三重大水産研報
第11号：75－93
1984年10月1日

海産橈脚類，*Acartia clausi* GIESBRECHT の飼育－II
高密度飼育に関する基礎実験

岩崎英雄・遠藤晃平・石井　潤・西原貞夫
三重大学水産学部

Cultivation of Marine Copepod, *Acartia clausi* GIESBRECHT－II
Fundamental Experiments on Mass Culture

Hideo IWASAKI, Kohei ENDO Jun ISHII, and Sadao NISHIHARA
Faculty of Fisheries, Mie University

Attempts have been made at mass cultivation of zooplankton to be used as food for fish larvae in their early stage. The present paper deals with fundamental experiments for densely populated culture of *Acartia clausi*. In a field survey, one population preferring a high temperature of 21－25℃ and low salinity of 10－20‰ S was found. In the present paper this is referred to as "summer form".

A high production of eggs per unit volume was attained in a high density culture (one adult per ml). Coexistence of the male had no marked effect on the egg-laying during a ten day culture. The eggs stored at 0℃, in darkened seawater (28.5‰ S) showed higher survival, and a hatching rate of about 80% even after 20 days. The nauplii of summer-form in high density (5,000/l) fed on *Isochrysis galbana* and *Monochrysis lutheri* grew with small loss until the latter stage of copepodite. They were maintained at that stage in a density of 3,200/l. A favorable concentration of food algae for survival was about 5×10^5 cells/ml until the early stage of copepodite, and after that about 10×10^5 cells/ml with combination of *Isochrysis* and *Monochrysis* in equal density.

Dinoflagellate, *Prorocentrum minimum* was also excellent food for the animals, though the filtrate of medium which they grew densely showed toxicity for the animals. The egg production and growth rate were increased remarkably by the addition of *P. minimum* to the basic food algae.

During the culture period, among the chemical factors in the cultural seawater a change was notable in the ammonia concentration. It increased to about 40μg-at./l in the seawater which contained about 1×10^6 cells/ml each of *Isochrysis* and *Monochrysis*. The nauplii could tolerate a fairly high ammonia concentration (ca. 3 mg-at./l), however, this tolerance decreased as they grew. For the adult, the lethal concentration was about 1 mg-at./l. On the other hand, the oxygen consumption averaged 0.081 μl-O_2/hr/animal (2.94 μl-O_2/day/animal). These results suggest that a deficiency of dissolved

oxygen during the dark period greatly deterred the growth of *A.clausi* in a cultural condition of high density of animal and food algae.

Key Words : marine copepods, cultivation of marine organisms, food organisms, physiological ecology of *Acartia*

本研究は、海産魚類幼稚仔の餌料を確保するため、橈脚類プランクトンの大量増殖技術の開発を指向する研究の一環として行われたものである。前報（岩崎ら1977）では、*Acartia clausi* の効率的な増殖をはかるため、主として成熟と産卵に影響する諸要因について、栄養条件を中心に実験、検討を行った。橈脚類の産卵生態については、すでに多くの研究者によって研究報告されているが、短期間の飼育は別として、長期間の継代飼育は現在でも困難であり、現在の知見をもってはその高密度飼育は到底望み得ない。

本研究では、*A.clausi* の大量培養を目的として、それに関する基礎的な諸問題、すなわち、採卵、卵の保存およびふ化条件、幼生の飼育条件、ならびに飼育時の水質変化などについて実験、検討が加えられた。実験はまだ完了していないが、現在までに得られた知見を取りまとめて以下に報告する。

実験材料および方法

本研究では、ネットで採集した成体および実験室内で飼育して得られた卵、ふ化幼生、成体を実験材料として使用した。飼育には、伊勢湾の津市沖の海水（３ヵ月以上貯蔵）を70℃に加熱後、脱脂綿でろ過したものを基本液として用いた。海水の希釈には、活性炭およびイオン交換樹脂で処理後、全ガラス製の蒸溜器で得られた蒸溜水が使用された。

飼育容器には、実験の都合により25×200㎜の試験管、容量約120ml のスチロール製瓶、容量約20ml のねじふた付棒瓶などを適宜使用した。

飼育には水質の悪化を防ぐために生物餌料が使用された。すなわち、黄金色藻 *Monochrysis lutheri* およびハプト藻 *Isochrysis galbana* を等量混合して用い、これを基本餌料とした。

飼育は、照度3,000～5,000lx、１日12時間照明の条件下で、種々の温度および塩分濃度で行われた。実験生物は、２～５日ごとに顕微鏡下で駒込ピペットを用いて新しい飼育海水に移された。餌料藻の密度は血球計数板および罫線スライドを用いて計数し、所定の密度になるよう調整された。

実 験 と 結 果

本研究には、水温が21℃の時期に安濃川河口沖で採集した個体群と20℃以下の時期に津市沖定点で採集した個体群を使用したが、両個体群の間には生理、生態的に明瞭な差違が認められた。それ故、前者を暖期出現個体群、後者を冷期出現個体群として区別して実験を行った。以下にその実験結果について述べる。

Ⅰ．産卵、成長に関する実験

本種の産卵、ふ化、成長に好適な水温、塩分濃度条件について知るために実験が行われた。

冷期出現個体群

１．産卵と温度　温度条件は15、20、25℃の３段階に設定された。飼育海水15mlを含む10×150㎜の試験管に、1982年６月に津市沖の定点で採集された個体を各区３本ずつにそれぞれ雌雄各

2個体を収容して飼育実験を行った。餌料として *M. lutheri* と *I. galbana* をそれぞれ約 25×10^4 細胞/mlになるように与えた。

各温度条件下における *A. clausi* 雌1個体あたりの累積産卵数および1個体1日あたりの平均産

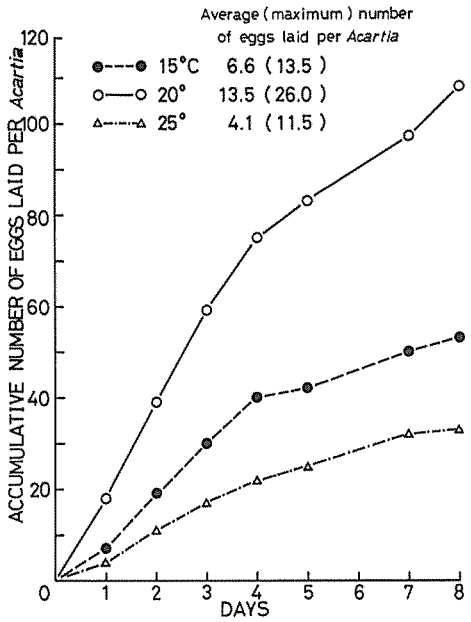

Fig. 1. Accumulative production of eggs by a female *Acartia clausi* (without male) under different temperature at 25.0‰ S with 3,000lx. Food algae: *Monochrysis lutheri* + *Isochrysis galbana*, each 25×10^4 cells/ml.

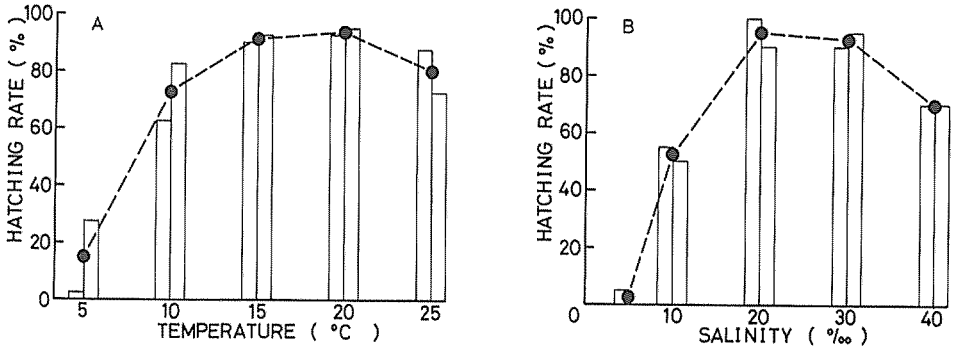

Fig. 2. Relation between hatching rate of the eggs of *A. clausi* and temperature (A), salinity (B) after incubation 48 hours. A : at 31‰ S with 3,000lx, B : at 15℃ with 3,000lx.

卵数を Fig. 1 に示す。15℃に比べて20℃では約2倍程度の産卵数がみられたが、25℃ではむしろ減少しており、効率よく採卵するためには20℃付近が適当と考えられる。

2．ふ化と水温、塩分濃度 15℃、28.5‰S の条件下で産出された卵を各温度および塩分濃度条件下に保存した場合、2日後のふ化率を Fig. 2 に示す。本実験では、飼育海水5 ml を満たしたねじふた付棒瓶（各試験区2本）に卵を20個ずつ収容した。温度条件は、塩分31‰Sにおいて、5、10、15、20および25℃の5段階が設定され、塩分濃度条件は、15℃において、5、10、20、30および40‰ S の5段階に設定された。

Fig. 2 から、卵のふ化には15℃から20℃付近が好適と考えられるが、10℃付近および25℃付近においても80%程度のふ化がみられ、ふ化は比較的広い温度範囲で可能であることがわかる。ふ化に好適な塩分濃度は20～30 ‰ S 付近と考えられる（Fig. 3 参照）。

3．成長と温度、塩分濃度 飼育海水15ml を含むねじふた付棒瓶に、15℃、28.5‰S で産出された卵を各10個収容し、5、10、15、20および25℃の5段階の温度発件下での成長を発生段階ごとに観察した。塩分濃度は28.5‰S とし、餌料として *M. lutheri* と *I. galbana* をそれぞれ40×10^4細胞/ml になるように与えた。計数ごとに換水と給餌を行った。

Table 1. Effect of temperature upon the growth of *Acartia clausi*

Temperature	Growth stages	Incubation days												
		0	4	7	10	14	17	21	24	29	33	36	39	43
5°C	Egg	10	10	5	1	1	1	1	1	1				
	Nauplius			5	8	8	7	7	7	6	6	6	6	6
	Copepodite													
	Adult													
10°C	Egg	10												
	Nauplius		10	7	6	6	2	2						
	Copepodite						4	4	6	5	4	1		
	Adult										1	3	4	4
15°C	Egg	10									13	36		
	Nauplius		10	7	6	6	1							
	Copepodite						3	4	1					
	Adult								3	4	4	4		
20°C	Egg	10					15	33	38	56				
	Nauplius		10	8	6									
	Copepodite				2	2	1							
	Adult					2	3	4	4	3				
25°C	Egg	10	2											
	Nauplius		8	4	2									
	Copepodite				1	2	2	2	2					
	Adult													

結果は Table 1 に示されるように、20℃で最も早く産卵がみられ、温度の低下とともに成長速度は遅くなる傾向がみられる。25℃では初期の生残率が低いため、大量培養の観点からは20℃付近が適当といえる。しかし、飼育は5～25℃の温度範囲でも可能であることがわかる。

塩分濃度に関する実験では、20℃の条件下において、15、20、25、30、34‰S の5段階の塩分濃度での卵の生残が観察された。すなわち、各塩分濃度の飼育水10ml を含む棒状瓶に15℃、28.5‰S で産出された卵を各20個収容し、経時的に生残を観察した。餌料には前記の基本餌料藻を各約50×10^4細胞/ml の密度に与えた。各塩分濃度条件下における生残比を Fig. 3 に示す。

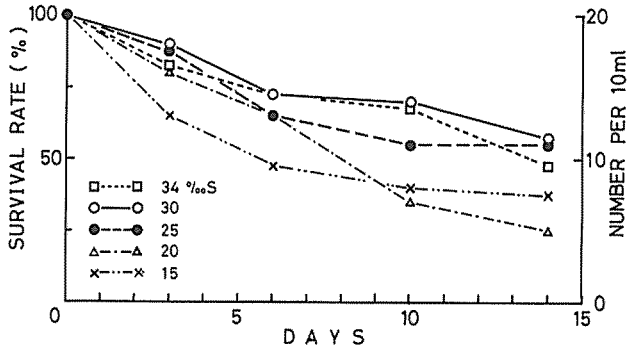

Fig. 3. Hatching of the eggs and survival of the hatched larvae of *A.clausi* in different salinity at 20℃ with 3,000lx. Food algae; *M. lutheri* +*I.galbana*, each 50×10⁴ cells/ml.

結果はあまり明瞭ではないが、15‰Sの低塩分濃度ではふ化率および初期の生残が低く、25～34 ‰Sの塩分が成長に好適と考えられる。

暖期出現個体群

1．採集個体群の環境変化に対する耐性　この実験では、塩分20‰Sの下で、温度条件として5、10、15、20、25℃の5段階、また水温20℃の下で、塩分濃度条件として 2.5、5、10、20、30、40‰Sの6段階を設定し、各条件下における天然採集個体群の生残について観察した。なお、採集時の水温は22℃、塩分濃度は21.5‰S であった。温度条件区では、飼育海水20ml を含む25×200㎜の試験管各5本ずつ用意し、これに成体の雌雄各1個体を収容し、24時間後に生残および産卵数を計数した。一方、塩分条件区では飼育海水 100mlを含む瓶に成体の雌雄各10個体を収容し、48時間後に生残個体数を計数した。本実験では基本餌料藻を各約25×10⁴ 細胞/mlの密度に与えた。実験結果を Fig. 4 に示す。

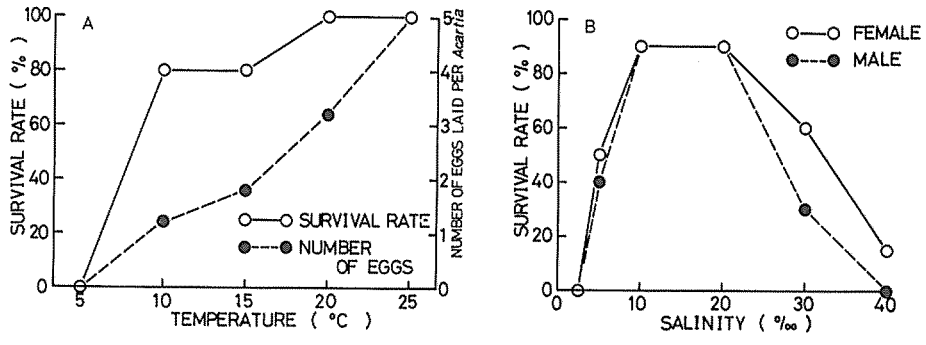

Fig. 4. Survival (%) of the adult of *A.clausi* (summer form) collected from nature at different temperature (A) and salinity (B). A : at 20‰S (after 24hours), B : at 25℃ (after 48 hours). Food algae: *M. lutheri* + *I.galbana*, each 25×10⁴ cells/ml.

本個体群は温度に対する耐性が比較的強いようで、とくに高水温に対して適応力をもつことが示された。また、塩分に対する耐性限界も比較的広いが、生活に最適の塩分濃度は10～20‰Sであることがわかる。

2．ふ化と温度、塩分濃度　本実験では、実験室内で25℃、20‰Sの条件下で産出された卵が使用された。飼育海水10mlを含む棒状瓶を各試験区2本ずつ（温度条件区）、または3本ずつ（塩分濃度条件区）用意し、これに卵を各20個収容した。温度条件は5、10、15、20、25℃（塩分濃度25‰S）の5段階、塩分濃度条件は、0、5、10、15、20、25、30、35、40‰S（温度25℃）の9段階が設定された。これらの条件下で48時間保存後のふ化率をFig. 5に示す。

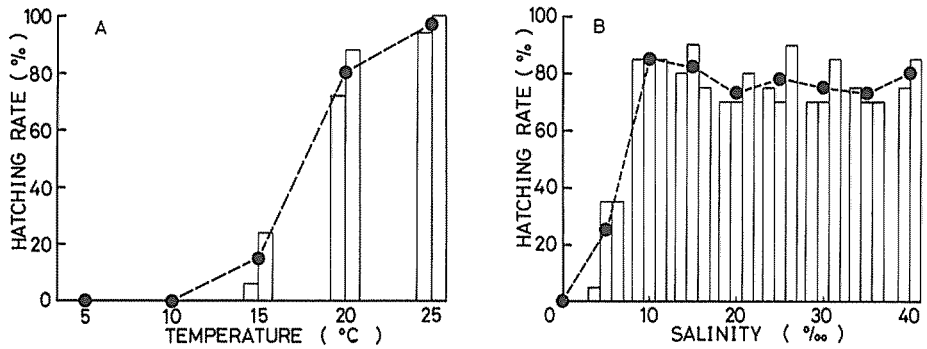

Fig. 5. Hatching rate of the eggs of *A. clausi* (summer form) after 2 days incubation under different temperature (A) and salinity (B). A : at 25.0‰ S with 3,000lx, B : at 25℃ with 3,000lx.

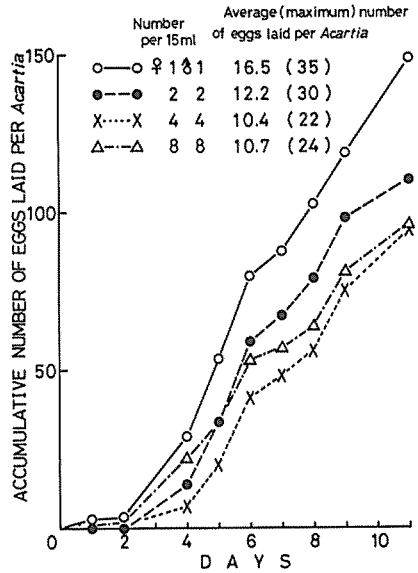

Fig. 6. Effect of the adult density of *A. clausi* on the egg production under 20℃, 25‰ S, 3,000lx. Food algae; *M. lutheri*+*I. galbana*, each 25×10^4 cells/ml.

図から、卵のふ化には比較的高水温の20～25℃の範囲が好適であることがわかる。一方、塩分濃度では、10～40‰Sの広い範囲で80%程度のふ化率を示した。

II．採卵および卵の保存に関する実験

採　卵

1．収容密度　採卵に際しては、生物の収容密度による影響も考えられたので、ここでは、成体の収容密度を飼育海水約15mlあたり雌雄各1、2、4、および8個体の4段階について産卵状態を観察した。餌料は、前と同様に基本餌料藻を各約 25×10^4 細胞/mlの密度に与えた。飼育は25×200㎜の試験管で、20℃、25‰Sの条件下で行われた。各収容密度における雌1個体あたりの累積産卵数と1個体1日あたりの平均産卵数をFig. 6に示す。

このように収容密度の増加とともに1個体あたりの産卵数は減少する傾向がみられた。しかし、実用的な立場からは、1個体あたりの産卵数よりも飼育水量あたりの採卵数が問題となるので、単位飼育水量あたりの産卵数に換算して示すとTable 2のようになる。このように、実験を行った密度の範囲内では、収容密度の増加とともに単位飼育水量あたりの産卵数は増加している。1日1lあたりの産卵数に換算すると、雌雄各 500個体/l 程度の収容密度で約5,700個の卵が産出されたことになる。したがって、実験の範囲内では採卵には高密度ほど有利であるといえる。

Table 2. Relation between number of adults per unit volume and egg production in *A. clausi*

Number of animals per 15 ml	Cumulatave number of eggs produced per 15 ml/10 days	Egg production/l/day (calculated number)
♀ 1 + ♂ 1 (67)*	165	1,100
♀ 2 + ♂ 2 (133)	244	1,627
♀ 4 + ♂ 4 (267)	416	2,733
♀ 8 + ♂ 8 (533)	856	5,707

*Numerals show number of femals calculated per one liter.

2．雄の存在の影響　雌の産卵に対しては雄の存在も影響があると考えられたので、それを確認するための実験を行った。飼育海水15mlを満たした25×200㎜の試験管各3本ごとに、雌雄各1個体、雌のみ2個体、および雌のみ1個体を収容した3つの実験区を設定して、おのおのの産卵数を調べた。飼育条件は前の実験と全く同様である。各実験区における雌1個体あたりの平均累積産卵数をFig. 7に示す。

図のように飼育8日間には顕著な差違は認められなかったが、9日後以降では、雌1個体のみの実験区では生存していたにもかかわらず産卵が停止した。雌のみ2個体の実験区では、雌雄各1個体の場合とほぼ同様の傾向がみられたので、雄が存在しないことによるものではないよう

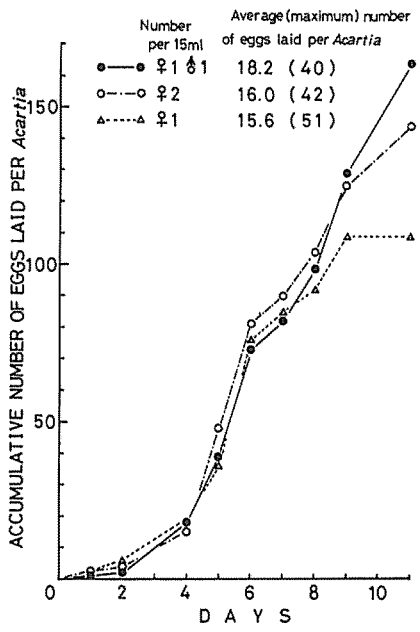

Fig. 7. Accumulative production of the eggs by a female *A. clausi* with and without male under 20℃, 28.5‰S and 3,000 lx. Food algae are the same as in Fig. 6

に考えられた。以上の結果から、10日間程度の期間内では、雌の産卵にとって雄の存在はとくに影響はないものと考えられる。

卵の保存

1．卵の保存可能期間　卵の保存は大量培養を考える際に極めて重要な問題である。しかし、これに関する知見が乏しいので、保存の可能性について検討するため実験を行った。実験では、0℃、28.5‰S、暗条件下で飼育海水約50mlを含む棒状瓶に保存された卵について、経時的にふ化率の変化を調べた。すなわち、保存卵を20個ずつ取り出し、20℃、28.5‰S、約3,000lx、1日

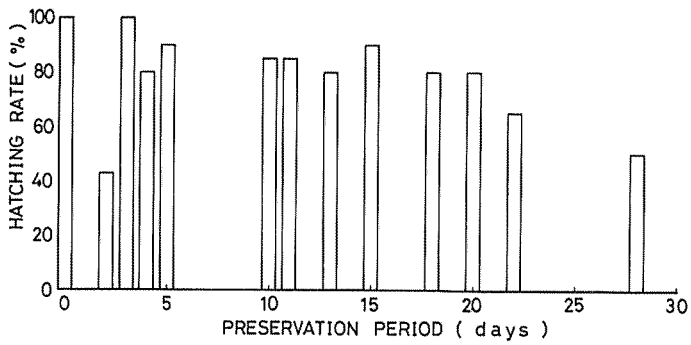

Fig. 8. Hatching rate of the eggs of *A. clausi* stored under the condition of 0℃, 28.5‰0℃, 28.5‰S and dark.

12時間照明下で発生させ、3日後にふ化幼生数を計数した。保存日数とふ化率との関係をFig. 8に示す。

上記の条件下では20日間保存した後でも80%近くのふ化率がみられたが、それ以降はふ化率は徐々に低下した。保存卵のふ化率は、本実験では卵として残っている個体のみを取り出して測定したが、保存中にふ化する個体もみられたので、初期の収容卵数に対して一定期間保存後に得られる総ふ化幼生数はこれらの値よりも若干少なくなるものと思われる。

III. ふ化幼生の高密度飼育に関する実験

冷期出現個体群

1. 投餌密度と成長　餌料として*M. lutheri*と*I. galbaba*（ほぼ等密度）を用い、その密度を変えて*A. clausi*を飼育した場合の生残をFig. 9に示す。飼育海水10mlを含む棒状瓶に卵を10個ずつ収容して開始した実験（Fig. 9. A）では、餌料密度10×10^4、50×10^4、100×10^4細胞/mlの3段階に設定された。同様に、餌料密度100×10^4細胞/mlで飼育し、ふ化後8日目のコペポダイトを10個体ずつ収容して開始した実験（Fig. 9. B）では、餌料密度は50×10^4、100×10^4、200×10^4細胞/mlの3段階に設定された。飼育は、20℃、28.5‰Sで行われた。

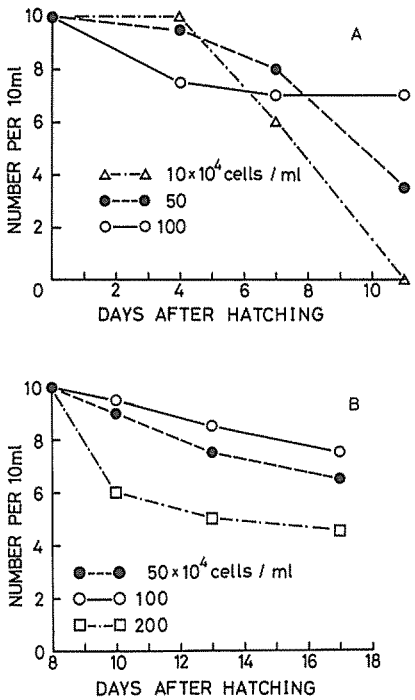

Fig. 9. Survival of the larvae of *A. clausi* fed at various concentration of mixture of *Monochrysis* and *Isochrysis* in equal density under 20℃, 28.5‰S and 3,000 lx. A : started from egg, B : from hatched nauplius after 8 days.

Fig. 9. Aから、ふ化後5日目ころまでは50×10^4細胞/ml程度の餌料密度が適当と考えられるが、それ以降では100×10^4細胞/ml程度が適当と考えられる。しかし、Fig. 9. Bによると、200×10^4細胞/mlでは生残が悪く、500×10^4細胞/mlと100×10^4細胞/mlではほとんど差が認められなかった。こ

れらの結果から、ふ化後5日目ころになると摂食量が増大することが推測される。

2．収容密度と成長　　*A. clausi*（冷期出現個体）の収容密度の限界について知るために本実験が行われた。実験では、飼育海水10mlを含む棒状瓶に、ふ化後3日目のノープリウスを各5、10、20、50個体の4段階の密度に収容して生残が調べられた。飼育条件は、20℃、28.5‰Sで、餌料として基本餌料藻をそれぞれ約50×10^4細胞/mlの密度に与えられた。

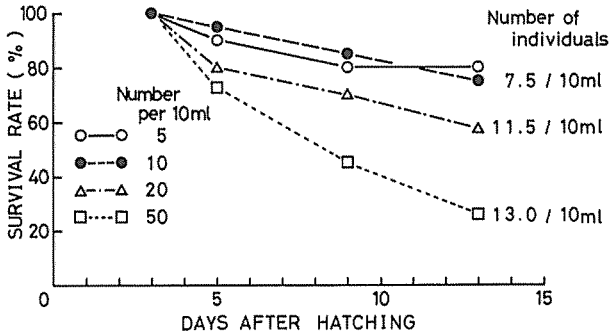

Fig. 10. Survival of the nauplius of *A. clausi* at various population densities under 20℃, 28.5‰ S and 3,000 lx. Food algae; *I. galbana*+*M. lutheri*, each 50×10^4 cells/ml.

実験結果（Fig. 10）は、収容密度が高いほど死亡率が高まることを示したが、ふ化後13日目における生残個体数は飼育海水10mlあたりいずれもほぼ10個体に収束した。Fig. 4に示した前の実験においても、ふ化後14日目の生残個体数は飼育海水10mlあたりおおむね10個体前後に収束した。これらの2つの実験結果から、本実験における飼育方法では*A. clausi*（冷期出現個体群）は飼育海水10mlあたり10個体程度が上限と考えられた。

暖期出現個体群

1．幼生の高密度飼育　　以上の諸実験では水質悪化の影響を防ぐ目的で、2～5日ごとに換

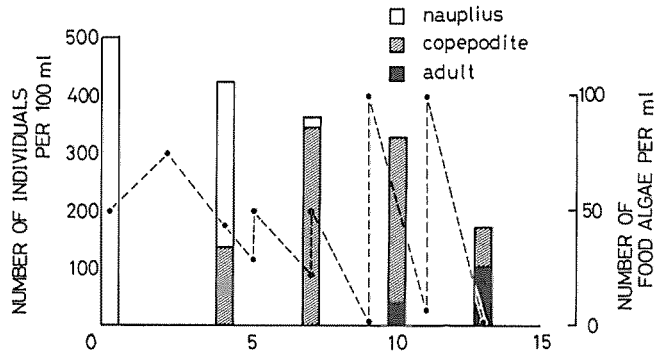

Fig. 11. Variation of a population of *A. clausi* fed on high density of food algae. Food algae; *I. galbana* + *M. lutheri* in equal density. Algal density are shown in the numder of each species.

水を行ってきたが、ここでは換水による影響も考慮して無換水で幼生の高密度飼育を試みた。すなわち、飼育海水約50mlを含む棒状瓶にふ化後1～3日目のノープリウスを250個体ずつ（5,000個体/l）収容して、餌料密度を9日目まで合計約50×10^4細胞/ml、それ以降約100×10^4細胞/mlになるよう給餌して観察を行った。本実験でも基本餌料藻はほぼ等量ずつ与えられ、2日ごとに所定の密度になるよう調整された。飼育条件は、25℃、17‰Sで行われた。暖期出現個体群の発生段階ごとの生残個体数と餌料の残餌密度をFig. 11に示す。

本実験では給餌密度の違いによる差はみられず、いずれもコペポダイト後期において3,200個体/l以上という高密度で生残した。しかしながら、それ以降、生残個体数は急激に減少した。この原因についてはまだ不明であるが、水質の悪化または栄養の不足（適切な餌料生物の欠除）などが考えられた。

Ⅳ. *Prorocentrum minimum* の餌料効果

動物プランクトンの成長、成熟、産卵数等は、温度にもよるが、主に栄養条件によって決定される。飼育生物の栄養摂取をたすけるには餌料藻の密度を高めることも一方法ではあるが、これは同時に藻の代謝活動によって水質に大きな影響をもたらす。これがさらに栄養価値の高い餌料藻の探索が望まれる理由である。

1975年6月、伊勢湾の津市沿岸に *Prorocentrum minimum* の赤潮が発生し、その消滅とともに *A. clausi* の大繁殖が観察された。実験の結果、*P. minimum* は *A. clausi* のみならず他のカラヌス類によって多量に摂食されることが見いだされている（小島、未発表）。この知見に基づいて、本研究では *P. minimum* の餌料効果に関する実験が行われた。

1．産卵に対する効果　この実験には *A. clausi*（冷期出現個体群）が使用された。飼育海水（28.5‰S）約40mlを含むガラス製蒸発皿（各実験区2個ずつ）に雌5個体を収容し、これに(1)基本餌料藻（*M. lutheri*+*I. galbana*）各25×10^4細胞/ml、(2) *P. minimum* 10^4細胞/ml、(3)基本餌料

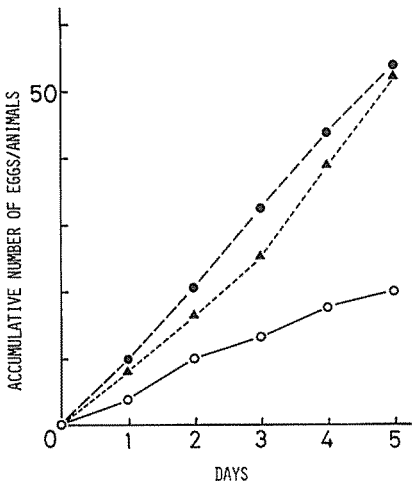

Fig. 12. Accumulative production of eggs by a female of *A. clausi* fed with different food algae. ○—○ *I. galbana*+*M. lutheri* (each 25×10^4cells/ml), ▲—▲ *Prorocentrum minimum* (1×10^4cells /ml), ●—● *I. galbana*+*M. lutheri* (eanh 10×10^4cells/ml)+*P. minimum* (5,000 cells/ml).

藻各10×10⁴細胞/ml＋*P. minimum* 5,000細胞/mlになるように与えて飼育し、おのおのについて産卵数の観察を行った。飼育は20℃で行われ、毎日定時にピペットで産出卵を吸収して産卵数を計数した。各実験区における1個体1日あたりの平均累積産卵数をFig. 12に示す。

図から明らかなように、餌料として基本餌料藻に*P. minimum*を加えた場合に産卵数は最も多く、*P. minimum*単独の場合でも産卵数は基本餌料藻を用いた場合を上回った。したがって、*P. minimum*は*Acartia*の餌料として栄養価値がかなり高いものと考えられる。

2．成長に対する効果　本実験は材料の都合で*A. clausi*の暖期出現個体群について行われた。予備実験により*P. minimum*の培養液が本種のノープリウスにとって有害であることが示唆されたので、実験には遠心分離した藻体が使用された。飼育海水（17‰S）20mlを含む棒状瓶（各区2～3本）にノープリウス20個体を収容して25℃の暗条件で飼育を行い、発生段階ごとに個体数の計数を行った。餌料は、(1)基本餌料藻各15×10⁴細胞/ml、(2)*P. minimum*、10⁴細胞/ml、(3)基本餌料藻各10×10⁴細胞/ml＋*P. minimum* 5,000細胞/ml、の3区分で与えられた。*P. minimum*の藻体のみを与えた場合の各実験区における個体数の変動をFig. 13に示す。

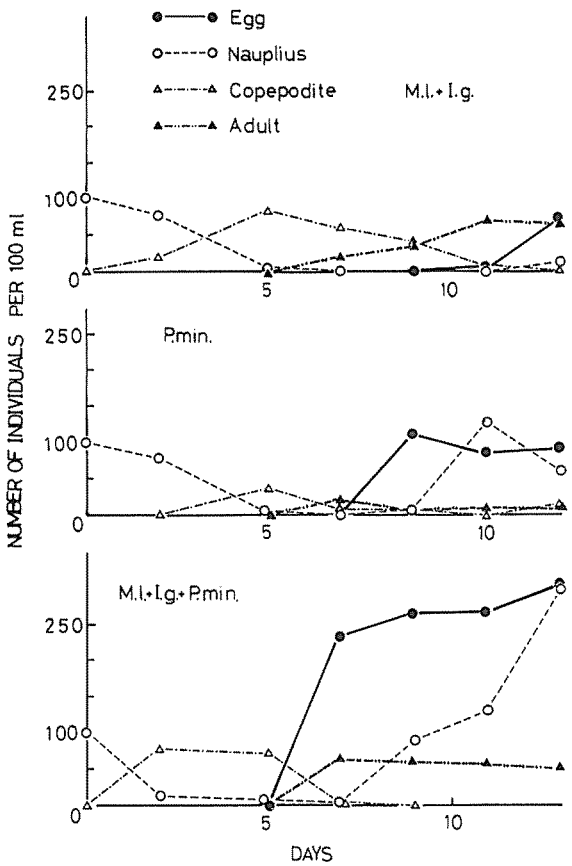

Fig. 13. Growth of a population of *A. clausi* fed on different food algae. Food algae are the same as in Fig. 15.

本実験でも産卵に関する実験と同様に、餌料として基本餌料藻＋*P. minimum* を与えた実験区では成長、成熟が最も早く、増殖量も最高を示した。*P. minimum* のみを与えた実験区でも産卵数とノープリウスの数は基本餌料藻だけの実験区に比べると多かったが、コペポダイトおよび成体の出現数は少かった。この結果は、*P. minimum* は大きさの面で *Acartia* 幼生の餌料としては適切でないことを示唆している。

3．*P. minimum* の培養液の毒性　前述のように、予備実験によって *P. minimum* の培養液が

Table 3. Toxicity of filtrate of the medium grown *Prorocentrum minimum* to *A. clausi*

Addition rate of the filtrate to culture medium of *Acartia* (% in volume)	Survival rate			
	0	3	6	9 days
0	100	100	90	80
10	100	82.5	2.5	0
20, 30, 40, 50	100	0	0	0

A. clausi に対して毒性を示すことが示唆されたので、その毒性に関する実験が行われた。本実験には暖期出現個体群のノープリウスが使用された。飼育海水（17‰S）20mlを含む棒状瓶（各実験区2本）にノープリウス20個体を収容し、基本餌料藻各20×10^4細胞/mlとともに *P. minimum* 培養液が10、20、30、40、50%（容量）になるように加えられた。飼育は25℃の暗条件下で行われ、2～3日ごとに生残個体数について観察が行われた。その結果は表3にみられるように、無添加のものでは80%程度生残したが、培養ろ液を飼育水量の10%量加えた場合には6日後に、また20%およびそれ以上の量加えた場合には3日後には生物のほとんどすべてが死滅した。

この結果は、*P. minimum* は増殖の過程で *Acartia* の生育に有毒な物質を生成して細胞外に分泌することを示唆するとともに、将来動物プランクトンの餌料として *P. minimum* を使用する際には留意すべきことと思われる。

V．飼育海水の水質変化

A. clausi の飼育における水質の影響を調べるため、暖期出現個体群を飼育してその水質変化を経日的に測定するとともに、それぞれの水質因子に対する生物の耐性について実験、観察を行った。

1．飼育時における海水の NH_3－N, pH 溶存酸素ならびに生残率の変動　飼育海水(17‰S)約 120mlを含む棒状瓶8本に *A. clausi*（暖期出現個体群）の成体を40個体ずつ収容し、毎日2本ずつ取り出して生残率、NH_3－N 濃度、溶存酸素量（DO）、pH を測定した。飼育温度は25℃で、換水は行わなかった。餌料は実験の開始時にのみ *M. lutheri* と *I. galbana* をそれぞれ約10×10^4細胞/mlの密度に与えられた。溶存酸素は、取水口にネットをはったビニール管で飼育海水を酸素瓶に移したのち、ウインクラー法によって測定した。残りの飼育海水をペトリ皿に移し顕微鏡下で生残数を計数後、ガラス電極pHメーターによってpHを測定した。その飼育海水をグラスフ

ァイバーろ紙（Whatman GF/C）でろ過後、蒸留水で10倍に希釈し、インドフェノール法によってNH_3−Nの濃度を測定した。実験の結果をFig.14に示す。

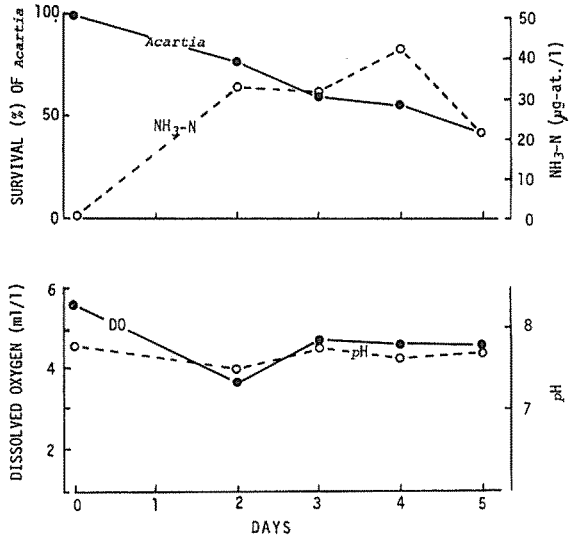

Fig. 14. Survival of *Acartia* adults and variation of NH_3-N, dissolved oxygen, pH of the culture medium.

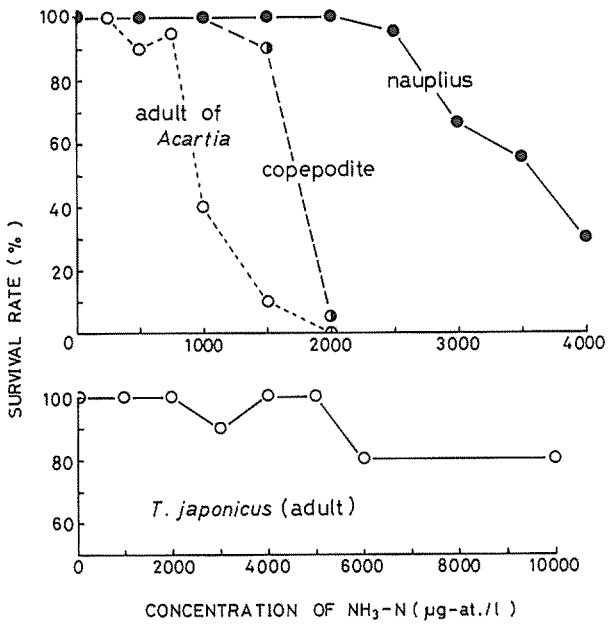

Fig. 15. Tolerance of *Acartia clausi* and *Tigriopus japonicus* to the concentration of ammonia.

測定した水質因子ではNH_3−N 以外に顕著な変動はみられなかった。NH_3−N は飼育開始2日目に増加して30μg-at/lに達したが、その後大きな変動はみられなかった。*A. clausi* の個体数は漸減の傾向を示した。

2．NH_3−N に対する耐性　本実験では、所定濃度のNH_3−N を含む海水（17‰S）を準備し、各海水10mlを含む棒状瓶に*A. clausi*（暖期出現個体群）のノープリウス、コペポダイト、成体および*Tigriopus japonicus*の成体各10個を収容し、25℃で24時間飼育後、生残個体数が計数された。この間餌料は与えられなかった。実験の結果をFig.15に示す。

*Acartia*では、ノープリウス期のものがNH_3−N に対して最も耐性が強く、約2.5mg-at/l でもほとんど影響はみられなかった。成長するにつれて耐性が減じ、成体では 800μg-at/l 以上では死亡個体数が急増した。一方、*T. japonicus* はNH_3−N に対して最も強い耐性を示し、10mg-at/l の濃度でも約80%程度の生残率を示した。

以上の結果から、*Acartia* 飼育中におけるNH_3−N の増加は生物餌料（藻）を用いる場合、よほどの長期間でない限り、*Acartia*に対して特に大きな影響はないものと考えられる。

3．pHの影響　飼育海水を弱HCl 液と弱NaOH溶液を用いてpH 6、7、8、9、10に調整し、各pHの飼育海水に生物を収容して、24時間後に生残個体数を調べた。試験されたpH 範囲では、24時間中に*Acartia* のノープリウス、コペポダイト、成体および*T. japonicus* の成体とも生残に全く影響はみられなかった。

4．酸素消費量　飼育海水（17‰S）を満たした酸素瓶中にそれぞれ*A. clausi*（暖期出理個体群）と*T. japonicus*を約50個体ずつ収容し、25℃で6時間保存後に溶存酸素量をウインクラー法によって測定した。一方、対照実験瓶中の溶存酸素量を求め、両者の差から生物の酸素消費量を算出した。測定の結果によると、*A. clausi* の酸素消費量は1個体あたり平均0.0807μl-O_2/hr（1.94 μl-O_2/day），*T. japonicus*では平均0.0139μl-O_2/hr（0.334μl-O_2/day）の値を示した。

飼育水中では夜間（暗条件時）に、餌料藻の呼吸による酸素消費によって溶存酸素量がかなり減少することが考えられる。そこで餌料藻だけを加えた場合の飼育海水中の溶存酸素量の経時変化について測定を行った。すなわち、本研究で基本餌料藻として使用している*M. lutheri* と*I. galbana*

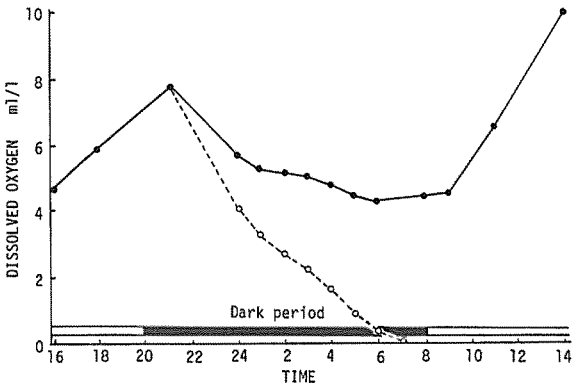

Fig. 16. Variation of dissolved oxygen in culture seawater containing food algae 25×10^4 cells/ml each of *I. galbana* and *M. lutheri*. Broken line shows calculated value when the adults of *A. clausi* were reared in 5,000 individuals/l.

をそれぞれ約25×10⁴ 細胞/ml の密度に含む飼育海水(17‰S)を26本の酸素瓶に分注し、25℃、4,800 lx (12明：12暗) の条件に保ち、適宜2本ずつ取り出して溶存酸素量を測定した。なお、この期間酸素瓶のふたは開放状態とした。測定の結果をFig.16に示す。

飼育海水中の酸素量は暗期に入って約1時間後には依然高い値を示したが、以降徐々に減少し、約4ml-O_2/lでほぼ一定となり明期に入った。*Acartia*の高密度飼育(5,000個体/l)の場合を想定し、*Acartia*による呼吸量を実験で得られた値に基づいて加算すると、夜間飼育水中における溶存酸素量はFig.16の破線で示される値となる。この生物密度の条件では明期に入る直前には溶存酸素量は欠乏してほぼ零近くに達する。実際には酸素分圧の差が高くなり空気相からの酸素の溶入量の増加が考えられるので、このままの値を示すとはいえないが、少くとも飼育生物の呼吸に極めて重大な影響を与えるであろうことは想像に難くない。これらの結果から、高密度飼育の際の生残率低下の大きな原因の一つは、夜間における溶存酸素の欠乏にあることが示唆された。

考　　察

*A. clausi*は、水温20～22℃まではプランクトン中にみられるが、それ以上の水温になると耐久卵として夏期を過ごすとされている(KASAHARA *et al.*, 1975, UYE and FLEMINGER 1976)。しかし、安楽(1977)は、*A. clausi*の長期飼育試験などにおいて夏期でも類似の個体群がみられること、また、それらの第5脚の形態が*A. clausi*に相当することから、夏型の存在を指摘している。また、LANDRY(1975 a)は、*A. clausi*の卵の発生時間と水温について、冬季個体群と夏季個体群から産出された卵の間の相関に有意な差がみられると報じている。本研究においても、水温が20℃以上で比較的低かんな時期に採集(伊勢湾、安濃川流域)された個体群と、水温20℃以下で比較的高かんな時期に採集(津市沖定点)された個体群との間には、生理生態的に差違がみられた。すなわち、前者は20℃以上の高水温、10～20‰Sの低塩分を好む(Fig. 5、6、7、8)のに対して、後者では15～20℃、25～34‰Sが好適であった(Fig. 1、2、3、4、Table 1)。したがって、種の取扱いについては検討の余地があると考えられたが、本研究では、便宜上暖期出現個体群、冷期出現個体群として区別し実験を行った。暖期出現個体群については、今後、その生態とくに分布特性に関する研究が望まれる。もし、この個体群を充分量採集できれば周年にわたり屋外飼育も可能になると考えられる。

従来試みられた*A. clausi*の培養では、接種後一時的に個体数が増加するがその後は次第に減少するという例が数多く示されている(福岡県水試1974、野村1979)。これは添加群としてのノープリウスの出現傾向が一時的であり、これが*A. clausi*の増殖を規制するものと推測されている。限られた生活資源に対してそれを利用する生物量が多い場合、当然そこには競合が生ずる。この競合の結果、成体の産卵数または産出卵のふ化率の減少、幼生間相互の影響、幼生と成体の共存による影響などがみられるものと考えられる。松平(1957)は、*Sinocalanus tenellus*の幼生が親と同一容器内で飼育されると、次第にその数が減少する傾向がみられることを報告している。また、小山(未発表)も、*S. tenellus*の親と幼生の共存下では幼生がほとんど成体に達しなかったことを観察している。本研究でも、ノープリウスと成体の共存飼育では悪影響が観察され、高密度培養を計るには、ノープリウスと成体との分離飼育が必要と考えられた。また、本種は比較的広範囲の水温、塩分濃度の下で卵のふ化、成長が可能なので、産出卵を成体から分離、保存して大量に集め、ふ化幼生のみの高密度飼育を計るのが効率的と思われた。

産卵は20℃付近で最も多かった(Fig. 1、岩崎ら 1977)が、各温度条件下における産出卵の成

長、成熟に関する実験は行っていない。今後、研究の余地があると思われる。採卵は雌雄各 500 個体/1 程度の高密度でも可能であり、飼育水量あたりの採卵数からみるとむしろこの程度の収容密度が有利と考えられる。野村（1977）は、同様の実験を15および30 l の円形水槽を用いて行い、300～500 個体/1 が最適としている。このように結果が異るので、効率的な採卵法については、今後さらに検討し、改善する必要があると思われる。

卵の保存は、餌料として与える場合の数量および供給時期の調節に極めて有効な手段となるが、そのためには卵のふ化を抑制する方法について考えなければならない。UYE and FLEMINGER（1976）は、南カリフォルニア産の３種類の*Acartia* の卵は単に泥の存在による物理、化学的作用用（無酸素、暗条件）によってふ化が抑制されるとしている。LANDRY(1975 b）は、シアトル沿岸の*A.clausi* の卵は暗条件下におかれると、それまで進んでいた卵内発生が直ちに停止することを報告している。本研究では０℃の暗条件下に保存した卵にも一部にふ化がみられた。これまでに試みられた保存方法としては、浮遊卵を海水中で３℃で保存したもの（弘田 1976)、室内での産出卵を海水中で０～５℃、暗条件下に保存したもの（野村 1976）などがある。弘田の研究では、採集時期によってふ化率は異るが、６月採集のものでは５ヵ月間の保存でふ化率が67%、野村の実験では４ヵ月保存後のふ化率は40%程度といわれる。弘田（1976）が示すように、採集の時期によって卵の耐久性が異るとすれば、環境条件の制御によってより耐久性に富む卵を産出させることも可能となるかも知れない。

本研究では、飼育水の水質の悪化を避けるため終始生物餌料を使用し、実験規模の都合から止水飼育で適宜換水する方法を採った。しかし、顕徴境下で駒込ピペットを用いて生物を新しい飼育水に移すという方法は、手数ばかりでなく飼育生物にもかなりの悪影響を与えることが示唆された（Fig. 1 、14)。そこで研究の後半において、残餌による水質の悪化に注意しながら無換水でふ化幼生の飼育を試みたところ、好結果が得られ、Fig. 15、16 にみられるようにコペポダイト後期まで高密度で生残した。換水による方法においても、餌料藻の死滅等による水質悪化を軽減するには、給餌の密度、間隔などについてはなお工夫、改善の余地は残されており，それによって換水間隔をかなり延長することも可能と思われる。実用的には、*Acartia* のコペポダイト後期のものを取り上げ、稚仔魚の餌料に用いることを考えれば、無換水でもかなり高密度(約2,000個体/１)の飼育は可能と判断される。しかし、コペポダイトから成体への成長過程での減耗の緩和および継代飼育によって採卵用成体を確保するには、換水もしくは無換水飼育においてはより厳密な水質の制御が必要と考えられる。

Acartia は、アンモニアに対してはかなりの耐性を有することがわかったが、比較的培養が容易な*T. japonicus* に比べると酸素消費量がはるかに多く、暗期における溶存酸素量の低下が高密度飼育の際の大きな障害であることが判明した。通気による酸素補給についても実験を行ったが、通気量の調整が不充分なためか好結果は得られず、今後の研究課題として残された。連続照明もしくは暗期時の弱光照明などによる溶存酸素量の制御も考えられるが、この問題については*Acartia* の成長、成熟に及ぼす影響とも併せて今後検討する必要があると思われた。また、動物プランクトンに対する光の影響に関する知見が乏しいので、この面の研究も必要と考えられ、それによって走光性を利用する効率的な換水法も期待できるかもしれない。

飼育容器の大きさ、すなわち、生活空間の広さについては、相対的な広さ（１個体あたりの空間）としての考えと、絶対的な広さ（運動が可能な空間）としての考えがある。収容密度が同じでも、その移動できる空間が広い場合と狭い場合とでは、生物に対する影響は当然異なるはずで

ある。実験に用いる飼育容器の容量によって生物のろ水率が異なることも指摘されている（大森・池田1976)。本研究では、飼育は実験の都合により100ml以下の飼育水中で行われたが、この観点からはむしろ不適条件であったかも知れない。今後はこれらの知見を基にして、大型の飼育水槽での大量飼育実験が必要と考えられる。

前報で示したように、ハプト藻の*Isochrysis*と黄色鞭毛藻の*Monochrysis*は、*Acartia*の成長、成熟に極めて有効であり、本研究の保存飼育においてもこの餌料藻だけで数世代の飼育が可能であった。しかし、本種は雑食性で、比較的大型の植物プランクトンを選択的に捕食するといわれる（安楽、1974)。このことは、小型の*Isochrysis*および*Monochrysis*が必ずしも最適な餌料藻とはいえないことを示唆する。本研究においても、ノープリウスからコペポダイトへの移行期には十分な餌料が必要であること（Fig.9,11）がわかり、基本餌料のみで飼育した場合、コペポダイト後期以降の生残が著しく低下した(Fig.11)。これらの結果から、*A. clausi*の幼生は、成長とともに要求する餌料が変わることが示唆された。そこで、渦鞭毛藻の *P. minimum* を基本餌料に加えて与えたところ、成長、成熟、産卵ともに促進され、とくにコペポダイトの初期以降に栄養効果が見られた(Fig. 16)。実用的には、餌料藻の種類が少ないことが望ましいので、コペポダイト期以降の*P. minimum*の餌料効果をさらに実験、検討する必要があると思われる。しかし、この実験で*P. minimum*の培養液が*A. clausi*の幼生に対して強い毒性を示すことが観察された。この毒性については、今後、培養液および培養の新旧とも併せ、さらに検討を加える必要があると思われる。

本研究は農林水産業特別試験研究費補助金（昭和56～58年度）によって実施されたものである。本実験に使用した *Monochrysis lutheri* はDROOP博士により、また、*Isochrysis galbana* はMCLAUGHLIN博士によって分離されたもので、HASKINS研究所の PROVASOLI博士から供与を受けた。ここに併せて深く感謝の意を表する。

文　　献

安楽正照，1974．　橈脚類の食性．丸茂隆三編，海洋プランクトン，東京大学出版会，87－100.

_____，1974．　橈脚類の分類学に関するシンポジウム．日本プランクトン学会報，**24**：68－69.

福岡県福岡水産試験場，1974．　沿岸性コペポーダ培養可能性の試験，昭48，指定調査研究総合助成事業，「餌料研究」報告書，1－8.

弘田禮一郎，1976．　天草松島近海における橈脚類の耐久卵に関する研究．昭51，農林水産業特別試験研究費補助金，研究報告書，39－45.

岩崎英雄・加藤　仁・藤山虎也，1977．　海産橈脚類 *Acartia clausi* GIESBRECHT の飼育－Ⅰ．成熟および産卵に影響する諸要因．日本プランクトン学会報，**24**：55－61.

岩崎英雄，1979．　浮遊性コペポーダ，枝角類の培養．餌料用動物プランクトンの大量培養，日本水産資源保護協会，東京，34－57.

KASAHARA, S. S., UYE, and T. ONBE, 1975.　Calanoid copepod eggs in sea-bottom muds. II. Seasonal cycles of abundance in the populations of several species of copepods and their eggs in the Inland Sea of Japan. *Mar. Biol.*, **31**：25－29.

LANDRY, M. R., 1975 a.　Seasonal temperature effects and predicting development rates of marine copepod eggs. *Limnol. Oceanogr.*, **20**：434－440.

_____, 1975 b.　Dark inhibition of egg hatching of the marine copepod *Acartia clausi* GIESBR.. *J. exp. mar. Biol. Ecol.*, **20**：43－49.

松平近義，1957．Copepoda (*Sinocalanus tenellus*) の培養と観察．日本プランクトン研究連絡会報，**5**：1－6.

野村忠編，1978．　*Acartia* 卵の採卵とその利用に関する研究．昭52，指定調査研究総合助成事業結果報告書．熊本県水試資料，No.49：1－20．

大森　信・池田　勉，1976．　動物プランクトン生態研究法．共立出版株式会社，東京，1－299．

UYE, S. and A. FLEMINGER, 1976．　Effects of various enviromental factors on egg development of several species of *Acartia* in Southern California. *Mar. Biol.*, **38**：253－262．