

海産ミドリムシ類 *Eutreptiella eupharyngea* の 低水温環境下における屋外大量培養の試み

倉谷京介^{1,2}, 石井慶太^{1,3}, 山崎康裕^{4†}

An attempt at the outdoor mass-cultivation of a marine euglenophyte *Eutreptiella eupharyngea* during winter

Kyosuke Kuraya^{1,2}, Keita Ishii^{1,3} and Yasuhiro Yamasaki^{4†}

Abstract: To ensure the stable supply of the euglenophyte *Eutreptiella eupharyngea* in the seed production of bivalves during the winter, we evaluated the growth potential of *E. eupharyngea* under low water temperatures through laboratory and outdoor experiments. In laboratory experiments, no significant difference was found in the maximum yield of *E. eupharyngea* between water temperatures of 10 and 20°C, whereas the maximum yield of the diatom *Chaetoceros neogracile* known as a common diet alga for the seed production of bivalves significantly decreased at 10°C compared with 20°C. In an outdoor experiment on a 150-L scale at a salinity of 25, furthermore, *E. eupharyngea* grew well in mid-winter, and reached the maximum cell density of 3.7×10^5 cells mL⁻¹. During the outdoor experiment, water temperatures ranged from 0.5 to 23.7°C, with a mean of 10.7°C. Although the water temperature in the mass-culture tank fluctuated significantly with the weather and day or night, *E. eupharyngea* maintained more than 2.2×10^5 cells mL⁻¹ for 12 days. Therefore, *E. eupharyngea* may contribute to the stable supply of the feed throughout seed production of bivalves in late fall and spring.

Key words: diet microalgae, *Eutreptiella eupharyngea*, growth characteristics, massculture, seed production of bivalves

緒 言

水圏の主要な一次生産者である微細藻類のいくつかの種は、二枚貝類をはじめとする海産無脊椎動物の種苗生産における重要な初期餌料生物としても広く知られている。餌料としての微細藻類に求められる条件には、適切な大きさ、

捕捉しやすい形状、消化・吸収効率や幼生・稚貝が十分に

成長するために必要な栄養素の豊富さ、および大量生産の容易さ等が挙げられる¹⁾。しかしながら、現在の二枚貝類の種苗生産に用いられる微細藻類種のうち、二枚貝類稚貝への高い餌料効果と増殖能 (増殖速度や培養の安定性) の両方を備えた餌料種はいまだ確立されていない。例えば、真正眼点藻の *Nannochloropsis oculata* は増殖率が高く、屋外での大量培養も可能であるが、介類 (貝類に加え、甲殻

2025年10月7日受付; 2025年12月2日受理 2026年1月30日発行 (Received 7 October 2025; Accepted 2 December 2025; Published 30 January 2026)

¹水産大学校水産学研究科学生 (Student of Graduate School of Fisheries Science, National Fisheries University)

²現所属: 地方独立行政法人 北海道立総合研究機構 さけます・内水面水産試験場 道東センター (present address: Doto Center, Salmon and Freshwater Fisheries Research Institute, Hokkaido Research Organization)

³現所属: 国立研究開発法人 水産研究・教育機構 水産技術研究所養殖部門まぐろ養殖部 (present address: Tuna Aquaculture Division, Aquaculture Research Department, Fisheries Technology Institute, Japan Fisheries Research and Education Agency)

⁴水産大学校生物生産学科 (Department of Applied Aquabiology, National Fisheries University)

†責任著者 (corresponding author): yamasaky@fish-u.ac.jp

類も含む) 幼生の餌料としての評価は低い²⁾。一方、ハプト藻の *Diacronema lutheri* (syn. *Pavlova lutheri*) は栄養素が豊富で、介類幼生の餌料として優れているものの、培養コストや 25℃以上で起こる増殖率の低下などの理由で屋外での大量培養は困難である²⁾。このため、現在の二枚貝類の種苗生産の現場では、培養が比較的容易で栄養素も豊富な *Chaetoceros neogracile* などの珪藻が広く利用されており、*N. oculata* や *D. lutheri* は補助的に使用されている。ただし、汎用されている *C. neogracile* でさえ夏場の高水温期や冬場の低水温期には培養不良が起りやすいため、屋外より生産コストのかかる温度や光条件を管理された屋内で培養されることが多い³⁾。このように、二枚貝類の種苗生産に使用されている既存の微細藻類には長所と短所があり、屋外で大量培養が容易であり、かつ幼生・稚貝の成長に必要な栄養素が豊富な種は見出されていない。

二枚貝類の種苗生産では、稚貝の成長に伴う摂餌量の急増^{4,5)} に対応するため、餌料用微細藻類の安定的な供給が必要不可欠である。また、二枚貝類の種苗価格は安価な場合が多く、増養殖の事業化には餌料生産コストを抑える必要がある³⁾。よって近年は、屋外大量培養を低コストで実現するためのさまざまな研究が行われている^{6,7)}。現段階では、アサリやミルキイ等の種苗生産が行われる冬季に既存餌料種の培養成績を高めるためには、ヒーターやナトリウムランプなどの使用による加温が必要である^{8,9)}。よって、冬季の餌料生産コストの低減を図るためには、それら加温機を必要とせず、低水温環境下でも屋外で大量培養可能な新規餌料種の開発が必要である。

近年、Yamasaki et al.¹⁰⁾ は 50 mL の培養規模で海産ミドリムシ類 *Eutreptiella eupharyngea* の増殖特性試験を行い、本種が水温 10-25℃、塩分 20-30 の範囲で良好に増殖することを報告している。また、30 L 容透明プラスチック水槽を用いた屋外培養試験の結果、*E. eupharyngea* は 1 日の平均水温が 10.1℃ (夜間の最低水温: 4.0℃、日中の最高水温: 20.3℃) という水温変動の大きな条件下においても、2 L 容ガラス容器にて 20℃で室内培養した場合 ($2.0\text{-}3.0 \times 10^5$ cells mL⁻¹) と同等の細胞密度 (3.2×10^5 cells mL⁻¹) にまで増殖したことが報告されている。さらに、アサリ稚貝を用いた給餌試験の結果、*E. eupharyngea* 給餌区における殻長 1.5 mm 以上のアサリ稚貝は、既存の餌料種である *C. neogracile* の約半分の給餌量 (乾燥重量換算) で *C. neogracile* 給餌区と同等の成長を示したことが確認されている。この結果は、*E. eupharyngea* のアラキドン酸、エイコサペンタエン酸およびドコサヘキサエン酸等の高度不飽和脂肪酸類

の含有率の高さに起因することが示唆されている。このように、二枚貝類稚貝への高い餌料効果を有し、低水温環境下でも良好に増殖する *E. eupharyngea* は、二枚貝類の種苗生産現場において餌料供給が困難となる冬季の新規餌料種としての活用が期待できる。

これまでに、著者らは 500 L 容 FRP 水槽 (丸型、内寸直径 1,000 mm、内寸高さ 750 mm) を用いた *E. eupharyngea* の冬季屋外大量培養を試みたものの、最大細胞密度はわずか 13.3×10^3 cells mL⁻¹ であり、定常期は短く急速に衰退した (未発表)。中島ら¹¹⁾ は、*D. lutheri* を 100 L 容ポリカーボネート水槽で屋外培養した結果、光を受ける時間が日中に限られたこと等の理由から、*D. lutheri* の増殖が室内培養時の増殖と比べて低下したと報告している。また、中田¹²⁾ は、*Eutreptia* sp.を用いた屋外増殖試験を行い、晴天時に比べて雨天時に *Eutreptia* sp.の増殖速度が低下したことを報告している。このことから、屋外培養では照度が微細藻類の増殖に大きく影響すると考えられる。予備研究で使用した 500 L 容円形水槽は側面と底面が光を通さない材質であったため、日射を受ける面が水面に限られ照度が不足していた可能性がある。近年、加藤ら¹³⁾ は *Chlorella sorokiniana* の屋外大量培養について検討し、水深 200 mm のレースウェイ型培養施設を使うことで 400 m² 規模の屋外培養が可能であることを報告している。これらの先行研究から、*E. eupharyngea* の場合も培養水槽の水深を浅くし、水量当たりの日射量を十分に確保することにより、屋外大量培養時の増殖が改善できる可能性がある。そこで本研究では、冬季の二枚貝類種苗生産の現場における *E. eupharyngea* の安定供給を最終目標として、冬季の屋外において、十分な日射量を確保可能な水槽を用いた 150 L 規模の *E. eupharyngea* の大量培養実証試験を試みた。また、屋外大量培養試験に先立ち、屋外大量培養時の最大到達密度や最大増殖速度の到達目標の参考値を得るために、低水温環境下における 2 L 規模での室内培養試験を実施した。

材料と方法

供試生物と培地の調製

本研究では、以下の微細藻類 2 種を試験に用いた。海産ミドリムシ類 *E. eupharyngea* は、冬季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当研究室で単離した株である。また、珪藻 *C. neogracile* 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る。

培地を調製するために用いた濾過海水は、以下の手順で調製した。2本のプラスチックハウジング (IPA, アドバンテック社製) を接続し、ひとつ目のプラスチックハウジングに孔径約 0.5 μm のカートリッジフィルター (TCW-05N-PPS, アドバンテック社製) を装着した。ふたつ目のプラスチックハウジングには、0.3 μm 以上の粒子を 99.9% 補足し、かつ、0.2 μm 以上 0.3 μm 未満の粒子を 99% 補足できるカートリッジフィルター (TCYS-NS-S1FE, アドバンテック社製) を装着した。これらの濾過装置を用いて本校の裏海から揚水している天然海水を濾過した。その後、水温・塩分計 (EC 300, ワイエスアイ・ナノテック社製) を用いて塩分を随時確認しながらイオン交換水を濾過海水に添加し、塩分を 25 もしくは 30 に調整した。微細藻類の培養には、前述した濾過海水をベース海水として、種苗生産の現場で汎用されている市販の藻類培養液 (KW 21, 第一製網社製) で調製した培地 (以下、KW 21 培地) を用いた。なお、増殖にケイ酸塩を要求する *C. neogracile* は、KW 21 培地に $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (終濃度: 100 μM) を追加した培地で培養した。

両種の保存株は 100 mL 容三角フラスコ (総液量 50 mL) を用い、対数増殖後期から定常期前期に植え継ぎを行うことにより維持した。培養には温度勾配恒温器 (TG-180CCFL-3LE, 日本医化器械製作所社製) を用い、培養条件は 20°C, 塩分 30, 光量子束密度 70 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, および 12 時間ごとの明暗周期とした。

低水温環境下における *Eutreptiella eupharyngea* の増殖ポテンシャルの予備検討

これまでに行われた 50 mL 規模での培養試験によると、*E. eupharyngea* の最大到達密度は $2.5 \times 10^5 \text{ cells mL}^{-1}$ (水温 20°C, 塩分 20) であり、水温 10°C, 塩分 25 で培養したときの最大到達密度は $1.8 \times 10^5 \text{ cells mL}^{-1}$ であった¹⁰⁾。一方、30 L 容透明プラスチック水槽を用いた屋外培養試験では $3.2 \times 10^5 \text{ cells mL}^{-1}$ (1 日の平均水温 10.1°C) にまで増殖したことが報告されている¹⁰⁾。よって、先行研究で行われた 50 mL 規模での培養試験結果では、低水温環境下で屋外大量培養した時の *E. eupharyngea* の増殖能を過小評価する可能性がある。これに対して、2 L 容ガラス容器で室内培養 (20°C) した場合は 30 L 容透明プラスチック水槽を用いた屋外培養試験と同等の密度まで増殖することが確認されているため¹⁰⁾、本試験では冬季における屋外大量培養時の最大到達密度や最大増殖速度の到達目標の参考値を得るために、低水温環境下における 2 L 規模での室内培

養試験を実施した。試験温度は、和西¹⁴⁾ が報告している山口県秋穂湾の冬季における表面水温を参考に 10°C とし、同時に餌料用微細藻類の培養条件として一般的であり、先行研究¹⁰⁾ との比較も可能な 20°C における増殖特性も調べた。また、*E. eupharyngea* の増殖特性と比較するために、二枚貝類種苗生産の現場で汎用されている *C. neogracile* も同一条件で培養試験を行った。なお、培養には照明付きインキュベーター (LIB-301, AGC テクノグラス社製) を用い、培養条件は温度 10°C もしくは 20°C, 塩分 30, 光量子束密度 80 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, および 12 時間ごとの明暗周期とした。

まず、0.5 L 容ガラスフラスコへ 0.49 L の KW 21 培地を添加した後、継代培養 (前項参照) した保存株の細胞浮遊液 (定常期前期) を初期細胞密度が $1 \times 10^3 \text{ cells mL}^{-1}$ となるよう希釈調整して 0.01 L 添加し、総液量 0.5 L にて *E. eupharyngea* と *C. neogracile* をそれぞれ 20°C で前培養した。次に、2 L 容ガラス容器へ 1.8 L の KW 21 培地を添加した後、初期細胞密度が $1 \times 10^5 \text{ cells mL}^{-1}$ となるよう前培養した両種の細胞浮遊液 (定常期前期) を 0.2 L 添加し (総液量は 2 L), 20°C および常時微通気 (1.5 L min^{-1}) にて培養した ($n = 3$)。

一方、前述と同様の手順で前培養から 2 L 容ガラス容器まで両種の培養スケールを拡大した後、20°C から段階的 (3 日ごとに 5°C 降温) に低水温環境 (10°C) へと移行し、両種を 10°C にて 4 日間馴致した。その後、KW 21 培地の入った 2 L 容ガラス容器に初期細胞密度が $1 \times 10^5 \text{ cells mL}^{-1}$ となるよう馴致培養した両種の細胞を接種し (総液量は 2 L), 10°C および常時微通気 (1.5 L min^{-1}) にて培養した ($n = 3$)。

10°C および 20°C 条件下で培養を開始した後、2 日ごとに各ガラス容器から採取した 1 mL の細胞浮遊液に含まれる *E. eupharyngea* と *C. neogracile* の細胞数を光学顕微鏡下でそれぞれ計数し、両種の細胞密度を算出した。また、10°C および 20°C 条件下における両種の最大増殖速度は、Brand et al.¹⁵⁾ の方法に従い、培養試験で得られた両種の連続した 3 点の細胞密度から算出した。

Eutreptiella eupharyngea の屋外培養試験

水深を浅くし、水量当たりの日射量を十分に確保することが可能であると考えられる 188 L 容水槽 (タフブネ 200, 三甲社製) を用いた *E. eupharyngea* の屋外大量培養試験は、以下の手順で実施した。なお、本試験では、Yamasaki et al.¹⁰⁾ の報告に基づき、塩分 25 の KW 21 培地を用いた。まず、2 L 容ガラス容器へ 1.8 L の KW 21 培地を添加した後、初期細胞密度が $1 \times 10^5 \text{ cells mL}^{-1}$ と

なるよう 20°C で前培養した細胞浮遊液を 0.2 L 添加し (総液量は 2 L), 20°C および常時微通気 (1.5 L min⁻¹) にて培養した。その他の培養条件 (インキュベーターや明暗周期など) は, 前項と同様である。

2 L 容ガラス容器で 12 日間培養した後, Yamasaki et al.¹⁰⁾ の方法に従い *E. eupharyngea* の培養スケールを 25 L に拡大した。まず, 30 L 容透明プラスチック水槽に 24.5 L の KW 21 培地を添加した後, 初期細胞密度が 1 × 10⁴ cells mL⁻¹ となるよう 2 L 容ガラス容器で前培養した *E. eupharyngea* の細胞浮遊液を 0.5 L 添加し, 総液量 25 L にて *E. eupharyngea* の屋外培養を開始した (2020 年 1 月 21 日, 14 時, *E. eupharyngea* 添加時の培養液の水温は約 18°C)。また, 30 L 容透明プラスチック水槽は水産大学校二学科共用実験棟 2 階の十分な日照のある屋外スペースに設置し, 常時微通気 (1.5 L min⁻¹) 条件にて培養した。なお, 夜間および雨天時は, 水槽内への雨水や枯れ葉等の混入を防ぐため, 全ての水槽に鉄格子の入ったビニールシートを被せて保護した。

30 L 容透明プラスチック水槽で 10 日間培養した後, *E. eupharyngea* の培養スケールを 150 L に拡大した (n = 1)。

まず, 188 L 容水槽に 125 L の KW 21 培地を添加した後, 初期細胞密度が 2.5 × 10⁴ cells mL⁻¹ となるよう 30 L 容透明プラスチック水槽で前培養した *E. eupharyngea* の細胞浮遊液を 25 L 添加し, 総液量 150 L にて *E. eupharyngea* の屋外大量培養を開始した。188 L 容水槽は 30 L 容透明プラスチック水槽の設置場所と同じ水産大学校二学科共用実験棟 2 階の十分な日照のある屋外スペースに設置し, 常時微通気 (1.5 L min⁻¹, エアレーションは水槽内に 4 箇所設置) 条件にて培養した。また, 試験期間における水槽内の水温と塩分の変化を連続的に観測するために, 水槽内にワイパー式小型メモリー水温塩分計 (ACTW-CMP, JFE アドバンテック社製) を設置した (Fig. 1A)。なお, 夜間および雨天時は, 雨水の水槽内への混入を防ぐため, 水槽に波板を固定することにより保護した (Fig. 1B)。

試験開始直後から毎日, 水槽内の無作為に選んだ 5 点から 1 mL ずつ細胞浮遊液を採水し, 光学顕微鏡下で細胞数を計数して試験開始日及び試験期間中の *E. eupharyngea* の細胞密度を算出した。試験の終了後, ワイパー式小型メモリー水温塩分計を回収し, データ解析ソフトウェア

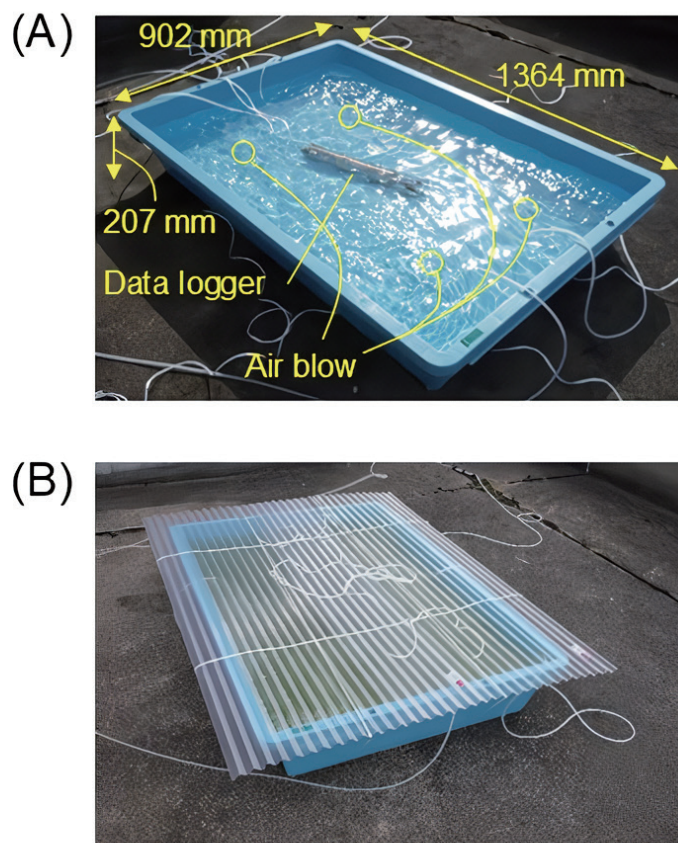


Fig. 1. Photographs of a culture tank for using the outdoor mass-culture experiments of *Eutreptiella eupharyngea* (A), and when a tank covered with a panel to prevent influx of rain water (B).

(Compact-CTW, JFE アドバンテック社製) を用いて 1 時間ごとに測定された水槽内の水温と塩分のデータを抽出した。また、気象庁のホームページ (URL: <http://www.data.jma.go.jp/stats/etrn/index.php>) から、試験実施場所である下関市の気温、日照時間および降水量のデータを取得し、試験期間内における気象状況をまとめた。

本研究で実施した 2 通りの水温条件における両種の最大増殖速度および最大収量は、2 標本 *t* 検定により有意差検定を実施した ($p < 0.05$)。なお、統計解析には統計解析ソフトウェア (IBM SPSS Statistics 19, IBM 社製) を用いた。

統計解析

結果

低水温環境下における *E. eupharyngea* と *C. neogracile* の増殖特性

2 L 規模の培養試験における *E. eupharyngea* の細胞密度は両水温ともに 12 日後に最大となり、10℃ および 20℃ 区における最大到達密度は、それぞれ 3.6×10^5 cells mL⁻¹ および 4.9×10^5 cells mL⁻¹ であった (Fig. 2A)。また、10℃ 区における最大到達密度は 20℃ 区の 73% 程度であったものの、両試験区間の最大到達密度に有意差は認められなかつ

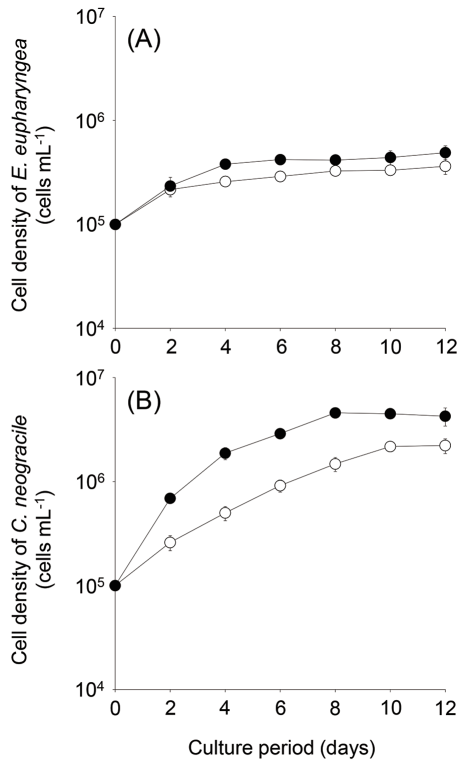


Fig. 2. The growth curves of *Eutreptiella eupharyngea* (A) and *Chaetoceros neogracile* (B) under 10°C (○) and 20°C (●). Data are means ± SD of triplicate measurements.

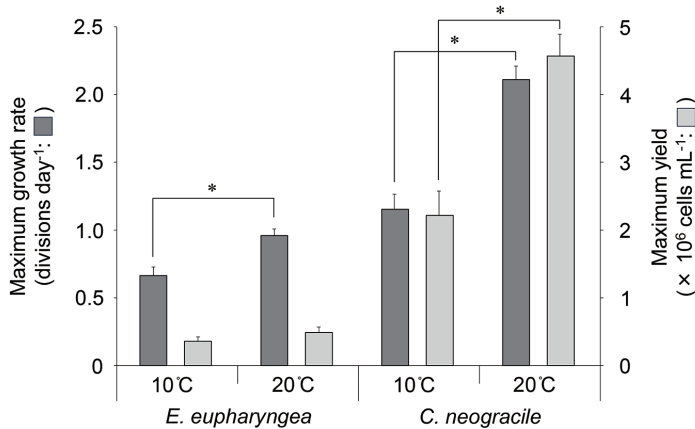


Fig. 3. The maximum growth rate and the maximum yield of *Eutreptiella eupharyngea* and *Chaetoceros neogracile* under 10°C and 20°C. Data are means ± SD of triplicate measurements. Asterisks indicate significant differences at $p < 0.05$ (two sample *t* test).

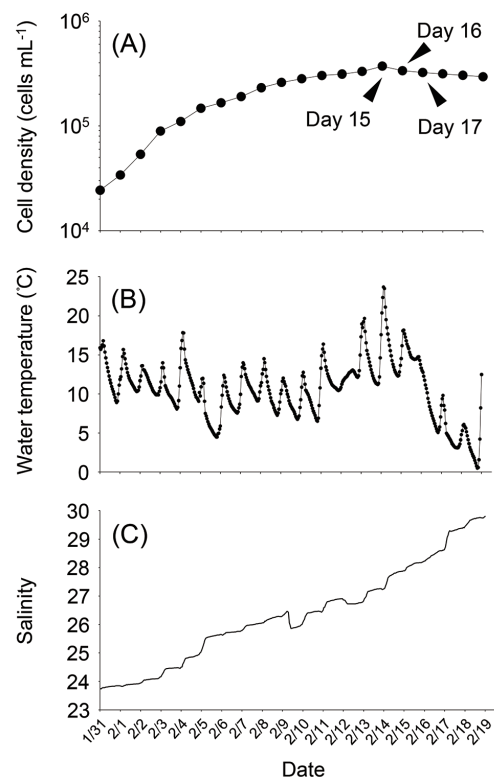


Fig. 4. Changes in *Eutreptiella eupharyngea* cell density (A), fluctuation of water temperature (B) and salinity (C) in the culturing water during the outdoor mass-culture experiment.

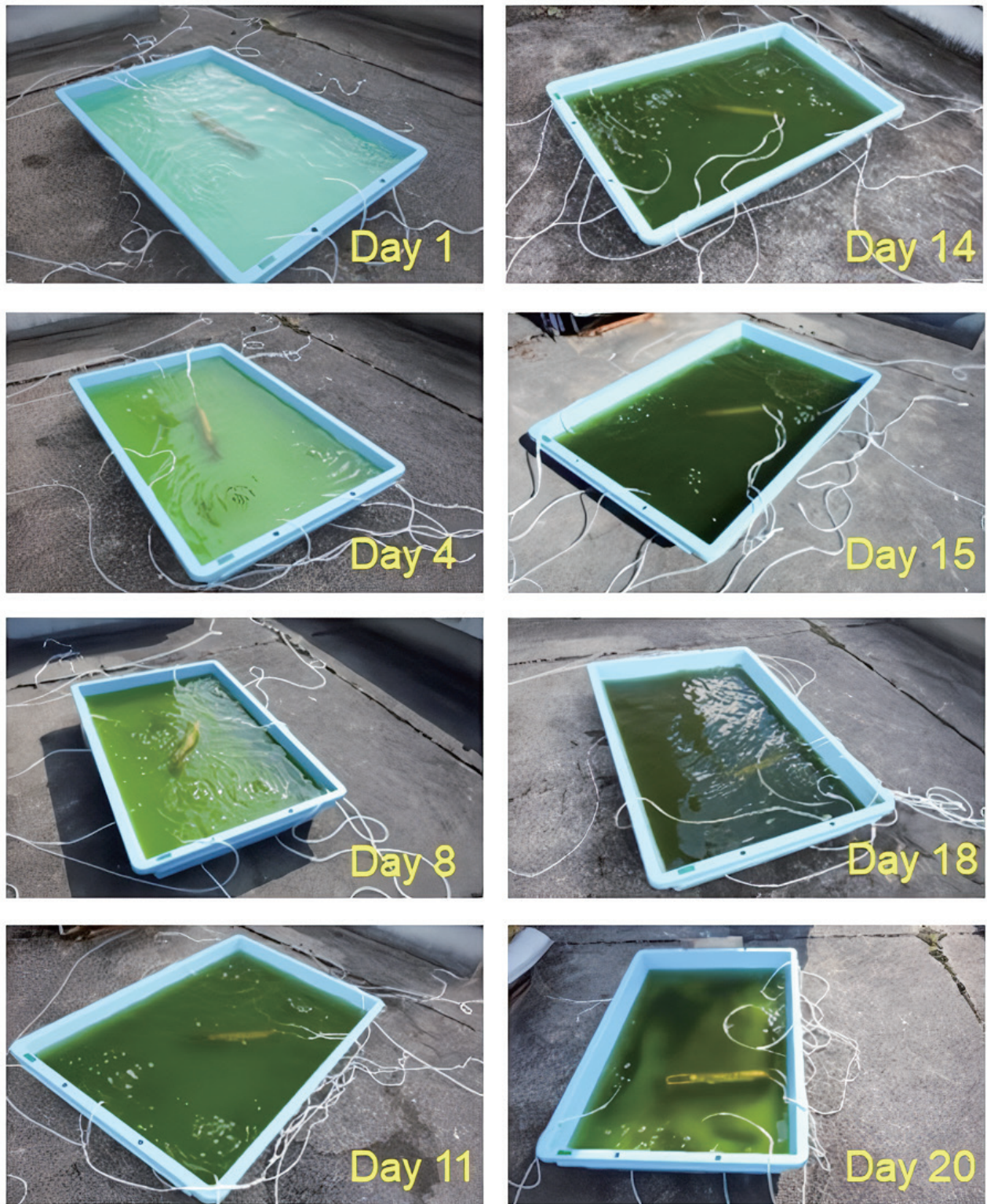


Fig. 5. Photographs of the outdoor mass-culture of *Eutreptiella eupharyngea* from “day 1” to “day 20” during the outdoor mass-culture experiment.

た (Fig. 3)。一方、10°C および 20°C 区における最大増殖速度は、それぞれ 0.7 divisions day⁻¹ および 1.0 divisions day⁻¹ であった。また、10°C 区における最大増殖速度は 20°C 区の 70% 程度であり、両試験区間に有意差が認められた (Fig. 3; $p < 0.05$)。

2 L 規模の培養試験における *C. neogracile* の 10°C および 20°C 区における細胞密度は 12 日後および 8 日後に最大となり、最大到達密度はそれぞれ 2.2×10^6 cells mL⁻¹ および 4.6×10^6 cells mL⁻¹ であった (Fig. 2B)。また、10°C 区における最大到達密度は 20°C 区の 48% 程度にまで減少し、両試験区間の最大到達密度には有意差が認められた (Fig. 3; $p < 0.05$)。一方、10°C および 20°C 区における最大増殖速度は、それぞれ 1.2 divisions day⁻¹ および 2.1 divisions day⁻¹ であった。また、10°C 区における最大増殖速度は 20°C 区の 57% 程度にまで減少し、両試験区間に有意差が認められた (Fig. 3; $p < 0.05$)。

屋外大量培養試験期間における *Eutreptiella eupharyngea* の増殖と環境

屋外大量培養試験の実施期間における *E. eupharyngea* の細胞密度、培養槽内の水温および塩分の経時変化を Fig. 4 に示した。屋外に設置した培養槽において、*E. eupharyngea* は、

培養 15 日目に 2 L 規模の培養 (10°C 区) と同等の最大到達密度 (3.7×10^5 cells mL⁻¹) に達した (Figs. 4A, 5)。その後、培養 16 日目を以降は細胞密度が減少し始め、培養 20 日目 (2.9×10^5 cells mL⁻¹) には急速に衰退が進んで水槽底面に細胞塊の沈殿が確認されるようになった (Fig. 5)。また、*E. eupharyngea* の最大増殖速度は 1.7 divisions day⁻¹ に達した。屋外大量培養試験の実施期間における培養槽内の平均水温は 10.7°C であり、最高水温と最低水温は、それぞれ 23.7°C および 0.5°C であった (Fig. 4B)。また、塩分は培養試験開始時の 23.7 から経時的に上昇を続け、試験終了時には 29.8 に達した (Fig. 4C)。

屋外大量培養試験の実施期間における下関市の気温、日照時間および降水量の推移を Fig. 6 に示した。屋外大量培養試験の実施期間における下関市の日平均気温は 4.0-13.5°C の範囲にあり、日最高気温と日最低気温はそれぞれ 6.0-18.9°C および 0.7-10.6°C の範囲にあった (Fig. 6A)。また、屋外大量培養試験の実施期間における下関市の日照時間の平均値は 3.9 時間であり、日照時間の最長と最短時間はそれぞれ 10.4 時間および 0 時間であった (Fig. 6B)。さらに、屋外大量培養試験の実施期間における下関市の降水量の平均値は 3.2 mm であり、降水量の最大値と最小値は、それぞれ 30 mm および 0 mm であった (Fig. 6B)。

考 察

二枚貝類の種苗生産では、餌料用微細藻類の低コストで安定的な供給が求められており、特に冬季の種苗生産コストを下げるには、低水温環境下でも安定して大量培養可能な新規餌料種の開発が必要である。そこで本研究では、冬季の二枚貝類種苗生産の現場における *E. eupharyngea* の安定供給を最終目標として、冬季の屋外において、十分な日射量を確保可能な水槽を用いた 150 L 規模の *E. eupharyngea* の大量培養実証試験を試みた。

屋外大量培養時の最大到達密度や最大増殖速度の到達目標の参考値を得るために実施した 2 L 規模の室内培養試験の結果、10°C 区における *E. eupharyngea* の最大到達密度 (3.6×10^5 cells mL⁻¹) は 20°C 区の 73% 程度であったものの、両試験区の最大到達密度に有意差は認められなかった (Figs. 2A, 3)。一方、10°C 区における *C. neogracile* の最大到達密度は 20°C 区の 48% 程度 (2.2×10^6 cells mL⁻¹) にまで顕著に低下した (Figs. 2B, 3)。Yamasaki et al.¹⁰ は、1 細胞の *E. eupharyngea* の乾燥重量が、5.4 細胞分の *C. neogracile* の乾燥重量に相当することを報告している。また、*E.*

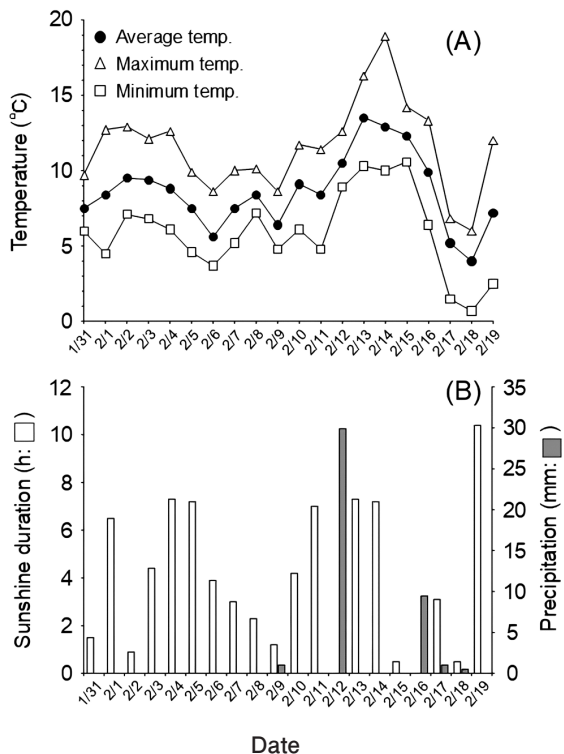


Fig. 6. Fluctuations of temperature (A), sunshine duration and precipitation (B) in Shimonoseki city during the outdoor mass-culture experiment of *Eutreptiella eupharyngea*.

eupharyngea 給餌区における殻長 1.5 mm 以上のアサリ稚貝は, *C. neogracile* の約半分の給餌量 (乾燥重量換算) で *C. neogracile* 給餌区と同等の成長を示すことが観察されている¹⁰⁾。この報告から, アサリ稚貝の餌料を *C. neogracile* から *E. eupharyngea* に代替すると仮定した場合, 必要となる *E. eupharyngea* の細胞密度は *C. neogracile* の 10 分の 1 程度であると試算される。この試算結果を踏まえて 2 L 規模での両種の培養試験結果を比較すると, 低水温環境下における *E. eupharyngea* の餌料生産効率 (単位容積あたりの生産された微細藻類乾燥重量) は *C. neogracile* より圧倒的に高くなると推察された。

そこで, 低水温環境下でも高い餌料生産効率が維持できる *E. eupharyngea* を用いて屋外大量培養試験を実施した結果, *E. eupharyngea* の最大到達密度は本研究の 2L 規模の室内培養試験 (Fig. 2A) や先行研究で実施された 30 L 容透明プラスチック水槽を用いた屋外培養試験と同程度にまで到達した (Fig. 4A)。また, 屋外大量培養試験を実施した期間における最高および最低気温は, それぞれ 18.9°C および 0.7°C であることに加え, 昼夜の気温差も大きく, 雨天で日照時間が 0 時間の日も記録されている (Fig. 6)。このように, 天候の変化に伴い培養水槽内の水温も大きく変動していたものの, 試験最終日を除いて細胞の沈殿も見られず, 高い密度で維持することができた (Figs. 4B, 5)。したがって, 150 L 規模の大量培養においても *E. eupharyngea* の細胞密度を高い状態 (低水温環境下における *C. neogracile* の餌料生産効率を上回る状態) で 12 日間維持できた本培養手法は, 冬季のアサリやミルクイ等の二枚貝類種苗生産の現場における餌料の安定供給体制の構築に大きく寄与できると考えられる。

屋外培養を行った先行研究では, 日照時間の減少により微細藻類の増殖が低調になると報告されており^{11,12,16)}, 照度が微細藻類の増殖に大きく影響すると考えられる。特に, 冬季は日照時間が少ないため (Fig. 6B), 短時間で効率よく日射を受ける必要がある。我々が予備試験として実施した 500 L 規模の屋外大量培養試験では, 日射を受ける面が水面に限られ照度が不足していた可能性があった (未発表)。これに対して, 本研究では培養水槽の水深を浅くし, かつ, 水面の表面積をより広くしたことにより, 予備試験と比べて日射による光が底層まで効率よく到達したと推察された。本研究の成果は, 冬季の屋外で *E. eupharyngea* を安定して大量培養するためには, 水深を浅くし, かつ, 水面の表面積を可能な限り広くすることにより, 照度を高く維持することが極めて重要であることを示すものである。

複数の先行研究において, 培養水中に光を効率よく供給する手法が報告されている。例えば, 兼松・岡内⁹⁾ はナトリウムランプを培養水槽直上に設置して冬季の水温低下を最小限に抑えつつ, 不足しがちな照度を補うことで, *Cheateceros gracilis* の取量を増やすことができると報告している。また, 増田ら¹⁷⁾ は *C. gracilis* の 500 L 規模の培養において, 培養水槽の側面に蛍光灯を複数台設置し, 微細藻類の増殖に伴う光の透過率の変化に応じて照度を調節することで, 培養期間の短縮が可能であることを報告している。さらに, 加藤ら¹³⁾ は水深の浅いレースウェイ型培養施設を用いることで, *C. sorokiniana* の 400 m² 規模の屋外大量培養が可能であると報告している。これらの培養方法は, 培養に必要な照度を確保できるため *E. eupharyngea* の大量培養においても有効であると考えられる。しかしながら, 大型のレースウェイ型培養施設等の導入には高額な設備投資が必要になる。よって, 低コストで大量培養体制を整えるためには, 水中の光量子束密度を実測して大量培養時の *E. eupharyngea* の増殖に必要な照度を明確にしたうえで, 各種種苗生産機関の既存設備 (培養槽や水中専用の LED 照明器具等) を有効活用することが現実的である。

一方, 水面の表面積を広くすることは, 蒸発による塩分の上昇速度を速めることに直結する (Fig. 4C)。実際に, 屋外培養の場合では培養開始時の塩分を 25 と 30 で比較すると, 塩分 30 の方が最大到達密度は低く, かつ, 細胞密度の急減も観察されている¹⁰⁾。この要因として, 環境変化の大きな屋外培養では蒸発に伴って塩分が上昇しやすく, *E. eupharyngea* の増殖至適塩分を超えていた可能性がある。したがって, *E. eupharyngea* を屋外で大量培養する際には, 蒸発による塩分上昇を考慮し, 培養開始時の培地の塩分を 20-25 程度に調整しておく必要がある。

以上の結果より, 水深を浅くし, 光を効率よく供給可能な環境を整えることで, *E. eupharyngea* を冬季の屋外で大量培養することに成功した。今後, *E. eupharyngea* の培養規模の拡大に向けたさらなる研究が必要であるとともに, 屋外大量培養した *E. eupharyngea* を用いた給餌試験や細胞に含有する成分の分析等を実施し, *E. eupharyngea* の二枚貝類稚貝に対する餌料効果を評価する必要がある。

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) 岸岡正伸, 国森拓也: アサリ種苗生産におけるコスト面を考慮した着底期以降の最適投餌量. 山口県水産研究センター研究報告, **10**, 25-29 (2013)
 - 4) 山口県水産振興課: 海鳴りネットワーク・栽培漁業のてびき改訂版 (2012): <https://www.pref.yamaguchi.lg.jp/soshiki/108/21923.html> (2025年10月16日閲覧)
 - 5) 清水泰子, 杉野博之, 植木範行: イタボガキの種苗生産. 岡山県農林水産総合センター水産研究所研究報告, **24**, 44-48 (2009)
 - 6) 岡内正典: 海産魚介類の初期餌料用微細藻類の大量培養技術の開発. 日本水産学会誌, **68**, 625-628 (2002)
 - 7) 佐々木 正: *Chaetoceros calcitrans* の屋外における大量安定培養の試み. 水産増殖, **69**, 55-69 (2021)
 - 8) 山田徹生, 兼松正衛: 冬季における浮遊珪藻*Chaetoceros neogracile* 市販濃縮製品を元株とした低コスト大量培養法. 水産技術, **9**, 1-8 (2017)
 - 9) 兼松正衛, 岡内正典: 低照度ならびに低水温期における浮遊珪藻キートセロス2種の高圧ナトリウム灯による増殖促進効果. 栽培漁業センター技報, **9**, 40-43 (2009)
 - 10) Yamasaki Y, Ishii K, Hikihara R, Ishimaru M, Sato F, Taga S, Kisioka M, Matsunaga S, Shikata T, Abe M, Kato S, Tanaka R, Murase N: Usefulness of the euglenophyte *Eutreptiella eupharyngea* as a new diet alga for clam culture. *Algal Research*, **40**, 101493 (2019)
 - 11) 中島幹二, 奥村裕弥: 人工光利用による餌料用微小藻類 *Pavlova lutheri* の培養器大型化に関する考察. 照明学会誌, **84**, 504-505 (2000)
 - 12) 中田尚宏: 屋外培養におけるミドリムシ藻の増殖速度について. 神奈川県水産試験場研究報告, **6**, 65-68 (1984)
 - 13) 加藤雄大, 中野孝司, Mark S, 田崎雅晴, 黒岩洋一: 中東におけるレースウェイ型培養施設を用いたクロレラの屋外大規模培養試験. 清水建設研究報告, **97**, 133-138 (2019)
 - 14) 和西昭仁: 山口県秋穂湾における水温の長期変動と気温の影響. 山口県水産研究センター研究報告, **6**, 11-18 (2008)
 - 15) Brand LE, Guillard RRL, Murphy LS: A method for the rapid and precise determination of acclimated phytoplankton reproduction rates. *Journal of Plankton Research*, **3**, 193-201 (1981)
 - 16) 兼松正衛, 高橋 誠, 山崎哲男, 桑田 博: 市販の珪藻 *Chaetoceros gracilis* を元株としたバッチ式培養における増殖率の季節変化. 栽培漁業センター技報, **7**, 33-36 (2008)
 - 17) 増田篤稔, 向阪信一, 高橋光男, 蓑島雅志, 加藤元一, 洞口公俊, 村上克介: カキ種苗生産プラントにおける餌料用微細藻類培養の効率化. *Eco-Engineering*, **18**, 131-138 (2006)

海産ミドリムシ類 *Eutreptiella eupharyngea* の 低水温環境下における屋外大量培養の試み

倉谷京介, 石井慶太, 山崎康裕

要旨: 冬季の二枚貝類種苗生産における新規餌料候補種である海産ミドリムシ類 *Eutreptiella eupharyngea* の安定供給体制の構築を目的として, 冬季の屋外において, 十分な日射量を確保可能な水槽を用いた150 L 規模の *E. eupharyngea* の大量培養実証試験を試みた。また, 屋外大量培養時の最大到達密度の到達目標の参考値を得るために, 低水温環境下における2 L 規模での室内培養試験を実施した。2 L 規模での室内培養試験では, 既報の50 mL 規模の培養実験結果と同様に, 10℃区における *C. neogracile* の最大到達密度が20℃区の48%程度にまで顕著に低下した。これに対して, 10℃区における *E. eupharyngea* の最大到達密度 (3.6×10^5 cells mL⁻¹) は20℃区の73%程度であったものの, 両試験区の最大到達密度に有意差は認められなかった。さらに, 塩分25 に調整した培地を用いて実施した150 L 規模の屋外大量培養試験において, *E. eupharyngea* の最大細胞密度は2 L 規模での室内培養と同等の 3.7×10^5 cells mL⁻¹ に到達した。また, 屋外大量培養試験期間中の水温は, 気温の変化に同調して0.5-23.7℃の範囲で変動し, 平均水温は10.7℃であった。このように, 大量培養水槽内の水温は天候や昼夜によって大きく変動したにもかかわらず, *E. eupharyngea* は 2.2×10^5 cells mL⁻¹ 以上の細胞密度を12日間維持した。したがって, *E. eupharyngea* は晩秋から翌年の早春期に行われるアサリなどの二枚貝類種苗生産における餌料の安定供給に寄与する可能性がある。