

1. 光合成細菌を添加培養したシオミズツボムシ
の養殖魚仔稚魚に対する効果

松本正樹¹・松本良樹²・沖増英治²・雨村明倫²

太陽化学(株)総合研究所¹・福山大学内海生物資源研究所²

Effects of Photosynthetic Bacteria Used for Rotifer
Culture on the Rearing of Fish Larvae.

Masaki Matsumoto¹, Yoshiki Matsumoto², Eiji Okimasu²,
and Akinori Amemura²

(Central Research Laboratories, Taiyo Kagaku Co.,
Ltd., Takara-machi, Yokkaichi, Mie 510, Japan¹;
Research Institute of Marine Bioresources, Fukuyama
University, Ohama-cho, Innoshima, Hiroshima 722-21,
Japan²) Report Res. Inst. Marine Bioresources,
Fukuyama Univ., No. 2, 1-10, 1991.

Photosynthetic bacteria Rhodobacter capsulatus (PSB)
are being practically applied in Japan as a feed addi-
tive for growing fish to improve the meat quality and
disease resistance. In the present paper was undertaken
a comparative study of the growth and mortality during
culture of larval red sea bream Pagrus major, Ayu Pleco-
glossus altivelis and flounder Paralichthys olivaceus
for 30 days with feeding rotifers which had been
cultured with Tetraselmis and three types of PSB, i.e.,
live PSB, heated PSB and disrupted PSB. The results
were: 1) Better growth and lower mortality were obtained

in any of groups of larval red sea breams fed with the rotifers which were cultured with addition of heated or disrupted PSB. 2) A similar result was also obtained for larval Ayu grown with the rotifers cultured with adding of heated PSB. However, those Ayu examined with rotifers which were cultured on addition of live and disrupted PSB were not necessarily improved in the last half of the feeding test period. 3) On the other hand, no improved results were obtained in the test of larval flounder, indicating that the effect of PSB differs depending on the species and growing stage of fish to be examined.

水産養殖業は年々盛んになり、また、これに従い生産性向上の養殖方法が考えられている。歩留まり向上のためには健康で成長の良い魚の飼育が必要となる。これには飼育の管理と与える餌料が問題とされる。現在、餌料の栄養価の向上のため多くの飼料添加物が用いられているが、最近、有用細菌として光合成細菌が注目されている。これを餌料のミンチに少量添加すると成長の促進、歩留まりならびに肉質の向上、体色の改善などに有効と言われている¹⁾。また、同細菌は水質浄化の効果もあると言われている²⁾。栄養効果については光合成細菌のアミノ酸組成、ビタミンB群などが要因とされている¹⁾。他に生理活性物質の存在も考えられているが、これらについては明らかにされていない。また、同細菌の仔稚魚への有効性についても学術的にはあまり研究されていない。

そこで、マダイ Pagrus major , アユ Plecoglossus altivelis , ヒラメ Paralichthys olivaceus の孵化仔魚を対象に、生物餌料のシオミズツボウムシをテトラセルミスにて二次培養する際に生菌、加熱処理死菌ならびに圧力破壊菌の3種類の光合成細菌を加え培養後、仔稚魚に給餌し、仔稚魚の成長、斃死率を調べ、仔稚魚の飼育に対する光合成細菌の影響について検討した。

実験材料および方法

供試魚：福山大学附属内海生物資源研究所（以下研究所）飼育水槽より得られたマダイ受精卵，カネト水産（広島県沼隈郡内海町）より分与されたヒラメ受精卵，広島県栽培漁業協会（広島県竹原市）より分与されたアユ受精卵を当研究所飼育実験室にて孵化させ，6日令まで予備飼育したものを実験に供した。

生物餌料：生物餌料としてシオミズツボウムシ Brachionus plicatilis（以下ワムシ）を用いた。これの培養は1 m³容量のポリカーボネート水槽に植物プランクトンのテトラセルミス Tetraselmis tetrathele，また適量のパン酵母を加え，27～28℃で通気して行った。

なおテトラセルミスの培養は屋外で行い，真水1に濾過海水4の割合でポリカーボネート槽に注水し，テトラセルミスを植継ぎ，さらに施肥して行った。

光合成細菌：宝酒造株式会社（京都市）より分与された光合成細菌 Rhodobacter capsulatus (PSB) の生菌，その加熱死菌ならびに圧力破壊菌の生菌数はそれぞれ $5.0 \times 10^{10}/\text{ml}$ ， $1.0 \times 10^2/\text{ml}$ ， $6.3 \times 10^5/\text{ml}$ であった。これをワムシの2次培養の際に添加した。

実験魚の飼育条件：100 L容のポリカーボネート槽の側面を黒色ビニールシートで覆って使用した。4試験区設け，それぞれに受精卵を3,000粒，アユの場合は8,000粒を収容した。孵化3日後までは止水で飼育し，その後，毎分400ml注水し，孵化7日後より飼育試験を開始した。飼育期間はマダイは5月14日から6月13日の30日間，アユは10月18日から11月17日の30日間，ヒラメは11月27日から12月27日の30日間とした。期間中の水温はマダイ実験が18.0～22.2℃，アユ実験は19～22℃でヒラメ実験は17.5～20.2℃であった。

餌料の調製方法：ワムシは培養槽より200万個体量を50 L容の容器に収容し，これにテトラセルミスを10 L加え，通気しながら2次培養を行った。この2次培養に際して光合成細菌の生

菌，加熱死菌，あるいは圧力破壊菌 2 g（細胞数 1.0×10^{11} 相当量）を添加し，ワムシを培養した。朝夕 2 回に分けて，各試験区に 5 ㍓ずつテトラセルミスと光合成細菌の入った 2 次培養ワムシを給餌した。水温と水槽の暗さを保つため，給餌後，テトラセルミスを 3 ㍓ずつ注入した。以下本文ではワムシの 2 次培養に際して，光合成細菌の生菌，加熱死菌，圧力破壊菌を添加して得られるワムシ給餌区をそれぞれ，生菌添加区、加熱死菌添加区，圧力破壊菌添加区と呼ぶことにする。

実験魚の計測：飼育開始より 5 日毎に各試験区より 20 個体を無作為に取り上げ，全長を測定した。斃死数は毎日計数した。

有意差検定：全長測定値については Duncan's multiple-range test により有意差検定を行い，表示した。

結果および考察

飼育試験における成長の結果をまとめて Table 1 に示す。

マダイ：マダイの成長と累積斃死数との相関を Fig. 1 に示す。飼育 10 日目頃から対照区に比べ，光合成細菌添加区の方が成長が良かった。特に，圧力破壊菌添加区は 20 日目まではよい成長を示した。また，20 日目以降は生菌および加熱死菌添加区とともに無添加区より成長が良好であった。斃死数は加熱死菌添加区が飼育 15 日目まで少なかったが，それ以降に著しく増加した。対照区は飼育開始時より光合成細菌添加区を上回る斃死数を示した。飼育 30 日後の斃死数では生菌添加区が最も少なく，次に圧力破壊菌添加区が少なかった。このようにマダイにおいては光合成細菌の添加が成長を促進させ，生残率を向上させた。

光合成細菌はカロテノイド系の色素を多く含んでおり，マダイはそれらの色素を代謝もしくは皮膚に蓄積する。カロテノイド色素の餌料への添加は親魚の卵質改善や体色の色上げなどの効果があると言われている³⁾。また，カロテノイド系の色素は生体内の免疫増強作用，抗酸化作用などの生理活性も示すと言われている^{4, 5)}。光合成細菌添加培養ワムシにより仔稚魚の成長と生残率で効果があったのはカロテノイドによるのではないかと推察される。これは圧力破壊菌添加で特に有効であったこ

とから分かる。すなわち菌体破壊により，色素成分が吸収されやすくなったと考えられる。

アユ：アユの成長曲線と累積斃死数はFig. 2 に示すように飼育20日までは光合成細菌添加区が対照区より成長がよく，それ以降は加熱死菌区の方が良好であったのに対し，生菌区，圧力破壊菌区はむしろ対照区に劣った。また，斃死数は対照区に比べ，加熱死菌区が最も少なかったが，圧力破壊菌区ならび生菌区は最終的に対照区より斃死数が多かった。このように光合成細菌添加区の加熱処理菌体はアユ仔稚魚の成長ならびに生残に有効であることがわかった。

なお，今回の飼育実験において，アユの斃死数が著しく多かったのはアユは付着卵であったため，計測が難しく，飼育開始時の収容卵数が過剰であった。そのため仔稚魚の飼育密度が過剰となり，斃死数が増大したと推察される。しかし，熱処理死菌区の斃死数は他に比べ明らかに少なく，アユ仔稚魚の生残に好結果を与えられると思われるが，今後，さらに検討する必要がある。

ヒラメ：飼育試験の成長曲線と累積斃死数はFig. 3 で，飼育10日目以降，対照区に比べ，光合成細菌添加区はやや成長が劣った。累積斃死数は圧力破壊菌添加区が対照区とそれぞれ同じであったが，生菌区ならびに加熱死菌区では対照区より少なく，それは特に生菌添加区の飼育20日以降斃死数で顕著であった。

ヒラメ仔稚魚に光合成細菌を添加すると成長の促進は認められなかったが，生残率が改善されることがわかった。中間育成のヒラメに光合成細菌を添加すると，歩留まり，肉質の向上が見られると報じられているが，仔稚魚期については成長に対するよりもむしろ生残率向上に有効と考えられる。

以上，孵化仔魚3種類を用いて，飼育実験を行った結果，光合成細菌添加効果はマダイおよびアユについては成長促進の効果が期待できたが，ヒラメについてはその効果は認められなかった。従って，成長促進効果は魚種によって異なることがわかった。しかし，生残率向上については3魚種についてその効果が認められ，仔稚魚期の歩留まりの向上に有効と判断された。なお，マダイでは生菌のみならず加熱死菌，圧力破壊菌の両方に，また，アユについては加熱死菌，ヒラメでは加熱死菌が成長促

進あるいは生残率の向上効果が認められた。この事実により光合成細菌は必ずしも生菌で保存する必要はなく、加熱あるいは破碎して保存する方が簡便と思われる。また、光合成細菌の生菌をワムシに添加するとワムシ中に取り込まれることが確認されたが、加熱死菌、圧力破壊菌が取り込まれるかどうかについては明らかにしていない。また、本実験でワムシの2次培養でテトラセルミスとともに光合成細菌を添加し、その培養液を分別することなく一定量を仔稚魚に給餌するため、培養液中に浮遊した光合成細菌が生菌でもワムシに取り込まれることなく直接仔稚魚に取り込まれる可能性がある。この場合、菌体が生菌、加熱死菌、圧力破壊菌であるかによって体内へ取り込まれ、いかに利用されるのかについて今後の研究を待たねばならない。

光合成細菌の餌料への添加は、成魚の寄生虫駆除、細菌、ウイルス症⁹⁾に対する耐病効果があると言われているが、仔魚に感染する細菌、ウイルス症に対する影響も今後の研究課題と思われる。

要 約

マダイ、ヒラメ、アユ仔稚魚の餌料としてのワムシに光合成細菌の生菌、加熱死菌、圧力破壊菌をそれぞれ添加して飼育実験を行った結果、マダイでは光合成細菌の生菌、加熱死菌ならびに圧力破壊菌のすべてに成長促進、生残率向上の効果が認められた。アユについては加熱死菌添加の場合に成長促進、生残率向上の効果が認められたが、他の試験区は無添加区と変わらなかった。ヒラメでは飼育30日間において成長促進効果は認められなかったが、生菌、加熱死菌添加に生残率向上効果が認められた。

謝 辞

本研究を行うにあたり、光合成細菌（PSB）を提供していただいた宝酒造（株）、また、ヒラメの受精卵を分譲下さった

カネト水産（株），ならびにアユ受精卵を分譲下さった広島県
栽培漁業協会に謝意を表します。

文 献

- 1) 荻野珍吉：発酵と工業，36，836-841(1978)．
- 2) 小林達治・川村厚生・大塚正太郎・三上郷司・中西 弘
村田清美・衣笠美弘・河杉忠昭： 日水誌，35， 1021-
1025(1969)．
- 3) 幹 渉・藤田孝夫：化学と生物，23，640-647 (1985)．
- 4) 松野隆男・幹 渉：化学と生物，28，219-227 (1990)．
- 5) M. Kurashige, E. Okimasu, M. Inoue and K. Utsumi:
Physiol. Chem. Phys. & Med. NMR., 22, 27-38 (1990)．
- 6) 岡本信明・広谷博史・佐野徳夫・小林達治： 日水誌，54，
2225(1988)．

Table 1. Growth of larval red sea bream, flounder and Ayu with feeding rotifers cultured on Tetraselmis with addition of photosynthetic bacteria (PSB).

Fish	Experimental group	Total length (mm)		Feeding period (days)
		Initial	Final*	
Red sea bream	Control	2.44 ± 0.42**	11.54 ± 0.70 ^a	30
	Live PSB	2.77 ± 0.38	12.26 ± 1.64 ^a	
	Heated PSB	2.78 ± 0.27	12.09 ± 1.12 ^a	
	Disrupted PSB	2.84 ± 0.24	12.52 ± 1.57 ^b	
Flounder	Control	3.58 ± 0.16	11.31 ± 0.60 ^a	30
	Live PSB	3.61 ± 0.32	10.70 ± 0.53 ^b	
	Heated PSB	3.37 ± 0.28	10.47 ± 0.75 ^b	
	Disrupted PSB	3.36 ± 0.31	10.34 ± 0.96 ^b	
Ayu	Control	7.32 ± 0.18	13.82 ± 2.05 ^{a,b}	30
	Live PSB	7.09 ± 0.28	12.61 ± 1.04 ^b	
	Heated PSB	6.72 ± 0.20	14.24 ± 1.49 ^a	
	Disrupted PSB	6.81 ± 0.26	13.06 ± 3.45 ^{a,b}	

Control group: Fed with rotifers which were cultured on Tetraselmis alone.

* Values suffixed with a or b mean significant difference ($p < 0.05$).

**Each value shows the mean ± S.D. of twenty samples.

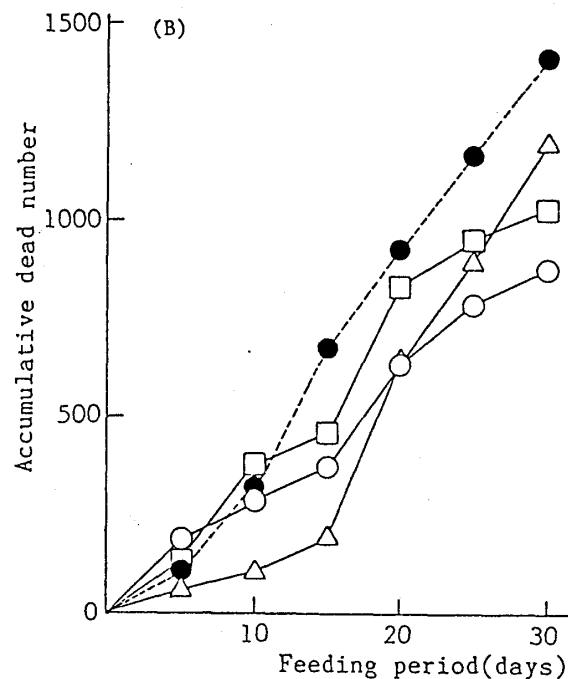
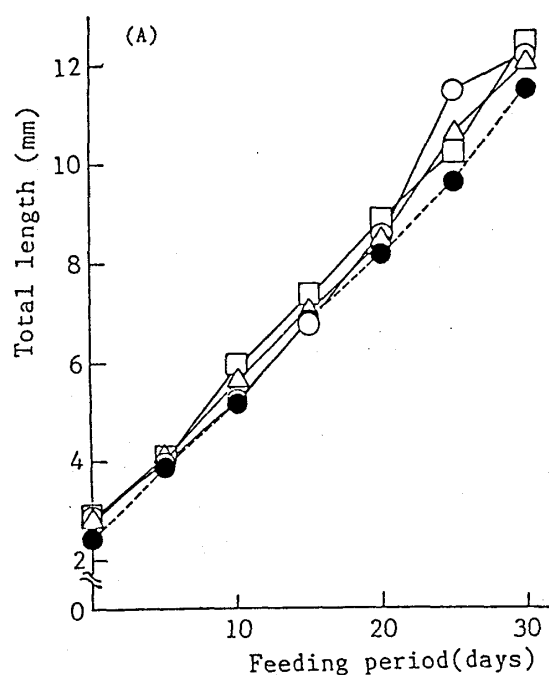


Fig.1. Effect of rotifers cultured with PSB on growth(A) and accumulative dead number(B) of larval red sea bream.

●—●, Control(rotifers cultured without PSB); ○—○, rotifers cultured with live PSB; △—△, rotifers cultured with heated PSB; □—□, rotifers cultured with disrupted PSB

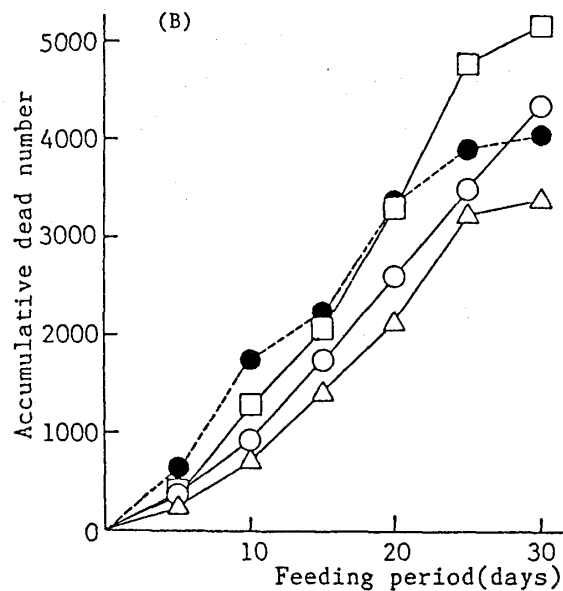
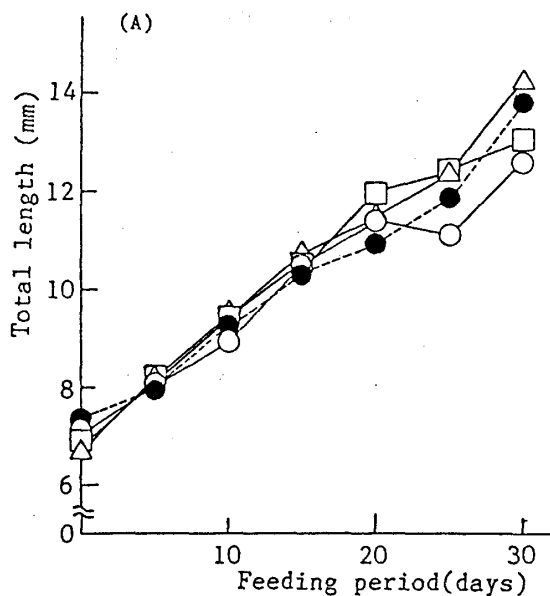


Fig.2. Effect of rotifers cultured with PSB on growth(A) and accumulative dead number(B) of larval Ayu.

Symbols are the same as those in Fig.1.

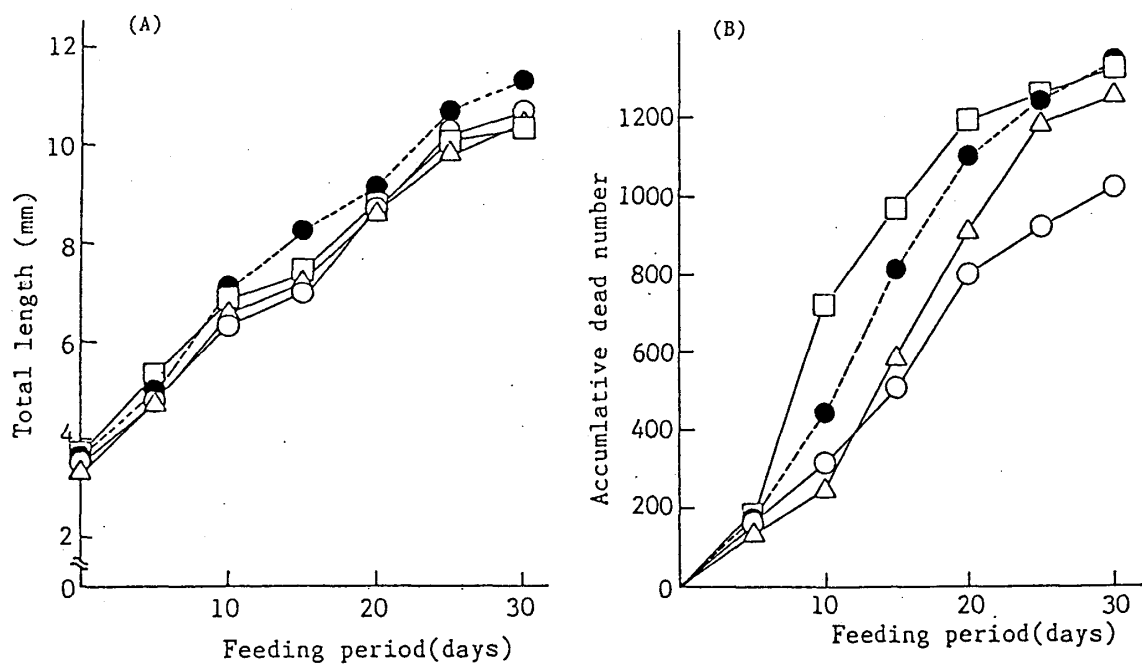


Fig.3. Effect of rotifers cultured with PSB on growth(A) and accumulative dead number(B) of larval flounder.
Symbols are the same as those in Fig.1.