

# 外洋性新餌料の開発研究

林 芳弘\*・阿部 祐子  
(\*現高知県中央漁業指導所)

## 要 約

餌料に利用することを目的に深層水より新たな餌生物の探索を行った。橈脚類や蔓脚類の幼生、原生動物、珪藻類が確認され、分離もしくは培養できた種もあったが、大量培養するには至らなかった。引き続き、餌料に利用可能な生物の探索を行っている。

## 1. 目 的

シオミズツボワムシを仔魚の初期餌料として利用することで、魚類の種苗生産技術は飛躍的に発展した。しかし、現在においても仔魚飼育に成功していない魚種は依然として多い。例えば、キンメダイなどもそうした魚種の一つである。

キンメダイは重要な水産生物であるが、近年、資源量の減少が懸念されている。資源保護のために種苗放流を望む声もあるが、種苗生産はいまだ実現していない。種苗生産できない理由の一つに、適当な初期餌料が見つからないことが考えられている。

新たな餌料生物の探索は、いくつかの研究機関によって、主に内湾や沿岸域で探索されており、深海や外洋において調査が行われたことはない。そこで本研究では、新たな餌料生物の探索を目的として、高知県海洋深層水研究所で取水されている海洋深層水（以下深層水）および、外洋に面した室戸沿岸の表層海水中に出現する生物の探索を行い、餌料生物としての利用を検討した。

## 2. 実験方法と結果

### 2.1 深層水中の生物の増加

#### 2.1.1 目的・実験方法

深層水を顕微鏡で観察すると、珪藻類がみられた。こうした深層水中の植物プランクトンが生細胞かどうか確かめるため、深層水を恒温機内に静

置して、生物の培養試験を行った。深層水を濾過槽の手前で約20L採水したものを1日冷暗所で保存し、8 $\mu$ m目のフィルターで2mlにまで濃縮した。それを検鏡し、出現した生物の個体数を記録した<sup>1)</sup>。

検鏡後は培養のため200ml三角フラスコに移し25℃のインキュベーター内で培養した。恒温器内の照明はL:D=12:12とした。培養液として、8 $\mu$ m目のフィルターで濾過した深層水を使用した。5日後と8日後にフラスコ内から採水し、検鏡して出現した生物の個体数を記録した。

#### 2.1.2 結果・考察

出現した生物の1日目（培養開始日）、5日目、8日目の深層水中での密度を表1に示した。試験期間を通して、珪藻類の大幅な増加がみられた。*Chaetoceros sp.*は、培養開始日にはフラスコ内の密度がわずか0.075/mlであったのが、5日後には662/ml、8日後には1417/mlにまで増加した。群体性のCentrales（円心目）の1種は、培養開始日には存在を確認できていなかったにもかかわらず、8日後には26233/mlにまで増加し、フラスコ内での優占種となった。一方、培養開始時には珪藻類中で最も多く存在していた単体性のCentrales（円心目）は、5日目には全く見られなくなった。渦鞭毛藻類では遊泳している個体が見られた。詳しい分類は不明だが、形態や遊泳運動など、Gymnodiniales（ギムノディニウム目）に類似した特徴を備えていた。

汲み上げた時点の深層水には、植物プランクトンのごくわずかしかが含まれていないが、好適な温度や光条件の下で培養すると、深層水中に植物プランクトンが大量に増殖することが明らかになった。

表1. 確認された生物の変動

	フラスコ内での個体密度 (/ml)		
	培養開始時	5日目	8日目
<i>Chaetoceros</i> sp.	0.075	662	1417
Centrales (円心目) の1種		1714	26233
Centrales (円心目) の1種	0.115		
Pennales (羽状目) の1種	0.045	1	16.7
Dinophyceae (渦鞭毛藻綱) の1種	0.08	3	
Dinophyceae (渦鞭毛藻綱) の1種	0.005		
Dinophyceae (渦鞭毛藻綱) の1種	0.03		
Dinophyceae (渦鞭毛藻綱) の1種	0.005		
Dinophyceae (渦鞭毛藻綱) の1種?	0.01		
Phaeodarea (フェオダリア綱)?	0.03		
甲殻類ノープリウス幼生	0.005		
NEMATODA (線形動物門)	0.005		
Rhizopodea (鞭足虫綱)	0.015		

## 2.2 珪藻の培養

### 2.2.1 目的・実験方法

前の実験により、適度な光・温度条件下に深層水を静置しておく、珪藻や渦鞭毛藻類が自然に増加することが明らかになった。これらの生物の単離と培養を試みた。

濾過槽の手前で5.5Lの深層水を採水し、45 $\mu$ mのプランクトンネットで濾過して500mlまで濃縮した後、三角フラスコに移し20 $^{\circ}$ C、L:D=12:12のインキュベーター内で培養した。8日後および15日後、顕微鏡で観察し、増殖した珪藻をパスツールピペットで吸い上げた。滅菌した深層水で5回洗浄後、培養のため50mlフラスコに植継いだ。滅菌した深層水を培養液として用いた。50mlフラスコも上記と同様にインキュベーター内で培養した。

### 2.2.2 結果・考察

インキュベーター内で深層水を培養してから5日目にはフラスコの底に茶色い藻類が肉眼で確認できた。8日目に検鏡したところ、*Chaetoceros*属やPennales(羽状目)の珪藻が増殖していた。渦鞭毛藻類は今回は確認できなかった。

*Chaetoceros*属2種(*Chaetoceros* sp.1、*Chaetoceros*

sp.1)の単藻分離および継代培養に成功した。*Chaetoceros* sp.1は、縦48~61 $\mu$ m、横36~43 $\mu$ mの大型種で、多いもので5~6細胞からなる群体を形成していた。*Chaetoceros* sp.2は、縦27~33 $\mu$ m、横15~18 $\mu$ mの中型種だった。*Chaetoceros* sp.1は、植継いだ時点では3細胞からなる群体であったが、植継後10日目にはフラスコ内での細胞数密度が13843/mlに増加していた。*Chaetoceros* sp.2は、植継いだ時点で5細胞からなる群体だったが、植継後15日目にはフラスコ内での細胞数密度が4616/mlに増加していた。両者とも、オートクレープで滅菌した深層水をそのまま培養液として用い、現在も植継を繰り返しながら継代培養を継続中である。

## 2.3 珪藻の大量培養

### 2.3.1 目的・実験方法

深層水を用いて生物を大量培養した研究はこれまで数多く行われているが、深層水中から分離した生物を大量に培養した例はない。そこで、深層水中から分離した珪藻を用いて、大量培養試験を試みた。

日がよくあたる屋外に設置した50lアルテミア孵化槽に深層水を45l入れ、エアレーションを施した。水温調節のため一晩おき、深層水より分離した珪藻である*Chaetoceros* sp.2をフラスコより植継いだ。植継日から毎日、1日1度ずつ珪藻の密度を計測した。密度の計測は、培養液をメスピペットで1ml採水し、罫線の入ったスライドグラス上で行った。

### 2.3.2 結果・考察

培養試験の結果を図1に示した。5日目までに急速な増殖がみられた。7日目に密度が最大となり、33145/mlに達した。その後は次第に減少を続けた。減少に転じてからは死んだ個体が凝集して塊になり、懸濁物となっていた。今回の試験期間中は天候が安定せず、水温や照度にも大きな変動がみられたが、短期間ながら高密度での培養に成功した。

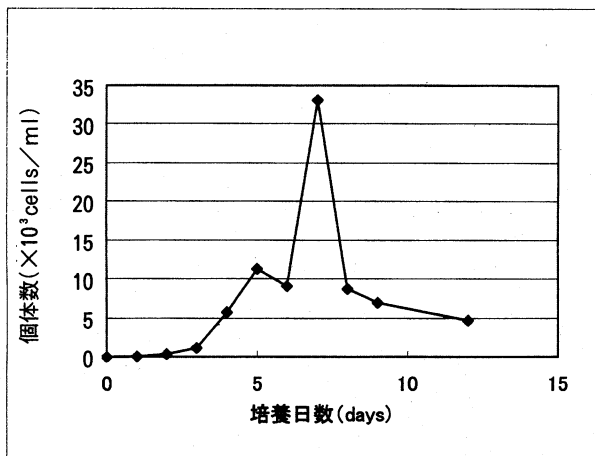


図1 *Chaetoceros* sp.の培養

*Chaetoceros* sp.2は、フラスコ内で培養している時には、1~2細胞からなる小規模な群体を形成していることが多いが、大量培養していると最大14細胞からなる大きな群体となっていた。

今回の試験では、特別に栄養塩類を添加することなく、深層水のみで、珪藻類の大量培養が可能であることが示唆された。深層水は、それ自体が珪藻の培養液として有効であるといえる。

珪藻は、甲殻類や貝類を飼育する際の餌料として利用価値が高い。また、自然の海域では、橈脚類の主要な餌料であることも知られている。深層水を用いることで、珪藻類の大量培養技術が確立されればこうした珪藻類の特性を効果的に利用できると思われる。

## 2.4 原生動物の探索

### 2.4.1 目的・実験方法

ナンノクロロプシスを屋外で大量培養していると、原生動物が自然に増加することがしばしばある。これらは休眠孢子が風などによって運ばれてくるものと思われるが、深層水でナンノクロロプシスを培養した場合、深層水中に存在している原生動物が増殖する可能性が考えられた。すなわち、ナンノクロロプシス培養液内で増加する原生動物であれば、大量培養も容易であると期待できる。

実験は風による休眠孢子の混入を防ぐため、インキュベーター内で行った。インキュベーター内

は約20℃に設定し、光条件はL:D=12:12とした。500ml三角フラスコ内で屋外で培養していたナンノクロロプシスを継代培養した。ナンノクロロプシスは1ppmの塩素で消毒したものを使用した。100mlのナンノクロロプシスをフラスコに入れ、滅菌していない深層水を400ml継ぎ足した。フラスコにはエアレーションを行い、3~4日おきに植継ぎした。植継ぎは培養液400mlを廃棄し、やはり滅菌していない深層水で埋め戻した。植継日ごとに顕微鏡で観察し、ナンノクロロプシス培養液内で原生動物が増加していないか探索した。

### 2.4.2 結果・考察

2000年10月18日からナンノクロロプシスの継代培養を開始したが、5ヶ月経過した2001年3月現在まで、原生動物の増加は確認できなかった。期間中、30回以上植継ぎした。もともと深層水は生物密度が低いために、今回の実験の条件下に適合した原生動物が出現しなかったものと思われる。

時折、珪藻類がみられたことはあったが、数が増加することはなかった。

## 2.5 原生動物培養

### 2.5.1 目的・実験方法

研究所のシオミズツボウムシ培養槽の中で、原生動物の1種が高密度に出現しているのが確認された。大きさは約40μmで、形態は円盤状であった。水中を活発に遊泳しており、餌料生物として有効利用できる可能性が考えられた。そこで、この原生動物の培養を試みた。

培養槽として50lアルテミア孵化槽、100lアルテミア孵化槽を用い、植継ぎを繰り返しながら、継代培養を試みた。シオミズツボウムシ培養槽と同様に培養液として、深層水に濃縮クロレラを添加したものを使用した。水温はヒーターによって管理し、やはりシオミズツボウムシと同じ30℃に設定した。1日1回、午前中に1mlメスピペットで採水し、原生動物の個体数を計数した。

また、この原生動物のフラスコ培養も試みた。アルテミア孵化槽の培養液より採水し、顕微鏡下

の作業により、原生動物の個体をパスツールピペットで分離した。オートクレーブで滅菌した深層水で2回洗浄した後、濃縮クロレラ0.05mlを添加した深層水50mlに植継いだ。1個のフラスコにつき、1個体の原生動物を植継いだ。25℃で培養を行った。

培養に用いた深層水はオートクレーブで滅菌したものを用いた。また、滅菌していないもの深層水を培養液として用いたフラスコも用意し、同様に濃縮クロレラを添加して植継いだ。

### 2.5.2 結果・考察

この原生動物を約3ヶ月間維持培養できた。1ヶ月半を過ぎるまで順調に培養が行われ細胞密度は3200cells/mlにまで増加した。植継ぎを繰り返しながら継代培養できるものと思われたが、その後急激に増加率が悪くなり結局死滅してしまった。一方、フラスコ培養の結果、滅菌していない深層水を培養液として用いたフラスコでのみ原生動物の増殖が確認できた。植継ぎして8日後にはフラスコ内の個体密度が98/mlに達した。

滅菌した深層水を用いたフラスコ内では増加しなかったことから、この原生動物は、直接クロレラ等を摂取するのではなく、培養液中の細菌などを栄養源としていた可能性がある。おそらく、この原生動物が増殖するためには、培養槽中で形成される生物学的・化学的環境要因に極めて強く影響されるものと思われる。結果として、培養の不安定性につながると考えられた。

## 2.6 円石藻の利用の検討

### 2.6.1 円石藻高密度培養試験

#### 2.6.1.1 目的・実験方法

円石藻*Emiliana huxleyi*をワムシの餌料として利用するため、高密度での培養を試みた。培養には5Lの三角フラスコを用い、培養液はESM培地を用いた。鑑賞魚用のエアポンプでエアレーションし、20℃、L:D=12:12のインキュベーター内で培養した。

計測は、毎日1回ずつ血球版で細胞数の計測を

行った。植継ぎは、円石藻培養中の培養液1Lを残して廃棄し、4LのESMで埋め戻した。

#### 2.6.1.2 結果

円石藻*Emiliana huxleyi*の培養の結果を図2に示した。培養開始時の密度は $6.2 \times 10^4$  cells/mlだった。2日目には急激に増加し、 $2.1 \times 10^5$  cells/mlとなった。しかしその後は増加速度は鈍り、4日目になっても $2.4 \times 10^5$  cells/mlだったので、既に密度が限界に達していることがうかがえた。そこで、植継ぎを行い、20%に希釈したところ、再び急激な増加がみられた。培養開始から9日後には2回目のピークが訪れた。2回目のピークでは、密度は $2.5 \times 10^6$  cells/mlとなり、1回目のピーク時の密度を大きく上回った。さらに植継ぎを行ったところ、その4日後(培養開始から12日後)には、 $3.5 \times 10^6$  cells/mlの最高密度が計測された。植継ぎを繰り返すことで、より高密度に達することが明らかになった。

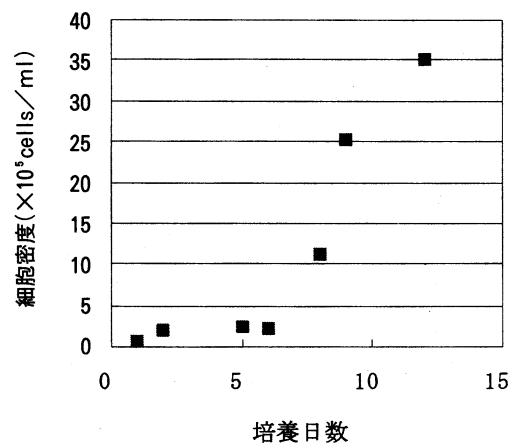


図2 円石藻の増殖

### 2.6.2 ワムシ培養実験

#### 2.6.2.1 目的・実験方法

円石藻*E. huxleyi*のワムシに対する餌料価値を検討するため、ワムシ培養実験を行った。1Lフラスコに①の方法で生産した円石藻培養液を1Lを入れ、シオミズツボワムシを添加した。25℃に

設定したインキュベーター内で、エアレーションをして培養した。毎日、ワムシ及び円石藻の密度を計測した。ワムシの密度は、1 mlのメスピペットでフラスコ内の水を採水し、実体顕微鏡で観察しながら計数した。計数は5回行い、平均値で表した。円石藻の密度は、実験①と同様に血球版で測定した。また、円石藻によるワムシ培養実験に先駆けて、この条件下でのワムシ増殖状況を把握するため、ワムシの餌として広く用いられている *Nannochloropsis sp.* を用いて同様な実験を行い、対照区として、円石藻の培養液のみでワムシを培養した。

### 2.6.2.2 結果

結果を図3に示した。*Nannochloropsis sp.* を用いたワムシの培養では、培養開始時のワムシ密度が0.3/mlであったのが、3日目には7倍の2.2/ml、6日目には16倍の3.6/mlにまで増加した。円石藻では、最初のワムシ密度が0.4/mlだったのが、翌日には2倍の0.9/mlにまで増加した。一方、培養液のみで培養したワムシは、4日目まではほとんど増加せず、5日目から急激に増加した。ワムシを植継いだ際に何らかの微生物が培養液中に混入した可能性が考えられた。

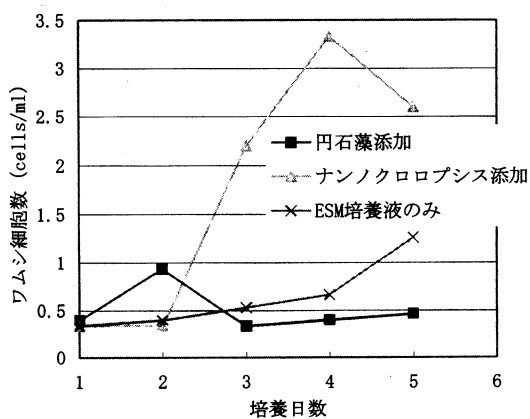


図3 ワムシの増殖

### 2.6.3 考察

1 Lフラスコ内での実験だったため、ワムシの餌として実績のある *Nannochloropsis sp.* を用いた

場合でも、ワムシ密度は1 mlあたり数個体程度にしか増加しなかった。*Nannochloropsis sp.* ほど高い増加率を示さなかったものの、円石藻でもワムシの増加が確認されたことから、円石藻は、ワムシの餌料として利用可能であることが判明した。

円石藻をワムシの餌として利用するには、高密度で大量に培養する必要がある。高密度大量培養技術の開発は今後の課題である。フラスコ実験の結果では、何度か繰り返し植継ぐことで密度が高くなる傾向がみられた。より適切な培養条件を見出すことで、より高密度培養が可能になると期待できる。また、ESM培養液は高価であるため、大量に培養するためには安価な培養液の開発も必要である。

## 3. 考察

以上の結果を踏まえて新たな餌料の候補となる生物については、まず、キンメダイなどの小型仔魚に対する新たな餌生物の候補として、渦鞭毛藻類や原生動物があげられる。これまで、シロギスやキジハタなどの種苗生産の初期餌料として渦鞭毛藻が用いられたこともある<sup>2)</sup>。しかし、ハタ類においては渦鞭毛藻を用いることで生残率が向上した事例はなく、現在でもワムシを用いているのが一般的である。渦鞭毛藻類や原生動物の中でも、餌料価値が高い種を絞り出す必要がある。さらに、原生動物には培養の不安定性という問題があり、餌料として大量に利用するためには、安定した培養を可能にしなければならない。橈脚類においては、チャイロマルハタの初期餌料に用いたところ、生残率が向上したという報告がある<sup>3)</sup>。キンメダイの初期餌料としては今のところ効果が見られないが、ワムシと併用したり、飼育環境を改善した場合に有用な初期餌料になり得る可能性がある。

また、円石藻などをワムシの餌料として用いることも考えられる。円石藻で育てたワムシの仔魚に対する餌料価値、あるいは円石藻そのもののワムシに対する餌料価値については今後の課題である。今後は、深層水と特に相性が良い藻類である珪藻の利用を検討することも、重要であると思わ

れる。

#### 参考文献

- 1) 日本産海洋プランクトン検索図説 東海大学出版会
- 2) 多和田真周 餌料用微少藻類の探索と導入  
初期餌料生物—シオミズツボウムシ193-198
- 3) J. D. Toledo 他 Use of Copepod Nauplii  
During Early Feeding Stage of Grouper  
*Epinephelus coioides*. *Fisheries Science* 65(3),  
390-397(1999)