

# アカウニ稚ウニ期の餌料として 有効な付着珪藻種の探索－Ⅳ

## 付着珪藻 *Navicula ramosissima* 単一種を用いた アカウニ幼生の採苗法の検討

伊東義信・金丸彦一郎・真崎邦彦・伊藤史郎\*

アカウニ稚ウニ期の餌料として優良な付着珪藻 *Navicula ramosissima*<sup>1,2,3)</sup> が見い出されたことによって、良好な稚ウニ飼育結果が得られるようになった。しかし、止水で単一種培養された *Navicula ramosissima* をアカウニ幼生の採苗に使用した場合、その採苗率は、従来の流水式で自然繁殖させた付着珪藻類での採苗率<sup>4)</sup> に比べ著しく低く<sup>1)</sup>、*Navicula ramosissima* を用いた採苗法を確立する必要がでてきた。

*Navicula ramosissima* を単一種繁殖させるためには、従来の流水式で付着珪藻を自然繁殖させる方法<sup>4)</sup> とは異なり、栄養塩を添加して止水で培養される。しかし、前述しているように、この方法で培養した *Navicula ramosissima* を用いてアカウニ幼生を採苗した場合の採苗率は著しく低いが、同じ *Navicula ramosissima* を止水培養した後に流水培養して採苗した場合は、採苗率が若干高くなることが確認されている。一方、流水式で自然繁殖させた付着珪藻類はアカウニ幼生の採苗には効果的に作用する<sup>4)</sup> が、これを、さらに栄養塩を加え、一定期間止水培養してアカウニ幼生を採苗すると、採苗率が低下することも確認されている。したがって、止水培養した *Navicula ramosissima* を用いてアカウニ幼生を採苗した場合に採苗率が低いのは、*Navicula ramosissima* の種の特性によるものではなく、その止水培養法に原因があると推定された。

そこで、実験的に *Navicula ramosissima* 培養時の栄養塩の添加量、止水培養後に流水培養する方法について検討した結果、アカウニ幼生の採苗に有効な *Navicula ramosissima* の培養方法を見い出すことができた。さらに、これらの知見をもとに、*Navicula ramosissima*

を大型水槽で大量培養し、アカウニ幼生を採苗した結果、従来の止水培養した *Navicula ramosissima* に比べて、採苗率が向上し、計画的な採苗が行なえる見通しがたったので報告する。

### 材料および方法

#### 実験1. *Navicula ramosissima* の培養時の栄養塩添加量と、培養した *Navicula ramosissima* のアカウニ幼生に対する変態促進効果

本実験では、*N. ramosissima* 培養時の栄養塩添加量について検討し、培養した *N. ramosissima* のアカウニ幼生に対する変態促進効果を比較した。

栄養塩は Provasoli の ES 改変液<sup>3)</sup> を使用し、その添加量を前報<sup>3)</sup> の *N. ramosissima* 培養時の添加量と同量の A 液 1 ml/l、C 液 2 ml/l を添加する区 (基準量区)、これより栄養塩の添加量を  $\frac{1}{10}$  量に減らした A 液 0.1 ml/l、C 液 0.2 ml/l を添加する区 ( $\frac{1}{10}$  量区) を設けて *N. ramosissima* を 15 日間培養した。培養容器は、両区とも 100 ml プラスチックシャーレを 10 個ずつ用いた。培養海水は 70℃ で加熱処理した海水を使用し、培養時の照度は 3,000～6,000 lux で連続照射し、水温は 20℃ 前後に保った。

基準量区および  $\frac{1}{10}$  量区とも、培養開始 15 日目に、伊東ら<sup>4)</sup> が流水によって自然繁殖させた付着珪藻類でアカウニ幼生を付着、変態させる場合<sup>4)</sup> と同程度の量に *N. ramosissima* が繁殖しているプラスチックシャーレを 2 個ずつ選び、アカウニ幼生を収容して、変態促進を行なった。アカウニ幼生の変態促進は両区ともふ化後 18 日目のアカウニ幼生 (八腕後期幼生の出現率 80.6%) を 30 個体ずつ収容した。24 時間後に、変態進行幼

\* 佐賀県水産試験場

生<sup>5)</sup>数および変態を完了した稚ウニ<sup>5)</sup>数を計数した。

以上の基準量区および $\frac{1}{10}$ 量区の培養した *N. ramosissima* によるアカウニ幼生変態促進実験と並行して、流水式の屋外水槽でアカウニ幼生の付着、変態に必要な量に付着珪藻類が繁殖した塩化ビニール製の波板の一部を切り取って、100ml容プラスチックシャーレ2個に入れ、これに前記の幼生を30個体ずつ収容し、先の実験区の変態促進状況と比較した。

なお、幼生の変態促進期間中の照度は1,000 lux、水温は20℃前後に保った。

#### 実験2. 止水培養後、流水培養した *Navicula ramosissima* のアカウニ幼生に対する変態促進効果

本実験では、止水培養した *N. ramosissima* をさらに流水培養し、流水培養を併用した *N. ramosissima* のアカウニ幼生に対する変態促進効果を調べた。実験区は *N. ramosissima* を10日間止水培養した後、30日間流水培養する区、20日間止水培養した後、20日間流水培養する区、30日間止水培養した後、10日間流水培養する区を設け、それぞれ培養した *N. ramosissima* のアカウニ幼生に対する変態促進効果を比較した。

各実験区とも *N. ramosissima* を円形の透明な平板(塩化ビニール製、径5.5cm)に繁殖させた。*N. ramosissima* の止水培養は、平板を垂直に設置した20ℓスチロール製水槽に保存培養した *N. ramosissima* を接種して行なった。培養海水は70℃で加熱処理した海水を使用し、栄養塩として Provasoli の ES 改変液の A 液を 1 ml/ℓ、C 液を 2 ml/ℓ 添加した。培養開始後、5 日毎に培養海水を交換するとともに、栄養塩を新たに添加した。

*N. ramosissima* の流水培養は 1 ℓ ガラスビーカーで行なった。各実験区とも、実験設定に従って、止水培養水槽から *N. ramosissima* が繁殖した平板を 2 枚ずつ 1 ℓ ビーカーに移し、流水培養を開始した。使用海水は他の藻類の混入を防ぐため、1 μm フィルターでろ過した海水を使用し、流量 0.3ℓ/分で培養した。

止水培養および流水培養時の照度は約 5,000 lux、水温は 20℃ 前後に保った。

各実験区の培養した *N. ramosissima* でのアカウニ幼生の変態促進は、止水培養に流水培養を併用した区については、流水培養開始後 10 日間隔で行ない、対照区の止水培養区では止水培養開始後、20 日目から 10 日間隔で行なった。アカウニ幼生の変態促進は、各実験区とも、*N. ramosissima* が繁殖した平板 2 枚を 100 ml プラスチックシャーレ 2 個に 1 枚ずつ入れ、これに、ふ化後 16~20 日目のアカウニ幼生(八腕後期幼生の出現

率 100%) を 30 個体ずつ収容して行なった。24 時間後に、実験 1 と同様に変態を促進された幼生数から、アカウニ幼生の変態促進効果を比較した。

#### 実験3: *Navicula ramosissima* を用いた量産規模での採苗

実験 1 および実験 2 で得られた知見をもとに、*N. ramosissima* を 15 トンコンクリート製水槽 (10×1.5×1.1m、以下、15 トン水槽とする。) で栄養塩の添加量を減らして、止水培養後、流水培養してアカウニ幼生を採苗した時の採苗率を、同じ 15 トン水槽を用い流水式で繁殖させた付着珪藻類での採苗率と比較した。

*N. ramosissima* および付着珪藻類の培養には 15 トン水槽を 2 水槽ずつ使用した。各水槽にはアカウニ幼生採苗用の付着板として 40×32cm の塩化ビニール製波板を 10 枚ずつ枠組みし、800 枚ずつ設置した。

*N. ramosissima* 培養区では 20 日間止水培養し、その後 20 日間流水培養して採苗に供した。止水培養は前報<sup>4)</sup>に従い、1 トン水槽で培養した *N. ramosissima* を 15 トン水槽に接種し、栄養塩として、硫酸アンモニウム 100 g/ℓ、過リン酸石灰 15 g/ℓ、クレフット・32 15 g/ℓ、メタケイ酸ナトリウム 90 g/ℓ を培養当初に加えて培養した。止水培養 21 日目から砂利でろ過した海水を 2~3 回転/日流し始め、以後 20 日間、流水培養に切り換えた。培養時の照度は遮光し、止水培養期間は照度 5,000 lux 以下、流水培養期間は 10,000 lux 以下に調節した。

付着珪藻類の培養は伊東ら<sup>4)</sup>の方法に従い、40 日間流水培養した。培養照度は *N. ramosissima* の流水培養時の照度と同様であった。

*N. ramosissima* 培養区および付着珪藻類培養区とも、培養開始 40 日目にふ化後 18 日目のアカウニ幼生を 1 水槽あたり 42.4~49.9×10<sup>4</sup> 個体収容して採苗した。採苗方法は伊東ら<sup>4)</sup>の方法に従った。幼生収容 15 日目に稚ウニ数を計数し、採苗率を比較した。

## 結 果

#### 実験1. *Navicula ramosissima* 培養時の栄養塩添加量と、培養した *Navicula ramosissima* のアカウニ幼生に対する変態促進効果

各実験区のアカウニ幼生に対する変態促進状況を表 1 に示した。

各区の変態促進された幼生の割合は、栄養塩を基準量添加して培養した *N. ramosissima* では 26.7%、 $\frac{1}{10}$ 量添加して培養した *N. ramosissima* では 66.7%、付着珪

表1 *Navicula ramosissima* 培養時の栄養添加量とアカウニ幼生の変態促進状況

| 付着珪藻種                       | 栄養塩の<br>添加量 | 24時間後の変態促進状況  |               |                       |
|-----------------------------|-------------|---------------|---------------|-----------------------|
|                             |             | 八腕前期幼生<br>(%) | 八腕後期幼生<br>(%) | 変態が促進された<br>幼生の割合 (%) |
| <i>Navicula ramosissima</i> | 基準量         | 15.0          | 58.3          | 26.7                  |
|                             | 基準量の1/10量   | 16.7          | 16.7          | 66.7                  |
| 付着珪藻類*                      | 無           | 16.7          | 6.7           | 76.7                  |

\*流水式で自然繁殖した

藻類では76.7%であった。つまり、栄養塩を基準量添加して培養した *N. ramosissima* に比べ、1/10量添加して培養した *N. ramosissima* の方が、アカウニ幼生の変態促進効果が高かった。しかし、付着珪藻類の場合に比べるとわずかながら劣っていた。

### 実験2. 止水培養後、流水培養した *Navicula ramosissima* のアカウニ幼生に対する変態促進効果

*N. ramosissima* を止水培養から流水培養に切り換えて培養した区では、培養期間中、他の藻類が繁殖することなく、*N. ramosissima* のみが繁殖していた。

各培養区の培養期間中における *N. ramosissima* の増殖状況を図1に示した。止水培養後、流水培養に切り換えた後に細胞数が減少する傾向がみられた。

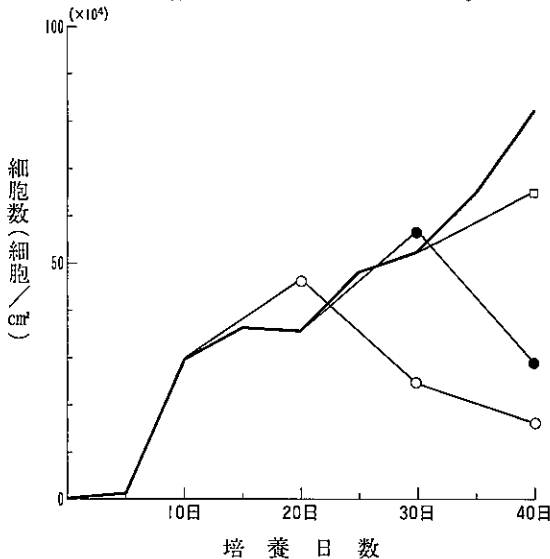


図1 各培養区の*Navicula ramosissima* の増殖経過

- 止水培養区
- 10日目から流水培養区
- 20日目から流水培養区
- 30日目から流水培養区

表2 止水培養後、流水培養した*Navicula ramosissima* のアカウニ幼生に対する変態促進効果

| Navicula ramosissimaの培養方法 | 変態促進された幼生の割合   |             |               |
|---------------------------|----------------|-------------|---------------|
|                           | 10日目<br>(%)    | 20日目<br>(%) | 30日目<br>(%)   |
| 10日目から流水培養                | 38.3           | 53.3        | 68.3          |
| 止水培養から流水培養                | 6.7            | 23.3        | 6.7           |
| 30日目から流水培養                | 6.7            |             |               |
| 止水培養                      | 21.7<br>(20日目) | 0<br>(30日目) | 1.7<br>(40日目) |

\*流水培養に切り換えてからの日数  
( )内は止水培養期間

各培養区のアカウニ幼生変態促進結果を表2に示した。各培養区の変態促進されたアカウニ幼生の割合は次のとおりである。10日間止水培養後、流水培養した区では、流水培養10日目は38.3%、20日目は53.3%、30日目は68.3%であった。20日間止水培養後、流水培養した区では、流水培養10日目は6.7%、20日目は23.3%であった。30日間止水培養後、10日間流水培養した区では、流水培養10日目は6.7%であった。一方止水培養区では、培養後20日目は21.7%、30日目は0%、40日目は1.7%であった。つまり、止水培養した *N. ramosissima* を流水培養することによって、アカウニ幼生の変態促進効果が高くなることが認められた。特に、10日間止水培養後、30日間流水培養した *N. ramosissima* が、変態促進効果がより優れ、その時の *N. ramosissima* の細胞数は  $15.8 \times 10^4$  細胞/cm<sup>2</sup> であった。

### 実験3. *Navicula ramosissima* を用いた量産規模での採苗

*N. ramosissima* 培養区の止水培養期間における水温は14.5~17.8℃、流水培養期間における水温は15.1~16.3℃であった。付着珪藻培養区の培養期間における水温は13.1~16.3℃であった。

*N. ramosissima* 培養区では、流水培養に切り換えた後、採苗15日目まで他の藻類の繁殖はなく、*N. ramosissima* 単一種が繁殖していた。一方、流水式で自然繁殖させた付着珪藻類の主な繁殖種は *Navicula* 類および小型の *Nitzschia* 類であった。

採苗後15日目の *N. ramosissima* 培養区および付着珪藻類培養区の採苗率は表3に示しているように、*N. ramosissima* 培養区では、No.1水槽が48.5%、No.2水槽が45.5%で、平均採苗率は47.0%であった。付着珪藻類培養区では、No.3水槽が35.6%、No.4水槽が70.7%で平均採苗率51.7%であった。つまり、*N. ramosissima*

表3 採苗後15日目の各培養区の採苗率

| 附着珪藻種                       | 幼生収容数<br>(個体)      | 15日目の採苗数<br>(個体)   | 採苗率<br>(%) |
|-----------------------------|--------------------|--------------------|------------|
| <i>Navicula ramosissima</i> | $49.9 \times 10^4$ | $24.2 \times 10^4$ | 48.5       |
| <i>Navicula ramosissima</i> | $49.9 \times 10^4$ | $22.7 \times 10^4$ | 45.5       |
| 附着珪藻類*                      | $42.4 \times 10^4$ | $15.1 \times 10^4$ | 35.6       |
|                             | $48.8 \times 10^4$ | $34.5 \times 10^4$ | 70.7       |

\*流水式で自然繁殖した

培養区は、附着珪藻類培養区と同程度の採苗率を示した。

## 考 察

*N. ramosissima* を用いたアカウニ幼生の採苗技術を確立するため、まず、実験的に *N. ramosissima* の培養方法について検討し、培養した *N. ramosissima* のアカウニ幼生に対する変態促進効果を比較した結果、次のような知見が得られた。

1. *N. ramosissima* 培養時の栄養塩の添加量を基準量の $\frac{1}{10}$ 量に減らして培養すると、アカウニ幼生の変態促進効果が高くなる。
2. *N. ramosissima* を止水培養後、流水培養すると、アカウニ幼生の変態促進効果が高くなる。

以上の知見から、15トン水槽を使用して、*N. ramosissima* を前報<sup>3)</sup>の *N. ramosissima* 培養時の栄養塩添加量より $\frac{1}{10}$ 量に減らして20日間止水培養し、その後、20日間流水培養してアカウニ幼生を採苗した結果、従来の止水培養した *N. ramosissima* での採苗率<sup>1)</sup>より高い採苗率が得られ、また、流水式で自然繁殖させた附着珪藻類での採苗率<sup>4)</sup>と同程度の値が得られた。このように、*N. ramosissima* 培養方法を検討した結果、アカウニ幼生の変態促進に効果的に作用する *N. ramosissima* の培養方法がわかり、*N. ramosissima* を用いたアカウニ幼生の採苗技術がほぼ確立されることとなった。

本実験を通して、アカウニ幼生の変態促進に効果的に作用していた *N. ramosissima* の培養方法に共通していたのは、流水培養も含め、低栄養塩濃度での培養があげられる。実験1では、栄養塩を基準量<sup>3)</sup>の $\frac{1}{10}$ 量で培養した場合、実験2では止水培養後、流水で培養した場合であった。

低栄養塩濃度で培養された *N. ramosissima* の特徴として、前報<sup>4)</sup>の栄養塩を基準量添加して培養した *N. ramosissima* に比べ、培養期間を通して細胞質内の色

素体が小さかったことがあげられる。前報<sup>4)</sup>の方法で *N. ramosissima* を培養した場合は、対数増殖末期以後の増殖率が低下した時、つまり、細胞の活力が低下した時に細胞内の色素体が小さくなることが観察される。したがって、低栄養塩濃度で培養した *N. ramosissima* は、培養期間を通して、活力が低下した状態であると推察される。この活力が低下した *N. ramosissima* が、アカウニ幼生の変態促進に有効に作用したと考えられる。

アカウニ幼生の変態促進に附着珪藻が有効に作用することは報告されている<sup>6)</sup>が、附着珪藻のどのような物質が有効に作用しているか、この点に関しては、まだ究明されていない。

今後、*N. ramosissima* の増殖生理について明らかにし、アカウニ幼生の変態促進により効果的に作用する *N. ramosissima* 培養方法についてさらに検討する必要がある。一方、本実験において、アカウニ幼生の変態促進に効果的に作用した時の *N. ramosissima* の繁殖量は約  $15 \times 10^4$  細胞/cm<sup>2</sup>であったが、*N. ramosissima* の繁殖量とアカウニ幼生の変態促進との関係についても明らかにし、*N. ramosissima* を用いたアカウニ幼生の採苗技術をさらに向上させていきたい。

## 要 約

*N. ramosissima* を用いたアカウニ幼生の採苗技術を確立するために本実験を行なった。

1. *N. ramosissima* 培養時の栄養塩の添加量を基準量の $\frac{1}{10}$ 量に減らして培養すると、アカウニ幼生の変態促進効果が高くなる。
2. 栄養塩を添加して止水培養した *N. ramosissima* を、さらに、流水培養することによって、アカウニ幼生の変態促進効果が高くなる。
3. 以上の結果をもとに、*N. ramosissima* を15トン水槽で培養し、アカウニ幼生を採苗した結果、約50%の採苗率が得られた。

## 文 献

- 1) 伊東義信・伊藤史郎・金丸彦一郎・真崎邦彦、附着珪藻 *Navicula ramosissima* のアカウニ稚ウニ期生産餌料としての効果、日水誌投稿中。
- 2) 伊東義信・真崎邦彦・金丸彦一郎(1987)、アカウニ稚ウニ期の餌料として有効な附着珪藻種の探索—II 分離培養した附着珪藻9種の増殖特性、

- 佐賀県栽培漁業センター研究報告, (1), 31~34.
- 3) 伊東義信・真崎邦彦・金丸彦一郎 (1987). アカウニ稚ウニ期の餌料として有効な付着珪藻種の探索-III 付着珪藻 *Navicula ramosissima* の大量培養. 佐賀県栽培漁業センター研究報告, (1), 35~38.
  - 4) 伊東義信・山田徹・有吉敏和・野田進治・伊藤史郎 (1985). ウニ類 (アカウニ, バフンウニ, ムラサキウニ) の種苗生産の現状と問題点. 昭和55~58年度佐賀県栽培漁業センター事業報告書, 79~96.
  - 5) 伊東義信 (1984). ウニ幼生に対する付着珪藻の変態促進効果. 付着生物研究, 5(1), 15~18.
  - 6) 谷雄策・伊東義信 (1979). アカウニ幼生の付着および変態に及ぼす付着珪藻の影響について, 水産増殖, 27(3), 148~150.