

海洋深層水で連続培養した浮遊珪藻 *Chaetoceros ceratosporum* によるアカウニ幼生の飼育

小善圭一¹・梅田 到²・藤田大介¹

**Rearing of the larvae of the red sea urchin, *Pseudocentrotus depressus*,
by feeding planktonic diatom *Chaetoceros ceratosporum*
continuously cultured in pumped deep-seawater**

Keiichi SHOZEN¹, Itaru UMEDA² and Daisuke FUJITA¹

Abstract

Pluteus larvae of the red sea urchin, *Pseudocentrotus depressus* were reared in two 2-liter flasks by feeding planktonic diatom, *Chaetoceros ceratosporum* cultured continuously using clean and nutrient-rich deep-sea water (2-3 °C) pumped from Toyama Bay. The diatoms used for food were taken from an Ebara Photo-bioreactor system during the stable period yielding 30×10^4 - 47×10^4 cells / ml, which was three times greater than cell densities obtained in batch cultures. In each flask, 125 pluteus larvae were reared in 1.5 liter of filtered deep-sea water at a water temperature of 20 °C by adding different densities of food diatoms every three day. In the diatom-rich group (1.0×10^4 cells/ml), young sea urchins were obtained in 30 days, while metamorphosis of those in the diatom-poor group (0.25×10^4 cells/ml) was delayed by 5 days. Survival rates were more than 90% in both groups during the first 25 days. Unfortunately, most of larvae died in 30 to 50 days before metamorphosing, probably because of lack of attached diatoms (presumably inducers of settlement and metamorphose of the species). In conclusion, warmed deep-sea water can be used as culture medium for both food diatoms and pluteus larvae. However, higher densities of food diatoms as well as attached diatoms should be given to raise the survival rate of the larvae.

Key words: *Chaetoceros ceratosporum*, deep-sea water, planktonic diatom, pluteus, *Pseudocentrotus depressus*, red sea urchin

海洋深層水（以下、深層水という）は、表層海水と比べて栄養塩（窒素，リンおよび珪素）が高濃度で含まれ，細菌や汚染物質が極めて少なく清浄であることから，珪藻の連続培養（Fukami *et al.* 1997, 1998, 池田ら 1998, 梅田ら 2000, Shozen *et al.* in press）に適している。珪藻は様々な海産無脊椎動物の重要な初期飼料であり（岡内 1992, 梅田 1997），連続培養で得られた珪藻を餌としてメガイアワビ *Haliotis giganteus*（ただし，*H. sieboldii* として報告）の稚貝（Fukami *et al.* 1998）やイワガキ *Crassostrea nippona* の浮遊幼生（池田ら 1998）を育てる試みも行われている。著者らは，富山湾から取水している深層水を用いて浮遊性珪藻の1種 *Chaetoceros*

¹富山県水産試験場（Toyama Prefectural Fisheries Research Institute, Namerika, Toyama 936-8536, Japan）

²㈱荏原製作所（Ebara Corporation, 1-6-27, Konan, Minato, Tokyo, 108-8480, Japan）

ceratosporum の連続培養実験を行い、120日以上にわたり高い水準（平均細胞密度 $3.66 \times 10^4 \sim 45.0 \times 10^4$ 細胞/ml）で安定的に培養することに成功している（梅田ら 2000, Shozen *et al.* in press）。本種は二枚貝（田中1982, 池田ら1998）やウニ（天神・石井1984）の飼料となることが知られており、連続培養で得られた藻体の有効利用が望まれることから、著者らはこれを用いてアカウニ *Pseudocentrotus depressus* の幼生の飼育を試みた。なお、本実験については若干の追加試験（特に、高い細胞密度の珪藻の投与試験）を行う予定であったが、諸般の事情により連続培養装置を解体することになったため、これまでに得られた知見を報告しておく。

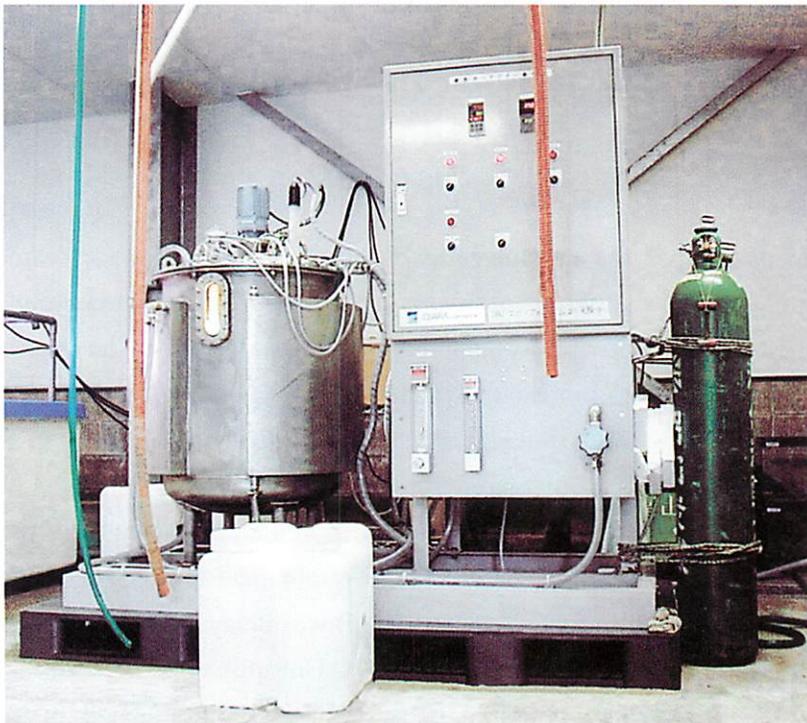


Fig.1 Photo-bioreactor (Ebara Corporation) system used for continuous culture of *Chaetoceros ceratosporum*.

材 料 と 方 法

***C.ceratosporum* の連続培養** 培養に用いた *C. ceratosporum* は直径約 $5 \sim 10 \mu\text{m}$ の非群体性の浮遊性珪藻で、海洋科学技術センターから分与された株を用いた。連続培養には、Fig.1に示した「藻類連続培養装置」（株荏原製作所製、光リアクター PBR-18）を使用した。培養液は、富山県深層水利用研究施設に汲み上げられた深層水（富山湾の水深321mから取水、 $2 \sim 3^\circ\text{C}$ ）をそのまま用い、培養液と等量の収穫を行うケモスタット方式により、培養を行った。培養条件は、水温 $17 \pm 1^\circ\text{C}$ （装置内の加温による）、 $\text{pH} 7.8 \pm 0.1$ 、通気量 $60\text{L}/\text{分}$ 、攪拌 50rpm 、24時間照明（光源はハロゲンランプ）とし、換水率は 0.2 回/日から 1.2 回/日まで段階的に上げていった。なお、今回、アカウニ幼生の飼料として用いた *C. ceratosporum* は、Shozen *et al.* (in press) が報告した連続培養実験（1999年9月17日～2000年3月21日の195日間、ただし、最初の1週間はバッチ培養）の途中（12月27日～2月16日の50日間、換水率 1.0 /日の安定期）で得られたもので、収量は

$30 \times 10^4 \sim 47 \times 10^4$ 細胞 / ml に達していた。これは、同じく富山湾深層水を用いて15ないし20℃でバッチ培養して得られた *C. ceratosporum* の細胞濃度 $14.4 \sim 15.5 \times 10^4$ 細胞 / ml (梅田ら 2000) の2～3倍に相当する。

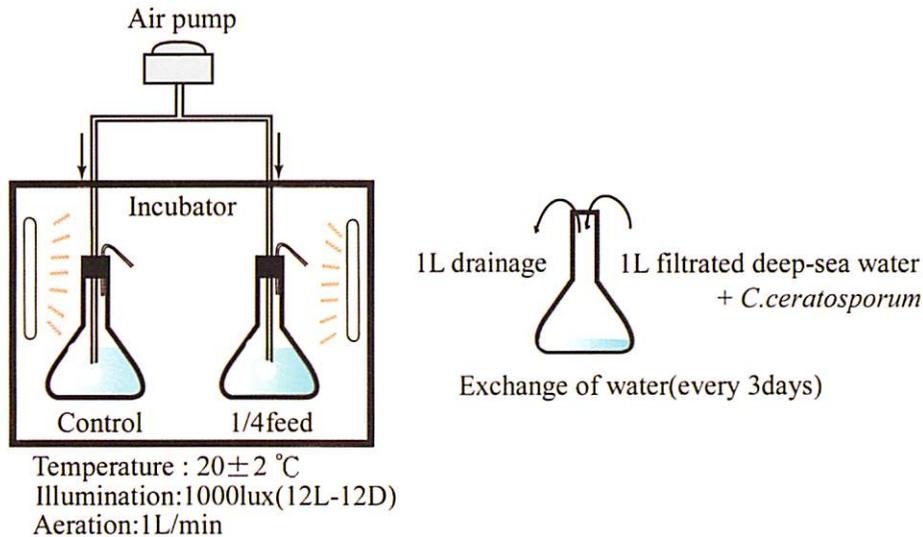


Fig.2. Diagram showing the design used for rearing the red sea urchin *Pseudocentrotus depressus* pluteus larvae.

アカウニ幼生の飼育方法 アカウニ（親ウニ）は1999年12月27日に富山県魚津市地先で採取したものを、KCL法により生殖腺に刺激を与えて卵と精子を採取し、受精卵を得た。2日後、プルテウス幼生を確認し、これを三角フラスコ（2000ml）に移し（飼育0日目）、飼育を開始した。

飼育装置の概略は Fig.2 に示した通りで、 20 ± 1 °C に設定した恒温器に三角フラスコを置き、ガラスフィルター（GF/C, 0.45nm）でろ過した深層水1500ml を飼育水とした。飼育密度は83.3 個体 / L（125個体 / 1500ml）で、幼生が均一になるよう約1 L / 分の通気を行った。飼育水温は約20℃、照度は1000lux とし、明暗周期を12時間ずつに調整した。換水は2日に一度行い、全量の2 / 3を排して、その分の新しい飼育水（ろ過した深層水）に *C. ceratosporum* を混ぜて補充した。

飼育実験では、*C. ceratosporum* の給餌量を変えた2試験区を設け、それぞれ 1.0×1.0^4 細胞 / ml（対照区、石川・野口（1978）を参考に決定）、 0.25×10^4 細胞 / ml（以下、1 / 4 給餌区という。富山湾沿岸域の平均的な植物プランクトン密度に相当）の密度になるように給餌した。アカウニの幼生については、飼育開始後0～50日目まで5日毎に検鏡して計数したほか、形態を観察し、石川・野口（1978）を参考にして成長段階を調べた。計数結果は生存率（%）の推移としてまとめ、観察日毎に成長段階の割合を整理して成長追跡の指標とした。

結 果

検鏡時におけるアカウニ幼生の各成長段階を Fig.3、成長段階毎の個体数組成および生存率を

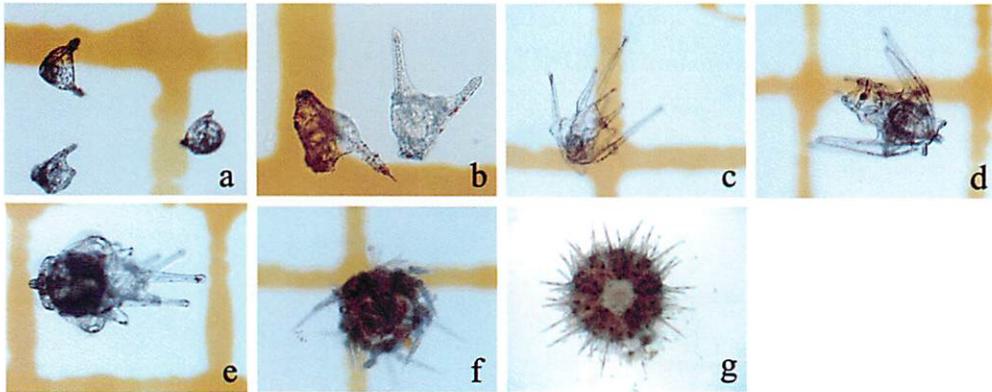


Fig.3. Growth stages of the red sea urchin, *Pseudocentrotus depressus*, reared in deep-sea water by feeding continuously cultured food diatom *Chaetoceros ceratsporum*. (a): 4 -armed pluteus (early form); (b): 4 -armed pluteus (late form), (c): 8-armed pluteus (early form); (d): 8-armed pluteus (late form); (e): early stage of metamorphosis just after settlement; (f): late stage of metamorphosis; (g): young sea urchin.

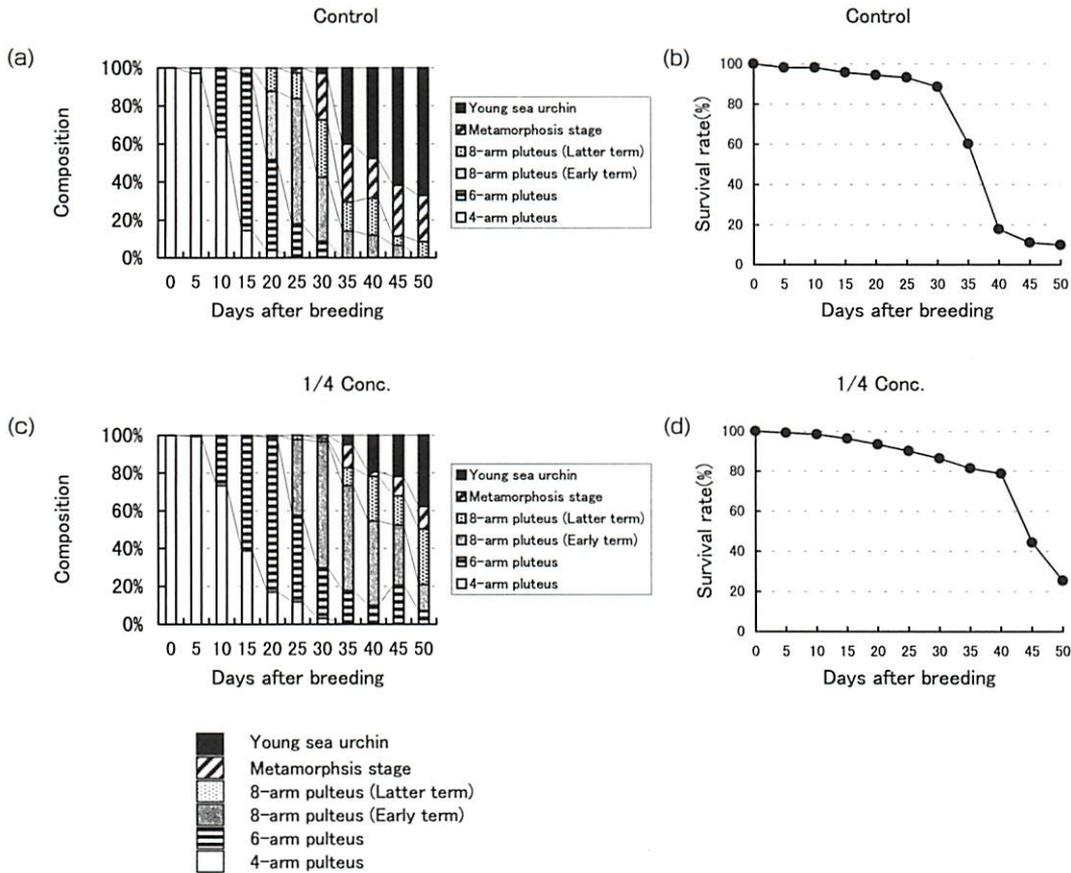


Fig. 4. Frequency of growth stages (a, c) and survival rates (b, d) of the reared red sea urchin, *Pseudocentrotus depressus*, fed with food diatoms in densities of 1.0×10^4 cells / ml (a, b) and 0.25×10^4 cells / ml (c, d).

Fig.4に示した。

対照区 対照区では飼育5日目（受精後9日目，以下，飼育日数のみを表示）に6腕幼生が出現し，その後，飼育15日目に8腕前期幼生，20日目に8腕後期幼生，25日目に変態期幼生，そして30日目に稚ウニが出現した。飼育25日目の各成長段階の個体数組成（Fig.4a-b）を見ると，6腕幼生が18.4%，8腕幼生が78.4%（前期65.2%，後期13.2%）を占め，4腕幼生は見られなくなった。さらに，成長が進んだ飼育35日目には，6腕幼生は見られなくなった。生存率は，飼育25日目まで90%以上で良好な結果であったが，30日以降，変態期から稚ウニに移行する段階で急激に生存率が低下し，飼育50日目では9.6%（12個体）で，稚ウニに至ったのは8個体であった。

1/4給餌区 1/4給餌区では飼育5日目に6腕幼生，20日目に8腕前期幼生，25日目に8腕後期幼生，30日目に変態期幼生，そして35日目に稚ウニが出現した。飼育25日目の各成長段階の個体数組成（Fig.4c-d）を見ると，4腕幼生が12.2%，6腕幼生が45.6%，8腕幼生（前期40.4%，後期1.8%）が42.2%となり，飼育10日目以降，対照区に比べて成長の遅れが目立つようになってきた。また，成長のばらつきが大きくなり，飼育50日目まで6腕幼生が存在していた。生残率は，対照区と同様に25日目まで90%以上を保っており，飼育40日目でも78.4%と高い値を示していたが，8腕後期幼生が増加して変態期に移行する時点で急激に生残率が低下し，飼育50日目では11.2%（14個体）となり，稚ウニに至ったのは5個体であった。

考 察

アカウニの種苗生産では，浮遊幼生の餌料として *Chaetoceros gracilis* が一般的に用いられている（川原 1996）。金丸・伊東（1987）は *C. gracilis* を用い， $1.25 \times 1.0^4 \sim 10 \times 1.0^4$ 細胞/ml の範囲で給餌量別にアカウニ幼生の飼育試験（水温約20℃）を行っており，そのうちの 1.25×1.0^4 細胞/ml が本実験の対照区の *C. ceratosporum* 濃度（ 1.0×1.0^4 細胞/ml）と近い。成長は本実験の対照区の方が若干遅い程度で，生存率96%（飼育20日後）も金丸・伊東（1987）の93%（飼育17日目）と比べて遜色がないことから，連続培養した *C. ceratosporum* はアカウニ幼生の餌料として十分に使用できると考えられる。本実験および金丸・伊東（1987）により，珪藻の濃度がある程度高い方がアカウニ幼生の成長も良いことは明らかであるので，今後，金丸・伊東（1987）と同じく高濃度レベルで給餌し，しかも，伊東・有吉（1987）が行っているように成長段階に応じて給餌量を引き上げるようにすれば成長は改善できるであろう。なお，金丸・伊東（1987）が述べているように，餌料珪藻の培養では，原生動物や細菌が混入するとそれに伴って珪藻の増殖速度が低下し，アカウニ幼生の成長に遅れやばらつきが生じたり生存率が低下したりすることがあるが，本実験のように清浄性の高い濾過深層水を使用すればこのような心配はなくなると考えられる。

本実験において，対照区では変態期から稚ウニへの移行時，1/4給餌区では8腕後期幼生から変態期への移行時に生存率が急激に減少した。このため，飼育開始から変態期を経て最終的に稚ウニになった幼生の割合はそれぞれ6.4%と5.0%にすぎなかった。谷・伊東（1979）や伊東（1987）は，アカウニの八腕後期幼生の着底・変態には一定量の付着珪藻が必要で，極端な例では付着珪藻が存在する場合にのみ変態が完了するとしている。したがって，今後，八腕幼生期に達した段階で，同じく深層水を用いて容易に増殖させることができる付着珪藻を給餌することにより，安

定したアカウニの種苗生産が可能になるであろう。

参 考 文 献

- Fukami, K., T. Nishijima and M. Ogusa 1997. Continuous culture with deep seawater of a benthic food diatom *Nitzschia* sp. *Hydrobiologia*, 358:245-249.
- Fukami, K., A. Kawai, M. Okade, T. Hotta, T. Moriyama, S. Doi, T. Nishijima and M. Taniguchi 1998. Continuous and simultaneous cultivation of benthic food diatom *Nitzschia* sp. and abalone *Haliotis sieboldii* by using deep seawater. *J. Mar. Biotec.*, 6: 237-240.
- 池田知司・中島敏光・豊田孝義 1998. 深層水を多段的に利用したイワガキ幼生飼育の試み. 海洋深層水 '97富山シンポジウム ~講演記録集~, 84-86.
- 石川優・野口政止 1988. P. 122~166. 石川優・沼宮内隆晴編 棘皮動物(4)ウニ類. P. 122-166. 海産無脊椎動物の発生実験. 培風館. 東京.
- 伊東義信 1987. ウニ類種苗生産における付着珪藻の役割. P. 119-130. 梶原武編海産付着生物と水産増殖(水産学シリーズ64) 恒星社厚生閣. 東京.
- 伊東義信・有吉敏和 1987. アカウニ幼生期の飼育飼料- I *Chaetoceros gracilis* の適正投餌量. 佐賀県栽セ研報, 1:5-8.
- 金丸彦一郎・伊東義信 1987. アカウニ幼生期の飼育飼料- II 幼生の発育に及ぼす増殖の劣る餌料 *Chaetoceros gracilis* の影響. 佐賀県栽セ研報, 1:9-12.
- 川原逸朗 1996. ウニ類(アカウニ, バフンウニ)の種苗生産. P. 45-68. 佐賀県栽培漁業センターにおける種苗生産マニュアル. 佐賀県栽培漁業センター. 佐賀県.
- 岡内正典 1992. 水産飼料としての利用. P. 75-79. 山口勝巳編 微細藻類の利用(水産学シリーズ91). 恒星社厚生閣. 東京.
- Shozen, K, I. Umeda, T. Nakashima and A. Honmma (in press). Continuous cultivation of a diatom, *Chaetoceros ceratosporum*, in deep-sea water pumped from Toyama Bay. *Proceedings of the 16 th International Diatom Symposium*.
- 田中太郎 1982. 二枚貝類幼生飼料としての耐高温性珪藻 *Chaetoceros ceratosporum* OSTENFELD の有用性について. 養殖研報, 3:31-36.
- 谷 雄策・伊東義信 1979. アカウニ幼生の付着および変態におよぼす付着珪藻の影響について. 水産増殖, 27:148-150
- 天神 愷・鈴木 信 1984. ウニ類と二枚貝の幼生飼育のための飼料生物. 福島種苗研報, 1:29-34.
- 梅田 到 1997. 珪藻. p. 1326-1331. 平野敏行編 沿岸の環境園. フジテクノシステム. 東京.
- 梅田 到・小善圭一・辰巳 勲・中島敏光・本間昭郎 2000. 藻類連続培養装置による深層水を用いた微細藻類の連続培養. 海深研, 1:41-45.