

魚類種苗生産における初期減耗に及ぼすプランクトン群集構造の変化

中川至純,¹ 江口 充,² 橋本卓也,³ 中瀬玄徳,² 宮下 盛^{1*}
(^{1,3} 種苗生産・養殖グループ, ² 環境保全・資源動態グループ)
¹近畿大学水産研究所, ²近畿大学大学院農学研究科, ³近畿大学農学部
* miyasita@wcsnet.or.jp

我が国をはじめ世界各国の養殖事業における疾病被害は年々増加の傾向を示しており、さらにウイルス性疾病等の新たな疾病が続くと危惧されている。¹⁾ しかし我が国の養殖業は、消費者の「食の安全性」に対する危惧感の増大や環境保全等の観点から、薬剤の使用を抑制する方向にある。このような状況において、薬剤に依存せず、積極的に飼育水中の微生物をコントロールする技術に対する関心が増大している。

仔魚の初期飼育水には、それぞれに培養された餌料の投入や注入水によって、バクテリアや原生動物をはじめとする様々な種及び栄養形態のプランクトンが混入する。²⁾ 飼育槽内で増殖した細菌は原生動物によって摂食されるが、時に仔魚を大量斃死に至らしめる。仔魚飼育水中には様々な生物の間で被食―捕食の関係がみられ、仔魚飼育環境は仔魚を頂点とした生態系を形成している。仔魚の成長および生残には、飼育水中のプランクトン群集の動態が大きく関与していると考えられる。飼育水中の微生物相をコントロールするために、生態系を形成している飼育水中の食物連鎖構造を生態学的な観点から詳細に理解する必要がある。

本研究の目的は、飼育水中の食物連鎖構造を理解するために、仔魚の初期飼育期間中におけるプランクトン群集構造の変化と仔魚の生残との関係を生態学的な観点より定量的に解明することである。そこで、本研究では、生産規模で行われているマダイの初期飼育をモデルケースとして飼育水の生物、物理、化学的パラメータのモニタリング調査を行った。

試料および方法

マダイ仔魚の飼育は、近畿大学水産養殖種苗センターすさみ事業場のNo.1 (容量30 t, 水深1 m) 及びNo.2 (容量50 t, 水深1.6 m) の2水槽において、2004年5月22日～6月27日(孵化後35日齢)にかけて行った。供試卵はオゾン消毒(オゾン濃度0.49～0.56 p.p.m.の海水中において、1分間エアレーションで攪拌)を行った後、15,000 eggs/tとなるように各飼育槽に収容した。光源は遮光ネットによって減光した天然光を用い、天然の明暗周期(明期12時間、暗期12時間)で飼育を行った。

給餌は3日齢から基本的に毎日行った。飼育水には、給餌開始時から19日齢まで、ナンノクロロプシス(以下、ナノクロと表記する)を添加した。19日齢から27日齢までは、淡水濃縮クロレラを、飼育槽に添加した。No.1水槽における餌料系列は、3～25日齢までをワムシ、21～33日齢までをアルテミア幼生とし、21日齢以降は配合飼料を併用した。一方、No.2水槽では、3～26日齢までをワムシ、24日齢以降をアルテミア幼生とし、配合飼料は26日齢以降使用した。

供仔魚は、7, 14, 21, 28および35日齢(No.1のみ)において各水槽20個体を採集し、仔魚の全長を測定した。また、底面掃除によって採集された仔魚を斃死個体として計数した。

飼育期間中、注入水および注入付近の表層水(定点A)、そして、その対角の表層水(定点B)を毎日14:30に採水し、水温、溶存酸素濃度、pHの分析に用いた。また、注入水に関してのみ塩分濃度の測定を行った。定点A及びBについては、シリコンチューブを用いてサイフォンで採水し、注入水に関しては直接採水した。各水槽の水面約30 cm

上の照度 (lx) を測定し、稲田 (1984) の換算式を用いて光強度 (光量子束密度: $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$) に変換した。微生物環境分析用の試水は 50 ml のサンプリング容器に採水した。採水後、バクテリア、シアノバクテリア、ピコ及びナノプランクトン用の試水は 1% グルタアルアルデヒド溶液で固定し、4°C で保管した。また、マイクロプランクトン、ワムシ、アルテミア幼生観察用の試水は酸性ルゴール液 (最終濃度 2%) で固定した。

ピコおよびナノプランクトンは DAPI 染色および DAPI とプロフラビンの二重染色後、孔径 0.2 および 0.8 μm メンブレンフィルターで吸引濾過して捕集し、落射型蛍光顕微鏡 (Nikon ECLIPSE 50i) を用いて計数し、ナノプランクトンについてはサイズ測定も行った。マイクロプランクトンについては、ルゴール固定された試水 40 ml をメモリ付試験管に計り取り、24 時間静置沈殿後、サイフォンを用いて 4 ml まで濃縮した。よく攪拌された濃縮液 1 ml を計数板に計り取った後、生物顕微鏡下で計数し、サイズ測定を行った。各プランクトンの細胞数、体長および得られたデータを基に推定した体積から換算式や換算係数を用いて各プランクトンの炭素量を算出し、プランクトン群集構造の解析に用いた。

結果および考察

仔魚の生残率及び成長 仔魚の孵化率は、No. 1 では 90.3%, No. 2 では 91.4% であった。No. 1 では、底面掃除により採集された斃死仔魚は、飼育期間を通して 1,500 個体以下であった。35 日齢における生残率は 41.3% であった。一方、No. 2 では、14 および 24 日齢を中心に大量斃死がみられ、28 日齢に飼育を終了し、生残率は 12.5% であった。

孵化仔魚の成長は環境条件に大きく影響されるが、マダイ仔魚の全長 (Y) と孵化後の経過日数 (X) との関係は、回帰式 $Y = 3.2627 - 0.0095X + 0.0097X^2$ で表される。³⁾ この回帰式を用いて、7, 14, 21, 28 および 35 日齢における全長を算出すると、それぞれ、3.67, 5.03, 7.34, 10.6 および 14.8 mm

となる。本研究における全長と回帰式より算出された全長を比較すると、No. 1 では全日齢において算出された全長よりも優れた成長を示した。一方、No. 2 では 14 日齢までは上述の全長を上回っているが、21 日齢以降は同等もしくはそれ以下であった。

バクテリアの密度変化 バクテリアは仔魚の成長および生残率に大きな影響を与える因子²⁾ であり、飼育水中におけるバクテリアの増減に関する要因としては、孵化および給餌による有機物の増加、⁴⁾ 微小鞭毛虫類による捕食、⁵⁾ そして換水による希釈等が考えられる。ワムシの培養液には、培養方法や餌料によっても異なるが、 $10^6 \sim 10^8$ cells/mL 程度の細菌が存在し、培養されたワムシ自身も 1 g あたり $10^7 \sim 10^8$ 程度の細菌を保有している。⁶⁾ 通常、ワムシは収穫後、滅菌された海水で洗浄され飼育槽に添加されるが、洗浄処理だけではワムシ体内に存在する生菌を 1 桁程度しか減少させることはできない。⁷⁾ また、ナノクロの培養液中においてもバクテリアは増殖している。⁸⁾ よって、ワムシおよびナノクロはバクテリアの栄養源である有機物の負荷だけではなく混入源とも考えることができる。本研究において、飼育水中におけるバクテリアの細胞数密度は、ワムシやナノクロ等の飼育槽に添加された有機物の増加に伴って 10 日齢まで増加する傾向を示し、10 日齢においてほぼ飽和状態になった。給餌量の増加によって 10 日齢以降も有機物量は増加し、バクテリアは増殖し続けていたと考えられるが、No. 1 では 9 日齢、No. 2 では 10 日齢に換水率が 100% を超え、日齢に伴って換水率が上昇していったため、バクテリアの密度の変化に影響を及ぼしたと考えられる。また、微小鞭毛虫類による捕食圧もあったと考えられるが、本研究ではバクテリアと HNP における細胞数密度の間には負の相関が見られなかったことから、HNP による捕食圧は大きくなかったと考えられる。さらに、バクテリアの増殖速度は水温によって変化することも報告されている。⁹⁾ 本研究においても 10~15 および 21~27 日齢にかけて水温が 1°C 以上上昇した際、バクテリアの個

体数密度も水温上昇と同調して増加した。

ワムシの摂食 ワムシの培養液中では繊毛虫類や鞭毛虫類等の様々な種およびサイズの原生動物が出現し、⁶⁾ ナノクロの培養液においても原生動物や珪藻類、そしてシアノバクテリア等が増殖する。⁸⁾ したがって、ワムシおよびナノクロの投入によるこれらの生物の増減は飼育水中におけるプランクトンの群集構造に大きな影響を与える。一般的なワムシの餌料は、海産クロレラ類やテトラスルミス等の微小藻類、酵母類、そして、菌類と微生物フロックの3種類が挙げられ、¹⁰⁾ 細胞直径 $3.04 \pm 0.47 \mu\text{m}$ の海産クロレラ類が好適餌料とされている。¹¹⁾ 本研究においても、両水槽でワムシとANPおよびHNPの密度間に負の相関を示す傾向はみられたが、有意な相関が認められたのはANPとの関係におけるNo.1の定点Aのみであり、その他の関係については相関が高くないため、ANPやHNPの密度にはワムシによる捕食圧だけではなく、換水や光環境等の他の要因も関与していたと考えられる。また、ワムシとANPの関係において、回帰直線の傾きがNo.2よりNo.1の方が高かった。これは、No.2のワムシがNo.1よりも摂食圧が低いことを示唆しており、No.2におけるワムシの活力が低かった可能性が考えられる。また、微小鞭毛虫類はナノサイズのプランクトンを摂食することができるが、¹²⁾ HNPとANPにおける細胞数密度の間には、No.2のB点を除き有意な正の相関がみられたことから、HNPはナノクロとともに飼育槽に混入し、飼育水中で増殖したと考えられる。

ナノクロの水質浄化作用 飼育水にナノクロを添加する理由としては飼育水中のワムシ（高度不飽和脂肪酸）の維持や水質のコントロール、そして透明度を低下させることによる仔魚のストレス軽減等が挙げられる。¹³⁾ バクテリアは溶存態および粒子態の有機物だけではなく、アンモニア態窒素を窒素源として利用する。このためバクテリアと植物プランクトンはアンモニア態窒素をめぐる競争関係にあると考えられている。⁵⁾ アルテミア培養槽に添加したナノクロはアンモニアを除去することが報告されている。¹⁴⁾ また緑藻類の

Chlamydomonas 属には、抗菌作用を持つ種がある。ナノクロを含む微細藻類は、バクテリアの増殖抑制に関連した環境調整的な役割を果たすと考えられている。¹⁵⁾ 本研究の飼育初期において、No.1ではNo.2と比較すると、ナノクロで構成されるANPの組成比が高く、独立栄養性生物が卓越しており、光強度も高かった。その結果、No.1ではNo.2に比べてナノクロの活性が高く、バクテリアの増殖抑制効果が高かった可能性がある。

飼育水中におけるワムシの餌料価値 仔魚の初期減耗における生物学的要因の1つとして、餌料として給餌されるワムシの栄養価が挙げられる。^{16), 17)} これまでの海産魚に関する栄養学的研究成果により、n-3系高度不飽和脂肪酸（n-3HUFA）が仔魚の生残に大きな影響を及ぼすことが明らかにされている。²¹⁾ 飼育水中におけるワムシのn-3HUFA含有量は時間とともに急激に減少するが、ナノクロを添加すると、n-3HUFAの急減はみられず、飼育水中におけるナノクロの密度が高いほど、ワムシ中のn-3HUFAは維持される。¹³⁾ また、友田らは増殖の悪いワムシを給餌すると生残率が低下することを報告している。¹⁸⁾ 本研究において、飼育初期のANPの細胞数密度は、No.1では $2.2 \times 10^5 \sim 5.1 \times 10^5 \text{ cells/mL}$ 、No.2では $4.7 \times 10^4 \sim 2.7 \times 10^5 \text{ cells/mL}$ の間で変化し、No.2の方が低かった。故に、No.2では、ワムシのn-3HUFA含有量はNo.1と比較して時間とともに低下していたことが考えられる。また、No.2では餌料不足およびナノクロの活性が低下していた可能性があることからワムシの活力が低かった可能性も考えられる。

プランクトン群集構造の変化 仔魚の斃死にはいくつかの要因が複合的に関与している。²¹⁾ 本研究では、初期飼育水におけるプランクトン群集構造を栄養形態別に表し生産構造について解析を行った。No.1の飼育初期における生産構造は、ナノクロ主体の独立栄養生物の割合が高く、10日齢以降は指数関数的にワムシ主体の従属栄養性生物に移行した。No.2ではNo.1に比べて、飼育初期における独立栄養性生物の割合が低く、従属栄養性生物への変化パターンが大きく異なっていた。

前節において、仔魚の生残に影響を及ぼすナクロの水質浄化作用やワムシの餌料価値等のプランクトン生態学的な要因が No. 1 に比べて、No. 2 で劣っていた可能性が示唆された。これらのことから、プランクトン群集の生産構造は、各プランクトンの相互関係および仔魚との相互関係を包含していることが考えられる。したがって、飼育水中におけるプランクトン群集の生産構造の把握は食物連鎖構造を定量的に評価する上で重要な指標になることが期待される。

謝 辞

本研究を行うに当たり、御協力いただいた近畿大学水産養殖種苗センター白浜事業場およびささみ事業場の職員の皆様に心より感謝申し上げます。本研究を行う機会を与えてくださった近畿大学水産研究所所長熊井英水教授ならびに同所副所長村田修教授に心よりお礼申し上げます。

文 献

- 1) 前田昌調. 海産微生物の拮抗作用と魚介類飼育への利用. *海の研究* 2005; 14: 7-20.
- 2) Maeda M, Hino A. Environmental Management for Mass Culture of the Rotifer, *Brachionus plicatilis*. Rotifer and Microalgae Culture Systems. Proceedings of a U.S.-Asia Workshop. The Oceanic Institute, Honolulu. 1991, pp. 125-134.
- 3) 山口正男. タイ養殖の基礎と実際. 恒星社厚生閣, 東京. 1978.
- 4) Olafsen JA. Interactions between fish larvae and bacteria in marine aquaculture. *Aquaculture* 2001; 200: 223-247.
- 5) 日本微生物生態学会 教育研究部会. 微生物生態学入門—地球環境を支えるミクロの生物圏—. 日科技連出版社, 東京. 2004, pp. 135-139.
- 6) 岡 彬. 増殖環境. 初期餌料生物—シオミズツボワムシ (福所邦彦・平山和次編), 恒星社厚生閣, 東京. 1989, pp. 28-38.
- 7) 臼杵考志・吉村研治・吉松隆夫. 海産小型ワムシ高密度培養過程における細菌数の変化とその制御. *水産増殖* 1998; 46: 193-201.
- 8) 岡内正典. 餌料用微小藻類の大量培養. 初期餌料生物—シオミズツボワムシ (福所邦彦・平山和次編), 恒星社厚生閣, 東京. 1989, pp. 86-108.
- 9) del Giorgio PA, Cole JJ. Bacterial Energetics and Growth Efficiency. MICROBIAL ECOLOGY OF THE OCEANS (David L. Kirchman). Wiley-Liss, Inc, Canada. 2000.
- 10) 平田郁夫. 餌料の種類と給餌法. 初期餌料生物—シオミズツボワムシ (福所邦彦・平山和次編), 恒星社厚生閣, 東京. 1989, pp. 73-84.
- 11) 平野克己. 好適餌料. 初期餌料生物—シオミズツボワムシ (福所邦彦・平山和次編), 恒星社厚生閣, 東京. 1989, pp. 42-43.
- 12) 品田晃良. 上位栄養段階への仲介者としての微小動物プランクトンの役割—特にナノ動物プランクトンについて—. *Bull. Plankton Soc. Jpn.* 2002; 49: 41-45.
- 13) 吉松隆夫, 林 雅弘, 戸田淳次, 古市政幸, 北島 力. メナダ仔魚の必須脂肪酸要求と飼育槽へのナンノクロロプシス添加効果. *日水誌* 1995; 61: 912-918.
- 14) 花岡 悠. アルテミアの成長に及ぼすアンモニアの害作用とクロレラによるアンモニアの吸収除去. *日本プランクトン学会報* 1979; 24: 99-107.
- 15) 日野明德, 野上義夫, 平野礼次郎. 廃水処理生成物によるシオミズツボワムシ培養に関する研究—1 (活性汚泥によるワムシの培養). *水産増殖* 1981; 28: 174-178.
- 16) 竹内俊郎, 鄭 鋒, 興世田兼三, 廣川 潤, 渡邊 武. DHA 強化ワムシのマダラ仔魚に対する栄養価. *日水誌* 1994; 60: 641-652.
- 17) Watanabe T, Izquierdo MS, Takeuchi T, Satoh S, Kitajima C. Comparison between eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid in terms of essential fatty acid efficacy in larval red seabream. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1989; 55: 1635-1640.
- 18) 友田 努, 小磯雅彦, 桑田 博, 陳 昭能, 竹内俊郎. 増殖ステージが異なるシオミズツボワムシのマダイ仔魚に対する餌料価値. *日水誌* 2004; 70: 573-582.