

# 施肥量差が与えるクビレズタ養殖場の栄養塩動態への影響 (物理的環境変化に伴う海ブドウの生育調査)

井上 顕\*

## Effects of fertilizer application rate on dynamics of nutrients in sea-grape *Caulerpa lentillifera* culture site

Ken Inoue\*

クビレズタ養殖水槽を用い、流水および止水条件下での栄養塩の減少率、施肥量の違いが水槽内の栄養塩動態と藻体の形態評価に与える影響を調べた。一日の  $\text{NH}_4^+$  と  $\text{PO}_4^{4-}$  の減少率の範囲は、流水条件下でそれぞれ 61~84%と 67~83%、止水条件下でそれぞれ 64~29%と 18~7%だった。流水にすることで栄養塩は物理的な影響で減少した。施肥量の違いは栄養塩の濃度に影響を与え、通常の 3 倍量を施肥すると、概ね栄養塩は増加した。  $\text{PO}_4^{4-}$ 、 $\text{NO}_2^-$  および  $\text{NO}_3^-$  は養殖日数を重ねることで濃度が上昇する傾向にあり、 $\text{NH}_4^+$  は 1.5mg/L を超えると、藻体の生長に悪影響を及ぼす可能性が示された。夏場に施肥量を増やすと収穫量が減少したが、冬場にはその影響は小さかった。

クビレズタ (通称、海ブドウ) *Caulerpa lentillifera* は緑藻綱アオサ目イワズタ科イワズタ属に属し、国内では南西諸島、国外ではフィリピン、ミクロネシア、紅海等に分布する (寺田ら, 2012)。本県では古くから主に宮古島において食用として利用されていた。1990 年頃から恩納村で本格的な陸上養殖が始まり、現在では生産額 10~12 億円、生産量 400 トンに達し、クルマエビ、モズク、クロマグロに続く本県第 4 位の養殖対象種となっている (沖縄県農林水産部, 2017)。

クビレズタは、主に外食産業や土産物として消費されるため、入域観光客数の多い夏期に消費需要が最も高まる (沖縄県文化観光スポーツ部, 2017)。しかし、高水温、強日射等に伴う生育不良により生産量が伸び悩む中、外国からのクビレズタ輸入が始まったものの、未だ需要は満たされておらず、安定供給への対策が急がれている。

クビレズタの養殖方法はそれぞれの養殖場により大きな相違はなく、母藻をトリカルネットに挟み込み、緩やかなエア-通気を行い、遮光ネットで光量を調整しながら流水養殖を行う方法である (横浜, 2010)。ただし、肥料の種類や施肥方法に違いがあり、魚類用配合飼料のみ、魚類用配合飼料と市販の液肥、魚類用配合飼料と市販の液肥をバケツに溶かし調合したオリジナルの液肥の 3 つに大別される。海藻が要求する栄養物質は、水中に溶存する無機素材である (藤田, 1986)。クビレズタが利用する栄養塩は、魚類用配合飼料を供給源とする窒素やリンと考えられる (横浜, 2010)。しかしながら、クビレズタ養殖水槽に添加された魚類用配合飼料等から海水中に供給される栄養塩の種類や濃度の経時的な変化に関する知見はない。そこで、栄養塩の動態と藻体への影響が明らかになれば、生産量の増大に貢献できる可能性が

あるため、流水養殖が栄養塩濃度に与える影響、施肥量差が養殖水槽内の栄養塩動態と藻体に与える影響を調べた。

### 材料及び方法

養殖場の選定は、施肥する魚類用配合飼料を溶解し、施肥後すばやく無機窒素、無機リンになると考えられるオリジナルの液肥を用いることを条件とし、長年安定的に養殖を行っている業者を選定した。試験は、宜野湾市内にあるクビレズタ養殖場で行った。養殖水槽はコンクリート製で幅 2m × 奥行 2m × 深さ 0.5m であった。養殖海水は、港内の水深 5m から取水し、原水のまま養殖水槽に給水した。栄養塩分析用試料の採水は、水槽内の排水口付近にあるクビレズタの直立枝先端の深さで、施肥前の 19 時前後に行い、併せて各水槽の注水量の測定を行った。ろ過強度 30 $\mu\text{m}$  (Whatman 社製, CAT No.1113-240) で濾した試料はペットボトルに詰め、冷蔵保存したのち 2~4 日以内に委託分析した。採水時に注水量を測定した。栄養塩は 4 項目 (アンモニウムイオン  $\text{NH}_4^+$ 、硝酸イオン  $\text{NO}_3^-$ 、亜硝酸イオン  $\text{NO}_2^-$ 、リン酸イオン  $\text{PO}_4^{4-}$ ) とし、その測定方法は表 1 に示した。藻体重量は、藻体が挟み込まれた 0.8×0.8m のトリカルネットごと重量を測定し、トリカルネットの重量を差し引いて求めた。

養殖環境は、通常の養殖方法を基準量区とし、流水量は 2.5~3.5 $\text{m}^3$ /日、光源は自然光、遮光幕は常時黒 2mm を設置し、天候により黒 2mm を増設した。全試験で施肥はほぼ毎日 19~19 時 30 分に行い、施肥量は、配合飼料を完全に溶かして液状化させ、水量を溶かした重量で等配分して求めた。

### (1) 施肥後 24 時間の栄養塩濃度の動態

\*E-mail : inoueken@pref.okinawa.lg.jp , 本所

栄養塩濃度の分析は2015年7月29～30日（養殖開始5日目）と同年8月20～21日（養殖開始27日目：出荷14日前）に、施肥直前（19時）、施肥1時間後（20時前後）、その後3時間毎に採水した。養殖開始5日目と27日目の水槽内藻体長はそれぞれ10mmと80mm前後だった。

## (2) 2016年6月～2017年1月における養殖試験

### 1) 流水環境下における物理的な栄養塩濃度の増減

クビレズタを植え付ける前の水槽を用いて、2.6m<sup>3</sup>/日で流水する流水区と流水しない止水区を設置し、施肥1時間後と23時間後の栄養塩濃度を測定した（表2）。試験は、2016年6月3日、同年7月5日、同年11月21日に開始して3回行った。試験1回目は、流水下で通常施肥量49gを与える基準量区と通常の3倍の施肥量147gを与える3倍区を比較した。試験2回目、3回目は流水区と止水区の比較で、施肥量はどちらも49gとした。栄養塩の分析は、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>とPO<sub>3</sub><sup>4-</sup>の2項目とし、減少率は以下の式で求めた。

減少率 (%) = (施肥1時間後の栄養塩濃度 - 施肥23時間後の栄養塩濃度) / 施肥1時間後の栄養塩濃度 × 100

### 2) 施肥量差が与える栄養塩動態の変化と藻体への影響

試験は3回行い、期間、施肥量、測定項目、測定間隔等を表2にまとめた。試験区は通常の施肥量である基準量区と通常の施肥量の3倍量である3倍区とした。ただし、試験1回次は養殖0日目から施肥量を3倍にしたが、試験2、3回次はそれぞれ養殖16日目と21日目から施肥量を3倍にした（表2）。

試験終了後、試験区ごとの養殖水槽の評価として養殖したクビレズタを4階級（A, B, C, D）に分け、その被度を求めることを行った（表3）。Cは次回の元苗として保管され、Dは廃棄処分される。また試験2、3回次の試験終了直前は、養殖水槽から藻体を採取し、直立枝長、総直立枝長、総匍匐茎長、小枝密度、分枝の有無を測定しパラメーターとして用いた。直立枝長とは最も長い直立枝の長さ、総直立枝長とは直立枝長と分枝長の総和、総匍匐茎長とは匍匐茎長の総和、小枝密度とは総小枝数/総直立枝長とした。

統計処理について、濃度は対応のあるT検定、養殖水槽の評価はカイ二乗検定後、多重比較をBenjamini & Hochberg法を用いて解析した。直立枝長、総直立枝長、総匍匐茎長及び小枝密度においてはT検定を、分枝の有無はFisherの正確確率検定を用いて解析した。

## 結果

### (1) 施肥後24時間の栄養塩濃度の動態

クビレズタ養殖海水中の24時間の栄養塩動態を図1と図2に示した。NH<sub>4</sub><sup>+</sup>では、養殖5日目の濃度は0.66～0.99mg/Lで、時間経過とともに減少した（図1）。養殖27日目の濃度は0.007～0.088mg/Lと養殖5日目より低く、施肥1時間後濃度上昇が見られ、すぐに減少した（図2）。その他3つの栄養塩濃度は養殖5日目と27日目で見立った違いはなかつた。

PO<sub>3</sub><sup>4-</sup>は施肥1時間後濃度上昇が見られ、その後緩やかに減少した。NO<sub>3</sub><sup>-</sup>とNO<sub>2</sub><sup>-</sup>は養殖日数、施肥の有無で大きな濃度変動は見られなかった。

## (2) 2016年6月～2017年1月における養殖試験

### 1) 流水環境下における物理的な栄養塩濃度の増減

施肥量と栄養塩の減少率を表4にまとめた。NH<sub>4</sub><sup>+</sup>の減少率の範囲は、流水区で61～84%、止水区で-64～29%だった。PO<sub>3</sub><sup>4-</sup>の減少率の範囲は、流水区で67～83%、止水区で-18～7%だった。

### 2) 施肥量差が与える栄養塩動態の変化と藻体への影響

試験1回目のNH<sub>4</sub><sup>+</sup>、PO<sub>3</sub><sup>4-</sup>の動態と藻体重量の推移を図3に示した。NH<sub>4</sub><sup>+</sup>は3倍区の方が高濃度で（p<0.01）、PO<sub>3</sub><sup>4-</sup>は有意な差が検出されなかった（p=0.25）。6月17日に3倍区で急激な濃度上昇が見られ、その後に藻体重量は3倍区<基準量区となった。藻体の階級評価は、基準量区についてAとDが、3倍区についてBとCが有意に多かった（p<0.01、表5）。

試験2回目のNH<sub>4</sub><sup>+</sup>、PO<sub>3</sub><sup>4-</sup>の動態と藻体重量の推移を図4に示した。施肥量を3倍にした7月26日（養殖16日目）以降、PO<sub>3</sub><sup>4-</sup>は3倍区の方が高濃度で推移し（p<0.05）、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>は有意な差が検出されなかった（p=0.27）。藻体重量は基準量区<3倍区であったが、施肥量を3倍にして以降3倍区<基準量区と逆転した。藻体のパラメーターに有意な違いはなかったが（図5）、藻体の階級評価は、基準量区についてAとBが、3倍区についてCが有意に多かった（p<0.01、表5）。

試験3回次のNH<sub>4</sub><sup>+</sup>、PO<sub>3</sub><sup>4-</sup>の動態と藻体重量の推移を図6に示した。NH<sub>4</sub><sup>+</sup>の濃度は、12月6日以降3倍区<対照区だったが、施肥量3倍にした12月14日後から基準量区<3倍区と逆転した（p<0.05）。PO<sub>3</sub><sup>4-</sup>とNO<sub>3</sub><sup>-</sup>は、施肥量3倍にした日後から濃度が高くなったが（p<0.05）、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>は有意な差が検出されなかった（p=0.08）。藻体重量に大きな変化は認められず、藻体のパラメーターについて分枝密度に有意な差が検出された（p<0.01、図7）、藻体の階級評価は、基準量区についてBが、3倍区についてCが有意に多かった（p<0.01、表5）。

## 考察

### (1) 施肥後24時間の栄養塩濃度の動態

開始5日目のNH<sub>4</sub><sup>+</sup>は施肥前後で大きな違いはなかったが、時間経過にともない濃度が低下し、その減少率は66%だった。注水量は2.6m<sup>3</sup>/日であることから、養殖水は理論上70%程度交換されるため、アンモニウムイオンの減少は注水による物理的な減少と考えられた。PO<sub>3</sub><sup>4-</sup>は施肥1時間後に濃度の上昇が見られるのに対し、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>とNO<sub>2</sub><sup>-</sup>は大きな変化が見られなかった。魚類用配合飼料の有機物に含まれる窒素は分解、無機化の過程でまずアンモニア態窒素となる。好氣的環境では、硝化細菌によって亜硝酸を経て硝酸にまで酸化された後、水中に溶出するが、嫌氣的環境では分子状酸素

を必要とする硝化細菌が機能しないため、アンモニア態窒素のまま水中に溶出する(河合, 1990, 下茂ら, 2004)。魚類用配合飼料を大量に容器で溶かした場合、バケツ内は嫌気的環境となり、施肥直後における  $\text{NO}_3^-$  と  $\text{NO}_2^-$  の上昇がなかったと考えられた。

開始 27 日目の  $\text{NH}_4^+$  と  $\text{PO}_3^{4-}$  は、施肥直後に僅かな上昇が見られたが、全体的にその濃度は開始 5 日目よりも極端に低い。水槽内のクビレズタ等の栄養塩吸収スピードに関する情報はないが、養殖海水中の栄養塩量はクビレズタが吸収する栄養塩量、施肥から生成される栄養塩量、物理的に流出する栄養塩量のバランスで決まる。水槽内藻体長から開始 5 日目と 27 日目の総藻体重量はそれぞれ推定 14kg と 44kg だったことから、水槽内の藻体重量の違いが栄養塩濃度の差になったと考えられた。

## (2) 2016 年 6 月～2017 年 1 月における養殖試験

### 1) 流水環境下における物理的な栄養塩濃度の増減

流水区は、4 回の試行で  $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{PO}_3^{4-}$  の減少率がともに 61～85% であり、比較的安定した値を示した。施肥量を増やしても海水中の栄養塩濃度が変わらないことから、試験(1)の結果と同様に、栄養塩の減少は注水に伴う物理的な排水と考えられた。止水区の減少率について、 $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{PO}_3^{4-}$  ともに試験 2 回目でマイナス、試験 3 回目で僅かな減少があった。止水区では、時期によって水槽内に与える濃度変化に違いがある可能性があった。

### 2) 施肥量差が与える栄養塩動態の変化と藻体への影響

施肥量を通常の 3 倍にすると、 $\text{NH}_4^+$  と  $\text{PO}_3^{4-}$  の濃度はともに増加した。特に  $\text{NH}_4^+$  が 4mg/L になった 1 回目の 6 月 17 日以降、1.5mg/L になった 2 回目の 7 月 26 日以降、藻体の生長が停滞した。養殖業者の観察より生長点が見られなくなったとの報告を受け、そのため 3 倍区の藻体の階級評価は低い結果となった(表 5)。日本水産資源保護協会(1992)では、アマノリ類は  $\text{NH}_4^+$  が 1mg/L 以上になると養殖が不可能としている。水生生物に対するアンモニアの毒性は主として非解離のアンモニア ( $\text{NH}_3\text{-N}$ ) による(若林, 2000)。 $\text{NH}_4^+$  と  $\text{NH}_3$  は相互交換が起こるため、 $\text{NH}_4^+$  の濃度上昇は  $\text{NH}_3$  の濃度とその毒性を高めている可能性がある。3 回目

は養殖水温が低いため、施肥量を通常の 3 倍にしても、1, 2 回目と比較して  $\text{NH}_4^+$  と  $\text{PO}_3^{4-}$  の濃度はともに低く、基準量区と 3 倍区の濃度差も少なかった。そのため、藻体の階級評価に違いは無かった(表 5)。

$\text{NO}_3^-$  と  $\text{NO}_2^-$  は 3 回目のみ測定であるため、1, 2 回目の比較はできないが、養殖日数を重ねることで濃度が上昇する傾向は  $\text{PO}_3^{4-}$  と似た変化であった。

今回、養殖水槽内のアンモニウムイオン ( $\text{NH}_4^+$  と  $\text{NH}_3$ ) の濃度が藻体の階級評価に影響を与える可能性が示唆された。アンモニアの毒性は、溶存酸素の低下、pH の上昇でさらに強まることが知られているので、アンモニアの毒性を確認するためには、同時に溶存酸素と pH の測定も必要である。

## 文献

- 藤田善彦, 1986: 水界環境と藻類の生理. 藻類の生態, (秋山優ほか編), 内田老鶴圃, 東京, 15—51.
- 河合 章, 1990: 水域における底層水の底酸素化と底質について. 瀬戸内海科学, 2(2), 36—42.
- 日本水産資源保護協会, 1992: 環境が海藻類に及ぼす影響を判断するための「判断基準」と「事例」. 日本水産資源保護協会, 東京, 104pp
- 沖縄県農林水産部農林水産総務課, 2017: 沖縄の農林水産業. 沖縄, 平成 29 年 3 月, 65pp
- 沖縄県文化観光スポーツ部観光政策課, 2017: 平成 29 年(暦年) 沖縄県入域観光客統計概況, <http://www.pref.okinawa.jp/site/bunka-sports/kankoseisaku/kikaku/statistics/tourists/documents/h29-reki-gaikyou.pdf>
- 下茂 繁・秋本 泰・高浜 洋, 2004: 海生生物の水質環境耐性について: 総説. 海洋生物環境研究所研報, No.6, 1—159,
- 横浜康継, 2010: 海藻という植物(18) 海藻の養殖その 4. 海洋と生物, 189, 32, 4, 360—370.
- 若林明子, 2000: 化学物質と生態毒性. 産業環境管理協会, 東京, 486pp.
- 寺田竜太, 田中敏博, 内村真之, 2012: 日本産クビレズタ(イワズタ目)の形態と分布, 特に奄美群島以北での初記録について. 植物研究雑誌, 87(4), 260—267.

表 1 栄養塩の測定方法

項目	測定方法(日本工業規格)
$\text{NH}_4^+$	JIS K 0102 - 2016 42. 6
$\text{NO}_3^-$	JIS K 0102 - 2016 43. 2. 6
$\text{NO}_2^-$	JIS K 0102 - 2016 43. 1. 3
$\text{PO}_3^{4-}$	JIS K 0102 - 2016 46. 1. 1

表 3 取上時の藻体の階級評価

パラメータ	A	B	C	D
直立枝	8cm以上	5～8cm	AB以外の藻体	AB以外の藻体
分枝	なし	あり		
匍匐茎	なし	なし	あり	あり
雑藻	なし	なし	なし	あり

表2 施肥量の影響試験の条件

養殖試験 (回目)	物理的流水試験の環境設定				施肥量養殖試験の環境設定					
	試験区名 (流水・止水)	期間 (月/日)	施肥量 (g)	注水 (m <sup>3</sup> )	試験区名 (基準量・3倍区)	期間 (年/月/日)	施肥量 (g/日)	3倍区の開始時期 (養殖日数, 月/日)	栄養分析 測定項目	測定間隔 (日毎)
1回目	流水区	6/3	49	2.6	基準量区	2016/6/4 ~2016/6/29	49	-	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> , PO <sub>3</sub> <sup>4-</sup>	3日毎
	3倍施肥流水区	~6/4	147	2.6	3倍区		49→147	(0. 6/4)		
2回目	流水区	7/5	49	2.6	基準量区	2016/7/7 ~2016/8/2	49	-	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> , PO <sub>3</sub> <sup>4-</sup>	3日毎
	止水区	~7/6	49	0	3倍区		49→147	(16. 7/24)		
3回目	流水区	6/3	49	2.6	基準量区	2016/11/23 ~2017/1/6	49	-	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> , PO <sub>3</sub> <sup>4-</sup> NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	5日毎
	止水区	~6/4	49	0	3倍区		49→147	(21. 12/14)		

表4 施肥量、流水および止水条件と施肥の減少率

栄養塩	試験区	試験 回目	施肥量 (g)	施肥後 (mg/L)		減少率 (%)
				1時間 後	23時間 後	
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	流水	1	49	0.51	0.10	80
		1	147	1.40	0.30	79
		2	49	1.00	0.39	61
	止水	3	49	0.64	0.10	84
		2	49	1.40	2.30	-64
		3	49	0.68	0.48	29
PO <sub>3</sub> <sup>4-</sup>	流水	1	49	0.56	0.13	77
		1	147	1.80	0.31	83
		2	49	1.00	0.28	72
	止水	3	49	0.39	0.13	67
		2	49	1.10	1.30	-18
		3	49	0.41	0.38	7

表5 養殖試験区ごとの評価と検定結果 値は%

養殖試験 (回目)	試験区	階級評価被度 (%)			
		A品	B品	C品	D品
1回目	基準量区	19	16	43	22
	3倍区	3	29	68	0
2回目	基準量区	13	8	79	0
	3倍区	0	0	100	0
3回目	基準量区	16	13	71	0
	3倍区	15	11	75	0

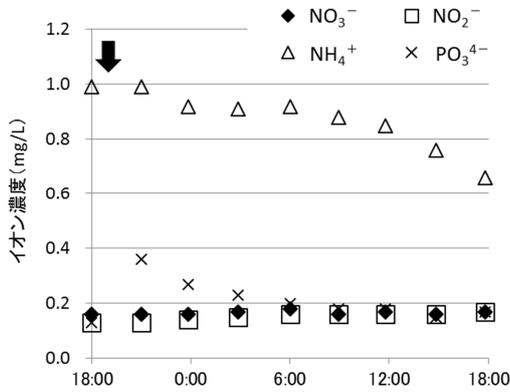


図1 養殖5日目の施肥後24時間の栄養塩濃度の変化  
矢印は施肥を行ったタイミングを示す

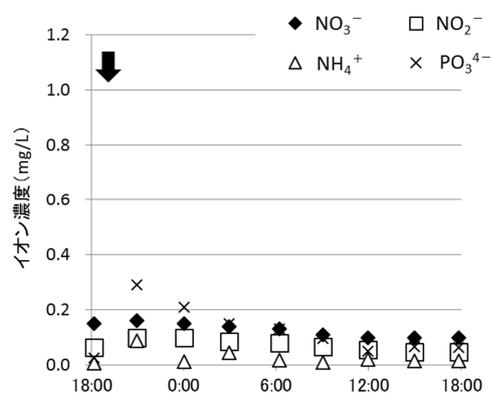


図2 養殖27日目のク施肥後24時間の栄養塩濃度の変化  
矢印は施肥を行ったタイミングを示す

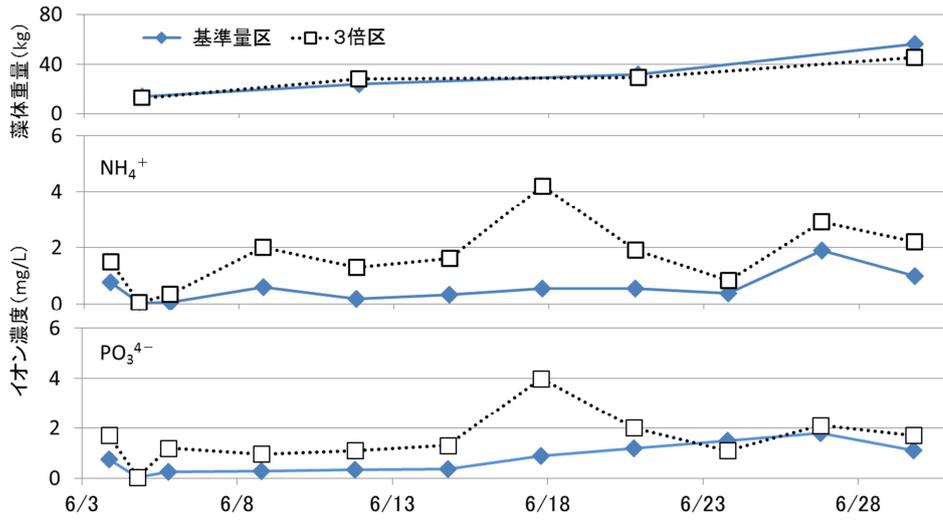


図3 養殖試験1回目のNH<sub>4</sub><sup>+</sup>とPO<sub>3</sub><sup>4-</sup>の動態と藻体重量の推移

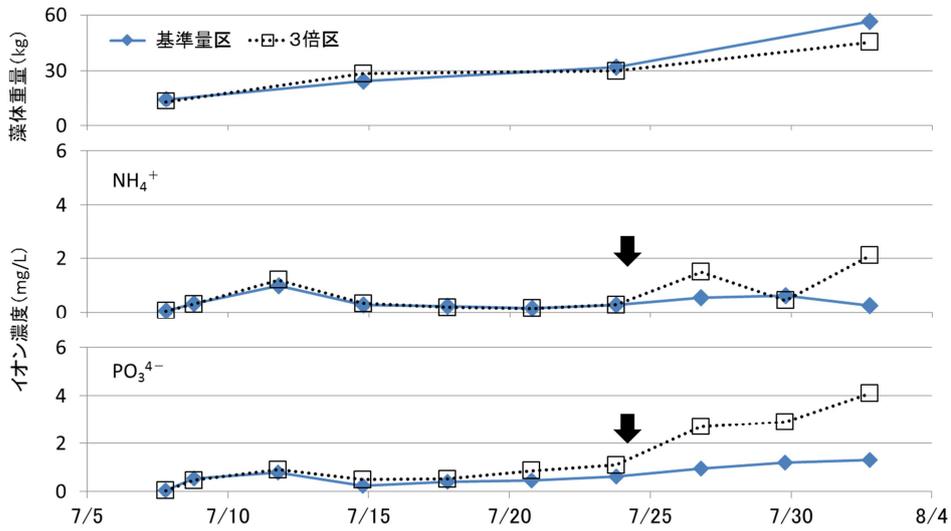


図4 養殖試験2回目のNH<sub>4</sub><sup>+</sup>とPO<sub>3</sub><sup>4-</sup>の動態と藻体重量の推移  
矢印は施肥量が3倍になったときを示す

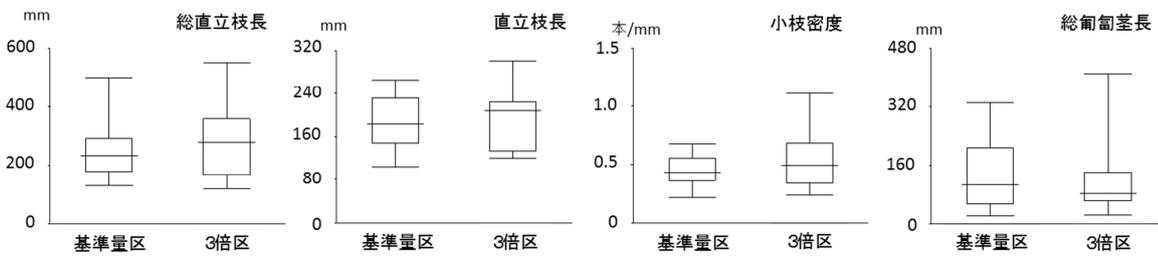


図5 養殖試験2回目における終了直前の試験区別藻体部位の比較

クビレズタ養殖場の栄養塩動態

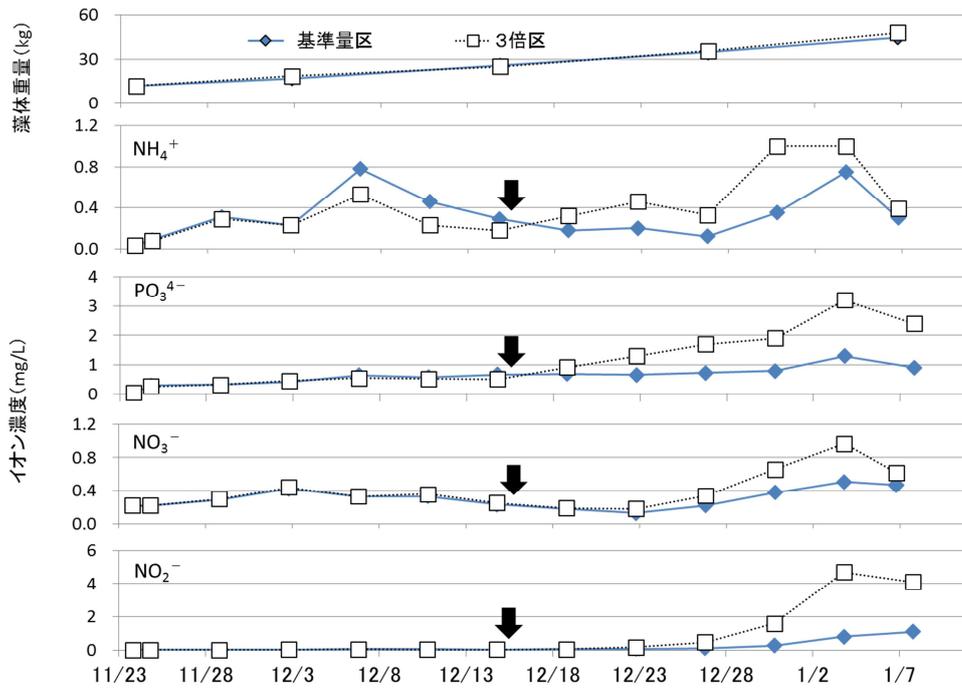


図6 養殖試験3回目の栄養塩動態と藻体重量の推移  
矢印は施肥量を3倍にしたときを示す

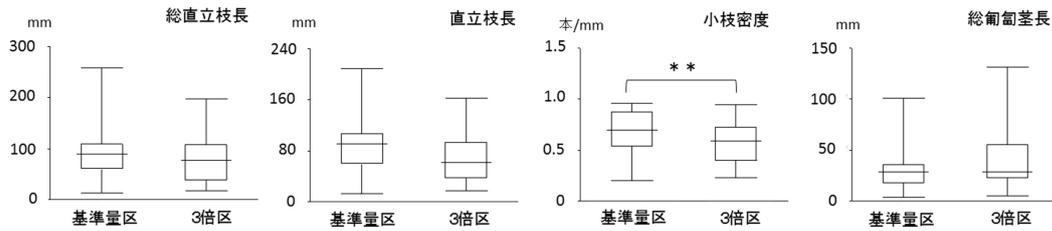


図7 養殖試験3回目の終了直前の試験区別藻体部位の比較 \*\*はp<0.01を示す