

藍藻の連続培養と富栄養塩類の取り込み速度

山口大工（正）○中西 弘

宇部高専 村上 定瞭、原田 邦彦、深川 勝之

1. はじめに

藍藻は水の華を形成して、湖沼の富栄養化の原因になる。また緑藻などに比べて物質代謝や貯蔵物質に関して藍藻については不明な点が多い。そこで藍藻の連続・大量培養を試み、同時に富栄養化現象の解明などに重要な知見となる速度論的な観点から培養生理を検討した。今回検討した藍藻は大部分が*Chroococcus* sp.で極わずかに*Lyngbya martensiana*を含むものであった。

2. 実験および方法

農業用溜め池の底泥を NaNO_3 , NaH_2PO_4 を含む水道水を培養液として予備培養した。培養温度 30°C 、緩速攪はんしながら 100Wの白色ランプ2本を用いて光照射した。約10日で藻濃度は $30\text{mg}/\text{dm}^3$ になった。これを連続培養装置に移した。

連続培養装置の概略を図1に示す。培養温度 30°C 、攪はん速度 60rpm、光照射は200Wの白色ランプ4～8本を用いた。被照射面積は 2300 cm^2 である。自然沈降により藻類を濃縮し培養槽に返送した。培養液成分は NaHCO_3 , NaNO_3 , KH_2PO_4 を主成分とし、その他 MgSO_4 , CaCl_2 , FeCl_3 を含むものである。沈殿防止剤としてEDTAを加えてある。またpHはコントローラを用いて8.00に調節した。バッチ実験を行い、槽内の化学成分の経時変化を測定した。所定の初期濃度の培養液に対して光照射および暗条件下での藍藻の物質代謝による培養液の組成の経時変化を測定した。

3. 結果および考察

3-1 予備培養液の決定

予備培養液として (A) NaNO_3 (B) KH_2PO_4 (C) $\text{NaNO}_3 + \text{KH}_2\text{PO}_4$ を添加したものについて検討した。A液については藍藻は発生したが、B液については発生しなかった。C液の場合にはA液より増殖が活発であった。また、他の無機塩類についてはその有無にかかわらず、特に差異は認められなかった。したがって予備培養液としてC液を用いた。

3-2 連続培養の検討

図2は予備培養から連続培養に移行した後の藻濃度の経日変化を示したものである。初期藻濃度 $200\text{mg}/\text{dm}^3$ から培養して約一ヶ月間は直線的に増殖し、 $3000\text{mg}/\text{dm}^3$ に達するが、その後少し減少した。約二ヶ月後から抜き取りを開始すると再び藻濃度は増加した。以降 $3000\sim 4000\text{mg}/\text{dm}^3$ に維持されるように増殖分を抜き取った。このことは適当に増殖分を抜き取らないと藍藻が老化して増殖が停止することを示すものと思われる。なお図中、三ヶ月以降の藻濃度の一時的低下はバッチ実験を行い、藻を大量に抜き取ったためである。本

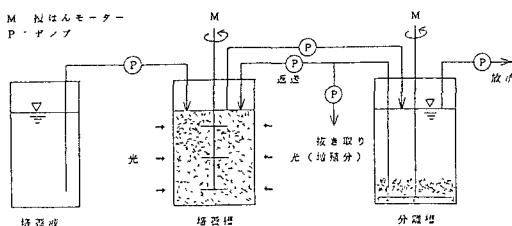


図1 微細藻類の連続培養装置

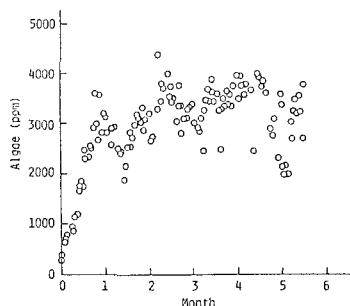


図2 連続培養槽内の藻濃度変化

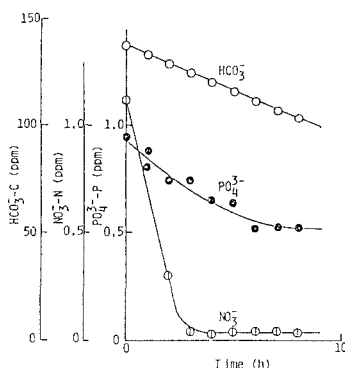


図3 無機栄養塩類濃度の経時変化 (光照射実験)

方法における藻濃度は平均 $3652\text{mg}/\text{dm}^3$ 、培養槽内の総量は $50.4\text{g-biomass}/\text{day}$ 、抜き取り量は平均 $2.54\text{g-biomass}/\text{day}$ であった。平均日令は18日、被照射面積に対する増殖率は $10.6\text{g-biomass}/\text{m}^2/\text{day}$ であった。

3-3物質代謝の速度論的検討

光照射下での培養槽内の各成分の経時変化の一例を図3に示す。C:N:Pが40:10:1のとき各成分の取り込み速度はほぼ等しい。C:N:Pを139:1.13:0.95のようにN,Pを少なくした場合、窒素源が全て消費されて、取り込みが停止するとリンの取り込みも停止した。これに対して炭素は窒素源がなくなっても、関係なく取り込まれた。これは本実験時間内では窒素が光合成に対して何らの影響も与えていないことを示すものである。光照射下で、炭酸イオン、硝酸イオンおよびリン酸イオンの取り込み速度を測定した。図4より藍藻の単位量当りの炭酸の取り込み速度 $1.4 \times 10^{-3}\text{g}/\text{g-biomass}/\text{day}$ を得た。また、藍藻の硝酸イオンの取り込み速度の濃度依存性を見ることにより、最大取り込み速度 $3.6 \times 10^{-4}\text{g}/\text{g-biomass}/\text{day}$ を得た。同様にリンの取り込み速度は $7.2 \times 10^{-4}\text{g}/\text{g-biomass}/\text{day}$ であった。

暗条件下での藍藻の物質代謝にともなう培養槽内の組成の経時変化の一例を図5に示す。DOは実験開始とともに急激に減少し、4時間後には全て消費されている。これは藍藻の呼吸反応によるものである。このときのDOの消費速度より、暗条件下での酸素の取り込み速度 $2.7 \times 10^{-3}\text{g}/\text{g-biomass}/\text{day}$ が得られた。

硝酸イオンの量を少なくすると、硝酸イオンは実験開始後すぐに消費され、リン酸イオンが放出される(図6)。放出速度は $8.2 \times 10^{-6}\text{g}/\text{g-biomass}/\text{day}$ であった。これを確認するための硝酸イオンが存在しない条件下での実験を行ったが、このような条件では反応開始後3時間まではリン酸イオンが放出され、その後はリンを取り込んでいる。このように暗条件下での藍藻のリンに関する代謝の挙動は極めて複雑である。

4. まとめ

本研究により、藍藻(Chroococcus sp.)の連続培養法が確立された。さらに主要無機栄養塩類に関する培養生理の知見が得られた。特に、暗条件下におけるリンの挙動はかなり複雑なことが分かった。著者らは過去2年間溜め池の動態について野外調査を行ってきたが、今回の成果を踏まえた検討により新しい展開が期待される。

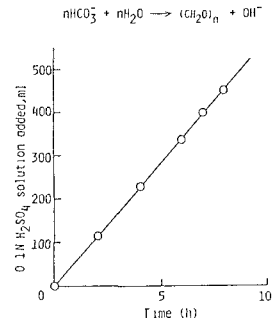


図4 二酸化炭素濃度の経時変化(光照射実験)

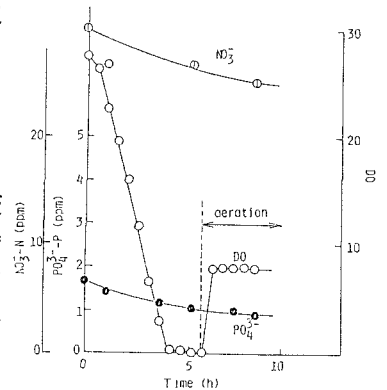


図5 無機栄養塩類濃度の経時変化(暗実験)

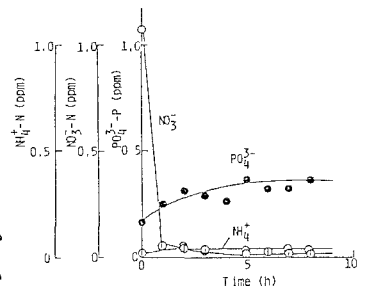


図6 硝酸塩濃度が低い場合の経時変化(暗実験)