

## 養生アコヤガイの成長に対する微細藻類の給餌効果

筒井 努<sup>1</sup>, 小村 雄作<sup>1</sup>, 山本 慧史<sup>2</sup>, 吉松 隆夫<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> 三重県立水産高等学校水産資源科, <sup>2</sup> 三重大学大学院生物資源学研究科

### Dietary value of marine microalgae for the growth of Japanese pearl oyster *Pinctada fucata martensii* after nucleus implantation

Tsutomu TSUTSUI<sup>1</sup>, Yusaku KOMURA<sup>1</sup>, Satoshi YAMAMOTO<sup>2</sup> and Takao YOSHIMATSU<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> Faculty of Marine Bioresources, Mie maritime high school, 2578 Wagu, Shima-cyo, Shima, Mie 517-0703, Japan

<sup>2</sup> Graduate School of Bioresources, Mie university, 1677 Kurimamachiya-cho, Tsu, Mie 514-8507, Japan

#### Abstract

Effects of feeding microalgae in land-based cultivation on growth of Japanese pearl oyster implanted with a nucleus were examined. Pearl oysters had been implanted with nuclei, then kept for 15 days in land-based tanks. Two kinds of microalgae were fed to oysters during the experimental period, which were compared with oysters reared in natural condition in terms on a growth performance and chemical compositions in the bodies. As a result of rearing experiments, the highest weight gain rate of 107.4% was obtained from the oysters fed *Rhodomonas* sp., which was similar to that reared in natural condition. On the other hand, the growth performances of oysters fed *Tetraselmis tetrahele* were low compared to others even though it had been reared in the same environmental condition as the other. The highest nutritional status at protein (%) and HUFA (area%) were obtained from oysters reared in natural conditions, which were  $65.6 \pm 0.4\%$  and  $30.9 \pm 0.2$  area% respectively. However, the highest HUFA concentration of  $30.4 \pm 0.8$  area% was obtained from oysters fed *Rhodomonas* sp.. In conclusion, we indicated a possibility that pearl oyster immediately after implantation of nuclei was able to be cultivated easily and stably as well as that reared in natural condition by land-based cultivation method using microalgae that have a high nutritive value.

**Key Words:** Japanese pearl oyster, microalgae, *Rhodomonas* sp. Hf-1, aquaculture

#### 緒言

日本国内における真珠養殖業は、1893年に御木本幸吉によって世界で初めて半円真珠養殖に成功したこと、さらに1907年に西川藤吉らによって真円真珠養殖法が確立されたことによって飛躍的に発展した<sup>1)</sup>。現在、アコヤガイ *Pinctada fucata martensii* を真珠母貝として用いた真珠生産は、三重県、愛媛県、長崎県などの西日本を中心に行われており、1960年代には海外への輸出を目的として、

年間150t以上もの養殖真珠が生産されている<sup>2)</sup>。

アコヤガイを用いた真珠養殖では、挿核施術を施した直後のアコヤガイを環境変動の穏やかな海域に静置し、術後に低下した体力や免疫力を回復させる「養生」と呼ばれる作業を行う。養生は施術の傷を早期に治癒させ斃死や脱核を防いで真珠袋の形成を促すための療養期間であり、この養生の際には栄養豊富な餌資源が必要不可欠である<sup>3-4)</sup>。しかしながら、天然海域での養生には、餌資源の量や質を養殖漁場や養殖時期に左右されること、

2018年5月7日受理

〒514-8507 三重県津市栗真町屋町 1577

\* For correspondence (e-mail: takaoyos@bio.mie-u.ac.jp)

挿核によって免疫力が著しく低下した個体の斃死率を増加させることなどの不安要素が考えられる。

そこで本研究では、養生アコヤガイを餌料資源量の管理が容易な陸上飼育施設において安定的に飼育することを目的とし、餌料用微細藻類2種をそれぞれ給餌する飼育試験を行った。これらの飼育結果について、天然海域で養生されたアコヤガイの成長率、体内の生化学成分との比較を行い、養生アコヤガイの陸上飼育における微細藻類の給餌効果について検討した。

## 方 法

### 供試アコヤガイ

挿核施術用のアコヤガイは、若狭大月真珠養殖株式会社賢島工場（三重県志摩市）で挿核用に養成された3年貝を使用した。2017年6月14日に、三重県立水産高校にて熟練した技術者1人による挿核作業を行った。挿核した核の数はアコヤガイ一個体あたり1個、核の大きさはいわゆる1分8厘（直径約5.5 mm）玉で、計43個体のアコヤガイに挿核を行い試験に供した。挿核施術後のアコヤガイは養生籠に並べて室内流水水槽に垂下し、挿核施術によるストレス緩和および傷痕治癒のため11日間静置した。流水水槽は容量200 lの角形水槽で、密閉式濾過器（砂濾過）で濾過した海水を毎分60 lでかけ流した。静置後、2017年6月25日にアコヤガイの重量を測定し、衰弱した貝や低重量の貝を除く傷が治癒して回復状況にある貝を対象に、39 g以上の母貝30個体を選別して用いた。

### 供試微細藻類

養生貝の飼育試験に供する微細藻類は、三重大学大学院生物資源学研究科浅海増殖学研究室で維持培養されている *Rhodomonas* sp. Hf-1 株（以下、*Rhodomonas* sp.）と、若狭大月真珠養殖株式会社賢島工場から供与された *Tetraselmis tetrahele* を、三重県立水産高等学校実習場にて数代にわたって継代培養した後、30 l、100 lにそれぞれ拡大培養して使用した。拡大培養には30 lおよび100 lのパンライト水槽を使用し、本校実習場の屋内（白色蛍光灯照射）、および屋外（天然光照射）で培養した。微細藻の培養には、濾過滅菌海水（1 μm

フィルターで濾過後、紫外線とオゾンで滅菌）を使用した。*Rhodomonas* sp. の培養液は、濾過滅菌海水を滅菌水道水（曝気後に滅菌、滅菌法は上記と同様）で28 psuになるように希釈し、窒素源として尿素を100 mg/lの濃度で添加して作製した。また、金属源としては、種苗生産現場で微細藻類の培養に一般的に使用されているクレワット21（ナガセケムテックス株式会社）を、培養液中に0.5 ml/lの濃度になるように添加して用いた。*T. tetrahele* の培養液には、濾過滅菌海水にクレワット21を0.5 ml/lの濃度で添加したものを用いた。

### 養生貝の飼育試験

養生貝の飼育試験は、*Rhodomonas* sp. 給餌区、*T. tetrahele* 給餌区、そして天然海域で筏から垂下飼育するControl区の3つの試験区で行った。上述の通り準備された30個体の試験供試貝を各試験区10個体ずつ分け試験に使用した。*Rhodomonas* sp. 給餌区、*T. tetrahele* 給餌区の飼育水槽は200 lのプラスチック容器（サンボックス）を使用し、飼育海水の容量を100 lとした。飼育方法は濾過海水のかけ流しの流水飼育とし、換水率が1回/3時間となるように流量を調節して注水した。各微細藻類の給餌後、餌料が底に滞留するのを防ぐため、水中循環ポンプを使い300 l/分の水流を作り水槽内をゆるやかに攪拌した。各微細藻類の給餌量は貝の開閉状況や残餌量を考慮して、1日2~3回、1回に給餌する細胞数を $2.5\sim 5.0 \times 10^9$  cellsとした。なお、*Rhodomonas* sp. と *T. tetrahele* の細胞径はどちらも13 μmほどでほぼ同等の大きさであるため、細胞の大きさを加味した給餌量の補正は行わず同量給餌した。また、給餌前にはサイフォンによる底掃除を行った。飼育期間中の水温は取水海水温の影響により22°Cから24°Cまで変動した。

飼育期間は2017年6月26日から7月10日の15日間とした。試験終了後に全生残個体の重量を計測し、重量増加率を算出した。さらに、以下の方法で高度多価不飽和脂肪酸（HUFA）およびタンパク質含有量を計測した。まず、各試験区の生残個体中からランダムに3個体を選別し、選別された個体について無給餌での飼育を行った。消化管内に餌料由来の消化物がなくなった後、-20°Cで

冷凍保存し三重大学に陸送した。その後、同研究室内で摘出した3個体分の内臓部を試験区ごとに合一、ミキサーでホモジナイズし、化学分析に供するまでの間-35°Cで凍結保存し、後日分析用乾燥試料を凍結乾燥機（EYELA製、CVE-2100, UT-1000）で凍結乾燥させて調製した。試料中の脂肪酸は、脂肪酸メチル化キット（Nacal Tesque製）を用いて抽出、メチルエステル化し、ガスクロマトグラフィー（SHIMADZU製、GC-2025）を用いて定量（area%）した。また、タンパク質含量については全自動元素分析装置（Elementar製、vario EL cube）を用いて試料中の窒素量を測定、得られた窒素量に窒素-タンパク質換算係数6.25を乗じることによって算出した。

統計学的処理

養生貝の重量増加率、タンパク質含量の各測定値については平均値±標準偏差で示し、5%の有意水準で多重比較検定（Tukey-Kramer法）によって統計処理した。

結果

養生貝の重量増加率

各試験区で15日間アコヤガイの養生を行った結果、*Rhodomonas* sp. 給餌区で9個体、*T. tetrathele*

給餌区で4個体、Control区で7個体の体重量増加が確認された（Table 1）。給餌試験終了後の重量増加率の平均をFig. 1に示した。3試験区の間有意な差は確認されなかったものの、重量増加率は*Rhodomonas* sp. 給餌区が最も高く103.6%であった。最も重量増加率が低かったのは*T. tetrathele* 給餌区で100.2%であった。

養生貝のタンパク質、HUFA組成

試験終了後の各試験区の養生貝について、タンパク質、脂肪酸組成分析を行った結果をTable 2に示した。タンパク質含量はControl区で最も多く、

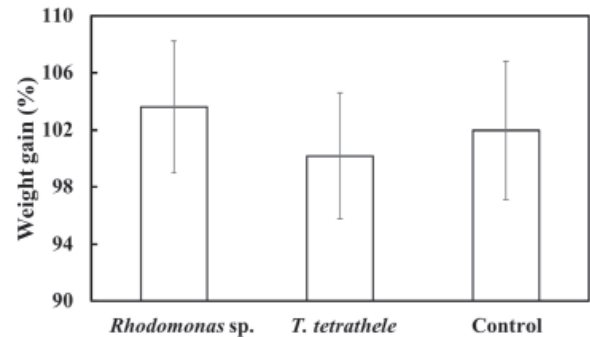


図-1 異なる餌料をあたえられた養生アコヤガイの重量増加率

Weight gain in Japanese pearl oyster fed different microalgae (n=10). Values are mean ± standard deviation. There is no significant difference during trials.

表-1 異なる餌料を与えられた養生アコヤガイの飼育結果  
Results obtained from rearing experiments of Japanese pearl oyster with different microalgae

	<i>Rhodomonas</i> sp.									
	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6	No. 7	No. 8	No. 9	No.10
Initial (g) *	45.2	44.8	43.2	45.6	41.7	41.3	41.8	46.2	50.4	39.6
Final (g) *	48.4	46.9	47.4	47.4	42.9	44.7	42.6	48	50.7	36.9
Weight gain (%)	7.1	4.7	9.7	3.9	2.9	8.2	1.9	3.9	0.6	-6.8
	<i>T. tetrathele</i>									
	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6	No. 7	No. 8	No. 9	No.10
Initial (g)	45.1	44.6	38	45.2	40	42.6	41.9	39.6	44.4	50.5
Final (g)	44.8	46.1	38.9	43.9	39.9	42.2	39.2	43.5	44.7	48.9
Weight gain (%)	-0.7	3.4	2.4	-2.9	-0.3	-0.9	-6.4	9.8	0.7	-3.2
	Control									
	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6	No. 7	No. 8	No. 9	No.10
Initial (g)	40	46.6	44.1	44.8	50.7	40.3	43.3	40.2	47.9	41
Final (g)	43.1	44.6	41.7	45.5	51.2	39.5	44.7	42.4	49.4	44.8
Weight gain (%)	7.8	-4.3	-5.4	1.6	1.0	-2.0	3.2	5.5	3.1	9.3

\* The initial and final weight of each Japanese pearl oyster.

表-2 異なる餌料を与えた養生アコヤガイのタンパク質および高度不飽和脂肪酸 (HUFA) 分析結果

Protein and fatty acid composition of Japanese pearl oyster fed different microalgae

	<i>Rhodomonas</i> sp.	<i>T. tetrathele</i>	Control
Protein (% in dry basis)*	63.6 ± 0.5	62.7 ± 1.6	65.6 ± 0.4
Fatty acid (area%)**			
C18:2n-6	7.9	1.4	1.9
C18:3n-6	1.8	1.9	3.3
C20:4n-6	2.2	9.4	4.9
C20:5n-3	9.9	1.1	6.6
C22:6n-3	9.6	6.6	14.1
HUFA (area%)	31.4	20.3	30.9

\* Values are mean ± standard deviation of three times analysis.

\*\* Values are mean of two times analysis.

65.5 ± 0.4%であった。リノール酸 (C18: 2n-6),  $\alpha$ -リノレン酸 (C18: 3n-6), アラキドン酸 (ARA, C20: 4n-6), エイコサペンタエン酸 (EPA, C20: 5n-3), ドコサヘキサエン酸 (DHA, C22: 6n-3) を合計した HUFA の総量は *Rhodomonas* sp. 給餌区が最も多く、31.4%であった。一方、ARA, EPA, DHA を合計した HUFA の総量は Control 試験区が最も多く、25.6%となった。

## 考 察

天然漁場におけるアコヤガイの食性については未だに知見が少ない。また、アコヤガイ成貝の成長や生残に、重要な役割を果たす栄養素についての先行研究例もわずかである。Chang et al. (1988) は天然海域で養殖されているアコヤガイの胃内容物を調査し、*Chaetoceros* 属、*Skeletonema* 属、*Nitzschia* 属、*Thalassiosira* 属などの小型珪藻類が養殖アコヤガイの主な餌料源であると報告している<sup>3)</sup>。しかし、アコヤガイは懸濁物濾過摂食者であるため、プランクトン生産力の豊富な漁場においては種にかかわらず他の微細藻類も摂餌していると考えられている<sup>6)</sup>。そのため、本研究においても天然漁場で養生された Control 区の栄養状態は高く、多種多様な餌料性懸濁物を昼夜を問わず摂取していたものと考えられる。

陸上飼育施設を用いて飼育を行った2つの試験区においては、全く同じ環境条件で試験を行ったにもかかわらず、*Rhodomonas* sp. を与えた区は *T. tetrathele* を与えた区と比較してより高い成長性

を示した。海産動物の成長や生残率が、与えられる餌料の栄養価によって影響を受けることは、すでに多くの研究者たちが報告している<sup>7-9)</sup>。したがって本研究の結果で確認された養生貝の体重増加率における差も、同一の給餌量で実験を行ったことを勘案すると、それぞれの微細藻類が持つ餌料価値の差に起因したものであると考えられる。飼育試験終了後の養生貝を用いてタンパク質、脂肪酸分析を行った結果、*Rhodomonas* sp. 給餌区、Control 区の両試験区においては、タンパク質、脂肪酸ともに一定以上の含有率が確認されたが、*T. tetrathele* 給餌区では、タンパク質、脂肪酸ともにこれら2試験区より含有率が大きく劣る結果となった。筆者らが過去に行った分析試験では、*Rhodomonas* sp. はタンパク質、HUFA において非常に高い含有率を有していた。一方で、*T. tetrathele* は両成分ともにその量が少なく、他の餌料用微細藻類と比較しても餌料価値が劣ることが明らかとなっている<sup>10)</sup>。すなわち、本研究においては、餌料価値の低い *T. tetrathele* を給餌したことにより養生中のアコヤガイの栄養状態が低下し、そのことが重量増加率の低下の要因となったと考えられる。

本試験において *Rhodomonas* sp. を給餌した試験区が最も重量増加率が高かったことから、餌料価値の高い微細藻類を給餌することで、人工的に管理された陸上養殖施設であっても養生中のアコヤガイを安定的に飼育できることが明らかとなった。しかし、本試験は室内に設置された小型飼育槽を用いた小規模で予備試験的な飼育実験であった

め、今後は規模を拡大した上で実際の生産現場の方法に即した飼育、生産試験を行う必要があると考えられる。

## 謝 辞

本研究を遂行するにあたり、若狭大月真珠養殖株式会社よりアコヤガイをはじめとする実験生物、および生物の飼育に関わる技術提供をいただきました。また、分析試験の際には三重大学大学院生物資源学研究科浅海増殖学研究室の方々にご協力いただきました。心より感謝申し上げます。アコヤガイの飼育、微細藻類の培養には三重県立水産高等学校の平井照彦講師、水産資源科の生徒の方々にご協力いただきました。ここに記して感謝申し上げます。

## 要 約

真珠養殖用に挿核施術されたアコヤガイに対し、陸上飼育槽内で餌料用微細藻類を給餌して飼育し、天然海域で養生される個体との体重増加率、体内の栄養状態について比較を行った。15日間の養生期間後に、各試験区の体重増加率を測定したところ、陸上水槽内で *Rhodomonas* sp. を与えた試験区で最も高い体重増加率が得られた。一方、同じ飼育条件であっても *T. tetrathele* を与えられた試験区では体重増加率は低く、天然海域で飼育された養生貝よりも成長率が低い結果が得られた。飼育試験終了後に各試験区の養生貝についてタンパク質含量、脂肪酸組成分析を行ったところ、両成分ともに天然海域で飼育された養生貝で最も高く、次いで *Rhodomonas* sp. を与えた試験区で高い

値が得られた。本試験より、陸上水槽での養生であっても餌料価値の高い微細藻類を給餌することで、天然海域での養生個体と同等かそれ以上の成長率が得られることが明らかとなった。

## 引用文献

- 1) 松井佳一：真珠の沿革と現況，真珠養殖史．水産増殖，**3**, 7-9 (1957)
- 2) 和田克彦：真珠をつくる（和田克彦編，成山堂書店出版），p.p. 167-176 (2011)
- 3) 植木東彦：アコヤガイの挿核手術に関する生理学的研究 IV，術後の養生について．国立真珠研報，**8**, 896-903 (1962)
- 4) 植木東彦：第7章，仕立および養生，「真珠養殖全書」（真珠養殖全書編集委員会編，全真連出版），p.p. 205-251 (1965)
- 5) Chang, M., Hong, J., Huh, H.; Environmental conditions in the pearl oyster culture grounds and food organisms of *Pinctada fucata martensii* (Dunker). *Ocean Research*, **10**, 67-77 (1988)
- 6) 沼口勝之：アコヤガイの餌料環境と摂餌生態．中央水研研報，**8**, 123-138 (1996)
- 7) 竹内俊郎：魚類における必須脂肪酸要求の多様性．化学と生物，**29**, 571-580 (1991)
- 8) 竹内俊郎：海産魚介類種苗の健全性向上に関する栄養学的研究．日本水産学会誌，**75**, 623-635 (2009)
- 9) Toshio, T., Y., Haga: Development of microparticulate diets with special reference to Pacific bluefin tuna, abalone, and Japanese spiny lobster: a review. *Fish Sci.*, **81**, 591-600 (2015)
- 10) 山本慧史，岡内正典，吉松隆夫：マナマコ *Apostichopus japonicus* 浮遊幼生期に対する微細藻類 *Rhodomonas* sp. の餌料価値．日本水産学会誌，**81**, 973-978 (2015)