

資源増殖・水産工学シリーズ

ウニ・ナマコ類浮遊幼生の餌料に用いる微小藻類キートセラス・グラシリスの半流動培地による株管理について

キーワード：キートセラス・グラシリス、半流動培地

はじめに

現在北海道では、延べ42の種苗生産機関でエゾバフンウニ、キタムラサキウニ、マナマコの種苗を生産しています。これらウニ・ナマコ類は受精した後、幼生（写真1-A~C）となって、水中を漂う小さな藻類を食べて成長します。種苗生産機関では、この浮遊期間の餌としてキートセラス・グラシリス（以下キートセラスと呼ぶことにします）という小さな浮遊珪藻を与えて育てます（写真1-D）。数年前までキートセラスは各種苗生産機関で培養されていましたが、最近は濃縮したキートセラスが市販されているため、手間のかかる自家培養をやめて、餌料を購入する機関も増えてきています。市販餌料は便利ですが、何らかの事情で生産・販売が滞るようなことになれば、ウニ・ナマコ類の種苗生産に大きく影響してしまいます。

このキートセラスの培養には、「静置培養」と「拡大培養（通気培養とも言います）」があります（写真2）。道内の機関では、両者ともに液体培地で行っています。前者は実際に餌を使用するまで（通常使用するのは産卵期を中心とする1か月程度）、種である株を絶やさないようにするための培養（株管理）で、試験管やフラスコを毎日振って攪拌しなければなりません。また、通常1か月毎に新しい培地に植え継いで目的外の生物の繁殖を防

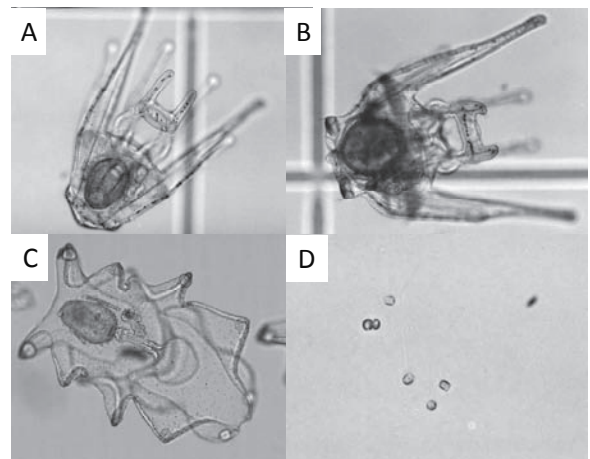


写真1 幼生の形態とキートセラス

A：エゾバフンウニ（8腕後期幼生） B：キタムラサキウニ（8腕後期幼生） C：マナマコ（後期アウリクラリア幼生） D：キートセラス

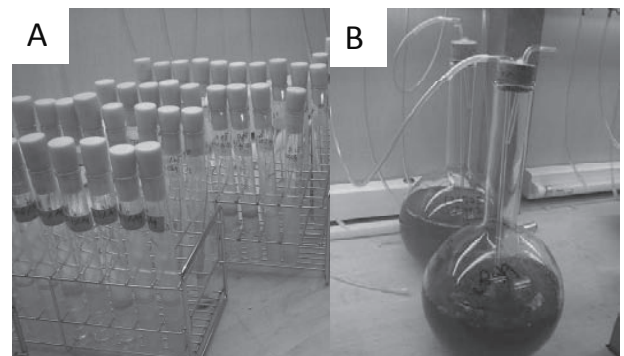


写真2 試験管で行っている静置培養(A)と3リットルフラスコでの拡大(通気)培養(B)

ぎます。この「静置培養」は餌を使わない時期を含めて通年行っていなければならない培養です。

「拡大培養」は「静置培養」して維持した株を、大きい容器に植え継ぎ、通気して攪拌しながら藻

類の光合成に必要な二酸化炭素や呼吸に必要な酸素を送り込み、餌料の密度を高める培養で、実際に餌として使用するときにいきます。

株を管理する際、特に面倒なのは長期間にわたる「静置培養」です。最近のように餌料を購入することが多くなっても、各機関で株を維持していれば、いざというとき自家培養が再開しやすく安心です。そこで今回は、最近開発した簡便な株管理方法を紹介したいと思います。

従来の株管理

静置培養には先述した液体培地による方法の他に、1.5～2%の寒天を加え固体培地で培養する方法があります。

液体培地では、放っておくと株が沈降して枯死してしまうため(写真3-A-2)、毎日振って沈降を防ぐ必要がある上、目的外の生物が増えないようにおよそ1か月毎に新しい液体培地に植え継ぐ必要があります。ただし、培地を振って株を維持するため、固体培地を用いる場合よりも藻類の密度が上がり、直接拡大培養に用いることができるメリットもあります。

一方、固体培地(写真3-B-3)の場合は、毎日振る必要がない反面、培地の乾燥による株の枯死に気をつける必要があります。さらに、培地の表面しか利用できないため、藻類の密度が低く、拡大培養を行う前に一度液体培地で増やす手間と時間が必要になります。

こうした手間を減らし、簡便に株を管理し易くするために、培地を液体培地のように立体的に利用できて、固体培地のように振らなくても株が沈降しない方法を検討しました。

半流動培地

写真3-B-4は試験管に作った0.25%の軟らか

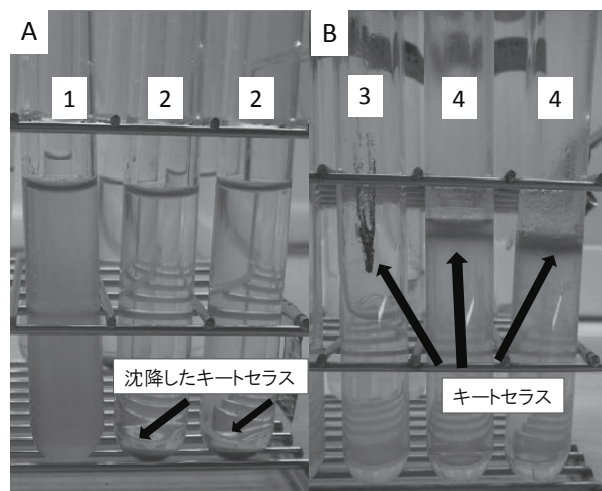


写真3 液体培地(A)と固化培地(B-3)および半流動培地(B-4)で、静置培養したキートセラスの株

1: 攪拌した株 2: 2日攪拌せず静置したため沈降した株
3: 固化培地 4: 0.25%濃度の寒天を用いた半流動培地で、6か月間攪拌せずに静置培養した株

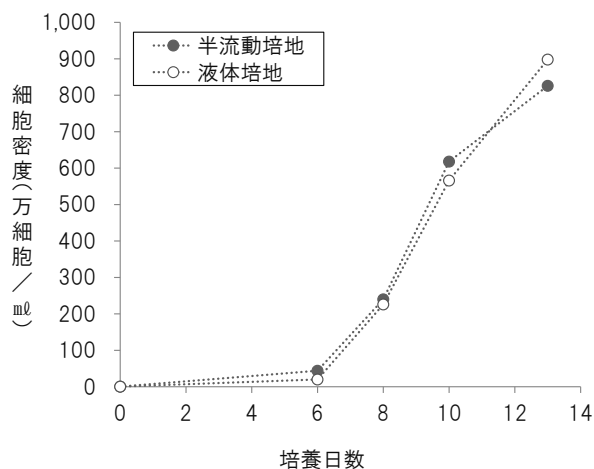


図1 6か月間半流動培地で静置培養した株と通常培地で培養した株の増殖曲線(1リットルフラスコ)

い寒天培地(半流動培地)にキートセラスを植え継いで6か月の間、振らずに静置しておいたときの様子です。この株を、1リットルのフラスコで通気培養したところ、従来の培地で育成しているものと同様に増えることが分かりました(図1)。

次にこの半流動培地の適当な寒天濃度を検討するために、0.01%寒天、0.15%寒天、0.25%寒天を添加した半流動培地で、株を3か月間振らずに静

置培養したあと、1リットルのフラスコで拡大培養した結果を、従来の液体培地で培養したものと比較しました(図2)。このときの結果では、1か月前に植え継いだあと毎日振って攪拌していた液体培地での培養密度が最も高く、次いで0.15%寒天培地、0.25%寒天培地、0.01%寒天培地の順でした。容量が大きい3リットルフラスコでの培養では、当初液体培地で密度が早く高まったものの、17日目には0.15%寒天培地の株に抜かれ、次いで0.25%寒天培地、0.01%寒天培地の順に高密度になりました(図3)。

培養したキートセラスの細胞それぞれの長径を測ると、図4と図5のように、密度が高いものほど細胞が小さくなっています。

数は少なくとも、大きい細胞ほど幼生にとって食べ応えのある餌になるとも考えられるので、今後さらに検討を続けたいと思います。

おわりに

半流動培地を用いるとキートセラスの株を攪拌せずに少なくとも6か月間は維持できることがわかりました。これにより従来に比べて、株の管理が大幅に容易になります(表1)。

この試験はまだ継続中で、餌料としての価値の他に、今回調べたキートセラス以外の藻類の株管理へも応用する予定です。

ウニ・ナマコ類の育成のみならず、藻類を餌とする動物の増殖のために、餌料の確保は不可欠な技術です。今後もこうした技術改良を続けて、昨年の東日本大震災のような不測の事態に備えるとともに、コストの削減に寄与したいと思います。

(酒井勇一 栽培水試栽培技術部)

報文番号B235

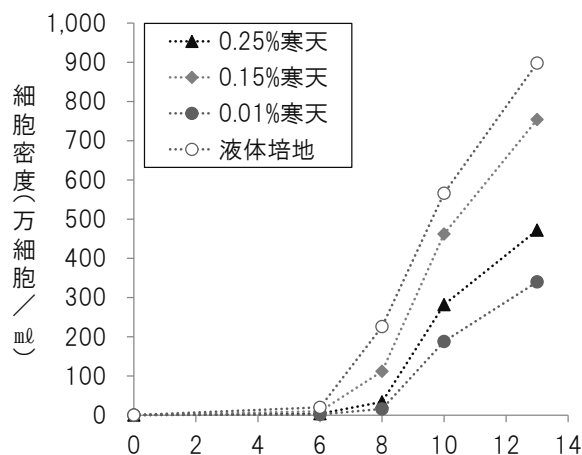


図2 半流動培地の濃度と株の増殖曲線 (1リットルフラスコ)

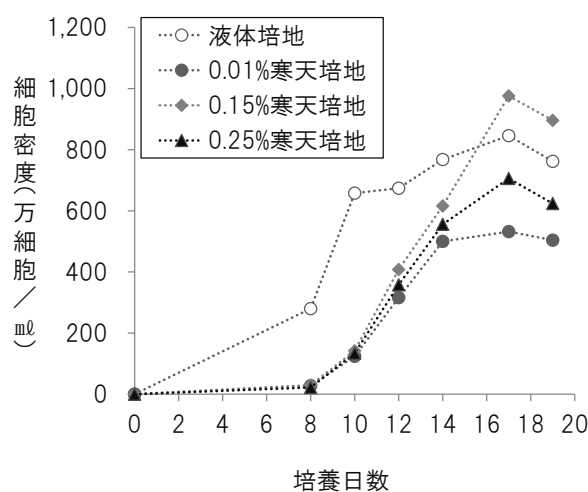


図3 半流動培地の濃度と株の増殖曲線 (3リットルフラスコ)

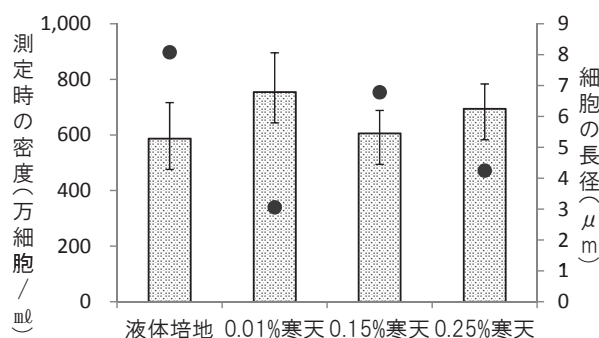


図4 培養密度と細胞の長径 (1リットルフラスコ試験) 縦棒：標準偏差

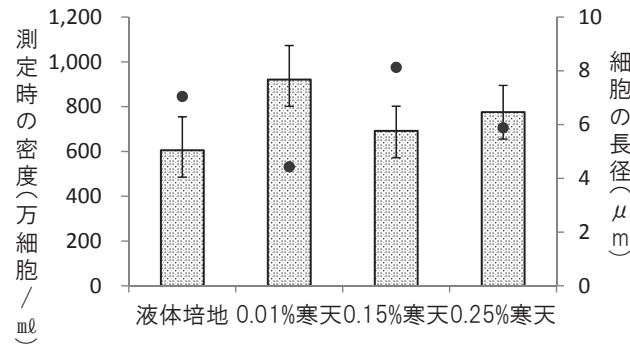


図5 最高到達密度と細胞の長径 (3リットルフラスコ試験) 縦棒：標準偏差

□細胞長径 ●測定時密度

表1 静置培養方法別のメリットとデメリット

培地の種類	メリット	デメリット
液体培地 (従来法)	400万/ml~800万/ml程度まで増殖可	毎日の振とう必要 およそ1か月間隔での植え継ぎ必要
固体培地 (従来法)	振とう不要 乾燥しなければ株の植え継ぎ不要	培地の乾燥による枯死の懸念 細胞数が少ないため拡大培養前に液体培地への植え継ぎ必要
半流動培地 (新法)	振とう不要 拡大培養前に液体培地での培養不要 毎月の植え継ぎ不要 (6か月は維持可能、継続試験中)	現時点で特になし