

栽培漁業センター技報

平成15年度

平成16年3月

独立行政法人
水産総合研究センター

発刊にあたって

平成15年10月1日をもって、社団法人日本栽培漁業協会(日裁協)は海洋資源開発センターとともに独立行政法人水産総合研究センターへ統合されました。この統合により、「水産基本法」に示されている基本理念である「水産物の安定供給の確保」と「水産業の健全な発展」に資する研究を、基礎から実証まで総合的に実施できる体制が整うことになりました。

日裁協では、これまで技術開発の成果及び事業の概要を「日本栽培漁業協会事業年報」として毎年刊行してきましたが、この統合により事業年報は廃刊することとなりました。このたび上記年報に代わるものとして、全国16の栽培漁業センターでの技術開発の概要をまとめて、「栽培漁業センター技報」として内容を一新して発刊することになりました。

この技報では、栽培漁業センターで実施している技術開発の年々の成果を積み上げて公表していくとともに、資料的に価値のあるもの、早急に技術普及すべきものなどを、必ずしも完成された技術開発の結果ではなくとも迅速に公表していくことを目的としています。

この技報を栽培漁業技術の開発にお役に立てていただければ幸いです。

なお、本書に収録した報告には、まだ開発途上にある技術に関するものも多く含まれております。関係各位のご批判、ご意見をお寄せ下さいますようお願い申し上げます。

平成16年3月

独立行政法人 水産総合研究センター

栽培漁業部長 今村茂生

栽培漁業センター技報

第1号

平成16年3月

目次

発刊にあたって

I. 優良親魚の養成技術及び採卵技術の開発

飼餌料を変えて養成したヒラメ親魚から得られた卵の飼育試験 村上 直人・竹内 宏行	1
ホシガレイの成熟・排卵に及ぼす LHRHa の投与効果について 兼松 正衛・太田 健吾・島 康洋	4
クエ親魚の加温飼育による成熟同調化の試み 本藤 靖・佐藤 純・浜田 和久・虫明 敬一	8
養成水温と日長の制御によるブリの早期(12月)採卵について 浜田 和久・今泉 均・虫明 敬一	10
飼育環境条件の制御によるヒラメの9月産卵 本藤 靖・崎山 一孝・吉田 一範・村上 直人・虫明 敬一	11
クエの卵巣内に残留した卵塊の形成防除手法の試み 堀田 卓朗・今泉 均・山崎 哲男	14
陸上水槽で養成しているハモの成熟状況の季節変化 加治 俊二・西 明文・足立 純一	16
2つの飼育方法を用いた奄美大島でのクロマグロ <i>Thunnus thynnus orientalis</i> の養成 升間 主計・手塚 信弘・二階堂英城・武部 孝行・井手健太郎	19
ブリ産卵親魚の血液性状検査とふ化仔魚の体成分分析に基づく健全性評価について 崎山 一孝・浜田 和久・虫明 敬一	27
マイクロサテライト DNA 分析によるヒラメ9月採卵における産卵貢献親魚の特定 吉田 一範・本藤 靖・村上 直人・虫明 敬一	32

II. 健全な種苗の飼育技術の開発

オゾン処理海水がヒラメ稚魚の白化出現に及ぼす影響 山田 徹生・藤浪祐一郎・熊谷 厚志	35
イセエビ種苗生産試験—2002年度飼育開始群における飼育結果の概要 村上 恵祐・橋本 博	38
ヒラメ量産飼育における無眼側体色異常防除の取り組みについて 渡辺 税・中川 亨・村上 直人・竹内 宏行	43
キジハタの初期飼育における貝化石の添加効果 津村 誠一・高野 正嗣・小畑 泰弘・與世田兼三	45
育成仔魚の無給餌によるサワラの種苗生産 山崎 英樹・奥村 重信・鴨志田正晃・山本 義久	49
貝化石添加によるクエ種苗生産手法の有効性について 本藤 靖・照屋 和久・高橋 誠	52
ハマフエフキ <i>Lehrinus nebulosus</i> 卵のふ化に及ぼす水温と塩分の影響 井手健太郎・手塚 信弘・二階堂英城・武部 孝行・升間 主計	55

クロマグロ仔魚の成長過程と成長に伴う体成分の変化 手塚 信弘・升間 主計・武部 孝行・二階堂英城・井手健太郎	58
Ⅲ．増養殖対象種の病害の予防および防除技術の開発	
天然キジハタからのベータノダウイルスの検出 森 広一郎・西岡 豊弘・菅谷 琢磨・有元 操	63
マハタの親魚養成における NNV 抑制技術と健苗生産技術開発 照屋 和久	67
天然ヒラメに寄生するネオヘテロボツリウムの感染状況把握調査 菅谷 琢磨・西岡 豊弘・森 広一郎・有元 操	71
クエのウイルス性神経壊死症発病時におけるウイルスの感染状況 佐藤 純・本藤 靖・高橋 誠・虫明 敬一	74
クロマグロ種苗生産におけるオキシダント処理海水のウイルス性神経壊死症(VNN)への防除効果 手塚 信弘・升間 主計・武部 孝行・二階堂英城・井手健太郎	76
オキシダント海水で消毒したクロマグロ受精卵のふ化管理手法 武部 孝行・升間 主計・手塚 信弘・二階堂英城・井手健太郎	80
Ⅳ．餌料生物の効率的培養および利用技術の開発	
宮古栽培漁業センターにおけるワムシ粗放連続培養技術の実証例 熊谷 厚志・有瀧 真人・藤浪祐一郎	84
培養水温が海産ワムシ類の大きさに及ぼす影響について 小磯 雅彦	91
Ⅴ．中間育成技術の開発および放流関連技術の高度化	
道東海域における地域性ニシンの放流効果調査 鈴木 重則・福永 恭平	95
キャンバスシートを用いた海上でのハタハタ稚魚の ALC 標識試験 友田 努	99
若狭湾におけるアカアマダイの標識放流試験とその再捕状況 竹内 宏行・渡辺 税・中川 亨	102
漁港における幼稚魚育成施設の開発調査 小畑 泰弘・津村 誠一	105
素堀池で養成したクルマエビの生残尾数の推定 崎山 一孝・清水 大輔	112
ふ化イカで放流したコブシメの混獲率 團 重樹・浜崎 活幸	116

I 優良親魚の養成技術および採卵技術の開発

飼餌料を変えて養成したヒラメ親魚から得られた卵の飼育試験

村上直人, 竹内宏行
(宮津栽培漁業センター)

ヒラメ親魚養成における餌料として、多くの機関で生餌(冷凍マアジ等)が用いられているが、近年は近海のマアジ等から VNN ウィルスが検出され、生餌給餌によるウィルス感染が懸念されている。このことから、宮津栽培漁業センターでは、2001年から天然より搬入したヒラメで配合飼料を用いた養成を行ってきたところ、まとまった採卵が可能となってきた。

そこで、今年度は、配合飼料を給餌して得られた受精卵と生餌給餌によって得られた受精卵を比較するための飼育試験を行い、生残と成長および形態異常の出現状況について調査した。

材料と方法

ヒラメ親魚の養成には、円型20kl水槽2面を用い、各槽雌雄4尾ずつ収容した。試験区は、配合飼料(配合区)と冷凍マアジ(生餌区)を与える区を設けた。採卵は、2003年2月5日から同時に開始し、2月20日に得られた浮上卵を試験に供した。供試した浮上卵は、配合区が396g(59.4万粒)、生餌区が436g(65.4万粒)で、ヨウ素50ppmで5分間消毒した後、0.5klふ化器を用いて16℃の微流水でふ化まで管理を行った。

飼育試験には、0.5kl黒色ポリエチレン水槽を使用し、5,500尾/槽のふ化仔魚を収容した。1試験区あたり3水槽を用いた。飼育水温はウォーターパス方式で17~18℃に保温し、飼育3日目の開口時から17.5℃に調温した紫外線滅菌海水による流水で飼育した。

餌料には、L型ワムシ、アルテミアノープリウス、および配合飼料(おとひめ:日清飼料製)を用いた。L型ワムシは、開口からGステージ(日齢3~29)まで1~3回/日給餌した。栄養強化は、マリングロス(強化量1ℓ/kl:日清マリンテック製)を使用した。ワムシ給餌期間中は、ナンノクロロプシスを100万細胞/mlの密度を維持するよう連続添加した。

アルテミアノープリウスは、ステージE~H(日齢17~41)まで1~3回/日給餌した。ふ化時にはハッチコントローラー(添加量50g/kl:INVE製)を用いて細菌の抑制を図り、栄養強化はバイオクロミス(強化量170g/kl:クロレラ工業製)を使用した。

配合飼料は、ステージG(日齢29日)から開始し、

7時から17時にかけて6~11回手撒きで給餌した。

飼育密度の調整は、ステージE(平均全長9mm)と平均全長20mmで行い、それぞれ2,500尾/槽と500尾/槽にして平均全長40mmまで飼育した。

体色異常出現状況を調査するため、平均全長20mm及び40mmで取り揚げて10%中性ホルマリンで固定した。無眼側の体色異常は、1カ月後に100個体ずつスキャンニングした画像から福永¹⁾の分類パターンに従い判定した。有眼側体色異常の観察には全長20mmのサンプルを用い、約200尾を実体顕微鏡で判定した。また、全長40mmのサンプルでは、軟X線撮影により脊椎骨の異常状況を観察した。

結果と考察

配合区及び生餌区における生残率を図1に、成長を図2に示した。

生残状況を見ると、生餌区では初期減耗が見られなかったが、配合区では収容直後の死亡がわずかに確認された。飼育終了時の生残率は、配合区が平均65.6%(61.2~70.0%)、生餌区が76.5%(72.7~79.3%)と両区とも順調に飼育できた。成長は、両区で差はなく、飼育50日目で全長40mmに達した。

全長20mmでの無眼側体色異常の出現状況を表1に示した。これを見ると、正常個体の出現率は、配合区が平均91.3%(88.0~95.0%)、生餌区が91.3%(89.0~93.0%)ととも高く、体色異常個体はすべて縁側部の軽度な異常であった。

全長40mmでの無眼側体色異常の出現状況を表2に示した。配合区の体色異常個体の出現率は、頭部(C¹)で1.3%(0~3.0%)、腹鰭基部(C³)が3.3%(1.0~6.0%)、縁側部(A)ではA±が5.3%(3.0~7.0%)であった。生餌区では、C¹が3.7%(1.0~6.0%)、C³が6.7%(5.0~8.0%)、A±が8.0%(6.0~12.0%)及びA+が1.7%(1.0~3.0%)確認された。正常個体の出現率は、配合区で平均92.3%(89.0~96.0%)、生餌区で87.7%(83.0~91.0%)ととも高く、両区で顕著な差は認められなかった。

有眼側体色異常の出現状況を表3に示した。正常個体は、配合区が98.0%(97.1~98.5%)、生餌区が99.4%

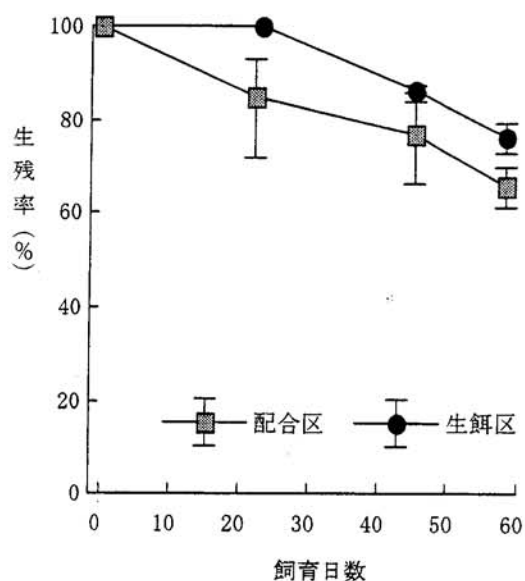


図1 配合および生餌区のヒラメ親魚群から得られた卵を用いた飼育試験の生残率

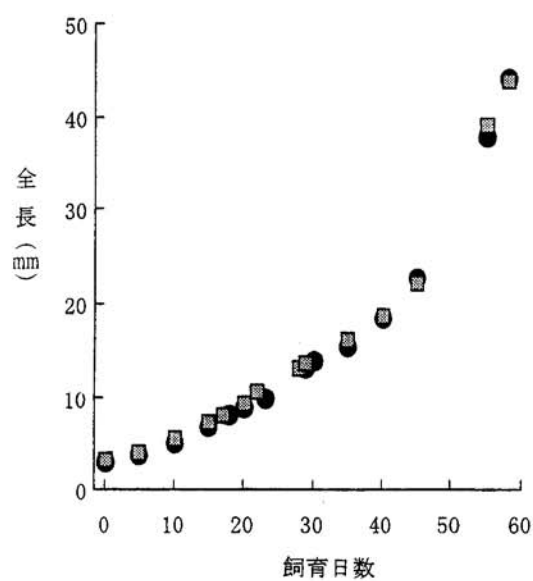


図2 配合および生餌区のヒラメ親魚群から得られた卵を用いた飼育試験の成長

■ 配合区 ● 生餌区

表1 全長20mmサイズでの無眼側体色異常の発現状況

試験区	平均全長 (mm)	無眼側体色異常の出現率 (%)				A (縁側)					C (%)			D (%)	
		正常	黒≤1/2	黒>1/2	黒化	正常	±	+	++	+++	1	2	3	1	2
配合区-1	21.9	95.0	5.0	0	0	95.0	5.0	0	0	0	0	0	0	0	0
配合区-2	22.7	88.0	12.0	0	0	88.0	12.0	0	0	0	0	0	0	0	
配合区-3	22.6	91.0	9.0	0	0	91.0	9.0	0	0	0	0	0	0	0	
配合区平均	22.4	91.3	8.7	0	0	91.3	8.7	0	0	0	0	0	0	0	
生餌区-1	23.4	89.0	11.0	0	0	89.0	11.0	0	0	0	0	0	0	0	
生餌区-2	22.7	92.0	8.0	0	0	92.0	8.0	0	0	0	0	0	0	0	
生餌区-3	22.5	93.0	7.0	0	0	93.0	7.0	0	0	0	0	0	0	0	
生餌区平均	22.9	91.3	8.7	0	0	91.3	8.7	0	0	0	0	0	0	0	

表2 全長40mmサイズでの無眼側体色異常の発現状況

試験区	平均全長 (mm)	無眼側体色異常の出現率 (%)				A (縁側)					C (%)			D (%)	
		正常	黒≤1/2	黒>1/2	黒化	正常	±	+	++	+++	1	2	3	1	2
配合区-1	44.4	96.0	4.0	0	0	97.0	3.0	0	0	0	0	0	1.0	0	
配合区-2	43.6	92.0	8.0	0	0	94.0	6.0	0	0	0	1.0	0	6.0	0	
配合区-3	43.7	89.0	11.0	0	0	93.0	7.0	0	0	0	3.0	0	3.0	0	
配合区平均	43.9	92.3	7.7	0	0	94.7	5.3	0	0	0	1.3	0	3.3	0	
生餌区-1	44.4	89.0	11.0	0	0	93.0	6.0	1.0	0	0	6.0	0	8.0	0	
生餌区-2	44.2	83.0	17.0	0	0	85.0	12.0	3.0	0	0	4.0	0	7.0	0	
生餌区-3	44.1	91.0	9.0	0	0	93.0	6.0	1.0	0	0	1.0	0	5.0	0	
生餌区平均	44.2	87.7	12.3	0	0	90.3	8.0	1.7	0	0	3.7	0	6.7	0	

(98.3~100%)と両区とも高い出現率が得られた。

脊椎骨異常の出現状況を表4に示した。脊椎骨の正常個体は、配合区が93.0%(92.0~94.0%),生餌区が91.3%(88.0~95.0%)と両区とも高い出現率が得

られた。

以上の結果から、配合飼料を用いて養成した親魚から得た卵も、従来の生餌給餌で養成した親魚から得た卵と同様に種苗生産に利用できると思われる。

表3 全長20mmサイズでの有眼側体色異常の発現状況

試験区	平均全長 (mm)	有眼側体色異常の出現率(%)			
		正常	白 \leq 1/2	白 $>$ 1/2	白化
配合区-1	21.9	98.3	0	0	1.7
配合区-2	22.7	97.1	0	0.6	2.3
配合区-3	22.6	98.5	0	0	1.5
配合区平均	22.4	98.0	0	0.2	1.8
生餌区-1	23.4	100	0	0	0
生餌区-2	22.7	100	0	0	0
生餌区-3	22.5	98.3	0.6	0	1.1
生餌区平均	22.9	99.4	0.2	0	0.4

表4 全長40mmサイズでの脊椎骨異常の発現状況

試験区	平均全長 (mm)	脊椎骨異常の出現率(%)			
		正常	癒合	屈曲	その他
配合区-1	44.4	93.0	5.0	2.0	0
配合区-2	43.6	94.0	5.0	1.0	0
配合区-3	43.7	92.0	8.0	0	0
配合区平均	43.9	93.0	6.0	1.0	0
生餌区-1	44.4	88.0	12.0	0	0
生餌区-2	44.2	95.0	4.0	1.0	1.0
生餌区-3	44.1	91.0	8.0	0	1.0
生餌区平均	44.2	91.3	8.0	0.3	0.7

文 献

- 1) 福永辰廣：ヒラメの無眼側体色異常防除技術開発の現状．平成10年度栽培漁業技術研修事業基礎理論コース資料

ホシガレイの成熟・排卵に及ぼす LHRHa の投与効果について

兼松正衛，太田健吾，島 康洋
(伯方島栽培漁業センター)

ホシガレイ *Verasper variegates* は，わが国の東北地方以南から朝鮮半島，中国北部，南シナ海に分布する高級魚である。定着性が強いことから，新たな栽培漁業対象種として注目され，わが国では太平洋北部各県のほか西日本においても採卵や種苗生産の技術開発が行われている。近年，太平洋北部の海域では，親魚の排卵周期を利用した採卵技術の進展により比較的安定した採卵が可能となり，種苗生産の技術も向上してきた。しかし，西日本海域では，親魚が20℃を超える高温期にハンドリングが困難なことや疾病が発生しやすいこと等から長期間にわたる養成が難しく，成熟・排卵までに至る個体の割合が著しく低いため，受精卵の安定確保が困難な状況にある。

伯方島栽培漁業センターでは，1997年からホシガレイの親魚養成技術開発に着手し，主に愛媛県燧灘で漁獲された天然魚を搬入し，当センターで養成して採卵試験に供してきた。しかし，2001年までは親魚200個体前後（性比約1：1）に対して，排卵に至る個体数はわずか2～3尾程度しか認められず，総採卵数も31～82万粒であった。このため，2002年よりホルモン剤を用いた成熟促進技術の開発に取り組み，主として人工授精による受精卵の安定的な大量確保を目指すこととした。

ここでは，当センターで周年養成している天然魚由来の養成親魚を用いて，胎盤性生殖腺刺激ホルモン（以下 HCG）および合成黄体形成ホルモン放出ホルモンアナログタイプ（以下，LHRHa）について，成熟および排卵に対する有効性を検討した。

材 料 と 方 法

親魚養成

試験に供したホシガレイは，1997年から2001年にか

けて主として愛媛県燧灘で底曳網により漁獲された天然魚を搬入し，当センターの陸上水槽（7 kℓあるいは14kℓ）に収容して自然水温条件下で養成した親魚である。2002年7月以降自然水温の上昇により飼育水温が20℃を超えた約4カ月間については，一部の親魚の飼育水温が20℃以下となるように冷却して飼育した。餌料は，2002年7月まではオキアミを，同年8月からはオキアミとマアジを交互に，いずれも総合ビタミン剤を約2%添加（外割）して週に5回給餌した。供試魚には腹部が膨隆し，卵巣卵径の平均値が1mm前後（第3次卵黄球期以上）のものを選別して供した。

ホルモン処理

試験区には LHRHa（400 μg/kg）をコレステロールペレットで投与する区，HCG（300IU/kg）注射する区及びホルモンを使用しない対照区を設定し，各試験区には雌親魚5尾を供した（表1）。試験は2003年1月23日から3月9日までの45日間実施した。LHRHa区では，骨髓生検針により LHRHa を含むコレステロールペレットを背部筋肉下へ挿入した。HCG区では，有眼側の背部筋肉下に2カ所に分けて注射した。供試魚は個体別にカゴ（40×60×深さ30cm）へ収容した後，20℃に水温調整した14kℓ水槽へカゴごと収容した。そして，毎日1回午前中に体重測定および排卵の有無を調査し，数日おきにカニューレを用いて卵巣卵の一部をサンプリングして成熟状況を調査した。排卵が確認された場合には，ただちに腹部を圧迫して卵を搾出し，別に養成した雄親魚からの精液（1～2個体分）を用いて乾導法により人工授精を行った。得られた卵はふ化水槽（100ℓ）に収容し，自然水温（約11℃）の砂ろ過海水を用いた流水方式（換水率20回転/日）で管理し，胞胚期（受精後約20時間）における受精率を調べた。媒精に使用した精液は実験室に持ち帰り，

表1. ホシガレイの成熟・排卵に対する LHRHa 及び HCG 投与試験の概要

試験区	1 kg当りの 投与量	供試尾数 (尾)	開始時の平均卵巣卵径 (μm)	雌親魚の	
				全長 (mm)	体重 (g)
LHRHa 区	400 μg	5	1,084 (985~1,246)	41.1 (36.6~47.6)	1,160 (860~1,800)
HCG 区	300 IU	5	988 (919~1,149)	40.5 (39.0~41.8)	1,100 (955~1,275)
対照区	—	5	1,052 (1,019~1,074)	41.5 (39.5~43.5)	1,220 (950~1,540)

表2. LHRHa 及び HCG を投与したホシガレイの人工授精による採卵結果の概要

試験区	供試尾数 (尾)	排卵尾数 (尾)	人工授精による 採卵回数	総採卵数 (万粒)	受精卵数 (万粒)	受精率 (%)
LHRHa 区	5	5	42 (4~17) *	44.6	12.0	26.9
HCG 区	5	1	4	3.2	0	0
対照区	5	0	0	0	0	—

* 各供試個体別の採卵回数を示す。

る過海水を滴下して光顕下で運動活性の有無を調べた。

結 果

LHRHa 区では、供試した 5 尾すべての個体で LHRHa 投与後 7~31 日目に体重が増加するとともに (図 1), 排卵が確認され採卵することができた。各親魚とも排卵が初めて確認された後は、ほぼ毎日採卵することができ、試験期間中に各個体から計 4~17 回で親魚群としては通算 42 回の人工授精が可能であった (図 2)。採卵期間中に総採卵数で 44.6 万粒、うち受精卵数で 12.0 万粒 (受精率 26.9%) が得られた (表 2)。

一方、HCG 区では供試した 5 尾のうち 1 尾のみが注射後 5 日目に体重が増加し (図 3)、6 日目に排卵を確認して採卵できた。試験期間中に採卵できたのは 1 尾で、計 4 回の人工授精を実施して総採卵数で 3.2 万粒が得られたが、受精卵は得られなかった (表 2)。対照区では、試験期間中いずれの個体においても全く体重の増加はみられず、排卵も確認されなかった。

考 察

今回の試験結果から、LHRHa を 400 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与す

ることによりホシガレイ親魚の成熟を促進させる有効性が示唆された。排卵が始まった個体からは、各個体で計 4~17 回採卵可能で、特に 17 回採卵できた個体 (図 2 の個体 B) では、初回の排卵以降スムーズな排卵を繰り返した。排卵開始から 10 日目まで連続で採卵した場合の受精率は 0~36.7% であったのに対し、12 日目以降 1~2 日間隔の排卵周期に合わせた採卵では、受精率が 20.8~66.7% と顕著に上昇した。この結果は、宮古栽培漁業センターにおいてホルモン無処理の自然条件下で排卵した個体からの人工授精による採卵結果¹⁾と比較しても遜色ない結果と考えられた。したがって、本来多回産卵魚であるホシガレイに対しては、成体の有する産卵リズムを損なうことなく、成熟を促進させ排卵させることが可能な LHRHa が有効と考えられるとともに、本種の場合には排卵周期に合わせた人工授精による採卵手法が有効であると考えられた。

これまで、ホシガレイの成熟促進に LHRHa を使用した事例は、人工養成の満 5 歳魚に 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与して採卵できたが受精卵が得られなかった報告²⁾や 7~26 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与により受精卵は得られたもののふ化までに至らなかった報告^{3,4)}がある。今回の試験では、LHRHa を 400 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与することにより受精卵を得ることができたことから、投与量がほぼ適正範囲内にあ

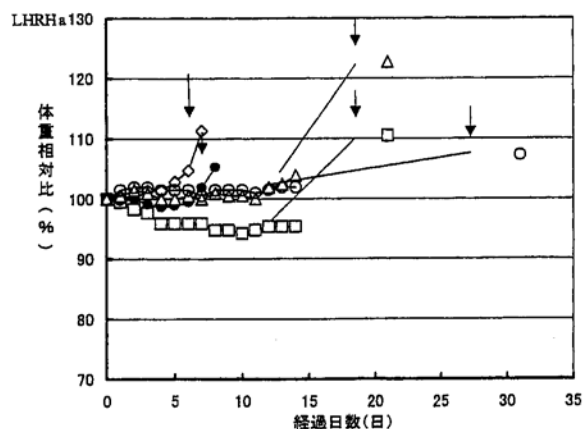


図1 ホシガレイの LHRHa 区の体重比率の推移

(図中の矢印は初めて排卵した日を示す。)

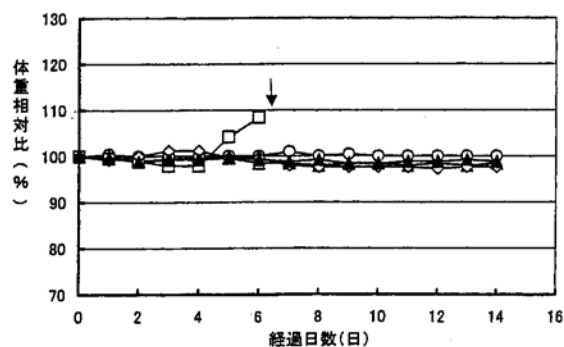


図3 ホシガレイの HCG 区の体重比率の推移

(図中の矢印は初めて排卵した日を示す。)

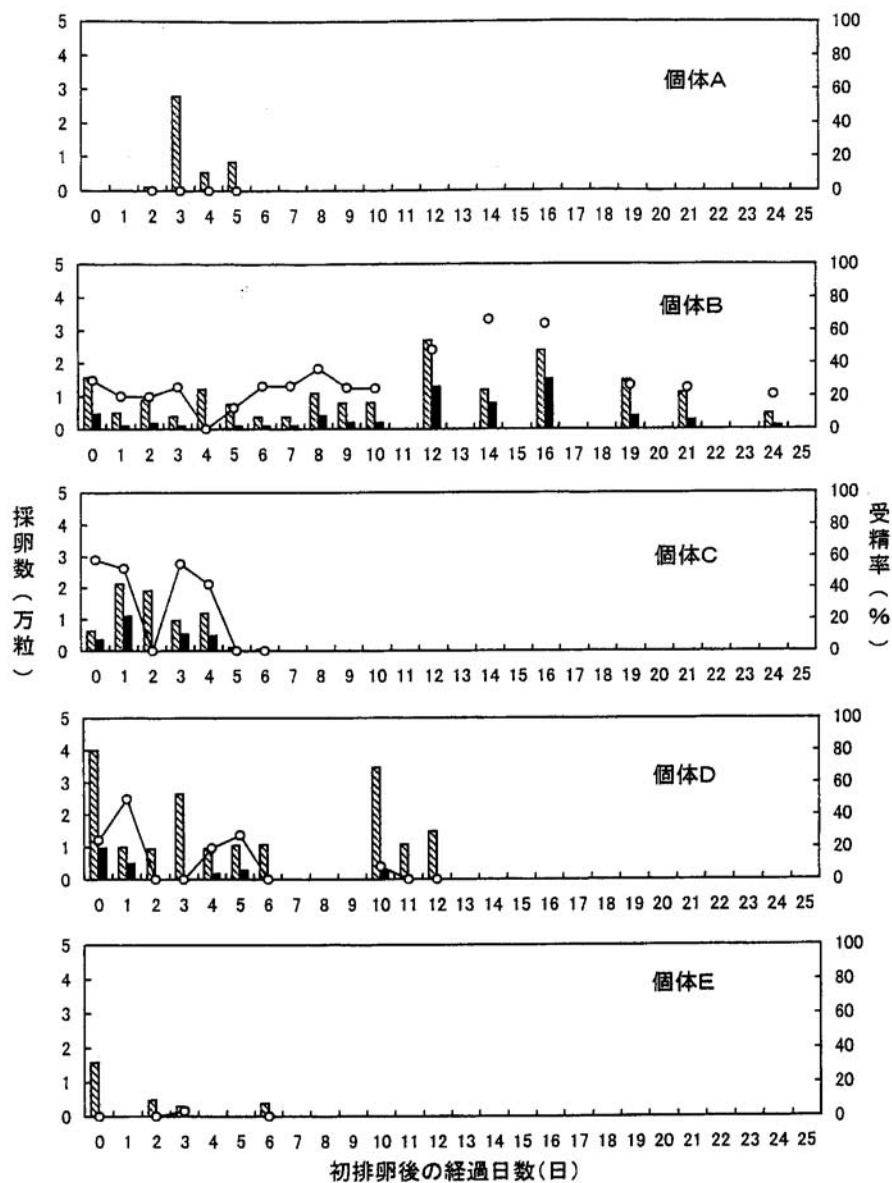


図2 ホシガレイのLHRHa区の採卵結果

▨ 総採卵数 ■ 受精卵数 ○ 受精率

ったものと推定された。

HCG については、ホルモン濃度が300IU/kg では、供試個体 5 尾中 1 尾が排卵しただけで、採卵はできたものの受精卵を得るまでには至らなかった。HCG の注射濃度を高めることによって排卵の誘起に成功した事例はあるものの、ホシガレイ本来の成熟・排卵機構に対しては不向きであると考えられた。

今後、ホルモン剤を使用した成熟促進技術の開発と同時に、本種の健全な親魚養成技術についてさらに検討する必要があるものと考えられた。

文 献

- 1) 有瀧真人．成体の確保と採卵，ホシガレイ．平成 9 年度日本栽培漁業協会事業年報 1999，107-112．
- 2) 古畑和哉．LHRH-a コレステロールペレットによるホシガレイの成熟促進（短報）．千葉県水研研報 2002，51，61．
- 3) 津崎龍雄．成体の確保と採卵，ホシガレイ．平成 6 年度日本栽培漁業協会事業年報 1996，75-77．
- 4) 津崎龍雄．成体の確保と採卵，ホシガレイ．平成 7 年度日本栽培漁業協会事業年報 1997，92-94．

クエ親魚の加温飼育による成熟同調化の試み

本藤 靖, 佐藤 純, 浜田和久, 虫明敬一
(五島栽培漁業センター)

クエの放流用種苗の遺伝的多様性を損なわないためには、一度に多くの親魚を水槽内での産卵、あるいは人工授精による採卵に関与させて卵を確保する必要がある。そのためには、親魚の成熟を同調させ受精のタイミングを図る必要がある。しかし、クエではこれまでに親魚の成熟を同調させるための効率的な水温の制御方法が確立されていない。そこで、本年度はクエ親魚の成熟同調に向けた加温飼育の適正期間を把握することを目的とした。

材 料 と 方 法

2003年3月26日に五島栽培漁業センターの海上小割生簀で養成した天然養成10歳魚24尾(♂:♀=4:20)を90kℓ陸上水槽へ6尾ずつ(♂:♀=1:5)収容した(表1)。その後、全水槽とも10日間の水槽への馴致期間を設け、4月11日から飼育水温20℃で維持する加温飼育を開始した。加温処理期間は25日(以後25日処理区)、33日(33日処理区)および40日(40日処理区)とした。所定の日数が経過した後、カニューレにより卵巣卵を採取して成熟調査を行うとともに、HCG注射(600IU/kg)を行い、その48時間後に人工授精を試みた。

結 果 と 考 察

25日処理区のHCG注射時における成熟度調査では、

雌10尾中8尾から卵巣卵を採取し、これら8尾の卵巣卵径の平均値は $518 \pm 45.9 \mu\text{m}$ であった(表2)。また卵巣卵径の平均値が $500 \mu\text{m}$ 以上の個体はそのうち7尾であった。また、33日処理区では5尾中2尾から卵巣卵が採取でき、その平均値は $422 \pm 10.5 \mu\text{m}$ 、40日処理区では5尾中3尾から卵巣卵が採取でき、その平均値は $440 \pm 84.2 \mu\text{m}$ であった。これら両区の卵巣卵径の平均値はいずれも $500 \mu\text{m}$ には達していなかった。各所定の日数が経過した後の親魚の卵巣卵径の組成をみると、25日処理区で $500 \mu\text{m}$ 以上の卵巣卵の占める割合が92.8%と他区より有意に高い値を示した(図1)。このことから25日処理が親魚を同調させる有効な手法と考えられた。しかし、各試験区において所定の日数が経過した後に、HCG注射を用いた人工授精で採卵できたのは、25日、33日及び40日でそれぞれ2尾、3尾及び1尾であった(表2)。25日処理区では成熟個体が多かったものの、十分な採卵ができなかった理由の一つとして、卵巣内に形成された卵塊による採卵阻害の可能性が高いと考えられ、今後、外科的手術による摘出が必要と考えられた。

本年度の試験において、クエ雌親魚の成熟を同調させるためには飼育水温を20℃に安定させて25日間の加温処理を行うことが有効な手法になり得ると考えられたが、今後の課題としては、さらに効率的な水温制御方法、すなわち水槽収容時期や加温期間等について検討する必要があるものと思われた。

表1 クエ親魚の水温制御(20℃)による成熟同調化試験設定

試験区	供試魚	収容日	収容水槽(kℓ)	馴致期間	成熟同調期間	雌雄比
25日処理区-1	天然養成10歳魚	2003年3月26日	90	10日間	25日	5:1
25日処理区-2	天然養成10歳魚	2003年3月26日	90	10日間	25日	5:1
33日処理区	天然養成10歳魚	2003年3月26日	90	10日間	33日	5:1
40日処理区	天然養成10歳魚	2003年3月26日	90	10日間	40日	5:1

表2 クエ親魚の水溫制御による成熟同調化試験におけるHCG注射時の卵巢卵徑測定結果および人工授精結果の概要

試験区	雌の個体No.	HCG注射時の調査		人工授精	
		平均卵巢卵徑 (μm)		総採卵数 (万粒)	受精卵数 (万粒)
25日処理区-1	1	507 \pm 33.4 (439~572)		0	0
	2	534 \pm 40.7 (438~639)		108.0	91.2
	3	513 \pm 36.7 (399~617)		0	0
	4	503 \pm 35.4 (415~641)		0	0
	5	494 \pm 34.0 (382~579)		0	0
25日処理区-2	6	512 \pm 42.4 (384~631)		0	0
	7	510 \pm 42.5 (375~593)		0	0
	8	568 \pm 54.2 (401~668)		132.0	72.0
	9	N S *		0	0
	10	N S *		0	0
25日処理区平均		518 \pm 45.9 (375~668)			
33日処理区	1	410 \pm 98.2 (174~582)		57.6	8.9
	2	436 \pm 111.7 (151~562)		25.2	11.1
	3	N S *		22.8	16.5
	4	N S *		0	0
	5	N S *		0	0
33日処理区平均		422 \pm 10.5 (151~582)			
40日処理区	1	436 \pm 91.2 (173~571)		0	0
	2	449 \pm 85.9 (179~577)		1.9	0
	3	434 \pm 75.7 (164~544)		0	0
	4	N S *		0	0
	5	N S *		0	0
40日処理区平均		440 \pm 11.9 (164~577)			

* N S : サンプル採取できなかった

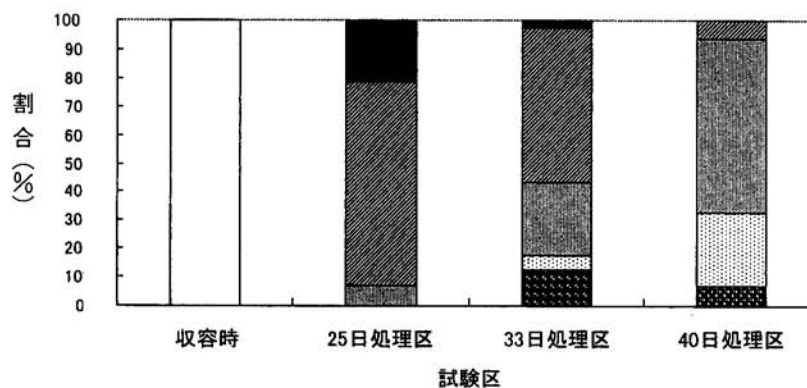


図1 クエのHCG注射時での卵巢卵徑組成の割合

□ : 100-199 μm ▨ : 200-299 μm ▩ : 300-399 μm ▪ : 400-499 μm
 ▫ : 500-599 μm ■ : 600-700 μm

養成水温と日長の制御によるブリの早期（12月）採卵について

浜田和久*1, 今泉 均*2, 虫明敬一*1

(* 1 五島栽培漁業センター, * 2 古満目栽培漁業センター)

ブリの早期（12月）採卵において、大量かつ良質な受精卵を採卵する技術を開発することを目的に、水温と日長の制御による成熟促進効果について検討した。

結果と考察

材料と方法

試験には、養殖業者から購入した天然養成2年魚を、当栽培漁業センターの海面小割生簀で1年間養成した群（天然養成3歳魚、♀：♂=40：40）を使用した。飼育水槽には、陸上コンクリート水槽（実容量80kℓ）4面を用い、2002年9月19日に各水槽に雌雄10尾ずつ収容した。

餌料には市販配合飼料のみを用い、毎日飽食量を給餌した。成熟促進の飼育環境条件の制御は収容3日目（9月22日）から開始し、水温条件は加温により最低水温を19℃に設定し、日長条件は10日間の短日処理（8L16D）の後、80日間の長日処理（18L6D）を行った。

収容90日目（12月20日）に雌親魚の卵巣卵径を測定し、ホルモン（HCG：600IU/kg）注射により産卵を誘発した。

ホルモン注射を行った収容90日目（12月20日）の時点で、平均卵巣卵径が700μm以上の第3次卵黄球期に達した雌親魚の割合は32%（12/37尾）であった。

これらの個体からの採卵結果を表1に示した。産卵はHCG注射2日後の12月22日から1月5日までの15日間確認され、この期間の総採卵数は2,512万粒、受精卵数は850万粒であり、早期（12月）の大量採卵に成功した。

試験に供した雌親魚1尾当りの採卵数とふ化仔魚数は、それぞれ67万粒及び9.4万尾であり、成熟状況および産卵成績とも、例年の2月採卵と比較して遜色のない結果が得られた。

本試験により、水温条件と日長条件（短日処理と長日処理との組み合わせ）の制御は、12月採卵を目的としたブリ親魚の成熟促進に有効であることが示された。したがって、早期（12月）の大量採卵技術では、9月にブリ親魚を陸上水槽に収容した後、養成水温と日長を制御し、12月下旬に第3次卵黄球期に達した時点で、HCGの投与が有効であると判断された。

表1 水温と日長制御によるブリ親魚の早期（12月）採卵結果

産卵期間 (日間)	総採卵数	浮上卵		受精卵		ふ化仔魚		雌親魚1尾当りの採卵成績		
		(万粒)	(%) *1	(万粒)	(%) *1	(万尾)	(%) *2	採卵数 (万粒)	受精卵数 (万粒)	ふ化仔魚数 (万尾)
2002.12.22～ 2003.1.5 (15)	2,512	1,250	49.8	849.9	68.0	356.0	41.9	67.9	23.0	9.6

*1 総採卵数に対する割合

*2 受精卵数に対する割合

飼育環境条の制御によるヒラメの9月産卵

本藤 靖^{*1}, 崎山一孝^{*2}, 吉田一範^{*3}, 村上直人^{*4}, 虫明敬一^{*1}

(親魚養成技術開発チーム: *1 五島栽培漁業センター, *2 百島栽培漁業センター,
*3 小浜栽培漁業センター, *4 宮津栽培漁業センター)

養成した親魚から、通常の産卵期以外に採卵可能な技術を開発することは、その後の種苗生産回数を増加させるだけでなく、任意の時期における放流種苗の確保にもつながり、種苗の放流効果を把握する上でも有益な手段になることが期待され、栽培漁業を推進する上でも大きなメリットを有する。ここではヒラメ親魚の飼育条件、特に水温及び光条件を調節し、9月における採卵の可能性について検討した。

材料と方法

供試魚は、2002年の9月に採卵試験に供試した親魚を引き続き養成した群を使用した。2003年1月20日の試験開始時の供試魚の大きさは、雌が平均2,580g、雄は1,890gであった。試験水槽には60kl コンクリート水槽1面を使用し、養成時の水量は25kl、注水量は10kl/時とし、換水率は10回転/日とした。水槽の上面は黒色ターポリンシートで覆い、外部からの遮光を遮断した。餌料には冷凍マアジを給餌し、ビタミンCを外割

で2%、ビタミンEを同0.5%およびレシチンを同2%添加した。

産卵試験期間中を通して、水温および光調節方法は以下のように行った。水温条件は、4月までは自然水温とし、その後6月までの3カ月間は18℃から20℃に加温し、7月からは自然水温の22℃から徐々に16℃まで冷却した。光条件は水槽上部に40wの蛍光灯を2灯設置し、3月から5月までの3カ月間は短日処理(8L16D)、7月からは長日処理(18L6D)を行った(図1)。雌親魚の成熟状況を把握するため、4月8日、6月24日および8月20日にカニューレにより卵巣卵を採取し、その卵巣卵径を測定した。その際、雄については腹部を押圧して採精可能か否かを確認した。

採卵は、水槽内で産出された卵を海水とともに隣接する集卵槽へ導き、採卵ネット(目合い400μm、直径80cm×深さ60cm)でろ過採集する方法を採用した。毎朝、ネット内の卵を海水とともに収容して静置し、浮上卵と沈下卵に分離してそれぞれの卵をネットで集めて秤量し、1g当り1,500粒を乗じて、浮上卵およ

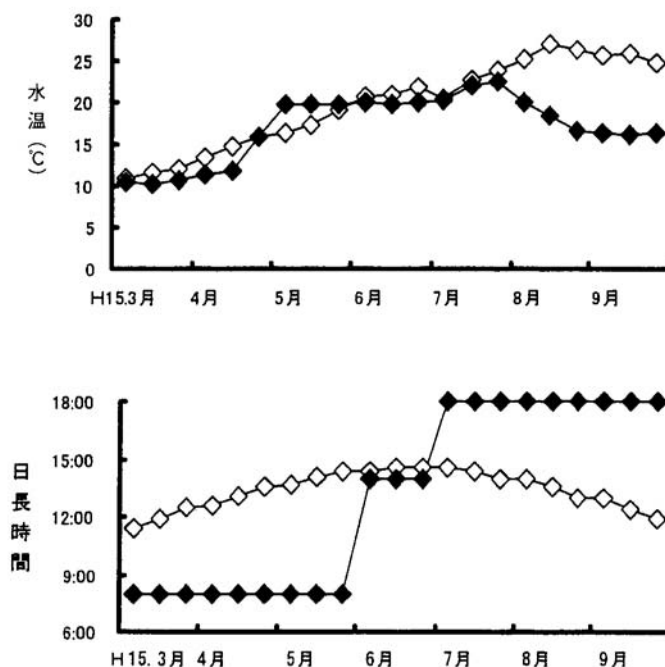


図1 養成試験で行った制御水温と制御日長の推移

◇: 自然条件区 ◆: 条件制御区

び沈下卵数を求め、浮上卵率を算出した。浮上卵を使用して受精率、油球異常率、ふ化率、無給餌生残指数（以後SAI）などのデータを収集した（表1、図2）。

産卵期間中の受精卵を用いて日齢10までの飼育試験を1回行った。水槽は100ℓ透明ポリカーボネイト水槽を使用し、ふ化仔魚を1,500尾収容した。水温はウォーターバス方式で16℃とした。飼育水にはナンノクロロプシスを添加し、餌料には市販の栄養強化剤で強化したシオミズツボワムシを1日2回給餌した。日齢10で全長を測定し、また、生残尾数を実数計数して生残率を算出した。なお、9月11日に得られた受精卵を百島へ輸送して初期飼育試験を行った。

結果と考察

4月8日の調査では、7尾中4尾から卵巣卵が採取でき、その平均卵巣卵径は271μm（246～296μm）であった。雄の排精は確認できなかった。6月24日の調査では7尾中6尾から採取でき、平均卵巣卵径は661μm（513～932μm）に達した。雄は5尾中3尾から排精が認められた。しかし、8月20日の調査では、5尾中2尾からしか卵巣卵は採取できず、平均卵巣卵径

は494μm（432～556μm）と小型化する傾向が認められた。雄は5尾中すべての個体から排精が認められた。試験が終了した10月16日においてはすべての雌から卵巣卵を採取することはできなかった。

水槽内での自然産卵による初回産卵は、昨年とほぼ同時期の2003年8月26日に認められ、受精卵が得られたのは2回目の産卵以降であった（表1）。試験期間中に一時産卵が中断する傾向もみられたが、9月21日まで継続した。9月末までの試験期間中の採卵日数は19日間で昨年の30日より11日減少した。試験期間中の総採卵数は183万粒で、産卵に関与した雌は、腹部の膨隆状態から1尾と推定された。試験期間中の通産の浮上卵率は15.4%（0～74.5%）であった。通産の受精率及び油球異常率はそれぞれ48.0%（29.3～91.5%）および7.6%（3.9～11.1%）で昨年度よりも若干低下した。しかし、ふ化率は76.3%（46.9～92.2%）、SAIは45.8（21.9～59.0）と、昨年に比べ大きく向上した。

9月11日に得られた卵を用いて初期10日間の飼育試験を行った結果、10日目の平均生残率は76.7%（80.0～73.3%）と通常の産卵期における結果と遜色がなかった。

表1 ヒラメ9月採卵試験の結果概要

産卵期間 (採卵日数)	総採卵数 (万粒)	平均浮上卵率 (%)	平均ふ化率 (%)	平均SAI	平均受精率 (%)	油球異常率 (%)
2003.8.26～9.30 (19)	183	15.4 (0～74.5)	76.3 (46.9～92.2)	45.8 (21.9～59.0)	48 (29.3～91.5)	7.6 (3.9～11.1)

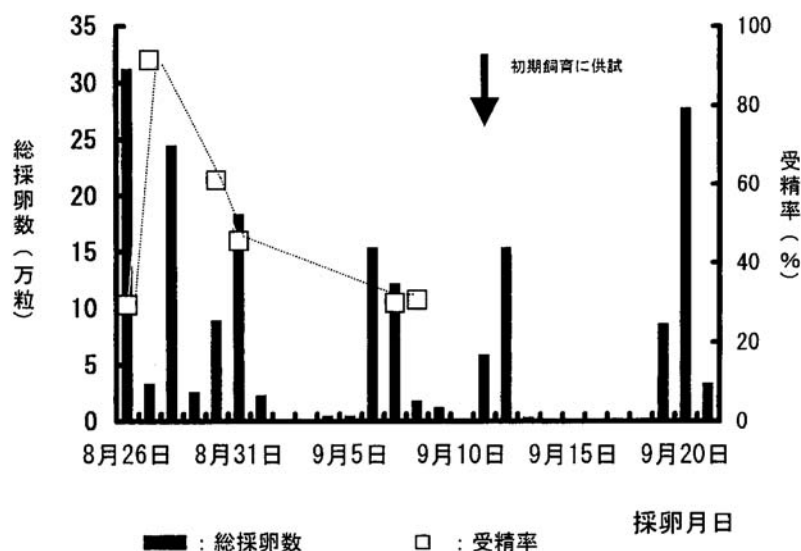


図2 総採卵数と浮上卵率の推移

以上の結果から，ヒラメ親魚の飼育環境条件を制御することにより，9月における採卵技術に再現性が認められるとともに，得られた卵及びびふ化仔魚も通常の産卵期のそれらと比較しても遜色がないことが分かっ

た。このことにより，従来の採卵技術開発結果を考慮合わせると，ヒラメの養成親魚からほぼ周年にわたる採卵技術が開発できたといえる。

クエの卵巣内に残留した卵塊の形成防除手法の試み

堀田卓朗, 今泉 均, 山崎哲男
(古満目栽培漁業センター)

クエ *Epinephelus bruneus* は栽培漁業の重要対象種であり、近畿大学¹⁾、日本栽培漁業協会²⁾、および各県の水産研究機関³⁻⁸⁾などで親魚養成、種苗生産、放流に関する技術開発が進められている。

本種の親魚養成では、産卵期に排卵された卵が体外に排出されず残存した過熟卵や、卵巣卵が退化変性して結合組織様の塊を形成（以下、卵塊）する事例⁹⁾が多く認められている。この卵塊を形成した個体は、自然産卵はもとより、カニューレを用いた成熟度調査や人工授精による採卵も難しく、親魚として利用できない状態になる。近年、卵塊を手術によって摘出することにより、再び親魚として利用できるようになることが明らかとなった⁹⁾。しかし、外科的手術は親魚に対する負担が大きいこと、1尾に複数回の手術はできないことが欠点である。

本報告では、卵塊の形成を防除する方法を検討したので報告する。

材 料 と 方 法

供試魚には 2002年 6月12日から 6月26日にかけて、古満目栽培漁業センターで養成し、卵塊の形成が認められていない親魚28尾（表1）を用いた。卵巣内に残った卵の排出は、0.6% NaCl 溶液を卵巣内に注入した後に、腹部を圧搾する方法で行った。なお、NaCl 溶液の注入は、50mℓのシリンジ（TOP、プラスチックシリンジ）に内径1.67mm、外径2.42mmのポリエチレンチューブ（日本ベクトン・ディッキンソン、イントラメディックポリエチレンチューブ）を取り付けたものを用いた。

この排出処理の操作は、各個体とも4～7日間隔で2回行った。1回の処理につき、2～4度のNaCl溶液の注入と排出を行った。2回の排出処理を行った個

体は、海上小割生簀へ収容して養成を継続した。さらに、2003年4月11日、4月18日、5月7日及び5月28日に、触診とカニューレの挿入による卵塊形成の有無を調査した。また、同時にカニューレによる卵巣卵の採取を行い、成熟度を調査した。

結 果 と 考 察

卵の排出処理のために、1度に注入するNaCl水溶液の量は魚体によって異なり、およそ50～100mℓであった。卵巣内に溜まった卵は、1度の処理では完全に排出できなかったため、注入と排出の操作を数度繰り返した。2回目の排出処理では、卵がほとんど排出されなくなり、カニューレで卵や成熟した卵巣卵が採取されなくなることを確認した。また、翌年の調査では、すべての個体で卵塊の形成は確認されず、さらに卵黄球期の卵巣卵が採取され、成熟を確認した（表1）。

クエでは、産卵期の終わり頃になると、卵巣内ですでに卵が固まりかけた状態になる個体が出現する場合があります。このような状態になると腹部を圧搾しただけではそれらを排出できない。これまで古満目栽培漁業センターでは、採卵試験終了時に腹部を圧搾し、卵巣内に残留している卵を可能な限り排出してきたが、卵塊を保有している親魚の割合は50%を超えていた。しかし、今回の処理方法を行うことで、すべての個体で卵塊の形成が認められなかったことから、卵塊の形成防除に有効であったといえる。

今後は、クエ親魚の養成過程に本手法と卵塊摘出手術を組み込むことによって、計画的な採卵試験ができると考えられる。また、本手法は、クエと同様に卵塊を形成するマハタ、オニオコゼ^{10,11)}に対しても有効であると考えられる。

表1 卵塊形成防除の試験に用いた親魚と成熟結果

供試尾数	排出処理時の親魚の概要		翌年の調査結果	
	平均全長 (cm)	体 重 (kg)	卵塊形成を 確認した尾数	成熟を確認した 尾数
28	58.2 (46.2～69.1)	3.7 (1.7～5.9)	0	28

文 献

- 1) 岡田貴彦・澤田好史(2000)クエ・海産魚の養殖(熊井英水編著). 湊文社, 東京, pp.255-263.
- 2) 虫明敬一・本藤 靖・崎山一孝・浜田和久・堀田卓朗・吉田一範(2003)日本栽培漁業協会における親魚養成技術開発の現状と今後の課題(総説), 栽培技研, 30, 79-100.
- 3) 稲葉義之・佐竹顕一(2004)クエ親魚養成およびふ化仔魚飼育試験. 静岡県温水利用研究センター業務報告(平成13年度), 69-79.
- 4) 土橋靖史・栗山 功・田中秀樹・黒宮香美(2002)クエ・マハタ種苗生産技術確立事業-I. 三重県科学技術振興センター水産技術部事業報告(平成13年度), 111-116.
- 5) 坂本博規・木下浩樹(2003)クエ種苗生産技術開発試験. 和歌山県農林水産総合技術センター水産増殖試験場報告, 34, 1-3.
- 6) 藤田慶之, 市川 衛・山下浩史(2002)II.クエ種苗生産試験. 愛媛県水産試験場事業報告(平成13年度), 59-60.
- 7) 宇都宮弘・西川 智・藤田慶之(2002)II.複合型海洋牧場技術開発事業. 愛媛県水産試験場事業報告(平成13年度), 61-63.
- 8) 日高秀美(2004)クエ種苗生産技術開発試験.(財)宮崎県栽培漁業協会事業報告書(平成12年度・平成13年度), 47-49, 92-94.
- 9) 堀田卓朗・今泉 均・河野一利・山崎哲男(2003)クエ卵巣内に残留した卵塊の摘出と成熟への影響. 栽培技研, 31, 1-4.
- 10) 板垣恵美子(2000)成体の確保と採卵, オニオコゼ. 日本栽培漁業協会事業年報(平成10年度), 91-92.
- 11) 板垣恵美子(2001)成体の確保と採卵, オニオコゼ. 日本栽培漁業協会事業年報(平成11年度), 91-92.

陸上水槽で養成しているハモの成熟状況の季節変化

加治俊二，西 明文，足立純一
(志布志栽培漁業センター)

ハモは本州以南の西太平洋からインド洋までの広い範囲に分布し、日本では瀬戸内海を主要な漁場として年間2,000～3,000トンの漁獲量があり、水産資源として重要な種である。志布志栽培漁業センターでは2001年から本種の採卵技術開発に取り組んでおり、6月下旬から10月上旬にホルモン処理に依存しない水槽内での自然産卵による採卵が可能となった。しかし、良質の受精卵が得られるのは6月から7月までの約1カ月間のみであり、今後、その期間を延長させるための採卵技術開発が必要となる。そのための基礎的な知見を集積するために、現在、養成しているハモの成熟状況の季節変化について調査を行っている。ここでは、これまでの調査結果の概要を報告する。

材料と方法

調査したハモは2001年4月～6月と2002年5月に、日向灘、志布志湾及び八代湾で小型底曳網によって漁獲された天然魚を、志布志栽培漁業センターの屋外陸上水槽(150kl, 200kl及び400kl)で養成し、これまでに雌444尾、雄199尾を供した(表1)。搬入後の養成方法は、自然水温条件下で砂ろ過海水を用いて1日当たり2～3回転の流水飼育とし、餌料は冷凍のアジ、サバ、イカを適当な大きさに細断して週2回給餌した。給餌量は翌朝の残餌がほとんどないように適宜調整した。

表1 調査月日と調査尾数

調査月日	調査尾数	
	♀	♂
2002. 5. 7, 5.14	19	
2002. 6.21	16	
2002. 7. 8	19	
2002. 8. 8, 8. 9	62	
2002. 9.10, 9.11	59	
2002.10. 8, 10.10	35	
2002.11.13	9	
2003. 3.18～3.25	71	28
2003. 5. 8～5.14	25	21
2003. 6. 2～6.24	37	9
2003. 7. 1～7.18	27	49
2003. 8.19～8.22	25	47
2003.10.15～10.17	40	45
延べ調査尾数	444	199

調査は陸上水槽での養成期間が1年以上を経過した個体について、1～2カ月間隔で行った。雌についてはカニューレ(内径1mm ポリエチレンチューブ使用)によって卵巣卵の採取を試み、採取できた個体については個体別に卵巣卵径を測定した。雄については腹部の圧迫により採精を試み、「採精できず」、「強い圧迫で採精」、「軽い圧迫で採精」あるいは「圧迫なしで採精」の4段階の順位付けを行った。なお、生物学的最小形は肛門前長で雌が30cm、雄が21cmと報告されているので¹⁾、この大きさに満たない個体は調査の対象から外した。

結果と考察

雌は、3～7月にはすべての個体でカニューレによる卵巣卵の採取が可能であったが、8月からは採取できない個体がみられるようになり、10月には採取可能な個体は半数以下となった。月別の平均卵巣卵径の経時的変化をみると、7月が最も大きく、8月がこれに次ぎ、9月には急激に小さくなり、10月が年間で最も小さい値となった(図1)。その後、3月には卵巣卵径が既に0.51～0.84mmの第2次卵黄球期から第3次卵黄球期初期の段階まで発達していることから、冬の低水温期に成熟を開始していると考えられた。

雄の調査状況を図2に示した。3月には「強い圧迫で採精」段階が大半であったが、5月にはすでに「軽い圧迫で採精」段階がほとんどでほぼ成熟期に入ったと考えられた。さらに、6、7月には魚体を取り揚げて横たえただけで精液がでる「圧迫なしで採精」段階もみられたが、その反面、「強い圧迫で採精」段階の割合も増加しており、すでに精巣の退行が始まっていることも示唆された。8月後半の調査ではほとんどの個体で「採精できず」の段階に達していることから、この頃に急激な精巣の退行が起こると考えられた。なお、10月にはすべて「採精できず」の段階となった。

図3に、平成13～15年における養成ハモの自然産卵による採卵結果を示した。6月下旬から10月上旬に産卵がみられるものの、比較的良好な結果が得られるのは7月下旬までで、8月以降は量、質ともに悪くなる傾向が認められる。特に正常発生卵の割合の低下が著しいが、今回の調査結果から、雄の成熟時期との不一致を反映した結果と考えられる。このことが原因とな

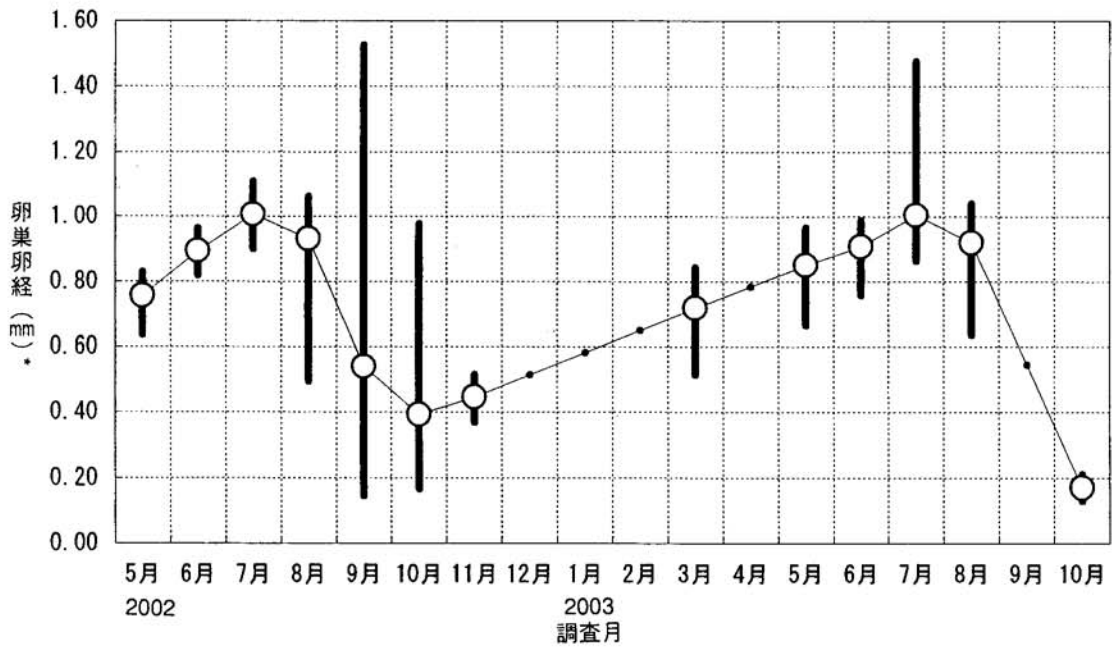


図1 1年以上養成したハモ卵巣卵径の月別変化

* 卵巣中の最大卵群のみを測定. 平均と範囲で示した.

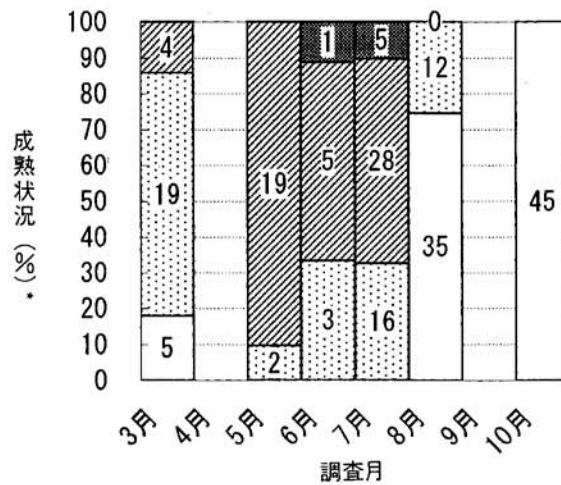


図2 1年以上養成した雄ハモの成熟状況割合

* 凡例に示した成熟段階の比率で示す. 図中の数字は調査尾数を示す.

- 圧迫なしで採精
- ▨ 軽い圧迫で採精
- ▤ 強い圧迫で採精
- 採精できず

って、産卵期後半に得られた卵のみしか有効に活用できず、結果的に良質の仔魚の得られる期間が約1カ月間に限定されていると考えられる。今回の調査結果から、雄は5月にはほぼ成熟に達しており、雌の卵巣もこの時期には第3次卵黄球期にまで発達していることが判明した。今後、良質な仔魚が確保できる期間を延長させる技術開発が望まれ、そのためには、雌の成熟促進技術の開発による養成ハモの成熟制御技術の開

発が必要である。

文 献

- 1) 野中英夫, 花淵信夫. ハモ属の資源生物学的研究 第4報, ハモの生殖について. 西水研研報 1957; 11: 81-87.

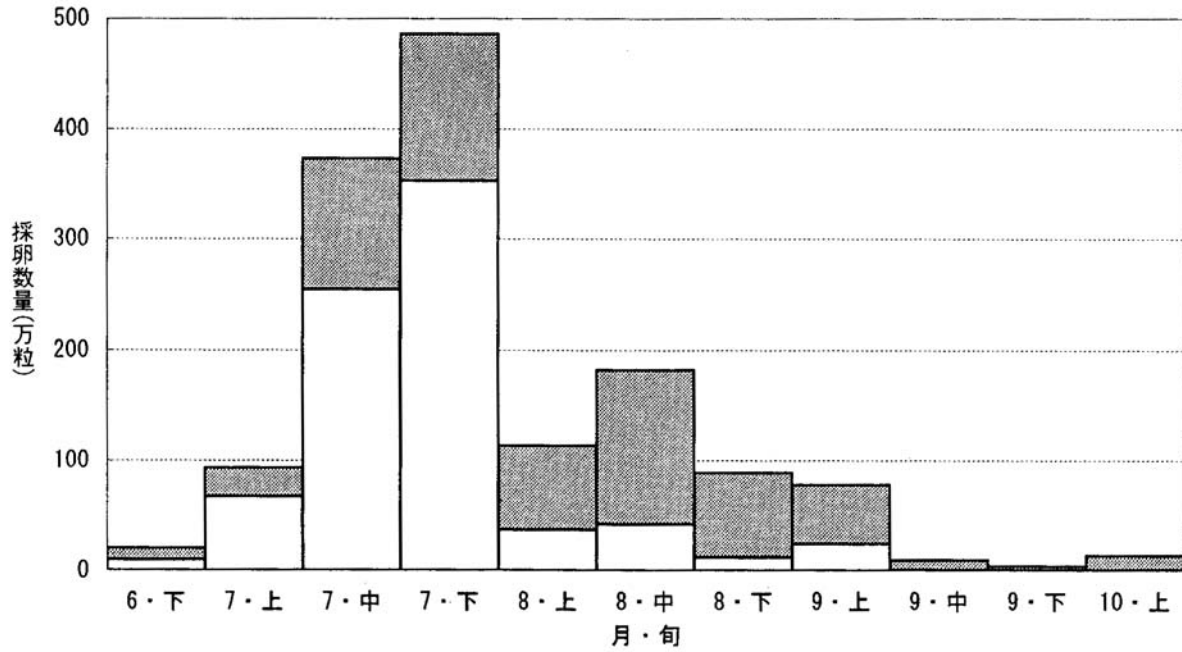


図3 2001～2003年の養成ハモの産卵状況

□未受精または異常卵
 □正常発生卵

2つの飼育方法を用いた奄美大島でのクロマグロ *Thunnus thynnus orientalis* の養成

升間主計, 手塚信弘, 二階堂英城, 武部孝行, 井手健太郎
(奄美栽培漁業センター)

我が国にとってマグロ類は極めて重要な水産資源であり, その中でも特にクロマグロ *Thunnus thynnus orientalis* は他のマグロ類に比べて大型で魚価が高いため, 国際的な漁業資源として位置付けられ, その保存・管理措置について厳しい議論がある。一方, 近年, 本種の養殖, 蓄養漁業が日本を始め, アメリカ, ヨーロッパで盛んに行われるようになってきた。

本種の養成にはフロート式生簀網, 筏式生簀網等が用いられている^{1,2,3}。しかし, これまでに養成施設の違いによる生残, 成長及び産卵等に関して比較検討した報告はない。

水産総合研究センター奄美栽培漁業センター(旧日本栽培漁業協会奄美事業場)では, 日本のクロマグロ資源管理の1つの施策として, 栽培漁業による本種の資源増大のための研究を1994年から進めてきた。奄美栽培漁業センターでは養成クロマグロの成熟・産卵生態を把握し, 良質な卵を安定的かつ大量に採卵する技術を開発することを目的として, 従来の生簀網方式での養成の他に, 湾を網仕切りした広い施設(以下, 仕切り網)での養成を行ってきた。仕切り網のように自然の地形を利用した大規模な施設でクロマグロを養成した例は他にない。

また, 奄美大島では近年多くの養殖業者によって本種の養殖が行われ, 日本全体の生産量に占める割合は大きいと言われている。しかし, 奄美大島での長期にわたる成長, 生残等に関する報告はない。

本報告では生簀網方式と仕切り網方式でのクロマグロの成長, 生残等について比較し, 本種の適切な養成方法について検討すると共に奄美大島での養成結果について報告する。

材料と方法

養成施設

生簀網方式として直径40mの棒鋼製円形筏(旧ナカコー株式会社製)に取り付けた円形生簀網(ハイゼックス無結節網; 400d, 2/60本, 50mm 角目仕立て, 深さ15m; 2分割仕様)(以下, 生簀網)を用いた。奄美栽培漁業センターの地先海面である仲田浦の沖側(Aライン)と湾奥側(Bライン)をワイヤー懸垂式工法により, それぞれ長さ235m (P400d, Δ60本, 50mm,

100掛)と290m(同)の網を海面上約5mのワイヤーから海底まで吊り下げて仕切った約14haの海面(最深部で約30m)(以下, 仕切り網)を養成施設として用いた。なお 網裾は潮流による捲れを防ぐためにチェーン及び土嚢で押えてある。仕切り網には作業船の通行を可能にするためにA, Bラインの一部(幅7m)が開かれているが, 養成魚の逃亡を防ぐために通常は滑車と錘を用いて海面上約1mまで幕網が引き上げられる構造としてある。

親魚

1993年8月頃に高知県沖で漁獲された当歳魚(ヨコワ)が約1年間沖縄県本部町の民間養殖業者により育てられた。このうち189尾を1994年6月に本センター地先に設置した円形生簀網に収容し養成を開始した。1995年9月に, それまで生残していた172尾のうち95尾を仕切り網へ移し, 77尾は引き続き円形生簀網で養成し, 両施設での比較試験を開始した。

なお, 収容時を1歳と推定し, 以降は4月に年齢を加算し, その後の年齢とした。

給餌

給餌はヨコワを収容してから2001年9月17日までは日曜日と土曜日(1日午前1回)を除くほぼ毎日, 午前と午後の2回給餌を行った。これ以降は午前か午後の1日1回の給餌とした。また, 2002年, 2003年は3月から9月まで, 生簀網群で週4回(月, 水, 金及び土曜日), 仕切り網群で週3回(月, 水及び金曜日)とした。これ以外の期間は日曜, 祝日を除いて毎日給餌を行った。給餌量はほぼ飽食量とした。

餌には冷凍のマアジ *Trachurus japonicus*, マサバ *Scomber japonicus* (1996年2月から)を主体に給餌し, 2000年9月(2001年4月の仕切り網群を除いて)以降はサバを主体に給餌した。1999年3月からは3~10月の間にイカ *Todarodes* sp. も併せて給餌した。餌は水切り後に秤量し, 給餌直前にビタミン類を添加して与えた。ビタミン類はヘルシーミックス40(松村薬品工業^(株))に対して, ビタミンE(ニッチク薬品工業^(株))を1, ビタミンCコーティング(ロッシュ・ビタミン・ジャパン^(株))を2, 乾燥胆末(ミクニ化学産業^(株))を1, 水産用トアーラーゼ(東亜薬品工業^(株))

を5の割合で混合した。乾燥胆末は2003年から使用を中止した。添加量は餌の外割りで約0.5%とした。

精子密度と精子活力の測定

1996年5月28日から98年5月14日の間に15尾を取り揚げ、その内生簀網群では9尾中8尾、仕切網群では6尾中4尾が雄で、生簀網群では7尾、仕切網群では3尾から精液を採取し、精液密度と精子活力を調べた。また、1997年12月5日に仕切網群でパンチング直後に取り揚げた雄個体も仕切網群に加えて検討した。精子密度、精子活力共に精巢内精液について調べた。採取した精液を血球計数用のコノペット (Becton Dickinson Vacutainer Systems) を用い希釈し、希釈精子を血球計算盤に採り、光学顕微鏡を用いて2-3回繰返して計数し、平均値を精子密度として求めた。精子活力の測定は、採取した精液を200倍の光学顕微鏡下 (オリンパス社製) で海水によって賦活させ (20mlの海水で20 μ lの精巢内精液を希釈し、攪拌後50 μ lをスライドガラス上に載せて観察)、賦活した精子をビデオで録画した。録画したビデオを再生し賦活直後から30秒毎 (300秒以降は60秒毎) にデジタルスチールレコーダー (DELTIS SR-3100) を用いて停止画像とし、画面上から無作為に50個の精子を選び、さらに画像を約0.1~0.2秒間進め、移動した精子を計数し、前進運動精子個体として、その割合を求めた。

潜水観察と水温測定

魚の状態や生簀網の状態を観察するために1日に1回、原則として朝9時30~10時30分の間に潜水観察を行い、魚の状態と魚が生簀網に衝突し逃亡した痕跡の網の破れ (以下、パンチング) の観察を行った。パンチングにより逃亡した個体は死亡魚として処理した。

水温は表面を水銀温度計で、水深1mから海底まで

をメモリー水深・水温計 ABT-1 (アレック電子(株)製) を用いて1m毎に測定し記録した。仕切網では中央より沖側 (水深約23m)、生簀網では網の外側を定点として、午前9時から10時の間に測定した。

結 果

生 残

表1に養成概要を示した。また、図1に生簀網群と仕切網群の生残率の違いを示した (サンプリングによる取り揚げ魚も含んでいる)。図1に明らかなように養成3年を経過した4歳を超える頃より両群に差が起り始め、養成4年 (5歳) では両者の生残率の差は約20%となった。以降も徐々に差は大きくなり養成9年 (10歳) では40%以上となった。図2に示したように年間の死亡率は、仕切網群では大きな変化が見られないが、生簀網群では比較実験開始後6年以降、死亡率が急速に増加している。サンプリングによる減耗を除いた生簀網群での減耗原因は51%が生簀網へのパンチングによる逃亡で、残りも網擦れによる体表や目の損傷が原因と考えられた。一方、仕切網群ではパンチングによる死亡が25%で、その他は擦れによって衰弱し、海岸に乗り上がって死亡することが多かった。死亡時期を月別にみると、特に8月が多かった (図3)。

成 長

図4に養成後の尾叉長と体重の成長を示した。養成2年後 (3歳) には尾叉長約150cm、体重約50kgに達し、養成9年 (10歳) では尾叉長約250cm、400kgに達した。尾叉長の成長は養成4年 (5歳) までは早く、それ以降はやや遅れる傾向を示し、シグモイド型の成長曲線を示した。体重ではほぼ直線的な成長を示した。両施設での成長に差は見られなかった。

表1 クロマグロ養成親魚の養成状況

養成施設名	収 容				現状 (2003/10/31)			来 歴
	収容年月日	年齢 (歳)	尾数 (尾)	体重 (kg)	年齢 (歳)	尾数 (尾) 生残率 (%)	推定体重 (kg)	
40m 円型生簀網	1994.06.08	1	189	8.3				沖縄県本部での養殖魚
	1995.10.16	2*1	77	46*3	10	5 7.4*2	350~450	
仕切網	1995.10.16	2*1	95	46*3	10	49 51.1*2	300~450	サンプリング尾数6尾

*1 仕切り網への移動時の年齢 (生残率 91.0%)

*2 仕切り網へ移動後の生残率 (サンプル魚を除いた値)

*3 推定体重

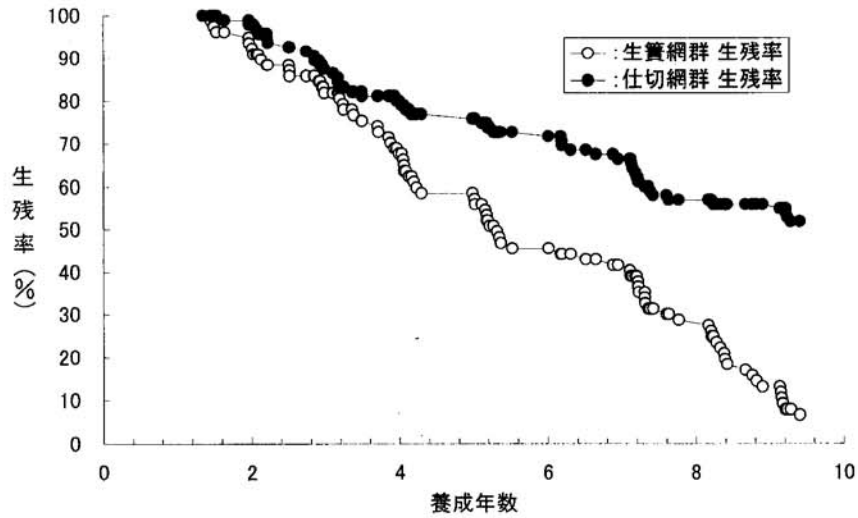


図1 仕切網群と生簀網群の生残の比較

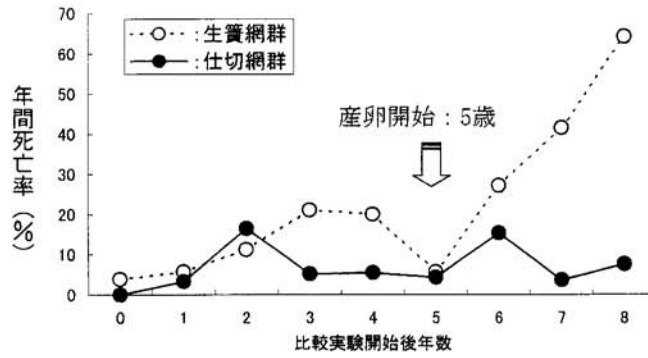


図2 施設別の年間死亡率の変化

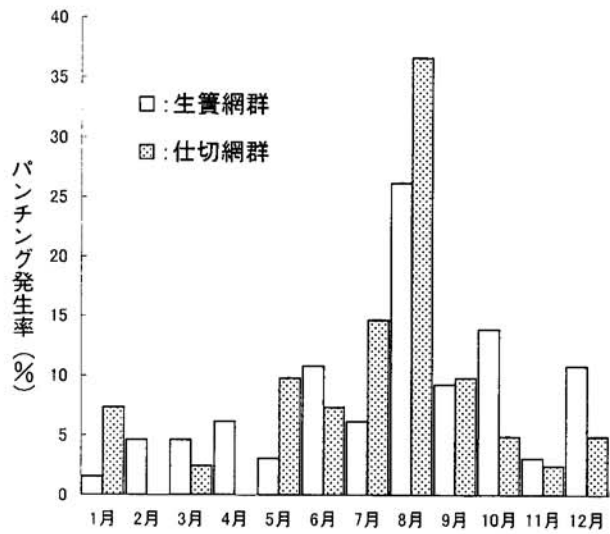


図3 月別、施設別の死亡、パンチング個体の発生率

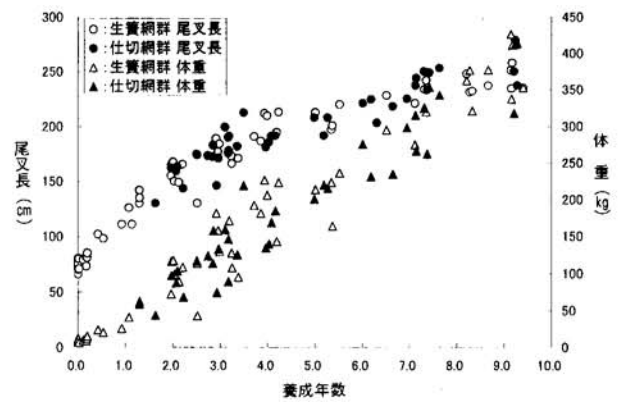


図4 仕切網群と生簀網群の成長比較

給 餌

図5と図6にそれぞれ生簀網群と仕切網群への餌種類別の年別給餌量を示した。生簀網群では生残数の減少が見られるにも係わらず給餌量が維持され、養成8、9年目に減少している。一方、仕切網群では徐々に給餌量が増加しているが、養成8、9年目で減少している。両群において養成8、9年目に減少しているのは、3月から10月まで行った給餌制限によるものである。しかし、仕切網群に比べて生簀網群で大きく減少して

いるのは生残数が少なくなったことも原因として挙げられる。

1尾当り、体重当りの給餌量について図7に示した。1尾当りの給餌量の推移を見ると季節的变化を示しながら成長に伴って増加している。生簀網群と仕切網群に大きな差は見られない。また、体重当りの給餌量の変化は、養成1から2年目までに急速に低下し、それ以降はほぼ1.5%前後を推移した。

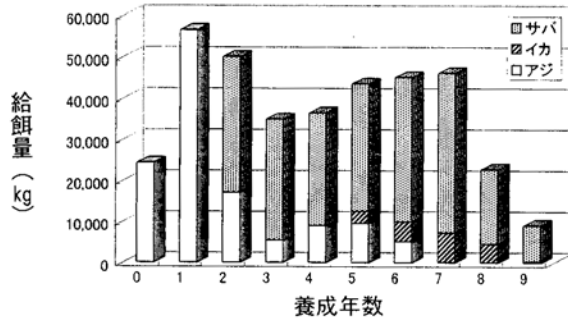


図5 生簀網群への餌種類別年別給餌量

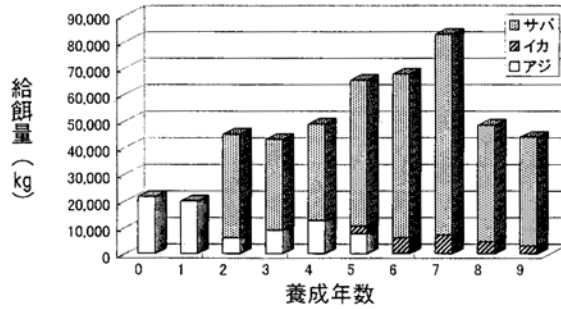


図6 仕切網群への餌種類別年別給餌量

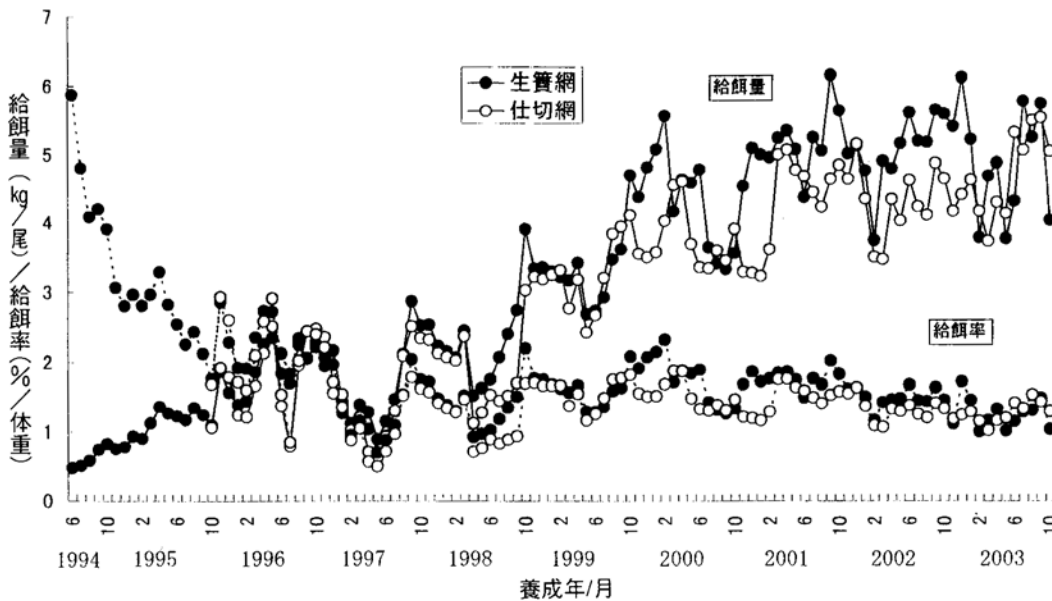


図7 クロマグロ1尾当りの給餌量と体重当りの給餌率

精子密度と活力

表2に精子密度と体測定及びGSIも併せて示した。生簀網群が260~420億個体/ml,平均で352億個体/ml,仕切網群で270~425億個体/ml,平均で404億個体/mlであった。両群合わせた平均は371億個体/mlであった。1元配置分散分析を行ったところ,データから計算された値Fが3.15,5%有意水準でF(0.05;1,9)が5.12であることから,帰無仮説は棄却されず,仕切網と生簀網間に差は見られなかった¹⁾。

図8に前進精子の割合の変化を示した。賦活直後から約3分後まで,両群の平均前進精子の割合に明確な差が見られ,仕切網群の雄の精子が生簀網群に比べて,高い活力を持っていることが示唆された。

水温

図9に2002年に測定した水温データを示した。また,生簀網の水温から仕切網の水温を差し引き,両施設の

水温差についても併せて示した。水温は仕切網で19.5~28.3℃,生簀網で20.0~28.2℃であった。両施設間の水温差は11~2月で最も大きく0.6~0.8℃,3~10月は0.1~0.4℃と小さかった。この結果から両施設間の10m水深における水温に大きな差は見られないことが示された。

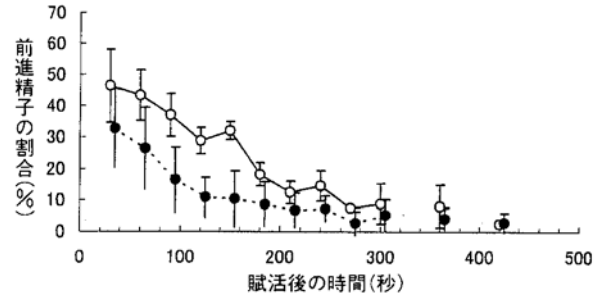


図8 養成クロマグロの仕切網群(○)と生簀網群(●)の精子活力の比較
縦線は標準偏差を示す

表2 養成クロマグロの卵巣内精子密度の測定結果

施設名	年月日	年齢	尾叉長 (cm)	体重 (kg)	GSI	精子密度 (億個体/ml)
生簀網	1996. 6.18	3	150.0	98.9	1.67	260
	1996. 7.24	3	149.0	88.9	0.67	340
	1997. 5. 7	4	189.0	181.4	1.06	415
	1997. 5.22	4	176.8	158.2	1.08	420
	1997. 6. 2	4	184.0	129.6	0.99	355
	1998. 4.15	5	186.7	181.4	1.65	345
	1998. 5.14	5	212.0	227.0	0.77	326
平均						352
仕切網	1996. 7.11	3	163.1	103.0	0.70	420
	1997. 4.16	4	182.8	157.9	0.75	425
	1997. 5.26	4	171.0	132.7	2.15	370
	1997.12. 5	4	212.5	219.1	0.42	400
平均						404

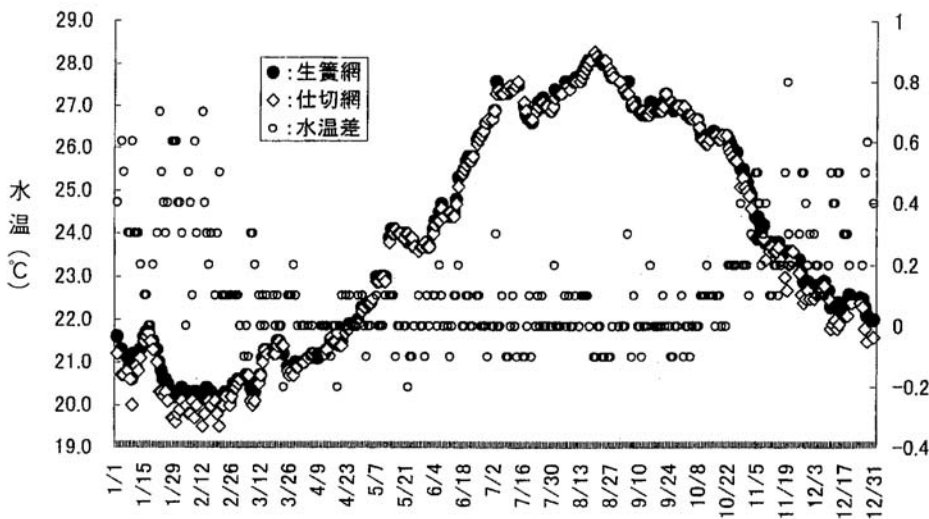


図9 養成施設での水温(水深10m)の変化

考 察

生簀網群と仕切網群の生残に大きな違いが見られた。養成魚の死亡原因が網への衝突や擦れによるものと推定されたが、仕切網に比べて狭い生簀網群で擦れが起き易いことは容易に推測できる。また、早朝の薄明時に一時的に視覚的な方向感覚の喪失を起こした場合⁵⁾、狭い生簀網では網に衝突する可能性が高いものの、仕切網では低いこと等が、生残の違いとして現れたものと推察された。

この結果は、安定的な大量採卵を目的として長期間にわたって同一年級群を養成する必要がある場合、死亡率の低い仕切網施設が有利であることを示唆している。

死亡（パンチング逃亡も含む）時期については両群に差は見られず、両群とも8月に多く（図3）、養成7年以上でやや高くなる傾向がうかがえた（図10）。これまで、養成クロマグロについて、年齢や季節的な死亡傾向に言及した報告はない。8月は産卵のほぼ後半期に当り、また、年間を通して水温が高くなることから（図9）、この時期の死亡原因として、成熟や水温のストレスが示唆される。さらに、成長に伴い、特に生簀網では相対密度が増加し、ストレスによりパンチングが起り易くなることから、養成7年（年齢8歳）以上で死亡率が高くなる一つの要因であろう。

成長は非常に早く、図4は主に死亡魚のデータによるものであるが、養成期間中に成長の停滞が見られない。このことは八重山での成長例⁶⁾と同様に、適した

水温（図9）での活発な摂餌（給餌）が早い成長を促しているためと考えられる。

奄美大島でのクロマグロの養成は、その環境が本種の成長に適しており、養殖地としても優れていることが示された。

ほぼ毎日給餌する場合、体重に対する日間給餌率は養成後2年目（3歳）（体重で約80~90kg）までに急速に低下し、その後1.5%前後に収束する傾向が見られた。升間⁶⁾が八重山で養成したクロマグロの日間給餌率について得た結果とほぼ一致している。1日の給餌回数は2001年9月中旬まで1日2回、それ以降を1回とした。給餌回数の違いによる体重当りの日間給餌率を1回と2回で比較すると（図11）、生簀網群では1回に比べ2回でほぼ倍の値となった（仕切網群も同様）。石渡⁷⁾は給餌回数、日摂餌率及び日増重率の関係について調べ、給餌回数が増すと、日摂餌率、日増重率が増加して極限に近づき、最大の日増重率の90%を引き出す給餌回数はブリ *Seriola quinqueradiata* で1~2回、マフグ *Fugu vermicularis porphyreus*、ニジマス *Salmo gairdnerii irideus* およびカワハギ *Stephanolepis cirrhifer* で1~3回であったと報告している。今回のデータでクロマグロにおける給餌回数と成長の関係について示すことはできないが、養成したクロマグロの成長は非常に早く、稚仔魚期は別として、今回養成したサイズでは1日1~2回の給餌が適当であろうと推察される。一方、親魚として養成する場合、必要以上の成長を期待する必要はなく、むしろ成熟、産卵との関係から、給餌回数等について検討して行く必要がある。

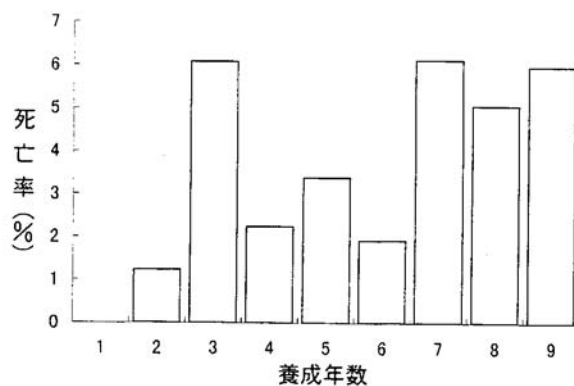


図10 8月に死亡したクロマグロの養成年数別年間死亡率

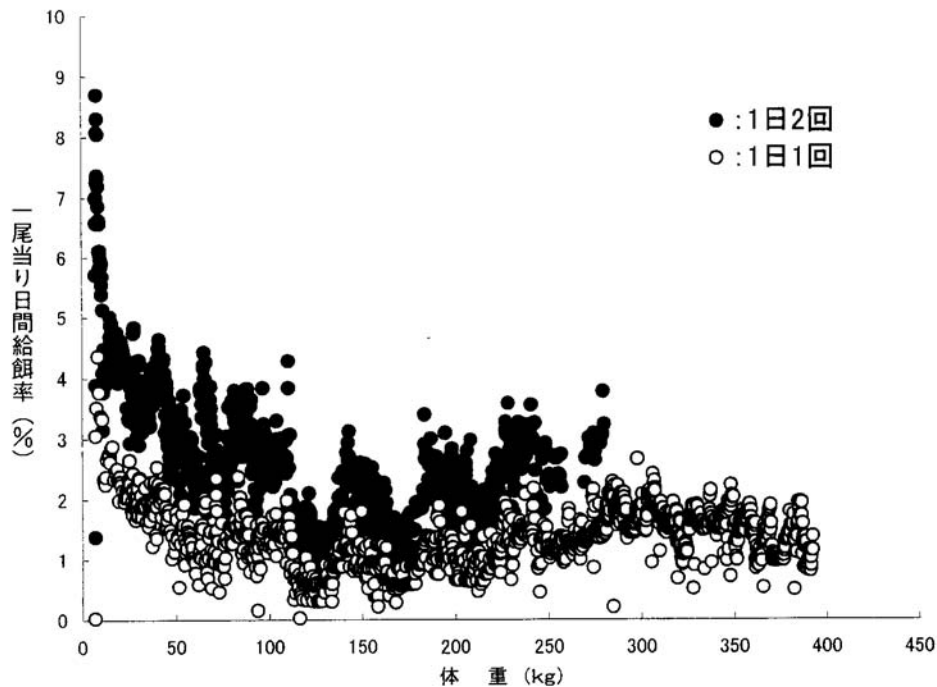


図11 生簀網群における給餌回数別の1尾当り日間給餌率の成長に伴う変化

精子の密度と活力によって両群の比較を行ったところ、精子密度に違いは見られなかった。Doiら⁸⁾は地中海のクロマグロの排精した精子の密度を調べ、496~648億個体/mlであったことを報告している。今回得られた密度は平均371億個体/mlと地中海のクロマグロに比べると低い値を示したが、Doiら⁸⁾の調べたヒラソウダ *Auxis thazard* (296~567)、マルソウダ *A. rochei* (223~500)の精子密度に近い値を示した。測定したクロマグロの精液の状態、成熟状態、精液密度の測定方法の違いによるものと思われる。

精子活力は生簀網群の雄に比べて仕切網群で高いことが示された。その理由については明らかでないが、生残率の違いに見られるように、狭い生簀網に比べて仕切網内で育ったクロマグロでは、環境から受けるストレスが小さいと推測できる。このことと、精子の活力に何らかの関係があるのかもしれない。この結果は養成方法が精子活力に影響することを示唆している。

生簀網養成魚では尾鰭が左に曲がり変形しているのが、潜水及び死亡魚によって観察された。一方、仕切網群の尾鰭は、ほぼ体軸に沿っていた。このことは、生簀網群では通常左回りに狭い生簀内を遊泳していることから、左右へ尾鰭を動かす力にアンバランスが起き、尾鰭の変形が生じたと思われる。仕切網群では2歳時まで生簀網内で養成していたことから若干の変形は見られるものの、仕切網の広い環境で遊泳していることから、左右のバランスがとれ、尾鰭が正常に近い形を維持しているものと思われた。このことは高速遊

泳時の体のコントロールに影響を及ぼす可能性があり、生簀網での網への衝突が起きやすい一つの要因として示唆される。

本報告では、従来利用されてきた規模^{1,2,3)}の生簀網型と、それとは全く異なるタイプの施設である仕切網型での養成結果を比較し、従来利用されてきた生簀網型の飼育方法に比べて、仕切網型のように広い規模での養成法が生残、精子活力及び体形の維持に優れていることを示した。この結果から、大量かつ安定的に、しかも、遺伝的に多様な卵を確保するために、多数の親魚を長期間飼育する必要がある場合、仕切網型での養成方法が適していると考えられた。

文 献

- 1) 熊井英水 (1998) マグロ類の増養殖の現状と将来。「マグロの生産から消費まで」(小野征一郎編), 成山堂書店, 東京, pp.50-65.
- 2) 澤田好史・熊井英水 (2000) クロマグロ。「最新海産魚の養殖」(熊井英水編), 湊文社, 東京, pp.212-216.
- 3) FARWELL, C. J. (2001) Tunas in Captivity. Tuna Physiology, Ecology, and Evolution. Academic press, London, pp. 391-412.
- 4) 北田修一 (1997) 分散分析。「生物資源統計学」(山田作太郎, 北田修一共著), 成山堂書店, 東京, pp.93-121.

- 5) MASUMA, S., G. KAWAMURA, N. TEZUKA, M. KOISO, and K. NAMBA (2001) Retinomotor responses of juvenile bluefin tuna *Thunnus thynnus*. *Fish. Sci.*, 67, 228-231.
- 6) 升間主計・岡雅一・兼松正衛・手塚信弘・照屋和久・伏見浩・石橋矩久 (1991) 八重山における養成クロマグロの摂餌と成長. 栽培技研, 20, 35-40.
- 7) 石渡直典 (1969) 魚の摂餌に関する生態学的研究 -VIII. 投餌回数と成長との関係, *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 35, 985-990.
- 8) DOI, M., T. HOSHINO, Y. TAKI, and Y. OGASAWARA (1982) Activity of the Sperm of the Bluefin Tuna *Thunnus thynnus* under fresh and preserved conditions. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 48, 495-498.

ブリ産卵親魚の血液性状検査とふ化仔魚の体成分分析に基づく健全性評価について

崎山一孝^{*1}・浜田和久^{*2}・虫明敬一^{*2}

(親魚養成技術開発チーム：*1 百島栽培漁業センター，*2 五島栽培漁業センター)

養成した親魚自体の客観的な評価は、親魚からの大量の良質卵を得ることと同様に重要な課題の一つである。良質な卵の確保は親魚の生理状態や栄養状態に左右されるため、親魚の客観的評価を行うことはその後の産卵成績等を予想する上でも重要な意味を持っている。しかし、産卵試験を前提とした親魚そのものの良否に関する科学的な評価手法は確立されていない。したがって、これまで経験的手法により親魚腹部等の外部形態の観察やカニューレを用いた卵巣卵のサンプリングにより採取した卵巣卵の成熟状況(卵巣卵径や成熟段階)を判断した上で産卵試験に用いる親魚を選択しているのが現状である。しかし、前者、すなわち外部形態の観察では飼育技術者の主観的評価となり、真の成熟状態を客観的に評価することはできない。また、後者ではカニューレによる操作自体が卵巣卵に物理的損傷を与え、その後の産卵に悪影響を及ぼす可能性も懸念される。

そこで、著者らは本研究において、養成したブリ親魚群を材料として、産卵親魚としての健全性とふ化仔魚の活力評価の指標となる成分を把握することを目的として、養成した親魚群から採血を行い、親魚の血液性状と採卵数、浮上卵率およびふ化率との関係ならびにふ化仔魚の体成分と初期生残率との関係の把握に取り組んだ。

材料と方法

親魚養成と採卵

試験には、長崎県五島列島近海で漁獲され、五島栽培漁業センターの海上小割生簀で約1年間養成した親魚群を使用した。この親魚群を用いて、2001年11月から2003年5月までに個体別に血液性状の時期的変化を調査した。また、2002年4月(1年目)および2003年4月(2年目)にいずれもHCG(600IU/kg)注射を用いた人工授精(乾導法)により採卵した。親魚個体毎に総採卵数、浮上卵率、受精率、正常卵率およびふ化率を調査し、これらの値を元にして以下の式により、正常ふ化率(Watanabe *et al.*, 1984)を求めた。

正常ふ化率(%) = {(総採卵数) × (浮上卵率) × (受精率) × (正常卵率) × (ふ化率)} ÷

(総採卵数) × 100

各親魚から得られたふ化仔魚は、後述する体成分の分析と初期飼育試験に供した。

血液性状検査と体成分分析

親魚からの採血は1~2カ月の間隔で行い、ディスプレイ(容量3ml, テルモ社製)を用いて尾部血管から採血し、得られた血液を一晩冷蔵保存(4℃)した後に遠心分離(3,000rpm, 10分間)して、血清を分離した。血清は分析を行うまで凍結保存(-80℃)した。血液性状の検査は、市販の血液検査装置(富士ドライケム, 富士フィルム製)を用いて行った。血液性状の検査項目は、トリグリセライド(TG), グルコース(GLU), 総タンパク質(TP), 総コレステロール(TCHO), アルカリフォスファターゼ(ALP), グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ(GOT)およびグルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ(GPT)の計6項目とした。

また、ふ化仔魚の体成分では、受精72時間後(日齢0)にサンプリングした仔魚を用いて、TG, TP, 水溶性タンパク(WP), TCHO, リン脂質(PL)および酸性フォスファターゼ(ACPase)活性の6項目と乾燥重量の計7項目について行った。

ふ化仔魚の飼育方法

飼育試験には、2002年と2003年にそれぞれ5尾と6尾の雌親魚から得られたふ化仔魚を供した。飼育水槽には黒色ポリエチレン水槽(容量500ℓ)を用い、各親魚ごとに2区ずつ設け、収容尾数は各水槽当り5,000尾とした。収容後、開口(日齢3)までは止水で飼育し、開口後は約500ℓ/日の流水飼育とし、栄養強化したL型ワムシを給餌した。日齢10で全生残個体を取り揚げて計数し、ふ化後10日間の生残率(初期生残率)を求めた。

結 果

親魚血液性状と採卵成績

2001年11月から2003年5月までのブリ親魚の血液中のGLU濃度はほとんど変動は認められず、概ね80~

150mg/dl の範囲であった(図1)。一方、TP, TG, TCHO 濃度および ALP 活性は、成熟に伴う増加がみられるとともに、採卵時期にピークを示す傾向が認められた。

親魚からの採卵2日前, すなわち HCG 注射時の血

液性状とその後の採卵成績との関係では、血液中の TP および TG 濃度と総採卵数との間に関連が認められ、比較的安定した採卵成績が得られた個体の採卵直前の血中タンパク質濃度は4.2g/dl 以上、中性脂質濃度は340mg/dl 以上であった(図2)。

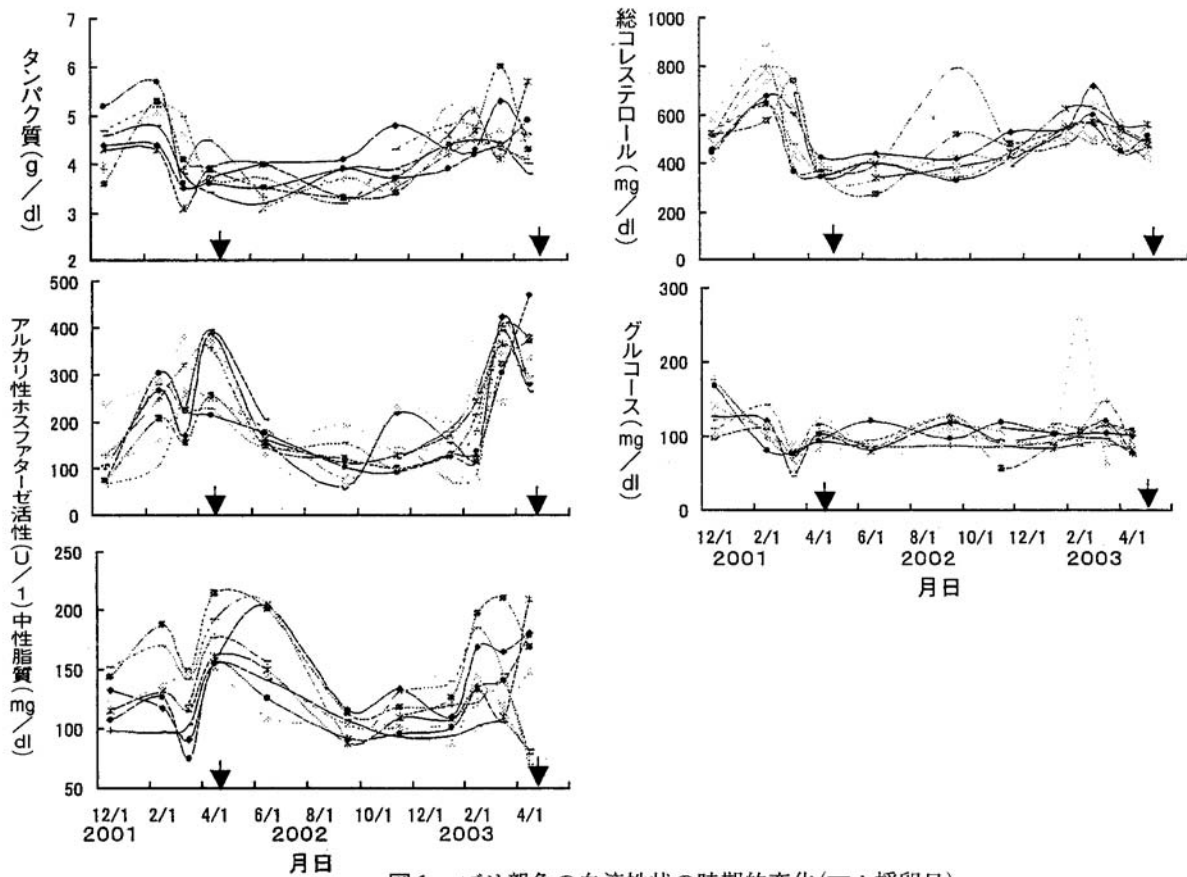


図1 ブリ親魚の血液性状の時期的変化(▼:採卵日)

親魚番号: 0418 0910 151A 307A 4872
6017 6C10 6F40 7553

親魚年齢と採卵成績

各親魚の1年目と2年目の採卵数と正常ふ化率を図3に示した。採卵数、正常ふ化率とも今回の試験では

親魚の年齢の違いによる差異は認められなかった。また、1年目と2年目の年齢の違いと採卵数または正常ふ化率との間にも特に関連性はみられなかった。

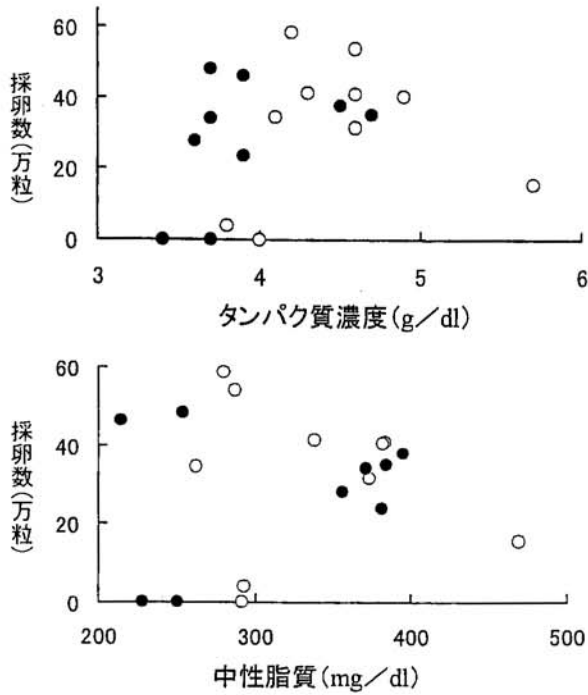


図2 プリ親魚血液のタンパク質、中性脂質濃度と採卵数との関係
● : 1年目 ○ : 2年目

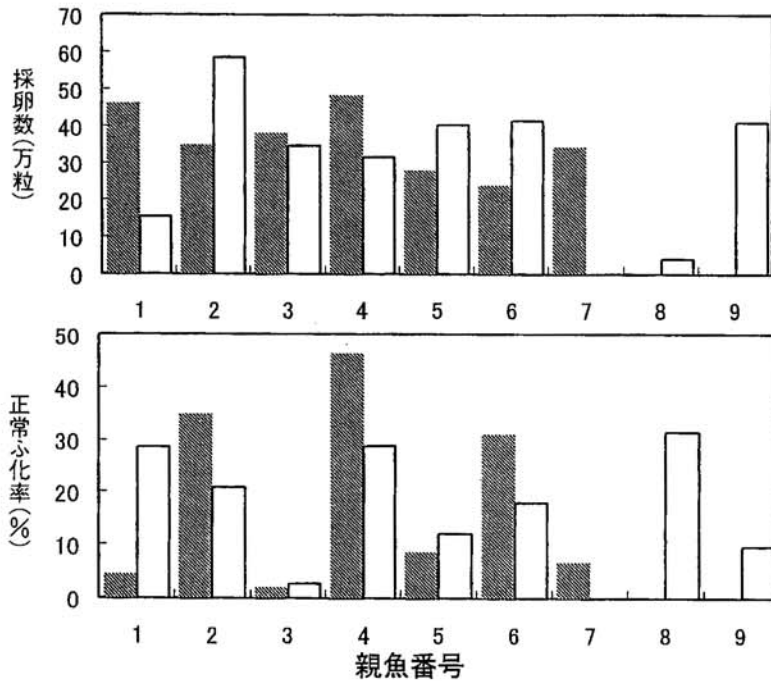


図3 プリ親魚個別の産卵量と正常ふ化率
■ : 養成1年目 □ : 養成2年目

$$\text{正常ふ化率(\%)} = (\text{TE} \times \text{BE} \times \text{Feb} \times \text{Neb} \times \text{HLf}) / \text{TE} \times 100$$

TE: 総産卵量 BE: 浮上卵率 Feb: 受精率 Neb: 正常卵率 HLf: ふ化率

ふ化仔魚の体成分と初期生残率

1年目と2年目の初期飼育試験結果を通算して、ふ化仔魚1尾当りのTG, TP, WPおよびPLが少なく、ACPase活性の低いふ化仔魚ほど、初期生残率が高い

傾向が認められた(図4)。これらの成分の中で、受精からふ化までの変化量はTGが最も大きく、その減少率と初期生残率との間に正の相関が認められた。

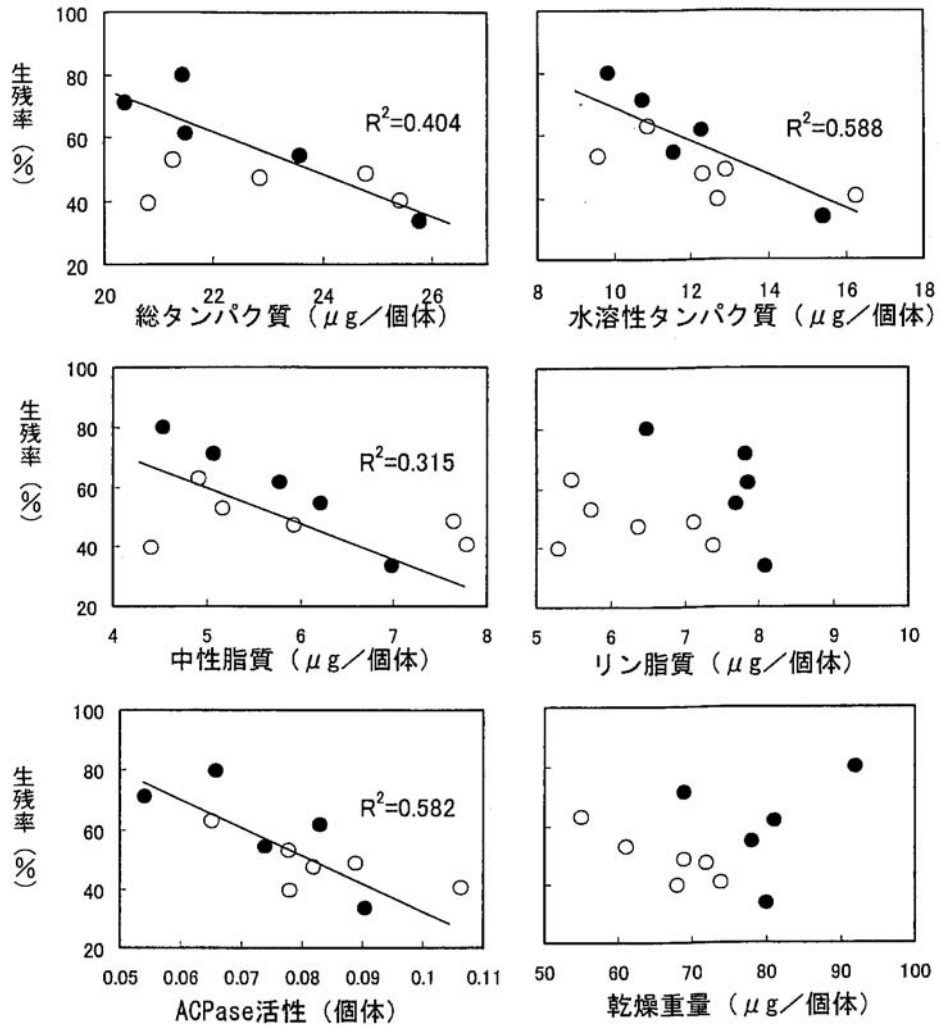


図4 プリふ化仔魚の体成分の量、活性および乾燥重量と初期生残率との関係
●: 1年目 ○: 2年目

考 察

ブリ親魚の血液性状では、親魚の年齢とは無関係に血液中の TP, TG, TCHO および ALP は採卵時または採卵直前に上昇する傾向が認められた。また、血液性状と採卵成績との関係を見ると、TP および TG 濃度と採卵数との間に関連が認められ、採卵に使用する親魚には、血液中の TP 濃度が 4.2g/dl 以上、TG 濃度が 340mg/dl 以上の個体が適していると判断された。これは、TG 濃度が高い親魚群ほど HCG 処理した誘発産卵試験での産卵数が多かったと報告されている虫明ら (1998) の結果と一致する。したがって、これらの成分はブリ親魚の成熟と何らかの関連性があることが強く示唆され、ブリの成熟状態の評価指標となり得るものと考えられた。

また、ふ化仔魚の体成分でも、1尾当りの TP, WP, TG, ACPase 活性と初期生残率との間に関連が認められたことから、仔魚の活力評価の指標となり得る可能性が示唆された。初期生残率で 50% が得られる仔魚の各成分含量は、仔魚 1尾当りそれぞれ TP で 23 μ g, WP で 12 μ g, TG で 6 μ g, ACPase 活性で 0.07 (μ

mole/min/ind) であった。したがって、これらの値よりも低い値を示すふ化仔魚が飼育には適していると判断された。

本試験では、人工授精による採卵試験と親魚個別別に得られたふ化仔魚の小型水槽での飼育試験から、親魚の健全性とふ化仔魚の活力評価に有効な成分を明らかにし、その基準値を得た。今後、これらの成分の評価指標としての有効性を確立するためには、量産規模での採卵と大型水槽での飼育による実証試験が必要である。

文 献

虫明敬一・河野一利・山崎哲男 (1998) 産卵期直前の血液性状検査によるブリの優良産卵親魚評価の試み. 平成 10 年度日本水産学会春季大会講演要旨集, 749.

Watanabe, T., T. Arakawa, C. Kitajima and S. Fujita (1984) Effect of nutritional quality of broodstock diets on reproduction of red sea bream. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 50, 495-501.

マイクロサテライトDNA分析による ヒラメ9月採卵における産卵貢献親魚の特定

吉田一範^{*1}, 本藤 靖^{*2}, 村上直人^{*3}, 虫明敬一^{*2}
 (親魚養成技術開発チーム: *1 小浜栽培漁業センター,
 *2 五島栽培漁業センター, *3 宮津栽培漁業センター)

近年, 栽培漁業において, 親魚数の制限による人工種苗の遺伝的変異性の低下が問題となっている。このため, 生産された人工種苗においては, 由来する親魚数の詳細な把握が重要である。一方, ヒラメの採卵においては, 親魚へのストレスを最小限にするため, 多くの場合, 水槽から卵のみを回収する。このため, 全体の産卵量は把握できるものの, 各個体が産卵に寄与したかどうか知ることは難しい。このような中で, 宮津栽培漁業センターでは, マイクロサテライトDNAマーカーを用いて親子判別を行い, 産卵に貢献した親魚の特定を試みたので報告する。

材料と方法

親魚として, 2000年および2001年に若狭湾で漁獲され, その後1~2年間養成された天然ヒラメの3歳魚および4歳魚を雌雄各6尾ずつ用いた。また, それらは, 2002年3月に60ℓコンクリート水槽に収容した。

採卵は, 同年9月12日, 16日, 28日, 30日に計4回行い, 卵をふ化させて得られた仔魚をサンプルとした。サンプルとして用いた尾数は, 9月12日, 16日, 28日, 30日の各採卵日において, それぞれ99尾, 99尾, 83尾, 95尾である。各サンプルは100%エタノール中で保存した。

全DNAの抽出は, 親魚については尾鱗の一部, ふ化仔魚については魚体すべてを用い, SDS-フェノール・クロロフォルム法により行った。

マイクロサテライトDNA領域は, 7ローカス(表1)について蛍光標識したプライマーによりPCR法を用いて増幅した。PCR反応後, 3あるいは4ローカスの反応液を混合し, さらにサイズスタンダードを加えてキャピラリー型オートシーケンサー(Applied Biosystems社製, ABI PRISM3100)で増幅断片のサイズ決定を行った。親魚およびふ化仔魚の遺伝子型は個体毎に決定し, それらに基づいて親子判別を行った。

表1 マイクロサテライトDNA分析に用いたプライマー

	Primer sequence (5'-3')	アニーリング温度. (℃)	公表元
<i>Pol.1</i>	F: TAGGAGGATTGATAGGAT R: CCCGACTTTTAGATGTTC	53	Takagi et al.
<i>Pol.3</i>	F: TTTGTGTTGTAGTTAGTCTG R: GTTGATTGTAGAGTGGTGTG	50	Takagi et al.
<i>Pol.4</i>	F: GTGTGCTCTGGGCTTTTG R: TTACCTGTCCTGTTACTC	50	Takagi et al.
<i>Po.1</i>	F: GCCTTTTGTGTCAGCCATTAACAGAGC R: CTGAGGCCAGACATGACATTACCTT	55	Sekino et al.
<i>Po.13</i>	F: CGGCCTAAACCTGGACATCCTCTCTA R: CGGACAACGGAGGTTTGACTGAC	58	Sekino et al.
<i>Po.42</i>	F: CGAGCGCTGTTTCAACTACGGTCATT R: ATGATGATCTAACCGTCCGGCTCCAT	55	Sekino et al.
<i>Po.91</i>	F: AGGTTTCAAGGTGTTTCAATTGCGAGTC R: TAAAGGAAGTGCCTCACTGTGGAGAA	55	Sekino et al.

結 果

親魚の尾鱗（12検体）およびふ化仔魚（376検体）からは十分な量のDNAが確保できた。

親魚のマイクロサテライトDNA分析では、12個体に対して各ローカスで13~21種類のアリル（平均15.0種類）が検出され、それらを組み合わせることによって個体識別を行った（表2）。用いた12個体のうち、11個体ではすべてのローカスがヘテロ接合であり、本試

験に用いた親魚の遺伝的変異性が高いことが示された。

親子判定においては、分析を実施した376個体のふ化仔魚のうち274尾（72.9%）で両親を特定することができた。また、他の49尾（13.1%）においても片親のみを特定できた。さらに、特定できた親魚を遺伝子型に基づいて識別した結果、採卵した4日間に産卵に貢献した親魚は雌親で2尾（No.6とNo.8）、雄親では1尾（No.10）であることが示された（図1）。

表2 9月採卵試験における親魚の遺伝子型（7ローカス）

個体番号	ローカス													
	Pol.3		Pol.1		Pol.4		PO.1		PO.13		PO.42		PO.91	
No.1	155		183	197	137		166	168	220	244	170		157	199
No.2	133	147	231	243	137	179	178	198	220	228	174	212	157	165
No.3	119	165	157	161	153	167	166	176	212	220	180	208	155	169
No.4	133	173	195	209	153	167	166	176	228	234	174	178	157	163
No.5	135	159	205	233	163	165	194	196	232	248	176	206	159	221
No.6	119	167	179	183	129	207	166	182	214	216	176	178	157	167
No.7	125	133	187	225	131	167	166	168	218	220	176	178	165	179
No.8	165	177	183	211	133	159	166	182	212	232	180	194	163	173
No.9	135	139	171	211	163	181	*2	*2	212	222	176	178	167	181
No.10	133	165	213	229	157	165	188	190	230	240	178	188	157	221
No.11	133	135	163	173	139	189	192	206	220	232	186	200	177	181
No.12	133	173	155	165	129	167	184	192	238	256	178	182	171	185

*1：太字はホモ接合

*2：確定できず

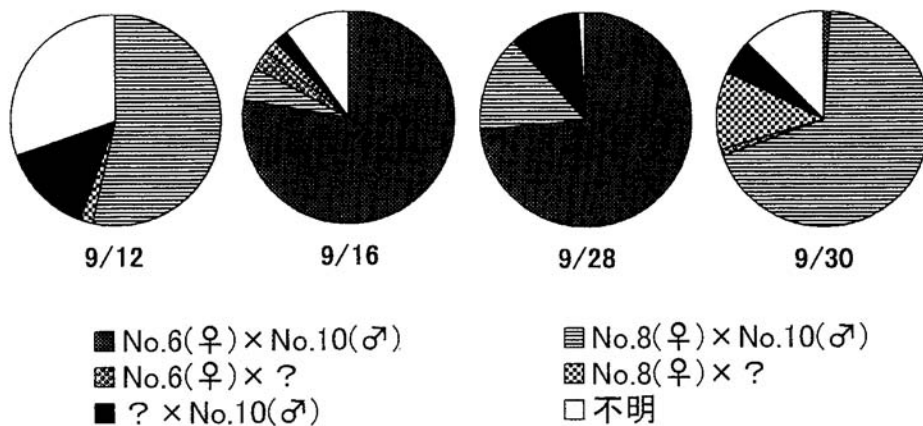


図1 平成14年度9月採卵試験におけるふ化仔魚の遺伝子組成の経過

考 察

これまでの採卵試験では、個体毎の産卵状況を把握することは難しかった。しかし、本試験では72.9%のふ化仔魚において両親が特定され、親魚の各個体の産卵状況を把握することができた。このことは、親魚養成の技術開発におけるマイクロサテライト DNA マーカーの有効性を示しているものと考えられる。また、

本試験のように10尾程度の親魚を用いている場合は、ローカスの組み合わせにもよるものの、4～5ローカスで親子判定が可能であると考えられる。

一方、本試験においては、用いた雌雄各6尾の親魚のうち産卵に関わった個体は、雌親は2尾、雄親は1尾のみであり、親魚群の遺伝的変異性のすべてが人工種苗に再現されていないことが示された。このため、親魚養成において、今後より多くの個体が産卵に加わるような技術を確立することが必要と考えられる。

II 健全な種苗の飼育技術の開発

オゾン処理海水がヒラメ稚魚の白化出現に及ぼす影響

山田徹生，藤浪祐一郎，熊谷厚志
(宮古栽培漁業センター)

近年，海水をオゾン処理することにより生成されるオキシダントが，魚類病原微生物に対し，殺菌あるいは不活化効果を有することが報告され，疾病防除対策として海産魚の種苗生産過程でオゾン処理海水を用いた飼育が行われるようになった¹⁻³⁾。

宮古栽培漁業センターでは1996年および1998年にヒラメ *Paralichthys olivaceus* の種苗生産過程で Nguyen *et.al.*⁸⁾が同種で報告しているウイルス性神経壊死症 (VNN) が発生したことから，1999年以降 VNN 防除対策の一環として飼育用水にオゾン処理海水 (オゾン曝露した後に活性炭で無毒化した海水) を用いたヒラメの種苗生産を開始した。しかしながら同年以降，生産したヒラメ稚魚において有眼側の白化魚の出現率が増加し問題となった。特にオゾン処理海水を用いた飼育期間が長い飼育例ほど白化個体の出現率が高い傾向が認められ，白化出現と用水のオゾン処理との関係が疑われた。そこで，オゾン処理海水による飼育のヒラメ稚魚の白化出現に及ぼす影響について明らかにするために飼育試験を行なったので以下に報告する。

材料と方法

海水のオゾン処理

海水のオゾン処理には市販の海水オゾン処理装置

(荏原実業株式会社製=オゾンバリア OZF003型，OZF015型) を使用した。砂濾過した海水を同装置内でオゾン曝露 (0.5mg/ℓ で5分間) し，空気曝気後，残留オキシダントを活性炭により吸着し0.01mg/ℓ 以下に調整した海水をオゾン処理海水とし以下の試験に供した。また，同装置内でオゾン曝露後の海水を，オキシダント海水とし，受精卵の消毒の際に使用した。

試験区

試験区は，オキシダント海水による卵消毒の有無，ふ化までの卵管理中のオゾン処理海水の使用の有無及び飼育過程でのオゾン処理海水の使用の有無が異なる4試験区を設けた (表1)。卵消毒は，残留オキシダント濃度を *o*-トリジン法で0.75mg/ℓ に調整した残留オキシダント海水を用い15℃の条件で2分間行った。卵消毒を実施しない区においても，オキシダント海水を砂濾過海水に置き換え同様の操作を行った。ふ化管理は，水温を15℃に調節したオゾン処理海水または砂ろ過海水を用い，各飼育水槽にふ化仔魚を収容した。仔稚魚の飼育用水は，水温を18℃に調節したオゾン処理海水またはろ過海水を使用した。飼育は100ℓ 透明パンライト水槽を用い水槽は1試験区に対し2水槽，合計8水槽を設けた。

表1 飼育ヒラメ稚魚の白化出現要因に関する飼育試験区の設定

試験区	卵消毒*1	ふ化管理用水	仔稚魚の飼育用水
1	実施	オゾン処理海水	オゾン処理海水
2	実施	オゾン処理海水	砂ろ過海水
3	実施	砂ろ過海水	砂ろ過海水
4	無し	砂ろ過海水	砂ろ過海水

*1 オキシダント海水による卵消毒。卵消毒しない区も，卵のハンドリングは実施。

飼育試験

各水槽に、1水槽当り1,200尾(1.2万個体/kl)のふ化仔魚を収容し、換水は飼育開始0から9日目は30%、10から19日目は100%、20から29日目は200%、30から45日目は300%とした。餌料は、シオミズツボワムシ、アルテミアのノープリウス幼生及び市販の配合飼料を給餌した。飼育水には、市販の淡水クロレラ濃縮液(フレッシュグリーン：日清マリンテック(株)製)を27日目まで1日当り1~2ml/槽の割合で添加した。飼育期間中は、海水オゾン処理装置のオキシダント海水及び飼育用水として用いるオゾン処理海水の残留濃度を、1日2回、o-トリジン法により設定濃度内であることを確認した。飼育開始45日目に取り揚げ、水槽毎に生残率と白化出現率を求めた。

結果と考察

各試験区の生残率および白化出現率を表2に示した。水槽毎の生残率は、試験区1で87.2%、59.0%、試験区2で60.2%、89.6%、試験区3で57.1%、52.6%、試験区4で27.3%であった。試験区4の1水槽については、死亡が認められたため飼育を中止した。生残率は、卵消毒及びオゾン処理海水の使用の有無に係わらずほぼ同程度で、カイ2乗検定でも試験区間に有意差は認められなかった。オゾン処理海水及び紫外線処理海水を用いたヒラメ飼育については伊藤ら¹⁾が生残率に影響ないことを報告しており、その結果と一致した。白化出現率は、試験区2から3では卵消毒の有無、

ふ化管理でのオゾン処理海水の使用の有無に係わらずほぼ同程度で、カイ2乗検定でもこれら試験区間に有意さは認められなかった。しかしながら、飼育の用水にオゾン処理海水を使用した試験区1の平均白化出現率は64.0%で、使用しなかった他試験区の3倍以上となり、カイ2乗検定でもこれら試験区間に有意差が認められた。以上の結果から、オゾン処理海水で飼育することが白化個体の出現率の増加に影響を与えていることが示唆された。一方で、本試験結果を見る限りオキシダント海水による卵消毒及びオゾン処理海水によるふ化管理は、白化出現に影響しないと考えられた。

これまでに、残留オキシダントのヒラメ卵及び仔稚への急性毒性については、Mimura *et al.*²⁾によって報告されており、残留オキシダントにより表皮の破壊が起こることが明らかにされているが、白化の出現など慢性的な影響については調べられていない。異体類の白化出現について^{4,5)}、オゾン処理海水を用いた飼育によるものに関しては、渡辺³⁾が、マツカワ *Verasper moseri* 稚魚において、オゾン処理海水で飼育すると高率に白化が出現したことを報告しているのみで白化の出現との因果関係について言及した例はない。本試験で、オゾン処理海水が白化の出現を助長させることは示唆されたものの、その原因となる物質などは依然、未解明であり検討の余地が残されている。生産種苗の形態異常については、商品価値の低下や以後の生残に影響する問題であることから海水殺菌方法の見直しや改良を行いこの様な奇形の出現防止対策を確立する必要がある。

表2 飼育ヒラメ稚魚の白化出現要因に関する飼育試験結果

試験区	試験期間	飼育日数	収容尾数	取り揚げ			
				尾数	生残率 (%)	白化出現率 (%)	平均白化出現率 (%)
1*	2003. 6. 1~ 7.16	45	1,200	1046	87.2	68.5	
	2003. 6. 1~ 7.16	45	1,200	708	59.0	59.5	64.0
2	2003. 6. 1~ 7.16	45	1,200	722	60.2	14.1	
	2003. 6. 1~ 7.16	45	1,200	1075	89.6	22.0	18.1
3	2003. 6. 1~ 7.16	45	1,200	685	57.1	17.4	
	2003. 6. 1~ 7.16	45	1,200	631	52.6	24.7	21.0
4	2003. 6. 1~ 6.26	25	1,200	—	—	—	
	2003. 6. 1~ 7.16	45	1,200	328	27.3	16.8	16.8

*：オゾン曝気海水のオキシダント濃度(平均±SD：0.699±0.048ppm、範囲0.575~0.821ppm)、活性炭処理後、飼育水槽に注水時の残留オキシダント濃度(0.008±0.001ppm、0.004~0.012ppm)

文 献

- 1) 伊藤慎悟, 吉水 守, 吳 明柱, 日向進一, 渡辺研一, 早川 豊, 絵面良男. 海水のオゾン処理による飼育水の殺菌効果とヒラメ (*Paralichthys olivaceus*) およびマツカワ (*Verasper moseri*) の生存率に及ぼす影響. 水産増殖44 (4) 457-463 (1996).
- 2) 渡辺研一. マツカワに発生したウィルス性神経壊死症の防除対策に関する研究. 特別研究報告15号. 日本栽培漁業協会. 1-72 (2000).
- 3) 有元 操. シマアジのウィルス性神経壊死症に関する研究. 特別研究報告10号. 日本栽培漁業協会. 1-52 (1998).
- 4) 青海忠久. ヒラメ白化個体の出現機構と防除. 水産増殖38 (4) 394-395 (1990).
- 5) 青海忠久. カレイ目魚類の体色異常と変態. 月刊海洋27(12) 727-731 (1995).
- 6) Nguyen H.D., T. Mekuchi, K. Imura, T. Nakai, T. Nishizawa and K. Muroga (1994): Occurrences of viral nervous necrosis (VNN) in hatchery-reared juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Fisheries Science*, 60, 551-554.
- 7) Mimura, G., Y. Katayama, X. Ji, J. Xie and K. Namba (1998) : Acute toxicity of ozone-exposed seawater and chlorinated seawater for Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* egg, larvae and juveniles. *Suisanzoshoku*, 46, 569-578.

イセエビ種苗生産試験 - 2002年度飼育開始群における飼育結果の概要

村上恵祐, 橋本 博
(南伊豆栽培漁業センター)

2002年度飼育開始群では、飼育手法の開発に関する課題として、紫外線殺菌処理海水（以下、UV 海水と呼称する）、通気及び回転型飼育装置（以下、回転水槽と呼称する）による飼育試験に取り組んだ。また、適正な飼餌料を開発する一環として、冷凍サクラエビ細片の餌料効果について検討した。各試験における初期～中期フィロソーマ（150日齢まで）の飼育結果については、2003年度の日本栽培漁業協会事業年報に報告したことから、ここでは同飼育群の中期フィロソーマ以降の試験結果を報告するとともに、同飼育群におけるふ化から稚エビまでの飼育試験結果を総括する。

1. UV 海水による中期～後期フィロソーマの飼育試験

フィロソーマの飼育では、中空糸フィルターでろ過処理した無菌海水を飼育水に使用してきたが、飼育水槽へ注水する直前の処理海水の一般細菌数を測定したところ、菌数は常時 $10^2 \sim 10^3$ CFU/ml以上を示すことが判明し、このことがフィロソーマの飼育において抗生物質による定期的な薬浴を必要とする一つの原因であると考えられた。

そこで、抗生物質を使用しない飼育手法を開発する一環として、飼育水槽へ注水直前の海水をUV殺菌し、中期～後期フィロソーマの飼育を試みた。

材 料 と 方 法

試験区として、以下の5区を設定した。なお、UV区には試験開始（日齢152～156）まで薬浴をしなかったフィロソーマを、対照区には定期的な薬浴を実施したフィロソーマをそれぞれ供試した。UV-1区：飼育水にはUV海水を使用し、飼育水槽の交換とアンピシリン（20ppm：6～8時間）による薬浴を7日間隔で

実施した。供試したフィロソーマは、日齢156時点の胸脚欠損が1本以下で胸脚欠損個体率が19.2%の26尾（体長 13.3 ± 0.975 mm）とした。UV-2区：飼育水にはUV海水を使用し、飼育水槽の交換は7日間隔で実施したが、アンピシリンの薬浴は実施しなかった。供試したフィロソーマは、日齢156時点の胸脚欠損が1本以下で胸脚欠損個体率が53.8%の26尾（体長 13.3 ± 0.975 mm）とした。UV-3区：飼育水、水槽及びその処理はUV-1区に従った。供試したフィロソーマは、日齢156時点の胸脚欠損が1本以上で胸脚欠損個体率が100%の27尾（体長 13.3 ± 0.975 mm）とした。対照-1区：飼育水には $0.2 \mu\text{m}$ の中空糸フィルターでろ過した海水を使用し、飼育水槽の交換とアンピシリン（20ppm-6～8時間）による薬浴を7日間隔で実施した。供試したフィロソーマは、日齢152時点で胸脚欠損がみられない個体26尾（体長 13.3 ± 1.099 mm）とした。対照-2区：飼育水、水槽及びその処理は対照-1区に従った。供試したフィロソーマは、日齢152時点の胸脚欠損が1本以上で胸脚欠損個体率100%の26尾（体長 13.3 ± 1.099 mm）とした。

各試験区とも飼育には40ℓポウル水槽を用い、注水率は25～30回転/日とした。餌料には、ムラサキイガイ生殖腺の細片と1日1槽当りアルテミア（全長3mm以上）300～500個体を併用給餌した。残餌の除去は1回/日の頻度で実施した。また、日齢192で飼育水の配管を塩素を用いて殺菌処理した。

結 果 と 考 察

試験結果の概要を表1に示した。UV-1区、UV-2区、UV-3区はそれぞれ日齢306、日齢236、日齢369日に全個体が死亡し、プエルルスに達する個体はみられなかった。対照-1区及び対照-2区では稚エビまで生残し、

表1 UV 殺菌海水による中期～後期フィロソーマの飼育試験結果

試験区	胸脚欠損 (欠損個体率)	水槽交換 (日)	薬浴 (日)	日齢152-156		最終齢：FP				稚エビ：J				飼育終了 (日齢)	
				(尾)	体長 (mm)	(尾)	(%)	(尾)	(%)	P/FP(%)	(尾)	(%)	J/FP(%)		J/P(%)
UV-1区	1本以下(19.2%)	7	7	26	13.3 ± 0.975	0	—	0	—	—	0	—	—	—	306
UV-2区	1本以下(53.8%)	7	×	26	13.3 ± 0.975	0	—	0	—	—	0	—	—	—	236
UV-3区	1本以上(100%)	7	7	27	13.3 ± 0.975	0	—	0	—	—	0	—	—	—	369
対照-1区	無(0%)	7	7	26	13.3 ± 1.099	6	23.1	5	19.2	83.3	4	15.4	66.7	80.0	537
対照-2区	1本以上(100%)	7	7	26	13.3 ± 1.099	5	19.2	3	11.5	60.0	2	7.7	40.0	66.7	440

プエルルスと稚エビまでの生残率はそれぞれ19.2%と15.4%、及び11.5%と7.7%であった。

UV区では、いずれの試験区でも体表の汚れが著しく、脱皮前後で衰弱し、付属肢等の変形が起こって死亡する個体が多かった。特に薬浴を行わなかったUV-2区では触角腺、胸部、腸管などが白濁する細菌性疾患で死亡する個体も多く認められた。飼育水槽の底面の状態は、水槽を交換して5日目頃から汚れが著しくなり、この時点で脱皮殻を検鏡したところ、原生動物や真菌類が多数附着していた。

対照区では、胸脚欠損がみられない個体を供試した対照-1区の方が胸脚欠損個体を供試した対照-2区と比較して、稚エビまでの生残率や、最終齢フィロソーマ及びプエルルスから稚エビへの到達率は高い値を示した。

試験期間中の日齢175以降に、各試験区で脱皮時の衰弱や変形による死亡、触角腺、中腸腺、腸管、胸脚などが白濁症状を呈して死亡する個体が多く認められたため、飼育水中の一般細菌数を調査したところ、 10^5 CFU/ml以上の細菌が存在しており、*Vibrio*属の細菌も 10^3 CFU/mlのレベルで存在していた。また、UV殺菌処理を行っても、細菌数のレベルは 10^1 ～ 10^2 CFU/ml程度低下させる効果しか認められなかった。そこで、日齢192に飼育水の配管を塩素殺菌したところ、日齢210以降では極端に死亡個体が少なくなり、生残率が安定した。したがって、本試験では、飼育水中の細菌数のレベルが高くなったことがフィロソーマに対して何らかの悪影響を及ぼしたものと考えられる。

本試験では、UV海水の使用効果は明らかにできなかったことから、今後は水槽交換の間隔や抗生物質による薬浴間隔について再検討した上で、再度UV海水の利用手法に関する飼育試験を実施する必要がある。

2. 通気による中期～後期フィロソーマの飼育試験

従来、通気によって胸脚が欠損するなどの物理的傷害が危惧されることから、通気は実施されてこなかったが、一方では通気による飼育水の攪拌によって、アルテミアなどの餌料が分散する効果や飼育水槽内の水面に発生する細菌性の油膜が除去される効果などが期待できる。また、回転水槽を用いた飼育試験において、フィロソーマの遊泳行動を観察したところ、弱い水流であれば、フィロソーマの遊泳行動を促進する効果があり、餌料との遭遇機会が増し摂餌効率が向上することが推察された。そこで、フィロソーマ飼育における通気の効果を把握する目的で、飼育試験を実施した。

材料と方法

試験は2回実施した。本試験における最小の通気量は、通気で発生する水流により飼育水槽内でアルテミアがある程度分散する量とし、予備調査によって50～60ml/分に決定した。

試験-1では以下の2区を設定した。通気区：通気量は50～60ml/分とし、供試したフィロソーマは、日齢152時点の胸脚欠損が1本以下で胸脚欠損個体率が36.4%の22尾（体長 13.3 ± 1.099 mm）とした。対照区：通気なし。供試したフィロソーマは、日齢152時点で胸脚欠損がみられない個体26尾（体長 13.3 ± 1.099 mm）とした。

試験-2では以下の3区を設定した。通気-1区：通気量は50～60ml/分とした。供試したフィロソーマはふ化から試験直前まで50～60ml/分の通気量で飼育した群から供試し、日齢210時点で胸脚欠損がみられない個体16尾（体長 13.8 ± 1.321 mm）とした。通気-2区：通気量は100～110ml/分とした。供試したフィロソーマは、日齢35～210まで通気量100～110ml/分で飼育した群から供試し、胸脚欠損個体率が81.8%の個体11尾（体長 14.5 ± 1.153 mm）とした。通気-3区：通気量は150～160ml/分とした。供試したフィロソーマは、日齢35～210まで通気量100～110ml/分で飼育した群から供試し、胸脚欠損個体率が75.0%の個体12尾（体長 14.5 ± 1.153 mm）とした。

飼育には40ℓボウル水槽を用い、餌料やその他の飼育管理は前述のUV海水を使用した飼育試験に準じた。飼育水には0.2μmの中空糸フィルターでろ過した海水を使用し、注水率は25～30回転/日とした。また、飼育水槽の交換とアンピシリン（20ppm-6～8時間）による薬浴を7日間隔で実施した。

結果と考察

試験結果の概要を表2に示した。試験-1における最終齢フィロソーマ、プエルルスおよび稚エビまでの生残率は、通気区がそれぞれ9.1%、9.1%、4.5%で、対照区が23.1%、19.2%、15.4%となり、対照区の方が高い値を示した。

試験-2では、通気-1区のみで稚エビが得られ、最終齢フィロソーマ、プエルルス及び稚エビまでの生残率はそれぞれ62.5%、50.0%、37.5%であり、比較的高い値を示した。100ml/分以上の通気を行った通気-2区および通気-3区では、体長17～18mm時点での脱皮時に変形や衰弱によって死亡する個体が多く、日齢265と268で全個体が死亡した。

今回の飼育試験では、稚エビまでの飼育が可能であった50~60ml/分の通気区では、脱皮時の胸脚欠損や疲弊は認められなかった。また、通気した区では、飼育水槽内の水面に細菌性の油膜が全く発生しなかったことから、当初想定した通気の効果は認められたものと考えられる。ただし、対照区に比較して通気区の生残率は低かったことから、今後はさらに適正通気量について検討する必要がある。

3. 中期～後期フィロソーマにおける冷凍サクラエビの給餌効果

2001年度に後期フィロソーマに対する冷凍サクラエビ細片の給餌効果を試験したところ、比較的活発な摂餌が認められた。そこで、初期から後期フィロソーマにかけて、生残や成長に及ぼす冷凍サクラエビの餌料価値をムラサキイガイ生殖腺と比較することを目的として飼育試験を行った。ここでは、日齢211以降の試験結果について報告する。

材料と方法

試験区として以下の4区を設定し、A区とB区には日齢35以降冷凍サクラエビのむき身細片とアルテミアを併用給餌して飼育した日齢211のフィロソーマを、またC区とD区には、ムラサキイガイ生殖腺の細片とアルテミアを併用給餌して飼育した日齢211のフィロソーマを供試した。A区：冷凍サクラエビのむき身細

片と全長3mm以上のアルテミアを併用給餌し、試験開始時のフィロソーマの胸脚欠損個体率は40.0%（供試尾数10尾）、B区：ムラサキイガイ生殖腺の細片と全長3mm以上のアルテミアを併用給餌し、同様に胸脚欠損個体率は45.5%（11尾）、C区：B区と同じ餌料で、胸脚欠損がみられないフィロソーマを供試（18尾）、D区：B区と同じ餌料で、胸脚欠損が1本以上の個フィロソーマを供試（18尾）した。

冷凍サクラエビの細片は市販の冷凍サクラエビを脱殻して2~3mmの大きさに切断して準備し、給餌前に一昼夜アンピシリン50ppmで薬浴した。フィロソーマの飼育には40ℓポウル水槽を使用し、水槽交換とアンピシリン（20ppm-6~8時間）の薬浴を7日間隔で実施した。注水率は25~30回転/日とし、フィロソーマの成長に合わせて増加させた。

結果と考察

飼育結果の概要を表3に示した。B~D区で稚エビまで生残し、冷凍サクラエビの細片を給餌したA区のフィロソーマは日齢282で全て死亡した。A区における脱皮間隔は11~14日で他区と大差なかったが、胸脚欠損個体の割合は徐々に増加した。成長については、日齢258の平均体長で比較すると、A区が15.4mm、B区が13.5mm、C区が20.1mm、D区が18.5mmであり、概してムラサキイガイを給餌した区の成長が良かった。

このように、冷凍サクラエビのみの給餌では稚エビ

表2 通気による中期～後期フィロソーマの飼育試験結果

試験区	胸脚欠損 (欠損個体率)	水槽交換 (日)	薬浴 (日)	供試個体		プエルルス:P				稚エビ:J				飼育終了 (日齢)	
				(尾)	体長(mm)	(尾)	(%)	(尾)	(%)	P/FP(%)	(尾)	(%)	J/FP(%)		J/P(%)
<試験-1*1>															
通気区	1本以下(36.4%)	7	7	22	13.3±1.099	2	9.1	2	9.1	100	1	4.5	50.0	50.0	411
対照区	無(0%)	7	7	26	13.3±1.099	6	23.1	5	19.2	83.3	4	15.4	66.7	80.0	537
<試験-2*2>															
通気-1区	無(0%)	7	7	16	13.8±1.321	10	62.5	8	50.0	80.0	6	37.5	60.0	75.0	392
通気-2区	(81.8%)	7	7	11	14.5±1.153	0	—	0	—	—	0	—	—	—	265
通気-3区	(75.0%)	7	7	12	14.5±1.153	0	—	0	—	—	0	—	—	—	268

*1 日齢152

*2 日齢210

表3 冷凍サクラエビを餌料とした中期～後期フィロソーマの飼育試験結果

試験区	胸脚欠損 (欠損個体率)	水槽交換 (日)	薬浴 (日)	日齢211		プエルルス:P				稚エビ:J				飼育終了 (日齢)	
				(尾)	体長(mm)	(尾)	(%)	(尾)	(%)	P/FP(%)	(尾)	(%)	J/FP(%)		J/P(%)
A	(40.0%)	7	7	10	12.2±1.205	0	—	0	—	—	0	—	—	—	282
B	(45.5%)	7	7	11	12.2±1.205	3	27.3	3	27.3	100.0	2	18.2	66.7	66.7	403
C	無(0%)	7	7	18	14.5±1.920	10	55.6	9	50.0	90.0	7	38.9	70.0	77.8	415
D	1本以上(100%)	7	7	18	14.3±0.716	2	11.1	2	11.1	100.0	2	11.1	100.0	100.0	360

A区は日齢282まで飼育

(日齢258の体長: A区15.4±2.352mm, B区13.5±2.196mm, C区20.1±4.751mm, D区18.5±2.223mm)

までの飼育は困難であるが、サクラエビからムラサキイガイへ餌料を転換することで稚エビまで飼育できたことから、冷凍サクラエビはムラサキイガイの肥満度等が極端に低くなる冬季の代替餌料として使用可能であると考えられる。

4. 回転水槽を使用した飼育試験

2001年度の飼育において、ふ化後30日間を回転水槽（回転スピード6.0～6.5分/回転）で飼育し（生残率95.5%）、その後40ℓポウル水槽に移槽して飼育を継続した事例において、プエルルス及び稚エビまでの生残率はそれぞれ34.0%と28.3%（日齢30の生残尾数に対する値）で過去最高値を示した。そこで、2002年度もこの飼育事例の再現を図ることを目的として、回転水槽を使用した飼育を行った。

材 料 と 方 法

これまで使用してきた回転水槽は、回転する飼育水槽の形状がドーナツ状で水槽側面と底面に角ができるため、フィロソーマの体長が10mm以上になると蟻集して個体干渉の確率が高くなり、胸脚の欠損個体率が増加する。そこで今回は、水槽底面で蟻集するフィロソーマを分散させることをねらいとして、回転水槽を楕円球型に改良した。

日齢30までの飼育では、ふ化フィロソーマを回転水槽に300尾収容して注水率を15～20回転/日とし、水槽交換を14日間隔で、またアンピシリン(20ppm-24時間)による薬浴を5日間隔で実施した。アルテミアやムラサキイガイ生殖腺の給餌量及び給餌パターンは、40ℓポウル水槽を用いた飼育事例と同様とした。現段階の回転水槽はポウル水槽に比べて残餌除去等の飼育管理作業が煩雑で効率が悪いため、残餌は脱皮殻とともに目立ったものだけ除去する程度とした。

日齢30以降の飼育には、40ℓポウル水槽と楕円球型の回転水槽を各1槽使用し、フィロソーマを118尾ずつ収容して飼育を開始した。また、日齢150には40ℓポウル水槽1槽からドーナツ型の回転水槽と40ℓポウル水槽へそれぞれ18尾と14尾を収容し、合計4水槽で飼育を継続した。水槽交換はポウル水槽が7日間隔で、

回転水槽が14日間隔で実施し、アンピシリン(20ppm-6～8時間)による薬浴を、日齢150までは5日間隔で、それ以降は7日間隔で実施した。注水率は20～40回転/日とし、フィロソーマの成長に合わせて増加させた。

結 果 と 考 察

飼育結果の概要を表4に示した。日齢30,150,300,最終齢フィロソーマ、プエルルスおよび稚エビでの生残率は、回転水槽飼育開始群の方が40ℓポウル水槽飼育開始群よりも高い値を示した。また、成長についても回転水槽飼育開始群の方が常に大きく、特に200日齢以降の成長は平均体長で3～4mmも大きい値を示した。さらに、ふ化からプエルルス及び稚エビまでの平均所要日数は、40ℓポウル水槽飼育開始群よりも1カ月以上も短かった。最終齢フィロソーマおよびプエルルスから稚エビへの到達率も回転水槽飼育開始群の方が高く、2001年度の再現が得られたものと考えられる。

5. 2002年度飼育開始群における最終齢フィロソーマ、プエルルス及び稚エビまでの飼育結果のまとめ

2002年度におけるフィロソーマの飼育結果をとりまとめて表5に示した。2002年度の飼育群は、1ℓポウル水槽で飼育を開始した群が5例、40ℓポウル水槽を使用した群が5例、回転水槽を使用した群が1例であり、プエルルス及び稚エビの生産尾数は51尾、39尾であった。生産尾数は平成13年度よりも減少したが、最終齢フィロソーマ及びプエルルスから稚エビへの到達率は平均で62.9%と76.5%であり、過去最高の値が得られた。

プエルルスおよび稚エビの生産尾数が少なかったのは、初期～中期における飼育で収容密度が高かったために脱皮時の変形が多く発生したこと、中期フィロソーマの飼育期間中に、細菌性疾病様の症状で死亡する個体が多かったこと（飼育水系内に総細菌数 10^5 CFU/ml以上、*Vibrio*属の細菌数は約 10^3 CFU/mlが存在した期間が数週間続いたものと考えられる）が主な原因として考えられる。その後、飼育水系内の殺菌処理などの効果により、飼育水に使用する海水の細

表4 回転水槽飼育開始群と40Lポウル水槽群のフィロソーマ飼育概要

試験区	飼育例数	収容尾数	日齢30		日齢150		日齢300		最終齢:FP		プエルルス:P			稚エビ:J			平均所要日数(日)		
			(尾)	(%)	(尾)	(%)	(尾)	(%)	(尾)	(%)	(尾)	(%)	P/FP(%)	(尾)	(%)	J/FP(%)	J/P(%)	プエルルス	稚エビ
回転水槽飼育開始群	1	300	246	82.0	88	29.3	27	9.0	20	6.7	16	5.3	80.0	14	4.7	70.0	87.5	318.5	340.4
40Lポウル水槽飼育開始群	3	900	620	68.9	211	23.4	68	7.6	38	4.2	32	3.6	84.2	24	2.7	63.2	75.0	359.8	373.7

菌数を 10^3 CFU/ml以下に維持することができ、後期フィロソーマでは活性が回復する傾向が認められた。従来の飼育では、フィロソーマの飼育期間中に細菌性疾病が一度発生するとその後活性が回復することはほとんどないのが通常であったことから、使用する海水中の細菌数をモニターし、常に低レベルで維持することは、フィロソーマの飼育を安定させる重要なポイントとなり得るものと考えられる。また、前述の各種飼育試験結果で示したように、中期フィロソーマの段階で

胸脚欠損が多いほどプエルルスおよび稚エビまでの生存率が低下する傾向がみられた。2001年度における最終齢フィロソーマから稚エビまでの個別飼育結果から推して(表6)、最終齢フィロソーマの胸脚欠損が3本以下でプエルルスへの正常変態率や稚エビへの正常脱皮率が安定することが考えられる。したがって、今後は特に中後期フィロソーマの胸脚欠損を可能な限り低減する飼育手法を検討することが重要な課題になるものと考えられる。

表5 2002年度におけるフィロソーマの飼育結果の概要

試験区	飼育例数	収容尾数	日齢30		日齢150		日齢300		最終齢:FP		プエルルス:P		稚エビ:J		平均所要日数(日)		稚エビ			
			(尾)	(%)	(尾)	(%)	(尾)	(%)	(尾)	(%)	(尾)	(%)	P/FP(%)	(尾)	(%)	J/FP(%)	J/P(%)	プエルルス	稚エビ	生産例数
1ℓ ボウル水槽飼育開始群	5	75	47	62.7	24	32.0	11	14.7	4	5.3	3	4.0	75.0	1	1.3	25.0	33.3	355.7	317.0	1
40ℓ ボウル水槽飼育開始群	5	1,500	990	66.0	343	22.9	72	4.8	38	2.5	32	2.1	84.2	24	1.6	63.2	75.0	359.8	373.7	3
回転水槽飼育開始群	1	300	246	82.0	88	29.3	27	9.0	20	6.7	16	5.3	80.0	14	4.7	70.0	87.5	318.5	340.4	1
合計	11	1,875	246	13.1	455	24.3	110	5.9	62	3.3	51	2.7	82.3	39	2.1	62.9	76.5	346.6	360.3	5

表6 最終齢フィロソーマの胸脚欠損とプエルルス及び稚エビの形態正常率

(2001年度結果)

飼育開始群	胸脚欠損(本)	最終齢(%)	プエルルス(%)	正常変態(%)	稚エビ(%)	正常脱皮(%)
1ℓ ボウル水槽群	0	72.2	73.3	63.6	66.7	100
	1	16.7	20.0	100	16.7	100
	2	5.6	6.7	100	16.7	100
	3	5.6	0	0	0	0
小計	欠損本数/尾	0.44		73.3		100
5ℓ ボウル水槽群	0	75.0	75.0	22.2	71.4	40.0
	1	25.0	25.0	33.3	28.6	50.0
小計	欠損本数/尾	0.25		25.0		42.9
40ℓ ボウル水槽群	0	36.4	34.7	47.1	31.3	60.0
	1	29.1	32.7	75.0	34.4	90.9
	2	16.4	16.3	62.5	18.8	83.3
	3	18.2	16.3	62.5	15.6	80.0
小計	欠損本数/尾	1.16		61.2		78.1
回転水槽群	0	36.2	34.1	80.0	30.3	80.0
	1	27.7	29.5	84.6	33.3	90.9
	2	19.1	20.5	66.7	24.2	62.5
	3	10.6	9.1	100	6.1	100
4	6.4	6.8	33.3	6.1	50.0	
小計	欠損本数/尾	1.23		77.3		78.8
合計	0	44.7	43.3	55.8	37.2	69.0
	1	26.5	29.2	77.1	32.1	88.0
	2	14.4	15.0	66.7	19.2	73.3
	3	12.1	10.0	75.0	9.0	85.7
4	2.3	2.5	33.3	2.6	50.0	
小計	欠損本数/尾	1.01		65.0		76.9

ヒラメ量産飼育における無眼側体色異常防除の取り組みについて

渡辺 税, 中川 亨, 村上直人, 竹内宏行
(宮津栽培漁業センター)

これまで小型水槽を用いた飼育試験において、配合飼料を全長12mm以降に給餌することで、ヒラメ無眼側体色異常(黒化)防除に効果のある可能性が示唆されている。そこで今回、量産飼育において上記防除方法の実証試験を行った。また、あわせて有眼側体色異常(白化)と脊椎骨の異常について観察した。

材料と方法

50kl水槽2面にそれぞれ約100~110万尾のふ化仔魚を収容し、2月21日(1回次)と3月1日(2回次)に飼育を開始した。両水槽とも平均全長8mm(Eステージ)で分槽を行い、それぞれ配合飼料を全長9mm(Fステージ)と12mm(Gステージ)から給餌する試験区(前者:9mm区,後者12mm区)を設けた。供試魚はすべて、全長20mmサイズでいったん取り揚げ、有眼側(白化)、無眼側(黒化)の体色異常及び脊椎骨異常個体の出現状況を調査した。また、各試験区の種苗500尾を無作為に抽出後、0.5kl水槽で継続飼育を行い、40mmサイズで無眼側体色異常の出現状況を比較検討した。なお、1回次では飼育水に水質改善材(FFCセラミック:株エフエフシーシージャパン製)を使用した。

1,2回次とも飼育水にはナンノクロロプシスを連続的に添加し、ワムシ給餌期間中の濃度を50~100万細胞/mlになるように調整した。飼育水槽の底掃除は全長6mm頃から手作業で毎日行った。

ワムシは開口~全長12mmまで、アルテミアノープリウスは全長7mm~20mmまで給餌した。上記生物餌料の栄養強化は、前者がナンノクロロプシスで一次強化を行った後、マリングロス(1ℓ/kl:日清マリンテック製)およびプラスアクアラン(100g/kl:ピーエーエスエフジャパン製)で二次強化を、後者はバイオクロミス(200g/kl:太平洋貿易製)単独で行った。配合飼料はおとひめシリーズ(日清飼料製)とアンブ

ローズシリーズ(日本配合飼料製)を使用した。

疾病対策として卵消毒(ヨー素剤有効濃度50ppm)および使用水槽と飼育資材の消毒(pH12液,次亜塩素酸ナトリウム50ppm),生物餌料の薬浴(ニフルスチレン酸ナトリウム有効濃度2ppm,2時間),給餌前における生物餌料の紫外線殺菌る過海水洗浄,飼育棟出入り口での長靴の消毒(次亜塩素酸ナトリウム50ppm)を徹底した。

白化および黒化魚の出現,脊椎骨の異常状況を観察するため、平均全長20mmと40mmサイズでそれぞれサンプリングし、10%中性ホルマリンで固定後、保存した。黒化魚の出現状況は20mm,40mmのサンプル100個体の無眼側をスキャンニングし、画像を福永¹⁾の分類パターンで区分・判定した。白化魚の出現状況は20mmのサンプルについて行い、約200尾を実体顕微鏡で観察した。さらに、20mmのサンプルでは軟X線撮影により脊椎骨の異常状況を調査した。

上記の結果は、観察尾数に対するそれぞれの出現率を算出し、飼育回次及び試験区間で比較検討を行った。

結果と考察

1,2回次とも飼育は順調に推移し、全長20mmサイズの種苗を前者で76万尾,後者で65万尾取り揚げた(合計141.0万尾)。生残率はそれぞれ69.7%,65.0%であった(表1)。

黒化の出現状況は、9mm区においても進行せず、正常魚の出現率(正常率)は12mm区よりもむしろ高かった(表2)。今回、仔魚の配合飼料に対する餌付きの良否は、1回次が2回次に比べて若干劣っていた。その影響からか9mm区の正常率は1回次81.0%,2回次95.0%,12mm区では62.0%,80.0%といずれも1回次の方が悪かった。

全長20mmサイズから全長40mmサイズ(平均全長46~47mm)までの継続飼育は22日間行い、期間中の生

表1 ヒラメ種苗生産結果の概要

生産区分	収 容			分 槽			取 り 揚 げ					
	水槽(kl)	月 日	尾数(万尾)	月 日	飼育日数	平均全長(mm)	月 日	飼育日数	尾数(万尾)	平均全長(mm)	生残率(%)	
1回次	50	2003. 2.21	110	2003. 3.12	19	8.8	2003. 4.14~	21	53~60	76.7	25.2~28.7	69.7
2回次	50	2003. 3. 1	100	2003. 3.19	18	8.4	2003. 4.23~	5. 2	53~60	65.0	23.0~30.6	65.0

残率はすべて95%以上と高率であった。黒化の出現状況はすべての試験区において20mmサイズの時点よりも進行したが、全般に軽微なものが多数を占めた(表3)。1, 2回次における脊椎骨異常率は, 9mm区でそれぞれ5.0%および10.0%, 12mm区で7.0%および8.0%であった(表4)。白化率は, 全般的に低く1, 2回次の9mm区でそれぞれ2.4%および2.9%, 12mm区で3.1%および4.6%となったが, 後者でやや高い傾向が見られた(表4)。

今回, 1回次の試験区に水質改善材としてセラミックス濾材(FFCセラミックス: (株)エフエフシージャ

パン製)を使用した。その結果, 成長, 生残等に大差はなかったが, 40mmサイズの無眼側体色異常の出現状況は, 2回次よりも1回次の方が明らか低く, 今後の検討課題として興味ある結果が得られた。

文 献

- 1) 福永辰廣: ヒラメの無眼側体色異常防除技術開発の現状・平成10年度栽培漁業技術研修事業基礎理論コース資料

表2 20mmサイズにおける無眼側体色異常の出現状況

回次	内 容	平均全長 (mm)	無眼側体色異常の出現率(%)				A (縁側)					C (%)			D (%)		
			正常	黒≤1/2	黒>1/2	黒化	正常	±	+	++	+++	1	2	3	1	2	
1-1	12mm配合給餌	25.3	62.0	38.0	0	0	62.0	37.0	1.0	0	0	0	0	0	0	0	0
1-2	9mm配合給餌	25.9	81.0	19.0	0	0	81.0	19.0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2-1	12mm配合給餌	28.6	80.0	20.0	0	0	80.0	16.0	1.0	0	0	0	0	7.0	0	1.0	
2-2	9mm配合給餌	28.7	95.0	5.0	0	0	95.0	2.0	0	2.0	0	0	0	2.0	0	0	

表3 40mmサイズにおける無眼側体色異常の出現状況

回次	内 容	20mm以降の飼育	平均全長 (mm)	無眼側体色異常の出現率(%)				A (縁側)					C (%)			D (%)	
				正常	黒≤1/2	黒>1/2	黒化	正常	±	+	++	+++	1	2	3	1	2
1-1	12mm配合	FFC有	46.6	66.0	34.0	0	0	66.0	12.0	10.0	0	0	6.0	2.0	7.0	0	0
1-1	12mm配合	FFC無	47.6	61.0	39.0	0	0	61.0	18.0	5.0	0	0	2.0	1.0	3.0	0	0
1-2	9mm配合	FFC有	47.8	65.0	35.0	0	0	65.0	24.0	2.0	0	0	3.0	3.0	21.0	2.0	1.0
1-2	9mm配合	FFC無	46.9	58.0	41.0	1.0	0	58.0	25.0	3.0	1.0	0	3.0	1.0	28.0	0	0
2-1	12mm配合	FFC有	46.3	42.0	58.0	0	0	42.0	31.0	6.0	0	0	1.0	1.0	36.0	0	2.0
2-1	12mm配合	FFC無	45.3	48.0	52.0	0	0	48.0	23.0	6.0	0	0	5.0	3.0	37.0	0	4.0
2-2	9mm配合	FFC有	46.8	52.0	46.0	2.0	0	52.0	14.0	6.0	2.0	0	2.0	0	43.0	0	11.0
2-2	9mm配合	FFC無	46.8	40.0	58.0	2.0	0	40.0	27.0	5.0	1.0	0	7.0	2.0	52.0	2.0	22.0

表4 20mmサイズにおける椎骨異常および白化魚の出現率

生産区分	試験区	観察尾数	脊椎骨異常 (%)				合計	白化率 (%)
			癒合	屈曲	癒合+屈曲			
1回次	9mm配合給餌	100	0.0	7.0	0.0	7.0	2.4	
	12mm配合給餌	100	4.0	1.0	0.0	5.0	3.1	
2回次	9mm配合給餌	100	4.0	3.0	1.0	8.0	2.9	
	12mm配合給餌	100	8.0	2.0	0.0	10.0	4.6	

キジハタの初期飼育における貝化石の添加効果

津村誠一^{*1}, 高野正嗣^{*1}, 小畑泰弘^{*1}, 與世田兼三^{*2}

(^{*1} 玉野栽培漁業センター, ^{*2} 八重山栽培漁業センター)

キジハタ *Epinephelus akaara* は栽培漁業対象種として期待されている魚種である。本種の種苗生産技術開発は1965年に伯方島栽培漁業センターで人工授精によって受精卵を得ることから始まり¹⁾, その技術開発は一時中断したものの1976年から再開され, 1989年に40万尾の種苗生産に成功した²⁾。しかしその後の種苗生産は不安定で, 生産尾数も低迷している。これは日齢10までの生残率が著しく低く, 摂餌開始時期の生物餌料のサイズや密度, 照度, 水流, 水温などの飼育環境条件の許容幅が小さいためと考えられている。

キジハタと同じマハタ科のクエ *Epinephelus bruneus* の仔魚も環境変化に弱く, 飼育海水の換水による水質変化が減耗要因の1つとして考えられた。クエにおいては水質の急変をさけるために注水量を抑制すると, 有毒なアンモニアが飼育海水中に増加するため, 硝化細菌を着床させアンモニアを減少させることのできる貝化石を飼育水に添加するという発想から貝化石の利用が始まった³⁾。近年ではクエ以外にも, いろいろな魚種で貝化石添加による種苗生産が試みられているが, キジハタについてはまだ一部しか使用されていないため⁴⁾, キジハタの初期飼育(日齢10まで)における貝化石添加の効果について検討した。

材料と方法

玉野栽培漁業センターの60kl水槽6面を使用し, 貝化石添加区を3面, 貝化石無添加区を3面設け試験を行った(表1)。試験には玉野栽培漁業センターで自然産卵によって得たキジハタの受精卵を5,000~1万粒/klを目安に収容した。卵収容からふ化までは自然水温とし, ふ化後から開口まで水温を徐々に上げ, 開口時に26℃になるように調節した。開口前日の日齢2にS型ワムシタイ株を10~20個体/mlになるように給餌し, 市販の濃縮クロレラ(スーパー生クロレラV12, クロレラ工業製)を1.0~1.7ℓ/日を7~8時と16~17時に滴下した。貝化石添加区では貝化石(フィッシュグリーン, グリーン・カルチャ製)20g/kl/日を7~8時と16~17時ごろの2回に分けて水槽の中央から投入した。水底から約30cm上の壁面に固定した1.5mのユニホースパイプから通気を行い, 緩やかな水流を起こした(図1)。水槽中央にはエアーストーン1個を設置し酸素通気を行った。白色のポリエステル長織

維不織布(スーパーラプシート20507FXZ, ユニチカ製)の遮光幕で水槽上屋の天井部, 側面を遮光した。なお荒天時は天井の遮光幕を一部開いた。日齢10までは水槽の水量を60klとし, 止水で飼育した。水質(水温, 溶存酸素, pH, アンモニア態窒素濃度, 硫化物)を7時と15時に測定し, 同時に仔魚のワムシ摂餌数を計数し, 9時と15時に採集した20尾について全長を測定した。日齢0, 3, 5, 7, 10の夜間に直径50mmの塩ビパイプによって水槽の4カ所から約20ℓを採水して仔魚を計数し, 水槽内の生残尾数を推定した。

表1 試験区と試験期間

試験区	試験期間(月.日)	試験日数
貝化石添加区1	6.27~8.8	41
	6.30~8.11	41
	7.21~8.2	10
貝化石無添加区1	6.24~8.4	40
	7.7~8.18	41
	7.26~8.8	10

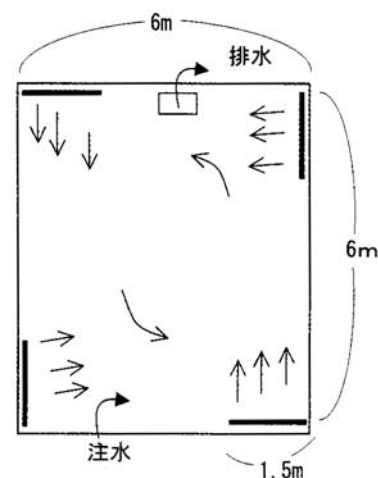


図1 上から見た60kl水槽におけるユニホースの配置と水流。——はユニホースを表す。矢印は水流の方向を表す。

結果と考察

試験結果の概要を表2と表3に示した。両区の飼育海水中のアンモニア態窒素濃度は徐々に増加し, 貝化石添加区では日齢10では2mg/ℓ以上になった(図2)。両区のpHは7.9から7.0へ徐々に低下した(図

3) 硫化物は両区とも0.005mg/ℓ以下でほとんど変化しなかった。両区の子魚のワムシ摂餌数は成長と共に急増し、9時よりも15時の方がより多く摂餌していることが示された(図4)。両区のワムシ摂餌数は日齢によっては若干の差が見られたが、期間を通して差はほとんど認められなかった。日齢10の推定生残率及び全長についても差は認められなかった(図5, 6)。

貝化石を添加した区では貝化石を摂餌している個体が見られたが、貝化石添加区の生残率の急減、成長の停滞などの悪影響があったことは特に示されなかった。以上の結果から、日齢10までの60ℓ水槽におけるキジハタの種苗生産では貝化石の添加効果は明確に示されなかった。

クエの飼育試験では貝化石の添加により生残率の向

表2 キジハタ種苗生産試験結果の概要

試験区	収 容		ふ 化			取 り 揚 げ				
	月 日	卵数 (万粒)	月日	尾数 (万尾)	ふ化率 (%)	月 日	飼育 日数	尾数 (尾)	平均全長 (mm、範囲)	生残率 (%)
貝化石添加区1	2003. 6.27	47.0	6.28	20.5	43.6	2003. 8. 8	41	25,363	29.4 (19.3-37.6)	12.4
	2003. 6.30	51.0	7. 1	29.7	58.2	2003. 8.11	41	41,557	25.0 (16.8-36.3)	14.0
	2003. 7.21	44.9	7.22	15.2	33.9	—	10	—	—	—
貝化石無添加区1	2003. 6.24	92.6	6.25	21.5	23.2	2003. 8. 4	40	45,084	20.6 (11.8-30.2)	21.0
	2003. 7. 7	49.8	7. 8	24.5	49.2	2003. 8.18	41	25,434	25.2 (15.2-33.5)	10.4
	2003. 7.26	42.7	7.26	16.6	38.9	—	10	—	—	—

各試験区の3は日齢10で飼育を中止した。

表3 飼育環境測定結果の概要

項 目	貝化石添加区	貝化石無添加区
水温 (°C)	25.8±0.164 (23.3~27.0)	25.7±0.574 (23.6~27.1)
溶存酸素濃度 (%)	89.0±5.06 (77.5~103.5)	90.5± 4.20 (75.0~103.5)
pH	7.5±0.04 (7.0~7.9)	7.5±0.95 (7.0~7.9)
アンモニア態窒素濃度 (mg/ℓ)	0.93±0.62 (0.1~2.2)	0.61±0.38 (0.0~1.1)
硫化物 (mg/ℓ)	0.005±0.004 (0.000~0.013)	0.004±0.003 (0.001~0.008)
照度 (lx)	2,486±311 (514~5,056)	2,352±294 (711~5,195)

各値は平均値±標準偏差(最小~最大)を示す。

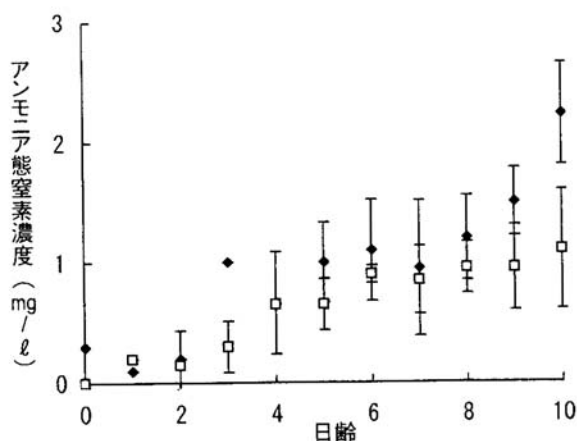


図2 貝化石添加区と無添加区のアンモニア態窒素濃度の変化
各点は3試験の平均値を、縦棒は標準偏差を示している。
◆貝化石添加区, □無添加区

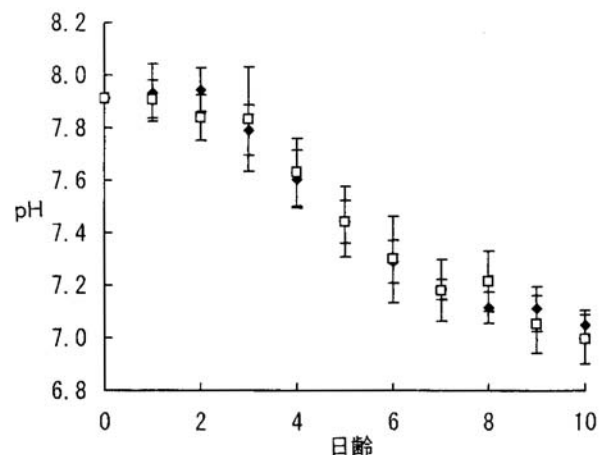


図3 貝化石添加区と無添加区のpHの変化
各点は3試験の平均値を、縦棒は標準偏差を示している。
◆貝化石添加区, □無添加区

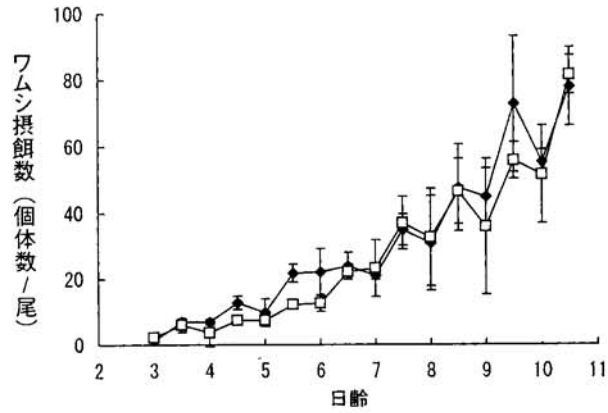


図4 ワムシ摂餌数の比較
各点は3試験の平均値を、縦棒は標準偏差を示している。
◆貝化石添加区, □無添加区

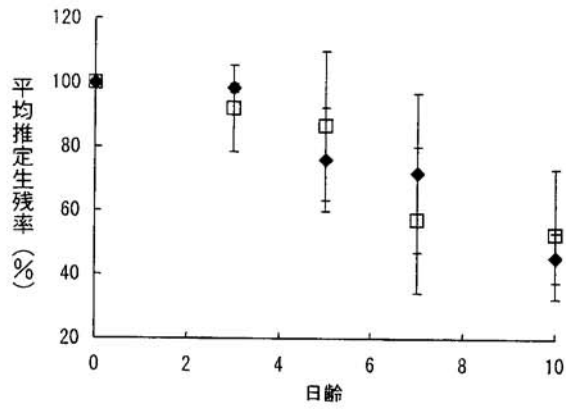


図5 平均推定生存率の比較
各点は3試験の平均値を、縦棒は標準偏差を示している。
◆貝化石添加区, □無添加区

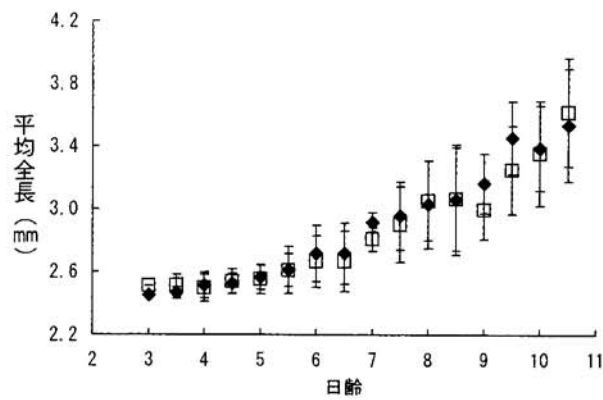


図6 成長の比較
各点は3試験の平均値を、縦棒は標準偏差を示している。
◆貝化石添加区, □無添加区

上が認められている^{5,6)}。また、貝化石の硝化作用促進効果も認められているが、日齢10までの初期飼育においてはアンモニア態窒素、亜硝酸態窒素、硝酸態窒素の濃度に差はなく、貝化石の添加による初期生残率の向上の原因については明らかになっていない⁷⁾。また60~90ℓ水槽でのクエの種苗生産においても貝化石添加の有無によって日齢10までの生残状況に差はなかった⁸⁾ことなど、初期飼育における貝化石の添加効果については明確に示されていない。

今回の飼育試験の結果から日齢10までの貝化石の添加効果はほとんどなく、キジハタでは日齢10まで止水によって貝化石の添加の有無に関わらず比較的安定して飼育できることが明らかになったことから、日齢10までの貝化石の添加はコストや手間から特に添加する必要はないものと考えられた。しかし日齢10以降の効果については飼育海中へ添加された貝化石は底に堆積した沈殿物を覆い、注水や底掃除によって沈殿物が舞上がり飼育環境が急変することを防止する効果があるものと考えられ、その効果を今後明らかにする必要がある。

文 献

1) 鶴川政雄・樋口正毅・水戸敏(1966)キジハタの産

卵習性と初期生活史, 魚雑, 13, 156-161.

- 2) 福永恭平・野上欣也・吉田儀弘・浜崎活幸・丸山敬悟(1990)玉野事業場における最近のキジハタ種苗生産量の増大と問題点, 栽培技研, 19, 33-40.
- 3) 照屋和久(2002)クエ種苗生産の初期減耗対策, 養殖, 2, 66-69.
- 4) 津村誠一(2003)地域型底層性魚類の種苗生産技術開発(キジハタ), 日本栽培漁業協会事業年報(平成14年度), 189-193.
- 5) 小金隆之(1998),新しい栽培漁業種として期待される魚類,クエ,日本栽培漁業協会事業年報(平成8年度), 193-194.
- 6) 小金隆之(1999)新しい栽培漁業種として期待される魚類,クエ,日本栽培漁業協会事業年報(平成9年度), 186-188.
- 7) 小金隆之(2000)新しい栽培漁業種として期待される魚類,クエ,日本栽培漁業協会事業年報(平成10年度), 193-194.
- 8) 照屋和久(2003)暖海性魚類の種苗生産技術開発,クエの種苗生産試験,日本栽培漁業協会事業年報(平成14年度), 320-321.

育成仔魚の無給餌によるサワラの種苗生産

山崎英樹*¹, 奥村重信*¹, 鴨志田正晃*², 山本義久*¹
 (*¹ 屋島栽培漁業センター, *² 栽培漁業部)

瀬戸内海におけるサワラ漁獲量は1986年の6,255トン进行ピークに減少し始め, 1998年には196トンとなった。そのため, 2001年にはサワラ瀬戸内海系群資源回復計画が作成され, 資源の積極的な培養措置として種苗放流の必要性が盛り込まれた。これを受け, 近年関係各府県では本種の種苗生産への取り組みが本格化しつつある。

屋島栽培漁業センターでは1998年からサワラの種苗生産技術を開始したが, 全長30mm以降に起こる大量減耗が大きな問題となっていた。そこで, 1999年から上記の課題に取り組み, 全長30mm以降の大量死亡の原因が冷凍カタクチイワシシラスの単独給餌によるビタミンB₁(以下, VB₁)欠乏症であることを明らかにした。また, 飼育現場で行う防止対策として取り揚げ直前までふ化仔魚や育成仔魚の生餌を併用給餌する技術を開発し, 2002年には18.4万尾の種苗を生産している。しかし, 現状の飼育技術では大量のふ化仔魚と育成仔魚の生物餌料を必要としており, これらを削減した量産技術の開発が課題として残されている。

そこで, 本報では育成仔魚給餌の削減を前提に, 給

餌の有無による成長と生残への影響を検討した。また, 餌料と生産した種苗のVB₁含量を測定し, 育成仔魚の給餌効果を栄養面から明らかにした。

材料と方法

飼育試験の設定条件

試験区は, 育成仔魚給餌区(従来同様, ふ化仔魚, 育成仔魚及びイカナゴシラスを与え飼育した区)と育成仔魚無給餌区(前者から育成仔魚を省いて飼育した区)を設けた(図1)。

採卵とふ化

試験には2003年5月15日に香川県有船の(小豆島北部海域)サワラ流し網で漁獲された, 雌2尾(魚体重6.0, 10.6kg)と複数の雄を用いて人工授精した受精卵を用いた。これらの受精卵から5月20日に56.9万尾(平均ふ化率86.5%)のふ化仔魚を得, 46.8万尾を試験に供した。

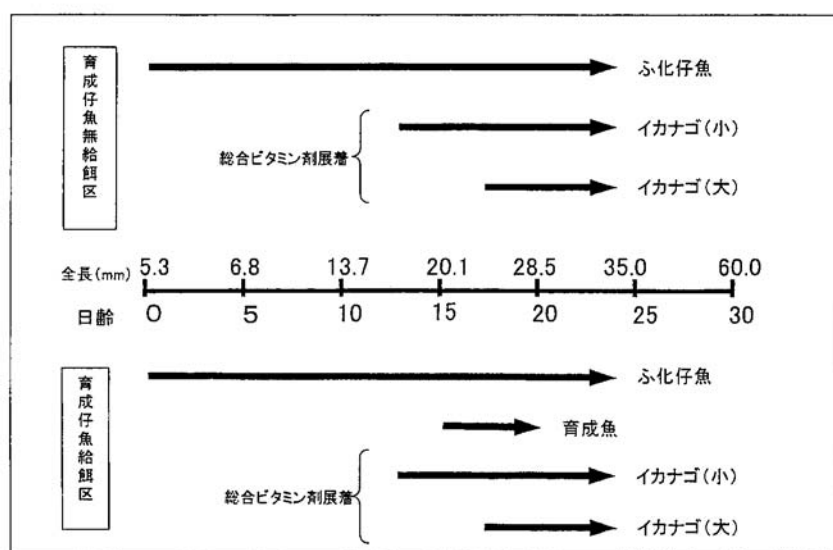


図1 サワラの成長と餌料系列

収容

育成仔魚無給餌区は、ふ化後0日目にALC浸漬による標識を施した。収容は翌日の2003年5月21日にALC浸漬水槽から飼育水槽(150kℓ水槽)に直径50mmのホースを用いサイホン方式で23.8万尾を直接収容した。収容尾数は、ALC浸漬により約2.4万尾が死亡したため21.4万とした。育成仔魚給餌区は、ふ化後0日目(2003年5月20日)にふ化管理水槽から直接飼育水槽(150kℓ水槽)へ23.0万尾を収容した。試験に使用したふ化仔魚の平均全長は5.30mm(5.0~5.6mm)であった。

飼育管理

両区とも、ふ化仔魚収容時は自然水温(17℃)とし、収容後は1日に1℃の割合で昇温させて飼育水温を20~21℃に調温した。飼育水はろ過海水を用い、換水率は収容当初の0.2回転/日から最大4.0回転/日まで増加した。

給餌した各餌料の給餌期間を図1に、各給餌量を表1に示した。マダイ、クロダイ、ヒラメのふ化仔魚は両区とも収容から取り揚げまで給餌した。また、日齢13からは-25℃で凍結したイカナゴシラスを解凍して与えた。イカナゴの摂餌が活発になった後は、順次大型のイカナゴシラスに切り替えるとともに、日齢18から総合ビタミン剤(アクアベース:日清製粉㈱)をイカナゴシラスに4~5%添着して給餌した。サワラ稚魚は、全長50mm頃まで解凍したイカナゴシラスを積極的に摂餌しないため、給餌はほぼ一日中連続して行った。マダイ、ヒラメの育成仔魚は育成仔魚給餌区のみ、日齢16~20日の間与えた。

試験終了時には水槽の水位を80cmまで減じ、巻き網でサワラ種苗を囲んだ後、フィッシュポンプと魚数計を用いて全数計数の上、取り揚げた。

飼育した仔稚魚の全長は、収容から取り揚げまでほぼ5日おきに万能投影機で30尾を目安に測定した。

VB₁の分析

餌料に用いたイカナゴシラス(100g)、マダイふ化仔魚(50g)、育成仔魚(50g)及び取り揚げ日の早朝にサワラ種苗(各区100尾)を-80℃で冷凍保存し、VB₁含量の分析に供した。なお、これらのサンプルの分析は財団法人日本冷凍食品検査協会に依頼して、高速液体クロマトグラフを用いたODS系カラムとメタノール-0.01mol/ℓリン酸二水素ナトリウム0.15mol/ℓ過塩素酸ナトリウム混液による分離とポストカラムでのフェリシアン化カリウムとの反応による蛍光検出法により行った。

結 果

取り揚げ結果

サワラ仔稚魚への給餌の概要を表1に、飼育結果の概要を表2に示した。育成仔魚無給餌区は、6月13日(日齢23)に取り揚げた。取り揚げた種苗の平均全長は36.4mm(27.5~46.4mm)、尾数は9.5万尾(生残率44.4%)であった。育成仔魚給餌区は、6月12、13日(日齢23、24)の二日にかけて取り揚げた。取り揚げた種苗の平均全長は35.3mm(26.6~49.2mm)、尾数は11.1万尾(生残率48.0%)であった。両区が生残率はほぼ同様であった。

表1 使用した餌料と給餌量

餌料の種類	育成仔魚	
	無給餌区	給餌区
シオミズツボムシ(億個体)	311.3	307.3
ふ化仔魚(億尾)	2.6	2.6
マダイ受精卵(kg)	24.6	19.4
育成魚	マダイ(万尾)	—
	ヒラメ(万尾)	—
イカナゴ	小(kg)	170.0
	大(kg)	189.0

*:シオミズツボムシは飼育水槽内のマダイ等の育成仔魚の餌料として使用

表2 サワラの種苗生産結果の概要

生産区分	収容		飼育			取り揚げ			
	月 日	尾数 (万尾)	密度 (尾/kℓ)	水温 (℃)	飼育 日数	月 日	尾数 (万尾)	平均全長(範囲) (mm)	生残率 (%)
育成仔魚無給餌区	2003. 5.21	21.4*	1.427	17.0-21.5	23	2003. 6.13	9.5	36.4 (27.5-46.4)	44.4
育成仔魚給餌区	2003. 5.20	23.0	1.533	17.0-21.1	23, 24	2003. 6.12,13	11.1	35.3 (26.6-49.2)	48.3

*:ふ化仔魚ALC装着作業の影響により収容後10%減耗した尾数(実収容尾数23.8万尾)

成長

育成仔魚無給餌区と育成仔魚給餌区の成長を図2に示した。両区の成長に大きな差はみられず、摂餌の確認できた日齢5で全長6.8~6.9mm、育成仔魚給餌区に育成魚を給餌する前日の日齢15で20.1~20.7mm、育成仔魚の給餌を終了した日齢20で28.2~28.5mm、取り揚げを始めた日齢23で34.9mm~36.4mmとなった。

VB₁含量

取り揚げたサワラ種苗と使用した餌料のVB₁含量を表3に示した。サワラ種苗のVB₁含量は育成仔魚無給餌区で0.24mg/100g、育成仔魚給餌区で0.25mg/100gと両区の差は0.01mg/100gとほとんど差がなかった。生物餌料中のVB₁含量はマダイふ化仔魚で0.06mg/100g、育成仔魚は0.24~0.26mg/100gであった。また、イカナゴシラスのVB₁含量は、餌付けに使用した小型のもの含量が0.09~0.11mg/100g、大型のものが0.19mg/100gであった。

考 察

今回の結果、育成仔魚の給餌の有無によるサワラの成長と生残はほぼ同様であった。また、取り揚げた両区のVB₁含量も育成仔魚無給餌区で0.24mg/100g、育

成仔魚給餌区で0.25mg/100gと大きな差はなかった。1999年~2002年のサワラ飼育試験で健全な状態で取り揚げたサワラ稚魚のVB₁含量は、0.16~0.21mg/100gの範囲であり、本年度の結果はこれを上回るものであった。しかし、サワラに給餌したマダイふ化仔魚、育成仔魚、イカナゴシラス小及びイカナゴシラス大のVB₁含量はそれぞれ0.06、0.24~0.26、0.09~0.11、0.19mg/100gであり、サワラ稚魚のVB₁含量を上回っているのは、育成仔魚のみであった。これらのことから、取り揚げたサワラ稚魚のVB₁含量はイカナゴシラスに添着した総合ビタミン剤が大きく影響していると推察される。

屋島栽培漁業センターでは、サワラ種苗生産に対応するためマダイ親魚の管理や育成仔魚の飼育に多大な労力と費用を費やしている。本飼育試験の結果からふ化仔魚を給餌しながら、総合ビタミン剤を添着したイカナゴシラスをサワラに与えれば、育成仔魚の給餌を必要ないことが明らかになった。サワラの種苗生産後期の6月上旬はマダイの産卵期の末期にあたり、サワラに給餌するふ化仔魚の確保に不足を生じる恐れがある。今後は更なる生物餌料の削減を目標に、イカナゴシラス餌付け期後半、育成仔魚だけでなくふ化仔魚の給餌を省いたサワラ種苗生産の量産化を検討することが重要となろう。

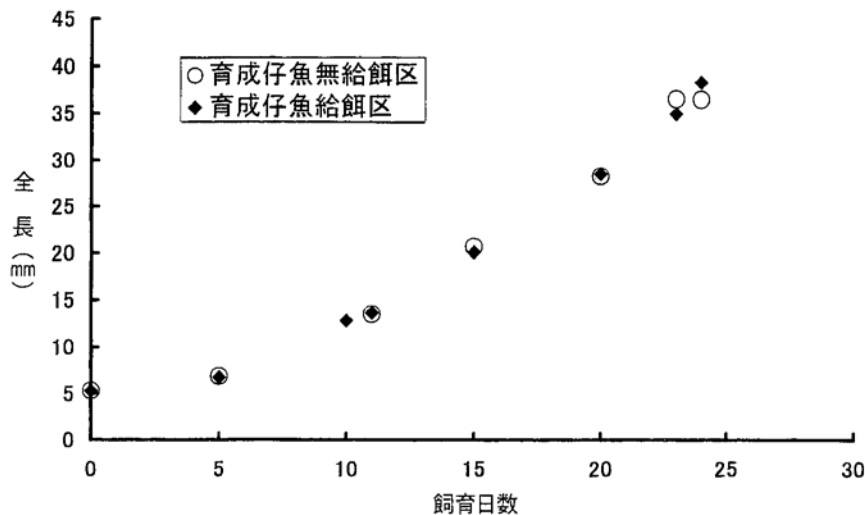


図2 サワラの種苗生産時における全長の推移

表3 サワラ種苗と使用した餌料のビタミン B₁含量

試料名	平均全長(mm)	ビタミン B ₁ 含量 (mg/100g)
サワラ種苗 育成魚無給餌区	36.4	0.24
サワラ種苗 育成魚給餌区	35.3	0.25
生物餌料 マダイふ化仔魚		0.06
マダイ育成仔魚	5.8	0.26
ヒラメ育成仔魚	8.4	0.24
冷凍餌料 イカナゴ小	25.5~27.7	0.09~0.11
イカナゴ大	30.7	0.19

貝化石添加によるクエ種苗生産手法の有効性について

本藤 靖*1, 照屋和久*2, 高橋 誠*1

(*1 五島栽培漁業センター, *2 上浦栽培漁業センター)

飼育水への貝化石の添加がクエ仔魚の初期生残と水質環境（水温，pH，DO，照度，および硫化物等）に及ぼす影響を明らかにする目的で試験を行った。

材 料 と 方 法

飼育には60ℓコンクリート水槽を使用した。水槽への卵の収容は，5月10日（1回次）と5月25日（2回次）に行った。試験は，1回次，2回次とも飼育水に貝化石を添加する区(1-1, 2-1)としない区(1-2, 2-2)を設けた（表1）。試験に供した卵は，HCG処理した天然養成10歳魚（PCR陰性）から人工採卵したものである。得られた卵は，オキシダント海水（0.3ppm）で1分間消毒後飼育に用いた。

飼育水温は卵収容時に23℃とし，日齢3～6までに26℃へ昇温した。飼育には収容から取り揚げまでオゾン殺菌海水を用いた。通気は水槽四辺の角に2mのユニホースを1本ずつと，水槽の中央にエアーストーン1個を設置して行った。ユニホースの通気量は1回次が2ℓ/分/本，2回次が8ℓ/分/本で開始し，後者は日齢5より2ℓ/分/本に低下させた。また，両者とも日齢2ℓからは，6ℓ/分/本に調整した。エアーストーンの通気は1回次が微通気，2回次が2ℓ/分で行った。

飼育水には日齢2～50の間，定量ポンプを用いて，1日当り1.5ℓのスーパーV12（クロレラ工業製）を24時間連続的に添加した。貝化石は卵収容直前から毎日

3回（7：00，13：00および16：00），7g/ℓの割合で水槽全面に散布した。餌料にはワムシ，アルテミアノープリウスおよび市販の冷凍コペポダと配合飼料を用いた。ワムシはスーパーV12とマリングロス（日清マリンテック製）を併用して，アルテミアはA1クリーンセルコ（インベ社製）で栄養強化を施した。配合飼料および冷凍コペポダは日齢35から給餌した。

水面照度を確保する目的で，雨天時には500Wの投光機を1水槽に2～4個設置した。照度の測定は1日2回（7：00と14：00）行い，3定点（水槽両端と中央部）の水面上10cmで測定した。飼育水の換水は日齢10以降開始し，換水率は日齢10～20の10%から，日齢40～50の100%まで順次増加した。飼育環境の水温，pH，DOおよび照度は毎日7：00と14：00の2回，硫化物は5日間隔で測定した。

結 果 と 考 察

1回次は飼育ごく初期に仔魚が水槽底面へ沈降し，日齢3（開口）における1-1，1-2の生残率はそれぞれ46.3%および14.0%と急減した（図1）。仔魚が沈降したのは，通気量が弱く飼育水の攪拌が適切に行われなかったためと考えられた。その後，日齢13まで大きな減耗は認められなかったが，その直後再び死亡が増加し，日齢15の生残率は1-1が25.9%，1-2が8.0%となった。日齢52～53に1-1は全長22.9mmの種苗5.5万尾，1-2は24.2mmの種苗1.9万尾を取り揚げた（表1）。

表1 クエの種苗生産試験の概要

生産区分	貝化石の有無	飼育水槽 大きさ(ℓ)	収 容			取 り 揚 げ			備考		
			収容月日	尾数 (尾)	密度 (尾/ℓ)	飼育水温 (飼育水温(℃))	月日 (日齢)	尾数		平均全長 (mm)	生残率 (%)
1-1	添加	60	03.5.10	775,000	14,100	26	03.7.1 (52)	55,300	22.9(16.7~47.3)	7.1	
1-2	無添加	60	03.5.10	748,000	13,600	26	03.7.2 (53)	18,900	24.2(19.3~40.5)	2.5	
2-1	添加	60	03.5.25	465,000	8,400	26	03.6.24 (30)	9,200*1	13.6(8.5~17.7)	2.0*1	日齢30で飼育中止
2-2	無添加	60	03.5.25	420,000	7,600	26	03.6.24 (30)	2,800*1	15.8(13.7~18.4)	0.7*1	日齢30で飼育中止
				1523000*2				74,200*2		3.1*2	

*1 日齢30の数値

*2 1回次の値のみ使用

2 回次では仔魚の沈下を防止する目的で日齢 0～3 の通気量を増加した結果、日齢 3 における生残率は 2-1 が 84.9%，2-2 が 73.8% ときわめて良好であった。その後、日齢 11 の生残率は 2-1 が 45.2%，2-2 が 50.5% と比較的順調に推移したものの、日齢 13 には 1 回次同様、急激な減耗が生じ 14.2% と 8.7% まで低下した。この死亡はそれ以降も続いたため、日齢 30 で飼育を中止した（表 1）。

2 回行った飼育試験において最終的な生残率は、貝化石を添加した 1-1 および 2-1 が 7.1%，2.0%，無添加の 1-2 および 2-2 が 2.5%，0.7% といずれも前者の試験区で高かった（表 1，図 1）。一方、日齢 10 における平均全長を比較すると添加区の 1-1 および 2-1 が 3.5mm，4.0mm，無添加区の 1-2 および 2-2 が 3.6mm，4.1mm と試験区間で大きな差異は認められず、飼育回次による差が大きかった。

飼育水温は 1 回次の上昇がやや遅れ、26℃ に達したのが日齢 6 であった（図 2）。pH は両飼育回次とも日齢 5 までは 8 以上で、日齢 6 以降それを下回り 7.48～7.95 の範囲で推移した。DO は飼育開始時に 85～90% であったものが、日齢 5 より低下し、その後は 67.2～83.1% の範囲で推移した。pH，DO とともに通気量を高

めた 2 回次でやや高い傾向がみられた（図 2）。水面照度は、晴天時で最高約 4 万 lx に達した。照度の測定値は時間帯および天候、定点によって大きく異なり（図 2），14：00 の照度は 7：00 に比べ約 3 倍、14：00 の照度は通路側と中央で比較すると約 1.8 倍、建屋壁面側と中央を比較すると 2.7 倍中央が高くなった。仔魚の分布する水深は、日齢 4～5 頃から照度の高低により変動し、照度は仔魚の行動や摂餌状況に大きな影響を与えることが確認された。期間中、飼育水中の硫化物の濃度はいずれの水槽も 0.004mg/ℓ 以下とごく低い値であった（図 3）。上記の飼育環境の項目は、いずれも貝化石添加の有無で明瞭な差は認められなかった。

本年度行ったクエの飼育試験では飼育水へ貝化石を添加することにより生残率の向上が認められ、本手法の有効性が示唆された。しかし、今回調査した水質検査項目では、貝化石添加の有無による差はみられなかった。また今回、1 回次、2 回次とも日齢 13 以降減耗が生じており、いまだこの原因および対策は不明のままである。今後、クエの飼育初期における減耗を予防するためには、飼育水への貝化石添加による生残率向上の原因解明とともに通気量や流速等も含め、多面的に検討する必要がある。

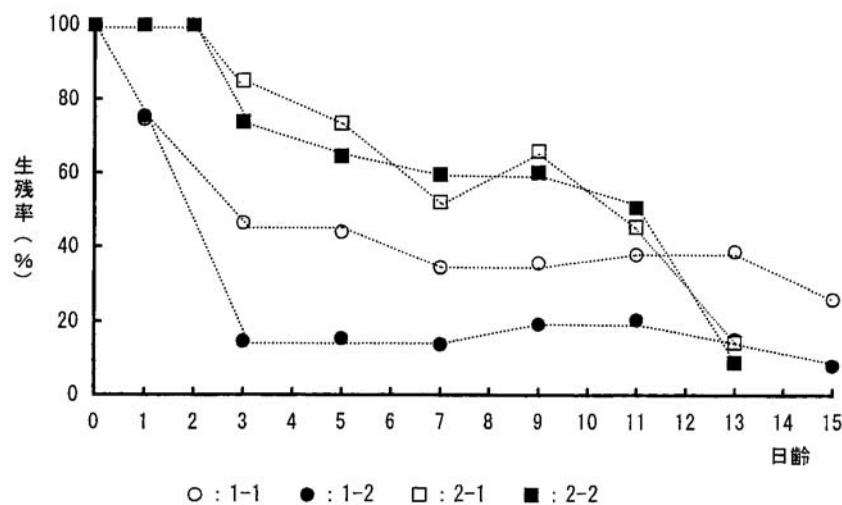


図 1 飼育試験における生残率の推移

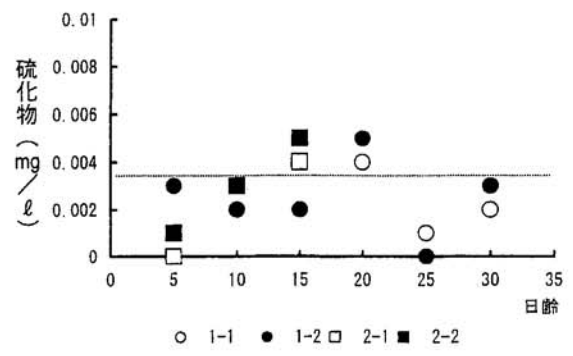
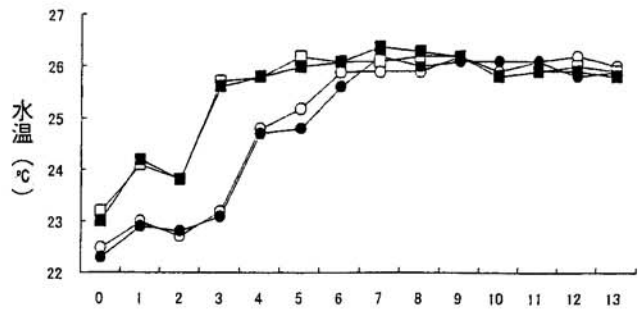


図3 各飼育試験における硫化物の推移

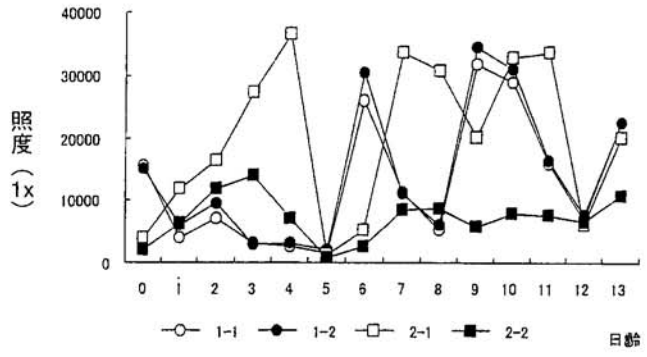
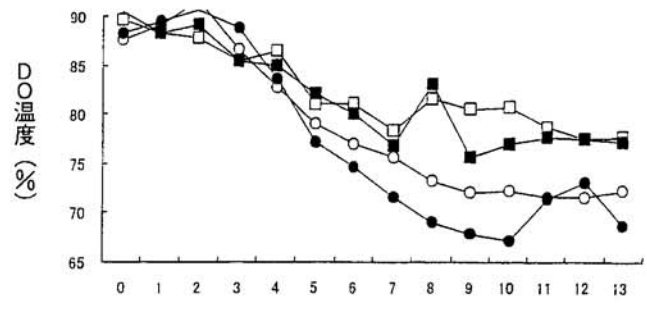
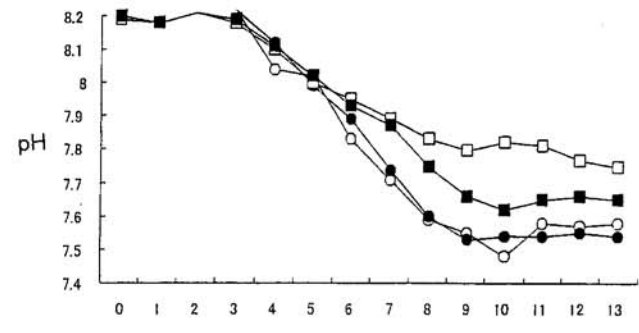


図2 各飼育試験における水温, pH, DO, 照度の推移

ハマフエフキ *Lethrinus nebulosus* 卵のふ化に及ぼす水温と塩分の影響

井手健太郎・手塚信弘・二階堂英城・武部孝行・升間主計
(奄美栽培漁業センター)

奄美栽培漁業センターでは、クロマグロ種苗生産技術開発において餌料系列の中の生物餌料の一つとしてハマフエフキ *Lethrinus nebulosus* のふ化仔魚を供給している。大量に安定的に本種のふ化仔魚を供給するため、採卵した受精卵を最適な条件で管理して正常にふ化させる必要がある。

本種に関して、陸上水槽内における自然産卵や卵発生と仔稚魚期の形態変化についての報告があるが^{1,2)}、ふ化に関する基礎的な研究報告はない。

そこで、今回は、ふ化管理条件を検討するため、本種の卵のふ化に及ぼす水温及び塩分の影響について検討した。以下にその結果を報告する。

材料と方法

ふ化適正水温の検討

2002年9月21日(1回目)および9月28日(2回目)に、陸上水槽(150kℓ角型コンクリート水槽)で養成中のハマフエフキ親魚から自然産卵により得られた浮上卵を実験に供した。採卵時の水温は、9月21日が26.9℃、28日が26.5℃であった。

水温は20℃、22℃、24℃、26℃、28℃、30℃、32℃および34℃の8段階に設定した。ふ化に使用した飼育水には、砂ろ過海水を紫外線で殺菌したものをを用いた。ふ化には6穴マルチウェルプレートを用い、各温度に設定された温度勾配恒温器(EYELA MTI-202B型)の恒温室内で静置させてふ化させた。1つのプレートの6穴に約8 mlの紫外線殺菌海水を満し、浮上卵約20~60粒を収容してふ化させた。収容時の受精卵の発生段階は2回とも4細胞期で、正常発生率は1回目が98.7%、2回目が100%であった。ふ化後に実体顕微鏡下で、各ウエルの死卵、奇形仔魚(体が曲がった仔魚、死亡仔魚等)及び正常仔魚(体が正常に伸びた仔魚)数を計数し、ふ化率(総仔魚数÷総卵数×100)、正常ふ化率(正常ふ化仔魚数÷総卵数×100)を求め、6ウエルの平均値を算出した。

ふ化に及ぼす水温と塩分の影響

2003年10月7日(1回目)と10月9日(2回目)に、自然産卵により得られた浮上卵を実験に供した。採卵時の水温は、10月7日が26.7℃、9日が26.4℃であった。水温24℃、26℃、28℃及び30℃の4段階、塩分25‰、30

‰、35‰、40‰、45‰及び50‰の6段階の組み合わせによる計24区を設定した。ふ化に使用した飼育水には、砂ろ過海水を紫外線で殺菌したものをを用いた。ふ化方法等は試験1に準じて行った。収容時の受精卵の発生段階は1回目が4~16細胞期で2回目が16~32細胞期であった。正常発生率は、1回目が96.3%、2回目が99.2%であった。

結 果

ふ化適正水温の検討

水温別の平均ふ化率、平均正常ふ化率を図1に示した。

2回のふ化実験で、ほぼ同様な結果が得られた。ふ化が認められた水温範囲は22~32℃で、20℃と34℃ではふ化しなかった。

ふ化率、正常ふ化率が最も高かったのは24~30℃の範囲で、この範囲の平均はふ化率が94.7~95.8%、正常ふ化率が90.7~95.0%であった。この結果から、本種のふ化最適水温は24~30℃と広い範囲にあることが推測された。

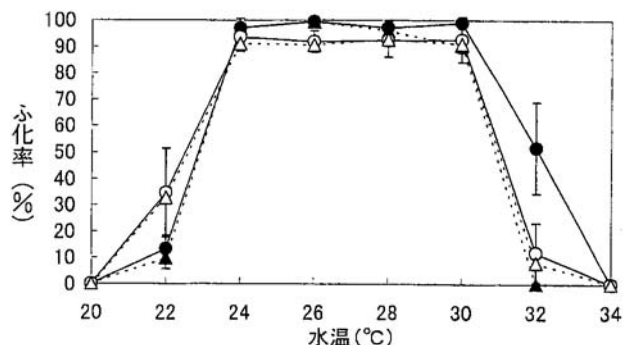


図1 ハマフエフキふ化最適水温試験結果

●—● 総ふ化率(1回目) ▲---▲ 正常ふ化率(1回目)
○—○ 総ふ化率(2回目) △---△ 正常ふ化率(2回目)
縦棒は平均値±標準偏差を示す

ふ化に及ぼす水温と塩分の影響

試験の結果を図2-1、2-2に示した。

2回の実験で水温30℃、塩分濃度25‰の組み合わせの区を除いた実験区でふ化が認められた。産卵時の環境と同じ35‰区では、24~30℃の水温範囲で正常ふ化

考 察

率が90%以上となり、試験1と同様な結果となった。岩井・柏木³⁾は、正常ふ化率50%以上の塩分濃度をふ化限界塩分と定義した。この定義に従うと本種のふ化限界塩分域は、図2-1と2-2から読み取ると、下限域では、いずれの水温でも約27.5‰、上限域では水温24℃で44.6‰、その他の水温では50‰以上が存在することが推測された。

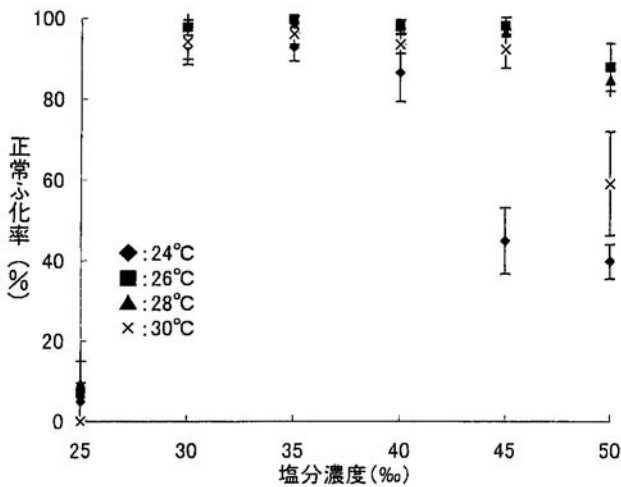


図2-1 ハマフエフキ卵の正常ふ化に及ぼす塩分と水温の影響
(平成15年10月7日実施分)
縦棒は平均値±標準偏差を示す

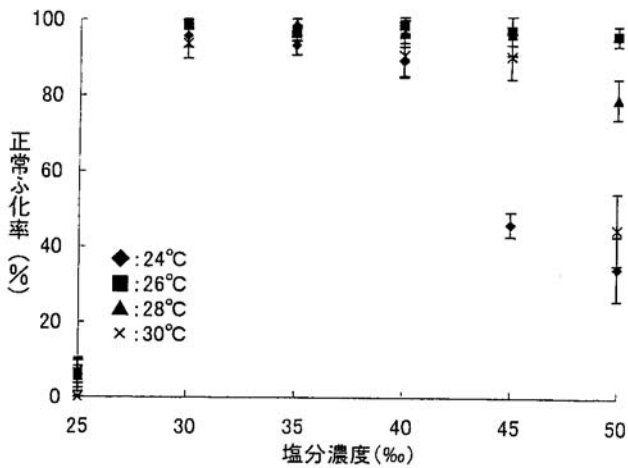


図2-2 ハマフエフキ卵の正常ふ化に及ぼす塩分と水温の影響
(平成15年10月9日実施分)
縦棒は平均値±標準偏差を示す

本研究でハマフエフキのふ化可能な水温は22～32℃でふ化適水温は24～30℃と推定された。ふ化限界水温について、岩井・柏木³⁾が50%正常ふ化率をふ化限界水温と定義してニシン *Clupea pallasai*, アマゴ *Oncorhynchus masoumacrostomus*, ニジマス, アユ *Plecoglossus altivelis*, マアジ *Trachurus japonicus*, イサキ, マダイ *Pagrus major*, イシガキダイ *Oplegnathus punctatus*, マダラ, ヒラメ, ムシガレイ属の *Eopsetta jordani*, カレイ科の *Parophrys vetulus* の12種類の魚卵のふ化限界水温を示している。このうちふ化限界水温範囲の最も広いのはアユの9.9～27.9℃(温度範囲18.0℃), 最も狭いのは *E. jordani* の5.8～8.0℃(温度範囲2.2℃)であった。また、シマアジ⁴⁾では産卵時塩分34.68‰で17.6～26.3℃(温度範囲8.7℃), 同様にクロマグロ⁵⁾で21.2～29.8℃(温度範囲8.6℃)の温度範囲において50%以上の正常ふ化率が得られたことも報告されている。ハマフエフキの場合、50%以上の正常ふ化率が得られた水温範囲は23～31℃(温度範囲8℃)と、上記の魚種の中で、中間的なグループに属していた。

ふ化最適水温は概ね産卵(受精)水温と一致するとされている³⁾。沖縄県石垣島において陸上施設で養成した本種の産卵では、水温22℃前後に上昇した頃に産卵が開始し、水温が20℃に下降すると終了し、その産卵期間中、水温上昇とは逆に産卵量は減少傾向になったものの、最高水温が30℃に達しても産卵が認められている²⁾。また、当センターにおいて2001年の産卵では29℃台でも産卵が継続していた⁶⁾。

このことから、本種のふ化最適水温も産卵水温とほぼ一致していることが示された。

海産魚では淡水魚に比べてふ化可能な塩分範囲が広く、特に高塩分側での限界は高く、自然界で存在しない高塩分下でも正常にふ化することが知られている⁷⁾。メダカ目の *Cyprinodon macularis* やアシロ科の *Enchelyopus cimbrius* は塩分70‰, ツノガレイ科の *Pleuronectes platessa*, ニシン目の *Clupea harengus*, タラ目の *Gadus callarius* は塩分が60‰, カレイ目の *Pleuronectes flesus* では塩分が50‰でも健全にふ化したと報告されている⁸⁾。また、シマアジ⁴⁾のふ化可能な塩分範囲は17.34～52.02, シロギス⁹⁾で23.3～54.8‰で、高塩分側に広いふ化範囲を示している。ハマフエフキでも、低塩分側の限界が27.5‰, 高塩分側の限界が、本種の生息域(約34～35‰)に存在しない50‰以上と推定され、低塩分側に比べて、高塩分側に広いふ化範囲を示す魚種であることがわかった。

外的環境要因は、それぞれが独自に作用するだけで

なく相互作用を示し、その最も顕著な事例が、水温と塩分の相互作用であることが知られている³⁾。ハマフエフキのふ化最適塩分は、水温24℃で30~40‰と最も狭く、26~28℃で30~50‰と最も広く、30℃で30~45‰の範囲にあり、水温により、ふ化最適塩分範囲が異なることが示された。この結果から、本種の卵は生息域の亜熱帯から熱帯の環境でのふ化に適応していることが示唆された。

以上の結果から、ハマフエフキは、産卵環境の範囲内で、特に水温・塩分制御などの必要もなく高いふ化率を得ることができる魚種であることが明らかとなり、種苗生産における餌料用ふ化仔魚を供給する魚種として適していることが示された。

文 献

- 1) 多和田真周 (1989) ハマフエフキの卵内発生と仔稚魚期の形態変化, 水産増殖, 37(2), 93-97.
- 2) 多和田真周 (1983) ハマフエフキの種苗生産に関する研究-I 大型水槽における自然産卵について, 水産増殖, 31(2), 60-66.
- 3) 岩井寿夫・柏木正章 (1989) 魚類の成熟, 発生, 成長とその制御 8. 発生とふ化管理. 「水産養殖学講座 4 水産繁殖学」(隆島史夫・羽生 功編), 緑書房, 東京, pp.195-237.
- 4) 村井 衛・川辺勝俊・隆島史夫 (1992) シマアジ卵の最適ふ化塩分および水温, 水産増殖 40(3), 261-268.
- 5) 宮下 盛・田中祐志・澤田好史・村田 修・服部 巨宏・滝井健二・向井良夫・熊井英水 (2000) : クロマグロ卵の発生とふ化に及ぼす水温の影響, 水産増殖, 48(2), 199-207.
- 6) 井手健太郎 (2003) : 生物餌料の培養技術の開発, 餌料用仔魚の確保, ハマフエフキの親養成と採卵技術の開発, 平成13年度日本栽培漁業協会事業年報, pp.458-459.
- 7) 塚本勝巳 (1989) 魚類の成熟, 発生, 成長とその制御 9. 仔稚魚の成長. 「水産養殖学講座 4 水産繁殖学」(隆島史夫・羽生 功編), 緑書房, 東京, pp.269-271.
- 8) HOLLIDAY, F.G.T (1969): The effects of salinity on the eggs and larvae of teleosts. In "Fish Physiology 1" (ed. By W.S.HOAR and D.J.RANDALL), Academic Press, New York/London, pp.293-311.
- 9) KASHIWAGI, M., S. KONDO, W. YOSHIDA, and M. YOSHIDA (2000): Effects of Temperature and Salinity on Hatching Success of Japanese whiting *Sillago japonica* Eggs

クロマグロ仔魚の成長過程と成長に伴う体成分の変化

手塚信弘，升間主計，武部孝行，二階堂英城，井手健太郎
(奄美栽培漁業センター)

奄美栽培漁業センターでは，栽培漁業等による資源の増大と安定化及び養殖用種苗の供給を目的として，1994年からクロマグロ *Thunnus thynnus orientalis* の種苗生産に関する技術開発を行ってきた。この中で，クロマグロに適した餌料系列の開発は基礎となる重要なものであり，これまでに，L型ワムシ^{*1}，ふ化仔魚，魚肉ミンチが適しており，特にふ化仔魚が必須であること²⁾を明らかにした。一方，L型ワムシ又はふ化仔魚の摂餌量からの摂取エネルギー量，およびクロマグロ仔魚の酸素消費量からの基礎代謝量を調べてクロマグロ仔魚のエネルギー収支を推定し，餌料の適正な変更時期等を明らかにした^{1),*2,*3}。

しかし，仔稚魚が消費するエネルギーの基質を明らかにし，栄養素の適正な含有量等を検討するためには，上記のクロマグロ仔魚のエネルギー収支を成長あるいは運動に消費されるエネルギー量等に分けて明らかにする必要がある。

ここでは，クロマグロ仔魚 1尾が含有するタンパク質又は脂質の測定系を用いて得た，主要なエネルギー源である蛋白質と脂質の挙動と仔魚の成長過程について報告する。

材料と方法

2003年7月7日と8日に生簀網で飼育した7歳魚から採卵した受精卵を，残留オキシダント濃度0.3～0.5mg/lを含む海水で1分間消毒し，200 lのアルテミアふ化槽でふ化させた。受精卵のふ化及び飼育試験には残留オキシダント濃度0.3mg/lで3分間消毒したオキシダント処理海水を用いた。

飼育試験には50kl水槽を用いた。飼育試験にはオキシダントで滅菌した後，活性炭でオキシダントを除去した海水（オキシダント処理海水）を用いた。水槽にオキシダント処理海水を45kl入れ，日齢1のふ化仔魚をサイホンを用いて収容し，飼育を開始した。オキシ

ダント処理海水の注水量を1kl/時間として，流水飼育を行った。排水用トレーナーの中に設置した水中ポンプで吸引した飼育水を，直径40mmのホースを用いて水槽底に設置した塩ビ製パイプ2本（約7.5cm間隔で直径1.5mmの穴，水槽中央部で直交）から吐出させ，水槽内に左回りで流速約1～2m/分の水流を発生させた。通気は水槽中央に設置した4個のエアーストーンによって行った。

仔稚魚には，日齢2～25までは冷凍ナンノクロロブシス *Nannochloropsis* sp. で栄養強化したワムシ *Brachionus plicatilis* を5個体/mlになるように1日に2～3回，日齢15頃からはハマフエフキ *Lethrinus nebulosus* のふ化仔魚を1日に1～5回，日齢20頃からは冷凍イカナゴ *Ammodytes personatus* の碎片を10～120分おきに給餌した。日齢3～30までは冷蔵した濃縮ナンノクロロブシス（マリンフレッシュ，メルシャン製）を50万細胞/mlになるように1日に2～3回添加した。

成長と体成分を調べるためのクロマグロ仔魚は，仔魚が水槽内に一様に分散している早朝（夜明け前）の5：00と夜間（日没約1.5時間後）の21：00に採取した。仔魚を採取する前に仔魚の消化管を顕微鏡で観察して消化管内に餌料がないことを確認した。仔魚の採取は直径50mmの塩化ビニール製のパイプを用いて行い，1回に50～100尾の仔魚を採取した。調査に十分な尾数が得られなかった時には水流に乗って漂ってくる仔魚をピーカーですくって採取した。調査は水槽内の全ての仔魚がワムシの摂餌を開始した飼育開始3日後（この時の仔魚は日齢3と日齢4）の21：00から，夜間に水面近くに集まり水槽内に一様に分布しなくなった飼育開始13日後（この時の仔魚は日齢13と日齢14）の21：00まで行った。採取した仔魚はすべて全長を測定した後，その内の5尾ずつを体重（湿重量及び乾燥重量），蛋白質及び脂質測定用とした。蛋白質と脂質測定用の仔魚は1尾ずつガラス製遠沈管に入れて-80℃

*1 手塚信弘・升間主計・小磯雅彦・山崎英樹・神保忠雄(1987)クロマグロ仔魚の飼育試験におけるL型ワムシの有効性。平成9年度日本水産学会春季大会講演要旨集，p110.

*2 手塚信弘・難波憲二・升間主計・小磯雅彦・鶴巻克巳・神保忠雄。(2000)クロマグロ仔魚のL型ワムシの摂餌量。平成12年度日本水産学会春季大会講演要旨集，p114.

*3 手塚信弘・難波憲二・升間主計・小磯雅彦・鶴巻克巳・神保忠雄。(2000)クロマグロ仔魚の代謝。平成12年度日本水産学会春季大会講演要旨集，p.115.

で測定まで凍結保存した。

重量測定用の仔魚は1尾ずつ重量既知のアルミホイルに包んだ後に精密電子上皿天秤(UMT2,メトラー製)で重量を測り,アルミホイルの重量を除いて湿重量とした。湿重量測定後のサンプルを60℃で48時間乾燥させた後に再度重量を測り,乾燥重量とした。全長と体重の昼間と夜間の変化を調べるために以下の式から成長速度(mm又はμg/時)を求めた。

$$\text{成長速度} = ((\text{ある調査時の値}) - (\text{前回の調査時の値})) / (\text{調査間隔, 時間})$$

仔魚の水分量は湿重量から乾燥重量を差し引いて求め,この値を仔魚の湿重量で除して水分含有率とした。

仔魚の蛋白質量は,仔魚を入れた遠沈管に30%水酸化カリウム溶液を0.1~0.5ml加えた後に60℃の温水中で溶解した。この液に四塩化炭素0.01~0.1mlを加え,撹拌した後,1mlの酒石酸カリウムナトリウム試薬(蒸留水930mlに10N-水酸化カリウム10ml,25%酒石酸カリウムナトリウム20ml,4%硫酸銅40mlを添加する)を加えた。これを10分間激しく振盪した後に,60分間静置し,分光光度計(U-2001,日立製)を用いて波長550nmで吸光度(Es)を測定した。

仔魚の脂質の抽出は,仔魚の入った遠沈管にメタノール:クロロフォルム混液(1:2 vol/vol)を0.1~0.5ml加えた後に,冷蔵庫で一晩静置して行った。これを60℃の温水中で乾固させた後,硫酸0.2mlを加えて溶解した。この溶解液を100℃の沸騰水中で10分間加熱した後,流水下で10分間冷却した。この液にリン酸バニリン試薬(80%リン酸1ℓにバニリン2gを溶かした)2.5mlを加え,60分間静置した後に分光光度計を用いて波長520nmで吸光度(Es)を測定した。

仔魚の蛋白質又は脂質を測定する際に,蛋白質の場合は標準血清(液状コントロール血清ワコーI,和光純薬製)を蒸留水で,脂質の場合はトリオレイン(和光純薬製)をメタノール=クロロフォルム混液で希釈

したものをスタンダードとしてサンプルと同時に測定した(E std)。これらの値を用いて以下の式からサンプルの蛋白質又は脂質の含有量(μg)を求めた。

$$\text{サンプルの含有量}(\mu\text{g}) = (\text{スタンダードの含有量}) \times E_s \div E_{\text{std}}$$

蛋白質と脂質を測定した仔魚の体重(湿重量,μg)は重量測定用の仔魚から得られた全長と体重の関係式を用いて算出した。この仔魚の体重で蛋白質量と脂質量を除いて含有率(%)を求めた。

仔魚の水分,蛋白質および脂質の含有率が昼間(5:00~21:00)と夜間(21:00~翌日の5:00)でどのように異なるか調べるために,以下の式から蓄積速度(%/時)を求めた。

$$\text{蓄積速度} = ((\text{ある調査時の値}) - (\text{前回の調査時の値})) / (\text{調査間隔, 時間})$$

結果と考察

調査開始からの経過時間と仔魚の平均全長(mm)の間には,5:00と21:00の値を含めて $y = 3.78e^{0.00296x}$ ($r=0.993, p<0.01$) で示される関係が,経過時間と仔魚の体重(乾燥重量,μg)の間には $y = 48.2e^{0.0117x}$ ($r=0.983, p<0.01$) で示される関係が見られた(図1,2)。飼育開始4日後の21:00までの仔魚の全長の成長速度は正の値を示したが,これ以降,昼間(5:00~21:00)は0.015~0.050mm/時の,夜間(前日の21:00~翌日の5:00)は-0.012~0.011mm/時の値を示した(図3)。体重の成長速度は調査開始直後から,昼間は正の,夜間は12日目の値を除いて負の値を示した。試験期間中の全長の平均成長速度は昼間で0.026mm/時,夜間で-0.00029mm/時,体重の平均成長速度は昼間で6.8μg/時,夜間で-2.2μg/時であった。これらのことから,クロマグロ仔魚は指数関数的に成長するが,その成長はほぼ昼間行われていると考え

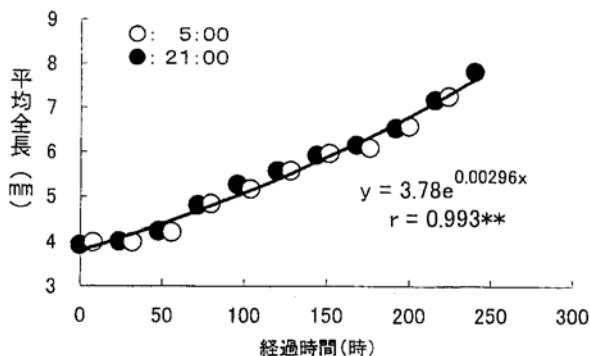


図1 調査開始からの経過時間と平均全長の関係

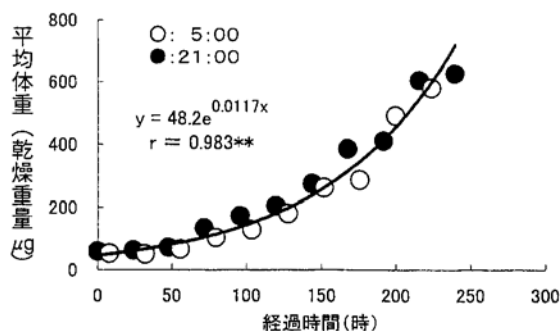


図2 調査開始(日齢3+4 21:00)からの経過時間と平均体重の関係

られた。特に体重の夜間の平均成長速度がマイナスの値となったことから、仔魚は昼間、餌料から消化・吸収した物質により成長するとともに、これを夜間に消費していると考えられた。この消費された物質は夜間に成長が見られていないことから、体を維持する基礎代謝に消費されていることが推測された。

飼育されたクロマグロ仔魚の耳石の第一不透明帯は、天然魚とほぼ同時期の受精後4.7~5.6日後に形成され、この第一不透明帯の形成には仔魚が内部栄養から外部栄養に変わることが関わっているとされている²⁾。この第一不透明帯の形成時期は、仔魚の全長の成長速度が初めて負の値を示した飼育開始4日後の21:00~5日後の5:00までと一致している。飼育中の仔魚の摂餌は飼育開始3日後の5:00以降に開始されるが、この時期の仔魚はまだ卵黄を吸収しつくしていない。このため、摂餌をしていない夜間の、飼育開始3日後の21:00~4日後の5:00の間も、全長の成長速度は正の値を示したと考えられ、卵黄の吸収が終了した飼育開始4日後以降は、摂餌しない夜間は成長せず、これが不透明帯の形成につながると考えられた。

仔魚の全長と体重の関係では、湿重量との間に $y = 0.968x^{4.05}$ ($r = 0.976$, $p < 0.01$) の、乾燥重量との間に $y = 0.318x^{3.70}$ ($r = 0.984$, $p < 0.01$) の高い正

の相関が見られた(図5)。この式を蛋白質および脂質の含有率を求めるための仔魚の体重の推定式とした。

仔魚の水分含有率は飼育経過に伴って高くなる傾向が見られた。そして、同じ飼育日数で水分含有率を比較すると、21:00の値より5:00の値の方でやや高い傾向が見られた(図6)。また、1時間当りの水分の蓄積速度(絶対値)は夜間の方が昼間よりも速く、昼間はマイナスの値が、夜間はプラスの値を示す日が多かった(図7)。

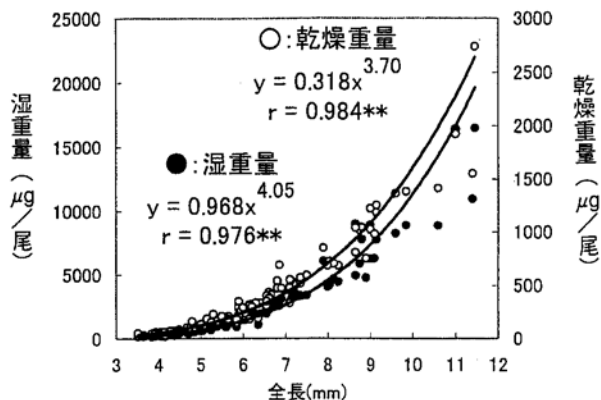


図5 全長と体重の関係

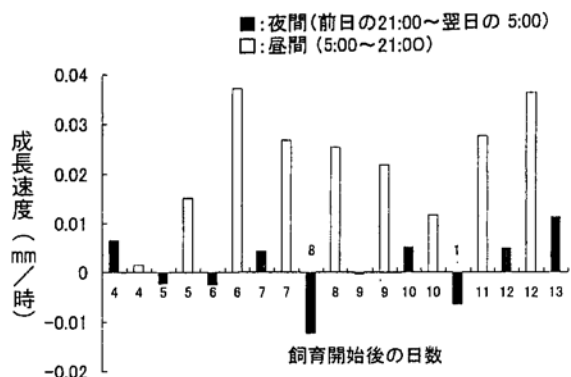


図3 昼間と夜間の全長の成長速度の違い

成長速度 = ((平均全長) - (前回の調査時の平均全長)) / 経過時間

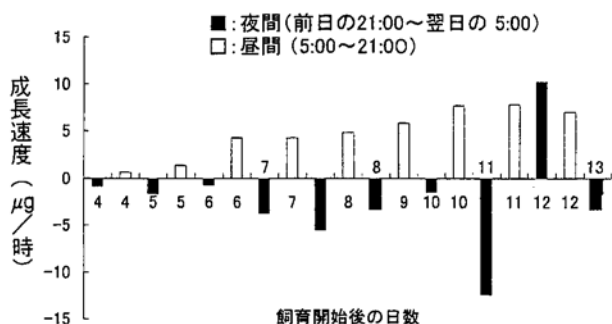


図4 昼間と夜間の体重(乾燥重量)の成長速度の違い

成長速度 = ((平均全長) - (前回の調査時の平均全長)) / 経過時間

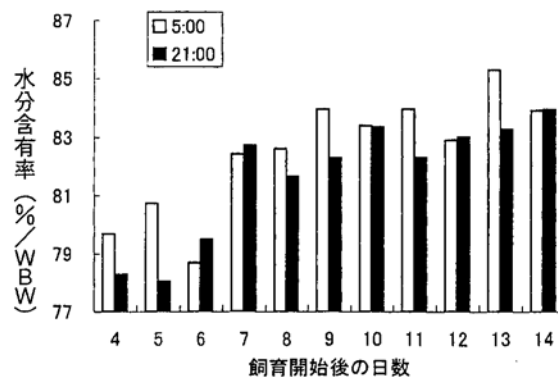


図6 水分含有率の調査日と時刻による違い

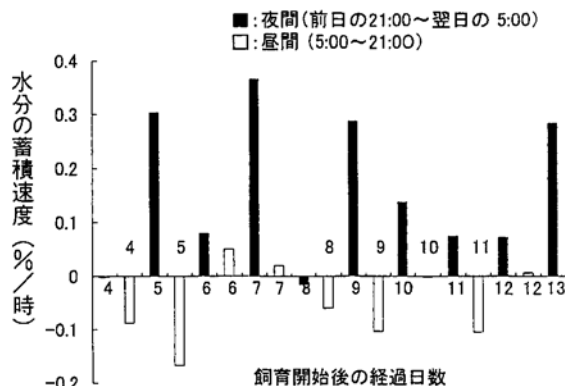


図7 昼間と夜間の水分の蓄積速度の違い

蓄積速度 = ((平均含有率) - (前回の調査時の平均含有率)) / 経過時間

蛋白質の含有率は飼育開始 6 日までは高くなったが、7 日後からは飼育経過とともに低下した。同じ飼育日数では 5:00 の値よりも 21:00 の値の方でやや高い傾向が見られた(図 8)。1 時間当りの蓄積速度は、飼育開始 11 日後まで昼間はプラス、夜間はマイナスの値を示したが、12、13 日後は逆の傾向を示した(図 9)。

脂質の含有率は飼育後の経過日数に伴う顕著な変化を示さなかったが、同じ飼育日数の調査時刻別では蛋白質と同様に 5:00 の値よりも 21:00 の値の方でやや高い傾向が見られた(図 10)。1 時間当りの蓄積速度も蛋白質と同様に夜間より昼間の方が速く、昼間はプラス、夜間はマイナスの値を示す日が多かった(図 11)。

これまで、クロマグロ仔魚が摂取した蛋白質又は脂質を何時、どのように消費しているか不明であった。しかし、これらの結果から、クロマグロ仔魚は昼間、摂取した餌料由来の蛋白質と脂質を全長や体重の増加の形で体内に蓄え、夜間、摂取していない時に体を維持するための基礎代謝としてこれらを消費しているこ

とが示された。

通常、絶食下の魚類は体を維持するためエネルギー源として、最初に炭水化物(グリコーゲン)を消費し、これが不足すると脂質を消費し、体を構成する物質である蛋白質は最後に利用すると言われている。本研究の結果では、蛋白質含有率が成長に伴って減少し(図 8)、さらに、夜間の絶食下で消費されていることが示された(図 9)。この原因として、摂餌量が不足したため蛋白質が絶食時の基礎代謝のためのエネルギーとして消費されたと考えられた。このことは、餌料中の脂質が不足していることを示唆している。今後、餌料中の脂質量と仔魚の蛋白質含有量の関係を明らかにし、餌料の適正な脂質含有量を検討する必要がある。また、脂質の成長に伴う挙動を明らかにするために、体構成成分であるリン脂質等とエネルギー源として蓄積される中性脂質又は遊離脂肪酸等に分けて調べる必要がある。

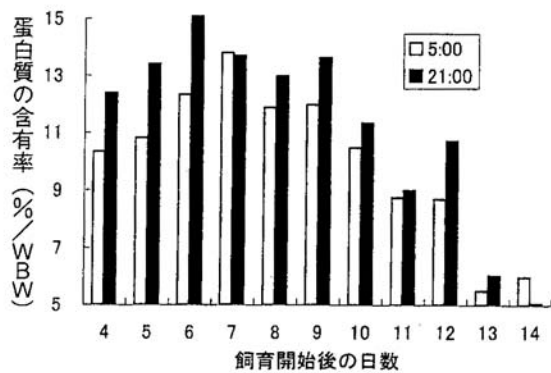


図 8 蛋白質の含有率の調査日と時刻による違い

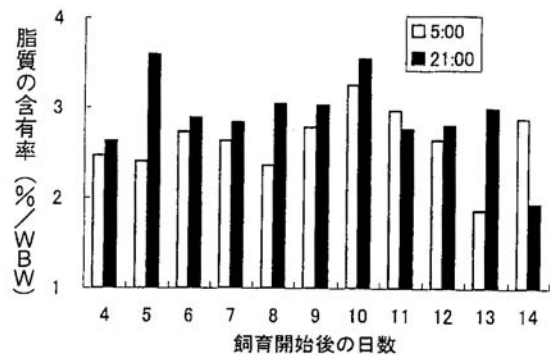


図 10 脂質の含有率の調査日と時刻による違い

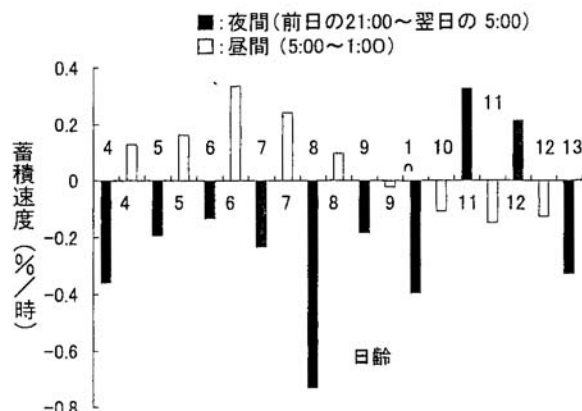


図 9 昼間と夜間の蛋白質の蓄積速度の違い

$$\text{蓄積速度} = ((\text{平均含有率}) - (\text{前回の調査時の平均含有率})) / \text{経過時間}$$

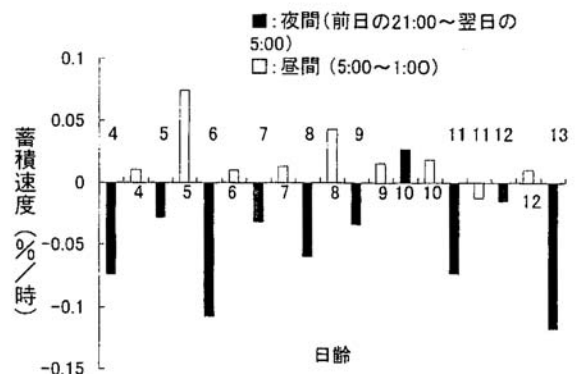


図 11 昼間と夜間の脂質の蓄積速度の違い

$$\text{蓄積速度} = ((\text{平均含有率}) - (\text{前回の調査時の平均含有率})) / \text{経過時間}$$

文 献

- 1) 日本栽培漁業協会 (1996) 種苗生産技術の開発, クロマグロ. 日本栽培漁業協会年報 (平成8年度), 186-196.
- 2) ITOH T., Y. SHIINA, S. TSUJI, F. Endo, N. TEZUKA (2000) Otolith daily increment formation in laboratory reared larval and juvenile bluefin tuna *Thunnus Thynnus*. *Fish Sci.*, 66, 834-839.

Ⅲ 増養殖対象種の病害の予防および防除技術の開発

天然キジハタからのベータノダウイルスの検出

森 広一郎, 西岡豊弘, 菅谷琢磨, 有元 操
(上浦栽培漁業センター)

ウイルス性神経壊死症 (viral nervous necrosis : VNN) は海産魚の種苗生産および育成過程で問題となっており, 1990年に我が国のイシダイ (Yoshikoshi and Inoue, 1990) で初めて発生が報告された。それ以来, 国内ではシマアジ, ヒラメ, ハタ類等, 海外では VNN に類似した疾病 (encephalomyelitis, encephalopathy あるいは encephalitis など) がパラマンディー, ターボット, ハリバット, スズキ, ハタ類等で報告されている。国内外を合わせると発生魚種は14科30種となり, 本病は広範囲の魚種で世界的に大きな問題となっている (室賀ら1998, Munday *et al.*, 2002)。この VNN 原因ウイルスは当初ノダウイルス科に分類されたが (Mori *et al.*, 1992), 現在ではベータノダウイルスに分類されている。

本病の感染経路については, シマアジの発生事例では, 孵化直後に本病が発生し, 親魚生殖腺から高率にウイルスが検出されることから, 親魚からの垂直感染が主要な感染経路であることが明らかにされており, ウイルス検査陰性の親魚だけを産卵に用いることにより VNN の発生率を著しく低下させることに成功している (Mushiaki *et al.*, 1994, Mori *et al.*, 1998)。しかしながら, ヒラメやハタ類などでは, 孵化直後に本病が発生することは希で, 稚魚期以降の中間育成過程で本病が発生する事例が多いなど (Fukuda *et al.*, 1996), 感染経路については不明な点が多く残されている。

キジハタにおいても1990年以降, 種苗生産過程の仔稚魚期に本病が発生し, 大きな問題となっている (Mori *et al.*, 1991)。キジハタの種苗生産では, 漁獲された天然未成魚を数年間養成した成魚を親魚として用いているが, 親魚になるとウイルスが検出されるなど, 親魚からの垂直感染を示唆する疫学情報は得られていない。本研究では, 入手する天然キジハタが種苗生産場の汚染源になる可能性について明らかにするため, 瀬戸内海をはじめとするいくつかの海域で漁獲された天然魚を入手し, ベータノダウイルスの保有状況を調査した。

材料と方法

検査サンプル

2002年9月22日から同11月6日の間に, 瀬戸内海東

部, 同中部 (AとBの2カ所), 同西部, 若狭湾および九州西岸の6海域で延べ縄あるいは刺網によって漁獲されたキジハタ鮮魚 (平均体重421g = 範囲120~1,252g) を合計65尾入手し, 4℃で保冷した状態で36時間以内に上浦栽培漁業センターに搬入した。搬入後速やかに解剖し, 眼球 (網膜組織), 脳, 延髄, 脊髄, 心臓, 肝臓, 脾臓, 腎臓および生殖腺を検査サンプルとして採取した。その際に, 入手魚に腹緒切除または鼻腔隔皮の欠損が有るものを放流魚と判断した。採取したサンプルは, 検査に供するまで-80℃で凍結保存した。

PCRによるウイルス検出

採取したサンプルに9倍量の HBSS (Hank's balanced salt solution) を加え磨砕し, 0.45 μm のメンブレンフィルターで濾過後, 磨砕濾液の一部から市販の核酸抽出試薬 (ISOGEN, ニッポンジーン社製) を用いて RNA の抽出を行った。得られた RNA を適量のジエチルピロカーボネート処理した超純水 (DDW) に溶解し, これを核酸試料とし以下の検査に用いた。PCR は, Nishizawa *et al.* (1994) の報告した RT-PCR および森ら (2001) の報告した nested PCR に準じて行った。即ち, RT-PCR には T4 領域 (RNA2 から 427bp を増幅) の増幅用プライマーとして F2 (5'-CGTGTTCAGTCATGTGTCGCT-3') と R3 (5'-CGA GTCAACACGGGTGAAGA-3') を, 逆転写酵素に Super Script II Reverse Transcriptase (Invitrogen) を, Taq DNA 合成酵素に Takara EX Taq (Takara) を用いた。そして, サーマルサイクラー (GeneAmp PCR System 9700, アプライドバイオシステムズ) によって, 逆転写反応 (42℃, 30分間) を行った後, 熱変性 (95℃, 40秒間), アニーリング (55℃, 40秒間) および伸長 (72℃, 40秒間) の一連の PCR 反応を30サイクルで行った。nested PCR には T4 領域に4つのベータノダウイルスの遺伝子型のうち RG 型に特異的なプライマーである RG-nf (5'-ACCTGAGGAGACTACCGCT C-3') と RG-nr (5'-CAGCGAAACCAGCCTGCAGG-3') を用い, 前述の RT-PCR の増幅産物の一部を核酸試料とし, 上述の PCR 反応を30サイクルで繰り返した。RT-PCR および nested PCR による増幅産物の解析

は、トリスホウ酸/EDTA 緩衝液 (0.46M Tris, 0.46M ホウ酸, 0.01M EDTA) で調製した 2.0% NuSieve 3:1 Agarose (FMC) で電気泳動を行い、増幅産物の有無およびその分子量を確認した。

培養細胞によるウイルス分離

前述の PCR でウイルス遺伝子が検出されたサンプルについて、培養細胞 (E-11 = Iwamoto *et al.*, 2000) によるウイルス分離を実施した。その際、前述の核酸抽出に使用した磨砕濾液を検査サンプルとし、96 ウェルのマイクロプレートを用い 25°C で 10 日間培養し、TCID (tissue culture infectious dose) 法によりウイルスの感染価を測定した。

分離ウイルス株の病原性試験

培養細胞で分離された瀬戸内海産天然魚由来の 1 株 (RGEhi02 株)、日本海産天然魚由来の 1 株 (RGFuk02 株) の合計 2 株について、キジハタに対する病原性試験を行った。分離ウイルスを E-11 細胞で培養 (25°C で 7~10 日間) し、TCID 法によりウイルスの感染価を測定後、HBSS で $107.0 \text{ TCID}_{50}/\text{ml}$ に調製し、キジハタ (平均体重 1.9g = 範囲 1.3~3.0g) 1 尾当り $50 \mu\text{l}$ を背部筋肉に接種した。対照として、HBSS $50 \mu\text{l}$ を背部筋肉に接種する区を設けるとともに、1999 年に玉野栽培漁業センターの病魚から分離された病原株 (RGOka99 株) についても同様に接種する区を設けた。各接種区とも 20 尾を供し、接種後 100 ℓ 水槽に収容後、水温 25~26°C で 2 週間飼育し、死亡率を調査した。死亡魚については、RT-PCR でウイルス検査を行った。

結 果

PCR によるウイルス検出

検査したキジハタのうち瀬戸内海西部、若狭湾および東シナ海で漁獲されたサンプルから、RT-PCR および nested PCR によりベータノダウイルスの遺伝子が検出された (表 1)。nested PCR では、RG 型株専用のプライマーで増幅産物が認められたことから、今回検出されたウイルスの遺伝子型はすべて RG 型であると判断された。nested PCR による検出率は、瀬戸内海西部、若狭湾および東シナ海でそれぞれ 60.0%、46.6% および 25.0% で、調査海域全体では 24.6% であった。また、nested-PCR による組織別のウイルス検出率は、眼球、脳、延髄および脊髄で 20.0~24.6% と高く、これに比べ、心臓、肝臓、脾臓、腎臓あるいは生殖腺からの検出率は 3.1~4.6% と低かった。なお、瀬戸内海中部 A 海域で漁獲されたキジハタは、8 尾中 4 尾で腹鰭の切除が認められ放流魚と判断されたが、いずれの個体からもウイルス遺伝子は検出されなかった。

培養細胞によるウイルス分離

PCR でウイルス遺伝子が確認された一部のサンプル (眼球、脳および延髄) について E-11 細胞によりウイルス感染価を測定したところ、眼球で $3.5 \times 10^{3.3} \sim 3.5 \times 10^{7.3} \text{ TCID}_{50}/\text{g}$ 、脳で $4.3 \times 10^{2.6} \sim 4.3 \times 10^{6.8} \text{ TCID}_{50}/\text{g}$ 、延髄では、 $9.0 \times 10^{2.9} \sim 9.0 \times 10^{4.8} \text{ TCID}_{50}/\text{g}$ であった。

表 1 キジハタ天然魚からのベータノダウイルス検出結果

漁獲場所	尾数	平均体重 g (範囲 g)	検出率 %			
			RT-PCR	nested PCR	E-11細胞による分離 ^{*1}	
瀬戸内海西部	9.24	10	505 (333~938)	30.0	60.0	66.7
瀬戸内海中部 A	9.22	8 ^{*2}	447 (167~1,252)	0	0	ND
瀬戸内海中部 B	9.27	10	353 (170~643)	0	0	ND
瀬戸内海東部	10.8	10	350 (120~1,027)	0	0	ND
若狭湾	10.5	15	210 (148~301)	13.3	46.6	57.1
東シナ海	10.25 11.6	12	717 (510~976)	16.6	25.0	0
全体	9.22~11.6	65	421 (120~1,252)	10.8	24.6	50.0

*1: nested PCR でウイルスが検出されたサンプルについて分離を行った。

*2: 8 尾のうち 4 尾が放流魚と判断された。

分離ウイルス株の病原性試験

瀬戸内海産キジハタ天然魚由来の1株(RGEhi02株)と日本海産天然魚由来の1株(RGFuk02株)の合計2株について、キジハタに対する病原性試験を行ったところ、各試験区の累積死亡率はHBSSを接種した対照区で0%であったのに対し、RGEhi02株攻撃区で40.0%、RGFuk02株攻撃区および病魚分離株のRGOka99株攻撃区で20.0%となり、今回分離された天然魚由来株においても病魚分離株と同程度あるいはそれ以上の累積死亡率を示した(図1, 表2)。なお、死亡魚についてはRT-PCRで検査を行った結果、すべての死亡魚からベータノダウイルスが検出された。

考 察

これまでに、本病の原因ウイルスであるベータノダウイルスは、カナダの winter flounder (*Pleuronectes americanus*) の天然魚で検出例が報告されているが(Barker *et al.*, 2002)、我が国においてはベータノダウイルスが天然魚から検出された例はなく、本報のキジハタでの検出例が初めてである。winter flounder の

事例ではベータノダウイルスの検出率は0.23%と報告されているが、本報のキジハタでは24.6%と、それに比べると著しく高い値となった。今回分離されたベータノダウイルス株のキジハタに対する病原性は、病魚分離株と同程度の病原性を有していることが明らかになった。また今回調査したキジハタは、延縄などで漁獲された健全魚ではあったが、個体によっては $10^{7.3}$ TCID₅₀/gの高濃度のウイルスが組織から分離された。このような個体は、単にウイルスに感染した後に持続感染状態となり、体内に微量のウイルスを保有しているのではなく、少なくとも漁獲された時点では病的な状態に近い個体であると考えのが妥当と思われる。これらの結果を考え合わせると、本ウイルスがキジハタ天然魚に少なからぬ影響を与えているということが示唆される。

キジハタの種苗生産には親魚候補群として天然魚が用いられているが、今回の調査でキジハタ天然魚が高率にウイルスを保有していることが確認され、種苗生産場では未成魚あるいは成魚の導入による水平感染および垂直感染が重要な感染経路となり得ることが強く示唆された。よって、今後親魚候補群の導入に当たって

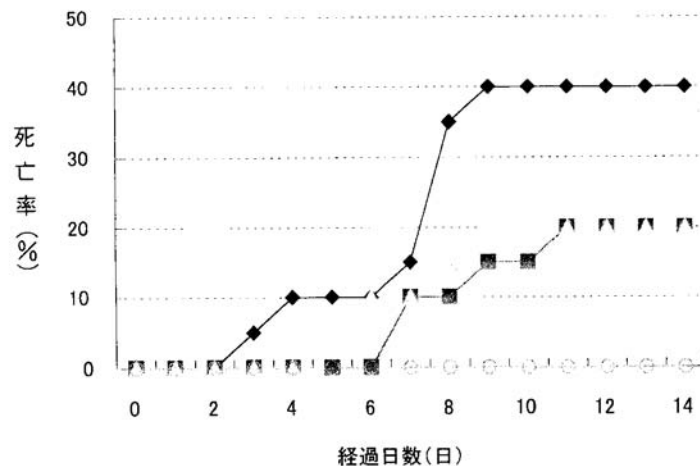


図1 天然キジハタから分離されたベータノダウイルスの病原性試験
キジハタ1尾当りに 5.0×10^5 TCID₅₀のウイルスを接種後、25~26℃で2週間飼育し死亡状況を観察した。

表2 天然キジハタから分離されたベータノダウイルスの病原性試験結果

試験区	接種株	累積死亡率 %	死亡魚の PCR 検査 (検出率 %)
天然キジハタ (瀬戸内海) 由来株攻撃区	RGEhi02	40.0	100
天然キジハタ (日本海) 由来株攻撃区	RGFuk02	20.0	100
養魚由来株攻撃区	RGOka99	20.0	100
対照区	- *1	0	ND

*1: 対照として HBSS を接種した。

は検査を行うなど慎重に対処する必要があり，導入した後の親魚候補群からの防除対策を徹底する必要があると考えられる。

文 献

- Barker, D.E., A. Mackinnon, L. Boston, M.D.B. Burt, D.K. Cone, D.J. Speare, S. Griffiths, M. Cook, R. Ritchie and G. Olivier (2002): First report of piscine nodavirus infecting wild winter flounder *Pleuronectes americanus* in Passamaquoddy Bay, New Brunswick, Canada. *Dis. Aquat. Org.*, 49, 99-105.
- Fukuda, Y., H.D. Nguyen, M. Furuhashi and T. Nakai (1996): Mass mortality of cultured grouper, *Epinephelus septemfasciatus*, associated with viral nervous necrosis. *Fish Pathol.*, 31, 165-170.
- Iwamoto, T., T. Nakai, K. Mori, M. Arimoto and I. Furusawa (2000): Cloning of the fish cell line SSN-1 for piscine nodaviruses. *Dis. Aquat. Org.*, 43, 81-89.
- Mori, K., T. Nakai, M. Nagahara, K. Muroga, T. Mekuchi and T. Kanno (1991): A viral disease in hatchery-reared larvae and juveniles of red-spotted grouper. *Fish Pathol.*, 26, 209-210.
- Mori, K., K. Mushiake and M. Arimoto (1998): Control measures for viral nervous necrosis in striped jack. *Fish Pathol.*, 33, 443-444.
- 森 広一郎・西岡豊弘・有元 操・中井敏博 (2001) : 魚類ノダウイルスの PCR 検出系の再検討 . 平成13年度日本魚病学会春季大会
- Munday, B.L., J. Kwang and N. Moody (2002): Betanodavirus infections of teleost fish: a review. *J. Fish Dis.*, 25, 127-142.
- 室賀清邦・古澤徹・古澤巖 (1998) : 総説：シマアジのウイルス性神経壊死症 . 水産増殖, 46, 473-480.
- Mushiake, K., T. Nishizawa, T. Nakai, I. Furusawa and K. Muroga (1994): Control of VNN in striped jack : Selection of spawners based on the detection of SJNNV gene by polymerase chain reaction (PCR) *Fish Pathol.*, 29, 177-182.
- Nishizawa, T., K. Mori, T. Nakai, I. Furusawa and K. Muroga (1994) : Polymerase chain reaction (PCR) amplification of RNA of striped jack nervous necrosis virus (SJNNV). *Dis. Aquat. Org.*, 18, 103-107.
- Takano, R., K. Mori, T. Nishizawa, M. Arimoto and K. Muroga (2001): Isolation of viruses from wild Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Fish Pathol.*, 36, 153-160.

マハタの親魚養成におけるNNV抑制技術と健苗生産技術開発

照屋和久
(上浦栽培漁業センター)

マハタは、東京、新潟以南の南日本からインド洋まで広く分布し、日本のハタ科魚類の中では大型の種類である¹⁾。その味は美味で値段は1kg当り2,500～10,000円前後で取引される高級魚である。特にマハタは同属のクエに比べ、人工飼育下での成長が早く、近年、養殖対象種として注目されている。しかし、その種苗の多くは韓国等の外国から輸入される天然稚魚であることから、安定的に種苗を確保できず計画的な養殖に支障を来している。このため関連業界は大量の種苗を人工的に生産する技術開発を望んでいる。

本種の種苗生産に関する研究は、愛媛県、長崎県、大分県、三重県、民間企業等により行われているが、安定的に10万尾以上の種苗を生産する技術段階には達していない²⁻⁶⁾。大量に種苗が生産できない要因には、日齢10までの急激な大量死亡(いわゆる初期減耗)があり、飼育初期の生残率を向上させる飼育技術の構築が必要である。初期減耗の要因には、ふ化仔魚の活力不足、仔魚に給餌する餌料の不適合、不適切な飼育環境およびウイルス性神経壊死症(Viral Nervous Necrosis:以下VNN)⁷⁾の発生が考えられている。初期減耗を防ぐために、マハタ仔魚の活力判定法では、無給餌生残指数(Survival Activity Index、以下SAI)の利用、小型ワムシを給餌することによる生残率の向上、飼育水温25℃による飼育、人工光による昼夜連続の照明、飼育水へのフィードオイル添加が、有効であることが報告されている⁸⁾。一方、VNN防除対策では、PCR法を用いたウイルス遺伝子の検出結果に基づく親魚の選別、残留オキシダントを含む海水(以下、オキシダント海水)による受精卵消毒および残留オキシダントで消毒後、活性炭によりオキシダントを除去した海水(以下、オゾン処理海水)による仔魚の飼育が有効であると報告されている⁹⁾。しかし、このような対策を行い種苗の生産を行った場合も、日齢10以降に表層付近に仔魚が蟄集することにより死亡し、稚魚までの生残率は低い。そこで上浦栽培漁業センターにおける技術開発では、飼育初期の生残率を向上させることを目的として、通気量の調節により生じた水流がマハタ仔魚の浮上死亡および日齢10以降の蟄集の解消に与える影響、およびVNN防除対策の有効性について量産規模での飼育試験を行った。

材料と方法

親魚のウイルス検査および受精卵の確保

大分県海洋水産研究センターの海面生け簀で養成したマハタ親魚26尾(天然魚、平均体重5.7kg、雄14尾、雌12尾)を平成15年2月に350kℓ陸上水槽に収容し、ろ過海水を飼育水に使用し、養殖用配合飼料(20号=丸紅飼料株式会社製)を与え養成した。親魚のウイルス感染状況を把握するためPCR検査によりウイルス遺伝子を検出した。検査には、滅菌したカニューレにより親魚から採取した精液、卵巣卵および受精卵を用い、ISOGEN(日本ジーン社製)によりRNAを抽出し、nested-PCR法¹⁰⁾によりウイルス遺伝子を検出した。排卵および放精誘導には、胎盤性生殖腺刺激ホルモン(HCG)を600IU/kgの割合で親魚背筋肉中に注射し、48時間後に人工授精によって受精卵を得た。人工授精には、nested-PCR法によりウイルス遺伝子が検出されなかった親魚を用いた。受精卵は充分量のオゾン処理海水で洗浄した後、オキシダント海水(3mg/ℓ)で1分間の消毒を行い、八角形100kℓコンクリート水槽1面に収容した。

飼育試験

大型のハタ類であるスジアラおよびクエで大量生産に成功している種苗生産方法^{11,12)}に準じて種苗生産試験を実施した。つまり飼育水にはオゾン処理海水を用い、飼育水の水質を安定させるため、ふ化直後から飼育水槽内へ毎日20～30g/kℓの多孔質剤(フィッシュグリーン=株グリーンカルチャ社製)を散布した。日齢0～日齢18までは止水飼育とし、日齢19から換水を開始し、換水率は10%とした。その後、換水率を徐々に増加し、日齢40では40%、日齢46以降では70%に調整した。餌料には、日齢3～16ではS型ワムシのタイ国産株(以下、タイ産ワムシ)、日齢16～21ではS型ワムシ、日齢17～38ではL型ワムシ、30～47ではアルテミア幼生、日齢35以降では市販の海産仔稚魚用配合飼料を用いた(図1)。ワムシ類では市販の栄養強化剤(スーパー生クロレラV12=クロレラ工業株式会社製)を用い20時間の栄養強化を行い、アルテミア幼生では、別の栄養強化剤(パイオクロミス=クロレラ工業株式会社製)を用い5時間の栄養強化を行った。給

餌したワムシが飢餓状態になるのを防止するために淡水産クロレラ（スーパー生クロレラ V12=クロレラ工業株式会社製）1~1.4 ℓ を毎日飼育水中へ添加した。通気には、エアーストーンとエアブロックを用い、日齢 9 までは飼育水槽中央部の一カ所に設置したエアーストーンから、日齢10以降は、エアーストーンに加え水槽底の隅の 4 カ所に配置したエアブロックを用いた。通気量は、エアーストーンでは3.5 ℓ/分、エアブロックでは1.5~5.5 ℓ/分に調整した（図 2, 3）。水温は、ふ化までは23℃に設定し、ふ化後に1℃/日ずつ加温し、日齢 3 以降は26℃を維持した。照度は、晴天時を除き水銀灯（400W × 4 灯）を点灯し、水面上の照度が1,000lx 以上になるよう調整した。種苗生産過程における飼育魚のウイルス遺伝子の検出方法は、親魚の生殖腺からの検出と同様に PCR 法、nested-PCR 法で行い、検査時期は仔魚期、稚魚期および取り揚げ時とした。

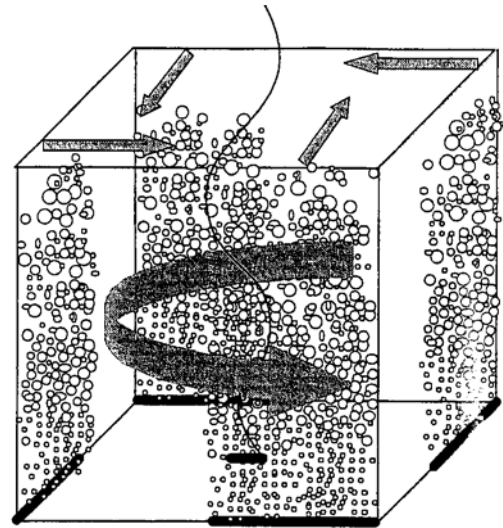


図3 エアーストーン，エアブロックの配置と通気により生じる水流

→ :水流

結果と考察

親魚のウイルス検査および受精卵の確保

親魚26尾の生殖腺を採取し、nested-PCR 法によりウイルス遺伝子の検出を行った結果、ウイルス遺伝子が検出された個体はなかった。人工授精には、雄2尾および雌1尾を使用し、20万粒の受精卵を得た。受精卵はオキシダント海水により1分間の消毒を行い、ふ化率は100%であった。マハタ受精卵を0.5mg/ℓのオキシダント海水を用いて1分間消毒することで、卵の状態などにより、ふ化率に差が認められることが報告されている⁹⁾。今回の卵消毒では、オキシダント濃度が0.5mg/ℓよりも低い0.3mg/ℓを使用し、また、消毒時間も1分間であったことから、卵消毒がふ化率に大きく影響することはないと考えられた。

マハタの種苗生産過程における VNN の感染経路として、親魚からの垂直感染が推定されている⁹⁾。また、シマアジでは産卵期に産卵を繰り返すことにより親魚体内でウイルスが増殖することが報告されており¹³⁾、マハタ親魚においても、採卵時のハンドリングなどのストレスにより親魚体内のウイルス量が増加することが考えられている。しかし、本試験に使用した養成親魚においては、精子、卵巣卵および受精卵からウイルス遺伝子が検出されなかったことから、養成親魚体内でウイルスが増殖したとは考えられなかった。このことは、ろ過海水を使用してマハタ親魚を陸上水槽において養成することにより、親魚からのウイルスが垂直感染する可能性を低減できると推察された。さらに継続して親魚におけるウイルス検査を行い、親魚体内に

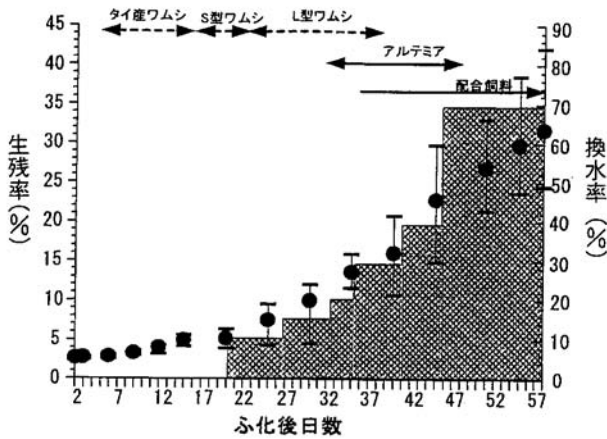


図1 マハタ飼育試験における餌料の種類と給餌期間と全長および換水率の推移

● : 成長 ■ : 換水率

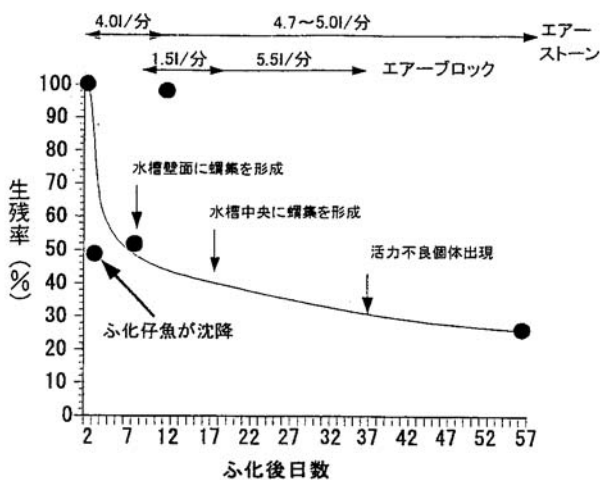


図2 マハタ飼育における生残率および通気量の推移

おけるウイルスの消長を観察する必要がある。本年度、養成した雌親魚12尾のうち、採卵が可能であった親魚は1尾のみであった。今後は、親魚体内においてウイルスが増殖しないような養成方法とともに、成熟が順調に進行する養成方法の検討が必要と考えられた。

飼育試験

ふ化仔魚20万尾を収容し、57日間の飼育で平均全長31.7mmの種苗5.2万尾を取り揚げた。生残率は26%であった(表1)。ハタ類の種苗生産における初期減耗の要因として、いわゆる浮上死亡がある。これは遊泳能力が微弱な時期の仔魚が水流により水面近くに移動したときに、表面張力により水面に引きつけられ仔魚が粘液を放出し移動できなくなるために死亡するといわれている¹⁴⁾。この対策としてスジアラの種苗生産では水槽中央部の一カ所からエアーストーンにより通気を極微量(3.5ℓ/分)に調整することが有効とされている¹²⁾。今回の飼育試験においても、同様の飼育方法を行うことにより浮上死亡は観察されなかった。このことから、水槽中央部の1カ所から微量に通気することにより、浮上死亡を防止できることが本種の種苗生産においても確認された。これは通気量を微量にすることにより、水面に比重の軽い有機物等が集まりいわゆる油膜が形成され、表面張力が低下し、仔魚が水面に引きつけられなくなるためと考えられる。

魚類の仔魚では、発育に伴い比重が増加し、飼育水槽の底へ仔魚が沈降することが報告されている^{15,16)}。マハタの飼育においても日齢2に同様の現象が観察された。水底に沈降した仔魚は死亡する可能性が高く、初期減耗の要因とされているため、今後、マハタ仔魚の沈降を防ぐ手法の検討が必要である。

日齢10頃には仔魚の遊泳力が増加し、水槽壁の表層付近で高密度に蝟集し、個体間の接触や外的な刺激に対して過敏に反応し、水面付近を跳ねる様に遊泳する行動が頻繁に観察された。このような行動により仔魚

同士が接触し魚体に損傷を与えることが考えられた。そこで仔魚の蝟集を解消するためにエアブロックによる通気も併用したところ、仔魚の蝟集は分散した(図2)。

同様に日齢20頃には、水槽中央部に仔魚の蝟集が観察されたことから、エアブロックの通気量を5.5ℓ/分/本に増加し、蝟集を解消した。日齢30頃には、水槽壁面に沿って群れを形成し遊泳した。この時期から背鰭の表皮が糜爛し、死亡する個体が観察された。この原因として仔魚がエアブロックの通気によりできた水流で、水槽壁面へ接触し傷害を受けることが考えられた。そこで日齢37以降はエアブロックによる通気を中止した。その結果、傷害による遊泳不良個体および死亡尾数は減少した。

マハタの種苗生産飼育期間中および取り揚げ時の仔稚魚について、ウイルス遺伝子の検出を行ったが、いずれの検体からもウイルス遺伝子は検出されずVNNの発生はなかった。

今回の種苗生産において、三重県で実施されているマハタのVNN防除対策と同様な対策を実施した。その結果、生産過程においてVNNは発生せず、その有効性が再確認された。

マハタの種苗生産はこれまで、長崎県、愛媛県、三重県および大分県で行われているが²⁻⁵⁾、全長30mm以上までの飼育で、生残率が20%を超える事例は報告されておらず、さらに、VNNの発生も認められていないことから、今回のマハタの種苗生産方法は、最も高度な技術段階といえる。このように他の機関と比較して高い生残率で稚魚が生産できたのは、親魚におけるVNN防除対策の実施のみならず、種苗生産過程において、初期の浮上死亡を低減できたこと、日齢10以降に形成される蝟集を解消できたことによると考えられる。今後は飼育事例を増やし、水温、照度、換水、飼育水の流動など詳細な飼育環境条件を把握し、安定した種苗生産技術を構築する必要がある。

表1 2003年度マハタ種苗生産試験結果の概要

卵の由来	収容時		取り揚げ時				
	水槽規模 (kℓ)	収容尾数 (万尾)	日齢	尾数 (万尾)	平均全長 (mm)	生残率 (%)	VNN検査 (nested-PCR)
上浦栽培漁業 センター	100	20	58	5.2	31.7 (24.5-42.1)	26.0	陰性

文 献

- 1) 片山正夫(1984):ハタ科. 日本産魚類大図鑑解説(益田一・荒賀忠一・上野輝彌・吉野哲夫編), 東海大学出版会, 東京, pp.123-135.
- 2) 土橋靖史・栗山 功・黒宮香美(2002):クエ・マハタ種苗量産技術確立事業-I 種苗生産技術開発, 尾鷲分場, 三重県科学技術振興センター水産技術センター事業報告, 平成12年度, pp.113-114.
- 3) 桧垣俊司・西田正昭(2002):6マハタ.V魚類別種 苗 生産. 愛媛県栽培漁業センター業務報告書種苗量産技術開発センター.平成14年度. pp.30-31.
- 4) 中田 久(2001):Iマハタの種苗生産試験.3.種苗飼育技術開発事業.種苗量産技術開発センター.長崎県総合水産試験場事業報告,平成13年度. pp.65-66.
- 5) 渡邊新吾・三浦慎一・尾上静正・森 由基彦(2002):マハタ養殖実用化技術開発事業,栽培漁業部,大分県海洋水産研究センター,平成14年度. pp.91-93.
- 6) 水産庁・(社)日本栽培漁業協会編(2003):平成13年度栽培漁業種苗生産 入手・放流実績(全国),資料編,74p.
- 7) 室賀清邦・古澤徹・古澤巖(1998):シマアジのウイルス性神経壊死症.水産増殖,46(4),473-480.
- 8) 土橋靖史・栗山 功・黒宮香美・柏木正章・吉岡基(2003):マハタの種苗生産過程における仔魚の活力とその生残に及ぼす水温,照明およびフィードオイルの影響.水産増殖,51(1),49-53.
- 9) 土橋靖史・栗山 功・黒宮香美・柏木正章・吉岡基(2002):マハタの種苗生産におけるウイルス性神経壊死症(VNN)の防除対策の検討.水産増殖,50(3),355-361.
- 10) 森 広一郎・西岡豊弘・有元 操・中井敏博(2001):魚類ノダウイルスのPCR検出系の再検討.平成13年度日本魚病学会春季大会講演要旨集,21p.
- 11) 照屋和久(1997):III-3種苗生産技術開発.K新しい栽培種として期待される魚類,5はた類(1)スジアラ.日本栽培漁業協会事業年報,平成9年度. pp.184-186.
- 12) 照屋和久(2001)日本栽培漁業協会におけるはた類の種苗生産.第12回海洋水産資源の培養に関する研究者協議会論文集 投稿中
- 13) 虫明敬一(2000):シマアジ親魚の産卵に伴って増殖するウイルス性神経壊死症(VNN)原因ウイルス(SJNNV)とその抑制対策.水産増殖,48(1),109-115.
- 14) 一色 正(1997):キジハタ仔魚の浮上へい死現象とその防除.南西ブロック魚類養殖研究情報,16,93.
- 15) 北島 力,山根康幸,松井誠一(1994):クロダイ仔魚の発育に伴う比重の変化.日本水産学会誌,60(6),755-762.
- 16) 北島 力,山根康幸,松井誠一,吉松隆夫(1997):アユ仔魚の発育に伴う比重の変化.日本水産学会誌,64(5),822-829.

天然ヒラメに寄生するネオヘテロボツリウムの感染状況把握調査

菅谷琢磨, 西岡豊弘, 森 広一郎, 有元 操
(上浦栽培漁業センター)

ヒラメのネオヘテロボツリウム症は、発生当初に貧血症状を主徴とすることからヒラメ貧血症と仮称された(三輪ら, 1999)。その原因虫であるネオヘテロボツリウム *Neoheterobothrium hirame* は、ヒラメに特異的に寄生する吸血性単生虫である(Ogawa, 1999 = Yoshinaga *et al.*, 2001; 虫明ら, 2001)。その未成熟虫は、まずヒラメの鰓弁に寄生し、鰓弓或いは鰓耙へと移動しながら成長する。さらに、成虫になると口腔内へと移動し、口腔壁に把握器で寄生して産卵を行う(Anshary *et al.* 2001)。寄生されたヒラメは顕著な貧血症状を示し、主な病徴として鰓及び肝臓の褪色、心臓の肥大、造血組織における病理組織学的変化及び血液性状の異常が知られている(三輪ら, 1999 = Yoshinaga *et al.*, 2000)。このため、本種の寄生がヒラメの環境順応力を低下させる可能性が考えられる。

また、本虫はこれまでに韓国及び日本において分布が確認されている。日本では、1993年に西部日本海沿岸の天然ヒラメにおいて初めて報告され、1998年には太平洋沿岸においても認められるようになった。現在では、北海道を除く全ての海域で分布が確認されている(Hayward *et al.*, 2001 = 三輪ら, 1999 竹内ら, 1999 = 虫明ら, 2001)。

このような中で、Anshary *et al.* (2002) は、鳥取県沿岸における本虫の寄生率及び寄生虫数の上昇と同海域における0歳魚の減耗との関連性を報告し、本虫の寄生によってこの年級群が減耗している可能性を示唆している。これらのことから、近年、本虫の寄生がヒラメの天然資源を減少させていることが危惧されるようになった。しかし、天然海域における本虫の動態は未だ十分には把握されておらず、さらに知見を蓄積する必要があると考えられる。

以上のことから、本研究においては、日本沿岸の天然ヒラメにおける *N. hirame* の寄生率及び寄生虫数を調査し、その動態を把握することを目的とした。

材料と方法

材料として、1999年から2003年まで宮古湾、若狭湾、駿河・相模湾及び備後灘において入手した天然ヒラメの活魚746尾を用いた(図1、表1)。

調査では、入手した各個体のそれぞれについて *N. hirame* 成虫及び未成熟虫の寄生数を計数した。成

虫は肉眼により確認し、ピンセットで取り出して計数した。また、未成熟虫の計数は Anshary *et al.* (2001) に準じ、各個体から切り出した鰓弁をエタノール固定した後、スターラーを用いて攪拌して未成熟虫を分離して行った。解析は、各サンプルにおける寄生率(寄生個体数/検査尾数)および寄生虫数の平均値を算出し、海域別、入手年別および入手月別に平均値を算出して行った。海域別、入手年別および入手月別の平均値の比較は分散分析および多重比較によって行った。計数は、統計処理ソフトの Statcel (OMS 社製)を用いて行った。また、調査海域の水温として、宮古、宮津、南伊豆および伯方島の各栽培漁業センターの地先の水温データを用い、それらと寄生率および寄生虫数との関連性についてピアソンの相関係数を用いて検討した。

結 果

各サンプルにおける成虫の寄生数を測定した結果、調査した746個体のうち、個体において成虫の寄生が見られた。

成虫の寄生率

1999年から2003年を通して算出した海域毎の寄生率の平均値を比較した結果、海域間に有意差がみられた(図2、分散分析 = $P < 0.05$)。さらに、多重比較において、備後灘の寄生率が低いことが示された($P < 0.05$)。



図1 本調査における天然ヒラメの入手海域

次に、1999年から2003年を通して算出した入手年毎の寄生率の平均値を比較した結果、有意差は見られなかった(分散分析 = $P > 0.05$)。また、入手した月毎について同様に比較した結果、有意差は見られなかった(分散分析 = $P > 0.05$)。さらに、各海域における水温と寄生率とに相関は見られなかった(ピアソンの相関係数 = $P > 0.05$)。

成虫の寄生虫数

1999年から2003年を通して算出した海域毎の寄生虫数の平均値を比較した結果、海域間に有意差は見られ

なかった(分散分析 = $P > 0.05$)。次に、1999~2003年を通して算出した入手年毎の寄生虫数の平均値を比較した結果、有意差は見られなかった(分散分析 = $P > 0.05$)。また、入手した月毎について同様に比較した結果、有意差は見られなかった(分散分析 = $P > 0.05$)。しかし、各海域における水温と寄生虫数とに相関が見られた(図3、ピアソンの相関係数 = $P > 0.05$)。そこで、海域毎に解析した結果、宮古湾においてのみ相関が見られた(図3、ピアソンの相関係数 = $P < 0.05$)。

表1 各海域におけるサンプルの入手年及び月毎の入手尾数および平均全長

海域	入手年	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
宮古湾	1999	-	-	-	-	-	39(34.3)	-	-	11(31.7)	8(18.8)	-	-	58
	2000	-	4(45.2)	-	-	11(36.2)	5(36.5)	-	-	-	-	8(41.5)	-	28
	2001	-	-	5(36.8)	9(37.5)	10(38.7)	-	10(33.3)	-	-	-	-	-	34
	2002	-	-	-	13(38.5)	6(41.1)	-	16(40.4)	-	-	22(34.3)	-	-	57
	2003	-	-	-	-	13(39.7)	-	17(40.2)	-	-	-	-	-	30
若狭湾	1999	-	-	5(35.1)	-	-	1(29.6)	21(34.0)	-	10(34.0)	6(34.6)	3(36.9)	8(40.9)	54
	2000	9(40.3)	-	13(43.3)	11(42.6)	-	14(31.0)	6(33.1)	-	-	-	6(35.6)	-	59
	2001	-	-	26(27.5)	9(35.1)	-	10(36.4)	8(33.5)	-	-	-	-	-	53
	2002	-	-	-	22(39.6)	-	-	14(36.1)	-	-	8(36.4)	-	-	44
	2003	-	-	-	-	14(39.6)	19(36.4)	-	-	-	-	-	-	33
駿河・相模湾	1999	-	-	10(40.6)	8(41.2)	-	11(40.8)	-	-	-	3(38.9)	-	-	32
	2000	-	9(45.0)	-	-	6(41.4)	-	-	-	-	-	-	-	15
	2001	-	-	9(39.2)	9(46.1)	-	4(42.3)	-	-	-	-	-	-	22
	2002	-	-	-	-	16(43.6)	-	-	-	-	-	10(37.4)	-	26
	2003	-	-	-	-	15(44.8)	-	-	4(39.6)	-	-	-	-	19
備後灘	1999	-	-	-	15(39.5)	-	1(49.6)	-	-	3(33.2)	2(41.2)	-	4(24.7)	25
	2000	14(44.4)	7(37.3)	9(36.2)	9(39.8)	-	7(36.7)	-	-	-	7(42.6)	-	9(41.7)	62
	2001	-	11(40.8)	9(42.6)	15(44.3)	12(46.4)	10(46.7)	-	-	-	-	-	-	57
	2002	-	-	-	20(43.7)	-	-	-	-	-	-	9(32.1)	9(28.8)	38
	2003	-	-	-	-	17(50.7)	-	-	-	-	-	-	-	17
合計		23	31	86	140	103	121	92	4	24	56	36	30	746

括弧内は平均全長(単位: cm)

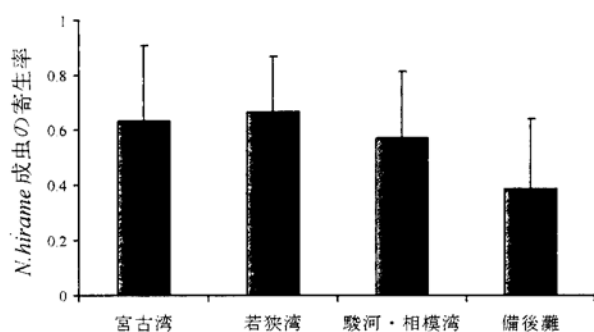


図2 各海域における *N. hirame* 成虫の寄生率の平均値

考 察

天然海域におけるネオヘテロボツリウムにおいては、これまで、冬季に寄生率および寄生虫数が高くなる傾向が示唆されている(Anshary *et al.*, 2002=虫明ら, 2001)。本調査においても、冬季に寄生率および寄生虫数が高くなる傾向があり、宮古湾においては海水温の低下と寄生虫数の増加との間に有意な相関が見られ、これまでの報告が支持された。しかし、月別の値に有意な違いは見られず、季節の違いのみでは寄生状況の動態を説明することはできないと考えられた。

また、海域毎の比較においては、備後灘において寄生率が有意に低くなっており、この海域がネオヘテロボツリウムの汚染の少ない海域であることが示唆された。

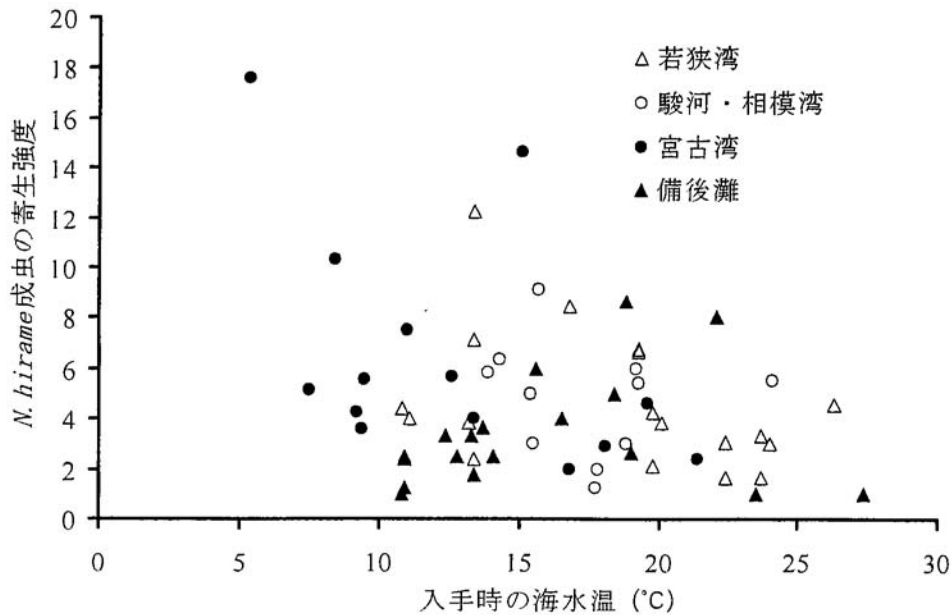


図3 各サンプルにおける *N. hirame* 成虫の寄生強度と入手時の海水温

また、宮古では比較的寄生率が高くなっていた。このため、今後、この2海域を詳細に比較する事により、ネオヘテロボツリウムの動態に関わる要因を把握することができると考えられる。

文 献

- 1) 三輪 理・井上 潔 (1999): 日本沿岸で発生している貧血を特徴とするヒラメの疾病の病理組織学的研究. 魚病研究, 34, 113-119.
- 2) Ogawa, K. (1999): *Neoheterobothrium hirame* sp. nov. (Monogenea: Diclidophoridae) from the Buccal Cavity Wall of Japanese Flounder *Paralichthys olivaceus*. *Fish Pathol.*, 34, 195-201.
- 3) 良永知義・釜石 隆・瀬川 勲・熊谷 明・中易千早・山野恵祐・竹内照文・反町 稔 (2000): 貧血ヒラメの血液性状, 病理組織および単生類 *Neoheterobothrium hirame* の寄生状況. *Fish Pathol.*, 35, 131-136.
- 4) Yoshinaga, T., T. Kamaishi, I. Sagawa, K. Yamano, H. Ikeda, M. Sorimachi (2001): Anemia Caused by Challenges with the Monogenean *Neoheterobothrium hirame* in the Japanese Flounder. *Fish Pathol.*, 36, 13-20.
- 5) Anshary, H., K. Ogawa (2001): Microhabitats and Mode of Attachment of *Neoheterobothrium hirame*, a Monogenean Parasite of Japanese Flounder. *Fish Pathol.*, 36, 21-26.
- 6) 虫明敬一・森広一郎・有元 操 (2001): 天然ヒラメにおける貧血症の発生状況. *Fish Pathol.*, 36, 125-132.
- 7) 竹内照文・服部未夏 (1999): ヒラメの貧血症に関する研究. 和歌山県農林水産総合技術センター水産増殖試験場報告, 31, 21-29.
- 8) Hayward C., J. Kim, H. Gang-Joon (2001): Spread of *Neoheterobothrium hirame* (Monogenea) a serious pest of olive flounder *Paralichthys olivaceus*, to Korea. *Dis. Aquat. Org.*, 45, 209-213.
- 9) Anshary H., E. Yamamoto, T. Miyamaga, K. Ogawa (2002): Infection Dynamics of the Monogenean *Neoheterobothrium hirame* Among Young Wild Japanese Flounder in the Western Sea of Japan. *Fish Pathol.*, 37, 131-140.

クエのウイルス性神経壊死症発病時におけるウイルスの感染状況

佐藤 純, 本藤 靖, 高橋 誠, 虫明敬一
(五島栽培漁業センター)

ハタ科魚類の種苗生産過程におけるウイルス性神経壊死症(VNN)の発生は, 日本のみならず東南アジアの各国においても大きな問題となっている。しかし, その感染動態についてはこれまで十分な知見は蓄積されていない。そのため, 本研究では, 2002年度に五島栽培漁業センターのクエ種苗において発生したVNNについて, 発生後の原因ウイルス(以下: NNV)の感染状況を調査したので報告する。

材料と方法

材料として, 2002年度に五島栽培漁業センターで生産された日齢5, 20, 52, 57, 65, 80, 90, 200および353のクエ種苗365尾を用いた(表1)。種苗におけるNNVの有無は, RT-PCR法, nested-PCR法および培養細胞での分離によって決定した。RT-PCR法およびnested-PCR法には, ISOGEN(ニッポンジーン社製)によってサンプルの各個体から抽出した全RNAを用いた。増幅サイクル数はRT-PCRでは30, nested-PCRでは25とした。増幅産物の有無は, アガロースゲル電気泳動により確認した。

培養細胞でのウイルス分離にはE-11細胞を用いた。接種液には, サンプルの各個体を9倍量のHank's BSSで磨砕し, フィルターでろ過した遠心分離上清を用いた。細胞は25℃で10日間培養して50%感染終末点(TCID₅₀)を求め, Behrens-Karberの方法によりウイルス力価を算定した。また, 調査においては, これらと同時に種苗の日間死亡率を測定した。

結果と考察

クエの種苗におけるNNVの有無を検討した結果, RT-PCR法における検出率は日齢57までは0%であったが日齢65~90では100%となった(図1)。しかし, 日齢200では10%に低下した。一方, Nested-PCR法では日齢52から検出率が上昇し始め, 日齢65に100%となった。その後, 検出率は調査終了の日齢353までほぼ100%であった。細胞培養によるNNVの分離では日齢57からTCID₅₀が上昇し始め, 日齢65で10^{8.76} TCID₅₀/gと最も高くなった。しかし, TCID₅₀はその後急激に低下し, 日齢200以降NNVは分離されなかった。

一方, 日間死亡率は日齢55から上昇し始め, 日齢75まで高く維持された(日間死亡率: 1.2~7.2%, 死亡尾数: 599~2,847尾)(図1)。また, 日齢55~75までの累積死亡数は29,545尾に達した。

国内におけるキジハタの種苗生産やマハタ養殖, および台湾におけるVNNにおいては, 多くの場合, 海水温25~32℃の高水温期に死亡率が上昇し, 23℃を下回る秋期に低下することが知られている。このため, 飼育水温の低下は魚体におけるウイルス量の減少あるいは病原性の低下を導くと考えられている。本調査においても, NNVの検出率及び日間死亡率の推移と水温の推移とが同調する傾向が見られ, これまでの報告が支持された。また, 本調査においては, VNNを発症したクエ稚魚は少なくとも1年間近くウイルス遺伝

表1 飼育試験におけるVNN発生時のサンプルの採取と検査供試個体数

使用水槽	収容尾数 (万尾)	生産尾数 (万尾)	検査方法	日 齢									
				5	20	52	57	65	80	90	200	353	
60kl角型 コンクリート	42.2	6.8 (日齢53)	RT-PCR法	サンプル数 (尾)	30	20	50	20	10	10	5	30	10
			Nested-PCR法	と検査部位	全身	頭部	頭部	目	目	目	目	目	目
				サンプル数 (尾)	60	20	20	20	20	10	10	10	10
			細胞培養法	と検査部位	全身	全身	頭部	頭部	目	目	目	目	目

子を保有していることが明らかとなった。しかし、このことは、必ずしも感染性を有するウイルスの存在を証明しているわけではないため、今後、感染性のウイ

ルス粒子の宿主内での動態に関するさらに詳細な調査が必要である。

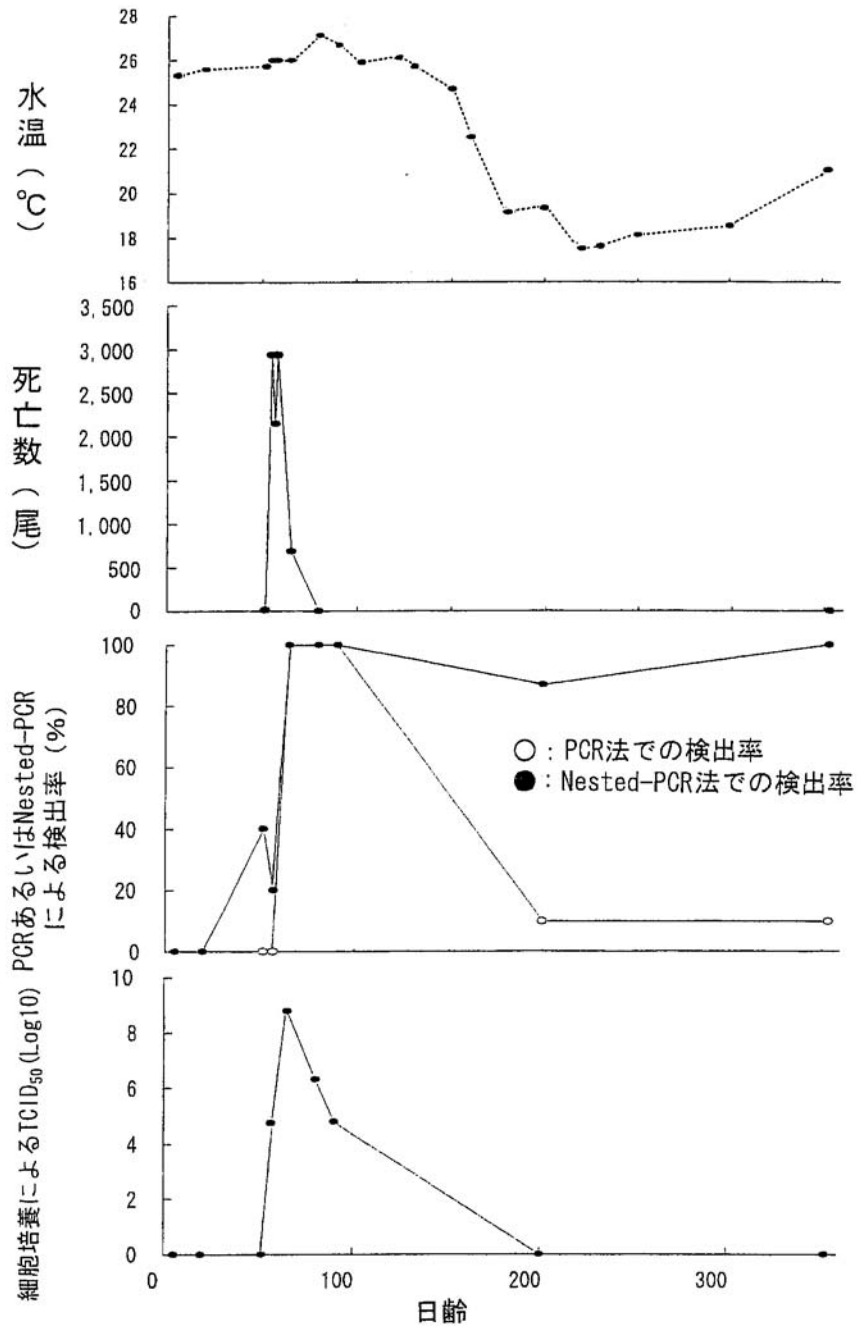


図1 死亡数とNNVの検出結果

クロマグロ種苗生産におけるオキシダント処理海水のウイルス性神経壊死症 (VNN) への防除効果

手塚信弘, 升間主計, 武部孝行, 二階堂英城, 井手健太郎
(奄美栽培漁業センター)

クロマグロ *Thunnus thynnus orientalis* は沿岸から公海を含め広く世界に分布する高度回遊魚であり, 大型で肉質が美味であることから高価格で世界的に商取引され, 国際的に重要な漁業資源となっている。しかし, クロマグロの漁業資源は減少傾向にあり, 世界各地でクロマグロを対象とした漁業を行い, 最大の消費国でもある日本では栽培漁業等による資源の増大と安定化が強く望まれている。一方, 近年養殖が国際的に行われているが, 天然資源における当歳魚の加入量は非常に変動が激しく, 過剰な当歳魚の漁獲が資源へ影響することが懸念されており, 種苗生産による養殖用種苗の供給が重要な課題となっている。

奄美栽培漁業センターでは, 1994年からクロマグロ仔稚魚の飼育技術開発に取り組んできた。しかし, 2000年から飼育試験中のウイルス性神経壊死症 (VNN) が原因と思われる仔魚の大量死亡が発生し, 2001年には12飼育例中4例で, 2002年は23飼育例中, 日齢6までに飼育を中止した2例を除くすべての飼育例でVNNが発生したため, VNN防除技術の開発が緊急かつ重要な課題となった。

2002年に飼育水として, それまで用いていた紫外線で滅菌した海水 (紫外線処理海水) に変えて, オキシダントで滅菌後残留オキシダントを活性炭で除去した海水 (オキシダント処理海水) を用いた1飼育例でVNNによる大量死亡が認められず, VNNの発生が見られなかった。2003年においても同様に紫外線処理海水とオキシダント処理海水を用いて飼育を行い, オキシダント処理海水を用いた飼育例でのみ, VNNの発生は認められず, 種苗を冲出しすることができた。

本報告では, 2年間に渡って実施した紫外線処理海水とオキシダント処理海水を用いたクロマグロ仔稚魚の飼育結果から, 種苗生産へのオキシダント処理海水の利用によるVNN防除効果について検討した。

材料と方法

2002年の飼育試験には, 生簀網および仕切網で飼育した6歳および9歳の親魚から採卵した受精卵を, 2003年は生簀網で飼育した7歳の親魚から採卵した受精卵を用いた。2002年における受精卵の消毒は有効ヨウ素濃度50~75mg/l ヨウ素剤 (イソジン液, 帝國臓

器製薬製) 中で2~5分間, または海水電解法によるオキシダント発生装置 (試作品, 荏原実業製) を用いて調製した残留オキシダント濃度0.2~0.5mg/l を含む海水 (オキシダント海水) 中で1~5分間の消毒を行った。平成15年度は残留オキシダント濃度0.3~0.5mg/l のオキシダント海水で1分間の消毒を行った。消毒後の卵は200~500 l のアルテミアふ化槽に収容してふ化させた (表1)。受精卵のふ化及び飼育試験には紫外線殺菌装置 (フロンライザー4DL, 千代田工販製) を用いて $10^{4-5} \mu\text{w} \cdot \text{sec}/\text{cm}^2$ の紫外線強度で消毒した紫外線処理海水, または残留オキシダント濃度0.3mg/l で3分間消毒したオキシダント処理海水を用いた。オキシダント濃度の測定はo-トリジン法¹⁾により行った。

飼育試験には50kl水槽を用いた。水槽に紫外線処理海水またはオキシダント処理海水を45kl入れ, サイホンを用いて日齢1のふ化仔魚を収容し, 飼育を開始した。飼育開始後, 注水量は紫外線殺菌海水で2~6kl/時間, オキシダント殺菌海水では1kl/時間に調整し, 流水飼育を行った。2002年に行った23例のうちの16例および2003年の4例すべてで, 排水用ストレーナーの中に設置した水中ポンプで吸引した飼育水を, 直径40mmのホースを用いて水槽底に設置した塩ビ製パイプ2本 (約7.5cm間隔で直径1.5mmの穴, 水槽中央部で直交) から吐出させ, 水槽内に左回りで流速約1~2m/分の水流を発生させ, さらに, 水槽中央に設置した4個のエアストーンから通気し飼育を行った。この他の飼育では水槽全体に配置した6~8個のエアストーンから, または, 4カ所水槽の角に設置したエアブロックから通気して飼育を行った。

仔稚魚には, 日齢2~25までは冷凍ナンノクロロプシス *Nannochloropsis* sp. で栄養強化したワムシ *Brachionus plicatilis* を5個体/mlになるように1日に2~3回, 日齢15頃からはハマフエフキ *Lethrinus nebulosus* のふ化仔魚を1日に1~5回, 日齢20頃から冷凍イカナゴ *Ammodytes personatus* の碎片を10~120分毎に給餌した。日齢3~30までは冷蔵した濃縮ナンノクロロプシス (マリンフレッシュ, メルシャン製) を50万細胞/mlになるように1日に2~3回添加した。

飼育水温は24.1~28.5℃, 13:00頃の水面照度は2.0~4.7klx, pHは7.6~8.2の範囲にあった。紫外線処

表1 飼育試験に供した卵の消毒方法、ふ化方および卵の由来

年度	生産 回次	卵消毒方法				ふ化方法			親魚	
		消毒剤	有効濃度 (mg / ℓ)	方法	消毒 時間 (分)	水槽 容量 (ℓ)	換水率 (回転/日)	収容卵数 (万粒)	年齢 (歳)	飼育場所
2002年	1	イソジン	50	流水	2	500	30	20~59	9	仕切網
	2								9	仕切網
	3								9	生簀
	4								6	生簀
	5	イソジン	75	止水	2				6	生簀
	6								9	仕切網
	7								6	生簀
	8								6	生簀
	9								6	生簀
	10								6	生簀
2003年	1	オキシダント	0.48	直接	1	200	40	22~27	7	生簀
	0.57		500			0	21~22	7	生簀	
	2	オキシダント	0.35	直接	1	200	45	20~35	7	生簀
	0.36		500			0	19~25	7	生簀	
	0.49		200			75	22~42	7	生簀	
	0.49		200			75	22~42	7	生簀	

理海水を使用した飼育例では注水量を増すことによつて、オキシダント処理海水を使用した飼育例では酸素を直接通気することによつて、溶存酸素の飽和度を80%以上に維持した。

飼育試験中の仔稚魚を1~5日毎に約30尾採取し、-80℃で冷凍保存した。これらのサンプルを上浦栽培漁業センターまたは広島大学でRT-PCRまたはNested-PCR法によりVNNウイルス遺伝子の有無を検査した。

結果と考察

種苗を冲出しまたは二次飼育まで飼育することができた飼育例を成功例とし、飼育水の殺菌方法の違いによる成功例数等を表2に示した。紫外線処理海水を用いた飼育試験を2002年に22例、2003年に2例の計24例行ったが、成功例はなかった。一方、オキシダント処理海水を使用した飼育例では2002年度に1例、2003年に2例の計3例を行い、すべての飼育例で種苗を生産

表2 2002年度と2003年度の飼育水の殺菌方法の違いによる飼育試験結果

飼育水の 殺菌方法	年度	飼育 例数 (例)	種苗生産に成功した 例数 (例)	率 (%)	取り揚げ時の 生残率 (%)
オキシダント	14	1	1	100	0.3
	15	2	2	100	1.2, 1.8
紫外線	14	22	0	0	—
	15	2	0	0	—

し、成功率は100%であった。また、3例の成功例中、2003年の2例では種苗取り揚げ時の生残率が1.2および1.8%とこれまでの飼育試験の中でも最も高かった。

これらの飼育試験から採取した仔稚魚のVNN検査結果を表3に示した。Nested-PCR法による検査ではすべての飼育例でVNN陽性となった。2003年のオキシダント処理海水を用いた2例と紫外線処理海水を用いた2例の生残率の変化を図1に示した。紫外線処理海水を用いた2例では日齢8と14に仔魚が巡回遊泳または衰弱する等の典型的なVNNの症状が観察され、その後大量死亡により、生残率が急激に低下した。オキシダント処理海水を用いた2例ではこのような症状を呈する仔魚および大量死亡は観察されなかった。

2002年の飼育例中、RT-PCR法で初めてVNN陽性の仔魚が出現した日齢を図2に示した。飼育試験の開始時期が遅くなるに従って、紫外線処理海水を使用した飼育試験ではRT-PCR法でVNN陽性となる日齢が早くなる傾向が見られた。一方、最も遅い時期での飼育となったオキシダント処理海水による飼育試験では、同時期の紫外線処理海水による飼育試験よりも6~10日遅れて陽性となった。

オキシダントで滅菌した海水を飼育水に使用したマツカワ²⁾およびマハタ³⁾の飼育試験で、VNN防除効果が報告されている。また、有元(1995)はオキシダント処理海水および紫外線処理海水を用いたシマアジの飼育試験を行い、紫外線処理海水を用いた例では飼育水槽内で感染魚から健康魚への感染が連続的に起こって全滅に至り、オキシダント処理海水を用いた例では感染魚から健康魚への感染が起こりにくい状況にあ

ったと推定し、飼育水中でのウイルスの活性維持および仔稚魚へのウイルスの吸着が抑制された可能性があると考えしている。

2002年と2003年の飼育に用いた海水の残留オキシダント濃度はオキシダント処理海水で平均0.025mg/ℓ (0.017 ~ 0.039mg/ℓ), 紫外線処理海水で平均

表3 2002年度と2003年度の飼育水の殺菌方法とクロマグロ仔魚のVNN検査結果

飼育水の殺菌方法	年度	飼育例数 (例)	RT-PCRでの検査結果			Nested-PCRでの検査結果		
			調査例数 (例)	陽性例数 (例)	陽性率 (%)	調査例数 (例)	陽性例数 (例)	陽性率 (%)
オキシダント	2002	1	1	1	100	1	1	100
	2003	2	2	0	0	2	2	100
紫外線	2002	22	18 ^{*1}	17	94	11 ^{*2}	11	100
	2003	2	2	1	50	2	2	100

*1: 日齢6までに飼育を中止した4例を除いた

*2: 日齢6までに飼育を中止した2例と検査未実施の9例を除いた

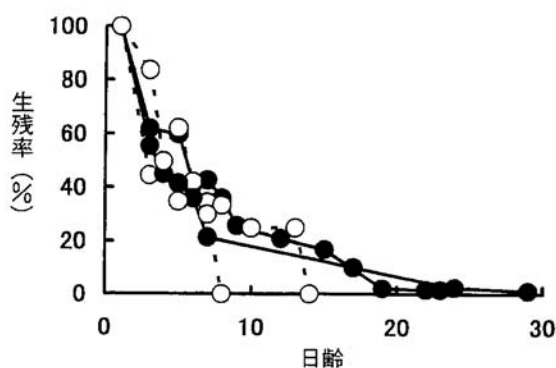


図1 飼育水にオキシダント滅菌海水と紫外線滅菌海水を使用した飼育例の生残率の違い (2003年)

●: オキシダント滅菌海水区 ○: 紫外線滅菌海水区
+: RT-PCR 陽性仔魚

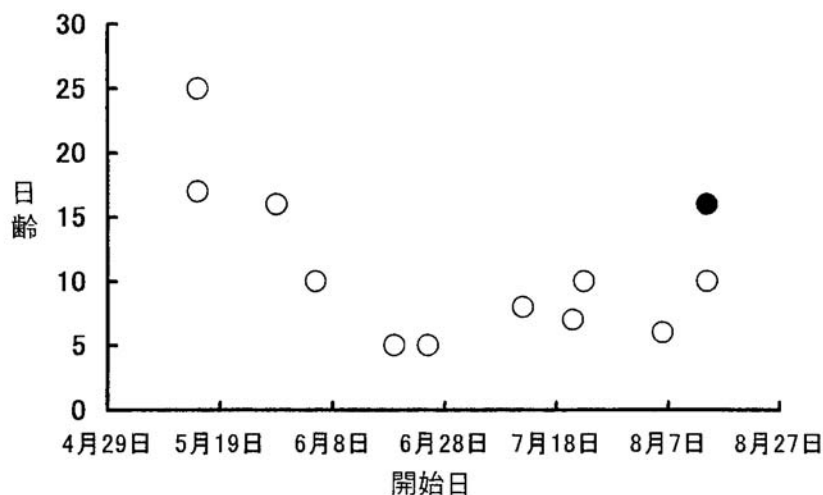


図2 飼育開始日とRT-PCRで陽性化した日齢の関係 (2002年)

●: オキシダント滅菌海水区 ○: 紫外線滅菌海水区

0.0073mg/ℓ(0.0051~0.0092mg/ℓ)であった。同時に測定した当場地先の海水の残留オキシダント濃度はほとんど0に近く、検出限界以下であった。

2002年と2003年の飼育結果から、飼育水にオキシダント処理海水を使用することで、VNN ウイルスへの感染を抑制し、VNN による仔稚魚の大量死亡を防止できる可能性が示唆された。しかし、2003年ではRT-PCR法でVNN陽性とならなかったものの、2002年にはオキシダント処理海水を用いても陽性となり、防除効果は安定していない。オキシダント処理海水中の残留オキシダントがVNNの防除に効果があるかは今後の課題であるが、現在のオキシダント発生装置の能力で得られるオキシダント処理海水は、1ℓ/時間と少ないことが防除効果が安定しない理由の一つと考えられる。今後、オキシダント発生装置の処理能力を高め、オキシダント処理海水の注水量を増し、さらに卵消毒方法の改善等を組み合わせたVNN防除方法の検討が必要である。

文 献

- 1) 三村 元・長光貴子・片山泰人・長瀬俊哉(1999) 海水中の残留オキシダントのオートリジン法による簡易測定. 水産増殖, 47, 103-110.
- 2) 渡辺研一(2000) マツカワに発生したウイルス性神経壊死症(VNN)の防除対策に関する研究, 特別研究報告15号, 社団法人日本栽培漁業協会, 東京. pp. 42-44.
- 3) 土橋靖史・栗山 功・黒宮香美・柏木正章・吉岡基(2002) マハタ種苗生産におけるウイルス性神経壊死症(VNN)の防除対策の検討. 水産増殖, 50, 355-361.
- 4) 有元 操.(1995) シマアジのウイルス性神経壊死症に関する研究. 特別研究報告10号, 社団法人日本栽培漁業協会, 東京. pp. 38-39.

オキシダント海水で消毒したクロマグロ受精卵のふ化管理手法

武部孝行，升間主計，手塚信弘，二階堂英城，井手健太郎
(奄美栽培漁業センター)

ウイルス性神経壊死症(VNN)は様々な海産魚類において発症事例が報告されており，特に種苗生産現場において多大な被害をもたらす重大な疾病である。その感染経路も親魚からの垂直感染，餌料または周辺海域の環境水および生息魚類からの水平感染などが考えられている^{1,2)}。これらの感染経路を遮断し，種苗生産現場においてVNNの発生を防止するための防疫体制の構築は重要な問題である。

近年，このVNNの垂直感染防止にオゾン処理海水による魚卵の消毒が有望視されており，この面からのオゾン利用の研究が始まっている³⁾。奄美栽培漁業センターでは，昨年度よりVNN防除対策の一環として，オキシダント海水でクロマグロ受精卵の消毒を実施している。しかし，受精卵消毒によって未消毒のものより，ふ化率の低下，未ふ化卵および死卵が増加する傾向が認められた。特に未ふ化卵については，残留オキシダントの濃度が高まるごとに，その出現頻度も高くなる結果となり，シロギス⁴⁾，ヒラメ^{5,6)}，シマアジ⁷⁾，マツカワ⁸⁾，マハタ⁹⁾などにも同様な結果が得られている。これは残留オキシダントの作用による卵膜の変性，卵膜の膨張過程の欠如と推察されている¹⁰⁾。

そこで本試験はオキシダント海水で消毒したクロマグロの受精卵を効率良くふ化させるため，ふ化水槽内における管理手法について，特にふ化水槽内の海水を攪拌するに当たっての注水方法について検討を行ったので報告する。

材 料 と 方 法

2003年8月3日から8月26日の間に，φ40m生簀網内で養成しているクロマグロ7歳魚から自然産卵によって得られた卵を試験に供した。卵の発生時期を胚体形成期として試験を行った。卵消毒は海水電解装置(株式会社 荏原製作所製)によって得た残留オキシダント濃度約0.5ppmの海水200ℓを満たした水槽で1分間浸漬して消毒した後，200ℓふ化水槽に収容してふ化させた。ふ化にはUV殺菌海水(株式会社 荏原製作所製)を使用し，注水量を100回転/日に調整した。さらに，比較としてUV殺菌海水約10mlを満たした6穴マルチウェルプレート(以下，6穴ウェル)の各穴に約28~32粒ずつ卵を収容して，26℃に設定した温度勾配恒温器(EYELA MTI-202B型)内でロータリー・

スピードを約500/分に設定したマイクロプレートシェーカー(JANKE & KUNKEL GMBH & CO.KG製：IKA-Schüttler MTS4)を用いて振盪させながらふ化させ，また実験室内(24~26℃)においても同じ設定のマイクロプレートシェーカーを用いてふ化させた。

200ℓふ化水槽での総ふ化率および正常ふ化率は，容量法によって推定し，6穴マルチウェルプレートでは実体顕微鏡下で計数し，6穴の平均値を求めた。対照区として消毒処理しない区を設けるべきであるが，防疫的問題から未消毒卵のふ化は6穴マルチウェルプレートでのみ行った。各試験は2回ずつ実施した。

また，残留オキシダント濃度の測定はo-トリジン法で行った¹¹⁾。

試験 1

従来，当栽培漁業センターでは注水口径φ20の塩ビパイプによる1カ所(以降，従来区)からの注水によって200ℓふ化水槽においてふ化管理を行っていた(図1-1)。本試験では注水方法の違いがふ化に及ぼす影響を調べるため，注水方向を下方向2カ所(以降，下方2カ所区)と上方向2カ所(以降，上方2カ所区)とし，従来区との比較を行った(図1-2および図1-3)。

試験は8月3日と13日に採卵された卵を用いて行った(表1)。

試験 2

本試験では，200ℓふ化水槽での注水方法と注水箇所数の違いがふ化に及ぼす影響について調べるため，1区は注水口径をφ13に細め吐出力を増加させ，注水箇所を1カ所とし(以降，強吐出1カ所区)，2区はφ13の吐出口を4カ所に増やした区(以降，4カ所区)とし，従来区との比較を行った(図1-4)。注水方向は下方向とした。

試験は8月21，22日に採卵された卵を用いて行った(表1)。

結 果

試験 1

表1に結果を示した。8月3日の卵をふ化させた結果では，3区間において総ふ化率，正常ふ化率ともに大きな差は見られなかった。8月13日の結果では，従

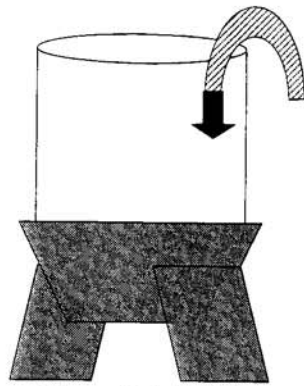


図1-1 従来注水区

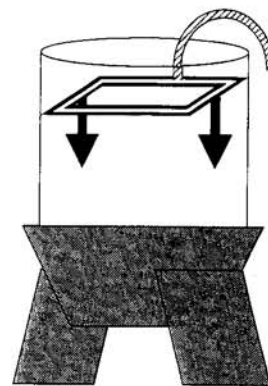


図1-2 下方2カ所注水区

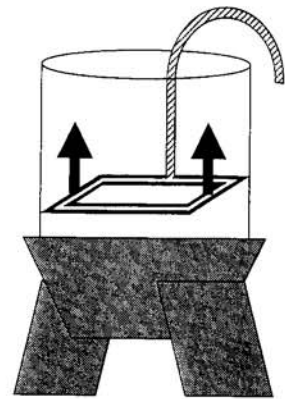


図1-3 上方2カ所注水区

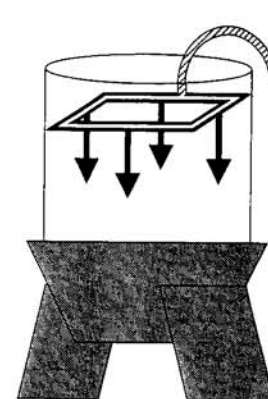


図1-4 4カ所注水区

表1 6穴ウエルとふ化水槽における総ふ化率及び正常ふ化率の結果

採卵日	6穴ウエル (消毒前)		6穴ウエル (消毒後)		200ℓふ化水槽		備考
	平均 総ふ化率(%)	平均 正常ふ化率(%)	平均 総ふ化率(%)	平均 正常ふ化率(%)	総ふ化率 (%)	正常ふ化率 (%)	
8月3日	98	96	99	97	88	75	試験1：従来区
					85	77	試験1：下方2カ所区
					86	81	試験1：上方2カ所区
8月13日	72	28	92	38	72	48	試験1：従来区
					43	24	試験1：下方2カ所区
					48	25	試験1：上方2カ所区
8月15日	76	43	76	64	50	36	下方2カ所法
8月18日	98	79	99	91	89	70	強吐出1カ所法
8月20日	95	68	99	98	80	67	強吐出1カ所法
8月21日	97	62	97	80	42	20	試験2：従来区
					48	16	試験2：4カ所区
					60	28	試験2：強吐出1カ所区
8月22日	98	87	100	97	75	71	試験2：従来区
					7	7	試験2：4カ所区
					100	95	試験2：強吐出1カ所区
8月23日	65	41	71	44	58	42	強吐出1カ所法
	95	89	99	93	75	69	強吐出1カ所法
8月26日	98	93	97	96	93	48	強吐出1カ所法
	98	93	100	100	76	56	強吐出1カ所法

来区で総ふ化率，正常ふ化率ともに高く，他の2区はほぼ同じ値を示した。ふ化水槽内の卵の攪拌状況の観察では，上方，下方2カ所注水の2区は従来区と比べて，ふ化水槽内の卵の垂直方向の攪拌が少なかった。

6穴ウェルでのふ化結果と各試験区を比べると，8月3日では6穴ウェルで総ふ化率，正常ふ化率ともに高い値を示したが，8月13日では消毒後の総ふ化率が高かったが，その他ではほぼ同じ値を示した。

6穴ウェルでの消毒前後のふ化結果を比べると，8月13日で消毒後の方が消毒前に比べて，総ふ化率において大きな差が見られたが，その他の値ではほぼ同じであった。このことから，残留オキシダントによるふ化への影響はなかったものと推測された。

各試験区，6穴ウェルの総ふ化率，正常ふ化率において8月3日と8月13日で大きな差が見られたが，これは得られた卵の質によるものと思われる。

試験2

表1に結果を示した。8月21，22日の卵をふ化させた結果では，ともに強吐出1カ所区で総ふ化率，正常ふ化率ともに高い値を示したが，特に4カ所区においては著しく低かった。4カ所区のふ化水槽内の観察に

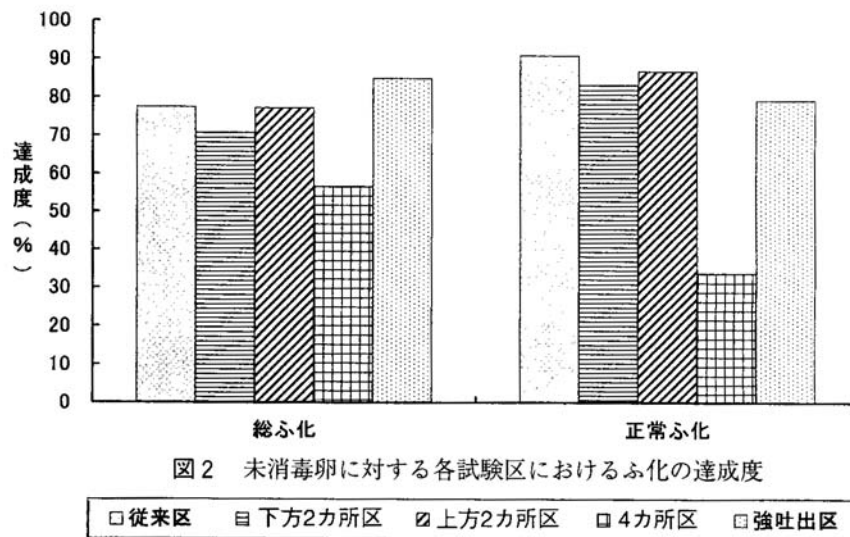
よると，ふ化前の卵がふ化水槽底に沈下し，また排水口のネットに付着しているのが他の2区に比べて多く観察された。4カ所区では，注水量が他の区と同じであることから水の吐出力が分散され，ふ化水槽内を攪拌する力が他の2区と比べて弱くなり，また排水側の排水力は他の試験区と変わらないためにネットへの卵の付着が起こったと考えられた。

6穴ウェルでの結果では，総ふ化率でほぼ同じ結果を示した。正常ふ化率では消毒後で高い傾向が見られた。このことから，試験1と同様に，残留オキシダントによるふ化への影響はなかったものと推測された。

強吐出1カ所区と6穴ウェルの総ふ化率，正常ふ化率を比較すると，強吐出1カ所区で約15～30%低かった。

考 察

今回の試験で得られた結果に個別に行った下方2カ所法および強吐出1カ所法でのふ化結果(表1)を加え，6穴ウェルから得られた未消毒卵の総ふ化率，正常ふ化率を100とし，求めた値(以下，達成度)を用いて，ふ化方法について検討した(図2)。



各試験区の総ふ化率，正常ふ化率について分散分析を行ったところ，総ふ化率で有意差が認められた（表2-1，2-2）。さらに，各試験区間で分散分析を行ったところ，4カ所区とその他の試験区との間に有意水準5%で差が認められたが，その他の試験区間に有意差は認められなかった。この結果から，卵の攪拌が弱く，卵の沈下を生じ，かつ換水ネットに吹き寄せられるようなふ化管理はふ化率を著しく低下させることが分かった。また，統計的な有意差は認められなかったが，総ふ化率において高い攪拌力のあった強吐出1カ所区で高い傾向がうかがえた。さらに，6穴ウェルでのふ

化結果は，ふ化槽での結果に比べて常に高かった。

以上の結果から，注水方法によってクロマグロ受精卵のふ化に違いが見られることが示唆された。一方，6穴ウェルのふ化結果から，今回の残留オキシダント濃度では卵への影響が小さかったことが推測され，今回の試験の目的としていた，注水法による消毒卵のふ化の改善効果について検討することができなかった。

今後，さらに強いオキシダント濃度での卵消毒を行い，量産規模でのふ化管理に注水方法を工夫することで，ふ化率，未ふ化卵への改善が可能かどうかについて検討を行いたい。

表2-1 総ふ化率の分散分析表

要因	平方和	自由度	平均平方	F値
注水方法 (SA)	5229.2	4	1307.3	4.14※
誤差 (SE)	4417.0	14	315.5	
全体 (ST)	9646.2	18		

※有意水準5%

表2-2 正常ふ化率の分散分析表

要因	平方和	自由度	平均平方	F値
注水方法 (SA)	8327.7	4	2081.9	2.00
誤差 (SE)	14543.4	14	1038.8	
全体 (ST)	22871.1	18		

文 献

- 1) Mushiake, K., T. Nishizawa, T. Nakai, I. Furusawa, and K. Muroga (1994) Control of VNN in striped jack : Selection of spawners based on the detection on SJNNV gene by polymerase chain reaction(PCR) *Fish Pathol*, 29, 177-182.
- 2) Arimoto, M., K. Mori, T. Nakai, K. Muroga, and I. Furusawa (1993) Pathogenicity of the causative agent of viral nervous necrosis disease in striped jack, *Pseudocaranx dentex* (Bloth & Schneider) *J. Fish Dis*, 16, 461-469.
- 3) Arimoto M., J. Sato, K. Maruyama, G. Mimura, and I. Furusawa (1996) Effect of chemical and physical treatments on the inactivation of striped jack nervous necrosis virus (SJNNV). *Aquaculture*, 143, 15-22.
- 4) 磯野良介・伊藤康男・木下秀明・城戸勝利 (1993) シロギス卵・稚魚の生残に及ぼす海水オゾン処理の影響. *日水誌*, 59, 1527-1533.
- 5) 三村 元・長瀬俊哉・片山泰人・長光貴子・難波憲二 (1998) オゾン処理海水のヒラメ, *Para-*

lichthys olivaceus 卵に対する影響. *水産増殖* 46, 101-110.

- 6) 三村 元・長光貴子・長瀬俊哉・難波憲二 (1998) 海水中の残留オキシダントの定性分析とヒラメ, *Paralichthys olivaceus* 卵への影響. *水産増殖*, 46, 579-587.
- 8) 渡辺研一 (2000) マツカワに発生したウイルス性神経壊死症の防除対策に関する研究. 特別研究報告15号, 社団法人 日本栽培漁業協会, 東京.
- 7) 有元 操 (1995) シマアジのウイルス性神経壊死症に関する研究. 特別研究報告10号, 社団法人 日本栽培漁業協会, 東京.
- 9) 土橋靖史・栗山 功・黒宮香美・柏木正章・吉岡基 (2002) マハタ種苗生産におけるウイルス性神経壊死症 (VNN) の防除対策の検討. *水産増殖*, 50, 355-361.
- 10) 三村 元・長瀬俊哉・片山泰人・難波憲二 (1999) 未ふ化生残卵の生理学のおよび組織学的考察. *日水誌*, 65, 448-456.
- 11) 三村 元・長光貴子・片山泰人・長瀬俊哉 (1999) 海水中の残留オキシダントのオートリジン法による簡易測定. *水産増殖*, 47, 103-110.

Ⅳ 餌料生物の効率的培養および利用技術の開発

宮古栽培漁業センターにおけるワムシ粗放連続培養技術の実証例

熊谷厚志，有瀧真人，藤浪祐一郎
(宮古栽培漁業センター)

海産ワムシ類の培養は，屋外培養ナンノクロロプシスとパン酵母を用いて植え継ぎ培養法または間引き培養法によって長い間行われてきた¹⁻³⁾。その後，淡水クロレラのワムシ餌料としての利用が検討されたもののすぐには普及しなかったが⁴⁾，丸山等⁵⁻⁶⁾によるビタミンB₁₂含有クロレラの開発と市販開始により急速に普及し，ワムシ培養の増殖率や安定性が増した。次ぎに，吉村等⁷⁻¹⁰⁾が増殖阻害要因の解明をもとに市販濃縮淡水クロレラを積極的に利用した高密度培養法を開発し，1万個体/mlでの培養が可能となった。一方で，マリノフォーラム21により連続培養法が開発され，市販濃縮淡水クロレラを餌料とした培養装置が完成され，1kℓ水槽で毎日30億個体が収獲できる装置が市販された¹¹⁻¹³⁾。しかし，高密度培養法や装置連続培養法は，水温25℃以上においてS型ワムシを対象として開発されたものであり，低温やL型ワムシでの試みは少なかった。その後，連続培養を既存水槽に応用して低密度で培養を行う粗放連続培養法が開発され¹⁴⁻¹⁶⁾，これまで困難だった10～25℃以下の低水温やL型ワムシの培養が安定した。

粗放連続培養法は，連続注水及び連続給餌により培養槽内の環境が安定するため，長期間の培養が可能である。そのため，水槽洗浄作業等の省力化が期待される。また，植え継ぎや間引き培養用の既存水槽をそのまま使用することが可能であり，高価な装置や既存施設の改修を必要としない。一方で，L型ワムシの高密度輸送株を大量培養の元種として利用する方法が開発されているが，実証事例の報告は少ない¹⁷⁻¹⁸⁾。宮古栽培漁業センターでは，飼育水温が低いホシガレイおよびニシンの種苗生産技術開発を行っている。それには低温でも活性の高いワムシが必要である。そこで，高密度輸送L型株を元種とした水温20℃での粗放連続培養の試験を行い，種苗量産への適用性と問題点を検討した。

材料と方法

元種は，能登島栽培漁業センターで粗放連続培養によって生産したL型ワムシ小浜株（携卵雌個体の平均背甲長235μm）3億個体を，高密度輸送法¹⁷⁻¹⁸⁾によって宮古栽培漁業センターに輸送・搬入して用いた。

培養水槽は，5kℓ FRP水槽および20kℓコンクリート水槽とした。5kℓ水槽群は2002年11月22日から2003年2月28日までの期間に2回，20kℓ水槽群は2003年1月9日から2月26日までに2回の培養試験を行った。

培養方法は桑田¹⁴⁻¹⁶⁾に準拠した粗放連続培養とし，水温は水槽内に設置してあるチタン製パイプ内に流した温水による加温で20℃に設定した。培養水は，砂ろ過海水に水道水を混合して60%希釈海水とした。通気は水槽底面に設置した発泡ゴム製散気管（空気用ユニホース：ユニホース社製）から緩やかに行った。酸素通気は使用していない。

餌料は，市販の濃縮淡水クロレラ（フレッシュグリーン600：日清マリンテック株式会社製）とパン酵母（オリエンタル酵母工業株式会社製）の混合給餌とした。1日分の餌料は，両者を淡水に溶解して餌料容器に混合して入れ，保冷剤により冷却した。これを定量ポンプを用いてほぼ24時間にわたり連続して給餌した。安定連続培養期に達した後の給餌量は，水槽ごとに一定量としたケモスタート式管理とし，0.5kℓ水槽は淡水クロレラ1ℓ/日とパン酵母0.25kg/日，20kℓ水槽は淡水クロレラ3～4ℓ/日とパン酵母が1.5～2.0kg/日とした（表1）。ただし，5-1事例では，培養29日目からの5日間は給餌量を培量に増やし，密度と収獲量の向上を試みた。

懸濁物除去用のフィルター（トラベロンエアフィルター：金井重要工業株式会社）は，培養槽内に垂下して毎日交換した。また，貝化石粉末（貝化石：有用資材株式会社）を1回当たり5kℓ水槽で1.3kg，20kℓ水槽で2.6kgの量を週2回水面に散布し，堆積物による底面の環境悪化の防止を図った。ワムシの増殖が停滞傾向にあり，底面の環境悪化が懸念される場合は，散布回数を適宜増やした。

収獲は，培養槽と収獲槽の間を直径25mmのフレキシブルホースで連結し，サイホン方式で注水量と同量を収獲水槽に移槽して行った（図1）。なお，収獲率（＝収獲水量/培養水量）は約0.35に調整した。収獲水槽からの回収と仔魚への供給は，需要に応じて調節した。計数と観察は，毎朝8：30～10：00の間に培養水槽および収獲水槽の水量を確認した後に，水面から培養水を採取して行った。採取直後に水温（株式会社安藤計

器), pH (ガラス電極式水素イオン濃度計: 東亜電波工業株式会社製), 溶存酸素濃度 (DO ハンディタイプ F102: iijma 社製) を調べた。ワムシ個体数の計数は, 先端を切断して口径を大きくした定量ピペットを用いて採取培養水の 1 ml を時計皿に取ってルゴール氏液で固定し, 実体顕微鏡下で雌個体数, 携卵雌個体数, 卵個数, 死体を計数した。培養水中の残餌は, トーマ氏血球計数盤を用いて計数した。

ワムシの増殖率は,

$$\text{比増殖率: } r = \ln(N_t/N_0) / t + h,$$

$$\text{ただし, } dN/dt = (r - h)N$$

より,

$$\text{日間増殖率: } g = (e^r - 1) \times 100$$

r: 比増殖率, h: 収獲率, N: ワムシ密度,

t: 培養日数, g: 日間増殖率 (%/日)

として計算した。

収獲数 F は, 培養槽から収獲槽への移槽の計算値として, 以下の式により計算した。

$$F = h \times V \times N$$

h: 収獲率, V: 培養水量, N: ワムシ密度

収獲槽から抜き取って飼育に供給または廃棄したワムシ個体数は, 回収数として示した。

表1 平成15年度のL型ワムシの粗放連続培養方法

生産区分	培養期間	実水量 (kl) (使用水槽数)	培養水温 (℃)	塩分濃度 ^{*1} (psu)	収獲率 (%)	安定連続培養期の1日の給餌量		備考
						淡水クロレラ (ℓ)	パン酵母 (kg)	
5-1.2	2002.11.22-2003.2.28	5 (2)	20	20	35	1	0.5	5-1事例では5日間のみ給餌量を2倍増
20-1.2	2003.1.9-2.28	20 (2)	20	20	36	3~4	1.5~2	

*1: 60%淡水希釈海水に相当する。

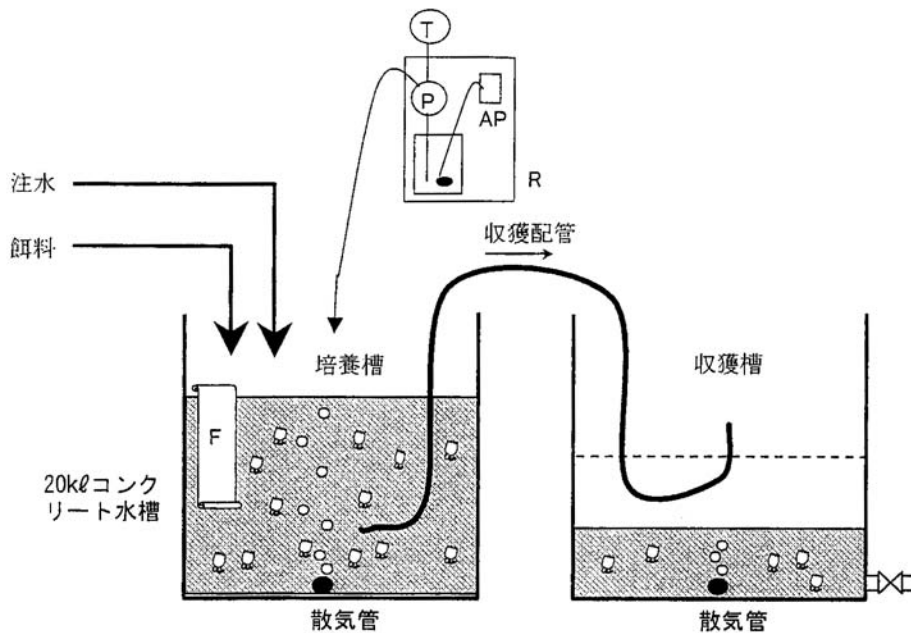


図1 ワムシの粗放連続培養の模式図

注水は24時間連続注水をつけ, 収獲はサイホンを通じて注水量と同量を収獲水槽に移槽して行った。

- T: 電源用タイマー B: 餌料タンク
- P: 定量ポンプ AP: エアポンプ
- R: 保冷库
- F: 懸濁物除去フィルターマット

結果と考察

表2にワムシ培養結果の概要を、図2～5に各事例の培養経過を示した。

どの培養事例でも培養0～5日の間で死体割合が約20%に及ぶ時があるが、20日目以後ではほとんど見られなくなった。20kl水槽では、培養初期には水温やpH、DOの数値に若干の変動が見られたが、ワムシ密度が急激に低下することはなかった(図4、5)。5kl水

表2 5kl水槽および20kl水槽でのワムシ培養結果の概要

生産区分	培養方式	培養日数	平均水温 (℃)	平均密度 (個体/ml)	平均総卵率 (%)	平均日間増殖率 (%)	収穫数*1 (億個体)	回収数*2 (億個体)	単位生産*3 (億個体/kl/日)	総給餌量		備考
										濃縮淡水	クロレラ・パン酵母	
5-1	粗放連続培養	11.22~2.28 (98)	19.9 (11.4~24.0)	145 (61~259)	57.6 (18.0~92.4)	39.1 (-12.7~140.9)	181.4	225.2	0.46	99.8	49.0	L型小浜株 能登島からの搬入
5-2	粗放連続培養	12.10~2.13 (65)	20.1 (11.4~20.4)	137 (89~240)	60.0 (34.3~82.7)	37.3 (-14.9~95.1)	108.0	144.0	0.41	64.6	32.5	
小計							289.4	369.2	0.43	164.4	81.5	
20-1	粗放連続培養	1.9~2.28 (50)	20.6 (19.8~21.3)	82 (60~112)	55.4 (17.1~75.3)	43.3 (-8.5~90.6)	254.1	313.3	0.28	141	70.5	
20-2	粗放連続培養	1.11~2.19 (39)	20.0 (19.8~20.2)	87 (60~114)	59.0 (23.5~87.1)	43.6 (3.2~116.0)	231.2	320.1	0.29	155	76.5	
小計							485.4	633.4	0.29	297	147	
合計							774.8	1,002.6	0.36	461.4	228.5	

*1 収穫数：培養槽から収穫槽への移槽の計算値の合計+最終日培養槽回収個体数-接種個体数

*2 回収数：収穫槽からの回収数の合計+最終日培養槽回収個体数-接種個体数

*3 単位生産：収穫数合計/培養水槽水量累計

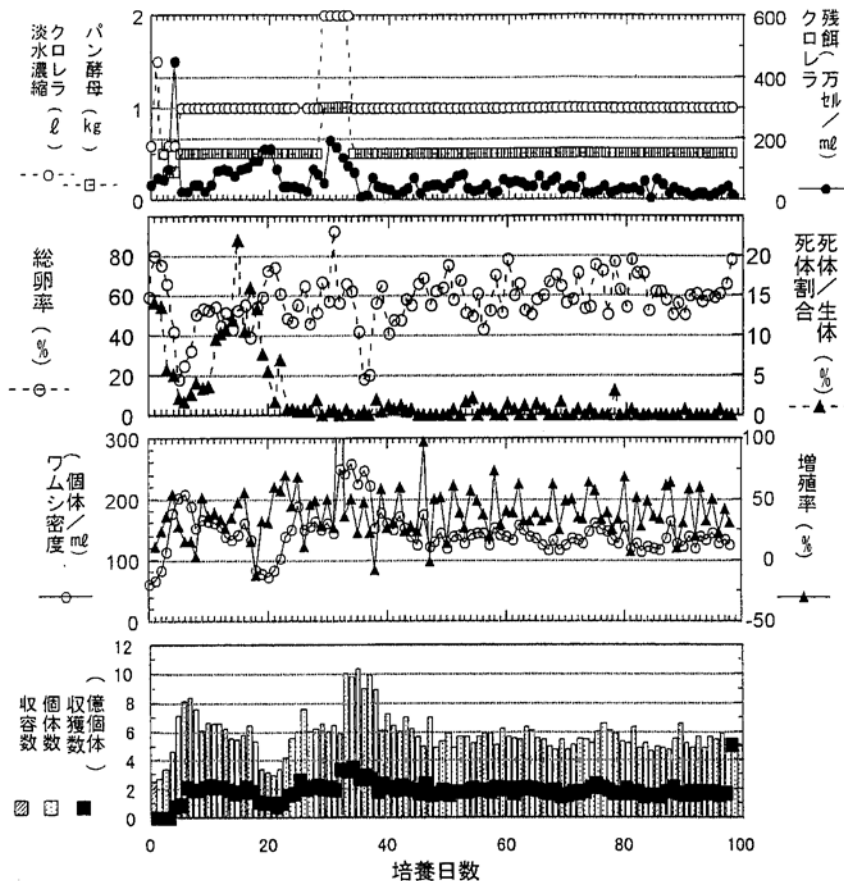


図2 5-1水槽によるL型ワムシ小浜株の粗放連続培養結果

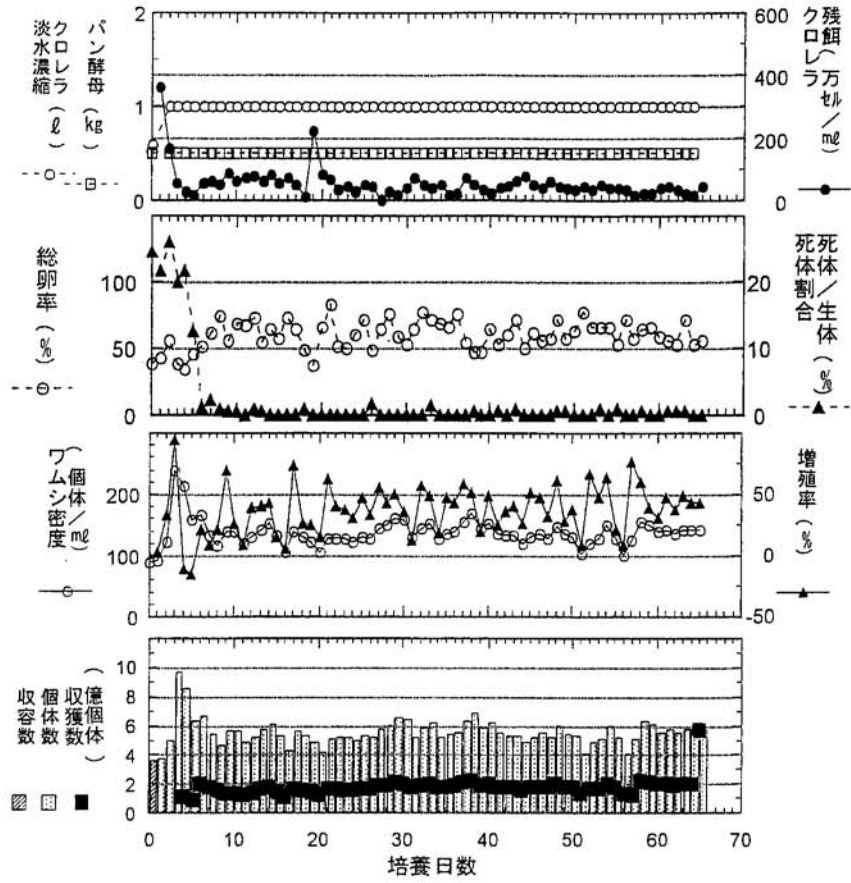


図3 5-2水槽によるL型ワムシ小浜株の粗放連続培養結果

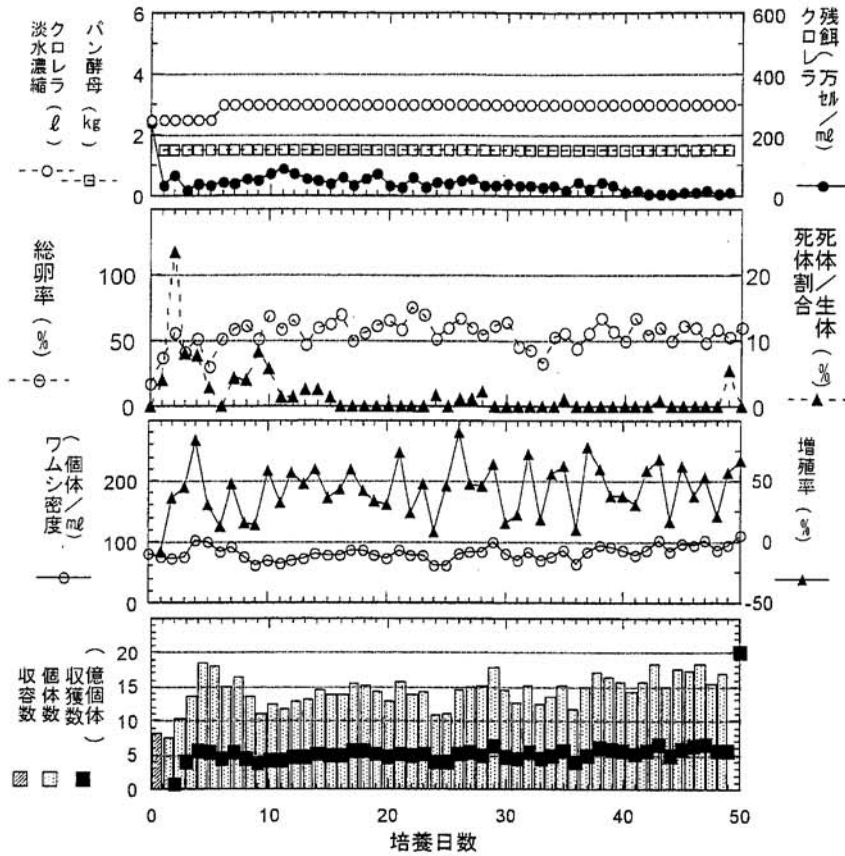


図4 20-1水槽によるL型ワムシ小浜株の粗放連続培養結果

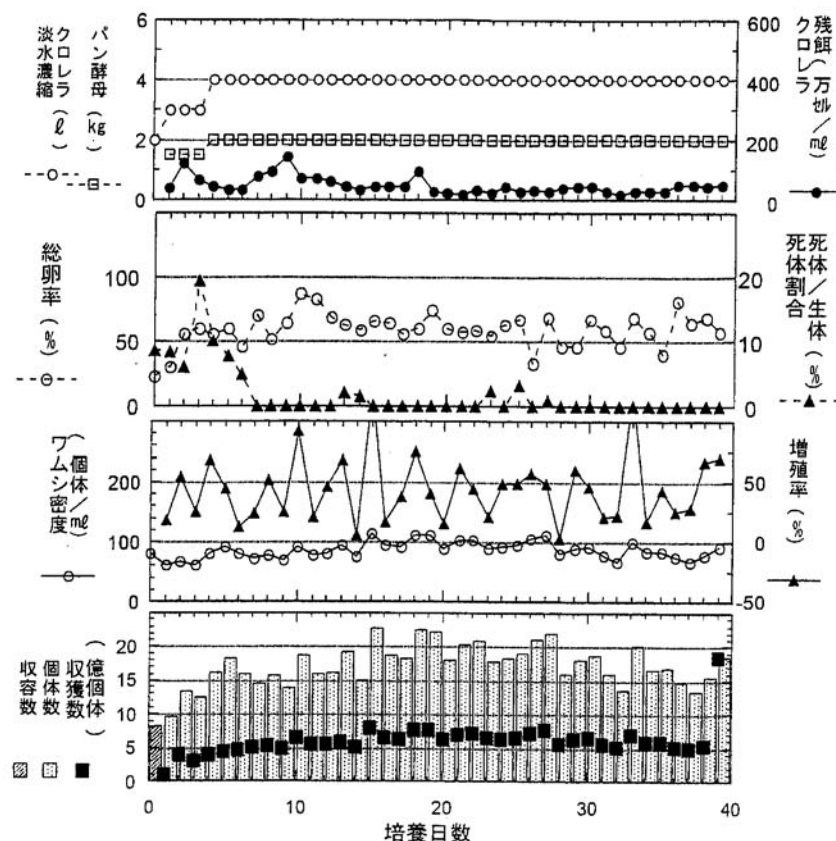


図5 20-3水槽によるL型ワムシ小浜株の粗放連続培養結果

槽は 培養開始後10~20日目のワムシ密度が不安定(73~161個体/ml)であったものの、貝化石粉末を3日間連続添加することで回復した。また、5-1水槽の37日目と5-2水槽の19日目に加温系の不調により8℃以上の水温低下で一旦11.4℃まで下がったが、培養への影響は少なく、期間を通じておおむね安定した培養ができた(図2, 3)。培養日数は、5kl水槽が98日と65日、20kl水槽が50日と39日であった。それぞれの水槽の最終日でも培養破綻を示す兆候はなく、さらなる培養の継続が可能であったと判断された。単位生産は、5kl水槽が平均0.43億個体/kl/日、20kl水槽が平均0.29億個体/kl/日であった(表2)。

収穫数は5kl水槽が289.4億個体、20kl水槽が485.4億個体、合計774.8億個体であった(表2)。回収数は5kl水槽が369.2億個体、20kl水槽が633.4億個体、合計1102.6億個体であり、培養槽から収穫槽への収穫数に対して5kl水槽では1.276倍、20kl水槽では1.305倍であった。収穫槽内での増殖によって、収穫槽内のワムシ密度は計算上 $N(e^r - 1) / r$ とされている¹³⁾。この式に培養実績の r を代入して求めた収穫槽内のワムシ密度の培養槽内のワムシ密度に対する比は、5kl水槽では1.174倍、20kl水槽では1.196倍であった。収穫槽からのワムシの回収は毎日ではなく種苗生産の需給に応じて臨機応変に行っていたために収穫槽内での滞

留時間が長くなったことで、計算値よりも高い値になったと考えられる。粗放連続培養では培養槽内のワムシ密度を安定状態に保ちながら、仔魚飼育への供給との需給調整を収穫槽で行えるが、収穫槽内で長期間滞留するとワムシが飢餓状態となって品質低下の懸念がある。今後は、収穫槽への給餌の検討が必要である。

安定連続培養期の給餌量に対する収穫数は以下となった(表3)。5-1水槽では給餌量を1日当たり市販濃縮淡水クロレラ1ℓとパン酵母0.5kgで収穫率0.34で一定量とした38~97日目のワムシ収穫数の平均値±標準偏差は1.86±0.22億個体であった。5-2水槽では同条件とした31~64日目のワムシ収穫数の平均値±標準偏差は1.87±0.24億個体であった。20-1水槽では給餌量を1日当たり市販濃縮淡水クロレラ3ℓとパン酵母1.5kgで収穫率0.34で一定量とした7~49日目のワムシ収穫数の平均値±標準偏差は5.16±0.72億個体であった。20-1水槽では給餌量を1日当たり市販濃縮淡水クロレラ4ℓとパン酵母2.0kg、収穫率0.37で一定量とした7~38日目のワムシ収穫数の平均値±標準偏差は6.23±0.92億個体であった。4事例の市販濃縮淡水クロレラ1ℓとパン酵母0.5kg当りの収穫ワムシ個体数は1.75億個体であり、ほぼ安定した結果であった。

今年度の培養の日間増殖率は、5klと20kl水槽の両者とも約40%/日を中心に毎日上下に大きく変動した。

しかしながら、2日続けて減少することはほとんどなく、収穫数は上記のようにほぼ安定していた。これは、給餌量が一定であることでケモスタット式管理によるワムシ個体群自体の自律的な密度調節が順調に機能した結果と考えられる。すなわち、給餌の絶対量を一定にすることで、ワムシの活性が高く卵率が上がりワムシ密度が上昇した時には、多くのワムシが餌を分けるためにワムシ1個体当りの餌の割り当てが下がることになり、卵率と増殖率が下がり、反対にワムシ密度が下がった時には、ワムシ1個体当りの餌の割り当てが増えて、卵率と増殖率が上がり、密度が上がる力が働いたものと考えられる。また、5-1事例の培養29~34日には、淡水クロレラとパン酵母の給餌量を2倍に増やしたことでその3日後には顕著に培養密度が上がり、給餌量に応じた生産量の調整が可能であることが実証された(図2)。水温30℃のS型ワムシでの装置連続培養では¹²⁾、給餌量を倍増させると翌日にはすぐにワムシ密度と収穫数がほぼ倍増している。ともに給餌量の倍増によりワムシ密度と収穫数がほぼ倍増した

点は同様であるが、反応日数には違いがあり、これは培養水温が違うことを反映している。一方、作業面では、両水槽群とも粗放連続培養の導入により培養水の抜き取り及び水槽の洗浄が顕著に軽減され省力化が促進された。

表4に平成14年度に実施したS型ワムシの72時間植え継ぎ培養法と平成15年度に行ったL型ワムシの粗放連続培養の給餌を比較した。淡水クロレラとパン酵母の給餌比率は、今年度の粗放連続培養では1ℓに対し0.5kgとしたが、昨年の植え継ぎ培養では1ℓに対し1kgとしていた。今回の粗放連続培養では昨年の植え継ぎ培養法よりも淡水クロレラの給餌割合を多くしたが、今後、L型とS型ワムシの培養特性や効率化、省力化、安定培養などの側面を含めて検討が必要である。ワムシ1億個体当りの餌料費は、昨年のS型ワムシ植え継ぎ培養法では308円であったのに対し、今年度のL型ワムシ粗放連続培養では355円であった。個体重量をL型ワムシが約3μgでS型ワムシが約1μgであったと仮定すると、15%の餌料費の増大によって収

表3 安定連続培養期の給餌量とワムシ収穫数

培養水槽	安定連続培養期 培養日数範囲	収穫率	1日の給餌量		ワムシ収穫数(億個体/日)		濃縮淡水クロレラ1ℓとパン酵母 0.5kg当り収穫個体数(億個体)	
			濃縮淡水クロレラ (ℓ)	パン酵母 (kg)	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差
			5-1	38-97	0.34	1	0.5	1.86
5-2	31-64	0.34	1	0.5	1.87	0.24	1.87	0.24
5kℓ水槽平均							1.87	0.23
20-1	7-49	0.34	3	1.5	5.16	0.72	1.72	0.24
20-2	7-38	0.37	4	2.0	6.23	0.92	1.56	0.23
20kℓ水槽平均							1.64	0.24
全水槽平均							1.75	0.23

表4 2002年度の72時間植え継ぎ培養法と2003年度の粗放連続培養法の比較

年度	生産区分	培養方式	設定水温 (℃)	塩分濃度 (%)	総生産量 (億)	餌料給餌総量		ワムシ1億個体 生産に要する餌料費 (円/1億個体)	備考
						市販濃縮淡水クロレラ (ℓ)	パン酵母 (kg)		
2003	5-1	粗放連続培養	20	60	219.8	99.8	49.0	L型ワムシ	
	5-2	〃	〃	〃	82.4	64.6	32.5		
	20-1	〃	〃	〃	284.2	141.0	70.5		
	20-2	〃	〃	〃	293.4	155.0	76.5		
合計					879.8	460.4	228.5	355	
2003	20-1	72時間植え継ぎ培養	23	100	235.0	98.5	115.0	S型ワムシ	
	20-2	〃	〃	〃	263.9	86.0	98.5		
	20-3	〃	〃	〃	338.9	109.0	120.5		
	20-4	〃	〃	〃	341.2	105.0	122.0		
合計					1,179.0	398.5	456.0	308	

獲ワムシ重量が約3倍となったことを意味し、今年の粗放連続培養の効率が良いことを示唆している。しかしながら、両者ではワムシ株と培養方式および水温も異なるため判然としない。今後の詳細な比較検討が必要である。

宮古栽培漁業センターでは、初めての粗放連続培養であったが、おおむね培養も安定的であり、省力化、効率化が図れた。しかしながら、今回の単位生産量は0.25~0.47億個体/kℓ/日であり、1日の最大生産量は5kℓ水槽2面と20kℓ水槽2面で約17億個体であり、今後ワムシ使用量が増加した場合の対処法を考えなくてはならない。能登島栽培漁業センターでは、単位生産量0.99億個体/kℓ/日で129日間の安定培養事例があるため、宮古栽培漁業センターでも検討が必要である。一方で、回収ワムシ数から飼育に供したワムシは37.2%であり、62.8%は廃棄となった。技術開発中の魚種では飼育の必要数が安定しないために準備したワムシが不要となる割合が多いのは仕方ない面があるが、飼育の需要変動に過不足無く対応するための工夫が必要である。

また、本培養試験では60%希釈海水を用いて培養を行ったが、収獲したワムシを100%海水で栄養強化する際に、活力低下や個体数の減少が生じた事例があった。小磯⁸⁾の結果に基づいて、60%希釈海水で培養したワムシを100%海水に収容して問題ないと判断したが、ピーカーレベルの試験結果と量産規模では異なる可能性がある。一方、能登島栽培漁業センターでは60%希釈海水で培養したワムシを80%希釈海水により栄養強化して100%海水の飼育水槽に給餌しており、活力低下等は報告されていない。同様な方式にするか、または80%希釈海水での培養とするかの検討が必要である。

文 献

- 1) 日本水産学会編(1983)「水産学シリーズ44, シオミズツボワムシ-生物学と大量培養」, 恒星社厚生閣, 東京.
- 2) 平田八郎・森 保樹(1967) 食用イースト給餌によるしおみずつぼわむしの培養. 栽培漁業, 5, 36-40.
- 3) 日野明德(1994) 種苗生産. 「水産学シリーズ100号・現代の水産学」(日本水産学会出版委員会編), 恒星社厚生閣, 東京. pp.124-131.
- 4) 深田哲夫(1987) クロレラの大量培養と水産への応用. 昭和62年度栽培漁業技術研修事業基礎理論コース, 餌料生物シリーズ No.1, 日本栽培漁業協会, 1-26.
- 5) Maruyama, I., Y. Ando, T. Maeda, and K. Hirayama (1989) Uptake of Vitamin B12 by Various Strains of Unicellular Algae *Chlorella*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 55, 1785-1790.
- 6) 丸山 功・金丸彦一郎・中村展男・安藤洋太郎・平山和次(1990) ビタミン B12含有クロレラ給餌によるシオミズツボワムシの開放培養. 水産増殖, 38, 227-231.
- 7) 吉村研治・宮本義次・中村俊政(1992) 濃縮淡水クロレラ給餌によるワムシの高密度大量培養. 栽培技研, 21, 1-6.
- 8) 吉村研治・北島力・宮本義次・岸本源次(1994) 濃縮淡水クロレラ給餌によるシオミズツボワムシの高密度培養における増殖阻害要因について. 日本水産学会誌, 60(2) 207-213.
- 9) 吉村研治(1995) シオミズツボワムシの高密度大量培養システム(上). 養殖, 114-118.
- 10) 吉村研治(1995) シオミズツボワムシの高密度大量培養システム(下). 養殖, 116-118.
- 11) Fu, Y., A. Hada, T. Yamashita, Y. Yoshida, and A. Hino (1997) Development of a continuous culture system for stable mass production of the marine rotifer *Brachionus*. *Hydrobiologia*, 358, 145-151.
- 12) 日野明德(1998) 人にやさしい種苗生産システムの開発 ワムシ連続培養装置. アクアネット, p.45-48.
- 13) (社)日本栽培漁業協会(2000) 海産ワムシ類の培養ガイドブック. 栽培漁業技術シリーズ, 81-91.
- 14) (社)日本栽培漁業協会(2000) 海産ワムシ類の培養ガイドブック. 栽培漁業技術シリーズ, 92-117.
- 15) 桑田博(2001) ワムシの粗放連続培養 既存水槽で行う低予算・省力化培養アクアネット. 4(12), 22-28.
- 16) 桑田博(2001) 日裁協におけるワムシ大量培養技術開発の取り組み. 日本水産学会誌, 67(6), 1140-1141.
- 17) (社)日本栽培漁業協会(2000) 海産ワムシ類の培養ガイドブック. 栽培漁業技術シリーズ, 119-130.
- 18) 桑田博(2002) シオミズツボワムシの高密度宅配養殖1:76-79.
- 19) 小磯雅彦(2001) 培養水の塩分がシオミズツボワムシの増殖, 培養コスト, 栄養強化に及ぼす影響, 水産増殖, 49(1), 41-46.

培養水温が海産ワムシの大きさに及ぼす影響について

小磯雅彦

(能登島栽培漁業センター)

海産ワムシ(以下,ワムシ)の大きさ(背甲長)は,大上ら¹⁾がL型ワムシ *Brachionus plicatilis* では130~340 μm , S型ワムシ *Brachionus rotundiformis* では100~210 μm であると報告しているように,ワムシの種類により異なることが知られている。また,培養条件によってもワムシの大きさが変化することも報告されており,その培養条件として,培養水温^{2,3)},培養水の塩分濃度⁴⁾及び餌料の種類⁵⁻⁷⁾などが挙げられる。これらの培養条件によってワムシの大きさを計画的に調整することができれば,仔魚飼育において仔魚に適合した大きさのワムシを供給することが可能になるため,飼育初期の生残の改善に貢献できると考えられる。しかし,現時点では十分な検討ができるほど知見が収集されていないため,実用化するまでには至っていない。

本研究では,培養条件によってワムシの大きさが変化する現象に関する知見を収集する目的で,培養条件の中から培養水温に注目して,異なる培養水温で4種類のワムシを継代培養し,それらの携卵個体の背甲長と卵径の変化を調べた。

材 料 と 方 法

供試ワムシ

供試したワムシは,L型小浜株,L型近大株,S型岡山株及びS型タイ株の4種類を用いた。各ワムシ株の由来は,L型小浜株は1998年に日本栽培漁業協会小浜事業場(現,小浜栽培漁業センター)から,L型近大株は1998年に同奄美事業場(現,奄美栽培漁業センター)から,S型岡山株は2001年4月に同玉野事業場(現,玉野栽培漁業センター)から,S型タイ株は2001年8月に東京大学日野明德教授から,それぞれ譲り受けたものである。

培養方法

培養水温は5段階の温度設定が可能な温度勾配恒温器(MTI-202: EYELA社製)を2台用いて,L型小浜株とL型近大株は,10 $^{\circ}\text{C}$,14 $^{\circ}\text{C}$,18 $^{\circ}\text{C}$,22 $^{\circ}\text{C}$ 及び26 $^{\circ}\text{C}$ の5段階で,S型岡山株とS型タイ株は,18 $^{\circ}\text{C}$,22 $^{\circ}\text{C}$,26 $^{\circ}\text{C}$ 及び30 $^{\circ}\text{C}$ の4段階とした。培養容器は500mL蓋付きメリクロン瓶を使用し,培養水は培養容器に60%海水(20psu)を約300mL入れて容器ごと培養水をオートクレーブ(SP500: YAMATO社製)により120 $^{\circ}\text{C}$

~15分間の滅菌処理をしたものを用いた。ワムシの植え替えは,各培養水温に調温した滅菌培養水入り容器の中にそれぞれのワムシ株を培養水ごと移し入れて行い,10~14日間隔で植え替えを行いながら継代培養を行った。餌料として濃縮淡水クロレラ(生クロレラV12:クロレラ工業社製)を2,3日間隔で給餌し,培養容器には蓋をして無通気とした。

継代培養期間

各ワムシ株の継代培養は,それぞれが当センターに導入されてからすぐに水温別に培養を開始した。ワムシ株によって培養開始時期が異なり,最も導入が遅かったS型タイ株が2001年8月からであった。継代培養期間は,継代培養を開始してから携卵個体の背甲長と卵径の測定調査を行った2003年4月~5月までであり,培養開始時期が最も遅かったS型タイ株では1.8年間であることから,各ワムシ株の継代培養期間は少なくとも1.8年間以上であると考えられた。

背甲長と卵径の測定

各ワムシ株について,培養水温ごとに携卵個体をそれぞれ50個体ずつ採取した。採取したワムシとその卵は2%ホルマリン液で固定した後,生物顕微鏡の画像解析装置を用いて背甲長と卵径(長径)を1 μm の単位で測定した。なお,背甲長や卵径の変化量の指標として,各ワムシ株において最低水温の携卵個体の背甲長と卵径で各培養水温の携卵個体の背甲長と卵径を除いて,それぞれの背甲長割合と卵径割合を求めた。

統計処理

各ワムシ株における培養水温ごとの携卵個体の背甲長ならびに卵径における平均値の差の検定にはKruskal-Wallis検定,各水準間の差の検定には多重比較検定(Sheffe's検定)をそれぞれ危険率5%で行った。

結 果

携卵個体の背甲長の変化

L型小浜株の携卵個体の平均背甲長は,培養水温10 $^{\circ}\text{C}$,18 $^{\circ}\text{C}$ 及び26 $^{\circ}\text{C}$ では,それぞれ273 \pm 12 μm ,242 \pm 20 μm 及び235 \pm 15 μm となり,培養水温間で有意

差がみられ ($p < 0.05$), 低水温で大型化して高水温で小型化する傾向が認められた。また, 他のワムシ株でも同様な傾向が認められた (表 1)。各ワムシ株の最低水温の携卵個体の背甲長に対して最も変化した背甲長割合は, L型小浜株が86.1%, L型近大株が85.5%, S型岡山株が88.1%, S型タイ株が80.8%となり, その変化量は12~19%であることが示された (図

1)。また, L型近大株の携卵個体の背甲長の最小値-最大値は, 培養水温10℃, 18℃及び26℃ではそれぞれ284-350 μm , 268-332 μm , 232-314 μm となり, 最小値と最大値がともに低水温で大型化して高水温で小型化する傾向が認められた。この傾向は他のワムシ株も同様であった (表 1)。

表 1 異なる水温で培養したワムシの携卵個体の背甲長と卵径

株の種類	培養水温 (℃)	携卵個体の平均背甲長 (μm)	携卵個体の背甲長 最小値-最大値 (μm)	平均卵径 (μm)	卵径 最小値-最大値 (μm)
L型小浜株	10	273 ± 12 ^a	252-296	136 ± 12 ^a	109-157
	14	250 ± 13 ^b	221-283	135 ± 8 ^a	115-147
	18	242 ± 20 ^b	204-273	132 ± 10 ^a	111-147
	22	238 ± 15 ^c	208-275	136 ± 12 ^a	105-155
	26	235 ± 15 ^c	211-265	125 ± 8 ^b	101-138
L型近大株	10	317 ± 15 ^a	284-350	138 ± 13	102-162
	14	296 ± 15 ^b	250-321	136 ± 14	102-160
	18	296 ± 12 ^b	268-332	138 ± 11	106-152
	22	271 ± 16 ^c	209-301	138 ± 10	108-154
	26	271 ± 14 ^c	232-314	136 ± 10	104-152
S型岡山株	18	159 ± 12 ^a	130-185	86 ± 9	64-101
	22	165 ± 15 ^a	131-187	89 ± 8	69-104
	26	151 ± 10 ^b	127-189	88 ± 8	68-101
	30	140 ± 12 ^c	110-164	84 ± 7	66-97
S型タイ株	18	177 ± 9 ^a	155-191	95 ± 10 ^a	73-111
	22	169 ± 7 ^b	148-184	87 ± 9 ^b	71-110
	26	144 ± 9 ^c	131-166	79 ± 9 ^c	61-99
	30	143 ± 8 ^c	123-160	83 ± 5 ^{bc}	73-95

*1 平均値 ± 標準偏差

*2 各ワムシ株における培養水温ごとの背甲長と卵径の平均値の差の検定には Kruskal - Wallis 検定, 各水準間の差の検定には多重比較検定 (Scheffe' s 検定) を行い, 上付文字が異なる区間で有意差があることを示した ($p < 0.05$)。

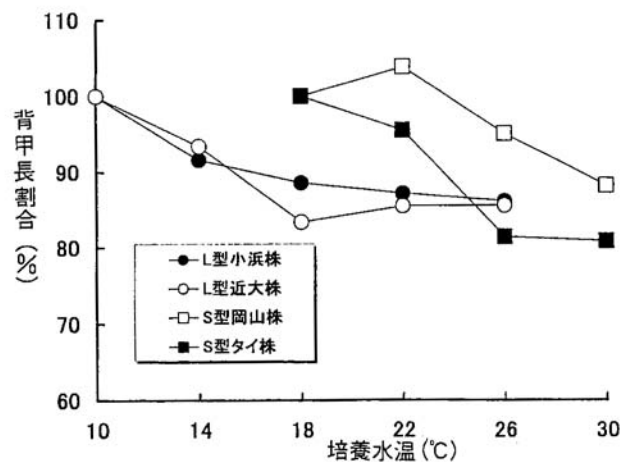


図 1 異なる水温で培養したワムシの背甲長割合
背甲長割合は, 各ワムシ株の最低水温の背甲長でそれぞれの培養水温の背甲長を除して求めた

卵径の変化

L型近大株とS型岡山株の卵径は、培養水温が異なっても有意差はみられなかった。また、L型小浜株の卵径も、培養水温10~22℃の間では132~136 μmの範囲で有意差はみられなかったが、26℃のみが125 ± 8 μmと有意に小さかった (p < 0.05)。しかし、S型タイ株の卵径は、培養水温18℃、22℃及び26℃では、それぞれ95 ± 10 μm、87 ± 9 μm 及び79 ± 9 μm と有意差 (p < 0.05) がみられ、低水温で大型化して高水温で

小型化する傾向が認められた (表1)。各ワムシ株の最低水温の卵径に対して最も変化した卵径割合は、L型小浜株が91.9%、L型近大株が98.6%、S型岡山株が103.5%、S型タイ株が83.2%となり、その変化量はL型近大株とS型岡山株が4%以内に留まったが、L型小浜株が約8%、S型タイ株が約17%であった (図2)。各ワムシ株の卵径の最小値と最大値は、最大値が高水温で若干小型化する傾向がみられたが、最小値については変化が認められなかった (表1)。

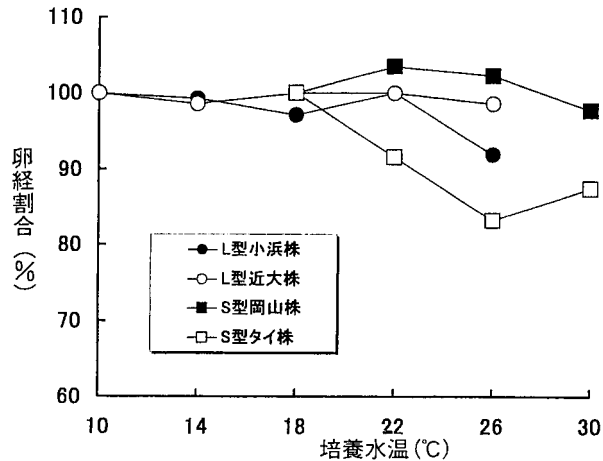


図2 異なる水温で培養したワムシの卵径割合
卵径割合は、各ワムシ株の最低水温の卵径でそれぞれの培養水温の卵径を除いて求めた

考 察

ワムシの大きさに影響を及ぼす培養条件に関する知見としては、培養水温では低水温で大型化して高水温で小型化すること^{2,3)}、培養水の塩分では、低塩分で大型化すること⁴⁾、餌料の種類では、パン酵母よりも油脂酵母で大型化し⁵⁾、酵母類よりも藻類で大型化すること⁶⁾、さらにテトラセルミス *Tetraselmis tetraethela* の利用により大型化すること⁷⁾などが報告されている。また、餌料の量や個体群密度などについてもワムシの大きさに影響を及ぼすことも報告されているが、これらについては研究者により意見が異なるため明らかではない。

本実験では、4種類のワムシを異なる培養水温で1.8年間以上継代培養した結果、携卵個体の背甲長はすべてのワムシで有意に変化し、これまでに報告された培養水温による背甲長の変化と同様に低水温で大型化して高水温で小型化することが再確認された。なお、背甲長の最大変化量については、今回用いた海産ワムシ類では12~19%の範囲であった。水温15℃で培養したL型ワムシを段階的に昇温して25℃とした場合に、平

均背甲長は当初の294.0 μm から240.7 μm となり18%減少すること³⁾が報告されている。これらのことから、海産ワムシ類の背甲長は培養水温によって最大1~2割変化することが示された。一方、卵径については、本実験ではS型タイ株では有意に低水温で大型化して高水温で小型化したが、L型近大株とS型岡山株においては変化が認められなかった。同様な知見として、屋外大型水槽における周年培養では変化しなかったが、加温培養による室内実験では高水温ほど小型化すること³⁾が報告されている。この相違の原因については判然としないが、今後さらなる検討を行う場合には、まずはワムシの卵形成におけるメカニズムを解明することが必要であろう。

今回、携卵個体の平均背甲長の変化と同様に、携卵個体の背甲長の最小値と最大値も低水温で大型化して高水温で小型化する傾向がみられた。最小値は生物学的最小形の大きさ、最大値は寿命に達した時の大きさをそれぞれ示していると考えられることから、高水温で携卵個体の平均背甲長が小型化した理由は、ワムシの発育速度が速いため⁸⁾小型サイズで生物学的最小形に達し、その後も若干成長はするものの寿命が短い⁹⁾ため最大背甲長が小さくなり、その結果として携卵個

体の平均背甲長が小型化したものと推測される。なお、低水温で携卵個体の平均背甲長が大型化する理由については、高水温とは逆の現象が起っているものと考えられる。

以上のことから、培養水温によって、ワムシの生物学的最小形の大きさや寿命に達した時の大きさが変化することでワムシの携卵個体の平均背甲長は最大1～2割変化することが確認された。

仔魚飼育においてワムシの大きさが変化すると、仔魚の摂餌量が変化することや同じ給餌密度でもワムシ1個体当りの栄養価が変化するなどの問題点が生じる可能性があり、これを回避するためにはワムシの培養をできる限り一定条件で行う必要がある。一方、今回の実験で確認されたように、培養条件によってワムシの大きさを調整することができれば、仔魚に適合した大きさのワムシを供給することが可能になるため、飼育初期の生残が改善され種苗生産技術の向上に貢献できると考えられる。

文 献

- 1) 大上皓久・前田 謙 (1977): シオミズツボワムシの変異に関する研究 I. 形態と大きさの変異について. 昭和52年度日本水産学会春季大会講演要旨集, 25
- 2) 福所邦彦・岩本 浩 (1980): シオミズツボワムシの大きさの季節変化. 養殖研報, 1, 29-37.
- 3) 北島 力・青海忠久・小川敏行・小倉敏義 (1981): 大型水槽におけるシオミズツボワムシの増殖について. 栽培技研, 10(1), 99-107.
- 4) 呉羽尚寿・天下谷昭文 (1978): ワムシの個体群繁殖に関する実験的研究-II. 体幅の大きさの変異. 水産増殖, 26(3), 88-95.
- 5) 福所邦彦・岩本 浩 (1981): シオミズツボワムシの大きさにおよぼす餌の影響. 養殖研報 2, 1-10.
- 6) Fukusho, K. and M. Okauchi (1982): Strain and size of the rotifer, *Brachionus plicatilis*, being cultured in Southeast Asian countries. Bull. Natl. Res. Inst. Aquaculture, 3, 107-109.
- 7) 岡内正典・福所邦彦 (1984): テトラセルミス *Tetraselmis tetrahele* のシオミズツボワムシに対する餌料価値-I. バッチ式培養におけるワムシの増殖. 養殖研報, 5, 13-18.
- 8) 森 保樹 (1969): シオミズツボワムシの同調培養. 瀬戸内海栽培漁業協会・志布志事業場技術開発資料, 1-5.
- 9) 石川県増殖試験場 (1982): 昭和56年度指定調査研究総合助成事業, 初期餌料の培養技術向上に関する研究報告書-I, 41.

V 中間育成技術の開発および放流関連技術の高度化

道東海域における地域性ニシンの放流効果調査

鈴木重則，福永恭平
(厚岸栽培漁業センター)

厚岸湾に放流したニシン各放流群の放流効果を，市場調査により実証，評価し，放流種苗の質的変動が放流効果に与える影響を明らかにする。

材料と方法

厚岸ニシン特有の遺伝資源を保全するために，採卵親魚には毎年厚岸沿岸に産卵回遊する成熟ニシンを用い，人工授精により受精卵を確保した。

種苗生産は，50kℓ水槽にふ化仔魚を1万尾/kℓの密度で收容し，栄養強化したL型ワムシ及びアルテミア幼生，配合飼料を成長にあわせて与えた。種苗生産期間中に，ALCまたはTC浸漬により耳石標識を施し

た。

60～70日齢で種苗を水槽から取り揚げ，厚岸港内の海上生簀網へ輸送し，沿岸環境に2週間馴致させた後，同港内へ放流した(図1)。

放流効果を評価するため，厚岸沿岸で漁獲されたニシンを周年定期的に収集し，耳石標識の有無を確認した。月別漁獲量の多少を基準として1年を産卵期(4～5月)と索餌期(6月から翌年3月)に層別し，各期の総水揚重量を補助変数とする比推定により，各期の回収尾数を算出し回収率を推定した。

なお，放流魚の水揚げは1歳の索餌期から始まり，3歳の産卵期まででほぼ終了することから，3歳の索餌期までに回収された尾数を生涯の回収尾数とした。

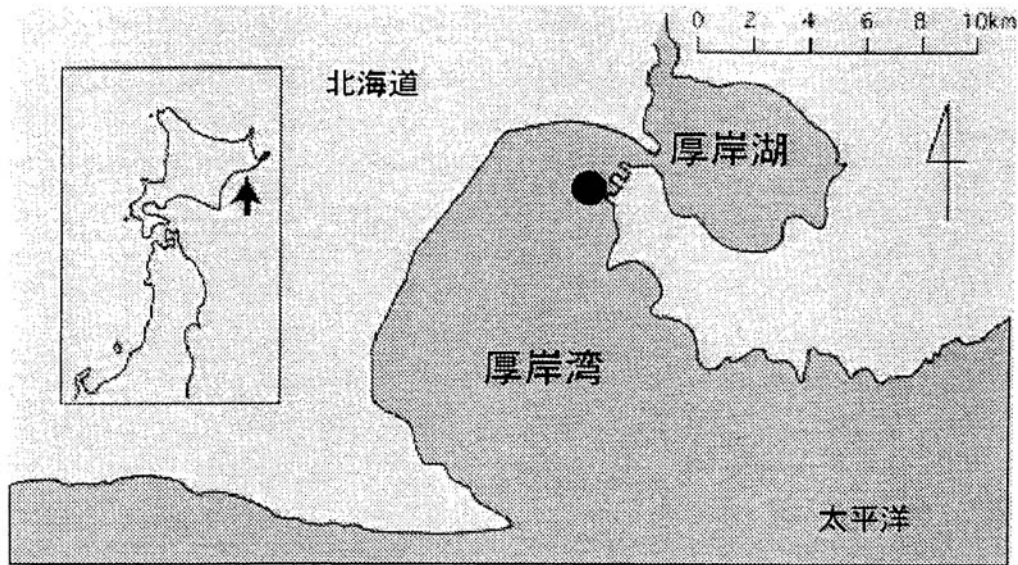


図1 厚岸沿岸の地勢およびニシン人工種苗の放流場所

●：ニシン人工種苗の放流場所

結果と考察

1993～2003年に、厚岸湾へ放流したニシン人工種苗は年間13～58万尾であり、平均全長は57.9～87.1mm、種苗生産過程で発生する脊椎骨の癒合等異常が見られない個体の割合(以下、脊椎骨正常率)は39.2～97.0%

の範囲であった(表1)

放流効果を評価するために1995～2003年に収集したニシン標本は、産卵期で1,677kg、11,732尾、索餌期で1,038kg、7,430尾であった(表2)。また、放流魚は産卵期の標本から2,936尾(混獲率25.0%)、索餌期の標本から754尾(混獲率10.1%)が確認された。

表1 厚岸湾に放流したニシンの概要

放流年月日	放流尾数 (尾)	標識のタイプ	放流サイズ (TL, mm)	脊椎骨正常率*1 (%)
1993. 7.30	130,000	ALC	62.9	39.2
1994. 8. 4	210,600	ALC	67.0	61.4
1995. 8. 3	179,600	ALC	70.1	75.7
1996. 8. 8	274,000	ALC	63.4	51.9
1997. 8. 6	189,480	ALC	61.3	67.0
1998. 8. 6	577,500	ALC	57.9	50.7
1999. 7.30	467,000	TC	70.2	45.0
2000. 7.31	186,600	ALC	74.0	85.5
2001. 8.17	151,000	ALC	68.4	59.7
2002. 8. 6	203,000	ALC (2重)	87.1	94.0
2002. 8. 6	156,000	ALC (1重)	66.6	97.0
2003. 8.11	247,000	ALC (大1重)	79.6	88.3
2003. 8.11	238,000	ALC (小1重)	62.2	86.7

*1 脊椎骨が正常な個体の割合

表2 厚岸沿岸で漁獲されたニシンの標本収集結果および放流魚の混入状況

時期*1	年	水揚重量 (kg)	標本重量		標本数 (尾)	年齢別放流魚尾数(尾)*3				合計
			(kg)	抽出率*2		1歳	2歳	3歳	4歳以上	
産卵期	1995	1,843	94.8	5.1	715	148	0			148
	1996	5,073	132.4	2.6	1,056	281	22			303
	1997	11,697	758.4	6.5	4,968	623	85			708
	1998	3,068	176.7	5.8	1,202	455	33			488
	1999	3,595	137.5	3.8	963	362	7			369
	2000	282	36.7	13.0	301	175	7			182
	2001	6,999	340.2	4.9	2,527	723	12	3		738
	2002	17,470	257.4	1.5	1,766	274	26			300
	2003	8,973	356.5	4.0	2,625	269	27			296
	小計		32,557	1,676.7	5.2	11,732	2,767	166	3	
索餌期	1995	555	26.1	4.7	257	108				108
	1995-1996	543	41.4	7.6	339	33				33
	1996-1997	8,577	204.5	2.4	1,462	15	8			23
	1997-1998	4,460	188.2	4.2	1,337	39	2			41
	1998-1999	4,515	333.5	7.4	2,297	289	21			310
	1999-2000	461	46.1	10.0	361	45	14			59
	2000-2001	1,679	198.3	11.8	1,377	155	25			180
	2001-2002	4,769	139.8	2.9	882	93	7			100
	2002-2003	9,225	112.4	1.2	889	18	1			19
	小計		20,790	1,038.1	5.0	7,430	684	70		
合計		53,347	2,714.8	5.1	19,162	684	2,837	166	3	3,690

*1 産卵期：4～5月、索餌期：6月から翌年3月まで

*2 抽出率(%) = 標本重量 / 水揚重量 × 100

*3 4月1日を加齢日とした

これらの結果から、1993～2001年放流群の回収率は0.4～12.1%の範囲と推定され、回収率は放流群により大きく変動していることが明らかとなった(表3)。

回収率の変動要因を解明するため、1993～2001年放流群の放流サイズ、及び脊椎骨正常率と回収率の関連性を調査した結果、両要因ともに回収率との間に中程度の相関関係が認められ、放流サイズが大きい放流群ほど、もしくは脊椎骨正常率が高い放流群ほど回収率が高い傾向にあった(図2)。

次に、放流サイズ及び脊椎骨正常率が回収率の変動に与える影響の強さを、重回帰分析により比較した。その結果、標準偏回帰係数は、放流サイズで0.432、脊椎骨正常率で0.546と、脊椎骨正常率の値がやや大きい、両要因は回収率に対して同程度に影響を与えるものと考えられた。

さらに、①放流サイズを説明変数とする単回帰モデル、

②脊椎骨正常率を説明変数とする単回帰モデル、および③放流サイズと脊椎骨正常率を説明変数とする重回帰モデルのAICを比較した結果、放流サイズと脊椎骨正常率を説明変数とする重回帰モデルのAICが最も小さく、最適の適合を示すモデルとして選択された(表4)。また、重回帰式の決定係数が74%と高かったことを勘案すると、放流サイズおよび脊椎骨正常率は、回収率の変動に影響を与える諸要因の中でも特に重要な要因であると考えられた。

回収率は、放流サイズと脊椎骨正常率に大きく依存して変動することが明らかとなったことから、今後、回収率(放流効果)の向上および安定を目指すには、適正放流サイズの検討および、種苗生産過程における脊椎骨異常魚の出現防除技術の開発に重点的に取り組む必要があると考えられた。

表3 厚岸湾に放流したニシン放流群別の期間別年齢別回収尾数および回収率の推定結果

放流年	索餌期 ^{*1}				産卵期 ^{*1}			合計	回収率(%) ^{*3}
	1歳 ^{*2}	2歳	3歳	小計	2歳	3歳	小計		
1993	4,114	0	0	4,114	2,876	843	3,719	7,833	6.03
1994	735	393	0	1,128	14,408	1,449	15,857	16,985	8.07
1995	5,398	470	27	5,895	11,644	519	12,163	18,058	10.05
1996	3,130	270	0	3,400	7,052	182	7,234	10,634	3.88
1997	47	2,978	159	3,184	9,439	53	9,492	12,676	6.69
1998	449	387	0	836	1,345	248	1,593	2,429	0.42
1999	2,397	239	0	2,636	14,948	1,764	16,712	19,348	4.14
2000	3,172	82	調査中	3,172	18,594	654	18,594	21,766	12.06
2001	1,477	調査中	調査中	1,477	6,318	調査中	6,318	7,795	5.16

*1 産卵期：4～5月、索餌期：6月から翌年3月まで

*2 4月1日を加齢日とした

*3 回収尾数/放流尾数×100

表4 回収率(目的変数)に対する異なる説明変数のAIC等の比較

説明変数	放流サイズ(x)	脊椎骨正常率(z)	放流サイズ(x)と脊椎骨正常率(z)
回帰式	$y = 0.500x - 26.75$	$y = 0.184z - 4.70$	$y = 0.294x + 0.128z - 20.82$
決定係数	0.54	0.62	0.74
AIC	18.45	16.80	15.11

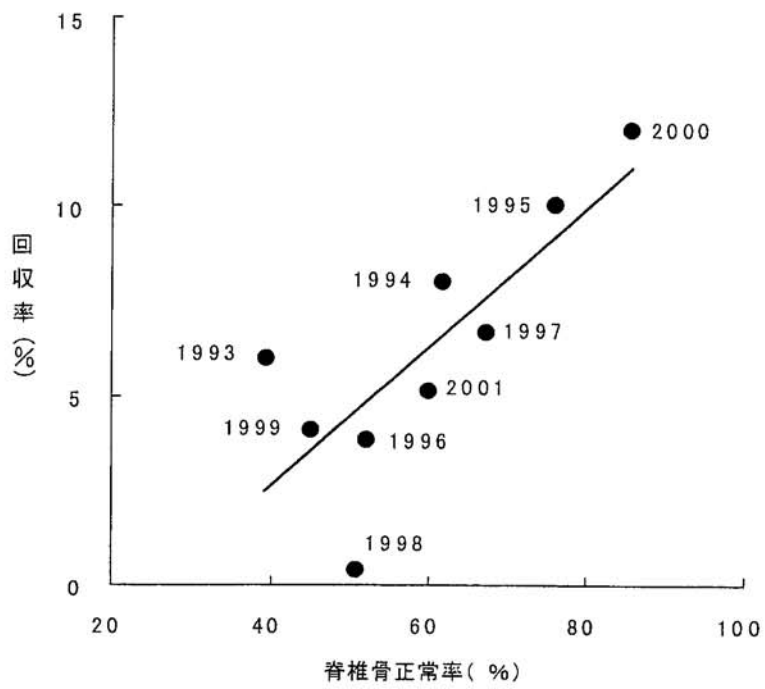
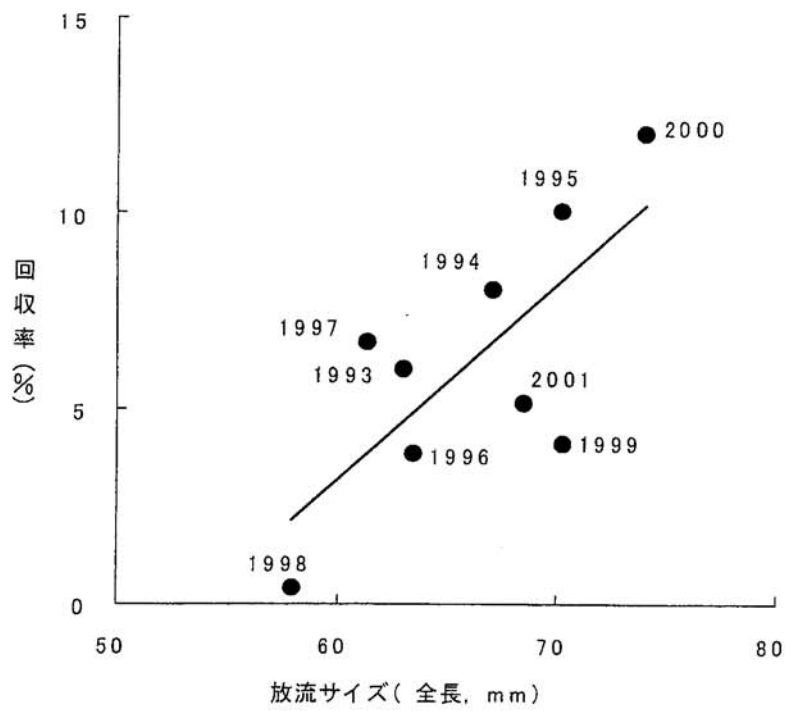


図2 回収率と放流サイズおよび脊椎骨正常率の関係
 図中の数値は放流年を、直線は最小二乗法で推定した回帰式を示す(表4参照)。

キャンバスシートを用いた海上でのハタハタ稚魚のALC標識試験

友田 努
(能登島栽培漁業センター)

放流する仔稚魚を大量かつ効率的に標識することを目的として、蛍光物質による耳石の染色方法の開発が進められている¹⁻³⁾。その結果、マダイ^{4,5)}やヒラメ⁶⁻⁸⁾種苗の放流試験では、アリザリン・コンプレクソン(ALC)による耳石標識(ALC標識)が実用化された^{9,10)}。さらに、マダイ稚魚では、ALCの鱗への沈着が確認され¹¹⁾、耳石よりも採取が容易な鱗を検査することにより、放流魚を追跡調査できる可能性が示された¹²⁾。

一般的にALC標識は仔稚魚期に行われるが、秋田県水産振興センターでは、作業の省力化を目的にハタハタの発眼卵での標識を行い、1995年度から400~500万尾の種苗を放流した。しかし、その放流効果を明らかにするには至らなかった。これは、発眼卵で耳石標識した放流魚の染色状態が不鮮明であるため、耳石の肥厚によりALCの染色が見落とされたためであると考えられた^{13,14)}。そのため、ハタハタ種苗のALC標識の時期は稚魚期が望ましいと考えられたが、稚魚期でのALCの標識作業は、発眼卵に比べて収容密度を低くする必要があり、また、水質の維持管理に注意を要するため、この作業には多大な労力を必要とする。そこで、海上筏で種苗生産されているハタハタ種苗の標識作業の省力化を目的に、キャンバスシート水槽を用いた海上での標識方法について、水槽への種苗の収容方法と収容密度を検討した。

材 料 と 方 法

供試魚

能登島栽培漁業センター地先の海上筏において、2003年2~3月に生産した平均全長30mmのハタハタ稚魚を用いた。

標識作業

ALCの標識作業では、キャンバスシート(3.0×3.0×2.5m:実容量20.0kl)、小割網(240径、3.0×3.0×2.5m:実容量20.0kl)および小型キャンバスシート(2.5×2.5×1.1m:実容量5.0kl)の順に重ねた3層からなる水槽を使用した。水槽の中央部には酸素分散器2個、四隅にはエアストーンを設置し、酸素飽和度の維持(約150%)と蛸集による魚体の擦れを防止した。ALCの浸漬方法は、近年のハタハタ稚魚の標識実績(森岡,未発表)に準じ、ALC濃度は40ppm、

浸漬時間は約20時間とした。ALC浸漬中は日照による水温上昇を防ぐため、寒冷紗により遮光し、海水水(70~80kg)を投入した。標識終了後、上層の小型キャンバスシートを撤去し、小割網で受けて稚魚を回収した。キャンバス水槽に残ったALC溶液は、ブローアード曝気攪拌しながらALC分解のために次亜塩素酸ナトリウムを添加した。溶液中の残留塩素はチオ硫酸ナトリウムで中和し、翌日、*o*-トリジン液で残留塩素の有無を確認し、廃液処理用キャンバスシートを開放した。その他の標識作業手順は、桑田ら⁵⁾に準じた。

実験区の設定

試験では、ALC溶液への収容時のハンドリングと収容密度が生残に及ぼす影響を調査した。ハンドリングによる影響を見るために、1回次は活魚移送ポンプ(ピンピンA:松坂製作所)で、2回次は小型容器でALC標識水槽へ移送し、標識3日後の両者の生残率を比較した。また、1回次、2回次とも、収容密度が生残に及ぼす影響を見るために、低密度区と高密度区を設け両者の生残率を比較した。1回次では、低密度区は1万尾/kl、高密度区は1.4万尾/kl、2回次では、それぞれ1万尾/kl 2区(47,000尾/面)と1.9万尾/kl区(92,000尾/面)とした。

耳石の観察

標識作業が終了した後、ハタハタ種苗から摘出した耳石(扁平石)を70%エタノールで保存し、後日、落射蛍光顕微鏡(オプチフォトXF-EFD:ニコン、×40、G励起)を用いてALCの染色状況を調査した。

結 果

海上筏におけるALC標識試験の概要を表1に、標識3日目までの生残状況を図1に示した。ALC浸漬中の水温は10℃、酸素飽和度は約150%であった。活魚輸送ポンプで収容した試験の低密度区と高密度区の生残率は、それぞれ95.7%と75.0%、小型容器により収容した試験では、それぞれ96.0%と79.7%であり、いずれの収容方法でも高密度区での生残率が低かった。収容方法による生残率を比較すると、低密度区では、活魚輸送ポンプと小型容器による収容に差は認められなかった。しかし、高密度区では、活魚移送ポン

ブで収容した試験の生残率は小型容器で収容した試験に比べて低く、収容方法による差が認められた。耳石観察では、各実験区とも ALC 標識が確認された。

考 察

従来、ハタハタ稚魚の ALC 標識作業は、種苗生産施設である海上筏から陸上水槽へ種苗を移送して行われた。しかし、この方法では、移送によるストレスを稚魚に与え、また、外傷を負わせるため、標識 3 日後の生残率は、71.9% (2000年) または 24.6% (2001年) と低い。特に、本種はマダイやヒラメなどと異なり鱗がないため、移送作業により傷ついた体表粘膜から ALC が浸透し、体内の ALC 濃度が高まり死亡した可能性も十分に考えられ、移送による影響を受けやすいと推察される。本試験における ALC の標識方法は、種苗生産と同じ海上筏で実施するため、移送作業が簡易で時間が短く、種苗に与えるストレスの軽減と外傷の防止に有効であると考えられる。また、移送方法の比較では、小型容器を用いた移送はフィッシュポンプよりも生残率が高く、また、労力も少ないことから、この標識方法を実施する場合の種苗の移送に適していると判断される。

続いて ALC 標識時の種苗の収容密度について検討する。今回の 2 例の試験では、低密度区の生残率は 95% 以上であったが、高密度区 (1.4 万尾/kℓ, 1.9 万尾/kℓ) の生残率は 75~80% と低く、陸上水槽での標識事例 (2000年) と同程度であった。これは、ALC 標識時の海況が悪く、高密度区では、波浪により魚体の損傷が大きかったためであると考えられる。したがって、海上での標識作業では、収容密度は 1.5 万尾/kℓ 未満が最適であるが、荒天時を避けることにより、約 1.5 万尾/kℓ 以上の密度で ALC 標識ができる可能性があり、収容密度と生残率については、さらに調査が必要である。

以上の結果から、海上で種苗生産されたハタハタ種苗の ALC 標識には、作業性と死亡状況から、キャンバス水槽を用いた海上での標識が有効であることが示された。キャンバス水槽への種苗の収容はこの方法は他の魚種への利用も可能であり、さらに、廃液の回収が必要な海上での薬浴等への応用も期待される。

文 献

- 1) 塚本勝巳 (1987): 魚卵・稚仔魚の耳石標識法. 海洋と生物 49 (Vol.9-No.2), 103-105.

表 1 海上筏におけるハタハタ種苗の ALC 標識試験の概要

試験区	供試魚の全長*1 (mm)	浸漬水槽への収容方法	ALC 浸漬条件			標識 3 日後までの生残率 (%)
			濃度 (ppm) × 時間 (hrs)	水温 (℃)	DO (%)	
高密度区 (1.0 万尾 / kℓ)	31.0 ± 1.8	活魚移送ポンプ	40 × 18	10.0 ~ 10.6	141.0 ~ 195.0	95.7
低密度区 (1.4 万尾 / kℓ)	30.8 ± 1.9	活魚移送ポンプ	40 × 18	10.0 ~ 10.6	139.8 ~ 187.5	75.0
高密度区 (1 万尾 / kℓ)	30.0 ± 1.8	小型容器	40 × 19	9.7 ~ 10.3	135.0 ~ 138.4	96.1
低密度区 (1.9 万尾 / kℓ)	29.7 ± 1.8	小型容器	40 × 19	9.7 ~ 10.2	138.5 ~ 145.0	79.7

*1 平均 ± 標準偏差 (n=30)

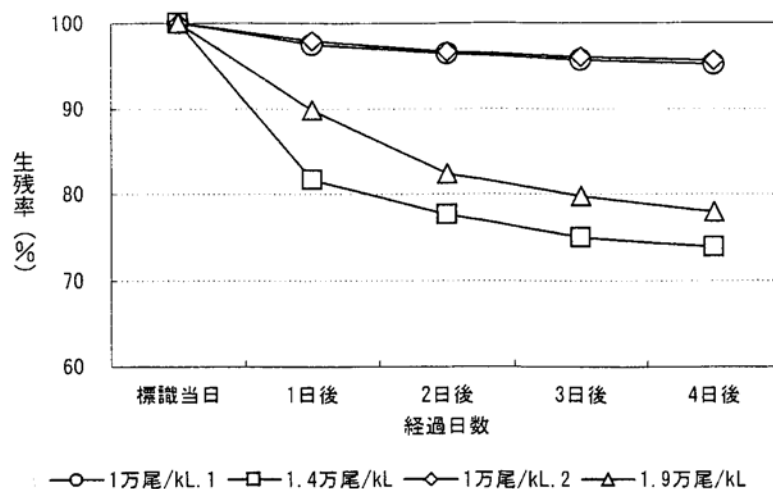


図 1 海上筏で ALC 標識したハタハタ稚魚の収容密度と生残率

- 2) Tsukamoto, K. (1985): Mass-marking of ayu eggs and larvae by tetra cycline-tagging of otoliths. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 51, 903-911.
- 3) Tsukamoto, K. (1988): Otolith tagging of ayu embryo with fluorescent substances. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 54, 1289-1295.
- 4) 桑田 博, 塚本勝巳 (1987): アリザリン・コンプレクソンによるマダイ仔稚魚の耳石標識-I, 標識液の濃度と標識保有期間. *栽培技研*, 16 (2), 93-104.
- 5) 桑田 博, 塚本勝巳 (1989): アリザリン・コンプレクソンによるマダイ仔稚魚の耳石標識-II, 大量標識. *栽培技研*, 17 (2), 115-128.
- 6) 関根信太郎, 今泉 均 (1988): IV-P-1 耳石染色による標識法の開発. *昭和63年度日本栽培漁業協会事業年報*, 373-377.
- 7) 今泉 均 (1989): IV-P-1 耳石染色による標識法の開発. *平成元年度日本栽培漁業協会事業年報*, 324-328.
- 8) 今泉 均 (1990): IV-P-1 耳石染色による標識法の開発. *平成2年度日本栽培漁業協会事業年報*, 375-376.
- 9) Tsukamoto, K., H. Kuwada, J. Hirokawa, M. Oya, S. Sekiya, H. Fujimoto and K. Imaizumi (1989): Size-dependent mortality of red sea bream, *Pagrus major*, juveniles released with fluorescent otolith-tags in News Bay, Japan. *J. Fish. Biol.*, 35 (Supplement A), 59-69.
- 10) 虫明敬一, 伊藤捷久, 長谷川 泉, 佐野隆三 (1989): 愛媛県御荘湾におけるマダイのふ化仔魚放流試験の結果について. *栽培技研*, 18 (2), 115-127.
- 11) 土地敬洋, 今井利為 (1993): マダイ稚魚の組織と鱗へのアリザリン・コンプレクソンによる染色. *水産増殖*, 41, 379-385.
- 12) 中村良成, 桑田 博 (1994): アリザリン・コンプレクソンによる稚魚への大量標識法における鱗からの標識検出法の検討. *栽培技研*, 23 (1), 53-60.
- 13) 長倉義智, 杉下重雄 (2002): III-5. 標識. *栽培漁業技術シリーズ No.8 「ハタハタの生物特性と種苗生産技術」*, 62-67.
- 14) 古仲 博 (2002): IV-1-(5). 発眼卵標識. *栽培漁業技術シリーズ No.8 「ハタハタの生物特性と種苗生産技術」*, 79-80.

若狭湾におけるアカアマダイの標識放流試験とその再捕状況

竹内宏行, 渡辺 税, 中川 亨
(宮津栽培漁業センター)

水産総合研究センター宮津栽培漁業センターでは、1984年の開所以来、アカアマダイの親魚養成と種苗生産の技術開発に取り組んできた。本種は、縄張りを形成する特異的な生態から、自然産卵による受精卵の大量確保ができず種苗生産技術は停滞していた。しかし、1997年から天然魚の人工授精による採卵技術の開発に取り組み、採卵適期の特定および精子保存技術の開発によって、大型水槽での種苗生産試験ができる量の受精卵の確保が可能となり、1998年には初めて種苗を放流するに至った。また、2000年には初めて放流魚が再捕され、現在まで毎年数例の再捕報告がなされるようになった。ここでは、標識放流試験の概要と再捕状況について報告する。

放流は、船上からと岸から行った。船上からの放流では、バケツまたはビニール袋から表層放流する方法と、円柱状の放流器を海底まで降ろした後解放する方法、および種苗を収容した1ℓポリエチレン製水槽を海面で反転する方法により行った。岸からの放流は、バケツで手渡しによって行った。

船上からの放流器による方法、および水槽を反転する方式は、京都府立海洋センターと共同で海洋センターの調査船(平安丸)で実施した。また、2001年の伊根町地先、2002年および2003年の宮津市地先での放流は、京都大学と共同で実施した。1998年～2003年までに、平均全長9.1～16.8cmで合計19,729尾の標識装着魚を放流した。

材料と方法

若狭湾におけるアカアマダイの標識放流試験の概要を表1に示した。放流種苗は、9～10月に得られた受精卵を用いて生産した全長20mmサイズの種苗を、外部標識が装着可能な全長8～12cmまで約5～6カ月間陸上水槽で中間育成した。標識は、印字部がフィルムでコーティングが施されたスパゲティ型タグと一部リボン型タグを使用し、背鰭基部に装着した。

結果と考察

再捕は、放流を開始して2年目の2000年に初めて4例の報告が得られた。その後、2003年現在までに18例の再捕報告が得られている(表2)。

2000年の報告は、1999年放流群が1尾、2000年放流群が3尾の計4尾で、このうち3尾は放流8～20日後に放流地近くで捕獲されたが、1尾は放流後456日であった。再捕場所は福井県高浜町沖で、漁法は漕ぎ刺

表1 これまでのアカアマダイ標識放流試験の概要

放流群	放流年月日	放流場所	水深(m)	全長(cm)	放流尾数(尾)	標識	放流方法
1998年	5.24	宮津市由良沖	30	12.8 (11.2～14.4)	721	黄スパゲティ KT95	放流器による海底放流
1999年	5.18	伊根町鋤崎沖	60	13.4 (10.2～15.6)	930	黄スパゲティ KT98	ビニール袋による表層放流
	5.26	宮津市由良沖	30	13.6 (10.9～15.6)	500	黄スパゲティミヤヅ99	放流器による海底放流
2000年	5.23	宮津市由良沖	30	10.9 (9.7～12.6)	2,000	緑スパゲティ KT00	といと放流器
	6.19	宮津市養老漁港	2	10.7 (9.8～14.0)	1,540	白スパゲティミヤヅ0短	バケツによる表層放流
	6.19	伊根町亀山地先	1	10.7 (9.8～14.1)	1,570	白スパゲティミヤヅ00	バケツによる表層放流
	6.20	伊根町鋤崎沖	60	10.7 (9.8～14.2)	1,500	白スパゲティミヤヅ00短	バケツによる表層放流
	11.29	宮津市黒崎沖	60	16.8 (13.1～21.5)	1,119	緑スパゲティ KT0短	水槽反転方式による表層放流
2001年	4.18	宮津市黒崎沖	56	9.1 (7.7～10.8)	854	緑リボン	水槽反転方式による表層放流
	5.16	宮津市黒崎地先	8	11.2 (9.8～13.3)	1,958	橙、赤スパゲティ KT01	水槽反転方式による表層放流
	6.11	伊根町亀山地先	1	12.3 (10.8～15.2)	1,479	空スパゲティミヤヅ01	バケツによる表層放流
2002年	5.20	伊根町鯛崎沖	85	10.0 (8.8～12.3)	1,923	黄緑スパゲティ KT	水槽反転方式による表層放流
	6. 3	宮津市波路地先	2	11.4 (9.5～13.9)	880	黄スパゲティ MY	バケツによる表層放流
	6.17	宮津市波路地先	2	10.2 (9.1～11.4)	830	黄スパゲティ MY	バケツによる表層放流
2003年	8.30	宮津事業場地先	8	15.9 (12.7～19.4)	24	黄スパゲティ MY	バケツによる表層放流
	6. 2	宮津市波路地先	1	11.6 (10.0～14.1)	961	黄、桃スパゲティ MY	バケツによる表層放流
	6.10	伊根町鯛崎沖	60,100	10.6 (8.5～12.5)	940	黄緑、紫スパゲティ KT	水槽反転方式による表層放流
合計					19,729		

網漁であった(図1)。

2001年は、1999年放流群が2尾、2000年放流群が3尾、および2001年放流群が1尾の計6尾が再捕された。このうち1尾は、2001年6月に伊根町地先で放流されたもので、放流4日後に放流地近くの定置網漁で捕獲された。一方、越年して再捕された個体は5尾で、放流後300~854日経過していた。再捕場所は、5尾中4尾が宮津市から伊根町にかけての丹後近海であり、1尾は福井県高浜町沖であった。

2002年は、2000年放流群が2尾、2001年放流群が2尾、および2002年放流群が1尾の計5尾が再捕された。

このうち1尾は、2002年5月に伊根町沖で放流されたもので、京都府立海洋センターの追跡調査で放流2カ月後に放流場所と同じ場所で捕獲している。このことから、放流魚は放流場所付近から2カ月間余りほとんど移動していないことが判明した。一方、越年して再捕された個体は4尾で、放流後444~838日であった。漁獲された場所は4尾中3尾が宮津市から伊根町にかけての丹後近海であり、1尾は舞鶴市沖であった。

2003年は、これまでに2000年放流群が1尾、2001年放流群が1尾、および2002年放流群が1尾の計3尾が再捕された。2000年群は、由良沖で放流され、放流後

表2 これまでのアカアマダイ放流魚の再捕報告の概要

再捕日	標識	放流日	放流場所	再 捕			再捕場所	水深(m)	漁法
				経過日数	体重(g)	全長(cm)			
2000. 6.27	白ミヤヅ00	2000. 6.19	伊根町亀山地先	8	20	11.7	伊根町亀山地先	1	釣り(遊漁者)
2000. 7. 9	白ミヤヅ0	2000. 6.19	宮津市養老漁港	20	—	約10	養老漁港出口	3~5	釣り(遊漁者)
2000. 8.16	黄KT98	1999. 5.18	伊根町鋤崎沖	456	200	25.0	福井県高浜沖	105	漕ぎ刺網
2000.12. 9	緑KT00	2000.11.29	宮津市黒崎沖	10	—	—	舞鶴市野原地先		定置網漁
2001. 6.15	空ミヤヅ01	2001. 6.11	伊根町亀山地先	4	—	13.6	伊根町地先		定置網漁
2001. 7.30	黄ミヤヅ99	1999. 5.26	宮津市由良沖	796	247	27.1	宮津市養老沖合	50	延縄漁
2001. 9.18	黄KT98	1999. 5.18	伊根町鋤崎沖	854	300	—	福井県高浜沖		釣り
2001. 9.25	緑KT00短	2000.11.29	宮津市黒崎沖	300	200未満	—	丹後海		延縄漁
2001. 9.29	緑KT00短	2000.11.29	宮津市黒崎沖	304	—	27.2	宮津市養老沖合		延縄漁
2001.10. 9	緑KT00	2000. 5.23	宮津市由良沖	504	—	23.0	宮津市養老沖合		延縄漁
2002. 6.24	白ミヤヅ00	2000. 6.19	伊根町亀山地先	735	190	約19	宮津近海		延縄漁
2002. 8. 3	橙か赤KT01	2001. 5.16	宮津市黒崎地先	444	200	23.0	伊根町沖		
2002. 8. 7	黄緑KT	2002. 5.20	伊根町鯛崎沖	79			伊根町鯛崎沖	85	平安丸調査
2002. 9. 9	緑KT00	2000. 5.23	宮津市由良沖	838	224	25.6	舞鶴市野原高島沖約5km	68	釣り(遊漁者)
2002.12. 2	橙KT01	2001. 5.16	宮津市黒崎地先	565	—	約17	宮津市養老沖	50以浅	延縄漁
2003. 7.18	黄MY0105	2002. 6. 3	宮津市波路地先	410	180	23	宮津市養老沖	約50	延縄漁
2003. 7.21	緑KT00	2000. 5.23	宮津市由良沖	1,154	150	25	舞鶴市成生毛島近海		延縄漁
2003. 9. 4	橙KT01	2001. 5.16	宮津市黒崎地先	841		20	舞鶴市野原沖約6km	68	延縄漁

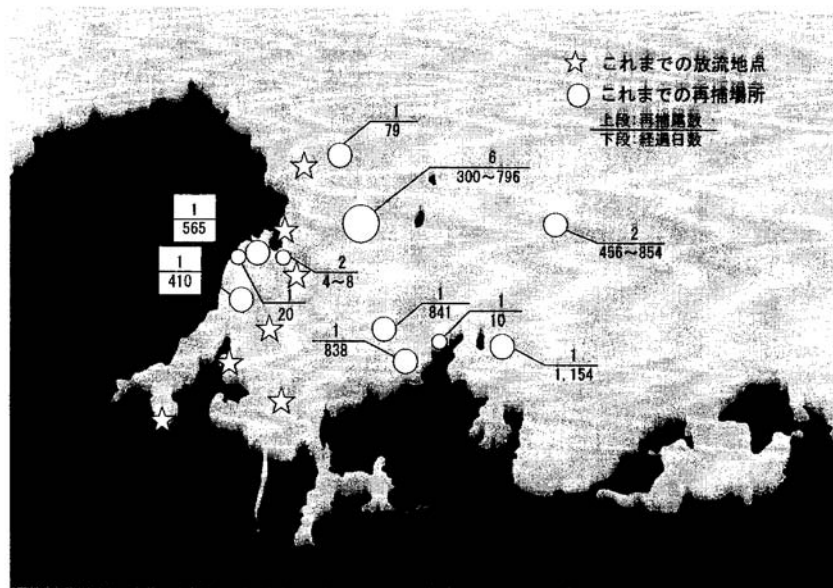


図1 アカアマダイ放流魚の再捕状況

1,154日に延縄漁で漁獲された。2001年群は、黒崎地先で放流され、放流後841日に延縄漁で漁獲された。また、2002年群は、宮津湾水深2mで放流され、放流後410日に放流場所から約14km離れた水深50m海域で延縄漁によって捕獲された。

これまでに越年して再捕された個体は18例中13例であり、放流後10～38カ月を経過して漁獲されているが、漁獲場所はいずれも放流場所から20km以内で、アカ

アマダイの移動範囲が比較的小さいことが示唆された。また、2001年までに越年して再捕された事例は、すべて水深30m以深での放流群であった。しかし2002年には地先放流群の再捕報告が3例、2003年には2例あり、本来の生息場所ではない沿岸からの放流手法の可能性が示唆された。今後さらに再捕報告から放流方法と放流海域等に検討を加え、本種の放流手法の技術開発を進めていく必要がある。

漁港における幼稚魚育成施設の開発調査

小畑泰弘，津村誠一
(玉野栽培漁業センター)

本調査は，水産庁からの委託により，2002年度から2004年度までの3カ年間，漁港水域の立体的な高度利用の観点から生物資源培養機能を強化した漁港施設の開発を目的として，(財)漁港漁村漁場技術研究所並びに岡山県と共同で実施するものである。

1. 調査の目的

漁港水域は漁船の係留拠点であるとともに，幼稚魚の生息場としても重要な静穏水域である。漁港水域の立体的な高度利用の観点から，特に防波堤を中心とした漁港の形状を検討し，生物資源培養機能を強化した漁港の構築を目指す。

2. 調査の内容

漁港の構造，物理化学的環境，生物環境の調査を行うとともに，漁港内に餌料生物培養機能と幼稚魚の滞留機能を有する人工構造物を設置し，天然幼稚仔の生息環境の整備，および人工放流魚の滞留，生育場の創出を行い，生物資源の増殖機能を強化した漁港施設の開発を行う。本調査では，学識経験者から構成される調査推進検討委員会を設け，調査計画および結果についての提案および評価を行うこととする。

3. 2003年度調査結果

1) 人工種苗の放流調査

育成礁における人工種苗の保護育成効果を把握し，育成礁開発のための基礎データを収集するため，漁港内に設置された育成礁へキジハタ人工種苗を放流し，キジハタの滞留状況，天然魚の蝸集状況，餌料生物の培養状況等について調査を行った。

材料と方法

調査は岡山県笠岡市白石島新港(図1)で行った。用いた育成礁は3.0×2.2×1.1mの鉄製のフレーム内に2段の棚を取り付け，1段当り32本の滞留基盤を設置した(図2)。なお，放流時から放流後10日目まで縦0.5mの逸散防止用ネット(8mmメッシュ)を育成礁下部の外側周囲に設置した。滞留基盤には直径0.15m×長さ1.0mの円柱型トリカルパイプ(4cmメッシュ，以下パイプ)の中にホタテガイ貝殻を3cmのスペースで区切って詰めたものを用いた。育成礁は

育成礁の長辺が防波堤と平行になるよう設置した(図3)。放流調査に当っては育成礁の設置位置と育成礁の置き方を比較するため，試験区を6区設定した(表1)。なお，試験区5および6については平成14年度に使用したホタテ貝殻育成試験礁を用いた。

種苗の放流は2003年10月28日に行い，平均全長94.7mm，平均体重13.9gのキジハタ人工種苗を，試験区1～4へそれぞれ1,000尾，合計4,000尾を放流した。育成礁を2基設置した試験区1および2においては港奥側の1基(育成礁No.2およびNo.4)へ放流した。また，試験区を区別するために，試験区1および2へは右腹鰭を切除した標識魚を，試験区3および4へは左腹鰭を切除した標識魚を放流した。種苗の放流は，スキューバ潜水により，育成礁へ取り付けられた逸散防止用ネット内へ行った。

育成礁への人工種苗の滞留状況を把握するため，潜水目視観察とパイプ引き揚げ調査を行った。潜水目視観察は放流2時間後，1日後，10日後，28日後に行い，各育成礁での滞留尾数を図4に示した部位ごとに計数した。パイプ引き揚げ調査は放流10日後，放流28日後に6基の育成礁の1段目および2段目のパイプ2本を1組として4カ所ずつ抜き取り，キジハタおよび天然魚の計数および計測を行うとともにキジハタについては標識を確認した。

結果と考察

潜水目視観察による各試験区における放流キジハタの目視尾数の推移を図5に示した。各試験区における目視尾数は，放流2時間後に137～173尾であった。放流1日後に試験区2～4は85～94尾へとほぼ半減し，試験区1は143尾とあまり減少しなかった。これは放流を行わなかった育成礁No.1における目視尾数が多かったことに起因していた。放流後10日目には各試験区とも46～52尾へ減少した。放流28日後には9～34尾まで減少した。2基を併設している試験区1および2の育成礁No.1～4における目視尾数の推移を図6に示した。放流を行った育成礁No.2および4における目視尾数の減少傾向は試験区3および4(図5)と同様であった。一方，放流を行っていない育成礁No.1および3は放流1日後に増加した後，減少傾向を示し10日後および28日後の目視尾数は，育成礁No.2およ

び4よりやや少ない程度であった。

各試験区における目視部位別の目視尾数の割合の推移を図7に示した。試験区1および2においては、放

流2時間後から28日後までほとんどが1段目および2段目で目視された。試験区3および4では、放流2時間後および1日後において底板コンクリート付近で半

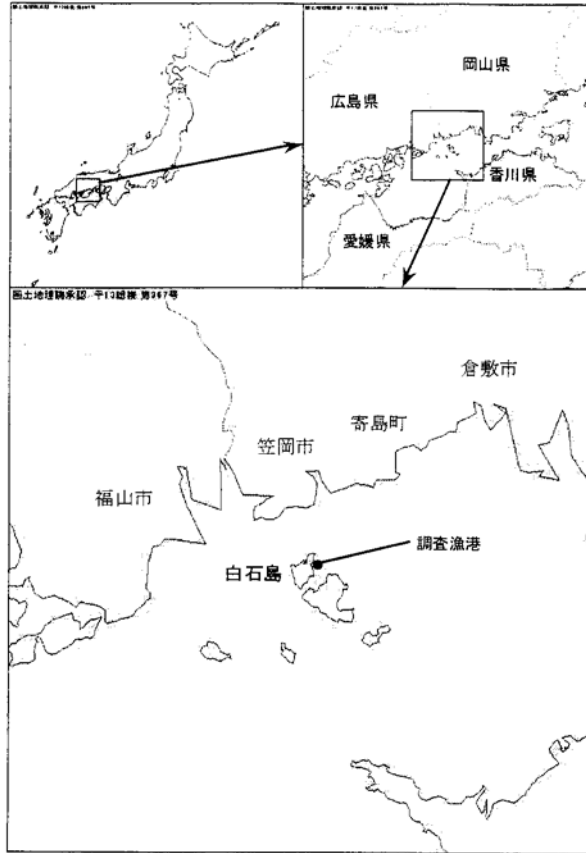
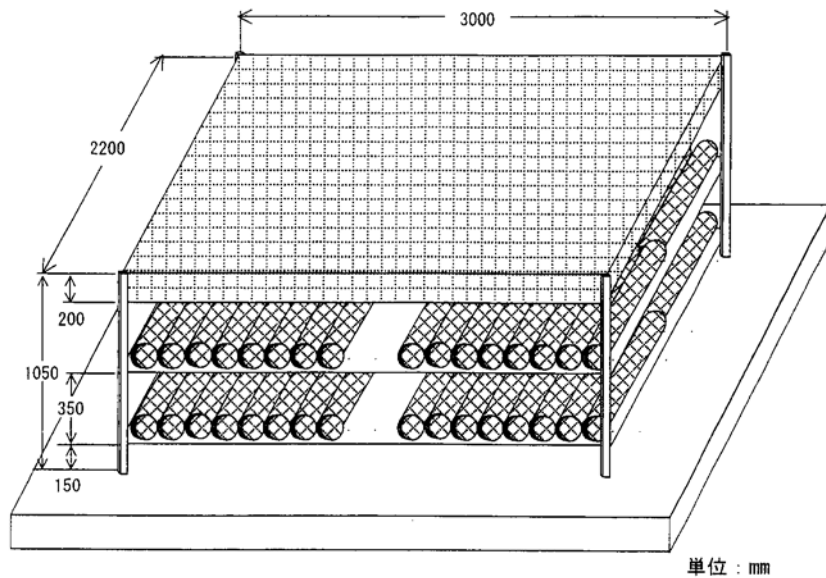


図1 調査漁港（白石島新港）の位置



単位：mm

図2 育成礁

数近くが目視されたが、放流後10日後および28日後においては、ほとんどが1段目および2段目で目視された。多くの滞留が確認された1段目と2段目を比較すると、2段目より1段目の方が多く目視された。育成礁での目視尾数の多かったパイプ間において防波堤側と港中央側における目視尾数の割合を図8に示した。通水口の前に設置した育成礁 No.3, 4, 6 (図3) においては、通水口のある防波堤側での目視が明らかに多かった。通水口のない場所へ設置した育成礁 No.1, 2, 5 (図3) においては港中央側での目視尾数が多い傾向が見られた。

パイプ引き揚げ調査の結果を表2に示した。採集尾

数は各試験区当り3~12尾であり、パイプ2本当り平均採集尾数は0.5~1.5尾と少なかった。採集されたキジハタの全長は、放流28日後の試験区1において放流時(平均全長94.7mm)より大きかったが、その他は放流時より小さかった。また、採集されたキジハタの標識を調査したところ、各試験区とも放流時と同じ標識をもつキジハタであり、育成礁間における移動は見られなかった。各試験区における滞留尾数を推定したところ、放流10日後で24~96尾、放流28日後で24~48尾となった。放流10日後では放流尾数の2~10%が、28日後では放流尾数の2~5%が滞留していたと推定された。

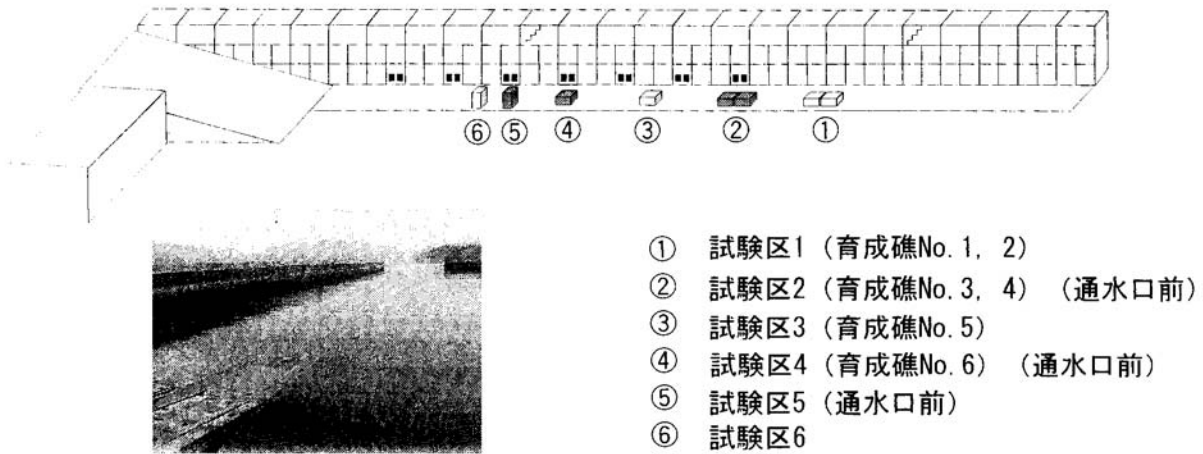


図3 育成礁の設置位置

表1 試験区の設定

調査項目 設置位置の検討	設置方法の検討		天然魚の増集
	2基連結	1基単体	
通水口なし	試験区1	試験区3	試験区6
通水口あり	試験区2	試験区4	試験区5

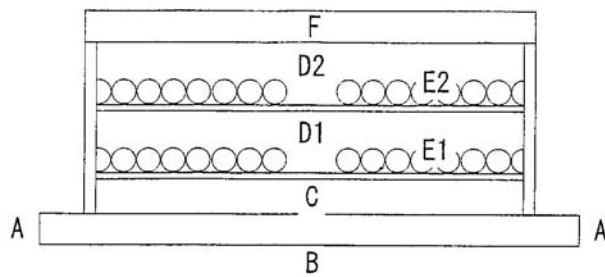


図4 潜水目視観察による育成礁の目視部位

- A: 育成礁周囲 (育成礁から2mの範囲)
- B: 底板コンクリート下
- C: 底板コンクリート上
- D: パイプ間
- E: 試験パイプ
- F: カキ殻ケース

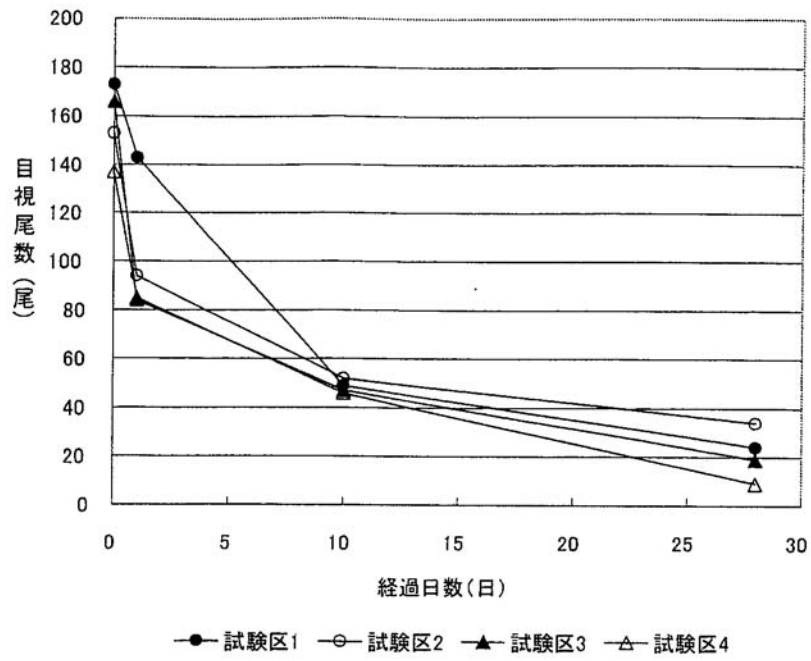


図5 潜水目視観察による各試験区における放流キジハタの目視数

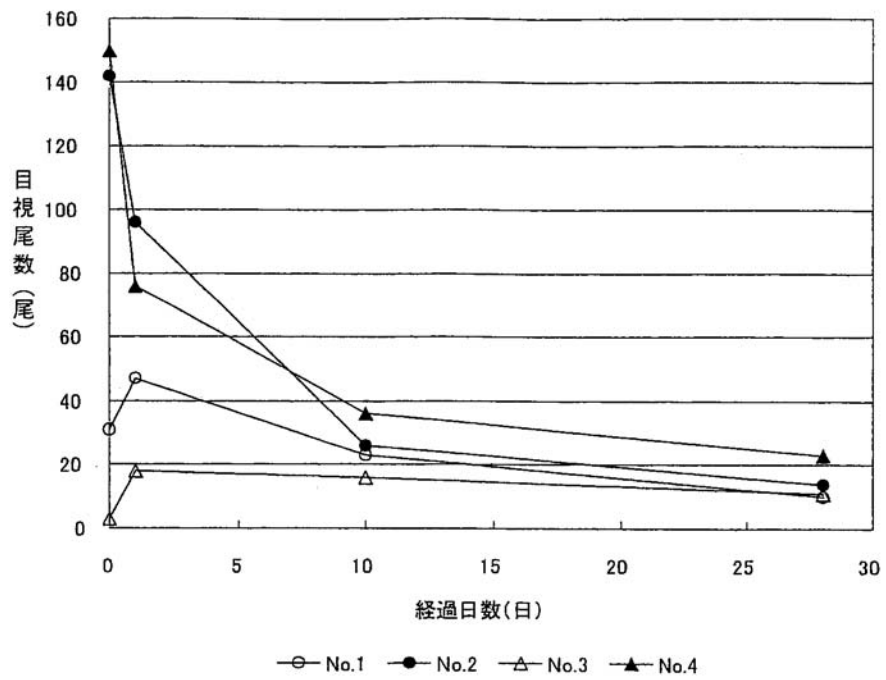
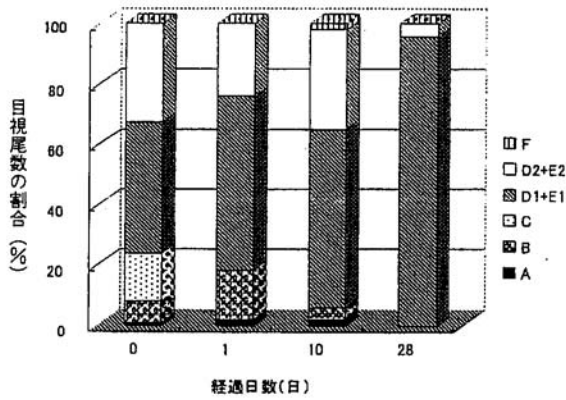
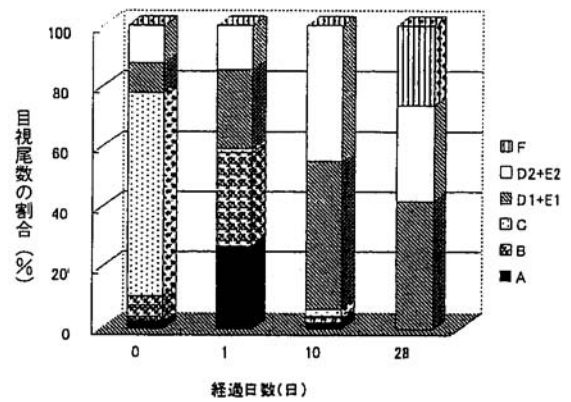


図6 試験区1および2における育成礁ごとの目視尾数の推移

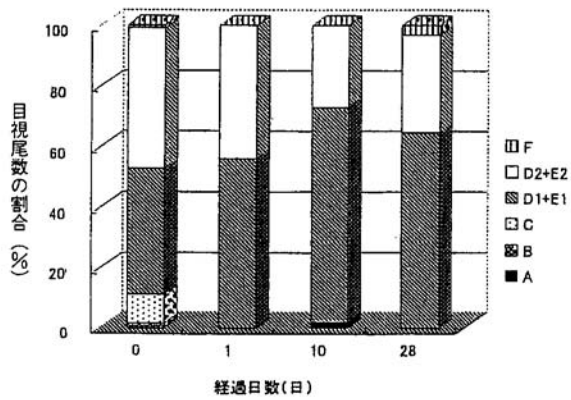
試験区1



試験区3



試験区2



試験区4

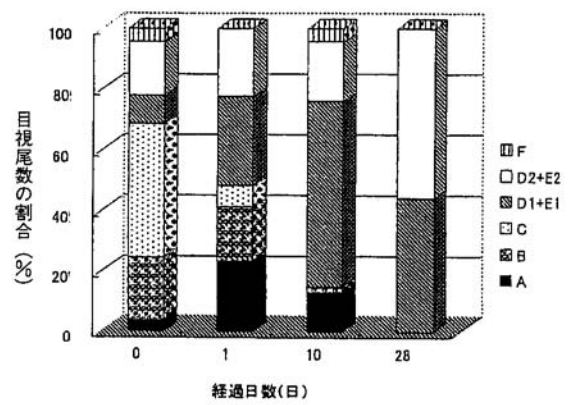


図7 各試験区における目視部位別の目視尾数の割合の推移
目視部位の記号は図4を参照

表2 パイプ引き揚げ調査結果

経過日数 (日)	試験区	育成礁数	調査カ所数	採集尾数(尾)		平均全長 (mm)	滞留尾数の推定	
				合計	平均		推定値(尾)	標準誤差
10	1	2	8	6	0.8	92.8	48	10.8
	2	2	8	12	1.5	93.6	96	49.7
	3	1	4	3	0.8	93.0	24	14.6
	4	1	4	7	1.8	94.1	56	14.6
28	1	2	8	3	0.4	100.0	24	11.6
	2	2	8	4	0.5	90.8	32	16.4
	3	1	4	4	1.0	90.5	32	12.4
	4	1	4	6	1.5	94.2	48	19.6

注) 滞留尾数の推定値 = 採集尾数の平均 × 育成礁数 × 32 (1基当りのパイプの総数 ÷ 2)

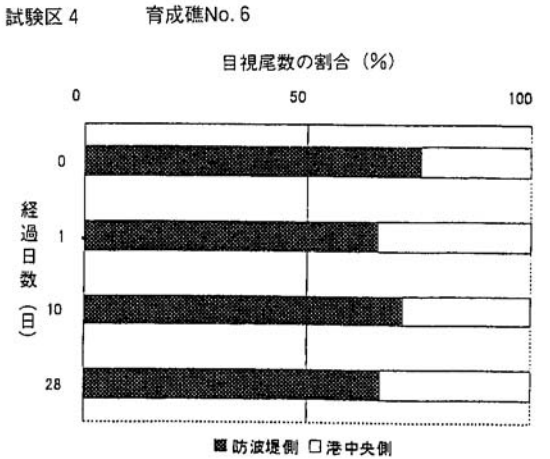
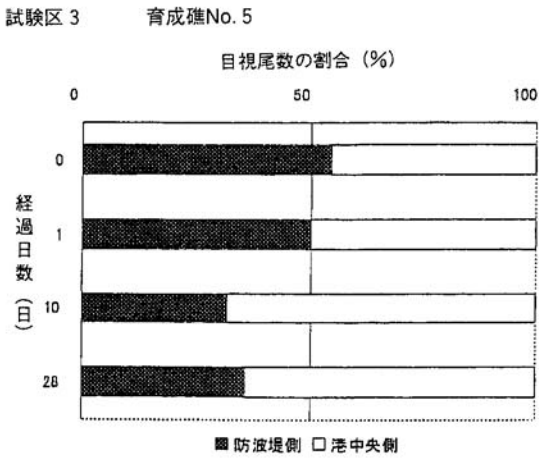
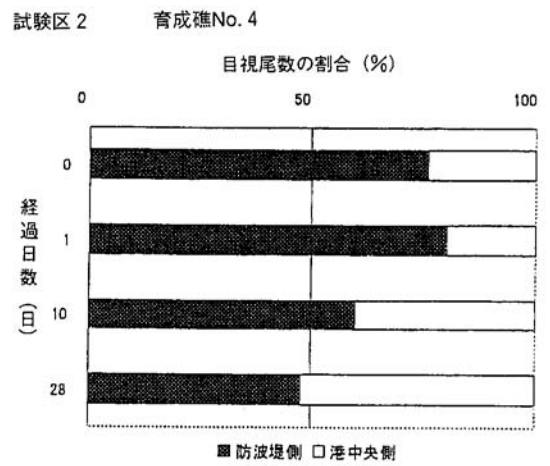
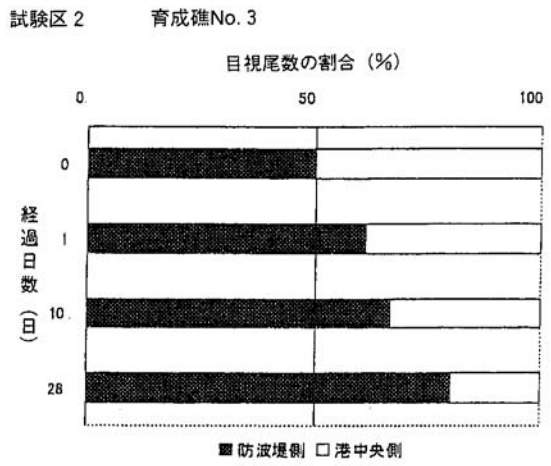
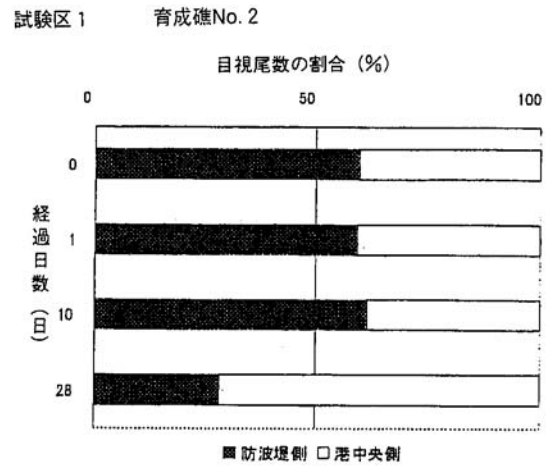
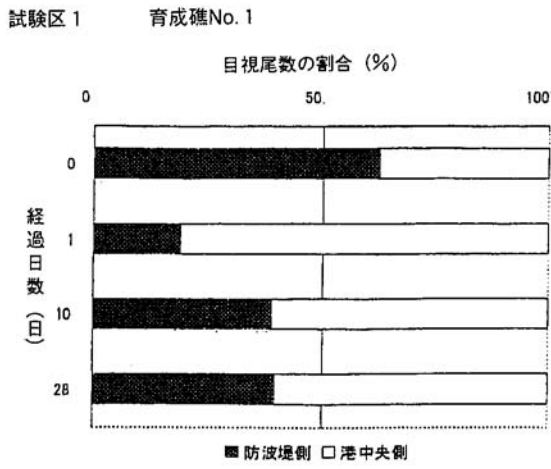


図8 各育成礁のパイプ部位における防波堤側と港中央側の目視尾数の比較

2) 生物培養機能調査

育成礁での餌料生物の増殖および付着状況、キジハタおよび蛸集した天然魚の消化管内容物を調査し、育成礁の生物培養効果を検討するため本調査を行った。

材 料 と 方 法

調査は岡山県笠岡市白石島新港（図1）で行った。育成礁へ蛸集する天然魚の目視観察を行うとともに、長期間の天然魚の蛸集状況を観察するため、2002年度に使用したホタテガイ貝殻育成試験礁を再設置し、試験区5および6とした（表1，図3）。付着生物を調査するため、育成試験礁設置時に、ホタテガイ貝殻を充填した直径15cm、長さ30cmの円柱形トリカルパイプ（テストピース）を、試験区3および4の鉄製フレームに取り付けた。その後、放流28日後の調査時にテストピースを回収して付着生物を採集した。また、パイプ引き揚げ調査時にキジハタ放流魚とキジハタ以外の天然魚を採集し、胃内容物を調査した。

結 果 と 考 察

放流前の各育成礁における天然魚の目視個体数を図9に示した。最も目視個体数が多かった育成礁はNo.3の410尾で、最も少なかった育成礁はNo.8の26尾であった。主に目視された天然魚は各育成礁ともチャガラ、メバル、スズメダイであった。種類別の目視個体数は、チャガラが0～300尾、メバルが7～65尾、スズメダイが10～45尾、その他が9～50尾であった。チャガラの蛸集尾数が育成礁の総蛸集個体数を左右するためチャガラを除いてみると、2基を繋げて設置した育成礁No.1～4の蛸集個体数は105～116尾で、1基単独で設置した育成礁No.5～8の蛸集個体数の26～51尾の約2倍となっており、育成礁を2基繋げて設置した場合の効果がみられた。

付着生物と胃内容物の調査は現在実施中である。

4. 今後の進め方

2004年12月まで2カ月ごとに潜水目視観察、パイプ引き揚げ調査、生物機能培養調査を行い、放流キジハタの滞留状況、天然魚の蛸集状況、餌料生物の培養状況、育成礁における生物の付着状況等を継続的に把握する予定である。

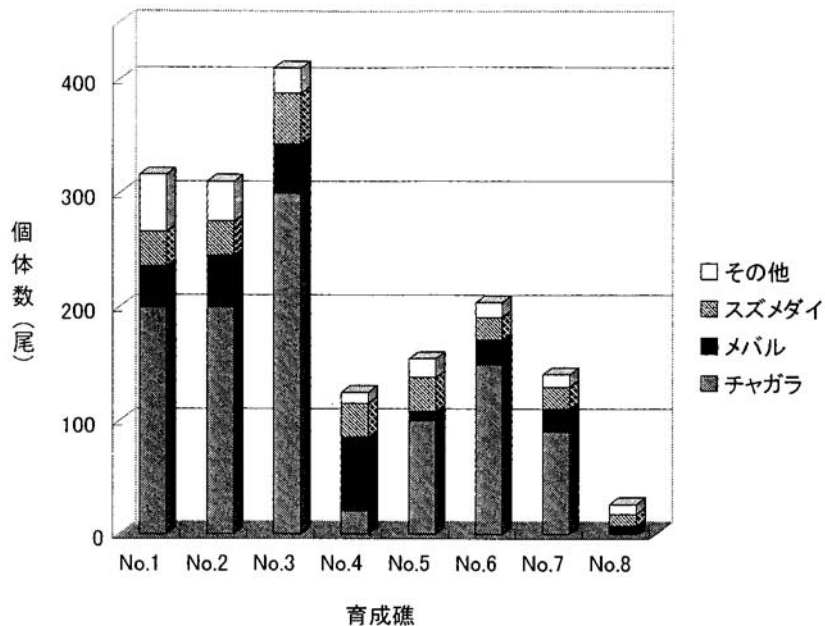


図9 放流前の各育成礁における天然魚の目視個体数

素堀池で養成したクルマエビの生残尾数の推定

崎山一孝, 清水大輔
(百島栽培漁業センター)

百島栽培漁業センターは、塩田跡地を利用した素堀池を用いて、クルマエビの親エビ養成技術の開発に取り組んでおり、養成個体から採卵する技術は確立されつつある。しかし、養成個体の生残率は養成1年目が7.7~27.4%、2年目が2.0~15.3%と低いことから、親エビ養成技術開発上の大きな問題点となっている。低生残率の原因を明らかにするためには、養成個体の生残尾数を定期的に調査し、減耗が生じる時期を把握する必要がある。しかし、クルマエビは日中潜砂する習性を持ち、直接目視計数することが困難であること、また定期的に養成池の海水をすべて排水し、養成個体を取り揚げて計数することは現実的な方法ではないことから、これまでに養成個体の生残尾数を定期的に把握した事例はない。

そこで、養成池におけるクルマエビの減耗時期を把握するために、本報では、コドラート法とピーターセン法による生残尾数の推定を試みた。また、冬期に囲い網を用いた養成試験を実施したので、その概要について報告する。

材 料 と 方 法

供試エビ

調査には、1999年、2000年および2002年に養成を開始した個体群を用いた。ここでは、各養成群を99年群、00年群および02年群と称する。

コドラート法

調査は当歳~1歳の時期と1歳~2歳の時期に行った。すなわち、99年群では2000年6月1日(1歳)から2001年5月10日(2歳)の期間に11回、00年群では2001年4月28日(1歳)から2002年4月28日(2歳)の期間に14回実施した。また、02年群では2002年9月18日(当歳)から2003年9月28日(1歳)の期間に9回の調査を実施した。調査時には、池内に24カ所の定点を設け、各定点で1×1m²のコドラートを設置し、すべてのクルマエビを掘り出して計数した。そして、24カ所の計数值から求めた平均値に養成池の面積(7,500m²)を乗じた値を、生残尾数として算出した。99年群と00年群では、それぞれ2歳時の2001年5月10日と2002年4月28日にコドラート調査を行った後に、養成池内の海水を排水し、すべてのクルマエビを取り

揚げて計数した。

ピーターセン法

調査は、99年群を用いて行った。2000年7月11日(1歳)に養成池からカゴ網でクルマエビを捕獲し、雄エビ577尾の右尾肢をカットして再放流した。放流後16日目、17日目、21日目および37日目にクルマエビを捕獲し、再捕された標識エビの混獲率から養成池内の生残尾数を推定した。

囲い網による越冬養成試験

養成池の水温が15℃以下になる低水温期(12月~4月)のクルマエビの生残状況を明らかにするために、囲い網による越冬養成試験を行った。この試験には、00年群と02群を用い、それぞれ2000年12月19日(1歳)および2002年12月17日(当歳)に囲い網へ100尾と65尾を収容し、2001年3月22日(2歳)および2003年4月15日(1歳)に全個体を取り揚げ、生残個体を計数し、体長と体重を測定した。囲い網として、4×4×2m(深さ)のモジ網を用い、下辺約30cmを底土中に埋設し、養成個体の逃亡を防止した。なお、クルマエビは15℃以下ではほとんど摂餌しないため、給餌は行わなかった。

結 果

コドラート法による生残尾数の推定

02年群の当歳から1歳までの生残尾数の推移を図1に示した。生残尾数は当歳の9月には29,000尾(収容尾数に対する生残率は72.5%)、12月24日には20,000尾(同50%)に減少したが、その後は19,000~25,000尾の範囲を推移し、越冬時の減耗はみられなかった。99年群の1歳~2歳までの生残尾数の推移を図2に示した。生残尾数は1歳時の6月には5,000尾と推定され、その後12月までは5,000~6,800尾(平均7,000尾)の範囲で推移し、減耗は認められなかった。しかし、12月から翌年4月までの越冬期間中の死亡率は約50%に達し、生残尾数は2歳時の4月には3,100尾まで減少した。取り揚げ直前のコドラート法による推定生残尾数は2,100尾であり、実際の取り揚げ尾数は1,740尾であった。

99年群と同様に、00年群の1歳~2歳までの生残尾

数の推移を図3に示した。1歳時の4月～12月の生残尾数は5,800～7,100尾の範囲であり、この期間の平均生残尾数は6,900尾と推定された。しかし、99年群と同様に冬期の死亡率が高く約70%にも達し、生残尾数

は2歳時の4月には2,100尾まで低下した。取り揚げ直前のコドラート法による推定生残尾数は2,100尾であり、実際に取り揚げ尾数は1,600尾であった。

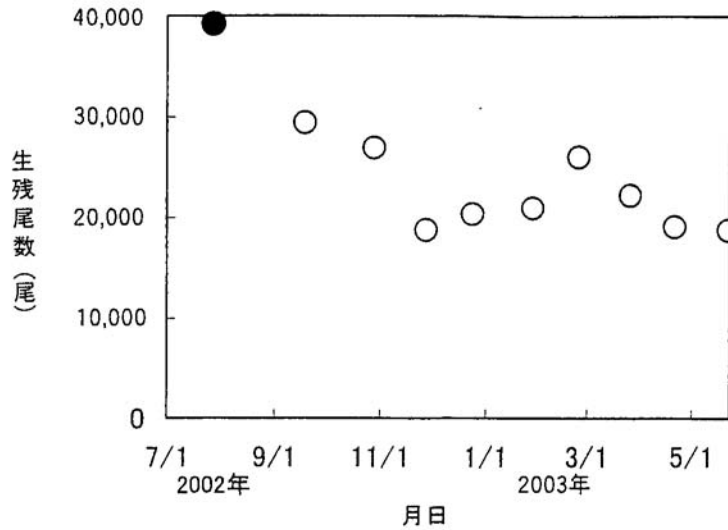


図1 養成クルマエビの当歳から1歳までの生残尾数の時期的変化 (02年群)
○：コドラート法による推定尾数 ●：収容尾数

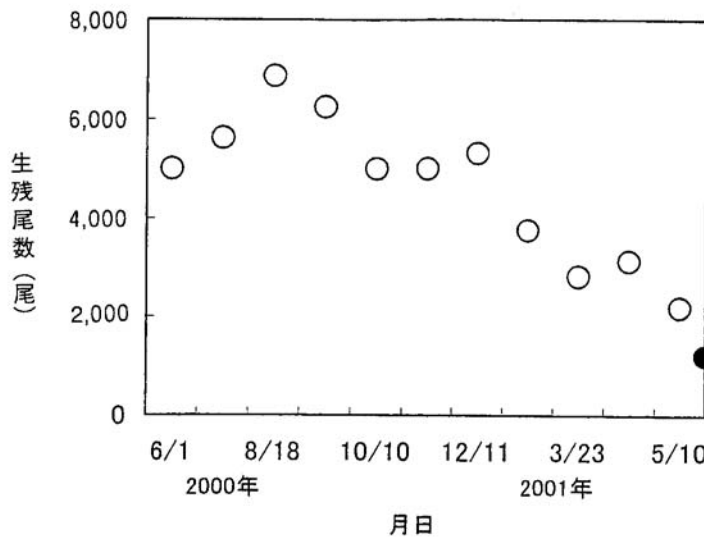


図2 養成クルマエビの1歳から2歳までの生残尾数の時期的変化 (99年群)
○：コドラート法による推定尾数 ●：取揚げ尾数

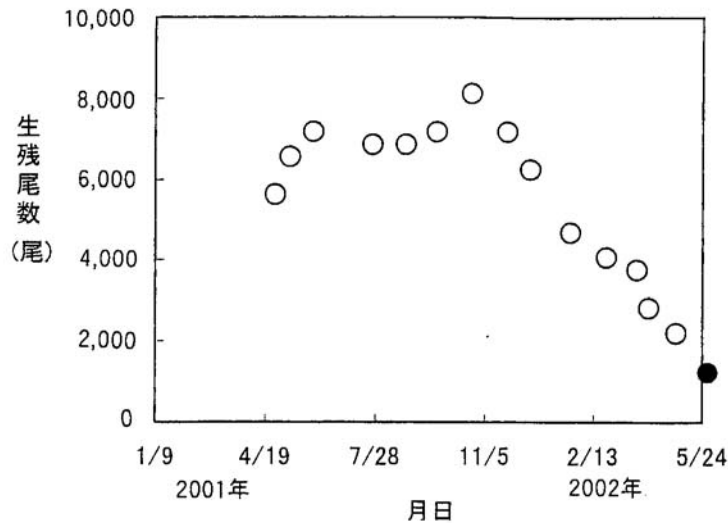


図3 養成クルマエビの1歳から2歳までの生残尾数の時期的変化 (00年群)

○：コドラート法による推定尾数 ●：取り揚げ尾数

ピーターセン法による生残尾数の推定

ピーターセン法による推定生残尾数を表1に示した。標識エビの放流後16日目と17日目の推定尾数は、それぞれ38,000尾と12,000尾であり、コドラート法(図2)に比較して過大に見積もられた。その後、21日目の推定尾数は9,600尾、37日目には7,300尾となり、推定尾数は放流後の経過日数とともに減少し、コドラート法による推定尾数(5,000~6,000尾)に近似す

る傾向を示した。

囲い網による越冬養成試験

養成結果の概要を表2に示した。1歳から2歳にかけて養成した00年群の生残率は、12月から4月までの約3カ月で雌雄とも50%程度まで低下した。一方、当歳から1歳にかけて養成した02年群の生残率は、雌雄とも90%以上を示した。なお、両試験ともクルマエビ

表1 ピーターセン法による99年群の生残尾数の推定値

調査月日	再放流後 日数(日)	捕獲尾数 (尾)	標識エビ 尾数(尾)	推定尾数 (尾)
7月27日	16	466	7	38,000
7月28日	17	396	19	12,000
8月1日	21	367	22	9,600
8月17日	37	127	10	7,300

表2 囲い網に収容したクルマエビの冬期の生残状況

養成群	収容					取り揚げ時					
	月日	雌雄	収容 個体数 (尾)	体長* (mm)	体重* (g)	月日	養成 日数	生残 個体数 (尾)	生残率 (%)	体長* (mm)	体重* (g)
00年群 (1歳~2歳時)	2001.12.19	雌	45	171 (154~183)	65.4 (51.2~79.7)	2002.3.22	93	22	48.9	172 (162~181)	65.7 (55.1~79.0)
		雄	55	154 (147~160)	46.5 (38.4~53.2)			28	50.9	153 (143~163)	45.5 (37.3~51.9)
02年群 (当歳~1歳時)	2002.12.17	雌	30	136 (126~150)	32.6 (24.9~43.5)	2003.4.15	119	29	96.7	136 (124~153)	32.4 (23.4~47.6)
		雄	35	126 (116~133)	26.2 (23.5~28.3)			33	94.3	128 (118~136)	25.5 (20.1~29.4)

* 平均値(範囲)。

の成長は認められなかった。

考 察

コドラート法で推定した取り揚げ直前のクルマエビの推定生残尾数は、99年群と00年群のいずれにおいても、全数計数して求めた実数に近い値を示したことから、本法は養成池における生残尾数の推定方法として実用的な手法と考えられる。一方、ピーターセン法による推定値は、コドラート法による推定値よりも当初は過大であったが、放流後の経過日数にともない減少し、1カ月を超えると両法による推定値は近似した値を示した。これは、放流した標識エビが養成個体群中に均等に混合するまでに、ある程度の期間を要することに起因するものと考えられる。このようなことから、ピーターセン法は養成池における生残尾数を即時に推定する方法としては適していないものと考えられる。

ここで、コドラート法により推定したクルマエビの生残尾数の時期的な変化を見ると、当歳時の生残率は養成2カ月後(9月)には75%、5カ月後(12月)に

は50%まで低下し、この時期の減耗が大きいことが明らかとなった。また、1歳から2歳にかけての冬期に、99年群は生残個体の約50%が、00年群は70%が死亡していた。さらに、この1～2歳の越冬期間中の大きな減耗は、囲い網による養成試験でも認められた。

以上のように、今回実施した調査によって、当歳の越冬前と1歳から2歳の越冬時期が養成池におけるクルマエビの大きな減耗時期であることが明らかとなった。当歳時の減耗要因として、経験的に共食いと鳥類による食害が想定されるが、これらの実態について調査されていない。今後は、その実態を明らかにする必要がある。一方、1歳から2歳の越冬期間中の減耗要因として、本種の低水温耐性の低さが考えられる。ただし、02年群では、当歳から1歳の越冬期間中の生残率は、養成池でも囲い網による養成試験でも高い値を示した。このような当歳から1歳と、1歳から2歳の越冬期間中の減耗率が異なる原因として、年齢による低水温に対する感受性の違いが考えられる。この考えを検証するには、02年群の1歳から2歳にかけての越冬期間中の生残状況を精査する必要がある。

ふ化イカで放流したコブシメの混獲率

團 重樹, 浜崎活幸
(八重山栽培漁業センター)

コブシメ *Sepia latimanus* は外套長50cm, 体重10kg に達する大型のコウイカ類で, インド・西太平洋に広く分布する。本種は南西諸島において矛突き漁業や小型定置網漁業で漁獲される重要な沿岸漁業資源であり, 沖縄県農林統計情報によれば, 沖縄県における年間漁獲量は1990年以降108~240トンで推移している。

八重山栽培漁業センターは1985年に本種の種苗生産技術開発に着手し, 外套長70mm 前後の種苗数千尾を生産する技術を開発した。また, 生産した種苗の標識放流技術開発にも取り組んだものの, 放流個体の再捕報告は全く得られていない¹⁾。

一方, 本種は大型卵少産型の繁殖特性を示し, ふ化イカは外套長11~15mm²⁾で, 一般的な海産魚や海産無脊椎動物のふ化幼生に比較して大きく, また擬態や捕食行動において成体と同様の生態を具備していることから, ふ化から漁獲加入までの生残率は比較的高いものと考えられる。そこで, このようなコブシメの繁殖特性に基づいた資源添加技術開発を推進するために, 当センターは1992年からふ化イカ放流による資源添加

技術開発に着手し, これまでに胚体期の甲へ標識を装着する技術を開発するとともに¹⁾, 石垣島浦底湾で放流したふ化イカが放流海域近海で成長し, 漁獲加入することを明らかにした³⁾。本報では, コブシメふ化イカの放流効果の及ぶ範囲を明確にする目的で, 前報³⁾以後に石垣島浦底湾と川平湾で実施した放流調査における放流個体の混獲率を報告する。

材料と方法

放流海域

1992年からふ化イカ放流を実施してきた浦底湾とこれまで本種の放流が実施されることがなく, かつ放流個体の漁獲も報告されなかったことのない川平湾(浦底湾から約10kmの距離)を放流海域に選定した(図1)。両湾とも礁池を形成し, 浦底湾は湾口部が広く開放的であるのに対し, 川平湾は湾口部が狭く閉鎖的である。また両湾とも大きな河川の流入はなく, 底質は砂地あるいはサンゴガレ場で, サンゴ礁と海草藻場が点在している。



図1 コブシメのふ化イカ放流を実施した石垣島の浦底湾と川平湾

ふ化イカ放流

ふ化イカ放流の実施状況を表1に示した。放流個体は, 既報^{4,5)}の方法で採卵し, アリザリンレッドSで標識したふ化イカを用い^{1,3)}, 1回染色による一重標識と2回染色による二重標識によって放流海域と放流年度の識別を可能にした。

放流は2001年と2002年の4~8月に実施し, 2001年には浦底湾で一重標識個体を55,827個体, また, 川平湾で二重標識個体60,123個体を放流し, さらに, 2002年には川平湾のみで一重標識個体48,935個体を放流した。放流は週に2回の頻度で行い, 放流までふ化イカを2kℓ水槽に1~3日間収容し, 当センター地先で採

集した天然プランクトン（主に甲殻類幼生）を投与した。浦底湾では、75ℓのプラスチック製容器にふ化イカを收容し、船上からサンゴガレ場あるいは藻場へ直接放流した。また、川平湾では300ℓのポリエチレンタンクにふ化イカを收容し、自動車で川平湾まで輸送後、バケツに移し替えて砂浜から直接放流した。

小型定置網による漁獲調査

コブシメの漁期は、コブシメが産卵のために接岸する9月から翌年6月までの時期であり、浦底湾では1名の漁業者が2基の小型定置網を、また、川平湾でも1名の漁業者が放流地点から0.5～2.5kmの範囲の湾

内、または湾口部に4基の小型定置網を設置している（図2）。本調査では、2001年秋から2002年初夏の漁期（以下、2001年から2002年漁期と呼称する）と2002年秋から2003年初夏の漁期（同様に2002年から2003年漁期）に両湾の小型定置網で漁獲されたすべてのコブシメを入手した。なお、川平湾では入手個体ごとに漁獲された定置網を特定した。入手した個体については、外套長と体重を測定し、甲の標識の有無を調べた。また、漁獲個体数に基づいた混獲率（漁獲された放流個体数×10²/総漁獲個体数、以下個体数混獲率と呼称する）と漁獲重量に基づいた混獲率（漁獲された放流個体の総重量×10²/総漁獲重量、以下重量混獲率と呼称する）

表1 石垣島浦底湾と川平湾におけるコブシメのふ化イカ放流状況

放流年度	放流場所	放流期間	標識	個体数
2001年	浦底湾	2001.4.4～8.13	一重標識	55,827
2001年	川平湾	2001.4.4～8.2	二重標識	62,123
2002年	川平湾	2002.4.5～8.6	一重標識	48,935

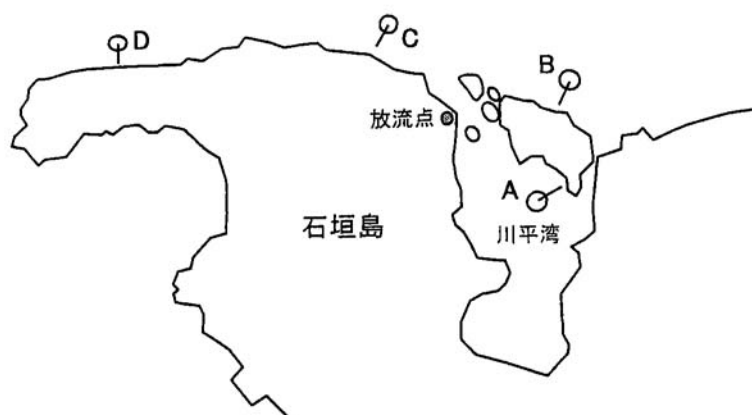


図2 川平湾における小型定置網の設置状況

表2 石垣島浦底湾と川平湾における小型定置網によるふ化イカで放流したコブシメの混獲率調査結果の概要

調査湾	調査期間	漁獲コブシメ		一重標識個体				二重標識個体			
		総個体数	総重量(kg)	個体数	混獲率(%)* ¹	重量(kg)	混獲率(%)* ²	個体数	混獲率(%)* ¹	重量(kg)	混獲率(%)* ²
浦底湾	2001.10.2～ 2002.6.10	197	715.8	15	7.6	21.4	3.0	0	0.0	0.0	0.0
川平湾	2001.10.2～ 2002.6.10	248	443.9	0	0.0	0.0	0.0	47	19.0	52.5	11.8
川平湾	2002.9.10～ 2003.6.16	232	414.4	32	13.8	32.8	7.9	5	2.2	27.0	6.5

*¹ 個体数に基づいた混獲率

*² 重量に基づいた混獲率

を求めた。

結 果

2001年～2002年漁期の浦底湾では197個体が漁獲され、そのうち15個体が浦底湾で放流した一重標識個体で、個体数混獲率は7.6%、重量混獲率は3.0%であった(表2)。浦底湾では、川平湾で放流した二重標識個体は漁獲されなかった。一方、2001年に放流を開始した川平湾では、初めて放流個体が漁獲され、漁獲された248個体のうち、47個体が川平湾で放流した二重

標識個体で、個体数混獲率は19.0%、重量混獲率は11.8%であった。川平湾では、浦底湾で放流した一重標識個体は漁獲されなかった。川平湾における4基の定置網別の個体数混獲率は、湾内の定置網Aで38.5%、湾口部東側の定置網Bで16.3%、湾口部西側の定置網Cで12.3%、湾口部から西へ2.5km離れた沿岸の定置網Dで3.6%であった(表3)。

2002年から2003年漁期の川平湾では、232個体が漁獲され、そのうち32個体が一重標識個体であり、5個体が二重標識個体であった(表2)。個体数混獲率は一重標識個体が13.8%、二重標識個体が2.2%で、合

表3 石垣島川平湾における定置網別の漁獲個体数に基づいた混獲率

漁期	定置網*	個体数			混獲率(%)	
		総漁獲個体	一重標識個体	二重標識個体	一重標識個体	二重標識個体
2001年	A	65	-	25	-	38.5
～2002年	B	43	-	7	-	16.3
	C	81	-	10	-	12.3
	D	56	-	2	-	3.6
2002年	A	67	18	1	26.9	1.5
～2003年	B	49	6	3	12.2	6.1
	C	92	6	1	6.5	1.1
	D	24	2	0	8.3	0.0

* 図2を参照

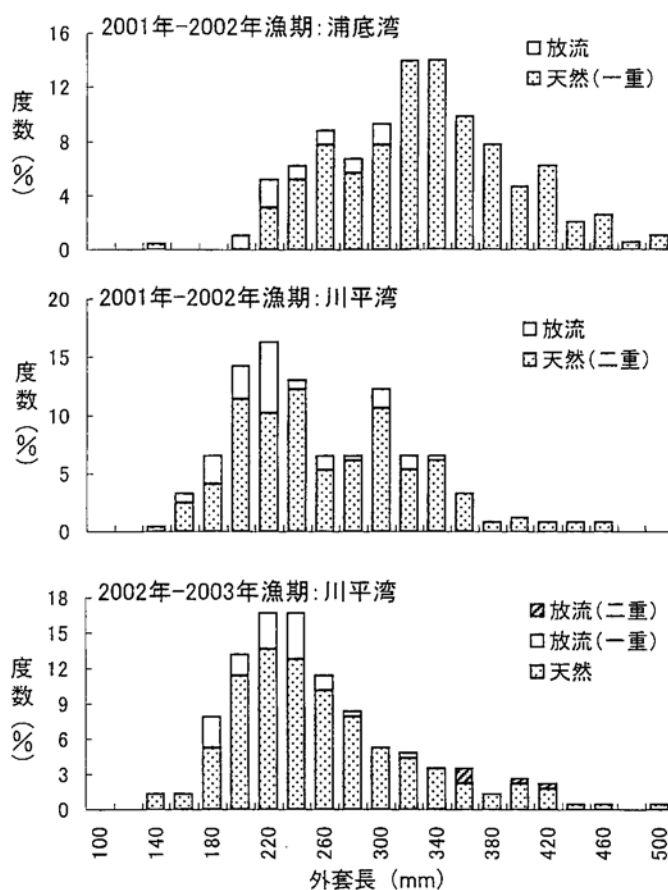


図3 各湾の調査期間ごとの外套長組成

計16.0%であった。重量混獲率は一重標識個体が7.9%,二重標識個体が6.5%で,合計14.4%であった。定置網別の個体数混獲率は一重標識個体が定置網Aで26.9%,Bで12.2%,Cで6.5%,Dで8.3%,二重標識個体が同様にAで1.5%,Bで6.1%,Cで1.1%,Dでは漁獲されていなかった(表3)。

次に,各湾における外套長組成を図3に示した。両湾とも外套長組成に二つのモードが存在する傾向を示し,2001年から2002年漁期の放流個体は両湾とも小型群に属していた。一方,2002年から2003年漁期の川平湾では,一重標識個体は小型群で,二重標識個体は大型群であった。

考 察

本調査の浦底湾における個体数混獲率は7.6%であり,前報³⁾の混獲率2.7~7.4%と同等の値を示した。また,川平湾でふ化イカを放流したところ,放流個体が初めて漁獲され,個体数混獲率は浦底湾よりも高く16.0~19.0%に達した。このように,ふ化イカで放流した個体が成長し,混獲率として検出可能な頻度でコブシメ資源の一部を占めることが再確認された。さらに,本調査では放流個体は放流湾のみで漁獲されたことから,前報³⁾の結果と併せて評価すると,コブシメふ化イカの放流効果の及ぶ範囲は湾レベルの狭い範囲にあることが強く示唆される。

本調査では,川平湾での個体数混獲率が浦底湾に比較して高かったが,これは一つには川平湾は浦底湾に比較して閉鎖的で,放流したふ化イカが湾内に滞留しやすいことに起因するものと考えられる。実際にこの考えは,川平湾における湾内の定置網の混獲率が湾口部と湾外の値に比べて高かったことから支持される。さらに,漁獲個体の外套長は川平湾の方が小さい傾向にあることから(図3),川平湾では湾内でふ化した個体そのまま成長して漁獲加入するのに対し,浦底湾では近隣の産卵場でふ化した個体がある程度成長した後に加入してくる傾向があると推察できる。

2001年に放流を始めた川平湾では放流個体が当年に漁獲加入し,2002年から2003年の漁期には,一重標識個体とともに2001年の放流群である二重標識個体が再捕された。外套長組成には小型群と大型群の2群が認められ,一重標識群は小型群に,二重標識群は大型群であったことから,2002年から2003年漁期に川平湾で漁獲された一重標識個体は,2002年に川平湾で放流された個体であると断定できる。以上のことから,コブシメはふ化当年に漁獲加入し,寿命は1年以上に及ぶものと推察される。なお,漁獲加入以後の成長と寿命については,今後外套長組成の推移を詳細に解析し,

検討する必要がある。

2001年から2002年漁期の川平湾における重量混獲率は11.8%で,個体数混獲率19.0%と比べて低い値であったが,2002年から2003年漁期には1歳の大型個体が再捕されたことによって重量混獲率は14.4%となり,個体数混獲率16.0%に近い値に達した。このように,1歳の大型個体の漁獲が経済効果の指標の一つと考えられる重量混獲率の増加に大きく寄与していた。一方,浦底湾では1993年を除く1992年以降毎年ふ化イカ放流を実施してきたが,1歳以上の大型の標識個体が再捕された事例はなく³⁾,2001年から2002年の調査でも重量混獲率は3.0%で低かった。前述のように浦底湾で放流したふ化イカの滞留(あるいは生残)率は閉鎖的な川平湾に比較して低いと考えられ,湾の海域特性から1歳以上まで生残できる可能性はかなり低いであろう。

以上のように,本報では石垣島の10km程度離れた二つの湾においてコブシメのふ化イカ放流調査を実施した結果,少なくともふ化から当歳の漁期においては,両湾の資源に移動がないこと,すなわち放流効果の及ぶ範囲は湾レベルの狭い範囲に限られることを明確に示した。さらに,湾の地理的条件によって放流効果が異なり,閉鎖的な湾が放流場所として適している可能性が強く示唆された。

文 献

- 1) 岡 雅一(1994)ふ化イカを放して,甲を集めるーコブシメ放流に関する一つの試みー.さいばい70,8-12.
- 2) Okutani, T.(1978)Studies on early life history of decapodan Mollusca-VII. Eggs and newly hatched larvae of *Sepia latimanus* Quoy & Gaimard.. Venus, 37, 245-8.
- 3) Oka, M., Yamashita, T., Osumi, S., and Hamasaki, K.(2004)Recapture rates of released hatchlings of giant cuttlefish *Sepia latimanus* Quoy & Gaimard. In : *Stock Enhancement and Sea Ranching : Developments, Pitfalls and Opportunities, Second Edition*,(Ed. by K. M. Leber, S. Kitada, H. L. Blankenship and T. Svasand) Blackwell Science, in press.
- 4) 岡 雅一・手塚信弘・伏見 浩(1989)コブシメの水槽内産卵と卵のふ化.栽培技研18,1-14.
- 5) Oka, M.(1993)Methods to collect eggs of giant cuttlefish in an aquarium. In : *Recent Advances in Cephalopod Fisheries Biology*,(Ed. by T. Okutani, R.K. O'Dor & T. Kubodera), Tokai University Press, Tokyo, 397-402.

	郵便番号	所 在 地	電話番号
栽培漁業部	101-0047	東京都千代田区内神田 3-14-8 ニシザワビル 5 階	(03) 5296-3181
厚岸栽培漁業センター	088-1108	北海道厚岸郡厚岸町筑紫恋 2-1	(0153) 52-4767
宮古栽培漁業センター	027-0097	岩手県宮古市崎山 4-9-1	(0193) 63-8121
南伊豆栽培漁業センター	415-0156	静岡県賀茂郡南伊豆町石廊崎183-2	(0558) 65-1185
能登島栽培漁業センター	926-0216	石川県鹿島郡能登島町曲15-1-1	(0767) 84-1182
小浜栽培漁業センター	917-0117	福井県小浜市泊26号	(0770) 52-2660
宮津栽培漁業センター	626-0052	京都府宮津市小田宿野1721	(0772) 25-1306
玉野栽培漁業センター	706-0002	岡山県玉野市築港 5-21-1	(0863) 32-3935
屋島栽培漁業センター	761-0111	香川県高松市屋島東町234	(087) 841-9241
伯方島栽培漁業センター	794-2305	愛媛県越智郡伯方町木浦甲2780	(0897) 72-0204
百島栽培漁業センター	722-0061	広島県尾道市百島町1760	(0848) 73-5020
古満目栽培漁業センター	788-0315	高知県幡多郡大月町古満目330	(0880) 72-1207
上浦栽培漁業センター	879-2602	大分県南海部郡上浦町津井浦	(0972) 32-2125
志布志栽培漁業センター	899-7101	鹿児島県曾於郡志布志町夏井205	(0994) 72-0730
五島栽培漁業センター	853-0501	長崎県松浦郡玉之浦町荒川郷122-7	(0959) 38-2750
八重山栽培漁業センター	907-0451	沖縄県石垣市桴海大田148	(09808) 3-2136
奄美栽培漁業センター	894-2414	鹿児島県大島郡瀬戸内町俵崎山原955-5	(09977) 5-0653

—— 栽培漁業センター技報・平成15年度 ——

平成 16 年 3 月 25 日 発行

編集人
発行

独立行政法人 水産総合研究センター

〒101-0047

東京都千代田区内神田 3-14-8

ニシザワビル 5 F

電話 03(5296)3181(代)

印刷所

日昇印刷株式会社

東京都中央区湊 1-14-14

電話 03(3553)3161(代)