

## シオミズツボワムシ(S型)の 閉鎖循環式連続培養法の開発

手塚信弘 (資源生産部 初期餌料グループ)

森田哲男 (瀬戸内海区水産研究所 増養殖部 閉鎖循環システムグループ)

### はじめに

クロマグロ、ヒラメ、マダイ等の魚類の種苗生産において、輪形動物に属するシオミズツボワムシ *Brachionus plicatilis* sp. complex (以下ワムシ) は、仔魚に最初に与える餌料として必要不可欠である。最近では、ワムシの大量培養技術として、約1ヶ月の長期間にわたり安定培養が可能で生産効率に優れた連続培養法が開発され、多くの種苗生産機関で採用されている。この連続培養法の利点は、連続注水によりワムシが一定の増殖率で増えるため、常に増殖状態が良好な餌料価値の高いワムシが生産できる点にある (小磯雅彦, 2010)。

しかし、この連続培養法も含めて、現在多くの機関で行われているワムシ培養には以下の問題点があり、その解決が強く望まれている。

- ①連続培養法も含めたワムシの培養からは大量の有機物を含んだ培養廃水が生じ、その浄化処理に多くの費用がかかる。このため、環境への負荷が少なく、かつ廃水処理のコストを必要としないワムシ培養技術が求められている。
- ②ワムシの増殖率は低塩分で高くなることから、培養に使用する海水は水道水等を用いて希釈している。このため、水道水にも費用がかかり、海水取水費用も含めたコストの低減が強く望まれている。
- ③ワムシ培養ではしばしば増殖不良が発生し、その原因の一つに培養水槽に注水する海水中の細菌が原因の一つと疑われている。このため、培養を安定させるためにはなるべく新たな海水を注水しない培養方法の開発が重要となっている。

現在、魚類の親魚養成や種苗生産では水槽内へ新たな海水を注水せずに、水槽からの廃水を再利用する閉鎖循環式の飼育システムが開発されている (山本義久, 2010)。そこで、上記の問題を解決するため、ワムシの連続培養系に廃水を再利用するための装置を組み合わせた閉鎖循環式連続培養システムを試作し、培養試験を行った。

### 培養システムの概要と試験方法

試作したシステムの構成は、ワムシの培養水槽と収穫水槽 (ともに1kLふ化水槽)、生物ろ過装置 (後述)、泡沫分離装置 (ボルケーノVL-3D, オーシャンアース製)、受水槽 (1.5kL, 円型水槽)、循環ポンプ3台 (100W) とした (図1)。

生物ろ過装置の模式図を図2に示した。生物ろ過装置には2台の0.5kL角型水槽を用い、各水槽にろ材としてサンゴ礫250kgずつを設置した。これらを上下に重ねて配置し、下の水槽から上の水槽の海水をポンプアップして2水槽の海水を循環させた。海水中の毒性の高いアンモニア態窒素を

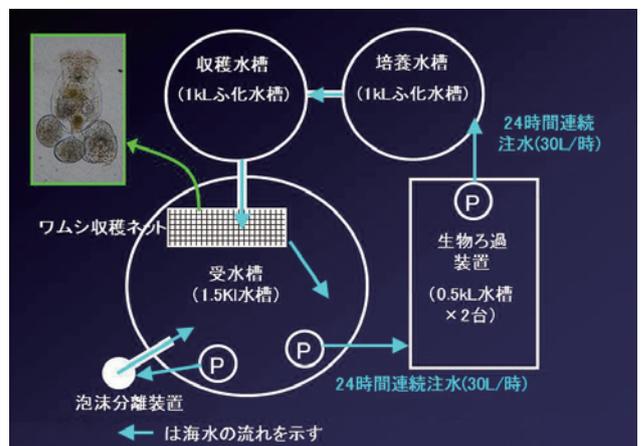


図1 閉鎖循環式ワムシ連続培養システムの模式図

毒性の低い硝酸態窒素へ硝化させる効率を上げるため、海水がろ材と十分に接触するように、水槽内にはプラスチック製板で5カ所の仕切りを設けた。また、生物ろ過装置内の海水に酸素を供給するために、水槽底面3カ所に設置したユニホース（長さ50cm）から強く通気した。

試験開始時のシステム全体の海水量は合計3kLで、培養水槽、受水槽、生物ろ過装置に各1kLとした。海水を水道水で希釈して塩分を27psuとした。ポンプにより受水槽の海水を生物ろ過装置に24時間連続注水した。注水量は、収穫率（収穫水槽の水量/培養水槽の水量）が0.7となるよう、30L/時とした。生物ろ過装置から培養水槽にも同様にポンプで24時間連続注水した（30L/時）。培養水槽のワムシを含む海水は、オーバーフローにより収穫水槽槽に24時間かけて貯留

した。収穫水槽に貯留したワムシを含む海水は1日に1回その全量をホースで受水槽に移した。この時、受水槽中のホースの先端にワムシ収穫ネットを取り付け、ワムシを取り除いて海水だけを受水槽に移した（図3）。受水槽に移した海水中に多量に存在するワムシの排出物や残餌等の有機物は泡沫分離装置を用いて除去した。

培養試験にはS型八重山株のワムシを、その餌料として市販の濃縮淡水クロレラ（以下クロレラ）を用いた。本システムでの適正な給餌量を把握するために、クロレラの給餌量を5, 7, 9L/日とし、5L/日区は2例、7L/日は3例、9L/日は1例の計6例の培養試験を行った。これらのクロレラに水道水を加えて10Lに希釈したものを定量ポンプ（電磁式, EHN-R）で培養水槽に24時間かけて連続給餌した。試験期間は30日とし、培養水槽と生物ろ過装置の水温、塩分、pH、DO、3態窒素の濃度を1日1回、午前9時に、HACH社製の吸光光度計DR-2000と専用試薬を用いて測定した。また、培養水槽と収穫水槽のワムシ密度を毎日計数し、水槽の水量からワムシの保有量、日間収穫数、収穫率（収穫槽の水量/培養槽の水量）を求めた。

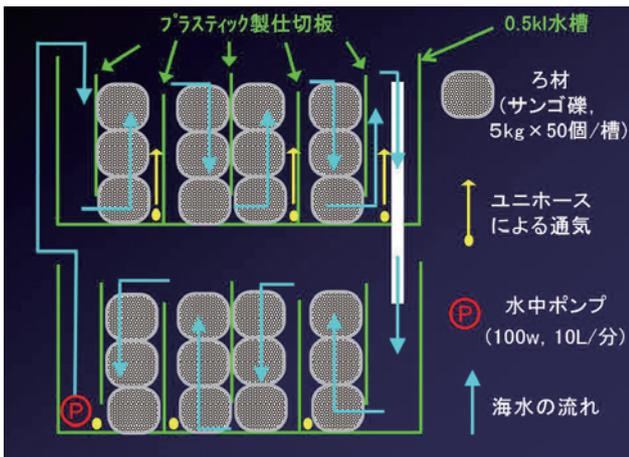


図2 生物ろ過槽の模式図



図3 閉鎖循環式培養装置の全体写真（受水槽でワムシを収穫中）

### 培養試験

6例とも新たな海水を全く添加せずに、廃水を出すこともなく、30日間の連続培養に成功した。6例とも収穫率は0.7、培養水槽の水温は25～27℃、溶存酸素は培養水槽で60%以上、生物ろ過装置で90%以上であった。培養水槽におけるワムシの平均密度はクロレラ給餌量の増加に伴い高くなった。ワムシの平均日間収穫数も給餌量の増加に伴い多くなり、5L/日区では19～20億個体/日、7L/日区は28～29億個体/日、9L/日区は39億個体/日であった（表1）。

これら6例の培養水槽の海水中の平均アンモニア態窒素濃度は、給餌量が多い区ほど高く、28～56mg/Lの範囲にあった。毒性の高い非解離アンモニア濃度も同様な傾向にあり、0.9～1.8mg/Lの範囲にあった。これに対して、生物ろ過装置から培養水槽に注水する海水の平均アンモニア態窒素

濃度は0.2~0.6 mg/L, 平均非解離アンモニア濃度は0.11~0.56 mg/Lで, 培養水槽の海水よりも低かった (表2)。このことから生物ろ過装置が十分に機能したことが考えられた。非解離アンモニアは約 2 mg/Lでワムシの増殖に悪影響を及ぼすことが示されている (Yu et al., 1986)。9 L/日区の培養水槽の海水の平均非解離アンモニア濃度は1.8 mg/Lで, Yu et al.が示した値に近かった。このことと給餌量が多い区ほど非解離アンモニア濃度が高くなる傾向にあったことから, クロレラの給餌量を 9 L/日以上にすると, 非解離アンモニア濃度は 2 mg/Lを超える可能性が高く, 給餌量 9 L/日は本システムでの給餌量の上限に近いと考えられた。

培養水槽中の 3 態窒素濃度の経日変化は 6 例とも同様な傾向を示したため, ピーク時の濃度が最も高かった 9 L/日区の結果を図 4 に示した。アンモニア態窒素濃度は培養開始 5 日目までは上昇して最高70mg/Lに達したが, それ以降はほぼ一定の値となった。亜硝酸濃度は培養開始 5~7 日目に最高 4 mg/Lのピークに達した後に減少し, 10日目以降は 1 mg/L以下であった。硝酸濃度は各区とも経日的に増加し, 9 L/日区では最大360mg/Lに達した。これらのことと生物ろ過装置から培養水槽に入る海水のアンモニア濃度が低かったことから, 培養水槽内で増加した海水中的アンモニアは生物ろ過槽で細菌によりアンモニアから亜硝酸, 硝酸へと硝化されたと考えられた。

表 1 各試験区の収穫率と平均日間収穫数

| 試験区<br>(給餌量) | 収穫率 | 日間収穫数       |             |             | S.D. |     |
|--------------|-----|-------------|-------------|-------------|------|-----|
|              |     | 平均<br>(億個体) | 最小<br>(億個体) | 最大<br>(億個体) |      |     |
| 5 L/日        | 1   | 0.71        | 19.6        | 14.6        | 25.8 | 2.5 |
|              | 2   | 0.72        | 20.7        | 15.0        | 34.4 | 4.2 |
| 7 L/日        | 1   | 0.73        | 28.4        | 20.4        | 38.1 | 3.8 |
|              | 2   | 0.72        | 29.7        | 24.9        | 38.0 | 3.6 |
| 9 L/日        | 3   | 0.71        | 28.1        | 23.4        | 37.8 | 2.9 |
|              | 1   | 0.72        | 39.2        | 31.3        | 49.1 | 4.7 |

表 2 各試験区のアンモニア態窒素, 亜硝酸態窒素, 硝酸態窒素の平均濃度

| 試験区<br>(給餌量) |   | 培養水槽内の海水    |               |               |              |
|--------------|---|-------------|---------------|---------------|--------------|
|              |   | アンモニア       |               | 亜硝酸<br>(mg/L) | 硝酸<br>(mg/L) |
|              |   | 総<br>(mg/L) | 非解離<br>(mg/L) |               |              |
| 5 L/日        | 1 | 28.6        | 1.0           | 0.29          | 76.7         |
|              | 2 | 29.6        | 0.9           | 0.43          | 82.1         |
| 7 L/日        | 1 | 39.4        | 1.4           | 0.55          | 103.7        |
|              | 2 | 45.2        | 1.5           | 0.75          | 131.5        |
|              | 3 | 40.3        | 1.4           | 0.42          | 103.5        |
| 9 L/日        | 1 | 56.9        | 1.8           | 1.68          | 172.2        |

| 試験区<br>(給餌量) |   | 培養水槽に注水する海水 |               |               |              |
|--------------|---|-------------|---------------|---------------|--------------|
|              |   | アンモニア       |               | 亜硝酸<br>(mg/L) | 硝酸<br>(mg/L) |
|              |   | 総<br>(mg/L) | 非解離<br>(mg/L) |               |              |
| 5 L/日        | 1 | 0.21        | 0.014         | 0.031         | 96.0         |
|              | 2 | 0.11        | 0.012         | 0.012         | 103.3        |
| 7 L/日        | 1 | 0.22        | 0.002         | 0.048         | 122.1        |
|              | 2 | 0.56        | 0.023         | 0.031         | 160.8        |
|              | 3 | 0.12        | 0.020         | 0.020         | 140.5        |
| 9 L/日        | 1 | 0.30        | 0.012         | 0.080         | 187.0        |

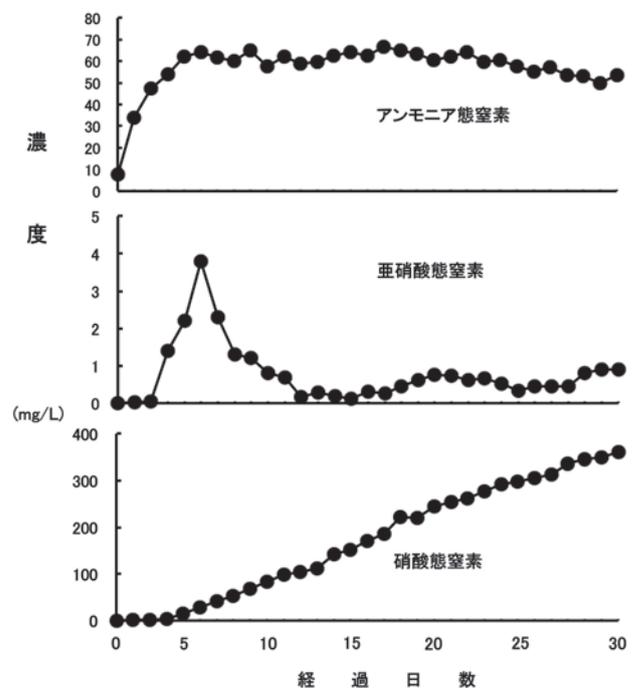


図 4 9 L/日区の 3 態窒素濃度の経日変化

**おわりに**

本システムを活用することで、培養廃水を全く出さずに30日間にわたって、毎日、最大約40億個体のS型ワムシを安定的に、収穫することが可能である。この1日あたりの生産数はヒラメ種苗を約40万尾生産できるワムシ個体数に相当し、本システム1～2台で平均的な海産魚の種苗生産機関のワムシ生産をまかなうことができる。また、本システムで使用する海水は培養開始時の約3kLだけであることから、潤沢に海水が使用できない内陸部や取水海水の水質が不良な場所でもワムシ培養が可能である。種苗生産に不可欠なワムシが海水条件の不利な場所でも培養できることから、閉鎖循環式の飼育システムと組み合わせることで内陸部等でも種苗生産場の設置が可能になると考えられる。

ワムシ培養における問題点としては、「はじめに」で示したように廃水による環境負荷、高額な廃水浄化費用、使用用水費用、注水海水中の細菌を原因とするワムシの増殖不調などがある。これらの問題に対して、本システムは廃水を再利用することで培養廃水を出さないため、毎日排出される培養廃水の浄化処理に必要なコストが不用となる。また、本システムは海水や水道水のコストの低減にも有効であった。通常のワムシの連続培養法では毎日、新鮮な海水を注水する必要がある。しかし、本システムで使用する希釈海水は培養開始時の3kLだけで、培養開始後は新しい希釈海水を使用しない。1例として、市販の人工海水（約2万円/kL）を使用する場合を想定して、両者のコストを比較した。人工海水で30日間、連続培養法でワムシを培養すると、培養開始時に必要

な海水の金額は1kL×2万円=2万円、毎日必要な海水の金額は0.7kL×30日×2万円=42万円で、合計44万円となる。一方、本システムにおける必要な金額は培養開始時の3kL×2万円=6万円だけであり、38万円のコスト低減が可能となる。加えて、本システムでは廃水を再利用するため、培養開始以降、新たな海水を全く使用しないことからワムシ培養水槽へ培養不調の原因となる細菌等を持ち込む可能性が低いと考えられる。このため、安定培養の面からも有効であろう。

現在、L型ワムシ小浜株等を用いた試験を実施し、L型ワムシでも本システムがある程度有効に使用できることが確認されている。今後は泡沫分離装置の必要性、生物ろ過装置の適正な規模・構造および、より効率の良いろ材等を明らかにし、より省コストで効率的なシステムを開発する必要がある。

**【引用文献】**

- 小磯雅彦, 2010: 効率的なワムシ培養手法, 「平成23年度栽培漁業技術研修会テキスト集」, 社団法人全国豊かな海づくり推進協会, pp. 1-13.
- 山本義久, 2010: 閉鎖循環飼育システムの開発と欧州の閉鎖循環養殖試験の現状, 「平成23年度栽培漁業技術研修会テキスト集」, 社団法人全国豊かな海づくり推進協会, pp.1-15.
- Yu J. P., Hirayama K. 1986: The effect of unionized ammonia on the population growth of the rotifer in the mass culture. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 52, 1509-1513.