

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—III

付着珪藻 *Navicula ramosissima* の大量培養

伊東義信・真崎邦彦・金丸彦一郎

前報¹⁾では、分離した付着珪藻9種の増殖特性を実験的規模で比較した結果、*Navicula ramosissima*がアカウニ稚ウニ期の餌料として繁殖させるにもっとも適した付着珪藻種であることがわかった²⁾。また、伊東ら³⁾が、付着珪藻9種のアカウニ稚ウニに対する餌料効果を調べた結果、*Navicula ramosissima*がもっとも優れていたことから、今後、*Navicula ramosissima*がアカウニ稚ウニ期の有望な飼育餌料になるものと考えられる。

*Navicula ramosissima*がアカウニ稚ウニの大量生産飼育用餌料として利用できるためには、大型水槽で安定して増殖し、計画的に培養可能なことが要求される。本報告では、まず、実験的規模で*Navicula ramosissima*の増殖と培養時の照度および培養海水の塩分濃度との関係を調べ、これらの結果をふまえ、大型水槽で*Navicula ramosissima*の培養を試みた。その結果、*Navicula ramosissima*をアカウニ稚ウニの大量生産用餌料として繁殖できる見通しが得られたので報告する。

材料および方法

実験 1. *Navicula ramosissima* の増殖と培養照度

*N. ramosissima*の増殖と培養照度との関係は、前報²⁾で若干調べたが、本実験では、さらに詳しく調べた。

*N. ramosissima*を培養照度500 lux, 1,000 lux, 3,000 lux, 6,000 lux, 10,000 luxの5段階で、各1例ずつ、25日間培養し、増殖状況を比較した。*N. ramosissima*の培養方法は前報²⁾に従い、保存培養した*N. ramosissima*を予備培養し、それを100 ml容プラスチックシャーレ（培養水量50ml）に接種し、無通気で培養した。なお、各照度区とも白色けい光灯を使用し、連続照射した。培養期間の水温は20°C前後に保った。

実験 2. *Navicula ramosissima* の増殖と塩分量

N. ramosissima 単一種を大型水槽で繁殖させるためには止水培養が適していると考えられる。しかし、屋外水槽で止水培養する場合、培養水に雨水が入って塩分量が低下することが予測される。そこで、本実験では*N. ramosissima*を、塩分量11‰, 19‰, 27‰, 35‰および43‰の5段階に調整したろ過海水で30日間培養し、*N. ramosissima*の増殖と塩分量との関係を調べた。

塩分量11‰, 19‰および27‰の培養海水は、塩分量約34‰のろ過海水に蒸留水を加えて調整し、塩分量35‰および43‰の培養海水は、塩分量約34‰のろ過海水を煮沸して調整した。なお、各塩分区とも2例ずつ設けて培養した。

培養時の照度は実験1と同様に連続照射し、6,000 luxに保った。その他の培養方法は実験1と同様である。

実験 3. *Navicula ramosissima* の大量培養法

*N. ramosissima*の大量培養は、寒天培地で保存培養した*N. ramosissima*を1 lガラスビーカー(1 l容器)、透明20 lスチロール製水槽(20 l水槽)、黒色1トンポリエチレン製水槽(1トン水槽)、アカウニ稚ウニの大量生産に使用している15トンコンクリート製水槽(15トン水槽)の順に培養規模を拡大して培養し、*N. ramosissima*の大量培養の可能性について検討した。

各培養段階の培養条件を表1に示した。各培養段階

表1 *N. ramosissima*の培養条件

培養容器	培養水量	培養水の殺菌方法	栄養塩	通気方法	照度(lux)	付着珪藻の繁殖基盤
1 l容器	500ml	70°Cで加熱処理	ProvasoliのES改変液	無	5,000~6,000	底面
20 l水槽	5 l	70°Cで加熱処理	ProvasoliのES改変液	無	5,000~6,000	底面
1トン水槽	400 l	サラシ粉5 ppmで殺菌	大量培養用肥料	エアーストン2~3 l/mm.	5,000以下	付着板40枚
15トン水槽	10kl	サラシ粉5 ppmで殺菌	大量培養用肥料	強通気	10,000以下	付着板800枚

とも止水培養し、その培養方法は以下のとおりである。

1) 1 ℓ 容器および20 ℓ 水槽

培養は室内で行ない、培養照度は、実験1と同じように連続照射し、5,000~6,000 luxに保ち、水温は20~23℃とした。

培養海水は、70℃で加熱処理した海水を使用し、1 ℓ 容器には500ml、20 ℓ 水槽には5 ℓ 入れ、栄養塩としてProvasoliのES改変液⁴⁾のA液を1 ml/ℓ、C液を2 ml/ℓ 培養当初に添加して、無通気で培養した。

2) 1トン水槽および15トン水槽

培養は屋外で行なった。培養水量は1トン水槽では400 ℓ、15トン水槽では10kℓとした。培養海水の殺菌は、培養水槽にろ過海水を貯水した後に、サラシ粉を5 ppm加えて行ない、5日後に20 ℓ 水槽、1トン水槽で培養した*N. ramosissima*を接種して培養を始めた。栄養塩は浮遊珪藻*chaetoceros gracilis*の大量培養肥料⁴⁾を使用し、硫酸アソモニウム100 g /kℓ、過磷酸石灰15 g /kℓ、クレワット・32 15 g /kℓ、メタケイ酸ナトリウム90 g /kℓを培養当初に加えて培養した。

1トン水槽および15トン水槽とも通気培養した。1トン水槽では丸型のエアーストーン（径5 cm）を用い、通気量2~3 ℓ/分で通気し、15トン水槽では径1 mmの穴を開けた径13 mmの塩化ビニール製パイプを、水槽の縦の方向に2列設置して強く通気した。培養時の照度は、天然光を遮光し、1トン水槽では照度5,000 lux以下、15トン水槽では照度10,000 lux以下に調節した。

*N. ramosissima*の繁殖基盤として、アカウニ稚ウニの大量生産飼育用の付着板⁵⁾を使用し、1トン水槽には40枚、15トン水槽には800枚設置した。*N. ramosissima*を付着板全面に均等に繁殖させるため、定期的に付着板を反転させた。

1 ℓ 容器で繁殖した*N. ramosissima*を20 ℓ 水槽へ、また、20 ℓ 水槽で繁殖した*N. ramosissima*を1トン水槽へ接種する時は、培養容器および水槽の底面に繁殖した*N. ramosissima*をハケで剥離し、培養水とともに移した。1トン水槽で繁殖した*N. ramosissima*を15トン水槽へ接種する場合は、*N. ramosissima*が繁殖した付着板10枚を15トン水槽へ設置して行なった。

結 果

実験1. *Navicula ramosissima* の増殖と培養照度

各照度区の*N. ramosissima*の増殖状況を図1に示した。

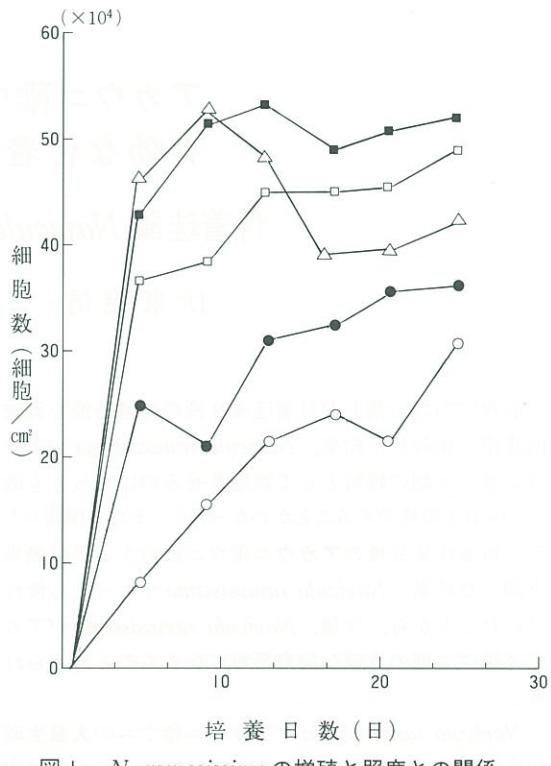


図1 *N. ramosissima* の増殖と照度との関係

—○— 500 lux
—●— 1,000 lux
—□— 3,000 lux
—■— 6,000 lux
—△— 10,000 lux

培養当初、増殖率がもっとも高かった10,000 lux 区は、9日目に増殖ピークに達し、 53.6×10^4 細胞/cm²まで増殖したが、その後、衰退期に入り細胞数が減少した。6,000 lux 区は13日目に増殖ピークに達し、細胞数が 53.2×10^4 細胞/cm²と10,000 lux 区の増殖ピーク時の細胞数と同程度まで増殖した。さらに、増殖ピーク後は細胞数が減少することなく、実験終了時まで定常期が続いた。3,000 lux 以下の区では、6,000 lux 区ほど細胞数が増加せず、その中では、3,000 lux 区の増殖率が高く、1,000 lux 区、500 lux 区の順で劣った。

実験2. *Navicula ramosissima* の増殖と塩分量

各塩分区の*N. ramosissima*の増殖状況を図2に示した。培養当初、増殖率がもっとも高かったのは27‰区で、次いで35‰区、10‰区の順であった。10日目からは19‰区、27‰区、35‰区および43‰区とも同程度の細胞数で推移するようになり、差はみられなくなった。11‰区は本実験区の中でもっとも増殖が低かった。つまり、培養海水の塩分濃度19~43‰の範囲で

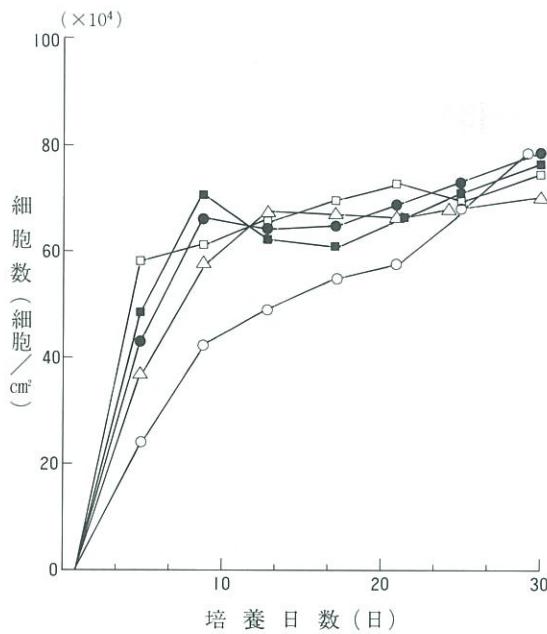


図2 *N. ramosissima* の増殖と塩分量との関係
 —○— 11%
 —●— 19%
 —□— 27%
 —■— 35%
 —△— 43%

したがって、*N. ramosissima* の増殖率には大きな差がなく、塩分濃度11%では増殖率が著しく低下した。

実験3. *Navicula ramosissima* の大量培養法

N. ramosissima の1ℓ容器、20ℓ水槽、1トン水槽および15トン水槽での増殖経過を図3に示した。1トン水槽での培養時の水温は23.0～27.6℃、15トン水槽での培養時の水温は21.0～24.4℃であった。

1ℓ容器では培養開始7日目に 59.2×10^4 細胞/cm²に増殖し、20ℓ水槽へ接種した。20ℓ水槽では5日目に

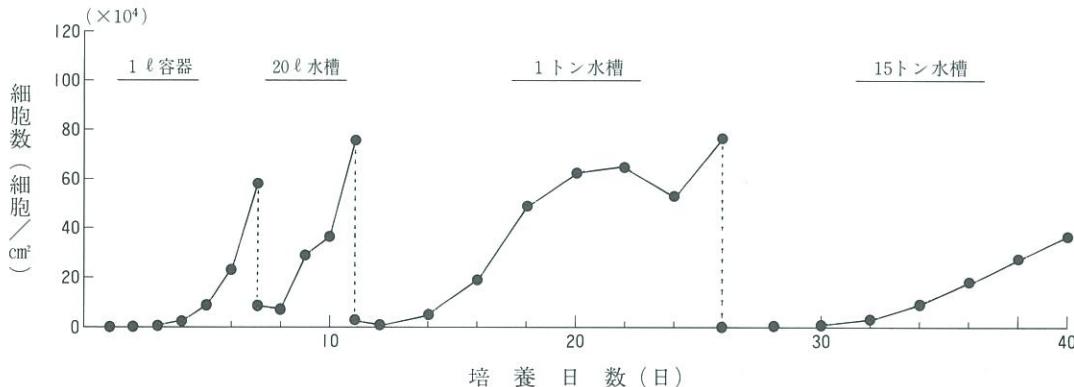


図3 *N. ramosissima* の大量培養結果

76.0×10^4 細胞/cm²に増殖し、1トン水槽へ接種した。1トン水槽では14日目に 77.2×10^4 細胞/cm²に増殖し、15トン水槽へ接種した。15トン水槽では7日目から細胞数が増加し、14日目には 37.4×10^4 細胞/cm²となった。各培養段階とも、他の藻類の繁殖はみられず、*N. ramosissima* 単一種が繁殖していた。

以上のように、*N. ramosissima* は1ℓ容器から15トン水槽まで順調に増殖し、15トン水槽で 37.4×10^4 細胞/cm²に増殖するまでに要した日数は、1ℓ容器での培養から積算すると40日であった。

考 察

本報告では、まず、*Navicula ramosissima* の増殖と培養照度および培養海水の塩分量との関係を調べ、その好適な培養条件で*N. ramosissima* の大量培養を行ない、大型水槽での培養の可能性について検討した。

培養照度500～10,000 luxの範囲で*N. ramosissima* の増殖との関係を調べた実験1では、培養照度によって、*N. ramosissima* の増殖が著しく異なり、照度10,000 luxの場合がもっとも高い増殖率を示したが、定常期が短かかったので、照度10,000 luxの次に増殖率が高く、定常期も長かった照度6,000 luxを最適照度と考えた。

N. ramosissima の増殖と培養海水の塩分量との関係を調べた実験2によると、塩分量19～43%の範囲では*N. ramosissima* の増殖率には大差なく、塩分量11%以下では増殖率が低下していたことから、*N. ramosissima* は広塩分性を示すことがわかった。したがって、止水培養時に、培養水へ雨水が入ったり、また、蒸発によって多少塩分濃度が変わっても、*N. ramosissima* の増殖に影響を及ぼすまでには至らないものと考えられた。

以上の結果をもとに、*N. ramosissima*を1ℓ容器、20ℓ水槽、1トン水槽、15トン水槽へと培養規模を拡大し、大量培養した結果、培養途中、他の藻類が発生することなく、*N. ramosissima*単一種が順調に増殖し、大量培養の可能性が得られた。*N. ramosissima*を保存培養から培養規模を拡大し、15トン水槽で稚ウニの餌料として利用できるまでに増殖するのに、約40日要した。これは、従来の流水式で付着珪藻類を自然繁殖させる場合に要す日数⁶⁾とほぼ同じであった。

本実験では、保存培養した*N. ramosissima*を1ℓ容器、20ℓ水槽、1トン水槽、15トン水槽へと培養規模を拡大する方法で行なったが、今後、さらに各培養段階での培養方法を検討し、効率良い*N. ramosissima*の大量培養法を見い出していきたい。

要 約

*N. ramosissima*の大量培養の可能性を調べるために、*N. ramosissima*の増殖と培養照度および培養海水の塩分濃度との関係を調べ、これらの結果にもとづいて、*N. ramosissima*の大量培養を行なった。

- 1) *N. ramosissima*の増殖適照度は6,000 luxと考えられた。
- 2) *N. ramosissima*の好適塩分濃度は19~43‰と広塩分性を示す。
- 3) *N. ramosissima*を保存培養から順次規模を拡大し、15トン水槽で培養した結果、安定して増殖した。

文 献

- 1) 伊東義信・中尾義房(1987). アカウニ稚ウニ期初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. 佐賀県栽培漁業センター研究報告, (1), 25~29.
- 2) 伊東義信・伊藤史郎・金丸彦一郎(1987). 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-II 分離培養した付着珪藻9種の増殖特性,
佐賀県栽培漁業センター研究報告, (1), 31~34.
- 3) 伊東義信・伊藤史郎・金丸彦一郎・真崎邦彦(1987).
付着珪藻 *Navicula ramosissima* のアカウニ稚ウニ期生産餌料としての効果, 日水試投稿中.
- 4) 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.

- 5) 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.