する遺伝子の発現パターン 2

- ※ 領域によって多少変わるものの、Sd と dSat は相互的に抑制しあっている。

キイロショウジョウバエの遺伝子発現の経時的変化



参照: オスの生殖腺全体において作用する遺伝子の発現パターン (SC: 生殖腺第二細胞)

※ 参考文献 [16] によると、dSat はタンパク質レベルでは蛹期 24hr 頃からオスのショウジョウバエ生殖腺の第二においては発現が一定に維持されているが、主細胞では蛹期 96hr～羽化後（成虫期）においては、タンパク質レベルでは大きく低下することが分かっている（本結果と相関あり）。

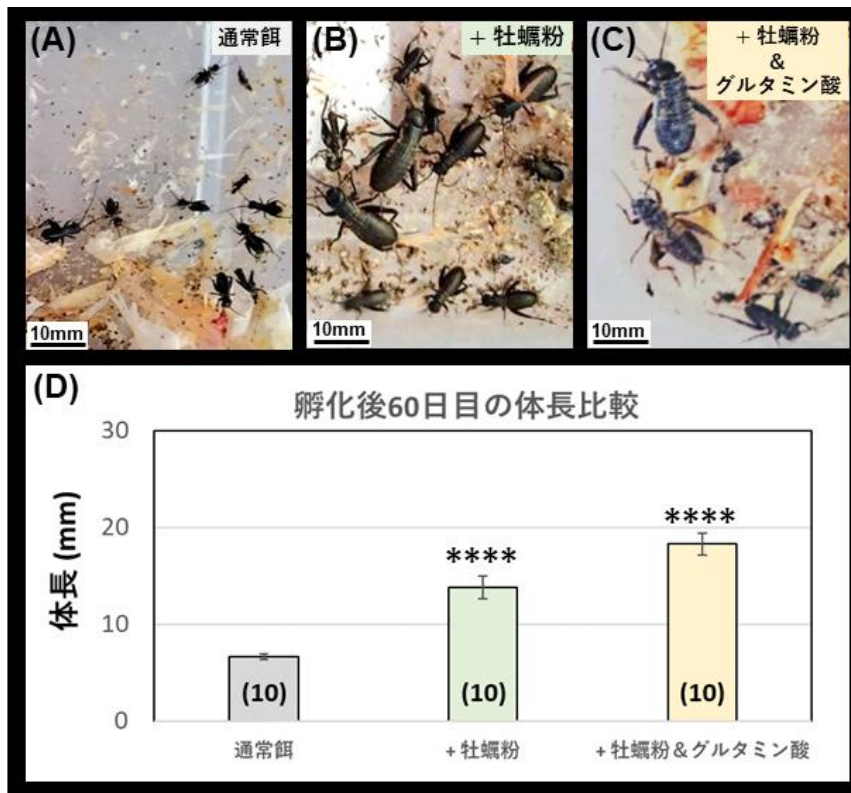


図1: 栄養依存的なフタホシコオロギの生育率

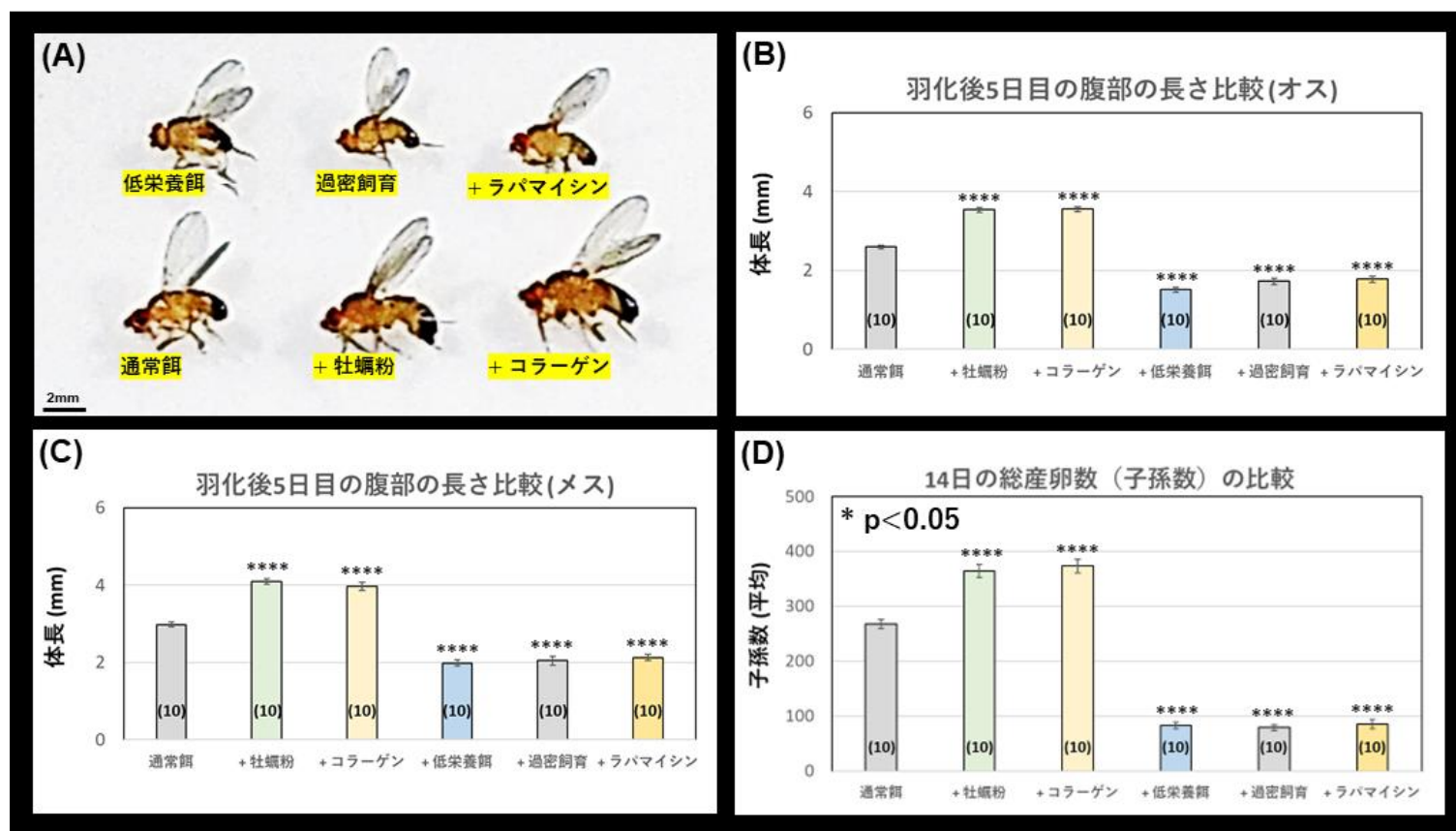


図2: ショウジョウバエにおける栄養依存的な生育率および妊性

栄養シグナル制御

対照群
通常組成



高グルコース



高脂肪



高アミノ酸



エクダイソン
阻害



Yap/Yki
阻害



糖質阻害



脂質阻害



アミノ酸
阻害



低栄養餌



睡眠・体内時計制御

LL



DD

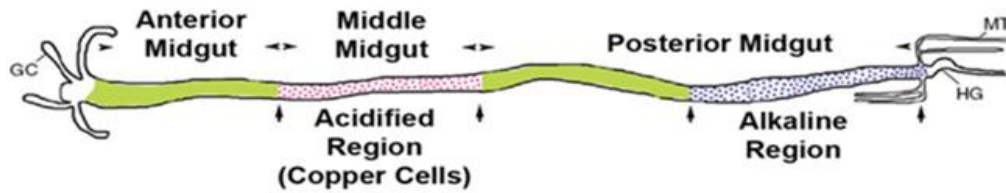


DD + メラトニン



参考: フタホシコオロギ; 孵化後 25℃下で約 30 日間生育させた個体での比較
栄養や睡眠の阻害を受けることで、成長率が顕著に低下することが分かる。

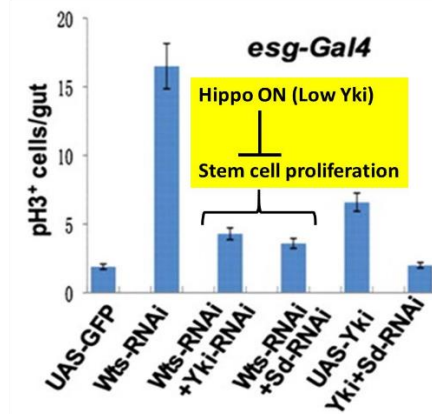
※ 尚、成長の遅れ＝脱皮回数の減少でもある。(通常は 8 回.)



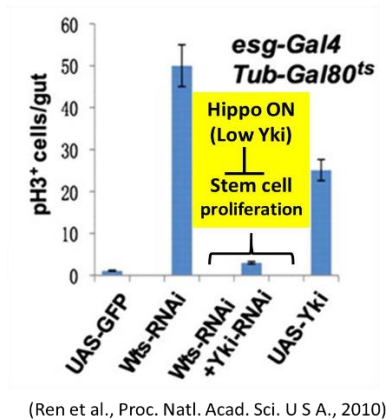
(Xiankun et al., Development, 2012) (Maynard et al., Dev. Biol., 2010)

References: Hippo regulated signals in Midguts

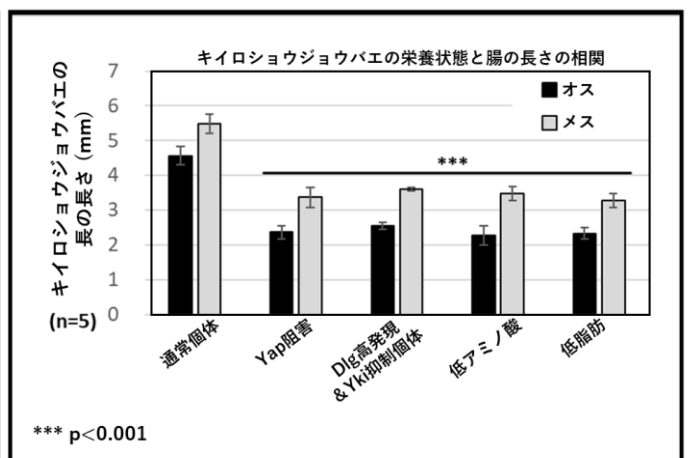
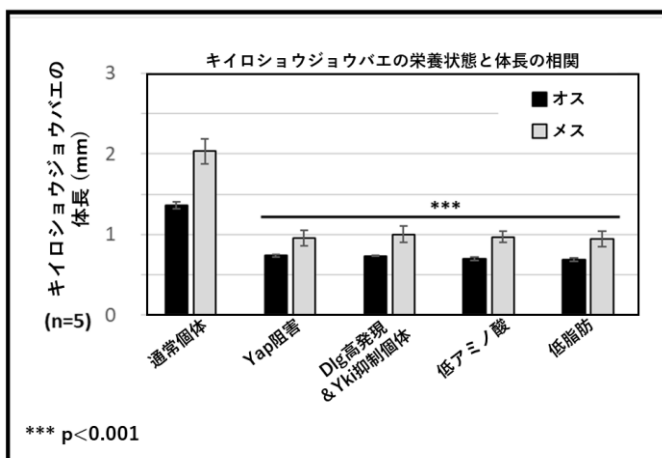
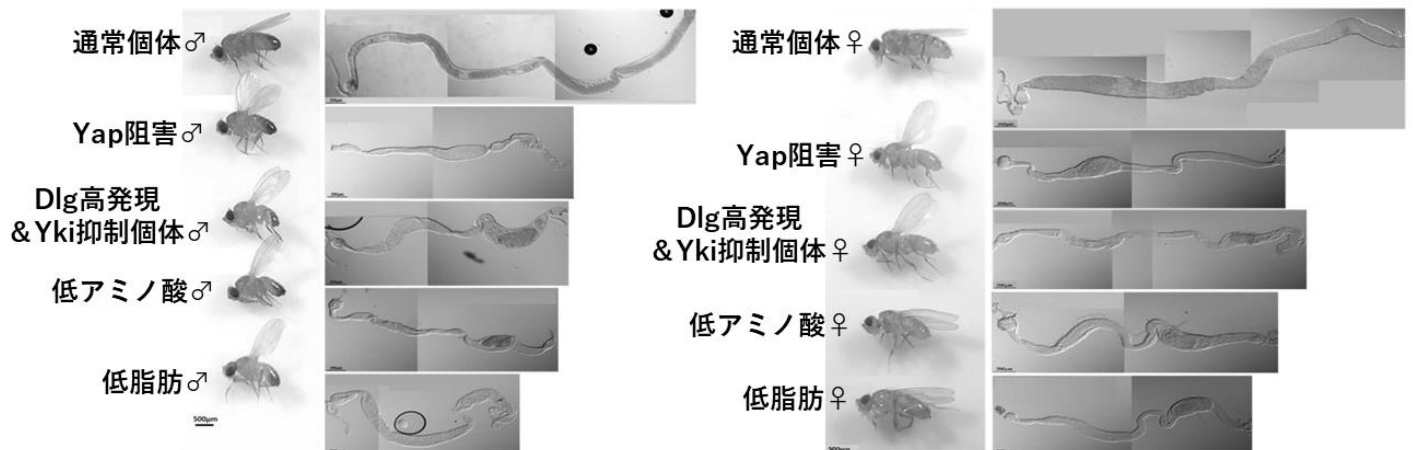
Proliferating cells in mid-guts of Adult day3-5 Flis



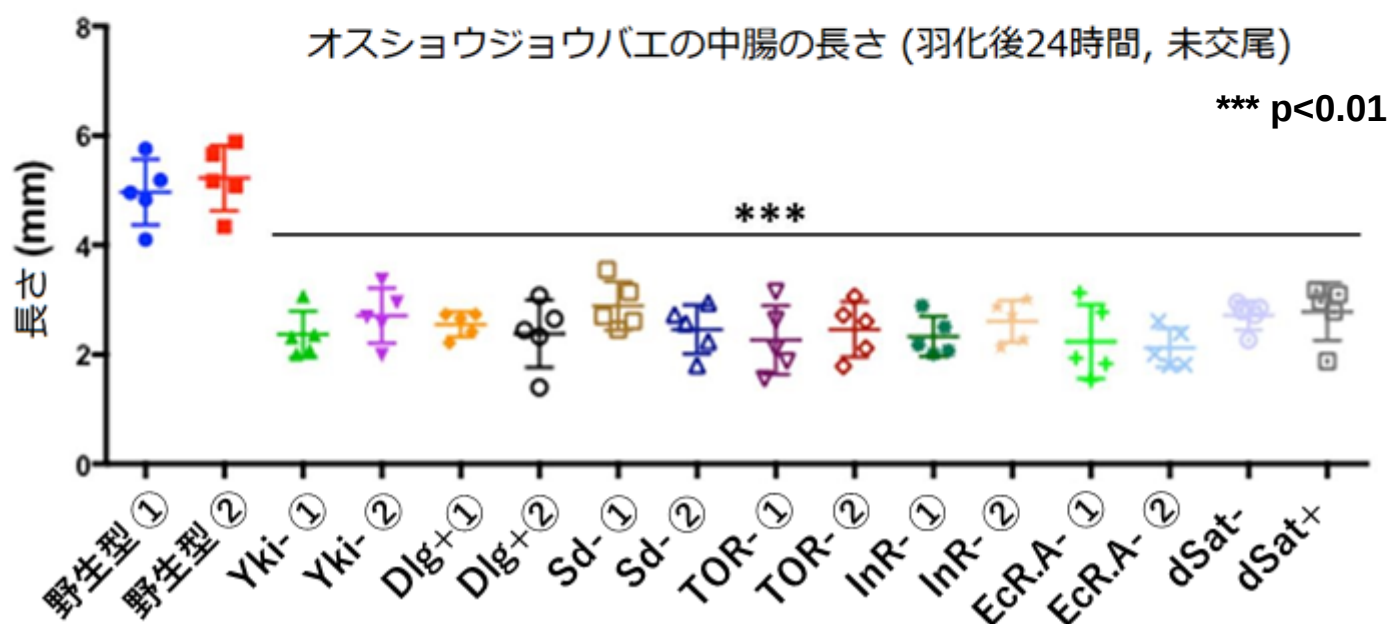
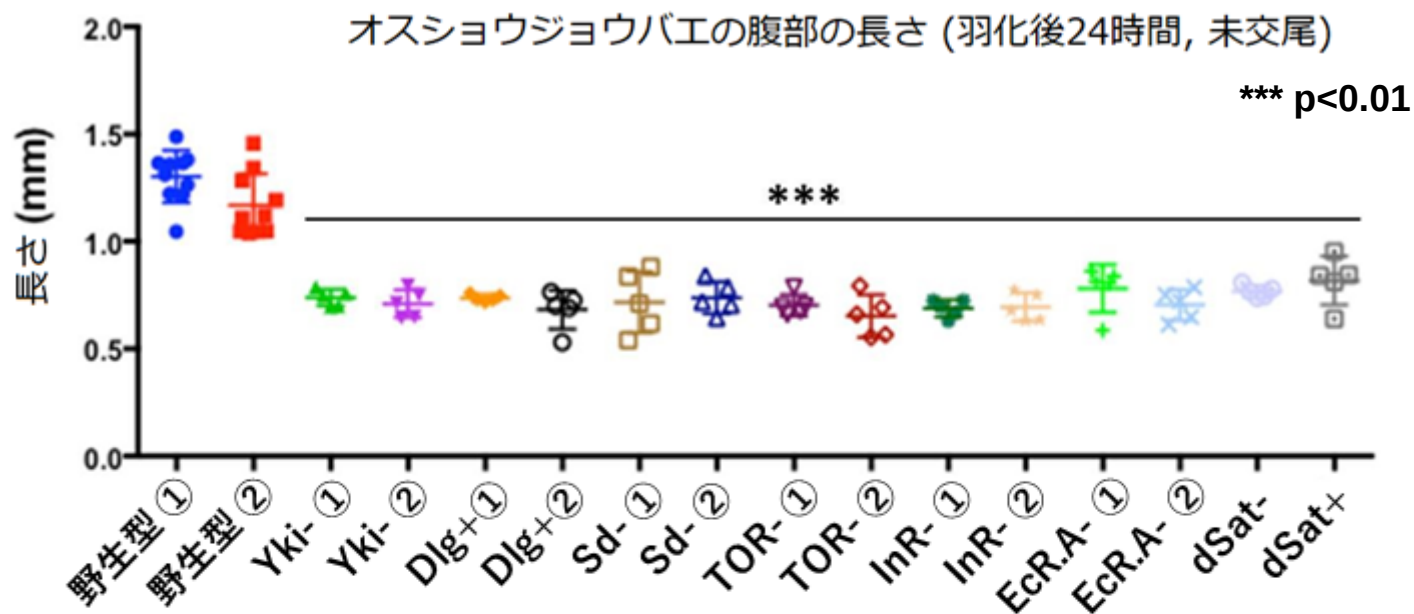
Incubated for 14 days in 29°C (From Adult)



(Ren et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U S A., 2010)



参考: キイロショウジョウバエにおける各因子阻害または各因子発現低下個体における腸の状態
栄養シグナルや細胞成長シグナル(Yap)が阻害されると腸がうまく形成されない。



参考: キイロショウジョウバエにおける各因子阻害または各因子発現低下個体における腸の状態 ②
 栄養シグナルや細胞成長シグナル(Yap)が阻害されると腸がうまく形成されない。

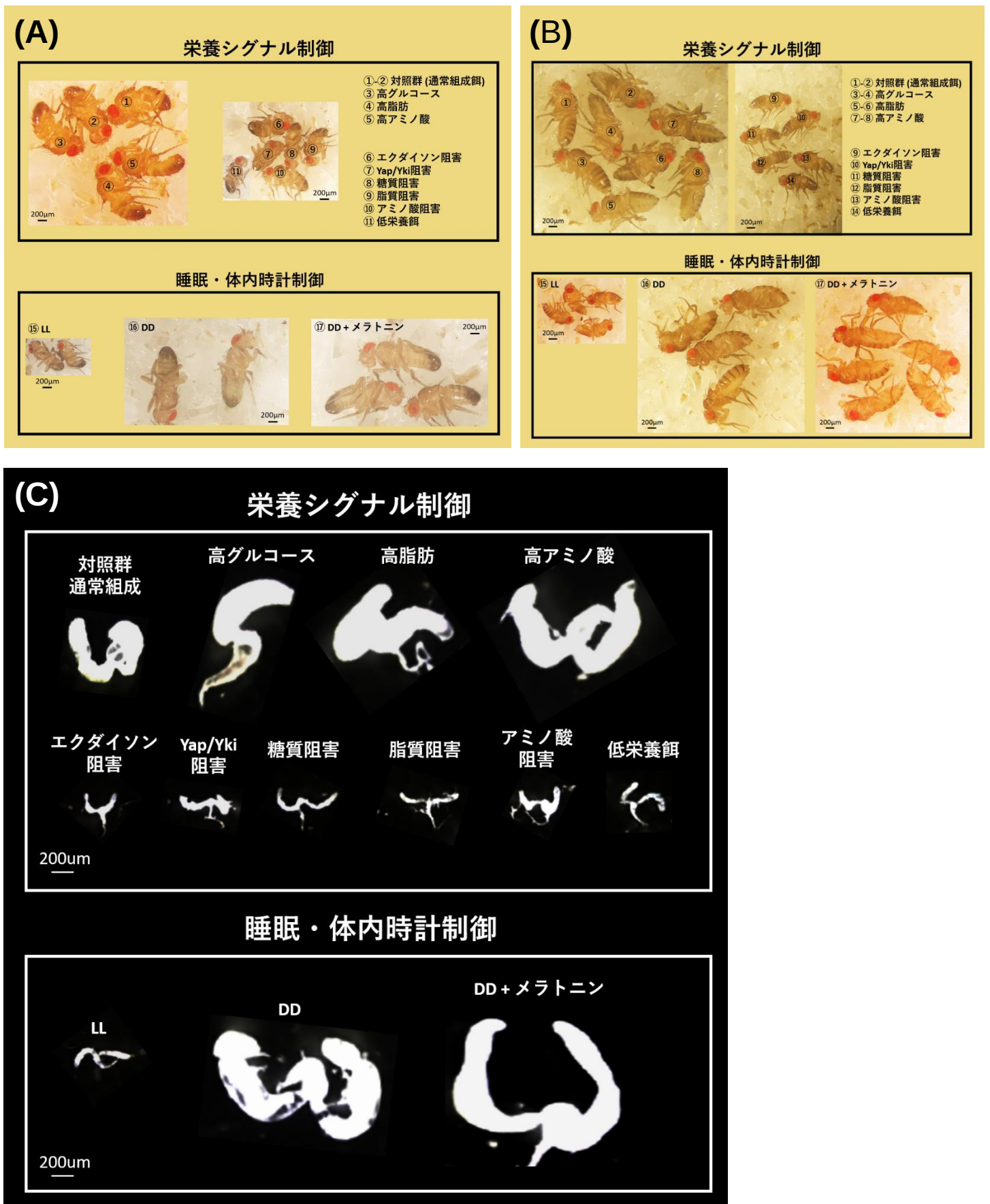


図 3. キイロショウジョウバエにおける生育環境が成長制御に及ぼす影響
 キイロショウジョウバエ (*wg* 変異体) 羽化後 7 日目にて撮影・解剖。
 羽化後にも生育条件を維持した。

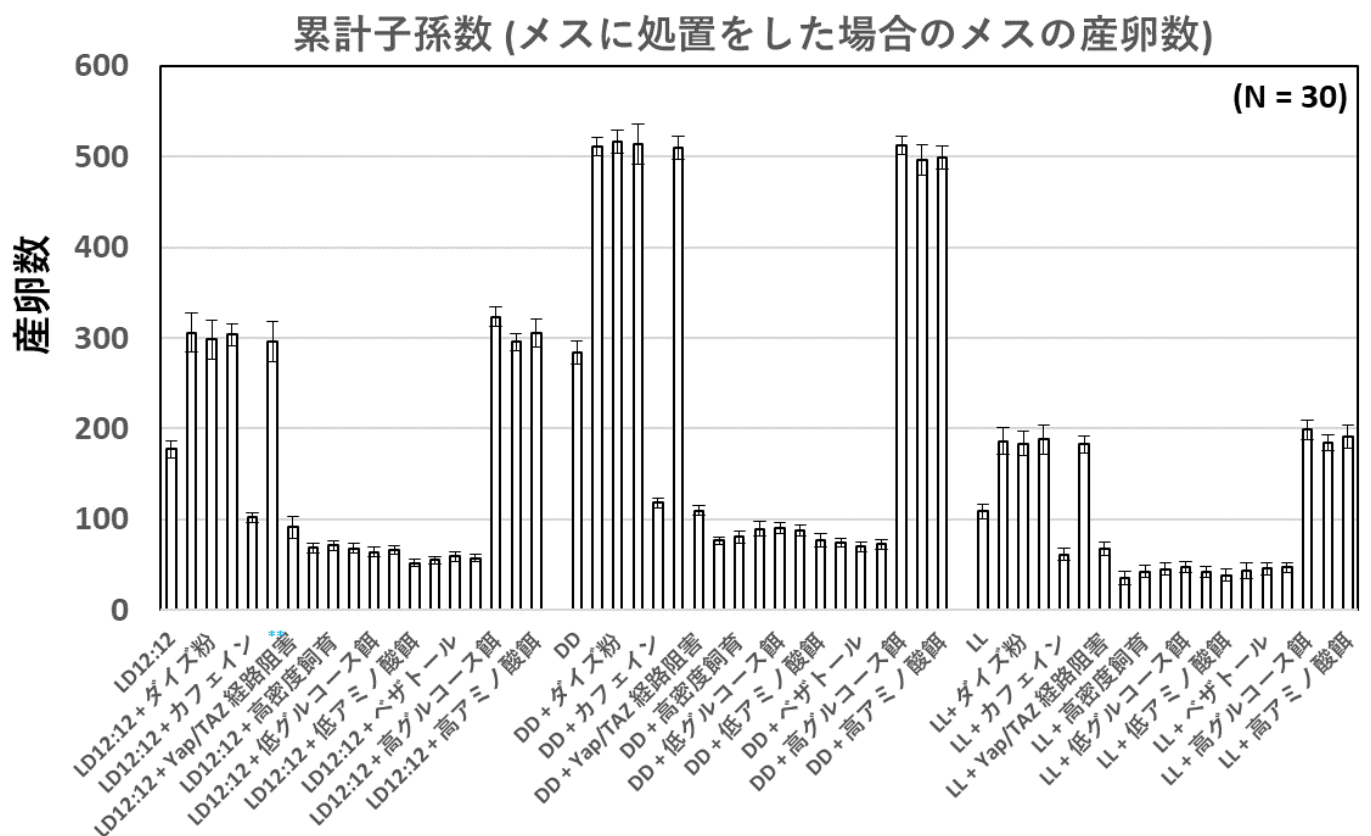
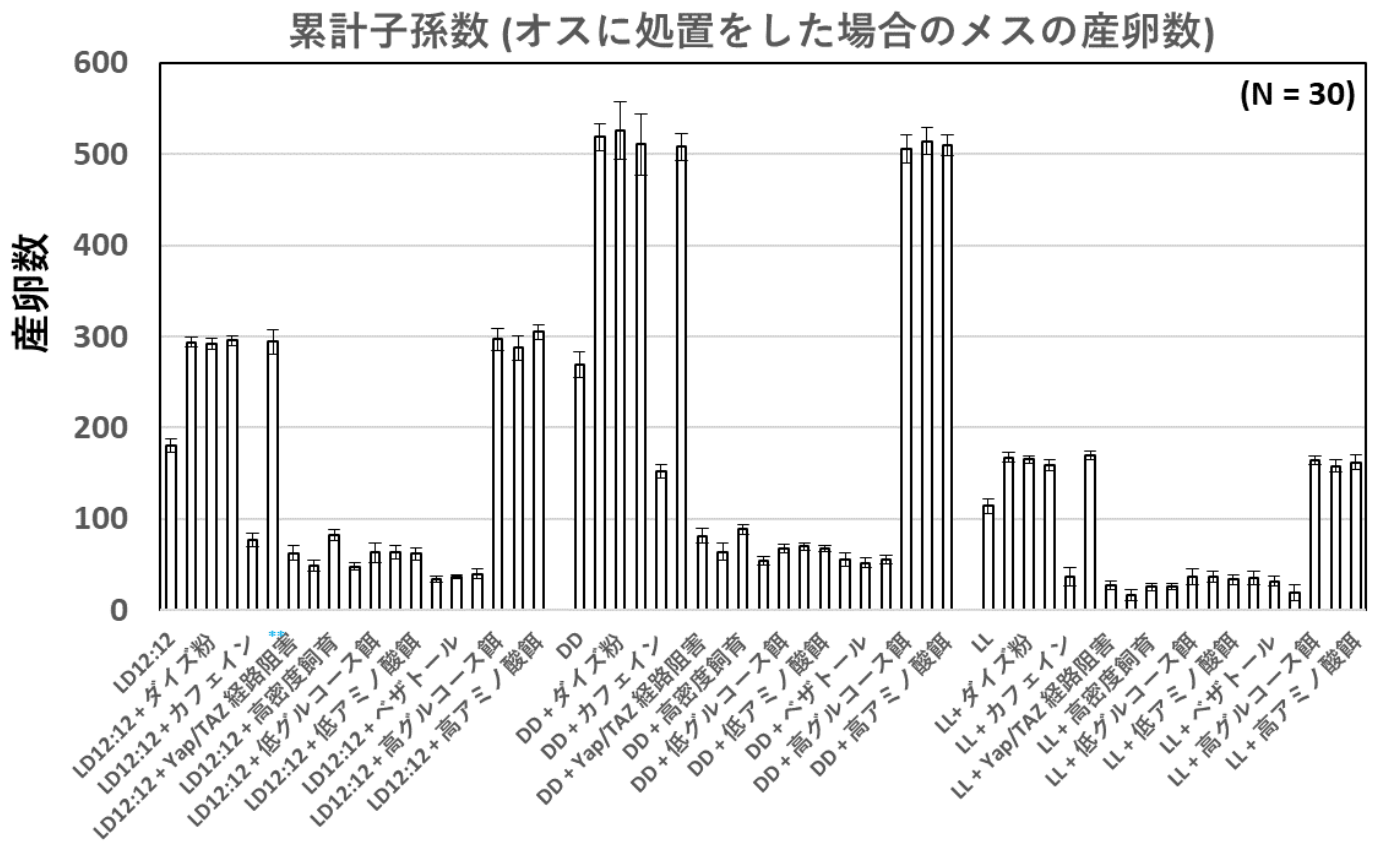
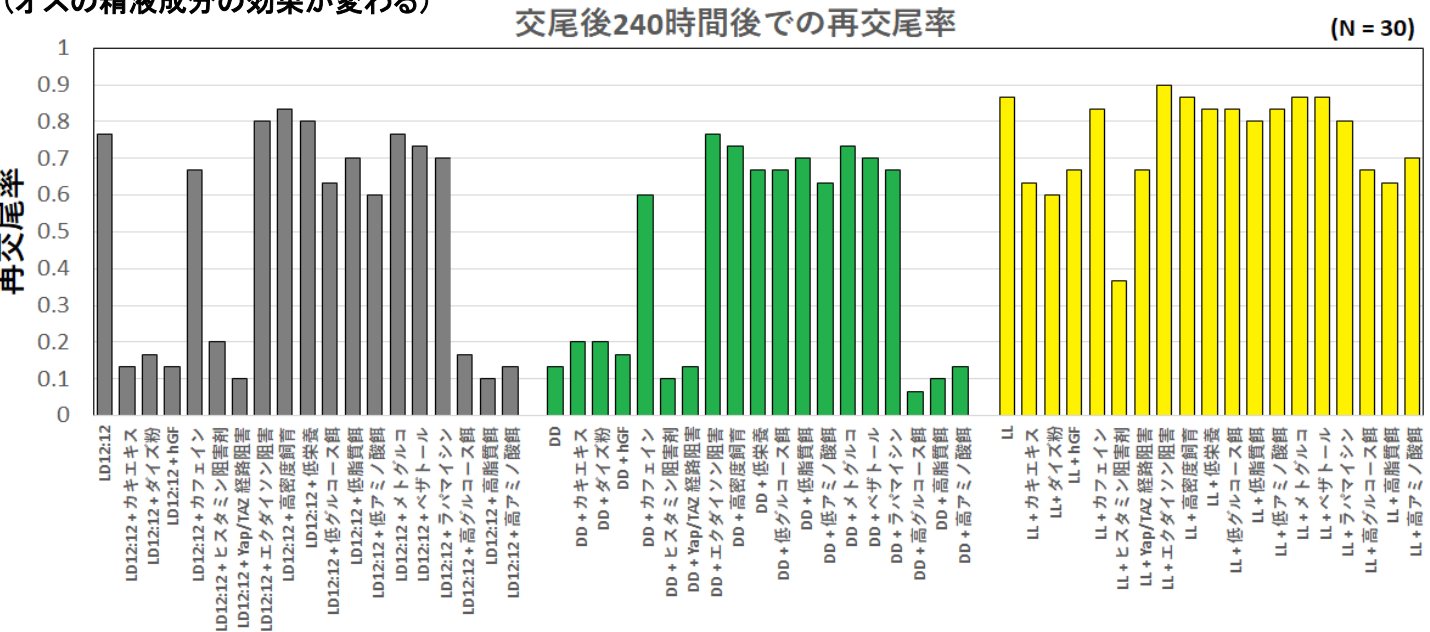


図 4 キロショウジョウバエにおける生育環境が妊性制御に及ぼす影響-1

キロショウジョウバエ (wg 変異体) を羽化後にて、前述の条件で交尾させ、14 日間 産卵数を定量した。

(A) オス側を処置した場合
(オスの精液成分の効果が変わる)



(B) メス側を処置した場合
(メス側がストレスを感じてしまう)

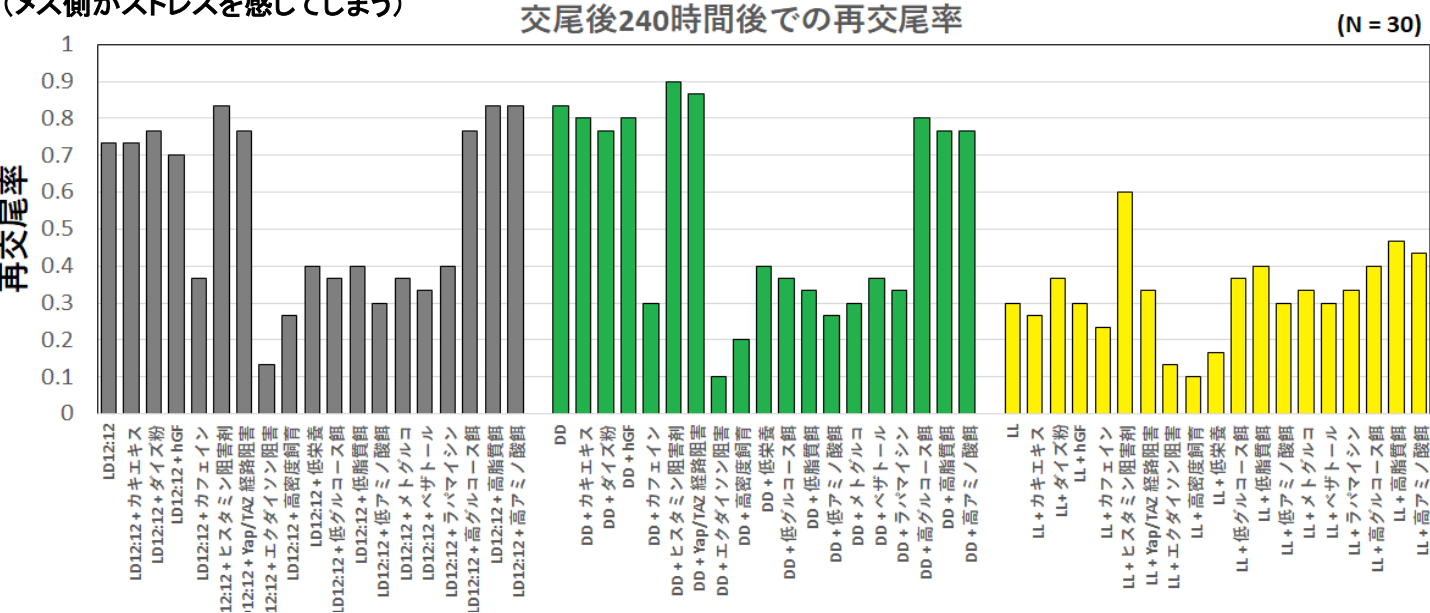


図 5 キロショウジョウバエにおける生育環境が妊性制御に及ぼす影響-2
キロショウジョウバエ (wg 変異体) 羽化後 7 日目にて撮影・解剖。
羽化後にも生育条件を維持した。

各栄養/ストレス条件下における キイロショウジョウバエの遺伝子発現比較

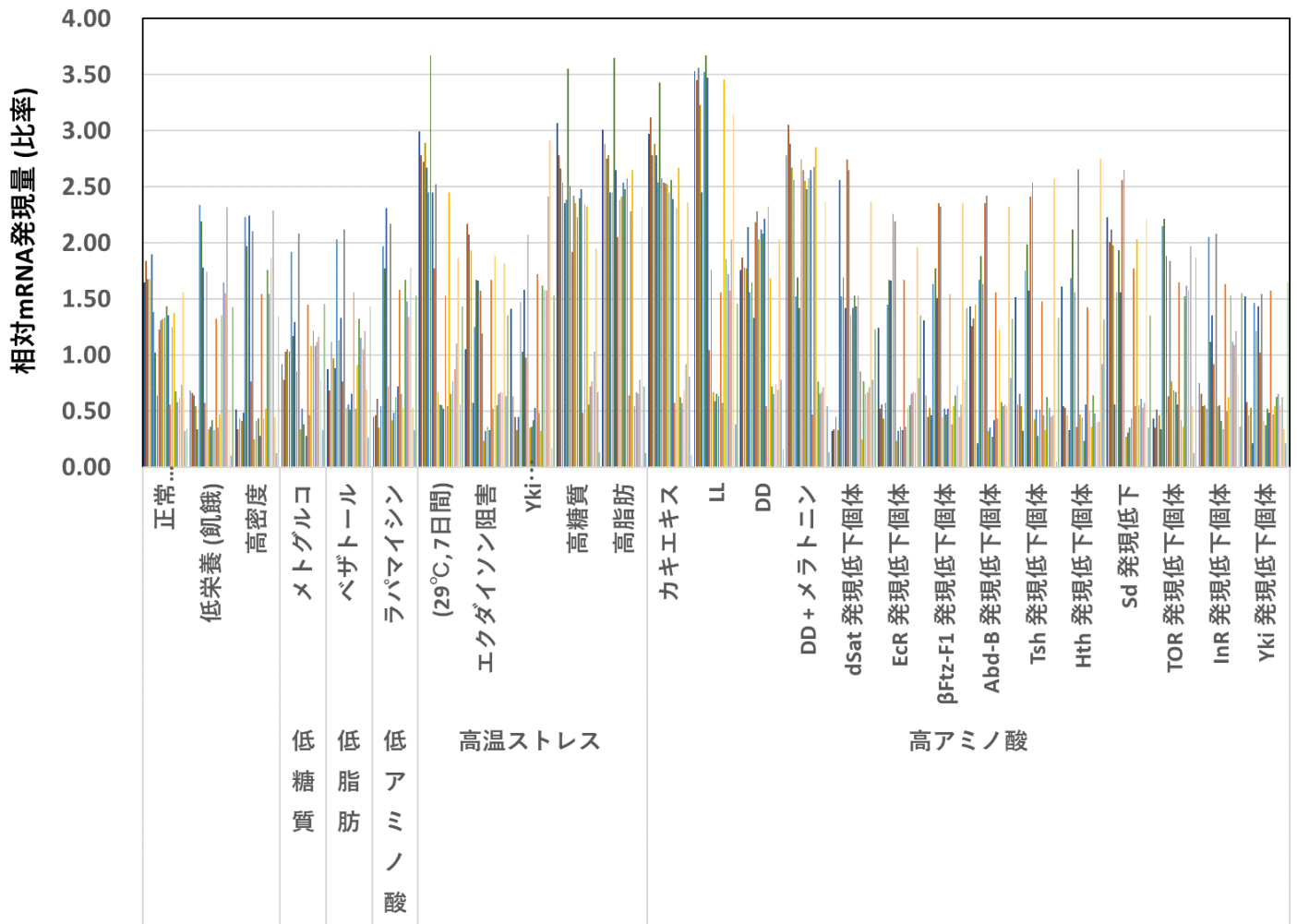


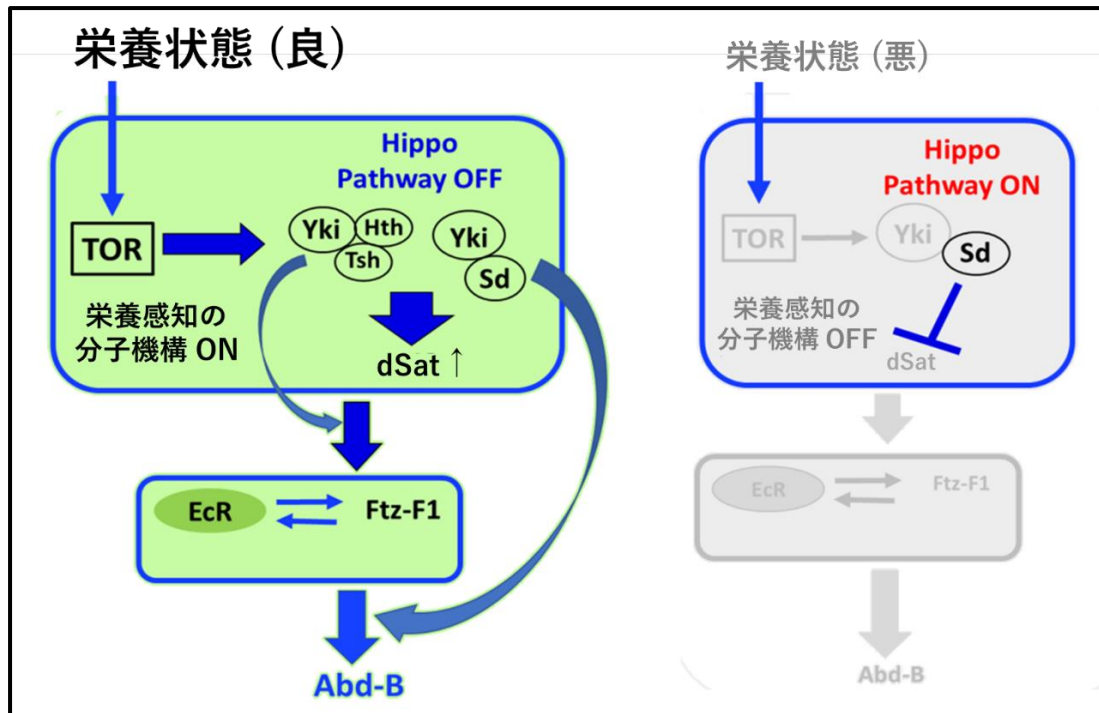
図 6 キイロショウジョウバエにおける生育環境が妊性制御に及ぼす影響-3

キイロショウジョウバエ (*wg* 変異体) 羽化後 7 日目にて撮影・解剖。羽化後にも生育条件を維持した。

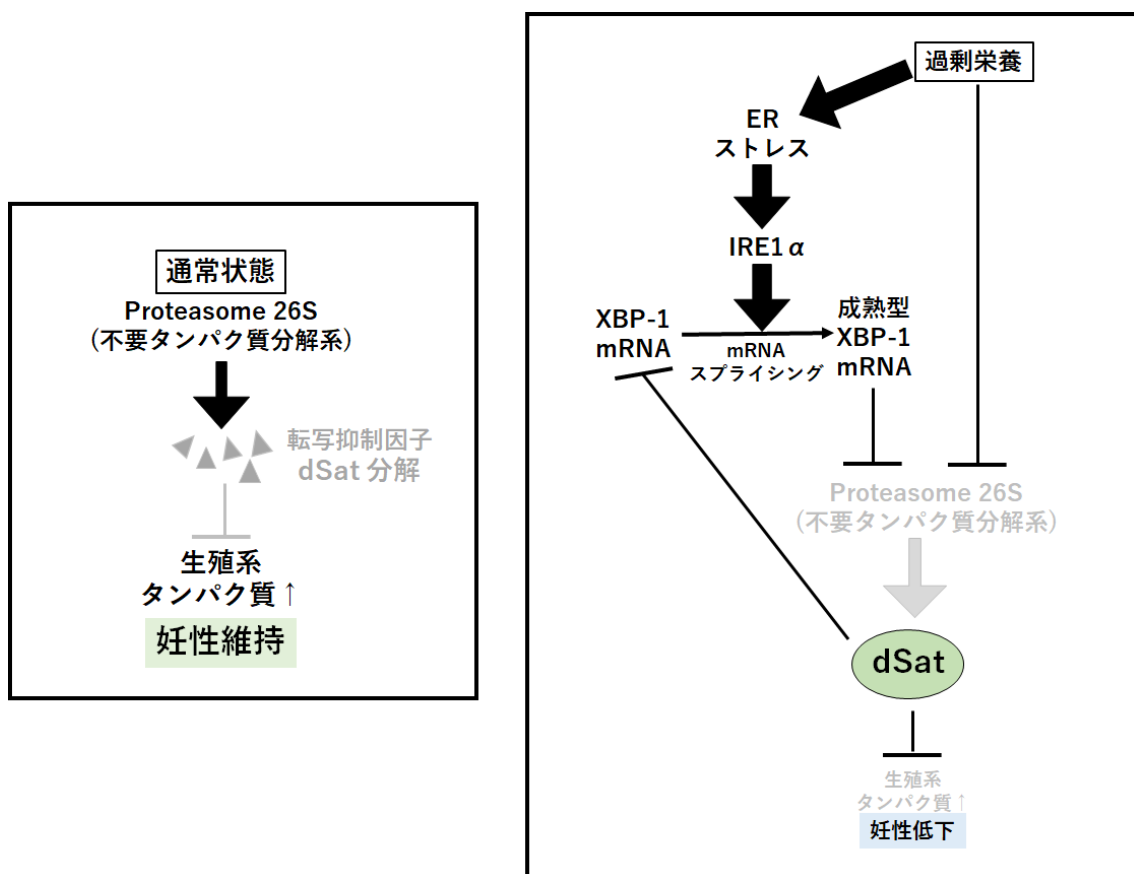
※ここでの **dSat** は **Type-A** を指す。

※ **XBP-1** は ER ストレス応答等に関与する**成熟型**の方を指す。

(A) ショウジョウバエ生殖腺第二細胞における栄養応答に関する分子機構



(B) ショウジョウバエ生殖腺主細胞における栄養応答に関する分子機構



参考 キイロショウジョウバエにおける栄養状態と細胞生理・生殖腺細胞の制御機構モデル図

参考文献

- ・ 1) 第 41 回分子生物学会年会>[3P-0425] 栄養依存的な附属腺第二細胞の分化制御シグナル
- ・ 2) 第 42 回分子生物学会年会>[1P-0355] ショウジョウバエ附属腺の栄養依存的な分化制御シグナル
- ・ 3) 第 43 回分子生物学会年会>[3P-0223]
オスのショウジョウバエにおける栄養依存的な妊性の調節はエクダysonシグナルによって微調整される
○ 松家 未来 1、上田 均 1、中越 英樹 1 (1.岡山大・院・自然科学)
- ・ 4) 第 43 回分子生物学会年会>[1P-0324] ショウジョウバエ附属腺におけるオスの妊性を制御するストレス応答
○ 鈴江 陽一郎 1、松家 未来 1、中越 英樹 1 (1.岡大・院・自然・生物科学)
- ・ 5) Halder et al., Development, 2011
- ・ 6) Zhao B et al., Genes. Dev., 2010
- ・ 7) Dev Cell > 2015 Jul 27;34(2):168-80. doi: 10.1016/j.devcel.2015.05.010. Epub 2015 Jul 2.
- ・ 8) Received 4 Jul 2016 | Accepted 11 Oct 2016 | Published 22 Nov 2016. DOI: 10.1038/ncomms13505
- ・ 9) Hippo pathway and Bonus control developmental cell fate decisions in the Drosophila eye
doi: <https://doi.org/10.1101/2021.09.05.458934>
- ・ 10) Nature Communications volume 12, Article number: 6684 (2021)>Published: 18 November 2021>
Ecdysone regulates Drosophila wing disc size via a TORC1 dependent mechanism
doi: <https://www.nature.com/articles/s41467-021-26780-0>
- ・ 11) 水野 壮. 2016. 現代の昆虫食の価値—ヨーロッパおよび日本を事例に—The Value of Modern
- ・ 12) Entomophagy in the Case of Europe and Japan. 国際交流研究 : 国際交流学部紀要 18 巻. 159 – 178.
- ・ 13) 三戸 太郎. 渡邊 崇人. 岡部 慎司. 2020. 持続可能な次世代タンパク質源としての食用コオロギ. 生物工学. 第 98 巻. 第 1 号. P44-45.
- ・ 14) Taiki Miki, Tsugumichi Shinohara, Silvia Chafino, Sumihare Noji, and Kenji Tomioka. 2020. Photoperiod and temperature separately regulate nymphal development through JH and insulin/TOR signaling pathways in an insect. Proc Natl Acad Sci USA. Mar 10; 117(10): 5525–5531.
- ・ 15) 篠原 従道. 富岡 憲治. 2021. タンポコオロギにおける光周期と温度による幼虫発育の制御機構. 比較.生理.生化学総説. Vol. 38, No. 1. P38-44
- ・ 16) Ayuko Kubo; Mirai Matsuka, Ryunosuke Minami, Fumika Kimura, Rumi Sakata-Niitsu, Akihiko Kokuryo, Kiichiro Taniguchi, Takashi Adachi-Yamada, Hideki Nakagoshi. 2018. Nutrient conditions sensed by the reproductive organ during development optimize male fecundity in Drosophila. Genes to Cells. Jul;23(7):557-567.
- ・ 17) Xu, J., Anciro, A. L., & Palli, S. R. 2015. Nutrition regulation of male accessory gland growth and maturation in Tribolium castaneum. Scientific Reports, 5, 10567. P1-11
- ・ 18) Eisuke Imura, Yuko Shimada-Niwa, Takashi Nishimura, Sebastian Hu-ckesfeld, Philipp Schlege, Yuya Ohhara, Shu Kondo, Hiromu Tanimoto, Albert Cardona, Michael J. Pankratz, and Ryusuke Niw. 2020.
- ・ 19) The Corazonin-PTTH Neuronal Axis Controls SystemicBody Growth by Regulating Basal Ecdysteroid Biosynthesis in Drosophila melanogaster. Current Biology30, 2156–2165. June 8.
- ・ 20) The FBXL family of F-box proteins: variations on a theme Bethany Mason and Heike Laman Department of Pathology, University of Cambridge, Tennis Court Road, Cambridge CB2 1QP BM, 0000-0002-1157-0469; HL, 0000-0002-6089-171X.
<https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rsob.200319>
- ・ 21) フタホシコオロギ (*Gryllus bimaculatus*) のケアシート <[2002.10.27 \(クリックでリンク先へ\)](#)>
- ・ 22) ショウジョウバエ *mask* 遺伝子 <https://www.sdbonline.org/sites/fly/genebrief/mask.htm>

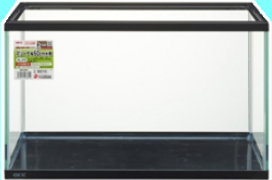


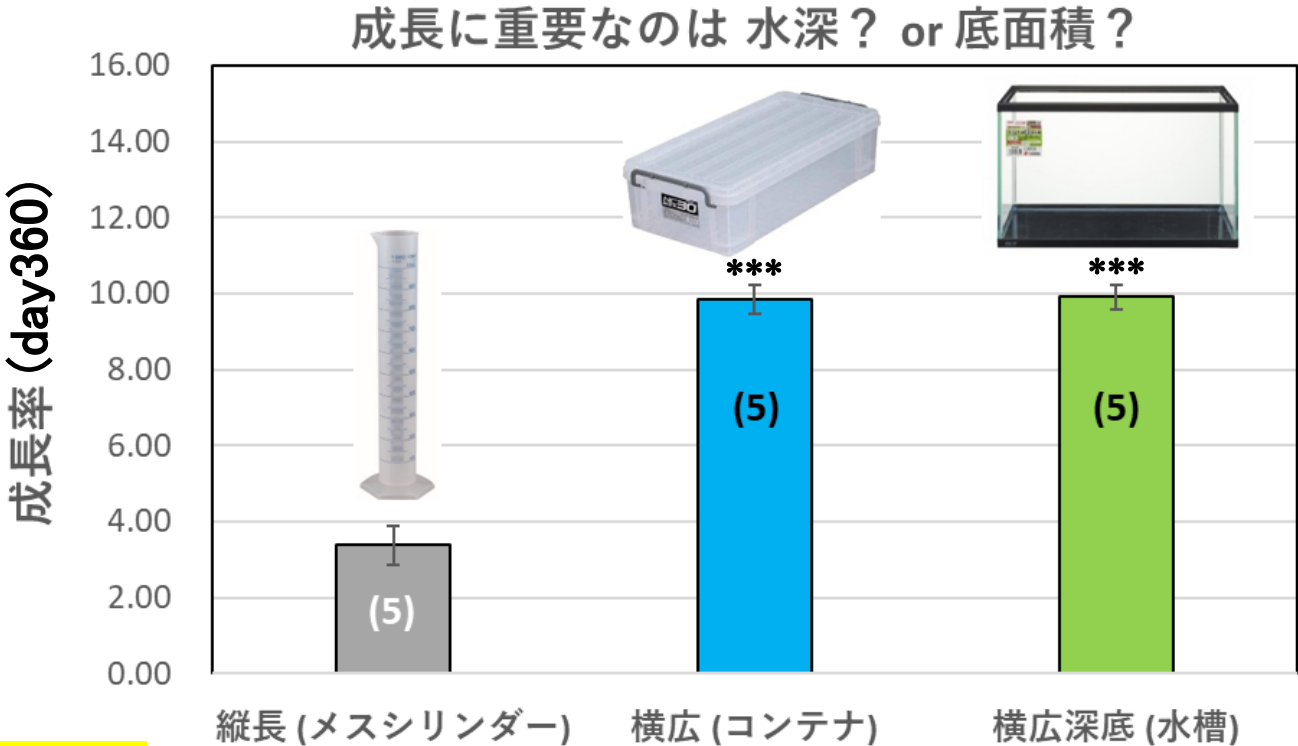
・ 因子 2) アホーートルにおける異種混泳・密度条件依存的な成長制御

キイロショウジョウバエやカブトムシなどの昆虫類やメダカなどの魚類において、生育密度と生育面積の広さは、個体の適切な成長や生育速度と密接な関係があると言われており、広い所で飼育すればそれだけ大きくなりやすいとされている。

そこで、以下の 2 つの疑問 (1.底面積と水深、どちらを生体は検知しているか。 2.密度依存的な体長の決定はどのタイミングで確定して変更できなくなるか。) について、様々な飼育条件を設定することで、成長・生育への影響や成長制御の可塑性が失われるタイミングについて順次調査を行った。

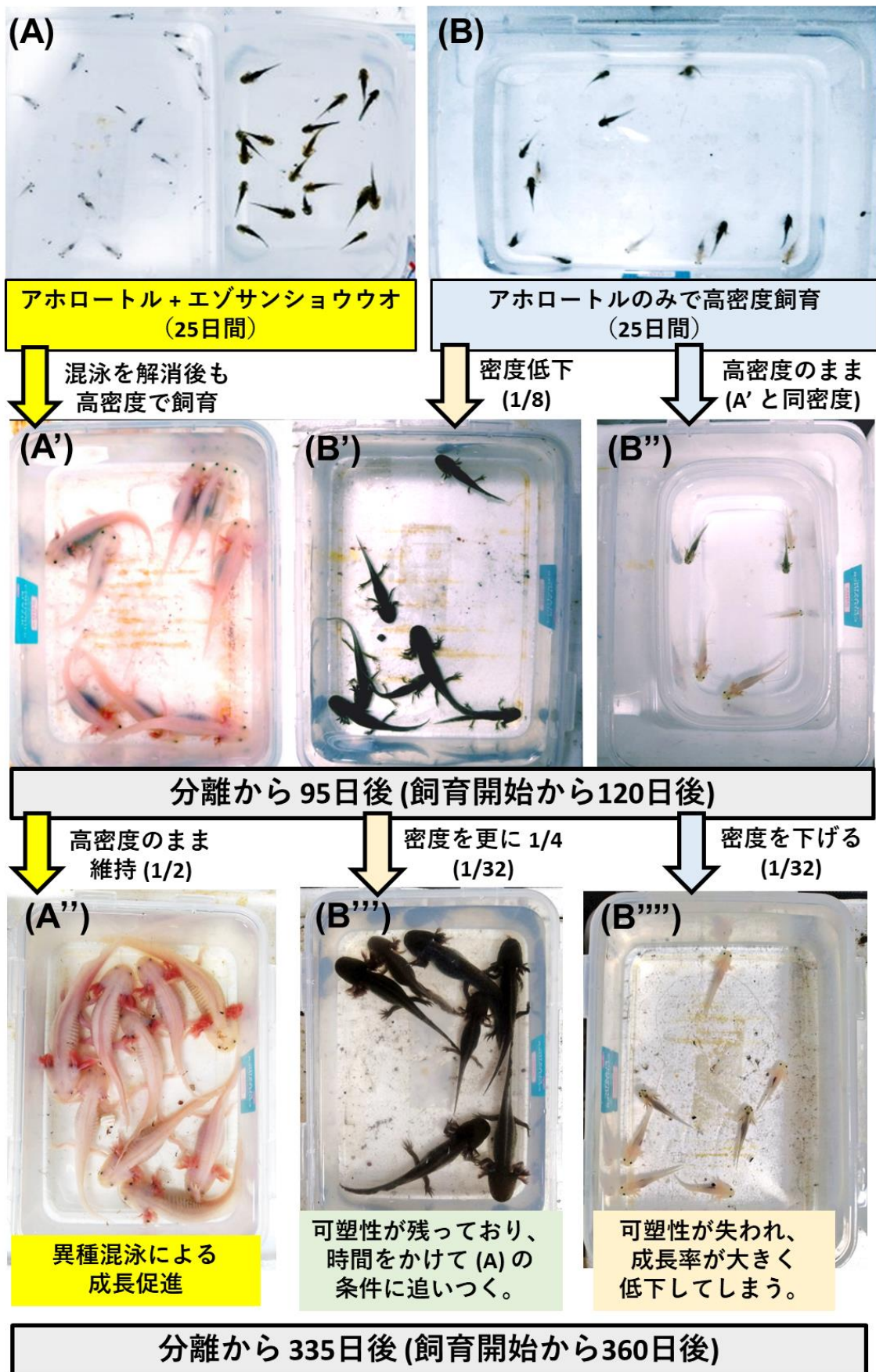
表：飼育条件と生育率の相関を調査するための実験条件

		縦長 (メスシリンダー)	横広 (コンテナ)	横広深底 (水槽)
		【3023-5441】 トラスコ中山 メスシリンダー 1000ml MS1000	JEJアステージ 収納ボックス 日本製 NC ボックス #30 積み重ね	GEX マリーナ 幅 60cm 水槽スリム ブラック MR600BK
容器サイズ		φ 61x3.14xH400 (mm)	619×277×H155 (mm)	600×275×H360 (mm)
アホーートル (0.3%ミネ水)	開始日 (mm); n=5	2.47	2.55	2.51
	day360 (mm); n=5	8.35	25.15	24.90
	成長率 (5匹の平均値の比較)	3.39	9.86	9.92
容器外見				



*** $p < 0.001$

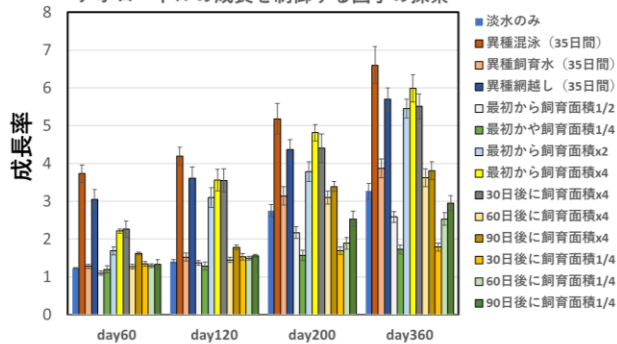
参考: アホーートルの生育には水深よりも底面積の広さの方が重要である



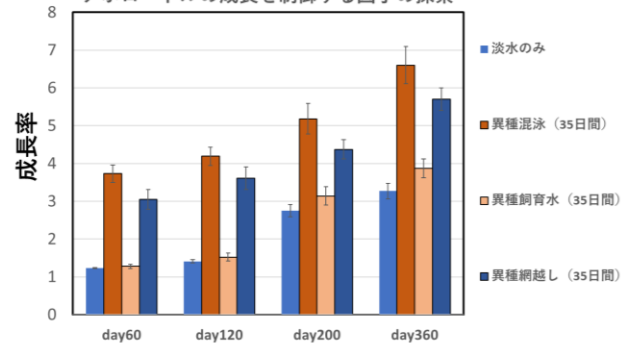
参考: 異種混泳および生育密度が成長に与える影響

※下記の結果は、到着時の個体の stage が基本的に4cm付近であることから day30とし、その地点からの成長比較をしています。
 なので実験開始〇〇日目、と書きかえるなら、30日間を引いた値となります。

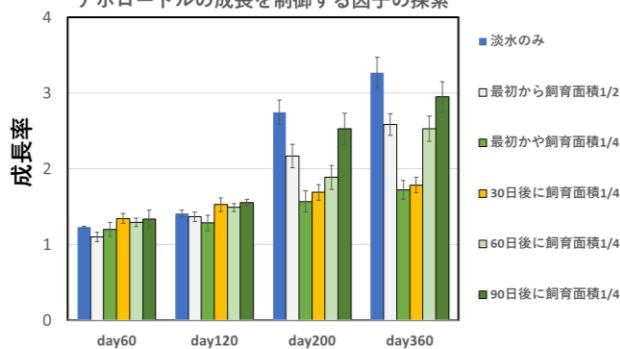
アホロートルの成長を制御する因子の探索



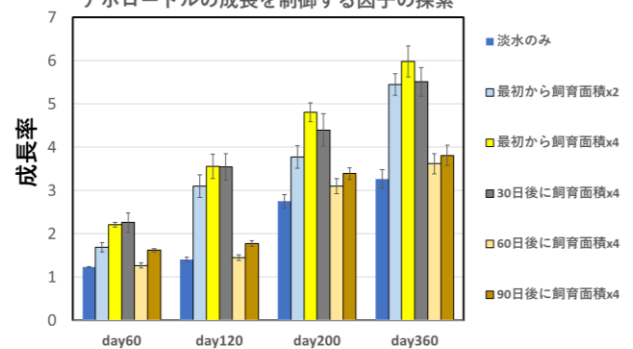
アホロートルの成長を制御する因子の探索



アホロートルの成長を制御する因子の探索



アホロートルの成長を制御する因子の探索



参考：異種混泳・生育密度はアホロートルの成長・生育に影響を及ぼす

成長制御の可塑性が残っている可能性のある時期:

生後1ヶ月、40mm 付近の stage 到達後 から 30日目～60日目の間の約1ヶ月

生育環境が固定されて一定の大きさになると、成長率が微調整される？)

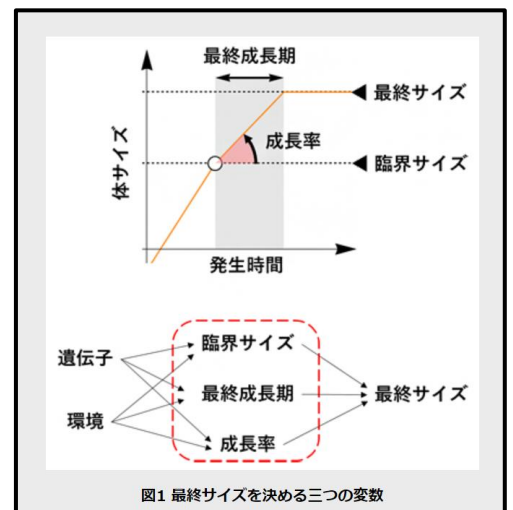
疑問・・・決定因子は何？水圧？どのように感知している？

参照

- ・ 理化学研究所>大阪大学>サイズ進化の法則を発見
 - 性成熟のタイミングと体の大きさの密接な関係ー(2019).
https://www.riken.jp/press/2019/20191125_1/
- ・ Frisch and Revelle. (1970). Science 169, 397-399.

動物の最終的な体の大きさは、以下の三つの変数によって決まる。

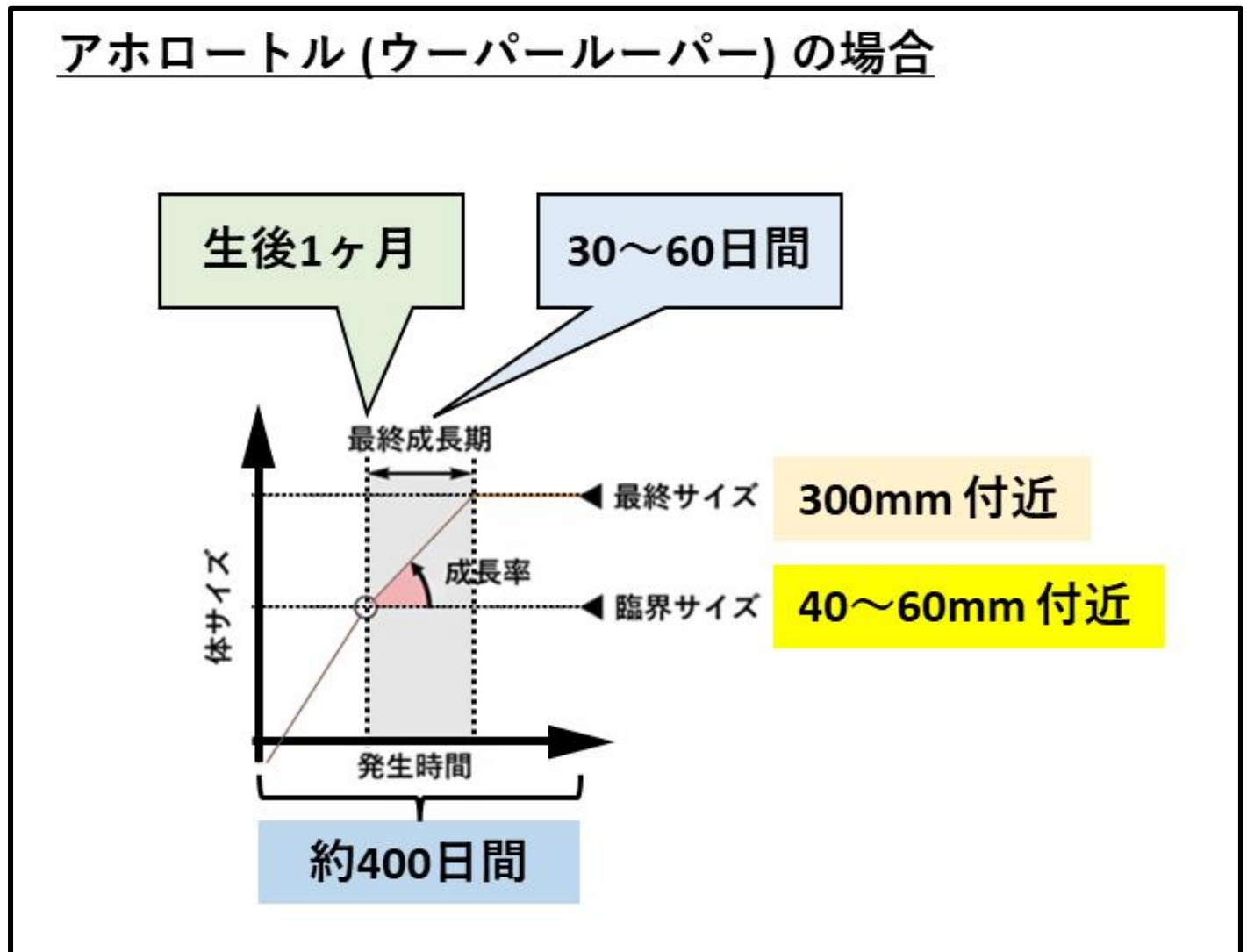
- ・ 性成熟の開始に必要な最低サイズである「臨界サイズ」
- ・ 臨界サイズに到達してから実際に成長が停止するまでの「最終成長期間」
- ・ 最終成長期における「成長率」



まとめ: アホロートルの成長の可塑性について

ここまでのアホロートルの成長制御に関する複数の調査の結果、アホロートルの成長の可塑性は生後1ヶ月から2か月程度である可能性が高く、その臨界となる大きさが40～60mmであり、この期間に至るまでの間にこのサイズの圏内に到達している個体であれば、生育面積が広くなることや十分な栄養を確保することで再び成長を再開できる可能性がある、と考えることができる。

以下、今回の結論に基づくモデル図を示す。



参考: ウーパールーパーの生育密度依存的な成長制御に関する可塑性モデル図

<23/3/10～23/4/19 お詫びと訂正，情報の更新報告>

以下の点について、差し替え・加筆修正・最適化 致しました。

平素より当ラボ関連文献をご愛読の皆様、筆者の不手際による 不正確な情報共有 ならびに ご確認のお手数をおかけしてしまい、大変申し訳ございません。

今後も、常に適宜本文の最適化や加筆修正を実施して参ります。

著者の不手際のため、皆様への報告・共有が遅れてしまう場合も時折ございますが、適宜、更新に関する情報は当ラボの Twitter 等のメディアにて公開するよう努めたく存じます。

まだまだ未熟な点多々ございますが、今後とも ”はるらぼ” とのお付き合いの程、何卒宜しくお願い致します。

23/4/19 追加・修正事項 重複している項目を解消 + 糖質関連の画像を追加。

重複項目 ↓

<360日間における栄養依存的な成長率の比較>



追加項目 (糖代謝関連) ↓

<360日間における栄養依存的な成長率の比較>

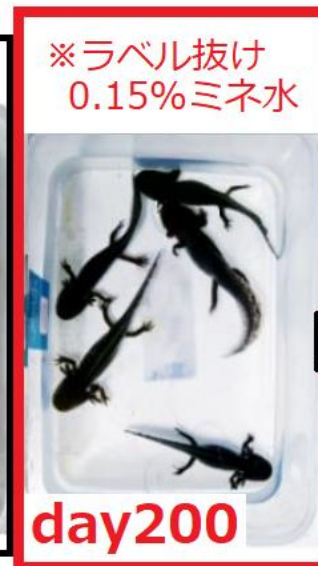
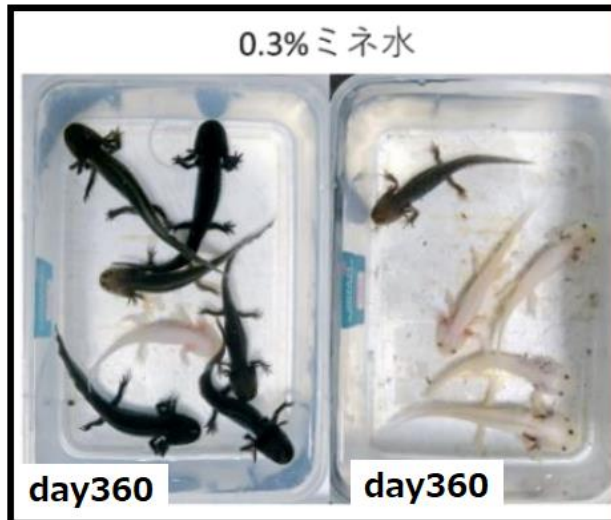


23/3/10, 26 修正

<360日間における栄養依存的な成長率の比較>

オン・金属・鉱物

0.15% ミネ水



23/3/12 修正

- 因子 2) アホートルにおける異種混泳・密度条件依存的な成長率
キイロショウジョウバエやカブトムシなどの昆虫類やメダカなどの魚類において、生長や生育速度と密接な関係があると言われており、広い所で飼育すればそれで、以下の2つの疑問 (1.底面積と水深、どちらを生体は検知しているかで確定して変更できなくなるか。) について、様々な飼育条件を設定することで失われるタイミングについて順次調査を行った。

表: 飼育条件と生育率の相関を調査する

縦長 (メスシリンダー)		
【3023-5441】トラスコ中山 メスシリンダー 1000ml MS1000		JEJア
容器サイズ	φ 61x3.14xH400 (mm)	619
アホートル (0.3% ミネ水)	day120 (mm); n=5	2.47
	day360 (mm); n=5	8.35
	(5匹の平均値の比較)	3.39

- 因子 2) アホートルにおける異種混泳・密度条件依存的な成長率
キイロショウジョウバエやカブトムシなどの昆虫類やメダカなどの魚類において、生長や生育速度と密接な関係があると言われており、広い所で飼育すればそれで、以下の2つの疑問 (1.底面積と水深、どちらを生体は検知しているかで確定して変更できなくなるか。) について、様々な飼育条件を設定することで失われるタイミングについて順次調査を行った。

表: 飼育条件と生育率の相関を調査する

縦長 (メスシリンダー)		
【3023-5441】トラスコ中山 メスシリンダー 1000ml MS1000		JEJ
容器サイズ	φ 61x3.14xH400 (mm)	619
アホートル (0.3% ミネ水)	day120 (mm); n=5	2.47
	day360 (mm); n=5	8.35
	(5匹の平均値の比較)	3.39

<ウーパールーパー研究報告>

メキシコサンショウウオや昆虫類の栄養状態と成長に関する最新・追加報告 (22/10/2)

著: 杉山 遥¹ (Ph.D; 詳細調査・本記事の主な執筆者)

アホロートルの味覚 (杉山, 2022) については、塩味と旨味 (イノシン酸, 油, 脂肪) に対する高い嗜好性が明らかになりました。

高タンパク・高脂質のアカムシ、昆虫類、環形動物類 (ゴカイ・ミズ・ユムシ) 等を好むのは納得いくような気がします。

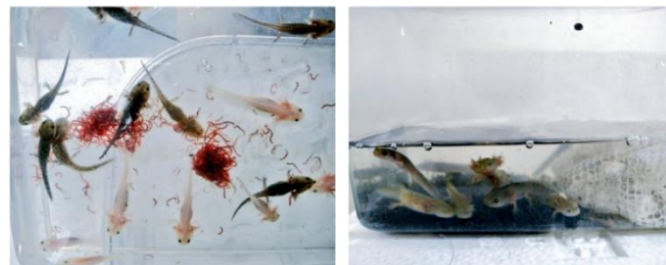
これらの食物等の要因を含めてアホロートルの成長制御・生育との相関について、本項では触れていきたいと思う。

当ラボにおけるこれまでの調査の中で、アホロートルの成長制御にとって必要不可欠な因子は以下の3つあると考えている。

- ・ **因子1) 摂食頻度・量・代謝など (摂食 および 代謝・内分泌)**
- ・ **因子2) 生育環境・密度 (水質・生息地の広さ)**
- ・ **因子3) 両親からの遺伝 (成長時の最大サイズを決める遺伝的要因) → 繁殖後に経過を確認予定。**

今回、上記の大きく3つの要因の中で、主に **因子1), 2)** と成長制御の相関について可能な範囲で詳細な調査を実施した。

以下、その結果・経過について順次報告する。



参考 1: アホロートルの成長・生育に重要な複数の因子:

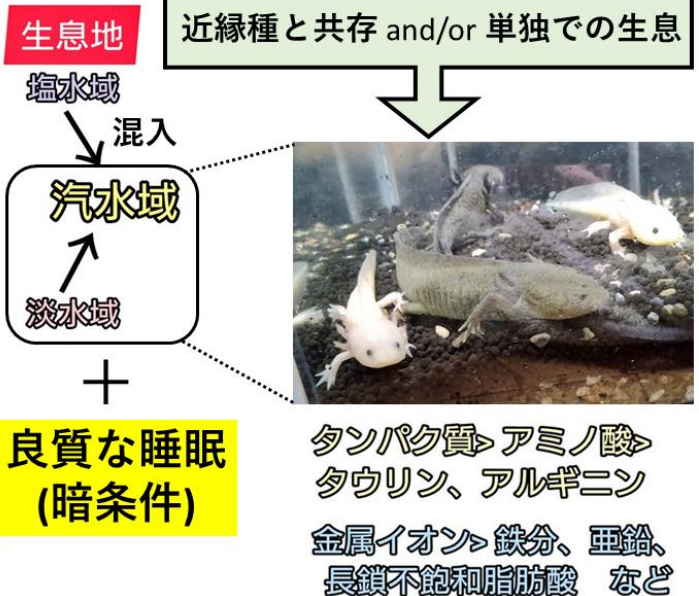
上図: 様々な栄養成分, 中断左: 牡蠣粉,
中断右: グルタミン酸ナトリウム (味の素の主成分),
下段左: 異種との混泳 下段右: エゾサンショウウオ
(小型のサンショウウオ。環境依存的に二型を示す。)

参照: エゾサンショウウオ の環境依存的な多型



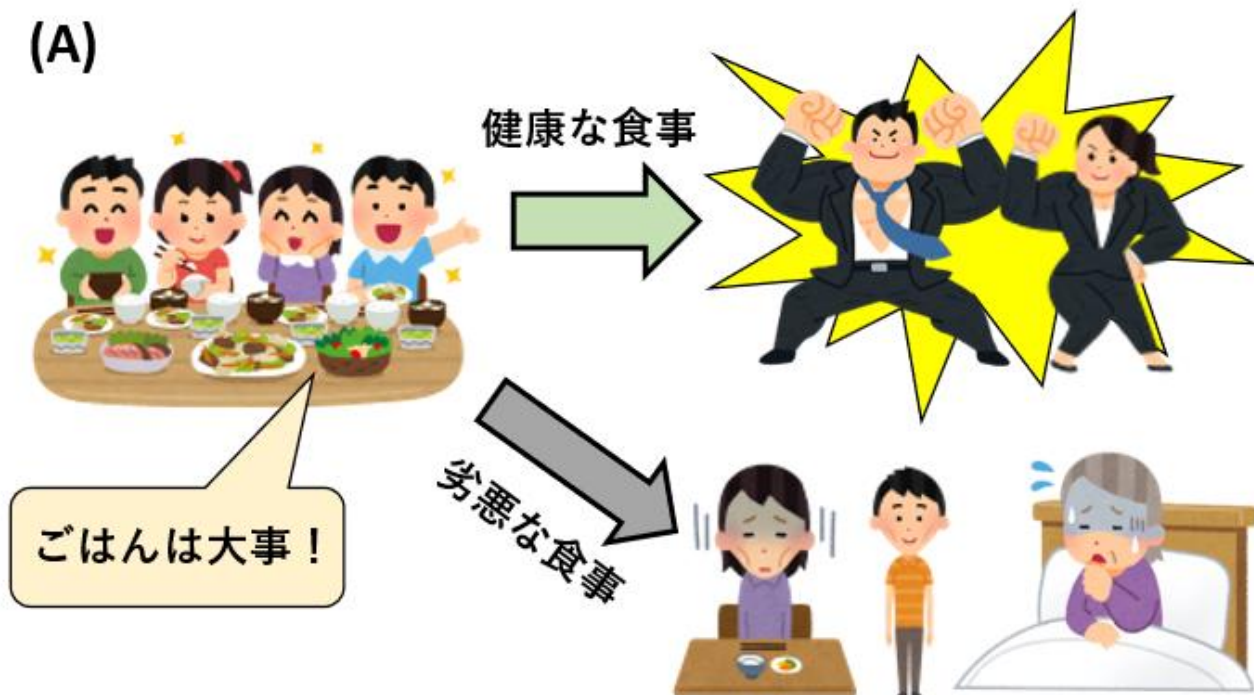
若原正己 北海道大学大学院生命科学院
生命科学専攻

https://www.brh.co.jp/publication/journal/049/research_11_2



参考 2: アホロートルの成長制御と周辺環境

(A)



(B)



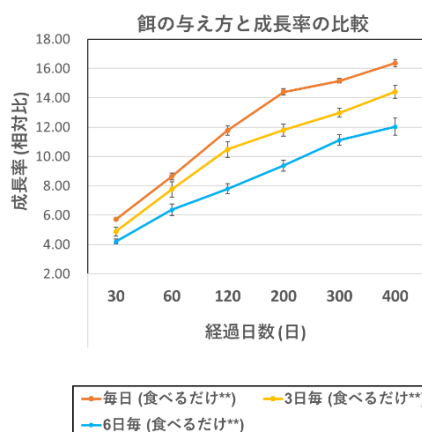
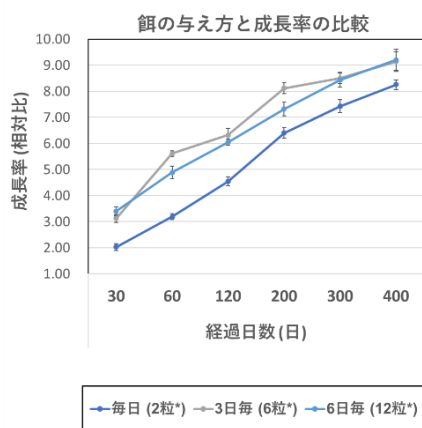
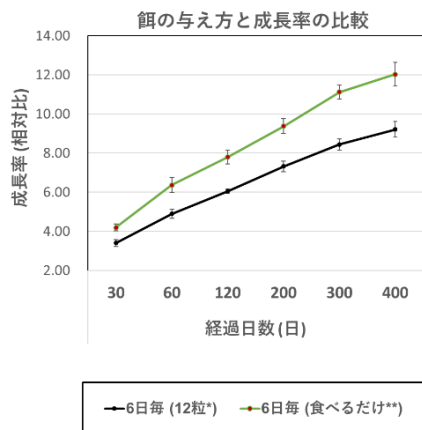
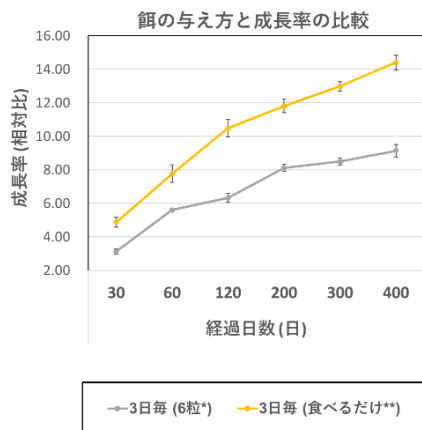
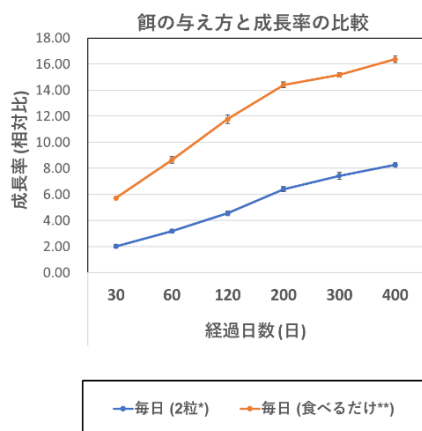
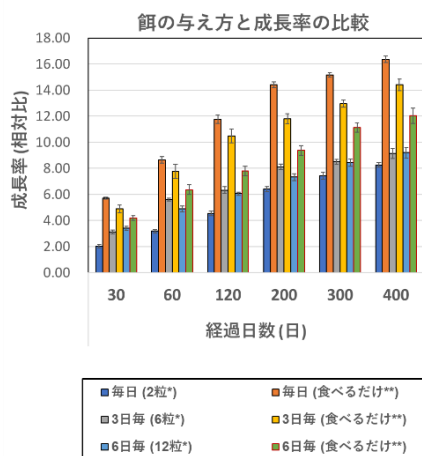
参考 3: モデル図; 適切な食事環境はあらゆる生物にとって適切な生育にとって必要不可欠である。

(A) 適切な食事は健康と成長に繋がる。

(B) ウーパールーパーもきっと同じ。何を食べたら良く育つ？

・ 因子 1) 摂食頻度・量・代謝など (摂食 および 代謝・内分泌) と成長・生育の相関-1

以下、餌摂取頻度や量と成長率の相関について調査した結果を示す。今回の調査結果を踏まえ、摂食後の消化時の生体への負担等を考慮すると、“**3日毎に各個体が食べられる量だけ餌を与える**”手法が最もウーパールーパーを生育させるのにふさわしい手法であることが推察された。尚、成長率だけを考慮すれば、最も効果があるのは“毎日食べられるだけ餌を与える”手法ではあるが、腸への負担や寿命への影響・生育コストなどを踏まえると、前述の“3日毎に与える”という頻度が最良といえる。



* エサ: ひかりウーパールーパー (小粒)

** 30~60 日; 6~30 粒程度

120~200 日; 30~40 粒程度

300~400 日; 35~50 粒程度



・ 因子 1) 摂食頻度・量・代謝など (摂食 および 代謝・内分泌) と成長・生育の相関-2

以下、過去の調査時においてスクリーニング時に選択された栄養成分を含む複数の成分を加えた餌を投与した個体の成長・生育率について比較を行っている。

これまでに注目してきた栄養成分は、**金属イオン (鉱物)**、**糖質**、**タンパク質**、**脂肪 (脂質)** の 4 つに大別できる。また、成長に関わるその他の因子としては**腸内環境**や**睡眠**を取り上げてきた。

参照 (青字のハイパーリンクから論文閲覧可能)

- ・ 成長制御因子のスクリーニング … [ウーパールーパーだより vol. 1.3 \(2021-2022\)](#)
- ・ アホロートルの睡眠と成長 … [ウーパールーパーだより vol 2.4 \(2022\)](#)

これらの関連因子について、当ラボの先行研究の続報をこちらに示すので、是非ともご覧いただきたい。

< 360日間における栄養依存的な成長率の比較 >



<360日間における栄養依存的な成長率の比較>

糖質・硫黄代謝



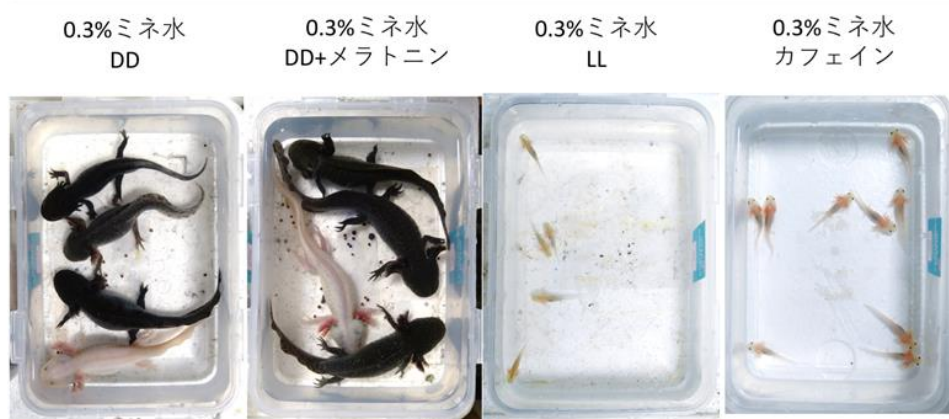
腸内環境



成長ホルモン

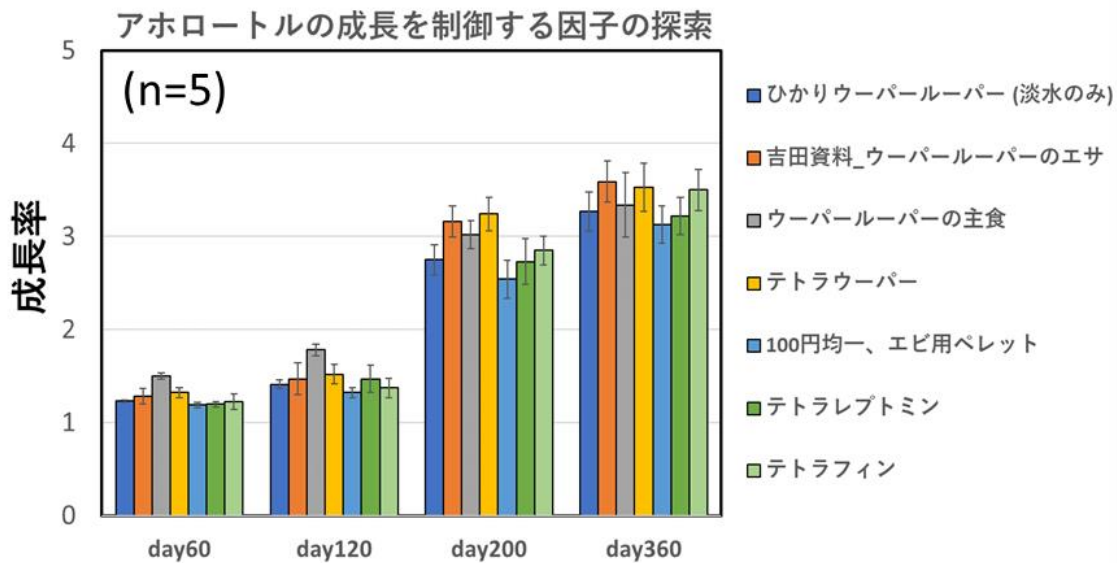


睡眠



※下記の結果は、到着時の個体の stage が基本的に4cm付近であることから day30とし、その地点からの成長比較をしています。

なので 実験開始〇〇日目、と書きかえるなら、30日間を引いた値となります。



参考: 市販ペット餌の成長率への影響の比較
(成長率への影響に違い見られるのか検証)

組成の比較 (例)

ひかりウーパールーパー (キョーリン)

使用原料					
フィッシュミール、オキアミミール、でんぷん類、ビール酵母、大豆ミール、魚油、小麦粉、海藻粉、スルフィナ、アミノ酸(メチオニン、リシン)、カルシウム、ビタミン類(ビタミンE、C、イノシチン、B1、B2、A、B12、B6、B12、B12)、ミネラル類(P、Mg、Zn、Mn、Co、Cu、Fe、食塩)、食用色素(赤3)					
保証成分					
粗蛋白質	粗脂肪	粗繊維	水分	粗灰分	ウレ
47%以上	5.0%以上	3.0%以下	10%以下	17%以下	1.0%以上
ひとくちメモ					
飼育に適した水温は、15〜25℃です。生存可能範囲は5〜30℃ですが、高温に弱いので暑気はエアレーションやファンによる水温上昇を防ぎます。					

吉田資料 ウーパールーパーのエサ

原料材料	
フィッシュミール/オキアミミール/グルテンミール/小麦粉/デンプン/乾燥大豆/ふすま/海藻粉/クロレラ/乳酸菌/魚油/ビタミン/ミネラル類	
組成成分表示	
粗たん白質48%以上/粗脂肪6%以上/粗繊維3%以下/粗灰分15%以下/水分10%以下/リン1%以上	

コメット・ウーパールーパーの主食 (イトスイ)

原料材料	
フィッシュミール・オキアミミール・小麦・澱粉・バナナ粉末 海藻粉・酵母・各種ビタミン・ミネラル類他	
組成成分表示	
粗蛋白質 48%以上	粗脂肪 3%以上
粗灰分 15%以下	水分 10%以下
粗繊維 3%以下	

100均(ダイソー)ザリガニの餌

材質: 魚粉 魚油 小麦粉 大豆油 かす 米ぬか ビタミン カルシウム

テトラウパー (テトラ)

えさの与えかた	
1日に2〜3回、数分で食べ尽くす量を与えてください。	
原材料	
フィッシュミール、植物性蛋白質、オキアミミール、野菜類、油脂、酵母、穀類、海藻、アミノ酸、ビタミン類、ミネラル類、β-グルカン	
保証成分	
粗蛋白質: 52.0%以上	粗脂肪: 11.0%以上
粗繊維: 2.0%以下	粗灰分: 14.0%以下
水分: 9.0%以下	
賞味期限: 底面に記載	
輸入販売元: スペクトラム プランズ ジャパン株式会社 〒220-0004 神奈川県横浜市西区北幸2-6-16 横浜ビル 製造元: ドイツ テトラ社 お問い合わせ: 045-322-4330 テトラ ホームページアドレス: www.tetra-jp.com	

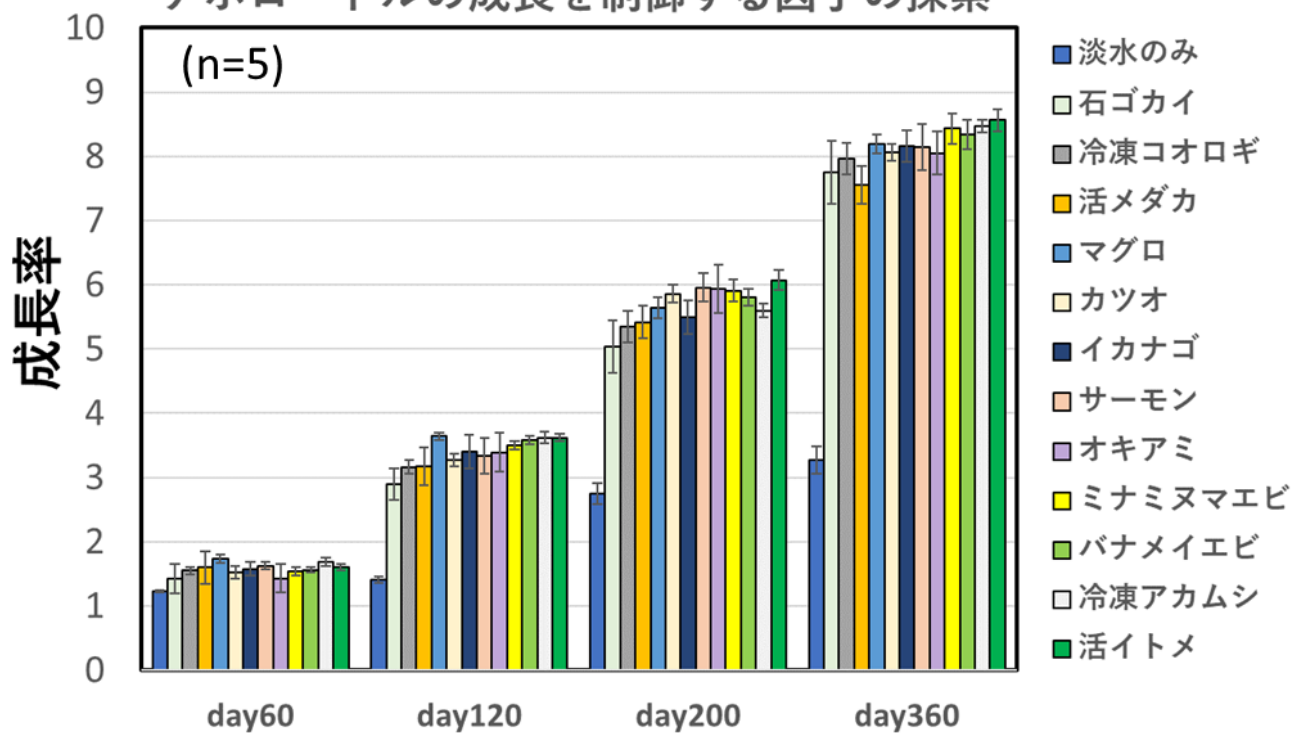
テトラフィン

品名	テトラフィン 50g
原材料	フィッシュミール、穀類、酵母、植物性蛋白質、シュリンブミール、油脂、海藻、糖類、レシチン、クエン酸、β-グルカン、ビタミン類、ミネラル類
栄養成分	粗蛋白質: 42.0%以上粗脂肪: 11.0%以上粗繊維: 2.0%以下粗灰分: 10.5%以下水分: 6.5%以下

テトラレプトミン

与え方	
1日最低2〜3回、数分で食べ尽くす量を与えてください。えさの与え方に注意してください。	
原材料	
フィッシュミール、植物性蛋白質、酵母、甲殻類、油脂、藻類、ユッカ、ビタミン類(A、D、E)、ミネラル類(Ca、P、Mg、Zn、Fe)、β-グルカン	
保証成分	
粗蛋白質: 37.0%以上	粗脂肪: 4.5%以上
粗繊維: 2.5%以下	粗灰分: 15.0%以下
水分: 9.0%以下	
賞味期限: 下部に記載	

アホロートルの成長を制御する因子の探索



参考: 生餌・活き餌の成長率への影響の比較
(成長率への影響に違い見られるのか検証)

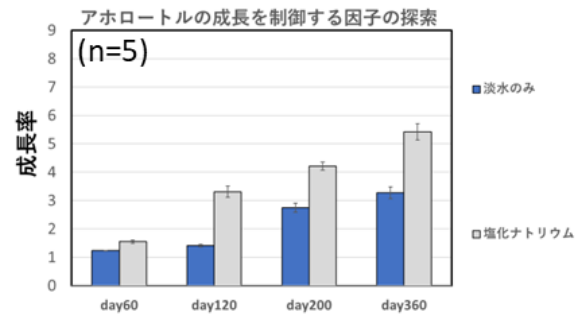
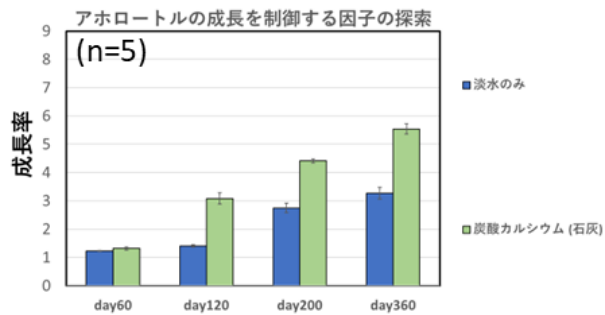
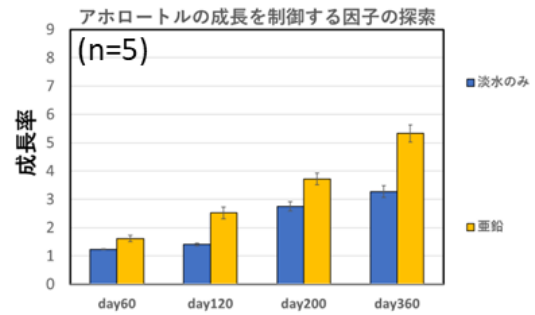
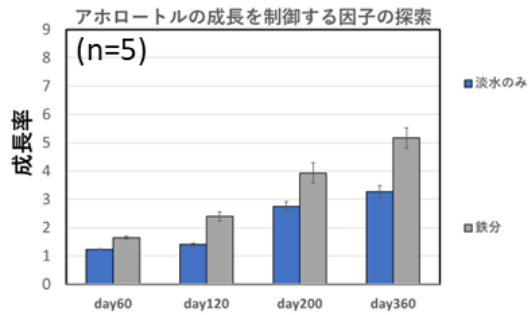
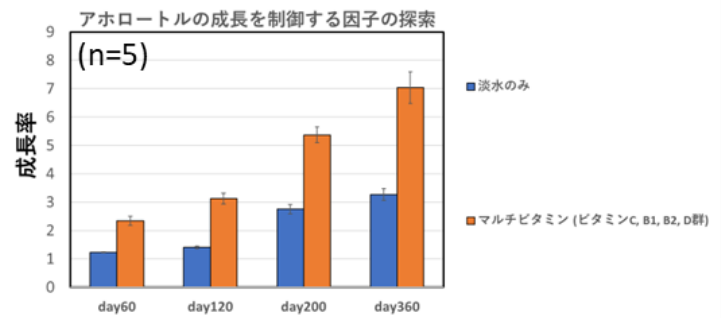
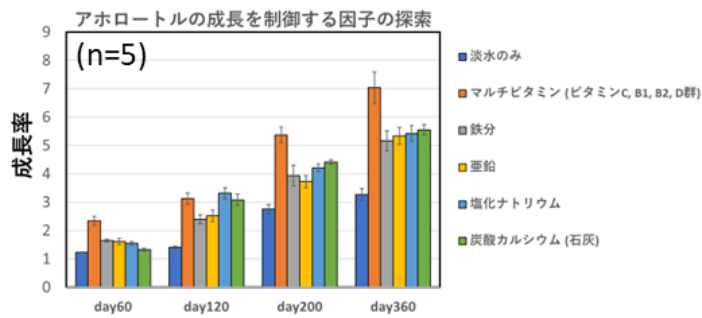


図3: ビタミン, 金属イオン関連 はウーパールーパーの成長促進に関わる

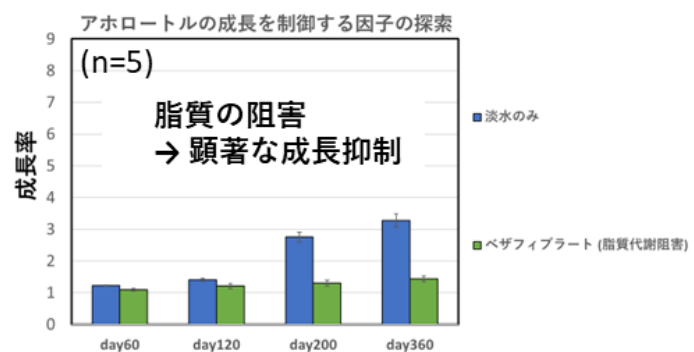
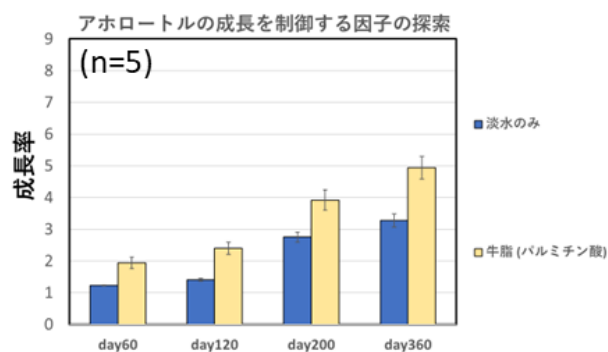
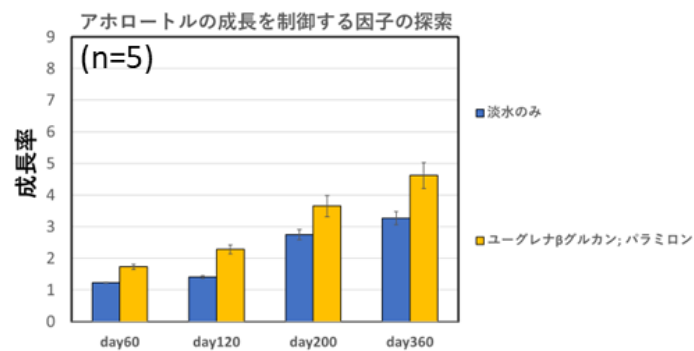
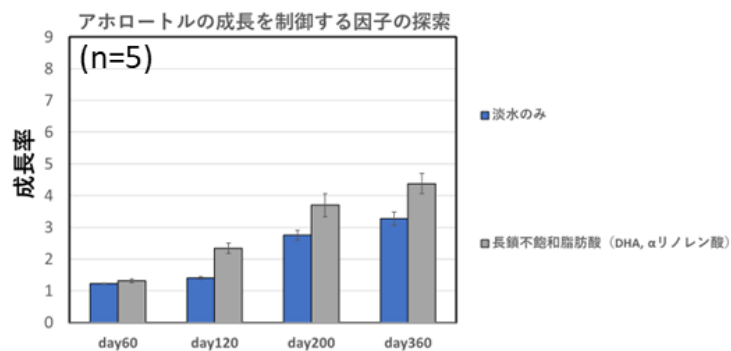
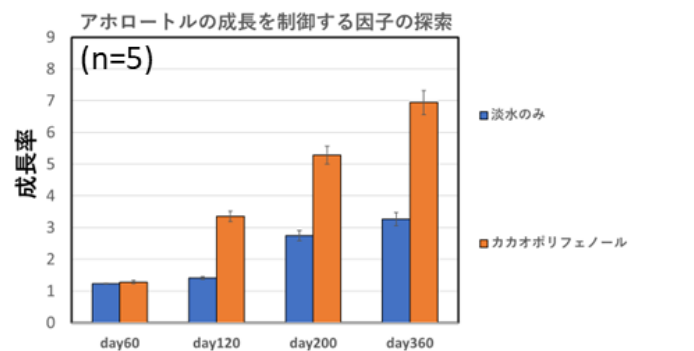
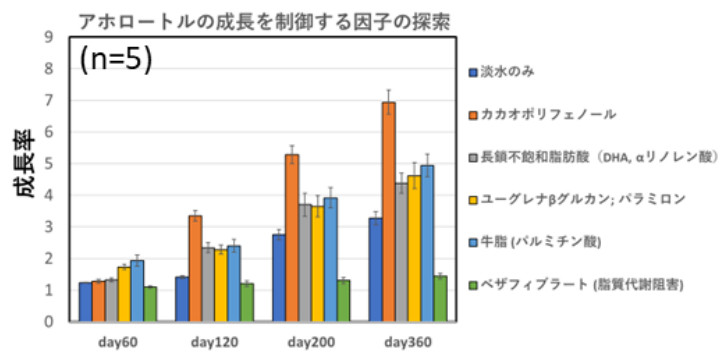


図4: 脂質の摂取はアホロートルの成長を促進する

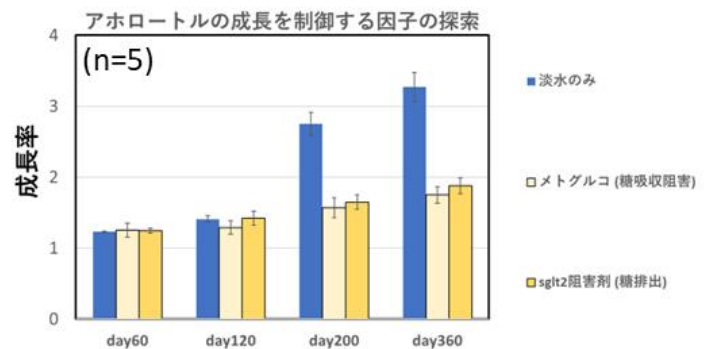
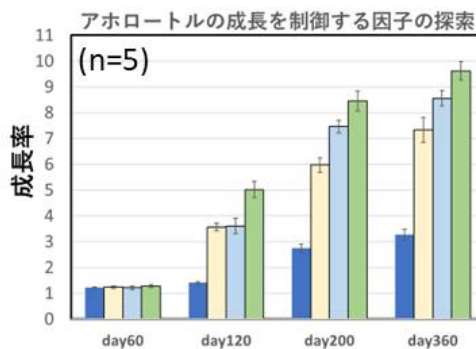
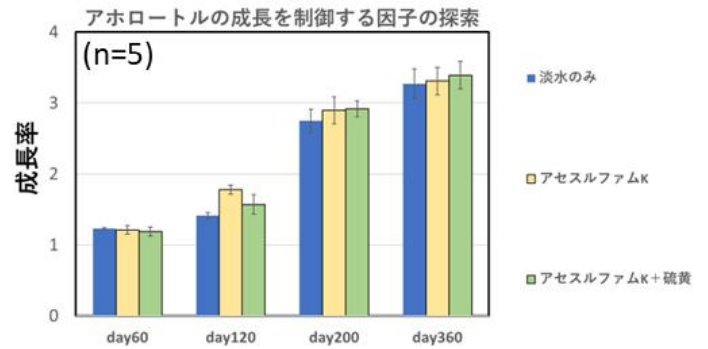
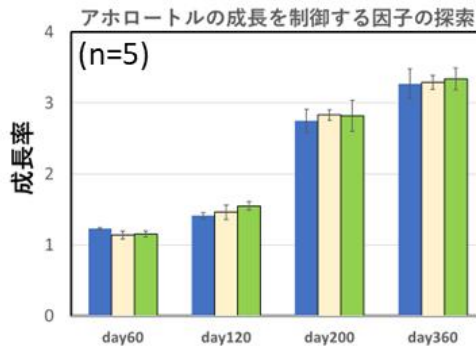
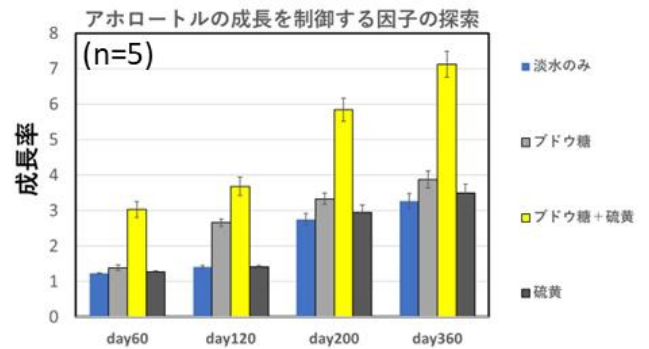
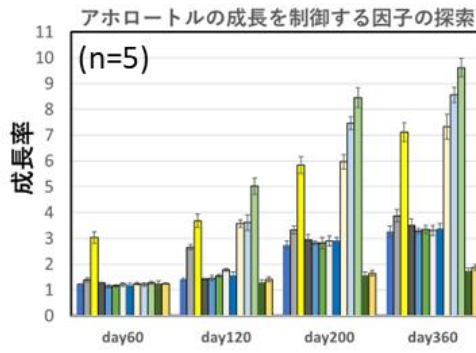


図5: 糖質・脂肪はウーパールーパーの成長促進に関わる

糖質・脂肪の阻害
→ 顕著な成長抑制

人工甘味料: エリスリトール, アセスルファムK

硫黄呼吸 (硫黄代謝): 硫黄を介した糖代謝経路によるATP生成
→ とはいえ、人工甘味料ではこの恩恵は得られない。

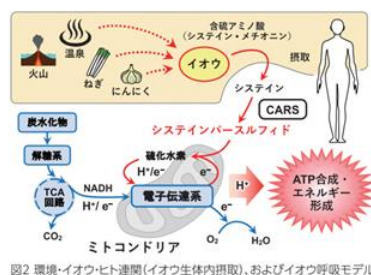
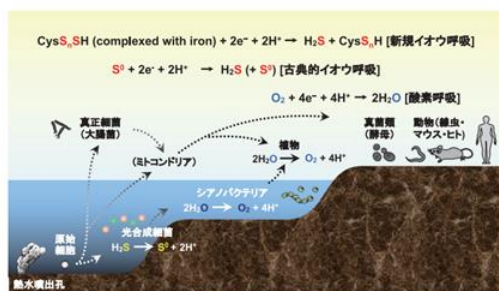


図2 環境-イオウヒト連関 (イオウ生体内摂取、およびイオウ呼吸モデル)

正常マウス 硫黄代謝不全マウス



(参照:イオウ呼吸:創薬の新たな標的)

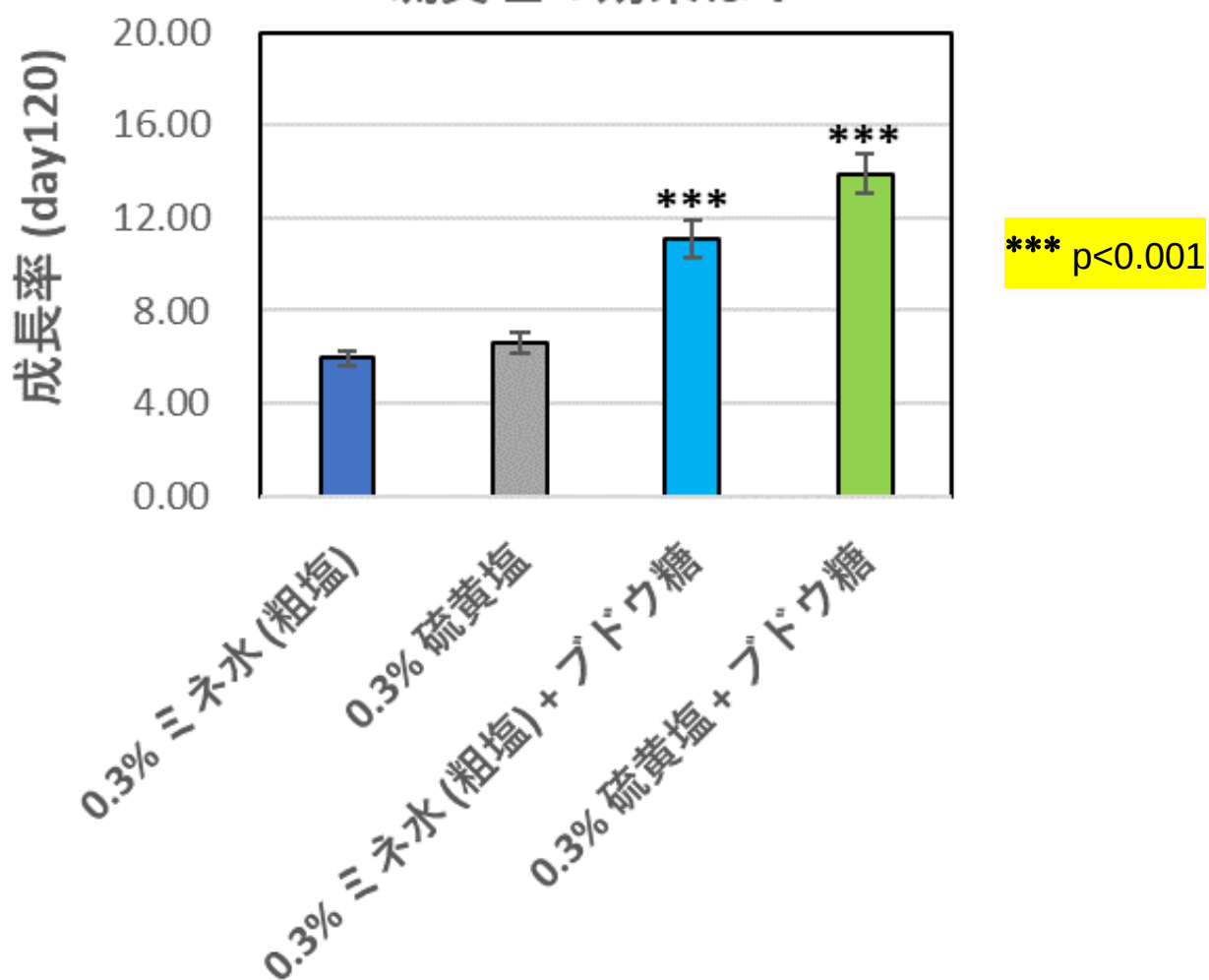
https://www.jaima.or.jp/resource/media/souyakunohoriba_vol10.pdf

<https://www.itmedia.co.jp/news/articles/1710/31/news126.html>

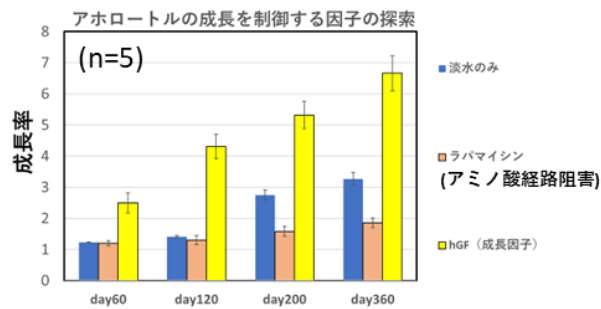
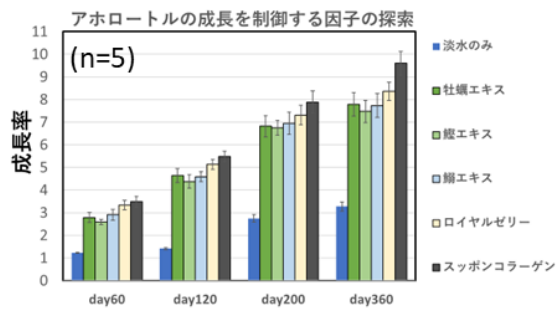
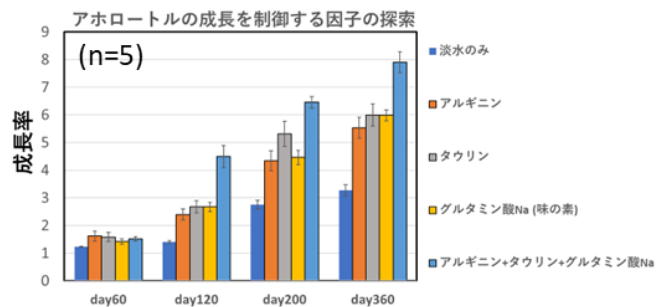
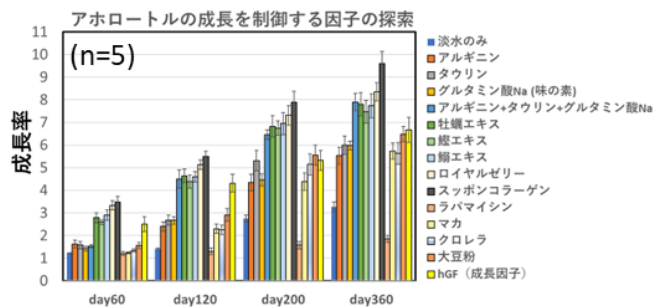
補足: 硫黄を含有する塩を用いた場合の成長率に関する詳細情報

	0.3% ミネ水 (粗塩)	0.3% 硫黄塩	0.3% ミネ水 (粗塩) + ブドウ糖	0.3% 硫黄塩 + ブドウ糖
容器サイズ	600×275×H360 (mm)	600×275×H360 (mm)	600×275×H360 (mm)	600×275×H360 (mm)
開始日 (mm); n=5	2.56	2.55	2.49	2.52
day360 (mm); n=5	15.19	16.75	27.37	34.92
成長率 (5匹の平均値の比較)	5.94	6.60	11.06	13.91

硫黄塩の効果は？



尚、硫黄入りの岩塩を飼育に用いることで、硫黄呼吸と汽水による成長促進の相乗効果が狙えるという結果が得られたが。長期的な副作用・リスクについても継続して確認していきたい。



アミノ酸経路の阻害
→ 顕著な成長抑制

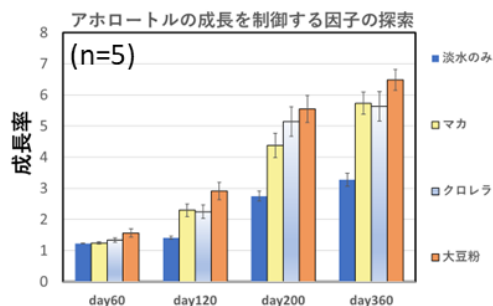


図6: タンパク質・アミノ酸はウーパールーパーの成長促進に関わる

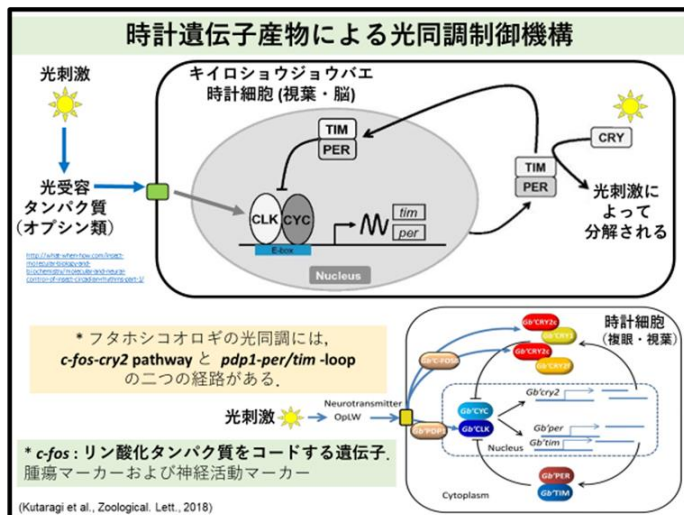
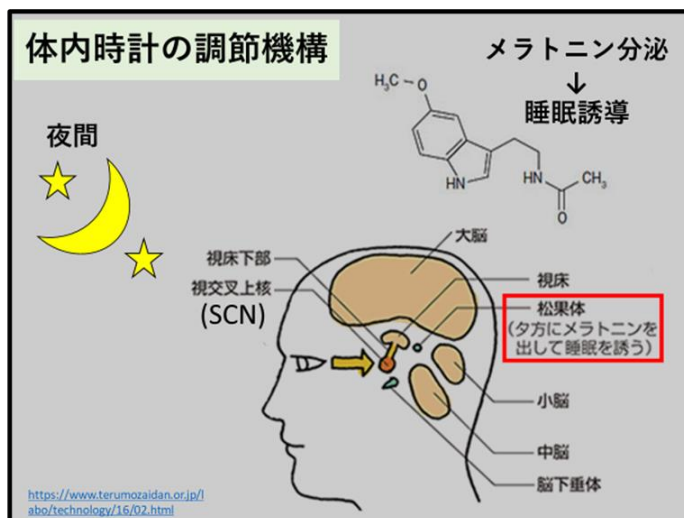
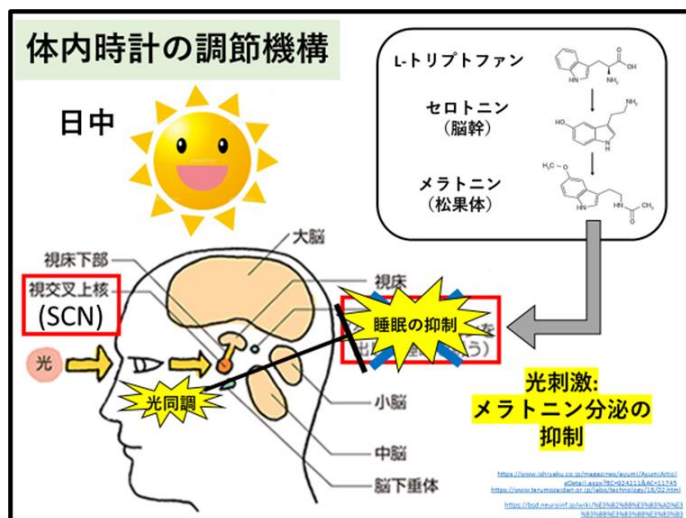
・ 因子 1) 昆虫類の栄養と睡眠・成長に関する最新・追加報告

当ラボから過去に、昆虫類の生育に関しても報告を行ったことがある(杉山 2021-2022; 以下のリンク先を参照)。この選考報告に引き続き、過去の検討結果に新たな結果を加えて、昆虫の成長制御に関わる因子として、睡眠やアミノ酸を含む代謝経路について複数の追加検証を実施したため、本項にて追加報告したいと思う。

参照(青字のハイパーリンクから論文閲覧可能)

- ・ 昆虫の成長・生育はアミノ酸依存的に制御される・・・[ウーパールーパーだより vol. 1.3 \(2021-2022\)](#)

以下、昆虫類(ショウジョウバエ・フタホシコオロギ)における睡眠制御や、Hippo 経路, Yap/TAZ シグナル経路等に代表されるアミノ酸依存的な成長制御に関わる TOR シグナルと相互作用する分子について挙げる。今回、これらの因子に注目し、昆虫の成長制御や繁殖能力(妊性)の制御との関連性について調査を行った。



参照: 昆虫における時計遺伝子と体内時計の制御機構

摂食・栄養摂取

脳の細胞における
インスリン産生

血流から全身へ

生殖腺 (オス)

インスリン受容体,
Slimfast

栄養シグナル分子
TOR

(?)

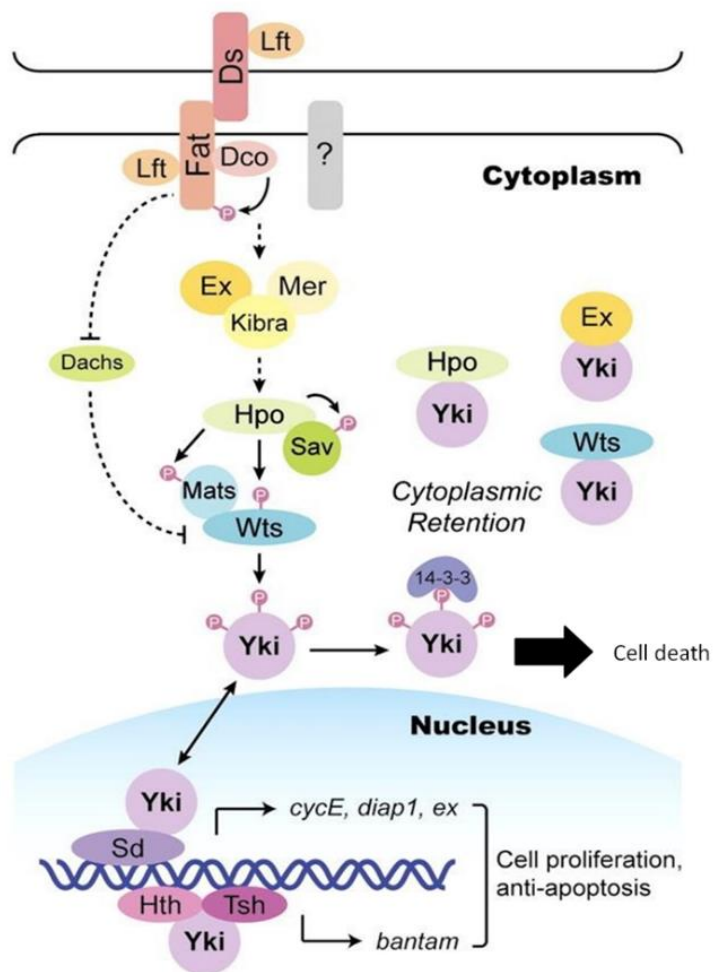
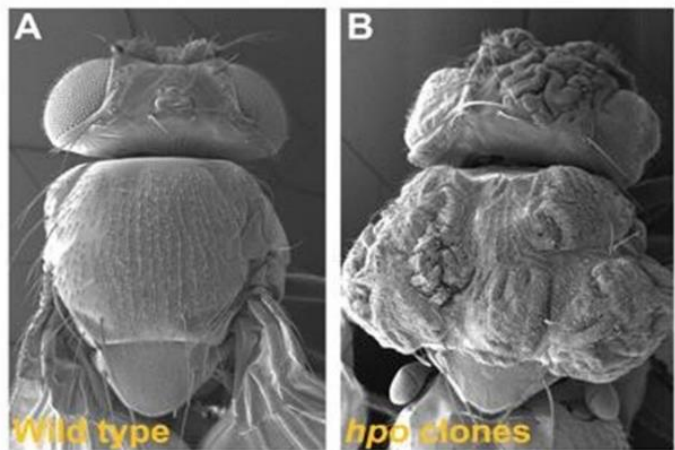
dSat

生殖腺第二細胞の
数決定

エクダイソン
(脱皮ホルモン)
シグナル受容体

第二細胞調節因子
Abd-B

第二細胞の
大きさ制御

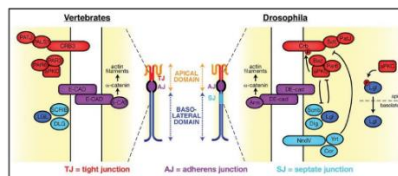
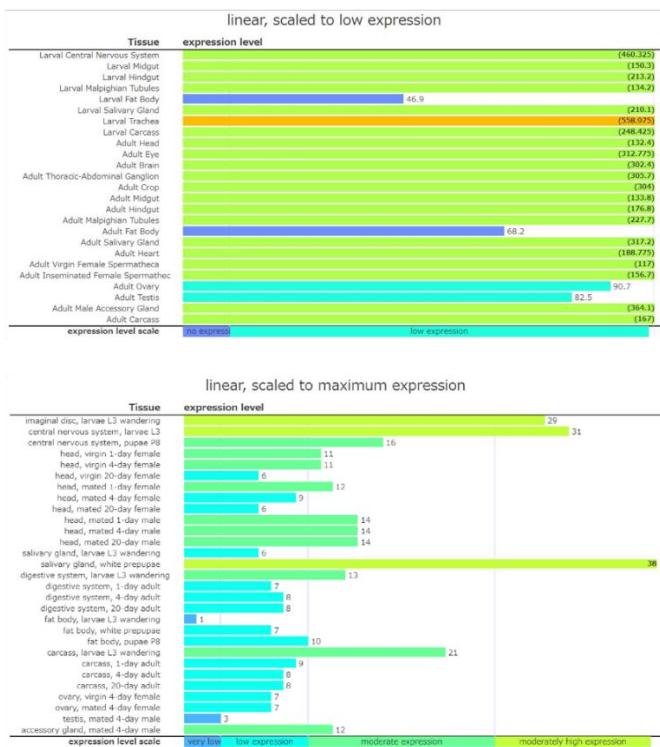


(Halder et al., Development, 2011)

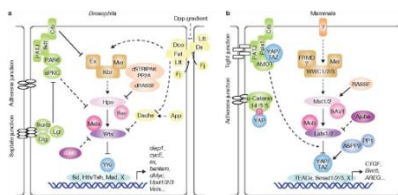
(Zhao B et al., Genes. Dev., 2010)

参照: 栄養シグナルによる昆虫の生殖制御には、シグナル分子 TORと dSat を仲介する分子が必要である。

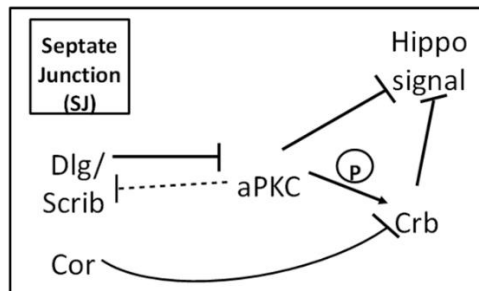
Flybase による発現確認



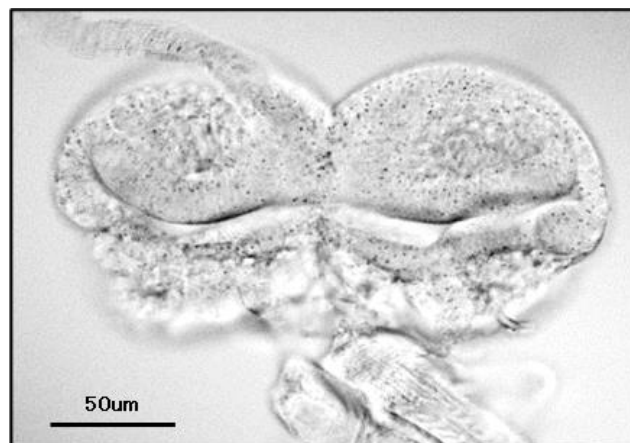
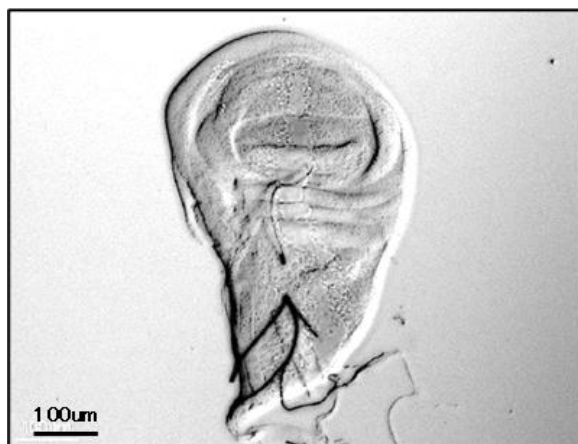
REVIEW ARTICLE
The Hippo pathway and apical-basal cell polarity
Alice Genevet, Nicolas Tapon
Biochemical Journal Jun 01, 2011, 436(2):213-224, doi: 10.1042/BJ-20110217



The Hippo pathway in organ size control, tissue regeneration and stem cell selfrenewal
Bin Zhao, Karen A. Tumaneng, Kun-Liang Guan
Published in Nature Cell Biology 2011
DOI: 10.1038/nrcb2303

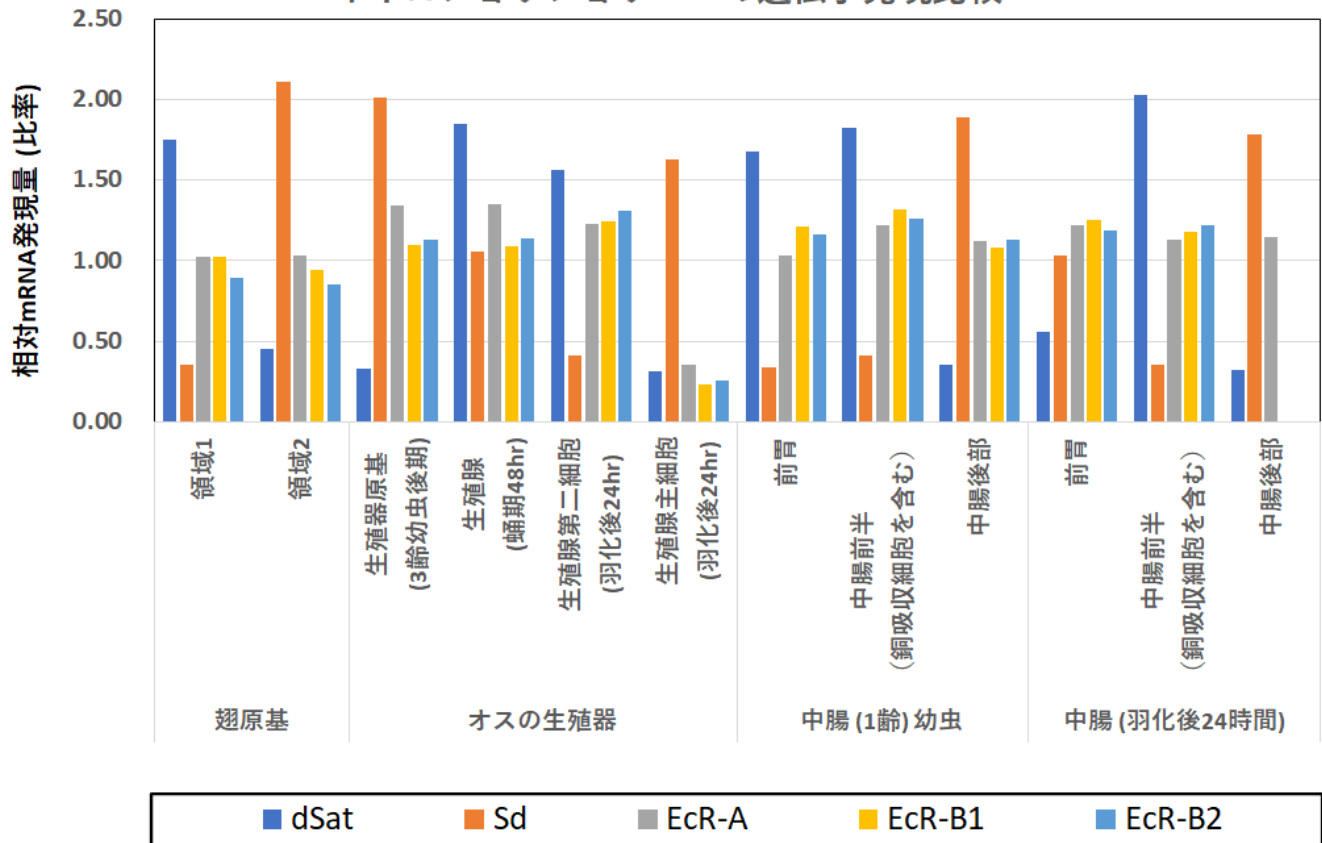


参照: ショウジョウバエデータベース "Flybase" <https://flybase.org/>



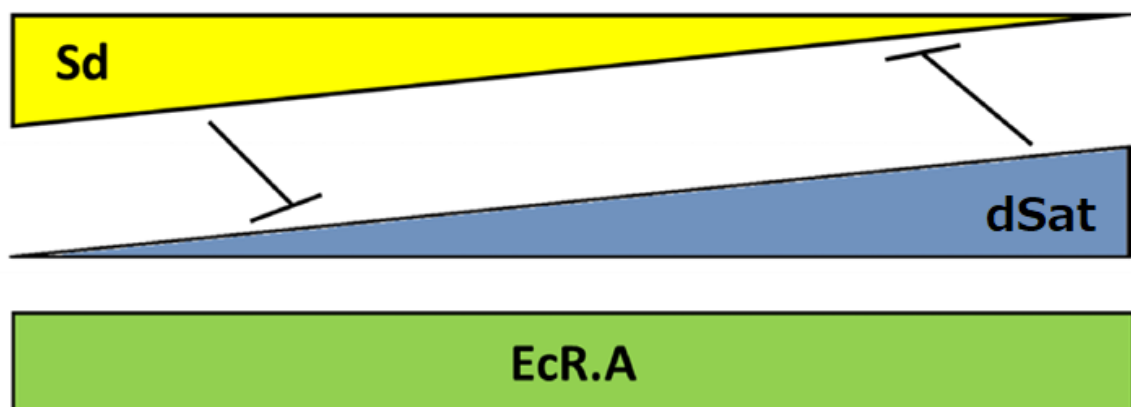
参照: 左; ショウジョウバエの羽原基, 右; ショウジョウバエの生殖器原器

各生育時期・領域別における キイロショウジョウバエの遺伝子発現比較



参照: オスの各組織において作用する遺伝子の発現パターン

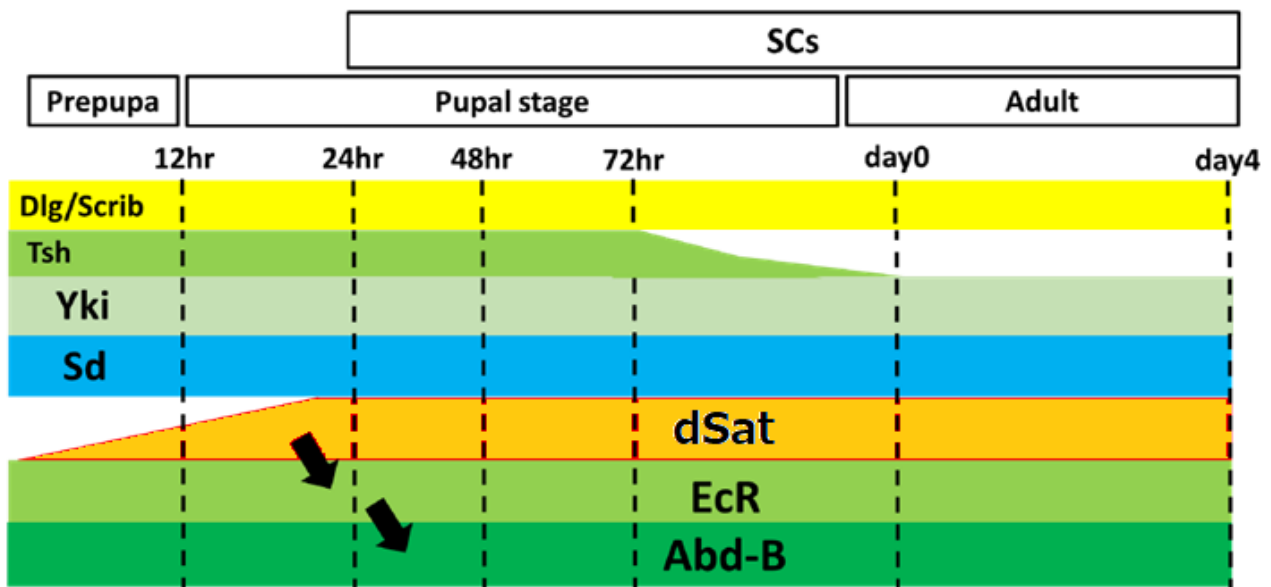
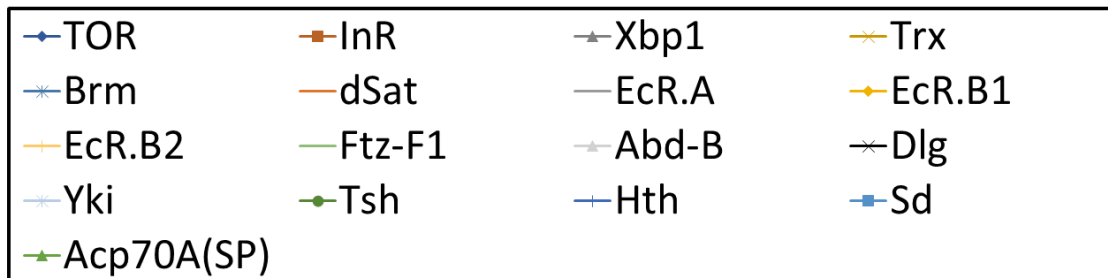
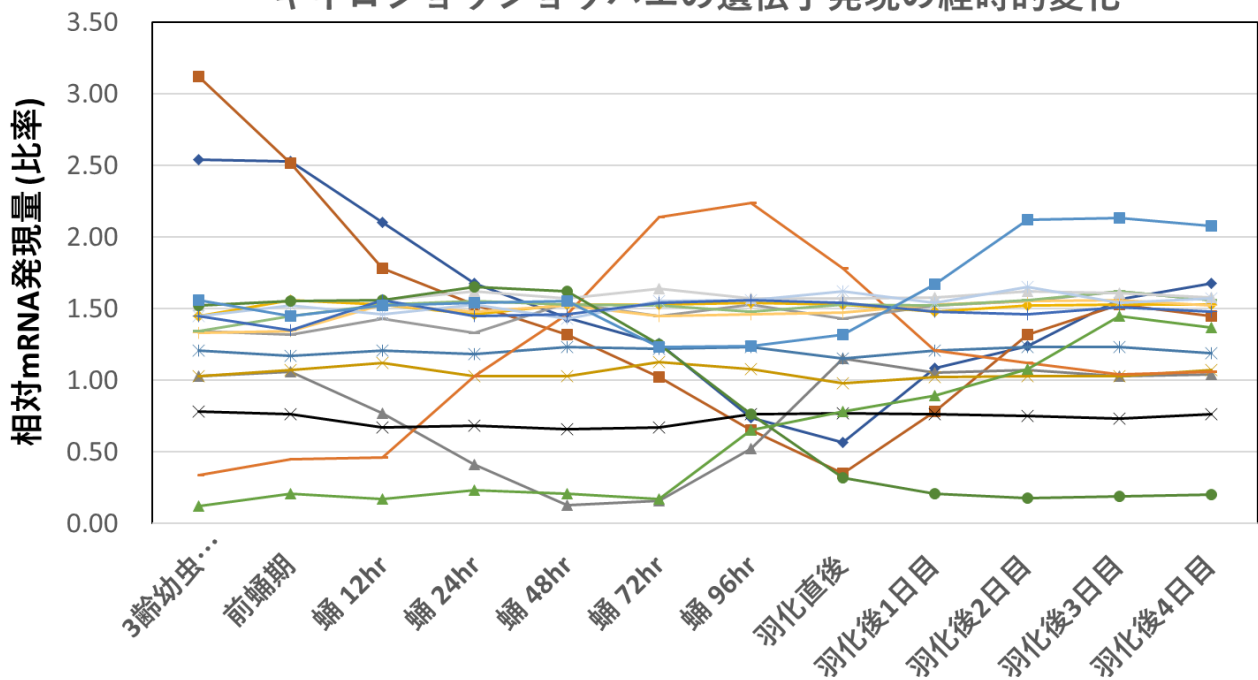
- ※ 転写制御因子である Sd と dSat は相互抑制している。
- ※ 領域 1・・・Wing pouch の周辺部分 (dSat を高発現している)
- ※ 領域 2・・・Wing pouch mの中央部分 (dSat を高発現していない)



参照: オスの各組織において作用する遺伝子の発現パターン 2

- ※ 領域によって多少変わるものの、Sd と dSat は相互的に抑制しあっている。

キイロショウジョウバエの遺伝子発現の経時的変化



参照: オスの生殖腺全体において作用する遺伝子の発現パターン (SC: 生殖腺第二細胞)

※ 参考文献 [16] によると、dSat はタンパク質レベルでは蛹期 24hr 頃からオスのショウジョウバエ生殖腺の第二においては発現が一定に維持されているが、主細胞では蛹期 96hr～羽化後（成虫期）においては、タンパク質レベルでは大きく低下することが分かっている（本結果と相関あり）。

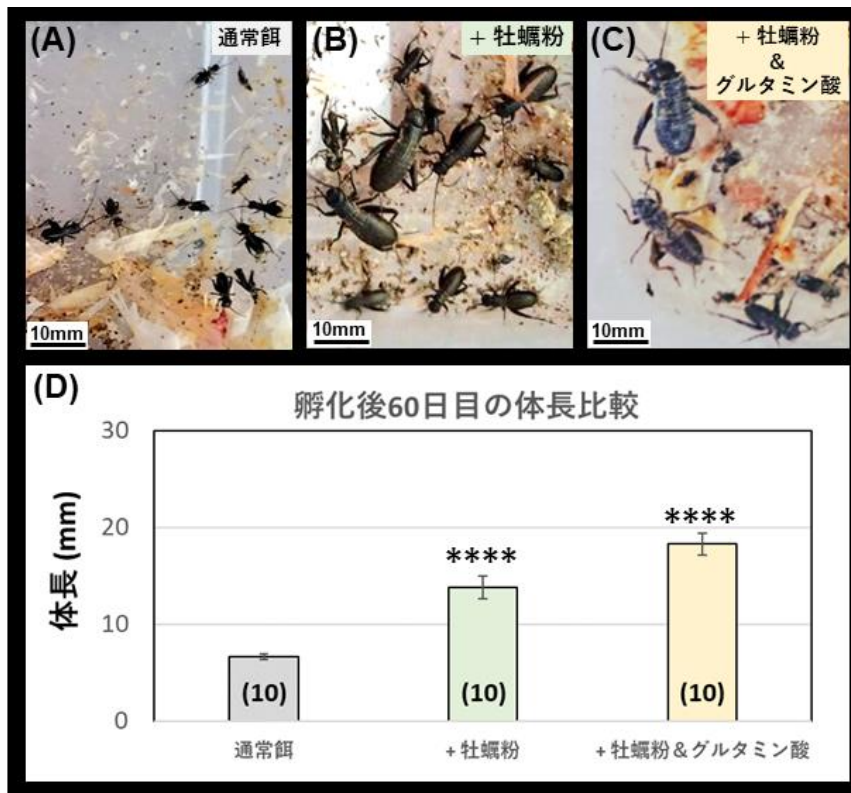


図1: 栄養依存的なフタホシコオロギの生育率

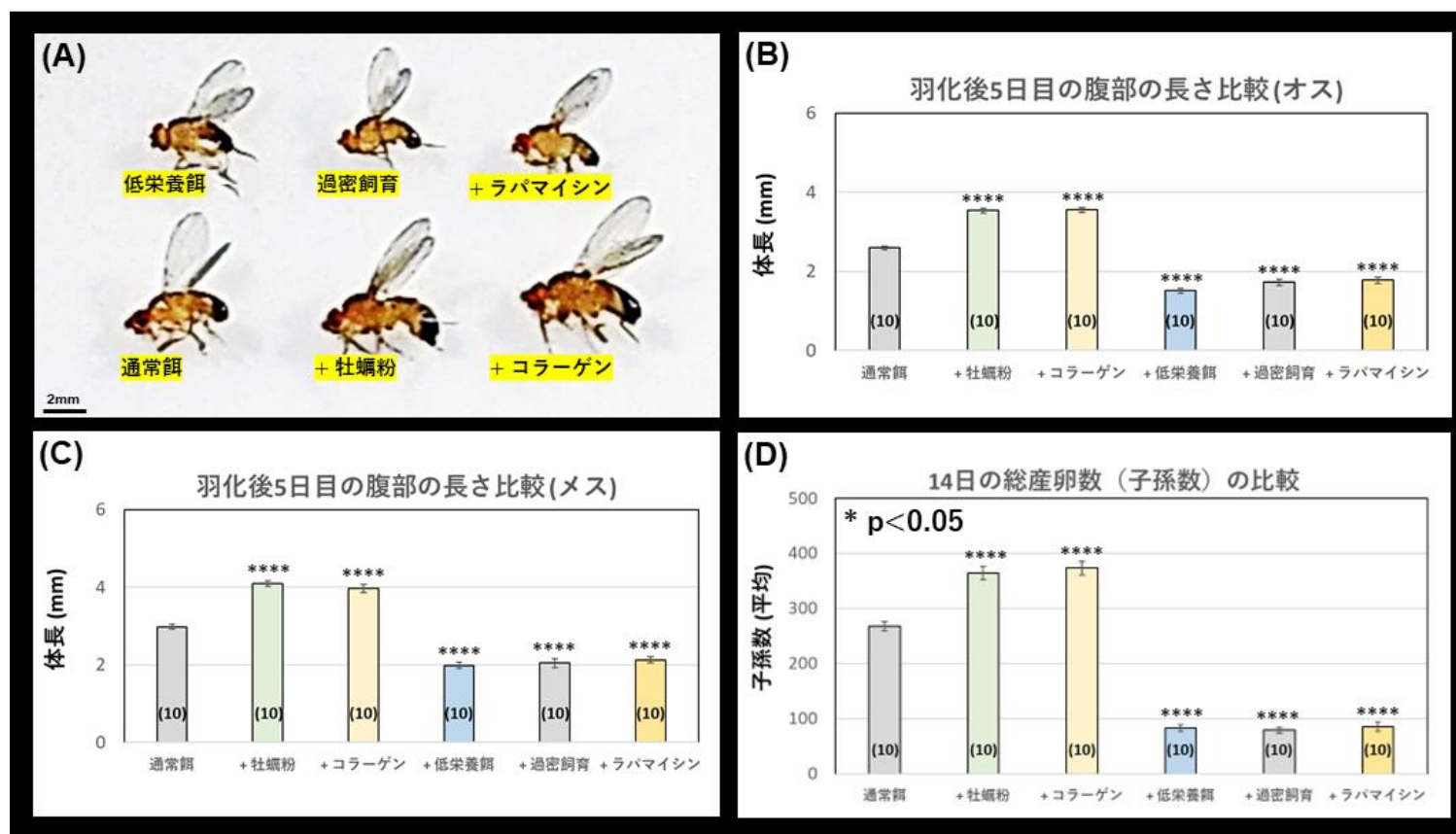


図2: ショウジョウバエにおける栄養依存的な生育率および妊性

栄養シグナル制御

対照群
通常組成



高グルコース



高脂肪



高アミノ酸



エクダイソン
阻害



Yap/Yki
阻害



糖質阻害



脂質阻害



アミノ酸
阻害



低栄養餌



睡眠・体内時計制御

LL



DD

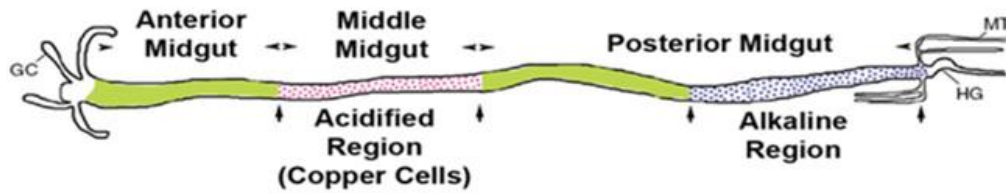


DD + メラトニン



参考: フタホシコオロギ; 孵化後 25℃下で約 30 日間生育させた個体での比較
栄養や睡眠の阻害を受けることで、成長率が顕著に低下することが分かる。

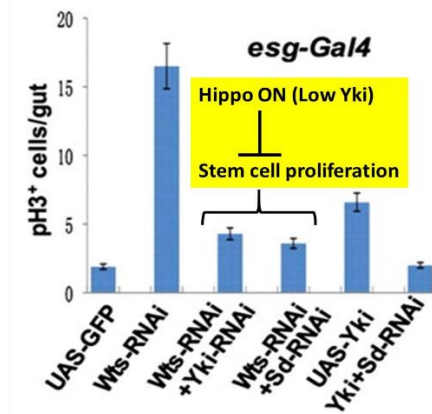
※ 尚、成長の遅れ＝脱皮回数の減少でもある。(通常は 8 回.)



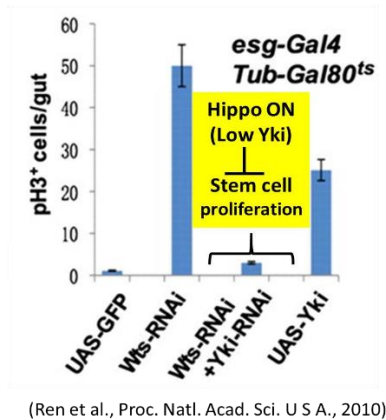
(Xiankun et al., Development, 2012) (Maynard et al., Dev. Biol., 2010)

References: Hippo regulated signals in Midguts

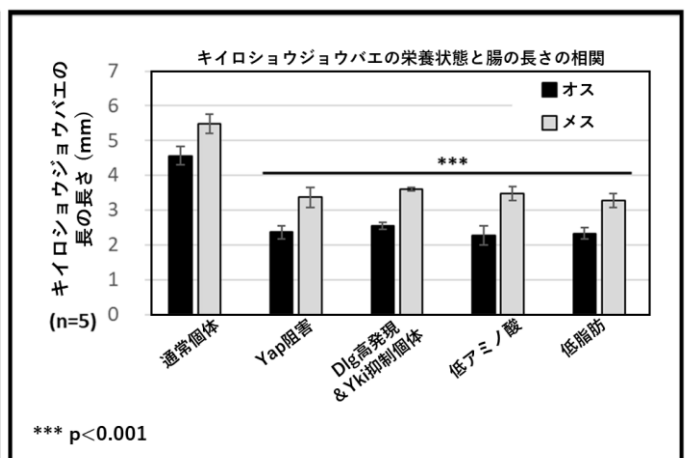
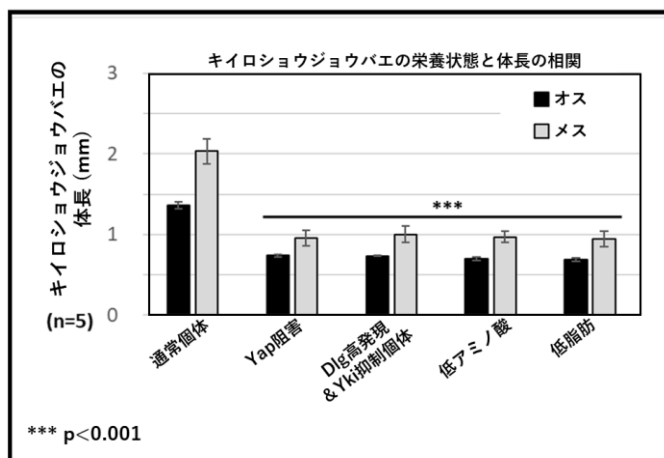
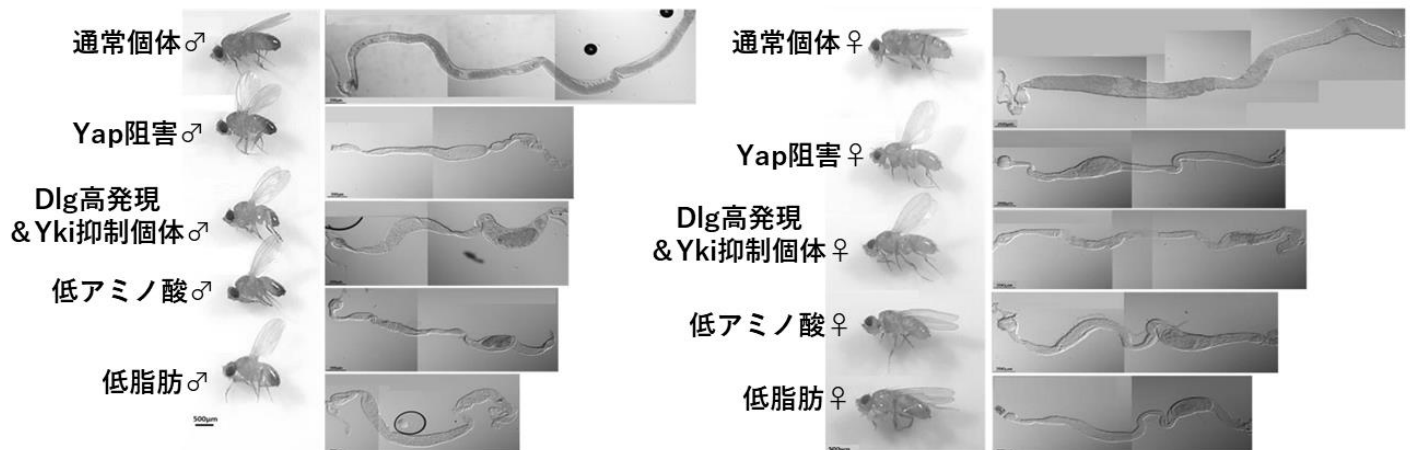
Proliferating cells in mid-guts of Adult day3-5 Flis



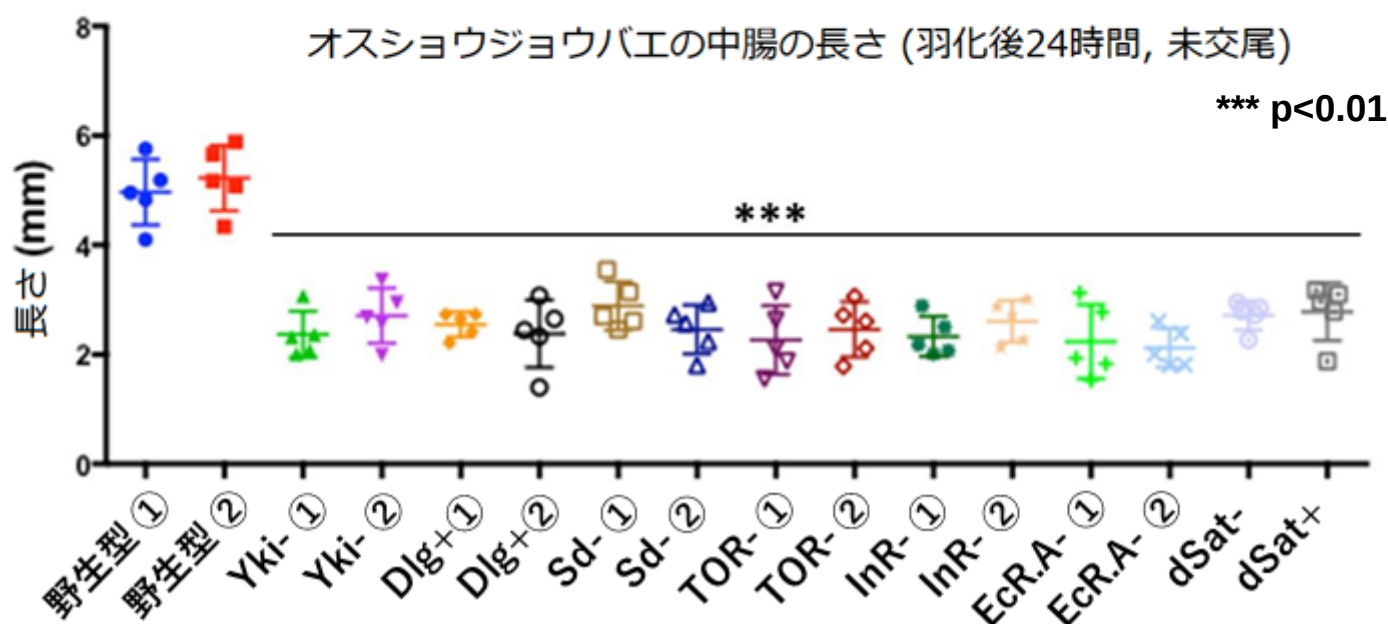
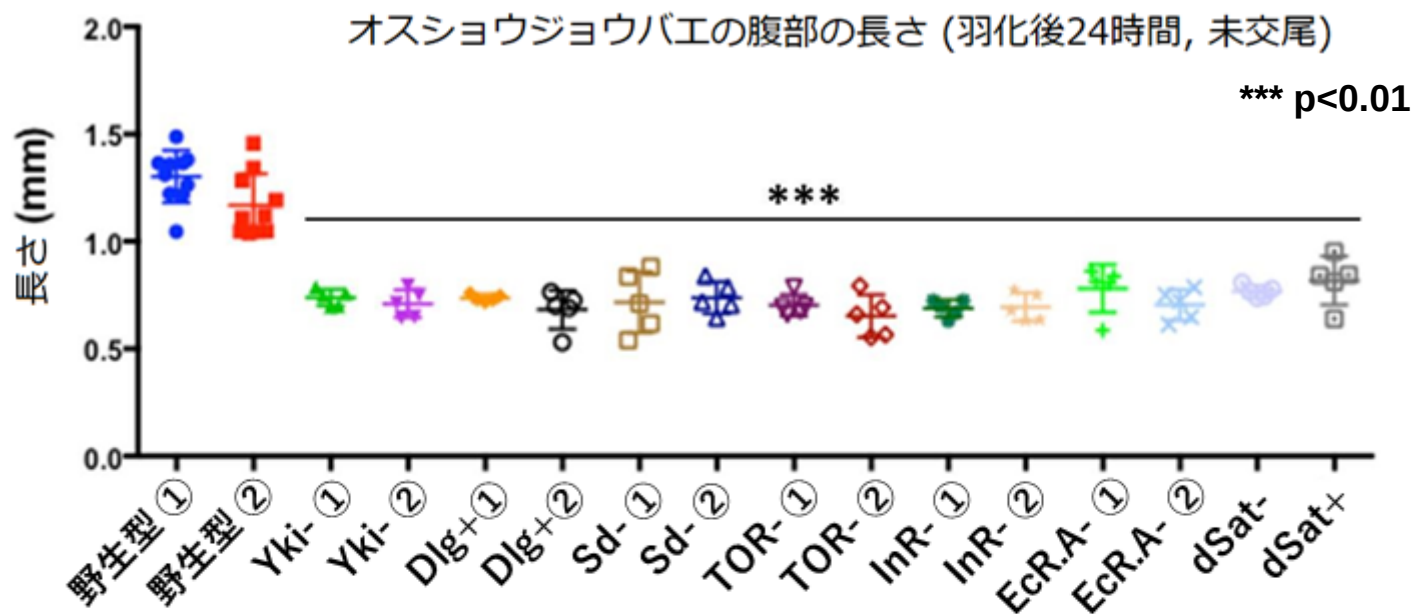
Incubated for 14 days in 29°C (From Adult)



(Ren et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U S A., 2010)



参考: キイロショウジョウバエにおける各因子阻害または各因子発現低下個体における腸の状態
栄養シグナルや細胞成長シグナル(Yap)が阻害されると腸がうまく形成されない。



参考: キイロショウジョウバエにおける各因子阻害または各因子発現低下個体における腸の状態 ②
 栄養シグナルや細胞成長シグナル(Yap)が阻害されると腸がうまく形成されない。

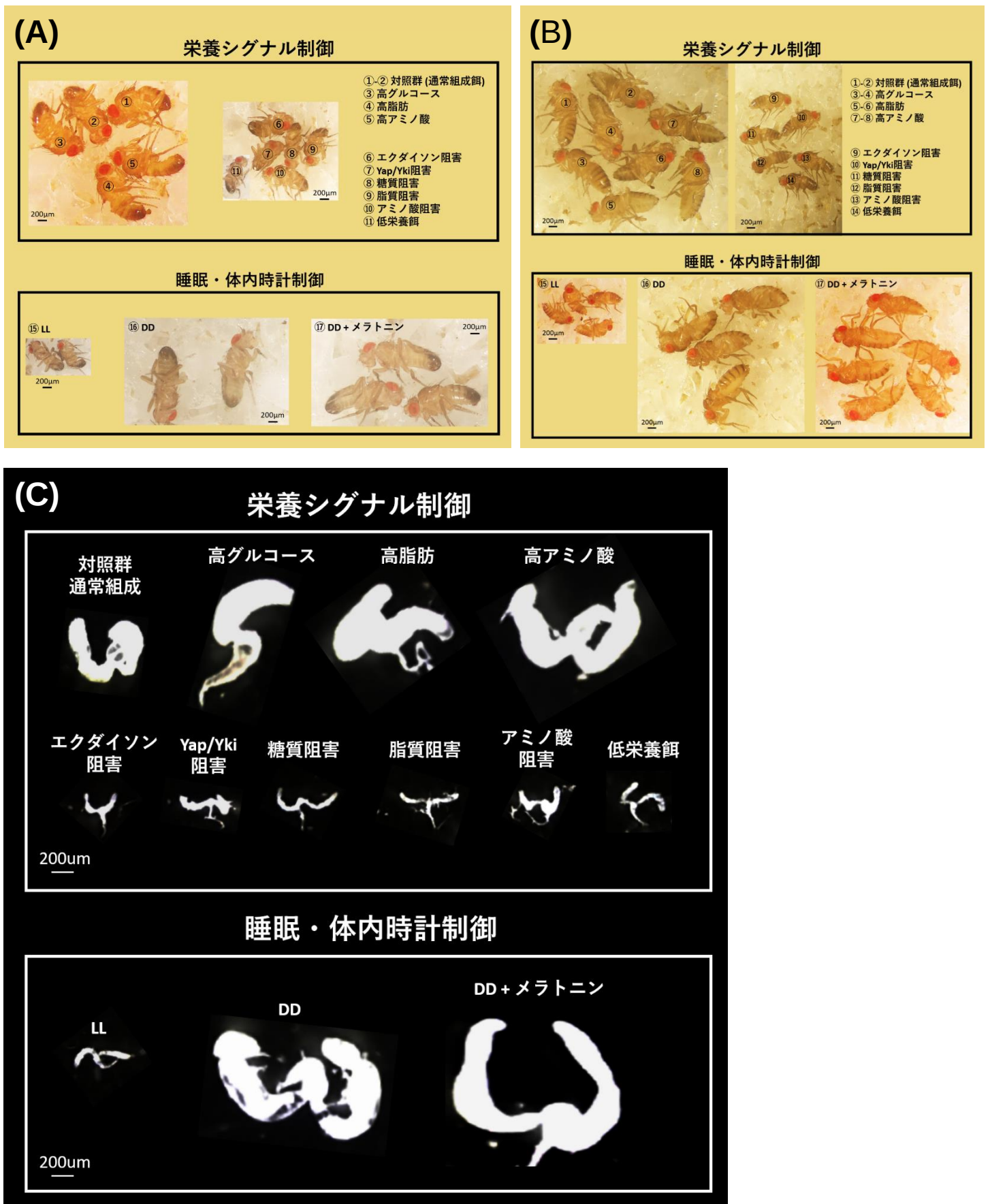


図 3. キイロショウジョウバエにおける生育環境が成長制御に及ぼす影響
 キイロショウジョウバエ (*wg* 変異体) 羽化後 7 日目にて撮影・解剖。
 羽化後にも生育条件を維持した。

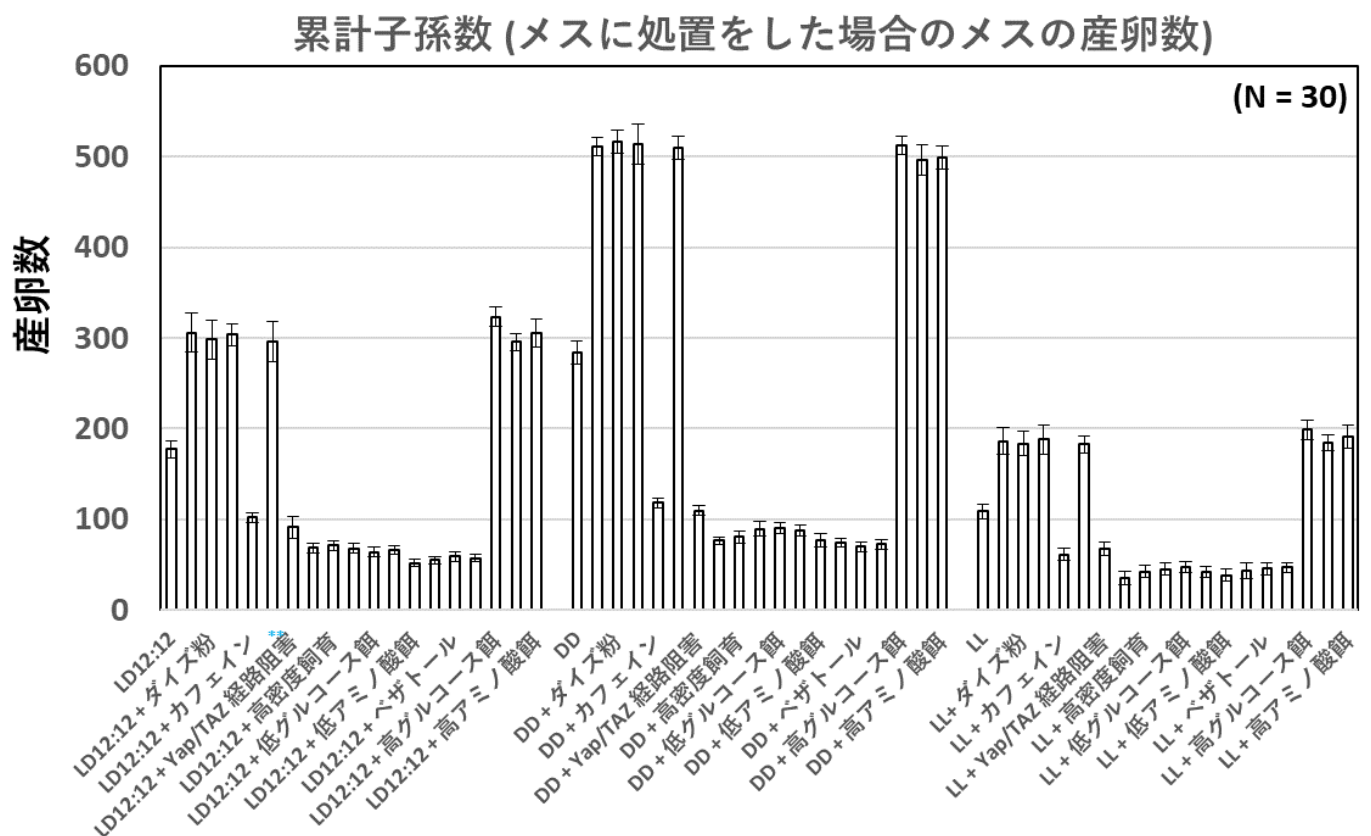
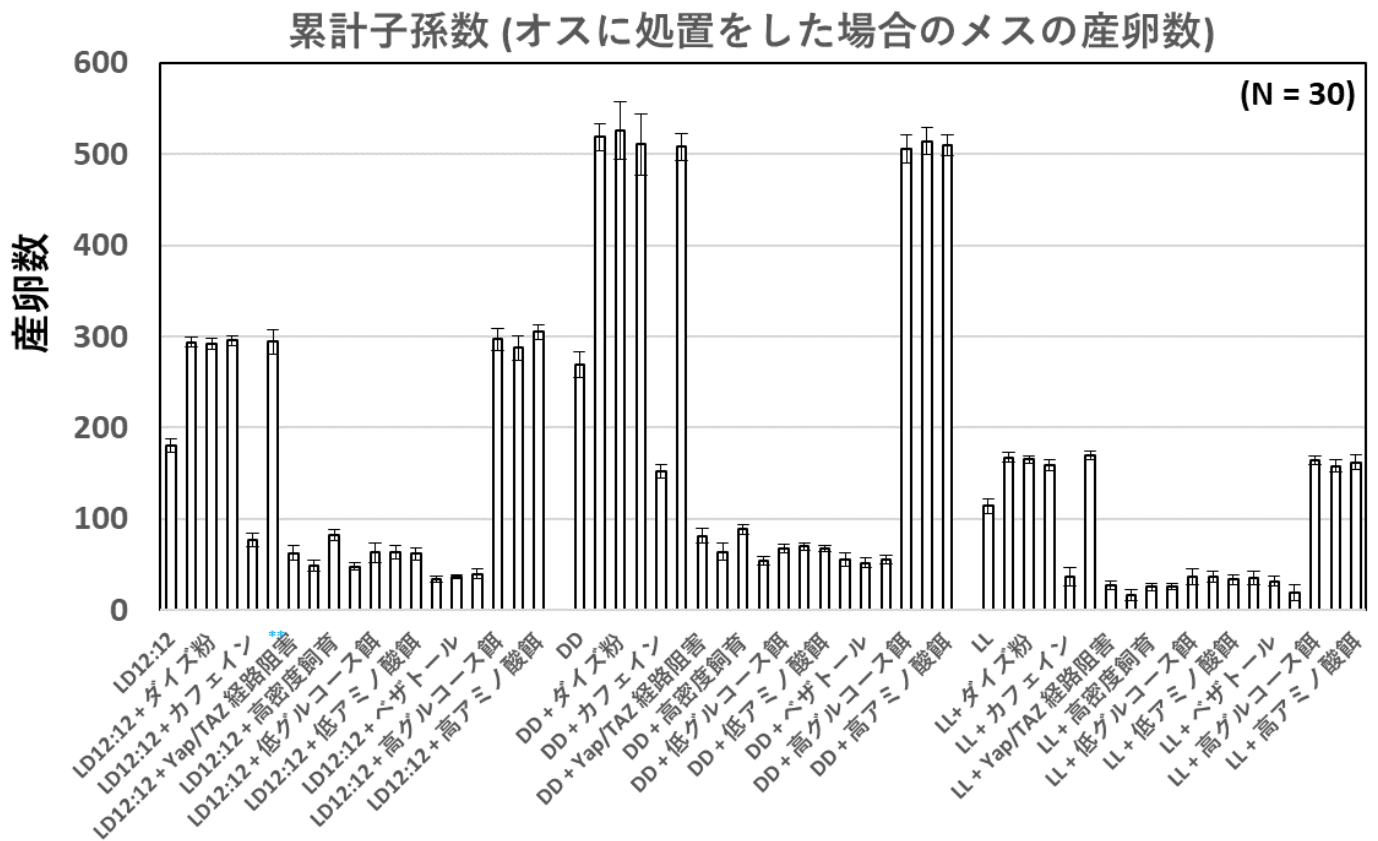
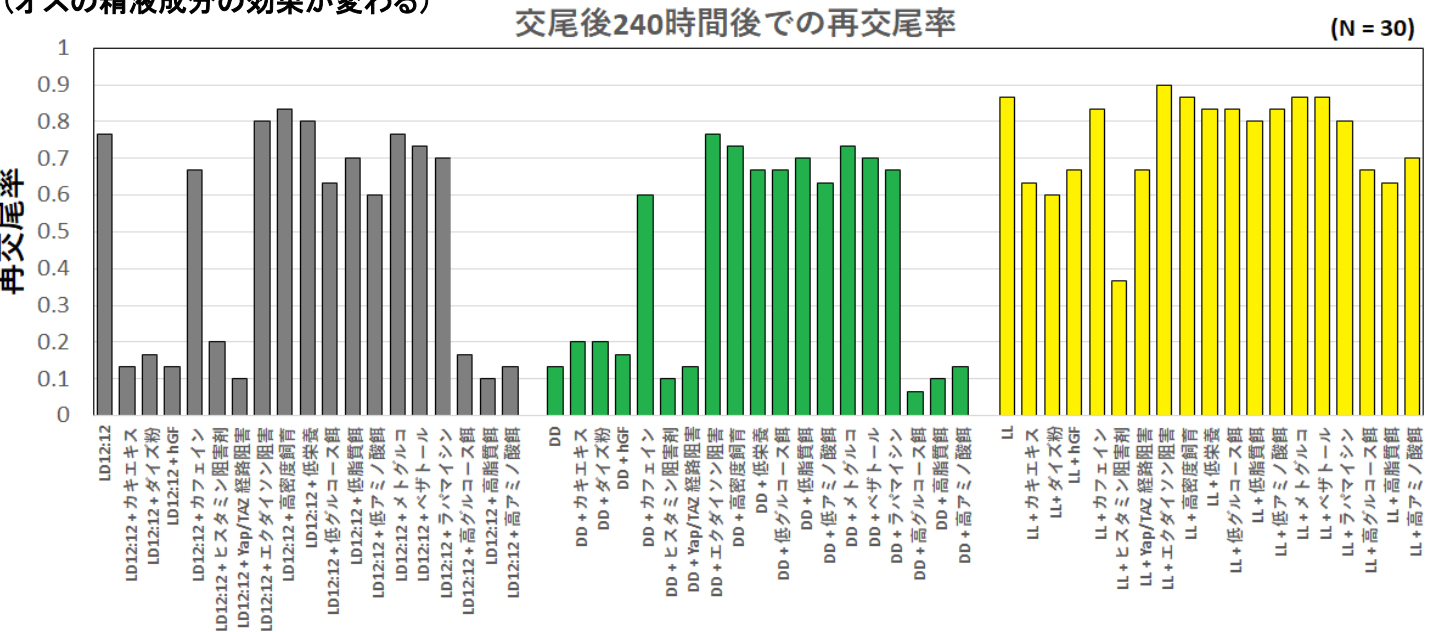


図 4 キロショウジョウバエにおける生育環境が妊性制御に及ぼす影響-1

キロショウジョウバエ (wg 変異体) を羽化後にて、前述の条件で交尾させ、14 日間 産卵数を定量した。

(A) オス側を処置した場合
(オスの精液成分の効果が変わる)



(B) メス側を処置した場合
(メス側がストレスを感じてしまう)

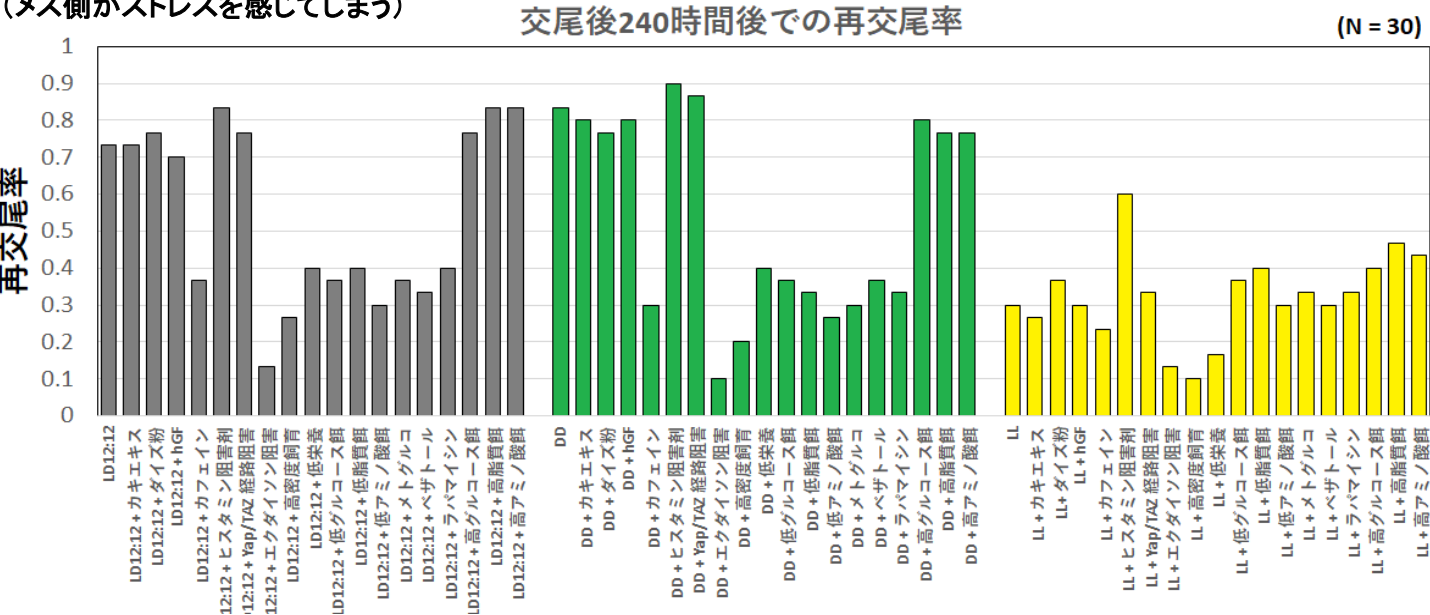


図 5 キロショウジョウバエにおける生育環境が妊性制御に及ぼす影響-2
キロショウジョウバエ (wg 変異体) 羽化後 7 日目にて撮影・解剖。
羽化後にも生育条件を維持した。

各栄養/ストレス条件下における キイロショウジョウバエの遺伝子発現比較

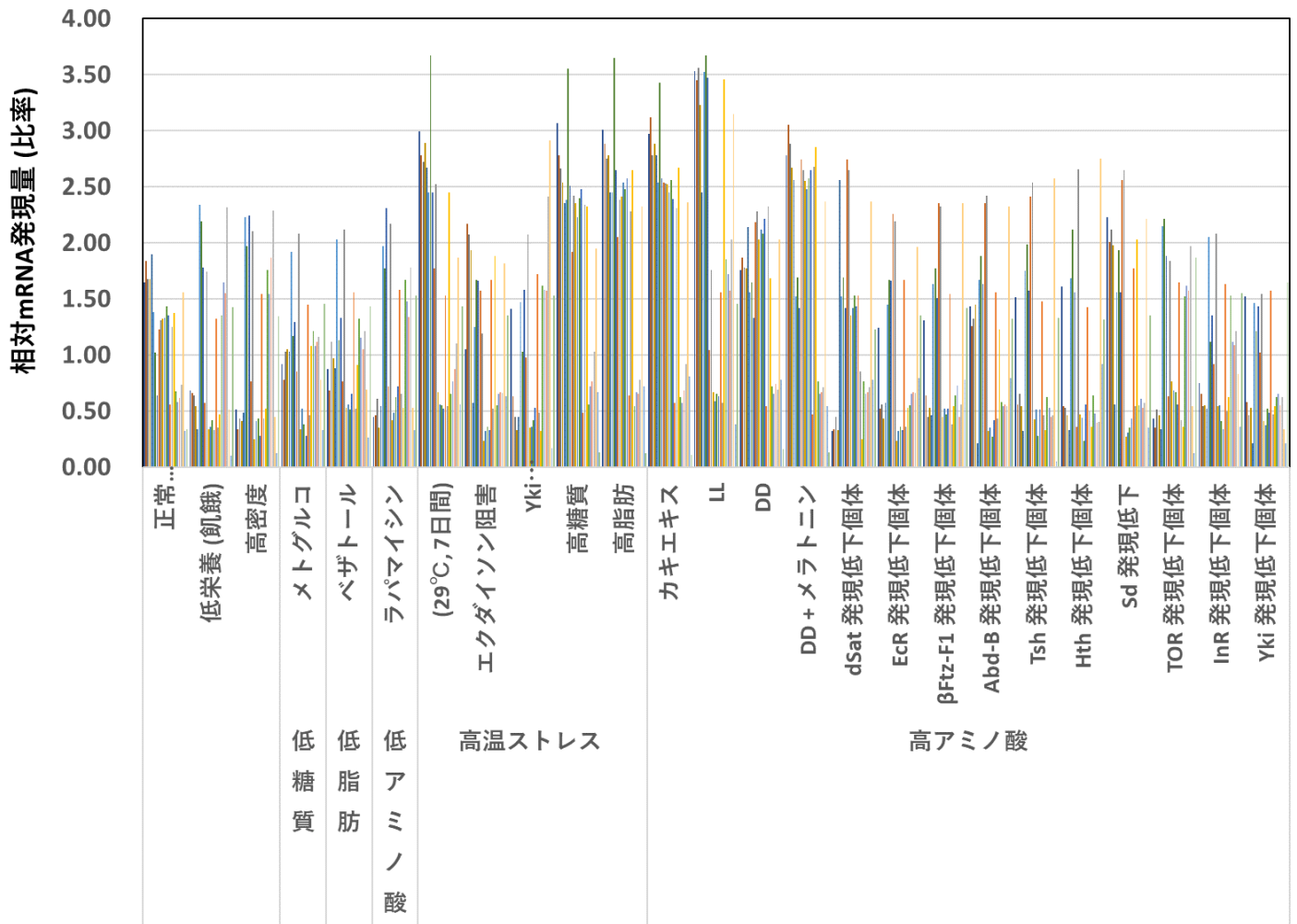


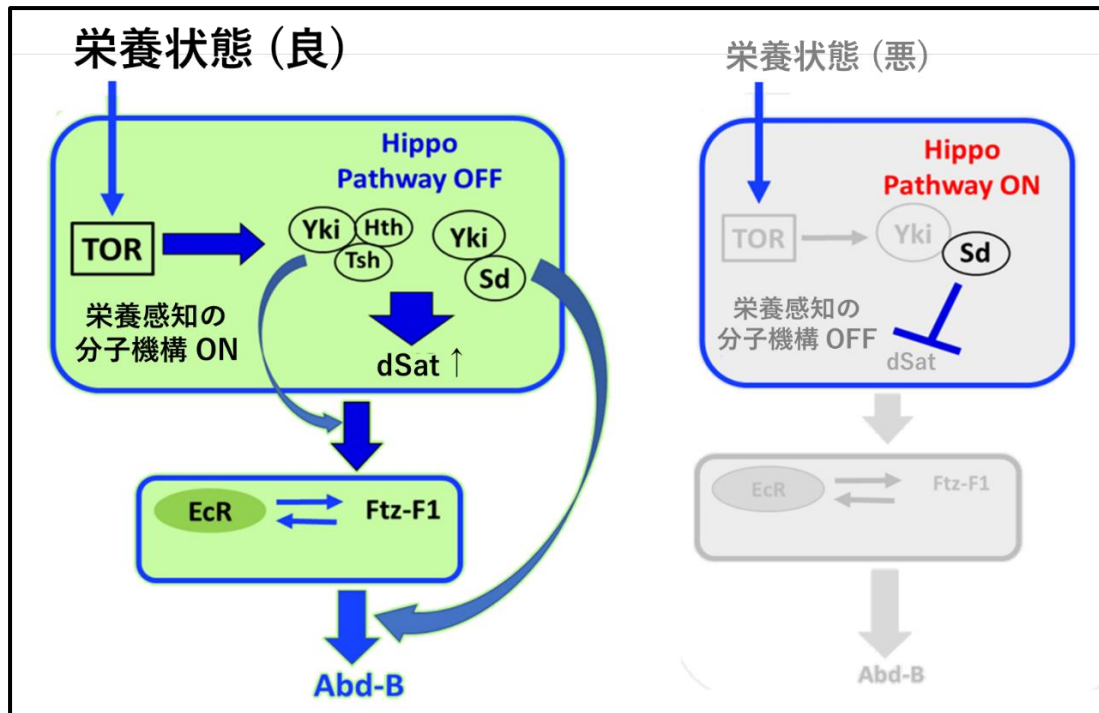
図 6 キイロショウジョウバエにおける生育環境が妊性制御に及ぼす影響-3

キイロショウジョウバエ (*wg* 変異体) 羽化後 7 日目にて撮影・解剖。羽化後にも生育条件を維持した。

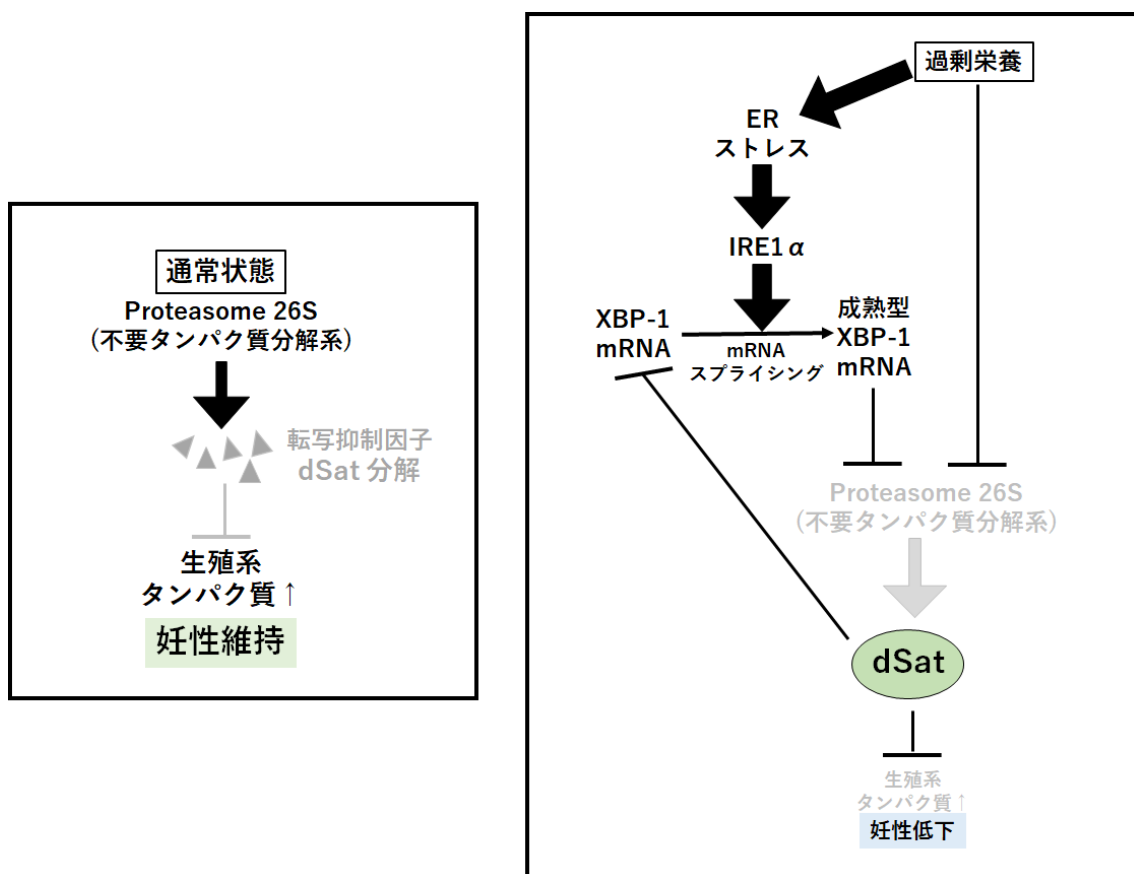
※ここでの **dSat** は **Type-A** を指す。

※ **XBP-1** は ER ストレス応答等に関与する**成熟型**の方を指す。

(A) ショウジョウバエ生殖腺第二細胞における栄養応答に関する分子機構



(B) ショウジョウバエ生殖腺主細胞における栄養応答に関する分子機構



参考 キイロショウジョウバエにおける栄養状態と細胞生理・生殖腺細胞の制御機構モデル図

参考文献

- ・ 1) 第 41 回分子生物学会年会>[3P-0425] 栄養依存的な附属腺第二細胞の分化制御シグナル
- ・ 2) 第 42 回分子生物学会年会>[1P-0355] ショウジョウバエ附属腺の栄養依存的な分化制御シグナル
- ・ 3) 第 43 回分子生物学会年会>[3P-0223]
オスのショウジョウバエにおける栄養依存的な妊性の調節はエクダインシグナルによって微調整される
○ 松家 未来 1、上田 均 1、中越 英樹 1 (1.岡山大・院・自然科学)
- ・ 4) 第 43 回分子生物学会年会>[1P-0324] ショウジョウバエ附属腺におけるオスの妊性を制御するストレス応答
○ 鈴江 陽一郎 1、松家 未来 1、中越 英樹 1 (1.岡大・院・自然・生物科学)
- ・ 5) Halder et al., Development, 2011
- ・ 6) Zhao B et al., Genes. Dev., 2010
- ・ 7) Dev Cell > 2015 Jul 27;34(2):168-80. doi: 10.1016/j.devcel.2015.05.010. Epub 2015 Jul 2.
- ・ 8) Received 4 Jul 2016 | Accepted 11 Oct 2016 | Published 22 Nov 2016. DOI: 10.1038/ncomms13505
- ・ 9) Hippo pathway and Bonus control developmental cell fate decisions in the Drosophila eye
doi: <https://doi.org/10.1101/2021.09.05.458934>
- ・ 10) Nature Communications volume 12, Article number: 6684 (2021)>Published: 18 November 2021>
Ecdysone regulates Drosophila wing disc size via a TORC1 dependent mechanism
doi: <https://www.nature.com/articles/s41467-021-26780-0>
- ・ 11) 水野 壮. 2016. 現代の昆虫食の価値—ヨーロッパおよび日本を事例に—The Value of Modern
- ・ 12) Entomophagy in the Case of Europe and Japan. 国際交流研究 : 国際交流学部紀要 18 巻. 159 – 178.
- ・ 13) 三戸 太郎. 渡邊 崇人. 岡部 慎司. 2020. 持続可能な次世代タンパク質源としての食用コオロギ. 生物工学. 第 98 巻. 第 1 号. P44-45.
- ・ 14) Taiki Miki, Tsugumichi Shinohara, Silvia Chafino, Sumihare Noji, and Kenji Tomioka. 2020. Photoperiod and temperature separately regulate nymphal development through JH and insulin/TOR signaling pathways in an insect. Proc Natl Acad Sci USA. Mar 10; 117(10): 5525–5531.
- ・ 15) 篠原 従道. 富岡 憲治. 2021. タンボコオロギにおける光周期と温度による幼虫発育の制御機構. 比較.生理.生化学総説. Vol. 38, No. 1. P38-44
- ・ 16) Ayuko Kubo; Mirai Matsuka, Ryunosuke Minami, Fumika Kimura, Rumi Sakata-Niitsu, Akihiko Kokuryo, Kiichiro Taniguchi, Takashi Adachi-Yamada, Hideki Nakagoshi. 2018. Nutrient conditions sensed by the reproductive organ during development optimize male fecundity in Drosophila. Genes to Cells. Jul;23(7):557-567.
- ・ 17) Xu, J., Anciro, A. L., & Palli, S. R. 2015. Nutrition regulation of male accessory gland growth and maturation in Tribolium castaneum. Scientific Reports, 5, 10567. P1-11
- ・ 18) Eisuke Imura, Yuko Shimada-Niwa, Takashi Nishimura, Sebastian Hu-ckesfeld, Philipp Schlege, Yuya Ohhara, Shu Kondo, Hiromu Tanimoto, Albert Cardona, Michael J. Pankratz, and Ryusuke Niw. 2020.
- ・ 19) The Corazonin-PTTH Neuronal Axis Controls SystemicBody Growth by Regulating Basal Ecdysteroid Biosynthesis in Drosophila melanogaster. Current Biology30, 2156–2165. June 8.
- ・ 20) The FBXL family of F-box proteins: variations on a theme Bethany Mason and Heike Laman Department of Pathology, University of Cambridge, Tennis Court Road, Cambridge CB2 1QP BM, 0000-0002-1157-0469; HL, 0000-0002-6089-171X.
<https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rsob.200319>
- ・ 21) フタホシコオロギ (*Gryllus bimaculatus*) のケアシート <[2002.10.27 \(クリックでリンク先へ\)](#)>
- ・ 22) ショウジョウバエ *mask* 遺伝子 <https://www.sdbonline.org/sites/fly/genebrief/mask.htm>

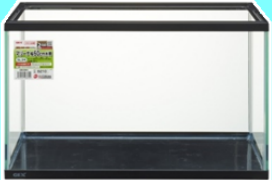


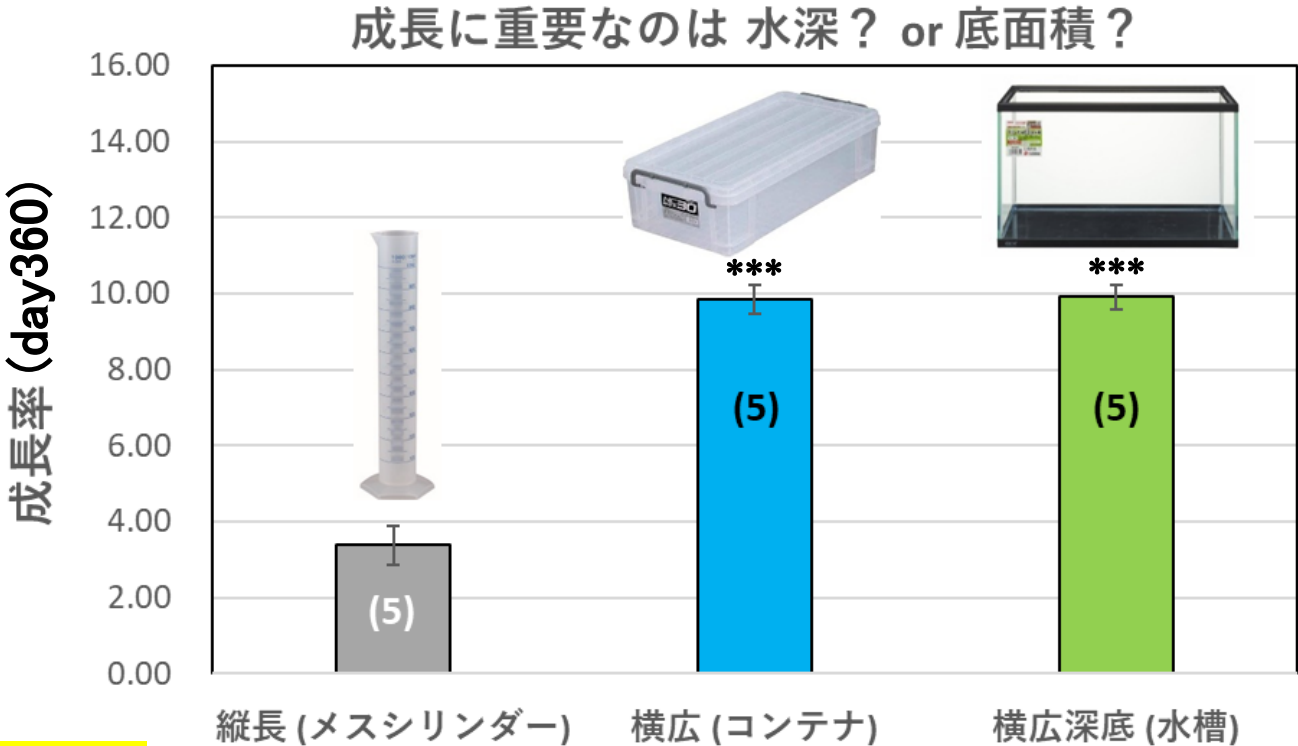
・ 因子 2) アホーートルにおける異種混泳・密度条件依存的な成長制御

キイロショウジョウバエやカブトムシなどの昆虫類やメダカなどの魚類において、生育密度と生育面積の広さは、個体の適切な成長や生育速度と密接な関係があると言われており、広い所で飼育すればそれだけ大きくなりやすいとされている。

そこで、以下の 2 つの疑問 (1.底面積と水深、どちらを生体は検知しているか。 2.密度依存的な体長の決定はどのタイミングで確定して変更できなくなるか。) について、様々な飼育条件を設定することで、成長・生育への影響や成長制御の可塑性が失われるタイミングについて順次調査を行った。

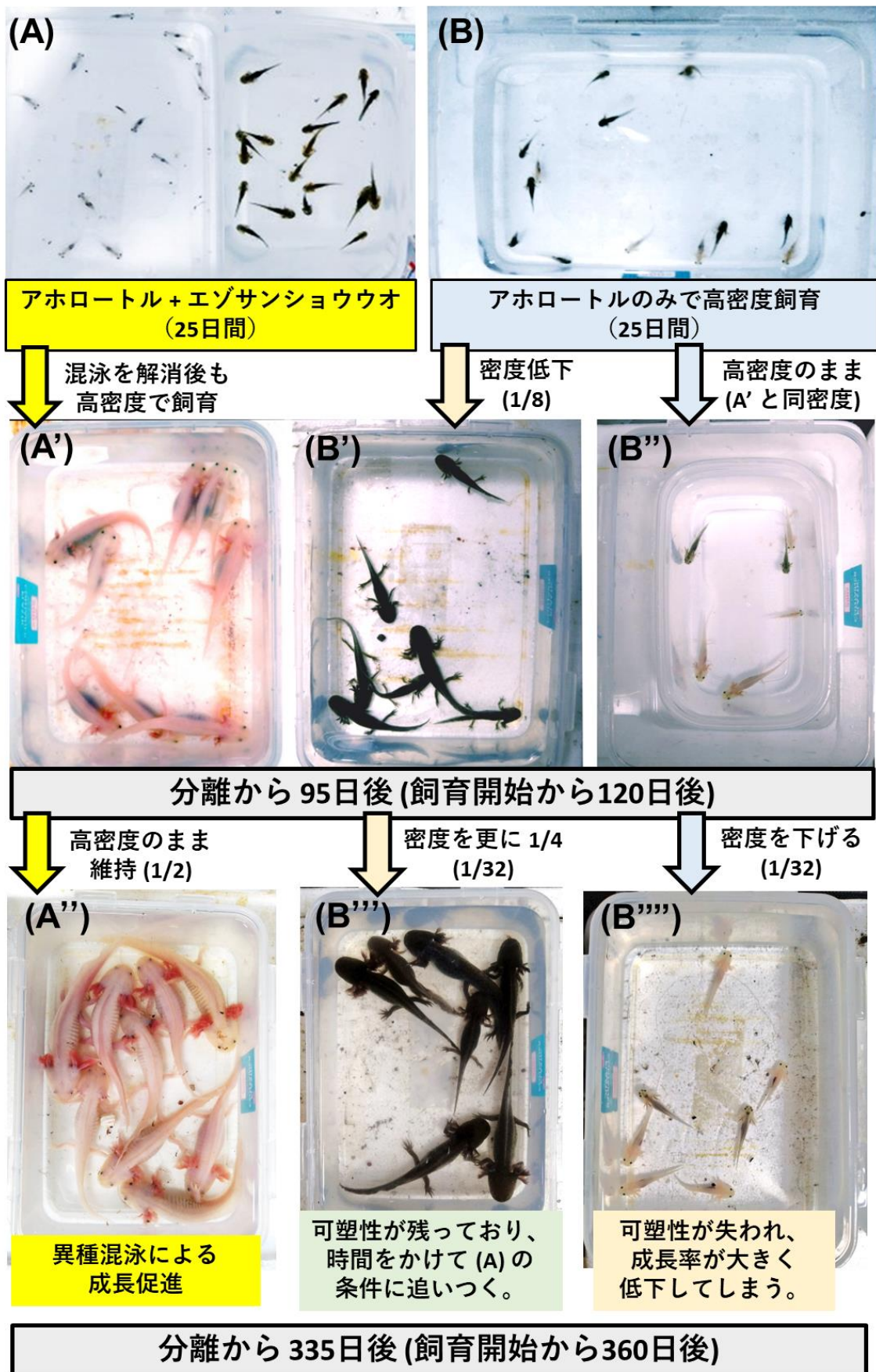
表：飼育条件と生育率の相関を調査するための実験条件

		縦長 (メスシリンダー)	横広 (コンテナ)	横広深底 (水槽)
		【3023-5441】 トラスコ中山 メスシリンダー 1000ml MS1000	JEJアステージ 収納ボックス 日本製 NC ボックス #30 積み重ね	GEX マリーナ 幅 60cm 水槽スリム ブラック MR600BK
アホーートル (0.3%ミネ水)	容器サイズ	φ 61x3.14xH400 (mm)	619×277×H155 (mm)	600×275×H360 (mm)
	開始日 (mm); n=5	2.47	2.55	2.51
	day360 (mm); n=5	8.35	25.15	24.90
	成長率 (5匹の平均値の比較)	3.39	9.86	9.92
容器外見				



*** $p<0.001$

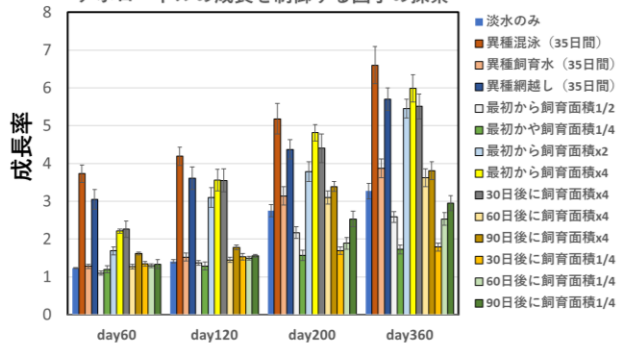
参考: アホーートルの生育には水深よりも底面積の広さの方が重要である



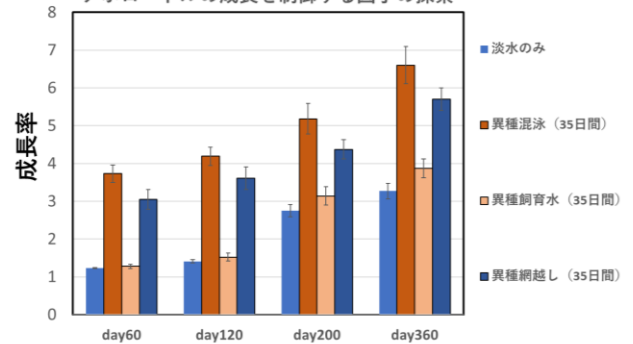
参考: 異種混泳および生育密度が成長に与える影響

※下記の結果は、到着時の個体の stage が基本的に4cm付近であることから day30とし、その地点からの成長比較をしています。
なので実験開始〇〇日目、と書きかえるなら、30日間を引いた値となります。

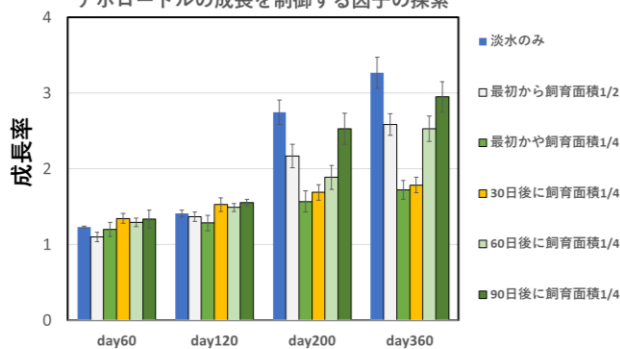
アホロートルの成長を制御する因子の探索



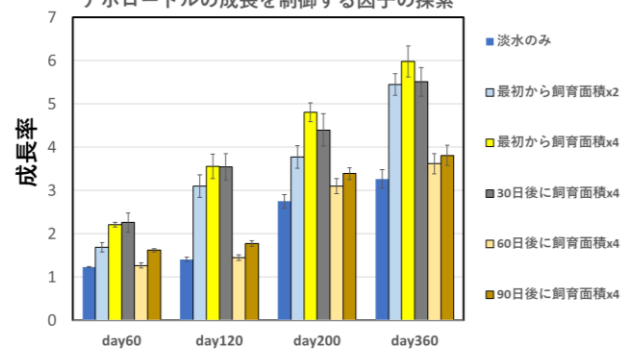
アホロートルの成長を制御する因子の探索



アホロートルの成長を制御する因子の探索



アホロートルの成長を制御する因子の探索



参考：異種混泳・生育密度はアホロートルの成長・生育に影響を及ぼす

成長制御の可塑性が残っている可能性のある時期:

生後1ヶ月、40mm 付近の stage 到達後 から 30 日目～60 日目の間の約1ヶ月

生育環境が固定されて一定の大きさになると、成長率が微調整される？)

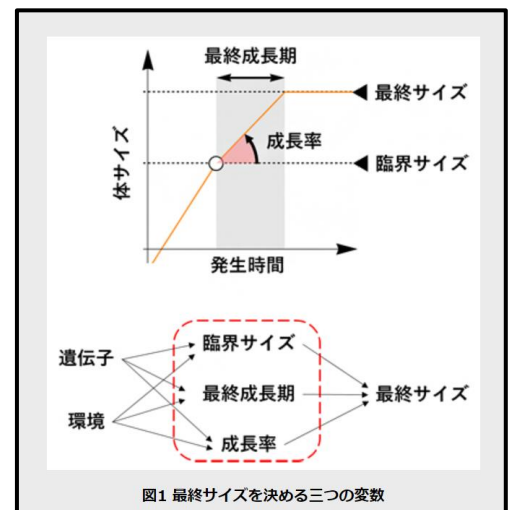
疑問・・・決定因子は何？水圧？どのように感知している？

参照

- ・ 理化学研究所>大阪大学>サイズ進化の法則を発見
 - 性成熟のタイミングと体の大きさの密接な関係ー(2019).
https://www.riken.jp/press/2019/20191125_1/
- ・ Frisch and Revelle. (1970). Science 169, 397-399.

動物の最終的な体の大きさは、以下の三つの変数によって決まる。

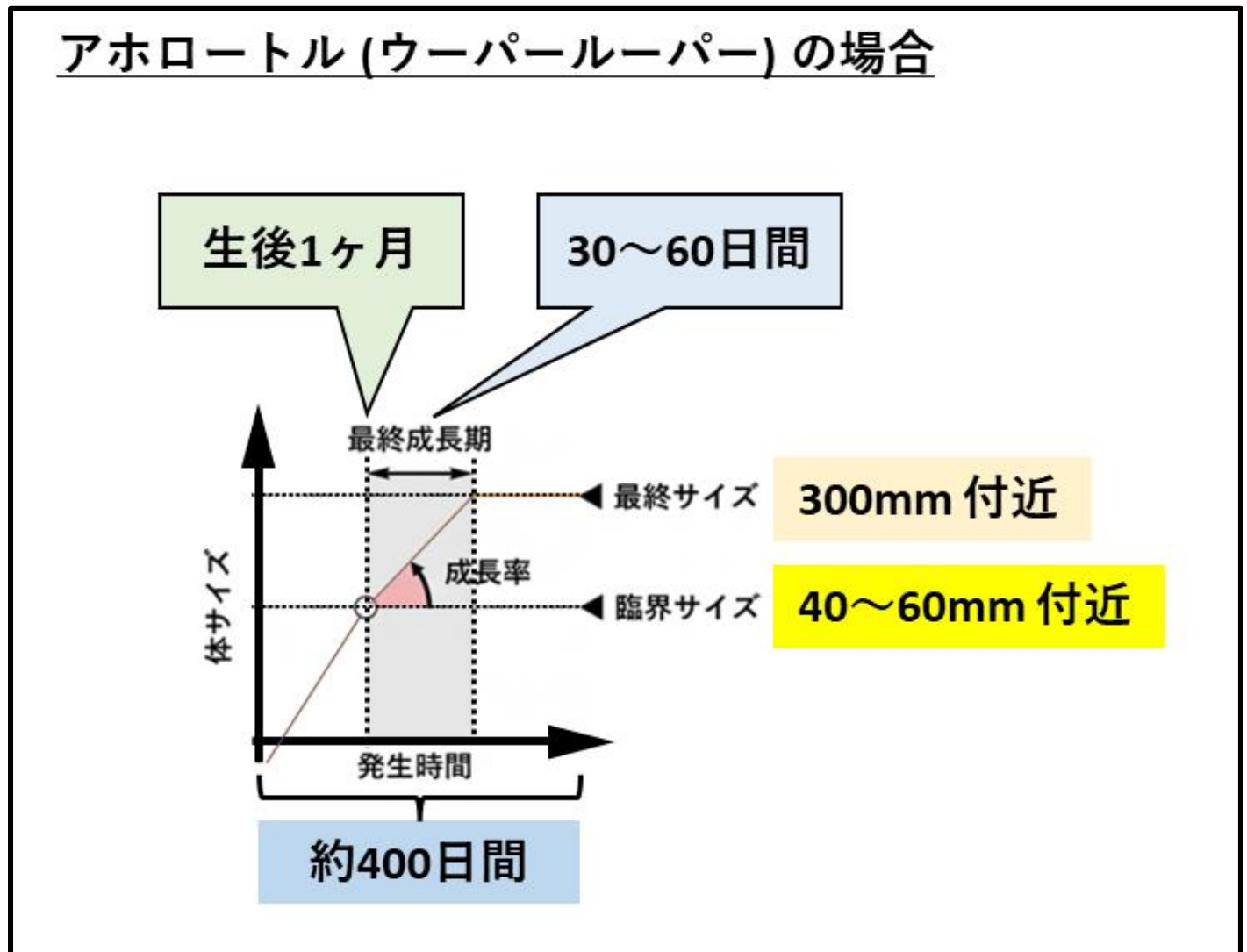
- ・ 性成熟の開始に必要な最低サイズである「臨界サイズ」
- ・ 臨界サイズに到達してから実際に成長が停止するまでの「最終成長期間」
- ・ 最終成長期における「成長率」



まとめ: アホロートルの成長の可塑性について

ここまでのアホロートルの成長制御に関する複数の調査の結果、アホロートルの成長の可塑性は生後1ヶ月から2か月程度である可能性が高く、その臨界となる大きさが40～60mmであり、この期間に至るまでの間にこのサイズの圏内に到達している個体であれば、生育面積が広くなることや十分な栄養を確保することで再び成長を再開できる可能性がある、と考えることができる。

以下、今回の結論に基づくモデル図を示す。



参考: ウーパールーパーの生育密度依存的な成長制御に関する可塑性モデル図

<ウーパールーパー飼育案内>

アホロートル・魚類の”睡眠”と体色制御 (22/9/25～23/11/12)

著: 杉山 遥 (Ph.D; 詳細調査・本記事の主な執筆者)^{1*}, 萩原 和晃 (実験系の設計・データ取得)¹, あすみ 悠¹; 枝豆やみん¹ (魚類における再現性確認)

所属: ¹ウーパールーパー研究室はるらぼ

詳細: *主任研究者 **責任著者

トピック 1: ウーパールーパーは“睡眠”を摂るのか？

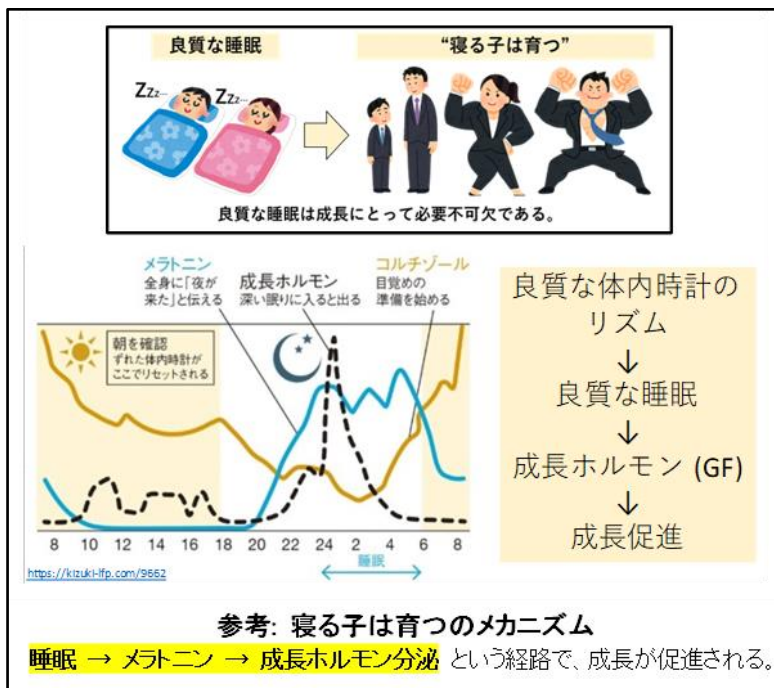
“睡眠”は、生物の適切な成長・生育にとって必要不可欠な生命活動の一つである。ヒトの場合は、良質な睡眠を摂取することが

心身の健康と成長に非常に重要なことが知られており、夜間の睡眠導入因子であるメラトニンの分泌と成長ホルモンの分泌が必要不可欠であることが分かっている。これが所謂、“寝る子は育つ”のメカニズムである [1-7] (右図参照)。

何気なくふと疑問に思う時がある。両生類や魚類は、所謂人間のようなスタイルで“睡眠”を摂取しているのだろうか？
そもそも寝ているのか？

尚、光受容と概日リズムの制御については、**ウーパールーパーだより Vol 2** および **ウーパールーパーの飼育係過去記事 vol 2.4_トピック 3** にて触れている。我々の調査の中で、**眼で発**

現している光受容タンパク質 OPN3 で主に青色光を受容し、OPN5 にて紫外線・紫色光を受容する ことを明らかにしてきた [A-B] が、メラトニンの分泌・応答性の一つの指標でもある 体色変化に関して、本記事で再度詳細を解説したいと思う。



参考: 視交叉上核における光受容 および 松果体における L-トリプトファンからのメラトニンの生合成・分泌のメカニズム

哺乳類の光応答と体内時計の制御はこちらの模式図に示すように、朝に日光由来の強い光（10,000ルクス以上）を眼から受容し、その刺激（光刺激）が脳の視交叉上核へと伝達される。この光刺激が、松果体からの睡眠導入因子メラトニンの合成・分泌を抑制することで日中の覚醒状態を維持させている。また、この光刺激により、食料によって摂取されたトリプトファンを用いて、日中に脳幹にて快感物質の一つとされるセロトニンを生合成する。一方で、夜間に松果体にてメラトニンを生合成・分泌するためにこのセロトニンは必要不可欠であり、朝の光刺激は夜間の快適な睡眠にとっても必須の因子であることが分かっている [1-15]。

尚、光の強さ（照度）の目安については、以下の表をご参考のこと。

表 1: 場所（状況）と照度（ルクス）の目安一覧表（文献 [14-15] 参照）

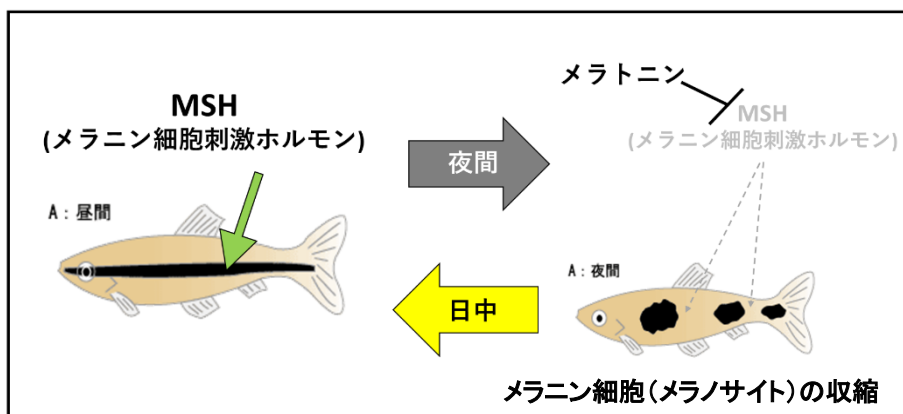
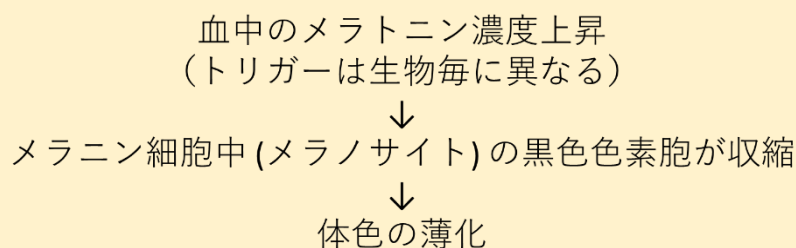
場所	照度 (ルクス)
雪山・真夏の海岸	> 100,000
晴天昼太陽光	100,000
晴天午前10時太陽光	65,000
晴天午後3時太陽光	35,000
曇天昼太陽光	32,000
曇天午前10時太陽光	25,000
視交叉上核で体内時計がリセットされる明るさ	2,500～10,000
高照度光治療に用いられる光強度	5,000～10,000
曇天日出1時間後太陽光	2,000
晴天日入1時間前太陽光	1,000
パチンコ店内	1,000
百貨店売場	500～700
蛍光灯照明事務所	400～500
日出入時	300
30W蛍光灯2灯使用八畳間	300
夜のアーケード	150～200
街灯下	50～100
ライター (30cm)	15
ろうソク (20cm)	10～15
市民薄明(太陽天頂距離 96度)	5
月明り	0.5～1.0
航海薄明(太陽天頂距離 102度)	0.01
天文薄明(太陽天頂距離 108度)	0.001

トピック 2: メラトニンによる魚類・両生類の体色変化制御

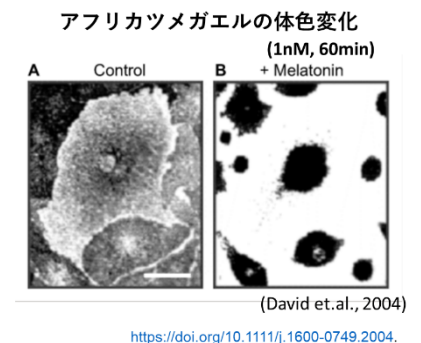
ここまで取り上げたメラトニンは、魚類や両生類の体色変化の制御にも関わっていることが知られている。日中は、MSH（メラニン細胞刺激ホルモン）の作用により、メラニン細胞中の黒色素は広く拡散しており、魚類や両生類のまだら模様の形成等にも関わっている。一方で夜間や暗闇になると、メラトニンがMSHと拮抗することでメラニン細胞が収縮し、体色が白化することが報告されている。このメラトニンによる体色変化は、夜間の活動量低下と連動していることが既存の研究からも明らかになっている [A, B, 16-25]。

これらの先行文献・報告に基づき、当ラボでは所謂“睡眠”時に体色変化が起こる、すなわち魚類や両生類も睡眠にはメラトニンが関与しており、メラトニン分泌に伴って体色も白化することで環境に適応しているという仮説を立てた。一方で、魚類や両生類が体色を変化させること、そこにメラトニンが関わることは報告が見られる一方で、実際にメラトニンが魚類や両生類においても“睡眠”を制御しているかどうかについては、現在も十分な知見や報告は殆ど見られていない。それだけ、生物における“睡眠”を示すことは非常に難しい課題であり、本来は臨床的な側面も考慮し、脳波や血流等・活動量などの情報を併せて総合的な評価を行う必要がある。

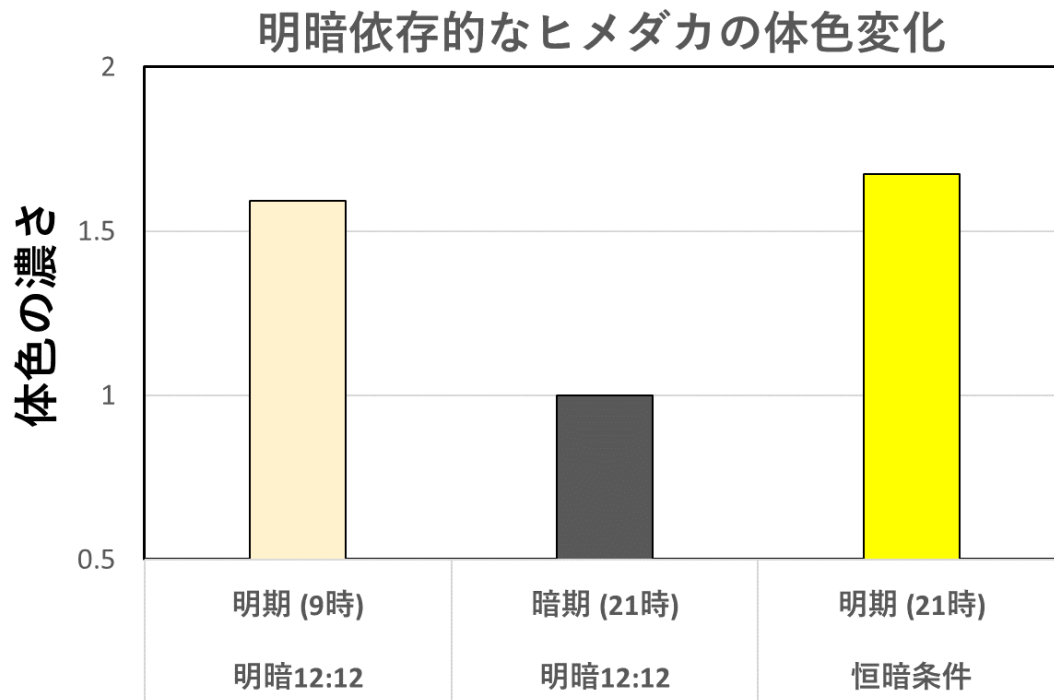
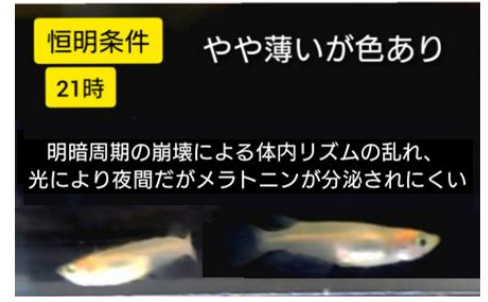
<睡眠導入因子メラトニンと体色変化>



<https://www.mnc.toho-u.ac.jp/v-lab/fish/soho/change3.html>
<https://ameblo.jp/kozoshoku/entry-12543597455.html>

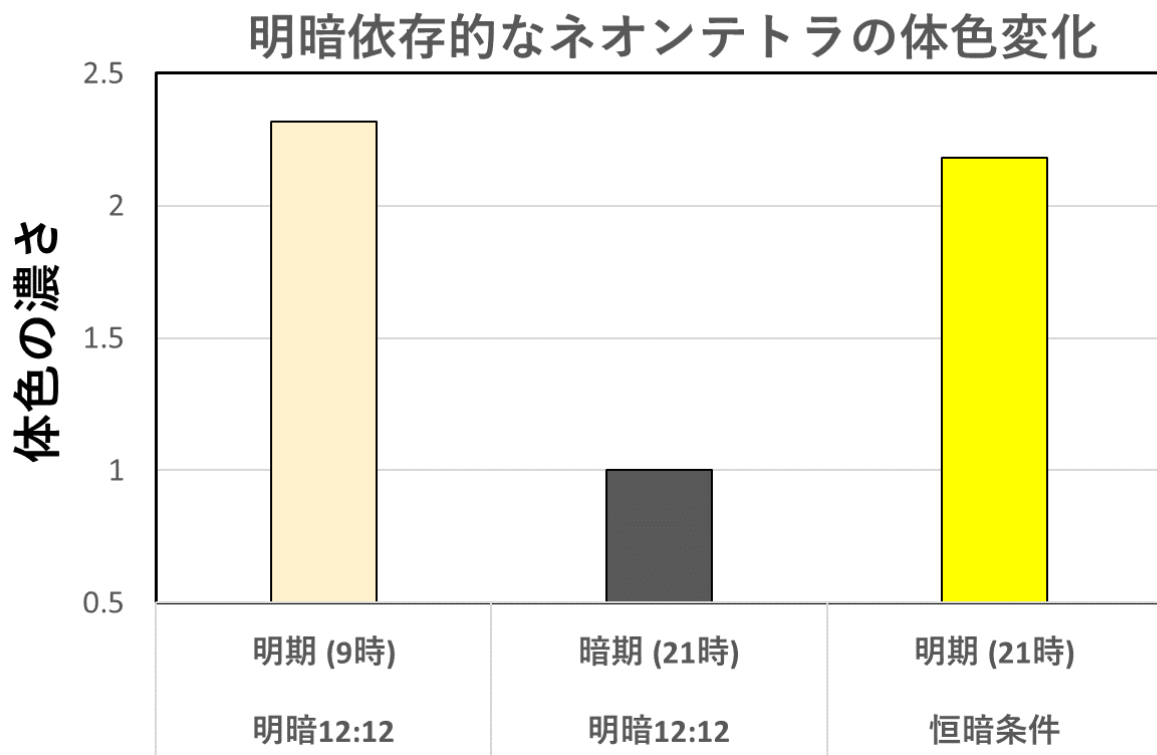
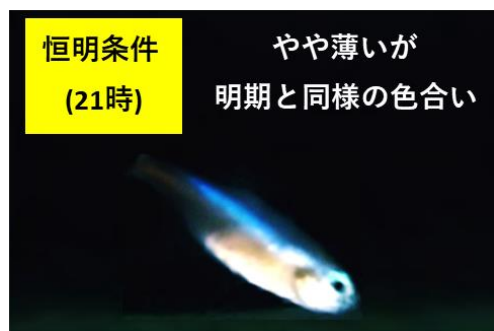


参考: 魚類・両生類におけるメラトニン依存的な体色変化の制御



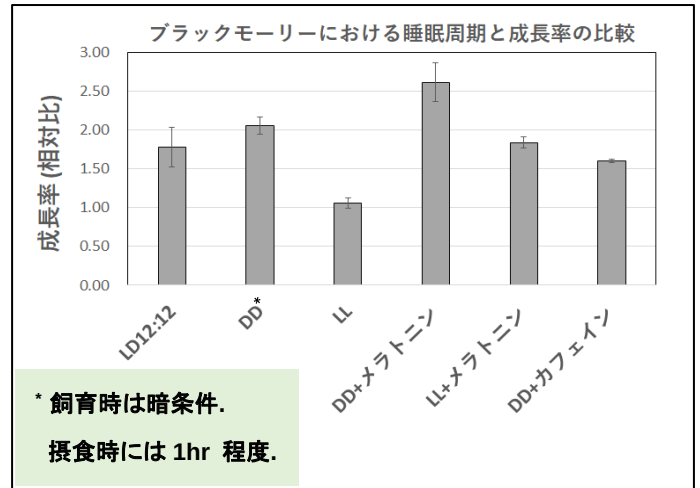
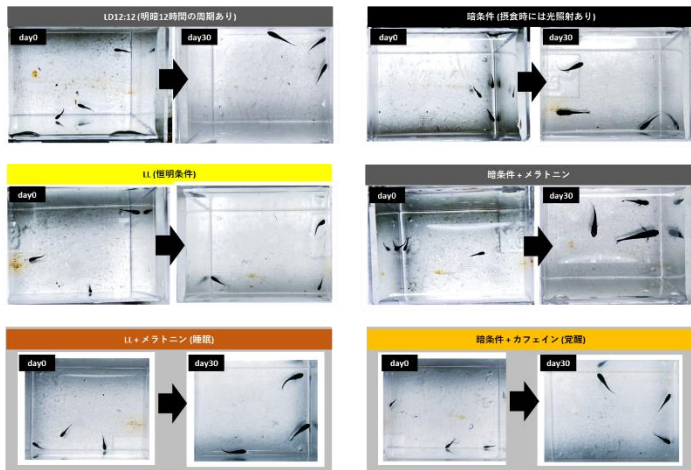
参考: ヒメダカを用いた淡水魚の体色変化に関する検証結果

杉山がヒメダカを用いて、体色変化について観察・定量を行ったところ、上記のような結果が得られたことから、明暗周期と体色変化の間にはある程度の相関があることが示唆された。



参考: ネオンテトラを用いた淡水魚の体色変化に関する検証結果

更に、杉山がネオンテトラを用いて、体色変化について観察・定量を行ったところ、上記のような結果が得られたことから、ヒメダカの結果と併せて、明暗周期と体色変化の間にはある程度の相関があることが示唆された。



参考: ブラックモーリーを用いた淡水魚の成長制御に関する検証結果

更に、杉山がブラックモーリーを用いて、明暗周期と生育率の相関について確認・検証を行った結果、アホロートルの場合と同様、疑似的な睡眠状態で生育した個体が相対的により高い成長率を示すという結果が得られた。

ブラックモーリーは黒体色が強く、体色変化との連動は巧く確認できなかったが、少なくとも睡眠と成長の相関が魚類にも存在している可能性を肯定した一つの根拠となり得る結果であると考えられた。

更に追加の結果が得られ次第、順次、更新・共有していく予定。

尚、魚類の体色変化による睡眠（と連動した成長制御）のモニタリングについては、当ラボ所属の研究員である あすみ 悠 氏 および 枝豆 やみん 氏 に追加調査を依頼しており、あすみ氏は複数の色柄を持つ改良メダカについて やみん氏は複数の熱帯魚について各々調査中である。

以下、ここでは無事に立ち上げが完了した やみん氏 および あすみ氏 の研究計画・報告書を公開し、調査の途中経過について併せて報告したい。

【予備実験報告書 1】

観賞用熱帯魚の遮光による発色と活動量への影響 20220827

著: 枝豆 やみん 監修: 杉山 遥

1.目的

観賞用熱帯魚の遮光による影響を観察する。

その多様な色彩の鑑賞性から古くより親しまれている熱帯魚において、水質(※1)や使用する照明、床材を含む環境の色により色彩(発色)を変化させることが知られている。特に輸送時における遮光の影響は顕著であり、1時間程度でも極端に体色を薄く変化させる。この時、大抵の場合は新しい環境への警戒の為その場から動かなかったり隠れていることが多いが、それが単純な警戒故か、睡眠等による活動量の低下かは不明である。

今回の観察では短時間の遮光により発色、活動量が変化するかを確認しより長期的な影響を予測するための事前検討を行う。

2.内容

発色の個体差を鑑みて複数匹を1グループとして時間差による観察を実施する。

記録者の飼育環境は木造2階建てのリビングであり、生体への睡眠サイクルには水槽用照明の点灯の他に通常の室内用照明が影響している。(Fig.1)

照明の点灯サイクルは人間の生活及びアプリケーションにより制御されている(Fig.2)ためこれに応じて生体の睡眠サイクルも決定していると考えられる。

日頃の観察より06:00時点では活動していない生体も多く、08:00時点では生体が活動を開始していることを把握している。

遮光による活動量への影響を確認するため、意図的に睡眠サイクルを乱すことで短期的な遮光が睡眠サイクルに与える影響を確認し、同時に発色の度合を観察することで遮光による活動と発色の関連性を検証する。

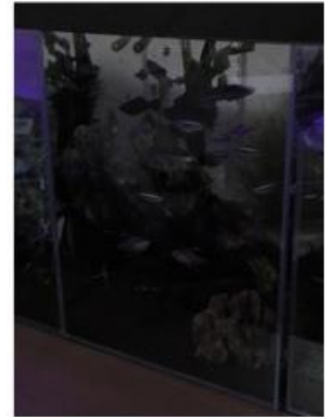


Fig.1 観察対象の育成環境

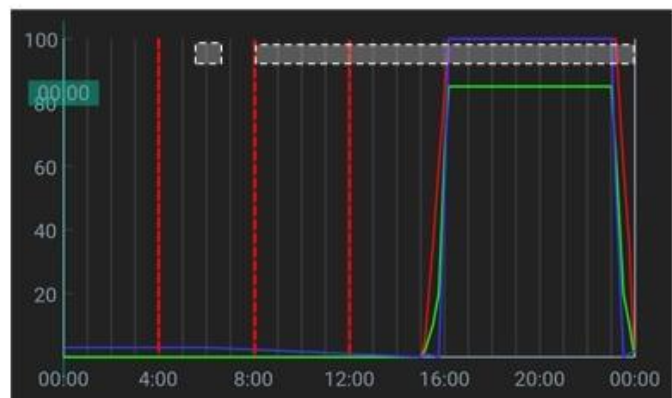


Fig.2 飼育水槽への照射サイクル
赤/緑/青の実線:水槽用照明のRGB出力
白色の塗りつぶし:室内用LED照明の大まかな点灯時間
赤点線:観察時間
(Chihiros WRGB II 用のアプリケーションから抜粋、加筆)

3.対象

観察は睡眠サイクルへの影響を確認したいため、活動開始の08:00を基準に±4時間(※2)の04:00、12:00を設定し計3グループで行う。

前述の通り観察結果から個体差を除外するため複数匹を用意する必要があり、飼育している生体の中から発色の識別が

容易かつ十分な数を用意できるブラックネオンテトラ(Fig.3)を選定した。

この生体は光沢のある青白いライン(A)、黒色の太いライン(B)が特徴である。発色が不十分の場合はラインBが薄まり途切れる(Fig.4)ため照明点灯後の発色度合を観察する指標となる。

飼育水槽から可能な限り体格、発色が揃った固体を9匹選定し、各3匹の3グループに分けて観察を行う。

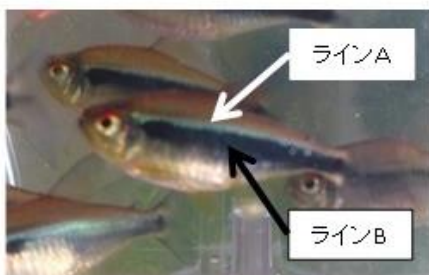


Fig.3 十分に発色しているブラックネオンテトラ



Fig.4 発色が不十分なブラックネオンテトラ

4.手順

対象に限らず、観賞用熱帯魚はpH、栄養塩、硬度、溶存酸素量等多くの水質のパラメータから発色、活動量のみならず生存においても多大な影響を受けていると考えられる。観察結果から遮光以外の要因を排除する為、下記の環境を用意した。

4-1:飼育水槽と水質、水温を変化させない為に水合わせ用の簡易的なオーバーフロー形式のケース2つ(Fig.5)

4-2:飼育水槽に直接設置するスドー社製 外掛式産卵飼育ボックス サテライト1つ(Fig.6)

これら3つのケースにダンボール及び黒色不透過のビニールで簡易的に遮光を行う。

4-1ケースを04:00時観察のグループ α 、12:00時観察のグループ θ 、4-2ケースを08:00時観察のグループ β として割り当てる。サテライトを β としたのは飼育水槽と同様の照明点灯サイクルの為、他の2グループと比較し飼育水槽と環境が近くても問題ないと考えたためである。(※3)

観察の流れは以下の通り。

①観察時間において対象ケースを環境より切り離し、観察地点(飼育環境より水平距離で約2mの室内用照明直下)に移動させる
ケース4-2は観察しやすい様にケース4-1へ移す。移動の際は揺れを最小限に抑えるよう細心の注意を払う

②室内用照明を通常の照度で点灯させ、直後の写真を撮影する

③直後に浮遊性/沈降性の人工餌料を与え反応を観察する

④ホバリング(その場に留まり遊泳しない)を睡眠状態、1秒間に5cm以上の素早い遊泳を覚醒状態として活動を観察する

⑤5分の間隔で最大30分写真を撮影し、発色の度合を比較する。カメラの設定は固定とする。

(撮影機材はPanasonic社製 HC-W870M、設定はオートフォーカス、ホワイトバランスは蛍光灯モード、シャッタースピードは1/500、IRISはOPEN 15dB)



Fig.5 飼育水槽と同一の濾過槽から給排水を行う



Fig.6 飼育水槽に直接設置したサテライト

5.結果

各グループにおいて活動量、発色共に差異が観察された。

	活動量	発色
α	5分:ホバリングでその場から動かない 6分:群れを形成する 6分30秒:10cm/5sec程度で遊泳を始める 12分:1匹が水面のエサに気づくが食べない 18分:群れで10cm/3Sec程度で遊泳する 25分:1匹が排水ホース下でホバリング 30分:遊泳するもののエサは食べず 時折眠そうにホバリングする	他のグループと比較して点灯時のラインAが濃い 発色の戻りが β と比較すると悪い 飼育環境下と比較すると薄い
β	2分:ホバリングでその場から動かない 3分:群れを形成する 4分:10cm/5sec程度で遊泳を始める 7分:時折上層を10cm/1sec程度で遊泳する 9分:水面の餌に気づき食べる 14分:遊泳性高く、上～中層を泳ぐ	α と比べてラインAが薄い、発色の戻りが早い 飼育環境下と比較すると薄い
θ	1分:ホバリング、群れを形成せずに遊泳する 1分30秒:10cm/1Sec程度で中層を遊泳する 2分:水面のエサに気づき食べる 4分:底面のエサに気づき食べる	ラインAの薄さは β とほぼ変わらない 発色の戻りは悪い

Table1 各グループの観察記録

5-1.活動量の観察結果

平時の様子と大きな差はなく、短時間の遮光では大きな影響を受けなかった様であった。

α: 普段であれば睡眠中である為か30分経過後も素早い遊泳は見られず常に眠たそうな印象であった。

β: 素早く群れを形成し、警戒している様子であった。観察のために4-1ケースから4-2ケースへ移した影響と考えられる。

θ: 観察開始時には既に遊泳を開始しており、餌への食いつきも良好だった。

5-2.発色の観察結果

睡眠サイクルよりも遮光時間の影響を大きく受けたように見受けられた。

α: 遮光時間が短いためか観察開始時の発色が各グループの中で一番濃かったが、発色は戻らなかった。

β: 開始時の色は薄いものの発色の戻りが早かった。

θ: 総じて発色が落ちており、発色の戻りもβほど良好ではなかった。

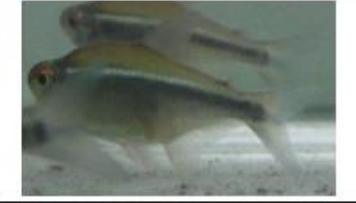
	グループ α (04:00 - マイナス4h)	グループ β (08:00 - 標準)	グループ θ (12:00 - プラス4h)
点灯直後			
5分経過			
10分経過			
15分経過			
20分経過			
25分経過			
30分経過			

Table2 各グループの時間経過による発色の比較 (同じグループ内でも若干の個体差があることに留意されたい)

6.考察

活動量は照明の点灯サイクル、つまり体内時計との関係が見られ、最大8時間程度の遮光では変化しなかった。

ラインA観察による観察開始時の発色は単純な遮光時間に比例して薄くなるものと考えられる結果となった。しかし発色の戻りは遮光時間や体内時計との関連性を個別に分けて見出すことができない結果であった。

私の推測としては“睡眠状態からの覚醒による発色の戻り”の可能性を考えた。各パターンにおいて検討する。

α：観察開始時点での発色は濃い、活動量の増加が少なく発色の変化量も同様に少なかった。

β：観察開始時点での発色は薄い、観察中に覚醒した為発色の戻りが一程度発生した。

θ：観察開始時点での発色は薄く、観察前に既に覚醒していた為発色の戻りも発生しなかった。

上記の検討から、観賞用熱帯魚の発色には睡眠のサイクル、特に覚醒が影響していることが推測される。

推測を確定させるためには更に多くの対象による繰り返しの観察と、下記パターンの追加が望まれる。

- ・遮光を行わない通常の照明点灯サイクルで覚醒前後の発色の変化
- ・常時点灯での睡眠障害による発色(退色、発色戻りの双方)の変化
- ・長期的な常時点灯で正常な睡眠サイクルを失わせた場合の発色の変化

また今回の観察では短期的な遮光と睡眠障害による体内時計への特別な影響は見られなかったことから、サイクルのより長期的な変化による生体への影響は予想できない結果であった。今回の観察環境と手法を引継ぎ、引き続き観察を続けたい。

尚、本考察には人間における一般的な睡眠ホルモンの浅い理解と事前に呼んだウーパールーパーだよりVol2によるバイアスがあることを申し添えてまとめとする。

※1 水質による発色の変化について、特に低pHによる発色の向上が知られている。

体表面保護のために粘液を多く分泌し発色が上がり、これによる発色は退色しづらいと言われているが、確実さは不明。
水温や硬度など、その生体に適している水質であれば体調がよく、代謝が上がり発色も良くなるケースが散見される。
またベタ等の一部の種においては光を遮るブラックウォーターの方が光沢系の発色が良くなるという話もある。

※2 在宅勤務中での観察であり昼休みとなる12:00時観察開始が適していた為、基準から前後4時間とした。

よって04:00時の設定には大きな意味はない。

※3 4-1ケースが2つしかない為このような構成となった。本来であれば全ての要因を揃えて観察すべきであるがご容赦頂きたい。

【研究計画・経過報告書 1】

照明サイクルと生育_ブラックモーリー 20220917

著: 枝豆 やみん 監修: 杉山 遥

1. 背景

鑑賞用熱帯魚の飼育において、周期的な照明の点灯と水温管理機材による恒温が理想とされることが多い。しかしながら現実の飼育環境では室内灯と水槽専用灯それぞれの明かりが混在し、不規則な人間の活動による点灯サイクルの乱れが生じる。水温についても同様、季節による室温の変化や空調機器の利用等で恒温になるとは限らない。既に魚類においても松果体及び視覚による日周リズムの形成¹と、それにより摂餌行動へ影響があること²が論じられている。これらの成果から魚類においても光による日周リズムが生育に大きな影響を与えることが明らかにされているが、それらのデータは研究、商業的なもので規則的であり不規則な人間の生活による影響を考慮されていないものであった。

2. 目的

鑑賞用熱帯魚の生育における明暗周期の関連性を調査する。室内飼育が基本となる観賞用熱帯魚は照明によって日周リズムが形成・制御されていると仮定する。この場合、摂餌行動が正しく関連づいているのであれば明暗周期によって魚類の生育に影響が出ると考えられる。本調査では観賞用熱帯魚を対象に、複数の明暗パターンを用いて体長等の生育状況を比較し、一般的な飼育下における影響を確認する。

3. 計画・期間

明暗周期以外の条件を揃えるため、下記の飼育環境を用意した。

A.室内灯+専用照明の一般的な飼育環境

B.室内灯の影響を受けない遮光+専用照明

C.遮光(照明なし)

これらの環境はそれぞれ配管で同一の濾過槽へ繋がっており、水質・水温ともに同様である。

(Fig.1 右上の水槽が環境 A、Fig.2 が環境 B、C)

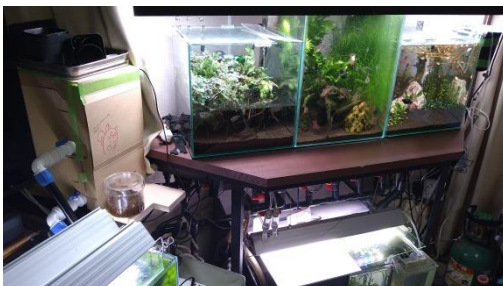


Fig.1 飼育環境 右上の水槽が環境 A

¹ [飯郷雅之 (聖マリアンナ医科大学解剖学), 1999]

² [田畑満生 (帝京科学大学理工学部), 2002]



Fig.2 ダンボールにより遮光された環境 B、C

生体は卵胎生の観賞用熱帯魚であるブラックモーリーの'22/09/05 生まれの生後 1 週間の稚魚(Fig.3)を選定した。理由は自家繁殖の為に生まれた日時が特定できサイズが揃っている点と、成体に比べ環境による成長の差が出やすいといった考えによる。環境 A、B、C にそれぞれ生体を 5 匹ずつ投入し、1 か月後の成長度合いを比較する。また補足として給餌の短時間で主観的な様子を観察し、活動量として扱う。



Fig.3 体長 8mm でピックアップした対象生体

4. 実験詳細

環境 A、B、C でそれぞれ生体を 1 か月間飼育する。給餌については朝、夜の 1 日 2 回とするが、飼育者の本業の影響で時間が前後する。また給餌により環境 C においても 1 回あたり 10 秒程度明かりが入ることになるが、サイクル化させない為給餌時間は定時でなくランダムとする。これにより摂餌のサイクルは固定化させず、照明による日周サイクルへの影響のみを確認することを狙う。水槽用照明は 16 時点灯、24 時消灯の 8 時間点灯である。環境 A に作用する人間の活動による室内灯の点灯は日によって大幅に異なり、特に飼育者が出勤するか、在宅勤務かに左右される。また配偶者の外出による点灯、消灯の繰り返しも発生する。これらは一般的な人間の生活様式による変数と考えるため特に記録しない。結果として得るデータはグループ毎の生体の体長、体格、体色の比較と給餌時の数秒程度で主観的に観察する活動量とする。

5. 抱負

所謂アクアリウムガチ勢のお方のレイアウト水槽は往々にして遮光用のブラインドを設置して室内灯や日光を遮り、主にコケ対策として無用の明かりを避けることがある。低い照度でも活動する憎きコケ共にはなるほど効果はあるだろう。ただし生体にはどうだろうか？人間を含め本来の自然界では太陽の位置の変化により曲線的に変化し、全く明かりがないという時間は実際 10 時間あるかどうかではないだろうか。最近は高機能の専用照明の登場により日の出日の入りの再現を含めて光量を調整できるものも多くなっているが、未だ大半は ON、OFF のみの照明が大半を占めておりこれまでの数十年はもとよりこれからしばらくも同様であろう。観賞用熱帯魚にとっては環境 A のようなサイクルが長年当たり前となっているわけである。

今回の調査で明確な差が出るようであれば、「レイアウト水槽のための点灯サイクル」でなく、「生体のための点灯サイクル」を知る為の足掛かりとなるかもしれない。私も一人のアクアリストとして飼育生体の命を預かる身である。より魚たちが綺麗に成長し、狭い水槽ながらに良い魚生を送ってもらうためにも今回の調査結果に期待している。

6. 参考文献

- 1) 田畑満生 (帝京科学大学理工学部). (2002). 魚類の日周リズムと自発摂餌への展開研究. 日本水産学会誌 2002 年 68 巻 3 号 p.305-308.
- 2) 飯郷雅之 (聖マリアンナ医科大学解剖学). (1999). 魚類の日周リズムの形成機構に関する研究. 日本水産学会誌 1999 年 65 巻 4 号 p.617-620.

【主任研究者 (杉山) コメント】

最初の簡易的な報告書(ブラックネオン) および 後の研究計画書(モーリー)、いずれも良く計画や実験設定が寝られており、結果の解釈も過不足のない素晴らしい内容です。

ブラックネオンの方ですが、概日リズムよりは擬態の効果が強く検出されているのが明確に分かりますね。

メラトニンの分泌による体色の制御が、睡眠という活動にとっては必要十分条件では無いことを示している点で非常に評価できる報告書となっています。

見かけ上では、夜 ⇄ 暗い → メラトニン → 薄化 であるが、

夜 ≠ 暗い (周辺環境) → (メラトニン) → 薄化による擬態 という流れのメカニズムが元々備わっており、睡眠時に薄化するのは、単に睡眠を必要とする状況が、基本的に周囲が暗い夜や洞穴などの中である場合が多いという、あくまでシステマ的なものであると考えられますね。

周囲が暗くなることが引き金となって脳の一部からメラトニンが分泌され、活動量を低下させると共に体色を薄化することで、外敵(捕食者)に見つからないように体の状態を変化させることのできた個体は、巧く活動量の抑制(人間でいう所の息を殺して待機する)が出来ており、その結果現在まで生き延びてこられたのかもしれないですね。

あくまでも戦略的ではなく、適者生存でバイアスがかかっており、体色変化があまり起こらない または 変化しないような個体群は、実際の自然環境下では捕食者に狙われやすいため生き残ることは困難であることが推察されます。

ブラックネオンもモーリーも、複数の機会で行って、日周性や睡眠サイクルと本当に連動するかどうか、追調査が必要という印象です。

【研究計画・経過報告書 1】

概日リズムの変化による改良メダカの体色に関する調査 20220924

著: あすみ 悠 監修: 杉山 遥

(1) 背景

日本におけるメダカは大きく分けると2つに分けられる。1つは、在来メダカ(ニホンメダカ「ミナミメダカ」「キタノメダカ」)である。2つは改良メダカ(ヒメダカ・クロメダカ等)である。在来のメダカは近年の調査により、現在では、1999年に環境庁(現環境省)¹によって絶滅危惧Ⅱ類に指定されており、日本における分布の調査と保護が喫緊の課題となっている。

昨今の改良メダカブームにより、メダカを飼育する飼育者が増え、それに伴い、生産者も増加している。また、近年では改良メダカの品種改良が盛んに行われており、体色やヒレの長さなどを変化させた様々なメダカが毎年新たに生み出されている。改良メダカの品種認定は、日本メダカ協同組合と日本メダカ協会が行なっていた。日本メダカ協同組合が2022年5月をもって解散したため、2022年現在は日本メダカ協会のみである。

2022年現在日本メダカ協会によると、700種以上のメダカが作出されているとされている。2020年日本メダカ協会公式ガイドライン「改良メダカ品種分類マニュアル」²(以下日本メダカ協会公式ガイドライン)によると、改良メダカの品種改良の歴史は江戸時代にまでさかのぼる。改良メダカのはじまりは「ヒメダカ(緋目高)」である。ヒメダカとは在来メダカから黒色素胞がなくなり、黄色色素胞が強く表れた突然変異である。岩松(2002)によると魚類の研究材料として外国では「グッピー」や「ゼブラフィッシュ」が主に活用されているが、ニホンメダカも優れた研究材料として1920年頃から盛んに用いられるようになったとされている。その理由として、「行動、発生、性分化、色素胞の生理、心臓の搏動、再生、組織培養など、実験動物として多くの特長があると述べられている。

(2) 目的

改良メダカの歴史は前述の通り、江戸時代の「ヒメダカ」までさかのぼることができるが、この「ヒメダカ」から、さらに盛んに改良され始めたのは日本メダカ協会公式ガイドラインによると、2000年頃からであり、体色やヒレの形などで品種分類はされているものの、体色変化などのメカニズムに関しては、遺伝や突然変異だけでなく、水温(ダルマ体型)によるものも確認されている。このことや過去の研究から後天的要因によってメダカの品種を改良することが可能であることがわかる。

改良メダカの品種分類は、色素胞でもされていることは、前述の日本メダカ協会公式ガイドラインに示されている。ブリタニカ国際大百科事典³では、下等脊椎動物において、松果体から分泌されるメラトニンには、メラニン細胞(色素細胞)内の黒色色素胞を収縮させ、皮膚の色を薄くする働きがあると記載されており、萩原ら(2016)⁵は、メダカの血中メラトニン濃度は、昼間は50~100 pg/ml、夜間は約150~500 pg/mlであると報告している。また酒井(2020)によると「メラトニンはメダカの産卵リズムに影響を与える」⁴ことが明らかとされており、メラトニンがメダカに対して影響を与えることが示されている。これらを踏まえて、本調査では、飼育時の照明条件(明暗周期)を変化させることで生体の概日リズムに変化を与えることによって、改良メダカの体色にどのような変化が起こるのかを確認することが目的とした。



(3) 計画・期間

本調査をするにあたって、24 時間明環境とする水槽 A と 24 時間暗環境とする水槽 B を使用した。水槽サイズは幅 158 × 奥行 130 × 高さ 170 (mm) (ガラス厚: 3 mm) 水容量約 3 L である。(図 1)



図 1「飼育環境の様子 (調査前水質安定期)」

飼育水は水道水を 1～2 日程度日光に当てたものを使用し、ソイルには GEX メダカ水景「メダカの天然ソイル」、エアレーションと濾過システムとして、寿工芸の「バイオミニフィルター」を使用した。メダカを水槽内に入れる前に、ミナミヌマエビを 3 匹ずつパイロットフィッシュとして入れて、1 週間様子を観察し、午前 8 時に点灯、午後 22 時に消灯 (明 14 時間、暗 10 時間) で水質とバクテリアの安定を計った。

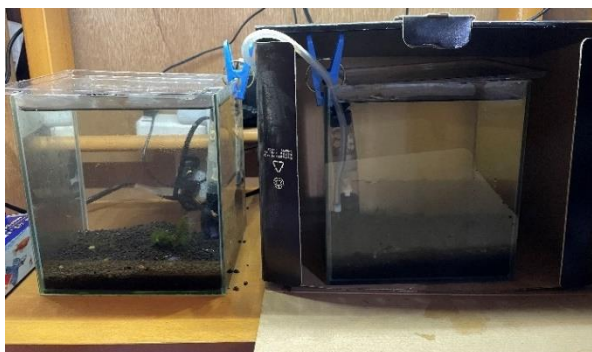


図 2「飼育環境の様子(恒明条件と暗条件)の作成」

飼育環境は(図 2)の通り作成した。左が恒明条件水槽、右が暗条件水槽である。24 時間テープ LED と蛍光灯を点灯させ、恒暗条件を作成し、暗条件は(図 3)の通り水槽前面に段ボール蓋をすることで、24 時間暗環境を作成した。

環境の照度測定は「iphone12 mini」アプリ「QUAPIX Lite」⁶を使用して測定した。

一方で、恒明条件については 350lx、暗環境は 10lx 以下であった。



図 3「暗条件の段ボール蓋をした状態」

(4) 実験詳細



本調査で飼育したメダカは体色が三色の改良メダカである。(図 4)



図 4「飼育した三色メダカ」

頭頂部が朱色で、胴体は白、黒の斑のあるものを計 6 匹選び、明暗環境に 3 匹ずつ入れた。

実験の期間は 2022 年 9 月 12 日～2022 年 9 月 21 日の計 10 日間である。開始日の 9 月 12 日に黒背景の観察容器で横見と上見で画像撮影と動画撮影を行なった。(図 5)

撮影機材は、iphone12mini で画像撮影は初期設定、動画撮影は HD 画質 60fps で撮影した。



図 5「明暗周期変化前の横見と上見撮影」

撮影後からの 10 日間、24 時間明るい環境と 24 時間暗い環境での飼育を行なった。給餌は午前 8 時と午後 18 時にキョーリンの「メダカプロス」を与えた。暗環境に関しては、できるだけ短時間で与えた。9 月 21 日に水槽から取り出して、前述の黒背景容器で上見と横見で撮影を行なった。

(5) 結果と考察

今回、メダカの体色変化については、撮影した個体を目視で比較した。特に顕著に表れたのが暗環境飼育個体における黒班の現象であった。特に顕著な個体の画像を以下(図 6)に示す。

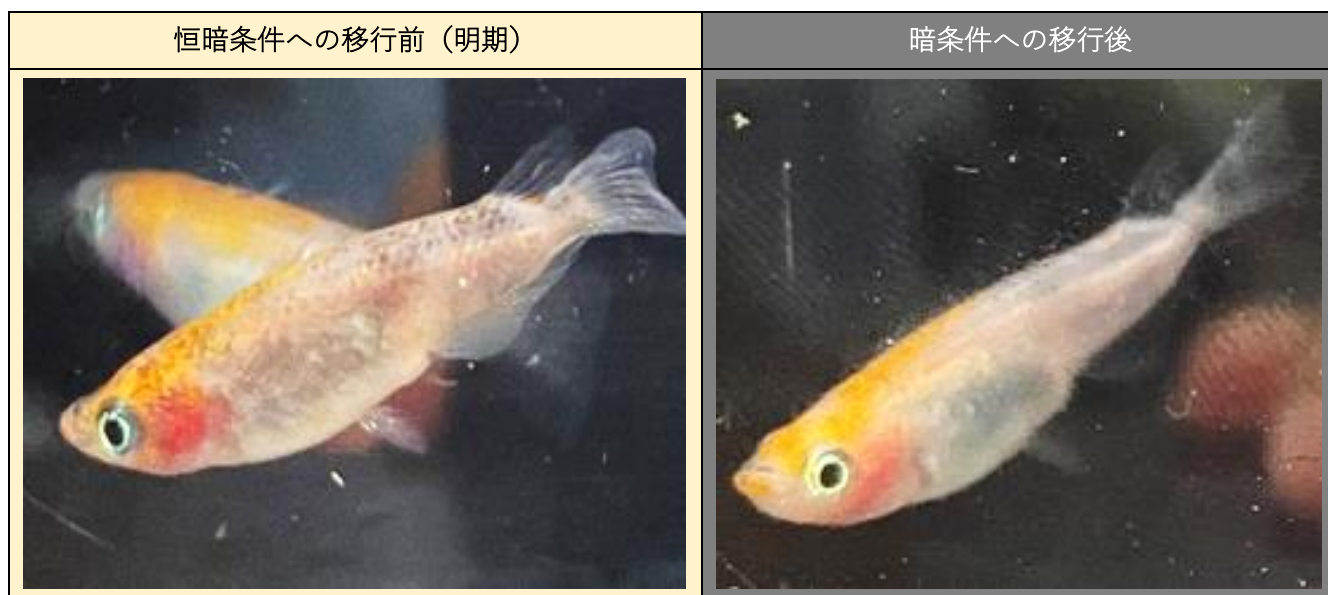


図 6「黒の班が減少した暗条件の個体」

図 6 の個体は、尾ひれに曲がりが発生していたが、体色は今回の三色メダカ選定要件を満たしていたため、敢えて恒暗条件で飼育した。その結果、概日リズム変化前には、身体に黒班があったが、10 日間の概日リズム変化後には、身体の黒班が減少していることが画像からわかる。その他 2 匹も同様に黒班が減っていた。



図 7「恒明条件 10 日目の個体」

明環境での概日リズム変化個体に関しては黒の班の減少は見られなかった。

魚類の睡眠に関しては未だ明らかとなっていないことが多く、メダカが「いつ」「どのように」睡眠をとっているのかは明らかとなっていない。この黒の班が減少した結果は、概日リズムに変化を与えたことによるメラトニン生成促進との関連が想定される。暗環境下による概日リズムの変化は、不動時間の増加による、原始睡眠時間の増加が考えられる。メダカ睡眠時間の増加によりメラトニンの生成が促進され、メダカの黒班のメラニン色素が収縮し、目視で確認できるレベルで黒班の減少が確認できたと考える。

今回は生体のことを考えて、目視による調査結果とした。そのため改良メダカにおける黒班とメラトニンの関係性は明らかとなっていない。今後は魚類の睡眠に関する知見探求及び、メラトニンと黒班の関係性を深く追求するためのより詳細な調査が必要であると考えます。

参考文献

1:環境省「絶滅のおそれのある野生動植物種の生息域外保全取り組み事例メダカ」(最終閲覧 2022/09/22)

<https://www.env.go.jp/nature/yasei/ex-situ/instance10.html>

2: 日本メダカ協会(2020)「日本メダカ協会公式ガイドライン 改良メダカ品種分類マニュアル」(最終閲覧 2022/09/22)

<http://jma-medaka.jp/pdf/2020saisinnhinnsyubunnrui.pdf>

3:ブリタニカ国際大百科事典 小項目事典「メラトニン」

4:酒井琴和(2020) メダカにおける受容体を介したメラトニンの機能に関する研究, p73

<https://irdb.nii.ac.jp/01172/0005370305> (最終閲覧 2022/09/22)

5: Ogiwara K, Takahashi T (2016) Biol Reprod. 94: 64 「A Dual Role for Melatonin in Medaka Ovulation: Ensuring Prostaglandin Synthesis and Actin Cytoskeleton Rearrangement in Follicular Cells」

<https://academic.oup.com/biolreprod/article/94/3/64,%201-15/2434439> (最終閲覧 2022/09/22)

6:岩崎電気「QUAPIX Lite」(最終閲覧 2022/09/22)

<https://apps.apple.com/jp/app/quapix-lite/id905894715>

【主任研究者（杉山）コメント】

メダカについても無事に実験系を確立して下さり、大変ありがとうございます。改良メダカの黒反転が暗条件への移行後に消失しているという結果を見て大変感動しております。

擬態自体は一般的な現象ではあることは既に言われており、擬態＝寝る という可能性が考えられるため、その辺りで体内時計の指標として体色変化を用いる実験系としては今後十分に期待有いですね。基本的に昼夜があるはずの環境下で、概日リズムの中で制御されていることを踏まえると、擬態≒明暗への適応であり **"明暗 → 概日リズム → 擬態"** なのかなと考えています。なので、この体色変化は睡眠自体にとっては、必要十分条件では無いといえますね。つまり結論としては、適切な明暗周期の中では、体色変化は夜間のメラトニン分泌の指標になり得る、が正しいと考えてます。夜の暗がりではメラトニンが、ちゃんと分泌されて休止モードに移行し、暗闇に適応できる擬態を示すと捉えることができるでしょう。単純に結果を受け止めて、擬態だから意味ないじゃん？と捉えると色々見落としてしまう危険性があるので、この点は今後も皆で注意していきましょう。ひょっとすると、魚の場合、いつでも暗闇なら眠れる、ということなのかもしれませんね。おそらく色が薄くなるのは、本来は副産物だったのでしょうか。色が変わった個体が巧く生き残って種を維持してきた、と考えることができます。

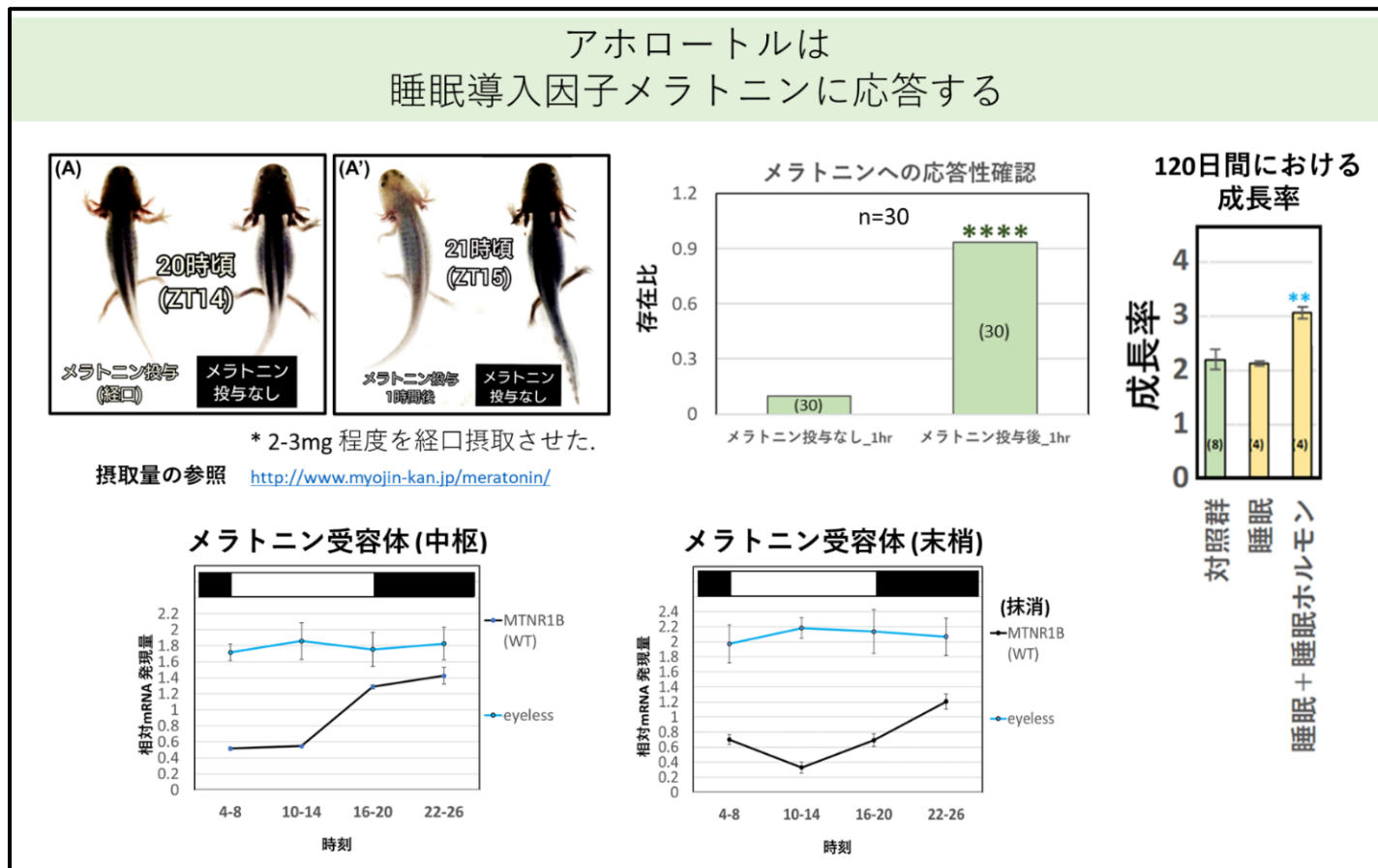
尚、後述していますが、アホロートルは日中の明期において、巣穴でじっと動かなくなっていることが多いですが、体色はあまり変化していない場合もあるので、活発かどうかは必ずしも体色変化やメラトニン分泌と連動していない時相もあるのかもしれません。ただし、アホロートルは昼行性の魚類とはまた異なる活動リズムを示すので、全てを一緒にたにして考えてはいけないとも言えますね。

余談ですが、リズムがない、または乱れて育った個体はどうなるんでしょうね？今後、我々のチームで着実に調査していきましょう。

アホロートルにおけるメラトニン応答性とメラトニン依存的な体色変化制御について

当ラボにおいては、アホロートルのメラトニン応答性等について体色変化や成長制御、各種遺伝子発現等において詳細な調査を実施し、**概日リズムと睡眠・覚醒について、会報誌ウーパールーパーだより Vol.2 にて報告を行った。**

尚、我々の調査の中で、メラトニン特異的な受容体は、アホロートルにもいては脳神経等の中枢にも、内臓である末梢にも一定のレベルで発現があり、発現量にそれぞれ固有の概日リズムを示していたことから、メラトニン分泌および受容性を日周リズムに合わせて周期的に調整している可能性があることが分かった [A, B, 16-19]。



参考: はるらぽによるアホロートルのメラトニンへの応答性と睡眠→成長制御に関する報告(一部抜粋)

過去の当ラボの研究により、タイムラプス動画によって経時的な行動記録を撮影(萩原メソッド)することで、アホロートルの活動リズムを



参考: メラトニン依存的な体色変化は概日リズムと関連がある

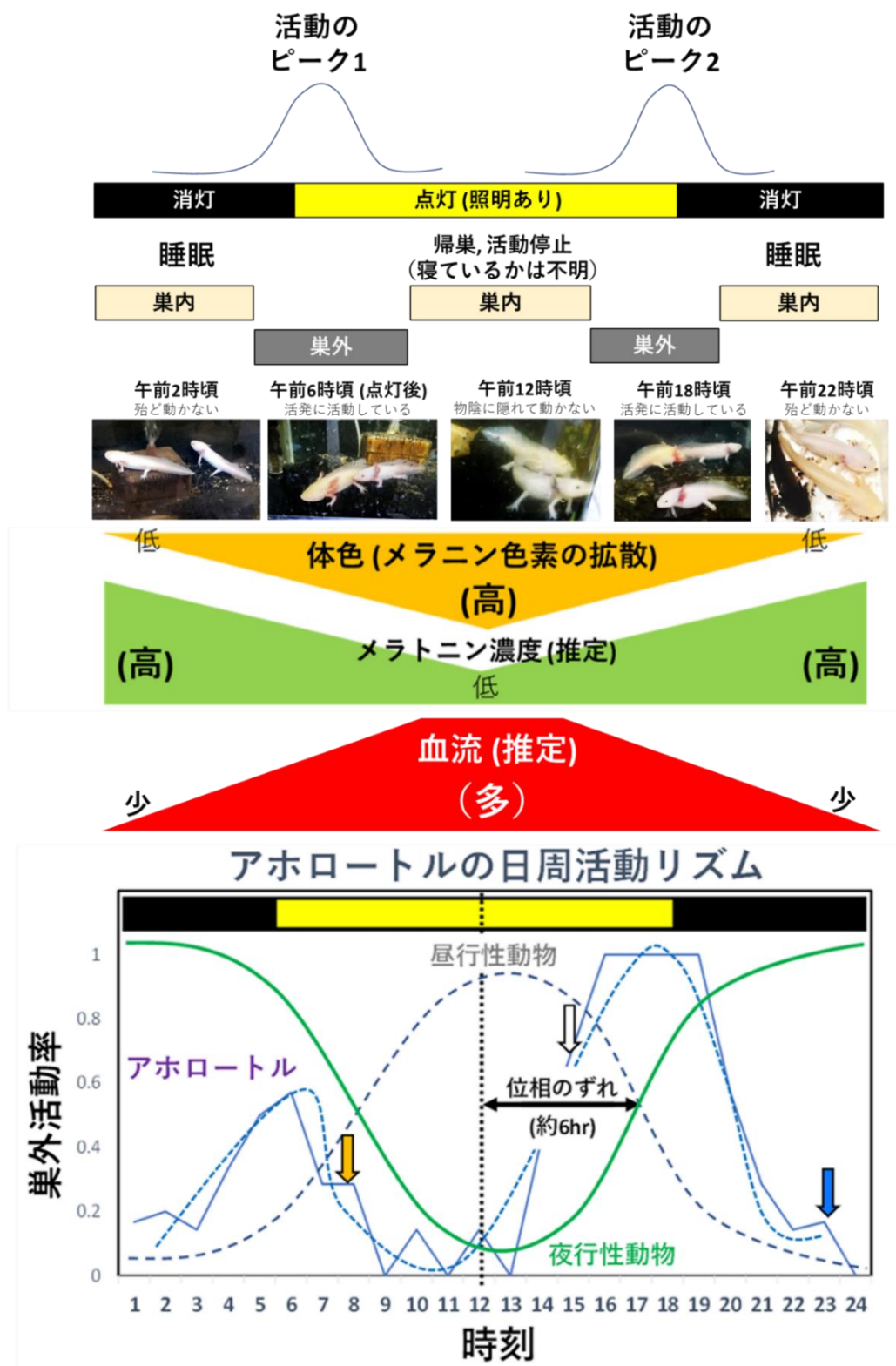
測定し報告しているが、夜間と日中の境目(日の出と日の入り)の明るさのタイミングで積極的に巢外へ出て活動する可能性があることが明らかになった。一方で、体色変化については調査が十分では無い部分があったため(左下図)、今回改めて体色変化について、他のリユーススティック個体やメラニン色素を部分的～大半を欠損していると思われるアルビノ系統の個体において再度観察を改めて実施した(次頁の相関図を参照)。

アルビノ系統については、殆ど黒い色素が見られないことから、主に鰓周辺の血流に注目している。尚、アルビノ系統に関する詳細は、**ウーパールーパーの飼育係 Vol.2**の中でヒトのアルビノ症と併せて触れているため、興味のある方はそちらをご参照いただければ幸いである。

余談だが、ウーパールーパーのアルビノ系統は、眼からの光入力に対して光応答を示す（野生型と同程度に見えている）ことから、単純に野生型と視力の程度に差が見られない可能性と、系統的に完全欠損ではない可能性がある[20-25]。

結果の詳細は以下の図を参照のこと。補足だが、アルビノ個体の体色変化は、リュウシヅティックと比較するとやや見づらいものであった。

また、メラニン色素を中心とした体色変化がそこまで顕著でなくとも、鰓の赤さ（血流量）は活動量との相関がある程度見られている。



参考: 日周性とアホロートルの概日リズム(活動リズム)と体色変化の相関まとめ

アホロートルにおける“あくび”と活動リズムの相関について（22/11/12 追記）



アホロートルのあくびについては、SNS 等にその瞬間の写真や動画を投稿されている飼い主の皆様が沢山おられます。

しかしながら、そのシャッターチャンスをつかむのは非常に難しい所がありますね。そこで、我々は、睡眠の研究の知見に基づき、彼らの睡眠周期とあくびの間にみられる相関関係について追加調査しました。

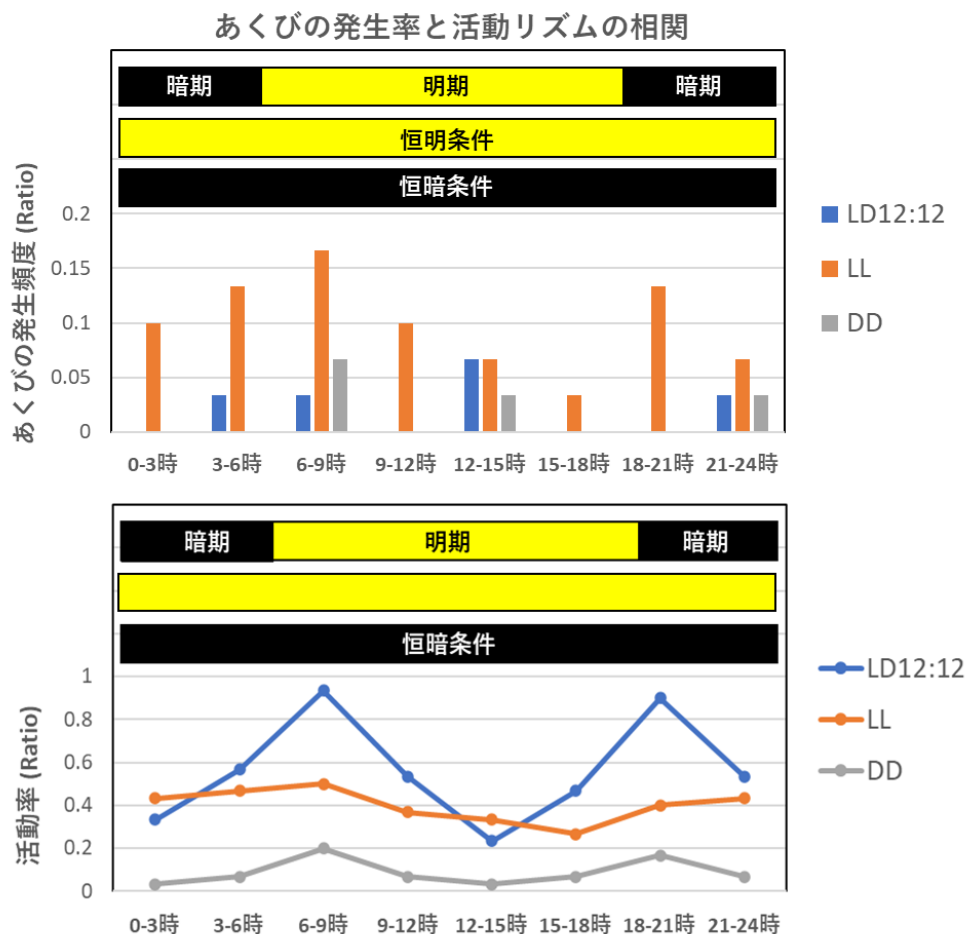
図 1: あくびをするアホロートル

(写真提供: うにゃぎ様 on Twitter @CUNEflash)

調査の結果、アホロートルは明暗周期下において、ある活動リズムの低下する真夜中の 0-3 時頃や、12-15 時頃にあくびを一定の頻度で示すことが示唆されました。一方で、恒明条件においては、頻繁にあくびを示し、特に本来活動が低下するべき真夜中に、通常の明暗周期下よりやや高い頻度であくびを示す事も分かりました。

これらの結果から、あくびは活動が低下する夜間において、活動を低下させようとする個体が生ずる行動である可能性が示唆されました。すなわち、哺乳類のあくびと良く類似した行動である可能性があると考えられます。

詳細は更に追って調査する必要があるようですが、シャッターチャンスのタイミングについては、示唆的ではあるものの一定の知見を得ることが出来たのではないのでしょうか。



参考: 日周性とアホロートルの概日リズム(活動リズム)とあくびの相関まとめ

参照（アホートル、魚類・両生類の睡眠に関する調査報告）

- ・ A) ウーパールーパーだより vol 2 <https://drive.google.com/file/d/1CU7Afs67mGaX1DC9v1kachExWjliqUFZ/view>
- ・ B) ウーパールーパーの飼育係 vol 2.4__トピック 3

参考文献（睡眠制御・概日リズム・メラトニン）

- ・ 1) <https://kizuki-lfp.com/9662>
- ・ 2) <https://serai.jp/>
- ・ 3) <https://www.ishiyaku.co.jp/magazines/ayumi/AyumiArticleDetail.aspx?BC=924211&AC=11745>
- ・ 4) <https://www.terumozaidan.or.jp/labo/technology/16/02.html>
- ・ 5) <https://bsd.neuroinf.jp/wiki/%E3%82%BB%E3%83%AD%E3%83%88%E3%83%8B%E3%83%B3>
- ・ 6) <https://www.keds-dental.jp/news/%E9%A1%8E%E9%96%A2%E7%AF%80%E7%97%87%E3%B1%AB%E3%B1%A4%E3%B1%84%E3%B1%A6%E8%80%83%E3%B1%88%E3%82%88%E3%B1%86/>
- ・ 7) <https://newscast.jp/news/384191>
- ・ 8) 視交叉上核＞脳科学辞典
<https://bsd.neuroinf.jp/w/index.php?title=%E8%A6%96%E4%BA%A4%E5%8F%89%E4%B8%8A%E6%A0%B8&oldid=21150.%202013#~:text=4%E9%96%A2%E9%80%A3%E9%A0%85%E7%9B%AE-,%E8%A6%96%E4%BA%A4%E5%8F%89%E4%B8%8A%E6%A0%B8%E3%B1%A8%E3%B1%AF,%E3%83%AA%E3%82%BA%E3%83%AD%E5%BD%A2%E6%88%80%E8%83%BD%E5%8A%9B%E3%82%92%E6%8C%81%E3%81%A4%E3%80%82>
- ・ 9) L-トリプトファンとは＞コトバンク
<https://kotobank.jp/word/%E3%83%88%E3%83%AA%E3%83%97%E3%83%88%E3%83%95%E3%82%A1%E3%83%B3-106524>
- ・ 10) J-GLOBAL＞L-トリプトファン生合成の高収率と生産性のための GalP/Glk 依存性 Escherichia coli の統合実験室進化と合理的エンジニアリング https://jglobal.jst.go.jp/detail?JGLOBAL_ID=202102255062140282
- ・ 11) 「トリプトファン」を摂って、しあわせホルモン「セロトニン」を増やそう！ <https://www.y-koseiren.jp/column/season/3224>
- ・ 12) セロトニンとは <https://www.kango-roo.com/word/12729>
- ・ 13) 上手に昼間を過ごして、良質の睡眠を手に入れる！ https://www.konan-u.ac.jp/special/vol_5.html
- ・ 14) 照度と明るさの目安 <http://photon.sci-museum.kita.osaka.jp/publish/text/koyomi/66.html>
- ・ 15) 高照度光治療法について https://portal.lighttherapy.jp/lighttherapy/post_104.html

参考文献（メラトニンによる魚類・両生類の体色変化制御について）

- ・ 16) 東邦大学メディアネットセンター＞青い魚はなぜ青い？ <https://www.mnc.toho-u.ac.jp/v-lab/fish/soho/change3.html>
- ・ 17) カエルの体色変化とメラトニン <https://ameblo.jp/kozoshoku/entry-12543597455.html>
- ・ 18) メラトニン摂取・投与量の指標 <http://www.myojin-kan.jp/meratonin/>
- ・ 19) PIGMENT CELL RESEARCH > Melatonin, Melatonin Receptors and Melanophores: A Moving Story David et. Al (2004), <https://doi.org/10.1111/j.1600-0749.2004.>
- ・ 20) 光と生物 —発色団と光受容タンパク質の機能—＞岡野 俊行 https://www.jstage.jst.go.jp/article/kakyoshi/65/6/65_286/_pdf
- ・ 21) 網膜の構造 https://inami.co.jp/inamaga/detail/?contents_type=478&id=1732
- ・ 22) メダカと遺伝と色素胞 <https://www.medakanoyakata.jp/?mode=f136>
- ・ 23) メラノプシンを含む網膜神経節細胞への一日を通じた光刺激制御が夜間のメラトニン分泌挙動および睡眠感に及ぼす影響. 田中 他 (2019)＞日本生理人類学会誌 Vol.24, No.4. 141 – 148 https://www.jstage.jst.go.jp/article/jscvo/19/0/19_43/_pdf
- ・ 24) メダカの生殖腺における光周性とメラトニンの作用の比較(内分泌)
https://dl.ndl.go.jp/view/download/digidepo_10845689_po_ART0003795730.pdf?contentNo=1&alternativeNo=
- ・ 25) 改良メダカについて <https://www.medakaya.com/medaka>

<ウーパールーパー研究報告>

ネオテニーの上陸化を誘導する因子 Part.1 (22/11/1 → 23/4/5 更新)

著: 杉山 遥 (Ph.D; 詳細調査・本記事の主な執筆者)^{1*,**}; 久木崎 玲美 (上陸化に関する調査)¹

所属: ¹ウーパールーパー研究室はるらぼ

詳細: *主任研究者 **責任著者

ウーパールーパーは幼形成熟をする、所謂“ネオテニー”と呼ばれる形態を取る両生類として知られている。一方で、時折、ウーパールーパーの上陸化個体も見られることがあり、その両生類としての潜在能力が未だ残っていることが分かる。当ラボでも、このネオテニーの変態について調査を行ってきた。尚今回、当ラボが変態個体に関して取り上げるきっかけとなったのは、久木崎 研究員 からの写真情報の提供から始まっており、同氏にはこの場で改めて心からの感謝の意を表したいと思う。尚、本記事の執筆に際し、**参考文献 [1-49]** を参照しつつ幾つかの調査・研究を進めた。

1. 有尾両生類の変態と上陸化

通常の有尾両生類の様子について、以下の参考資料を紹介したい (図 1 (A)~(C))。

通常の両生類では、成長に伴って、体内の甲状腺ホルモン T4 の急激な放出が甲状腺刺激ホルモン TSH によって誘導されることで変態が促進され (図 1 (B))、上陸化が進むことで成体へと変態を果たすのである (図 1 (C))。この過程で、平坦な構造の眼から瞼を持った球体の眼へと変化が起こり、鰓が委縮して鰓呼吸から肺呼吸への移行することで、陸上での生育に適した身体の構造へと変化していく。非常によく出来た機構であるといえる。



図 1: 有尾両生類 (アカハライモリ) の変態・上陸化の過程

2. ネオテニー (幼形成熟種) の特徴と変態する可能性

通常のネオテニー、すなわち幼形成熟個体は、幼体の特徴を持ったまま性成熟が行えるような分子機構を持ち、図 2 (A) の状態を保持している。しかし、メキシコサラマンダー、アンダーソンサラマンダー等のネオテニーの仲間も、現在も変態可能な潜在能力を持っており、ある特定の条件下では図 1 のアカハライモリの示すような変態過程を辿る場合もあることが分かっている (図 2 (B)~(D))。

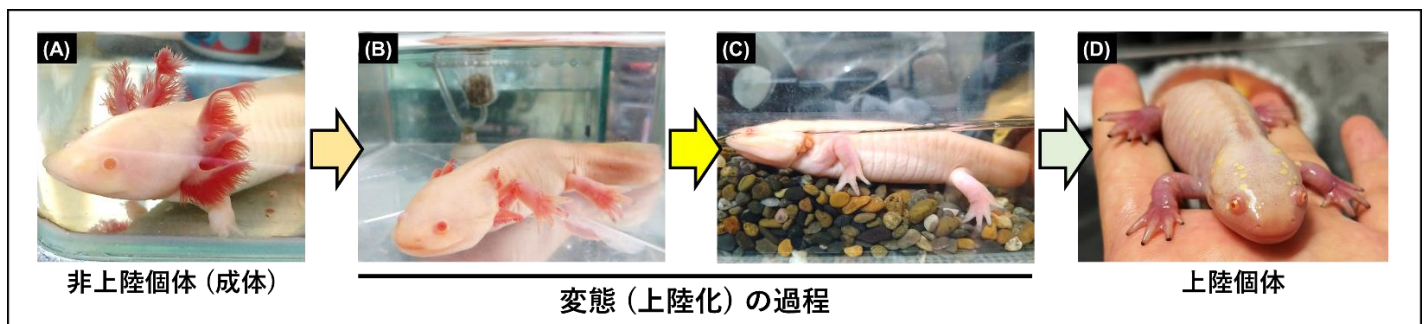


図 2: アホロートルの変態・上陸化の過程 (画像提供: 久木崎 研究員)

3. ネオテニーの変態と原因因子の特定

ネオテニーが通常変態できない理由は諸説あるが、メキシコサラマンダーの場合は、甲状腺ホルモンの放出に関する異常であるとされており、甲状腺ホルモンの制御に関する経路や機構について理解し、遺伝学的・生理学的な制御機構の調査を実施することが急務であった。

当ラボでの調査・研究に差し当たって、変態と甲状腺ホルモンに関する幾つかの文献から制御モデル図を選定した物を例に挙げる。

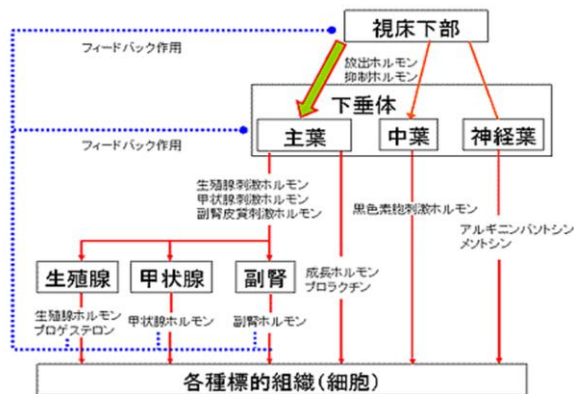


図1 両生類内分泌経路模式図

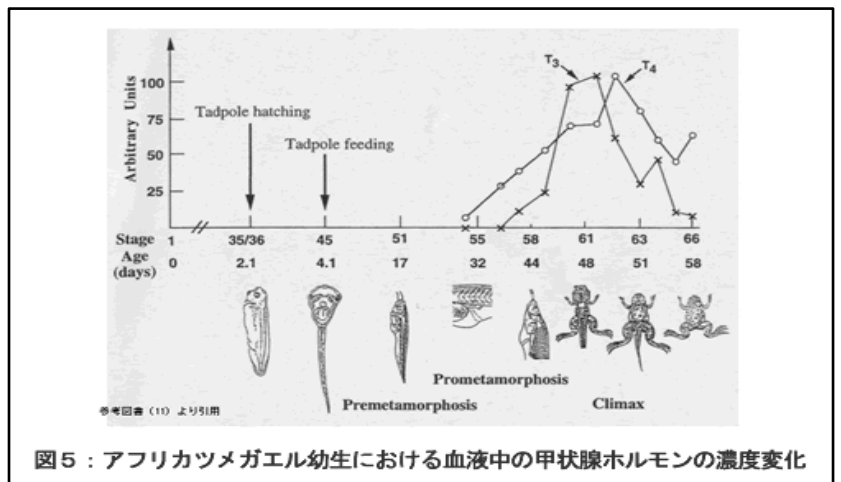
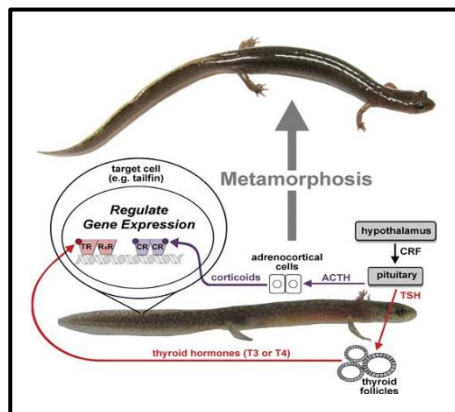


図5：アフリカツメガエル幼生における血液中の甲状腺ホルモンの濃度変化

Official Endocrine Disruption Website

化学物質の内分泌かく乱作用に関する情報提供サイト

https://www.env.go.jp/chemi/end/endocrine/1guide/detail_a1-3.html

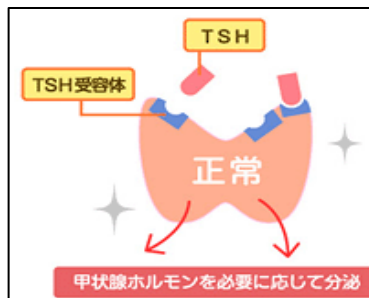


※ PRL: プロラクチン (哺乳類催乳ホルモン)

→ 両生類では変態・上陸を抑制する

ACTH: 副腎皮質刺激ホルモン

GnRH: 性腺刺激ホルモン放出ホルモン



甲状腺ホルモンを必要に応じて分泌

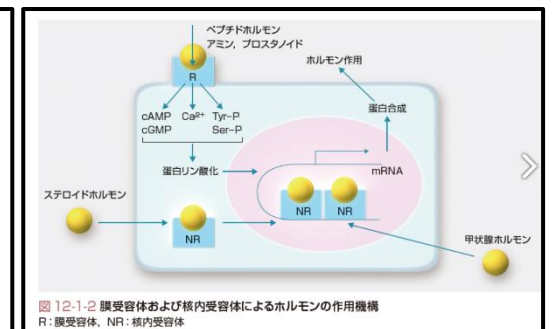
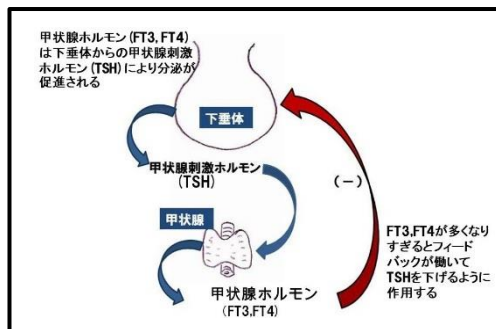
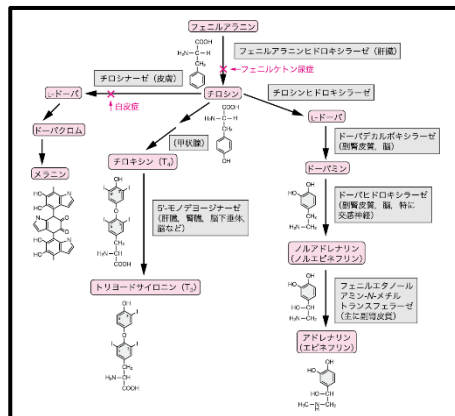
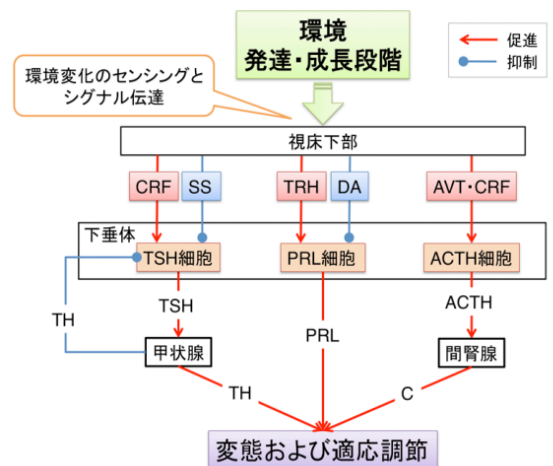


図3: 参考資料; 両生類の甲状腺ホルモン制御と代謝制御に関する情報

これらの知見に基づき、メキシコサラマンダーにおける変態制御機構の予想モデル図 (次頁 図4) を作製し、メキシコサラマンダーやアカハライモリを含む両生類を用いて、変態過程における甲状腺ホルモン制御や成熟化に関わる遺伝子発現に関して、qRT-PCRによる遺伝子発現の解析を実施することで、上陸化の原因やネオテニーとしての特徴を制御している因子の特定を試みた。

調査の結果、変態できるメキシコサラマンダーの個体では、通常変態する両生類と同程度に TSH の発現上昇が不安定ながら見られている一方、やはりネオテニーの特徴を示す個体では、変態可能な亜成体 (10cm 程度の大きさの個体) では非常に発現が低いことが分かった。また、やや変態しやすいとも言われるアンダーソンサラマンダーでは、TSH の発現量がメキシコサラマンダーよりも若干高い傾向があることが明らかとなった。

4. 甲状腺ホルモン阻害はネオテニーの成熟化を抑制する

当ラボの研究では、前述の 図 4 において、甲状腺ホルモン阻害剤であるプロパジールを投与する検討を実施した実績がある。

【はるらば会報誌・ウーパールーパーだより vol 2.1_2022/6/5 <https://drive.google.com/file/d/1CU7AFs67mGaX1DC9v1kachExWJliqUFZ/view>

> 杉山; 萩原 著> アホロートルにおける睡眠と成長および概日リズムの関係性 Relationship between sleeping, growth, and circadian rhythm in the Axolotl, *Ambystoma mexicanum*】において、明暗条件における成長率の比較と併せて、成熟化の抑制(すなわち下流の成長ホルモン (GF) 経路の阻害) 効果を確認する検討時にこのプロパジールを用いた (図 6)。

プロパジールを投与した個体は、恒暗条件 (DD) および DD+メラトニンによる睡眠促進条件 がもたらす成長促進効果を大きく抑制し、本来成体または亜成体まで成長可能な 120 日経過後にも、5cm 程度までしか成長していないという表現型を示した。



図 6: プロパジールによる甲状腺ホルモン阻害はアホロートルの成長・成熟化を大きく抑制する

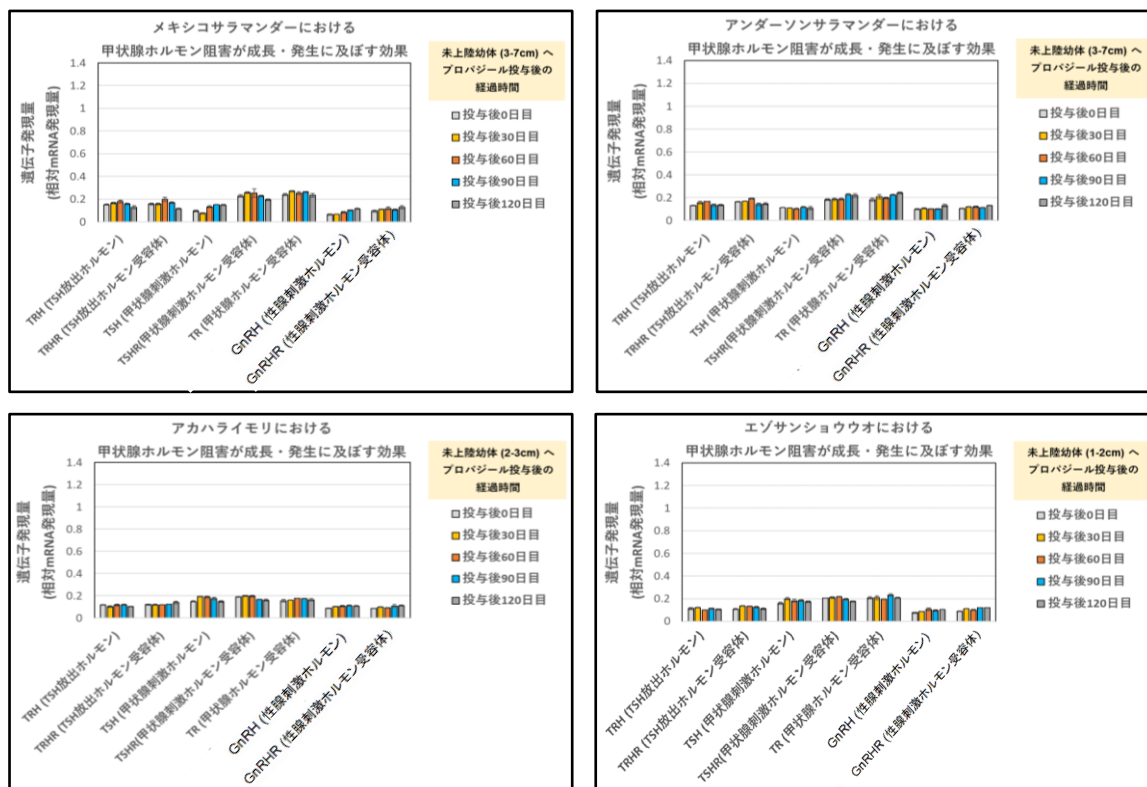


図 7: プロパジールによる甲状腺ホルモン阻害は
ネオテニー以外の有尻両生類の成長・成熟化であっても大きく抑制する

5. 水槽に含まれるヨウ素がネオテニー飼育個体に与える影響 & 意図的に変態させる方法（非推奨）

複数の文献や情報に基づいて考えると、メキシコの実種がネオテニーとなった経緯として、水中のヨウ素の濃度が元は高く TSH 非依存的な甲状腺ホルモン分泌が起こっていたが、環境の変化によって水中のヨウ素濃度が低下したことで、TSH の濃度上昇によって促進される甲状腺ホルモン分泌促進（甲状腺ホルモンシャワー）が起こりにくくなったことに起因する可能性がある。[A, E, F, G]

水槽の中のヨウ素がどの程度変態へ影響を与えるかについては、現在当ラボでも詳細を調査中であるが、先行文献 [A] や当ラボで得られた知見から、**TSH による甲状腺ホルモンシャワーが巧く起こらない事で変態が進行せず、ネオテニーとしての性質が発揮される可能性が高い** ことから、**通常の飼育の中でヨウ素の濃度や変態への影響をあまり考慮する必要はない** と思われる。

※ 尚、一部の餌や汽水飼育に用いる粗塩中に、海藻が含まれており、ヨウ素を摂取する可能性があるものの、それだけでは変態が誘導された例を当ラボでは確認できていない。現状の汽水飼育（ミネ水）給餌の状況で変態が促進された個体が見られていないため、今後、要検証の課題である。

これらの観点から、**体内で一過的な甲状腺ホルモンの放出が適切に達成されない限り、変態へと移行する可能性は低い** と言える。

尚、変態を意図的に誘導する場合は、直接甲状腺ホルモンを何等かの方法で生体へと投与する必要があり、以下に示すような手順で変態されることが可能であるとされている。[B-D]

変態の誘導 [C, D]

- ・前提として、10cm 程度の亜成体～成体で行うこと（一部、3 年経過後の成体で自然変態したとの報告もある）。
- ・0.02% の 甲状腺ホルモン（サイロキシン T4 = チロキシン）溶液を数 ml 程、飼育水中へ投入して飼育する。
- ・0.005% の T4 を 0.5ml 程、シリンジ（注射器）にて注射し、皮下投与する。

※ **甲状腺ホルモン投与の際、一度に多くの量を与えずにと変態が早まるが一方、生体に負荷が大きくなる** 点に注意！

※ これとは別に、**近縁種のタイガーサラマンダー* の甲状腺移植による変態誘導（甲状腺分泌量を増やす）という手法も存在する。**

**Ambystoma tigrinum*

- トウブタイガーサラマンダー <https://www2.hkr.ne.jp/~rieokun/saramand/imori/ambytiger.htm>
- オビタイガーサラマンダー <https://www2.hkr.ne.jp/~rieokun/saramand/imori/ambytiger.htm>

変態後の様子 [C, D]

- ・鰓と鰭が 1 ヶ月程度で、次第に小さくなってなくなる。
- ・骨格全体が小さくなり、頭が卵型になる。
- ・まぶたが形成され、眼が球体の構造となることで視力が向上する。
- ・皮膚の粘性が無くなり角質化し、体の表面に模様ができる（リューススティック や アルビノ個体では分りにくい）。

とはいえ、**変態はネオテニーであるメキシコサラマンダーには非常に大きな負荷を与える可能性がある** ため、もし実践される場合は **自己責任のもと、投与量に最大限の注意を払うこと、シリンジ投与の方は針の消毒や自身のケガが無いよう細心の注意を払って作業すること** を推奨する。

メキシコサラマンダーの変態に関する参照記事

- A) Hasumi Virtual Lab for Salamanders 様 HP
http://www5d.biglobe.ne.jp/~hasumi/faq/s_a8.html
- B) ウーパールーパーラボ様 HP__ウーパールーパーの体>ウーパールーパーの変態__date :2009.12.28
(writer :syogunpv :44097) <https://ulabo.com/b12.php>
- C) 阿部泰宜様 HP>「ウーパールーパーの生態について」
<http://oo.spokon.net/yasu/u-pa-/u-pa-3.htm>
- D) ウーパールーパーの説明書様 HP
<https://xn--gck9da7hrdbbb.xyz/archives/723>
- E) 百科事典マイペディア > 「アホロートル」
<https://kotobank.jp/word/%E3%82%A2%E3%83%9B%E3%83%AD%E3%83%BC%E3%83%88%E3%83%AB-27078>
- F) ウーパールーパー情報室 | 専門獣医師による飼育と病気の解説
<https://kotobank.jp/word/%E3%82%A2%E3%83%9B%E3%83%AD%E3%83%BC%E3%83%88%E3%83%AB-27078>
- G) 爬虫類両生類データベース
<https://reptiles-amphibian.info/ambystoma-mexicanum-evolution/>

参考文献: 甲状腺ホルモン, 両生類の変態, ネオテニー 関連

- 1) <http://tmuanimalecology.blog.fc2.com/blog-entry-697.html>
- 2) <http://hynobius.sakura.ne.jp/index.html>
- 3) <https://www.shizuoka.ac.jp/bio-okada/theme/metamorphosis/>
- 4) <file:///C:/Users/saida/Downloads/Honbun-3763.pdf>
- 5) <https://www.shizuoka.ac.jp/bio-okada/theme/metamorphosis/>
- 6) https://www.env.go.jp/chemi/end/endocrine/1guide/detail_a1-3.html
- 7) <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780123859792000083>
- 8) <https://bioone.org/journals/copeia/volume-104/issue-1/OT-15-269/An-Integrative-Endocrine-Model-for-the-Evolution-of-Developmental-Timing/10.1643/OT-15-269.short>
- 9) <https://kanri.nkdesk.com/hifuka/ste2.php>
- 10) <https://medlineplus.gov/genetics/gene/mc2r/>
- 11) <https://www.nutri.co.jp/nutrition/keywords/ch2-3/keyword7/>
- 12) https://www.jstage.jst.go.jp/article/nl2008jsce/42/158/42_60/_pdf/-char/ja
- 13) <http://harecoco.net/thyroid/01.html>
- 14) <https://www.suehiro-iin.com/arekore/sp/2017/11/post-172.html>
- 15) <https://kotobank.jp/word/%E3%83%9B%E3%83%AB%E3%83%A2%E3%83%B3%E3%81%AE%E4%BD%9C%E7%94%A8%E6%A9%9F%E5%BA%8F-2098854>
- 16) https://patients.eisai.jp/kojosengan-hhc/about/about01_03.html
- 17) <https://i.kawasaki-m.ac.jp/jsce/191212-28-01/JJCE28-1-22-44.pdf>
- 18) https://www.jstage.jst.go.jp/article/nl2001jsce1975/25/95/25_95_30/_pdf/-char/ja
- 19) https://www2.lib.hokudai.ac.jp/gakui/2001/5777_kanki.pdf
- 20) https://www.gifu-med.jrc.or.jp/thyroid/internal/hyperthyroidism_cure.html
- 21) <https://ikimall.ikimonopal.jp/blog/post-1504/>
- 22) <https://seseragi-store.jp/blogs/%E3%83%8B%E3%83%A5%E3%83%BC%E3%82%B9/%E3%82%A6%E3%83%BC%E3%83%91%E3%83%BC%E3%83%AB%E3%83%BC%E3%83%91%E3%83%BC%E3%81%AE%E9%A3%BC%E8%82%B2%E3%81%AB%E3%81%A4%E3%81%84%E3%81%A6>
- 23) <https://ulabo.com/b12.php>
- 24) <https://reptiles-amphibian.info/ambystoma-mexicanum-evolution/>
- 25) <https://avaportrail.wordpress.com/2013/06/25/%E3%82%A6%E3%83%BC%E3%83%91%E3%83%BC%E3%81%AE%E5%90%8D%E7%A7%B0/>
- 26) <https://www.gifu-med.jrc.or.jp/thyroid/internal/about.html>
- 27) https://www.jstage.jst.go.jp/article/jirm/64/5/64_864/_pdf
- 28) https://www.jstage.jst.go.jp/article/ymj/57/5/57_5_145/_pdf
- 29) <https://webview.isho.jp/journal/detail/abs/10.11477/mf.1431100322>
- 30) <https://kaken.nii.ac.jp/ja/grant/KAKENHI-PROJECT-11671080>
- 31) Kikuyama S et al. International Review of Cytology, 145 (1993).
- 32) Denver RJ. Current Topics in Developmental Biology, 103, pp. 195-227 (2013).
- 33) Okada R et al. Gen Comp Endocrinol, 135, 42-50 (2004).
- 34) Ito Y et al. Gen Comp Endocrinol, 138, 218-227 (2004).
- 35) Okada R et al. Ann N Y Acad Sci, 1163, 262-270 (2009).
- 36) Okada R et al. Gen Comp Endocrinol, 150, 437-444 (2007).
- 37) Matsuda K et al. Gen Comp Endocrinol, 168, 280-286 (2010).
- 38) Nakajima K et al. Gen Comp Endocrinol, 89, 11-16 (1993).
- 39) Yazawa T et al. Gen Comp Endocrinol, 113, 302-311 (1999).
- 40) Mosconi G et al. Gen Comp Endocrinol, 126, 261-268 (2002).

- 41) Melmed S, Polonsky KS, et al: Hormones and hormone action. In: Williams Textbook of Endocrinology, 12th ed, pp3-99, [Elsevier](#) Saunders, Philadelphia, 2011.
- Jameson JL, DeGroot LJ: Principles of endocrinology and hormone signaling. In: Endocrinology, 6th ed, pp3-14, Elsevier, Amsterdam, 2010.
- 42) Kikuyama, S., Kawamura, K., Tanaka, S., Yamamoto, K., 1993. Aspects of amphibian metamorphosis: hormonal control, in: Jeon, W.J., Jarvik, J. (Eds.), International Review of Cytology. Academic Press, New York.
- 43) Denver, R.J., 2013. Chapter Seven – Neuroendocrinology of Amphibian Metamorphosis, in: Shi, Y.-B. (Ed.), Current Topics in Developmental Biology, Animal Metamorphosis. Academic Press, pp. 195–227.
- 44) Okada, R., Yamamoto, K., Koda, A., Ito, Y., Hayashi, H., Tanaka, S., Hanaoka, Y., Kikuyama, S., 2004. Development of radioimmunoassay for bullfrog thyroid-stimulating hormone (TSH): effects of hypothalamic releasing hormones on the release of TSH from the pituitary in vitro. Gen. Comp. Endocrinol. 135, 42–50.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ygcen.2003.09.001>
- 45) Okada, R., Ito, Y., Kaneko, M., Yamamoto, K., Chartrel, N., Conlon, J. M., Vaudry, H., Kikuyama, S., 2005. Frog corticotropin-releasing hormone (CRH): isolation, molecular cloning, and biological activity. Ann. N. Y. Acad. 1040, 150–155. <http://dx.doi.org/10.1196/annals.1327.019>
- 46) Okada, R., Yamamoto, K., Hasunuma, I., Asahina, J., Kikuyama, S., 2016. Arginine vasotocin is the major adrenocorticotrophic hormone-releasing factor in the bullfrog *Rana catesbeiana*. Gen. Comp. Endocrinol. 237, 121–130. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ygcen.2016.08.014>
- 47) <http://gecko0912.web.fc2.com/HP3/index9c.htm>
- 48) <https://nazology.net/archives/101212/2>
- 49) http://www5d.biglobe.ne.jp/~hasumi/faq/s_a8.html

<ウーパールーパー研究報告>

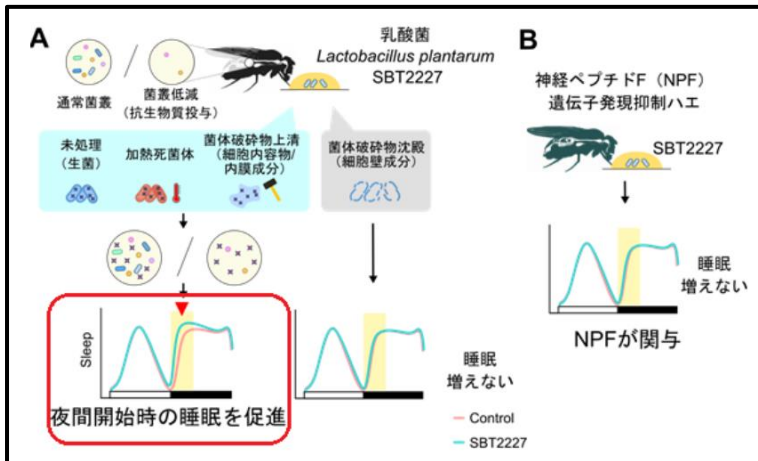
2023 最新報告: ウパの睡眠と成長のメカニズムに関する調査

著: 杉山 遥^{1*,**} 23/1/24 (計画), 22/2/4 (結果報告)

所属: ¹ウーパールーパー研究室はるらぼ

詳細: *主任研究者 **責任著者

神経ペプチド NPY (ショウジョウバエの NPF) に注目。
また、乳酸菌と NPY が睡眠導入に重要との文献あり。



(Taro Ko et al., *iScience*, 2022)

<https://www.cell.com/action/showPdf?pii=S2589-0042%2822%2900898-7>

ショウジョウバエにおいて、メス側の産卵促進にオスの交尾刺激(精液成分の導入)からの NPY (NPF) 放出促進→生殖幹細胞の分裂促進→最終的に産卵数の増大へと繋がる？

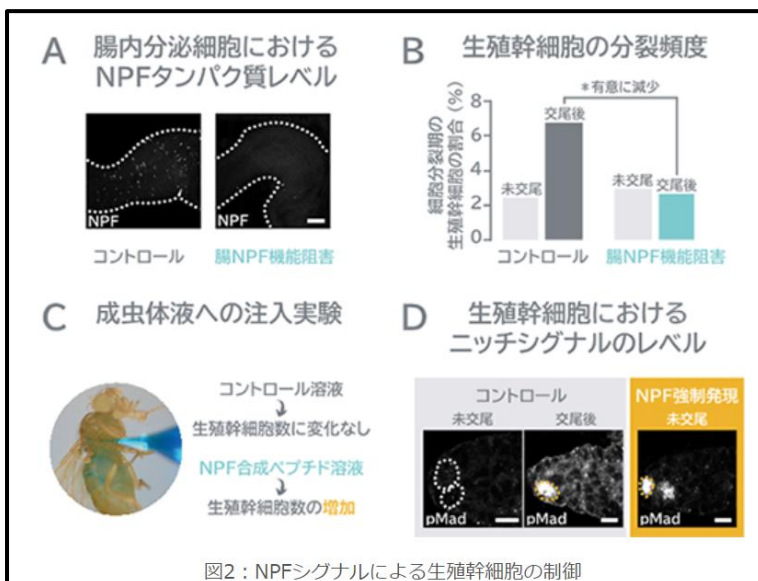


図2: NPFシグナルによる生殖幹細胞の制御

(Ameku et al., *PLOS Biol*, 2016)

<https://journals.plos.org/plosbiology/article?id=10.1371/journal.pbio.2005004>



予想される睡眠促進の作用機序

底材を食べる → 乳酸菌摂取 → NPY と共に作用 → 睡眠促進 → 成長促進

床材や糞の中にラクチプランチバチルス プランタラム (*Lactiplantibacillus plantarum*) が含まれる。
乳酸菌が死んでいても効果がある。

予想される産卵促進の作用機序

メス側の産卵促進にオスの交尾刺激(精液成分の導入)からの NPY (NPF) 放出促進→生殖幹細胞の分裂促進 → 最終的に産卵数の増大へと繋がる？

検証内容 (薄字は未検証)

- ・飼育水, 床材, 糞の中の菌種を確認
→ *Lactiplantibacillus plantarum* の 16SRDNA を確認 (過去 data を確認)
- ・食砂あり/なしの成長率と併せて評価
- ・糖質摂取や硫黄呼吸との関連も併せて考える。
- ・過去の、乳酸菌投与の検証結果とも併せて考える。
・メラトニンや抗ヒスタミン剤の投与時に NPY および NPY 受容体は増えるのか？ (パラレルに作用？)
- ・成長率の高い個体において、メラトニン受容体の発現と NPY, NPY 受容体の発現は高くなるか？
- ・NPY 神経分泌に合わせて、性成熟は促進されるか？
- ・睡眠誘導によって子孫数が増えるが、そのとき NPY の分泌量は増えるのか？

検証結果

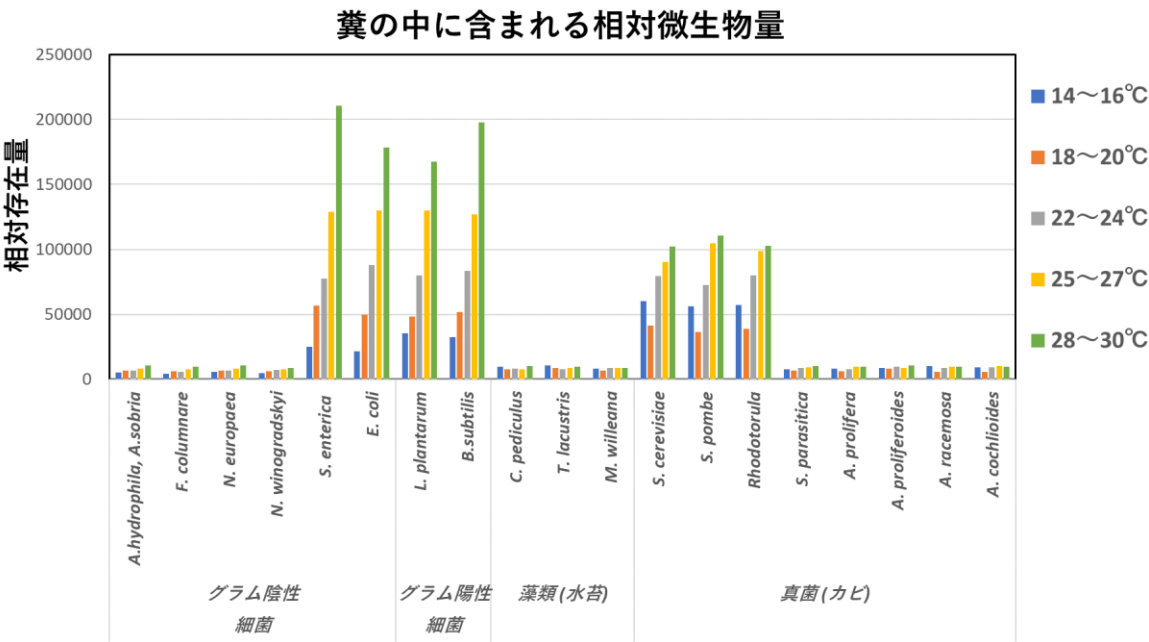
- ・ショウジョウバエ NPF と同様の効果が、アホロートルにおける相同因子である NPY でも確認された。
- ・過去結果 (22 年 9/1 報告) にて、乳酸菌の経口投与による腸内細菌付与によって、成長率が有意に促進されることを明らかにしており、本結果との相関があるといえる。
- ・上記の過去報告において、食砂行動をする個体が行わない個体と比較して顕著に高い成長率を示すことを踏まえると、アホロートルは土壌から乳酸菌を摂取することで NPY と共に作用し、睡眠や繁殖を制御している可能性が高いことが考えられた。

今後の課題

- ・メダカやフタホシコオロギにおける機序の調査
- ・NPY と栄養の直接的な制御関係の解析

淡水	水替え後7日目	糞を水で濾し、菌叢を回収 → バクテリアの 16S rDNA, 真菌類の 18S rDNA を増幅 → バンドの濃さで比較						
		糞を回収し、水で懸濁→遠心2,000xgで5分間遠心→十分な沈殿が得られたらok						
性質・種類	学名	属・分類	備考	14～16℃	18～20℃	22～24℃	25～27℃	28～30℃
グラム陰性細菌	<i>A.hydrophila</i> , <i>A.sobria</i>	エロモナス類	感染症の原因菌	5414	6838	6737	8123	10948
	<i>F. columnare</i>	カラムナリス類	感染症の原因菌	4534	6284	5982	7837	9745
	<i>N. europaea</i>	ニトロソモナス類	アンモニア硝化菌	6057	6753	7032	8448	10747
	<i>N. winogradskyi</i>	ニトロバクター類	亜硝酸酸化菌	5028	6472	7106	7829	8749
	<i>S. enterica</i>	サルモネラ類	腸内細菌	25235	56839	77568	129155	210472
グラム陽性細菌	<i>E. coli</i>	大腸菌	腸内細菌	21453	50021	87735	130034	178372
	<i>L. plantarum</i>	乳酸菌	腸内細菌	35253	48573	79945	129765	167385
	<i>B.subtilis</i>	枯草菌類	濾過バクテリア	32427	52034	83479	126797	197472
藻類 (水苔)	<i>C. pediculus</i>	コッコネイス属	珪藻類	9832	7657	8321	7835	10277
	<i>T. lacustris</i>	テトラスポラ属	緑藻類	10588	8934	7937	8932	9754
	<i>M. willeana</i>	ミクロスポラ属	糸状緑藻類	8057	6738	8765	8636	9035
真菌 (カビ)	<i>S. cerevisiae</i>	出芽酵母	パン酵母	60231	41583	79324	90356	102314
	<i>S. pombe</i>	分裂酵母	ビール酵母	56345	36332	72395	104725	110538
	<i>Rhodotorula</i>	赤色酵母	赤色酵母	57277	38779	80238	98564	102956
	<i>S. parasitica</i>	ミズカビ属	水質浄化, 増えすぎると 水カビ病の原因	7853	6657	8744	9305	10482
	<i>A. prolifera</i>	ワタカビ属 (卵菌類)		8234	6533	7684	9758	9832
	<i>A. proliferoides</i>			9035	8234	9757	8947	10675
	<i>A. racemosa</i>			10324	5663	8954	9748	9957
<i>A. cochlioides</i>	アフアノマイセス属 (糸状菌類)	9208		6043	9295	10244	9758	

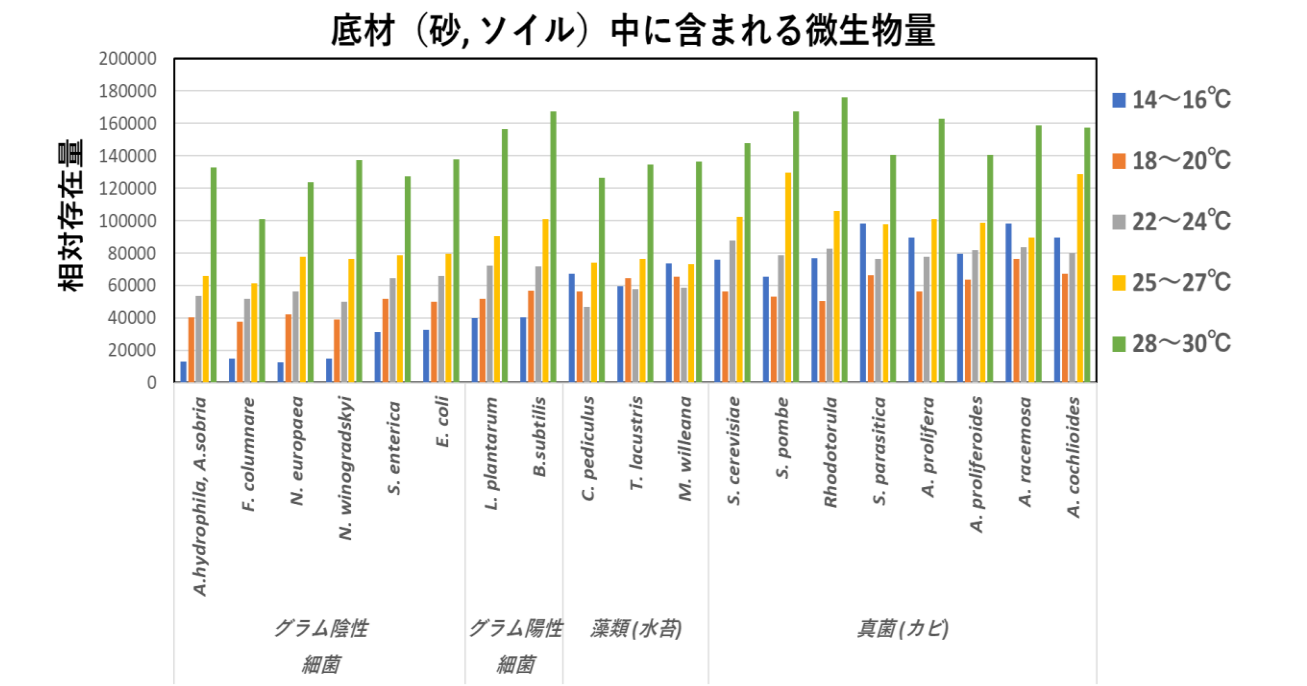
約 10cm の個体 2 個体; 60cm 水槽+外部フィルター+砂&ソイル, 餌 [ヒカリウーパールーパー小粒 5 粒ずつ)を 2 日目と 4 日目に水槽外で与えた]



参考 1: 糞の中に含まれる腸内細菌のうち乳酸菌（*L. plantarum*）の存在する割合

淡水	水替え後7日目	底砂・ソイルを水で濾し菌叢を回収 → バクテリアの 16S rDNA, 真菌類の 18S rDNA を増幅 → バンドの濃さで比較						
		底砂を回収し、水への懸濁液を回収→遠心2,000xgで5分間遠心→十分な沈殿が得られたらok						
性質・種類	学名	属・分類	備考	14〜16℃	18〜20℃	22〜24℃	25〜27℃	28〜30℃
グラム陰性細菌	<i>A.hydrophila</i> , <i>A.sobria</i>	エロモナス類	感染症の原因菌	13058	40183	53475	65738	132655
	<i>F. columnare</i>	カラムナリス類	感染症の原因菌	14757	37725	51749	61274	100743
	<i>N. europaea</i>	ニトロソモナス類	アンモニア硝化菌	12353	41954	56362	77839	123765
	<i>N. winogradskyi</i>	ニトロバクター類	亜硝酸酸化菌	14627	38829	49766	76465	137273
	<i>S. enterica</i>	サルモネラ類	腸内細菌	31047	51837	64372	78546	127375
グラム陽性細菌	<i>E. coli</i>	大腸菌	腸内細菌	32472	49835	65643	79470	137732
	<i>L. plantarum</i>	乳酸菌	腸内細菌	39746	51746	72038	90275	156362
	<i>B.subtilis</i>	枯草菌類	濾過バクテリア	40175	56729	71563	100854	167366
藻類 (水苔)	<i>C. pediculus</i>	コッコネイス属	珪藻類	67324	56375	46572	73826	126273
	<i>T. lacustris</i>	テトラスボラ属	緑藻類	59375	64647	57465	76462	134756
	<i>M. willeana</i>	ミクロスボラ属	糸状緑藻類	73628	65378	58358	72945	136365
真菌 (カビ)	<i>S. cerevisiae</i>	出芽酵母	パン酵母	75675	56372	87636	102357	147575
	<i>S. pombe</i>	分裂酵母	ビール酵母	65538	53243	78736	129676	167362
	<i>Rhodotorula</i>	赤色酵母	赤色酵母	76653	50384	82674	105958	175896
	<i>S. parasitica</i>	ミズカビ属	水質浄化、 増えすぎると 水カビ病の原因	98378	66372	76465	97576	140476
	<i>A. prolifer</i>	ワタカビ属 (卵菌類)		89465	56489	77462	100682	162757
	<i>A. proliferoides</i>			79286	63748	81759	98575	140476
	<i>A. racemosa</i>			98365	76462	83563	89476	158576
	<i>A. cochlioides</i>	アフアノマイセス属 (糸状菌類)		89732	67080	79865	128462	157374

約 10cm の個体 2 個体; 60cm 水槽+外部フィルター+砂&ソイル,
餌 [ヒカリウーパールーパー小粒 5 粒ずつ)を 2 日目と 4 日目に水槽外で与えた]

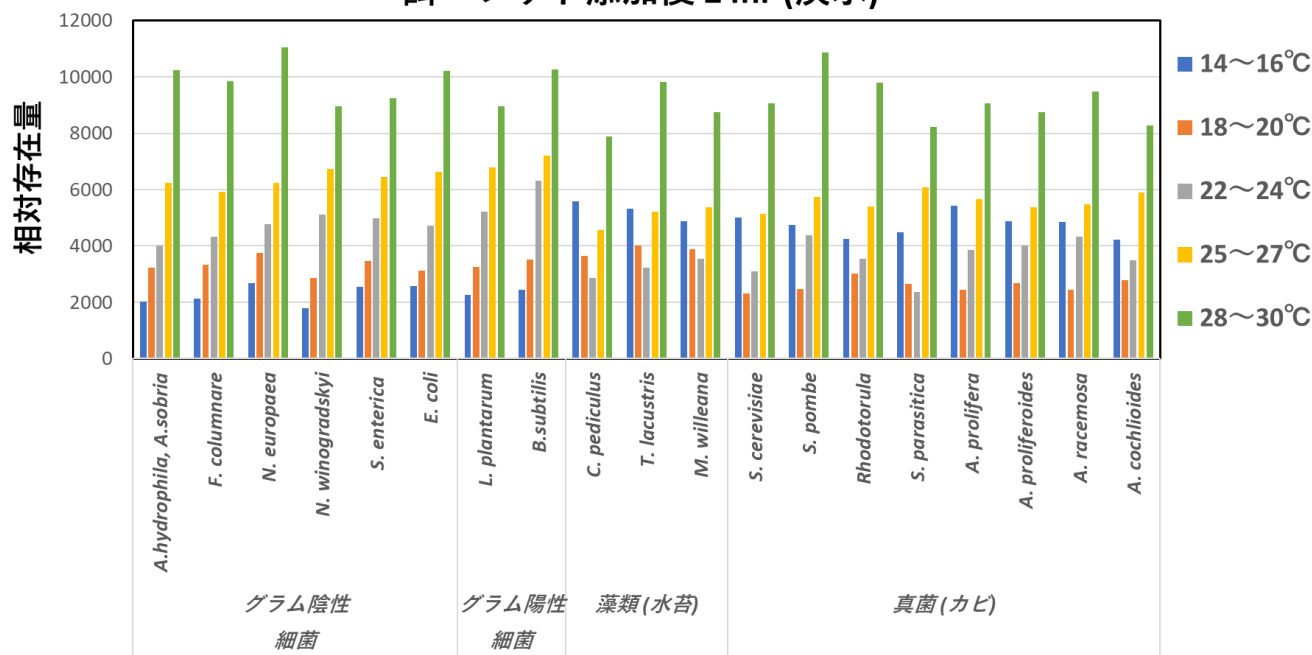


参考 2: 底材（砂, ソイル）の中に含まれる腸内細菌のうち乳酸菌（*L. plantarum*）の存在する割合

淡水	水替え後7日目	上清の菌叢を回収→バクテリアの16S rDNA, 真菌類の18S rDNAを増幅→バンドの濃さで比較						
	水50mlを3-5本回収→遠心2,000xgで5分間遠心→十分な沈殿が得られたらok							
性質・種類	学名	属・分類	備考	14~16℃	18~20℃	22~24℃	25~27℃	28~30℃
グラム陰性細菌	<i>A. hydrophila</i> , <i>A. sobria</i>	エロモナス類	感染症の原因菌	2031	3238	4023	6234	10235
	<i>F. columnare</i>	カラムナリス類	感染症の原因菌	2132	3321	4325	5927	9847
	<i>N. europaea</i>	ニトロソモナス類	アンモニア硝化菌	2666	3757	4758	6235	11057
	<i>N. winogradskyi</i>	ニトロバクター類	亜硝酸酸化菌	1781	2874	5102	6723	8957
	<i>S. enterica</i>	サルモネラ類	腸内細菌	2537	3453	4985	6445	9237
グラム陽性細菌	<i>E. coli</i>	大腸菌	腸内細菌	2579	3126	4726	6630	10202
	<i>L. plantarum</i>	乳酸菌	腸内細菌	2260	3246	5223	6793	8946
	<i>B. subtilis</i>	枯草菌類	濾過バクテリア	2454	3523	6321	7195	10273
藻類(水苔)	<i>C. pediculus</i>	コッコネイス属	珪藻類	5582	3657	2859	4572	7893
	<i>T. lacustris</i>	テトラスポラ属	緑藻類	5315	4012	3215	5207	9820
	<i>M. willeana</i>	ミクロスポラ属	糸状緑藻類	4876	3874	3532	5368	8746
真菌(カビ)	<i>S. cerevisiae</i>	出芽酵母	パン酵母	5015	2301	3105	5124	9053
	<i>S. pombe</i>	分裂酵母	ビール酵母	4733	2464	4375	5737	10856
	<i>Rhodotorula</i>	赤色酵母	赤色酵母	4238	3028	3532	5394	9783
	<i>S. parasitica</i>	ミスカビ属	水質浄化, 増えすぎると 水カビ病の原因	4475	2657	2356	6077	8234
	<i>A. prolifer</i>	ワタカビ属(卵菌類)		5426	2442	3863	5673	9052
	<i>A. proliferoides</i>			4872	2673	4012	5385	8747
	<i>A. racemosa</i>			4849	2452	4321	5472	9472
	<i>A. cochlioides</i>	アフノマイセス属(糸状菌類)		4210	2785	3493	5883	8275

約 10cm の個体 2 個体; 60cm 水槽+外部フィルター+砂&ソイル,
餌 [ヒカリウーパールーパー小粒 5 粒ずつ]を 2 日目と 4 日目に水槽外で与えた]

餌ペレット添加後 24hr (淡水)



参考 3: 飼育水の中に含まれる腸内細菌のうち乳酸菌 (*L. plantarum*) の存在する割合

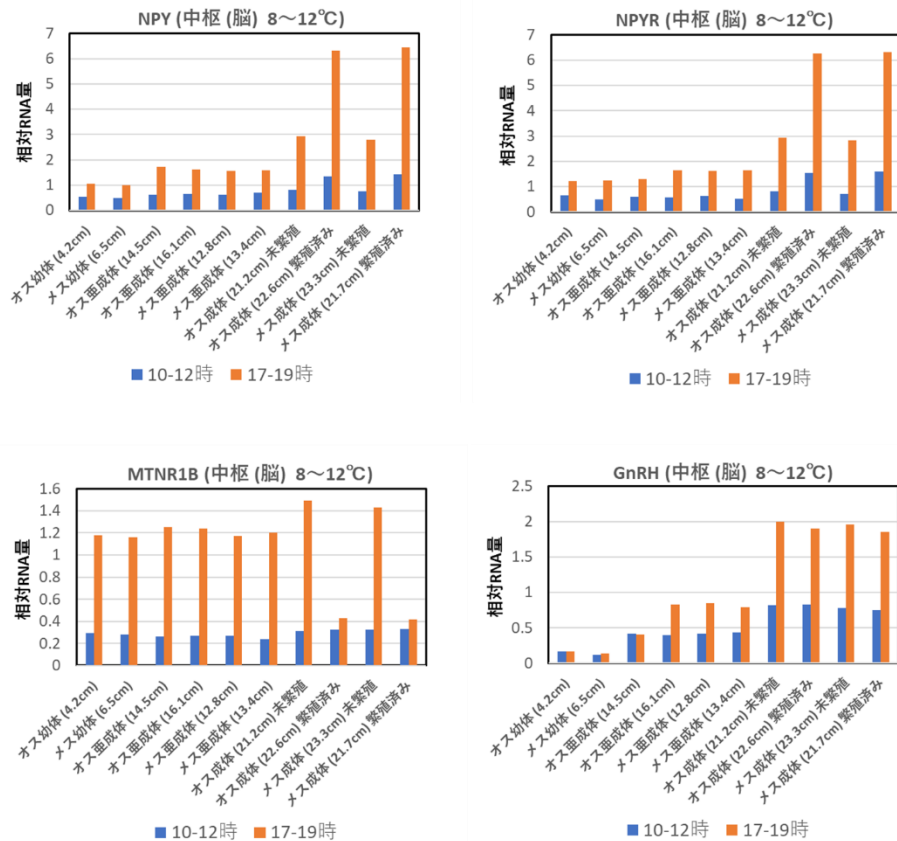


図 1: 産卵誘導時 (低温) の中枢における NPY および 関連因子 mRNA の相対発現量の比較

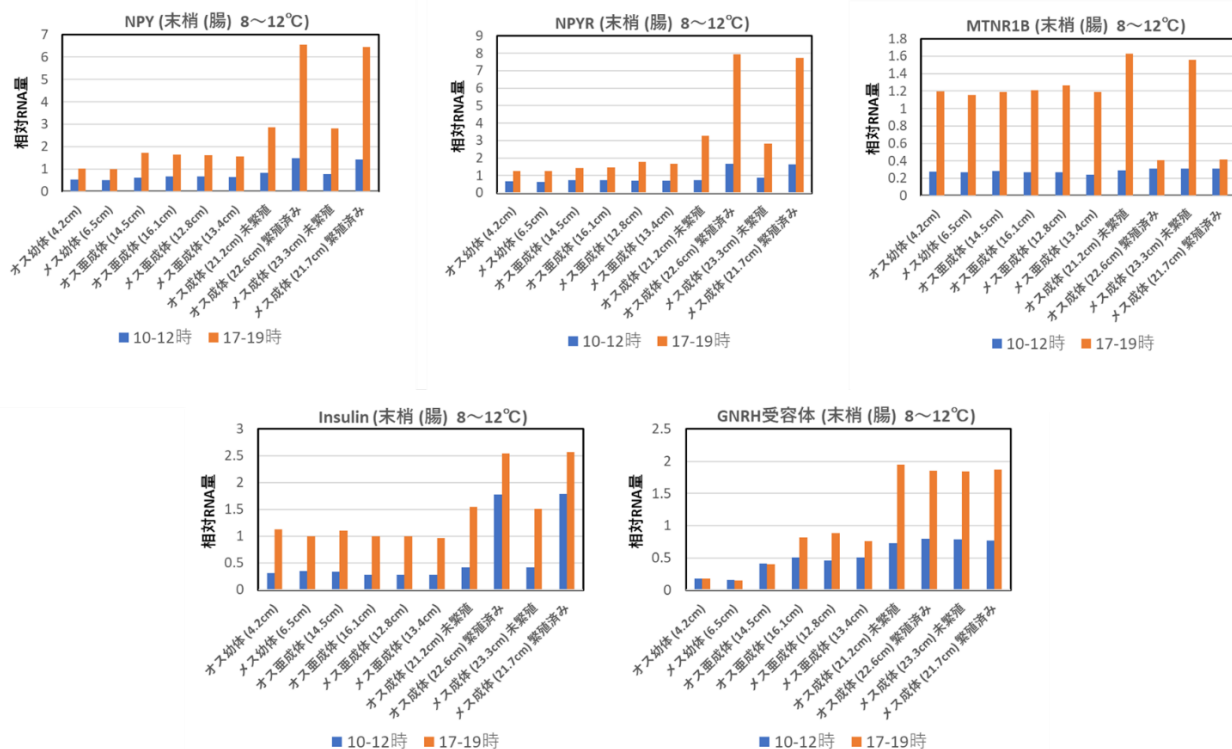


図 2: 産卵誘導時 (低温) の末梢 (胃、腸) における NPY および 関連因子 mRNA の相対発現量の比較

参考文献 (アホロートル NPY 関連)

乳酸菌 NPY と睡眠誘導

<https://www.meg-snow.com/news/files/dabd0cb6db9420dd0695ea0fd36661da.pdf>

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35811846/>

乳酸菌; ラクチプランチバチルス プランタラム (*Lactiplantibacillus plantarum*)

[https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=Lactobacillus%20plantarum\[Organism\]&cmd=DetailsSearch](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=Lactobacillus%20plantarum[Organism]&cmd=DetailsSearch)

<https://research.wur.nl/en/datasets/lactiplantibacillus-plantarum-16s-ribosomal-rna-gene-partial-sequ>

<https://www.mdpi.com/2674-1334/1/3/12/pdf>

Drosophila NPF

https://www.amed.go.jp/news/release_20180925.html

<https://journals.plos.org/plosbiology/article?id=10.1371/journal.pbio.2005004>

<https://www.uniprot.org/uniprotkb/Q9VET0/entry>

NPF receptor: NPFR vs human ortholog NPY2R

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?Db=gene&Cmd=DetailsSearch&Term=40754>

mouse NPY and NPY2R

<https://www.informatics.jax.org/marker/MGI:97374>

<https://www.informatics.jax.org/marker/MGI:108418s>

Axolotl NPY

[https://genome.axolotl-omics.org/cgi-](https://genome.axolotl-omics.org/cgi-bin/hgTracks?hgtgroup_map_close=0&hgtgroup_genes_close=0&hgtgroup_rna_close=0&hgtgroup_regulation_close=0&hgtgroup_assembly_close=0&hgside=69715_5uEAztFlj0qCx310CTXrTpTbcU5J&position=NPY&hgt.positionInput=NPY&hgt.jump=go&db=ambMex60DD&c=chr1p&l=999&r=2000&pix=950&dinkL=2.0&dinkR=2.0)

[bin/hgTracks?hgtgroup_map_close=0&hgtgroup_genes_close=0&hgtgroup_rna_close=0&hgtgroup_regulation_close=0&hgtgroup_assembly_close=0&hgside=69715_5uEAztFlj0qCx310CTXrTpTbcU5J&position=NPY&hgt.positionInput=NPY&hgt.jump=go&db=ambMex60DD&c=chr1p&l=999&r=2000&pix=950&dinkL=2.0&dinkR=2.0](https://genome.axolotl-omics.org/cgi-bin/hgTracks?hgtgroup_map_close=0&hgtgroup_genes_close=0&hgtgroup_rna_close=0&hgtgroup_regulation_close=0&hgtgroup_assembly_close=0&hgside=69715_5uEAztFlj0qCx310CTXrTpTbcU5J&position=NPY&hgt.positionInput=NPY&hgt.jump=go&db=ambMex60DD&c=chr1p&l=999&r=2000&pix=950&dinkL=2.0&dinkR=2.0)

Axolotl NPY2R

[https://genome.axolotl-omics.org/cgi-](https://genome.axolotl-omics.org/cgi-bin/hgTracks?hgtgroup_map_close=0&hgtgroup_genes_close=0&hgtgroup_rna_close=0&hgtgroup_regulation_close=0&hgtgroup_assembly_close=0&hgside=69715_5uEAztFlj0qCx310CTXrTpTbcU5J&position=NPY2R&hgt.positionInput=NPY2R&hgt.jump=go&db=ambMex60DD&c=chr1p&l=999&r=2000&pix=950&dinkL=2.0&dinkR=2.0)

[bin/hgTracks?hgtgroup_map_close=0&hgtgroup_genes_close=0&hgtgroup_rna_close=0&hgtgroup_regulation_close=0&hgtgroup_assembly_close=0&hgside=69715_5uEAztFlj0qCx310CTXrTpTbcU5J&position=NPY2R&hgt.positionInput=NPY2R&hgt.jump=go&db=ambMex60DD&c=chr1p&l=999&r=2000&pix=950&dinkL=2.0&dinkR=2.0](https://genome.axolotl-omics.org/cgi-bin/hgTracks?hgtgroup_map_close=0&hgtgroup_genes_close=0&hgtgroup_rna_close=0&hgtgroup_regulation_close=0&hgtgroup_assembly_close=0&hgside=69715_5uEAztFlj0qCx310CTXrTpTbcU5J&position=NPY2R&hgt.positionInput=NPY2R&hgt.jump=go&db=ambMex60DD&c=chr1p&l=999&r=2000&pix=950&dinkL=2.0&dinkR=2.0)

Male female sex differentiation

[https://ambystoma.uky.edu/genetic-stock-center/newsletters/Issues-2016-](https://ambystoma.uky.edu/genetic-stock-center/newsletters/Issues-2016-2018/Axolotl_Newsletter_2017.pdf)

[2018/Axolotl_Newsletter_2017.pdf](https://ambystoma.uky.edu/genetic-stock-center/newsletters/Issues-2016-2018/Axolotl_Newsletter_2017.pdf)

＜ウーパールーパー研究報告＞

成長に不可欠な因子の探索・次世代の表現型解析 (23/2/8)

著: 杉山 遥 (Ph.D; 詳細調査・本記事の主な執筆者)^{1*, **}

所属: ¹ウーパールーパー研究室はるらぼ

詳細: *主任研究者 **責任著者

当ラボでは過去に、アホロートルの成長に重要な因子の特定を目指した解析を実施した。[1] 特に、ミネラル含有水飼育法 (ミネ水; 0.3%の汽水による飼育) による顕著な成長促進効果は、他の複数の飼育者の方々からも同様の効果の報告を得ており、非常に有効であることが明らかになった。[1, 2]

更に、22 年末に、この汽水飼育を開始した個体達の次世代 (完全汽水飼育系統としての第一世代; “今後は〇〇飼育手法の次世代” と呼称する) が孵化したことから、それらの個体達を調査することで、過去に淡水飼育系統→汽水飼育を実施した親個体の情報がどのように子孫に継承されるのかを今後継続して調査していきたいと計画している。

以下、孵化後 50 日間の途中結果について報告したいと思う。



参考写真: 汽水飼育 (ミネ水飼育法) 個体の次世代の育成 (202212/12～)

22/12/15 孵化が完了した個体たち (0.3%汽水+ヒト成長因子)。



次世代個体には後世遺伝的 (エピジェネティック) な情報の伝達が起こっているか？

孵化後 50 日目の個体間で比較を行った結果を以下に示す(図 1)。

成長率に関しては、

(B) ブラック 0.3% 汽水+ヒト成長因子

> (D) アルビノ 0.3% 汽水+牡蠣エキス+グルタミン酸ナトリウム

> (C) マーブル 0.3% 汽水+牡蠣エキス

> (A) リューシ 0.3% 汽水

のようになった。この結果を踏まえ、系統による差である可能性を考慮し、同条件の他の個体を同数ずつ、10 個体ずつの体長を測定し平均値を算出後、体長比較を行った(図 2)。

検討の結果、系統間の差を踏まえた上で、上記と殆ど一致するという傾向が見られた。

更に、対照条件 (Ref.1~3) と比較したところ、淡水飼育下では初代と次世代間にもあまり差が見られなかった一方で、汽水飼育では次世代がやや大きいものの、こちらも顕著な差は見られなかった。

現状の結果では、初代の汽水飼育による表現型が後世的に遺伝しているか否かについては明言できないため、今後も継続的な成長率に関する調査が必要である。

また、成長率を正確に判断するためにも、幾つかの対照条件を設定し、体長の近い個体同士で成長率を比較するなど、比較方法は複数設定しつつ慎重に解析を進めていく予定である。

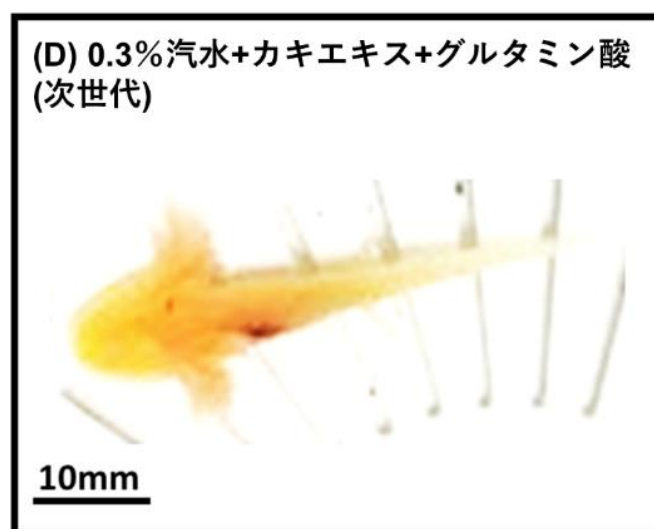
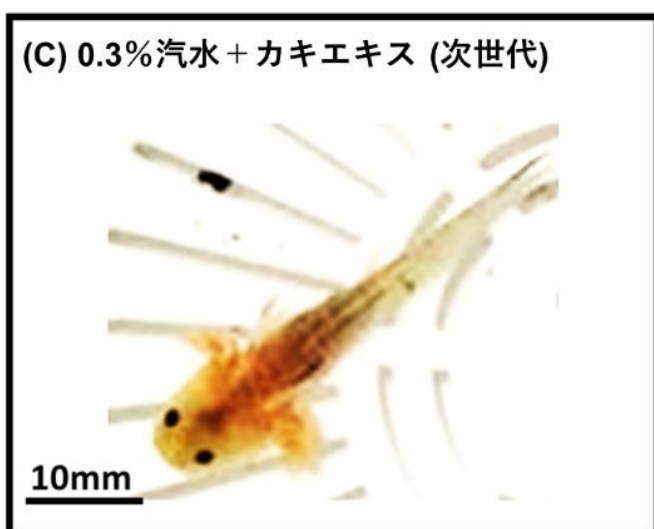
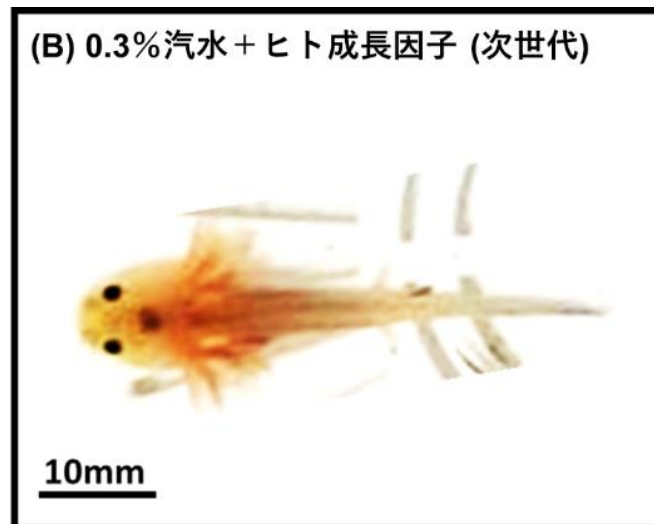
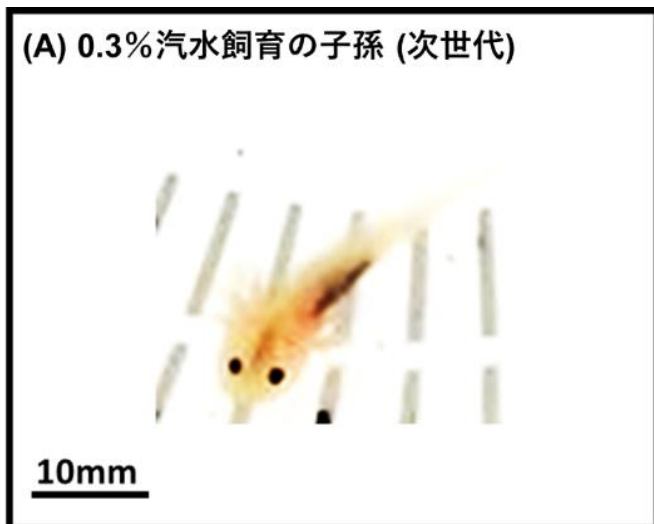


図 1: 栄養素調査個体の次世代の成長率比較

- (A) 0.3% 汽水
- (B) 0.3% 汽水+ヒト成長因子
- (C) 0.3% 汽水+牡蠣エキス
- (D) 0.3% 汽水+牡蠣エキス+グルタミン酸ナトリウム

いずれも淡水で飼育 18~20℃で 50 日間飼育.

※ 全てオス個体 (配列確認). 組織片から確認. [3]

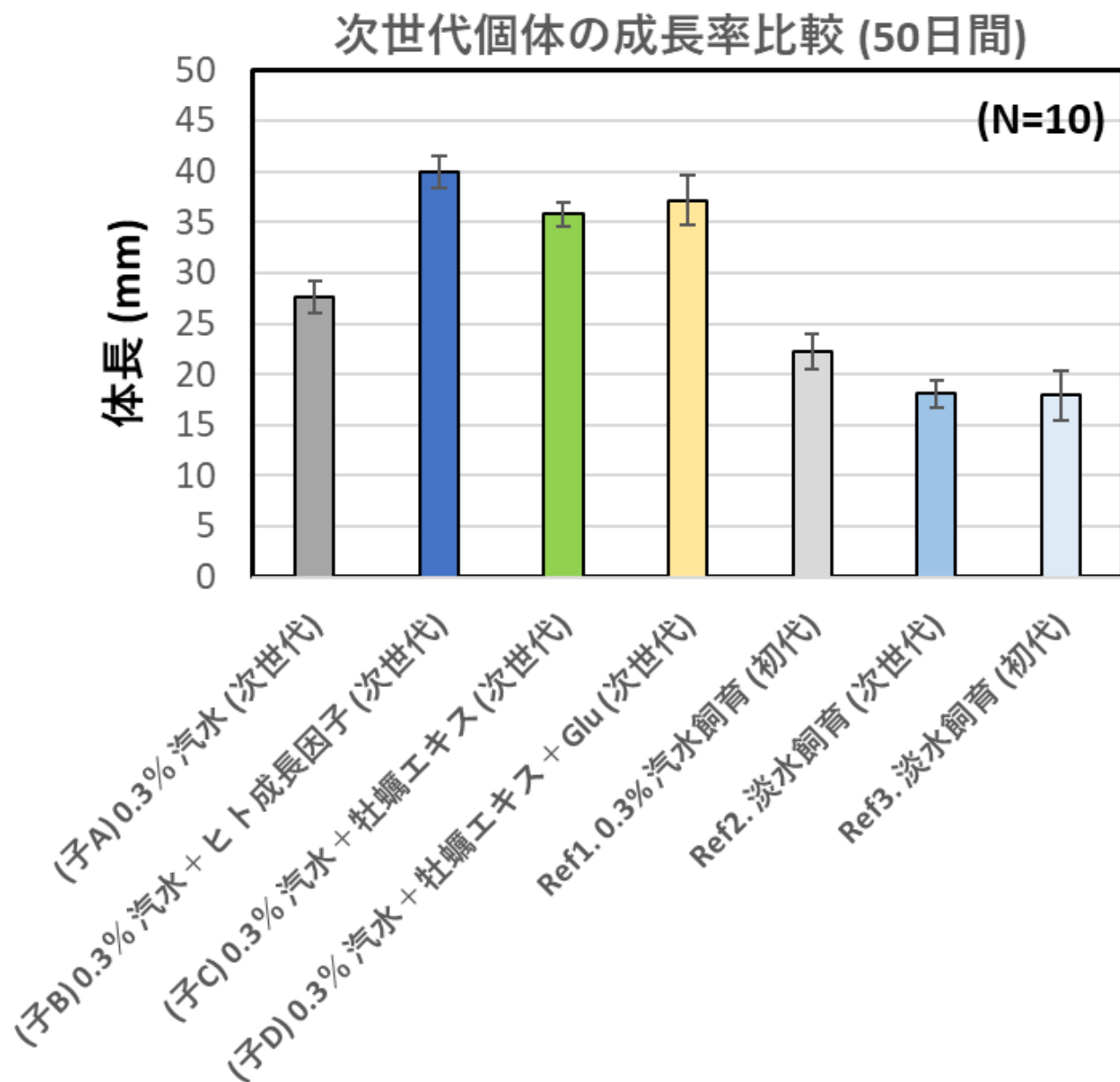


図 2: 次世代個体と初代個体との体長比較 (mm)

- (子 A) 0.3% 汽水 (次世代)
- (子 B) 0.3% 汽水 + ヒト成長因子 (次世代)
- (子 C) 0.3% 汽水 + 牡蠣エキス (次世代)
- (子 D) 0.3% 汽水 + 牡蠣エキス + Glu (次世代)
- Ref1. 0.3% 汽水飼育 (初代)
- Ref2. 淡水飼育 (次世代)
- Ref3. 淡水飼育 (初代)

※ いずれも淡水で飼育 18~20℃で 60 日間飼育. (N=10)

※ 系統間の成長速度の違いも考慮し、リュウシ、マーブル、ブラック、アルビノを 同数ずつ測定・比較した。

※ 成長率の比較は、開始時の体長をなるべく揃えた上で実施していく予定。

※ 全てオス個体 (配列確認). 組織片から確認. [3]

参考文献

※ 杉山の文献 [1, 2] は、Reserchmap の 杉山 遥 https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl/ にて閲覧可能。

1). メキシコサンショウウオの成長・生育を制御する因子の探索.

杉山 遥; はるらぼ会報誌・ウーパールーパーだより vol 1.0, 1.2, 1.3 2022 年 4 月

2). アホロートルの飼育・治療最新情報

杉山 遥; 2022 年 12 月

3). 遺伝子解析による幼ウーパールーパーの性別確認について

Axolotl Newsletter of the Ambystoma Genetic Stock Center_Department of Neuroscience & Spinal Cord and Brain Injury Research Center_University of Kentucky. 2017 Issue 2.

https://ambystoma.uky.edu/genetic-stock-center/newsletters/Issues-2016-2018/Axolotl_Newsletter_2017.pdf



奥付

総説: ウーパールーパー / 虫・魚の飼育係 ～飼育の最新情報・学術データまとめ～

発行日・・・ 2023/2/25 (230310, 230312, 230326, 230405, 230419 改訂)

編集・著者 杉山 遥 (PN; Ph.D)

表紙写真撮影者 杉山 遥

※ 杉山 遥 研究者ポータルサイト Researchmap: https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl

発行元 ウーパールーパー研究室_はるらぼ, HAL_Lab_Axolotl

問い合わせ先 sugiyama.haruka.axolotl@gmail.com または Twitter の DM へ

Twitter URL : https://twitter.com/lab_new2 (@lab_new2)

良く学び、良く知ろう。

by 杉山 遥

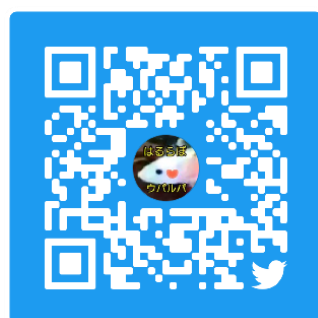


ウーパールーパー研究室・はるらぼ

sugiyama.haruka.axolotl@gmail.com

since 2020～ (@lab_new2)

Twitter: https://twitter.com/lab_new2



※注意

本誌の許可なき改変・商業利用は、
我々は一切認めておりません。

