

アカウニ稚ウニ期の餌料として 有効な付着珪藻種の探索－I

付着珪藻の分離および保存

伊東義信・中尾義房*

アカウニ種苗生産において、適正餌料の安定供給が、その大量生産の飼育結果を左右するといえる。幼生期には培養した浮遊珪藻 *Chaetoceros gracilis* が用いられ^{1,2)}、一応、培養技術の確立がなされている³⁾。八腕後期幼生から付着、変態した後の稚ウニ期の餌料については、付着珪藻の供給が不可欠である。現在、水槽内の付着板に自然繁殖してきた付着珪藻を餌料としている¹⁾。しかし、その増殖法は粗放的な流水式であるため、餌料効果が劣ると思われる付着珪藻種が優占種になる場合があり、計画的な種苗生産に支障をきたしているのが実状である。

今後、稚ウニ飼育技術を向上させるためには、稚ウニに対する優良な付着珪藻種を見出し、それらを培養して、積極的に与え飼育する必要がある。

海産付着珪藻類の分離は浮⁴⁾、田中⁵⁾、大貝⁶⁾が試みており、その分離法として寒天法、ピペット法、希釈法等が行なわれている。本報告では、寒天法で付着珪藻類の分離を試み、その保存法についても検討したので報告する。

材料および方法

1. 分離

照度10,000 lux以下に調節した流水式のアカウニ稚ウニ飼育水槽に繁殖していた付着珪藻を、寒天培地に接種し、分離を試みた。

分離用の寒天培地は、1μmフィルターでろ過した海水に、市販の粉末寒天 (Agar Powder) を1～3%の割合で加え、栄養塩として Provasoli のES 改変液³⁾ のA液を0.1ml/100ml、C液を0.2ml/100ml 加えたもので、オートクレーブで滅菌して使用した。アカウニ稚ウニ飼育水槽から採取した付着珪藻は、まず、滅菌

海水で1/10,000～1/100,000の濃度に希釈し、これを透明のプラスチック製滅菌シャーレ (約100 ml容) に1 ml入れた。この後に、約45℃の液体状の分離用培地を15ml入れ、良く攪拌し固らせた。

培養は照度3,000～10,000 lux下で、室温を約20℃に保ち行なった。接種した付着珪藻が増殖し、コロニーを形成し始めると、バクテリアの汚染が少ないコロニーを、あらかじめ、固らせておいた分離用の寒天培地の表面に塗布して引き続き培養した。以後、単一種の付着珪藻が得られるまで、順次、分離操作を繰り返した。

2. 保存培養

分離した付着珪藻種の保存培養には、50ml容ガラス試験管を使用し、寒天培地で行なった。保存培養用の寒天培地の塩分濃度、寒天濃度は、分離用培地とは異なり、1μmのフィルターでろ過した海水に蒸留水を加えて1/4海水とし、寒天濃度は0.3%とした。使用した栄養塩の種類および添加量は分離用培地と同様とした。保存培養時の照度は1,000 lux、水温は20℃前後に保った。

結果および考察

分離できた付着珪藻は計19株であった。この中で、形態的特徴から同種と思われるものを省いた9種について、東海区水産研究所高野秀昭博士に同定していただいた。種名がわからないものについては属名で表わした。その結果、Achnanthes類は *Achnanthes biceps* の1種、Navicula類は *Navicula ulvacea*、*Navicula ramosissima*、*Navicula* sp. の3種、Nitzschia類は *Nitzschia closterium*、*Nitzschia* sp.-1、*Nitzschia* sp.-2の3種、Amphora類は *Amphora tenuissima*、*Amphora* sp. の2種であった (図版1)。

* 佐賀県有明水産試験場

表1 分離した付着珪藻9種の形態および増殖生態

種名	形態		生態			
	長軸の長さ(μm)	面積(μm ²)	単体・連鎖	滑走性	浮遊性	固着力
<i>Achnanthes biceps</i>	11.2	17.2	単体	—	—	+
<i>Navicula ulvacea</i>	16.8	35.3	単体	+	—	卅
<i>Navicula ramosissima</i>	18.4	54.1	連鎖	++	—	卅
<i>Navicula</i> sp.	15.5	30.2	連鎖	++	—	++
<i>Nitzschia closterium</i>	25.6	29.4	単体	卅	+	+
<i>Nitzschia</i> sp.-1	4.6	8.8	単体	—	—	++
<i>Nitzschia</i> sp.-2	4.3	5.4	単体	—	—	++
<i>Amphora tenuissima</i>	12.9	28.2	単体	++	+	++
<i>Amphora</i> sp.	18.8	50.4	単体	++	+	++

註 滑走性、浮遊性、固着力の程度は—、+、++、卅の4段階で示した。

以上の付着珪藻9種を分離用培地と同じ栄養塩組成の海水培地で培養し、対数増殖末期の細胞の大きさ、増殖生態を表1に示した。なお、海水培地に添加した栄養塩および培養条件は分離培養時と同様であった。

以上の付着珪藻9種の中で、寒天濃度3%の分離用培地で分離できたものと、寒天濃度を1%に下げないと分離できないものがあった。寒天濃度3%の分離用培地で分離できたのは、*A. biceps*, *N. ulvacea*, *N. ramosissima*, *N. sp.*, *N. sp.-1*, *N. sp.-2*, *A. tenuissima*, *A. sp.*の8種であった。このうち、*N. ramosissima*, *N. sp.*, *A. tenuissima*, *A. sp.*は滑走性が強く、増殖が早かったので、1~2回の分離操作で単一種のコロニーを得ることができたが、*A. biceps*, *N. ulvacea*, *N. sp.-1*, *N. sp.-2*は滑走性が弱く、増殖も遅かったので、単一種のコロニーにはなりにくく、4~5回の分離操作が必要であった。一方、*N. closterium*の場合は、寒天濃度3%の分離用培地では、接種後、細胞の活力が弱まり、数日後には消滅することが多かったので、それまで使用していた分離培地から寒天濃度1%の分離用培地に変えて分離を試みた結果、順調に増殖してコロニーを形成するようになり、分離が可能となった。

分離した付着珪藻9種の保存培養は、当初、分離用培地と同じ寒天濃度1~3%の寒天培地で行なっていたが、寒天濃度を0.3%に下げて培養した場合に、細胞が寒天培地に拡散しやすいことから、分離用培地に比べて、細胞の活力がより良好な状態で保存でき、植え継ぎ間隔を長くできる長所があった。そのため、以後、寒天濃度0.3%の寒天培地で保存培養した。現在、付着珪藻9種を3~5ヶ月の植え継ぎ間隔で、良好な状

態で保存できている。なお、本報告では保存培養時の環境条件については詳しく検討しなかったが、今後、培養時の照度、水温、栄養塩の種類および添加量、培地の塩分濃度等についても検討していきたい。

要 約

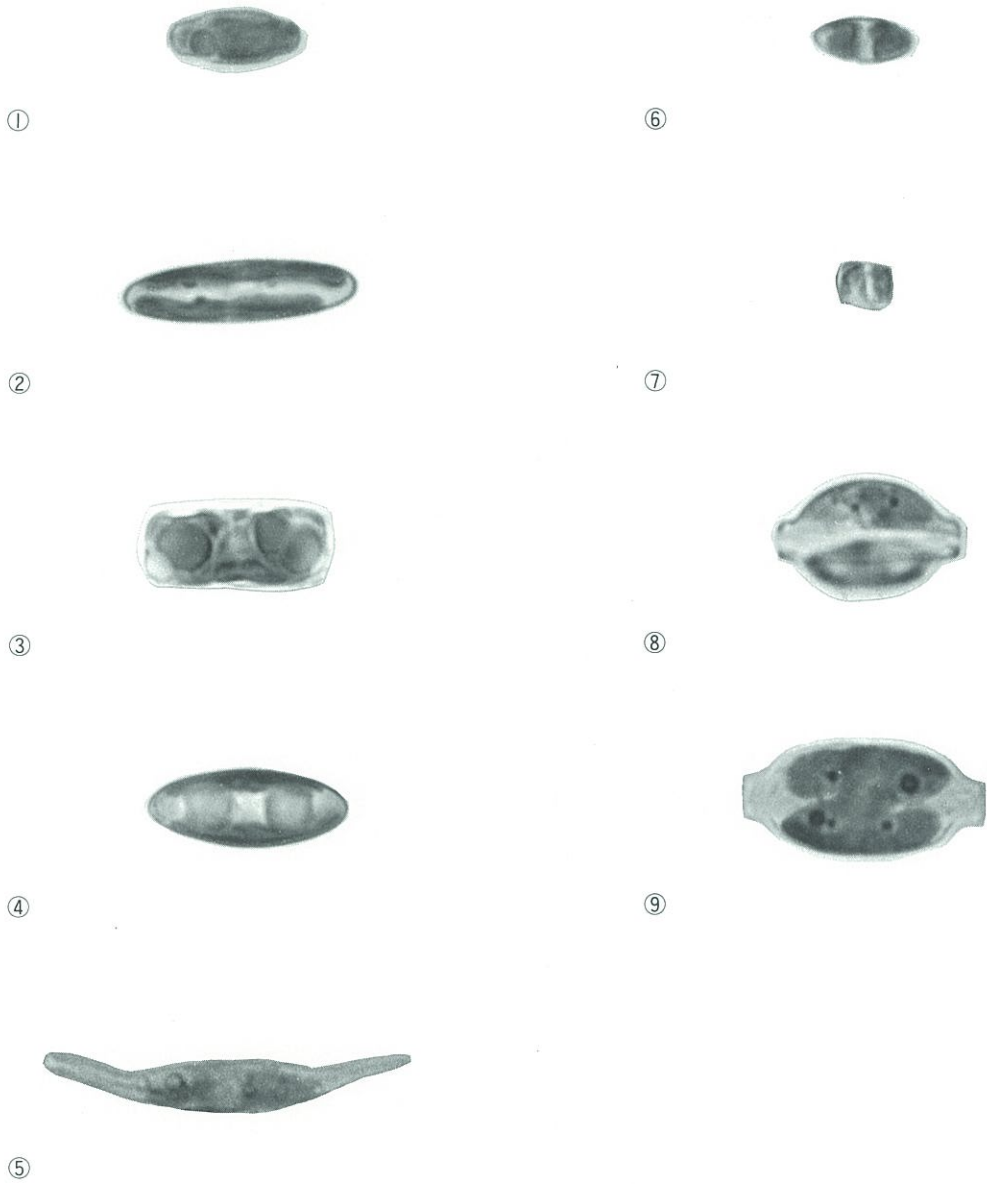
寒天法で付着珪藻の分離および保存培養を試みた。

1. *Achnanthes* 類を1種、*Navicula* 類を3種、*Nitzschia* 類を3種、*Amphora* 類を2種、計9種の付着珪藻を分離できた。
2. 付着珪藻9種の保存培養には、寒天濃度0.3%の寒天培地が適し、3~5ヶ月の植え継ぎ間隔で、良好な状態で保存できた。

文 献

- 1) 伊東義信・山田徹・有吉敏和・野田進治・伊藤史郎(1985)．ウニ類(アカウニ、バフンウニ、ムラサキウニ)の種苗生産の現状と問題点、昭和55~58年度佐賀県栽培漁業センター事業報告書、79~96.
- 2) 角田信孝・中村達夫(1974)．ウニ類種苗生産に関する研究-I．水産増殖、22(2)、49~55.
- 3) 伊藤史郎・有吉敏和・伊東義信(1985)．*Chaetoceros gracilis*の大量培養法、昭和55~58年度佐賀県栽培漁業センター事業報告書、97~103.
- 4) 浮永久・菊地省吾(1981)．付着性微小藻類6種のアワビ稚貝に対する餌料効果、東北水研研究報告、(4)、47~52.

- 5) Nobuhiko TANAKA (1984). The cell Division Rates of Ten Species of Attaching Diatoms in Natural Seawater. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, **50**(6), 969~972.
- 6) 大貝政治・塚原博・松井敏夫・中島和広 (1984). 珪藻 *Licmophora* の増殖に及ぼす環境諸要因の影響. 日本水産学会誌, **50**(7), 1157~1163.
- 7) 西澤一俊・千原光雄 (1979). 藻類研究法. 共立出版社, 東京, 175~194.



図版 1 . 分離した付着珪藻種

- 1 . *Achnanthes biceps* 2 . *Navicula ulvacea* 3 . *Navicula ramosissima* 4 . *Navicula* sp.
 5 . *Nitzschia closterium* 6 . *Nitzschia* sp.-1 7 . *Nitzschia* sp.-2 8 . *Amphora tenuissima*
 9 . *Amphora* sp.

