

生物餌料の培養技術に関する研究（要約）

玉城 信・長谷川毅彦*

本研究の詳細は特定研究開発促進事業、生物餌料の培養技術に関する研究報告書において水産庁に報告し、報告書は別途に印刷するので、ここではその概要のみを記す。

1. 目的

本県の採貝漁業の重要種であるシャコガイ類の種苗生産時における最も大きな減耗期は、初期殻頂期仔貝と共生藻 (*Gymnodinium sp.*) 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、その外套膜から取り出した共生藻を仔貝に投与しているが、常時良好な状態の共生藻を投与できていない。本研究では共生藻の保存、拡大培養条件の検討及び形態変化の機構解明を行うことにより、共生藻の培養条件を確立し種苗生産技術の高度化を図る。

2. 材料及び方法

(1) 初代培養条件の検討

元種となる共生藻は沖縄県水産試験場八重山支場で過年度に種苗生産したヒレジャコ3年貝～7年貝(殻長140～230mm)の外套膜より取り出した。外套膜の表皮(共生藻が主に含まれる)の部分解剖バサミで薄く剥ぎ、洗浄後、超精密濾過海水(0.01 μ m中空糸膜で処理)1,000m ℓ と共にミキサ(11,000回転/分)に入れ粉碎し元種原液とした。培養には全てこの超精密濾過海水を用いた。培養には平底フラスコ(500m ℓ 及び1,000m ℓ)を用い通気を行いながら恒温培養室に設置して試験を行い、設置した翌日を培養1日目とした。恒温培養室の蛍光灯は8:00～20:00までの12時間照射とした。共生藻の増殖状態は1～2日おきに細胞数を計数して把握した。共生藻は培養すると主に培養容器内ガラス面に付着するため計数をする際には、容器内に滅

菌したスコッチブライト小片を2～3個投入して振り回し壁面に付着した共生藻を剥ぎ落とした。次に培養液100～500m ℓ をブレンダー(18,500回転/分)で3～15分間攪拌した後、血球計算盤で1検体につき2～4回計数後、平均値をその検体の細胞密度とした。

初代培養試験は6回行い以下に試験設定を記す。

- 1) 照度: 14,000Lux、7,000Lux、450～42,000Luxの太陽光
- 2) 照度: 14,000Lux、7,000Lux、3,500Lux
- 3) 照度と検体抜き取り方法(30 $^{\circ}$ C):
 - 14,000Lux (全量抜き取り)
 - 7,000Lux (全量抜き取り)
 - 7,000Lux (部分抜き取り)
 - 3,500Lux (全量抜き取り)
- 4) 照度と検体抜き取り方法(25 $^{\circ}$ C):
 - 13,000Lux (全量抜き取り)
 - 7,000Lux (全量抜き取り)
 - 7,000Lux (部分抜き取り)
 - 3,500Lux (全量抜き取り)
- 5) 試験開始密度と検体抜き取り方法:
 - 20万細胞/m ℓ (全量抜き取り)
 - 20万細胞/m ℓ (部分抜き取り)
 - 40万細胞/m ℓ (全量抜き取り)
 - 40万細胞/m ℓ (部分抜き取り)
- 6) 試験開始密度と培地:
 - 20万細胞/m ℓ (P-E S改変培地)
 - 20万細胞/m ℓ (P-E S改変培地から
ビタミン除去)
 - 20万細胞/m ℓ (P-E S改変培地の
ビタミン5倍)
 - 20万細胞/m ℓ (P-E S改変培地に外套膜
ジュース)
 - 40万細胞/m ℓ (P-E S改変培地)
 - 40万細胞/m ℓ (P-E S改変培地に外套膜
ジュース)

*非常勤職員

(2) 継代培養条件の検討

この試験には培養試験6 (P-E S 改変培地) の条件で7日間初代培養し、細胞密度が262.9万細胞/mlに達した共生藻を用いた。P-E S 改変培地区とP-E S 改変培地に外套膜ジュースを加えた区の比較を行った。

(3) 運動型細胞への変移条件の検討

培養は初代培養試験と同様の設備、器具及び条件で行い、培養後数日経って増殖したサンプル内の運動型の細胞密度を計数した。

この試験は2回行い以下に試験設定を記す。

1) 恒温培養室照明時間: 8:00~20:00、12時間

2) 恒温培養室照明時間: 14:00~2:00、12時間

3. 結果及び考察

(1) 初代培養条件の検討

初代培養試験1) から4) までの結果、培養水温については培養水温30℃以上とそれ以下での細胞密度の増殖には明らかな差があり、適正水温は30℃以上であるものと推察された。照度については水温ほど明確な差は生じなかったが7,000Lux区がどの試

験においても若干の差ではあるものの常に最高細胞密度であったことから、今後の初代培養設定照度を7,000Luxとすることにした。

試験6) においてビタミンの影響はよく分からなかったが、培養日数の経過で不足してくる成分を外套膜ジュースが補った可能性があるかと推察された。

(2) 継代培養条件の検討

この試験では外套膜ジュースの効果は見られなかった。ジュースの作成及び保存方法に問題があった可能性もあるため次年度に検討したい。

(3) 運動型細胞への変移条件の検討

運動型細胞は照明開始1時間後から出現が観察され、3時間後にピークに達した後、5時間後から減少し始め9時間後には殆ど消滅した。照明停止後は全く観察されず、照明再開後に再び出現した。照明時間をずらしても類似した結果になった。その結果、光刺激が運動型への変異の引き金になり、刺激に慣れると同一照度であっても運動型は減少し、暗期を経て再び光刺激によって運動型に変移することが分かった。