

1 魚類増殖技術試験

(1) かん水種苗生産研究

ミルクイ種苗生産

山田 智・大澤 博

目的

種苗生産を行うにあたり、餌料培養を合理化し、しかも安定的に大量の良質な餌料を得ることは重要な課題の一つである。ミルクイ種苗生産においても餌料藻類の培養作業を合理化する目的で、過去、主に比較的容易に大量培養が可能な海産クロレラ (*Nannochloropsis oculata*) の餌料としての有効性について試験を実施してきた^{1) 2) 3)}。その結果、*Pavlova luteri* 及び *Chaetoceros* sp. などと併用することによってその有効性が確かめられた。今年度は、市販されている可消化処理海産クロレラについて検討した。また、昨年度、種苗の大量へい死が起こったが、それは種苗生産中の日間変動も含めた水温変化が激しかったことがその要因の一つと考えられ³⁾、今回は、水温の著しい変動を抑えるためにも10m³の大型水槽を用いての種苗の大量飼育を試みた。

材料と方法

親貝は、1991年10月16日に篠島地先で採集されたものを用いた。翌日(17日)に成熟度を穿刺法⁴⁾によって調べたが、未熟であったため、17°Cの恒温室中に設置した精密濾過海水を入れた20-30ℓの水槽に1個体ずつ収容し、毎日餌料として *Chaetoceros* sp. を 30,000~50,000 cells/ml 与え、成熟を促進させた。飼育水は毎日全量を交換した。その結果10月29日に成熟が確認された4個体(雄2個体、雌2個体)を用い、10月31日に切開法によって採卵・採精した。得られた卵は2個体併せて1億1,560万粒(表1)であった。こ

表1 供試母貝

母貝番号	5	6	7	8
雌 雄	♂	♂	♀	♀
殻長(cm)	12.0	13.8	12.7	12.5
殻重(g)	438.1	416.6	439.8	406.8
G S I (%)	26.4	26.3	26.2	29.6
卵 数(万粒)	—	—	3,840	7,720
平均卵径(μm)	—	—	69.3	67.7

表2 水槽別給餌量 (cells/ml)

受精後日数	2	3	4 - 5	6 - 11	12-20	21-26	27-33	34-41
A朝(クロレラ)＊	10,000	20,000	30,000	50,000	70,000	70,000	70,000	70,000
夕(キート)	1,000	2,000	3,000	3,000	4,000	5,000	6,000	4,000
B朝(クロレラ)＊	10,000	20,000	30,000	50,000	70,000	70,000	70,000	70,000
夕(クロレラ)＊	—	—	10,000	10,000	20,000	20,000	40,000	40,000

＊：可消化処理海産クロレラ

これらの卵は表 1 の雄 2 個体の精子を混合し受精させ、3 回洗卵を行った後、 1m^3 の F R P 水槽 4 面に収容した。翌日(11月1日)、表面に浮上してきた浮遊幼生をバケツでくい、 1m^3 の F R P 水槽 2 面に収容した。その際、母貝毎に得られた幼生をそれぞれ等分して収容した。飼育期間は12月11日までの約40日間であった。

換水は精密濾過海水を用い、 $0.7 \sim 0.8\text{ m}^3/\text{h}$ の流量でふ化後 3 日目から行い、3 日目：4 時間、4 - 18 日：5 ~ 6 時間で、19 日目以降は 1 日 7 時間行った。

通気は 5 cm の丸型エアーストーンを 1 水槽 8 個投入して行った。

給餌は 2 日目から A 水槽には朝、換水開始直後に可消化処理海産クロレラを、また、夕方換水終了直後に *Chaetoceros sp.* を給餌した。B 水槽には換水開始、終了直後とも可消化処理海産クロレラのみを給餌した。給餌量は表 2 にしたがった。

水温は連続水温記録計を用い、飼育期間を通してモニターした。また、毎日換水開始直前(午前9時30分頃)に棒状温度計を用いて測定した。

浮遊幼生及び着底稚貝のサンプリングは昨年と同様にガラス管を用いた柱状サンプリング法にて行い、幼生の個体数と殻長を測定した。殻長測定は受精後 3 日目以降ほぼ 3 日間隔で実施し、1 回の測定で原則として 30 個体の殻長を計った。27 日目までは浮遊幼生を、27 日目以降は着底稚貝について計測した。

結 果

図 1 に飼育期間中の水温の変化を示した。水温は換水直前に測定されたものである。A、B 両水槽とも同様の変化を示し、受精後 4 日目、 17.7°C であったものが漸次低下し、26 日目には $13.4 \sim 14^\circ\text{C}$ の最低水温を記録した。その後 29 ~ 30 日目にかけて 16.5°C までに急激に上昇したが、その後再び 15°C 前後に低下し、

飼育終了時には 14°C 前後となった。日間の変動では午前 7 時頃から換水開始まで 1 日の最低水温を記録し、換水開始とともに緩やかに上昇し、午後 2 時頃から換水終了時にかけて最高水温となり、換水終了後、徐々に低下した。最低・最高水温差はほぼ 1°C であった。以上から飼育期間中に 3°C 近い変動を繰り返し、日間でも 2°C 近く変動した昨年度³⁾ に比べて水温の変動幅は小さいものであった。

図 2 に両水槽の浮遊幼生の密度変化を示した。飼育開始時の密度は A 水槽で $1.9\text{ 個体}/\text{ml}$ と異常に高い 5 日目を除くと約 $0.4\text{ 個体}/\text{ml}$ 、B 水槽で $0.3\text{ 個体}/\text{ml}$ 前後であり、その後、両水槽とも漸次低下し、25 日目には $0.1\text{ 個体}/\text{ml}$ を切った。その頃から水槽底面に着底稚貝の出現が目立ち始め、B 水槽では 29 日目以降浮遊幼生は採集されず、全て着底したものと考えられた。A 水槽では 30 日目を越えても僅かな個体が浮遊していたが、大部分は着底していた。今回の生残率は収容幼生数を飼育開始時の密度から求めると(収容時の水量： 8 m^3)、A：320 万、B：240 万個体となり、飼育終了時の取り上げ個体数は A：16 万、B：3 万個体であったので、A：5%，B：1.25% と推定された。B 水槽の生残率が悪かったが、これは 35 日目当りからへい死貝が目立つようになり、37 日目に大量へい死を起こしたためである。

図 3 に両水槽の浮遊幼生及び着底稚貝の平均殻長の変化を示した。A 水槽では受精後 3 日目に $97\text{ }\mu\text{m}$ であり、9 ~ 12 日目にやや成長が純ったもののその後は順調に成長し、25 日目には約 $200\text{ }\mu\text{m}$ となり 27 日目には $207\text{ }\mu\text{m}$ に達した。浮遊期間の通算成長速度は約 $4.6\text{ }\mu\text{m}/\text{day}$ であった。B 水槽では受精後 3 日目で $96\text{ }\mu\text{m}$ であり、その後 15 日目まで成長が遅く、成長速度で $2.1\text{ }\mu\text{m}/\text{day}$ と A 水槽の約半分であった。その後、成長が速くなり、25 ~ 27 日目には約 $177\text{ }\mu\text{m}$ となった。この間の成長速度は $4.6\text{ }\mu\text{m}/\text{day}$ とほぼ A 水槽と同じであった。浮遊期間を通算すると $3.3\text{ }\mu\text{m}/\text{day}$

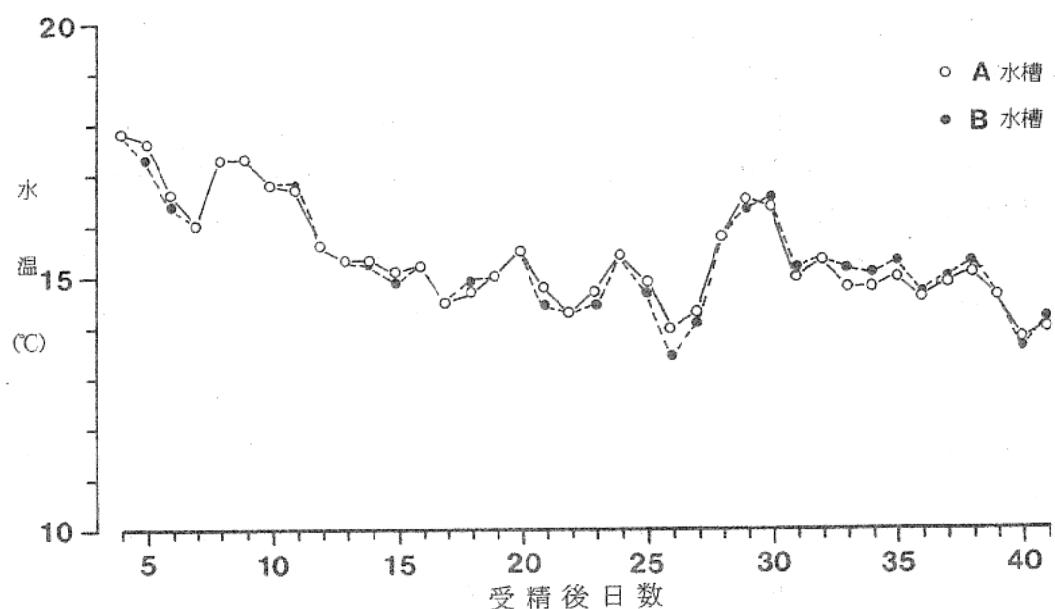


図1 飼育水温の変化

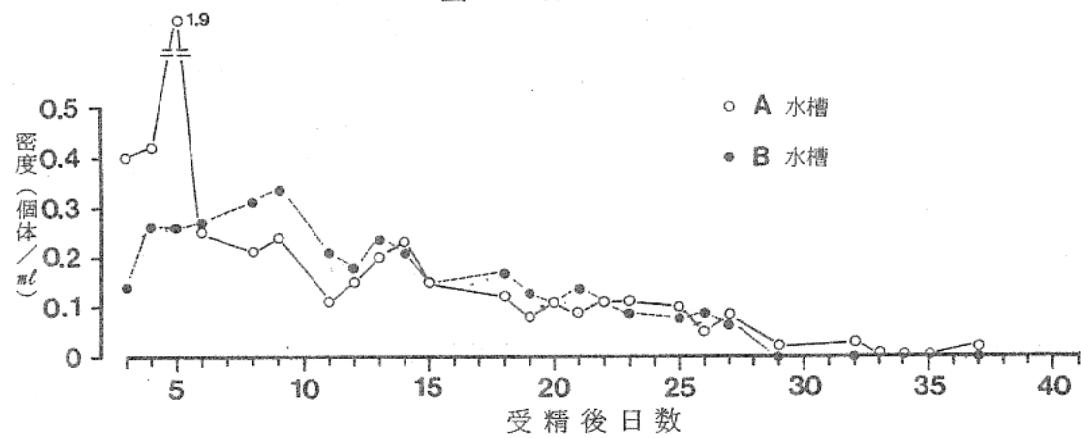


図2 浮遊幼生密度の変化

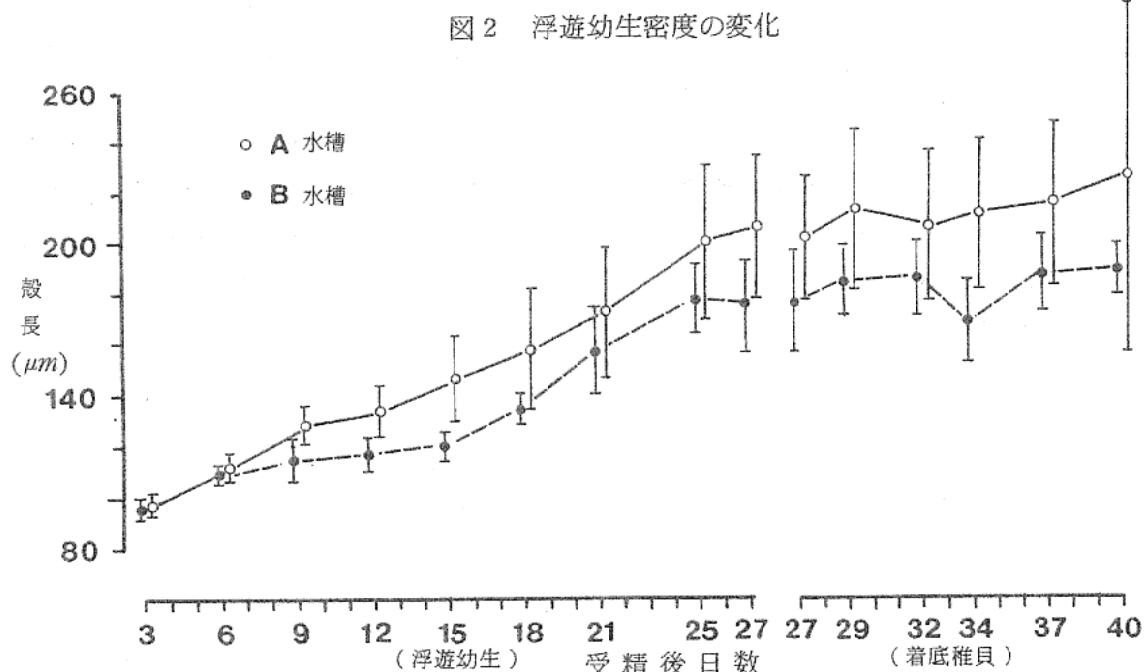


図3 浮遊幼生および着底稚貝の成長

であった。着底してからの成長速度はA:1.9 $\mu\text{m/day}$, B:1.0 $\mu\text{m/day}$ と、着底稚貝の成長はA, B水槽とも非常に鈍かった。また、両水槽とも、受精後6日目までは明らかにD状幼生であったが、9日目以降から殻頂期の幼生が出現し始めた。着底してからは26日目に足が、37日目には鰓が形成されていることが確認された。

考 案

以上の結果から可消化処理海産クロレラのみを給餌した区ではそれに*Chaetoceros sp.*を併用した区に比べて明らかに成長及び最終的な生残率とも悪かった。成長では特に15日目までが悪かったが、その後成長速度が増加したことから考えるとこの間の給餌量が不足していたとも考えられる。着底時の平均殻長で両者には約30 μm の差がついた。しかし、着底時期はほぼ同時期であり、むしろ可消化処理海産クロレラのみの区の方が早い感じがした。従って殻長からだけでは着底時期は判断できないものと思われた。また、着底後の足や鰓の形成時期についてもほぼ同じであった。このように今回の試験では可消化処理海産クロレラのみの給餌でも、成長は悪いがほぼ健全な着底稚貝を得ることが出来た。

しかし、B水槽では飼育終了間際に大量への死が起きた。この原因についてははっきりしたことは分からぬが、可消化処理海産クロレラは飼育水の悪化を招きやすいため、止水での給餌は極力避けることが本県でのナマコ種苗生産試験で明らかにされており、今回

も可消化処理海産クロレラの給餌にあたり、1日分を2回に分け、換水開始とともに多めに、終了後には少な目に給餌した。また、水槽底面における汚れ及び原生動物やコペポーダの発生状況はA水槽では、飼育初期に*Chaetoceros sp.*の残餌が多く、繊毛虫と思われる原生動物やコペポーダが多量に発生し、死骸も目立った。そこで32日目に水槽替えを行ったが、十分に汚れを除去できなかった。それに比べ、B水槽では見た目には残餌等の汚れもなく、原生動物やコペポーダの発生も少なく、死骸もほとんど見られなかった。今回の大量への死が可消化処理海産クロレラによる水質の悪化によるものかどうかは分からぬが、こまめに分槽等を行い、水質の悪化を防ぐことが望ましいと思われた。

以上から、可消化処理海産クロレラの餌料としての有効性は高いものと思われるが、その給餌方法や給餌量さらに*Chaetoceros sp.*などの他の餌料との併用に際し、その割合などの詳しい検討が必要と思われた。

参考文献

- 1) 田中健二ら(1987): ミルクイ種苗生産。昭和62年度愛知水試業務報告, 6-9。
- 2) 田中健二ら(1988): ミルクイ種苗生産。昭和63年度愛知水試業務報告, 3-6。
- 3) 鯉江秀亮ら(1990): ミルクイ種苗生産。平成2年度愛知水試業務報告, 3-7。
- 4) 鯉江秀亮ら(1991): 穿刺によるミルクイガイの雌雄判別試験。栽培技研, 20(1), 17-20。

ミルクイ生態調査 (母貝養成試験)

山田 智・大澤 博

目的

ミルクイの採卵適期は水温が20°Cを下回る10月下旬頃から始まることが経験的に知られている。種苗生産にはこの時期に自然成熟した個体を採集し、切開法で得られた卵を用いているが、ミルクイはその外観からは雌雄及び生殖巣の成熟程度を判別できず、熟卵を得るには結果的に多数の母貝が必要とされてきた。また、この時期に種苗生産を開始すると低水温のため、着底まで約1ヶ月近くかかり、この間の飼育水の悪化等から、しばしば大量へい死を起こすこともある。昨年度、母貝の生殖巣に直接注射針を挿入することにより生殖細胞を採取し(以下穿刺という)、母貝を生かした状態で雌雄判別が可能となった¹⁾。本試験では、この穿刺法を活用し、ミルクイの低温飼育による成熟促進効果について検討した。

材料と方法

母貝は平成3年8月25日に篠島地先で採集され、8月27日まで水試内の4m³水槽の砂濾過海水下で蓄養されたものを用いた。8月28日にその中から無作為に9個を選び、17°Cの

恒温室内に設置された精密濾過海水(水温 24°C)を満たした100ℓパンライト水槽3基に1水槽当たり3個ずつ収容した。通気は直径5cmの丸型エアーストーンを1水槽当たり2個投入して行った。餌料は単一種培養した*Chaetoceros* sp. を毎日30,000~50,000cells/mlになるように与えた。飼育水は精密濾過海水を前日に恒温室内に用意し、17°Cに調温した後、毎日その全量を交換した。恒温室内は作業時以外は暗黒の状態においていた。9月2日までに3個体がへい死したため、以降は30ℓパンライト水槽に1個体ずつ収容した。通気は上記のエアーストーンを1水槽当たり1個投入して行い、給餌及び換水は上記の方法によった。飼育は10月8日までの42日間であり、その間に5~15日間隔で5回、穿刺を行いその熟度を調べた。熟度判定基準は表1に基づき行った。

結果

表2に試験終了まで生存した供試母貝6個体の殻長及び試験開始前と終了後の殻重を示した。いずれの個体も試験終了後に殻重の増加がみられ、増重率は3.8~11.1%であった。

表1 熟度判別基準

表記	内容
-	不明
♀士	その大きさからおそらく卵と思われるもの
♀+	卵と確認できたもの(密度は薄い)
♀++	卵の密度の濃いもの
♀+++	卵の密度が非常に濃いもの
♂士	精子と思われるがほとんど運動性のないもの
♂+	精子と確認できたもの(密度は薄い)
♂++	精子の密度が濃く、活発に活動しているもの
♂+++	精子の密度が非常に濃く、活発に活動しているもの

試験開始直後約24°Cであった水温は徐々に低下し、14時間後にはほぼ17°Cとなった。以降、試験終了まで飼育水温は17°Cであった。

表3に各母貝毎の穿刺結果及び試験終了後切開した時のGSI(%)及び雌については採卵数と平均卵径を示した。試験開始前(8/26)と開始後約2週間(9/9)では6個体とも未熟であった。しかし28日後(9/24)に6番と8番の個体で精子が確認され、1番の個体でも精子らしきものが確認された。その後37日目(10/3)には4、9及び10番の個体で卵が確認され、42日目の試験終了時(10/8)には6個体とも雌雄判別がつき、性比は1対1であった。この時点で雄個体は熟度♂++以上でよく成熟しており、GSIも30以上と高い値であった。雌は9番の個体が熟度及びGSIともに低く、卵数も少なく、卵径も小さかったが、他の2個体は熟度♀++以上であり、卵数も比較的多かった。

得られた卵と精子を用いて受精させ、精密濾過海水を張った1m³水槽(水温約23°C)に収容したが、翌日検鏡した結果、受精卵は正常に発生しておらず、ほとんどが奇形幼生であった。

表2 供 試 母 貝

母貝番号	1	4	6	8	9	10
殻長(cm)	11.5	15.0	13.5	12.5	13.5	12.5
殻重(g)(8/26)	281.5	648.0	459.8	349.2	488.5	353.6
殻重(g)(10/8)	301.5	693.3	501.3	362.3	542.9	382.9
増重率(%)	7.1	7.0	9.0	3.8	11.1	8.3

考 察

試験母貝と同じ日(8月25日)に採集され、水試内の4m³水槽に設置された砂を入れた籠の中で、砂濾過海水流水下で蓄養された母貝7個体の熟度を10月3日に調べたところ全て未熟であった。また、10月17日に同じ篠島で採集された母貝20個の熟度を調べたが、全く未熟なもの(雌雄の判別つかず)が11個体と半数以上あり、♂(♂、♂♀(雌雄同体))が3個体で、精子(5個体)及び卵(1個体)が確認できたものは合わせて6個体であったが熟度はいずれも+と低かった。また、10月8日(試験終了時)の分場地先水温がまだ23°Cあり、例年の採卵適期が水温20°Cを切る10月下旬であることからも天然のミルクイの成熟はこの時点ではまだ行われておらず、したがって本試験によりミルクイの成熟は自然界より約1ヶ月促進されたと考えられた。

今回得られた受精卵が正常に発生しなかった原因の一つに水温が高かったことが想像される。そこで平成4年1月28日に雌1個体及び雄2個体から得られた受精卵を用いて、温度の違いによる正常発生率を調べた。試験は精密

表3 穿刺による成熟度及び切開時のGSI、卵数及び平均卵径

穿刺日	母貝					
	1	4	6	8	9	10
8月26日	—	—	—	—	—	—
9月9日	—	—	—	—	—	—
9月24日	♂±	—	♂+	♂++	—	—
10月3日	—	♀+	♂+	♂+++	♀+	♀++
10月8日	♂++	♀++	♂++	♂++	♀+	♀++
GSI(%)	29.8	20.4	30.1	38.4	13.4	21.5
卵数(万粒)	—	2,560	—	—	1,300	3,540
卵径(μm)	—	63.2	—	—	56.4	59.7

濾過海水を満たし、あらかじめ表4の水温に設定された2ℓフラスコに受精卵を10個/mlになるように収容し、4日後に固定し、正常発生したD状幼生の割合を調べた。各試験区ともフラスコは2本ずつ用意した。その結果、正常発生したD状幼生の割合は17℃で最も高く、次いで20℃であり、10℃及び23℃ではかなり低く、25℃では0%であった。

このように23℃以上では受精卵の正常発生率が著しく悪かった。今後は受精卵ではなく、より発生の進んだ段階(担輪子幼生やD状幼生)における温度耐性を調べ、少しでも高い水温での飼育を可能とし、浮遊幼生の飼育期間を短縮することが重要な課題であろう。

表4 水温別正常発生率(%)

水温	フラスコ1	フラスコ2	平均
10℃	10.3	10.6	10.5
17℃	55.0	64.3	59.7
20℃	30.6	35.7	33.7
23℃	4.2	9.2	6.7
25℃	0	0	0

参考文献

- 1) 鯉江秀亮ら(1991): 穿刺によるミルクイガイの雌雄判別試験。栽培技研, 20(1), 17-20。

トラフグ種苗生産

長尾成人・山田 智・菅沼光則

目的

トラフグ種苗生産の基礎的技術を確立するため、 2m^3 規模水槽を使用し、種苗生産試験を実施した。

材料および方法

親魚は、平成3年4月17日に三重県安乗漁協で水揚げされた雌2尾、雄3尾を使用した。親魚から得られた受精卵は500ℓふ化水槽に収容して管理を続けた。試験は、4月29日にふ化した仔魚を 2m^3 FRP水槽4面に収容し、ふ化後45日目まで行った。飼育水は試験開始後3日目まで止水とし、その後徐々に換水を行い、31日目には9回転/日とした。餌料はイカ肝油、可消化処理クロレラで強化したシオミズツボワムシ、イカ肝油で強化したアルテミアとトラフグ稚魚用配合飼料を用いた。

結果

親魚の体重、体長および受精率は表1に示した。ただし、トラフグは卵膜が不透明で媒精直後の受精確認が困難であるため、ここで示す受精率は媒精48時間後の発生状況を観察し、発生進行中の卵を受精卵とみなした。2尾の雌から得られた卵の受精率はともに95%であった。

試験結果は総収容尾数59,120尾に対し取り上げは6,706尾、歩留まりは11.3%であった。

へい死は試験開始当初は認められなかったが、ふ化後11日目から認められ、30日目以後各水槽で顕著に認められた。給餌量はワムシ1,504.9億個体、アルテミア736.2億個体、配合飼料3,203.8gあった。成長は図1に示した。平均全長はふ化時に 2.9mm 、ふ化後20日目に 8.5mm 、飼育終了時に 21.8mm であった。

考察

トラフグは他の海産魚より卵とふ化仔魚のサイズが大きく、ふ化後20日目頃までの飼育は容易である。しかし、30日目以後では、餌料を充分投与しているにもかかわらず、へい死が多く認められる。また、この時期には飼育魚が互いに噛み合う現象が顕著に認められる。これらのことから噛み合いがへい死の大きな要因となっていると考えられる。したがって、今後は噛み合いの原因解明とその防止法の開発が種苗生産技術の向上のため必要である。

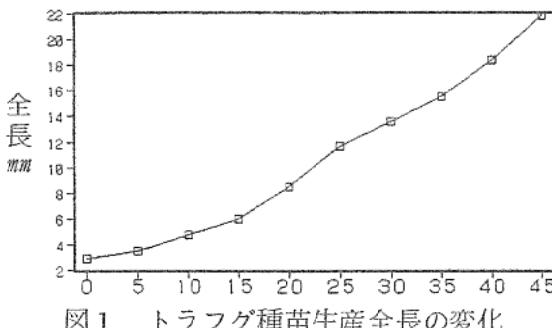


図1 トラフグ種苗生産全長の変化

表1 トラフグ種苗生産使用親魚

番号	雌雄	全長(cm)	体重(kg)	卵重量(g)	受精率*(%)
1	♀	48.2	1.90	695	95
2	♀	49.0	2.05	530	95
3	♂	45.4	2.10	—	—
4	♂	42.2	1.95	—	—
5	♂	44.0	1.85	—	—

*受精48時間後の発生進行卵の割合

初期幼生用餌料安定供給試験

長尾成人・大澤 博

目的

シオミズツボワムシ *Brachionus plicatilis* (以下ワムシ) の培養は通常 1~50ml の水槽を用いて行うため、作業量も多く手間もかかる。ワムシを種苗生産用餌料として使用しない期間中は培養規模をできるだけ縮少し、手間をかけないことが望ましい。その点で 300 ml 程度のフラスコ培養が簡便である。しかし、小容量での培養は増殖が不安定で全滅することも多い。この増殖不安定の一因は給餌量や接種量と培養状況について具体的な知見がないことである。そこでフラスコ培養時の適正給餌量と適正接種密度についての試験を行った。

材料および方法

・給餌量別試験

愛知県栽培漁業センター産のワムシ (以下センター株) と愛知県水産試験場尾張分場産のワムシ (以下分場株) をそれぞれ接種密度 10 個体/ml でフラスコに収容し (水量 300ml), 14 日間培養を行った。餌料はテトラセルミス *Tetraselmis tetrathale* 使用した。給餌区は、両株についてそれぞれワムシ 1 個体 1 日当たり 300 細胞, 600 細胞, 900 細胞とする 3 区を設定した。培養水 1 mlあたりのワムシの個体数 (以下ワムシ密度) と培養水 1 mlあたりの卵数 (以下卵密度) は各区とも 2~3 日毎に計数した。

・接種密度別試験

両株の接種密度をそれぞれ 5 個体/ml, 10 個体/ml, 20 個体/ml の 3 区設定し、培養を 7 日間行った。餌料は、培養水中のワムシ 1 個体当たりテトラセルミス 1,000 細胞を維持させ

るため、残餌を毎日計数して不足分を追加した。培養期間中は各区ともワムシ密度、卵密度を計数し、ワムシ 20 個体について被甲長を計測した。

結果

・給餌量別試験

培養期間中のワムシ密度の推移は図 1 に、卵密度の推移は図 2 に示した。両株とも餌料を 1 個体 1 日当たり 900 細胞給餌した区ではワムシ密度、卵密度ともに増加したが、分場株 1 個体 1 日当たり 300 細胞給餌した区ではワムシ密度、卵密度ともに減少した。

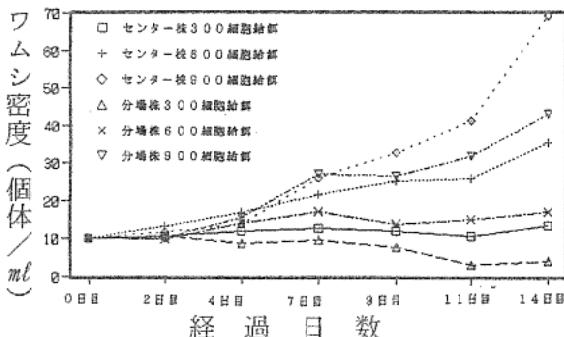


図 1 給餌量の違いによるワムシ密度の変化

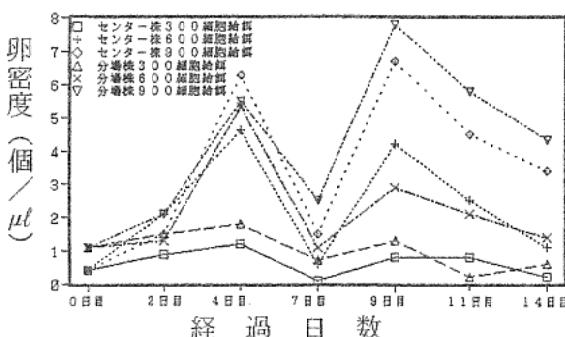


図 2 給餌量の違いによる卵密度の変化

・接種密度別試験

培養期間中のワムシ密度の推移は、図 3 に示した。両株とも全区でワムシ密度はほぼ 2

～3倍となった。培養期間中の卵密度の推移は図4に示した。センター株の接種密度10個体/ ml 区 20個体/ ml 区および分場株の接種密度5個体/ ml 区、10個体/ ml 区で約14倍に、センター株の接種密度5個体/ ml 区で26倍、分場株の接種密度20個体/ ml 区で18倍に増加した。被甲長の推移は図5に示した。センター株が分場株より大きいが、接種密度による差は認められなかった。

考 察

給餌量については、1個体1日当たり300細胞では分場株でワムシ密度、卵密度がともに減少したことより餌料が不足していると考えられる。1個体1日当たり900細胞の給餌量では14日間でワムシ密度は4～7倍程度、卵密度は4～8倍程度の増加が認められた。この程度の増加であれば、短期間で増殖過剰によるワムシの全滅の危険性は少ない。培養は10～15日毎に水換えを行えば支障がないと考えられる。

接種密度については、両株とも各区でワムシ密度が7日間で2～3倍に増加した。この調子で14日間の培養を行うと、接種密度20個体/ ml の場合ワムシ密度が100個体/ ml 程度に達する可能性がある。ワムシ密度が100個体/ ml 程度に達すると、その後短期間で急激にワムシが増殖し全滅することも多い。またワムシの維持倍養ではワムシ密度が短期間で高くなると間引きを頻繁に行わなければならないため、管理に手間がかかりすぎる。これらのことから接種密度は、培養期間を長くするため可能な限り低く抑えたほうが良い。

以上のことからテトラセルミスを餌料としてフラスコで培養を行うには、培養期間を15日間程度とし、ワムシ1個体1日当たりの給餌量を900細胞程度、接種密度を5個体/ ml 程度が適していると考えられる。

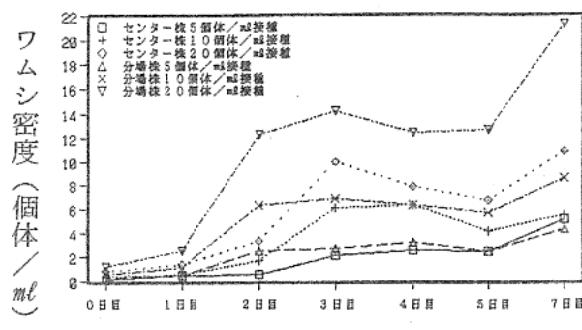


図3 接種密度の違いによる
ワムシ密度の変化

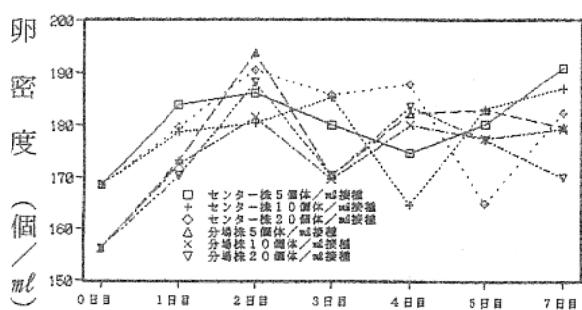


図4 接種密度の違いによる卵密度の変化

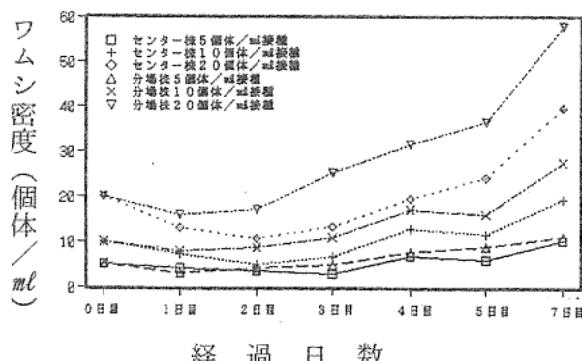


図5 接種密度の違いによる被甲長の変化