

石川県増試資料29号

昭和60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—V**

昭和61年8月

石川県増殖試験場

目 次

I	テトラセルミスの炭酸ガスおよび栄養塩要求	1
II	濃縮凍結クロレラを餌料としたワムシの産仔数	15
III	濃縮凍結クロレラを餌料としてのワムシの増殖試験	21
IV	冬期におけるクロレラの増殖	25

<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養殖研究所

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に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。57年度はワムシの摂餌料試験、系統別ワムシ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ことを明らかにした。58年度は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、次亜鉛素酸ナトリウムが有効であることを明らかにした。59年度はテトラセルミスの増殖と照度の関係、テトラセルミスを餌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「系統別ワムシの増殖特性の究明」について研究し、濃縮凍結クロレラがワムシ培養に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炭酸ガスおよび栄養塩要求、濃縮凍結クロレラを餌料としたワムシの産仔数、濃縮凍結クロレラを用いたワムシ培養、ならびに供試クロレラについて研究を行ったので、その結果を報告する。

I テトラセルミスの炭酸ガスおよび栄養塩要求

テトラセルミスの安定培養法のひとつとして考えられる炭酸ガス通気培養の確立と、テトラセルミス培養に適した施肥量を調べるための培養試験を行った。さらに、分光光度計を用いて培養液の吸収スペクトルを測定し、テトラセルミス濃度と光合成色素について比較検討した。

実験 1

〔材料と方法〕

1) 試験区の設定

実験には1 t ポリカーボネイト水槽を用いた。培養海水は次亜塩素酸ナトリウムで消毒した後チオ硫酸ナトリウムで中和した。試験区は6区設定し、1区は対照区として硫安100 g、過磷酸石灰15 g、尿素10 g、クレワット 2 g を施肥し、2区は1区同様で炭酸ガス通気（pHが0.5～1下がる程度）を行い、3区は1区のうち硫安のみを2倍の200 gとし、4区は硫安のみを1/2の50 gに、5区では1区の施肥量のうち過磷酸石灰と尿素を2倍の30 gと10 gにし、6区では逆に1/2の7.5 gと5 gの施肥量とした。

6区ともテトラセルミスの接種は10万セル/mlとし、φ 30mm、長さ50mmのエアーストーンで40～50 ℓ/minの通気を行った。

2) 測定

照度・水温・水素イオン濃度の測定、トーマ血球算定盤を用いた細胞数の計数、分光光度計による吸収スペクトルの測定を1日1回行った。

3) 期間

昭和60年10月1日～23日

〔結果〕

テトラセルミスの細胞数の計数結果および照度の測定値を表1、図1に、また、この時の増殖率を表2、図2に、クロロフィル^a含量を表わす675nmの吸光度の測定結果を表3、図3に、クロロフィル^a含量の増加率を表4、図4に、テトラセルミスの個体数とクロロフィル^a含量の関係を図5に示した。図1で細胞数の最大の増加率は、570.0～758.3%にあり2区>1区>4区>3区>5区>6区の順に高かった。また、細胞数の増殖の変化は、7日目までは全区とも類似しているが、8日目以降1区と2区の増殖が優れている。また、他の4区も同様の増殖を示し17日目以降6区のみが著しく減少した。次に、図3に示したクロロフィル^a含量の測定値では、最大の増加率は409.1～956.3%であり2区>4区>1区>5区>3区>6区の順に高くなった。ここで、吸光度と増加率の変化をみると10日目以降、2区が伸び6区が減少した。以上より、テトラセルミス細胞数とクロロフィル^a含量の関係をみると図5に表わされるようになる。

表1 テトラセルミスの増殖量

	1 区	2 区	3 区	4 区	5 区	6 区	照度 (lux)
セット時	13万セル/ml	13万セル/ml	12万セル/ml	12万セル/ml	13万セル/ml	10万セル/ml	5,750
1 日目	20	16	25	15	15	23	4,650
2 日目	33	24	25	21	26	24	22,000
3 日目	31	33	27	27	27	26	12,000
4 日目	38	32	32	37	31	33	3,000
5 日目	36	37	31	38	32	37	7,600
6 日目	46	47	30	39	34	35	14,000
7 日目	44	40	39	40	44	37	18,000
8 日目	65	51	42	40	41	41	22,000
9 日目	64	56	49	53	43	40	14,500
10 日目	64	59	51	52	50	43	2,800
11 日目	69	59	57	52	50	46	9,400
12 日目	69	70	56	52	49	49	5,800
13 日目	70	70	56	57	57	44	26,000
14 日目	70	71	54	62	55	50	18,500
15 日目	72	78	66	70	59	52	4,600
16 日目	75	78	65	70	68	57	7,150
17 日目	74	86	68	75	70	42	3,600
18 日目	77	81	64	71	67	39	4,900
19 日目	79	79	64	80	65	42	10,500
20 日目	77	80	70	77	70	41	16,500
21 日目	81	81	68	76	75	41	18,000
22 日目	87	91	70	77	70	37	16,000
水温の平均 最高 - 最低	19.54℃ 22.6~15.8℃	19.26℃ 22.2~15.8℃	19.23℃ 22.2~15.8℃	18.9℃ 22.0~15.6℃	19.12℃ 22.0~15.6℃	19.5℃ 22.4~16.0℃	
pHの平均 最高 - 最低	8.25 8.89~7.82	7.37 8.23~6.80	8.10 8.67~7.61	8.25 8.87~7.90	8.19 8.65~7.69	8.32 8.91~7.69	
増殖率注1	669.2%	758.3%	583.3%	666.7%	576.9%	570.0%	

注1 - 細胞数が最大となった時の値

表2 テトラセルミス増殖率

	1 区	2 区	3 区	4 区	5 区	6 区
1 日 目	153.8%	133.3%	208.3%	125.0%	115.4%	230.0%
2 日 目	253.8%	200.0%	208.3%	175.0%	200.0%	240.0%
3 日 目	238.5%	275.0%	225.0%	225.0%	207.7%	260.0%
4 日 目	292.3%	266.7%	266.7%	308.3%	238.5%	330.0%
5 日 目	276.9%	308.3%	258.3%	316.7%	246.2%	370.0%
6 日 目	353.8%	391.7%	250.0%	325.0%	283.3%	350.0%
7 日 目	338.5%	333.3%	325.0%	333.3%	338.5%	370.0%
8 日 目	500.0%	425.0%	350.0%	333.3%	315.4%	410.0%
9 日 目	492.3%	466.7%	408.3%	441.7%	330.8%	400.0%
10 日 目	492.3%	491.7%	425.0%	433.3%	384.6%	430.0%
11 日 目	530.8%	491.7%	475.0%	433.3%	384.6%	460.0%
12 日 目	530.8%	583.3%	466.7%	433.3%	376.9%	490.0%
13 日 目	538.5%	583.3%	466.7%	475.0%	438.5%	440.0%
14 日 目	538.5%	591.7%	450.0%	516.7%	423.1%	500.0%
15 日 目	553.8%	650.0%	550.0%	583.3%	453.8%	520.0%
16 日 目	576.9%	650.0%	541.7%	583.3%	523.1%	570.0%
17 日 目	569.2%	716.7%	566.7%	625.0%	538.5%	420.0%
18 日 目	592.3%	675.0%	533.3%	591.7%	515.4%	390.0%
19 日 目	607.7%	658.3%	533.3%	666.7%	500.0%	420.0%
20 日 目	592.3%	666.7%	583.3%	641.7%	538.5%	410.0%
21 日 目	623.1%	675.0%	566.7%	633.3%	576.9%	410.0%
22 日 目	669.2%	758.3%	583.3%	641.7%	538.5%	370.0%

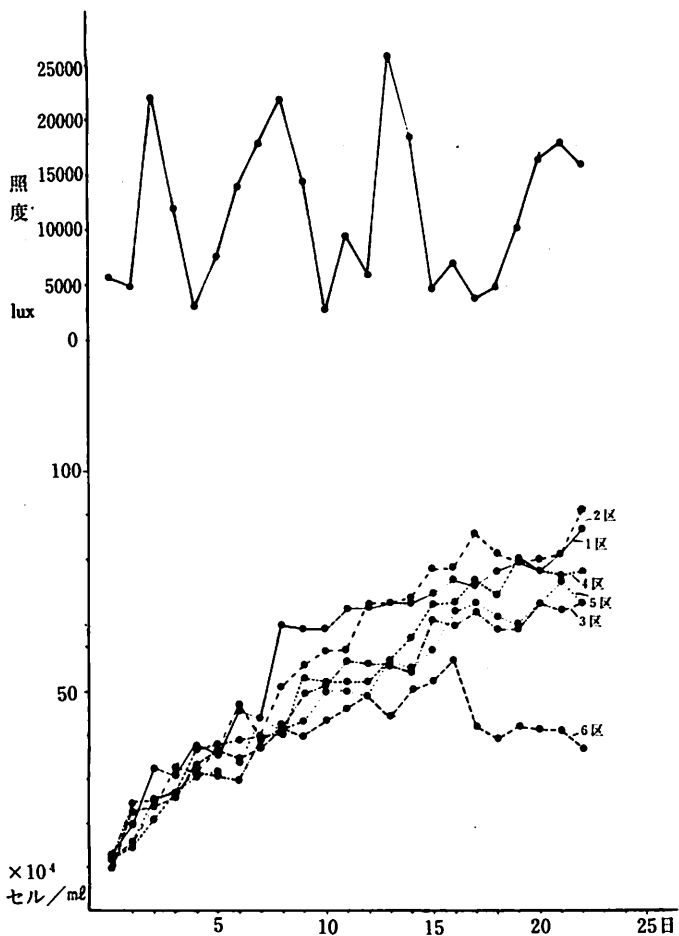


図1 テトラセルミス増殖量

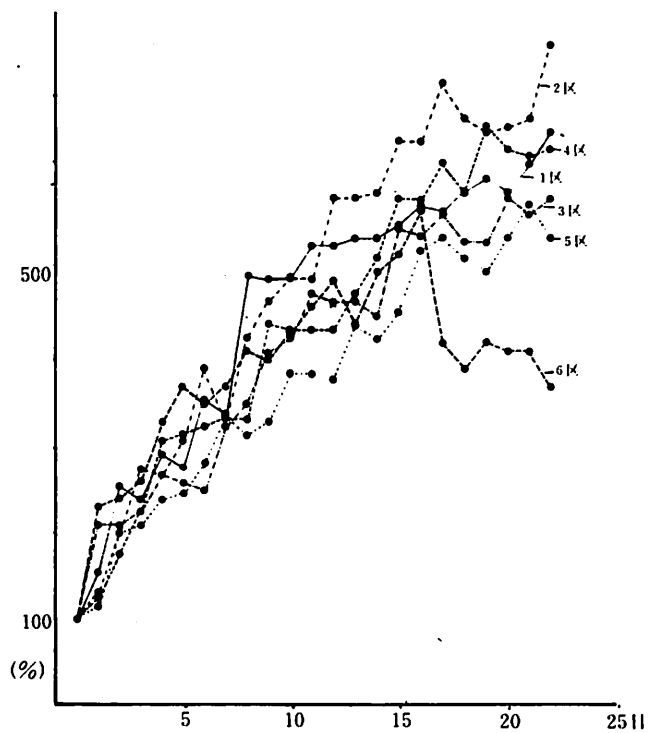


図2 テトラセルミス増殖率

表3 675nmにおける日毎の吸光度

	1 区	2 区	3 区	4 区	5 区	6 区
セット時	0.022	0.016	0.022	0.018	0.018	0.022
1 日目	0.025	0.022	0.022	0.027	0.041	0.030
2 日目	0.047	0.031	0.037	0.039	0.042	0.045
3 日目	0.059	0.040	0.050	0.054	0.054	0.054
4 日目	0.066	0.056	0.060	0.064	0.064	0.064
5 日目	0.072	0.058	0.060	0.066	0.064	0.066
6 日目	0.084	0.074	0.068	0.074	0.070	0.074
7 日目	0.086	0.076	0.076	0.075	0.068	0.076
8 日目	0.106	0.088	0.084	0.086	0.084	0.086
9 日目	0.110	0.080	0.096	0.098	0.092	0.090
10 日目	0.114	0.105	0.120	0.102	0.116	0.088
11 日目	0.122	0.112	0.100	0.106	0.104	0.088
12 日目	0.120	0.114	0.098	0.104	0.098	0.086
13 日目	0.124	0.113	0.096	0.103	0.101	0.082
14 日目	0.130	0.120	0.106	0.110	0.103	0.082
15 日目	0.130	0.120	0.108	0.096	0.110	0.084
16 日目	0.137	0.125	0.110	0.127	0.113	0.087
17 日目	0.140	0.120	0.108	0.120	0.115	0.077
18 日目	0.142	0.124	0.110	0.127	0.120	0.077
19 日目	0.147	0.138	0.120	0.138	0.123	0.078
20 日目	0.147	0.138	0.123	0.130	0.120	0.072
21 日目	0.153	0.141	0.123	0.138	0.126	0.072
22 日目	0.159	0.153	0.135	0.126	0.129	0.078
増加率 ^{注1}	722.7%	956.3%	613.6%	766.7%	716.7%	409.1%

注1 - 吸光度の最も高くなった時の値

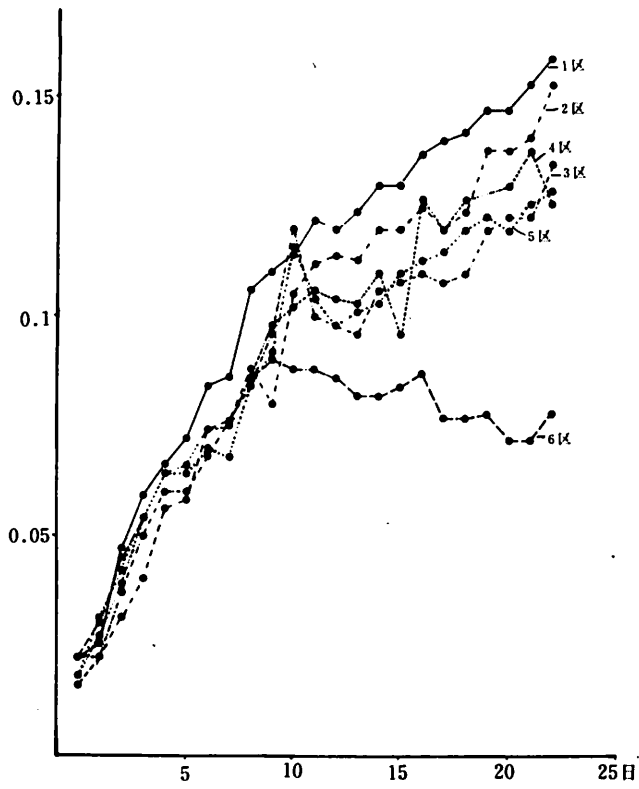


図3 675nmにおける日毎の吸光度

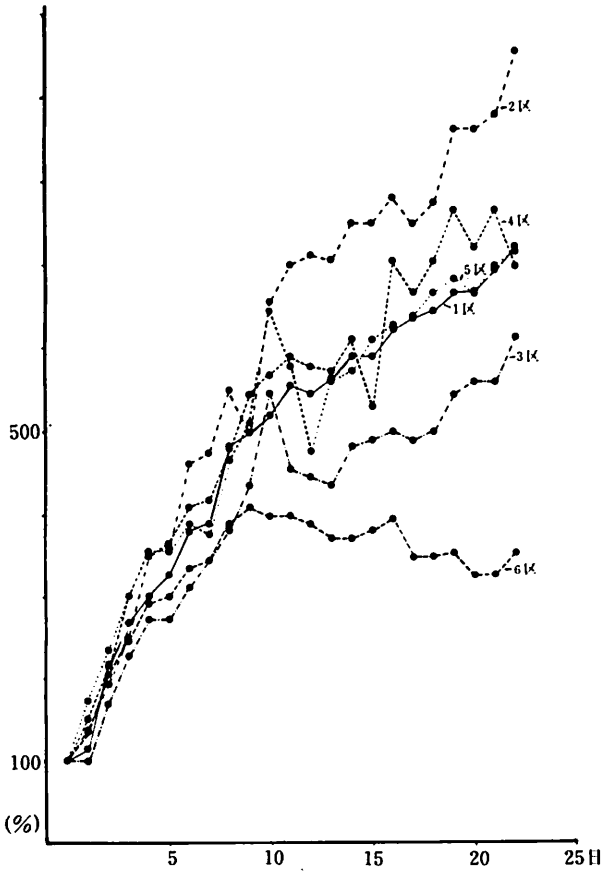


図4 クロロフィルa含量の増加率

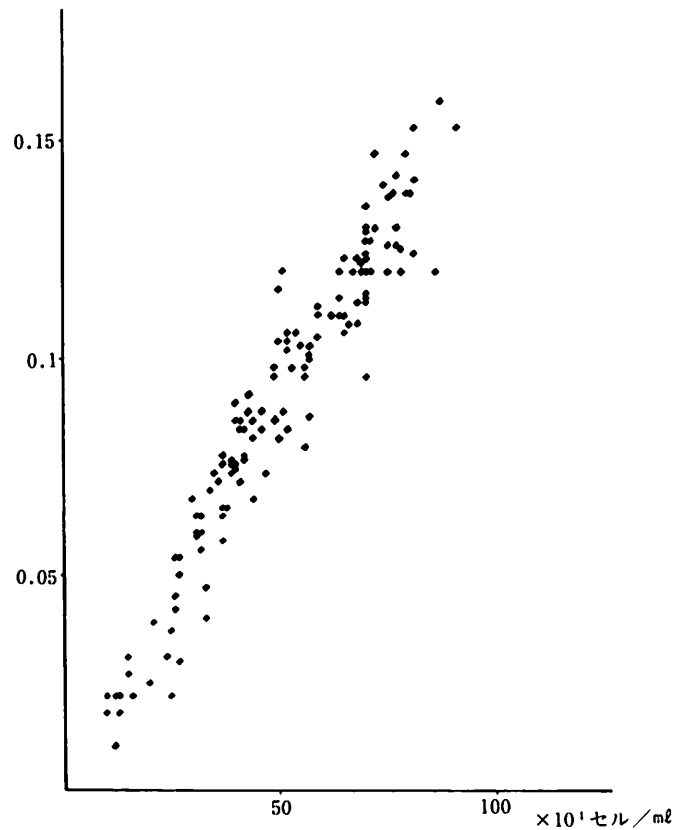


図5 テトラセルミスの細胞数とクロロフィルa含量の関係

表4 クロロフィル a 含量の増加率

	1 区	2 区	3 区	4 区	5 区	6 区
1 日目	113.6%	137.5%	100.0%	150.0%	172.2%	136.4%
2 日目	213.6%	193.8%	168.2%	216.7%	233.3%	204.5%
3 日目	268.2%	250.0%	227.3%	300.0%	300.0%	245.5%
4 日目	300.0%	350.0%	272.7%	355.6%	355.6%	290.9%
5 日目	327.3%	362.5%	272.7%	366.7%	355.6%	300.0%
6 日目	381.8%	462.5%	309.1%	411.1%	388.9%	336.4%
7 日目	390.9%	475.0%	345.5%	416.7%	377.8%	345.5%
8 日目	481.8%	550.0%	381.8%	477.8%	466.7%	390.9%
9 日目	500.0%	500.0%	436.4%	544.4%	511.1%	409.1%
10 日目	518.2%	656.3%	545.5%	566.7%	644.4%	400.0%
11 日目	554.5%	700.0%	454.5%	588.9%	577.8%	400.0%
12 日目	545.5%	712.5%	445.5%	577.8%	477.8%	390.9%
13 日目	563.6%	706.3%	436.4%	572.2%	561.1%	372.7%
14 日目	590.9%	750.0%	481.8%	611.1%	572.2%	372.7%
15 日目	590.9%	750.0%	490.9%	533.3%	611.1%	381.8%
16 日目	622.7%	781.3%	500.0%	705.6%	627.8%	395.5%
17 日目	636.4%	750.0%	490.9%	666.7%	638.9%	350.0%
18 日目	645.5%	775.0%	500.0%	705.6%	666.7%	350.0%
19 日目	668.2%	862.5%	545.5%	766.7%	683.3%	354.5%
20 日目	668.2%	862.5%	559.1%	722.2%	666.7%	327.3%
21 日目	695.5%	881.3%	559.1%	766.7%	700.0%	327.3%
22 日目	722.7%	956.3%	613.6%	700.0%	716.7%	354.5%

実験 2

実験 1 で変化が顕著なものは 2 区の炭酸ガス通気を行ったものと、6 区の磷の量を 1/2 にしたものであったため、炭酸ガスの通気法と磷の量を変え、次の実験を行った。

〔材料と方法〕

1) 試験区の設定

実験 1 の対照区と同様の施肥料で 1 区は炭酸ガスの通常通気、2 区はパラシュート状アドバルーンによる炭酸ガス通気、さらに、3 区は磷の量を $\frac{1}{2}$ に、4 区は磷の量を $\frac{1}{3}$ とした。また 5 区は対照区とした。

なお、使用水槽、テトラセルミス接種量、通気量は実験 1 と同様である。

2) 測定

測定項目 測定方法は実験 1 と同様である。

3) 期間

昭和 60 年 10 月 25 日～11 月 6 日

〔結果〕

テトラセルミスの細胞数の測定結果および照度の測定値を表 1、図 1 に、また、この時の増殖率を表 2、図 2 に、クロロフィル a 含量を表わす 675nm の吸光度の測定結果を表 3、図 3 に、クロロフィル a の増加率を表 4、図 4 に、テトラセルミスの細胞数とクロロフィル a 含量の関係を図 5 に示した。図 1 で細胞数の最大の増殖率は 253.9～360.0% にあり 2 区 > 4 区 > 1 区 > 5 区 > 3 区の順に高く、全区ともに 7 日目から減少した。しかし、2 区は減少傾向が最も小さかった。次にクロロフィル a 含量の測定値をみると最大の増加率は 234.8～268.2% にあり、5 区 > 4 区 > 2 区 > 3 区 > 1 区の順に高く全区とも 6 日目から減少した。クロロフィル a 含量の変化は全区で大きな差はみられなかった。

〔考察〕

テトラセルミスの増殖は、硫安量では 50～200g/t の範囲ではほとんど差がないが、100g/t の時の増殖が僅かに良好であった。過磷酸石灰 7.5g/t と尿素 5g/t から過磷酸石灰 30g/t と尿素 20g/t の範囲では、過磷酸石灰 7.5g/t、尿素 5g/t の低濃度の施肥で増殖が悪かった。また、炭酸ガス通気は増殖に有効で、かつ減少をゆるやかにする効果がみられた。したがって、テトラセルミスの培養には、1 t 当り硫安 100g、過磷酸石灰 15g、尿素 10g、クレワット 2g の施肥で炭酸ガス通気を行うことが有効と思われる。

テトラセルミスの濃度とクロロフィル a 含量には密接な関係がみられ、テトラセルミスの増殖に伴いクロロフィル a も増減する。したがって、この関係を明らかにすることにより、培養液の吸収スペクトルを測定することでテトラセルミスの細胞数を算定することが可能であろう。

表1 テトラセルミスの増殖量

	1 区	2 区	3 区	4 区	5 区	照度 (lux)
セット時	11万セル/ml	10万セル/ml	13万セル/ml	10万セル/ml	12万セル/ml	20,000
1 日目	20	21	16	16	18	18,000
2 日目	21	24	16	18	20	12,000
3 日目	25	26	22	21	24	7,800
4 日目	24	28	24	25	26	4,800
5 日目	31	35	33	31	30	1,400
6 日目	34	36	33	32	31	2,600
7 日目	24	30	29	27	27	,200
8 日目	18	26	24	23	20	3,400
9 日目	16	25	17	19	15	17,000
10 日目	15	19	15	16	15	17,000
11 日目	14	18	14	13	12	26,000
12 日目	9	15	9	10	8	10,000
水温の平均 最高 ~ 最低	16.9 °C 18.8~14.8°C	16.72°C 18.6~14.6°C	16.65°C 18.6~14.6°C	16.63°C 18.5~14.6°C	16.58°C 18.4~14.6°C	
pHの平均 最高 ~ 最低	7.50 7.99~7.12	7.53 8.12~7.18	8.15 8.45~7.97	8.11 8.42~7.83	8.10 8.41~7.89	
増殖率 ^{注1}	309.1%	360.0%	253.9%	320.0%	258.3%	

注1 - 細胞数が最大となった時の値

表2 テトラセルミスの増殖率

	1 区	2 区	3 区	4 区	5 区
1 日目	181.8%	210.0%	123.1%	160.0%	150.0%
2 日目	190.9%	240.0%	123.1%	180.0%	166.7%
3 日目	227.3%	260.0%	169.2%	210.0%	200.0%
4 日目	218.2%	280.0%	184.6%	250.0%	216.7%
5 日目	281.8%	350.0%	253.8%	310.0%	250.0%
6 日目	309.1%	360.0%	253.8%	320.0%	258.3%
7 日目	218.2%	300.0%	223.1%	270.0%	225.0%
8 日目	163.6%	260.0%	184.6%	230.0%	166.7%
9 日目	145.5%	250.0%	130.8%	190.0%	125.0%
10 日目	136.4%	190.0%	115.4%	160.0%	125.0%
11 日目	127.3%	180.0%	107.7%	130.0%	100.0%
12 日目	81.8%	150.0%	69.2%	100.0%	66.7%

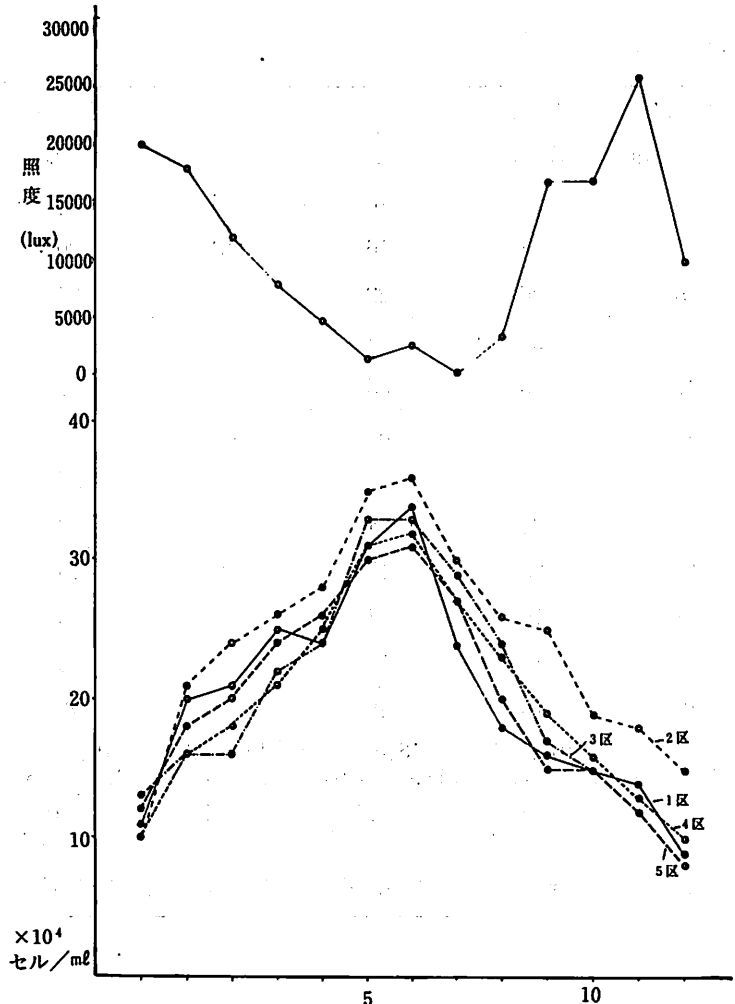


図1 テトラセルミスの増殖量

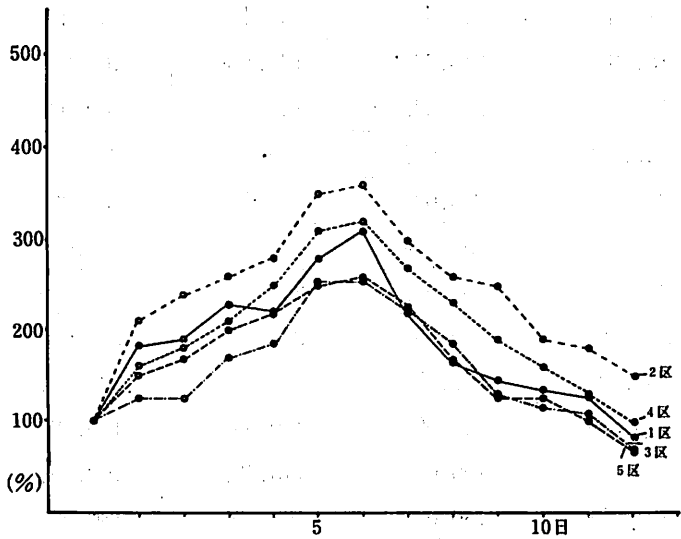


図2 テトラセルミスの増殖率

表3 675nmにおける日毎の吸光度

	1区	2区	3区	4区	5区
セット時	0.023	0.022	0.023	0.023	0.022
1日目	0.035	0.028	0.030	0.028	0.032
2日目	0.043	0.039	0.041	0.042	0.042
3日目	0.049	0.045	0.048	0.048	0.048
4日目	0.054	0.049	0.056	0.059	0.059
5日目	0.053	0.054	0.056	0.061	0.056
6日目	0.054	0.048	0.049	0.054	0.048
7日目	0.044	0.043	0.045	0.045	0.038
8日目	0.036	0.034	0.036	0.038	0.033
9日目	0.036	0.036	0.037	0.040	0.031
10日目	0.033	0.034	0.036	0.034	0.030
11日目	0.030	0.033	0.033	0.036	0.026
12日目	0.025	0.026	0.029	0.027	0.021
増加率注1	234.8%	245.5%	243.5%	265.2%	268.2%

注1 - 吸光度が最も高くなった時の値

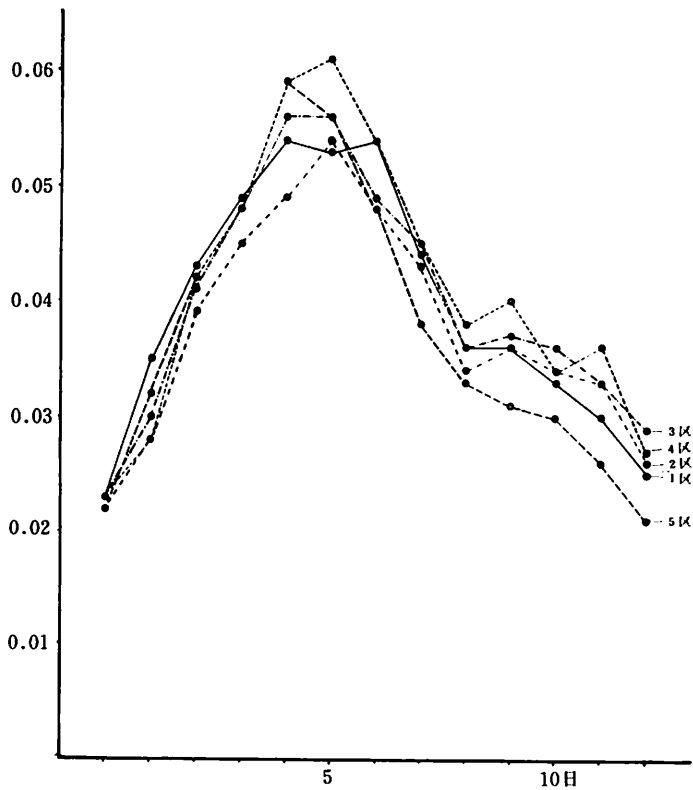


図3 675nmにおける日毎の吸光度

表4 クロロフィル a 含量の増加率

	1 区	2 区	3 区	4 区	5 区
1 日目	152.2%	127.3%	130.4%	121.7%	145.5%
2 日目	187.0%	177.3%	178.3%	182.6%	190.9%
3 日目	213.0%	204.5%	208.7%	208.7%	218.2%
4 日目	234.8%	222.7%	243.5%	256.5%	268.2%
5 日目	230.4%	245.5%	243.5%	265.2%	254.5%
6 日目	234.8%	218.2%	213.0%	234.8%	218.2%
7 日目	191.3%	195.5%	195.7%	195.7%	172.7%
8 日目	156.5%	154.5%	156.5%	165.2%	150.0%
9 日目	156.5%	163.6%	160.9%	173.9%	140.9%
10 日目	143.5%	154.5%	156.5%	147.8%	136.4%
11 日目	130.4%	150.0%	143.5%	156.5%	118.2%
12 日目	108.7%	118.2%	126.1%	117.4%	95.5%

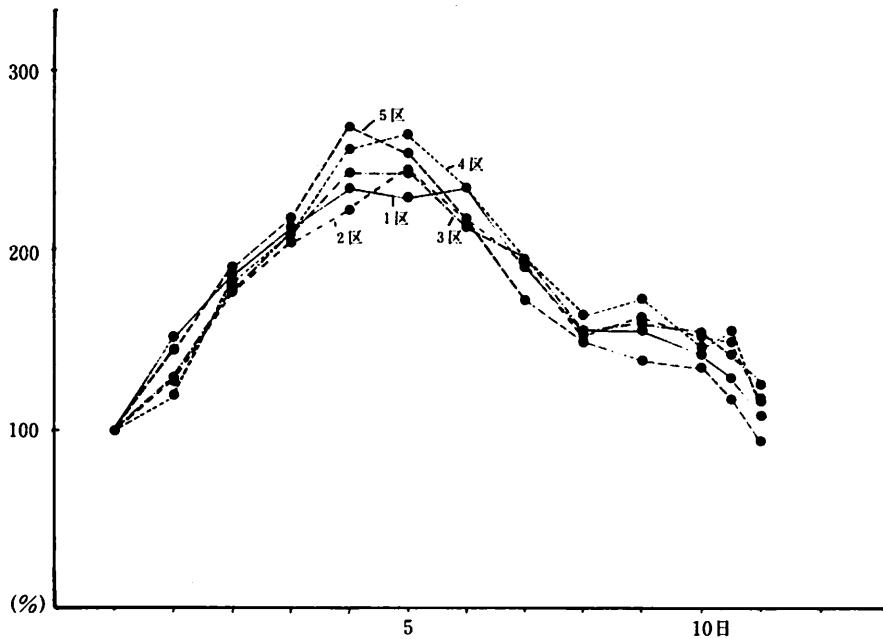


図4 クロロフィル a 含量の増加率

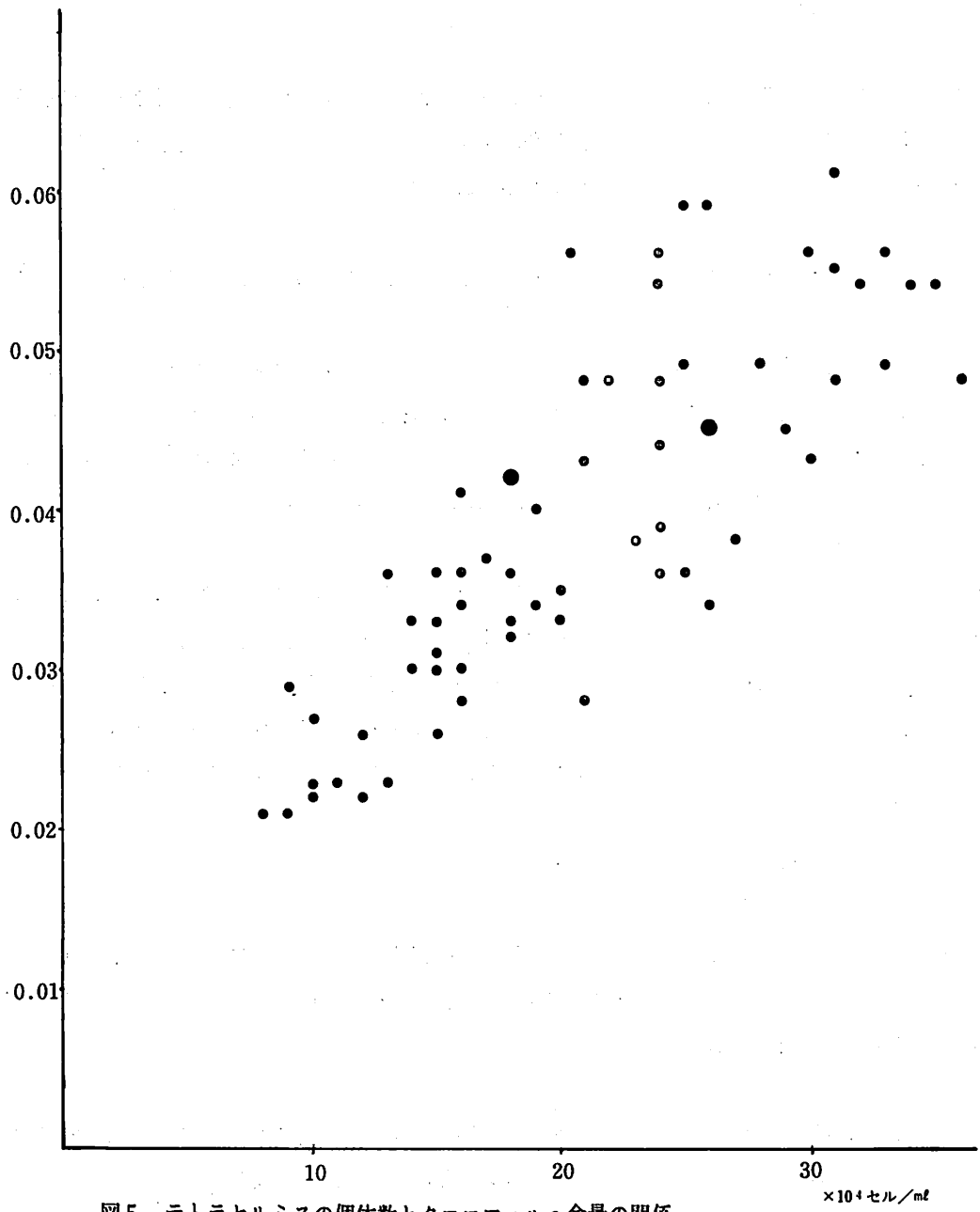


図5 テトラセルミスの個体数とクロロフィルa含量の関係

II 濃縮凍結クロレラを餌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を調べるため、ワムシに濃縮凍結クロレラ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）背甲長を比較した。

〔材料と方法〕

1) 供試ワムシ

昭和50年1月に瀬戸内海栽培漁業センター（現日本栽培漁業センター）屋島事業所で分離乾燥保存を行った耐久卵由来のL型ワムシを培養し、昭和57年4月に当場で新たに分離乾燥を行って得た耐久卵を60年10月に孵化させ実験に用いた。（平均背甲長277 μ ）

2) 餌料

実験に使用したクロレラは当場で数年間に渡り継続培養したものであり、濃縮は日本栽培漁業協会能登島事業所で行い濃縮後直ちに凍結した。

実験にあたり餌料の沈殿割合を調べたところ24時間後で、濃縮凍結クロレラが25～30%、海産クロレラが5～15%であった。そこで、沈殿した餌料をワムシは摂餌しないものと考えた。これを考慮した場合、使用したクロレラの細胞数は、濃縮凍結クロレラ（水温20℃比重1.025）では2000万～2100万セル/ml、海産クロレラ（水温20℃比重1.017）では1600万～1700万セル/mlとなった。

3) 実験方法

実験には餌料別に0.5ml容マイクロプレートを用いた。1列、各ホールに餌料を0.3ml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時間毎に検鏡し産仔数、携卵数、離卵数を計数した後、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。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、30例の結果が得られるまで実験した。実験は20℃に設定した恒温器内で行った。

4) 期間

昭和60年10月21日～11月23日

〔結果〕

濃縮凍結クロレラ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、生存状況を図1、日別産仔数の推移を図2、平均産仔数の推移を図3、総産仔数の推移を図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

生存日数は濃縮凍結クロレラ給餌区で9～20日（平均14.83日）、海産クロレラ給餌区で12～21日（平均15.33日）であり、海産クロレラ給餌区の方がワムシの寿命がやや長い傾向がみられた。

2) 産仔数

ワムシ1個体当りの産仔数は、濃縮凍結クロレラ給餌区で14～26個体（平均20.73個体）、海産クロレラ給餌区で15～29個体（平均21.0個体）であり、海産クロレラ給餌区の方がわずかに多かった。ワムシ1個体当りの産仔数が最高になるのは、濃縮凍結クロレラ給餌区で5日目の2.4個体（平均）、海産クロレラ給餌区で8日目の2.2個体（平均）であった。なお、濃縮凍結クロレラ給餌区では6日目と7日目

(2.3個体前後)が、海産クロレラ給餌区では5日目から9日目まで(2.0個体前後)が、比較的多い産仔のみられた期間であった。

3) 背甲長

携卵個体の背甲長は、実験開始時に220~340 μ (平均277 μ)であったが、7日目では、濃縮凍結クロレラ給餌区で240~330 μ (平均275.6 μ) 海産クロレラ給餌区で240~330 μ (平均275.1 μ)となりほとんど差はみられなかった。

なお、この実験に用いたワムシの背甲長には、260 μ 前後と300 μ 前後の2つのモードが見られた。(図5)。

[考察]

濃縮凍結クロレラならびに海産クロレラを餌料としたワムシの生存日数、産仔数、卵数および背甲長を測定した結果、生存日数、産仔数は海産クロレラを給餌した方が多く長かったが、ワムシ1個体の1日当りの平均産仔数は濃縮凍結クロレラを餌料としたワムシでは1.398で、海産クロレラを餌料としたワムシでは1.370であり、総産仔数にはほとんど差がなかった。このようにL型ワムシ1個体ごとの餌料として、濃縮凍結クロレラは海産クロレラと同様に用いることが可能であることが明らかになった。

表1 濃縮凍結クロレラを餌料にした時の産仔状況

産仔数 日数	0	1	2	3	4	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	
1	30					30	0	0	100					
2	30					30	0	0	100					
3	2	18	9	1		30	1.3	39	7	60	30	3		
4	1	5	20	4		30	1.9	57	3	17	67	13		
5		1	16	13		30	2.4	72		3	53	44		
6		3	16	11		30	2.27	68		10	53	37		
7		1	18	10	1	30	2.37	71		3	60	34	3	
8		4	21	5		30	2.03	61		13	70	17		
9		9	21			30	1.55	51		30	70			
10	1	18	10	1		30	1.37	41	3	60	34	3		
11	1	17	9	1		28	1.36	38	4	60	32	4		
12	1	12	13			26	1.46	38	4	46	50			
13	5	15	6			26	1.04	27	19	58	23			
14	4	15	4			23	1.0	23	17	66	17			
15	8	9	2	1		20	0.8	16	40	45	10	5		
16	5	7	1			13	0.69	9	38	54	8			
17	5	4				9	0.44	4	56	44				
18		3	1			4	1.25	5		75	25			
19	1	2				3	0.67	2	33	67				
20	1					1	0	0	100					

表2 海産クロレラを餌料にした時の産仔状況

産仔数 日数	0	1	2	3	4	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	
1	30					30	0	0	100					
2	25	5				30	0.17	5	83	17				
3	3	17	10			30	1.23	37	10	57	33			
4	5	8	11	6		30	1.6	38	17	26	37	20		
5		5	19	6		30	2.03	61		17	63	20		
6	1	7	12	9	1	30	2.07	62	3	24	40	30	3	
7		8	16	6		30	1.97	59		27	53	20		
8		5	16	7	2	30	2.2	66		17	53	23	7	
9		8	13	9		30	2.03	61		27	43	30		
10	2	7	17	4		30	1.77	53	7	23	57	23		
11	2	9	12	7		30	1.83	54	7	30	40	23		
12	2	11	17			30	1.5	45	6	37	57			
13	6	16	4	1		27	1.0	27	22	59	15	4		
14	5	12	6			23	1.04	24	22	52	26			
15	8	8	2			18	0.67	12	44	44	12			
16	5	8	1			14	0.71	10	36	57	7			
17	7	3				10	0.3	3	70	30				
18	6	2				8	0.25	2	75	25				
19	2	1				3	0.33	1	67	33				
20	2					2	0	0	100					
21	1					1	0	0	100					

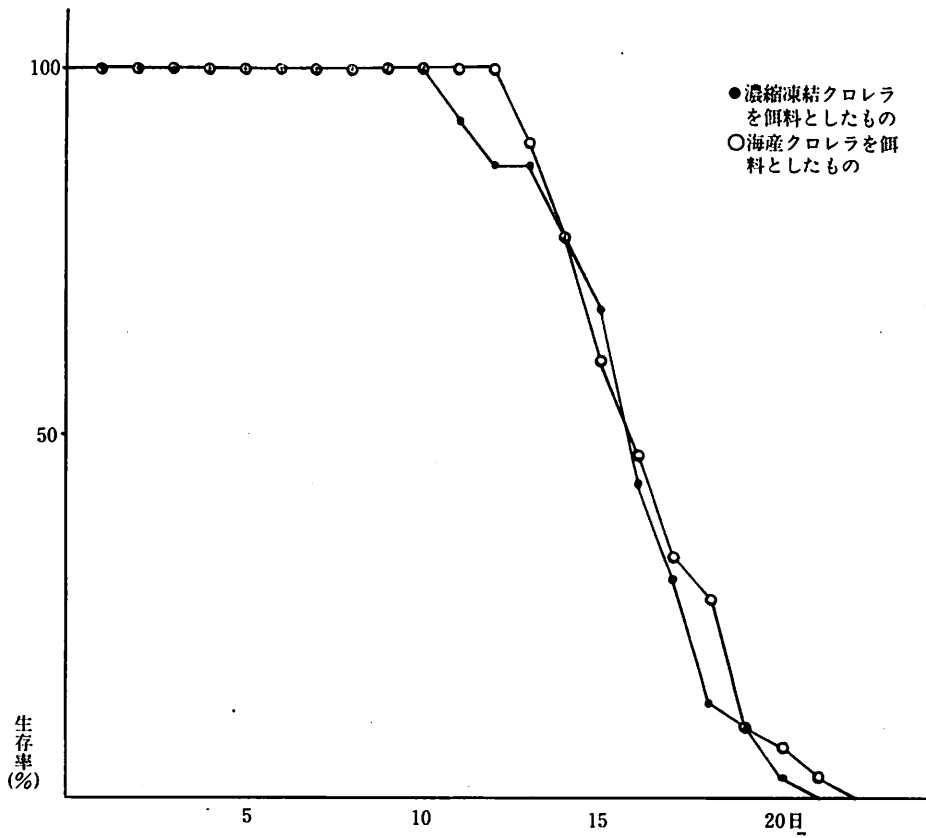


図1 ワムシ生存状況

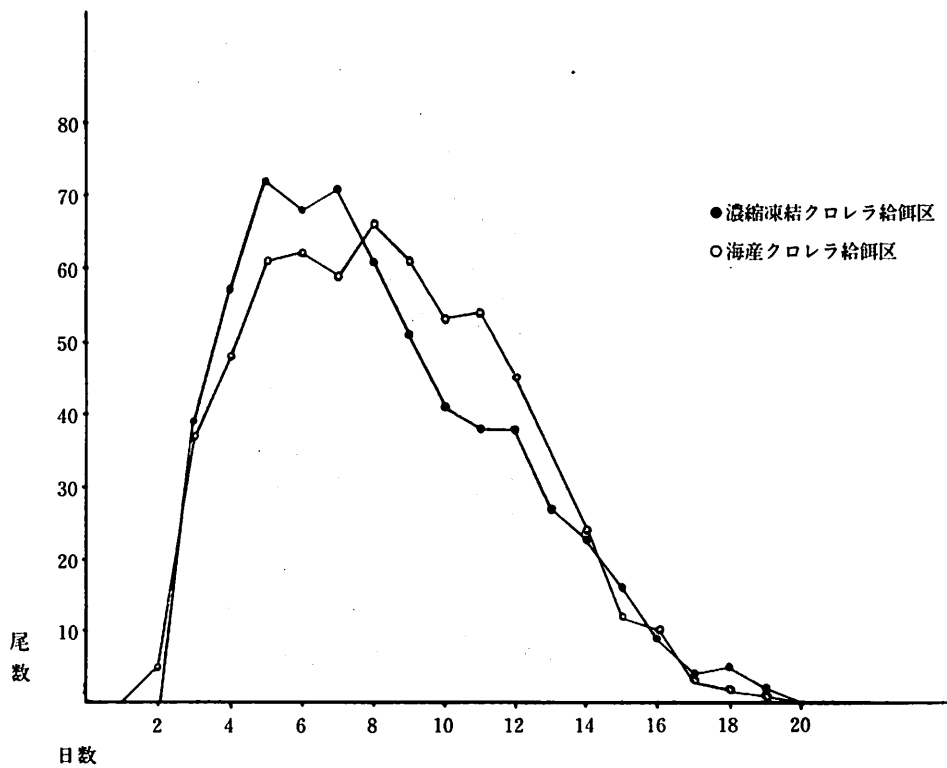


図2 日別総産仔数の推移

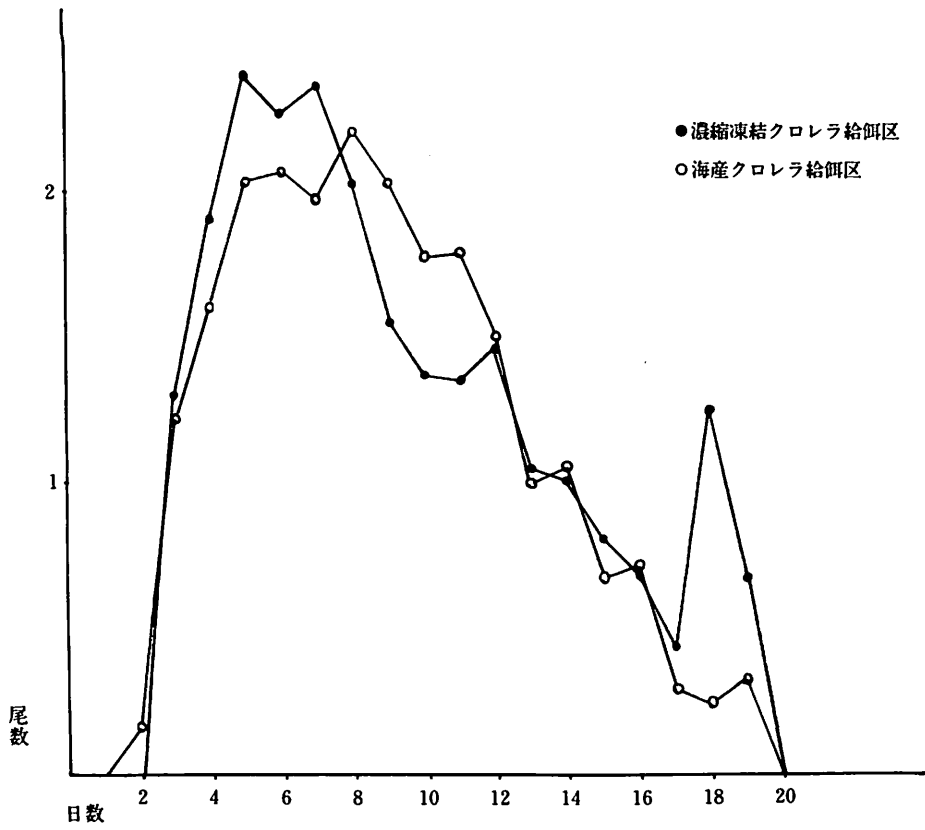


図3 平均産仔数の推移

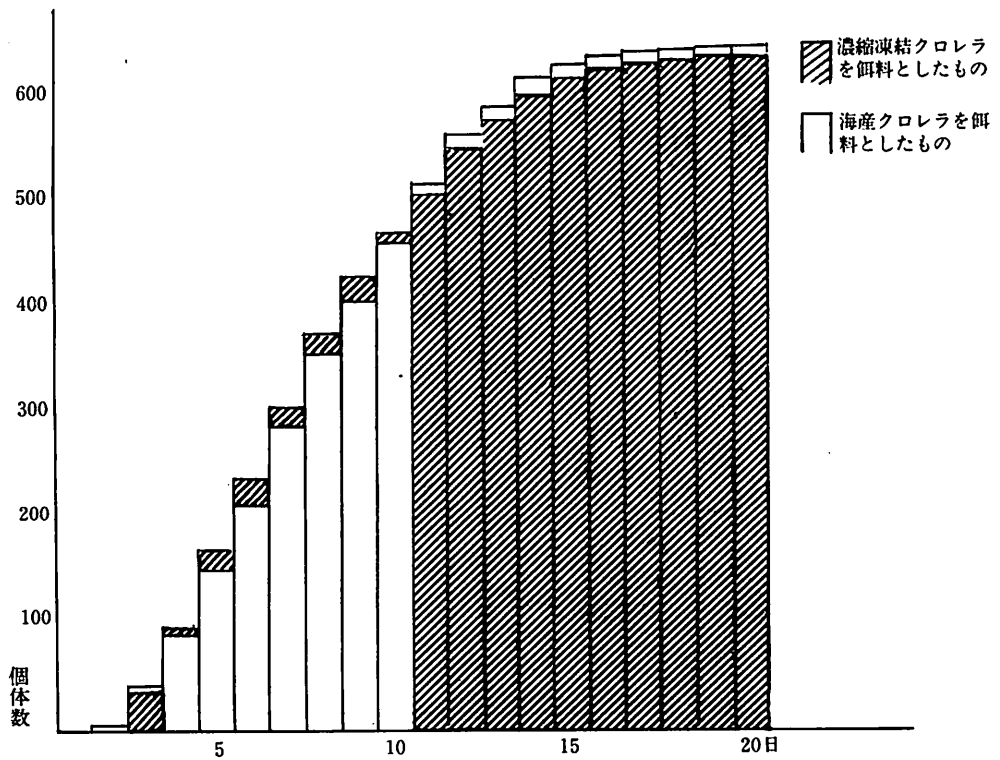


図4 総産仔数の推移

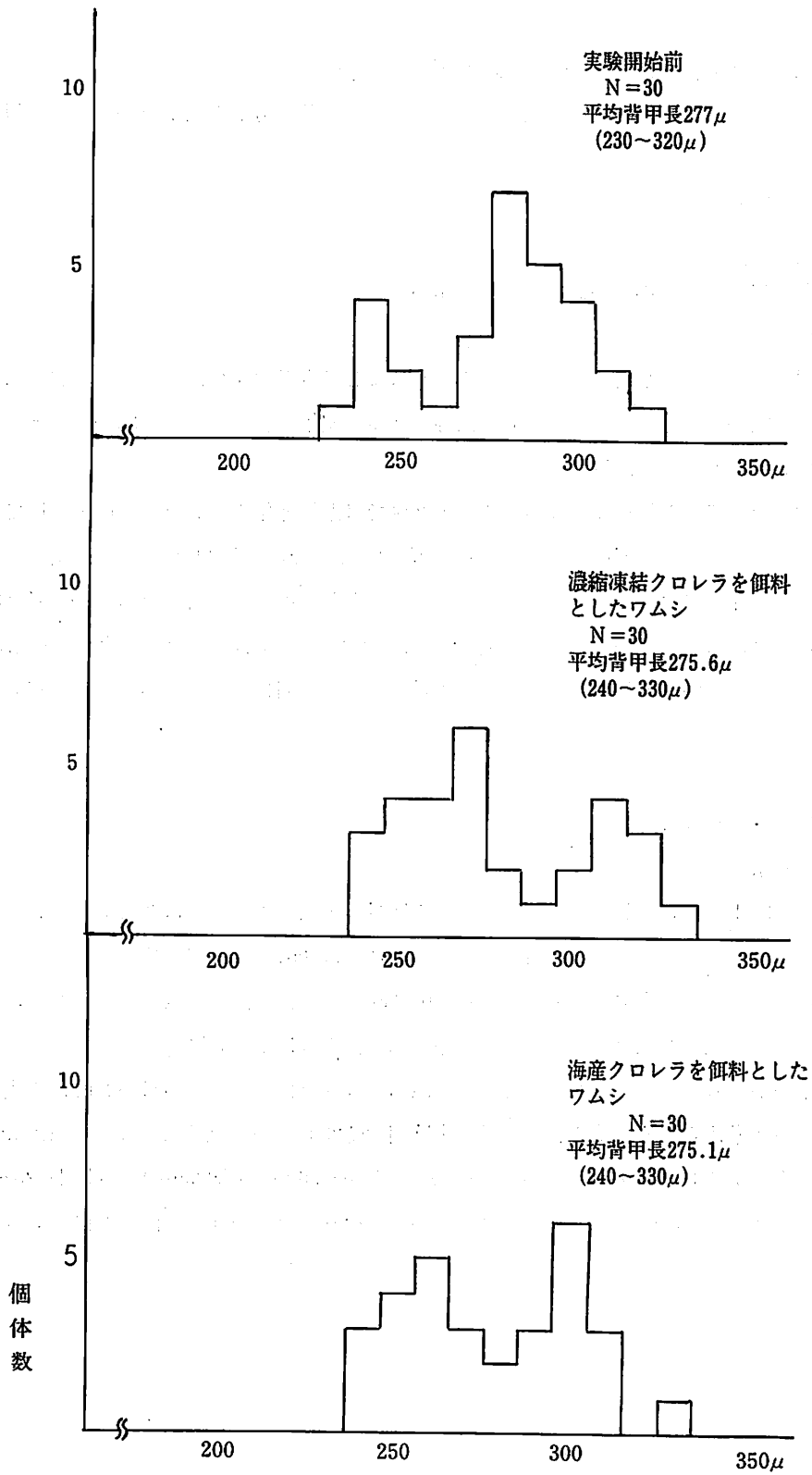


図5 ワムシ背甲長

Ⅲ 濃縮凍結クロレラを餌料としてのワムシの増殖試験

濃縮凍結クロレラをワムシの餌料として用いる時、どのような使い方が有効かを調べるため以下の実験を行った。

〔材料と方法〕

1) 供試ワムシ

実験Ⅱと同じL型ワムシ（平均背甲長 272.7μ ）を用いた。

2) 試験区と餌料

実験は100ℓポリカーボネイト水槽を用いウォーターバスにして水温約 20°C に設定した。実験に使用した海産クロレラ、濃縮凍結クロレラは実験Ⅱと同様である。濃縮凍結クロレラは300gを100ℓの海水に溶解すると1,500万/セルmlの濃度となった。

試験区を4区設けた。ワムシ接種時の餌料を1区と2区では濃縮凍結クロレラ、3区と4区では海産クロレラとし、各区のクロレラ濃度が1300万～1500万セル/mlとなるようにした。また、接種後の餌料は1区と3区を濃縮凍結クロレラ、2区と4区をパン酵母とし、その投餌料をワムシ100万個体に対し濃縮凍結クロレラは1.25g、パン酵母は1.5gとした、なお、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回午前中に計数し、餌料の不足分を1日数回に分けて補給し、4日培養とした。

3) 期 間

昭和60年11月18日～12月6日

〔結果と考察〕

培養結果を表1、図1に、背甲長を図2に示した。1回目の実験での増殖率は221.3～322.4%であり、3区>4区>1区>2区の順に、2回目の実験では増殖率は206.7～298.4%であり、4区>3区>1区>2区の順に、3回目の実験では増殖率が193.0～280.4%で、4区>3区>1区>2区の順に高かった。すなわち、4区と3区は全般に高い増殖率を示し、1区はこの両区にわずかに劣り、2区は3回とも増殖率が最も低かった。したがって、濃縮凍結クロレラは単独あるいはパン酵母の代用として用いるのが良いと考えられる。次の背甲長は、実験開始時 $230\sim 320\mu$ （平均 272.7μ ）であったものが、終了時には、1区が $230\sim 320\mu$ （平均 256.7μ ）、2区が $220\sim 300\mu$ （平均 259μ ）、3区が $220\sim 300\mu$ （平均 257μ ）、4区が $230\sim 310\mu$ （平均 265μ ）と全て小さくなり、その傾向は1区、2区、3区では大きく4区では小さかった。

表1 濃縮凍結クロレラを用いたワムシの増殖

日 数 項 目		セツト時	1 日 目	2 日 目	3 日 目	4 日 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	113 (24) 21.2	148 (47) 31.8	206 (92) 44.7	267 (115)43.1	328 (125) 38.1	290.3%	19.84℃ (18.7~ 20.4℃)
	2 区注2	122 (31) 25.4	132 (57) 43.2	154 (71) 46.1	224 (96) 42.9	270 (90) 33.3	221.3%	
	3 区注3	125 (30) 40.0	134 (64) 48.5	220 (85) 38.6	354 (137)38.7	403 (157)39.0	322.4%	
	4 区注4	111 (26) 23.9	117 (49) 41.9	187 (80) 42.8	296 (102)34.5	324 (75) 23.2	291.9%	
第 2 回	1 区	112 (44) 39.3	148 (74) 50.0	161 (48) 27.8	189 (32) 16.9	259 (54) 20.9	231.3%	18.22℃ (15.0~ 19.9℃)
	2 区	120 (54) 45.0	147 (59) 46.9	171 (43) 25.2	197 (72) 36.6	248 (61) 24.6	206.1%	
	3 区	127 (57) 44.9	164 (53) 32.3	176 (77) 43.8	224 (90) 40.2	362 (86) 23.8	285.0%	
	4 区	127 (53) 41.7	152 (65) 42.8	193 (53) 27.5	287 (92) 32.1	379 (104)27.4	298.4%	
第 3 回	1 区	102 (29) 28.4	103 (22) 21.4	166 (17) 10.2	200 (48) 24.0	262 (44) 16.8	256.9%	18.52℃ (16.2~ 19.8℃)
	2 区	114 (25) 21.9	112 (41) 36.6	161 (23) 14.3	177 (39) 22.0	220 (47) 21.4	193.0%	
	3 区	127 (36) 28.4	125 (52) 41.6	170 (59) 34.7	263 (26) 9.9	331 (26) 7.9	260.6%	
	4 区	112 (40) 35.7	122 (34) 27.9	171 (68) 39.8	226 (54) 23.9	314 (42) 13.4	280.4%	

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、給餌パン酵母

注3：接種時海産クロレラ、給餌濃縮凍結クロレラ

注4：接種時海産クロレラ、給餌パン酵母

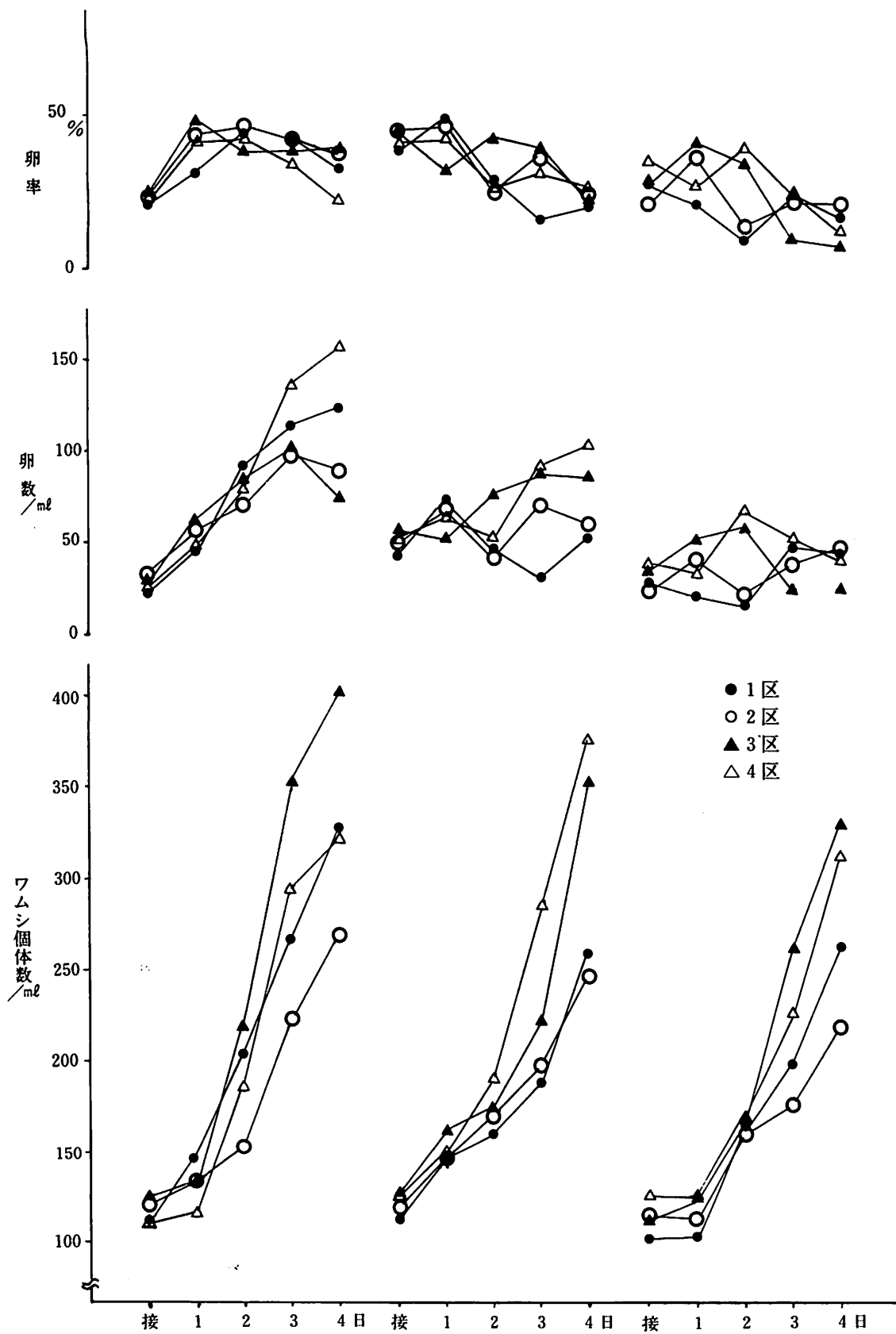


図1 濃縮凍結クロレラを用いたワムシの増殖

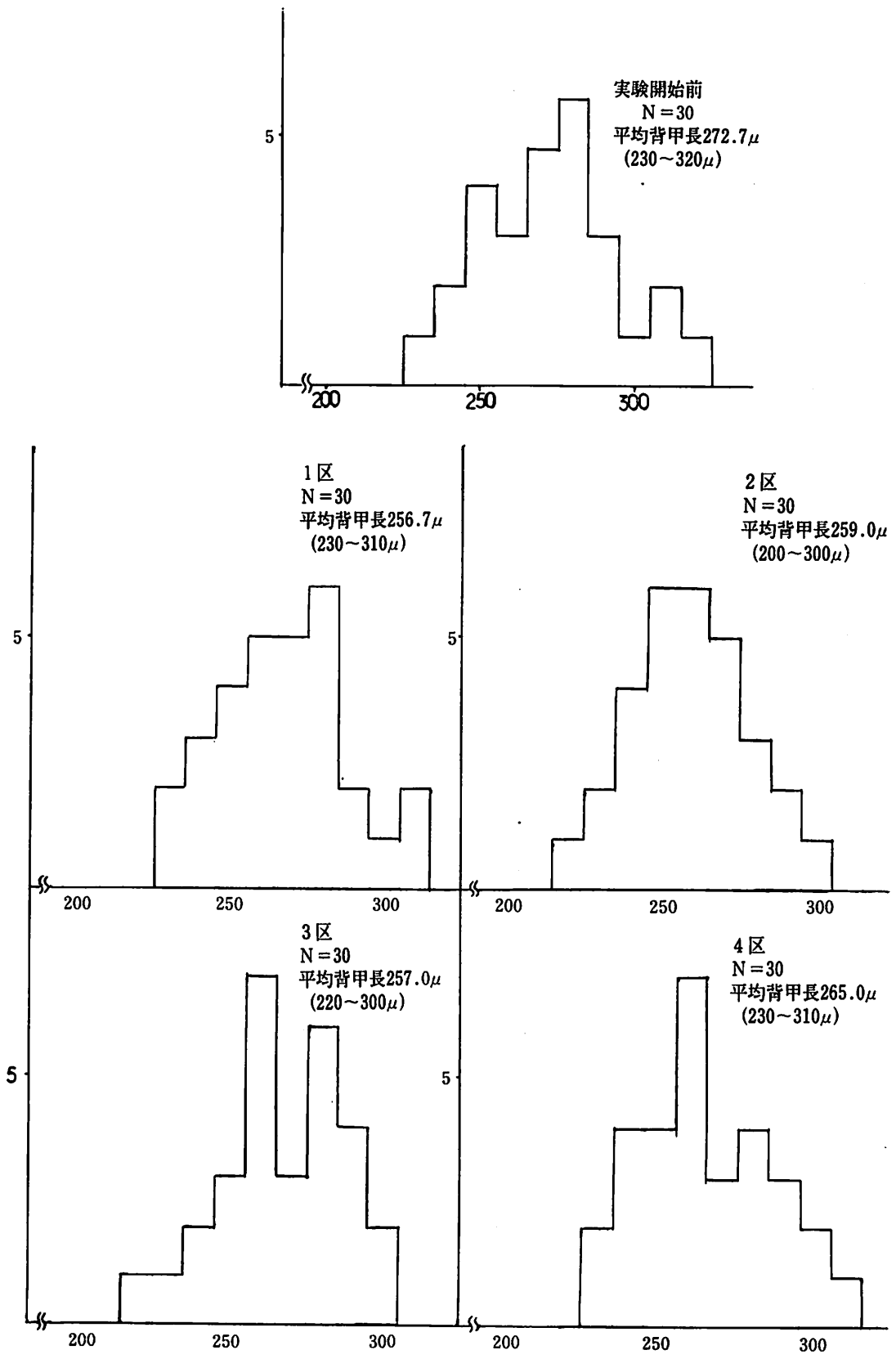


図2 ワムシ背甲長

IV 冬期におけるクロレラの増殖

クロレラの培養では、夏期のプロトゾアの発生と冬期の増殖不良が大きな問題である。そこで、冬期に水温と照度を一定にして培養した時と放置して培養した時の増殖の差異と光合成色素量について検討した。

〔材料と方法〕

1) 供試クロレラ

材料は増殖研究所より入手し1月まで保存し培養したクロレラと、当場で使用しているもの(対照)を用いた。なお、クロレラ海水の比重は、1.265、1.017であった。

2) 試験区の設定

試験区は4区設けた。1区と2区は屋内(屋根はガラス張りで光を通す)に500ℓポリカーボネイト水槽を設置し照度の調節を行わなかった。3区と4区は恒温室内で5ℓフラスコを用い水温15℃、照度1200luxに保った。1区と3区は当場のクロレラを、2区と4区は養殖研からのものを用い、全区とも500万セル/mlを接種し通気した。

3) 施肥量

各区とも1ℓ当り硫安100mg、過磷酸石灰15mg、尿素10mg、クレワット2mgになるように接種時のみ施肥した。

4) 測定

照度、水温、水素イオン濃度の測定、トーマ血球算定盤を用いた細胞数の計数、分光光度計による吸収スペクトル測定を1日1回行った。

5) 期間

昭和61年2月10日～24日

〔結果と考察〕

クロレラの細胞数の計数結果を表1、図1に、その時の増殖率を表2、図2に、クロロフィルa含量を表わす675nmの吸光度の測定結果を表3、図3に、その増加傾向を表4、図4に、クロレラ濃度とクロロフィルa含量の関係を図5に示した。クロレラ細胞数の最大増加率は442.1～654.7%であり4区>3区>2区>1区の順に高かった。さらに、細胞数の変化と増殖率の変化を見ると、恒温室内の3区と4区、屋内の1区と2区はそれぞれ同様の推移を示すが、恒温室内では4区、屋内では2区の方が細胞数が多くなり増殖率も高い。つぎに、クロロフィルa含量を見ると、吸光度の最大値は、0.192～0.365であり4区>3区>1区>2区の順に高く、細胞数では少ない1区の方が2区より吸光度が高い。また図5に示したクロレラ細胞数と吸光度の関係からも3000万セル/ml以下の時の吸光度は供試クロレラの方が対照クロレラより低く、1細胞当りのクロロフィルa含量は養殖研株の方が低いことが明らかになった。

以上のことからクロレラ細胞のクロロフィルa含量を考慮に入れないでよい場合には、養殖研株のクロレラが、冬期の培養には適している。

表1 クロレラの増殖量

	1 区	2 区	3 区	4 区	照度(lux) 注1
セット時	608万セル/ml	576万セル/ml	483万セル/ml	548万セル/ml	1300
1 日 目	556	828	518	579	2600
2 日 目	672	960	980	768	3500
3 日 目	611	1056	1024	1056	2800
4 日 目	977	1088	912	1230	1000
5 日 目	1060	1184	1148	1149	6250
6 日 目	1204	1232	1328	1556	600
7 日 目	1264	1670	1872	1900	12000
8 日 目	1456	1888	2088	2544	11000
9 日 目	1316	1728	2608	2852	5200
10 日 目	1496	2120	2488	2892	24000
11 日 目	2056	2404	3096	3064	3200
12 日 目	2328	2672	2792	3172	5400
13 日 目	2688	2784	2960	3212	4200
14 日 目	2576	2624	2896	3588	17000
水温の平均注 最高～最低 ²	8.14℃ 9.8～5.6℃	8.14℃ 9.8～5.6℃	—	—	
pHの平均 最高～最低	8.26 8.93～7.93	8.17 8.69～7.85	8.60 8.97～7.97	8.03 8.50～7.65	
増 殖 率注3	442.1%	483.3%	641.0%	654.7%	

注1：ここでは1区と2区の照度であり3区と4区は一定、注2：3区と4区は一定 注3：細胞数が最大になった時の値

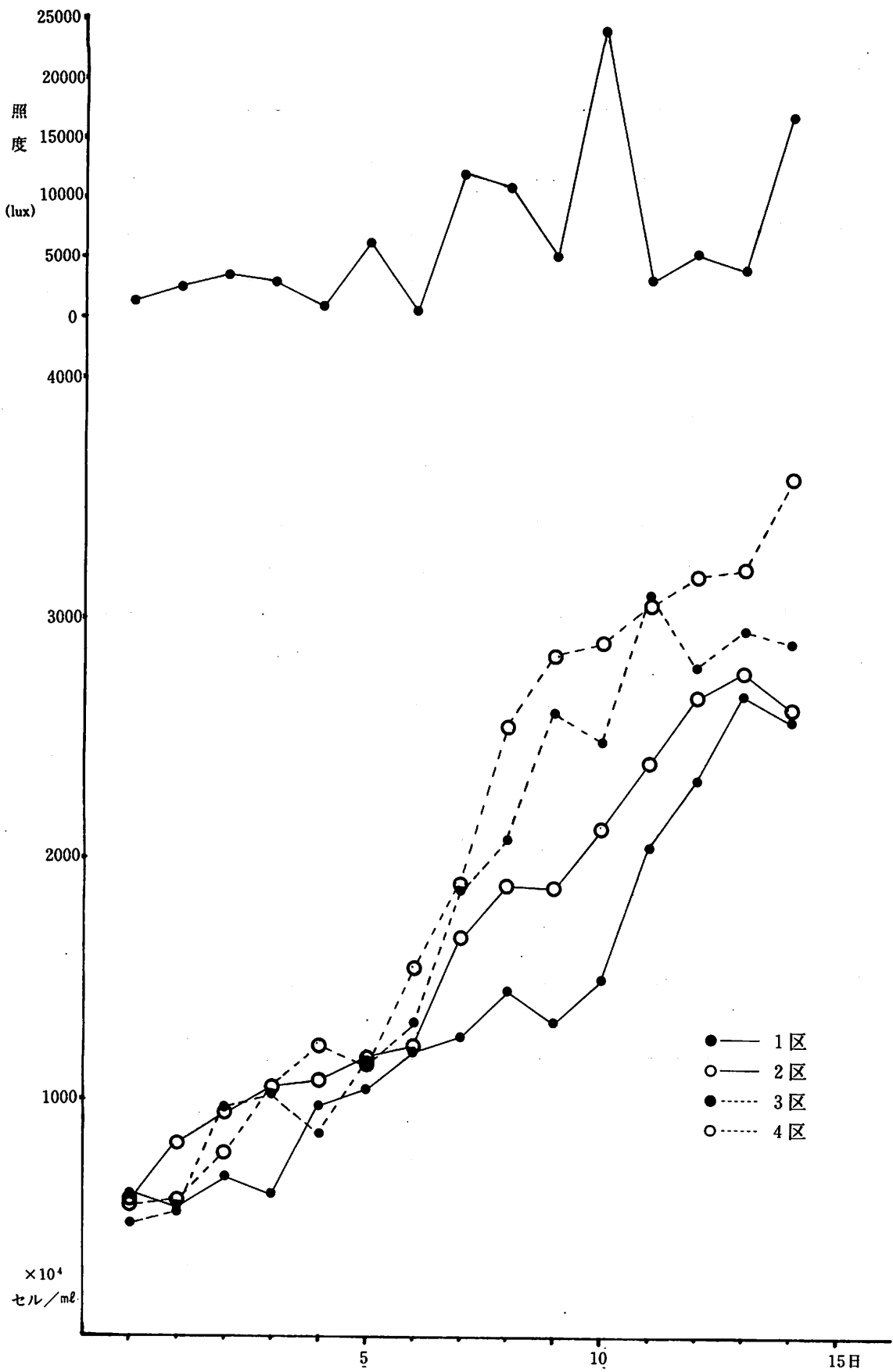


図1 クロレラの増殖傾向

表2 クロレラ増殖率

	1 区	2 区	3 区	4 区
1 日目	91.4%	143.8%	107.2%	105.7%
2 日目	110.5%	166.7%	202.9%	140.1%
3 日目	100.5%	183.3%	212.0%	192.7%
4 日目	160.7%	188.9%	188.8%	224.5%
5 日目	174.3%	205.6%	233.7%	209.7%
6 日目	198.0%	213.9%	274.9%	283.9%
7 日目	207.9%	289.9%	387.6%	346.7%
8 日目	239.5%	327.8%	432.3%	464.2%
9 日目	216.4%	300.0%	540.0%	520.4%
10 日目	246.1%	368.1%	515.1%	527.7%
11 日目	338.2%	417.4%	641.0%	559.1%
12 日目	382.9%	463.9%	579.4%	578.8%
13 日目	442.1%	483.3%	612.8%	586.1%
14 日目	423.7%	455.6%	599.6%	654.7%

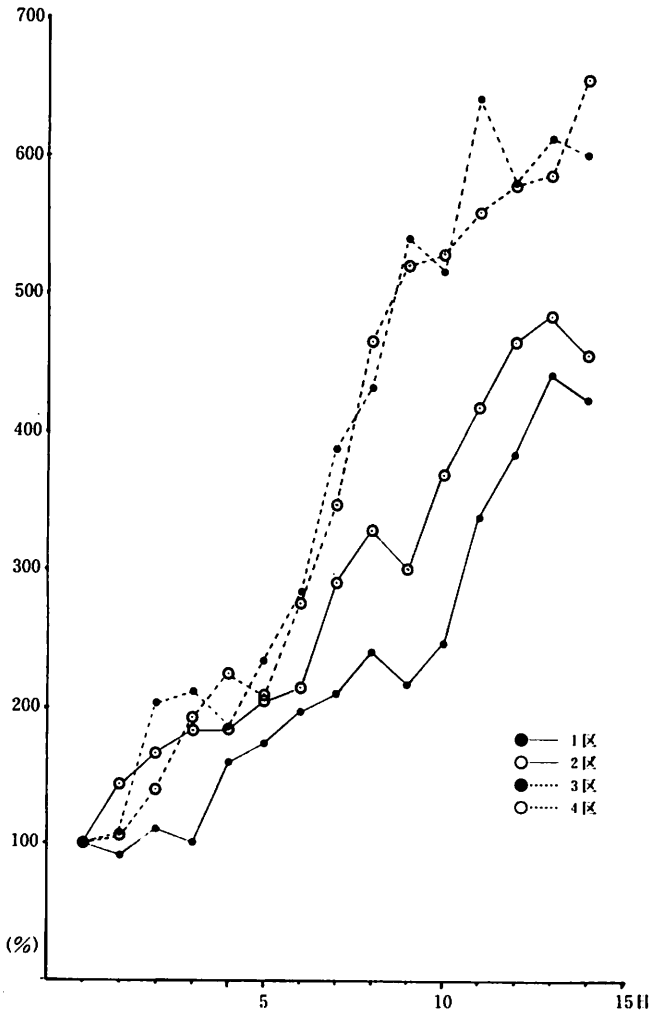


図2 クロレラ増殖率の推移

表3 675nmにおける日毎の吸光度

	1 区	2 区	3 区	4 区
セット時	0.059	0.049	0.056	0.047
1 日目	0.063	0.055	0.067	0.052
2 日目	0.072	0.063	0.097	0.071
3 日目	0.088	0.066	0.114	0.098
4 日目	0.094	0.077	0.137	0.117
5 日目	0.114	0.087	0.175	0.141
6 日目	0.099	0.081	0.152	0.121
7 日目	0.127	0.099	0.203	0.169
8 日目	0.145	0.114	0.213	0.200
9 日目	0.162	0.125	0.225	0.226
10 日目	0.170	0.134	0.241	0.249
11 日目	0.197	0.153	0.257	0.284
12 日目	0.209	0.166	0.269	0.308
13 日目	0.213	0.172	0.281	0.327
14 日目	0.244	0.192	0.284	0.365
増加率注1	413.6%	391.8%	507.1%	701.9%

注1 増加率が最大になった時の値

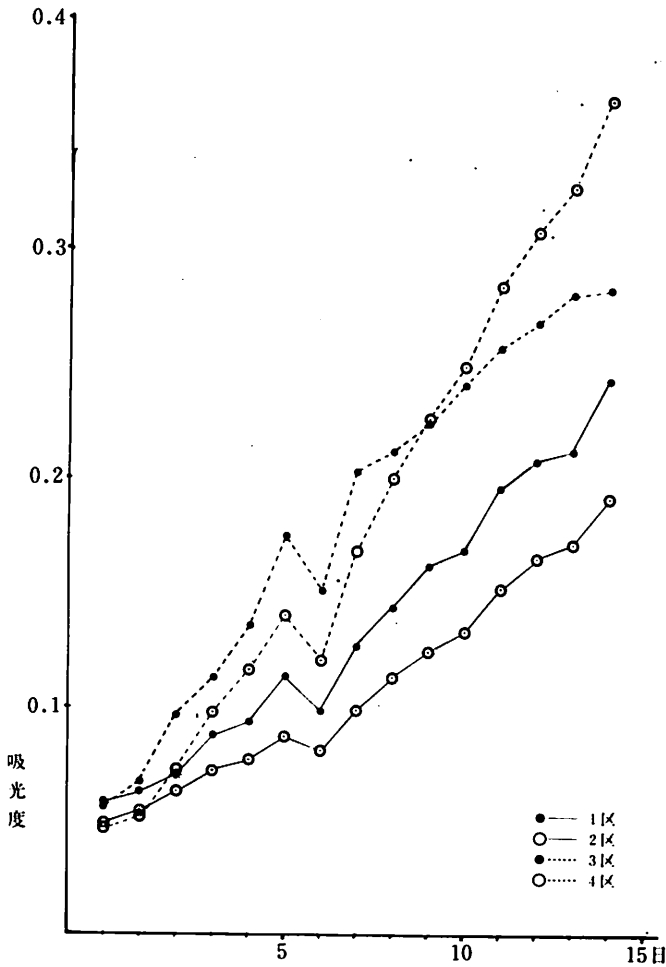


図3 675nmにおける日毎の吸光度

表4 クロロフィルa含量の増加率

	1 区	2 区	3 区	4 区
1 日目	106.8%	112.2%	119.6%	110.6%
2 日目	122.0%	128.6%	173.2%	136.5%
3 日目	149.2%	134.7%	203.6%	188.5%
4 日目	159.3%	157.1%	244.6%	225.0%
5 日目	193.2%	177.6%	312.5%	271.2%
6 日目	167.8%	165.3%	271.4%	232.7%
7 日目	215.3%	202.0%	362.5%	325.0%
8 日目	245.8%	232.7%	380.4%	384.6%
9 日目	274.6%	255.1%	401.8%	434.6%
10 日目	288.1%	273.5%	430.4%	478.8%
11 日目	333.9%	312.2%	458.9%	546.2%
12 日目	354.2%	338.8%	480.4%	592.3%
13 日目	361.0%	351.0%	501.8%	628.8%
14 日目	413.6%	391.8%	507.1%	701.9%

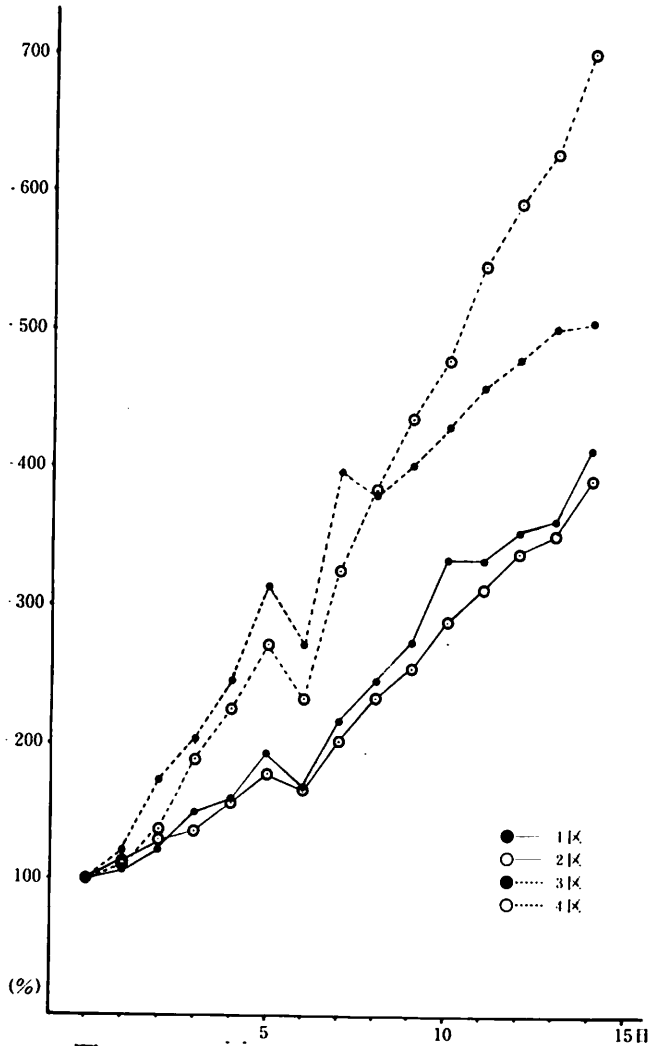


図4 クロロフィルa含量の増加率

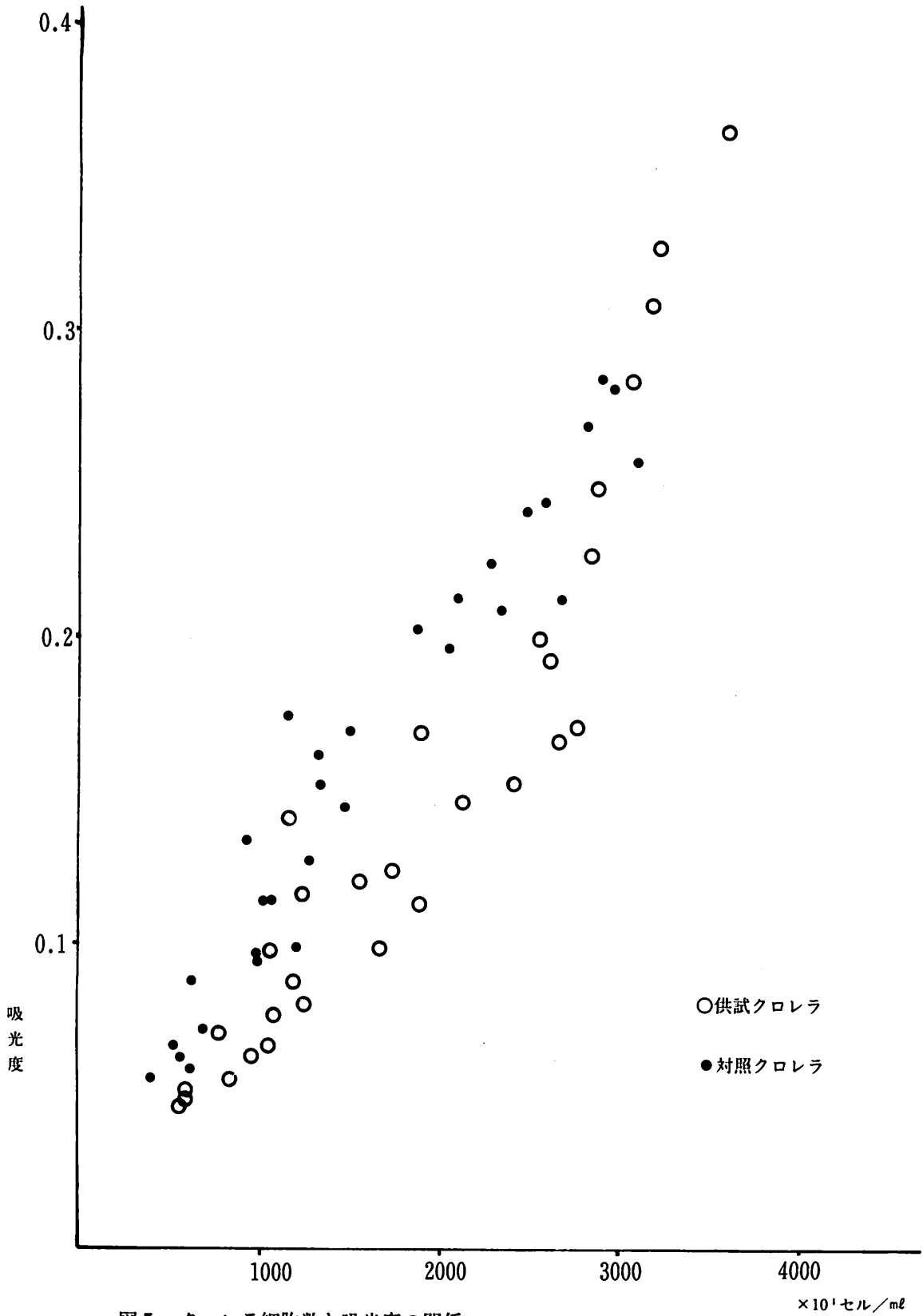


図5 クロレラ細胞数と吸光度の関係