

地下海水を用いた緑藻スジアオノリ陸上養殖の可能性

江端弘樹¹・佐藤義夫²・畠田 智³・四ツ倉典滋⁴・平岡雅規⁵

Possibility of Land-based Cultivation of Green Alga *Ulva prolifera* by Saline Groundwater

Hiroki EBATA¹, Yoshio SATO², Satoshi SHIMADA³,
Norishige YOTSUKURA⁴ and Masanori HIRAOKA⁵

Abstract: Land-based cultivation of a green alga, *Ulva prolifera*, was tried by using the pumped saline groundwater at Miho Peninsula in Shizuoka, Japan, from August to December 2003. Fronds of 1 to 6-week-old were cultured in 6 outdoor tanks (500 l or 1,000 l in volume) for a week at a turnover rate of three times a day under the sunlight. Initial frond density was 0.1 g/l. The daily growth rates of 1- to 6-week-old fronds were 35.8, 47.4, 44.5, 24.8, 18.5 and 4.9%, respectively. Although maturation caused relatively low growth rates of a part of 4- and all 5- and 6-week-old fronds, but those of 2- and 3-week-old fronds were 45.8%, higher than previous records. Saline groundwater had constant and suitable water temperature ($19.9 \pm 0.2^\circ\text{C}$), salinity (33.65 ± 0.08 PSU) and pH (7.36 ± 0.12) with suitable inorganic nitrogen ($332.0 \pm 64.5 \mu\text{mol/l}$) and phosphate ($0.71 \pm 0.13 \mu\text{mol/l}$). These revealed that saline groundwater is strongly recommended for the green algal culture.

Key words: *Ulva prolifera*; Land-based tank culture; Saline groundwater; Daily growth rate

地下数十 m から汲み上げられた塩を含む地下水（地下海水）は、周年にわたって水温が安定していることや栄養塩類に富んでいることが知られている（Sato et al. 1984; Sato 1989）。特に、東海大学海洋科学博物館や南知多ビーチランドの地下海水は水質が詳細に研究され、海獣、魚類等の展示水槽水や飼育水として利用されている。しかし、地下海水を陸上の養殖事業に利用した事例は少なく、サンゴ礁域の離島におけるクロアワビ *Haliotis discus discus* の陸上養殖試験（田中ら 2002; 今田ら 2006）やヒラメ *Paralichthys olivaceus* の陸上生簀養殖など魚介類養殖の事例はあるが、海藻の養殖用水としてはこれまで利用されていない。

そこで本研究では、東海大学海洋学部で汲み上げられている地下海水の水質特性を調査するとともに、これまでの報告事例がない地下海水を用いた緑藻スジアオノリ *Ulva prolifera* の陸上養殖試験を実施し、地下海水を用いた海藻陸上養殖の可能性を検討した。

材料および方法

供試藻体

徳島県吉野川河口で採取したスジアオノリを、芙蓉海洋開発株式会社清水研究センターにおいて、Provasoli の栄養塩強化海水（PES）（Provasoli et al.

2006年8月22日受付：2007年1月17日受理。

¹芙蓉海洋開発株式会社水産システムセンター（Fuyo Ocean Development and Engineering CO., LTD, Tokyo 111-0051, Japan）。

²東海大学海洋学部海洋科学科（School of Marine Science and Technology, Tokai University, Shizuoka, Shizuoka 424-8610, Japan）。

³北海道大学創成科学共同研究機構（Creative Research Initiative “Sousei”, Hokkaido University, Sapporo, Hokkaido 060-0810, Japan）。

⁴北海道大学北方生物圏フィールド科学センター（Field Science Center for Northern Biosphere, Hokkaido University, Muroran, Hokkaido 051-0003, Japan）。

⁵高知大学海洋生物教育研究センター（Usa Marine Biological Institute, Kochi University, Tosa, Kochi 781-1164, Japan）。

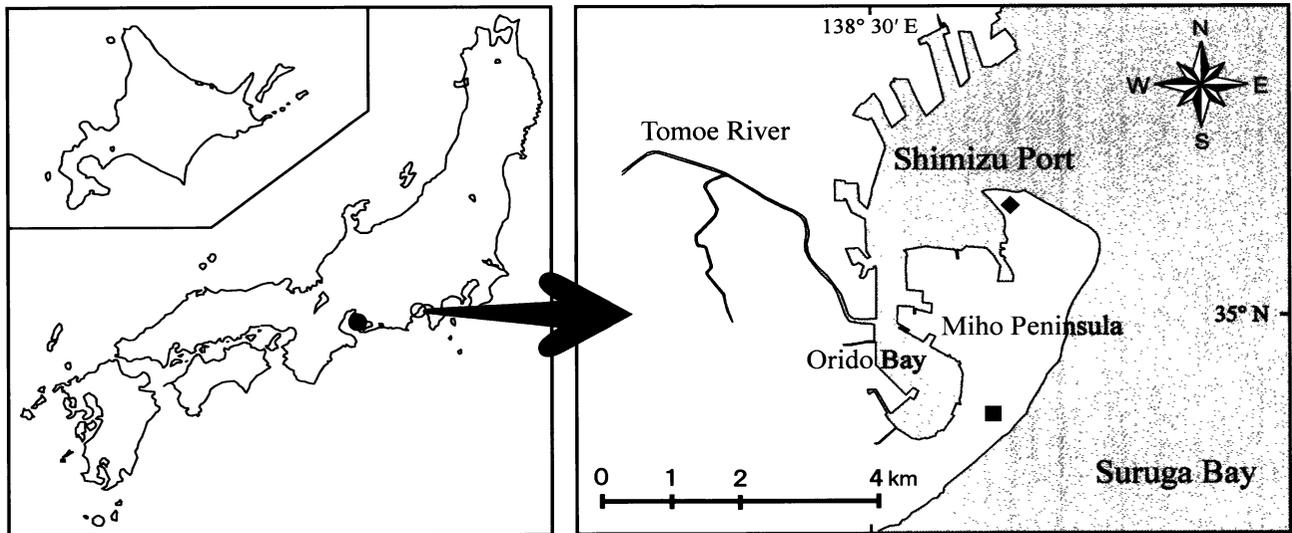


Fig. 1. Location of the experimental sites where saline groundwater was pumped up from a well, the School of Marine Science and Technology, Tokai University (■), Marine Science Museum, Tokai University (◆ Miho) and Minamichita Beachland (● Minamichita).

1957) で継代培養して供した。継代培養には定温培養器 (CF-305, TOMY 社) を用い、培養環境を温度 20°C, 光強度 $100 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$, 光周期を 12 時間明期, 12 時間暗期とした。

屋外での養殖試験に先立って Hiraoka et al. (2004) に従い、培養スジアオノリの発芽体仮根部を集合させた発芽体集塊種苗を作製した。藻体の成熟を促進するために、Dan et al. (2002) に従って葉状部を細断し、3 日後に遊走子を得た。1 ml あたり 10^4 細胞以上に調整した遊走子の懸濁液をシャーレで培養し、発芽させて仮根部が絡みあった集塊を作製した。この発芽体集塊を、先に示した継代培養法で直径約 1 mm に達するまで通気培養し毛玉状の種苗とした。

地下海水の水質

陸上養殖に用いた地下海水は、静岡市三保半島中部に位置する東海大学海洋学部敷地内 (駿河湾から約 200 m の内陸) の深さ約 50 m から汲み上げたもので (Fig. 1), 曝気を行った後に屋外に配置された 6 基の海藻養殖用水槽に個別に給水した (Fig. 2)。

地下海水の水質調査を 2003 年 8 月～2003 年 12 月に実施した。試水は曝気槽の入口で 9 月と 11 月の 2 回および出口で毎月 1 回採取し (Fig. 2), 塩分 (S), pH, 溶存酸素 (DO), 硫化水素 (H_2S), アンモニウム態窒素 ($\text{NH}_4^+\text{-N}$), 亜硝酸態窒素 ($\text{NO}_2^-\text{-N}$), 硝酸態窒素 ($\text{NO}_3^-\text{-N}$), リン酸態リン ($\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$) およびケイ酸態ケイ素 ($\text{SiO}_2\text{-Si}$) を測定した。塩分はサリノメーター (Model 601Mk1v, 渡部計器社), pH は pH メーター (Delta 340, Mettler 社), DO はウインクラー法, H_2S は検知管式気体測定器 (ヘドロテック-S, ガステック

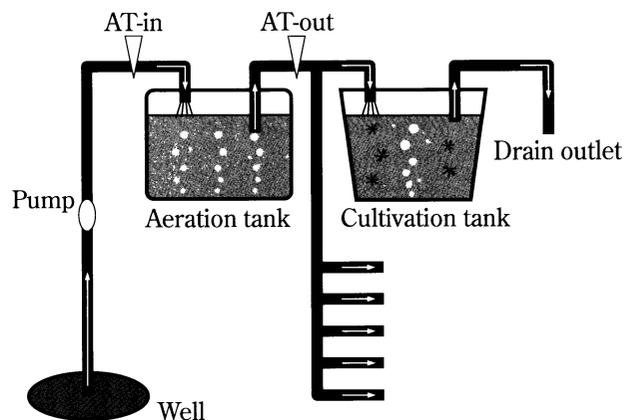


Fig. 2. Schematic diagram of the saline groundwater flow through system. Fronds of *Ulva* were cultured in 6 outdoor cultivation tanks.

社), $\text{NH}_4^+\text{-N}$ はインド・フェノール法, $\text{NO}_2^-\text{-N}$ はアゾ色素法, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ は銅・カドミウム還元カラム法, $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ はモリブデンブルー法および $\text{SiO}_2\text{-Si}$ はモリブデンイエロー法により測定した。また、地下海水温はデジタル温度計 (HFT-40, 安立計器社) を用いて毎日計測した。

養殖試験

地下海水を養殖用水とした場合のスジアオノリの生長を把握するため、屋外水槽で養殖試験を実施した。室内より屋外水槽へ移植した毛玉状の発芽体集塊種苗を 1 週齢藻体、これを屋外で 1 週間培養した藻体を 2 週齢藻体とし、順次 3, 4, 5 および 6 週齢藻体とした。養殖試験は、2003 年 8 月～12 月に実施し、養殖試験の

期間を1週間として、1, 2, 3, 4, 5および6週齢藻体を収容し、それぞれ25, 26, 31, 18, 5および1回の合計106回の養殖試験を繰り返し行った。試験開始時における各水槽内の藻体密度は0.1 g/lとし、2週齢藻体はポリカーボネート製500 l円形水槽（直径1.2 m）に湿重量50 g, 3週齢以降の藻体はポリカーボネート製1,000 l円形水槽（直径1.5 m）に湿重量100 gを収容した。なお、各水槽への給水は水槽側面上部から連続的に行い、1日の総給水量を水槽容量の3倍量に調整した。また、養殖用水槽上面を厚さ1 mmの透明シートで覆い、光源として太陽光のみを用い、養殖水の混合はエアレーションによって行った。

養殖試験終了時に各水槽内の藻体を全て回収し、遠心分離器によって脱水して湿重量を測定するとともに目視観察等を行った。藻体の湿重量測定には電子天秤（MJ-3000, YMC社）を用いた。日間生長率（DGR: Daily growth rate）は、Penniman et al. (1986) の式を用いて算出した。

$$DGR (\%) = [(W_t/W_0)^{1/t} - 1] \times 100$$

ここで、 W_0 および W_t は、それぞれ養殖試験開始時の藻体湿重量および試験t日後の藻体湿重量を示す。

また、藻体の生長を把握するため、数日毎に水槽内の3週齢藻体を全て回収し湿重量を測定した。なお、測定後の藻体は、その全量を各水槽に戻し試験を継続した。

結 果

地下海水の水質

屋外養殖試験期間における曝気槽出口の地下海水の日間平均水温の変動を気温とともに Fig. 3 に示した。

期間中の気温は9.9~29.8℃で大きく変化したが、水温は19.4~21.0℃とバラツキは小さかった。

地下海水の水質を平均値±標準偏差として Table 1 に示した。曝気槽入口での塩分は平均33.52および pH は平均7.20, 出口での塩分は平均33.65および pH は平均7.36であり、いずれも変動は小さかった。曝気槽入口での DO 濃度はほぼ無酸素に近い0.80 mg/lであったが、出口では平均 DO 5.17 mg/l（酸素飽和度約73%）にまで上昇した。H₂S 臭は時期によっては曝気槽周辺で感知されたが、H₂S は曝気槽入口および出口ともに検出されなかった。NH₄⁺-N, NO₂⁻-N および NO₃⁻-N の平均濃度は、曝気槽入口においてそれぞれ 340.5 μmol/l, 8.5 μmol/l および 9.4 μmol/l であり、出口においてはそれぞれ 169.0 μmol/l, 104.1 μmol/l および 58.9 μmol/l であった。また、これらを合算して求めた溶存態の無機窒素（DIN）の濃度は曝気槽入口で 358.4 μmol/l, 出口で 332.0 μmol/l であった。PO₄³⁻-P および SiO₂-Si の平均濃度は、曝気槽入口でそれぞれ 0.75 μmol/l および 147.5 μmol/l, 出口でそれぞれ 0.71 μmol/l および 143.2 μmol/l であった。

養殖試験

地下海水で生産したスジアオノリの藻体には、ヨコエビ類・ワレカラ類といった動物の付着、ゴミや他の藻類の混入はなかった。1~6週齢藻体の平均 DGR を Table 2 に示した。4週齢藻体は18回中6回の試験で、5週齢および6週齢藻体では全ての試験で藻体が成熟した。成熟個体では生長が鈍り、成熟部位は乾燥後に淡黄色を帯び、においもわずかであった。

3週齢藻体100 gを1,000 l養殖水槽へ収容して求めた生長曲線を Fig. 4 に示す。図中のグラフは、3週齢

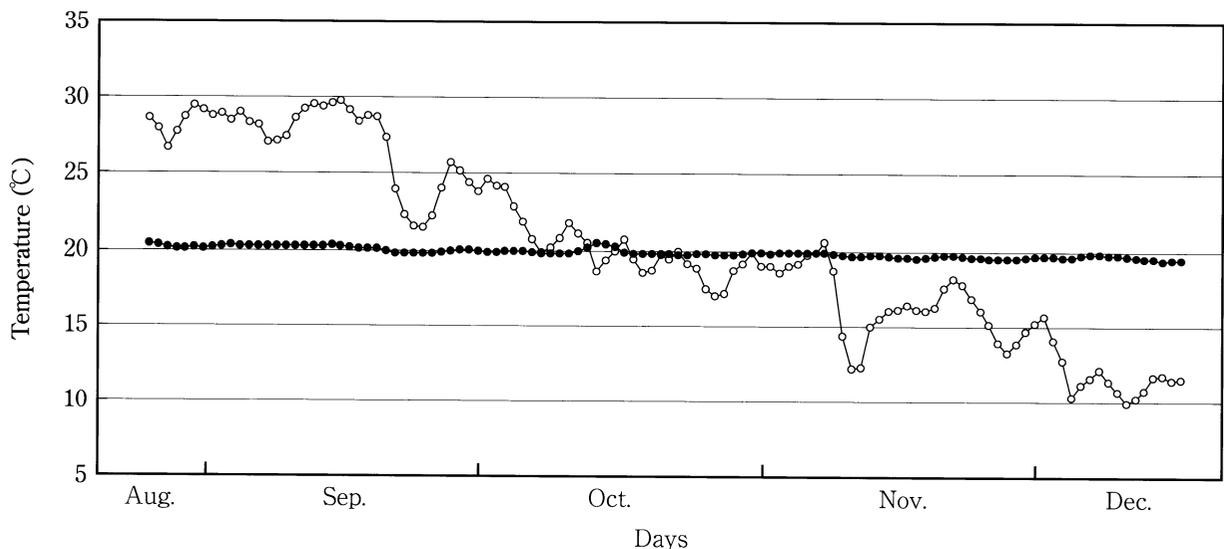


Fig. 3. Daily changes in saline groundwater (●) at AT-out and atmospheric (○) temperatures.

Table 1. Water temperature, salinity, pH, dissolved oxygen, hydrogen sulfide, dissolved inorganic nitrogen, ammonium-nitrogen, nitrite-nitrogen, nitrate-nitrogen, phosphate-phosphorus and silicate-silicon contents of the saline groundwaters in the present study, together with some references (Sato et al. 1984; Sato 1989)

Valuables	Present study		Marine Science Museum, Tokai University (Sato et al. 1984)	Minamichita beachland (Sato 1989)
	AT - in	AT - out		
Temperature (°C)	19.4 ± 0.1	19.9 ± 0.2	18.8 ± 0.2	22.9 ± 0.5
Salinity (PSU)	33.52 ± 0.06	33.65 ± 0.08	33.077 ± 0.137	21.33 ± 0.40
pH	7.20 ± 0.2	7.36 ± 0.12	7.85 ± 0.04	7.72 ± 0.12
Dissolved Oxygen (mg/l)	0.80 ± 0.10	5.17 ± 0.88	7.23 ± 0.29	5.56 ± 0.61
H ₂ S (mg/l)	<0.02	<0.02	—	—
DIN (μmol/l)	358.4 ± 64.3	332.0 ± 64.5	—	—
NH ₄ ⁺ -N (μmol/l)	340.5 ± 62.9	169.0 ± 51.2	10.4 ± 3.3	—
NO ₂ ⁻ -N (μmol/l)	8.5 ± 12.0	104.1 ± 43.0	2.15 ± 1.59	—
NO ₃ ⁻ -N (μmol/l)	9.4 ± 13.4	58.9 ± 65.2	4.13 ± 4.05	—
PO ₄ ³⁻ -P (μmol/l)	0.75 ± 0.06	0.71 ± 0.13	1.42 ± 0.11	4.11 ± 0.41
SiO ₂ -Si (μmol/l)	147.5 ± 3.5	143.2 ± 6.9	102 ± 6	128 ± 5

Table 2. Daily growth rates (DGR) of *Ulva prolifera* in the present study

<i>Ulva</i>	Daily growth rate (Mean ± SD%)	n
1-week-old	35.8 ± 17.1	25
2-week-old	47.4 ± 8.9	26
3-week-old	44.5 ± 10.4	31
4-week-old	24.8 ± 8.7	18
5-week-old	18.5 ± 7.5	5
6-week-old	4.9	1

藻体を用いた全養殖試験31回のうち、生長の最も良かった試験と最も悪かった試験の生長曲線である。2003年12月の晴天が続いた期間では、5日後に藻体密度が1.0 g/lに達し、1週間で2.42 g/lにまで生長した。これに対し、2003年11月の荒天が続いた期間には、藻体密度が1.0 g/lに達するまでに13日間を要した。いずれの場合も、概ね1.0 g/lを超えるまでは、指数関数的に生長したが、それ以降の生長速度は低下した。

考 察

本研究に用いた地下海水は、東海大学海洋科学博物館（三保）および南知多ビーチランド（南知多）の地下海水と同様に、水温、塩分およびpHが非常に安定していた（Table 1）。Htun et al. (1986) がスジアオノリ生長の最適水温範囲とした20~25℃と比べて、本地下海水と三保はわずかに低く、南知多は最適範囲にあった。また、本地下海水の塩分は近傍の駿河湾沿岸表層水の31~34 (Takematsu et al. 1981) と同程度であった。Htun et al. (1986) は、スジアオノリが著しく広塩性（0.1~56.0 PSU）であると報告している。一方、本地下海水のpHは7.2~7.4でほぼ中性の値であ

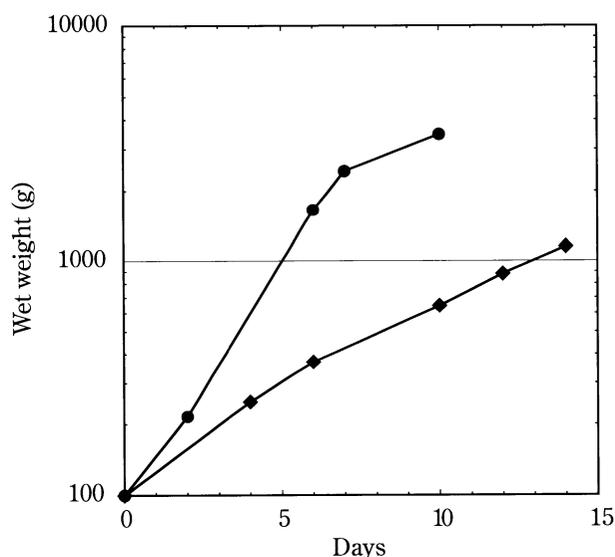


Fig. 4. Changes in biomass of cultured green alga, *Ulva prolifera*, in a 1,000-liter outdoor cultivation tank under fine (●) and cloudy (◆) conditions.

り、三保および南知多に類似したが、駿河湾沿岸表層水の8.2~8.3 (豊田 1985) より若干低かった。スジアオノリ生育域のpHは、四万十川で6.7~8.4 (澤本・蒲生 1994; 今井 2000), 吉野川で7.4~7.6 (日本河川協会 2004) であることが報告されている。

本地下海水のDIN濃度は、駿河湾沿岸表層水（2.7~17.6 μmol/l）(豊田 1985), 三保（約16.7 μmol/l）および室戸海洋深層水（約27 μmol/l）(隅田ら 2001) より顕著に高かった。曝気槽入口のDINの95%はNH₄⁺-Nであったが、出口におけるその割合は47%であった。これは、曝気によって嫌気的な環境下が改善され、NH₄⁺-NからNO₂⁻-NおよびNO₃⁻-Nへの酸化が進んだためと考えられる。一方、本地下海水

の $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ は、三保、南知多および室戸海洋深層水 ($1.86\mu\text{mol/l}$) (隅田ら 2001) より低い、駿河湾表層水 ($0.5\mu\text{mol/l}$ 以下) (豊田 1985) より高かった。本地下海水の DIN 濃度に比べて $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 濃度は相対的に低く、スジアオノリの P 要求を満たしていない可能性も考えられる。

本研究では、2 週齢および 3 週齢藻体では、ほぼ同等の優れた DGR が得られたが、4 週齢以上の藻体では DGR が低下した。これは、4 週齢の一部と 5 週齢以上の藻体が成熟したことによるのであろう。5 週齢以上の藻体は乾燥後の外見が悪く、風味が損なわれて食用には適していない。従って、本研究の養殖条件下では、4 週齢での収穫が望ましい。

成熟しなかった 1~3 週齢藻体のうち、開始時の湿重量が微量で誤差の大きかった 1 週齢藻体を除いて、2 週齢および 3 週齢藻体の平均 DGR は 45.8% であった。Pandy and Ohno (1985) は四万十川の河口域において、網ヒビ養殖したスジアオノリが 14 日間で 47.8 g から 916.4 g まで生長し、DGR は 23.5% になることを報告した。本研究における DGR は、Pandy and Ohno (1985) の約 2 倍であり、促成栽培に成功したと判断できる。また、本研究の実施期間にはスジアオノリが天然で消失する時期も含まれており、陸上養殖による周年の収穫も大いに期待できる。なお、藻体密度が約 1.0g/l を超えると生長速度が低下したことから、藻体密度を調整することで、生産効率をさらに向上させることができる。Hiraoka et al. (2004) も、屋外タンクを用いると、季節や天候による日照時間の変動が、生長に大きく関与することを示唆している。このように DGR も高く維持できたことから、事業化に大きく近づいたものと判断される。

高知県室戸市では、沖合 2 km、深さ 320 m と 344 m の海底から海洋深層水をパイプラインによって取水している。近年、海洋深層水の清浄、安定した水質、栄養等々の利点を活かして、海藻類の陸上養殖試験が実施されている (山口ら 1994; 大野ら 2000; Hiraoka et al. 2004; Oka et al. 2004)。このうちスジアオノリについては、Hiraoka et al. (2004) が海洋深層水で年間の平均 DGR が 43% であり、本研究と同期間 (8~12 月) では 41% であったと報告している。本研究で得られた結果はこれをやや上回るものであり、地下海水の水温と栄養塩濃度がスジアオノリの生長にさらに適していたためと考えられる。

河口域で行われるスジアオノリ養殖では、厳冬期の船上や水際での作業とともに、藻体に他生物やゴミなどが付着・混入し、この除去作業に多大な労力が費やされる。本研究成果はこれらの作業の多くを省略でき、効率かつ画期的なスジアオノリ養殖方法の確立に貢献

できるであろう。

本研究において、地下海水は海洋深層水よりスジアオノリの養殖用水として高い可能性が示された。また、地下海水にはケイ酸塩が豊富なことから珪藻類の培養水としても期待される。

要 約

静岡県三保半島の地下海水を用いて緑藻スジアオノリの陸上養殖試験を 2003 年 8~12 月に試みた。太陽光を光源として 1~6 週齢藻体を密度が 0.1g/l になるように 500 l および 1,000 l の屋外タンク計 6 基に収容し、1 日に水槽容量の 3 倍の地下海水を給水した。試験期間は 1 週間とした。日間生長率は 1~6 週齢藻体で、それぞれ 35.8 (N=25), 47.4 (N=26), 44.5 (N=31), 24.8 (N=18), 18.5 (N=5) および 4.9% (N=1) であった。4 週齢の一部と 5 週齢以上の生長率は成熟により低下したが、2~3 週齢藻体では 45.8% と優れていた。地下海水の水温、塩分および pH は、それぞれ $19.9\pm 0.2^\circ\text{C}$, $33.65\pm 0.06\text{PSU}$ および 7.36 ± 0.2 でスジアオノリの生長に適していた。また、溶存態無機窒素 ($332.0\pm 64.5\mu\text{mol/l}$) およびリン酸塩 ($0.71\pm 0.13\mu\text{mol/l}$) の濃度もスジアオノリに適していた。地下海水を用いたスジアオノリ陸上養殖の高い可能性が示唆された。

謝 辞

東海大学海洋学部上野信平教授、大石友彦教授、福江正治教授および秋山信彦教授には地下海水取水施設の借用など本研究の実施に便宜を図っていただいた。株式会社海の研究舎岡直宏博士にはスジアオノリ培養技術に関する助言をいただいた。Concordia 大学 Catherine Mulligan 博士、東京大学大学院農学生命科学研究科大杉立教授、独立行政法人水産総合研究センター瀬戸内海区水産研究所山口峰生博士、福山大学生命工学部山岸幸正博士、芙蓉海洋開発株式会社顧問千國史郎博士および伊藤克彦博士には研究全般に助言をいただいた。これらの方々に、厚く御礼申し上げる。本研究の一部は、農林水産省「民間結集型アグリビジネス創出技術開発事業」により実施されたものである。

文 献

- Dan, A., M. Hiraoka, M. Ohno and A. T. Critchley (2002) Observations on the effect of salinity and photon fluence rate on the induction of sporulation and rhizoid formation in the green alga, *Enteromorpha prolifera* (Müller) J. Agardh (Chlorophyta, Ulvales). *Fish. Sci.*, **68**, 1182-1188.

- Hiraoka, M., M. Ohno, A. Dan and N. Oka (2004) Utilization of deep seawater for the mariculture of seaweeds in Japan. *Japan. J. Phycol.*, **52**(Supplement), 215-219.
- Htun, U.S., M. Ohno and S. Mizuta (1986) Effect of salinity and temperature on the growth of green alga, *Enteromorpha prolifera*, in culture. *Usa Mar. Biol. Inst. Kochi Univ.*, **8**, 9-13.
- 今田 克・前田 広人・田中 淑人 (2006) 沖縄琉球石灰岩島の地下海水の取水・性状・養殖特性, 日本海水学会誌, **60**, 119-124.
- 今井 嘉彦 (2000) 四万十川の清流. 日本の水環境 6 中国・四国編(日本水環境学会編), 技報堂出版, 東京, pp. 143-155.
- 日本河川協会 (2004) 河川便覧 平成16年度版. 国土開発調査会, 東京, 443 pp.
- 大野 正夫・團 昭紀・平岡 雅規・鍋島 浩 (2000) 海洋深層水と表層水を用いたオフシーズンのワカメの屋内タンク培養, 日水誌, **66**, 737-738.
- Oka, N., M. Hiraoka and T. Nishijima (2004) Growth of abalone fed *Undaria pinnatifida* (Alariaceae, Phaeophyceae) cultivated as free living form "germling cluster" in deep seawater. *Japan. J. Phycol.*, **52**(Supplement), 225-230.
- Pandey, R. S. and M. Ohno (1985) An ecological study of cultivated *Enteromorpha*. *Usa Mar. Biol. Inst. Kochi Univ.*, **7**, 21-31.
- Penniman, C. A., A. C. Mathieson and C. E. Penniman (1986) Reproductive phenology and growth of *Gracilaria tikvahiae* MacLachlan (Gigartinales, Rhodophyta) in the Great Bay Estuary, New Hampshire. *Botanica Marina.*, **29**, 147-154.
- Provasoli, L., J. J. A. Mclaughlin and M. R. Droop (1957) The development of artificial media for marine algae. *Arch. Microbial.*, **25**, 392-428.
- Sato, Y., H. Matsumoto, S. Okabe and N. Takematsu (1984) The oxidation rate constant and the residence time of manganese in seawater pumped from underground. *Lamer*, **22**, 241-247.
- Sato, Y. (1989) The rate of oxidation of ferrous iron in seawater and the partition of elements between iron oxides and seawater. *J. Oceanogr. Soc. Japan*, **45**, 270-278.
- 澤本 博道・蒲生 啓司 (1994) 四万十川の水質に関する研究, 高知大学教育学部研究報告 第3部, **49**, 1-6.
- 隅田 隆・田村 愛理・川北 浩久 (2001) 室戸海洋深層水, 日本海水学会誌, **55**, 158-165.
- Takematsu, N., Y. Sato and S. Okabe (1981) The partition of minor transition metals between manganese oxides and seawater. *J. Oceanogr. Soc. Japan*, **37**, 193-197.
- 田中 淑人・今田 克・諸石 博 (2002) 沖縄における井戸海水を用いたクロアワビの養殖試験. 水産増殖, **50**, 119-120.
- 豊田 恵聖 (1985) 第11章 駿河湾 III 化学, 日本全国沿岸海洋誌 (日本海洋学会沿岸海洋研究部会編). 東海大学出版会, 東京, 457-462.
- 山口 光明・田島 健司・山中 弘雄・岡村 雄吾 (1994) 海洋深層水による大型藻類の培養. 月刊海洋, **26**, 156-158.