

イワガキ種苗生産における餌料藻類の検討

石原成嗣¹・常盤 茂¹

Examination of algae food in hatchery culture
of Iwagaki oyster *Crassostrea nippona*

Seiji ISHIHARA and Shigeru TOKIWA

キーワード：イワガキ，種苗生産，浮遊幼生，生残率，生物餌料

はじめに

イワガキ *Crassostrea nippona* は、近年になってから全国で養殖されるようになった二枚貝である。隠岐郡の漁業者が平成 6 年に他県に先駆けて種苗生産・養殖に成功したことから、島根県では特に生産が盛んであり、平成 10 年度からは島根県栽培漁業センターによって種苗の量産も始まった。現在ではブランド化の取り組みもされるなど、本県における重要な養殖種となっており、種苗の要望数は年々増加している。平成 21 年度以降は、採苗器（稚貝が 10 個体以上付着していることを規格基準としている）の数で年間 10 万個超の種苗が出荷されるようになった。

このように大幅な需要の拡大が生じたことから、種苗生産の現場には、より一層安定的かつ低コストな種苗の大量生産技術の開発が求められている。イワガキは生殖腺の成熟期間が長く、また切開法により卵・精子を得ることが出来ることから、生産数量に合わせて年に複数回の種苗生産を行うことが可能である。しかし生産回数を増やすことは電気代や人件費などのコスト増に直結するため、生産回次 1 回当たりの歩留まりを上げて、出来るだけ少ない回数で生産することが、コスト低減のためには必須である。

従来、栽培漁業センターでは、浮遊幼生期の餌料としてハプト藻類 *Pavlova lutheri* (以下 Pa と略する)、*Isochrysis galbana* (以下 Iso と略する)、および珪藻類 *Chaetoceros gracilis* (以下 gra と略する) の三種を培養して与えていた。しかし、当センターには藻類大量培養専用のプラントが無いた

め、多数の容器に分散して培養せざるを得ず、手間が掛かるとともに、供給の安定性の面でも課題を抱えていた。

近年、珪藻類 *Chaetoceros calcitrans* (以下 cal と略する) が衛生的に大量培養されて市販されるようになり、民間の種苗生産業者でも盛んに使用されるようになってきた。本種は給餌が簡便で幼生の成長が良く、費用対効果に優れた餌料であるが、単独使用していると浮遊幼生が大量斃死しやすいという現象が、本センターでは経験的に知られていた。

そこで今回、市販の cal 餌料と自家培養したハプト藻類を混合して給餌することで大量斃死の発生を低減することが可能であるか、検証を行った。なお、市販餌料としては A 社の商品を使用した。

方法

浮遊幼生飼育期における市販餌料と混合餌料の比較試験 (1 回目) 市販の珪藻類のみを給餌した場合と、それに自家培養したハプト藻類を混合して給餌した場合、そして従来どおりの給餌を行った場合で、浮遊幼生の大量斃死発生状況に差異が生じるかどうか、比較を行うための試験を行った。

(1)飼育方法 採卵は平成 21 年 7 月 9 日に行い、7 月 26 日までの 18 日間、浮遊幼生の飼育を行った。室内飼育にかかる一連の作業は、当センターのイワガキ種苗生産方法に準じて以下の通り行った。親貝 20 個体から切開法により採卵・採精を行い、卵 1 に対し精子 20 の割合で受精させ、浮上したトロコフォア幼生を回収して各飼育水槽に分配した。

¹総合調整部 General Coordination Division

表1. 浮遊幼生飼育期における市販餌料と混合餌料の比較試験（1回目）使用餌料.

表中で例えば0～9,000cells/mlとあるのは, 0cells/mlから9,000cells/mlへ, 飼育期間を通じて徐々に給餌密度を増加させていったことを表す（以後表3まで同様）

対照区		試験区1		試験区2	
培養gra	0～9,000cells/ml (8日目より給餌開始)	市販cal	対照区graと同量	市販cal	6,000～ 29,000cells/ml (対照区の合計 給餌量と同量)
培養Iso	3,000～ 10,000cells/ml	培養Iso	対照区と同量		
培養Pa	3,000～ 10,000cells/ml	培養Pa	対照区と同量		

幼生は500ℓ透明ポリカーボネート製の円形水槽に2個体/mℓ前後の密度で収容し, エアストーンにより微通気して飼育した. 飼育水としては, ボイラーにより水温が25～26℃程度になるように加温し, 孔径5μmと1μmのカートリッジフィルターを直列に配管してろ過した海水を使用した. 換水はオーバーフロー方式により毎日行った. 飼育10日前後までは1水槽あたり350ℓ/day, それ以降は750ℓ/day程度までを目安として, 徐々に換水量を上げていった. また, 水槽底面に死殻等の集積が見られた場合は, 適時サイホンにより吸引廃棄した.

(2) 試験区の設定方法 試験区として以下の三区を設定した. 水槽は試験区1と試験区2はそれぞれ12基, 対照区は24基使用した.

対照区: 自家培養した珪藻類(gra)と同じく自家培養したハプト藻類(Pa, Iso)を混合して使用する(従来の方法). 餌料は水槽毎に, 表1に示した密度となるように毎日与えた.

試験区1: 市販珪藻類(cal)と自家培養したハプト藻類(Pa, Iso)を混合して使用する. 珪藻類としてgraの代わりに市販calを使用するほかは対照区と同密度となるように, 給餌した.

試験区2: 市販珪藻類(cal)のみを餌料として使用する. 餌料密度は, 対照区における総餌料密度と等しくなるように, 給餌した.

(3) 大量斃死の判定 斃死の有無は水槽の底面に沈下した死骸の量により判別した. まれに幼生が大量に沈下していても斃死しておらず, 検鏡すると生きている場合があるが, この場合は集塊の輪郭が明瞭ではなく, 周囲の幼生の遊泳運動が観察できることから, 区別が可能である. 種苗生産担当者の経験的な知見としては, 斃死した幼生が形成する集塊

は, 明確な輪郭を持つことが多い. また, しばしば水流を当てても形が崩れない粘着質の集塊を形成する. この様な集塊が大規模に発生, 浮遊幼生の数が一晩にして半減以下となった場合, 大量斃死が発生したと判定した.

大量斃死が発生した水槽は, 飼育水をサイホンにより吸引してネットで濾すことにより浮遊幼生を回収し, ろ過海水によって十分に洗浄した後に, 新しい水槽に移して飼育を続けた.

浮遊幼生飼育期における市販餌料と混合餌料の比較試験(2回目) 市販珪藻類と混合する自家培養餌料を, 予め培養して冷蔵保存しておいたPaのみとし, 全量市販珪藻類のみを給餌した場合と, 浮遊幼生の生残に差異が確認されるか比較を行った. 飼育は1回目の試験と同様の方法で行い, 平成21年10月26日に採卵, 11月14日までの20日間飼育を行った.

(1) 試験区の設定方法 試験区として以下の様に設定した. 試験区毎に水槽は6基ずつ使用した.

表2. 浮遊幼生飼育期における市販餌料と混合餌料の比較試験(2回目)使用餌料

試験区1		試験区2	
市販cal	3,000～ 10,000cells/ml	市販cal	6,000～16,000cells/ml (試験区1の合計給餌量 と同量)
培養Pa (冷蔵)	3,000～ 6,000cells/ml		

試験区1: 18日目まで市販珪藻類(cal)と自家培養したPaを混合して使用する. Paは対数増殖期後期に細胞数を計数した上で, 4℃の冷蔵庫中に保

存して、4日以内に使用した。餌料は水槽毎に表2に示した密度となるように、毎日与えた。

試験区2：市販珪藻類 (cal) のみ使用する。餌料密度は、試験区1における総餌料密度と等しくなるように、給餌した。

(2) 大量斃死の判定 大量斃死の判定は第1回試験と同様の基準で行った。また、飼育20日目に全水槽で浮遊幼生の生残数の測定も行った。

付着稚貝飼育期における市販餌料と混合餌料の比較試験 幼生が付着稚貝となった状態で、餌料を全量市販餌料とした場合に影響が生じるか、検証を行った。

採卵は平成21年10月1日に行い、浮遊幼生期の飼育はこれまでと同様の方法で行った。また、餌料は水槽毎に表3に示した密度となるように、毎日与えた。

飼育日数が18日程度経過したら、飼育水槽から50m1程度の水を採取し、そこに含まれる浮遊幼生30~40個体程度の眼点を観察、その出現率が20%を超えた水槽から順次採苗を行った。採苗器としては、ホタテ貝殻を利用した。貝殻の中心付近に穴を明け、貝殻間に1cm長のプラスチックチューブを挟みこんだうえでロープを通し、採苗器35枚を一連として束ねて使用した。採苗時には飼育水槽の上に木製の棒を差しわたし、そこから一水槽あたり22連の採苗器束を飼育水中に垂下した。飼育水に浮遊幼生が肉眼で観察できなくなった時点で採苗終了とし、次のように試験区を設定した。

(1) 試験区の設定方法

対照区：付着稚貝の餌料として、浮遊幼生期同様に市販 cal と自家培養した Pa・Iso を混合して使用する。餌料は水槽毎に表3に示した密度となるように、毎日与えた。

試験区：飼育21日目までは対照区と同様に給餌を行った。採苗が終了した飼育22日目より後は全量市販 cal のみを使用し、対照区の総給餌量と同じ量を与えた。

各試験区ごとに16水槽使用した。

(2) 稚貝の付着・生存状況の計数 平成21年11月4日に、付着稚貝の殻高が1mm程度となったことを確認し、飼育水槽から採苗器束を任意1本ずつ採取し、それぞれ上部より1・5・10・15・20・25・30・35枚目の採苗器の表裏に付着した稚貝の数を計測、稚貝生残数とした。

表3. 付着稚貝飼育期における市販餌料と混合餌料の比較試験使用餌料

採苗まで			
試験区、対照区			
市販cal	0~6,000cells/ml (6日目より給餌開始)		
培養Iso	3,000~6,000cells/ml		
培養Pa	3,000~6,000cells/ml		
↓			
対照区		試験区	
市販cal	6,000~10,000cells/ml	市販cal	18,000~30,000cells/ml (対照区の合計給餌量と同量)
培養Iso	6,000~10,000cells/ml		
培養Pa	6,000~10,000cells/ml		

結果

浮遊幼生飼育期における市販餌料と混合餌料の比較試験(1回目) 飼育日数の経過に伴う、試験区毎の大量斃死発生水槽数の推移を図1に、殻長の推移を図2に示した。

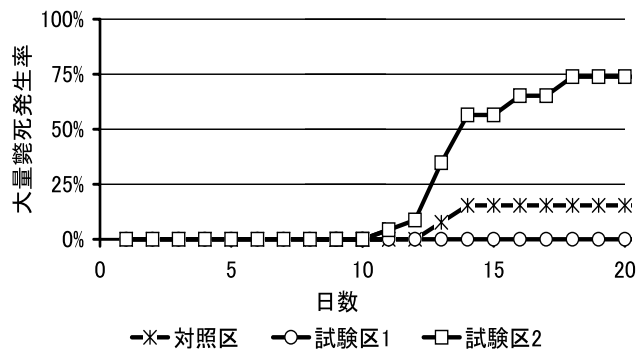


図1. 浮遊幼生飼育期における市販餌料と混合餌料の比較試験(1回目). 飼育日数と積算大量斃死発生率

最も大量斃死の発生が多かったのは市販珪藻類 (cal) のみを餌料として使用した試験区2であり、飼育11日目から18日目にかけて、大量斃死発生水槽は全水槽数の74%に及び、他試験区と比べて明らかに高い発生率が確認された。対照区では飼育13日目、14日目に大量斃死が確認され、発生率は全水槽数の15%であった。一方、試験区1では、大量斃死は確認されなかった。

しかし、幼生の成長に関しては、試験区間に差は見られなかった。

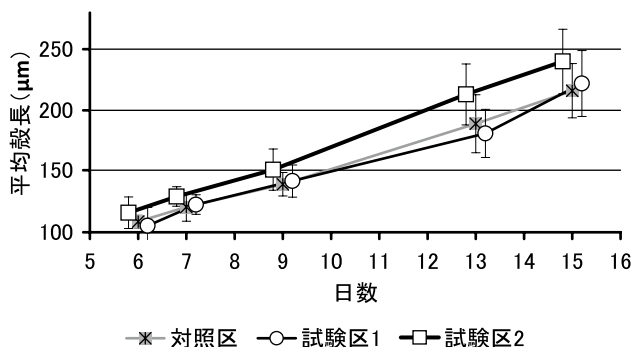


図2. 浮遊幼生飼育期における市販餌料と混合餌料の比較試験 (1回目). 飼育日数と平均殻長の推移. マーカーの上下に伸びる線分は標準偏差を表す. なお, 視認性の都合上, 試験区1・2のマーカーは対照区から左右にずらして作図している

浮遊幼生飼育期における市販餌料と混合餌料の比較試験 (2回目) 表4に飼育17日目における水槽毎の浮遊幼生残存数を示した。

試験区1では小規模な斃死は頻発したが大量斃死は発生せず, 発生したのは試験区2の1水槽

表4. 浮遊幼生飼育期における市販餌料と混合餌料の比較試験 (2回目). 飼育17日目における各水槽の浮遊幼生生残数 (単位: 1,000 個体)

試験区1		試験区2	
水槽番号	個体数	水槽番号	個体数
1	630	7	390
2	530	8	290
3	540	9	430
4	620	10	350
5	290	11	650
6	730	12	0
平均	557	平均	352
標準偏差	149	標準偏差	212

のみであった (飼育14日目). 生残数は試験区1が $557,000 \pm 149,000$ (平均値 \pm 標準偏差; 以下同じ) 個体 / 水槽であるのに対して, 試験区2が $352,000 \pm 212,000$ 個体 / 水槽であり, 当初投入幼生数に対する生残率は, それぞれ 62%, 39%であった. 試験区ごとの平均生残数に有意差があるか確認するためF検定とt検定を行ったところ, $P(T<t)=0.041$ であり, 有意水準5%で試験区1の生残数の方が多かった。

付着稚貝飼育期における市販餌料と混合餌料の比較試験 付着稚貝の生残数を表5に示した. 採苗器毎のばらつきが大きく, 試験区ごとに平均すると対照区が 58 ± 44 個体 / 採苗器で, 試験区が 59 ± 50 個体 / 採苗器とほとんど差は無かった (t検定の結果は, $P(T<t \text{ 両側})=0.97$).

表5. 付着稚貝飼育期における市販餌料と混合餌料の比較試験. 飼育35日目における試験区ごとの平均稚貝付着数 (個体数 / 採苗器). 採苗器順は, 35枚一束にした採苗器連の上から数えた順番を示す

採苗器順	対照区		試験区	
	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差
1	102	58	118	57
5	64	29	47	27
10	34	32	42	30
15	31	26	42	25
20	40	28	38	27
25	56	14	36	16
30	28	12	29	10
35	111	39	120	38
全平均	58	44	59	50

考察

今回の試験において, 珪藻類のみを給餌した場合と, 珪藻類にハプト藻類2種を混合した場合で, 浮遊幼生期の大量斃死発生率に大きな差が見られたことから, ハプト藻類の給餌が浮遊幼生の生残に対して正の影響を与えていることが示唆された. また, ハプト藻類1種 (Pa) のみを珪藻に混合して給餌した場合も, 幼生生残数は市販珪藻類単体を給餌したよりも多く, また大量斃死が発生したのは市販珪藻類単体を給餌した試験区2のみであったことか

ら、同様に正の影響がある可能性が示された。

一方、殻長の伸長に関しては、ハプト藻類混合給餌による正の影響は認められなかった。

イワガキなど二枚貝の種苗生産において、浮遊幼生期における減耗については、飼育海水中の細菌叢の変化、特に *Vibrio* 属の細菌の占有が原因として挙げられてきた^{1~2)}。ハプト藻類が浮遊幼生の生残率を向上させる要因としては、これら外因性ストレスに対する耐性の幼生への付与が、一つの可能性として考えられる。例えば山内³⁾は、今回使用した市販餌料とハプト藻類において、高度不飽和脂肪酸組成が大きく異なることを報告しているが、この様に何らかの栄養要因がストレス耐性の向上をもたらしていることも考えられる。

一方、付着稚貝へと変態した後では、ハプト藻類の餌料への混合の有無による、生残数に対する影響は確認されなかった。このことから、混合給餌による効果が認められるのは、浮遊幼生の期間だけであると考えられる。

以上の結果を受けて、平成22年度の種苗生産においては市販珪藻餌料と自家培養ハプト藻類の混合餌料を全面的に採用した。種苗生産開始時に使用した全ての水槽で採苗を行うことができ、且つ使用した全ての採苗器が出荷可能な付着状態(10個体/採苗器以上)であったと仮定した場合を100%とし、それに対する実際の出荷可能採苗器数の割合を、通算歩留まりとして計算すると、平成18年度から平成21年度までの4年間は60, 74, 58, 79%であった。対して混合餌料を使用した平成22年度では96%と、高い歩留りをあげることができた。

しかし一方で、市販餌料への依存度が高くなるということは、製品の供給状況の如何によって種苗生

産の可否が決まるということであり、全て自家培養餌料で賄っていた時とは別種のリスクが生じるということを検討しなくてはならない。

今後、幼生のストレス耐性をもたらす要因について精査することで、生残数・成長率の更なる向上を図る必要があると考えられる。それにより、イワガキ種苗生産のコスト低減がもたらされ、より安価な種苗を漁業者に提供することが可能となると期待される。

謝辞

本研究を進めるにあたり、イワガキ幼生の飼育作業に関して多大な協力をいただいた、島根県水産技術センター栽培漁業部(現総合調整部栽培漁業グループ)職員の方々に、厚く御礼申し上げます。

文献

- 1) 勢村 均：イタヤガイ幼生飼育において飼育水中に出現する細菌の数量的変動と幼生に及ぼす影響。水産増殖, 42(1), 157-164(1994)
- 2) 佐藤利夫・山本倫久・勢村 均：イワガキ浮遊幼生飼育水の細菌叢に及ぼす *Nannochloropsis*. sp 培養液の影響。日本海水学会誌, 54, 102-109(2000)
- 3) 山内一郎：水産用希少餌料キートセラ・カルシトランスの高濃度大量培養。Yamaha Motor Technical Review (2008), http://www.yamaha-motor.co.jp/profile/craftsmanship/technical/publish/no36/pdf/gr_02.pdf

