

2.2.5 ツボワムシ培養事例

2.2.5.1 拡大培養事例

10L 槽拡大培養

方法 ツボワムシ滋賀水試株を株保存瓶から 10L 槽に接種し、水温 26℃で 5 日間の拡大培養を行った。方法は 2.2.3.1「10L 槽拡大培養」に準じて行った(図 2-21)。

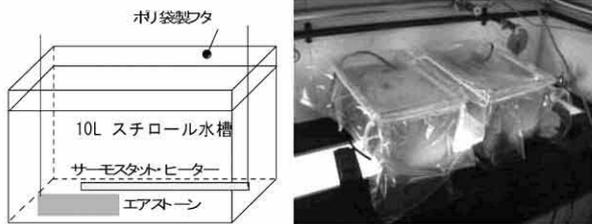
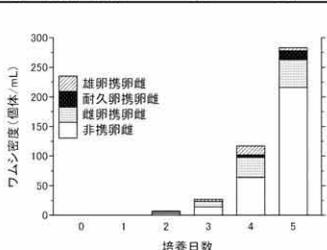


図 2-21 10L 槽拡大培養装置

結果 これまでに 18 回行った 10L 槽拡大培養結果を表 2-3 に示した。培養個体数は平均 239 万個体(最大 390 万個体 最小 79 万個体)となった。事例 4 のワムシ密度の推移を図 2-22 に示した。培養が好調に進むと指数関数的な増殖を示し、この事例では 2~5 日目の平均比増殖率は 1.20、平均日間増殖率は 260.3%となった。一方、事例 12、17、18 は培養不調事例で原因は不明であるが、このような事例もあるため拡大培養は複数で行うことが望ましい。

表 2-3 10L 槽拡大培養事例

事例	培養開始日	培養5日目ツボワムシ密度(個体数/mL)				培養個体数
		非携卵雌	雌卵携卵雌	耐久卵携卵雌	雄卵携卵雌	
1	2005/5/19	272	25	1	4	3,020,000
2	2005/5/19	262	28	3	17	3,100,000
3	2005/5/26	90	42	25	9	1,660,000
4	2005/5/26	216	47	15	5	2,830,000
5	2005/6/30	308	35	6	6	3,550,000
6	2005/6/30	340	35	9	6	3,900,000
7	2005/11/2	231	53	7	9	3,000,000
8	2005/11/2	233	54	5	7	2,990,000
9	2005/11/9	297	26	6	5	3,340,000
10	2005/11/9	196	44	1	11	2,520,000
11	2006/1/16	181	13	19	22	2,350,000
12	2006/4/4	84	7	8	3	1,020,000
13	2006/4/5	145	23	10	4	1,820,000
14	2006/4/5	118	24	18	4	1,640,000
15	2006/5/10	208	6	11	9	2,340,000
16	2006/5/10	159	13	14	17	2,030,000
17	2006/5/25	30	31	3	15	790,000
18	2006/5/25	68	35	2	12	1,170,000



平均 2,392,778
最大 3,900,000
最小 790,000

図 2-22 10L 槽拡大培養のツボワムシ密度の推移

100L 槽ケモスタット式拡大培養

方法 ツボワムシ滋賀水試株を 10L 槽拡大培養から 100L 槽に接種し、水温 26℃で 5 日間の拡大培養を行った。方法は 2.2.3.2「100L 槽ケモスタット式拡大培養」に準じて行った(図 2-23)。

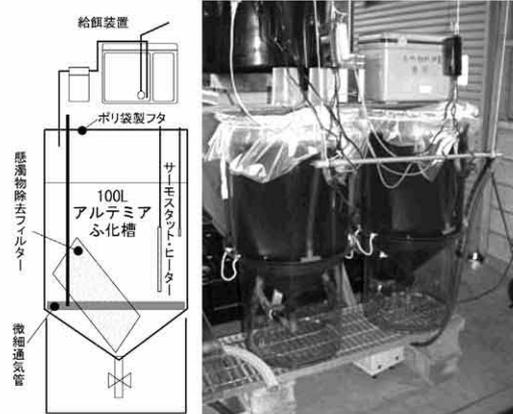


図 2-23 100L 槽ケモスタット式拡大培養装置

結果 これまでに 11 回行った 100L 槽ケモスタット式拡大培養結果を表 2-4 に示した。培養個体数は平均 1.06 億個体(最大 2.13 億個体 最小 0.39 億個体)、平均比増殖率は 0.71、平均日間増殖率は 103.5%となった。給餌管理は、クロレラ残餌密度が 150 万細胞/mL 以下の場合に前日の 2 倍量とすることを基本としているが、培養 1~2 日目には接種の影響と思われる増殖の停滞がみられ、残餌密度が基準より高くなり給餌量の調整を要することが多かった。そのため、順調に推移すれば 5 日間の総給餌量は 1,240mL となるところが、多くの事例で 680mL にとどまった。事例 8 は培養不調事例で、この事例では、計数時に残餌密度の高い日が続き、計画的な給餌量の増量ができなかった。

表 2-4 100L 槽ケモスタット式拡大培養事例

事例	培養開始日	総給餌量 (mL)	接種個体数 (万個体)	培養5日目ワムシ密度(個体数/mL)				培養個体数 (億個体)	比増殖率	日間増殖率 (%)
				非携卵雌	雌卵携卵雌	耐久卵携卵雌	雄卵携卵雌			
1	2005/5/25	680	302	835	398	2	30	1.27	0.75	111.1
2	2005/5/25	680	310	588	310	20	68	0.99	0.69	99.8
3	2005/7/5	680	355	461	227	4	1	0.69	0.59	81.2
4	2005/7/5	680	390	738	283	22	3	1.05	0.66	93.1
5	2005/11/7	640	299	803	250	0	3	1.06	0.71	104.0
6	2005/11/16	1240	350	442	460	0	56	0.96	0.66	93.8
7	2005/12/22	1240	270	1380	537	37	173	2.13	0.87	139.5
8	2006/1/21	500	235	207	141	5	32	0.39	0.56	74.9
9	2006/4/10	680	235	540	285	3	8	0.84	0.71	104.3
10	2006/4/10	680	215	500	290	3	20	0.81	0.73	106.8
11	2006/5/15	680	234	1067	370	20	40	1.50	0.83	129.7
平均			290					1.06	0.71	103.5
最大			390					2.13	0.87	139.5
最小			215					0.39	0.56	74.9

比増殖率 = ln(培養個体数/接種個体数)/5日間

日間増殖率 = (exp比増殖率-1)*100

給餌量の調整によるワムシ密度の調整

100L 槽ケモスタット式拡大培養時に、給餌量を調整することでワムシ密度を調整する試験を行った。なお、この試験は、ケモスタット式の給餌管理を理解するには好適な培養試験で、本格的な培養の前に練習として用いると良い。

方法 培養水槽には、100L アルテミアふ化槽を用い、水温 26℃で 5 日間 (2005 年 11 月 16~21 日) の拡大培養を行った。給餌量は、50%の増殖を期待する培養では前日の 1.5 倍量に (1.5 倍給餌区)、100%の増殖を期待する培養では前日の 2 倍量 (2 倍給餌区) にした。その他の方法は、2.2.3.2「100L 槽ケモスタット式拡大培養」に準じた。

結果 結果を図 2-24 に示した。1.5 倍給餌区では、接種密度は 36 個体/mL で、培養 5 日目には 480 個体/mL となり、日間増殖率は 68.2% となった。一方、2 倍給餌区では、接種密度は 41 個体/mL で、培養 5 日目には 958 個体/mL となり、日間増殖率は 87.2% となった。1.5 倍給餌区の日間増殖率が計画より高くなったが、この試験のように、十分な増殖が得られる環境下では、給餌量によりツボワムシの増殖を制御できると考えられる。また、5 日間の培養での総給餌量は、2 倍給餌区が 1,240mL、1.5 倍給餌区が 528mL であり、2 倍給餌区は 1.5 倍給餌区の 2.3 倍となった。一方、ツボワムシの生産量は 2 倍給餌区が 0.96 億個体、1.5 倍給餌区が 0.48 億個体で、2 倍給餌区は 1.5 倍給餌区の 2.0 倍となり、ほぼ、総給餌量に見合った生産量の培養となった。このように、給餌量の調整で生産量を調整することもできると考えられる。

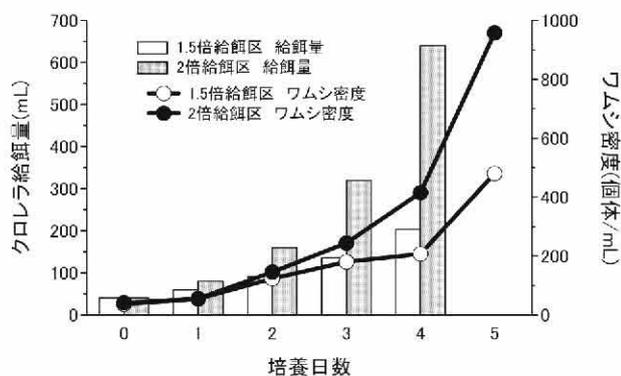
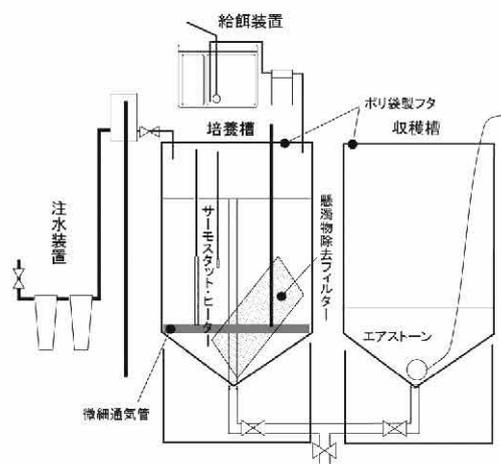


図 2-24 100L 槽ケモスタット式拡大培養における 1.5 倍給餌区と 2 倍給餌区の給餌量とツボワムシ密度の推移

2.2.5.2 連続培養事例

100L 槽連続培養



方法 100L 槽連続培養装置を図 2-25 に示した。培養装置は、100L アルテミアふ化槽を 2 槽用いて培養槽と収穫槽を設け、2 槽を塩ビ管で連結した。培養槽に注水し、そのオーバーフロー分が収穫槽に貯まる構造とした。培養槽には、ヒーターとサーモスタットによる水温調節および



図 2-25 100L 槽連続培養装置

微細通気管によるエアレーションを行った。培養槽中には懸濁物除去フィルターを垂下し、適時洗浄した。培養槽および収穫槽にはポリ袋製のフタをした。給餌は、マイクロチューブポンプを用いた給餌装置によるクロレラの連続給餌を行った。注水は、10 および 0.5 μm 孔径のワインドカートリッジフィルターでろ過した地下水を用い、注水装置のエアコックにより定量連続注水を行った。連続培養期間中は収穫率 0.3~0.4 で運転を行った。接種ツボワムシは従来株を 10L 水槽で拡大培養した 168 万個体を使用した。なお、この培養は 2004 年 2 月 17 日から 3 月 12 日の 24 日間行った。

結果 100L 槽連続培養の結果を図 2-26 に示した。水温は、拡大期のはじめの 5 日間は 20℃、その後は

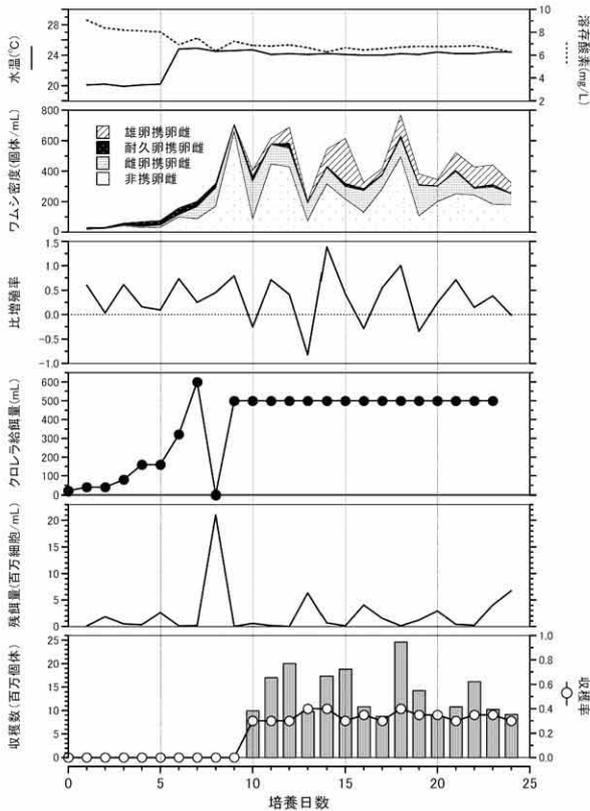


図 2-26 100L 槽連続培養結果

25℃に設定した。培養開始からワムシ密度が 500 個体/mL を超えるまで、給餌量を増加させ、拡大培養を続けた。培養 9 日目にはワムシ密度が 708 個体/mL となったため、注水を開始し、これ以後、連続培養を 15 日間行った。連続培養期の平均収穫率は 0.34、平均ワムシ密度は 468 個体/mL、平均収穫数は 1,378 万個体、平均比増殖率は 0.28 となった。連続培養期のワムシ密度は、約 3 日周期で上下した。これは、約 3 日周期で雄卵や耐久卵を産む両性生殖雌が増えるため、これらは増殖に寄与しないため、これらが増加した翌日に、ワムシ密度は減少した。このように従来株は、連続培養を行うには周期的に不安定な培養となる株である。

1000L 槽連続培養

方法 1000L 槽連続培養は、100L 槽連続培養の拡大型である。1000L 槽連続培養装置を図 2-27 に示した。基本的な培養装置は、1,000L パンライト水槽を 2 槽用いて培養槽と収穫槽を設け、2 槽を塩ビ管で連結した。培養槽に注水し、そのオーバーフロー分が収穫槽に貯まる構造とした。培養槽には、ヒータとサーモスタットによる水温調節および 4m の微細通

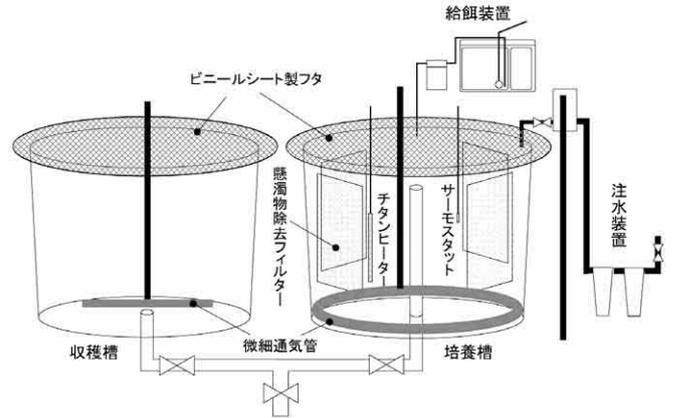


図 2-27 1000L 槽連続培養装置

気管によるエアレーションを行った。収穫槽には、1m の微細通気管によるエアレーションのみで水温管理は行わなかった。培養槽中には、40×50cm の懸濁物除去フィルターを 4 枚垂下し、約 3 日ごとに洗浄した。培養槽および収穫槽にはビニールシート製のフタをした。給餌は、マイクロチューブポンプを用いた給餌装置による連続給餌を行った。クロレラ・イースト併用給餌を行う場合には、イーストをろ過地下水で溶解し、クロレラと混合して給餌タンクに入れた。注水は、10 および 0.5 μm 孔径のワインドカートリッジフィルターを通したろ過地下水を用い、注水装置の小型バルブにより一定量の連続注水を行った。

事例-1

方法 この事例では、微細通気管は、培養槽には 1m のものを 2 本、収穫槽には 1m のものを 1 本使用した。懸濁物除去フィルターは、始め 30×50cm のものを 3 枚垂下したが、10 日目からは 4 枚に、また 27 日目からは 40×50cm のものを 4 枚に変更した。水温は 47 日目までは 25℃、それ以後は 28℃に設定した。接種ツボワムシは、従来株を 10L および 100L 槽で拡

大培養した 0.51 億個体を使用した。なお、この培養は 2004 年 4 月 28 日から 7 月 1 日にかけて 64 日間行った。

結果 1000L 槽連続培養事例-1 の結果を図 2-28 に示した。培養開始後 5 日目から注水を開始し、徐々に注水量を増やした。10 日目まではクロレラ 1L を給餌し、収穫率 0.8 で収穫を行った。この間ワムシ密度は約 100 個体/mL で推移した。その後、クロレラ給餌量を 2L に増やし、収穫率を 0.5 前後で運転したところ、15 日目から 25 日目までは安定状態になり、平均収穫率は 0.56、平均ワムシ密度は 472 個体/mL、平均収穫数は 2.78 億個体、平均比増殖率は 0.62 となった。当初、この程度の密度で安定すれば良いと考えていたが、さらに高密度の培養の可能性が考えられたので、26 日目からは段階的にクロレラ給餌量を 5L まで増加させたところ、ワムシ密度は 1,620 個体/mL に上昇した。34 日目からはクロレラ・イースト併用給餌の可能性を探るため、混合割合を変え、収穫率 0.5~0.7 で培養を続けた。一時的にワムシ密度は低下したが、40 日目以後 54 日目までは安定状態になり、平均収穫率は 0.53、平均ワムシ

密度は 1,611 個体/mL、平均収穫数は 8.54 億個体、平均比増殖率は 0.59 となった。その間、50 日目には注水系のトラブル (エアかみ) により注水量が減少したため、収穫率が低下し、収穫数が減少したが、ツボワムシの増殖に影響は見られなかった。54 日目には最高密度の 2,003 個体/mL となったが、56 日目には溶存酸素量が最小値の 3.23mg/L を示し、比増殖率は急激に低下し、ワムシ密度は、57 日目には 447 個体/mL、58 日目には 167 個体/mL に低下した。57 日目から、給餌をクロレラ単独としたところ、比増殖率とワムシ密度は 59 日目から再び上昇し始め、61 日目には 990 個体/mL に回復した。しかし、クロレラ・イースト併用給餌を再開したところ、比増殖率は再度低下し始めたため、64 日目で培養を終了した。

この事例は、大量生産としての最初の培養であるが、ワムシ密度は 1,500 個体/mL 以上の培養となった。その後、この培養の再現を試み、その結果が以後の事例である。

事例-2

方法 この事例では、収穫率 0.6 で、クロレラ・イースト併用給餌により、1,500 個体/mL 以上のワムシ密度で運転することを目的とした。また、用水に活性炭カートリッジフィルターで脱塩素した水道水を使用した。夏期の培養となり、水温が 29℃ 以上に上昇するため、15 日目から地下水を培養槽の外壁に散水して冷却した。接種ツボワムシは、事例-1 の培養から 4000L 槽改良間引き培養および 1000L 槽連続培養を経た 4.38 億個体である。従って、織毛虫の混入が既に起こっているものを接種した。なお、この培養は 2004 年 7 月 10 日から 8 月 22 日にかけて 43 日間行った。

結果 1000L 槽連続培養事例-2 の結果を図 2-29 に示した。培養開始から段階的にクロレラ給餌量を増やし、早い段階でクロレラ・イースト併用給餌を行った。しかし、併用給餌を行うとワムシ密度は低下した。その後、クロレラ単独給餌を再び段階的に増やし、ワムシ密度が上昇した後、併用給餌を再開すると、再びワムシ密度は低下するということを繰り返した。これは、併用時にはクロレラ 2L とイースト 1kg を給餌しており、この量では培養水量あたりの給餌量が過多となったため、有機物負荷が大きく

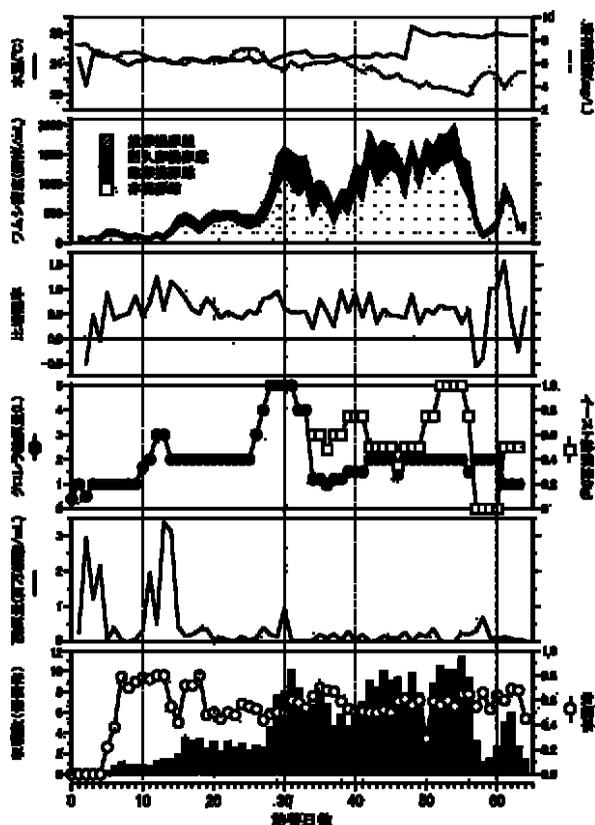


図 2-28 1000L 槽連続培養事例-1 結果

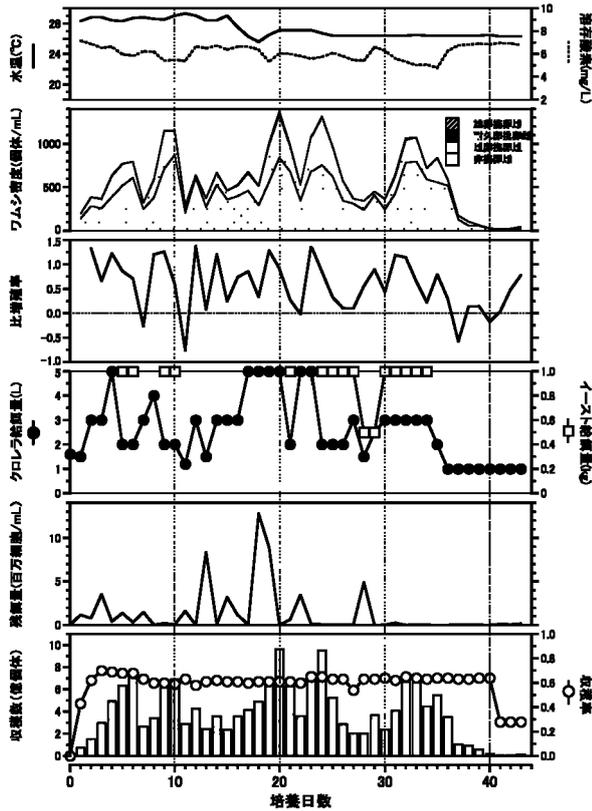


図 2-29 1000L 槽連続培養事例-2 結果

なり水質が維持できなくなったと考えられる。さらに、この状態ではツボワムシの活性が低下するため、残餌により繊毛虫が大増殖し競合が起こっていることも考えられた。また、早期のクロレラ・イースト併用給餌は、培養槽内の細菌相が未発達なために、栄養欠乏と思われる培養不調が起こりやすい(2.2.2.3 ツボワムシ培養の餌料種類「イースト」参照)ことも考えられる。培養期間中、安定状態とならないまま推移し、35日目からはワムシの需要がなくなったため、クロレラ 1L を給餌する減産運転とした。連続培養期になった3日目から減産を行った34日目までの間の平均収穫率は0.63、平均ワムシ密度は713 個体/mL、平均収穫数は4.75 億個体、平均比増殖率は0.64 となった。

事例-3

方法 この事例では、収穫率0.7で、クロレラ単独給餌により、1,500 個体/mL 以上のワムシ密度で安定培養を目的とした。懸濁物除去フィルターは約2日ごとに洗浄した。接種ツボワムシは、滋賀水試株を10L および100L 槽で拡大培養した1.06 億個体を使用した。なお、この培養は2005年11月12日から

12月13日の31日間行った。

結果 1000L 槽連続培養事例-3 の結果を図 2-30 に示した。培養開始から給餌量を段階的に増やし、7日目には、ワムシ密度は1,120 個体/mL となり、以後クロレラ 5L の給餌で安定を試みた。クロレラ単独給餌としたため、培養は安定すると思われたが、9日目には、ワムシ密度は247 個体/mL に急激に低下した。この前日から非携卵雌より雌卵携卵雌の方が多くなり、この日には雌卵携卵個体率が91%となった。これは、水質の悪化等により、卵がふ化できなくなった状態と考えられた。11日目には、ワムシ密度は75 個体/mL に低下したが、給餌を止め再び段階的に給餌量を増やしたところ、再びワムシ密度は上昇した。この復調の初期には、後側方棘の長いツボワムシが多くを占めた。15日目まで順調に増加し、以後、クロレラ 5L の給餌とした。18日目には、ワムシ密度は1,287 個体/mL になり、安定状態となるかと思われたが、21日目から再び急激にワムシ密度は低下しはじめ、23日目には109 個体/mL に低下した。この前日には非携卵の大型の雌ワムシが多くなり、雌卵携卵個体率が0.12%にまで低下した。これは水質の悪化等の原因により、環境抵抗が増大し増

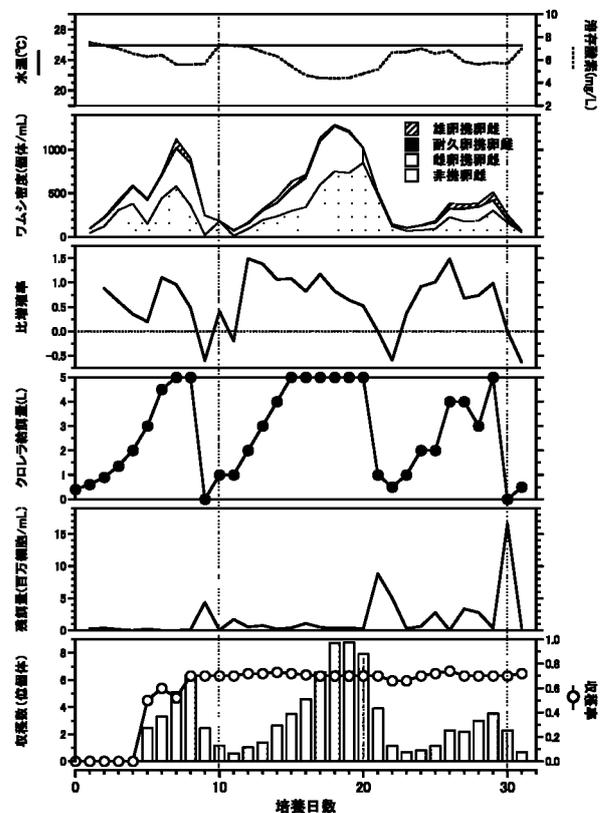


図 2-30 1000L 槽連続培養事例-3 結果

殖率が低下したため、高齢ワムシが多くなった状態と考えられる。その後は、再び給餌量を減らし、段階的に増加させたが、ワムシ密度はあまり上昇しなかった。この頃には培養槽の水質が悪化していたと考えられる。

9日目、21日目の急激なワムシ密度低下の原因は、当初は製造ロットの違いによるクロレラの品質¹⁰⁾を疑い、その後、同一の製造ロットでの培養を試みた。しかし、クロレラ 4L 給餌、収穫率 0.7 および 0.5 の運転でも同様に、目標給餌量に達した 4~5 日後には、急激にワムシ密度は低下した。従って、この原因は、培養水量あたりの給餌量が多すぎるため、クロレラの給餌量に伴う有機物負荷が大きすぎ、この程度の培養水の希釈では水質が維持できない状態と考えられた。

これらのことから、この装置では、クロレラ単独給餌でも給餌量 4L 以上では、水質悪化のため安定状態とならず、1,500 個体/mL 以上のワムシ密度での連続培養は困難であると考えられた。これまでの培養経験から、この装置では、収穫率 0.5~0.7 の運転で、ワムシ密度が 900~1,000 個体/mL 程度までの培養が長期安定すると考えられ、この状態となるクロレラ給餌量は 3.3L と計算された。

事例-4

方法 この事例では、クロレラ 2L とイースト 0.5kg の併用給餌と収穫率 0.5 を基本として 1,000 個体/mL 程度のワムシ密度で安定培養を目的とした。接種ツボワムシは、培養水試株を 4000L 槽改良間引き培養で培養した 0.50 億個体を使用した。なお、この培養は 2006 年 5 月 27 日から 8 月 6 日の 70 日間行った。

結果 1000L 槽連続培養事例-4 の結果を図 2-31 に示した。培養開始からクロレラ給餌量を段階的に増やし、9 日目でクロレラ給餌量が 4L となったため、その翌日からクロレラ 2L とイースト 0.5kg の併用給餌を行った。10 日目から 25 日目までは、ワムシ密度が数日おきに増減を繰り返すケモスタット特有の定常状態を示し、それ以後はワムシ密度は比較的安定した。途中、マイクロチューブポンプの不調により給餌量が減っている日や、注水量に増減があり収穫率が変動しているが、クロレラ 2L とイースト 0.5kg の併用給餌で安定状態となった。イーストは

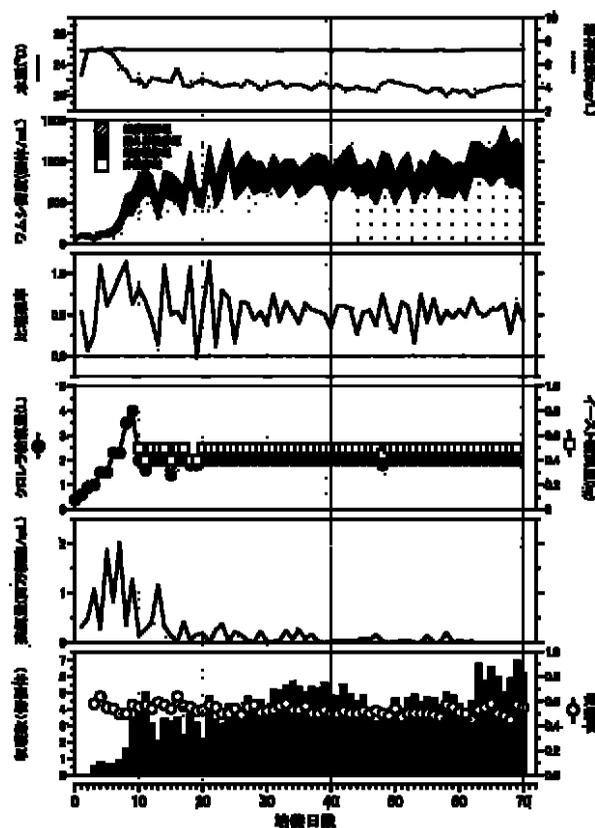


図 2-31 1000L 槽連続培養事例-4 結果

33 日目までは冷凍保管したものを、それ以後は冷蔵保管したものを使用したが、ツボワムシの増殖に影響はなかった。また、繊毛虫等の混入は 3 日目から確認されたが、大増殖はしなかった。これは、給餌量を限界値以下としたことにより、有機物負荷による水質悪化を防ぎ、ツボワムシの活性が高い状態で推移した。そのため、残餌の極めて少ない安定状態となり、繊毛虫の大増殖は抑えられたと考えられる。クロレラ・イースト併用給餌開始の 10 日目から培養終了日の 70 日目までの平均収穫率は 0.53、平均ワムシ密度は 961 個体/mL、平均収穫数は 4.29 億個体、平均比増殖率は 0.54 となった。

2.2.5.3 改良間引き培養事例

100L 槽改良間引き培養事例

方法 この培養は、仔稚魚飼育試験等で大量にワムシを必要としない場合の小規模培養を目的として行った。100L 槽改良間引き培養装置の構造を図 2-32 に示した。培養装置は、100L アルテミアふ化槽を培養槽とし、上部に設置した 50L 容積のクーラーボックスを注水槽とした。注水槽には、チオ硫酸ナトリ

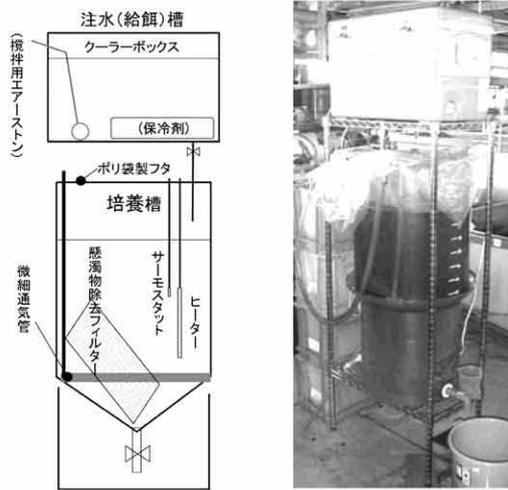


図 2-32 100L 槽改良間引き培養装置

ウムで塩素中和した水道水を貯め、槽の底部に取り付けたエアコックの調整により、約 24 時間で全てを落水させる連続注水の構造とした。培養槽内には、ヒーター・サーモスタットによる水温調節および微細通気管によるエアレーションを行い、30cm×50cm の懸濁物除去フィルタを 1 枚垂下した。培養槽にはポリ袋製のフタをした。培養は、培養水 60L で始め、40L を連続注水し、翌日 40L を収穫する収穫率 0.67 の改良間引き培養とした。

事例-1

この事例は、簡易な装置による、低密度で少量培養を行うことを目的とした。培養装置は、注水槽にクロレラを添加し、注水と共に落水させることで、給餌装置を省いた。なお、注水・給餌槽は、クロレラの沈殿防止のためエアレーションで攪拌を行い、餌料品質の劣化防止のため保冷剤で冷却した。接種ツボウムシは、滋賀水試株を 10L 槽で拡大培養した 499 万個体を使用した。なお、この培養は 2005 年 5 月 31 日から 6 月 17 日の 17 日間行った。

結果 100L 槽改良間引き培養事例-1 の結果を図 2-33 に示した。培養開始 2 日目から注水し、3 日目より収穫を開始した。給餌量を段階的に増やし、6 日目からは、注水槽に添加する給餌量を 100mL で固定した。しかし、注水量が安定しないため、注水・給餌槽にクロレラ水が残り、目標通りの給餌は行えなかった。4 日目から 10 日目までは比較的安定し、平均収穫率は 0.61、平均ウムシ密度は 232 個体/mL、平均収穫数は 845 万個体、平均比増殖率は 0.65 となった。しかし、11 日目にウムシ密度は 37 個体/mL

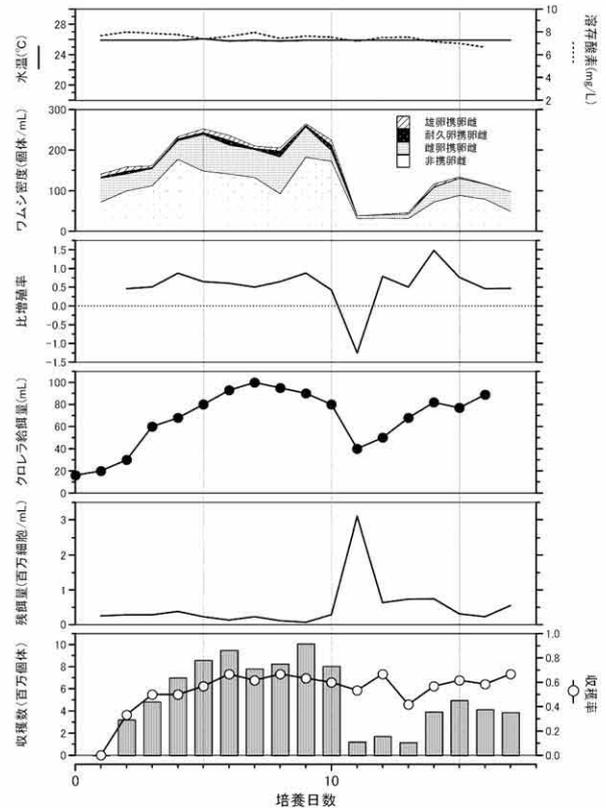


図 2-33 100L 槽改良間引き培養事例-1 結果

まで急低下した。この原因は、この間に、懸濁物除去フィルタの洗浄をしなかったため、有機物の蓄積により水質が悪化したためと考えられる。給餌量を 40mL に減らし、その後、再び給餌量を段階的に増やしたが、10 日目までのようにウムシ密度が 200 個体/mL を越えることはなかった。収穫期間中 (2~17 日目) の平均収穫率は 0.57、平均ウムシ密度は 158 個体/mL、平均収穫数は 550 万個体、平均比増殖率は 0.55 となった。この事例では短期間しか安定しなかったが、簡易な装置での培養は可能であると考えられた。

事例-2

方法 この事例は、マイクロチューブポンプを用いた給餌装置による、クロレラの定量連続給餌を行い、高密度培養を目的とした。接種ツボウムシは、滋賀水試株を 1000L 槽連続培養で培養した 900 万個体を使用した。なお、この培養は 2006 年 6 月 7 日から 7 月 21 日の 44 日間行った。

結果 100L 槽改良間引き培養事例-2 の結果を図 2-34 に示した。培養開始 3 日目から収穫を開始したが、4 日目にはウムシ密度が低下したため、収

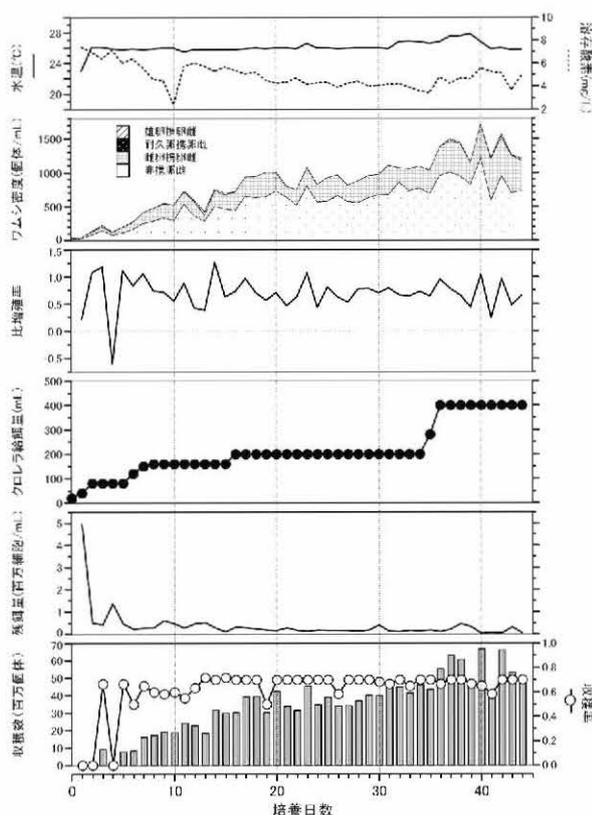


図 2-34 100L 槽改良間引き培養事例-2 結果

穫を取りやめた。その後、給餌量を段階的に増加させ、8日目以後は、給餌量を160mLで固定したところ安定状態となり、9日目から16日目までの平均収穫率は0.65、平均ワムシ密度は625個体/mL、平均収穫数は2,439万個体、平均比増殖率は0.70となった。16日目以後は、給餌量を200mLで固定したところ、安定状態となり、17日目から34日目までの平均収穫率は0.68、平均ワムシ密度は959個体/mL、平均収穫数は3,897万個体、平均比増殖率は0.70となった。34日目からは段階的に給餌量を増やし、36日目以後は、給餌量を400mLで固定したところ、やや増減はあるものの安定状態となり、37日目から44日目までの平均収穫率は0.68、平均ワムシ密度は1,383個体/mL、平均収穫数は5,609万個体/H、平均比増殖率は0.66となった。

クロレラ給餌量を200mLと400mLで固定した時のワムシ密度を比べると、給餌量は2倍にしてもワムシ密度は2倍とはならず1.5倍にも満たなかった。これは、1000L槽連続培養で計算された、培養水量あたりの給餌量(培養水1,000Lあたり給餌量3.3L)を、この装置の培養水量60Lに換算すると給餌量は198mLとなり、400mLでは給餌過多となっていたため

と考えられる。また、給餌量を増加し、ワムシ密度を上げると溶存酸素が低下したため、通気量を増加させたことにより強瀑気となり、ツボワムシにダメージを与えた可能性も考えられる。懸濁物除去フィルターの洗浄を、15日目までは4日、16日目からは3日、33日目からは2日ごとと給餌量が増えるに従い洗浄間隔を短くした。しかし、培養後期には培養槽内に泥状物が蓄積し、収穫時に混入したため、収穫が困難になった。これらのことから、この装置での長期安定培養にはクロレラ給餌量200mL程度までが良いと考えられた。しかし、この事例では、培養水量あたりの給餌量の限界値と考えられる量を超えても、培養が不調とならず安定状態となった。このことから、培養槽の形状や培養方法、底泥や懸濁物の除去による有機物の取り出し等の工夫により、1,500個体/mL以上の連続培養の可能性はあると考えられる。

800L 槽改良間引き培養事例

方法 この培養はニゴロブナ・ホンモロコのみ化槽用の800L水槽(FRP製)を活用し、かつ水道水を使用することを目的とした。水道水の使用は、注水装置の水圧調整を行えば、大半を廃棄することになり水道料金がかさむことになる。そこで、水槽に水道水を貯め、そこから注水を行った。さらに、その槽にクロレラを添加することにより、給餌装置も省略した。800L槽改良間引き培養の構造を図2-35に示した。培養装置は、上部500L槽を注水・給餌槽、下部800L槽を培養槽とした。注水・給餌槽には、チオ硫酸ナトリウムで塩素中和した水道水を貯め、槽

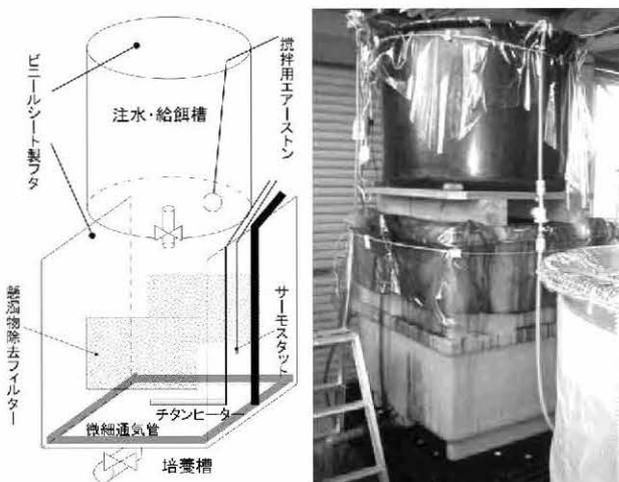


図 2-35 800L 槽連続培養装置

の底部に取り付けた小型のバルブの調整により、約24時間で全てを落水させる連続注水の構造とした。注水・給餌槽にはクロレラを添加し、クロレラの沈殿防止のためエアレーションで攪拌を行った。培養槽は、チタンヒーター・サーモスタットによる水温調節および微細通気管によるエアレーションを行った。また、培養槽には、50×60cmの懸濁物除去フィルターを2枚垂下し、2~3日ごとに洗浄した。培養槽および注水・給餌槽にはビニールシートでフタをした。培養は、培養水400Lで始め、300Lを連続注水し、翌日300Lを収穫する収穫率0.75の改良間引き培養とした。接種ツボワムシは、滋賀水試株を10Lおよび100L槽で拡大培養した0.70億個体を使用した。なお、この培養は2005年4月11日から5月2日の21日間行った。

結果 800L槽改良間引き培養の結果を図2-36に示した。水温は、培養開始から5日目までは25℃、その後は26℃に設定した。開始から3日目までは拡大期とし、4日目から収穫を行った。培養13日目までは注水・給餌槽にクロレラを入れ、水と共に落水させたが、この方法ではワムシ密度は最高で698個体/mLにしか増加せず、2.10億個体までの収穫しか

できなかった。1000L槽連続培養の事例から考えると、培養水量400Lでクロレラを2L給餌すると、ワムシ密度は1,000個体/mLを越え、3億個体以上の収穫が見込めるはずである。培養12日目の約半日経過後に観察を行ったところ、残餌密度が1,815万細胞/mLとなっていた。これは、上部槽からのバルブによる注水・給餌では、注水開始時には、槽内の水位が高く水圧が高いため、注水が多くなり、それと共に給餌が過剰となっていると考えられた。また、この方法ではフロックが多く発生しやすいのも、一時的に過剰な給餌が原因と考えられ、これらのことにより、ツボワムシの増殖阻害が起こっていると考えられた。その後、培養槽から400Lを収穫し、収穫したツボワムシを再び培養槽に戻した後、ろ過地下水で希釈して水量を700Lにした。このため、一時的に水温が若干低下した。14日目からは、マイクロチューブポンプを用いた給餌装置による定量連続給餌とした。給餌方法の切り替え後、ワムシ密度は上昇し、それまでと同量のクロレラ2Lの給餌量で、ワムシ密度は最高1,007個体/mLに達し、3.02億個体の収穫ができた。連続培養期間の4日目から14日目までの間の平均収穫率は0.75、平均ワムシ密度は524個体/mL、平均収穫数は1.57億個体、平均比増殖率は0.87、給餌方法の切り替え後の15日目から22日目までの間の平均収穫率は0.75、平均ワムシ密度は862個体/mL、平均収穫数は2.59億個体、平均比増殖率0.87となった。

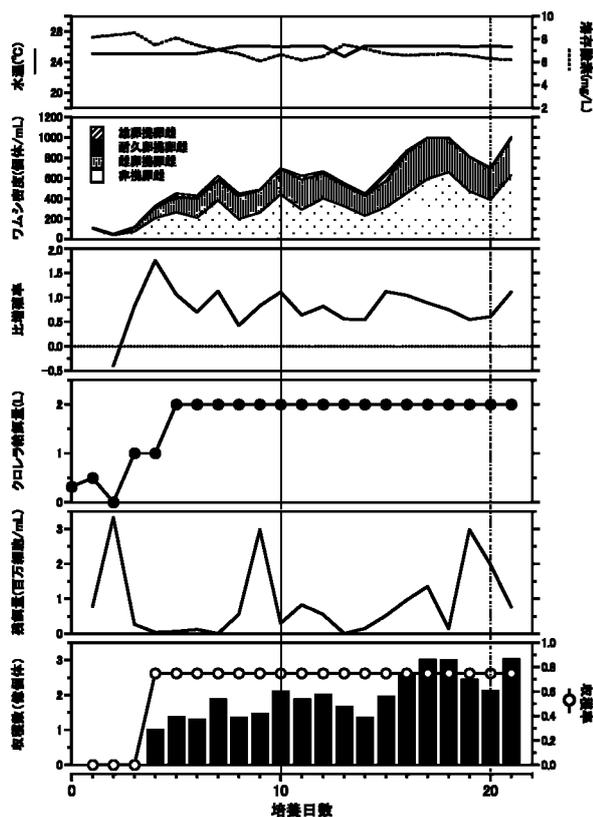


図2-36 800L槽改良間引き培養結果

1000L槽改良間引き培養

方法 この培養は100L槽改良間引き培養の拡大型で、1000L槽連続培養装置から収穫槽を省いた装置とした。1000L槽改良間引き培養装置の構造を図2-37に示した。1,000Lパンライト水槽を培養槽とし、ヒーターとサーモスタットによる水温調節および4mの微細通気管によるエアレーションを行った。培養槽中には、30×50cmの懸濁物除去フィルターを2枚垂下し、約3日ごとに洗浄した。給餌は、マイクロチューブポンプを用いた給餌装置によるクロレラの連続給餌とした。注水は、10および0.5μm孔径のワンドカートリッジフィルターを通したろ過地下水を用い、注水装置の小型バルブにより一定量の連続注水を行った。培養槽にはビニールシート製のフタをした。培養は、培養水600Lで始め、400L

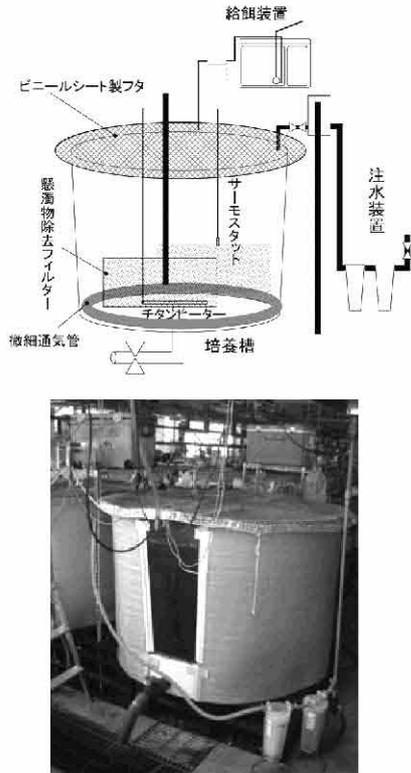


図 2-37 1000L 槽改良間引き培養装置

を連続注水し、翌日 400L を収穫する収穫率 0.67 の改良間引き培養とした。接種ツボワムシは滋賀水試株を 4000L 槽改良間引き培養で培養した 0.42 億個体を使用した。なお、この培養は 2006 年 6 月 14 日から 7 月 9 日の 25 日間行った。

結果 1000L 槽改良間引き培養の結果を図 2-38 に示した。培養開始から段階的に給餌量を増やしたが、拡大期・移行期にワムシ密度は順調に上昇せず、目標給餌量のクロレラ 2L に達するまで 9 日間を要した。しかし、それ以後は安定状態となった。21、22 日目には計数時に後側方棘の長い個体が多く観察された。これは、水質の悪化等の環境の変化が起っていたものと考えられる。その後、23 日目からワムシ密度は急激に低下し、25 日目には 4 個体/mL にまで低下したため、培養を中止した。23 日目以後の急減期には、複数携卵雌が多く、仔虫が見られなくなった。また、脱落卵が多く、卵の中に空洞がある異常卵が見られた。これは、水質の悪化等により、卵がふ化できなくなっている状態と考えられた。安定期の 9 日目から 22 日目までの間の平均収穫率は 0.65、平均ワムシ密度は 619 個体/mL、平均収穫数は 2.38 億個体、平均比増殖率は 0.70 となった。

この 1000L 槽改良間引き培養は、100L 槽改良間引

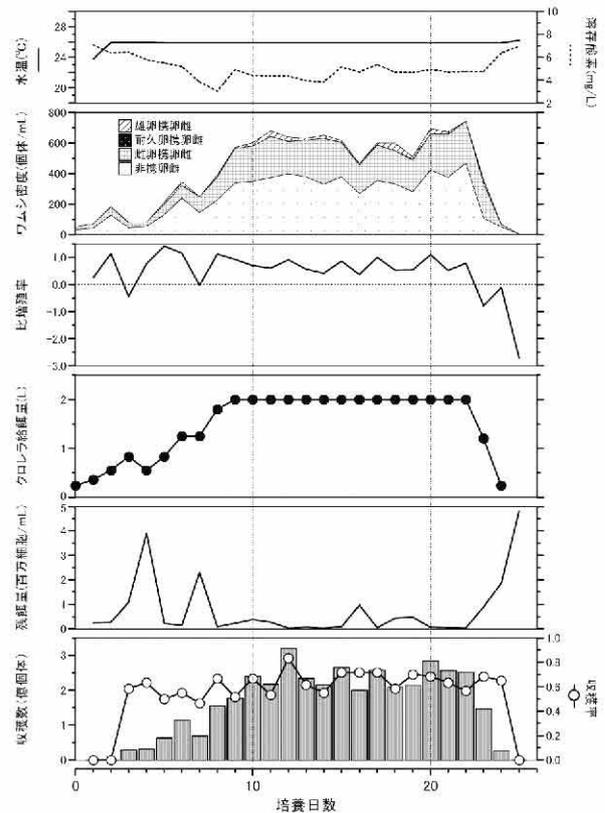


図 2-38 1000L 槽改良間引き培養結果

き培養の拡大型として培養を行ったが、100L 槽改良間引き培養を単純に 10 倍にした培養にはならなかった。連続培養期の平均ワムシ密度は、100L 槽改良間引き培養のクロレラ 200mL 給餌時の 0.65 倍にしかならず、安定した期間は 14 日間と短く、極端な培養不調により終了した。この原因として、100L アルテミアふ化槽は、V 底で収穫と共に底泥が流れ出すが、1000L パンライト水槽は、平底で底泥が蓄積されやすく、これが水質の悪化をもたらしたと考えられる。また、1000L パンライト水槽は、比較的平たい構造で、収穫後に水深が浅くなるため、エアレーションの通気量と水流が著しく変わることになり、培養槽内の環境が安定しにくいことも考えられる。高密度で改良間引き培養を行うには、底泥の流れ出しやすい構造で、縦型の深めの水槽が適していると考えられる。

4000L 槽改良間引き培養

方法 この培養は、屋外で温度調節を行わずに培養することを目的とした。4000L 槽改良間引き培養装置の構造を図 2-39 に示した。基本的な培養装置は、FRP 製 4000L 水槽を培養槽とし、水温調節は行

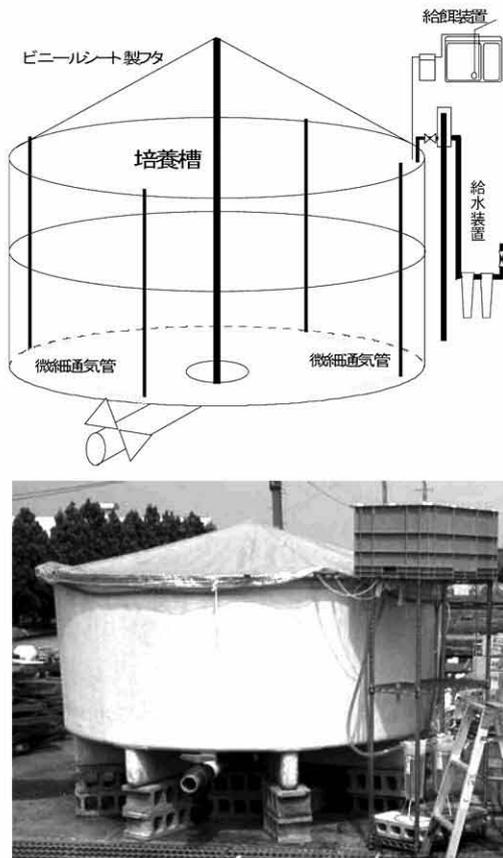


図 2-39 4000L 槽改良間引き培養装置

わずに直射日光下の屋外に設置した。培養槽には 50cm 微細通気管 4 本でエアレーションを行った。懸濁物除去フィルターは使用せず、弱通気とすることにより、懸濁物を沈下させた。培養槽には、降雨の流入や空気中からの原生動物等の混入防止のため、ビニールシート製のフタをした。給餌は、マイクロチューブポンプを用いた給餌装置による連続給餌とした。注水は、10 および 0.5 μm 孔径のwindカートリッジフィルターを通したろ過地下水を用い、注水装置の小型バルブによる一定量の連続注水を行った。培養は、培養水 2,000L で培養を始め、1,000L を連続注水し、翌日 1,000L を収穫する収穫率 0.5 の改良間引き培養とした。収穫率は、屋外での粗放培養のため、水温が安定しないと思われたので 0.5 を基本とした。水温の測定は、自記録温度計 (T&D TR-51A) により 1 時間ごとの測定を行った。

事例-1

方法 この事例では、用水に 50、10 および 0.5 μm 孔径のwindカートリッジフィルターでろ過した琵琶湖水を用いた。給餌量は、クロレラ 1.5L とイースト 0.75kg の併用給餌を基本とした。接種ツボワ

ムシは、従来株を 1000L 槽連続培養で培養した 1.67 億個体を使用した。なお、この培養は 2004 年 6 月 10 日から 6 月 26 日の 16 日間行った。

結果 培養結果を図 2-40 に示した。拡大期にワムシ密度は順調に上昇し、3 日目にはワムシ密度は 1,393 個体/mL に達し、3 日目より注水を開始した。4 日目からは収穫を開始し、クロレラ・イースト併用給餌を開始した。6 日目にはエアレーションが止まり、溶存酸素が 0.28mg/L にまで低下したが、ワムシ密度は極端に低下することはなかった。また、6 日目には日中に水温が 30°C を越えたため、7 日目から培養槽上部に遮光シートを設置し、日射による水温の上昇を防いだ。収穫開始以後、ワムシ密度は低下したが、7 日目以後は 700 個体/mL 程度のワムシ密度で安定するかと思われた。しかし、11 日目には、台風が通過し、それ以後、急激に繊毛虫が大増殖し、一方、ワムシ密度は低下した。15 日目にはツボワムシの死骸が多くなり、ワムシ密度は 36 個体/mL と急激に低下し、16 日目にはワムシ密度は 17 個体/mL となったため、培養を中止した。比較的安定した 4 日目から 14 日目までの間の平均収穫率は 0.48、平均ワムシ密度は 725 個体/mL、平均収穫数は 6.81 億

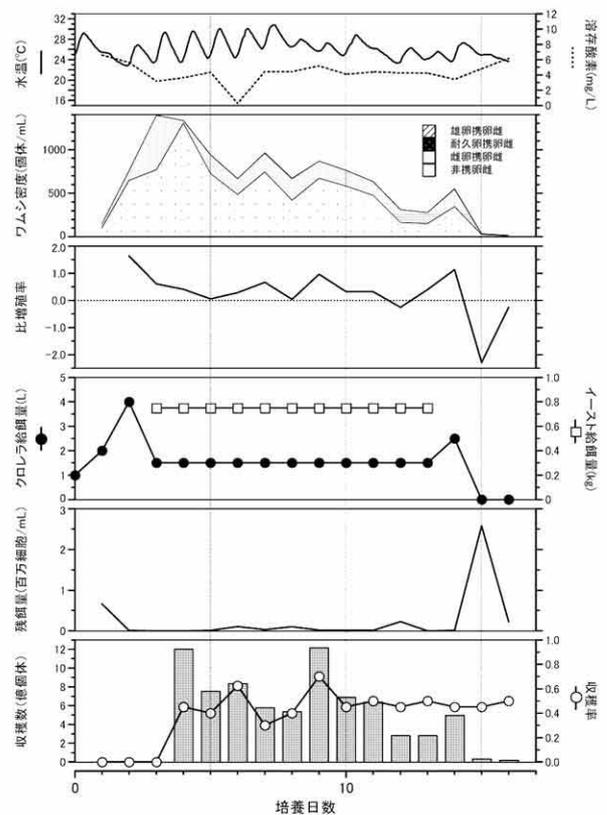


図 2-40 4000L 槽改良間引き培養事例-1 結果

個体、平均比増殖率は0.39となった。

この装置では弱通気を行っており、ワムシ密度が700個体/mL以上では酸素不足となるため、500個体/mL程度までの培養が良いと考えられる。また、琵琶湖水の使用は、カートリッジフィルターにより原生動物等の混入はある程度防ぐことができるが、カートリッジフィルターが目詰まりしやすく、注水量が安定しないため、培養水としては不向きと考えられた。

事例-2

方法 この事例は、5月中旬のニゴロブナ種苗生産期である琵琶湖水温が15℃程度の低水温期に行った。給餌量は、クロレラ3Lを基本とした。接種ツボワムシは、滋養水試株を1000L連続培養で生産した1.45億個体を使用した。なお、この培養は2005年5月16日から5月29日の13日間行った。

結果 培養結果を図2-41に示した。培養2日目に残餌密度が875万細胞/mLとなったため、給餌を中止したが、ワムシ密度は順調に上昇した。3日目から、注水を開始し、翌日から収穫率約0.5で収穫をはじめた。それ以後は安定状態となり、ワムシ密度

は、増減をしながら緩やかに上昇し、12日目には320個体/mLの最高密度に達した。屋外に設置した無加温培養であるが、ビニールシートのフタにより晴天の日であれば、口中の水温は26℃程度まで上昇し、12日目には最高水温27.7℃まで上昇した。夜間の水温は20℃を下回る日もあったが、ツボワムシの増殖に大きくは影響しなかった。この事例は、比較的低密度で維持したため、培養期間が短いものの安定し、収穫開始から培養終了までの間の平均収穫率は0.55、平均ワムシ密度は250個体/mL、平均収穫数は2.78億個体、平均比増殖率は0.51となった。

事例-3

方法 この事例は7月の高水温期に行った。方法は事例-2と同じとした。接種ツボワムシは滋養水試株を1000L槽連続培養で生産した0.34億個体を使用した。なお、この培養は2005年7月2日から7月24日の22日間行った。

結果 培養結果を図2-42に示した。接種ツボワムシが0.34億個体と少量しか用意できなかったため、培養水量を1000Lで始め、4日目から注水を開始し、6日目より収穫を開始した。開始時のワムシ密度が1

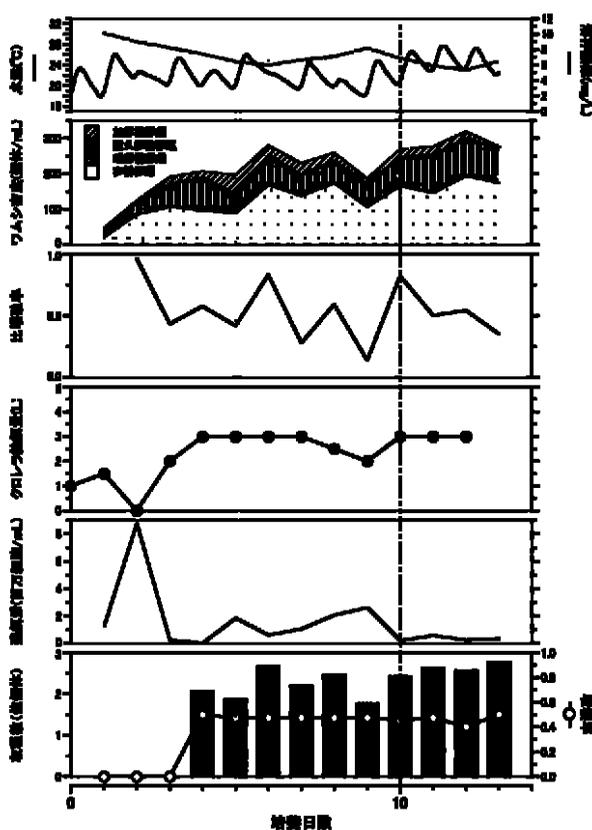


図2-41 4000L槽改良間引き培養事例-2結果

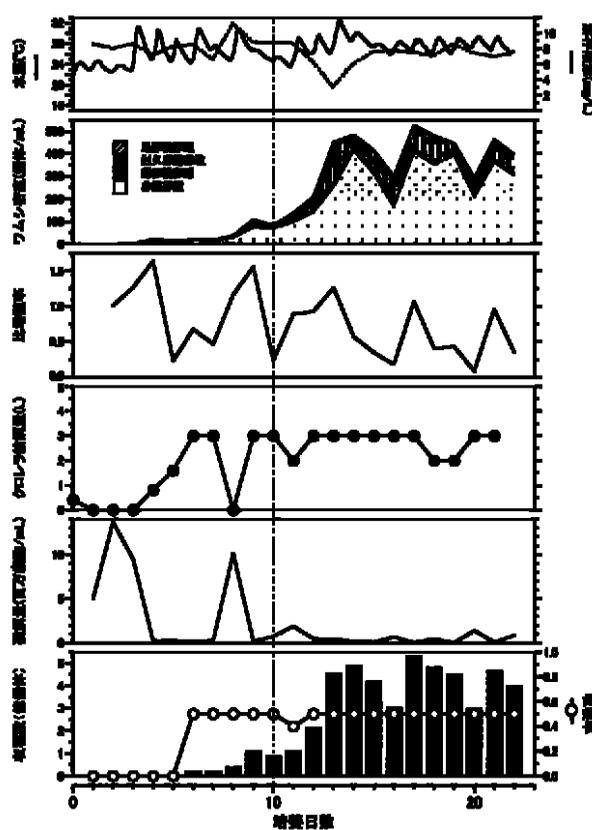


図2-42 4000L槽改良間引き培養事例-3結果

個体/mL以下であったため、ワムシ密度が200個体/mLを越えるのに12日を要した。その間、6日目には鞭毛虫が混入し、以後増殖した。しかし、8日目には給餌を止めたところ、翌日からはほとんど観察されなくなった。これは、ツボワムシが鞭毛虫を摂食したものと考えられる。12日目以後は、ツボワムシ密度は増減を繰り返しながら比較的安定した。水温は、培養開始から3日目までは雨天のため、日中でも24℃程度にしか上昇しなかったが、その後、晴天になると日中は30℃を上回る日も多く、13日目の7月15日には32.6℃の最高水温となった。この頃には、観察時にツボワムシの死骸殻が目立ったため、14日目から培養槽の上部に遮光シートを設置し、日射による水温の上昇を防いだ。その後は曇天が多かったこともあるが、晴天でも日中の水温は30℃を上回らなかった。7月の高水温期であったので、最低水温は22℃を下回ることなく、後半の安定期には、最低水温が26℃程度とツボワムシの増殖に適した水温となった。溶存酸素は、13日目に3.10mg/Lと最低値になったが、ツボワムシの増殖に影響はなかった。12日目から培養終了までの間の平均収穫率は0.50、平均ワムシ密度は407個体/mL、平均収穫数は4.07億個体、平均比増殖率は0.60となった。

この事例では、給餌量等の方法を事例2と同じとしたが、安定培養期間の平均ワムシ密度は1.6倍、平均収穫数は1.5倍となった。これは高水温により培養槽内の微生物生態系も活発化し、ツボワムシの餌となる細菌等も増えたことで、単位給餌量あたりの餌料効率が向上したと考えられる。また、高水温によりツボワムシの増殖サイクルが早まり、若齢の小型個体の占める割合が高くなるため、個体あたりの摂餌量は減り、同じ給餌量では個体数が増加したことも考えられる。

事例-4

方法 この事例は、5月下旬から7月下旬までの2ヶ月にわたる長期間の培養を行った。6月中旬頃からは、日射による水温の上昇を防ぐため、晴天の日には培養槽上部に遮光シートを設置した。接種ツボワムシは、滋賀水試株を1000L槽連続培養で生産した1.00億個体を使用した。なお、この培養は2006年5月19日から7月23日の65日間行った。

結果 培養結果を図2-43に示した。培養3日目か

ら注水を開始し、翌日から収穫率約0.5で収穫開始した。5日目には注水チューブと給餌チューブが強風のため外れ、給餌量と注水量が減少したが、ツボワムシの増殖に影響はなかった。7日目から15日目まではクロレラ給餌量を2Lに固定したところ、安定状態となり、その間の平均収穫率は0.41、平均ワムシ密度は221個体/mL、平均収穫数は1.77億個体、平均比増殖率は0.44となった。その後、段階的に給餌量を増加させ、18日目からはクロレラ給餌量3Lで固定した。ワムシ密度は大きく増減しながらも安定状態となった。27日目にはエアレーションが一部停止したため、溶存酸素が2.91mg/Lに低下し、ワムシ密度は193個体/mLに低下したが、その後回復した。42日目には注水フィルターが目詰まりのため、注水量が半減し、溶存酸素が2.21mg/Lに低下したが、極端にワムシ密度が低下することはなかった。47日目に給餌操作ミスにより給餌が全く行えず、翌日の雌卵携卵個体率が2.29%にまで低下した。2日後の49日目には、注水系のトラブルにより注水量が減少したことに伴って、ワムシ密度が89個体/mLにまで低下した。しかし、その後クロレラ給餌量を段階的に増加させたところ、54日目にはワムシ密度は

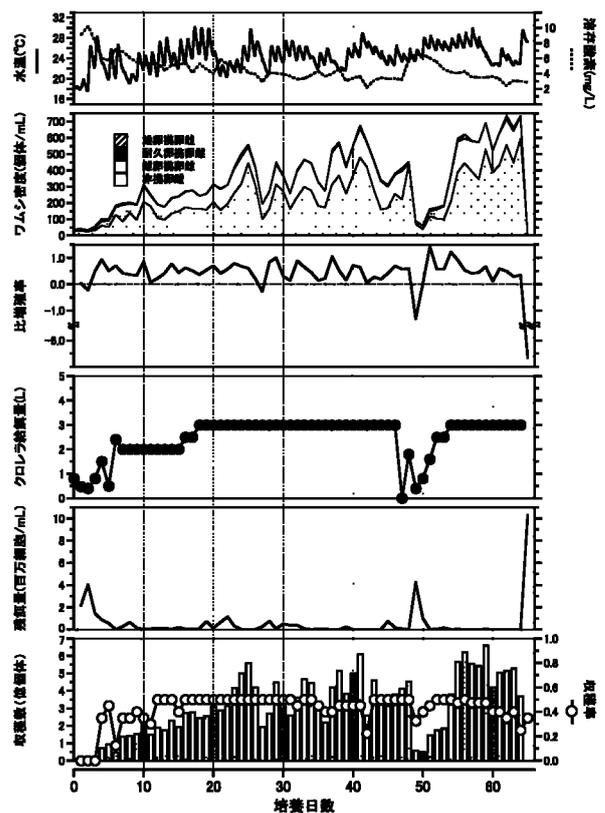


図2-43 4000L槽改良間引き培養事例-4結果

380 個体/mLにまで回復し、再びクロレラ給餌量を 3L で固定した。以後、64 日目までワムシ密度は 700 個体/mL程度で推移していたが、65 日目にはワムシ密度は 1 個体/mL、比増殖率は -6.65 と急激に低下した。これまでにを行った培養で、1 日の間にここまで極端に低下した事例はない。これは、注水量が徐々に減少してきていたため、水質悪化が起こりつつあったと考えられ、溶存酸素も 3mg/L程度に低下していた。また、前日は晴天であったが遮光シートを設置しなかったため、10 時間で 6.6℃の急激な水温上昇となり水温は 29.5℃に達した。これらのことにより、ツボワムシの個体数が減少したと考えられる。さらに、ツボワムシの減少により残餌となったクロレラは、日射による炭酸同化作用でpHを上昇させ、強毒性の非解離アンモニア^(用)が増加したと推察され、このことにより、ツボワムシが壊滅的となったと考えられる。クロレラ 3Lの給餌で固定した期間(49 日目から 64 日目までの減少期間および最終日は除く)の平均収穫率は 0.46、平均ワムシ密度は 450 個体/mL、平均収穫数は 4.06 億個体、平均比増殖率は 0.49 となった。

この事例では 2 ヶ月間にわたる長期培養としたが、培養 28 日目からは底泥が剥離し、収穫の妨げとなり、33 日目から粗めのネットで濾して除去する必要がある。この装置では、懸濁物除去フィルターを用いずに、弱通気で懸濁物を沈下させているため、有機物の蓄積による水質の悪化が起こり、少しのトラブルで培養が不調となることがある。これらのことから、培養はあまり長期にわたるよりも 30 日程度で一旦終了し、培養槽を洗浄後、新しくやり直した方がよいと考えられる。

2.2.5.4 その他の培養事例

100L 槽超高密度培養

方法 この培養は、連続培養ではなく、ツボワムシがどの程度まで培養密度を高めることができるかを確認する目的で行った。培養装置は、100L槽改良間引き培養事例-1の装置と同様のものを使用した。100Lアルテミアふ化槽を培養槽とし、上部に設置した 33L容積のクーラーボックスを注水・給餌槽とした。注水・給餌槽には、チオ硫酸ナトリウムで塩素中和した水道水を貯め、槽の底部に取り付けたエア

コックの調整により、約 24 時間で全て落水させる連続注水の構造とした。注水・給餌槽には、クロレラを添加し、クロレラの沈殿防止のためエアレーションで攪拌を行い、餌料品質の劣化防止のため保冷剤で冷却した。培養槽には、微細通気管によるエアレーションおよびヒーター・サーモスタットにより水温 27℃に調節し、ポリ袋製のフタをした。また、夏期に培養を行ったため、培養槽の外壁にタオルを張り、時々水をかけて気化熱で冷やして水温の上昇を防いだ。この培養では懸濁物除去フィルターは用いなかった。培養は、培養水 30Lで始め、30Lを連続注水した。1 日後 30Lをネットで収穫し、それを再び培養槽に戻し、密度を上げるという培養水の半量の水替えを伴ったバッチ培養^(用)様の方法を行った。接種ツボワムシは、滋養水試株を 10L槽で拡大した 220 万個体を使用した。なお、この培養は 2004 年 8 月 18 日～27 日の 9 日間行った。

結果 培養結果を図 2-44 に示した。培養開始から 3 日目までは残餌量が多く、給餌量を増やせなかったが、その後、順調に給餌量を増やし、培養 7 日目にはワムシ密度は 4,340 個体/mLとなった。収穫後、培養槽に戻したところ、溶存酸素が 1.50mg/Lに低下したので、酸素ポンプと分散器を用いた酸素通気を開始した。7 日目にはクロレラ 2Lを給餌したところ、ワムシ密度は 8 日目に 8,173 個体/mLに達した。6 日目からは懸濁物が増加し、8 日目には細かい泡が培養槽の上部にまで達していた。8 日目にはアンモ

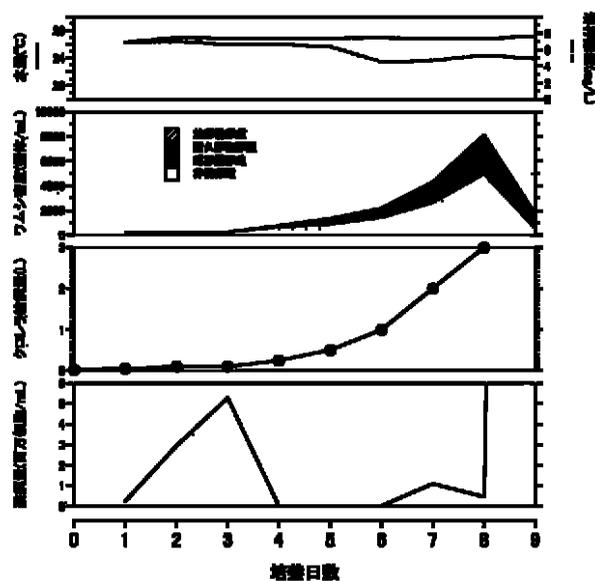


図 2-44 100L 槽超高密度培養結果

ニア臭がしていたため、収穫後、再び培養槽には戻さなかったが、給餌量は3Lに増やした。9日目には、ワムシ密度は1,773 個体/mL にまで急激に低下し、ツボワムシは不活発で、異常な遊泳をし、仔ワムシがほとんど見られない状態であった。残餌量は4億細胞/mL となり、強烈なアンモニア臭がしていた。この結果から、ツボワムシは空気通気ではワムシ密度が4,000 個体/mL、酸素通気では8,000 個体/mL 程度までの高密度培養の可能性があると考えられる。

この培養は連続培養ではなく、一時的に高密度となったことに過ぎない。しかし、これを改良間引き培養の収穫率と同様に考えると、収穫率（希釈率）1.0 の培養であり、培養水の希釈を増やすこと等の工夫により、高密度連続培養の可能性は残されていると考えられる。

3 餌料としての培養ツボワムシ

3.1 培養ツボワムシの成分分析

方法 供試ツボワムシは、1000L 槽連続培養で培養したクロレラ単独給餌時のものと、クロレラ・イースト併用給餌時のものを用いた (2.2.4.2 連続培養事例「1000L 槽連続培養事例-4」の9日目を「クロレラ単独給餌区」、36日目を「クロレラ・イースト併用給餌区」とした)。それぞれのツボワムシは、収穫後ろ過地下水で洗浄し、十分に水切りした後、-30℃で冷凍した。水分、灰分、タンパク質、脂質、炭水化物の分析は一般食品分析に準じ、脂肪酸分析はガスクロマトグラフを用いた内部標準法により行った。なお、この成分分析はクロレラ工業株式会社に委託した。

結果 ツボワムシの成分分析結果を表3-1に示した。ツボワムシの水分含量は94.6~95.6%となり、シオミズツボワムシの水分含量の86.4~91.8%³³⁾に比べると高い値となった。脂肪酸組成は、クロレラ単独給餌区ではリノール酸(35.9%)、パルミチン酸(13.0%)、 α -リノレン酸(9.5%)の組成が比較的高くなった。クロレラ・イースト併用給餌区では、

比較的高い組成の脂肪酸は、クロレラ単独給餌区と同様であるが、クロレラ単独給餌区と比べると、リノール酸(31.6%)が4.3ポイント、パルミチン酸(9.8%)が3.2ポイント減少し、代わりにオレイン酸(6.5%)が4.0ポイント、パルミトレイン酸(4.0%)が3.0ポイント増加した。これは、ツボワムシの餌料であるクロレラはリノール酸、 α -リノレン酸、パルミチン酸の脂肪酸組成が高く、イーストはオレイン酸、パルミトレイン酸、リノール酸の脂肪酸組成が高い³⁴⁾こと由来すると考えられる。シオミズツボワムシでは、その脂肪酸組成は培養餌料に左右されることが知られており³⁵⁾、ツボワムシにおいても同様の結果となった。

クロレラ、イーストは共に海産魚類の必須脂肪酸(EFA)であるEPA、DHA等のn3高度不飽和脂肪酸(n3HUFAs)を含んでいないため、これらの餌料で培養したシオミズツボワムシを、海産魚の餌料として用いるには、栄養強化培養が必要であることが報告されている³⁴⁾。一方、淡水魚のEFAはリノール酸、 α -リノレン酸であり³⁶⁾、コイではその要求量は飼料中各1%であることが報告されている³⁶⁾。今回分析したツボワムシのリノール酸および α -リノレン酸含有量は、クロレラ給餌区では2,328.9mg/100gおよび616.3mg/100g、クロレラ・イースト併用給餌区では1,706.8mg/100gおよび464.5mg/100gと比較的多く含まれており、淡水魚の餌料として用いるには、EFA欠乏の影響は少ないものと考えられる。

表3-1 ツボワムシの成分分析結果

	クロレラ 単独給餌区		クロレラ・イースト 併用給餌区		
	組成 (%)	含有量* (mg/100g)	組成 (%)	含有量* (mg/100g)	
水分 (%)	95.8		94.8		
灰分 (%)	0.3		0.3		
タンパク質 (%)	3.2		3.8		
脂質 (%)	0.6		0.7		
炭水化物 (%)	0.3		0.6		
脂肪酸	慣用名	組成 (%)	含有量* (mg/100g)	組成 (%)	含有量* (mg/100g)
C14:0	ミリスチン酸	2.1	136.2	1.8	97.2
C14:1	ミリスチレン酸	1.9	123.3	1.4	75.6
C16:0	パルミチン酸	13.0	843.3	9.8	529.3
C16:1	パルミトレイン酸	1.0	64.9	4.0	216.0
C18:2		4.8	311.4	3.1	187.4
C18:0	ステアリン酸	4.8	298.4	4.4	237.7
C18:1	オレイン酸	2.5	162.2	6.5	351.1
C18:2n-6	リノール酸	35.9	2328.9	31.6	1706.8
C18:3n-3	α -リノレン酸	9.5	616.3	8.6	464.5
C20:0	アラキジン酸	0.6	38.9	0.4	21.6
C20:1	エイコセン酸	1.2	77.8	2.0	108.0
C20:4n-6	アラキドン酸	1.8	116.8	1.7	91.8
C20:5n-3	EPA	0.7	45.4	0.8	43.2
C22:0	ベヘン酸	1.0	64.9	0.9	48.6
C22:1		1.0	64.9	1.7	91.8
C22:5n-3	DPA	0.0	0.0	0.4	21.6
C22:6n-3	DHA	0.3	19.5	0.0	0.0
C24:0	リグノセリン酸	0.8	51.9	0.8	43.2
C24:1		0.8	51.9	1.0	54.0
未測定		16.5	1070.4	18.1	1031.6

*乾燥重量あたり

3.2 栽培漁業対象コイ科魚類3種の培養ツボワムシ給餌の効果

本県の栽培対象種であるホンモロコ *Gnathopogon caeruleus*、ニゴロブナ *Carassius auratus grandoculis*、ワタカ *Ischikauia steenackeri* のふ化仔魚に連続培養したツボワムシを給餌し、その効果および影響の把握を目的に給餌試験を行った。

方法 供試ホンモロコ、ニゴロブナ、ワタカのふ化仔魚は、滋賀水試で放流試験種苗生産用として養成している親魚から得た。試験は、30L パンライト水槽にホンモロコは200尾、ニゴロブナ、ワタカは100尾をそれぞれ収容し、30日間の飼育を行った。飼育水は、10 および 0.5 μm 孔径のワインドカートリッジフィルターでろ過した地下水を用い、毎朝、給餌前に1/4~2/3 程度の換水を行った。給餌したツボワムシは、1000L 槽連続培養あるいは4000L 槽改良間引き培養で培養したものをを用いた。なお、培養時のツボワムシの餌料種類（クロレラ単独またはクロレラ・イースト併用）は、区別せずに用い、ツボワムシの栄養強化は行わなかった。給餌量は朝に1回、翌日まで残ることを目安に与えた。それぞれ30

日間飼育後、遊泳状況の観察および写真撮影を行った。その後、ホルマリンにて固定し、計数および体型測定を行い、その際に目視による形態異常の判別を行った。

結果 培養ツボワムシ給餌試験を行ったホンモロコ、ニゴロブナ、ワタカの30日目の写真を図3-1に示した。遊泳状況の観察においては、異常な遊泳をする魚は認められなかった。培養ツボワムシ給餌試験結果を表3-2に示した。それぞれの生残率および正常魚率（生残魚のうち正常魚の占める割合）は、ホンモロコでは89.0%および97.2%、ニゴロブナでは91.0%および89.0%、ワタカでは98.0%および94.9%となった。マダイの仔魚飼育では、酵母で培養したシオミズツボワムシと、海産魚のEFAであるn3HUFAを取り込ませた油脂酵母で培養したものとを給餌した場合、生残率が前者では13.0%、後者では73.5%と著しい差が報告されており³⁶⁾、現在では、海産魚類の種苗生産にn3HUFAの栄養強化は不可欠となっている。一方、今回用いたコイ科魚類3種では、前項3.1の成分分析（表3-1）のとおり、n3HUFAがほとんど含まれないツボワムシを給餌したが、異常な魚は少なく、生残率は非常に高い値となった。従って、

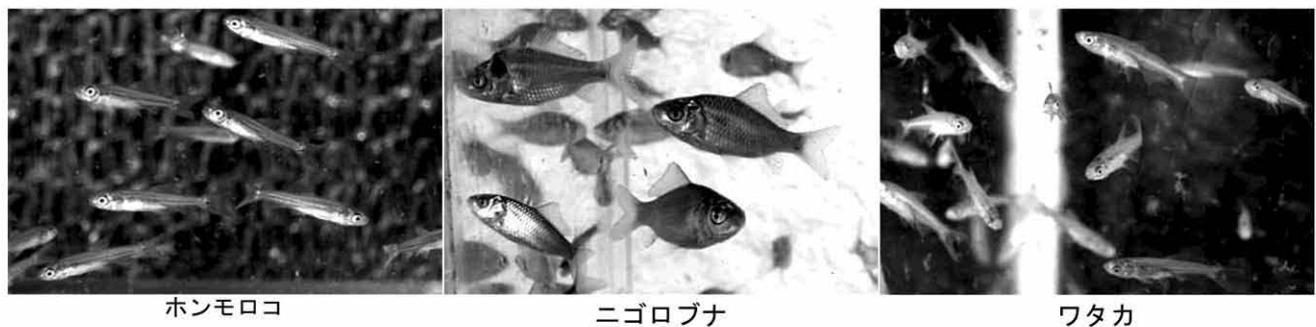


図3-1 ホンモロコ、ニゴロブナ、ワタカの培養ツボワムシ給餌の30日目

表3-2 ホンモロコ、ニゴロブナ、ワタカの培養ツボワムシ給餌試験結果

	ホンモロコ			ニゴロブナ			ワタカ		
供試ふ化仔魚尾数	200			100			100		
試験期間	2004/06/22~07/22			2004/07/14~08/13			2004/07/31~08/30		
生残尾数	178			91			98		
生残率(%)	89.0			91.0			98.0		
異常魚尾数	5			10			5		
正常魚尾数	173			81			93		
正常魚率(%)	97.2			89.0			94.9		
正常魚体型測定	全長(mm)	体長(mm)	体重(g)	全長(mm)	体長(mm)	体重(g)	全長(mm)	体長(mm)	体重(g)
平均	18.22	14.36	0.05	29.65	22.53	0.46	22.60	17.83	0.08
標準偏差	2.57	2.00	0.02	6.46	5.06	0.30	1.58	1.09	0.02
最大	24.15	18.90	0.11	40.90	31.45	1.17	25.65	19.83	0.12
最小	10.06	8.22	0.01	14.40	11.28	0.04	16.31	13.48	0.04

これらコイ科魚類3種にはn3HUFAの栄養強化は不要と考えられた。また、それぞれの平均全長は、ホンモロコでは18.22mm、ニゴロブナでは29.65mm、ワタカでは22.60mmとなった。通常に行われる種苗生産では、ホンモロコは50～60日間の飼育で平均全長20mm、生残率3割程度、ニゴロブナは40～60日間の飼育で平均全長20mm、生残率5割程度、ワタカは30～40日間の飼育で平均全長20mm、生残率3割程度で行われている。条件が全く違うので一概に比較はできないが、今回の培養ツボワムシ給餌試験では30日間の飼育で、それぞれに匹敵する高成長を示し、生残率についても非常に高い値となった。今回の試験は、培養ツボワムシ給餌の効果および影響の把握を主目的としたため、水温や収容密度、給餌量等の詳細な試験設定を行なわなかったが、初期餌料であるツボワムシを大量に生産し、給餌できれば、今後、生残率および成長の改善が期待できると考えられる。

4 今後の課題

これまで困難であったツボワムシの培養が、海産ワムシ類の培養で採用されている“連続培養技術”を導入することで、時期を問わない安定大量培養が可能となった。今後は、適正な培養条件や管理手法のさらなる開発を行い、培養の安定性や効率性の向上に加え、生産コストの低減にも取り組む必要がある。また、対象魚種に応じて、適正な栄養価やサイズ等を検討し、それらに対応した高品質なワムシの培養技術を開発して、種苗生産現場で検証していく必要がある。

謝 辞

(独)水産総合研究センター 能登島栽培漁業センターで開催された「平成15年度ワムシ培養研修」に参加したことが、このツボワムシ培養を始めるきっかけとなった。当時の場長の桑田博氏および講師をしていただいた小磯雅彦氏には、海産ワムシをその研修で初めて見たワムシ培養の初心者に、懇切丁寧にご指導していただき、その後もご助言をいただいた。また、東京大学日野明德名誉教授および長崎大学大学院萩原篤志教授には多くのご助言をいただいた。ここに記して謝意を表す。

文 献

- 1) 伊藤 隆(1965): アユ種苗の人工生産に関する研究-V 河川産アユ卵および成熟促進卵の人工ふ化仔魚に対するツボワムシの餌料効果, 木曾三川河口資源調査報告, No2, 719-760.
- 2) 伊藤 隆・岩井寿夫(1964): アユ種苗の人工生産に関する研究-II, III, IV, 餌料プランクトンの野外培養(1)(2)(3), 木曾川水系調査報告, 第1号, 337-441.
- 3) 伊藤 隆・岩井寿夫(1965): アユ種苗の人工生産に関する研究-VI, 餌料プランクトンの野外培養(4), 木曾三川河口資源調査報告, No2, 761-808.
- 4) 徳島県水産試験場(1965): 飼料生物大量培養技術研究, 都道府県水産試験場指定試験研究事業報告書.
- 5) 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.
- 6) 平田八郎(2001): 1964年から1967年における屋島湾産シオミズツボワムシ *Brachionus plicatilis* の生殖様式の変異性, 近畿大学農学部紀要, 34, 71-88.
- 7) 日野明德(2001): ミニシンポジウム ワムシ大量培養法の進展とその現状 ワムシとその培養法研究の進展および展望, 日水誌, 67(6), 1136-1137.
- 8) 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.
- 9) 桑田 博(2000): はじめに 1-3 用語の定義, 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(日本栽培漁業協会編), 日本栽培漁業協会, 東京, 2-4.
- 10) 後藤延一(1989): タービドスタット, 微生物学辞典(日本微生物学協会編), 技報堂出版株式会社, 東京, 650.
- 11) 高橋穰二(1989): ケモスタット, 微生物学辞典(日本微生物学協会編), 技報堂出版株式会社, 東京, 327.
- 12) 日野明德(2000): II3 新しく開発された連続培養法, 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(日本栽培漁業協会編), 日本栽培漁業協会, 東京, 80-81.
- 13) 日野明德(2000): I4-5 アンモニア, 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(日本栽培漁業協会編), 日本栽培漁業協会, 東京, 17-18.
- 14) 田中正明(2002): 日本淡水動植物プランクトン図鑑, 名古屋大学出版会, 愛知.
- 15) 日野明德(2000): I2 生活史, 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(日本栽培漁業協会編), 日本栽培漁業協会, 東京, 9-10.
- 16) 萩原篤志(1996): 総説 海産ワムシの大量保存と休眠卵の利用, 栽培技研, 24(2), 109-120.
- 17) 萩原篤志(2000): 海産ツボワムシ類の耐久卵形成と水産への応用, 栽培漁業技術研修事業基礎理論コース・テキスト集XIII-ワムシの培養技術-, 日本栽培漁業協会, 141-152.
- 18) Hagiwara, A., A. Hino, and R. Hirano(1988): Comparison of resting formation among five Japanese stocks of the Rotifer *Brachionus plicatilis*, *Nippon Suisan Gakkaishi*, 54(4), 577-580.
- 19) 山下貴示(2000): II3-1 装置連続培養, 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(日本栽培漁業協会編), 日本栽培漁業協会, 東京, 81-92.
- 20) 日野明德(1981): 総説 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(1), 109-123.
- 21) 萩原篤志(2002): 海産魚の初期餌料: 餌料生物ワムシの生物機能と種苗生産への応用, 水産増殖, 50(4), 473-478.
- 22) 小磯雅彦(2003): 培養水温が海産ワムシの大きさに及ぼす影響について, 平成15年度栽培漁業センター技報, (独)水産総合研究センター, 91-94
- 23) 小磯雅彦(2000): I4-1 水温, 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(日本栽培漁業協会編), 日本栽培漁業協会, 東京, 12-13.
- 24) 小磯雅彦(2000): I4-2 塩分濃度, 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(日本栽培漁業協会編), 日本栽培漁業協会,

東京, 13-16.

- 25) 伊藤 隆(1967): アユ種苗の人工生産に関する研究—ⅩⅩⅧ フクロワムシによるツボワムシの捕食作用, 木曾三川河口資源調査報告, No3, 491-504.
- 26) 市村輝宣(1979): 2.5.B 淡水藻類, 藻類研究法 (西澤一俊・千原光男編), 共立出版株式会社, 東京, 294-305.
- 27) 桑田 博(2000): II 2-1-6 餌料, 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 (日本栽培漁業協会編), 日本栽培漁業協会, 東京, 59-63.
- 28) 桑田 博(2000): II 2-1-5 計数法, 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 (日本栽培漁業協会編), 日本栽培漁業協会, 東京, 56-59.
- 29) 桑田 博(2000): II 2-1-4 水槽と用水の塩素消毒, 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 (日本栽培漁業協会編), 日本栽培漁業協会, 東京, 55-56.
- 30) 桑田 博(2004): 海産魚類種苗生産用の生物餌料としてのワムシ培養の再構築, 農林水産技術ジャーナル, 27(10), 18-23.
- 31) 桑田 博(2000): II 3-2 粗放連続培養, 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 (日本栽培漁業協会編), 日本栽培漁業協会, 東京, 97-107.
- 32) 桑田 博(2000): II 2-3 間引き培養, 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 (日本栽培漁業協会編), 日本栽培漁業協会, 東京, 73-79.
- 33) 渡辺 武(1980): 4 種苗生産と生物餌料, 魚類の栄養と飼料 (荻野珍吉編), 恒泉社厚生閣, 東京, 81-110.
- 34) 丸山 功・中村寿雄・松林恒夫・安藤洋太郎・前田直彦(1988): 淡水タロレラ単独または酵母併用ワムシの脂肪酸組成について, 水産増殖, 36(3), 259-263.
- 35) 竹内俊郎・渡辺 武(1977): コイの必須脂肪酸要求量, 日本誌, 43(5), 541-551.
- 36) 北島 力・荒川敏久・大和史人・藤山欠郎・今田 克, 渡辺 武, 米 康夫(1980): マダイ仔魚に対する油脂酵母ワムシの餌料効果, 日本誌, 46(1), 43-46.