

アカガイ幼生餌料生物の大量培養試験

横山 勝幸・伊藤 進
助言者 徳川生物学研究所 森村 裕次

I 屋外水槽による餌料培養試験

ここでは、大量の餌料の連続的な生産を目的として、当所に設置されている屋外コンクリート水槽を使用し、*Phaeodactylum tricornutum* (以下Phと略記) の粗放的な培養を試みた。

1. 栄養塩の濃度に関する試験

屋外水槽による粗放的な培養では、期待できる増殖量が室内培養と比較してかなり低く、添加する栄養塩も低濃度で充足されることが予想される。この試験は期待できる増殖量と、それに対応して必要な栄養塩の濃度を把握するために行なった。

(1) 試験方法

A 培養液

- | | |
|--|---------|
| ① NaNO_3 | 200 g/l |
| ② $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ | 50 g/l |
| ③ $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ | 1.5 g/l |
| ④ P ₆ metals (前年度のアカガイ幼生餌料大量培養試験の項参照) | |

上記4種の栄養塩溶液を海水1 l当たり①、③、④液は1 ml、②液は0.5 ml添加したものを栄養塩濃度1単位とした。

B 培養容器

- ① 10 l容木口瓶 (液量8 l)
- ② 屋外コンクリート水槽
縦5.0 m×横1.5 m×深さ0.8 m (液量6,000 l)

(2) 結果および考察

結果は第1～5表に示した。

室内培養では、ほぼ栄養塩濃度に見合った増殖量を得ることができた。しかしながら屋外培養においては、いずれの場合も室内培養の結果から期待される増殖量には到っていない。屋外培養での



※昭和44年度指定調査研究総合助成事業「餌料生物大量培養技術研究」として行なったもので、詳細は昭和44年度指定調査研究総合助成事業報告書(青水増資料^S44-NQ12)として発表した。
※※現在 東京大学附属応用微生物研究所

第1回試験の増殖が思わしくなかったのは接種量が少な過ぎたためと考えられた。室内、屋外培養共に栄養塩濃度が低い程、初期の増殖は速い傾向が見られた。

第1表 10ℓ容木口瓶による栄養塩濃度試験 (第1回試験)

栄養塩濃度 培養日数	A	B	C	D
	1 単位	1 / 5 単位	1 / 10 単位	1 / 30 単位
0	細胞数 5×10^7 / Lit. (V _p 0.00565 ml / Lit.)			
1	14	12	12	10
2	51	52	57	61
3	138	160	211	184
4	274 (0.200)	340 (0.234)	349 (0.230)	213 (0.136)
5	440	443	428	219
6	562 (0.444)	470 (0.472)	484 (0.336)	224 (0.114)
7	720 (0.633)	495 (0.503)	497 (0.337)	184 (0.053)

数字は細胞数 $\times 10^7$ / Lit. , () 内は V_p ml / Lit

第2表 10ℓ容木口瓶による栄養塩濃度試験 (第2回試験)

栄養塩濃度 培養日数	E	F	G	H
	1 単位	1 / 10 単位	1 / 20 単位	1 / 30 単位
0	細胞数 5×10^7 / Lit. (V _p 0.00525 ml / Lit)			
1	13	10	11	13
2	42	52	54	54
3	151 (0.106)	208 (0.144)	199 (0.124)	173 (0.120)
4	327	376	328	223
5	471 (0.300)	525 (0.356)	354 (0.222)	231 (0.176)
6	645 (0.550)	580 (0.400)	377	220

数字は細胞数 $\times 10^7$ / Lit. , () 内は V_p ml / Lit

第3表 10ℓ容木口瓶による栄養塩濃度試験 (第3回試験)

栄養塩濃度 培養日数	I	J	K	L
	1 単位	1 / 5 単位	1 / 10 単位	1 / 30 単位
0	細胞数 $50 \times 10^7 / \text{Lit.}$ (Vp 0.0565 ml / Lit)			
1	82	95	105	105
2	232	280	303	232
3	344 (0.267)	409 (0.367)	471 (0.327)	312 (0.230)
4	434	564	543	360
5	546 (0.467)	657 (0.527)	601 (0.427)	358 (0.240)
6	692 (0.600)	753 (0.580)	593 (0.460)	334 (0.200)
7	863 (0.733)	755 (0.607)	572 (0.473)	247 (0.133)

数字は細胞数 $\times 10^7 / \text{Lit.}$, () 内は Vp ml / Lit

第4表 屋外水槽による栄養塩濃度試験 (第1回試験)

温 度	19.9 ~ 22.6 °C (試験期間9月17日~9月21日)			
照度(晴天時)	9時 21 Klux		12時 50 Klux	
栄養塩濃度 培養日数	M	N	O	P
	1 / 5 単位	1 / 10 単位	1 / 20 単位	1 / 30 単位
0	細胞数 $1.8 \times 10^7 / \text{Lit.}$ (Vp 0.00142 ml / Lit)			
1	2.7	2.1	2.6	2.1
2	4.6	3.7	4.7	4.8
3	4.6	5.6	5.1	6.5
4	0	0	0	0

数字は細胞数 $\times 10^7 / \text{Lit}$

第5表 屋外水槽による栄養塩濃度試験（第2回試験）

温度	19.0～22.5℃（試験期間9月24日～10月3日）			
照度(晴天時)	9時 32 Klux	12時 55 Klux	15時 22 Klux	
栄養塩濃度	Q	R	S	T
培養日数	1/5単位	1/10単位	1/20単位	1/30単位
0	細胞数 $5.5 \times 10^7 / \text{Lit.}$ (V_p 0.00447 ml/Lit.)			
1	5.1	6.1	6.5	6.9
2	8.8	11	11	12
3	6.2	24	22	29
4	1.0	36	39	51
5		57	66	86
6		89	85	128
7		119 (0.136)	91 (0.110)	144 (0.162)
8		115	84	152
9		103		115

数字は細胞数 $\times 10^7 / \text{Lit.}$ 、() 内は $V_{Pml} / \text{Lit.}$

2. 通気量試験

前試験において、屋外培養と室内培養では通気量に大きな差があり、屋外培養では接種量、照度、温度と共に通気量も大きな制限要因となっている可能性があったのでこの試験を行なった。

(1) 試験方法

前記試験の培養液を用い、栄養塩濃度は $\frac{1}{10}$ 単位とした。屋外6トン水槽を使用し、通気量を下記の3段階に分けて試験した。

A槽-1水槽当り約150 l/min. (培養液1 l当り約25 ml/min.)

B槽- " 100 l/min. (" 17 ml/min.)

C槽- " 50 l/min. (" 8 ml/min.)

(2) 結果および考察

結果は第6表に示した。

この試験では顕著な差が認められなかったが、それは通気量の最も多いA槽でも培養液1 l当り毎分約25 mlと、その絶対量が少なく、他の要因による影響がより大きいと考えられた。

3. 定密度維持培養試験

屋外水槽を使用した培養では、増殖の盛んな時期に、ある一定の細胞密度を基準として、それ以上に増殖した分を毎日取り出し収穫する方法が考えられる。ここでは前試験に引き続き、細胞数で30～

50 × 10⁷/ℓを基準として、それ以上に増殖した分だけ取り出して培養液を補充する方法を試みた。

第6表 通気量試験

温度	1 1.3 ~ 1 7.7 °C (試験期間10月9日~10月15日)		
照度(晴天時)	9時 28 Klux	12時 42 Klux	15時 14 Klux
通気量 培養日数	A	B	C
	150 ℓ/min.	100 ℓ/min.	50 ℓ/min.
0	細胞数 5.5 × 10 ⁷ /Lit. (V _p 0.006 ml/Lit.)		
1	5.0	5.5	5.0
2	8.9	9.2	7.0
3	15	16	11
4	24	27	17
6	57 (0.058)	64 (0.064)	40 (0.046)

数字は細胞数 × 10⁷/Lit., () 内は V_p ml/Lit

(1) 試験方法

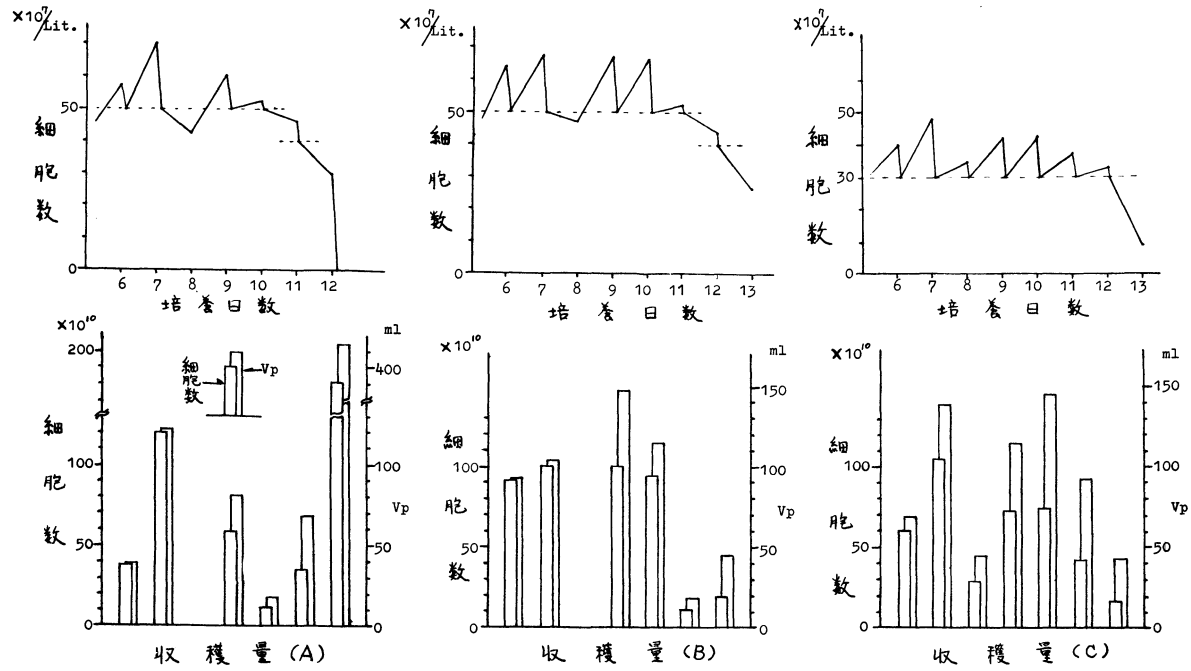
栄養塩濃度は1/10単位、通気量は1水槽当り毎分約100ℓとした。

(2) 結果および考察

結果は第1図および第7表に示した。

第7表 定密度維持培養試験

温度 照度 晴天時	1 2.5 ~ 1 6.6 °C (試験期間10月9日~10月22日)		
	9時 26~28 Klux	12時 42~47 Klux	15時 12~14 Klux
培養日数	A	B	C
6	57.0 (0.058) → 50.0 (675 ℓ)	63.8 (0.064) → 50.0 (1, 275 ℓ)	40.2 (0.046) → 30.0 (1, 500 ℓ)
7	69.8 (0.071) → 50.0 (1, 725 ℓ)	67.3 (0.069) → 50.0 (1, 500 ℓ)	48.0 (0.064) → 30.0 (2, 175 ℓ)
8	42.3	47.2	35.0 (0.054) → 30.0 (825 ℓ)
9	60.2 (0.083) → 50.0 (975 ℓ)	67.0 (0.098) → 50.0 (1, 500 ℓ)	42.2 (0.066) → 30.0 (1, 725 ℓ)
10	52.2 (0.077) → 50.0 (225 ℓ)	66.2 (0.080) → 50.0 (1, 425 ℓ)	42.7 (0.084) → 30.0 (1, 725 ℓ)
11	46.2 (0.091) → 40.0 (750 ℓ)	52.3 (0.085) → 50.0 (225 ℓ)	37.5 (0.082) → 30.0 (1, 125 ℓ)
12	30.2 (0.069) → 0 (6, 000 ℓ)	43.8 (0.101) → 40.0 (450 ℓ)	33.0 (0.082) → 30.0 (525 ℓ)
13		26.3	9.3



第1圖 定密度維持培養試驗

第7表の5.7.0 (0.058) → 5.0.0 (6.75 l) は、細胞数が $5.7.0 \times 10^7 / l$ 、藻体容積 (Vp) が $0.058 ml / l$ の時に6.75 lの換水により細胞数を $5.0.0 \times 10^7 / l$ に調整したことを示している。又、この時の細胞数とVpに、換水量を乗じた値を収穫量として第1図の下段に示した。

細胞数はPhのみを計数したが、Vpは他のものも含んだ値である。Phの他にはChaetoceros sp. と Skeletonema sp. の群体が多く見られ、培養の後期に細胞数に比較してVpが増加したのは、主にこれらのプランクトンと有機残さによるものであった。

II Chaetoceros calcitrans の炭酸ガス混合通気培養試験

1. 試験方法

10 l容木口瓶と2 l容平底フラスコを使用し、(a)、当所で定めた培養液(前年度のアカガイ幼生餌料大量培養試験 第1表参照)、(b)、ESW-II (第8表)、(b')、1/4濃度ESW-IIの3種の培養液でChaetoceros calcitrans (以下Chと略記) の培養試験を行ない、Phaeodactylum tricornutum (以下Phと略記) の増殖を比較した。

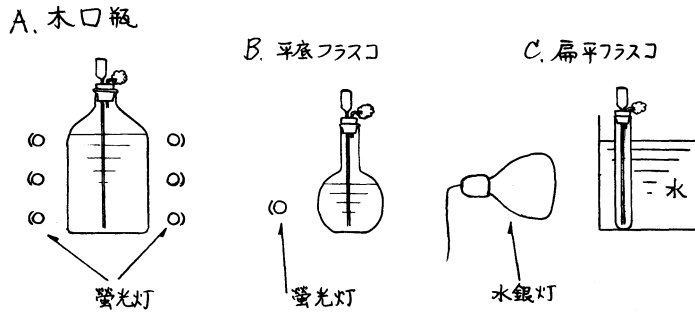
通気量は培養液1 l当り300~500 ml/minとし、炭酸ガス混合率は約0.5%とした。培養容器と光源などを第2図に示した。

第8表 ESW-II培養液

栄 養 塩 類	濾過海水1 l当りの添加量
① KNO ₃	16.8 g/l
② K ₂ HPO ₄ ※	16.0 g/l
③ Na ₂ SiO ₃ · 9H ₂ O	5.06 g/l
④ FeSO ₄ · 7H ₂ O ※	5.0 g/l
⑤ Arnon's A ₅ solution	1 ml
H ₃ BO ₃	2.85 g
MnCl ₂ · 4H ₂ O	1.81 g
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	0.22 g
CuSO ₄ · 7H ₂ O	0.078 g
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ · 4H ₂ O	0.171 g
D. W.	1 l
⑥ KHCO ₃ ※※	100 g/l

※②液と④液は別々に加熱殺菌し、放冷後混合する

※※⑥液は紫外線(殺菌灯)により殺菌



第2図 培養容器と光源

2. 結果および考察

結果は第9～13表に示した。

Ch. の培養結果は培養液(a)で最も良く、次いで1/4 ESW-II、ESW-IIの順であった。これに対しPh. の培養では、いずれの場合も ESW-IIで最も良い結果を示し、特に1ℓ容扁平フラスコでの培養(第2図のC、第14表)では非常に良い結果を得ることができた。

第9表 10ℓ容木口瓶によるCh. calcitrans の培養(第1回試験)

培養液 照度 培養日数	A	A'	B	B'	C	C'
		a		b'		b
	蛍光灯1本点灯(容器前面で5 Klux)					
0	1.50 × 10 ⁹ cells / Lit.					
1	1.66	1.68	1.60	1.66	1.52	1.55
3	2.56	2.47	2.33	2.21	1.96	1.80
4	2.62	2.68	2.38	2.44	2.00	1.77
5	3.48	3.31	3.04	2.73	1.88	1.72
6	3.74	3.66	3.34	2.88		
7	4.26	4.20	4.12	3.40		
8	4.95	4.82	4.66	3.77		
10	5.68	5.48	4.45	3.90		
12	5.35	5.48		3.86		

第10表 10ℓ容木口瓶による
Ch. calcitrans の培養 (第2回試験)

培養液 照度 培養日数	D	E	F
	a	b'	b
	蛍光灯2本点灯 (5 Klux × 2)		
0	4.14 × 10 ⁹ cells / Lit.		
1	5.78	5.28	4.92
2	6.22	6.92	5.12
3	6.20	5.32	4.90
4	5.84		

第11表 2ℓ容平底フラスコによる
Ch. calcitrans の培養

培養液 照度 培養日数	G	H	I
	a	b'	b
	容器前面で3 Klux		
0	8.17 × 10 ⁹ cells / Lit.		
2	17.4	12.6	12.0
3	20.5	16.4	15.6
4	23.5	19.4	17.0
5	25.4	23.2	17.7
8	30.4	24.1	18.5
9	25.9	23.4	14.2

第12表 10ℓ容木口瓶による Ph. tricornutum の培養 (第1回試験)

培養液 照度 培養日数	J	K	L
	a	b'	b
	蛍光灯2本点灯 (5 Klux × 2)		
0	1.03 × 10 ¹⁰ cells / Lit. (V _p 1.20 ml / Lit.)		
1	1.32	1.36	1.38
	以後蛍光灯6本点灯 (5 Klux × 6)		
4	2.19 (2.74)	2.40 (2.96)	2.54 (3.50)
6	2.62	3.14	3.12
8	2.72 (3.24)	3.36 (3.54)	3.52 (3.86)

() 内は V_p ml / Lit.

第13表 10ℓ容木口瓶による *Ph. tricornutum* の培養 (第2回試験)

培養日数	培養液		O
	M	N	
	a	b'	b
培養日数	度 蛍光灯6本点灯 (5 Klux × 6)		
0	1.60×10^{10} cells/Lit. (V _p 1.98 ml/Lit.)		
1	1.81 (2.26)	1.98 (2.26)	1.65 (2.16)
3	2.34 (3.02)	2.70 (3.04)	2.83 (3.22)
4	3.26 (3.50)	3.18 (3.40)	3.46 (3.60)
6	3.95	3.60	4.29
7	3.79 (3.00)	3.69 (3.14)	4.42 (3.83)
8			4.69 (3.93)
10		3.34 (2.88)	4.51 (4.04)

() 内は V_p ml/Lit.

第14表 1ℓ容扁平フラスコによる *Ph. tricornutum* の培養

培養日数	培養液	
	P	Q
	b	b
培養日数	度 50 Klux (水銀灯)	
0	3.52×10^{10} cells/Lit. (V _p 3.86 ml/Lit.)	
1	8.08 (9.67)	5.19 (6.75)
2	12.6	10.7
4	21.6 (26.0)	20.4 (28.0)
5	19.9	19.3

() 内は V_p ml/Lit.