

石川県増試資料25号

昭和58年度

特定研究開発促進事業

**初期餌料の培養技術向上に
関する研究報告書—Ⅲ**

昭和59年11月

石川県増殖試験場

目 次

I	テトラセルミスの培養、及びテトラセルミスを経料としたワムシの増殖量	1
1.	50トン水槽におけるテトラセルミスの培養	1
2.	50トン水槽におけるテトラセルミス及びクロレラ（対照区）を経料としたワムシ培養	3
3.	テトラセルミスの水温別増殖量	6
4.	テトラセルミス及びクロレラ（対照区）を経料とした水温別ワムシ増殖試験	10
II	クロレラ培養槽に出現するプロトゾアの塩素による除去試験	13
III	塩素によるワムシ致死濃度試験	16
IV	ワムシの生理生態の知見の収集	
	・雄ワムシの形態及び性状について	21
V	系統別ワムシの増殖特性の究明	23
VI	問題点および今後の課題	24

<担 当 者>

・石川県増殖試験場……生産第一科

科 長 田 島 迪 生（総 括）

技 師 古 沢 優（主担当）

” 沢 矢 隆 之

” 石 中 健 一

ワムシの安定大量培養技術の確立を目的として、56年度はワムシ増殖の基礎となる産仔数の実験を行い、処女生殖個体および両性生殖個体の各水温での産仔数、生存日数（寿命）を明らかにした。また植え継ぎ培養は現時点での培養技法としては安定性が高いことを確認した。57年度はワムシの摂餌量試験、系統別の増殖特性の究明試験、さらに、クロレラに替る餌料としてのテトラセルミスの研究を行ない、テトラセルミスはワムシ餌料として有効であると結論づけた。

本年度は、テトラセルミスに関する研究を行ない、さらにクロレラの培養槽中に出現するプロトゾアの塩素による除去試験、塩素によるワムシの致死濃度試験、ワムシの生理生態などについて研究を行なったので、その概要を報告する。

I テトラセルミスの培養、及びテトラセルミスを経料としたワムシの増殖量

テトラセルミス（以下テトラ）について、下記の実験を行なった。

1. 50トン水槽におけるテトラセルミスの培養

テトラの大量培養を目的として大型水槽での培養を試みた。

〔材料及び方法〕

1) 使用水槽

50トンコンクリート水槽（5×7×1.4 m）8面を使用し、水槽内にはφ30mm、長さ50mmのエアーストーン10個を配置し、水面が盛り上がる程度に通気した。

2) 試験区

試験区にテトラ、対照区にクロレラを各4槽設定した。

3) 肥料

肥料は硫安100g、カリン酸石灰15g、尿素10g、クレワット2gの割合で混合したものをを用いた。

4) 試験期間

昭和58年4月～同年5月

〔結果及び考察〕

培養結果を表1、図1に示した。テトラの増殖率（細胞数が最大となった時の値は240～466%で平均355%となり20日間の培養では減少する区が3例（1、2、3区）出現した。またテトラの接種時にクロレラの混入があり、接種時に4～10万セル/ccであったクロレラが20日後には500～600万セル/ccと増殖した。対照区のクロレラは5日目にクロレラを捕食するプロトゾアがあらわれ、クロレラの減少をきたす区（5区）が出現したので次亜塩素酸ナトリウム（有効塩素量12%）を対照区全てに1.5ℓづつ入れた。クロレラの増殖は20日目で増殖率271～336%、平均291%となり、當場での同季による増殖量とはほぼ等量であった。以上の結果より、テトラの大型水槽による培養は當場のクロレラ培養（エアレーションのみの培養槽）と同様な方法で高濃度（60～70万セル/cc）の細胞数を得るには困難であると推察され、その要因として、体積

に対する表面積の不足（光量不足）、クロレラの混入、施肥量、水温、等があり、特に体積に対する表面積の割合は増殖に大きく影響するものと考えられた。また、クロレラの混入に関して、100 ℓパンライトでテトラとクロレラを混入させて培養すると、テトラの増殖の方が優位になり、クロレラを抑制した（57年度、報告書、クロレラとテトラとの混合培養）。したがって、光の条件を満足させることにより、クロレラの増殖を抑制することが可能であると考えられた。肥料については、クロレラ培養の際と等量を与えたが、テトラの増殖量から推察するとクロレラより多くの肥料を必要とするものと思われた。水温は14～19℃の範囲でテトラの増殖に変化はみられなかった。

今後は、各光条件下の増殖試験、肥料に関する試験等を実施し、テトラの高濃度大量培養技法を確立したい。

表-1 50トンコンクリート水槽におけるテトラセルミス及びクロレラ（対照区）の培養比較試験

（実水量40トン）

区		テトラセルミス				対照区（クロレラ）			
		1	2	3	4	5	6	7	8
接種時	テトラ 万セル/cc	4	10	7	6	-	-	-	-
	クロレラ 万セル/cc	10	7	5	4	528	688	560	592
	水温 °C	14.2	-	14.5	-	15.5	-	15.3	-
5日目	テトラ	11	16	10	13	-	-	-	-
	クロレラ	70	100	39	40	448	1,072	592	720
	水温	16.2	-	16.3	-	15.8	-	15.9	-
10日目	テトラ	15	23	18	17	-	-	-	-
	クロレラ	280	352	144	240	560	1,228	1,088	1,104
	水温	15.3	-	16.0	-	16.0	-	16.2	-
15日目	テトラ	15	24	24	23	-	-	-	-
	クロレラ	496	480	368	480	1,136	1,616	1,280	1,360
	水温	19.0	-	19.0	-	18.8	-	19.1	-
20日目	テトラ	6	5	23	28	-	-	-	-
	クロレラ	640	688	496	560	1,776	1,696	1,520	1,856
	水温	16.8	-	16.5	-	17.0	-	17.1	-
* テトラの増殖率(%)		375	240	342	466	336	246	271	313
備考		<ul style="list-style-type: none"> • 肥料は接種時 1.5 kg、5日目 1.0 kgを全ての区に入れた。 • 対照区（クロレラ）にプロトゾアが発生したため5日目に次亜塩素酸ソーダ（有効塩素量12%）を5～8区に1.5 ℓずつ入れた。 * 増殖率……細胞数が最大となった時の値 							

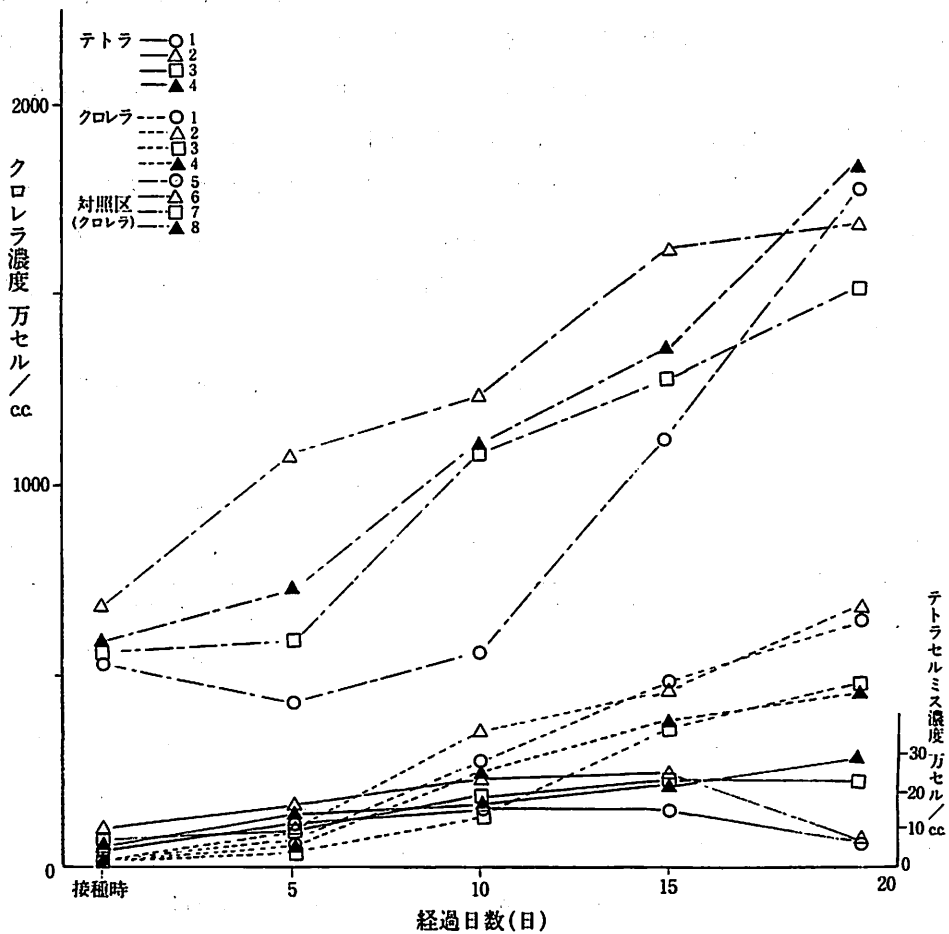


図1 50トンコンクリート水槽におけるテトラセルミス及びクロレラ（対照区）の培養比較試験

- 50トン水槽におけるテトラセルミス及びクロレラ（対照区）を餌料としたワムシ培養。
50トン水槽で生産したテトラを用いてワムシ培養を行った。

〔材料及び方法〕

1) 使用水槽

50トンコンクリート水槽（5×7×1.4 m）を使用し、φ 30 mm、長さ 50 mm のエアストーン 10 個で水面が少し盛り上がる程度通気した。また水槽内には懸濁物等を取り除くため防虫ネット（18目）を2枚（7×1.4 m）を設置した。

2) 供試ワムシ

ワムシは石川県産培養ワムシ（L型、ワムシ平均背甲長 260 μ）を用いた。

3) 試験区及び試験餌料

試験区はワムシの接種時にテトラを餌料とした区（8例）、対照区としてクロレラを餌料とした区（5例）を設定した。

テトラは濃度 20～30 万セル/cc (混入クロレラ濃度 250～450 万セル/cc)、クロレラは濃度 900～1,200 万セル/cc を使用した。パン酵母は投与基準として、ワムシ 1 尾に対して 1～2 万セルを与えた (ワムシ重量の $\frac{1}{3}$ ～ $\frac{2}{3}$)。水温は 13～19℃ の範囲であった。

4) 試験期間

昭和 58 年 4 月～同年 5 月

〔結果及び考察〕

培養結果を表 2、図 2 に示した。ワムシの接種時にテトラを餌料とした区の増殖量は 6 例が増殖を示し、増殖率は 122～265% 平均 193% で、2 例が接種時より減少した。ワムシの接種時にクロレラを餌料とした区では 5 例全てが増殖を示し増殖率は 128～209%、平均 163% であった。したがってテトラ区の方が良好な結果となった。しかし、テトラ区が平均接種密度 68 個/cc、クロレラ区が平均接種密度 98 個/cc でテトラ区の方が低いこと、またテトラ区において 2 例、接種時より減少したことからクロレラ区の方が安定性が高いものと考えられた。テトラ区での減少を示した 3、4 区および増殖量が最も低かった 8 区は接種密度が 98、135、98 と他の水槽に比べ高かった (他水槽 5 例の平均接種密度 62 個/cc) ため、ワムシの餌料不足をきたしたとも考えられる。テトラはワムシ餌料として有効であるが、少なくとも 50 万セル/cc の濃度 (テトラはクロレラ換算で約 20 倍の増殖効果が認められる。57 年度報告書、ワムシ摂餌量調査) が 70～100 個/cc のワムシ接種時に必要であろう。

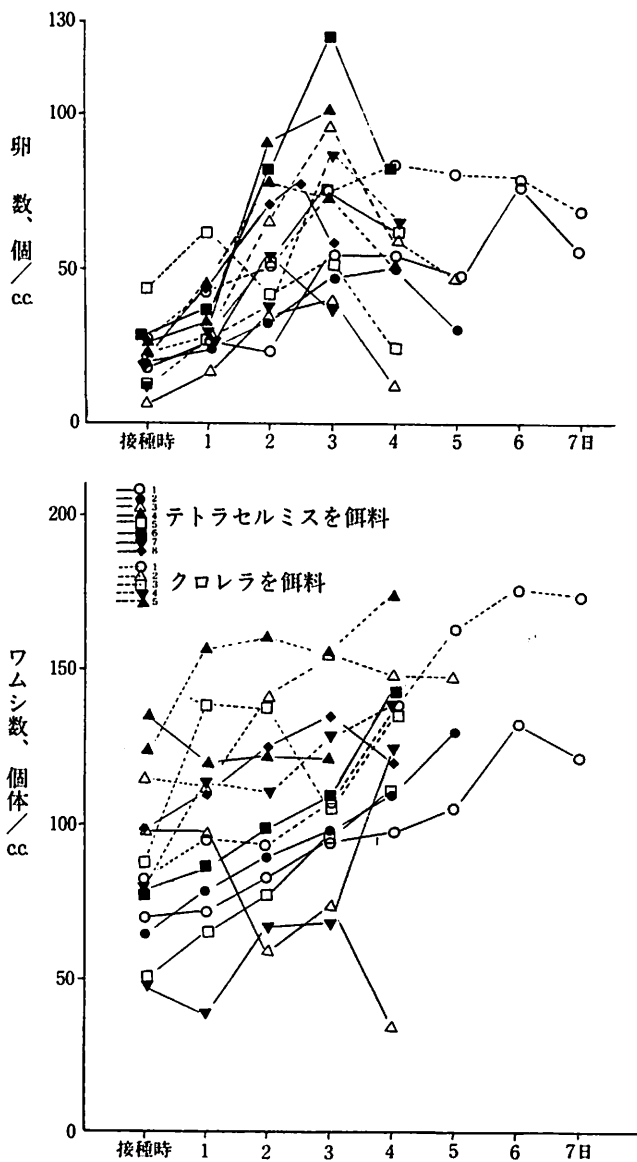


図 2 50 トン水槽によるテトラセルミスおよびクロレラを餌料としたワムシ培養比較試験

表-2 50 トン水槽によるテトラセルミス及びクロレラを餌料としたワムシ培養比較試験

(水量 40 トン)

項 目	区 日		接種時	1	2	3	4	5	6	7	増殖率(%)	備 考	
	区	日											
ワムシ数(卵数)cc/個体 酵母 午前+午後 kg	接種時 テトラ セル ミス を 餌 料	1	70(18) 0	72(26) 0	83(23) 0+1.7	95(54) 1.7+3.0	97(54) 3+4	105(47) 3+4	132(76) 2+4	121(55) -	($\frac{121}{70} \times 100$) 172.8	水温 13~15°C テトラ濃度 20万セル/cc (クロレラ 272万)	
ワムシ数 (卵数) 酵 母 午前+午後		2	65(20) 0	79(23) 0	90(33) 2+2	98(47) 2+2	110(50) 3+4	130(30) -				200.0	水温 13~15°C テトラ濃度 22万セル/cc (クロレラ 256万)
ワムシ数 (卵数) 酵 母 午前+午後		3	98(7) 0	98(17) 0+4	59(35) 4+0	74(40) 3+3	33(12) -					($\frac{98-33}{98} \times 100$) -66.3	水温 15~17°C テトラ濃度 23万セル/cc (クロレラ 400万)
ワムシ数 (卵数) 酵 母 午前+午後		4	135(27) 0+3	120(33) 4+6	122(91) 2+3	121(102) -						-10.3	水温 13~15°C テトラ濃度 30万セル/cc (クロレラ 336万)
ワムシ数 (卵数) 酵 母 午前+午後		5	50(12) 0	65(25) 1+2	77(52) 2+4	97(75) 2+4	110(62) -					220.0	水温 15~18°C テトラ濃度 25万セル/cc (クロレラ 448万)
ワムシ数 (卵数) 酵 母 午前+午後		6	79(28) 0	86(37) 2+4	99(83) 2+2	110(125) 2+2	143(83) -					181.0	水温 14~18°C テトラ濃度 28万セル/cc (クロレラ 416万)
ワムシ数 (卵数) 酵 母 午前+午後		7	47(18) 0	38(26) 0	68(53) 0+1	68(38) 1.5+2	125(65) -					265.9	水温 14~18°C テトラ濃度 25万セル/cc (クロレラ 400万)
ワムシ数 (卵数) 酵 母 午前+午後		8	98(20) 0+4	110(45) 4+6	125(71) 3+4	135(78) 3+4	120(58) -					122.4	水温 15~18°C テトラ濃度 28万セル/cc (クロレラ 352万)
ワムシ数 (卵数) 酵 母 午前+午後	接種時 クロ レラ を 餌 料	1	83(28) 0	95(43) 0	93(50) 0+3	106(75) 2+4	136(83) 3+4	163(80) 3+4	176(79) 3+5	174(68) -	209.4	水温 13~15°C クロレラ濃度 1000万セル/cc	
ワムシ数 (卵数) 酵 母 午前+午後		2	115(23) 0	112(28) 3+6	142(66) 4+7	155(97) 3+5	148(60) 4+8	148(47) -				128.7	水温 15~18°C クロレラ濃度 900万セル/cc
ワムシ数 (卵数) 酵 母 午前+午後		3	90(44) 0	139(63) 3+6	137(42) 4+6	105(53) 3+5	145(25) -					161.1	水温 15~18°C クロレラ濃度 900万セル/cc
ワムシ数 (卵数) 酵 母 午前+午後		4	80(11) 0	113(27) 3+6	110(38) 4+7	128(88) 3+4	138(68) -					172.5	水温 15~18°C クロレラ濃度 1000万セル/cc
ワムシ数 (卵数) 酵 母 午前+午後		5	121(21) 0+5	157(46) 3+6	160(78) 4+3+6	155(73) 5+5+6	175(51) -					144.6	水温 16~19°C クロレラ濃度 1200万セル/cc

3. テトラセルミス水温別増殖量

テトラの水温別の増殖量を把握するため下記の試験を行なった。

〔材料及び方法〕

1) 容 器

1 リッターフラスコを用い、 $\phi 20 \text{ mm}$ の丸型エアーストーンで水面が少し盛り上がる程度に通気した。

2) 水温及び照明

水温は恒温器を用い、 30°C 、 25°C 、 20°C 、 15°C に設定した。また照明は20W蛍光灯を恒温器の上段に置き、試験区を照射した。なお第1回試験は蛍光灯1本、第2回試験は蛍光灯2本を用いた。

3) 試験区

試験区は全海水区を3例、75%海水（海水3：淡水1）区を1例、50%海水（海水1：淡水1）区を1例、設定した。

4) 計 数

計数はトーマ血球計算盤を用い、第1回試験と第2回試験の 25°C では混入クロレラの計数も行なった。

5) 肥 料

肥料として、硫酸100g、カルン酸石灰20g、クレワット4gの割合で混合し、13gを100ccの淡水中に溶解し、各試験区に対し、1cc(0.13g)を表3、4に示したとおりに施肥した。

〔結果及び考察〕

第1回試験結果を表3、図3に示した。テトラの接種密度を 30°C で5万セル/cc、 25°C で16万セル/cc、 20°C で3万セル/ccで培養した結果、 30°C では全海水で最高9～13万セル/cc、平均10.6万セル/cc、75%海水では10万セル/cc、50%海水では8万セル/ccになった。また 25°C では全海水で最高24～29万セル/cc、平均25万セル/cc、75%海水では33万セル/cc、50%海水では32万セル/ccであった。 20°C では18日間培養を行い、全海水で最高21～51万セル/cc、平均39万セル/cc、75%海水で55万セル/cc、50%海水で49万セル/ccとなり、各水温区とも増殖量は劣り、増殖傾向も不安定であった。第1回試験結果の増殖不良は、光量不足が考えられたので、さらに蛍光灯2本を用い40Wとし、第2回試験を実施した。

第2回試験結果を表4、図4に示した。接種密度を 25°C で6万セル/cc、 20°C 、 15°C で、5万セル/ccとし培養した結果、 25°C では全海水で最高59～80万セル/cc、平均69.3万セル/cc、75%海水で65万セル/cc、50%海水で77万セル/ccとなった。また 20°C では全海水で最高91～145万セル/cc、平均117万セル/cc、75%海水112万セル/cc、50%海水で67万セル/ccであり、 15°C では全海水で最高83～109万セル/cc、平均94万セル/cc、75%海水で106万セル/cc、50%海水で99万セル/ccとなった。各水温での8日目までの増殖量を比較すると 25°C で全海水が平均67万セル

/cc、20℃で74万セル/cc、15℃で63万セル/ccで63～74万セル/ccの範囲にあり、水温による大きな差は認められなかった。75%海水では25℃で60万セル/cc、20℃で70万セル/cc、15℃で84万セル/ccで、60～84万セル/ccの範囲にあり、全海水と同様な増殖傾向を示した。50%海水では25℃で77万セル/cc、20℃で37万セル/cc、15℃で42万セル/ccで37～77万セル/ccの範囲で不安

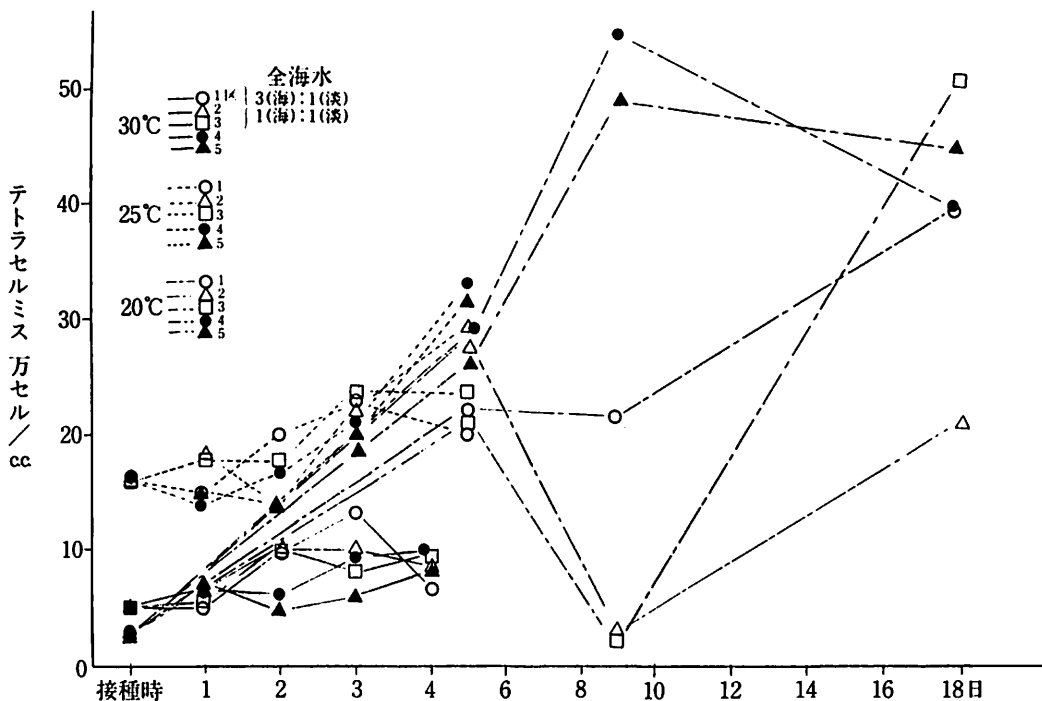


図3 テトラセルミスの水温別増殖量 (20 W蛍光灯1本)

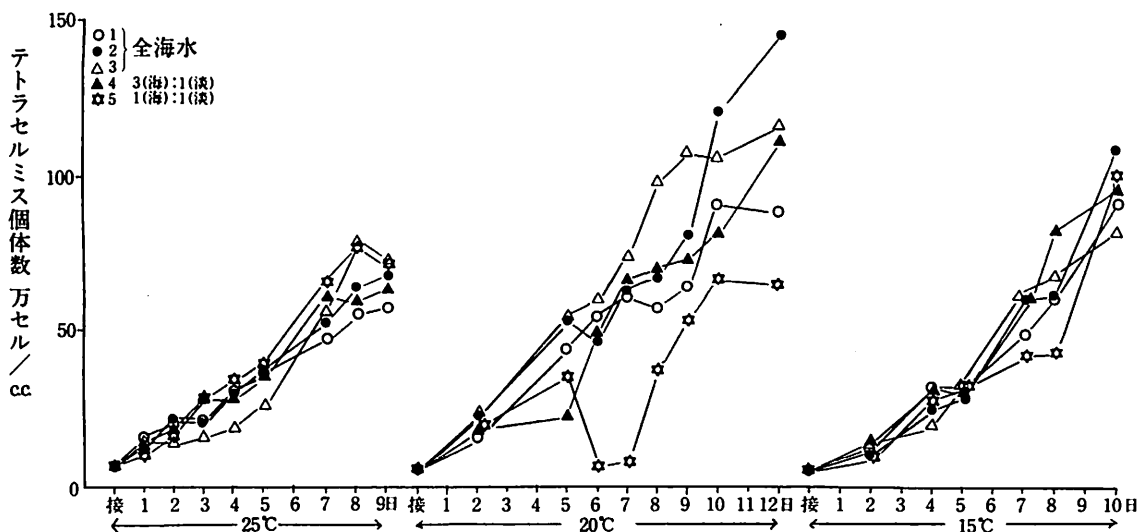


図4 テトラセルミスの水温別増殖量 (20 W蛍光灯2本)

表-3 テトラセリスの水溫別増殖量 (20 W 蛍光灯 1 本. 第 1 回試験)

項目		水温区 日数	30 °C					25 °C					20 °C							
			接種時	1日	2日	3日	4日	*増殖率(%)	接種時	1日	2日	3日	5日	増殖率(%)	接種時	5日	9日	18日	増殖率(%)	
全 海 水	1	テトラ濃度 (万セル/cc)	5	5	9	13	7	$(\frac{13}{5} \times 100)$ 260	16	15	20	23	20	143	3	23	22	40	1333	
		クロレラ濃度 (万セル/cc)	2	7	27	7	0	—	1	0	0	1	1	—	1	6	1	15	—	
	2	テトラ濃度	同上	7	9	10	8	200	同上	18	14	23	29	181	同上	28	3	21	933	
		クロレラ濃度	同上	3	17	7	3	—	同上	0	0	3	15	—	同上	42	12	96	—	
	3	テトラ濃度	同上	6	9	8	5	180	同上	18	18	24	23	150	同上	21	2	51	1700	
		クロレラ濃度	同上	6	18	0	3	—	同上	0	0	15	25	—	同上	3	1	6	—	
	3 (海 : 1 淡)	4	テトラ濃度	同上	7	6	9	10	200	同上	14	16	21	33	206	同上	29	55	40	1833
			クロレラ濃度	同上	3	1	0	3	—	同上	1	1	0	0	—	同上	44	69	37	—
	1 (海 : 1 淡)	5	テトラ濃度	同上	7	5	6	8	160	同上	15	14	20	32	200	同上	26	49	45	1633
クロレラ濃度			同上	6	0	7	0	—	同上	0	0	5	0	—	同上	33	0	0	—	
肥料 (各区共同量) g			0.13	0.13					0.13	0.13					0.13		0.13			

* 増殖率……細胞数が最大となった時の値

表-4 テトラセリスの水溫別増殖量 (20 W 蛍光灯 2 本)

項目		水温区 日数	25 °C									30 °C							
			接種時	1日	2日	3日	4日	5日	7日	8日	9日	*増殖率(%)							
全海水	1	テトラ濃度 万セル/cc クロレラ濃度 "	6 1	16 0	20 0	21 5	31 17	36 10	48 0	56 10	59 0	983.3							
	2	テトラ濃度 クロレラ濃度	同上	12 0	22 0	21 0	29 17	38 10	53 5	65 5	69 7	1150.0							
	3	テトラ濃度 クロレラ濃度	同上	14 0	14 0	17 1	19 3	26 0	57 1	80 5	73 5	1333.3							
3海 :1淡	4	テトラ濃度 クロレラ濃度	同上	14 0	18 0	28 1	29 17	37 6	63 0	60 1	65 7	1083.3							
1海 :1淡	5	テトラ濃度 クロレラ濃度	同上	10 0	17 5	28 15	34 13	39 15	67 0	77 5	72 7	1283.3							
肥料 (各区共同量) g			0.13	0.13	—	—	—	—	—	—	—								

項目		水温区 日数	20 °C									15 °C								
			接種時	2日	5日	6日	7日	8日	9日	10日	12日	増殖率(%)	接種時	2日	4日	5日	7日	8日	10日	増殖率(%)
全海水	1	テトラ濃度	5	16	43	55	62	58	65	91	89	1820.0	5	12	31	32	49	60	92	1840.0
	2	テトラ濃度	同上	23	53	47	64	68	82	121	145	2900.0	同上	10	24	28	61	62	109	2180.0
	3	テトラ濃度	同上	24	56	61	75	98	108	106	117	2340.0	同上	13	20	32	61	69	83	1660.0
3海 :1淡	4	テトラ濃度	同上	17	23	50	67	70	74	83	112	2240.0	同上	14	31	30	61	84	106	2120.0
1海 :1淡	5	テトラ濃度	同上	18	35	6	8	37	53	67	66	1340.0	同上	10	30	32	42	42	99	1980.0
肥料 (各区共同量) g			0.13	0.13									0.13	0.13						

* 増殖率……細胞数が最大となった時の値

定な増殖傾向を示し、この際の増殖不良は塩分濃度の低下が影響したものと考えられる。以上の結果よりテトラの増殖は光と密接な関係をもち、水温による影響は少ないものと推察された。今後は光および肥料とテトラの増殖との関係を解決する必要がある。

4. テトラセルミス及びクロレラ（対照区）を餌料とした水温別ワムシ増殖試験

接種時にテトラ及びクロレラを餌料として、水温別のワムシの増殖比較試験を行なった。

〔材料及び方法〕

1) 容 器

10リッター白色ポリ容器を用い（試験水量6ℓ）φ20mmの丸型エアーストーンで水面が少し盛り上がる程度通気した。

2) 供試ワムシ

ワムシは石川県産培養ワムシ（L型ワムシ、平均背甲長260μ）で接種前に2日間無給餌として試験前歴を取り除いた。

3) 餌料及び試験区

テトラは49～70万セル/ccの濃度（クロレラの1/20～1/30の濃度）を、またクロレラの濃度は1280～1481万セル/ccを用いた。試験区はテトラを餌料とした区を2例、クロレラを餌料とした区を2例設け、恒温器を用いて、水温を30℃、25℃、20℃、15℃に設定した。

ワムシの接種密度は40～60個/ccとした。なお30℃ではテトラの濃度が70万セル/ccと高かったため、60万セル/ccで再試験を行う予定である。

〔結果及び考察〕

試験結果を表5、図5に示した。30℃ではワムシ数の最高は3日目であり、ワムシ増殖率はテトラで平均456.0%、クロレラで平均228.7%であった。ワムシ接種時のテトラの濃度はクロレラの1/20であった。25℃ではワムシ数の最高は3～4日目であり、ワムシ増殖率はAのテトラで平均348.2%、クロレラで平均306.1%であった。ワムシ接種時のテトラの濃度はクロレラの1/33であった。Bのテトラ区では平均166.6%、クロレラで平均165.3%となった。この際のワムシ接種時のテトラの濃度はクロレラの1/21であった。20℃ではワムシ数の最高は5～7日目であり、ワムシの増殖率はテトラで平均276.1%、クロレラで平均189.8%であった。ワムシ接種時のテトラの濃度はクロレラの1/24であった。15℃ではワムシ数の最高は7日目であり、ワムシ増殖率はテトラで平均310.6%、クロレラで153.8%であった。ワムシの接種時のテトラの濃度はクロレラの1/24であった。全試験区での増殖率の平均はテトラが311.5%、クロレラが208.7%であり、テトラを餌料とした区が良好で、また卵数においても図5に示したようにクロレラ区より高く、テトラはワムシ餌料として有効であると思われた。

表-5 テトラセルミス及びクロレラ（対照区）を餌料とした水温別ワムシ増殖試験

区	日数		接種時	1日	2日	3日	4日	* 増殖率(%)	日数	接種時	1日	2日	3日	4日	5日	増殖率(%)													
	ワムシ数 (個)	餌料 量(cc)	ワムシ (個)	残餌 (個)	ワムシ (個)	残餌 (個)	ワムシ (個)			残餌 (個)	ワムシ数 (個)	餌料 量(cc)	ワムシ (個)	残餌 (個)	ワムシ (個)		残餌 (個)	ワムシ (個)	残餌 (個)										
30℃ 区 (A)	接種時 テトラを 餌料	1	55 (5)	70	59 (12)	55	75 (108)	1	212 (43)	0	175 (10)	0	($\frac{212}{55} \times 100$) 385.4		25℃ 区 (A)	45 (5)	49	49 (4)	54	71 (62)	3	124 (67)	157 (14)	0	107 (2)	0	348.8		
		2	45 (9)	同上	70 (18)	53	80 (93)	3	237 (58)	0	182 (18)	0				44 (4)	同上	44 (7)	54	56 (40)	6	105 (67)	153 (11)	0	111 (2)	0	347.7		
	接種時 クロレラを 餌料	3	44 (9)	1440	57 (12)	512	95 (40)	8	94 (13)	2	31 (5)	0	2159			46 (7)	1651	65 (7)	1145	75 (64)	2	142 (12)	139 (10)	0	91 (3)	0	308.7		
		4	48 (7)	同上	62 (13)	496	105 (60)	4	116 (9)	3	24 (2)	0	241.6			55 (7)	同上	64 (7)	1145	92 (76)	1	167 (15)	151 (7)	0	86 (2)	0	303.6		
30℃ 区 (B)	接種時 テトラを 餌料	1														25℃ 区 (B)	49 (4)	59	50 (3)	32	66 (62)	15	81 (23)	3	89 (2)	0	80 (5)	0	181.6
		2															58 (2)	同上	63 (5)	41	60 (46)	13	80 (23)	3	87 (3)	0	88 (12)	0	151.7
	接種時 クロレラを 餌料	3															46 (2)	1280	61 (4)	981	76 (45)	31	84 (9)	3	89 (7)	0	36 (4)	0	193.4
		4															59 (5)	同上	41 (1)	1046	64 (39)	24	80 (11)	2	81 (12)	0	45 (2)	0	137.2
区		日数	接種時	1日	2日	3日	4日	5日	7日	増殖率(%)		* 増殖率……ワムシ数の最高値より算出																	
20℃ 区	接種時 テトラを 餌料	1	53 (16)	60	77 (15)	36	80 (20)	30	90 (85)	6	93 (46)						0	104 (39)	0	145 (25)	0	273.5							
		2	47 (14)	同上	85 (9)	36	95 (25)	25	90 (70)	4	91 (71)						0	115 (31)	0	131 (14)	0	278.7							
	接種時 クロレラを 餌料	3	55 (22)	1481	74 (9)	474	88 (25)	30	107 (7)	0	85 (12)						0	97 (12)	0	63 (2)	0	194.5							
		4	54 (10)	同上	86 (14)	355	93 (23)	27	98 (14)	0	100 (15)						0	85 (10)	0	52 (4)	0	185.1							
区		日数	接種時	1日	2日	3日	4日	5日	7日	9日	増殖率(%)																		
15℃ 区	接種時 テトラを 餌料	1	56 (2)	60	65 (9)	44	64 (37)	39	77 (58)	13	67 (86)	3	106 (85)	0	185 (23)	0	165 (13)	0	330.3										
		2	55 (1)	同上	57 (9)	47	64 (38)	30	57 (56)	11	67 (72)	2	102 (90)	0	160 (20)	0	157 (6)	0	290.9										
	接種時 クロレラを 餌料	3	60 (3)	1481	63 (11)	711	63 (25)	316	60 (41)	20	70 (36)	1	77 (20)	0	88 (8)	0	48 (2)	0	146.6										
		4	54 (4)	同上	69 (7)	730	60 (20)	296	54 (38)	18	64 (32)	0	76 (25)	0	87 (7)	0	52 (2)	0	161.1										

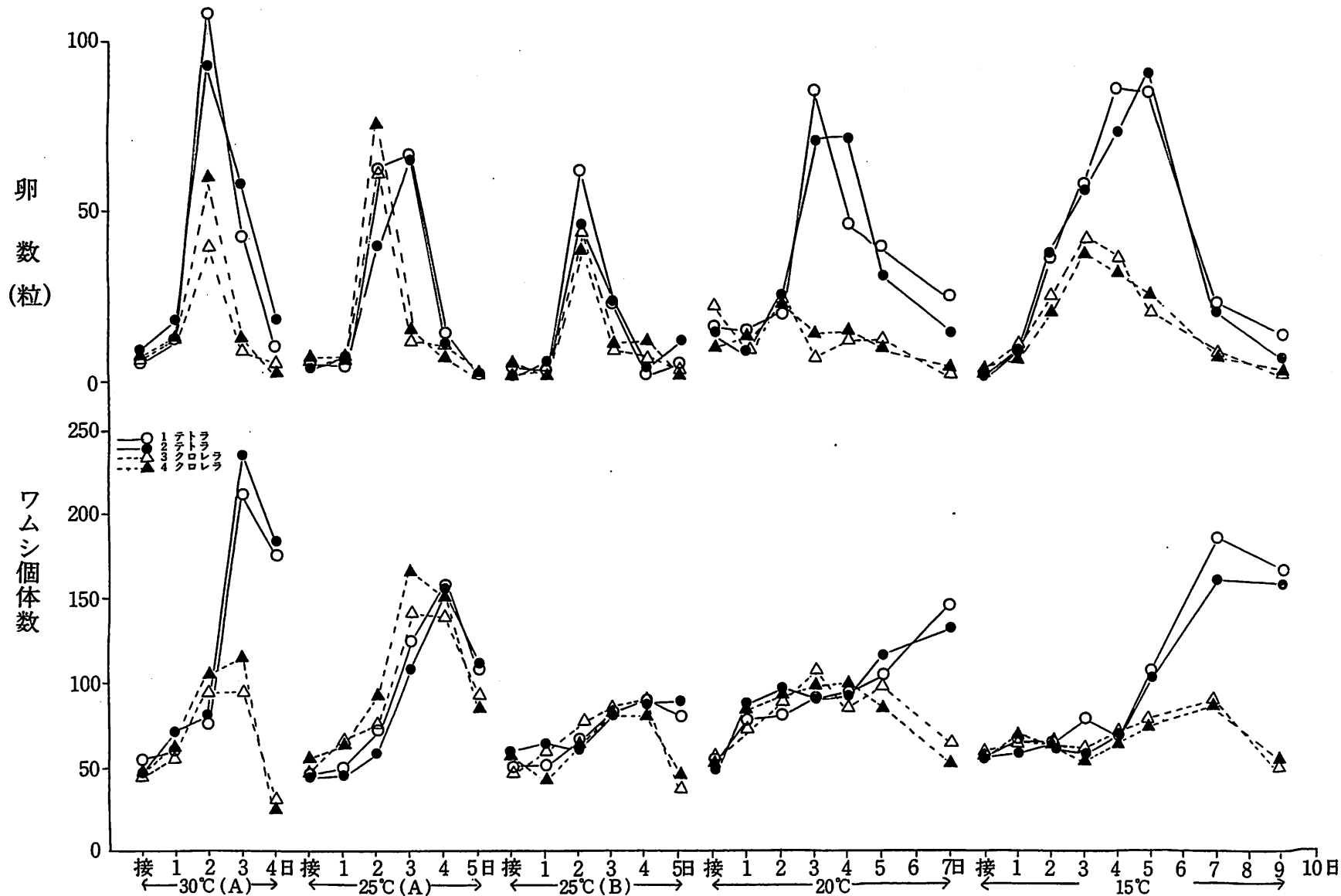


図5 テトラセルミス及びクロレラ(対照区)を餌料とした水温別ワムシ増殖試験

II クロレラ培養槽に出現するプロトゾアの塩素による除去試験

近年当場のクロレラ培養槽で過去に例のないクロレラの減少事例が多発し、クロレラ培養の大きな障害となっている。その原因はクロレラを捕食するプロトゾアによることが考えられ、塩素によるプロトゾアの除去について以下の実験を行なった。

〔材料及び方法〕

1) 容 器

30 リッターパンライト水槽にクロレラ水を満水し、下記の濃度の次亜塩素酸ナトリウムを添加し、4日目、12日目、22日目にクロレラ及びプロトゾアの計数を行なった。

2) 設定濃度

A区は5、10、30、50、70、100ppmの濃度を、またB区は30、70、100、150、200、250の濃度になるようにそれぞれ次亜塩素酸ナトリウム（有効塩素量12%）を添加し、40分後に各区の有効塩素量と等量のチオ硫酸ナトリウムで中和した。さらに、対照区を1区設けた。

〔結果及び考察〕

試験結果を表6、図6に示した。プロトゾアはA区では4日目に5、10、30ppmで出現し、12日目で5ppm、22日目で5、10、30ppmで確認された。B区ではプロトゾアの出現は22日目の30ppmのみであった。対照区では4日目に8万個体/ccと増殖したが、12、22日目には減少した。

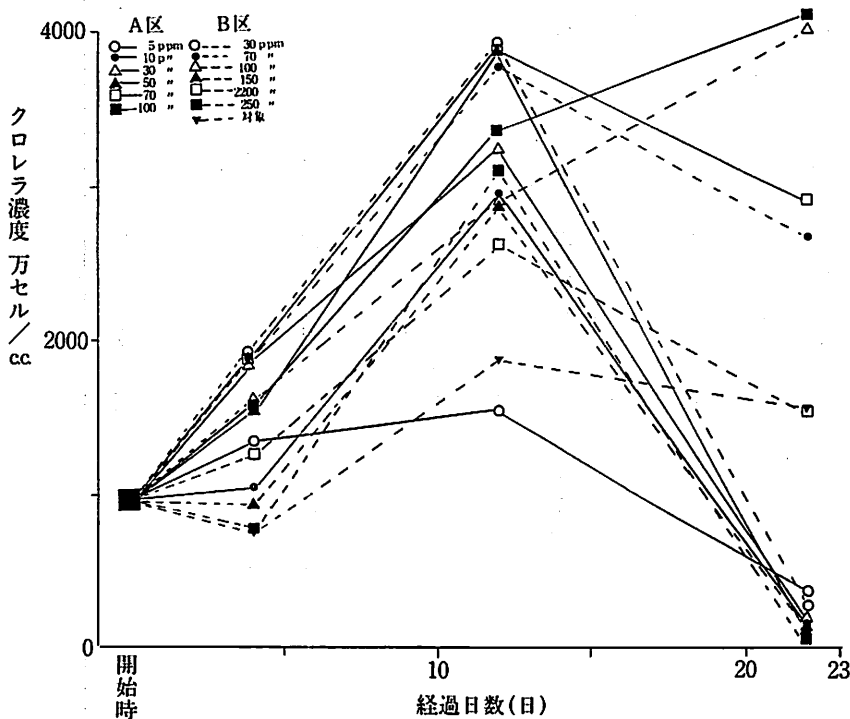
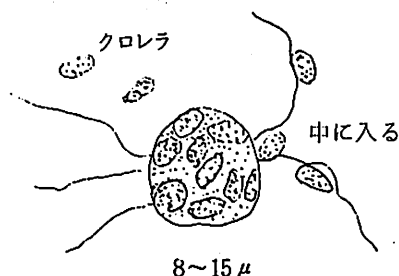


図6 クロレラ培養槽に出現するプロトゾアの塩素による除去試験

表-6 クロレラ培養槽に出現するプロトゾアの塩素による除去試験

項目	塩素濃度 ppm	A 区						B 区							備考
		5	10	30	50	70	100	30	70	100	150	200	250	(対 0)	
4 日 目	クロレラ濃度	1358 万セル/cc	1053	1880	1574	1922	1580	1941	1896	1600	922	1277	796	770	A区…次亜塩素酸ナトリウム（有効塩素量12%）を設定濃度毎に入れる。 B区…次亜塩素酸ナトリウムを設定濃度毎に入れ、40分後に有効塩素濃度と同量のチオ硫酸ナトリウムを入れた。 ・開始時のクロレラ濃度は976万セル/ccで、プロトゾア1万個/ccを使用した。
	*プロトゾア	8 万個/cc	8	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	
	ラン藻	6 万セル/cc	2	0	2	0	0	0	1	0	0	0	0	13	
	水色	緑褐色	黄緑色	同左	同左	同左	同左	同左	同左	同左	同左	同左	同左	白濁する	
12 日 目	クロレラ濃度	1584	2960	3248	3848	3881	3376	3904	3776	2936	2904	2624	3136	1872	・開始時のクロレラ濃度は976万セル/ccで、プロトゾア1万個/ccを使用した。
	プロトゾア	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
	ラン藻	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
	水色	緑褐色	緑色	緑色	緑色	緑色	緑色	緑色	緑色	緑色	黄緑色	黄緑色	黄緑色	黄緑色	
22 日 目	クロレラ濃度	364	130	180	117	2903	4123	260	2642	4009	120	1540	37	1579	*プロトゾア…クロレラを摂餌するプロトゾア8μ~15μのみを計数。 ・水温…18°C~20°C
	プロトゾア	3	2	1	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0.5	
	ラン藻	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
	水色	透明	透明	透明	透明	緑色	緑色	透明	緑色	緑色	透明	黄緑色	透明	緑褐色	

クロレラはA区では12日目まですべて増殖し、22日目では100ppm以外、すべて減少した。B区では4日目で対照区、250、150ppmが減少し、12日目ではすべての区が増殖し、22日目では100ppm以外すべて減少した。クロレラの22日目の減少は肥料の不足によるものと思われた。以上の結果より、プロトゾアの除去は30ppm以上50ppm以下で可能であるが、本年4月のクロレラ培養中に次亜塩素酸ナトリウムを20ppmの濃度で7日毎に4～5回添加した結果、クロレラの増殖不良を招いたことより、この濃度の塩素量をクロレラに数回添加するとクロレラの増殖を阻害することが考えられ、クロレラに影響をおよぼさない除去方法をさらに検討する必要がある。



プロトゾアのクロレラ捕食
(鞭毛数 不明)

Ⅲ 塩素によるワムシ致死濃度試験

ワムシの次亜塩素酸ナトリウムに対する致死濃度を調べるために下記の試験を行なった。

〔材料及び方法〕

1) 供試ワムシおよびクロレラ

ワムシは石川県産培養ワムシ、L型、平均背甲長 260 μ を用いた。

クロレラは濃度 1280～1840万セル/ccを用いた。

2) 試験方法

1 リッター計量容器にクロレラ水を満水し、各区へ塩素濃度に必要な量の次亜塩素酸ナトリウム（有効塩素量 12%）を添加し、20分間放置した後、ワムシを入れ、その活力および斃死状況を30分、20～24時間、50～54時間後に調べた。また各試験区の塩素濃度は次亜塩素酸ナトリウムの有効塩素量を換算した実効値で示した。

〔結果及び考察〕

各試験区の結果を表7、図7-1, 2に示した。

塩素濃度の低い表7、図7-1, 2より、30分後では0から3ppmまでは活力の弱い個体がやゝ出現するが濃度による大きな差はない。20時間後においては活弱個体は減少するが、濃度の差は認められない。これに較べて4～10ppmまでは活弱と静止のワムシの数が高濃度になるに伴ない増加している。この傾向は20時間後にも同様であった。図7-1に示した総体数に対する生体数の比については30分後では0～10ppmまでほとんど差がない。これは接種時から供試ワムシに含まれていた死殻の数がほぼ均一であったためと考えられる。20時間後ではこの比率は高濃度になるに従って低くなっていく。これは30分後に活弱また静止の状態であったワムシが死殻となったためであろう。

以上の結果より、ワムシが影響を受ける最小濃度は4ppm付近と考えられる。

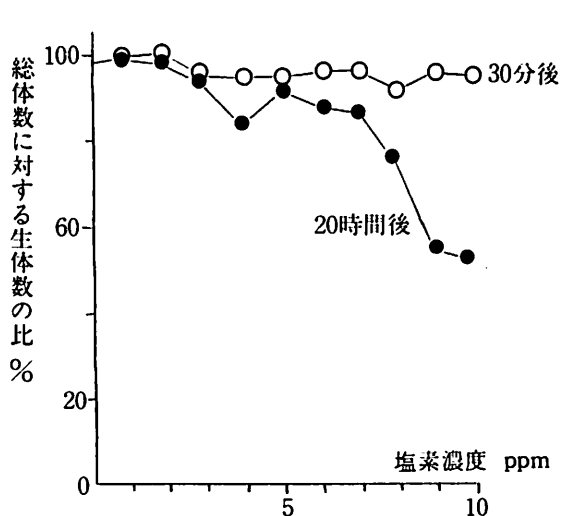


図7-1 塩素濃度別ワムシ斃死状況

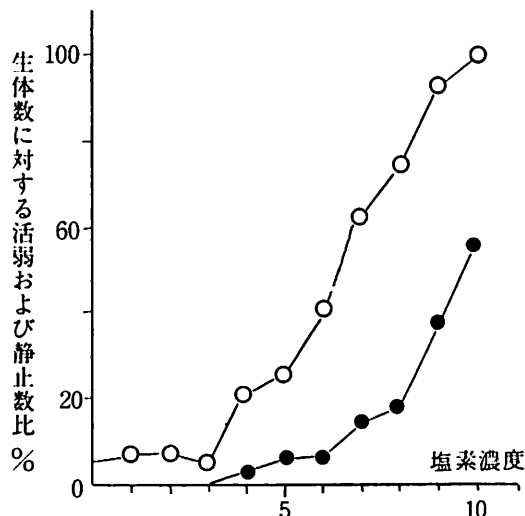


図7-1 塩素濃度別ワムシ斃死状況

表-7 塩素濃度別ワムシ斃死状況

* 項目	塩素量* ppm	30分後採取										20時間後採取										
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
ワムシ生個/cc	63 (14)	83 (13)	56 (11)	64 (17)	38 (6)	36 (5)	51 (5)	46 (4)	46 (4)	69 (6)	56 (4)	85 (28)	89 (17)	99 (22)	82 (18)	44 (13)	54 (13)	65 (12)	58 (18)	55 (8)	40 (12)	32 (5)
〃死殻個/cc	1	0	0	3	2	2	2	2	4	3	3	2	1	2	6	9	5	9	9	22	35	30
〃計個/cc	64	83	56	67	40	38	53	48	50	72	59	87	90	101	88	53	59	74	67	77	75	62
生/計%	98.4	100	100	95.5	95.0	94.7	96.2	96.2	92.0	95.8	94.9	97.7	98.8	98.0	93.1	83.0	91.5	87.8	86.5	71.4	53.3	51.6
ワムシ活弱個/cc	3	5	4	3	8	9	20	21	23	29	22	0	0	0	0	0	0	0	0	4	10	12
〃静止個/cc	0	0	0	0	0	0	0	8	11	35	34	0	0	0	0	1	3	4	8	6	6	6
〃活弱+静止	3	5	4	3	8	9	20	29	34	64	56	0	0	0	0	1	3	4	8	10	16	18
〃活動中個/cc	60	78	52	61	30	27	31	17	12	5	0	85	89	99	82	43	51	61	50	45	24	14
活弱+静止生%	4.76	6.02	7.14	4.69	21.05	25.00	39.22	63.04	73.91	92.75	100	0	0	0	0	2.27	5.56	6.15	13.79	18.18	40.00	56.25
静止生%	0	0	0	0	0	0	0	17.39	23.91	50.72	60.71	0	0	0	0	2.27	5.56	6.15	13.79	10.91	15.00	18.75
備考	*ワムシ生：ワムシ活弱+ワムシ静止+ワムシ活動中 ワムシ活弱：生存しているが活力が明らかにないワムシ ワムシ静止：静止していて、生死不明のワムシ **塩素量：1ppm…次亜塩素酸ナトリウム(有効塩素量12%)を換算した実効値 ・使用クロレラ：1280万セル/cc ・水温：20.6～21.2℃																					

ワムシの致死濃度および卵の致死濃度を調べるため 10～20 ppm、10～50 ppm の試験を行った。
(表8, 表9 参照)

その結果 30 分後では 10 および 11 ppm 付近で、すべてのワムシが静止状態になり、24～28 時間後、50～54 時間後には死殻の数も増加している。また 24～28 時間、50～54 時間後に活動中のワムシはほとんどが仔虫であり、親虫は 11 ppm 以上ではほとんど斃死した。また 24～28 時間後、50～54 時間後に活動中の仔虫が出現しなくなる濃度は 35 ppm 付近であり、35 ppm 以下では、卵は塩菜の影響を受けにくいものと考えられる。

表-9 塩素濃度別ワムシ斃死状況

* 項目	塩素量 ** ppm	30 分後採取										24 時間後採取										
		0	10	15	20	25	30	35	40	45	50	0	10	15	20	25	30	35	40	45	50	
ワムシ 生(卵) 個/c	109 (46)	61 (21)	87 (31)	54 (20)	73 (29)	55 (18)	40 (16)	57 (20)	67 (23)	69 (21)	146 (30)	60 (10)	41 (10)	21 (17)	10 (11)	2 (18)	2 (19)	0 (18)	0 (35)	0 (21)		
” 死 殻 個/c	12	8	10	6	9	4	4	6	6	7	17	21	29	40	61	60	40	54	70	75		
” 計 個/c	131	69	97	60	82	59	44	63	73	76	163	81	70	61	71	62	42	54	70	75		
生/計 %	83.2	88.4	89.6	90.0	89.0	93.2	90.9	90.4	91.7	90.7	89.6	74.0	58.5	34.4	14.1	3.2	4.8	0	0	0		
ワムシ 活 弱 個/c	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3	2	2	0	1	0	0	0	0		
” 静 止 個/c	0	61	87	54	73	55	40	57	67	69	2	13	38	5	3	0	2	0	0	0		
” 活弱+静止	3	61	87	54	73	55	40	57	67	69	3	16	40	7	3	1	2	0	0	0		
” 活動中 個/c	106	0	0	0	0	0	0	0	0	0	143	47	1	14	7	1	0	0	0	0		
活弱+静止 生 %	2.75	100	100	100	100	100	100	100	100	100	2.05	26.67	97.56	33.33	30.00	50.00	100	0	0	0		
静 止 生 %	0	100	100	100	100	100	100	100	100	100	1.37	21.67	92.68	23.81	30.00	0	100	0	0	0		
水 色	緑	緑	緑	緑	緑	緑	緑	緑	緑	緑	緑	緑	緑	緑	白濁	白濁	白濁	白濁	白濁	白濁		
		50 時間後採取																				
ワムシ 生(卵)	121 (37)	67 (10)	3 (17)	18 (12)	9 (14)	3 (5)	1 (8)	0 (11)	0 (30)	0 (34)												
” 死 殻	8	20	89	37	65	24	24	32	78	56												
” 計	129	87	92	55	74	27	25	32	78	56												
生/計 %	93.8	78.1	3.2	32.7	12.1	11.1	4.0	0	0	0												
ワムシ 活 弱	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0												
” 静 止	1	0	0	0	2	0	1	0	0	0												
” 活弱+静止	2	1	1	0	2	0	0	0	0	0												
” 活動中	119	66	2	18	7	3	0	0	0	0												
活動+静止 生 %	1.65	1.49	33.33	0	22.22	0	0	0	0	0												
静 止 生 %	0.83	0	0	0	22.22	0	100	0	0	0												
水 色	透明	緑	緑	黄緑	白濁	白濁	白濁	白濁	白濁	白濁												

* ワムシ 生 : ワムシ活弱+ワムシ静止+ワムシ活動中

ワムシ活弱 : 生存しているが活力が明らかに無いワムシ

ワムシ静止 : 静止していて生死不明のワムシ

**塩 素 量 : 10ppm……次亜塩素酸ナトリウム(有効塩素量12%)を換算した実効値

・使用クロレラ : 1840万セル/cc

・水 温 : 16.1~17.0℃

IV ワムシの生理生態の知見の収集

培養槽内で確認されるワムシの性状について観察を行なった。

〔雄ワムシの形態及び雌ワムシとの相異点について〕

雄ワムシの形態を図8に示した。雌ワムシとの相異点について観察を行なった結果を下記に示す。

- 1) 雌ワムシの半分程の大きさで背甲長 150~160 μ である。
- 2) 雌ワムシの繊毛環は2つ円をなしてあるのに対し、雄ワムシでは1つしかない。また図のAの部分にも雄ワムシでは繊毛環状のものを有する。
- 3) 内部形態が単純で咀嚼器や消化器が認められない。
- 4) 雌ワムシに比較し頭部が長く、時々背甲中にすっぽり埋没させる。
- 5) 非常に活発な回転游泳を行う。
- 6) 雌ワムシや混入しているゴミ等に接触するとこれらのまわりをぐるぐる回転し、付着するが、多くの場合すぐ離れ、再び泳ぎ始める。まれにある雌と接触した場合に、やや長時間付着したまま雌と行動を共にし時々、体を反転して雌の総排泄腔付近に雄の尾端を挿入するような動作がみられる。この動作は総排泄腔付近ばかりでなく、頭部付近にもみられる場合がある。
- 7) 雌ワムシやゴミ等に接触すると回転游泳動作を行うが、まれに雌ワムシの背甲部、後端に接触すると雄ワムシの尾端より糸状のものを付着させ、雌ワムシにひっぱられる様子が観察される。

引用文献：「シオミズツボワムシの生活史と培養槽内で観察された事項について」1974

（三谷進，古沢優，伊藤司，瀬戸内海栽培センター）
屋島事業場資料

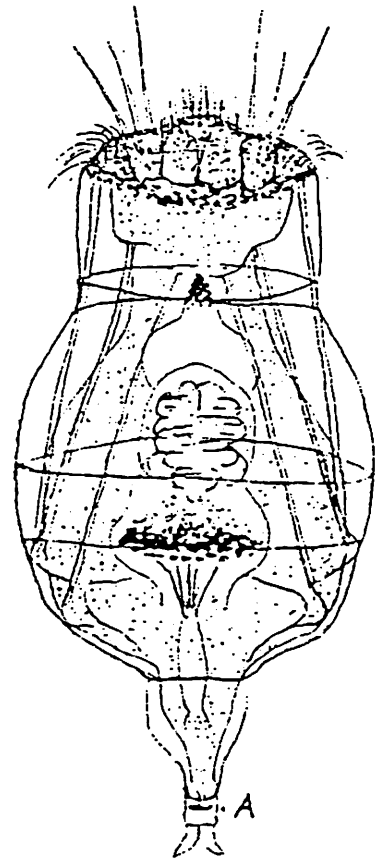


図8 雄ワムシの形態

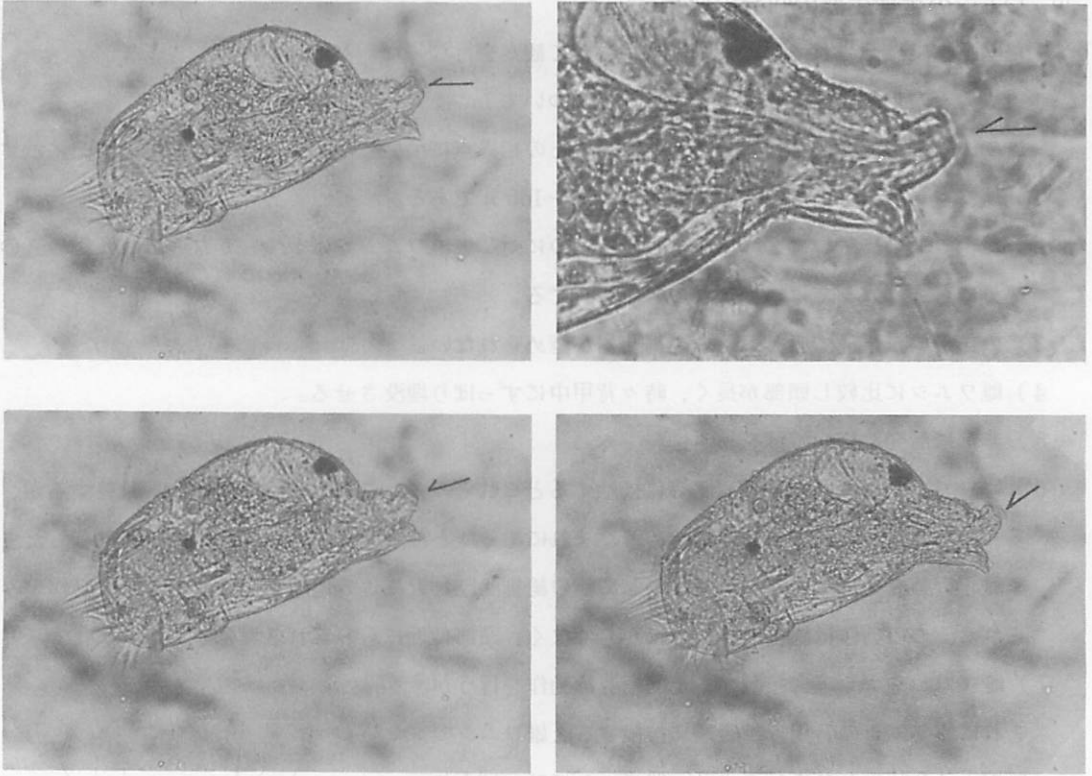


図9 雄ワムシ ← 絨毛環



図8 雄ワムシの全身

V 系統別ワムシの増殖特性の究明

L型ワムシの増殖特性を究明するため、本年度はL型の野性種を養殖研より9月に約1万個体入手し、増殖を試みたが、実験に要する個体数が得られず、その後減少、消失したのでその経過について述べる。

◎ 培養方法

1. 容 器 30 ℓ パンライト 1面
2. 供試ワムシ L型 野 生 種
3. 餌 料 テトラセルミス (20～25万セル/cc)
4. 水 温 25～27℃
5. 海 水 生海水 (比重調整、行わず)

◎ 培養経過

入手したL型ワムシを30 ℓパンライトのテトラセルミス海水10 ℓに接種し、ワムシ培養を行った。ワムシは徐々に増殖し、15日目にテトラセルミス海水をさらに10 ℓ追加し培養を続けた。20日目に耐久卵を携帯した個体が多数出現した。30日目にはワムシの個体数が急減したので、植え継ぎを行ない(テトラセルミス海水10 ℓ使用)培養を続けたが、11月に1個体/cc程度に減少した。

以上のことは、培養種が野性ワムシであったこと、比重調整を行わず生海水で培養したことに問題があり、生海水による培養が耐久卵を形成させる要因の一つと考えられる。

したがって、このL型野性種の特徴、特に塩分濃度と耐久卵の形成に関する研究を行ない、その結果に基づき増殖特性を究明すべきと考えられる。

VI 問題点および今後の課題

1) クロレラの質

一般にワムシの培養はクロレラの管理培養の良否に影響されると言われ、経験的に増殖期にあるクロレラあるいはプロトゾアの少ないクロレラを良質クロレラとしてワムシ培養に供給している。しかし、このようなクロレラを用いているにもかかわらず、クロレラに起因すると思われる増殖不良が起る。このことはクロレラ自体に質的な問題があると思われるので、今後の課題としてクロレラの種の特性、(ワムシの増殖に関するもの、クロレラ自体の増殖に関すること、クロレラ中の混入生物に関すること等)を解明する必要がある。

2) テトラセルミスの高濃度大量培養技術の開発

テトラの大量高濃度培養を行うため、光、肥料および管理方法についての知見を得る必要がある。