

2. ユビナガチビワムシの培養試験

ユビナガチビワムシ *Colurella adriatica* EHRENBERG は背甲長 70.4~99.5 μ 高さ 41.3~63.1 μ の大きさでシオミズツボワムシの S 型（以下 S 型ワムシと略す）よりさらに小さいチビワムシ属に相当する種である。

この種は背甲長が長卵形、左右に側扁する。後端は尖っているが、先端部の長短、その方向などに変異が見られる。趾が長く直線的で左右がしっかりと相接している。普遍分布種、淡水産であるが、内陸の塩水、汽水、海水、温泉などにも出現すると記載されている。²⁾

ユビナガチビワムシは当支場ではワムシ培養水槽においてワムシの培養中に周年にわたって出現するが、その密度は極めて低い。また親魚水槽や採卵用に設置してある 0.5 kℓ ポリカーボネート水槽の壁面に繁茂している海藻等に付着しているのが時々見られる。この種は海藻やワムシ、チグリオプスの死骸、残査物等に付着する性質があり、この種だけを採集、分離するには困難で、今まで利用することが出来なかった。

当支場で、種苗生産対象種として取り扱っている魚種は卵径及びふ化仔魚が小さく、S 型ワムシを初期餌料に投与して飼育開始しても飼育初期の歩留りは極端に低い傾向にあった。そこで昭和 59 年以降は選別された小型ワムシ（ワムシ培養水槽から 80 μ の採集網地でワムシをこし取り、それから抜け出た小型のワムシを 40 μ の採集網地で採取）を投与して飼育したところ以前よりは若干良い結果を示したもの大幅な技術の向上にはつながっていない。しかしそのような餌料投与を継続するうちに、日令 3~10 のハマフエフキやマダラハタ仔魚の消化管内容物を観察すると、小型ワムシやワムシ卵とともにユビナガチビワムシの摂餌が確認された。

そのためにこの種は卵径が小型で、ふ化仔魚が小さい魚種の初期餌料に極めて良好な餌料と考えられたため、この種の培養手法について検討することとした。

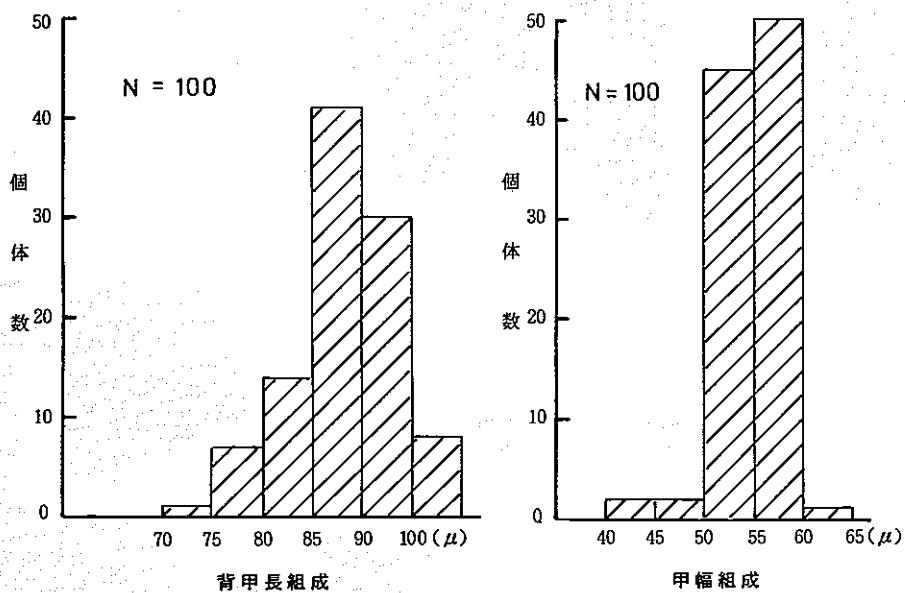


図 11. マダラハタ親魚水槽横の採卵用 0.5 kℓ ポリカーボネート水槽内より採取したユビナガチビワムシの背甲長と甲幅の測定結果

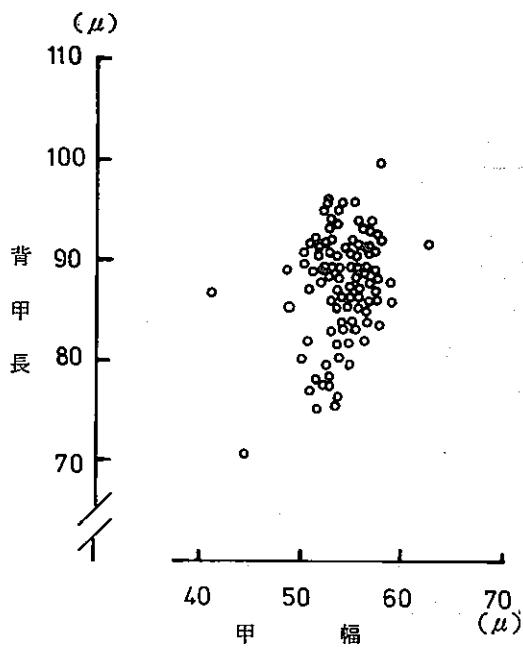


図 12 ユビナガチビワムシの背甲長と
甲幅の関係

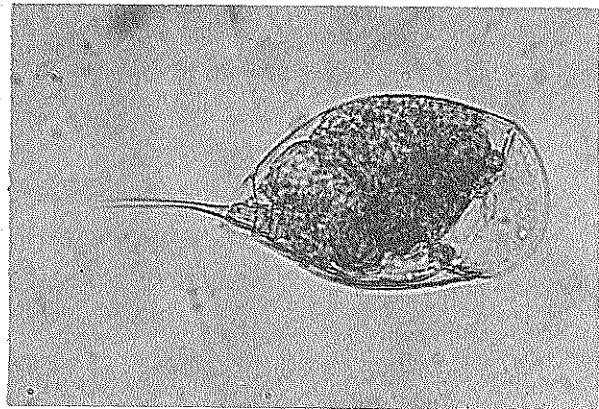


写真1 ユビナガチビワムシの拡大写真
($\times 400$ 倍)



写真2
ハマフエフキ仔魚の消化管拡大写真
長卵径 2 個はワムシ卵とその右下チ
ビワムシが摂餌されている
($\times 100$ 倍)



写真3
ハマフエフキ仔魚 (TL 3 mm) の
消化管より押し出したチビワムシ
($\times 100$ 倍)

試験一 ユビナガチビワムシの餌料培養試験

材料と方法

水槽は30ℓポリカーボネート水槽を使用、生海水(100%)30ℓを張り、通気を水槽中央の1ヶ所から25ml/secに調節、水槽の設置場所は室内とした。餌料試験区分は1区が牛糞の乾燥(たい肥)約10gを乳鉢ですりつぶし、その後、海水と混合して100μの網地で濾し、その濾し汁を投与、2区は緑藻2種(アオノリ類、ジエズモ類)を湿重量で10~20gを1区と同様、3区はパン酵母を1g/日の割合で投与した。ユビナガチビワムシ(以下、チビワムシと略す)は採卵用小型水槽内に繁茂したアオノリ類に付着している個体を採集し、それぞれに3万個ずつ飼育培養水1ml当たり1個の密度となるように接種した。

測定項目は水温、PH、塩分濃度とし、チビワムシの密度は水槽内をやや強く攪拌し、その後、培養水を1mlメススピットで取り、実体顕微鏡下で尾数を計数し、その3回の平均値により密度を算出した。

結果

餌料種類別の培養結果を表1に示す。チビワムシの接種量は培養当初、飼育水1ml当たり1個の密度で接種したが、培養3日目には飼育水中にチビワムシはほとんど計数されなかった。

表1 ユビナガチビワムシの餌料培養試験

月 日	培養日数	1区 (たい肥)			2区 (緑藻)			3区 (イースト)		
		個/ml	個/ml	個/ml	個/ml	個/ml	個/ml	個/ml	個/ml	個/ml
7月28日	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—
29	1	0.05	—	—	0	—	—	0	—	—
30	2	0	—	—	0	—	—	0	—	—
31	3	0	—	—	0.1	—	—	0.1	—	—
8月1日	4	0	—	—	3.8	—	—	1.0	—	—
2	5	0	—	—	2.5	—	—	1.5	—	—
3	6	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4	7	0	—	—	3.0	—	—	2.0	—	—
5	8	0	—	—	1.5	—	—	1.0	—	—
6	9	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7	10	—	—	—	—	—	—	—	—	—
8	11	0	—	—	0	—	—	7.5	—	—
9	12	0	—	—	0	—	—	9.0	—	—
10	13	—	—	—	—	—	—	—	—	—
11	14	0	—	—	0	—	—	5.5	—	—
12	15	0	—	—	0	—	—	2.0	—	—

※ 水温は26.2~28.2°C、PHは8.49~8.75の範囲 一線は未計数

1区は培養初日に0.05個/mlの密度が計数されたがその後は試験終了時までチビワムシは計数されず、培養前半にして死滅したものと思われた。2区は培養開始4~8日までに1.5~3.8個/mlの密度に増加したものその後は計数不能となり1区同様、培養中途で死滅したものと思われた。3区は培養開始8日目までは2個/mlの密度とほぼ接種時と同密度で推移した。

培養開始 11 ~ 12 日目には 7.5 ~ 9.0 個 / ml と増加して培養密度のピークとなり、試験終了時には 2 個 / ml に減少した。

チビワムシの培養に 3 種類の異なる餌料を使用して、試験を実施したが 1 区、 2 区は培養密度の増加が認められず、餌料投与量に問題が残るもの、餌料投与作業にやや手間がかかることにより、適当な餌料種類とはいえないようである。(3 区のパン酵母区はチビワムシ密度の増殖速度がやや遅いきらいがあるものの低密度ではあるが、増加傾向を示したことからチビワムシの餌料として可能性があるものと示唆された。)

試験-2 ユビナガチビワムシの塩分濃度別培養試験

材料と方法 試験-1 においてチビワムシの餌料としてパン酵母を投与して培養を試みたところ、低密度ではあるが増加することが認められたことからパン酵母と対照区として、通称海産クロレラ(真正眼点藻綱に属すると思われる種)を培養餌料として塩分濃度別の培養試験を表 2 に示す方法で試験を実施した。

試験場所は屋外 200 kℓ コンクリート水槽内に遮光ネット(遮光率 80 %)を張り、培養水槽は 30 ℥ ポリカーボネート水槽を使用、水槽中央にエアーストーンを 1 個設置し 25 ml/sec の通気量に調整した。E-1, E-2, E-3 区はパン酵母の餌料とし、培養開始時の塩分調整は生海水に簡易水道の水を混合して行なった。G-1, G-2, G-3 区は通称海産クロレラを餌料区とし、培養開始時の細胞数濃度は G-1 が $1,100 \times 10^4$, G-2 が、 830×10^4 , G-3 が 513×10^4 Cells/ml であった。培養中途での通称海産クロレラの交換及び追加は行なわず、試験終了時にそれぞれの試験区の細胞数濃度を計数した。試験区別の塩分調整はパン酵母区と同様である。

表 2 試験方法

区分	餌料種類	塩分濃度	チビワムシの接種量	餌料投与量	備考
E-1 区	パン酵母	100 %	$\times 10^4$ 個	g/日	
E-2 区	"	75	45	0.3	—
E-3 区	"	50	45	0.3	—
G-1 区	通称海産クロレラ	100	45	—	$1,100 \times 10^4$ cells/ml
G-2 区	"	75	45	—	830×10^4 "
G-3 区	"	50	45	—	513×10^4 "

接種用のチビワムシはワムシ培養水槽として使用している屋外 60 kℓ コンクリート水槽内より採集して使用した。チビワムシの計数方法は試験-1 と同様であるが、密度の高いときはルゴール液で固定して

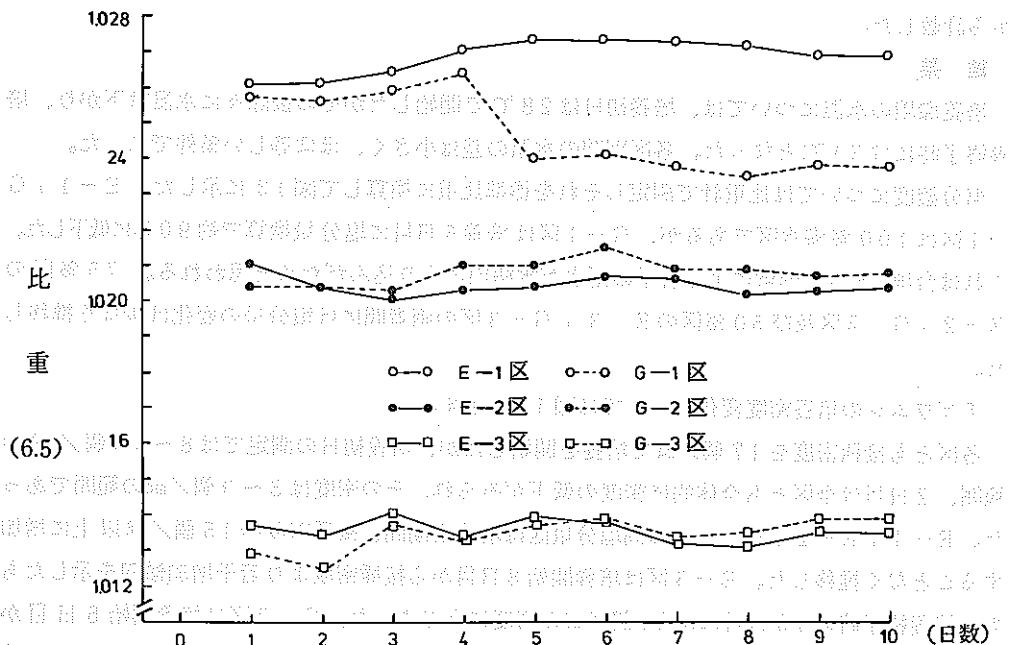


図13 各区別の培養期間中における比重(6.5)の日変化

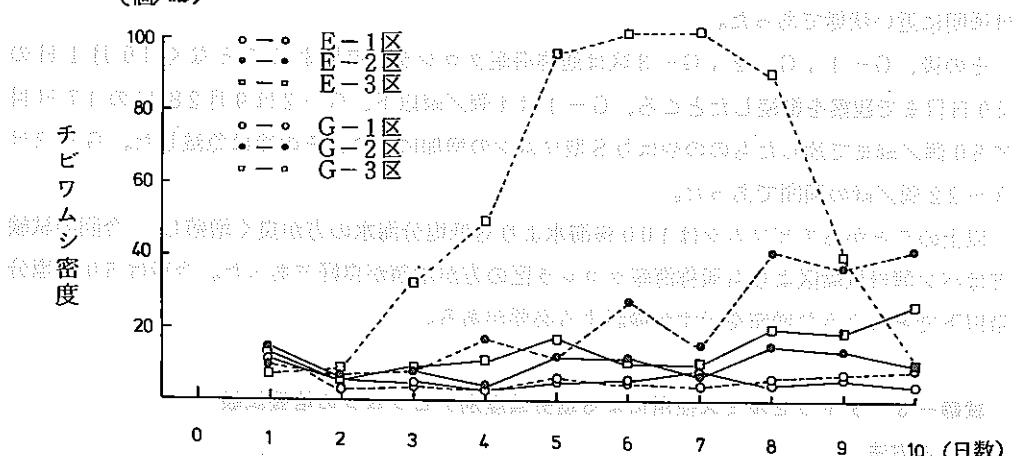


図14 各区別の培養期間中におけるチビワムシ密度の日変化

から計数した。

結果

培養環境の水温については、培養初日は28℃で開始したがその後日々に水温は下がり、培養終了時には24℃となった。各区別間の水温の差は小さく、ほぼ等しい条件であった。

塩分濃度については比重計で測定しそれを標準比重に換算して図13に示した。E-1, G-1区は100%海水区であるが、G-1区は培養5日目に塩分量換算で約90%に低下した。これは台風16号の影響により若干の雨水が水槽内に入り込んだためと思われる。75%区のE-2, G-2区及び50%区のE-3, G-3区の両者間には塩分量の変化は少なく推移した。

チビワムシの培養密度変化について図14に示す。

各区とも接種密度を17個/mlで培養を開始したが、培養初日の測定では8~15個/mlの範囲、2日目は全区とも全体的に密度の低下がみられ、その密度は3~9個/mlの範囲であった。E-1, E-2, G-1区の高塩分量区は培養全期間、接種密度の15個/ml以上に増加することなく推移した。E-3区は培養開始8日目から接種密度より若干増加傾向を示したもののが培養終了時の10日目には26個/mlの密度にとどまった。G-2区は培養開始6日目から増加傾向を示し、10日目の終了時には41個/mlの培養密度に増加した。G-3区は培養開始3日目から培養密度が急上昇し、6~7日目には101~102個/mlまで達し、各区別の培養試験の中では最高を記録した。しかし7日目からS型ワムシが増加し、それに伴う通称海産クロレラの濃度の低下によりチビワムシの密度も急激に低下して10日目の終了時には10個/mlの低密度の結果となった。

なお、通称海産クロレラの細胞数濃度はG-1は 160×10^4 , G-2は 460×10^4 , G-3は 12×10^4 cells/mlまで低下し、特にG-3区はS型ワムシの増加により、培養水は透明に近い状態であった。

その後、G-1, G-2, G-3区は通称海産クロレラを追加することなく10月1日の20日目まで観察を継続したところ、G-1は4個/ml以下、G-2は9月28日の17日目に80個/mlまで達したものやはりS型ワムシの増加により、その後は急減した。G-3は3~22個/mlの範囲であった。

以上のことからチビワムシは100%海水よりも低塩分海水の方が良く増殖し、今回の試験ではパン酵母試験区よりも通称海産クロレラ区の方が増殖が良好であった。今後は50%塩分量以下でどのような増殖を示すか検討する必要がある。

試験-3 テトラセルミス使用による塩分濃度別チビワムシの培養試験

材料と方法

テトラセルミスは0.5klポリカーボネート水槽3面(100%, 75%, 50%海水)で培養中のものを使用した。試験場所は屋外コンクリート200kl水槽で、使用水槽、通気量、計数量等は試験-2と同様である。培養途中でテトラセルミスの濃度が低くなると培養水量の約1/3量をサイホンで抜き取り、S型ワムシやチビワムシは40μの網地で受け取って戻し、減水量分は0.5kl水槽で培養中のテトラセルミスを追加した。チビワムシの接種量はそれぞれ約150

万個、培養水中のチビワムシ密度は50個/ ml で開始した。

接種に使用したチビワムシは0.5k ℓ 黑色水槽でイーストを投与して培養したもので若干S型ワムシが混入しており、培養日数が経過するにつれてS型ワムシも増殖したのでチビワムシ同様に密度の計数を実施した。

結果

水温は23.3~24.8°Cの範囲で各区別の水温差は小さい。比重(σ^{15})については培養開始から終了まで各区とも大きな変化はなく安定した状態で推移した。

チビワムシの日別密度変化については図17に示す。

1区は培養2日目には3個/ ml まで急減し、3~4日目は6~10個/ ml と若干増加したものの、その後は低密度の状態で推移した。2区は培養3~4日目に4~7個/ ml まで急減したが5日目から徐々に増加傾向となり培養9日目に37個/ ml に達し、10日目以降は減少した。3区は培養3日目に23個/ ml まで減少したが1~2区より減少率は小さく、培養4日目から増加傾向を示し、6日目には89個/ ml に達した。しかしその後は安定することなく減少傾向で推移した。

1~3区の中では接種密度以上に増加したのは3区のみで低塩分濃度海水になる程、良い結果を示している。図15にテトラセルミスの日別濃度変化を示してあるが、培養日数が進むに

なるほど、(0.1%塩分濃度海水)に付着したテトラセルミスはその生存率が高まらず、(0.5%塩分濃度海水)に付着したテトラセルミスは生存率が高まることで、(1.0%塩分濃度海水)に付着したテトラセルミスは生存率が最も高いことである。

この結果から、(0.5%塩分濃度海水)に付着したテトラセルミスは生存率が最も高いことである。

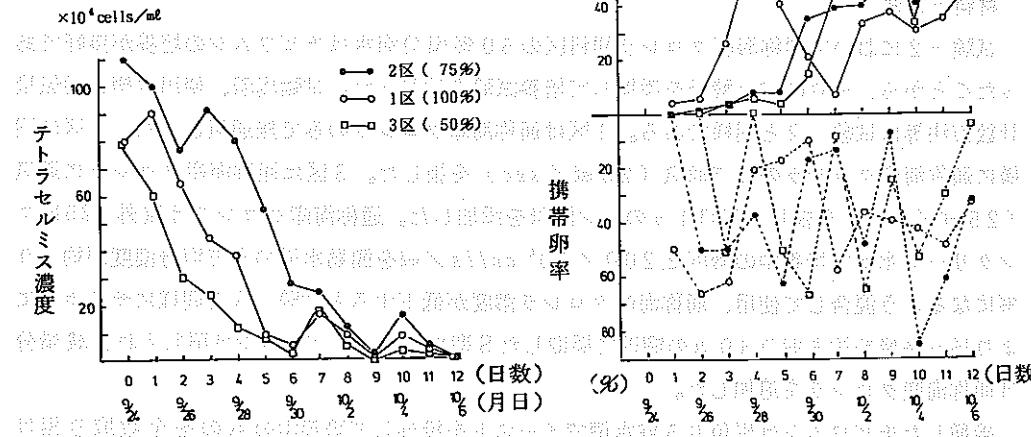


図15 チビワムシの塩分濃度別培養試験におけるテトラセルミスの濃度変化

図16 テトラセルミス投与によるチビワムシ密度変化と携帯卵率の変化

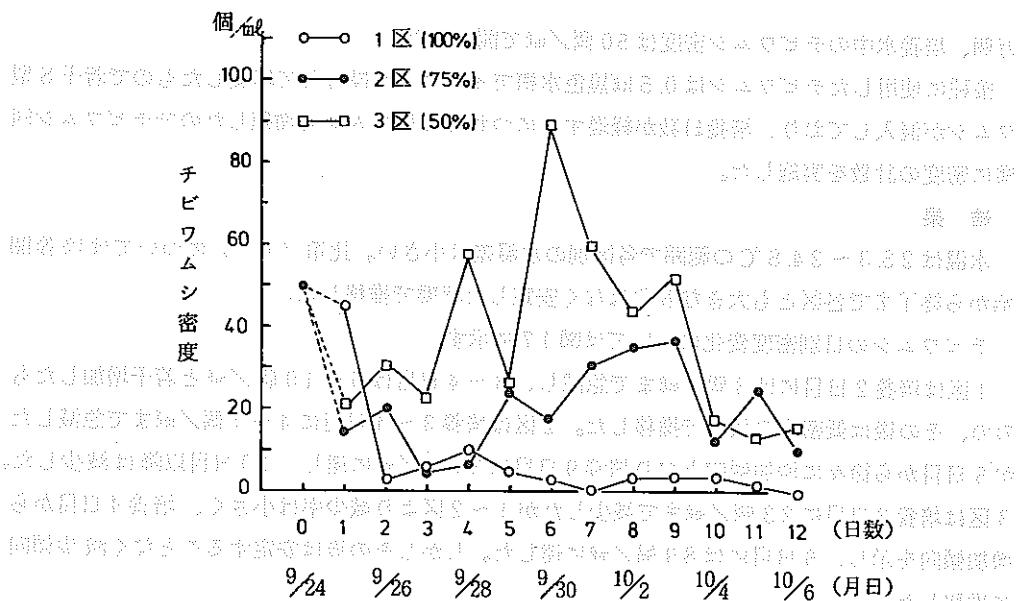


図17 テトラセルミス投与によるチビワムシの密度日変化
Fig. 17 Daily density changes of Chironomus with Tetraselmis supplementation.

つれてテトラセルミス濃度は急減し、培養6日目（1区 3.9万 $cell/ml \times 10\ell$, 3区 6.2万 $cell/ml \times 10\ell$ ）、9日目（1区 7万 $cell/ml \times 13\ell$, 2区 21万 $cell/ml \times 13\ell$, 3区 19万 $cell/ml \times 13\ell$ ）にそれぞれ追加したが、図16のように経過日数が進むにつれてS型ワムシの密度が増加した。チビワムシの密度がそれ程高くなかったのはこのように直接的、あるいは間接的に餌料源と思われる、テトラセルミスの濃度の低下とS型ワムシの密度増加がチビワムシの増殖に影響を与えたものと思われる。

試験一4 通称海産クロレラとパン酵母併用給餌によるチビワムシの餌料培養試験

材料と方法

試験一2において通称海産クロレラ餌料区の50%塩分海水はチビワムシの培養が良好であったことから、それにパン酵母を添加して培養試験を行なった。試験場所、使用水槽、通気量計数方法等は試験一2と同様である。1区は通称海産クロレラのみで無通気とした。2区は同様に通称海産クロレラのみで通気（25 ml/sec ）を施した。3区は通称海産クロレラに通気（25 ml/sec ）を施し、毎日1gのパン酵母を添加した。通称海産クロレラは屋外125kℓコンクリート水槽で培養中の濃度 $2,200 \times 10^4 cells/ml$ を簡易水道の水で塩分濃度が約50%になるよう混合して使用、通称海産クロレラ濃度が低下すると試験一3と同様にサイポンにより1/3～1/5量を抜き取り40μの網地で採取したS型ワムシとチビワムシは戻し入れ、減量分は通称海産クロレラを追加した。

接種したチビワムシは黒色0.5kℓ水槽でイーストを投与して培養中のものを全数取り揚げ（約300万個）、水槽3面にそれぞれ等分して接種した。その中には若干のS型ワムシも混入しており、チビワムシの培養日数が経過するにつれてS型ワムシも増殖傾向がみられたので、その密度変化と携帯卵率についても調べた。

結果

水温と比重（標準比重に換算）の計数結果を培養日数別に表3に示した。塩分量を培養当初は約50%で開始したが、培養7日目頃から培養水の蒸発等により塩分量が高くなり、培養終了の12日目には5.9~6.9%の範囲に特に3区は著しく上昇した。

通称海産クロレラの濃度変化については図18に示す。培養開始時は濃度が1,100 cells /mlであったのが3日目には250 cells /ml以下に減少したため、培養水の%量を抜き取り、10ℓの通称海産クロレラを追加、同様に7日目に培養水の%量(24ℓ)を、9日に培養水の%量(20ℓ)をそれぞれ追加した。通称海産クロレラ濃度は3区のパン酵母添加も1区及び2区と同様のパターンで変化した。

チビワムシ培養中におけるS型ワムシ密度の増加について図20に示す。1区は6日目まで10個/ml以下の低密度であったが、7日目から増加し、培養終了の12日目には60個/mlに達した。2区は4日目まで6個/ml以下であったが5日目から徐々に増加し、11日目に78個/mlに達したが12日目には54個/mlに密度が低下した。3区は5日目まで10個/mlであったが、6日目から急激に増加傾向となり、培養終了の12日目には350個/mlにまで達した。

表3 水温と比重(6.5)の計測結果

区	項目	月日						
		9/24	9/25	9/26	9/27	9/28	9/29	9/30
	培養日数	0	1	2	3	4	5	6
1	水温(℃)	24.7	24.5	24.0	24.0	23.2	22.9	22.6
	比重(6.5)	1.0132	1.0133	1.0132	1.0131	1.0130	1.0132	1.0159
2	水温(℃)	24.7	24.6	24.1	24.0	23.2	22.9	22.6
	比重(6.5)	1.0131	1.0133	1.0132	1.0130	1.0128	1.0130	1.0159
3	水温(℃)	24.8	24.6	24.2	24.0	23.5	23.1	22.9
	比重(6.5)	1.0130	1.0132	1.0133	1.0133	1.0133	1.0134	1.0134

区	項目	月日					
		10/1	10/2	10/3	10/4	10/5	10/6
	培養日数	7	8	9	10	11	12
1	水温(℃)	22.5	22.2	22.7	23.1	23.7	24.1
	比重(6.5)	1.0160	1.0156	1.0166	1.0164	1.0164	1.0166
2	水温(℃)	22.5	22.2	22.6	23.1	23.6	24.1
	比重(6.5)	1.0159	1.0156	1.0171	1.0150	1.0151	1.0155
3	水温(℃)	22.4	22.3	22.9	23.2	24.0	24.5
	比重(6.5)	1.0134	1.0140	1.0150	1.0177	1.0176	1.0181

チビワムシの密度変化については図19に示す。培養開始密度は各区とも30~35個/mlで1日目は全区とも5個/ml以下に減少した。1区は2日目に55個/mlまで増加したもの、その後は培養終了まで接種量以下の密度で推移した。2区は3日目に52個/mlまで増加したが、その後9日目まで12個/ml以下に減少、10日目から培養終了までは33~36個/mlの範囲であった。3区は培養4日目から急激に増加はじめ、6日目には368個/mlまで達し、

その後増減を繰り返して培養終了時は 145 個／ml の密度であった。1～3 区の中では、3 区の通称海産クロレラ十パン酵母投与区が良好な成績を示したが、S 型ワムシの増加や接種時のチビワムシの卵数、通称海産クロレラの濃度差などでチビワムシの増殖密度に違いがみられ、3 区では 368 個／ml の密度に達したもののチビワムシ密度が安定せず、今後はパン酵母の投与量についてさらに検討が必要であろう。

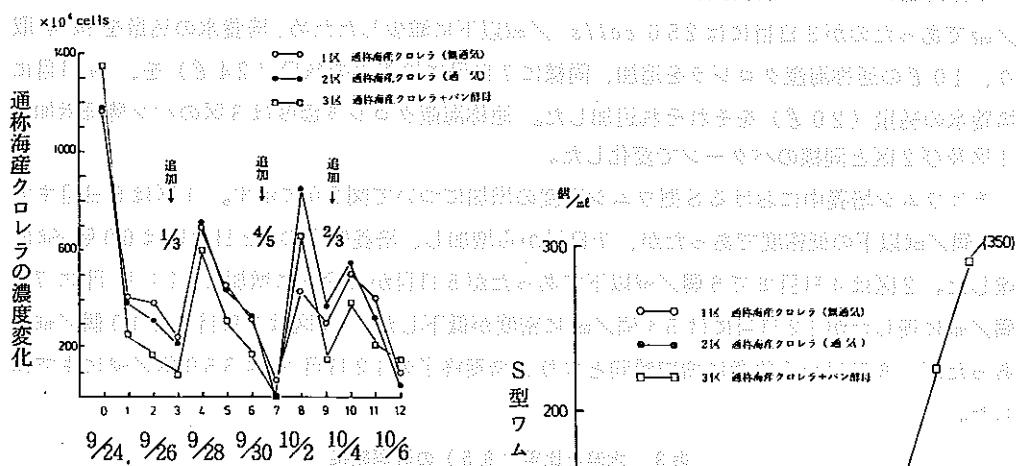


図 18 チビワムシの 50 % 海水における餌料種類別の培養試験中の通称海産クロレラの濃度変化

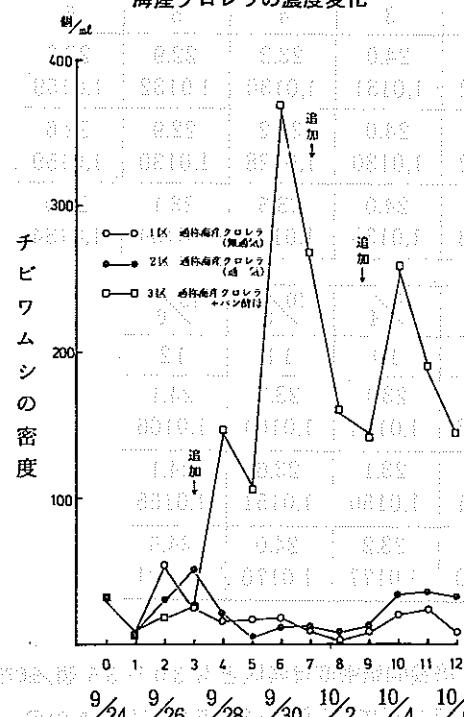


図 19 チビワムシの 50 % 海水における餌料種類別の培養試験

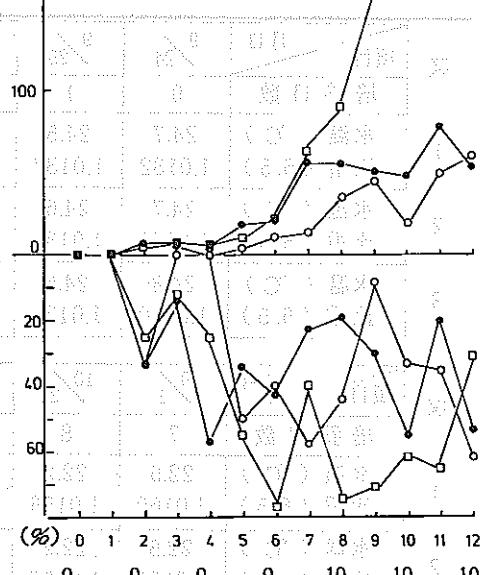


図 20 チビワムシの 50 % 海水における餌料種類別の培養試験で出現した S 型ワムシの増殖密度とその携卵率の変化