

# 有用藻類バイオテクノロジー基礎技術開発研究

玉城 信・長谷川毅彦\*

## 1. 目的

本県の有用藻類の培養試験等のバイオテクノロジーに関する基礎的なデータの収集を目的に本研究を行ってきた。シャコガイ種苗生産時において初期稚貝の生残に大きく影響を及ぼすシャコガイ共生藻 (*Gymnodinium sp.*) を有用藻類と位置づけその培養方法に検討を加える。

シャコガイの種苗生産において最も大きな減耗期は初期殻頂期仔貝と共生藻との共生関係が成立する時期である。現状では共生藻の培養手法が確立されていないため多くの成貝を犠牲にし、その外套膜より取り出した共生藻を仔貝に投与しているが常に良好な状態の共生藻の投与はできていない。そのため共生藻の培養技術の確立が種苗生産現場で必要とされてきた。

前年度は共生藻培養試験の前提となる培養藻体の計数方法に検討を加えた。

シャコガイの共生藻の培養については「生物餌料の培養技術に関する研究」においてヒレジャコ及びヒメジャコの共生藻を用いて試験を行っており、本研究では対象種をヒレナシジャコとした。この種と他のヒレジャコ・ヒメジャコの培養技術との比較を行う。

## 2. 材料及び方法

初代通気培養の適正条件を把握する目的で行ったヒレジャコ共生藻培養試験で得られた条件を基に本試験では塩分濃度試験を行った。培養方法及び試験方法を以下に記す。

- 1) 培養器：500m $\ell$  平底フラスコ (ガラス管通気) を各試験区毎に4本
- 2) 培養温度：28℃～32℃ (恒温培養室)
- 3) 培養照度：5,000Lux (8:00～20:00、12時間蛍光灯照射)

4) 海水：超精密濾過海水 (0.01 $\mu$ m 中空糸膜カット)。オートクレーブ処理は行わない。

5) 培養日数：9日間 (計数日は3日、5日、7日、9日の計4回)

6) 培地：P-E S 改変培地 (ノリマックス、ビタミンB12ミックス、L-シスチン、ストレプトマイシン硫酸塩を各1m $\ell$  / 海水1 $\ell$ )

7) 元種：過年度に沖縄県水産試験場八重山支場で生産した6年貝のヒレナシジャコ外套膜より取り出した共生藻

8) 試験開始濃度：40万細胞/m $\ell$

9) 計数方法：①培養器内にスコッチブライト小片を投入し、手振りで剥離。

②200m $\ell$  ブレンダー (18,500回転/分) に100m $\ell$  のサンプルを入れ1分間攪拌。

③ジェネレーションホモジナイザー (25,000回転/分) に移し、1分間攪拌。

④血球計算盤に6試料取り、計数後平均値を出す。

以上の順序で計数する。

10) 塩分濃度：・34‰ (100%海水) 区

・27‰ (80%海水、20%蒸留水) 区

・23‰ (67%海水、33%蒸留水) 区

以上の3区の細胞密度の増殖の比較試験。

## 3. 結果及び考察

図1にヒレナシジャコ共生藻を用いた塩分濃度と細胞密度との関係を示した。

培養3日目から常に34‰区が高い細胞密度を示した。塩分濃度が低いほど細胞密度の増殖は見られない。また、34‰区の9日目の細胞密度は350万細胞/m $\ell$  を越え同様の試験でのヒレジャコの結果より

\*非常勤職員

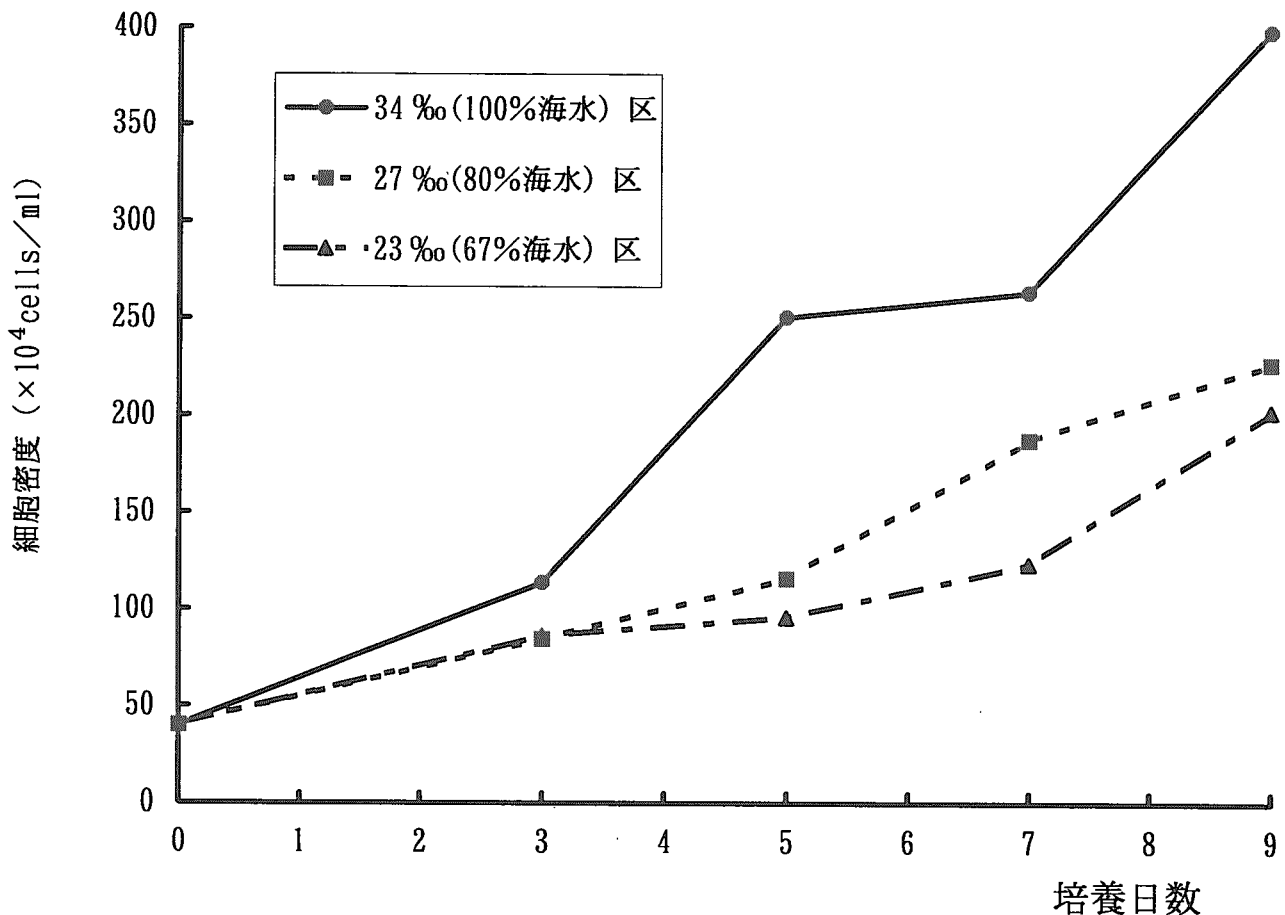


図 1 塩分濃度と細胞密度との関係

も高い数字を示した。ヒレジャコ共生藻を用いて行った同様の試験において高塩分の海水の細胞密度の増殖は悪く、通常海水よりも低い塩分濃度の海水での細胞密度の増殖は通常海水よりも良い結果が出る事例があり、その結果シャコガイ共生藻の塩分濃度に対する適応範囲が広いことが示唆された。しかし、今回の試験からは同一の結果は得られず通常の海水が最もヒレナシジャコ共生藻に適しているという結果が出た。しかし、シャコガイの共生藻が種類によって異なっているのかという問題についてこの結果だけから結論は出せない。初代の通気培養試験の場合、元種をシャコガイ生体の外套膜から取り出すため元種の中に外套膜の組織成分が混入する。このことからヒレジャコとヒレナシジャコの外套膜の中の成分の差がこの試験結果に出たのではないかと考察される。もしくは共生藻そのものは同一種であってもシャコガイの外套膜上で生存中に後天的な環境によって特性に差が生まれる可能性も示唆された。今後は通気2代目以降の培養試験によってこの問題を明らかにしていく必要がある。

#### 4. 要約

- ・ヒレジャコ共生藻の培養試験によって得られた条件を基にヒレナシジャコ共生藻を用いた通気初代培養試験を行った。
- ・試験は培養海水の塩分濃度について34‰通常海水と27‰、23‰の3区について比較した。
- ・結果は低塩分に比べて通常海水が増殖し、細胞密度は350万細胞/mlを9日目に越え、同一条件でのヒレジャコの結果よりも良好であった。
- ・今回の試験ではヒレナシジャコ共生藻はヒレジャコ共生藻に比べて塩分適応範囲が狭く、低塩分中では増殖しない結果となった。
- ・この結果だけからシャコガイ共生藻の種の違いを断定することはできない。
- ・外套膜成分の差が細胞増殖に影響を及ぼしていることが推察された。

#### 5. 今後の課題

- ・外套膜成分の影響を除去して培養試験を行うために、通気培養2代目以降で試験を行う。

- ・ヒレナシジャコ共生藻と他のシャコガイ共生藻との相違を明らかにするために異種シャコガイ初期仔貝に対する共生成立試験を行う。
- ・ヒレナシジャコ共生藻を用いた保存培養試験を行う。

#### 文献

- 1) 佐々勤 (1965) : 生育生理. 藻類実験法 (田宮博・渡辺篤編). 南江堂. 東京. pp185-190.
- 2) 石居進 (1975) : 生物統計学入門. 培風館. 東京. pp59-64.
- 3) 玉城 信・長谷川毅彦 (1997) : 有用藻類バイオテクノロジー基礎技術開発研究. 沖縄県水産試験場事業報告書. 平成7年度. 187-189.