

海洋酵母の利用に関する研究—I*

海洋酵母によるアルテミアおよびミジンコの飼育

島谷 周・金沢 昭夫・柏田 研一**

Studies on the Utilization of Marine Yeast—I.

Culture of *Artemia* and *Daphnia* by Marine Yeast

Makoto SHIMAYA, Akio KANAZAWA, and Ken-ichi KASHIWADA

Abstract

We have had several studies and informations concerning the feed of zooplankton and shellfish, but little work has been done on the utility of marine yeast as the feed for these organisms. The present paper deals with the food value of marine yeast in *Artemia* and *Daphnia* culture. The test organisms were fed on several kinds of marine yeast, being cultivated under fixed condition. The food value was determined by the growth and survival rate of the test organisms. The ecological and physiological characters of the test organisms were studied too.

The results obtained were as follows ;

1. Some of test marine yeasts were found to have good quality as food of *Artemia* and *Daphnia*, and their effect was exhibited to be comparable with the effect of phytoplankton to *Daphnia* culture.
2. The survival rates of *Artemia* at the copulation time ranged from 10 to 80% according to the species of marine yeast used as food.
3. Vitamins, pantothenic acid and folic acid added in culture medium, were effective on the growth of *Artemia*.
4. It was found that in all of *Artemia* bred by marine yeast, the color of them changed into somewhat white or light.

細菌、酵母、発酵廃液乾燥物などの動物プランクトンや貝類に対する飼料としての価値については、これまで研究も多く、また安楽¹⁾の詳しい綜説も見られる。またこれらの飼料化については横田²⁾、寺本³⁾、関⁴⁾⁵⁾⁶⁾、末広⁷⁾、大原⁸⁾、永井⁹⁾、堀江¹⁰⁾、木下¹¹⁾によって試みられているが、海洋酵母についてのこの種の研究はあまり見られないようである。

海洋に広く分布する海洋酵母は一般に植物性プランクトンに比べて、多量培養が比較的容易で、それに要する経費も少なくすむという利点がある。したがってこれが前記のような生物の飼料として利用できればこの分野における海洋酵母利用の一新局面が開かれる。

本研究はこれまで殆んど顧りみられていない海洋酵母の動物プランクトンに対する飼料的価値を知るために行なったもので、試験した酵母の中には、利用価値の高いもののあることがわかった。

* 1967年2月日本水産学会九州支部例会(鹿児島市)にて発表した。

** 鹿児島大学水産学部水産化学教室(Laboratory of Fisheries Chemistry, Faculty of Fisheries, Kagoshima University)

実験方法

実験動物としてアルテミア *Artemia* とミジンコ *Daphnia sp.* を用い、これらの飼料として海洋酵母を飽食量投与した。アルテミアの場合は海洋酵母の代りにワカモト、ミジンコの場合は植物性プランクトンを与えたものを対照とし、培養後の生長度と残存数などを比較することによって各々の飼料的効果を比較判定することとした。

海洋酵母 鹿児島県揖宿郡花瀬崎海岸で採集した各種の海藻から末広¹²⁾の方法によって分離した海洋酵母15株(未同定)および信濃¹³⁾の分離した5株の計20株をTable 1の組成をもつ培地を用い、28°Cで2日間振盪培養後、遠沈し蒸留水で2回洗滌したものを飼料として用いた。

Table 1. Composition of the medium for marine yeasts.

Cane molasses or glucose	4 g
Polypepton	1
Yeast extract	0.5
Natural sea water	1,000 ml

植物性プランクトン 炭素源として炭酸ガスあるいは酢酸を用い培養したクロレラ *Chlorella sp.*、セネデスムス *Scenedesmus sp.* とアンキストロデスムス *Ankistrodesmus sp.* はTable 2の培地を用い、25°Cで静置培養して得られたものを2回遠沈洗滌し、前記のように夫々ミジンコに対する対照区の飼料として用いた。

Table 2. Composition of the medium for phytoplankton.

Medium of SATOMI ¹⁴⁾	1,000 ml
NaHCO ₃	500 mg
CO (NH ₂) ₂	30
KH ₂ PO ₄	11.5

飼育試験 アルテミアは孵化直後の幼生をTable 3に示した組成の溶液中で25°C前後で通気しつつ飼育した。なお飼育期間中は2~3日毎に換水を行なった。

Table 3. Composition of the *Artemia's* medium.³⁾

Culture medium for <i>Artemia</i>		*Artificial sea water	
Artificial sea water*	500 ml	NaCl	38.3 g
Chelated metal soln.**	5	MgSO ₄ · 7H ₂ O	7.0
NaCl	14 g	MgCl ₂ · 2H ₂ O	2.4
**5 ml. of chelated metal soln. contains		KCl	740 mg
Na ₂ EDTA · 2H ₂ O	10 mg	NaHCO ₃	210
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	5	NaBr	80
MnSO ₄ · 7H ₂ O	1,500 γ	H ₃ BO ₃	60
FeSO ₄ · 7H ₂ O	500	Na-silicate	3.8
Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	250	AlCl ₃ · 6H ₂ O	2.6
CoSO ₄ · 7H ₂ O	15	H ₃ PO ₄	240 γ
CuSO ₄ · 5H ₂ O	5	LiNO ₃	140
		NH ₄ OH	60
		H ₂ O	1,000 ml

ミジンコは 80°C に 5 分間加熱した池水を東洋口紙 No. 3 でろ過し、pH 8.0 に調整したものの 200 ml に、この水で予め二回洗滌したミジンコの幼生 10 尾を入れ、23°C 前後で各供試飼料を与えつつ 14 日間飼育した。

ビタミン PROVASOLI ら¹⁵⁾ はアルテミアにビタミンの必要性を認め、寺本³⁾ は陸上酵母をアルテミアの飼料とする場合にビタミン B₁ と B₂ を添加し、その効果を認めているので、本実験では 4 種の海洋酵母をアルテミアの飼料とし、これにビタミン B₁, B₂, B₆, パントテン酸など各 10 γ を単独又は混合してアルテミア培養液 500 ml に加えた場合の効果を試験した。

なおワカモトを飼料とする対照区のアルテミアの生育は、同一飼育回時では近似した結果が得られたが、飼育回時が異なると交尾迄の所要日数や生存率が多少変動した。したがって異った飼育回時相互間の比較は困難で今回の実験においては、同一飼育時の各試験区についてのみその結果を比較考察することとした。

結果と考察

培地の比重とアルテミアの生育

アルテミアの生育に対する至適比重を知るための実験を行なった。アルテミアの生存可能塩分濃度の幅はかなり広く、成体では 10~120‰ の範囲におよぶが通常 35~40‰ が良いとされている。このことを確かめるために人工海水に精製食塩を加えて飼育海水の比重を変え、その中で飼育した場合の結果は Fig. 1 の通りで、比重 1.042 が良いことが分る。これは寺本³⁾ らの結果とも一致するので、以後アルテミアの飼育には比重 1.042 の培養液を用いることとした。

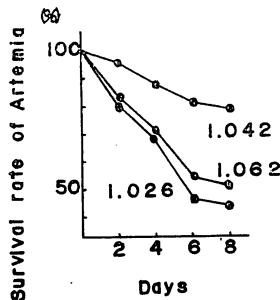


Fig. 1. Effect of specific gravity of culture medium for the growth of *Artemia*.

Wakamoto was used for food.

Culture condition; Original number of *Artemia* larvae: 100.

Temperature of the medium: about 25°C. Renewal

of the medium: every 2 or 3 days.

海洋酵母によるアルテミアの飼育

アルテミアの飼料としての海洋酵母の適性を知るために行なった実験結果を Fig. 2 に示す。

Table 4. Effect of vitamins on the growth of *Artemia*.

Food	Survival rate of <i>Artemia</i> at copulation time	Body length (mm)	Egg number	Required days				Egg color	Body color
				copulation to copulation	spawning to spawning	hatch to hatch	hatch to copulation		
Wakamoto	75	10.2	125	11	11	11	8	white	slightly colored
M. Y. No. 2 (without vitamin)	52	9.7	103	12	12	11	9	white	"
M. Y. No. 2+B ₁ , B ₂	50	9.6	100	13	14	13	10	white	"
M. Y. No. 3 (without vitamin)	80	10.1	135	9	9	9	6	slightly colored	"
M. Y. No. 3+B ₁ , B ₂	74	10.0	130	10	10	10	7	white	"
M. Y. No. 16 (without vitamin)	90	10.2	115	12	12	11	9	slightly colored	"
M. Y. No. 16+B ₁ , B ₂	82	9.4	110	13	13	13	10	white	white
M. Y. No. 17 (without vitamin)	73	9.8	117	11	11	10	8	white	slightly colored
M. Y. No. 17+B ₁ , B ₂	71	9.2	90	12	12	12	9	slightly colored	"

Vitamin content; 10 γ per 500 ml. of medium.

M. Y.; marine yeast.

Cultivating condition; see Fig. 1.

Table 5. Effect of vitamins on the growth of *Artemia*.

Food	Survival rate of <i>Artemia</i> at copulation time	Body length (mm)	Required days				Body color
			copulation to copulation	spawning to spawning	hatch to hatch	hatch to copulation	
M. Y. No. 16 (without vitamin)	90	10.0	12	12	12	9	white
" + B ₂	85	11.2	11	11	11	8	"
" + B ₁	96	9.4	14	15	14	11	"
" + Nicotinic acid	76	10.0	12	12	12	8	"
" + B ₆	83	11.5	11	11	11	8	"
" + Biotin	95	9.3	14	14	14	11	"
" + E	76	10.1	11	11	11	8	"
" + Pantothenic acid	80	10.0	10	10	10	7	"
" + Folic acid	85	10.1	10	10	10	7	"
" + Vitamin mix.	82	10.0	12	12	12	8	"

Vitamin content; 10 γ per 500ml. of medium.

Vitamin mix. ; B₁, B₂, B₆, E, Nicotinic acid, Biotin, Pantothenic acid, Folic acid.

Cultivating condition; see Fig. 1.

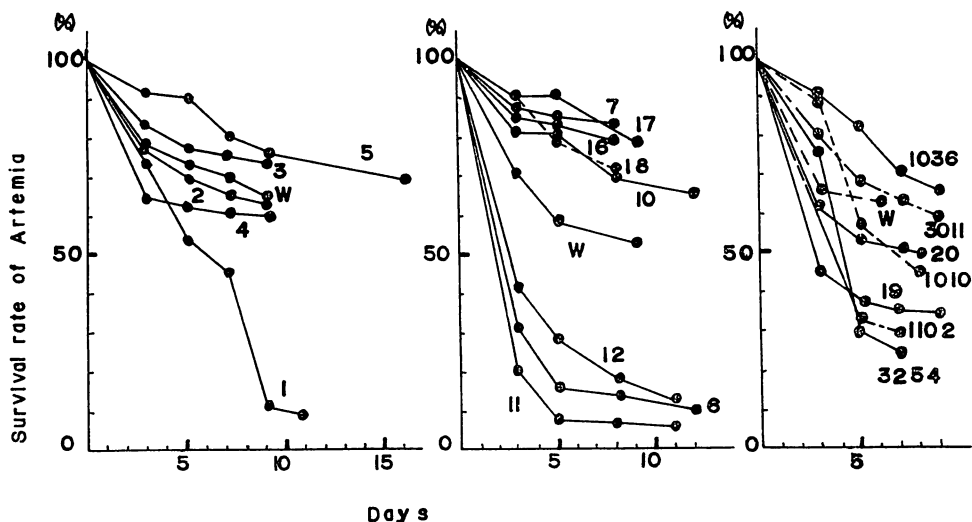


Fig. 2. Utilization of marine yeasts by *Artemia*.

The numbers in the figure show the strain number of marine yeasts. Endpoints indicate the copulation time. W; Wakamoto.

Culture conditions; Volume of the medium: 2l. Temp. of the medium: about 25°C. Renewal of the medium: every 2 or 3 days. Original number of *Artemia* larvae: 300.

交尾迄の所要日数と交尾時における生存率の点から海洋酵母は四群に大別される。第一群は交尾迄の所要日数が短かく、交尾時における生存率も高く、一般に飼料価値を決めるに当たっての規準、趣向性が良い、栄養が良い、阻害的でないの三点共に優れ、したがって飼料として優秀と考えられるもので、No. 3, 4, 7, 16, 17, がこれに該当する。第二群はNo. 5, 10, および 1036 *Torulopsis dattila*, 3011 *T. famata* で、生存率は高いが交尾が多少遅れ、飼料としてすべての点で優れているとは言えないが第一群につき有用なものである。第三群はNo. 1, 6, 11, 12, で、交尾時期が遅れ、生存率も低く、飼料としてほとんど価値の認められないものである。第四群はNo. 2, 19, 20, および 1010 *Rhodotorula mucilaginosa*, 1102 *Cryptococcus albidus*, 3254 *Sporobormyces* であって、交尾が多少遅れると共に生存率がおよそ20~50%であって、幾分か飼料として有効であったとみなされるものである。以上の四群中第一・二群が飼料として有用であり、第四群も生存率の変動を考えると有用な飼料となる可能性があると思なされる。

アルテミアの生長におよぼすビタミン類の影響

海洋酵母を飼料としてアルテミアを飼育する場合培養液に添加したビタミンの効果をしらべた実験結果を Table 4, 5 に示した。Table 5 に見られるようにビタミン B₁, B₂ を培養液に加えると、生存率が低下するばかりでなく抱卵数が減少し、交尾から交尾、産卵から産卵、孵化から孵化、孵化から交尾迄の所要日数が何れも1~2日延び、加えないものより劣る結果となった。これは寺本ら³⁾の結果と反するが、Table 5 からこれは B₁ のためであると考えられる。Table 5 にみられるようにビタミン B₁ とビオチンの添加はアルテミアの生育を遅らせているが、この原因に関しては糾明しなかった。パントテン酸と葉酸は生育を早め、

ビタミン混合区および B₂, B₆, E, ニコチン酸にはいくらか生育促進効果が見られた。これらの結果から海洋酵母にはアルテミアの飼料として不足しているビタミンのあることが推定される。よって第一・二群の海洋酵母を飼料としてアルテミアを飼育する場合、これらのビタミンを強化することにより海洋酵母が更に有用な飼料となり得ることが推測され、実用面では海洋酵母のビタミン含量特にパントテン酸と葉酸を多く含むような海洋酵母の培養が望まれる。

海洋酵母を飼料とするアルテミアの継代培養

飼料として海洋酵母 No. 3 を用いアルテミアを継代飼育した結果、第一世代の幼生の孵化から第四世代の幼生の孵化までの所要日数は通常30日であり、特に早い場合は25日であった。幼生の早期出現の原因が、特に生長・交尾の早いものの産卵・孵化によるものか、あるいは処女生殖によるものかは確認出来なかった。海洋酵母が長期間の継代培養の飼料としての良否は別としてもアルテミアの飼料として単に一代のみを飼育し得る飼料でないことを示している。

海洋酵母によるミジンコの飼育

ミジンコの飼料として海洋酵母の適性を知るために行なった結果を Table 6 に示した。実

Table 6. Utilization of marine yeast by *Daphnia*.

Food	Body length (mm)	Body color	Number of <i>Daphnia</i> after 2 weeks
<i>Ankistrodesmus</i> sp.	1.2	white	590
<i>Scenedesmus</i> sp.	1.2	"	500
Marine yeast No. 2	1.3	slightly colored	730
" No. 3	1.2	white	710
" No. 16	1.0	"	730
" No. 17	1.2	slightly colored	700
<i>Chlorella</i> sp. A	1.5	red	1,150
" B	1.3	"	720
Yeast powder	1.0	white	420

Chlorella sp. A; cultivated with CO₂ as carbon source.

" B; cultivated with acetate as carbon source. Yeast powder; marketing beer yeast

Culture conditions were as follows; original number of *Daphnia* larvae: 10.

Temp.: about 23°C. Cultivation term: 2 weeks. Medium: 200 ml of heated and filtered pond water.

験に供した海洋酵母 No. 2, 3, 16, 17 は共に増殖数および体長の点では、炭酸ガスを炭素源として培養したクロレラを飼料とするものには若干劣るが、アンキストロデスムスとセネデスムスには繁殖数において若干優れ、酢酸を炭素源として培養したクロレラには No. 16 が体長の点で若干劣るが他は変りなかった。

したがって海洋酵母はアルテミアの場合と同じく短期間の飼育においてはミジンコに対し

ても有用な増殖用飼料となることがあきらかとなった。

海洋酵母によって飼育したアルテミアおよびミジンコの色調

Table 4, 5, 6, にみられるように海洋酵母で飼育したアルテミアの体色と卵色, およびミジンコの体色は淡く, 白色か僅かに着色する程度であった。アルテミアの体色を濃くするにはカロチノイド¹⁶⁾が必要かも知れないが, 生育の点では酵母のみで差つかえないので, 金魚など¹⁷⁾¹⁸⁾のように特に着色の点を問題にしなければカロチノイドの添加は必要でないと考えられる。ミジンコは植物プランクトンを飼料とした対照区の体色が異なりカロチノイド系色素と体色の関係が明らかでなかった。

要 約

海洋酵母の微小動物用飼料としての有用性を明らかにするため, アルテミアとミジンコを供試動物として飼育試験を行ない, 次のような結果を得た。

1. 海洋酵母の中にはアルテミアの飼料として優れたものがあり, ミジンコの飼料としては植物プランクトンに匹敵する効果を示した。
2. 海洋酵母を飼料とするアルテミアの交尾時における生存率は海洋酵母の種類によって異なり約10~80%の範囲であった。
3. アルテミアの培養液中にパントテン酸か葉酸を加えると, 生育を早める効果がある。
4. 海洋酵母を飼料として生育したアルテミア, ミジンコは淡色となり, 白色か着色してもその色は薄かった。

本実験に当り海洋酵母を分与下された北海道大学水産学部微生物学教室ならびに御助言を戴いた本学柿本大壺教授, 日高富男助教授, 実験に協力された田中輝重, 平松秀宣の諸氏に謝意を表します。

文 献

- 1) 安楽正照 (1963): プランクトン研連会報, 9, 10.
- 2) 横田滝雄 (1964): 日本水産学会九州支部第二例会発表.
- 3) 寺本賢一郎・木下祝郎 (1961): 日水誌, 27, 801.
- 4) 関文 威 (1964): 日本海洋誌, 20, 122.
- 5) " (1965): " 20, 278.
- 6) " (1966): " 22, 105.
- 7) 末広澄人 (1964): 日本水産学会秋季大会講演.
- 8) 大原脩平・北村佐三郎・仲川憲一 (1967): 日本水産学会年会講演.
- 9) 永井伸一・永井康豊・西川哲三郎 (1967): 日本水産学会年会講演.
- 10) 堀江 進・奥積晶世 (1967): 日本水産学会年会講演.
- 11) 木下祝郎・寺本賢一郎 (1966): 特許出願公告, 昭41-1585.
- 12) 末広澄人 (1962): 九大農学部学芸雑誌, 20, 101, 223.
- 13) 信濃晴雄 (1962): 日水誌, 28, 1113.
- 14) 里見至弘 (1959): 内水研報, 8, 21, 9, 11.
- 15) PROVASOLI, L., and A. D' AGOSTINO (1962): *Am. Zoologist.*, 2, (3).
- 16) DAVIES, H. B., J. W. Hsu, and O. C. CHICHESTER (1965): *Biochem. J.*, 96, 26.
- 17) 牧草 泉・富山哲夫 (1967): 日本水産学会年会講演.
- 18) 平尾秀一 (1967): 日本水産学会年会講演.