

ナンノクロロプシスの培養

木村基文・杵山恵子・井上 顕・知名真智子(旧姓金田)・上田美加代・濱川 薫・村本 世利朝

1. 目的

ワムシ類の培養・魚類(ハマフエフキ・チンシラー・マダイ・スギ)及び甲殻類(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(以下、ナンノとする)を安定的に供給する。

1 面(70 キャン)、屋外 3kIFRP 水槽 12 面(FRP)、屋外角形 20kl キャンバス水槽 1 面(20 キャン)、屋内円形 100kl コンクリート水槽 3 面(S-2 ~ 4)を使用した。

ナンノの移送は、水槽に設置された水中ポンプ(200V)を用い、元種の植え継ぎ・ワムシへの供給を行った。ナンノの濃縮移送は、各水槽に設置された水中ポンプ(100V)を用いた。

2. 材料と方法

1) 培養施設

ナンノの培養は、屋外角型 100kl コンクリート水槽 6 面(以下 100-1 ~ 6 と略す)、屋外 30kl コンクリート水路水槽 1 面(長水路)、屋外円形 70kIFRP キャンバス水槽

培養水槽の水温は、屋外角型 100kl 水槽(100-5・6)に赤液棒状温度計(50 計)を垂下し、午前 8 時 30 分に測定した。

表1 平成17年度期の水槽別のナンノクロロプシスの立ち上げ回数と廃棄回数

水槽名	2004年		10月		11月		12月		2005年		1月		2月		3月		4月		5月		6月		7月		8月		合計		
	立上	廃棄	立上	廃棄	立上	廃棄	立上	廃棄	立上	廃棄	立上	廃棄	立上	廃棄	立上	廃棄	立上	廃棄	立上	廃棄	立上	廃棄	立上	廃棄	立上	廃棄	立上	廃棄	
100-1	1		4	2	3		3	1	2					4	1	3	3	2	2									26	5
100-2	1		3		3		2		3					2	0	3	1	3	1	2								22	2
100-3	1		3	1	1		3					1		2	2	4		2	1	4								23	2
100-4	1		4		3		3		2	1			2	2	2		2	1	4									26	1
100-5	2		2		1		3	1	1	2			2	2	4		2	1	4									25	2
100-6	2		3	1	2	1	2		2	3			3	2	4	1	2	1	5					3			33	4	
20キャンバス					2		2																					4	0
70キャンバス	1		3		3		4							1	4		1	1	5					2			24	1	
S - 2						1																				3	1	3	2
S - 3																										2	2	2	2
S - 4																										1		1	0
円FRP					1		1																			3		5	0
長水路							3	1																				3	1
合計	9	0	22	4	19	2	26	2	10	1	7	0	15	0	10	0	24	2	15	8	26	0	14	3	197	22			

2) 培養方法

元種は、主に濃縮保存した濃縮ナンノを使用した。

海水の消毒は、次亜塩素酸ナトリウム(カルキ)を海水 20kl 当たり 1 ℓ 入れ、通気を約 1 分間行った。次亜塩素酸ナトリウムを撈拌させた後は、通気による塩素の離脱を減らすため無通気とした。次亜塩素酸ナトリウムの中和は、次亜塩素酸ナトリウム 1 ℓ に対してチオ硫酸ナトリウム(ハイポ)を 250g を水槽に散布し、強通気で約 1 時間かけて行った。

培養時の通気は、水槽底に設置した塩ビパイプ(直径 16 mm)に開けた 1 ~ 2 mm の穴より、海水が撈拌される空気量を通気した。通気の強弱は、ナンノの培養に

影響を与えないため可能な限り弱くした。

ナンノの肥料は、培養水 10kl 当たり、硫酸 800g、過リン酸石灰 150g、クレワット 50g とした。肥料は、海水を中和して 1 時間後に水道水で軽く溶解させ、漏斗を用いて水槽に散布した。

ナンノの培養開始濃度は、濃度 500 万細胞/ml となるよう元種(濃縮ナンノ)を植え付けた。

ナンノの濃度計測は、毎朝午前 9 時に培養水槽よりサンプルを 100ml づつ持ち帰り、トーマの血球計算盤を用いて求めた。

ナンノの状態の指標として血球計算盤の計数枠内に視認できる原生動物の有無を記録した。

ナノの状態は、細胞数の増殖速度、細胞の形状、培養水面の泡の色、形、大きさにより判断した。また、濃度計数のために採水したナノサンプルを室内で 6 時間静止させ、容器中央に垂直にナノが凝集した場合には培養しているナノを廃棄した。

3) ワムシへの原液ナノの供給

ワムシへ給餌する原液ナノは、主に培養濃度の最も濃いナノを供給した。屋外で高密度に培養した原液ナノを屋内円形 100kl コンクリート水槽に移送した。ワムシ水槽への供給はこの円形水槽より行った。

表2 濃縮ナノの生産量・使用量と淡水クロレラの購入数 (2004. 9 ~ 2005. 8)

年 月	生産量							保有量 濃縮ナノ 月初め 保有量 (%)	使用量					合計 (%)	購入 箱数 (20%)	
	原液ナノ 平均濃度	濃縮 回数	濃縮 容積	平均 濃度	濃縮 ナノ量	濃縮 ナノ量 50億/cc換算	濃縮 回収率		元種 ナノ加 ワムシ	水槽添加			その他			
	(千万個/cc)	(kl)	(億/cc)	(%)	(%)	(%)	ワムシ		甲殻類	魚類						
2004 9	1,850	5	130	44	290	255	74	643	70	0	0	8	0	250	328	0
10	2,229	25	700	50	1,844	1,844	81	605	240	0	192	0	0	6	438	0
11	2,356	9	270	59	653	771	83	1,998	20	0	786	25	126	0	957	3
12	2,228	12	260	53	665	710	77	1,658	680	0	1,012	0	451	0	2,143	3
2005 1	2,393	16	415	52	1,347	1,395	96	181	165	0	0	0	68	0	233	4
2	2,254	10	250	51	744	759	90	1,279	0	0	0	0	0	0	0	9
3	2,483	13	330	55	964	1,057	94	2,020	180	0	0	0	4	0	184	36
4	2,841	10	248	53	728	772	77	2,798	225	0	3	0	160	0	388	31
5	2,145	14	400	50	1,055	1,055	84	3,070	150	0	1,080	0	153	1,095	2,478	29
6	2,055	11	250	47	788	741	91	1,588	388	0	192	0	295	0	875	57
7	1,611	26	880	41	2,262	1,855	85	700	340	0	311	28	77	2	758	71
8	1,623	12	360	36	1,012	729	80	2,074	463	895	325	42	656	0	2,381	34
合計	2,172	163	4,493	49	12,352	11,942	84	18,614	2,921	895	3,901	103	1,990	1,353	11,163	277

4) 濃縮

ナノの濃縮は、ナノ濃縮装置(ヒロマイト: ENRICH100- DXCP)を用いた。

濃縮は、1,500 ~ 3,000 万細胞/cc に達したナノを対象に行った。濃縮する原液ナノの水量は、主に 20 ~ 30kl であった。濃縮に要する時間は、20kl で 4 時間、30kl で約 6 時間であった。

濃縮は、午前 9 ~ 午後 5 時に行い、濃縮ナノの回収は濃縮終了後直ちに行った。また、濃縮密度に達したナノの保有量が多い場合には、濃縮装置の自動タイマーを利用し、午前 3 時より 30kl 以上を夜間濃縮し、翌朝に回収作業を行った。

濃縮装置を用いて生産される濃縮ナノは、濃い液と、薄い液が別々の排出口から排出されるため別々のコンテナに回収した。

濃縮ナノの細胞密度の計算は、各排出口より回収した濃縮ナノをスポイドで 2cc とり、海水で 1 ℓ に希釈した後に、培養濃度の計測と同様の方法で行った。

5) 保存

濃縮装置で生産した 2 種類の濃縮ナノは、種苗生産水槽への添加、ワムシの餌料、ナノの種など用途に応じて保存方法を変えた。

濃縮ナノは、0 に設定した冷蔵庫で、濃縮日・濃縮濃度を記入したラベルを貼り付け保存した。

種苗生産、ワムシ培養に必要な濃縮ナノの保有量を確保するため、プレハブ冷蔵庫内に、移動可能なキャスター付きの棚(3 段)を 6 個入れ、各棚にはゴードローリータンク(L-100 型)を 15 個収納した。

種苗生産水槽に添加する濃縮ナノは、ローリータンクに 90 ℓ づつ入れ通気保存した。ワムシの餌料として使用する濃縮ナノは、ローリータンクに保有した後、10 ℓ タンクに入れ無通気で保存した。

ナノの元種として使用する薄い濃縮液は、20 ℓ 白色ポリタンクに入れ無通気で保存した。

濃縮ナノへの通気は、冷蔵庫内に設置した浄化槽用コンプレッサ(日東工器:LA-60、吐出空気量 60 ℓ/分)よりエアーストーン(丸 50)を通じ行った。

3. 結果と考察

1) 培養・元種・濃縮・供給・保存

培養は、平成 16 年(2004 年)9 月 ~ 平成 17 年(2005 年)8 月に 13 水槽を用いて 197 回立ち上げた(表 1)。

廃棄例は 22 回で、照度の低下した梅雨に多い傾向にあった。立上回数に対する廃棄回数の割合を図 1 に示した。廃棄率は、平成 13 ~ 15 年度期に 20% 以上あったが、平成 17 年度期にかけ 10% に低下させることができた。照度の低下する冬期・梅雨には、培養水深を 20 ~ 30 cm に下げること、ナノの枯死をある程度回避

できた。

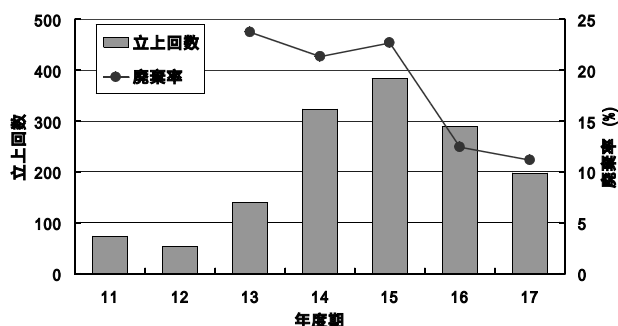


図1 ナンノの立上回数と廃棄率の推移

培養水槽の月毎の水温の推移を図 2 に示した。培養水温は、気温の影響を受け 12 ~ 3 月には平均水温が 20 以下になり、7 月には 30 を上回った。7 月以降ナンノの培養密度は 1500 万細胞/cc 前後で推移し(表 2)、培養水温の上昇が高密度培養の阻害要因の一つと考えられた。

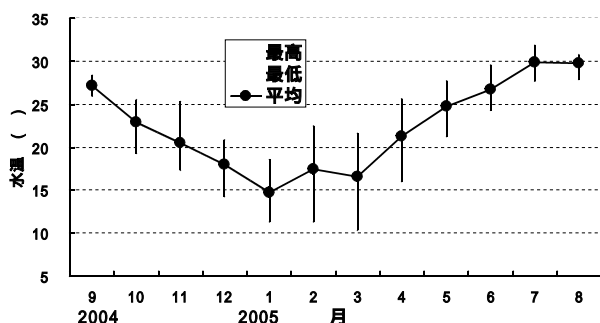


図2 ナンノ屋外水槽の水溫変化

濃縮は、平成 16 年(2004 年)9 月~平成 17 年(2005 年)8 月に、平均濃度 2,172 万細胞/cc、4,493kl のナンノ(2 千万細胞換算 4,693kl)を、合計 163 回実施した(表 2)。培養したナンノの 82 %を濃縮した。濃い濃縮ナンノの平均濃度は 49 億細胞/cc、生産量は 12,352 ℓであった。濃い液と薄い液を合わせたナンノの濃縮率は 84 %となり、平成 13 年度以降変化はない。濃縮装置の中空紙膜の薬浴洗浄は年 1 回の頻度で行っており、濃縮率の低下は見られない。

ワムシの餌としてワムシ培養水槽に供給したナンノは、平均濃度 2,164 万細胞/cc、1,635kl(2 千万細胞換算 909kl)で、培養したナンノの 16 %であった。マダイとハマフエフキを生産した 11・12 月にかけてワムシへ供給した(図 3)。

ナンノ培養の元種としての使用量は、平均濃度 1,972

万細胞/cc、122kl(2 千万細胞換算 107kl)で、培養した原液ナンノの約 2%となった。

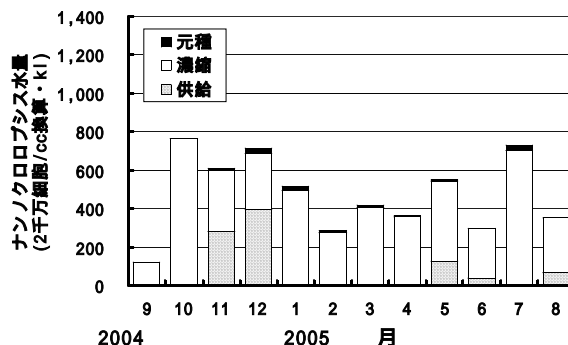


図3 月毎のナンノの使用量

年度期ごとの原液ナンノの使用量推移を図 4 に示した。平成 14 年度期以降淡水クロレラの使用量を抑えるため濃縮量が増加した。平成 17 年度期は元種とワムシへの供給量が減少したため使用総量は 6,000kl 以下となった。

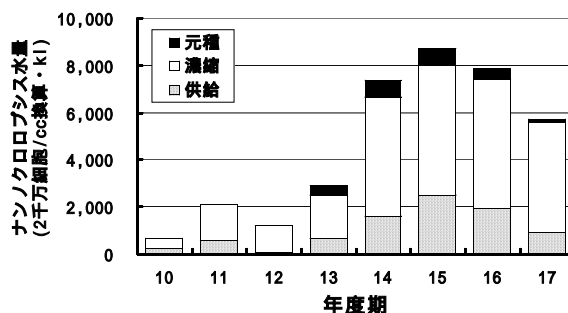


図4 年度期毎のナンノの使用量

濃縮ナンノの月初め保有量は、1 月に 181 ℓに減少した。その後 5 月まで使用しなかったため 3,070 ℓまで回復したものの、冷蔵保存した濃縮ナンノへの通気不手際により約 1,000 ℓを廃棄した(図 5)。冷蔵保存した濃縮ナンノは、通気さえすれば 1 ヶ月以上経過しても細胞沈殿による腐敗臭は無く、元種・ワムシの餌として使用可能であるが、無通気では品質の劣化は避けられない。

2) 濃縮ナンノの用途別使用量

濃縮ナンノの用途別使用量を表 2 に示した。濃縮ナンノは、ナンノ培養の元種として 2,921 ℓ(26%)を使用した。ワムシの餌として、S 型に 895 ℓ、SS 型に 3,901 ℓ、合計 4,796 ℓ(43%)を使用した。種苗生産水槽への

添加量は、カニに 103 ℓ、マダイ・ハマフエフキ・スギに 1,990 ℓ (18 %)であった。

月毎の用途別の濃縮ナンの消費量を図 5 に示した。濃縮ナンは、マダイで 12 月、ハマフエフキで 11・5・8 月の種苗生産に使用した SS 型ワムシの消費量が多くなった。3・4 月にはスギの種苗生産を行ったため濃縮ナンの消費量は減少した。

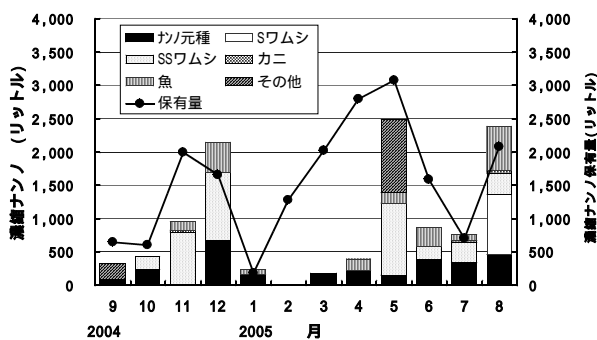


図5 濃縮ナンの月毎の消費量と保有量

年度期別に見た濃縮ナンの生物毎消費量の推移を図 6 に示した。甲殻類・魚類の生産水槽での消費量は、平成 12 年度期以降ほぼ変化していない。ワムシの餌としての消費量は、平成 13 年度期より急増し、平成 16 年度期にかけ約 7 割を占めている。ナンの元種としての消費量は年度期毎に増加している。ナンの廃棄率は、平成 13 年度期から 17 年度期にかけ減少している(図 1)。この廃棄率を下げた原因の一つとして、濃縮ナンの元種使用が考えられる。原液ナンを元種として使用する場合には、元種移送時に送水管内に滞留した劣悪なナンの混入を完全に防ぐことは難しい。

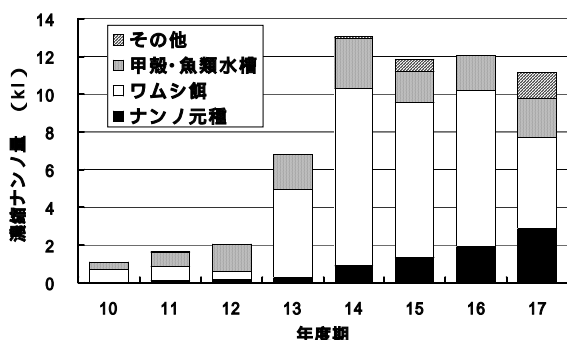


図6 濃縮ナンの生物毎の消費量

3) 淡水クロレラの購入量

平成 8 ~ 17 年度期の淡水クロレラの購入箱数と金額の年毎の推移を図 7 に示した。購入した淡水クロレラは、クロレラ工業の淡水生クロレラ V12(以下 V12 と略

す)、スーパー淡水生クロレラ V12(SV12)、ハイグレード淡水生クロレラ(HGV12)と日清マリンテックのフレッシュグリーン 600(FG600)の 4 種類であった。SV12 はワムシの二次強化に、その他の 3 種は主にワムシの一次培養の餌料として用いた。V12 の使用量は、ワムシの連続培養装置を稼働させた平成 11 ~ 14 年度期に急激に増加した。平成 15 年度期以降連続培養装置をワムシの二次強化に使用し、淡水クロレラの使用量を抑えることができた。

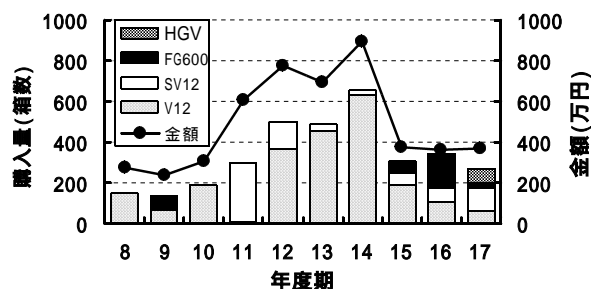


図7 淡水クロレラの購入数と金額の推移

種苗生産に使用した濃縮ナンノと淡水クロレラ総量の推移を図 8 に示した。平成 11 年度期以降施設規模の拡大に伴い濃縮ナンの生産量と淡水クロレラの購入量の総量は、平成 14 年度期に 25kl を超えるまで増加し、平成 15 ~ 17 年度期にかけ約 20kl で推移した。魚類と甲殻類の種苗生産数量が大きく増加しない条件に

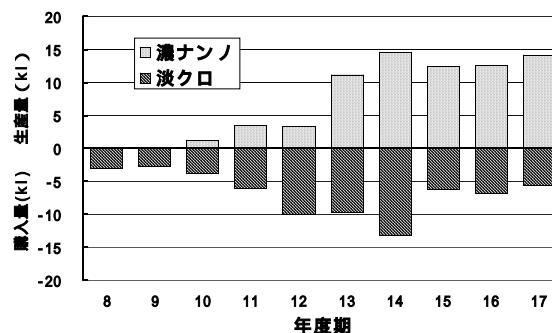


図8 濃縮ナンの生産量と淡水クロレラの購入量

において、植物プランクトンの消費量を抑制することができなかった。