

イセエビ種苗量産技術開発事業

松田 浩一・竹内 泰介

目 的

イセエビのフィロゾーマ幼生の中規模飼育（30～100 ℓ程度の大きさの水槽を用いた飼育）の技術を確立するために、飼育環境、餌料等に関して飼育実験を行い、適当な飼育条件について検討した。

1) 薬浴のための止水時間に関する実験

方 法

流水による中規模飼育を行う場合、薬浴を行うために一昼夜止水条件にすると脱皮失敗のへい死が発生し、生残率が低下する原因となっている。したがって、止水時間（薬浴時間）を4条件設定してイセエビ幼生を飼育し、疾病と脱皮失敗の発生状況を調査した。実験は11月12日から約2ヶ月間行った。設定した実験区は、薬浴のための止水時間を7, 17, 19, 21時間とする4区である。各実験区とも30 ℓアクリル製浅型水槽を1水槽用いた。実験に用いた幼生は平均体長8.4mmのもので、各実験区で35個体を供試した。実験期間中、すべての実験区で規定の時間止水として薬浴を1週間に2度行った。薬浴のために用いた抗生物質は、アンピシリンとクロラムフェニコールで、これらを交互に用いた（薬剤添加濃度は、いずれも10mg/ℓ）。実験期間中の餌料には、アルテミアとイガイ生殖腺を併用して用い、飼育水温は24℃とした。実験期間中は、毎日脱皮数を記録するとともに、脱皮を成功と失敗に区別し、毎日の脱皮失敗率（%、脱皮失敗数/総脱皮数×100）を算定した。

また、実験期間中に2度（12月21日と26日）、止水時間がもっとも長い4区で注水を開始する時刻（8時30分）の直前に、すべての実験区における飼育水のDO、pH、塩分（21日についてはDOと塩分のみ）を測定した。

結果と考察

実験期間中の脱皮失敗以外の原因によるへい死数は、1区で11個体、2区、3区で各2個体、4区で1個体であった。1区におけるへい死原因の多くは遊泳毛や触角の壊死を症状とする疾病であった。

図1に実験期間中を通じての薬浴した日（薬浴日）と

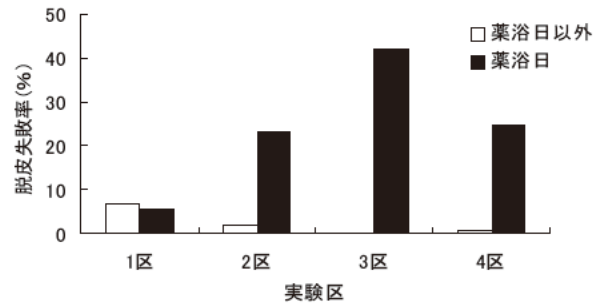


図1 止水時間に関する実験での各実験区の薬浴日と薬浴日以外の日の脱皮失敗率

それ以外の日（薬浴日以外）の脱皮失敗発生率を示した。1区では、薬浴日と薬浴日以外の脱皮失敗率に差がなく、ともに低かった。2～4区では薬浴日の脱皮失敗率が高く、薬浴日以外ではほとんど脱皮失敗は見られなかった。

表1に各実験区における飼育水の水質測定結果を示した。薬浴時間がもっとも長い4区でDOが低く、塩分が高い傾向が見られるが、1, 2, 3区では差がなかった。実験期間中、幼生の脱皮は7時30分前後に起こっていたことから、3, 4区では脱皮が起こる時刻にはすでに流水条件となっていた。したがって、幼生の脱皮失敗は脱皮時の水質に影響を受けて起こるのではなく、その他の要因が原因となっていると考えられた。実験期間中、小型水槽での止水飼育を平行して行っていたが、小型水槽の飼育では同じ薬剤で一昼夜薬浴を行った際にも脱皮失敗の発生は認められなかった。したがって、薬剤自体が脱皮失敗を誘発している可能性は少ないと考えられた。

表1 止水時間実験における各実験区の水質

	12月21日		12月26日		pH
	DO (mg/l)	塩分 (PSU)	DO (mg/l)	塩分 (PSU)	
1区	6.6	34.4	6.6	34.7	8.3
2区	6.6	34.3	6.4	34.2	8.3
3区	6.6	34.2	6.6	34.1	8.3
4区	6.1	35.1	5.9	35.4	8.3

以上のことから、薬浴のための止水時間を7時間程度とした場合には、脱皮失敗は発生しないが疾病が発生し、一方、薬浴時間を17時間以上とすると疾病の発生は抑えられるが、脱皮失敗が起こることが明らかとなった。今後、7時間以上17時間未満の範囲で、幼生の生残に悪影響を及ぼさない薬浴時間を明らかにする必要がある。

2) 餌料実験を実施する際の必要な実験期間

方法

アルテミアの餌料価値はイガイ生殖腺より劣ることを利用し、アルテミア単独給餌期間の長短が幼生の成長に及ぼす影響を調査することにより、餌料の評価を行う際に必要な実験期間について検討した。設定した実験区は、アルテミア単独給餌の期間を1脱皮令の間(1区)、2脱皮令の間(2区)、3脱皮令の間(3区)とする3条件と、実験期間中を通じてアルテミアとイガイ生殖腺を併用する区(4区)の4つである。実験に用いた幼生は平均体長9.0mmのもの24個体であり、これらを4等分し、各実験区6個体を供試した。実験は、各幼生を120ml容ガラス容器に個別で収容し、止水式で行った。実験開始後2回目の脱皮を行うまで、いずれの実験区でもアルテミア(体長2~3mm)とイガイ生殖腺を併用して幼生へ給餌し、その後規定の期間だけアルテミアを単独で給餌した。規定の期間が終了した後は、再びイガイ生殖腺を併用して給餌し、2回脱皮するまで幼生の成長を追跡した。飼育水温は24℃とした。

結果と考察

実験期間中に見られたへい死は、1区における1個体のみであり、各区の飼育は良好な状態で推移した。図2に各実験区における幼生の日間成長量(脱皮による体長

の伸び/脱皮間隔)を示した。アルテミアを単独で給餌する前の日間成長量は0.085(2区)~0.099(4区)(mm/日)であった。アルテミア単独給餌とした直後の脱皮令では、いずれの実験区でも日間成長量は小さくなった。2区では、アルテミア単独給餌を行った2脱皮令の間の日間成長量はほぼ同じであったが、3区では次第に小さくなった。1, 2区では、アルテミア単独給餌からイガイ生殖腺併用とした後についても日間成長量は増加しなかったが、3区では併用とした後は大きくなった。一貫してアルテミアとイガイ生殖腺を併用した4区の日間成長量はほぼ安定していた。

以上の結果、栄養価値の低い餌料をイセエビ幼生に投与すると、その影響は比較的すぐに現れることから、イセエビ幼生への新たな餌料を検討する場合、1脱皮令の期間だけの実験でもある程度その餌料価値を評価できるものと考えられた。

3) 新餌料実験

方法

カキ(貝柱)、ホッコクアカエビ(筋肉)、ヒオウギガイ(貝柱)、アオリイカ(外套)のイセエビ幼生に対する餌料価値について検討した。実験は、カキとホッコクアカエビの餌料価値を検討するものと(実験1)、ヒオウギガイとアオリイカの餌料価値を検討するもの(実験2)の2度行った。それぞれの実験で設定した実験区は、対象となる餌料を与えるものと、対照としてイガイ生殖腺を与えるものの3区である。実験に供試した幼生は、実験1では平均体長9.5mmのもの24個体、実験2では平均体長11.4mmのもの24個体である。実験は各区幼生8個体を用い、それぞれの幼生を120ml容のガラス水槽に個別で収容して止水式で行った。投餌量は、各餌料とも1mm³の大きさに切ったものを1水槽あたり5粒とした。また、これらの餌料のほかに体長3~4mmのアルテミア約40個体も併せて投与した。ホッコクアカエビは冷凍のものを投与の直前に海水に浸して解凍したもの、アオリイカは冷凍されていない生の状態のもの、カキとヒオウギガイは水産研究部にて1日~2週間程度畜養したものをそれぞれ用いた。飼育水及び餌料は毎日交換し、その際にアルテミア以外の餌料は残餌数を計数し、摂餌数を記録した。飼育水温は24℃とした。実験期間は1脱皮令とした。

アルテミア以外の餌料については(財)食品環境検査協会へ委託して、水分、タンパク質、脂質、炭水化物、灰分の含有量、及びEPA量とDHA量の測定を行った。

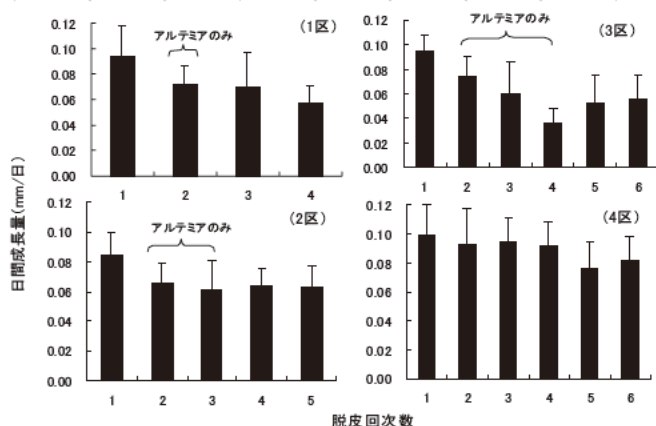


図2 餌料実験の期間に関する飼育実験各実験区における幼生の日間成長量

表2 平成13年度に行った新餌料実験の結果

実験1							
餌料	幼生数 (個体)	脱皮前の 体長(mm)	生残率 (%)	脱皮による体長 の伸び(mm)	脱皮間隔 (日)	日間成長量 (mm/日)	1日平均 摂餌量(個)
カキ	8	10.4±0.8	100	0.9±0.1	10.1±0.9	0.091±0.020	0.7
ホッコクアカエビ	8	10.2±0.9	100	0.8±0.1	10.8±0.9	0.071±0.012	0.2
イガイ生殖腺	8	10.4±0.8	100	0.9±0.1	10.1±1.0	0.094±0.021	2.0

※カキは貝柱, ホッコクアカエビは腹部筋肉を用いた。

実験2							
餌料	幼生数 (個体)	脱皮前の 体長(mm)	生残率 (%)	脱皮による体長 の伸び(mm)	脱皮間隔 (日)	日間成長量 (mm/日)	1日平均 摂餌量(個)
ヒオウギガイ	8	12.2±0.9	87.5	1.0±0.3	10.7±1.1	0.093±0.028	0.9
アオリイカ	8	12.8±1.4	100	1.1±0.2	11.3±1.5	0.097±0.016	1.8
イガイ生殖腺	8	12.1±0.9	100	1.1±0.2	10.8±0.7	0.100±0.024	2.3

※ヒオウギガイは貝柱, アオリイカは外套膜を用いた。

表3 新餌料試験で用いた餌料の成分分析結果 (100g中の重量g)

実験1							
	水分	タンパク質	脂質	炭水化物	灰分	EPA	DHA
カキ	83.7	13.8	0.5	0.7	1.3	0.059	0.036
ホッコクアカエビ	80.5	16.1	0.7	0.1	2.6	0.063	0.042
イガイ生殖腺	74.7	15.7	3.7	4.0	1.9	0.257	0.230

実験2							
	水分	タンパク質	脂質	炭水化物	灰分	EPA	DHA
ヒオウギガイ	78.0	18.0	0.5	1.9	1.6	0.041	0.068
アオリイカ	77.4	20.2	0.3	0.4	1.7	0.075	0.183
イガイ生殖腺	77.3	14.7	3.7	2.2	2.1	0.283	0.207

結果と考察

実験1では実験期間中にいずれの区でもへい死個体は認められず、実験2でもヒオウギガイを投与した実験区で1個体がへい死したのみで、幼生の生残状況は良好であった。実験1では、カキを投与した幼生の日間成長量はイガイ生殖腺を投与した幼生のそれとほぼ同じ程度であったが、ホッコクアカエビを投与した幼生の日間成長量は小さかった(表2)。摂餌量は、カキ、ホッコクアカエビともイガイ生殖腺より少なく、特にホッコクアカエビは幼生によってほとんど摂餌されなかった。実験2では、ヒオウギガイ、アオリイカを投与した幼生の日間成長量はイガイ生殖腺を投与した幼生のそれとほぼ同じ程度であった(表2)。ヒオウギガイ摂餌量はイガイ生殖腺より少なかったが、アオリイカ摂餌量はイガイ生殖腺より若干少ない程度であった。

以上のことから、今回試みた餌料ではカキ、ヒオウギガイ、アオリイカがイガイ生殖腺を補完する餌料となりえると考えられた。

今年度用いた新餌料及びイガイ生殖腺の成分分析の結果を表3に示した。水分はカキで、タンパク質はアオリイカで若干多く含まれていた。脂質、炭水化物はイガイ生殖腺で多く含まれていた。EPA, DHAもイガイ生殖腺で多く含まれていたが、DHAはアオリイカでもイガイ生殖腺とほぼ同程度に含まれていた。アオリイカを与えた幼生の日間成長量が、イガイ生殖腺を与えた幼生のそれとほぼ同程度であったことの要因として、アオリイ

カのDHAの含有量が多かったことが考えられるが、ホッコクアカエビ、カキ、ヒオウギガイの間で体成分に大きな違いが見られなかったにもかかわらず、ホッコクアカエビを投与した幼生の日間成長量が他の2種の餌料で飼育した幼生の日間成長量より小さかったことは、今回調査した項目以外の成分が幼生の成長に影響している可能性も考えられた。

4) イガイ生殖腺投与量実験

方法

体長7mm前後の幼生を用いて、イガイ生殖腺の投与量の違いが幼生の生残、成長に及ぼす影響を調査するとともに、飼育水槽の汚れの程度に及ぼす影響を検討するため、水槽底面のATP量、及び細菌数についても調査した。設定した実験区は、1mm³程度の大きさの粒状に切ったイガイ生殖腺の投与数を毎日25粒(1区)、50粒(2区)、100粒(3区)、200粒(4区)とする4区である(表4)。実験に用いた幼生は平均体長6.9mmのもの200個体であり、各区50個体の幼生を30ℓ水槽1水槽に収容して流水式で飼育実験を行った。飼育水槽の交換は1週

表4 イガイ生殖腺投与量実験の実験設定と実験終了時の生存率

実験区	イガイ生殖腺投与量 (粒)	開始時の幼生数	終了時の生残率 (%)
1	25	50	96
2	50		90
3	100		92
4	200		96

間に1回程度行い、水槽交換時にはアンピシリン、またはクロラムフェニコールにより一昼夜薬浴を行った(10 mg/ℓ)。実験期間中の餌料として、イガイ生殖腺の他に体長2~3mmのアルテミアを投与した(0.2N/mℓ)。飼育水温は24℃とした。実験は3ヶ月間とした。

水槽底面のATP量は1週間に1度水槽交換時に行った。各水槽について、25cm²、4箇所を綿棒でふき取り(縦横10往復)、ATP測定機で測定した。そして、4箇所のATP量の平均値をその日のATP量とした。細菌数の調査は、実験開始後1ヶ月目と2ヶ月目の2回行った。各水槽で水槽底面1箇所(25cm²)を綿棒でふき取り、滅菌海水1mlに浸漬して懸濁液を作成した。そして、マリンプロス2216(ディフコ社)に寒天を1.5%の濃度となるように添加して作成した培地を用いて、25℃、3日間培養し、そのコロニー数から水槽底面1cm²あたりの細菌数に換算した。

結果と考察

実験終了時の各実験区の生残率には差が見られなかった(表4)。各実験区の平均体長に関しては、1区で小さく、3区で大きい傾向が見られた(図3)。

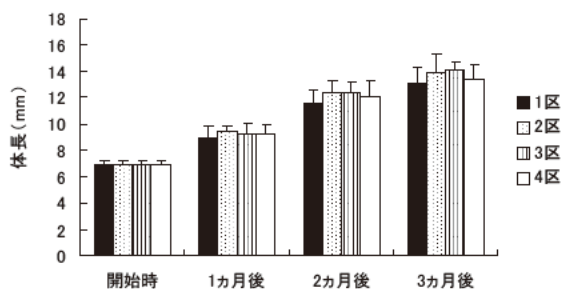


図3 イガイ生殖腺投与量実験における各実験区の幼生の体長の推移

ATP量の調査では、イガイ生殖腺の投与量が多いほどATP量が多くなる傾向が認められた(図4)。しかし、各実験区のATP量の値には測定日によってかなりのばらつきが認められ、また同一日の同じ水槽内でも場所によるばらつきが大きかった。細菌数では、イガイ生殖腺の投与量が最も少なかった1区で少ない傾向が見られたが、1区以外の3実験区では差が認められなかった(表5)。

今回設定したイガイ生殖腺投与量では生残率に影響が見られなかったが、幼生の成長から判断すると、体長7~12mm程度までの適投与量は幼生1個体につき1粒、それ以上の幼生では2粒と考えられた。また、イガイ生殖腺を多く投与すると水槽底面の汚れの程度が増す

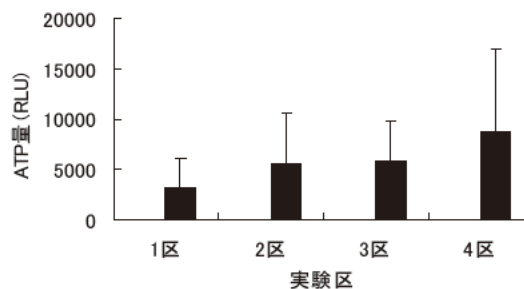


図4 イガイ生殖腺投与量実験における各実験区の水槽底面のATP量

表5 イガイ生殖腺投与量実験での各実験区水槽の細菌数

	細菌数(CFU/cm ²)	
	10月17日	11月14日
1区	2.0×10 ²	1.6×10 ²
2区	1.3×10 ³	2.4×10 ⁴
3区	1.4×10 ⁴	1.2×10 ³
4区	3.1×10 ³	2.8×10 ⁴

と考えられるが、今回の程度の汚れでは幼生の生残に悪影響を及ぼさないと考えられた。

5) 飼育水槽の汚れ程度の評価手法

方法

飼育水槽の汚れの程度を評価する手法を開発することを目的に、水槽底面のATP量、細菌数を調査するとともに、水槽の汚れに直接影響を受けると考えられる幼生の脱皮殻の細菌数についても調査した。幼生の飼育は、平均体長16.6mmのイセエビ幼生72個体を、18個体ずつ40ℓ水槽4水槽に分けて収容し、約2ヶ月間行った。4水槽のうち2水槽については、水槽交換を1週間に2回(1区)、2水槽については水槽交換を1週間に1回(2区)行い、水槽交換時にそれぞれの水槽の底面におけるATP量と細菌数を調査した。実験期間中の調査回数は3回であった。また、いずれの実験区とも1週間に1度、アンピシリン、またはクロラムフェニコールで薬浴を行った(10mg/ℓ)。薬浴時間は11時から18時とした。脱皮殻の調査は、薬浴の前日と薬浴の当日に行い、1、2区とも2つの水槽から得られたデータを合わせて解析した。実験期間中の飼育水温は24℃、餌料としてアルテミアとイガイ生殖腺を併用した。飼育水槽底面のATP量と細菌数の調査方法は前項と同じとした。

結果と考察

実験期間中は、脱皮直後に共食いされる幼生が多く見られ、実験終了時の生残率は1区で55.6%、72.2%、2区で2水槽とも66.7%と、ともに低かった。

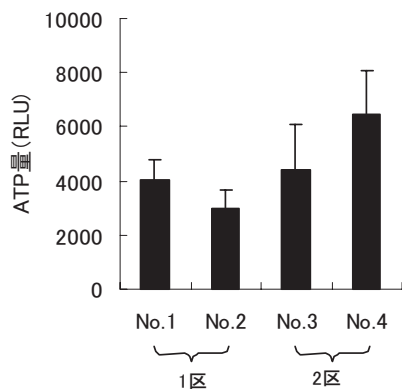


図5 水槽底面の ATP 量

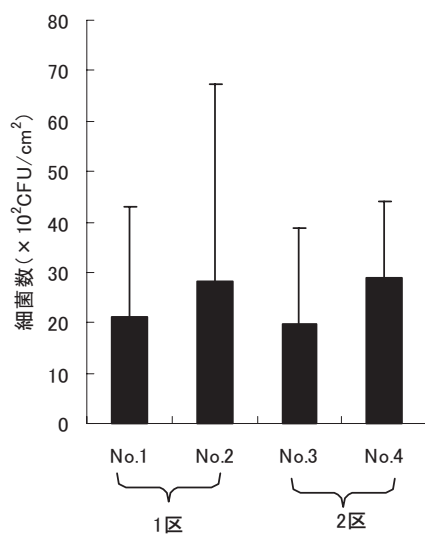


図6 水槽底面の細菌数

各実験区における水槽底面の ATP 量は、1区で若干少ない傾向が認められたが、前項での測定と同様に測定回時毎のばらつきが大きかった (図5)。水槽底面の細

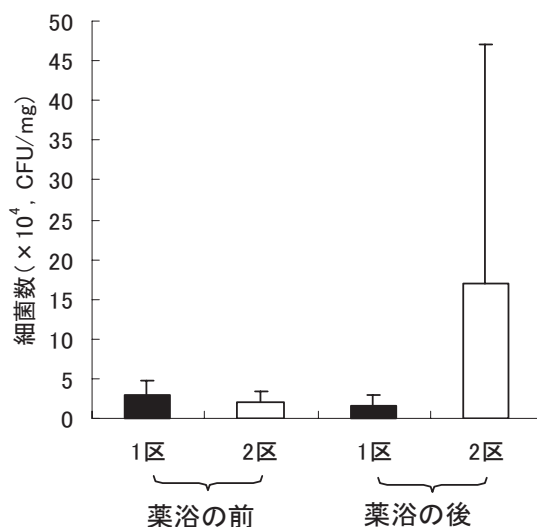


図7 イセエビ幼生の脱皮殻の細菌数

菌数では、1区と2区の間で一定の傾向が見られなかった (図6)。脱皮殻の細菌数は、薬浴前の調査では1区と2区で差がなかったが、薬浴後の調査では2区で細菌数が多い脱皮殻が少数見られたので、平均値も大きくなった (図7)。

以上のことから、水槽底面の ATP 量、細菌数、脱皮殻の細菌数とも調査値にばらつきが大きいことが明らかとなった。したがって、これらの値を用いての水槽底面の汚れ程度を評価することは困難であると考えられた。また、1週間に水槽交換を行う頻度が1回と2回の比較では、ATP 量で若干差が見られたほかは顕著な差がなく、また両区の生残率にも差がなかったので、水槽交換頻度は1週間に1回程度でもよいと判断できる。