

単細胞緑藻 *Scenedesmus quadricauda* の増殖特性について

柳 田 洋 一

はじめに

現在、当内水面水産試験場では霞ヶ浦・北浦のワカサギ資源の増殖対策を目的とした放流用稚魚の種苗生産試験を行っている。

ワカサギの種苗生産では、初期の餌料としてコイの種苗生産と同様に養魚池へ鶏糞、醤油糟等を添加して粗放的に培養される動物プランクトンを用いており、特にワムシ類が大量に繁殖している池におけるワカサギ稚魚の生残率が高いことが報告されている(熊丸他1980)。

しかし、ワムシ類の繁殖量は池ごとに異なり稚魚の生産量は安定していないのが現状であり、安定した種苗生産を行うためには、淡水産ワムシ類を安定して培養する技術の開発が必要であると思われる。その方法としては次の二つが考えられる。

一つは粗放的培養におけるワムシ類の増殖メカニズムを調べ、ワムシ類が繁殖するための好適条件を人為的に作出することによってワムシ類を培養する方法と、もう一つはワムシ類の餌料になるといわれている微小藻類等を培養して、これを餌料に用いて培養する方法である。但し、これら2つの方法とも互いに関連付けながら進めていくべきものと考えられる。粗放的培養におけるワムシ類が繁殖するのに必要な条件としては、植物プランクトンの繁殖盛期の後であること、Bacteriaが比較的多く存在すること、また、十分な酸素供給が必要であること等が明らかになりつつある(熊丸1985)。

一方、微小藻類を餌料として用いたワムシ類の培養については、既に真正眼点藻類のナンノクロロプシス *Nannochloropsis oculata* や単細胞緑藻類のクロレラ *Chlorella* sp., ドナニエラ *Donaniella* sp., プラチモナス *Platymonas sulcica* などを餌料として用いてシオミズツボワムシ *Brachionus plicatis* が培養されており(平山1983), アユ及び海産魚類の種苗生産における初期の餌料に利用されている。しかし、養魚初期餌料としての淡水産ワムシ類の培養は殆ど行われていないのが現状である。

本研究はシオミズツボワムシの培養方法と同様に、淡水産ワムシを培養する際に餌料として必要となる微小藻類を培養して安定供給するための基礎的知見を得ることを目的とした。今回はその手始めとしてシオミズツボワムシの培養に用いられているクロレラ類と同じ緑藻類に属する *Scenedesmus quadricauda* の増殖速度との関係を検討した。

なお、この *S. quadricauda* はアンモニア耐性を有し、豚糞メタン発酵消化脱離液中で生育し、生育水温の範囲は極めて広く5~38℃であることが明らかにされている(Miyazaki et al 1985)。このことは粗放的培養の可能性を示唆するものであるので本種を選定した。

材料と方法

S. quadricauda は筑波大学生物科学系 原慶明助教授が分離し、保存しているものの一部を譲り受けた。

(1) 好適培養水温の検討

S. quadricauda の増殖に好適な水温条件を明らかにするために、水温を 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40°C の 8 段階に設定した恒温槽内の各区にそれぞれ 1 ℓ 平底フラスコを設置し、これらに種株を 10×10^4 cells/ml になるように接種した約 1 ℓ の培養液を収容し通気法によって 8 日間培養した。照度は約 4 klux で連続照明とした。

培養液には、地下水 1 ℓ に対して硫酸 1,000 mg, 過磷酸石灰 100 mg を添加したものをを用いた。

増殖速度は、直線的増殖期に当たる時期に単位時間内の細胞数を佐々(1965)と同様に $\Delta N / \Delta t$ によって算出した。 Δt は経過時間(単位:日), ΔN は細胞数の増加分を示す。

(2) 施肥濃度の検討

培養液の施肥濃度と増殖速度との関係を明らかにするために、培養液に添加する硫酸と過磷酸石灰の量を 3 段階 (A 区 1,000 : 100, B 区 100 : 10, C 区 10 : 1 mg/ℓ) に分けて試験した。

これら 3 区について培養液を 1 ℓ 平底フラスコに収容し、これに種株を接種して温度を 20°C, 照度を約 4 klux を維持しながら通気法により 8 日間培養試験を継続した。種株は、各区とも 10×10^4 cells/ml になるように接種した。

結 果

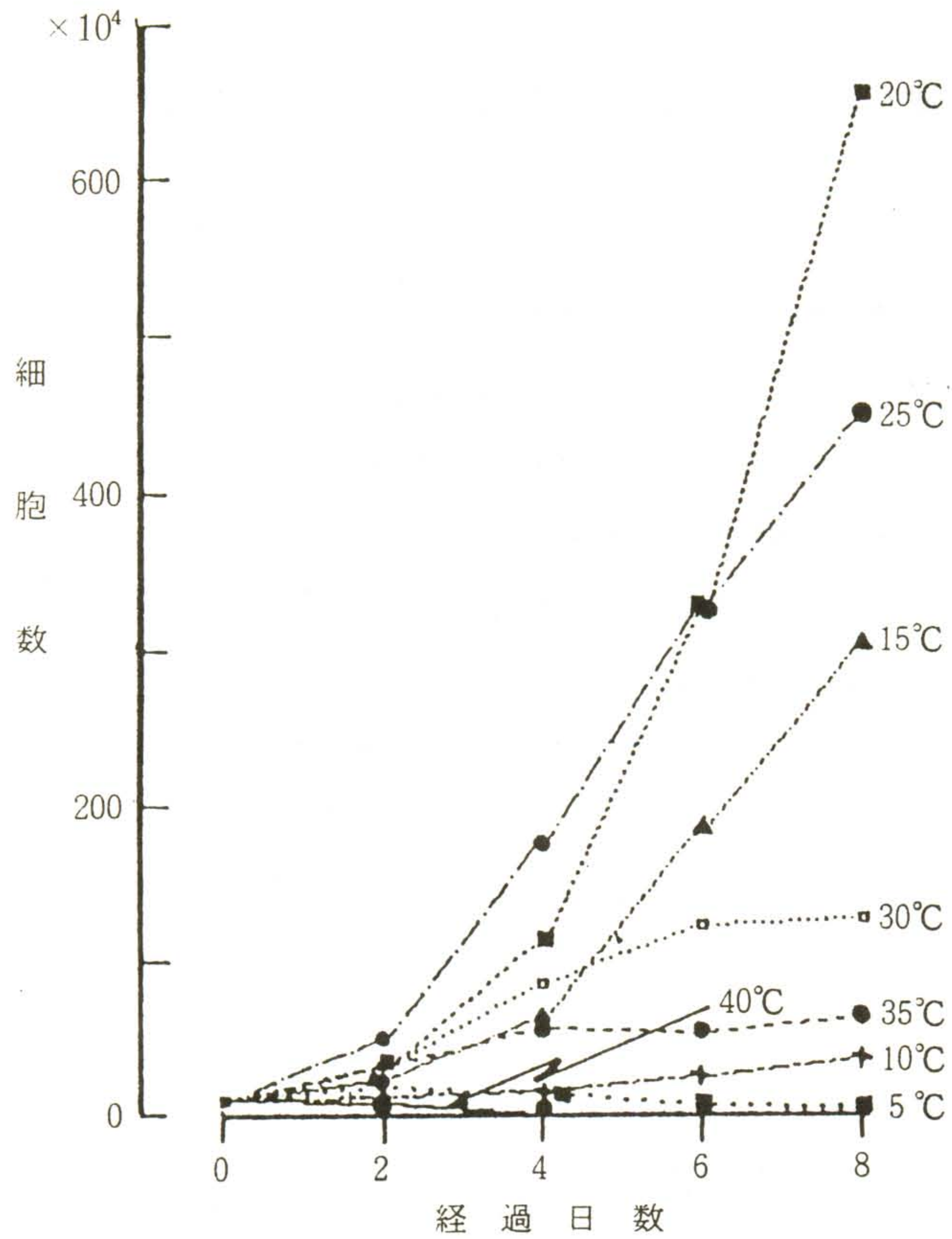
(1) 異なる水温条件下での増殖

S. quadricauda の種々の水温条件下での細胞数の増殖状況を第 1 図に示した。

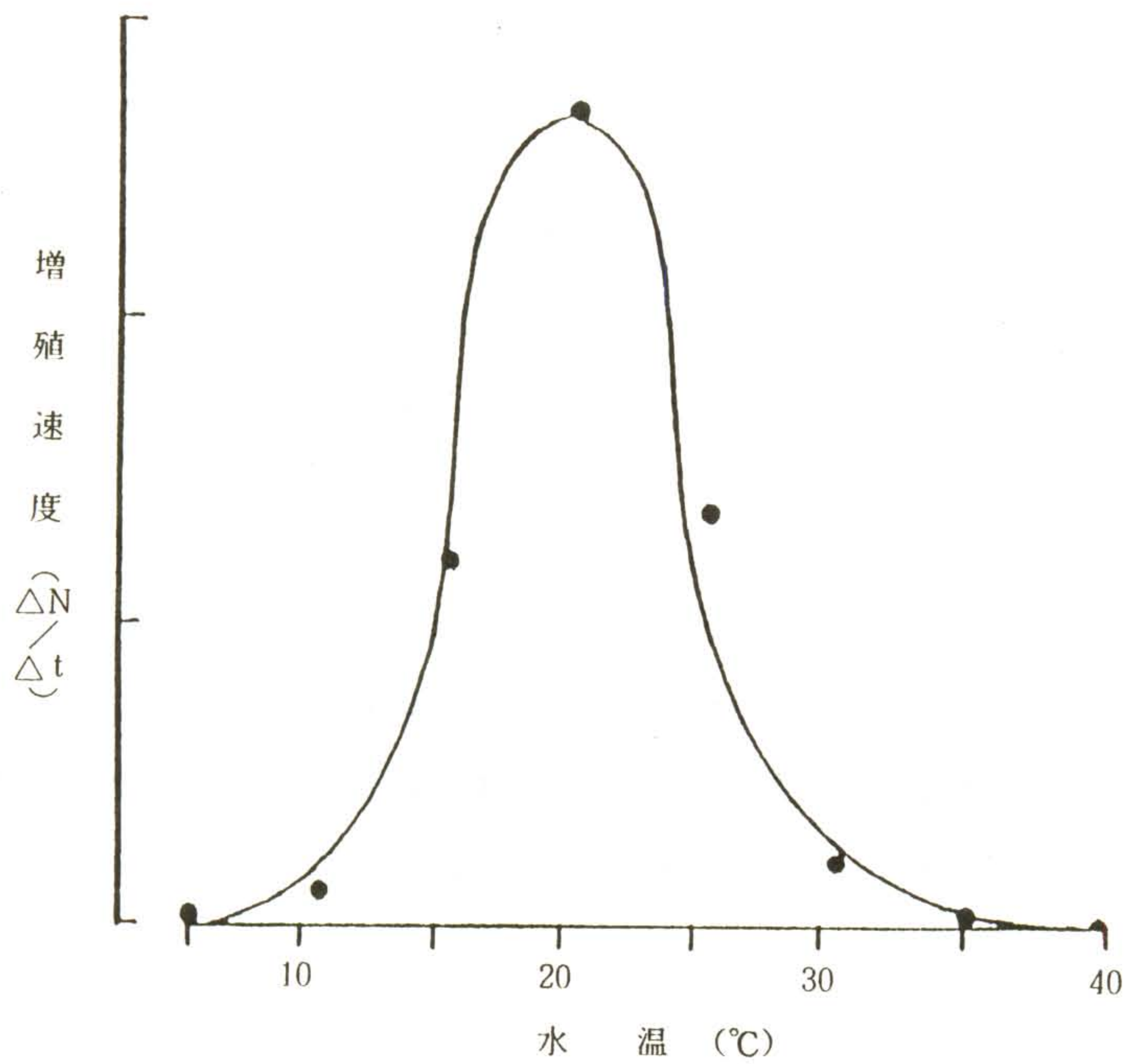
実験終了時における細胞濃度を培養液 1 ml 中の細胞数 ($\times 10^4$) で表すと、40°C 区 0, 35°C 区 63.3, 30°C 区 128.3, 25°C 区 448.0, 20°C 区 654.7, 15°C 区 302.7, 10°C 区 35.0, 5°C 区 4.7 であった。

また、各実験区ごとの増殖速度を先に示した計算式 $\Delta N / \Delta t$ によって求めると、35°C 区 1.83, 30°C 区 10.65, 25°C 区 68.00, 20°C 区 135.43, 15°C 区 59.75, 10°C 区 5.08 であり、第 2 図に示すように *S. quadricauda* の増殖に関する最適温度は 20°C 付近にあることがわかる。

増殖が不良であった低温側と高温側において培養試験が行われている期間中に観察された特徴的な点を述べると、低温側の 5°C 区では接種後 2 日目に細胞数は 17.7×10^4 cells/ml に達したが、その後は通気培養により攪拌しているにもかかわらずフラスコ壁面に付着するものが多く認められるようになり、浮遊している細胞は日々減少し、8 日目には 4.7×10^4 cells/ml になった。一方、高温側の 40°C 区では、細胞の増殖は認められず、接種後 6 日目には細胞が白色化した。



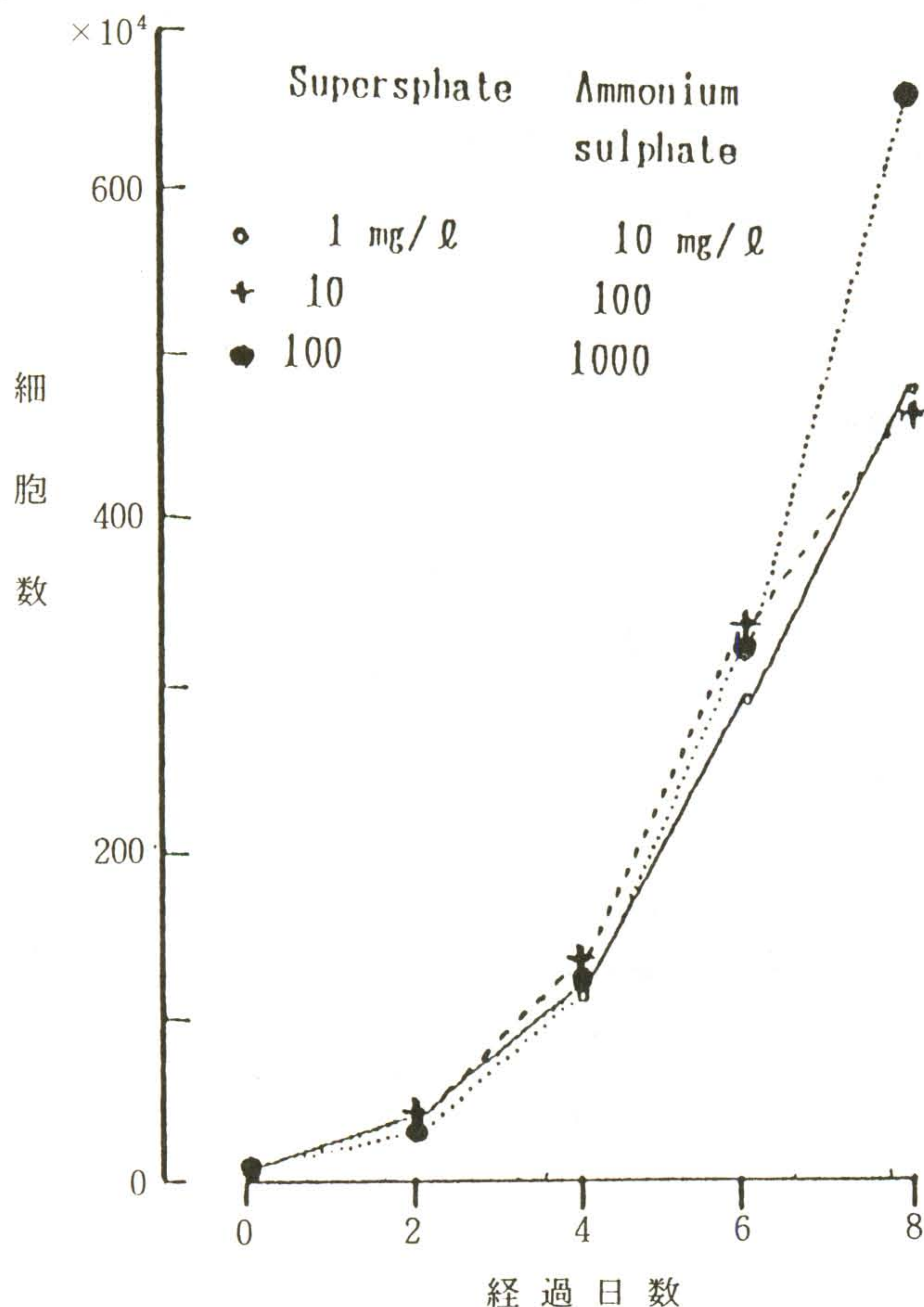
第1図 水温が *Scenedesmus quadricauda* の増殖に及ぼす影響



第2図 水温が *S. quadricauda* の増殖速度に及ぼす影響

(2) 濃度の異なる施肥培養液での増殖

S. quadricauda の濃度の異なる施肥培養液での細胞数の増殖状況を第3図に示した。



第3図 培養液の濃度が *S. quadricauda* の増殖に及ぼす影響

増殖速度は、A、B、C各区で、それぞれ135.43、81.00、88.58であった。

実験終了時の細胞濃度は、A、B、C区でそれぞれ 654.7×10^4 、 460.0×10^4 、 473.3×10^4 であった。

各区とも増殖傾向に大きな差はなく、特に6日目まではその差は殆ど認められなかった。しかし、8日目にはA区の増殖量が他の2区を上回った。また、B区とC区では、施肥濃度の低いC区の増殖量がやや上回った。

考 察

好適増殖水温

実験期間中の増殖速度は、15～20℃で高い値を示している。このことは細胞分裂が盛んに行われていることを示唆するものである。よって *S. quadricauda* の好適水温は、15～25℃にあると考えられる。特に20℃での増殖速度が最大であり、最適水温は20℃前後であると思われる。

25～35℃の高水温条件下では、*S. quadricauda* 細胞の増殖は下降傾向を示し、40℃では全く増殖しないことがわかった。また、5～15℃までの低水温条件下では、同じように細胞の増殖は衰え、5℃では殆ど増殖は認められなかった。

このことは、この藻種の増殖するための水温の上限は35℃付近にあり、下限は5℃付近にあるものと考えられる。

他の餌料藻類の好適水温を比較してみると、二枚貝幼生用餌料として使用されている珪藻類では、*Chaetoceros simplex* は、20～25℃で(梅林 1961)、*Chaetoceros calcitrans* は15～20℃である(鈴木 1983)。一方、クロレラ類は一般に種や株の違いによって好適水温が異なることが知られているが、ワムシ類の量産に使われているナンノクロロプシスは、20℃前後でその増殖は最も良好であり(平田 1980)、高温株といわれるテトラセルミス類は25～30℃の範囲が最適とされている(岡内 1988)。これに対して、*S. quadricauda* の好適水温は15～25℃であり、上記の藻類と比較しても、広範囲の水温に適応した種類とみることができる。また、*S. quadricauda* の生育水温の生育範囲は、5～38℃であって極めて広いという報告(Miyazaki et al 1985)があり、冬期の一時期を除けば屋外での培養が可能で粗放的に取り扱える好適な藻種であると考えられる。

最適施肥量

実験結果に示したように、*S. quadricauda* は硫安 1,000 mg、過リン酸石灰 100 mg を添加した培養液において最もよく増殖している。この増殖傾向をみると栄養塩の添加量をさらに増やしていけば、それに比例して増殖量は向上する可能性がある。しかし、この栄養塩の濃度は *N. oculata* の場合と比較してもその量は10倍で、比較的安価な農業用肥料を用いても、養魚池で大量培養を行う場合にはこの施肥量では割高になってしまう。今後は培養に要する経費の軽減について検討することを行う必要がある。

また、硫安 100 mg/l、過リン酸石灰 10 mg/l を添加した区と硫安 10 mg/l、過リン酸石灰 1 mg/l を添加した区とでは増殖傾向に差がなかったという点に注目すると、硫安 10 mg/l、過リン酸石灰 1 mg/l の濃度で施肥した場合でも、ワムシに与える際に然るべき操作を加えて必要な細胞濃度まで高めることができれば実用化の見込みもある。こうした観点からも、この実験系を大量培養系へ移行させ、しかも経費を軽減させる手法を開発することが今後の課題である。

文 献

- 熊丸敦郎・堀 直・岩崎 順・浜田篤信 1980, ワカサギの人工種苗生産技術の開発に関する研究—Ⅱ粗放的ワカサギ仔魚生産技術について, pp. 9—26, 茨城県内水面水産試験場調査研究報告第17号。
- 熊丸敦郎 1985, 粗放的動物プランクトン培養技術に関する研究—施肥, 炭水化物添加量について—, pp. 45—66, 茨城県内水面水産試験場調査研究報告第22号
- 遠藤 寛 1979, クロレラの大量培養法 pp. 257—264, 藻類研究法(西澤和俊・千原光雄編) 共立出版, 東京.
- 武智芳郎 1971, 汚水培養法 pp. 291—300, クロレラ —その基礎と応用—, 学習研究社, 東京.
- 平田 満 1977, クロレラの生産 pp. 121—126, マダイ種苗生産技術の現状と問題点(九州・山口ブロック水産試験場マダイ種苗生産研究会編), 石崎書店, 東京.
- 平田八郎 1980, 海産クロレラの作り方, 養殖 17 No.1, pp. 79—82.
- 鈴木 信 1983, 餌料生物培養 pp. 23—33, 昭和57年度特定研究開発促進事業・貝類の資源培養技術開発研究報告書(ホッキガイ種苗生産), 福水試調査研究資料 No.180, 福島県水産種苗研究所・福島県水産試験場.
- 梅林 修 1961, 餌料生物として *Chaetoceros simplex* の培養について, 水産増殖 9, pp. 147—150.
- 岡内正典 1988, テトラセルミス *Tetraselmis tetrathele* (West, G. S.) Butcher の大量培養に関する研究 pp. 1—123, Bull. Natl. Res. Inst. Aquaculture No. 14.
- 平山和次 1983, 各餌料の餌料価値と補強効果 pp. 58—59, 水産学シリーズ(44) シオミズツボウムシー生物学と大量培養(日本水産学会編), 恒星社厚生閣, 東京.
- Miyazaki, T, Wang, S. L, Hara, Y, and Maekawa, T 1985, Growth of the Ammonium-Tolerant Green Alga *Scenedesmus quadricauda* in Methane-Fermentation Effluents, and Removal of Ammonium and phosphate in the Effluents by the Alga, pp. 29—34, The journal of The Society of Agricultural Structures No.33.
- 佐々 勤 1965, 微小藻類の生育 pp. 195—203, 藻類実験法(田宮 宏・渡辺 篤編)南江堂, 東京.