

ワムシの増殖と生産コストに及ぼす連続給餌の効果

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2025-04-24 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 小磯, 雅彦, 友田, 努, 桑田, 博, 日野, 明德 メールアドレス: 所属:
URL	https://fra.repo.nii.ac.jp/records/2014554

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.



ワムシの増殖と生産コストに及ぼす連続給餌の効果

小磯雅彦^{*1}・友田 努^{*1}・桑田 博^{*1}・日野明德^{*2}

Effects of continuous feeding on population growth and feeding cost in the culture of rotifer *Brachionus plicatilis*

Masahiko KOISO, Tsutomu TOMODA, Hiroshi KUWADA, and Akinori HINO

In order to investigate effective feeding methods for the mass culture of rotifer *Brachionus plicatilis*, we applied three different feeding modes; continuous, twice/day and once/day feedings. Daily growth rates and feeding costs using condensed freshwater *Chlorella* for the production of 100 million rotifers for continuous, twice/day and once/day feedings were [61.1% and 1.47 l], [45.7% and 2.28 l] and [44.5% and 2.33 l], respectively. We considered that the superior population growth in continuous feeding was due to the ability to maintaining the proper food density and dissolved oxygen levels. These results suggest that continuous feeding improves the efficiency of rotifer production.

2004年7月20日受理

海産ワムシ類の培養は、従来の植え継ぎ式や間引き式の培養法に対して、新たに連続培養法¹⁾と高密度培養法²⁾が開発されたことで、生産の効率性や安定性に加えて作業性も飛躍的に改善された。これらの新たな培養法は培養形態が様々な点で異なるが、給餌においては同様の方法が採用されていることが多い。この給餌方法は、小型の定量ポンプを用いて餌料懸濁液を少量ずつ24時間連続的に給餌する方法であり、従来の培養法で行われてきた1日の総給餌量を1回もしくは2回程度に分けて給餌する方法とは異なっている。

餌料密度に関して、至適密度を超えた高い餌料密度は海産ワムシ類の増殖率の停滞または減少をもたらすことが多く報告^{3~10)}されている。1日の総給餌量を1回もしくは2回程度に分けて給餌する方法では、大量の餌料の投与により給餌直後の餌料密度が大幅に高くなることで、それに起因して様々な増殖阻害が発生し、ワムシの増殖率が低下する可能性が考えられる。このため、連続培養法や高密度培養法では、増殖阻害要因となる高い餌料密度を回避する目的で連続給餌が行われていると考えられる。しかし、連続給餌が海産ワムシ類の培養に及ぼす具体的な効果については明らかにされていない。

本研究では、シオミズツボワムシ、*Brachionus plicatilis*

(以下ワムシ) 培養における連続給餌の効果を検証するために、給餌方法を変えてワムシ密度、培養水中のクロレラ細胞密度(以下餌料密度)、溶存酸素濃度を調べ、比増殖率、日間増殖率およびワムシ1億個体生産に要するクロレラ量と餌料費を比較した。

材料と方法

供試ワムシ ワムシは、水産総合研究センター能登島栽培漁業センターで5年以上継代培養している“L型ワムシ近大株”(携卵個体の平均背甲長: $264 \pm 17 \mu\text{m}$)を用いた。

培養方法 実験には、100 lポリカーボネイト円型水槽を用いた。培養水には、砂ろ過海水と水道水を混合して60%海水(塩分20 psu)を作り、これを $5 \mu\text{m}$ と $0.5 \mu\text{m}$ のカートリッジフィルター(ADVANTEC社製, TCW-5 N-PPSE と TCW-05N-PPSE)でろ過したものを使用した。水温はウォーターバス方式で $25 \pm 1^\circ\text{C}$ を維持し、通気は水槽あたりユニホース(ユニホース社製, 長さ20 cm)1本で行い、通気量は10 l/分とした。培養水中のワムシの糞等の懸濁物を除去するために、フィルターマット(旭化成社製, サランロック, 品番 OM-150, 30 cm ×

^{*1} 独立行政法人水産総合研究センター 能登島栽培漁業センター 〒926-0216 石川県七尾市能登島曲町15-1-1 (Notojima Station, National Center for Stock Enhancement, FRA 15-1-1 Notojima Nanao Ishikawa, 926-0216 Japan).

^{*2} 東京大学大学院農学生命科学研究科 〒113-8657 東京都文京区弥生1-1-1.

30 cm, 厚さ 5 cm) を水槽底面に設置した。

ワムシの接種密度は 200 個体/ml とした。餌料は、市販の濃縮淡水クロレラ（クロレラ工業社製、生クロレラ-V12, 細胞密度約 1.5×10^{10} 細胞/ml, 以下クロレラ）を用い、給餌量はワムシ 1 億個体あたり 1.0 l/日を基準量とした。給餌方法は、チューブ式定量ポンプ（EYELA 社製、MICRO TUBE PUMP, MP-3N）を用いて 24 時間連続的に給餌する方法（以下連続給餌区）と、10 時と 16 時の 2 回に分けて給餌する方法（以下 2 回/日給餌区）および 10 時に 1 回で給餌する方法（以下 1 回/日給餌区）の 3 方法とした。実験区ごとに 3 水槽ずつ用いた。なお、連続給餌の場合、給餌は少量ずつ連続して行われるため、培養開始当初には培養水中に餌料が無くワムシが飢餓状態になる。これを避けるために、本実験の連続給餌区では、培養開始時だけに 1 日の総給餌量の半分を直接給餌して、残りを連続的に給餌した。

異なる給餌方法による培養実験の調査 各培養水槽のワムシ密度と餌料密度の計数および水温と溶存酸素濃度の測定は、培養開始から培養 4 日目まで 3 時間ごとに行った。ワムシ密度の計数では、培養水 1 ml あたりの個体数を調べた。餌料密度の計数には、トーマの血球計算盤を用いた。なお、ワムシ密度と餌料密度の計数はそれぞれ 3 回繰り返し、その平均値を用いた。比増殖率¹⁾と日間増殖率は、ワムシ密度の計数値を用いて、次の式から求めた。

$$\text{比増殖率: } r = \ln(N_t/N_{t-1}),$$

$$\text{日間増殖率 (\%): } g = (N_t - N_{t-1})/N_{t-1} \times 100,$$

N_t は t 日目の個体密度,

ワムシ 1 億個体生産に要するクロレラ量は、実験期間中のクロレラ総給餌量を実験終了時の総ワムシ数から接種数を引いた純生産数で除して求めた。また、クロレラの単価を 650 円/l（2004 年現在）として、ワムシ 1 億個体生産に要する餌料費も算出した。培養水中の溶存酸素濃度は、DO メーター（YSI/Nanotech 社製、model 85）で測定した。なお、2 回/日給餌区や 1 回/日給餌区では、給餌 1 時間後にも餌料密度の計数と溶存酸素濃度の測定を行った。

統計処理 給餌方法の違いによるワムシ密度、比増殖率、日間増殖率およびワムシ 1 億個体生産に要するクロ

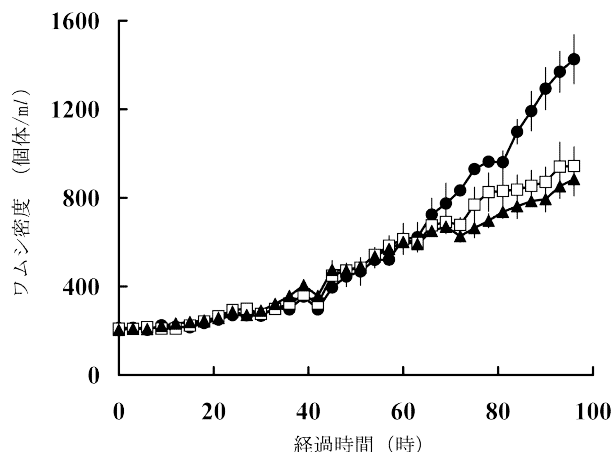


図 1. 給餌方法が異なる培養におけるワムシ密度の推移
●: 連続給餌, □: 2 回/日給餌, ▲: 1 回/日給餌, —: 標準偏差

レラ量と餌料費の検定について、平均値の差には一元配置分散分析を、各水準間の差には Fisher's PLSD test を用い、有意水準はそれぞれ 5%とした。

結 果

ワムシ密度 培養経過に伴う各給餌方法のワムシ密度の変化を図 1 に示した。培養開始から 66 時間後までは 3 区とも同様の増加傾向を示したが、69 時間以降は連続給餌区の密度が高くなる傾向が認められた。培養開始 96 時間後の試験終了時では、連続給餌区の密度は $1,426 \pm 111$ 個体/ml となり、2 回/日給餌区の 943 ± 87 個体/ml、1 回/日給餌区の 885 ± 76 個体/ml より有意に高くなった ($p < 0.001$)。また、培養期間を通じての比増殖率と日間増殖率も、連続給餌区では 0.477 ± 0.016 と $61.1 \pm 2.6\%$ であり、2 回/日給餌区の 0.376 ± 0.042 と $45.7 \pm 6.1\%$ 、1 回/日給餌区の 0.367 ± 0.040 と $44.5 \pm 5.7\%$ より有意に高くなった ($p < 0.05$, 表 1)。

ワムシ 1 億個体生産に要するクロレラ量と餌料費 実験期間中のワムシ純生産数とクロレラの総給餌量は、連続給餌区、2 回/日給餌区および 1 回/日給餌区では、それぞれ 1.21 ± 0.09 億個体と 1.77 ± 0.06 l、 0.73 ± 0.10 億個体と 1.65 ± 0.04 l、および 0.68 ± 0.09 億個体と 1.57 ± 0.03 l

表 1. 異なる給餌方法で培養されたワムシの生産結果の概要

	給餌方法		
	連続給餌	2 回/日給餌	1 回/日給餌
培養開始密度 (個体/ml)	212 ± 23	209 ± 16	204 ± 20
培養 96 時間後の密度 (個体/ml)	$1,426 \pm 111^b$	943 ± 87^a	885 ± 76^a
比増殖率 (r)	0.477 ± 0.016^b	0.376 ± 0.042^a	0.367 ± 0.040^a
日間増殖率 (%)	61.1 ± 2.6^b	45.7 ± 6.1^a	44.5 ± 5.7^a
ワムシ 1 億個体生産に要するクロレラ量 (l)	1.47 ± 0.16^a	2.28 ± 0.30^b	2.33 ± 0.30^b
ワムシ 1 億個体生産に要する餌料費* (円)	955 ± 104^a	$1,482 \pm 196^b$	$1,515 \pm 197^b$

*ワムシ 1 億個体生産に要する餌料費は、濃縮淡水クロレラの単価を 650 円/l（2004 年現在）で計算した。
上付文字が異なる場合には、有意差あり ($p < 0.05$, $a < b$)。

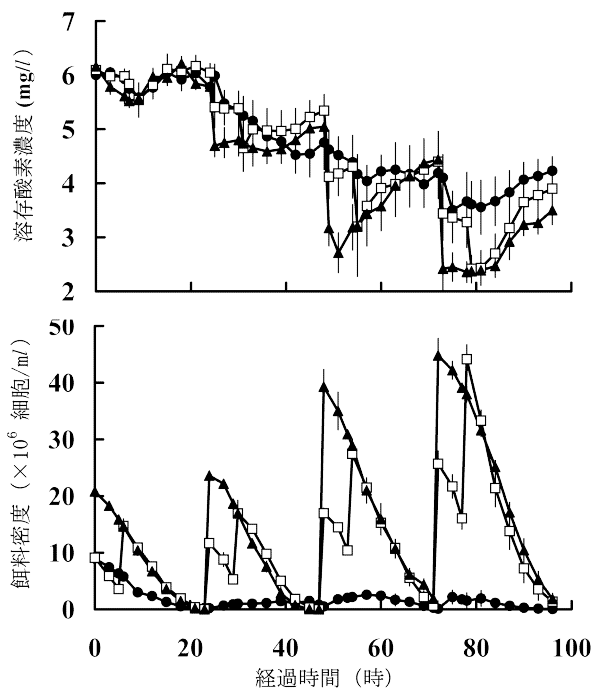


図2. 給餌方法が異なる培養における餌料密度と溶存酸素濃度の推移
●: 連続給餌, □: 2回/日給餌, ▲: 1回/日給餌, —: 標準偏差

であった。これから計算されるワムシ1億個体生産に要するクロレラ量と餌料費は、連続給餌区が 1.47 ± 0.16 lと 955 ± 104 円であり、2回/日給餌区の 2.28 ± 0.30 lと $1,482 \pm 196$ 円、1回/日給餌区の 2.33 ± 0.30 lと $1,515 \pm 197$ 円より有意に低くなった ($p < 0.01$, 表1)。

餌料密度 培養開始時の餌料密度は、連続給餌区の培養開始12時間後から試験終了までは $0.1 \sim 2.6 \times 10^6$ 細胞/mlにとどまった。一方、2回/日給餌区や1回/日給餌区では、連続給餌区に比べて給餌直後の餌料密度が大幅に高くなり、2回/日給餌区では培養開始79時間後に $44.1 \pm 2.5 \times 10^6$ 細胞/ml、1回/日給餌区では培養開始73時間後に $44.8 \pm 3.0 \times 10^6$ 細胞/mlまで増加した。しかし、次の給餌までに餌料密度は極端に低下し、培養開始24, 48時間後の給餌直前には両区共に0細胞/mlであった (図2)。

溶存酸素濃度 溶存酸素濃度は、連続給餌区では培養経過に伴って徐々に低下する傾向が認められた。一方、2回/日給餌区と1回/日給餌区では、給餌直後に急激な低下がおり、その後徐々に回復する傾向が認められた。給餌による溶存酸素濃度の低下量は、ワムシ密度の増加で1回あたりの給餌量が増えるにしたがって大きくなる傾向が認められ、最大低下幅は、2回/日給餌区では 0.9 mg/lで、1回/日給餌区では 2.0 mg/lであった (図2)。

考 察

本研究では、ワムシ培養における連続給餌の効果を検

証した結果、連続給餌区は2回/日給餌区や1回/日給餌区に比べて、ワムシ1億個体あたりの給餌量が同じでも日間増殖率が15%以上高くなり、餌料効率が向上することで、ワムシ1億個体生産に要するクロレラ量や餌料費が35%以上軽減されることがわかった (表1)。

連続給餌の増殖率や生産コストが2回/日給餌区や1回/日給餌区よりも優れた理由について、培養水中の餌料密度と溶存酸素濃度に注目して検討を行った。本培養実験での最大餌料密度は、連続給餌区では培養開始12時間以降は 2.6×10^6 細胞/ml以内にとどまったが、2回/日給餌区や1回/日給餌区ではそれぞれ培養開始日には 14.7×10^6 細胞/mlと 20.8×10^6 細胞/ml、培養3日目には 44.1×10^6 細胞/mlと 44.8×10^6 細胞/mlであった (図2)。海産ワムシ類は、至適密度を超えた高い餌料密度では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⁶⁾、遊泳にかかるエネルギー量が増加し、再生産に利用されるエネルギー量が減少すること⁸⁾、摂餌過程で機械的な障害が起こること⁹⁾などにより、増殖率が停滞または減少する³⁻¹⁰⁾ことが報告されている。また、至適餌料密度については、L型ワムシに市販のクロレラを給餌した場合、水温が 26°C 、培養水の塩分が27psuでは $2.5 \sim 5.0 \times 10^6$ 細胞/mlの範囲である¹²⁾ことが報告されている。これらのことから、連続給餌区では餌料密度が培養期間を通じてほぼ至適密度以下で推移したことから、高い餌料密度に起因する増殖阻害がほとんど発生しなかったと考えられる。しかし、2回/日給餌区や1回/日給餌区では、餌料密度が至適密度を大幅に超えたことから、ワムシの増殖阻害が発生し、その影響を受けた可能性が高いと考えられる。

また、連続給餌区では常時培養水中に餌料が認められたが、2回/日給餌区や1回/日給餌区では給餌前には餌料密度が極端に低下して餌料のない状態も認められた (図2)。21時間と23時間の飢餓に曝されたワムシは、飢餓に曝されていないワムシに比べて寿命や産卵可能期間は長くなるが、世代あたりの産卵数が減少すること¹³⁾や飢餓の影響が次世代にまで作用すること¹⁴⁾が報告されている。連続給餌区では常時餌料が認められたために、飢餓は発生しなかったと考えられるが、2回/日給餌区と1回/日給餌区では培養水中に餌料のない時間があり、飢餓による成長や産卵の遅延がおきた可能性が考えられる。

さらに、溶存酸素濃度は、連続給餌区では培養経過に伴って徐々に低下したが、2回/日給餌区や1回/日給餌区では給餌直後に急激な低下が認められた (図2)。この溶存酸素濃度の急激な低下は、クロレラの添加量が多いほど溶存酸素濃度の低下は激しいこと¹⁵⁾から2回/日給餌区や1回/日給餌区では一度に餌料を大量に給餌したことで発生したと考えられる。溶存酸素濃度の急激な低下がワムシに及ぼす影響については、 0.9 mg/lでも安定していたS型ワムシが 2.3 mg/lから 0.8 mg/lへの急激

な低下で密度が減少すること¹⁶⁾が報告されている。連続給餌区では餌料を少量ずつ給餌することで、溶存酸素濃度の急激な低下は発生しなかったと考えられるが、2回/日給餌区や1回/日給餌区では溶存酸素濃度の急激な低下が認められ、その影響を受けた可能性が考えられる。

以上のことから、連続給餌区は、餌料を少量ずつ連続的に給餌することで、増殖阻害の原因となる至適密度を超えた高い餌料密度や飢餓および溶存酸素濃度の急激な低下を排除することができるため、2回/日給餌区や1回/日給餌区より増殖率や生産コストが優れたと考えられる。

高い餌料密度に起因する増殖阻害や溶存酸素濃度の急激な低下の影響は、2回/日給餌区や1回/日給餌区では時間経過に伴って大きくなったことから(図2)、給餌量の増加、すなわちワムシ密度の増加に伴って増大すると考えられる。このため、特に高密度でワムシ培養を行う場合には、これらの増殖阻害要因を排除できる連続給餌が有効であると考えられる。

連続給餌は、その効果が増殖阻害の原因となる至適密度を超えた高い餌料密度や飢餓および溶存酸素濃度の急激な低下を排除できることで、増殖率や生産コストが優れることから、本研究を行った植え継ぎ式培養法だけでなく、間引き式培養法に適用してもワムシ生産の効率性が向上するものと考えられる。

謝 辞

本研究を行うにあたり、有益な御助言・御協力をいただいた独立行政法人水産総合研究センター能登島栽培漁業センターの職員諸氏に深く感謝の意を表する。

文 献

- 1) FU, Y., A. HADA, T. YAMASHITA, and A. HINO (1997) Development of a continuous culture system for stable mass production of the marine rotifer *Brachionus*. *Hydrobiologia*, **358**, 145–151.
- 2) 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.
- 3) 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.
- 4) 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. *ippon Suisan Gakkaishi*, **39**, 1123–1127.
- 5) 平山和次 (1983) 4. 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.
- 6) 山崎繁久・平田八郎 (1985) シオミズツボワムシ (*Brachionus plicatilis*) の摂餌率および増殖率に及ぼす給餌密度. 水産増殖, **32**, 225–229.
- 7) 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**, 137–140.
- 8) WALZ, N. (1993) Element of Energy Balance of *Brachionus angularis*. in “Plankton Regulation Dynamics”, Springer-Verlag, Berlin, pp. 106–122.
- 9) 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.
- 10) AOKI, S., and A. HINO (1996) Nitrogen flow in a chemostat culture of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Fish. Sci.* **62**, 8–14.
- 11) 桑田 博 (2000) 1–3 用語の定義. 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, pp. 3–4.
- 12) 小磯雅彦 (2000) I 5–3 給餌量. 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, pp. 38–39.
- 13) YOSHINAGA, T., A. HAGIWARA, and K. TSUKAMOTO (2000) Effect of periodical starvation on the life history of *Brachionus plicatilis* O. F. Muller (Rotifera): a possible strategy for population stability. *J. Exp. Mar. Bio.*, **253**, 253–260.
- 14) YOSHINAGA, T., A. HAGIWARA, and K. TSUKAMOTO (2001) Effect of periodical starvation on the survival of offspring in the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Fish. Sci.*, **67**, 373–374.
- 15) 吉村研治・北島 力・宮本義次・岸本源次 (1994) 濃縮淡水クロレラ給餌によるシオミズツボワムシの高密度培養における増殖阻害要因について. 日水誌, **60**, 207–213.
- 16) 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.