

## 海産クロレラ培養水への通気効果に関する 2・3の吟味試験

平田 八郎\*・村越 正慶\*\*

### Effects of Aeration Volume on the Growth of Marine *Chlorella* in Culture

Hachiro HIRATA and Masayoshi MURAKOSHI

#### Abstract

It is well known that aeration is an important practice in the cultivation of fish or plankton, and is commonly used by many aquaculturists. Practice of the aeration is simple but the mechanisms are complicated. Since HIRATA designed the movable aerator in 1969, study on the biological features of the aeration has become more clamorous. In this experiment, direct (Exp. I) and indirect (Exp. II) effects of aeration volume upon the growth of marine *Chlorella* were observed.

All the experiments were carried out by using 2 l polyethylene bottles with 1 liter of culture medium. HIRATA's inorganic medium-II (HIRATA; 1964) and active sludge as an organic medium based on soy-cake particles (HIRATA, *et al.*; 1973) were used in Exp. I and II, respectively. The air volume was subdivided into six rates ranging from 72 to 5040 liters per day. As a control experiment, soda-lime was employed for removing carbon dioxide from the air supplied.

In Exp. I, growth of *Chlorella* at the rates of 72, 288, 720 and 1440 liters of air supply per day were 18, 42, 44 and  $49 \times 10^8$  cells/ml, respectively. Therefore, optimum air volume was estimated to be about 300 l/day from those results. In Exp. II, the *Chlorella* grew up to  $4.4 \times 10^8$  cells/ml in the medium of air supplied sludge, but no growth was found in the tank prepared with the sludge with no air supplied.

#### まえがき

魚介類の飼育池や水槽に通気を施すことは現代飼育技術の平凡な処法として広く利用されている。それは通気装置が極めて簡単なためであるが、その効果の解析は至難であるので、例えば通気量の決定などは経験的判断に頼っているのが現状である。

ところが、1969年に平田が池底移動通気装置を創案して以来、通気に関する抜本的な検討が必要になってきた。それで本実験は海産クロレラを指標種として飼育水への通気効果に関する2・3の吟味試験をおこなったものである。

これらの実験結果、通気を施すことは対象生物への直接効果のみならず、間接的にも見逃

\* 鹿児島大学水産学部増殖生理学講座，鹿児島市下荒田4丁目50-20.

\*\* 沖縄県水産試験場八重山支場，石垣市宇川平828-2.

すことのできない効果をもたらすことがわかったので、ここにその概要を報告する。

なお、本文の作製にあたり、励ましの御言葉を賜った鹿児島大学名誉教授村山三郎先生に深謝の意を表す。

### 実験材料および方法

本実験は通気の直接的効果と間接的効果を知る目的で、無機培地によるクロレラの通気培養実験(実験Ⅰ)と活性汚泥液を基材とした有機培地によるそれ(実験Ⅱ)との2群にわけておこなった。

#### 実験Ⅰ.

実験材料は通称海産クロレラとよばれている *Chlorella* sp. を用いた。その原種は平田(1964)によって屋島湾から採集したものであるが、その後、瀬戸内海栽培漁業協会志布志事業場へ移殖され、さらに、1970年以降、当研究室で継代培養によって保存されていた Strain である。なお、本種は TSUKADA ら(1974)によって報告された *Chlorella saccharophila* (KRÜGER) MIGULA var. *sacchrophila* と同種と思われる。

クロレラの培養に用いた容器は2l入りのポリ製透明試料管であり、その培養水量は1lとした。エアストーンは一定の通気量および一様の気泡粒を得ることのできる木下式ガラスフィルターを用いた。培養水は市販されている人工海水(アクアマリン)を使用し、その栄養塩には改良型平田メデュームⅡ液(平田; 1964)を用いた。つまり、それは海水1lに対し、 $\text{KNO}_3$ を200mg、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$ を20mg、Clewat-32を30mg、そしてClewat-Caを30mgの割合とした。

実験期間中の水温はウォーターバス方式により $24.7 \pm 0.5^\circ\text{C}$ に調節し、また、その照度は白色蛍光灯によりほぼ2000 luxとした。

実験区は通気量の多寡により、最小区の7.2l/L/dayから最大区の5040l/L/dayまでの範囲で9区を設定した。対照実験区には通気管の途中に径1.3cm、長さ100cmの塩ビパイプにSoda-limeを挿入し、脱 $\text{CO}_2$ ガスの通気を試みた。なお、通気量の測定は家庭用プロパンガスメーターを用いて毎日2回づつおこなった。また、各実験は春から秋にかけて、のべ3回反復した。

#### 実験Ⅱ.

この実験に用いた活性汚泥法は平田ら(1973)の処法によるものである。その醗酵の過程で一方には通気( $20.9 \pm 14.7$  l/L/hr)を施し、他方にはスターラーで攪拌のみをおこなった。このようにして2~3週間経過すると、Fig. 3に示すように、前者のO. R. P. 値は読取値で+100 mV前後であるが、後者のそれは約-400 mVに低下したまま平衡状態を保つようになった。

実験区AおよびBは1lの平底フラスコに自然海水を800ml、クロレラ Strain を200ml および、以上のようにして作製した活性汚泥AおよびBを10mlづつ移し入れ、いずれも、無通気培養法によってクロレラの増殖度を調べることにした。その培養は室内で11~17日間継続的におこなったが、その間の水温は $28.5 \sim 33.0^\circ\text{C}$ であった。

供試材料等は前実験と同じである。

## 実験結果および考察

## 実験 I. 通気の直接的作用の吟味試験

適正通気量を知る目的でおこなった実験 I の結果は Fig. 1 に示したとおりである。この図中の実線は各実験区における *Chlorella* の増殖曲線であり、その線上の数値は培養後の日令を示したものである。点線は同じ培養日令を実験別にプロットしたものであり、 $l/L/day$  単位の数値は実験区別通気量である。

いま、培養令10日目をプロットした点線に注目すると、 $288 l/L/day$  の通気量区にその増殖変曲点をみることができる。つまり、それより少ない通気量を施こした  $72 l/L/day$  区では10日目になっても  $20 \times 10^6 cells/ml$  にも及ばないが、 $288 l/L/day$  区ではその増殖量は  $40 \times 10^6 cells/ml$  を越えており、その間における通気量の多寡は *Chlorella* の増殖量に強く影響を及ぼしていることがわかる。しかし、それ以上通気量を増加してもその増殖量はほぼ横ばい状態を示し、例えば、通気量を  $1440 l/L/day$  に増加しても、10日目の *Chlorella* 増殖量は  $49 \times 10^6 cells/ml$  に達したにすぎない。

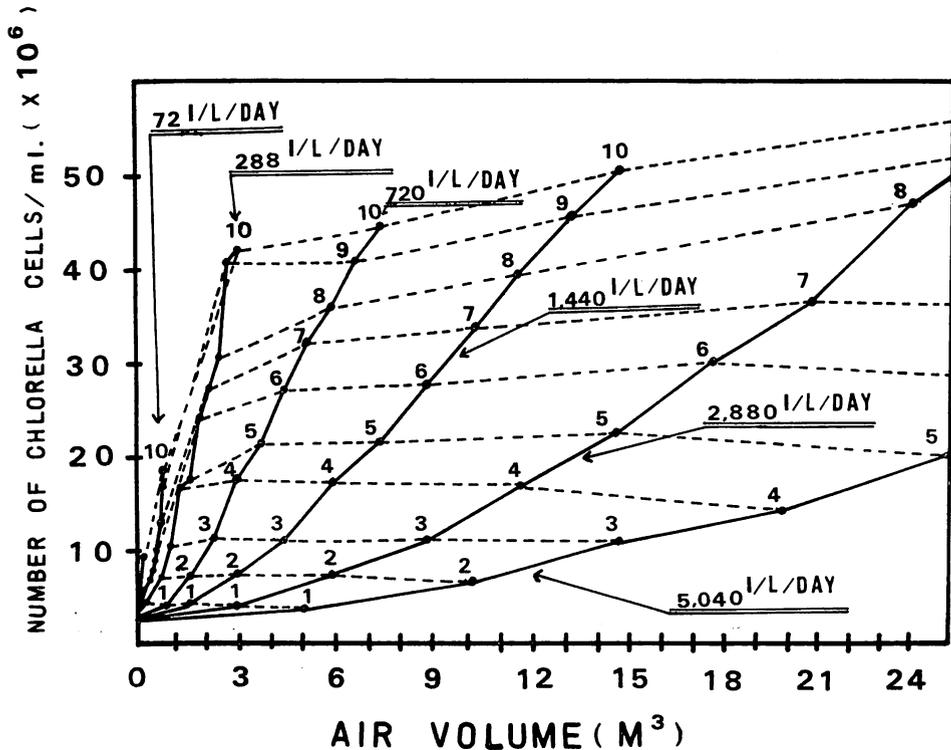


Fig. 1. Growth of *Chlorella* sp. under the conditions of different air volume.

以上の結果から、本実験における *Chlorella* 増殖の適正通気量は約 300 l/L/day とみなすことができる。このことは、炭酸ガスの適正通気量を調べた田宮 (1951) の報告と同じ傾向であることから、*Chlorella* 培養における通気は空気中に含まれている炭酸ガスの補給効果によるものと思われる。

それで、本結果に一層の検討を加えるために、Soda-lime 法による空気中の脱炭酸を試み

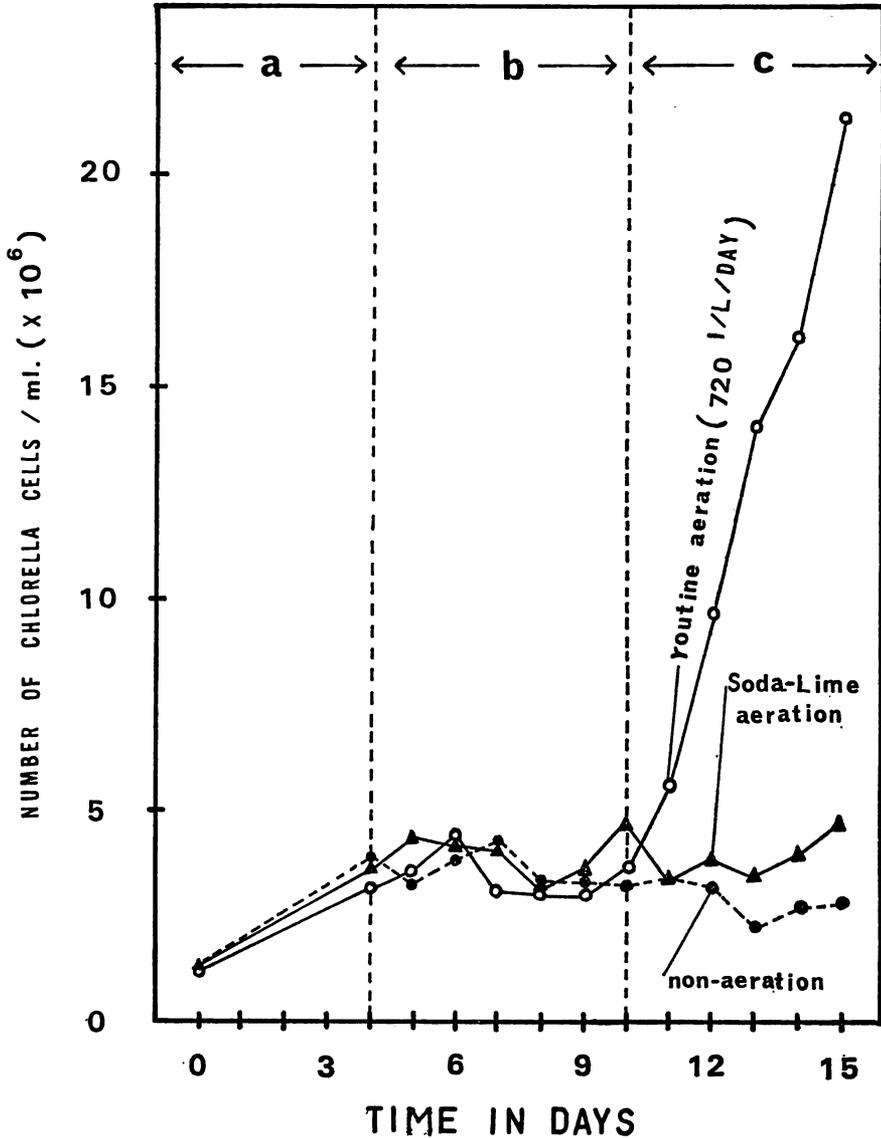


Fig. 2. Growth of *Chlorella* sp. under the  $\text{CO}_2$ -present and  $\text{CO}_2$ -absent.

(a): non-aeration (b): aeration with Soda-Lime

(c): aeration with Soda-Lime and without Soda-Lime

たところ、Fig. 2 に示した如く、無処理通気区と脱炭酸通気区とで *Chlorella* の増殖量に顕著な差がみられた。つまり、前者の増殖量（培養後10日目）は  $20 \times 10^8 \text{ cells/ml}$  にも達したのに対し、後者のそれは僅かに  $4 \sim 5 \times 10^8 \text{ cells/ml}$  にすぎず、無通気区（ $2 \sim 4 \times 10^8 \text{ cells/ml}$ ）と殆んど変わらない傾向を示した。従って、通気（aeration）の直接効果は物理的な攪拌作用のみならず、炭酸同化作用に不可欠な炭素源の補給を促すことが実証できた。

### 実験 II. 通気の間接的作用の吟味試験

空気中には微量の炭酸ガスのほかに多量の酸素ガスも含まれていることはよく知られている。実験 II は空気中の酸素による腐蝕有機物質の分解を促進せしめ、しかる後に、*Chlorella* への栄養化の有無を調べたものである。

平田ら（1973）はしょうゆかす微粒子を主体として活性汚泥を作製する過程で O. R. P.（酸化還元電位差）変化に V ショットがみられることを報告した。本実験においても、Fig. 3 に示す如く、最初の3日目頃にその V ショットがみられたが、通気活性汚泥区の O. R. P. 値は11~12日目頃から +100 mV 前後に復元したのに対し、スターラーによる活性汚泥区のそれは20日前後を経ても -400 mV 程度と、低い値で横ばい状態を示した。

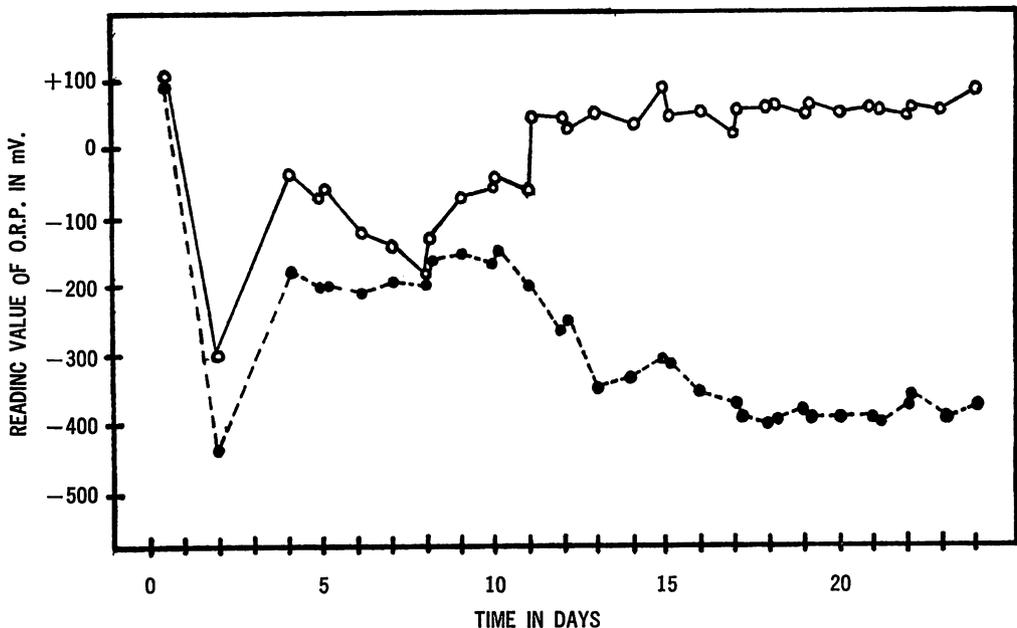


Fig. 3. O. R. P. variations in the artificial-particulate-organic-matter fermentation.

—○—○— aeration  
 --●--●-- stirrer

さて、このようにして得られた2種の活性汚泥（通気汚泥区とスターラー汚泥区）を栄養源として *Chlorella* を培養した場合、その増殖量にどのような差が生じるであろうか。それを調べた結果が Fig. 4 である。白丸で示した実験区 A は通気によって作製した活性汚泥を

栄養塩として *Chlorella* を無通気培養したものである。実験区 B の栄養塩は A 区と同じであるが、活性汚泥の醗酵において2日目まで通気を施したが、その後、無通気状態でおこなったものである。また、実験区 C はスターラーのみによって作製した活性汚泥を用いて *Chlorella* を無通気培養したものである。

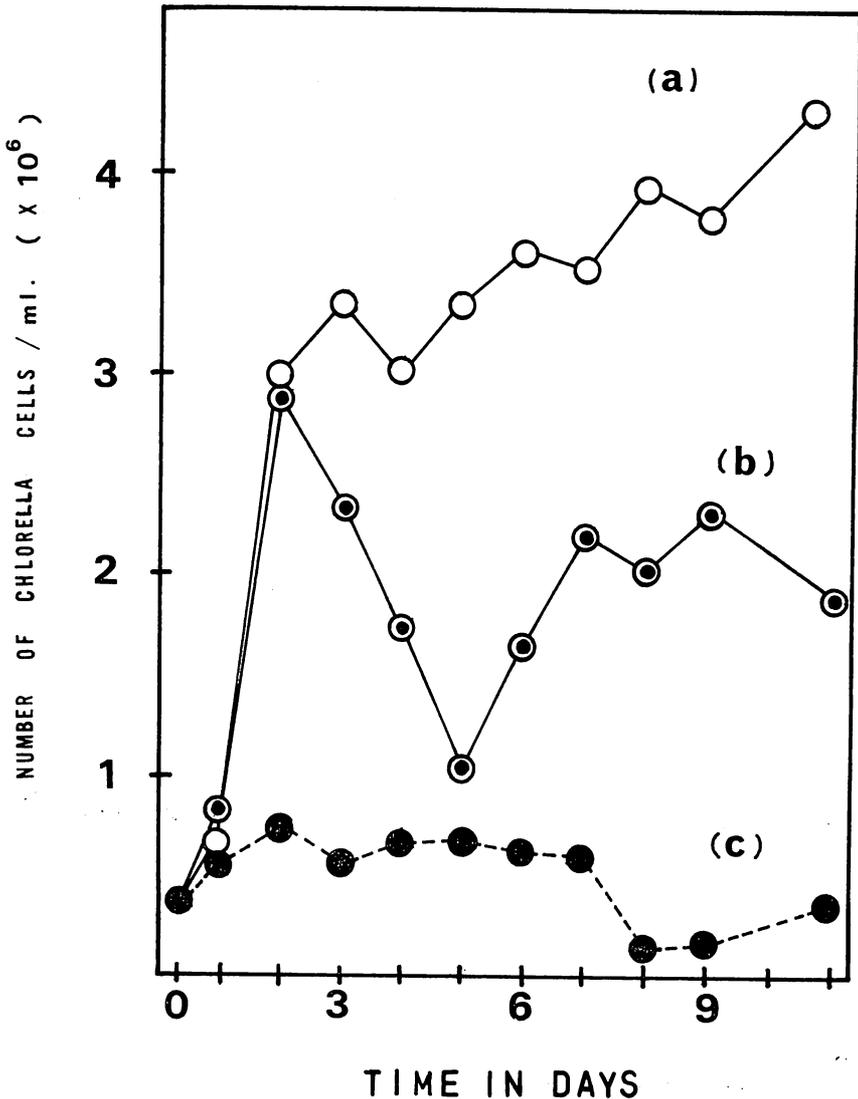


Fig. 4. Growth of *Chlorella* sp. in the artificial-particulate-organic-matter with aeration and without aeration.

- (a): aeration (b): aeration and non-aeration  
(c): non-aeration

この図から明らかなように、通気によって作製した活性汚泥は *Chlorella* の増殖に顕著な効果をもたらすが、スターラーによる活性汚泥では、その効果が全くみられないことがわかった。この結果から、通気は水中有機懸濁物質の栄養塩化にも作用していることが伺える。

以上のべた実験 I および II の結果を総合的にみると、水中通気は大気中に含まれている炭素が *Chlorella* の同化作用に直接的効果をもたらし、また、その酸素は汚泥の活性化を促進せしめ、やがてそれが *Chlorella* への栄養化をもたらすので、間接的あるいは2次的効果をも示すことが実験的に解明された。

このように、水中通気は植物体の炭酸同化作用ならびに有機汚泥の分解をもはかるので、水界におけるエネルギーフローを促進する大きな役割を果しているものといえる。

### 摘 要

- 1) 水中通気効果を知る目的で海産 *Chlorella* を用い、通気の直接的ならびに間接的効果を実験的に調べた。
- 2) 大気中に含まれている炭酸ガスが通気によって補給されるので、それが海産 *Chlorella* の同化作用に直接的な効果を示すことが明らかになった。
- 3) 一方、水中通気を施すことによって、大気中の酸素は有機懸濁物の分解を促進するので、通気は汚泥の栄養化を促進する役割をも果していることがわかった。

### 引 用 文 献

- 平田八郎 (1964)：尾島事業場における餌料生物の培養—I，栽培漁業ニュース，2，4（瀬戸内海栽培漁業協会）。
- 平田八郎 (1969)：池底移動通気装置の試作，栽培漁業技術開発資料，7，1～5（瀬戸内海栽培漁業協会志布志事業場）。（プリント）。
- 平田八郎・金沢昭夫・山緑 勉・安田恵二 (1973)：しょうゆ粕微粒子等の Sludge 化に関する予備実験，鹿大水紀要，21，1～5。
- 田宮 博 (1952)：光合成，生理学講座，1，1～34，中山書店，東京。
- TSUKADA, O., T. KAWAHARA and H. TAKEDA (1974)： Good growth of *Chlorella saccharophila*, on the basis of dry weight, under NaCl hypertonic condition. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 40, 1007-1013.