

# Chattonella antiqua 大量培養試験

眞鍋美幸

## 【目的】

*Chattonella antiqua* (以下 *C.antiqua*) は春季～夏季の高温時に、内湾域で大発生して赤潮をつくり、養殖魚介類に甚大な被害を与える藻類であり、本県においてもしばしば赤潮を形成し、養殖ブリ類等に多大な被害を与えている。

そこで、*C.antiqua* 赤潮の防除技術の開発研究を行う上で、*C.antiqua* を用いた様々な試験を任意に実施するため、安定的に大量培養する技術を開発する。

なお、1～2t水槽で暴露試験を行うための必要量として、目標培養量を10億～20億cellsとした。

## 【方法】

空調で室内温度を24℃に設定した恒温培養室で試験を行った。継代培養した八代海産 *C.antiqua* を用い、14h明(5:00～19:00)-10h暗(19:00～5:00)の明暗周期で9回の試験を実施した。9回目を除いて海水はオートクレーブによる滅菌海水を用い、照明は40W蛍光灯2本を上部に設置した。

### 1) 試験No.1

5000ml平底フラスコに、5000mlの海水を入れ、100cells/mlの *C.antiqua* を接種し、微通気でf/2、SW-、SWM-、PESの4種類の培地を比較した。

### 2) 試験No.2

1回次の補完試験として、1回次と同じ条件でSW-、SWM-、PESの3種類の培地を比較した。

### 3) 試験No.3

50mlビーカーに、20mlの海水を入れ、50cells/mlの *C.antiqua* を接種し、通気なしでKW21(第一製網株式会社製藻類培養液)、ノリシード(第一製網株式会社製ノリ糸状体用培養液)、SWM-の3種類の培地を比較した。

### 4) 試験No.4

SWM- 添加海水を、50mlビーカーに20mlと50ml、100mlビーカーに20mlと50mlと100ml入れ、100cells/mlの *C.antiqua* を接種し、通気なしで培養した。

### 5) 試験No.5

20mlのSWM- 添加海水を50ml、100ml、200ml、300ml、500mlの大きさの異なるビーカーに入れ、200cells/mlの *C.antiqua* を接種し、通気なしで培養した。

### 6) 試験No.6

1000ml平底フラスコにSWM- 添加海水を500ml入れ、通気なしで4,000、8,000、12,000cells/mlの *C.antiqua* を接種し比較した。

7) 試験No.7

500mlのSWM- 添加海水を, 500ml平底フラスコ, 1,000ml三角フラスコ, 3,000ml扁平フラスコに入れ, 4,000cells/mlの *C.antiqua* を接種し, 通気なしで培養した。

8) 試験No.8

500ml平底フラスコに500mlのSWM- 添加海水を入れたもの, 1,000ml平底フラスコに1,000mlのSWM- 添加海水を入れたものを準備し, それぞれ100, 1,000, 10,000cells/mlの *C.antiqua* を接種し, 微通気で培養した。

9) 試験No.9

50Lアルテミアふ化槽にろ過海水, 電解殺菌海水, 精密ろ過海水, 紫外線殺菌海水を各50L入れ, ノリシードを0.5ml/L添加し, 300cells/mlの *C.antiqua* を接種して微通気で培養した。上部2本, 側面2本の計4本の40W蛍光灯で照明した。

【結果及び考察】

試験結果を表1に示す。

表1 *C.antiqua* 培養試験結果

No.	容器	海水容量(ml)	海水	培地	通気	結果 (cells/ml)		倍率	培養量(万cells/槽)	日数		
1	5Lフラスコ	5,000	オートクレーブ滅菌	f/2	あり	100 →	3,500	35	1,750	13		
				SWM-II		100 →	6,200	62	3,100	13		
				SWM-III		100 →	6,800	68	3,400	13		
				PES		100 →	6,800	68	3,400	15		
2	5Lフラスコ	5,000	オートクレーブ滅菌	SWM-II	あり	100 →	8,800	88	4,400	7		
				SWM-III		100 →	12,600	126	6,300	7		
				PES		100 →	8,200	82	4,100	7		
3	50mlビーカー	20	オートクレーブ滅菌	KW21	なし	50 →	52,600	1,052	105	17		
				リシート*		50 →	43,000	860	86	17		
				SWM-III		50 →	120,000	2,400	240	15		
4	50mlビーカー	20	オートクレーブ滅菌	SWM-III	なし	100 →	92,600	926	185	13		
				100mlビーカー	20	SWM-III		100 →	112,700	1,127	225	13
				50mlビーカー	50	SWM-III		100 →	38,200	382	191	13
				100mlビーカー	50	SWM-III		100 →	50,000	500	250	13
				100mlビーカー	100	SWM-III		100 →	23,700	237	237	13
				50mlビーカー	20	オートクレーブ滅菌	SWM-III	なし	200 →	105,000	525	210
5	50mlビーカー	20	オートクレーブ滅菌	SWM-III		200 →	140,800	704	282	14		
				100mlビーカー		200 →	145,000	725	290	14		
				200mlビーカー		200 →	165,200	826	330	14		
				300mlビーカー		200 →	164,700	824	329	14		
				500mlビーカー		200 →	164,700	824	329	14		
6	1L平底フラスコ	500	オートクレーブ滅菌	SWM-III	なし	4,000 →	9,500	2	475	2		
				SWM-III		8,000 →	20,500	3	1,025	2		
				SWM-III		12,000 →	24,000	2	1,200	2		
7	500ml平底フラスコ	500	オートクレーブ滅菌	SWM-III	なし	4,000 →	10,400	3	520	8		
				1L三角フラスコ		4,000 →	11,800	3	590	2		
				3L扁平フラスコ		4,000 →	16,600	4	830	6		
8	500ml平底フラスコ	500	オートクレーブ滅菌	SWM-III	あり	100 →	17,400	174	870	11		
				500		1,000 →	12,100	12	605	11		
				500		10,000 →	24,600	2	1,230	11		
	1L平底フラスコ	1,000		SWM-III		100 →	18,900	189	1,890	11		
				SWM-III		1,000 →	25,200	25	2,520	11		
				SWM-III		10,000 →	26,000	3	2,600	5		
9	50Lふ化槽	50,000	ろ過海水	リシート*	あり	300 →	5,000	17	25,000	4		
			電解殺菌海水	リシート*		300 →	4,300	14	21,500	7		
			精密ろ過海水	リシート*		300 →	5,300	18	26,500	4		
			紫外線殺菌海水	リシート*		300 →	4,600	15	23,000	7		

- ・培地を比較したところ, 最も適した培地はSWM-IIIであった。(試験No.1~3)
- ・海水の量が少ないほど高密度に培養することができた。(試験No.3,4)

- ・ 静置培養の場合，なるべく大きな容器に少量の海水を入れ，空気に触れる面積を大きくした方が多く増殖した。（試験No.5,7）
- ・ 500ml以上で培養する場合は静置培養ではほとんど増殖しないため，微通気が必要。（試験No.6～8）
- ・ 培養開始時の細胞数は少ない（50～100cells/ml）ほど増殖する。試験No.8では10,000cells/mlで開始した区の方が培養量は多いが，小型化や変形，脱色等が見られ活性は低かった。
- ・ 大量培養時の海水については，大きな差はみられなかったものの，ろ過海水，精密ろ過海水の方が電解殺菌海水，紫外線殺菌海水より多く増殖した。（試験No.9）
- ・ 50L水槽で5,000cells/ml（2.5億cells / 槽）程度まで培養することができたため，4～8槽で培養すれば目標の10億～20億cellsを得ることができる。（試験No.9）