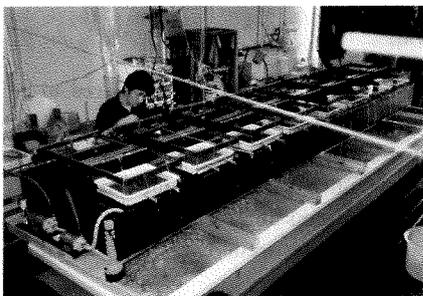


トリガイ沈着初期稚貝 への *Tetraselmis tetrathele* の餌料効果について

藤原 正 夢
岩 尾 敦 志



トリガイの種苗生産で、稚貝飼育の後半には多量の餌料を要し、通常に使用しているもの以外に、大量培養ができる有効な餌料が求められている。そこで、*Tetraselmis tetrathele* に注目して、この餌料が使用できるトリガイ幼生サイズを調べた。120~240 μm の幼生が *T. tetrathele* を摂餌し、摂餌頻度は成長に伴って増加した。通常使用の *Chaetoceros* sp. との混用で、その25~50%を *T. tetrathele* で置き換えても、稚貝の成長に有意な違いは認められなかった。

京都府立海洋センターでは、トリガイ種苗生産における飼育餌料に *Chaetoceros* sp. (以下 Ch とする) と *Nannochloropsis oculata* (以下 Na とする) を用いている。著者らは、浮遊幼生および沈着初期稚貝飼育における適正投餌量について検討しており (藤原ら, 1990), その中で稚貝の摂餌量が飼育日数の経過とともに急増するため、稚貝飼育期間の後半には多量の餌料が必要になることを報告している。実際の飼育過程でも、屋外での大量培養が容易な Na は問題ないが、Ch は室内で培養するため、多量の餌料を要する稚貝飼育期間の後半には不足ぎみになることがしばしば認められた。*Tetraselmis tetrathele* (以下 Te とする) は、二枚貝類の幼生の飼育餌料としてはサイズがやや過大であるが、稚貝の飼育餌料としては適した種類であると考えられており (岡内, 1985), ミルクガイ稚貝 (高見ら, 1985), アコヤガイ稚貝 (瀬古ら, 1987) の餌料として有効であるとされている。また、ウバガイ稚貝 (宮城県, 1990) では量産用の餌料として利用されている。Te は屋外での大量培養が容易であるので、Ch の代わりに Te がトリガイの餌料として利用できるならば餌料培養の労力がかなり軽減できる。そこで Te を摂餌出来るトリガイ幼生のサイズを検討し、Te のトリガイ沈着初期稚貝に対する餌料価値および適正投餌方法について検討したのでその結果を報告する。

材料と方法

当センターでのトリガイ種苗生産の飼育過程は、浮遊幼生飼育と沈着初期稚貝飼育に分けられる。浮遊幼生飼育とは、ふ化直後のD型幼生から変態期幼生までの飼育であり、沈着初期稚貝飼育とは、変態期幼生から沖出しサイズである殻長 0.5~1.0 mm 稚貝までの飼育である。Te を摂餌出来る幼生サイズを検討するため、ピーカーでの小実験 (実験1) を行い、沈着初期稚貝飼育における Te の適正投餌方法について検討するため、現在実施している種苗

生産規模で実験 2~5 を実施した。

実験 1 トリガイ幼生のサイズ毎の Te の摂餌の有無を確認するため、幼生の殻長サイズを変えて 2 回実施した。用いた幼生は 1 回次が 10 月 16 日採卵後 13 日間予備飼育した殻長 160~240 μm サイズ、2 回次が 10 月 23 日採卵後 8 日間予備飼育した殻長 120~200 μm サイズのものである。100 ml ビーカーに濾過後（濾過精度 1 μm ）加熱滅菌した海水を入れ、約 200 個（1 回次）または約 500 個（2 回次）の幼生を収容して絶食飼育し、24 時間後 Te を 4,000 cells/ml の濃度になるように添加した。ビーカーをインキュベーター（サンヨー MIR-552）に収容し、実験中の飼育水温を 20°C に保った。Te 添加 5 時間後に幼生を取り上げ、5%ホルマリンで固定後、直ちに検鏡し、胃中の Te の有無を調べた。実験期間は 1 回次は平成 2 年 10 月 30 日~31 日、2 回次は 11 月 1 日~2 日であった。

実験 2 実験 2~5 での飼育装置には、幼生を収容する飼育槽と餌料槽とからなる循環二槽式飼育装置を用いた (Fig. 1)。実験 2~5 での飼育方法は用いた餌料種類とその投餌濃度を除いて、また予備飼育である浮遊幼生飼育方法はほぼ、藤原ら (1990) と同じであるのでここでは省略する。

実験 2 は Te 単独投与と Te と Na の 2 種の混合投与によるトリガイ幼生の生残率と成長差を見るために実施した。したがって、実験区として Te 単独で飼育する区、Te と Na で飼育する区 (Te+Na) を、対照区として Ch

Table 1. Food supply and density in experiment 2.

Group	<i>Tetraselmis</i>	<i>Chaetoceros</i>	<i>Nannochloropsis</i>
Te	51* ¹ (0.3) * ²		
Te+Na	34 (0.2)		680 (4.0)
Control		680 (4.0)	680 (4.0)

*1 No. of food supplied ($\times 10^7$ cells/day).

*2 food density ($\times 10^4$ cells/ml).

と Na で飼育する区 (Ch+Na) を設けた。Coulter Counter で測定した各餌料藻の細胞容積比は Ch:Na:Te=1:0.4:17 であったので、各区の投餌濃度は Table 1 に示したとおりとした。実験に用いた幼生は、6 月 28 日採卵後 10 日間浮遊幼生飼育した平均殻長 252 \pm 25 μm のものであり、これを各飼育槽に 57,000 個ずつ収容した。実験期間は平成 2 年 7 月 9 日~17 日までの 8 日間であり、実験中の平均水温は 26.0 \pm 0.4°C であった。

実験 3 Te と Na の 2 種の混合投与飼育で、Te の濃度の違いによるトリガイ幼生の生残率と成長差を見るために実施した。実験区として一定濃度の Na と濃度を 3 段階に変えた Te とで飼育する区を、対照区として Ch と Na で飼育する区を設けた。各区の投餌濃度は Table 2 に示したとおりである。実験に用いた幼生は、10 月 16 日採卵後 13 日間浮遊幼生飼育した平均殻長 241 \pm 37 μm のものであり、これを各飼育槽に 4 万個ずつ収容した。実験期間は平成 2 年 10 月 30 日~11 月 8 日までの 9 日間であり、実験中の平均水

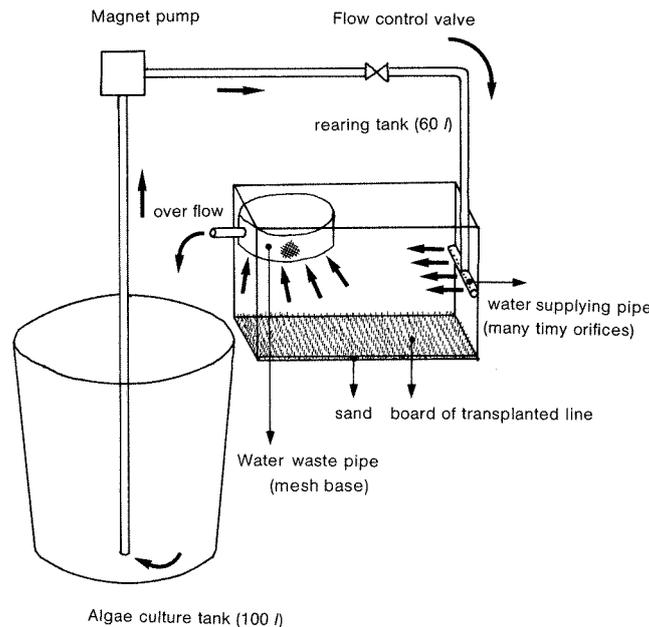


Fig. 1. Rearing apparatus for the early young cockles.

Table 2. Food supply and density in experiment 3.

Group	<i>Tetraselmis</i>	<i>Chaetoceros</i>	<i>Nannochloropsis</i>
Te+Na (1)	68* ¹ (0.4) * ²		680 (4.0)
Te+Na (2)	51 (0.3)		680 (4.0)
Te+Na (3)	34 (0.2)		680 (4.0)
Control		680 (4.0)	680 (4.0)

*1 No. of food supplied ($\times 10^7$ cells/day).*2 food density ($\times 10^4$ cells/ml).

Table 3. Food supply and density in experiment 4 (the first trial).

Group	<i>Tetraselmis</i>	<i>Chaetoceros</i>	<i>Nannochloropsis</i>
C	34* ¹ (0.2) * ²	170 (1.0)	680 (4.0)
A	17 (0.1)	340 (2.0)	680 (4.0)
Control		680 (4.0)	680 (4.0)

*1 No. of food supplied ($\times 10^7$ cells/day).*2 food density ($\times 10^4$ cells/ml).

Table 4. Food supply and density in experiment 4 (the second trial).

Group	<i>Tetraselmis</i>	<i>Chaetoceros</i>	<i>Nannochloropsis</i>
E	51* ¹ (0.3) * ²	170 (1.0)	680 (4.0)
D	51 (0.3)	340 (2.0)	680 (4.0)
C	34 (0.2)	170 (1.0)	680 (4.0)
B	34 (0.2)	340 (2.0)	680 (4.0)
Control		680 (4.0)	680 (4.0)

*1 No. of food supplied ($\times 10^7$ cells/day).*2 food density ($\times 10^4$ cells/ml).

温は $24.8 \pm 1.9^\circ\text{C}$ であった。

実験4 Ch と Te と Na の3種の混合投与飼育で、Ch あるいは Te の濃度の違いによるトリガイ幼生の生残率と成長差を見るために、Ch および Te の濃度の組み合わせを変えて2回に分けて実施した。

1 回次の各区の投餌濃度は Table 3 に示したとおりで、実験区として Ch と Te の濃度を変えた二つの餌料条件区 A, C を、対照区として Ch と Na で飼育する区を設定した。実験に用いた幼生は、5月7日採卵後10日間浮遊幼生飼育した平均殻長 $220 \pm 23 \mu\text{m}$ のものであり、これを各飼育槽に44,000個ずつ収容した。実験期間は平成3年5月18日~29日の11日間であり、実験中の平均水温は $25.3 \pm 2.3^\circ\text{C}$ であった。

2 回次の各区の投餌濃度は Table 4 に示したとおりで、実験区として Ch と Te の濃度を変えた四つの餌料条件区 B, C, D, E を、対照区として Ch と Na で飼育する区を設

定した。実験に用いた幼生は、5月27日採卵後10日間浮遊幼生飼育した平均殻長 $218 \pm 27 \mu\text{m}$ のものであり、これを各飼育槽に51,000個ずつ収容した。実験期間は平成3年6月7日~17日の10日間であり、実験中の平均水温は $25.9 \pm 1.5^\circ\text{C}$ であった。

実験5 実験4の対照実験として実施した。Ch の投餌濃度減少がおよぼす影響を調べるために、Ch の投餌濃度を対照区の1/2, 1/4にした区を設けた。各区の投餌濃度は Table 5 に示したとおりとした。実験に用いた幼生は、10月17日採卵後14日間浮遊幼生飼育した平均殻長 $198 \pm 24 \mu\text{m}$ のものであり、これを各飼育槽に53,000個ずつ収容した。実験期間は平成3年11月1日~13日の12日間であり、実験中の平均水温は $25.3 \pm 2.1^\circ\text{C}$ であった。

飼育餌料の培養 Ch の培養には濾過海水(濾過精度 $1 \mu\text{m}$)を用い、Table 6 に示す組成の培養液を5l三角フラスコに入れ $80 \sim 90^\circ\text{C}$ に加熱し放冷して使用した。室温 20°C の培養室内において、蛍光灯の連続照明下(フラスコ表面照度 10 KLuX 以下)で無通気培養した。Ch は 1×10^6 cells/ml の初期濃度で接種し、2日後に $0.7 \sim 1.0 \times 10^7$ cells/ml に増殖したものを実験に用いた。

Na および Te の培養には、濾過海水(濾過精度 $1 \mu\text{m}$) 90 l に対して水道水 10 l , 硫酸 10 g , 尿素 0.5 g , 過磷酸石灰 2 g を添加したものを使用した。培養槽には 100 l 円形透明ポリカーボネイト水槽を用い、北側の軒下に置き、通

Table 5. Food supply and density in experiment 5.

Group	<i>Chaetoceros</i>	<i>Nannochloropsis</i>
1/4	170* ¹ (1.0) * ²	680 (4.0)
1/2	340 (2.0)	680 (4.0)
Control	680 (4.0)	680 (4.0)

*1 No. of food supplied ($\times 10^7$ cells/day).*2 food density ($\times 10^4$ cells/ml).Table 6. Composition of medium used for mass cultivation of *Chaetoceros* sp.

Sea water	950 ml
Fresh water	50 ml
NaNO_3	100 mg
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	14 mg
$\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$	10 mg
NaHCO_3	2,500 mg
Clewat 32	200 mg
Vitamin B ₁₂	0.2 μg
Thiamin (Vitamin B ₁)	100 μg
D-Biotin (Vitamin H)	1 μg

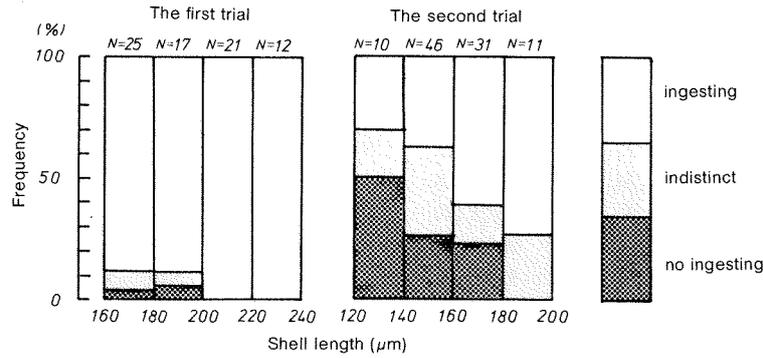


Fig. 2. Frequency of larvae ingesting *Testraselmis* at different shell lengths of cockles.

気培養した。Na は $2.5 \sim 3.5 \times 10^7$ cells/ml に、Te は $0.4 \sim 1.0 \times 10^6$ cells/ml に増殖したものを実験に用いた。

結果および考察

実験1で実施したトリガイ幼生の殻長サイズ別の Te 摂餌状況を Fig. 2 に示した。1 回次では 160 μm 以上 200 μm 未満の幼生では 4~6% の個体が Te を摂餌していなかったが、200 μm 以上 240 μm 未満の幼生では全ての個体が摂餌していた。2 回次では、Te を摂餌していない幼生の出現率は 120 μm 以上 140 μm 未満サイズで 50%、140 μm 以上 160 μm 未満サイズで 26%、160 μm 以上 180 μm 未満サイズで 23%、180 μm 以上 200 μm 未満サイズで 0% であった。2 回次は 1 回次に比べ各サイズとも摂餌していない個体の割合が高い、これは用いた幼生の活力も問題になるが、2 回次の幼生収容密度が 1 回次の 2.5 倍と高かったことが主な原因ではないかと考えられる。Te のサイズは長径 14~16 μm 短径 8 μm であり、Ch (長軸の長さ約 3 μm) に比べかなり大きい。120 μm 以上 140 μm 未満サイズの小さな幼生でも 30% の個体が Te を摂餌していた。また、殻長サイズが大きくなるほど摂餌している個体の割合が増大し、200 μm 以上の幼生では全ての個体が Te を摂餌していた。したがって目標収容平均殻長を 220 μm 以上としている沈着初期稚貝飼育 (藤原ら, 1988) では、飼育開始時のほとんどの幼生が Te を摂餌できると考えられた。そこで実験 2~5 において、Te のトリガイ沈着初期稚貝に対する餌料価値および適正投餌方法について検討した。

実験 2 の結果を Table 7 に示した。生残率は Te 区 34.4%、Te+Na 区 33.9~54.7%、対照区 58.2~68.4% であった。Te 区での生残が最も悪く、Te+Na 区は区内で

Table 7. Results of experiment 2.

Group	No. of shell survived	Survival rate (%)	Shell length Mean ± SD (μm)
Te	19,600	34.4	476 ± 69* ¹
Te+Na	31,200	54.7	547 ± 82* ²
Te+Na	19,300	33.9	548 ± 78* ²
Control	39,000	68.4	642 ± 88
Control	33,200	58.2	665 ± 84

*1 Significantly different from Te+Na (P<0.001).

*2 Significantly different from Control (P<0.001).

ばらつきがあるが、対照区と同程度かやや悪かった。取り上げ時の平均殻長は Te 区 476 μm、Te+Na 区 547~548 μm、対照区 642~665 μm であり、Te 区、Te+Na 区、対照区の順に大きく、有意な差が認められた。Te 区と Te+Na 区の成長が対照区よりも劣った原因として、Te の量的な不足が考えられたので、実験 3 では Te と Na 併用飼育において、Te の投餌濃度をさらに増加させた区を設定した。

実験 3 の結果を Table 8 に示した。生残率は Te+Na (1) 区 30.0~38.3%、Te+Na (2) 区 28.5~37.5%、Te+Na (3) 区 44.3~46.3%、対照区 38.5~48.0% であり生残率では区間の差は明らかでなかった。取り上げ時の平均殻長は Te+Na (1) 区 590~606 μm、Te+Na (2) 区 626~629 μm、Te+Na (3) 区 595~596 μm、対照区 668~723 μm であり、Te と Na 併用区に比べ対照区の殻長が有意に大きかった。Te と Na の併用区内で見ると、Te の投餌濃度は中間である Te+Na (2) 区の殻長がやや大きく、Te の投餌量の多少と成長との相関は認められなかった。以上の結果から、Te と Na の併用区の成長が対照区よりも劣る原因としては、トリガイ沈着初期稚貝に対する餌料

Table 8. Results of experiment 3.

Group	No. of shell survived	Survival rate (%)	Shell length Mean±SD (μm)	Significant difference for the each other group in shell length								
Te+Na (1)	12,000	30.0	590±114	Te+Na (1)								
Te+Na (1)	15,300	38.3	606±103	NO	Te+Na (1)							
Te+Na (2)	11,400	28.5	629±108	*	NO	Te+Na (2)						
Te+Na (2)	15,000	37.5	626±130	*	NO	NO	Te+Na (2)					
Te+Na (3)	18,500	46.3	596±121	NO	NO	*	NO	Te+Na (3)				
Te+Na (3)	17,700	44.3	595±124	NO	NO	*	NO	NO	Te+Na (3)			
Control	19,200	48.0	668±130	***	***	*	*	***	***	Control		
Control	16,300	40.8	683±120	***	***	**	**	***	***	NO	Control	
Control	15,400	38.5	703±129	***	***	***	***	***	***	NO	NO	Control
Control	18,200	45.5	723±136	***	***	***	***	***	***	**	*	NO

*: P<0.05, **: P<0.01, ***: P<0.001.

Table 9. Results of experiment 4 (the first trial).

Group	No. of shell survived	Survival rate (%)	Shell length Mean±SD (μm)
C	20,100	45.7	619±115
C	25,800	58.6	661±129
A	25,700	58.4	658±132
A	23,100	52.5	658±134
Control	20,300	46.1	613±131
Control	20,100	45.7	653±143

としての質が、ChよりもTeは劣るためと考えられた。

実験2, 3の結果より、Te単独飼育区とTeとNaの併用区は、対照区と比べ生残率では大きな差は認められないが、成長では劣ることが明らかになった。そこで実験4では、ChとNaとTeで飼育するときのTeの適正投餌量、すなわちChと置換可能なTeの投餌量を検討した。

実験4の1回次の結果をTable 9に示した。ChとNaとTeで飼育した実験区の生残率はC区45.7~58.6%、A区52.5~58.4%で、対照区は45.7~46.1%であった。対照区がやや悪いが、ほとんど差はないと考えられた。また、取り上げ時の平均殻長はC区619~661 μm、A区658 μm、対照区613~653 μmであり、C区と対照区では区内のばらつきも大きく、区間の差はほとんどないと考えられた。

実験4の2回次の結果をTable 10に示した。ChとNaとTeで飼育した実験区の生残率はE区42.0~57.1%、D区43.5~48.6%、C区45.9~49.2%、B区45.7~48.0%で、対照区は40.8~50.6%であり、区間の差はほとんどないと考えられた。また、取り上げ時の平均殻長はE区495~501 μm、D区539~540 μm、C区507~552 μm、B区550 μm、対照区550~562 μmであり、E区とC区の1槽が有意に小さいが、その他の区では区間差はほとんどないと考えられた。

Table 10. Results of experiment 4 (the second trial).

Group	No. of shell survived	Survival rate (%)	Shell length Mean±SD (μm)	Significant difference for the each other group in shell length									
E	21,400	42.0	501±108	E									
E	29,100	57.1	495±95	NO	E								
D	24,800	48.6	540±89	**	***	D							
D	22,200	43.5	539±99	*	**	NO	D						
C	25,100	49.2	552±101	***	***	NO	NO	C					
C	23,400	45.9	507±89	NO	NO	*	*	**	C				
B	23,300	45.7	550±97	**	***	NO	NO	NO	**	B			
B	24,500	48.0	550±107	**	***	NO	NO	NO	**	NO	B		
Control	20,800	40.8	562±124	***	***	NO	NO	NO	***	NO	NO	Control	
Control	25,800	50.6	550±108	**	***	NO	NO	NO	**	NO	NO	NO	

*: P<0.05, **: P<0.01, ***: P<0.001.

Table 11. Results of experiment 5.

Group	No. of shell survived	Survival rate (%)	Shell length Mean±SD (μm)	Growth rate (μm/day)	Significant difference for the each other group in shell length
1/4	2,200	4.2	331± 40	11.1	1/4
1/4	2,040	3.8	344± 42	12.2	* 1/4
1/2	3,820	7.2	379± 67	15.1	*** ** 1/2
1/2	2,880	5.4	353± 47	12.9	*** NO *** 1/2
Control	5,400	10.2	463± 97	22.1	*** ** ** ** Control
Control	4,820	9.1	521±126	26.9	*** ** ** ** Control
Control	5,180	9.8	509±122	25.9	*** ** ** ** ** NO Control
Control	4,000	7.5	478±103	23.3	*** ** ** ** NO ** NO Control
Control	3,820	7.2	487±134	24.1	*** ** ** ** NO NO NO NO

*: P<0.05, **: P<0.01, ***: P<0.001.

実験4の対照実験として実施した実験5の結果を Table 11 に示した。実験に用いた幼生のサイズ、浮遊幼生飼育期間中の日間成長量はそれぞれ $198 \pm 24 \mu\text{m}$, $7.0 \mu\text{m}/\text{日}$ であり、沈着初期稚貝飼育に用いる幼生の適性条件である $220 \mu\text{m}$ 以上、 $9.0 \mu\text{m}/\text{日}$ 以上 (藤原ら, 1988) を満たしておらず、その結果生残率は3.8~13.9%と全体的に低かった。なお、全体的に低率ではあるが、各区の生残率について見ると対照区7.2~10.2%, 1/2区5.4~7.2%, 1/4区3.8~4.2%であり、Chの投餌濃度が減少するにしたがって生残率も若干低下する傾向が認められた。取り上げ時の平均殻長は対照区463~521 μm, 1/2区353~379 μm, 1/4区331~344 μm であり、区内のばらつきがあるものの、Chの投餌濃度が減少するにしたがって取り上げ時の平均殻長は有意に小さくなった。なお、日間成長量は対照区 $22.1 \sim 26.9 \mu\text{m}/\text{日}$, 1~2区 $12.9 \sim 15.1 \mu\text{m}/\text{日}$, 1/4区 $11.1 \sim 12.2 \mu\text{m}/\text{日}$ であり、1/4区では対照区の約1/2となった。

実験5では生残率低下のため、実験4に比べ全体的に取り上げ数が一桁程低い。したがって、実験5が実験4と同じレベルの取り上げ数であったならば、Chの投餌濃度減少が成長および生残に与える影響はさらに大きくなったと予想される。しかし実験4の結果によれば、Chの投餌濃度を1/2~1/4に減少させ、代わりにTeを与えた実験区A~Eの成長および生残は、対照区とほとんど変わらなかった。よってトリガイ沈着初期稚貝飼育において、Teを利用することによりChの投餌量を1/2~1/4に減量できることが明らかになった。

以上の結果を整理してみると、Teは餌料価値としては

Chに劣るがChと併用して投与することで、収容平均殻長を $220 \mu\text{m}$ 以上としている沈着初期稚貝飼育には充分使用できることが分かった。現在、ChとNaの2種を細胞数で等量混合して投与しているが、Teを利用することにより大量培養の難しいChの投餌量を1/2~1/4に減量できることから、Teはトリガイ沈着初期稚貝飼育には有効な餌料であることが明らかとなった。

文献

- 藤原正夢・岩尾敦志・岡部三雄・西広富夫. 1988. トリガイ種苗量産技術の開発-沈着初期稚貝飼育方法の検討-. 栽培技研, **17**(1): 1-7.
- 藤原正夢・岩尾敦志・西広富夫. 1990. トリガイ種苗生産における適正投餌量の検討. 京都海洋センター研報, **13**: 11-16.
- 宮城県. 1990. 平成元年度地域特産種増殖技術開発事業報告書 (二枚貝類グループ).
- 岡内正典. 1985. 微小藻類テトラセルミス *Tetraselmis tetrahele* の増殖特性と餌料価値. 水産育種, **10**: 1-17.
- 瀬古慶子・北橋孝司・野原 勝. 1987. アコヤガイ種苗生産に関する実験. 昭和61年度三重県栽培漁業センター事業報告, 47-65.
- 高見東洋・河本良彦・大橋 裕. 1985. ミルクガイの種苗生産に関する研究—Ⅲ—. 山口内海水試報告, **13**: 25-28.

Synopsis

On Worth Using of *Tetraselmis tetrathele* as Food for Early Youngs of Cockle *Fulvia mutica*

Masamu FUJIWARA and Atsushi IWAO

As conventional foods for the early young cockle, *Fulvia mutica*, *Chaetoceros* sp. and *Nannochloropsis oculata* have been used in seedling productions. This paper deals with *Tetraselmis tetrathele* newly proposed as a worthy food in the hope that more extensive seedlings of the cockle will be possible, as *Chaetoceros* sp. involves technical difficulties in a large production.

Some umbone stage larvae ranging 120–140 μm ingested *T. tetrathele* and the frequency occurrences of larvae ingesting it increased as shell length enlarged from 120 μm to 240 μm . The growths of early young cockles fed simply on *T. tetrathele* and compositively on *T. tetrathele* and *N. oculata* were clearly inferior to that fed on a mixture of *Chaetoceros* sp. and *N. oculata*. There was no significant difference between two growths of early young cockles fed on mixture of the above three algae and two algae conventionally used. Namely, it was found that the amount of *Chaetoceros* sp. supplied could be replaceable to about 25–50% with *T. tetrathele*.