

種苗生産池中の窒素化合物の挙動から みたガザミ生産成績の違いについて

楊 琇瑩・可部田靖士*
松田 治・山本 民次

広島大学生物生産学部, 東広島市 724

1994年4月25日 受付

要 旨 1991年のガザミ種苗生産期に, 広島県栽培漁業協会において3種の異なる飼育水, すなわち緑藻主体のグリーンウォーター (G), 珪藻主体のブラウンウォーター (B) およびその混合水 (B+G), を用いた3つの池における形態別窒素化合物 (アンモニア態窒素, 亜硝酸態窒素, 硝酸態窒素, 粒状態有機窒素) の変動を調査し, この結果と種苗生産期間中のガザミ幼生の生残率との関係について検討した。植物プランクトン濃度と各態窒素化合物濃度, 特に毒性があるアンモニア態窒素濃度はG池で最も高く ($1.95\sim 79.67 \mu\text{g atN}\cdot\text{l}^{-1}$), B池では最も低かった ($0.65\sim 16.36 \mu\text{g atN}\cdot\text{l}^{-1}$)。1989-1991年の3年間の生産成績記録では生残率がG池で高かったことはなく, 逆にB池では生残率が極端に低かったことはなかった。G池では緑藻ナンクロロプシスの増殖が著しく, それらの沈降フラックスも著しく大きかった。従って, 大量の沈積物が分解して池水中のアンモニアの供給源となるため, G池ではガザミ種苗の生残率すなわち生産成績が一般に低下しているものと考えられた。

キーワード: アンモニア, ガザミ, 生残率, 窒素化合物, 幼生

緒 論

日本のガザミ (*Portunus trituberculatus*) 種苗生産は, 既に長い歴史を持っており, 各種の技術的改良が加えられて, 1989年現在では全国で約6,900万尾の第一令稚ガニが生産されている(日本栽培漁業協会, 1991)。しかしながら, この生産技術には依然として確立されていない面があり, 原因不明のまま著しく低い歩留まりに終わる生産事例も珍しくない。飼育期間中には, 飼育水槽内の人為的, 閉鎖的な生態系の環境管理の適否が飼育成績を大幅に左右することになる。しかし, ガザミ幼生の成長を促進する環境を作る技術は微妙な点でまだ経験に頼っているため, 飼育環境の管理は必ずしもいつもうまくゆくとはいえない。

その理由の一つは水中の窒素化合物, 特にアンモニア濃度のコントロールがうまくできていないことによると考えられる。このことは飼育水槽に導入する原海水の水質が適切で基本的条件が維持されている場合でも起こりうる。なぜならば, 窒素化合物は生体の主な構成成分の一つであるから, 当然ガザミの排泄物中に多く含まれ, 同時に餌料中の含有量も多いからである。これらの有機態窒素を含む排泄物, 残餌やガザミ幼生の遺骸は水中の微生物により分解されて最終的に無機三態窒素 (アンモニア態窒素, 亜硝酸態窒素, 硝酸態窒素) となるが, これらは飼育水槽中において植物プランクトンの栄養塩である反面, ガザミ幼生にとってはアンモニアは有毒物質ともなるので, 飼育環境中の汚染物質の一つと言える。したがって, ガザミ種苗生産池の水質管理のためには, 飼育水槽内における基本的な水質形成要素としての窒素化合物を形態別に調べ, それらの動態を明らかにする必要があると考えられる。

本研究では1991年4~6月のガザミ種苗生産期に, 竹原市の広島県栽培漁業協会での種苗生産池中の各態窒素化合物濃度および粒状態窒素の沈降フラックスなどを調査し, 飼育水槽中の植物プランクトン種の違いによる窒素化合物の動態の違いを論じた。それらの結果を過去の種苗生産成績と比較検討し, 生産成績を悪くする原因の一つが, 窒素循環のアンバランスからくるアンモニアの溶出にあることを明らかにすることを

*現勤務先: 日本メディカルサプライ(株), 〒730 広島市中区舟入南3-4-9

目的とした。

研究方法

1. 本研究で対象としたガザミ種苗生産の概要

広島県栽培漁業協会では、栽培漁業協会竹原地先の浮桟橋よりポンプで取水し、粗砂で濾過した海水をガザミ種苗生産に使用している。抱卵している親ガニを県内の漁協より搬入して産卵させ、幼生をふ化槽でふ化させた後、種苗生産池に収容して飼育を開始した。種苗収容日の生産池における水量は 40~60 m³ で数日間止水状態で飼育した後、徐々に換水を行いながら 85 m³ まで追水し、その後は流水状態 (26~383 m³·d⁻¹) で飼育を行った。水質環境を維持するため、緑藻ナンクロロプシスを培養した“グリーンウォーター”(G)、珪藻を主体とする“ブラウンウォーター”(B) およびそれらを混合したもの (B+G) を池水に添加した。また、池中の植物プランクトンの成長のため、肥料としてマリンG (川畑商会) と無機肥料 (KNO₃ を中心) をゾエア期に添加した。ガザミ幼生は通常5回の脱皮により4期のゾエアと1期のメガロパを経て稚ガニへと変態する。ゾエア4令期 (9~12日目) には池底の沈積物の除去 (底掃除) が行われた。エサとしては、飼育開始後9~11日目までは主としてシオミズツボウムシ (以下ワムシという) を、5日目よりアルテミア幼生を、メガロパ期からアミエビミンチを投与した。また、G池と (B+G) 池ではゾエア1~2令期と3~4令期の間にそれぞれ一日当たり 100 g と 150 g の配合餌料を投与した。B池では配合餌料を投与しなかった。

2. 観測日時と測定項目

グリーンウォーター (G)、ブラウンウォーター (B) およびその混合水 ((B+G)) のそれぞれ異なる飼育水を用いた3つの池で1991年4月27日~6月14日の間、週に2~4回、午後2時に採水を行った。これらの試水の水温 (棒状水銀温度計)、pH (ガラス電極 pH メーター)、塩分 (卓上サリノメーター、YEO-KAL 社、601 MK-V)、クロロフィル *a* 量 (chl.*a*)、アンモニア態窒素 (NH₄-N)、亜硝酸態窒素 (NO₂-N)、硝酸態窒素 (NO₃-N)、粒状態有機窒素 (PON) について測定した。chl.*a* は吸光法 (STRICKLAND and PARSONS, 1972) で測定し、SCOR-UNESCO (1966) の式により算出した。NH₄-N はインドフェノール法 (日本海洋学会, 1990) によって定量した。NO₂-N は BENDSCHNEIDER and ROBINSON 法 (日本海洋学会, 1980) によって定量した。NO₃-N はカドミウム-銅カラム還元法 (日本海洋学会, 1980) によって定量した。PON は CHN コーダー (ヤナコ MT-3 型) で分析した。また、セディメント・トラップを池底に一定期間吊下し、PON, chl.*a* の沈降フラックスを測定した。

結果および考察

1. 種苗生産池中の水温、塩分および pH の変動

水温は (B+G) 池と B池では 23.6~26.8°C と安定していたが、G池では 18.8~24.7°C と他の池に比べて低い水温であった (Table 1)。塩分は 30.23~33.50‰、pH は 8.14~8.46 であった (Table 1)。ガザミ幼生がふ化して稚ガニに発育するまでの所要日数は、水温 22~27°C の範囲では水温が高いほど短くなり、16~21日間であることより (和田・丹下, 1983)、G池での飼育日数 (24日) が他の池 (18~19日) より長かったのは、水温が低かったことによるものと思われる。また、ガザミ幼生は普通 25°C 前後で飼育したときに安定した生産が得られることより (赤沢, 1973)、今回調査した生産池においては、G池を除いて適切な水温度範囲で飼育されたといえる。また、丹下 (1976) によると塩分 26~36 の範囲ではゾエア幼生の生残には影響はないとしているので、適正な塩分条件で飼育されたといえる。

2. 種苗生産池中の無機三態窒素濃度の変動

NH₄-N 濃度は、飼育日数の経過にともなって上昇したが、底掃除と大量換水によって急速に低下した (Fig. 1)。NH₄-N 濃度の変動は生産期間を通じて、G池で 1.95~79.67 μg atN·ℓ⁻¹、(B+G) 池で 1.82~60.17 μg atN·ℓ⁻¹、B池で 0.65~16.36

Table 1. Environmental conditions of three different kinds of pond water in 1991.

Water	Water temp. (°C)	pH	Salinity (‰)
Green water	18.8~24.7	8.14~8.43	30.89~32.98
B+G water	23.6~25.5	8.19~8.46	30.23~32.57
Brown water	24.1~26.8	8.26~8.46	31.85~33.50

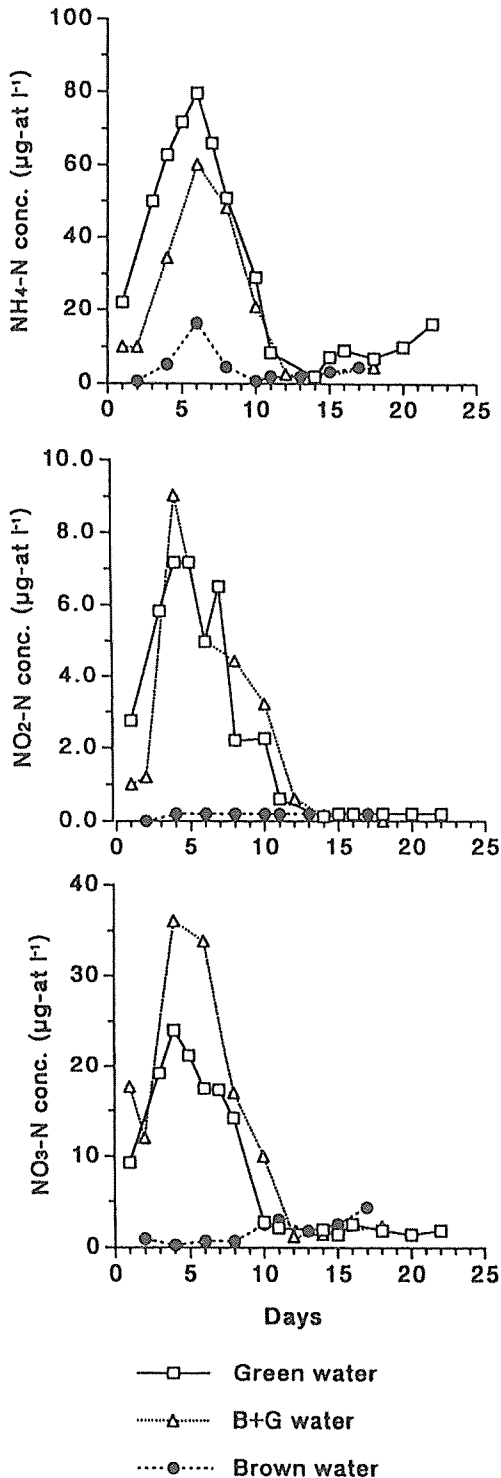


Fig. 1. Variations of $\text{NH}_4\text{-N}$, $\text{NO}_2\text{-N}$ and $\text{NO}_3\text{-N}$ concentrations in the three different kinds of pond water in 1991.

$\mu\text{g atN}\cdot\text{l}^{-1}$ の範囲で、G池で最も高く、B池で最も低かった。生産初期に $\text{NH}_4\text{-N}$ が高濃度となる理由としては、通常ゾエア1令期および2令期の初期までは、生育環境の変化を防ぐために止水状態で飼育することがあげられる。この場合、池ごとの濃度の違いは投入された有機物量によるが、餌料などの投入量にはさほど違いはないため、特に水質安定用に投入された植物プランクトン濃度によると思われる。

$\text{NO}_2\text{-N}$ 濃度は、G池で $0.20\sim 7.17\ \mu\text{g atN}\cdot\text{l}^{-1}$ 、(B+G)池で $0.00\sim 9.03\ \mu\text{g atN}\cdot\text{l}^{-1}$ 、B池で $0.00\sim 0.20\ \mu\text{g atN}\cdot\text{l}^{-1}$ の範囲で変動した (Fig. 1)。 $\text{NO}_2\text{-N}$ 濃度の変化は $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度の変化とほぼ同様で、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度が高いときには $\text{NO}_2\text{-N}$ 濃度も高く、低いときには $\text{NO}_2\text{-N}$ 濃度も低かった。

$\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度の変動は、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度の変動とほぼ同様の変動を示したが、最も高濃度であったのは(B+G)池の4日目の $35.48\ \mu\text{g atN}\cdot\text{l}^{-1}$ であった (Fig. 1)。施肥によって飼育期間中に直接 $\text{NO}_3\text{-N}$ として添加された池は (B+G) 池のみであった。この添加量は 57.5gN で、濃度としては $13\ \mu\text{g atN}\cdot\text{l}^{-1}$ 上昇させる程度で、池水中の $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度の約36%であった。したがって、(B+G)池における $\text{NO}_3\text{-N}$ の残り64%は $\text{NH}_4\text{-N}$ から硝化作用で生成されたものと考えられる。

各令期のガザミ幼生に対する無機三態窒素の24時間半数致死濃度は、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ でそれぞれ $4.8\sim 7.6$ 、 $14.0\sim 26.5$ 、 $160\sim 280\ \text{mg atN}\cdot\text{l}^{-1}$ の範囲であり、ガザミ幼生の脱皮時期にはさらに低い濃度で、例えば、ガザミ幼生にとって最も抵抗力の低いゾエア1令から2令への脱皮時期にはこれらの値のそれぞれ60%、11%、54%の濃度に低下すると言われている (馬渡・平山, 1975)。24時間半数致死濃度自体は、今回観測された無機三態窒素濃度に比べて極めて大きな値である。しかし、致死量以下の $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度でも、魚の生理学的障害や組織病理学的障害を引き起こすという報告があり (FLIS, 1968) 海産甲殻類の幼生においては摂餌と消化を妨げて成長率を低下させるという報告がある (花岡, 1973, 1977)。また、海産甲殻類幼生に対する半数致死濃度は $\text{NH}_4\text{-N}$ および $\text{NO}_2\text{-N}$ がそれぞれ単独で存在する場合よりそれらが共存する場合の方がはるかに低く、5分の1程度になると報告されている (CHEN and CHIN, 1988; CHEN *et al.*, 1989)。したがって、ガザミ幼生にとって最も抵抗力の低いゾエア1令期から2令期への脱皮時に、致死濃度には達

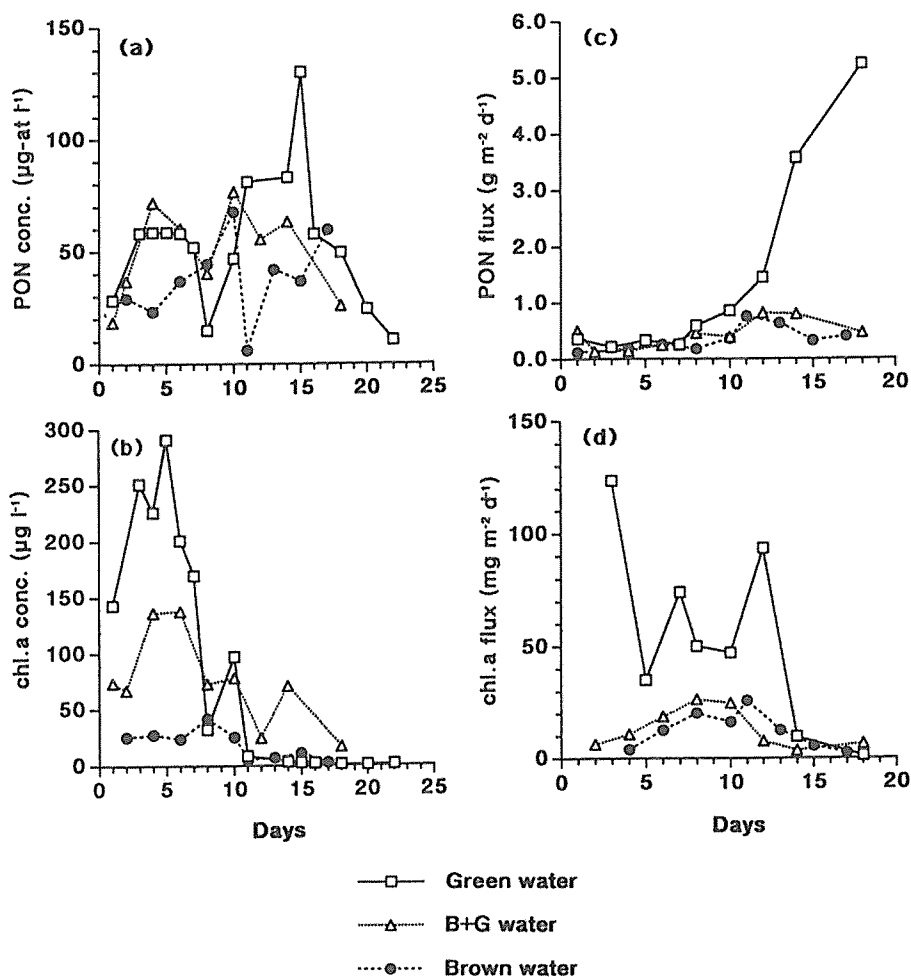


Fig. 2. Variations of PON (a) and chl. *a* (b) concentrations and vertical flux of PON (c) and chl. *a* (d) in the three different kinds of pond water in 1991.

さなくとも、比較的高い $\text{NH}_4\text{-N}$ に 4~5 日間接触することによる影響が全くないとは考えられず、この時点でのストレスがソエア 4 令期からメガロバ期への脱皮時の大量へい死を招く一因となることも考えられる。

3. 種苗生産池中の PON と chl. *a* の変動

池水中の PON 濃度は、いずれの池でも増減を繰り返しており、G池では最大値は15日目の $129.90 \mu\text{g atN}\cdot\text{l}^{-1}$ で、(B+G)池では10日目に最大値 $76.44 \mu\text{g atN}\cdot\text{l}^{-1}$ を示し、B池では9日目に最大値 $67.68 \mu\text{g atN}\cdot\text{l}^{-1}$ を示した (Fig. 2)。PON の沈降フラックスは、底掃除を行うまでG池で $0.22\sim 0.85 \text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ 、(B+G)池で $0.13\sim 0.45 \text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ 、B池で $0.12\sim 0.37 \text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ の間で変動し、その後いずれの池でも上昇した (Fig. 2)。これは投餌量の増加と餌料の変化 (アミエビミンチに変わった) にともなって沈積物の起源が変わり、量も増大したことによるものと思われる。

池水中の chl. *a* は、G池では生産開始日より $143.10 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ と高濃度であり、その後増加して、6日目に最大値 $290.75 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ に達したが、換水によってその後減少した (Fig. 2)。(B+G)池の chl. *a* 濃度の変化はG池とほぼ同様であったが、最大値 $137.72 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ とG池より低かった。B池ではさほど大きな変動はなく、7日目に最大値 $41.93 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ を示し、その後減少した。

chl. *a* の沈降フラックスはG池で最も多く、 $1.24\sim 123.64 \text{mg}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ であり、次に多かったのは (B+

G) 池の $2.54 \sim 26.40 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$ であった。B 池では最も少なく、 $2.45 \sim 25.95 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$ 間の値であった (Fig. 2)。どの池でも生産開始後14日目当たりからほとんど同じ量になった。これらの変動は池水中の chl.a 濃度の変動を数日遅れて追いかけていたようである。

池中の有機物に植物プランクトンがどの程度占めているかの指標となる PON:chl.a 比を Fig. 3 に示した。池水中および沈積物中の PON:chl.a 比は、どの池でも10日目あたりまで40以下の値を示し、その後上昇した。植物プランクトン細胞の PON:chl.a 比は一般的に 5~16程度である (パーソンズ・高橋, 1976)。このことより、各池とも生産10日目までは池水中と沈積物中の有機物は植物プランクトンが主体であったと考えられるのに対し、その後は非植物プランクトン態の有機物が主体となったと推定される。ガザミ種苗生産池で植物プランクトンの果たす役割としては、主として水中照度の制御や窒素、リンの吸収などが期待されている (和田・丹下, 1983)。しかし、植物プランクトンの生理状態が正常でその期待される作用を正常に行っていればよいが、なんらかの影響で正常な作用が行われなくなったときには、細胞が種苗生産池中に高濃度に存在しているだけに、池水中の大量な汚濁源となる。また、飼育水中の $\text{NH}_4\text{-N}$ の主な起源は池底の沈積物であるので (楊, 未発表)、生産前期に沈積物の主体である植物プランクトンの生理状態と濃度を適正に保つことが重要である。

4. 生産結果

収容尾数は、G 池で165万尾、(B + G) 池で211万尾、B 池で200万尾であった。歩留まりは、最も収容尾数の少なかったG 池で2.6%と極端に悪く、B 池では22.4%と最高であった (Table 2)。さらに、1989~1991年の広島県栽培漁業協会におけるガザミ

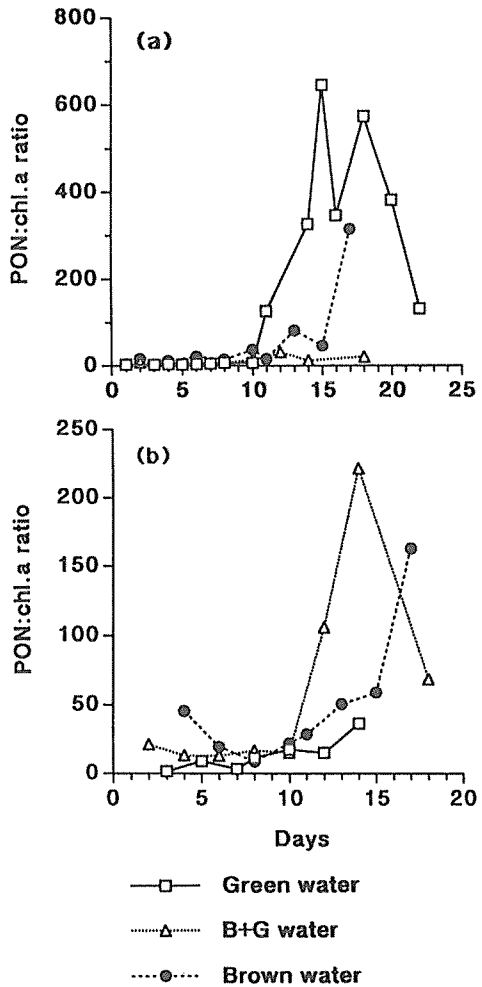


Fig. 3. Variations of PON: chl. a ratio of (a) suspended particles and (b) the trapped material in the three different kinds of pond water in 1991.

Table 2. Record of larval rearing for mass production of the swimming crab *Portunus trituberculatus* and $\text{NH}_4\text{-N}$ concentrations in rearing seawater, 1991.

Water	Rearing period (days)	Number of stocked ^{a)}	Number of produced ^{b)}	Survival rate (%)	$\text{NH}_4\text{-N}$ ($\mu\text{g atN} \cdot \ell^{-1}$)
		($\times 10^4$ inds.) (A)	($\times 10^4$ inds.) (B)	(B/A) $\times 100\%$	
Green water	24 (27 Apr. - 20 May)	165	4.3	2.6	1.95~79.67
B+G water	19 (11 May - 29 May)	211	45.4	21.5	1.82~60.17
Brown water	18 (28 May - 14 June)	200	44.7	22.4	0.65~16.36

a): Zoea I.

b): Crab I.

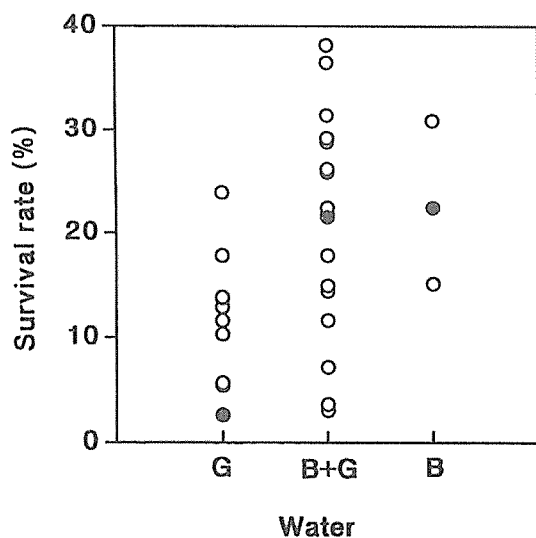


Fig. 4. Comparison of survival rate of the swimming crab *Portunus trituberculatus* in the three different kinds of water in 1989-1991. G, green water; B+G, brown water+green water; B, brown water. Closed circles indicate the survival rates during the larval rearing investigated in the present study.

種苗生産の歩留まりは、G池では高いことがほとんどなく、他方、B池における生産については極端に低い歩留まりを出すことがないことが分かる (Fig. 4)。

ま と め

以上の結果より、生産成績がB池に比べてG池で相対的に悪くなるのは、添加したナンクロロプシスが繁殖しすぎ、飼育前期に池中の沈積物の主体となり、これらが微生物によって分解されて水中の $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度を上昇させ、水質を悪化させる原因になるためと考えられる。それに対して、B池では各態窒素濃度が低く、植物プランクトンの成長も安定していたことより、池内での物質循環がバランスよく進行したと考えられる。

謝辞 本研究を行うに当たり、現場観測のために多大の便宜を計っていただいた広島県栽培漁業協会の方々、特に慶徳尚壽氏、村上啓士氏に感謝いたします。

引 用 文 献

- 赤沢能久, 1973, 種苗生産における飼育水の攪拌装置とその効果について. 栽培技研, 1: 49-55.
- CHEN, J. C. and CHIN, T. S., 1988, Joint action of ammonia and nitrite on Tiger Prawn *Penaens monodon* postlarvae. *J. World Aqua. Soc.*, 19: 143-148.
- CHEN, J. C., CHEN, K.J. and LIAG, J. M., 1989, Joint action of ammonia and nitrite on *Artemia* nauplii. *Aquaculture*, 77: 329-336.
- FLIS, J., 1968, Anatomicohistopathological changes induced in carp (*Cyprinus carpio* L.) by ammonia water. Part II. Effects of subtoxic concentrations. *Acta Hydrobiol.*, 10: 225-233.
- 花岡 悠, 1973, 三種の浮遊性甲殻類の飼育について. 日本プランクトン学会報, 20: 19-29.
- 花岡 悠, 1977, アルテミアの成長に及ぼすアンモニアの毒作用とクロレラによるアンモニアの吸収除去. 日本プランクトン学会報, 24: 99-107.
- 馬渡健二・平山和次, 1975, 水産生物幼生の無機態窒素に対する抵抗力の成長にともなう変化. 長崎大水研報, 39: 1-6.
- 日本海洋学会, 1980, 海洋環境調査法, 改訂版. 669 pp. 恒星社厚生閣, 東京.
- 日本海洋学会, 1990, 海洋観測指針. 気象庁編, pp. 181-184, 東京.
- 日本栽培漁業協会, 1991, 平成元年度栽培漁業種苗生産, 入手・放流実績 (全国). pp. 11-14, 水産庁, 東京.
- パーソンズ, T. R.・高橋正征, 1976, 生物海洋学, 市村俊英訳, 246 pp. 三省堂, 東京.
- SCOR-UNESCO, 1966, Determination of photosynthetic pigment in seawater. *Monographs on Oceanographic Methodology*, 1, pp. 11-18, Paris.
- STRICKLAND, J. D. H. and PARSONS, T. R., 1972, A Practical Handbook of Seawater Analysis. 2nd ed.

Fish. Res. Bd. Canada, 167 : 311 pp.

丹下勝義, 1976, 有機懸濁態物によるガザミの種苗生産研究－II 飼育水の塩分濃度について. 兵庫水試研報, 16 : 47-50.

和田 功・丹下勝義, 1983, 飼育環境管理. ガザミ種苗の量産技術, pp. 83-96, 日本水産資源保護協会, 東京.

Variation of Nitrogenous Compounds in the Mass-Production Ponds of Swimming Crab *Portunus trituberculatus* Larvae with Particular Reference to the Survival Rate

Show-Ying YANG, Seishi KABETA,
Osamu MATSUDA and Tamiji YAMAMOTO

*Faculty of Applied Biological Science, Hiroshima University,
Higashi-Hiroshima 724, Japan*

Measurements of nitrogenous compounds of various forms ($\text{NH}_4\text{-N}$, $\text{NO}_2\text{-N}$, $\text{NO}_3\text{-N}$ and PON) were carried out in three different pond waters, i. e., green water (G) composed of green algae (mainly *Nannochloropsis* sp.), brown water (B) composed of natural diatom assemblage, and B+G water the mixture of them, during the rearing period of swimming crab *Portunus trituberculatus* larvae in 1991 at Hiroshima Prefecture Fish Farming Center. These results were investigated in comparison with the survival rate of the larvae. Among three waters, the highest concentrations of the nitrogenous compounds and chlorophyll *a* were observed in Pond G and the lowest in Pond B. Sediment trap experiment made clear that the maximum downward flux of PON and chlorophyll *a* occurred in Pond G and the minimum in Pond B. The survival rate of crab larvae was generally higher in Pond B than Pond G in 1989-1991. The reason of the low survival rate in Green Water is supposed to be due to the higher concentration of $\text{NH}_4\text{-N}$ resulted from the excessive growth and the decomposition of green algae.

Key words : ammonia, larvae, nitrogenous compound, survival rate, swimming crab