

餌料生物の培養に関する研究 - I

Monochrysis lutheri の培養実験

※
嘉数 清、瀬底正武、仲野英則

クロチョウガイ幼生の餌料として、黄色鞭毛虫の *Monochrysis lutheri* が適している。しかし、*M. lutheri* は増殖速度が遅く、最大増殖量も $2 \sim 3 \times 10^6 / ml$ 程度にしかならない。そのため幼生の大量飼育には、餌料供給の面で難渋することが多い。更に、*M. lutheri* は他の微細藻類の汚染に弱く、特に $4 \sim 5 \mu$ の marine chlorella が contaminate すると、餌料としては不適当な *Chlorella* sp が増殖してきて、継続培養が不可能になってしまう。

この度、培養液の微量成分を変えて *M. lutheri* を培養し、その結果を比較検討したので報告する。

材料と方法

1 培養条件

照度 1800 Lux ~ 4600 Lux の下で 500 ml 平底フラスコに通気培養した。培養中の水温は 16°C であった。

2 増殖量の測定

Thoma の血球計算盤を用いて細胞数を計算し、各々 2 ~ 3 回の平均値で増殖量とした。

3 培養液

NaNO ₃ [200 g/l 液]	0.5 ml
Na ₂ HPO ₄ 12H ₂ O [20 g/l 液]	0.5 ml
濾過海水	700 ml
水道水	300 ml

以上の溶液に、微量元素として次の各液をそれぞれ所定量添加し、煮沸後使用した。

- a. ノリマックス 2号 0.5 ml/l
- b. クレワット 3 2号 [30 g/l 液] 1 ml/l
- c. 土壌浸出液[×] 12.5 ml ~ 50 ml/l
- d. 牛糞浸出液^{××} 10 ml ~ 30 ml/l

※実験 1 では Sweeney の方法 (田宮等、1965) に準拠して調製した。即ち、土壌 1 kg に水道水 1 l を加えて 1 時間煮沸後、暗所に 48 時間放置して上澄液を濾別し、濾液 600 ml に煮沸した水道水 400 ml を加えて、土壌浸出液とした。

実験 2 と 3 では、実験 1 の上澄液を取った残りの土壌にさらに水道水を 1 l 加えて、10 分間煮沸して再抽出し、暗所に放置後上澄液を濾別して、濾液をそのまま土壌浸出液とした。

××乾燥した水牛糞 500 g に水道水 5 l を加えて 1 時間煮沸後、放置して上澄液を濾別して使用した。

※琉球真珠株式会社

結果と考察

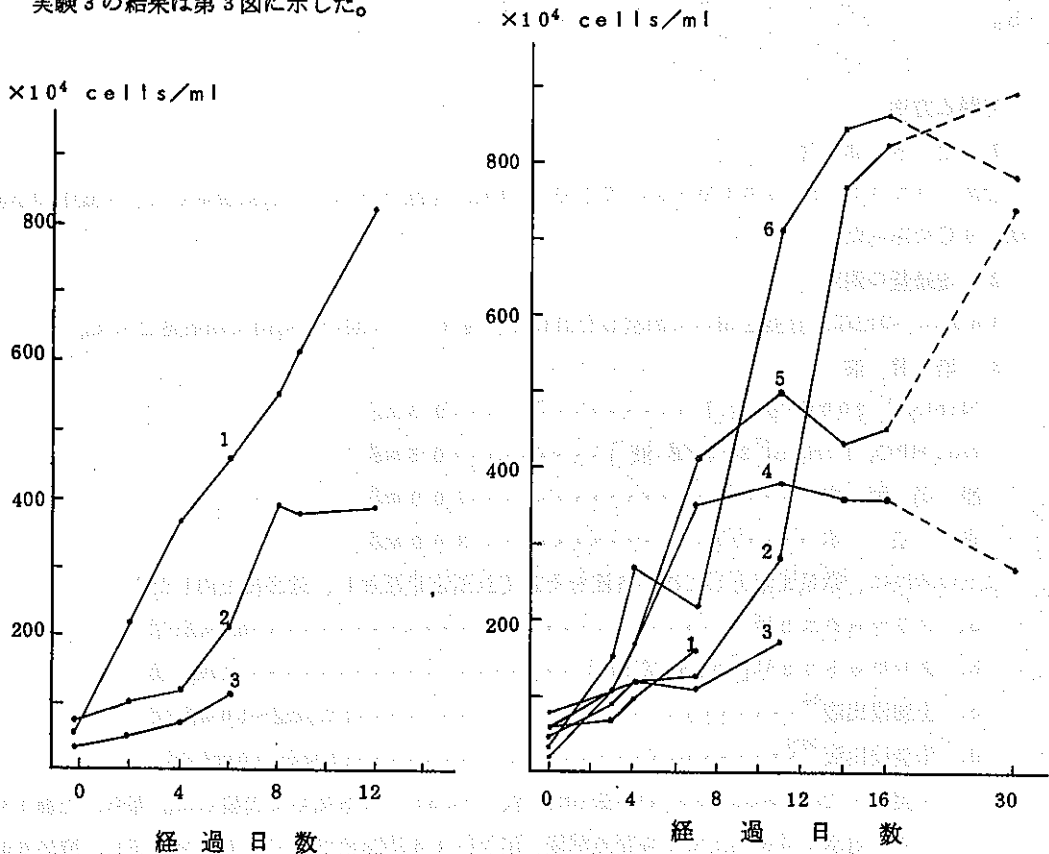
実験1の結果は第1図に示した。この時の照度は約2500Luxであった。この実験で、①は6日以後Chlorellasp.が急に増殖したので廃棄した。

実験2の結果は第2図である。この時の照度は3日までは1800Luxで、それ以後は4600Luxであった。

この実験では、①が7日以後緑色に変色して落ちてしまった。②は7日測定時にM.lutheri以外の桿菌らしきもの(1 μ ×2 μ)がおびただしく増えていたが、そのまま培養を続けたらM.lutheriが急に増殖してきた。これはノリマックスの効果ではなく、偶発的に増えた桿菌の作用ではないかと思われる。本所では、これまでクレワットやノリマックスを使って、M.lutheriを培養していたが、今度のような例はなく、1ml当りせいぜい2~3×10⁶個程度にしか増殖しなかった。

③は11日以後Chlorella sp.が増殖したので廃棄した。

実験3の結果は第3図に示した。

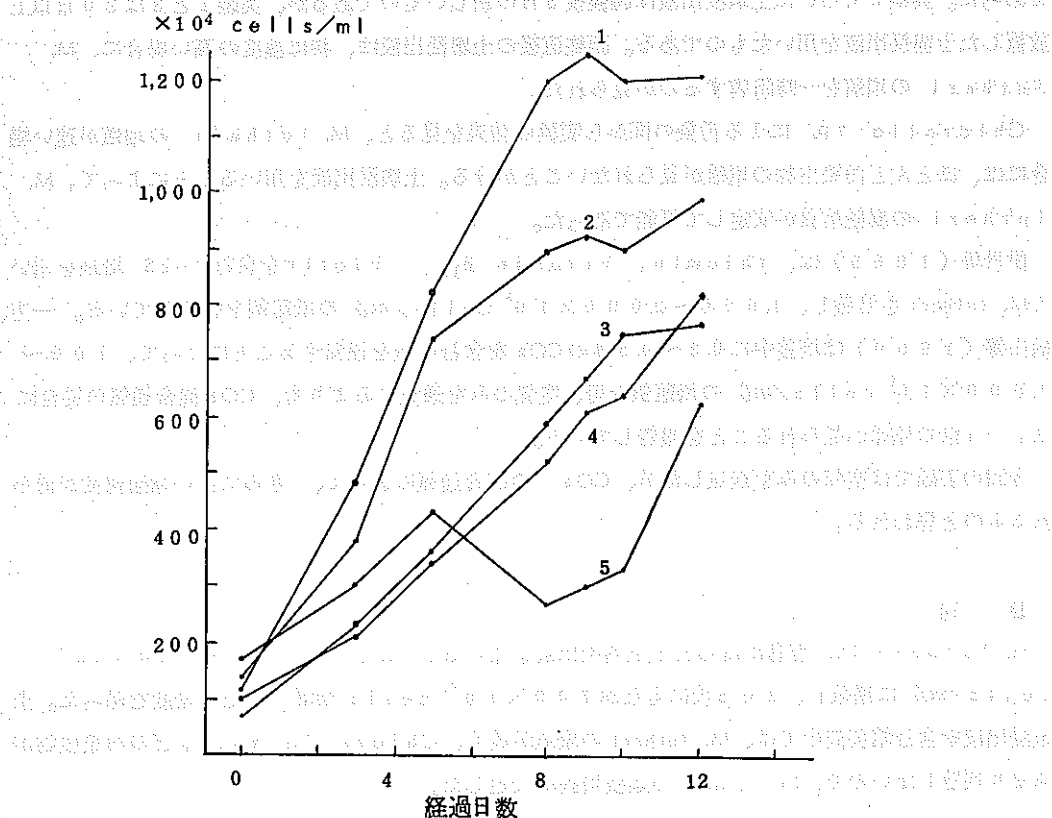


第2図; 培養液の違いによる増殖速度の比較

第1図; 培養液の違いによる増殖速度の比較

- 1; クレワット+ノリマックス[1:1]
- 2; クレワット+ノリマックス[1:1]
- 3; 土壌浸出液 50ml/l

- 1; クレワット
- 2; ノリマックス
- 3; クレワット+ノリマックス[1:1]
- 4; 土壌浸出液 12.5ml/l
- 5; 土壌浸出液 25ml/l
- 6; 土壌浸出液 50ml/l



第3図；培養液の違いによる増殖速度の比較

1；土壌浸出液 50ml/l

2；土壌浸出液 25ml/l + 牛糞浸出液 10ml/l

3；牛糞浸出液 10ml/l

4；牛糞浸出液 20ml/l

5；牛糞浸出液 30ml/l

鞭毛藻類の大部分がその増殖に際して、ビタミン特にB₁₂、thiamin、biotinの三種に限って単独又はその組合せで要求されると言われている（伊丹等、1969）。その意味で牛糞浸出液の効果を期待したが、土壌浸出液以上の効果はみられなかった。

いずれの実験でもM. lutheriは適量の土壌浸出液を含む培地で、接種後7～14日間に1ml当り800万以上に増殖した。しかも30日後になおかなりの高密度を保つことが分った。これらのことは、クロチョウガイ幼生の餌料としてM. lutheriを培養する場合に、非常な便利を与えるものである。

土壌浸出液は実験2と3の結果から、再抽出したもので十分効果のあることが明らかである。従って、土壌浸出液の調製には土壌1kgに水2ℓ加えて抽出しても、実用上さしつかえないものと思われる。その場合の土壌浸出液の最適量は今後検討したい。

土壌浸出液は調製直後のものよりも、しばらく放置して液中に白濁が生じてからのものの方がよい

であった。実験2で用いた土壌浸出液は調製後5日の新しいものであるが、実験1と3は20日以上放置した土壌浸出液を用いたものである。調整直後の土壌浸出液は、特に濃度の高い場合に、*M. lutheri* の増殖を一時阻害するのが見られた。

Chlorella sp. による汚染の面から実験の結果を見ると、*M. lutheri* の増殖が速い場合には、ほとんど汚染生物の増殖が見られないことが分る。土壌浸出液を用いることによって、*M. lutheri* の継続培養が安定して可能であった。

伊丹等(1969)は、thiamin, Vitamin B₁₂, biotinを含むP-ES培地を用いて*M. lutheri*を培養し、 $1,600 \sim 2,000 \times 10^4$ Cells/mlの増殖例を報告している。一方、横山等(1969)は培養中に0.3~0.5%のCO₂を含む空気を通気することによって、 $700 \sim 1,800 \times 10^4$ cells/mlの増殖例を得、空気のみを通気するよりも、CO₂混合通気の場合には2~4倍の増殖が見られることを報告している。

今回の実験では空気のみを送気したが、CO₂の混合通気によって、さらに高い増殖密度が得られるものと思われる。

要 約

M. lutheri は、容易に得られる土壌浸出液を用いることによって、 $800 \sim 1,200 \times 10^4$ cells/mlに増殖し、30日後にもなお 700×10^4 cells/ml以上の密度を保った。土壌浸出液を含む培養液中では、*M. lutheri*の増殖が速く、*Chlorella* sp.などの汚染生物があまり増殖しないので、*M. lutheri*の継続培養が安定した。

文 献

1. 田宮博、渡辺篤、1965；藻類実験法、南江堂
2. 伊丹宏三、山内幸児、浜口章、1969；アカガイ種苗生産技術研究報告書、兵庫県水試
3. 横山勝幸、早川豊、伊藤進、1969；アカガイ幼生餌料大量培養試験、青森県水産増殖センター。