

栽培漁業技術シリーズ

海産ワムシ類の培養ガイドブック



栽培漁業技術シリーズ No. 6

「海産ワムシの培養ガイドブック」の刊行にあたって

我が国で栽培漁業の対象種となっている魚介類は、技術開発初期段階のものまで含めれば約90種類にのぼり、そのうちいくつかの種類については種苗の量産化・資源添加の技術が確立しつつある。また、疾病対策を含む種苗生産の安定化、生産コストの低減、放流効果を高めるための種苗性の強化、放流技術の向上等、栽培漁業の事業化に必要な新しい技術課題についても取り組みが行われている。

このような状況の下で栽培漁業の実践をより一層促進するために技術の体系化やマニュアル化が強く求められるようになり、(社)日本栽培漁業協会では平成5年度から水産庁の委託事業として栽培漁業技術体系化事業を開始した。本事業では、栽培漁業に関する技術を体系的に整理し、種苗生産をはじめ中間育成、放流等の現場で携わっている方々のための実践的な技術マニュアルとして「栽培漁業技術シリーズ」を刊行している。

ワムシ培養の技術開発は栽培漁業はじまって以来30余年取り組まれているが、新たな技術が開発される一方で、原因不明の培養不調により餌料供給に支障を来すことも少なくない。このことから、今般刊行した「海産ワムシ類の培養ガイドブック」では、ワムシの生活史、増殖特性、培養環境、増殖生理などの生物学的特性をふまえた上で、従来からある植え継ぎ培養と間引き培養の特徴と問題点について当協会の実例をもとに検証し、また新しい培養方法として日裁協と(社)マリノフォーラム21で共同開発した装置連続培養や日裁協で開発した粗放連続培養などの特徴や実例を紹介している。

本書の内容は栽培漁業技術シリーズ No. 6 として刊行するだけでなく、栽培漁業関係者への普及を図るため、平成11年度にワムシ培養技術をテーマとして開催された栽培漁業技術研修事業基礎理論コースにおいて、平成11年度栽培漁業技術研修事業基礎理論コーステキスト集ⅩⅢとしても活用した。

本書がワムシ培養技術の発展と定着の一助となれば幸いである。

おわりに、本書のとりまとめにあたってご懇篤なご指導いただいた東京大学農学部附属水産実験所 日野明德教授、貴重なデータをご提供いただいた(社)マリノフォーラム21に心より感謝申し上げます。

平成12年3月

社団法人 日本栽培漁業協会

理事長 今村 弘 二

海産ワムシ類の培養ガイドブック 執筆者一覧

はじめに

日野明徳 東京大学農学部附属水産実験所
桑田博 (社)日本栽培漁業協会能登島事業場

I 生物学的特性

日野明徳 前出
小磯雅彦 (社)日本栽培漁業協会奄美事業場
桑田博 前出

II 大量培養

桑田博 前出
山下貴示 (社)日本栽培漁業協会玉野事業場
(現 (社)日本栽培漁業協会八重山事業場)
藤浪祐一郎 (社)日本栽培漁業協会宮津事業場
(現 (社)日本栽培漁業協会日照事務所)
小磯雅彦 前出
日野明徳 前出

III 輸送

桑田博 前出

IV 今後の課題

日野明徳 前出

海産ワムシ類の培養ガイドブック

— 目 次 —

はじめに	1	2-2-1 植え継ぎ培養の手順	63
1 本書の構成と利用の仕方	1	2-2-2 培養事例	64
1-1 本書の構成	1	(1) S型ワムシ, 大型水槽の事例 (伯方島事業場)	64
1-2 利用の仕方	1	(2) L型ワムシ, 小型水槽の事例 (能登島事業場)	66
1-3 用語の定義	2	(3) S型ワムシタイ株, 小型水槽の事例 (玉野事業場)	68
2 初期餌料の具備すべき条件とワムシ	4	(4) L型ワムシ低温馴致株, 小型水 槽の事例 (小浜事業場)	70
I 生物学的特性	7	2-2-3 まとめ	72
1 分類	7	2-3 間引き培養	73
2 生活史	9	2-3-1 間引き培養の手順	73
3 増殖特性—株間の差—	10	2-3-2 培養事例	74
4 培養環境	12	(1) 培養方法	74
4-1 水温	12	(2) 培養結果	75
4-2 塩分濃度	13	2-3-3 まとめ	78
4-3 溶存酸素濃度	16	3 新しく開発された連続培養法	80
4-4 pH	17	3-1 装置連続培養	81
4-5 アンモニア	17	3-1-1 装置連続培養の基本構成と手順	82
4-6 懸濁物	19	(1) 事前準備	83
4-7 生物的環境	20	(2) 拡大培養期	83
4-7-1 細菌	20	(3) 連続培養移行期	84
4-7-2 原生動物	23	(4) 安定連続培養期	84
4-7-3 その他の生物—水中有機物の 蓄積に関係するもの—	24	3-1-2 連続培養運転時の注意事項	85
4-8 培養槽の物質フロー	25	3-1-3 培養事例	87
4-9 培養状態の評価法 —交叉培養検定法—	30	(1) S型ワムシ岡山株の事例 1 (玉野事業場)	87
4-10 活力	32	(2) S型ワムシ岡山株の事例 2 (玉野事業場)	88
5 増殖生理	35	(3) S型ワムシ南伊豆株の事例 (宮津事業場)	89
5-1 栄養要求	35	(4) L型ワムシ近大株の事例 (玉野事業場)	89
5-2 餌料種類	35	3-1-4 装置連続培養の理解のために	90
5-3 給餌量	38	3-2 粗放連続培養	92
5-4 代謝	39	3-2-1 粗放連続培養の基本構成と 手順	93
II 大量培養	43	(1) 事前準備	93
1 日本栽培漁業協会の現状	43	(2) 拡大培養期	94
2 現在普及している培養法	48	(3) 連続培養移行期	94
2-1 大量培養のための準備と管理方法	48	(4) 安定連続培養期	94
2-1-1 培養工程	48	3-2-2 粗放連続培養の注意事項	94
2-1-2 株の保存	51	3-2-3 培養事例	97
2-1-3 培養の準備—水槽, 用水, 器具—	53		
2-1-4 水槽と用水の塩素消毒条件	55		
2-1-5 計数法	56		
2-1-6 餌料	59		
2-2 植え継ぎ培養	63		

(1) L型ワムシ小浜株, 小型水槽の事例 (能登島事業場)	97
(2) L型ワムシ近大株, 大型水槽の事例 (能登島事業場)	100
(3) L型ワムシ小浜株, 大型水槽の事例 (能登島事業場)	103
(4) S型ワムシ, 小型水槽の事例 (南伊豆事業場)	106
4 ワムシ培養コストの試算	107
4-1 生産単価の計算根拠	107
4-2 生産単価	110
4-3 ワムシの利用率	114
5 収獲	115
5-1 人手による収獲	115
5-2 収獲機	115
5-2-1 目詰まりを機械的な振動に より防止する装置-1	115
5-2-2 目詰まりを機械的な振動に より防止する装置-2	116
5-2-3 目詰まりを通気による振動に より防止する装置-1	117
5-2-4 目詰まりを通気による振動に より防止する装置-2	117

III 輸送	119
1 従来の輸送法	119
1-1 輸送タンクによるトラック輸送	119
1-2 宅配便を利用したビニール袋輸送	119
2 高密度宅配法	119
2-1 目的	119
2-2 活魚ボックスによる宅配	120
2-2-1 方法	120
2-2-2 輸送事例	121
2-2-3 着後の培養状況	123
2-3 重箱輸送	125
2-3-1 方法	125
2-3-2 輸送事例	125
2-3-3 着後の利用状況	125
IV 今後の課題	127
1 株の適性	127
2 増殖の安定性	127
3 高品位ワムシの生産	130
文献	131

海産ワムシ類の培養ガイドブック

はじめに

1 本書の構成と利用の仕方

1-1 本書の構成

ワムシの培養を行うにはまずワムシを知ることが必要である。I「生物学的特性」では既に紹介されているが認識の低下している重要な事項を再確認するとともに、それ以降の新たな知見を加えた。I 1「分類」では近年L型ワムシとS型ワムシが別種として整理されたので取りあげる。I 4-1「水温」では、従来L型ワムシは低温で、S型ワムシは高温でよく増殖するものとされているが、L型ワムシで従来からの知見より高水温で良く増える事例を取りあげる。I 4-2「塩分濃度」では低塩分で増殖が良いことが従来から指摘されていたが、実際の大量培養の現場で利用する場合の長所と短所を整理した。

II「大量培養」では各機関が行っている培養法を見つめ直す比較材料に資するために日本栽培漁業協会（日裁協）で行われている代表的な事例を集め、それぞれの培養法の特徴を比較した。まず、現在の培養法の主流であるII 2-2「植え継ぎ培養」とII 2-3「間引き培養」の特徴の整理、培養の手順と事例解析を行い、次に、近年新しく開発された培養法として、マリノフォーラム21と日本栽培漁業協会の共同研究により開発されたII 3-1「装置連続培養」を取りあげた。また、それを簡略化した方法であるII 3-2「粗放連続培養」について特徴を整理し、事例を紹介した。福岡県栽培漁業公社で開発された超高密度培養法は日裁協に事例がないので本書では触れていない。この培養法については吉村（1995ab, 1998）、吉村ら（1992, 1994, 1996, 1997a, b, 1998）、Yoshimuraら（1997）、臼杵ら（1998）を参照されたい。

さらに、新しく開発された宅配便による高密度宅配法の方法と事例を示した（III 2「高密度宅配法」）。

最後に、それらを総合して、ワムシ培養の今後の課題を整理した（IV「今後の課題」）。また、栄養強化の重要性は近年ますます増しているが、各種の強化剤が急速に開発、実用化される中で、十分な整理ができていないため本書では除外した。

（桑田 博）

1-2 本書の利用の仕方（図1-1）

はじめてワムシの培養を始められる方は、まずワムシの体の構造や生活史などの基本的な生物学的特徴をI「生物学的特性」により理解することをお勧めする。さ

らに詳細を知りたいときは、昭和58年恒星社厚生閣発行の水産学シリーズ [44]「シオミズツボワムシ生物学と大量培養」と平成元年恒星社厚生閣発行の「初期餌料生物—シオミズツボワムシ」にまとめられているので参照されたい。その上で、株の特性と各種培養法の長短及びコストを比較検討し、自場の種苗生産に合致した培養法を選択する。その特徴について類似事例により確認し、株、水槽、用具を準備して培養を始めてほしい。

すでに行っている各種苗生産場の培養法を検討する場合は、II 2「現在普及している培養法」の中から類似の培養法と比較を行い、II 4「ワムシ培養コストの試算」によりコストの相対的評価を行ってほしい。実施が可能であれば交叉培養検定法（I 4-9「培養状態の評価法」を参照）により、餌、ワムシ、水質、微生物相のどこに問題の所在があるかのおおまかな把握ができる。また、培養日数ごとに活力（I 4-10）の判定を行えば、問題の起きる前兆を把握できることがある。また、水温、塩分濃度に対する株の特徴などの基本的なI「生物学的特性」やI 4-8「培養槽の物質フロー」を見直すことが必要な場合があるかもしれない。

また、新しい培養法を検討する場合に、省スペース、高増殖率、安定培養を目指されるのであれば装置連続培養を検討に値する（II 3-1「装置連続培養」を参照）。その培養管理法は現在普及している培養法と考え方が異なり、むしろ既存のワムシ培養の知識による調整が安定培養の妨げとなることがあるので、その考え方や手順（II 3-1-1「連続培養装置の基本構成と手順」）を良く理解して試みてもらいたい。また、II 3-2「粗放連続培養」は連続培養を既存の施設に応用して低密度で行う装置連続培養を応用した培養法である。まだ、開発されたばかりで事例が少なく、密度も低く、常に有害微生物の混入による培養破綻の可能性があるものの、装置連続培養とほぼ同等の増殖率が得られた事例があるので取りあげた。

さらに、従来の概念を大幅に変える高密度宅配法（III 2）が開発されたので取りあげる。計画的な安定した培養が実現すれば必要ないとも言えるが、様々な展開の可能性（IV「今後の課題」）があり、既に日裁協ではこの高密度宅配を取り入れたシステムの試験を始めているので紹介する。

（桑田 博）

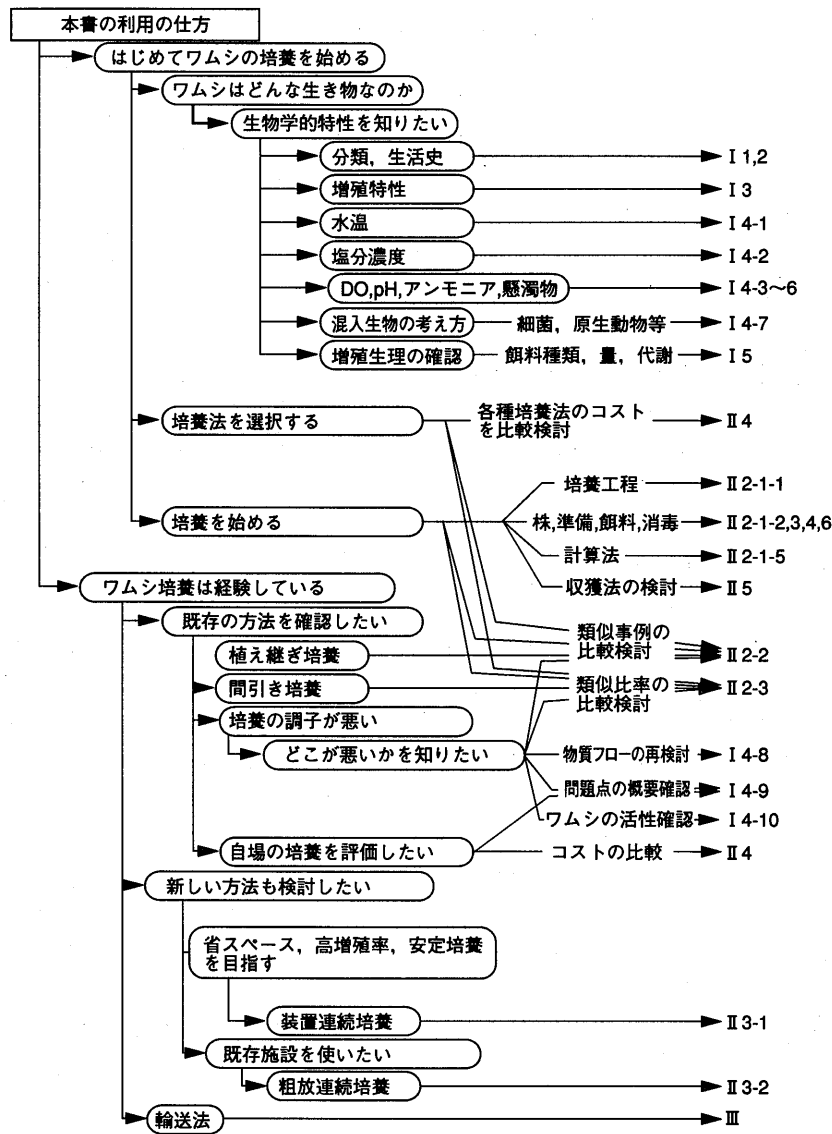


図1-1 本書の利用の仕方

1-3 用語の定義

L型とS型：後述（I 1「分類」を参照）するようにL型ワムシとS型ワムシの分類は、L型ワムシをシオミズツボワムシ *Brachionus plicatilis*、S型ワムシを和名未定 *Brachionus rotundiformis* として別種として整理された (Fu ら1991a, b)。しかしながら、S型ワムシの和名が定まっていないことと、慣用的に理解しやすいため、本書ではL型ワムシ、S型ワムシの表記を用いる。各株の記述は採取又は培養場所を株名に付して、L型ワムシ○株やS型ワムシ○株と表記する。また、小型のタイ国産株は通称SSワムシと呼称されることがあるが、本書では分類と上記の原則に従ってS型ワムシタイ株と表記する。また、本書での個体重量は測定値がある場合はそれを使用した。ワムシ重量はI 1「分類」を参照されたい。

培養日数：本書では接種日を0日目として表記する。

水槽規模の区分：本書では便宜的に10m³未満を小型水槽、10m³以上を大型水槽に区分する。

株の保存：株の特性を維持できる状態を称する。無菌や原生動物フリーではなくとも最低限他のワムシ株の混入がなく、株の特性を維持できる状態を呼称する。株の定義は「I 3「増殖特性—株間の差—」を参照されたい。方法はII 2-1-2「株の保存」に詳述した。

種培養：培養の元種を保有する培養を称する。ここではかならずしも純系でないもの、極端な場合にはL、S両型の混合しているものでも種培養と呼称する。

拡大培養：種培養を増やして大量培養の元種を供給する培養を称する（II 2-1-1「培養工程」に詳述）。

植え継ぎ培養（バッチ培養、回分培養、Batch Culture）：培養期間、接種量、給餌量などの培養条件を一定にして、数個の水槽で順々に培養を繰り返す方式である（II 2-2「植え継ぎ培養」を参照）。1回の培養の途中での間

引きは行わない。5～7日でも途中の間引きがない場合は植え継ぎ培養である。

間引き培養(抜き取り法, Thinning Culture, 英文文献中ではContinuous Cultureと表記されていることがあるので連続培養と混同しないよう注意を要する):連日または数日ごとに全ワムシの数分の1ずつを収穫する培養法である(Ⅱ 2-3「間引き培養」を参照)。

連続培養(Continuous Culture):連続的な注水と等量の抜き取り及び連続的な給餌を行う培養法である(Ⅱ 3「新しく開発された連続培養法」を参照)。1～3時間ごとの間歇注水または間歇給餌の場合も連続培養の範疇に入れることとする。

装置連続培養:本書ではマリノフォーラム21によって開発された閉鎖系装置を用いた連続培養を呼称する(Ⅱ 3-1「装置連続培養」を参照)。精密ろ過機の使用による用水からの原生動物の除去, 有害原生動物が混入する可能性がない淡水クロレラの給餌, 一定収穫率での運転が特徴である。

粗放連続培養:既存の水槽を用いて開放系ながら連続給餌と連続注水によって行う粗放的な連続培養である(Ⅱ 3-2「粗放連続培養」を参照)。装置連続培養では変動要因を排除するために行っている原生動物フリーの元種の使用及び精密ろ過機の使用による原生動物の除去は粗放系であることから省略し, コスト低減のためにパン酵母の併用給餌を行う場合もある。

ナンノクロロプシス:屋外培養した培養液と藻体を含むナンノクロロプシス(*Nannochloropsis oculata*)である。慣用的に生ナンノクロロプシスと呼ばれることがある。本書では2,000万細胞/mlに換算した水量で表し, 換算m³と記述する。かつて海産クロレラと認識されていたため, 旧来の報告書では海産クロレラまたはグリーンウォーターと表記してある事例が多いので注意を要する(Ⅰ 5-2「餌料種類」に経過を, Ⅱ 2-1-6「餌料」に特徴を, Ⅱ 4-1「生産単価の計算根拠, 餌料費」にコスト計算の1例を詳述)。

冷凍ナンノクロロプシス:上記の濃縮物を冷凍保存したものである。ナンノクロロプシスと同様に2,000万細胞/mlに換算した水量で表記する。国内1社による市販も行われている。市販品は100億個体/mlの濃縮物である。

フェオダクチラム(*Phaeodactylum tricornutum*):ナンノクロロプシスの増殖速度が遅い寒冷地の事業場(日裁協宮古事業場など)において, 代替餌料としてナンノクロロプシスと同様に屋外で培養されている小型の珪藻である(Ⅱ 2-1-6「餌料」に特徴を記述)。

淡水クロレラ:淡水産クロレラ(*Chlorella vulgaris*)の生細胞の濃縮製品であり, 現在国内2社により濃縮冷蔵物が種苗生産用として商業的に販売されている。本書では淡水クロレラと呼称する。市販品はワムシの必須ビ

タミンであるビタミンB₁₂を付加してある(Ⅰ 5-1「栄養要求」, Ⅰ 5-2「餌料種類」を参照)。本書では製品容量で示す。また, 本書での淡水クロレラとナンノクロロプシスとの換算は乾燥重量を基準として行うこととし, 淡水クロレラ製品1ℓ = ナンノクロロプシス2.48換算m³を用いる。

パン酵母:製パン用として国内では数社が生産, 販売しているアルコール酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)である(Ⅰ 5-2「餌料種類, 酵母類」を参照)。脱水, 成形, 梱包され, 冷蔵状態で販売されている。本書では製品重量で示す。

油脂酵母:油脂酵母はパン酵母の製造工程中に酵母菌体にn3高度不飽和脂肪酸を含有させたものであり, 冷凍状態で販売されている。

塩分濃度:電気的な測定法と屈折計による測定法がある(Ⅰ 4-2「塩分濃度」を参照)。単位は本書では便宜的にppt(parts per thousand, ‰と等しい)で表記する。また, 大まかな希釈海水の濃度を示す場合には20%の淡水を混合した場合は80%希釈海水の表記も用いる。塩分濃度は一般に外海水が35～36pptであるが, 沿岸では降雨, 地形, 海流, 地下水脈, 河川水などの影響によって大幅に変わることがあるので注意が必要である。

雌密度:単位水量当りの雌虫数。

総卵率:単位水量当りの複相単性生殖卵数/雌虫数(雄卵, 耐久卵は除く, 離卵は含む)。

携卵率:単位水量当りの複相単性生殖卵を携卵した雌虫数/雌虫数。正式には携卵個体率とすべきだが, ここでは携卵率と略称する。

複数携卵率:単位水量当りの複相単性生殖卵を複数携卵した雌虫数/雌虫数。

雄密度:単位水量当りの雄虫数。

個体数:断りなき場合は雌虫個体数を示す。雌密度×培養水量とする。

接種個体数:培養水槽に元種として接種した個体数。

総生産個体数(Gross Production):収穫した個体数の合計値。

純生産個体数(Net Production):総生産個体数から接種個体数を差し引いた個体数であり, 培養槽内で増殖した個体数と等しい。

増殖率:ワムシは環境抵抗がない好適条件では指数関数的な増殖を示す。ワムシ培養はこのような好適条件で行うべきであるから, 増殖状態も指数関数として把握する方が望ましい(Ⅰ 3「増殖特性—株間の差—」を参照)。このため, 連続培養では指数関数である比増殖率で増殖率が示される。一方, 現在普及している培養法では前日の作業後から増えたワムシ個体数の割合を示す日間増殖率として管理されてきた。比増殖率と日間増殖率との関係は以下となる。

比増殖率:

$$dN/dt=rN$$

$$r=h+\ln(Nt/N_0)/t$$

N：ワムシ密度

r：比増殖率

h：収獲率，1日当りの収獲水量の培養水量に対する比，連続培養以外では0である。

本書ではtを1日単位とする。

日間増殖率：

$$\text{日間増殖率} = (\text{前日から増えた個体数}) / (\text{前日の作業終了時の個体数})$$

$$= (N_t - N_0) / N_0 \times 100$$

$$= (e^{r-1}) \times 100$$

データの欠測日がある場合はその前後から複利計算により推定する。

(桑田 博)

2 初期餌料の具備すべき条件とワムシ

海産魚の初期餌料に求められる条件は、1960年代初頭、我が国で世界初の人工種苗生産に成功した時期すでに総括が行われている。平野(1967)の記述には、①仔魚の口径，咽頭径に見合った大きさであること，②形状が単純，かつ壊れやすいこと，③消化吸収されやすいこと，④培養や入手が容易なことなどが指摘されており，また，⑤十分な栄養価を備えていること，⑥水質を悪化させないこと(生き餌が望ましい)，なども当時から言われていた。その後魚種の拡大とともに，動く餌のみ捕食する種類，あるいは魚食性の強い種類が知られるようになり，⑦仔魚の摂餌生態に合致していることが条件に加えられるようになった。これらをすべて満たすものは動物プランクトン以外にないが，この⑦番目の条件を除けば，人工飼料の開発も可能と考えられたことから，今日一部の魚種，そしてある程度成長した仔魚に対しては，水槽底掃除のシステムと組み合わせて微粒子人工飼料の使用が普及するまでに技術開発が進んできた。

生物餌料の必要性

人工飼料の開発は今後さらに研究すべき課題であるが，以下に述べるように初期仔魚の消化管が未発達であるために，人工飼料の主体である魚粉など熱変性したタンパクを消化・吸収できないという問題が依然立ちだかつており，同時にこのことが，種苗生産における生物餌料，なかでも初期仔魚期に見合うものとしての海産ワムシの重要性を物語るものになっている。

仔魚の発育に伴う栄養源の転換を，消化系がほぼ成魚と同等にまで完成する胃腺分化期(田中1975)との関係で論じてみると図2-1(渡辺1985)が得られる。8種の魚のうち，サクラマス，シロサケ，テラピアでは卵黄量が多く，ふ化後も相当大きくなるまで卵黄からエネルギーを得ており(内部栄養)，その間に消化系の整うことが理解される。事実，これらの魚を摂餌開始時より配

合飼料で飼育し得ることは良く知られている。一方，アユ，ワカサギ，マダイ，ヒラメ，クロソイでは，ふ化後間もない時期に卵黄が消費され尽くす結果，摂餌による外部栄養に転換せざるを得ないにもかかわらず，図に示すようにまだ消化系が完成していない。このことが，成魚とは異なる餌料を必要とする大きな理由であり，一般に分離性の浮遊卵を産む海産魚に共通の現象である。

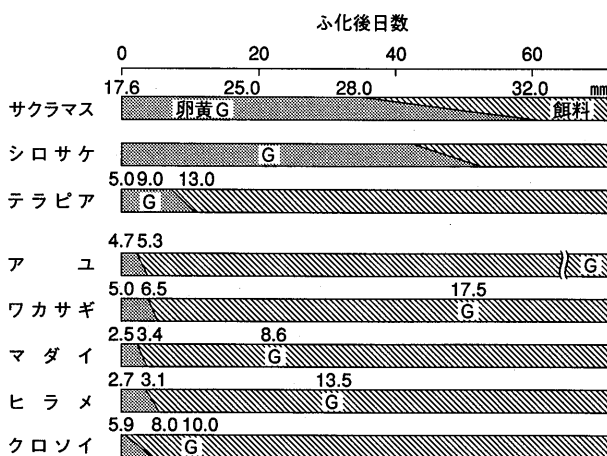


図2-1 仔魚の発育に伴う栄養源の転換と胃腺分化期(G)との関係(図中の数字は仔魚の全長を示す) 渡辺(1985)

仔魚の消化・吸収機構をさらに詳しく調べると，次のようなことが明らかになった。上に述べたような，摂餌開始時に消化系が未分化な仔魚では胃も未発達であり，単に餌を蓄積する場所として機能するのみで，消化・吸収は腸で行われることとなる。この，腸での消化・吸収の特徴は，成魚ではタンパクが酵素によってアミノ酸にまで分解され(細胞外消化)，溶液として腸上皮から吸収されるのに対し，胃腺分化期以前の前期仔魚では細胞外消化が不十分であるためタンパクは粒子のまま直腸上皮の飲作用(食作用)によって取り込まれ，細胞内消化を受けるということである(図2-2，渡辺1985)。これは，ペプシン様酵素が胃から分泌されないため，腸からのトリプシン様酵素のみでタンパクを分解するためであり，組織学的な手法によってみると，図2-3(渡辺1985)に示すように，微細化されたタンパク粒子が直腸上皮の微絨毛の間から飲作用で取り込まれていることがわかる。

アミノ酸やペプチドまで分解されないタンパク分子が飲作用で取り込まれるためには，タンパクが水溶性のコロイド状をしていればよく，言い換えれば生きた生物細胞の原形質が最も都合がよいことになる。外皮が柔らかく，仔魚の咽頭部を通過するだけでも細胞質が被甲前から押し出されるワムシが初期仔魚の餌料として最適とされる理由はここにあると言っても過言ではない。

一方，人工飼料は魚粉を原料にしているが，このような加熱による変性タンパクは消化され難く，とくに前期仔魚の消化系では微細化することができないため腸管上

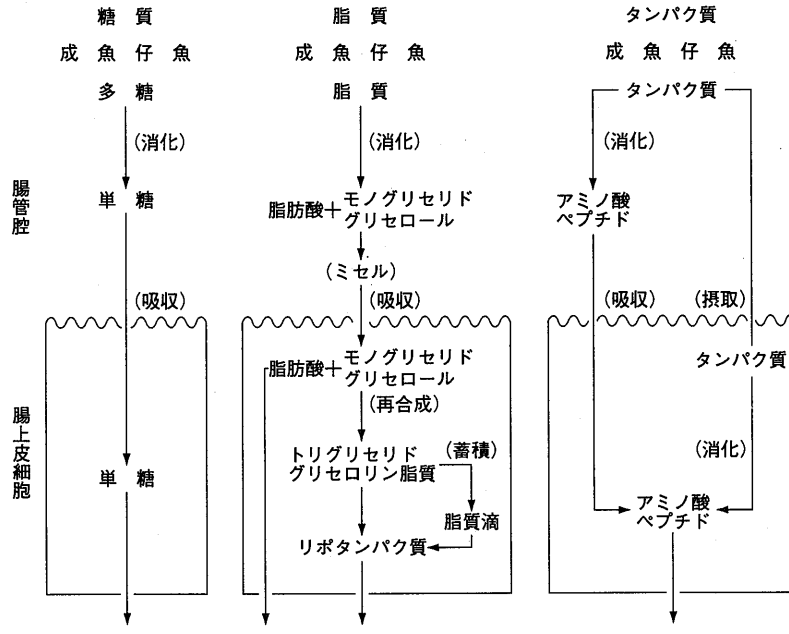


図2-2 成魚（有胃魚）と仔魚の消化吸収機構の比較 渡辺(1985)

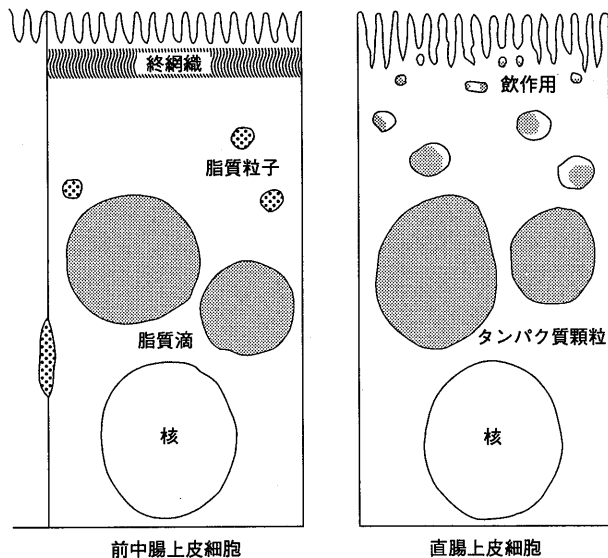


図2-3 仔魚の腸上皮細胞の形態的特徴 渡辺(1985)

皮の飲作用を受けることはできない。例外的にヒラメでは、胃腺分化期以前から人工飼料での飼育が可能であるが、これは早い時期からペプシン様酵素の分泌が始まっているからであるといわれている。

生物特性から見たワムシのメリット

生物飼料にとって困難な問題に「培養・入手の容易さ」、「保存性」、「収穫、洗浄などのハンドリングに対する抵抗力」がある。とくに、多くの魚種で1ロットの仔魚飼育数が100万尾を超えた今日、膨大な量が安定的に確保でき、健全なまま給餌できるか否かが飼料の実用性を決める大きな要素となっている。例えばアルテミアは、栄養的な欠陥が海産魚種苗生産に成功した当初から指摘されてきた（山下 1967）にもかかわらず、後期仔魚の

餌料として多用されているが、これは相当するサイズに培養の容易なプランクトンがないためである。一方、S、L両ワムシは汚水生物群に分類されていることをみても、極端な富栄養状態にも分布可能な生物であるが、これは言い換えれば、給餌による有機物負荷の増大と水質の悪化が避けられないワムシ培養槽でも増殖が可能なることを意味している。事実、培養環境（I 4）に述べるように、各環境項目について増殖あるいは生存できるレンジの広いことが人為的な管理を容易にするものとなっている。おそらくは、機械的な衝撃に強くポンプでの収穫やネットに収容してもみ洗いの洗浄操作に耐えることも、汚水生物としての分布域の特性と無縁ではないだろう。最近開発された、高密度に濃縮したワムシを宅配便によって配付する技術（III 2「高密度宅配法」を参照）も、同じ理由で可能になったものである。

これら環境に関する特性のほか、培養対象種としてのワムシを最も特徴づけているものに独特の増殖特性がある。「生活史（I 2）」に述べたように、ワムシ類は一般に単性生殖と両性生殖を行うが、このうち単性生殖では雄との交尾を必要とせず、雌単独で核相 2n の卵を作り、アリマキやミツバチで知られるような爆発的とも言える増殖をすることが可能である。一方、両性生殖では休眠性、耐久性に優れた受精卵が形成され、株の保存に好適であることは言うまでもなく、アルテミアのようにふ化雌虫を仔魚に給餌することさえ可能であることが萩原（1996）の総説に詳しく述べられている。同様の生活史を持つものにミジンコ類があり、淡水増殖の分野で古くから餌料生物として重用されてきた由縁はこれにあるが、海産のミジンコ類は一般に環境要求が厳しいために採集後直ちに死亡し、また耐久卵からの培養でも水質悪化に

敏感である（岩崎 1979）など人為的な培養がほとんど不可能な現状にある。近年、マレーシア産の汽水性ミジンコ *Diaphanosoma* が我が国にもたらされ、瀬川・梁（1987, 1988）によって培養、生物特性の研究が行われたほか、一部の機関で株が保存され海産魚への応用が試みられるとともに大量培養への適性研究などが行われている。

ワムシ株に求められる条件

初期餌料に求められるサイズに関しては、代田（1975）によれば、仔魚の顎の大きさと開口率によって決定される。通常、これを口径と言い習わしているが、海産ワムシに関しても、開口時の口径から判断してキジハタ、スジアラ、キスなどでは、飼育初期にS型ワムシのうちでも極小株が必要である。一方、マグロやブリなど急激な成長を見せる魚種ではL型ワムシが適する（手塚 1998）と言われている。

仔魚飼育時の水温もワムシ株選択の要素となることがある（手塚 1998）。マダラ、マツカワ、ヤナギムシガレイ、ズワイガニなど10℃程度で初期飼育が行われる魚種には、低水温に馴化した株の方が、遊泳が可能であるため給餌後の水槽内分布が均一になり有利とされている。これには、増殖特性が低水温側にシフトした馴化株が最適でありL型ワムシ小浜株がその例であるが、次に述べるように一時的な馴致による方法もある。日裁協南伊豆事業場では、14～17℃で飼育されるスズキ種苗のために25℃で培養したワムシを20℃で栄養強化したのち給餌しているが、一時的な温度ショックは見られるもののワムシが死ぬことはない。通気などによる攪拌でワムシを強制的に浮遊させることが可能であれば、高温で効率よく培養したワムシを栄養強化中に低温馴致して用いることができる例と言えよう。

<ポイント>

初期餌料としてのワムシの優位性は、稚仔が消化できるコロイドタンパクが豊富、単為生殖で爆発的に増える、環境耐性が幅広く人為管理が容易で馴致も可能、ハンドリングに極めて強いこと等である。

（日野明徳）

I 生物学特性

1 分類

ワムシ (英名 rotifer) とは袋形動物門輪虫綱, 真正輪虫亜綱に属する生物の総称で, 体前部の繊毛冠の運動が2基の車輪のように見えることからその名がついたとされている。輪虫類はおよそ2000種類を数え, その分布も極地から熱帯, 乾燥地の高山から低湿地に至るまで広く分布しているが, 海産種は数種類に過ぎない (鈴木1965)。これらワムシのうち種苗生産の初期餌料として用いられるものは, 通常L型ワムシと呼ばれるシオミズツボワムシ *Brachionus plicatilis* と, S型ワムシの通称で呼ばれる *B. rotundiformis* であるが, 1994年ポーランドで開催された国際輪虫類学術シンポジウムにおいてこれらを別種とするコンセンサスが得られるまで, 後者は *B. plicatilis* の亜種, または被甲腹縁部の形状に基づいて別種とされてきた (鈴木1985)。両種の被甲 (背甲) 模式図を図 I 1-1 に示すが, S型ワムシ *B. rotundiformis* は, L型ワムシ *B. plicatilis* より背甲の縦横比が幅広型で後半部が張り出している。また, 前縁部の突起が鋭いのも特徴である。

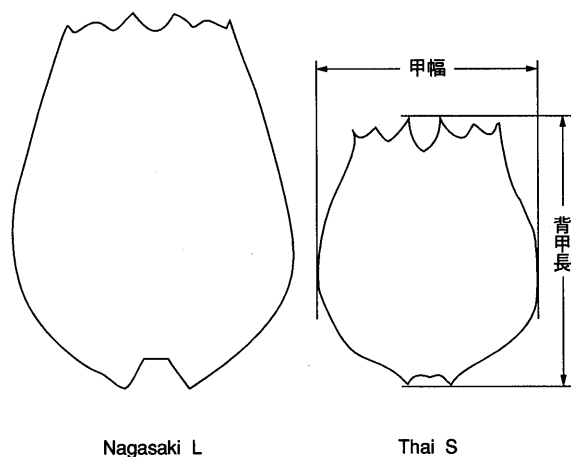


図 I 1-1 いわゆるL型ワムシ *Brachionus plicatilis* と, S型ワムシ *B. rotundiformis* (Yu1989)。Nagasaki L は三重大学伊藤隆博士より長崎大学平山和次博士へ分与された株。Thai S は, 著者が1983年タイ国南部で採取した株。

海産魚種苗生産へのワムシ類導入の経緯については, 日野 (1994) の綜述によれば, 淡水種ワムシ利用の試行を経たのち, 三重県の汽水養鰻池から分離されたシオミズツボワムシ *B. plicatilis* の海水馴致成功 (伊藤1960) に始まるが, 各種種苗生産機関で培養されている同ワムシ株のうちには早い時代に周辺の海水から分離されたもの (平田1965) もあり, 汽水種とされてきた本種が海水域にも分布していたことは明らかである。

B. rotundiformis の種苗生産現場への導入に関しては, 1973年に各地の種苗生産機関で用いられているワムシ

シに大小2型のあったことが報告されており (日野1973, 1981), 携卵個体のサイズからみて, 当時, 別種あるいは亜種としての認識のないまま本種がすでに培養株となっていたことがうかがえる。植木 (1974) は, 本種がシオミズツボワムシ培養に混入した場合, 増殖率がより高いために培養槽内で優占することを報告したが, 大上 (1976) がこれら大小2型にL型およびS型という便宜的な呼称を与えたことによって両種の出現, 遷移に関する記載や理解が簡易なものになり, 両種の拮抗する機構や, 増殖特性に関する研究もそれ以後数多く行われるようになった。この時代に行われた研究の詳細については, 杉本 (1989), 古沢 (1989) らの総説に詳述されている。

種苗生産現場でそれぞれL型, S型と呼ばれた両ワムシが, 今日別種としてのコンセンサスを得たことは前述のとおりであるが, その経緯には背甲6部位の計測に基づく67株の類似度研究の結果が, 俗に言われていたS型・L型の区分けと一致することを証明した形態学的研究 (Fuら1991a), アロザイムパターンが大きく異なることを証明した遺伝学的研究 (Fuら1991b), 核型分析の結果として染色体数 (2n) がシオミズツボワムシでは22, S型では25であることを明らかにした研究 (Rumenganら1991) など一連の研究があった (Segers1995, 萩原1996)。また, 種分化の過程でこのような相違を生む背景になったであろう生殖隔離を裏付けるものとして, 増殖パターンでは, 相対的にシオミズツボワムシでは低温・低鹹型, S型 *B. rotundiformis* では高温・高鹹型であることを挙げられる (伊藤ら1981, Rumenganら1990) が, これらの性質は大量培養を行う際に重要な技術項目でもあるため多くの研究が行われた。それらの詳細については吉田 (1989) の総説を参照されたい。また, 耐久卵 (受精卵) 形成条件の相違, すなわちシオミズツボワムシでは低温型, *B. rotundiformis* では高温型であること (I 2「生活史」を参照) も不適当な気候条件での生き残りや分布拡大を通じて種分化とかわりを持って来たと考えられる。

S型, L型という呼称が大きさに基づく便宜的な命名であることから, 近年, 当然の帰結としてSS型, LL型という洋服のサイズに倣ったと思われる呼称が現場で使われるようになってきた。SSとS, LLとLを区分するサイズが何 μm に該当するのか等, 学術的な定義はなされていないが, SS型と称されるタイ株, フィジー株に関してはS型すなわち *B. rotundiformis* であることが報告されている (Hagiwaraら1995)。

ワムシサイズの増減

ワムシの大きさが, 同種内でも培養条件によって変化

することは今日良く知られており、携卵個体についての計測では平均背甲長は高水温で小型化し（福所・岩本1980）、油脂酵母給餌はパン酵母、あるいは醤油粕を給

餌する場合よりもワムシを大型化させた（福所・岩本1981）。またテトラセルミス給餌でも大型化（岡内1988）する。ワムシは初回の産卵後も成長するので、群増殖率

表 I 1-1 海産ワムシの背甲長と1個体当たりの湿・乾重量及び窒素含量

ワムシ株	培養水槽	餌	料	携卵雌の平均背甲長 (μm)					重量 (μg)			水分含量 (%)	窒素含量 10 ⁻⁸ gN	備考	
				測定回数	平均値	標準偏差	最大	最小	測定回数	湿量	乾量				
L型ワムシ															
Doohan氏 (卵)											0.158				Doohan(1973)
伊豆L											0.092				
										3.16-5.11	0.31-0.80				大上(1976)
										Av. 3.85	Av. 0.49				(卵補正なし)
鹿児島大学											0.42				Hirata & Nagata (1982)卵関係不明
〃											0.40				山崎・平田(1986)卵除去
屋島											0.338				田中(1987) (卵関係不明)
厚岸													2.63		マリノフォーラム (1986)*2 (卵補正済み)
石川													4.63, 4.23, 4.55		マリノフォーラム (1986)*2 (卵補正済み)
													4.02, 4.08, 6.23		(卵補正済み)
													5.23, 4.31		(卵補正済み)
上浦													2.18, 2.40, 2.32		マリノフォーラム (1986)*2 (卵補正済み)
													2.51, 1.78		(卵補正済み)
上浦	0.8m ³	ナンノ	パン酵母	50	221	14	251	185	4	3.20	0.48	84.9			桑田
〃	〃	〃	〃	21	245	14	273	222	5	2.27	0.39	82.8			〃
〃	〃	〃	〃	10	220	24	257	183	1	2.90	0.26	82.8			〃
静岡	〃	〃	〃	33	281	18	325	235	5	2.78	0.44	91.0			〃
静岡	〃	〃	〃	37	263	17	294	235	3	2.29	0.40	84.2			〃
中国	11		テトラ	50	269	18	315	215							〃
石川	〃		テトラ	30	269	18	300	241							〃
—							290	140		4.44	0.60	86.5			植木(1978)
S型ワムシ															
伊豆S															大上(1976) (卵補正なし)
										1.06-1.67	0.17-0.29				(卵補正なし)
										Av. 1.37	Av. 0.23				
タイ													1.21-1.40		青木(1992)*1 (卵補正済み)
玉野('85)													1.08, 1.04, 0.96		マリノフォーラム (1996)*2 (卵補正済み)
													2.31		(卵補正済み)
広島('85)													1.44, 2.43, 1.30		マリノフォーラム (1986)*2 (卵補正済み)
													1.16, 1.58		(卵補正済み)
—							190	100		1.86	0.34	81.7			植木(1978)
鹿児島大学													0.20		山崎・平田(1986)卵除去
—	50m ³	ナンノ,	パン酵母						1	1.17	0.20	83.3			桑田
—	〃	〃	〃	50	181	16	230	146	3	0.81	0.12	85.5			〃
フィジー									1	0.44	0.06	86.5			〃

* 1 : 東京大学大学院農学系研究科平成2年度修士論文

* 2 : (株)マリノフォーラム21, 種苗生産システム研究会昭和61年度研究報告書

• 卵補正とは、秤量した個体群の卵率から卵の分を算出して減じたことを示す。

• 餌料の項、ナンノはナンノクロロプシス、テトラはテトラセルミス。

が高くなって若いワムシの割合が増加すれば携卵個体群の背甲平均値も小型化するため、環境要因が大きさに影響するメカニズムを増殖率への影響と分離して明らかにするのは容易ではない。しかしながら、培養条件によってワムシ群の背甲長組成が変化することは事実であり、種苗生産での実用上、初期仔魚の摂餌可能サイズとの整合、また稚仔に対して同じ給餌密度でもバイオマスで考えた給餌量にかかわってくる問題となる。したがって、ある株についての背甲長や重量といったサイズに関する記載や定義を行うことは容易ではない。表 I 1-1に、様々な条件下で培養されたワムシに関して株ごとの背甲長ならびに窒素を指標とした成分含量を示した。

3 倍体ワムシ株について

Fu ら (1991 b) は、S、L 両型ワムシのアイソザイムパターンを研究する過程で、形態上 S 型に区分される 37 株のうち数株でパターンが特異的であることを見いだした。これらは形態上 S 型であるにもかかわらず大きさは L 型に近似しており、S 型すなわち *B. rotundiformis* の低 3 倍体 (hypotripleid) であると推察され、のちに染色体核型分析により確認された (Rumengan ら, 1993)。1987 年当時、徳島県、高知県、香川県の栽培漁業関係機関と日裁協玉野事業場から得た計 4 株が該当した。

<ポイント>

L 型ワムシと S 型ワムシは、別種として分類されることになった。

ワムシの大きさは培養条件によって変化する。

(日野明徳)

2 生活史

L 型ワムシおよび S 型ワムシが初期餌料プランクトンとしてかくも広範に、かつ大量に用いられるようになった背景には、両種が属する単生殖巢上目の輪虫類に共通

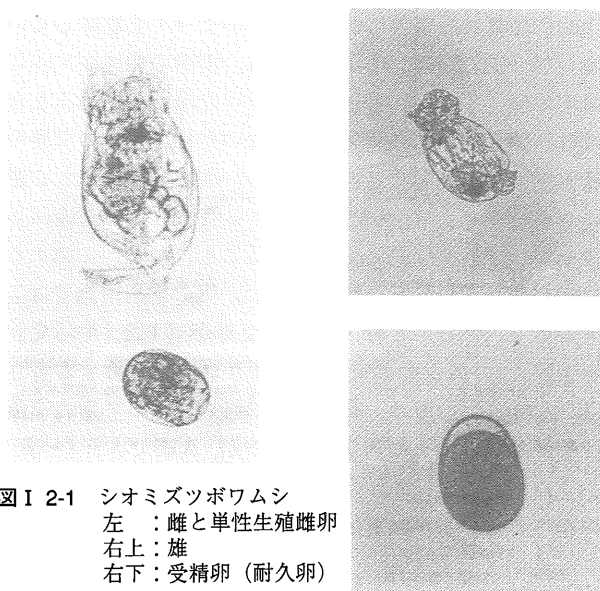
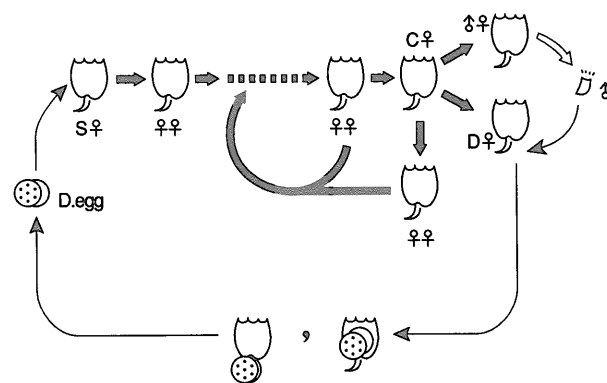


図 I 2-1 シオミズツボワムシ
左 : 雌と単性生殖雌虫
右上 : 雄
右下 : 受精卵 (耐久卵)

する独特の生活史によるところが大きい (日野 1981, 1987)。生物餌料には、大量培養が容易であることと並んで保存可能であることが望まれるが、これら輪虫類はミツバチやアリマキと同様に、雌が交尾することなく、単性生殖 (処女生殖) によって次々と産卵し爆発的ともいえる増殖を見せるほか、両性生殖によって形成される受精卵は厚い第 2 次卵膜に包まれ、別名休眠卵あるいは耐久卵とも呼ばれるように長期間の保存が可能な性質を持っている (図 I 2-1)。

図 I 2-2 に示す生活史では、記号 ♀♀ が単性生殖を営む個体であり、正確には、核相 $2n$ の個体が減数分裂を行うことなく $2n$ の卵を形成するという意味で複相単性生殖個体と呼ばれるが、至適な条件下では 1 日に 3 から 4 個の卵を産むこともあり、2 週間前後の一生では 10 から 20 個を産卵する。このような増殖の過程で時おり critical female と呼ばれる雌 (記号 C♀) が出現し、これは環境条件に対応して mictic female と呼ばれる雌を、やはり複相単性生殖によって生じる (鈴木 1965)。mictic female は他の雌と異なり、減数分裂によって核相 n の卵を作り (一般の生物ではこれが正常であるが)、これが受精せずに発生すると核相 n 、つまり半数体の雄が生じる。一般に半数体の生物は体が小さいが、ワムシの雄も雌の半分ほどの大きさしかなく消化器官なども退化しているが、めまぐるしく泳ぎ回り雌と交尾する。mictic female がまだ若い内に交尾を受けると精子は体内に貯蔵され、これが減数分裂によって形成された核相 n の卵を受精させるので以後は受精卵ばかりを作ることになる。反対に、ある時間までに交尾しなかった mictic female は、以後の交尾の有無に関わらず、受精していない卵に由来する雄ばかりを生じる。つまり、mictic female には、雄を作る個体 ($\delta♀$) と受精卵 (耐久卵, 休眠卵 dormant egg) を作る個体 (D♀) が存在する。



■ 複相単性生殖 (処女生殖), □ 単相単性生殖, ♂♂ 雄を生ずる mictic female, D♀ 受精卵 (耐久卵) を形成する mictic female, C♀ (critical female) mictic female を生ずる複相単性生殖雌虫, ♀♀ 複相単性生殖雌虫, S♀ (stem mother) 幹母虫, D.egg (dormant egg) 受精卵 (休眠卵・耐久卵)

図 I 2-2 シオミズツボワムシの生活史 (日野・平野1975)

これらのワムシは産出する卵によって区別することが可能であり、複相単性生殖を営む雌（♀♀およびC♀）の産出する長球形の卵に比較すると、♂♀の産出する核相nの卵は大きさが半分程度、かつ球形である。また、D♀の作る耐久卵は受精によって2nの核相になっているために、大きさは♀♀およびC♀の卵と同じであるが、卵黄物質を多く含むために黄橙色であり、産卵後ある程度の時間を経ると卵の一端に空所を備えるため識別は容易である。

複相単性生殖では、卵形成に減数分裂を伴わないために染色体の交差・組み替えが起こらない。すなわち、単性生殖で増殖する個体群はすべて遺伝子型が同じであり、これを同一ストレインに属すると称するが、近年はクローンと呼ぶことも一般化している（わが国の学術用語では、クローンとは生殖細胞形成を伴わない無性生殖によるものという定義があり、ワムシの場合卵を作るので、現在の定義上はクローンと呼ぶのは誤り）。このような遺伝子型同一集団にも、一旦 mictic female が出現すると減数分裂によって卵が作られるために新しい遺伝子型が生じ、続いて起こる雄の出現に始まる両性生殖では新しい遺伝情報を持つ耐久卵が形成される。すなわち、耐久卵のふ化によって、新しいストレイン（クローン）が誕生することになり、その元になるという意味で、耐久卵からふ化した第1世代は幹母虫 (stem mother, S♀) と呼ばれている。

初期餌料としての利用を前提に生活史を考えると、両性生殖で形成される耐久卵はD♀当り最大でも8個 (Hagiwara and Hino, 1990) であり、またふ化までに休眠を要するので個体群の拡大、すなわち大量培養には寄与しない。一方、ワムシ株の長期保存には乾燥や消毒にも耐える耐久卵を形成させることが望ましく、したがって大量培養、保存の双方にとって生活史の人為的制御、とくに両性生殖発現に先立つ mictic female 出現のコントロールが必要となってくる。L型ワムシの場合、高密度飼育 (Hino & Hirano 1976)、25℃以下の低温 (Hino & Hirano 1984)、あるいは低塩分 (日野 1984) が mictic female を高頻度に誘導するが、S型ワムシの場合、反対に高温ほど出現頻度が高くなる (Hagiwara and Lee, 1991)。これらの条件を大量培養に当てはめると、両種のワムシとも海水を希釈する方が増殖率の高いことが知られており、またL型ワムシでは25℃以下の低温で、S型ワムシではそれ以上の高温で培養されること、培養の結果として個体密度が上昇することなどから、両性生殖の発現を免れ得ないことが理解される。一方、各地の機関で培養されている株や、採集されたものについて同じ条件下で両性生殖の発現を調べてみると、高頻度にそれが起こるものと、全く両性生殖を行わないものがあることが明らかになった (Hino & Hirano 1977, Hagiwara ら, 1988)。したがって、飼育条件のコントロール

によって両性生殖を制御するよりも、適株を選択することが効果的であると思われる。ちなみに、10,000個体のワムシ生産に伴う受精卵形成量で両性生殖頻度の比較をしてみると、25℃、塩分14ppt (原文では塩素量8%) の条件下で東京大学株は約8,000個、日栽協屋島株 (昭和60年) は0となった (Hagiwara ら, 1988)。

<ポイント>

ワムシは雌ばかりで増える単性生殖と、雄の出現で始まる両性生殖を行う。前者は急激な増殖をもたらす。後者では耐久性に優れた休眠卵 (耐久卵) が作られる。両性生殖の起こり易さは株によって大きく異なる。

(日野明徳)

3 増殖特性—株間の差—

間引き培養および植え継ぎ培養に代表される従来法の大量培養において、実用上問題になる株の特性とは、培養槽内の何万、あるいは何億というワムシが一定時間後にどれくらいに増えているかであり、通常「個体群増殖率」と呼ばれるものである。また、新しい培養形態である連続培養法では、この他に、何日齢までに何個産卵するかという産卵特性も問題になるが、これは連続的に培養を引き抜くために日齢の進んだ個体は引き抜かれる確率が高くなる、すなわち槽内の日齢組成では若いものが多くなっており、若いうち大量に産卵する株が好適とされるためである。

株とは

「株」とは通常ある種の隔離された集団や遺伝的なつながりをもつ集団を指すようであるが、生物学的には曖昧な用語である。たとえば、①遺伝的に純系な集団、②純系ではないが、共通の先祖を持つ集団、③遺伝的な関係は不明、あるいは複数の家系を含んでいるが、他の集団との生殖的な隔離が維持されている集団など、本来学術的には異なる定義にあるすべてのケースを意味している。ワムシの場合、①については、群中の個体がすべて単性生殖 (I 2「生活史」を参照) で増殖しているときには、卵形成は減数分裂を伴わないため染色体の交差や組み換えが起こる機会を有しない。ましてや精子との融合が無いため、1尾の雌に由来する個体群はその後何世代を重ねても遺伝的に純系であることになる。このように同じ遺伝子形をもつ動物群をわが国の学術用語ではストレイン (系統) と呼ぶことになるが (I 2「生活史」を参照)、ワムシの研究分野ではクローンと称する者も多い。②については、卵や精子の融合によって新たな遺伝型が生じるために純系ではないが、人間で言う「一族」や「家系」のケースが該当する。ワムシでも、両性生殖の起こっている集団では、たとえスタートが純系であっても途中で交配が起るため遺伝的には異なる集団とな

る。③は、遺伝的性状や由来は不明だがある時期から他の集団との生殖的隔離が人為的に行われたケースで、種苗生産現場で保有している「株」のほとんどがこれに該当するものと考えられる。

比増殖率

個体群の増殖率の表し方は、簡便には前日比を％、または増加分を％で表現することが実用的に採用されている。しかし、培養時の密度変化をプロットすれば分かるように、ワムシの増殖は下に述べるような関数式の曲線で描かれるものであるから、％による表現では、何日目にとどれくらいの密度に到達するかなど、増殖のプロファイル全体を把握するには不十分であり、学術的には以下の数値モデルに基づいた「比増殖率」を求めることが一般的である。

一般に個体群が増殖する場合、瞬間的に増殖する数(次式の左辺、すなわち個体数の微分値)は、瞬間的な1個体当たりの産仔数を r とすれば群中の個体数と r の積であり、次の微分方程式が成り立つ(N は個体密度、 t は時間)。すなわち、

$$dN/dt=r \cdot N$$

これを解けば、縦軸に個体密度、横軸に時間を置いたいわゆる増殖曲線は

$N=e^{rt}$ 、で表され(この式では初期条件を加味していない)、

また、 r を日間の比増殖率とすれば

$r = \ln(Nt/Nt-1)$ として求めることができる(\ln は自然対数、 e は自然対数の底、 t は日数)。この r (記号 μ を使うことも多い)が比増殖率と呼ばれるものであり、前回の観測値と一定時間後の観測値の比を自然対数で表せばよい。具体的な数字を挙げると、比増殖率 r が1のとき、個体群は1日に e 倍(約2.7倍)になり、1日に倍になるケース、すなわち100%増殖では r は約0.7となる。

すなわち、ワムシの増殖は指数関数的であり、次に述べるような環境抵抗が作用しない場合には日数を横軸に

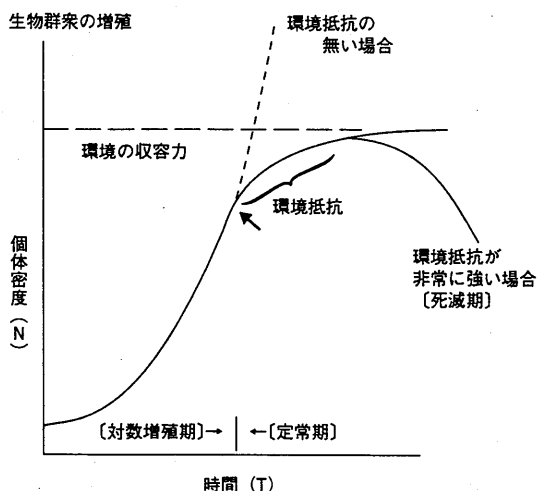


図 I 3-1 生物群集の増殖

した対数曲線を描いて増殖するから、この時期を対数増殖期(図 I 3-1)と呼んでいる。

内的自然増加率

ワムシの増殖は、その株が潜在的に持っている最高の増殖能力に対して餌料の不足、アンモニアの蓄積、溶存酸素の低下、共存微生物の作用等々、様々な環境抵抗が制限要因となり、表現されるものであるが(図 I 3-1)、この潜在的な能力を比増殖率で表したものを内的自然増加率(intrinsic rate of natural increase, r_{max} または μ_{max})と呼び、株に固有のものとして株間の比較に用いることが多い。しかしながら実験的に内的自然増加率を求めようとすると、飼育に伴って必ず環境抵抗が発生するため、真の値は永遠に求める事ができないのである。とくに、「バッチ培養(batch culture)」と呼ばれる同一の容器内での密度変化から増殖率を求める方法は、摂餌や排泄により時々刻々環境が変化するため問題が多く、したがって生態学研究者の間では、プランクトンの場合には連続培養(II 3「新しく開発された連続培養法」を参照)によって餌料密度、ワムシ密度、水質条件を一定に保ちつつ最高の増殖率を求め、これを内的自然増加率とすることが一般化しつつある。しかし、環境抵抗の少ないはずの連続培養法で求めた r の最高値が「バッチ培養」で求めた値を下回ることもあり、この場合、「バッチ培養」では共存微生物による増殖促進効果が起こっているものと思われるが、いずれにせよ連続培養法でも r の最高値を導きうる条件(おそらく栄養要求)が完全には明らかになっていないため、真の内的自然増加率は求め得ないということになる。このような現状においては、ワムシ株の増殖特性を比較する際は、同じ実験方法・実験条件によって求めた値について行うよう心がけなくてはならない。

海産ワムシ株間の比較

伊藤ら(1981)は、バッチ式培養を改変して餌料不足

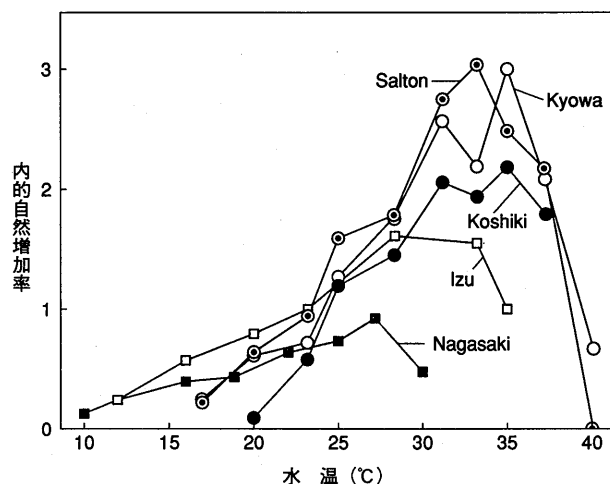


図 I 3-2 内的自然増加率(r , 但し $dN/dt=rN$)と水温(伊藤ら1981)

バッチ培養実験による数値。Salton, Kyowa, KoshikiはS型株, Izu, NagasakiはL型株。

等の影響を少なくした実験系を作り、L、S両型5株の内的自然増加率を比較している(図I 3-2)。図中、Izu, NagasakiはL型、Salton, Kyowa, KoshikiはS型ワムシであるが、同種内でも増殖速度に違いが大きいこと、温度耐性に違いのあることなどが理解される。このような比較を、塩分(I 4-2「塩分濃度」を参照)など他の環境要因に関して行うことで、自己の培養環境に最適なワムシ株を選択することが望まれる。

次に、実用上問題になるのはワムシ株の増殖特性が保存されるか否かである。たとえば、低温性の株として知られる小浜株は元来は上浦株であるが、馴致によって増殖可能温度が低温側にまで拡張したものである。このように増殖特性が変化する場合、その機構によっては獲得した特性の保存性に差異が生まれる。仮に、元の株が異なる遺伝的集団を含んでおり、低温馴致の過程で高温性の集団が消滅してしまったとすれば、株として獲得した性質は保存され、再び高温に適応することはないと考えられる。しかし、これは純系の集団では増殖特性が固定されている場合である。

残念ながらワムシでは、純系集団の増殖特性の保存性についての研究は著しく不足しているが、これは1個体の雌から単性生殖のみで純系集団を作ったうえで馴致と特性調査を繰り返すことが必要になるためと考えられる。ムスタハルら(1991)は、純系であることの検証には触れないが、屋島株について飼育環境に対する適応の発生を調べ、培養水温を変えた場合には長期の馴致に伴ってアインザイムパターンが変化することを報告している。これは、染色体レベルでの変化が起こらなくても増殖特性が変化することを示唆するものである。また、株によって適応性の獲得の速さに差のあることを塩分に関する実験で確認している(ムスタハル・平田, 1991)。

<ポイント>

培養槽中でのワムシの増殖は、その株が潜在的に持っている最高の増殖能力(内的自然増加率)を様々な環境抵抗が引き下げた結果である。環境抵抗が増大すれば増殖曲線は頭打ちになる。高温性の株や低温性の株が知られている。

(日野明徳)

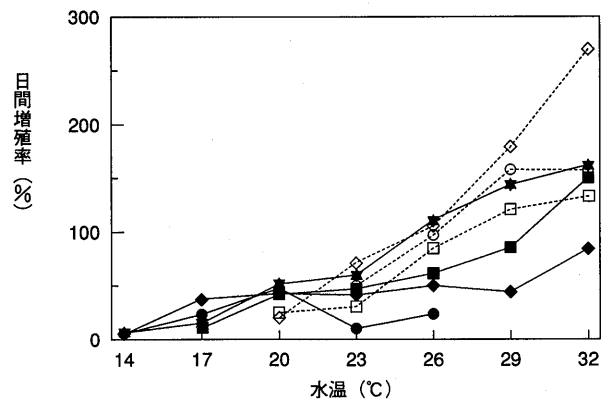
4 培養環境

4-1 水温

海産ワムシ類の至適培養水温は、S型、L型ワムシでは異なり(I 1「分類」を参照)、また、同型でも株によって異なる(I 3「増殖特性—株間の差—」を参照)ことが知られている。本書では現時点でのより実用的な情報として、日本栽培漁業協会が培養されているS型ワムシ3株とL型ワムシ4株の合計7株において、14~32℃の温度範囲での至適水温をそれぞれ調べた。培養は、それ

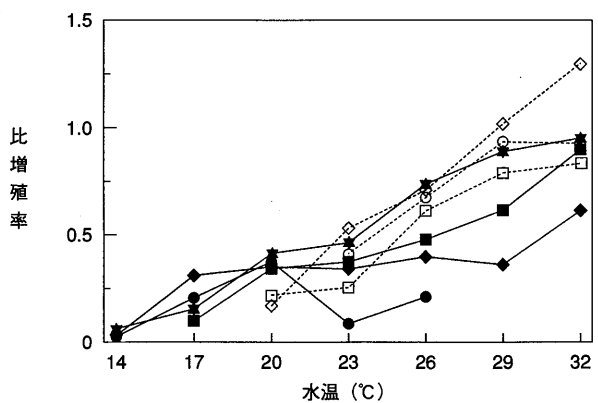
ぞれの温度に調温した恒温器内で行い、マイクロプレート(6穴用)1穴に淡水クロレラを約500万細胞/mlの密度に添加した塩分濃度27ppt調整海水を5ml入れ、その中にふ化直後のワムシ仔虫を10個体ずつ接種して4日間行った。

S型ワムシでは、玉野株と岡山株は20℃以上、タイ株は23℃以上でそれぞれ増殖がみられ、高水温ほど増殖率が高くなり、32℃での日間増殖率は玉野株では134%/日、岡山株では269%/日、タイ株では158%/日であった。一方、L型ワムシでは、石川株、浜名株及び小浜株は14℃以上、近大株(日裁協奄美事業場で所有)は17℃以上でそれぞれ増殖がみられ、小浜株が20℃で増殖ピークになった以外は、石川株、浜名株及び近大株は共にS型ワムシ同様、高水温ほど増殖率が高くなり、32℃での日間増殖率は石川株では85%/日、浜名株では163%/日、近大株では150%/日であった(図I 4-1, 2)。



図I 4-1 S型、L型ワムシの水温別日間増殖率

■—L型ワムシ近大株 ◆—L型ワムシ石川株 ●—L型ワムシ小浜株
 ★—L型ワムシ浜名株 □—S型ワムシ玉野株 ◇—S型ワムシ岡山株
 ○—S型ワムシタイ株



図I 4-2 S型、L型ワムシの水温別比増殖率

■—L型ワムシ近大株 ◆—L型ワムシ石川株 ●—L型ワムシ小浜株
 ★—L型ワムシ浜名株 □—S型ワムシ玉野株 ◇—S型ワムシ岡山株
 ○—S型ワムシタイ株

大上(1977)、伊藤ら(1981)は、S型ワムシは20℃以上で増殖し30℃付近に至適水温があるのに対し、L型ワムシは10℃前後で増殖し20~25℃が至適水温で25℃以上では停滞することから、S型ワムシは高温に、L型ワ

ムシは低温にそれぞれ適応していると考えた。今回の実験結果でも、S型ワムシ3株とL型ワムシ小浜株では同様な傾向が示されたが、小浜株を除く他のL型ワムシ3株は、S型ワムシ同様に高水温ほど増殖率が高く、至適水温は30℃付近と思われた。ムスタハルら(1991)や四元ら(1994)は、L型ワムシでの実験から、異なる培養水温で約6カ月間培養するとアイソザイムパターンに変化が生じ、変異することを示した。このことから、小浜株以外のL型ワムシで高温ほど増殖率が高くなる結果が生じたのは、前述の大上、伊藤らの実験が行われた時代以後、長年にわたる継代培養によって高水温への適応が生じた可能性も否定できない。

海産ワムシ類の安定培養は増殖率が最大となる水温で行うことが理想であるが、上述のように同じワムシ株でも継代培養時の水温により至適水温が変化する可能性があり、また、ワムシ株によっては培養水温が3℃高くなるだけで日間増殖率が約2倍になること(図I 4-1,2)もあるため、各生産現場で培養しているワムシについてはそれぞれの水温特性を調べる必要がある。

＜ポイント＞

L型ワムシでもS型ワムシ同様に高水温で増殖する株がある。至適培養水温で培養することができれば増殖率は向上する。

(小磯雅彦)

4-2 塩分濃度

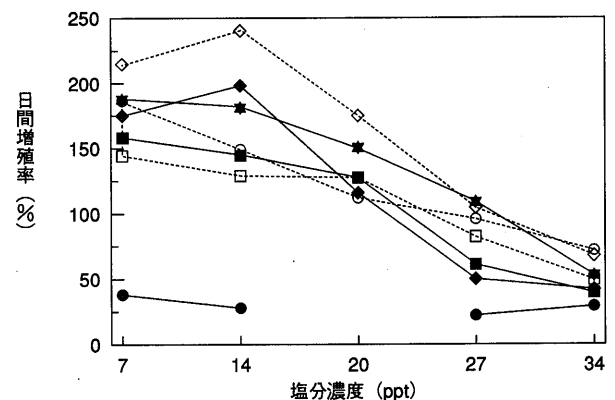
「塩分濃度」について

海洋学において塩分量は重量法によって定義され、海水1kgを蒸発させたときの乾固物重量で表されてきた。したがって「%」や「ppt」など千分比の単位が用いられている。一方、外洋水の研究から、海水は濃度に関わらず塩類の組成比がほぼ一定であることが明らかになり、したがって硝酸銀溶液を用いた滴定によって塩素などハロゲンイオンの量を測定すれば塩分量を推定することが可能であると考えられ、方法の簡便さもあってこれが「塩素量%」として長らく海水の濃度を表す単位となってきた(塩分量の約1.8分の1となる)。また、塩類の組成比が一定であることは、電気伝導度や屈折率も塩分量とほぼ一定の関係を示すと考えてよいことから、それらの測定値を塩分濃度に換算して「%」や「ppt」で表すサリノメーターが広く普及するようになり、現在ほとんどの測定が電気式サリノメーターや屈折計により行われている。

しかしながら最近では、これらの機器で求めた値は冒頭の定義に戻って考えた場合には塩分そのものではないため、海洋学の分野を中心に同じ数値ではあるが%やpptの代わりにpsu「実用塩分単位 practical salinity unit」を付けて区別することになっている。

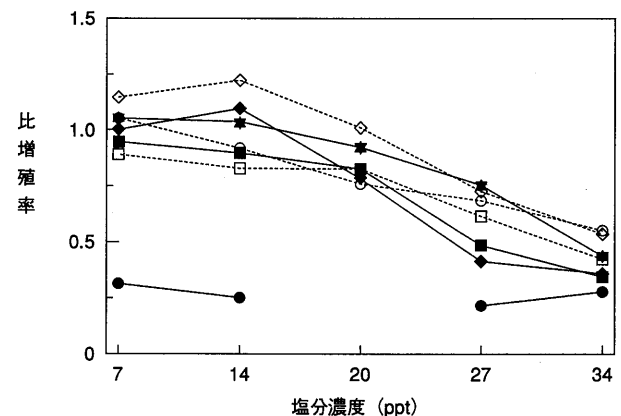
一方、水産関係の現場では国内外を問わず%やpptを使うことが定着しており、本書では混乱を避けるため、測定法を問わず塩分濃度をpptによって表し、塩素量で示されている資料を引用する場合には、1964年の国際的な合意に基づく数値1.80655を乗じて塩分量に換算した。

近年、ワムシの培養には海水を希釈せずに用いる傾向がみられ、1996年の日本栽培漁業協会のワムシ培養でも、全体の1割程度しか希釈海水は用いられてなかった(II 1「日本栽培漁業協会の現状」を参照)。これには培養技術の向上、作業の省力化、淡水のコストもしくは淡水の導入が困難な生産現場の立地条件などが作用していると考えられる。しかし、少なくともL型ワムシに関しては汽水性であり、また種苗生産現場で培養されているワムシ株も、S型、L型を問わず至適塩分濃度が海水より低いことが知られている。本書では、主に日本栽培漁業協会で培養されているS型ワムシ3株とL型ワムシ4株の合計7株において塩分濃度7~34pptでの至適塩分濃度をそれぞれ調べた。培養は、26℃に調温した恒温器内で行い、マイクロプレート(6穴用)1穴に塩分濃度を調整した海水を5ml入れ、その中にふ化直後のワムシ仔



図I 4-3 S型、L型ワムシの塩分濃度別日間増殖率

■ L型ワムシ近大株 ◆ L型ワムシ石川株 ● L型ワムシ小浜株
 ★ L型ワムシ浜名株 □ S型ワムシ玉野株 ◇ S型ワムシ岡山株
 ○ S型ワムシタイ株



図I 4-4 S型、L型ワムシの塩分濃度別比増殖率

■ L型ワムシ近大株 ◆ L型ワムシ石川株 ● L型ワムシ小浜株
 ★ L型ワムシ浜名株 □ S型ワムシ玉野株 ◇ S型ワムシ岡山株
 ○ S型ワムシタイ株

虫を10個体ずつ接種して4日間行った。なお、餌料として淡水クロレラを約500万細胞/mlの密度で添加した。

日間増殖率の最高値は、S型ワムシ岡山株とL型ワムシ石川株が14pptで、S型ワムシ玉野株、S型ワムシタイ株、L型ワムシ近大株、L型ワムシ浜名株が7pptでそれぞれ得られた。それらの値を各株の34pptにおける日間増殖率と比較すると岡山株が3.4倍、玉野株が2.7倍、タイ株が2.6倍、近大株が3.8倍、石川株が4.6倍、浜名株が3.4倍となり、いずれのワムシ株も日間増殖率が約3倍あるいはそれ以上高くなった(図I 4-3, 4)。

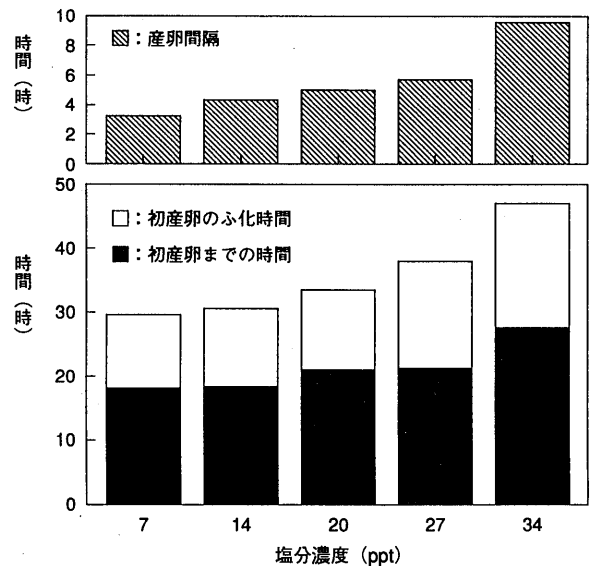
従来、海産ワムシ類の至適塩分濃度は4~10ppt (Cl 2.2~5.5ppt*, 神奈川県淡水魚増殖試験場 1984), 10.8ppt (Cl 6ppt*, 山形 1973), 12.6~16.2ppt (Cl 7~9ppt*, 伊藤 1960), 12.8ppt (Cl 7.1ppt*, 長崎県水産試験場増養殖研究所 1981), 14ppt (Cl 7.8ppt*, Hirayama and Ogawa 1972) といずれも低い塩分濃度であることが報告されている。今回の実験結果でも各ワムシ株の至適塩分濃度は4~16ppt (Cl 2~9ppt) と、実際に種苗生産現場で用いられている海水よりも低い値であることが再確認された。

塩分濃度によって増殖率に差を生じるメカニズムをL型ワムシ近大株を用いて調べた。実験は、26℃に調温した恒温器内で行い、餌料として淡水クロレラを約500万細胞/mlの密度で添加した7~34pptに調整した海水を1ml入れ、その中にふ化直後の仔虫を1個体ずつ接種した個別培養により、初産卵までの時間、初産卵のふ化時間、産卵間隔、総産仔数及び寿命を調べた。初産卵までの時間は34pptの27.5時間に対し7pptは18時間で、ふ化時間は34pptの19.5時間に対し7pptは11.7時間となり、この2つの合計時間(再生産までの時間)は34pptの47時間に対し7pptは29.7時間と17時間以上も短かった。産卵間隔も34pptの9.6時間に対し7pptは3.2時間と6時間以上も短かった(図I 4-5)。産仔期間と1日当たり平均産仔数は34pptのふ化後3~15日目の13日間で1.1個体に対し7pptはふ化後2~10日目の9日間で2.4個体と産仔期間は短いが生産数は多かった(図I 4-6)。総産仔数は34pptの14個体に対し7pptでは23個体と多かったが、寿命は34pptの14日間にに対し7pptでは10日間と短かった(表I 4-1)。Kurokuraら(1991)は、ワムシの生活史の中で増殖に大きくかわる要因は、産卵間隔、胚発生期間及び最初の産卵までの期間であると報告しており、今回の実験では塩分濃度の低下に伴ない産卵間隔や再生産までの時間などが顕著に短くなるため、増殖が促進されることがわかった。また、20pptや27pptでも同様な傾向にあることが確認された。

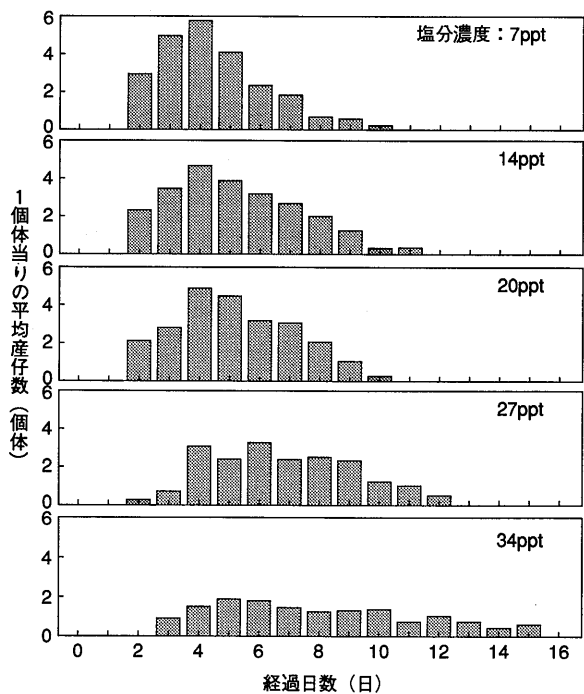
上記の実験から、ある範囲では塩分濃度の低下に伴な

い増殖促進のみられることがわかったが、種苗生産時に稚仔の飼育水が海水の場合には、低い塩分濃度で培養したワムシを直接給餌すると塩分濃度の差によりワムシが衰弱したり死亡を生じ、餌料としての価値が低下する可能性がある。

そこで塩分濃度の変化とワムシ餌料価値の関係をL型ワムシ近大株を用いて摂餌個体率と栄養強化の様態によって検討した。摂餌個体率は7~34pptで培養したワムシを、淡水クロレラを500万細胞/mlの密度に添加し



図I 4-5 各塩分濃度で培養したL型ワムシ近大株の初産卵までの時間、ふ化時間及び産卵間隔



図I 4-6 各塩分濃度でのL型ワムシ近大株のふ化後の1個体当りの産仔数状況

*原典は塩素量 (Cl) による記述

$S(\text{ppt}) = 1.80655 \times Cl(\text{ppt})$ として換算, Sは塩分濃度

*本書の塩分濃度に関する内容については日本水産増殖学会に投稿予定である。

表 I 4-1 各塩分濃度でのL型ワムシ近大株の総産個数と寿命

塩分濃度 (ppt)	平均総産仔数 (個体)	寿命 (日)
7	23.1(19~28)	9.8(8~13)
14	23.5(19~27)	10.4(8~13)
20	23.2(16~27)	10.4(8~15)
27	19.2(15~23)	12.0(10~16)
34	14.1(10~18)	14.1(11~16)

た34ppt 海水に直接収容し、経過時間ごとの摂餌個体率を調べた。一方、栄養強化については14~34ppt で培養したワムシを直接34ppt 海水に収容し、SRを25g/億個体の割合に投与して、17時間後のワムシの脂質および脂肪酸含量を調べた。この結果、摂餌個体率は20~34ppt で培養されたワムシでは収容後2時間以降に90%前後と大差はみられなくなったが、14ppt 培養のワムシでは90%以上に達するのに6時間程度かかり、7ppt 培養のワムシでは収容直後に全て死亡した(図 I 4-7)。

一方、栄養強化の状態は20~34ppt 培養のワムシでは大差はみられなかったが、14ppt 培養のワムシでは低下した(表 I 4-2)。

海産ワムシ類は広塩性であることが知られているが、低塩分濃度から高塩分濃度への馴致は難しく、20ppt で

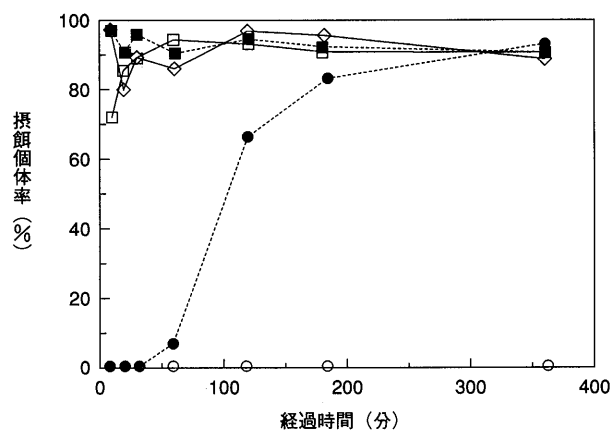


図 I 4-7 各塩分濃度で培養したL型ワムシ近大株のろ過海水(34ppt)収容後の摂餌個体率の推移
○: 7ppt ●: 14ppt □: 20ppt ■: 27ppt ◇: 34ppt

表 I 4-2 各塩分濃度で培養したL型ワムシ近大株の34pptでの栄養強化後の脂質および脂肪酸含量

培養時の塩分濃度 (ppt)	栄養強化の前後	乾燥重量当りの含量 (%)			
		粗脂肪	n-3 HUFA	EPA	DHA
34	対照(強化前)	12.3	1.08	0.05	—
14	強化後	8.1	1.09	0.20	0.27
20	強化後	13.2	1.74	0.41	0.57
27	強化後	13.0	2.17	0.44	0.61
34	強化後	10.4	1.77	0.37	0.47

*: 栄養強化には、ヒガシマル社製ワムシ用栄養強化剤SRを用いて(25g/億)17時間栄養強化を行った。

培養したワムシを40pptの飼育水に給餌する場合には30pptで1日馴致する必要があること(Lubzens 1987)、20pptで培養したS型ワムシを40ppt以上の塩分濃度の培養水に移すと24時間後には約半数が死亡すること(吉村ら 1997)が報告されている。今回の実験でも34ppt海水に収容すると7pptからの移行では全て死亡し、14pptからの移行では塩分濃度差のストレスの影響がみられた。これらのことから全海水で飼育されている稚仔への給餌の場合、ワムシの餌料価値が低下しないためには、L型ワムシ近大株では20ppt以上で培養する必要があると考えられた。

低塩分による増殖促進効果を実用規模において検証するため、14~34pptでL型ワムシ近大株を用い500l水槽で4日間の植え継ぎ培養を行った。餌料として淡水クロレラは0.5l/水槽、パン酵母は200g/億個体の量をそれ

ぞれ1日に2回に分けて給餌した。この結果、日間増殖率は34pptの56.6%/日に対し20pptでは90.6%/日、14pptでは94.6%/日と高くなり、1億個体生産にかかる餌料費は、34pptの759円に対し20pptでは419円、14pptでは354円と安くなった(表 I 4-3)。また、淡水のコストについては、水道代を仮に146円/m³(II 4-1「生産単価の計算根拠」を参照)とした場合の1億個体生産にかかる水道代は20pptでは5.3円、14pptでは6.7円と計算された。同じ給餌量で生産コストが低減されることは、当然ワムシへの転換効率の上昇、すなわち水中へ無駄に捨てられる有機物質、窒素、リンなどの減少を意味しており、水質の保全にも寄与するものと考えられる。また、大型水槽を用いた60%海水による粗放連続培養では、L型ワムシ小浜株が水温25℃で25日間の培養で日間増殖率が65.0%/日、L型ワムシ近大株が水温25℃で52日間の

表 I 4-3 500ℓ パンライト水槽による各塩分濃度でのL型ワムシ近大株の培養実験結果

培養水の 塩分濃度 (ppt)	培養開始時の ワムシ密度(個/ml)	培養4日目の ワムシ密度(個/ml)	日間 増殖率(%)	1億個体生産に かかる餌料費(円)*
14	91	1,304	94.6	354
20	83	1,096	90.6	419
27	88	725	69.4	624
34	102	613	56.6	759

*：1個体生産にかかる餌料費は、淡水クロレラ 1ℓ 800円、パン酵母 1 kg 414円で計算した。

なお、この餌料費には水道代は含まれていない。

培養で日間増殖率が97.5%/日となり、低い塩分濃度による増殖促進効果は大型水槽でも確認された。

このように、低い塩分濃度での培養は、生産規模においてもその有効性がみられ、増殖促進効果に加えて生産単価の引き下げ、水質の改善にも貢献する可能性がある。生産規模で低塩分の海水でワムシを培養する場合には、淡水の使用量やコストならびに残留塩素などの問題にも配慮する必要がある。しかし、低塩分海水を用いる効果が多岐にわたり、かつ大きいこと、しかも方法が簡単であることを考えれば、試みる価値はあると考えられる。

＜ポイント＞

培養水を希釈するだけで増殖率が顕著に高くなり、生産単価の引き下げや水質の改善にも貢献する。

(小磯雅彦)

4-3 溶存酸素濃度

L型、S型両ワムシとも低酸素には極めて強く、L型の実験結果では、無酸素状態でも6時間後には半数が生存し、全数が死亡するまでには12時間を要したと報告されている(今田 1983)。このことは、ワムシが一時的な貧酸素状態には強い抵抗性を示すことを裏付けるもので

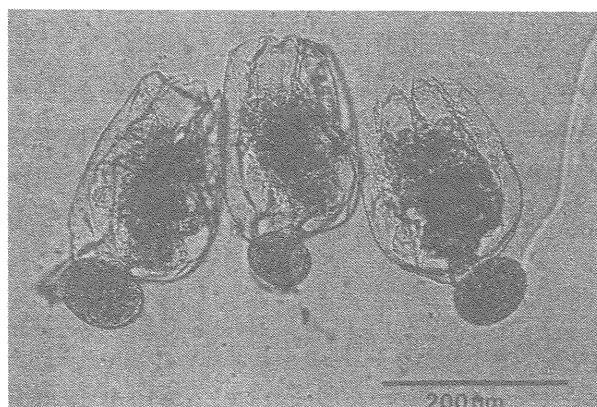


図 I 4-8 間引き培養のDO低下時のワムシの状態
間引き培養10日目、ワムシ密度349個体/ml、朝の観測時点のDOが3.7%しかなかった。
ワムシの被甲が変形し、しわがよっている。消化管内容物が薄く、栄養状態が悪いため卵が小さい。この培養事例では急速純酸素の通気量を増やして溶存酸素濃度を回復させ、それに伴って増殖も回復した。

ある。しかし山崎ら(Yamasaki et al 1987)は、増殖率と餌料転換効率は、L型では6.1 mg/ml から2.3mg/mlへの酸素濃度の低下に大きく影響を受け、0.9mg/mlではマイナスになることを明らかにした。また、S型ではそれらの範囲でほとんど影響されず、0.8mg/mlで初めて増殖に障害の見られることも報告しており、これらからは、L型では溶存酸素の管理がより重要であることがうかがえる。図 I 4-8に、L型ワムシ間引き培養で10日目の観測の際に、個体密度は349個体/mlと高かったものの前日には観察されなかった残餌が認められ、溶存酸素が3.7%に低下していた際のワムシの状態を示した。背甲が変形してしわが見られるほか、消化管内容物の像が薄いことから分かるように、摂餌状態が悪いために中央の個体では卵が小さくなっている。なお、この事例では通気量を増加させたところ増殖が回復したことから、一時的な貧酸素状態に陥っていたものと考えられた。

通常ワムシの培養水中では、酸素を最も消費しているのは水中細菌などの共存微生物であり、酸素供給能力のわずかな変動が溶存酸素量に大きく影響する(今田 1983)。日数の経過した培養では、それまでの給餌由来する高濃度の有機物によって増殖した細菌がフロック状に凝集、浮遊し、酸素に対する負荷を著しく高めている。このため、収穫したワムシをバケツ等に入れたまま放置すると、数分で貧酸素状態になることはしばしば経験されることである。

培養水中の溶存酸素は、ワムシに対して直接影響するばかりでなく、共存微生物の生物相に影響することにより間接的に培養結果を左右することも知られている。今田(1983)によると、油脂酵母あるいは微生物フロックを給餌した場合の増殖は、溶存酸素が2ppm(30%飽和)で最も良好であったが、この現象は、これらの餌には含まれていない必須ビタミンB₁₂(I 5-1「栄養要求」を参照)を産生することでワムシの増殖を支えている水中細菌が通性嫌気性細菌であり、高い酸素濃度ではB₁₂の産生が期待できないためであると考えられた。

<ポイント>

ワムシは一時的な低酸素には強い耐性を持っている。しかし、増殖率や餌料転換効率は影響を受け、特にL型ワムシでは顕著である。共存細菌によるビタミン B₁₂ 産生性に限って言えば、DO が 2ppm で生産性は最も高くなる。

(日野明徳)

4-4 pH

海産ワムシ類の増殖と pH の関係については、大量培養の過程で観測される pH を記載した報告は数多くあるものの、実験的に pH 単独の作用を検証した研究は見られない。その理由には、大量培養で重要な環境要素である非解離アンモニア濃度 (I 4-5 「アンモニア」を参照) や細菌相 (I 4-7-1 「細菌」を参照) が pH によって大きく変化してしまうために、それらを経由した間接的な影響が、pH 自体がワムシに与える直接作用より大きくなってしまふことが考えられる。同じ理由から、大量培養結果からワムシ培養時の至適 pH 値を論議することはできない。Yu & Hirayama (1986) も、大量培養槽で高い pH が観測される時にワムシ密度の低下が起こることを観察しているが、非解離アンモニア濃度が変化することによる間接的影響であることに結論づけている。

ワムシの生理的活性に対する pH の直接的な影響については、L型ワムシの「ろ水率」との関係性を調べた平山ら(1972)の研究が唯一存在し、pH 8 で最も活性は高かったが、別の餌料濃度では6から9の範囲での差はわずかであり、また5以下及び10以上ではワムシは生存しなかったことが述べられている。「ろ水率」とは餌を採るために単位時間当りにろ過した水の量であり、餌密度が高い場合には下がるなど摂餌量との直接的関係はなく、また摂餌から増殖までは複雑な代謝機構が働くため「ろ水率」の高低を直ちに増殖率の予測に結びつけることはできないが、経験的には6~9の範囲であればpHそれ自体がワムシの増殖に影響することはないと思われる。また、大量培養の結果からみる限りS型ワムシでも同様の傾向がうかがわれる。しかしながら、pHが8を超えるとアンモニアのうち毒性の高い非解離アンモニアの割合が高くなるので (I 4-5 「アンモニア」を参照)、長く継続している培養や高密度培養など、水中の総アンモニア濃度の高いケースでは注意が必要である。

一般に海産ワムシの大量培養に用いられる沿岸海水あるいは希釈海水では、はじめ pH は7から8の範囲にあるが、ワムシ培養の経過とともにワムシ及び共存微生物の呼吸によって二酸化炭素の蓄積が起こり、また微生物による有機酸の産生が大きくなって pH は低下する。この傾向は、海水濃度が薄い場合には塩類の持つ緩衝作用が小さくなるため顕著に現れる。また、餌料に酵母類を

用いる場合にも藻類を給餌する場合に比して pH は低くなるが、これは細菌数が多い、また細菌相が異なるなど酵母給餌培養槽に共通する微生物学的な特徴によるものと考えられる。

反対に、pH が高くなる現象は屋外水槽にナンノクロロプシスなど生きた藻類を給餌する場合に見られるが、光合成によって水中の炭酸物質 (二酸化炭素及びその溶解に由来する炭酸、重炭酸) が消費されるためである。

近年、淡水クロレラの濃縮品を用いて給餌密度を上げ、ワムシを高密度で培養 (吉村ら 1992) することが普及しつつあるが、連続培養 (II 3-1 「装置連続培養」を参照) 以外の「植え継ぎ培養」や「間引き培養」など従来法に応用する場合には溶存酸素の不足が起こるため、空気の代わりに酸素を通気することが始められている。この場合、二酸化炭素に由来する水中の炭酸物質が追い出されるため pH は高くなりがちであり、非解離アンモニア (I 4-5 「アンモニア」を参照) の濃度が上がることによって増殖が阻害されることが報告されている (吉村ら 1994)。

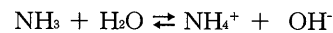
<ポイント>

pH に関する情報は少ないが、経験上6~9の範囲ではワムシの増殖に直接は影響しない。むしろ、アンモニアの毒性に関係することによって間接的に影響することがある。

(日野明徳)

4-5 アンモニア

比色法、電極法を問わず、水質分析でアンモニア態窒素として測定されるものは遊離のアンモニア (NH₃) と、それが解離してイオン態になったアンモニウムイオン (NH₄⁺) の合計 (総アンモニア、全アンモニア total ammonia) である。水中での解離は次の式で表され、両者の割合は、主に水温、pHによって大きく変化する (表 I 4-4)。



両者のうち、毒性の強いものは遊離のアンモニアであり、イオンに分かれていない (解離していない) という意味で、通常「非解離アンモニア」と呼ばれている。これに対し、イオン態のアンモニアは陰イオンと結びついて大きな分子になっている事が多く、生物の上皮を通過しにくいので毒性は低い。

Yu & Hirayama (1986) は、L型ワムシについて非解離アンモニアが示す毒性を調べた。このとき24時間後の生残率で表した急性毒性は、17ppm で半数が死亡、20ppm では全数が死亡するというものであった。また、個体群増殖率 r (I 3 「増殖特性-一株間の差-」を参照) 及び総産卵数が低下し始める濃度、すなわち個体群の増殖率を慢性的に低下させ始める濃度は約 2 ppm であつ

表 I 4-4 総アンモニア (NH₃+NH₄⁺) に対する非解離アンモニア (NH₃) の割合(%). Bower (1978) より計算

塩分 23-27 ppt の場合

pH	15	20	25	30	35
6	0.02	0.03	0.05	0.07	0.10
7	0.22	0.33	0.48	0.69	0.98
8	2.2	3.2	4.6	6.5	8.98
8.5	6.6	9.3	13.1	18.0	23.8
9	18.3	24.9	32.4	40.9	49.7

塩分 28-31 ppt の場合

pH	15	20	25	30	35
6	0.02	0.03	0.05	0.07	0.10
7	0.22	0.32	0.47	0.67	0.98
8	2.2	3.1	4.5	6.4	9.1
8.5	6.6	9.3	12.9	17.7	24.0
9	18.3	24.4	31.9	40.0	50.0

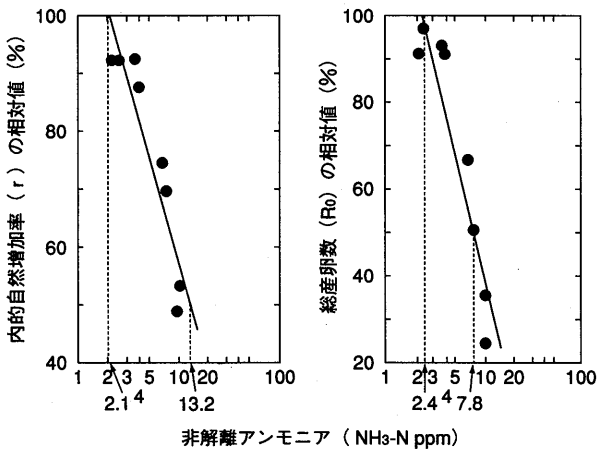
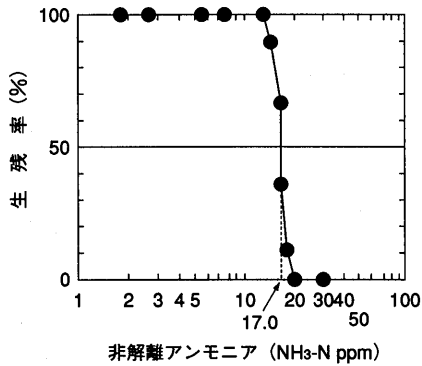


図 I 4-9 非イオン態アンモニア (NH₃) のワムシに対する毒性
上: 急性毒性 下: 慢性毒性

た (図 I 4-9)。

培養槽内のアンモニアは、言うまでもなく給餌に由来するものであり、餌料中のタンパク質やアミノ酸などの有機窒素源がワムシや共存微生物に利用されたのち代謝 (I 5-4「代謝」を参照) の結果排泄されるもののほか、残餌、糞、生物遺骸などが微生物によって分解される過

程で放出されるものである。したがって、培養開始からの日数の長い培養で全窒素濃度が高くなっている場合には溶存態の窒素も多くなっており、そのうちのほとんどを占める総アンモニアの蓄積も多くなっていると考えなくてはならない。図 I 4-10は、実測に基づく培養開始からの累積給餌量と飼育水中の総アンモニア濃度の関係を示している。

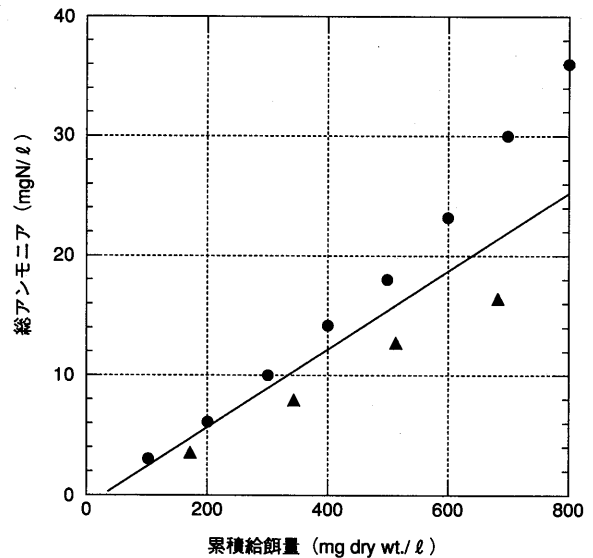


図 I 4-10 累積給餌量とアンモニア態窒素
(昭和57年度広島県報告書および
昭和60年度神奈川県報告書を改変して統合)

- ▲ 昭和57年度広島県事例 (淡水濃縮クロレラ給餌)
- 昭和60年度神奈川県事例 (淡水濃縮クロレラ給餌とパン酵母給餌)

$$TA = -1 + 0.033F$$

F: 累積給餌量 (mg dry wt./l)

淡水濃縮クロレラ: 114g dry wt./製品1l

パン酵母: 432g dry wt./製品1kg

TA: アンモニア態窒素濃度 (mgN/l)

表 I 4-5 ワムシ培養槽の水質環境 (平均値)

観測地	データ数	ワムシ (個体/ml)	水温 (℃)	塩分 (ppt)	pH	NO ₂ -N (μg-at/l)	NO ₃ -N	NH ₄ -N (ppm)	NH ₃ -N
玉野(植え継ぎ)	12	245.7	26.2	28.1	7.8	3.26	8.79	206.0	0.05
神奈川(間引き)	10	89.8	22.6	34.6	8.1	1.01	—	532.8	0.35

アンモニア以外の溶存態窒素については報告例に乏しいが、Yuら(1989)による日裁協玉野事業場の植え継ぎ培養(1988年当時)および神奈川県栽培漁業センターの間引き培養(1987年当時)の観測では、ほとんどがアンモニア態であることが理解される(表 I 4-5)。これは、有機物濃度、微生物量(I 4-7「生物的環境」を参照)ともに極端に高いことがCOD、BODの上昇、溶存酸素の低下を招いているためであり、酸素レベルが飽和に近い通常の動物飼育槽の場合には亜硝酸を経て硝酸に向かってアンモニアを酸化させている硝化細菌が、ワムシ培養槽では機能し難いためである。

アンモニアの毒性によってワムシ培養が阻害されることは、以前は長期間の間引き培養を屋外で行う場合に起こることであった。これは、光合成によって水中の炭酸物質が消費されpHが上昇、また日射によって水温も上昇する結果、高濃度に蓄積したアンモニアから有毒の非解離アンモニアが大量に発生するためであった。それ以外の培養形態では、アンモニアが蓄積しているようなケースであればBODも極端に高いため二酸化炭素濃度が高く、すなわちpHは低くなっており、また細菌によって産生された有機酸によってもpHが下げられ、その結果非解離アンモニア濃度が極端に高くなることはなかった。しかし近年、淡水クロレラを用いた高給餌、超高密度培養が開発され(吉村ら1992)、これが必然的に酸素による曝気を伴うことから水中の炭酸物質が追い出され、pHの上昇、非解離アンモニアの増加を招き、増殖阻害要因になることが明らかになった(吉村ら1994)。この場合、ワムシが20,000個体/mlを超えるケースでの総アンモニア濃度は最終的に500ppmと、通常の植え継ぎ、あるいは間引き培養の10倍にも達するため、酸を自動注入することによってpH制御を行い、アンモニアの毒性が現れないようにする方法がとられるようになった。

最近開発された培養形態の一つにケモスタットによる連続培養法があり(II 3-1「装置連続培養」を参照)、L型ワムシでも2,000個体/mlの密度で1日あたり0.6回転程度の運転が可能であるが、このとき、空気通気、pH制御なしの条件下でも非解離アンモニア濃度が10ppm前後を維持し得るのは、常に新しい海水が流入通過する一種の流水式飼育になっているからである。

<ポイント>

アンモニアは水中で一部がイオンに解離するが、イオン態のものより非解離のもの(ガス態)の毒性が高く、これは高pH、高温で多くなる。また低塩分でもやや多くなる。連続培養では常に新しい海水が流入通過するので、高密度にもかかわらず非解離アンモニアは低く保たれる。

(日野明徳)

4-6 懸濁物

時間の経過とともに、ワムシ培養槽中には綿状の浮遊物が現れ、やがて生長して重たくなり底面へ沈殿する。これは細菌類が凝集したバクテリアフロックと呼ばれる懸濁物がさらに集まって可視サイズになったものであり、ワムシの糞、残餌なども取り込まれている。培養技術との関係では、この懸濁物を除去することが飼育水から有機物を抜き取ることに貢献し、培養槽内の微生物生態系を安定させることができる(IV「今後の課題」を参照)ほか、収穫時にネットを閉塞させるいわゆる「ゴミ」を減らす効果も大きい(II 5「収穫」を参照)。しかし、装置連続培養において懸濁物を全く処理せずとも長期間にわたって高密度、高増殖率が維持できることから考えると、懸濁物は実質的にワムシの増殖に影響を与えることはないと考えて良い(II 3-1-2「連続培養運転時の注意事項、懸濁物」を参照)。

懸濁物の除去は、通常エアコンなどに用いられるエアフィルターを培養槽に垂下することによって行われる。

一方、このワムシ培養水中の懸濁物が魚類稚仔等の飼育水中に病原性細菌を持ち込むことが懸念されている(Muroga and Yasunobu 1987, 白杵ら1998)。広島県栽培漁業協会(1984)は1m³水槽の植え継ぎ培養に0.5~1m²サランロックフィルターを入れて懸濁物を吸着させるときれいなワムシが生産され、そのワムシが保有する細菌、特に *Vibrio* 属細菌が10⁶ CFU/g から10⁴ CFU/gに減少することを確認している(伏見1989)。ワムシ培養槽中の懸濁物による病原性細菌の飼育水槽への伝播が証明された事例はないが、懸濁物の飼育水槽中への持ち込みは極力少なくした方が賢明である。

<ポイント>

懸濁物はワムシ自体の増殖を妨げることはないが、収穫作業の妨げとなり、病原細菌の持ち込みも懸念される。

(桑田 博, 日野明德)

4-7 生物的環境

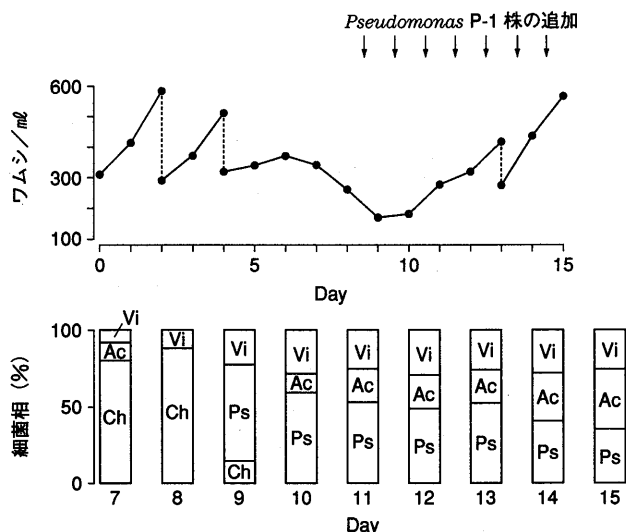
水生動物は体表の保護が不十分であり、また呼吸の媒体である周囲の水の中に排泄するなどの問題もあって、飼育するには水質をできるだけきれいに維持することが一般的な技術となっている。しかしながら海産ワムシの場合、元来「汚水生物」として認識されてきただけに飼育水の汚濁には極めて強く、その培養水が給餌に由来する有機物を高濃度に蓄積していても、ワムシが生きている限り有機物濃度に注意が向けられることはほとんどなかった。他生物にしてみれば「汚水」に等しいこの飼育水には当然のこととして膨大な量の細菌が繁殖し、原生動物フリーの管理をしない限り鞭毛虫や繊毛虫も数多く出現する。ちなみに、自然界で最も細菌の少ない水に数えられる外洋の海水が1mlあたり 10^4 オーダーの細菌しか含まないのに対し、ワムシ培養水は、水中に細菌が浮遊する場合の上限値ともいべき 10^8 オーダーの細菌を含むことも希ではない(いずれもCFU/ml)。そして、それら細菌は、たとえば呼吸によって酸素を消費したり、タンパクの還元によってアンモニアを作るなど様々な生理機能によって槽内の環境を作り出す一方で、給餌やワムシ・原生動物の排泄による有機物負荷によって影響を受け、細菌相の遷移を余儀なくされていると考えられる。また、原生動物やワムシによる捕食(Ⅰ4-8「培養槽の物質フロー」を参照)も無視できない。すなわち細菌、原生動物、ワムシは相互に影響を及ぼし合う同じ生態系内にあり、ワムシの生産は、この複雑な微生物生態系の安定の上に成り立っているのである。

現在のワムシ培養法の主流である間引き培養や植え継ぎ培養は、ワムシ密度が時々刻々変化するのみならず、有機物も次第にかつ大量に蓄積し、それに伴って微生物相もバイオマスも変化するなど極めて不安定な微生物生態系の中でワムシのみの卓越を期待する方法である。残念ながらこの生態系を人為的に制御することはほとんど不可能であるが、重要なことは原生動物や細菌などの微生物こそが槽内環境の演出者であることを認識し、それらがワムシの増殖に作用する機序について理解を深めることであろう。

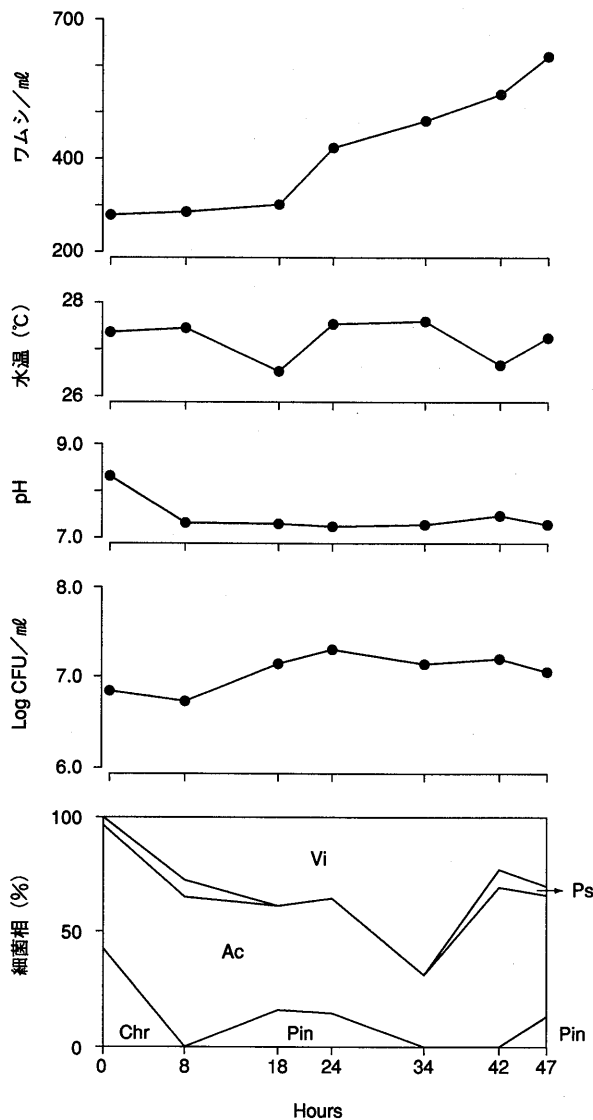
4-7-1 細菌

細菌相

ワムシ大量培養の成否を細菌学的側面から論じた研究は多賀ら(1980)によって始められた。図Ⅰ4-11は、日



図Ⅰ4-11 増殖不良現象と細菌相 (多賀ら1980)
Vi, *Vibrio*; Ac, *Acinetobacter*; Ch, 色素産生菌;
Ps, *Pseudomonas*



図Ⅰ4-12 ワムシの正常な増殖時の細菌相 (多賀ら1980)
Ps, *Pseudomonas*; Vi, *Vibrio*; Ac, *Acinetobacter*; Chr, Chromogenic bacteria; Pin, 極小コロニー形成菌

栽協玉野事業場で当時観察された間引き培養（パン酵母使用）が不調に転じる過程であるが、上段のグラフでは5日目頃よりワムシの増殖が停滞、7日目には死亡個体の増加によって個体密度が下がり始めたことを、またこのときの細菌相（下段）は、色素産生菌（Ch）が優占していたことが示されている。8日目より、別に大量培養してあった *Pseudomonas* 属の細菌P1株を添加し続けたところ、10日目頃より細菌相は *Vibrio*, *Acinetobacter* あるいは *Pseudomonas* 属が拮抗しながら優占する形となり、同時にワムシの増殖も好調に転じている。また図 I 4-12には、同事業場で安定してワムシ大量培養が行われていたときの細菌相が示されているが、*Vibrio* 属細菌と *Acinetobacter* 属細菌が優占し色素産生菌（Chr）はほとんど出現していない。これらの結果から、ワムシの大量培養には、ある特定の細菌相（主として餌によって決まる）の卓越によって生態系が安定していることが必要であり、また色素産生菌は有害であることが明らかになった。

色素産生菌について、Maeda and Hino (1991) はナンノクロロプシスの培養中には *Flavobacterium* 属細菌が普通に見られること、またそれがワムシの増殖を阻害することを確認した結果、ワムシの培養不調を招く一因であると述べている。

ビタミン産生菌

一方、ワムシは必須ビタミンとして B₁₂ を要求する (Scott 1981) (I 5-1「栄養要求」を参照) が、B₁₂ を含まないパン酵母でもワムシの培養が可能である背景には細菌による産生のあることが予測されていた (Hirayama & Funamoto 1983)。Yu ら (1988) はワムシ大量培養槽から細菌31株を分離し、それぞれを培養の

のち無菌培養ワムシに与え増殖率を調べた。その結果、ワムシに対して顕著な増殖促進性を示した株はすべてビタミン B₁₂ 産生株であったこと (表 I 4-6)、飼育水に 10⁷ CFU/ml 程度存在すれば効果が現れる (図 I 4-13) ことから、パン酵母を用いるワムシ大量培養では、必須ビタミン B₁₂ は細菌によって供給されていることを証明した。さらに Yu ら (1989) は、ナンノクロロプシスも無菌培養では B₁₂ を産生しないこと、種苗生産現場のナンノクロロプシスに含まれている B₁₂ は藻類培養槽内の細菌によって生産されたものが蓄積された結果であることを報告し、また、ワムシ培養槽の B₁₂ の収支から、給餌に伴って加えられた分よりもはるかに大量の B₁₂ が培養の経過とともに細菌によって作り出されることを証明した (表 I 4-7, 8)。さらにワムシ培養槽の B₁₂ 変化について、植え継ぎ培養では、培養開始後数時間のうちに懸濁態 B₁₂ 濃度が急激に増加するのが認められた。これは、給餌率が高いためにワムシの排泄・排糞量も多くなり、これが溶存態有機物の増加と細菌の急激な増殖をもたらしたためと考えられた。すなわち、植え継ぎ培養は急激にかつ高密度に B₁₂ 産生菌を増殖させることで成立する培養方式であり、この場合、培養開始時にのみ使用されるナンノクロロプシスは槽内の細菌相が安定するまでの B₁₂ 源と考えられる。一方、間引き培養では常に細菌数が一桁以上少なく、懸濁態 B₁₂ 濃度も植え継ぎ培養に比較すると低かったが、B₁₂ 産生菌は 10⁶~10⁷ CFU/ml 存在し、比較的低密度 (数 10~100 個体/ml) でワムシが維持される給餌率の低い間引き培養でも、毎日ナンノクロロプシスが培養水ともども間引き分の水量を補填する形で加えられることもあって、十分な B₁₂ がワムシに供給されていたものと考えてよい。

表 I 4-6 ワムシ培養槽から分離した31菌株のワムシに対する増殖促進性とビタミン B₁₂ 産生性 (Yu ら 1988)

菌株	ワムシ数	B ₁₂ 産生性	菌株	ワムシ数	B ₁₂ 産生性
1	11	-	17	10	-
2	10	-	18	56	+
3	39	-	19	58	+
4	89	+	20	15	+
5	27	-	21	27	-
6	139	+	22	43	+
7	111	+	23	10	-
8	38	-	24	28	-
9	28	-	25	42	-
10	10	-	26	10	-
11	35	-	27	52	+
12	18	-	28	62	+
13	12	-	29	25	+
14	10	-	30	49	+
15	39	+	31	91	+
16	10	+	Control	10	

パン酵母 200 μg/ml, 水温 25℃

10個体の無菌ふ化仔虫をパン酵母、各菌株とともに収容し、一週間後に個体数を計数した。

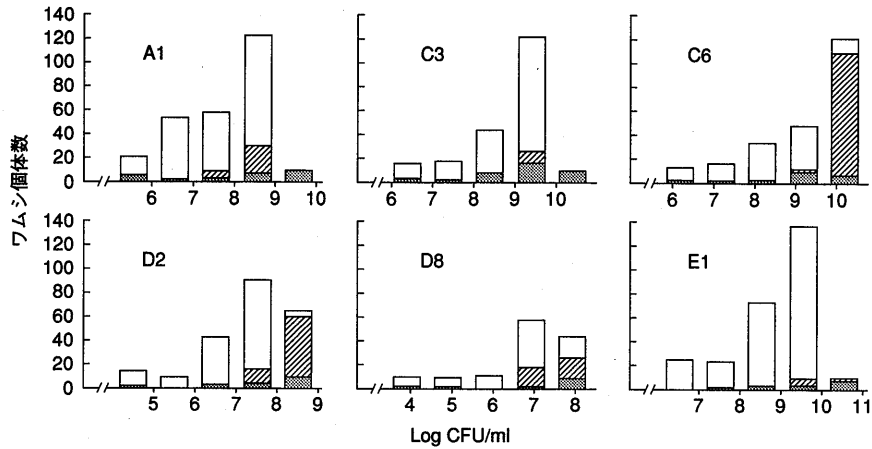


図 I 4-13 ビタミンB12産生菌の添加量と7日後のワムシ数 (Yuら, 1988)

無菌条件での試験；10個体の無菌ふ化仔虫をパン酵母、B₁₂産生菌とともに試験管に収容し、一週間後に個体数を計数した。A₁、A₃などの記号は菌株を示す。

表 I 4-7 植え継ぎ式培養槽 (日本栽培漁業協会玉野事業場 11m³) におけるビタミンB₁₂収支 (Yuら 1989)

Input	(μg)	Output	(μg)
接種ワムシ	2,486	収穫ワムシ	1,639
懸濁物(※)	359	懸濁物	1,255
海水	217	培養水	2,152
油脂酵母	42		
合計	3,104		5,046

※：ナンノクロロプシスを含む

表 I 4-8 間引き式培養槽 (神奈川栽培漁業センター 150m³) におけるビタミンB₁₂収支 (Yuら 1989)

Input	(μg)	Output	(μg)
接種ワムシ	13,960	収穫ワムシ	36,676
懸濁物(※)	5,300	懸濁物	12,836
海水	1,200	培養水	7,300
ナンノクロロプシス(※)	4,833		
油脂酵母	3		
合計	25,296		56,812

※：培養水中の B₁₂ を含む

増殖阻害性細菌 (Yuら 1990)

神奈川県栽培漁業センター150m³ワムシ槽において1986年の大量死亡時に分離した細菌Y 5株は、ワムシに対して強い致死毒性を示した。ZoBell 2216 E培地により培養した菌体を与えた場合、24時間後のワムシ死亡率は細菌添加量の増加とともに高くなり、LD₅₀は 2.5×10^4 CFU/mlと著しく低い値になった(図 I 4-14)。また、Y 5菌株との接触が長くなると、LD₅₀は更に低くなる傾向にあった。この菌は、海水にパン酵母、油脂酵母またはワムシ培養槽の水を加えただけの培地中でも高い増殖率を示し、18時間後には $10^6 \sim 10^9$ CFU/mlに達するなど、通常のワムシ培養において優占株となる可能性を

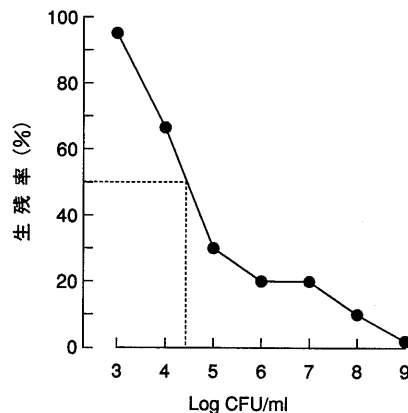


図 I 4-14 Y₅株の菌量と24時間後のワムシ生残率 (Yuら, 1990)

持っており、従来原因不明とされてきた突然の大量死亡の一因となっていることが示唆された。本菌株は、生化学的性状試験により *Vibrio alginolyticus* と同定された。しかし、本種の標準菌株 ATCC 17749 は、ワムシに対して毒性を示さなかったことから、株による変異であると考えられた。

4-7-2 原生動物

原生動物に関する解説ならびに種苗生産の過程で出現する原生動物については、「栽培技術開発研究」に前田 (1986, 1987) によって分かり易く、かつ実用的な解説と図解がなされている。

鞭毛虫, 繊毛虫

本節冒頭にも述べたとおり、ワムシ培養槽内では細菌・原生動物・ワムシは同一の微生物生態系に属していると考えられるべきであるが、例えば原生動物の栄養摂取形態のみから考えても、小型鞭毛虫には細菌と同様に溶存有機物によって増殖するものが多く、これらは細菌と競合関係にあり、また、しばしば出現する *Bodo* や *Monas* などの鞭毛虫、*Euplotes* (図 I 4-15) や *Uronema* などの繊毛虫は細菌を捕食しているが、これは餌料欠乏時に起こるワムシの細菌食性 (I 4-8 「培養槽の物質フロー」を参照) と競合を起こすことが考えられるなど、これら微生物 3 者の存在が互いに拮抗していることが理解される。ワムシ培養の過程を考えてみても、培養の立ち上げ時にワムシの活性が低いときには原生動物密度は高く、次いで培養好調時にはほとんど見られなくなり、やがてワムシが不調に陥ったとき原生動物密度が急激に上昇することなどは、槽内有機物をめぐり 3 者の競合を示す好例と言って良い。

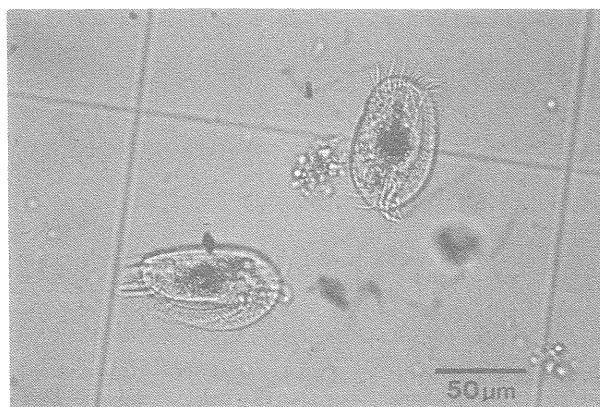


図 I 4-15 ユープロテス *Euplotes* sp.
細胞長径は通常数10 μ m, 大型種では約100 μ m。

原生動物とワムシの直接的な関係について、宇城・日野 (1990) は繊毛虫を含まない実験系を作り、懸濁粒子の経時変化から、ワムシがフロック状に凝集した細菌 (バクテリアフロック) とともに鞭毛虫を捕食していることを定量化した (I 4-8 「培養槽の物質フロー」を参

照)。

これとは反対に、ワムシに対して増殖を阻害すると言われてきたものに数十 μ m から100 μ mにも及ぶ大型の繊毛虫がある。*Euplotes* や *Uronema* は常在種と言えるほど普通に観察され、ワムシの培養が不調の際に突然の増殖を見せることから有害種とみなされたこともあったが、この現象は、先にワムシの摂餌活性が低下したことによって競合関係にあった大型繊毛虫に餌料が行き渡ったためであり、繊毛虫がワムシの増殖を直接阻害したとは考えにくい。その機構について Cheng (1997) は、安定同位体をトレーサーにした実験から、ワムシ培養槽から分離した *Euplotes vannus* は生きたテトラセルミスや酵母をほとんど摂食しないが、活性の低下したそれら細胞や、バクテリアフロック、ワムシ糞などをワムシと競合しつつ利用し、ワムシの活性低下などの場合に培養槽内で優占することを明らかにした。ここでは、ワムシと *Euplotes* の摂餌能力の違い、環境耐性の違いなども相乗的に関係することが述べられている。また Ushiro ら (1998) も、*Euplotes* を個体別飼育して細胞内部を直接観察した結果から、ナンノクロプシスについても、活性の高い細胞は摂食されないことを証明している。間接的な関係については Hagiwara ら (1995) も、培養槽から得た *Euplotes* と S 型ワムシを混合した実験系でワムシの増殖が若干抑制されることを観察し、何らかの細菌の関与を示唆している。

これらの知見からすれば、ワムシと繊毛虫の関係は主に餌をめぐる競合関係であり、給餌した藻類や酵母などの生物餌料が残餌になって活性が低下した場合、また有機物の蓄積が甚だしくなって細菌が大量に発生するなどの場合に繊毛虫が卓越すると考えるのが妥当であろう。しかし原生動物は極めて代謝活性が高く、たとえば体重当りのアンモニア排泄率なども後生動物をはるかにしのぐと言われていることから、何らかの代謝産物によってワムシの増殖を直接的に阻害する可能性も捨てきれない。

太陽虫 *Oxnerella maritima* (Cheng ら 1997)

1993年、日栽協玉野事業場で、ワムシを拡大培養に移行する際に増殖不良が繰り返し起こるようになった。このとき飼育水を孔径0.45, 8, 100 μ mの各種フィルターによって分画したところ、100 μ mのろ液のみがワムシの増殖を阻害した。この分画からは直径10-15 μ mの太陽虫 (Heliozoa) (図 I 4-16) が分離されたが、この原生動物はワムシ培養後の海水を培地とし、餌料として単細胞藻類 *Chlamydomonas* を与えるか、またはパン酵母添加によって細菌の生産が促進される場合10⁶細胞/ml程度まで増殖したが、ナンノクロプシスあるいはテトラセルミス投与下では増殖しなかった。培養した細胞を接触させた場合、ワムシは遊泳力を失って沈降、死亡したが、24時間に半数のワムシを死亡させる太陽虫密度は

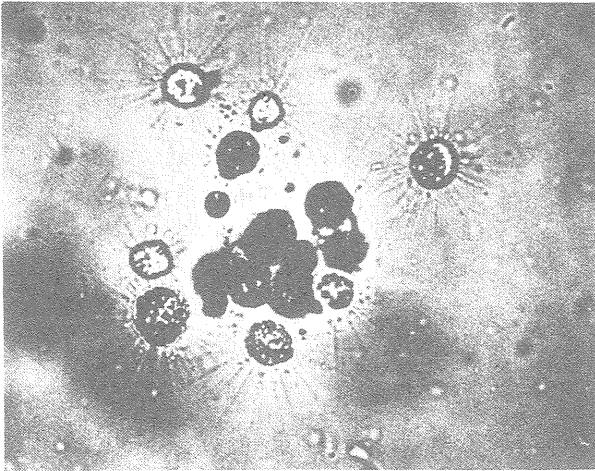


図 I 4-16 太陽虫 *Oxnerella maritima*
多数の放射棘を備える栗のイガ状の殻からアメーバ様の虚足を出す。群体をなすことが多く、低倍率の顕微鏡ではバクテリアフロックと間違いやすい。殻の直径は10 μ m前後（栄養状態で変化）。

10⁴ 細胞/ml と低く、強い致死毒性を有することがうかがわれた。本種は微細構造などから *Oxnerella maritima* と同定され、海産ワムシに対する致死性原生動物としての初記載となった。本種がワムシを殺す機構については、大きさから考えて、淡水生態系で知られているワムシに対する太陽虫の捕食作用とは異なり、接触により何らかの毒物がワムシ体内に入るものと推定されている。

通常はフラスコ内で行われる種培養から大量培養へ移行する際、通常は餌料をナンノクロロプシスやテトラセルミスの単独使用からパン酵母併用に切り替えるが、このことが細菌食性を持つ本種太陽虫の増殖を促し、培養の不調を招いたものと考えられた。

4-7-3 その他の生物

—水中有機物の蓄積に関係するもの—

ワムシの培養に伴って水中に有機物が大量に蓄積すると、下水などに出現するいわゆる「汚水生物群」に分類される様々な生物が卓越し始める。ワムシ培養槽では、溶存態有機物を利用するものとして真菌（いわゆるカビ）、細菌、小型鞭毛虫などが出現し、またそれら微小生物を捕食する、あるいはデトライタス（細菌・原生動物・ワムシの死骸、かけら、糞、それらに細菌の付着したもの等）を摂食する原生動物、後生動物が数多く現れる。直接ワムシを死亡させるものは少ないと考えられるが、同時に進行している極端な有機物蓄積、水質の悪化によってワムシ増殖の停滞、あるいは培養の破綻が時期を同じくして起こるため、原因生物と誤解されることが多い。むしろ、水質悪化を警告する指標生物と考えるべきであろう。

原生動物では、繊毛虫に属するツリガネムシ（*Vorticella*、図 I 4-17）の出現を見ることがある。群体でゆっくりと遊泳するもの、ワムシの体表に付着する

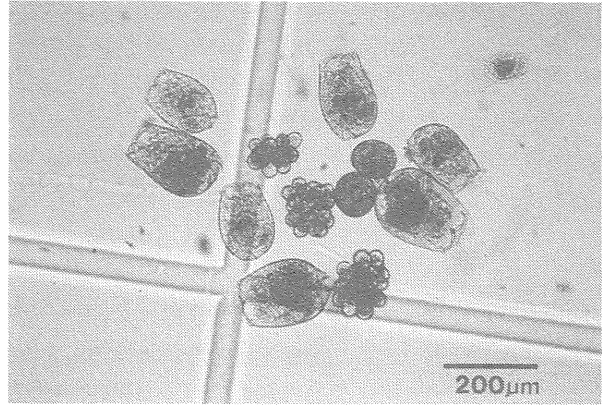


図 I 4-17 ツリガネムシ *Vorticella* sp.
体長数10~200 μ m、約4~5倍の長さの細い柄で物に付着し、柄は収縮と伸張を繰り返す。この写真はルゴール液による固定で柄が収縮、群体がブドウの房のように集合している。

ものなどがある。細菌食性である。

線虫類（図 I 4-18）は、体の構造上ピンピンと振れるような運動しかできない。したがって地物に頼ってしか移動できず、当然遊泳できないので水槽底のヘドロや浮遊するゴミの中に出現する。細菌や微細なデトライタスを摂餌する。

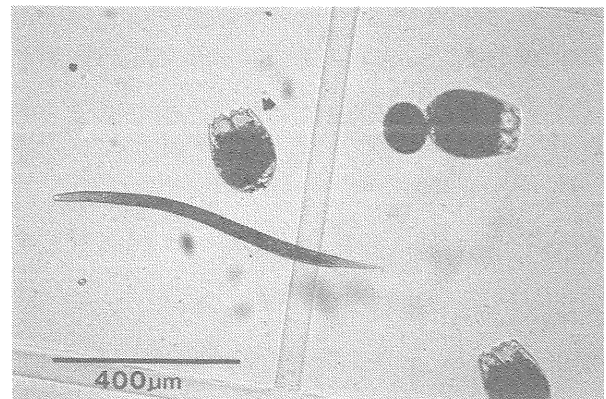


図 I 4-18 線虫
長期の培養など、有機物蓄積が甚だしい底質に出現しやすい。

大型の生物としては、コペポダ（とくに *Tigriopus* 属）、アルテミアなどが出現しワムシを捕食する、糞が収穫ネットに詰まる、仔魚に取り付くなどの問題を起こすが、用水、用具、泥等に由来するものであり、空気中からの飛来が避けられない屋外大型水槽でもない限り管理方法のどこかに問題がある。用水については、砂ろ過程度の処理ではコペポダは卵で侵入し増殖するが、孔径5 μ mのカートリッジフィルターで用水をろ過することによって防除した例がある。また、ナンノクロロプシスを給餌する培養では、それが一般に屋外水槽で培養されるため原生動物やコペポダを含んでいる可能性が高い。

溶存態の有機物を利用する真菌類には、ワムシが携帯している卵の中に菌糸を延ばして行くものがあり、卵がふ化しなくなるという報告が以前からある(磯村ら1982, 丹下ら1984, 村上・馬久地1988, 広川・桑田1988)。Nakamura & Hatai (1994)は、1992年に発生した真菌症の原因種を新種 *Atkinsiella parasitica* と報告した。また Nakamura ら (1994) は、本真菌が実験的にガザミのゾエアに感染することを観察している。また Comps & Menu (1997) は、ワムシの突然死亡の原因にカビのほか、ビルナウイルスの関与を報告している。これに感染した場合、ワムシは異常な行動を示したのち、死亡する。

<ポイント>

ワムシ培養槽中の細菌数は、あらゆる水中の上限値ともいべき値である。ワムシは細菌、原生動物など微生物生態系を形成している。ワムシは排泄によって生態系に有機物を与え、そのことによって増殖が可能になる細菌や原生動物とは、それらが餌になる、ビタミンを供給するなどの相互扶助の関係が見られるが、増殖阻害細菌や致死性の太陽虫も出現する。大型の生物の出現は、空中飛来、用水・器具からの侵入など管理上の問題を示している。

(日野明徳)

4-8 培養槽の物質フロー

ワムシ培養に関しては、餌料として投入した有機物のフローや転換効率を調べた研究は極めて少ない。これは、炭素(C)や窒素(N)などの元素を指標とする場合は言うまでもなく、簡便とされる乾燥重量を指標とする場合でも実験操作が煩雑であり、また、微生物生態系の寄与が極めて大きいために、魚類飼育などの概念が当てはまらないことも研究の発展を遅らせてきた理由であると思われる。しかしながら、植え継ぎ培養や間引き培養など従来法とされるワムシ大量培養が微生物生態系の安定

の結果として成り立っている(I 4-7「生物的環境」を参照)以上、培養の成否や生産性の限界を論ずるうえで、物質フローを理解することは極めて重要な要素となる。さらに、種苗生産施設からの排水、廃棄物の問題を考える上では、最も基本的な情報を提供するものと考えなければならない。

間引き培養における窒素の動向と収支(マリノフォーラム21, 1987より改変)

1986年当時、L型ワムシによる日裁協上浦事業場の間引き培養は比較的高い給餌率を特徴とし、したがってワ

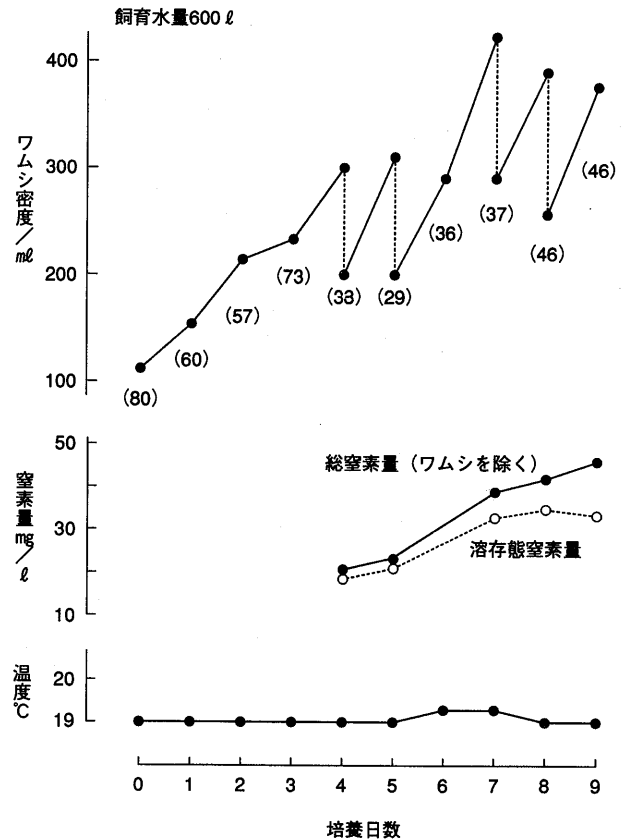


図 I 4-19 日裁協上浦事業場における間引き培養(1986当時) () 内は卵率
マリノフォーラム21 (1987)

表 I 4-9 日裁協上浦事業場の間引き培養(1986当時)における給餌結果。
マリノフォーラム21 (1987)より改変

		培 養 日 数										計
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
給餌データ	ナンクロロプシス海水量 (ℓ)	291	0	0	0	77	106	0	104	103	0	681
	冷凍ナンクロロプシス×10 ¹⁰ 細胞		570	380	570	570	570	570	570	664	0	4464
	パン酵母 (g)	0	150	200	320	270	300	350	300	300	0	2190
N換算値	ナンクロロプシス海水 (細胞分)	5.82	0	0	0	1.54	2.12	0	2.08	2.06	0	13.62
		1.62	0			0.43	0.59	0	0.58	0.57	0	3.79
g・N/槽	冷凍ナンクロロプシス		2.54	1.69	2.54	2.54	2.54	2.54	2.54	2.96	0	19.89
	パン酵母		2.40	3.20	5.13	4.33	4.81	5.61	4.81	4.81	0	35.10

ナンクロロプシス海水中の細胞は 2×10⁷ cells/ml, N含量は 20mg/ml。

表 I 4-10 日裁協上浦事業場の間引き培養（1986当時）における収穫結果。
マリノフォーラム 21（1987）

		培 養 日 数										計
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
A	ぬきとり水量 l	0	0	0	0	200	200	0	200	200	200	1400
B	N濃度 mg/l	0.17				27.8	31.0	51.5		51.6	54.0	
C	ぬきとりN総量(A×B)g・N/槽	0	0	0	0	5.56	6.20	0	10.3	10.3	32.4	64.78
D	ぬきとりワムシ数(卵率)%	×10 ⁶				59.0 (38)	60.4 (29)	0	85.8 (37)	77.6 (46)	225.0 (45)	507.8×10 ⁶
E	同N換算 g・N/槽 (卵を含む)					1.73	1.64	0	2.62	2.11	5.08	13.18

B, Cはワムシを含む

表 I 4-11 日裁協上浦事業場の間引き培養（1986当時）における窒素収支。
マリノフォーラム 21（1987）より改変

Input		g・N/槽	Output		g・N/槽
• 接種ワムシ 卵率 N換算値	69.6×10 ⁶ /槽 80% (卵を含む)	2.23	• 収穫ワムシ (卵を含む)	507.8×10 ⁶	13.18
• 用水 N濃度	1,019l 0.17mg/l		• 排水 (収穫時と間引き時)	(注1)	51.60
• ナンクロロプシス海水 溶存N 細胞N	681l 13.62 3.79		• セディメントに		?
• 冷凍ナンソクロプシス • パン酵母	 19.89 35.10		• フィルターに		7.36
計		74.81	計		72.14+ ?

注1 表 I 4-10 のぬきとりN総量からワムシの分を減じた値

ムシの増殖率も高く、高率（33%）の収穫が可能となっていた。また、冷凍ナンソクロプシスをパン酵母、ナンソクロプシスと併用していることも特徴で、1日のワムシ1個体当りの給餌量は約 $(3 \sim 4) \times 10^{-8} \text{ g} \cdot \text{N}$ であった。これを仮にイースト量に換算してみると、 $(1.9 \sim 2.5) \times 10^{-6} \text{ g/日} \cdot \text{個体}$ を与えていることになり、L型ワムシ上浦株の大きさ $2.24 \times 10^{-8} \text{ g}$ に比して、間引き培養としてはかなり高い（表 I 4-9）。

培養はきわめて順調に経過したが（図 I 4-19）、6日目には、間引きの基準としていた300個体/mlに達しなかったため抜き取りを行わなかった。このときの水中の総N量（懸濁態および溶存態、ただしワムシ分を除く）は、本来ならば収穫に伴う飼育水の抜き取りによって捨てられる分が残留したために急激に増加し、グラフの傾きからの予測ではさらに4～5日後に到達すべき値にわずか2日で達している。水質管理の観点からすると、このようにワムシ密度が基準に達しないと言う理由で収穫を止めた場合に、急激な水質悪化を招くことが間引き培養の最大の欠点である。

給餌・収穫の結果をそれぞれ表 I 4-9, 10に、培養全般にわたるN収支を表 I 4-11に示した。なおセディメ

ントラップの値は信頼性に欠けたため除外した。ワムシに餌料として与えたパン酵母およびナンソクロプシス細胞のN換算値の合計とワムシ生産量（収穫量と摂取量の差）の比は58.78:10.95となり、したがって窒素を指標としたワムシへの転換効率は18.6%となった。

植え継ぎ培養における窒素の動向と収支（マリノフォーラム21, 1987より改変）

1986年、石川県増殖試験場においてL型ワムシ（ $4.67 \times 10^{-8} \text{ g}$ ）の植え継ぎ培養実験を2面の水槽で同じ管理のもとに実施した。給餌量（表 I 4-12）を見ると培養初日にはナンソクロプシスのみでワムシ1個体当たり $9.5 \times 10^{-8} \text{ g} \cdot \text{N}$ となった。翌日からはパン酵母給餌に切り替えたが、ワムシ1個体当りの給餌量を毎日計算すると、培養全期間の給餌量はワムシ1個体当たり $(6 \sim 9.5) \times 10^{-8} \text{ g} \cdot \text{N}$ になった。これを仮にパン酵母に換算すると $(2.4 \sim 3.9) \times 10^{-6} \text{ g/日} \cdot \text{個体}$ となり、間引き培養の全国平均値より高いものの、植え継ぎ培養としては平均的な数値となる（換算の根拠については前項、間引き培養を参照）。

培養は順調な推移を見せたが、3日目以降は環境抵抗の増加によって増殖率がやや低下し始めた様子うかが

表 I 4-12 石川県増殖試験場の植え継ぎ培養 (1986当時) における給餌結果。
マリノフォーラム 21 (1987) より改変

No.1 水槽

		培養日数					合計
		0	1	2	3	4	
給餌データ	ナンノクロロプシス海水 1	1000					1000
	細胞密度 $\times 10^7/ml$	2.0					
	パン酵母 g		200	300	300		800
N 換算値	ナンノクロロプシス海水 $g \cdot N/槽$	20.0					20.0
	うち細胞分 $g \cdot N/槽$	9.48					9.48
	パン酵母 $g \cdot N/槽$		5.23	7.85	7.85		20.93

ナンノクロロプシス海水の N 含量は 20mg/l

No.2 水槽

		培養日数					合計
		0	1	2	3	4	
給餌データ	ナンノクロロプシス海水 1	1000					1000
	細胞密度 $\times 10^7/ml$	2.0					
	パン酵母 g		200	300	300		800
N 換算値	ナンノクロロプシス海水 $g \cdot N/槽$	20.0					20.0
	うち細胞分 $g \cdot N/槽$	9.48					9.48
	パン酵母 $g \cdot N/槽$		5.23	7.85	7.85		20.93

ナンノクロロプシス海水の N 含量は 20mg/l

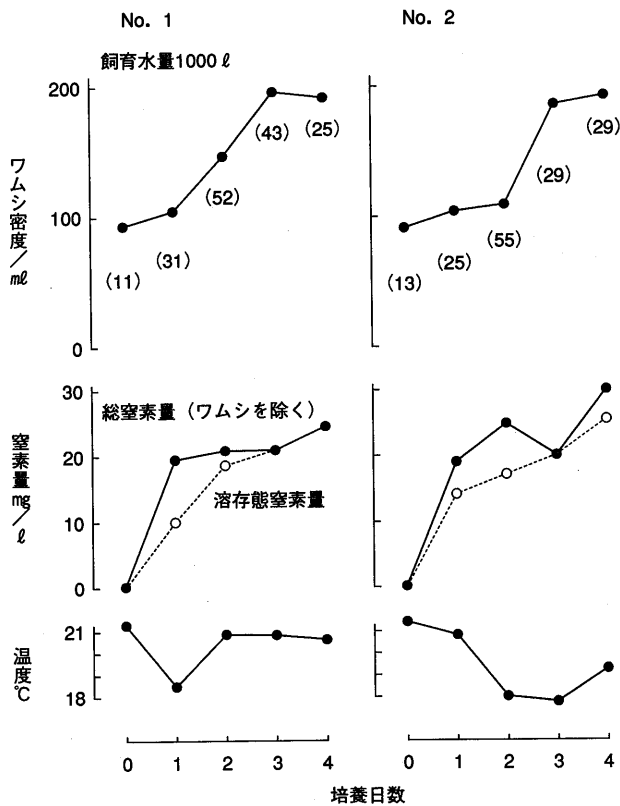


図 I 4-20 石川県増殖試験場の2水槽での植え継ぎ培養 () 内は卵率
マリノフォーラム 21 (1987)

える (図 I 4-20)。水中の N 量では、培養開始後 1 日の間に急激な増加が見られ溶存態 N が 10mg/l を超えているが、これは培養開始時にナンノクロロプシスをほとんど希釈せずに使用するためであり、植え継ぎ培養に共通する現象である。この培養では常に残餌が存在していたために、水中の懸濁態 N 量 (総 N と溶存態 N の差) が大きかったが、これには培養水温が低いために摂餌活性が抑えられていたことが考えられる。

表 I 4-13 石川県増殖試験場の植え継ぎ培養 (1986当時) における収獲結果。マリノフォーラム 21 (1987) より

No.1 水槽

A	ぬきとり水量 1	1000
B	N 濃度 mg/l	32.3
C	ぬきとり N 総量 (A×B) $g \cdot N/槽$	32.3
D	ぬきとりワムシ数 (卵率) %	187×10^6 (25)
E	同 N 換算 $g \cdot N/槽$ 卵を含む	8.62

B, C はワムシを含む。

No.2 水槽

A	ぬきとり水量 1	1000
B	N 濃度 mg/l	39.0
C	ぬきとり N 総量 (A×B) $g \cdot N/槽$	39.0
D	ぬきとりワムシ数 (卵率) %	197×10^6 (29)
E	同 N 換算 $g \cdot N/槽$ 卵を含む	9.91

B, C はワムシを含む。

ワムシに餌料として与えたパン酵母およびナンノクロロプシス細胞の N 換算値の合計 (表 I 4-13) とワムシ生産量 (収獲量と摂取量の差) の比から求めた転換効率は No.1 水槽で 13%, No.2 水槽で 19% となった (表 I 4-14)。

表 I 4-14 石川県増殖試験場の植え継ぎ培養 (1986当時) における窒素収支。
マリノフォーラム 21 (1987) より改変

No. 1 水槽

Input		g・N/槽	Output		g・N/槽
• 接種ワムシ 卵率 N換算値	94×10 ⁶ 槽 11%	4.63	• 収穫ワムシ (卵を含む)	187×10 ⁶	8.62
• 用水 N濃度 総N量	ℓ		• 排水 (収穫時)	(注2)	23.08
ナンノクロロプシス海水 溶存N 細胞N	1000ℓ (注1)	10.52 9.48	• セディメントに		6.08
• パン酵母		20.93	• フィルターに		2.47
計		45.56	計		40.25

注1: 表 I 4-12 ノナンノクロロプシス海水の値から細胞分を減じた値

注2: 表 I 4-13 のぬきとりN総量からワムシの分を減じた値

No. 2 水槽

Input		g・N/槽	Output		g・N/槽
• 接種ワムシ 卵率 N換算値	94×10 ⁶ 槽 13%	4.13	• 収穫ワムシ (卵を含む)	197×10 ⁶	9.91
• 用水 N濃度 総N量	ℓ		• 排水 (収穫時)	(注2)	29.09
ナンノクロロプシス海水 溶存N 細胞N	1000ℓ (注1)	10.52 9.48	• セディメントに		8.68
• パン酵母		20.93	• フィルターに		2.50
計		45.06	計		50.19

注1: 表 I 4-12 ノナンノクロロプシス海水の値から細胞分を減じた値

注2: 表 I 4-13 のぬきとりN総量からワムシの分を減じた値

大量培養槽における餌料転換効率と餌料リサイクル

Ushiro ら (1990) は、神奈川県栽培漁業センターの屋外150m³ 培養槽 (当時) 4 面において、ナンノクロロプシス及び油脂酵母の併用給餌による間引き方式でワムシ生産を行なった。この時、ワムシ密度、間引きによる収穫量、給餌量のほか、培養水の全窒素量、溶存態窒素量、懸濁態窒素量、亜硝酸態窒素量、硝酸態窒素量及びアンモニア態窒素量を測定し、培養終了時には堆積物中の全窒素量を測定した。また、餌料及びワムシについても窒素量を求めたうえで、培養槽への窒素投入量(input)として、接種したワムシ量、給餌量及びナンノクロロプシスの培養水窒素量を、また窒素採取量(output)として毎日及び培養終了時のワムシ収穫量、それに伴う排水量及び堆積物量を算出した後、培養全期間の窒素収支及び日間窒素収支について評価した。

培養全期間の窒素収支に関連して、総給餌量に対するワムシ収穫量から餌料転換効率を算出した結果、58.8~70.8%という、動物飼育の常識を超える高い値が得られた (表 I 4-15)。また、日間の窒素収支については、

$$\text{給餌量} < (\text{成長量} + \text{排出量})$$

$$1.89 \quad 1.42 \quad 2.69 \times 10^{-3} \text{gN/日/個体}$$

となり、ナンノクロロプシスおよび酵母による給餌量が、ワムシの成長量及び排出量の和より少なくなった。動物の飼育に関しては、当然の事ながら、

$$\text{給餌量} > (\text{成長量} + \text{排出量})$$

の関係にあるが、この関係が逆転していることがわかる。

この極端に高い餌料転換効率及び、日間収支に見られる逆転関係から、ワムシは人為的に与えた餌料以外に、ワムシ排泄物を利用して増殖する細菌類や鞭毛虫、またその1段階高次にある絨毛虫等を摂餌していることが予

想される。

日野ら (1981) は、活性汚泥の熱乾品粉末を利用したワムシ培養において発生する細菌類や鞭毛虫を分離し、細菌のみあるいは鞭毛虫のみを与えた場合のワムシへの窒素および炭素の転換効率を測定した。鞭毛虫の出現種は Bobo 科 *Rhynchomonas sp.*, *Pleuromonas sp.* および Amphymonas 科 *Amphymonas sp.* であり、ごく一般的にワムシ培養槽に出現する種と判断された。ワムシへの転換効率は N, C いずれについてもほぼ 40~50% (表 I 4-16) という高い値が得られ、細菌や鞭毛虫がワムシの増殖にとって良好な餌料になっていることが裏付けられた。

表 I 4-15 屋外 150 t 水槽での間引き培養における窒素収支 Ushiro ら (1990)

	水 槽 (100 t)			
	1	2	3	4
input [Ng]				
<i>Nannochloropsis</i>	2528	1196	1806	3160
油脂酵母	658	568	499	431
予備培養培養水	5577	2638	3985	6971
接種ワムシ	134	105	147	?
合 計	8897	4507	6437	10562
Output [Ng]				
収穫ワムシ	1874	1249	1415	2337
培 養 水	8857	5348	6729	13059
沈 殿 物	460	232	372	411
合 計	11191	6829	8516	15807
餌料効率 [%]	58.8	70.8	61.4	65.1

表 I 4-16 原生動物および細菌摂食時のワムシにおける増殖率*, ろ水率及び転換効率 (日野ら, 1981)

	実験時間	餌 料 濃 度	増殖率	ろ 水 率	摂 餌 率	転換効率
餌 料 生 物	hrs.	cells/ml μgC/ml μgN/ml	/hr.	μl/individ./hr.	cells/individ./hr. ng C/individ./hr. ng N/individ./hr.	C N
原 生 動 物	16.5	1.75×10 ⁵ 1.31 0.345	0.0170	8.13	1.42×10 ⁶ 10.62 2.80	0.464 0.428
細 菌	12.5	1.91×10 ⁷ 1.82 0.585	0.0090	3.37	6.83×10 ⁷ 6.52 2.09	0.517 0.392

*は乾重量より求めた

餌料リサイクルにおける細菌・鞭毛虫の機能 (実験系による評価)

宇城・日野 (1990) は、蛍光顕微鏡及び、水中の懸濁粒子の粒径と数を高精度に測定できるパーティクルカウンターを用いてワムシ培養時の細菌とバクテリアフロックの消長を調べ、ワムシによる細菌捕食を定量化した。実験は、種苗生産現場の培養を模した条件で 2l フラスコを用いて行われた。

図 I 4-21は、粒子の相当球直径 (パーティクルカウンターは粒子体積で分画するので、これを同体積の球体の直径に換算したもの) ごとに、粒子の数を経時的に観測したものである。直径 2~5 μm の分画で斜線を施してある部分は、粒子のうち ナンノクロロプシスを表している。同サイズ分画の実験区では、ナンノクロロプシスはワムシの摂餌により減少し続け、およそ 33 時間後に

食べ尽くされた。

ナンノクロロプシスが食べ尽くされる以前についてみると、ナンノクロロプシスを含まない 5 μm 以上の分画では粒子はほぼ単調に増加を続けるが、33 時間目を境に急激に減少することがわかる。すなわち、ワムシはナンノクロロプシスがある閾値 (図の 24 時間目と 33 時間目の間と考えれば約 100 万細胞/ml) 以上に存在する限りそれを食べ続けるが、食べ尽くした時点でバクテリアフロック食性に転換するものと考えられた。安定した微生物生態系が確立したと考えられた 16~24 時間目の数値および 48 時間目以降の数値を用いて計算したワムシによるバクテリアフロック摂餌量は 1 個体当たり約 1.9×10⁵ μm³/hr となり、これはナンノクロロプシスの 17,700 細胞、食べ尽くす以前のナンノクロロプシスに対する摂餌量の約 2 倍に相当した。

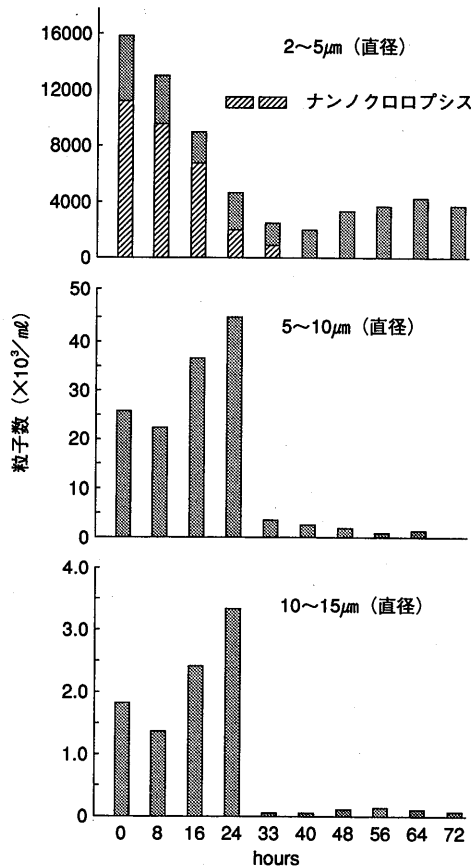


図 I 4-21 ワムシ培養時の水中粒子サイズ別分布の経時変化 (宇城・日野1990より作成)

連続培養における窒素の動向

Aoki & Hino (1996) は、ケモスタット (II 3 新しく開発された連続培養法) による 2l 規模の連続培養系を作成し、餌料として投入された窒素が水中でワムシ (S 型ワムシタイ株、ただし原文ではシオミズツボワムシ)、細菌などに転換して行く様子を定量した (図 I 4-22)。ほぼ 600 個体/ml のワムシ密度を 0.96 および 2.6×10^6 細胞/ml に餌料濃度を変えた 2 つの実験系で維持した際、いずれにおいても給餌量の 20% 程度の窒素が細菌フロックの形でリサイクルされていた。前項に述べたとおり、ワムシの細菌食はナンノクロロプシスが大量に存在するときには起こらないと考えられているが、ケモスタットは給餌密度を下げることでワムシ密度を制御するシステムであるから、当然のことながら、「ケモスタット 2)」のナンノクロロプシス密度 (2.6×10^6 細胞/ml) でさえ閾値以下であったことが理解される。給餌からワムシへの窒素転換効率は、2 つの餌料濃度について 27% (18/66.7) および 19% (18.9/97.2) であった。

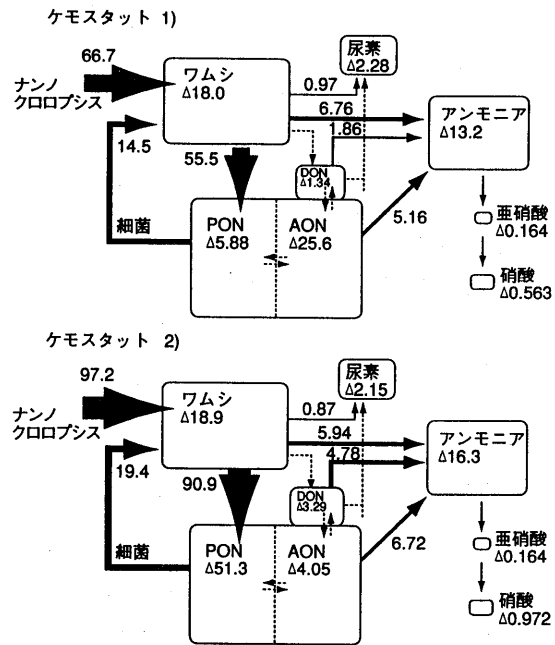


図 I 4-22 連続培養における窒素の流れ (Aoki & Hino 1996 より) ほぼ 600 個体/ml のタイ株ワムシを 0.96 および 2.6×10^6 cells/ml (それぞれケモスタット 1 および 2) のナンノクロロプシス濃度で維持したときの結果。数値は N の収支 ($\mu\text{g atom N} \cdot \text{hour}$) (白三角は増加を表す)。DON は溶存態有機窒素、AON は器壁に付着する窒素、PON は懸濁態有機窒素。

<ポイント>

給餌に由来する有機物負荷がワムシ増殖に対する環境抵抗として蓄積する。間引き培養は、収穫によってこれを抜き取ったのち海水の補給で薄める方式であり、植え継ぎ培養は環境抵抗が最大になる手前で培養を止める方式である。有機物は水中に共存する細菌が同化、バクテリアフロックとなって直接ワムシに食われる、あるいは鞭毛虫を経由してワムシに食われるなど、餌料のリサイクルが起こっている。

(日野明徳)

4-9 培養状態の評価法—交叉培養検定法—

メッシュサイズの異なるネットやフィルターでろ過した培養水やそれを滅菌処理したものにワムシを接種し、各種濃縮餌料を給餌して培養を行い、それぞれの増殖状態によって培養水中の溶存態物質、微生物あるいはワムシの状態のどこに問題があるのかを診断する方法である。この方法は、問題の起きた時点で即座に結果はわからないが、問題の所在を推定するために有益である。現在、行われている検査法には以下のピーカーやフラスコなどによるものと、組織培養用マイクロプレートによるものがある。

ピーカー、フラスコなどによる検査

連続培養中のワムシの急減時の培養について、各種ろ過などの処理を行った培養水にワムシを接種して増殖を

調べた*。検査は100ml ビーカーに試験水80ml を接種し、ワムシを約80個体/ml になるように加え、28℃の恒温水槽内で3日間の培養を行った。計数は1日1回行

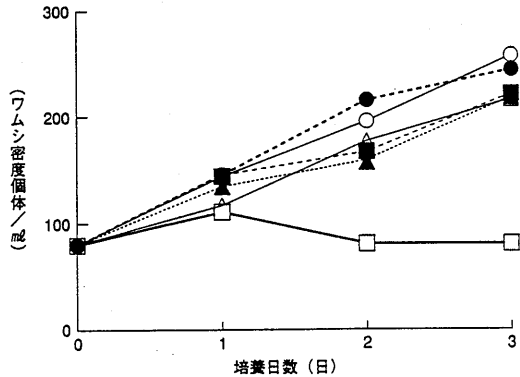


図 I 4-23 ビーカーでの交叉培養検定法によるワムシ密度の経日変化 (マリノフォーラム21平成4年度報告書より作図*)

- GF/C (8μm) フィルターろ過培養水
- GF/C (8μm) フィルターろ過滅菌培養水
- △ 0.22μm フィルターろ過培養水
- ▲ 0.22μm フィルターろ過滅菌培養水
- ろ過海水区
- 滅菌ろ過海水区

い、ワムシ密度の変化を調べた。餌として冷凍ナンノクロロプシスを1日2回投与し、餌料密度を500万細胞/ml 以上に維持した。処理方法はGF/C (8μm 以上の粒子を除去) フィルターろ過培養水, 0.22μm ミリポアフィルターろ過培養水, 対照区の新鮮ろ過海水とそれぞれのオートクレーブ滅菌とした。その結果, GF/Cフィルターろ過培養水に接種したワムシの増殖が悪く, 顕著な増殖阻害が観察された (図 I 4-23)。しかし, 同ろ過海水をさらに滅菌処理した海水中では他と同様な増殖が見られている。この結果は増殖阻害要因が滅菌処理により活性を失った事を示している。また, GF/Cろ過滅菌区と0.22μm ろ過培養水区の間に差はなく, この2つの処理は同一の増殖阻害因子を除去していると判断された。以上より, この事例の急減要因は0.22μm 以上, 8μm 以下の生物が原因と推定され, ワムシの増殖を阻害する微生物相が大きくかかわっていると考えられた。

ワムシ大量培養の不調原因を探索するため, 同様な手法で0.45, 8, 100μm の各種フィルターによって分画した培養水で検査を行ってワムシに有害な分画を探索し,

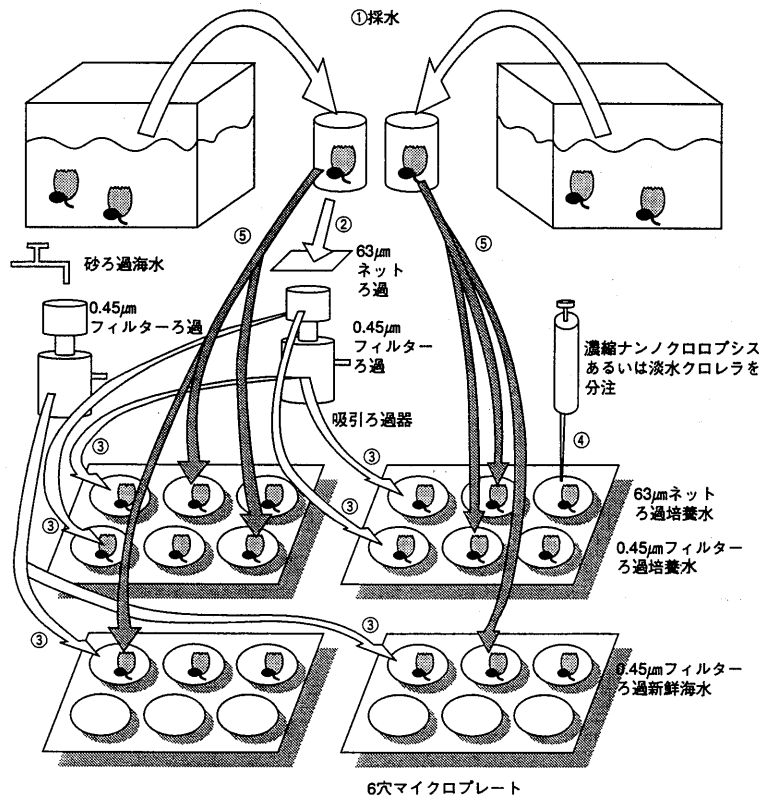


図 I 4-24 マイクロプレートによる交叉培養検定法の実施手順

- ① 試験水槽と対照水槽から採水
- ② 各培養水を63μm ネットと0.45μm フィルターでろ過
- ③ 両分画培養水および0.45μm フィルターでろ過した新鮮海水の各5ml を6穴マイクロプレートに各3穴づつ入れる
- ④ 餌料として屋外培養ナンノクロロプシスを遠心分離, 洗浄, 濃縮したもの, あるいは淡水クロレラを設定密度になるように分注する
- ⑤ 実体顕微鏡下で計数しながら採取したワムシ10尾を各穴に入れる
- ⑥ 6穴マイクロプレートに蓋をして, 乾燥しないように周囲を塞ぐ
- ⑦ 6穴マイクロプレートを20~25℃に設定した恒温器内の振とう機にのせる
- ⑧ 5日後の各穴のワムシ個体数を計数する

*平成4年度ワムシ連続培養システム基礎研究に関する報告書 (非公開)

(社)マリノフォーラム21種苗生産システム研究会ワムシ連続培養システム基礎研究グループ

太陽虫が見つけれられた事例は前述のとおりである (I 4-7-2「原生動物, 太陽虫」を参照)。

マイクロプレートによる検査

日裁協能登島事業場では各種培養中に問題個所の探索を行っている。組織培養用6穴マイクロプレートに精製水を加えて20pptに塩分濃度を調整した各処理水5mlを入れ、ナンノクロロプシスを遠心分離、濃縮したものを加えて約1,000万細胞/mlになるように調整、あるいは淡水クロレラを約500万細胞/mlに調整し、それぞれの培養水からワムシ10個体をピペットで拾い上げて接種した(図I 4-24)。培養水などの処理方法は0.45 μ mフィルターろ過と63 μ mネットろ過及び新鮮海水の0.45 μ mフィルターろ過を用いた。マイクロプレートの本体と蓋の間は乾燥を防止するためにビニールテープで塞いだ。これを20 $^{\circ}$ C恒温器内に設置した振とう機上に設置し、5日後にワムシ個体数を計数した。各区は3区を設けて、この平均個体数から計算した比増殖率により判定した。その結果、63 μ mネットろ過処理間引き培養水中での増殖は間引き培養ワムシと対照区ワムシのどちらを接種した場合でもろ過海水や0.45 μ mフィルターろ過処理間引き培養水での増殖よりやや劣った(図I 4-25)。この結果はワムシの増殖を阻害する0.45 μ m以上、63 μ m以下のサイズの有害微生物の存在を示唆している。

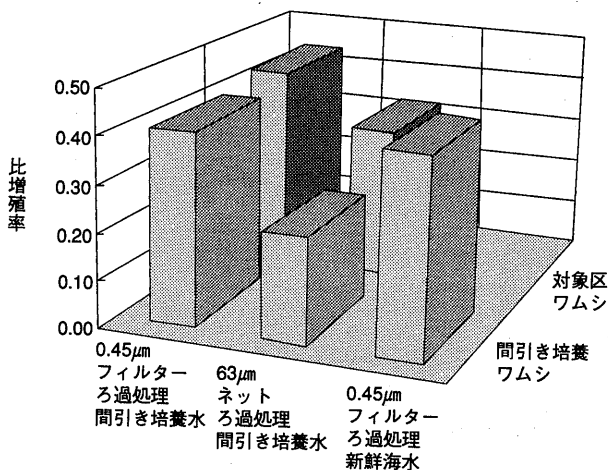


図 I 4-25 交叉培養検定による培養状態の評価結果
20 $^{\circ}$ C, 60%希釈海水, 淡水クロレラ約500万細胞/ml, 5ml中に10個体のワムシを収容し, 5日間の増殖から計算

この方法により, ワムシ, 餌料, 培養水あるいは海水を各種のフィルターろ過又は滅菌処理した水とを組み合わせれば問題の所在の推定が可能となる(表II 2-5, 図II 2-19に餌料の比較を行った事例, 図II 2-27, 図II 3-22に培養状態の判定を行った事例を示す)。

<ポイント>

ワムシ培養の好不調の原因をワムシ自体, 餌料, 原生動物, 細菌, 培養水に因数分解することにより, 問題の所在の推定が可能となる。

4-10 活力

海産ワムシ類の培養における大きな問題点は, 培養過程でワムシ密度の急減や増殖不調が起り, 培養の安定性が悪いことである。これらの増殖率の低下を予測することができれば, 事前に培養環境の改善ができ, 計画的で安定的な生産ができると考えられる。ワムシの増殖予測の指標としては, 増殖率, 総卵率, 遊泳状態 (Snell *et al.* 1987, Korstad *et al.* 1995), 培養水の粘性 (Hagiwara *et al.*) 及びグルコシダーゼやエステラーゼ酵素の活性 (De Araujo *et al.*) などが報告されているが, いまだに実用的な指標にはなっていない。小磯・日野 (1999) は, ワムシの増殖予測と個体レベルの活力との関係を探るため, 摂餌能力の指標としては「胃腸面積比」と「摂餌個体率」, 若令個体の割合の指標としては「背甲長組成」, ストレスに対する耐性の指標としては「高塩分耐性」を定量化した。以下の実験は全てL型ワムシ近大株を用いて行った。

胃腸面積比

ワムシが淡水クロレラを摂餌した時に体内の胃腸部分

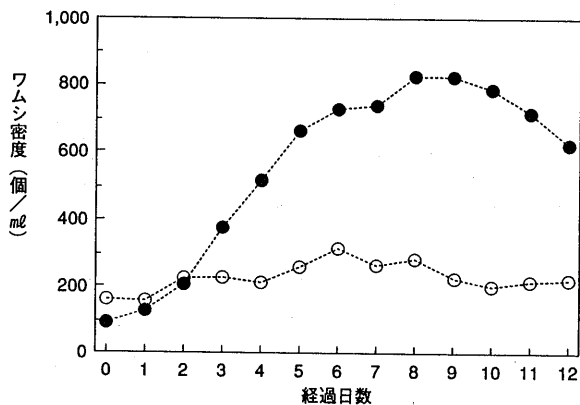


図 I 4-26 培養事例 I, II のワムシの増殖状況
(小磯・日野1999)
●●●: 培養事例-I ○○○: 培養事例-II

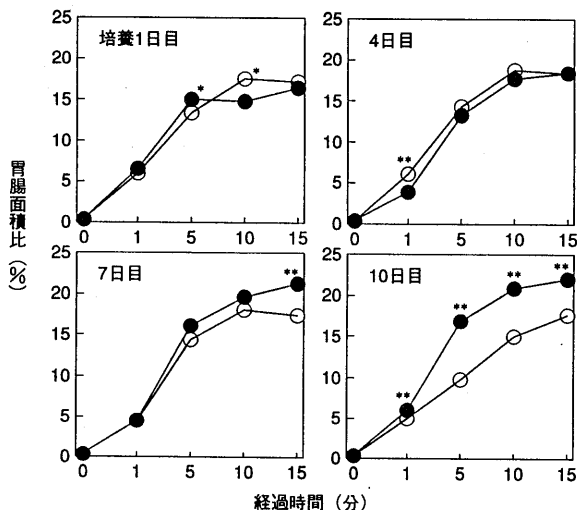


図 I 4-27 培養事例 I, II の胃腸面積比の変化
(小磯・日野1999)
●: 培養-I ○: 培養-II
** : (p<0.01), * : (p<0.05)

が緑色に変色することから、顕微鏡視野内で背甲と胃腸が占める面積をそれぞれ測定し、胃腸面積比（胃腸面積／背甲面積，％）を求め、これと増殖予測との関係を検討した。実験方法は、培養状態が良好であった培養事例Ⅰと不調であった培養事例Ⅱから、培養1, 4, 7及び10日目にワムシを抜き取り、ろ過海水に5時間収容して飢餓状態にした。そのワムシを淡水クロレラ密度を1,000万細胞/mlとした海水に移し入れ、収容後1, 5, 10及び15分後に2%ホルマリンで固定し、それぞれのワムシの胃腸面積比を調べた。この結果、胃腸面積比は培養7日目までは培養事例Ⅰ, Ⅱともに有意な差はみられなかったが、増殖ピークを過ぎた培養10日目には培養事例Ⅰに比べ培養事例Ⅱは有意に低下した（図I 4-26, 27）。このことから胃腸面積比は、培養状態が極端に悪化した場合にのみ有意な差が生じるため増殖予測の指標性は低いと考えられる。

摂餌個体率

ワムシ体内に緑色を有する個体を摂餌個体として、摂餌個体率と増殖予測の関係を検討した。実験方法は、培養開始時から終了まで培養水槽から毎日ワムシを抜き取り、胃腸面積比の実験と同様な方法で、飢餓状態にしたワムシに淡水クロレラを摂餌させ、収容10分後に2%ホルマリンで固定し、それぞれの摂餌個体率を求めた。この結果、摂餌個体率は培養の経過に伴ない低下し、増殖ピーク付近で最も低くなり、増殖とは逆の相関がみられた（図I 4-28）。この方法は顕微鏡観察により簡単に調べることができるため、実用化の可能性をさらに検討する必要がある。

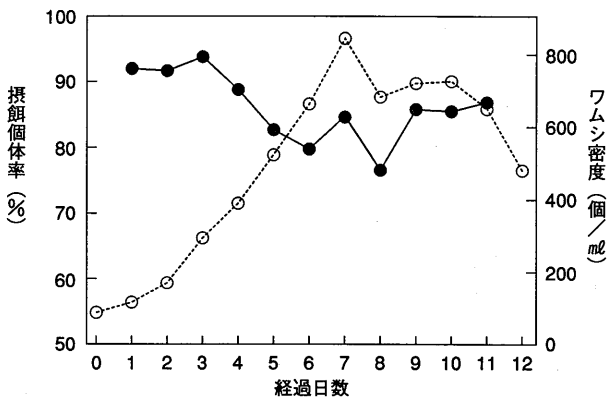


図 I 4-28 摂餌個体率とワムシの増殖状況

(小磯・日野1999)

●：摂餌個体率 ○：ワムシ密度

背甲長組成

摂餌個体と無摂餌個体の背甲長組成と増殖予測の関係を検討した。実験方法は、摂餌個体率の実験と同じ培養水槽から培養1, 3, 5, 7, 9及び11日目のワムシの背甲長を摂餌個体で100個体、無摂餌個体で50個体ずつ1μmの単位で測定し、それぞれの背甲長組成を調べた。

この結果、摂餌個体の背甲長組成は、培養9日目までは大きな変化はなかったが、ワムシ密度が減少し始めた培

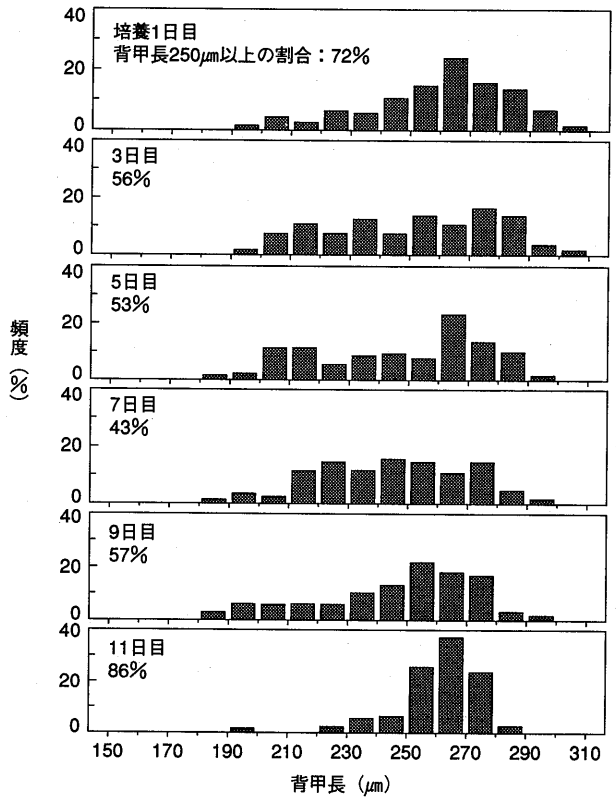


図 I 4-29 摂餌個体の背甲長組成 (小磯・日野1999)

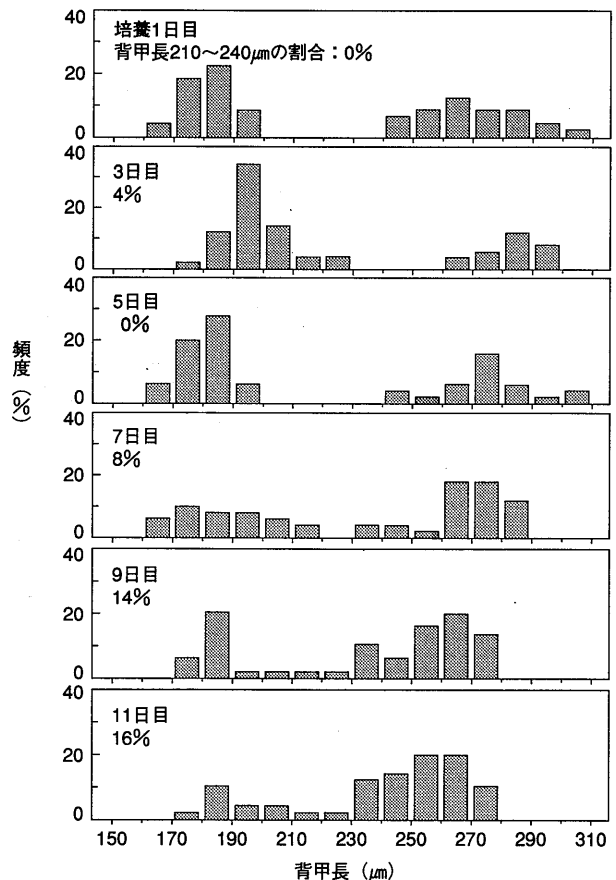


図 I 4-30 無摂餌個体の背甲長組成 (小磯・日野1999)

養11日目には背甲長250 μm 以上が大部分を占め、仔虫の加入が観察されなくなった(図I 4-29)。一方、無摂餌個体の背甲長組成は、背甲長210~240 μm の範囲での出現率が培養5日目までは0~4%であったが、増殖ピークの培養7日目には8%、培養11日目には16%と増殖ピーク以降に高くなった(図I 4-30)。摂餌個体の背甲長組成は、培養状態が極端に悪化した時のみ変化するため、増殖予測の指標性は低いと考えられる。

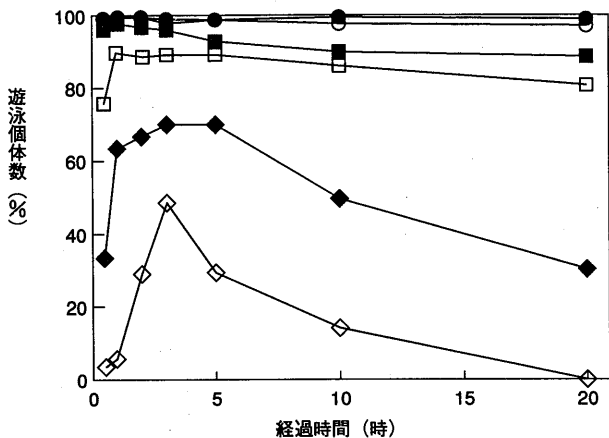
一方、無摂餌個体の背甲長組成は、背甲長210~240 μm のまだ若いワムシが摂餌できないことは何らかの培養環境の悪化を示唆していると考えられるため、増殖予測の指標化の可能性は高いと考えられる。

高塩分耐性

高塩分海水に入れた時のワムシの遊泳個体率と増殖予測の関係を検討した。まず、このワムシの負荷として適切な塩分濃度と調査時間を検討した。実験方法は、ろ過海水に塩化ナトリウム(NaCl)を添加して、計算上塩

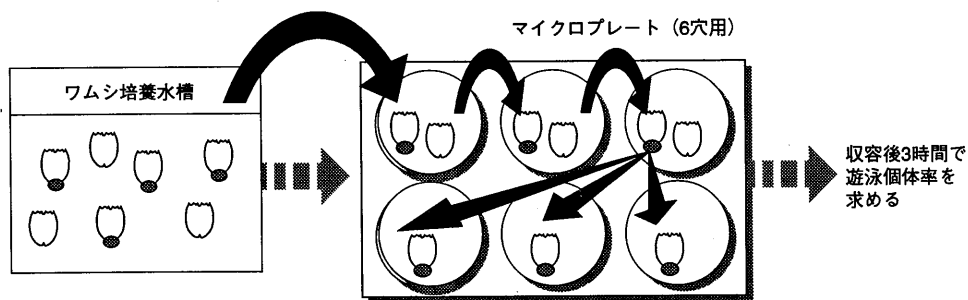
分濃度が34, 40, 50, 60, 70及び80pptになるよう調整し、ワムシの収容時間は0.5, 1, 2, 3, 5, 10及び20時間とした。各時間ごとに遊泳個体を計数し、全個体に対する割合(遊泳個体率, %)を高塩分耐性とした。この結果、塩分濃度60ppt以上でワムシに負荷がかかり、80pptでは遊泳個体率の変動が大きく過負荷と思われるため、70pptを採用した(図I 4-31)。その場合の収容時間はリアルタイムに測定する必要があることや、測定値が比較的安定していることから3時間とした。実験は、培養開始時から終了まで毎日ワムシを抜き取り、図I 4-32に示した方法で行った。この結果、携卵個体の方が非携卵個体よりも反応が大きく携卵個体の高塩分耐性は、増殖ピーク付近で前日の値から急激な低下がみられ、その変化の大きさやその後のワムシ密度の減少からみて、増殖予測の指標になり得ると考えられる(図I 4-33)。

今回の実験結果から、胃腸面積比と摂餌個体の背甲長組成は、培養状態が極端に悪化した時のみ変化し、活力の低下は示したが増殖予測の指標にはならなかった。これは種苗生産現場で行われている培養水の残餌状況や仔虫の出現割合も同じであると考えられる。今回の活力評価法の中では、携卵個体による高塩分耐性がその後の個体群の増殖予測の指標として、最も信頼性が高く、調査時間も3時間と短いことで種苗生産現場でも実用性のある方法と考えられる。ワムシ培養の作業行程の中に、この活力判定法を組み入れることで、これまで判断が困難であった植え継ぎ時期の決定や活力良好な元種ワムシの選定ができ、より計画的で安定的な生産ができると考えられる。また、一般的にはワムシの栄養強化が行われているが、この時に活力良好なワムシを用いることで設定どおりの栄養強化ができ、これは種苗の質的な向上にもつながるものと考えられる。



図I 4-31 各塩分調整海水での経過時間ごとのワムシの遊泳個体率の変化 (小磯・日野1999)

● : 34ppt ○ : 40ppt ■ : 50ppt
 □ : 60ppt ◆ : 70ppt ◇ : 80ppt



図I 4-32 高塩分耐性の調査方法 (L型ワムシ近大株)

- ① 対象となるワムシにおいて、負荷として適切な塩分濃度と調査時間を把握する。L型ワムシ近大株では塩分濃度は70pptで調査時間は収容後3時間が有効であった。
- ② 70ppt調整海水をマイクロプレート6穴全てに5mlずつ入れ、1穴に培養水槽から採取したワムシを収容する。
- ③ 負荷となる塩分海水の濃度が低下しないようにワムシを2回植え継ぐ。
- ④ 植え継ぎ後、携卵個体のみを取り出し他の3穴に30個体ずつ収容する。
- ⑤ 収容後3時間で3穴の遊泳個体率をそれぞれ調べ、平均値を求める。

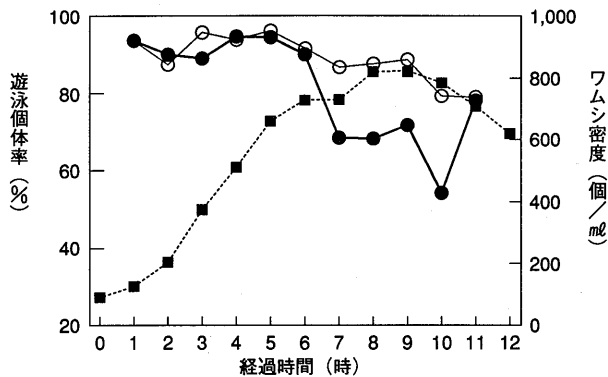


図 I 4-33 70ppt塩分調整海水での遊泳個体率とワムシの増殖状況 (小磯・日野1999)

●: 携卵個体 ○: 携卵個体 ■: ワムシ密度

<ポイント>

高塩分海水に収容した時のワムシの遊泳個体率は、増殖予測の指標として実用性のある活力判定法の1つである。このような活力評価法を採用することで、植え継ぎ時期の決定や活力良好な元種ワムシの選定ができ、大量培養における計画性や安定性がより高くなる。

(小磯雅彦)

5 増殖生理

5-1 栄養要求

ワムシの栄養要求に関する研究は、培養液の開発、餌料の探索など大量培養技術の確立にとって重要な意味を持つと考えられるにもかかわらず、知見は多くない。現在、ビタミンに関する研究例を見るのみであるが、大量培養技術の発展に尽くした功績は大きい。

海産魚人工種苗の量産が可能になった背景には、平田・森 (1967) によって開発された、パン酵母によるシオミズツボワムシ大量培養の成功がある。一方、パン酵母のみでワムシを培養することが多くの場合困難であることは当初より知られており、植え継ぎ培養では培養開始時に、また、間引き培養では毎日の収穫水量相当分を補充するかたちでナンノクロプシスを使用することが経験的に行なわれてきた。近年、無菌培養による研究が行なわれるようになり、その成果として Hirayama & Funamoto (1983) が、「パン酵母には、Scott (1981) によって必須ビタミンとして報告された B₁₂ がほとんど含まれない」と指摘したことが、ワムシの栄養要求に関する研究の先駆けになると同時に、パン酵母によるワムシ培養の不安定性解明に糸口を与えることとなった。なお、餌料に B₁₂ を添加するという観点では、これらの研究に先立って久保田ら (1976 口頭発表) が、淡水クロレラに B₁₂ を添加した際のワムシへの効果を報告してい

る。

「I 4-7-1細菌」に詳しく述べるように、この必須ビタミン B₁₂ は、ワムシ培養槽の共存細菌によって充分量が産生されるが、とくにパン酵母を用いるワムシ大量培養では、微生物生態系が早期に確立するか否かが培養の成否を決定していると考えられた (Yu ら 1988)。この、B₁₂ に対するワムシ側からの要求量を、Yu ら (1990) は、1 個体当り、L 型長崎大学株で 1.5pg, S 型タイ株で 1.0pg, 平均寿命で除すると、一日当り両者およそ 0.1pg と求めたがこの値は、Scott (1981) の報告 (ワムシ株不明) と一致した。

これらの研究を総合すると、従来から経験的に「ワムシ培養の立ち上げにはナンノクロプシスが必要である」ことが知られており、また現在でも低温での培養で応用されているが (II 2-2-2(4)「L 型ワムシ低温馴致株」を参照)「古いワムシ培養液を加えると立ち上がりが早くなることもある」などと言いつづてられてきたことは、それぞれ、通常屋外で培養されるナンノクロプシスは細菌によって作られた B₁₂ を蓄積していること、ワムシ培養後の飼育水には大量の B₁₂ が含まれていることの 2 つによって裏付けられることがわかる。

B₁₂ 以外のビタミンについては、脂溶性では A, D, E (Hirayama & Funamoto 1983, Satuito & Hirayama 1986), 水溶性では C (Satuito & Hirayama 1991) が必須であり、パン酵母に添加した場合に無添加区よりも増殖率が高くなったと報告されている。しかしながら、これらに対する要求性は極めて微量であるとともに、脂溶性ビタミンについては過剰投与で毒性を呈するために実験上多くの困難を伴うことも指摘されている。ビタミン類全般についてみると、B₁₂ に対する要求性が最も高く、これを添加することによる酵母の栄養化改善効果が最も高い。

Hirayama & Funamoto (1983) は、ビタミン B₁₂, A, D, E をすべて添加した培養よりもフィードオイルを加えた培養の方でワムシ増殖率が高かったことから、ワムシの栄養要求では他にも未知の要素が存在することを指摘している。

<ポイント>

ワムシの栄養要求については、ビタミンに関する情報があり、制限要因になりやすい B₁₂ のほか A, D, E も必要とされる。B₁₂ は培養水中に共存する細菌によって大量に生産されるが、酵母による培養では立ち上げ時に不足することがある。

(日野明徳)

5-2 餌料種類

餌料探索の歴史

ワムシ培養用餌料の適性は、魚類や甲殻類の初期餌料

に求められる条件（2「初期餌料の具備すべき条件とワムシ」を参照）と同様に、大きさ、形状、栄養価、培養や入手の容易さなどによって論議されるべきであるが、現実には培養や入手面での都合が優先してきた。歴史的には、種苗生産へのシオミズツボワムシの利用を提唱した伊藤（1960）が、その当時培養可能なほとんど唯一の海産単細胞藻類であったクラミドモナスなどを用いているが、培地組成の複雑さがワムシ大量培養の制限要因になっていた。ワムシ培養が大規模に行われるのは、平田（1964 a, b）が農業用肥料を地先海水を汲み入れた水槽に投入したところ、生物相の遷移の後に緑色の単細胞藻類が優占してきたものを培養株として分離して以来になるが、当時「海産クロレラ」と命名されたこの藻は、その後屋島培地あるいは平田培地と呼ばれるようになる簡易な組成の栄養塩補強海水でも増殖し、かつ環境耐性の幅が広いことからまたたく間に各地の種苗生産機関が採用することとなった。このほか、低コストという観点から醤油粕などを使った培養なども一時期行われ、また各国、各機関で様々な餌料探索が行われたことが平山（1983）、平田（1989）に述べられているが、現在ではワムシ培養の安定性、餌料価値、入手の容易さ等に優れるナンノクロロプシス、酵母類、淡水クロレラに集約されている。

餌料サイズ

ワムシが摂餌しうる餌料粒子のサイズについては、L型ワムシについて数値が明らかにされている。摂餌しうる粒子サイズの上限はワムシの背甲長と強い相関があり、 $Y=0.090X-0.03$ （Yは粒子の直径、Xはワムシの背甲長）で表された（図I 5-1, Hino & Hirano 1980）。ワムシはこれよりも小さい餌を取り込むことができるが、あまり小さい粒子は食道の途中にある咀嚼器官の歯を通り抜けるので機械的消化を受けられず、やはり餌として機能しない。摂餌される粒子の最小直径と背甲長との間には $Y=0.0108X+1.90$ （Yは粒子の直径、Xはワムシの背甲長）の関係が成り立つが相関は低い（図I 5-2, Hino & Hirano 1984）。これは、最大粒子系が、

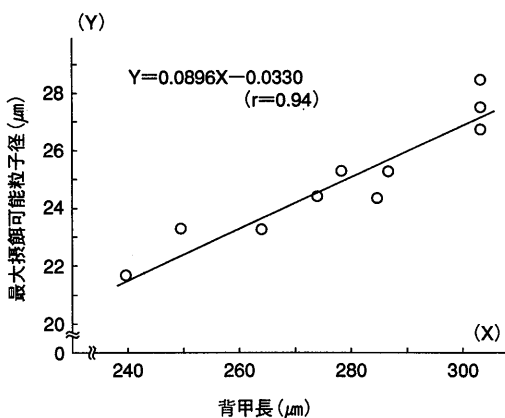


図 I 5-1 ワムシの最大摂餌可能粒子径と背甲長の関係 (Hino & Hirano 1980)

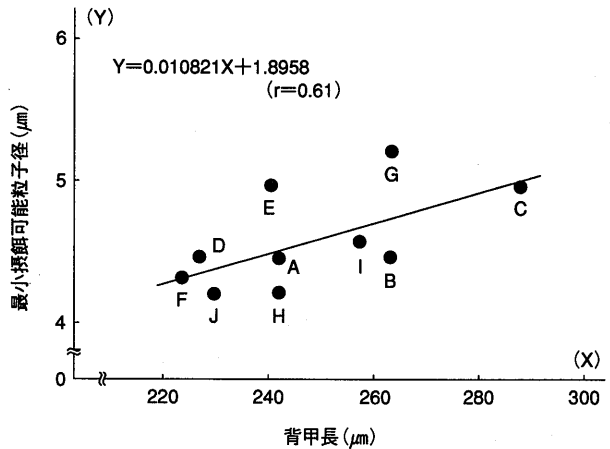


図 I 5-2 ワムシの最小摂餌可能粒子径と背甲長の関係 (Hino & Hirano 1980)

ワムシの成長に伴って大きくなる食道の直径によって決められるのに対し、最小粒子径を決めている咀嚼器のサイズが若い個体でも成長した個体でも変わらないためである。これらの結果から、L型ワムシでは直径 $5\mu\text{m}$ から $25\mu\text{m}$ 程度の粒子を摂餌できることが明らかになった。しばしば餌に用いられるクラミドモナスやテトラセルミスはこの範囲に入る植物プランクトンである。一方、酵母類やナンノクロロプシスは実用上問題のない餌でありながら、この範囲に入らない細胞を多く含んでいる。これは、大量培養槽の中ではおびただしい数の細菌がフロックを形成し、その中に酵母やナンノクロロプシスを取り込むことで結果的に大きな粒子となり、それが咀嚼器に捕らえられ機械的消化を受けると考えられる。また、何度もワムシの消化管を通過しているうちに酵素によって表面が消化され取り込まれやすくなるとも考えられる。

ワムシの餌料選択性

ワムシのろ水率は研究者によって大きく異なる数値（I 5-4「代謝」を参照）が報告されているが、平山（1983）は、これは実験に使用された様々な餌料に対するワムシの選択性によるものと考えた。選択性の機構については、船本・平山（1982）が顕微鏡下で咀嚼器の運動頻度を観察し、生物餌料には咀嚼器が盛んに動くが非生物粒子ではあまり動かないこと、また生物餌料の培養ろ液でも動くことから何らかの化学的な刺激が関与していることを見いだした。しかし、珪藻の一種は摂餌されず、またコーンカウンター用の標準粒子が積極的に摂餌されるなど例外的な粒子もあることから、物理的な刺激も摂餌を制御していると考えた。

餌料の栄養価

Hirayama ら（1979）は、無菌的に培養した微細藻類を遠心分離して藻体のみを取り出し、これを無菌ワムシに与えた際の増殖率から餌料価値を判断した。その結果から、海産クロレラ（ナンノクロロプシスと思われる）、*Chlamydomonas*, *Pavlova*, *Dunariella* 等の緑藻類と

Synechococcus (藍藻類) は餌料価値が高く、*Cycrotella*, *Entreptiella*, *Nitzschia* などの珪藻類はあまり餌料価値が高くないことを報告している。

無菌的な実験系での研究は、ワムシに対する藻類の餌料価値を明らかにしたのみならず、ワムシの栄養要求を研究することに大きく貢献している。本項でも述べたが、パン酵母は必須ビタミン類 (I 5-1「栄養要求」を参照) を欠く栄養欠陥餌料であり、大量培養槽では細菌類によって栄養補強が行われるが、それらの知見はパン酵母を基本餌料とする無菌系で集積されたものである。パン酵母のように、ある種の要素を補強することで十分な餌料価値を表すものに淡水クロレラがあり、前述のように市販品はビタミン B₁₂ の添加が行われている。

餌料価値はワムシの増殖率によって評価されることが多いが、本来は、一定の餌料バイオマスからどの程度のワムシバイオマスが生産されるかという転換効率によって評価されるべきものと思われる。今後、生産コストや、ワムシ培養の排水水質に関する論議が盛んになる時代において重要な問題と思われるが、実際の大量培養では細菌や鞭毛虫がエネルギーのリサイクルを行っており、ワムシへの転換経路は極めて複雑であり、精密な定量は困難である (I 4-8「培養槽の物質フロー」を参照)。

海産クロレラとナンノクロロプシス

平田によって「海産クロレラ」と命名された上述の藻類については、クロレラが属する緑藻類であれば持っているはずのピレノイドが観察できないことなどから、分類について当初から疑問を投げかける研究者も多かった。しかしながら、クロレラの名称が極めてなじみやすかったこともあったため、本格的な分類研究が始められるのは1980年代も後半に入ってからとなった。

Maruyama ら (1986) は、「海産クロレラ」の1株について電子顕微鏡観察、成分分析などを行い、微細構造や生化学的性状の特徴から、供試株をクロレラなどの緑藻綱ではなく、真正眼点藻綱に属する *Nannochloropsis oculata* (今日では、ナンノクロロプシスと称される)

に分類すべきものとした。また千原ら (1987) は、全国の種苗生産機関から得た8株について同様の手法による研究を行い、増殖の様態がクロレラの4または8分裂ではなく2分裂であること、カロテノイド色素の特徴などを新たな要素として加え、すべての株を *N. oculata* と同定した。

現在ほとんどの種苗生産機関で培養されている「海産クロレラ」の実体はナンノクロロプシスになっているが、山崎 (1992) は日本各地16県の培養株の遺伝的相違をアイソザイム遺伝子によって研究した結果、それら培養藻類にはいくつかの系統群が存在するか、あるいは異種が含まれる可能性が高いことを報告している。一方、川口ら (1986) は、平田 (1964b) が分離し保存していた株 (通称：屋島株) について電子顕微鏡による微細構造研究を行い、それが *Chlorella* 属の真のクロレラであること、同属中で海産種とされている6種類中には該当するものがないことを明らかにし、新種 *C. hirataii* として報告している。この歴史的に最も古い屋島株が *Chlorella* 属に同定されたことを考えると、その後各地の種苗生産機関に分与された屋島株が地先海水から混入したナンノクロロプシスに置き変わった可能性が高い。なお、すでに早い時期から *Chlorella* 以外の藻類が使われていた形跡は、山口県から熊本県に1967年に分譲され保存されていた株が、形状からの分類ではあるがナンノクロロプシスと同定されていること (野村 1976) からもうかがえる。

表 I 5-1 にナンノクロロプシス1細胞あたりの窒素含量を示した。試料を採取した場所によって値が大きく異なっているが、その理由には測定誤差、細胞の分裂周期による大きさの違い、実は別の藻類であった (ナンノクロロプシスではない) 等が考えられる。

酵母類

1960年代後半、平田・森 (1967) は、製パン用の酵母がワムシの餌料となることを見出し、このことによってワムシ培養における藻類の不足は解消され、1970年代に

表 I 5-1 ナンノクロロプシスおよびパン酵母の1細胞当り窒素含量 (10⁻¹²gN) (マリノフォーラム 1986*1)

試料採取事業場	ナンノクロロプシス	パン酵母
日本栽培漁業協会		
上浦事業場	0.279	1.60
玉野 〃	0.354	1.83
厚岸 〃	2.45	1.71
神奈川県		
栽培漁業センター	2.89, 3.41	
石川県増殖水試	4.74	2.62
広島県		
栽培漁業センター	2.95	1.85

* 1 : (社)マリノフォーラム 21, 種苗生産システム研究会昭和61年度研究報告書

は1生産機関当たりマダイ100万尾生産の時代を迎えるのである。しかし、当時から培養の立ち上げ時には「海産クロレラ」を必要とすること、また「海産クロレラ」のみを使用する場合に比べてワムシ培養が不安定であることなどが知られていた。この原因の一つとして、パン酵母にはワムシの必須ビタミンである B₁₂ が含まれないために、培養槽に共存する細菌によってそれが供給される必要があり (I 5-1「栄養要求」を参照)、したがって微生物生態系の安定が欠かせないことを考える必要がある。パン酵母は、細菌にとっては培地にも用いられるほど良質の栄養源であり、事実ワムシ培養槽の生菌数は藻類のみを与える培養よりも10倍程度多くなる (10⁸/ml 以上にも達する) が、したがって些細な環境変動が細菌相の遷移に結びつく可能性が高くなり培養は不安定になる。

酵母のワムシ培養への導入は種苗の生産数を飛躍的に伸ばしたが、やがて酵母ワムシの給餌によって仔稚魚に形態異常が多発するなどの報告が相次ぐようになった。この現象については、海産魚類の必須脂肪酸とされる EPA, DHA などの高度不飽和脂肪酸が酵母には含まれないため、培養されたワムシにもそれらが欠乏している結果から来ることは今日良く知られており、また多くの著書もあるので本書では触れないこととする。この仔稚魚に対する栄養欠陥を改善すべく開発されたものに油脂酵母がある (今田ら 1979)。表 I 5-1 にパン酵母の1細胞あたり窒素含量を示した。

淡水クロレラ

ナンノクロロプシスをはじめとする単細胞藻類は、ワムシに給餌する場合は酵母類に比較して水質の悪化が少なく、また必須ビタミンをはじめとする栄養成分に優れているため細菌相によって栄養補強効果が異なることもなく (I 4-7-1「細菌」を参照) 安定したワムシ培養を可能にするが、単細胞藻類を十分に用意するにはワムシ培養槽の10倍前後の面積を必要とし、また多くの人手や経験を必要とするのみならず、日照や気温によって培養の成否が左右されるなど種苗の計画的生産を阻害する遠因ともなっていた。一方、淡水種のクロレラは有機培地を用いた工場生産が可能であり、早くから健康食品として大量に生産され流通していたが、これをワムシ培養の餌料として利用する研究も1970年代の半ばから始められていた (深田 1987)。一連の研究では B₁₂ を添加した際のワムシへの効果も報告され (久保田ら1976 口頭発表)* 今日得られる水準の製品は開発されていたようにも思えるが、淡水クロレラの使用がかくも普及しかつ多用されるようになったのは、ワムシの栄養要求 (I 5-1「栄養要求」を参照) に関する研究との連携で必要量のビタミンの添加 (Hirayamaら1989, Maruyamaら1989) が行われ、安定培養への貢献 (丸山ら1990) が客観性を持

つようになったためと考えられる。

テトラセルミス

Tetraselmis 属の藻類は東南アジアでワムシの培養に使用され、またヨーロッパ、アメリカでも二枚貝の種苗生産用餌料として使われていたが、わが国ではほとんど水産関係者には知られていなかった。しかし、岡内 (1985, 1988) による詳細な生物特性研究によって増殖特性や餌料価値をはじめとする多くの面での優秀性が証明されている。とくに高温、強光下での培養も可能なことから低緯度地方での利用に期待が寄せられ、クルマエビ種苗生産では培養に不安定さの残る珪藻の代替藻として注目された。現在は、淡水クロレラなど市販餌料の入手が容易になったことから、テトラセルミスがワムシ大量培養に用いられることはほとんどなくなったが、ワムシ株の保存など小規模の培養では、通気などによる攪拌がなくても浮遊性に優れているほか、簡易な組成の培地 (便宜的にはナンノクロロプシスの培地でよい) 中でも増殖が早くワムシに対しての餌料価値も高い (岡内1985, 1988)、またワムシに有害なある種の原生動物 (太陽虫 *Oxnerella maritima*) が増えない (I 4-7-2「原生動物」を参照) などの利点がある。

<ポイント>

ワムシが摂餌可能な粒子径はL型でおよそ5~25 μmの範囲。それ以下のものはバクテリアフロックなどに取り込まれ大型化してから機械的消化を受ける。

古い文献中の「海産クロレラ」はナンノクロロプシスであることが多い。

(日野明徳)

5-3 給餌量

海産ワムシ類の至適給餌量は、ワムシ株や培養水温及び塩分濃度などの培養条件により異なることが知られている。本書では、主に日本栽培漁業協会で培養されているS型ワムシ3株とL型ワムシ4株の合計7株において、淡水クロレラの餌料密度50~1,000万細胞/mlの範囲での至適給餌量をそれぞれ調べた。培養は、26℃に調温した恒温器内で行い、マイクロプレート (6穴用) 1穴に餌料密度を調整した27ppt海水を5ml入れ、その中にふ化直後のワムシ仔虫を10個体ずつ接種して4日間行った。なお、餌料密度を維持するためワムシの植え継ぎを毎日行った。

最も高い日間増殖率は、S型ワムシタイ株が100万細胞/ml、S型ワムシ玉野株、L型ワムシ石川株及びL型ワムシ小浜株が250万細胞/ml、S型ワムシ岡山株、L型ワムシ近大株及びL型ワムシ浜名株が500万細胞/mlでそれぞれ得られ、ワムシ株で異なるものの、至

*日本水産学会昭和51年度春期大会講演

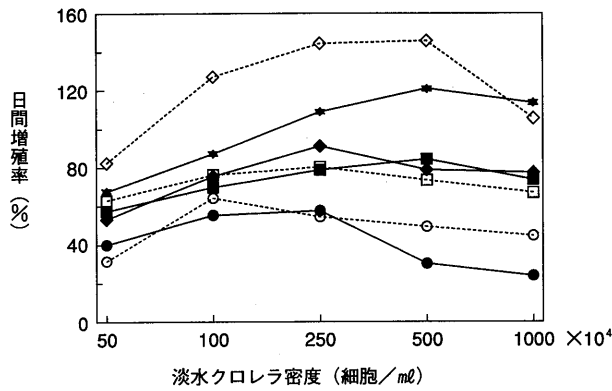


図 I 5-3 S型, L型ワムシの淡水クロレラ密度別日間増殖率
 ■ L型ワムシ近大株 ● L型ワムシ石川株
 ● L型ワムシ小浜株 ▲ L型ワムシ浜名株
 □ S型ワムシ玉野株 ◇ S型ワムシ岡山株
 ○ S型ワムシタイ株

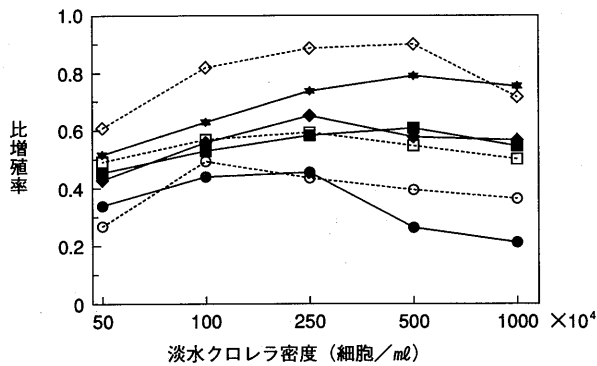


図 I 5-4 S型, L型ワムシの淡水クロレラ密度別比増殖率
 ■ L型ワムシ近大株 ● L型ワムシ石川株
 ● L型ワムシ小浜株 ▲ L型ワムシ浜名株
 □ S型ワムシ玉野株 ◇ S型ワムシ岡山株
 ○ S型ワムシタイ株

適給餌量は100万~500万細胞/mlの範囲であった。なお、1,000万細胞/mlでは全てのワムシ株で日間増殖率が低下した(図I 5-3,4)。

海産クロレラ(ナンノクロロプシスと思われる)の至適給餌量は、L型ワムシで水温22℃では150万細胞/ml(Hirayama *et al.* 1973)や、L型ワムシで水温20, 25, 30及び35℃ではそれぞれ160万, 180万, 200万及び220万細胞/ml(山崎・平田 1985), L型ワムシ長崎株で水温23℃と28℃ではそれぞれ150万細胞/mlと500万細胞/mlで、L型ワムシ伊豆株で水温23℃では500万細胞/ml, S型ワムシ熊本株で水温23℃では1,000万細胞/ml(平山 1983)などの報告がある。今回の実験結果でも、至適給餌量はワムシ株により多少異なるが100~500万細胞/mlの範囲にあり、同様な傾向がみられた。また、至適給餌量を超えた高い給餌量で増殖率が停滞あるいは減少すること(Hirayama and Ogawa 1972, Hirayama *et al.* 1973, 平山 1983, 山崎・平田 1985, 山崎・平田 1986, Aoki and Hino 1996)も報告されており、この原因については、餌料密度が高くなると、未消化のまま排出される擬糞の占める割合が多くなること(山崎・平田

1985), 遊泳エネルギーコストが高くなり再生産能力が低下すること(Walz 1993), 摂餌過程で機械的な障害がおこること(Rothhaupt 1993)などが挙げられている。

一方、S型, L型ワムシの海産クロレラの摂餌量は、S型ワムシでは培養水温20℃が9万細胞/個体/日, 30℃が20万細胞/個体/日, L型ワムシでは20℃が21.6万細胞/個体/日, 30℃が35.7万細胞/個体/日となり、L型ワムシはS型ワムシの1.8~4.3倍量を摂餌する(大上 1977)ことや、培養水温25℃においてS型ワムシでは13.9~28.9万細胞/個体/日, L型ワムシでは18.8~54.8万細胞/個体/日となり、L型ワムシはS型ワムシの約1.7倍量を摂餌する(山崎・平田 1986)等の報告がある。

大量培養において、給餌回数が少ない場合には至適給餌量を超えた過剰給餌になりやすく、上述のような増殖阻害や培養環境の悪化を引き起こす可能性がある。効率的な培養のためには、至適給餌量を把握し、それ以上の給餌量にならないように、1回の給餌量を減らし給餌回数を多くすることや定量ポンプで連続給餌を行うことなどの給餌方法の改善が必要である。

<ポイント>

至適給餌量を超えた給餌は、増殖阻害や培養環境の悪化を引き起こす。

(小磯雅彦)

5-4 代謝

ワムシの個体レベルでの代謝研究は、摂餌、排泄のほか、体内での窒素のフローが調べられている。

摂餌

ワムシの摂餌については、ろ水率(表I 5-2)や摂餌率の測定が行われている。前者は、摂餌のために時間当たりどれだけの水をろ過したかを示し、後者は、時間当たり実際にどれだけの餌を取り込んだかを表すものである。当然のこととして、ワムシは満腹になるまで餌を取り込むから摂餌率はある一定の値で頭打ちになり、また満腹に近くなればろ水率を下げても摂餌量を減らそうとする。

さらに、餌料密度が低いときにはろ水率を高くして餌を十分取り込もうとし、反対に餌料密度が高いときにはろ水率が低くても十分な摂餌量を確保できる(図I 5-5)。

したがって、ろ水率、摂餌率の測定に際しては餌料密度が大きく関わることを知っておく必要がある。さらに注意が必要とされるのは、ワムシの取り扱いによって数値が大きく変わることであり、ちなみにネットで集めたワムシを数時間放置してのち測定したろ水率は、ワムシの活性低下を反映して正常値を大きく下回った。この場合、収穫時の機械的損傷、空中露出、また放置時の高密度、貧酸素、飢餓などが影響したものと考えられる。

表 I 5-2 ワムシのろ水率 (平山 1983 より)

餌料生物	餌料濃度 (cells/ml)	実験温度 (°C)	ろ水率 μl/hr/ind.	発表者
<i>Dunaliella salina</i>	(5.9~14.4) × 10 ⁴	20	0.64~1.5	DOOHAN
<i>Synechococcus</i> sp.	8 × 10 ⁶	26.1~28.1	3.0	伊藤
<i>Chlorella</i> sp.(※)	213 × 10 ⁴	25	4~6	HIRAYAMA and OGAWA
<i>Chlamydomonas</i> sp.	10 × 10 ⁴	23	8.4	} CHOTIYAPUTTA and HIRAYAMA
<i>Olisthodiscus</i> sp.	5 × 10 ⁴	23	2.0	
原生動物	1.75 × 10 ⁵	25	8.1	} 日野・野上・平野
細菌	1.91 × 10 ⁷	25	3.4	
<i>Dunatilla tertiolecta</i>	1.03 × 10 ⁴	?	10	DEWAY
活性汚泥	—	25	0.33~5.45	HINO and HIRANO

※ のちにナンノクロロプシスであることが分った (平山私信)

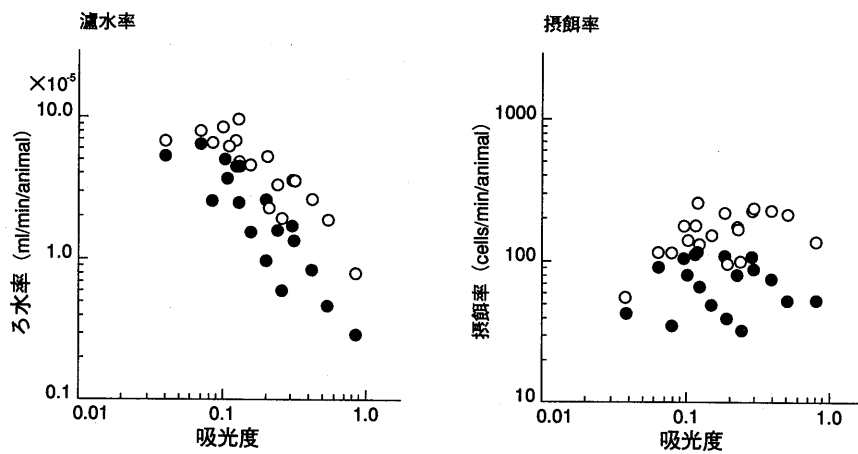


図 I 5-5 餌料密度とシオミズツボワムシの濾水率, 摂餌率 (Hrayama & Ogawa 1972)

横軸はナンノクロロプシスの密度を吸光度で表している。
白丸は飢餓ワムシ, 黒丸は飽食していたワムシを用いた。

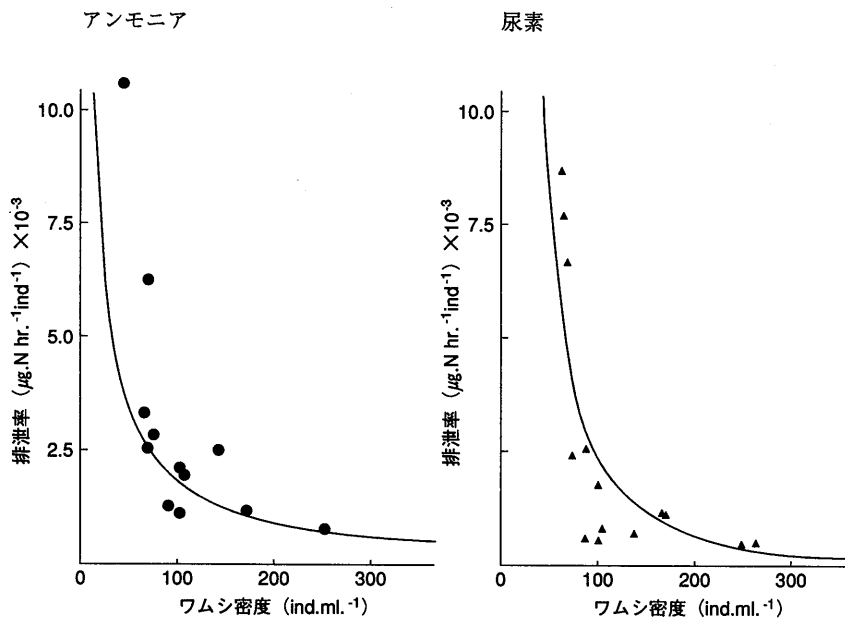


図 I 5-6 シオミズツボワムシのアンモニアおよび尿素排泄量 (Hirata & Ngata 1982)

排泄

L型ワムシに関して、Hirata & Nagata (1982) は、溶存態として排泄される窒素の大部分は尿素とアンモニアであり、両者がほぼ等量ずつを占めていること、他の動物プランクトンに比較してそれらの排泄率（体重乾燥重量当り）がリン酸態リン共々大きいことをクロレラ *Chlorella saccharophila* 給餌下で、水質分析的手法によって明らかにした（20ppt, 20°C）（図 I 5-6）。このとき、排泄率はクロレラ密度（摂餌の多寡に関係すると思われる）、ワムシ密度、携卵率によっても変化した。代表値として、 $0.118 \mu\text{g-N}/\text{個体} \cdot \text{日}$ が得られ、また個体の窒素含有量と排泄速度とから求めたターンオーバー（体の窒素が入れ替わる時間）は10.6時間と計算された。

田中は、同様の実験系でナンノクロロプシス（原典では海産クロレラ、実験開始時 $1.1 \times 10^7 \text{ cells/ml}$ ）を餌料として24時間の飼育により窒素の排泄速度を求めた。ワムシ密度は実験開始時に $4 \sim 30 \text{ 個体/ml}$ に7段階設定し図 I 5-7を得た。

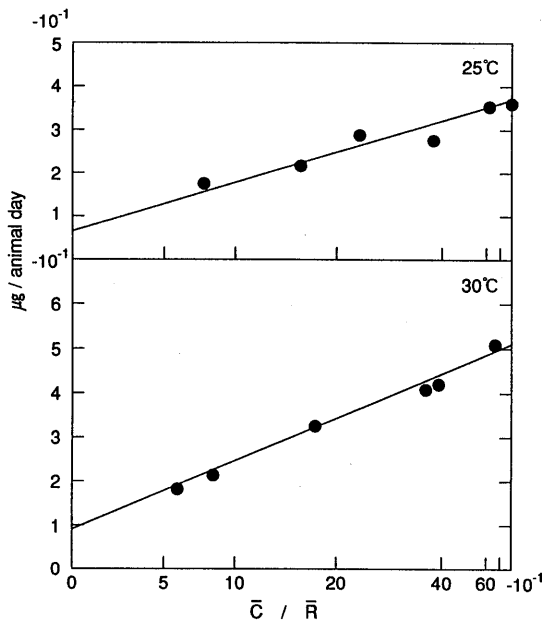


図 I 5-7 シオミズツボワムシ1個体あたりの給餌率と窒素排泄量（田中1987）
 \bar{C} は ナンノクロロプシス密度
 \bar{R} は ワムシ密度

S型ワムシに関しては、次に述べる Aoki & Hino (1995) の窒素安定同位体 ^{15}N をトレーサーにした実験で、飽食状態にあるタイ株ワムシの30°C、22pptにおける1時間当りの窒素排泄速度が求められている。体に含有されている窒素の11.5%相当量が糞として。また0.8%が尿として排泄されていることが明らかになった。

ワムシ体内の窒素のフロー

Aoki & Hino (1995) は、S型ワムシタイ株に窒素安定同位体 ^{15}N でラベルしたナンノクロロプシスとラベ

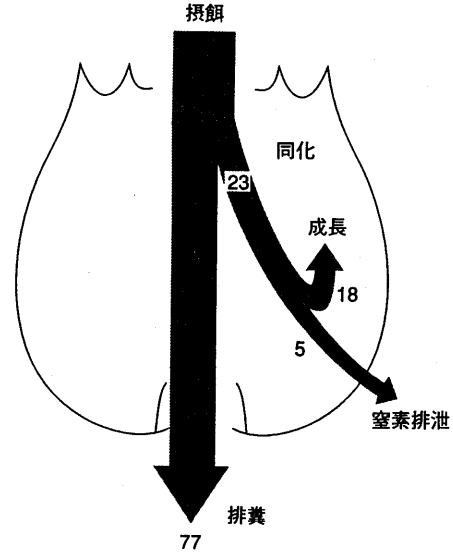


図 I 5-8 S型ワムシタイ株の窒素代謝（Aoki & Hino 1995およびHinoら1998より作成）
 ナンノクロロプシスを飽食しているとき（ $3 \sim 6 \times 10^6 \text{ 細胞/ml}$ ）。「成長」は再生産を含む。

ルしていないものを順次摂餌させ、体内の同位体比の上昇と降下から飽食状態における同化及び排泄速度を測定した。30°C、22pptにおいて、摂餌された餌料は消化管を20分で通過し、その間に消化・吸収された窒素、すなわち体成分として同化された窒素は150分が経過すると尿中に排泄され始め、体内窒素が入れ替わったことが示された。前出の Hirata & Nagata (1982) に比較して極めて早いターンオーバーであるが、ワムシのバイオマスの違いと実験系の違い（安定同位体を用いれば直接的にターンオーバーが観測できる）によるものであろう。このワムシタイ株の数値から、摂餌によって取り込まれた窒素を100としたときの体内でのフローを図示すると図 I 5-8のようになる。ワムシが摂餌した窒素の23%しか同化できず、77%を糞中に出してしまうことが理解される。このことは、きわめて短い消化管を餌が短時間で通過することに起因していると考えられる。

代謝定量に関する注意事項

ワムシの代謝や培養槽内の物質フローを研究する場合に必要なワムシ個体の重量と窒素含有量は、I 1「分類」に、培養用餌料に関してはI 5-2「餌料種類」に示した。分類（I 1「分類」を参照）にも述べたが、ワムシの大きさが培養環境によって変化すること、また代謝率が高いことから飢餓になりやすく重量も大きく変化すること、卵の分を補正していないデータのあることに注意する必要がある。また、クロレラやナンノクロロプシスなどは対数増殖期（log phase）にあるか定常期（stationary phase）にあるかでタンパクや脂質の含有量が大きく変化する。

<ポイント>

ワムシの取り扱いによって、代謝が影響される。S型ワムシタイ株の例では連続的に摂餌しているとき、腸管の通過速度は約20分、同化率は約23%。餌料を高速で同化し、高速で排出していることが分かる。体内の物質フローは窒素で見る限り極めて早い。

(日野明徳)

II 大量培養

1 日本栽培漁業協会の現状

生産量

日本栽培漁業協会（日裁協）の全事業場で1年間に生産されるワムシは約5兆個体である（図II 1-1、日本栽培漁業協会1992～1996）。ワムシのタイプをL，SL混合（培養槽内にS型ワムシとL型ワムシが混在するもの）、S（タイ株を含む）の3つに分類すると、Lが1～2兆個体、SL混合が0～1兆個体、Sが3～3.5兆個体である。Sの生産数がLの生産数を2～3倍上回っているが、重量換算ではほぼ同量である。

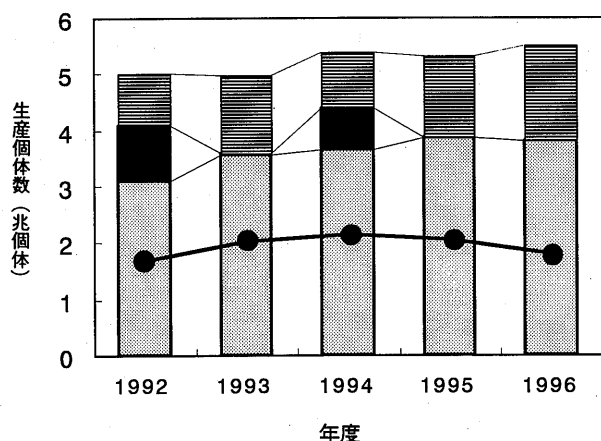


図 II 1-1 日本栽培漁業協会におけるワムシ生産個体数と使用個体数

■ L型ワムシ
 ■ SとL型ワムシ混合
 ▨ S型ワムシ
 ● 使用個体数

一方、実際に種苗生産に供されるのは年間約2兆個体であり、利用率は40%程度にとどまっている。この原因の一つには日裁協で対象としている魚種は種苗生産の技術開発途上のものが多いために、採卵の不成功や種苗の大量減耗が避けられず、需要の急減による計画外の余剰が生じる場合の多いことが挙げられる。しかし、ワムシ培養担当者が供給不足に陥るのを恐れて実際の必要量以上に保有することも一因と考えられる。培養計画は最低水準の増殖率でも需要が確保できるように立案されるため、平均的な増殖率が達成されるとその差は廃棄処分せざるを得なくなる。種苗生産を滞りなく進めるためにはワムシの供給は一日も途絶えてはならないが、利用率の低下がワムシのコスト増大を招いている（II 4「ワムシ培養コストの試算」を参照）。ワムシの増殖が不安定な現在の培養方法と技術では、「高額な保険料」を支払わざるを得ないのが現状である。ただし、現状で利用率が高い集計値が必ずしも効率の良い培養が行われた結果とは限らず、むしろワムシの状態が悪く最低水準の増殖率

が続くために供給にも支障をきたし、廃棄するワムシがない状況に陥った結果である場合が多いので、これらの数値の判断には注意を要する。ワムシ培養では増殖率が高いこととともに毎日の変動が少ないことがコストの面から考えても重要である。

<ポイント>

通常、最低増殖率を想定して培養計画をたてるため、それ以上の増殖が達成されると、その差が廃棄処分され利用率が下がる。

ワムシ培養の概況

日裁協のワムシ培養担当者を対象に平成8年度に実施したアンケートの集計結果をもとに日裁協のワムシ培養を概観した。S型ワムシタイ株はS型ワムシと同種ではあるが（I 1「分類」を参照）、別途培養されていることが多いので、ここでは別の集計を行った。装置連続培養は現在普及している培養法とは考え方やワムシ密度や単位生産が大幅に異なるので培養結果を別に小計した。また、L型ワムシの装置連続培養はこの集計以後に試験的に行われて培養可能であることが示されたが、この集計結果には含まれていない（II 3-1-3(4)の事例を参照）。粗放連続培養はまだ開発されたばかりであるため、ここでは触れない（II 3-2「粗放連続培養」を参照）。

L型ワムシ

L型ワムシは比較的大型の水槽を用いた間引き培養が行われる事例が多い（表II 1-1）。13～50m³水槽数面にワムシを20～150個体/mlで接種し、2～10日後から収穫を始め、エアフィルターで懸濁物を除去しながら、100～300個体/mlの密度を維持している（表II 1-2）。なお、培養終了は経験的に判断している傾向がうかがえる。餌料はナンクロロプシスとパン酵母が主体であるが、近年ナンクロロプシスを濃縮し冷蔵または冷凍したものや淡水クロレラが普及してきている。さらに、亜熱帯域に立地するためにナンクロロプシスの培養が不安定である奄美、八重山事業場ではその使用を止めて淡水クロレラとパン酵母による培養を行っている。

間引き培養の集計では、平均ワムシ密度が206個体/mlと低いものの、1回の培養期間が19.8日と長いのが特徴である（表II 1-3）。この値は増殖不良または生産調整により短期間で収穫した事例も含んでいるため、培養日数のモードは20～40日と考えられる。また、比較的低い温度（17～21℃）、低い密度（100～300個体/ml）で培養されることが多く、平均日間増殖率が13.7%/日、単位生産が0.22億個体/m³/日と低い。一方で、1日の必要量は最大で10～40億個体であるため、培養水量と保有個体数は多くならざるを得ないことから、20～50m³

の大型水槽を数面用いるという事業場が多い。単位生産を向上させるために密度を上げる例も見られるが、培養の効率化よりも安定供給を重要視する傾向が強いことも需給調整が行いやすい間引き培養が多く採られている理由と考えられる。

植え継ぎ培養では16℃の培養を行っている小浜事業場が、低温馴致ワムシを平均密度466個体/mlと高く設定し、平均日間増殖率17.6%/日を維持しながら、単位生産0.75億個体/m³/日を達成しているのが特徴的である(Ⅱ 2-2-2(4)に事例を紹介)。植え継ぎ培養の厚岸、屋島事業場は、培養終期の不調を回避する方策として培養密度を低くし、一定日数で打ち切ることでこの培養形態を採用している。両事業場では平均密度99, 120個体/ml、平均日間増殖率21.8, 9.9%/日、単位生産0.19, 0.11億

個体/m³/日であり、間引き培養の結果と大差ない。なお、奄美事業場はマグロを対象としているため、大型のL型ワムシ(携卵雌個体の平均背甲長277μm)を26~27℃の高い温度で培養しているのが特徴である。

<ポイント>

L型ワムシは大型水槽により低水温、低密度、低給餌率で長期間の間引き培養が行われる事例が多い。

S型ワムシ

S型ワムシの間引き培養(表Ⅱ 1-3)に集計した事例は平均培養日数の7.7日が示すように培養期間が短く、植え継ぎ培養を需給調整のために途中で収穫と希釈を行うように変形した培養形態である。このため、S型ワム

表Ⅱ 1-1 平成8年度日本栽培漁業協会各事業場のワムシ培養施設、装備

培養 事業場 形態	元種 維持 水槽	培養水槽容量		平年 生産 期間 (ヵ月)	供給盛期		水温 制御 海水 濃度 (%)	通 気 方 法	エアフィルター		接触酸化フイ ルター 種 類		
		合計 (m ³)	水槽容量×数 (m ³ ×個数)		数量 (億個 体/日)	季節 (月)			種 類	対水槽 容量比 (m ³ /m ³)			
L型ワムシ													
植え継ぎ培養													
厚岸	0.5m ³	282	18×4, 15×4, 50×3	2~3	40	5~6	18~23	+	100	塩ビ管	エアフィルター	0.43	ダイブラ, PW100
小浜	0.1m ³	2	1×2				14~15	+	100	エアストーン			
屋島	フラスコ	200	25×8	4	20	5	20	+	100	塩ビ管			筒中
間引き培養													
南伊豆		139	50×2, 13×3	5	40	3~4	19		100	ユニホース	トラベロン	0.15	
能登島	0.5m ³	150	25×6	6	10	1~3	18	+	100	塩ビ管			
小浜	0.1m ³	40	20×2	5	15	4~5	15~18	+	100	ユニホース	トラベロン	0.15	筒中, BF120
宮津	1ℓ	159	0.5×2, 2×4, 25×6	6		3~4	17	+		塩ビ管			筒中, BF200
上浦	フラスコ	300	50×6	8	30	2~3	20	+	80	塩ビ管	トラベロン	0.15	
上浦	フラスコ	10	0.8×12	8	2	2~3	20	++	80	塩ビ管			植毛板
八重山	試験管	60	15×4	3	20	5	23	+	67	塩ビ管	トラベロン	2.4	
奄美	フラスコ	18	6×3	2	5	7~8	26~27	++	100	塩ビ管, エアストーン	トラベロン	0.4	
S型ワムシ													
植え継ぎ培養													
宮津	1ℓ	1.5	0.5×3	6	1	9~10	30	+	67	塩ビ管	パイリオンマット	2	
玉野	フラスコ	171	25×3, 12×8	5	70	5~6	25~32	+	100	塩ビ管	トラベロン	0.18, 0.37	
伯方島		252	45×4, 18×4	5	50	4~6	30	+	100	塩ビ管	トラベロン	0.13~0.23	
間引き培養													
宮古	0.5m ³	440	20×4, 60×6	5	40	5~6	20	+	100	塩ビ管	トラベロン	0.075	
五島	0.5m ³	200	50×4	8	26	3~6	26	+	100	塩ビ管	トラベロン	0.2	
八重山	試験管	28	1×6, 5×4	2	40	6~7	27	+	100	塩ビ管, エアストーン	トラベロン	1, 5, 3	
奄美	フラスコ	5	1×5	3	10	7~8	25	+	100	エアストーン	トラベロン	1, 2	
装置連続培養													
玉野	フラスコ	1	1×1	3	30	5~6	30	+	100	ユニホース	なし		
S型ワムシタイ株													
植え継ぎ培養													
宮津	試験管	7	400ℓ	6		9~10	30~32	+	100	エアストーン	パイリオンマット	25	
玉野	フラスコ	4.5	1.5×3	2	2	7~8	30	+	100	エアストーン	トラベロン	0.5	
間引き培養													
八重山	なし	1	0.5×2	4	10	6	30	+	100	エアストーン	トラベロン	4.5	
装置連続培養													
玉野	フラスコ	0.1	0.1×1	2	2	7~8	30	+	100	ユニホース	なし		

シの大半は植え継ぎ培養もしくはそれを若干変形した培養と考えられる。餌料は生及び濃縮した冷蔵と冷凍を含むナンノクロロプシス、淡水クロレラ及びパン酵母が主に使われている。L型ワムシに比べてナンノクロロプシスの使用が減り、濃縮した冷蔵と冷凍ナンノクロロプシスや淡水クロレラに移行している事例が多い。宮古事業場ではフェオダクチラムも使用されている。培養水温は26～30℃、平均密度は565個体/mlと高く、平均日間増殖率も39.6%/日であるため、単位生産は1.49億個体/m³/日とL型ワムシに比べて高い。しかし、高水温と高密度培養のため水質の悪化や有害微生物の増殖が早く、1回の平均培養日数が間引き培養で7.7日、植え継ぎ培養で3.5日と短い。このため、植え継ぎやフィルターと水槽の洗浄などの作業がL型ワムシに比べ煩雑になっ

ているのが特徴である。

S型ワムシ株は魚類飼育の初期の数日のみに使用する事例が多く、需要は多くない。このため、餌料はパン酵母を使用して餌料費を節約するより、濃縮したナンノクロロプシスや淡水クロレラを多用して安定培養を目指す傾向が強い。

装置連続培養はワムシ密度が2,596個体/mlと高く、単位生産18.62億個体/m³/日、平均日間増殖率74.3%/日と高い(Ⅱ 3-1「装置連続培養」を参照)。

<ポイント>

S型ワムシは高水温、高密度、高給餌率により短期間の植え継ぎ培養が行われる事例が多い。

表Ⅱ 1-2 平成8年度の日本栽培漁業協会各事業場のワムシ培養方法

培養 形態	事業場	ワムシの 携卵雌 平均背甲長 (μm)	使用 餌 料				ワムシ密度 (個体/ml)		初収穫 までの 日数
			ナンノ クロロプシス 生	淡水 クロ レラ	フェオ ダクチ ラム	パン 酵母	接 種 時	収 獲 時	
L型ワムシ									
植え継ぎ培養									
	厚 岸	(140~310)	●	●	●	●	50~100	200~ 400	5~10
	小 浜		●	●	●	●	400	600	3~ 5
	屋 島	260 (200~280)		●	●	●	100~ 150	150~ 250	4~ 7
間引き培養									
	南伊豆		●	●	●	●	50~ 150	100~ 200	2
	能登島	250 (212~300)	●	●		●	20~ 80	150~ 200	10~12
	小 浜	251 (174~315)	●	●	●	●	350	350	3~ 5
	宮 津		●	●	●	●			
	上 浦	240 (200~300)	●	●	●	●	100~ 150	100~ 500	5~15
	上 浦	240	●	●	●	●	2~ 300	500~1,000	3~ 5
	八重山	250		●		●	100~ 150	200~ 300	4~10
	奄 美	277 (224~312)		●			100~ 150	250~ 350	3

S型ワムシ (一部L型混合も含む)									
植え継ぎ培養									
	宮 津	170 (160~180)		●		●	250~ 300	600~1,000	2~ 3
	玉 野	170 (150~190)	●		●	●	100~ 300	150~ 380	2~ 7
	伯方島	150 (120~170)		●	●	●	250	450	3
間引き培養									
	宮 古			●	●	●	150~ 200	200~ 400	2~ 3
	五 島	204 (170~225)	●		●	●	120~ 150		7
	八重山	196		●		●	150~1,800	330~1,500	3~ 5
	奄 美	218		●		●	100~ 200	800~1,000	3
装置連続培養									
	玉 野	170		●			1~ 300	2,000~6,000	5~10

S型ワムシタイ株									
植え継ぎ培養									
	宮 津	145 (140~150)		●		●			
	玉 野	148		●			200	500~ 800	3~ 5
間引き培養									
	八重山	154		●			500~1,000	1,000~3,000	2~ 3
装置連続培養									
	玉 野	148		●			1~ 300	2,000~6,000	5~10

表Ⅱ-1-3 平成8年度の日本栽培漁業協会各事業場のワムシ培養結果概要

培養方法	事業場	水槽実容量 (m³)	延べ培養例数	平均培養日数 (日)	延べ水槽使用数	平均水温 (°C)	平均雌密度 (個体/ml)	平均増殖率 (%)	単位生産 (億個体/m³/日)	接種総数 (億個体)	総生産 (億個体)	純生産 (億個体)	給餌総数				平均給餌率	
													生	濃縮	淡水	パン	ナンノ (換算 m³/億個体)	パン酵母 (kg/億個体)
L型ワムシ																		
植え継ぎ培養																		
	厚岸	14,15,20	46	10.9	501	22	99	21.8	0.19	408	1,493	1,085	193	27	747	873	0.039	0.098
	小浜	1	14	3.4	48	16	466	17.6	0.75	1	36	35	15	9	27			
	屋島	25	96	4.8	1,230	19	120	9.9	0.11		1,525				1,900	1,200	0.064	0.087
平均				6.4	593	19	228	16.4	0.35	205	75	882	104	18	891	1,037	0.052	0.093
合計					1,779					409	1,529	2,645	208	35	2,674	2,073		
間引き培養																		
	南伊豆	50	12	18.7	225	20	99	9.3	0.13	359	1,274	915	413	89	1,560	583	0.194	0.067
	能登島	25	20	35.0	703	17	139	12.1	0.14	195	1,734	1,539	805	1,268		1,444	0.133	0.083
	小浜	20	22	7.8	172	17	358	6.3	0.19	23	560	537	230	415	646	334		
	宮津	20	12	31.0	370	18	197	9.1	0.16	290	1,708	1,419	561	707	996	759	0.162	0.050
	上浦	50	33	24.5	1,028	21	146	14.6	0.24	692	7,050	6,358	1,673	301	1,298	4,652	0.180	0.117
	上浦	0.8	117	19.6	2,297	21	297	13.1	0.29			481	230	264	603	245	0.449	0.164
	奄美	6	21	6.9	145	26	228	27.4	0.41	106	317	211			318		0.901	
	八重山	15	28	14.7	412	21	183	17.7	0.23	380	1,506	1,126		396	927	760		
平均				19.8	669	20	206	13.7	0.22	292	2,021	1,573	652	491	907	1,254	0.336	0.096
合計					5,352					2,045	14,150	12,586	3,912	3,440	6,348	8,776		
平均				16.1	648	20	212	14.4	0.26	273	1,742	1,385	515	386	902	1,206	0.265	0.095
合計					7,131					2,454	15,679	15,231	4,120	3,476	9,021	10,850		
S型ワムシ																		
植え継ぎ培養																		
	宮津	0.5	118	2.8	335	29	579	48.6	1.77	280	816	537	31	116	136	52	0.389	0.035
	玉野	12,25	250	3.0	750	27	276	42.3	1.27	6,440	15,481	9,041		290	2,072	1,804	0.485	0.161
	伯方島	45	85	4.0	343	30	380	27.9	0.78	8,102	15,709	7,607		1,375	2,170	1,055	0.195	0.036
	伯方島	18	44	4.0	177	30	390	29.3	0.74	1,929	3,674	1,744		559	270	311	0.200	0.040
平均				3.5	401	29	406	37.0	1.14	4,188	8,920	4,732	31	585	1,162	805	0.317	0.068
合計					1,605					16,751	35,680	18,929	31	2,340	4,648	3,221		
間引き培養																		
	五島	50	73	7.0	513	26	165	37.6	0.38	3,626	13,664	10,038	314	0	629	2,872	0.118	0.070
	奄美	1	34	8.0	273	28	586	68.5	2.25	63	633	570			214	65	0.590	0.074
	八重山	5	35	8.3	290	27	788	27.5	1.34	758	2,409	1,651		5	629	386		
	八重山	1	55	7.5	411	28	1,361	35.1	3.42	431	1,668	1,237			905	85		
平均				7.7	372	27	725	42.2	1.85	1,219	4,593	3,374	314	2	594	852	0.354	0.072
合計					1,487					4,878	18,374	13,496	314	5	2,377	3,408		
平均				5.6	387	28	565	39.6	1.49	2,704	6,757	4,053	172	391	878	829	0.330	0.069
合計					3,092					21,629	54,054	32,425	345	2,345	7,025	6,629		
S型ワムシタイ株																		
	宮津	0.4	5	3.4	17		320	29.5	0.54	3	7	4		7		1	0.889	0.023
	玉野	1.5	19	5.2	98	30	488	77.0	1.45	51	195	144		1	146	4	1.270	0.009
	八重山	0.5	15	12.3	184	30	1,408	563	4.52	67	550	483			266			
平均				7.0	100	30	739	54.3	2.17	40	251	210		4	206	2	1.079	0.016
合計					299					121	752	631		8	412	4		
装置連続培養																		
S型ワムシ																		
	玉野	1	2	21.5	43	30	3,290	68.7	22.90	2	910	907			630		0.894	
S型ワムシタイ株																		
	玉野	0.1	1	40.0	40	30	1,902	79.8	13.34	1	60	59			39		1.422	
平均				30.8	42	30	2,596	74.3	18.62	2	485	483			334		1.158	
合計					83					3	970	966			669			

培養法の選択傾向

培養法の選択は種苗生産からの需要と各事業場のワムシ培養施設及び各培養法の特徴を勘案しながら行われてきた(図II 1-2)。

まず、ワムシの種類は、飼育水温の低い魚類用に望まれる低温馴致したL型ワムシ(高橋 1998a, 1998b)、急成長をする魚類用に望まれる大型のL型ワムシ(手塚 1998, 藤本 1995)、仔魚の口径が小さいために求められる小型のS型ワムシタイ株(福永 1990, 野上・福永 1990, 照屋 1998, 植田ら 1998, 今泉 1998)などがある(2「初期餌料の具備すべき条件とワムシ」を参照)。S型ワムシはマダイ、ヒラメ、ガザミなど生産尾数が多く、ワムシの数的・量的需要が多い場合に、その高増殖率と培養がL型ワムシより容易なために使われることが多い。

次に水槽規模は、需要が少ない場合に小型水槽が使われ、需要が多い場合に大型水槽が使われやすいのは当然である。また、光熱費の低減と作業量の軽減を目指す高密度の培養が求められる傾向があり、機器のトラブル時の許容度を重視すると低密度の培養が選択される傾向にある。機器や作業ミス(作業指示者や作業者の勘違いや見落としによる収獲や廃棄の水量の間違いや給餌量の間違い、ポンプの不調による過剰または過小給餌、温度調節の設定ミスまたは機器のトラブルによる異常昇温または無加温)などの予期せぬトラブルに対処するには危険分散のために水槽数が求められる。しかし、それぞれの事業場の保有水槽や予算の状況などの都合によることも大きい。

培養法は、作業量が多く廃棄率が高いという問題はあるものの安定した培養を求めると植え継ぎ培養が採ら

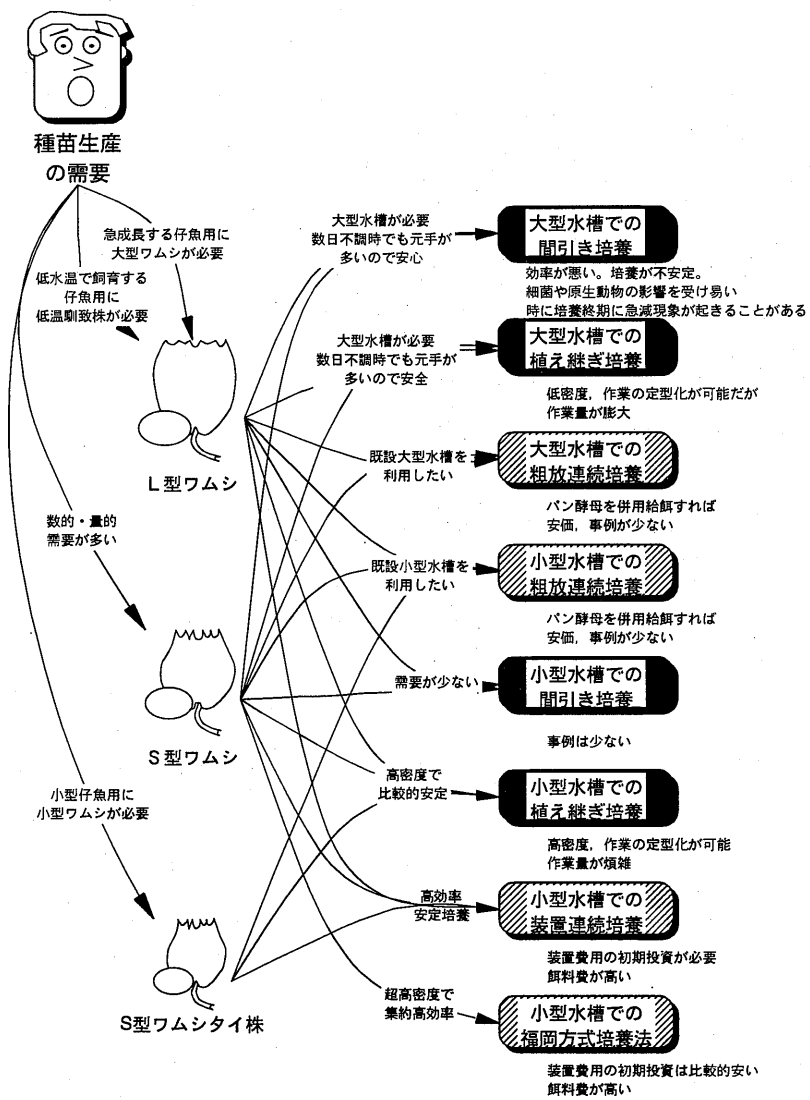


図 II 1-2 ワムシ培養法の選択傾向

現在普及している 培養法 (Solid box) 新しく開発された 培養法 (Hatched box)

れ、一方、培養不調時には保有数の切り崩しによって対応する方向を選択すると間引き培養が採られる傾向がある。装置連続培養はその装置の購入に予算的措置を必要とし、粗放連続培養は開発されたばかりで事例が少ない。

なお、県営栽培漁業センターでは福岡県栽培漁業公社が開発した超高密度培養方式に関心を寄せつつも、専用培養装置を新設して10,000個体/ml以上に密度を上げるより、既存水槽を利用してS型ワムシの淡水クロレラ給餌の植え継ぎ培養により数百～数千個体/mlでの培養を試行している(水呉ら 1995, 1997, 石神 1998)。

また、餌料については、培養の安定性を重視すると植物プランクトンの使用量を増やす傾向にあり、反対に、餌料費の節減を目指すパン酵母の使用割合が増える。植物プランクトンを確保するためには、水槽容量と作業量で補ってナンクロロプシスの生産量を増やす場合と、餌料費の増加によって対処し淡水クロレラや濃縮したナンクロロプシスの購入量を増やす場合とがある。ナンクロロプシスの増産を行うには培養水槽の面積と容量を増やす場合と、濃縮機を導入して生産閉期に濃縮して冷凍保存する方法がある。また、寒冷地では低温での増殖がナンクロロプシスより良いフェオダクチラムを代替として使用する事業場もある。

<ポイント>

大型が求められるとL型ワムシ、特別に小型が求められるとS型ワムシタイ株、数的需要が多い時にS型ワムシが求められる傾向がある。

(藤浪祐一郎, 桑田 博)

2 現在普及している培養法

2-1 大量培養のための準備と管理方法

2-1-1 培養工程

株の混合の可能性

株の混合が起きる場合の侵入経路には水槽、用水、餌料、器具、水滴、泡・飛沫、昆虫、作業者の手や長靴が考えられる。塩素消毒を行う場合には、水槽とともにエア配管や収穫ラインなど消毒が行き届きにくい部分に注意する必要がある。用水は砂ろ過処理程度ではコペポーダの混入を見た事例があり、ワムシの通過の可能性も否定できない。その対策として、カートリッジフィルターを使用してそれらの混入を防止した事例がある。餌料では屋外で培養したナンクロロプシス自体にワムシが混入する事例があり、淡水クロレラやパン酵母の場合にもバケツやビーカーの分別が不十分な場合は危険である。培養に使うバケツ、ビーカーなどは収穫ワムシ用と餌料用との分別が必須であり、できればそれぞれ水槽専用にするのが望ましい。また、懸濁物除去フィルターは水槽間で分別する必要がある、特にフィルターを取りあげる際の水滴や洗浄場所での混入に注意を要する。水滴が培

養槽に混入すると致命的であるが、泡が風で飛散したり、通気の飛沫がはじけて飛び散ることもあり得る。用具を完全に分別していたにもかかわらず、L型ワムシの培養槽に約50m離れた場所で培養していたS型ワムシタイ株が混入した事例があり、この場合の混入経路は作業者の手であった可能性が最も高かった。

<ポイント>

ワムシ培養に他のワムシ株を混入させたくなければ、入れないような体制と細心の注意が必要である。

株の保存の必要性

過去の培養工程では、生産盛期の^{もとどろ}元種の維持は大型水槽の元種の植え継ぎ培養だけで行い、生産閉期には培養水槽を無加温、無給餌のまま放置し、次の生産盛期の前に給餌を再開してわずかに残っていた元種の増殖を待つ方法が採られることもあった。しかしながら、このような方法では前項のように多岐にわたる経路からの他系統の株の混入や増殖特性の変化の可能性が常にあり(日本栽培漁業協会1983)、需要に合わせた計画的な拡大培養が困難である。特に、種苗生産の需要にあわせて場内にL型ワムシ、S型ワムシ、S型ワムシタイ株のように複数の株を保持する事業場では、常に株が混合する可能性がある。一定した増殖特性を持つワムシを供給するためには、少なくとも他株が混入しない管理が可能な小型容器による株の保存(Ⅱ 2-1-2「株の保存」を参照)が必須である。

<ポイント>

株の保存は生物培養の基本である。

培養開始時のワムシ密度

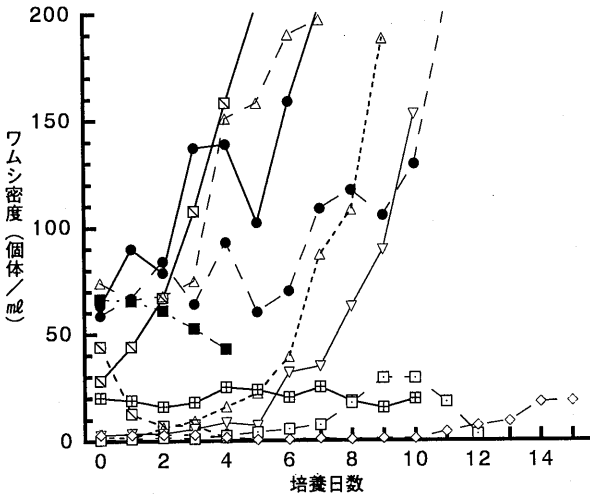
ワムシの培養開始時には水中にワムシの必須栄養素が不足している(Ⅰ 5-1「栄養要求」を参照)。それらはやがて水中に増殖してくる細菌によって生産され補われるが(Ⅰ 4-7-1「細菌」を参照)、ワムシ密度が低すぎるとそれらの必須栄養素の濃度が上昇するのに時間を要する。

また、ワムシが十分な摂餌をするためには、ワムシ密度に関わらず一定以上の餌料密度が必要である(Ⅰ 5-3「給餌量」を参照)。一方、ワムシの1個体1日当りの摂餌量には上限があり飽食量以上の摂餌はしない。このため、ワムシ密度が低い時に餌料を摂餌可能な密度に維持すると、残餌が長期間残ることになる。この時、原生動物が混在しているとそれらの餌料になる。

たとえば、L型ワムシを20℃で、ナンクロロプシス給餌により培養する場合を考える。この条件でのL型ワムシの増殖に最適なナンクロロプシス密度は500～1,000万細胞/mlであり、飽食量は約10万細胞/個体/日である(神奈川県淡水魚増試1984)。これからワムシ密度が25～50個体/mlであれば最適密度に調整したナン

ノクロプシスを2日以内に飽食して食べ尽くすが、5個体/mlの場合はワムシがまったく増えないとすると10日以上、ワムシが順調に増殖したとしても5日以上はナンノクロプシスが残餌となって残ることになる。ここで、繊毛虫 *Euplotes* は古くなり活性の低下した植物プランクトンや酵母を利用することを考えあわせると（I 4-7-2「原生動物」を参照）、残餌となったナンノクロプシスを利用して原生動物が増加し、以後ワムシの培養状態を不安定にすることも考えられる。

実際に、L型ワムシを20℃で培養した事例では、約10個体/ml以上で培養を開始すれば、順調に増殖したが、数個体/mlで接種する場合にはワムシが増えず（図II 2-1）、残餌が多く発生することによって原生動物が増殖し、ついには培養を中止せざるを得なくなることがあった。一方で、装置連続培養では1個体/ml前後の低い密度から順調な拡大を行っているが（II 3-1「装置連続培養」を参照）、これは原生動物フリーの株を使っていることで、数日間にわたって残餌がなくならなくてもワムシ培養を破綻に追い込むような原生動物が増殖しないためと考えられる。



図II 2-1 上浦事業場で行ったL型ワムシの20℃間引き培養の接種密度と増殖の事例

<ポイント>
接種時のワムシ密度が低すぎると、原生動物が発生して増殖不良をおこすことがある。

培養工程
これまでの知見を総合すると、株の保存は少なくとも増殖特性の異なる株の混入を排除できる0.1~10lの容器を用いて10~100個体/mlのワムシ密度で行うことが適当と考えられる。一方、種苗生産の需要を満たすための大量培養では通常1~数百m³の水槽を用いて100~10,000個体/mlの規模で行われている。そこで、種培養のワムシを直接大量培養水槽に接種すると、前項の適切な接種密度を維持できないため、両者の中間に0.1~

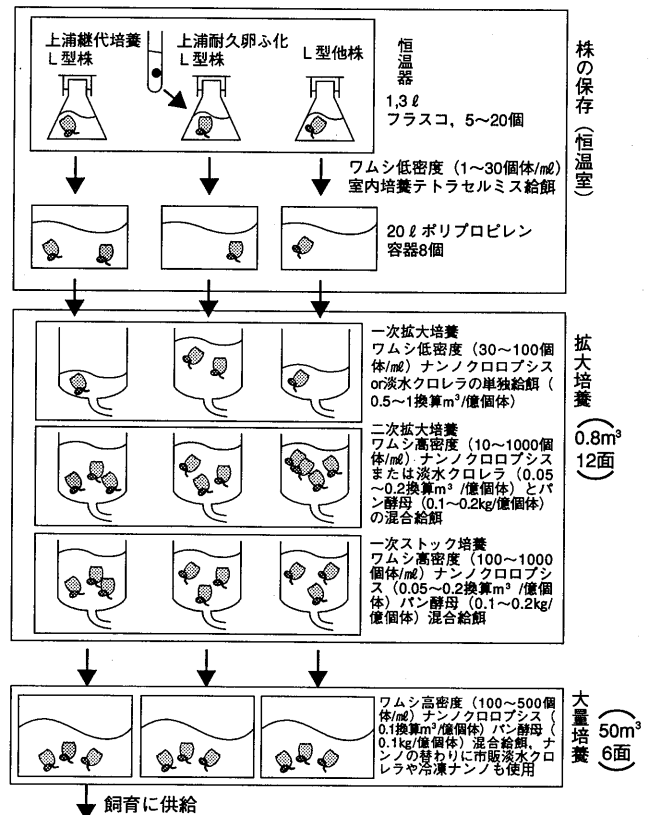
1m³規模の拡大培養を設ける場合が多い。

<ポイント>
株の特性を維持して大量培養を行うためには、十分な管理ができる小型容器による種培養から大量培養に拡大する中間的な培養工程が必要である。

上浦事業場の事例

上浦事業場では、恒温室で管理しているL型ワムシを0.8m³水槽12面の拡大培養により増やして、大量培養を行う50m³水槽の元種としている（図II 2-2）。また、元種には耐久卵ふ化株も併用している。この大量培養への元種供給は常に拡大培養から供給することで、「株の保存」⇒「拡大培養」⇒「大量培養」と工程を一方通行とすることとし、場内で同時に培養されているS型ワムシの混入に対処している。また、拡大培養の初期の30~100個体/mlの低密度の時期にナンノクロプシスと冷凍ナンノクロプシスを併用して、植物プランクトンの給餌率が高い状態を常時維持しているのが特徴である。これはワムシに必須の栄養素を植物プランクトン給餌によって充分に与え、（I 5-1「栄養要求」を参照）、活力の高いワムシを常時保有するためである。大量培養を行う50m³水槽には約10~20億個体の元種を接種し、3~6週間の間引き培養を行う。そこで、6面でローテーションを行うために、5~10日に1回の割合で拡大培養から元種を供給して新規に培養を始めることとなる。

（桑田 博）



図II 2-2 日栽協上浦事業場のワムシの培養工程

的に確保することができる点である。

(山下貴示)

2-1-2 株の保存

ワムシの株の保存方法には、ワムシを植え継ぐ方法と複相両性生殖卵（耐久卵あるいは受精卵と称される卵）を利用する方法がある。ここでは日裁協玉野事業場と奄美事業場で行っている株の保存方法を紹介する。なお玉野事業場では原生動物フリーでの株の保存を行っており、さらに高度な無菌培養については Hirayama ら（1979）、深田（1987）、平山（1988）を参照されたい。また大量培養を行っていたワムシ株の保存には、後述する「ワムシの分離操作」が必要となる。

テトラセルミスを用いる方法

玉野事業場ではテトラセルミスを用いて植え継ぎ培養による株の保存を行っている（図Ⅱ 2-4）。テトラセルミスを使用する理由について詳しくは「Ⅰ 5-2 餌料種類」のテトラセルミスの項を参照していただきたいが、最大の理由として通気など攪拌を施さなくても浮遊性に

優れていることと、ワムシにとって有害なある種の原生動物（Ⅰ 4-7-2「原生動物」を参照）が増殖しないことが挙げられる。玉野事業場でのワムシ株の保存条件を表Ⅱ 2-1に示した。水温は28℃に設定しているが、この水温でS型ワムシ及びL型ワムシの双方が支障なく維持管理できる。しかしL型ワムシのみの保存や省力化のために植え継ぎ間隔を延ばすことを考えた場合は、20～25℃の範囲でも良いと思われる。海水には砂ろ過海水をオートクレーブで滅菌し他生物の混入を防いでいる。なお塩分の調整は行っていない。培養容器については乾熱滅菌を行っている。餌料にはテトラセルミスを用い、給餌密度は30～100万細胞/mlとしている。ワムシの接種密度は10個体/ml程度に設定している。通気及び照明については特に行っていない。植え継ぎ間隔は約7日間であり、その実際の工程は以下のとおりである。

- ① 手指及び作業台を70%アルコールで消毒・殺菌する。
- ② 乾熱滅菌器で滅菌した培養容器にテトラセルミスを30～100万細胞/mlになるように入れる。
- ③ これまで株保存してきた培養容器より、直接培養水ごとワムシを接種する。
- ④ 培養容器の口及び蓋を火炎滅菌するかもしくは70%アルコールを塗布する。
- ⑤ 恒温器に収容し静置する。

実際の作業は、無菌室もしくはクリーンベンチを用いて行うのが望ましい。なお、接種密度を下げることにより、植え継ぎ間隔を延ばすことができる。またワムシの状態は、培養容器内のワムシの分布状態により判断が可能であり、餌料（テトラセルミス）が十分に存在する条件下ではワムシが上層から下層までほぼ均一に分布するが、餌料が不足もしくは原生動物が混入した場合はワムシが上層に集中的に分布する。

玉野事業場のように複数の株を保存している場合には、植え継ぎ時に他の株が混入する可能性がある。そこで植え継ぎ作業は1日に1株のみに制限したり、クリーンベンチ内には1株分の植え継ぎに必要な器具しか準備せず、植え継ぎ作業終了後にクリーンベンチ内をアルコールを用いて消毒してから、次の株を植え継ぐ準備をしている。また培養器具の流用は他の株の混入の原因に



図Ⅱ 2-4 日裁協玉野事業場での株の保存

表Ⅱ 2-1 日裁協玉野事業場でのワムシ株保存条件

水 温	28℃
塩 分	32～34ppt（無調整）
餌 料	テトラセルミス
給餌間隔	5～7日
給餌密度	30～100万細胞/ml
接種密度	10個体/ml
培養期間	10～14日間
培養容器	500ml ガラス製三角フラスコ（ワムシ1株に4個）

なりえるので、培養器具は株ごとに準備している。またワムシの入った培養容器に海水や餌料懸濁海水を注ぐ際には、水面から跳ね上がってくる飛沫の中にワムシが入っていることがあるため、その際に使用した海水や餌料懸濁海水を他の株の植え継ぎに使用することは、他の株の混入の原因となる。そこで植え継ぎ時に使用する海水や餌料懸濁海水は、事前に植え継ぐ株の数だけ滅菌した容器に小分けしておかなければならない。

(山下貴示)

淡水クロレラを用いる方法

日栽協奄美事業場の株の保存方法の特徴は、餌料に淡水クロレラを用い、この餌料が沈殿しないように通気や振とう機で培養水を攪拌していることである。現場で保存しているワムシはS型がタイ株と八重山株、L型が近大株の計3株で、全株とも25℃に調温した恒温器内で植え継ぎ、維持を行っている。培養容器は各株ごとに3ℓ三角フラスコ1個と6穴用マイクロプレート1個を用い、他の株の混入や培養水の蒸発を防ぐため培養容器に蓋をして行っている。使用する海水は有害な原生動物や細菌類及び他のワムシなどの混入を防ぐ目的で、紫外線殺菌と塩素による殺菌(10ppmで24時間)の処理を施している。3ℓ三角フラスコでは海水と元の培養水を9:1の割合で入れ、毎日淡水クロレラを2mlずつ添加し、エアストーン1個で通気を行い培養している。一方、6穴用マイクロプレートでは、1穴ごとに淡水クロレラを約50万細胞/mlの密度に添加した海水を5ml入れ、その中にワムシを10個体ずつ接種したマイクロプレートを振とう機の上に置き、ゆっくり振とうさせて培養している。植え継ぎは両培養とも1週間間隔で行っている。

淡水クロレラを用いた株の保存方法は、ナンノクロロプシスやテトラセルミスなどの餌料藻類の培養が必要ないという利点はあるが、餌料が沈殿しやすく、腐敗しやすいなどの欠点があるため培養水を攪拌したり、植え継ぎ間隔を早めたりするなどの対策を講ずる必要がある。

<ポイント>

株の保存に餌料として淡水クロレラを用いる場合には、餌料が沈殿しやすく腐敗しやすいため何らかの対策を講ずる必要がある。

(小磯雅彦)

ワムシの分離方法

大量培養槽内にあるワムシ株を保存する場合、分離操作を行わなければならない。ここではワムシの分離方法について玉野事業場で行っている方法を紹介する。必要な器具は以下のとおりである。

- パスツールピペット 1本
- 時計皿 数枚
- 培養容器 1個
- 滅菌海水 数ℓ
- 沸騰水 数ℓ

そして実際の作業工程は以下のとおりである。

- ① 使用する器具の滅菌(煮沸または乾熱)。
- ② 実体顕微鏡下で、分離したいワムシ(雌虫)を10個体程度パスツールピペットで採る。
- ③ 温度調節した滅菌海水を入れた時計皿に移す。
- ④ 滅菌海水を足し、希釈する。
- ⑤ ②～④の作業を5回ほど繰り返す。
- ⑥ 実体顕微鏡下で検鏡し、原生動物の混入、餌料や老廃物等が残っていないか確認する。残っていた場合は再度工程②～④の作業を繰り返す。
- ⑦ 培養容器に収容し、恒温器で保存する。

玉野事業場のように海岸に近い立地条件では、分離作業中に空気中より原生動物の混入の危険性が考えられる。本来、ワムシの分離作業を行う場合、無菌室において行うほうが望ましいが、無菌室の施設がない玉野事業場では、クリーンベンチを用いて分離作業を行っている。なお携卵個体を採取すると接種後の増殖が早い。また工程②において雌虫の代わりに複相単性生殖卵(通常観察される卵)や複相両性生殖卵を用いてもよい。なお複相両性生殖卵はふ化に適した環境に置かれても、最低1週間はふ化しない(萩原 1996)ため、卵を滅菌海水に収

表Ⅱ 2-2 日栽協玉野事業場でのテトラセルミス培養条件

水 温	25～30℃
塩 分	32～34ppt (無調整)
照 明	500～4,000 lux 程度
通 気 量	8～10ℓ/分 (培養水量 10ℓの時)
接 種 密 度	6～10万細胞/ml
培 養 期 間	6～10日間
肥 料	NaNO ₃ 150mg/ℓ NaH ₂ PO ₄ ・2H ₂ O 10mg/ℓ Fe-EDTA 15mg/ℓ MnCl ₂ ・4H ₂ O 360μg/ℓ
培 養 容 器	10ℓ ガラス製透明試験瓶



図 II 2-5 日裁協玉野事業場でのテトラセルミスの培養

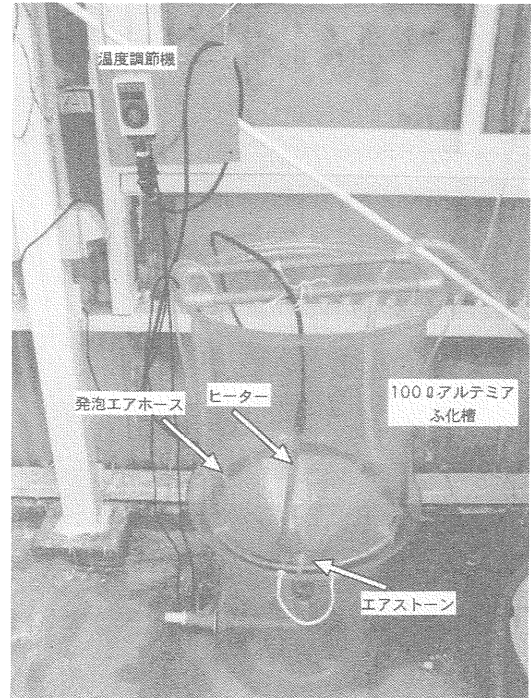


図 II 2-6 100 ℓアルテミアふ化槽を利用したワムシ培養装置

容しふ化した幹母虫を餌料懸濁海水を満たした培養容器に収容した方がよいと思われる。

テトラセルミスの培養方法

テトラセルミスの生活史及び培養方法については、岡内 (1988, 1989) に詳しく記載されているので割愛するが、玉野事業場での培養条件を表 II 2-2 に示した。海水はオートクレーブを用いて滅菌を施すとともに、通気は配管の途中に孔径 $0.45 \mu\text{m}$ のメンブランフィルターを挿入し物理ろ過をしている。培養液は、ナンノクロロプシスに用いられるいわゆる屋島培地 (平田 1980) でもよい (図 II 2-5)。

(山下貴示)

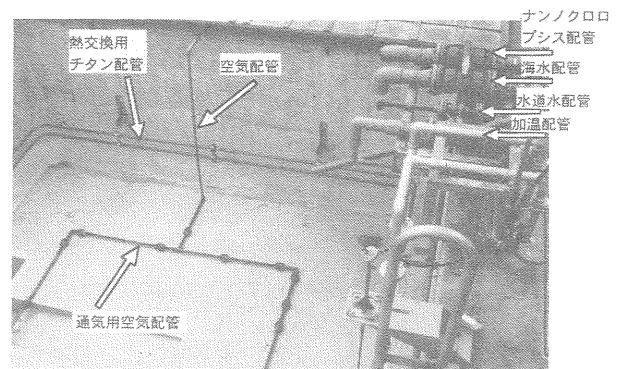


図 II 2-7 日裁協能登島事業場のワムシ培養用25m³コンクリート水槽

2-1-3 培養の準備—水槽，用水，器具—

水槽

培養水槽には $0.1 \sim 1\text{m}^3$ ポリカーボネイト水槽またはアルテミアふ化槽 (図 II 2-6), $0.5 \sim 10\text{m}^3$ FRP 水槽, $10 \sim 60\text{m}^3$ コンクリート水槽 (図 II 2-7) などが使われている (表 II 1-1)。コンクリート水槽は樹脂塗装をしているものとしていないものがある。形状に特別な工夫をされることはなく、小型水槽では市販水槽がそのまま使用され、大型水槽も正方形、長方形またはその角を落とした変形八角形などの水槽が使用されている。

ワムシ培養終了後の水槽の壁面と底面は極度に汚れている。その洗浄は小型水槽の場合は水道水とデッキブラシやたわしなどで行うこともあるが、大型水槽ではジェットウォッシャーによる高圧水洗浄が一般的である (図 II 2-8)。その後、1 日程度乾燥させてから培養に

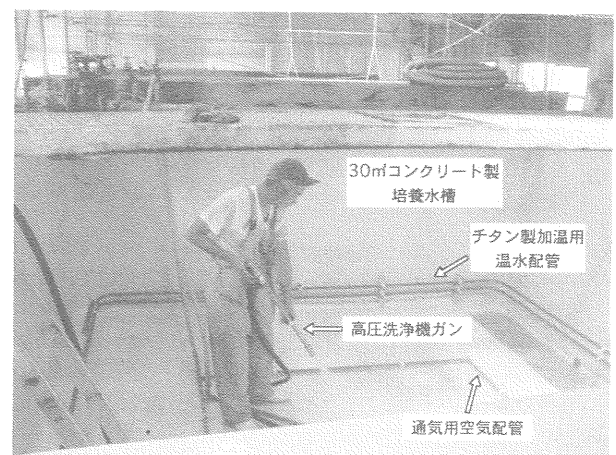


図 II 2-8 30m³コンクリート水槽の培養終了後の洗浄作業

使用している事例が多い。近年の魚類種苗生産過程におけるウイルス性疾病対策の一貫として生産期の前に一斉に塩素消毒などを実施している事業場もある。

用水

平成8年の時点でワムシの培養水を淡水で希釈している事業場は宮津，上浦，八重山事業場の3場のみである（表Ⅱ 1-1）。他の事業場では重力式もしくは加圧式砂ろ過処理を行った海水をそのまま使用している事例が多い。

小浜事業場の100ℓ水槽の培養では，原生動物が出現する確率を下げることを目的として，ナンクロロプシスを5μmカートリッジフィルターで，ろ過海水を3μmカートリッジフィルターでろ過して使用している。また，装置連続培養の用水は0.1μmカートリッジフィルターでろ過したものを使用している（Ⅱ 3-1-1「装置連続培養の基本構成と手順」を参照）。近畿大学の実験場では，魚類種苗生産の防疫対策として生物餌料からの感染を防止するために，ワムシやナンクロロプシスの培養槽と用水の紫外線殺菌あるいは塩素殺菌を実施しており，それらはワムシの安定培養にも有効としている（石丸 1997）。

温度調節

0.1~1m³水槽では投げ込み式ヒーターをコントローラーによって制御して加温している事例が多い（図Ⅱ 2-6）。それより大型の水槽では水槽内に設置した加温配管に温水を通して加温を行っている事例が多い（図Ⅱ 2-7）。培養の安定性を確保するためには温度の安定が必要であるため（Ⅰ 4-1「水温」を参照），従来行われていた屋外水槽による無加温の培養を行う事業場は少なくなっている。

低水温での培養を行っている小浜事業場，亜熱帯域に位置し培養水温より気温が高くなる八重山，奄美事業場，また夏季にL型ワムシの培養を目指している上浦事業場では冷却装置を設置している。

通気

通常，小型水槽ではエアストーンまたは60~80μmの



図Ⅱ 2-9 10m³コンクリート水槽の通気用空気配管

気泡が出る小孔を開けた発泡エアホース（図Ⅱ 2-6）などによる強通気が多いが，大型水槽ではそれ以外に塩ビパイプにドリルで1~2mmφの小孔をあけた通気用空気配管を水槽底に配置して弱通気をしていることが多い（図Ⅱ 2-9）。密閉された水槽を用いる装置連続培養では有害原生動物の混入を防ぐため0.45μmカートリッジフィルターでろ過した空気を使用している（Ⅱ 3-1-1「装置連続培養の基本構成と手順」を参照）が，上部が開放されている水槽を用いる通常の培養では空中からの原生動物の落下や混入が考えられるので，有害原生動物の混入の防除は困難である。

フィルター

培養水中の懸濁物を水槽内に垂下させた空調機用のエアフィルターに付着させて除去する方法が一般的に行われている（図Ⅱ 2-10）。通常，このフィルターは培養水中から毎日取り出して，付着させた懸濁物を水道水，高圧洗浄水あるいは洗濯機で洗い出した後，水槽内に再収容する。この洗浄のための専用機も販売されている（図Ⅱ 2-11）。使用されるフィルターの種類はナイロン・ポリエステル混合製マット，サラン繊維製マット，ナイロ



図Ⅱ 2-10 14m³水槽での懸濁物除去用フィルターマットの使用事例



図Ⅱ 2-11 ワムシ懸濁物除去マット洗浄機（栽培漁業機器株式会社製）によるフィルターマットの洗浄作業

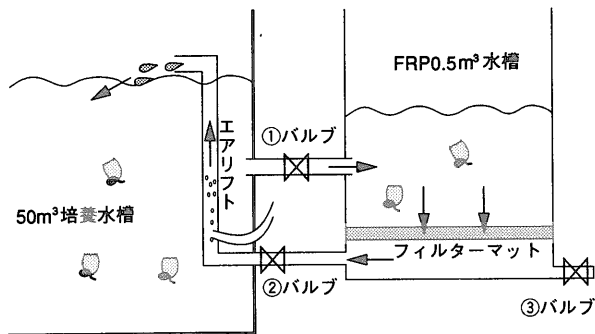


図 II 2-12 培養水槽外に設置した循環式懸濁物除去装置の模式図
フィルターマット洗浄時は①バルブを閉じて還管から培養水が戻るのを待ち、②バルブを閉じて、③バルブを開いて行う。還管に付けたエアリフトで水流を作り、往管は落差による水流のため、トラブルがあってもオーバーフローすることがないのが特徴である。

ン製マットなどがあり、素材や成形によって懸濁物の吸着状況や洗浄の難易、生きているワムシの吸着、耐久性、価格が異なる。また、フィルターを培養水中から引き上げる際に、せっかく吸着した懸濁物が培養水中に塊となって落ちる。このことを考慮して、水槽外に設置した小型容器に培養水を循環させて、その中にフィルターを設置する方法も行われている(図 II 2-12, 広川 1986)。この場合はフィルターの出し入れが容易になり、懸濁物の培養水中への脱落もなくなるが、反面その小型容器内のワムシを洗浄の度に廃棄することになる。

一方、少数ながら下水処理場などで使われている接触酸化材(樹脂製品を表面積が大きくなるように蜂の巣状などに成形したもの)を水槽内に投入して懸濁物の付着と同時に生物ろ過を行わせる方法を行っている事例もある(表 II 1-1, 町田 1994)。この方法では、接触材は培養期間中水槽内に静置し、懸濁物の付着を行わせる。

他の用具

他に用いられる用具には、給餌用として10~25ℓ ポリバケツ, 1~2ℓ ポリビーカー, 各種給餌ポンプ, 収獲用として30~70μmの目合いの収獲ネット, 収獲機(II 5-2「収獲機」を参照), 10~25ℓ ポリバケツ, 1~2ℓ ポリビーカー, 洗浄用として高圧洗浄機, スポンジ, たわ

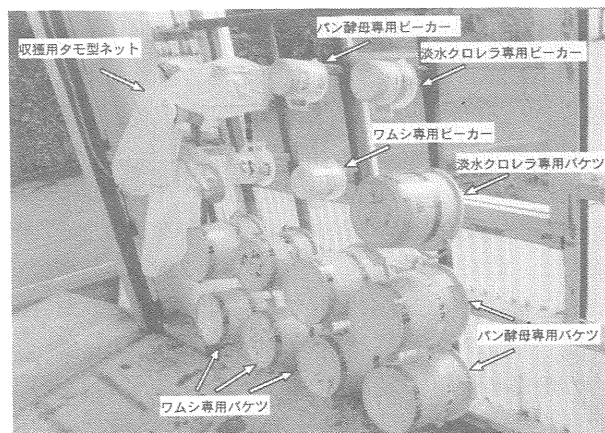


図 II 2-13 ワムシ培養用のバケツやビーカーの保管状況

し、洗車ブラシなどがある(図 II 2-13)。

(桑田 博)

2-1-4 水槽と用水の塩素消毒

ワムシの致死塩素濃度

S, L両型ワムシあるいは特性の異なるワムシ株が混在している場合には管理が困難になることが予想される。そこで、水槽内に前回培養したワムシやその耐久卵などが付着していることを想定して、それらを死滅させておく必要がある。田島ら(1984)はL型ワムシの塩素による致死濃度を調べ、親虫が11ppm, 卵が35ppmとした。耐久卵の致死濃度は不明だが、この値より高い濃度でも耐性があると考えられる。

水槽や用具の塩素消毒

約20℃以上での培養においてL型ワムシ培養にS型ワムシが混入すると、高温性であるS型ワムシのみが卓越するようになる。したがって、特にL型ワムシ培養を行う場合、S型ワムシの混入を防止する目的で水槽の塩素消毒が行われている。また、S型ワムシの培養の場合であっても、他のS型ワムシ株の混入防止や水槽の清浄のために、培養開始の前には一斉消毒をすることが望ましい。

装置連続培養では有害生物の混入防止のために培養開始時の塩素消毒をマニュアル化している(II 3-1-1(1)「事前準備, 連続培養装置の洗浄」を参照)。

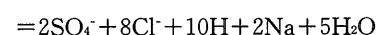
日裁協上浦事業場と能登島事業場では培養開始時及び株の混入などの可能性がある場合には水槽に海水もしくは水道水を満たしたのち、次亜塩素酸ナトリウムを添加し、有効塩素濃度100ppmにして消毒を行っている。この時、使用するバケツ類, 収獲ネットなどの道具類もその中で同時に消毒を行う。また、ナンクロロプシスの送水配管, 収獲用配管の内部などにも塩素で処理した水を送り込んで消毒を徹底させている。

なお、S型ワムシの混入が見られたL型ワムシ培養槽に計算上有効塩素濃度100ppmになるように次亜塩素酸ナトリウムを添加したところ、翌日に一部のワムシが生存していた事例があった。これはワムシ培養水のような極めて有機物濃度の高い水の場合には、投入直後に大半の塩素が有機物と反応してしまい実効塩素濃度が低下するためであり、水中の残留塩素濃度を実際に測定することが必要である。

残留塩素の中和

塩素で処理した水はチオ硫酸ナトリウムによって中和して放流しなければならない。

この時、残留塩素1gを中和するためには



の式から、チオ硫酸ナトリウム五水和物0.874g (= 248.19g/(4×35.5×2)g)が必要と考えられる(岩波理

化学辞典)。便宜的には投入塩素量と等量のチオ硫酸ナトリウムを投入すればよい。

中和の確認はO-トリジン法により行う。

(桑田 博)

2-1-5 計数法

種苗生産現場でのワムシの計数は、培養槽から採水したサンプルからピペットで一定水量を時計皿や枠付きのスライドグラスにとり、ホルマリンやルゴール液で固定して実体顕微鏡あるいは万能投影機で計数するのが一般的である(図Ⅱ 2-14, 15)。これには経費の問題以外に顕微鏡によるワムシ密度の計数と並行して、ワムシのサイズ組成、遊泳状態、摂餌状態、卵の数や大きさなどのワムシ自体の活性の観察、原生動物の種類や数及び卵に寄生する真菌の有無などを観察する意義も大きい。近年、コーンカウンターや画像解析あるいは遠心分離時の容量(吉村ら 1997a, b)を用いて行う方法も検討されている。

<ポイント>

計数作業は個体数以外にワムシの状態観察の意義が大きい。

平野の計数法

厳密な実験のためには平野(1986)による計数法が有効である。この方法は1回当りの採水量を1mlとして10回採集して求めた平均個体数を以下の式に代入して1ml当りの理論個体数を求める方法である。

$$N_{\infty} = 1.1299X^{1.0239}$$

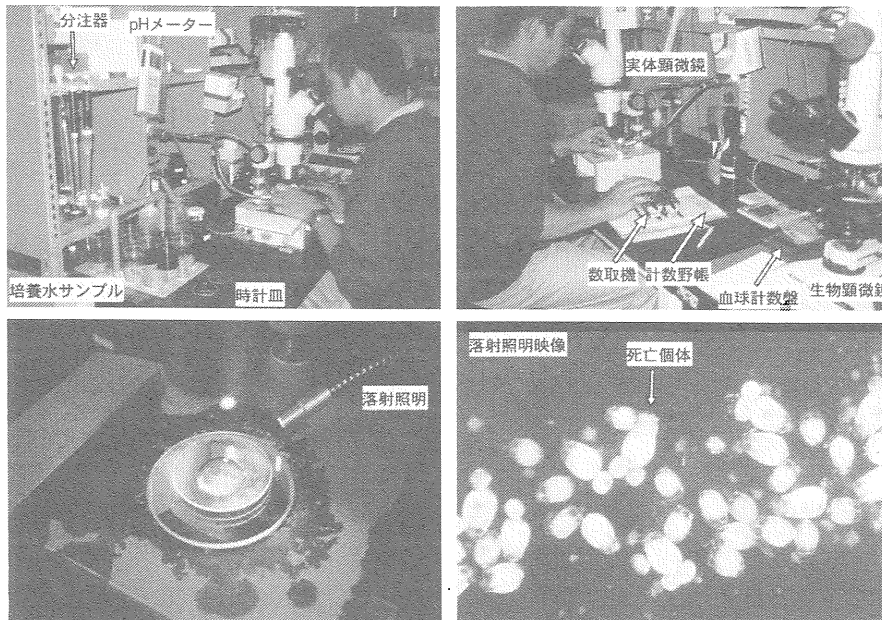
X: 1ml 当りの平均個体数

N_{∞} : 1ml 当りの理論個体数

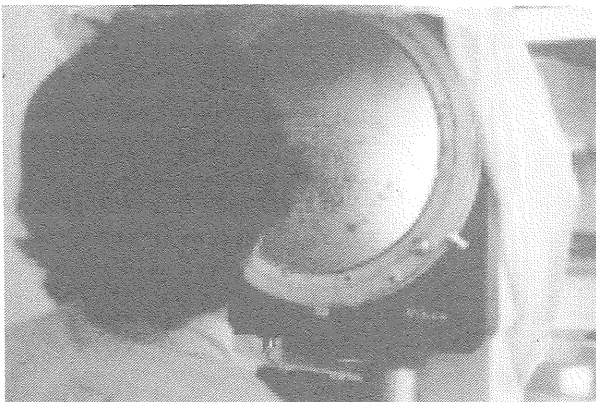
しかしながら、種苗生産現場の日常培養管理では、それほど高精度は要求されない。

<ポイント>

精密な測定法が提案されているが、日常管理ではそれほど高精度は必要でない。



図Ⅱ 2-14 実体顕微鏡によるワムシ計数作業



図Ⅱ 2-15 万能投影機によるワムシ計数作業

誤差要因1: 水槽内のワムシの分布

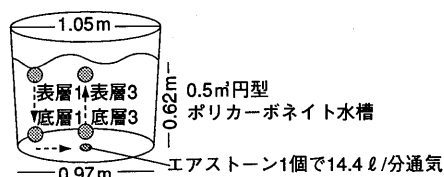
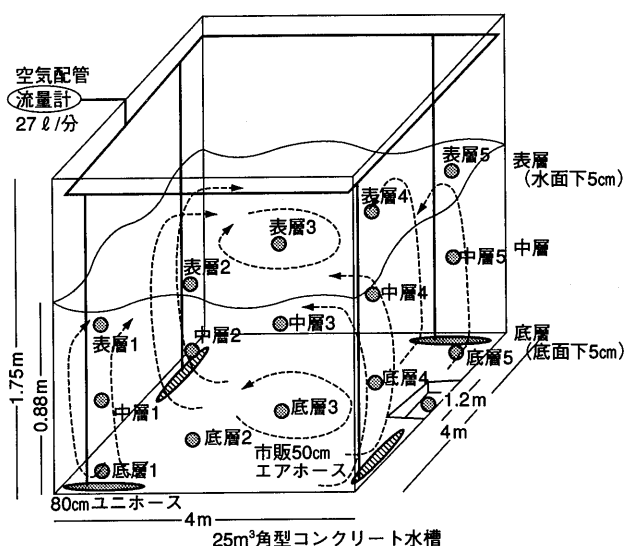
槽内のワムシの分布を把握するために、微量の通気をしている25m³水槽と、その培養水を直前にサイホンで移した0.5m³水槽中の場所ごとのワムシ個体数を調べた(図Ⅱ 2-16)。その結果、25m³水槽の底層だけがワムシ密度がやや薄いのが、水平的には均一であることがわかった。一般的には水槽内のワムシの分布は通気量と配置によって大きく変化すると考えられるが、この事例では通気量は水量15m³に対して27l/分と極めて微量の通気量(0.0018vvm, 容積当りの通気速度: 通気容積(l)/分/培養水容積(l))であったにもかかわらず、4隅に配置した散気管による水流によって効率良く攪拌されて

表II 2-3 培養水槽内でのワムシの分布調査結果

	水平場所 (個体/ml)					平均値
	1 周辺部	2	3 中央部	4	5 周辺部	
25m ³ 水槽						
表層	106.7 ± 7.9	105.8 ± 7.4	103.1 ± 8.7	102.4 ± 6.4	102.3 ± 9.5	104.0
中層	97.0 ± 8.7	104.7 ± 11.1	104.5 ± 11.5	106.5 ± 11.4	110.2 ± 12.0	104.6
底層	105.3 ± 9.6	*	94.6 ± 10.4	102.4 ± 10.3	98.5 ± 8.6	100.2
平均値	103.0	105.2	100.7	103.7	103.6	103.1
0.5m ³ 水槽						
表層	101.0 ± 11.4		99.2 ± 10.9			100.1
底層	102.6 ± 10.7		113.3 ± 11.3			107.9
平均値	101.8		106.3			104.0

分注器：孔径 2 mm, 1 ml 採取, 各点20回計数

*：採取サンプル紛失



図II 2-16 ワムシの水槽内分布調査の採集場所

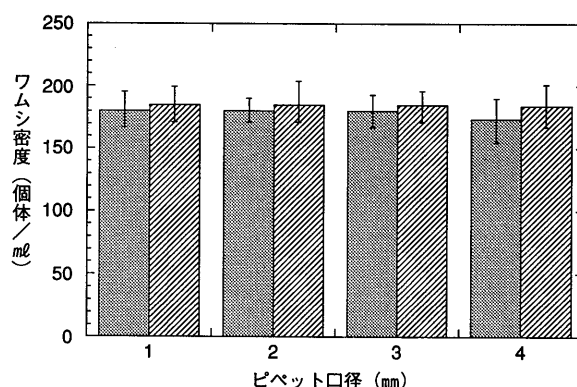
●：採取場所
←：水流

いたと推定される。このため、日常管理の採水場所は、通気が水面に上がっている付近とすれば通常は大きな誤差はないものとみなして良い (表II 2-3)。しかし、ワムシの活力も分布に影響すると考えられるため、活力不良の時には計数値の解釈に注意が必要である。

<ポイント>

水槽内のワムシの分布のかたよりはさほど大きくない。

誤差要因2：採水に用いるピペットの口径と吸引速度
流体力学では液体中に浮遊する粒子が管の中を流れる場合、比重、流速などにより均一に混合しないことが知られている。そこで、採水具の口径と吸引速度が計数値に及ぼす影響を確認した。分注器 (1ml 用) のチップ先端を切断し、1, 2, 3, 4mm の口径のチップを準備し、培養水を入れた 1l のビーカーから約 1 秒と約 3 秒かけて 1ml のサンプルを採取して、その中のワムシ個体数を各 30 回反復して計数した (図II 2-17)。その結果、個体数は口径の影響を受けないが、吸引時間には影響されることがわかった。この結果のみではどちらが正しい値かは判断できないが、一般的に考えて吸引速度が速すぎると過小評価になっている可能性がある。反面、口径が大きくなるほど分散が大きくなっているのは口部の水滴の凸凹による採水量の変動を反映している。また、携卵率は明らかにチップの口径の影響を受け、1mm では卵



図II 2-17 ワムシ計数時のピペットの口径と吸引時間が計数値に及ぼす影響

■ 1秒吸引時
▨ 3秒吸引時

エラーバーは標準偏差を示す。
二元配置分散分析の結果、ワムシ密度はピペットの口径には影響されないが、吸引時間では危険率5%で有意差が認められた。

表Ⅱ 2-4 ワムシ計数時の分注器の先端チップの口径が計数結果に及ぼす影響

	チップ口径 (mm)	
	1	2
雌密度 (個体/ml)	140.2	130.6
総卵率 (%)	29.1	35.1
死亡率 (%) ¹⁾	0.7	0.0
	* └──────────┘	
携卵率 (%) ²⁾	17.3	33.1
	*** └──────────┘	
複数携卵率 (%) ³⁾	0.1	1.7
	** └──────────┘	
離卵率 (%) ⁴⁾	40.2	1.3
	*** └──────────┘	

- 1) 死亡率 (%) = 死亡個体密度 / 雌密度 × 100
 2) 携卵率 (%) = 携卵個体数 / 雌個体数 × 100
 3) 複数携卵率 (%) = 複数携卵個体数 / 雌個体数 × 100
 4) 離卵率 (%) = 離卵数 / 総卵数 × 100
 * 検定により危険率 5% で有為差がある
 ** 検定により危険率 1% で有為差がある
 *** 検定により危険率 0.1% で有為差がある

を結んでいる「ハドソンの糸」が切断されて離卵となり、わずかではあるが死亡率も有意に上昇する (表Ⅱ 2-4)。以上より、採水は口径 2mm 程度のピペットを使用してゆっくりと吸引するのが良いと考えられる。

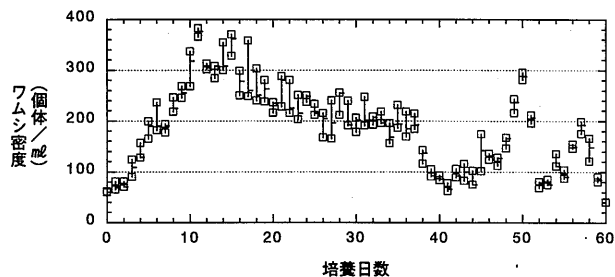
<ポイント>

計数時の採水用ピペットの口径は約 2mm 程度が良い。

日常培養管理の計数事例

通常の培養管理では、短時間で計数を終了し、収穫水量や給餌量の決定などの数値的な設定を行ない、作業に移らなくてはならない。平成10年度の能登島事業場の培養管理のための計数は、数える個体数が100~200個体となるように0.2~10mlの範囲で採水量を調整して各水槽ごとに1回計数しか行っていない。

この方法の精度を検証するために、25m³水槽でのL型ワムシ間引き培養において3回計数を60日間継続して



図Ⅱ 2-18 間引き培養での毎日のワムシ密度計数値の変動
 1日3回計数の平均値、最大値、最小値を示す

行ったところ (図Ⅱ 2-18), 45日目のワムシ密度は平均値が140個体/mlであったのに対して、最小値が100個体/ml, 最大値が175個体/mlであった。培養管理の時間が限られる中で計数が1回しか行われなない場合、時としてこのようになり異なる計数値となることを考慮しておくべきである。

<ポイント>

1~2回の計数値を過信するべきでない。

密度以外の計数項目

計数時にワムシ個体数以外に卵数、携卵雌個体などを計数することが多い。総卵率、携卵雌、複数携卵雌は、理論上1~2日前の餌料によるワムシの栄養状態と環境からの影響を反映しており、また、1~2日後の増殖に反映する。また、複数を携卵する個体は最初の産出卵がふ化する前に次の産卵を行った結果であり、通常は培養状態が良い証拠といえる。しかし、培養が破綻する直前の水質悪化時には、むしろふ化率が低下するために総卵率や携卵率が増加することがあるので注意が必要である (Ⅱ 2-3-3「まとめ、卵率の異常増加」を参照)。

固定にルゴール液やホルマリンを用いる場合、通常、ワムシは固定液に触れた瞬間に筋肉が痙攣するように瞬間的に収縮して死亡するため繊毛冠は背甲内に隠れた状態で固定されるが、一部は繊毛冠が背甲外に出たままの状態でも固定されることがある (図Ⅱ 2-14)。繊毛冠が背甲外に出た状態で固定された個体は固定液を入れる前に既に死亡していたか、あるいは極度に衰弱した状態であったことを示している。ただし、これはルゴール液

(ヨード 3g・ヨウ化カリウム 5g・0.7% NaCl 溶液 100ml, 小久保 1978・山路 1982) の 1 滴 (およそ 0.1~0.2ml) を培養水 0.2~5ml に入れた場合であり, その 1/10 程度の薄い濃度を滴下した場合には元気なワムシでも繊毛冠が背甲外に出たままの状態に固定されるので注意を要する。

ワムシはそれ自体のタンパク分解酵素活性が高いため, 死亡すると原生動物や細菌による消費が加わって早急に分解され, 背甲のみとなる。このため計数時に死亡個体が多く混入しているのは, 死んだばかりかあるいは死にそうな個体が多い証拠であり, 培養破綻の兆候と考えられる。

<ポイント>

卵率は通常高い方が良いが, 水質が悪くてふ化しないために卵率が上がっていることがあるので注意を要する。

数値化しにくい観察項目

顕微鏡観察に付随してワムシの摂餌状態, 日齢組成を反映する大きさの分布, 死亡個体の割合, 原生動物の種類や量などの観察も同時に行われる。背甲が変形した個体の出現も培養末期の環境抵抗の強い状態の指標となる。充分量の給餌を行っているにもかかわらず, 胃腸や卵黄線など躯体中央部の不透明部分が背甲に占める面積が少なく見える場合は (図 I 4-8 は溶存酸素濃度の低下による摂餌不良の事例, 図 II 3-18 は飽食状態と摂餌不良状態のワムシの事例), 水質やワムシの活力が悪化したために摂餌不良となっている可能性がある。サンプル瓶をしばらく静置すると浮上し走光性が強いほうが状態は良く, 沈殿しやすく光に集まらないのは悪い状態であると判断される場合があるが, 培養槽のワムシ密度やサンプル採取後の管理法や時間によっても変化するため一概に決めることはできない。毎日一定の状態サンプルが扱われている中で, 急な変化がある場合には, 不調の判断になる場合もある。これらの状態観察は日常行われているが, 数値化が困難であり, また, 株や培養条件によっても程度が異なるなどの理由から記載した事例はほとんどない。

体表面に付着珪藻や真菌などが付着する場合がある。これらは間引き培養の日数が長期に及んだ場合の末期や増殖不調時に出現することが多いが, 有機物負荷が高いために環境抵抗が増大し (I 4-8 「培養槽の物質フロー」を参照), 増殖率が悪く, 高齢ワムシが多いと考えられる。このような事例がしばしば観察される場合には根本的に培養の管理法を見直す必要がある。

水槽表面の泡の色や大きさなどの状態は粘性の高い高分子物質の種類と蓄積量を反映していると考えられる。泡のできかたと量によって培養状態を経験的に判断している場合があるが, 記述は困難であり, 培養状態が違う

場合に比較もできない。

培養水の色は各種の溶存態や懸濁態の蓄積物質, 細菌や原生動物の種類や量を反映していると考えられる。人によっては濁った状態よりも透明感のある水のほうがワムシの状態が良いと判断しているが, 餌料に由来する有機物が効率よくワムシに転換し, 水中の懸濁・溶存態物質, あるいは細菌密度が少ない状態を示唆している例もある。これも日々の培養管理での計測は時間的に困難であり, 培養状態が違う場合の比較もできない。

残餌は給餌量と合わせて考えると直接的にワムシの摂餌を反映しているので重要である。前日までなかった残餌が急に目立つようになった場合は, 溶存酸素量の低下や水質の悪化などによるワムシの活性低下によって起きた摂餌の減少の可能性が高く「危険信号」である。

培養水の臭いが不快になった場合は, 過大な有機物負荷に起因して細菌相が遷移し, 培養環境が悪化していることが多く, 培養状態も悪いことが多いので注意が必要である。臭いは感覚的には分かりやすいが, 個人差が多く, 計測は困難である。

<ポイント>

増殖の良い培養では, 若いワムシが多く, ワムシの体にしわや変形が無く, 消化管内容物が豊富で, 体表面がきれいであり, 培養水が透明である。

(桑田 博)

2-1-6 餌料

ナンノクロロプシス

図 II 2-19 は 1998 年 6, 7 月の能登島事業場の屋外で培養したナンノクロロプシスを観測した結果である。水温は梅雨時期を挟んで変動し, 6 月中旬の 20℃ 弱から 7 月末には 28℃ 強まで上昇している。間引き培養の収穫後にナンノクロロプシスを給餌する場合に, このような高水温のナンノクロロプシスの注水や, 反対に冬季の低水温の注水はゆっくりと入れる注意が必要である。

塩分濃度はナンノクロロプシスの増殖が好調なときには随時海水によって希釈されていくために濃くなり, 培養不調時には増殖しないために希釈が少なく, さらに降雨があると薄くなる。この期間中は 25.5~35ppt の範囲で変動した。また, 宮古事業場において塩分濃度が 37ppt まで上昇していた事例があった。好天が続いているために雨水による希釈がなく, 何らかの原因で増殖が悪いために注水が少ない状況において, 通気により蒸発が促進されたために塩分濃度が高くなったものと考えられた。ワムシ培養にとって塩分濃度の影響は極めて大きいため (I 4-2 「塩分濃度」を参照), ナンノクロロプシスを用いた培養を行っている場合にはその変動を受けることに配慮が必要である。

溶存酸素濃度と pH はナンノクロロプシスの光合成に

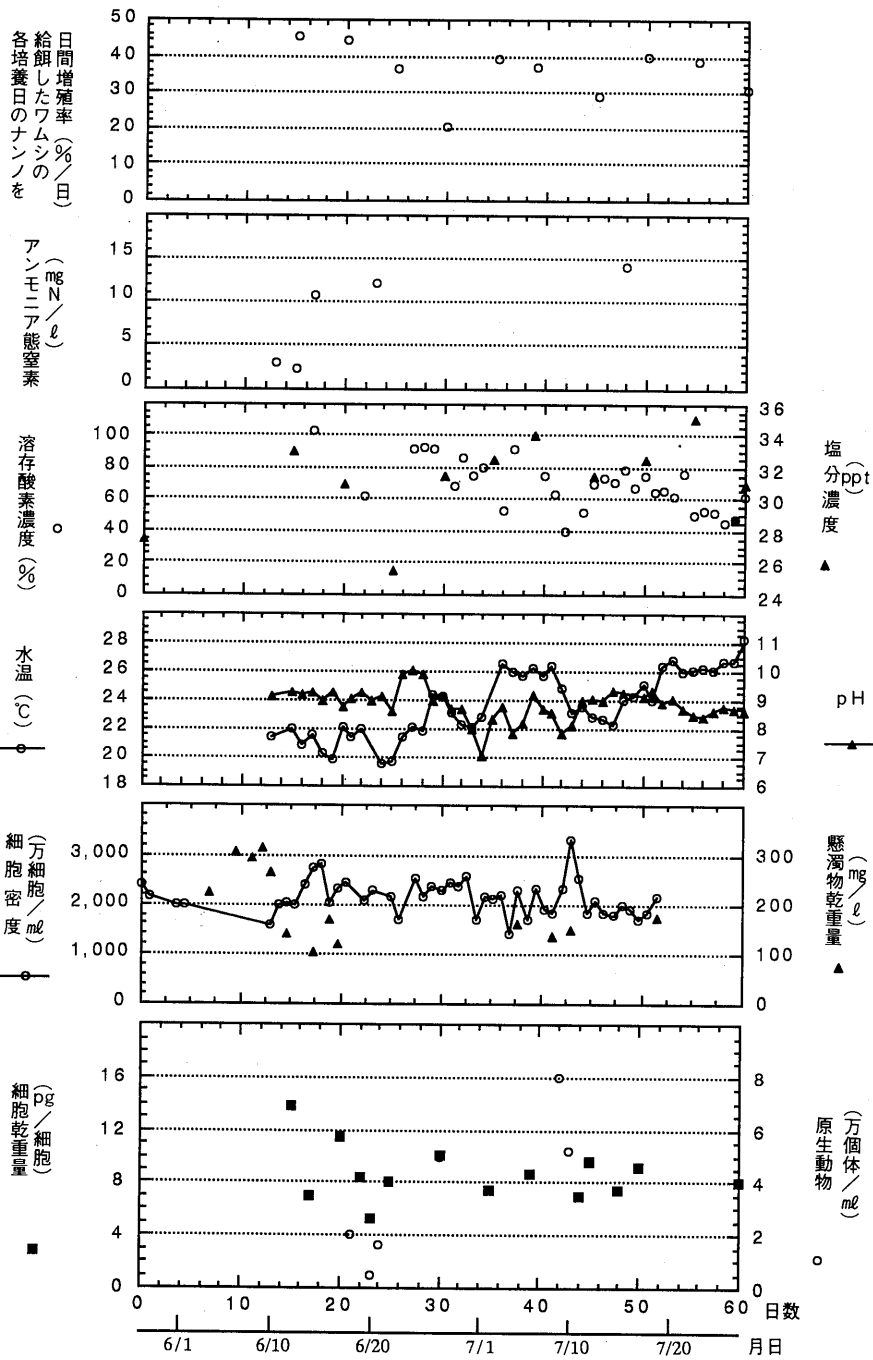


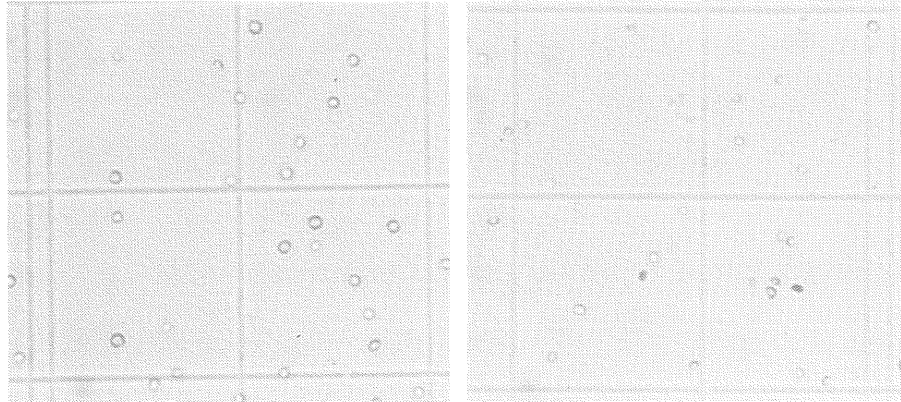
図 2-19 日栽協能登島事業場においてワムシ培養に供した 1998年6～7月のナンノクロプシスの性状

影響される。盛んに光合成をしている時には共に高くなり、天候不順の時には反対に低く推移する。この期間中の溶存酸素濃度は40～100%の範囲で温度上昇に伴って徐々に低下する傾向があり、pHは7～10の範囲で変動していた。特に晴天条件下で培養しているナンノクロプシスをワムシ培養水に大量に注水するときにはpHの急変の可能性がある。

肥料の残留量は、ナンノクロプシスによる消費と注水による希釈のバランスによって変動する。それらの指標としてアンモニア態窒素濃度を見ると、2～14mgNH₄-N/lの間で変動していた。ナンノクロプシス

ス培養水中に残留した肥料成分は直接的にワムシ培養水の環境抵抗を増やす元になるため、可能であれば低いほうが望ましい。

細胞数は増殖次第であるが、この期間中は1,400～3,300万細胞/mlの間で変動していた。ナンノクロプシスの増殖は水温と日照及び細胞の活性や有害微生物の発生状況によって変動し、それらを予測して細胞数を調整するのは困難である。ナンノクロプシス細胞乾重量（ただし、この数値は懸濁物重量をナンノクロプシス細胞数で除して求めた便宜上の数値であるため、細菌や原生動物などの微生物を含むものである。）は5～



図Ⅱ 2-20 同時期に2機関で培養中のナンノクロロプシス
写真の罫線は血球計算盤のものであり間隔は50 μ m

14pg/細胞の間で変動していた。ナンノクロロプシスは好条件下では昼間に細胞が大型化し、日没後に細胞分裂をする。しかし、屋外培養では環境条件が日々変化するため、悪条件下では数日かけて細胞が増大した後に分裂することがある。また、細胞の状態による変化があることも想像される。それらの影響により上記の細胞重量の変化がおきているものと考えられる。

また培養している株が機関ごとに異なる可能性もある(図Ⅱ 2-20)。

さらに、ナンノクロロプシス細胞のワムシに対する栄養価を把握するために、約5日ごとに冷凍保存した。このナンノクロロプシスを約半年後に解凍し、交叉培養検定によって調べた結果を図Ⅱ 2-19の最上段に示した。冷凍保存していたナンノクロロプシス培養水を解凍後、3,000rpm 5分間の遠心分離により藻体を濃縮し、塩分濃度20pptに調整した0.45 μ mフィルターろ過海水5mlの中に、1,000万細胞/mlに調整した。この中に同一の培養槽のワムシ各10個体を接種して、5日後の数から日間増殖率を計算した。その結果、20~45%/日の間でワムシの日間増殖率は変動した。すべての培養水中にナンノクロロプシス細胞が残っていたことから、この違いはナンノクロロプシス細胞の量による差異ではなく、質的な差異と推定される。すなわち、ワムシにとっての栄養価がナンノクロロプシスの培養状態によって変化していると考えられた。

原生動物は様々な種類、大きさのものが時々刻々と変化しているはずであり、その記録は事実上不可能である。この時のナンノクロロプシス培養では原生動物密度が1万個体/ml以上になった場合はワムシ培養への供給を停止した。しかし、実際にはこの期間中の最大密度は8万個体/mlに達した。原生動物の増殖速度は極めて速く、屋外で砂ろ過海水を注水する培養方法では、1日1回程度の計数で突発的に起こる原生動物の増殖を把握することは不可能である。

また、Teshimaら(1983)はナンノクロロプシス(論

文中では海産クロレラとされている)の培養時の水温と塩分濃度の影響を調べて、脂肪酸組成が水温によって異なることを報告し、特に、高水温で培養したナンノクロロプシスはEPAの含有量が少なくなるとしている。これは小林(1994,1995)が屋外で培養したナンノクロロプシスのEPAの季節変化を調べ、夏季にやや低いとしたことと一致する。また、同時にビタミンB₁₂含有量を調べ、春と夏よりも秋と冬のほうが約2倍も多いことを報告している。ビタミンB₁₂含有量はワムシの増殖に大きく影響することが指摘されているが、ワムシ培養槽内の細菌相による産生も少なくないので直接影響するとは限らないが、注意が必要である。一般的に植物プランクトンの成分は増殖のフェーズによって異なり(山口1983,佐藤ら1984,Fabregasら1985a,1985b,1986),EPA及びタンパク質含量が増殖期に多く、定常期には極端に減少するという報告もある(岡内1988,岡内ら1990)。

以上のように屋外で培養したナンノクロロプシスは水質、細胞数、細胞重量、栄養組成、ワムシの増殖のための栄養価及び原生動物の種類と密度が変動し、現在の培養法ではそれらの計測や管理は困難である。一方、粗放連続培養ではナンノクロロプシスとパン酵母の混合給餌により高い増殖率を上げている事例がある。ナンノクロロプシスを餌料として使用する場合には、うまく利用できれば直接経費を安くできるが、その品質の不安定さを認識しておくことが必要である。

<ポイント>

屋外で培養したナンノクロロプシスは水質、細胞数、細胞重量、餌料価値、混入生物が大きく変動する。

淡水クロレラ

有機培養の特徴を利用した工業的な生産形態から考えて、ナンノクロロプシスよりはるかに品質が安定していると考えられるが、装置連続培養においてワムシ培養密

度が淡水クロレラのロットを変えた直後に低下し、別のロットに変更して回復した事例もあり、注意が必要である（Ⅱ 3-1-2「連続培養運転時の注意事項、給餌」を参照）。また、冷蔵保存期間は約20日間とされているため、保存期間が超過したロットの使用は控えるのが望ましい。

<ポイント>

市販の淡水クロレラは屋外で培養したナンノクロロプシスよりはるかに品質が安定しているが、過信は禁物である。

パン酵母

パン酵母は脱水・成形してある製品をミルクミキサーで水に溶解し（図Ⅱ 2-21）、水槽に直接散布するか（図Ⅱ 2-22）、バケツに収容してタイマーに連動した小型ポンプで定期的に散布する。

単独ではワムシへの栄養面で欠陥があり、植物プランクトン餌料と併用または培養槽内のビタミン B₁₂ 産生菌に代表される細菌による栄養素の補強によって餌料価値が出る（Ⅰ 4-7-1「細菌」、Ⅰ 5-1「栄養要求」を参照）。しかしながら、20m³水槽において淡水クロレラ 6l/日の給餌により約 8 億個体/日の収穫で安定していた粗放連続培養に、パン酵母 2.5kg/日を加えると収穫数は約 20 億個体/日に上昇した事例がある。これは、パン酵母が餌料として役立っていることを示しており、ワムシ 1 億個体生産当りの餌料費だけを比較すると、淡水クロレ

ラ給餌時の 600 円/億個体から、パン酵母を加えると 286 円/億個体に下がったことになる。パン酵母は巧く使えばワムシ生産の餌料費の低減に有効である。

<ポイント>

パン酵母は一定量までは混合給餌しても増殖率は落ちず、何より経済的である。

フェオダクチラム

ワムシに対する餌料価値を宮古事業場で培養中のフェオダクチラムや宮古事業場培養ナンノクロロプシス及び能登島事業場培養ナンノクロロプシスについて交叉培養検定法により検討した。その結果、フェオダクチラムを給餌したワムシは両事業場のナンノクロロプシスを給餌したワムシに劣らない増殖を示した（表Ⅱ 2-5）。また、L型ワムシがフェオダクチラムを摂餌する速度をナンノクロロプシスと比較したところ、むしろ速いことが示されており（熊谷 1986）、量産培養で比較してもワムシ密度、卵率、増殖率ともナンノクロロプシスに劣らない結果が得られている（塩澤 1990、岩本 1991）。

しかし、ナンノクロロプシスと同様に屋外培養のフェオダクチラムはサイズ、細胞重量、餌料価値、水質、混入生物が大きく変動している可能性が高い。

テトラセルミス

テトラセルミスはワムシの良い餌料であるが（Hirayama ら 1979、岡内・福所 1984）、HUFA が少ないために、海産魚類種苗生産の飼育水への添加に使用されている事

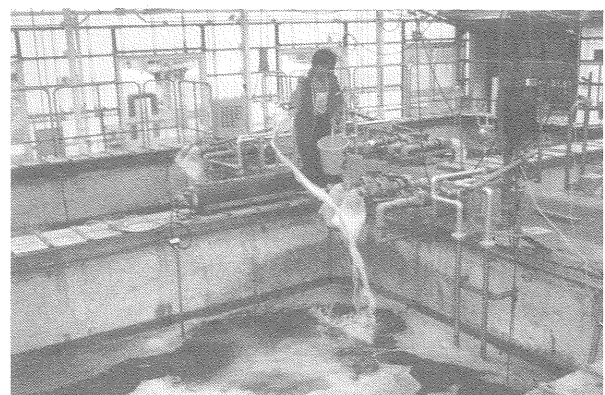
表Ⅱ 2-5 日裁協宮古事業場で培養したナンノクロロプシスとフェオダクチラムのワムシに対する餌料価値の交叉培養検定法による評価

種 類	餌 料 密度 (万細胞/ml)	用 水	平均日間 増 殖 率 (%/日)	比増殖率
能登島事業場培養ナンノクロロプシス	1,000	ろ過海水	36.2	0.309
宮古事業場培養ナンノクロロプシス	1,000	ろ過海水	53.6	0.429
宮古事業場培養フェオダクチラム	100	ろ過海水	50.2	0.407

実験は1998年12月5日に同時に実施した。
使用ワムシは 25m³水槽の粗放連続培養ワムシである。



図Ⅱ 2-21 ミルクミキサーによるパン酵母の溶解作業



図Ⅱ 2-22 溶解したパン酵母の給餌作業

例はない。ワムシの大量培養用餌料としてナンノクロロプシスと並行して別途テトラセルミスの培養を行うことは施設の的に困難な場合が多く、実際その事例はない。しかしながら、簡易な組成の培地でも培養ができること、鞭毛を有し遊泳するため浮遊性に優れている、太陽虫が増えない、ワムシの餌料として優れている、などの利点を生かして（Ⅰ 5-2「餌料種類，テトラセルミス」を参照），株の保存用に使われている（Ⅱ 2-1-2「株の保存，テトラセルミスを用いる方法」を参照）。

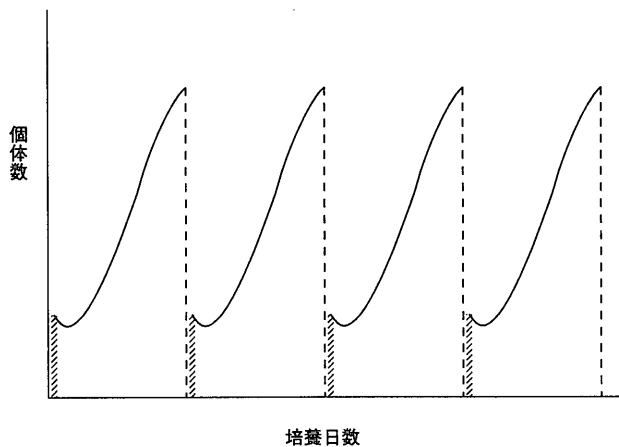
他の餌料

油脂酵母，海洋酵母やワムシ用配合飼料などが市販されているが，現時点では日裁協での使用事例はない。

（桑田 博）

2-2 植え継ぎ培養

植え継ぎ培養は理想的には低密度で接種したワムシが対数増殖期から定常期に達する前に全部を収穫することによってワムシの活性が落ちるのを回避する培養法である（図Ⅱ 2-23）。収穫したワムシは，接種量と同量を次の培養の元種として植え継ぎ，増殖分を供給または廃棄する。



図Ⅱ 2-23 植え継ぎ培養の模式図

実線：ワムシ密度
破線：収穫
斜線：培養開始時に収容する元種

2-2-1 植え継ぎ培養の手順

ワムシ密度

通常，100～300個体/ml で接種，200～1,000個体/ml で全収穫し，接種個体数と同数を次の培養に植え継ぎ，増殖分を供給する。毎回一定の作業を繰り返すのが基本である。なお，福岡県栽培漁業公社で開発された超高密度培養では10,000～20,000個体/ml での培養が実現されている。

株及び接種ワムシの状態

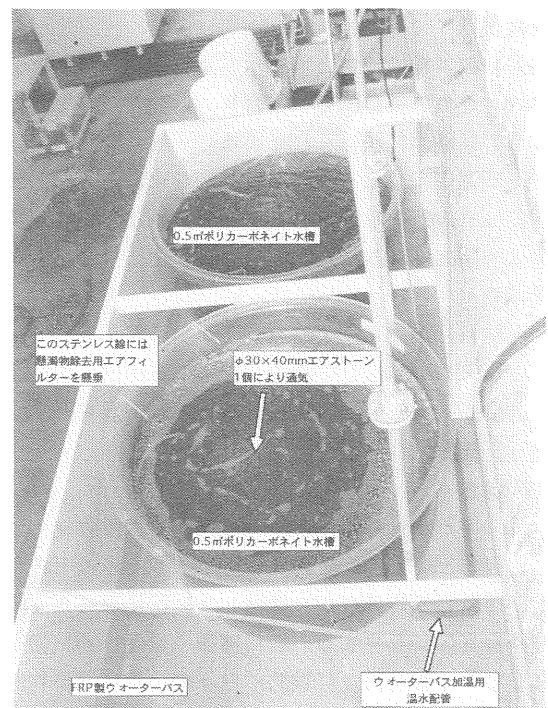
使用株は自場で保存している株，他場から生産期前や

緊急時に譲り受けた株，民間業者から購入した株など，さまざまである。使用株もL，S，S型タイ株などさまざまであり（Ⅱ 1「日本栽培漁業協会の現状」を参照），多くの場合，元種自体に原生動物が混入している。

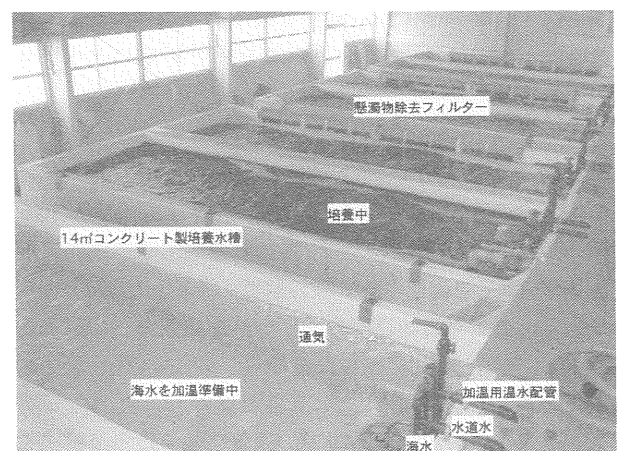
培養のピークを過ぎて個体数が減少過程にあるワムシは増殖能力が劣り，植え継いだ次の培養で増殖不良または急減を引き起こす可能性がある（Ⅱ 2-2-3「まとめ」を参照）。このような対数増殖期を過ぎた状態のワムシは，数があっても増殖能力が劣ることがあるため，注意が必要である。

水槽

使用水槽容量は，需要と施設に応じて30ℓ～200m³までさまざまである。（表Ⅱ 1-1，図Ⅱ 2-24，25）。培養水量は基本的に接種時から最大容量で始められ，最終日の収穫まで追加の注水は行わない。



図Ⅱ 2-24 小型水槽による植え継ぎ培養の事例



図Ⅱ 2-25 大型水槽による植え継ぎ培養の事例

給 餌

餌料は、淡水クロレラを単独給餌する、あるいはそれにパン酵母も加えた併用給餌を行う、ナンノクロロプシスにパン酵母を加えた併用給餌を行う、それに淡水クロレラを補充する事例などがある。併用給餌のやり方にも培養日数ごとにナンノクロロプシス（あるいは淡水クロレラ）の給餌日とパン酵母の給餌日を別々にする事例と、毎日両者を併用する事例がある。給餌方法は1日に2～5回に分けて作業者が水槽に直接散布する場合と餌料タンクを設けてポンプによる自動給餌を行う事例及び両者を併用する事例がある。

給餌量はワムシ個体数に応じて1日1億個体当りの給餌率を掛けて求める場合と、あらかじめ培養日数ごとに決める場合がある。また、それらをワムシの活力、残餌、培養水の状態、懸濁物の量などから経験と勘により判断して加減する場合がある。

培養日数

培養日数は株の特性と培養水温及び給餌量によって左右され、それに各機関の水槽容量、個数及び需要量が加味されて経験的に決められている。一般に、高水温、高密度、高増殖率による高い単位生産を求めると培養日数は短くなり、低いながらも安全性を求めると培養日数は長くなる傾向にある。

懸濁物

懸濁物は水槽内に垂下したフィルターに付着させて、毎日水槽外に取り出して洗浄・除去するのが一般的である（Ⅱ 2-1-3「培養の準備—水槽、用水、器具—、フィルター」を参照）。

泡の発生

水面の泡は餌料種類、給餌量、通気量、微生物相によって、直径30cm以上に達する大型の泡、1cm以下の小型の泡、それらが崩れながら蓄積して糊状になったものまで様々なものが発生する。餌料種類や量及び通気量を一定にしている場合は、経験的に日々の培養状態の判断材料としている場合があるが、それらの条件が少しでも変わると大幅に変化するため一般化は困難である。塊になると沈下や崩壊により培養や収穫作業の妨げとなることを懸念して2～3mm目合いのタモ網ですくいとって除去する事例もある。

通 気

通気は小型水槽では50～300mmの円柱形あるいは角形エアストーンが使われ、大型水槽では塩ビ管に10～15cm間隔で1～2mmの穴を開けた通気用空気配管（図Ⅱ 2-9）や発泡塩ビホース製分散器（図Ⅱ 2-6）など様々である。通気量は溶存酸素濃度の維持と懸濁物の除去を勘案して経験的に決められている。すなわち、2～5m³以下の規模の水槽では、水槽容量に対して十分な量のフィルターが設置できるので、通気を強く行って懸濁物を沈下させないでフィルターに吸着・除去する方法が採

られることが多い。しかし、10m³以上の大型水槽の場合は、水槽容量に対して十分な量のフィルターを設置するとフィルターの洗浄作業が膨大となるため、通気を弱くすることにより懸濁物の沈下を促進して水槽底に沈め、それでも浮遊している懸濁物をフィルターで除去する方法が採られることが多い。水槽底に沈んだ沈殿物を底掃除により除去することが試みられたこともあるが、状態をさらに悪化させることが多く実用化には至っていない。

（桑田 博）

2-2-2 培養事例

(1) S型ワムシ、大型水槽の事例（伯方島事業場）

—大型水槽により冷凍ナンノクロロプシスまたは淡水クロレラとパン酵母を併用給餌する培養事例—

培養法の特徴は、ほぼマニュアル化され培養日ごとに一定した作業を行っていること、ナンノクロロプシス濃縮機の導入によって生ナンノクロロプシスを使用せず冷凍ナンノクロロプシスを使用していることにある（表Ⅱ 2-6）。また、接種日と2日目は冷凍ナンノクロロプシスと淡水クロレラのどちらかとパン酵母の混合給餌であるが、1日目はパン酵母の単独給餌というように植物プランクトンの給餌日とパン酵母の給餌日を分けている日が多く、各培養日数ごとに給餌基準を作ってそれにほぼ準拠した培養を行っている。基準を守った培養を行っていることは、給餌率からの予測に培養結果の給餌量（表Ⅱ 2-7）がほぼ一致していることからもうかがえる。

平成7年度の44事例について培養日数ごとに平均すると、1日目の平均日間増殖率は11.7%/日しかないが、総卵率と携卵率は40.8%、34.7%と高くなる。そのために2日目の平均日間増殖率は64.8%/日と高いが、総卵率と携卵率は反対に10.6%、9.9%と極めて低くなる。そして、3日目の総卵率と携卵率は少し上がるものの、平均日間増殖率は8.3%/日と低い（表Ⅱ 2-7、図Ⅱ 2-26）。

このように培養日ごとの平均日間増殖率の変動は前日の卵率を反映しており、卵率はさらに前日の植物プランクトンの給餌を反映している。全体を平均すると、植物プランクトン給餌率が0.20換算m³/億個体/日（淡水クロレラをナンノクロロプシスに換算して算出）と十分な給餌率であるにもかかわらず、植物プランクトンを給餌する日としない日を設けるために全体としての効率が悪くなっている可能性がある。ワムシの餌料選択性（Ⅰ 5-2「餌料種類」を参照）と培養槽の細菌相（Ⅰ 4-7-1「細菌」を参照）に問題がある可能性が高い。

乾燥重量を基準として計算した餌料転換効率は0.212であった。

<ポイント>

植物プランクトンとパン酵母の併用給餌の時にどちらかのみを与える日を設けると全体の効率が落ちる可能性がある。

表 II 2-6 日裁協伯方島事業場の 20m³水槽による S 型ワムシ植え継ぎ培養の方法

ワムシ株	S 型ワムシ (来歴不明?)
携卵雌の平均背甲長	180~200 μ m
全培養期間	5 カ月
培養日数	3 日
元種	室内で保存した元種
培養水槽	18m ³ コンクリート水槽 4 面
通気	塩ビ管に空けた小孔による
加温	30 $^{\circ}$ C
使用海水	100%ろ過海水
餌料	冷凍ナンノクロロプシス, 淡水クロレラ, パン酵母
接種密度	約250個体/ml
収穫密度	約450個体/ml
懸濁物除去フィルター	エアフィルター (トラベロン AF111)
フィルター使用量	50 \times 70cm \times 7~12枚/18m ³
フィルター面積/培養水量比	2.45~4.2m ² /18m ³ (0.13~0.23m ² /m ³)
培養工程	
0 日目	ワムシ密度が約250個体/ml になるように接種, 冷凍ナンノクロロプシスを約0.5換算m ³ /億個体の給餌率で給餌, 淡水クロレラを使う場合は約0.2 l /億個体の給餌率で給餌
1 日目	パン酵母を約0.08kg/億個体の給餌率で給餌
2 日目	冷凍ナンノクロロプシス約0.08換算m ³ /億個体とパン酵母約0.04kg/億個体の給餌率で給餌
3 日目	全収穫, 植え継ぎ

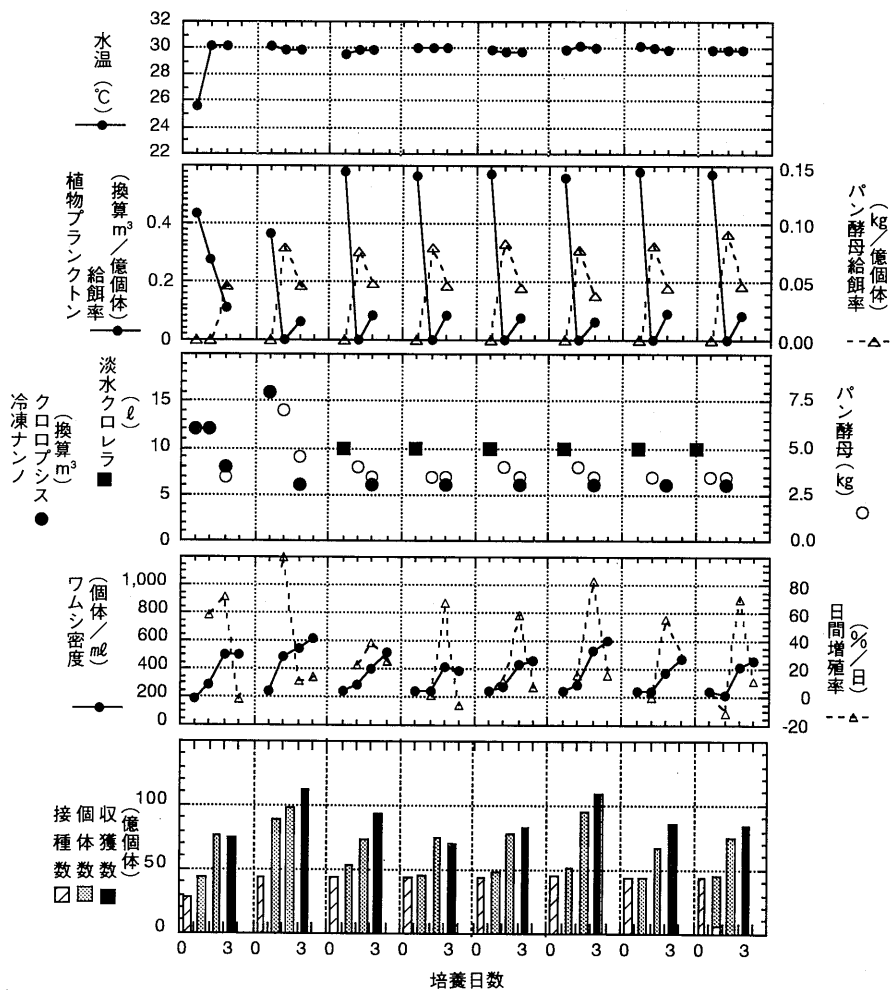


図 II 2-26 日裁協伯方島事業場の 20m³水槽による S 型ワムシ植え継ぎ培養の結果

表Ⅱ 2-7 日裁協伯方島事業場の 20m³ 水槽による S 型ワムシ植え継ぎ培養の培養日ごとの状況

培養 日数 (日)	水温 (℃)	培養 水量 (m ³)	ワムシ 密度 (個体/ml)	接 種 個体数 (億個体)	総 個体数 (億個体)	収 獲 個体数 (億個体)	日 間 増殖率 (%/日)	総卵率 (%)	携卵率 (%)	植物プランクトン給餌			パン 酵 母 給餌量 (kg)	給餌率 (kg/億 個体/日)	事例数
										濃 縮 ナノ (換算 m ³)	淡 水 クロレラ (ℓ)	給餌率 (換算 m ³ / 億個体/日)			
0		18.0	243	43.0	43.0					6.2	5.7	0.47	0.0	0.00	44
1	29.9	17.7	265		46.9		11.7	40.8	34.7	0.3	0.0	0.01	3.7	0.08	44
2	30.0	17.7	430		76.8		64.8	10.6	9.9	6.1	0.7	0.12	3.3	0.04	44
3	29.9	17.7	475		84.5	84.5	8.3	17.9	16.3				0.1		44
全事例平均	29.7	17.7	390	43.0	69.1	84.5	27.9	23.1	20.3			0.20		0.04	
全事例合計				1,893.8		3,717.8				552.0	280.0		311.0		

平成7年度生産の44事例の各培養日数ごとの平均
乾燥重量を基準とした餌料転換効率：0.212

(2) L型ワムシ、小型水槽の事例（能登島事業場）

—小型水槽で淡水クロレラを給餌する培養事例—

0.5m³ ポリカーボネイト水槽に砂ろ過海水（全海水）を加熱して準備し、ワムシを400個体/ml、約2億個体で接種し、淡水クロレラ0.3ℓ/億個体/日の給餌を1日2～3回に分けて水槽に直接手撒きにより給餌し、5日ごとに植え継いだ培養事例である（表Ⅱ 2-8、図Ⅱ 2-27）。

2カ月間で12回の培養を行った結果、植物プランクトン給餌率は0.64換算m³/億個体/日であり、平均日間増殖率は21.6%/日、単位生産は0.897億個体/m³/日とほぼ安定した培養となった。しかし、10、11回目の培養は5日目の到達密度が約700個体/mlと低かった（図Ⅱ 2-27）。この時期は気温の上昇のために培養水温が約27℃に上がっており、このために培養が変調をきたした可能性がある。11回目の培養5日目には交叉培養検定（I 4-9「培養状態の評価法」を参照）の結果、ワムシは良いが水質が悪いと判断され、そのワムシを植え継いだ12

回目の培養時には同検定により増殖に悪影響のある微生物の存在が認められ、ワムシの増殖能力の低下も確認されている。

また、培養日数ごとの平均値を見ると、1日目の平均日間増殖率が5.3%/日と低く、2～4日目にかけて上昇している（表Ⅱ 2-9）。総卵率、携卵率は0、4日目が低く（それぞれ23～26%と19～20%）、1～3日目が高い（それぞれ32～39%と24～30%）傾向にあった。複数携卵率も同様に2～3日目に高い傾向がある。死亡個体の割合はすべて2～5%であり、間引き培養に比べると明らかに多く、特に0、1日目が高い。接種直後には収獲にともなう物理的な障害とビタミン B₁₂ 以外の何らかの必須ビタミンの欠乏の影響があり、4日目には環境抵抗の増加の影響を受けていると考えられる。繊毛虫 *Euplotes* やその他の原生動物の密度は0、1日目のほとんど皆無の状態から2～4日目に出現する傾向があるが、*Euplotes* は最大でも約100個体/mlと少ない。その他の原生動物は

表Ⅱ 2-8 日裁協能登島事業場の 0.5m³ 水槽による L 型ワムシ植え継ぎ培養の方法

ワムシ株	L型ワムシ小浜株
携卵雌の平均背甲長	250μm (220～280)
全培養期間	2カ月
培養日数	5日
元種	恒温器内のフラスコで淡水クロレラを給餌して保存した元種
培養水槽	0.5m ³ ポリカーボネイト水槽 2面
通気	φ30×40mm エアストーン 1個 (3～10ℓ/分)
加温	20℃ (ただし夏季の実験のため自然昇温)
使用海水	100%ろ過海水
餌料	淡水クロレラ
接種密度	400個体/ml
収獲密度	700～1,000個体/ml
懸濁物除去フィルター	トラベロンエアフィルター
フィルター使用量	0.3×0.6 (0.18m ²) 1枚/水槽
フィルター面積/培養水量比	0.18m ² /0.5m ³ (0.36m ² /m ³)
培養工程	
0日目	ワムシ密度約500個体/ml、約2.5億個体を接種
0～4日目	淡水クロレラを約0.3ℓ/ワムシ1億個体の給餌率で給餌（ただし、残餌が多い場合は減量）
5日目	全収獲、植え継ぎ

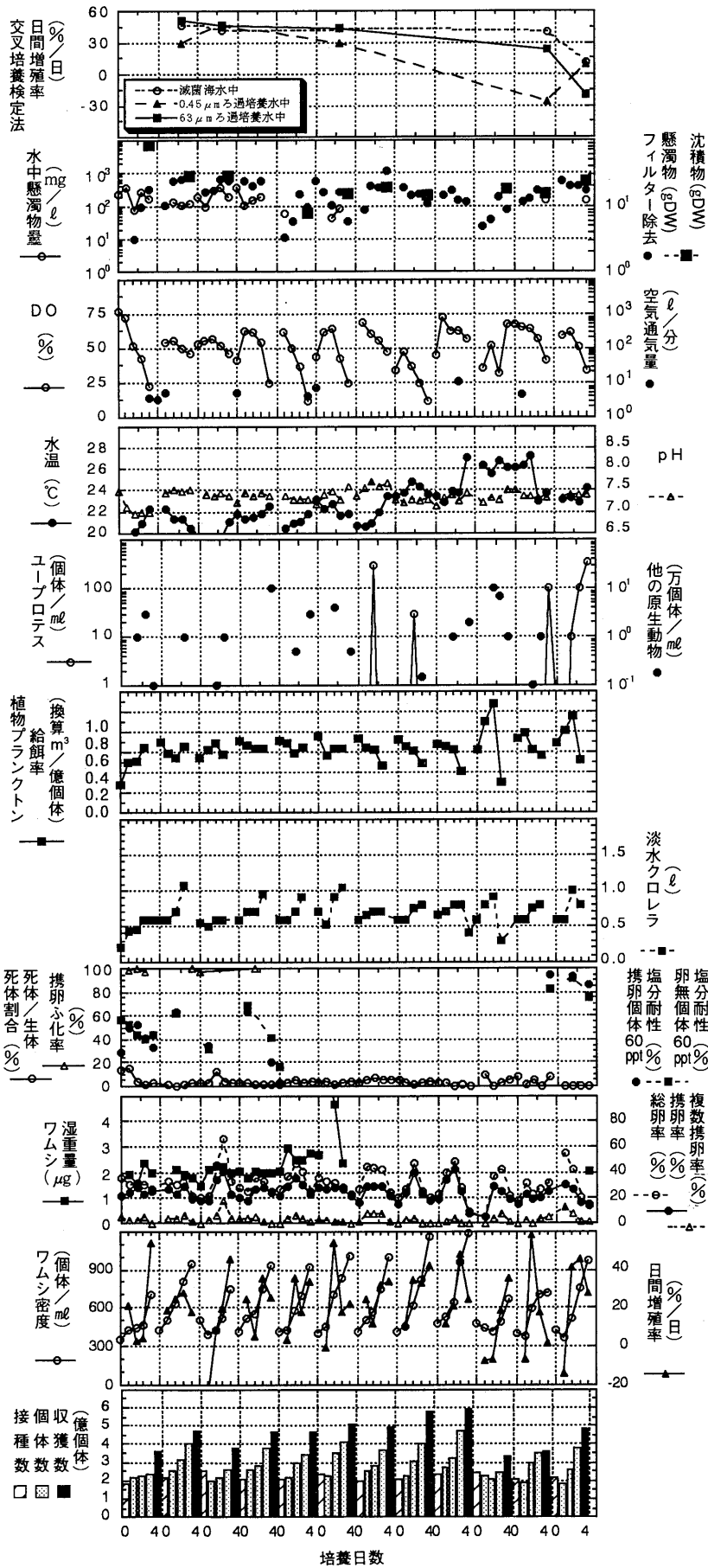


図 II-2-27 日栽協能登島事業場の 0.5 m³水槽による L 型ワムシ植え継ぎ培養の結果

表Ⅱ 2-9 日裁協能登島事業場の0.5m³水槽によるL型ワムシ植え継ぎ培養の培養日ごとの状況

培養 日数 (日)	水温 (℃)	溶存 酸素 濃度 (%)	ユーブ ロテス (個体 /ml)	その 他の プロトゾア (万個 体/ml)	水中 懸濁 物量* (mg/l)	培養 水量 (m ³)	ワムシ 密度 (個体 /ml)	接種 個体 数 (億個体)	総個 体数 (億個体)	収穫 個体 数 (億個体)	日間 増殖 率 (%/日)	総卵 率 (%)	携卵 率 (%)	複数 携卵 率 (%)	死体 割合 死/生 (%)	植物プランクトン給餌 淡水 クロレラ (換算m ³ / 億個体/日)	事例 数	
0	22.3	52	0	0.0		0.5	428	2.2				25.9	19.3	1.4	4.8	0.58	0.66	12
1	22.3	59	0	0.0	156	0.5	451		2.3		5.3	32.1	24.1	3.5	4.2	0.61	0.67	12
2	22.7	56	28	1.4	140	0.5	557		2.8		24.3	38.5	30.0	4.2	3.4	0.75	0.68	12
3	22.4	47	8	1.1	203	0.5	708		3.5		26.4	35.0	26.5	4.4	2.3	0.78	0.55	12
4	23.2	36	45	1.7	141	0.5	913		4.6	4.6	30.4	23.1	20.0	1.0	3.6	0.50		12
全事例平均	22.6		16	0.8	160	0.5	612	2.2	3.3	4.6	21.6	30.9	24.0	2.9	3.7		0.64	
全事例合計									25.9	54.8						38.53		

平成10年度培養実験の12事例の各培養日数ごとの平均

乾燥重量を基準とした餌料転換効率：0.190

*：63μm ネットを通過しガラスフィルターに止まる懸濁物の乾燥重量 (mg dry weight/l)

時に30万個体/mlに急増したが、翌日には急減し、変動が激しい。

毎日フィルターによって除去する懸濁物の量が最終日の水槽底に残った懸濁物の量とほぼ同量であり、フィルターによる懸濁物の除去効果が大いことが確認されている。フィルターによる懸濁物の除去効率はフィルターの種類や設置方法及び通気の配置や量によって大幅に変わることが考えられるが(Ⅱ 2-1-3「培養の準備—水槽、用水、器具—、フィルター」を参照)、この事例での0.36m²/m³で十分に懸濁物は除去されていた。乾燥重量を基準として計算した餌料転換効率は0.190であった。

<ポイント>

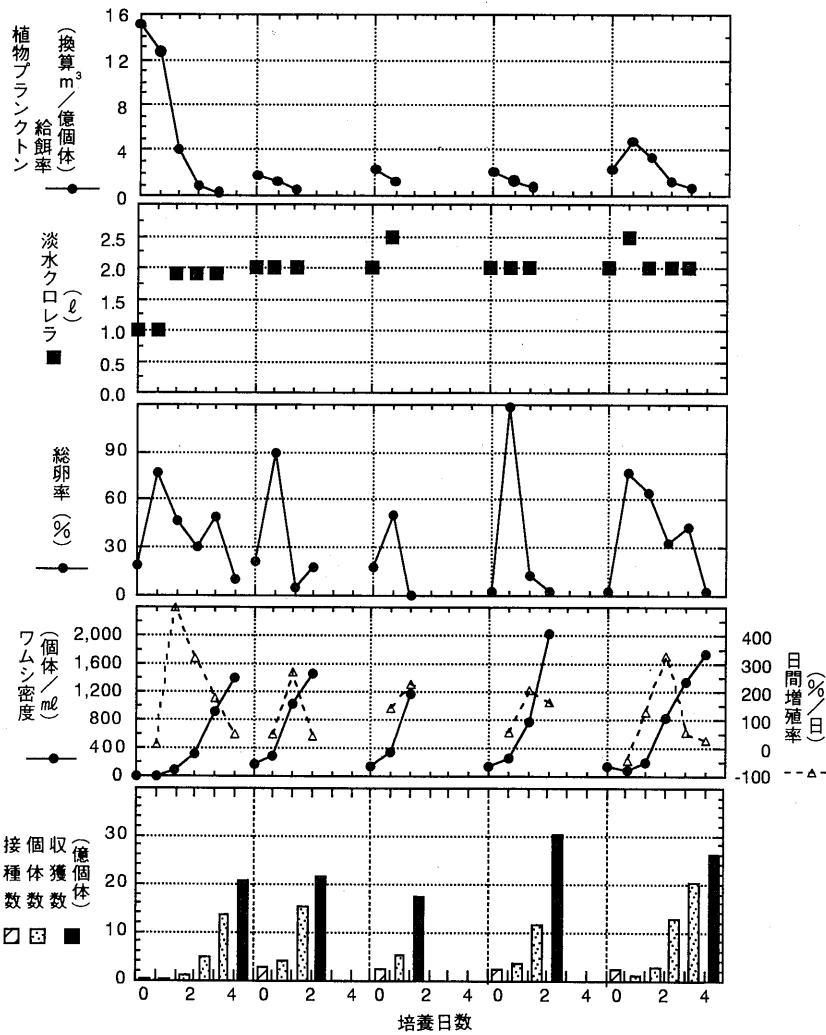
L型ワムシの植え継ぎ培養では接種翌日の増殖率が低く、ビタミンB₁₂以外の何らかの栄養素の欠乏が推定される。培養不調のワムシを元種として植え継ぐと不調を引き継ぐことがある。

(3) S型ワムシタイ株、小型水槽の事例(玉野事業場)
—培養初期の給餌量を一定とした小型株の培養事例—
キジハタの初期餌料として平均背甲長148μmのS型ワムシタイ株の供給を行っている(表Ⅱ 2-10, 図Ⅱ 2-28)。

キジハタ飼育開始当初の数日のみ本株が必要とされるため、需要がキジハタの各飼育回次にあわせて数日続いた後で次の回次まで必要とされない期間が続くのが特徴である。このため、需要の多い時期には定型的な植え継

表Ⅱ 2-10 日裁協玉野事業場の1.5m³水槽によるS型ワムシタイ株の植え継ぎ培養の方法

ワムシ株	S型ワムシタイ株
携卵雌の平均背甲長	148μm
全培養期間	約2カ月
培養日数	3～5日
元種	恒温器内のビーカーでテトラセルミスを給餌して保存した元種
培養水槽	1.5m ³ FRP製水槽3面
通気	エアストーン
加温	30℃
使用海水	100%ろ過海水
餌料	淡水クロレラ
接種密度	約200個体/ml
収穫密度	約500～800個体/ml
懸濁物除去フィルター	トラベロンエアフィルター
フィルター使用量	50×150cm×1枚/m ³
フィルター面積/培養水量比	0.33m ² /1.5m ³ (0.22m ² /m ³)
培養工程	
0日目	ワムシ密度を約200個体/mlで接種、淡水クロレラ2ℓを給餌
1日目	淡水クロレラ2ℓを給餌(残餌が多い場合は減らす)
2～4日目	淡水クロレラ4ℓ(ワムシ密度により一部6ℓ)を給餌(残餌が多い場合は減らす)
3～5日目	全収穫、植え継ぎ



図Ⅱ-2-28 日裁協玉野事業場の1.5m³水槽によるS型ワムシタイ株の植え継ぎ培養の結果

表Ⅱ-2-11 日裁協玉野事業場の1.5m³水槽によるS型ワムシタイ株の植え継ぎ培養の培養日ごとの状況

培養日数 (日)	水温 (℃)	培養水量 (m ³)	ワムシ密度 (個体/ml)	接種個体数 (億個体)	総個体数 (億個体)	収穫個体数 (億個体)	日間増殖率 (%/日)	総卵率 (%)	植物プランクトン給餌		事例数
									淡水クロレラ (ℓ)	給餌率 (換算m ³ /個体数/日)	
0	32.1	1.48	211	3.2	3.2			19.6	2.1	1.62	26
1	32.5	1.48	305		4.6	3.7	56.9	48.6	2.1	1.14	26
2	32.9	1.48	588		8.8	5.4	124.1	30.4	3.5	0.99	26
3	33.2	1.48	925		14.0	5.3	82.4	24.5	3.9	0.70	25
4	33.1	1.47	1,044		15.4	12.0	33.1	20.8	3.9	0.62	23
5	33.1	1.50	1,606		18.2	21.6	26.9	24.0	3.5	0.48	18
6	33.5	1.50	966		14.5	23.7	25.8	24.4	4.0	0.68	13
7	33.2	1.50	880		13.2	12.8	27.8	19.7	4.0	0.75	11
8	34.0	1.50	617		9.3	9.6	2.4	18.5	4.0	1.07	6
9	33.7	1.50	633		9.5	11.0	5.2	18.7	4.0	1.04	3
10	35.0	1.50	830		12.5	12.5	7.8	6.6			1
全事例平均	32.9	1.48	750	3.2	10.6	11.4	57.2	27.0	3.2	0.91	
全事例合計				82.7		672.3			485.2		

平成8年度に行った26事例の各培養日ごとの平均乾燥重量を基準とした餌料転換効率：0.054

ぎ培養を反復するが、需要のない期間は給餌を控えて培養日数を延長することにより餌料の節約と作業量の軽減をしている。通常は200個体/mlで接種し、3～5日後に900～1,600個体/mlで全量を収穫して植え継ぐが、増殖が好調な場合には途中で収穫を行い密度調整を行う間引き培養と折衷した培養形態を採ることもある(表Ⅱ 2-11)。

餌料は淡水クロレラ単独給餌により、平均給餌率が0.91換算m³/億個体/日と高いのが特徴である。平成8年度は26例の培養を行い、平均日間増殖率は57.2%/日(2.4～124.1%/日)、単位生産は2.23億個体/m³/日であった(図Ⅱ 2-28)。1～3日目の平均日間増殖率が高く、4日目以後は低下している。初期の高い増殖を淡水クロレラの高給餌率が支えるが、培養の後半は餌料の節約により総卵率の低下と増殖率の低下が起きている。乾燥重量を基準として計算した餌料転換効率は0.054であった。

(4) L型ワムシ低温馴致株、小型水槽の事例(小浜事業場)

一高い接種密度で古い培養水を混合する低温馴致ワムシの培養事例一

このワムシ株は飼育水温が1～2℃と極めて低いズワイガニや約15℃とやや低めのヒラメへの供給を目的(高橋 1998a, b)として、小浜事業場がL型ワムシ上浦株を低水温海水で植え継いで馴致した株である。携卵雌の平均背甲長は251μmであり(表Ⅱ 2-12)、元株である上浦株とほぼ同程度の大きさである(表Ⅰ 1-1)。この培養事例の特徴は、低い培養水温、L型ワムシとしては高い接種密度、ナンノクロロプシスと淡水クロレラを併用した高い植物プランクトン給餌率及び古い培養水を培

養開始時に混合する点にある。

接種密度は平成7年度には平均285個体/mlであったが、試行錯誤の後に平成10年度には平均589個体/mlに高く設定している。餌料は前者のナンノクロロプシス主体で冷凍ナンノクロロプシスを補助的に使用する形態から、後者では培養当初のみナンノクロロプシスを用い、2日目以後は淡水クロレラ主体に給餌する方式に変更している。植物プランクトンの給餌率は平成7年度の0.2と0.3換算m³/億個体/日より徐々に上げた結果、平成10年度は0.54換算m³/億個体/日になった。3～5日後に838～947個体/mlで全量を収穫し、植え継いでいる。

平成10年度は85例の培養を行い、平均水温14.2℃で平均日間増殖率16.1%/日であり、この水温では良好な培養が続いた(表Ⅱ 2-13、図Ⅱ 2-29)。乾燥重量を基準として計算した餌料転換効率は0.223であった。

培養水温が低く増殖率を高くすることが困難なため、ワムシ密度をやや高く設定して単位生産を確保し、古い培養水を混合することによって初期の増殖の停滞を防止している。これは、接種密度を高く設定しても培養水温が低いために水質の悪化が遅いので可能になった方法である。

能登島事業場でも平成10年度に小浜事業場の株を導入し、その培養法に準拠した培養を行ったところ、ほぼ同程度の実績が上げられた。

培養水を再利用する植え継ぎ培養は福井県栽培漁業センターで行われていた(池田1984)。15m³水槽によるL型ワムシ石川株(平均背甲長246μm)の5日植え継ぎ培養により、接種日と翌日にナンノクロロプシスを10m³使用した培養事例の平均日間増殖率が35.3%/日であったのに対して、ナンノクロロプシスを使用しないで

表Ⅱ 2-12 日裁協小浜事業場の1m³水槽によるL型ワムシ低温馴致株の植え継ぎ培養の方法

ワムシ株	L型ワムシ低温馴致小浜株
携卵雌の平均背甲長	251μm
全培養期間	5カ月
培養日数	3～5日
元種	100ℓ水槽で淡水クロレラを給餌して植え継いだ元種
培養水槽	ポリカボネイト水槽 1m ³ 4面
通気	エアストーン 3個
加温	14℃
使用海水	100%ろ過海水(3μm フィルターろ過)
餌料	ナンノプロロプシス(5μm フィルターでろ過して給餌)、淡水クロレラ、パン酵母
接種密度	400個体/ml
収穫密度	600個体/ml
懸濁物除去フィルター	トラベロンエアフィルター
フィルター使用量	1×1m(1m ²) 1枚
フィルター面積/培養水量比	1m ² /1m ³ (1m ² /m ³)
培養工程	
0日目	生ナンノクロロプシス500ℓ、海水250ℓ、古い培養水250ℓ混合 約400個体/mlのワムシ密度になるように接種
1～収穫前日	ナンノクロロプシスを約0.05換算m ³ /ワムシ1億個体と淡水クロレラ0.25ℓ/ワムシ1億個体の給餌率で給餌
3～5日目	全収穫、植え継ぎ

表 II 2-13 日裁協小浜事業場の1m³水槽によるL型ワムシの低温馴致株の植え継ぎ培養の培養日ごとの状況

培養日数 (日)	水温 (℃)	培養水温 (m ³)	ワムシ密度 (個体/ml)	接種個体数 (億個体)	総個体数 (億個体)	収穫個体数 (億個体)	日間増殖率 (%/日)	総卵率 (%)	携卵率 (%)	植物プランクトン給餌				事例数
										ナノクロロプシス		淡水クロレラ (ℓ)	給餌率 (換算m ³ /億個体/日)	
										生 (換算m ³)	冷凍 (換算m ³)			
0	14.6	0.9	589	5.9	5.9			56.4	39.9	0.83	1.54	0.8	0.43	85
1	14.2	0.9	685		6.2	1.0	17.8	59.0	41.3	0.17	1.79	1.0	0.39	85
2	14.4	0.9	796		7.2	3.0	18.4	59.0	41.0	0.23	1.97	1.1	0.39	84
3	14.4	0.9	838		7.4	4.6	13.4	58.8	41.4	0.23	1.70	1.1	0.38	77
4	14.6	0.9	851		7.7	7.8	13.8	58.6	40.9	0.40	1.50	1.1	0.47	57
5	14.0	0.8	947		7.3	7.4	20.3	65.7	41.9	0	0	0.7	0.26	10
6	13.6	1.0	736		7.4		8.6	63.2	37.9	0	0	0.7	0.24	1
7	13.6	1.0	886		8.9	8.9	20.4	60.4	40.1	0	0	1.4		1
全事例平均	14.2	0.9	791	5.9	7.3	5.4	16.1	60.1	40.6			1.0	0.37	
全事例合計		356.0		499.8		726.0				45.10	125.45	236.9		

平成10年度培養の85事例の各培養日数ごとの平均
乾燥重量を基準とした餌料転換効率 0.223

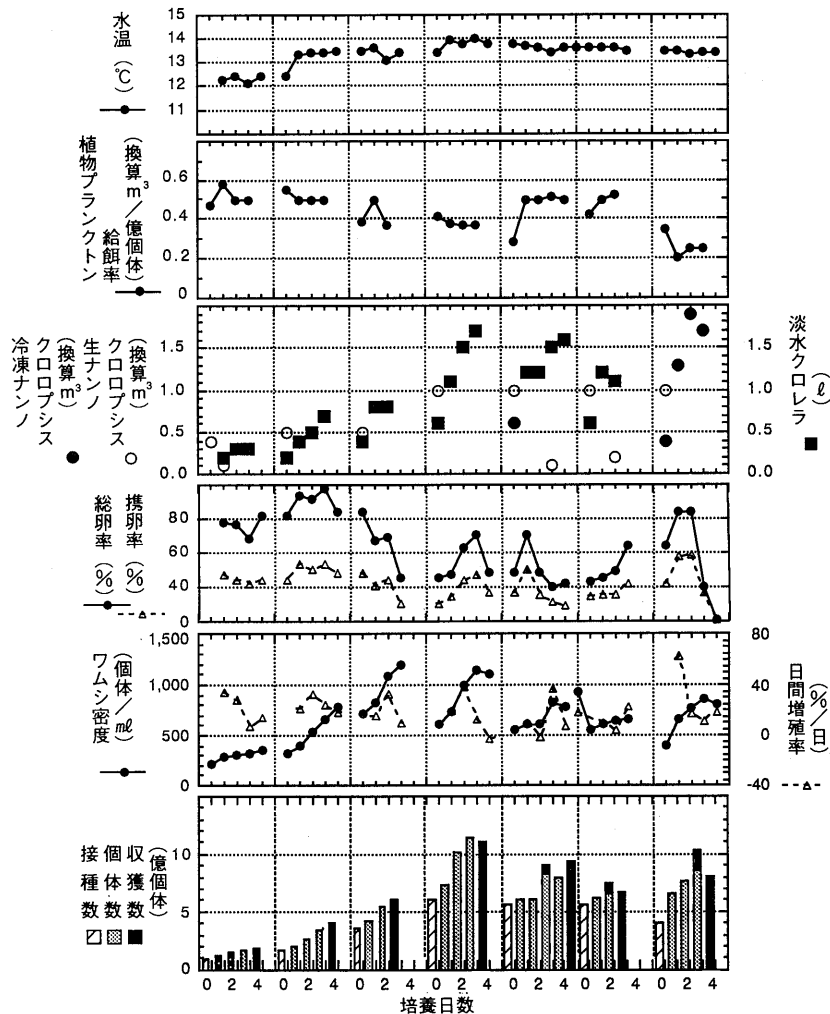


図 II 2-29 日裁協小浜事業場の1m³水槽によるL型ワムシの低温馴致株の植え継ぎ培養の結果

その代わりに回収水を10m³使用した培養事例の平均日間増殖率は35.2%/日となっている。培養水の再利用によって接種翌日の減耗がなくなり、ナノクロロプシス

の使用量を少なくできるのが特徴である。しかしながら、この方法では毎年安定した増殖を確保することは困難であり、現在では福井県栽培漁業センターでもより安定し

た培養が可能であるナンノクロプシスとパン酵母主体のS型ワムシの植え継ぎ培養に移行している(石田・渥美 1994, 石田・日比野 1995, 石田・畑中 1997)。

<ポイント>

低温に馴致したL型ワムシにより平均日間増殖率約16%/日, 単位生産0.749億個体/m³/日の培養実績をあげている。

(桑田 博)

2-2-3 まとめ

植え継ぎ培養は, 定型化した作業により安定した培養が継続できている事例が多い。しかしながら, 接種翌日の増殖が劣る(Ⅱ 2-2-2(1), 表Ⅱ 2-7, 同(2), 表Ⅱ 2-9の事例を参照) ことと, 時に密度が上がらない現象が続く(Ⅱ 2-2-2(2), 図Ⅱ 2-27の事例を参照) ことが培養上の問題である。

接種翌日の停滞

接種翌日の増殖が劣る傾向はL型ワムシの植え継ぎ培養で顕著である。この現象は近年普及してきた市販淡水クロレラの単独給餌による培養事例でも起きている(Ⅱ 2-2-2(2), 表Ⅱ 2-9の事例を参照)。市販されている淡水クロレラは充分量のビタミン B₁₂ を添加してあることから, 他の必須栄養素の不足による停滞が一因と考えられる。その必須栄養素が細菌の増殖によって供給され始める培養2日目以後の増殖が好転する事例が多い。

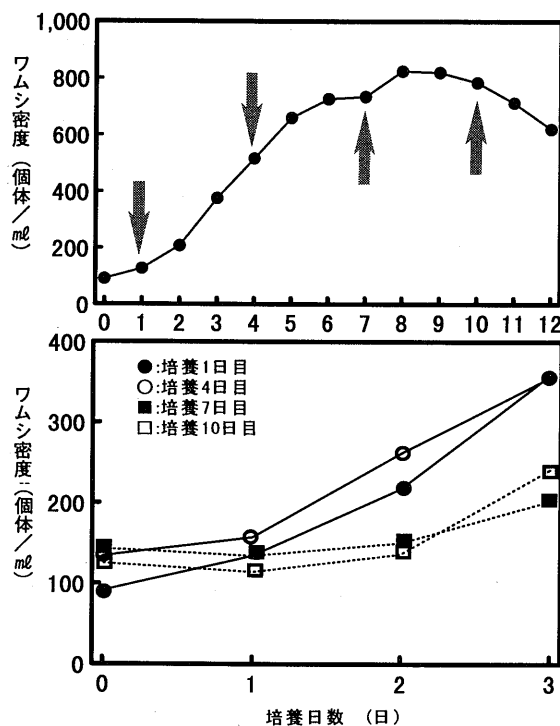
また, 別の要因として収穫作業による物理的な障害による影響も否定できない(Ⅱ 5-2「収穫機」を参照)。この物理的な障害は通常の培養では無視できる程度のものであるが, ワムシ株の生理状態, 懸濁物の量, 使用ネットの目合い, 収穫方式, ポンプの方式や使用の有無により変化すると考えられ, 時に甚大な減耗をもたらすことがある。

S型ワムシの場合は翌日の増殖率が劣る場合(Ⅱ 2-2-2(1), 表Ⅱ 2-7の事例を参照) と, ほとんど直線的な増殖を示す場合(Ⅱ 2-2-2(3), 表Ⅱ 2-11の事例を参照) とがある。しかし, 直線的な増殖を示す事例でも, 実際には数時間~半日程度の停滞があり, その後の増殖が好調なために1日単位での計数では現れてこないと考えられる。

通常, 培養日数が2~5日である植え継ぎ培養では, 半日~1日の停滞は平均日間増殖率に与える影響が大きい。この接種翌日の停滞が植え継ぎ培養の平均日間増殖率を下げている一因である。

培養初期の減耗

密度が上がらない現象が続く場合の原因には, ナンノクロプシスとパン酵母の混合給餌の場合にはナンノクロプシスの栄養状態の不良やナンノクロプシス培養水中のビタミン B₁₂ の不足, 必須栄養素の不足を補う細



図Ⅱ 2-30 植え継ぎ培養での増殖状況(上図)とその培養過程で植え継いだL型ワムシ近大株の増殖状況(下図)

菌の増殖が悪いこと, 増殖不良が続いたためにワムシの日齢組成が高齢にかたより増殖に寄与しない過繁殖期の個体の比率が多くなるなどが上げられる。

図Ⅱ 2-30は実験的に植え継ぎ培養の培養日数を延長して, 対数増殖期, 定常期, 死滅期の状態を作り, それぞれのワムシを植え替えて, その後の増殖状態を調べた事例である。対数増殖期にあたる培養1, 4日目のワムシは植え替え後も順調に増殖したが, 定常期と死滅期にあたる培養7, 10日目のワムシは植え替え後の増殖が定常期のものよりも劣った。このように対数増殖期を過ぎて培養を継続したために環境抵抗を長く受けたワムシを元種として次の培養を始める場合には, 植え継いだワムシの増殖能力が元々劣っているために培養初期の増殖が悪い傾向がある。通常は決められた作業により安定した培養を繰り返しているが, 作業の都合などにより培養期間を延長したときにこのような状態になることがある。あるいは, 培養初期の増殖率が通常より良すぎるために早く高密度に達し, その結果, 通常と同じ培養日数でも対数増殖期を過ぎてしまうこともある。また, これらの現象はワムシ密度が高いほど顕著に現れやすいと考えられる。さらに, これらの構造的な問題以外に有害微生物による培養不調の可能性も否定できない。

増殖率の低迷

培養期間を通じての増殖率が劣る原因には, 接種翌日の停滞の影響が大きいこと, 培養初期に減耗が起きる事例の割合が多いこと, 培養日数が長すぎることに伴う培養後半の水質の悪化や, 経費節減を優先して高価な植物

プランクトン餌料を節約するために必要栄養素の欠陥が起きてワムシの産卵能力が劣ること、有害微生物の発生が頻繁にあることが挙げられる。

原生動物

ワムシ培養水槽中には種々雑多な原生動物が盛衰を繰り返す。植え継ぎ培養では一般的に培養日数の経過に伴ってワムシ密度と給餌量が増加し、それに伴う有機物蓄積量の増大により原生動物の数も増す。

原生動物の発生時の給餌量を定める考え方としては、餌料密度を補うために増やす立場と原生動物のための餌を少なくするために減らす立場、あるいはその出現にかかわらず一定とする立場とがある。しかし、原生動物の種類や量、培養水温などの条件は様々であり、それらの処置の効果は不明である。極端に多くなった場合は、一旦培養を中止して全量を収穫し、ネット収穫の際に海水で良く洗浄して植え替えれば1～2日は治まることがある。しかしながら、数日後にはわずかに侵入した原生動物が急激に増殖して元の状態に戻る場合が多い。根本的には有機物負荷の少ない培養法とするのが基本である。

日齢組成

培養槽内のワムシの日齢組成は連続培養の項に詳しい(Ⅱ 3-1-4「装置連続培養の理解のために」)。植え継ぎ培養でも増殖率が高いときには若齢個体の割合が多く、反対に低いときには高齢個体の割合が多くなるのは当然である。若齢個体の多いワムシ集団のほうが環境抵抗、餌料の過不足、有害微生物などの変動要因に対して柔軟に対応できる可能性が高い。

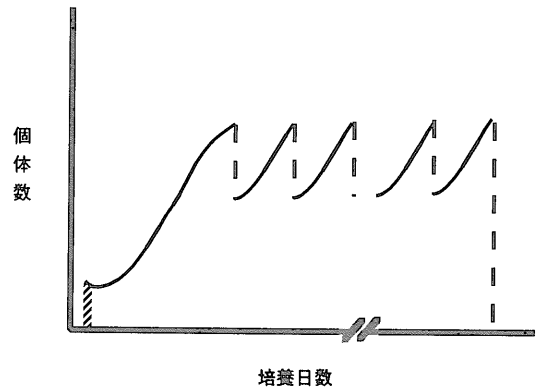
<ポイント>

植え継ぎ培養の接種直後の増殖の停滞は植え継ぎに伴う収穫の物理的影響と新規培養水中の必須栄養素の不足によって起こる。培養日数が短い中で半日～1日の停滞は培養全体の平均増殖率を下げている。植え継ぎ培養は対数増殖期のワムシの活性が高いときに植え継ぐのが基本であり、培養期間の延長はワムシの状態の悪化を引き起こす可能性がある。

(桑田 博)

2-3 間引き培養

基本的にはワムシを低密度で接種し、ワムシ密度が最高またはその少し前に一定割合の収穫と注水によって環境抵抗を薄めながら、常に対数増殖期を維持しようとする培養法である(図Ⅱ 2-31)。生産盛期に合わせて供給を続けるとともに、徐々にワムシ密度、培養水量、水槽面数を増やすことによって保有数を増やししながら、対象とする仔稚魚の需要が最大になる時期には保有数を切り崩しながら大量の供給を行うことが多い。



図Ⅱ 2-31 間引き培養の模式図

実線：ワムシ密度

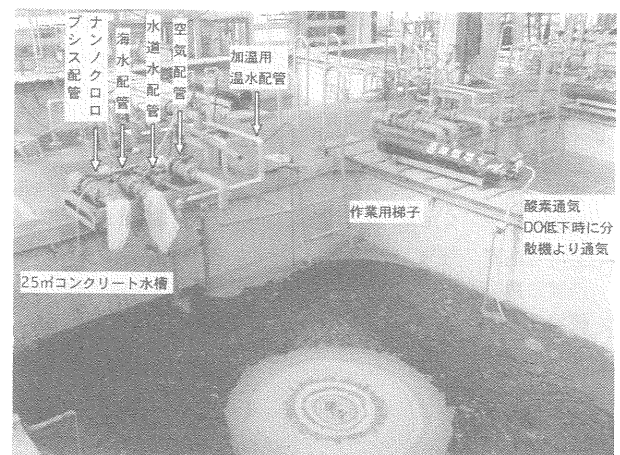
破線：収穫

斜線：培養開始時に接種する元種

2-3-1 間引き培養の手順

株

使用株は植え継ぎ培養と同様である(Ⅱ 2-2-1「植え継ぎ培養の手順、株及び接種ワムシの状態」を参照)。元種は別途0.5～1m³水槽での植え継ぎ培養などによって拡大したものを使用することが多い。その場合も生産期の当初の元種だけを種培養から得て、以後は順次植え継ぎながら間引き培養を続ける場合と、定期的にはまたはすべて小型水槽で拡大した元種で更新していく場合(図Ⅱ 2-2)とがある。



図Ⅱ 2-32 大型水槽によるワムシ間引き培養の事例

ワムシ密度

通常100個体/mlくらいで接種し、200～300個体/mlに達した時点から10～20%/日の収穫を始め、収穫水量とほぼ等量のナンシスまたは海水の注水を反復する。

懸濁物

培養日数の増加に伴って培養水中の懸濁物量が増加し、収穫の作業効率を著しく悪化させる。このため、エアフィルターによって懸濁物を除去する方法が一般に行

われている（Ⅱ 2-1-3「培養の準備—水槽，用水，器具—，フィルター」を参照）。

給餌

基本的に植え継ぎ培養と同様である（Ⅱ 2-2-1「植え継ぎ培養の手順，給餌」を参照）。給餌量を「経験」と「勘」により判断して加減する傾向が，植え継ぎ培養よりさらに強い。

泡の発生

植え継ぎ培養と同様である（Ⅱ 2-2-1「植え継ぎ培養の手順，泡の発生」を参照）。

収穫率

収穫率（＝収穫水量/培養水量）は通常10～20%/日であるが，需要に応じて50%を超えることもある。

希釈率

収穫後の希釈率（＝注水量/収穫後の培養水量）は水量の10～20%/日程度である。

通気

通気は，植え継ぎ培養と同様に小型水槽では小型のエアストーンが使われ，大型水槽では塩ビ管に穴を開けた通気管や発泡塩ビホース製分散器など様々である（Ⅱ 2-1-3「培養の準備—水槽，用水，器具—，通気」を参照）。通気量は溶存酸素濃度の維持と懸濁物の除去を勘案して経験的に決められている。すなわち，2～5 m³以下の小型水槽の場合は，水槽容量に対して充分量のフィルターが設置できるので，通気を強くして懸濁物を水中に浮遊させ，フィルターで吸着・除去する方式が採られることが多い。しかし，10～20 m³以上の大型水槽の場合は，水槽容量に対して充分量のフィルターを設置すると

フィルターの洗浄作業が膨大となるため，通気を弱くして懸濁物を沈下させて水槽底に沈める方式が採られることが多い。ワムシ密度が100～200個体/mlであれば，通気の気泡を小さくして酸素の溶解効率を良くするとともに，通気による上昇流を穏やかにすることによって溶存酸素濃度を維持しながら懸濁物は沈殿させることも可能である。この方法は，フィルターの洗浄作業が不要になるのが最大の利点である。

2-3-2 培養事例

日裁協で行われている主要な培養法として上浦事業場でのL型ワムシの間引き培養を取りあげて検討する。

(1) 培養方法

L型ワムシ上浦株を使用し，水温20℃，80%希釈海水，ナンノクロロプシスとパン酵母の混合給餌によって行う間引き培養である。ナンノクロロプシスの補充として冷凍ナンノクロロプシス，淡水クロレラも併用している。

50 m³水槽に接種前日にナンノクロロプシス，海水，水道水を入れて水量10 m³，80%希釈海水，ナンノクロロプシス1,000万細胞/mlに調整して20℃に加温し，ワムシ10～20億個体を接種する（表Ⅱ 2-14）。

接種するワムシは基本的に恒温室で管理している元種を0.8 m³水槽12面によって増やしたものを使用するが，拡大培養が不調の場合には別の50 m³水槽から収穫したワムシを使うこともある（Ⅱ 2-1-1「培養工程，上浦事業場の事例」を参照）。

接種翌日または翌々日に培養水中のナンノクロロプシス細胞が約100万細胞/ml以下になってから，ナンノク

表Ⅱ 2-14 日裁協上浦事業場の50 m³水槽によるL型ワムシ間引き培養の方法

ワムシ株	L型ワムシ上浦株
携卵雌の平均背甲長	220～250 μm
全培養期間	8 カ月
培養日数	15～40日（培養状態により様々）
種培養	恒温器内で維持培養
培養水槽	50 m ³ コンクリート水槽 6 面
通気	塩ビ管に開けた小孔による
加温	20℃（ただし夏季は自然昇温により28℃ぐらいに上がることがある）
使用海水	80%ろ過海水
餌料	ナンノクロロプシス，冷凍ナンノクロロプシス，淡水クロレラ，パン酵母
接種密度	100～150個体/ml
収穫密度	200～400個体/ml
懸濁物除去フィルター	エアフィルター（一部は水槽内直接垂下，一部は水槽外の循環水槽内に設置）
フィルター使用量	1×2 m（2 m ² ）4 枚/水槽
フィルター面積/培養水量比	8 m ² /45 m ³ （0.18 m ² /m ³ ）
培養工程	
0 日目	比重20に調整したナンノクロロプシス 5 m ³ ，海水 4 m ³ ，水道水 1 m ³ を收容して加温 通常水量 10 m ³ にワムシ密度が100～150個体/mlになるように接種
翌日	残餌がなくなっていたら給餌開始
1～最終収穫前日	需要に応じて収穫，給餌率はナンノクロロプシス0.1 m ³ /億個体/日とパン酵母約0.1 kg/億個体/日，ただし，ワムシや残餌および水の状態によって調整を行うため大幅に変動
最終日	全収穫

ロクロプシスと海水の注水及び冷凍ナンノクロロプシスやパン酵母の給餌を始める。注水量はワムシ密度が100個体/mlを下回らない程度、1日当りの希釈率が20%を超えない範囲で行う。給餌の目安は植物プランクトン(ナンノクロロプシス, 冷凍ナンノクロロプシス, 淡水クロレラ)を約0.1換算m³/億個体/日, パン酵母が0.1kg/億個体/日を基準とする。給餌量は翌日に残らないように, 原生動物の状態を勘案して経験的に加減する。ナンノクロロプシスはワムシ培養の全水槽の使用量とナンノクロロプシスの培養状態を勘案して, 生と冷凍を使い分ける。パン酵母は1日量を朝:夕:夜でおよそ1:1:2に配分し, 朝と夕は水槽へ直接散布し, 夜用は水量約60ℓの水道水に溶解したものを3時間ごとに約4回に分けてタイマー制御したポンプにより自動給餌を行う。

ただし, 1日1水槽当りの最大給餌量は, およそナンノクロロプシス5m³, 冷凍ナンノクロロプシス4m³, パン酵母10kgとするため, ワムシ増殖が好調の時の中盤以後は上記給餌率の半分くらいまで下がることもある。また, ワムシの摂餌が悪く朝の計数時に培養水中に残餌があるときには給餌を控える。培養不調時にはパン酵母給餌率を下げて, ナンノクロロプシス給餌率を上げる。また, 近年は淡水クロレラも併用している。収穫は水量が30~40m³になった時点で始めるが, 需要と保有数量

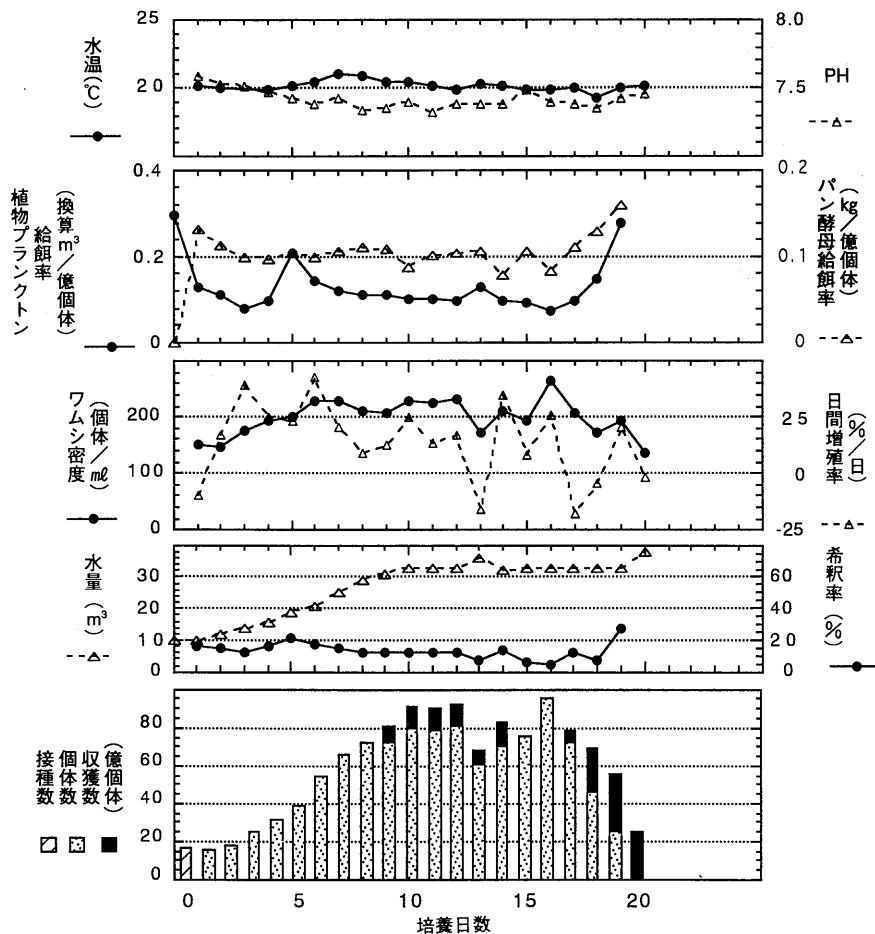
を勘案して調整するため通常の収穫率は10~15%程度であるが, 培養終期と判断した場合には大量の収穫も行う。収穫後の注水は水質の急変を避けるため, ナンノクロロプシスと海水及び水道水を合わせて通常20%を上限とする。

培養水中の懸濁物の除去のために, 水槽外に懸濁物除去装置を設置している(図II 2-12)。これは水槽外にFRP製1×1×1mの水槽を設置し, 往還2本のφ50mm塩ビ配管で培養水槽と接続したものである。培養水槽に戻る還管にエアリフトを取り付けてあり, 培養水槽と懸濁物除去装置の間で培養水が循環し, その水量は約5回転/日となる。装置内に入れたエアフィルター(0.4×0.8m)2枚は毎日取り出して専用洗浄機(図II 2-11)により洗浄する。また, 培養水中の懸濁物がさらに多くなったときには培養水槽内にトラベロンエアフィルター(1×2m)数枚を吊り下げる。これも毎日取り出して洗浄する。

(2) 培養結果

平均的培養事例(図II 2-33)

通常, 接種翌日は停滞もしくは漸減となるが, この事例でも9.6%/日の減少となり, 2日目から増殖を始めた。淡水クロレラを通常より多く給餌しているため, 6日目までの植物プランクトン給餌率は0.08~0.3換算m³/億



図II 2-33 日裁協上浦事業場の50m³水槽によるL型ワムシ間引き培養の平均的事例

個体/日とやや高く推移した。7日目までの増殖がほぼ順調なのは、この給餌率の高さと希釈率が14~20%/日とやや多かったことを反映したと考えられる。

14日目にワムシの体表に付着物が増加し、それ以後日間増殖率も低調であったので、18~20日目で大量に収穫して培養を終了した。

培養日数21日、接種数16.8億個体、総生産個体数155.9億個体、純生産個体数139.1億個体、ワムシ密度平均199個体/ml、平均日間増殖率15.2%/日、単位生産0.233億個体/m³/日、平均希釈率15.8%/日、平均給餌率はナンノクロロプシス0.132m³/億個体/日、パン酵母0.103kg/億個体/日、餌料転換効率0.096であった。

植物プランクトン給餌量を上げて、7~19日目の希釈率を上げれば、さらに増殖率は上がったと考えられる。

培養好調事例 (図II 2-34)

接種翌日はこの事例でも11.7%の減少となり、2日目から増殖を始めた。淡水クロレラを通常より多く給餌しているため、5日目までの植物プランクトン給餌率は0.08~0.27換算m³/億個体/日とやや高く推移した。8日目までの増殖がほぼ順調なのは、この植物プランクトン給餌率の高さと希釈率が10~18%/日とやや高かったのが良かったと思われる。

15, 16日目は増殖率がマイナスになっているが、これ

は7~13日目の植物プランクトン給餌率が0.08~0.10換算m³/億個体/日と低かったことが影響している可能性がある。

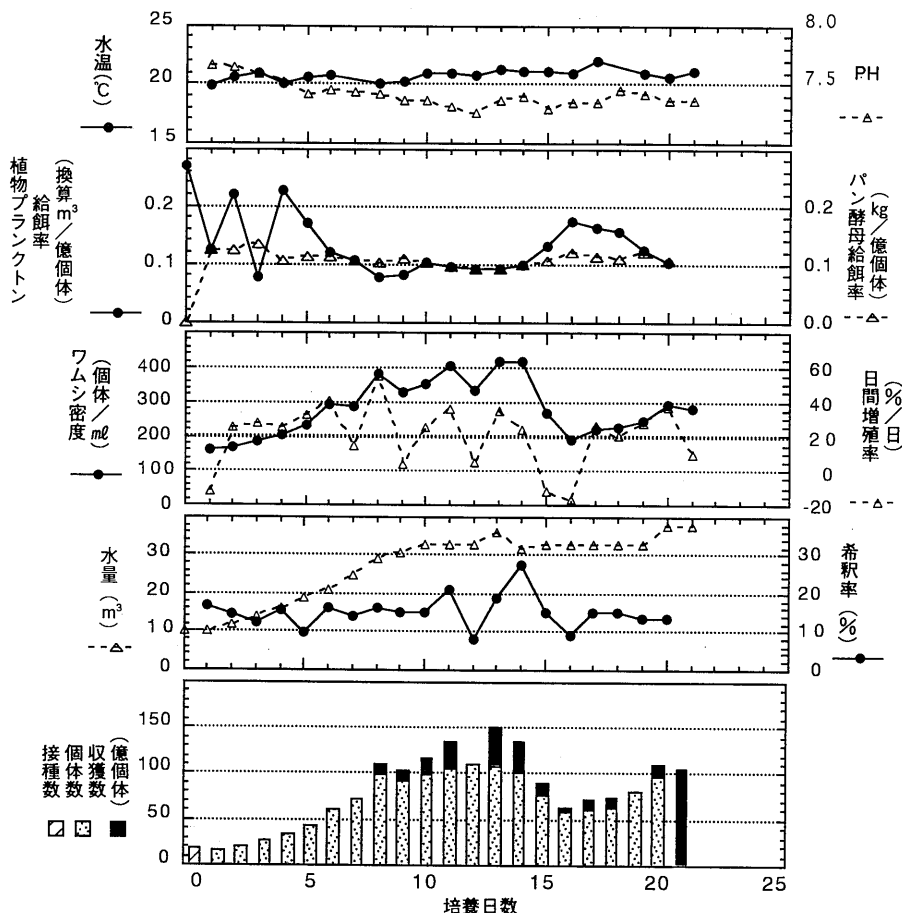
培養日数21日、接種数18.5億個体、総生産個体数304.1億個体、純生産個体数285.6億個体、ワムシ密度平均281個体/ml、平均日間増殖率20.7%/日、単位生産0.488億個体/m³/日、平均希釈率18.0%/日、平均給餌率は植物プランクトン0.133換算m³/億個体/日、パン酵母0.104kg/億個体/日、餌料転換効率0.145であった。

前半の増殖が順調なためにワムシ密度が最高418個体/mlまで上がったことと、終了直前の減耗がないままに培養を終了したため純生産は平均的培養事例の約2倍となった。給餌率はほぼ同じであり、7日目以後の希釈率をやや高くしたこと、培養が好調なまま終了したのが良い結果となった。植物プランクトン給餌量の不足を補うビタミンB₁₂産生細菌が十分に増殖したものと推定される。

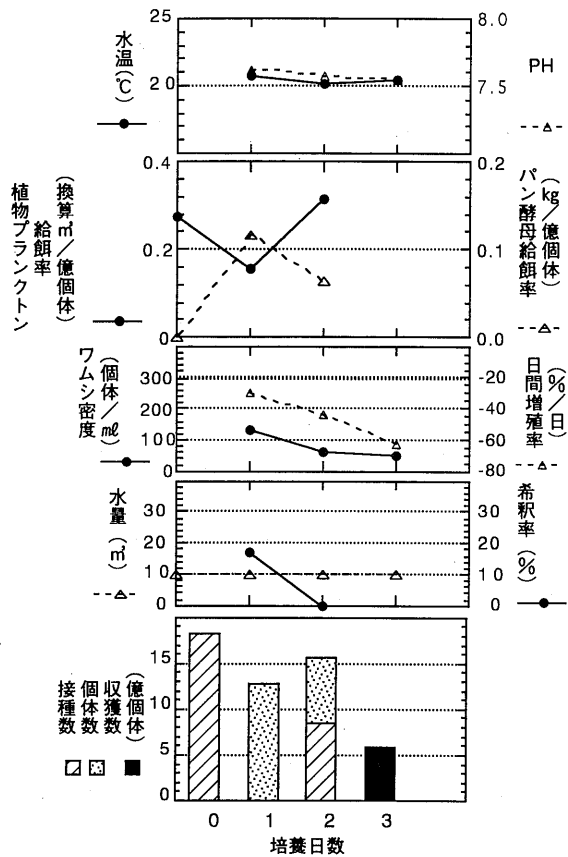
培養不調事例 (図II 2-35)

接種翌日以後3日間連続で減少し、そのまま培養を終了した。

このような事例が時にあり、その原因には接種したワムシの活性が悪い場合、ナンノクロロプシスが悪い場合、あるいは培養水中に有害な微生物が発生した場合が考え



図II 2-34 日裁協上浦事業場の50m³水槽によるL型ワムシ間引き培養の好調事例



図Ⅱ 2-35 日裁協上浦事業場の50m³水槽によるL型ワムシ間引き培養の初期増殖の不調事例

られる。この事例ではこの接種日の前後の他の水槽でも減少事例が数例あることから、使用したナンクロプシスの品質が悪かった可能性が高い。培養したナンクロプシスの品質はⅡ 2-1-6「餌料, ナンクロプシス」を参照されたい。

<ポイント>

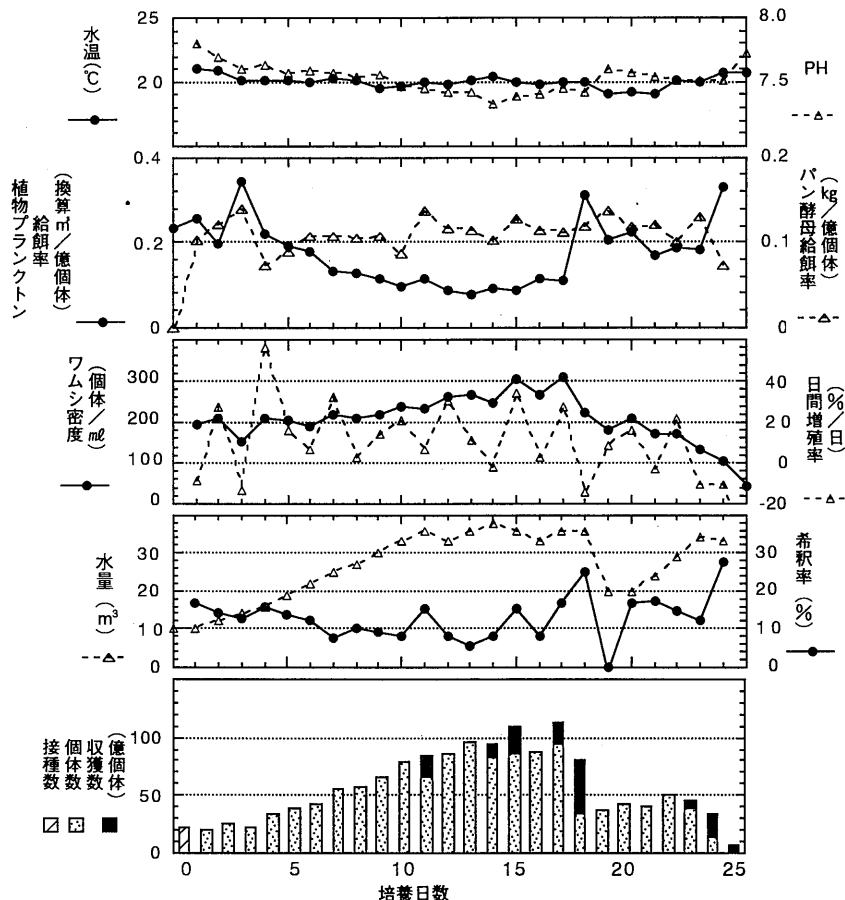
最初からまったく増えないことがある。この時は接種したワムシの増殖能力の欠陥, 餌料の品質劣化, 有害微生物の発生が疑わしい。

培養終期急減事例 (図Ⅱ 2-36)

接種翌日はこの事例でも8.8%の減少となり, 2, 3日目も停滞し, 4日目から増殖を始めた。淡水クロレラを通常より多く給餌しているため, 6日目までの植物プランクトン給餌率は0.18~0.35換算m³/億個体/日と高く推移した。7日目までの増殖がほぼ順調なのはこの給餌率の高さと希釈率が13~18%であったのが良かったと思われる。

しかし, 培養14日以降に日間増殖率が10%/日以下の日が多くなっている。この原因は9~15日目に植物プランクトン給餌率が0.12換算m³/億個体/日以下と不足し, 希釈率が10%/日と少なかったことで, 植物プランクトンの不足と環境抵抗の増大が進んだためと考えられる。

培養18日目に原生動物の増大の懸念から21m³の大量



図Ⅱ 2-36 日裁協上浦事業場の50m³水槽によるL型ワムシ間引き培養の後半不調の事例

の収穫を行い、植物プランクトン給餌率を0.17~0.33換算 m^3 /億個体/日に増加したが、18~22日目の増殖率は低調であった。培養23日目から10%/日の減少が2日続いた後で25日目には43%の急減となった。

＜ポイント＞

低い希釈率が続くとき急激な減耗が起きることがある。

2-3-3 まとめ

各培養の経過

通常、接種翌日には減少し、3~7日目辺りが好調な事例が多い。接種直後の減少は、植え継ぎのための収穫作業に伴う物理的な影響と、その時点の培養水中あるいは餌料中のビタミン B_{12} 量の不足が主な要因と考えられる。通常はビタミン B_{12} 産生細菌が繁殖して培養水中のビタミン B_{12} の蓄積に伴って3~7日目の日間増殖率は高くなる。この増殖には接種日のナンノクロロプシスの給餌による植物プランクトン起源の栄養素の蓄積も作用している。

その後、通常7~10日目になると満水となり、ワムシ密度200~300個体/ml、個体数80~100億個体に達し、10~15%/日の水量の収穫を始める。1日1水槽当りの給餌量に上限を設け、ナンノクロロプシス $5m^3$ 、冷凍ナンノクロロプシス $4m^3$ 、パン酵母10kgに限るため、この時期には給餌率が下がることが多い。培養水中の微生物相がワムシにとって良い状態でバランスがとれた場合には、このような状態でも15~20%/日の増殖が続くときがある。これは、それまでの老廃物を餌として増殖する細菌群がビタミン B_{12} を補給し、フロック状になって餌料となりながら、環境の浄化も行っているものと推定される。この状態では、少ない餌料で安価にワムシが生産できることになる。現場では残餌、水の色、泡の状態、ワムシの状態を観察しながら、一方で培養水槽の全体状況とワムシの需要の動向並びにナンノクロロプシスの需給と餌料費などを勘案して、経験的に収穫量と給餌量及び培養の終了の判断をしていた。この状態を安定的な技術とすることは困難である。

＜ポイント＞

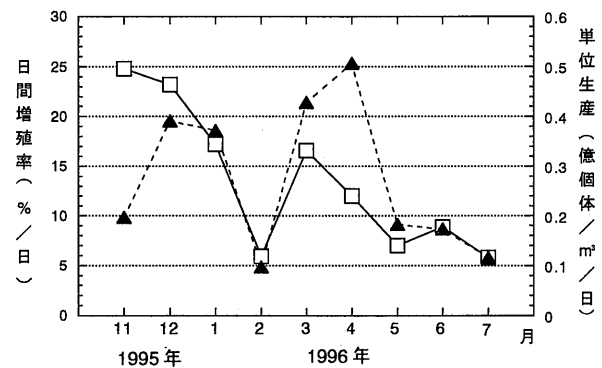
培養したナンノクロロプシスと安価なパン酵母を給餌して微生物生態系の安定を図る従来の間引き培養は、微生物相をうまく制御できれば餌料費が安上がりとなる。しかし、それはいわゆる「職人芸」であり、安定した技術とするのは困難である。

生産期の全培養の経過

平年の需要のピークは通常1日当たり40~50億個体である。平均日間増殖率のおよそ15%/日でこの最大需要40~50億個体を供給するためには、270~330億個体の保有

が必要であり、さらに不慮の事態を想定して、少し多く保有していた。また、余裕を持ってピークの1~2週間前にはこの現存量に達するように設定していた。

この結果、ナンノクロロプシスとパン酵母の混合給餌の場合には、需要のピークの1~2週間前にナンノクロロプシスの供給能力より多いワムシ個体数を過剰に抱えることになり、需要のピークの時には植物プランクトン起源の栄養素の欠乏と、希釈率の低さに由来する水質悪化により減耗が起きていた可能性がある。図II 2-37は $0.8m^3$ 水槽による拡大培養の事例である。2月の供給開始に備えて11月に恒温器の元種の拡大培養を始めた当初は日間増殖率の月平均値が約25%/日と順調であったが、供給をひかえた2月には6%/日にまで落ち込んでいる。そこで元種を恒温室から再度拡大し、3月には17%/日に回復したが、5月には再び7%/日にまで低下している。これは、生産盛期を前に過剰に保有し、必須栄養素の欠乏と希釈率の低下が起これ、増殖不良に陥ったと考えられる。

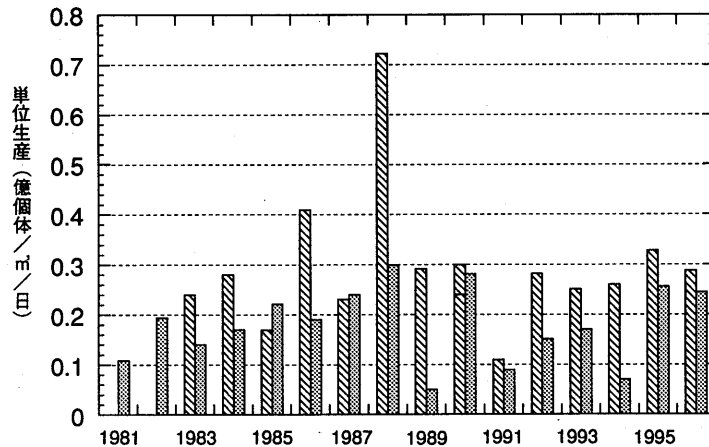


図II 2-37 日裁協上浦事業場の $0.8m^3$ 水槽におけるL型ワムシ拡大培養の月変動
 —□— 平均日間増殖率(%/日)
 …▲… 単位生産(億個体/ m^3 /日)

また、培養状態が良く、ワムシ密度が400~500個体/mlになった事例では給餌後の溶存酸素の欠乏によって一夜にして大減耗を起こしていた可能性もある。

冷凍ナンノクロロプシスや淡水クロレラの使用を始めてからは上記のような植物プランクトンの供給不足は起こりにくくなった。しかし、冷凍ナンノクロロプシスの作製には多くの手間を要し、淡水クロレラは高価なため、共に使用を控える傾向が強かった。また、増殖不良を懸念して過剰な個体数を抱える状態は続き、希釈率の不足による環境抵抗の増大が起きていた可能性が高い。このような事態は、すべての水槽で同時に並行して起こることも特徴である。

また、原因とその結果としての減耗が起きるまでには数日のタイムラグがあると思われる。そのため、減耗が数日続いた時点で植物プランクトン餌料の多量給餌や植え換えを行っても、既に日齢組成が高齢個体に偏り、若



図Ⅱ 2-38 日栽協上浦事業場におけるL型ワムシの拡大培養と大量培養の単位生産の年変動

▨ 0.8m³水槽拡大培養
 ■ 50m³水槽大量培養

齢個体も内部の栄養状態が悪くなっているため、その効果が現れるには数日を要する。

さらに、このような植物プランクトン起源の栄養素の欠乏や希釈の不足によって不調に陥った後では、ワムシ自体の増殖能力の減退と培養水中の細菌相の不良または有害な原生動物の出現のために回復が困難なことも多い。

従来の間引き培養では培養開始時に1～2日の停滞の後に好調な増殖に移行するが、一定水準で密度と増殖率の停滞が起こり、最後の培養破綻を直前に使いきるか破綻するかを見極めるのが担当者の「腕」の見せ所となっていた。培養日数を短縮すると培養破綻が起きる確率が少なくなるが、一方で全体の培養日数に占める初期の停滞日数の割合が多くなるため効率が悪くなり、さらに一般的に培養当初に給餌率が高いナンノクロロプシスなどの高価な植物プランクトンの使用割合が増えるために単価が高くなる。そういった微妙なバランスを「ワムシ職人」の「勘」と経験で綱渡りを行うのが常であった。それ故に、成功する年と失敗する年があり、年変動として現れた可能性がある(図Ⅱ 2-38)。

植物プランクトン餌料としてナンノクロロプシスを使う場合は、その質的、量的変動に影響される(Ⅱ 2-1-6「餌料, ナンノクロロプシス」を参照)。また、急激な注水や集中的な給餌は環境の急変を招く恐れがある。

培養開始時の立ち上がりの不調は、前記のワムシ密度の問題(Ⅱ 2-1-1「培養工程, 培養開始時のワムシ密度」を参照)、ナンノクロロプシスの質の問題(Ⅱ 2-1-6「餌料, ナンノクロロプシス」を参照)、有害な細菌や原生動物の発生の可能性(Ⅰ 4-7-1「細菌」, Ⅰ 4-7-2「原生動物」を参照)、使用株の水温や塩分濃度に対する特性が合っていない(Ⅰ 4-1「水温」, Ⅰ 4-2「塩分濃度」を参照)などに起因する可能性が高い。

対数増殖期以降の増殖率の低下は、給餌量の不足、植物プランクトン餌料の割合が少ないことによる必須栄養素の不足、少ない希釈率による環境抵抗の増大が要因と考えられるが、それらを改善することにより高い増殖率を保持した事例がある。

<ポイント>

既存の間引き培養では生産盛期の前に大量に保有する結果、希釈率の低下が起こり、植物プランクトン餌料の給餌率が低くなり、結果的に一番必要な生産ピーク頃にはワムシの状態が悪くなっているが落ちるように急減することがある。

卵率の異常増加

通常の培養では卵率が高いことは培養状態が良いことを示している。しかしながら、例外的に間引き培養の末期に明らかに増殖不良にも関わらず、卵率が高くなることがある。図Ⅱ 2-39は0.8m³水槽でL型ワムシを約1,000個体/mlの密度に維持しながら4カ月以上の培養を行った間引き培養の事例である。この培養終期に総卵率、携卵率、複数携卵率ともに上昇を始め、122日目にはワムシ密度が急減すると共に、ほとんどすべてのワムシが3～5個の卵を携帯し、総卵率は1240%にも達した。この総卵率の上昇は、ワムシの状態が良いためではなく、水質の悪化により卵がふ化できなくなり、同時にワムシ密度の急減により見かけの上昇となった。間引き培養の末期には時にこのように総卵率や携卵率が上がることもあるが、それは培養状態が良いと勘違いをされやすいので注意を要する。

(桑田 博)

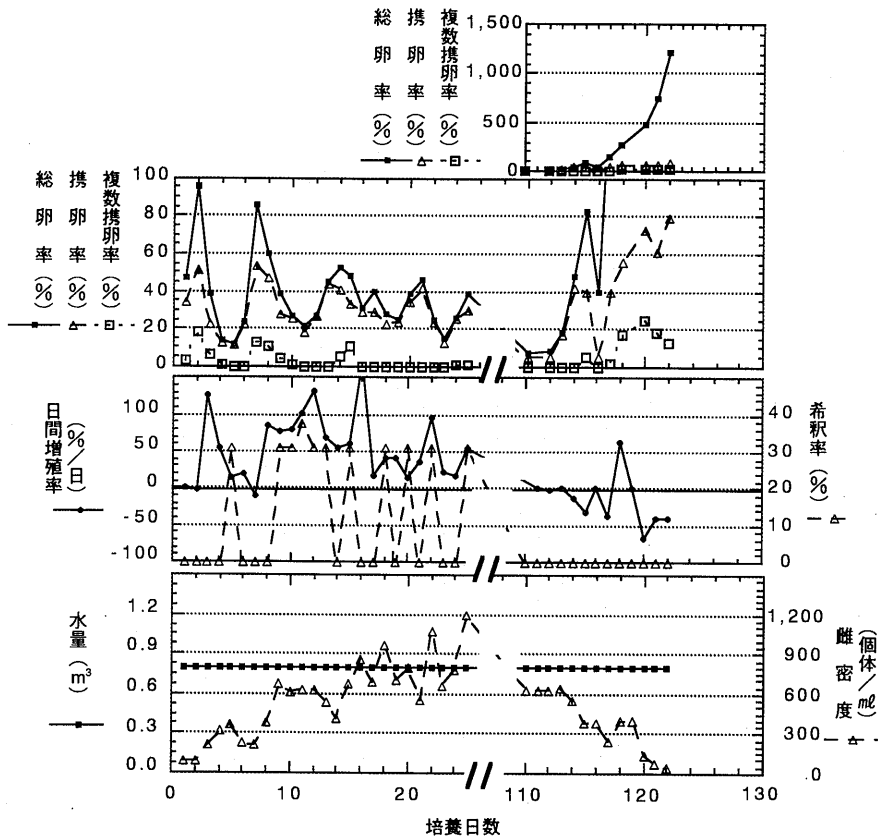


図 II 2-39 卵率が異常に上昇した培養事例

3 新しく開発された連続培養法

連続培養とは、広義には、増殖した分を収穫によって希釈しながら長期にわたって同じ水槽内で培養を継続させることであり、したがって間引き培養もこれに含まれる。しかし狭義には、培養槽の一方から連続的に用水を流入させ、他方からもやはり連続的に培養水をワムシごと抜き取ることで増殖分の希釈と収穫を行う培養法を指す(図 II 3-1)。この場合、培養水量に対して通過する水量の割合を「収穫率」と呼ぶが、魚類の流水式飼育と同様に回転率と呼んだり、ワムシが薄められることから希釈率と称したりする。本書では連続的に注水と収穫を行う狭義の連続培養を扱うが、これにもタービドスタットとケモスタットという2つの方式があり、いずれも生態学的研究に用いられてきたものであるが、大量培養への応用という観点からは、管理の容易さや安定性の点でケモスタットが優れている。

連続培養は、もっぱら微生物の生態学的研究に用いら

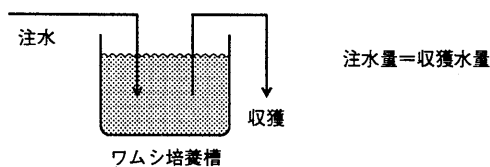


図 II 3-1 ワムシ連続培養の概念図
(マリノフォーラム21, 平成10年度資料を改変*)

れてきた方式であるが、海産ワムシ類の大量培養への応用研究は、我が国では(社)マリノフォーラム21の種苗生産システム研究会において1986年から行われ、後述するようにタービドスタットでの基礎研究を経てケモスタットによる高密度長期培養の完成を見ている(Fuら1997)。現在市販されている装置では、1m³水槽からS型で1日に最大40億個体が生産可能であり、バクテリアフロックなどの懸濁物を除去できるシステムを組み込んだ装置でも30億個体程度が収穫できる。海外ではJamus & Abu-Rezeq (1989a, b)が、1m³水槽でS型およびL型ワムシがそれぞれ日産3億および1.9億個体生産されるシステムを作成している。我が国のシステムに比較して1/10程度の生産性であるが、餌料に濃縮されていないナンクロロプシスを用いているためと考えられる。

従来法と連続培養法の相違

連続培養では、自動的にワムシが流れ出すために特段の収穫操作が不要になるとともに排泄物などが常時薄められるため長期にわたって同一水槽が使い、洗浄やフィルターの出し入れ等も不要になる。したがって密閉系に近い形で培養も可能になり、その場合には増殖阻害性微生物や他の株のワムシの混入も防ぎ得るなど、多くの利点を数えることができる。しかしながら最大の特徴は、一種の流水式飼育であるために培養槽内の環境が従来法に比較して格段に優れていることであり、このために通常の空気通気でも高密度での長期培養が可能になり、か

*ワムシ連続培養法マニュアル(案)(非公開)
(社)マリノフォーラム21種苗生産システム研究会

つ対数増殖期（I 3「増殖特性—株間の差—」を参照）にある「高品位ワムシ」とも言うべき活性の高いワムシが生産されることになる。

通常の培養で、はじめ対数増殖期にあったワムシはやがて非解離アンモニア（ NH_3 ）の蓄積（I 4-5「アンモニア」を参照）や低DOなどの環境抵抗（I 3「増殖特性—株間の差—」を参照）によって生理的活性が低下し、増殖が頭打ちとなる。さて、植え継ぎ培養はワムシが定常期に達し死滅期（図I 3-1）に入る直前に収穫するわけであるから、ワムシの個体レベルでは環境抵抗によるダメージが最大になっており、活性が極めて低下した状態にある。一方間引き培養では、収穫のために培養の一部を抜き取り、新しい海水を補充して培養水中の環境抵抗を希釈するので、ワムシは対数増殖期に維持され長期間の培養は可能になるが、間引きと海水の補充はその度に微生物相にインパクトを与え、細菌による環境維持機能の破綻を招くと推察される。これに対して連続培養は少量ずつを絶えず間引き、同量の海水を連続的に補充する方式であるから、微生物相へのインパクトが少ないのみならず環境抵抗の蓄積速度よりも収穫率（培養槽を通過、すなわち希釈する割合）が高ければ、水質が悪化する事はなくワムシは対数増殖期に維持されることになる。

このシステムを数式化して考えると、 r をワムシの比増殖率、 h を収穫率とすると、培養槽での密度変化「 dN/dt 」は、増殖のみ起こり収穫のないときは「 rN 」で表され（I 3「増殖特性—株間の差—」を参照）、一方、増殖のないときに一定の収穫率で希釈されて行くときの密度変化は「 $-hN$ 」で表されるから、連続培養槽の密度変化は、

$$dN/dt = (r-h)N \quad \text{となる。}$$

すなわち、収穫率 h がワムシの増殖率 r に等しいとき培養槽内のワムシ密度は一定に保たれ、この状態を連続培養の「定常状態」と呼んでいる。

タービドスタットとケモスタット

連続培養の2形式のうちタービドスタットは、増殖率をワムシが本来持っている最高値（内的自然増加率、I 3「増殖特性—株間の差—」を参照）に導いて運転するものであるが、そのためにはワムシを飽食させておく必要がある、したがって餌不足や過多（かえって増殖率が下がる）にならないようワムシ密度を一定に維持しなくてはならない。これには希釈率の微調整が必要であるが、ワムシ密度を自動計測する方法がないために注水ならびに収穫ポンプの自動制御をリアルタイムで行う事が不可能であり、人手によるワムシ計数とポンプセッティングの変更ではワムシ密度の変化が増殖率に影響し、これが更なる密度の変化を助長するという悪循環に陥り、増殖率が希釈率より大幅に小さくなってワムシが居なくなるウォッシュアウト（wash out）現象も起こりやすい。

また高い給餌率に由来する有機物負荷が環境抵抗を増加させ水質環境を維持できなくなることもある。

一方、ケモスタットでは給餌量は飽食レベル以下の一定値に固定され、また希釈率も固定されているため、ワムシ密度が上昇した場合には個体当りの摂餌量が少くなって増殖率が低下しワムシが減少する結果、再び個体当りの摂餌量が回復、増殖率の上昇と共にワムシ密度も回復するというネガティブフィードバック（negative feedback）作用の働く事が特徴である。したがって、放っておけば、密度はある範囲で自律的に維持されるというメリットがあり、また給餌量が少ない事によって環境抵抗が小さくなるため、通常の空気通気で高密度かつ長期の培養が可能になる。

装置連続培養法と粗放連続培養法

ワムシ連続培養開発の経緯は、自動運転による省力化、高密度化を図ることによる用水量・廃水量・廃棄物量の低減と加温冷却の省エネルギー化、省スペース化など実現することであり、当然のことながら閉鎖系での集約性の高いシステムを目指すものであった。一方、これらのメリットが少々犠牲になることを承知の上で、絶えず飼育水が新しいものと交換されるという原理を、閉鎖性では劣る既存の水槽に展開することも可能であり、本書では「粗放連続培養」と命名した。これに伴い、従来開発を続けてきた閉鎖系の自動培養装置によるものを「装置連続培養」として区別することとした。

（日野明徳）

3-1 装置連続培養

装置連続培養とは、ワムシを培養するにあたって前述の「連続培養」のメリットを最大限に活用する培養であり、日栽協玉野事業場において数々の試験を行い、すでにそのための連続培養装置が開発されている。ワムシの培養において、その好不調を左右する要因のひとつとして、微生物生態系の動態が挙げられる。ワムシ培養の達人・熟練者といわれた技術者は、巧みに微生物生態系の構築を行うことのできる技術者である。しかしその技術レベルに達するまでには、数多くの経験が必要であるにもかかわらず、ワムシ培養の担当者は経験の浅いいわゆる「若い者」が多く、ワムシ培養の不安定要因のひとつとなっている。現在、あまり気にとめられていないが、培養不調をおこす一因として、ワムシ培養槽内にある種の有害微生物（I 4-7「生物的環境」を参照）の混入も挙げられる。

装置連続培養は、閉鎖系のシステムを構成することにより、外部からの有害微生物の混入という培養が破綻する原因をできるだけ取り除いた培養である。また、流水による培養のため微生物生態系の変動が少なく、担当者にワムシ培養の経験とそれに基づく「勘」がなくても安定したワムシ培養ができるものである。実際、ある種苗

生産機関において、それまでワムシの培養を全く経験したことがない「ずぶの素人」がワムシ培養の担当者となり連続培養装置を用いて計画的なワムシ生産を行っている（日野 1998）。

また、集約的にワムシを培養することができるため、装置自体の占有面積、種々の作業のための付帯面積及びいわゆるランニングコスト（用水の必要量の低減とそれに伴う加温もしくは冷却に必要な経費など）を抑えることができる。さらにワムシ培養密度も高いため、収穫作業に必要な時間及び人員も少なく済み人件費も抑えることができるのもメリットのひとつである。そして需給調整も給餌量のコントロールにより容易に行うことができる。

これまでに装置連続培養は、S型ワムシでは岡山株、玉野株、タイ株、南伊豆株など、L型ワムシでは近大株、小浜株、石川株などを用いての成功事例があり、「特定のワムシ株」においてのみ培養が成立するのではなく、回転率を調節することにより通常すべてのワムシ株に対応できる。装置連続培養は決して特殊な培養ではなく、ワムシの本来持っている増殖能を引き出す培養法といえよう。

＜ポイント＞

装置連続培養の特徴は、①ワムシ培養が破綻する要因をできるだけ排除する、②ワムシ培養の経験とそれに基づく「勘」を必要としない、③回転率を調節することによりS型ワムシ、L型ワムシとも通常すべてのワムシ株で装置連続培養は可能であり汎用性が高い、④給餌量のコントロールにより生産調整が行いやすい、⑤集約性の高さから、ワムシ生産コストが抑えられる点である。

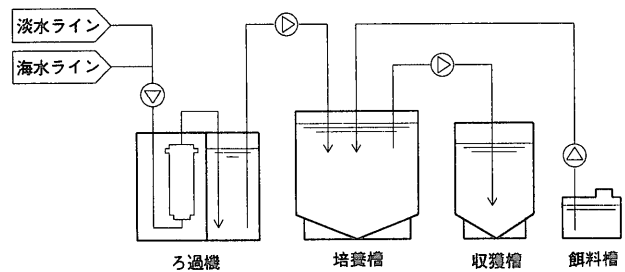
3-1-1 連続培養装置の基本構成と手順

連続培養装置の基本構成

装置連続培養に用いる装置の基本的構成を図Ⅱ 3-2に、実物を図Ⅱ 3-3に示す。連続培養装置が備えるべき要素を以下に列挙する。

- 培養槽……連続培養を行う
- 収穫槽……収穫したワムシを一時貯留する
- ろ過機……精密ろ過海水を製造する
- 注水系……培養槽に精密ろ過海水を一定速度、かつ、連続的に供給する
- 収穫系……培養槽より一定速度、かつ、連続的に収穫する
- 給餌系……培養槽に一定速度、かつ、連続的に餌料を供給する

連続培養槽は閉鎖環境における純粋培養系であり、環境条件（水温、塩分）や餌料環境が一定に推移するが、反対に一旦有害な微生物が培養系に侵入すると培養が破



図Ⅱ 3-2 連続培養装置の基本構成
(マリノフォーラム21, 平成10年度資料を改変*)



図Ⅱ 3-3 連続培養装置の外観

綻する恐れがある。このため、ろ過機による有害微生物の培養水への侵入防除が不可欠である。

注水系、および収穫系は、培養水量を一定に保つためのものであり、定量的な制御が必要とされる。

また、給餌系は培養槽内の餌料環境を一定に保つために必要とされる。連続的な給餌により過剰な餌が培養槽に留まることがなく、水質を悪化させることを防ぐことができ、安定連続培養のためには不可欠な要素となる。

なお、上記以外に一般的なワムシ培養要素として加温用ヒーター、通気系を必要とするが、酸素の吹き込み、pHの制御等は必要としない。

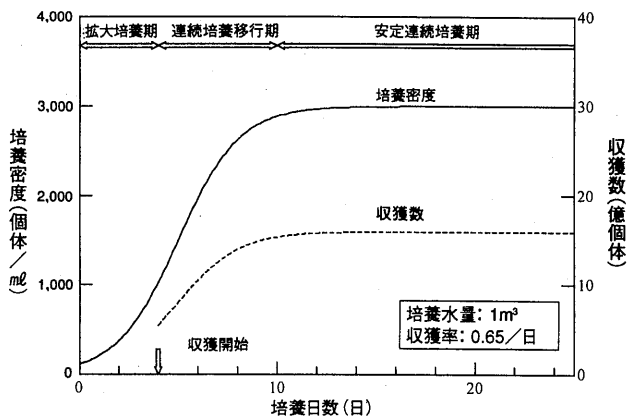
＜ポイント＞

装置の基本は連続注水、連続収穫、連続給餌ができることである。そしてワムシ培養の安定度を高めるために、有害微生物の混入および餌料の品質の劣化を防ぐためのシステムが付随している。メカニカルトラブルを避けるために、酸素の吹き込みおよびpHの調節のためのシステムは設置されていない。ただしそのようなシステムを導入することにより、さらに集約的なワムシ生産の可能性はある。

装置連続培養の流れ

装置連続培養の流れは拡大培養期、連続培養移行期、安定連続培養期の3つの期間に分けることができる。図Ⅱ 3-4に装置連続培養におけるワムシ密度と収穫数の推

*ワムシ連続培養法マニュアル(案)(非公開)
(社)マリノフォーラム21種苗生産システム研究会



図II 3-4 連続培養におけるワムシ密度と収穫量推移の模式図
(マリノフォーラム21, 平成10年度資料を改変*)

移を模式的に示す。

① 拡大培養期

接種用のワムシを連続培養装置の培養槽に接種し、拡大培養する期間である。本期間は連続培養装置に含まれる海水供給系、給餌系を用いて行う通常の植え継ぎ培養であり、ワムシ密度は1日に2倍程度の速度で増加していく。

② 連続培養移行期

一定収穫率で収穫を開始し、連続培養状態に移行する期間である。ワムシが保有する増殖能力以下の速度で収穫を行うことによりワムシ個体群は緩やかに増加を続ける。密度の増加に伴い餌料環境が制限要因となり、ワムシ個体群は自律的に密度がある値に収束し始める(II 3「新しく開発された連続培養法」を参照)。

③ 安定連続培養期

連続培養槽内のワムシ個体群の比増殖率と収穫率が一致した状態となり、培養槽内ワムシ密度がほとんど一定に推移する。この状態に到達すると安定したワムシ生産を行うことができる。

装置連続培養の手順

ここに示す手順は、主にマリノフォーラム21ワムシ連続培養基礎研究グループが実施した培養試験を基にしている。これらの試験では100lまたは1m³培養槽を用いて、以下の試験条件で実施された。

供試株：S型ワムシ岡山株

培養水温：30℃

餌料：淡水クロレラ

本文中、特に記述がない場合、上記条件を前提としている。

(1) 事前準備

ワムシ株の選定

ワムシの増殖速度は培養条件(水温、塩分、餌料の種類等)により異なるが、ワムシ株自身の生物学的特性によっても大きく異なる。一般に効率的なワムシ培養を行うためには、最適水温、塩分等の培養条件が明らかで、

かつ優れた増殖特性を持つワムシ株を選定することが求められる。装置連続培養に供するワムシ株の選定においても上記条件が求められるのは当然である。

ただし、装置連続培養においてはワムシは絶えず収穫されるため、ふ化時間の長い株、あるいは産卵期間の長い株(1日当りの産卵数が少ない株)は再生産を行う前に収穫される確率が高くなる。したがって装置連続培養に適したワムシ株とは未成熟期が短く、若い時期、すなわち収穫される前に集中して産卵する株である。このため装置連続培養に供しようとするワムシ株の産卵特性、増殖特性を十分に把握する必要がある。しかし、ワムシ株の産卵特性を明らかにするためには多大の労力が必要とされるため、産卵特性が既知で、かつ優れた増殖特性を持つ株の採用が望ましい。

接種用ワムシの準備

装置連続培養に用いる接種用のワムシは恒温室で株保存しているワムシを実験室内で拡大培養して利用することが望ましい。実験室内で拡大したワムシ株は原生動物の混入も少なく、推奨できる方法である。しかしながら、恒温室で維持される保存ワムシは培養規模が小さいため、必要量まで拡大するためには通常2週間以上を要する。

補完的手法として植え継ぎ培養などで生産したワムシを接種用のワムシとして利用することも可能である。このような大量培養しているワムシを接種用のワムシとして用いる場合、必ずワムシをプランクトンネットで回収し、ろ過海水でよく洗浄してから、培養槽に接種しなければならない。なお、本手法は良好な状態で増殖しているワムシの利用を前提とする。

餌料の準備

装置連続培養では高濃度餌料の連続給餌が前提となる。このため、市販の淡水クロレラの採用を推薦する。各種苗生産機関で生産・保存している濃縮した冷凍もしくは冷蔵ナンノクロロプシスを用いることも可能であるが、原生動物のシストが混入している可能性が高く、また濃縮率・品質にばらつきが大きいため培養に問題が生じることがある。

連続培養装置の洗浄

連続培養装置で実際にワムシを培養する直前に、培養槽、収穫槽、餌料槽及び各配管を洗浄、消毒する必要がある。消毒には次亜塩素酸ナトリウム(有効塩素濃度100ppm以上)を用い、一昼夜放置した後チオ硫酸ナトリウムを用いて中和後排水する。

(2) 拡大培養期

本期間は連続培養に移行する前の期間である。なお、1,000個体/ml以上の初期ワムシ密度を確保し、拡大培養を行わず、直ちに連続培養に移行することも可能であるが、時間に余裕がある場合には接種時のワムシ密度を500個体/ml程度とし、1~2日間程度の拡大培養

*ワムシ連続培養法マニュアル(案)(非公開)
財マリノフォーラム21種苗生産システム研究会

を行うことが望ましい。

拡大培養期の水量

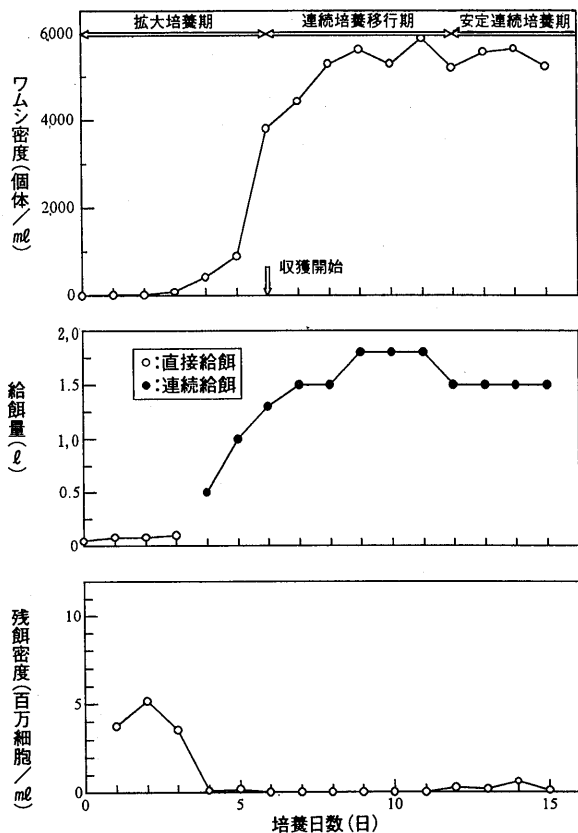
培養槽を満水状態で拡大培養を開始することが望ましい。しかし、十分な接種用のワムシが確保できない場合、培養水量を減らして拡大培養を開始する。

例えば、培養槽規模 1m^3 で準備された接種用のワムシ個体数が0.1億個体の場合、500ℓ程度の培養水量で培養を開始する（ワムシ密度20個体/ml）。その後、ワムシ密度を100個体/ml以上に保つように培養水量を増加させる。ただし、培養水量が少ない場合は水深が浅くなり、通気に支障がでる可能性があるため、培養水量の50%以上の水量を確保することが求められる。

拡大培養期の給餌法と給餌量

給餌は、1日に1～2回培養槽内に直接投与することにより給餌を行う。ワムシ密度が300～400個体/ml以上に増加した後にポンプによる連続給餌を開始する。

給餌量はワムシ密度の増加に伴い増加させる。マリノフォーラム21で行った試験（岡山株、100ℓ規模）の拡大培養期のワムシ密度、給餌量、残餌密度の推移を図Ⅱ3-5に示す。



図Ⅱ 3-5 装置連続培養における拡大培養時のワムシ密度、給餌量、残餌量の推移
(マリノフォーラム21, 平成10年度資料を改変*)

拡大培養期の注意

拡大培養期は植え継ぎ培養状態であり、毎日の給餌により大量の有機物が培養槽に導入されることになる。す

なわち、拡大培養期の延長は水質の悪化を招くため、必要以上に拡大培養期にワムシ密度を上げてはならない。通常の植え継ぎ培養同様、1,000個体/ml以上の密度を維持することは困難である。

培養条件（水温、塩分、溶存酸素濃度など）が不適切であったり、餌料の品質の劣化などの原因により、ワムシの増殖速度が低く、拡大培養期間が長期にわたる場合、一旦培養槽からワムシを収穫、洗浄後、再度培養槽に接種することにより水質の回復を図る。また、培養条件を調べ、改善を図るとともに餌料の製品ロットの変更も検討する。

(3) 連続培養移行期

拡大培養によりワムシ密度が増大後、収穫を開始し、連続培養状態への移行を行う期間である。

収穫開始時期

拡大培養によりワムシ密度が1,000個体/mlに到達後、収穫を開始し、連続培養状態への移行を行う。

収穫率の決定

ワムシの効率的な生産のためには高い収穫率で連続培養を行うことが有効である。しかし、本来ワムシが持っている増殖能力以上の速度で収穫を行えば、いかに制御しても培養密度は減少し、安定的なワムシ培養を行うことはできない。すなわち、ワムシの保有する生物学的特性により、安定した連続培養が達成される収穫率には上限があり、収穫率は用いるワムシ株ごと、培養条件（水温、塩分など）ごとに決定する必要がある。

したがって、過去に装置連続培養による培養実績がある株の採用を薦めるが、培養実績のない株を用いる場合、試験的に装置連続培養を行い、収穫率を決定することが必要である。ただし、低い収穫率を採用した場合、培養槽への有機物負荷が蓄積し、水質を悪化させることに留意する必要がある。

なお、S型ワムシ岡山株は30℃の温度条件下で比増殖率1.0/日以上増殖能力を持つが、連続培養では収穫率0.6～0.7/日の運転で好結果を得ている。また、L型ワムシ石川株の連続培養実験（28℃）においても同様な収穫率で安定状態に達している。

給餌量

連続培養移行期はワムシ個体群が環境収容力に見合った密度まで増殖する期間である。給餌量の変更は環境収容力自体の変更を意味するため、この期間中は給餌量の変動は培養安定までの期間の延長をもたらすことになる。拡大培養期間終了時の給餌量を基準として、給餌量の大幅な変動は避けなくてはならない。

(4) 安定連続培養期

連続培養による培養を行う期間である。この期間に必要な作業は連続培養移行期と基本的に同じである。

培養密度

装置連続培養で培養した最大密度はS型ワムシで

*ワムシ連続培養法マニュアル（案）（非公開）
（株）マリノフォーラム21種苗生産システム研究会

8,000個体/mlである。しかし、この密度では餌料濃度以外の要因（水質等）が新たに制限要因となると考えられ、通常の培養密度としては危険が大きいと思われる。経験上、目安として5,000個体/ml以下の密度での培養を推奨する。

収獲数

安定連続培養時には培養槽内ワムシ密度は一定に維持され、収獲槽には培養槽と同じ密度のワムシ培養水が連続的に流入する。安定連続培養状態の生産量Fは以下の式により概算される。

$$F = h \times V \times N$$

h：収獲率 V：培養水量 N：ワムシ密度

したがって、収獲率0.6/日、培養水量1m³、ワムシ密度5,000個体/mlの場合、1日に30億個体の生産が可能となる。

収獲槽内でワムシが増殖すれば、密度の増加、すなわち生産量の増加が期待できる。しかし、収獲槽に別途餌料供給を行わない場合、培養槽からの餌料の流入量だけでは餌料不足が生じ、逆に密度の減少が生じる。この現象は、特に培養密度（＝収獲密度）が高い時に顕著に現れる。したがって、収獲したワムシを長期間放置することは避け、別途、給餌を行うことが必要である。

給餌量の変更による培養密度の制御

ケモスタット方式の連続培養では餌料環境が主たる制

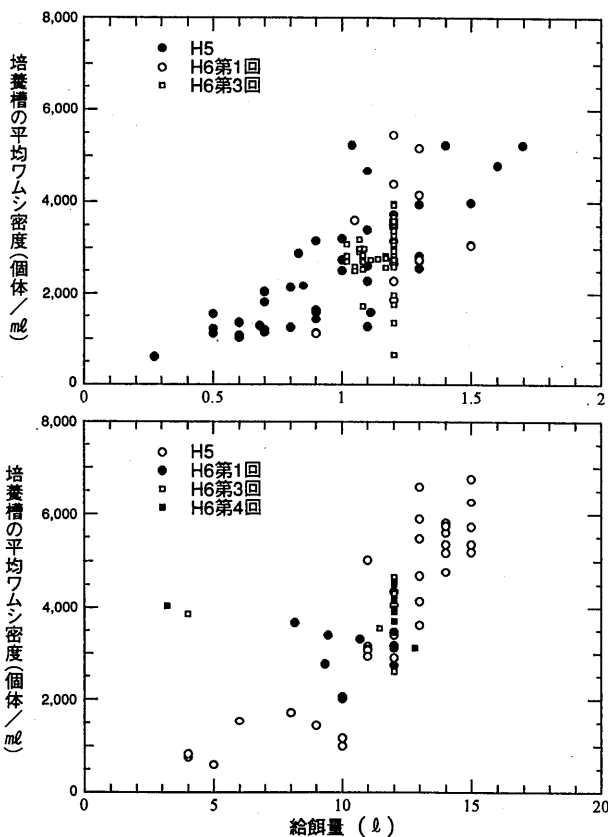
限要因となり自律的にワムシ密度が安定状態に達する。したがって、給餌量の調整で培養密度をある程度制御することができる。しかし、給餌量の変更は培養系の環境収容力を変更することを意味し、培養の不安定化を招く恐れがあるため、給餌量の変更率は日30%以内に止めることが望ましい。

なお、マリノフォーラム21で行った試験において給餌ポンプの不調及び人為的なミスにより給餌量の変動が生じているが、培養が破綻することはなく、給餌の再開に伴い安定状態への復帰が観察されている。このことは、給餌量の一時的な変動では培養が破綻する危険は小さいことを示している。

図II 3-6にマリノフォーラム21で行った試験（S型ワムシ岡山株、培養水温30℃、収獲率0.6～0.7/日）の給餌量と培養槽のワムシ密度の関係を示す。この関係は培養規模にほとんど影響されず、異なる規模の培養においても同様な関係が成り立つものと期待される。なお、当然ではあるが、この関係はワムシ株、および培養条件（水温・塩分濃度）によって異なる。

<ポイント>

装置連続培養は、拡大培養期、連続培養移行期、連続培養安定期に分けられ、それぞれの段階において注意すべき点が存在する。また連続培養安定期においてワムシの増殖にとって制限要因となるのが給餌量である。給餌量をコントロールすることにより、生産調整を行うことができる。



図II 3-6 装置連続培養における給餌量と培養密度の関係
（上：100ℓ規模、下：1m³規模）
（マリノフォーラム21、平成6年度報告書を改変*）

3-1-2 連続培養運転時の注意事項

懸濁物

培養槽内には細菌の凝集物やワムシの糞からなる大量の懸濁物が発生するが、培養の安定性にはほとんど影響しない。一般に行われている懸濁物除去フィルターを連続培養槽に垂下することは、洗浄時の出し入れに伴って有害な微生物に培養槽への侵入の機会を与えることになり推奨できない。

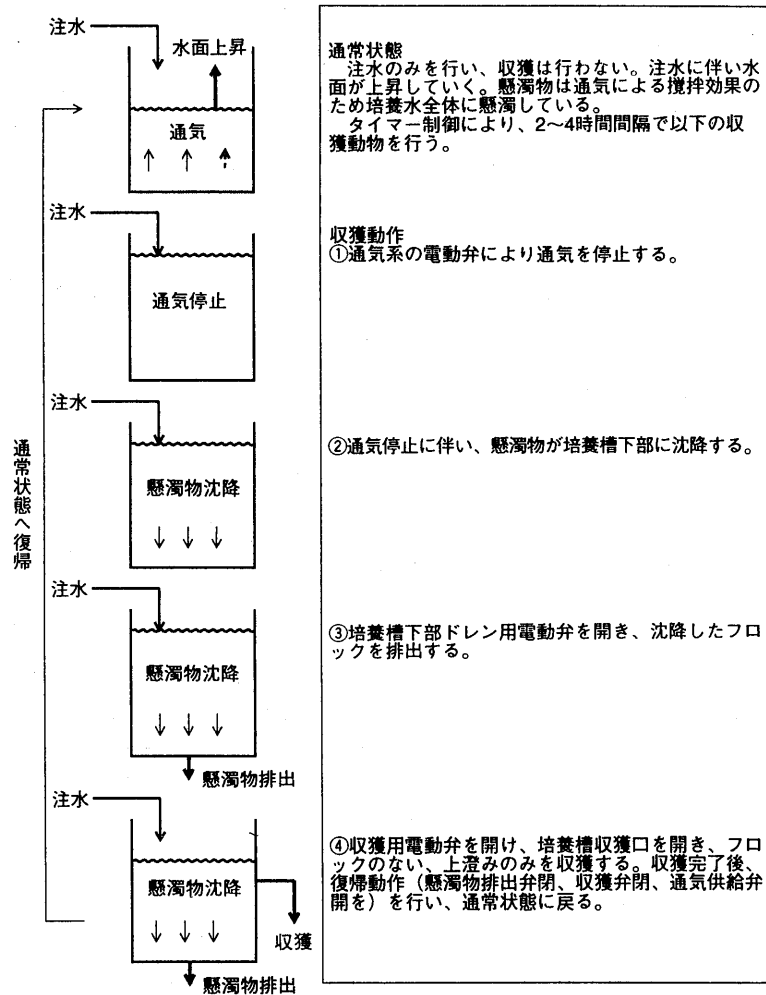
収獲槽に懸濁物除去フィルターを垂下し、懸濁物除去を行うことについては問題はないが、より簡便な方法として通気を一時停止し、懸濁物を下記のように沈殿分離することを薦める。

培養槽中に発生する懸濁物は数mm～数十mmの大きさになり、培養槽ドレン部に沈殿・腐敗し、水質悪化の原因となる。このため、1日に1回培養槽ドレンバルブを数秒開け、沈殿物を系外に排出する事が必要となる。その際には、5分間程度通気を停止し、懸濁物を沈殿させた後にドレンバルブを開けることで、効率的に懸濁物を排出できる。ただし、通気の長時間停止は培養の破綻を起こすため、十分な注意が必要である。

上記の通気の停止、懸濁物沈殿、排出を自動的に行い、

*平成6年度ワムシ連続培養システム基礎研究に関する報告書（非公開）

(注)マリノフォーラム21種苗生産システム研究会ワムシ連続培養システム基礎研究グループ



図II3-7 装置連続培養における懸濁物除去運転法の概略
(マリノフォーラム21, 平成9年度報告書を改変*)

かつ、その上澄み培養水のみを収穫するシステムが開発されている(図II3-7)。このシステムにより収穫槽へ混入する懸濁物量を著しく減少させることが可能である。しかし、通気停止時間等の設定には運用知見の集積が必要となる。

<ポイント>

懸濁物は装置連続培養にとって悪影響を与えない。しかし迅速な収穫作業の妨げとなるため懸濁物を除去する必要があるが、フィルターを垂下する方法では有害微生物の混入の危険性がある。しかし、自動的に懸濁物を排出するシステムも開発されている。

給餌

連続培養安定期に給餌量を変動させることにより密度の制御が可能である。ただし前述のように、1日当りの餌料の増加(減少)率は30%以内とし、急激な餌料環境の変化は避ける。なお、給餌量の増加時には、餌料密度、溶存酸素、pH、原生動物密度等に注意を払い、残餌が1,000万細胞/ml以上となった場合、給餌量を減少さ

せる。

餌料(淡水クロレラ)の品質にはばらつきがあり、培地の栄養塩が残留しているなど餌料の品質に問題がある場合には、培養密度が減少し、安定状態が破綻することがある。したがって、餌料の製造ロットを変更した直後に密度の減少が観察された場合、直ちに餌料の製造ロットを変更する必要がある。餌料品質によるワムシ自体へのダメージは比較的小さなものと思われ、餌料の製造ロットを良質のものへ変更することにより培養密度の回復、安定状態への復帰が観察されている。

<ポイント>

装置連続培養に限らずワムシ培養にとって給餌法及び給餌する餌料の品質は重要であり、注意を払う必要がある。

泡の発生

ワムシを培養(拡大培養, 連続培養)中、大量の泡が発生するが、シリコン系消泡剤を餌料に混合して培養槽に注入することで発生を防ぐことができる。しかし、泡によって大量の有機物が系外に排出され(泡沫分離),

*平成9年度L型ワムシ連続培養システムの開発に関する報告書(非公開)

(社)マリノフォーラム21種苗生産システム研究会L型ワムシ連続培養システムの開発

培養槽内の水質維持に貢献していると考えられ、また、経験的に泡の色によりワムシ培養の好不調を判断できるため、泡の発生はむしろ容認すべきである。

＜ポイント＞

泡の出現は、ワムシ培養水の水質維持にとって歓迎されるべきこと。ただし周囲がかなり汚れるので対処が必要。ワムシ連続培養装置には泡の排出用のダクトが設置されており対処済み。それから過去にワムシ培養の経験があれば泡の出現状況により培養状態の判断が可能である。

収穫率

一般に収穫率を上げれば、培養密度が低下し、逆に下げれば上昇すると考えられるが、連続培養が安定している状態での収穫率の変更は極力避けねばならない。特に注意すべき点は、収穫率の変更は、単に培養密度が変わるのみならず、培養個体群の日齢組成が変わることを意味する点であり、収穫率変更後安定状態に達するためには一定の期間が必要となる。なお、増殖能力を超えた収穫率では培養密度が直ちに急減するウォッシュアウト(wash out)と呼ばれる現象が起こる。

＜ポイント＞

収穫率の設定は、装置連続培養の運転条件の中でも重要な部分であり、培養しようとするワムシ株の増殖特性に合わせる必要がある。

通気

高密度のワムシ培養時には、通気が途切れる、あるいは不足すると培養が破綻することになる。したがって、日常的に溶存酸素濃度を測定し、2~3mg/l以上の溶存酸素濃度を保つよう通気を行う。

＜ポイント＞

通気は、装置連続培養に限らずワムシ培養にとって重要な部分である。しかし、従来法と同様の管理で何ら差し支えない。

培養槽内に出現する原生動物

精密ろ過海水を用いて培養を実施しても、培養の経過に伴い原生動物の増殖が観察されているが、培養の安定性に影響を与えていない。ワムシに直接害を及ぼさない原生動物であっても、餌料・空間の資源をめぐる競争者であることにはかわりはなく、決して望ましいものではない。しかし、実験室内での培養でない限り純粋培養は不可能であり、これ以上の精密さを求めても非実用的である。一度培養が安定し、培養槽内の餌料・空間をワムシが独占的に利用する状態に達した後ならば、ある程度の

原生動物の増殖も安定状態の破壊をもたらさないと考えられる。

装置連続培養において、培養槽内で繁殖が可能な生物は、収穫率以上の比増殖率を有するものに限られる。このため真菌類(カビ)等は培養槽内に侵入しても、増殖できないと考えられる。また、安定状態に達した連続培養状態では、餌料密度が数万細胞/mlまで減少し、餌料環境が制限要因となる。したがって、連続培養槽内で増殖できる原生動物は、上記餌料環境下で収穫率以上の比増殖率を有するものあるいは細菌食性であるもの、すなわち小型種に限られると考えられる。

＜ポイント＞

装置連続培養は可能な限り外部からの他生物の混入を防ぎ、培養の安定性を高めている。

3-1-3 培養事例

装置連続培養ではその性質上、1日に収穫される個体数すなわち種苗生産に供給できる個体数を問題にしている。よって、収穫数には収穫槽に収穫された個体数を示し、接種時及び培養終了時の培養槽の個体数を含めていない。以下に各数値の算出方法を記す。

総収穫数=培養槽から収穫槽に送られた個体数の連続培養期間中の総和

日平均収穫数=1日に収穫された個体数の連続培養期間中の平均=総収穫数÷連続培養日数

単位収穫数=1日に培養水量1m³当りから収穫された個体数の連続培養期間中の平均=(Σ(その日の収穫数÷その日の培養水量))÷連続培養日数

(1) S型ワムシ岡山株の事例1(玉野事業場)

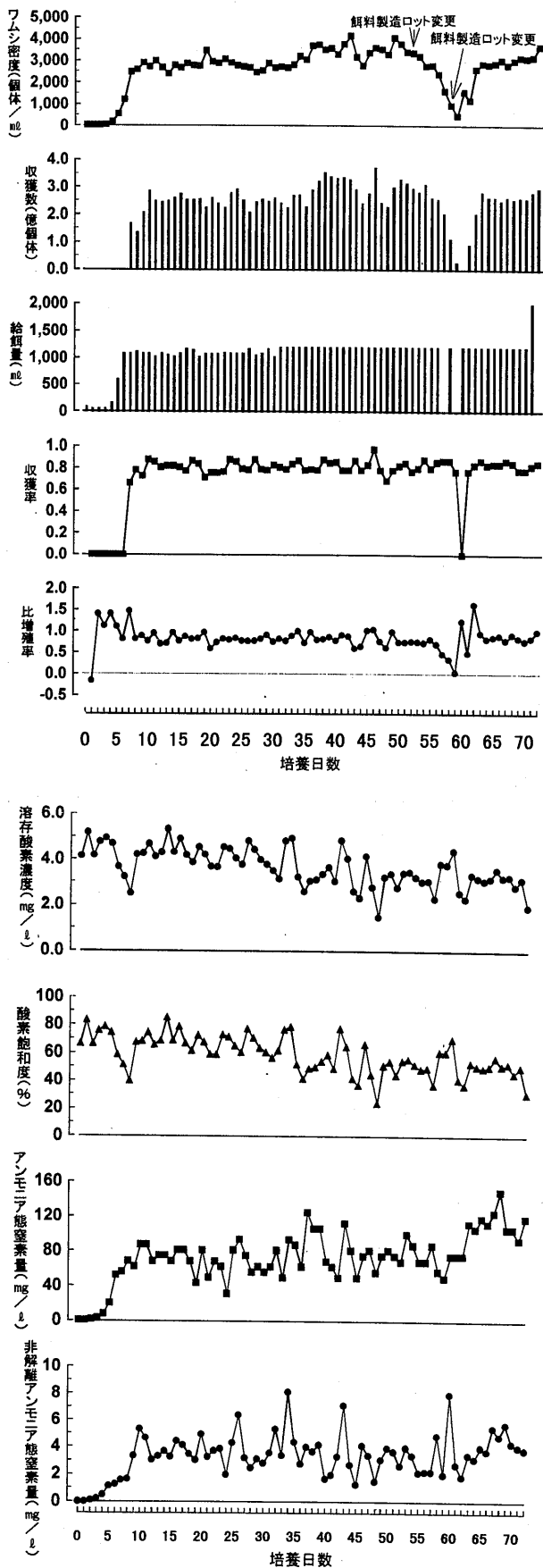
—S型ワムシの標準的な培養事例—

培養には100lワムシ連続培養装置を使用し、培養水温は30℃に調節した。餌料には淡水クロレラを使用し、連続培養開始後は1日当り1,200ml給餌した。

培養日数は72日間でそのうち連続培養は66日間行った。接種時のワムシ密度は3.9個体/ml(接種数39万個体)で、その後順調に増殖しワムシ密度は培養6日目に1,185個体/mlに達した。そこで拡大培養を終了し連続培養へ移行した。そして連続培養移行期を経て連続培養安定期に入り66日間の連続培養を行った。連続培養期間中の平均ワムシ密度は2,871個体/ml(458~4,157)、総収穫数は166億個体、日平均収穫数は2.5億個体/日、単位収穫数は25億個体/m³/日であった(図II-3-8)*。

培養期間中の溶存酸素濃度、酸素飽和度、アンモニア態窒素濃度を測定した。また計算式より非解離アンモニ

* 拡大培養期も含めた72日間全培養期間で集計すると、総生産数は169億個体、純生産数は169億個体、単位生産は23.5億個体/m³/日であった。



図II 3-8 100ℓワムシ連続培養装置を用いたS型ワムシ岡山株の培養結果

ア態窒素濃度を算出した。溶存酸素濃度は1.49～5.34mg/l、酸素飽和度は24.0～85.4%、アンモニア態窒素濃度は0～150mgNH₄-N/l、非解離アンモニア態窒素濃度は0～8.1mgNH₃-N/lの範囲内であった(図II 3-8)。培養57日目にワムシ密度は2,000個体/mlを割り込み、培養60日目には458個体/mlにまで減少した。そこで収穫を停止し給餌する餌料の製造ロットを変更したところワムシの増殖がみられ、再び連続培養へ復帰した(図II 3-8)。餌料の品質がワムシの増殖に悪影響を与えたと考えられたことから、植え継ぎ培養にて、給餌する餌料のロットのみを変えてワムシを培養した。すると、連続培養中に培養不調になった時点で使用していた淡水クロレラを給餌したワムシには増殖が認められなかったことから、今回の培養不調の原因は、餌料の品質にあったものと推察された。

<ポイント>

装置連続培養は2カ月以上の培養が可能であり、その間のワムシの増殖も安定している。また、ワムシの増殖を左右する要因を可能な限り排除もしくは抑えているため、培養不調になったときの原因の究明が容易にでき、その対処も早急に行うことができる。また装置連続培養に限らずワムシ培養にとって餌料の品質には注意を払う必要がある。

(2) S型ワムシ岡山株の事例2(玉野事業場)

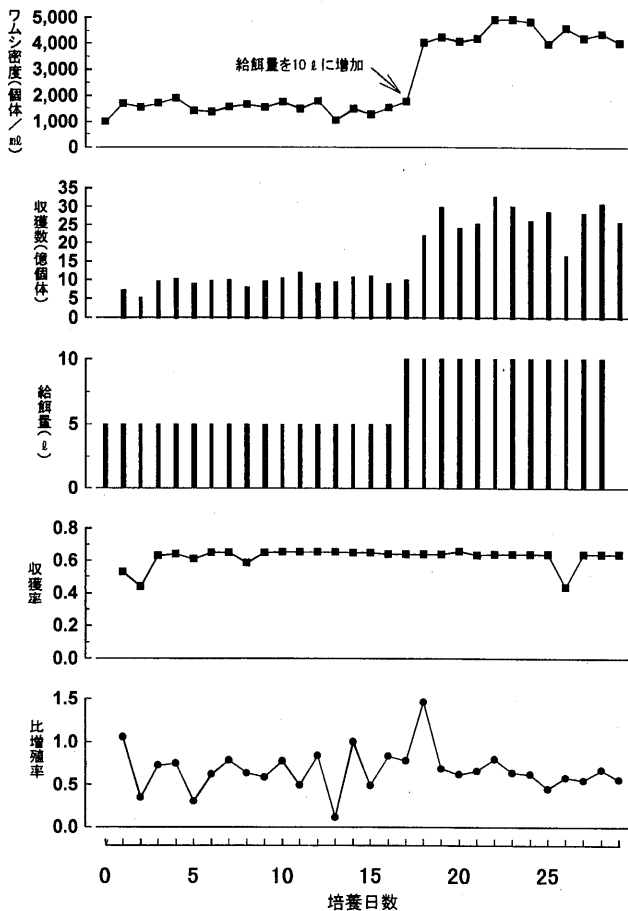
一拡大培養期を省き、給餌量をコントロールした培養事例一

培養には1m³ワムシ連続培養装置を使用し、培養水温は30℃に調節した。餌料には淡水クロレラを使用した。接種時のワムシには植え継ぎ培養で培養されたワムシを用い、1,000個体/ml(接種数10億個体)になるように接種し拡大培養を省いた。

培養日数は29日間でそのうち29日間の連続培養を行った。29日間の連続培養のうち前半の17日間は給餌量を5ℓ、後半の12日間は10ℓとし給餌量のコントロールを行った。給餌量が5ℓの時の平均ワムシ密度は1,522個体/ml(1,000～1,900)、総収穫数は160億個体、日平均収穫数は9.4億個体/日、単位収穫数は9.4億個体/m³/日であった。給餌量が10ℓの時(接種数は給餌量を10ℓとしたときの培養槽内のワムシ数とすると18億個体)の平均ワムシ密度は4,353個体/ml(3,980～4,900)、総収穫数は319億個体、日平均収穫数は26.6億個体/日、単位収穫数は26.6億個体/m³/日であった(図II 3-9)*。

以上のように、装置連続培養は給餌量によるワムシ密度制御及び1日に収穫できるワムシ数の制御が可能となり、需要に即したワムシの生産が可能である。また従来法で培養されたワムシを1,000個体/ml程度の密度で接

* 給餌量が5ℓの時の総生産数は177億個体、純生産数は167億個体、単位生産数は9.8億個体/m³/日であった。また給餌量が10ℓの時の総生産数は363億個体、純生産数は345億個体、単位生産は28.8億個体/m³/日であった。



図Ⅱ 3-9 1m³ワムシ連続培養装置を用いたS型ワムシ岡山株の培養結果

種することにより、拡大培養を省くことができる。

<ポイント>

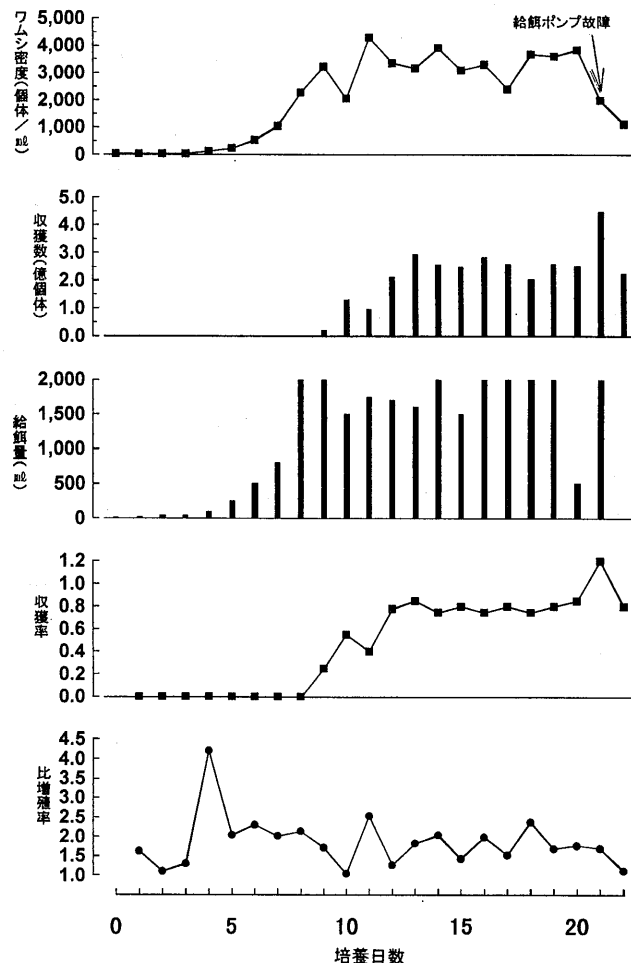
ワムシ培養にとって危険性の高い有害微生物の混入がなければ、従来法（間引き培養、植え継ぎ培養）で培養されているワムシを装置連続培養の接種用のワムシとして使用できる。また給餌量をコントロールすることにより、収穫できるワムシ数がある程度予測できるため生産調整が可能であり、廃棄されるワムシを少なくすることができる。これによりワムシの利用率高めることができ、総生産経費を抑えることができる。

(3) S型ワムシ南伊豆株の事例（宮津事業場）

培養には100ℓワムシ連続培養装置を使用し、培養水温は30℃に調節した。餌料には淡水クロレラを使用し、連続培養期間中は1日当たり2,000ml給餌した。またワムシ収穫率は0.7/日に固定した。

培養日数は22日間でそのうち14日間連続培養を行った。接種時のワムシ密度は18個体/ml（接種数180万個体）で、その後順調に増殖し培養8日目に2,277個体

/m³に達した。そこで拡大培養期を終了し連続培養移行期を経て連続培養安定期に入った。連続培養期間中の平均ワムシ密度は3,018個体/ml（1,120～4,293），総収穫数は31億個体，日平均収穫数2.2億個体/日，単位収穫数は22億個体/m³/日であった（図Ⅱ3-10）*。



図Ⅱ 3-10 100ℓワムシ連続培養装置を用いたS型ワムシ南伊豆株の培養結果

培養期間中、注水系および給餌系の装置にトラブルが生じた。しかし培養が破綻することはなく順調にS型ワムシ南伊豆株での連続培養を行うことができた。

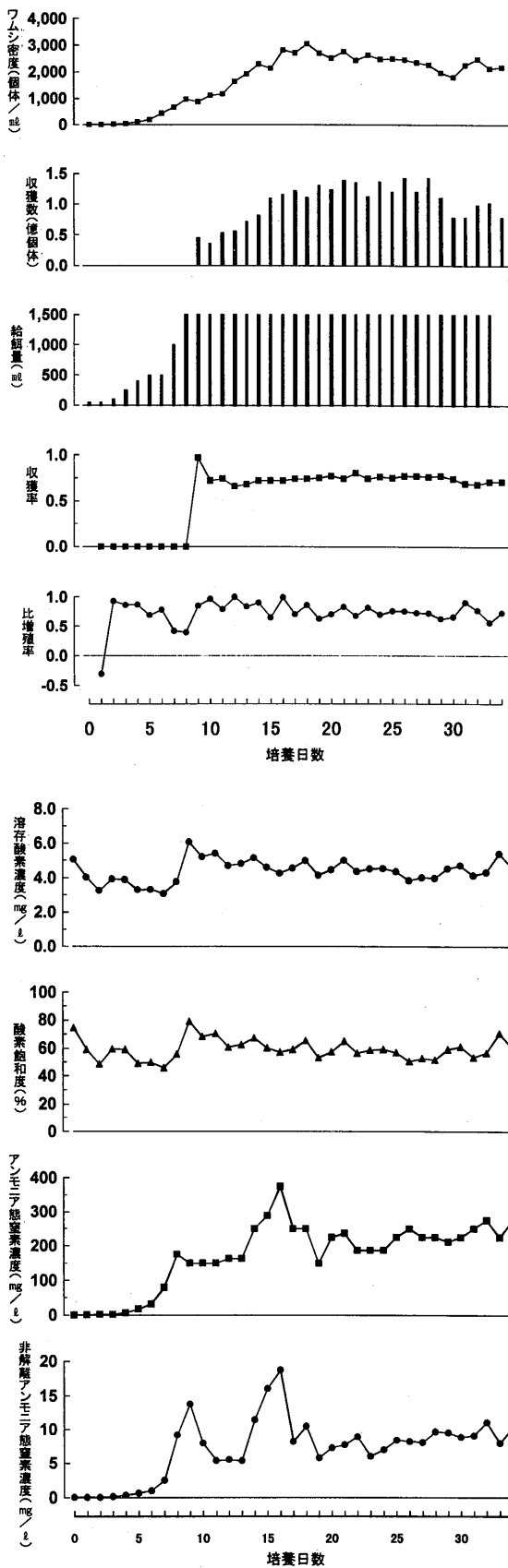
<ポイント>

装置連続培養は、培養しているワムシの活性が高く、装置に一時的なトラブルが生じても培養が破綻することはない。

(4) L型ワムシ近大株の事例（玉野事業場）

培養には100ℓワムシ連続培養装置を使用し、培養水温は26℃に調節した。餌料には淡水クロレラを使用し、連続培養開始後は1日当たり1,500ℓ給餌した。

* 拡大培養期も含めた22日間の全培養期間で集計すると、総生産数は32億個体，純生産数は32億個体，単位生産は14.5億個体/m³/日であった。



図Ⅱ 3-11 100ℓワムシ連続培養装置を用いたL型ワムシ近大株の培養結果

培養日数は34日間でそのうち26日間連続培養を行った。接種時のワムシ密度は9.4個体/ml（接種数94万個体）で、その後拡大培養は順調に行うことができ、培養8日目にはワムシ密度は978個体/mlに達した。そこで拡大培養期を終了し連続培養へ移行した。そして連続培養移行期を経て連続培養安定期に入り、26日間の連続培養を行った。連続培養期間中の平均ワムシ密度は2,165個体/ml（870～3,047個体/ml）、総収穫数は29億個体、日平均収穫数は1.1億個体/日、単位収穫数は11億個体/m³/日であった（図Ⅱ 3-11）*。

今回の培養時にはワムシの増殖に関して制限要因となりうる項目のうち溶存酸素濃度、酸素飽和度、アンモニア態窒素濃度について測定を行った。そして計算式より非解離アンモニア態窒素濃度を算出した。その結果は、培養期間を通じて溶存酸素濃度は3.08～6.09mg/l、酸素飽和度は45.8～79.0%、アンモニア態窒素濃度は0.72～375mgNH₄-N/l、非解離アンモニア態窒素濃度は0.01～19mgNH₃-N/lの範囲内で、これまでの他の株を用いた試験結果と大差なかった（図Ⅱ 3-11）。

<ポイント>

装置連続培養はS型ワムシのみにおいて有効なものではなく、L型ワムシにおいても装置連続培養は可能であり、汎用性が高い。

3-1-4 装置連続培養の理解のために

装置連続培養におけるワムシの日齢組成

安定連続培養とは、培養槽内ワムシ密度、および日齢組成が安定的に推移する状態を言う。一定収穫率 h (/d) で運転されている連続培養系において、ある個体（卵、ワムシ）が時間 t 経過後に培養槽内に留まっている、すなわち収穫されない確率 $p(t)$ は以下の式で表現される。

$$p(t) = 1/(ht+1)$$

ここで t を卵として産出後の経過時間とすると、 $p(t)$ はワムシが日齢 t まで連続培養槽に留まる確率を表す。連続培養が安定している、すなわち日齢組成が安定しているとすれば、この確率は培養個体群の日齢組成の相対値となる。

収穫以外にワムシの死亡がないと仮定し、異なる収穫率で運転される安定連続培養系での日齢組成を図Ⅱ 3-12に示す。

今、卵のふ化時間を t_0 、その産卵特性を、時間 t_1 から t_2 の期間に一定速度 f (卵/日) で産卵すると定義し、また、ワムシの生理学的寿命を t_3 とする。

安定した連続培養状態において、卵がワムシ個体群（卵、ワムシ）に占める割合（PE）、および未成熟個体

* 拡大培養期も含めた34日間の全培養期間で集計すると、総生産数は31億個体、純生産数は31億個体、単位生産は9.1億個体/m³/日であった。

の割合 (PU) は以下の式で算出される。

$$PE = \frac{\int_0^{t_0} p(t) dt}{\int_0^{t_3} p(t) dt} = \ln(ht_0 + 1) / \ln(ht_3 + 1)$$

$$PU = \frac{\int_{t_0}^{t_1} p(t) dt}{\int_0^{t_3} p(t) dt} = \ln \{ (ht_1 + 1) / (ht_0 + 1) \} / \ln(ht_3 + 1)$$

PE より、卵が占める割合はふ化時間と収穫率により決定され、収穫率が高いほど (また、ふ化時間が長いほど)、卵がワムシ個体群 (卵, ワムシ) に占める割合 (PE) の値は高くなる。すなわち、安定状態では卵率は一定数値で推移することになり、卵率の推移をモニタすることにより、培養の安定状態をある程度評価することが可能である。また、未成熟個体の割合 (PU) も収穫率の増加にしたがって高くなる。

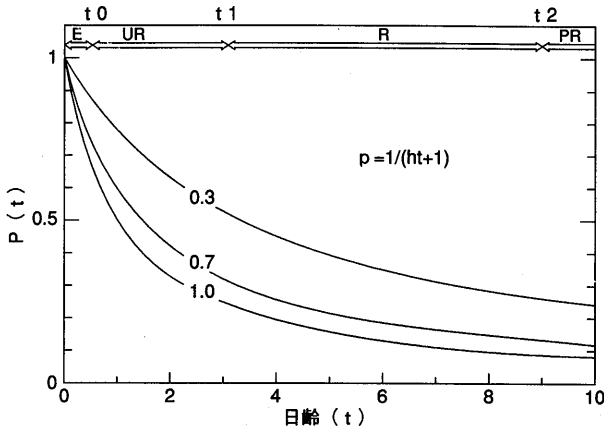


図 II 3-12 異なる収穫率hでの連続培養槽内ワムシ日齢組成
E: 卵期 UR: 未成熟期 R: 繁殖期 PR: 過繁殖期
(マリノフォーラム21, 平成10年度資料を改変*)

図 II 3-12に示した日齢組成は収穫されるワムシの日齢組成でもある。この収穫ワムシ個体群は通常の植え継ぎ培養と比較すると、若齢個体の占める割合が高くなる。このため、収穫されたワムシの平均背甲長はやや小型になる。

<ポイント>

装置連続培養で生産されたワムシは背甲長の平均値が小さくなる。しかしそれは若齢個体が多いためである。ワムシはふ化後30時間も経過すればほぼ成体と同じ大きさになるため、実質上問題はない。

収穫槽内でのワムシの増殖

装置連続培養において、培養槽内比増殖率と収穫率が一致すれば、培養槽内ワムシ密度は一定 (N_0) に維持され、収穫槽には密度 N_0 のワムシ培養水が連続的に流入する。収穫槽内でワムシの増殖が生じれば、密度の増加が生じる。ある時刻 t ($0 \leq t \leq 1$) に収穫されたワムシが、収穫槽内で増殖に費やす時間は $1-t$ で表現され、収穫槽内でのワムシの比増殖速度を r (/日) とすると、 t に収穫されたワムシは $t=1$ の時点で $e^{r(1-t)}$ 倍に増殖する。したがって $t=1$ での収穫槽ワムシ密度は $N_0(e^r-1)/r$ となる*2。

ワムシ株の産卵特性と連続培養の成否

S型ワムシ美濃株を用い、収穫率を0.7/日に設定して装置連続培養を行ったところ、培養が安定状態に達しなかった。原因は株独自の増殖特性にあると考えられたため、岡山株および美濃株の産卵特性を明らかにし、産卵特性が連続培養の安定性および運用法に与える影響を調べた。

産卵数 (個/個体/日, 原著では産卵速度) と生残率の経日変化を図 II 3-13に示す。

28℃区において、最大産卵数は岡山株で3~4個/個体/日に対し、美濃株では約2卵/個体/日であり、明らかな差が見られた。また、岡山株は若い時期に集中して産卵する傾向を示したが、美濃株の産卵期間はより長期にわたった。一方、23℃区では岡山株の産卵数やや多いものの、28℃区ほどの明瞭な差は無かった。

<ポイント>

装置連続培養に用いるワムシ株は、若いうちに多く産卵する株が望ましい。よって装置連続培養を行う際には、試験によりワムシの増殖特性を把握し装置連続培養に適しているか確認するか、すでに実績のあるワムシ株において行う方が無難である。

*1 ワムシ連続培養法マニュアル (案) (非公開)
(株)マリノフォーラム21種苗生産システム研究会

*2 $\int_0^1 e^{r(1-t)} dt = (e^r-1)/r$

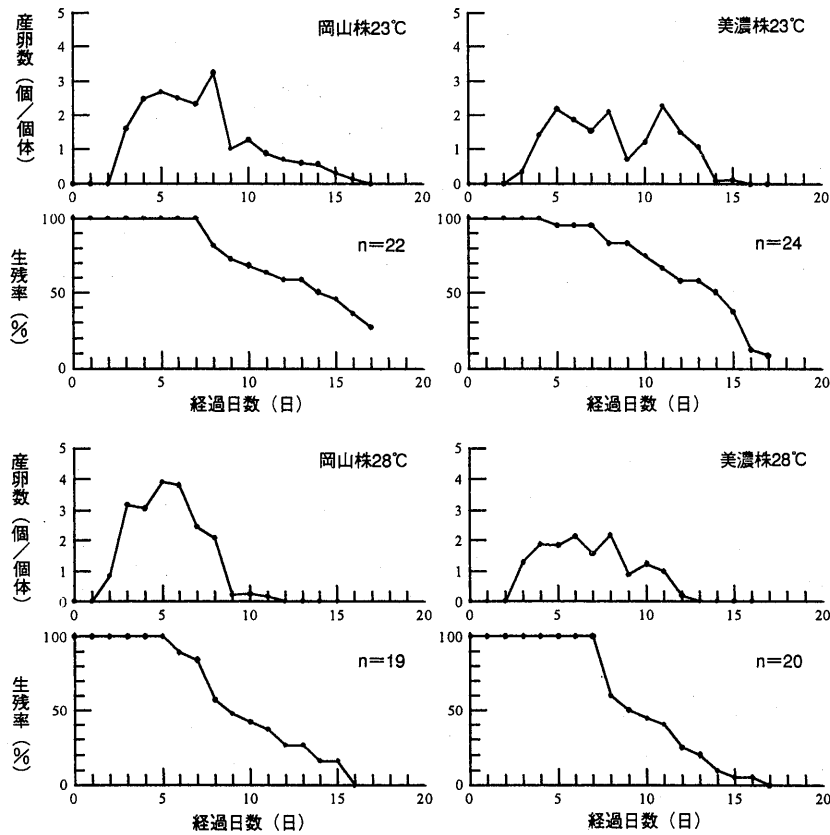


図 II 3-13 各実験区における産卵数と生残率の経日変化 (マリノフォーラム21, 平成7年度報告書を改変*)

連続培養により生産されたワムシの栄養強化
 連続培養により生産されたワムシと通常の植え継ぎ培養で生産したワムシを用いて栄養強化試験を実施した。

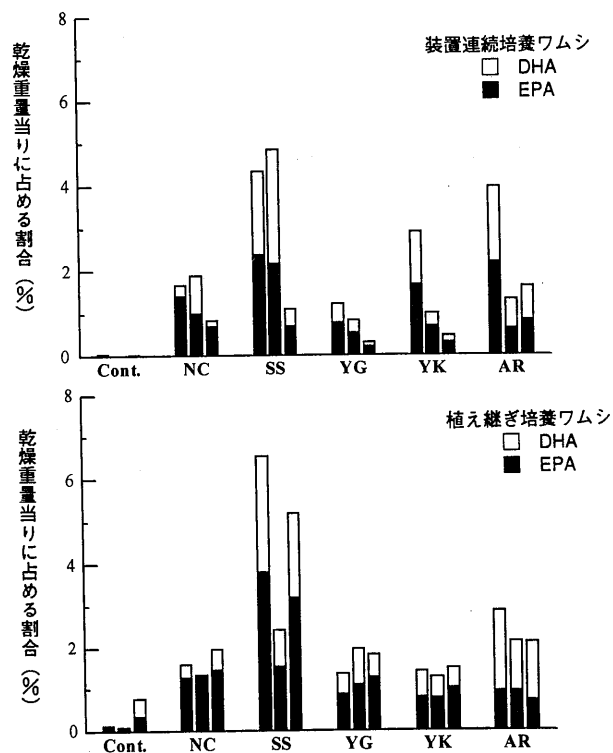


図 II 3-14 栄養強化試験結果 (マリノフォーラム21, 平成8年度報告書を改変*)

試験は30l 容器に1,000個体/ml の密度でそれぞれのワムシを収容して行った。餌料としてはナンクロロプシス (NC) と4種の栄養強化剤を用い、24時間後の栄養強化レベル (EPA, DHA 含量) を比較した。なお、投与量はそれぞれのメーカーの推奨値にしたがった。

試験結果を図 II 3-14に示す。実験は3回実施したが、植え継ぎ培養で培養したワムシと装置連続培養で培養したワムシとの間に有意な差はなかった。したがって装置連続培養で培養したワムシも従来法による栄養強化が可能と判断される。

<ポイント>

装置連続培養で生産されたワムシは、栄養強化の面においては従来法 (間引き培養, 植え継ぎ培養) で生産されたワムシと何ら変わりなく同様の方法により栄養強化が可能である。

(山下貴示)

3-2 粗放連続培養

前項の装置連続培養 (II 3-1) では、有害微生物の混入や環境要素の変動など生態系に対するインパクトを用水のろ過やフロックの抜き取りなど集約的な管理で防止するのに対し、粗放連続培養は、連続注水と連続給餌およびケモスタットの考え方は維持しながら、既存の水槽を用いて低いワムシ密度で培養する方式である。

*1 平成7年度ワムシ連続培養システム基礎研究に関する報告書 (非公開)
 *2 平成8年度ワムシ連続培養システム基礎研究に関する報告書 (非公開)
 (社)マリノフォーラム21種苗生産システム研究会ワムシ連続培養システム基礎研究グループ

この粗放連続培養では多岐にわたる微生物が共存するため、細菌による必須栄養素の産生（I 4-7-1「細菌」、I 5-1「栄養要求」）、餌料サイズのバクテリアフロックの形成（I 5-2「餌料種類」）などが期待される。このため、パン酵母を併用給餌することも可能であり培養コストの低減に寄与している。しかし、用水の精密ろ過を省き、元種も特に原生動物フリーではないことは培養の不確定要素となる。

収穫率、比増殖率の定義は連続培養の定義にしたがう。培養槽と収穫槽は需要に応じた水量の水槽を使用する。

<ポイント>

粗放連続培養は希釈海水の高率での連続注水、パン酵母も混ぜた連続給餌、連続収穫に加えて、ワムシを低い密度で管理する培養法である。既設の水槽の利用も可能である。

3-2-1 粗放連続培養の基本構成と手順

粗放連続培養の基本構成

必要な構成は以下となる。主な構成要素は基本的に装置連続培養と同様であるが、懸濁物除去が加わる。特に閉鎖系としては構成しない。

- 培養槽……連続培養を行う。
- 収穫槽……培養槽から連続収穫したワムシを供給まで一時貯留する。
- ろ過機……ろ過海水を製造する。
- 注水系……培養槽に希釈海水を一定速度で連続的に供給する。
- 収穫系……培養槽より注水と同等の速度で連続的に収穫する。
- 給餌系……培養槽に餌料槽より一定速度で連続的に餌料を供給する。
- 懸濁物除去……培養槽内の懸濁物はフィルターマットを槽内に垂下・吸着させて系外に取り出す方法と、通気量を絞って沈殿させる方法がある。

装置連続培養は閉鎖系であるため培養を不安定にする大きな要素である有害な微生物の侵入を元種からの排除と用水の精密ろ過により防除するが、粗放連続培養は開放系であるため水槽上部空間からの飛沫などによる侵入を防止できない。しかしながら、有害微生物の侵入の可能性は注水系が最も大きい場合可能であれば行う。

注水系は収穫率を一定に保つために定量的な制御が必要である。収穫系は培養水量を一定に保つために必要であり、サイホンまたはオーバーフローを用いるのが安価で安全である。

給餌系は培養槽内の餌料環境を一定に保つために必要である。連続的な給餌は小型ポンプにタイマーを接続した一定間隔での間歇給餌により連続給餌を模した安価な

システムで対応することができる。餌料の品質を保全することは重要であり、濃縮餌料を使用する場合は餌料槽を保冷する必要がある。

懸濁物除去は大型水槽では通気量を絞って懸濁物を沈殿させる方法が容易であるが、小型水槽ではフィルターマットによる除去が容易である（II 3-2-2「粗放連続培養の注意事項、通気と懸濁物」を参照）。

これ以外に加温と通気が必要であり、溶存酸素濃度の低下時には酸素の吹き込みも併用する。pHの制御は必要としない。

粗放連続培養の流れ

装置連続培養と同様に拡大培養期、連続培養移行期、安定連続培養期がある。粗放連続培養は元種からの原生動物の排除にこだわらないことと、目標とする培養密度が低いため、多くの元種を使用すれば早く安定連続培養期に移行できる。

① 拡大培養期

接種用のワムシを培養槽に収容し、所定密度まで拡大培養する期間である。ワムシの増殖にあわせて、培養水量とワムシ密度を増やしていく。

② 連続培養移行期

所定密度に到達後、一定収穫率で収穫を開始し、連続培養状態に移行する期間である。ワムシが保有する増殖能力以下の速度で収穫を行うことによりワムシ個体群は緩やかに増加を続ける。密度の増加に伴い餌料環境が制限要因となり、ワムシ個体群は自律的にある密度に収束し始める。

③ 安定連続培養期

装置連続培養と同様に、連続培養槽内のワムシ個体群の比増殖率と収穫率が一致した状態となり、培養槽内のワムシ密度がほとんど一定に推移する。この状態に到達すると安定したワムシ培養を行うことができる。

粗放連続培養の手順

(1) 事前準備

接種用ワムシの準備

目的とする水温と塩分濃度において優れた増殖特性を持つワムシ株を使用するのが理想であるが（II 3-1-4「装置連続培養の理解のために」を参照）、過去に需要に十分な増殖をした実績がある株であれば使用可能と考えられる。接種用ワムシに原生動物が多数観察される場合にはネットで回収して良くろ過海水で洗浄してから使用する。最も重要なのは順調な増殖をしているワムシを用いることである。

使用餌料

餌料には植物プランクトン（ナンノクロロプシス、同冷凍品あるいは淡水クロレラ）の単独給餌の事例と、植物プランクトンとパン酵母の混合給餌の事例がある。ナンノクロロプシスを使用する場合は品質のバラツキを充

分に承知しておく必要がある（Ⅱ 2-1-6「餌料」）。その対策として、最低1水槽は淡水クロレラ給餌区を設定しておく、元種拡大培養を淡水クロレラ給餌区とするなど、ナンノクロプシス給餌区の培養が不調な時のバックアップを考慮しておくことが望ましい。

水槽の洗浄

装置連続培養と同様にワムシの培養を始める直前に培養槽、収穫槽、餌料槽及び各配管を洗浄、消毒する必要がある。消毒は次亜塩素酸ナトリウム（有効塩素濃度100ppm以上）を用い、1昼夜放置した後チオ硫酸ナトリウムで中和処理して排水する。

(2) 拡大培養期

給餌は1日に1～2回培養槽に直接投入することにより行う。ワムシ密度が100個体/ml以上に増加したらポンプを使用した連続給餌を始めることが可能である。この期間はパン酵母は使用せず、ナンノクロプシスもしくは淡水クロレラの給餌により培養を行う。

(3) 連続培養移行期

ワムシ密度が100～300個体/mlに達したら、連続注水と連続収穫を始め、連続培養に移行する。この時期にはパン酵母の併用給餌も可能である。パン酵母の使用割合を多くするほど餌料費の節約となるが、多すぎると栄養欠陥により自律的な密度調整機能が損なわれる可能性がある。現時点では生あるいは冷凍ナンノクロプシス・5換算m³に対してパン酵母2.5kgまで、淡水クロレラ5ℓに対してパン酵母3.5kgまでの比率では問題なく好調を維持できているが、さらにパン酵母の使用量を増やした場合の問題は不明である。

ワムシの密度は溶存酸素濃度を約30%以上に維持できて懸濁物が収穫の障害にならない範囲で給餌量を変えて対応する。ワムシが株ごとに水温や塩分濃度などの条件ごとに本来保有する増殖能力の範囲内で高い収穫率にする必要がある。本来の増殖能力を超えた収穫率にするとウォッシュアウト（wash out, Ⅱ 3「新しく開発された連続培養法、タービドスタットとケモスタット」を参照）を起こすが、収穫率が低すぎるとワムシ密度の増大に伴う給餌率の低下と環境抵抗の増大を引き起こす。現状ではL型ワムシ小浜株の14℃60%希釈海水での培養では収穫率0.2～0.3、同株の20℃60%希釈海水での培養では収穫率0.4～0.5、同株、L型ワムシ近大株及びS型ワムシの25℃60%希釈海水での培養では収穫率0.6～0.7で好結果を得ている。

(4) 安定連続培養期

装置連続培養と同様に培養槽内のワムシ個体群の比増殖率と収穫率が一致した状態となり、培養槽内のワムシ密度がほとんど一定に推移する。この状態に到達すると安定したワムシ培養を行うことができる。この安定状態では給餌量や収穫率は一定にするほど安定した培養が継続される。この期間に必要な作業は連続培養移行期と基

本的に同じである。

<ポイント>

粗放連続培養は、連続培養の基本である高率の連続注水と連続収穫及び高率のケモスタット式の連続給餌を既存の水槽に応用した培養法である。

3-2-2 粗放連続培養の注意事項

通気と懸濁物

溶存酸素濃度の低下は致命的な培養破綻を起こす可能性があり、急減しないまでも摂餌不良や餌料転換効率の低下の原因となる（Ⅰ 4-3「溶存酸素濃度」を参照）。特に、L型ワムシでは酸素要求が高いので注意が必要である。連続培養は連続給餌と連続注水が基本であり、溶存酸素濃度の急激な変動は起こりにくいため、安定後は毎日確認する必要はない。しかし、給餌量を増加した時や通気圧力が変わった時には溶存酸素濃度の急変に注意する必要がある。

魚類飼育には細菌や原生動物の温床になりやすい懸濁物が極力少ないワムシが望まれる。懸濁物除去対策として大型水槽では通気量を絞って沈殿させた事例があり（Ⅱ 3-2-3(2),(3)の事例を参照）、小型水槽ではエアフィルターによる除去を毎日行った事例がある（Ⅱ 3-2-3(4)の事例を参照）。大型水槽で200個体/ml程度の密度であれば、通気は60μm程度の小さい気泡が出るエアホースを設置し、懸濁物の沈降を促しながら、30%以上の溶存酸素濃度を確保することが可能である。気泡を小さくするほど上昇流の速度は遅くなり、酸素の溶けこみは良くなる。しかし、40μmほどの小さい気泡の分散器を使用すると、長期の培養に伴う懸濁物の付着によって目詰まりを起こす危険がある。ワムシ密度が数百個体/ml以上になり溶存酸素濃度が30%以下の危険領域に低下する場合は、通気を増やして懸濁物除去対策を行うよりも、通気量はそのまま懸濁物を沈積させながら、酸素通気によって溶存酸素濃度を維持する方が得策である。また、培養槽では大量の通気を行い、収穫槽のみ通気を絞って懸濁物を沈降させる方法も考えられる。

小型水槽では懸濁物を沈降させるのが困難であるが、エアフィルターの洗浄作業の労力はさほど大きくないため、エアフィルターによる懸濁物除去を毎日行う方が得策である。

<ポイント>

懸濁物対策は大型水槽では通気を少なくして沈下させるのが有効、小型水槽ではフィルターマットによる除去が有効。

給餌

給餌量の変動によるワムシ密度の制御は装置連続培養と同様に可能である。給餌量の増加と減少は同様に30%

/日以内とし、急激な変化は避けた方がよいことも同様である。給餌量の増加時の水質への注意と淡水クロレラの品質への配慮も必要である（Ⅱ 3-1-1(4)「安定連続培養期、給餌量の変更による培養密度の制御」を参照）。

水量

大型水槽を使う場合には、上記の給餌量によるワムシ密度の制御とともに培養水量による個体数の制御も可能である。水量を変動させる時には注水量と給餌量も同時に調整し、収穫率と水量当りの給餌量を一定に維持する

ことが肝要である。

泡の発生

泡の発生により泡沫分離された有機物は、培養槽内の水質維持のために除去するほうが望ましいが、放置しても培養上の問題はほとんどない。小型水槽で通気量が多い培養法では懸濁物の除去と同時にエアフィルターに吸着させて除去する方法が容易である。

収穫率

装置連続培養と同様にそれぞれの培養水温に応じて増

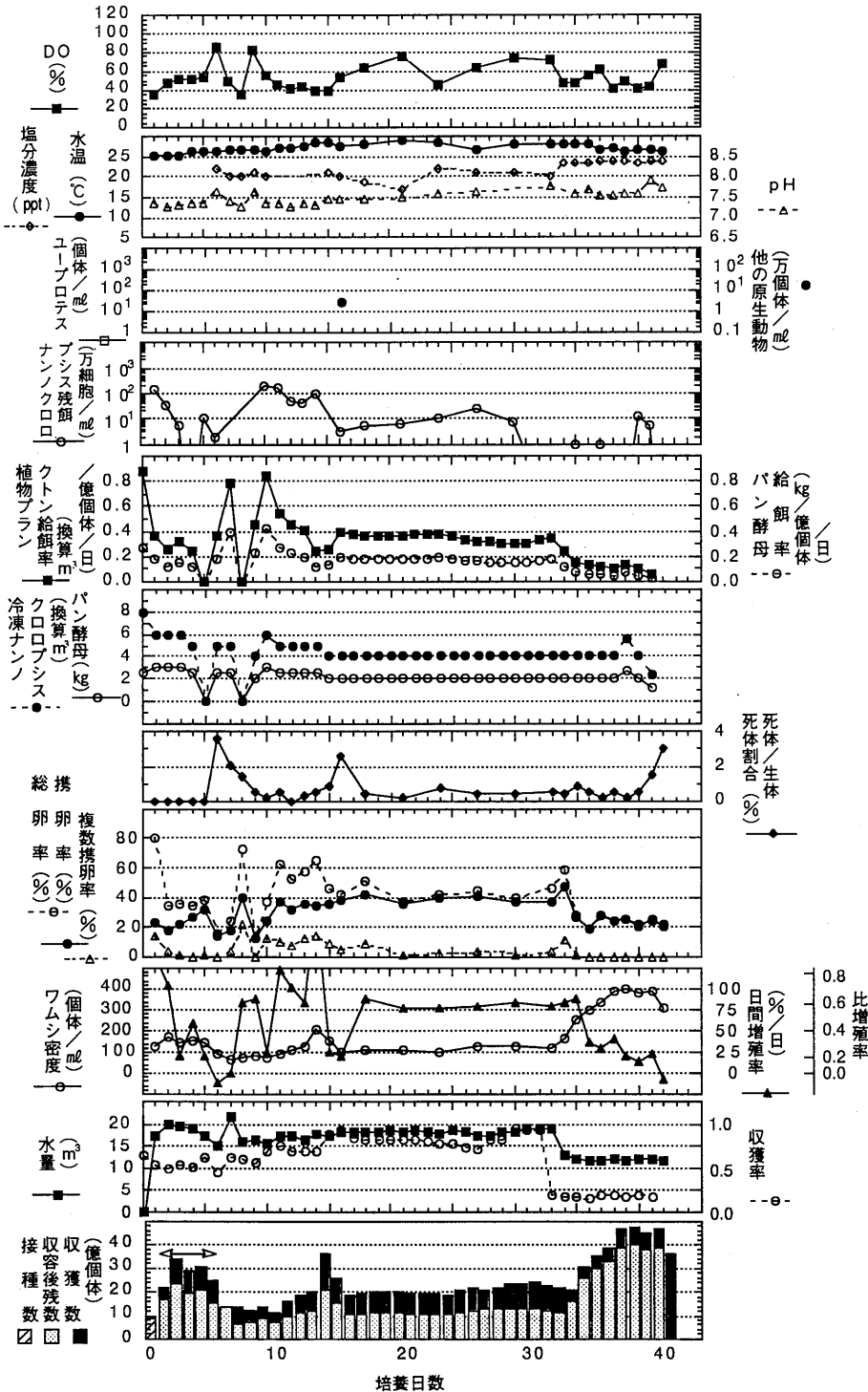


図 Ⅱ 3-15 L型ワムシ小浜株の粗放連続培養事例
 <>: 他場に高密度宅配発送

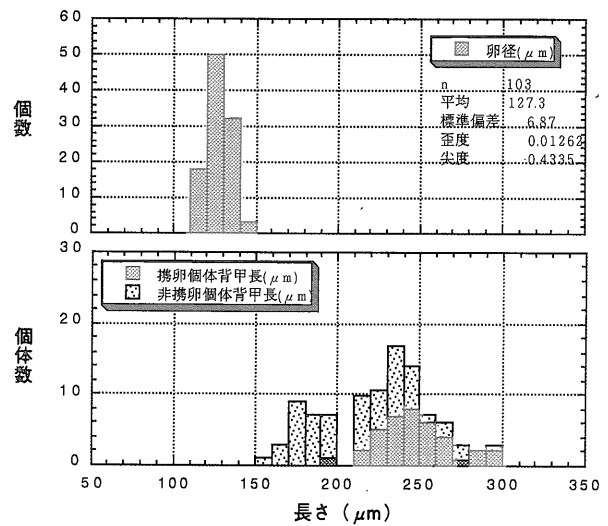
殖率に見合う収穫率にする必要がある（Ⅱ 3-1-2「連続培養運転時の注意事項、収穫率」を参照）。粗放連続培養での一応の目安はⅡ 3-2-1(3)「連続培養移行期」に示した。

図Ⅱ 3-15は給餌量を1日当り冷凍ナンクロプシス4換算 m^3 とパン酵母2kgに固定し、1日当りの注水量を約 $8m^3$ と約 $2m^3$ に変えて培養状態が安定するまで確認した事例である。その結果、前者の収穫率の高い状態では水量 $18.2m^3$ 、ワムシ密度115個体/ml、20.9億個体から毎日 $8.2m^3$ 、9.40億個体を収穫する状態で安定したのに対し、後者の収穫率が低い状態では水量 $11.8m^3$ 、ワムシ密度377個体/ml、44.7億個体から毎日 $1.8m^3$ 、6.91億個体を収穫する状態で安定した。単位生産は前者の収穫率の高い状態が 0.518 億個体/ m^3 /日、後者の収穫率が低い状態が 0.585 億個体/ m^3 /日とほぼ等しいが、日間増殖率は前者が 83.2% /日、後者が 25.2% /日であり、前者の収穫率の高い状態が圧倒的に優れていた。餌料転換効率も前者の収穫率の高い状態が 0.308 、後者の収穫率が低い状態が 0.226 、と計算され、前者の方が優っていた。

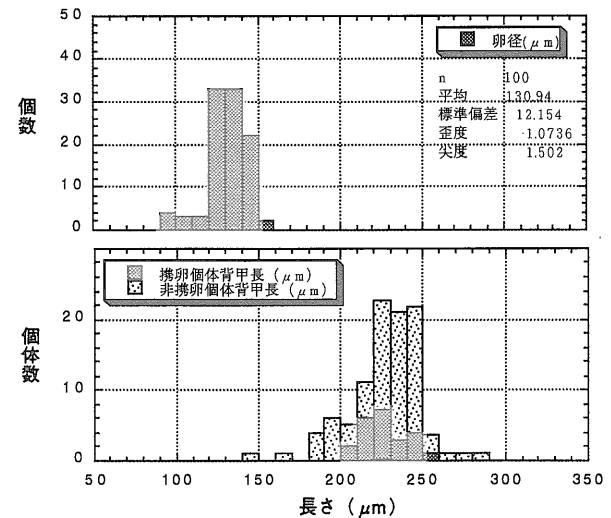
それぞれの安定状態の終盤におけるワムシの背甲長を比較すると、前者の収穫率の高い状態の方が $150\sim 200\mu m$ の小型のワムシの割合が多く、増殖率が高いために若齢ワムシが多いことを示している（図Ⅱ 3-16, 17）。同様に卵径を比較すると、平均値は前者が $127.3\mu m$ で後者が $130.9\mu m$ とほぼ等しいが、後者では $90\sim 110\mu m$ の小型化した栄養状態の悪い卵の割合が多い（図Ⅱ 3-18）。この小型卵の存在を把握するために卵径分布の歪度を比較すると、前者の収穫率の高い状態のほうが 0.013 と低い値で粒がそろっていることを示すのに対して、後者の収穫率が低い状態では -1.07 であり小型卵が多いことを示している。

L型ワムシ *Brachionus plicatilis* の卵は親虫の約 58% （卵乾重量 $0.092\mu g$ /雌個体乾重量 $0.158\mu g$ ）もの重量がある（Doohan 1973）。このため仔ワムシはふ化後の活動に必要なエネルギーを親虫から多量に引き継いでいると考えられる。栄養状態は親虫から卵に引き継がれるが、反対に親の栄養不足も同様に引き継がれることが想定される。

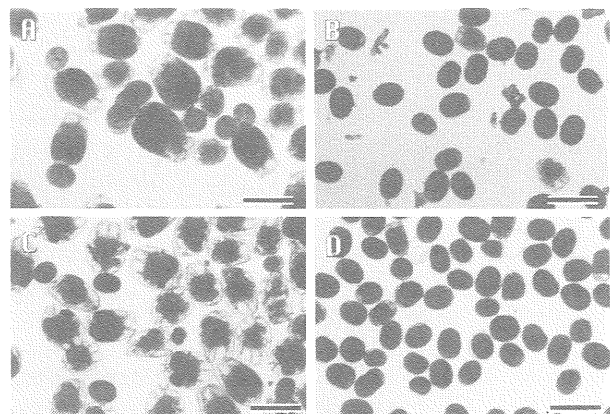
この事例の水量、収穫率、給餌量、ワムシ密度が5日以上安定状態にあると考えられる期間ごとに集計した収穫率と日間増殖率や餌料転換効率との関係を調べた（図Ⅱ 3-19）。その結果、収穫率と日間増殖率の間には正の相関関係があった。収穫率を下げるとワムシ密度が上がり、その結果として給餌率が下がるために個体当りの栄養状態が悪化して産卵速度が鈍化し、一定水準で安定した。また、収穫率と餌料転換効率との関係はやや不明瞭であるが、ゆるやかな正の相関関係がうかがえた。



図Ⅱ 3-16 L型ワムシ小浜株が高い収穫率で高い増殖率を維持している時の背甲長と卵径



図Ⅱ 3-17 L型ワムシ小浜株が低い収穫率で増殖率が低くなっている時の背甲長と卵径



図Ⅱ 3-18 飽食状態で良好な増殖をしているワムシと摂餌不良でやや増殖が劣るワムシ
A, B: 希釈率95.1%で安定状態にある増殖率83.2%の状態のL型ワムシ小浜株
C, D: 希釈率18.6%で安定状態にある増殖率25.2%の状態のL型ワムシ小浜株
スケールは $200\mu m$

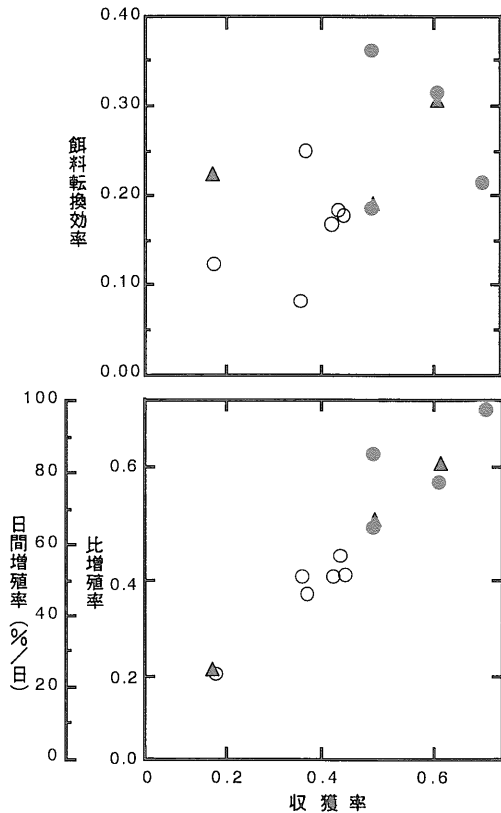


図 II 3-19 粗放連続培養における収穫率と増殖率，餌料転換効率
 ○ 25m³6 水槽 20℃培養期間
 ● 25m³6 水槽 25℃培養期間
 ▲ 25m³3 水槽 25℃培養期間

<ポイント>

収穫率が高すぎるとウォッシュアウトを起こすが、低すぎるとワムシの栄養状態の悪化と増殖率の低下が起きる。

培養槽内の原生動物

粗放連続培養では通常の間引き培養で観察される *Euplotes*, *Uronema*, *Paramecium*, *Vorticella* など種々雑多な繊毛虫や鞭毛虫が観察される。培養事例が少ないため断定はできないが、現在の実績ではそれらの密度はほぼ同規模での植え継ぎ培養や間引き培養と比べると少ない傾向にある。連続給餌と高率の連続注水により有機物負荷が少ないことと、通気量の低減により懸濁物を沈下させていることにより、培養水中の残餌や細菌が常時少ないために原生動物の増殖が抑制されている可能性があり、今後の検討が必要である。

また、原生動物以外にもチグリオプスや線虫などが増殖するが、それらがワムシの増殖に直接有害となった事例はない。むしろ、線虫の発生は底層の悪化の指標となる。

<ポイント>

粗放連続培養では培養槽への原生動物の侵入防止が困難であるが、常時残餌が少なく、高率の連続注水により原生動物の大発生が起こりにくい。

3-2-3 培養事例

(1) L型ワムシ小浜株，小型水槽の事例（能登島事業場）
 —ポンプを用いない簡単な装置によるナンノクロロプシス単独給餌の培養事例—

この培養事例は100ℓアルテミアふ化槽を培養槽とし、それより上部に設置した餌料槽にナンノクロロプシスを毎日50ℓ 収容して落差で滴下するだけの簡単な培養装置である（図 II 3-20, 21）。ナンノクロロプシスの代わりに淡水クロレラの使用も可能と考えられる。

この培養法は極めて簡単な装置で実施可能な方法であ

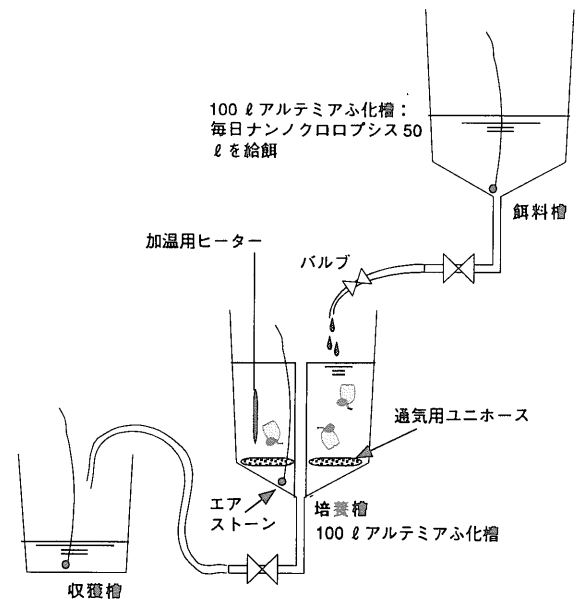


図 II 3-20 日裁協能登島事業場での100ℓ水槽によるL型ワムシ小浜株のナンノクロロプシス給餌による粗放連続培養の装置模式図

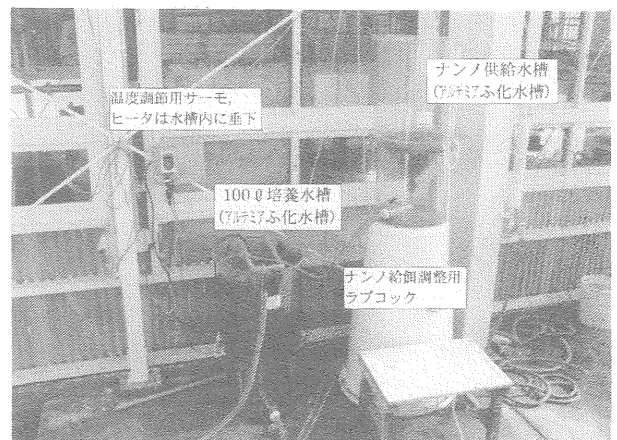


図 II 3-21 日裁協能登島事業場での100ℓ水槽によるL型ワムシ小浜株のナンノクロロプシス給餌による粗放連続培養の装置

るため、各種苗生産機関で使用しているワムシ株の増殖能力を現場で簡易に確認するために有効である。

100ℓ アルテミアふ化槽にナンノクロロプシス1,000万細胞/mlを入れ、20℃に加温した。これにL型ワムシ小浜株を100個体/mlとして0.1億個体を接種した(表Ⅱ 3-1)。翌日から毎日ナンノクロロプシス50ℓをバルブで調整してほぼ1日かけて滴下する方法で給餌した。また、100ℓの水量に合わせて調整した中央のパイプからナンノクロロプシスの注水量と同量がオーバーフローして収穫されるようにした。この方法により収穫率0.5の連続培養となる。ただし、ナンノクロロプシスの残餌密度が1,000万細胞/ml以上になった場合はナンノクロロプシスの給餌を停止し、止水状態で残餌の低下とワムシ密度の上昇を待って、再開した。

この結果、50日間の培養期間の平均日間増殖率は70.1%/日であり、約22℃のL型ワムシの培養では良好な増殖率を得た(表Ⅱ 3-2, 図Ⅱ 3-22)。ワムシ密度は平均63個体/mlと低く、収穫率が平均0.44(通常は

0.50であるが止水とした日があるために平均はやや低くなる)と高く、ナンノクロロプシスの給餌率は9.3換算m³/億個体/日と多い。この低密度故に単位生産は0.22億個体/m³/日と高くはない。平均日間増殖率は高いが変動が激しく、卵率、残餌、ワムシ重量の変動も大きかった。30日目のナンノクロロプシスの注水パイプが詰まって給餌されなかった日の翌日には小型化した卵が観察された(図Ⅱ 3-23)。これはナンノクロロプシスの給餌にポンプを使用せずバルブの調整のみにしたために給餌や注水の速度及び率が不安定だったことと、ナンノクロロプシス自体の質と量の変動(Ⅱ 2-1-6「餌料, ナンノクロロプシス」を参照)に起因すると考えられる。並行して行っていた植え継ぎ培養や間引き培養と比較して複数携卵率が高く、ワムシの栄養状態が良いために産卵間隔が短いことを示している。ワムシ密度が低いために環境抵抗が少なく、栄養的に劣るパン酵母を使用せず、ナンノクロロプシスを潤沢に摂餌したことを反映していると思われる。ワムシ密度が低いために、排泄物に由来する

表Ⅱ 3-1 日裁協能登島事業場での100ℓ水槽によるL型ワムシ小浜株のナンノクロロプシス給餌による粗放連続培養実験の方法

ワムシ株	L型ワムシ小浜株
携卵雌の平均背甲長	約250μm
全培養期間	2カ月
培養日数	60日
元種	恒温器内のフラスコで淡水クロレラを給餌して保存した株を0.5m ³ 水槽で植え継ぎ培養により拡大培養して供した
培養水槽	100ℓ アルテミアふ化槽
通気	エアストーン1個
加温	20~28℃
使用海水	無調整(ただしナンノクロロプシスは降雨により希釈されている)
餌料	ナンノクロロプシス
接種密度	120個体/ml
収穫率	0.5(ただし、密度が30個体/ml以下に下がり、残餌が増えたときは注水及び収穫停止)
懸濁物除去フィルター	エアフィルター(随時)
フィルター使用量	0.2×0.4m(1枚)
フィルター面積	0.08m ² /0.1m ³ (0.8m ² /m ³)
培養工程	
2日目	ナンノクロロプシス50ℓ, 海水50ℓを加温準備 120個体/mlワムシ密度になるように接種
翌日以後	ナンノクロロプシス50ℓ/日を連続注水 注水と同量をサイホンにより収穫槽に収穫して連続培養を開始

表Ⅱ 3-2 日裁協能登島事業場での100ℓ水槽によるL型ワムシ小浜株のナンノクロロプシス給餌による粗放連続培養の結果概要

培養日数	水温	培養水量	ワムシ密度	接種密度	総個体数	収穫個体数	日間増殖率	総卵率	携卵率	複数携卵率	死体割合	ナンノクロロプシス給餌		
(日)	(℃)	(m ³)	(個体/ml)	(億個体)	(億個体)	(億個体)	(%/日)	(%)	(%)	(%)	(%)	(換算m ³)		
											死/生	給餌率		
												(換算m ³ /億個体/日)		
合計		5.0		0.13		1.87						2.20		
平均	50	22.3	0.10	63		0.06	0.04	70.1	52.2	22.7	8.3	2.2	0.05	9.33
標準偏差		2.00		27		0.03	0.02	66.7	20.9	8.5	6.3	3.0		7.88
最大		27.2		136		0.14	0.08	305.5	97.6	40.5	26.2	13.7	0.05	36.72
最小		19.8		16		0.02	0.00	-44.5	12.0	5.3	0.0	0.0	0.00	0.00

乾燥重量を基準とした餌料転換効率 0.592

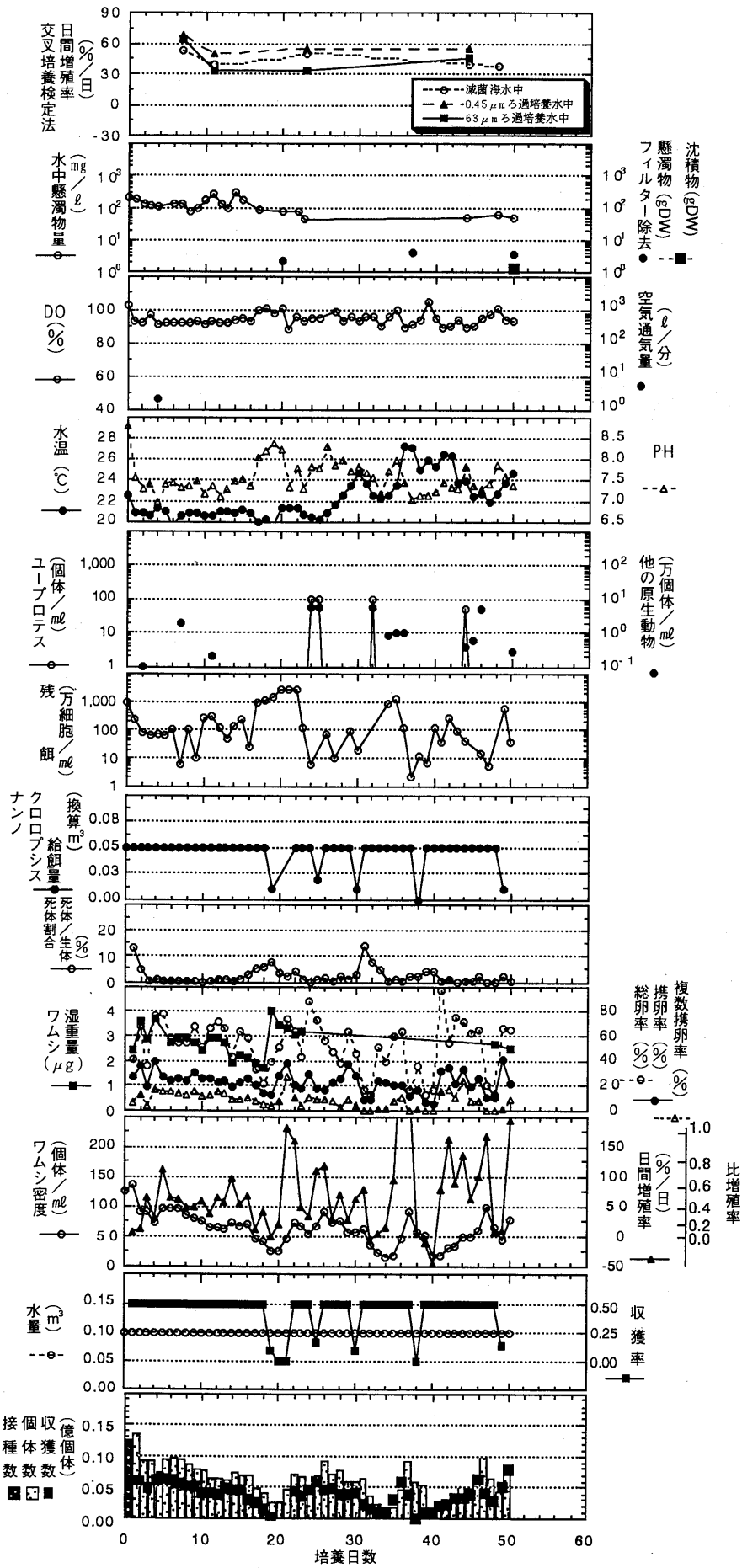


図 II 3-22 日裁協能登島事業場での 100 ℓ 水槽による L 型ワムシ小浜株のナンクロロプシス給餌による粗放連続培養の結果

水中懸濁物量は常時低い値であった。餌料転換効率は0.592と高かった。

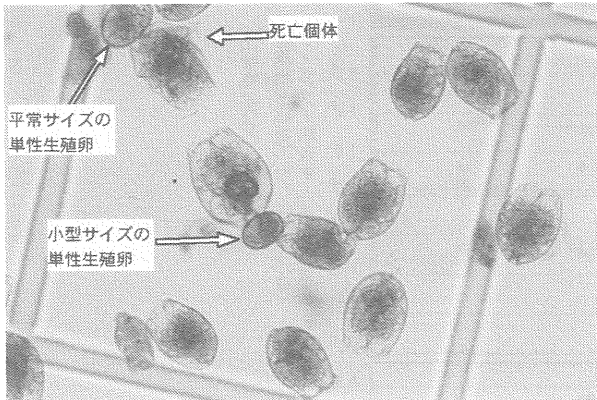


図 II 3-23 無給餌の翌日のワムシの状態
消化器内容物と卵が少なく、一部の卵の大きさが小さい。

＜ポイント＞

ナンクロロプシス単独給餌によって低密度ながら高増殖率の粗放連続培養が可能であった。この粗放連続培養は容器3つをポンプを使用しないでチューブで結ぶだけで実施可能であり、各種苗生産機関が所有している株の増殖率の確認に使うことができる。

(2) L型ワムシ近大株、大型水槽の事例(能登島事業場)
—60%希釈海水によって高収穫率が可能になった培養事例—

この事例は淡水による希釈が大量培養でも有効なことを確認した事例である。培養水槽は間引き培養用に作られた25m³ コンクリート水槽をそのまま使用した。

使用したワムシ株は携卵雌の平均背甲長が約280μmとやや大型のL型ワムシである近大株である。25m³ 水

表 II 3-3 日裁協能登島事業場での25m³水槽によるL型ワムシ近大株の淡水クロレラとパン酵母の混合給餌による高収穫率での粗放連続培養の方法

ワムシ株	L型ワムシ近大株
携卵雌の平均背甲長	約280μm
全培養期間	52日
培養日数	52日
元種	恒温器内のフラスコで淡水クロレラを給餌して保存した株を100ℓ水槽で粗放連続培養により拡大培養して供した
培養水槽	25m ³ コンクリート水槽
通気	約80cmユニホース4本で微量通気(約15~30ℓ/分/水槽)
加温	25℃
使用海水	約60%希釈海水
餌料	淡水クロレラ, パン酵母
接種密度	0.2個体/ml
収穫率	0.5~0.8
懸濁物除去フィルター	なし(通気量を絞って、懸濁物は沈澱させてそのまま静置)
培養工程	
0日目	海水13m ³ を加温準備 25℃培養ワムシ0.23億個体を接種 淡水クロレラ1ℓを給餌
1~7日目	淡水クロレラ1~6ℓを給餌 7~12m ³ /日を連続注水, 淡水クロレラ6ℓとパン酵母2.5kgを連続給餌
8~53日目	注水と同量をサイホンにより収穫槽に収穫して連続培養を開始

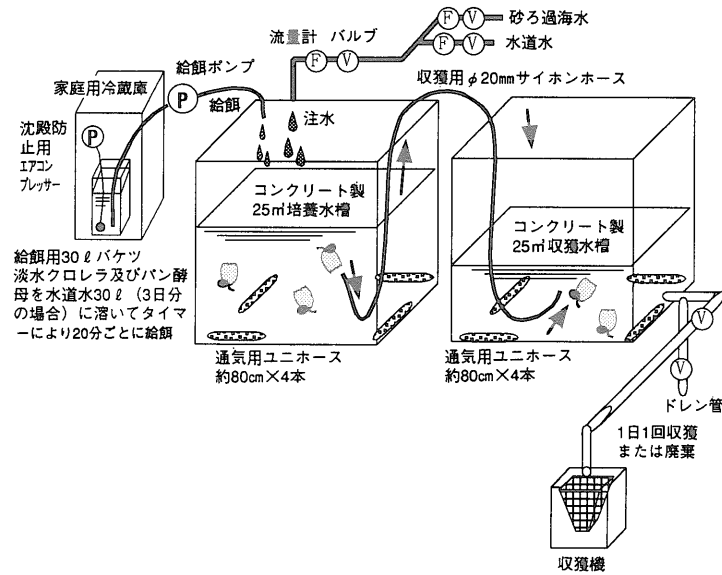
表 II 3-4 日裁協能登島事業場での25m³水槽によるL型ワムシ近大株の淡水クロレラとパン酵母の混合給餌による粗放連続培養の結果概要

培養日数	水温(℃)	培養水量(m ³)	ワムシ密度(個体/ml)	接種個体数(億個体)	総個体数(億個体)	収穫個体数(億個体)	日間増殖率(%/日)	総増殖率(%)	携卵率(%)	複数携卵率(%)	死体割合(%)	植物プランクトン給餌淡水クロレラ(ℓ)	パン酵母		
													給餌率(換算m ³ /億個体/日)	給餌量(kg)	給餌率(kg/億個体/日)
合計		820.5		14.7		461.8						301.8		132.7	
平均	52	24.3	15.8	97	15.4	8.9	76.7	68.8	33.7	17.5	0.5	5.9	0.99	2.6	0.18
標準偏差		1.0	0.8	22	3.6	2.2	34.3	26.8	10.9	11.0	1.6	1.3	0.35	0.7	0.08
最大		30.1	17.8	142	23.6	15.2	168.1	114.8	55.9	37.7	10.5	8.4	1.76	4.0	0.44
最小		23.4	14.2	56	8.5	4.5	-6.0	24.3	7.9	0.3	0.0	3.0	0.00	1.3	0.00

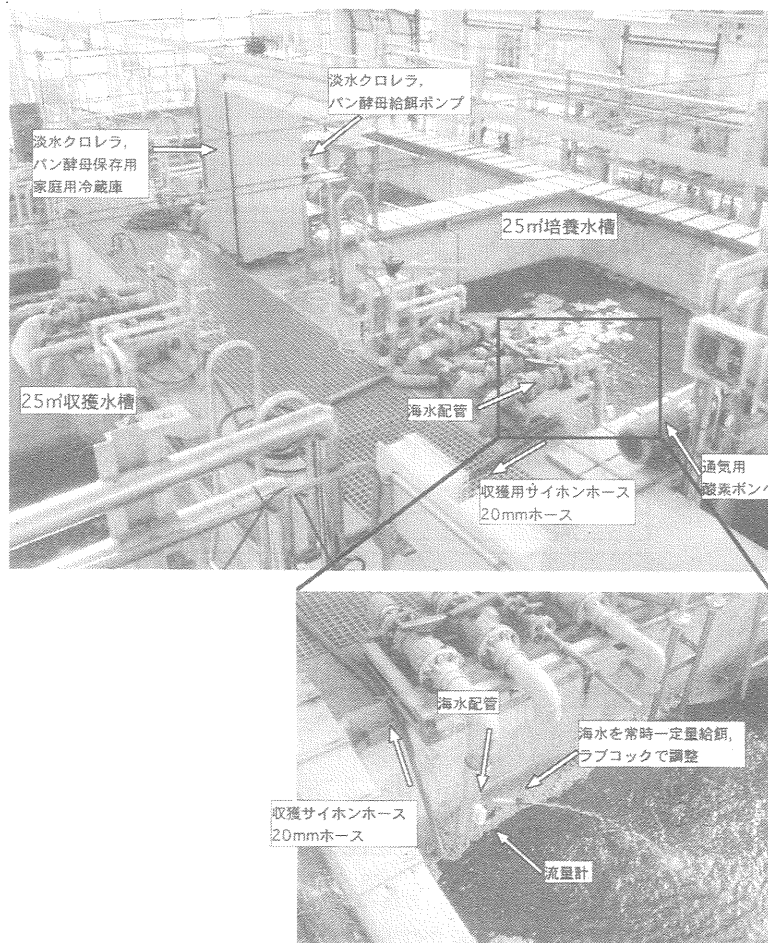
乾燥重量を基準とした餌料転換効率は 0.220

槽に海水 9m³ と淡水 6m³ を入れ、100ℓ 水槽による連続培養により増やしたL型ワムシ近大株0.23億個体を接種して培養を開始した(表Ⅱ 3-3, 図Ⅱ 3-24, 25)。6日目までは淡水クロレラの給餌のみにより密度を上げ、ワムシ密度が100個体/mlに達した7日目から収穫率0.5

~0.7の連続注水と同率の収穫率による連続収穫を開始し、連続培養状態に移行した(図Ⅱ 3-26)。その後の給餌はワムシ密度に関係なく1日当り淡水クロレラ6ℓとパン酵母2.5kgを混合して餌料タンクに入れ、ポンプにより連続的に行った。その結果、平均水温24.3℃, 52日



図Ⅱ 3-24 日裁協能登島事業場での25m³水槽による粗放連続培養の模式図



図Ⅱ 3-25 日裁協能登島事業場での25m³水槽による粗放連続培養の状況

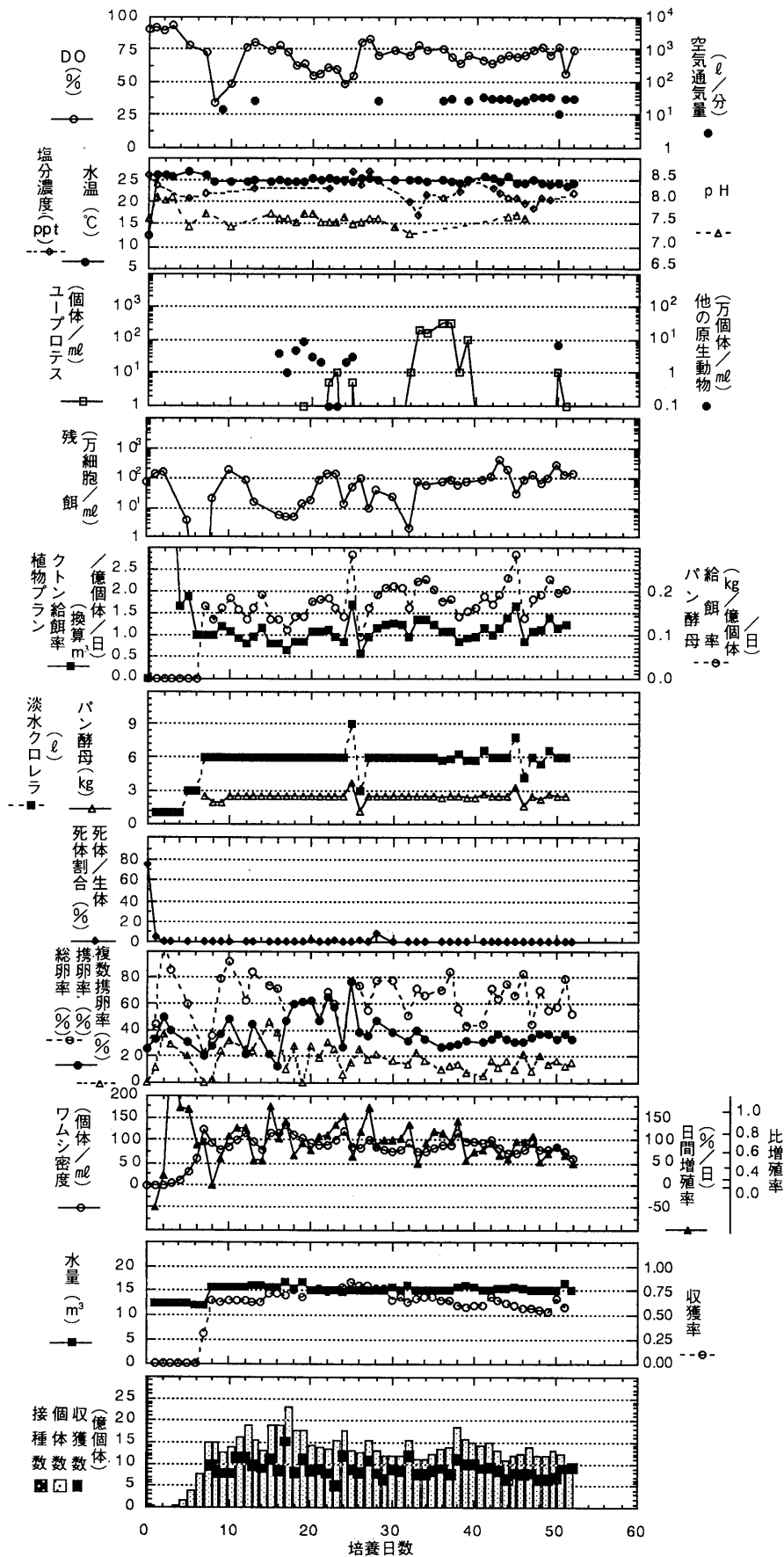


図 II-3-26 日裁協能登島事業場での25m³水槽によるL型ワムシ近大株の淡水クロレラとパン酵母の混合給餌による高収穫率での粗放連続培養の結果

の培養により平均収穫率0.49, 平均日間増殖率76.7%/日であった。総収穫個体数は461.8億個体であり, 日平均収穫数は8.9億個体/日/水槽となった(表II 3-4)。使用餌料は淡水クロレラ301.8ℓ, パン酵母132.7kgであり, 餌料転換効率は0.22となった。

この粗放連続培養は定量の連続注水と連続給餌であるため, 自動化が可能である。能登島事業場では139日間の培養期間のうちあえて12日は計数を行っていない。

培養槽のスイッチ

この培養事例では, 水中に線虫が2~3尾/日の密度で観察され始めた52日時点において培養槽と収穫槽のスイッチを行った(図II 3-27)。すなわち, 52日の時点で注水と給餌をそれ以前の収穫槽に入れ始めた。培養は大きな影響もなくそのまま継続し, その後, 以前の培養槽の洗浄を行った後に, 再度同様なスイッチを行って元の培養槽に戻した。この方法によってワムシの状態と水質を維持したまま水槽だけ新しいものに変更していくことが可能になった。この事例でも培養槽と収穫槽のスイッチを行い, スムーズに培養を継続できた。

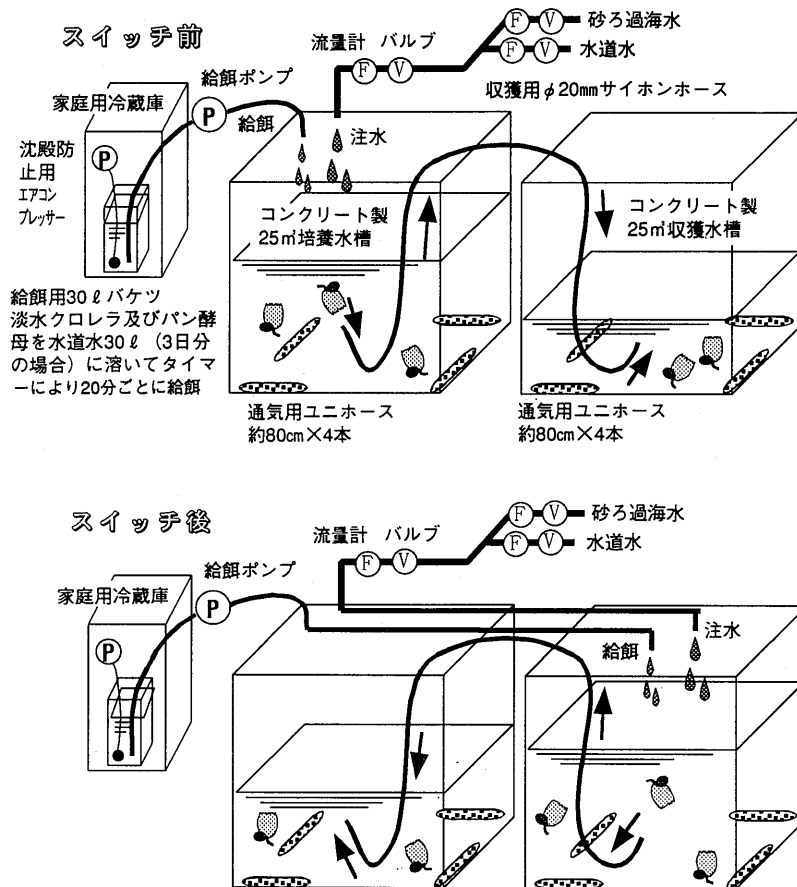
<ポイント>

塩分濃度の調整をして高収穫率とすれば, 大型水槽でも連続培養が可能である。安定した給餌と注水が確立して, ワムシ密度が安定すれば, 毎日の計数は必要なくなる。粗放連続培養で底質の悪化による培養状態の悪化は, 培養水槽と収穫水槽のスイッチを行えば回復できる。

(3) L型ワムシ小浜株, 大型水槽の事例(能登島事業場) —低水温に馴致した株の培養事例—

この事例は飼育水温が8~10℃と低いマダラ飼育用に低水温で培養したワムシを供給した事例である。

25m³水槽に同型の別水槽で培養したワムシを2日間で24.3億個体をサイホンで移し, 培養を開始した(表II 3-5, 図II 3-28)。注水は約60%希釈海水を約4m³/日で続け, 6日目より収穫率約0.23で連続培養状態に入った。給餌は1日当り淡水クロレラ4m³とパン酵母2kgを混合して連続給餌した。その結果, 平均水温14.5℃, 51日の培養により平均収穫率0.23, 平均日間増殖率24.0%/日



図II 3-27 日栽協能登島事業場での25m³水槽による粗放連続培養の培養槽と収穫槽のスイッチの模式図

収穫水槽の水位が培養水槽と同じになった時点で, 注水および給餌管にパイプを延長して収穫水槽に入れ始める。サイホンホースはそのままの状態では水流が逆転し, 培養槽と収穫槽の入れ替えができる。

となった。総収獲個体数は273.4億個体，単位生産0.273億個体/m³/日となった。同じ株を用いた小型水槽での植え継ぎ培養の事例（Ⅱ 2-2-2(4)の事例を参照）が平均水温14.2℃，平均日間増殖率16.1%/日，単位生産0.975億個体/m³/日であるのと比較すると，単位生産は低いが日間増殖率は高かった。使用餌料は淡水クロレラ197.7ℓ，パン酵母98.8kgであった（表Ⅱ 3-6）。平均給餌率は結果的に淡水クロレラのナンノクロロプシス換算値として0.43換算m³/億個体/日とパン酵母0.09kg/億個

体/日となった。乾燥重量を基準にした餌料転換効率は0.123であった。事例が不足しているが，低温による培養のほうが餌料転換効率は低くなる傾向がある。

＜ポイント＞

L型ワムシの低温馴致株を用いて低水温に応じた収獲率に設定すれば，それぞれの培養水温に応じた粗放連続培養が可能である。

表Ⅱ 3-5 日裁協能登島事業場での 25m³ 水槽による L型ワムシ低温馴致小浜株の淡水クロレラとパン酵母の混合給餌による粗放連続培養実験の方法

ワムシ株	L型ワムシ低温馴致小浜株
携卵雌の平均背甲長	約250μm
全培養期間	24日
培養日数	24日
元種	恒温器内のフラスコで淡水クロレラを給餌して保存した株を 100ℓ 水槽で粗放連続培養により拡大培養して供した
培養水槽	25m ³ コンクリート水槽
通気	約 80cm ユニホース 2 本，約 50cm 市販エアホース 2 本で微量通気（約20～30ℓ/分/水槽）
加温	14℃
使用海水	約60%希釈海水
餌料	淡水クロレラ，パン酵母
接種密度	110個体/ml
収獲率	0.2～0.3
懸濁物除去フィルター	なし（通気量を絞って，懸濁物は沈澱させてそのまま静置）
培養工程	
0日目	海水 15m ³ を加温準備 14℃培養ワムシ約19億個体を接種 淡水クロレラ 2ℓ を給餌
1～5日目	2～3 m ³ /日の海水を注水 3，5，7日目に必要量を間引き収獲
6～24日目	約 3 m ³ /日を連続注水，淡水クロレラ約 4ℓ とパン酵母 2 kg を連続給餌，注水と同量をサイホンにより収獲槽に収獲して連続培養を開始

表Ⅱ 3-6 日裁協能登島事業場での 25m³ 水槽による L型ワムシ低温馴致小浜株の淡水クロレラとパン酵母の混合給餌による粗放連続培養の結果概要

培養日数	水温 (日)	培養水量 (m ³)	ワムシ接種密度 (個体/ml)	接種個体数 (億個体)	総収獲個体数 (億個体)	日間増殖率 (%/日)	総卵率 (%)	携卵率 (%)	複数携卵率 (%)	死体割合 (%)	植物プランクトン給餌		パン酵母			
											淡水クロレラ (ℓ)	給餌率 (換算m ³ /億個体/日)	給餌量 (kg)	給餌率 (kg/億個体/日)		
合計		911.7		24.3	273.4						197.7		98.8			
平均	51	14.5	17.9	134	12.1	24.7	4.6	24.0	67.8	34.5	21.0	0.3	4.0	0.43	2.0	0.09
標準偏差		0.5	4.1	15	9.2	5.6	1.5	11.8	12.7	6.1	6.2	0.3	0.7	0.12	0.4	0.02
最大		15.9	25.0	168	18.7	34.4	7.7	70.9	85.4	43.5	29.7	1.1	5.6	0.77	2.8	0.15
最小		13.9	15.0	96	5.6	5.4	0.0	-3.1	36.5	12.2	1.5	0.0	2.0	0.23	1.0	0.05

乾燥重量を基準とした餌料転換効率は 0.123

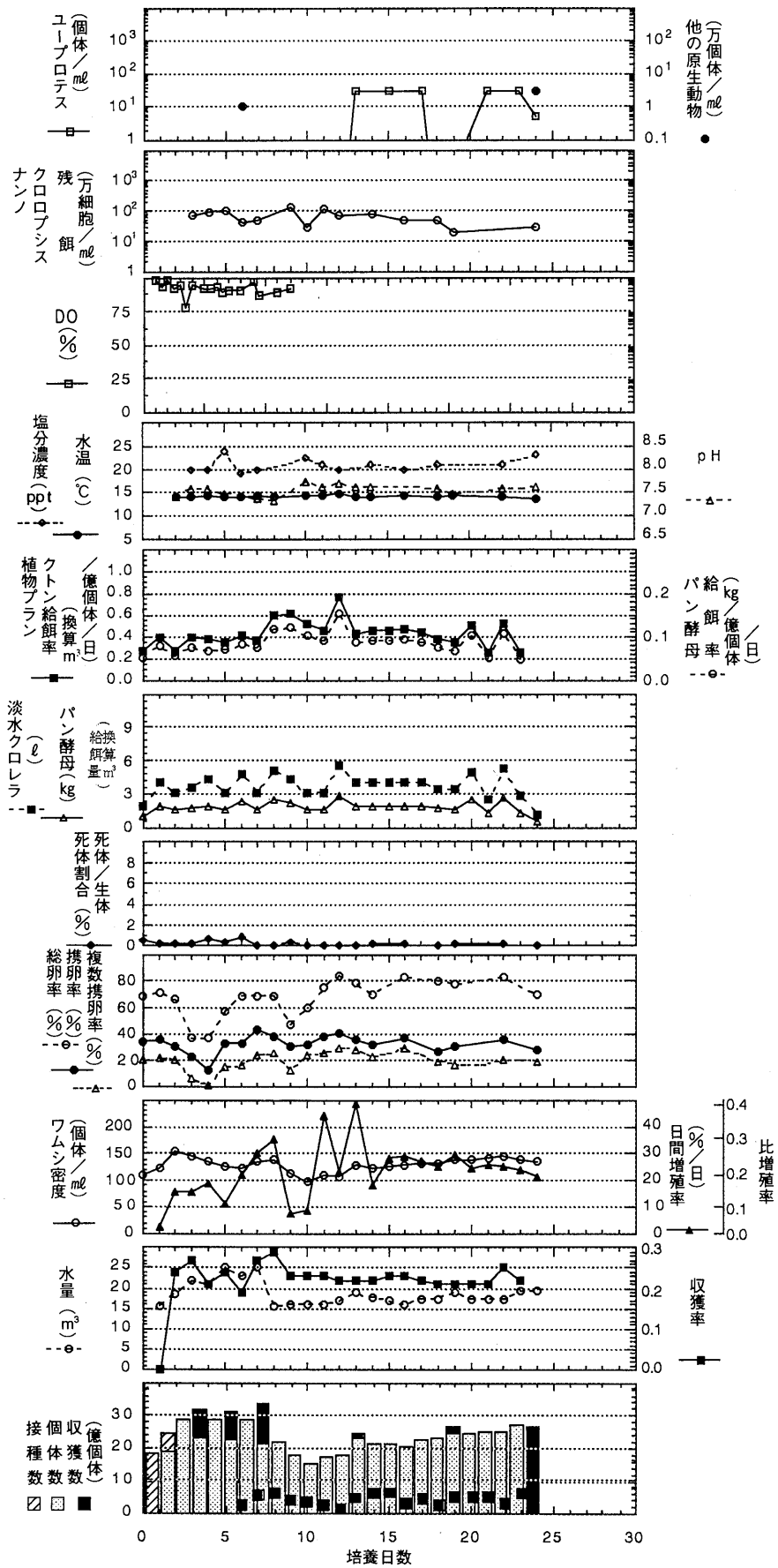


図 II 3-28 日裁協能登島事業場での25m³水槽によるL型ワムシ低温馴致小浜株の淡水クロレラとパン酵母の混合給餌による粗放連続培養の結果

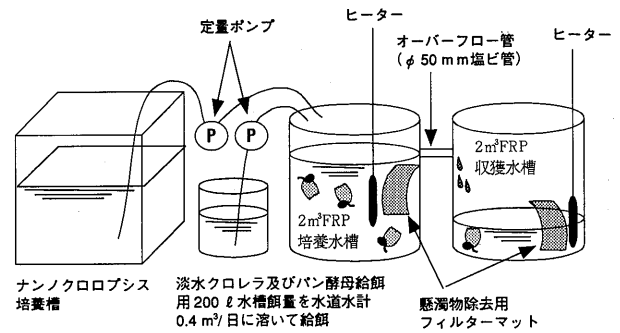
(4) S型ワムシ, 小型水槽の事例 (南伊豆事業場)

—S型ワムシの長期培養事例—

2m³水槽を用いて, 毎日ナンノクロロプシス 1m³, 水道水 0.4m³を連続注水, 連続給餌を行った培養事例である (表II 3-7, 図II 3-29)。それに加えて, 淡水クロレラ, 冷蔵ナンノクロロプシス, パン酵母のどれかを給餌している。前述の(2), (3)の事例が大型水槽であるのに対して, この事例は小型水槽であり懸濁物を沈殿させるのが困難と考えられたため, エアフィルターを培養槽と収穫槽に投入して毎日洗浄することによって懸濁物を系外に除去した。

その結果, ワムシの平均密度約415個体/ml (100~1,045個体/ml) の培養が248日間にわたって続いた (表II 3-8, 図II 3-30)。平均日間増殖率は145.9%/日であつた。

た。113日目までは餌料種類の組み合わせを様々に変えた試験を行っていたことと, 約4℃の水温低下が数回, 収穫率の低下が数回あったために密度の変動が大きかつた。



図II 3-29 日裁協伊豆事業場での2m³水槽によるS型ワムシの粗放連続培養の模式図

表II 3-7 日裁協南伊豆事業場での2m³水槽によるS型ワムシのナンノクロロプシス, 淡水クロレラ, パン酵母の混合給餌による粗放連続培養の方法

ワムシ株	S型ワムシ
携卵雌の平均背甲長	約185μm
全培養期間	248日
培養日数	248日
元種	周年2m ³ 水槽で植え継ぎ培養により維持
培養水槽	2m ³ FRP水槽
通気	ユニホースにより通気, 水面が盛り上がるくらいの強通気
加温	29.6℃ (24~35℃)
使用海水	約70%海水
餌料	ナンノクロロプシス 1m ³ , パン酵母0.5~1kg/日/水槽, 37日間, ナンノクロロプシス 1m ³ , 冷蔵ナンノクロロプシス 1換算m ³ /日/水槽, 19日間, ナンノクロロプシス 1m ³ , 淡水クロレラ 1ℓ/日/水槽, 192日間
接種密度	920個体/ml
収穫率	約0.7
懸濁物除去フィルター	トラベロンエアフィルター
フィルター使用量	100cm×80cm 1枚
フィルター面積/培養水量比	0.8m ² /1.9m ³ =0.42m ² /m ³
培養工程	
0日目	加温したナンノクロロプシス 1.9m ³ にワムシ約17億個体を接種
1~248日目	収穫率0.5でナンノクロロプシス約1m ³ を連続注水, パン酵母, 冷蔵ナンノクロロプシス, 淡水クロレラのうちのどれかを水道水 400ℓに溶いて連続給餌, 収穫率は合わせて約0.7となり注水と同量をオーバーフロー管により収穫槽に収穫して連続培養を開始, 毎日培養槽, 収穫槽のフィルター洗浄

表II 3-8 日裁協南伊豆事業場での2m³水槽によるS型ワムシのナンノクロロプシス, 淡水クロレラ, パン酵母の混合給餌による粗放連続培養の結果概要

培養日数	水温 (°C)	培養水量 (m ³)	ワムシ密度 (個体/ml)	接種個体数 (億個体)	総個体数 (億個体)	収穫個体数 (億個体)	日間増殖率 (%/日)	総卵率 (%)	植物プランクトン給餌			パン酵母			
									ナンノクロロプシス (換算m ³ /日)	淡水クロレラ (ℓ)	給餌率 (換算m ³ /億個体/日)	給餌量 (kg)	給餌率 (kg/億個体/日)		
合計				60.5		1627.2			293.7	19.0	177.0		30.5		
平均	248	29.6	1.90	415	7.6	7.9	6.6	145.9	39.0	1.2	1.0	1.0	0.48	0.8	0.08
標準偏差		1.02		179	5.3	3.4	2.7	109.9	21.6	0.2	0.0	0.0	0.32	0.3	0.03
最大		30.5		1,045	17.5	19.9	16.5	615.4	163.6	1.6	1.0	1.0	1.94	1.5	0.16
最小		24.0		100	2.8	1.9	0.7	-74.5	0.0	0.3	1.0	1.0	0.05	0.5	0.03

乾燥重量を基準とした餌料転換効率 0.700

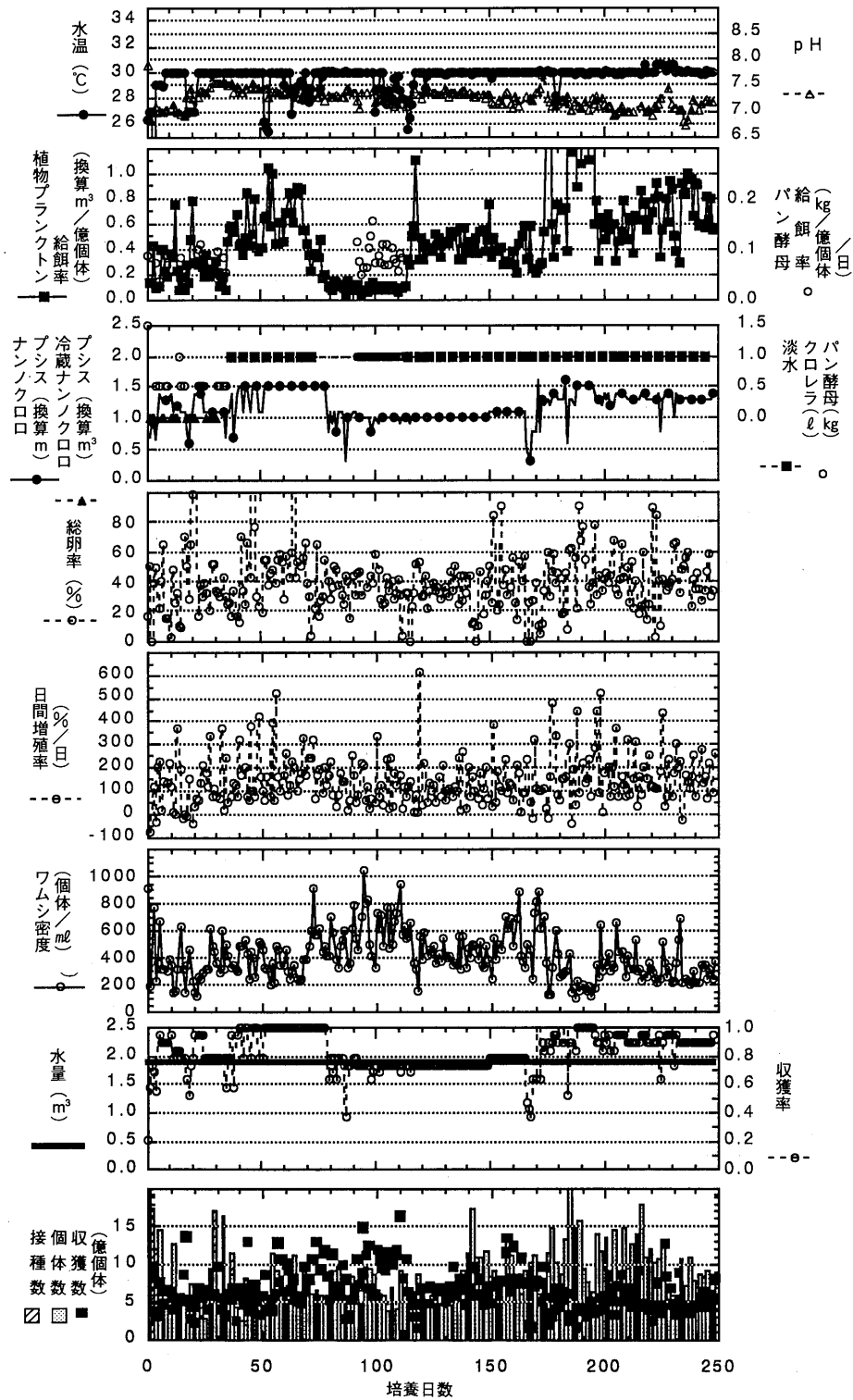


図 2-30 日栽協南伊豆事業場での2 m³水槽によるS型ワムシのナンノクロロプシス、淡水クロレラとパン酵母の混合給餌による粗放連続培養の結果

た。収穫したワムシはスズキ、ムツなどの種苗生産に用い、植え継ぎ培養ワムシと同様に使用した。

<ポイント>

粗放連続培養は小型水槽でのS型ワムシ培養にも適用できる。

(桑田 博)

4 ワムシ培養コストの試算

4-1 生産単価の計算根拠

生産単価は経費をワムシの生産個体数で除した値で示されるが、経費の考え方によってその値は大きく異なる。過去に生産単価について報告した例では、餌料費、消耗品費、光熱水量費を含めたもの(伏見 1986)、これに人件費まで含めたもの(吉村ら 1992)、さらに生産設備の

工事費まで含めたもの（日野 1998）など様々である。

ここではワムシの培養コストを考える一助とするために、平成8年度に実施した日裁協各事業場のアンケート結果を基に、餌料費、消耗品費、光熱水料、備品減価償却費、人件費、施設減価償却費を積算して生産単価を試算した。

なお、粗放連続培養は開始されたばかりで事例が少ないため、試算からは除外した。

餌料費

日裁協のワムシ培養に使われている餌料はナンノクロロプシス（生、冷蔵、冷凍）、パン酵母及び市販の淡水クロレラである。これらの餌料のうち、自家生産を行っているナンノクロロプシスの単価を、宮津事業場をケーススタディとして、平均的な培養を参考にして試算した（表Ⅱ 4-1）。

ナンノクロロプシスの培養にかかる作業は職員と雇員がそれぞれ2時間/週、1.5時間/週を要することとした。これより年間（52週）の作業時間は職員104時間と雇員78時間となった。生ナンノクロロプシス単価は、この人件費に肥料・塩素代、ブローワーと取水ポンプの電気代、キャンパス水槽や配管およびポンプの施設減価償却費を

加えた年間経費165.7万円を年間生産量2,500換算 m^3 で割ることにより、663円/換算 m^3 と計算された。冷蔵ナンノクロロプシス単価は、濃縮操作に要する人件費、遠心分離機の電気代、遠心分離機の施設減価償却費を加えた年間経費152.6万円を年間生産量1,500換算 m^3 で割った1,017円/換算 m^3 に生ナンノクロロプシス単価663円/換算 m^3 を加えた1,680円/換算 m^3 と計算された。冷凍ナンノクロロプシス単価は、冷凍操作に要する人件費を加えた年間経費6.4万円を年間生産量1,500換算 m^3 で割った43円/換算 m^3 に冷蔵ナンノクロロプシス単価1,680円/換算 m^3 を加えた1,723円/換算 m^3 と計算された。

このナンノクロロプシス単価は伏見（1989）が算出した203.2円/ m^3 より高価であるが、伏見（1989）が計算した時期が春～夏のナンノクロロプシスの増殖が好調な時期に限られることと、人件費と施設減価償却費を含んでいないことによる。ここで試算の対象とした事業場は温度が低く日照時間が少ない日本海側の事業場であり、冬季にも種苗生産を行っていることから冬の日本海での悪条件の培養が含まれるため、生産効率は低い。主な生産期が春や秋である太平洋側の事業場ではこれより安価となると考えられる。

表Ⅱ 4-1 ナンノクロロプシスの生産単価の試算（宮津事業場）

	年間経費 (万円)	単 価 (円/換算 m^3)	備 考
培 養			年間の生産量2,500 m^3 （2,000万細胞/ ml 換算）と仮定した場合
人件費	26.3	105	職員の人件費：2,000円/時間、雇員の人件費：700円/時間、1年間（52週）の総作業時間104時間および78時間（それぞれ2時間/週、1.5時間/週）
肥料・塩素代	5.1	20	肥料の年間使用量：硫酸250kg、尿素25kg、リン酸第1カリウム12.5kg、クレワット12.5kg、塩素の年間使用量：125 l
電気代	16.6	66	場内集中ブローワー（消費電力：6kw/h）の内ナンノクロロプシスの利用率を約20%と仮定、用水は取水ポンプ運転の電気代を計上、電気代：12円/kwh
施設減価償却費	117.7	471	55 m^3 キャンパス水槽8基使用、水槽基盤の耐用年数16年、生地の耐用年数8年、塩び配管の耐用年数16年、送水ポンプの耐用年数12年で試算
小 計	165.7	663	
濃 縮			遠心分離機によって年間1,500換算 m^3 （1回の濃縮水量100 m^3 、年間濃縮回数15回）と仮定
人件費	19.1		1回の濃縮にかかる職員の作業時間：6時間、雇員の作業時間：1時間で計算
遠心分離機 電気代	10.0		遠心分離機の消費電力：40kw/h、1回の濃縮における遠心分離機の運転時間：14時間、年間の運転回数：15回、電気代：12円/kwh
施設減価償却費	123.5		遠心分離機の耐用年数：16年、点検1回/3年
小 計	152.6	1,017	
凍 結			濃縮したナンノクロロプシスを1換算 m^3 づつ小分けして冷凍した場合
人件費	6.4		1回の凍結に要する職員の作業時間：1時間、雇員の作業時間：1時間
小 計	6.4	4.3	
合 計			
生ナンノクロロプシス		663	培養経費
冷蔵ナンノクロロプシス		1,680	培養経費+濃縮経費
冷凍ナンノクロロプシス		1,723	培養経費+濃縮経費+冷凍経費

淡水クロレラの単価は800円/ℓであるが、乾燥重量を基準にナンノクロロプシスに換算すると272円/換算 m³となり、ナンノクロロプシスより安価である。

＜ポイント＞

ナンノクロロプシスの肥料費は安価だが、施設減価償却費や人件費が高価である。

光熱水料

ワムシ培養へのろ過海水の使用量は、他の親魚養成や飼育等に要する量と比較するとわずかであるため、ポンプの電気代のみを計上し、施設費は省略した(表Ⅱ 4-2)。能登島事業場の1m³揚水に要する電力の推定値0.13kwから計算した1.5円/m³を、全事業場のワムシ培養への注水海水量に掛けて計算した。

水道水は都市ごと使用量ごとに単価は異なり、井戸水でも異なる。ここでは1事業場の水道水料金の実績である146円/m³を他に当てはめた。

加温施設への依存割合も種苗生産と比較して少ないと

考えられる。そこで加温施設費は省略し、燃料代のみを計上した。当然海水温度や気温と設定温度によって異なるが、ここでは積算培養水量にたいして一律の係数をあてはめることとした。この係数には1事業場の推定値である38円/m³を使用した

電気代は通気ブロー、収穫機、送水ポンプ、冷蔵庫、給餌ミキサー等の経費である。ここでは積算培養水量に一律の係数をあてはめることとした。この係数には1事業場の推定値である35円/m³を使用した。

消耗品費

ろ材、消毒用塩素、収穫ネット、パイプ類、エアストーン等が必要となる。これらの消耗品はおおよそ収穫数に比例すると考えて1,000億個体当り3万円として一律に計算した。

備品減価償却費

計数及び観察用の顕微鏡と他の備品の減価償却費を培養規模に無関係に1施設当り年4万円として一律に計上した。事業場で多種類の株や形態の異なる培養を行って

表Ⅱ 4-2 ワムシの単価計算に用いた仮定値

	単価	単位	備考
餌料費			
ナンノクロロプシス			
生	663	円/換算 m ³	表Ⅱ 4-1 参照
冷蔵	1,680	円/換算 m ³	表Ⅱ 4-1 参照
冷凍	1,723	円/換算 m ³	表Ⅱ 4-1 参照
淡水クロレラ	800	円/製品 ℓ	
パン酵母	374	円/製品 kg	
光熱水料			
ろ過海水	1.5	円/m ³	場内使用量の中では些少のため電気代のみとし施設費は省略(積算注水量に一律に仮定した定数を掛けて算出、能登島事業場1m ³ 揚水に要した電力推定値0.13kwを採用し、0.13×12円/1m ³ =1.5円/m ³)
水道水	146	円/m ³	都市ごとに異なるため一律仮定値を使用、井戸水にも援用
加温費	38	円/m ³	A重油代のみとし施設費は省略(積算培養水量に一律に仮定した定数を掛けて算出)
電気代	35	円/m ³	ブロー、収穫機、送水ポンプ、冷蔵庫、給餌ミキサー等使用(積算培養水量に一律に仮定した定数を掛けて算出)
消耗品費	30,000	円/1,000億個体	ろ材、消毒用塩素、収穫ネット、パイプ類、エアストーン等(ほぼ収穫数に比例すると考えて一律に仮定した定数を使用)
備品減価償却費	4	万円/年	顕微鏡(40万円/台を20年で償還と仮定)、他の備品代を加算、培養数量に関わらず一律で計算
人件費			
職員	2,000	円/時間	アンケート集計作業時間当りで一律の仮定値を使用
雇員	700	円/時間	アンケート集計作業時間当りで一律の仮定値を使用
施設減価償却費			
植え継ぎ培養施設	1,122	万円/施設/年	1億6,826万円/60億生産施設*を15年で減価償却として試算(盛期日生産数10億個体単位で算出)
間引き培養施設	1,588	万円/施設/年	2億3,824万円/60億生産施設*を15年で減価償却として試算(盛期日生産数30億個体単位で算出)
連続培養装置	391	万円/施設/年	5,861万円/60億生産施設*を15年で減価償却として試算(盛期日生産数30億個体単位で算出)

*：日野明徳(1998)の施設費を援用

いる場合は、年間生産数量に比例して配分した。

人件費

1日の培養管理の作業は、①ワムシの計数、②作業計画の立案、③現場作業に大別され、①と②は職員が、③は職員と雇員が行っている事例が多い。1日の平均作業時間はL型ワムシが職員2.7時間、雇員3.2時間であり、S型ワムシが職員1.8時間、雇員2.9時間である。L型ワムシの作業時間が長いのは培養が低密度で行われるため、収穫や密度調整などに時間を要するためと考えられる。

人件費の時間単価は職員が2,000円/時間、雇員が700円/時間と仮定し、平成8年度に実施したアンケート調査で得られた職員と雇員の作業時間に積算した。

施設減価償却費

日野(1998)は60億個体生産のための植え継ぎ、間引き、装置連続培養のそれぞれの施設費を試算している。そこで、盛期の最大供給量の施設が種苗生産期間にわたって必要と仮定し、単純計算により施設費とした。たとえば盛期の最大供給量が20億個体であれば、上記日野の試算の1/3の施設費が必要となり、ワムシ培養期間が3カ月の場合は施設の年間専有率が1/4と計算した。こうして計算した施設費を15年で減価償却するとして年当りの施設の減価償却費とした。

4-2 生産単価

平成8年度のアンケートによる日裁協各事業場のワムシ培養結果をL、S、S型タイ株のワムシ型別、培養形態別に整理した(表II 4-3)。これに前記の各経費を積算して年間経費を算出し表II 4-4に示した。さらにこの各項目を年間純生産個体数で割った値をコストとして表II 4-5に、コストの各費目ごとの構成比を表II 4-6に示した。

L型ワムシの生産単価は4,173円/億個体、そのうち植え継ぎ培養が4,161円/億個体、間引き培養が4,157円/億個体であり、ほぼ同等であった。L型ワムシの生産数量が年間6,358億個体と最も多い上浦事業場の大量培養が2,323円/億個体と最も安価であり、スケールメリットと考えられる。L型ワムシのコストに占める費目割合では施設減価償却費の34.8%と餌料費の31.5%が多く、次いで光熱水料が17.4%、人件費が15.1%の順となり、消耗品費や備品減価償却費はわずかである。

S型ワムシの生産単価は1,215円/億個体、そのうち植え継ぎ培養が1,294円/億個体、間引き培養が1,104円/億個体であった。S型ワムシのコストに占める費目割合は、やはり施設減価償却費が最も多く41.8%を占め、次に餌料費が31.4%、人件費が12.4%、光熱水料が11.3%の順となった。S型ワムシではL型ワムシより施設減価償却費の占める割合が多かった。

S型ワムシタイ株は2,972円/億個体であり、必要とさ

れる季節と量が限られるため、ややコスト高になっている傾向がうかがえる。S型ワムシの装置連続培養は1,330円/億個体であり、コストに占める費目割合では施設減価償却費の40.5%と餌料費の41.8%が大半を占め、次いで人件費が14.9%の順となり、光熱水料は0.2%とわずかである。

1億個体当り単価ではL型ワムシはS型ワムシの3.4倍であった。L型ワムシ1個体の湿重量を2.55 μ g、S型ワムシ1個体の湿重量を1.37 μ gとして湿重量1kg当りの生産単価で比較すると、L型ワムシは16,365円/kg、S型ワムシは8,869円/kgであり、その差は1.9倍に縮まる。

餌料費をワムシ種類、培養方法ごとに比較すると、パン酵母の使用割合が多いL型ワムシ間引き培養上浦事業場、S型ワムシ植え継ぎ培養玉野事業場、S型ワムシ間引き培養五島事業場が同培養方法の他場より安価な傾向がある。光熱水料のうち海水や水道水の占める割合は低い。特に希釈海水による増殖促進(I 4-2「塩分濃度」を参照)を考慮すると、淡水の見直しが必要である。加温費や電気代は単位生産を顕著に反映し、L型ワムシがS型ワムシより高くなっている。消耗品費や備品減価償却費は少額であり、大きな影響はない。人件費はL型ワムシの629円/億個体に対してS型ワムシが151円/億個体であり、単位生産を顕著に反映している。施設減価償却費は生産数量が多いほど安価になる傾向がある。

過去に報告されているワムシ1億個体当りの生産単価は、広島県のL、S型混合ワムシの植え継ぎ培養において施設費と人件費を除いた値として598円/億個体(伏見, 1989)、S型ワムシの植え継ぎ培養において施設費を除いた値として1,460円/億個体、S型ワムシの福岡方式において施設費を除いた値として1,005円/億個体などがある(吉村, 1992)。

広島県の試算と同じく施設費と人件費を除外するとL型ワムシが2,091円/億個体でS型ワムシが556円/億個体となり、広島県の試算値に近い値となる。さらに、広島県の試算ではナンノクロロプシスの単価に人件費を算入しないで203.2円/m³としているのに対し、本試算では人件費を算入してナンノクロロプシスを試算し663円/m³となっている。また、施設費のみを除外して吉村の試算と比較すると、S型ワムシが707円/億個体となり福岡方式より安価となる。いずれも経費やナンノクロロプシスの単価が大きく異なることから単純な比較は困難である。

表Ⅱ 4-3 日本栽培漁業協会各事業場のワムシ培養結果の概要

培養方法	事業場	水槽 実容量 (m ³)	生産 期間 (カ月)	延べ 培養 例数	延べ 水槽 使用数	延べ 培養 水量 (m ³)	延べ注 水海水 水量 (m ³)	延べ注 水水道 水量 (m ³)	平均 水温 (℃)	平均 雌密度 (個体 /m ^l)	平均 日間 (%/日)	単 位 生 産 (億個体 /m ³ /日)	総生産 個体数 (億 個体)	給餌総数			
														ナノクロロブシス 生 (換算m ³)	淡水 濃縮 クロレラ (ℓ)	パン 酵母 (kg)	
L型ワムシ																	
植え継ぎ培養																	
	厚岸	14,15,20	2.5	46	501	8,517	782		22	99	21.8	0.19	1,085	193	27	747	873
	小浜	1	5	14	48	48	14		16	466	17.6	0.75	35	15	9	27	
	屋島	25	4	96	1,230	30,750	2,400		19	120	9.9	0.10	1,525			1,900	1,200
	平均				593				19	228	16.4	0.35	882	104	18	891	1,037
	合計				1,779								2,645	208	35	2,674	2,073
間引き培養																	
	南伊豆	50	5	12	225	11,250	1,125		20	99	9.3	0.13	915	413	89	1,560	583
	能登島	25	6	20	703	17,575	2,109		17	139	12.1	0.14	1,539	805	1,268		1,441
	小浜	20	5	22	172	3,440	344		17	358	6.3	0.19	537	230	415	646	334
	宮津	20	6	12	370	7,400	740		18	197	9.1	0.16	1,419	561	707	996	759
	上浦	50	8	33	1,028	51,400	6,168	1,542	21	146	14.6	0.24	6,358	1,673	301	1,298	4,652
	上浦	0.8	8	117	2,297	1,838	221	55	21	297	13.1	0.29	481	230	264	603	245
	奄美	6	2	21	145	870	183	39	26	228	27.4	0.41	211			318	
	八重山	15	3	28	412	6,180	1,236		21	183	17.7	0.23	1,126		396	927	760
	平均				669				20	206	13.7	0.22	1,573	652	491	907	1,254
	合計				5,352								12,586	3,912	3,440	6,348	8,776
	平均				648				20	212	14.4	0.26	1,385	515	386	902	1,206
	合計				7,131								15,231	4,120	3,476	9,021	10,850
S型ワムシ																	
植え継ぎ培養																	
	宮津	0.5	6	118	335	168	41	18	29	579	48.6	1.77	537	31	116	136	52
	玉野	12,25	5	250	750	13,875	4,625		27	276	42.3	1.27	9,041		290	2,072	1,804
	伯方島	45	5	85	343	15,435	3,825		30	380	27.9	0.78	7,607		1,375	2,170	1,055
	伯方島	18	5	44	177	3,186	792		30	390	29.3	0.74	1,744		559	270	311
	平均				401				29	406	37.0	1.14	4,732	31	585	1,162	805
	合計				1,605								18,929	31	2,340	4,648	3,221
間引き培養																	
	五島	50	8	73	513	25,650	10,260		26	165	37.6	0.38	10,038	314	0	629	2,872
	奄美	1	3	34	273	273	164		28	586	68.5	2.25	570			214	65
	八重山	5	2	35	290	1,450	435		27	788	27.5	1.34	1,651		5	629	386
	八重山	1	2	55	411	411	164		28	1,361	35.1	3.42	1,237			905	85
	平均				372				27	725	42.2	1.85	3,374	314	2	594	852
	合計				1,487								13,496	314	5	2,377	3,408
	平均				387				28	565	39.6	1.49	4,053	172	391	878	829
	合計				3,092								32,425	345	2,345	7,025	6,629
S型ワムシタイ株																	
	玉野	1.2	2	19	98	147	29		30	488	77.0	1.45	144		1	146	4
	八重山	0.5	4	15	184	92	8		30	1,408	56.3	4.52	483			266	
	平均				141				30	948	66.6	2.99	314		1	206	4
	合計				282								627		1	412	4
S型ワムシ																	
装置連続培養																	
	玉野	1	3	2	43	43	30		30	3,290	68.7	22.90	907				630

表Ⅱ 4-4 日本栽培漁業協会各事業場のワムシ培養に要する年間経費（円）

培養方法	事業場	餌料費	光熱水料				消耗品費	備品 消却費	人件費		施設減価 償却費	合計
			海水	水道水	加温費	電気			職員	雇員		
L型ワムシ												
植え継ぎ培養												
	厚岸	1,097,965	1,173		323,646	298,095	32,556	40,000	375,000	183,750	1,558,333	3,910,519
	小浜	46,419	21		1,824	1,680	1,050	4,000	150,000	52,500	77,917	333,411
	屋島	1,968,800	3,600		1,168,500	1,076,250	45,750	40,000	960,000	252,000	1,246,667	6,761,567
平均		1,037,728	1,598		497,990	458,675	26,452	28,000	495,000	162,750	960,972	3,669,165
合計		3,113,184	4,794		1,493,970	1,376,025	79,356	84,000	1,485,000	488,250	2,882,917	11,007,496
間引き培養												
	南伊豆	1,893,424	1,688		427,500	393,750	27,437	40,000	1,350,000	525,000	4,411,111	9,069,910
	能登島	3,258,661	3,164		667,850	615,125	46,171	40,000	540,000	378,000	1,323,333	6,872,304
	小浜	1,507,883	516		130,720	120,400	16,114	36,000	450,000	157,500	1,654,167	4,073,300
	宮津	2,671,025	1,110		281,200	259,000	42,561	39,600	1,260,000	378,000	3,970,000	8,902,496
	上浦	4,406,249	9,252	225,132	1,953,200	1,799,000	190,754	36,000	480,000	378,000	5,293,333	14,770,920
	上浦	1,181,392	331	8,049	69,829	64,316	14,430	4,000	480,000	252,000	1,058,667	3,133,013
	奄美	254,240	274	5,716	33,060	30,450	6,330	40,000	300,000	67,200	220,556	957,826
	八重山	1,708,579	1,854		234,840	216,300	33,780	8,000	360,000	252,000	1,323,333	4,138,686
平均		2,110,182	2,273	79,632	474,775	437,293	47,197	30,450	652,500	298,463	2,406,813	6,489,807
合計		16,881,453	18,188	238,897	3,798,199	3,498,341	377,577	243,600	5,220,000	2,387,700	19,254,500	51,918,454
平均		1,817,694	2,089	79,632	481,106	443,124	41,539	29,782	609,545	261,450	2,012,492	5,702,541
合計		19,994,637	22,982	238,897	5,292,169	4,874,366	456,933	327,600	6,705,000	2,875,950	22,137,417	62,925,950
S型ワムシ												
植え継ぎ培養												
	宮津	348,845	62	2,584	6,365	5,863	16,095	40,000	180,000	252,000	93,500	945,314
	玉野	2,831,966	6,938		527,250	485,625	271,233	34,000	1,350,000	630,000	5,454,167	11,591,178
	伯方島	4,499,508	5,738		586,530	540,225	228,200	32,000	240,000	210,000	3,116,667	9,458,868
	伯方島	1,295,471	1,188		121,068	111,510	52,328	8,000	60,000	52,500	779,167	2,481,232
平均		2,243,948	3,481	2,584	310,303	285,806	141,964	28,500	457,500	286,125	2,360,875	6,119,148
合計		8,975,790	13,925	2,584	1,241,213	1,143,223	567,857	114,000	1,830,000	1,145,500	9,443,500	24,476,592
間引き培養												
	五島	1,785,184	15,390		974,700	897,750	301,153	40,000	480,000	504,000	4,587,556	9,585,732
	奄美	195,323	246		10,374	9,555	17,088	40,000	270,000	63,000	661,667	1,267,252
	八重山	654,880	653		55,100	50,750	49,540	20,000	180,000	126,000	970,444	2,107,367
	八重山	756,318	247		15,618	14,385	37,103	10,000	180,000	126,000	794,000	1,933,671
平均		847,926	4,134		263,948	243,110	101,221	27,500	277,500	204,750	1,753,417	3,723,506
合計		3,391,705	16,535		1,055,792	972,440	404,885	110,000	1,110,000	819,000	7,013,667	14,894,023
平均		1,545,937	3,807	2,584	287,126	264,458	121,593	28,000	367,500	245,438	2,057,146	4,921,327
合計		12,367,495	30,460	2,584	2,297,005	2,115,663	927,741	224,000	2,940,000	1,963,500	16,457,167	39,370,614
S型ワムシタイ株												
	玉野	119,432	43		5,586	5,145	4,308	1,000	132,000	23,520	88,222	372,256
	八重山	212,840	11		3,496	3,220	14,504	20,000	180,000	168,000	882,222	1,484,293
平均		166,136	27		4,541	4,183	9,406	10,500	156,000	95,760	485,222	931,774
合計		332,272	54		9,082	8,365	18,812	21,000	312,000	191,520	970,444	1,863,549
S型ワムシ												
装置連続培養												
	玉野	504,000	45		1,634	1,505	27,219	4,000	180,000		488,750	1,207,153

表Ⅱ 4-5 日本栽培漁業協会各事業場のワムシ培養コストおよび内訳 (円/億個体)

培養 方法	事業場	餌料費	光 熱 水 料				消耗 品費	備 品 償却費	人 件 費			施設減価 償却費	合計	
			海水	水道水	加温費	電気			小計	職員	雇員			小計
L型ワムシ														
植え継ぎ培養														
	厚 岸	1,012	1		298	275	574	30	37	346	169	515	1,436	3,604
	小 浜	1,326	1		52	48	101	30	114	4,285	1,500	5,785	2,226	9,582
	屋 島	1,291	2		766	706	1,474	30	26	630	165	795	817	4,434
	平 均	1,177	1		565	520	1,086	30	32	561	185	746	1,090	4,161
間引き培養														
	南伊豆	2,070	2		467	431	900	30	44	1,476	574	2,050	4,823	9,917
	能登島	2,117	2		434	400	836	30	26	351	246	596	860	4,465
	小 浜	2,807	1		243	224	468	30	67	838	293	1,131	3,080	7,583
	宮 津	1,883	1		198	183	382	30	28	888	266	1,155	2,798	6,275
	上 浦	693	1	35	307	283	627	30	6	75	59	135	832	2,323
	上 浦	2,456	1	17	145	134	296	30	8	998	524	1,522	2,201	6,514
	奄 美	1205	1	27	157	144	329	30	190	1,422	318	1,740	1,045	4,539
	八重山	1,517	2		209	192	402	30	7	320	224	544	1,175	3,676
	平 均	1,341	1	51	302	278	632	30	19	415	190	604	1,530	4,157
平 均		1,313	2	58	347	320	727	30	22	440	189	629	1,453	4,173
S型ワムシ														
植え継ぎ培養														
	宮 津	650	0	5	12	11	28	30	75	336	470	805	174	1,762
	玉 野	313	1		58	54	113	30	4	149	70	219	603	1,282
	伯方島	592	1		77	71	149	30	4	32	28	59	410	1,243
	伯方島	743	1		69	64	134	30	5	34	30	64	447	1,422
	平 均	474	1	1	66	60	127	30	6	97	60	157	499	1,294
間引き培養														
	五 島	178	2		97	89	188	30	4	48	50	98	457	955
	奄 美	343	0		18	17	35	30	70	474	111	585	1,162	2,225
	八重山	397	0		33	31	64	30	12	109	76	185	588	1,276
	八重山	612	0		13	12	24	30	8	146	102	247	642	1,563
	平 均	251	1	0	78	72	152	30	8	82	61	143	520	1,104
平 均		381	1	1	71	65	138	30	7	91	61	151	508	1,215
S型ワムシタイ株														
	玉 野	832	0		39	36	75	30	7	919	164	1,083	614	2,641
	八重山	440	0		7	7	14	30	41	372	348	720	1,825	3,070
平 均		530	0		14	13	28	30	33	498	305	803	1,548	2,972
S型ワムシ														
装置連続培養														
	玉 野	555	0		2	2	4	30	4	198	0	198	539	1,330

表II 4-6 日本栽培漁業協会各事業場のワムシ培養コストに占める各項目の割合 (%)

培養方法	事業場	餌料費	光熱水料				消耗品費	備品償却費	人件費			施設減価償却費	合計	
			海水	水道水	加温費	電気			小計	職員	雇員			小計
L型ワムシ														
植え継ぎ培養														
	厚岸	28.1	0.0		8.3	7.6	15.9	0.8	1.0	9.6	4.7	14.3	39.8	100.0
	小浜	13.8	0.0		0.5	0.5	1.1	0.3	1.2	44.7	15.7	60.4	23.2	100.0
	屋島	29.1	0.1		17.3	15.9	33.3	0.7	0.26	14.2	3.7	17.9	18.4	100.0
	合計	28.3	0.0		13.6	12.5	26.1	0.7	0.8	13.5	4.4	17.9	26.2	100.0
間引き培養														
	南伊豆	20.9	0.0		4.7	4.3	9.1	0.3	0.4	14.9	5.8	20.7	48.6	100.0
	能登島	47.4	0.0		9.7	9.0	18.7	0.7	0.6	7.9	5.5	13.4	19.3	100.0
	小浜	37.0	0.0		3.2	3.0	6.2	0.4	0.9	11.0	3.9	14.9	40.6	100.0
	宮津	30.0	0.0		3.2	2.9	6.1	0.5	0.4	14.2	4.2	18.4	44.6	100.0
	上浦	29.8	0.1	1.5	13.2	12.2	27.0	1.3	0.2	3.2	2.6	5.8	35.8	100.0
	上浦	37.7	0.0	0.3	2.2	2.1	4.5	0.5	0.1	15.3	8.0	23.4	33.8	100.0
	奄美	26.5	0.0	0.6	3.5	3.2	7.3	0.7	4.2	31.3	7.0	38.3	23.0	100.0
	八重山	41.3	0.0		5.7	5.2	10.9	0.8	0.2	8.7	6.1	14.8	32.0	100.0
	合計	32.3	0.0	1.2	7.3	6.7	15.2	0.7	0.5	10.0	4.6	14.5	36.8	100.0
合計		31.5	0.0	1.4	8.3	7.7	17.4	0.7	0.5	10.5	4.5	15.1	34.8	100.0
S型ワムシ														
植え継ぎ培養														
	宮津	36.9	0.0	0.3	0.7	0.6	1.6	1.7	4.2	19.0	26.7	45.7	9.9	100.0
	玉野	24.4	0.1		4.5	4.2	8.8	2.3	0.3	11.6	5.4	17.1	47.1	100.0
	伯方島	47.6	0.1		6.2	5.7	12.0	2.4	0.3	2.5	2.2	4.8	32.9	100.0
	伯方島	52.2	0.0		4.9	4.5	9.4	2.1	0.3	2.4	2.1	4.5	31.4	100.0
	平均	36.7	0.1	0.0	5.1	4.7	9.8	2.3	0.5	7.5	4.7	12.1	38.6	100.0
間引き培養														
	五島	18.6	0.2		10.2	9.4	19.7	3.1	0.4	5.0	5.3	10.3	47.9	100.0
	奄美	15.4	0.0		0.8	0.8	1.6	1.3	3.2	21.3	5.0	26.3	52.2	100.0
	八重山	31.1	0.0		2.6	2.4	5.1	2.4	0.9	8.5	6.0	14.5	46.1	100.0
	八重山	39.1	0.0		0.8	0.7	1.6	1.9	0.5	9.3	6.5	15.8	41.1	100.0
	合計	22.8	0.1		7.1	6.5	13.7	2.7	0.7	7.5	5.5	13.0	47.1	100.0
合計		31.4	0.1		5.8	5.4	11.3	2.5	0.6	7.5	5.0	12.4	41.8	100.0
S型ワムシタイ株														
	玉野	31.5	0.0		1.5	1.4	2.8	1.1	0.3	34.8	6.2	41.0	23.3	100.0
	八重山	14.3	0.0		0.2	0.2	0.5	1.0	1.3	12.1	11.3	23.4	59.4	100.0
合計		17.8	0.0		0.5	0.4	0.9	1.0	1.1	16.7	10.3	27.0	52.1	100.0
S型ワムシ														
装置連続培養														
	玉野	41.8	0.0		0.1	0.1	0.3	2.3	0.3	14.9	0.0	14.9	40.5	100.0

＜ポイント＞

現状のワムシの生産単価はL型ワムシが4,173円/億個体、S型ワムシが1,215円/億個体と試算された。植え継ぎ培養と間引き培養とではさほど変わらない。

餌料費はパン酵母をうまく使うと安価になる。淡水の経費が全体に占める割合は少なく、積極的な利用が有効である。加温費や電気代、人件費は単位生産を顕著に反映する。施設減価償却費はスケールメリットがある。

4-3 ワムシの利用率

日裁協における生産したワムシの利用率は約40%であることから(図II 1-1)、実質的なワムシの生産単価(種苗生産に供給されるワムシ当りの生産単価)はこの2.5倍のL型ワムシ11,275円/億個体、S型ワムシ3,443円/億個体となる。コストの削減には利用率の向上も重要である。

<ポイント>

現在のワムシ培養は廃棄される部分が多く、利用率の向上がコスト低減に重要である。

(藤浪祐一郎, 桑田 博)

5 収 獲

日本栽培漁業協会を中心に現在行われている収獲法を以下に示した。どの収獲法においても作業効率はワムシ培養槽の懸濁物の量による影響が大きい。培養状態が悪いために、懸濁物が多くワムシの活力が低い場合に、収獲操作中のワムシの死亡や、ネットの目詰まりによるワムシの流出や作業性の低下が起こる。

また、どの収獲法においてもワムシの死亡は収獲時の気泡の混入とワムシ自体の活力に大きく影響される。気泡の混入は水槽内の通気を収獲配管に巻き込む場合と、収獲ホースなどの出口が水面上に出ているために収獲水が水面で空気を巻き込むことで起きる。このような時には収獲ネット内で死亡したワムシが泡状のかたまりになるので容易に確認できる。収獲までの配管の通過もワムシを損傷することがある。配管経路はできるだけ短く、屈曲を少なくする配慮が必要である(平本ら 1984, 1985, 1986)。

また、プランクトンネットのピンホールを見逃すと、大量の漏出が起きる。収獲前後で個体数が減少するときやネットを通過した培養水中にワムシが見えるときには注意を要する。ピンホールは乾燥状態のネットを光に透かすと簡単に発見できる。ネットを縫合しているミシン目からワムシが漏出することもあるが、その対策としてミシン目を接着剤で目止めることが多い。

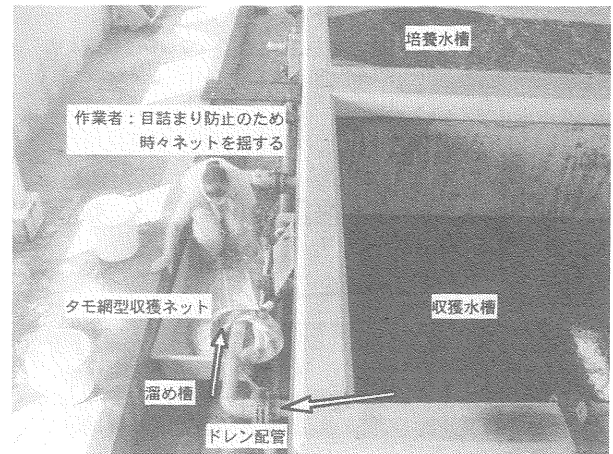
<ポイント>

懸濁物のない活力の高いワムシを作ることが収獲と移送の作業性向上に最も重要である。

5-1 人手による収獲



図Ⅱ5-1 人手による小型水槽からのワムシの収獲作業



図Ⅱ5-2 人手による大型水槽からのワムシの収獲作業

$\phi 40\sim 60\mu\text{m}$ の網目のプランクトンネットを張ったタモ型または袋状あるいは吹き流し状のネットを培養水を溜められるバットなどの容器内に設置し、ここにワムシを培養水とともに流し入れてネットでワムシを濾し取り濃縮、収獲を行う(図Ⅱ5-1, 2)。ワムシ培養水をネットに導入するために、落差、水中ポンプ、ラインポンプ、モノフレックスポンプなどが使われている。特別な装置が不要であり、準備作業が簡単であるため100l~2m³水槽では常用されている。10~50m³水槽でも使用されているが、容量が多くなるとそれに比例して人手と時間を要する。

<ポイント>

水量が0.5~2m³ くらいであれば、手作業による収獲の方が機械を準備するよりむしろ早いことがある。

5-2 収獲機

収獲機の原理はネットで培養水からワムシを濾し取るものであるが、この時の目詰まりが最大の問題となる。その対策としてネットを振動させているが、その方式には大別して機械的な方法とエアレーションによる方法がある。現在各機関で使用されている機械を下記に記述する。

5-2-1 目詰まりを機械的な振動により防止する装置-1

ネットの目詰まりを機械的な振とうによって解消する方式である(図Ⅱ5-3, 4)。85×85×90cmの容器内に逆四角錐状に張ったロープの最下部の頂点を連結したシャフトで水平に振とうする。このロープ内に塩ビパイプの枠にロープと同形状のプランクトンネットを張ったものを置いて、この内側に培養水を送り込み、ワムシを濾し取る。

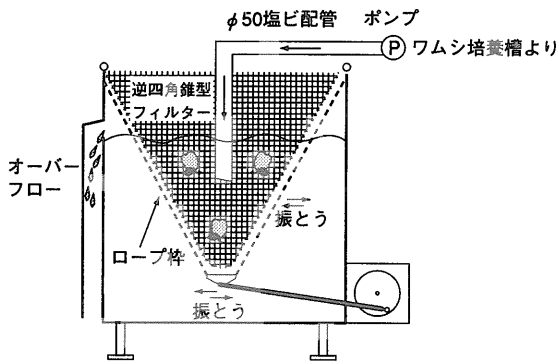


図 II 5-3 目詰まりを機械的な振動により防止するワムシ収穫装置-1の模式図 (栽培漁業機器株式会社製)

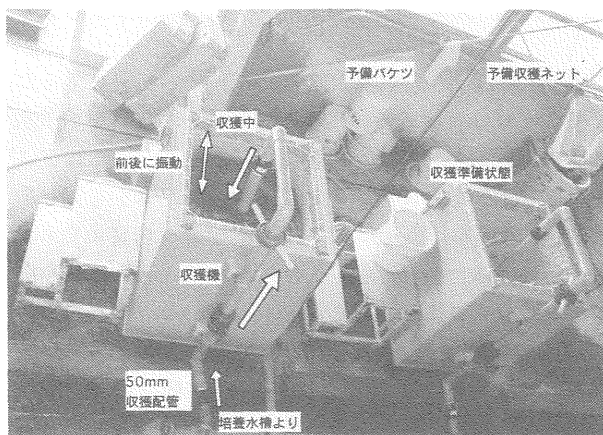


図 II 5-4 目詰まりを機械的な振動により防止するワムシ収穫装置-1による収穫作業 (栽培漁業機器株式会社製ワムシ収穫機)

上浦事業場事例

50m³ 培養水槽からφ100mm 塩ビ配管により接続したラインポンプによって培養水を吸引し、収穫機に約17m³/時間の水量で送る。収穫水量をセンサーで感知して所定水量でポンプが自動停止するように設定している。ワムシの培養不調時に収穫ワムシが二次強化の過程で大幅に減耗する例があったことから、ラインポンプはワムシに対する負荷が大きすぎるように思われる。ポンプの見直しは必要であるが、十数年の使用実績がある。

能登島事業場事例

25m³ 培養水槽からφ100mm 塩ビ配管により接続したモノフレックスポンプによって吸引して、収穫機に約10m³/時間の水量で送る。ある1事例ではこのポンプと収穫機を通ると、0.6~1.3%の個体が死亡し、死亡しないまでもほとんど遊泳しなくなる個体が1.7~2.9%ほど発生し、卵の約半数が離脱した (表 II 5-1)。死亡や衰弱と卵の脱落などのワムシへの悪影響はワムシの活力によって異なる。このような影響は皆無ではないが日常の供給には問題を起こすことなく10年以上にわたって使用している。

表 II 5-1 L型ワムシ小浜株に対するモノスクリュウポンプと収穫機の影響調査

収穫の状況	水量 (ℓ)	個体数 (億個体)	ワムシ密度 (個体/ml)	総卵率 (%)	携卵率*1 (%)	離卵率*2 (%)	複数携卵率 (%)	遊泳不良割合*3 (%)	死亡割合*4 (%)
25m ³ 培養水槽内	8,000	20.9	261	35.1	33.1	1.3	1.9	0.0	0.0
4 m ³ 収穫機で濃縮後①	20	11.9	58,357	32.4	15.2	52.4	0.3	1.7	0.6
4 m ³ 収穫機で濃縮後②	20	9.7	47,286	35.3	14.4	59.3	0.7	2.9	1.3

*1: 携卵率 (%) = (携卵個体数 / 総個体数) × 100

*2: 離卵率 (%) = (離卵数 / 総卵数) × 100

*3: 遊泳不良は時計皿での観察時に体が底面から浮かない個体とした

*4: 死亡割合 (%) = (死亡個体密度) / (ワムシ生個体密度) × 100

5-2-2 目詰まりを機械的な振動により防止する装置-2

ネットの目詰まりを機械的な振とうによって解消する方式である (図 II 5-5, 平本ら 1984)。200ℓ 角形ステンレス水槽内にタモ型のステンレス籠を設置し、その柄の部分に圧縮空気によって水平に振とうする。このステンレス籠内にネットを設置して培養水を送り込み、ワムシを濾し取る。動力が圧縮空気であるため、漏電などの事故を防げるのが特徴である。

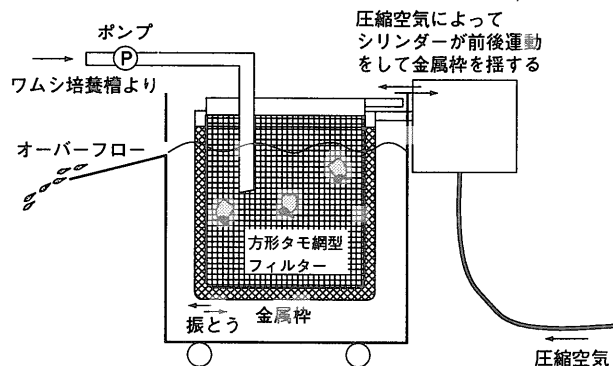
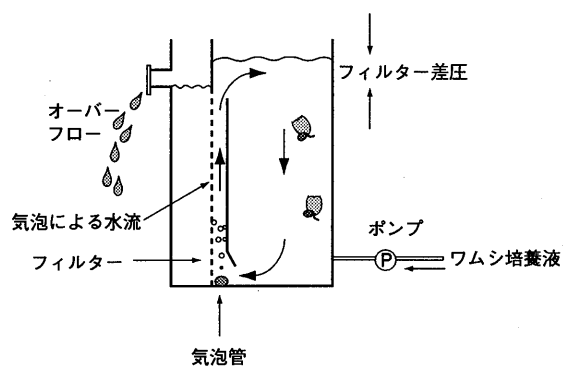


図 II 5-5 目詰まりを通気による振動により防止するワムシ収穫装置-2の模式図 (水産増殖施設株式会社製自動ワムシ採集機WS-200型)

5-2-3 目詰まりを通气による振動により防止する装置

—1

ネットの目詰まりをエアレーションによって解消する方式である（図Ⅱ 5-6）。硬質塩化ビニール製水槽内を垂直のプランクトンネットで2室に区切り、片側に培養水を送り込みワムシを濾し取る。作業終了後は自動的に淡水噴射によるフィルター洗浄が行われ、劣化を防ぐようになっている。



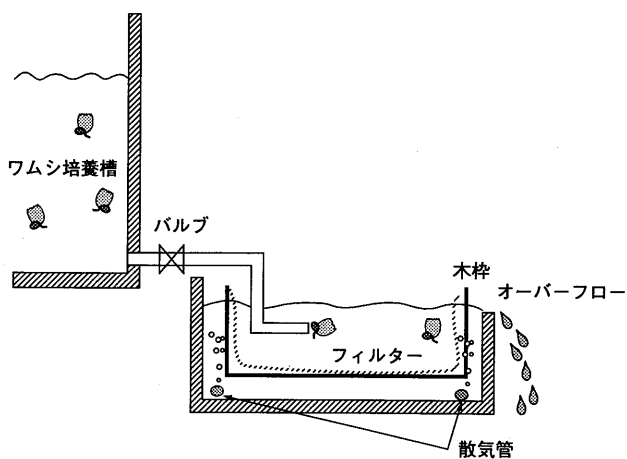
図Ⅱ5-6 目詰まりを通气による振動により防止するワムシ収穫装置-1の模式図（ヤンマー株式会社製全自動ワムシ濃縮装置YPC-1000型）

5-2-4 目詰まりを通气による振動により防止する装置

—2

ワムシ培養槽から採取管で連結した末端に採取槽（2×1×0.5m）を設け、この中にネットロン網を張った木枠箱を沈め、これに90 μ m目合いの箱状のネットを設置し、この中に落差で流入させる（図Ⅱ 5-7）。採取に際してはネットの外側の底面に小孔を開けたエアホースを巡らせて通气し、ネットの壁面を揺すってワムシの吸着を防ぐ。

（桑田 博）



図Ⅱ5-7 目詰まりを通气による振動により防止するワムシ収穫装置-2の模式図（鹿児島県栽培漁業センター自作のワムシ採取装置）

Ⅲ 輸 送

従来、ワムシの輸送が行われるのは、種苗生産盛期にワムシ培養が不調に陥り、供給に支障を来した場合に近隣の余裕のある種苗生産機関に支援を仰ぐ事例が大半であった。トラックに0.1~1m³の輸送水槽を積んで、貴重なワムシを余裕を持って大型水槽に無理のない密度で収容し、輸送していた。

ここでは従来の方法に加えて、日裁協能登島事業場において10~100億個体を宅配便で輸送する方法が開発されたので紹介する。

1 従来の輸送法

1-1 輸送タンクによるトラック輸送

輸送方法はトラックまたはワゴン車に0.2~1.3m³の輸送タンク1~数個を載せるのが一般的である。大量のワムシを緊急に必要な時には活魚トラックを利用することもできる。輸送タンクにはワムシの培養水温に近い温度に調整したナンノクロロプシスまたはろ過海水を入れ、そこにワムシを1,000~3,000個体/mlの密度で収容するのが一般的である。水槽内には空気または酸素通気を行って、ワムシの沈殿を防止するための攪拌及び溶

存酸素濃度の維持を行う。この方法によって3~100億個体のワムシ輸送が可能であるが、職員1~2名が数時間~2日を要する。輸送距離は通常数百km以内に限られる。

1-2 宅配便を利用したビニール袋輸送

ワムシをナンノクロロプシス約10lとともにビニール袋に封入し、これを発泡スチロールの箱に詰めて送付する方法である。L型ワムシで1万個体/ml、容量10lによって1個口当り1億個体の実施事例がある。日裁協上浦事業場から八重山事業場に収容密度を2,400~9,600個体/mlで、航空便によって輸送した事例では着時の生残率は59~81%、着後7日間の平均日間増殖率は11.6%/日であり、増殖能力を保持していることが確認されている(表Ⅲ 1-1)。

また、近年淡水クロレラメーカーがS型ワムシの販売を行っているが、その輸送法は20lキュービテナーに約5,000個体/mlの密度で合計約1億個体/箱を収容し、宅配便を利用するものである。

表Ⅲ 1-1 1991年12月2日に日裁協上浦事業場から八重山事業場に発送したL型ワムシ上浦株の輸送事例

収容時 水温 (℃)	発 送 条 件			発送 ワムシ数 (万個体)	養 時 状 態				養後7日の 平均 日間増殖率 (%/日)	
	ドライアイス 使用量 (kg)	ワムシ 密度 (個体/ml)	水量 (ℓ)		水温 (℃)	ワムシ密度 (個体/ml) 生体 死体	到着 ワムシ数 (万個体)	生残率 (%)		
22.0	0	2,410	10	2,410	18.4	1,788 575	1,788	75.7	8.4	
21.8	0	4,820	10	4,820	18.1	3,000 1,625	3,000	64.9	21.4	
13.2	1	2,410	10	2,410	8.4	1,663 938	1,663	63.9	-8.6	
13.6	1	4,820	10	4,820	8.1	4,088 938	4,088	81.3	18.1	
13.1	1	9,640	10	9,640	6.9	5,878 4,075	5,878	59.0	18.7	
平均	16.7		4,820	10	4,820	12.0	3,283 1,630	3,283		11.6
小計		3		50	24,100			16,417	68.1	

航空便による約30時間輸送

2 高密度宅配法

2-1 目的

10~100億個体を宅配便によって輸送できれば、緊急にワムシが必要になった場合の輸送が容易になるのみならず、全ての種苗生産機関がワムシ株の保存や生産開始前の拡大培養(Ⅱ 2-1-1「培養工程」を参照)を行う必要がなくなる。また、不足分を他機関から配送してもらうことによりワムシの過剰在庫量(Ⅱ 4-3「ワムシの利用率」を参照)の削減による省力化とコスト削減に役立つ可能性がある。また、10~30億個体/日くらいの需要の種苗生産機関であればワムシ培養をやめ、すべて宅配

によるワムシに依存できる可能性もある。この場合でもさらに栄養強化まで行って、到着したワムシをそのまま飼育水槽に給餌することも可能かもしれない。しかし、まだ開発されたばかりなので、様々な条件の検討が必要である。

<ポイント>

ワムシ培養をしない種苗生産場を作れる可能性がある。

2-2 活魚ボックスによる宅配

ワムシを約10万個体/mlに濃縮した状態で活魚輸送用ボックスに収容し、エアポンプにより沈降を防止しながら、クール宅配便によって輸送する方法である。

2-2-1 方法

容器

容器として小口の活魚輸送用に販売されている活魚輸送ボックス（外寸：400×330×241mm）を使用した。専用エアポンプセットは新品のマンガン電池2個の並列使用によって、30～40時間作動する。

宅配するワムシの濃縮手順

- ① 使用するワムシ：培養が好調で活力が高いワムシを使用することが肝要である。減耗が続く状態のワムシでは良好な輸送は期待できない。
- ② 高酸素低温海水の準備：100l アルテミアふ化水槽にろ過海水70lと約30lの海水氷を投入するか、または循環冷却機によって冷却した海水に、純酸素を分散器を通して通気する。DOメーターにより確認しながら、水温0～5℃、DO200%以上に調整する。
- ③ 収穫したワムシの保存：収穫したワムシは梱包作業までバケツ内で空気通気をしながら保存する。この状態での溶存酸素濃度は無酸素に近いが、1～2時間程度は生残や活力に影響しない。
- ④ ワムシの洗浄：ワムシ約10億個体ごとに目合い40～60目のネットを通して大型のごみを除去する。次に、ろ過海水で洗浄して可能な限り懸濁物を除去する（図Ⅲ2-1）。この操作時の海水温度は8～20℃の範囲では特に問題にならない。



図Ⅲ2-1 収穫ワムシの海水洗浄作業

- ⑤ ワムシの冷却：洗浄液の濁りがなくなれば、次に、上記により準備しておいた高酸素低温海水で数回洗浄して入れ換える（図Ⅲ2-2）。この入れ換えの操作によってワムシの濃縮液を高酸素、低温状態にする。約10億個体の洗浄したワムシを6～8lに濃縮してバケ



図Ⅲ2-2 低温高溶存酸素海水への入れ換え作業

ツに収容する。

- ⑥ 輸送中の餌料添加：これに輸送中の餌料として淡水クロレラ20mlを加える。

梱包と発送

上記の濃縮したワムシを活魚ボックスにあわせたらうなぎ輸送用ビニール袋（底面が方形に成形してあるビニール袋）に入れる（図Ⅲ2-3）。バケツに残った濃縮したワムシの液は少量の高酸素低温海水で流し込む。うなぎ袋収容後の液量を8～10lに調整する。この状態の活魚ボックスを運送業者に冷蔵宅配便で依頼する。



図Ⅲ2-3 輸送ワムシの活魚ボックスへの梱包作業
高密度（約10万個体/ml）に濃縮したワムシを「活魚ボックス」に梱包しているところ、蓋内部にエアポンプを内蔵している。

到着したワムシの接種

ワムシを受け取る種苗生産機関ではワムシ培養水槽

に、あらかじめ海水またはナンノクロロプシスを収容して温度調整を行っておく。到着したワムシは直接培養水槽に流し込めば良く、特別な操作は不要である。なお、搬入時の計数は1ℓビーカーの水温約20℃の海水1ℓにサンプル1mlを入れて希釈し、この状態で恒温器などで温度を維持しながら、ワムシの覚醒を待つ。その状態で1～3時間経過後でワムシ密度と生死の割合を計数する。到着直後のワムシはわずかしか遊泳せず、活力が低いように見えるが、それは冷却のためであり、通常の水温度に戻れば活性が回復する。

搬入したワムシの培養

培養槽内に収容したワムシは1～2時間経過すれば運動が活発になり、摂餌も始める(図Ⅲ 2-4)。なお、この時点でワムシ密度が到着時の計数より最大1/2程度少なくなることがある。これは培養水槽壁面に付着したためであり、このような状態でも翌日には遊泳を始め、活性を回復していることが多い。



図Ⅲ 2-4 活魚ボックスにより高密度輸送したワムシを培養水槽に収容して2時間経過した後のワムシ状態
ワムシ密度6.5万個体/mlで収容した活魚ボックスを冷蔵庫で32.7時間保存した。そのワムシを25m³水槽に収容して冷凍ナンノクロロプシスを給餌し、2時間経過した状態。
上段：実体顕微鏡写真、←は死亡個体、下段：生物顕微鏡写真。ワムシはともに薄いゴル液で固定してある

2-2-2 輸送事例

L型ワムシ小浜株の日裁協能登島事業場から宮津事業場への高密度輸送実験

輸送ワムシ

25m³水槽による低密度での粗放連続培養により収穫したワムシ及びそれを数日間25m³水槽に貯めたワムシを供した。培養水温は約24℃であった。このワムシを午前7時30分から収穫機によって濃縮し、前記の方法にしたがって洗浄、冷却、梱包した。

梱包方法

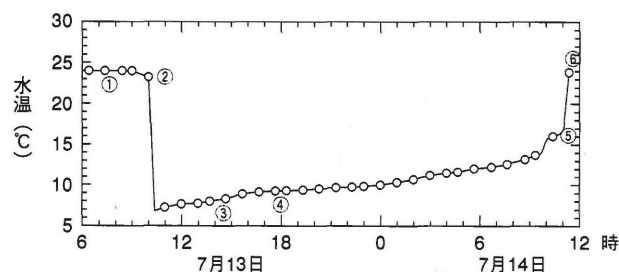
活魚ボックスを使用した。酸素供給には24時間で約20ℓの酸素を発生する酸素発生剤を使用した。活魚ボックス10箱に平均ワムシ密度は12.9万個体/mlで、約105.6億個体を梱包した(表Ⅲ 2-1)。

輸送結果

梱包時に低温海水の洗浄作業によって約6℃まで急激に下がった水温は、日裁協能登島事業場冷蔵庫内の保管を経て、宅配便営業所に持ち込んだ時には約9℃に上昇した(図Ⅲ 2-5)。その後宅配業者の輸送中も連続して水温は上がり、宮津事業場到着時には約14℃に上昇した。着時のpHは約6.2で輸送中にやや低下している。着時も酸素発生剤の酸素放出は続いていたが、溶存酸素濃度は0.0～0.6mg/lであり、ほとんど無酸素に近い状態になっていた。このような高密度条件では溶解する酸素はすぐに消費されるために、溶存酸素濃度の測定値が上がらなかったものと考えられる。しかしながら、到着したワムシ数は87.5億個体、生残率82.9%であった。死亡個体は泡に絡まって干上がったと考えられるものが大半であり、水質悪化などによるものではない。

<ポイント>

1日に100億個体のワムシの宅配に成功した。



図Ⅲ 2-5 日裁協能登島事業場から宮津事業場に高密度輸送したワムシの水温履歴

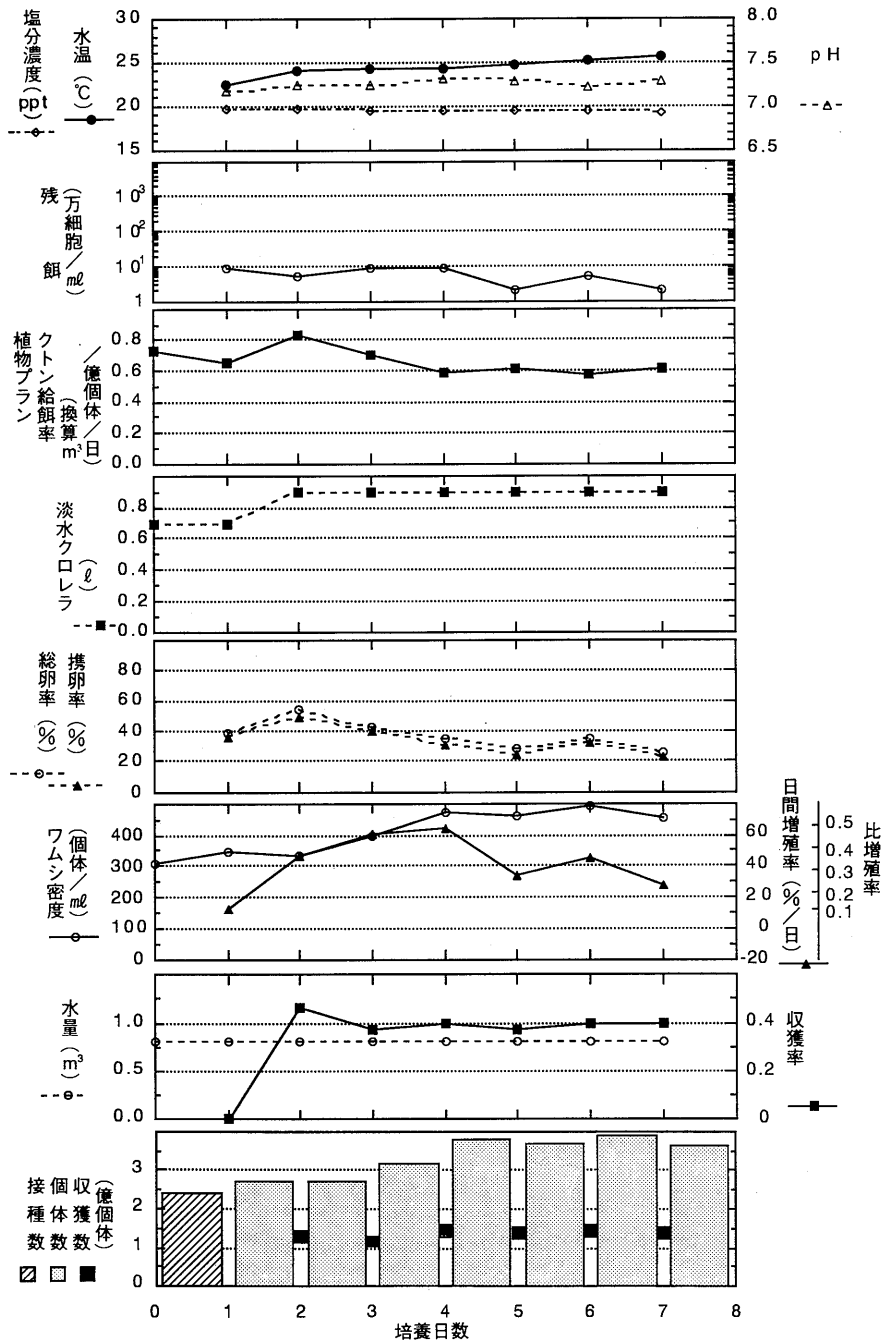
- ①：25m³培養水槽、②：収穫、低水温海水による洗浄作業
- ③：能登島事業場の冷蔵庫に保管、④：宅配業者の営業所に持ち込み
- ⑤：宮津事業場に到着、⑥：培養水槽に収容

2-2-3 着後の培養状況

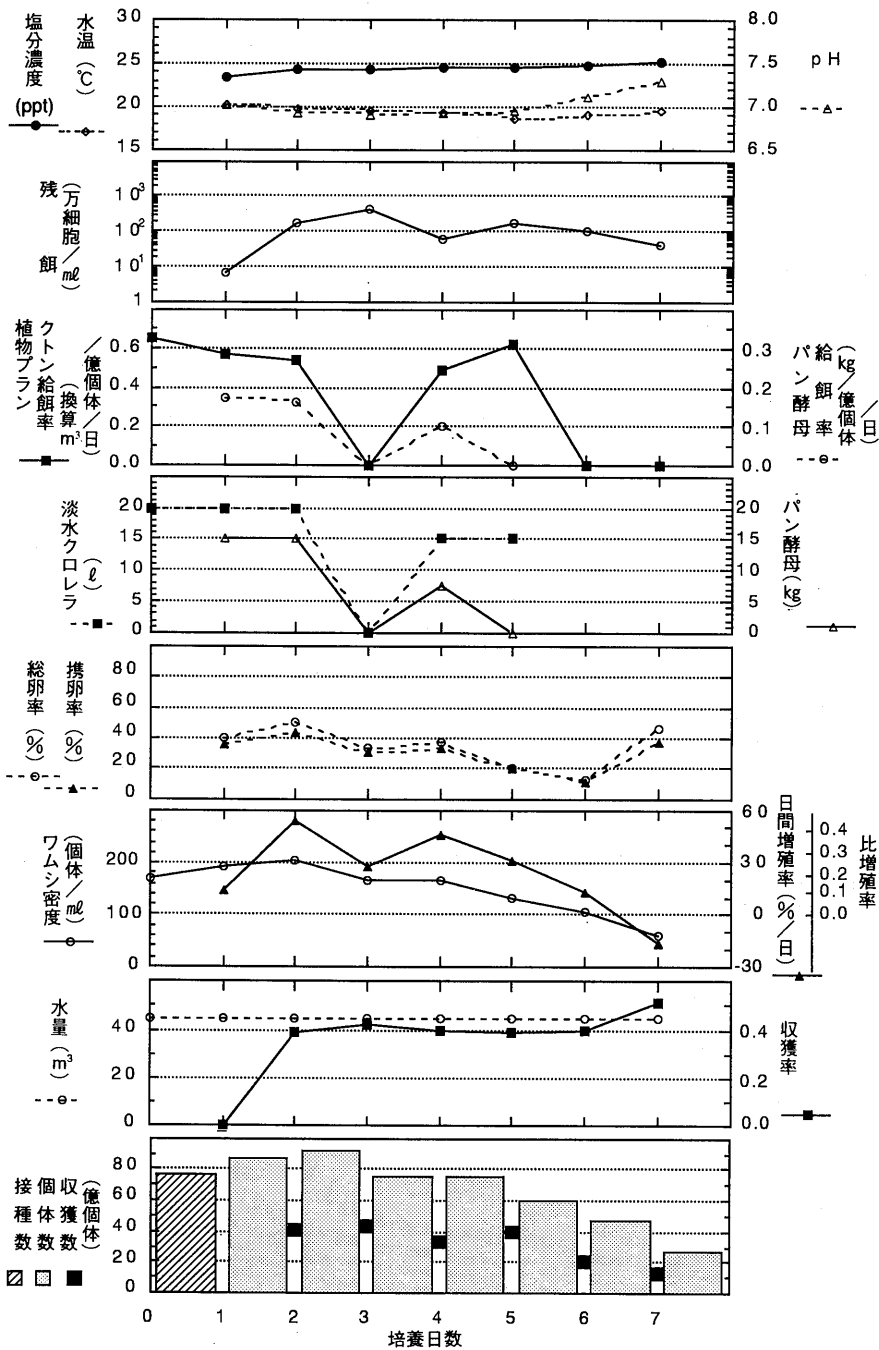
前述のとおり能登島事業場から宮津事業場に輸送されたL型ワムシは50m³水槽(実水量45m³)に86.7億個体(169個体/ml), 1m³水槽(実水量0.8m³)に2.4億個体(307個体/ml)をそれぞれ接種し, 粗放連続培養を開始した(図Ⅲ 2-6, 7)。接種時の水温は約23℃, 培養水は60%希釈海水とし, それぞれ20ℓ, 0.7ℓの淡水クロレラを給餌した。

接種直後のワムシは低温下での(図Ⅲ 2-5)麻酔状態のため活力は低かったが, 1時間後には活発に遊泳し, 摂餌も確認された。翌日には10%以上の増殖がみられ,

卵率も向上していたことから注水(60%希釈海水で40%/日)を開始し連続培養に入った。なお, 餌料は50m³水槽が淡水クロレラとパン酵母, 1m³水槽が淡水クロレラ単独とし, 各々の給餌量は50m³水槽が淡水クロレラを20ℓとパン酵母を15kg, 1m³水槽が淡水クロレラを約0.9ℓとした。50m³水槽は培養2日目から残餌が急増し, 活力が低下したため給餌量を減らすなどの処置を行ったが, 活力, 増殖ともに回復の兆しが見えなかったことから7日目に培養を中止した。この間, 培養水は培養不良時のそれに似た状態(透明感がなく, 水面に泡が出ない)であったが, 6日目まで増殖を続けており, 平均日間増



図Ⅲ 2-6 活魚ボックスにより高密度宅配したL型ワムシ小浜株の1m³水槽での粗放連続培養の結果



図Ⅲ 2-7 活魚ボックスにより高密度宅配したL型ワムシ小浜株の50m³水槽での粗放連続培養の結果

殖率は24.3%/日に達した。50m³水槽での連続培養が安定しなかったのは過剰給餌が原因と考えられる。これに対し1m³水槽では接種当初300個体/mlであった密度が徐々に増加し、450~500個体/mlで安定した。ワムシ

の活力も非常に高く、連続培養が可能であると判断されたことから培養を終了した。期間中の平均日間増殖率は41.7%/日であり、単位生産は1.44億個体/m³/日に達した(表Ⅲ 2-2)。このように、今回の試験で100億個体単

表Ⅲ 2-2 高密度宅配したL型ワムシの日裁協宮津事業場での粗放連続培養結果の概要

水槽	培養水量 (m ³)	培養日数	水温 (°C)	DO (mg/l)	塩分濃度 (ppt)	ワムシ密度 (個体/ml)	平均総卵率 (%)	平均給餌量(/日)		給餌率(/億個体/日)		ワムシ総個体数 (億個体)	平均収穫数 (億個体/日)	日間増殖率 (%/日)	収穫率
								淡水クロレラ (ℓ)	パン酵母 (kg)	淡水クロレラ (ℓ)	パン酵母 (kg)				
1m ³ 水槽	0.8	7	24.4	7.17	19.6	408	37.1	0.85	—	0.27	—	3.2	1.4	41.7	0.35
50m ³ 水槽	45	7	24.4	7.25	19.4	150	34.6	15	7.5	0.14	0.06	67.4	31.8	24.3	0.36

位で高密度輸送したワムシを元種として粗放連続培養するというシステムが機能することが証明された。しかし、接種密度、接種後の給餌量、粗放連続培養を開始する時期などは試行錯誤の段階であり、今後の検討が必要である。

<ポイント>

L型ワムシ約100億個体を活魚ボックス輸送により宅配し、着後1日の安静の後、1週間にわたって粗放連続培養を行い、平均日間増殖率24.42%/日の増殖を確認した。

2-3 重箱輸送

培養ワムシは活魚ボックス輸送と同様な方法で約10万個体/mlに濃縮した状態とし、薄い容器にワムシの濃縮ペーストをうすく広げた状態で収容することによって、沈降してもワムシ同士の沈積が少ない状態とする。これを多段に積み重ねて段ボール箱に梱包し、クール宅配便によって輸送する方法である。

2-3-1 方法

容器

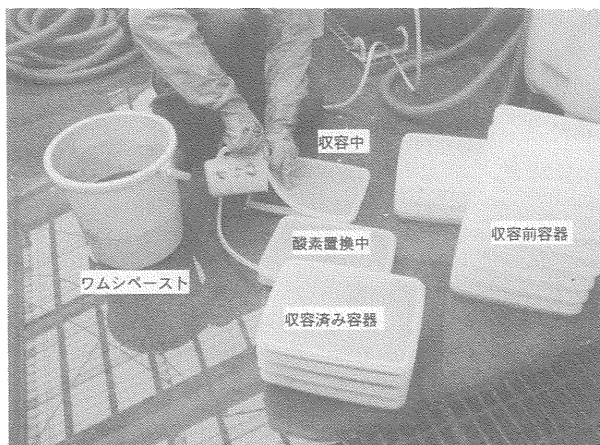
面積が広く、高さが低く、封入可能な容器が望ましい。ここでは外寸242×306×46mm、計算内容積2663mlのプラスチック製密閉容器を使用した。

輸送したワムシ、到着したワムシの接種、搬入したワムシの培養

すべて活魚ボックス輸送と同様である。

梱包と発送

上記プラスチック製密閉容器に、Ⅲ 2-2「活魚ボックスによる宅配」と同様に調整したワムシの濃縮ペーストを厚さ5mm程度に収容し、上部空間の空気を酸素で入れ換える(図Ⅲ 2-8)。このプラスチック製密閉容器18個を段ボール箱1個に収容して冷蔵便で宅配した(図Ⅲ 2-9)。



図Ⅲ 2-8 濃縮したワムシの重箱輸送用容器への収容作業

<ポイント>

沈んでも積もる時間が短ければ、高密度でもワムシは死なない。

2-3-2 輸送事例

1999年1月から1999年7月までにL型ワムシ小浜株では合計40事例、平均ワムシ密度11.1万個体/ml、1回に1～6個口にて5.2～71.7億個体/日、合計1,129億個体を宅配した(表Ⅲ 2-1)。輸送時間は5事例が44～50時間の約2日輸送であるが、他は18～25時間の約1日輸送である。着時の生残率は0.0～129.9%であった。夏季の事例で輸送業者の温度管理が悪く着時の水温が20℃以上の事例が6事例あり、このうち2事例が全滅、1事例が生残率17%であった。高密度なために計数誤差が大きいことと、着後すぐに水槽に接種して計数した事例では水槽壁面へのワムシの付着が計数を困難にしている。しかしながら、到着翌日個体数/発送個体数の比は平均0.99であり、到着翌日にはほぼ発送数と同数が水槽にあることから、十分に実用に耐え得る。この方法による死亡原因は容器の蓋などに付着して乾燥したもの及び高密度のために個体同士が絡まったり、気泡が付着したものと考えられ、約20%ほどの死亡は防げない。

なお、やや大型のL型ワムシ近大株の事例では、収容密度を約半分の約5万個体/mlに下げたが、生残率は51.7%であった。収穫方法を含めて再検討が必要である。

<ポイント>

1～2日間の重箱輸送では約20%の死亡があるものの、到着翌日には発送数に回復する。これより、日本全国へのワムシ宅配の可能性がある。

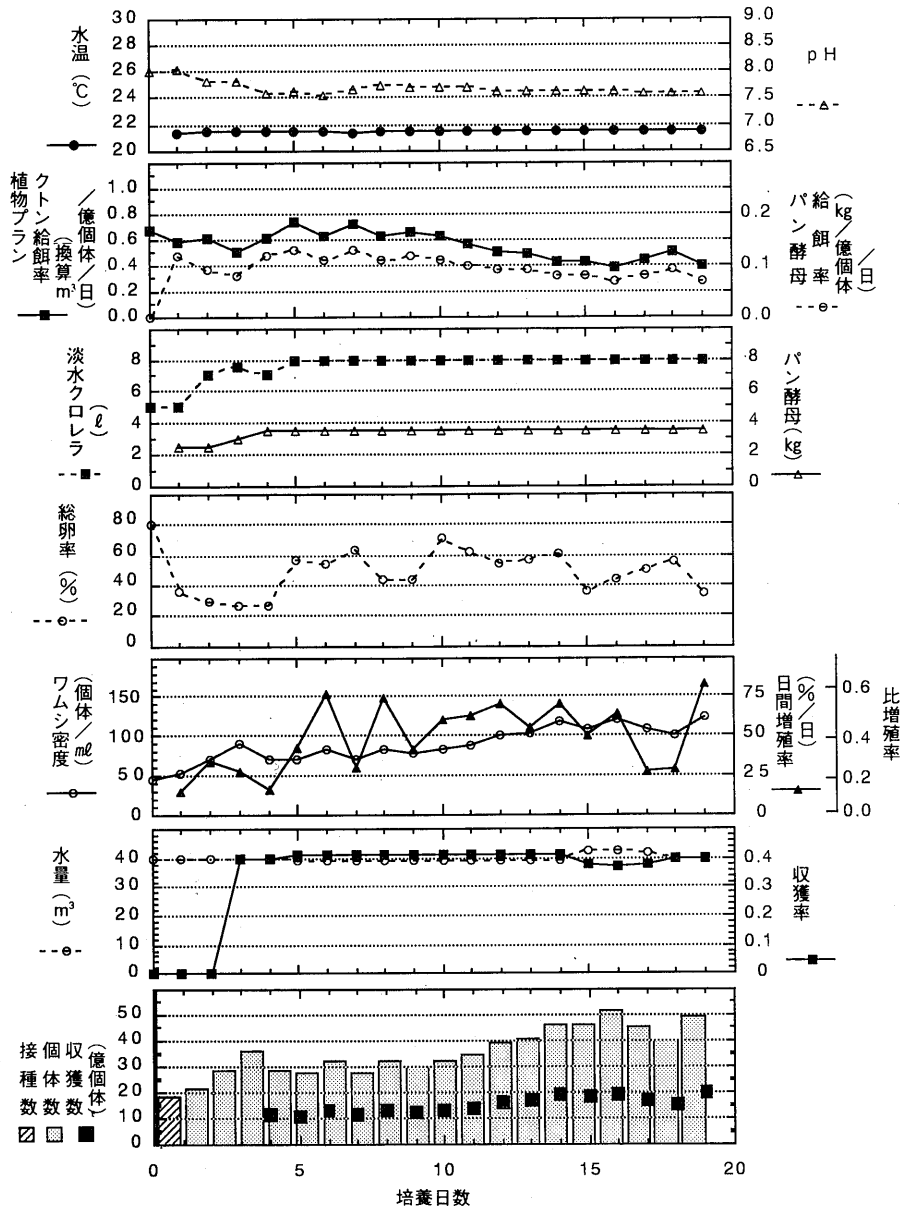
2-3-3 着後の利用状況

培養の元種として使った事例

図Ⅲ 2-10は平成11年2月12日に日裁協能登島事業場



図Ⅲ 2-9 重箱輸送容器の箱詰め作業



図Ⅲ 2-10 重箱輸送したL型ワムシ小浜株の50m³水槽での粗放連続培養の結果

から上浦事業場に重箱輸送により宅配したL型ワムシ小浜株を50m³コンクリート水槽に接種して粗放連続培養を行った事例である。着後19日間の平均日間増殖率49.2%/日を得た。ワムシ密度は46~123個体/mlと低いものの、4日目から連続培養を始め、高く安定した増殖率により、日生産量は15.1億個体/水槽/日(10.9~19.4)であった。需要の約1週間前に搬入すれば供給可能と考えられる。

<ポイント>

重箱輸送ワムシは到着後約1日のリハビリを行えば、翌日以後の培養では平常どおりの増殖をする。

協能登島事業場から玉野事業場に重箱輸送により毎日宅配した事例である。玉野事業場では到着したワムシをすぐに栄養強化槽に接種して、ナンノクロプシスと油脂酵母によって栄養強化を行い、翌日ガザミ用餌料として使用した。栄養分析は行っていないものの、強化剤を十分に摂餌していたことと、二次強化中にワムシ密度が回復していたことより、このような使用方法も可能であると考えられる。

<ポイント>

重箱輸送ワムシは到着後直後から栄養強化を行えば、翌日の給餌に使用できる。

栄養強化後に給餌した事例

表Ⅲ 2-1の平成11年7月10日~7月30日の事例は日裁

(桑田 博)

IV 今後の課題

海産ワムシ類培養の現状については、第二章において代表的な事例が紹介され、またその問題点については「植え継ぎ培養・まとめ(Ⅱ 2-2-3)、間引き培養・まとめ(Ⅱ 2-3-3)」に具体的に述べられ、実際に培養を担当する場合に留意・改良すべき点を知ることができる。本章では、生物生産のより基本的な概念から現行のワムシ培養をとらえ、例えば現時点で得られる情報に飽きたらない人々がより専門的にワムシという生物や培養系という生物システムを究める、あるいはさらに次世代のワムシ培養を開発するといった場合に持っておきたい方向性を示すこととする。

ワムシ培養の目指すところは、それが農林・水産業の一翼を担う行為であるがゆえに、生物生産に共通する技術目標であるところの高い生産性と安定性、そして高品質の製品が得られることに集約される。畑作を例にとるまでもなく、生物生産の生産性や安定性は品種や株といった遺伝的な条件(内的な要因)と、様々な環境条件(外的な要因)が関与する成長の様態によって決定されるが、ワムシ培養の場合には、より具体的に「株の適性」と「増殖の安定性」が最も重要な要素であると言い換えても良いだろう。

1 株の適性

ワムシには様々な増殖特性を示す株が存在し、S型またはL型の同種内でも、増殖至適温度や内的自然増加率に有為な差の認められることが知られている(Ⅰ 3「増殖特性—株間の差—」を参照)。このような温度特性における差異は、実証データに乏しいものの飼育水の塩分や溶存酸素濃度などの主要環境要因に関しても存在すると考えられる。また大きさにも種内変異性が認められる(Ⅰ 1「分類」、Ⅰ 5-4「代謝」を参照)。したがって、まずサイズに関して好適なワムシ株をいくつか選択したうえで、生産機関ごとの培養の様態(温度、塩分、生産性など)に合致するものを採用することが望ましい。しかしながら、ワムシ株の増殖特性の持続性に関してはいまだ不明な部分が多く、「増殖特性—株間の差—(Ⅰ 3)」にも述べたが新しい環境では別の増殖特性を獲得するケースも否定できない。その場合には定期的に増殖特性をチェックしつつ株を保存しなければならないが、様々な特性の株についてこれを実行し、求めに応じて配付・供給する体制を確立すれば一種のジーンバンク、ワムシ供給センターが出来上がることになる。イネや果物などの作物を見れば明らかなように、陸上の農業では早くから品種改良に努め、耐病性や成長特性面で様々な品種のタネや種苗を保存・供給する専門業種を発達させてきた。また集約的生産の極致にあると思われる発酵、醸造

などの微生物工業が細菌株や酵母の改良に努めていることを見れば、水産の世界は極めて遅れた状況にあると言わざるを得ず、いまだ野生生物を扱うに過ぎないといった感さえする。近年、装置による自動運転が可能なワムシ連続培養法も開発されたが、そのクローズド性からみれば、様々な品種の「特定病原生物フリー(SPF)ワムシ」を保存、供給する体制作りも夢物語ではなくなった。

2 増殖の安定性

微生物生態系に対する理解

株の選択が適正であることを前提にすると、生産性を左右する大きな要因は増殖率の低迷と不安定性、再現性の低さに帰結する。我が国では、1960年代から過去40年に近い海産ワムシ培養技術研究の歴史があるにもかかわらず、いまだ培養不調や突然の破綻の起こることも事実である。このことは、ほとんどの研究が魚類のような高等生物の飼育などと同様に、水質化学的環境や物理化学的環境に関して行われて来たことと無縁ではなく、ワムシのような顕微鏡サイズの動物が細菌や原生動物といった微生物生態系のなかで共存、競合しつつ生きざるを得ないという事実に注目しなかったためであろう。「生物的環境(Ⅰ 4-7)」に述べたものを要約すれば、ワムシは餌料を摂餌して排泄することにより飼育水に栄養を与え細菌類の増殖を促すが、反対にB₁₂などの必須ビタミンをはじめとする成長促進物質(Ⅰ 4-7-1「細菌」を参照)を細菌類から供給されている。またワムシは、給餌した単細胞藻類が減少してくるとフロック状に凝集した細菌や鞭毛虫を摂餌し始めるが、それらに対する摂餌率は藻類に対する値に匹敵し、このことが給餌による投入エネルギーの培養槽内リサイクル(Ⅰ 4-8「培養槽の物質フロー」を参照)に寄与している。しかしながら、これらの餌をめぐる連鎖関係の成立は絶え間なく遷移を繰り返している細菌相を考えれば「幸運な」一時期に過ぎず、やがて培養の経過とともに培養槽内に増加する有機物(CODやBODの増加で間接的に知ることが出来る)や様々な化学成分がワムシ群の増殖にとって直接の環境抵抗(Ⅰ 3「増殖特性—株間の差—」を参照)になるのみならず、異なる細菌相の出現をも促し、飼育水の腐敗、毒物の発生などを招くのである。また、ワムシを殺す細菌株や原生動物「太陽虫」(Ⅰ 4-7「生物的環境」を参照)の卓越にも微生物生態系の様態が関係していることは明白である。

微小生物生態系の安定—物質収支による予測—

ワムシ培養槽の微生物生態系は細菌と原生動物によって構成されるが、上に述べたように、ワムシとそれらの関係は相互に影響し合う双方向のものであり、またかか

わりの深さから見てもワムシと細菌、原生動物は同じ「微小生物生態系」の構成員同士であると見なしてもよい(I 4-8「培養槽の物質フロー」を参照)。ワムシ培養水の極めて高いCODやBODを考慮すると、水質変化に最も早くかつ劇的に関わるのは3者のうち細菌の活動であるが、細菌自身も自ら作り出した水質環境によって増殖が制限され、また多種(他株)細菌に好適な環境を与えるなどによって細菌相の遷移が起こっていると考えられる。したがって、ワムシ培養が好調であるときの細菌相が維持できれば生産が安定すると考えられるが、そのためには培養水(細菌にとっては培養液)の栄養状態の安定が鍵となる。言うまでもなくワムシ培養水は極めて富栄養状態にあるが、微小生物生態系を好適に維持できる範囲内にそれを維持するためには、培養槽の物質収支管理が最も重要である。

具体的に現行のワムシ培養を物質収支の観点から考えてみることにする。植え継ぎ培養は、給餌による有機物蓄積に由来する何らかの環境抵抗がワムシ個体群の増殖を制限し始める時期、または増殖が停滞した直後に培養全体を収穫する方法であるから、水中の物質収支は累積給餌量によるinputとフィルターによる有機物除去すなわちoutputの差分によって決まってくる。間引き培養では、累積給餌量とフィルターによる除去の他に、毎日の収穫時に抜き取られた飼育水と収穫ワムシによる有機物除去があり、この操作が毎日一定の割合で行われることにより水質悪化が抑えられている(I 4-8「培養槽の物質フロー」を参照)。高密度の間引き培養が破綻しやすいのは、単位水量当りの給餌量が高いにもかかわらず、収穫による有機物の引き抜きがそれに見合わないためであり、特に増殖率が低い場合に収穫率を落とすことが結果的に飼育水の引き抜き率を下げる事になり、有機物濃度の急激な上昇、さらなる増殖率の低下と言う具合に、破綻を助長する方向へ方向へポジティブフィードバックが起こるからである。

より厳密に物質収支を考えると、ワムシへ同化されて行く分が大きければ水中懸濁物や溶解態の有機物は少なくなり、微生物生態系に対するインパクトは小さくなるはずである。「培養槽の物質フロー(I 4-8)」に紹介した神奈川県栽培漁業センター150m³(1990当時)水槽の間引き培養が高い餌料効率を示しているのは、ワムシ密度を低く設定したために給餌量が少なく、結果的に微生物生態系が安定したために排泄物が細菌を経由してリサイクルされたからに他ならない。このことはさらに水中からの有機物の除去を促し、より一層微生物生態系を安定させる方向へのポジティブフィードバックを働かせたものと考えられる。このことから、物質収支を微生物生態系への影響予測という観点から捉えるために、培養槽内の物質フローをワムシとそれ以外の有機物に分けて取り扱うことが必要と考えられる。

物質収支の定量は乾燥重量や保存性のある元素によって計算する。前者は特別な分析手法を必要としないが特定物質を指すものではなく、厳密な意味では「収支」とは言えない。後者の場合、アンモニア(I 4-5「アンモニア」を参照)や亜硝酸が生物の生理活性に関係が深いこと、また生物体の主要構成元素であることを考慮して窒素(N)を用いるのが適当と考えられる。「代謝(I 5-4)」に餌料及びワムシの乾燥重量、窒素含量の文献値を示したが、それらはワムシの同じ株内でも餌料や温度によって変化することがある(I 3「増殖特性—株間の差—」を参照)。フィルターによって除去される物質量は培養の形態によって大きく異なるため、飼育水中の物質濃度との関係をあらかじめ知っておく必要はあるが、フィルターに捕捉されたものを一定量の水で洗い出して測定すればよい。これらの数値を基に、とくに培養の後半でワムシの増殖率が下がり始める時期とそのときの物質濃度に関するデータを集積しておけば、経験則として培養期間、給餌率を決定する上で参考になるものと考えられる。

微生物生態系安定化への考え方

ワムシを含めた培養槽内の微小生物生態系は、すでに述べてきたように複雑に連鎖しており当然その人為的制御は不可能であるが、構成生物にインパクトを与えないことが無用の遷移を避けるために重要な要素と考えられる。対策を考えるために、今一度、微生物相の安定を阻む要因をまとめてみると、次のようになる。

- ① 高給餌率による有機物濃度の高い環境は、酸素分圧、水温、塩分など物理化学的要素の変動によって微生物生態系の劇的な変化をもたらしやすい。
- ② 給餌によって有機物濃度が日を追って増加するが、連続給餌でなく1日に何回かに分けて給餌するときは、その度に有機物負荷が階段状に跳ね上がる。
- ③ 間引き培養では、ワムシの収穫、新鮮海水の補給によって有機物濃度が劇的に変化する。

これらから、現行の培養形態での安定化には次のことに留意する必要があると考えられる。

- i 物理化学的要素、すなわち人為的管理の及ぶ項目に関して変化させない。恒温は言うまでもないが、塩分がワムシの活性に大きく影響する(I 4-2「塩分濃度」を参照)ことは、摂餌、排泄速度の変化を通じて微生物生態系に変化をもたらす可能性が大きい。酸素分圧は培養の経過に伴うBOD、CODの増加によって次第に低下するが、その様な緩やかな変化はともかく、数分間のエア停止ですら貧酸素状態をまねき生物相の遷移につながると考えられる。さらに高度には酸素曝気によって分圧を強制的に維持する、またpHを調整維持することも生態系の安定という観点からは有効と考えられるが、値の設定によっては今まで知られなかった細菌や原生動物の優占をまねき、逆効果になる

可能性も捨てきれない。

- ii 有機物の抜き取りは、汚水処理における活性汚泥法と同様に細菌のフロックを取り出すことで可能であり、多くの場合フィルターを垂下する方法が採られている。しかしながら、間歇的な給餌に伴う有機物負荷の一時的な上昇には有効ではない。定量ポンプなどを利用した連続給餌が望まれる。
- iii 間引き培養は、収穫によって有機物を抜き取り、注水という手段でさらに有機物を薄めながら培養を継続させる方法であるが、収穫は同時に水中の環境を一時的に変動させる宿命をおっている。高濃度の有機物負荷のもとでは細菌相の劇的変化をもたらしやすく、したがって高密度の間引き培養を行う場合、物理化学的環境の適正・安定化につとめ、かつ間引き率の変動をおさえる、飼育水のみを交換を並行するなどの配慮が必要と考えられる。
- iv ワムシを含めた微生物生態系では、構成生物を結ぶエネルギーの経路が極めて複雑になっているが、食物ピラミッドの頂点に位置する生物はワムシと *Euplotes* 等の大型繊毛虫である (図IV 1)。このうち、ワムシに流れ込むフローを出来るだけ大きく維持できればワムシ培養が成立し、何らかの理由で原生動物や細菌へのフローが大きくなった場合は増殖の停滞や破綻が起こる。一旦そうなると、世代時間の短い生物の方が有利であるから原生動物の優占が続くことになる。人為的に取りうる方策は、培養開始時など有機物濃度があまり高くない、すなわち生態系が比較的安定している時期にワムシへのフローを確立し、生態学的地位

がほぼ等しい繊毛虫へのエネルギーの流れを出来るだけ小さくしておくことのみであるから、ワムシの活性が高くなる培養環境 (I 4「培養環境」を参照) を与えることが重要となる。外海水そのままの高塩分や、あるいは低水温で繊毛虫のみが優占してしまう培養水槽で、淡水の注水や加温でワムシ培養が可能となるケースはこれに該当する。

微生物生態系依存型培養からの脱却

微生物生態系の動向がワムシの大量培養に深くかかわっており、このことが培養の安定性、生産性を左右していることを上に述べた。微生物フリーの培養は大量培養規模では不可能であることを考えると、細菌類と共存しつつも微生物生態系の動態に左右されない、またその代わりに依存もしない大量培養形態を考えることが現実的な解決策と思われる。

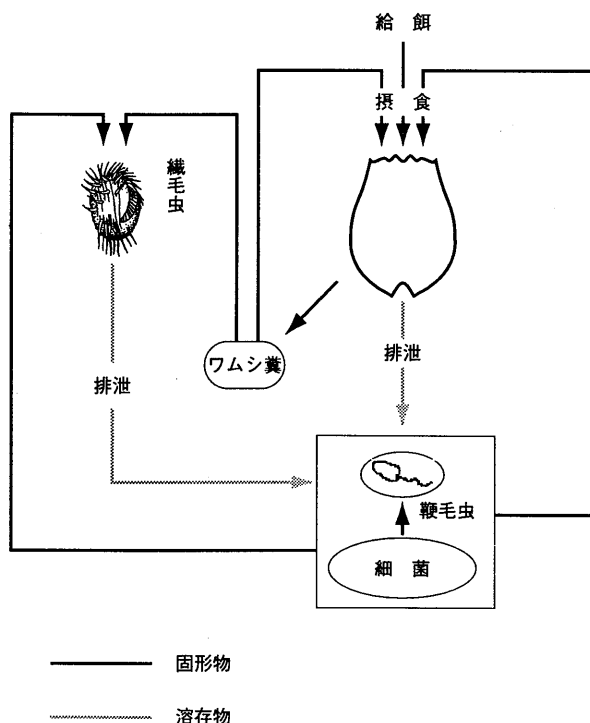
この場合、ビタミン B₁₂ など必須栄養素の供給を共存細菌の産生物に依存せず人為的に添加することは言うまでもなく、ワムシの細菌食による培養槽内での餌料のリサイクルを期待しないのであるから餌料効率も低下する。具体的には次のような形態が考えられる。

① 微生物生態系の遷移を極相 (これ以上遷移できない状態) に持って行く。

最近開発された酸素曝気と pH 調整を併用する福岡方式の高密度培養は、高酸素濃度と低い pH、しかも水中の有機物濃度が極端に高いことから考えて、従来型の培養よりも限られた細菌種のみが増殖可能であると考えられる。この場合に現れる細菌相がワムシに有害なものでない限り培養は安定する。しかし培養成績をみると、現実にはロットごとに収穫量がかなり異なっており、完全に微生物生態系依存から脱却できてはいないと思われる。原因には、給餌によって水中の有機物濃度が次第に変化するため細菌相が不安定になっていることが考えられる。

② 連続培養法を採用する。

植え継ぎ培養、間引き培養を問わず、たとえ温度、塩分、DO などの物理化学的環境を人為的に制御できたにせよ、水中の有機物濃度は給餌によって時々刻々変化することが避けられず、これが微生物生態系の遷移、不安定をまねいていると考えられる。これに対して、連続培養 (II 3「新しく開発された連続培養法」を参照) は、一方から新鮮な海水が流入し他方からワムシとともに培養水が抜き取られるという、魚類飼育で言うところの流水式飼育にも相当する方法であるから、給餌密度がある範囲内であれば有機物の負荷より抜き取り量が大きいため培養槽内の蓄積は起こらない。pH 制御もなく、酸素吹き込みもない培養系で数カ月にわたる高密度培養が可能なのは、水質条件の安定のみならず微生物生態系の安定を物語るものであるが、給水、給餌、収穫などを連続的に行うハードに依存する部分の信頼性が最も重要に



図IV-1 ワムシ培養槽内の食物連鎖

なる。

3 高品位ワムシの生産

従来、収穫されたワムシの品質という問題はほとんど考慮されてこなかった。収穫ワムシをすぐに魚などへ給餌する場合には、ワムシは培養されていたときよりも良好な環境に置かれ、またいわゆるバックグラウンドアルジェ (background algae) として仔魚飼育水に添加されているナンノクロロプシスなどの藻類を摂餌できるため、活性を取り戻すと考えられるが、多くの場合は収穫後2次培養による栄養強化を経験することとなる。ここでは高密度に濃縮されたうえに、時にはワムシにとって有害と考えられる栄養強化剤も使われるためワムシの活性が低い場合には相当量のワムシが死亡することになる。また、2次培養でワムシが摂餌し同化することで栄養強化が行われる藻類、油脂酵母などを用いる場合には、ワムシの摂餌活性が強化の度合いに大きく影響するものと考えられる。現在ワムシに求められる品質とは脂肪酸など栄養価に関わるものであるが、活性の高いワムシは盛んに摂餌することでタンパクなども豊富に取り込んでいるであろうから、脂肪酸のみならず総合的に栄養価が高いとみなしてよい。したがって、ワムシの活性を論じることが同時に品質の向上につながるものと考えて良いだろう。

収穫されたワムシの活性という観点からは、植え継ぎ培養の場合にはその原理から考えて収穫のタイミングに注意を必要とする。この方式では、給餌に伴う有機物負荷の上昇、ワムシの排泄によるアンモニア蓄積などいわゆる環境抵抗 (I 3「増殖特性—株間の差—」を参照) の増加がワムシの増殖を頭打ちにする直前に全量を収穫するのが基本であるが、ほとんどはワムシの増殖が対数増殖期を過ぎてから収穫が行われている。これは、日間増殖率が対数増殖期よりは低いもののいまだ増殖が見られるため培養を継続してしまうからであるが、すでに環境抵抗がワムシの生理的活性を低下させ、それが増殖率の上に表現されていると考えれば、最も活性の低いワムシを収穫する事になる。これに対して、連続培養法はワムシが対数増殖期にあることで成立する培養方式であるから、過剰給餌による破綻寸前の培養を収穫するなどを避ければワムシ活性が大きく変化することはない。間引き培養は環境抵抗を希釈しワムシの活性を維持しつつ継続される培養であるが、日間増殖率が変動するようなケースでは活性の変化も起こっていると考えられる。今後は、「活力 (I 4-10)」に示すような手法で活性の定量化を行い、培養方式の評価、限界密度の設定、収穫法の改善等を行う必要が感じられる。

(日野明德)

文 献

- Aoki, S., and A. Hino (1995) Measurement of the nitrogen budget in the rotifer *Brachionus plicatilis* by using ^{15}N . Fisheries Science, 51, 406-410.
- Aoki, S., and A. Hino (1996) Nitrogen flow in a chemostat culture of the rotifer *Brachionus plicatilis*. Fisheries Science, 62, 8-14.
- De Araujo, A. B., W. G. Gallardo, T. W. Snell and A. Hagiwara (1998) Enzyme activity as a tool for assessing the culture condition of rotifers and fish larvae—a preliminary study. Bull. Aquacult. Assoc. Canada, 98, 30-34.
- Bower, C. E. (1978) Ionization of ammonia in seawater: Effect of temperature, pH, and salinity. J. Fish. Research Board of Canada, 35, 1012-1016.
- Cheng, S.-H. (1997) Studies on the Function of Protozoa in the culture of marine rotifer. 東京大学農学生命科学研究科平成8年度博士学位論文. 172pp.
- Cheng, S.-H., T. Suzaki, and A. Hino (1997) Lethality of the heliozoan *Oxnerella maritima* on the rotifer *Brachionus rotundiformis*. Fisheries Science, 63, 543-546.
- 千原光男・原 慶明・横浜康継 (1987) 初期餌料としての海産クロレラ及び近縁種の分類に関する研究 (昭和61年度農林水産業特別試験研究費補助による研究報告書) 筑波大学 1-17.
- Comps, M., and B. Menu (1997) Infectious diseases affecting mass production of the rotifer *Brachionus plicatilis*. Hydrobiologia, 178-183.
- Doohan, M. (1973) An Energy Budget for Adult *Brachionus plicatilis* Muller (Rotatoria). Oecologia, 13, 351-362.
- Fabregas J., C. Herrero, J. Abalde and B. Cabezas (1985a). Growth, chlorophyll and protein of the marine microalgae *Isochrysis galbana* in batch cultures with different salinities and high nutrient concentrations. Aquaculture, 50, 1-11.
- Fabregas J., C. Herrero, B. Cabezas and J. Abalde (1985b). Mass culture and biochemical variability of the marine microalgae *Tetraselmis suecica* Kylin (Butch) with high nutrient concentration. Aquaculture, 49, 231-244.
- Fabregas J., C. Herrero, R. Liano, and B. Cabezas (1986). Biomass production and biochemical variability of the marine microalgae *Dunaliella tertiolecta* (Butcher) with nutrient concentrations. Aquaculture, 53, 187-199.
- Fu, Y., K. Hirayama, and Y. Natukari (1990) Strains of the rotifer *Brachionus plicatilis* having particular pattern of isozymes. Proceedings of the Second Asian Fisheries Forum, 37-40.
- Fu, Y., K. Hirayama, and Y. Natukari (1991a) Morphological differences between two types of the rotifer *Brachionus plicatilis* O. F. Muller. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 151, 29-41.
- Fu, Y., K. Hirayama, and Y. Natukari (1991b) Genetic divergence between S and L type strains of the rotifer *Brachionus plicatilis* O. F. Muller. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 151, 43-56.
- Fu, Y., A. Hada, T. Yamashita, Y. Yoshida, and A. Hino (1997) Development of a continuous culture system for stable mass production of the marine rotifer *Brachionus*. Hydrobiologia, 358, 145-151.
- 深田哲夫 (1987) クロレラの大量培養と水産への応用. 昭和62年度栽培漁業技術研修事業基礎理論コース, 餌料生物シリーズ No. 1, 日本栽培漁業協会, 1-26.
- 福永恭平 (1990) 種苗生産技術の開発, キジハタ. 昭和63年度日本栽培漁業協会事業年報, 195-199.
- 福所邦彦・岩本 浩 (1980) シオミズツボワムシの大きさの季節変化. 養殖研報, 1, 29-37.
- 福所邦彦・岩本 浩 (1981) シオミズツボワムシの大きさにおよぼす餌の影響. 養殖研報, 2, 1-10.
- 伏見 徹 (1989a) 4.3 システム化への機器開発, 3) 培養液のろ過, 浄化装置. 「初期餌料生物—シオミズツボワムシ」(福所邦彦・平山和次編) 恒星社厚生閣, 東京, pp.132-133.
- 伏見 徹 (1989b) 4.4 ワムシの生産単価. 「初期餌料生物—シオミズツボワムシ」(福所邦彦・平山和次編) 恒星社厚生閣, 東京, pp.133-134.
- 船本浩路・平山和次 (1982) 咀嚼器運動頻度よりみた各種餌料のシオミズツボワムシに対する摂餌誘因性. 水産増殖, 29, 246-250.
- 藤本 宏 (1995) 新しい栽培種として期待される魚類, K17トラフグ (屋島事業場), 1) 陸上飼育. 平成5年度日本栽培漁業協会事業年報, p.203-205.
- 古沢 優 (1989) ワムシの生物学的特性—形態と変異 「初期餌料生物—シオミズツボワムシ」(福所邦彦・平山和次編), 恒星社厚生閣, 東京, pp.16-22.
- 萩原篤志 (1996) 海産ワムシの大量保存と休眠卵の利用. 栽培技研, 24, 109-120.
- 萩原篤志・Shiraishi, D.・李正森・日野明德 (1987) シオミズツボワムシ受精卵の大量形成について. 昭和62年日本水産学会秋季大会講演要旨集, No.407.

- Hagiwara, A., Hino, A. and R. Hirano (1988) Comparison of Resting Egg Formation among Five Japanese Stocks of the Rotifer *Brachionus plicatilis*. Nippon Suisan Gakkaishi 54(4):577-580.
- Hagiwara, A. and A. Hino (1990) Feeding History and Hatching of Resting Eggs in the Marine Rotifer *Brachionus plicatilis*. Nippon Suisan Gakkaishi 56(12):1901-1907.
- Hagiwara, A. and C.-S. Lee (1991) Resting Egg Formation of the L- and S-type Rotifer *Brachionus plicatilis* Under Different Water Temperature. Nippon Suisan Gakkaishi 57(9):1645-1650.
- Hagiwara, A., T. Kotani, T. W. Snell, M. Assavaaree, and K. Hirayama (1995a) Morphology, reproduction and genetics of the tropical minute marine rotifer *Brachionus plicatilis* strains. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 194, 25-37.
- Hagiwara, A., M.-M. Jun, T. Sato, and K. Hirayama (1995b) Interspecific Relations between rotifer *Brachionus rotundiformis* and zooplankton species contaminating in the rotifer mass culture tank. Fisheries Science, 61, 623-627.
- Hagiwara, A., N. Yamamiya, and A. B. De Araujo (1998) Effect of water viscosity on the population growth of the rotifer *Brachionus plicatilis* Muller. Hydrobiologia., 386/387, 489-494.
- 日野明德 (1973) シオミズツボワムシの大きさの変異について. 日本水産学会昭和48年度春季大会講演要旨集, p.73.
- 日野明德 (1981) シオミズツボワムシの分類, 変異および生活史について. 栽培技研, 10, 109-123.
- 日野明德 (1984) 生活史. 「水産学シリーズ44, シオミズツボワムシ生物学と大量培養」(日本水産学会編), 恒星社厚生閣, 東京, pp.22-34.
- 日野明德 (1987) ワムシの生物学と培養上の問題点. 「昭和62年度栽培漁業技術研修基礎理論コース, 餌料生物シリーズ No. 3」東京: 日本栽培漁業協会, pp.22-34.
- 日野明德 (1994) 種苗生産. 「水産学シリーズ100号・現代の水産学」(日本水産学会出版委員会編), 恒星社厚生閣, 東京, pp.124-131.
- 日野明德 (1998) 人にやさしい種苗生産システムの開発. ワムシ連続培養装置. アクアネット, p.45-48.
- Hino, A., and R. Hirano (1976) Ecological studies on the mechanism of bisexual reproduction in the rotifer *Brachionus plicatilis*- I, General aspects of bisexual reproduction inducing factors. Nippon Suisan Gakkaishi, 42, 1093-1099.
- Hino, A., and R. Hirano (1977a) Ecological studies on the mechanism of bisexual reproduction in the rotifer *Brachionus plicatilis*- II, Effect of cumulative parthenogenetic generation on the frequency of bisexual reproduction. Nippon Suisan Gakkaishi, 43, 1147-1155.
- Hino, A., S. Aoki, and M. Ushiro (1997b) Nitrogen flow in the rotifer *Brachionus rotundiformis* and its significance in mass cultures. Hydrobiologia, 358, 77-82.
- Hino, A., and R. Hirano (1980) Relationship between body size of the rotifer *Brachionus plicatilis* and the maximum size of particles ingested. Nippon Suisan Gakkaishi, 46, 1217-1222.
- Hino, A., and R. Hirano (1984) Relationship between body size of the rotifer *Brachionus plicatilis* and the minimum size of particles ingested. Nippon Suisan Gakkaishi, 50, 1138-1144.
- 日野明德・平野礼次郎 (1975) 輪虫類の生活史—とくに両性生殖誘導要因について. 化学と生物, p.516-521.
- 日野明德・野上義男・平野礼次郎 (1981) 廃水処理生成物によるシオミズツボワムシの培養 II—培養槽中の食物連鎖. 水産増殖, 28, 179-183.
- Hino, A., and R. Hirano (1984) Relationship between water temperature and bisexual reproduction in the rotifer *Brachionus plicatilis*. Nippon Suisan Gakkaishi, 50, 1481-1485.
- 平本義春・金巻精一・田畑雅洋 (1984) 培養されたシオミズツボワムシの自動回収装置に関する実験—I ポンプ輸送過程におけるワムシの死亡について. 栽培技研, 13(2), 7-12.
- 平本義春・金巻精一・田畑雅洋 (1985) 培養されたシオミズツボワムシの自動回収装置に関する実験—II 濃縮されたワムシの回収過程におけるワムシの死亡について. 栽培技研, 14(1), 1-6.
- 平本義春・金巻精一・田畑雅洋 (1986) 培養されたシオミズツボワムシの自動回収装置に関する実験—III 模型と大型装置による濃縮, 死亡および回収について. 栽培技研, 15(1), 1-7.
- 平野礼次郎 (1967) クロダイ「養魚学各論」恒星社厚生閣, 東京, pp.694-514.
- Hirata, H., and W. Nagata (1982) Excretion rates and excreted components of the rotifer *Brachionus plicatilis* O. F. Muller in Culture. Mem. Fac. Fish. Kagoshima Univ., 31, 164-174.
- 平田八郎 (1964a) 屋島事業場における餌料生物の培養 (その1). 栽培漁業ニュース No. 2, p. 3-4. 瀬戸内海栽培漁業協会, 神戸.
- 平田八郎 (1964b) 屋島事業場における餌料生物の培養 (その2). 栽培漁業ニュース No. 3, 瀬戸内海裁

- 培養漁業協会, 神戸.
- 平田八郎 (1965) 屋島事業場における餌料生物の培養 (その3). 栽培漁業ニュース'65, 1. 瀬戸内海栽培漁業協会, 神戸.
- 平田八郎 (1980) シオミズツボワムシの作り方. 養殖, 17(3), 35-38.
- 平田八郎・森 保樹 (1967) 食用イースト給餌によるしおみづつばわむしの培養. 栽培漁業, 5, 36-40.
- 平田郁夫 (1989) 餌料の種類と給餌法. 「初期餌料生物—シオミズツボワムシ」(福所邦彦・平山和次編) 恒星社厚生閣, 東京, pp.73-85.
- 平野克己 (1986) シオミズツボワムシの個体数測定. 水産増殖, 34(1), 51-55.
- 平山和次 (1983) 増殖生理. 「シオミズツボワムシ—生物学と大量培養」(日本水産学会編) 恒星社厚生閣, 東京, pp.52-68.
- 平山和次 (1988) シオミズツボワムシ培養に関する最近の知見. 「昭和63年度栽培漁業技術研修基礎理論コース, 餌料生物シリーズ No. 8」日本栽培漁業協会, 東京, pp.1-16.
- Hirayama, K., and S. Ogawa (1972) Fundamental studies on physiology of rotifer for its mass culture. I. Filter feeding of rotifer, Nippon Suisan Gakkaishi, 38, 1207-1214.
- Hirayama, K., K. Watanabe, and T. Kusano (1973) Fundamental studies on physiology of rotifer for its mass culture. III. Influence of phytoplankton density on population growth. Nippon Suisan Gakkaishi, 39(1), 1123-1127.
- Hirayama, K., K. Takagi, and H. Kimura (1979) Nutritional effect of eight species of marine phytoplankton on population growth of the Rotifer, *Brachionus plicatilis*. Nippon Suisan Gakkaishi, 45(1), 11-16.
- Hirayama, K., and H. Funamoto (1983) Supplemental effect of several nutrients on the nutritive deficiency of baker's yeast for the population growth of the rotifer *Brachionus plicatilis*. Nippon Suisan Gakkaishi, 49(4), 505-510.
- Hirayama, K., I. Maruyama, and T. Maeda (1989) Nutritional effect of freshwater *Chlorella* on growth of the rotifer *Brachionus plicatilis*. Hydrobiologia, 186/187, 39-42.
- 広島県水産試験場 (1983) 昭和57年度特定研究開発促進事業. 初期餌料の培養技術開発研究報告書—V, 15pp.
- 広川 潤 (1986) III-2 餌料生物の培養と飼餌料の開発, Dシオミズツボワムシ, (4)上浦事業場. 昭和60年度日本栽培漁業協会事業年報, p.118-120.
- 広川 潤・桑田 博 (1988) III-2 餌料生物の培養と飼餌料の開発, Dシオミズツボワムシ, (2)上浦事業場, 日本栽培漁業協会事業年報昭和61年度, pp.123-127.
- 池田茂則 (1984) シオミズツボワムシの生産力増大を目的とした培養水の再利用に関する試験. 栽培技研, 13(2), 1-6.
- 今泉 均 (1998) 種苗生産技術の開発, 新しい栽培種として期待される魚類, アカアマダイ. 平成8年度日本栽培漁業協会事業年報, 180-181.
- 今田 克 (1983) 大量培養における餌料および環境. 「水産学シリーズ44, シオミズツボワムシ—生物学と大量培養」(日本水産学会編), 恒星社厚生閣, 東京, 129-156.
- 今田 克・影山百合明・渡辺 武・北島 力・藤田矢郎・米 康夫 (1979) 魚介類種苗生産用油脂酵母の開発. 日本水産学会誌, 45, 955-959.
- 石田敏一・渥美正廣 (1994) IX 餌料培養, 2 ワムシ. 平成5年度福井県栽培漁業センター事業報告書, p.55-57.
- 石田敏一・日比野憲治 (1995) 10 餌料培養, 2 ワムシ. 平成6年度福井県栽培漁業センター事業報告書, p.49-52.
- 石田敏一・畑中宏之 (1997) X 餌料培養, 2 ワムシ. 平成7年度福井県栽培漁業センター事業報告書, p.48-51.
- 石神一雄 (1998) シオミズツボワムシの高密度培養試験. 静岡県温水利用研究センター業務報告, p.71-73.
- 石丸克也 (1997) 紫外線による飼育水の殺菌. 「平成9年度栽培漁業技術研修事業基礎理論コース, 種苗期疾病対策シリーズ No.13」(水産庁・日本栽培漁業協会編), 東京, 11, pp.1-6.
- 磯村憲司・鎌口良喜・岩下 徹 (1982) シオミズツボワムシ携帯卵の異常事例とその対策について. 昭和55・56年度熊本県栽培漁業センター事業報告書, 53-59.
- 伊藤史郎・坂本 久・堀 正和・平山和次 (1981) 系統の異なるシオミズツボワムシの形態および増殖適温. 長崎大学水産学部研究報告, 51, 9-16.
- 伊藤 隆 (1960) 輪虫の海水培養と保存について. 三重県立大学水産学部研究報告, 3, 708-740.
- 岩崎英雄 (1979) 浮遊性コペポダ・枝角類の培養. 「餌料用動物プランクトンの大量培養」日本水産資源保護協会編, 東京, pp.34-57.
- 岩本明雄 (1991) III-2 餌料生物の培養技術と配合飼料の開発, Dシオミズツボワムシ, (2)宮古事業場. 平成元年度日本栽培漁業協会事業年報, p.89.
- James, C. M., and T. A. Rezeq (1986) Intensive rotifer cultures using chemostats. Hydrobiologia, 186/187, 423-430.
- James, C. M., and T. A. Rezeq (1989) An intensive che-

- mostat culture system for the production of rotifers for aquaculture. *Aquaculture*, 81, 291-301.
- 神奈川県淡水魚増殖試験場 (1984) 昭和58年度特定研究開発促進事業. 初期餌料の培養技術開発研究報告書 - II, 24pp.
- 神奈川県淡水魚増殖試験場 (1986) 昭和60年度特定研究開発促進事業. 初期餌料の培養技術開発研究報告書 - V, 21pp.
- 川口智治・渡辺哲光 (1986) 海産クロレラの微細構造に関する一考察. *水産増殖*, 34, 57-60.
- 小林真人 (1994) 藻類の濃縮保存と再生について. 日本海ブロック試験研究集録 (水産庁日本海区水産研究所編) 30, 73-81.
- 小林真人 (1995) Aナンノクロロプシス, (2)能登島事業場. 平成5年度日本栽培漁業協会事業年報. 95-98.
- 小磯雅彦・日野明德 (1999) ワムシの活力判定と個体群の増殖予測に関する研究. *水産増殖*, 47(2), 249-256.
- 小久保清治 (1978) 標本の固定と保存, 動物性プランクトン, ルゴール液. 「海洋・湖沼プランクトン実験法」恒星社厚生閣, 東京, pp.129.
- Korstad, J., A. Neyts, T. Danielsen, I. Overrein and Y. Olsen (1995) Use of swimming speed and egg ratio as predictors of the status of rotifer cultures in aquaculture. *Hydrobiologia*, 313/314, 395-398.
- 熊谷厚志 (1986) III-2 餌料生物の培養と飼餌料の開発, Dシオミズツボワムシ, (1)宮古事業場「ワムシ餌料としての珪藻 (フェオダクテラム) の有効性について」. 昭和60年度日本栽培漁業協会事業年報, 109-117.
- Kurokura, H., M. E. C. Paez, and S. Kasahara (1991) The Population Growth of a Rotifer *Brachionus plicatilis* and Life History of Amictic Females. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57, 1629-1634.
- Lubzen, E. (1987) Raising rotifers for use in aquaculture. *Hydrobiologia*, 186/187, 387-400.
- 町田雅春 (1994) III-2 餌料生物の培養技術と配合飼料の開発, Dシオミズツボワムシ, (3)屋島事業場. 平成4年度日本栽培漁業協会事業年報, p.90-91.
- 前田昌調 (1986) 摂食性鞭毛虫, 所謂 Monas と Bodo について. *栽培技研*, 15, 199-211.
- 前田昌調 (1987) 海洋および種苗生産過程に出現する原生動物・繊毛虫類. *栽培技研*, 16, 155-178.
- Maeda, M., and A. Hino (1991) Environmental management for mass culture of rotifer, *Brachionus plicatilis* in 'Rotifer and micro algae culture system. (ed. by W. Fulks and K. L. Main), The Oceanic Institute, Honolulu, pp.125-133.
- Maruyama, I., T. Nakamura, T. Matubayashi, and T. Maeda (1986) Identification of the algae known as "Marine Chlorella" as a member of the Eustigmatophyceae. *Japan J. Phycol.*, 34, 319-325.
- Maruyama, I., Y. Ando, T. Maeda, and K. Hirayama (1989) Uptake of Vitamin B₁₂ by Various Strains of Unicellular Algae *Chlorella*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 55, 1785-1790.
- 丸山 功・金丸彦一郎・中村展男・安藤洋太郎・平山和次 (1990) ビタミンB₁₂含有クロレラ給餌によるシオミズツボワムシの開放培養. *水産増殖*, 38, 227-231.
- 水呉 浩・田中 實・中杉祥子 (1995) ワムシ培養. 平成8年度広島県栽培漁業協会事業報告, p.90.
- 水呉 浩・田中 實・亀田謙三郎 (1997) 12kℓ水槽を使用したワムシの安定高密度培養技術の検討. 平成8年度広島県栽培漁業協会事業報告, p.87.
- 村上啓士・馬久地隆幸 (1988) シオミズツボワムシの大量培養中に見られた卵寄生体について. 昭和62年度広島県栽培漁業協会事業報告, pp.101-108.
- Muroga, K., and H. Yasunobu (1987) Uptake of Bacteria by Rotifer. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 53 (11), 2091.
- ムスタハル・平田八郎 (1991a) シオミズツボワムシ *Brachionus plicatilis* の株別塩分順応性. *水産増殖*, 39, 447-453.
- ムスタハル・西岡義晃・山崎繁久・平田八郎 (1991b) 温度制御と安定給餌によるシオミズツボワムシ (*Brachionus plicatilis*) の順応特性. *水産増殖*, 39, 295-301.
- 長崎県水産試験場増養殖研究所 (1981) 昭和55年度指定調査研究総合助成事業. ワムシの質的向上に関する研究報告書 - II pp.25.
- Nakamura, K., and K. Hatai (1994a) *Atkinsiella parasitica* sp. nov. isolated from a rotifer, *Brachionus plicatilis*. *Mycoscience*, 35, 383-389.
- Nakamura, K., M. Nakamura, and K. Hatai (1994b) *Atkinsiella infection* in the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Mycoscience*, 35, 291-294.
- 日本栽培漁業協会 (1983) (4)餌料生物の培養, Bシオミズツボワムシ. *栽培漁業技術開発の歩み*, p.106-112.
- 日本栽培漁業協会 (1992) Dシオミズツボワムシ. 平成4年度日本栽培漁業協会事業年報. 90-93.
- 日本栽培漁業協会 (1993) Dシオミズツボワムシ. 平成5年度日本栽培漁業協会事業年報. 102-107.
- 日本栽培漁業協会 (1994) Dシオミズツボワムシ. 平成6年度日本栽培漁業協会事業年報. 86-91.
- 日本栽培漁業協会 (1995) Dシオミズツボワムシ. 平成7年度日本栽培漁業協会事業年報. 101-109.
- 日本栽培漁業協会 (1996) Dシオミズツボワムシ. 平成8年度日本栽培漁業協会事業年報. 104-113.

- 野上欣也・福永恭平 (1990) 栽培漁業と新養成技術(3)キジハタの種苗生産. 水産の研究, 9(6), 103-109.
- 野村忠綱 (1976) 餌料生物の培養・飼育法とその研究. 熊本県水産試験場大矢野支場設立10周年記念論文集, 105-128.
- 岡内正典 (1985) テトラセルミス *Tetraselmis tetrahele* の大量培養法と餌料価値. 栽培技研, 14(2), 85-110.
- 岡内正典 (1988) テトラセルミス *Tetraselmis tetrahele* (West, G. S.) Butcher の大量培養に関する研究. 養殖研報, 14, 1-123.
- 岡内正典 (1989) テトラセルミス. 「初期餌料生物—シオミズツボウムシ」(福所邦彦・平山和次編) 恒星社厚生閣, 東京, pp.111-118.
- 岡内正典・福所邦彦 (1984) テトラセルミス *Tetraselmis tetrahele* のシオミズツボウムシに対する餌料価値—1バッチ式培養におけるワムシの増殖. 養殖研報, 5, 13-18.
- 岡内正典・周文堅・郇婉虹・福所邦彦・金沢昭夫 (1990) 異なる増殖相におけるナンノクロロプシス *Nannochloropsis oculata* の栄養価の相違. 日本水産学会誌, 56, 1293-1298.
- 大上皓久 (1976) シオミズツボウムシの形態について. 静岡水試伊豆分場だより, 184, 2-5.
- 大上皓久 (1977) シオミズツボウムシの摂餌量および増殖率と培養温度との関係. 静岡水試伊豆分場だより, 187, 2-5.
- Rothhaupt, K. O. (1993) Rotifers and continuous culture techniques, Model systems for testing mechanistic concepts of consumer-resource interactions in "Plankton Regulation Dynamics". Springer-Verlag, Berlin, pp.178-192.
- Rumengan, I. M. F., and K. Hirayama (1990) Growth response of genetically distinct S and L type rotifer (*Brachionus plicatilis*) strains to different temperatures: "The Second Asian Fisheries Forum" (ed. R. Hirano and I. Hanyu), Asian Fisheries Society, Manila, pp.37-40.
- Rumengan, I. M. F., H. Kayano, and K. Hirayama (1991) Karyotype of S and L type rotifers *Brachionus plicatilis* O. F. Muller. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 154, 171-176.
- Rumengan, I. F. M., Fu, Y., H. Kayano, and K. Hirayama (1993) Chromosomes and isozymes of hypotrioid strains of the rotifer *Brachionus plicatilis*. Hydrobiologia, 255/256, 213-217.
- 佐藤守・吉中禮二・黒島良介・森本晴之・松岡良知・柳川和司・池田静徳 (1984). 養魚初期飼料としてのユーグレナの栄養評価—I, *Euglena gracilis* の栄養成分に及ぼす培養条件の影響. 水産増殖, 32, 83-87.
- Satuito, C. G., and K. Hirayama (1986) Fat-soluble Vitamin requirement of the rotifer *Brachionus plicatilis*. Proceedings of the 1st Asian Fisheries Forum, 619-622.
- Satuito, C. G., and K. Hirayama (1991) Regulation of the amino acid and fatty acid contents of Baker's yeast to improve its nutritive value for the population growth of the rotifer *Brachionus plicatilis*. Bull. Fac. Fish. Nagasaki Univ., 69, 13-20.
- Scott, J. M. (1981) The Vitamin B₁₂ requirement of the marine rotifer *Brachionus plicatilis*. J. Mar. Biol. UK., 61, 983-994.
- 瀬川進・梁元鐸 (1987) 汽水産枝角類 *Diaphanosoma aspinosum* の増殖と塩分との関係. 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.
- Segers, H. (1995) Nomenclatural consequences of some recent studies on *Brachionus plicatilis* (Rotifers, Brachionidae). Hydrobiologia, 313/314, 121-122.
- 代田昭彦 (1975) 水産餌料生物学, 恒星社厚生閣, 東京, p.515.
- Snell, T. W. (1986) Effect of temperature, salinity and food level on sexual and asexual reproduction in *Brachionus plicatilis* (Rotifera). Mar. Biol., 92, 157-162.
- Snell, T. W., M. J. Childress, and E. M. Boyer (1987) Assessing the status of rotifer mass culture. J. World Aquacult. Soc., 18(4), 270-276.
- 塩澤聡 (1990) III-2 餌料生物の培養と飼餌料の開発, Dシオミズツボウムシ, (1)宮古事業場. 昭和63年度日本栽培漁業協会事業年報, p.95.
- 杉本洋 (1989) ワムシの生物学的特性—形態と変異. 「初期餌料生物—シオミズツボウムシ」(福所邦彦・平山和次編) 恒星社厚生閣, 東京, pp.11-16.
- 鈴木実 (1965) 動物系統分類学—4袋型動物. 東京: 中山書店. 287.
- 鈴木実 (1985) シオミズツボウムシにおける諸型と分類学. 遺伝, 39, 52-57.
- 多賀信夫・清水潮・平山和次・日野明徳 (1980) 海産魚介類の種苗生産過程における微生物の役割. 昭和54年度科学研究費補助金(課題番号356130) 研究成果報告書. 45pp.
- 田島迪生・古沢優. 沢矢隆之・石中健一 (1984) III塩素によるワムシ致死濃度. 石川県増殖試験場資料.
- 高橋庸一 (1998a) 「ほっとけ飼育」による種苗生産方法. 平成10年度栽培漁業技術研修事業基礎理論コース,

- 仔稚魚期の発育シリーズ No.14 (ヒラメ仔稚魚の生理生態と種苗生産技術), 日本栽培漁業協会, 東京, p.1-21.
- 高橋庸一 (1998b) ヒラメの種苗生産マニュアル「ほっとけ飼育」による種苗生産方法—栽培漁業技術シリーズ No.4, 日本栽培漁業協会, 東京, p.10.
- 田中啓陽 (1987) シオミズツボワムシのN排泄速度. 水産増殖, 35, 119-124.
- 田中 克 (1972) 消化器官. 水産学シリーズ8「稚魚の摂餌と発育」恒星社厚生閣, 東京, 7-23.
- 丹下勝義・杉野雅彦・永山博敏 (1984) シオミズツボワムシの卵異常による培養不調について. 兵庫水試研究報告, 22, 59-66.
- 照屋和久 (1998) 種苗生産技術の開発, 新しい栽培種として期待される魚類, はた類, スジアラ, 平成8年度日本栽培漁業協会事業年報, 174-176.
- Teshima, S., S. Yamasaki, A. Kanazawa and H. Hirata (1983) Effects of water temperature and salinity on eicosapentaenoic acid level of marine *Chlorella*. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 49(5), 805.
- 手塚信弘 (1998) 種苗生産技術の開発, 新しい栽培種として期待される魚類, クロマグロ, 奄美事業場. 平成8年度日本栽培漁業協会事業年報, 186-194.
- 植田直厚・兼松正衛・照屋和久・有元 操・赤澤敦司・萩原篤志 (1998) 海産ツボワムシ類2種 (いわゆるL, S型) に対するマダイ・イサキ仔魚の摂餌特性. 平成10年度日本水産学会秋季大会. 函館.
- 植木範行 (1975) シオミズツボワムシの大量培養中における大きさの変異について—1. 岡山水試事業報告, 262-266.
- 宇城正和・日野明徳 (1990) シオミズツボワムシの微生物捕食とその意義. 月刊海洋, 22, 20-27.
- Ushiro, M., J.-P. Yu, and A. Hino (1990) Energy feedback in the culture of the rotifer *Brachionus plicatilis*. Proceedings of the Second Asian Fisheries Forum, 157-160.
- Ushiro, M., A. Hino, and M. Maeda (1998) A growth rate and feed habit analysis of the ciliate *Euplotes* sp. contaminating a mass culture of the rotifer *Brachionus plicatilis*. Microbes and Environments, 13, 85-92.
- 白杵孝志・吉村研治・吉松隆夫 (1998) 海産小型ワムシ高密度培養過程における細菌数の変化とその制御. 水産増殖, 46(2), 193-201.
- Walz, N. (1993) Element of Energy Balance of *Brachionus angularis*, in "Plankton Regulation Dynamics" Springer-Verlag. Berlin. pp.106-122.
- 渡辺良朗 (1985) 仔魚の消化吸收機構, 水産学シリーズ 54「養魚飼料」恒星社厚生閣, 東京, pp.89-98.
- 山路 勇 (1982) 標本の固定, 保存および染色方法. 「日本海洋プランクトン図鑑」保育社, 大阪市, pp.488-490.
- 山形陽一 (1973) 生酵母によるシオミズツボワムシの培養—II 増殖に対する培養液の塩素量の影響. 昭和48年度三重県内水試年報, 8-10.
- 山口勝巳 (1983) プランクトンの科学と利用1. 水産の研究, 69-72.
- Yamasaki, S., D. H. Secor, and H. Hirata (1987) Population growth of two types of rotifer (L and S) *Brachionus plicatilis* at different dissolved oxygen Levels. Nippon Suisan Gakkaishi, 53, 1303.
- 山崎繁久・平田八郎 (1985) シオミズツボワムシ (*Brachionus plicatilis*) の摂餌量および増殖率に及ぼす給餌密度の影響. 水産増殖, 32(4), 225-229.
- 山崎繁久・平田八郎 (1986) L型及びS型シオミズツボワムシの摂餌率. 水産増殖, 34(2), 137-140.
- 山崎繁久・竹迫直美・西岡義晃・平田八郎 (1992) 海産クロレラにおける遺伝的相違の電気泳動による検討. 水産増殖, 40, 341-346.
- 山下金義 (1967) マダイ. 「養魚学各論」恒星社厚生閣, 東京, pp.515-524.
- 米田博貴 (1983) 栽培漁業と新養成技術⑥濃縮クロレラの生産・保存方法と利用. 水産の研究, 52-58.
- 吉田満彦 (1989) 大量培養法—大量培養法の類別と事例. 「初期餌料生物—シオミズツボワムシ」(福所邦彦・平山和次編) 恒星社厚生閣, 東京, pp.58-72.
- 吉村研治 (1995a) シオミズツボワムシの高密度大量培養システム (上). 養殖, 114-118
- 吉村研治 (1995b) シオミズツボワムシの高密度大量培養システム (下). 養殖, 116-118
- 吉村研治 (1998) ワムシ培養の最新技術と今後の展望について. 養殖, 42-47.
- 吉村研治・宮本義次・中村俊政 (1992) 濃縮淡水クロレラ給餌によるワムシの高密度大量培養. 栽培技研, 21, 1-6.
- 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. 日本水産学会誌, 60(2), 207-213.
- 吉村研治・大森庸子・吉松隆夫・田中賢二・石崎文彬 (1996) 海産小型ワムシ *Brachionus plicatilis* の高密度培養における好適通気法. 日本水産学会誌, 62(6), 897-903.
- 吉村研治・白杵孝志・吉松隆夫・田中賢二・石崎文彬 (1997a) 遠沈法によるワムシの定量. 水産増殖, 45(2), 171-177.
- 吉村研治・白杵孝志・吉松隆夫・萩原篤志 (1997b) ク

ロレラおよびワムシの遠沈容積に及ぼす塩分の影響. 水産増殖, 45(4), 451-456.

Yoshimura, K., K. Usuki, T. Yoshimatsu, C. Kitajima, and Hagiwara (1997) Recent development of a high density mass culture system for the rotifer *Brachionus plicatilis* Tschugunoff. *Hydrobiologia*, 358, 139-144.

吉村研治・白杵孝志・吉松隆夫・田中賢二・石崎文彬・上村英樹 (1998) ワムシの高密度間引き培養におけるアンモニアと懸濁物およびワムシ現存量の変化. 水産増殖, 46(2), 182-192.

四元忠博・西岡義晃・山崎繁久・平田八郎 (1994) 継代培養におけるL型シオミズツボワムシ *Brachionus plicatilis* の温度順応特性. 水産増殖, 42(3), 433-438.

Yu, J.-P., and K. Hirayama (1986) The effect of Un-ionized ammonia on the population growth of the rotifer in mass Culture. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 52, 1509-1513.

Yu, J.-P., A. Hino, R. Hirano and K. Hirayama (1988) Vitamin B₁₂-producing bacteria as a nutritive complement for a culture of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 54, 1873-1880.

Yu, J.-P., A. Hino, M. Ushiro, and M. Maeda (1989) Function of bacteria as vitamin B₁₂ producers during mass culture of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 55, 1799-1806.

Yu, J.-P., A. Hino, T. Noguchi, and H. Wakabayashi (1990) Toxicity of *Vibrio alginolyticus* on the survival of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 56, 1455-1460.

栽培漁業技術シリーズ No. 6

海産ワムシ類の培養ガイドブック

平成12年3月17日 印刷

平成12年3月24日 発行

発行者 社団法人 日本栽培漁業協会
〒101-0047 東京都千代田区内神田3-14-8
ニシザワビル5階
電話 03 (5296) 3181

印刷 日昇印刷株式会社
〒104-0043 東京都中央区湊1-14-14
電話 03 (3553) 3161