

昭和 59 年 度

特定研究開発促進事業

**初期餌料の培養技術向上に
関する研究報告書－Ⅳ**

昭和 60 年 11 月

石 川 県 増 殖 試 験 場

目 次

I 培養水深に併なうテトラセルミスの増殖変化	1
II テトラセルミスを餌料にしたワムシの産仔数	5
III 濃縮凍結クロレラを餌料としてのワムシ増殖試験	11
IV 系統別ワムシの増殖特性の究明	15

<担 当 者>

石川県増殖試験場.....生産第1科

技 師 杉 本 洋 (主担当)

“ 石 中 健 一

“ 沢 矢 隆 之

科 長 田 島 迪 生

<協力機関>

長崎県水産試験場増殖研究所

熊本県水産試験場大矢野支場

広島県水産試験場

神奈川県淡水増殖試験場

<助言指導>

養殖研究所、遺伝育種部育種研究室

ワムシの安定大量培養技術の研究を目的として、56年度はワムシ増殖の基礎となる産仔数の実験を行い、処女生殖個体および両性生殖個体の各水温での産仔数、生存日数（寿命）を明らかにした。また植え継ぎ培養は現時点での培養技法としては安定性が高いことを確認した。57年度はワムシの摂餌量試験、系統別の増殖特性の究明試験、さらにクロレラに替る餌料としてのテトラセルミスの研究を行い、テトラセルミスはワムシ餌料として有効であると結論づけた。58年度はテトラセルミスの研究を引き続き行い、テトラセルミスの増殖への水温と施肥量の影響、ワムシ接種時のテトラセルミスの必要量を明らかにした。またクロレラ培養槽に出現するプロトゾアの塩素による除去試験を行い、プロトゾアの除去には、次亜塩素酸ナトリウムが有効であることを明らかにした。

本年度はテトラセルミスの増殖と照度の関係、テトラセルミスを経料としたワムシの産仔数、濃縮凍結クロレラのワムシ餌料としての有効性、ならびに共通テーマ「系統別ワムシの増殖特性の究明」について研究を、その結果を報告する。

I 培養水深に伴うテトラセルミスの増殖変化

テトラセルミスの増殖に及ぼす照度の影響を知るため、遮光した同一容器を用い、水深別の培養実験を試みた。

〔材料と方法〕

1) 試験区の設定

1トンポリカーボネイト水槽の外壁を農業用黒色ビニールで覆い、培養水深70cm、50cm、30cmを各2区、計6区を設定した、各区とも接種時のテトラセルミスの濃度は約10万セル/mlとし、φ30mm、長さ50mmのエアーストーン1個を配置し通気した。また実験は屋内で行った。

2) 施肥量

硫安100g、過磷酸石灰15g、尿素10g、クレワット2gを接種時にのみ施肥した。

3) 測定

個体数の計数はトーマ血球算定盤により毎日行った。また同時に水温および照度を測定した。

4) 期間

昭和59年10月4日～18日

〔結果と考察〕

テトラセルミスの個体数の測定結果および照度の測定値を表1、図1に示した。水深を70cmに設定した区においてテトラセルミスの増殖率の最大時は培養後8～10日目であり、その後は減少傾向を示し、最大時の増殖率は267%および411%（平均339%）であった。一方、水深50cmおよび30cm設定区とも、実験期間中、常に増殖傾向を示した。したがって、実験終了時を最大時とすると、増殖率は、水深50cm設定区で480%および538%（平均509%）、水深30cm設定区で590%および700%（平均645%）であり、水深30cm設定区の方が高い増殖率を示した。

各設定区の増殖傾向に変化が生ずるのは、培養5日目ごろからであり、その後は、水深30cm設定区、50cm設定区、70cm設定区の順に増殖率が高かった。以上のことから、短期間の培養では照度を考慮する必要は少ないが、長期間の培養に際しては、照度が高い方が有利と考えられる。

表1 テトラセルミスの水深別増殖量

水深 日数	70 cm		50 cm		30 cm		照度 lux
	1	1'	2	2'	3	3'	
セット時	9万セル/ml	12万セル/ml	10万セル/ml	8万セル/ml	9万セル/ml	11万セル/ml	8,600
1日	12	12	15	9	13	12	8,600
2日	14	12	15	17	16	15	12,000
3日	12	14	18	17	18	17	12,200
4日	27	23	26	22	24	28	14,000
5日	31	25	33	34	35	36	18,000
6日	31	26	32	33	36	37	14,000
7日	34	27	37	32	37	41	12,000
8日	34	30	36	36	40	42	16,000
9日	36	32	40	36	51	50	4,800
10日	34	30	38	41	53	52	7,400
11日	37	25	43	36	57	57	22,000
12日	33	16	40	42	62	55	18,000
13日	26	15	44	37	63	61	16,000
14日	14	8	48	40	63	54	8,600
15日	4	6	44	43	59	65	5,200
平均水温 最高-最底	18.6℃ 21.6~16.6	18.4℃ 21.3~16.6	18.2℃ 21.2~16.2	18.0℃ 21.1~16.2	17.9℃ 20.8~15.4	17.7℃ 20.8~15.4	平均照度 最大-最小
* 増殖率	411%	267%	480%	538%	700%	590%	12,333 22,000 4,800
体積1㎡当りの 受光面積	1.54㎡		2.00㎡		5.13㎡		

*細胞数が最大になった時の値

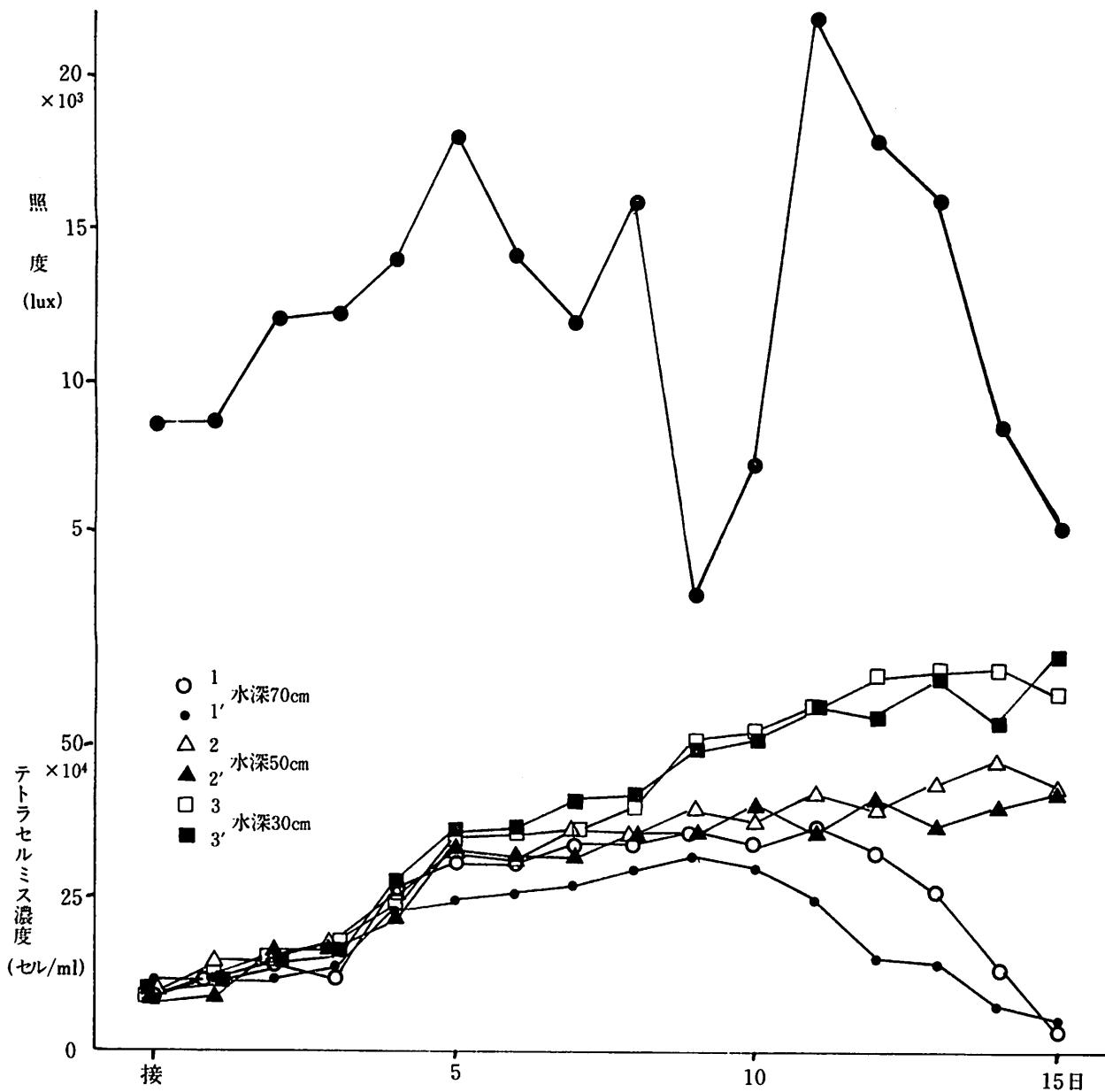


図1 テトラセルミスの水深別増殖量

II テトラセルミスを餌料としたワムシの産仔数

テトラセルミスのワムシ餌料としての有効性を調べるため、ワムシにテトラセルミスおよび海産クロレラを給餌し、ワムシの産仔数、生存日数（寿命）、背甲長を調べた。

〔材料と方法〕

1) 供試ワムシ

石川県産培養ワムシ（L型、平均背甲長 251 μ ）

2) 餌 料

実験に使用したテトラセルミスは 25 万～30 万セル/ml であり、海産クロレラは 1,500 万～2,400 万セル/ml であった。

3) 実験方法

実験には餌料別に用意した 0.5 ml 容マイクロプレートを用いた。1 列、各ホールに餌料を 0.3 ml 入れ、それぞれに携卵ワムシを 1 個体収容し、12～24 時間後に孵化仔虫 1 尾のみ取り出し、次列のホールへ移し変えた。その後、24 時間毎に検鏡し（当初 12 時間毎に行ったが、24 時間経過後も、調査個体と仔虫が識別可能なため）産仔数、携卵数、離卵数を測定した後、親虫（携卵も含む）のみを取り出し、次列のホールへ移し入れる実験を繰り返した。各試験区とも、操作上の失敗で死亡あるいは不明となった際、新たに仔虫を接種し、20 例の結果が得られるまで実験した。なお実験は、20℃に設定した恒温器内で行った。

4) 期 間

昭和 59 年 9 月 17 日～11 月 2 日

〔結果と考察〕

◎ 結 果

テトラセルミス給餌区および海産クロレラ給餌区の産仔状況を表 1～2 に、日別産仔数の推移を図 1、平均産仔数の推移を図 2、総産仔数の推移を図 3 に、生存状況を図 4 に、またワムシ背甲長（実験開始時と実験中）を図 5 に示した。

1) 生存日数

生存日数はテトラセルミス給餌区で 9～17 日（平均 12.35 日）、海産クロレラ給餌区で 12～16 日（平均 14.3 日）であり、海産クロレラ給餌区の方がワムシの寿命が長い傾向がみられた。

2) 産 仔 数

ワムシ 1 個体当たりの産仔数は、テトラセルミス給餌区で 18～32 個体（平均 21.5 個体）、海産クロレラ給餌区で 14～26 個体（平均 20.55 個体）であり、テトラセルミス給餌区の方がやや多かった。なお、ワムシ 1 個体当たりの産仔数が最高になるのは、テトラセルミス給餌区で 6 日目の 3.15（平均）、海産クロレラ給餌区で 8 日目の 2.5（平均）であり、テトラセルミス給餌区の方が早期に多くの仔虫を産出することが明らかになった。

3) 背甲長

擲卵個体の背甲長は、実験開始時で 240 ~ 280 μ (平均 252.5 μ) であったのに対し、7 日後では、テトラセルミス給餌区で 260 ~ 360 μ (平均 323.5 μ)、海産クロレラ給餌区で 240 ~ 280 μ (平均 260 μ) となり、テトラセルミスの給餌により L 型ワムシが大型化することが明らかになった。

◎ 考 察

テトラセルミスならびに海産クロレラを餌料としたワムシの産仔数、生存日数、卵数および背甲長を測定した結果、テトラセルミスを経験した方が産仔数が最大になるのが早く (6 日目) かつ多量である傾向がみられたが、寿命は逆に短くなった。したがって、5 ~ 6 日間隔の植え継ぎ培養の餌料としては、テトラセルミスは有効であると考えられる。しかし、長期培養、特に間引き培養においては、テトラセルミスの給餌によるワムシの大型化が考えられ、水産動物の餌料として用いる際、対象生物への十分な配慮が必要である。

産仔数 日数	産仔数						親虫 計	平均 産仔数	日毎の 総産仔数	産仔数の割合 (%)					
	0	1	2	3	4	5				0	1	2	3	4	5
1	20						20	0	0	100					
2	20						20	0	0	100					
3	17	1	2				20	0.15	3	85	5	10			
4	2	3	9	4	2		20	2.05	41	10	15	45	20	10	
5		1	7	9	3		20	2.7	54		5	35	45	15	
6			5	8	6	1	20	3.15	63			25	40	30	5
7		1	4	8	7		20	3.05	61		5	20	40	35	
8		1	6	8	5		20	2.85	57		5	30	40	25	
9			2	6	8	4	20	2.7	54		10	30	40	20	
10	1	6	3	5	3		18	2.16	39	5	33	17	28	17	
11	1	11	2	2	1		17	1.47	25	6	64	12	12	6	
12	1	7	3	1			12	1.33	16	8	59	25	8		
13	2	1	2		1		6	1.5	9	33	17	33		17	
14	3			1			4	0.75	3	75			25		
15	3			1			4	0.75	3	75			25		
16	4						4	0	0	100					
17	2						2	0	0	100					

表1 - テトラセルミスを餌料にした時の産仔状況

産仔数 日数	産仔数						親虫 計	平均 産仔数	日毎の 総産仔数	産仔数の割合 (%)					
	0	1	2	3	4	5				0	1	2	3	4	5
1	20						20	0	0	100					
2	20						20	0	0	100					
3	17	3					20	0.15	3	85	15				
4	6	8	6				20	1	20	30	40	30			
5	2	3	10	5			20	1.9	38	10	15	50	25		
6		4	12	4			20	2.0	40		20	60	20		
7		2	8	10			20	2.4	48		10	40	50		
8		1	8	11			20	2.5	50		5	40	55		
9		4	9	6	1		20	2.2	44		20	45	30	5	
10	1	5	7	7			20	2.0	40	5	25	35	35		
11	2	4	11	2		1	20	1.85	37	10	20	55	10		5
12	2	13	3	2			20	1.25	25	10	65	15	10		
13	4	7	6				17	0.95	19	24	41	35			
14	3	9	2	1			15	1.07	16	20	60	13	7		
15	4	5	1				10	0.7	7	40	50	10			
16	1	1	2				4	1.25	5	25	25	50			

表2 - 海産クロレラを餌料にした時の産仔状況

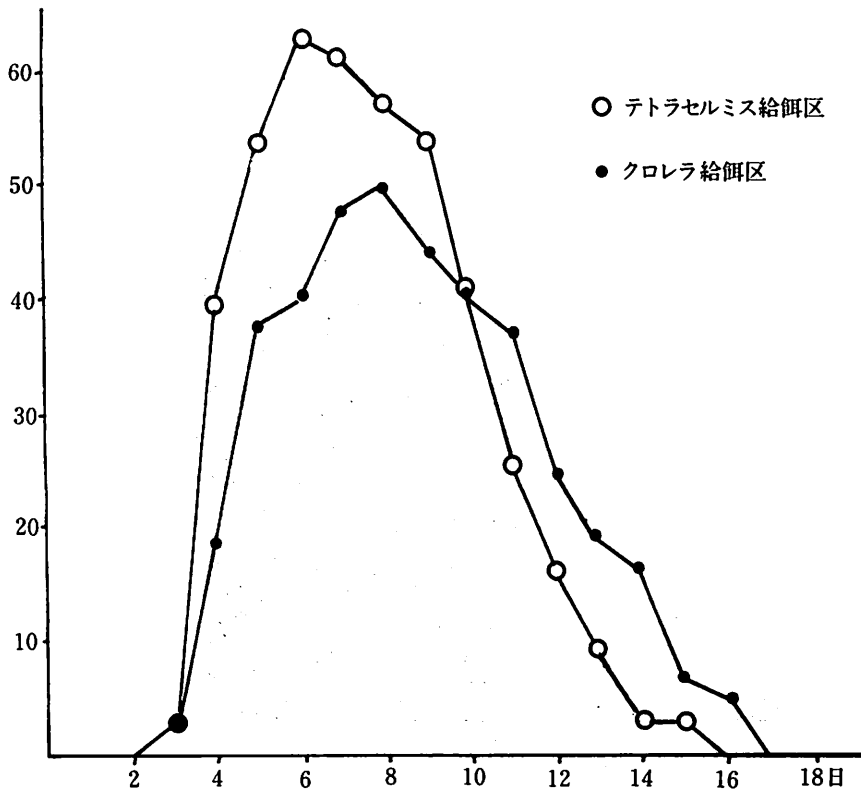


図1 日別総産仔数の推移

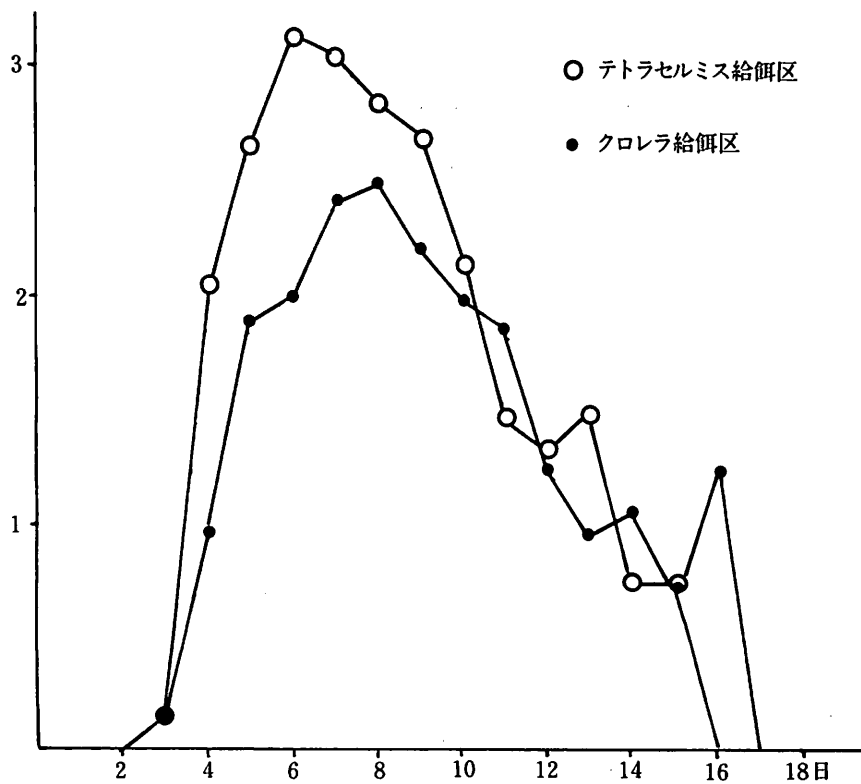


図2 平均産仔数の推移

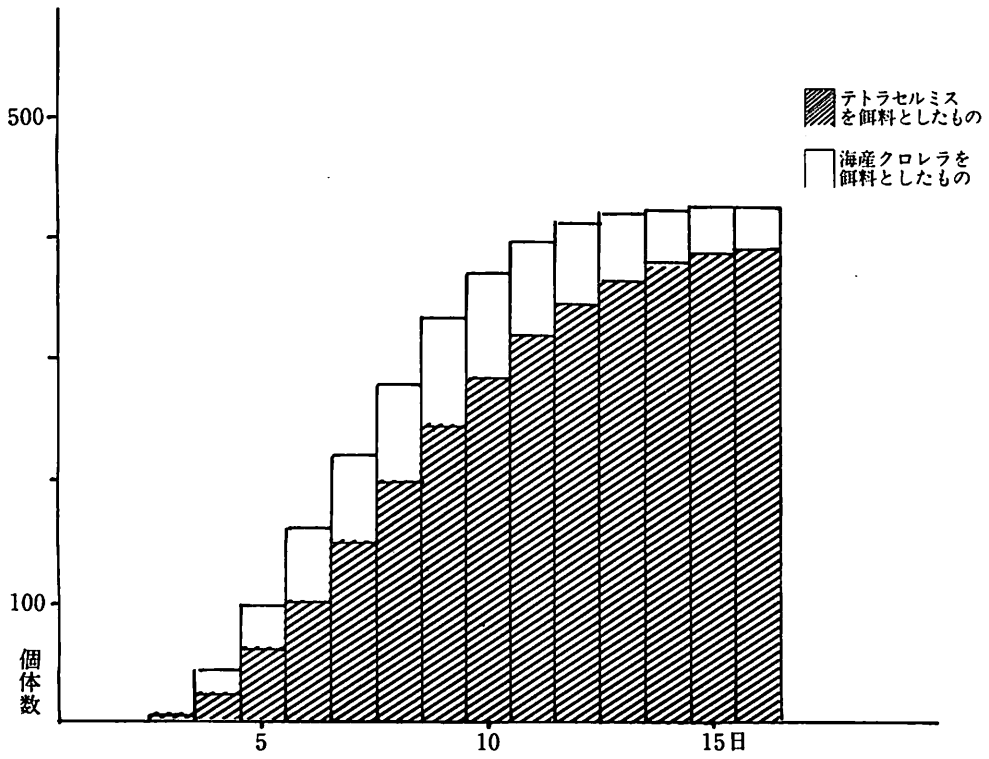


図3 総産仔数の推移

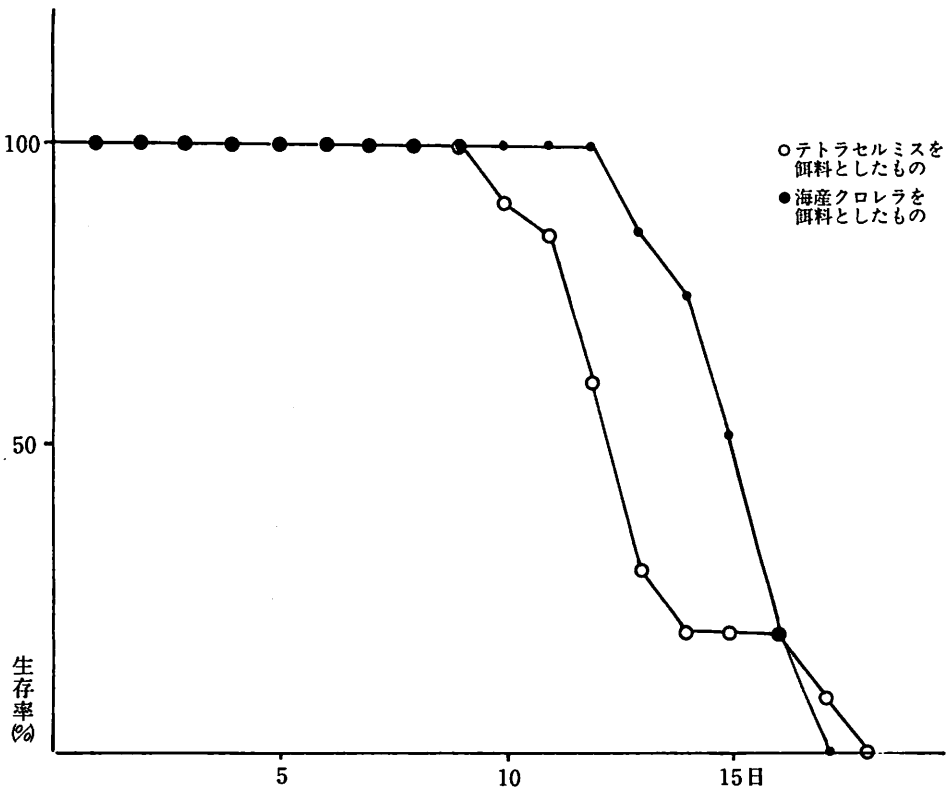


図4 ワムシ生存状況

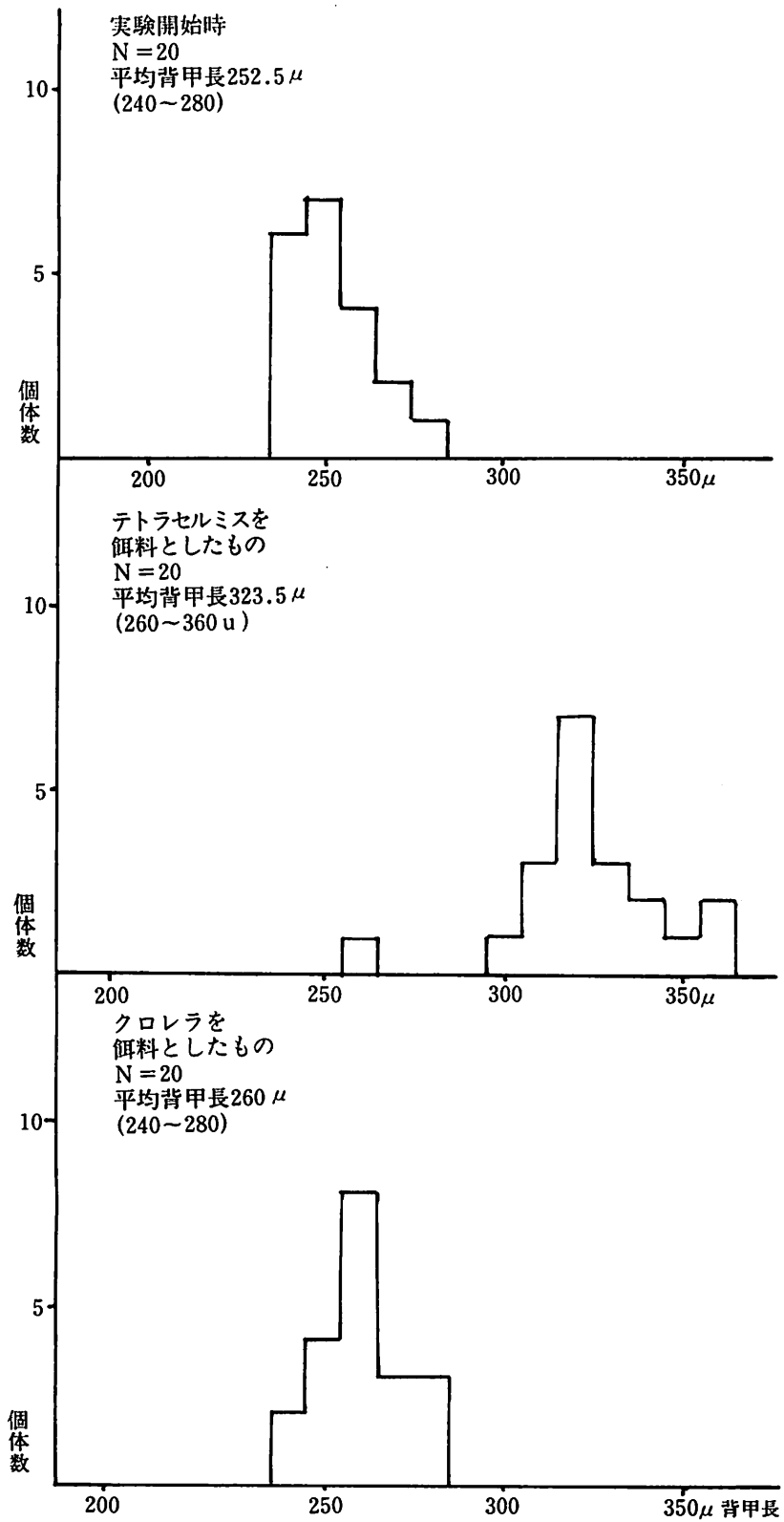


図 5 ワムシ背甲長

Ⅲ 濃縮凍結クロレラを餌料としてのワムシ増殖試験

クロレラ濃縮装置がある場合、あらかじめ多量の濃縮クロレラを生産・凍結保存し、水産動物の種苗生産時に海産あるいは淡水産クロレラの代用として使用することは、餌料培養の安定や作業の簡素化に有意である。そこで餌料としての濃縮凍結クロレラのL型ワムシへの適応性を知るため以下の実験を行った。

〔材料と方法〕

1) 供試ワムシ

接種前2日間無給餌の石川県産培養ワムシ(L型、平均背甲長245 μ)

2) 試験区と餌料

実験には100 ℓ ポリカーボネイト水槽を使用した。また、濃縮凍結クロレラは、当场で培養し海産クロレラを日本栽培漁業協会能登島事業所で濃縮し凍結保存したものをを用いた。この濃縮凍結クロレラは100 g を100 ℓ の海水に溶解すると2,400万セル/mlの濃度となった。

ワムシ接種時の各試験区での濃縮凍結クロレラと海産クロレラの投餌量比は、1区凍結クロレラ単独、2区5:5、3区3:7、4区(対照区)海産クロレラ単独とし、各区ともクロレラ濃度2,200万~2,400万セル/mlとなるようにした。また、ワムシ接種量は各区とも100個体/mlとし、接種翌日より1日1回午前にワムシ計数を行い、餌料の不足分を1日数回に分けて補給した。補給した餌料の種類と量は、ワムシ100個体に対し、1区濃縮凍結クロレラ1.25 g 、2区濃縮凍結クロレラ0.5 g とパン酵母0.6 g 、3区濃縮凍結クロレラ0.375 g とパン酵母1.05 g 、4区パン酵母1.5 g であった。

3) 期 間

昭和59年9月25日~10月19日

〔結果と考察〕

培養結果を表1、図1に、また背甲長を図2に示した。1回目の実験での増殖率は300~371.1%であり、2区-1区-4区-3区の順に高い。2回目の実験では増殖率が216~332%であり、2区-3区-1区-4区の順に高い値を示している。3回目の実験では増殖率は144.3~172.5%で、1区-2区-4区-3区の順に高かった。すなわち、2区が全般に高い増殖率を示し、1区は4区より3回とも高い増殖率を示した。次に、背甲長は、実験開始時220~280 μ (平均244.5 μ)に対し、終了時には、1区が230~320 μ (平均265 μ)、4区が240~320 μ (平均265.5 μ)とともに同程度大きくなった。このことから、濃縮凍結クロレラ単独によるワムシ培養は、従来の海産クロレラとパン酵母併用による培養に劣ることはなく、また、濃縮凍結クロレラと海産クロレラの併用によるワムシ培養も有効であると考えられる。

表1 濃縮凍結クロレラを用いたワムシの増殖

項目	日数	セット時	1回目	2回目	3回目	4回目	増殖率	平均水温
		個体/ml(卵数)卵率	個体/ml(卵数)卵率	個体/ml(卵数)卵率	個体/ml(卵数)卵率	個体/ml(卵数)卵率		
第1回	1区 注1	73 (26) 35.6%	106 (47) 44.3%	149 (70) 47.0%	224 (110) 49.1%	266 (72) 27.1%	364.4%	22.3℃
	2区 注2	76 (26) 34.2	98 (46) 46.9	143 (82) 57.3	243 (110) 45.3	282 (73) 25.9	371.1	21.9
	3区 注3	94 (49) 52.1	106 (53) 50.0	149 (74) 50.0	282 (99) 34.4	265 (98) 37.0	300.0	21.9
	4区 注4	88 (15) 17.0	109 (63) 57.8	149 (84) 56.4	273 (93) 34.1	300 (92) 30.7	340.9	22.0
第2回	1区	98 (21) 21.4	129 (43) 33.3	156 (36) 23.1	236 (84) 35.6	268 (75) 28.0	273.5	17.6
	2区	86 (17) 19.8	132 (53) 40.2	142 (50) 35.2	174 (94) 54.0	286 (169) 59.1	332.6	17.5
	3区	92 (22) 23.9	128 (82) 64.1	148 (63) 42.6	248 (98) 39.5	253 (73) 28.9	275.0	17.5
	4区	106 (21) 19.8	137 (87) 63.5	150 (60) 40.0	185 (58) 31.4	227 (70) 30.6	216.0	17.5
第3回	1区	80 (15) 18.8	115 (31) 27.0	125 (30) 24.0	95 (43) 45.3	138 (29) 21.0	172.5	17.5
	2区	87 (16) 18.4	98 (25) 25.5	125 (59) 47.2	101 (48) 47.5	135 (28) 20.7	155.2	17.5
	3区	79 (9) 11.4	77 (26) 33.8	102 (60) 58.8	99 (56) 56.6	114 (25) 21.9	144.3	17.5
	4区	90 (18) 20.0	105 (32) 30.5	130 (69) 53.1	105 (23) 21.9	125 (36) 28.8	144.4	17.5

注1：濃縮凍結クロレラ単独給餌区

注2：接種時濃縮凍結クロレラ50%、クロレラ50%、給餌濃縮凍結クロレラ50%、パン酵母50%

注3：接種時、濃縮凍結クロレラ30%クロレラ70%、給餌、濃縮凍結クロレラ30%パン酵母70%

注4：接種時、クロレラ100%、給餌パン酵母100%

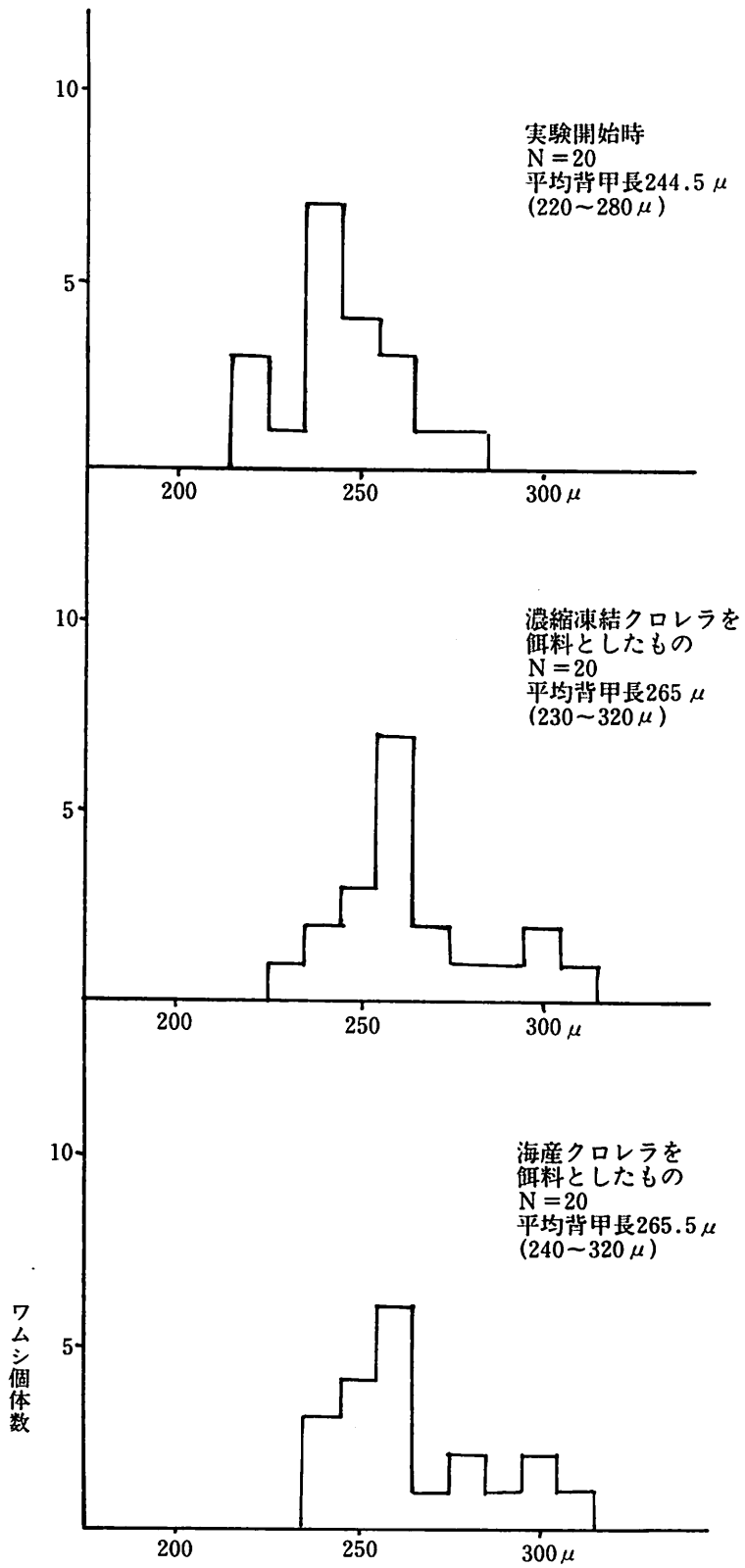


図2 ワムシ背甲長

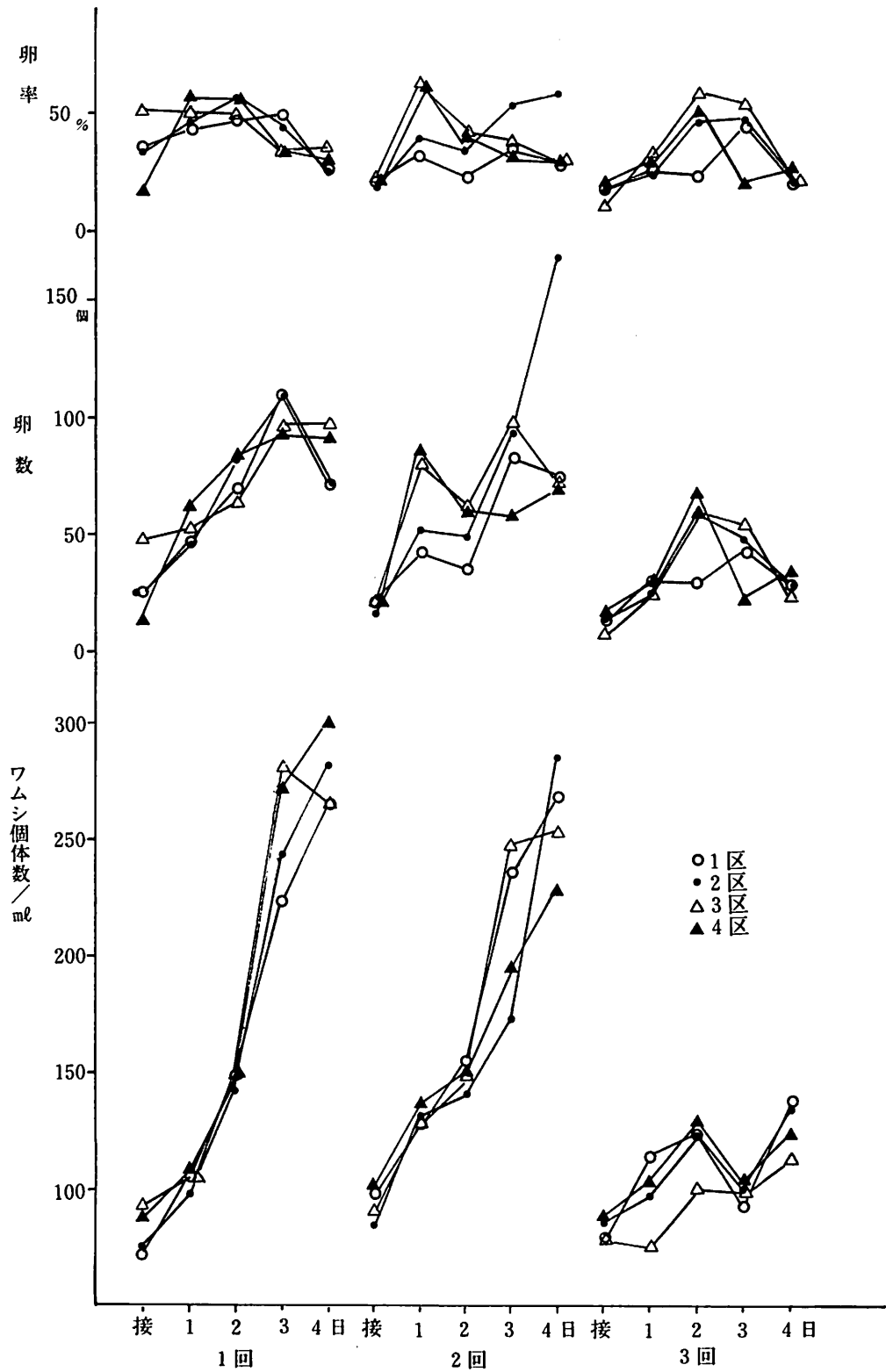


図1 濃縮凍結クロレラを用いたワムシの増殖

Ⅳ 系統別ワムシの増殖特性の究明

魚類種苗生産の初期において、小型ワムシが有用な場合がある。本年度は、S型ワムシの水温別の増殖特性をみるため、L型ワムシとの比較実験を行った。

〔材料と方法〕

1) 供試ワムシ

S型ワムシ(野生種, 平均背甲長 163.2 μ)は養殖研究所より9月に入手し、10月まで培養したものを、また、L型ワムシ(平均背甲長 274.6 μ)は石川県産培養ワムシを実験に用いた。

2) 試験区の設定

実験には、30ℓポリカーボネイト水槽を使用した。水温はサーモスタットとヒーターを用いて、20℃、24℃、28℃に設定し、各2区、計6区とし、 ϕ 30mm、長さ50mmのエアストーンで通気した。なお、S型ワムシは野生種であったので、海水を淡水で希釈し海水濃度60%で培養した。

3) 餌料

ワムシの接種時に、30万～35万セル/mlのテトラセルミス、摂餌後は、1個体当たり1.0万～2.0万セルのパン酵母を給餌した。

4) 期間

昭和59年10月15日～30日

〔結果と考察〕

培養結果を表1、図1～2に、またワムシ背甲長を図3～4に示した。

両種の最大増殖率は、28℃培養でS型405.6%、620.0%(平均512.5%)、L型209.1%、430.2%(平均319.7%)とS型の方が高く、20℃培養ではS型153.3%、119.9%(平均136.6%)、L型193.8%、210.5%(平均202.2%)、24℃培養ではS型220.7%、367.8%(平均294.3%)L型340.2%、492.6%(平均416.4%)でありL型の方が高い傾向がみられ、且つS型では28℃がL型では24℃が最も高い増殖率を示した。したがって、S型ワムシの培養の際には28℃前後の、またL型ワムシの培養の際には24℃前後の、温度設定が有効であると推察される。

一方、実験開始時と実験終了時の各区のワムシ背甲長は、S型で実験開始時140～160 μ (平均163 μ)が、20℃区150～200 μ (平均174 μ)、24℃区160～190 μ (平均174.5 μ)、28℃区160～200 μ (平均175 μ)、と全般に大きくなり、L型では実験開始時240～310 μ (平均273.5 μ)が、20℃区230～310 μ (平均265 μ)、24℃240～300 μ (平均263.5 μ)、28℃区220～280 μ (平均249 μ)と全般に小さくなる傾向がみられ、特に28℃区で顕著であった。

なお、S型ワムシは、当初生海水で培養を行ったが増殖がみられず、60%海水中で培養した結果、増殖傾向を示したことを付記する。したがって、この供試ワムシを使用する際には、塩分濃度による適応試験を行う必要があると考えられる。

表1 S型ワムシとL型ワムシの水溫別増殖比較試験

形態	S 型						L 型					
	20 °C		24 °C		28 °C		20 °C		24 °C		28 °C	
区	1 個体(卵)/ml	1' 個体(卵)/ml	2 個体(卵)/ml	2' 個体(卵)/ml	3 個体(卵)/ml	3' 個体(卵)/ml	1 個体(卵)/ml	1' 個体(卵)/ml	2 個体(卵)/ml	2' 個体(卵)/ml	3 個体(卵)/ml	3' 個体(卵)/ml
セット時	92 (26)	92 (26)	111 (41)	84 (26)	72 (27)	75 (20)	97 (52)	86 (41)	87 (48)	68 (30)	88 (32)	63 (27)
1日	69 (28)	68 (30)	76 (45)	70 (32)	96 (67)	88 (70)	70 (27)	81 (39)	84 (50)	107 (68)	88 (66)	98 (61)
2日	88 (78)	79 (60)	159 (122)	135 (57)	140 (40)	249 (108)	105 (52)	127 (81)	178 (51)	176 (51)	144 (22)	237 (38)
3日	100 (44)	110 (68)	258 (114)	226 (75)	238 (66)	465 (69)	182 (51)	181 (82)	265 (127)	282 (152)	184 (68)	271 (62)
4日	141 (79)	109 (54)	245 (9)	309 (121)	292 (128)	405 (120)	186 (65)	158 (68)	296 (138)	335 (127)	106 (25)	246 (108)
*増殖率	153.3%	119.9%	220.7%	367.8%	405.6%	620.0%	193.8%	210.5%	340.2%	492.6%	209.1%	430.2%
平均水溫 最高-最底	19.7°C 21.0~17.2		24.2°C 25.2~23.0		28.9°C 29.8~26.0		19.9°C 21.8~17.2		24.1°C 24.8~23.4		28.9°C 31.0~25.2	

* 個体数が最大になった時の値

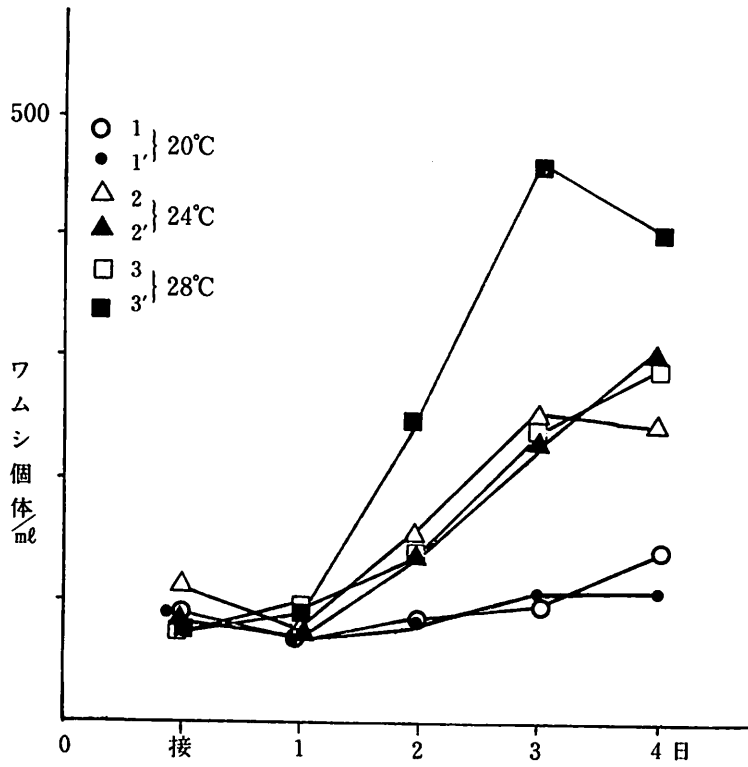


図1 S型ワムシの水温別増殖

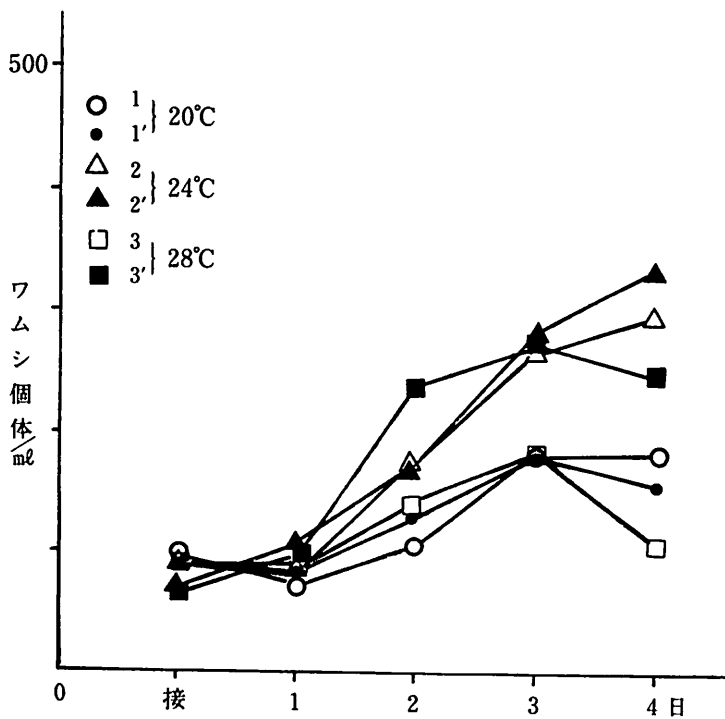


図2 L型ワムシの水温別増殖

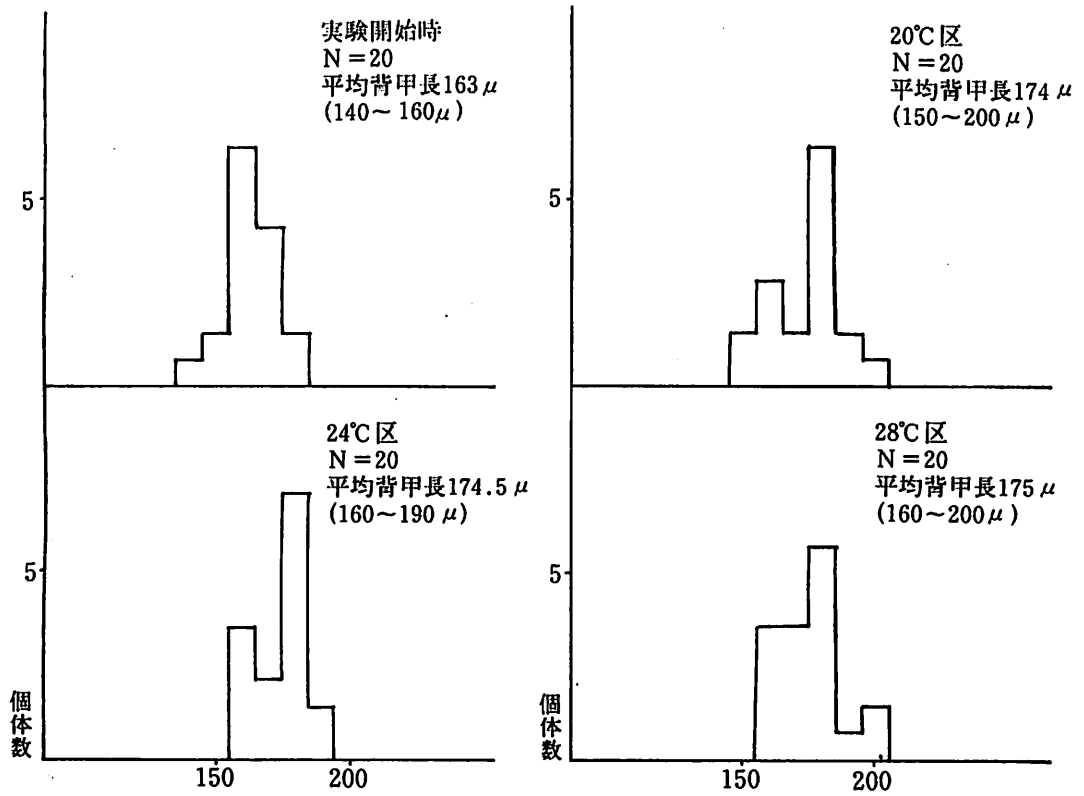


図3 S型ワムシ背甲長

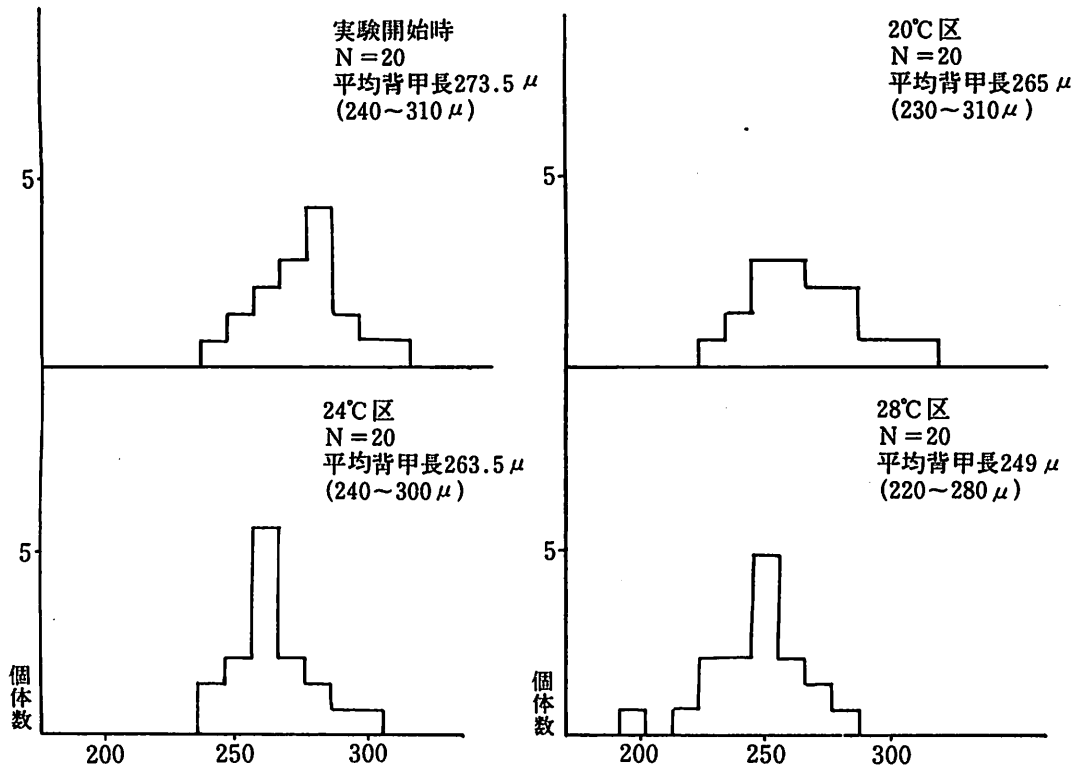


図4 L型ワムシ背甲長