

2016年のナンノクロロプシス培養

松尾和彦*1・平手康市*2・木村基文*3

1. 目的

S 型ワムシ大分株の培養、魚類(ハマフエフキ・ヤイトハタ・マダイ・スギ)の種苗生産、ナンノクロロプシス(以下、ナンノと略す)培養の元種として必要な濃縮ナンノクロロプシス(以下、濃ナンノと略す)の原料となるナンノを安定的に培養し、濃縮後に冷蔵保存する。

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)を使用した。

ナンノ元種の移送は、各水槽に設置された水中ポンプ(200V)で原液ナンノを元種として別水槽に植え継いだ。また、ナンノ濃縮装置への移送は、各水槽に設置された別の水中ポンプ(100V)を用いた。

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。

2) 培養方法

元種は、主に冷蔵保存した濃ナンノを使用した。

海水の消毒は、12%次亜塩素酸ナトリウム(以下、カルキとする)を海水 20kL 当たり 1L 入れ、通気を約 1 分行い攪拌した。カルキを攪拌させた後は、通気による塩素の離脱を減らすため無通気とした。カルキ 1L の中

和に対して、バケツで溶解したチオ硫酸ナトリウム(ハイポ)250g を水槽に散布した後、強通気で攪拌した。

培養時の通気は、水槽底に設置した塩ビパイプ(直径 16mm)に開けた 1 ~ 2mm 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、ナンノの培養密度に影響を与えないため可能な限り弱くした。

肥料は、培養水 10kL 当たり、硫安 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、ひしゃくを用いて水槽に散布した。

培養開始濃度は、濃度 500 万細胞 / mL となるよう元種(濃ナンノ)を植え付けた。

密度計測は、毎朝午前 9 時に培養水槽よりサンプル 100mL を測定室に持ち帰り、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、ラン藻の有無を記録した。

ナンノの培養状態、質は、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。

3) 濃縮

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

表1 2016年のナンノクロロプシス培養の培養回数と培養容量

水槽名	培養回数												合計
	2016						2017						
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	
100-1		1	2	1		1	1	1	2	2	2	2	15
100-2		1	2	1		1	1	1	2	2	1	2	14
100-3		1	2	1		1	1	1		2	1	3	13
100-4	1	1	1	2	1		1	1	2	2	2	1	15
100-5		1	1	2		2	2	1	1	4	1	1	16
100-6		1	2	1			1	1	2	1	2	1	12
合計	1	6	10	8	1	5	7	6	9	13	9	10	85
培養容量(kL)	25	159	231	166	11	78	210	188	224	368	240	303	2,203
培養量割合(%)	1	7	10	8	0	4	10	9	10	17	11	14	100
平均培養容量(kL)	25	27	23	24	11	16	30	31	25	31	30	30	26
廃棄数(回)	0	3	1	7	1	1	1	0	3	0	0	0	17
廃棄率(%)	0	50	10	88	100	20	14	0	33	0	0	0	20

*1 担当者、現在の所属: 漁港課

*2 現在の所属: 水産海洋技術センター石垣支所

*3: 執筆者

表2 2016年のナノクロロプシスの濃縮生産量、濃縮ナノ使用量と市販クロレラの購入数(2016.4~2017.3)

年	月	ナノ濃縮状況							濃縮ナノ使用量								市販 クロレラ 購入 箱数 (10L)		
		原液ナノ 平均濃縮密度 (千セル/mL)	濃縮 回数	濃縮 容積 (kL)	平均 濃度 (億/mL)	濃縮 ナノ 生産量 (L)	濃縮 ナノ 量 (L)	濃縮 回収率 (%)	種*1 ナノ 箱数	ワムシ 大分株 (L)	市販株 (L)	水槽添加						その他	合計
		(回)	(回)	(億/mL)	(L)	(L)	(%)	(L)	(L)	(L)	ハマフエフ キ	ヤイトハ タ	チヤロマル ル	スギ	マダイ	(L)		(L)	
2016	4	2,000	1	28	22	150	66	70	17 *	188	60	183	0	0	0	0	1	449	37
	5	1,953	1	28	25	120	61	62	108 *	30	11	616	0	0	0	0	1	766	65
	6	1,143	9	225	20	770	313	76	157 *	88	35	178	11	139	0	0	1	609	103
	7				培養せず				113 *	0	0	0	0	0	0	0	1	114	89
	8				培養せず				7 *	0	0	0	0	8	3	0	0	7	109
	9	625	2	35	9	120	23	64	53 *	0	0	0	5	15	9	0	0	53	51
	10	1,423	5	122	18	455	160	53	143 *	0	0	0	0	5	0	0	0	143	15
	11	1,270	3	84	20	325	132	71	128 *	40	20	0	0	0	0	0	0	188	0
	12	1,656	5	140	30	545	329	93	153 *	213	384	0	0	0	0	0	0	750	6
2017	1	1,655	14	404	33	1,530	1,010	85	251 *	0	520	0	0	0	0	161	1	933	26
	2	1,795	10	284	33	1,125	745	78	163 *	10	419	0	0	0	0	280	1	873	2
	3	1,817	7	212	36	824	587	90	206 *	511	283	0	0	0	0	33	0	1,033	6
合計		1,534	57	1,562	29	5,964	3,424	74	1,499	1,080	1,732	977	16	162	17	474	6	5,918	509

*1:種の推定値=濃縮ナノ生産量-使用量(ワムシ+魚類)

*:各月推定値=1,500×各月培養量割合(表1)

市販冷凍ナノ

濃縮は、培養密度が 1,500 万細胞/mL 以上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、1 回濃縮当たり 7 ~ 8kL を 5 サイクル前後行う設定とした。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、午後 5 時~翌朝にかけ行い、濃ナノの冷蔵保存は翌朝濃縮終了後直ちに行った。

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

濃ナノの細胞密度の計算は、濃淡各濃ナノをスポイドで 1mL 採取し、海水で 1L に希釈した後に、培養濃度の計測と同じ方法で行った。

4) 保存

濃縮装置で生産した 2 種類の濃ナノは、魚類種苗生産水槽への添加、ワムシの餌料、ナノ培養の元種など用途に応じた方法で保存した。

濃ナノは、5℃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 基入れ、各棚にはゴードローリータンク(L - 100 型)を 18 個収納した。

種苗生産水槽に添加する濃ナノ及びワムシの餌料として使用する濃ナノは、ローリータンクに 90L づつ入れ通気保存した。

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

濃ナノへの通気は、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 60L/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、2016 年 4 月~2017 年 3 月に 6 水槽を用い 57 回実施した(表 2)。

培養水槽の月毎の平均水温の推移を図 1 に示した。培養水温は、気温の影響を受け 6 月には 30℃を上回り、12~3 月には 20℃以下になった。午前 8 時 30 分の最高水温は、夏に水量 11kL を一水槽のみ培養した 2016 年 8 月 23 日 37.6℃、最低水温は 2017 年 2 月 12 日 11.4℃であった。6 月以降ナノの培養密度は 1,500 万細胞/mL 前後で推移した(表 2)。

濃縮は、平成 2016 年 4 月~2017 年 3 月に、平均密度 1,534 万細胞/mL、1,562kL のナノ(2 千万細胞/mL 密度換算 1,198kL)を対象に合計 57 回実施した。

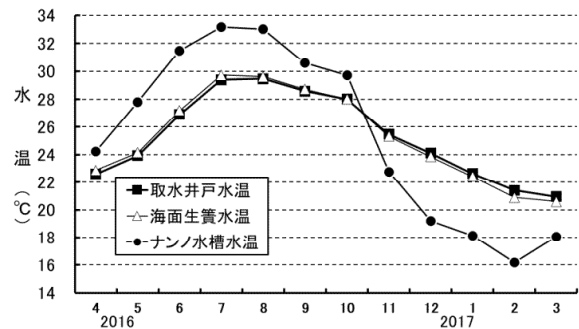


図1 月毎のナノクロロプシス培養水槽の平均水温

(表 2)。培養したナノの 71%を濃縮した。濃い濃縮ナノの平均濃度は 35.5 億細胞/mL、生産量は

5,964L であった。濃淡両方の濃縮液を合わせた濃ナンノの濃縮率は 74%となった。

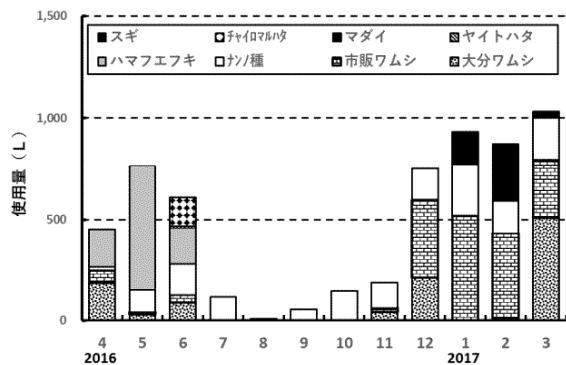


図2 月別にみた濃ナンノの用途別使用状況

2) 濃ナンノの用途別使用量

濃ナンノの月毎の用途別使用量を図 2 に示した。ワムシ培養で使用した濃ナンノは、2,812L で、濃縮したナンノの約 47%を占めた。魚類の種苗生産水槽に添加した濃ナンノは、ハマフエフキ 977L (16%)、ヤイトハタ 16L (0.3%)、チャイロマルハタ 162L (3%)、マダイ 474L (8%)、スギ 17L (0.3%)であった。ナンノ培養の元種として使用した濃ナンノの使用量は記録されてい

ないため、培養開始水槽あたり濃い濃縮液 20L を元種として植え継ぐと仮定し、年間使用量を 1,500L (25%) と推定した。

3) 市販淡水クロレラの購入量

ワムシ培養・栄養強化、種苗生産水槽への添加のために購入した淡水クロレラは、クロレラ工業のスーパー淡水生クロレラ V12 とハイグレード淡水生クロレラであった。

2002 年のクロレラの購入箱数は約 650 個、容量として 12,000L、金額 900 万円であった(木村ら, 2005)。その後、2013 年の購入容量は 3,840L、2014 年 1,940L、2015 年は 1,130L と 11 年前の約 1/10 となった。2016 年 4～7 月の濃縮ナンノ生産量が少なく、淡水クロレラを 5,090L 購入した。

4. 参考文献

木村基文, 上田美加代, 濱川 薫, 2005 : ナンノクロロシスの培養. 平成 13・14 年度沖縄県栽培漁業センター事業報告書 14, 79 - 82.