

## 濃縮パラメシアの調製マニュアル

従来(パラメシア調製マニュアル)は、パラメシア培養液をガーゼ濾過し、濾過した培養液を稚魚に給餌するという方法でした。この従来の方法は水槽のアンモニア濃度が高くなる傾向があり、培養液のアンモニア濃度の測定や、植継ぎを毎日行う必要がある、など手間と時間がかかります。それらを改善する為に、今回、パラメシア培養液をガーゼ濾過→濾過した培養液をメッシュ布で濾過→パラメシアのみを回収→稚魚に給餌する、と改良しました。この方法によりアンモニア濃度に左右されず、効率良くパラメシアを用意できます。

なお、この方法は国立遺伝学研究所初期発生研究部門 川上浩一先生にご教授いただいた方法を参考にしました。

当研究室では3日以上培養したパラメシア溶液(約 2767 匹/ml)を1日2回、2.5ml/1Ltank 給餌します。パラメシアが給餌される稚魚は7~12日齢、最大50匹/1Ltankです。

### パラメシアの植継ぎ

1. 1L メディウム瓶に 900ml DW、小豆 3 粒加えたものを 105°C 20min 高圧滅菌し、冷ましておく(溶液 A)。
2. 植継ぎ用パラメシア\* 溶液を滅菌ガーゼ(マルチテトラゼ No. 2、白十字)で濾過する。
3. 濾過したパラメシア溶液を顕微鏡でチェックする。(パラメシアの生育状態、バクテリア、水カビ、ゴミの有無)(溶液 B)
4. 溶液 A にエビオス(ビール酵母、アサヒフーズ) 1 錠、溶液 B 100ml を加え、軽くフタをする。
5. 3 日以上 25°C のインキュベーター、もしくは室温で培養する。

\* 植継ぎ用パラメシアは、従来通り DW 600ml 小豆 3 粒にエビオス 1/4 錠、パラメシア溶液 50ml を加え、1.5 日以上培養したものを使用する。

☆手袋を着用し、雑菌の混入を防ぐこと。また、手袋、ガーゼ、容器等は各種パラメシア瓶ごとに取り替える事。

☆状態の良いものを確実に継代する為に、植継ぎ用のパラメシアを数種用意しておく。

☆上記環境でのパラメシア培養は約 1 ヶ月でパラメシアが死滅する。そのため長期間パラメシアを使用しない場合でも 20~30 日に一度植継ぎを行う事が望ましい。

## 餌用パラメシアの調製

1. 3日以上前に植継ぎしたパラメシア溶液を 750ml ガーゼ濾過(シングルガーゼ 304、白十字)する。
2. 顕微鏡観察し、パラメシアの状態、バクテリア、水カビの増殖を観察する。
3. 20 $\mu$ m メッシュ布\*\*を濾紙代わりに漏斗で濾過する。パラメシアはメッシュ布に回収され、培養液と分離する。
4. 50mlDW にメッシュ布を泳がせ、パラメシアを遊離させる。
5. パラメシア溶液(約 2767 匹/ml)を 2.5ml/tank 給餌する。

### \*\* 20 $\mu$ m メッシュ布

2日培養パラメシアをメッシュで濾過すると約 40%、3日培養パラメシアだと約 5.8%のパラメシアが回収できず、ロスとなる。このことから、培養期間によりパラメシアの大きさが異なることが推測される為、培養期間にあうメッシュ布の目サイズを使用する必要があるようだ。

