

### 3. 飼料培養

#### 材料と方法

ウニ浮遊幼生の飼育餌料として、浮遊珪藻類の *Chaetoceros gracilis* を培養した。培養液の拠方は、海水 1 ℥当り Miquel - Allen の培地の A 液 2 ml、B 液 1 ml と鶏糞抽出液（乾燥鶏糞 1 kg を水道水 5 ℥に入れ、3 時間煮沸後の上澄み濾過抽出液）を 1 ml 添加し、約 90°C で 20 分加熱滅菌後、放冷濾過した液に Na<sub>2</sub>SiO<sub>3</sub> 100 mg、EDTA 10 mg を添加した。珪藻の植え継ぎは、300 ~ 700 万細胞/ml に順調に増殖中のものを原種として使用した。培養容器は 1 ℥ と 5 ℥ の平底フラスコを用い、軽く通気した。光源は昼光色蛍光燈を用い、照度約 3,500 Lux で連続照射した。細胞数の計数は、血球計算盤により、2 回計数し平均値を求めた。餌料培養は次の試験のほか、ウニ幼生飼育投餌用、原種維持保存用に周年継続して行なった。

#### 試験 1. 初期濃度別の培養

植え継ぎに使用した珪藻は、242 万から 405 万細胞/ml に 1 日で増殖したものと原種として、初期濃度を 1 ℥ 容量で 5, 25, 50, 100 万細胞/ml、5 ℥ 容量で 70 万細胞/ml に調整植え継ぎし、培養を開始した。

#### 試験 2. 冷暗所保存珪藻の培養

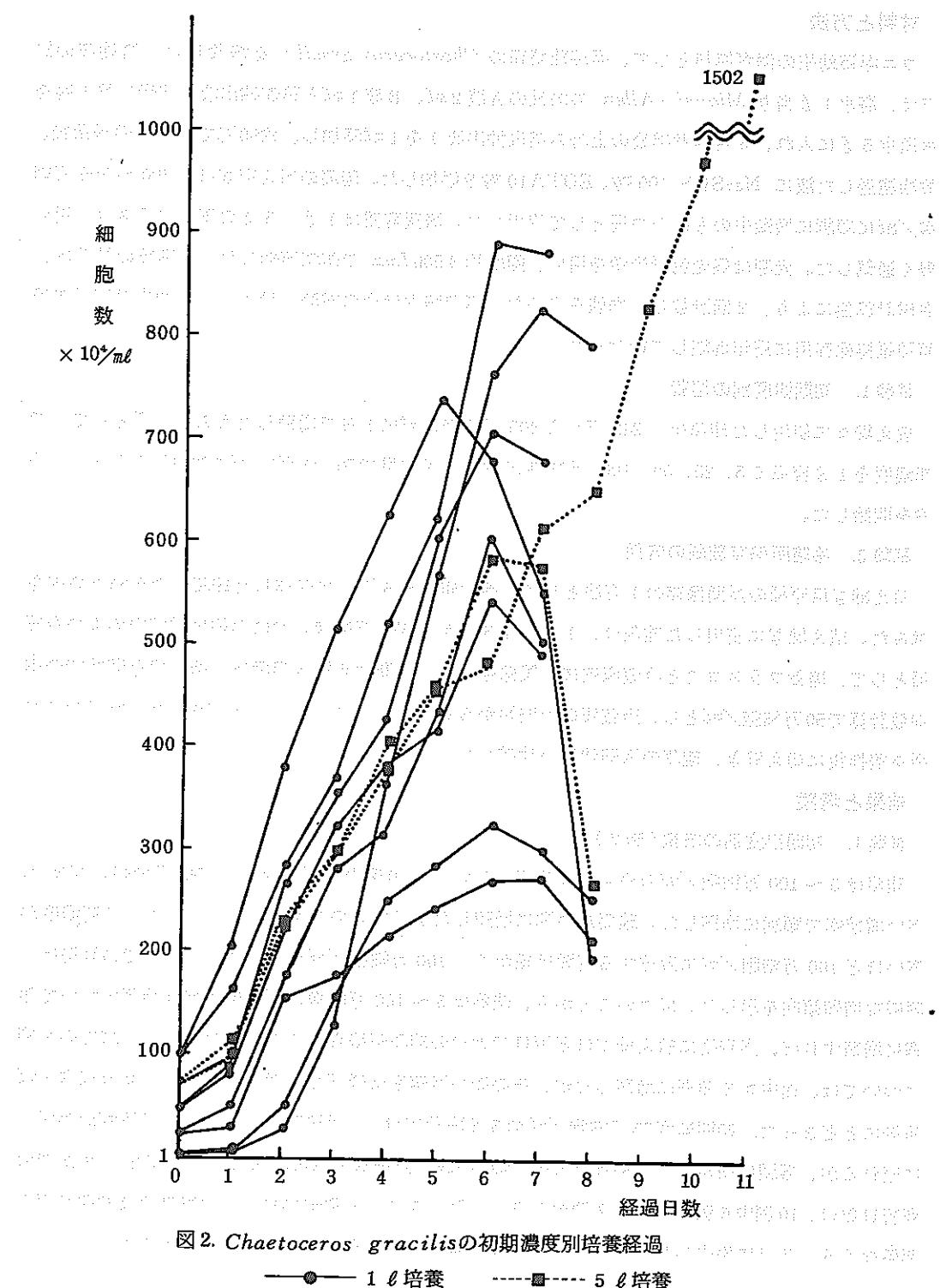
植え継ぎ用原種の長期保存の 1 方法として、冷蔵庫（約 5°C）に保存した珪藻の植え継ぎ培養を試みた。植え継ぎに使用した珪藻は、1 日で 403 万から 578 万細胞/ml に順調に増殖中のものを原種として、培養フラスコごと冷蔵庫内に静置保存した。初期植え継ぎ濃度は、冷蔵保存開始時の細胞数計算で 50 万細胞/ml とし、冷蔵庫保存開始から 0 (コントロール)、2, 10, 20, 30 日後に原種を攪拌後に植え継ぎ、珪藻の増殖状況を比較した。

#### 結果と考察

##### 試験 1. 初期濃度別の培養（図 2）

珪藻は 5 ~ 100 万細胞/ml の植え継ぎ範囲において、10 例中 8 例が 500 ~ 1500 万細胞/ml まで、高い増殖率で順調に増殖した。珪藻が順調に増殖した 1 ℥ 培養の 6 例についてみると、初期濃度が高いほど 100 万細胞/ml に致達する時間は短かく、100 万細胞/ml から増殖ピークまでの経過は、同様な増殖傾向を示した。以上のことから、珪藻は 5 ~ 100 万細胞/ml の植え継ぎ範囲において順調に増殖すれば、高密度に植え継ぐほど短日で大量の珪藻が得られることになる。1 ℥ 培養の 2 例については、途中まで順調に増殖したが、その後の増殖率は低下し、増殖ピークは 300 万細胞/ml 前後にとどまった。初期濃度 75 万細胞/ml の 5 ℥ 培養では、1 ℥ 培養区に比べ、増殖速度はわずかに遅れるが、順調に増殖し、1 例は 15 日後に最高 1,502 万細胞/ml に増殖した。増殖ピークまでの到着日数は、10 例中 6 例が 6 日、2 例が 7 日、1 例が 5 日、1 例が 15 日で、到着日数は初期濃度と関係なく 5 ~ 7 日に集中した。また、初期濃度と最高到達濃度とには、相関性はみられなかった。

## 成長と種子



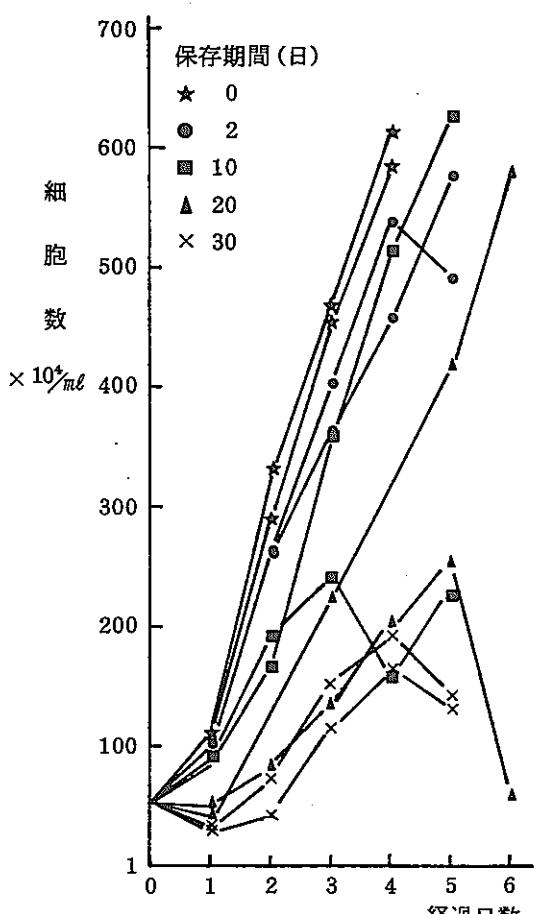


図3. *C. gracilis* 冷暗所保存試験

には、その後も増殖し、1ℓ培養で10日目に1,680万細胞/mlに増殖した例もあった。しかしながら、試験1.2でもみられたように、珪藻は同一条件で植え継ぎ培養しても余り増殖しない例も多数みられた。

本年度は、ウニ幼生飼育が失敗したため、大量の珪藻を使用しなかったので、飼料珪藻は十分量生産できた。今後は、珪藻の安定した培養技術と大量培養を検討する必要がある。

## 試験2. 冷暗所保存珪藻の培養

珪藻は冷蔵庫内に20日間保存したものまで、500万細胞/ml以上に順調に増殖したが、それまでの致達時間は、保存期間が長いほど遅くなった。30日保存ではわずかながら増殖したが、4日目にピークを示し、その後減少した。原種は経過日数に伴なって、沈殿量が増え、細胞の色は薄くなり、崩壊した細胞が多くみられるようになった。細胞の生死の判別が困難なため、生きた細胞数は計数できないが、30日間冷暗保存の原種は、植え継ぎ培養後の増殖曲線から、培養開始時の生きた細胞は約10万細胞/ml、生残率10%と推定された。

ウニ幼生飼育期間中の珪藻培養は、5ℓと1ℓ平底フラスコを使用して、初期濃度が50~100万細胞/mlで植え継ぎ培養した。珪藻は順調に行けば4~7日で400~800万細胞/mlに増殖した。なか