短 報

エゾアワビの採苗における緑藻アワビモ
Ulvella lens の利用可能性と針型珪藻
Cylindrotheca closterium との併用松本有記雄,^{1*} 中坪あゆみ,^{1a}高見秀輝,² 河村知彦³

(2017 年 8 月 21 日受付, 2017 年 10 月 31 日受理,

2018 年 2 月 16 日 J-STAGE 早期公開)

¹(国研)水産研究・教育機構東北水産研究所宮古庁舎,²(国研)水産研究・教育機構東北水産研究所塩釜庁舎,³東京大学大気海洋研究所国際沿岸海洋研究センターSettlement rate of abalone *Haliotis discus hannai* larvae
using un-grazed green algae *Ulvella lens* with
benthic diatom *Cylindrotheca closterium*YUKIO MATSUMOTO,^{1*} AYUMI NAKATSUBO,^{1a}HIDEKI TAKAMI² AND TOMOHIKO KAWAMURA³¹Miyako Laboratory, Tohoku National Fisheries Research
Institute, Japan Fisheries Research and Education Agency,
Miyako, Iwate 027-0097, ²Tohoku National Fisheries
Research Institute, Japan Fisheries Research and Education
Agency, Shiogama, Miyagi 985-0001, ³Atmosphere and O-
cean Research Institute, The University of Tokyo, Otsuchi,
Iwate 028-1102, Japanキーワード: *Cylindrotheca closterium*, アワビモ, エゾ
アワビ種苗生産

エゾアワビの種苗生産技術では、浮遊幼生を採苗板上に着底・変態させる過程(採苗)と変態後の初期稚貝の飼育に課題が残されている。現在の技術では、着底基質となりかつ変態後の餌料となる微細藻類を自然繁茂したものに依存しているため、幼生の着底・変態や初期稚貝の餌料として不適な微細藻類が繁茂した場合に採苗率や生残率、成長速度が大幅に低下する危険性がある。¹⁻²⁾そこで我々は、幼生の着底・変態誘引効果が高いことが知られ、現在の種苗生産施設で多く用いられている緑藻アワビモ *Ulvella lens* を稚貝に舐めさせて稚貝の匍匐粘液を付加した採苗板,³⁾ いわゆる“舐め板”の上に、変態後の初期稚貝にとって好適な餌料である針型珪藻 *Cylindrotheca closterium*^{1,2,4)} (以下、針型珪藻)を繁茂させた採苗板を考案した。⁵⁾ この採苗板における初期稚貝の生残率と日間成長速度は、従来の“舐め板”上で飼育した場合よりも高く、初期稚貝の飼育において有効で

あることが示されている。しかし、この新たな採苗板の作成においてもアワビモを稚貝に舐めさせる必要があるため、稚貝の付着・剥離に多くの労力が必要である。

オーストラリアで種苗生産が行われているウスヒラアワビ *Haliotis laevis* やアカアワビ *Haliotis rubra* では、採苗板上にアワビモを培養したのみで、アワビモを稚貝に舐めさせずに採苗を行うことが多い。⁶⁾ エゾアワビにおいては、アワビモを培養しただけの採苗板上で 64% の変態率を示したことが過去に 1 例報告³⁾ されているが、詳細には検討されていない。もし、アワビモにおける着底・変態率が過去の報告のように比較的高い値であれば、針型珪藻による稚貝の生残率向上の効果⁵⁾ と合わせることで、省力化を図りながら従来の生産数を維持できる可能性がある。そこで本研究では、稚貝の匍匐粘液に依存しない採苗法が事業規模で実現可能かどうかを検討するため、アワビモを培養した板(アワビモ板)、アワビモ板に針型珪藻を付着させた板(アワビモ針型珪藻板)、およびアワビモを稚貝に舐めさせた板(アワビモ粘液板)について、エゾアワビ浮遊幼生の着底・変態率を比較した。

アワビモ板は、高橋³⁾に従い、20 枚 1 組のプラスチック板 (33×33 cm) に母藻板から放出された遊走子を付着させ、1 か月培養することで作成した。アワビモ針型珪藻板は、針型珪藻を懸濁させた砂濾過海水 (100,000 cells/mL) を満たした 400 L の角型水槽内にアワビモ板を 4 日間浸漬して作成した。作成した板上における針型珪藻の付着密度は、 $4,760 \pm 4,238$ cells/mm² (平均値±標準偏差, 以下同様) であった。アワビモ粘液板は、砂濾過海水をかけ流した 400 L 角型水槽にアワビモ板を収容して、板一枚あたりに殻長 3 cm 前後のエゾアワビ稚貝 10 個体を 4 日間這わせることで作成した。作成した 20 枚 1 組のアワビモ板 12 組 ($n=12$) とアワビモ針型珪藻板 7 組 ($n=7$)、アワビモ粘液板 5 組 ($n=5$) を、1 組ずつ砂濾過海水を満たした 100 L 水槽に収容した。2014 年 8 月 25 日と 9 月 15 日の 2 回に分けて実験を実施し、それぞれ雌 5 個体、雄 5 個体の卵と精子を混ぜて受精させた幼生を実験に用いた。着底・変態可能になったエゾアワビ浮遊幼生を 1 水槽あたり約 10,000 個体投入し、48 時間後に水槽に注水を開始し、注水開始から 24 時間後に採苗板を水槽から取り上げ、板上に付着した個体を目視により計数した。個

体の計数は20枚1組とした採苗板の両端の2枚に対して実施し、その個体数を10倍したものを採苗板に着底・変態した個体数とした。採苗板上に着底・変態した個体、水槽の排水口に設置した目合い90 μm のネットで回収された着底しなかった幼生、および水槽の底面に付着した個体を合わせた数を総数として、幼生の着底・変態率（板上の着底・変態個体数/総数）を求めた。Fig. 1に、3種類の採苗板における着底・変態率を示す。板の種類を説明変数に、幼生の着底・変態率を従属変数に、実験に用いた幼生の質を考慮するため実験日を混合要因として、一般化線形混合モデル (GLMM) を構築し、モデル内の説明変数の有意性を尤度比検定により検定したところ、板の種類により着底・変態率に有意な差が認められた (GLMM, $\text{df}=2$, $\chi^2=80.7$, $p<0.0001$; Fig. 1)。そこで、Shaffer 法により多重比較を行った結果、アワビモ板とアワビモ針型珪藻板における幼生の平均着底・変態率は、それぞれ63%と68%で有意差は見られず ($z=1.54$, $p>0.05$)、いずれもアワビモ粘液板の平均着底・変態率である91%には劣るものの (アワビモ粘液板 vs. アワビモ板: $z=9.37$, $p<0.0001$; アワビモ粘液板 vs. アワビモ針型珪藻板: $z=8.56$, $p<0.0001$)、高橋³⁾の報告と同等の着底・変態率が示された (Fig. 1)。アカアワビでは、アワビモに幼生の着底・変態誘引能が低い *Navicula* sp. を付着させた基質では、幼生着底率がアワビモ単独を基質に用いた場合よりも低くなることが報告されている。⁷⁾ また、針型珪藻を単独で着底・変態基質として用いた実験では、幼生の変態率が低いことが示されている⁸⁾ ことから、アワビモ上に針型珪藻を付着させたアワビモ針型珪藻板でも *Navicula* sp. を付着させた基質と同様に変態率が低下することが懸念された。しかし、アワビモ針型珪藻板とア

ワビモ板の着底・変態率は同等であったことから、針型珪藻を付着させたとしても、比較的高い着底・変態率を維持できることが確認できた。

上記の実験で使用したアワビモ板上には、盤状体が発達したアワビモが繁茂しており (平均被度: $32\pm24\%$; 平均盤状体面積: $12681\pm18710\mu\text{m}^2$)、板一面が濃い緑色を呈していることが肉眼で確認できた。アワビモの遊走子は基質に着生したのちに細胞分裂により盤状に広がるため、培養日数が長いほど盤状体のサイズが大きくなり、アワビモの採苗板に占める被度が高くなる。高橋³⁾は、稚貝の匍匐粘液を付加すれば、アワビモの培養期間が採苗率に影響しない可能性を示している。そこで、稚貝の匍匐粘液を付加しない場合において、アワビモの被度が幼生の着底・変態率に影響するかを検討した。アワビモの被度が幼生の着底・変態に影響しないのであれば、培養期間や遊走子の着生数によって被度にばらつきが生じやすい種苗生産現場であっても安定した着底・変態率が期待できる。また、短い培養期間でアワビモを採苗に供することができれば、飼育に不適な微細藻類や汚損生物の混入リスクが低下するため、それらを取り除く作業を削減できる。

本研究では、滅菌濾過海水を10 mL入れた6穴平底マルチプレート (底面積9.4 cm^2 , 内容積16.8 mL, Corning 社) の底面に、アワビモの遊走子を投入後4日間および30日間培養することによって被度の異なるプレートを作成し、これらのエゾアワビ浮遊幼生に対する着底・変態誘引能を比較した。高橋³⁾に従い、4細胞期までの幼体と縁辺細胞の分裂が進んだ盤状体の平均着生面積を倍率20倍の倒立顕微鏡と画像解析ソフト (Image J, <http://rsb.info.nih.gov/ij/>) を用いて計測し、マルチプレート底面に占める着生面積の割合 (被度) を求めた。4日間培養したプレートを目視で観察すると、底面の一部が薄い緑色を呈しているのが確認できる状態であり、幼体もしくは盤状体の形成が始まった段階 (着生面積 $\pm$ 標準偏差: $63\pm79\mu\text{m}^2$, 範囲 = $5\text{--}1066\mu\text{m}^2$; 被度: $1.4\pm2.1\%$, 範囲 = $0.1\text{--}7.8\%$) であった。30日間培養したプレートでは、遊走子囊が発達した盤状体と盤状体から新たに放出された遊走子から成長したと考えられる幼体が混在している状態 (着生面積: $4048\pm9985\mu\text{m}^2$, $1\text{--}65887\mu\text{m}^2$; 被度: $33\pm13\%$, $13\text{--}54\%$) であった。これらに受精から4日後のエゾアワビ被面子幼生 (15–50 個体/穴) を投入し、48時間後の着底・変態率 (面盤を脱離した個体数/投入幼生個体数) を実体顕微鏡下で計数した。結果を Fig. 2 に示す。従属変数には幼生の着底・変態率を用いて、二項分布を確率分布とした一般化線形モデル GLM を構築し、パラメトリックブートストラップ法 (10,000 bootstrapping) により説明変数の有意性の検定を行った。その結果、アワ

Fig. 1 Settlement rates of larval *Haliotis discus hannai* in response to *Ulva lens*, *U. lens* with *Cylindrotheca closterium*, and pre-grazed *U. lens*. Vertical bars indicate standard errors. Horizontal bars represent significant differences between groups.

Fig. 2 Relationship between the average area of discoid thallus of *Ulvella lens* and the settlement rates of larval *Haliotis discus hannai*. Open circles indicate the young *U. lens* (4-day culture) and filled circles indicate the old *U. lens* (30-day culture).

ビモの被度はエゾアワビ幼生の着底・変態率に影響しないことが示された ($p > 0.05$; Fig. 2)。なお、滅菌濾過海水だけを満たした対照区での着底・変態率は $0.5 \pm 0.83\%$ ($n=6$) であった。これらの結果から、少なくとも本実験におけるアワビモの被度の範囲であれば、アワビモの着底・変態誘引能を利用して比較的高い着底・変態率が得られると考えられる。

本研究で採用したアワビモ自体のエゾアワビ幼生に対する着底・変態誘引能を活用した採苗法は、現在アワビモ粘液板を用いて採苗を行っている種苗生産現場においては、稚貝の付け外しにかかる労力を削減することを可能とし、現在は自然繁茂した微細藻類により採苗を行っている現場においては採苗率の安定化に繋がる。稚貝の匍匐粘液を付加しないアワビモでは、稚貝に舐めさせたアワビモ粘液板と比較して着底・変態率が25%程度低下するが、アワビモ粘液板に針型珪藻を添加した板では稚貝の生残率が向上する⁵⁾ことから、アワビモ針型珪藻板における着底変態率の低下は針型珪藻を餌料とすることで補える可能性が高い。今後、省力化を目的にアワビモ自体の着底・変態率を利用した種苗生産を展開するに

は、種苗生産規模で必要な量の針型珪藻を維持・培養できる条件やこの珪藻を初期稚貝に安定的に給餌する技術の開発が必要であり、別途研究を進めている。

謝 辞

本研究は、農林水産省農林水産技術会議が実施する食料生産地域再生のための先端技術展開事業「アワビの緊急増殖技術開発研究」により実施された。

文 献

- 1) Kawamura T, Roberts RD, Takami H. Importance of periphyton in abalone culture. In: Azim ME, Verdegem MCJ, van Dam AA, Beveridge MCM (eds). *Periphyton: ecology, exploitation and management*. CAB International Publishing, London. 2005; 269–284.
- 2) Kawamura T, Roberts RD, Takami H. A review of the feeding and growth of post-larval abalone. *J. Shellfish Res.* 1998; **17**: 615–625.
- 3) 高橋寛爾. 緑藻 *Ulvella lens* の生態に関する研究. 昭和59–60年度宮城県栽培漁業センター事業報告, 宮城県栽培漁業センター, 牡鹿, 1986; 32–52.
- 4) Kawamura T, Takami H. Analysis of feeding and growth rate of newly metamorphosed abalone *Haliotis discus hannai* fed on four species of benthic diatom. *Fish. Sci.* 1995; **61**: 357–358.
- 5) Matsumoto Y, Noro T, Takami H, Fujinami Y, Kuji Y, Kawamura T. A study on a new method for larval settlement, post-larval growth and survival of abalone *Haliotis discus hannai* using a cultured benthic diatom *Cylindrotheca closterium* and a pre-grazed green alga *Ulvella lens*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 2015; **81**: 995–997 (in Japanese).
- 6) Daume S. The role of bacteria and micro and macro algae in abalone aquaculture: A review. *J. Shellfish Res.* 2006; **25**: 151–157.
- 7) Daume S, Krsinich A, Farrell S, Gervis M. Settlement, early growth and survival of *Haliotis rubra* in response to different algal species. *J. Appl. Phycol.* 2000; **12**: 479–488.
- 8) Kawamura T, Kikuchi S. Effects of benthic diatoms on settlement and metamorphosis of abalone larvae. *Suisan Zoshoku* 1992; **40**: 403–409 (in Japanese with English abstract).