

マヒトデ骨片の海水用循環濾材としての有効性

森 立成

栽培水産試験場

Availability of sea star (*Asterias amurensis*) spicules as a marine biological filter

TATSUNARI MORI

Mariculture Fisheries Research Institute, Muroran, Hokkaido, 051-0013, Japan

To elucidate the possibility of using spicules from the sea star *Asterias amurensis* as a marine biological filter, changes in water quality were examined in experimental tanks containing coral sand versus sea star spicules after adding NH_4Cl . In addition, to test the effectiveness of sea star-spicule filtration for fish cultivation, the black rockfish *Sebastes schlegeli* was reared for 40 days, and water was circulated through sea star filters under the 3 stocking densities of 10, 20, and 40 fish per tank. In both tanks containing sea star spicule and those containing coral sand, ammonium nitrogen ($\text{NH}_4\text{-N}$) concentration decreased to 0 mg/L 19-20 days after the addition of NH_4Cl . Nitrite ($\text{NO}_2\text{-N}$) concentration increased and reached a maximum at 20-24 days and thereafter dropped to 0 mg/L at 45-53 days in tanks containing sea star spicules and at 44-48 days in tanks containing coral sand. In the stocking density of 10 and 20 fish per tank, $\text{NH}_4\text{-N}$ and $\text{NO}_2\text{-N}$ were maintained at less than 0.5 mg/L. Final body weight of fish in tanks with the stocking density of 40 fish per tank was significantly lower than that of fish from tanks with lower stocking densities. These results suggest that the nitrification ability of sea star spicules is similar to that of coral sand and that sea star spicules could be useful for filtration during fish cultivation.

キーワード：骨片，循環濾過飼育，硝化細菌，ヒトデ，有効性，濾材

近年，道内で駆除されるヒトデ類は，年間15,000 tにのぼる。陸揚げされたヒトデ類は，焼却または堆肥化されるが，焼却・埋め立てには限界があり，新たな受け入れが困難となっている。また，堆肥化処理にはコストがかさむことが課題となっている。

そのため北海道では，駆除したヒトデ類を有効に利用する技術開発が進められており，2005年から2007年にかけて重点領域研究「ヒトデの有効利用に関する研究」が行われた（麻生ら，2009）。この研究では，ヒトデに含まれるコラーゲン材料及び免疫賦活物質の製造技術開発と，その残渣である骨片の有効利用が課題であった。本研究は，2つ目の課題であるヒトデ骨片の有効利用方法の検討を目的に行われた。

ヒトデ骨片は，多孔質という特徴をもつ（鎌田ら，2009）ことから，硝化細菌の増殖基質として有効であると思われる。さらに，濾材としては軽量であるという利点もあ

るため，生物濾材としての有効利用が考えられる。

鎌田ら（2009）は，ヒトデ骨片の有効利用法として，水処理における微生物担体としての有効性を示した。また，吉田ら（2011）は，ヒトデ成型骨片と市販の濾材を比較し，サケ養殖場排水処理施設由来の細菌付着性について差がみられないことを明らかにした。

現在までに，ヒラメ，マダイ及びトラフグ等の養殖や種苗生産を目的に様々な濾材を用いた循環飼育試験が行われている（齊藤ら，1993；Kikuchi *et al.*, 1994；丸山ら，1999；睦谷ら，2001；鴨志田ら，2006；今井ら，2010）。しかし，これまでにヒトデ骨片を海水用循環濾材として用いた例はない。そこで本研究では，ヒトデ骨片の海水用循環濾材としての有効性を検証するため，ヒトデ骨片における硝化細菌の繁殖期間の把握に関する試験と，これを濾材として用いたクロソイの循環濾過飼育を行ったので，その結果を報告する。

試料及び方法

試験1 硝化細菌の繁殖期間の把握 試験濾材として、ヒトデ骨片 (図1a, 平均長径2.4mm), 道総研工業試験場において, 樹脂と混合して10mm程度に成型したヒトデ骨片成型品 (図1b), サンゴ砂・小 (図1c, 平均長径2.3mm) 及びサンゴ砂・大 (図1d, 平均長径9.8mm) の4種類を用いた。これら濾材の特徴は表1に示した。

試験水槽として, 60ℓアクリル水槽を用い, 水槽上部に海水用スライドフィルター 600S (NISSO) を設置して, 循環ポンプ (流量; 約10ℓ/分) により飼育水55ℓを上部濾過した。なお, 用いた海水は, 北海道余市町沖から揚水し, 粒径0.8mm~35mmの砂濾過機を通過した濾過海水である。

試験濾材は, 試験前に水道水でよく洗浄した。濾材の容量は500mlとし, ポリエチレン製の網袋 (目合526 μ m) に入れ, 上部スライドフィルター内にセットした。濾材をセットした後, アンモニア態窒素 ($\text{NH}_4\text{-N}$) 濃度で10~12mg/ℓとなるように塩化アンモニウム (NH_4Cl) を海水に添加した。このとき, 市販の硝化菌 (スーパーバイコム78 (株) バイコム) を飼育水1ℓ当たり0.1ml添加した。 NH_4Cl 添加後, 毎日~1日おきに, 海水のpHをpHメ

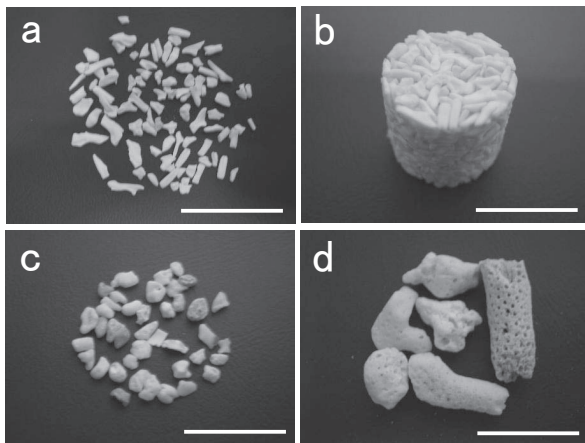


Fig. 1 Photographs of the filter media used in Experiment 1. a, Sea star spicules; b, molded product using sea star spicules; c, coral sand (small); and d, coral sand (large). Scale bar = 10 mm.

ーター (IM-22P, TOA DKK) を用いて測定した。また, アンモニア態窒素 ($\text{NH}_4\text{-N}$) をインドフェノール法 (河合ら, 1988) で, 硝酸態窒素 ($\text{NO}_2\text{-N}$) をジアゾ化法 (河合ら, 1988) により測定し, $\text{NH}_4\text{-N}$ 及び $\text{NO}_2\text{-N}$ 濃度が0mg/ℓになるまでの期間を硝化細菌繁殖までの期間とし, これを求めた。なお, 試験期間中の溶存酸素濃度は平均7.45mg/ℓ, 平均水温は17.3 $^{\circ}$ C (16.5~18.0 $^{\circ}$ C) であった。

試験2 クロソイの循環濾過飼育 試験水槽には, 60ℓアクリル水槽を用い, 濾材は, 試験1の終了後2週間, NH_4Cl の添加を継続してさらに熟成させたヒトデ骨片濾材 (図1a) を使用した。ヒトデ骨片濾材の容量は, 400mlとした。試験水槽に, クロソイ稚魚 (平均体重2.3 g) を10尾, 20尾及び40尾/水槽の密度で収容し, 40日間の飼育を行った。配合飼料 ((株) ヒガシマル) を用いて週に5回の頻度で給餌し, 底掃除は週に2回行った。飼育期間中の水換えは行わなかったが, 週に1回, 蒸発及び底掃除により失われた分の水量 (1~2ℓ/水槽) の濾過海水を補充した。

各試験区のpH, $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度及び $\text{NO}_2\text{-N}$ 濃度を試験1と同様の方法で, 硝酸態窒素 ($\text{NO}_3\text{-N}$) を水質分析器 (DR-2000, HACH社) により定期的に測定した。試験終了後, 各試験区から5尾ずつを取りあげ, 尾柄部血管から, ヘパリン処理1mlシリンジを用いて採血し, 遠心分離 (10,000rpm, 5分間処理) により血球と血清を分離してヘマトクリット (Ht) 値を求めた。また, ヘモグロビンB-テストワコー ((株) 和光純薬) によりヘモグロビン (Hb) 量を測定した。さらに, 各試験区の体重を測定した。なお, 試験期間中の平均水温は18.4 $^{\circ}$ C (17.4~19.0 $^{\circ}$ C) であった。

結果

試験1 硝化細菌の繁殖期間の把握 $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度は, 各濾材ともに試験開始後10~12日目 (10~12 mg/ℓ) から減少し, 19~20日目で0 mg/ℓとなった (図2)。一方, $\text{NO}_2\text{-N}$ 濃度は, $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度の減少に伴い, 各濾材ともに12日目頃から増加し, 20~24日で14~16 mg/ℓを示した。その後徐々に減少し, サンゴ小区で44日, 骨片区で45日, サン

Table 1 Characteristics of filter media used in experiment-1

Filter media	Major axis (mm) mean \pm S.D.*	Minor axis (mm) mean \pm S.D.	Volume (ml) / filter media	Weight (g) / filter media
Sea star spicules	2.4 \pm 0.83	1.1 \pm 0.44	500	256
Molded product using sea star spicules	12.0 \pm 0.29	10.9 \pm 0.44	500	196
Coral sand (small)	2.3 \pm 0.45	1.6 \pm 0.43	500	627
Coral sand (large)	9.8 \pm 3.32	4.5 \pm 1.16	500	532

*: standard deviation

ゴ大区で48日、骨片成型品区では53日でそれぞれ0 mg/l となった (図2)。飼育水のpHは、ヒトデ骨片、サンゴ砂ともにアンモニアの減少及び亜硝酸の増加に伴って7.4~7.5まで低下したが、4~6日目で8.1前後まで回復し、その後は変化がなかった (図2)。

試験2 クロソイの循環濾過飼育 NH₄-N濃度は、高密度区ほど高く推移した。飼育期間中の平均濃度は、10尾区で0.10 mg/l, 20尾区で0.33 mg/l, 40尾区では0.69 mg/lであった (図3)。NO₂-N濃度は、10尾区及び20尾区で概ね0.5 mg/l以下であった。一方、40尾区では、1 mg/lを超える場合もあり、平均0.64 mg/lであった (図3)。NO₃-N濃度は、各区とも試験開始から試験終了時まで漸増し、試験終了時の値は、10尾区で60.5 mg/l, 20尾区で119.5 mg/l, 40尾区では155.9 mg/lであった (図3)。また、pHは飼

育開始時の8.0から徐々に低下し、試験期間中、高密度区ほど常に低く経過した。

試験終了時の平均体重、Ht値及びHb量を表2に示した。平均体重は、10および20尾区で差がなかったが、40尾区で他区に比べて有意に小さい値を示した ($p < 0.05$, Tukey's-test)。Ht値およびHb量の値は、各区間で差がみられなかった ($p > 0.05$, Steel-Dwass test)。なお、全区で試験終了時までの死亡はなかった。

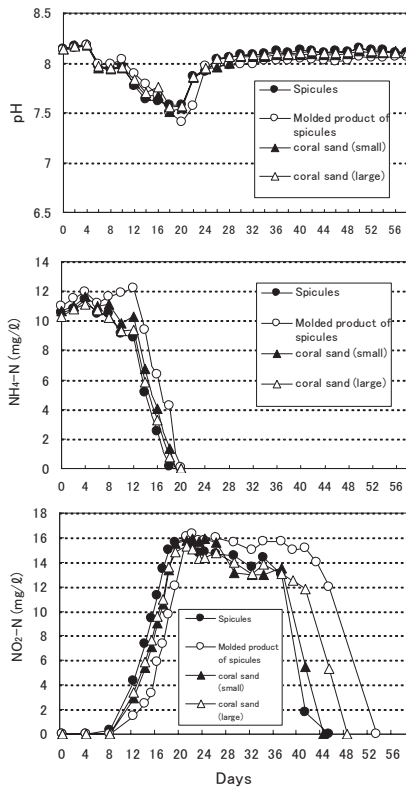


Fig. 2 Changes in pH, NH₄-N, and NO₂-N in the rearing water of Experiment 1.

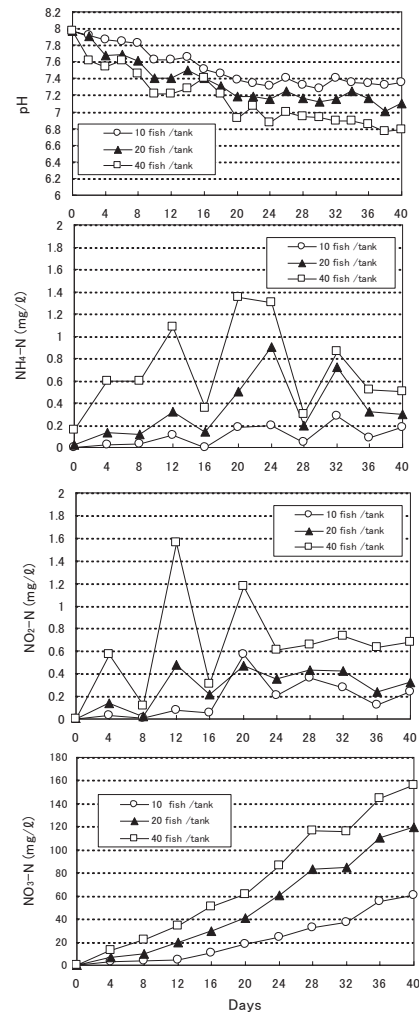


Fig. 3 Changes in pH, NH₄-N, NO₂-N, and NO₃-N in the rearing water of Experiment 2.

Table 2 Growth, survival and hematological characteristics of black rock-fish in the rearing experiment

Group	Body weight (g)		Hematocrit (%)	Hemoglobin (g/dl)	Survival (%)
	Initial	Final	Final	Final	
10 fish /tank	2.3 ± 0.22a	10.1 ± 1.72a	28.5 ± 4.98a	6.25 ± 0.79a	100
20 fish /tank	2.3 ± 0.43a	9.4 ± 1.61a	26.8 ± 7.12a	6.11 ± 1.64a	100
40 fish /tank	2.3 ± 0.34a	6.6 ± 1.02b	25.2 ± 6.82a	5.00 ± 1.01a	100

* Different letters indicate a significant difference ($p < 0.05$)

考 察

試験1 硝化細菌の繁殖期間の把握 硝化細菌による硝化過程の大部分は、濾過床内で進行しているとされており(河合, 1990), NH_4Cl 添加後の海水中の $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度の減少は、アンモニア硝化細菌が骨片及びサンゴ砂に着床して増殖し、アンモニアが亜硝酸に酸化された結果を示すと考えられる。試験1において、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度は、各濾材ともにほぼ同様の減少傾向を示したことから、アンモニア硝化細菌の増殖の速さは、各濾材間で差がないと判断された。一方、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 濃度の増減から、亜硝酸硝化細菌も濾材内で増殖したと考えられた。 $\text{NO}_2\text{-N}$ 濃度が $0\text{mg}/\ell$ となるまでの期間には、ややバラツキはみられたが、ヒトデ骨片、サンゴ砂ともにサイズが小さいほど、その期間が短い傾向を示した。この理由については、おそらく濾材の表面積の大小等が関係していると思われる。

一般に、生物学的硝化作用に適した濾材とは、多孔質で単位体積当たりの表面積が広く、閉塞しにくい構造で、耐久性があり、有害物質が含まれないものとされている(田中, 1994)。ヒトデ骨片は、サンゴと同様に多孔質であることが特徴である。また、表1に示したようにサンゴ砂と比較して軽量で、かつ $2\sim 4\text{mm}$ 程度とサイズも小さいため、用途に応じては、扱い易いよう大型に成型する必要がある。今回の試験では、骨片成型品、骨片どちらも濾材としての有効性が確認された。

サンゴ砂は、濾材として広く用いられ、pH調整用としても効果があるため、種々の濾材と組み合わせて使用されている例が多い。本研究でヒトデ骨片区は、サンゴ砂区と同様のpH変化を示した。これは、ヒトデ骨片の主成分である炭酸カルシウムが、サンゴと同様にpH低下の抑制に作用したためと考えられる。

今回得られた結果から、アンモニア硝化細菌、亜硝酸硝化細菌の繁殖期間は、濾材サイズの違いによる差はあるものの両濾材ともにほぼ同様であり、ヒトデ骨片はサンゴ砂と比べても増殖基質として遜色ないものと考えられた。

試験2 クロソイの循環濾過飼育 これまでの海産魚における閉鎖循環飼育試験では、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度及び $\text{NO}_2\text{-N}$ 濃度の値を、 $0.5\sim 1\text{ mg}/\ell$ 以下で維持することで、順調な飼育結果が得られている(齊藤ら, 1993; 丸山ら, 1999; 睦谷ら, 2001; 鴨志田ら, 2006)。

本試験の高密度区(40尾区)における $\text{NH}_4\text{-N}$ 及び $\text{NO}_2\text{-N}$ 濃度は、平均で $0.69\text{ mg}/\ell$ 及び $0.63\text{ mg}/\ell$ となったが、 $1\text{ mg}/\ell$ を超えることもあった。一方、 $10\sim 20$ 尾/水槽の密度では、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 濃度ともにおよそ $0.5\text{ mg}/\ell$ 以下の低いレベルで維持された。このことから、少なく

とも 10 及び 20 尾区では、骨片濾材内でアンモニア及び亜硝酸の硝化作用が順調に行われたことを示していると考えられた。

今回、40尾区の平均体重は他区に比べて有意に小さく、血液性状に有意差はないものの、稚魚の観察結果では体色黒化の個体がみられ、健康状態の悪化が予想された。これは、過密に伴う水質悪化が原因と考えられ、40尾区では、飼育数量に比較して、濾材量が少なく、濾材内で十分な硝化が行われなかったと考えられる。ヒラメの循環飼育試験では、収容密度低下後(間引き後)、顕著な水質改善が認められている(齊藤ら, 1993)。今後、適正な水質環境を保つための濾材量と魚の飼育重量の関係の把握等、さらなる検討が必要である。なお、今回は水換えや脱窒を行っておらず、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度は徐々に増加した。 $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度増大の魚体への影響は明らかではないが、今回の短期飼育試験では大きな影響はなかったと考えられる。

一般に、硝化細菌の増殖活性は、酸性化に伴って低下し、pHの低下は、直接魚類に対して悪影響を及ぼすだけでなく硝化反応も阻害する(河合ら, 1990)。マダイ(鴨志田ら, 2006)及びヒラメ(齊藤ら, 1993)の循環飼育では、pH7.0以上の維持が必要と考えられるが、今回の試験で、特に高密度区では、pH7.0を下回り、魚体や硝化反応に悪影響を及ぼした可能性がある。従って、pHの低下を抑制するための濾材量や持続効果の把握が今後の課題である。

今回の結果は、骨片濾材が、実際の魚類循環飼育でも使用可能であることを示している。ヒトデ骨片は、将来的な種苗生産・養殖の循環飼育用濾材としての利用だけでなく、観賞魚用濾材としても利用可能と考えられる。そのためには、長期使用による耐久性等の検討も必要と思われる。

謝 辞

本研究の実施にあたり、ヒトデ骨片濾材の作製で協力を頂いた道総研工業試験場の鎌田樹志氏並びに三津橋浩行氏に感謝いたします。

引用文献

- 麻生真悟, 北川雅彦, 宮崎亜希子, 2-1 ヒトデの有効利用に関する研究.平成19年度釧路水産試験場事業報告書 2009:164.
今井 正, 荒井大介, 森田哲男, 小金隆之, 山本義久, 千田直美, 遠藤雅人, 竹内俊郎, 閉鎖循環式種苗生

産におけるトラフグの成長, 生残および飼育水の浄化に及ぼす低塩分の影響. 水産増殖, 2010;58(3):373-380.

鎌田樹志, 内山智幸, 三津橋浩行, 浦 晴雄, 松嶋景一郎, 平野繁樹, 簗島裕典, 釧路水産試験場, 中央水産試験場, ヒトデ骨片利用方法の開発. 北海道立工業試験場成果発表会発表要旨2009:17.

鴨志田正晃, 山崎英樹, 山本義久, 閉鎖循環システムを用いたマダイの種苗生産. 栽培技研 2006;33(2):67-76.

河合 章, 生物化学的浄化機構. 活魚大全(本間昭朗編), フジ・テクノシステム, 東京. 1990:325-331.

河合 章, 杉田治男, 出口吉昭, II. 水及び底泥の化学分析. 水族環境学実験, 恒星社厚生閣, 東京, 1988:20-24.

Kikuchi K, Honda H, Kiyono M. Ammonia oxidation in marine biological filters with plastic filter media. Fish.Sci. 1994; 60(2):133-136.

丸山俊朗, 鈴木祥広, 佐藤大輔, 神田 猛, 道下 保, 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. 日本水産学会誌1999;65(5):818-825.

睦谷一馬, 中瀬玄徳, 柳 秀林, オニオコゼの種苗生産に関する研究—II—. 栽培技研 2001; 29(1): 1-7.

齊藤節雄, 高丸禮好, 森 立成, 生物濾過処理による魚類飼育海水の高度利用技術開発試験. 平成4年度北海道立栽培漁業総合センター事業報告書1993:45-51.

田中智浩, 3 生物学的硝化作用とろ材. 海水魚の飼い方基礎編, 朝日ソノラマ, 1994:84-89

吉田夏子, 石田一晃, 笠井久会, 吉水 守, ヒトデ成型骨片への魚類飼育排水処理施設由来細菌の付着性. 日本水産学会誌2011;77(1):94-96.