

助成番号 0713

新海水資源、無菌・無ウイルス井戸海水による清浄魚介類生産の研究

今田 克¹, 前田 広人²¹三重大学 社会連携フェロー, ²三重大学大学院生物資源研究科

概要 沖縄県竹富町黒島に掘削揚水した井戸海水を用いて、亜熱帯水産物の清浄性を維持する養殖を検討した。対象生物にヒレシヤコガイを用い、自然海水との対比を指標に生長を169日追跡した。井戸海水区は平均体重2.88g、生長率1.1%/日、生残率96%で、一方自然海水区は平均体重2.00g、生長率0.67%/日、生残率45%であった。即ち生長、生残共井戸海水区は優れ、生長率で1.6倍、生残率でも2.1倍であった。また外見上、貝は正常で、自然海水区のみ雑藻の着生が認められた。この原因を考察するに、井戸海水は周年23.5℃と一定水温であるのに対し、自然海水は季節変動があり、冬季は18℃迄低下したことが上げられる。亜熱帯海域では冬季の水温低下は温帯域に比すれば少ないが、ヒレシヤコガイの様な高温を好む貝では差が顕著である。また貝殻表面に着生する雑藻の量は井戸海水区では全く認められず、清浄に保たれていることが確認でき、予想を裏切らなかった。

なお、台風による施設の被災によりナマコの試験は中断し、シヤコガイも期間の短縮を余儀なくされた。この問題は長期停電が深刻な影響をもたらすので、台風対策を抜本的に考慮する必要があると感じた。なお再試験を行い、成果を補填する予定である。

海水の無微生物性の確認には蛍光顕微鏡を用いた蛍光色素によるDAPI染色、Yo-Pro染色、G励起を活用し、所期の目的を果たした。この方法による代表的養殖海面の数値を対照として示したが、自然海水区の更に100倍の微生物現存量で汚染の顕著なことが示唆された。

これらの結果から、井戸海水の無微生物性は極めて顕著である。今後はこの無微生物性を如何に活用し、有効な手段にするか。特に最近問題視されているウイルス汚染による疾病に対し、ウイルスレスの養殖を可能にする資源として注目したい。

1. 研究目的及び背景

本研究は沖縄諸島、奄美群島、先島諸島等の珊瑚礁島嶼地下にその存在が確認された、新海水資源である変成琉球石灰岩下層の無微生物海水を用い、亜熱帯の海産生物の養殖を行い、自然海水と対比して、その有用性を確認することを目的とする。

即ち上述の珊瑚礁諸島は基盤となる火山性岩盤(或いは砂岩)上に、広く珊瑚等の造礁生物由来の琉球石灰岩が被覆しており、この生物由来石灰岩は多孔質で透水性を有する。しかるに、この下部には氷河期の遺跡と言われる変成琉球石灰岩層が存在し、これは堆積石灰岩地層で、

この地層は堅牢で透水性を失っている。従ってこの堆積石灰岩地層はその上部に雨水の滞留を可能にし、各島嶼の淡水資源として活用されて来た。しかるにこの変成琉球石灰岩層の下部に海水滞留が存在することを著者等は発見し、この海水の性状を調査したところ無微生物海水であることが判明した。本研究は具体的には、この無微生物海水の有用性を確認することを目的とする。

現時点で確認された無微生物海水はFig. 1に示すように八重山諸島の黒島、奄美群島の沖永良部島の2島であるが、一方の黒島が沖縄諸島の遙か南西、他方沖永良部島は沖縄本島よりも北に位置しており、今後の調査によっ

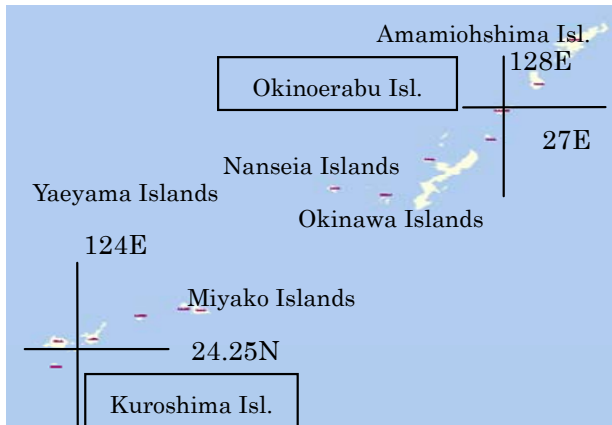


Fig. 1. Location of Kuroshima and Okinoerabu Island

て更に多くの同種の地形が確認されれば無微生物海水は沖縄県に多数存在する可能性がある。従ってその利用はそれぞれの緯度によって水温が異なるので多面的であり、新しい資源として種々の利活用が期待されよう。

即ち沖縄諸島、奄美群島、先島諸島等の珊瑚礁島嶼は離島、僻村が大半であって多くは無人島である。島嶼面積も小さく数mの標高しかないこれらの諸島を第一次産業の生産拠点に変えるには海水利用産業が唯一の資源である。幸いこれらの諸島は国土開発による汚濁、汚染に遭遇せず、貧栄養の黒潮海流の中にあつて水質の保全と微生物の抑制が堅持されている。従って変成琉球石灰岩下層の無微生物海水を今後活用することも、島の環境として相応しいと考えられる。

しかし、これら諸島は国際的珊瑚礁保全条例の対象であり、海岸、海中とも珊瑚礁に影響のある開発行為が制限されている。それとは逆に台風の常襲地域であるため養殖網、筏等の海中施設は高波の被害に耐えられない。本研

究はかかる障碍を陸上に場を移すことによって解決する点で他と比類のない開発を意味する。

無微生物という概念は従来の無菌と異なり、更に小さいウイルス、ピコプランクトンも存在しないという、極めて清浄性の高い海水を示しており、海洋深層水とは全く次元の異なる海水である。このことは食品衛生上も極めて有意義で、例えば食中毒で悪名の高いノロウイルス汚染なども、屢々カキ、ホタテ等の養殖貝類で問題視されるが、かかる懸念が皆無である点も本資源の優れた性能で研究価値のある対象である。

2. 研究方法

2A 「飼育試験」

2-A-1 「飼育試験地」

本研究は飼育試験の場所として井戸海水の揚水地、先島諸島の黒島を選定し、自然海水の試験区には黒島の地先海岸を借用して施設を設置した。試験地の概要を Fig. 2 に示す。

2-A-2 「飼育水槽」

本試験で使用した井戸海水水槽、自然海水水槽の概要を写真 Photo. 1 - 12 に示す。井戸海水水槽はヘッドタンクからの落差を用い、24 時間水槽全体に給水し、その中に飼育籠を設置した。シャコガイは給餌を必要としないが太陽光が必要なため屋外水槽とした。またナマコは鳥害を防ぐため有蓋網籠に収容し 1 回/日アワビ用人工餌料を給餌した。自然海水水槽は海岸の珊瑚礁の間隙に設置しアンカーを打って固定した。

2-A-3 「飼育試験生物」

本試験で供試した生物種はヒレシャコガイ *Tridacna*

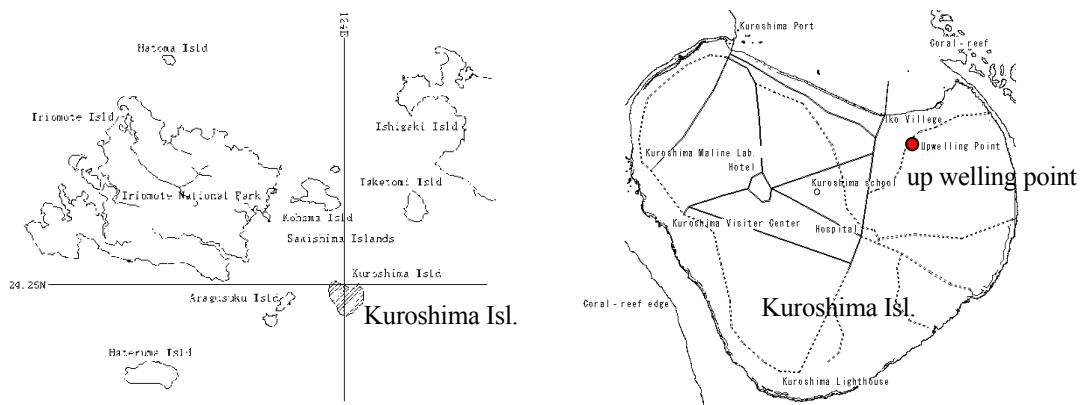


Fig. 2. Bird's-eye view of Kuroshima island and upwelling point

gigas、クロナマコ *Thelenota* sp.である。ヒレシャコガイは沖縄県水産海洋センター石垣支所から分譲された1年貝100個体、クロナマコは付近の海底より漁獲した20個体を用いた。

2-A-4「飼育状況の調査」

飼育水槽の管理と試験生物の状況把握のため1回/日の巡視を行い、水温、個数、重量の測定を行い、管理日誌にこれらを記載した。

2B「海水性状分析」

2-B-1「海水の化学調査及び微生物現存量測定用試料」

本研究の分析センターは国立大学法人三重大学大学院生物資源研究科である。飼育試験の現地、自然海水、井戸海水の試料を殺菌したポリエチレン製密封瓶に採取し、可及的速やかに試料海水を凍結保存し、まとめて凍結運搬し、測定に供した。また期間中数回黒島周辺の海洋調査を行い、自然海水の動態に就いても試料を採取し、内地の養殖海域との差異を確認した。

2-B-2「海水の化学分析」

海水の化学分析は供試海水を常温で融解し直ちに分析を行った。分析項目は水産用水基準に則り、pH、塩分、鉄分、アンモニア態窒素、硝酸態窒素、磷酸態磷である。

2-B-3「海水の微生物現存量測定」

微生物としては細菌、ウイルス、ピコプランクトンを計数した。細菌はDAPI染色による蛍光顕微鏡による計数、ウイルスは2 μ のフィルターを通過した試水を0.22 μ のフィルター上に集積しこの液に就いて、Yo-Pro法を適用した蛍光色素発光を蛍光顕微鏡で計数、ピコプランクトンはフィコビリンのG励起を同様蛍光顕微鏡下に観察し、計数を行った。

3. 研究結果

3-1) シャコガイの飼育試験

「飼育試験」はソルトサイエンス研究財団と三重大学との研究助成覚書が成立し、6月27日奨学寄付金の入金を確認された後、7月4日、三重大学と㈱五代産業の間で飼育施設の管理及び飼育生物の保全契約を取り結び、具体的な作業に入った。

即ち7月5日より飼育試験装置の設置、配管等の作業を開始し、7月29日にシャコガイ、クロナマコの2生物種について飼育試験を開始した。しかるに平成19年度は例年以上に台風の襲来が多く且つ強大で、8月7日に台風6号、続いて9月17日に台風12号が襲来した。特筆すべきは台風12号で、黒島を直に中心が襲ったため、島の電柱が殆ど折損し、復旧に困難を伴う被害をもたらした。特に停電が長期にわたり、一週間以上にも及んだ。このため自家発電機の稼働が余りにも長期にわたり燃料の供給が果たせず、これが飼育を不能にする原因となった。停電以外にも実験棟の破損、付帯施設のヘッドタンクの墜落、更に海岸に設置した自然海水実験槽の流失等、甚大な被害をもたらした。飼育生物の大半が死滅、流失した。

そこで9月21日に施設の再整備を行い、残存生物を用いて再度試験を開始し、以後は台風の再襲来もなく順調な生育を得た。

3月8日に井戸海水区、自然海水区のそれぞれに就いて調査を行い、結果をまとめた。なおクロナマコは時期を失して試料を再入手出来なかつたので中断のやむなきに到った。シャコガイの飼育試験の結果をFig. 3に図示するが、井戸海水区が平均体重2.88g、成長率1.1%/日、生残率96%であるのに対し、自然海水区では平均体重2.00g、

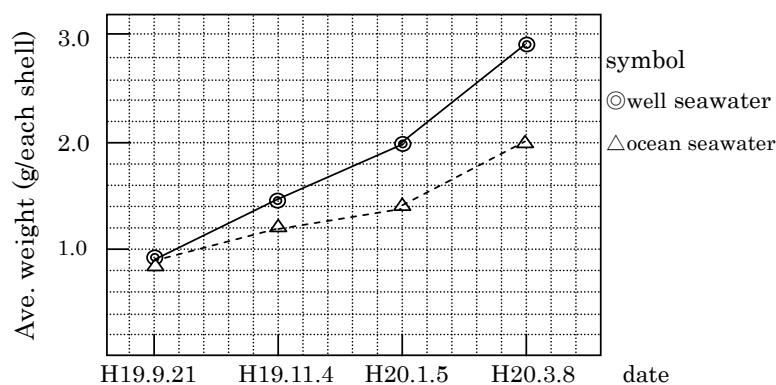


Fig. 3. Results of culture test giant clam *Tridacna gigas* compared with well and ocean seawater

成長率0.67%/日、生残率45%、と著しく悪い結果となった。しかし外見上の病徴は認められず、感染症によるものは認められなかった。ただ平成19年から20年にかけて先島諸島は低温の日が多く例年より寒冷であった。

3-2) 海水の性状調査

「海水性状分析」は井戸海水と自然海水のそれぞれに就いて8月、10月、3月の3回にわたり凍結試料を持ち帰り分析に供した。化学分析の結果をTable 1に微生物現存量の値をTable 2に示す。表には参考のため水産養殖の盛んな宇和島海、錦江湾の表層海水及び沖永良部島の井戸海水の代表値を併記した。

4. 考察

4A 「飼育試験」

本研究は台風によって装置に大きな被害を受け、中断のやむなき状況に陥ったが、9月21日以降の169日に関してはシャコガイの生育試験を実施することが出来た。この期間は秋季から冬季に当たりシャコガイの生長には障碍の多い時期であるが以下の結果に達した。

4A-1) この169日間の井戸海水区と自然海水区の比較では明らかに井戸海水区のシャコガイの生長が優れ、成長率で1.6倍、生残率でも2.13倍の差異を生じた。

4A-2) この井戸海水区と自然海水区の差異の要因は、第一に水温にあると考えられる。生長グラフを見ても11月以降両者の差が開いており、12月以降自然海水区の水温が低下し20°C以下に下がっており、これに平行して重

Table 1. Results of chemical analysis for well and ocean seawater

Date	H16.- H19			H19.8.14	H19.8.22	H19.10.5			H20.3.5	
	UWA	KIN	OKI	Wel.SW	Wel.SW	Oce.1	Oce.1	Wel.SW	Oce.1	Wel.SW
Samp. P										
Depth	0 m	0 m	75 m			0 m	50 m		0 m	
W.T(°C)	23.2	22.8	18.6	23.6	23.6	20.8	20.6	23.6	18.1	23.6
Salt(‰)	35.6	33.5	35.7	35.7	35.7	35.3	35.7	35.7	35.5	35.7
pH	7.9	7.9	7.3	7.4	7.4	7.9	7.9	7.4	7.9	7.4
DO (mg/l)	6.0	5.5	3.9	2.9	2.9	5.9	4.9	2.9	6.2	2.9
Fe (µg/l)	6	6	8	9	9	6	8	9	6	8
Mn (µg/l)	0.1	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
NH ₄ -N (mg/l)	0.5	0.5	0.02	0.02	0.03	0.05	0.01	0.07	0.04	0.02
NO ₃ -N (mg/l)	0.3	0.3	0.13	0.13	0.09	0.02	0.00	0.07	0.01	0.13
PO ₄ -P (mg/l)	0.2	0.1	0.07	0.07	0.06	0.07	0.07	0.03	0.07	0.07

UWA; Uwajima Sea, KIN; Kinkou Bay, OKI; Okinoerabu island, Wel.SW; well seawater, Oce.1; ocean sampling point, W.T.; Water Temperature,

Table 2. Microbial activities of well and ocean seawater

Date	H16.- H19			H19.8.14	H19.8.22	H19.10.5			H20.3.5	
	UWA	KIN	OKI	Wel.SW	Wel.SW	Oce.1	Oce.1	Wel.SW	Oce.1	Wel.SW
Samp. P										
Depth	0 m	0 m	75 m			0 m	50 m		0 m	
T. Bact.	4800000	1800000	131	240	80	8300	12200	0	16300	35
T. Virus	86000	45600	120	48	30	13500	13200	7	15800	104
B. (coli)	10	15	0	0	0	10	0	0	0	0
B. (Viv)	4100	430	0	0.05	0	22	10	0	0	0
Pic. Plan	200	28000	0	0	0	20	107	0	137	0

UWA; Uwajima Sea, KIN; Kinkou Bay, OKI; Okinoerabu island (Unit of Microbial activities = cells/ml)

量増加が止まっている。

4A-3) 井戸海水区のシャコガイは外見も美しく付着生物の存在も認められないが、自然海水区のシャコガイ貝殻には長さ数 mm のスジアオノリの小片が付着しており将来の繁茂を予想させるものである。

4A-4) 以上1)から3)を通覧して井戸海水の清浄性は極めて明らかであり、シャコガイの生長、生残とも優れており、井戸海水が養殖用水として適していると判断される。

4B「海水性状分析」

飼育試験に併行して行った海水の化学的、微生物学的分析評価では、井戸海水の特徴が明確に表れている。即ち以下の項目である。

4B-1) 化学分析の面では自然海水には当然の事であるが水温に季節変動があり、井戸海水にはそれが無く周年一定である。また塩分濃度には両者間に差が無く井戸海水は外洋水であることが示唆される。しかし pH が低く、DO も少ない。このことは井戸海水が閉鎖空間に長期間滞留していたことを推測させる。因みに井戸海水に空気を吹き込むと簡単に DO は飽和に戻り、pH も 8.0 弱まで上昇する。

4B-2) 参考のため示した宇和島海、錦江湾の表層海水は共に代表的な水産養殖海面であるが化学的分析からは窒素、リンが高く富栄養化が進んでいることが分かる。代表値であるので年平均を概略示しており水温、pH、DO 等には大きな変動は認められない。

4B-3) 微生物学的分析評価では井戸海水の無微生物性が明瞭に示されている。即ち総細菌数では自然海水の1万に対して100程度と1%以下であり、この100程度の存在もサンプリング時の空気等からの混入が不可避であるので、測定エラーと考えられる。同様の傾向は総ウイルス数においても認められる。即ち自然海水の1万数千に対して井戸海水は100 - 40 と数値が変動しており、測定時のミスの可能性が考えられる。しかしそれを考慮しても井戸海水は自然海水の1%以下であり清浄性は高い。特にピコプランクトンは皆無で、通常深度100 m 付近に見られるピコプランクトンの集積が無い。これは海洋深層水で問題視される微生物汚濁の危険が無いことになり、井戸海水の清浄性を最も端的に示している。

4B-4) 4B-2)と同様に 参考のため示した宇和島海、錦江湾の表層海水の微生物学的分析評価では微生物現存

量が、細菌、ウイルス、プランクトン共、黒潮海域よりも100倍高く、微生物汚濁が養殖海面で極度に進行していることを示している。特に錦江湾ではピコプランクトンの増殖が著しく黒潮の200倍を超えている。このような養殖場で飼育されている魚介類の健康状態が懸念されるところである。

4B-5) 参考のために新しい井戸海水の例として沖永良部島和泊町の井戸海水の分析値を併記したが、深度75 m から揚水している井戸海水は水温が18.6℃と黒島より約6℃低く緯度の差を物語っている。しかし化学分析も微生物現存量も黒島と殆ど一致しており新しい資源の存在が広い海域に分布している証拠として注目される。

5. 今後の課題

5A「飼育試験」

今回の研究は台風の直撃に遭遇し、飼育試験に関して所期の目的を達成することが出来ず、特に飼育試験生物を失ったためナマコの試験をすることが出来なかった。またクビレズタの養殖も時期的に困難で対象から外さざるを得なかった。従って次年度以降に設備等を整えて再度、これらの対象生物については挑戦することにしたい。またシャコガイに関しては曲がりなりにも自然海水と井戸海水との比較試験が出来、それぞれの海水の特徴を把握することが出来た。しかしシャコガイの養殖期間として半年間は余りに短期間であり、この試験の継続を考えたいと思っている。特に生長の早い夏季の生育を井戸海水で確認し自然海域での養殖と対比することは夾雑生物の影響を判断する上で重要であると考えている。従って小規模でも試験を継続すべく検討中である。

5B「海水性状分析」

井戸海水の最も特徴と目される性質は無微生物性である。この分析を通じて、我々は初めてウイルスレスの資源に気付き、その活用を提案することに成功した。今後はこの技術を定常的に利用できるシステム作りが求められよう。それによって新たな無微生物資源が手に入る可能性も開けるであろう。

文献等

- 1) 今田 克、前田広人、田中淑人; 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巻、119-124頁、(2006)

Photographs of culture test's organisms and equipments for comparing of well and ocean seawater



Photo. 1: Culture vessel fixed by anchor bolt set on Nishihama seashore in KUROSHIMA island for ocean seawater



Photo. 2: Well seawater vessel under continuous supplying seawater for cultivation of giant clam and sea cucumber



Photo. 3: Culture scene of giant clam on limestone in well seawater vessel



Photo. 4: Culture scene of sea cucumber in well seawater vessel



Photo. 5: measuring scene for total weight of giant clam culturing in well seawater on 21th Sept.



Photo. 6: Same scene culturing in ocean seawater on 21th Sept.



Photo. 7: Same scene culturing in well seawater on 4th Nov.



Photo. 8: Same scene culturing in ocean seawater on 4th Nov.



Photo. 9: Same scene culturing in well seawater on 5th Jan.



Photo. 10: Same scene culturing in ocean seawater on 5th Jan.



Photo. 11: Same scene culturing in well seawater on 8th Mar.



Photo. 12: Same scene culturing in ocean seawater on 8th Mar.

No. 0713

Well Seawater Obtained from Underground Limestone Layer in OKINAWA Islands, Its Performance of Shellfish Giant Clam *Tridacna gigas* Cultivation, and Chemical, Microbiological Characteristics

Osamu IMADA, Hiroto MAEDA

Mie University

Summary

Well seawater from coral limestone layers was high lighted as a new characteristic oceanographic resource, that is free of bacteria, viruses and pico-plankton. A shellfish giant clam *Tridacna gigas* cultivation test using well seawater compared with ocean seawater continued 169 days from fall to spring. As a result, a growth rate of well seawater that is 1.1 %/day, about 2 times higher than ocean seawater, also a survival ratio is 96%, about 2 times higher than ocean seawater.

Chemical and microbiological analysis of seawater was provided in Mie University using frozen samples sending 4 times by airmail. Items of chemical analysis are % of salt, pH, DO, Fe, Mn, NH₄-N, NO₃-N, PO₄-P.

Results of chemical analysis were shown well seawater originated from ocean but separated un-aerobic condition, so level of DO is decreased.

Number of microorganism in well seawater is most characteristic, eg. number of bacteria, viruses and pico-planktons were almost zero in natural, cheking by fluorescent microscope using DNA staining dye.