

# 有用藻類バイオテクノロジー基礎技術開発研究

玉城 信・池之内晴美\*

## 1. 目的

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 (*Symbiodinium sp.*) を有用藻類と位置づけ、その培養方法に検討を加えた。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。しかし、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。

シャコガイ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及びシラナミとし、他種の培養技術との比較を行う。

## 2. 材料及び方法

### (1) 保存培養試験

保存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、本試験ではヒレナシジャコ、シラナミ共生藻の高密度での長期保存培養試験を行った。各試験区毎に異なる

培養方法及び条件を表1に示し、以下に共通の条件を記した。

恒温室照明時間：8：00～20：00 蛍光灯照射

培養海水：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。

培地組成：P-ES改変培地 (ノリマックス、ビタミンB<sub>12</sub>ミックス、L-シスチン、ストレプトマイシン硫酸塩を各1 ml/海水1 l)

元種：前年度試験に用いたヒレナシジャコ共生藻及びシラナミ天然貝の外套膜より取り出し

表2 共生藻通気継代培養条件

培養容器：500 ml 平底フラスコ
通気方法：ガラス管
培養場所：恒温室 (8:00 ~ 20:00、12時間照明)
光量子量：60 $\mu$ mol/m <sup>2</sup> /s (約 5,200Lux)
水温：30 $^{\circ}$ C (29.3 $^{\circ}$ C ~ 30.3 $^{\circ}$ C)
培地：P-E S 改変
元種履歴：シラナミ (保存培養 135日)
元種密度：40 $\times 10^4$ cells/ml
培養日数：5日
塩分調整：蒸発分の蒸留水を毎日添加

表1 シャコガイ共生藻保存培養試験方法及び結果

種類	培養器及び容量 (ml)	培養場所 (照明時間)	光強度 ( $\mu$ mol/m <sup>2</sup> /s)	水温 ( $^{\circ}$ C)	培養方法	培地	元種履歴	元種密度 ( $\times 10^4$ cells/ml)	培養日数	培養後密度 ( $\times 10^4$ cells/ml)	備考
ヒレナシ	三角フラスコ 100(100)	恒温室 (12時間)	40	28 ~ 30	振盪培養 (1日1回手振り攪拌)	P-ES 改変	通気培養	11	396日	1	細胞正常 コタミ無し
ヒレナシ	三角フラスコ 200(150)	恒温室 (12時間)	80	28 ~ 30			生体から摘出	100以上	207日	73	細胞正常 コタミ無し
シラナミ	三角フラスコ 300(250)	恒温庫 (24時間)	10	30			生体から摘出	100以上	135日	52	細胞正常 コタミ無し

\*嘱託職員

## た共生藻

計数方法：①培養器内にスコッチブライト小片を投入し、手振りで剝離。②ブレンダー（18,500回転/分）に試料を入れ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。

### (2) 通気継代培養試験

表2に通気継代培養条件を示した。

### (3) 別種シャコガイ共生藻投与試験

表3に別種シャコガイ共生藻投与条件を示した。

表3 別種シャコガイ共生藻投与飼育条件

飼育仔貝：ヒレナシジャコ
試験区：ヒメジャコ共生藻投与区 ヒレジャコ共生藻投与区 ヒレナシジャコ共生藻投与区(対照区)
飼育容器：各区共マルチウェルプレート12穴(1穴5ml)×2セット、
飼育方法：孵化直後の幼生を1穴(4.5ml)に1個体ずつ各区、計24個体収容し、毎日共生藻投与
共生藻投与回数：観察後30～100個/4.5mlにする
換水：7日毎にピペットで全換水
飼育海水：超精密濾過海水(0.01μm処理)
飼育場所：飼育容器を恒温室(8:00～20:00、12時間照明)内に設置
光量子量：80μmol/m <sup>2</sup> /s(6,900Lux)
飼育水温：30℃(28.2～30.8℃)
共生成立の判断：日令12以降、毎日、実体顕微鏡で飼育容器ごと仔貝を直接観察
飼育期間：日令0～26

## 3. 結果及び考察

### (1) 保存培養試験

表1に保存培養試験結果を示した。

ヒレナシジャコ共生藻を通気培養後元種にした試験結果は396日間で細胞密度は $1 \times 10^4$  cells/mlまで低下したが、夾雑物の混入(コンタミ)も無く、細胞の形や色は正常であった。ヒレナシジャコ生体から抽出した細胞を直接元種にした試験結果も207日間で細胞密度は $73 \times 10^4$  cells/mlで維持し、コンタミも無く、細胞の形や色も正常であった。シラナミ生体から抽出した細胞を直接元種にした試験結果もヒレナシジャコ同様に高濃度保存でありながら135日間で細胞密度は $52 \times 10^4$  cells/mlで維持し、コンタミも無く、細胞の形や色も正常であった。

この結果からヒレジャコ、ヒメジャコ共生藻と同様の保存手法でヒレナシジャコ、シラナミ共生藻も高濃度保存が可能であることが明らかになった。しかも、この試験の対象種の方がコンタミ無しに長期間保存できた。シャコガイの種類別の単離培養元種が保存可能となれば、今後、各種類毎の種苗生産で計画的な共生藻の投与が可能となった。

### (2) 通気継代培養試験

表4に通気継代培養試験結果を示した。

長期保存培養後のシラナミ共生藻を用いた継代培養では5日間で元種の2.3倍の93万細胞/mlまで増殖した。

この結果もヒレジャコ共生藻を用いた試験結果と同様の結果であった。長期保存培養から継代した細胞が通気培養においても増殖可能であることから、今後、シラナミにおいても大量培養が可能となった。

表4 共生藻通気継代培養試験結果

種類	培養量 (ml)	細胞密度 ( $\times 10^4$ cells/ml)	増殖 倍率
		開始→終了	
シラナミ	300	40 → 93	2.3倍

### (3) 別種シャコガイ共生藻投与試験

表5に別種シャコガイ共生藻投与試験結果を示した。

ヒレナシジャコ初期仔貝に対してヒメジャコ及びヒレジャコ共生藻投与を行った試験区1、2においても共生成立個体が出現した。成立率が対照区に及ばないことから、必ずしもシャコガイ共生藻が同一種であるという結論には結びつかないが、共生成立というシャコガイ種苗生産にとって重要な時期の飼育管理手法の開発に結びつくことが推測された。

今後、資源が枯渇しているヒレナシジャコ種苗生産はシャコガイ類の種苗生産技術開発の中でも特に重要になってくることが予測される。他のシャコガイの共生藻をヒレナシジャコに投与して種苗生産が可能となればヒレナシジャコの増養殖技術開発に大きく寄与することになると思われる。

表5 別種シャコガイ共生藻投与試験結果

試験区	飼育仔貝種類	共生藻の種類	仔貝個体数	共生成立個体数	成立日令	成立率(%)
1	ヒレナシジャコ	ヒメジャコ	24	3	15 ~ 20	12.5
2		ヒレジャコ	24	1	20	4.2
3		ヒレナシジャコ	24	5	15 ~ 20	20.8

文 献

- 1) 玉城 信・長谷川毅彦 (1998) : 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8年度、155-157.
- 2) 玉城 信・長谷川毅彦 (1998) : 生物餌料の培養技術に関する研究. 沖縄県水産試験場事業報告書、平成8年度、158-159.
- 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.