

ナンノクロロプシスの培養

井上 顕^{*1}・平手康市^{*2}・木村基文^{*3}・宮城美加代^{*3}・渡慶次賀孝^{*4}

1. 目的

ワムシ類の培養、魚類（ハマフエフキ、マダイ、チンシラー）および甲殻類（タイワンガザミ）の種苗生産に必要なナンノクロロプシス *Nannochloropsis oculata*（以下、ナンノ）を安定的かつ効率的に供給するために培養を行った。

2. 方法

ナンノの培養は100kLコンクリート水槽6槽、15kLコンクリート水槽（以下、長水路）、70kL（FRPキャンバス）水槽、5kL（FRP）水槽12槽を用いた。培養水槽の水量は日照や気温などを考慮して20～90tの間で変化させた。培地は、紫外線殺菌海水10kL当たり、カルキ（次亜塩素酸ソーダ：塩素6ppm）500mLで1時間滅菌消毒した後、チオ硫酸ナトリウム150gで塩素を中和して、60分間曝気した。次に硫安800g、過リン酸石灰150gおよびクレワット3240gを添加し60分容解させ、元種を接種した。ただし、2001年1～3月は、塩素の中和を行わず、一晩放置した後元種を接種した。通常元種は1,000～2,000万cells/mL程度で原生動物などの混入が少ない培養液を用い

た。元種量は拡大に用いる紫外線殺菌海水量の約1/5～1/6（植え継ぎ時でナンノ細胞数が200～500万cells/mLを目安）とし、100μmのミューラーガーゼでゴミを除きながら培養水槽へ水中ポンプを用いて転送し拡大培養を行った。植え継ぎは、培養中の原液ナンノクロロプシス（以下、原液ナンノ）以外に、濃縮されたナンノクロロプシス（以下、濃縮ナンノ）、あるいは梅雨時には1kL透明ポリカーボネート水槽で一度培養したものを使用した。培養したナンノは、2,000万cells/mLを目安に濃縮あるいはワムシへ投餌したが、6月下旬～8月9日では1,500万cells/mLを目安した。その理由は、夏季の高水温期に2,000万cells/mLを目安に濃縮すると、長い培養期間が必要であり、その間に細胞が壊れてしまうことがあったためである。なお、ナンノの濃縮は荏原実業社製のナンノクロロプシス濃縮装置ENRICH100-II（以下、濃縮装置）を用いた。ナンノの計数は、ほぼ毎日行い、単位は通例にならない、t/2,000万cells換算とした。供給量は、原液ナンノがワムシ餌料として使用された量を、保有量とは供給量と濃縮量を合わせてものとした。

表1 2001～2002年 ナンノクロロプシス培養の結果

平均保有量	115		
日最大保有量	383		
累積保有量	41,746		
累積供給量(ワムシ餌料)	1,335	供給量率	3%
累積濃縮量(原液換算)	4,527	濃縮量率	11%

(単位:t/2000万cells)

*1 執筆責任者

*2 現在の所属:沖縄県海洋深層水研究所:平成13年1～3月担当

*3 平成13年4～平成14年3月担当

*4 平成13年1～3月担当

3. 結果と考察

表1に2001年1月～2002年3月のナンノ培養結果を示した。ナンノの1日あたり保有量は2,000万cells換算で平均114.6t、最大383tとなった。前年度と比較して、平均保有量と累積保有量は1.5倍に増加、最大保有量はほぼ同じとなった。これは、昨年までほとんど使用しなかった、長水路、70kLキャンバス（FRP製）水槽、5kL（FRP製）水槽12槽を用いたためと考えられた。図1に、年度別のナンノ生産量を示した。

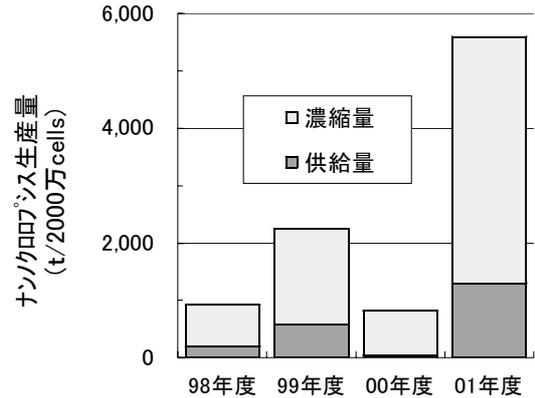


図1 ナンノクロロプシスの年度別生産量

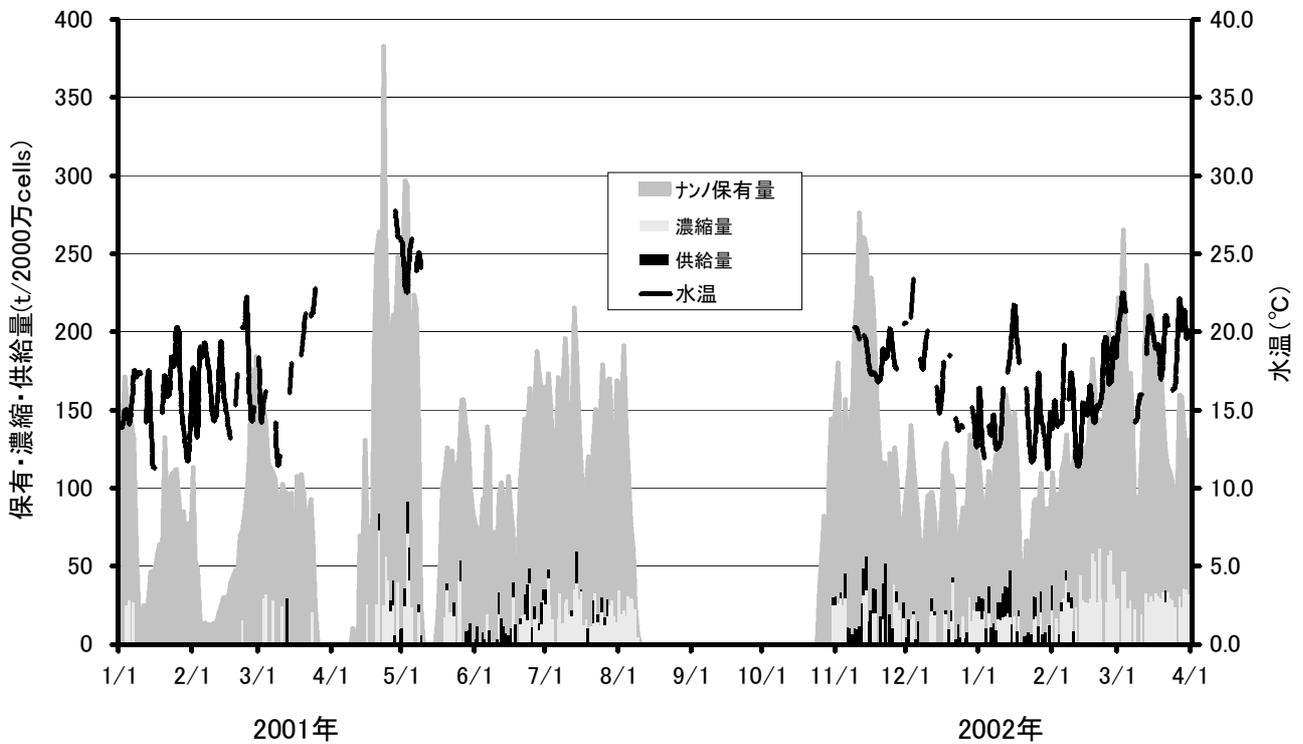


図2 2001年～2002年ナンノクロロプシスの保有量の推移

過去4年間の中で最も生産量が多く、1999年度と比較して、供給量では589.7 t/2,000万cellsの2.2倍、濃縮量では1654.3 t/2,000万cellsの2.6倍になった。生産量増加の主な要因は、培養面数が多くなったことに加え、低い細胞密度でも頻繁に濃縮を行った結果であった。

2001年1月～2002年3月のナンノ培養推移を図2

に示した。保有量は1月上旬から2月下旬までは、天気が安定せず、濃縮できなかつた3月になってようやく濃縮できた。一度終息させた後、再度4月中旬から培養を行った。梅雨に入る5月上旬まで培養は好調であり、濃縮を頻繁に行った。それ以降は例年どおり不調となり、5月10日から15日まで保有量0が続いた。今年度から、元種を使用する際、一度1kL透明ポ

リカーボネートで培養し、その培養状態が良いものを100kL水槽へ転送した。これにより梅雨が終わる6月上旬まで、濃縮することはなかったが、ワムシの餌料として供給しながら、培養を続けることができた。ナンノの再度立ち上げは、10月25日より開始した。2002年2

月上旬まで、ワムシへの原液供給を頻繁に行い、濃縮は冷蔵庫内の種を新しくする程度にとどめた。ワムシの培養が終了すると、可能な限り濃縮ナンノを保存した。培養は好調で特に大きな問題はなかった。

表2 ナンノクロロプシスの濃縮結果

年	月	水温 ℃	植え継ぎ 回数	廃棄 回数	濃縮 回数	原液		濃縮液		回収率 (%)
						平均細胞密度	濃縮量	平均細胞密度	濃縮量	
						万cells/mL	kL	億cells/mL	L/50億cells/mL	
2001年	1月	15.5	-	-	3	2,642	60	55	264	83
	2月	16.7	-	-	1	2,967	10	56	90	152
	3月	17.5	-	-	5	2,654	100	67	540	102
	4月	24.4	22	3	12	2,131	310	34	925	70
	5月	24.5	35	19	16	2,059	360	36	1,180	80
	6月	31.0	31	9	15	1,596	320	26	738	72
	7月	-	29	2	33	1,531	840	30	2,362	95
	8月	-	2	0	11	1,615	255	27	684	83
	9月	-	0	0	0	0	0	0	0	0
	10月	-	9	0	1	2,480	20	49	103	104
	11月	18.6	35	13	15	2,404	298	47	1,337	93
	12月	16.9	32	15	15	1,921	300	37	1,002	87
2002年	1月	15.0	43	10	16	1,822	313	36	1,095	96
	2月	15.7	32	1	30	2,634	600	45	2,593	82
	3月	19.0	26	11	25	2,777	540	45	2,392	80
	平均	19.5	-	-	-	2,082	-	42	-	85
	合計	-	296	83	198	-	4,326	-	15,305	-

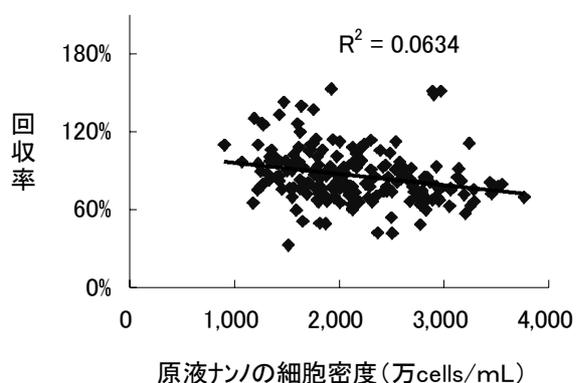


図3 原液ナンノクロロプシスの細胞密度と回収率

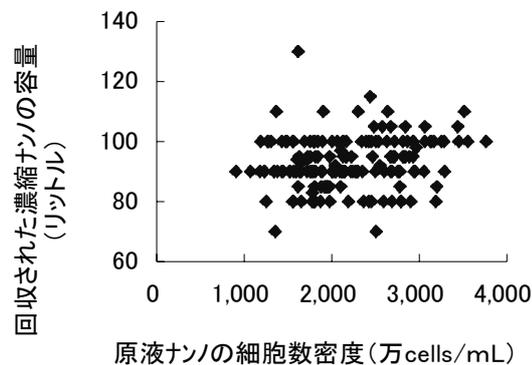


図4 培養液20kLを濃縮したときの原液ナンノの細胞数と回収された濃縮ナンノの容量

ナンの濃縮結果を表2に示す。濃縮液の平均密度は42億cells/ml、回収された濃縮ナンの細胞数を原液ナンの細胞数で割った回収率は全体で昨年の74%から85%となった。また6～8月に濃縮液の平均細胞数が30億cells/mlを下回った。種苗生産やワムシ餌料として、特に問題はなかったが、この時期1,500万cells/mLを目安に濃縮しており、生産効率の悪い回収方法である可能性が考えられた。そこで、原液ナンの細胞密度と回収率の関係を見てみると、回帰直線の傾きは緩やかな右下がりであったが、二つの関係に相関関係はなかった(図3:相関係数は $r^2 = 0.0634$ 、 $p > 0.1$)。また回収された濃縮ナンの容量は原液ナンの細胞数に依存することなく、おおかた一定であることがわかった(図4)。つまり、夏場、濃縮液の細胞数が30億cells/mlと低いのは、原液細胞密度が低い、濃縮液の水量は細胞密度に依存されることなく一定であるため、結果として濃縮液の細胞密度が低くなったと推察された。1,500万cells/mLを目安にした濃縮方法は、夏季のナン濃縮手段の一つとして効

果的であった。

濃縮ナンの月毎の使用量を、種、ワムシの餌、水槽添加別に表3へまとめた。データは11月からであるが、ワムシの餌としての貢献が最も大きいことがわかった。

2001年1～3月、塩素の中和を行わず、残留塩素による元種の消毒によって藍藻の発生対策を行った(平手ら、2002)。それ以降、カルキを入れたその日に中和して培養を行った。結果、特に藍藻の発生は見られず、ナンの培養にも特に影響は見られなかった。

梅雨時期の培養不調対策として1kL透明ポリカーボネートを使用した元種を培養する方法は、作業量が多いため、効率化が課題として残った。

4. 参考文献

平手康市・井上顕・渡慶次賀孝.2002.ナンクロロプシスの培養,平成12年度沖縄県栽培漁業センター事業報告書, p7-8.

表3 濃縮ナンクロロプシスの月毎の使用量

月	ナンの種	ワムシの餌			水槽添加		合計
	ナンクロロプシス (L)	L型 (L)	S型 (L)	SS型 (L)	甲殻類 (L)	魚類 (L)	
11	120	960	14	0	28	0	1,122
12	95	247	204	0	0	27	573
1	200	0	1,679	0	0	78	1,957
2	0	0	296	0	0	0	296
3	0	17	716	171	60	109	1,073
合計	415	1,224	2,909	171	88	214	5,021