

水温と塩分が餌料候補種 *Eutreptiella* sp. の増殖に与える影響

石井慶太^{1, 2}, 山崎康裕^{3†}, 阿部真比古³, 村瀬昇³

Effects of temperature and salinity on the growth of *Eutreptiella* sp.

Keita Ishii^{1, 2}, Yasuhiro Yamasaki^{3†}, Mahiko Abe³ and Noboru Murase³

Abstract : We conducted the growth experiments using a crossed factorial design with 9 combinations of 3 temperatures (15, 20 and 25 °C) and 3 salinities (20, 25 and 30 psu), and growth characteristics of the euglenophyte *Eutreptiella* sp. and six kinds of diet microalgae (the diatom *Chaetoceros neogracile*, *C. muelleri*, *Thalassiosira* sp., *T. pseudonana*, haptophytes *Diacronema lutheri* (syn. *Pavlova lutheri*) and *Isochrysis galbana*) were compared. As a result, *Eutreptiella* sp. showed steady growth under a wide range of culture conditions, and this species could grow well under low water temperature. In addition, maximum growth rate of *Eutreptiella* sp. was 1.84 ± 0.15 divisions day⁻¹, and was obtained at the combination of 15 °C and a salinity of 20 psu. In contrast, maximum growth rates of other six diet microalgae decreased with decreasing water temperature. Thus, *Eutreptiella* sp. has a potential to be a new diet alga for the seeding production of mollusks during late fall and early summer.

Key words : diet microalgae, euglenophyte, *Eutreptiella* sp., growth, seeding production

諸 言

水産生物の種苗生産に用いられる初期餌料生物には、適切な大きさ、捕捉しやすい形状、大量入手の容易さ、密度の維持管理の容易さ及び栄養価の高さ等の条件を満たすことが求められる¹⁾。しかしながら、容易に大量培養可能な餌料用の微細藻類種は栄養価が低く、大量培養困難な種ほど栄養価が高い傾向にある。例えば、真正眼点藻綱の *Nannochloropsis oculata* は、増殖速度が速く、屋外での大量培養も容易であるが、単独給餌では貝類への餌料効果は低い²⁾。一方、ハプト藻綱の *Diacronema lutheri* (syn. *Pavlova lutheri*) は、非常に高い栄養価を有しているが、25°C以上の高水温では増殖速度が著しく低下することから、屋外での安定した培養が極めて困難である²⁾。したがって、アサリ (*Ruditapes philippinarum*) をはじめとする二枚貝種苗生産の現場では、培養や密度の維持が比較

的容易であり、良好な餌料効果を有する *Chaetoceros neogracile* をはじめとする珪藻類が幅広く用いられている²⁾。しかし、*C. neogracile* は周年を通して 20°C 程度に温度管理された屋内で培養されることが多く、餌料生産コストは決して安価であるとは言えない。また、大量培養時の *C. neogracile* にしばしば起こる急激な衰退は、安定した餌料供給を困難にする一因となっている。現在、民間企業を含む二枚貝類の種苗生産を実施している各機関において、自家培養している微細藻類に急激な衰退が発生した場合には、高密度に濃縮された状態で市販されている *N. oculata* や *Chaetoceros* 属の数種を代替餌料として利用している。しかし、種苗生産コストの上昇を招くことから、市販の餌料を長期間使用することは現実的でない。このように、餌料用微細藻類の増殖特性や培養コストの高さが、安定した餌料供給を阻害する要因となっている。

著者らは二枚貝類の種苗生産における新規餌料用微細藻

¹水産大学校水産学研究科生 (Graduate student, National Fisheries University)

²現所属: 国立研究開発法人 水産研究・教育機構 西海区水産研究所まぐろ増養殖研究センター (Research Center for Tuna Aquaculture, Seikai National Fisheries Research Institute)

³水産大学校生物生産学科 (Department of Applied Aquabiology, National Fisheries University)

†別刷り請求先 (corresponding author): yamasaky@fish-u.ac.jp

類の開発を最終目的として、2013年1月に山口県水産研究センター内海研究部に設置された屋外粗放培養水槽で大量増殖していた海産ミドリムシ類1種を単離し、培養することに成功した。ミドリムシはユーグレナ藻綱に属し、海産種では、*Eutreptia* 属、*Eutreptiella* 属及び *Euglena* 属が知られている³⁾。また、ミドリムシは鞭毛やユーグレナ運動と呼ばれる細胞収縮による運動性を持つ動物的な性質に加えて⁴⁾、光合成を行うという植物的性質を併せ持つ。近年、淡水種である *Euglena gracilis* は、栄養価や機能性成分含有量の高さから、ヒトの機能性食品やバイオ燃料の原料をはじめとして様々な分野で注目されている⁵⁾。しかし、水産増養殖においては、*E. gracilis* を海産仔稚魚の初期餌料であるシオミズツボムシ (*Brachionus plicatilis*) の栄養強化に利用する等^{6,7)} が報告されている程度であり、二枚貝類の餌料として用いられた実績は報告されていない。

そこで本研究では、二枚貝類の種苗生産における餌料供給の問題点を克服し得る新規餌料用微細藻類の開発を最終目的として、海産ミドリムシ類 *Eutreptiella* sp. と既存の餌料種6種の増殖特性を比較し、本種の餌料生物としての有効性や活用方法について検討した。

材料と方法

供試生物と培養

本研究では、以下の微細藻類7種を実験に用いた。海産ミドリムシ *Eutreptiella* sp. は、2013年1月に山口県水産研究センター内海研究部に設置された屋外粗放培養水槽の採水試料より単離した株である。また、珪藻 *Thalassiosira* sp. は、2011年7月に山口県熊毛郡平生町周辺の海域で採泥した試料から発芽させ、単離した株である。一方、珪藻 *Chaetoceros neogracile*、ハプト藻 *Diacronema lutheri* (syn. *Pavlova lutheri*) 及び *Isochrysis galbana* は、山口県水産研究センター内海研究部より恵与いただいた株であり、珪藻 *Chaetoceros muelleri* (CCMP 1316 株) 及び *Thalassiosira pseudonana* (CCMP 1335 株) は、米国の National Center for Marine Algae and Microbiota より購入した株である。微細藻類の培養には改変 SWM-3 培地⁸⁾ を用い、全ての培養株は温度勾配恒温器 (日本医化機械製作所社製, TG-180CCFL-3LE) にて、20°C、70 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の光量並びに 12 時間毎の明暗周期で培養した。な

お、ごく近年、*Pavlova lutheri* は *Diacronema* 属へ転属されたが⁹⁾、本論文では水産増養殖分野において一般的に用いられている *Pavlova lutheri* として記載する。

微細藻類の増殖特性試験

海産ミドリムシ *Eutreptiella* sp. と既存の餌料種6種の増殖特性を比較するために、複数の水温・塩分条件下にて培養試験を行った。本試験には、20°C 及び試験条件の各塩分で馴致培養した *Eutreptiella* sp., *C. neogracile*, *C. muelleri*, *Thalassiosira* sp., *T. pseudonana*, *P. lutheri* 及び *I. galbana* 細胞を用いた。増殖特性試験は、以下の手順で実施した。まず、ガラス試験管 (Thermo Fisher Scientific 社製, Cat. No. 14-961-26) に、塩分を 20, 25 及び 30 に調整した改変 SWM-3 培地を 3.9 mL 添加した。次に、初期細胞密度が 500 cells mL^{-1} になるよう改変 SWM-3 培地で希釈した各微細藻類の細胞浮遊液 0.1 mL をガラス試験管に添加した。その後、温度勾配恒温器 (日本医化機械製作所社製, TG-180CCFL-3LE) にて、15°C、20°C 及び 25°C の温度区、70 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の光量並びに 12 時間毎の明暗周期で培養した。なお、本試験は全ての試験区において3連で実施した。

各試験区における微細藻類の増殖は、2日毎に *in vivo* 蛍光光度計 (TURNER Designs Instrument 社製, Trilogly) による *in vivo* クロロフィル蛍光値の測定を実施することにより調べた。蛍光光度計により得られた連続した3点の *in vivo* クロロフィル蛍光値をもとに、Brand¹⁰⁾ に従って各微細藻類の最大増殖速度を求めた。また、増殖速度の算出には、主に培養開始後から対数増殖初期の *in vivo* クロロフィル蛍光値のうち、培養期間を通して増殖速度が最大となる連続した3点の数値を用いた。なお、*in vivo* クロロフィル蛍光値を基に各微細藻類の増殖段階を推定し、定常期及び衰退期に移行したと判定した試験区から培養実験を終了した。

統計解析

本研究で実施した9通りの培養条件における各微細藻類の最大増殖速度は、一元配置分散分析及び Tukey の Honestly significant difference (以下、HSD) 検定により有意差検定を実施した。なお、統計解析には統計解析ソフトウェア (IBM社製, IBM SPSS Statistics 19) を用いた。

結 果

海産ミドリムシ *Eutreptiella* sp. と既存の餌料種 6 種の増殖特性

本試験では、3通りの温度（15℃、20℃及び25℃）と3通りの塩分（20、25及び30）の組み合わせにより、計9通りの培養条件を設定して海産ミドリムシ *Eutreptiella* sp. と既存餌料種 6 種の増殖特性を調べた。なお、各微細藻類の増殖特性は、以下の通りである。

Eutreptiella sp. は、全ての水温条件で良好な増殖を示した (Fig. 1)。また、塩分 30 の試験区では、誘導期（培

養開始から対数増殖期への移行期間）が他の塩分条件と比較して長い傾向にあった (Fig. 1A)。塩分20及び25の試験区では、12日目に定常期から衰退期へ移行したと判断し、14日目で培養を終了した。しかし、塩分30で培養を行った試験区では、*in vivo* クロロフィル蛍光値の緩やかな上昇が認められたため、20日目まで培養を継続した (Fig. 1A)。培養期間中、全試験区のなかで、*in vivo* クロロフィル蛍光値の極大値が最大となった培養条件は25℃、塩分30であり、*in vivo* クロロフィル蛍光値の極大値が最小となった培養条件は15℃、塩分30であった (Fig. 1A)。最大増殖速度が最も高かった培養条件は

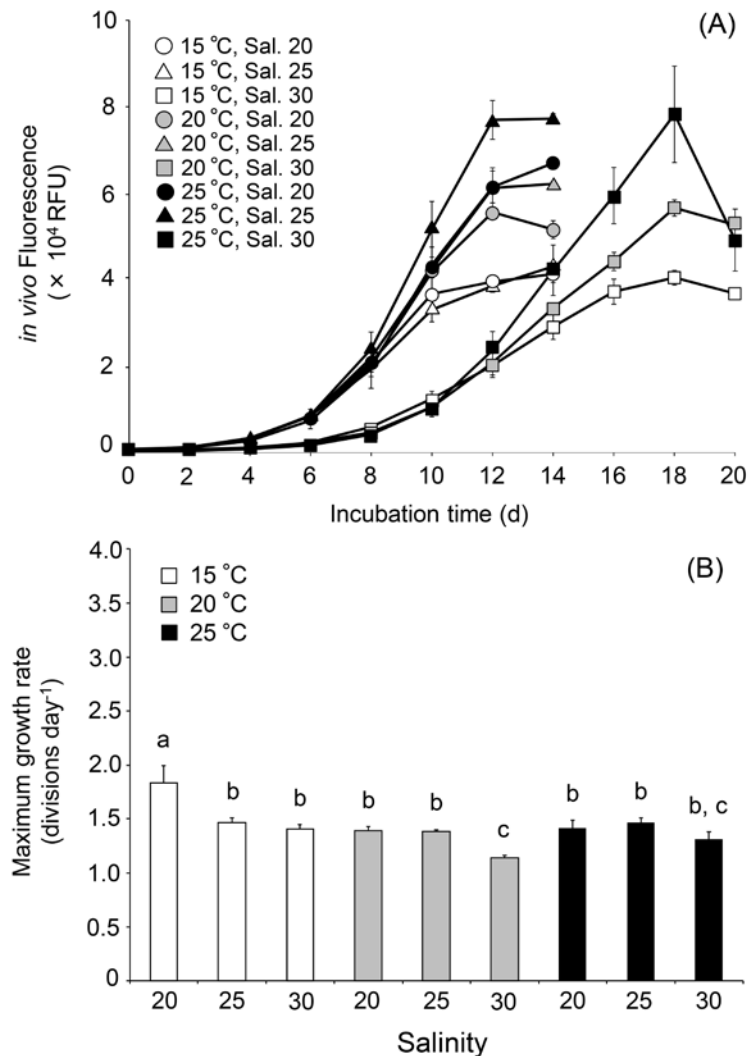


Fig. 1. The growth characteristics of the euglenophyte *Eutreptiella* sp. under the various growth conditions. (A) *in vivo* fluorescence (relative fluorescence unit, RFU) of *Eutreptiella* sp. under the various growth conditions. (B) Maximum growth rates of *Eutreptiella* sp. under the various growth conditions. Data are means \pm SD of triplicate measurements. Bars with different lowercase letters are significantly different at $P < 0.05$ (one-way analysis of variance [ANOVA] followed by Tukey's HSD post hoc test).

15°C, 塩分 20 であり, 1.84 ± 0.15 divisions day^{-1} であった (Fig. 1B, $P < 0.05$)。また, 最大増殖速度が最も低かった培養条件は 20°C, 塩分 30 であり, 1.14 ± 0.02 divisions day^{-1} であった (Fig. 1B, $P < 0.05$)。

C. neogracile は, 高水温・高塩分条件下で高い増殖を示した (Fig. 2)。本種は, 試験区により差異は認められたものの, 培養開始から 16~18 日目に定常期から衰退期に移行したと判断し, 18 日目で培養を終了した。全試験区のなかで *in vivo* クロロフィル蛍光値の極大値が最大及び最小となった培養条件は, それぞれ 25°C, 塩分 30, 及び 20°C, 塩分 20 であった (Fig. 2A)。また, 最大増殖速度が最高値 (3.58 ± 0.12 divisions day^{-1}) 及び最低値

(2.22 ± 0.13 divisions day^{-1}) を示した培養条件は, それぞれ 25°C, 塩分 20, 及び 15°C, 塩分 25 であった (Fig. 2B)。

C. muelleri は, 水温が高い 25°C 試験区では培養開始から対数増殖期への移行期間が短く, 水温が低くなるに従い対数増殖期への移行期間が長くなった (Fig. 3A)。本種は, 試験区により差異は認められたものの, 培養開始から 18~20 日目に定常期から衰退期へ移行したと判断し, 22 日目で培養を終了した。全試験区のなかで *in vivo* クロロフィル蛍光値の極大値が最大及び最小となった培養条件は, それぞれ 25°C, 塩分 25, 及び 15°C, 塩分 20 であった (Fig. 3A)。また, 最大増殖速度が最高値 (3.62 ± 0.45

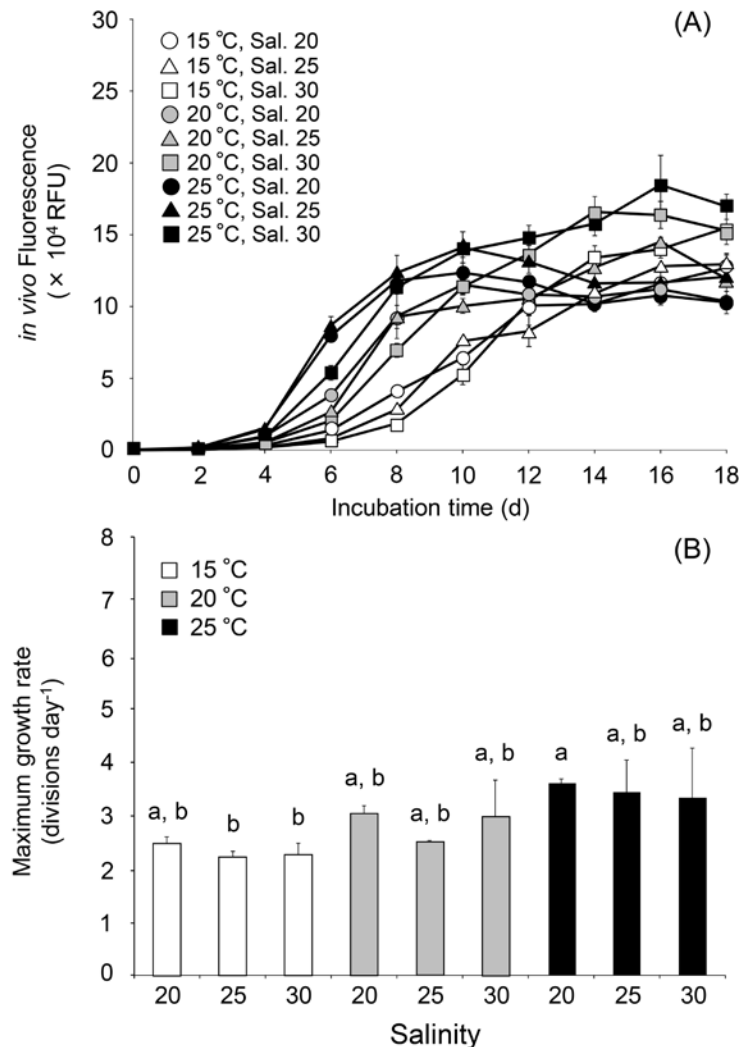


Fig. 2. The growth characteristics of the diatom *Chaetoceros neogracile* under the various growth conditions. (A) *in vivo* fluorescence (relative fluorescence unit, RFU) of *C. neogracile* under the various growth conditions. (B) Maximum growth rates of *C. neogracile* under the various growth conditions. Data are means \pm SD of triplicate measurements. Bars with different lowercase letters are significantly different at $P < 0.05$ (one-way ANOVA followed by Tukey's HSD post hoc test).

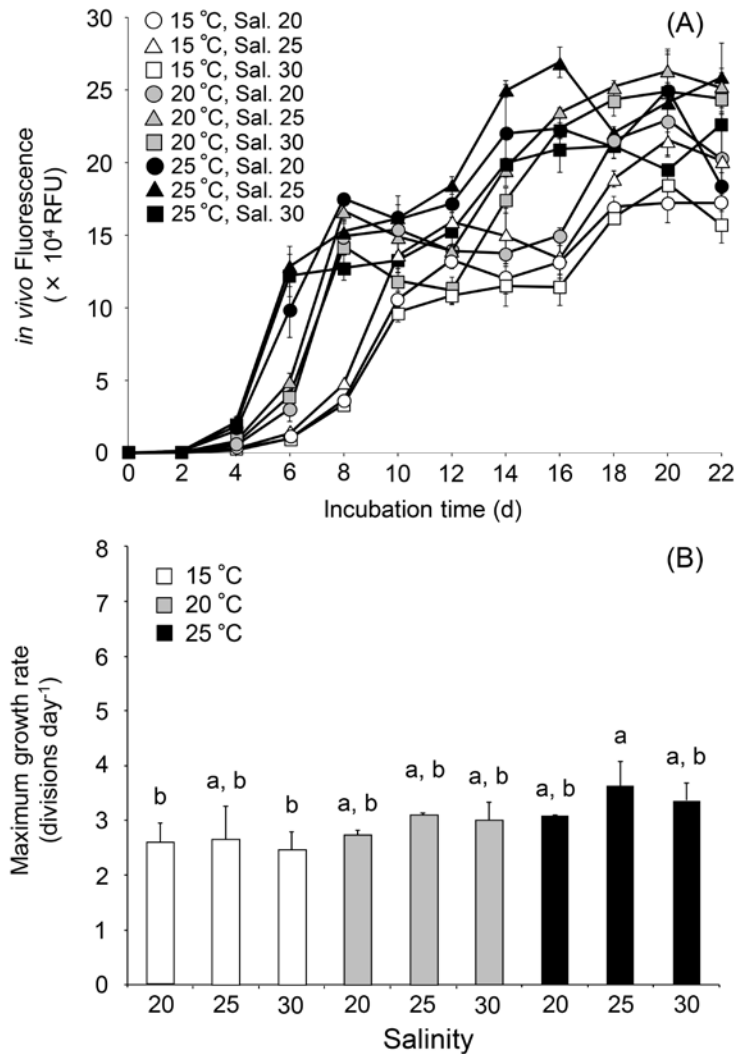


Fig. 3. The growth characteristics of the diatom *Chaetoceros muelleri* under the various growth conditions. (A) *in vivo* fluorescence (relative fluorescence unit, RFU) of *C. muelleri* under the various growth conditions. (B) Maximum growth rates of *C. muelleri* under the various growth conditions. Data are means \pm SD of triplicate measurements. Bars with different lowercase letters are significantly different at $P < 0.05$ (one-way ANOVA followed by Tukey's HSD post hoc test).

divisions day⁻¹) 及び最低値 (2.47 ± 0.34 divisions day⁻¹) を示した培養条件は、それぞれ 25°C、塩分 25、及び 15°C、塩分 30 であった (Fig. 3B)。

Thalassiosira sp. は高水温条件下で高い増殖を示したが、低水温条件下では著しく増殖が制限された (Fig. 4)。本種は、20°C 及び 25°C の培養条件下において、短期間で *in vivo* クロロフィル蛍光値が大きく上昇したものの、12 日目に定常期から衰退期へ移行したと判断し、14 日目に培養を終了した。しかし、15°C で培養を行った試験区では *in vivo* クロロフィル蛍光値の緩やかな上昇が認められたため、22 日目まで培養を継続した (Fig. 4A)。全試験区のみで、*in vivo* クロロフィル蛍光値の極大値が

最大及び最小となった培養条件は、それぞれ 20°C、塩分 30、及び 15°C、塩分 20 であった (Fig. 4A)。また、最大増殖速度が最高値 (4.77 ± 0.51 divisions day⁻¹) 及び最低値 (2.66 ± 0.26 divisions day⁻¹) を示した培養条件は、それぞれ 25°C、塩分 25、及び 15°C、塩分 20 であった (Fig. 4B)。

T. pseudonana は培養開始から対数増殖期への移行が他種と比較して最も早く、高い増殖能力を示した (Fig. 5)。しかしながら、定常期から衰退期への移行も早く、高密度を長期間維持することができなかった (Fig. 5A)。本種は、25°C の培養条件では 10 日目以降、15°C 及び 20°C の培養条件では 12 日目以降に定常期から衰退期へ移行し

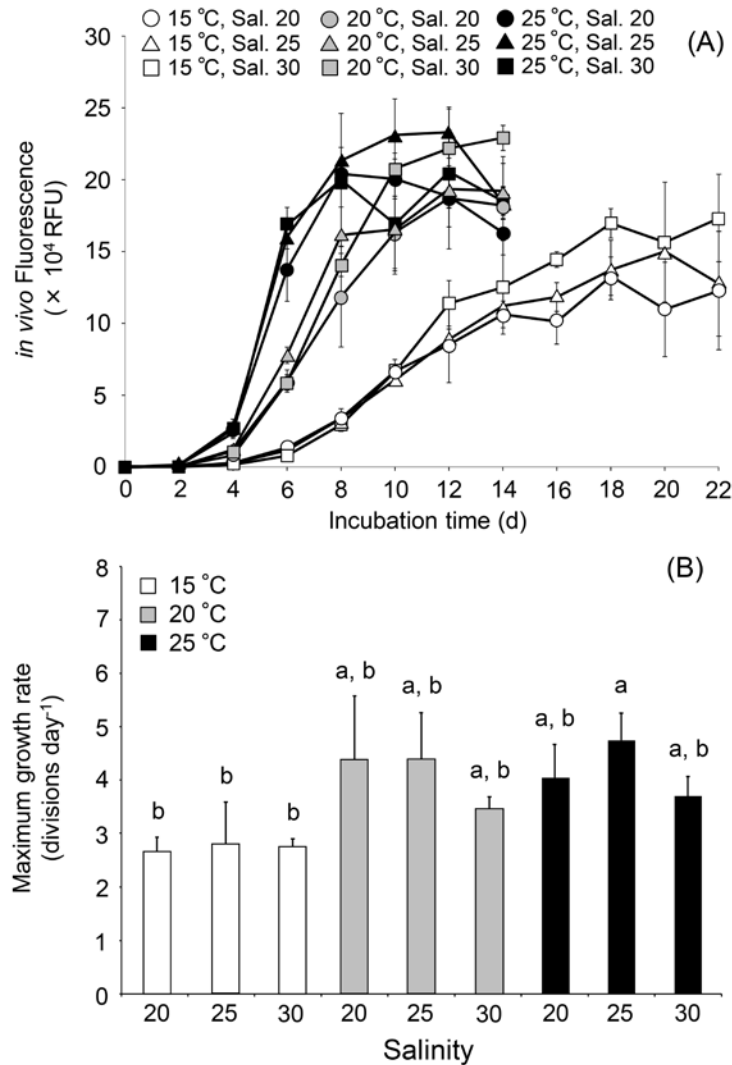


Fig. 4. The growth characteristics of the diatom *Thalassiosira* sp. under the various growth conditions. (A) *in vivo* fluorescence (relative fluorescence unit, RFU) of *Thalassiosira* sp. under the various growth conditions. (B) Maximum growth rates of *Thalassiosira* sp. under the various growth conditions. Data are means \pm SD of triplicate measurements. Bars with different lowercase letters are significantly different at $P < 0.05$ (one-way ANOVA followed by Tukey's HSD post hoc test).

たと判断し、14日目で培養を終了した。全試験区のなかで、*in vivo*クロロフィル蛍光値の極大値が最大及び最小となった培養条件は、それぞれ20°C、塩分30、及び25°C、塩分20であった (Fig. 5A)。また、全試験区のなかで、最大増殖速度が最高値 (5.15 ± 0.87 divisions day⁻¹) 及び最低値 (3.11 ± 0.18 divisions day⁻¹) を示した培養条件は、それぞれ25°C、塩分25、及び15°C、塩分30であった (Fig. 5B)。

P. lutheri は高水温条件下で高い増殖を示したが、低水温及び低塩分条件下では増殖の制限や定常期から衰退期への移行が早い傾向にあった (Fig. 6)。特に、15°Cの試験区では、培養開始から対数増殖期への移行期間が他の培養

温度と比較して長かった (Fig. 6A)。本種は、試験区により差異は認められたものの、12~14日目に定常期から衰退期へ移行したと判断し、16日目で培養を終了した。全試験区のなかで、*in vivo*クロロフィル蛍光値の極大値が最大及び最小となった培養条件は、それぞれ20°C、塩分25、及び15°C、塩分20であった (Fig. 6A)。また、全試験区のなかで、最大増殖速度が最高値 (2.37 ± 0.05 divisions day⁻¹) 及び最低値 (1.79 ± 0.08 divisions day⁻¹) を示した培養条件は、それぞれ20°C、塩分20、及び15°C、塩分25であった (Fig. 6B)。

I. galbana は高水温条件下で高い増殖を示したが、低水温条件下では著しく増殖が制限された (Fig. 7A)。本種

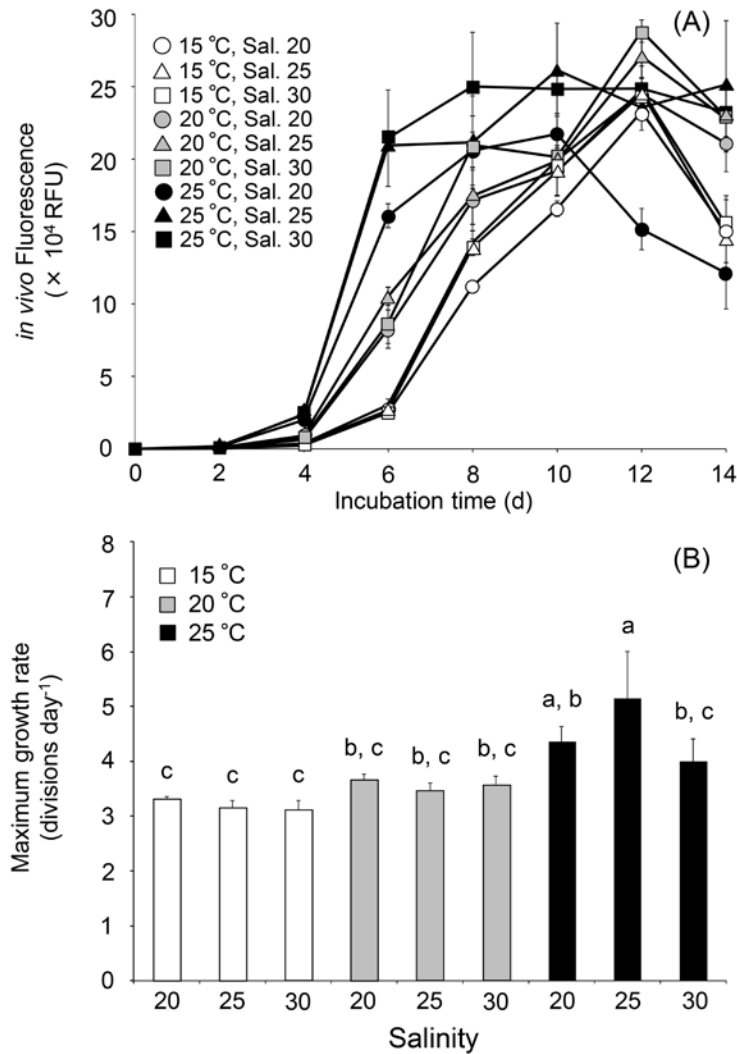


Fig. 5. The growth characteristics of the diatom *Thalassiosira pseudonana* under the various growth conditions. (A) *in vivo* fluorescence (relative fluorescence unit, RFU) of *T. pseudonana* under the various growth conditions. (B) Maximum growth rates of *T. pseudonana* under the various growth conditions. Data are means \pm SD of triplicate measurements. Bars with different lowercase letters are significantly different at $P < 0.05$ (one-way ANOVA followed by Tukey's HSD post hoc test).

は、20°C 及び 25°C 培養条件下においては、8~10 日目に定常期から衰退期へ移行したと判断し、14 日目に培養を終了した。しかし、15°C で培養を行った試験区では *in vivo* クロロフィル蛍光値の緩やかな上昇が見られたため、18 日目まで培養を継続した (Fig. 7A)。全試験区の中で、*in vivo* クロロフィル蛍光値の極大値が最大及び最小となった培養条件は、それぞれ 25°C、塩分 30、及び 15°C、塩分 20 であった (Fig. 7A)。また、全試験区の中で、最大増殖速度が最高値 (3.81 ± 0.21 divisions day⁻¹) 及び最低値 (1.72 ± 0.11 divisions day⁻¹) を示した培養条件は、それぞれ 25°C、塩分 20、及び 15°C、塩分 20 であった (Fig. 7B)。

考 察

本研究では、海産ミドリムシ *Eutreptiella* sp. と既存の餌料種 6 種を様々な培養条件にて培養して各微細藻類の増殖特性を比較することにより、*Eutreptiella* sp. の餌料候補種としての有用性を検証した。Table 1 は、増殖特性試験の結果から明らかとなった海産ミドリムシ *Eutreptiella* sp. と既存の餌料種 6 種の増殖特性や各微細藻類の細胞サイズについてまとめたものである。海産ミドリムシ *Eutreptiella* sp. は、既存の餌料種を含む 7 種の中で、唯一 15°C の低温条件下で最大増殖速度が最大となった (Fig. 1B, Table 1)。また、本種は高水温や高塩

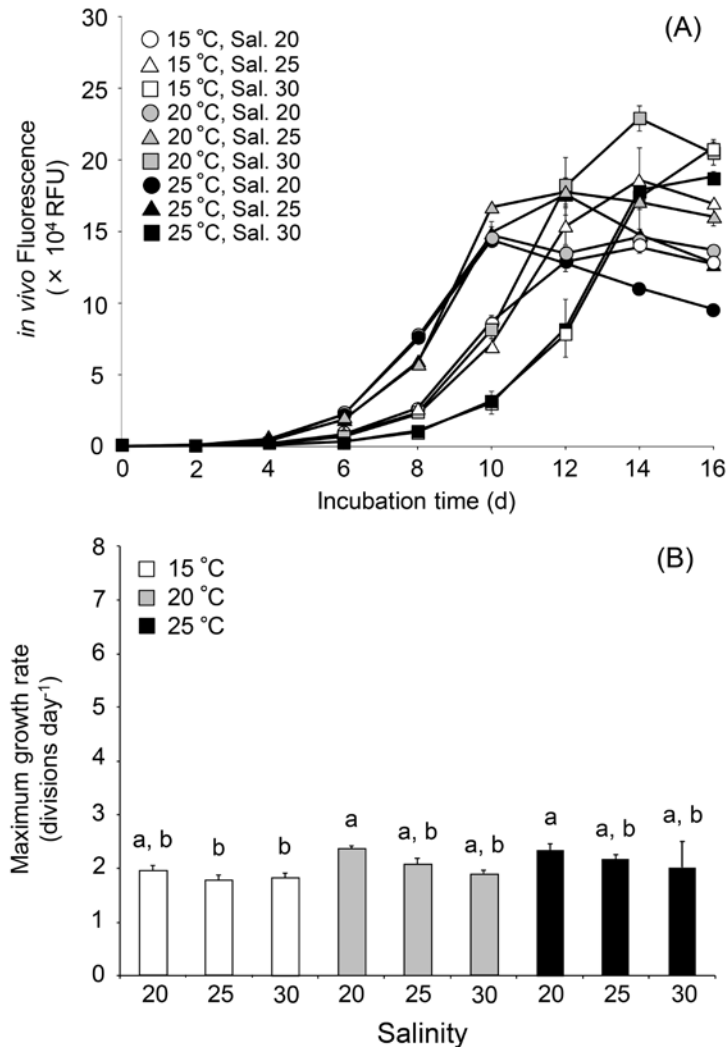


Fig. 6. The growth characteristics of the haptophyte *Pavlova lutheri* under the various growth conditions. (A) *in vivo* fluorescence (relative fluorescence unit, RFU) of *P. lutheri* under the various growth conditions. (B) Maximum growth rates of *P. lutheri* under the various growth conditions. Data are means \pm SD of triplicate measurements. Bars with different lowercase letters are significantly different at $P < 0.05$ (one-way ANOVA followed by Tukey's HSD post hoc test).

分条件下で *in vivo* クロロフィル蛍光値の極大値は若干低い傾向にあったが、20°C 及び塩分 30 の試験区を除いて最大増殖速度はほとんど変動しなかった (Fig. 1B, Table 1)。これに対し、既存の餌料種 6 種の最大増殖速度は高水温ほど高く、低水温ほど低くなる傾向にあった (Figs. 2~7, Table 1)。なお、*Eutreptiella* sp. の最大増殖速度が既存の餌料種 6 種より低いのは、各微細藻類の細胞サイズと最大到達密度が異なるためである。例えば、細胞サイズが 10 μm 未満で最大増殖速度が 3.00 divisions day⁻¹ を超える *C. neogracile* は、4~6 $\times 10^6$ cells mL⁻¹ に達することがほとんどであり、培養条件によって 10⁷ cells mL⁻¹ に達する場合もある。これに対し、渦鞭毛藻 *Akashiwo sanguinea*

(細胞サイズ 50~80 μm)¹¹⁾, *Gyrodinium instriatum* (細胞サイズ 40~70 μm)¹²⁾, *Cochlodinium polykrikoides* (細胞サイズ 30~40 μm)¹³⁾, ラフィド藻 *Chattonella antiqua* (細胞サイズ 50~130 μm)¹⁴⁾ 及び *C. marina* (細胞サイズ 30~50 μm)¹⁴⁾ の最大到達密度が 10⁵ cells mL⁻¹ に達することはほとんどなく、最大増殖速度は 0.59~1.13 divisions day⁻¹ 程度であることが報告されている。文献により培養条件がそれぞれ異なるために最大増殖速度の報告値を単純に比較することはできないが、少なくとも *Eutreptiella* sp. は類似の細胞サイズを有する鞭毛藻類と比べて最大到達密度 (3 $\times 10^5$ cells mL⁻¹) と最大増殖速度が高い傾向にあった (Fig. 1B)。このように、*Eutreptiella* sp. と既存の

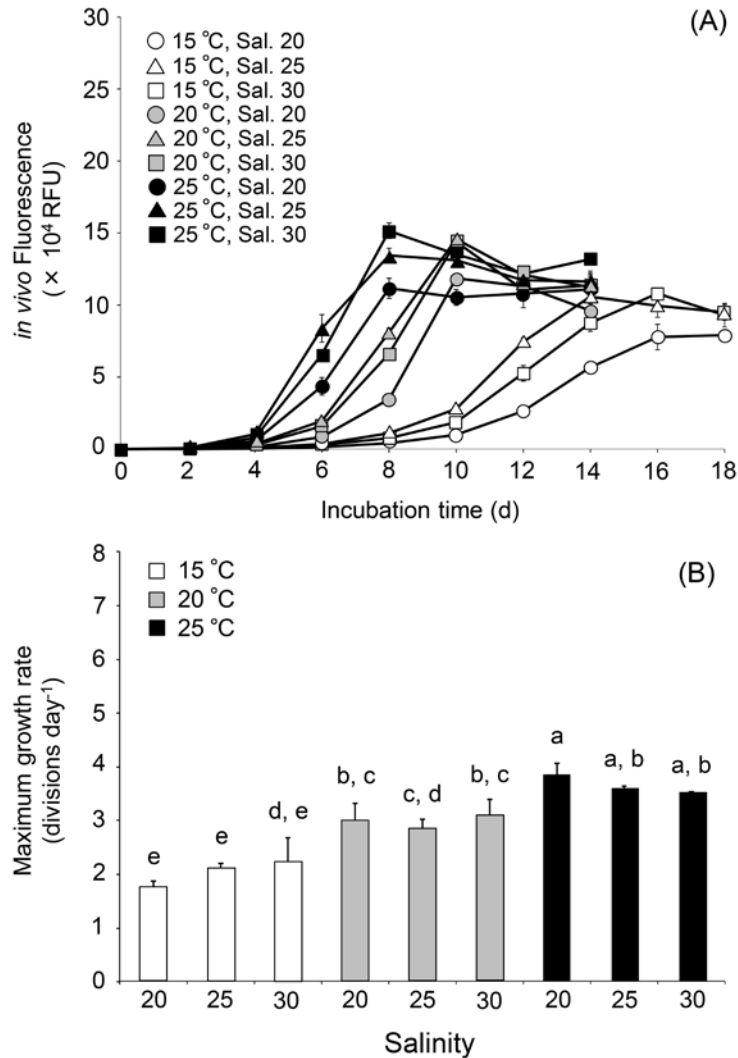


Fig. 7. The growth characteristics of the haptophyte *Isocrysis galbana* under the various growth conditions. (A) *in vivo* fluorescence (relative fluorescence unit, RFU) of *I. galbana* under the various growth conditions. (B) Maximum growth rates of *I. galbana* under the various growth conditions. Data are means \pm SD of triplicate measurements. Bars with different lowercase letters are significantly different at $P < 0.05$ (one-way ANOVA followed by Tukey's HSD post hoc test).

餌料種は細胞サイズが大きく異なるため、餌料種としての有用性を判定するためには、増殖速度の比較だけでは不十分である。今後、様々な培養条件における各微細藻類の最大到達密度（最大収量）について、詳細に調べる必要がある。一方、*Eutreptiella* sp. の細胞サイズの大きさは、屋外大量培養の安定化に寄与できる可能性がある。上述したように、既存の餌料用微細藻類は細胞サイズが小さいため、原生動物である繊毛虫類に捕食されやすく、捕食生物の増加が餌料用微細藻類の計画生産を困難にしている²⁾。Table 1 に示すように、細胞サイズの大きな *Eutreptiella* sp. は、繊毛虫に捕食されにくいと考えられ、捕食圧の少ない安定した屋外での大量培養を実現できる可能性がある

る。このように、*Eutreptiella* sp. は低温条件下で良好に増殖するという既存の餌料用微細藻類にない増殖特性を有しており、晩秋から早春の低水温環境下における安定した屋外大量培養が実現可能な微細藻類として期待される。

初期餌料生物に求められる条件のひとつとして、適切な大きさであるという条件がある¹⁾。一般的に、既存の餌料種の細胞サイズは 5~15 μm 程度であると言われており²⁾、本研究に用いた既存の餌料種 6 種の細胞サイズは 10 μm 未満である (Table 1)。これに対し、*Eutreptiella* sp. の細胞サイズは、ユーグレナ運動による断続的な形態の変化はあるものの 30~50 μm 程度である (Table 1)。このことから、*Eutreptiella* sp. は二枚貝などの飼育対象生物のサ

Table 1 Growth characteristics and cell size of *Eutreptiella* sp. and six diet microalgae

Test species	Optimal water temperature (°C)	Cell size (µm)
Euglenophyte		
<i>Eutreptiella</i> sp.	15	30–50
Diet microalgae		
<i>Chaetoceros neogracile</i>	25	4–8
<i>C. muelleri</i>	25	4–8
<i>Thalassiosira</i> sp.	25	4–8
<i>T. pseudonana</i>	25	4–8
<i>Pavlova lutheri</i>	20	4–6
<i>Isochrysis galbana</i>	25	4–6

イズによっては摂餌できない可能性もあるため、飼育対象生物の成長段階ごとに餌料価値を評価する必要がある。一方、*Eutreptiella* sp. の細胞サイズが既存の餌料用微細藻類より大きなことが、二枚貝類の種苗生産における餌料供給問題の解決に繋がる可能性がある。例えば、水産有用種であるアサリの種苗生産は、四季の水温変化に伴い成長・成熟する天然アサリ¹⁵⁾ に準じて進められている。つまり、種苗生産の機会、北海道で夏季に1回、東京湾以南で春季と秋季の年2回存在するが、西日本では秋季に種苗生産されることが多い。種苗生産では室内で培養した微細藻類を給餌し、浮遊幼生期を経て着底稚貝の殻長が2 mm程度に達するまで陸上水槽で飼育される¹⁶⁾。その後、天然海水に含まれる微細藻類や粗放培養した微細藻類を併用して給餌することにより、放流サイズである殻長5~10 mmまで中間育成が行われる¹⁶⁾。アサリの成長に伴い飼育方法が変わる様に、餌料となる微細藻類もアサリの成長に合わせて数種が使い分けられている。浮遊幼生の飼育においては、*N. oculata* や *P. lutheri* 等が好適な餌料として確立されている^{16, 17)}。その後、殻長が0.25 mm程度に達して着底したアサリ稚貝には、*C. neogracile* や *P. lutheri* 等が給餌される。しかし、殻長が1 mmに達する頃から、アサリ稚貝の摂餌量が急激に増加するため、冬季に屋外での大量培養が困難である *C. neogracile* 等の既存の餌料種では採算に見合った餌料供給が困難となり、種苗生産の長期化や生残率の低下を招いている。また、魚類の仔魚は体長に応じて口のサイズも大きくなり、摂餌行動や消化吸収

機能が発達するため、成長に応じてサイズの大きな餌を捕食するようになることが知られている¹⁸⁾。このため、二枚貝類においても、成長に応じて適切な餌料サイズや栄養要求が変化している可能性がある。したがって、本研究によって低温条件下で良好に増殖することが明らかとなった海産ミドリムシ類 *Eutreptiella* sp. は、アサリをはじめとする冬季の種苗生産や殻長の大きな種苗生産後期の稚貝に対する餌料供給の問題を解決し得る有用な餌料候補種であると考えられる。

今後、形態学¹⁹⁾、プロピオンカーミン染色によるピレノイド・センターの識別²⁰⁾及び遺伝学的手法により *Eutreptiella* sp. の種同定を進めるとともに、屋外での大量培養を視野に入れた幅広い環境条件における増殖特性を明らかにする必要がある。また、種々の成分分析や二枚貝稚貝等を用いた給餌試験を実施することにより、*Eutreptiella* sp. の餌料価値を評価する必要がある。

謝 辞

本研究の実験材料である、珪藻 *Chaetoceros neogracile*、ハプト藻 *Pavlova lutheri* 及び *Isochrysis galbana* の培養株をご恵与頂きました山口県水産研究センター内海研究部の各位に心から感謝申し上げます。また、本論文をご審査いただきました編集委員並びに審査員の先生方に心から感謝申し上げます。

引用文献

- 1) 秋山信彦: 2 章 水族の摂餌生態. 杉田治男 (編), 養殖の餌と水-陰の主役たち. 恒星社厚生閣, 東京, 16-39 (2008)
- 2) 岡内正典: 3 章 微細藻類. 杉田治男 (編), 養殖の餌と水-陰の主役たち. 恒星社厚生閣, 東京, 40-58 (2008)
- 3) 斎藤 実, 種田保穂, 高野くみ子: 海産ユーグレナ *Eutreptiella gymnastica* について. 横浜国立大学教育学部理科教育実習施設研究報告, 1, 9-17 (1983)
- 4) 洲崎敏伸: ユーグレナ運動. 原生動物学雑誌, 37, 169-190 (2004)
- 5) 嵐田 亮: 微細藻類ユーグレナの特徴と食品・環境分野への応用. 光合成研究, 22, 33-38 (2012)
- 6) 林 雅弘, 戸田享次, 米司 隆, 佐藤 修, 北岡正三郎: ユーグレナ *Euglena gracilis* による生物餌料の栄養強化とマダイ仔魚に対する餌料価値. 日本水産学会誌, 59, 1051-1058 (1993)
- 7) 岩谷芳自, 渥美正廣, 倉有里恵, 佐々木博子: カマキリの種苗生産におけるシオミズツボワムシの高度不飽和脂肪酸強化の効果について. 水産増養殖, 51, 109-115 (2003)
- 8) Yamasaki Y, Nagasoe S, Matsubara T, Shikata T, Shimasaki Y, Oshima Y, Honjo T: Allelopathic interactions between the bacillariophyte *Skeletonema costatum* and the raphidophyte *Heterosigma akashiwo*. *Mar Ecol Prog Ser*, 339, 83-92 (2007)
- 9) Bendif EM, Probert I, Hervé A, Billard C, Goux D, Lelong C, Cadoret JP, Véron B: Integrative Taxonomy of the Pavlovophyceae (Haptophyta): A Reassessment. *Protist*, 162, 738-761 (2011)
- 10) Brand LE, Guillard RRL, Murphy LS: A method for the rapid and precise determination of acclimated phytoplankton reproduction rates. *J Plankton Res*, 3, 193-201 (1981)
- 11) Matsubara T, Nagasoe S, Yamasaki Y, Shikata T, Shimasaki Y, Oshima Y, Honjo T: Effects of temperature, salinity, and irradiance on the growth of the dinoflagellate *Akashiwo sanguinea*. *J Exp Mar Biol Ecol*, 342, 226-230 (2007)
- 12) Nagasoe S, Kim DI, Shimasaki Y, Oshima Y, Yamaguchi M, Honjo T: Effects of temperature, salinity, and irradiance on the growth of the red tide dinoflagellate *Gyrodinium instriatum* Freudenthal et Lee. *Harmful Algae*, 5, 20-25 (2006)
- 13) Kim DI, Matsuyama Y, Nagasoe S, Yamaguchi M, Yoon YH, Oshima Y, Imada N, Honjo T: Effects of temperature, salinity, and irradiance on the growth of the harmful red tide dinoflagellate *Cochlodinium polykrikoides* Margalef (Dinophyceae). *J Plankton Res*, 26, 61-66 (2004)
- 14) Yamaguchi M, Imai I, Honjo T: Effects of temperature, salinity, and irradiance on the growth of the noxious red tide flagellate *Chattonella antiqua* and *C. marina* (Raphidophyceae). *Nippon Suisan Gakk*, 57, 1277-1284 (1991) (in Japanese, with English abstract)
- 15) 伊藤 博: アサリとはどんな生き物か: アサリの生態, および漁業生産の推移. 日本ベントス学会誌, 57, 134-138 (2002)
- 16) 上妻智行: アサリ種苗生産における採卵および幼生飼育技術. 福岡県水産海洋技術センター研究報告, 2, 67-77 (1994)
- 17) 立石 健, 井手尾寛, 岸岡正伸: 山口県におけるアサリ人工種苗生産と中間育成. 水産工学, 33, 219-224 (1997)
- 18) 萩原篤志: 4 章 仔魚の餌料生物としての動物プランクトン. 杉田治男 (編), 養殖の餌と水-陰の主役たち. 恒星社厚生閣, 東京, 59-99 (2008)
- 19) 加藤季夫: 関東沿岸水域から得られたミドリムシ藻 *Eutreptiella* の 3 種について. *Jpn J Phycol*, 41, 47-51 (1993)
- 20) 加藤季夫: プロピオンカーミン染色によるピレノイド・センターの 2 つの型の識別. *Jpn J Phycol*, 40, 287-288 (1992)