

アサリ幼生の生残, 成長に対する細菌の添加効果

酒井美恵^{*1} · 鳥羽光晴 · 深山義文^{*2} · 井上雅之^{*3}

Effect of Possible Probiotic Bacteria on the Survival and Growth of Manila Clam *Ruditapes philippinarum* Larvae

Mie SAKAI, Mitsuharu TOBA, Yoshifumi MIYAMA, and Masayuki INOUE

From 59 bacterial stocks, isolated from the rearing sea water of Manila clam *Ruditapes philippinarum* larva, possible probiotic bacterial stocks were selected by the xenic rearing experiments based on the promotive effects on survival and growth of the larvae. Addition of bacterial cells at a density of 10^5 - 10^6 cells/ml (rearing sea water) effectively increased larval survival and growth in 3 selected stocks.

キーワード：アサリ, 幼生, 細菌

二枚貝の種苗生産過程では, 幼生飼育時にしばしば突然の大量死が起こり問題となるが, その原因の一つとして, 飼育水中に存在する細菌の関与が明らかにされている¹⁻³⁾。そのため幼生飼育にあたっては, 使用前の飼育水に紫外線照射, 塩素注入, 精密濾過などの処理をしたり, 飼育水中に抗生物質を添加することが行われている⁴⁻⁹⁾。これらは, 飼育水中の細菌数を減少させることによって対処しようとするものであり, それによって幼生の生残が高まる例が報告されている¹⁾。しかし一方で, 精密濾過処理した飼育水を使用した場合に幼生の生残や成長が低下した例が報告されており^{10,11)}, その原因は, 精密濾過により飼育水中の細菌相が単純化し, 競合する細菌が少なく, 特定の種が急増したことによる悪影響と考えられている¹⁰⁾。逆に言えば, 単純化していない細菌相の下では特定の種の急激な増殖を抑制する何らかの相互作用があるらしい。

一方, 1960年代の終わりから80年代にかけ海洋の食物網における細菌の役割について多くの研究がなされ, 原生動物, 海綿, 多毛類, 二枚貝の成貝や幼生, 橈脚類, 鰓脚類など従来デトライタス食者, 植物プランクトン食者と思われていた動物を含む様々な動物が細菌

を餌料として利用していることが明らかにされた¹²⁻¹⁶⁾。

近年は, これらの研究をふまえ, 細菌どうしの増殖に関わる拮抗や, 細菌と他の生物との間の捕食-被捕食などの関係に着目して, 細菌を, 飼育水中の生物的環境の安定化に, また, 餌料として利用する^{17,18)}ための研究が積極的に取り組まれている。例えば, ガザミ種苗生産においては抗ビブリオ活性のある細菌を培養してガザミ幼生飼育水中に添加することで, 飼育水中の細菌相を人為的に制御し生残を向上させることに成功している¹⁹⁾。また, カキ幼生の生残を向上させ, 成長を促進する細菌や^{20,21)}, ホタテ類幼生の斃死原因となるビブリオの増殖を抑制する細菌も分離されている²²⁾。

アサリでは, 著者ら²³⁾が行った数種の微小藻類の餌料価値比較試験において, 餌料として *Chaetoceros* 類を与えた場合に, アサリの摂餌量が少ないにも関わらず良好な成長が認められることが多く, 実験時の観察から, 餌料細胞として認識される最小の大きさ (直径 $3.18 \mu\text{m}$) 未満の粒子, すなわち細菌レベルの大きさの懸濁物が餌料として機能している可能性があるとして推察された。

*1 現所属 館山水産事務所

*2 東京湾栽培漁業センター (現所属 千葉海区漁業調整委員会事務局)

*3 東京湾栽培漁業センター

そこで著者らは、アサリ幼生飼育水から幼生の生残、成長に好影響を与えると思われる細菌を分離し、その細菌を用いて、幼生飼育時の生残や成長の安定化および向上を目指した基礎試験を行った。

本試験の一部は、水産庁の特定研究開発促進事業「微小藻類の大量培養技術開発研究」*による。

材料と方法

本報告中では、アサリ幼生の飼育水からの細菌の分離、分離した細菌の中からアサリ幼生に好影響を与える細菌の選抜、幼生の飼育水に添加する細菌密度の比較、の試験を行った。

細菌の分離試験 (Exp. I: Isolation of bacteria)

アサリ幼生は、総計17種類の微小藻類 (Table 1) を単一種給餌し、餌料とした藻類ごとに2個の飼育容器をあて、後述する条件で飼育した。飼育終了後、幼生の生残率が高かった飼育水を寒天平板に画線し、約1週間培養した後細菌を分離した。幼生飼育は2回行ったので、それぞれExp. I-1, Exp. I-2と称し、後述の条件で飼育した。

好適細菌の選抜試験 (Exp. S: Selection of bacteria)

細菌の選抜は3段階の試験で行った。各試験ともアサリ幼生を飼育し、その飼育水に細菌を1株ずつ添加して、飼育終了時のアサリ幼生の生残と成長が良かった

細菌株を選抜した。細菌の添加は白金耳で寒天培地から取り飼育水に懸濁することで行い、各試験ごとに細菌無添加の対照区をおいた。第1段階では1区について2個の飼育容器をあて、細菌の添加は開始時の1回のみとし、第2, 3段階では1区について3個の飼育容器をあて、細菌の添加は毎日行った。幼生の飼育条件については後述した。

第1段階の選抜 (Exp. S1) では、分離して得た59株を3回に分けて試験を行った。各試験はEXP. S1-1, Exp. S1-2, Exp. S1-3と称し、それぞれに30株, 20株, 9株を用いた。

第2段階 (EXP. S2) では、Exp. S1で選抜した15株を2回に分けて試験を行った。各試験はEXP. S2-1, EXP. S2-2と称し、それぞれには7株 (TI-1, TI-2, FU-2, FU-3, OI-2, CS-1, CS-2) と8株 (CE-21, CE-23, CE-24, NA-22, NA-25, FU-13, FU-16, OI-22) の細菌を用いた。

第3段階 (Exp. S3) では、Exp. S2で選抜した6株 (TI-1, TI-2, CS-1, CE-21, CE-24, OI-22) を用いて試験を行い、次の試験に用いる株を選択した。

細菌の添加密度比較試験 (Exp. D: Comparison of density)

アサリ幼生の飼育水中に後述する所定の密度で細菌を添加し、飼育終了後に幼生の生残、成長が良かった添加密度を好適密度とした。

table 1 Unicellular microalgae used for larval diets of Manila clam in Exp. I.

Class	Alga	Culturing Temperature (°C)
Haptophyceae	<i>Pavlova lutheri</i>	20
	<i>Isochrysis galbana</i>	20
	<i>Isochrysis aff. galbana</i>	25
Bacillariophyceae	<i>Chaetoceros calcitrans</i>	20
	<i>C. gracilis</i> FUKUSHIMA	20
	<i>C. gracilis</i> KANEOHE	20
	<i>C. gracilis</i> O/I SHRIMP POND	20
	<i>C. gracilis</i> UNKNOWN	20
	<i>C. gracilis</i> ECUADOR	20
	<i>C. ceratosporum</i>	25
	<i>C. sp.</i>	25
	<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	18 or 20
Eustigmatophyceae	<i>Navicula sp.</i>	20
	<i>Nannochloropsis oculata</i>	25
	<i>N. sp.</i> NAGASAKI	25
Prasinophyceae	<i>N. sp.</i> KATSUURA	25
	<i>Tetraselmis tetraele</i>	25

* 年度報告書等の中で用いた細菌株の名称を、本報告においては、簡単のため、アルファベットの始めの2文字と数字に改めた。

試験に用いた細菌は、Exp. Sで選択したTI-1, TI-2とした。ただし、TI-1ではコロニー性状の違いからTI-11とTI-13を分離して用いたので、供試細菌はTI-11, TI-13とTI-2の合計3株とした。細菌は、培養開始後2~4日で使用した。細菌培養液は使用に際し、3,000 rpm, 20分間の遠心分離と海水B (Table 2) による洗浄を3回繰り返すことによって菌体のみを回収し、液体培地の影響を取り除いた。回収した菌体は、適量の海水Bに懸濁し、比濁法²⁴⁾を用いて密度を測定し、各試験区の設定密度になるように添加量をもとめた。幼生飼育水への細菌の添加は、換水後に毎日行った。

試験区として、細菌3株それぞれにつき飼育水1 mlあたりの細菌密度が 10^4 , 10^5 , 10^6 cells/mlの3段階を設定した、合計9区を設けた。細菌を添加せずに餌料のみ与えた対照区をおき、対照区、試験区とも1区につき3個の飼育容器をあてた。

アサリ幼生の飼育

各試験には、東京湾産の天然の親貝を用いて、千葉県水産試験場富津分場において反復温度刺激による採卵誘発または自然産卵によって得られた幼生を用いた。幼生の飼育密度は5個体/ml、飼育容器はExp. S1のみ直径9 cmの滅菌済みプラスチックシャーレ (飼育水量40ml)、それ以外の試験は500ml/容スチロールカップ (飼育水量500ml) とした。給餌は毎日行い、餌料は *Pavlova lutheri* を用いた (ただしExp. Iを除く)。その他の飼育条件は、Table 2に示した。

生残率の算出および殻長の計測

各試験区の幼生の生残率は、飼育容器ごとにホルマ

リンで固定した幼生を鏡し、殻中に組織全体が残っているものを生存個体、殻のみあるいは殻中に組織の一部のみが残っているものを死亡個体とみなし、合計200個体以上になるように計数して、容器ごとの生残率をもとめた後、試験区ごとに平均した値を用いた。

幼生の殻長の計測は、万能投影機 (V-12: Nikon) を用い、各容器ごとに任意の50個体以上の殻長を計測し、試験区ごとに平均値と標準偏差をもとめた (Exp. I, Exp. S1-1を除く)。

餌料培養

Exp. IIに用いた17種類の藻類は、Table 1に示した温度に設定した恒温室内で500mlの三角フラスコを用いて通気培養を行った。培養には、培養液としてGuillard Fを添加した海水Bを用いた。Exp. I以外の試験に用いた *P. lutheri* の培養は、上記と同様または既報²⁵⁾と同様に行った。藻類は無菌化せずに供試した。

細菌の培養および維持

供試した細菌は、20℃に設定した恒温室内で、EXP. Dでは液体培地 (Marine Broth 2216: Difco) を用いて振とう培養し、それ以外では平板培地 (Marine Agar 2216: Difco) を用いて培養した。各細菌は、約1か月に1度の植え継ぎによる継代培養と-80℃の冷凍庫での凍結保存により維持した。

結 果

細菌の分離 (Exp. I)

寒天平板上に出現したコロニーのうち、色や形態の差異に基づいて59株を分離した。

Table 2 Rearing condition of larvae

Experiment		Age of larvae (Day) *1	Rearing period (Days)	Rearing sea water *2	Rearing sea water exchange	Temperature (°C)	
Isolation	Exp. I-1	1	14	A	every 2 days	17.1 (7.9-26.2) *3	
	Exp. I-2	1	6	A	none	20.8 (13.6-28.6) *3	
Selection	Step1	Exp. S1-1	13	3	B	none	20 *4
		Exp. S1-2	1	3	B	none	20 *4
		Exp. S1-3	8	3	B	none	20 *4
	Step2	Exp. S2-1	4	10	A	every 2 days	20 *4
		Exp. S2-2	4	14	A	every 2 days	20 *4
	Step3	Exp. S3	4	14	A	every 2 days	20 *4
Comparison of density	Exp. D	1	14	C	every day	20 *5	

*1 At start of experiments. After hatching.

*2 A: Ultraviolet irradiated, fine filtrated sea water. (Steritron SF-4NSH: CHIYODA KOHAN, S-81: NIHON ROSUIKI KOGYO)
B: Autoclaved sea water after 0.5 μm filtration.
C: Autoclaved sea water after 0.2 μm filtration.

*3 Average (low-high) temperature during rearing period.

*4 In incubator.

*5 In water bath.

好適細菌の選抜 (Exp. S)

第1段階 (Exp. S1) では、幼生の生残率が100%から0%と、試験区によって差が見られた (Table 3-1, 2)。Exp. S1-1では高生残率を示した7株を、EXP.

S1-2, 3では高生残率を示した区が多かったので、生残率が高いもののうち、殻長が大きかった8株を、合計で15株選抜した。

Table 3-1 Survival of larvae in Exp. S1-1.

Experiment	Added bacterial stock	Survival rate (%)	Selected stock
Exp. S1-1	TI-1	94.0	○
	TI-2	96.3	○
	TI-3	87.5	
	TI-4	84.5	
	TI-5	64.5	
	TI-6	84.8	
	CA-1	58.0	
	CA-2	90.6	
	CA-3	79.7	
	CA-4	90.6	
	FU-1	91.3	
	FU-2	97.4	○
	FU-3	96.4	○
	FU-4	70.0	
	FU-5	51.7	
	OI-1	84.4	
	OI-2	65.2	○
	OI-3	84.0	
	OI-4	77.4	
	OI-5	83.0	
	CS-1	96.6	○
	CS-2	97.5	○
	CS-3	71.3	
	CS-4	64.8	
	CS-5	83.1	
	NG-1	61.8	
	NG-2	65.3	
	NG-3	74.1	
	NG-4	85.3	
	NG-5	50.6	
	none	94.1	

Table 3-2 Survival and growth of larvae in Exp. S1-2, 3.

Experiment	Added bacterial stock	Survival rate (%)	Final shell length (μm)	selected stock	
Exp. S1-2	FU-121	2.9	—		
	FU-122	0.0	—		
	KA-11	99.1	103.1 (4.09)*		
	KA-12	4.5	—		
	KA-13	97.8	106.2 (9.53)		
	KA-15	100.0	105.3 (4.58)		
	KA-16	1.5	—		
	KA-21	99.4	107.0 (10.59)		
	KA-24	99.5	104.2 (4.11)		
	CE-21	100.0	111.4 (6.30)	○	
	CE-22	1.7	—		
	CE-23	99.8	116.1 (5.25)	○	
	CE-24	100.0	109.0 (4.32)	○	
	CE-25	99.4	105.5 (3.81)		
	CE-26	1.0	—		
	NA-21	0.0	—		
	NA-22	99.0	108.6 (4.94)	○	
	NA-23	5.4	—		
	NA-24	0.4	—		
	NA-25	99.5	108.9 (4.58)	○	
	none	100.0	114.0 (5.34)		
	Exp. S1-3	OI-21	85.4	129.9 (7.30)	
		OI-22	99.3	142.5 (7.44)	○
		OI-23	100.0	130.0 (7.34)	
		OI-24	51.3	132.6 (9.42)	
OI-25		33.1	131.3 (7.92)		
OI-26		99.6	129.5 (7.18)		
FU-11		97.7	130.7 (7.28)		
FU-13		100.0	140.3 (10.48)	○	
FU-16		100.0	135.3 (8.31)	○	
none		99.9	142.3 (6.03)		

*Mean (S. D.)

Table 4 Survival and growth of Manila clam larvae with addition of different bacterial stocks to rearing sea water in Exp. S2.

Experiment	Bacteria	Survival rate (%)	Shell length (μm)	Selected stocks
Exp. S2-1	TI-1	95.2 (3.52)*	172.7 (15.41)*	○
	TI-2	97.1 (2.91)	167.0 (15.03)	○
	FU-2	95.1 (1.27)	156.6 (15.14)	
	FU-3	45.5 (4.97)	124.8 (11.37)	
	OI-2	82.7 (5.11)	146.9 (21.33)	
	CS-1	91.2 (2.74)	166.8 (19.33)	○
	CS-2	92.6 (1.80)	149.4 (19.13)	
	none	86.4 (12.68)	164.2 (13.26)	
Exp. S2-2	CE-21	41.4 (8.21)	187.4 (19.36)	○
	CE-23	35.2 (15.38)	184.5 (18.51)	
	CE-24	46.3 (20.14)	192.0 (15.33)	○
	NA-22	34.4 (20.44)	185.5 (18.24)	
	NA-25	37.8 (10.29)	174.6 (16.63)	
	FU-13	36.9 (2.65)	184.3 (14.72)	
	FU-16	48.7 (3.65)	162.1 (14.43)	
	OI-22	29.6 (10.93)	186.6 (17.46)	○
none	8.4 (2.15)	188.6 (17.30)		

*Mean (S. D.)

Exp. S2の結果をTable 4に示した。Exp. S2-1では、7試験区のうち、TI-1, TI-2, FU-2, CS-1, CS-2の5区が生残率90%以上を示し、そのうちTI-1, TI-2, CS-1の3区の殻長が対照区よりも大きかった。Exp. S2-2では、8試験区それぞれの生残率は29.6~48.7%と、対照区(8.4%)に対し3~6倍高く、殻長は、NA-25とFU-16の2区を除き180.0 μ m以上と良好な成長を示した。生残と成長を考慮し、Exp. S2-1からTI-1, TI-2, CS-1の3株、Exp. S2-2からCE-24, CE-21, OI-22の3株の合計6株を選抜した。

Exp. S3では、生残率は、対照区、各試験区ともほぼ95%以上と高く、生残は良好であった(Fig. 1 A)。殻長は、対照区が138.1 μ mであったのに対し、試験区は157.6 μ m~168.9 μ mと、対照区と比較していずれも統計学的に有意に大きかった(Fig. 1 B)。その中から殻長が大きかった順にTI-1, TI-2の2株を選抜した。

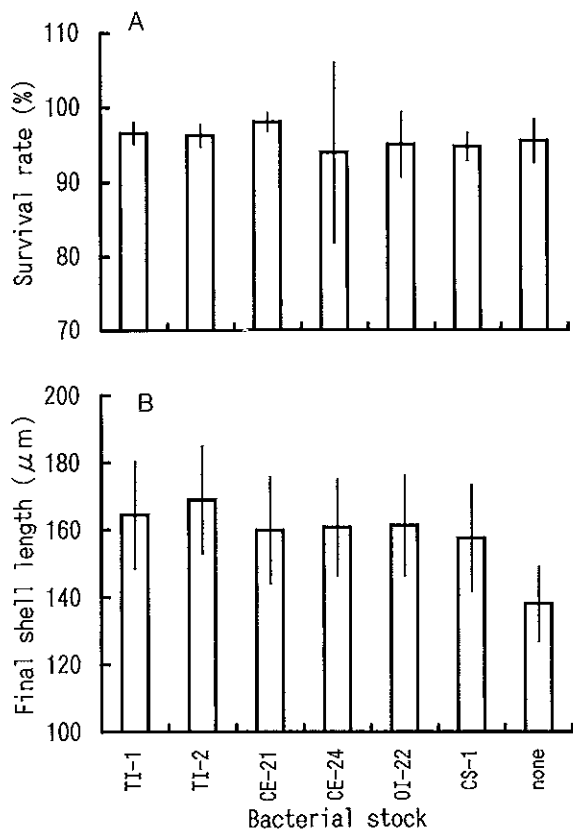


Fig. 1 Survival(A) and growth(B) of Manila clam larvae reared with one of 6 bacterial strains for 14 days in Exp. S3. Treatments with superscript letter are significantly different to control (Welch's t-test $p < 0.01$).

細菌の好適添加密度 (Exp. D)

細菌の添加密度別の生残率は、 10^4 区が3株ともに低く、 10^5 , 10^6 区は概ね高く、密度が高いほど生残率も高い傾向が見られた(Fig. 2 A)。9試験区のうち、

TI-11, TI-13の 10^5 , 10^6 区とTI-2の 10^6 区の、5区で生残率が15%を越し、対照区(7.8%)の2倍以上の生残を示した。

殻長は、3株ともに、細菌の添加密度が高いほど大きかった(Fig. 2 B)。試験区の殻長は164.5~190.2 μ mで、いずれも対照区(159.6 μ m)より大きく、そのうち 10^5 , 10^6 区を中心とする6区で180 μ mを越えていた。

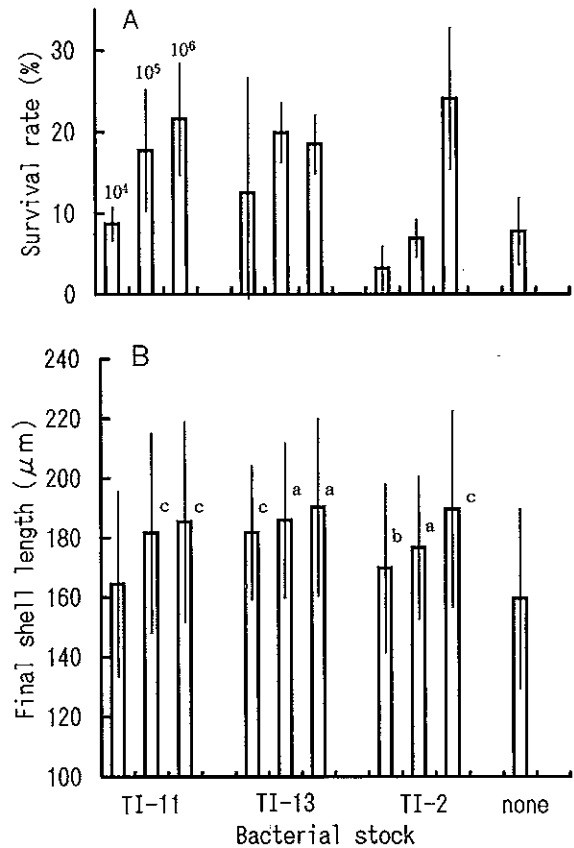


Fig. 2 Survival(A) and growth(B) of Manila clam larvae reared with different density of bacterial cells for 14 days in Exp. D. Numerals above the vacant bar indicate the added density of bacterial cells (cells/ml). Superscript shows significant differences of treatments to control: a: Welch's t-test, $p < 0.01$. b: Welch's t-test, $p < 0.05$. c: Student's t-test, $p < 0.01$.

飼育期間中の肉眼観察によると、飼育開始2, 3日目から一部の容器に糸状の粘液ないし糸状の粘液を引いた個体が見られた。糸状の粘液の出現は、細菌の添加密度が低い試験区ほど多く見られた。対照区と 10^4 区に飼育の初期から高率で出現し、また、 10^4 , 10^5 区では飼育日数の経過に伴い出現する容器数が増加し、 10^6 区では肉眼では出現が認められなかった(Table 5)。この粘液は透明または茶色で、顕微鏡観察によると餌料藻類の細胞塊が絡まっていた。

Table 5 Percentage of vessels observed thready mucus in Exp. D.

Adding density of bacteria (cells/ml)	Rearing days													
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
None (3) ^{*1}	0	0	0	— ^{*2}	67	100	100	100	100	100	100	100	100	100
10 ⁴ (9)	0	0	0	—	78	100	67	89	78	100	100	100	100	100
10 ⁵ (9)	0	0	0	—	11	22	11	11	22	44	44	56	56	56
10 ⁶ (9)	0	0	0	—	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

^{*1}Total number of culture vessels in parentheses.

^{*2}Not recorded.

考 察

アサリ幼生の飼育水から分離した細菌の中から、幼生の生残向上と成長促進に効果がある細菌6株が得られた (Table 4, Fig. 1)。また、これらの中から選択した3株の細菌について幼生の飼育水に添加する好適な密度を検討したところ、いずれの細菌株とも幼生の生残、成長が最も良かったのは、10⁶または10⁵cells/mlであった (Fig. 2)。これらの細菌を添加することによって、種苗生産過程において最も生残が不安定な時期の一つである幼生時の生残を安定させ、かつ、成長を促進させることができる可能性が高い。

これらの細菌を添加した場合の生残率は、対照区の生残が悪いときには、必ずしも通常の種苗生産で期待する良好な生残率までは向上しないことがある (Table 4, Fig. 2)。つまり、選抜した細菌株の生残向上の効果は、常にアサリ幼生の生残を飛躍的に上げるほど強力なものではない。しかし、細菌を添加した場合の生残率は、少なくとも対照区の2倍以上に達しており、これら細菌の生残向上効果は大きい。

Exp. S1では、試験区によって生残率が10%未満からほぼ100%まで大きく異なっていた (Table 3) が、これについては、添加した細菌株の関与が考えられる。他の二枚貝では、飼育水中に存在する細菌の種類によって幼生の生残が大きく影響されたという報告^{3,20)}があり、アサリにおいても同様のことが起こっていると考えられた。

供試した株はいずれも、生残が比較的良好だった飼育水から分離したものであるが、それらの株の中には、幼生の生残を大きく低下させる細菌が含まれていたことになる。このことは、多種の細菌との混在下あるいは低密度であればあまり問題とはならない細菌株でも、単一で大量に存在すると幼生の生残を大きく低下させる場合があることを意味する。アサリ種苗生産の幼生飼育時には、水温、餌料、飼育密度など同一条件で飼育している複数の水槽間で生き残りが大きく異なったり、大量死が起こる場合があるが、これらの現象が起

こる原因として、飼育水中に混在している細菌が何らかの理由によって増殖し悪影響を及ぼした可能性が想定される。

Garlandら¹⁰⁾は、0.2 μ mメンブレン・フィルターで濾過処理した海水と無処理の海水とでカキ幼生を飼育したところ、0.2 μ m処理海水の細菌密度が、飼育開始時には無処理海水の1/10,000程度であったにも関わらず、2日後には無処理海水より高くなっており、幼生の生残が悪影響を受けた事例を報告している。そして、細菌数急増の原因を、濾過処理によって飼育水中に存在する細菌の種組成が単純になり、異種間の競合が欠如して一部の細菌の急激な増殖が可能になったためと考察している。

このことは、種苗生産に用いる海水を前処理して細菌数を減少させることが、幼生に悪影響を及ぼす細菌が増殖する余地を拡大することにつながり、必ずしも好ましくない場合があることを示している。この点において、好適な細菌を添加して生残を安定させるという手法は有利であろう。

Exp. Dでは、3株の細菌とも、10⁴区の生残率が対照区と同程度に低く、細菌添加の効果が見られなかったが、10⁵、10⁶区の生残率は対照区の約2倍と高く、また、殻長もそれぞれの株で添加密度が高いほど大きかった。同一の細菌を用いても飼育水中の細菌密度によりアサリ幼生の生残や成長が異なり、幼生に与える影響として細菌の種類ばかりではなく密度も重要であることがわかった。これはDouilletら²¹⁾の報告、すなわち、彼らが分離した細菌CA2株のカキ類幼生に対する良好な添加密度範囲は10⁴~10⁶cells/mlで、10⁷cells/mlでは有意に生残、成長が悪く、同一の細菌であっても密度によって二枚貝幼生に与える影響が異なること、を支持する結果である。

カキ幼生の飼育水中の細菌密度は飼育期間中わずかに増加するが10⁶cells/mlを越えず²⁶⁾、また、自然海水中の細菌数もほぼ10⁵~10⁶cells/mlである^{19,27)}といわれている。それは、二枚貝幼生や原生動物などの摂食によって細菌数の上限が10⁶cells/ml程度に押さえられて

いるためと考えられている^{19,26)}。本試験の3株やDouilletらのCA2株は、用いた株や実験条件も異なりながら、二枚貝幼生の飼育水に添加する適切な密度が、 $10^5 \sim 10^6$ cells/mlの範囲では一致していた。このことは、前処理によって細菌数を減少させた海水に、好適細菌を、通常海水中に存在する細菌密度の上限である $10^5 \sim 10^6$ cells/ml添加することによって、他の細菌の生息する余地が縮小し、増殖が抑制されるとする野上ら¹⁹⁾の考察を支持するものである。

Exp. Dで観察された糸状の粘液を引いた幼生は、過去の試験時あるいは種苗生産時にも観察されたことがあり、その場合、幼生の生残は悪かった。細菌添加密度別にみると、糸状の粘液の出現傾向は生残率の高さと対応しており (Table 5), 供試細菌が糸引き個体の出現を抑制し、幼生の症状の悪化を遅延させるなどの何らかの関わりを持つことを想起させる。

要 約

- 1) 17種類の微小藻類を用いて飼育したアサリ幼生の飼育水から、59株の細菌を分離した。
- 2) 分離した細菌をアサリ幼生の飼育水に一株ずつ添加する試験を行って、幼生の生残向上、成長促進に効果がある細菌6株を得た。
- 3) 6株の中から選択した3株の細菌を用いて、アサリ幼生の飼育水に添加する好適な細菌密度を検討したところ、飼育水1 mlあたり $10^5 \sim 10^6$ cellsの範囲で幼生の生残、成長が最も良かった。

文 献

- 1) C. D. Garland, G. V. Nash, C. E. Summer and T. A. McMeekin (1983): Bacterial pathogens of oyster larvae (*Crassostrea gigas*) in a Tasmanian Hatchery. *Aust. J. Mar. Freshw. Res.*, **34**, 483-487.
- 2) 藤原正夢・上野陽一郎・岩尾敦志 (1993): トリガイ浮遊幼生の斃死原因と考えられる *Vibrio* 属細菌について。魚病研究, **28**(2), 83-89.
- 3) C. Riquelme, G. Hayashida, N. Vergara, A. Vasquez, Y. Morales and P. Chavez (1995): Bacteriology of the scallop *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819) cultured in Chile. *Aquaculture*, **138**, 49-60.
- 4) 島根県 (1992): 幼生飼育. 平成3年度地域特産種増殖技術開発事業報告書 (二枚貝グループ), 島根7-島根12.
- 5) C. Brown (1981): A study of two shellfish-pathogenic *Vibrio* strains isolated from a long island hatchery during a recent outbreak of disease. *J. Shellfish*

- Res.*, **1**(1), 83-87.
- 6) 藤本敏昭・上妻智行 (1992): アサリ種苗生産研究-1, 50kl水槽における幼生飼育のための基礎試験. 福岡県豊前水試研報, **5**, 105-108.
- 7) 大橋 裕・河本良彦 (1980): アカガイ種苗の量産化にともなう技術的開発. 山口県内海栽培漁業センター栽培漁業技術開発報告, **6**, 80-135.
- 8) 岩本哲二・岸岡正伸・溝岡基助・小林和吉 (1995): アカガイ種苗生産事業 III アサリ種苗生産. 平成3・4年度山口県内海栽培漁業センター報告, 39-40.
- 9) C. Jeanthon, D. Prieur and J. C. Cochard (1988): Bacteriological survey of antibiotic-treated sea water in a *Pecten maximus* Hatchery. *Aquaculture*, **71**, 1-8.
- 10) C. D. Garland, S. L. Cooke, T. A. McMeekin and J. E. Valentine (1986): Effects of $0.2 \mu\text{m}$ membrane-filtered seawater as a culture medium on fertilized eggs and larvae of the Pacific Oyster, *Crassostrea gigas*. *Aust. J. Mar. Freshw. Res.*, **37**, 713-720.
- 11) 勢村 均 (1994): イタヤガイ幼生飼育において飼育水中に出現する細菌の数量的変動と幼生に及ぼす影響. 水産増殖, **42**(1), 157-164.
- 12) 多賀信夫: 海洋生態系の食物網における被食者としての細菌の役割. 「微生物の生態10」微生物生態研究会編, 学会出版センター, 東京, 1982, pp 45-63.
- 13) 前田昌調: 細菌. 「水産増養殖と微生物」日本水産学会監修, 恒星社厚生閣, 東京, 1986, pp101-114.
- 14) 小川数也 (1977): 動物プランクトン餌料としてのバクテリアフロックの効果. 日水誌, **43**(4), 395-407.
- 15) 安田公昭・多賀信夫 (1980): 餌料細菌を用いるシオミズツボウムシの培養. 日水誌, **46**(8), 933-939.
- 16) J. G. McHenery and T. H. Birkbeck (1985): Uptake and processing of cultured microorganisms by bivalves. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **90**, 145-163.
- 17) J. P. Yu, A. Hino, R. Hirano and K. Hirayama (1988): Vitamin B12-producing bacteria as a nutritive complement for a culture of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **54**(11), 1873-1880.
- 18) K. Watanabe, K. Sezaki, K. Yazawa and A. Hino (1992): Nutritive fortification of the rotifer

- Brachionus plicatilis* with Eicosa pentanoic Acid-producing Bacteria. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **58** (2), 271-276.
- 19) 野上欣也・前田昌調：水産魚介類種苗生産環境における微生物の挙動と管理。「海洋微生物とバイオテクノロジー」清水潮編著，技報堂出版，1991，pp169-183.
- 20) P. Douillet and C. J. Langdon (1993) : Effect of marine bacteria on the culture of axenic oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg) larvae. *Biol. Bull.*, **184**, 36-51.
- 21) P. Douillet and C. J. Langdon (1994) : Use of a probiotic for the culture of larvae of the Pacific Oyster (*Crassostrea gigas* Thunberg). *Aquaculture*, **119**, 25-40.
- 22) C. Riquelme, G. Hayashida, R. Araya, A. Uchida, M. Satomi and Y. Ishida (1996) : Isolation of a native bacterial strain from the scallop *Argopecten purpuratus* with inhibitory effects against pathogenic vibrios. *J. Shellfish Res.*, **15**(2), 369-374.
- 23) 鳥羽光晴・深山義文・酒井美恵 (1994) : イソクリシス・タヒチ株の大量培養-IV 単一種藻類給餌でのアサリ稚貝に対する餌料価値. 栽培技研, **22**, 75-81.
- 24) 菌量の測定法. 「微生物学実験提要」東京大学医科学研究所学友会編，丸善株式会社，東京，1988，pp102-105.
- 25) 深山義文・鳥羽光晴 (1990) : アサリ種苗生産試験-III アサリ浮遊幼生に対する8種の微小藻類の餌料価値. 千葉水試研報, **48**, 93-96.
- 26) D. Prieur and J. P. Carval (1979) : Bacteriological and physico-chemical analysis in a bivalve hatchery : techniques and preliminary results. *Aquaculture*, **17**, 359-374.
- 27) 清水 潮：培養計数法. 「海洋微生物研究法」門田 元・多賀信夫編，学会出版センター，東京，1985，pp53-58.