

閉鎖循環システムを用いたマダイの種苗生産

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2025-04-24 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 鴨志田, 正晃, 山崎, 英樹, 山本, 義久 メールアドレス: 所属:
URL	https://fra.repo.nii.ac.jp/records/2014567

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.



閉鎖循環システムを用いたマダイの種苗生産

鴨志田正晃^{*1}・山崎英樹^{*2}・山本義久^{*2}

Seed production of red seabream, *Pagrus major*, using a closed recirculating system

Masaaki KAMOSHIDA, Hideki YAMAZAKI, and Yoshihisa YAMAMOTO

We reared red seabream from eggs until 30 mm in TL using a closed recirculating system having a flow-through system, and a zero-exchange water system as control, and compared survival rates, growth, morphological abnormalities, and water quality of the rearing tanks. The closed recirculating system consisted of two rearing tanks of 4 kL in water volume, a biofiltration tank, a foam separation unit, and a UV irradiation unit. Mass mortality did not occur during the experiment using the closed recirculating system and survival rates were higher than those of the flow-through system; moreover, little difference was observed in growth and morphological abnormality rates, although the maximum values of $\text{NH}_4\text{-N}$ and $\text{NO}_2\text{-N}$ reached 1 ppm and 4 ppm 30 days after starting the experiment. About 1.1% of rearing water in the closed recirculating system was replaced by fresh seawater per day. Based on these results, red seabreams can be reared on a practical level using the closed recirculating system by supplying small quantities of fresh seawater.

2006年1月10日受理

現在、我が国では沿岸環境保全の一環として、飼育水を排水せずに高度に浄化し、繰り返し使用する「閉鎖循環式」の高密度飼育システム（以下、閉鎖循環システム）が汚濁負荷削減と高効率な養殖を同時に達成できる有力な手段として注目されている¹⁾。種苗生産分野においても沿岸環境の保全は取水海水の水質にも関係する重要な課題であり今後積極的に周辺海域への汚濁負荷量の削減に取り組む必要があると考えられる。また、栽培漁業では費用対効果を上げるために種苗生産コストの低減が求められており、その一つの対策として親魚養成や種苗生産工程における取水および調温にかかるコストを削減するためには、通常の掛け流し飼育に比べ新しい海水の注水量が少なくエネルギー損失の少ない閉鎖循環システムの導入は有効と考えられる。さらに、閉鎖循環システムは、取水海水からの病原体の進入の危険性を減らすことができ、疾病防除の側面からも本システムの必要性は今後高まるものと考えられる。しかしながら、我が国の海産魚類の種苗生産において閉鎖循環システムを用いて飼

育を行った事例は少なく、近年では、睦谷ら²⁾のオニオコゼの報告があるものの、実用規模では、ほとんど利用されていないのが現状である。

このような背景から、独立行政法人水産総合研究センター屋島栽培漁業センター（元：日本栽培漁業協会屋島事業場）では、2000年より養殖用の閉鎖循環システムを参考に種苗生産用のシステム開発に取り組んだ。Tomoda *et al.*³⁾ は、泡沫分離装置、生物ろ過槽、紫外線殺菌装置などからなる閉鎖循環システムを試作し、生物餌料としてワムシとアルテミアを用い、全長9 mm サイズまでのマダイ *Pagrus major* 仔魚の初期飼育に成功している。しかし、Tomoda *et al.*³⁾ の試験では、既存の養殖用の閉鎖循環システムを参考に15%/日の新しい海水をシステム内に注水しており、調温にかかるコストの低減や注水した海水由来の病原体の侵入の可能性を低くするためには、新しい海水を注水しない飼育方法の開発が必要と考えられる。このような観点から、著者らは、極力換水量を抑えるために、底掃除と泡沫分離の排水を補充す

^{*1} 独立行政法人水産総合研究センター栽培漁業部 〒220-6115 神奈川県横浜市西区みなとみらい 2-3-3 (Fisheries Research Agency, Fisheries Stock Enhancement Department, 2-3-3 Minatomirai, Yokohama, Kanagawa 220-6115, Japan).

^{*2} 独立行政法人水産総合研究センター屋島栽培漁業センター 〒761-0111 香川県高松市屋島東町 234.

る以外には新しい海水の注水を行わずに、ふ化から全長 30 mm サイズのマダイ稚魚期までの閉鎖循環飼育を試みたので報告する。

材料と方法

閉鎖循環システムの概要 本試験で用いた閉鎖循環システムは、生物ろ過槽の硝化能力を高めるために Tomoda *et al.*³⁾ が用いたシステムを一部改良し、上向流式ろ過であった生物ろ過槽を下向流式ろ過とし、塩ビパイプに穴を開け生物ろ過槽全体にシャワー状に注水するように変更した。システムの構成は、飼育水槽 2 面、受水槽、泡沫分離装置、生物ろ過装置、紫外線殺菌装置、および循環ポンプ 2 台とした (図 1)。飼育水槽には、5 kJ FRP 水槽 (実水量 4 kJ) を用い水槽内にチタン製熱交換器と通気用のユニホース ((株)ユニホース) を設置した。受水槽には、0.4 kJ の FRP 水槽 (実水量 0.3 kJ) を用い生物餌料回収ネット (ワムシの場合は 63 μ m ナイロンネット、アルテミアの場合は 200 目ポリエチレンネット)、プレフィルター (旭化成; サランロック 0M-150)、および通気用のユニホースを設置した。泡沫分離装置には、カーバスエアレーター (自給式気液混合装置) を備えた KA 式泡沫分離装置 (実水量 0.4 kJ, TAS 環境エンジニアリング) を用いた。生物ろ過装置は、0.4 kJ の FRP 水槽 (実水量 0.3 kJ) の上層にろ過材として多孔性ソフトセラミック (汪林; フィルテックス FB-3) 40 kg, 下層にサンゴ砂 60 kg を配置し、上方向から下方へろ過水を還流させる方式とし、ろ過材上に通気用のユニホースを設置した。紫外線殺菌装置には、フロンライザー 2DL (千代田工販)、循環ポンプには、マグネットポンプ (SANSO;

PMD-613, 循環量約 28 l/分) を使用した。次に各装置の基本的な機能は、受水槽では生物餌料の回収と粒子の大きい懸濁物の除去、泡沫分離装置では飼育水中の懸濁物の除去、生物ろ過装置ではアンモニア態窒素と亜硝酸態窒素の硝化、紫外線殺菌装置では飼育水中の細菌数の低下を目的としている。次に浄化工程は、物理ろ過工程と生物ろ過工程の二つの循環工程で構成されている。物理ろ過工程は、飼育水槽のストレーナーから排水された飼育水中の生物餌料を受水槽中の生物餌料回収ネットで回収した後、プレフィルターで粒子の大きい懸濁物が吸着され、さらに浄化ポンプで泡沫分離装置に送られて汚濁物質が泡沫水として排水槽に排水され、浄化された飼育水が受水槽に戻り再び循環するシステムである。生物ろ過工程は、物理ろ過工程で浄化された飼育水が生物ろ過槽内のろ過材で硝化され、さらに飼育水循環ポンプで紫外線殺菌装置に送られて殺菌された後、飼育水槽に注水され、余剰の海水は再び生物ろ過槽でろ過される循環システムである。物理ろ過工程の総水量は、0.7 kJ でポンプの循環量から循環率は 58 回転/日であり、一方、生物ろ過工程は、同様に総水量は 0.3 kJ で循環率は 134 回転/日と高くなっているのが特徴である。

生物ろ過槽の熟成 生物ろ過槽を熟成させるために試験開始 1 カ月前から飼育水槽内の飼育水の循環率が 5 回転/日となるようにシステムの運転を開始し、生物ろ過槽には、有機物源としてトラフグ用配合飼料 (オリエンタル酵母工業株式会社) を 200 目のネットに入れて生物ろ過槽内に垂下し、硝化細菌の増殖を促した。

試験区と供試魚 試験区は、各区個別に水槽を設置し、閉鎖循環システムを用いた循環ろ過-1 区と 2 区、対照として従来から行われている掛け流しの流水区と換水を全

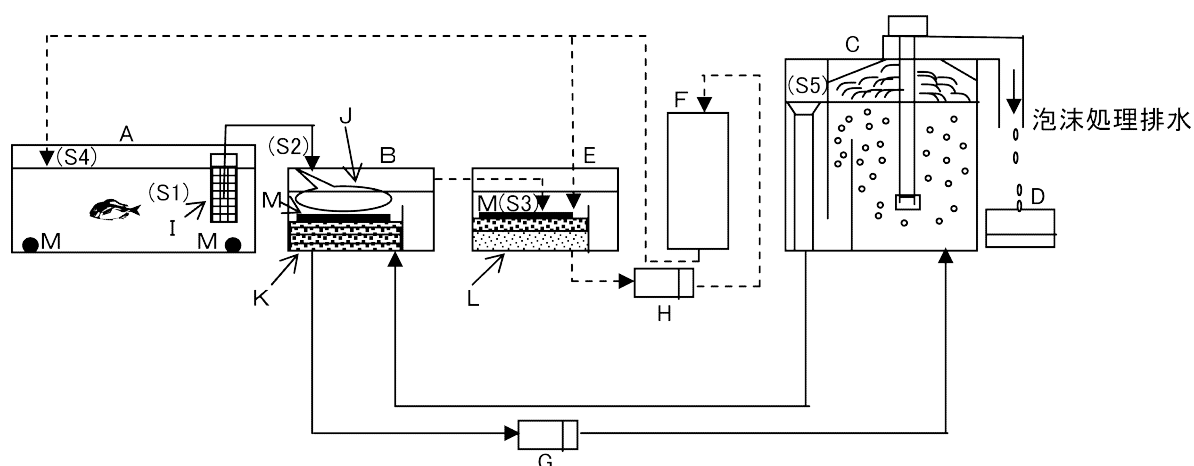


図 1. 閉鎖循環システムの概略図

——▶: 物理ろ過工程の水の流れ, - - -▶: 生物ろ過工程の水の流れ。

A: 飼育水槽 (2 水槽), B: 受水槽, C: 泡沫分離装置, D: 排水槽, E: 生物ろ過槽, F: UV 装置, G: 浄化ポンプ, H: 飼育水循環ポンプ, I: 排水ストレーナー, J: 生物餌料回収ネット, K: プレフィルター, L: ろ過材, M: ユニホース。

水質分析用の採水地点

S1: 飼育水, S2: 物理ろ過前, S3: 物理ろ過後, S4: 生物ろ過 UV 後, S5: 泡沫処理後。

表 1. 閉鎖循環飼育によるマダイの飼育試験結果

試験区	収容尾数 (尾)	平均飼育水温 (範囲) (°C)	試験 日数	試験終了時			
				尾数 (尾)	飼育密度 (尾 /kl)	平均全長 ²⁾ ±標準偏差 (mm)	生残率 ³⁾ (%)
循環ろ過-1 区	41,600	21.7 (19.0-22.3)	47	28,200	7,050	28.5±2.47	67.8
循環ろ過-2 区	43,600	21.7 (18.8-22.3)	47	23,800	5,950	30.3±3.88	54.6
流水区	43,600	21.7 (18.9-22.3)	47	18,000	4,500	31.2±3.59	41.3
止水区 ¹⁾	41,500	22.0 (21.7-22.4)	36	40	10	20.9±2.80	0.1

1) 試験開始後 35～36 日目に 6,900 尾が死亡し、ほとんど全滅したため飼育を中止した。

2) t 検定の結果: *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$.

3) χ^2 独立性の検定の結果: **: $p < 0.01$.

く行わない止水区の合計 4 区を設けた (表 1)。供試魚には、2002 年 10 月 8 日に民間の種苗生産会社 (株式会社吉川水産) より入手したマダイ受精卵から得られたふ化仔魚を用い、循環ろ過-1 区では 41,600 尾、循環ろ過-2 区では 43,600 尾、流水区では 43,600 尾、止水区では 41,500 尾を収容し飼育を開始した。

飼育条件 飼育水温は、水槽内のチタン製熱交換器にて 22°C を維持するように調整した。各試験区の飼育用水には、急速ろ過器でろ過した海水を孔径 10 μm のカートリッジフィルター (ADVANTEC: TCW-10N-PPDE) と 3 μm のカートリッジフィルター (ADVANTEC: TCW-3N-PPDE) で 2 段階にろ過した海水 (以下、ろ過海水) を用いた。試験開始後 3 日目までは各試験区ともに換水または循環は行わなかった。循環ろ過-1 区と 2 区は、試験開始後 4 日目より循環ろ過を開始し、循環率は、当初の 1 回転/日から 7 日目には 1.5 回転/日、12 日目から 2 回転/日、23 日目から 3 回転/日とし、33 日目から試験終了 (試験開始後 47 日目) の間は 5 回転/日とした。循環ろ過区は、蒸発により減水した場合は水道水を、泡沫分離と底掃除により減水した水量をろ過海水で補充した。流水区は、ろ過海水の掛け流しによる換水率を循環ろ過区の循環率と同一に設定した。止水区は、換水は行わず、循環ろ過区同様に蒸発分を水道水で、底掃除により減水した分をろ過海水で補充した。

通気は、飼育水が環流するように水槽の 2 隅に設置したユニホースにより行い、マダイ仔魚の開鰓を促すため、試験開始後 5 日目から 9 日目の間は微通気とし、その後、仔魚の成長に合わせて適宜増加させた。また、同時に $\phi 40 \text{ mm}$ の塩ビ製パイプをコの字型に組み合わせて作製した油膜除去装置を飼育水面に設置し、適宜飼育水表面の油膜を除去した。

水質の安定を図るため、貝化石 (フィッシュグリーン: 株式会社グリーン・カルチャ) を受精卵収容前に 2 kg、試験開始後 7 日目からは毎日各飼育水槽に 80～200 g ずつ散布した。

底掃除には、 $\phi 13 \text{ mm}$ の塩ビ製のサイフォンを用い、試験開始後 20 日目までは行わず、21 日目以降より 1 週間に 2 回、35 日目以降は毎日水槽底面の残餌や排泄物の堆積物を除去した。

給餌 餌料として L 型ワムシ (小浜株) を試験開始後 1 日目から 30 日目の間、アルテミア幼生を試験開始後 20 日目から 44 日目の間、マダイ用配合飼料 (オリエンタル酵母工業株式会社) を試験開始後 26 日目から試験終了時の間給餌した。

L 型ワムシは、1 kl アルテミアふ化槽 2 面を用いて、水道水で 80% に希釈した海水を使用し、800～1,700 個体/ml の密度で培養したものを用いた。ワムシの餌料には、スーパー生クロレラ V12 (クロレラ工業株式会社) を 1 日にワムシ 1 億個体当たり 300 ml 添加して培養槽内で同時に栄養強化も行った。収穫したワムシは、ろ過海水で十分洗浄した後、飼育水中のワムシ密度が 5 個体/ml となるように給餌した。ワムシの給餌期間中はスーパー生クロレラ V12 を水道水で 100 倍に希釈した後、飼育水中のクロレラ密度が 50 万セル/ml となるように、 $\phi 4 \text{ mm}$ のビニールホースで少量ずつ添加した。

アルテミア幼生は、200 l アルテミアふ化槽に収容し、パワッシュ A (オリエンタル酵母工業株式会社) を 75 ml/kl の割合で添加して 16～22 時間栄養強化した後、ろ過海水で洗浄し給餌した。循環ろ過区と流水区の給餌量は、試験開始後 20 日目から 30 日目の間は 100～900 万個体/日、31 日目から 39 日目の間は 1,600～2,000 万個体/日、40 日目から試験終了時の間は 900～1,600 万個体/日である。また止水区では、試験開始後 20 日目から 30 日目の間は 100～450 万個体/日、31 日目から 35 日目の間は 700～800 万個体/日である。

配合飼料は、自動給餌器を用いて 1 日に 10 回に分けて給餌した。循環ろ過区と流水区の給餌量は、試験開始後 26 日目から 30 日目の間は 30～70 g/日、31 日目から 40 日目の間は 100～250 g/日、41 日目から試験終了時の間は 270～330 g/日である。また止水区では、試験開始後 26 日目から 30 日目の間は 30～70 g/日、31 日目から 35 日目の間は 80～90 g/日である。

生残と成長の推定 飼育期間中の生残尾数は、試験開始後 6, 9, 12, 16 日目に夜間に柱状サンプリングし、容量法で推定し、試験終了時には、全数を取り揚げ、重量法で推定した。また、7 日ごとに 27～40 尾を無作為にサンプリングして全長を測定した。

水質測定と生菌数の計数 各試験区の飼育水の水質の測

定項目は、水温、pH、溶存酸素飽和度、アンモニア態窒素濃度、亜硝酸態窒素濃度、硝酸態窒素濃度であり、これらをpHはpHメーター (HORIBA: F-22), 溶存酸素飽和度はDOメーター (YSI: Model55), アンモニア態窒素濃度はアンモニアメーター (Orion: EA940), 亜硝酸態窒素濃度と硝酸態窒素濃度はDR/2000 (HACH) を用いて、それぞれジアゾ化法、カドミウム還元法で測定した。また、循環ろ過区では閉鎖循環システム内の各処理工程の水質変化を把握するため、溶存酸素飽和度、アンモニア態窒素濃度、および亜硝酸態窒素濃度を測定した。採水位置は、飼育水、飼育水槽から受水槽への注水（以下、物理ろ過前）、受水槽から生物ろ過槽への注水（以下、物理ろ過後）、飼育水槽への注水（以下、生物ろ過UV後）とした（図1）。

各試験区の飼育水中の一般細菌数とビブリオ属細菌数を計数するために試験開始後1, 9, 22, 35, 43日目に飼育水を採水した。採水位置は、循環ろ過区では閉鎖循環システム内の細菌数の変化を把握するため、飼育水、物理ろ過前、泡沫処理装置から受水層への注水（以下、泡沫処理後）、生物ろ過UV後とした（図1）。採水した海水を原液として、滅菌海水で10段階希釈し、市販のMARINE AGAR 2216培地 (DIFCO) と塩化ナトリウムを添加して塩分濃度を2%に調整したTCBS培地 (DIFCO) に各希釈液の0.1 mlをコンラージ棒を使って接種し、23℃に設定した恒温槽内で3日間培養した。発育してきたコロニーを計数し、希釈段階から当初の菌数を求めた。MARINE AGAR 2216培地によって得られた菌数を一般細菌数、TCBS培地によって得られた菌数をビブリオ属細菌数とした⁴⁾。

形態異常魚の調査 全長30 mmサイズでは観察による形態異常魚の確認は難しいため、形態異常魚が区別できる全長90 mmを超えるまで飼育し、形態異常魚の調査を行った。調査は、以下の方法で行った。飼育水槽には、5 k/FRP水槽（実水量4 k）3面を用い、試験終了後の種苗を循環ろ過区と流水区ではそれぞれ500尾、止水区では40尾を試験区ごとに分けて収容した。飼育水温は、水槽内のチタン製熱交換器にて22℃に調整し、マダイ用配合飼料を給餌して100日間飼育した。生残魚の中から循環ろ過区では103尾、流水区では100尾、止水区では31尾をサンプリングし、外部形態の観察を肉眼で行い、形態異常魚と正常魚に区分した。

閉鎖循環システムの硝化能力の測定 閉鎖循環システムの硝化能力は、飼育試験開始直前（閉鎖循環システムの運転開始1カ月後）と終了後（閉鎖循環システムの運転開始3カ月後）に以下の方法で測定した。システム内の飼育水を全量新しいろ過海水に交換した後、飼育水槽内にアンモニア態窒素の濃度が3~8 ppmとなるように塩化アンモニウムを添加して5回転/日の循環ろ過を行い、24時間後に飼育水中のアンモニア態窒素濃度を測定した。閉鎖循環システムのアンモニア態窒素の硝化能力

は、便宜的に以下の式で求めた。

硝化能力 (mg/h): 塩化アンモニウム添加時と
24時間後のアンモニア態窒素濃度の差 (mg/l)
× システムの総水量 (l)/24時間 (h)

循環ろ過区と止水区の換水率の算出 両区は換水を行わなかったが、底掃除と泡沫分離の排水量と同量分のろ過海水を添加した。このため、1日当たりの換水率は、以下の式で求めた。

換水率 (%): 注水したろ過海水量の累計 (kl)/
システム全体の総水量 (kl)/飼育日数 (日) × 100

結 果

生残と成長 生残率は、試験開始後12日目の循環ろ過-1区では52.2%、循環ろ過-2区では70.5%、流水区では61.5%、止水区では34.5%、16日目の循環ろ過-1区では65.9%、循環ろ過-2区では44.3%、流水区では42.0%、止水区では29.4%と推定された（図2）。計数日によって生残尾数の推定値に変動はあるものの、各試験区とも16日目までに生残率の低下が見られ、特に止水区が生残率の低下は顕著であった。試験終了時の生残率は、循環ろ過-1区では67.8%、循環ろ過-2区では54.6%、流水区では41.3%であり、16日目以降は、大きな生残率の低下は見られなかった（表1、図2）。また、循環ろ過-1区と2区が生残率は、流水区が生残率より有意に高かった ($p < 0.01$)。一方、止水区では試験開始後34日目に表層を力なく遊泳する個体が見られ始め、35日目から36日にかけて6,900尾が死亡して生残尾数は40尾（生残率0.1%）となり、ほぼ全滅した。

平均全長は、試験開始後19日目までは各試験区間で有意な差はなかったが、27日目の循環ろ過-1区では11.04 mm、循環ろ過-2区では11.08 mm、流水区では11.85 mm、止水区では11.12 mmであり流水区平均全長は、循環ろ過-1区と2区と比較し有意に大きくなり ($p < 0.05$)、33日目の循環ろ過-1区では15.16 mm、循環ろ過-2区では15.13 mm、流水区では16.97 mm、止水区では17.81 mmであり流水区と止水区平均全長は、循環ろ過-1区と2区と比較し有意に大きく、また、止水区平均全長は、流水区と比較し有意に大きくなった ($p < 0.05$)。試験終了時の平均全長は、循環ろ過-1区では28.50 mm、循環ろ過-2区では30.34 mm、流水区では31.18 mmであり流水区平均全長は、循環ろ過-1区平均全長と比較し ($p < 0.01$)、循環ろ過-2区平均全長は、循環ろ過-1区と比較し ($p < 0.05$) 有意に大きくなった（表1、図2）。

水質の変化 pHは、循環ろ過-1区と2区では試験開始後3日目から5日目にかけて8.0から7.8まで低下し、その後、26日目までは7.8~7.7の範囲で変動したが、それ以降は急激に低下し試験終了時には7.2となった（図3）。流水区では試験開始後3日目までは7.9前後を維持

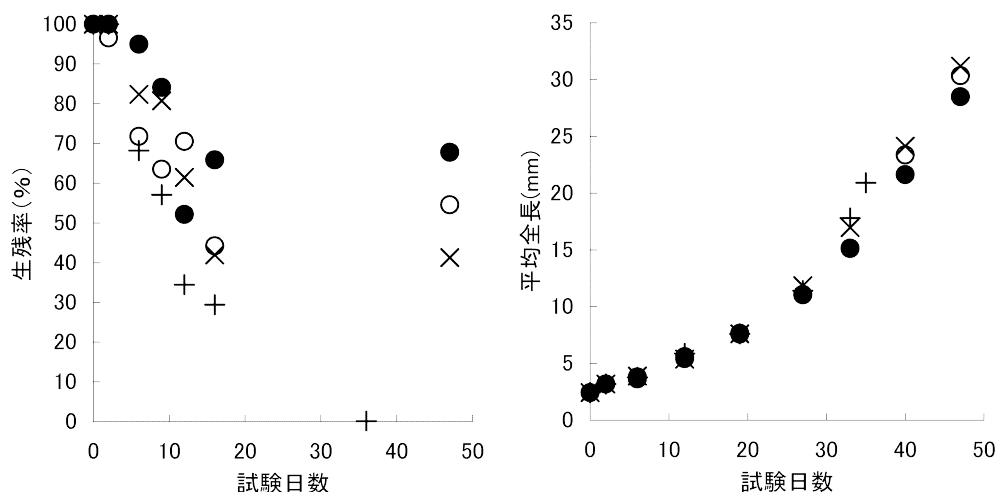


図2. 閉鎖循環飼育試験における各試験区の生残と平均全長
●: 循環ろ過-1区, ○: 循環ろ過-2区, ×: 流水区, +: 止水区.

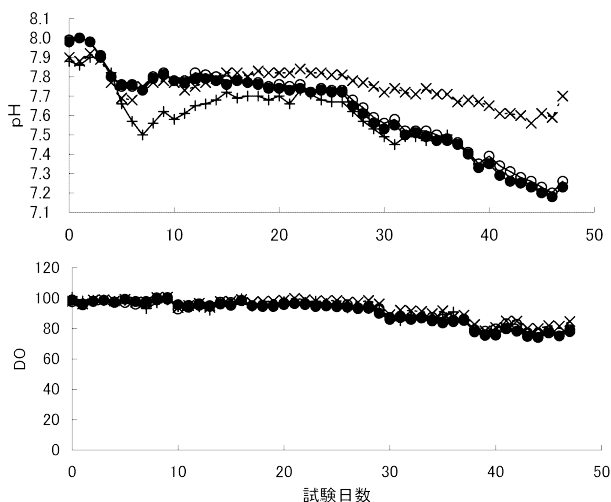


図3. 閉鎖循環飼育試験における各試験区のpHとDOの推移
●: 循環ろ過-1区, ○: 循環ろ過-2区, ×: 流水区, +: 止水区.

したが、4日目から6日にかけて7.7まで低下した。その後36日目までは7.8～7.7の範囲で変動し、それ以降、徐々に低下し44日目には7.5となった。止水区では試験開始後7日目に7.5まで低下したが、その後26日目までは7.7前後を維持し、それ以降は循環ろ過-1区と2区と同様な値であった。

溶存酸素飽和度は、各試験区とも試験開始後29日目までは90%以上を維持していたが、その後徐々に低下し、試験終了時には循環ろ過-1区、2区、流水区とも80%前後まで低下した(図3)。止水区では試験開始後35日目には87%まで低下した。

アンモニア態窒素濃度は、循環ろ過区-1区と2区では試験開始後30日目までは0.3ppm以下であったが、37日目には0.9～1ppmに上昇し、その後徐々に低下し試験終了時は0.6ppmとなった(図4)。流水区では試験開始後26日目までは循環ろ過-1区と2区と同様に推移し

たが、それ以降は循環ろ過-1区と2区ほどの上昇は見られず、試験期間を通して0.5ppm以下であった。止水区では試験開始後、徐々に上昇し、28日目には10ppmまで上昇したが、その後低下し、36日目には9ppmとなった。

亜硝酸態窒素濃度は、循環ろ過-1区と2区では試験開始後28日目までは0.2ppm以下であったが、それ以降急激に上昇し、試験終了時は3.9ppmとなった(図4)。流水区では、試験期間を通して0.1ppm以下であった。止水区では試験開始19日以降急激に上昇し、36日目には4.3ppmに達した。

硝酸態窒素濃度は、循環ろ過-1区と2区では、試験開始30日以降上昇し、試験終了時には31ppmとなった(図4)。流水区では、ほとんど上昇は見られず2ppm以下を維持した。止水区では試験開始後徐々に上昇し、36日目には5.4ppmとなった。

生菌数の動向 飼育水中の一般細菌数は、ふ化直後の試験開始後1日目では各試験区ともに 10^4 CFU/ml程度であったが、ワムシの給餌開始後の9日目では急激に増加し、各試験区ともに $10^6 \sim 10^7$ CFU/mlであった(図5)。その後は $10^5 \sim 10^7$ CFU/mlの範囲で変動した。ビブリオ属細菌数は、試験開始後1日目では、いずれの試験区においても検出されなかったが、9日目では $10^3 \sim 10^5$ CFU/mlまで急増し、その後は各試験区ともに $10^2 \sim 10^5$ CFU/mlの範囲で変動した。

閉鎖循環システム内の各処理工程の水質変化 各処理工程でのアンモニア態窒素濃度は、試験開始後12日目の物理ろ過前では0.157ppm、物理ろ過後では0.123ppm、生物ろ過UV後では0.047ppm、23日目の物理ろ過前では0.124ppm、物理ろ過後では0.089ppm、生物ろ過UV後では0.041ppm、33日目の物理ろ過前では0.446ppm、物理ろ過後では0.310ppm、生物ろ過UV後では0.241ppm、44日目の物理ろ過前では0.561ppm、物理ろ過後では0.245ppm、生物ろ過UV後では0.225ppmであり、

物理ろ過工程と生物ろ過工程で低下した（図6）。また、物理ろ過前と後のアンモニア態窒素濃度の差は、試験開始後12日目では0.034 ppm、23日目では0.035 ppm、33日目では0.136 ppm、44日目では0.316 ppmであり、試験日数が経過するに従い、アンモニア態窒素の減少量が

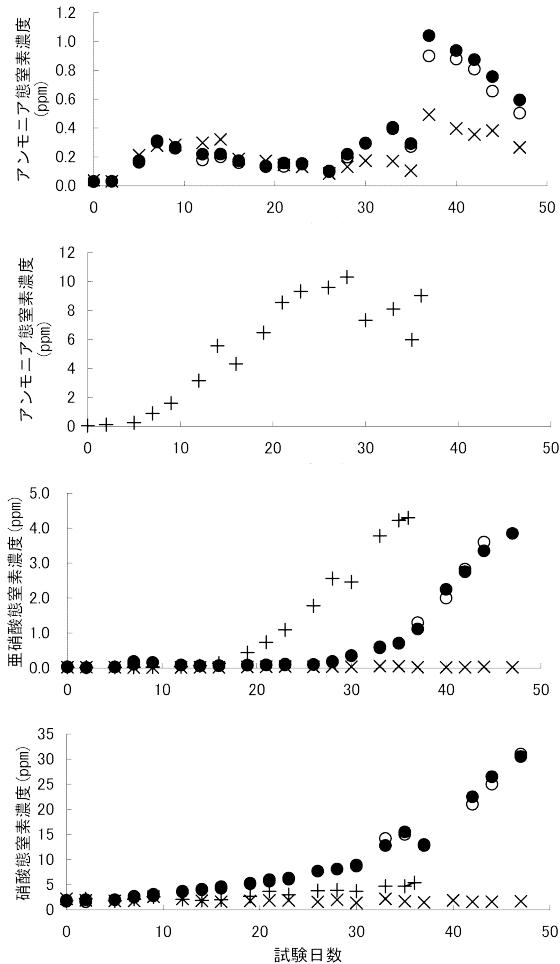


図4. 閉鎖循環飼育試験における各試験区のアンモニア態窒素濃度、亜硝酸態窒素濃度および硝酸態窒素濃度の変化
●：循環ろ過-1区，○：循環ろ過-2区，×：流水区，+：止水区。

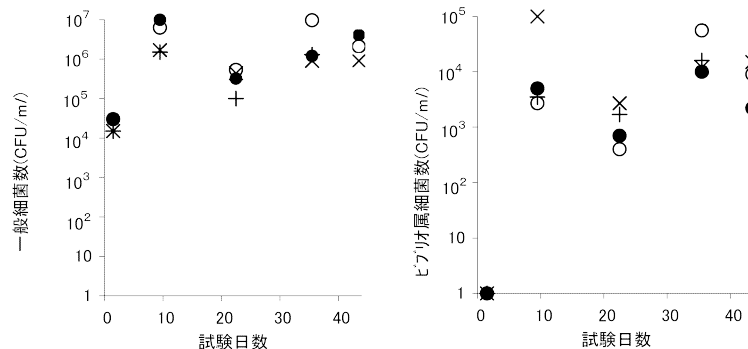


図5. 閉鎖循環飼育試験における各試験区の飼育水中の細菌数の変化
●：循環ろ過-1区，○：循環ろ過-2区，×：流水区，+：止水区。

大きくなる傾向が見られた。

亜硝酸態窒素濃度は、試験開始後12日目の物理ろ過前では0.087 ppm、物理ろ過後では0.138 ppm、生物ろ過UV後では0.075 ppm、23日目の物理ろ過前では0.092 ppm、物理ろ過後では0.138 ppm、生物ろ過UV後では0.086 ppm、33日目の物理ろ過前では0.665 ppm、物理ろ過後では0.795 ppm、生物ろ過UV後では0.620 ppm、44日目の物理ろ過前では3.500 ppm、物理ろ過後では4.225 ppm、生物ろ過UV後では3.600 ppmであり物理ろ過工程で上昇し、生物ろ過工程で低下した（図6）。

溶存酸素飽和度は、試験開始後42日目の物理ろ過前では93%、物理ろ過後では97%、生物ろ過UV後では74%、43日目と44日目の物理ろ過前では83～86%、物理ろ過後では92～93%、生物ろ過UV後では69～73%であり物理ろ過後は上昇するが、生物ろ過後には生物ろ過前の80%程度に低下した（図7）。

一般細菌数は、試験日数にかかわらず、物理ろ過前では $3.1 \sim 8.2 \times 10^6$ CFU/mlであったが、泡沫処理後では1オーダー近く減少し $1.7 \sim 5.0 \times 10^5$ CFU/mlとなり紫外線殺菌後では $1.7 \times 10^2 \sim 3.1 \times 10^3$ CFU/mlに減少した（図8）。ビブリオ属細菌数は、物理ろ過前では $3.9 \times 10^3 \sim 3.3 \times 10^4$ CFU/mlであったが泡沫処理後では1オーダー近く減少し $9.0 \times 10^2 \sim 4.4 \times 10^3$ CFU/mlとなり紫外線殺菌後では検出限界以下となった。

形態異常 100日間継続飼育した後の飼育方法が異なるマダイ稚魚における形態異常魚の出現割合は、循環ろ過区では7.8%、流水区では8.0%、止水区では9.7%であり試験区の違いにより有意な差はみられなかった（表2、 $p > 0.05$ ）。出現した形態異常の主なタイプは、脊椎湾曲、短軀、前頭部変形であった⁵⁾。

閉鎖循環システムの硝化能力 飼育試験開始時と終了時の閉鎖循環システムにおけるアンモニア態窒素の硝化能力を測定した結果、アンモニア態窒素の硝化能力は、試験開始時は183.3 mg/hで、一方、試験終了時は1,379.2 mg/hであり、終了時と開始時では7.5倍の差異があった（表3）。

閉鎖循環飼育での1日当たりの換水率 泡沫分離排水、

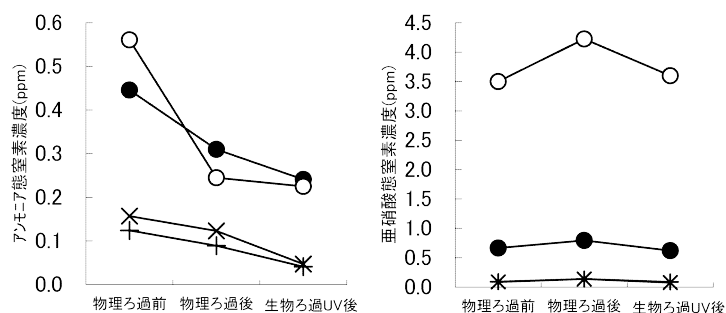


図 6. 閉鎖循環システムの各工程におけるアンモニア態窒素濃度と亜硝酸態窒素濃度の変化
×：試験開始後 12 日目，＋：試験開始後 23 日目，●：試験開始後 33 日目，○：試験開始後 44 日目。

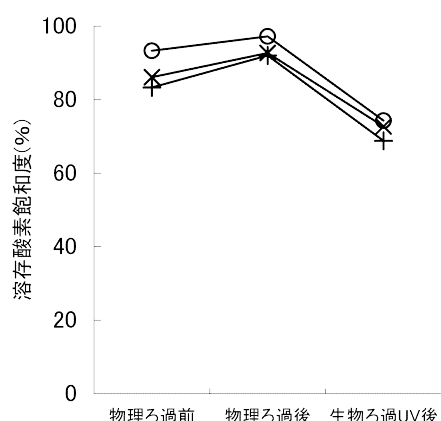


図 7. 閉鎖系循環システムの各工程における溶存酸素飽和度の推移
○：試験開始後 42 日目，＋：試験開始後 43 日目，
×：試験開始後 44 日目。

底掃除の排水の補充のために循環ろ過-1 区と 2 区に注水したろ過海水の総量は、4,500 l (47 日間の累計) であり、システム全体の総水量は 9,000 l であるので、1 日当たりの閉鎖循環システムの換水率は 1.1% であった。同様に止水区は、注水したろ過海水の総量は 900 l (36 日間の累計) であり、飼育水槽の実水量 4,000 l に対して、1 日当たりの換水率は 0.6% であった。

考 察

閉鎖循環システムによる種苗生産 循環型養殖システムの研究は、主に北西ヨーロッパと北アメリカで急速に進められており⁶⁾、スウェーデンでは 80 t/年の生産が可能でヨーロッパウナギの養殖システムが稼動しており、デンマークでも年間 950 t のナマズが循環ろ過方式で生産されている⁷⁾。わが国の海産魚の養殖分野では、閉鎖循環システムを用いてヒラメやペヘレイで飼育試験が行われている⁸⁻¹⁰⁾が、生物餌料を使用する種苗生産の初期段階から閉鎖循環システムを用いて飼育試験が行われた事例はほとんどない。通常の循環式の高密度飼育システムでは、1 日の換水率数%～十数%で養殖されるのが一般的であり¹¹⁾、Tomoda *et al.*³⁾ も閉鎖循環システムを用い

て新しい海水を 1 日に約 15% の割合で注水し、全長 9 mm サイズのマダイ仔魚の初期飼育に成功している。しかしながら、種苗生産コストの低減や疾病防除対策のためには、新しい海水を極力注水しない閉鎖循環システムの開発が必要であり、マダイの場合、一般的な種苗生産サイズである全長 30 mm サイズまで一貫して閉鎖循環システムで飼育を行うことができれば、事業規模の種苗生産への展開も可能と考えられる。このため、本試験では、蒸発、泡沫分離排水、底掃除排水の補充以外は注水を行わない種苗生産の可能性を検討した。

その結果、試験終了時の循環ろ過区の生残率は、54.6～67.8%と流水区を上回る成績を得ることができた (表 1)。止水区は、試験開始後 36 日目に大量死亡し、この時点で飼育水中のアンモニア態窒素濃度は 10 ppm、亜硝酸態窒素濃度は 4 ppm を超えており (図 4)、飼育魚の観察状況からも特に疾病の症状はないことから水質の悪化により死亡したと推察される。一方、循環ろ過区は、試験開始 30 日目以降、アルテミア幼生と配合飼料の給餌量がそれぞれ、1,600 万個体/日、100 g/日を超えた頃からアンモニア態窒素濃度、亜硝酸態窒素濃度、硝酸態窒素濃度ともに上昇し始め、最高時でアンモニア態窒素濃度は約 1 ppm、亜硝酸態窒素濃度は約 4 ppm、硝酸態窒素濃度は約 30 ppm まで上昇した (図 4)。しかし、止水区のような大量死亡は見られず、この濃度までであれば生残には影響しないと考えられた。平均全長は、試験開始後 19 日目までは各試験区で差は見られなかったが、その後流水区、止水区の平均全長は循環ろ過区よりも有意に大きくなり、試験終了時の流水区の平均全長は、循環ろ過-1 区よりも有意に大きくなった (図 2)。一方、試験終了時の飼育密度は、循環ろ過-1 区、循環ろ過-2 区、流水区の順で高かった (表 1)。水質の影響を受けて死亡し飼育密度が最も低い止水区の 33 日目の平均全長は、流水区と循環ろ過区よりも有意に大きいことから、各試験区の平均全長の差は、水質の影響というよりも飼育密度の影響を受けた可能性が大きいと考えられる。また、各試験区の稚魚を 100 日間育成し形態異常について調査した結果、形態異常率は、循環ろ過区、流水区および止水区の間で有意な差は見られず (表 2)、飼育方法の違い

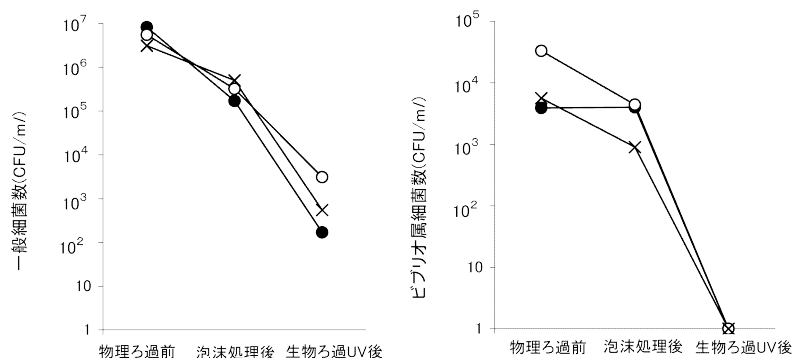


図 8. 閉鎖循環システムの各工程における細菌数の変化
●：試験開始後 9 日目，○：試験開始後 35 日目，×：試験開始後 43 日目。

表 2. 飼育方法が異なるマダイ稚魚における形態異常魚の出現割合

試験区	形態異常魚の割合 ¹⁾ (%)	調査尾数 (尾)	平均全長±標準偏差 (mm)
循環ろ過区	7.8	103	98.9±5.82
流水区	8.0	100	95.9±6.72
止水区	9.7	31	93.9±3.36

1) χ^2 独立性の検定の結果：各試験区間で有意差なし
 $p > 0.05$.

表 3. 飼育試験開始時と終了時の閉鎖循環システムにおけるアンモニア態窒素の硝化能力測定結果

	硝化能力* (mg/h)	アンモニア態窒素濃度 (mg/l)			システム 運転期間 (カ月)
		添加時	24 時間後		
飼育試験開始時	183.3	2.4	1.5		1
飼育試験終了時	1,379.2	7.8	1.2		3

* 硝化能力：塩化アンモニア添加時と 24 時間後のアンモニア態窒素濃度の差×システムの総水量/24 時間。
システムの総水量は 5,000 l.

が形態異常に及ぼす影響は少ないと考えられた。さらに、マダイの量産飼育を行っている独立行政法人水産総合研究センター伯方島栽培漁業センターの近年の飼育結果では、収容密度 1.8～2.3 万尾/kl、水温 20℃で流水飼育を行い、45～60 日間の飼育で平均全長 21.8～29.9 mm の種苗を生残率 51.9～63.3%で取り上げている^{12, 13)}。本試験の循環ろ過区の収容密度は、1.0～1.1 万尾/kl、飼育水温は 22℃、47 日目の平均全長は 28.5～30.3 mm、生残率は 54.6～67.8%であり、飼育条件が違うので一概には比較できないが、伯方島栽培漁業センターの量産飼育の結果とほとんど変わらないと考えられる。以上のように循環ろ過区では、流水区ならびに量産規模での飼育と同等の結果が得られたことから、本閉鎖循環システムで 1 日当たりの換水率は 1.1%とほとんどもろ過海水を注水せずに種苗生産サイズである全長 30 mm までのマダイの種苗生産が可能であることが明らかとなった。

飼育水の水質変化

pH の動向 pH が 6 以下になるとアンモニアの硝化が阻害されることが知られており¹⁴⁾、対策として pH 調整のためにサンゴ砂やカキ殻などがシステム内に投与されている。本試験でも、pH 低下対策として、ろ過材にサンゴ砂を用いたほか、貝化石を毎日飼育水槽内に散布した。結果的には、循環ろ過区の pH は、試験中 7 以上を維持し（図 3）、pH 低下による硝化作用への影響は少なかったと考えられる。貝化石を飼育水槽へ添加する効果については、水槽底に沈殿した貝化石粒子に硝化細菌が付着、増殖することにより、アンモニア態窒素を硝化する作用が認められている¹⁵⁾ほか、飼育初期において環境変動の低減効果もあることが報告されている¹⁶⁾が、pH 調整効果については今後検討する必要がある。一方、pH の上昇によりアンモニア態窒素は、毒性が高い非解離状態の割合が増加することが知られており、pH 8.5 から 10 にかけて非解離のアンモニアの割合が急激に増加する¹⁷⁾。そのため、アンモニア態窒素が蓄積した海水の pH を過度に上昇させることは供試魚にとって極めて危険である。今回の飼育試験中の pH の変動範囲 (7.1～8.0) では、非解離のアンモニアの割合は、10%以下と少ないことから¹⁷⁾、アンモニアの毒性に関しては安全な範囲であると推察された。

溶存酸素の動向 試験後半に窒素負荷が大きくなったときのシステム内の溶存酸素飽和度の変化を見ると、物理ろ過後 90%前後あった溶存酸素飽和度が生物ろ過後には約 20%低下して 70%前後となった（図 7）。溶存酸素の減少量は、生物ろ過による海水浄化量の指標となることが報告されており¹⁸⁾、生物ろ過槽で硝化が盛んに行われていることがうかがえた。しかし、これ以上に窒素負荷がかかった場合には、硝化による酸素消費量がさらに多くなり、その結果、飼育水の溶存酸素濃度の低下を招くおそれがある。本試験での循環ろ過区の飼育水中の溶存酸素飽和度は 75%以上を維持したが（図 3）、これ以上の溶存酸素濃度の低下は、硝化能力を低下させる影響^{17, 19)}のみならず、供試魚の生残などに影響をもたらす可能性があるため、生物ろ過装置内での酸素通気の検討

も必要である。

3 態窒素の動向 アンモニア態窒素濃度の変化を見ると、試験開始後 37 日目にピークに達した後、徐々に低下し、亜硝酸態窒素濃度は、30 日目に隆上昇し続けている(図 4)。河合ら²⁰⁾は、水温 22℃で、ろ過材中のアンモニア酸化細菌数は約 1 カ月、亜硝酸酸化細菌数は約 2 カ月で最大値に達し、平衡を保つようになることを報告している。また、閉鎖循環システムにおけるアンモニア態窒素の硝化能力測定結果では、閉鎖循環システムの運転期間が 1 カ月より 3 カ月と長い方がアンモニア態窒素の硝化量が多いことから(表 3)、本試験開始時には、ろ過材中のアンモニア酸化細菌、亜硝酸酸化細菌の増殖が十分でなかったため、配合飼料の給餌量が多くなった試験後半に窒素負荷が大きくなり、アンモニア態窒素濃度、亜硝酸態窒素濃度とも上昇したのではないかと考えられる。Tomoda *et al.*³⁾の試験においても飼育試験開始時のろ過材の熟成期間は約 2 週間と短かったため、試験初期にアンモニア態窒素と亜硝酸態窒素の蓄積が見られており、飼育水の水質を良好に維持するためには、飼育試験開始時に十分に熟成したろ過材を用いる必要性が示唆された。

硝酸態窒素については、ヒラメの幼魚の閉鎖循環飼育では 800~900 ppm 前後で 2 週間飼育した場合、成長に影響が現れることが報告されている²¹⁾。本試験では、試験終了時に循環ろ過区で約 30 ppm まで上昇したが(図 4)、成長に大きな影響は認められなかったことから、この濃度まではマダイ稚魚に影響がないことがわかった。

細菌数の変化 各試験区ともにふ化直後は飼育水槽内での細菌の数は少ないが、ワムシの給餌とともに、急激に一般細菌数、ビブリオ属細菌数とも増加し、その後、一般細菌数は $10^6 \sim 10^7$ CFU/ml、ビブリオ属細菌数は $10^4 \sim 10^5$ CFU/ml 程度を維持した(図 5)。循環ろ過区と流水区の飼育水中の細菌数の変化は、止水区とほとんど変わらなかったことから、いったん飼育水槽内で細菌が増殖すると 5 回転/日程度の流水、あるいは循環ろ過では飼育水中の細菌数を減らすことは困難であると考えられた。飼育水中の細菌の増殖は、生物餌料や飼育魚の排泄物による影響が大きいと考えられ、疾病を防除するためには給餌する生物餌料の管理が重要と考えられた。

システムの機能 47 日間の飼育で生物ろ過槽の目詰まりはほとんどなく、泡沫分離装置で懸濁性有機物が有効に除去されていたと考えられる。また、泡沫分離後の海水中の一般細菌数、ビブリオ属細菌数とも泡沫分離前の 1/10 程度に減少しており(図 8)、泡沫分離装置は、丸山ら²²⁾が報告しているように細菌の除去にも有効と考えられた。しかし、前述したように飼育水中の細菌数を減らす効果は認められなかった。

各工程での硝化作用について見ると、丸山ら^{22, 23)}によれば泡沫分離法では、アンモニア態窒素はほとんど除去できないと報告しているが、本試験では、試験後半に物

理ろ過工程でアンモニア態窒素の硝化量が多くなっている(図 6)。本システムの物理ろ過工程では、飼育水槽と泡沫分離装置の間の受水槽にプレフィルターを設置しており、そこに増殖したアンモニア酸化細菌により試験後半にアンモニアの硝化が行われていたのではないかと推察される。一方、亜硝酸態窒素に関しては、生物ろ過工程でよりいっそう減少する傾向が見られたが、各工程における硝化細菌の動向、硝化能力などについては、今後さらに検討が必要である。

今後の課題 本試験では、約 1 万尾/kl の飼育密度でマダイを収容し、30 mm サイズで飼育密度 6,000~7,000 尾/kl、55~68% の高い生残率で種苗を取り上げることができた。今後はこのシステムでの適正な飼育魚の収容量を明らかにする必要がある。また、今回の試験では、生物ろ過槽の熟成期間が十分でなく、飼育後半にアンモニア態窒素濃度と亜硝酸態窒素濃度が上昇したことから適切な生物ろ過槽の熟成期間の検討も必要である。中間育成などで大型サイズまで閉鎖循環飼育を行う場合は、窒素負荷が今回の試験よりも大きくなることが予想され、アンモニア態窒素と亜硝酸態窒素の蓄積によって生残に悪影響を及ぼす可能性があることから、閉鎖循環システムの硝化能力をさらに高めることが必要である。本閉鎖循環システムでは、生物ろ過槽の容量(300 l)は、全システム容量(約 9,000 l)の 3.3% と小型化を図っている。種苗生産コストの低減を図るためには、生物ろ過槽の容量は変えずに硝化能力を高めることが望ましい。今後、適正な循環ろ過率およびろ過材などについてさらなる検討が必要である。

睦谷ら²⁾は、循環ろ過システムを用いたオニオコゼの種苗生産で飼育水槽内のストレーナーで生物餌料を飼育水槽内に残したまま循環ろ過を行うことにより、餌料コストの低減を図っている。本閉鎖循環システムでは、生物餌料を含んだ飼育排水を受水槽内のプランクトンネットで採取し取り除いており、システム全体の循環ろ過率を高くすると、飼育水槽内から流出する生物餌料が多くなる。今後、餌料コストの削減対策として、回収した生物餌料の再利用についても検討する必要がある。

謝 辞

本論文を取りまとめるに当たり、多大なご指導をいただいた屋島栽培漁業センター岩本明雄場長に深謝いたします。また、試験にご協力いただいた屋島栽培漁業センターの職員の方々に厚くお礼申し上げます。

文 献

- 1) 水産庁栽培養殖課(1998) 環境創出型養殖技術の開発. 養殖, 5, 38-40.
- 2) 睦谷一馬・中瀬玄徳・柳 秀林(2001) オニオコゼの種苗

- 生産に関する研究—II 流水飼育と循環ろ過飼育. 栽培技
研, **29**, 1-7.
- 3) TOMODA, T., H. FUSHIMI, and H. KUROKURA (2005) Per-
formance of a closed recirculation system for larviculture
of red seabream, *Pagrus major*. *Fisheries Sci.*, **71**, 1179-1181.
- 4) 山野井英夫・惣明睦枝・室賀清邦 (1998) ワムシのニフル
スチレン酸ナトリウム浴の効果持続時間と栄養強化剤の影
響. 水産増殖, **46**, 141-144.
- 5) 山本義久 (2001) ニシンの種苗生産技術. (社)日本栽培漁業
協会栽培漁業技術シリーズ No. 7, pp. 52-58.
- 6) van RIJIN, J. (1996) The potential for integrated biological
treatment systems in recirculating fish culture—A review.
Aquaculture, **139**, 181-201.
- 7) ROSENTHAL, H., and F. A. BLACK (1993) Recirculation
systems in aquaculture, in “Techniques for modern aquacul-
ture (ed. by Jaw-Kai Wang)”, American society of agricultur-
al engineering, Michigan, pp. 284-294.
- 8) HONDA, H., Y. WATANABE, K. KIKUCHI, N. IWATA, S.
TAKEDA, H. UMEMOTO, T. FURUTA, and M. KIYONO
(1993) High density rearing of Japanese flounder, *Paralich-
thys olivaceus* with a closed seawater recirculation system
equipped with a denitrification unit. *Suisanzoushoku*, **41**, 19-
26.
- 9) 丸山俊朗・鈴木祥広・佐藤大輔・神田 猛・道下 保
(1999) 泡沫分離・硝化システムによるヒラメの閉鎖循環
式高密度飼育. 日水誌, **65**, 818-825.
- 10) 吉野博之・GRUENBERG, D. E.・渡部 勇・佐藤 修
(1999) 閉鎖循環式養殖システムにおける脱窒. 水産増殖,
47, 445-451.
- 11) 鈴木祥広・丸山俊朗・竹本 進・小田リサ (1999) 泡沫分
離・硝化システムによるウナギの閉鎖循環式高密度飼育.
水環境学会誌, **22**, 896-903.
- 12) 日本栽培漁業協会 (2002) 日本栽培漁業協会事業年報 (平
成 12 年度). 日本栽培漁業協会, 東京, pp. 218-219.
- 13) 日本栽培漁業協会 (2003) 日本栽培漁業協会事業年報 (平
成 13 年度). 日本栽培漁業協会, 東京, pp. 252-255.
- 14) TIMMONS, M. B., and T. M. LOSORDO (eds.) (1994) “Aqua-
culture water reuse systems: engineering design and manage-
ment”. Elsevier, Amsterdam, p. 333.
- 15) 小金隆之・兼松正衛 (2004) 飼育水への貝化石の添加がク
エの成長, 生残および水質に及ぼす影響. 栽培漁業セン
ター技報, **2**, 17-21.
- 16) 照屋和久 (2002) クエ種苗生産の初期減耗対策. 養殖, **2**,
66-69.
- 17) 菊池弘太郎・清野通康・本田晴朗・佐伯功 (1987) 水質浄
化技術開発動向調査報告—高能率魚類生産技術と関連して
—, 電力中央研究所報告, **U86028**, 1-25.
- 18) 平山和次 (1965) 海産動物飼育海水の循環濾過式浄化法に
関する研究—I. 濾過による海水浄化量の指標としての溶存
酸素飽和度の減少量. 日水誌, **31**, 977-982.
- 19) 植本弘明・菊池弘太郎・清野通康 (1991) 高能率魚類生産
のための水質浄化技術の開発 (6)—海洋性硝化細菌の固定
化とその有効性—, 電力中央研究所報告, **U90056**, 1-26.
- 20) 河合 章・吉田陽一・木俣正夫 (1964) 循環濾過式飼育水
槽の微生物学的研究—I. 魚の飼育に伴う水質ならびに微生
物相の変化について. 日水誌, **30**, 55-62.
- 21) 武田重信・本田晴朗・菊池弘太郎・岩田伸弘・清野通康
(1990) 高能率魚類生産のための水質浄化技術の開発. 5. ヒ
ラメの長期飼育時における水質変化. 電力中央研究所報
告, **U90042**, 1-24.
- 22) 丸山俊朗・奥積昌世・佐藤順幸 (1996) 循環式泡沫分離—ろ
過システムによるヒラメ蓄養水の浄化. 日水誌, **62**, 578-
585.
- 23) 丸山俊朗・奥積昌世・佐伯和昭・嶋村 茂 (1991) 活魚輸
送・蓄養における泡沫分離法の飼育海水浄化能. 日水誌,
57, 219-225.