

アワビの好適餌料珪藻Cocconeis scutellum var.parvaの増殖特性

誌名	水産増殖
ISSN	03714217
著者名	河村,知彦 岡村,和磨 高見,秀輝
発行元	水産増殖談話会
巻/号	46巻4号
掲載ページ	p. 509-516
発行年月	1998年12月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



アワビの好適餌料珪藻 *Cocconeis scutellum* var. *parva* の増殖特性

河村知彦・岡村和磨・高見秀輝

(1998年9月28日受理)

Growth of Benthic Diatom *Cocconeis scutellum* var. *parva*, A Suitable Food for Post-larval Abalone

Tomohiko KAWAMURA^{*1}, Kazumaro OKAMURA^{*2}, and Hideki TAKAMI^{*1}

Abstract: The marine benthic diatom, *Cocconeis scutellum* var. *parva* is one of the most suitable diets for post-larval abalone. Growth of this diatom was examined at (1) various combinations of temperature (10, 15, 20, 25°C) and irradiance (12, 46, 78 112, 135 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$) at 33 PSU salinity, and (2) at various salinities (18, 23, 28, 31, 33, 36, 40, 44 PSU) at 20°C with a 78 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ and 12:12 LD cycle. These experiments used modified Jørgensen's medium and ran for 45-55 days. The initial valve length was $16.2 \pm 1.2 \mu\text{m}$ for the temperature and irradiance experiment, and $22.0 \pm 0.7 \mu\text{m}$ for the salinity experiment. The diatom grew in all conditions. The mean daily growth rate at the exponential phase ranged from 0.26 to 0.55 (divisions/day). Growth rates were higher at higher temperatures at the same irradiance $\geq 46 \mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$. There were no significant differences in growth rate among temperatures at 12 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$. No significant differences were observed in growth rate among irradiances $\geq 46 \mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ at the same temperature. Growth rates were significantly lower at 12 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ than at higher irradiances for temperatures $\geq 15^\circ\text{C}$. The optimal growth was observed at 28-40 PSU. The diatom formed a single-layered colony, and stopped growing when it occupied the entire surface area of the culture plate. The cell size appeared to decrease gradually from 34.4 to $9.7 \pm 0.5 \mu\text{m}$ in valve length during 130 generations (204 days). Sexual reproduction was observed at the 95th generation ($13.4 \pm 1.2 \mu\text{m}$), during which the valve length restored to 33.8 μm .

Key words: Benthic diatom; *Cocconeis*; Growth; Abalone

付着珪藻 *Cocconeis scutellum* var. *parva* は、エゾアワビ浮遊幼生の好適な着底基質であり¹⁾、殻長 1 mm 程度以上の初期稚貝にとって好適な餌料であることが明らかにされている²⁻³⁾。また、日本沿岸に広く分布することが知られている⁴⁾。

アワビ類の種苗生産施設では、「舐め板」と呼ばれる採苗器がよく用いられているが、この舐め板上では *Cocconeis* 属の珪藻が優占している⁵⁻⁸⁾。舐め板は、浮遊幼生の着底・変態を誘起し、変態した稚貝の良好な成長を保証する^{3,5,9-11)}が、その作成にかなりの時間と労力を必要とし、管棲多毛類等の付着動物による板の汚染が進行することがあるなどの問題点が指摘されている¹²⁾。*Cocconeis* 属珪藻の培養株を大量培養して適切に利用することができれば、さらに効率的な種苗の生産が可能になることが期待できる。

Cocconeis 属珪藻の増殖特性については、*C. scutellum* var. *ornata*¹³⁾および *Cocconeis* sp.¹⁴⁾での報告がなされており、増殖に適した水温、塩分、光量等が明らかにされている。単種の株を使ったものではないが、*Cocconeis* 属珪藻をアワビの種苗生産施設で大量培養する試みもなされている¹⁵⁾。しかし、現在のところ、実際の種苗生産に培養した *Cocconeis* 属の珪藻を利用している例はない。また、同じ *Cocconeis* 属でも種や株によってアワビ稚貝に対する餌料価値が異なることが知られている¹⁶⁾。

本研究では、既にエゾアワビ初期稚貝の好適な餌料であることが確認されている^{2,3)} *C. scutellum* var. *parva* の大量培養法を確立するため、本種の増殖に及ぼす水温、光量、及び塩分の影響を解析した。

*1 東北水産研究所 (Tohoku National Fisheries Research Institute, Shinjima, Shioyama, Miyagi 985-0001, Japan).

*2 西海区水産研究所 (Seikai National Fisheries Research Institute, Kokubu, Nagasaki 850-0951, Japan).

材料および方法

実験に用いた *C. scutellum* var. *parva* は、東北区水産研究所内のアワビ飼育用水槽から採取・分離し、ヨーガンスンの栄養塩添加海水培地¹⁷⁾にビタミン B₁₂ を 0.05 $\mu\text{g/l}$ 加えた培養液（以下ヨーガンスン改変培地）中で継代培養していたものである。培養水温は、採集時の水温に近い 15°C であった。水温と光量の影響を調べた実験に用いた細胞の実験開始時の大きさは、蓋殻長 $16.2 \pm 1.2 \mu\text{m}$ （平均値 ± 標準偏差）、蓋殻幅 $10.5 \pm 1.3 \mu\text{m}$ であった。また、塩分の影響を調べた実験には、蓋殻長 $22.0 \pm 0.7 \mu\text{m}$ 、蓋殻幅 $15.6 \pm 0.6 \mu\text{m}$ の細胞を用いた。

水温と光量の影響を調べた実験では、10, 15, 20 および 25°C の 4 つの水温実験区を設定し、各々の水温について 12, 46, 78, 112, 135 $\mu\text{E/m}^2/\text{s}$ （それぞれ約 1,000, 4,000, 7,000, 10,000, 12,000 lx）の 5 段階の光量区を設けた。培養液には、pH 7.8~8.3、塩分 33 PSU のヨーガンスン改変培地を用いた。また、塩分の影響を調べた実験では、ヨーガンスン改変培地（pH 7.8~8.3）の塩分を調整し、18, 23, 28, 31, 36, 40 および 44 PSU の 7 つの実験区を設定した。塩分の調整は、培地の作成前に、使用する滅菌濾過海水の水分を蒸発させることにより高塩分海水を、蒸留水により希釈することにより低塩分海水を作成した。水温は 20°C、光量は 78 $\mu\text{E/m}^2/\text{s}$ とした。いずれの実験でも、光源には白色蛍光灯を用い、明暗周期は 12 hL : 12 hD とした。細胞の培養は、培養液を 1 穴に 0.15 ml ずつ入れた 96 穴の平底マルチプレート（底面積 0.32 cm^2 、内容積 0.37 ml, Corning Glass Works）を用いて行った。1 実験区につき約 30 穴に 1 細胞ずつ接種し、観察を開始した。このうち成長の良い 7 穴を 4 日後に選び、これらの増殖を 45~55 日間にわたり継続して観察した。観察・計数は細胞の増加に応じて、1~10 日間隔で倒立顕微鏡を用いて行い、培養液は 5 日おきに交換した。水温及び塩分については、実験に先立ち 1 週間以上の馴致期間をおいた。

計数した珪藻細胞数から、各計測日間の日間増殖速度 (μ) を以下の式¹⁸⁾を用いて算出した。

$$\mu = 1/t \times \log_2 (N_t/N_0)$$

ここで、 t は培養日数、 N_t は培養期間最終日 (t 日後) における細胞数、 N_0 は培養開始日における細胞数を示す。

細胞分裂に伴う細胞の大きさや形状の変化を把握するため、増殖特性を調べた上記の実験とは別に、204 日間にわたり 96 穴平底マルチプレート中で継代培養を行った。培養は、有性生殖により細胞の大きさが復活した直後の蓋殻長 34.4 μm 、幅 23.1 μm の細胞から開始

した。復活以前の細胞は、蓋殻長 $15.1 \pm 0.8 \mu\text{m}$ 、蓋殻幅 $10.1 \pm 0.9 \mu\text{m}$ であった。培養液には、pH 7.8~8.3、塩分 31~33 PSU のヨーガンスン改変培地を用い、5 日ごとに新しい培養液と交換した。水温は 20°C、光量は 78 $\mu\text{E/m}^2/\text{s}$ で明暗周期 12 hL : 12 hD とした。細胞の大きさ測定および形状の観察は、5~10 日おきに無作為抽出した 30 細胞について実施した。世代数を算出するため、同時に細胞数も計数した。細胞がマルチプレートの底面を覆い尽くす前（約 25~35 日毎）になるべく小さな細胞を分離して、別の穴に植え継いで培養を継続した。観察期間中（204 日間）に 7 回の植え継ぎを実施した。

増殖速度に及ぼす水温、光量の影響について、二元配置の分散分析により検定を行った。その結果、水温と光量の間交互作用が認められた ($p < 0.001$) ため、全ての実験区をひとまとめにして一元配置の分散分析を行った。さらに、これらの実験区間で有意差が認められた ($p < 0.001$) ため、Tukey-Kramer HSD test により多重比較を行った。塩分が増殖速度に及ぼす影響については、一元配置の分散分析を行った結果、有意差が認められた ($p < 0.001$) ため、Tukey-Kramer HSD test により多重比較を行った。

結果

増殖に及ぼす水温と光量の影響 全ての水温区、光量区で増殖が認められ、測定終了時（45~55 日後）には全ての実験区で生細胞密度が $4 \sim 7 \times 10^5 \text{ cells/cm}^2$ に達した（Fig. 1, 2）。各測定日間の日間増殖速度 (μ) は、いずれの実験区においても培養日数の経過とともに減少した。各実験区における初めの 10 日間の平均増殖速度と、指数増殖期（総細胞数が 2 桁になった時点以降、生細胞率が 90% を下回る以前とした）の平均増殖速度および最大増殖速度を Table 1 に示した。

指数増殖期における平均増殖速度は、46 $\mu\text{E/m}^2/\text{s}$ 以上の光量区では概して高水温区ほど高く、10°C では他の水温区より有意に低かった（Tukey-Kramer HSD test, $p < 0.05$ ）。しかし、12 $\mu\text{E/m}^2/\text{s}$ では、水温による増殖速度の有意な差は認められなかった（Tukey-Kramer HSD test, $p < 0.05$ ）。水温別に見ると、15°C 以上の実験区では 12 $\mu\text{E/m}^2/\text{s}$ での平均増殖速度は他の光量区に比べて有意に低かったが、46 $\mu\text{E/m}^2/\text{s}$ 以上では光量による有意な差は認められなかった（Tukey-Kramer HSD test, $p < 0.05$ ）。10°C では、光量による平均増殖速度の有意な差は認められず（Tukey-Kramer HSD test, $p < 0.05$ ）、全ての光量区で 0.26~0.29 の範囲にあった。最大の平均増殖速度は、25°C、78 $\mu\text{E/m}^2/\text{s}$ 区での 0.55 ± 0.02 （平均値 ± 標準偏差）であった（Table 1）。また、全実験区中の最大増殖速度は、

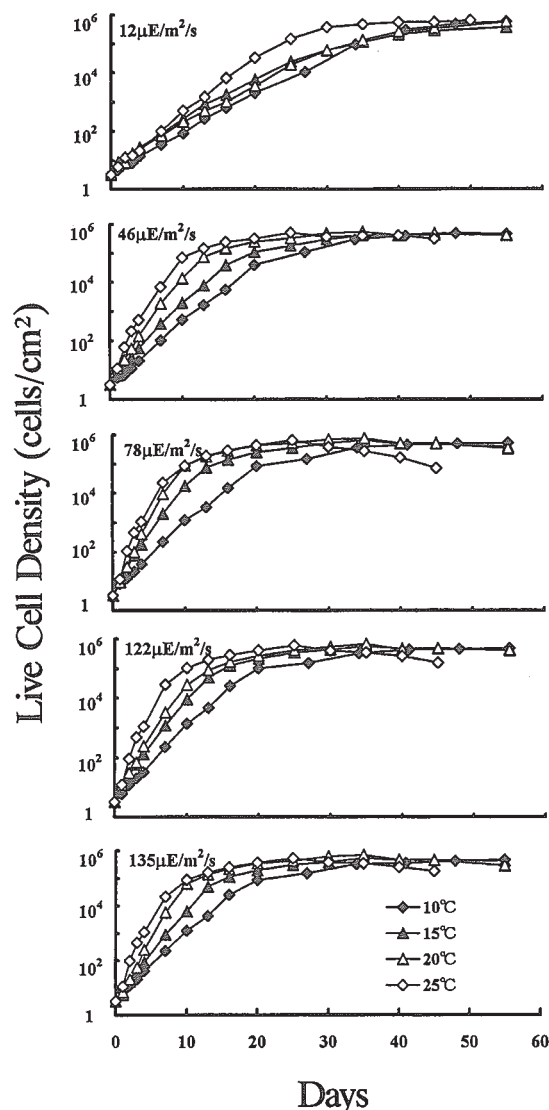


Fig. 1. Growth of *Cocconeis scutellum* var. *parva* at different temperatures (10, 15, 20, 25°C) at 12, 46, 78, 112 and 135 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ on a 12:12 LD cycle. Salinity was 33 PSU. Data indicate means ($n=7$).

25°C, 78 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ 区の 1 穴で測定開始後 2 日目と 3 日目の間に記録された 3.94 であった。

最初の 10 日間の増殖を同一水温区で光量別に比較すると、いずれの水温区においても、12 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ 区では他の光量区に比べて増殖速度は有意に低かった (Table 1, Tukey-Kramer HSD test, $p<0.05$)。また、10°C と 15°C の実験区では、46 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ での増殖速度も 78 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ 以上に比べて有意に低かった (Tukey-Kramer HSD test, $p<0.05$)。同一光量区においては、46 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ 以上の光量区で、水温の高い実験区ほど増殖速度が有意に高かった (Tukey-Kramer HSD test, $p<0.05$)。

生細胞が培養器の底面一面を覆い尽くした後は、死細胞が出現し始めた。培養液を交換しても死細胞が増加し、生細胞の密度はそれ以上増加することはなかった。25°C の 46 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ 以上の光量区では測定開始か

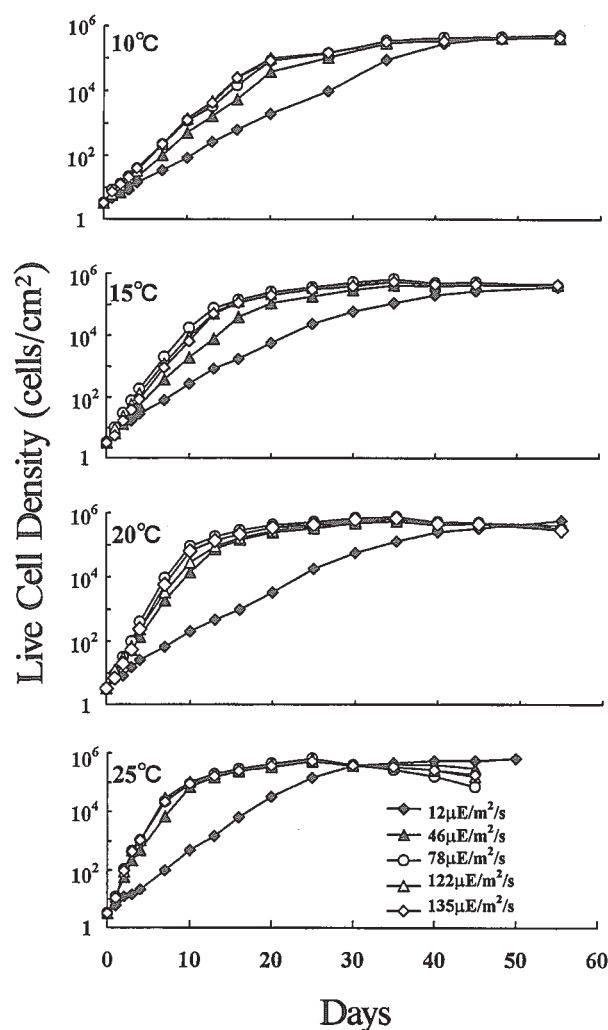


Fig. 2. Growth of *Cocconeis scutellum* var. *parva* at different irradiances (12, 46, 78, 112, 135 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$) on a 12:12 LD cycle at 10, 15, 20 and 25°C. Salinity was 33 PSU. Data indicate means ($n=7$).

ら 25 日目以降、15°C と 20°C の 46 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ 以上の光量区では 35 日目以降に死細胞の割合が増加し始めた (Fig. 3)。しかし、10°C では実験終了時まで死細胞が目立って増加することはなかった。死細胞の上に生細胞が重なって増加する現象は認められたが、生細胞の上に他の生細胞が重なって増えることはなかった。

増殖に及ぼす塩分の影響 全ての塩分区で増殖したが、生細胞密度の最大値には実験区によって有意な差が認められた (Fig. 4, $p<0.001$)。生細胞密度は 45 日目に、40 PSU では 3.7×10^5 cells/cm² に、28~36 PSU では $3.1 \sim 3.2 \times 10^5$ cells/cm² に達した。それに対して、18, 23 および 44 PSU では、31 日目を過ぎた頃から細胞の増加速度が低下し、生細胞密度の最大値は $1.4 \sim 1.9 \times 10^5$ cells/cm² に留まった (Fig. 4)。44 PSU では、測定開始後 10 日目までの増殖速度 (μ) が他の実験区に比べて有意に低かった (Table 2, Tukey-Kramer HSD test, $p<0.05$)。また、18 PSU と 23 PSU におい

Table 1. The growth rate of *Cocconeis scutellum* var. *parva*. at different combinations of temperature and irradiance at 33 PSU with a 12 : 12 LD cycle

Temperature (°C)	Irradiance ($\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$)	Growth rate (divisions/day, mean \pm SD)		
		During the first 10 days	At the exponential phase	Maximum value
10	12	0.47 \pm 0.03	0.29 \pm 0.01	1.08 \pm 0.21
	46	0.73 \pm 0.05	0.28 \pm 0.03	1.06 \pm 0.11
	78	0.85 \pm 0.03	0.29 \pm 0.04	1.35 \pm 0.42
	112	0.88 \pm 0.02	0.26 \pm 0.02	1.11 \pm 0.14
	135	0.86 \pm 0.05	0.26 \pm 0.01	1.43 \pm 0.44
15	12	0.59 \pm 0.09	0.35 \pm 0.01	1.28 \pm 0.27
	46	0.92 \pm 0.03	0.42 \pm 0.00	1.57 \pm 0.22
	78	1.24 \pm 0.02	0.44 \pm 0.03	1.97 \pm 0.20
	112	1.13 \pm 0.06	0.42 \pm 0.01	1.80 \pm 0.19
	135	1.09 \pm 0.04	0.42 \pm 0.01	1.96 \pm 0.49
20	12	0.57 \pm 0.07	0.27 \pm 0.01	1.34 \pm 0.33
	46	1.20 \pm 0.05	0.42 \pm 0.01	1.98 \pm 0.26
	78	1.48 \pm 0.03	0.43 \pm 0.00	2.16 \pm 0.19
	112	1.29 \pm 0.08	0.42 \pm 0.01	2.06 \pm 0.32
	135	1.42 \pm 0.06	0.42 \pm 0.01	2.32 \pm 0.42
25	12	0.72 \pm 0.05	0.32 \pm 0.05	1.08 \pm 0.21
	46	1.44 \pm 0.01	0.49 \pm 0.12	2.40 \pm 0.39
	78	1.45 \pm 0.10	0.55 \pm 0.02	3.19 \pm 0.46
	112	1.50 \pm 0.01	0.52 \pm 0.10	2.86 \pm 0.21
	135	1.48 \pm 0.01	0.52 \pm 0.07	3.19 \pm 0.29

ては、25日目までの増殖速度の低下が著しいことがわかった。全実験区中の最大増殖速度は、40 PSU 区の1穴で測定開始後4日目と7日目の間に記録された1.45であった。

生細胞同士が重なり合って付着する現象は見られず、細胞は一層のコロニーを形成していた。28~40 PSU では培養器の底面ほぼ一面に細胞が増殖したが、18, 23および44 PSU では、細胞は一面を覆い尽くすまでは増殖しなかった。

生細胞密度が最大値に近づいた31日目以降、全ての実験区で死細胞が出現し始めた (Fig. 5)。死細胞は、23 PSU 以下の低塩分区と40 PSU 以上の高塩分区で多く出現する傾向がみられた。44 PSU で最も死細胞率が高かった。

細胞分裂にともなう細胞形態の変化 204日間の継代培養期間中におよそ130世代が経過した。細胞の大きさは徐々に減少し、130世代目には蓋殻長 $9.7 \pm 0.5 \mu\text{m}$ 、幅 $7.0 \pm 0.3 \mu\text{m}$ となった (Fig. 6)。しかし、細胞の厚さはほとんど変化せず、どの世代でも $2.2 \pm 1.1 \mu\text{m}$ であった。細胞構造自体にも大きな変化は見られず、大きさにかかわらず上殻には15本/ $10 \mu\text{m}$ 、下殻には12本/ $10 \mu\text{m}$ の切頂条線が認められた。

約95世代目 (164日目) に有性生殖が観察された。同型配偶子が接合していくつかの増大胞子が形成され、その内の1胞子から大型の栄養細胞が出現した。

Table 2. The growth rate of *Cocconeis scutellum* var. *parva* at different salinities at 20°C, with a 78 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$, 12 : 12 LD cycle

Salinity (PSU)	Growth rate (divisions/day, mean \pm SD)		
	During the first 10 days	At the exponential phase	Maximum value
18	0.89 \pm 0.06	0.27 \pm 0.08	0.94 \pm 0.33
23	1.02 \pm 0.04	0.24 \pm 0.06	0.85 \pm 0.42
28	1.01 \pm 0.02	0.30 \pm 0.04	1.27 \pm 0.08
31	1.08 \pm 0.05	0.29 \pm 0.02	1.32 \pm 0.08
36	1.03 \pm 0.03	0.30 \pm 0.05	1.32 \pm 0.07
40	0.93 \pm 0.04	0.30 \pm 0.03	1.02 \pm 0.26
44	0.57 \pm 0.10	0.43 \pm 0.04	0.71 \pm 0.06

この大型細胞の蓋殻長は $33.8 \mu\text{m}$ 、幅は $24.3 \mu\text{m}$ であった。増大胞子を形成した時点での栄養細胞の平均サイズは、蓋殻長 $13.4 \pm 1.2 \mu\text{m}$ 、幅 $8.7 \pm 0.8 \mu\text{m}$ であった。112世代目 (184日目) 以降にも増大胞子は多数形成されたが、栄養細胞の形成には至らなかった。

考 察

増殖特性 本実験に用いた *C. scutellum* var. *parva* 株は、光量が同じ場合、設定した10~25°Cの範囲では概して水温が高いほど速やかに増殖した。しかし、光量12 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ では、水温による増殖速度の明確な差は認められなかった。同一水温下で比較すると、46 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$

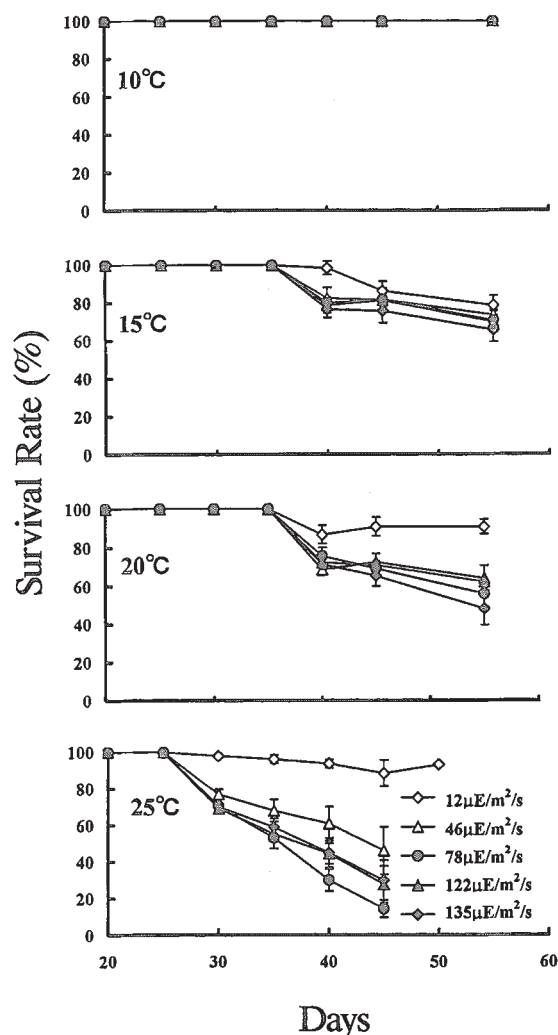


Fig. 3. Survival rate of *Cocconeis scutellum* var. *parva* at different combinations of temperature (10, 15, 20, 25°C) and irradiance (12, 46, 78, 112, 135 μE/m²/s). Salinity was 33 PSU. Means and standard deviations ($n=7$) are presented.

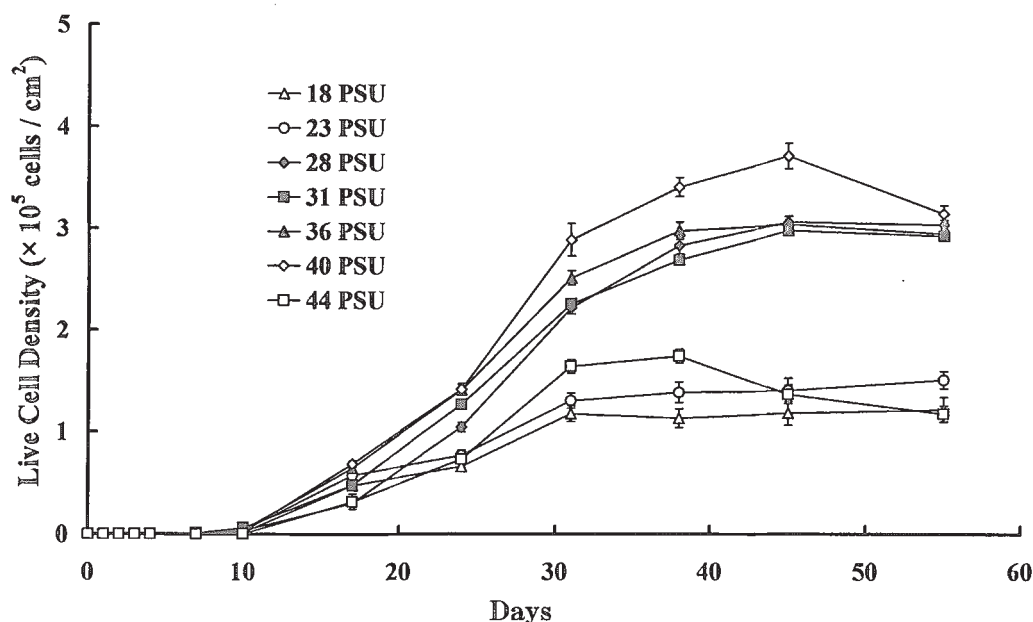


Fig. 4. Growth of *Cocconeis scutellum* var. *parva* at different salinities (18, 23, 28, 31, 36, 40, 44 PSU) at 20°C, 78 μE/m²/s on a 12:12 LD cycle. Means and standard deviations ($n=7$) are presented.

以上の光量区では増殖速度に有意な差は見られなかったが、12 μE/m²/s 区では15°C以上の水温で他の光量区より増殖は有意に遅かった。このように、水温と光量により増殖速度に変化が認められ、指数増殖期における平均増殖速度 (μ) は0.26~0.55の範囲にあった。この平均増殖速度の最大値は、本種と同様に群体を造らず単体で増殖する他の海産付着珪藻種の最大平均増殖速度¹⁹⁻²²⁾に比べて低く、変動幅も小さい。同属の *C. scutellum* var. *ornata*¹³⁾, *C. sublittralis*²²⁾とはほぼ同レベルであった。

McIntire and Wulff²³⁾は、室内実験により付着珪藻群落に及ぼす光の影響を検討し、*C. scutellum* var. *parva*が光の弱い場合にのみ優占種となったことを報告している。海中に垂下した基質上に形成される付着珪藻群落中においても、*C. scutellum* var. *parva*を含む *Cocconeis* 属の珪藻は弱光下や日射量の少ない場合に優占しやすいことが観察されている^{22,24,25)}。付着珪藻群落の遷移過程を観察した結果²²⁾, *Cocconeis* 属など匍匐固着型の付着形態^{4,25,26)}を持つ種は、増殖速度は遅いが、大きな群体の陰になる群落の下層でも徐々に増加し続け、光条件に係わらず最終的には優占種となることが推察された。光量が少ない場合にはより早い段階から優占するものと考えられる^{22,26)}。本研究の結果からも、強光下では *C. scutellum* var. *parva*の増殖速度は他の多くの付着珪藻種に比べて低いことがわかり、それが強光下で優占しにくい原因の一つであることが示された。しかし、12 μE/m²/s (約1,000 lx) での増殖速度は必ずしも他の付着形態を持つ種の増殖速度¹⁹⁻²²⁾に比べて高いわけではない。本種が弱光下で優

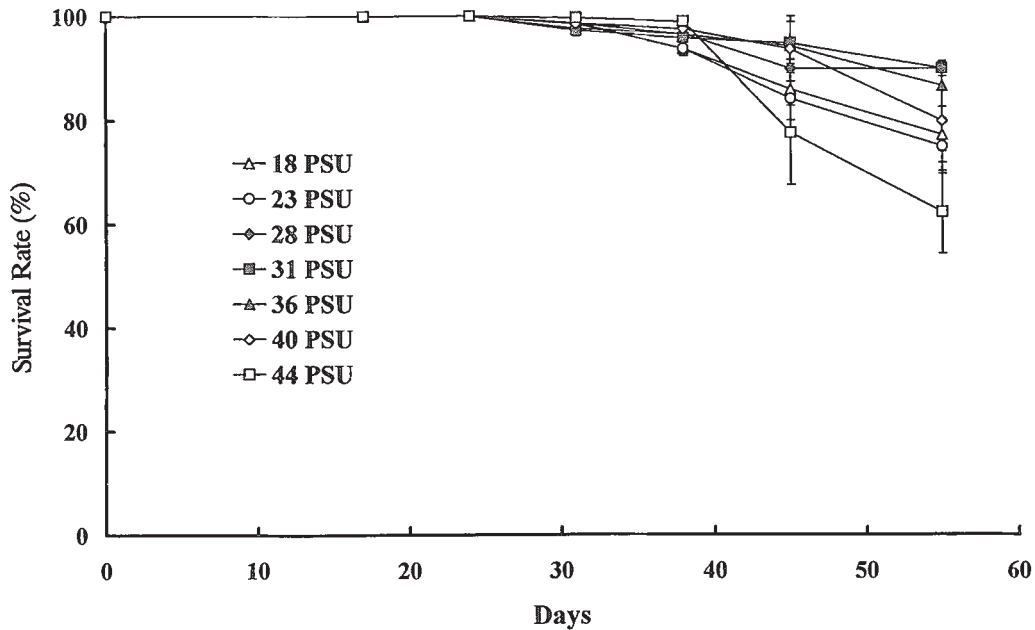


Fig. 5. Survival rate of *Cocconeis scutellum* var. *parva* at different salinities (18, 23, 28, 31, 36, 40, 44 PSU) at 20°C, 78 μ E/m²/s on a 12:12 LD cycle. Means and standard deviations ($n=7$) are presented.

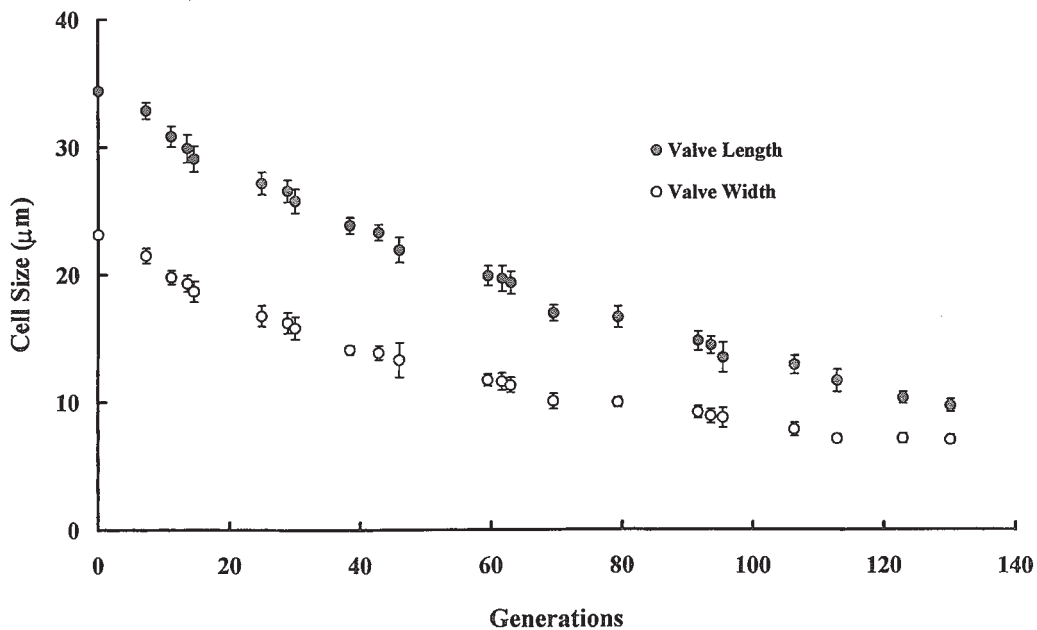


Fig. 6. The change in cell size of *Cocconeis scutellum* var. *parva* during 130 generations (204 days). Means and standard deviations ($n=30$) are presented.

占しやすいのは、弱光下での増殖速度が他の珪藻と同程度であることに加えて、付着力がきわめて強く立体的な群体を造らないため²⁵⁾、波浪や水流で剥離しにくく²⁵⁾、多くの植食動物に摂食されにくい^{6,7,22,25)}ことなど、増殖速度以外に他の付着形態を持つ種よりも増殖に有利な特性を持つためと考えられる。

使用した *C. scutellum* var. *parva* 株は、28~40 PSU の塩分区で良好に増殖し、増殖に適した塩分範囲は比較的高塩分側に寄っていることがわかった。Mizuno²⁷⁾が海産付着珪藻と河口産付着珪藻に分けて

調べた塩分に対する増殖特性の結果からみると、*C. scutellum* var. *parva* は海産種と判断される。しかし、三重県英虞湾では *C. scutellum* var. *parva* を含む *Cocconeis* 属の珪藻が湾口から湾奥の河口付近まで広く分布していたことが報告されており²⁸⁾、同種でも生息環境により増殖に適した塩分の範囲が異なる可能性も考えられる。

水温と光量の影響を調べた実験と塩分の影響を調べた実験とで、ほぼ同じ条件での増殖速度を比較すると、両者はかなり異なっている。指数増殖期における平均

増殖速度は、前者では20°C, 78 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$, 33 PSU で0.43 (Table 1), 後者では20°C, 78 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$, 31 PSU で0.29, 20°C, 78 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$, 36 PSU で0.30であった (Table 2)。これは、2つの実験に用いた細胞の大きさが違っていた (実験開始時の平均蓋殻長は、それぞれ16.2 μm と22.0 μm) ことによるものと考えられる。204日間にわたる細胞の形態変化を調べた実験では、細胞の大きさの減少にともなって増殖速度が増加する傾向が認められた。異なる珪藻種間の比較研究では、最大増殖速度が細胞体積と負の相関関係にあることが報告されている^{29,30)}。

増殖に適した水温、光量、塩分の範囲内でも、細胞が培養器の内壁一面に広がった後には、培養液を交換しても死細胞が増加し、生細胞が重なって増殖することはなかった。したがって、本種の増殖量は付着基質の表面積に規定されることが明確になった。

形態変化 神奈川県油壺湾から周年にわたり採集された *C. scutellum* var. *parva* の細胞の大きさは、蓋殻長11.5~34.0 μm , 幅7.3~19.2 μm の範囲にあった³¹⁾。本研究に用いた株の大きさもほぼ同じ範囲で変化した。130世代目には蓋殻長が $9.7 \pm 0.1 \mu\text{m}$ まで縮小したが、配偶子を形成して有性生殖を行い始めた細胞の大きさは、蓋殻長 $13.4 \pm 0.2 \mu\text{m}$ であり、配偶子の形成条件が整っている場合には、この程度の大きさになると有性生殖を行い大きさを回復するものと考えられる。本研究では配偶子の形成条件を明らかにするには至らなかったが、*C. scutellum* var. *ornata* では水温と日長が配偶子の形成に関与していることが報告されている¹³⁾。

アワビ餌料としての大量培養法 *C. scutellum* var. *parva* を単種で培養する場合、本研究で設定した範囲では、水温25°C, 光量46 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ 以上、塩分28~40 PSU で最も速く最大密度まで増殖させられることがわかった。細胞が重なって付着することはなく、基質一面に広がった時点で増殖は停止するため、細胞の収量を増やすためには、付着基質の表面積を増やす必要がある。本種は非常に付着力が強く、基質から無理に剝離すると多くの細胞の上殻だけが剝がれ壊れてしまう。そのため、他の珪藻では有効な田中の開発した培養装置³²⁾など珪藻を剝離して収穫する培養法は利用できない。珪藻の付着基質をそのままアワビ幼生の飼育板とすることが望ましい。

C. scutellum var. *parva* は、他の珪藻に比較するとアワビ幼生の着底・変態に適した付着基質であるが¹⁾、舐め板に比べれば不安定で³⁾、変態後1 mm程度までの初期稚貝にとっては必ずしも餌料価値は高くない^{3,16,33)}。初期稚貝が効率的に *Cocconeis* を摂取できるようになるのは殻長0.8~1 mm 以上になってから

である^{2,16)}。単種の *C. scutellum* var. *parva* が付着した基質にアワビ稚貝 (殻長1 cm 以上) を付け、稚貝を匍匐させる (珪藻を摂餌させる) ことで着底・変態率を安定的に高くすることができ³⁾、また、珪藻上を匍匐する際に分泌される稚貝の足蹠粘液は、1 mm 以下の初期稚貝の餌料となることが明らかにされている³⁾。培養した *C. scutellum* var. *parva* をアワビの餌料として用いるためには、稚貝に舐めさせたものを用いるか、変態初期の餌料として好適な他の珪藻^{16,33)}を初期に併用する方法が有効と考えられる。

実際の種苗生産現場においては、培養した珪藻をアワビの飼育水槽中で可能な限り長く健康な状態で優占させることが重要であろう。本研究の結果からみると、低温、弱光下では本種の増殖は遅いが、比較的長期間にわたり生細胞率を高く維持することができ、餌料として利用する場合にはむしろ好都合かも知れない。また弱光下では、他の珪藻の繁茂を押さえることもできる。*Cocconeis* を積極的に摂餌せず、他の付着力の弱い珪藻を優先的に摂餌する殻長1 cm 程度以上のアワビ稚貝^{6,7,34)}に舐めさせる方法は、幼生の着底・変態率を高め、初期稚貝の餌料を保証するばかりでなく、*Cocconeis* の優占する状態を長期間維持するためにも有効と考えられる。

要 約

アワビ初期稚貝の餌料として好適な付着珪藻 *Cocconeis scutellum* var. *parva* の増殖に及ぼす水温 (10, 15, 20, 25°C), 光量 (12, 46, 78, 112, 135 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$), 及び塩分 (18, 23, 28, 31, 36, 40, 44 PSU) の影響を調べた。

設定した水温の範囲内においては、光量が同じ場合、46 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ 以上の光量で高水温区ほど速やかに増殖した。12 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ では、水温による増殖速度の有意な差は認められなかった。同一水温下では、46 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ 以上の光量区では増殖速度に有意な差は見られなかった。15°C以上の水温区においては、12 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ での増殖はそれより高い光量区より有意に遅かった。塩分については、28~40 PSU の塩分区で良好に増殖したが、44 PSU では増殖速度が有意に低く、18 PSU と23 PSU では細胞が最大密度に達しなかった。細胞が重なって増殖することはなく、培養器の内壁一面に広がるとそれ以降の増殖は止まり、死細胞率が増加した。

蓋殻長34.4 μm , 幅23.1 μm の細胞から開始した継代培養期間中に、細胞の大きさは徐々に減少し、204日目 (約130世代目)には蓋殻長 $9.7 \pm 0.5 \mu\text{m}$ となった。約95世代目 (蓋殻長 $13.4 \pm 1.2 \mu\text{m}$) に有性生殖が観察され、大型の栄養細胞 (蓋殻長33.8 μm) が出現した。

謝 辞

本研究は、農林水産省の大型別枠研究「バイオコスモス計画」の一環として行われた。ここに記して関係各位に感謝の意を表す。また、本稿を御校閲いただいた東北区水産研究所の飯倉敏弘資源増殖部長ならびに山下 洋魚介類増殖研究室長、および英文要旨の校閲をお願いした Rodney D. Roberts 博士に深謝する。

文 献

- 1) 河村知彦・菊地省吾 (1992): エゾアワビ幼生の着底と変態に及ぼす付着珪藻の影響. 水産増殖, 40(4), 403-409.
- 2) Kawamura, T., T. Saido, H. Takami, and Y. Yamashita (1995): Dietary value of Benthic diatoms for the growth of post larval abalone *Haliotis discus hannai*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 194, 189-199.
- 3) Takami, H., T. Kawamura, and Y. Yamashita (1997): Survival and growth rates of post-larval abalone *Haliotis discus hannai* fed conspecific trail mucus and/or benthic diatom *Cocconeis scutellum* var. *parva*. *Aquaculture*, 152, 129-138.
- 4) 河村知彦 (1994): 海産付着珪藻の分類と生態. 付着生物研究, 10(2), 7-25.
- 5) 関 哲夫 (1978): アワビ種苗生産の考え方. 増殖技術の基礎と理論 (日本水産学会編), 恒星社厚生閣, 東京, pp. 57-67.
- 6) 庵谷 晃・鈴木秀和 (1987): クロアワビ稚貝飼育波板上の珪藻の消長. 水産増殖, 35(2), 91-98.
- 7) Suzuki, H., T. Ioriya, T. Seki, and Y. Aruga (1987): Changes of algal community on the plastic plates used for rearing the abalone *Haliotis discus hannai*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 53(12), 2163-2167.
- 8) Matthews, I. and P. A. Cook (1995): Diatom diet of abalone post-larvae (*Haliotis midae*) and the effect of pre-grazing the diatom overstorey. *Mar. Freshwater Res.*, 46, 545-548.
- 9) Ebert, E. E. and J. L. Houk (1984): Elements and innovations in the cultivation of red abalone *Haliotis rufescens*. *Aquaculture*, 39, 375-392.
- 10) Hahn, K. O. (1989): Handbook of culture of abalone and other marine gastropods. CRC Press, Florida, pp. 1-348.
- 11) Slattery, M. (1992): Larval settlement and juvenile survival in the red abalone (*Haliotis rufescens*): an examination of inductive cues and substrate selection. *Aquaculture*, 102, 143-153.
- 12) 浮 永久 (1995): アワビ類の繁殖生理と種苗生産の組立て. アワビ類の種苗生産技術 (浮 永久・大森正明・河原郁恵・石田享一・柳澤豊重編), 日本栽培漁業協会, 東京, pp. 1-92.
- 13) Mizuno, M. and K. Okuda (1985): Seasonal change in the distribution of cell size of *Cocconeis scutellum* var. *ornata* (Bacillariophyceae) in relation to growth and sexual reproduction. *J. Phycol.*, 21, 547-553.
- 14) 大貝政治・松井敏夫・高木博之 (1992): 付着珪藻 *Cocconeis* sp. の増殖に及ぼす環境諸要因の影響. 水産増殖, 40(2), 241-246.
- 15) 山本栄一・古田晋平・金沢忠佳 (1984): 藻類種苗生産試験. 昭和58年度鳥取栽漁試事業報告書, 44-46.
- 16) Kawamura, T., R. D. Roberts, and H. Takami (1998): A review of the feeding and growth of post larval abalone. *J. Shellfish. Res.*, 17(3) (in press).
- 17) Jørgensen, E. G. (1962): Antibiotic substances from cells and solution of unicellular algae with special reference to some chlorophyll derivatives. *Physiol. Plant.*, 15, 530-545.
- 18) Eppley, R. W. (1977): The growth and culture of diatoms, in "The Biology of Diatoms" (ed. By D. Werner), University of California Press, California, pp. 24-64.
- 19) Castenholtz, R. W. (1964): The effect of day length and light intensity on the growth of littoral marine diatoms in culture. *Physiol. Plant.*, 17, 951-963.
- 20) 大貝政治 (1986): のり葉体及びのり網に着生する珪藻の生態に関する研究. 水大校研報, 34(2,3), 37-89.
- 21) 大貝政治・岩野英樹・星島正樹 (1986): 珪藻 *Cylindrotheca closterium* (Ehrenberg) Reimann et Lewin の増殖に及ぼす環境諸要因の影響. 日水誌, 52(9), 1635-1640.
- 22) 河村知彦 (1994): 海産付着珪藻群落の変動機構に関する研究. 学位論文, 東京大学, 東京, 221p.
- 23) McIntire, C. D. and B. L. Wulff (1969): A laboratory method for the study of marine benthic diatoms. *Limnol. Oceanogr.*, 14, 667-678.
- 24) Hudon, C. and E. Bourget (1983): The effect of light on the vertical structure of epibenthic diatom communities. *Bot. Mar.*, 26, 317-330.
- 25) Kawamura, T. and R. Hirano (1992): Seasonal changes in benthic diatom communities colonizing glass slides in Aburatsubo Bay, Japan. *Diatom Res.*, 7(2), 227-239.
- 26) 河村知彦 (1995): 付着珪藻群落の変動機構. 月刊海洋, 27(10), 591-596.
- 27) Mizuno, M. (1992): Influence of salinity on the growth of marine and estuarine benthic diatoms. *Jpn. J. Phycol.*, 40, 33-37.
- 28) 田中信彦 (1984): 英虞湾における付着微細藻の分布一特に *Cocconeis* 属と *Synedra* 属について一. 養殖研報, 6, 59-64.
- 29) Williams, R. B. (1964): Division rates of salt marsh diatoms in relation to salinity and cell size. *Ecology*, 45, 877-880.
- 30) Mizuno, M. (1991): Influence of cell volume on the growth and size reduction of marine and estuarine diatoms. *J. Phycol.*, 27, 473-478.
- 31) 河村知彦・平野礼次郎 (1989): 神奈川県油壺湾の付着珪藻. 東北水研研報, 51, 41-73.
- 32) 田中信彦 (1981): 天然餌料としての付着珪藻とその培養. 水産土木, 24(1), 37-41.
- 33) Kawamura, T. and H. Takami (1995): Analysis of feeding and growth rate of newly metamorphosed abalone *Haliotis discus hannai* fed on four species of benthic diatom. *Fisheries Sci.*, 61(2), 357-358.
- 34) 高見秀輝・河村知彦・山下 洋 (1996): エゾアワビ1歳貝に対する付着珪藻の餌料価値. 水産増殖, 44(2), 211-216.