

ミジンコ類の大量培養技術の開発と魚介類幼生への 餌料効果に関する研究

中本 崇

(研究部)

第1章 序 論

第1節 研究史

淡水産枝角類

淡水産枝角類は、湖沼、水沢地等の淡水域に広く分布し、ミジンコと俗称される小型の甲殻類である。冷水域を好む北方性種と、温暖な地域を好む南方性種とに区別され、我が国では80種以上が知られているが、分類学的な研究が進むとさらに多くの種数が加わるものと考えられている(田中 2002)。また、仔魚期の淡水魚の主要な初期餌料となっており、その観点からも多くの研究がなされている。欧米で最もポピュラーなミジンコ(*Daphnia pulex*)や植物食性で世界最大級のオオミジンコ(*Daphnia magna*)については、その生理生態の報告例が多い(Hebert 1978; Watts and Young 1980; Wulff 1980; Geiger and Buikema 1982; Schwartz et al 1985)。淡水産枝角類は、単為生殖によって増殖するが、環境条件によっては両性生殖を行い、耐久卵を産出する。この耐久卵についての報告も多数なされている(村上 1957; 杉目 1959; Yamashita and Uchyama 2001)。培養法も実験室的な純粋培養や200年以上前から使用されている粗放的なものにいたるまで多様である。実験室内の培養では、松平(1943)がクローバーの葉の抽出液に緑藻の*Scenedesmus obliquus*を接種し、ミジンコ(*Daphnia pulex*)を培養している。岩井(1985)は、クロレラ(*Chlorella*)、パン酵母、乾燥クロレラ、醤油粕、鳩糞の5種類を用い*Moina dubia*を培養し、その増殖には鳩糞が最も良かったと報告している。Nandoni(2002)は、クロレラ(*Chlorella vulgaris*)を用い、数種類の淡水枝角類を培養している。粗放的な培養では、馬、牛、羊、鶏の糞や大豆粕、堆肥などが用いられている(代田 1975)。このように、淡水枝角類の餌料としては、施肥を通じて間接的に細菌や植物プランクトンを繁殖させるものと直接的にクロレラのような植物プランクトンを給餌する方法が知られている。摂餌生態について Kirk(1991)は、植物プラン

クトンと粘土を混合して与えたとき、ミジンコは植物プランクトンを選び分けて食べることが出来なかったが、ワムシにはその能力が示されたと報告している。また、Dorores et al(2002)と Gilbert(1988)は、ミジンコとワムシの餌料をめぐる競走合関係を報告している。

淡水魚への利用について、杉目ら(1969)が、コイおよびコクレンに淡水産ミジンコを給餌し、その良好な成長を報告している。また、王ら(1987)は、コイの種苗生産においてタマミジンコ(*Moina macrocopa*以下タマミジンコ)を初期餌料とし、生残率や成長から、その最適給餌量を報告している。Sarma et al(2003)は、ミジンコ(*Daphnia pulex*)、タマミジンコおよびワムシ2種を3種類の淡水魚に給餌し、その摂餌状況を調べている。現在の食用コイやニシキゴイの種苗生産にも基本的には古くからの手法が用いられている。その方法では、まず池に水を張り、鶏糞や醤油粕等により施肥を行い、ミジンコ等の動物プランクトンを粗放的に培養する。その中に受精卵を投入し、ふ化したコイ仔魚に動物プランクトンを摂餌させ、コイ仔魚がミジンコを食べつくす頃に配合餌料に切り替える(隆島・村井 2005)というものである。

海産魚への利用については、杉目ら(1969)は、海産動物プランクトンの大量培養の方法がアルテミアを除いて当時ほとんどできていなかったことから、淡水産ミジンコで観賞用海産魚のスズメダイ科、チョウチョウウオ科及びクマノミ亜科に属する119魚種(平均体長66.5mm)を飼育できるか否かを検討している。淡水産ミジンコは海水中では数分で死亡するが、ほとんどの魚種は、ミジンコが水面から水槽の底に沈降する間に摂取したと報告している。また、伏見・橋本(1969)は、マダイおよびクロダイに対しタマミジンコの給餌試験を行い、タマミジンコが海水中では数分で遊泳力を失うことから、給餌方法の工夫等の必要性を指摘している。岡ら(1979)は、粗放的に培養したタマミジンコを用いて低塩分でのアユ

の種苗生産を行っている。また、海産魚介類の種苗生産において、DHA や EPA といった高度不飽和脂肪酸が必要であることが明らかとなると、淡水産ミジンコの栄養強化についても検討がなされ(岡ら 1982; Tamaru et al 1999), ワムシと同様に栄養強化できることが報告されている。

淡水枝角類を淡水魚類および海産魚類の幼魚の初期餌料にするため、大量培養技術についても研究がなされた(伊藤ら 1968; 岡ら 1979; 岡 1981) が、ミジンコの餌料を検討することが主体で、その最高到達密度も 10 個体/ml 前後にとどまっている。

海産枝角類

海産枝角類は、主として温暖域から熱帯域の沿岸に分布するが、全世界の海洋において 3 属 8 種が知られているに過ぎない。わが国近海からは 7 種が記録されている(安楽 1979)。海産魚介類の種苗生産における初期餌料として利用するために、その生理生態等の研究が行われるとともに、天然海域での海産枝角類の分布や生活史についても調査されてきた(遠部 1968, 1974, 1978; Kim and Onbe 1989a; 1989b; Onbe and Ikeda 1995)。中村・広瀬(1967)は、伊勢三河湾の海産枝角類の出現と季節的な消長について、また村上・遠部(1967)は、瀬戸内海のそれについて報告している。

海産枝角類も淡水産枝角類と同様に単為生殖によって増殖し、環境条件によっては有性生殖を行い、耐久卵を産出する。その耐久卵の分布や季節的増減についての報告がある(Bainbridge 1958; 遠部 1973; Onbe 1985;)。Onbe (1978a) は、海底の堆積物から海産枝角類とカイアシ類(コペポダ)の耐久卵を砂糖を使用して分離する方法を発見し、岩崎ら(1977)は、海産枝角類の耐久卵のふ化に対する水温、塩分および光条件の最適範囲を明らかにした。

海産魚類の種苗生産においては、シオミズツボワムシの有用性が 1963 年に三重県立大学の伊藤 隆教授によって見出され、初期餌料として用いられるようになった(西村・辻ヶ堂 2000)。シオミズツボワムシの大量培養は可能になったが、餌料系列でワムシの次のサイズの餌料となる動物プランクトンは天然から採取する方法がとられた。しかし、その採取量は天候や海況によって著しく変動し、計画的かつ安定的な確保は困難であった。また、枝角類の他にカイアシ類も生物餌料として研究された。北島(1973)は、*Tigriopus japonicus*, *Acartia clausi*, *Oithona brevicornis*, *Oithona nana*, *Sinocalanus tenellus*, *Pseudodiaptomus inopinatus* の 6 種について大量培養の研究を行い、それらの餌料として、乾燥鶏糞、醤油粕および養魚用配合飼料数種で増殖効果が見られたと報告している。また、その中で *Tigriopus japonicus* が、

最も有望な種であり、醤油粕により 4 個体/ml、配合飼料により 5 個体/ml 程度まで増殖させることができるが、器壁に付着するため、仔稚魚にとって捕食しにくいと述べている。水産庁は、1972 年から「魚類の初期餌料としての動物プランクトンの探索と大量培養研究」の事業を開始し、福岡、長崎、熊本、福井県および北海道の各水産試験場が参画した。また、1974 年から 3 年間「海産ミジンコ類の大量培養に関する研究」として三重、広島、熊本、鹿児島各大学が基礎的分野の研究を実施した。これらの 7 年間の研究内容は、安楽(1979)によって取りまとめられている。それによると海産枝角類 *Penilia avirostris* については、大量培養の可能性が示唆されたにとどまり、大量培養の実用化には至っていない。瀬川・梁(1990)は、東南アジア沿岸域に分布している汽水産枝角類 *Diaphanosoma celebensis* が、塩分耐性が広く、小規模レベルでは高密度飼育が可能であると報告している。

海産枝角類の餌料価値について、伏見・橋本(1969)は天然域から採集した *Penilia avirostris* をマダイ仔稚魚に与え、嗜好性は優れていると報告している。椿(2004)、石黒(2006)は、培養した汽水産枝角類 *Diaphanosoma celebensis* をイサキ、オニオコゼ、メバル、ヒラメの仔稚魚に給餌し、これらの仔魚が摂餌することを確認している。

この様に海産枝角類の海産魚への餌料価値は評価されたが、実用規模での高密度大量培養技術は現在に至るまで確立されていない。現在の海産魚介類の種苗生産では、シオミズツボワムシの次の生物餌料として、100% 輸入品ではあるが、ふ化が容易で、海産魚に必要な高度不飽和脂肪酸の強化もできるアルテミアが広く使用されている。

第 2 節 研究の目的と対象種

淡水産枝角類

淡水魚類の種苗生産では、ミジンコを確保するために、屋外池を用いた昔ながらの施肥培養や、ミジンコのタネを入れた池へ餌となる植物プランクトンや酵母などを投入する簡単な給餌培養が行われ、それらのより効率的な方法についての研究がなされてきた(杉目 1960; 伊藤ら 1968; 岡ら 1979)。しかし、これらの培養法は、季節的な温度変化や天候の影響等を受けやすく、一時的には大量が増えても、培養密度が不安定で長続きしない。そのため、十分量のミジンコの確保が難しく、対象魚類の種苗生産にとって制限要因となっている。生産現場によっては、不足するミジンコの代用として、アルテミアのふ化幼生を用いる場合も多いが、淡水中での生存時間は短いことなどから、適切な餌料とは言い難い。そこで、室内の制御環境下で淡水産枝角類のバッチ式高密度培養技

術を開発し、淡水魚類幼魚の生物餌料とすることを目的とした。また、高密度大量培養した淡水産枝角類に海産魚介類に必要な高度不飽和脂肪酸を強化し、海産魚介類幼魚の生物餌料として適しているか否かも併せて検討した。

高密度大量培養の対象種としては、タマミジンコ *Moina macrocopa* を選定した。タマミジンコは、節足動物・甲殻類・鯰脚亜綱・枝角目・タマミジンコ科に属する。頭部は大きく、第1触角は葉巻煙草状で可動性であり、特に雄のものは長大である。吻は無い。後腹部は、肛門より後方が細長い三角形で、その側面に微刺で縁どられた棘の列があり、その最後端の1本は特に大きく叉状で微刺を帯びない。体が著しく左右に膨れて球状に近いのでタマミジンコと言われる(上野 1973)。タマミジンコの摂餌は、腹部葉状肢に密生する剛毛によって水流をつくり、それによって運ばれる微粒子(バクテリアや微細な植物プランクトン)を殻中に集め、上顎や下顎で咀嚼するという方法である。摂餌されたものは、腸で消化吸収される(代田 1975)。

タマミジンコは、世界に広く分布する淡水産の枝角類であり、淡水産動物の幼生飼育に有用な生物餌料である。日本においても、淡水魚養殖では一般にミジンコと呼ばれ、江戸時代からコイやキンギョの餌として利用されているが(小杉 1970)、その主要種は本種であり、現在でも優れた餌料効果をもつ生物餌料として汎用されている。本種は浅い池沼に生息し、春～夏の増殖期には、雌(Fig. 1)が単為生殖によって仔虫を産出して増え、時として水面が真っ赤になるほど爆発的に増殖する。秋には雄(Fig. 1)が出現して、その長大な第1触角で自分より体の大きな雌にしがみついで交尾し、有性生殖によって耐久卵を作り、それによって冬を越す。また、生息環境が悪くなった時も耐久卵を持つとされている(代田 1975; 杉目 1959)。

海産枝角類

海産魚介類の種苗生産では、餌料系列としてシオミズツボワムシ→アルテミア→配合飼料が主流となっている。しかし、アルテミアは、海外の天然資源由来で、100%輸入に頼っているため、その資源量により価格は大きく変動し、海産魚介類の種苗生産コストを左右する一因となっている。そのため、同様のサイズをもつミジンコ類やカイアシ類の高密度培養技術の開発が望まれている。一方、これらより小型の生物餌料であるワムシ類について

は、淡水産濃縮クロレラが餌料として開発されて以来、1 ml あたり数千から数万個体に到達するようなバッチ式の高密度培養技術(吉村ら 1994)や、数ヶ月という長期間にわたって同一水槽内でのワムシ生産が可能な連続培養技法(桑田 2001)が開発されるなど、大きな進展が得られている。しかし、実用化が可能な海産枝角類の大量培養技術開発は大きく立ち後れてきた。そこで、淡水産枝角類と同様に室内の制御環境下で海産枝角類のバッチ式高密度培養技術を開発し、海産魚介類幼魚の生物餌料とすることを目的とした。

高密度大量培養の対象種としては、タマミジンコに類似した汽水産枝角類 *Diaphanosoma celebensis* (以下 *D. celebensis*) を選定した。本種は、前述したように東南アジアの汽水域に分布しており、塩分耐性が極めて広く、ビーカーレベルでは高密度飼育も可能である(瀬川・梁 1988)。そのため、海産魚類の生物餌料として有望視され、これまで温度、塩分、餌料等の至適環境が明らかにされている(椿 2002; 石黒 2004)。また、他の枝角目と同様に雄が出現し、耐久卵を持つことも確認されている(石黒 2006)。

研究の方法

本研究では、まず、タマミジンコにおいて大量培養に必要な不可欠な増殖特性を把握するため、個体別培養により産仔状況等を調べた。次にこれまでミジンコ類で実現できなかった、室内の制御環境下でのタマミジンコのバッチ式高密度培養技術を開発し、その大量培養システムを応用して *D. celebensis* の大量培養技術を開発した。さらに、これら2種の大量培養用餌料のコスト削減を検討した。大量培養したタマミジンコは、淡水魚の生物餌料としての有効性を評価した。また、タマミジンコと *D. celebensis* について、海産魚介類に必要な高度不飽和脂肪酸の強化方法を検討し、併せて海産魚介類幼魚の生物餌料としての有効性を検討した。

なお、本研究は、先端技術を活用した農林水産研究高度化事業「水産増養殖における生物餌料(ミジンコ類)の大量培養の技術とシステムの開発」として福岡県水産海洋技術センター内水面研究所、長崎大学及びクロレラ工業株式会社との共同研究によって行われた成果の1部である。

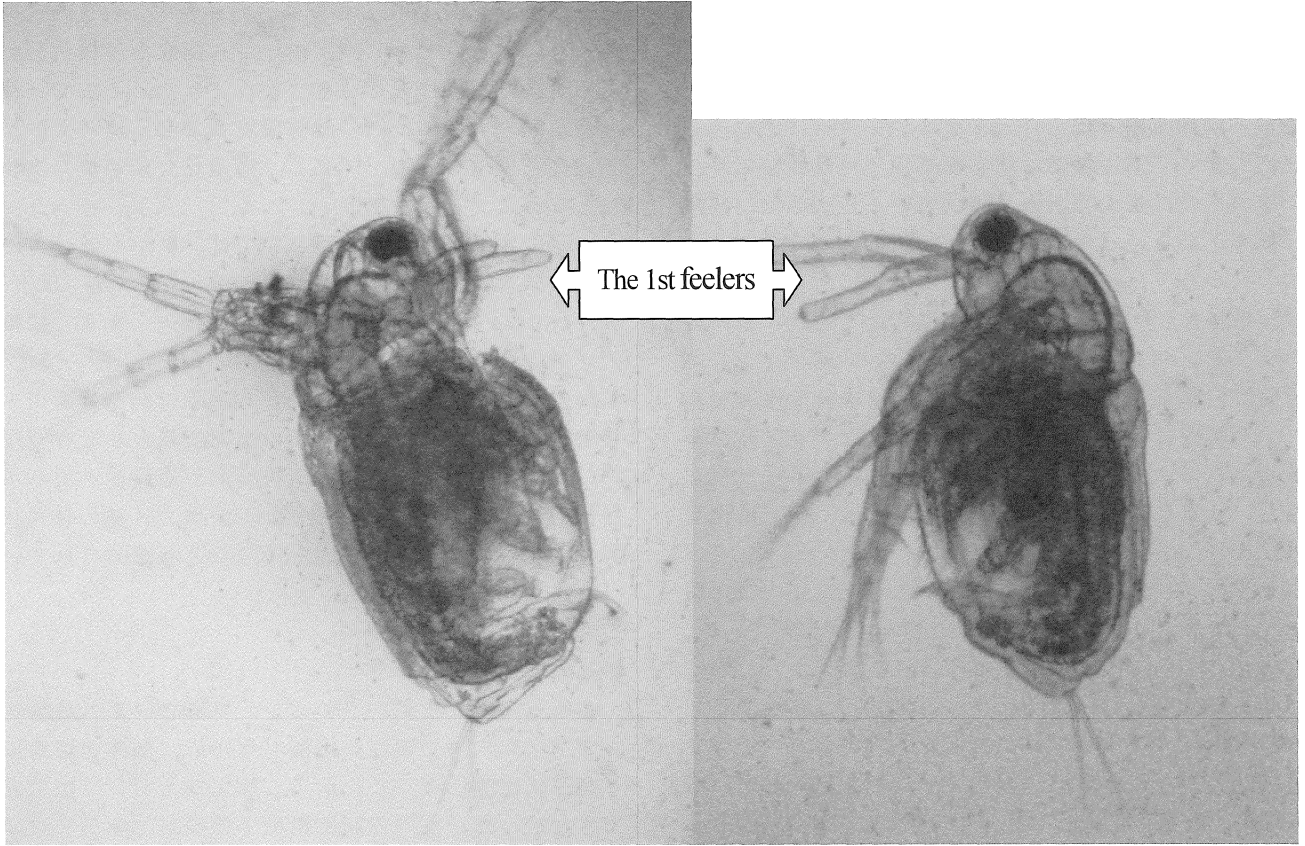


Fig. 1. *M. macrocopa* : female (left) and male (right).

第2章 タマミジンコ (*Moina macrocopa*) の増殖特性

タマミジンコの大量培養を行う上で本種の増殖特性を把握することは、基礎的知見として非常に重要である。そこで、第2章では、個体別培養によって餌料環境の違いおよび電照の有無による寿命、産仔数、産仔回数等を検討し、さらに耐久卵のふ化条件と耐久卵を産出した個体のその後の産仔状況を検討した。

第1節 餌料環境による単為生殖

淡水枝角目の餌料と増殖の関係については多くの報告がなされている(杉目・馬場 1963;伊藤ら 1968;Yamasita and Uchyama 2001)。岩井(1985)は、淡水枝角類 *Moina dubia* の餌料として鳩糞が増殖に有効であると報告している。本研究では濃縮淡水産クロレラ(生クロレラ V12:クロレラ工業株式会社製、以下クロレラ)と鶏糞抽出液(市販の発酵鶏糞 1 kg に地下水 5 ℓ を入れ、十分に煮沸し、沈殿物を除去した上澄み液)を餌料とした時の タマミジンコ の単為生殖による増殖を調べた。

材料および方法

1. 最適給餌量の検討

供試したタマミジンコは、(財)化学物質評価研究機構から 1997 年に福岡県水産海洋センター・内水面研究所に搬入し、地下水で継代培養したものである。培養した個体群の中から 6 穴マルチウエルプレートに 1 個体/ウエルずつ収容し、クロレラと鶏糞抽出液を給餌したもののうち、1 個体から産出され、かつ産出後 24 時間以内の仔ミジンコを用いた。給餌料としての各試験区の餌料濃度を Table 2-1 に示した。単独給餌区としてクロレラと鶏糞抽出液を 3 段階の濃度 (a~f) に作成し、混合給餌区として 2 種の餌料を 5 段階の濃度 (g~k) で作成し、さらに対照として無給餌区を設けた。6 穴マルチウエルプレートの 1 ウエル毎に各餌料濃度に調整した飼育水を 5 ml 入れ、上記の仔ミジンコを 1 個体/ウエルずつ収容した。水温は恒温室で 25℃ に保温し、電照及び暗黒を交互に 12 時間とした。単独給餌区は 1 試験区に 2 個体、混合給餌区及び対照区にはそれぞれ 1 個体ずつ用いた。試験個体は 48 時間毎に別のプレートの新しい飼育水を入れたウエルに駒込ピペットで移し替えた。試験期間は、試験個体が死亡するまでとし、生涯産仔数、生涯産仔回数を計測し、1 回あたりの産仔数を求めた。なお、産出された個体群に、大きさが明らかに違う 2 群が見られた場合は、2 回の産仔がなされたとして計数した。

Table 2-1. Design for feeding experiment.

Examination division	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k	l
<i>Chlorella</i> (million cell/ml)	30	12	6	0	0	0	30	15	12	6	3	0
Chicken droppings extract (ml/l) ※1	0	0	0	5	2	1	5	2.5	1.3	1	0.5	0

※1: Water was put into fermentation chicken droppings and supernatant liquid was collected after boiling.

2. 鶏糞抽出液の効果の確認

供試したタマミジンコは、後述する大量培養システム(C型)で培養中に得られた耐久卵からふ化した個体群である。試験区として、無給餌区、鶏糞抽出液区(2 ml/ℓ)、クロレラ区(1,200 万 cells/ml)、混合区(クロレラ:1,200 万 cells/ml、鶏糞抽出液:1 ml/ℓ)を設定した。試験に先立って、耐久卵を試験区と同じ餌料濃度に調整した飼育水に投入した。3 日後にふ化した個体の中から、1 個体ずつを各濃度に調整した飼育水 5 ml に収容した。1 試験区毎に 6 穴マルチウエルプレート 2 枚の計 12 穴、すなわち 12 個体ずつを用いた。水温は恒温室で 25℃ に保温し、蛍光灯下で 24 時間電照した。試験個体は 1 日 1 回、別のプレートの新しい飼育水を入れたウエルに駒込ピペットで移し替えた。試験期間は、試験個体が死亡するまでとし、寿命、生涯産仔数、生涯産仔回数を計測し、1 回あたりの産仔数を求めた。得られた値については、Stat View

ver 5.0 (SAS Institute Inc 製)により多重比較検定(Tukey-test)を行い、餌料間の値を比較した。なお、1 日で産出された個体群に大きさが明らかに違う 2 群がある場合は、2 回の産仔がなされたとして計数した。また、産仔された個体は顕微鏡下で観察し、第 1 触角の形態 (Fig. 1) で雌雄を判別した。

また、発酵鶏糞から作成した鶏糞抽出液には天然エストロゲン類が含まれることから、その含有量についての分析を(財)日本食品分析センターに依頼した。分析方法は次のとおりである。検体にサロゲート物質を添加し、アセトニトリルで抽出、ヘキササン洗浄した後、ゲル浸透クロマトグラフィーを行った。さらにジエチルアミノプロピル陰イオン交換カートリッジカラムクロマトグラフィーを行った後、ペンタフルオロベンジル誘導体化及びトリメチルシリル化し、フロリジルカートリッジカラムクロマトグラフィーを行った後、ガスクロマトグラフィ

一質量分析計（負イオン化学イオン化法）を用いて定量した。その他のホルモン類は、検体をアセトニトリル及びメタノール混合液（4：1）で抽出し、ヘキサン洗浄した後、ジクロロメタンに転溶した。ジエチルアミノプロピル陰イオン交換カートリッジカラムクロマトグラフィーを行った後、高速液体クロマトグラフを用いて定量した。

結 果

1. 最適給餌量の検討

各試験区の1個体からの総産仔数を Fig. 2-1 に示した。総産仔数が最も多かったのは、混合給餌区 h の 87 個体、次いで g の 77 個体であった。最も少なかったのは、クロレラ単独給餌区 a の 6.5 個体で、対照の無給餌区 1 では産仔されなかった。各試験区の1個体からの産仔回数を Fig. 2-2 に示した。産仔回数が最も多かったのは、混合給餌区 g 及び h の 6 回、次いで鶏糞抽出液単独給餌区 d および混合給餌区 i の 4 回であった。最も少なかったのは、クロレラ単独給餌区 a 及び b の 1 回であった。各試験区の1個体の1回あたりの産仔数を Fig. 2-3 に示した。1回あたりの産仔数が最も多かったのは混合給餌区 h の 14.5 個体、次いで混合給餌区 i の 14.3 個体であった。最も少なかったのは、鶏糞抽出液単独給餌区 f の 6.3 個体であった。

2. 鶏糞抽出液の効果の確認

各試験区の平均寿命と標準偏差を Fig. 2-4 に示した。平均寿命は鶏糞抽出液区が最も長く、次いで混合区、クロレラ区となり、それぞれ 9.8 ± 0.8 , 4.3 ± 1.8 , 3.0 ± 1.5 日であった。無給餌区は試験開始翌日には全て死亡した。産子が始まったのはクロレラ区及び混合区で3日目、鶏糞抽出液区は4日目、産仔しないで死亡した実験個体がいずれの区でも2～5個体見られた。また、無給餌区は全ての個体で産仔は見られなかった。各試験区の1個体の平均生涯産仔数と標準偏差を Fig. 2-5 に示した。平均生涯産仔数は混合区が最も多く、次いでクロレラ区、鶏糞抽出液区となり、それぞれ 61.3 ± 44.5 , 12.8 ± 16.5 , 6.9 ± 5.5 個体であった。各試験区の1個体の平均産仔回数と標準偏差を Fig. 2-6 に示した。平均産仔回数は混合区が最も多く、次いで鶏糞抽出液区、クロレラ区となり、それぞれ 2.8 ± 1.8 , 2.3 ± 1.4 , 1.0 ± 1.3 回であった。各試験区の1個体の1回あたりの平均産仔数と標準偏差を Fig. 2-7 に示した。1回あたりの平均産仔数は混合区が最も多く、次いでクロレラ区、鶏糞抽出液区となり、それぞれ 22.5 ± 5.2 , 12.8 ± 3.8 , 2.9 ± 1.3 個体/回であった。雄の産出状況を Table 2-2 に示した。鶏糞抽出液区で4

個体が1～3個体の雄を産出した。混合区では1個体が、23個体の雄を産出した。

鶏糞抽出液中の天然エストロゲン類の含有量を Table 2-3 に示した。17 α -エストラジオールは $0.13 \mu\text{g}/\text{kg}$, 17 β -エストラジオールは $0.62 \mu\text{g}/\text{kg}$, エストロンは $0.71 \mu\text{g}/\text{kg}$ がそれぞれ検出された。

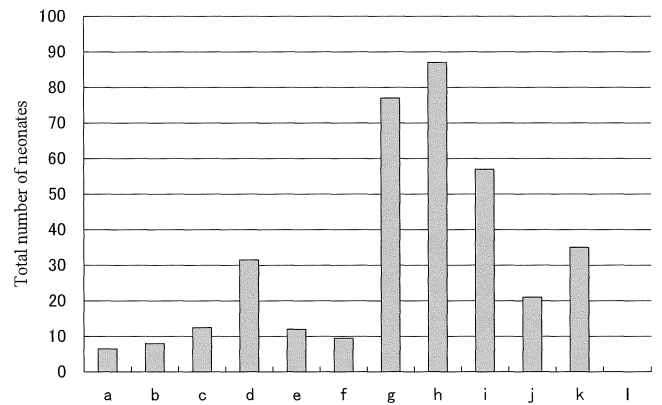


Fig. 2-1 Total number of neonates from one *M. macrocopa* cultured under different foods and concentrations.

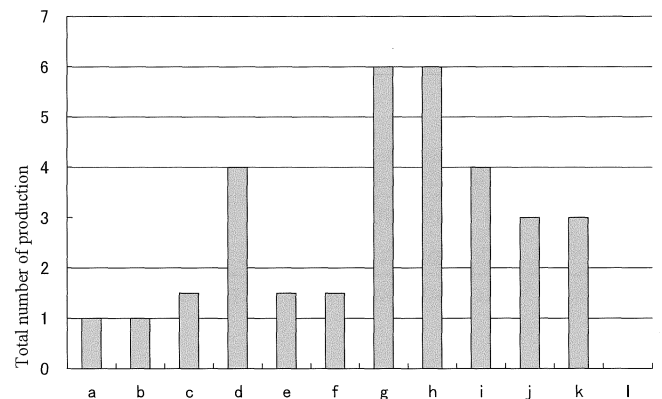


Fig. 2-2. Total number of production from one *M. macrocopa* cultured under different foods and concentrations.

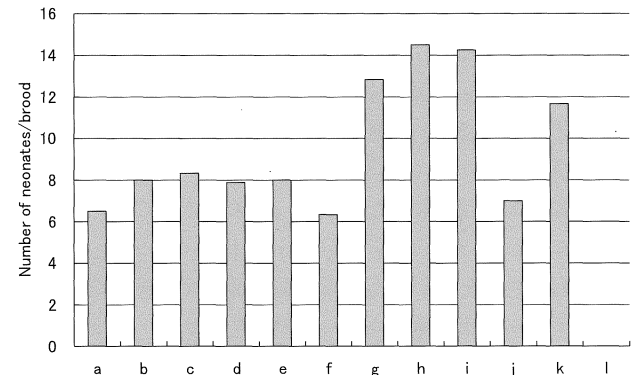


Fig. 2-3. Number of neonates produced in one brood from a *M. macrocopa* cultured with different foods and concentrations.

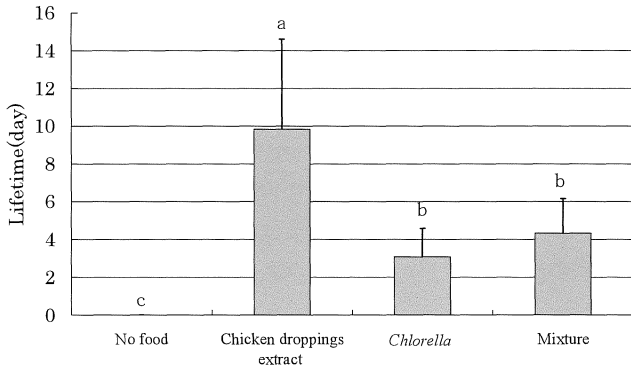


Fig. 2-4. Lifetime of *M. macrocopa* cultured with different food. Vertical line indicates standard deviation. The different letters on each column indicate significant differences ($a>b>c$, Tukey-test, $p<0.05$).

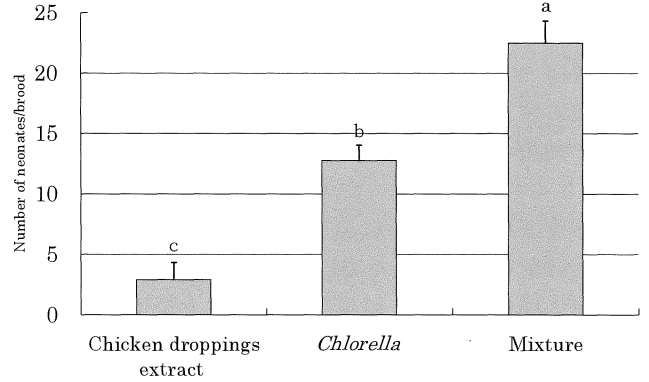


Fig. 2-7. Number of neonates produced in one brood of *M. macrocopa* cultured with different food. Vertical line indicates standard deviation. The different letters on each column indicate significant differences ($a>b>c$, Tukey-test, $p<0.05$).

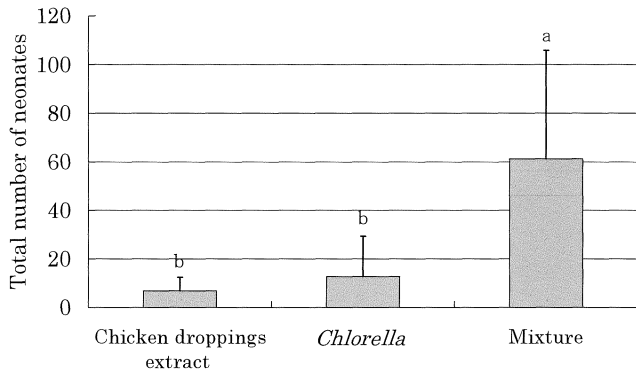


Fig. 2-5. Total number of neonates of *M. macrocopa* cultured with different food. Vertical line indicates standard deviation. The different letters on each column indicate significant differences ($a>b$, Tukey-test, $p<0.05$).

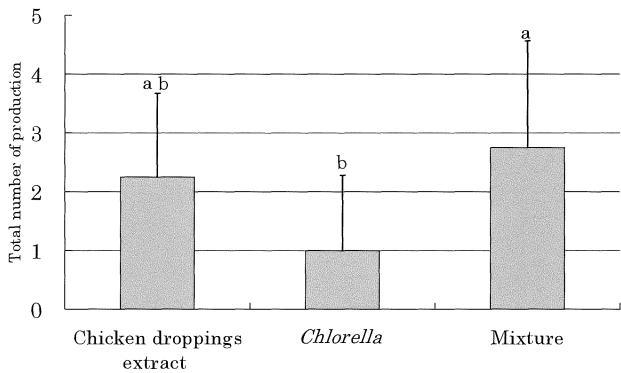


Fig. 2-6. Total number of production of *M. macrocopa* cultured with different food. Vertical line indicates standard deviation. The different letters on each column indicate significant differences ($a>b$, Tukey-test, $p<0.05$).

Table 2-2. Number of male and female in produced neonates

	Chicken droppings extract				Mixture
Male	3	2	1	2	23
Female	5	0	3	7	59
Total	8	2	4	9	82

考 察

本研究では、餌料としてクロレラと鶏糞抽出液を用いたが、クロレラはミジンコの餌料としても有効であることが知られている。一方、鶏糞抽出液は発酵鶏糞から作成したものである。鶏糞は古くからミジンコの繁殖を促すための施肥として用いられている。今日においてもコイやキンギョの種苗生産現場では、屋外池で鶏糞が使われており、これがミジンコの餌料であるバクテリアや植物プランクトンの繁殖を助長する働きがあるためと考えられている(代田 1975)。

最適給餌量の検討では、クロレラの単独餌料では、濃度の低い方が産仔数及び産仔回数が多くなる傾向を示したが、鶏糞抽出液では、逆に濃度の高い方が産仔数と産仔回数が多くなる傾向を示した。両者を混合することで生涯産仔数は87個体、産仔回数6回と著しく向上し、その最適濃度は、クロレラを1,500万 cells/mlと鶏糞抽出液2.5ml/lを混合したものであった。

鶏糞抽出液の効果の確認においては、新しい餌料を入れた飼育水を毎日交換するため、上記の最適濃度よりや

や低く設定した。無給時では、試験開始の翌日に死亡し、産仔も行われなかったことからタマミジンコは飢餓により死亡したと思われた。一方、鶏糞抽出液を単独で給餌すると寿命は、9.8日と著しく長くなるが、1回あたりの産仔数は2.9個体と著しく少なくなった。これは、鶏糞抽出液に含まれるバクテリア等が、タマミジンコの餌料として利用されたものの、栄養的には少ないため産仔を止め、生命の維持を図っているものと推察された。また、耐久卵を形成するために必要な雄を産仔した個体は、鶏糞抽出液を単独給餌した方に多く出現した。上野(1973)は、耐久卵の形成に、餌料環境の悪化を要因の1つに挙げている。このことからタマミジンコに鶏糞抽出液のみを給餌しても栄養が少ないため、雄の産仔を促したと考

えられる。クロレラに鶏糞抽出液を添加することで著しく産仔数が増加するのはクロレラ単独では足りない栄養素を鶏糞抽出液が補っていることが一因と思われる。また、天然エストロゲンが水中に存在すると *D. celebensis* の産仔数が増大することが報告されている (Marcial et al. 2007)。鶏糞抽出液には分析の結果、雌のニワトリ由来と推測されるエストロゲンが含まれていることから、これらの化学物質がミジンコに直接作用することによって、ミジンコの増殖を促進するような機構も存在すると考えられる。

Table 2-3. Natural estrogens contained in chicken dropping extract

Chemicals	Chicken droppings extract	Limit of detection
17 α - Estradiol	0.13 μ g/kg	0.05 μ g/kg
17 β - Estradiol	0.62 μ g/kg	0.05 μ g/kg
Estrone	0.71 μ g/kg	0.05 μ g/kg
Estriol	undetectable	0.5 μ g/kg
Ethynyl estradiol	undetectable	0.05 μ g/kg
Progesterone	undetectable	0.1ppm
Testosterone	undetectable	0.5ppm
Methyltestosterone	undetectable	0.5ppm

第2節 電照の有無による単為生殖

タマミジンコの大量培養を行う上で、大量培養システムにおける電照装置の必要性を検討した。電照の有無が寿命、産仔数および産仔回数に与える影響を調べ、大量培養技術開発のための基礎的知見を得ることを目的とした。

材料および方法

供試したタマミジンコは、継代培養中に得られた個体を6穴マルチウエルプレートに1個体/ウエルずつ収容し、クロレラと鶏糞抽出液を給餌し培養したものうち、1個体から産出され、かつ産出後24時間以内の仔ミジンコ群である。電照区は蛍光灯で24時間電照し、暗黒区は24時間遮光した。各ウエルにクロレラ(1,200万 cells/ml)と鶏糞抽出液(1ml/l)を調整した飼育水5mlを入れ、仔ミジンコを1個体ずつ収容した。1試験区を1プレート(6個体)とした。水温は恒温室で28℃に保持し、試験個体は24時間毎に別のマルチウエルプレートの新しい飼育水に駒込ピペットで移し替えた。試験個体が死亡するまで飼育し、寿命、生涯産仔数、生涯産仔回数を調べ、1回

あたりの産仔数を求めた。得られた値は、Stat View ver5.0 (SAS Institute Inc 製)の多重比較検定(Tukey-test)を行い、試験区間の有意差をみた。なお、産出された個体群の大きさが明らかに違う場合は2回の産仔がなされたとして計数した。

結 果

平均寿命と標準偏差をFig. 2-8に示した。電照区(6.0 \pm 1.4日)は、暗黒区(3.7 \pm 0.8日)より有意に長かった(Tukey-test, p<0.05)。平均総産仔数と標準偏差をFig. 2-9に示した。それぞれ66.8 \pm 40.5、37.5 \pm 15.5個体となり、有意差はみられなかった。平均産仔回数と標準偏差をFig. 2-10に示した。電照区と暗黒区は、それぞれ4.4 \pm 2.0、2.8 \pm 1.2回となり、有意差はみられなかった。また、1回あたりの平均産仔数と標準偏差をFig. 2-11に示した。電照区と暗黒区は、それぞれ14.9 \pm 3.3、13.5 \pm 2.5個体となり、有意差はみられなかった。

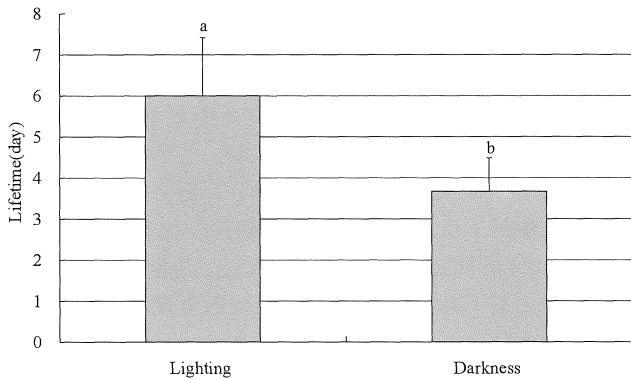


Fig. 2-8. Lifetime of *M. macrocopa* cultured under 24L and 24D. Vertical line indicates standard deviation. The different letters on each column indicate significant differences ($a > b$, Tukey-test, $p < 0.05$).

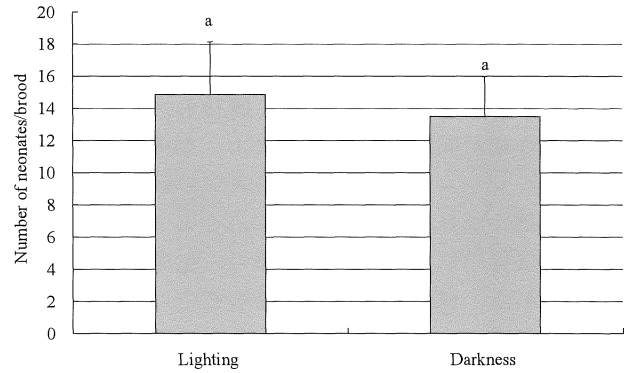


Fig.2-11. Neonates that produces in one time of *M. macrocopa* cultured under 24L and 24D. Vertical line indicates standard deviation. The different letters on each column indicate significant differences ($a > b$, Tukey-test, $p < 0.05$).

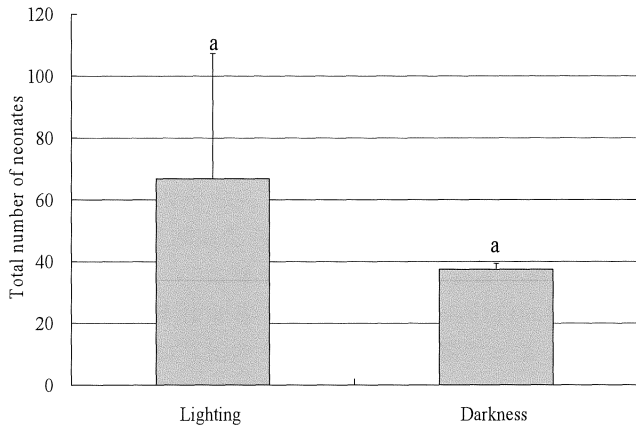


Fig. 2-9. Total number of neonates of *M. macrocopa* cultured under 24L and 24D. Vertical line indicates standard deviation. The different letters on each column indicate significant differences ($a > b$, Tukey-test, $p < 0.05$).

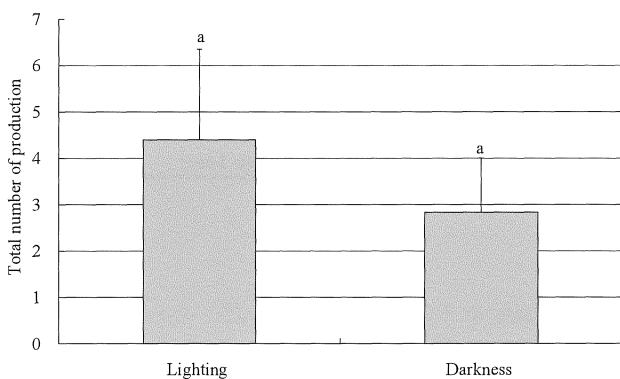


Fig. 2-10. Total number of production of *M. macrocopa* cultured under 24L and 24D. Vertical line indicates standard deviation. The different letters on each column indicate significant differences ($a > b$, Tukey-test, $p < 0.05$).

考 察

花里 (1998) は、短日周期が環境条件の悪化の 1 つになるとしている。この光環境の変化が産仔数および産仔回数に悪影響を与えるかを検討した。

タマミジンコの産仔数および産仔回数には、24 時間電照と暗黒による差は見られず、寿命のみが電照により有意に長くなった。*D. celebensis* では、電照が個体群増殖を抑制させる (椿 2004) のに対し、タマミジンコでは、そのような傾向は見られなかった。電照が *D. celebensis* の個体群増殖を抑制する原因は明らかになっていない。一般的に動物プランクトンは日周期鉛直移動を行い、昼間は深層部に降り、夜になると表層部に上がる。動物プランクトンが日中下層に降るのは、魚の多くが視覚で餌を認知して捉えることから逃れるためと考えられている (花里 1998)。これらの性質のため、電照が *D. celebensis* にストレスを与えると仮定すれば、タマミジンコは、池沼、田圃などの浅い水域に生活するため、光に対するストレスがないのかもしれない。実際に培養中のタマミジンコに懐中電灯の光を当てると強い正の走行性を示すが、*D. celebensis* では、それほど強い正の走行性は示さなかった。また、タマミジンコの大量培養中にはクロレラが多量に給餌される。培養水槽への電照はクロレラの光合成を促進させ、溶存酸素量を増加させることが考えられる。これらのことから、大量培養システムにおける電照の必要性は、今後さらにタマミジンコの増殖率とともに溶存酸素量も検討する必要があると思われる。

第3節 耐久卵のふ化条件と耐久卵産出後の単為生殖

餌料生物としてタマミジンコを用いる場合、種株の保存は必要不可欠である。試験管レベルでは周年種株を維持培養することは可能であるが、餌料のストックや給餌等の飼育管理が問題となる。そのような中、耐久性に優れたタマミジンコの耐久卵は、ワムシの耐久卵と同様に保存には都合が良いと考えられる。そこで、タマミジンコの大量培養中に得られた耐久卵のふ化条件を調べた。しかしながら、餌料としての大量培養中にタマミジンコが耐久卵を産出することは、その分だけ増殖量の減少を招くことも考えられる。そこで、耐久卵を産出した個体のその後の産仔状況についても個体別培養によって調べた。

材料および方法

1. 耐久卵のふ化試験

供試したタマミジンコの耐久卵は、大量培養中に得られてから6ヶ月間冷蔵保存(4℃)したものと、得られた直後(無保存)のものを用いた。大きさについては、60個の長径と短径を万能投影機(Nikon, profile projector V-12)で測定した。試験区の条件設定をTable 2-4に示した。電照区(A)は冷蔵保存した耐久卵を用い、蛍光灯下で24時間電照し、水温28℃、無給餌とした。暗黒区(B)は24時間遮光し、他は電照区と同様にした。給餌区(C)はクロレラ(1,200万 cells/ml)と鶏糞抽出液(1 ml/l)を給餌し、他は電照区と同様にした。低温区(D)は水温4℃とし、他は暗黒区と同様にした。

Table 2-4. Hatching conditions of the resting egg in each examination division

Conditions	Examination division				
	A	B	C	D	E
Resting egg	Cold storage (4℃)	Cold storage (4℃)	Cold storage (4℃)	Cold storage (4℃)	Immediately after production (28℃)
Illumination (24h)	Lighting	Darkness	Lighting	Darkness	Lighting
Water temperature (℃)	28	28	28	4	28
Existence of a feed	No feed	No feed	Feed ^{※1}	No feed	No feed

※1: Chlorella (1,200 million cells/ml) and Chicken droppings extract (1ml/l)

結 果

1. 耐久卵のふ化試験

供試した耐久卵の平均長径と標準偏差は 686.3 ± 20.3 μm (n=60) で、平均短径と標準偏差は 449.6 ± 18.1 μm (n=60) であった。電照区(A)、暗黒区(B)、給餌区(C)及び無保存卵区(D)は48時間後からふ化が見られたが、低温区はふ化しなかった。48時間後の平均ふ化

無保存卵区(E)には、大量培養中に産出され、低温を経験したことの無い耐久卵を用い、他は電照区と同様にした。6穴マルチウェルプレートの各ウェルに耐久卵を10個ずつ投入し、2プレート12ウェルを1試験区(合計120個)とした。耐久卵の選別に当たっては、Fig. 2-12に示したように実体顕微鏡下で卵が2個あるものとし、最高ふ化数が1ウェルあたり20個体となるようにした。各区とも24時間毎にふ化数を計数し、ふ化していた場合には、仔ミジンコを駒込ピペットで取り除いた。観察は10日間継続した。試験終了後、1ウェルの平均ふ化数を求め、得られた値をStat View ver 5.0 (SAS Institute Inc製)により多重比較検定(Tukey-test)によって試験区間のふ化数を比較した。

2. 耐久卵産出後の産仔状況の検証

大量培養中に出現する耐久卵を保持した個体(Fig. 2-13)を目視で確認し、駒込ピペットで採取した。その中から無作為に20個体を抽出し、体長を測定した。また、6穴マルチウェルプレート2枚のウェルにそれぞれ選別した個体を1個体ずつ収容した。飼育条件は第2章第1節-2の混合餌料区と同様にし、実験個体が死亡するまで飼育し、寿命、生涯産仔数、生涯産仔回数を調べ、1回あたりの産仔数を求めた。得られた値はStat View ver 5.0 (SAS Institute Inc製)を用い多重比較検定(Tukey-test)によって第2章第1節-2の混合餌料区との比較を行った。また、産出された耐久卵は別に回収し、ふ化の有無を観察した。

数と標準偏差を Fig. 2-14 に示した。それぞれ A : 17.6 ± 1.7, B : 12.6 ± 3.8, C : 16.7 ± 2.0, E : 16.8 ± 2.3 個体となり、ふ化が見られた試験区の中で暗黒区のふ化数は他の試験区よりも少なかった(Tukey-test, p<0.05)。72時間後でも低温区はふ化しなかったが、電照区(A)、暗黒区(B)、給餌区(C)及び無保存卵区(D)では僅かに平均ふ化数が増加した。96時間後の各試験区の平均ふ化数と標準偏差を Fig. 2-14 に示した。なお、96時

間後でも低温区はふ化しなかった。それぞれA : 18.3 ± 1.1, B : 17.3 ± 2.3, C : 17.9 ± 1.5, E : 18.4 ± 2.4 個体となり, ふ化した試験区間での有意差はみられなかった。

2. 耐久卵産出後の産仔

耐久卵を保持していた個体の平均体長と標準偏差は 1,025.0 ± 55.0 μm であった。いずれの個体も翌日には耐久卵を産出していた。産出された耐久卵 12 個のうち 11

個から 2 個体ずつの幼生がふ化した。1 個の耐久卵のみ 1 個体しかふ化しなかった。耐久卵産出後の産仔状況を Table 2-5 に示した。平均総産仔数と標準偏差は 59.7 ± 59.9 個体, 平均産仔回数は 2.8 ± 2.5 回, 1 回あたりの産仔数は 20.4 ± 3.1 個体であった。総産仔数, 産仔回数及び 1 回あたりの産仔数のいずれにおいても第 2 章第 1 節 - 2 の混合餌料区との間に有意差はみられなかった (Tukey-test, p < 0.05)。

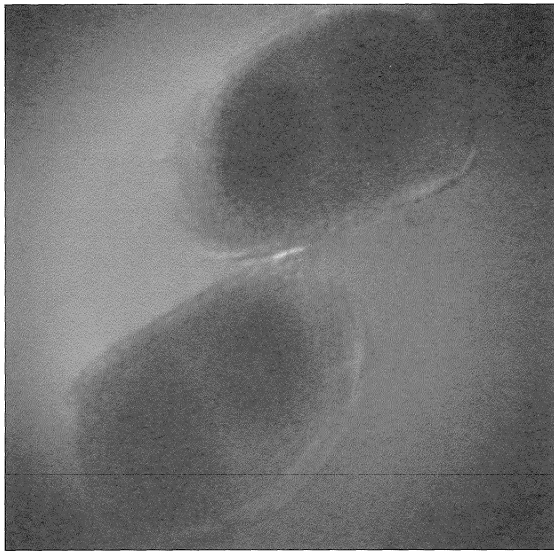


Fig. 2-12. Resting eggs of *M. macrocopa*. Two individuals hatch from one ephippia.



Fig. 2-13. *M. macrocopa* bearing a resting egg.

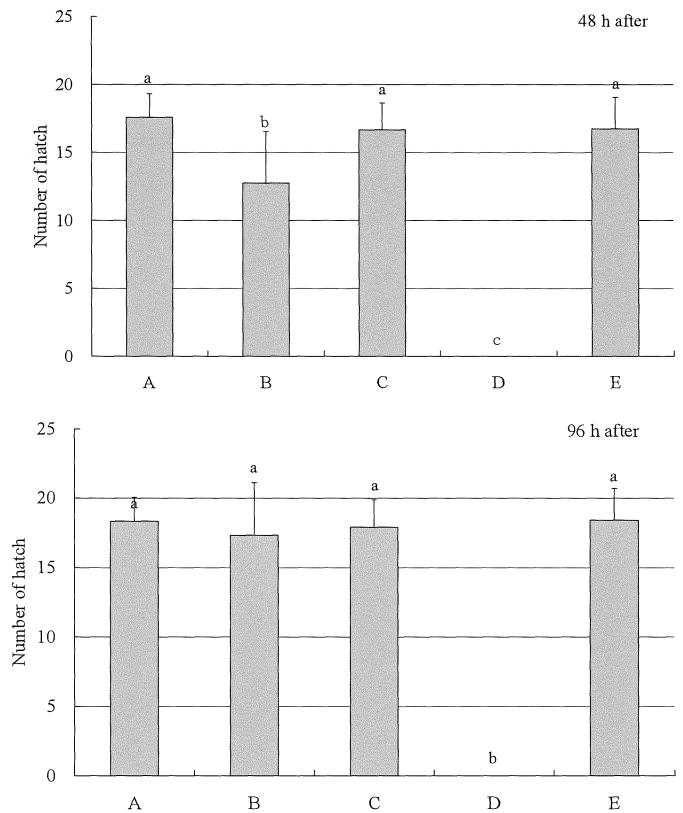


Fig. 2-14. Number of hatch of the resting eggs for every examination division. Vertical lines indicate mean and a half standard deviation of 12 replicates. The different letters on each column indicate significant difference ($a > b > c$, Tukey-test, $p < 0.05$).

Table 2-5. Number of neonates of the individual which produced the resting egg, and the individual which did not produce resting eggs, the number of times of neonates, and the number of neonates per brood

	Total number of neonates	Total number of production	Number of neonates/brood
Individual which produced the resting egg	59.7 ± 59.9	2.8 ± 2.5	20.4 ± 3.1
Individual which did not produce a resting egg	61.3 ± 44.5	2.8 ± 1.8	22.5 ± 5.2

考 察

枝角目の耐久卵のふ化条件については、水温の上昇、光の長日周期、低温を経験すること、乾燥を経験することなどが要因として考えられている（花里 1998）。今回の試験でタマミジンコの耐久卵は、温度が 28℃であれば 48 から 96 時間後に 85%以上がふ化した。低温経験や餌料の有無は、ふ化に影響を与えなかった。電照の影響についてみると、48 時間後では、電照した方がふ化率は有意に高くなったが、96 時間後にはふ化率に差は見られなくなった。このことから電照した方がふ化までの時間が若干早くなると思われた。Stross (1966) は、*Daphna* の耐久卵のふ化条件では光に曝されることが重要であると報告している。しかし、今回の試験では、暗黒区の耐久卵は、卵の回収時やふ化の確認時に短時間ではあるが光

に曝されていることから今後更に検討する必要がある。また、耐久卵は、48 時間後からふ化することから大量培養中（培養期間：3日間）にふ化していることが示唆された。実際に大量培養後に回収した耐久卵の中には、殻が割れて中に核がないものも見られる。

杉目 (1959) は、*Daphna carinata* は、栄養条件を改善すれば耐久卵産出後でも *D. carinata* の産仔能力の増加を図ることが可能と報告している。耐久卵を産出したタマミジンコについては、耐久卵を保持していた個体の日令が分からないため、寿命は不明であるが、以後の産仔数、産仔回数および 1 回あたりの産仔数は耐久卵を産出しなかった個体と比較して有意な差がみられなかった。このことから、大量培養中の餌料条件等の飼育環境条件を良好に維持すれば、耐久卵を産出する個体が出現しても、増殖には大きな影響は無いものと推察された。

第3章 大量培養技術の開発

第3章では、室内の制御環境下でタマミジンコのバッチ式高密度培養を0.1~1.0 m³の水槽を用いて行うため、通気装置の開発とその低コスト化、電照装置の必要性を検討した。また、大量培養中に出現し培養を阻害する生物の対策を検討した。さらに、開発したタマミジンコの大量培養システムを *D. celebensis* に応用することを試みた。また、タマミジンコ及び *D. celebensis* の大量培養中に用いる餌料の低コスト化についても検討した。

第1節 基本的な大量培養技術の開発とシステム化

タマミジンコの大量培養に際して、すでに確立されているワムシ培養と同様の方法を試みたが、すべて失敗に終わってきた。その原因として、ワムシ培養で一般的に導入されているエアストーンによる強通気に伴う培養水の攪拌が、ミジンコには多大なストレスを与える結果となっているのではないかと考えた。一方、施肥や給餌を行う屋外培養では、池水の攪拌を行わないために、ミジンコが指数増殖期に至ると、水面近くで渦を巻くような局所的なパッチを形成し、水面下にはほとんど分布しなくなる。本種を高密度で培養するためには、強い水の攪拌を抑えながら、ミジンコ個体群を培養水全体に分散させると共に、個体群増殖に十分な酸素を供給できるようなシステムの開発が必要であると思われた。

本研究では、上記の条件を満たすような通気装置を新たに考案し、その効果について検討した。

材料および方法

1. 通気装置の開発

タマミジンコの増殖に十分な酸素を供給する一方、通気にもなう培養水の攪拌を必要最小限にすることを目的として、塩化ビニルパイプを材料として多重パイプ構造の通気装置を試作した。二重構造のパイプを基本型(以下A型)として、三重パイプ構造(以下B型)と四重パイプ構造(以下C型)の通気装置を作成した。これらを0.1 m³の透明な円形のパンライト水槽に設置可能な大きさになるよう作製した。各通気装置の形状と水の吐出方向を含む断面模式図をFig. 3-1に示した。エアストーンのみ通常通気を対照として、同量の通気量を与えた場合に槽内に生じる水の動きを経時的に観察した。水流の観察を行うため、KMnO₄液と濃縮淡水クロレラ液をそれぞれ水の着色に用い、これらを水面中央部に注いで実験を開始とした。さらに大型の0.5 m³の水槽にB型とC型の通気装置を設置し、同様の水流実験を行った。この実験

では、前記の着色剤だけでなく、水槽内の水流を詳細に部位別に観察するため、染色したタマミジンコ(ホルマリン固定後、ギムザ液あるいはマラカイトグリーン液で染色したもの)をピペットで注入する方法も用いた。更に、通気装置を構成するパイプの長さを変えて全体の水流の調節を試みた。また、C型と対照のエアストーンのみについて、0.5 m³水槽中で通気量を変化させたときの局所的な流速を把握するため、超小型プロペラ流速計SV-33W型(中村製作所製)を用いて測定した。測定箇所は、Fig. 3-1に示したようにC型の流速の早い2カ所の噴出口(a,b)と1カ所の吸入口(c)及びタマミジンコの増殖域である中層部(d)とした。対照の方は、流速の早い中央の表層部(a)と水槽の中層部(d)とした。

2. 培養実験

タマミジンコの体内の代謝速度は26~28℃で最大になることが報告されている(岡ら 1979)。また、タマミジンコと同じく *Moina* 属の *Moina dubia* でも、15~30℃の範囲内では高水温ほど増殖率が增大することが報告されている(伊藤ら 1968)。これらのことから、本研究では、地下水を培養水とし、タマミジンコの培養条件を最適化するため、水温をヒーターとサーモスタットで28±1℃に調節した。培養開始時の種ミジンコはメッシュオープンニング500 μmのプランクトンネット(以下ネット)で篩別したのち培養水中に収容し、原生動物等のコンタミネーションを避けた。バッチ培養の期間は72時間とした。餌料としてクロレラを1~2回/日、残餌量を見ながらタマミジンコ培養水1ℓに対し0.4~2.0 ml/ℓの範囲で順次増加して与えた。通気には、より多くの酸素を供給するためにカーボン製の分散器(古橋機器株式会社製)とエアコンプレッサー(株式会社日立製作所製)を用いた。培養終了時には、サイフォンで全培養水を抜き取り、小型個体まで回収するため、350 μm ネットを用いて採集し、湿重量を求めた。タマミジンコの個体数は、実測値をもとに、500 μm ネットに残存したタマミジンコでは1g=4,000個体、350 μm ネットでは1g=5,000個体として換算した。培養水の環境をモニタリングするため、水温、溶存酸素濃度(DO)、水素イオン濃度(pH)(以上、水質チェッカーU10; HORIBA社製)、アンモニア態窒素(NH₄-N)と亜硝酸態窒素(NO₂-N)の濃度を比色分析器(ナノカラーN-3; 笠原理化工業社製)で、各々培養開始直後と収穫直前を含め培養期間中24時間毎に測定した。以上の条件で、0.5 m³水槽と1.0 m³水槽を用いた場合について、培養実験を行った。0.5 m³水槽を用いた実験では、5基の黒色円形ポリエチレン水槽に分散器のみによる弱通気(0.4ℓ/分)、強通気(3.6ℓ/分)のほか、A, B, C型

の通気装置をそれぞれ設置した場合（通気速度はいずれも2.2~3.7ℓ/分）を検討した。種ミジンコは湿重量で392g（約157万個体）とした。1.0 m³水槽での培養実験では、2基の黒色円形ポリエチレン水槽にA型とC型の通気装置を設置した。種ミジンコはそれぞれ1,550g（620万個体）と1,600g（640万個体）である。いずれについても、タマミジンコの酸欠死を防ぐため、溶存酸素が1 mg/ℓ以下にならないよう通気量を調整した。また、生産されたタマミジンコの体サイズ組成を調べるため、培養終了時にメッシュオープニングのサイズが異なるネットを複数用意し、タマミジンコを500 μm ネットを通過せずに残存したもの、500 μm ネットを通過し350 μm ネットに残存したもの、350 μm ネットを通過し200 μm ネットに残存した3通りに分けて採集した。ネットで篩別する際には、地下水をゆっくりとかけ流してネットの通過を促した。得られた3画分のタマミジンコ各60個体の体長を万能投影機（Nikon, profile projector V-12）で測定した。また、ふ化直後のアルテミア *Artemia franciscana*（グレートソルトレイク産）の体長を同様に測定し、タマミジンコと比較した。

結 果

1. 通気装置の開発

各通気装置を設置した0.1 m³水槽において、着色された水が水槽内を一巡するまでの時間から算出した平均流速をTable 3-1に示した。エアストーンのみの場合に比べて、各通気装置を設置した場合の流速は約1/3~1/4以下に抑制され、C型、A型、B型の順に流速が小さくなった。0.5 m³水槽では、水面下のパイプの長さの調整によって、水流を3 cm/分以下にすることが可能であった。B型とC型の通気装置による水槽内の水流の方向をFig. 3-2に示した。B型では水槽下部から上部へ、C型では上部から下部への還流が生じるが、染色したタマミジンコの観察を通じ、いずれの通気装置についても、パイプから下向きに吐出される水の流れと、水槽内を循環してパイプ中心部のエアリフト下面に吸い込まれる水の流れが衝突し、両者が相殺されることによって、強い通気を行っているにもかかわらず、水槽全体の水の流れが抑制されることが確認された。C型及びエアストーンのみでのa~dの各測定点の流速をTable 3-2に示した。通気量を上げるに伴って、エアストーンのみでのa、d点では、流

速が比例的に増加したのに比べて、C型の場合は各点の増加は小さく、中でもd点の流速は僅かに早くなっただけで、エアストーンのみの場合の1/5以下であった。

2. 培養実験

0.5 m³と1.0 m³水槽で行った培養実験の結果をTable 3-3に示した。0.5 m³水槽では、収容密度3.1 個体/ml（約390 g, 157万個体）で培養を開始し、培養72時間後に弱通気下（0.4ℓ/分）では約800g（400万個体）のタマミジンコが収穫された。すなわち、湿重量で表すと収容時の約2.0倍、個体数では約2.5倍に相当した。強通気下（3.6ℓ/分）では、培養開始時に収容したタマミジンコのほとんどが死亡し、給餌に伴う水中懸濁物質の生成によってタマミジンコの収穫自体ができなかった。一方、A型については、湿重量で収容時の約5.5倍、個体数では約6.8倍であり、B型では、各々7.3倍、9.0倍、C型では、7.4倍、9.2倍の収穫が得られた。また、給餌クロレラ1 ml当たりのタマミジンコ生産量（湿重量g）からみた餌料効率（FCR:（収穫時のミジンコ量-収容時のミジンコ量）/クロレラ給餌量）は、弱通気下では0.21 g/mlと低かったが、A、B、C型では0.87~0.92 g/mlといずれも高い値を示した。1.0 m³水槽のA型では湿重量で約3.5倍、個体数で約4.4倍であった。C型では、各々4.8、5.9倍と高い生産性を示した。両者の餌料効率は各々0.98、1.10 g/mlであった。

0.5 m³水槽での培養実験中の水質変化をFig. 3-3に示した。各水槽の実験開始時（1日目）のDOは4~7 mg/ℓであったが、その減少の割合は弱通気下で最も大きくなり、C型が最も小さかった。各水槽ともpHには大きな変化はみられなかったが、A型の1日目を除き、開始後一旦低下し、終了時にやや上がる傾向を示した。NH₄-Nは各水槽とも直線的に増加し、弱通気のみ終了時に減少した。NO₂-Nはいずれの実験区でも培養2日目までは増加し、終了時には、強通気を除き、減少または停滞する傾向がみられた。

ネットのメッシュサイズで3画分にしたタマミジンコとアルテミアの体長分布をFig. 3-4に示した。メッシュサイズ500 μm以上、350~500 μm、200~350 μmのタマミジンコの平均体長は1111.3±107.2, 772.7±99.6, 581.3±62.6 μm（各々n=60）であった。また、オープニング200 μmネットを通過する個体は見られなかった。アルテミアの平均体長は549.3±81.5 μm(n=60)であった。

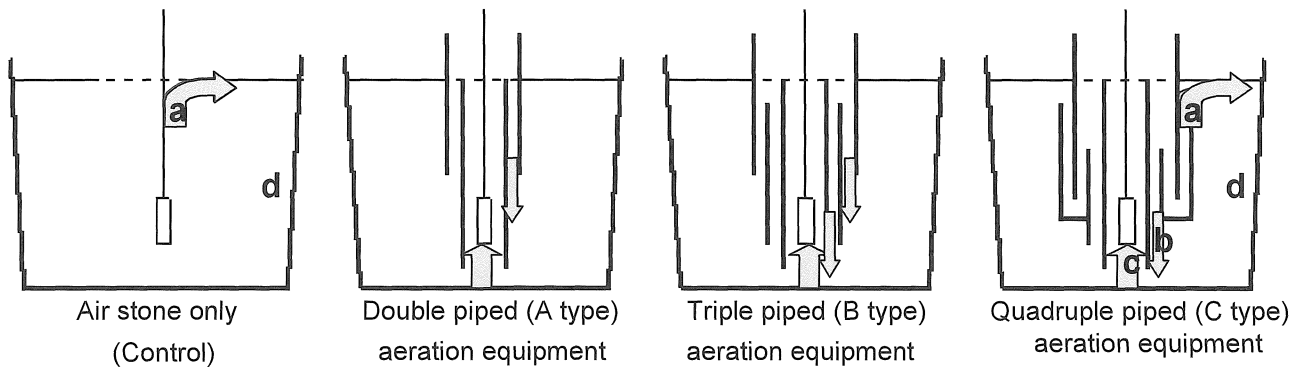


Fig. 3-1. Set-up of different aeration equipments and water movement in 0.1 m^3 tanks. Arrows show direction of water outflow. a~d shows the measurement point at flow velocity.

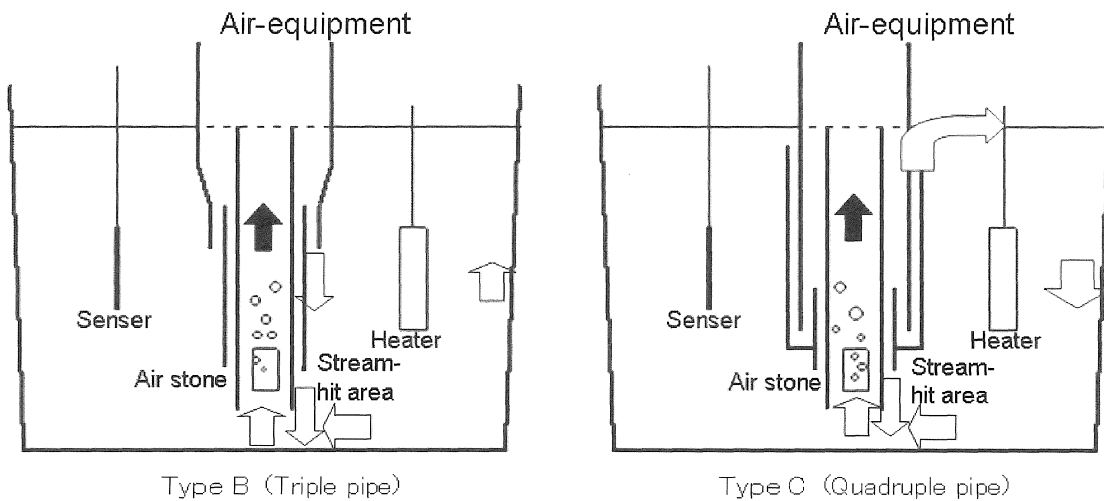


Fig. 3-2. Direction of water movement in triple and quadruple pipe aeration equipments in 0.5 m^3 tanks. Mean water velocity was adjusted using pipe lengths based on observations of stain solutions and dyed *M. macrocopa* (with Giemsa or malachite green). Whole water movement is ceased at stream-hit area in spite of hard aeration.

Table 3-1. Mean velocity (cm/s) of water flow by different aeration equipments

Culture tank	Aeration equipment	Coloring solution	
		KMnO_4	<i>Chlorella</i>
0.1 m^3	Air stone only	8.0	13.0
	A type	2.2	1.4
	B type	1.0	0.5
	C type	2.9	3.3
0.5 m^3 *	B type	2.7	2.3
	C type	2.4	2.4

* adjusted below 3 cm/s by length of pipes.

Table 3-2. Flow velocity (cm/s) at different aeration rate

Aeration equipment	Measurement point	Aeration rate (l/min)			
		3	5	7	9
C type	a	1	3	4	5
	b	1	1	3	7
	c	4	5	6	8
	d	0	0	1	2
Air stone only	a	15	20	25	30
	d	5	7	9	13

Table 3-3. Productivity of *M. macrocopa* culture by different aeration equipment in 0.5 and 1m³ tanks

Culture tank	Aeration equipment	Seed amount* ¹		Harvest amount* ²		Feeding amounts	Feed conversion* ³
		No of individual	Density	No of individual	Density		
0.5m ³	Weak aeration (0.4l/min)	1.57 millions	3.1 ind./ml	4.00 millions	8.0 ind./ml	1,900 ml	0.21 g/ml
	Strong aeration (3.6l/min)	393 g		* ⁴			
	A type	392 g		10.75 millions	21.5 ind./ml	1,900 ml	0.92 g/ml
	B type	393 g		14.25 millions	28.5 ind./ml	2,800 ml	0.87 g/ml
1m ³	C type	393 g		14.50 millions	29.0 ind./ml	2,800 ml	0.89 g/ml
	A type	6.20 millions	6.2 ind./ml	27.50 millions	27.5 ind./ml	4,000 ml	0.98 g/ml
	C type	6.40 millions	6.4 ind./ml	38.25 millions	38.2 ind./ml	5,500 ml	1.10 g/ml
			1,550 g		5,500 g		

- *¹ Wet weight 1g = 4,000 individuals (collected with 500µm plankton net)
- *² Wet weight 1g = 5,000 individuals (collected with 350µm plankton net)
- *³ (harvest amount - seed amount) / concentrated freshwater Chlorella solution
- *⁴ Harvest was impossible due to many dead individuals and suspending floc.

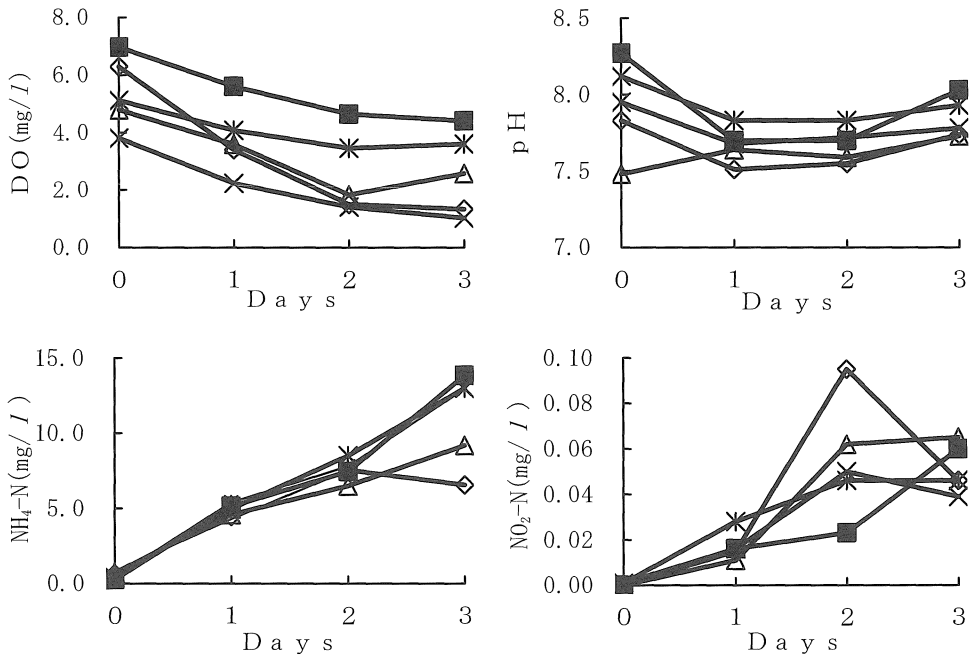


Fig. 3-3. Water quality of *M. macrocopa* cultures with different aeration equipment in 0.5m³ tanks. ◇; weak aeration, ■; strong aeration, △; A type (double piped), ×; B type (triple piped), *; C type (quadruple piped).

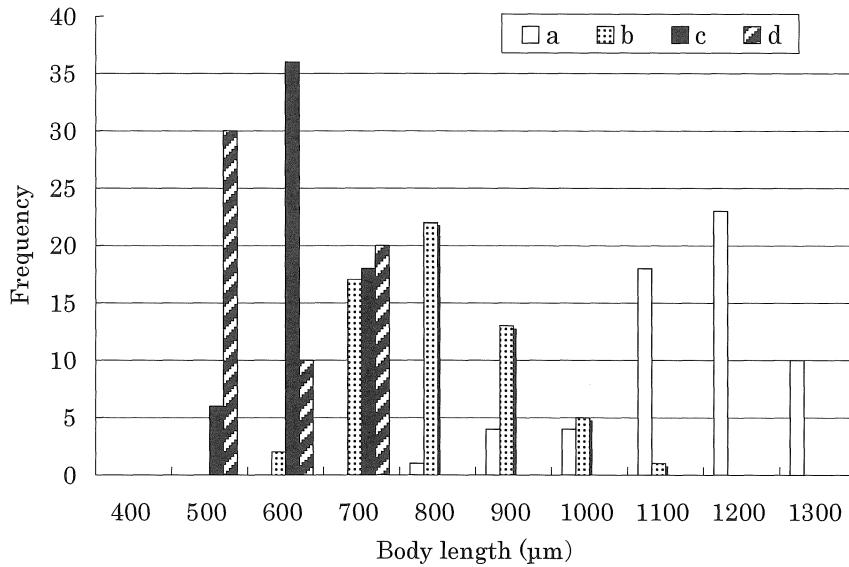


Fig. 3-4. Frequency distribution of body length of *M. macrocopa* when sieved with different mesh size. Fractions indicate *M. macrocopa* more than 500 µm (a), between 350 - 500 µm (b) and between 200 - 350 µm (c). Body length of *Artemia franciscana* (d).

考 察

本研究で試作した二重パイプの通気装置を用いると、一筒のパイプにさらに大きな径のパイプをもう一筒重ねることによって、強い通気を行っても水流が速くならず、高密度でタマミジンコを培養できることが明らかになった。この二重パイプで培養が可能になった要因として、①強通気で十分な D0 が供給されること (Fig. 3-3)、②エアリフトで生じた上向き水流が外側のパイプによって下向きに吐出されて水槽内に下から上への還流を作ると同時に、内側パイプのエアリフトに吸い込まれようとする水流と緩衝しあう結果、水槽内の流速が全体的に抑制されること、③上記の結果、エアリフトに吸い込まれて物理的なダメージを受けるタマミジンコが少なくなること、の3点が考えられた。

この二重パイプ方式を基本型 (A 型) として、更に安定した D0 供給と流速が得られないかを検討するために、三重と四重パイプ構造の B, C 型を試作し、水流の測定を行った。Table 3-1 に示したように、0.1 m³ 水槽での実験では、A, B 及び C 型の平均流速はいずれも小さく、外側の二筒の長さを調節した 0.5 m³ 水槽を用いた培養実験においてもタマミジンコの遊泳 (本種の遊泳速度は約 3 cm/s ;

未発表データ) を妨げない流速にすることができた。これにより、高密度下での培養でありながら、タマミジンコが能動的に行動できるようになり、本種が本来有する生理機能を十分に発揮させ、良好な個体群増殖を実現できたと考えられた。

B, C 型による培養では、A 型より更に多くの収穫量が得られ、改良型としての効果を示した。培養中の水質面でも、両者の D0 の減少の程度は小さかった。pH は B 型では 7.95~7.72, C 型では 8.12~7.83 でほぼ等しく、NH₄-N は B, C 型のいずれを用いた場合にも同様に 13 mg/l まで直線的に増加した。また、NO₂-N は 0.05 mg/l まで上昇したが、その変化もほぼ同様であった。これらの水質変化によっても、休眠卵を持った個体はごく僅かであったことから、培養水の水質環境としては本種に不適ではなかったと推定された。したがって、システム化には B 型や C 型の通気装置の導入が有効であると考えられたが、培養水槽の大きさに応じて最も効率的に水流を制御する各パイプの幅や長さを流体力学的に今後検討していくことも有用であろう。

1.0 m³ 水槽での培養実験では、A 型、C 型とも 0.5 m³ 水槽の場合に比べて、培養開始時のタマミジンコ接種量に対する増殖率が低くなり、餌料効率はやや高くなった。

この実験では、培養開始時の接種密度が約2倍であったために、培養水中の溶存酸素量や給餌量が相対的に少なくなったためと推察され、これらを適正化することによって、生産量を改善できると思われた。

懸濁物質の増加にともない、収穫時のネットの目詰まりが起りやすくなるが、これを最小限に抑えて収穫に要する時間が長くないように、本研究では350 μm ネットを用いた。産出されたばかりの仔虫の体長を測定したところ440 μm であったが、これらの仔虫の一部は350 μm ネットを通過することが確認された。したがって、今回の培養中の実際のタマミジンコ生産量はTable 3-3に示した収穫量よりも多く、収穫直前のタマミジンコ密度もより高い値であったと推定される。以上の結果から、0.5~1.0 m^3 の円形水槽にB型あるいはC型の通気装置を設置し、加温しながら十分な通気を行い、適量のクロレラを給餌すれば、タマミジンコ高密度大量培養は周年可能である。しかし、培養水にツリガネムシなどの原生動物やワムシ類が混入し、その数が多くなるとクロレラを摂餌したり、タマミジンコの体に付着して、タマミジン

コの増殖が阻害される場合があり、混入防止には十分配慮する必要がある。

培養方式としては、培養開始時に、培養水中へのタマミジンコ 脱皮殻やへい死個体の混入を避け、原生動物やワムシ類のコンタミを防ぐため、オープニングの大きな350~500 μm のネット上に保持されるタマミジンコ成体を種として供給し、水質悪化を防ぐため連続培養ではなく、植継ぎ（バッチ）培養が適していると考えられた。本培養システムにおける収穫の流れをFig. 3-5~3-8に示した。必要量のタマミジンコを、毎日収穫するためには、産仔されたタマミジンコが親虫になるまで3日を要することから、3つの水槽を設置して1日ずつずらして培養するのが効率的である。岡ら（1979）は15 m^2 の屋外コンクリート水槽数面を用い、酵母給餌によって粗放的な培養を行い、一日一面あたり610gのタマミジンコを収穫している。本通気装置を用い、1.0 m^3 水槽のC型通気装置が三組あれば、種ミジンコを差し引いた約6,000g/日の収穫が可能であり、粗放的培養の約10倍の収穫量が得られることになる。

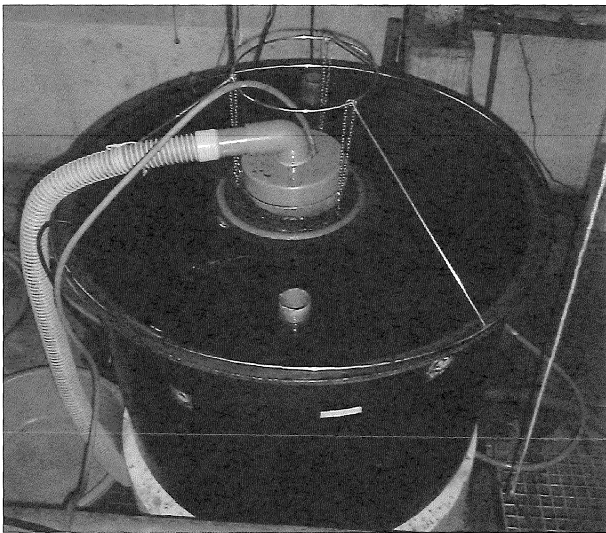


Fig. 3-5. Mass-culture system of *M. macrocopa* (0.5 m^3 tank).



Fig. 3-6. Harvest of *M. macrocopa* by a plankton net (opening 350 μm).



Fig. 3-7. Harvest of *M. macrocopa* by a plankton net (opening 350 μm).

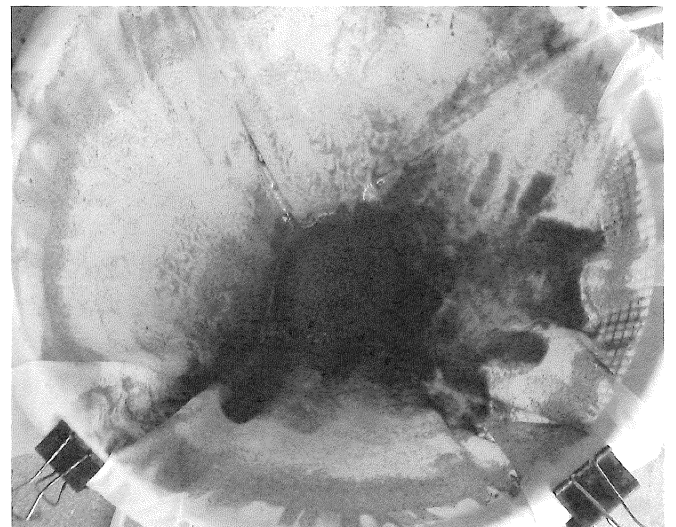


Fig. -3-8. Harvested *M. macrocopa*.

第2節 培養システムの改良

大量培養システムとして第3章第1節のC型を用いた。その主要部分である4重パイプ構造部（以下、エアリフター）は塩化ビニルパイプで製作されているが、そのコストを低減させるため、ポリエチレンで製作し、その有効性を検討した。なお、エアリフターは株式会社 田中三太郎商店に製作を依頼した。

材料および方法

0.5 m³水槽を用いて、新たに製作したポリエチレン製のエアリフター（以下、改良型）とこれまでに製作した塩化ビニルパイプ製のエアリフター（以下、従来型）との間でタマミジンコの比較培養を行った。種ミジンコは350 μm ネットで回収したものをを用い、培養期間は72~96時間とした。培養終了時においては200 μm ネットを用いて仔ミジンコまで収穫した。他の培養条件および給餌方法は、第3章第1節の2. 培養実験と同様にした。種および収穫したタマミジンコは湿重量を計量した。比較培

養は種ミジンコの質重量を変えて3回繰り返し行った。また、改良型と従来型の価格や重量等の特徴を比較した。

結 果

3回の比較培養の結果をTable3-4に示した。湿重量で見ると改良型の1回目は72時間の培養で種ミジンコ580gに対して収穫量は5,230gとなり9.0倍に増殖した。2回目は96時間の培養でそれぞれ1,000gに対して7,190gとなり7.2倍、3回目は72時間後の培養でそれぞれ600gに対して5,160gとなり8.6倍に増殖した。従来型の1回目は72時間の培養で種ミジンコ575gに対して収穫量は4,650gとなり8.1倍に増殖した。2回目は96時間の培養でそれぞれ1,005gに対して6,080gとなり6.0倍、3回目は72時間後の培養でそれぞれ600gに対して5,070gとなり8.5倍に増殖した。エアリフターの販売価格としては、改良型は従来型の約半額になる。重量も、改良型は約5kgで従来型は約6kgと改良型の方が軽量化された。

Table 3-4. Productivity of *M. macrocopa* culture with different material of aeration equipment in 0.5m³ tank

Aeration equipment	Trial 1		Trial 2		Trial 3	
	Advanced type* ¹	Former type* ²	Advanced type	Former type	Advanced type	Former type
Cultivation days	3 (72 h)		4 (96 h)		3 (72 h)	
Seed amount (g)* ³	580	575	1,000	1,005	600	600
Harvest amount (g)* ³	5,230	4,650	7,190	6,080	5,160	5,070

※1 An advanced type material is polyethylene.

※2 A former type material is vinyl chloride pipe.

※3 Amount (g) ; wet weight.

考 察

エアリフターの改良型と従来型とでタマミジンコの比較培養を3回行った結果、エアリフターの4重パイプ構造は変えずに材質を変えることで増殖率は、ほぼ同等か若しくは改良型の方が高くなった。改良型は販売価格が従来型の約半額となったほか、従来型と比較すると、破損しにくく、さらに軽量化され、洗浄作業等の作業性が向上した。これらのことからタマミジンコの大量培養システムの改良に成功したと判断された。

第3節 電照装置の必要性の検討

第2章第2節「電照の有無による単為生殖」のタマミジンコの個体別培養では、電照した方が寿命は長くなった。そこで、実際の大量培養システムにおいて電照の有

無がタマミジンコの増殖に与える影響を調べた。また、電照は餌料であるクロレラに対し、光合成を起こさせること（手塚 1987）が考えられるため、溶存酸素量についても検討を加えた。

材料および方法

1. 電照の有無による大量培養への影響

黒色ポリエチレンの0.5 m³水槽にC型のエアリフターを設置した。白色蛍光灯（4,000~1,000 LUX）で24時間電照した電照区と24時間遮光した暗黒区とでタマミジンコの比較培養を行った。種ミジンコには350 μm ネットで回収したものをを用い、培養期間は72~96時間とした。培養終了時も同様に350 μm ネットを用いて収穫した。他の培養条件および給餌方法は、第3章第1節の2. 培養実験

と同様にした。種および収穫したミジンコの量については、湿重量を計量した。比較培養は種ミジンコの質重量を変えて3回繰り返し行った。2および3回目の種ミジンコには、それぞれ同じ試験区から収穫したものをを用いた。

2. 電照の有無による溶存酸素量の影響

黒色ポリエチレンの0.1 m³ 水槽においてC型のエアリフターを用いた。蛍光灯 (4,000~1,000 LUX) で24時間電照した電照区と24時間遮光した暗黒区とで溶存酸素量を比較した。それぞれの培養槽にクロレラを0.5 ml/l (60万 cell/ml) と鶏糞抽出液を0.5 ml/l添加し、タマミジンコは収容しなかった。水温は30℃に保温し、通気量は、0.85 l/分とした。溶存酸素はDOメータで水槽外壁部の中層部を0, 1, 3, 6, 12, 24時間後に測定した。測定値は安定した時点での最低値とした。

で見ると、電照区の1回目は72時間の培養で種ミジンコ496gに対して収穫量は2,348gとなり4.7倍に増殖した。2回目は72時間の培養で種ミジンコ786gに対して3,770gとなり4.8倍、3回目は96時間後の培養で種ミジンコ306gに対して1,750gとなり5.7倍に増殖した。一方、暗黒区の1回目は72時間の培養で種ミジンコ496gに対して収穫量は2,720gとなり5.5倍に増殖した。2回目は72時間の培養で種ミジンコ806gに対して3,790gとなり4.7倍、3回目は96時間後の培養で種ミジンコ308gに対して3,030gとなり9.8倍に増殖した。

2. 電照の有無による溶存酸素量 (DO) の影響

DOの変化をFig. 3-9に示した。開始時のDOは、電照区及び暗黒区でそれぞれ5.18, 5.22 mg/l、その後6時間後まで徐々に減少し、それぞれ4.27, 4.07 mg/lとなった。その後、徐々に増加し、24時間後にはそれぞれ4.64, 4.86ppmとなった。どちらも4~5 mg/lの間で推移した。

結 果

1. 電照の有無による大量培養への影響

3回の比較培養の結果を Table 3-5 に示した。湿重量

Table 3-5. Productivity of *M. macrocopa* culture with different illumination on 0.5m³ tank

Illumination	Trial 1		Trial 2		Trial 3	
	Lighting	Darkness	Lighting	Darkness	Lighting	Darkness
Cultivation days	3 (72 h)		3 (72 h)		4 (96 h)	
Seed amount (g)	496	496	786	806	306	308
Harvest amount (g)	2,348	2,720	3,770	3,790	1,750	3,030

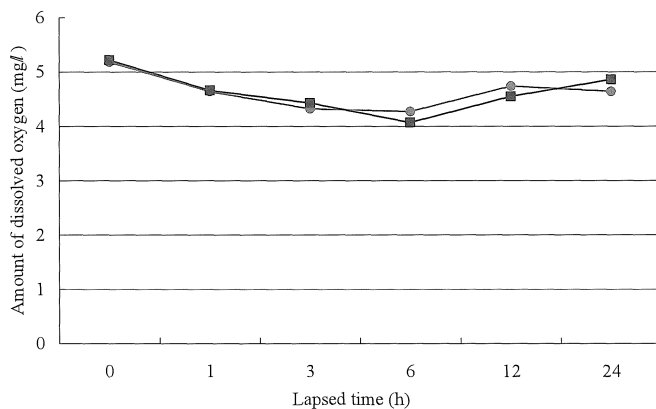


Fig. 3-9. Change of the concentrations of dissolved oxygen under different illumination in 0.1m³ tank. ● : Lighting, ■ : Darkness.

考 察

タマミジンコの大量培養システムにおいて、電照の有無によるタマミジンコの比較培養を行った結果、増殖倍率については24時間暗黒条件下の方が、24時間電照条件より同等若しくは高い結果となった。3回目の収穫量は、暗黒区の方が電照区の約1.7倍となったが、これはタマミジンコに付着する淡水ワムシが混入し、残餌等のSSも増加した為である。

D0は電照および暗黒区ともに1度減少し、その後増加した。両者は同様に推移し、大きな差は見られなかった。吉村ら(1994)は、ワムシの培養においても給餌した淡水クロレラがD0を消費することを報告している。今回の電照程度では、透視度が殆どないため、クロレラによる光合成よりも呼吸の方が大きいと思われる。

今回の結果では、コストをかけて電照装置をつける必要は無いと考えられた。しかし、大量培養中に観察すると電照直下にタマミジンコが集まり、パッチを形成していた。タマミジンコには、正の走光性が見られることから、敢えて遮光する必要も無いと思われた。今後はさらに光周期および特定の波長がタマミジンコの増殖に影響があるか否かを調べることも重要であると思われる。また、光の短日周期が耐久卵出現の要因の1つに挙げられている(花里1998)ことから、暗黒条件下で世代を継続したときの耐久卵が増加の有無について調べることも重要だと考えられる。

第4節 大量培養を阻害する生物の防除の検討

大量培養中のタマミジンコの増殖を阻害する生物が、これまでに3種類出現した。それら生物は、淡水ワムシ(Fig. 3-10)、ツリガネムシ(Fig. 3-11)および付着藻類様生物(Fig. 3-12, 13)で、全てタマミジンコに付着する。ツリガネムシと付着藻類様生物は、稀に出現するが、タマミジンコの増殖を止めてしまうほどの大きな支障をきたすことは殆ど無い。しかし、淡水ワムシは、一旦大量培養中に混入すると餌料であるクロレラを摂餌し、急激に増殖する。また、タマミジンコが自由に動けなくなるほどその体一面に付着し、タマミジンコは急激に減少する。そこで、この淡水ワムシを除去する方法としてオスバン液(塩化ベンザルコニウム10%溶液)による薬浴を試みた。

材料および方法

オスバン液(塩化ベンザルコニウム液)の濃度液列として本液を地下水で2%から2倍階段希釈し、5段階に調整した。淡水ワムシが大量に付着したタマミジンコをホールスライドガラス上に5~6個体のせた。その上に

各濃度に調整したオスバン液を数滴添加し、光学顕微鏡下で3分間観察した。淡水ワムシの死亡は、繊毛の活動停止により判断した。その後、タマミジンコを駒込ピペットで地下水を入れ1ℓビーカーに収容してオスバン液を除き、次いで6穴マルチウェルプレートに1個体/ウェルずつ収容した。対照区はオスバン液の代わりに地下水を用いて同様の処理を施した。ウェル内での飼育水には地下水を用い、クロレラと鶏糞抽出液を給餌した。水温は、恒温器内で25℃に調整した。6穴マルチウェルプレートに収容した時点を0時間後とし、24及び48時間後に実体顕微鏡下で観察し、タマミジンコの生残を観察した。

結 果

光学顕微鏡下での観察では、淡水ワムシはオスバン液には非常に弱く、2.0~0.25%区ではすぐに死亡し、タマミジンコの遊泳でその殆どが体表から外れた。0.125%区でも3分後には全て死亡し、その殆どが体表から外れた。タマミジンコの生残率の推移をFig. 3-14に示した。2%区では0時間後で20%、24時間後には全て死亡した。1%区では、0時間後に33%、24時間後に16%、48時間後には全て死亡した。0.5%区では、それぞれ100%、33%、33%であった。0.25%区では、それぞれ100%、40%、40%であった。0.125%区では、それぞれ100%、66%、33%であった。対照区では、それぞれ100%、33%、0%であった。また、0.5~0.125%区では、24時間後に産仔された仔ミジンコが活発に活動しているのが観察された。

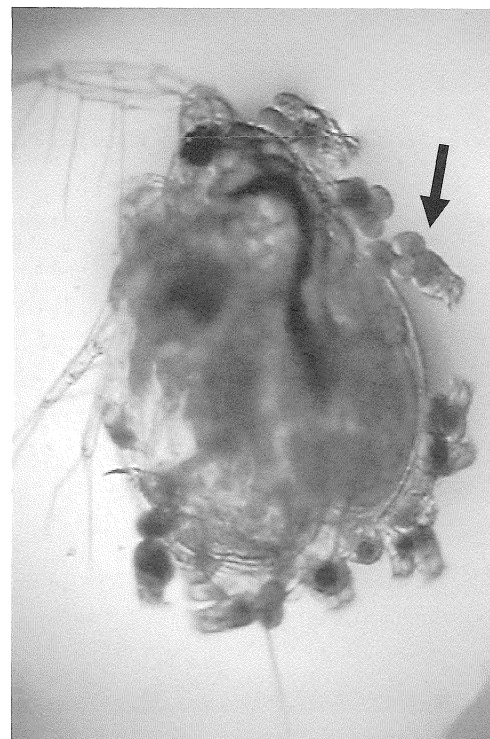


Fig.3-10. *Brachionus rubens* attached to *M. macrocopa*.

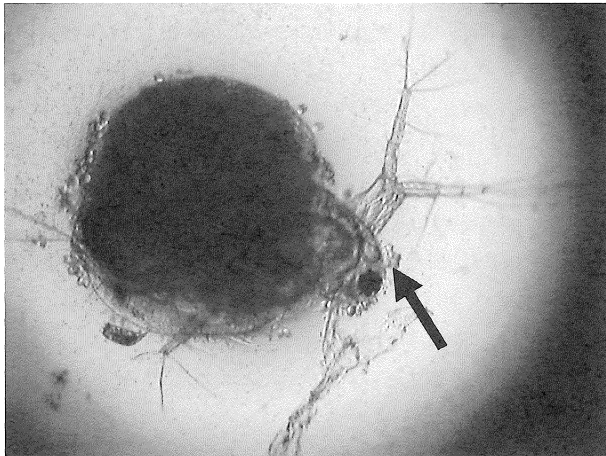


Fig.3-11. *Vorticella* sp attached to *M. macrocopa*.

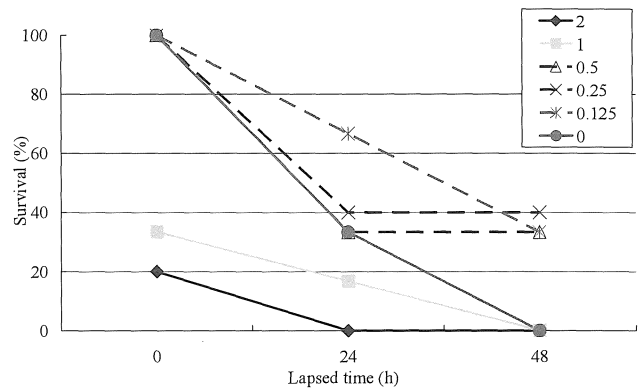


Fig. 3-14. Change of survival (%) when *M. macrocopa* immersed in the benzalkonium chloride solution at different concentrations (%).

考 察

ミジンコの付着生物には、珪藻、ミドリムシ、繊毛虫、細菌及びワムシが知られている。これらの付着生物がミジンコに付着するのは、自分よりもはるかに大きなミジンコは大きな移動能力を持つため、移動するエネルギーを使わずに餌料に遭遇するチャンスを増やすためと考えられている(花里 1998)。淡水ワムシの駆除については、タマミジンコと淡水ワムシのサイズ差を利用したプランクトンネットでの洗浄、塩水浴、ホルマリン浴等を検討したが有効な手段は見出せなかった。唯一、オスバン液 0.5~0.125%に3分間浸漬することで淡水ワムシは全て死亡し、タマミジンコは、約40%が生残した。また、生残個体からは、仔ミジンコが産出された。これらのことから淡水ワムシの駆除には0.5~0.125%のオスバン液に3分間の浸漬が有効であると思われた。しかし、オスバン液に3分浸漬し死亡した淡水ワムシが抱える卵の内部では、繊毛が動いているのが観察されたので、オスバン液は、ふ化後の淡水ワムシには有効であるが、卵には効かないことが示唆された。そのため、オスバン液の浸漬とネットによる洗浄を組み合わせ、淡水ワムシの死亡した虫体と生残している卵と除去する必要があると考えられる。

第5節 海産枝角類 (*Diaphanosoma celebensis*) への大量培養システムの応用

タマミジンコ用の大量培養システム(C型)をそのまま応用し、*D. celebensis*の大量培養を試みたが、不調に終わった。その原因として、*D. celebensis*は、タマミジンコよりも培養水槽及びエアリフター内による物理的攪乱に弱いことが考えられた。そこで、0.5 m³水槽において、通気を空気から酸素ガス発生装置による純酸素(酸素濃度90%以上)(オージネーター600 近畿酸素株式会社製)

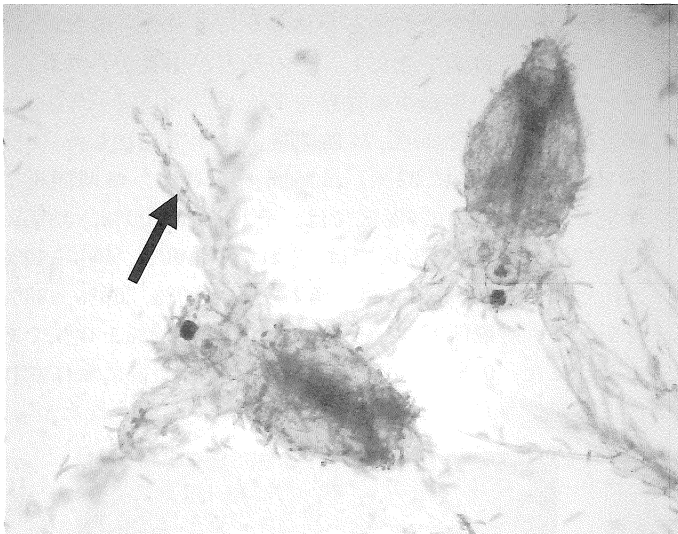


Fig.3-12 . *M. macrocopa* attached by algae like organism.

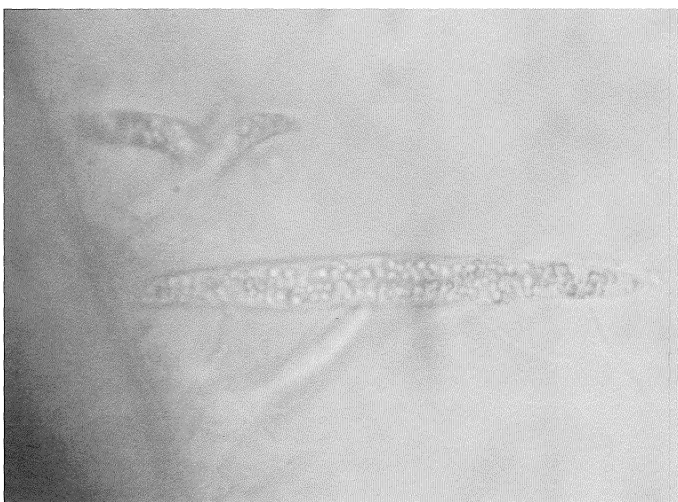


Fig.3-13. Attached algae.

に代え、通気量を極力抑えた培養を考えた。しかし、通気量を抑えることは流速の低下を招き、酸素を含んだ水が、水槽内に十分行き渡らない可能性がある。その点を配慮して、エアリフター自体を小型にし、かつタマミジンコ用より短くし、エアレーションに攪拌される時間を少なくするとともに、ある程度の通気量を確保した。また、2 m³ FRP 角形水槽において純酸素を用いた微通気培養を行った。

材料および方法

1. 0.5 m³ 水槽における培養システムの改良

供試した *D. celebensis* には、長崎大学水産学部水産増殖学研究室で継代培養されていたもので、2002 年に福岡県水産海洋技術センター内水面研究所に搬入し、塩分 10 ppt の人工海水（カリソルト A：富田製薬株式会社製）で継代培養したものをを用いた。培養には大量培養システム 0.5 m³ 水槽を用い、通気には純酸素を用いた。0.5 m³ 水槽では 0.5 m³ 用と 0.1 m³ 用のエアリフターで比較培養を行った。各エアリフターの断面模式図を Fig. 3-15. に示した。種ミジンコは 500 g (16.0 個/ml) とし 72 時間後に収穫した。*D. celebensis* の種の採取および収穫には 200 μm ネットを用い、仔ミジンコまで回収した。回収した *D. celebensis* は、湿重量と計数の結果、16,000 個体/g であった（以下、培養密度は湿重量から換算した）。通気量は 0.5 m³ 用のエアリフターには 1 l/分とし、0.1 m³ 用のエアリフターには 2 l/分とした。餌料としてクロレラを 1~2 回/日、残餌量を見ながら飼育水 1 l に対し 0.6~1.0 ml/l の範囲で順次増加して与えた。鶏糞抽出液はクロレラと同量を与えた。水温は、ヒーターで加温し 30°C とした。塩分は地下水を人工海水塩で 10 ppt に調整した。また、0.1 m³ 用のエアリフターを用いた培養については

種ミジンコを約 2 倍にして再度培養試験を行った。

2. 純酸素微通気での 2 m³ FRP 角形水槽での培養

供試した *D. celebensis* は内水面研究所で継代培養したものを用いた。培養には 2 m³ FRP 角形水槽を用いた。通気は、水槽の角 1 カ所で純酸素による微通気 (1 l/分) とした。また、対角線上の水槽の角で通常の微通気 (0.5 l/分) を行い、いわゆる死に水ができないように水流を作った。1 回目は、種ミジンコを 1,000 g (8.0 個/ml) とし 96 時間後に収穫した。2 回目は種ミジンコを 1,331 g (10.6 個/ml) とし 72 時間後に収穫した。その他の飼育方法は、0.5 m³ 水槽における培養システムの改良の場合と同様にした。

結 果

1. 0.5 m³ 水槽における培養システムの改良

培養の結果は Table 3-6 に示したように 0.5 m³ 用のエアリフターでは、種ミジンコ 500 g が 72 時間の培養で 700 g に増加し、1.4 倍になった。収穫時の培養密度は 22.4 個体/ml であった。0.1 m³ 用のエアリフターでは同量の種ミジンコが 1,000 g に増加し、約 2 倍になった。収穫時の培養密度は 32.0 個体/ml となった。種ミジンコを約 2 倍に増加させての 0.1 m³ 用エアリフターでの培養では、種ミジンコ 1,100 g が 72 時間の培養で 1,950 g に増加し、1.8 倍になった。収穫時の培養密度は 62.4 個体/ml であった。

2. 純酸素微通気での 2 m³ FRP 角形水槽での培養

培養の結果を Table 3-6 に示した。2 m³ FRP 角形水槽では、1 回目は種ミジンコ 1,000 g が 96 時間の培養で 2,431 g に増加し、2.4 倍になった。収穫時の培養密度は

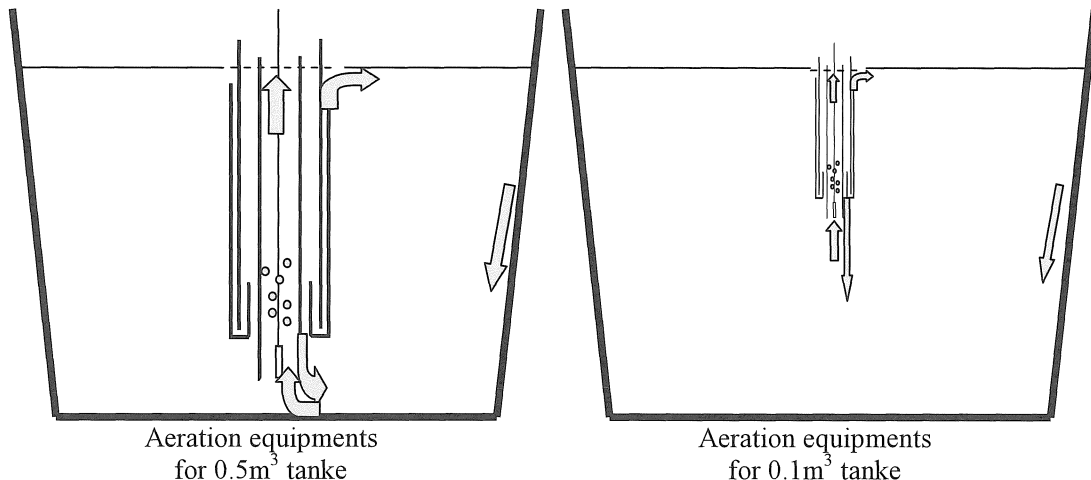


Fig. 3-15. Set-up of different aeration equipments and water movement in 0.5 m³ tanks. Arrows show direction of water outflow.

19.4 個体/ ml であった。2回目は種ミジンコ 1,331 g が 72 時間の培養で 2,210 g に増加し、1.7 倍になった。収穫時の培養密度は 17.7 個体/ ml となった。

Table 3-6. Productivity of *D. celebensis* culture with different aeration equipment in 0.5 m³ circular tanks and 2m³ square tanks

Culture tank	Aeration equipment	Seed amount(g) Density* ¹ (ind/ml)	Harvest amount (g) Density* ¹ (ind/ml)	Cultivation days
0.5m ³	Equipment for 500l tanks	500	700	3
		16.0	22.4	
0.5m ³	Equipment for 100l tanks	500	1,000	3
		16.0	32.0	
0.5m ³	Equipment for 100l tanks	1,100	1,950	3
		35.2	62.4	
2.0m ³	Weak aeration	1,000	2,431	4
		8.0	19.4	
2.0m ³	Weak aeration	1,331	2,210	3
		10.6	17.7	

※1 Wet weight 1g = 16,000 individuals (Collected by 200 μ m plankton net)

考 察

D. celebensis の小規模の培養研究をみると、竹中 (2001) は 2 l ビーカーで全換水を繰り返し最高密度 37.7 個体/ ml の培養を行っている。瀬川ら (1988) は、100 ml ビーカーで最高密度 130.8 個体/ ml に達したことから、本種の密度耐性は高いと報告している。

D. celebensis の大量培養では、日本栽培漁業協会屋島事業場において、25 t 水槽を用いて最高密度 9.4 個/ ml が記録されている (昭和 63 年度日裁協報告書 19881)。椿 (2004) は、1 t のアルテミアふ化水槽を用い、半換水を繰り返し最高密度 12.7 個体/ ml に達したが、その後減少したとし、その原因として水槽の汚れによる水質悪化を挙げている。

本研究では、通気に純酸素を用いることで、培養密度をさらに増加させることを可能とし、特に 0.5 m³ 水槽に 0.1 m³ 用のエアリフターを設置し (Fig. 3-15)、純酸素を通気することで培養密度は最高で 62.4 個体/ ml に達した。培養日数を 3~4 日間とし、全換水することで脱皮殻、残餌および排泄物等による飼育水の悪化を防いだ。このように 3~4 日間で約 2 倍の増殖量が得られることから、約 1,000g の種ミジンコを用いれば 3~4 日後に 2,000g 収穫できる。1,000g を収穫量とし、残りの 1,000g を再度種ミジンコとして使用すると 0.5 m³ 水槽が 4 水槽あれば毎日 1,000g (1,600 万個体) を海産魚介類の生物餌料として使用することができると考えられる。

第6節 大量培養のための低コスト餌料の開発

種苗生産現場において生産コストを削減することは重

要な課題の 1 つである。中でも生物餌料のコストに占める割合は大きいといえる。本研究では、2 種のミジンコを大量培養するために、入手が容易なクロレラと発酵鶏糞から作成した鶏糞抽出液を用いてきた。そこで、大量培養のランニング・コストを下げる方法として、ミジンコ用餌料の低コスト化について検討した。

低コスト用餌料は、クロレラ工業株式会社において種々の原料が小規模レベルで試験され、そのうち、タマミジンコの増殖に効果のあったものを低コスト餌料として試作し、福岡県内水面研究所において実用規模での試験を行った。本研究に用いた低コスト餌料は、焼酎蒸留粕 (麦焼酎) とドライイースト (乾燥パン酵母) の水溶液をクロレラと 1 : 1 の割合で混合したものである。

材料および方法

1. 低コスト餌料でのタマミジンコの比較培養

黒色ポリエチレンの 0.5 m³ 水槽に C 型のエアリフターを設置した。クロレラと鶏糞抽出液を給餌する通常餌料区と、低コスト餌料と鶏糞抽出液を給餌する低コスト餌料区の 2 区を設定しタマミジンコの比較培養を行った。それぞれの種ミジンコには、通常餌料で大量培養し 350 μ m ネットで回収したものをを用い、培養期間は 72~96 時間とした。培養終了時においても同様に 350 μ m ネットを用いて収穫した。給餌量は通常餌料区と低コスト餌料区とも同量とした。他の培養条件は、第 3 章第 1 節の 2. 培養実験と同様である。比較培養は種ミジンコの湿重量を変えて 3 回繰り返し行った。なお、種および収穫したミジンコは湿重量を計量し、5,000 個体/g で換算した。

2. 低コスト餌料での *D. celebensis* の比較培養

2.0 m³ FRP 水槽を用い、水槽の角 1 カ所で純酸素を微通気 (1ℓ/分) とした。また、対角線上の水槽の角で通常の微通気 (0.5ℓ/分) を行い、いわゆる死に水ができないように水流を作った。クロレラと鶏糞抽出液を給餌する通常餌料区と、低コスト餌料と鶏糞抽出液を給餌する低コスト餌料区の 2 区で *D. celebensis* の比較培養を行った。それぞれの種ミジンコには、通常餌料で培養し 200 μm ネットで回収したものを、培養期間は 72~96 時間とした。培養終了時においても同様に 200 μm ネットを用いて収穫した。給餌量は通常餌料区と低コスト餌料区とも同量にした。他の培養条件は、第 3 章第 5 節の「1. 0.5m³ 水槽における培養システムの改良」の場合と同様とした。比較培養は種ミジンコの湿重量を変えて 2 回繰り返し行った。種および収穫したミジンコは湿重量を計量し、1 g の個体数を計数した。その値を用いて培養密度を算出した。

結 果

1. 低コスト餌料でのタマミジンコ の比較培養

3 回の比較培養の結果を Table 3-7 に示した。培養密度は、種ミジンコの採取および大量培養後の収穫の両方とも 5,000 個体/g で換算している。湿重量でみると、通常餌料区の 1 回目は 72 時間の培養で種ミジンコ 300 g (3.0 個体/ml) に対して収穫量は 1,260 g (12.6 個体/ml) となり 4.2 倍に増殖した。2 回目は 96 時間の培養で種ミ

ジンコ 300 g (3.0 個体/ml) に対して 1,150 g (11.5 個体/ml) となり 3.8 倍、3 回目は 72 時間の培養で種ミジンコ 258 g (2.6 個体/ml) に対して 370 g (3.7 個体/ml) となり 1.4 倍に増殖した。一方、低コスト餌料区の 1 回目は 72 時間の培養で種ミジンコ 318 g (12.6 個体/ml) に対して収穫量は 840 g (8.4 個体/ml) となり 2.6 倍に増殖した。2 回目は 96 時間の培養で種ミジンコ 298 g (3.0 個体/ml) に対して 900 g (9.0 個体/ml) となり 3.0 倍、3 回目は 72 時間の培養で種ミジンコ 260 g (2.6 個体/ml) に対して 586 g (5.9 個体/ml) となり 2.3 倍に増殖した。

2. 低コスト餌料での *D. celebensis* の比較培養

200 μm ネットで採取した *D. celebensis* の湿重量 1 g の個体数は 16,000 個体であった。

2 回の比較培養の結果を Table 3-8 に示した。湿重量でみると、通常餌料区では 1 回目は 96 時間の培養で種ミジンコ 380 g (5.1 個体/ml) に対して収穫量は 670 g (8.9 個体/ml) となり 1.8 倍に増殖した。2 回目は 72 時間の培養で種ミジンコ 670 g (7.7 個体/ml) に対して 1,180 g (13.5 個体/ml) となり 1.8 倍に増殖した。低コスト餌料区では、1 回目は 96 時間の培養で種ミジンコ 380 g (5.1 個体/ml) に対して収穫量は 920 g (12.3 個体/ml) となり 2.4 倍に増殖した。2 回目は 72 時間の培養で種ミジンコ 670 g (7.7 個体/ml) に対して 1,230 g (14.1 個体/ml) となり 1.8 倍に増殖した。

Table 3-7. Productivity of *M. macrocopa* culture with ordinary and low cost food in 0.5m³ tanks

Culture tank	Aeration equipment	Cultivation days	Seed amount (g) Density ^{※1} (ind/ml)	Harvest amount (g) Density ^{※1} (ind/ml)	Ordinary food (ml)	Low cost food (ml)
0.5m ³	C type	3	300	1,260	2,200	0
			3.0	12.6		
			318	840		
		4	3.2	8.4	0	2,200
			300	1,150	2,800	0
			3.0	11.5		
	298	900				
	3	3	3.0	9.0	0	2,800
			258	370	1,400	0
			2.6	3.7	0	1,300
	260	586				
				2.6	5.9	

※1 Wet weight 1g = 5,000 individuals (Collected by 350μm plankton net)

Table 3-8. Productivity of *D. celebensis* culture with different food in 2m³ tanks

Culture tank	Amount of water	Cultivation days	Seed amount (g) Density ^{※1} (ind/ml)	Harvest amount (g) Density ^{※1} (ind/ml)	Ordinary food (ml)	Low cost food (ml)
2.0m ³	1.2t	4	380	670	1,700	0
			5.1	8.9		
	1.4t	3	380	920	0	1,700
			5.1	12.3		
			670	1,180	2,100	0
			7.7	13.5		
1.4t	3	670	1,230	0	2,100	
		7.7	14.1			

※1 Wet weight 1g = 16,000 individuals (Collected by 200 μ m plankton net)

考 察

クロレラ工業株式会社において試作されたミジンコ用低コスト餌料は、クロレラの半分を焼酎蒸留粕とドライイーストの水溶液に置き換えることで餌料コスト削減を図ったものである。焼酎蒸留粕は、産業廃棄物として処理されているが、その有効利用については家畜飼料や農耕肥料などに利用する試みがなされている。山下ら(2002)はサツマイモ焼酎の焼酎蒸留廃液を細菌培地として用い、種々の細菌を繁殖させ、タマミジンコの細菌捕食量を検討した結果、細菌の種類で捕食量が異なると報告している。試作された低コスト餌料においても作製及び保存時に細菌が侵入し繁殖することが考えられることから十分留意する必要がある。また、パン酵母は、ワムシの大量培養の餌料として実際に利用され、単独では栄養面で欠陥があるが、一定量まではクロレラと混合しても増殖率は低下せず経済的であるとされている(桑田2000)。

本研究で、通常餌料と試作された低コスト餌料を用い

て、タマミジンコを培養した結果、通常餌料では72～96時間の培養で1.4～4.2倍に増殖したのに対し、低コスト餌料では2.3～3.0倍に増殖し、両者に大きな差はみられなかった。ただ、今回、通常餌料区において増殖率が低かった原因については、第3章第4節で述べた培養阻害生物の藻類様生物が付着し、タマミジンコの活力が低かったためと思われた。また、同じ餌料を用いて *D. celebensis* の比較培養を行った結果、通常餌料では72～96時間の培養で1.8倍に増殖したのに対し、低コスト餌料では1.8倍と2.4倍に増殖し、*D. celebensis* においても両者に大きな差はみられなかった。

今回の試験で、低コスト餌料を用いれば通常餌料に比べ、餌料コストを約35%削減できることが明らかとなった。今後は、焼酎蒸留粕及びドライイーストの含有比率の検討等によって、更に餌料コストを削減することも可能であろう。

第4章 生物餌料としてのミジンコ2種の評価

前章で述べた通常餌料及び低コスト餌料で大量培養したタマミジンコと同じ餌料で大量培養した *D. celebensis* について、生物餌料としての価値を淡水魚および海産魚介類を用いて評価した。また、海産魚介類に必要な DHA や EPA といった高度不飽和脂肪酸の両種に対する栄養強化法の評価を行った。給餌試験の対象種としては、淡水魚の主要な養殖種であるコイおよびアユを用い、海産魚介類ではアルテミアの使用量が多いクルマエビを用いた。なお、両側回遊魚であるアユとクルマエビの種苗生産については海水を用いるため、これらの給餌試験に先立ち、タマミジンコの塩分耐性を調べた。

第1節 タマミジンコの塩分耐性

淡水産であるタマミジンコを海産魚介類に給餌する場合、塩分によるタマミジンコへの影響は極めて重要な問題である。塩分によるタマミジンコの死亡は、仔稚魚の摂餌に大きな影響を及ぼすことが考えられるため、タマミジンコの塩分耐性について検討した。

材料および方法

供試したタマミジンコは、福岡県内水面研究所において C 型のエアリフターを用いて大量培養したもので、供試時に 50 個体の体長を万能投影機 (Nikon PROFILE PROJECTOR V-12) で測定した。試験用水として、地下水と人工海水塩 (カリソルト A : 富田製薬株式会社製) を用い、塩分を 0, 10, 25 及び 35 ppt とするよう調整し、各塩分に対し 6 本の試験管に 50 ml ずつ分注して各々の試験区とした。試験管を恒温器内に置き、水温が 25°C になるように設定した。試験開始に当たって培養中のタマミジンコを駒込ピペットで取り上げ、各試験管に 10 個体ずつを投入した。以後は無給餌とし、0, 5, 10, 30 分, 1, 3, 6, 12, 24 時間後の生死を確認した。各個体の死亡の判定は弱って試験管底部に沈降した後、動かなくなった時点とした。時間毎の試験区間の平均生残率について、Stat View ver. 5.0 (SAS Institute Inc 製) を用いて、多重比較検定 (Tukey-test) を行った。

結 果

供試したタマミジンコの平均体長と標準偏差は、945.0

±134.5 μm (n=50) であった。各試験区の生残率の推移を Fig. 4-1 に示した。35 ppt 区及び 25 ppt 区の平均生残率の推移は、同様の傾向を示し、5 分後に約 20% となり、10 分後には全て死亡した。10 ppt 区では 3 時間後までの死亡は少なかったが (生残 87.1%)、6 時間後に 42.6%、12 時間後に 3.5% に低下し、24 時間後にはすべて死亡した。0 ppt 区では最も死亡が少なく、12 時間後の生残率は 86.4%、24 時間後には 51.5% となった。0 から 6 時間後までは、35 ppt 区と 25 ppt 区の間で生残率に有意差は認められなかったが、0 ppt 区および 10 ppt 区は、前二者より生残率は有意に高くなった (Tukey-test, $p < 0.05$)。0 ppt 区と 10 ppt 区の間では、6 時間以降の生残率は 0 ppt 区の方が有意に高くなった (Tukey-test, $p < 0.05$)。

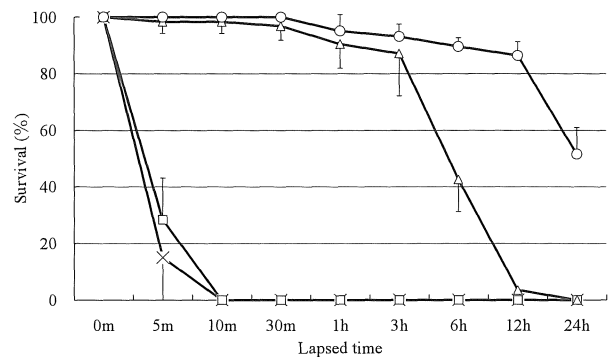


Fig. 4-1. Changes of survival rate of *M. macrocopa* in different salinity. ×: 35ppt, □: 25ppt, △: 10ppt, ○: 0ppt. Vertical lines indicate standard deviations of 6 replicates.

考 察

タマミジンコは、25 ppt 以上の高塩分下では 10 分以内に全て死亡したが、10 ppt の低塩分下では 3 時間後でも約 90% 以上が生残した。タマミジンコは、10 ppt 食塩水でのシオミズツボワムシ培養水中にも出現するとされており (岡 1981)、また、実際に淡水で粗放的に培養されたタマミジンコが、希釈海水を用いたアユの種苗生産に実用レベルで用いられたこともある (岡ら 1979)。これらのことから、10 ppt 程度の低塩分濃度ではタマミジンコの生残への影響は少ないと思われた。0 ppt 区が生残率が、24 時間後に 51.5% と低くなった原因は、供試したタ

マミジンコに大きさを含む個体差もあり、無給餌下での飢餓及び寿命によって死亡したと考えられた。

D. celebensis の塩分耐性については、椿 (2004) により検討されている。*D. celebensis* は、塩分 21ppt 以上で培養したものであれば 35ppt 中に投入しても 24 時間後の生残率は高いが、増殖に適した塩分 7 ppt で培養したものを塩分 35ppt 中に投入すると生残率は、30 分、3、6 および 24 時間後にそれぞれ約 80、60、20 および 3% と緩やかに低下するとしている。

これらの結果から、大量培養したタマミジンコおよび *D. celebensis* を海産魚介類に給餌する場合、高塩分下では、タマミジンコは急速に死亡し、*D. celebensis* は緩やかに死亡すると推察され、魚種毎に適した給餌方法を詳細に調べる必要があると思われる。

第 2 節 ミジンコ 2 種の栄養強化法

タマミジンコ及び *D. celebensis* を海産魚介類に給餌する場合には、DHA や EPA 等の魚類の必須脂肪酸を強化する必要がある。これら 2 種のミジンコに適した強化剤については、クロレラ工業株式会社において小規模試験による検討が行われ、その結果、タマミジンコにはスーパーカプセル A-1 (クロレラ工業株式会社製) が、*D. celebensis* にはバイオクロミス (シズキトリウム: クロレラ工業株式会社製) が最も効果的であることが明らかとなった。そこで、それぞれの強化剤を用いて実用規模での栄養強化を行い、その程度を検証した。また、この 2 種のミジンコに DHA 及び EPA を強化したスーパー生クロレラ V-12 (クロレラ工業株式会社製) を通常餌料として給餌した場合の栄養強化についても評価を行った。

材料および方法

1. 最適栄養強化剤による栄養強化

供試したタマミジンコは、0.5 m³ 水槽でクロレラと同量の鶏糞抽出液を 1~2 回/日、残餌量を観察しながら培養水 1 ℓ に対し 0.4~2.0 ml の範囲で順次増加させ給餌し培養したものである。このタマミジンコを 72 時間後に 350 μm ネットで回収し、1 部は栄養強化前のサンプルとして採取し、残りの 1,300 g (湿重量) を 0.5 m³ 水槽に入れ、スーパーカプセル A-1 を 0.04 ml/ℓ になるよう添加した。通気には、C 型のエアリフターを用いて通気した。6 時間後にタマミジンコを 350 μm ネットで回収し、地下水で十分に洗浄した後、栄養強化したサンプルとして採取し、-80 °C で凍結処理した。

D. celebensis は、2 m³ 水槽で前述の低コスト餌量と同量の鶏糞抽出液を 1~2 回/日、残餌量を観察しながら培養水 1 ℓ に対し 0.4~0.6 ml の範囲で順次増加させ給餌し

培養した。72 時間後に 200 μm ネットで回収し、1 部は栄養強化前のサンプルとして採取し、残りの 100 g (湿重量) を 0.1 m³ 水槽に入れ、シズキトリウムを 0.45 ml/ℓ になるよう添加した。通気は純酸素による微通気とした。6 時間後に *D. celebensis* を 300 μm ネットで回収し、地下水で十分に洗浄した後、栄養強化したサンプルとして採取し、-80 °C で凍結処理した。

タマミジンコおよび *D. celebensis* の栄養強化前と後の各サンプルは、クロレラ工業株式会社においてガスクロマトグラフィーによる脂肪酸分析に供した。

2. 栄養強化クロレラを用いたの栄養強化

供試したタマミジンコは、0.5 m³ 水槽で C 型のエアリフターを用いて大量培養を行ったものである。餌料には、栄養強化クロレラ (スーパー生クロレラ V12) と同量の鶏糞抽出液を用い、残餌量を観察しながら培養水 1 ℓ に対し 0.4~2.0 ml の範囲で順次増加させ 1~2 回/日給餌した。その後、3~4 日毎に飼育水をすべて交換し、同様にしてバッチ培養を 4 回繰り返した後、最後の給餌から 3 時間後に分析用サンプルとしてタマミジンコを採取し、-80 °C で凍結処理した。

D. celebensis は、塩分 10 ppt の人工海水を入れた 2 m³ 角形 FRP 水槽において微通気で培養したものである。餌料にはタマミジンコと同じ餌料を用い、同じ日数飼育後、同様に採取し凍結処理した。

また、対照として、次亜塩素酸ナトリウムで脱殻処理したアルテミア *Artemia franciscana* (グレートソルトレイク産) をふ化直後に採取し、同様に凍結処理した。アルテミアには、栄養強化は施さなかった。これら 3 サンプルは、クロレラ工業株式会社においてガスクロマトグラフィーによる脂肪酸分析に供した。

結 果

1. 最適栄養強化剤による栄養強化

タマミジンコと *D. celebensis* の脂肪酸分析結果を Table 4-1, 2 に示した。タマミジンコでは、栄養強化後のリノール酸 (C18:2) の含有量は、21,330 ng/DW・g となり、強化前の 25,693 ng/DW・g に比べて 0.8 倍になった。リノレン酸 (C18:3) の強化後の含有量は、8,550 ng/DW・g となり、強化前の 9,567 ng/DW・g に比べて 0.9 倍であった。EPA (C20:5) の強化後の含有量は、7,756 ng/DW・g となり、強化前の 1,093 ng/DW・g に比べて 7.1 倍になった。DHA (C22:6) は強化前に検出できなかったが、強化後の含有量は、3,085 ng/DW・g となった。

D. celebensis では、栄養強化後のリノール酸の含有量は、15,055 ng/DW・g となり、強化前の 16,435 ng/DW・g

と比べて 0.9 倍になった。リノレン酸の強化後の含有量は、3,909 ng/DW・g となり、強化前の 4,092 ng/DW・g と比べて 1.0 倍になった。EPA の強化後の含有量は、8,151 ng/DW・g となり、強化前の 208 ng/DW・g と比べて 39.2 倍になった。DHA の強化後の含有量は、2,329 ng/DW・g となり、強化前の 277 ng/DW・g と比べて 8.4 倍になった。

2. 栄養強化クロレラを用いての栄養強化

タマミジンコ, *D. celebensis* およびアルテミアの脂肪酸分析結果を Table 4-3 に示した。リノール酸の含有量は *D. celebensis*, タマミジンコ, アルテミアの順で多く、それぞれ 18,619, 17,604, 8,896 ng/DW・g で、タマ

ミジンコ及び *D. celebensis* のリノール酸含量はアルテミアの約 2 倍であった。リノレン酸の含有量は高い順にアルテミア, *D. celebensis*, タマミジンコとなり、それぞれ、42,052, 6,680, 5,963 ng/DW・g で、タマミジンコ及び *D. celebensis* はアルテミアの約 1/6 倍と 1/7 倍であった。EPA の含有量は高い順にタマミジンコ, *D. celebensis*, アルテミアとなり、それぞれ 11,073, 9,602, 3,100 ng/DW・g で、タマミジンコ及び *D. celebensis* はアルテミアの約 3 倍であった。DHA の含有量はタマミジンコが 1,846, *D. celebensis* が 417 ng/DW・g でアルテミアからは検出されなかった。

Table 4-1. Fatty acid composition of *M. macrocopa* enriched by Super capsule A-1

	Before nutrition enrichment		After nutrition enrichment	
	Composition (%)	Content (ng/DW・g)	Composition (%)	Content (ng/DW・g)
C14:0	1.5	1,025	1.8	1,498
C14:1	1.0	683	2.0	1,675
C16:0	14.1	9,635	14.6	12,251
C16:1	0.8	547	1.3	1,058
C16:2	7.1	4,852	6.5	5,465
C18:0	4.8	3,280	4.5	3,790
C18:1	3.7	2,528	6.0	5,024
C18:2	37.6	25,693	25.4	21,330
C18:3	14.0	9,567	10.2	8,550
C20:0	0.2	137	0.3	264
C20:1	0.7	478	0.7	617
C20:4	0.0	0	0.0	0
C20:5	1.6	1,093	9.2	7,756
C22:0	0.5	342	0.4	353
C22:1	0.0	0	0.3	264
C22:5	0.0	0	0.4	353
C22:6	0.0	0	3.7	3,085
C24:0	0.5	342	0.4	353
C24:1	0.0	0	0.2	176
Total	88.1	60,202	87.8	73,862
Others	11.9	8,132	12.2	10,278

Table 4-2. Fatty acid composition of *D. celebensis* enriched by Biocromis

	Before nutrition strengthening		After nutrition strengthening	
	Composition (%)	Content (ng/DW・g)	Composition (%)	Content (ng/DW・g)
C14:0	2.2	1,526	6.0	4,991
C14:1	1.5	1,040	0.6	499
C16:0	14.7	10,194	21.4	17,800
C16:1	10.7	7,420	3.9	3,244
C16:2	8.7	6,033	8.7	7,236
C18:0	4.2	2,913	4.8	3,993
C18:1	13.4	9,293	6.7	5,573
C18:2	23.7	16,435	18.1	15,055
C18:3	5.9	4,092	4.7	3,909
C20:0	0.0	0	0.0	0
C20:1	0.0	0	0.5	416
C20:4	0.2	139	1.3	1,081
C20:5	0.3	208	9.8	8,151
C22:0	0.0	0	0.0	0
C22:1	0.0	0	0.2	166
C22:5	0.0	0	0.2	166
C22:6	0.4	277	2.8	2,329
C24:0	0.3	208	0.0	0
C24:1	0.0	0	0.0	0
Total	86.2	59,778	89.7	74,609
Others	13.8	9,570	10.3	9,387

Table 4-3. Fatty acid composition of two species of cladocerans and *Artemia*

	<i>M. macrocopa</i>		<i>D. celebensis</i>		<i>Artemia</i>	
	Composition (%)	Content (ng/DW・g)	Composition (%)	Content (ng/DW・g)	Composition (%)	Content (ng/DW・g)
C14:0	1.2	852	1.9	1,586	0.9	1,213
C14:1	2.1	1,491	1.2	1,002	1.0	1,348
C16:0	13.4	9,512	15.1	12,608	11.8	15,904
C16:1	1.7	1,207	1.8	1,503	2.8	3,774
C16:2	6.4	4,543	11.9	9,936	1.1	1,483
C18:0	5.1	3,620	5.3	4,425	5.1	6,874
C18:1	5.3	3,762	7.6	6,346	22.4	30,191
C18:2	24.8	17,604	22.3	18,619	6.6	8,896
C18:3	8.4	5,963	8.0	6,680	31.2	42,052
C20:0	0.0	0	0.0	0	0.2	270
C20:1	0.8	568	0.6	501	4.4	5,930
C20:4	0.0	0	0.0	0	0.6	809
C20:5	15.6	11,073	11.5	9,602	2.3	3,100
C22:0	0.5	355	0.4	334	0.5	674
C22:1	0.3	213	0.2	167	0.8	1,078
C22:5	0.7	497	0.2	167	0.0	0
C22:6	2.6	1,846	0.5	417	0.0	0
C24:0	0.6	426	0.2	167	0.0	0
C24:1	0.6	426	0.0	0	0.0	0
Total	90.1	63,958	88.7	74,060	91.7	123,596
Others	9.9	7,027	11.3	9,435	8.3	11,187

考 察

材料および方法

海水魚の多くは、不飽和化酵素を欠くかあるいはその活性が微弱なため、リノール酸やリノレン酸は高度不飽和脂肪酸に転換されない。魚類の必須脂肪酸については、複数の魚種で報告がなされ、後述するアユにおいてはリノール酸およびリノレン酸が、クルマエビにおいてはリノール酸およびリノレン酸、または EPA および DHA が必須脂肪酸とされている。本試験では最適栄養強化剤としてタマミジンコにはスーパーカプセル A-1 を、*D. celebensis* にはバイオクロミスを用いて 2 次培養での実用規模の栄養強化を行った。これらの強化剤は、いずれもアルテミアの栄養強化剤として使用されているものである。2 種のミジンコにおいて、リノール酸及びリノレン酸は、栄養強化後に僅かに減少した。EPA+DHA は、栄養強化後に乾燥重量に対して 1% 程度強化され、アルテミアと同程度に栄養強化できることを確認した。

また、2 次培養での栄養強化を行わず、日々の餌料をクロレラからスーパー生クロレラ V-12 に換えた時のタマミジンコと *D. celebensis* の脂肪酸含有量を検討したところ、EPA+DHA は、栄養強化後に乾燥重量に対して 1% 程度強化され、栄養強化したアルテミアと同程度であることを確認した。これら 2 種のミジンコに対して、それぞれの最適強化剤とスーパー生クロレラ V-12 で強化した場合の脂肪酸含有量を比較すると EPA はスーパー生クロレラで培養した方が高かったが、DHA は最適強化剤の方が高かった。タマミジンコ属では、ワムシと同様に、その脂肪酸組成は培養餌料に大きく左右されることが報告されている（渡辺ら 1979, 岡ら 1982）。以上の結果からタマミジンコと *D. celebensis* は、栄養強化剤により栄養強化が可能であることが明らかとなり、その脂肪酸組成は強化剤によって大きく左右されると推察された。

第 3 節 コイふ化仔魚の初期餌料としての評価

食用コイや錦ゴイの種苗生産は、広い屋外池に鶏糞等の施肥を行い、ミジンコの発生を促した後にコイの受精卵を投入し、その後、ミジンコがコイ仔魚によって食べ尽くされる頃に配合餌料に切り替えるという粗放的な飼育方法である。しかし、施肥培養によるミジンコの管理は、飼育者の経験と自然任せ（天候や自然水温）でなされるため、成功するとは限らない。ミジンコの主要種であるタマミジンコの大量培養が可能になったことで、広い屋外池よりも小規模の水槽で高密度でのコイの種苗生産が可能であると考えられる。そこで、通常餌料と前述の低コスト餌料で培養したタマミジンコを用いて個別にコイ仔魚の飼育試験を行い、その餌料価値を評価した。

1. 通常餌料で大量培養したタマミジンコのコイ仔魚に対する餌料価値

内水面研究所において飼育している食用コイから平成 16 年 5 月 15 日に産卵され、5 月 19 日にふ化した 3 日令のコイ仔魚を供試した。試験区として、仔魚に与える餌料の種類によってタマミジンコ区、アルテミア区および配合餌料区を設定し、各区とも 30ℓパンライト水槽を 2 個（水槽 I, II）ずつ用意し、それぞれにコイ仔魚を 60 尾ずつ収容した。飼育水量は 25ℓで微通気の止水飼育とした。換水は 10~15ℓ/回を 0~2 回/日、サイフォンによる底掃除と同時にを行い、死亡魚が見られた場合は、計数して取り除いた。タマミジンコは 500ℓの大量培養システムでクロレラと鶏糞抽出液を給餌したものをを用いた。アルテミアは人工海水（25 ppt）でふ化した直後のもので、配合餌料にはアユ仔魚用の微粒子配合飼料スーパーゴールド 0 号（糊オリエンタル酵母製）を用いた。各餌料の給餌量は、湿重量で同量とし、1 日 1 回/、1.0~1.5g を順次増加させながら給餌した。試験期間は 22 日間とし、水温を毎日測定した。試験終了時に生残個体をすべて計数するとともに、各試験区の水槽 I の生残個体の全長を全て測定し、得られた値について、Stat View ver 5.0 (SAS Institute Inc 製) を用いて試験区間の体長の多重比較検定 (Tukey-test) を行った。

2. 低コスト餌料で大量培養したタマミジンコのコイ仔魚に対する餌料価値

供試したコイ仔魚は、内水面研究所において成熟コントロールしているコイ親魚から平成 18 年 8 月 30 日に採卵し、9 月 3 日にふ化した 3 日令のものである。試験区として、通常餌料で培養したタマミジンコを給餌する通常餌料区と、低コスト餌料で培養したタマミジンコを給餌する低コスト餌料区を設定した。両各区とも 30ℓパンライト水槽を 3 個ずつ用意し、それぞれにコイ仔魚を 200 尾ずつ収容した。飼育水量は 25ℓで微通気の止水飼育とした。換水は 10~15ℓ/回を 0~2 回/日、サイフォンによる底掃除と同時にを行い、死亡魚が見られた場合は、計数して取り除いた。各餌料の給餌量は、重量で同量とし、1 日 1 回、3.0~15g を残餌を観察しながら順次増加して給餌した。試験期間は 16 日間とし、水温を毎日測定した。試験期間中に仔魚のサンプルを各試験区から 2 回、10 個体ずつ採取し、体長を測定した。試験終了時に生残個体をすべて計数するとともに、全水槽についての生残個体のうち 60 個体の体長を測定した。試験区間の体長比較については *t* 検定を行った。

3. コイの種苗生産試験

供試したコイ仔魚は、内水面研究所において平成 18 年 8 月 30 日に採卵し、9 月 3 日にふ化した 3 日令のものである。飼育水槽は 2 t 角型 FRP 水槽で、飼育水量を 1 t とし、仔魚を約 3 万尾投入した。微通気での止水飼育とし、3 日目から 12 日目まで水量の 3/4 を換水し、13 日目から試験終了までは流水飼育 (1.2 l/分) とした。給餌前にサイフォンによる底掃除を 1 日 1 回行った。低コスト餌料で培養したタマミジンコの給餌量は、1 日 1 回、300~1,400 g を残餌を観察しながら順次増加させ給餌した。試験期間は 17 日間とし、水温を毎日測定した。試験期間中に 2 回飼育水槽から 10 個体をサンプリングし、体長を測定した。試験終了時には生残個体をすべて取り上げ、全重量を測定した。そのうち約 5 g に当たる尾数を 6 回計数し、全体の生残尾数として換算した。また、生残した個体のうち任意に採取した 60 個体の体長を測定した。

結 果

1. 通常餌料で大量培養したタマミジンコのコイ仔魚に対する餌料価値

試験期間中の平均水温は 24.2℃で、21.3~27.5℃の範囲で推移した。各試験区におけるコイ仔魚の全長の推移を Fig. 4-2 に示した。試験終了時のコイ仔魚の全長は、大きい順にアルテミア区 20.9±1.6 mm (n=60)、タマミジンコ区 18.3±2.0 mm (n=60)、配合飼料区 13.1±1.1 mm (n=7) となり、各試験区間の全長には有意差がみられた (Tukey-test, p<0.05)。試験終了時における各区の水槽 I, II の生残率を Table 4-4 に示した。タマミジンコでは 2 水槽とも 100.0%, アルテミアでは 100.0, 90.0%, 配合餌料区では 2 水槽とも 11.7%であった。

2. 低コスト餌料で大量培養したタマミジンコのコイ仔魚に対する餌料価値

試験期間中の平均水温は 25.5℃で、24.0~27.9℃の範囲で推移した。試験終了時の各試験区 3 槽のコイ仔魚の生残率と標準偏差を Fig. 4-3 に示した。通常餌料区では 95.8±2.5% (n=3)、低コスト餌料区では 95.2±4.0% (n=3) であった。各試験区における平均体長の推移を Fig. 4-4 に示した。試験終了時の各試験区のコイ仔魚の平均体長と標準偏差は、通常餌料区では 15.1±2.5 mm (n=180)、低コスト餌料区では 14.4±1.0 mm (n=180) であった。試験区間の平均体長には有意差はみられなかった (t-test)。

3. コイの種苗生産試験

試験期間中の平均水温は、23.0℃で 21.1~25.4℃の範囲で推移した。試験終了時のコイ仔魚の総湿重量は 906g であった。1g 当たりの平均個体数と標準偏差は 53.4±3.8 個体となり、総尾数は約 48,000 尾となった。平均体長の推移を Fig. 4-5 に示した。試験終了時のコイ仔魚の平均体長と標準偏差は、10.1±1.2 mm (n=60) であった。

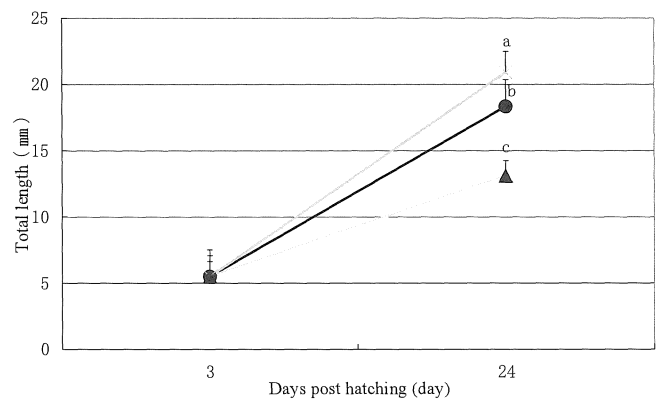


Fig. 4-2. Changes of total length of the carp larvae fed with different food. Vertical lines indicate standard deviations. The different letters on each column are significantly different (a>b>c, Tukey-test, p<0.05). ● : *M. macrocopa*. × : *Artemia franciscana*. ▲ : Compound food.

Table 4-4. Survival (%) of the carp larvae fed with different food at 22 days trial

Food source	<i>M. macrocopa</i>		<i>Artemia franciscana</i>		Compound food	
	Trial 1	Trial 2	Trial 1	Trial 2	Trial 1	Trial 2
Survival (%)	100.0	100.0	100.0	90.0	11.7	11.7

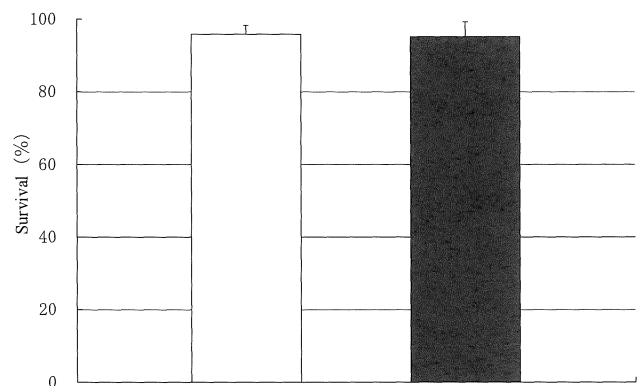


Fig. 4-3. Survival (%) of the carp larvae fed with different food. Vertical lines indicate standard deviation. □ : *M. macrocopa* cultivated by ordinary food. ■ : *M. macrocopa* cultivated of low cost food.

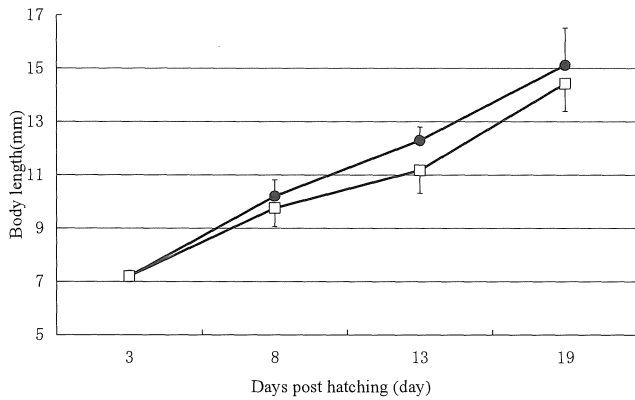


Fig. 4-4. Changes of body length of the carp larvae fed with different food. Vertical lines indicate standard deviation. ● : *M. macrocopa* cultivated of ordinary food. □ : *M. macrocopa* cultivated by low cost food.

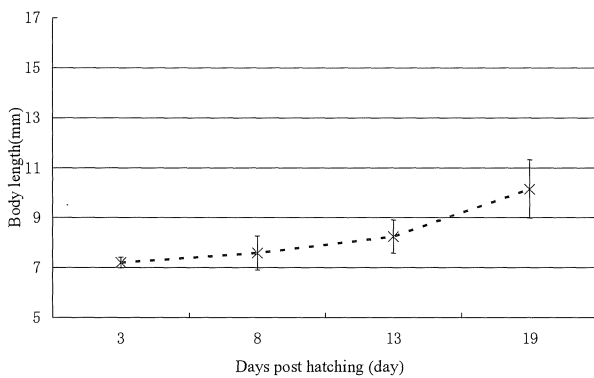


Fig. 4-5. Changes of body length of the carp larvae fed with *M. macrocopa* cultivated of *Chlorella* and Chicken droppings extract. Vertical lines indicate standard deviation.

考 察

コイのふ化仔魚は、ふ化2～3日後から大きさが285～425 μmの動物プランクトンを食べ始め、配合飼料などの代替飼料は成長、生残率とも生物餌料に劣るとされている(隆島・村井 2005)。通常餌料で大量培養したタマミジンコをアルテミアおよび配合餌料と比較給餌した結果、成長については、良い方からアルテミア区、タマミジンコ区、配合餌料区の順で、3者間には有意差が見られた(Tukey-test)。アルテミアおよびタマミジンコのコイ餌料としてのサイズ(体長)は、アルテミアが約600 μm(浅田 2001)に対し、タマミジンコは440～1,300 μm

である。本試験では、給餌量を湿重量で同じにしたため、ふ化直後のコイ仔魚が摂餌できる量はタマミジンコよりもアルテミアの方が多くなり、アルテミア区の成長が良くなったと推察された。コイ仔魚の生残率については、タマミジンコ区は2水槽とも100%でアルテミア区の100%と90%よりやや高く、生物餌料として有効であると推察された。配合餌料区については、約13%の生残率で隆島・村井(2005)の報告と一致する傾向が見られた。

王ら(1987)は、コイ仔魚に1日1尾当たり5 mgのミジンコを給餌するとふ化後20日までは90%以上の生残率を示し、適正給餌率は魚体重に対して110～130%と報告している。通常餌料と低コスト餌料それぞれで培養したタマミジンコを与えたコイ仔魚での比較給餌試験では、給餌量については、開始直後は15 mg/尾/日で給餌し、試験終了時までには65 mg/尾/日に増加させたので飽食量であったと推察された。両タマミジンコとも給餌されたコイ仔魚は順調に成長し、体長に有意差はみられなかった(*t*-test)。また生残率についても両者とも95%以上と高くなった。これらの成長及び生残率の結果から、低コスト餌料で培養したタマミジンコは、コイふ化仔魚の生物餌料として有効であると判断された。

低コスト餌料で培養したタマミジンコを用いて実用規模でのコイ仔魚の種苗生産試験を行った結果、飼育水量1 tの水槽で約48,000尾(平均体長10.1 mm)を生産した。試験開始の収容密度を約30,000尾になるように予定したが、実際はかなり多く収容していた。給餌については、生産尾数から換算すると開始直後は6 mg/尾/日で給餌し、試験終了時までには21 mg/尾/日に増加させたことになる。仔魚の生残率については、予定収容尾数より生産尾数が多かったことや試験期間中に殆ど死亡魚が見られなかったことから100%に近かったとの推察された。成長については30 lの試験区に比べると劣ったが、これは飼育水温が低かったことと給餌量が少なかったことによるものと推察された。

従来の粗放的なコイ種苗生産では、ふ化率を50%としたときの収容卵数は20～27万粒/1000 m²とされている(隆島・村井 2005)。これは、1 m²当たりふ化仔魚100～140尾となる。本試験では飼育水槽は約2 m²であるため、1 m²当たり2,400尾となる。20日令までであるが、従来法と比較し約17倍と飛躍的に高い密度での飼育が可能であった。

第4節 アユ仔魚の生物餌料としての評価

アユは内水面漁業において重要な魚種である。そのため、養殖用および放流用として多数の人工種苗が生産されている。アユは両側回遊魚であるため、種苗生産は塩分が必要となる。アユ種苗生産におけるその主な餌料系

列は、海産魚類とほぼ同様にワムシ、アルテミア、配合餌料となっており、ワムシ及びアルテミアには、DHA や EPA といった必須脂肪酸の強化がなされている。そこで、栄養強化を施したタマミジンコと *D. celebensis* が、アルテミアの代替餌料として適しているかどうかについて検討した。

材料および方法

1. タマミジンコとアルテミアによるアユの比較給餌試験

供試したアユ仔魚は、福岡県内水面研究所で継代飼育した親魚から、人工授精によりふ化させた22日令のものである。ふ化後から試験に供するまではスーパー生クロレラで栄養強化した海産ワムシを給餌して塩分10 ppt(人工海水)で飼育した。試験区は餌料によってタマミジンコ区およびアルテミア区とした。両区とも30ℓパンライト水槽を2個(水槽I, II)用意し、それぞれにアユ仔魚を110尾ずつ収容した。飼育水の塩分は10 ppt(人工海水)で、水量は25ℓとし、微通気の止水飼育とした。換水は10~15ℓ/回を0~2回/日、サイフォンによる底掃除と同時にを行った。また、その際に死亡魚の計数を行った。タマミジンコの培養は0.5 m³水槽にC型エアリフターを用い、クロレラと鶏糞抽出液を給餌した。タマミジンコを選別し、350 μm ネットを通過し200 μm ネットに残存した個体をスーパーカプセル A-1を用い、前述した方法(第4章第2節)で栄養強化した。アルテミア *Artemia franciscana* (グレートソルトレイク産)については、ふ化24時間後のものをタマミジンコと同様に栄養強化した。これらの強化餌料を両区のアユ仔魚にそれぞれ1日1回給餌した。給餌量は、アルテミア区に少量の残餌がでる程度を目安としてタマミジンコ区もそれと同量とし順次増加させた(0.1~0.5 個体/ml/日)。なお、試験開始から5日間はワムシも給餌し、順次減少させた(3~5 個体/ml/日)。また、給餌したアルテミアとタマミジンコについては、30個体の体長を万能投影機下で測定した。飼育期間は22日とし、期間中に3回、各試験区の水槽Iからアユ仔魚10個体をサンプリングし、体長を万能投影機下で測定すると共に消化管内を観察し、摂餌状況を観察した。終了時には各試験区の水槽Iから生残した全個体の体長を同様に測定し、*t*検定を行った。また、各試験区が生残尾数を計数した。

2. *D. celebensis*とアルテミアによるアユの比較給餌試験

供試したアユ仔魚は、福岡県内水面研究所で継代飼育した親魚から、人工授精によりふ化させた30日令のもの

である。ふ化後から試験に供するまではスーパー生クロレラで栄養強化した海産ワムシを給餌して塩分10 ppt(人工海水)で飼育した。試験区は餌料によって*D. celebensis*区、アルテミア区とし、対照区としては海産ワムシ区を設定した。海産ワムシは定量ポンプで1日5回給餌した。*D. celebensis*区とアルテミア区には、対照区と同量の海産ワムシを給餌した。*D. celebensis*は2 m³水槽に純酸素を微通気してクロレラと鶏糞抽出液で培養した。各区とも0.5 m³水槽を用意し、それぞれにアユ仔魚を12,000尾ずつ収容した。飼育水の塩分は10 ppt(人工海水)で、水量は400ℓとし、微通気とした。また、各試験区は、同一の濾過槽で循環(5ℓ/分)させた。そのため、各試験区の水質は、ほぼ同じであった。適宜、サイフォンによる底掃除を行った。*D. celebensis*は、バイオクロミスを用い、前述した方法(第4章第2節)で栄養強化した。アルテミアについては、ふ化24時間後のものを*D. celebensis*と同様に強化した。*D. celebensis*とアルテミアは、1日1回給餌した。給餌量は、*D. celebensis*とアルテミアを湿重量で同量とした。アルテミア区に少量の残餌がでる程度を目安にして順次増加させた(10~92g)。また、給餌した*D. celebensis*とアルテミアの1g当たりの個体数を算出した。飼育期間は22日とし、期間中に3回、各試験区の水槽Iからアユ仔魚10個体をサンプリングし、体長を万能投影機下で測定した。終了時には各試験区が生残魚から60個体ずつを取り全長を同様に測定し、試験区間での比較は、Stat View ver5.0(SAS Institute Inc製)を用いた多重比較検定(Tukey-test)によった。また、各試験区が生残尾数については全て計数し生残率を求めた。

結 果

1. タマミジンコとアルテミアによるアユの比較給餌試験

栄養強化したタマミジンコの平均全長と標準偏差は524.2±53.9 μm (n=30)、アルテミアでは817.5±75.2 μm (n=30)であった。両試験区のアユ仔魚の体長の推移をFig. 4-6に示した。両試験区とも順調に成長し、試験終了時のアユ仔魚の体長は、アルテミア区が15.3±1.8 mm (n=101)でタマミジンコ区の15.0±1.1 mm (n=44)より僅かに大きくなったが、両者に有意差はみられなかった(*t*-test, *p*<0.05)。試験開始6日目(仔魚28日令)の腸管内の観察では、タマミジンコ区では仔魚の3割が摂餌し、アルテミア区では8割が摂餌していた。その後は、両区ともすべての個体で摂餌が確認された。死亡魚から推定した各試験区における水槽毎の生残率の推移をFig. 4-7に示した。また、試験終了時の生残率は、タマミジ

ンコ区で 39.3 % と 45.9 %, アルテミア区で 92.7% と 97.6%, となった。タマジシコ区では, 34 日令で大きな死亡が見られたが, その後の生残は安定した。

2. *D. celebensis* とアルテミアによるアユの比較給餌試験

栄養強化した *D. celebensis* の平均全長と標準偏差は $725.8 \pm 206.1 \mu\text{m}$ ($n=60$) で, アルテミアのそれは $806.8 \pm 37.0 \mu\text{m}$ ($n=30$) であった。各試験区におけるアユ仔魚の体長の推移を Fig. 4-8 に示した。アルテミア区では順調な成長を示したが, *D. celebensis* 区は試験開始 11 日目以降の成長は鈍くなり, 対照の海産ワムシ区は試験開始直後から成長が遅れた。試験終了時のアユ仔魚 60 尾の全長は, 大きい順にアルテミア区 $17.0 \pm 2.1 \text{ mm}$, *D. celebensis* 区 $15.7 \pm 1.8 \text{ mm}$, 対照区 $15.1 \pm 1.5 \text{ mm}$ となり, アルテミア区は他の 2 区に比べ有意に大きくなった (Tukey-test, $p < 0.05$)。試験終了時の各試験区における生残率を Fig. 4-9 に示した。生残率は, *D. celebensis* 区で 97.8%, アルテミア区で 86.8%, 対照区で 52.9% となった。また, *D. celebensis* 区は残餌が顕著に見られた。

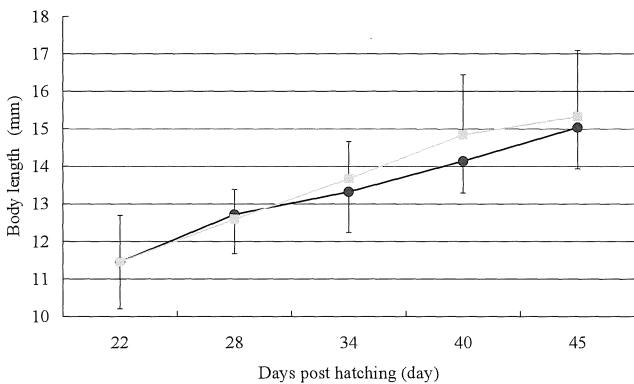


Fig. 4-6. Changes of body length of Ayu larvae fed with different live feed. Vertical lines indicate standard deviation. ●: Fatty acid-enriched *M. macrocopa*, ■: Fatty acid-enriched *Artemia*.

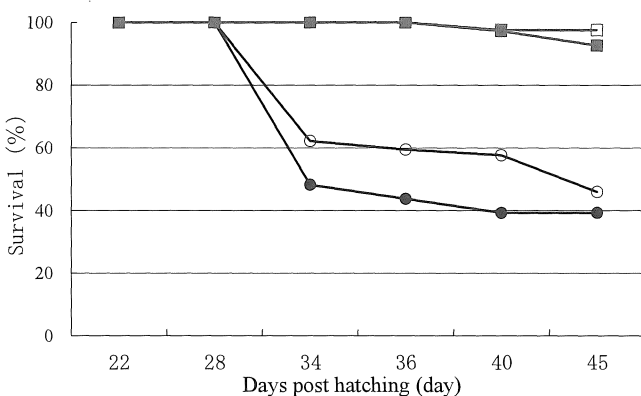


Fig. 4-7. Changes of survival (%) of Ayu larvae fed with different live food. ●: Fatty acid-enriched *M. macrocopa*, ■: Fatty acid-enriched *Artemia*.

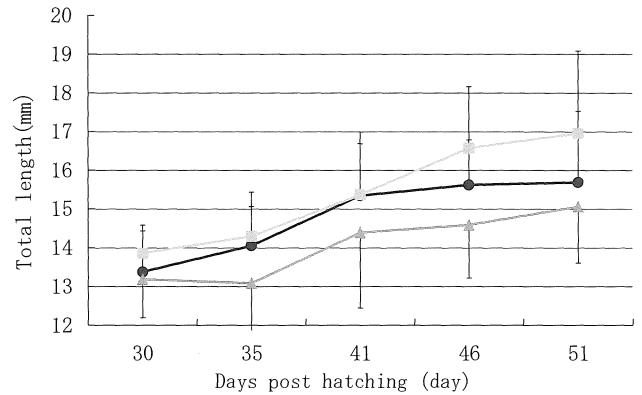


Fig. 4-8. Changes of body length of Ayu larvae fed by different live food. Vertical lines indicate standard deviations. ●: Fatty acid-enriched *D. celebensis*, ■: Fatty acid-enriched *Artemia*, ▲: control.

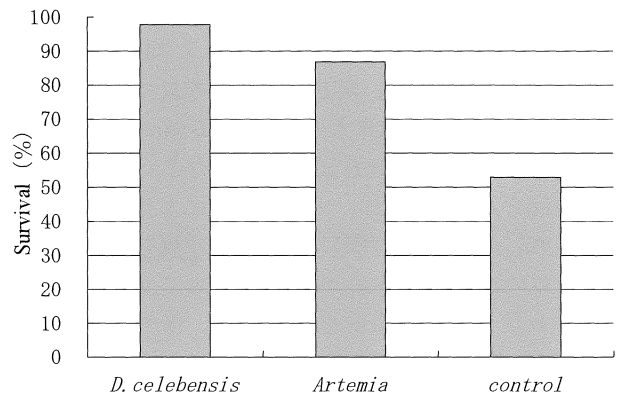


Fig. 4-9. Survival rate of Ayu larvae fed by different live food.

考 察

タマジシコとアルテミアの比較給餌試験では, アユ仔魚の成長において有意な差はみられなかったことから, タマジシコは, 栄養的な面ではアユの初期餌料として十分に効果があったと考えられた。28 日令の仔魚の消化管内の観察では, タマジシコ区で 3 割, アルテミア区では 8 割の仔魚が摂餌していた。餌料のサイズとしては, 選別したタマジシコは体長 $524.2 \pm 53.9 \mu\text{m}$ でアルテミアの $817.5 \pm 75.2 \mu\text{m}$ より小さいにもかかわらずアユ仔魚が摂餌しにくいことが示唆された。これは体色, 形態, 遊泳速度および遊泳様式によるものと考えられ, 今後検討を要する。生残率については, タマジシコ区で 28~34 日令に大きな死亡が起こった。これは, 死亡した個体すべての消化管内が空であったことから, タマジシコを餌として認識できなかったアユ仔魚が, 海産ワムシの給餌を止めたため餓死したことによると考えられた。そ

の後に大きな死亡が見られなかったのは、タマミジンコを摂餌することができたアユ仔魚が生残したためだと思われる。したがってタマミジンコは、海産ワムシとの併用給餌を長くし、アユ仔魚に摂餌させることができれば十分にアルテミアの代替餌料となると判断された。

D. celebensis とアルテミアを比較すると、アユ仔魚の成長においてはアルテミアの方が有意に大きくなった。その要因として、本試験においては、*D. celebensis* の給餌量をアルテミアと湿重量で同量とし、サイズの選別をしなかったため、体長 1 mm 前後の親虫も存在していたことが挙げられる。親虫サイズでは、アユ仔魚にとって大きく摂餌できずに残餌になり、その分だけ実質的な給餌量がアルテミアよりも少なくなり、成長に差が生じたと考えられた。生残率は、*D. celebensis* 区が 97.8% でアルテミア区の 86.8% より有意に高くなり、対照の海産ワムシ区は 52.9% と前 2 区より有意に低くなった。対照区では海産ワムシのみしか給餌しなかったため、餌料不足により餓死したと推察された。*D. celebensis* 区とアルテミア区では海産ワムシと両者の給餌量が加算され、餓死が起きず高い生残率となったと考えられた。今後、アユ仔魚に *D. celebensis* を給餌する場合、仔魚のサイズ（口径）を考慮し、*D. celebensis* をネットのオープニングで選別することや、飼育水槽内での *D. celebensis* の産仔を促し、仔ミジンコをアユ仔魚に摂餌させるなどの工夫が必要であると思われた。

第 5 節 クルマエビのポストラバ期における生物餌料としての評価

クルマエビは沿岸漁業および海面養殖業において主要な魚種の 1 つである。そのため、放流用および養殖用として種苗生産されている。その主な餌料系列は、ゾエア期には珪藻、ミスシス期とポストラバ初期（稚エビ）にはアルテミア、その後は配合餌料というものであり（加治・今泉 2003）、期間的にも量的にも、アルテミアを多く使用する。そこで、アルテミアに代わるクルマエビの生物餌料としてのタマミジンコと *D. celebensis* の適性を検討した。

材料および方法

供試稚エビは、福岡県栽培漁業公社でふ化し、ポストラバ 5 日令まで養成されたものである。試験区は、稚エビに与える餌料によってタマミジンコ区、*D. celebensis* 区及びアルテミア区とし、各区とも 30ℓ パンライト水槽を 2 個（水槽 I、II）用意し、それぞれの水槽に稚エビを 150 尾ずつ収容した。飼育水の塩分は 25 ppt（人工海水）、水量は 25ℓ で微通気の止水飼育とした。換

水は 10~15ℓ/回を 0~2 回/日、サイフォンによる底掃除と同時にいった。水温はウォーターバスで 23~26 °C に調整し、飼育水の pH を毎日測定した。餌料のタマミジンコと *D. celebensis* は、スーパー生クロレラ V-12 を用い、前述（第 4 章第 2 節）の方法で脂肪酸の栄養強化をしたもので、これらを稚エビに 1 日 1 回給餌した。給餌量は、アルテミア区に少量の残餌がでる程度を目安として順次増加させ、他の 2 区もそれと同量（0.3~1.5 個体/ml/日）にした。また、給餌した 3 種の餌料種を 30 個体ずつ採集し体長を万能投影機で測定した。飼育期間は 30 日とし、期間中に 3 回、各試験区の水槽 I から稚エビ 10 個体をサンプリングし、体長を万能投影機で測定した。終了時には各試験区の水槽 I から稚エビ 30 個体の体長を同様に測定し、各試験区間の体長を比較するため *t* 検定を行った。また、各試験区の生残尾数を計数し、生残した稚エビは、前述（第 4 章第 2 節）と同様に脂肪酸分析に供した。

結 果

試験期間中の pH は、各試験区とも同様の傾向を示し、7.60~8.29 の間で推移した。各餌料種の体長は、タマミジンコ、*D. celebensis*、アルテミアの順で大きく、それぞれの平均と標準偏差は、 821.8 ± 238.0 、 725.8 ± 203.1 、 $549.3 \pm 81.5 \mu\text{m}$ （各 $n=30$ ）であった。給餌した *D. celebensis* 及びアルテミアのうち、摂餌されなかった個体は翌日も生残していたが、タマミジンコは給餌後 10 分程度で死亡し水槽の底に沈降した。しかし、クルマエビが死亡したタマミジンコを盛んに摂餌しているのが観察された。各試験区における体長の推移を Fig. 4-10 に示した。試験終了時の体長は大きい順に タマミジンコ、*D. celebensis*、アルテミア区となり、それぞれ 18.90 ± 1.46 、 18.57 ± 1.57 、 $15.48 \pm 1.16 \text{ mm}$ （各 $n=30$ ）で前 2 者はアルテミア区に比べ有意に大きくなった（*t*-test, $p < 0.05$ ）。各試験区における水槽毎の生残率を Table 4-5 に示した。試験終了時の生残率は、タマミジンコ区で 39.0、87.7 %、*D. celebensis* 区で 95.2、92.6 %、アルテミア区で 78.1、94.2 % となった。タマミジンコ区の 1 水槽で 18 日目に大量死亡が起こったが、その時点から換水率を 2 倍にしたところ、その後の死亡は見られなかった。

稚エビ体内の脂肪酸分析の結果を Table 4-6 に示した。リノール酸の含有量は高い順にタマミジンコ、*D. celebensis*、アルテミア区となり、それぞれ 9,964、9,751、4,398 ng/DW・g で、タマミジンコ及び *D. celebensis* 区はアルテミア区の約 2 倍であった。リノレン酸の含有量は高い順にアルテミア、タマミジンコ、*D. celebensis* 区となり、それぞれ、15,359、2,601、1,976 ng/DW・g で、

タマミジンコ及び *D. celebensis* 区はアルテミア区の約 1/6 倍と 1/8 倍であった。EPA の含有量は高い順に タマミジンコ, *D. celebensis*, アルテミアとなり, それぞれ 7,936, 7,646, 4,589 ng/DW・g で, タマミジンコ及び *D. celebensis* 区はアルテミア区の約 1.7 倍であった。DHA の含有量も同様の順で, それぞれ 1,940, 644, 255 ng/DW・g となった。タマミジンコ 及び *D. celebensis* 区は, それぞれアルテミア区の 7.6, 2.5 倍であった。

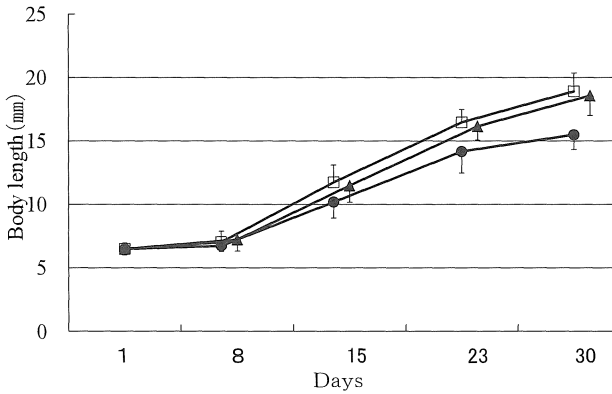


Fig. 4-10. Changes of body length of kuruma prawn fed with different live feed. Vertical lines indicate standard deviation of 30 replicates. □: Fatty acid-enriched *M. macrocopa*, △: Fatty acid-enriched *D. celebensis*, ○: *Artemia franciscana* immediately after hatching.

Table 4-5. Survive (%) of kuruma prawn fed by different live feed at the end of experiments

Food source	<i>M. macrocopa</i>		<i>D. celebensis</i>		<i>Artemia franciscana</i>	
	Trial 1	Trial 2	Trial 1	Trial 2	Trial 1	Trial 2
Survival (%)	39.0	87.7	95.2	92.6	78.1	94.2

Table 4-6. Fatty acid composition of kuruma prawn produced by two species of cladocerans and *Artemia*

	<i>M. macrocopa</i>		<i>D. celebensis</i>		<i>Artemia</i>	
	Composition (%)	Content (ng/DW・g)	Composition (%)	Content (ng/DW・g)	Composition (%)	Content (ng/DW・g)
C14:0	0.0	0	0.8	344	0.0	0
C14:1	1.1	485	0.7	301	0.6	382
C16:0	17.0	7,495	17.9	7,689	13.2	8,413
C16:1	1.3	573	1.8	773	0.6	382
C16:2	3.6	1,587	4.6	1,976	1.1	701
C18:0	8.2	3,615	8.8	3,780	7.3	4,652
C18:1	5.7	2,513	8.2	3,522	23.8	15,168
C18:2	22.6	9,964	22.7	9,751	6.9	4,398
C18:3	5.9	2,601	4.6	1,976	24.1	15,359
C20:0	0.5	220	0.5	215	0.4	255
C20:1	0.0	0	0.0	0	1.2	765
C20:4	0.5	220	0.7	301	2.2	1,402
C20:5	18.0	7,936	17.8	7,646	7.2	4,589
C22:0	1.0	441	1.2	515	1.0	637
C22:1	0.5	220	0.0	0	1.0	637
C22:5	0.9	397	1.0	430	0.0	0
C22:6	4.4	1,940	1.5	644	0.4	255
C24:0	0.7	309	0.0	0	0.0	0
C24:1	0.0	0	0.0	0	0.5	319
Total	91.9	40,516	92.8	39,863	91.5	58,314
Others	8.1	3,571	7.2	3,093	8.5	5,417

考 察

稚エビの成長は, タマミジンコ及び *D. celebensis* 給餌するとアルテミアより大きかったことから, これら 2 種はクルマエビの初期餌料として十分に効果があったと考えられた。その原因として, EPA 及び DHA の強化は, クルマエビの成長を促進すること (Kanazawa et al 1978, 1979) と, アルテミアの給餌密度を基準にしたため, 餌料の大きさの関係で給餌重量が, タマミジンコ区, *D. celebensis* 区, アルテミア区の順に大きかったことが考えられた。生残率については, タマミジンコ 区の 1 水槽で 18 日目に水質悪化によるものと思われる大量死亡が起こったが, それ以外では生残率は約 80%以上と高いものであった。本試験では, 底掃除時の残餌を観察すると タマミジンコ区の残餌が最も多く, 尚かつすでに死亡していた。このことが, タマミジンコ区の水質悪化を増大させ, クルマエビの死亡を招いたと考えられた。試験終了時の稚エビ体内の脂肪酸組成は, 給餌した餌料の脂肪酸組成を良く反映していた。

今回の試験ではポストラバ 5 日令を用いたため, クルマエビは既に着底しており, 死亡し底に沈降したタマミジンコを摂餌することができた。しかし, 実際には浮遊幼生であるミス期からアルテミアを給餌するので, ミスがポストラバと同様に死亡し沈降したタマミジンコを摂餌できない可能性がある。一方, *D. celebensis* は, 広い塩分耐性を持ち, 本試験においても翌日まで生残していることが確認された。このことから, *D. celebensis* はクルマエビのミス期の餌料として使用できる可能性があると考えられる。

第5章 総合考察

増殖特性

タマミジンコは、クロレラと鶏糞抽出液を給餌し、適切な環境条件下で飼育するとふ化後3日目から産仔が始まり、その後、ほぼ毎日産仔する。産仔せずに死亡する個体も僅かに見られるが、産仔した個体の初回産仔数は約20個体、寿命約5日の間の産仔数は60個体である。1回あたりの最高産仔数は41個体、生涯産仔数の最高は6日間の寿命の間に130個体であった。上野(1973)はタマミジンコの産仔は40~50個体に達することがあると報告している。これは本研究と同様の結果であり、増殖特性試験がタマミジンコにとって良好な餌料環境下であったと推察された。このような産仔数が得られたことは、餌料としてクロレラに鶏糞抽出液を添加したことによるものと思われた。鶏糞抽出液は発酵鶏糞から作製したものであり、その効果の要因は発酵鶏糞に含まれる天然エストロゲンと鶏糞抽出成分を栄養源として発生するバクテリアにあると考えられる。しかし、タマミジンコは、バクテリアで数世代を正常に繰り返すことが可能であるが、*Bacillus subtilis* のようなバクテリアを使用するとタマミジンコは増殖せず世代を繰り返すことが出来ないとされている(代田1975)。発酵鶏糞は、それを作成する鶏舎によって含有される天然エストロゲンの量も、発生するバクテリアの種類および量も異なると考えられる。このため、作成した鶏糞抽出液が、タマミジンコの大量培養に使用できるかどうかは事前に十分に検討する必要があるだろう。天然エストロゲンの量および適切なバクテリアの種類と量は、今後さらに検討する必要がある。また、鶏糞だけでタマミジンコを培養するとEPAが増加することが知られており、これは鶏糞によって飼育水中に発生した微小生物をタマミジンコが摂餌したためと考えられている(安楽1979)。本研究においてもクロレラと鶏糞抽出液で培養したタマミジンコにもEPAが少量ではあるが確認されており、これもタマミジンコの産仔数に影響を与えたのかもしれない。

タマミジンコの耐久卵は、大量培養の収穫後の水槽底部にタマミジンコの死亡個体や残餌等と共に沈殿している。耐久卵は、その長径および短径から300 μ mネットで回収可能であるが、堆積物の混入は避けられず、純粋に耐久卵だけに分離する方法の開発は今後の検討課題である。大量培養中に得られた耐久卵は、冷蔵保存が可能で28℃に昇温することで96時間後に85%以上のふ化率が得られ、培養開始時の種ミジンコとして有効である。村上(1957)は、タマミジンコの耐久卵のふ化を抑制する因子として有機物の分解生成物を指摘している。本研究では、耐久卵を駒込ピペットで採取し、地下水中でふ化させた。このため、有機物の分解生成物は含まれず、

高いふ化率が得られたと考えられる。実用規模で、大量培養中に得られた耐久卵をふ化させる場合は、耐久卵回収時に混入するタマミジンコの死亡個体や残餌を極力排除した方が、ふ化率は向上するかもしれない。タマミジンコは環境悪化時に耐久卵を持つとされているが、耐久卵形成を促進する主要因については未解明である。それが特定されれば耐久卵を大量に得る目的での大量培養も可能になるだろう。ただし、耐久卵の回収、保存の際にはワムシの耐久卵など培養阻害生物が混入しないように十分に留意する必要がある。

D. celebensis の増殖特性については、竹中(2001)は、水温25℃、塩分28ppt、飼育水5mlで、クロレラとナンクロロプシスを混合給餌すると4日目から産仔が始まり、1回に約4個体産仔し、寿命約30日の間に約11回の産仔によって総計44個体を産出すると報告している。瀬川ら(1987)は、水温25℃、塩分5ppt、飼育水40mlでテトラセルミスを給餌すると4日目から産仔が始まり、1回に約9個体を産仔し、寿命約18日の間に約11回の産仔によって総計約60個体を産出すると報告している。しかし、これらの試験について鶏糞抽出液は使用されていない。鶏糞抽出液中の天然エストロゲンやバクテリアはタマミジンコと同様に*D. celebensis* にも有効にはたらくことが予想される。したがって、本種の増殖特性については、鶏糞抽出液を用いることで更に向上することが期待される。

石黒(2004)により*D. celebensis* もタマミジンコと同様に耐久卵を産出することも明らかにされている。岩崎ら(1977)は、海産枝角類の耐久卵のふ化に対する水温、塩分、及び光条件の最適範囲を明らかにしている。しかし、*D. celebensis* の耐久卵の特性については、未だ十分に解明されていない。一般的に耐久卵は悪条件に耐えて生き残ることから、培養開始時の種ミジンコとして用いるのに適していると思われる。また、大量に入手することが可能であれば、ふ化した仔ミジンコを直接的に魚介類幼魚の餌料に使用できる可能性もある(安楽1979)。*D. celebensis* の耐久卵の特性の解明については今後の重要な課題である。

培養条件は異なるが、*D. celebensis* とタマミジンコを比較すると、寿命は*D. celebensis* が大幅に長い、1回あたりの産仔数はタマミジンコの方が多く、結果的に総産仔数は、同程度であるという共通点がある。しかし、同日数の培養であれば1回あたりの産仔数は多い方が種ミジンコの量が少なくなる。種ミジンコが少なければ初期の給餌量も少なくなり、餌料コストの削減にも繋がる。今後は、産仔数の多い他の海産枝角類の探索も有用であろう。

大量培養技術

これまでのタマジジンコの培養では、ミジンコが増殖してくると溶存酸素量が不足し、飼育水の表層に渦を巻くような局所的なパッチを形成し、水面下にはほとんど分布しない。本研究において、タマジジンコの大量培養については、C型のエアリフターを用いることで十分に酸素を含んだ飼育水を飼育水槽全体にゆっくりといきわたらせ、水槽内全体にミジンコを分布させることで、高密度培養が可能になった。また、餌料についてもクロレラに鶏糞抽出液を加えることで産仔数が増加し、増殖量が多くなったことが推察された。大量培養に用いる種ミジンコについては、ワムシなどの培養阻害生物の混入を防ぐため、350～500 μm ネットに残る親ミジンコを使用し、仔ミジンコは使用しなかった。今後、培養阻害生物の防除が可能となれば 200 μm ネットを用いて仔ミジンコまで回収し、それを種ミジンコに用いることで、更に増殖速度を上げることが可能であろう。

D. celebensis の大量培養については、日本栽培漁業協会屋島事業場において最高密度 9.4 個/*ml* の実績があり、椿 (2004) は飼育水の半換水を繰り返し、最高密度 12.7 個体/*ml* となったと報告している。本研究では、0.5 m^3 水槽において、タマジジンコ用の C 型エアリフターを小型にし、純酸素を通気して、クロレラと鶏糞抽出液を給餌することで最高到達密度が 62.4 個体/*ml* と大幅に増加した。

D. celebensis は、タマジジンコよりも 1 回当たりの産仔数は少ないが、寿命が長いことから、培養に当たっては 200 μm ネットで回収し、仔ミジンコまで種ミジンコとした。このことが 3～4 日間の培養で約 2 倍の増殖量を得ることを可能にしたと考えられる。しかし、回収ネットのオープニングを小さくすることは、ワムシ等他の生物混入の危険性が増大するため、十分に留意する必要がある。

タマジジンコと *D. celebensis* の培養コストの削減については、クロレラの半分を焼酎蒸留粕とドライイーストの混合液に置き換えることで餌料コストを約 35% 削減することが可能となった。ドライイースト等のパン酵母については、シオミズツボワムシの大量培養においてもコスト削減のために用いられている (桑田 2002)。一方、焼酎蒸留粕については、海洋投棄が出来なくなりその有効利用が模索されている。山下ら (2002) は、芋焼酎の蒸留粕を培地としバクテリアを培養し、タマジジンコの餌料として利用できると報告している。本研究で用いた麦焼酎の蒸留粕に含まれる酵母や麹菌をタマジジンコが直接摂餌したのか、低コスト餌料中に繁殖したバクテリアを摂餌したのかは不明である。今後、無菌的に給餌試験を行い、確認する必要がある。また、鶏糞抽出液でも

同様なことが言えるが、枝角類の餌料として有用なバクテリアが発見できれば、焼酎蒸留粕や鶏糞抽出液中に添加し、増殖させることも検討できるかもしれない。

杉目 (1959) は、*Daphna carinata* が、飼育水温 4～10℃ の環境条件で連続して 2 回の有性生殖を行い、連続して耐久卵を形成し、そのため結果として 22～24 日間仔ミジンコの産出率が一時的に 0 になり、生産上の悪条件となると報告している。しかし、0.1～1.0 m^3 といった小規模水槽によるタマジジンコと *D. celebensis* のミジンコの大量培養では、ヒーターによる加温が容易で増殖に適した水温 (28℃ 前後) を維持することができる。また、飼育水を全換水することが容易で、水質を良好な状態に保つことができる。そのため、タマジジンコの大量培養では、耐久卵を産出した個体がいても水質を良好な状態にすることで続けて産仔を行わせ、増殖に寄与させることができたと推察された。

タマジジンコの大量培養を阻害する付着生物として淡水産ツボワムシ *Brachionus rubens*、ツリガネムシ、付着藻類様生物が確認された。花里 (1998) は、淡水産枝角類の付着生物として珪藻の仲間、ミドリムシの仲間、原生動物の繊毛虫、バクテリア、ワムシがあり、これらがミジンコに付着する理由として、付着生物は付着することで自ら動かずに栄養豊かな場所に移動できることをあげている。今回見られたツボワムシは、タマジジンコの体全体に付着しその遊泳を妨げる程であった。また、タマジジンコは増殖していないにも関わらず、餌料であるクロレラが大幅に減少するのは、ツボワムシが大量に摂餌しているためと推察された。ツボワムシは、オスバン液により虫体の除去が可能であることが明らかとなったが、その卵までは除去できないことから、培養水から完全に駆除することは難しいと思われる。したがって、タマジジンコの培養開始に当たっては、大量培養時に得られた耐久卵を逐次回収して保存しておき、その耐久卵からふ化する新たな個体群を用いる方がタマジジンコの大量培養を継続させるためには良いと判断される。

長崎県水産試験場 (1988) では、汽水産ミジンコ *Diaphansoma aspinosum* 培養中に海産ワムシが混入すると *D. aspinosum* が数日の内に消滅することがあるとし、ホルマリンによる薬浴を検討している。本研究中の *D. celebensis* 大量培養時には、付着生物は見られなかったが、シオミズツボワムシ (S 型ワムシ) の混入が見られた。シオミズツボワムシより *D. celebensis* の方が体サイズが大きいため、種ミジンコの回収に 250 μm ネットを使用し、洗浄を繰り返せば、シオミズツボワムシの通過を促し、除去することは可能であった。しかし、種ミジンコの回収ネットのオープニングを大きくすることは、仔ミジンコも通過し、*D. celebensis* 増殖速度の低下を招

くことになる。また、シオミズツボワムシにはL型ワムシといった大型のワムシもいるため、その除去方法については、今後さらに検討する必要がある。

魚介類幼生への餌料価値

C型のエアリフターを用い、低コスト餌料で大量培養したタマミジンコが、コイの生物餌料として有効であることを明らかにした。本大量培養システムにより、季節や天候を問わず、何時でも安定してミジンコを大量に得ることができることで、コイの種苗生産においては季節の制約が無くなる。実際に電照等で産卵を制御し、冬季に産卵させふ化したコイ仔魚を屋内の小規模水槽で高密度に飼育することが可能であった。また、コイ養殖業でも、近年のコイヘルペスウイルス症等、疾病は不可避的な問題である。現在の粗放的なコイの種苗生産に比べ、小規模水槽で高密度に飼育できることは、管理の面で容易になり防疫対策にも役立つといえる。また、この大量培養技術を用いれば、高密度で、周年にわたってタマミジンコを培養できることから、これまで生物餌料の確保に難があった他の淡水産魚介類の増養殖に広く利用できる可能性がある。

クロレラ工業株式会社から販売されているスーパーカプセル A-1 およびバイオクロミスでアルテミアを栄養強化したときの EPA と DHA の合計含有量は、両製品共に 8,000 ng/DW・g (0.8%) に強化できるとされている。淡水産であるタマミジンコは、海産魚介類の種苗生産に必要な高度不飽和脂肪酸をほとんど含有していない。しかし、スーパーカプセル A-1 により、EPA と DHA を 1% (対、乾燥重量) 程度強化でき、アルテミアに劣らず栄養強化が可能であることを確認した。*D. celebensis* においても高度不飽和脂肪酸をバイオクロミスにより、EPA と DHA を 1% (対、乾燥重量) 程度強化でき、アルテミアに劣らず栄養強化が可能であることを確認した。小磯 (2007) は、ワムシの栄養強化について強化剤を連続添加することで強化量を大きくさせると報告している。ワムシと同様に栄養強化剤の影響を受けるこれら 2 種のミジンコについても強化剤の添加方法を改良することで高度不飽和脂肪酸の強化量を大きくすることが可能であると思われる。

タマミジンコは、10 ppt の低塩分下では 3 時間後でも約 90% が生残するが、25 ppt 以上の高塩分下では数分間で死亡する。本研究では、飼育水の塩分 10 ppt でのアユ仔魚と塩分 25 ppt でのクルマエビのポストラバでは、生物餌料として有効であることを明らかにした。杉目 (1969) は、鑑賞用海産魚のスズメダイ科、チョウチョウオ科、クマノミ亜科などに属する 119 魚種 (平均全長: 66.5 mm) に対して給餌した淡水産であるセスジミジ

ンコは、飼育水の塩分が高いため数分で死亡するが、ほとんどの魚はセスジミジンコが水面から水槽の底に沈下する間に摂取したと報告している。また、他の給餌試験の報告においてはタマミジンコが海水中ですぐ死亡することを問題点として指摘している。これらのことから、タマミジンコを海産魚介類に給餌する場合は、摂餌活性の高い魚種、塩分 10 ppt 以下で飼育できる魚種、死亡し沈降したタマミジンコでも摂餌できるような魚種に限定されるだろう。瀬川ら (1987) は、*D. celebensis* は広い (1~38 ppt) 塩分耐性の有利性を示し、本研究では塩分 10 ppt で飼育したアユ仔魚と塩分 25ppt で飼育したクルマエビのポストラバ期では、*D. celebensis* が生物餌料として有効であることを明らかにした。*D. celebensis* の他の海産魚への利用では、椿 (2004) はイサキ、オニオコゼを用いて *D. celebensis* とアルテミアの摂餌選択性を調べ、成長段階によっては、仔魚がアルテミアよりも *D. celebensis* を好むことを明らかにしている。*D. celebensis* は、体長が 450~1,125 μm とその大きさに幅がある。一方、アルテミアは、アルテミアシストを用いて 1 度にふ化させるため、そのサイズは、ほぼ均一である。実際の種苗生産で生産される海産魚も体長にばらつきがあるため、仔魚が捕食できるサイズを選択できる *D. celebensis* の方がアルテミアよりも生物餌料として適している面もある。また、ふ化直後 *D. celebensis* は、アルテミアよりも小さく、海産ワムシの次の生物餌料としては都合が良いだろう。花里 (1999) は、枝角類の中には捕食者の出す化学物質により形態を変化させて捕食者に食われにくくする種がいることを報告している。タマミジンコと *D. celebensis* が、このような特性を持っているかは不明であるが、魚が視覚で餌料を捕食しているならばタマミジンコや *D. celebensis* を染色等で目立たせることも考える必要があると思われる。枝角類は、ヘモグロビンを持って赤くなると捕食者に食われやすくなるため、酸素が十分にあるところではヘモグロビンを産生しないと考えられている (花里 1998)。実際にタマミジンコや *D. celebensis* を大量培養している時やネットで回収した時に、タマミジンコは体色が赤く、*D. celebensis* は赤茶色になる。これは酸欠によるヘモグロビンの産生によるものと思われるが、このような状況を維持させることができれば、給餌する魚種にとって摂餌効率を上げることができるかもしれない。

海産魚介類の種苗生産現場では、アルテミア以外の餌料として、冷凍のコペポダやアミ類が使用されている。アルテミア価格の高騰も契機となってアルテミアの給餌を早めに切り上げ、必須脂肪酸を含有している冷凍コペポダを給餌する事例が増えてきている (浅田 2001)。ただ、商品として流通している冷凍コペポダは、北

極圏産や台湾産であることから、我が国に未侵入である病原体の保持が危惧される。タマミジンコは、自家生産され、栄養強化もできることから、冷凍コペポダの代替餌料としても十分に期待できると考えられる。

現在の海産魚における種苗生産の餌料系列は、その殆どがワムシ、アルテミア、配合餌料である。タマミジンコや *D. celebensis* の大量培養が可能になったことでその餌料系列にもバリエーションが増えることとなり、海産魚介類の効果的な種苗生産が行えるようになると考えられる。

また、*D. celebensis*以外にも、塩水産ミジンコの *Moina mongolica* (Wang et al. 1998) など、飼育が比較的容易で生物餌料としての可能性が注目されているミジンコ類は数種存在する。また、カイアシ類の大量培養技法開発に対する増養殖業界の要望も大きい。これら枝角類やカイアシ類は、ワムシ類に比べて通気による培養水の攪乱によってダメージを受やすいことから、本研究で開発したエアリフターを応用することでこれらの大量培養が可能となるかもしれない。

謝 辞

本研究を行うにあたり終始懇篤な御指導と御意見をいただき、本論文の御高閲を賜った長崎大学大学院海洋生産科学研究科の萩原 篤志教授に謹んで感謝の意を表します。

本稿校閲の労をとられ、貴重な御意見を賜った長崎大学水産学部の夏苺 豊教授、金井 欣也教授、阪倉 良孝准教授に深甚なる感謝の意を表します。

本研究に終始、貴重な御意見と本稿校閲をいただいた九州・水生生物研究所の稲田 善和所長に深甚なる感謝の意を表します。

クロレラ工業株式会社の丸山 功博士、木村 浩氏、長崎大学水産学部水産増殖学研究室の在学学生、卒業生の皆様にも共同研究者として御助言、御協力をいただき、心から感謝いたします。

本研究を行うにあたり多大なる御理解、ご協力をいただいた福岡県水産海洋技術センター研究部の相島 昇部長、福岡県水産海洋技術センター内水面研究所の西川 仁氏、牛島 敏夫氏、佐野 二郎氏に深く感謝いたします。

文 献

浅田雅宏 (2001) アルテミア耐久卵の需給動向. 月刊ア
クアネット 12, 湊文社, 東京, pp. 40-43.
安楽正照 (1979) 餌料用動物プランクトンの大量培養,

社団法人 日本水産資源保護協会, 東京, pp. 1-131.
Bainbridge, V. (1958) Some observation on *Evadne nordanni* Loven. J. Mar. Biol. Ass. U. K, 37, 349-370.
Dorores, H. B. M., S. Nandini and S. S. S. Sarma (2002) Combined effects of food level and inoculation density on competition between *Brachionus patulus* (Rotifera) and the cladocerans *Ceriodaphnia dubia* and *Moina macrocopa*. Hydrobiologia, 468, 13-22.
Geiger, G. J. and A. L. Buikema jr. (1982) Hydrocarbons depress growth and reproduction of *Daphnia pulex* (cladocers). Can. J. Fish. Aquat, 35, 830-836.
Gilbert, J. J. (1988) Susceptibilities of ten rotifer species to interference from *Daphnia pulex*. Ecology, 69, 1826-1838.
伏見徹・橋本俊将 (1969) マダいの種苗生産に関する研究-IV. *Tigriopus japonicus*, 及び *Moina macrocopa* の餌料効果. 広島県水産試験場研究報告, 3, 9-4.
花里孝幸 (1998) ミジンコ-その生態と湖沼環境問題-, 財団法人名古屋大学出版会, 愛知県, pp. 3-125.
花里孝幸 (1999) 捕食者の匂いをかぎわける-捕食者に対するミジンコの戦略-. 海洋と生物, 21, 456-462.
Hebert, P. D. N. (1978) The population biology of daphnia (Crustacea, Daphnidae). Biol. Rev, 53, 387-426.
Marcial, H. S. and A. Hagiwara (2007) Multigenerational effects of 17 β -estradiol and nonylphenol on euryhaline cladoceran *Diaphanosoma celebensis*. Fisheries Science 73, 324-330.
石黒信昌 (2004) 異なる環境下での塩水産ミジンコ 2 種の増殖特性. 長崎大学水産学部卒業論文. 1-15.
石黒信昌 (2006) 塩水産ミジンコ類 2 種の生活史と海産仔魚に対する餌料効果. 長崎大学生産科学研究科修士論文. 19-29.
伊藤 隆・岩井寿夫・古市達也 (1968) アユ種苗の人工生産に関する研究-LXIX. 餌料プランクトン甲殻類の連続高密度培養法について. 木曾三河口資源調査報告, 5, 801-832.
岩井寿夫 (1985) 淡水枝角類 *Moina dubia* DE GUERNE et RICHARD の培養に関する研究. 水産増殖, 33, 31-42.
岩崎英雄・高見明宏・遠部 卓 (1977) 海産枝角類の飼育に関する研究- I 耐久卵のふ化に影響する諸要因. 日本プランクトン学会, 24, 62-65.
加治俊二・今泉圭之輔 (2003) クルマエビ種苗生産技術. 社団法人日本栽培漁業協会, 東京, pp. 1930.
Kanazawa, A., S. Teshima, M. Endo and M. Kayama (1978) Effect of eicosapentaenoic acid on growth and

- fatty acid composition of the prawn, *Penaeus japonica*. Mem. Fac. Fish. Kagoshima Univ, 27, 35-40.
- Kanazawa, A., S. Teshima, S. Tokiwa, M. Kayama and M. Hirata (1979) Essential fatty acids in the diet of prawn-II. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish, 45, 1151-1153.
- 北島 力 (1973) コペポーターの大量増殖の試験的試み. 日本プランクトン学会, 20, 54-60.
- Kirk, k. l. (1991) Inorganic particles alter competition in grazing plankton: The role of selective feeding. Ecology, 72, 915-923
- Kim, S.W. and T. Onbe. (1989a) Distribution and zoogeography of the marine cladoceran *Podon schmackeri* in the northwestern Pacific. Marine Biology, 102, 203-210.
- Kim, S.W. and T. Onbe. (1989b) Observation on the biology of the marine cladoceran *Podon schmackeri*. Journal of Crustacean, 9, 54-59.
- 小杉泰一 (1970) 養魚講座第6巻錦鯉(大島康雄, 稲葉伝三郎編), 緑書房, 東京, pp. 64-68.
- 小磯雅彦 (2007) ワムシの栄養強化における強化剤の連続添加の効果. 日本海リサーチ&トピックス, 第1号, 6-7.
- 桑田 博 (2002) 栽培漁業技術シリーズ No6 海産ワムシ類の培養ガイドブック, 社団法人 日本栽培漁業協会, 東京, pp. 35-38.
- 桑田 博 (2001) 日裁協におけるワムシ大量培養技術開発の取り組み. 日水誌, 67, 1140-1141.
- 松平近義 (1943) クローバーを培養液とした場合のミジンコ (*Daphnia pulex* DE GEER) 及びセネデスムス (*Scenedesmus obliquus* CHODAT & ARTARI) の増殖. 日水誌, 12, 1-17.
- 村上 豊 (1957) 養魚池におけるミジンコの「タネ」としての冬卵に関する考察. 水産学集成, 東京大学出版会, 51-58.
- 村上 豊・遠部 卓 (1967) 靛臨海実験所付近の海産枝角類について. Information bulletin on planktology in Japan, 松江博士還暦記念号, 123-126.
- 室賀清邦・江草周三 (1996) 魚病学概論, 恒星社厚生閣, 東京, pp. 125-133.
- Nandoni, S., S.S.S. Sarma (2002) Population growth of some genera of cladocerans (Cladocera) in relation to algal food (*Chlorella vulgaris*) levels.
- 長崎県水産試験場 (1988) 初期餌料の培養技術開発-I. 長崎水試登録第549号, pp. 8-12.
- 中村中六・広瀬一美 (1967) 伊勢三河湾における海産枝角類の季節的消長そのたについて. Information Bulletin on Planktology in Japan, 松江博士還暦記念号, 151-156.
- 西村昭史・辻ヶ堂諦 (2000) 三重県水産試験場・水産技術センターの100年. 三重県科学技術振興センター水産技術センター, 71-74.
- 岡 彬 (1981) 養殖, 緑書房, 東京, pp. 66-68
- 岡 彬・石崎博美・小山定久 (1979) 餌料生物の培養. 神奈川県淡水魚増殖試験場報告, 15, 14-19.
- 岡 彬・鈴木規夫・渡辺 武 (1982) アユ仔稚魚体脂質脂肪酸組成に及ぼすタマミジンコ脂肪酸の影響. 日水誌, 48, 1159-1162.
- 遠部 卓 (1968) 海産枝角類に関する研究-I *Penilia* の生態について. Information Bulletin on Planktology in Japan, 松江博士還暦記念号, 269-279.
- 遠部 卓 (1973) 海産枝角類耐久卵の生態に関する二, 三の知見. 日本プランクトン学会報, 20, 74-77.
- 遠部 卓 (1974) 海産枝角類の生態に関する研究. Hiroshima Univ, 13, 83-179.
- 遠部 卓 (1978) 海産枝角類の生活史. 日本プランクトン学会報, 25, 41-54.
- Onbe, T. (1978a) Sugar flotation method for sorting the resting eggs of marine cladocerans and copepods from sea-bottom sediment. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 44, 1411.
- Onbe, T. (1978b) Distribution of the resting eggs of marine cladocerans in the bottom sediment of Ise bay and Uragami inlet central Japan. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 44, 1053.
- Onbe, T. (1985) Seasonal fluctuations in the abundance of populations of marine cladocerans and their resting eggs in the Inland Sea of Japan. Marine Biology, 87, 83-88.
- Onbe, T. and T. Ikeda. (1995) Marine cladocerans in Toyama Bay, Southern Japan Sea: seasonal occurrence and day-night vertical distributions. Journal of Plankton Research, 17, 595-609.
- Sarma, S.S.S., J.L.R. Amador and S. Nandini. (2003) Larval feeding behaviour of blind fish *Astyanax fasciatus* (Characidae), blacktetra *Gymnocorymbus ternetzi* (characidea) and angel fish *Pterophyllum scalare* (Cichlidae) fed zooplankton. Hydrobiologia, 510, 207-216.

- 佐藤敦一・藤岡 崇・清水洋平・竹内俊郎 (2006) マガレイの生残, 成長, 白化出現, 飢餓耐性に及ぼす栄養強化餌料の影響. 日水誌, 54, 305-312.
- Schwartz, S., S., Innes. D.J. and P.D.N Hebert, . (1985) Morphological separation of *Daphnia pulex* and *Daphnia obtuse* in North America. *Limnology and Oceanography*, 30, 189-197.
- 瀬川 進・梁元鐸 (1987) 汽水産枝角類 *Diaphanosoma aspinosum* の増殖と塩分の関係. 日本プランクトン学会報, 34, 43-51.
- 瀬川 進・梁元鐸 (1988) 室内培養による汽水産枝角類 *Diaphanosoma aspinosum* の増殖と飼育密度. 日本プランクトン学会報, 35, 67-73.
- 瀬川 進・梁元鐸 (1990) 室内培養における汽水産枝角類 *Diaphanosoma celebensis* の成長, 脱皮, 再生産および濾水速度. 日本プランクトン学会報, 37, 145-155.
- 代田昭彦 (1975) 水産餌料生物学, 恒星社厚生閣, 東京, pp. 411-421.
- 杉目宗尚 (1959) ミジンコ (*Daphnia carinata* KING) の冬卵形成過程および有性世代の連続した場合の繁殖様式. 淡水研報, 8巻2号, 1-13.
- 杉目宗尚 (1960) ミジンコ類 (*Daphnia carinata* KING & *Moina macrocopa* STRAUS) の混合繁殖法について. 淡水研報, 10巻2号, 11-22.
- 杉目宗尚・馬場啓輔 (1963) ミジンコ類の大量培養に関する基礎的研究 I. セスジミジンコ (*Daphnia carinata* KING) の成長, 成熟, 増殖と水温, 飼育条件との関係. 淡水研報, 13巻1号, 13-29.
- 杉目宗尚・里美至弘・松島晶大 (1969) ミジンコの利用に関する二, 三の実験. 水産増殖, 17, 19-25.
- Stross, R.G (1966) Light and temperature requirements for diapause development and release in *Daphnia*. *Ecology*, 47, 368-374.
- 橘高二郎・隆島史夫・金澤昭夫 (1996) エビ・カニ類の増養殖, 基礎科学と生産技術, 恒星社厚生閣, 東京, pp. 226-250.
- 隆島史夫・村井 衛 (2005) 水産増養殖システム2 淡水魚, 恒星社厚生閣, 東京, pp. 119-124.
- 竹中亜沙美 (2001) 餌料条件が汽水産ミジンコ *Diaphanosoma celebensis* の個体群増殖に与える影響. 長崎大学水産学部卒業論文. 46 p.
- Tamaru, C.S., V. Sato, L. Nakamitsu, H. Ako and L. Asano (1999) Fatty acid profiles and use of *Moina* as an alternative to *Artemia* in the culture of freshwater ornamental fish larvae. *I'ao Hawai'i*, 5, 1-3.
- 田中正明 (2002) 日本淡水プランクトン図鑑. 財団法人名古屋大学出版会, 愛知県, pp 7-199
- 手塚靖彦 (1987) 基礎生物学 9 藻類の生理生態学, 株式会社培風館, 東京都, pp. 29-36.
- 椿 幸一郎 (2002) 汽水産ミジンコ *Diaphanosoma celebensis* の培養条件の検討. 長崎大学水産学部卒業論文. 16 p.
- 椿 幸一郎 (2004) 汽水産ミジンコ *Diaphanosoma celebensis* の培養条件と海産仔魚に対する餌料価値の検討. 長崎大学生産科学研究科修士論文. 31 p.
- 上野益増 (1973) 日本淡水生物学, 株式会社北隆館, 東京, pp. 409-421.
- 渡辺 武・荒川敏久・北島 力・福所邦彦・藤田矢郎 (1979) 脂肪酸組成からみた仔稚魚用生物餌料の栄養価. 日水誌, 44, 1223-1227.
- Watanabe, T., T. Tamiya, and A. Oka, M. Hirata, C. Kitajima and S. Fujita (1983) Improvement of dietary value of live food for fish larvae by feeding them on ω 3 highly unsaturated fatty acid and fat-soluble vitamins. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish*, 49, 471-479.
- 王 昭明・酒井 清・野村 実 (1987) コイ仔魚の成長・生残におよぼすミジンコの給餌料と仔魚の収容量. 水産増殖, 34, 241-248.
- Wang, Y., He, Z. and Cai, Y (2000) Effects of temperature and salinity on development of *Moina mongolica* DADDY (Cladocera: Moinidae). *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 31, 8-14.
- Watts, E. and S. Young. (1980) Components of *Daphnia* feeding behaviour. *Journal of Plankton Research*, 2, 203-212.
- Wulff, F.V. (1980) Animal community structure and energy budget calculations of *Daphnia magna* (straus) population in relation to the rock pool environment. *Ecological Modeling*, 11, 179-225.
- 山下博史・ジェフリー F. モコレンサン・山崎繁久・尾上義夫 (2002) タマミジンコによる焼酎廃液細菌の捕食量. 鹿児島大学水産学部紀要, 51, 41-43.
- Yamashita, S., and Uchiyama, H., (2001) Neonate production potential of *Moina* females hatched from parthenogenetic eggs and resting eggs. *Fisheries Science*, 67, 758-760
- 吉村研治・北島 力・宮本義次・岸本源次 (1994) 濃縮淡水クロレラ給餌によるシオミズツボワムシの高密度培養における増殖阻害要因について. 日水誌, 60, 207-213