

ナンノクロロプシスの培養

木村基文^{*1}・上田美加代・濱川 薫

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。

2. 材料と方法

1) 培養施設

ナンノの培養は、屋外角型 100k ℓ コンクリート水槽 6面(以下 100-1 ~ 6 と略す)、屋外 30k ℓ コンクリート水路水槽 1面(長水路)、屋外円形 70k ℓ FRP キャンバス水槽 1面(70 キャン)、屋外 3k ℓ FRP 水槽 12面

(FRP)、屋外角型 20k ℓ キャンバス水槽 1面(20 キャン)、屋内円形 100k ℓ コンクリート水槽 2面(S-1・2)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。ナンノの濃縮のための移送は、濃縮装置に連結された水中ポンプ(100V)を濃縮対象の水槽に持ち運び移送を行った。

培養水槽の水温は、屋外角型 100k ℓ 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。屋内円形水槽の水温は、各水槽の水温センサーの表示水温を記録した。

表1 平成14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	2001年				2002年								合計													
	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	立ち上げ	廃棄												
100-1	1	4	3	4	2	4	1	4	4	2	5	2	4	2	1	3	1	1	32	12						
100-2	2	5	5	3	4	1	4	3	3	3	6	2	1	4	2	3			37	10						
100-3	1	4	2	3	3	4		3	5	1	4	1	5	3		4		2	35	7						
100-4	1	4		4	2	5	1	3	2	1	5	1	4	2		5	2	4	36	7						
100-5	1	4		4	1	4	1	4	2	1	4		4	4	1	6	1	3	36	5						
100-6	1	4	1	2	1	5	1	3	2	1	4		6	4	1	4	1	4	36	6						
20キャンバス	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-						
70キャンバス	1		1	1	2		4	1	3		5		5	1	6		4		28	3						
S-1			3	1	2		5		4		2	1	1		5				18	2						
S-2			3	3	4	2	5	2	4	1	1	1	1	1	5	1			19	10						
S-3																			0	0						
S-4																			0	0						
FRP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1		1	0						
長水路		1		3	2	2	1	3	2				2		2	1		1	14	6						
合計	0	0	9	0	35	13	32	15	43	10	32	1	26	11	34	6	47	2	17	4	32	7	17	0	292	68

2) 培養方法

元種は、濃縮保存した低濃度の濃縮ナンノ(20億細胞/m ℓ)と水槽で培養中の原液ナンノ(2,000万細胞/m ℓ)を使用した。

培養海水は、濾過海水をバックフィルタ(BF500型: 100ミクロン)付き紫外線殺菌装置を通して水槽に貯めた。海水の消毒は、次亜塩素酸ナトリウムを海水 20k ℓ 当たり 1 ℓ 入れ、通気を約 1 分間行った。次亜塩素酸

ナトリウムを攪拌させた後は、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、海水が攪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

*1 執筆者・担当者

影響を与えないため可能な限り弱くした。

ナンの肥料は、培養水 10k ℓ 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。

ナンの培養開始濃度は、濃度 500 万細胞/m ℓ となるよう元種を植え付けた。

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

ナン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。

ナンの状態は、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、濃度計測のために採水したナン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ンノが凝集した場合には培養しているナンノを廃棄した。

3) ワムシへの原液ナンの供給

ワムシへ給餌する原液ナンノは、主に培養濃度の最も濃いナンノを供給した。また、雨天続きの場合には、培養状態の悪いナンノもワムシの餌とした。

表2 平成14年度期の濃縮ナンノクロロプシスの生産量・使用量と淡水クロレラの購入数 (2001. 9~2002. 8)

年 月	生産量							保有量		使用量						淡水 クロレ 購入 箱数 (20箱)	
	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	濃縮ナノ 月初め 保有量	種 ナノクロ ロプシ	餌 ワムシ			水槽添加				合計
	(千万ℓ/cc)	(回)	(kl)	(億/cc)	(%)	(%)	(%)	(%)	L型	S型	SS型	甲殻類	魚類	その他			
2001 9	—	—	—	—	—	—	—	—	0	—	18	0	—	37	—	55	5
10	—	—	—	—	—	—	—	350	—	—	—	—	—	—	—	350	5
11	2,386	14	280	45	1,455	1,310	93	200	120	960	14	0	28	0	1,122	27	
12	1,921	15	300	37	1,357	1,004	87	273	90	247	204	0	0	27	568	58	
2002 1	1,838	16	313	36	1,499	1,079	96	1,161	200	0	1,679	0	0	78	0	1,957	52
2	2,633	31	620	63	1,850	2,331	86	588	0	0	296	0	0	0	2	298	13
3	2,764	26	560	65	1,340	1,742	79	2,197	0	17	716	171	60	109	1,073	55	
4	2,460	25	520	62	1,280	1,587	83	2,281	0	93	1,478	112	0	500	2	2,185	93
5	2,095	41	840	58	2,040	2,366	86	1,391	0	13	1,002	4	0	574	10	1,603	102
6	2,133	17	330	55	875	963	82	1,863	0	47	1,097	0	20	572	50	1,786	93
7	1,512	17	410	43	1,020	877	75	510	160	7	544	0	228	263	7	1,209	126
8	2,033	20	400	37	1,920	1,421	85	390	0	0	668	0	48	110	826	29	
合計	2,178	222	4,573	50	14,636	14,680	85	10,854	920	1,384	7,716	287	384	2,270	71	13,032	658

4) 濃縮

ナンの濃縮は、ナンノ濃縮装置(ヒロマイト: ENRICH100-II DXCP)を用いた。

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

濃縮は、午前 9 ~ 午後 5 時に行い、濃縮ナン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ン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 30k ℓ 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ンノは、濃い液と、薄い液が別々の排出口から排出される。2002 年 1 月まで合わせて回収していた濃縮ナンノを 2002 年 2 月より別々のコンテナに回収した。

濃縮ナンの細胞密度の計算は、各排出口より回収した濃縮ナンノをスポイトで 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) 保存と供給

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

濃縮ナンノは、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ン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。その他、平成 13 年度まで使用した 10 ℓ 白色ポリタンクを 140 個収容できる棚を 3 個作製し、計 3k ℓ の濃縮ナンの保有に備えた。

種苗生産水槽に添加する濃縮ナンノは、ローリータンクに 90 ℓ ず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ンノは、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。

ナン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。

長期保存による細胞の沈殿と鮮度低下を防ぐため平成13年度より濃縮ナンノへの冷蔵庫外からの通気を行った。平成14年度からは、濃縮ナンノへの外気通気に伴う結露水の混入を防ぐため、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)を通じ通気攪拌した。

ワムシへの給餌・種苗生産水槽への添加に必要な濃縮ナンノは、タンクよりビーカーに取り出した。

表3 平成14年度期の使用別ナンノ水量(2000万細胞換算)

年	月	元種 水量 (kl)	濃縮 水量 (kl)	ワムシへの 供給水量 (kl)	合計 水量 (kl)
2001	9	0	0	0	0
平成13年	10	0	0	5	5
	11	187	311	356	854
	12	153	288	150	591
2002 平成14年	1	155	285	301	742
	2	44	816	56	915
	3	22	769	7	798
	4	44	640	163	847
	5	36	880	76	992
	6	0	350	230	580
	7	29	307	241	577
	8	69	407	0	476
合計		738	5,053	1,585	7,375

3. 結果と考察

1) 培養・元種・濃縮・供給・保存

培養は、平成13年(2001年)10月～平成14年(2002年)8月にかけて、11水槽を用いて292回行った(表1)。廃棄例は68回で、日照時間が短く照度の低下する11～1月に多い傾向にあった。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、培養照度の減衰を軽減させナンノの枯死を防いだ。経験的に判断すると、ナンノ枯死の原因としては、照度不足が

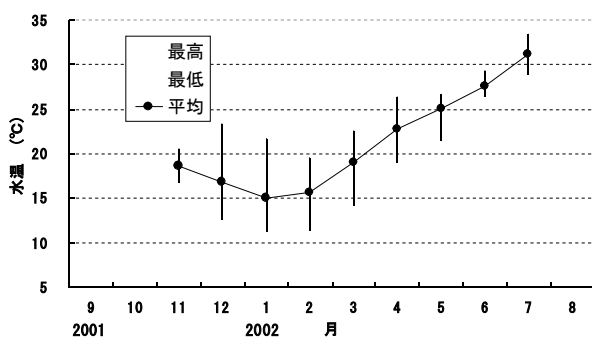


図1 ナンノ屋外水槽の水温変化

主要因と思われた。

培養水槽の月毎の水温の推移を図1に示した。培養水温は、気温の影響を受け11～3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月の培養水温では、ナンノは2,000万細胞/cc以上の濃度に上昇しなかった(表2)。降水による塩分濃度の低下でもナンノは枯死することはなく、降水による培養水深の増加で照度不足となり枯死する事例があった。よって、ナンノの培養では、悪天候や培養水量の増加により照度不足と考えられる場合には、培養水深を20 cm以下に保つことが最良の方法と思われた。

元種・濃縮・ワムシへ供給したナンノの総量は、2千万細胞換算で7,375k ℓとなった(表3)。

元種としての使用量は、平均濃度2,276万細胞/cc、培養水量639k ℓ(2千万細胞換算738kl)で、培養総水量の約10%を占めた(表3)。元種として使用する割合は、培養開始3ヵ月が多かった(図2)。

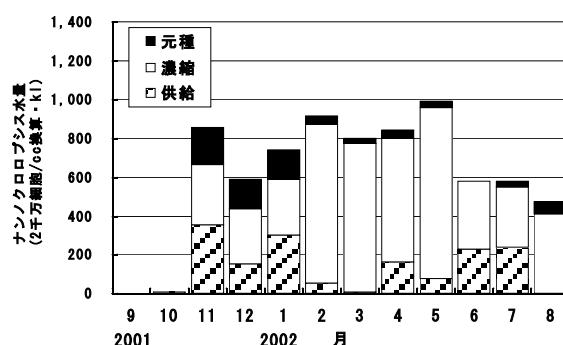


図2 月毎のナンノの使用量

濃縮は、平成13年(2001年)11月～平成14年(2002年)8月に、平均濃度2,178万細胞/cc、4,573k ℓのナンノ(2千万細胞換算5,053kl)を、合計222回実施した(表3)。培養したナンノの約75%を濃縮した。濃い濃縮ナンノの平均濃度は50億細胞/cc、生産量は14,636 ℓであった。薄い濃縮ナンノは2002年の2月より生産し、平均濃度は18.7億細胞/cc、生産量は7,015 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85%となり、平成13年度と同様の結果となった。

ワムシの餌としてワムシの培養水槽に供給したナンノは、平均濃度2,164万細胞/cc、1,635k ℓ(2千万細胞換算1,585k ℓ)で、培養したナンノの約25%であった(表2)。マダイの生産期間に当たる11～1月とハマフ

エフキの生産期間の4～7月にかけてワムシへの供給量が多くなった(図1)。

濃縮ナンの月初め保有量は、200～2,281ℓの範囲で推移した(図3)。濃縮ナンの保有量は、消費量の増えた1月末には500ℓに減少し、消費量の減った2月末には2,000ℓ以上に回復した。通気冷蔵保存した濃縮ナンは、1ヵ月以上経過しても細胞沈殿による腐敗臭は無く、元種・ワムシの餌として問題は無かった。

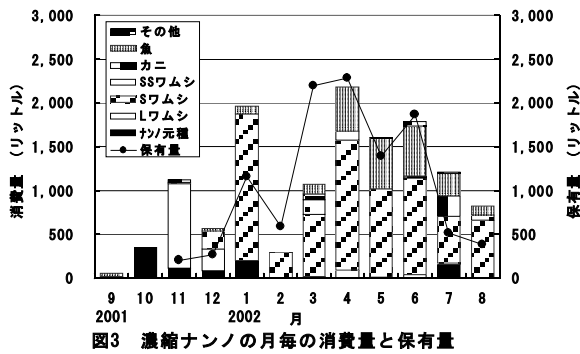


図3 濃縮ナンの月毎の消費量と保有量

2) 濃縮ナンの用途別使用量

濃縮ナンの用途別使用量を表2に示した。濃縮ナンは、ナン培養の元種として920ℓ(7%)を使用した。ワムシの餌として、L型ワムシに1,384ℓ、S型に7,716ℓ、SS型に287ℓ、合計9,387ℓ(72%)を使用した。種苗生産水槽への添加量は、カニに384ℓ、マダイに105ℓ、ハマフエフキ・チンシラー・スギに2,165ℓ(20%)であった。

月毎の用途別の濃縮ナンの消費量を図3に示した。L型ワムシの生産に際しては、マダイ生産期前に多量の濃縮ナンを与えてワムシを培養したため、結果的にマダイの種苗生産にこのワムシを使用することなく廃棄し、濃縮ナンを無駄に使用した。S型ワムシへの濃縮ナンの使用量は、マダイ生産期の1月、ハマフエフキ生産期の3～6月に多くなった。ハマフエフキ種苗生産に使用するSS型ワムシへの濃縮ナンの使用量は、SS型ワムシの培養不調により極少量となった。

3) 淡水クロレラの購入量

平成8～14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4に示した。は、生クロレラV12(以下V12と略す)とスーパー生クロレラV12(SV12)の2種類であった。

ラは、生クロレラV12(以下V12と略す)とスーパー生クロレラV12(SV12)の2種類であった。

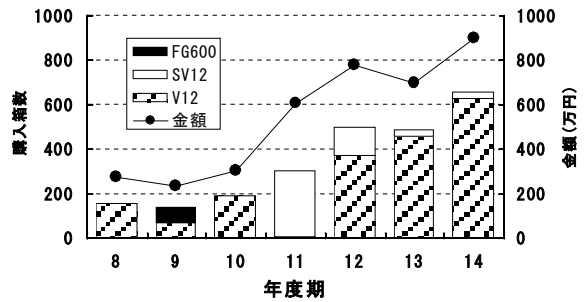


図4 淡水クロレラの購入箱数と金額の推移

V12はワムシの一次培養の餌料として、SV12はワムシの二次強化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年度期以降に急激に増加した。平成14年度期には購入金額900万円、購入箱数は約700箱となった。連続培養装置の導入により、ワムシの生産数は飛躍的に増加したものの、ワムシの生産数を制御することが難しく結果的にワムシ総生産数の半分以上を廃棄するワムシの過剰生産に陥った。

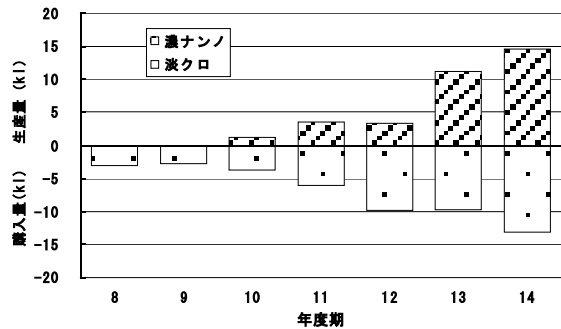


図5 濃縮ナンの生産量と淡水クロレラの購入量

平成13年度からはワムシの生産経費を抑えるため濃縮ナンを併用した大型水槽での低密度生産を中心にワムシの培養を試みた。しかしながら、施設活用の名目で稼働させた連続培養装置のため、淡水クロレラの購入量を減らすことはできなかった(図5)。今後は、効率的かつ安定的な魚類種苗生産のため淡水クロレラの使用量を減らし、連続培養装置の有効的な使用方法の模索が必要である。