

# 栽培漁業センター技報

第2号

平成16年10月

## 目次

キジハタ親魚の養成水温が卵および仔魚に及ぼす影響 津村誠一	1
海水養成したウナギの人工催熟と採卵 加治俊二・西 明文・足立純一	5
クロマグロ卵のふ化実験方法の検討 升間主計・手塚信弘・二階堂英城・武部孝行・井出健太郎	9
ニシン人工種苗脊椎骨癒合の重篤度と回収結果との関係 鈴木重則・福永恭平・山本義久	13
飼育水への貝化石の添加がクエの成長、生残および水質に及ぼす影響 小金隆之・兼松正衛	17
リゾチーム活性等によるヒラメ仔稚魚の生体防御機能測定を試み 森田哲男	22
トゲノコギリガザミ種苗生産におけるナンノクロロプシスの添加量と第5齢ゾエアの過剰発育の関係について 高野正嗣・荒井大介・小畑泰弘・津村誠一・芦立昌一	27
トゲノコギリガザミ種苗生産における配合飼料の利用について 高野正嗣・小畑泰弘・津村誠一・芦立昌一	31
マダコ幼生の生残に影響を及ぼす環境要因 奥村重信	34
ブリ種苗生産における止水飼育を試み 山本義久・山崎英樹・岩本明雄・今泉 均	44
クロマグロ稚魚の適正給餌回数 手塚信弘・升間主計・武部孝行・二階堂英城・井手健太郎	51
シロクラベラの採卵と仔稚魚の飼育試験 浅見公雄・與世田兼三	55
シオミズツボワムシの培養における淡水クロレラの適正な餌料密度の検討 小磯雅彦・桑田 博	62
放流時期がマツカワ放流魚の成長と生残に与える影響 森岡泰三・山本義久・福永恭平・鈴木重則・神保忠雄・錦 昭夫	66
イセエビの眼球部に装着したイラストマー蛍光タグ標識の有効性の検討 成生正彦・町田雅春・橋本 博	72
ヤナギムシガレイ若魚の飼育における砂敷設効果について 山田達哉	76
アカアマダイの中間育成における適正水温の把握について 竹内宏行・本藤 靖・渡辺 税・村上直人	80
ヒラメ種苗における焼印標識痕の形態の変化について 村上直人・中川 亨・渡辺 税・竹内宏行	83
ヒラメとオニオコゼに装着したイラストマー標識の識別期間 太田健吾・島 康洋・小林真人	86
素掘池に放流したトラフグの生残尾数推定法の検討 清水大輔・崎山一孝	89
トラフグ受精卵のヨード剤による消毒の効果 堀田卓朗・藤本 宏・山崎英樹・渡辺研一	92

ヒラメ稚魚における7%食塩添加海水浴によるネオヘテロボツリウム成虫の駆除効果 西岡豊弘.....	96
オキシダント海水がハマフエフキ卵のふ化に及ぼす影響 井手健太郎・手塚信弘・二階堂英城・武部孝行・升間主計.....	100

## キジハタ親魚の養成水温が卵および仔魚に及ぼす影響

津村誠一

(玉野栽培漁業センター)

キジハタ *Epinephelus akaara* は、6～9月の水温が20～21℃以上になるころから自然産卵が始まり、産卵回数の増加とともに、水温の上昇によっても産出卵の卵径が小さくなる<sup>1)</sup>。また、卵径が小型化することにより得られたふ化仔魚のサイズも小型化するため、初期飼育が困難になっている可能性が示されている<sup>2)</sup>。

そこで、卵径の小型化を抑制することを目的に、親魚を自然水温と水温制御した飼育条件で養成し、自然産卵による産卵数、卵径およびふ化仔魚の全長を調査し、キジハタ親魚の水温制御飼育の有効性について検討した。

### 材料と方法

親魚水槽（産卵水槽）には、正八角形コンクリート水槽（対角線の長さ6m、水深2.2m、実容量50kℓ）を2面使用し、自然水温区と21℃に水温を制御した区を設けた。両試験区とも、用水には紫外線殺菌処理したろ過海水を使用した。自然水温区では、飼育水温を自然水温とし、水温制御区では自然水温が21℃を超えた6月9日以降は冷却装置で21℃に保持した。両区とも、水槽内にはシェルターを設置しなかった。

試験に供した親魚は、2000～2002年にかけて香川県伊吹島から搬入し、玉野栽培漁業センターの陸上水槽で養成した親魚群（推定年齢3～10歳魚）である。2003年6月3～9日に腹部を押圧し、精液の搾出が見

られた個体を雄とし、雌は腹部の膨隆状態と産卵痕<sup>1)</sup>から判定した。各試験区とも、雌雄比3：1で計40尾を収容した（表1）。養成餌料にはモイストペレットを使用し、週に3回飽食量を給餌した。モイストペレットは、マサバ：エビ類：スルメイカ：配合飼料（ヒラメ育成用マッシュ飼料、日本配合飼料）を5：5：5：14の割合で混合し、総合ビタミン剤（水産用ビタミン剤、パラミックスFA、エーザイ）を外割3%添加した後に造粒した。また、産卵期間中のみフィードオイル（Eフィードオイル100リケン、理研ビタミン）を外割で1%、ベーターカロチン（30%懸濁液、田辺製薬）を0.01%となるようにモイストペレットに添加した。

水槽内に産出された卵は、2本のパイプ（直径50mm）からオーバーフローした海水とともにネット（ゴース地、80×190×深さ100cm）内に導入して回収した。また、産卵期間中の水温とDOについては、DOメーター（DO14P、TOA）により測定するとともに、水温については別にデータロガー（HOBO）を水槽内に垂下して1時間ごとに測定した。

得られた卵は、マイクロプレート（6穴、10ml/穴）の1穴に受精卵30粒ずつ3穴に収容し、産卵水温と同じ温度、すなわち自然水温区では産卵時の水温に、水温制御区では21℃に調温した恒温室内でふ化させた。卵径は1週間ごとに、ふ化仔魚は開口直後の全長を実体顕微鏡下で測定した。

表1 異なる飼育水温で養成したキジハタ親魚の採卵結果

	自然水温区	水温制御区
飼育水温 (℃)	20.3～26.6℃	20.3～21.7℃
平均全長 (最小～最大) (cm)	30.2±2.8* (23.5～38.5)	30.2±2.8 (25.0～37.5)
平均体重 (最小～最大) (g)	490.3±132 (250～940)	483.5±134 (264～864)
供試尾数 (雌：雄)	40 (30：10)	40 (30：10)
採卵期間 (月日)	6.19～8.31	6.19～8.31
採卵日数 (日間)	74	74
総採卵数 (万粒)	4.204	3.521
総受精卵数 (万粒)	1.145	572
受精率 (%)	27.2	16.3

\*平均値±標準偏差

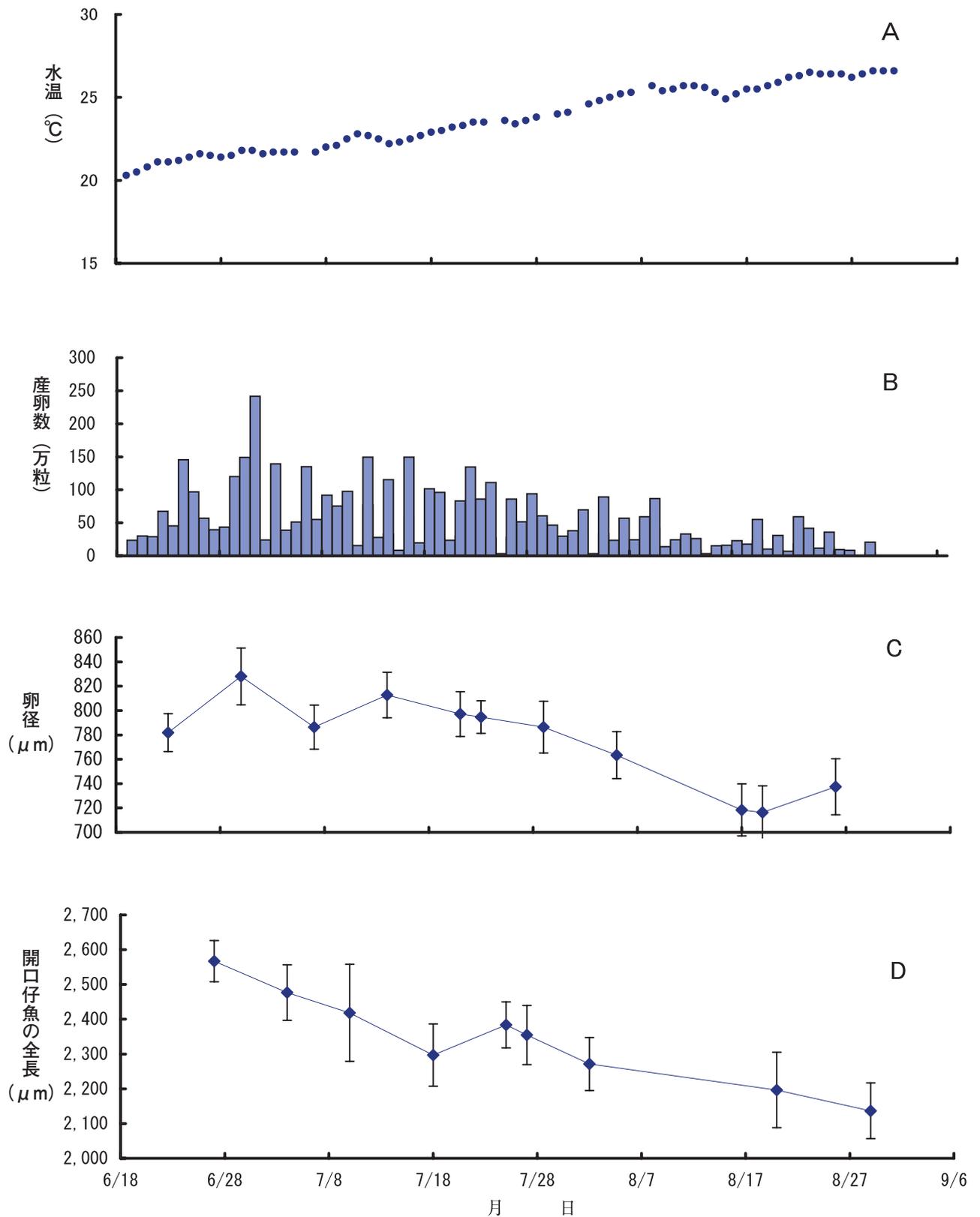


図 1. 自然水温区における飼育水温 (A), 総採卵数 (B), 卵径 (C), および開口仔魚の全長 (D) の経時的変化

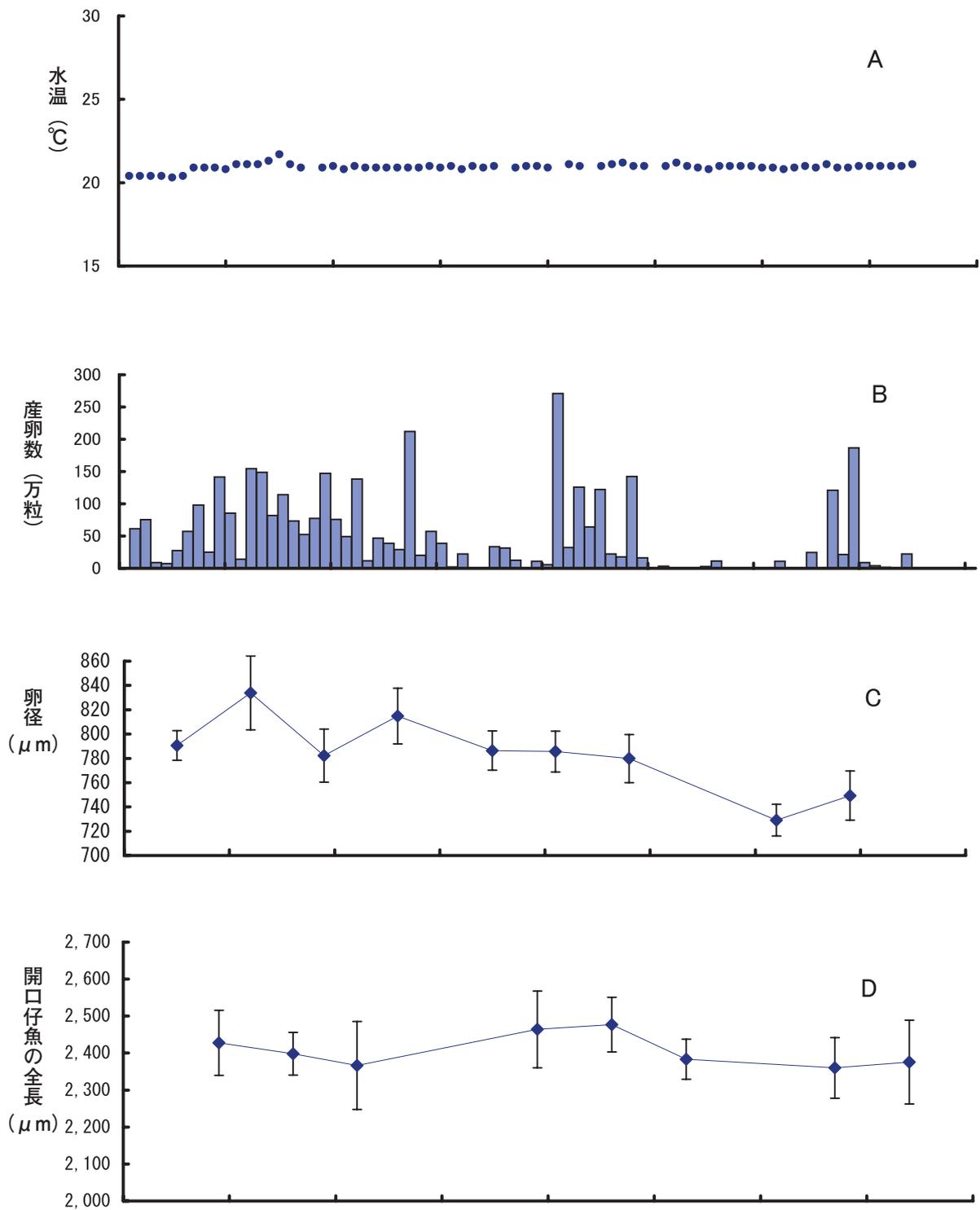


図2. 水温制御区における飼育水温 (A), 総採卵数 (B), 卵径 (C), および開口仔魚の全長 (D) の経時変化

## 結果と考察

両区の採卵結果を表1に示した。産卵期直前に雌と判定した個体の中には、水槽収容直後に雄特有の婚姻色を示す個体があったことから、雌個体の選別は正確に実施できたとは言い難い結果となった。

自然水温区の飼育水温、日別総採卵数、卵径および開口仔魚の全長の経時的变化を図1に示した。自然水温区では、これまでと同様に6～8月にかけて飼育水温の上昇(図1-A)に伴い、産卵数は減少する傾向(図1-B)が認められた。また、得られた卵の卵径(図1-C)や開口時の仔魚の全長(図1-D)も、産卵回数の増加に伴って小型化する傾向を示した。

水温制御区の飼育水温、日別総採卵数、卵径および開口仔魚の全長の経時的变化を図2に示した。水温制御区では、産卵期後半において自然水温区ほどの顕著な産卵数の減少傾向はみられず、むしろ、断続的に産卵数が増加する傾向を示し(図2-B)、総採卵数自体は自然水温区より減少した(表1)。得られた卵の卵径は、産卵回数の増加に伴い小型化する傾向を示し(図2-C)、水温制御の効果は認められなかった。これは、過去の知見<sup>3,4)</sup>とも一致した。しかし、開口時の仔魚の全長は、卵径の小型化に関わらず自然水温区と比較しても小型化する傾向は認められなかった(図2-D)。これは、卵管理中の水温(21℃)が卵内の胚形成に大きく影響していることを示している。すなわち、低水温ほど卵内の胚発生は遅くなるため、器官の原基形成が緩やかでかつ確実に進むため、ふ化時の仔魚のサイズが大きくなることに起因していると考えられる。したがって、キジハタについてもふ化時の水温によって、開口時の全長が決定される可能性があり、

今後さらに検討する必要があると考えられる。

これまで、卵径の大きい受精卵を種苗生産に使用することにより、大型のふ化仔魚が得られ、それに起因して開口時に大型の仔魚が確保できることで種苗生産が成功する可能性が示された<sup>2)</sup>。今回の試験で示されたように、自然水温で産卵させる場合は、水温が約25℃以上になると急激に卵径が小型化する傾向が認められたことから、卵径が小型化するまでの受精卵を使用して種苗生産を行うことも重要と考えられた。また、水温制御区でみられたように、たとえ卵径が小型化した場合でも、卵管理の水温を21℃に設定することにより、開口時に比較的大型の仔魚が得られることも判明した。これらの採卵および卵管理手法を改善することによって、種苗生産成績の向上も目指せるものと考えられた。

## 文 献

- 1) 萱野泰久(1996) キジハタ養成親魚の産卵量と経年変化, 栽培技研, 25, 47-52.
- 2) 萱野泰久, 何 玉環, 原 隆, 福永丈人(1998) 年齢組成の異なるキジハタ新魚群の自然産出卵の卵質, 水産増殖, 46, 213-218.
- 3) Okumura, S. (2003) Variation in egg size spawned under different water temperatures in the redspotted grouper, *Epinephelus akaara*, *Suisanzoshoku*, 51, 231-232.
- 4) 津村誠一(2003) 地域型底層性魚類の成熟・産卵技術開発(キジハタ) (2) 水温と卵径及び卵質の関係, 平成14年度日本栽培漁業協会事業年報, 185-187.

## 海水養成したウナギの人工催熟と採卵

加治俊二・西 明文・足立純一  
(志布志栽培漁業センター)

近年、ウナギ *Anguilla japonica* の人工催熟技術は大きく進展し、受精卵を得ることが容易となった<sup>1)</sup>。しかし、採卵された受精卵の卵質は個体ごとに大きく異なり、質の高い受精卵を安定して確保できるまでには至っていない<sup>2,4)</sup>。その原因として、催熟の方法と親魚の質が挙げられる。

志布志栽培漁業センターでは後者を課題として、シラスウナギからの親魚養成技術開発に取り組んでいる。本報告では、シラスウナギから一貫して海水で養成したウナギを用いて人工催熟試験を行い、親魚としての適性を検討した。

### 材料と方法

**ウナギ親魚の養成方法** 2001年1月に、志布志湾で採捕されたシラスウナギ1,373尾を入手して飼育試験を開始した。飼育水槽は、成長に応じて1.5kℓから35kℓの水槽を用いた。飼育用水には砂ろ過海水を用い、1～3回転/日の流水を行うとともに、毎日20～30%量を換水した。通気は、水流をつけるためエアブロック（ビニールパイプに直径1.2mmの穴をあけ、対角となる水槽角2ヵ所に設置）で行った。飼育水温は、飼育開始時の18℃から6日間で26℃まで升温して約1ヵ月は26℃を保ち、その後は24℃以上を維持した。

搬入したシラスウナギは、市販の餌付け用ペーストで餌付けし、餌付け終了後は練り餌をほぼ毎日給餌した。練り餌は市販のウナギ用配合飼料を主成分とし、外割で総合ビタミン剤（プレミックスFM、富士製粉）1%、スケトウダラ肝油（フィードオイルΩ、理研ビタミン）3%、水160～180%を加えて調餌した。給餌回数は、初めの1年間は1日に2回、以降は1回とし、給餌量は摂餌状況に応じて適宜増減した。

ウナギの雌化は、平均体重1gとなった時点から5ヵ月間、立木ら<sup>5)</sup>の方法に準じて雌性ホルモン（estradiol-17β）を飼料に混ぜて投与する方法で行った。以下、この養成ウナギを海水養成ウナギと称する。

**人工催熟および採卵方法** 供試魚として、雌は海水養成ウナギ（22～24ヵ月飼育）29尾と天然ウナギ31尾を、雄は海水養成ウナギ27尾と養殖ウナギ25尾を用いた。天然ウナギは、宍道湖の小型定置網で漁獲された個体を1～2ヵ月無給餌で海水飼育した。

催熟中は無給餌とし、水温は20～21℃を維持した。

雄では5kℓ水槽、雌では15kℓ水槽を用い、ともにエア流通気を行い、シェルターとして底面にφ100mmの塩ビパイプを設置し、水槽上面は常時遮光幕で覆った。また、個体識別のため催熟開始時に焼印を施した。

人工催熟および採卵は香川<sup>6)</sup>の方法に準じた。すなわち、雌にはサケ脳下垂体（SPE）を1尾当たり20mg、雄にはヒト絨毛性性腺刺激ホルモン（HCG）を1IU/g・BWの割合で、週1回の投与を繰り返した。さらに、雌では体重が増加し、卵径が850μmを超えて核移動期まで到達した個体に、卵成熟誘起ステロイド（17, 20β-dihydroxy-4-pregnen-3-one; DHP）を2μg/g・BWとなるよう腹腔内投与した。その雌を排精が確認された雄3～6尾と0.5kℓ水槽（実水量250ℓ）に収容して誘発産卵を試みた。DHPを投与後14～16時間までに誘発産卵が認められない場合は、人工授精による採卵を行った。

得られた卵については受精率とふ化率を調査し、80ℓ水槽に設置した直径50cm、深さ30cmの円筒形ネット内に収容した。卵管理は水温21℃下で行い、ろ過海水を毎分1ℓ注水し、通気はエアストーンで行った。仔魚の飼育はTanakaら<sup>7)</sup>の方法に準じた。

### 結果と考察

**海水養成ウナギの養成** 飼育水温と成長（平均体重）の推移を図1に示した。水温は夏期以外には24℃を維持し、夏期には自然水温となり30℃近くまで上昇した。平均体重は、養成1年でおおむね250gとなり、583日目には463gとなった。催熟開始前の642日目には508尾中153尾が500gを超え、最大個体は1,380gであった。なお、養成過程で成長不良個体が出現し、431尾を取り揚げた。

月別の減耗率と給餌量を図2に示した。体側や頭部の一部が発赤し潰瘍となる個体が出現する時期があり、この時期に大きく減耗し、摂餌量も低下した。その症状からビブリオ病の疑いが持たれたが特定の細菌は分離できず、原因は不明であり、今後の海水養成の問題となった。死亡は22ヵ月間に435尾となり、減耗率は32%であった。月間の減耗率は、飼育当初の停電による酸欠死を除けば、平均1.4%（0～4.6%）であった。また、体重50g以上の137尾について、生殖巣の形状<sup>8)</sup>（半円形の小葉は雄、比較的幅広のカーテン

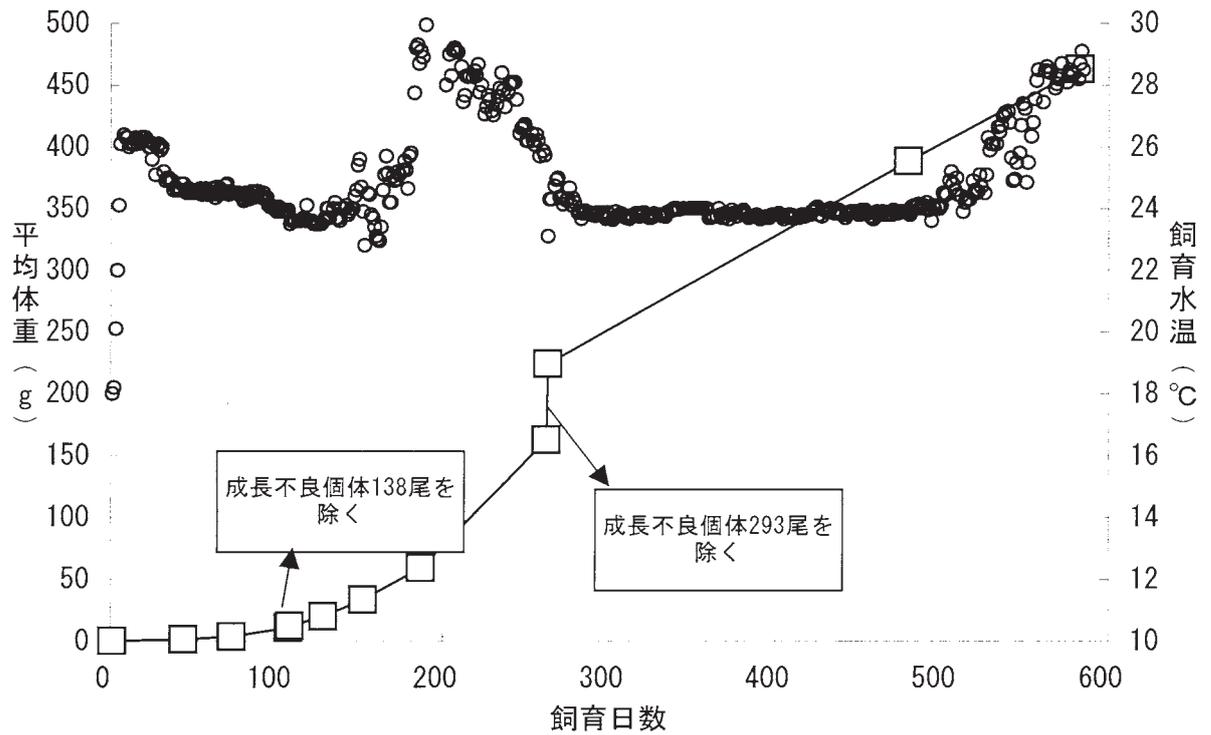


図1 海水養成ウナギの成長と飼育水温

—□— 平均体重      ○ 飼育水温

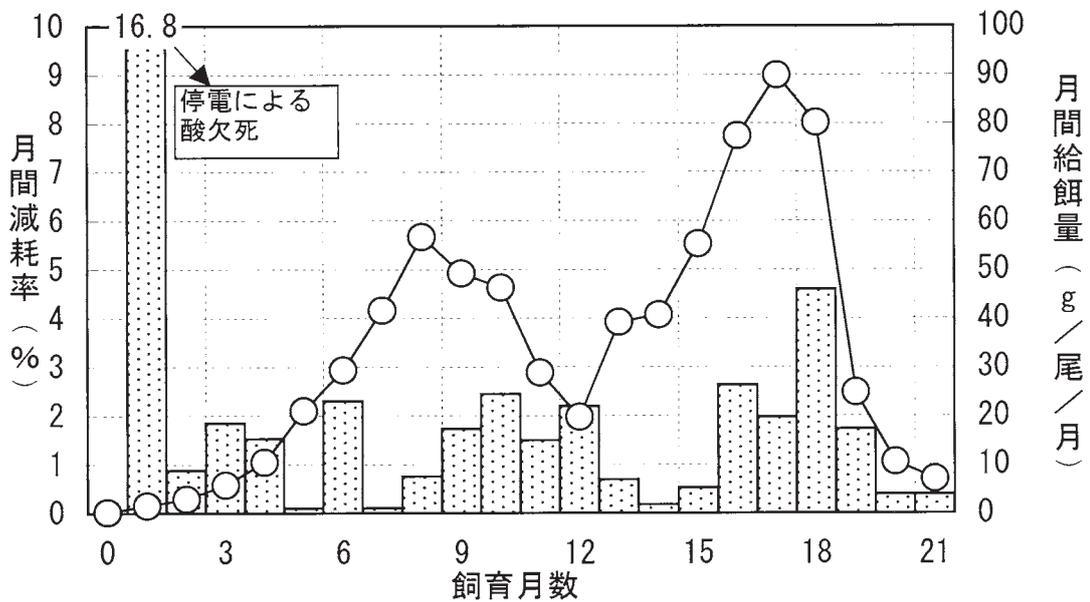


図2 海水養成ウナギの月間減耗率と給餌量

月間減耗率はその月の初期飼育尾数に対する減耗率、

月間給餌量は主原料である配合飼料の重量をその月の初期飼育尾数で除した値で示した

■ 月間減耗率      ○ 月間給餌量

状は雌)を目視観察した結果、雌68尾、雄41尾、判別不能28尾となり、雌化処理を行った群としては雌化率が低かった。

**人工催熟および採卵** 表1に催熟および採卵結果の概要を示した。雌ウナギで、海水養成と天然の催熟開始時の体重と肥満度は、前者がそれぞれ570～1,305gと1.41～2.04、後者が432～1,585gと1.26～2.14で両群で顕著な差は認められなかった。また、同一群を解剖した結果、卵巣卵径とGSIは前者が0.17～0.24mm、0.99～2.26(観察尾数8尾)、後者が0.20～0.22mm、1.08～2.38(観察尾数9尾)の範囲にあり、成熟状況も両者に大きな差は認められなかった。

雌親魚で死亡あるいは活力不良によって催熟を中止した割合は、海水養成ウナギが53%(16尾)、天然ウナギが19%(6尾)と前者で多くなった。この要因として、海水養成ウナギは催熟開始前にほとんど摂餌せず、減耗まで認められ、産卵用親魚として天然親魚よりも健康状態が悪かったためと考えられた。成熟誘起に成功した雌親魚の割合は、海水養成ウナギが41%(12

尾)、天然ウナギが74%(23尾)で、後者で良好な結果が得られた。排卵した割合は、前者で24%(7尾)、後者で68%(21尾)となり、後者ではDHP投与個体21尾すべてが排卵したのに対して、前者では11尾中4尾は排卵しなかった。受精卵が得られた割合は前者で17%(5尾)、後者では68%(20尾)、ふ化仔魚が得られた割合は前者で17%(5尾)、後者で52%(16尾)となり、いずれも天然ウナギで良好な結果が得られた。また、成熟誘起に要するSPEの投与回数は、図3に示すように7～16回で平均値は両親魚群とも9.4回であった。海水養成ウナギを用いた催熟は千葉県と愛知県でも試みられ、成熟誘起に成功した割合は千葉県38%、愛知県73%、またふ化仔魚が得られた割合は千葉県2%、愛知県38%であった<sup>49)</sup>。また、愛知県では、淡水で養成したウナギとの比較を行い、催熟成績は海水養成とほぼ同等という結果を得ている<sup>49)</sup>。今回の試験結果は愛知県と比較すると悪く、前述したように催熟開始前の健康状態が悪くなかったと考えられた。今後は摂餌不良の要因を把握し、これらの養成不調の原

表1 ウナギの催熟および採卵試験結果

	全長 (cm) 体重 (g) 肥満度*1	催熟尾数	排卵尾数	採卵数 (万粒)	
		死亡尾数 成熟誘起尾数	受精卵が得られた尾数 ふ化仔魚が得られた尾数	受精卵数 (万粒) ふ化仔魚数 (万尾)	受精率 (%) ふ化率*2 (%)
海水養成ウナギ	79 (71.6～89.0)	29	7	373	
	839 (570～1,305)	16	5	134	45 (19～63)
	1.69 (1.41～2.04)	12	5	17	24 (0-74)
天然ウナギ	78 (69.4～94.2)	31	21	1,328	
	829 (432～1,585)	6	20	384	34 (3～76)
	1.68 (1.26～2.14)	23	16	101	14 (0～36)

\* 1. (体重×1,000) ÷ (全長)<sup>3</sup>

\* 2. 受精卵に対するふ化率

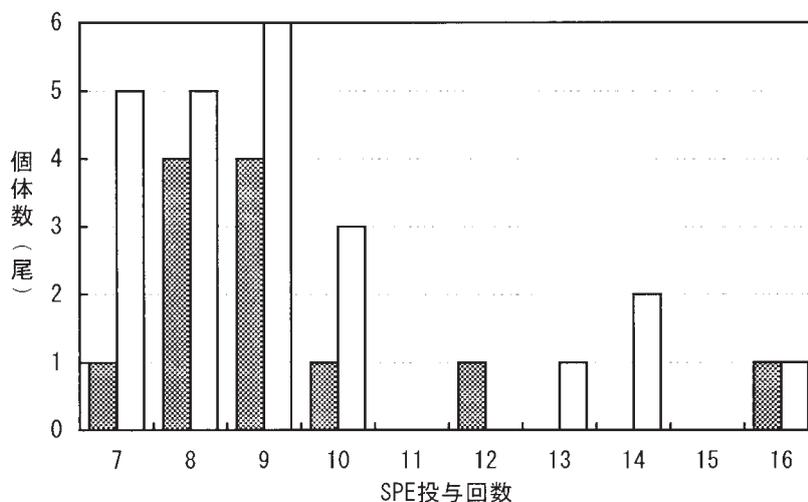


図3 ウナギ催熟で成熟誘起に要するSPE(サケ脳下垂体)投与回数  
 ■ 海水養成ウナギ □ 天然ウナギ

表2 ウナギ仔魚の飼育試験結果

飼育 回次	親(雌)の 由来	給餌開始時(日齢7.8)		日齢20		飼育終了時		
		平均全長 (mm)	平均体高 (mm)	推定生残数 (尾)	推定生残率 (%)	日齢	最大全長 (mm)	最大体高 (mm)
1	天然	6.82	-	12	0	27	9.08	0.80
2	海水養成	6.78	-			10	-	
3	天然	6.98	-	4	0	44	-	1.06
4	天然	6.62	-	0		17	-	
5	天然	-	-	29	3	31	10.8	1.10
6	天然	6.87	-	0		18	-	
7	天然	7.11	-	9	0	21	-	
8	天然	6.79	-	63	1	34	9.58	0.98
9	天然	6.58	0.64	0		19	-	-
10	海水養成	6.76	-	55	3	28	9.48	0.99
11	海水養成	6.96	0.70	263	4	254	35.9	5.42

因を調べ、親魚養成方法を改善していく必要がある。

また、得られた卵の受精率とふ化率(受精卵に対するふ化率)は、海水養成と天然ウナギとも事例ごとのばらつきが大きく、両者の間で相違は認められなかった。仔魚飼育は、海水養成ウナギから得た仔魚で3例、天然ウナギから得た仔魚で8例を試み、その結果の概要を表2に示した。どの飼育事例も初期の減耗が激しく、日齢20での生残率は0~4%であった。しかし、このうち海水養成ウナギから得た仔魚で行った1例で、1尾が長期に生残して日齢253(全長35.9mm、体高5.42mm)までの飼育に成功したことは特筆される。

## 文 献

- 田中秀樹・太田博巳・香川浩彦(2000) ウナギの人工催熟技術と仔魚の飼育技術の開発に関する研究. 日水誌, 66, 623-626.
- 水産庁(2001) 平成12年度内水面重要資源増大対策委託事業報告書(レプトケファルス育成技術開発). 9-59.
- 水産庁(2002) 平成13年度内水面重要種資源増大対策委託事業報告書(レプトケファルス育成技術開発). 7-62.
- 水産庁(2003) 平成14年度内水面資源増養殖・管理総合対策委託事業報告書(ウナギ種苗生産総合技術開発). 5-62.
- 立木宏幸・中川武芳・田村憲二・廣瀬慶二(1997) ニホンウナギにおける estradiol-17 $\beta$  の経口投与による雌化効果, 成長および親魚養成. 水産増殖, 45, 61-66.
- 香川浩彦(1999) 雌ウナギの成熟・排卵誘起技術. 月刊海洋, 号外, 18, 88-93.
- Tanaka H, Kagawa H, Ohta H. Production of leptocephali of Japanese eel (*Anguilla japonica*) in captivity. *Aquaculture* 2001, 201, 51-60.
- 廣瀬慶二(2001) 第4章人工種苗への道. 「ウナギを増やす」, 成山堂書店, 東京, pp. 50.
- 水産庁(2004) 平成15年度ウナギ資源増大対策委託事業報告書(ウナギ種苗生産総合技術). 13-66.

## クロマグロ卵のふ化実験方法の検討

升間主計\*1・手塚信弘\*2・二階堂英城\*1・武部孝行\*1・井出健太郎\*1

(\*1 奄美栽培漁業センター, \*2 能登島栽培漁業センター)

種苗生産技術開発において、海産魚の卵質評価の有力な指標として正常ふ化率が調べられている。その調査方法は、直接、ふ化水槽等でふ化させて推定する方法やビーカー等の小容器内でふ化させて推定する方法など、各種苗生産機関や魚種によって様々である。また、正常ふ化仔魚は目視によって、仔魚の体が真っ直ぐに伸びているかどうかで判断されている。

奄美栽培漁業センターでは、1997年からクロマグロ *Thunnus thynnus orientalis* の産卵に成功し、その卵質を評価するために正常ふ化率を求めてきた。その方法は、2つの500mlガラスビーカーに約30粒の卵を収容し、恒温器内に静置してふ化させ、目視によって正常ふ化仔魚数を計数することによって求めた。しかし、その値にはしばしば大きなばらつきが生じたことから、ふ化実験方法を検討する必要がある。

本報告では、クロマグロ卵の評価に適したふ化実験方法について検討したのでその結果を報告する。

### 材料と方法

1999年6月21日から7月14日までに、奄美栽培漁業センター内で養成した親魚群から自然産卵によって得られた受精卵の一部をふ化実験に用いた。ふ化飼育には、約25℃に設定した温度勾配恒温器 (MTI-202B, EYELA) を用いた。実験に供した卵は、4細胞期から初期桑実期に達していた。

**実験1** 6月21日と23日に得られた卵を用いて、6

ウェルマルチウェルプレート (蓋付きマルチウェルプレート6ウェル, 東京硝子器械) と500mlビーカーでのふ化を比較した (表1)。紫外線殺菌海水約10mlを満たした6ウェルマルチウェルプレート1~2枚の各ウェル (21日は6ウェル, 23日は10ウェル) に、ピペットを用いて受精卵を収容したところ、収容卵数は11~39粒であった。同殺菌海水約500mlを満たした500mlビーカーには、同様の方法で受精卵を収容し、収容卵数は29~35粒であった。マルチウェルプレートとビーカーは、卵収容後に温度勾配恒温器内に静置してふ化させた。ふ化後、ビーカーでは目視によって、ピペットを用いて正常ふ化仔魚を除きながら計数し、マルチウェルプレートでは実体顕微鏡下で同様に計数し、正常ふ化率を求めた。

**実験2** 7月3日と7月5日に得られた卵を用いて、ふ化までの振盪の効果を調べた (表1)。6ウェルマルチウェルプレートを用いて、実験1と同様に8~42粒の卵を各ウェルに収容した。マルチウェルプレートは、温度勾配恒温器内に設置した振盪器 (MTS4, IKA-Schüttler, 100回/分) 上に置くか、または静置してふ化まで飼育した。

**実験3** 7月5日と7月14日に得られた卵を用いて、振盪および抗生物質 (硫酸ストレプトマイシン, 明治製薬) の効果を調べた (表1)。各ウェルには23~67粒の卵を収容した。抗生物質を添加した区では静置してふ化まで飼育し、その他は実験2と同様に行った。なお、振盪区は6つのウェルの内、5つのウェル

表1 クロマグロ卵のふ化飼育実験の概要

実験名	ふ化飼育実験	飼育容器	例数
実験1-1	静置	500mlビーカー	2
	静置	6穴マルチウェルプレート	6
実験1-2	静置	500mlビーカー	2
	静置	6穴マルチウェルプレート	10
実験2-1	静置	6穴マルチウェルプレート	6
	振盪	6穴マルチウェルプレート	6
実験2-2	静置	6穴マルチウェルプレート	6
	振盪	6穴マルチウェルプレート	6
実験3-1	静置	6穴マルチウェルプレート	5
	静置+抗生物質	6穴マルチウェルプレート	6
実験3-2	振盪	6穴マルチウェルプレート	6
	静置	6穴マルチウェルプレート	6
	静置+抗生物質	6穴マルチウェルプレート	6
	振盪	6穴マルチウェルプレート	6

に卵を収容した。抗生物質は針先に少量を付着させ、各ウェルの飼育海水に溶かした。

**解析** 統計解析にはパソコンソフト (StatView, SAS Institute Inc.) を用いて、実験 1, 2 では Mann-Whitney の  $U$  検定、実験 3 では Kurskal-Wallis の検定を用いた。また、実験 3 の結果で有意差が認められた場合には、各実験区間で Mann-Whitney の  $U$  検定を行った。

## 結 果

**実験 1** ビーカーふ化飼育と 6 ウェルマルチウェルプレートでのふ化飼育において、2 回の実験ともに正常ふ化率には差が認められなかった (図 1) (実験 1-1 ;  $p=0.317$ , 実験 1-2 ;  $p>0.999$ )。特に、マルチウェルプレートでのふ化では、飼育水が白濁するこ

ともなかった。この結果から、以下での実験はすべて 6 ウェルマルチウェルプレートを用いて行った。

**実験 2** 図 2 に平均正常ふ化率を示した。繰り返した 2 回の実験で、実験 2-1 では  $p=0.078$ , 実験 2-2 では  $p=0.0065$  となり有意差は認められなかったが、図 2 からは振盪ふ化飼育区で正常ふ化率が高い傾向がうかがえた。実験 2-2 では、振盪ふ化飼育区の正常ふ化率が静置ふ化飼育区に比べて有意に高い結果が示された。

**実験 3** 図 3 に正常ふ化率を示した。実験 3-1 および 3-2 では、それぞれ Kurskal-Wallis の検定の結果、 $p=0.0044$  および  $0.0031$  と高い有意差が認められた。また、各実験区間では、静置ふ化飼育区と静置 + 抗生物質ふ化飼育区間に有意差はなく ( $p>0.20$ )、振盪ふ化飼育区とその他の試験区間では  $p<0.01$  と高い有意差が認められた。

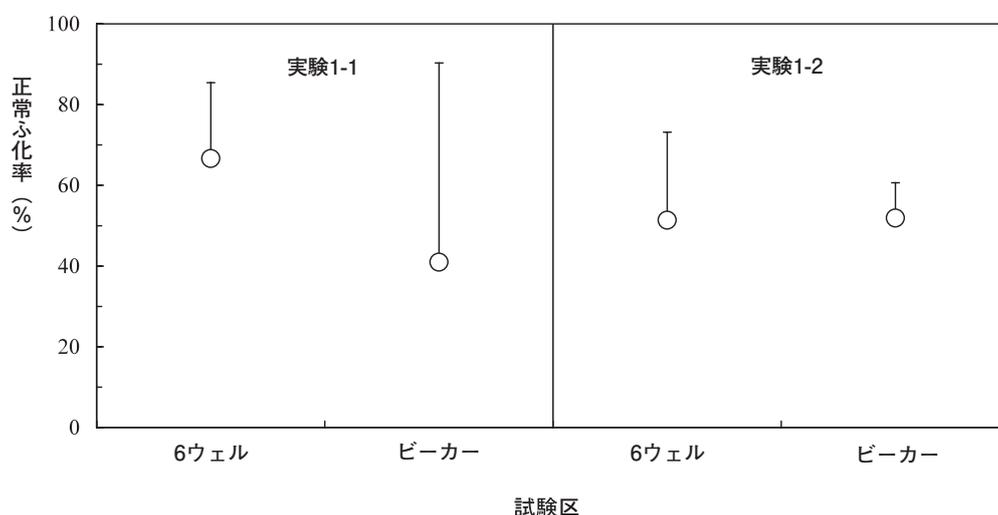


図 1 6 ウェルマルチウェルプレートとビーカーふ化管理による平均正常ふ化率 (縦棒は標準偏差を示す)

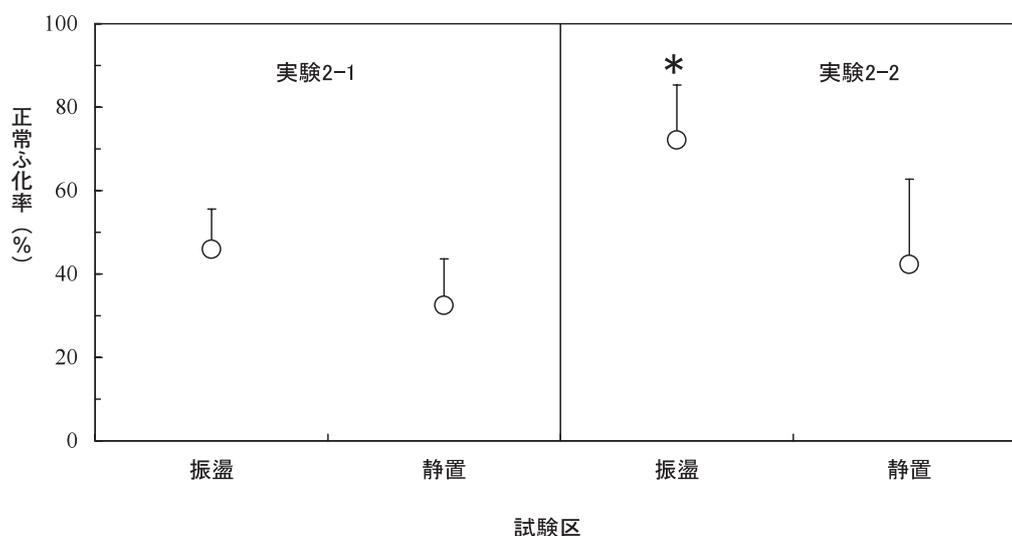


図 2 振盪と静置ふ化管理による平均正常ふ化率 (縦棒は標準偏差を示す) \*は  $p<0.01$  以下で有意を示す

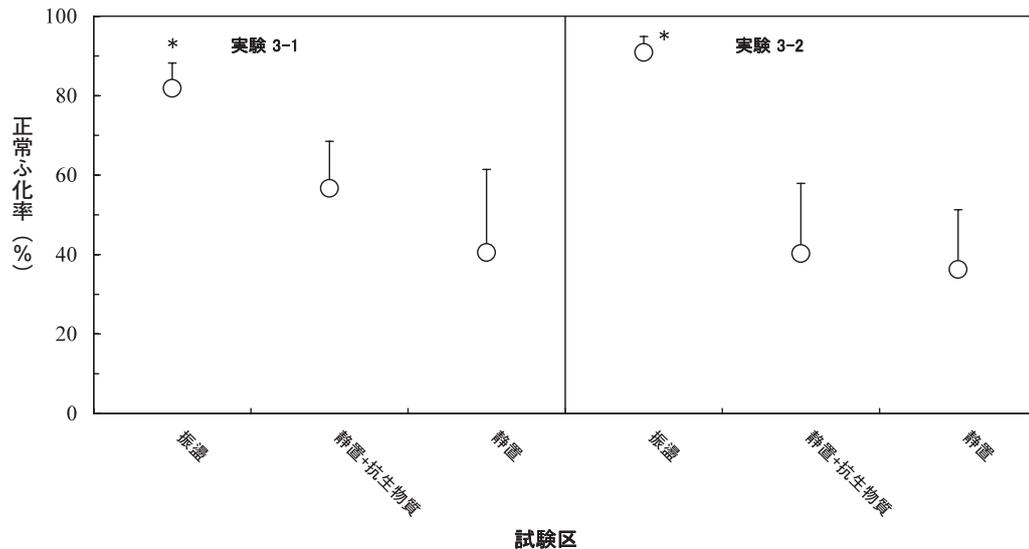


図3 震盪, 静置+抗生物質および静置ふ化管理による平均正常ふ化率 (縦棒は標準偏差を示す)  
\*は  $p < 0.01$  以下で有意を示す

## 考 察

実験1の結果では, 6 ウェルマルチウェルプレートとビーカーのふ化飼育結果には差が認められず, またふ化後の飼育水の白濁もないことから, 6 ウェルマルチウェルプレートがふ化実験に利用可能であると判断された。Kaji<sup>1)</sup> は, キハダ *Thunnus albacares*, クロマグロおよびスジアラ *Plectropomus leopardus* のふ化仔魚の飢餓耐性試験に6 ウェルマルチウェルプレートを用いているが, ふ化実験に利用した例を見ない。マルチウェルプレートのふ化実験への利用は, ビーカーに比べて, 比較的例数を多く取りやすく温度管理も容易であり, さらに実体顕微鏡下で詳しい形態観察もできることから, ふ化実験に適した方法であり, 他の魚種にも応用可能と考えられる。

これまでクロマグロのふ化実験は, 静置条件下で行われている。遠藤<sup>2)</sup> は, 100ml ビーカーに50粒, 宮下<sup>3)</sup> は 1 l の海水を満たしたプラスチックボールに50粒の卵を収容しふ化させている。三村ら<sup>4)</sup> はヒラメ *Paralichthys olivaceus* 卵のふ化飼育試験で, 100ml のろ過海水を入れた200ml容量のサンプル瓶に受精卵を約50粒または100粒収容し, 水中ポンプと空気曝気によって水流を発生させた 1 kℓ のポリカーボネイト水槽に浮かべて, サンプル瓶を振盪し, 卵と卵が癒着しないようにしてふ化させ, 高いふ化率を得ている。三村ら<sup>4)</sup> は, 著者らのふ化方法と同じ効果を期待して行ったと考えられる。宮下<sup>3)</sup> と三村ら<sup>4)</sup> は, ふ化率のばらつきについては言及していないが, 特に, ふ化に関する問題点の指摘はない。中田ら<sup>5)</sup> は, ふ化前に沈

下するプリ *Seriola quinqueradata* 卵のふ化実験で200粒の卵を500ml ビーカーに収容し, 卵が沈下しないようにエアストーンによる微通気条件下でふ化を行っている。しかし, 岩谷<sup>6)</sup> はキジハタ *Epinephelus akaara* で受精卵からふ化するまでに通気が影響し, ふ化率を低下させることを指摘し, ふ化率の算定を行う場合には無通気で行った方が良いと述べている。魚種によってふ化方法に工夫がなされている。

今回検討した振盪は, 卵と卵との密着を防ぐこと, 通気による影響がないこと, 特に, 本種の卵はプリ同様にふ化前に沈下することから<sup>3)</sup>, 卵が容器の底に沈下することを防ぐ効果が期待でき, その結果, 正常ふ化率が高くなったと考えられる。

今回の結果は, クロマグロ卵のふ化実験において, 6 ウェルマルチウェルプレートの利用がビーカーと同様に可能であり, さらに, 振盪条件下でふ化させることによって, 静置条件下に比べて, 高い正常ふ化率が得られることを示した。このことは, 本種のふ化飼育実験で正常ふ化率を求め, より正確な卵質評価を行うためには, 振盪条件下で実験を実施するか, または宮下<sup>4)</sup> のように比較的大きな容器に卵と卵が密着しない状態で行うことが必要であることを示している。

## 文 献

- 1) Kaji, T., M. Tanaka, and M. Tagawa (1999) Laboratory study of density-dependent survival after handling in yolk-sac larvae of tunas and a grouper. *Fish. Sci.*, **65**, 482-483.
- 2) 遠藤文則 (1995) クロマグロ種苗生産における

- 現状. 水産増殖, **43**, 263-267.
- 3) 宮下 盛 (2001) クロマグロの種苗生産に関する研究. 博士学位論文, 近畿大学, 1-183.
- 4) 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, *Paralichthys olivaceus* 卵に対する影響. 水産増殖, **46**, 101-110.
- 5) 中田 久・中尾貴尋・荒川敏久・松山倫也 (2001) ブリの人工授精における排卵後経過時間と受精率との関係. 日水誌, **67**, 874-880.
- 6) 岩谷芳自 (1999) キジハタのふ化およびふ化仔魚に与える通気の影響. 栽培技研, **27**, 59-61.

## ニシン人工種苗脊椎骨癒合の重篤度と回収結果との関係

鈴木重則\*1・福永恭平\*1・山本義久\*2

(\*1 厚岸栽培漁業センター, \*2 屋島栽培漁業センター)

厚岸栽培漁業センターでは、地域性ニシン *Clupea pallasii* の資源増大並びに持続的利用を目的に、1982年より厚岸産ニシンの種苗生産技術開発を実施している。現在では、生残率約40%で数十万尾の種苗を安定的に生産できる技術レベルに達している。しかし、生産種苗の脊椎骨が癒合する異常の発生が問題として残されており、防除技術の開発を進めている。

当初、脊椎骨の異常発生原因として、仔稚魚に与える生物餌料および配合飼料の栄養的欠陥が疑われ、生物餌料の栄養強化剤および配合飼料の成分組成を比較・検討したが明確な結果は得られなかった。脊椎骨の癒合は、1999年以前に生産した種苗では約半数に見られ、さらにそのうちの約半数は脊椎骨の6カ所以上で癒合が見られる重篤な異常魚であった<sup>1-4)</sup>。しかし、近年、水槽内におけるニシン仔稚魚の遊泳行動の観察結果から、物理的刺激に対する驚愕反応から誘発される水槽壁への衝突が異常発生の原因として推察された。そこで、飼育照度や通気方法などの飼育方法を改善した結果、脊椎骨に癒合が見られる種苗は30%以下に減少し、重篤な異常魚も20%以下に減少するなど異常発生が減少する傾向にある<sup>4,7)</sup>。

一方、生産されたニシン人工種苗を利用した放流効果調査を1995年より継続実施している。1993~2001年に厚岸湾へ放流した9群について、脊椎骨の癒合が見られない放流魚の割合と回収率を比較した結果、両者の間に正の相関関係が認められ、脊椎骨の癒合した放流魚の多寡が回収結果に影響を与えることが明らかとなった<sup>8)</sup>。

そこで本研究では、ニシン人工種苗に見られる脊椎

骨癒合の重篤度別出現状況を、放流時と放流後1年半を経過した回収時（漁獲時）で比較し、脊椎骨癒合の重篤度と回収結果との関連性を検証した。

## 材料と方法

**標本の収集** 本調査は、2000年および2001年に厚岸栽培漁業センターで生産した人工種苗による厚岸湾放流群を対象とした。放流時の標本は、放流前日に厚岸港内に設置した中間育成施設（海上小割網）より無作為に数百尾を採取し、全長および体重を測定した後、後述の軟X線撮影時まで-30℃で冷凍保存した。回収時の標本は、放流翌々年の2~5月に、厚岸沿岸へ産卵回帰し漁獲された2000年放流群108尾、および2001年放流群236尾を用いた（表1）。なお、回収時の標本の天然魚と放流魚の判別には、耳石 ALC 標識を用いた。

**軟X線撮影** 脊椎骨の撮影には軟X線撮影装置（Softex, C-60）を使用した。専用フィルム（FUJI X-RAY FILM FR）上に魚体が重ならないように並べ、魚体の体幅に応じてX線照射時間を適宜調節して撮影した。撮影したフィルムを実体顕微鏡下で観察し、脊椎骨の癒合数を計数した。ただし、放流種苗では、頭蓋骨の後端に関節する脊椎骨が頭蓋骨と重なって撮影されるため、1番目と2番目の脊椎骨間については癒合の有無が明瞭に観察できなかった。従って、脊椎骨癒合数による重篤度の区分は、癒合数が0カ所または1カ所と判断された個体を「正常・軽度」、2~5カ所を「中度」、6~10カ所を「重度」、および11

表1 脊椎骨癒合数の計数に供試したニシン人工生産魚の概要

放流群	標本区分	採集年月日※	標本数 (尾)	平均全長 (mm) (範囲)	平均体重 (g) (範囲)
2000年 放流群	放流時	200.7.30	200	74.0 (38.7~89.9)	2.81 (0.39~5.04)
	回収時	2002.2.26 2002.5.31	108	251.7 225~270	130.9 85.3~171.0
2001年 放流群	放流時	2001.8.16	251	68.4 (42.3~94.6)	2.37 (0.47~6.17)
	回収時	2003.4.11 2003.5.30	236	245.6 205~270	126.0 81.3~177.7

※上段：開始日 下段：終了日

カ所以上を「最重度」とした。

## 結 果

放流時における脊椎骨の重篤度別出現率は、2000年と2001年の放流群でそれぞれ、「正常・軽度」88.5%、67.3%、「中度」9.0%、20.7%、「重度」2.0%、6.8%、および「最重度」0.5%、5.2%であった。また、放流サイズ（平均全長）はそれぞれ74.0mm（38.7～89.9mm）と68.4mm（42.3～94.6mm）であった。一方、回収時における重篤度別出現率は、同様に「正常・軽度」87.0%、75.0%、「中度」13.0%、22.9%、「重度」0%、2.1%、および「最重度」0%、0%であった。「正常・軽度」および「中度」の出現率は、放流時と回収時に大きな違いは認められなかった。しかし、「重度」および「最重度」の放流魚が回収されることは皆無もしくは非常に少なく、放流時の出現状況と異なっていた（図1）。

2001年放流群について、放流時と回収時の重篤度別

出現頻度組成を $\chi^2$ 検定により比較した結果、両者の間に有意差が認められた。なお、2000年放流群は、カテゴリー「重度」および「最重度」の出現頻度が低かったため検定には用いなかった。

回収率は、2000年放流群で12.1%、2001年放流群で5.2%と推定され、放流サイズが大きく、重篤度が高い放流魚の割合が低かった2000年放流群で高い放流効果が得られた。

## 考 察

これまで、人工種苗の質的改善並びに放流技術の向上を目的に、人工種苗特有の体色異常や形態異常が放流後の生残に与える影響、および天然魚と放流魚の行動特性の違いが調査されてきた<sup>9-15)</sup>。しかし、これらの調査は放流後1ヶ月程度の短期間に限られていた。また、マダイ、ヒラメ、ブリ等の重要な栽培漁業対象種をはじめ、ヒラマサ、アカアマダイ、マツカワ等様々な放流用人工種苗から脊椎骨異常の発生が報告されて

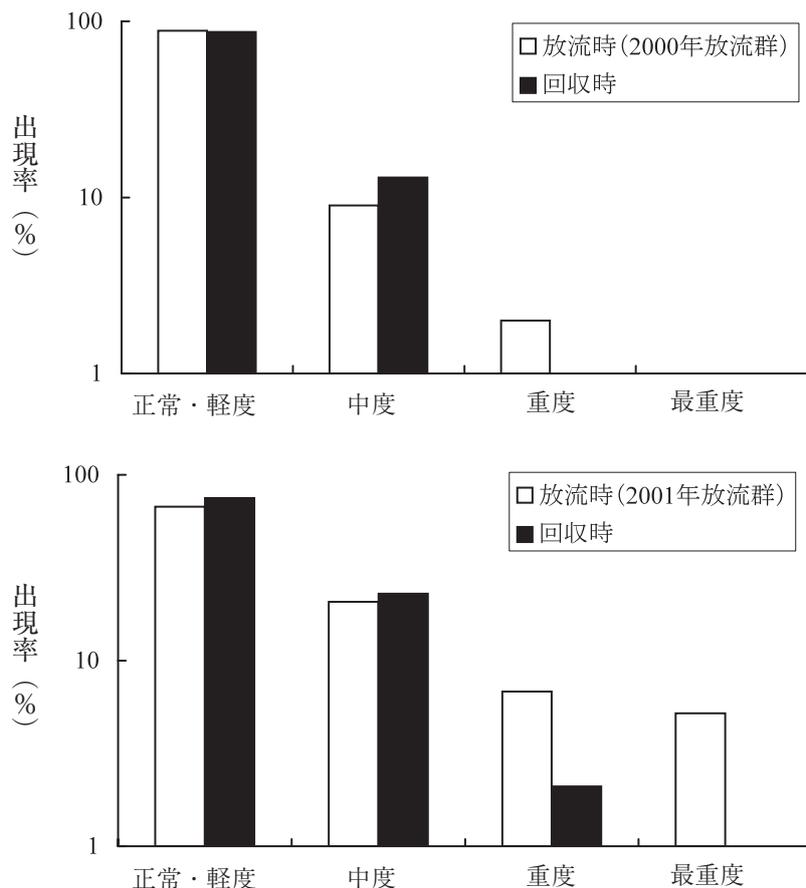


図1 ニシン人工生産魚の放流時と回収時の脊椎骨癒合区分別出現率の比較  
脊椎骨癒合区分と癒合数の関係（正常・軽度：0～1個，中度：2～5個，  
重度：6～10個，最重度：11個～

いる<sup>16-21)</sup>。しかし、脊椎骨の異常が放流後の生残に与える影響を詳しく検証した例はなかった。本研究は、放流種苗に見られる脊椎骨異常と回収結果との関連性を明確にした初めての報告例であり、放流種苗の質的改善が放流効果の安定・向上に有効であることを示すものである。

首藤ら<sup>14)</sup>は、ヒラメ人工種苗の放流直後における減耗は、白化部分の面積割合が高いほど著しいことを報告し、その原因を捕食者からの発見され易さにあると推察している。足立<sup>9,10)</sup>は、実験池における模擬放流によりマダイおよびトラフグ人工種苗に見られる鼻孔隔皮の異常、およびトラフグ人工種苗に見られる尾部欠損が放流後の生残に与える影響を調査したが、両魚種ともに異常魚が正常魚より生残が劣る傾向は認められなかったことを報告している。しかし、鼻孔隔皮の異常は臭覚機能への悪影響が懸念されるが、臭覚は専ら索餌の際に重要な感覚器官として利用されるものであり、被食回避能力との関連性は低いと考えられる<sup>22)</sup>。また、トラフグの尾部欠損が生残に及ぼす影響については、元来フグ科魚類の遊泳能力は低く、腹部を膨張させる、もしくは毒を分泌するといったフグ科魚類独特の防御機能の方が被食の回避には有効と考えられる<sup>23)</sup>。一方、ニシンは魚類の中でも比較的遊泳能力が高く、泳ぎながら摂食するとともに群れを形成することで捕食者に対し目標を定めにくくするなど、遊泳能力の程度が生残に深く関わっている<sup>24,25)</sup>。また、異体類に備わっている有眼側体表の色彩や斑紋を海底の色彩や明るさに応じて変化させる能力についても、捕食者から隠れる手段として生残に深く関わっている<sup>26)</sup>。以上のことから、マダイ、トラフグでは生残に差が見られず、ニシン、ヒラメでは生残に差が見られた原因は、形態異常または体色異常により低下した機能と被食回避能力との関わり方の強さによるものと推察される。

本研究では、重篤度の「重度」および「最重度」に区分される6カ所以上での脊椎骨の癒合が見られる異常魚の出現率が、放流時と回収時で異なっていた。脊椎骨は体幹構造上の中心に位置し、体軸となる主要な骨格である<sup>27)</sup>。また、骨は単に体を支える骨格としての機能だけではなく、筋に付着部位を提供することにより運動器としての機能を合わせ持つ<sup>28)</sup>。脊椎骨の構造が崩れれば、筋力の減弱から免れることはできず、重篤な脊椎骨異常を抱える人工種苗では筋力の著しい減弱が生じ、遊泳能力の低下および異常遊泳が誘発されることに起因する被食が大きな減耗を招いている可能性が高い。

今後の技術開発の方向性として、応急的には放流種苗に出現する脊椎骨癒合数を少なくとも6カ所未満に

抑える生産技術を開発することで、放流効果を安定・向上させることが可能と考えられるが、最終的にはすべての種苗に骨異常が発生しない技術の開発を目指す必要がある。さらに、脊椎骨癒合の重篤度と遊泳能力(瞬発的・持続的)との関連性を組織学および運動生理学的な側面から検討し、本研究で得られた結果の裏付けを得る必要がある。

## 文 献

- 1) 山本和久 (1996) III-3 種苗生産技術の開発 G ニシン. 平成6年度日本栽培漁業協会事業年報, 144-147.
- 2) 尾花博幸 (1997) III-3 種苗生産技術の開発 G ニシン. 平成7年度日本栽培漁業協会事業年報, 168-170.
- 3) 尾花博幸 (1998) III-3 種苗生産技術の開発 G ニシン. 平成8年度日本栽培漁業協会事業年報, 163-166.
- 4) 山本義久 (2001) VIII. 種苗生産6. 形態異常. 栽培漁業技術シリーズ, No.7 ニシンの種苗生産技術, 52-58.
- 5) 山本義久 (2002) 9. ニシンの椎骨等形態異常防除技術の開発. 平成12年度日本栽培漁業協会事業年報, 28-31.
- 6) 福永恭平 (2003) 8. ニシンの椎骨等形態異常防除技術の開発. 平成13年度日本栽培漁業協会事業年報, 33-35.
- 7) 福永恭平 (2003) 7. ニシンの椎骨等形態異常防除技術の開発. 平成14年度日本栽培漁業協会事業年報, 27-28.
- 8) 鈴木重則 (2004) 道東海域における地域性ニシンの放流効果調査. 栽培漁業センター技報, 第1号, 95-98.
- 9) 足立純一 (2002) 3. 模擬放流試験 (マダイ, トラフグ). 平成12年度日本栽培漁業協会事業年報, 233-237.
- 10) 足立純一 (2003) 5. 模擬放流による初期減耗の原因究明 (マダイ, トラフグ). 平成13年度日本栽培漁業協会事業年報, 276-279.
- 11) 足立純一 (2003) 5. 模擬放流による初期減耗の原因究明 (トラフグ). 平成14年度日本栽培漁業協会事業年報, 257-259.
- 12) 清水大輔 (2003) 2. 模擬放流による初期減耗の原因究明 (トラフグ). 平成15年度日本栽培漁業協会事業年報, 103-104.
- 13) 古田晋平 (1998) ヒラメ人工種苗と天然稚魚の摂食行動の比較. 日本水産学会誌, 64,

- 393-397.
- 14) 首藤宏幸・後藤常夫・池本麗子・富山 実・畔田正格 (1992) 志々伎湾におけるヒラメ放流種苗の減耗過程. 西水研研報, **70**, 29-37.
  - 15) Fairchild, E. A. and Howell, W. H. (2000) Predator-prey size relationship between *Pseudopleuronectes americanus* and *Carcinus maenas*. *Journal of Sea Research*, **44**, 81-90.
  - 16) 隆島史夫 (1978) 人工採苗マダイの椎骨形成異常について. 日本水産学会誌, **44**, 435-443.
  - 17) 山本栄一 (2004) ヒラメ人工種苗の脊椎骨癒合と防除方法. 平成15年度栽培漁業技術中央研修会テキスト集, 1-11.
  - 18) 小磯雅彦 (1995) III-3 種苗生産技術の開発 Cブリ. 平成5年度日本栽培漁業協会事業年報, 147-149.
  - 19) 井出健太郎 (2002) 3. 暖水性魚類の形態異常防除技術開発 (ヒラマサ, カンパチ). 平成12年度日本栽培漁業協会事業年報, 329-330.
  - 20) 今泉 均 (1994) III-3 種苗生産技術の開発 K-6 アカアマダイ. 平成4年度日本栽培漁業協会事業年報, 165-167.
  - 21) 渡辺研一 (1995) III-3 種苗生産技術の開発 K-13 マツカワ. 平成5年度日本栽培漁業協会事業年報, 197-199.
  - 22) 板沢靖男・羽生 功編 (1991) 14. 臭覚 魚類生理学. 恒星社厚生閣, 東京, 477-487.
  - 23) 橋本芳郎 (1977) 魚貝類の毒. 学会出版センター, 3-6.
  - 24) 岩井 保 (1991) 7.4 遊泳速度 魚学概論. 恒星社厚生閣, 東京, 50-52.
  - 25) 清水 誠偏 (1993) 魚類9 ニシン・アジ・サバほか 週間朝日百科動物たちの地球93. 朝日新聞社, 282-283.
  - 26) 大島正満 (1940) e. 魚類の體色 脊椎動物大系「魚」. 金子書店, 東京, 23-33.
  - 27) 落合 明編 (1987) 魚類解剖学 (水産養殖学講座第1巻). 緑書房, 東京, 46-50.
  - 28) 板沢靖男・羽生 功編 (1991) 17. 遊泳生理 魚類生理学. 恒星社厚生閣, 東京, 540-543.

## 飼育水への貝化石の添加がクエの成長, 生残および水質に及ぼす影響

小金隆之\*<sup>1</sup>・兼松正衛\*<sup>2</sup>

(\*1 小浜栽培漁業センター, \*2 伯方島栽培漁業センター)

クエ *Epinephelus moara* の種苗生産では, 2000年以降から10万尾を超える量産が可能になっており, その要因の一つとして貝化石の使用が挙げられている<sup>1-3)</sup>。

貝化石 (リバイタルグリーン, グリーンカルチャー) は, 有孔虫化石を細かく砕いて粉状にした多孔質物質であり, 表面の微細な穴に水中の有害物質を吸着することができると考えられている。しかし, 飼育水槽内での作用機序について十分な検討は行われていない。

本研究では, 1998年に行ったクエの種苗生産試験で, 窒素化合物の濃度変化を指標として, 飼育水槽内での貝化石の作用機序について検討した。

### 材料と方法

**供試魚** 供試魚には, 古満目栽培漁業センターで養成したクエ親魚から得られたふ化仔魚を用いた。飼育には, 0.5kℓポリカーボネート製水槽を用い, 1水槽当たり12,000尾を収容した。

**試験区** 試験区として, 貝化石 (粒径5 μm) を飼育水に添加する区 (貝化石区), サンゴ砂 (粒径299 μm) を添加する区 (サンゴ砂区), および無添加の対照区の3試験区を設け, 各区とも2水槽を使用した。貝化石とサンゴ砂は, 毎日午前10時に1水槽当たり5gを添加した。

**餌料** 餌料には, S型ワムシとアルテミア幼生を用いた。ワムシはふ化後3日目から試験終了まで, 10~20個体/mlの密度を維持するように給餌した。アルテミア幼生は, 28日目から試験終了まで1個体/mlの密度を維持した。給餌は毎日1回行った。ワムシの栄養強化には, 生クロレラ V12 (クロレラ工業, 500ml/kℓ添加) とアクアラン (武田科学飼料, 300g/kℓ添加) を用いた。アルテミア幼生の栄養強化には, アクアラ

ン (200g/kℓ添加) を用いた。また, ワムシの活力維持と水中照度の調節のため, 飼育水に市販の濃縮冷蔵ナンノクロプシス (マリーナフレッシュ, マリーナバイオ) を, 1日2回, 20万細胞/mlの密度で添加した。

**飼育管理** 飼育水温は, ウォーターバス方式により24~27℃を維持した。通気は, 水槽中央の1カ所からエアーストーンを用いて行った。各区とも, 試験期間中は換水と底掃除を行わなかった。

**水質の分析** 飼育水中のアンモニア態窒素, 亜硝酸態窒素および硝酸態窒素について, 多項目迅速水質分析機 (DR/2010, HACH) を用いて1日1回測定した。飼育水は, 測定前にろ紙により餌料や添加物を除去した。また, ふ化後5~20日目まで, 4日間隔で全長の測定を行うとともに, 柱状サンプリングにより生残尾数を推定した。試験終了時は, 生残尾数の全数計数と全長測定を行った。

### 結 果

**成長と生残** 表1に, 飼育試験結果の概要を示した。41日間の飼育で, 成長, 生残率とも貝化石区>サンゴ砂区>対照区と, 貝化石区で良い結果が得られた。取り揚げ時の全長 (図1) は, 貝化石区15.2±2.0mm, サンゴ砂区13.7±2.4mm, および対照区12.6±2.0mmとなり, 成長は貝化石区で有意に大きくなった。生残率 (図2) は, ふ化後5日目で貝化石区93.1%, サンゴ砂区48.1%, および対照区59.1%と顕著な差が認められた。10日目以降は, 試験区間での差が小さくなったものの, 貝化石区で良い傾向が認められた。

**窒素化合物** 各試験区の窒素化合物の変化を図3に示した。アンモニア態窒素濃度は, すべての試験区で飼育開始直後から徐々に増加し, ふ化後20日目以降は

表1 クエの飼育試験の結果概要 (1998年)

試験区	日齢 (日)	生残尾数 (尾)	取 り 揚 げ				生残率 (%)	
			平均全長 (mm)	SD	最小 (mm)	最大 (mm)		
貝化石区	1	41	1,084	15.0	2.06	10.9	18.9	9.0
	2	41	1,233	15.4	1.99	12.3	19.5	10.3
サンゴ砂区	1	41	609	13.9	2.77	10.5	22.4	5.1
	2	41	939	13.5	2.08	9.8	17.5	7.8
対照区	1	41	695	12.0	1.26	10.4	14.3	5.8
	2	41	40	13.2	2.68	8.4	19.0	0.3

各試験区とも, ふ化仔魚12,000尾 / 0.5ℓ水槽を収容して飼育開始

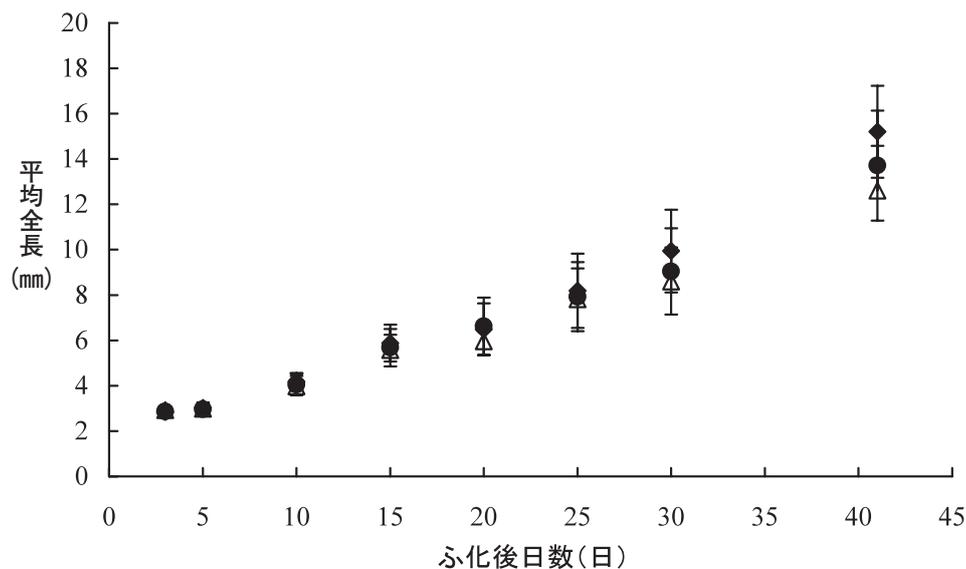


図1 各試験区の平均全長の推移  
各点は各試験区の平均値，縦棒は標準偏差を示す  
◆貝化石区 ●サンゴ砂区 △対照区

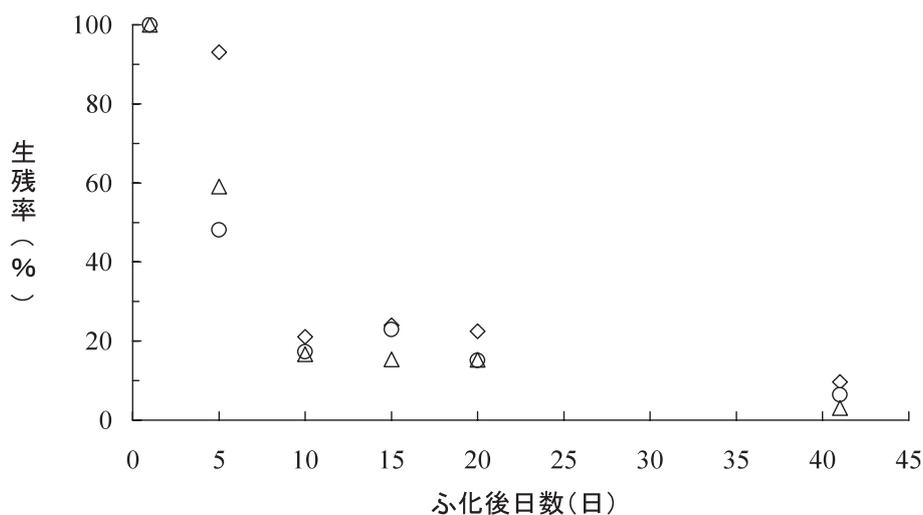


図2 各試験区の生存率の推移  
各点は各試験区の2水槽の平均値を示す  
◇貝化石区 ○サンゴ砂区 △対照区

試験区間での差が顕著となった。各試験区での最高値は、貝化石区が3 mg/lと最も低く、逆にサンゴ砂区で7 mg/lと最も高くなった(対照区: 4 mg/l)。この傾向は、試験終了時においても同様であった(貝化石区: 1 mg/l, サンゴ砂区: 5 mg/l, 対照区: 3 mg/l)。また、貝化石区およびサンゴ砂区では、アンモニア態窒素濃度が最高値を示したそれぞれ23日

目および33日目以降は、速やかに低下が認められたが、対照区では最高値を示した27日目以降も減少は認められなかった。

一方、亜硝酸態窒素濃度は、すべての試験区でふ化後20日目以降増加する傾向が認められた。30日目には、貝化石区の3 mg/lに対しサンゴ砂区と対照区で1 mg/l, また試験終了時は、貝化石区の8 mg/lに

対しサンゴ砂区と対照区で4 mg/lとなり、いずれも貝化石区で高い値を示した。

硝酸態窒素は、ふ化後20日目を以降にすべての試験区

で増加する傾向が認められた。試験終了時の濃度は貝化石添加区が最も高かった（貝化石区：11mg/l、サンゴ砂区：7 mg/l、対照区：7 mg/l）。

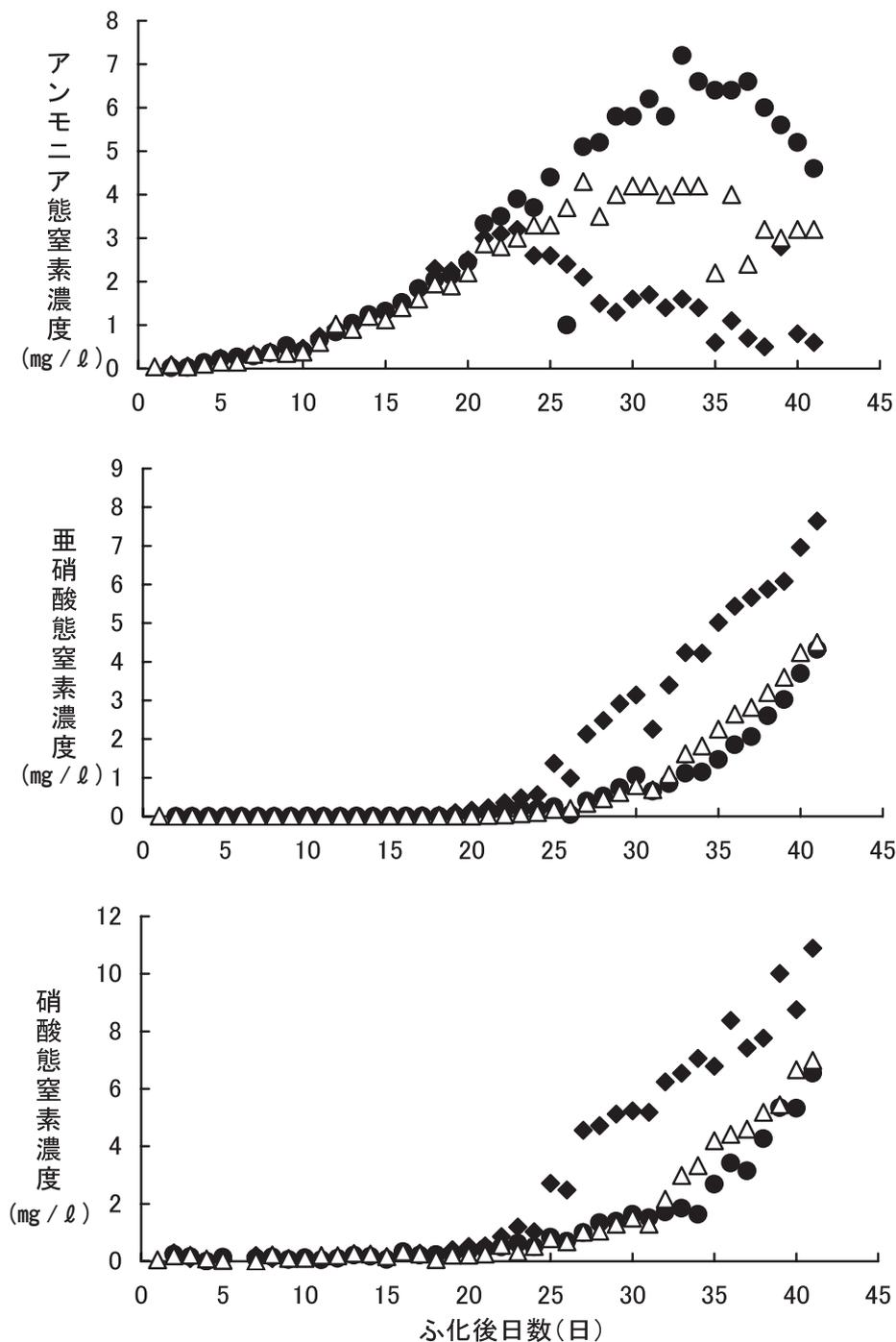


図3 各試験区の窒素化合物濃度の変化

◆貝化石区-1 ●サンゴ砂区-1 △対照区-1

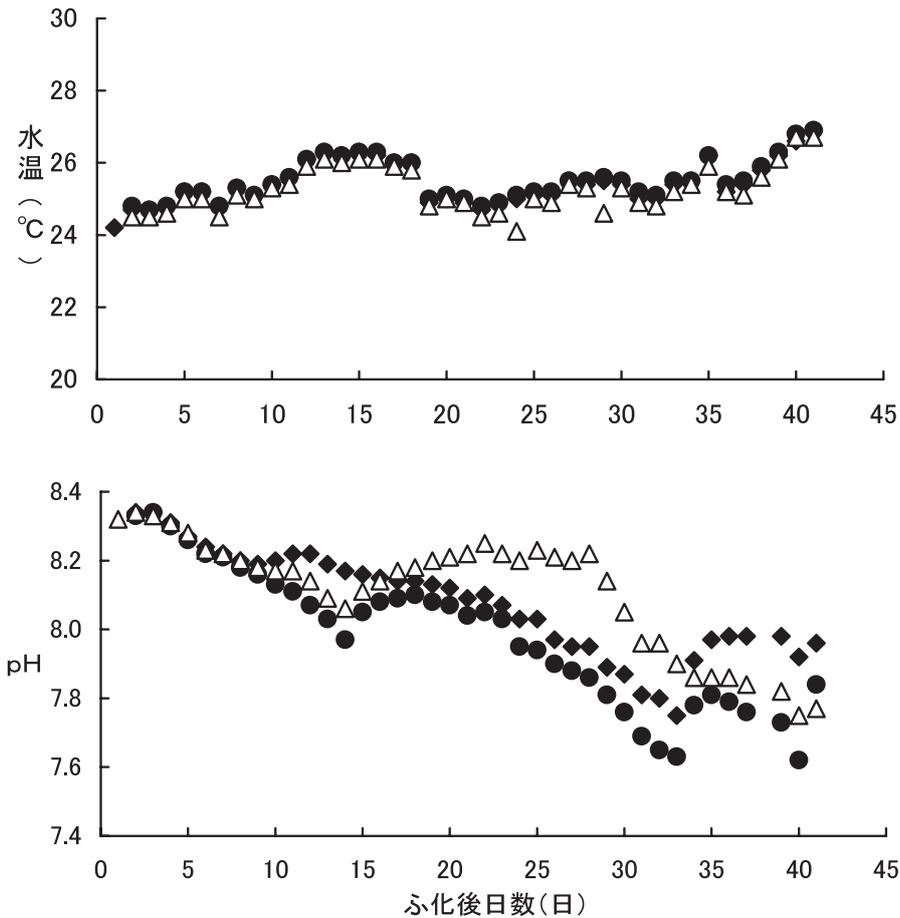


図4 各試験区の水温と pH の変化  
 ◆貝化石区-1 ●サンゴ砂区-1 △対照区-1

## 考 察

飼育水中のアンモニア態窒素については、硝化細菌によって亜硝酸態窒素、硝酸態窒素に転換されることが知られている<sup>6)</sup>。また、固体表面に硝化細菌膜が形成されると硝化作用は短時間でおこなわれ、単位水量当りの硝化細菌膜と水との接触面をより大きく、また微生物量をより高濃度に保つことにより反応速度は速くなるといわれている<sup>6)</sup>。

本試験においても、各試験区における亜硝酸態窒素、硝酸態窒素濃度の上昇とアンモニア態窒素濃度の減少が、ふ化後20日目以降のほぼ同時期に起きたことから、硝化細菌による転換が行われた可能性が考えられた。さらに、試験区ごとにみると、試験終了時のアンモニア態窒素濃度値は、貝化石区が最も低下していた。このことから、貝化石には硝化細菌の増殖を促すことによって、アンモニア態窒素を除去する作用があると考えられた。サンゴ砂区でアンモニア態窒素濃度が十分に低下しなかった理由の一つとして、サンゴ砂は貝化

石に比べて粒径が大きいため単位重量当りの表面積が貝化石より小さく、表面に形成される硝化細菌量が少なかったことが挙げられる。

一方、多孔質物質である活性炭は有害有機物質を吸着処理できることが知られており<sup>6)</sup>、貝化石においても表面の微細な穴に水中の有害物質を吸着することが可能と考えられた。しかし、本試験においては、貝化石と同様に多孔質物質であるサンゴ砂のアンモニア態窒素の除去作用は比較的弱かった。このため、多孔質であることはアンモニア態窒素の除去に必ずしも有効ではないと考えられる。

これまで、クエの量産飼育試験においては、貝化石を添加することにより生残率が高くなる結果が確かめられている<sup>1,2,4)</sup>。本試験でも、貝化石区が生残率が他の試験区より高く、貝化石の有効性が示されたものと考えられる。魚類の成長に及ぼすアンモニア態窒素濃度として、アユではアンモニア態窒素濃度が1.5mg/ℓ以上になると成長が著しく低下することが知られている<sup>7,8)</sup>。本試験でも、貝化石区で試験終了時の平均

全長が比較的良好であったことから、貝化石を用いて飼育水中のアンモニア態窒素を除去することは、生残率や成長を良好に保つ上で有効であると考えられた。

しかし、貝化石の添加については、アンモニア態窒素濃度が低い飼育初期でも効果が認められている<sup>2,4)</sup>。これは、貝化石の添加により換水率を低く抑えることができ、このことにより環境変動の低減が効果として指摘されている<sup>2,5)</sup>。貝化石の作用機序の解明については、今後も詳細な研究が必要と考えられる。

## 文 献

- 1) 照屋和久 (2003) クエの量産飼育試験. 日本栽培漁業協会事業年報 (平成13年度), 334-335.
- 2) 中野昌二 (2003) 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.
- 3) 日本栽培漁業協会 (2003) 「日本栽培漁業協会40年史」. 日本栽培漁業協会, 東京, 61-62.
- 4) 本藤 靖・照屋和久・高橋 誠 (2004) 貝化石添加によるクエ種苗生産の有効性について. 栽培漁業センター技報 (平成15年度), 52-53.
- 5) 照屋和久 (2002) クエ種苗生産の初期減耗対策. 養殖, 2, 66-69.
- 6) 佐野和生「水産養殖と水」(生物学的脱窒法, 活性炭吸着) サイエンティスト社, 東京, pp.239.
- 7) 沢田健蔵 (1979) 養魚用水合理化研究Ⅱ (アユの成長におよぼすアンモニアの影響について). 徳島県水産試験場事業報告書, 46-49.
- 8) 佐野和生「養殖環境工学」(アンモニアの成長に対する影響) サイエンティスト社, 東京, 22-26.

## リゾチーム活性等によるヒラメ仔稚魚の生体防御機能測定を試み

森田哲男

(小浜栽培漁業センター)

種苗生産過程において仔稚魚期に疾病を発生させないためには、感染経路を遮断して病原体の侵入を阻止するほか、仔稚魚自身が本来持っている生体防御機能を高めることが重要である。

生体防御機能には、体液性生体防御因子と細胞性生体防御因子があり、前者については、種々の抗菌性因子の存在が報告されている。その1つであるリゾチームは動植物界に広く分布する溶菌酵素であり、魚類では血清、粘液、消化管、肝臓、腎臓、脾臓などに存在する。また、レクチンは糖鎖を認識して統合するタンパク質や糖タンパク質の総称であり、抗菌性因子の一つとして広く知られている。殺菌活性は好中球を中心とした活性酸素による異物の殺菌作用である。しかし、その測定方法は成魚ではマニュアル化されているものの<sup>1)</sup>、仔稚魚では測定手法に関する基礎的知見は知られていない。

そこで、本研究では、全国で広く種苗生産されているヒラメ *Paralichthys olivaceus* 仔稚魚を用いて、リゾチーム活性、レクチン活性および殺菌活性が測定可能かを検討したので報告する。

### 材料と方法

**供試魚および試料の調整** 試験には、2002年に宮古栽培漁業センターでふ化し、同センターで飼育した日齢0～30のヒラメ仔稚魚を用いた。採集したヒラメ仔稚魚は-80℃で凍結保存し、測定開始前に小浜栽培漁業センターまで-20℃で凍結輸送し、測定直前に自然解凍した。各日齢の仔稚魚数尾から数十尾をまとめて湿重量を計測し、その一定倍量(2～128倍)のリン酸緩衝液(以下、PBS)で希釈したのちポリエチレン製乳棒を用いてホモジナイズし、希釈体液を作製した。希釈体液は、測定直前に試験管ミキサーで均一に攪拌して測定用試料に供した。

**培地の調整** pH6.5に調整した32mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ と32mM  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ の混合液に1%アガロース(DIFCO)と0.1g/100mlの *Micrococcus luteus* (Sigmaの乾燥粉末)を懸濁させ、この懸濁液をオートクレーブで滅菌処理した後、10mlずつシャーレに注いでリゾチーム活性測定培地(以下、リゾチーム培地)とした。

**活性の測定** リゾチーム活性の測定は、ストローで直径4mmの正円穴を開けたリゾチーム培地に希釈体液10 $\mu\text{l}$ を注入し、37℃でインキュベート後、溶菌円

の直径を測定して面積を算出した。レクチン活性の測定は、希釈体液の2倍希釈系列(25 $\mu\text{l}$ )をマイクロプレートで作製し、PBSで洗浄した5%ウサギ赤血球25 $\mu\text{l}$ を加えてプレートミキサーで10秒間攪拌後、25℃で24時間静置して凝集反応の有無を観察した。殺菌活性の測定は、希釈体液50 $\mu\text{l}$ と約10<sup>5</sup>CFU/mlの大腸菌 *Escherichia coli* IAM 1239 50 $\mu\text{l}$ の混合液をロータリー攪拌機により攪拌し、25℃で一定時間静置して反応させ、PBSを用いて10倍希釈系列を作製した。それぞれの希釈液100 $\mu\text{l}$ をトリプトソーヤ寒天培地に塗抹し、25℃で72時間インキュベート後コロニー数を測定した。

**リゾチーム活性の至適反応条件** リゾチーム培地のpHを5.5～7.0に調整し、各pHにおける24時間インキュベート後のリゾチーム活性を測定し、至適pHを調べた。また、PBSを用いて2～128倍の希釈体液を作製し、各希釈体液のリゾチーム活性を測定して測定可能な希釈率を調べた。さらに、リゾチーム活性の測定に適した反応時間を検討するため、反応時間を24～144時間に設定して、2～128倍の希釈体液におけるそれぞれのリゾチーム活性を測定し、至適反応時間を調べた。各測定には日齢30のヒラメ稚魚を用いた。

**ヒラメの日齢とリゾチーム及びレクチン活性の関係** 日齢0～30のヒラメ仔稚魚を用いて、各日齢におけるリゾチーム活性とレクチン活性を測定した。

**殺菌活性測定における至適攪拌時間と静置時間** 希釈体液と大腸菌の攪拌時間を30秒間とする区(30秒攪拌区)と2時間とする区(2時間攪拌区)を設定し、殺菌活性測定に有効な攪拌時間を調べた。また、攪拌後の静置時間を2時間とする区(2時間静置区)と24時間とする区(24時間静置区)を設定し、殺菌活性測定に有効な静置時間を調べた。対照区には滅菌したPBSと大腸菌を混合したものを作製し、希釈体液と大腸菌を混合した大腸菌数を比較した。各測定には日齢30のヒラメ稚魚を用いた。有意差の検定にはt検定を用い、危険率を5%とした。

### 結 果

**リゾチーム活性の至適反応条件** リゾチーム培地のpHと溶菌面積の関係を図1に示した。各pH条件下における溶菌面積はpH7.0では120mm<sup>2</sup>、pH6.5で155mm<sup>2</sup>となり最高のリゾチーム活性を示した。pH

が6.1, 5.5と酸性度が高くなるに伴い溶菌面積は小さくなった。体液の希釈倍率と溶菌面積の関係を図2に示した。体液の希釈倍率が2倍では、溶菌面積は200mm<sup>2</sup>であった。希釈倍率が4倍, 8倍と増加するのに比例して溶菌面積も小さくなり、128倍希釈では溶菌面積は80mm<sup>2</sup>になった。しかし、128倍に希釈した体液からも目視により判定が可能な溶菌反応が観察された。各希釈倍率における反応時間と溶菌面積の関係を図3に示した。反応時間が長くなると溶菌面積は大きくなった。体液の希釈倍率が増加するに従い溶菌面積は小さくなる傾向があり、反応時間が24時間の時

に顕著であった。

**ヒラメの日齢とリゾチームおよびレクチン活性の関係** 異なる日齢のヒラメ体液におけるリゾチーム活性による溶菌面積の変化を図4に示した。日齢0～30のいずれの体液からもリゾチーム活性が認められた。日齢0の体液では溶菌面積は25mm<sup>2</sup>, 日齢24では120mm<sup>2</sup>となったが、日齢と溶菌面積の大きさに明確な関係は認められなかった。また、異なる日齢のヒラメにおけるレクチン活性による凝集反応の変化を図5に示した。レクチン活性は、日齢10では認められなかったが、日齢20と24の体液から認められ、日齢20の体

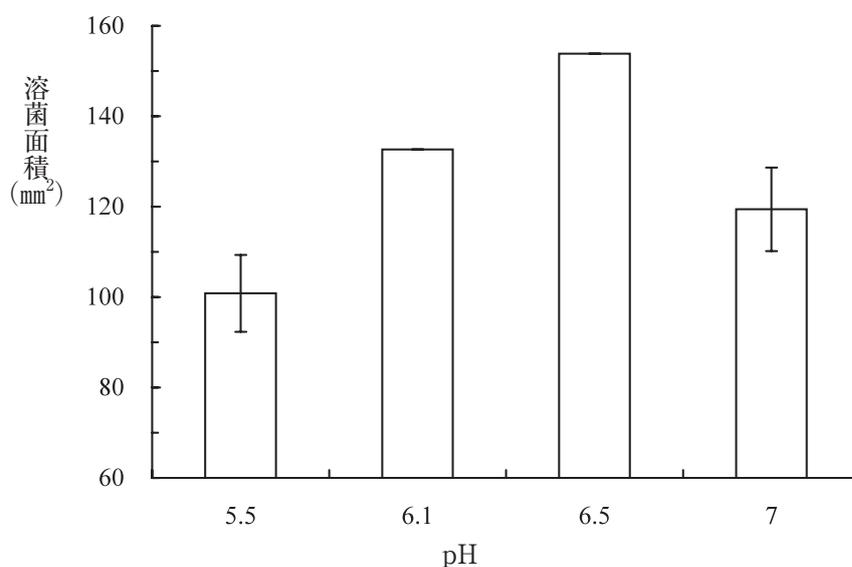


図1 pH とリゾチーム活性の関係

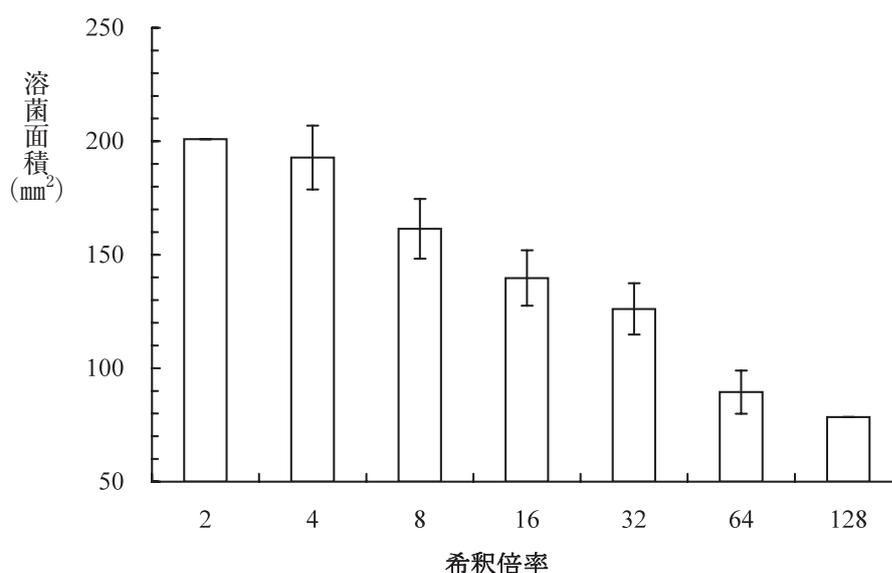


図2 希釈倍率とリゾチーム活性による溶菌面積の関係

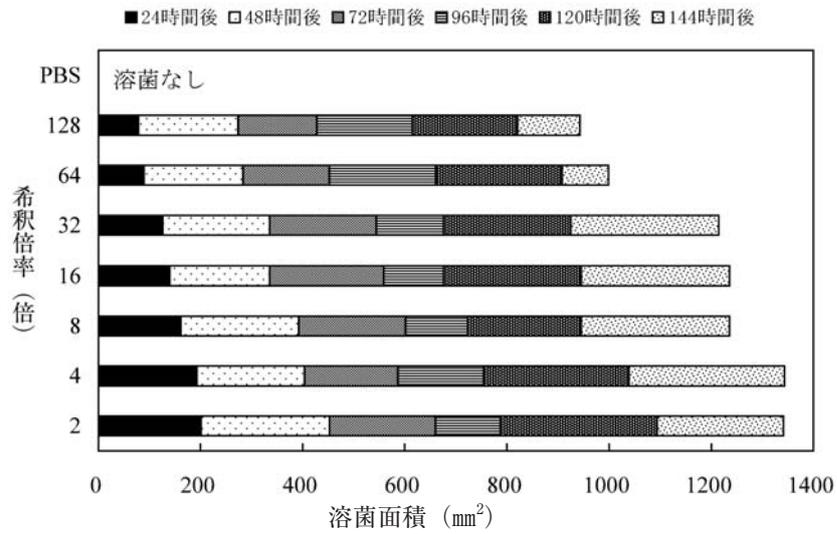


図3 反応時間とリゾチーム活性による溶菌面積の関係

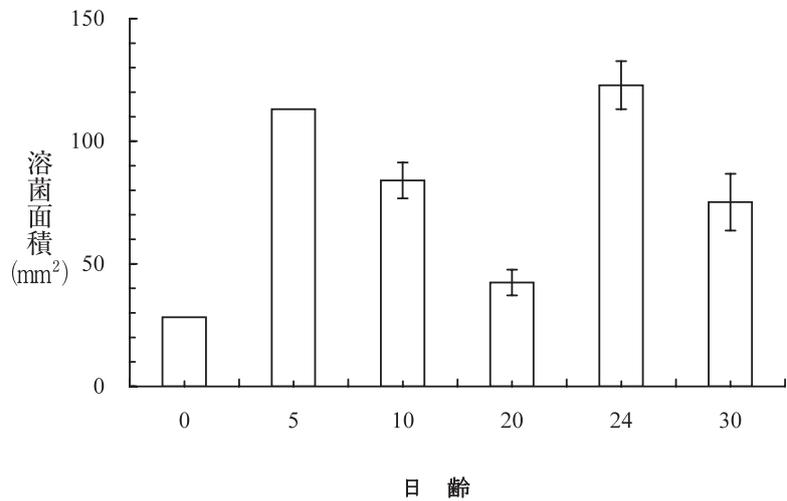


図4 異なる日齢のヒラメにおけるリゾチーム活性による溶菌面積の変化

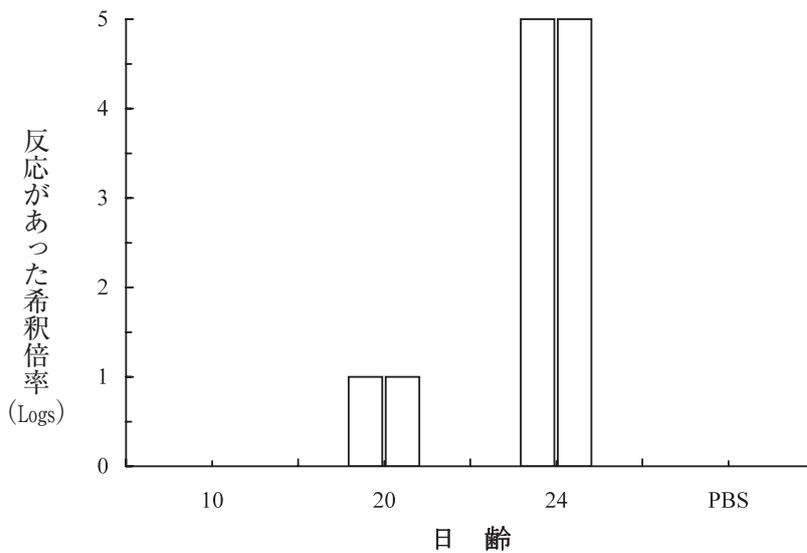


図5 異なる日齢のヒラメにおけるレクチン活性による凝集反応の変化

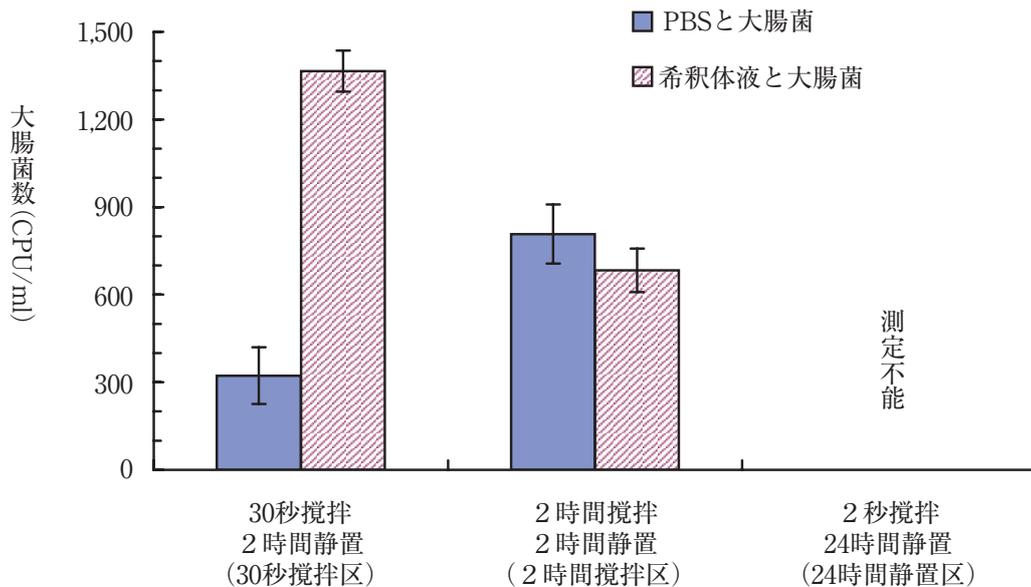


図6 殺菌活性における攪拌時間と静置時間による大腸菌数の変化

液では2倍希釈液系列(合計3倍×2倍=6倍)、日齢24では32倍希釈液系列(合計96倍)まで反応が得られた。

#### 殺菌活性における至適攪拌時間と静置時間の検討

殺菌活性測定における攪拌時間、および攪拌後の静置時間と大腸菌数との関係を図6に示した。30秒攪拌区の大腸菌数は1,300CFU/mlであり、対照区の300CFU/mlに対して有意に多くなった。2時間攪拌区の大腸菌数は700CFU/mlであり、対照区の800CFU/mlに対して有意差は生じなかった。また、24時間静置区では大腸菌が大量に増え、いずれの区も計測ができなかった(図6)。

## 考 察

リゾチーム活性の測定は、魚類、頭足類、貝類など広い分野で行われている。魚類では、コイ<sup>2)</sup>、サケ<sup>3)</sup>、キンメダイ<sup>3)</sup>、アユ<sup>4)</sup>など海水魚、淡水魚を問わず認められている。しかし、そのほとんどが成魚の血液や組織液から測定しており、海産魚の仔稚魚の希釈体液から測定した事例はみあたらない。本試験により、ヒラメ仔稚魚には高いリゾチーム活性もしくは*Micrococcus luteus*を溶菌する酵素群が存在することが明らかとなった。また、日齢0の仔魚からリゾチーム活性が認められ、ふ化直後の仔魚における重要な生体防御機能の1つである可能性が考えられた。血液によるリゾチーム活性を計測する手法としては、ポンドキッドサイトマニュアル<sup>1)</sup>が確立しており、ヒラ

メ成魚における至適pHは6.1とされている。本試験により日齢30のヒラメ稚魚における至適pHは、成魚のそれよりもやや高く6.5となり、コイ<sup>2)</sup>やアユ<sup>4)</sup>の体表粘液における至適pHと同じであった。また、反応時間が一定時間以上であれば溶菌反応を認めることが可能であるが、24時間後の測定が最も簡便で顕著に差が生じる結果となった。さらに、リゾチーム活性は128倍もの高倍率の希釈体液でも認められており、湿重量の小さい仔魚の個別別計測も可能であると期待される。しかし、体液の希釈倍率と溶菌面積が一致した希釈倍率は32倍と64倍の間であることから、日齢30のヒラメ稚魚の体液を使用しリゾチームを測定する場合は、32または64倍に希釈することが必要であると考えられた。

レクチンについては、ウイルスから哺乳類まで生物界に広く分布し、その生体防御機能については異物認識や細菌凝集、食細胞の機能の活性化など様々な働きがあることが推測され、魚類ではウナギ、ナマズ、ネズミゴチ、クサフグなどで高い凝集反応があることが知られている。レクチン活性の検出には、一般に血液に対する凝集反応が用いられているが、リゾチーム活性同様に成魚における測定事例がほとんどである。本試験の結果、ウサギ赤血球の凝集反応により、日齢20と24のヒラメ体液においてレクチン活性が認められ、仔稚魚においてもレクチン活性の測定が可能であることが分かった。

殺菌活性では、静置時間を24時間と長くすると、大腸菌が増殖し活性の差を判断することが不可能であっ

た。また、本試験では30秒攪拌区より2時間攪拌区の方が測定には適している結果となったが、希釈体液による大腸菌数に有意な減少は認められなかった。再試験を行っても24時間静置では菌数の計数は不可能であり、30秒攪拌区、2時間攪拌区では再現性がなく、むしろ希釈体液の菌数が多くなることもあることから、仔稚魚で殺菌活性を計測することは困難であると考えられた。

本研究の結果、仔稚魚のレクチン活性の測定は、成魚の測定手法を改良することにより可能となった。また、リゾチーム活性の測定条件として、pH, 反応時間、体液希釈倍率について検討した結果、仔稚魚でリゾチーム活性を数値化することが可能となった。今後は、種苗生産されたヒラメ稚魚のリゾチームおよびレクチン活性のデータを蓄積し、飼育方法の違いが、生産された稚魚の生態防除能に及ぼす影響について検討をす

る必要があると考えられる。

## 文 献

- 1) 日本水産資源保護協会 (1998) バイオディフェンス機能活用健康魚づくり技術開発事業研究成果実績報告書. pp. 140.
- 2) 高橋幸則・伊丹利明・古根川紀潮 (1986) コイの体表粘液から分離したリゾチーム様酵素の性状. 日水誌, **52**, 1209-1214.
- 3) 望月 篤・松宮正弘 (1981) 海産魚のリゾチーム分布. 日水誌, **47**, 1065-1068.
- 4) 伊丹利明・高橋幸則・川原逸郎 (1986) アユにおける溶菌性物質の分布ならびに性状. 日水誌, **52**, 1443-1447.

# トゲノコギリガザミ種苗生産におけるナンノクロロプシスの添加量と 第5齢ゾエアの過剰発育の関係について

高野正嗣\*<sup>1</sup>・荒井大介\*<sup>2</sup>・小畑泰弘\*<sup>1</sup>・津村誠一\*<sup>1</sup>・芦立昌一\*<sup>1</sup>  
(\*<sup>1</sup> 玉野栽培漁業センター, \*<sup>2</sup> 能登島栽培漁業センター)

ガザミ類の種苗生産においてメガロパ変態時に起きる大量死は、安定した種苗生産を目指す上で大きな障害であり、その原因として最終齢ゾエアにおける過剰発育による脱皮異常個体の出現が明らかにされている。

トゲノコギリガザミ *Scylla paramamosain* の種苗生産においても、稚ガニまでの生残率が低かった生産事例では第5齢ゾエアで過剰発育個体が大量に出現し、メガロパへの変態時に死亡した個体に脱皮異常が観察されたことが報告されているが<sup>1)</sup>、脱皮異常個体の出現要因である発育過剰の原因は明らかにされていない。しかし、アミメノコギリガザミ *Scylla serrata* では、ワムシと飼育水に添加する植物プランクトンの栄養価（高度不飽和脂肪酸含量、以下 n-3 HUFA）がゾエアの形態形成に影響を及ぼしていることが明らかにされ、ナンノクロロプシスの適正添加量が25万細胞/mlであることが示されている<sup>2)</sup>。

そこで、2003年と2004年のトゲノコギリガザミ種苗生産試験において、第5齢ゾエアにおける発育過剰個体の出現とナンノクロロプシスの添加量との関連性について検討したので報告する。

## 材料と方法

**供試親ガニ** 親ガニは、高知県浦戸湾から2002年11月に入手した未抱卵個体1尾と、2003年12月に入手した4尾を用いた。入手した親ガニは、水温16~18℃に調温した砂敷の3kl角型FRP水槽に収容し、抱卵が確認され胚体が形成されるまで養成した。その後、水温21~24℃に調温した2kl角型FRP水槽に移槽した。ふ化予定日の前日に、水温24℃の0.6kl円型FRP水槽に移槽してふ化させた。得られたふ化幼生は飼育試験

に供した。

**飼育方法** 試験水槽には200klコンクリート製角型水槽4面を使用した。ふ化幼生の収容は、2003年は4月4日に、2004年は4月11、19および21日に行った。飼育水は、収容時には100%海水とし、その後は紫外線殺菌処理した70%海水を注水して70%海水になるように調整した。第1~2齢ゾエアでは1日当たり10klを注水し、第3~5齢ゾエアでは1日当たり5~30%、メガロパでは65%を換水した。水温は、収容時には24℃とし、その後直ちに30℃まで上昇させた。飼育試験は、各区の個体が稚ガニとなった時点で終了とした。

**試験設定** 飼育試験では、2003年はナンノクロロプシス（2,000万細胞/ml）添加量が従来の添加基準である、第1~4齢ゾエアまで50万細胞/mlの密度で添加する試験区（2003-1区）を設けた。2004年は、第1~5齢ゾエアまでナンノクロロプシスを25万細胞/mlの密度で添加する2004-1区を対照区とし、第4齢ゾエアのみ50万細胞/mlの密度で添加する2004-2区、第3、4齢ゾエアを50万細胞/mlの密度で添加する2004-3区を設けた（表1）。

ふ化幼生の収容尾数は、2003-1区628万尾、2004-1区254万尾、2004-2区260万尾、および2004-3区290万尾とした。

**餌料** 餌料には、第1~5齢ゾエアまでは濃縮淡水生クロレラ（V12、クロレラ工業）で培養したS型ワムシ、第3~5齢ゾエアまではアルテミアノープリウス（ソルトレイク産、Aquafauna Bio-Marine, Inc.）、メガロパ以降はアミンチまたは配合飼料（初期飼料協和N700、協和発酵工業）を使用した。ワムシは、ナンノクロロプシスおよび油脂酵母（油脂酵母「協和」、協和発酵工業）で、6~18時間の栄養強化を行った。

表1 各飼育試験におけるナンノクロロプシスの添加量

試験区	Z1	Z2	Z3	Z4	Z5	M
2003-1	5.0	5.0	5.0	5.0	2.5	2.5
2004-1	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
2004-2	2.5	2.5	2.5	5.0	2.5	2.5
2004-3	2.5	2.5	5.0	5.0	2.5	2.5

kl: 2,000万セル/ml換算

**過剰発育個体の観察** 過剰発育個体は、第5齢ゾエアにおいて第1腹肢に剛毛がみられ(図1)、鋏脚原基が大きいメガロパの形質を有する個体(図2)とした。過剰発育個体の判別は、毎日午前と午後にルゴール液で固定した第5齢ゾエアを観察して出現率を算出した。また、脱皮異常個体は、鋏脚等が異常な個体(図3)とし、メガロパへの脱皮直後に外部形態を観察して出現率を求めた。

## 結 果

飼育試験結果の概要を表2に示した。各試験区の生残率は、2004-1区が5.5%、2004-2区が30.0%、

2004-3区が26.9%、2003-1区は3.7%であり、2004-2区と2004-3区で生残率が高かった。各飼育試験の生残状況を図4に示した。2004-1区では、齢期進行に同調性が見られず、主に共食いが原因と思われる減耗が続き、生残率は第4齢ゾエアで31.9%、第5齢ゾエアで18.3%、メガロパで5.5%まで低下した。2004-2区および2004-3区の生残率は、それぞれ第5齢ゾエアで65.3%、73.4%、メガロパで46.8%、47.1%まで減少した。2003-1区では、第4齢ゾエアまで減耗が続き、生残率は第5齢ゾエアで27.1%、メガロパでは脱皮異常が原因と思われる減耗が生じ9.6%まで低下した。

第5齢ゾエアの過剰発育個体の出現率と、メガロパ

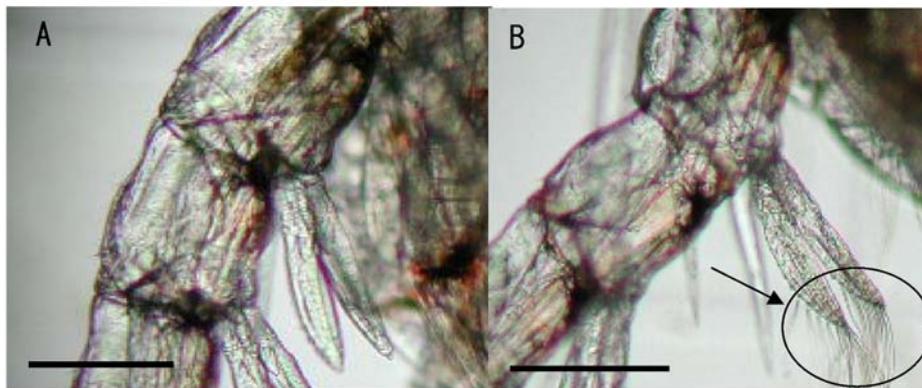


図1 トゲノコギリガザミ第5齢ゾエアの第一腹肢  
(A 正常個体, B 過剰発育個体: 矢印部に剛毛が見られる)  
スケールバー = 300 $\mu$ m



図2 トゲノコギリガザミ第5齢ゾエアにおける過剰発育個体  
(矢印部が鋏脚原基: 鋏脚肥大がみられる)  
スケールバー = 300 $\mu$ m



図3 トゲノコギリガザミメガロパにおける脱皮異常個体  
(矢印部が脱皮異常箇所)  
スケールバー = 300 $\mu$ m

初日における脱皮異常個体の割合を表3に示した。過剰発育個体の出現率は、2003-1区では観察したすべての個体で腹肢の剛毛が観察されたが、2003年に行った2004-1～3区では出現しなかった。同様に、脱皮異常個体の出現率は、メガロパ期の初日には2003-1区で78.7%であったが、2004-1～3区では観察されなかった。

## 考 察

試験を行った年度が異なり、またふ化ゾエアを得た親個体も同一のものでなかったが、従来のナンノクロロプシスの添加基準である2003-1区で、第5齢ゾエアにおける過剰発育個体が見られたことは、ナンノクロロプシスの添加量が直接的もしくは間接的に過剰発育に関係している可能性が考えられた。しかし、2003-1区よりナンノクロロプシスの添加量を減じた2004

表2 トゲノコギリガザミ飼育試験結果の概要

試験区	開始年月日	飼育水槽 (kl)	平均水温 ( $^{\circ}$ C)	飼育期間 (日数)	収容尾数 (万尾)	取り揚げ		
						尾数 (万尾)	齢期	生残率 (%)
2003-1	2003.4.4	200	29.9	22	628	23	C1	3.7
2004-1	2004.4.11	200	29.9	22	254	14	C1	5.5
2004-2	2004.4.19	200	29.8	21	290	87	C1	30.0
2004-3	2004.4.21	200	29.9	20	260	70	C1	26.9

表3 第5齢ゾエアの過剰発育個体の出現率と  
メガロパ期初日における脱皮異常個体の割合

試験区	過剰発育個体 (%)	脱皮異常個体 (%)
2003-1	100	78.7
2004-1	0	0
2004-2	0	0
2004-3	0	0

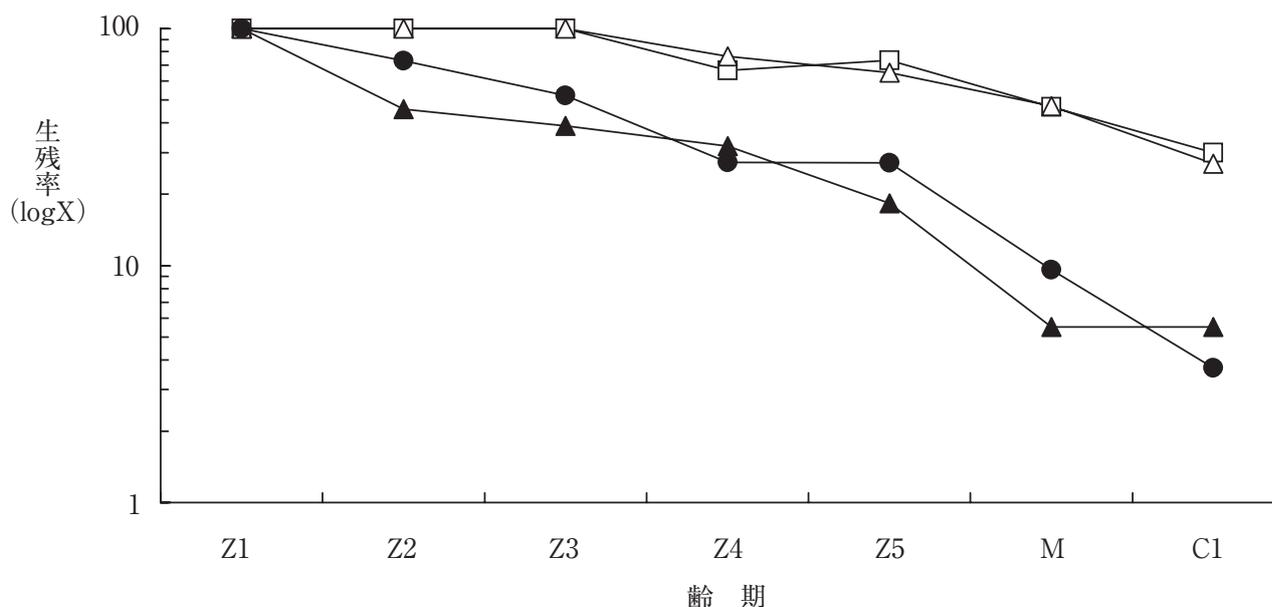


図4 各飼育試験における生残状況

● : 2003-1区, ▲ : 2004-1区, □ : 2004-2区, △ : 2004-3区

-2区と2004-3区で過剰発育個体が出現しなかったことは、初期の齢期（第1, 2齢）におけるナンノクロロプシスの添加量または第4齢ゾエアまでの累積添加量が、過剰発育個体の出現と関係する可能性が考えられた。

アミメノコギリガザミやガザミの種苗生産では、ワムシへのn-3 HUFA強化は必須であり、飼育水へ添加したナンノクロロプシスの量に規定されたワムシの栄養価（n-3 HUFA）が形態形成に影響を及ぼし、その結果最終齢ゾエアにおいて過剰発育個体が出現することが報告されている<sup>3-5)</sup>。今回の飼育試験では、2003-1区の収容尾数が他の試験区の2倍以上であったことから、飼育密度等の要因による発育異常も考えられた。しかし、発育過剰個体と脱皮異常個体が大量に出現したことは、本種においてもナンノクロロプシスを大量に添加することで植物プランクトンの栄養価（n-3 HUFA）がゾエアの形態形成に影響を及ぼした可能性が推察された。

本種の過去の種苗生産事例で、第5齢ゾエアにおける過剰発育個体の割合が高い事例では、メガロパ期における形態異常個体の割合が高く、稚ガニまでの生残率が低い傾向が認められた<sup>1,5)</sup>。今後は、本種においてもアミメノコギリガザミやガザミと同様の観点から過剰発育現象の調査が必要であり、ナンノクロロプシスの添加の影響について栄養学的な見地からの検討を行っていく。

## 文 献

- 1) 荒井大介 (2003) 暖水性甲殻類の種苗生産技術開発 (ガザミ, ノコギリガザミ). 日本栽培漁業協会事業年報 (平成13年度), 184-191.
- 2) 浜崎活幸 (2003) 亜熱帯性甲殻類の種苗生産技術開発 (アミメノコギリガザミ). 日本栽培漁業協会事業年報 (平成13年度), 431-434.
- 3) 浜崎活幸 (1999) 新しい栽培種として期待される甲殻類 のこぎりがざみ類(1) アミメノコギリガザミ. 日本栽培漁業協会事業年報 (平成9年度), 235-236.
- 4) Hamasaki, K. M. agus Suprayudi, and T. Takeuchi (2002) Effects of dietary N-3HUFA on larval morphogenesis and metamorphosis to megalops in the seed production of mud Crab, *Scylla serrata* (Brachyura: Portunidae). *Suisanzosyoku*, **50**, 333-340.
- 5) 荒井大介 (2003) 暖水性甲殻類の種苗生産技術開発 (ガザミ, ノコギリガザミ). 日本栽培漁業協会事業年報 (平成14年度), 193-201.
- 6) 浜崎活幸 (2001) 種苗生産からみた甲殻類幼生の栄養要求 —ガザミ類について—. 栽培漁業技術体系化事業 基礎理論コーステキスト集 XIV, 一魚介類幼生の栄養要求と餌料の栄養強化一, 1-21.

## トゲノコギリガザミ種苗生産における配合飼料の利用について

高野正嗣・小畑泰弘・津村誠一・芦立昌一  
(玉野栽培漁業センター)

ガザミ類の種苗生産では、メガロパ期の餌料としてアミンチ肉とアルテミア幼生が用いられてきた。しかし、アミンチ肉の調餌作業には多大な労力を要すること、および飼育水の管理が難しいことから、その代替餌料として配合飼料の導入が検討されてきた。これまでに、エビ類を中心として甲殻類用の配合飼料が開発されており<sup>1)</sup>、クルマエビの種苗生産ではすでにアミンチ肉から配合飼料への移行が行われ、飼育管理作業の省力化が図られている<sup>2)</sup>。

一方、トゲノコギリガザミ *Scylla paramamosain* においても、アミンチ肉やアルテミア幼生の代替餌料として配合飼料を用いた種苗生産技術の開発が期待されているが、過去の配合飼料を用いた種苗生産事例では、稚ガニまでの生残率が低く、生残率の向上が課題となっている<sup>3,4)</sup>。

そこで、本年度はメガロパ期の餌料として配合飼料とアルテミア幼生を併用給餌した飼育試験を行い、配合飼料の有効性と健苗性について検討したので報告する。

## 材料と方法

**供試親ガニ** 2003年12月に、高知県浦戸湾から未抱卵個体3尾を入手し、水温16~18℃に調温した砂敷の3kℓ角型FRP水槽に収容して養成した。抱卵が確認され、卵に胚体が形成されると水温21~24℃に調温した2kℓ角型FRP水槽に移槽し、ふ化予定日の前日には水温24℃に調温した0.6kℓ円型FRP水槽に移槽してふ化させた。

**飼育方法** ふ化ゾエアの飼育水槽には200kℓ角型コンクリート水槽2面を使用した。2004年4月11日と21日に、ふ化した260万尾と290万尾の幼生を各水槽に収容した。収容時の飼育水は、紫外線殺菌処理した150kℓ量の100%海水とし、200kℓ量(水槽容量の満水)になるまでは止水状態で毎日紫外線殺菌処理した70%

海水を注水した。満水になった6日目以降は、70%海水による換水飼育を行った。注水量は、第1~2齢ゾエアでは1日当たり10kℓとした。換水率は、第3~5齢ゾエアでは1日当たり5~30%、メガロパでは65%であった。水温は、収容時には24℃とし、その後直ちに加温して翌日には30℃まで昇温させた。第1~5齢ゾエアの餌料には、濃縮淡水生クロレラ(V12, クロレラ工業)で培養したS型ワムシを、第3~5齢ゾエアではアルテミア幼生(ソルトレイク産, Aquafauna Bio-Marine, Inc.)を用いた。飼育水には、ナンノクロロプシスを25~50万細胞/mlの密度で添加した。

**試験区の設定** 飼育試験は、メガロパ期よりアルテミア幼生と配合飼料(N700, 協和発酵工業)を給餌する試験区(1区)、およびアルテミア幼生とアミンチ肉を給餌する試験区(2区)を設けた。給餌量は、表1に示した給餌基準量に準じて行った。ワムシの栄養強化には1.7kℓFRP水槽を用い、ワムシの収容密度900~1,200個体/mlに対して、濃縮冷凍ナンノクロロプシス(200億細胞/ml)2袋(2,000万細胞/mlで2kℓ分)と油脂酵母(油脂酵母「協和」, 協和発酵工業)250gを添加し、水温28℃で6~18時間の強化を行った。アルテミア幼生の栄養強化は行わなかった。

飼育試験は、両試験区の個体が稚ガニとなった時点で終了とし、生残率および全甲幅を調べた。

**麻酔耐性試験** 稚ガニの健苗性を評価するため、麻酔耐性試験を行った。試験では、まず両試験区から取り揚げた各45尾の第2齢稚ガニを30ℓ黒色ポリエチレン水槽に収容し、アルテミア幼生(給餌量500個体/尾/日)を用いて止水で12日間の飼育を行った。飼育終了後、生残尾数、全甲幅および稚ガニの齢期を調査するとともに、第4齢稚ガニを選別して麻酔耐性試験に供した。

麻酔耐性試験では、稚ガニを魚類・甲殻類麻酔剤(FA100, 大日本製薬)を1/1,000に希釈した海水中に収容し、5分間隔で広口ピペットと柄付き針で稚ガ

表1 飼育試験で給餌した餌料の種類と給餌基準量

試験区	種類	Z1	Z2	Z3	Z4	Z5	M	C1~C4
両区共通	ワムシ(個体/ℓ)	15	20	20	20	25		
	アルテミア(個体/尾/日)	-	-	30	60	100	100	500
1区	配合飼料(g/万尾/日)	-	-	-	-	-	20~40*	
2区	アミンチ肉(g/万尾/日)	-	-	-	-	-	120~200	

\*: 配合飼料の給餌基準量はクルマエビにおける事例<sup>2)</sup> およびトゲノコギリガザミにおける事例<sup>3,4)</sup> を参考に設定した

ニに刺激を与え、反応がない個体を計数した。刺激は、全個体が反応しなくなるまで行い、半数の個体が刺激に無反応となる50%有効時間を算出した。

## 結 果

飼育試験結果の概要を表2に、生残率の推移を図1に示した。稚ガニでの取り揚げ尾数は、1区が70万尾、2区が87万尾であり、生残率は1区26.9%、2区30.0%であった。両試験区の取り揚げまでの生残率は同様の傾向を示し、特にメガロパから稚ガニまでの生残状況については餌料の違いによる影響は認められなかった。取り揚げ時の全甲幅は、1区3.9mm、2区4.0mmであった(表2)。

第2齢から第4齢稚ガニまでの生残率は、1区が75%、2区が70.4%であり、メガロパ期の餌料の違いが稚ガニ以降の生残に与える影響は認められなかった。第4齢稚ガニの全甲幅は、1区で10.0mm、2区で9.5mmであった(表3)。第4齢稚ガニにおける麻酔耐性の50%有効時間は、1区で28.1~35.4分(平均32.3分)、2区で22.0~28.3分(平均25.1分)であった(表3)。

## 考 察

トゲノコギリガザミの種苗生産における稚ガニまでの生残率は、アミンチ肉とアルテミア幼生の併用給餌による飼育例で52.4%<sup>5)</sup>、配合飼料とアルテミア

表2 トゲノコギリガザミ飼育試験結果の概要

試験区	メガロパ期の餌料種類	飼育水槽(kℓ)	平均水温(℃)	飼育期間(日数)	収容尾数(万尾)	取り揚げ			
						尾数(万尾)	齢期	生残率(%)	全甲幅(mm)
1区	配合飼料	200	29.9	20	260	70	C1	26.9	3.9±0.2
2区	アミンチ肉	200	29.8	21	290	87	C1	30.0	4.0±0.5

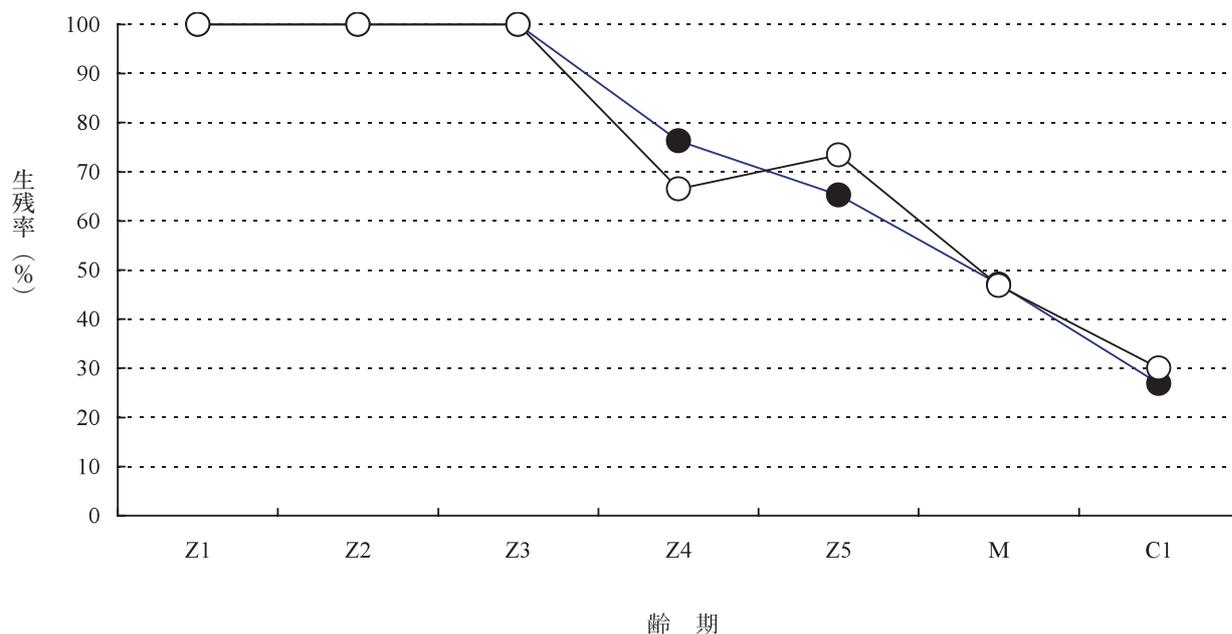


図1 トゲノコギリガザミ飼育試験における生残率の推移

● 1区 ○ 2区

表3 第2~4齢稚ガニまでの飼育結果および麻酔耐性試験結果の概要

試験区	飼育水槽(ℓ)	収容尾数(尾)	生残率(%)	C4全甲幅(mm)	麻酔耐性(分)
1区	30	45	75.0	10.0±0.6	32.3±2.8
2区	30	45	70.4	9.5±0.5	25.1±2.1

## 文 献

幼生を併用給餌では19.7%<sup>3)</sup>が最高であった。配合飼料とアルテミア幼生を併用給餌した1区の生残率は、アミンチ肉とアルテミア幼生の併用給餌よりは劣るが、配合飼料とアルテミア幼生の併用給餌例としては最良の結果であった。また、2002～2003年のアミンチ肉とアルテミア幼生の併用給餌での飼育結果（生残率3.7～24.1%）<sup>6,7)</sup>よりもやや優れた結果が得られたことから、配合飼料はアミンチ肉の代替餌料として利用可能であると考えられた。また、メガロパ以降の生残状況は、両試験区で同様の傾向を示したことから(図1)、今回設定した配合飼料の給餌基準はおおむね妥当であったと考えられた。しかし、今回の飼育にはアルテミア幼生を併用したため、配合飼料の効果としては断定できなかった。今後、配合飼料を用いた飼育を行うとともに、アルテミア幼生併用給餌の効果を把握し、アルテミア幼生を省いた飼育技術を開発することが重要である。

第2齢稚ガニ以降の飼育では、両試験区とも第4齢稚ガニの全甲幅では差がなかった。生残率と麻醉耐性試験では、1区でやや優れた結果が得られた(表3)が、健苗性の判断までには至らなかった。なお、ガザミでは、生残率が低い飼育事例の種苗で麻醉耐性の50%有効時間が短くなる傾向が認められており<sup>8)</sup>、本種においても種苗の活力を判断する指標として、麻醉耐性における50%有効時間について検討を進めたい。

- 1) 金澤昭夫(1996) 7 栄養・餌飼料, エビ・カニ類の増養殖. 基礎科学と生産技術, 226-250.
- 2) 加治俊二・今泉圭之輔(2003) 1-3 餌料. 栽培漁業技術シリーズ, クルマエビ種苗生産技術～(社)日本栽培漁業協会志布志事業場での取り組み～, 19-23.
- 3) 荒井大介(2000) 新しい栽培種として期待される甲殻類, ノコギリガザミ. 日本栽培漁業協会事業年報(平成10年度), 248-250.
- 4) 板垣恵美子(2001) 新しい栽培種として期待される甲殻類, ノコギリガザミ. 日本栽培漁業協会事業年報(平成11年度), 216-218.
- 5) 小畑泰弘(2002) 暖水性甲殻類の種苗生産技術開発, ノコギリガザミの種苗生産技術開発. 日本栽培漁業協会事業年報(平成12年度), 161-162.
- 6) 高野正嗣・荒井大介(2003) 暖水性甲殻類の種苗生産技術開発, ノコギリガザミの種苗生産技術開発. 日本栽培漁業協会事業年報(平成15年度), 81-82.
- 7) 高野正嗣・荒井大介(2003) 暖水性甲殻類の種苗生産技術開発, ノコギリガザミの種苗生産技術開発. 日本栽培漁業協会事業年報(平成14年度), 198-199.
- 8) 松村靖治(1997) 6-2 健全性の把握. 栽培漁業技術シリーズ. ガザミ種苗生産技術の理論と実践, 115-119.

## マダコ幼生の生残に影響を及ぼす環境要因

奥村重信

(屋島栽培漁業センター)

マダコ *Octopus vulgaris* は重要な水産資源であり、本種の種苗生産に関する研究は40年余の歴史を有する<sup>1)</sup>。マダコふ化幼生は各腕に3~4個<sup>1,2)</sup>の吸盤を有し、飼育下では30~40日後には吸盤数が20個を超え、底生生活に移行する<sup>1)</sup>。天然採集または人工飼育した甲殻類幼生を餌料として、マダコ幼生の実験室規模の飼育は可能である<sup>1,3)</sup>。しかし、量産規模の飼育では主にアルテミアを給餌して、ふ化幼生から底生生活移行期までは飼育できるが<sup>2)</sup>、その後大きな減耗を生じるため、底生生活期幼生の量産技術は確立されていない。この原因として、大量減耗が生じる時期のマダコ幼生の体成分分析結果から、高度不飽和脂肪酸のひとつであるDHA(ドコサヘキサエン酸)の欠乏が疑われ、餌料へのDHA強化の必要性が指摘された<sup>4,5)</sup>。

屋島栽培漁業センターでは、2001年に大型アルテミアとイカナゴを併用給餌することによって、高い生残率で着底期幼生を得ることに成功した<sup>6)</sup>。この飼育方法はその後の飼育実験でも有効性が確認され<sup>7)</sup>、イカナゴがマダコ幼生へのDHA供給源として有効であることが示されたが、大型アルテミアがマダコ幼生の生残や成長に有効である理由は未解明である<sup>8)</sup>。

このような経緯により、著者は2003年秋期に大型アルテミアおよびイカナゴ給餌の有効性を確認するため、8面の小型水槽を持って飼育実験を2例行った。しかし、これらの飼育実験では実験区間および区内の生残や成長の差が大きく、餌料区別の明瞭な違いはみられなかった。このため、すべての実験区に同一餌料を給餌してマダコ幼生を飼育する実験を行い、7種類の環境および餌料要因を測定し、それらの要因が幼生の生残に及ぼす影響を推定したので以下に報告する。

本論に先立って、本研究の全般にわたって指導いただいた東京海洋大学の竹内俊郎教授に感謝するとともに、飼育実験に協力いただいた同大学大学院生の栗原紋子さんおよび屋島栽培漁業センターの岩本明雄場長始め職員の皆様に深謝する。

### 材料と方法

**マダコふ化幼生** 2003年9月1日に6尾、19日に5尾、10月8日に3尾の雌親を搬入し、屋島栽培漁業センター内の陸上水槽に蛸壺を設置して、シャコとイシガニを給餌して養成した。雌親はすべて香川県小豆島

周辺で漁獲された個体であり、体重は $1,327 \pm 412$ g(平均値 $\pm$ 標準偏差、以下同様、 $n=14$ )であった。これらの雌親は搬入から1~7日後に産卵を開始し、蛸壺内に生み付けられた卵は9月24日から12月3日にかけて順次ふ化した。飼育実験にはふ化後24時間以内の幼生を用いた。

**アルテミア** マダコ幼生には、大型および小型の2種類のアルテミアを給餌した。これらのアルテミアは2003年4月および2002年3月とともに中国から耐久卵で輸入されたもので、大型アルテミアの卵径は $272 \pm 16 \mu\text{m}$ 、ふ化したノープリウスの全長は $657 \pm 31 \mu\text{m}$ ( $n=30$ )であり、小型アルテミアの卵径およびノープリウス全長はそれぞれ $220 \pm 16 \mu\text{m}$ と $513 \pm 46 \mu\text{m}$ ( $n=30$ )であった。いずれのアルテミア卵も $25^\circ\text{C}$ で30時間かけてふ化させ、ノープリウスはサメ卵乾燥粉末(プラスアクアラン、BASF ジャパン)を250ppmになるように添加した $20^\circ\text{C}$ の海水中で、18~24時間栄養強化した後に給餌した。

**イカナゴ** イカナゴは、2003年2月下旬に兵庫県淡路島沖で漁獲されたものを凍結して屋島栽培漁業センターに搬入し、実験に供試するまで $-25^\circ\text{C}$ の冷凍庫で保管した。イカナゴの全長は $34 \pm 6 \text{mm}$ ( $n=30$ )であった。給餌に際しては、イカナゴ凍結片を手を持ち、水面から20~30cm上で解剖刀を用いて0.5~1mm厚の薄切りにして水面に撒布した。

**実験1** 飼育実験には、オレンジ色ポリエチレン製500ℓ円型水槽(直径94cm、高さ92cm)を8面使用した。これらの水槽は、図1に示したように屋島栽培漁業センターの稚魚棟内に設置した。試験区は、大型アルテミアのみを給餌する区(図1, A-1, 2), 大型アルテミアとイカナゴを併用給餌する区(B-1, 2), 小型アルテミアのみを給餌する区(C-1, 2), および小型アルテミアとイカナゴを併用給餌する区(D-1, 2)の4区、各2水槽とした。D-1水槽の東側とA-1の西側には遮光率90%の寒冷紗を設置し(図1, 寒冷紗A)、朝夕の直射日光を遮光した。

2003年9月29日朝に、これらの水槽に $10 \mu\text{m}$ カートリッジフィルターでろ過した海水を500ℓずつ注水し、マダコふ化幼生を1,500尾ずつ収容した。幼生を収容した後、各水槽にDHAを添加した濃縮淡水クロレラ(スーパー生クロレラV12, クロレラ工業)10mlと、栄養強化した大型または小型アルテミアを100万個体添加した。その後は毎日9時と14時にクロレラ

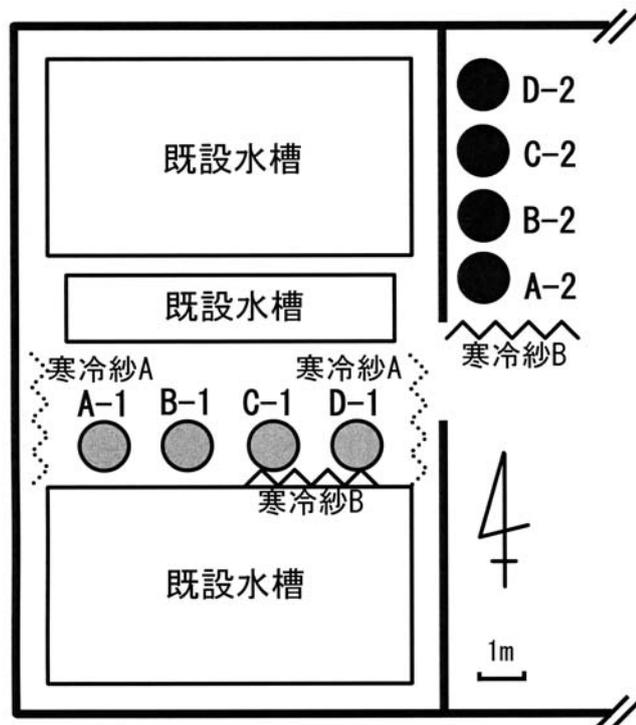


図1 飼育水槽および寒冷紗の設置位置  
A～D-1, A～D-2, 500ℓ円型水槽；寒冷紗A, 実験1～3に使用；寒冷紗B, 実験3に使用。

とアルテミアの密度を計数し、それぞれ20～30万細胞/mlと2個体/mlを維持するように適量添加した。

通気は、各水槽1個のエアストーンにより5mg/ℓの溶存酸素濃度を維持するように施した。水温と照度の調節は特に行わず、自然水温および自然日長とした。換水、底掃除およびイカナゴの給餌は、マダコ幼生が日齢5に達した日から始めた。換水率は1日当たり100%とし、10μmフィルターでろ過した海水を注水した。換水に先立って各水槽内に円柱形ストレーナー(直径15cm, 高さ10cm, 0.5mm目合)を1個取り付け、これを通して排水した。底掃除は毎日9～10時にサイフォンホースを用いて、各水槽から30ℓ排水し、生きている幼生は飼育水槽に戻し、排水中のマダコ幼生の死骸数を計数した。

イカナゴは、9時から17時まで2時間おきに1日5回に分けて1水槽当たり15g程度を給餌した。マダコ幼生の成長を知るため、収容から概ね日齢5ごとに各水槽から10尾の標本を採取し、吸盤数を測定した。吸盤数は実体顕微鏡下で、幼生の任意の腕1本当たりの吸盤数を計数して求めた。

各実験区の環境を知るため、毎日9時と14時に水温、溶存酸素濃度、アンモニア態窒素濃度、塩分濃度、水面照度を測定した。実験1は10月29～30日まで行い、マダコ幼生は日齢31～32で取り揚げた。なお、D-1

水槽では日齢17以降、底掃除で回収される幼生の死骸数が多くなったので日齢25で取り揚げた。

**実験2** 後述するように、実験1では実験区ごとの生残や成長の差が明瞭ではなかったため、同じ設定で再度飼育実験を行った。実験2は11月1日から開始し、各水槽に1kwの電気ヒーターを設置して、ふ化幼生を収容後から1日に1℃の割合で水温を上昇させ、日齢5以降は25℃を維持するように加温飼育を行った。その他の飼育方法等は実験1に準じた。実験2でも日齢5以降減耗が続いたので、収容から30日後の12月1日に全水槽からマダコ幼生を取り揚げて実験を終了した。

**実験3** 実験1, 2では、以前の事例<sup>6,7)</sup>に比べて幼生の生残率が全般に低かったため、その原因を推定するため実験3を行った。実験3ではC-2水槽を他の目的に使用したため、それ以外の7水槽を用いてマダコ幼生を飼育し、すべての水槽に大型アルテミアのみを給餌した。また、C-1, D-1水槽の南側およびA-2水槽の南側に寒冷紗(図1, 寒冷紗B)を取り付け、水槽間の水面照度の差を少なくするようにした。実験3は12月2日から開始したが、当日のふ化幼生数が十分ではなかったため、A-1, B-1, C-1, D-1の4水槽に幼生を収容し、他の3水槽は翌日の収容とした。実験3では幼生の吸盤数は測定せず、生残尾数

表1 マダコ幼生飼育実験の結果概要

実験	実験区分	餌料の種類	収容月日 (2004年)	取り揚げ			
				飼育日数 (日)	生残尾数 (尾)	生残率 (%)	吸盤数 (平均値±標準偏差)
1	1-A-1	大型アルテミア	9月29日	31	485	32.3	19.2 ± 1.3
	1-A-2	大型アルテミア	9月29日	32	450	30.0	15.9 ± 1.0
	1-B-1	大型アルテミア+イカナゴ	9月29日	31	267	17.8	17.8 ± 1.8
	1-B-2	大型アルテミア+イカナゴ	9月29日	32	553	36.9	18.4 ± 1.1
	1-C-1	小型アルテミア	9月29日	32	767	51.1	16.7 ± 1.5
	1-C-2	小型アルテミア	9月29日	31	723	48.2	15.8 ± 1.4
	1-D-1	小型アルテミア+イカナゴ	9月29日	25	530	35.3	13.5 ± 3.0
	1-D-2	小型アルテミア+イカナゴ	9月29日	31	613	40.9	15.6 ± 1.3
2	2-A-1	大型アルテミア	11月1日	30	559	37.3	20.4 ± 1.9
	2-A-2	大型アルテミア	11月1日	30	251	16.7	16.0 ± 1.1
	2-B-1	大型アルテミア+イカナゴ	11月1日	30	343	22.9	17.5 ± 1.8
	2-B-2	大型アルテミア+イカナゴ	11月1日	30	298	19.9	13.9 ± 0.7
	2-C-1	小型アルテミア	11月1日	30	111	7.4	14.6 ± 2.2
	2-C-2	小型アルテミア	11月1日	30	71	4.7	13.8 ± 0.9
	2-D-1	小型アルテミア+イカナゴ	11月1日	30	99	6.6	13.9 ± 1.0
	2-D-2	小型アルテミア+イカナゴ	11月1日	30	345	23.0	15.1 ± 1.7
3	3-A-1	大型アルテミア	12月2日	16	950	63.3	
	3-A-2	大型アルテミア	12月3日	15	1,000	66.7	
	3-B-1	大型アルテミア	12月2日	16	1,195	79.7	
	3-B-2	大型アルテミア	12月3日	15	852	56.8	
	3-C-1	大型アルテミア	12月2日	16	1,006	67.1	
	3-D-1	大型アルテミア	12月2日	16	1,191	79.4	
	3-D-2	大型アルテミア	12月3日	15	708	47.2	

を比較した。その他の飼育方法は、実験2に準じて12月18日（日齢15～16）まで飼育した。

## 結 果

**実験1** 実験1の取り揚げ結果を他の実験と合わせて表1（1-A-1～1-D-2）に示した。実験1では、1-D-1区は日齢25で取り揚げ、他の実験区は日齢31～32で取り揚げた。実験区別の生残率は17.8～51.1%、通算の生残率は35.3%であった。取り揚げ時の平均吸盤数の範囲は、1-D-1を除いて15.6～19.2個であった。

各実験区の日齢5以降の日別推定生残尾数と、5日ごとの吸盤数の推移を図2に示した。底掃除で回収した幼生の死骸数を基に推定した生残尾数の推移をみると、1-D-1区以外のすべての実験区において日齢20～25から成長が停滞し、生残尾数が急減する傾向がみられた（図2、網掛け部）。

実験区ごとの環境・餌料要因の平均値と変動範囲を表2に示した。水温は22～26℃で推移し、溶存酸素濃度は概ね5～7mg/lの範囲であった。同様にアンモニア態窒素濃度は0.04～1.4ppmであり、止水飼育した日齢0～5の期間に濃度が上昇した後、換水開始とともに減少した。塩分濃度は31～32psuの範囲であり、

降水の影響を受けて若干の変動を示した。水面照度は100～2,400lxと変動が大きく、A-1、B-1、C-1、D-1の水槽群で高く、他の4面では低い傾向にあった。

アルテミアの密度は、平均値では1.6～1.8個体/mlを維持し、変動幅は0.3～3.8個体/mlであった。クロレラ密度は9時の計数時に低く、14時の計数時に高い傾向にあり、水槽ごとの平均値では25～28万細胞/mlであった。以上の測定項目のうち、水槽ごとの測定値に有意な差が認められた項目は水温、溶存酸素濃度、アンモニア態窒素、塩分濃度、照度の5項目であった。

**実験2** 実験2の取り揚げ結果の概略を表1に示した。通算の生残率は17.3%であり、実験区別の生残率は4.7～37.3%であり、2-A-1と2-A-2のように同一餌料を給餌した区間でも37.3%と16.7%と差が大きかった。取り揚げ時の吸盤数も同様に13.8～20.4個とばらつきが大きかった。

実験区ごとの日別の推定生残尾数と、5日ごとの吸盤数の推移を図3に示した。本実験では日齢10頃から減耗が多くなり、実験終了時までほぼ一定の割合で減耗する傾向にあった。吸盤数は日齢25までは増加し成長が認められたが、日齢30では2-A-1を除いて吸盤数が減少し、成長が停滞した。

実験2における実験区ごとの環境・餌料要因の変動

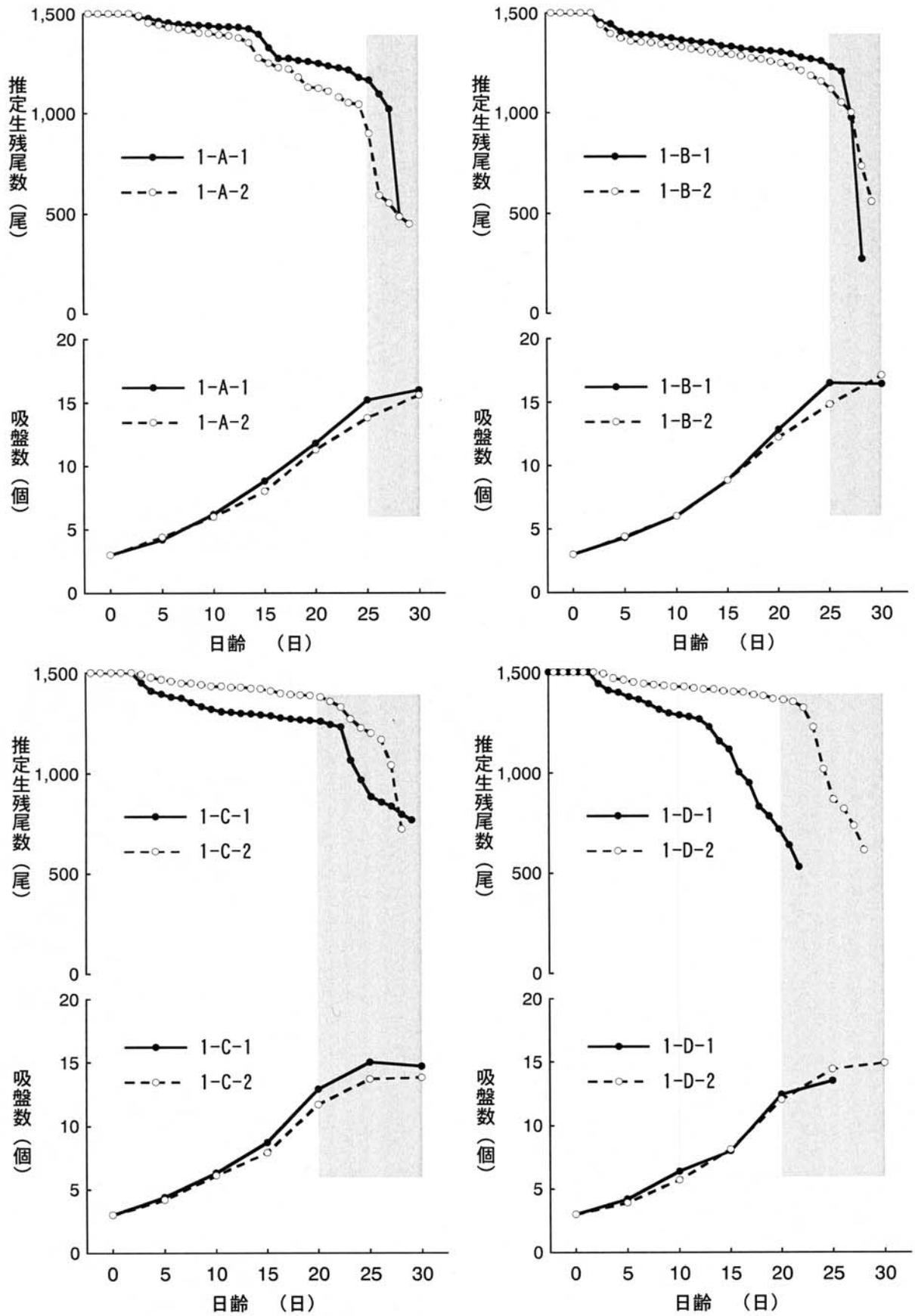


図2 実験1における推定生残尾数と吸盤数の推移

$$\text{推定生残尾数} = \text{収容尾数} - [(\text{収容尾数} - \text{回収された死骸総数}) / \text{取り揚げた幼生数}] (\text{回収された死骸の累積数})$$

範囲を表3に示した。電気ヒーターによる加温を施したため、平均水温は24.1~24.6℃で推移した。アンモニア態窒素濃度は、イカナゴを給餌した水槽で高かった。塩分濃度は各水槽間でほとんど差が無かった。水面照度は、実験1と同様にA-1, B-1, C-1, D-1の水槽群で高い値を示した。アルテミア密度とクロレラ密度は、実験区間の変動は少なかった。これらのうち水槽間に有意な差が認められた項目は、溶存酸素濃度、アンモニア態窒素濃度、照度の3項目であった。

**実験3** 実験3の取り揚げ結果の概要を表1に示した。実験3では収容が2日にわたったため、取り揚げ時の幼生は日齢15~16であった。各実験区の生残尾数は708~1,191個体であり、これらの尾数には有意な差が認められた ( $\chi^2$ 検定,  $p<0.01$ )。推定生残尾数の推移を図4に示した。A-1, B-1, C-1, D-1では同様な減耗傾向を示し、ほぼ一定の割合で減耗が続いた。これに対しA-2, B-2, D-2では日齢10以降減耗が増加し、取り揚げ尾数も比較的少なかった。

実験3における環境・餌料要因の平均値および変動範囲を表4に示した。このうち、水槽間に有意な差がみられたものは塩分濃度と水面照度であった。塩分

濃度の日ごとの推移を図5に示した。A-2, B-2, D-2区では飼育当初から塩分濃度が高く、換水が始まった後は低下したが、全般に高い傾向にあった。これはこれらの3区を収容した12月3日の海水の塩分濃度が、他の4区を収容した12月2日の塩分濃度より高かったためである。同様に図6に水面照度の日ごとの推移を示した。ここでは期間を通してA-1, B-1, C-1, D-1区の照度が他の3区より2倍程度高く、両群の平均水面照度には有意な差が認められた (スチューデントの  $t$  検定,  $p<0.01$ )。

## 考 察

2001年春季<sup>6)</sup> および2003年春季<sup>7)</sup> のマダコ幼生の飼育結果から、実験1, 2では大型アルテミアとイカナゴを併用給餌するB区の生残と成長が最も良好であろうと予想された。また、イカナゴの給餌効果を確かめるために大型アルテミア単独給餌区(A区)を設け、さらに大型アルテミアの給餌効果を把握する目的で小型アルテミア給餌区(C, D区)を設定し、実験区間の生残と成長の差を比較する予定であった。

表2 実験1における実験区間の環境測定結果の比較

実験区	水温* (℃)	溶存酸素濃度* (mg/ℓ)	アンモニア態窒素濃度* (ppm)	塩分濃度* (psu)	水面照度* (lx)	アルテミア密度 (個体/ml)	クロレラ密度 (万細胞/ml)
1-A-1	23.4±0.6	6.4±0.3	0.45±0.22	31.4±0.2	1,023±500	1.8±0.6	28±10
	22.4~25.8	5.5~6.9	0.05~1.15	31.0~31.8	270~2,400	0.3~3.1	10~54
1-A-2	23.6±0.4	6.2±0.2	0.41±0.24	31.4±0.2	333±164	1.8±0.8	25±11
	22.9~24.4	5.7~6.7	0.04~1.30	31.0~31.7	130~1400	0.4~3.2	1~44
1-B-1	23.2±0.5	6.1±0.3	0.54±0.28	31.3±0.1	1,059±450	1.8±0.7	23±11
	22.1~25.6	5.3~7.1	0.04~1.44	31.0~31.6	250~2,100	0.6~3.8	3~52
1-B-2	23.3±0.3	6.2±0.3	0.50±0.23	31.4±0.2	320±121	1.8±0.5	25±11
	23.1~24.5	5.6~6.9	0.04~1.03	30.9~31.7	130~940	0.6~3.2	7~49
1-C-1	23.3±0.5	6.3±0.3	0.29±0.16	31.3±0.2	1,139±517	1.6±0.7	25±11
	22.4~25.7	5.5~7.0	0.04~0.88	31.0~31.7	130~2,400	0.4~3.6	5~51
1-C-2	23.7±0.3	6.4±0.4	0.30±0.16	31.4±0.2	249±64	1.6±0.6	27±14
	23.3~24.4	5.4~7.2	0.04~0.89	30.9~31.7	110~370	0.4~3.7	2~63
1-D-1	23.5±0.7	6.2±0.3	0.45±0.19	31.3±0.1	1,129±508	1.7±0.6	27±9
	22.6~26.1	5.4~6.9	0.04~0.89	31.0~31.5	100~2,100	0.6~3.1	10~50
1-D-2	23.0±0.5	6.3±0.4	0.43±0.16	31.3±0.2	243±57	1.8±0.7	26±11
	21.8~24.4	5.6~7.5	0.04~0.73	30.9~31.6	110~400	0.7~3.8	4~51

\*: 実験区分間に有意な差がみられた項目 (分散分析,  $p<0.01$ )。

上段は平均値±標準偏差, 下段は最小値~最大値を示す。

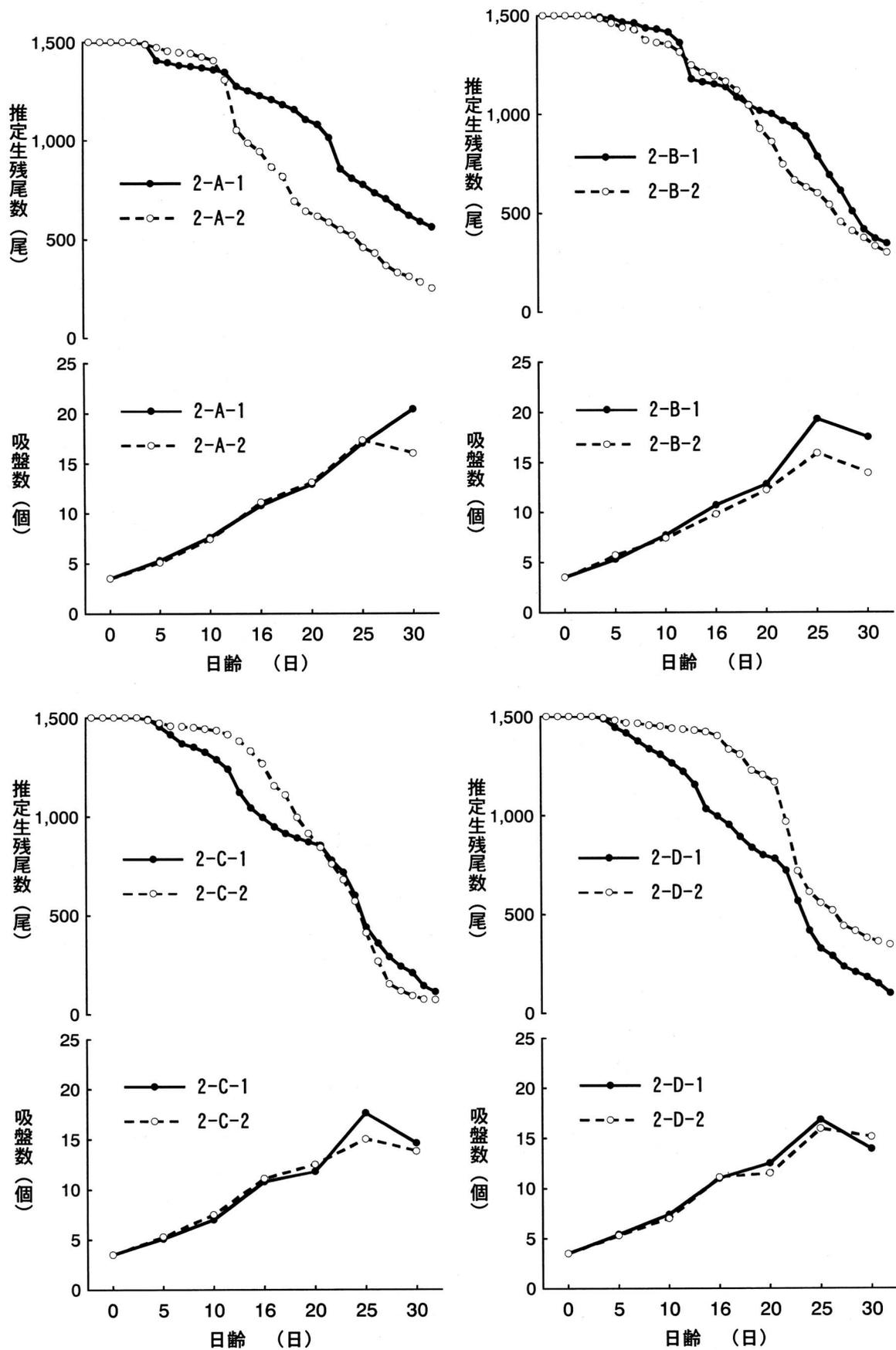


図3 実験2における推定生残尾数と吸盤数の推移

推定生残尾数 = 収容尾数 - [(収容尾数 - 回収された死骸総数) / 取り揚げた幼生数] (回収された死骸の累積数)

表3 実験2における実験区間の環境測定結果の比較

実験区	水温 (℃)	溶存酸素濃度* (mg/ℓ)	アンモニア態窒素濃度* (ppm)	塩分濃度 (psu)	水面照度* (lx)	アルテミア密度 (個体/ml)	クロレラ密度 (万細胞/ml)
2-A-1	24.1±1.2 20.0~25.2	6.2±0.4 5.6~7.3	0.26±0.11 0.04~0.59	31.5±0.4 31.0~32.1	494±283 130~1,200	1.7±0.7 0.3~3.2	19±9 2~43
2-A-2	24.4±1.3 20.0~25.5	6.0±0.4 5.3~7.1	0.25±0.10 0.03~0.57	31.5±0.4 31.0~32.1	236±100 120~550	1.7±0.5 0.4~2.7	17±9 2~40
2-B-1	24.1±1.3 19.9~26.4	5.9±0.6 4.3~7.3	0.47±0.16 0.04~0.72	31.5±0.3 31.1~32.2	534±351 120~1,400	1.7±0.6 0.5~2.8	21±9 4~36
2-B-2	24.3±1.4 20.0~28.6	6.0±0.5 5.2~7.3	0.47±0.15 0.06~0.74	31.5±0.3 31.0~32.1	220±84 110~400	1.6±0.6 0.3~2.9	20±9 5~41
2-C-1	24.1±1.2 20.0~25.2	6.2±0.4 5.5~7.4	0.19±0.08 0.04~0.44	31.5±0.4 30.9~32.1	513±293 110~1,320	1.5±0.6 0.5~3.6	19±7 6~36
2-C-2	24.6±1.4 20.0~25.7	6.1±0.4 5.6~7.3	0.23±0.08 0.06~0.50	31.6±0.3 31.1~32.1	180±64 100~340	1.7±0.6 0.3~3.0	19±10 3~39
2-D-1	24.2±1.2 20.0~25.2	6.1±0.4 5.1~7.3	0.31±0.10 0.04~0.45	31.5±0.4 31.0~32.1	495±278 130~1,100	1.6±0.5 0.4~2.5	18±8 1~41
2-D-2	24.1±1.3 20.0~25.1	6.0±0.4 5.2~7.4	0.35±0.11 0.06~0.56	31.5±0.3 31.0~32.1	175±54 100~300	1.7±0.6 0.7~3.0	21±10 4~50

\*：実験区分間に有意な差がみられた項目（分散分析， $p < 0.01$ ）。  
上段は平均値±標準偏差，下段は最小値～最大値を示す。

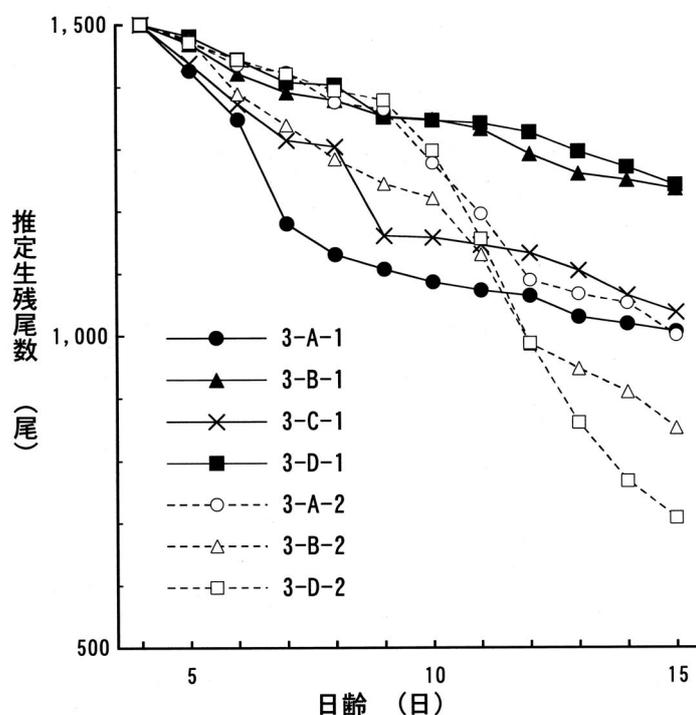


図4 実験3における推定生残尾数の推移

推定生残尾数 = 収容尾数 - [(収容尾数 - 回収された死骸総数) / 取り揚げた幼生数] (回収された死骸の累積数)

表 4 実験 3 における実験区間の環境測定結果の比較

実験区	水温 (℃)	溶存酸素濃度 (mg/ℓ)	アンモニア態窒素濃度 (ppm)	塩分濃度* (psu)	水面照度* (lx)	アルテミア密度 (個体/ml)	クロレラ密度 (万細胞/ml)
3-A-1	23.3±2.5 17.0~25.6	6.2±0.6 5.3~7.8	0.30±0.14 0.05~0.57	30.9±0.4 30.3~31.5	445±186 110~1,100	1.7±0.8 0.5~3.7	23±9 8~48
3-A-2	24.3±2.1 18.3~25.8	6.2±0.5 5.4~7.5	0.26±0.12 0.04~0.54	31.3±0.2 30.8~31.9	215±48 110~320	1.9±0.6 0.9~3.1	23±10 3~41
3-B-1	22.8±2.5 16.6~24.8	6.4±0.6 5.5~7.9	0.24±0.13 0.05~0.60	30.9±0.4 30.2~31.5	474±212 110~1,100	1.9±0.9 0.4~5.6	25±10 12~50
3-B-2	24.1±2.0 18.4~25.6	6.2±0.5 5.2~7.5	0.29±0.13 0.05~0.60	31.3±0.2 30.9~31.9	199±44 110~320	1.8±0.6 0.8~3.0	20±8 7~34
3-C-1	23.3±2.5 16.5~26.2	6.2±0.6 4.9~7.8	0.28±0.14 0.05~0.61	30.9±0.4 30.3~31.6	445±162 110~880	1.6±0.7 0.4~3.2	22±8 4~38
3-D-1	24.0±2.9 16.5~26.5	6.3±0.6 5.2~7.8	0.30±0.13 0.05~0.59	31.0±0.4 30.3~31.6	410±166 100~860	0.8±0.7 0.8~3.6	23±8 5~36
3-D-2	23.6±1.8 18.5~25.0	6.2±0.4 5.3~7.6	0.28±0.16 0.04~0.74	31.4±0.2 31.1~31.8	173±33 110~250	1.8±0.6 0.7~3.0	23±12 2~47

\* : 実験区分間に有意な差がみられた項目 (分散分析,  $p < 0.01$ )。

上段は平均値 ± 標準偏差, 下段は最小値 ~ 最大値を示す。

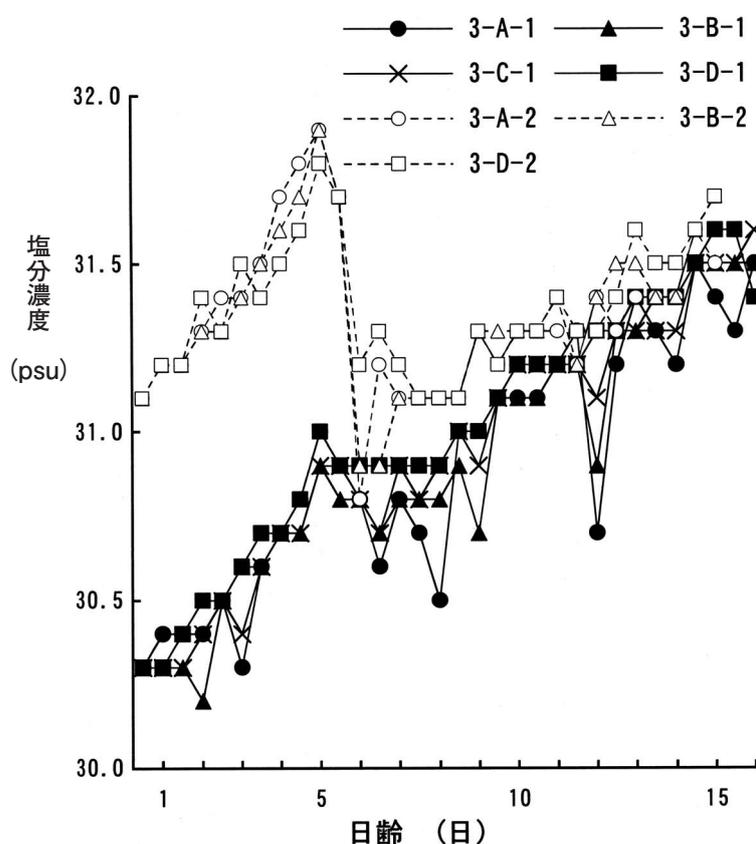


図 5 実験 3 における水槽ごとの塩分濃度の推移

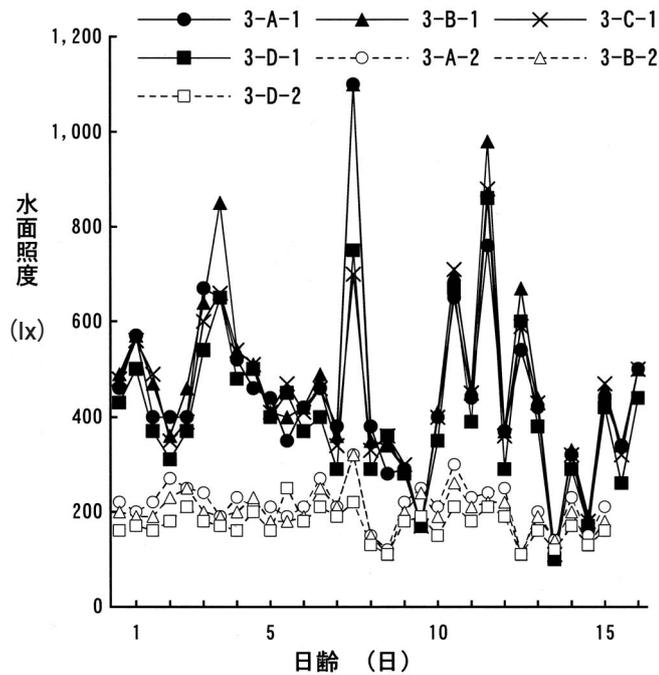


図6 実験3における水槽ごとの水面照度の推移

しかし、実験1, 2の大型アルテミア+イカナゴ給餌区の通算生残率は24.4% (17.8~36.9%)と、従来の飼育実験での通算生残率 (66.3%<sup>6)</sup>, 46.2%<sup>7)</sup>) に比べて低い値となった。さらに、実験1, 2では、実験区ごとの生残や成長には明瞭な差異は認められず、同一区内において生残尾数が2~3倍異なる (1-B-1と1-B-2, 2-D-1と2-D-2) など当初意図したような比較はできなかった。また、同じ餌料を給餌しているにも関わらず、実験1では日齢20~25以降に減耗が増加したのに対し、実験2では日齢5からほぼ一定の割合で減耗が続き、実験1と2では減耗の起こり方が異なった。これらの結果から、実験1, 2のマダコ幼生の減耗要因は餌料由来ではなく、別の要因と推察され、水温や塩分などの環境要因が疑われた。

そこで、実験1, 2の各実験区の環境要因の違いを分散分析によって検定した結果、多くの要因で有意差が認められた。実験1では水温、溶存酸素濃度、アンモニア態窒素濃度、塩分、水面照度の5項目で有意差があった。実験1では自然水温としたので水槽の設置場所によって室温が異なり、実験区間に水温差が発生した可能性がある。溶存酸素濃度とアンモニア態窒素濃度はイカナゴ給餌の有無と相関があると考えられる。すなわち、イカナゴを給餌した実験区では水槽底に蓄積したイカナゴ細片肉によって溶存酸素の低下とアンモニア態窒素の蓄積を招き、アルテミア単独給餌区では溶存酸素濃度は比較的高く、アンモニア態窒素濃度は低く推移した結果、両方の実験区間に差が生じたと推定された。各水槽への注水に用いた海水は同

一バルブから分岐していたので、実験区間の塩分濃度に差が生じた原因は不明である。塩分濃度の変動範囲は30.9~31.8psuであり、変動幅が約3%と小さく、実験区間のわずかな差異が過大に検出されたおそれがある。水面照度は稚魚棟の西側に設置したA-1, B-1, C-1, D-1区で高く、東側に設置した4水槽では低かった。これは稚魚棟の西側の屋根が透明な波板葺きであり、東側は不透明なスレート葺きであったため、透過する光線の量が異なるためである。アルテミア密度とクロレラ密度に関して差は認められなかったため、ほぼ均等に供給できたものと判断された。実験2においては溶存酸素濃度、アンモニア態窒素濃度、水面照度の3項目において差が認められた。これらの項目に差が生じた原因は実験1と同様に、溶存酸素濃度とアンモニア態窒素濃度に関してはイカナゴ給餌の影響、水面照度に関しては水槽の設置場所による日照の違いと考えられた。実験2では加温により水温を一定に保ったので、実験区間に水温差は生じなかった。

このように、実験1, 2を通じて実験区間に差がみられた環境要因は溶存酸素濃度、アンモニア態窒素濃度、水面照度の3項目であった。このうち、溶存酸素濃度とアンモニア態窒素濃度は以前の飼育実験<sup>6,7)</sup>と同程度であり、これらがマダコ幼生の生残と成長に直接影響を与えたとは考え難い。そこで、溶存酸素濃度とアンモニア態窒素濃度に影響を及ぼすイカナゴ給餌を排除して、すべての実験区に大型アルテミアのみを給餌して実験3を行った。同時に水槽の設置場所による水面照度の差を少なくするため寒冷紗Bを増設し

た。

実験3では塩分濃度と水面照度に差がみられた。この実験ではマダコ幼生の収容が2日間にわたったため、飼育初期の5日間は収容日の塩分濃度の差が顕著であった。マダコ幼生の遊泳個体率は塩分濃度が33psuでは一定であるが、32psuでは時間経過とともに遊泳個体率が低下し、塩分濃度が31, 29psuへと低下するに従って遊泳個体率がさらに低下するので、塩分濃度を33psuに維持して飼育することが推奨されている<sup>9)</sup>。実験3では塩分濃度が30.2~31.9psuと低く推移したため、塩分濃度の差が実験区間の生残率の違いに影響した可能性がある。塩分濃度の低下がマダコ幼生の遊泳個体率を低下させ、生残に悪影響を与えると考えられるのに反し、実験3では塩分濃度が全般に低かった区(A-1, B-1, C-1, D-1)の生残尾数が多く、逆に初期の塩分濃度が高かった区(A-2, B-2, D-2)の生残尾数が少なかった。このため、実験3においては実験区間で塩分濃度に差があったが、そのことが幼生の生残に直接影響したとは考え難い。そのため、実験区間の生残尾数の違いはそれ以外の要因である水面照度の違いに由来する可能性が高く、両方の水槽間の平均水面照度の違いから、400lx程度の水面照度で飼育した方が200lx程度での飼育に比べて高い生残が期待できると推察された。

以上のように、実験3では餌料以外の環境条件がマダコ幼生の生残と成長に影響することが示され、特に水面照度の影響が大きいと推定された。この結果を将来に活かすために、均質な光条件下でのマダコ幼生の飼育実験が必要である。それには水槽の設置場所に影響されないように、太陽光を遮光した室内で均一な人工光線を用いての飼育実験が有効であろう。このような飼育実験によって、照度の影響を排除した精度の高い研究成果が得られるものと期待される。同時に白木<sup>9)</sup>が指摘したように33psu程度の塩分濃度を維持して好適環境下で幼生を飼育する必要もあろう。

## 文 献

- 1) 伊丹宏三・井沢康夫・前田三郎・中井昊三 (1963) マダコ稚仔の飼育について. 日水誌, **29**, 514-519.
- 2) 浜崎活幸・福永恭平・吉田儀弘・丸山敬悟 (1991) マダコ浮遊期幼生の生残・成長に及ぼすナンノクロブシスの効果および20m<sup>3</sup>水槽を用いた飼育事例について. 栽培技研, **19**, 75-84.
- 3) Villanueva R. (1995) Experimental rearing and growth of planktonic *Octopus vulgaris* from hatchling to settlement. *Can. J. fish. Aquat. Sci.*, **52**, 2639-2650.
- 4) 浜崎活幸・竹内俊郎 (2001) 油脂酵母あるいはサメ卵乾燥粉末で栄養強化したアルテミアのマダコ浮遊期幼生に対する餌料価値. 栽培技研, **28**, 65-68.
- 5) Navarro, J.C., and R. Villanueva (2003) The fatty acid composition of *Octopus vulgaris* paralarvae reared with live and inert food: deviation from their natural fatty acid profile. *Aquaculture*, **219**, 613-631.
- 6) 白木美聡 (2003) 頭足類の基本飼育技術開発 (マダコ). 日本栽培漁業協会事業年報 (平成13年度), 202-209.
- 7) 奥村重信 (2003) 1. 頭足類の基本飼育技術開発 (マダコ). 日本栽培漁業協会事業年報 (平成15年度), 86.
- 8) 奥村重信・岩本明雄・栗原紋子・竹内俊郎 (2004) 大型アルテミアとイカナゴ給餌によるマダコ幼生の生残と成長の向上. 2004年度日本水産学会大会講演要旨集, 156.
- 9) 白木美聡 (2001) K新しい栽培種として期待される頭足類 K-1 マダコ(1) 屋島事業場. 日本栽培漁業協会事業年報 (平成11年度), 225-229.

## ブリ種苗生産における止水飼育の試み

山本義久<sup>\*1</sup>・山崎英樹<sup>\*1</sup>・岩本明雄<sup>\*1</sup>・今泉 均<sup>\*2</sup>  
 (\*1 屋島栽培漁業センター, \*2 奄美栽培漁業センター)

我が国において、ブリ *Seriola quinqueradiata* は主要な養殖対象種として極めて重要である。近年のブリの養殖を含めた漁業生産量は14~17万トンで安定しており、約7割が養殖生産で占められている<sup>1)</sup>。ブリ養殖用種苗は4,000万尾前後が確保され、それらは天然種苗(モジャコ)に依存<sup>2)</sup>しているため、モジャコ漁の好不漁により種苗価格は大きく変動し、養殖経営の不安定要素の一つとなっている。また、天然ブリ資源の維持のためにモジャコの採捕尾数は規制されており、安定した種苗供給のためにも良質な人工種苗の生産技術の確立が急務となっている<sup>1)</sup>。

屋島栽培漁業センターでは、1979年から種苗生産技術開発に着手し、当初は養成したアルテミアや天然コペポーダ等の大型の生物餌料を主体にした飼育方法により、1987年には100万尾を超える量産に成功した。その後、設備や培養手法に経費を要する大型生物餌料を配合飼料に転換するとともに、省力化および種苗の質的向上を目指した技術開発を進めてきた<sup>3)</sup>。また、早期生産した種苗の放流効果が明らかとなり、放流効果が期待できる魚種としても注目されている<sup>4)</sup>。しかし、本種では、日齢5~15までの初期減耗が安定した種苗量産の障害となっている<sup>1)</sup>。そこで今回、初期減耗の防除を目的に、飼育初期の環境変化を抑える止水飼育について検討した。

### 材料と方法

**試験区の設定** 試験では、日齢5から終日換水する流水区と換水を行わない止水区を設定し、日齢25まで飼育した。止水区では、止水飼育から流水飼育に移行する時の影響を把握するため、試験終了後に換水を開始し、日齢66まで終日流水で継続飼育した。

**供試魚** 供試したふ化仔魚は、古満目栽培漁業センターでHCG(胎盤性性腺刺激ホルモン)を使用した産卵誘発により採卵した受精卵から得た。ふ化仔魚は、酸素と空気の微通気を施した1kℓ輸送水槽に収容し、2003年4月14日に屋島栽培漁業センターに陸上輸送した。飼育水槽には25kℓ水槽(実容量22kℓ)2面を用い、全長 $4.1 \pm 0.1$ mm(平均 $\pm$ 標準偏差、以下同様)のふ化仔魚を流水区に27.8万尾、止水区に26.0万尾収容した。

**飼育方法** 飼育水には、ふ化仔魚を収容する前に貝

化石(フィッシュグリーン、グリーン・カルチャア)を添加し、充分に通気して汲み置いたろ過海水を用いた。さらに、毎日50g/kℓの貝化石を散布した。また、日齢4~23までは市販の冷蔵濃縮ナンノクロロプシス(マリーンフレッシュ、メルシャン)を50万細胞/mlの密度で添加した。

通気は、中央部に2個のエアーストーンと四隅に設置したエアブロックで行った。飼育水温は、収容時の20℃から徐々に加温して、日齢4から22℃を維持した。流水区は日齢5から換水を開始し、日齢15までは1回転/日、日齢25までは1.5回転/日とした。止水区では、蒸発分を水道水で補給した。また止水区の継続飼育では、日齢25から0.2~4回転/日の換水を行った。底掃除は両区とも試験最終日の取り揚げ前のみ行った。止水区では、継続飼育した日齢25以降は毎日実施し、死亡尾数を計数した。

**餌料** 餌料にはワムシ、アルテミア幼生、および微粒子配合飼料と初期飼料協和(協和発酵工業)を用いた。給餌期間は、ワムシが日齢4~25、アルテミアが幼生日齢14~25、および配合飼料は止水区で日齢25~66とした。生物餌料の栄養強化には、ワムシはプラスアクアラン(添加量100g/kℓ、BASF ジャパン株式会社)とDHAプロテインセルコー(添加量200g/kℓ、INVE)を、アルテミアはプラスアクアラン(添加量100g/kℓ)とDCDHAセルコー(300g/kℓ、INVE)を用い、それぞれ22時間強化した。給餌は、ワムシ5~10個/ml、アルテミア幼生0.3~3.0個/mlの密度で添加した。

ワムシの残餌は、毎朝給餌前に調査した。また、ワムシ単独給餌期間の摂餌状況について、日齢5~14の仔魚の消化管充満度を目視で判定し、消化管充満度指数<sup>5)</sup>として空胃(0)~飽食(5)までの6段階に区分した。

**飼育環境の測定** 飼育環境として、毎日定時に水温、pH、溶存酸素飽和度、塩分濃度を、2~3日ごとに水質分析計(DR-2000、HACH)を用いてアンモニア態窒素(サリチル酸法)、亜硝酸態窒素(ジアゾ化法)、硝酸態窒素(カドミウム還元法)を測定した。また、飼育水中の生菌数を調査した。生菌数は、一般細菌とビブリオ属細菌について市販の寒天培地による希釈法で計数した。一般細菌用の培地にはMARINE AGAR 2216(DIFCO)を用い、ビブリオ属細菌用の培地は

TCBS 寒天培地 (DIFCO) に塩化ナトリウムを添加して塩分濃度を 2% に調整した。

**成長と生残** 成長は、2～5 日ごとに 20 尾の全長を測定した。生残尾数の推定は、日齢 1、5 および 10 に夜間の柱状サンプリングで行った。流水区では日齢 25 に全数を取り揚げ、容量法で計数した。日齢 25 以降の止水区では、毎日の底掃除で排出された死亡尾数、日齢 45 に行った飼育密度調整時の間引き尾数、および日齢 66 の全数取り揚げ尾数から推定した。なお、日齢 45 と日齢 66 の尾数計数は重量法で行った。

**干出耐性試験** 試験終了時 (日齢 25) に干出耐性試験を行った。試験は、50 尾の稚魚を小型タモ網ですくい取り、タモ網の底の水分をキムタオルで拭き取り、60 秒間空中干出させる方法で行った。干出後、仔魚を海水中 (10 ℓ バケツ) に戻し、微通気状態で 3 時間後の生残率を求めた。

## 結 果

**生残および成長** 飼育試験の結果を表 1 に示した。試験終了時の生残尾数は、流水区が 58,000 尾、止水区

が 91,500 尾であった。生残率は流水区が 20.9%、止水区が 35.2% であり、止水区の生き残りが約 15 ポイント上回った。生残状況 (図 1) を比較すると、日齢 10 での生残率は流水区が 37.8%、止水区が 48.8% と止水区が 11 ポイント上回り、止水区で初期死亡が少ない傾向が示された。

試験終了時の成長 (図 2) は、流水区で平均全長  $11.6 \pm 1.4$  mm、止水区で  $11.8 \pm 1.4$  mm と両区で差は認められなかったが、日齢 10～20 は止水区でやや成長が良い傾向がうかがえた。

**ワムシの摂餌状況** ワムシ給餌期間の摂餌状況を調査した結果 (図 3)、両試験区とも日齢 4～5 の消化管充満度指数は 3 前後で、その後摂餌が活発になり、日齢 8 以降はほぼ飽食の 5 付近で推移した。流水区では、日齢 10～14 にかけて空胃個体が増加し、平均 4.5 前後で推移した。飼育水中のワムシ密度は、流水区で平均 0.6 個体 / ml、止水区で 2.4 個体 / ml と、止水区では飼育水槽内での増殖が認められた。ワムシの総給餌量は、流水区 31.9 億個体、止水区 26.3 億個体と、止水区が流水区よりも 20% 程度少なかった。

**飼育環境と水質** 飼育期間中の飼育環境の推移を図

表 1 プリ止水飼育試験の概要

試験区分	飼育水槽		収容			取り揚げ				備考
	容量 (kl)	数	尾数 (万尾)	密度 (尾 / kl)	日齢	平均全長 (mm)	尾数 (尾)	密度 (尾 / kl)	生残率 (%)	
流水区	22	1	27.8	12,636	25	11.6	58,000	2,636	20.9	
止水区	22	1	26.0	11,818	25	11.8	91,466	4,158	35.2	継続飼育
止水区継続飼育	22	1	9.1	4,158	66	66.7	27,000	1,227	27.5	日齢 45 で密度調整のため、4.4 万尾間引き

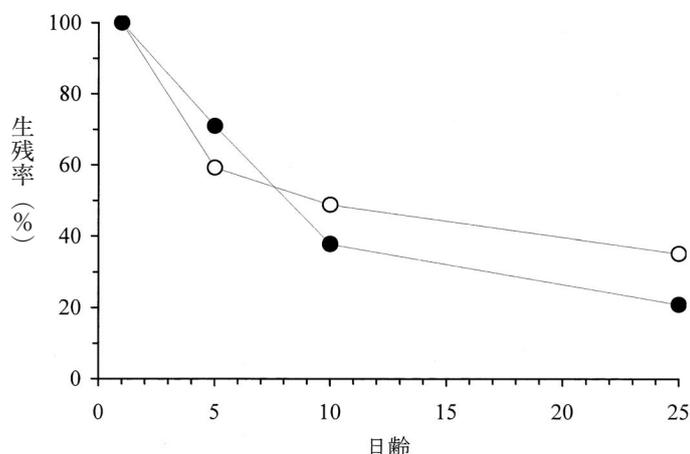


図 1 プリ止水飼育試験における推定生残率

—○— 止水区 —●— 流水区

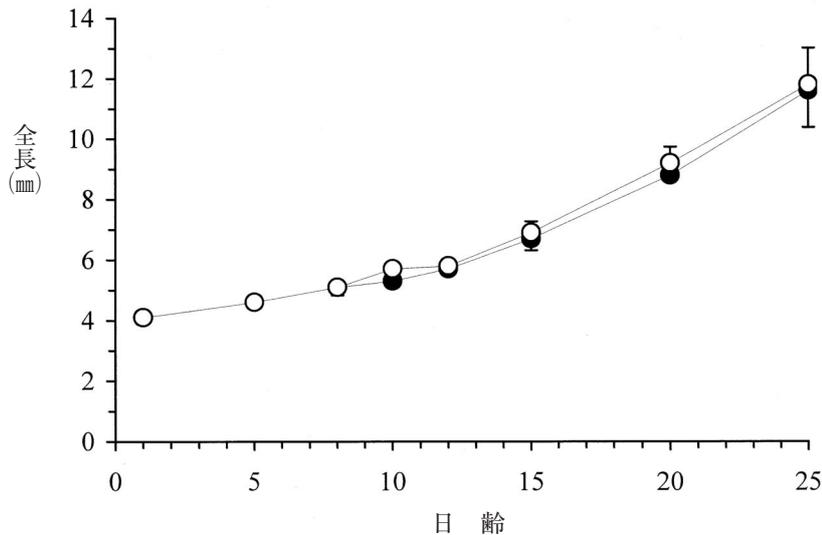


図2 止水飼育試験におけるブリ仔魚の全長  
●— 流水区 ○— 止水区

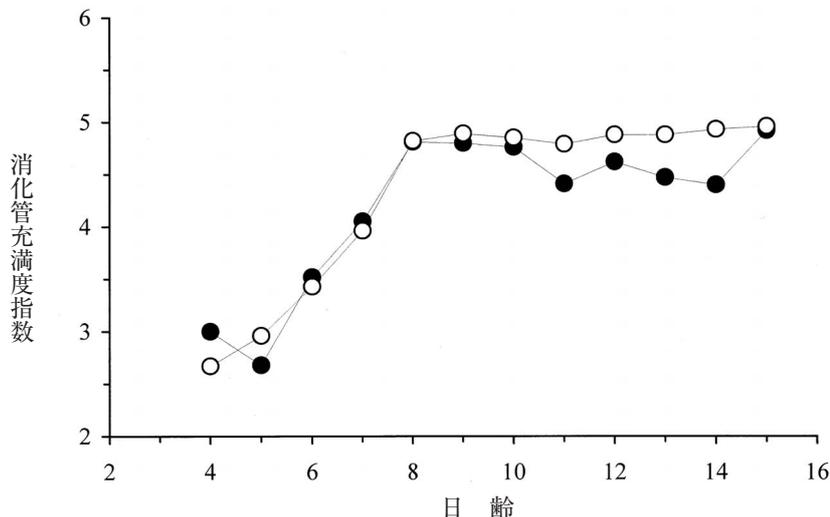


図3 止水飼育試験におけるブリ仔魚のワムシ摂餌状況  
●— 流水区 ○— 止水区

4に示した。水温は日齢4以降、設定した22℃前後を維持した。pHは、流水区では飼育期間中8以上(8.00~8.17)を維持したが、止水区では徐々に低下し7.62まで低下した。溶存酸素飽和度は、流水区では100%前後(97.6~102.2%)を維持したが、止水区では徐々に低下し日齢25には90%まで低下した。塩分濃度は、取水海水の塩分濃度が低く推移したことから、流水区では換水開始後に徐々に低下し、開始時の34.5%が日齢8以降は33%前後で推移した。蒸発分を淡水で補填した止水区は、34.5~35.4%を維持した。

流水区の水質は、試験期間を通してアンモニア態窒素0.01~0.09ppm、亜硝酸態窒素0.003~0.005ppmと常に低く推移した(図5)。一方、止水区では、日齢25ではアンモニア態窒素が4.25ppm、亜硝酸態窒素が

0.13ppmまで増加したが、種苗への影響は認められなかった。また硝酸態窒素は、両試験区とも変動は少なく0.7~1.0ppmで推移した。

今回の試験では日齢25まで底掃除は行わなかったが、流水区ではわずかに硫化物が確認された程度であり、止水区では大量の沈殿物が認められた。

**生菌数の推移** 飼育水中の生菌数は、一般細菌数は両試験区ともやや増加傾向が認められたが、飼育開始直後から安定して $10^4$ ~ $10^5$  CFU/mlで推移した(図6)。ビブリオ属細菌数は、日齢8には流水区が止水区よりも多い傾向を示したが、それ以外は両区とも同様な傾向を示し、 $10^2$ ~ $10^3$  CFU/mlで推移した。

**干出耐性試験** 日齢25に干出耐性試験を行い、空中干出後に海水に戻した後の生残率を比較した結果、流

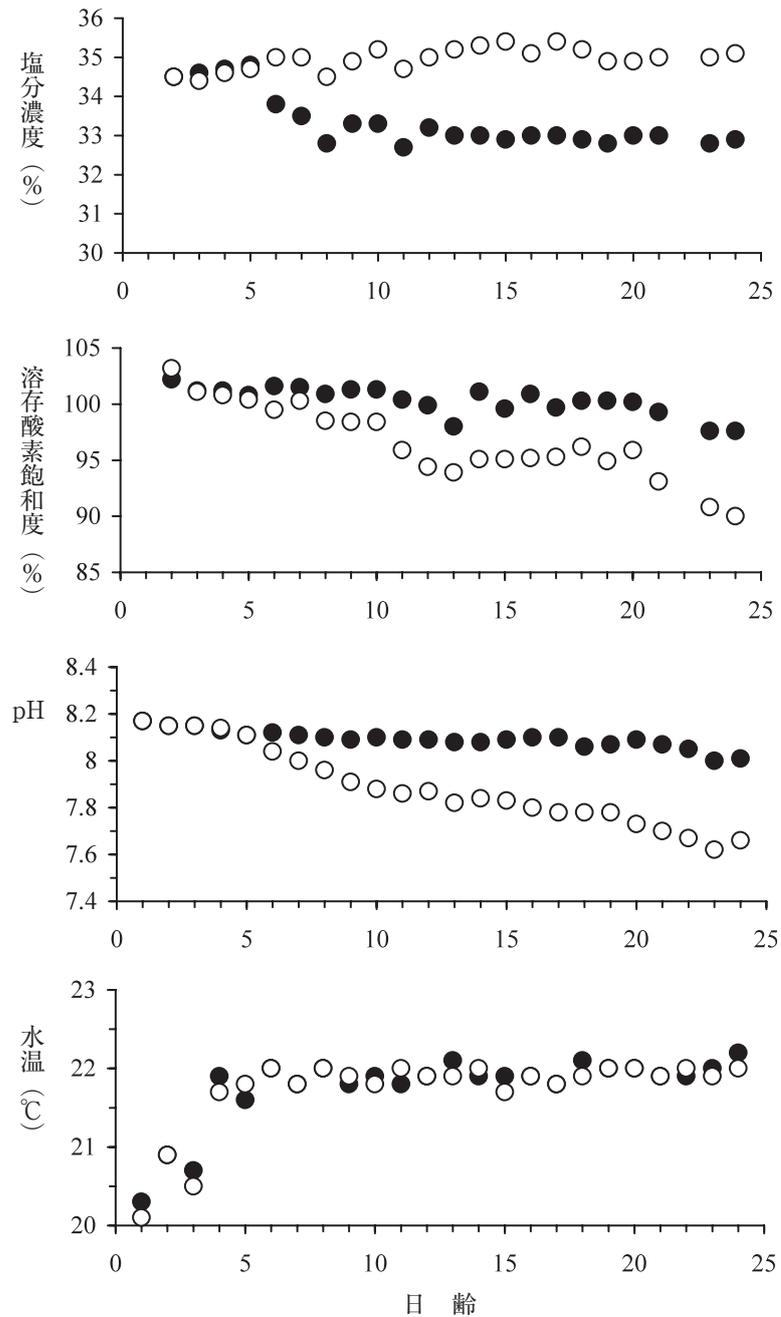


図4 プリ止水飼育試験における飼育環境

● 流水区 ○ 止水区

水区が67.2%, 止水区が68.9%で両区に差はなかった。

**止水区の継続飼育** 日齢25以降継続飼育した止水区では, 日齢26から徐々に換水を開始したところ, 換水開始後3日目にはアンモニア態窒素は1.6ppm, 亜硝酸態窒素は0.1ppm まで低下し, さらに日齢32以降はアンモニア態窒素 1 ppm 以下, 亜硝酸態窒素は 0.05ppm 以下となった (図5)。

日齢45に密度調整のため平均全長 $34.0 \pm 3.3$ mm で 4.4万尾を間引き, 日齢66に平均全長 $66.7 \pm 5.3$ mm で 2.7万尾を取り揚げた。死亡尾数からの推定で日齢66

での生残率は27.5%であった。継続飼育中の生残状況は, 日齢30~45にかけて共食いによる減耗がみられた以外は大きな減耗はなく, 換水開始後の死亡尾数の急増もみられなかった。

## 考 察

ブリ後期仔魚期<sup>6)</sup>に当たる日齢25までの止水飼育では, 流水飼育と比較して成長に差はなく, 日齢10までの生残率向上に効果が認められた。また, 日齢25以降

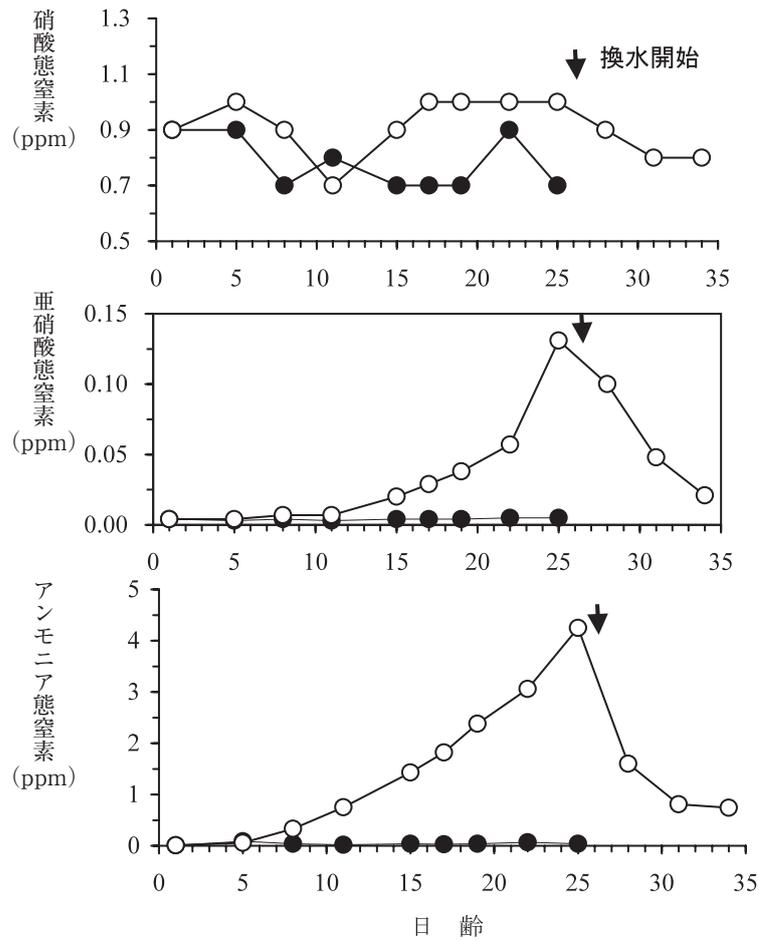


図5 プリ止水飼育試験における水質の変化

● 流水区 ○ 止水区

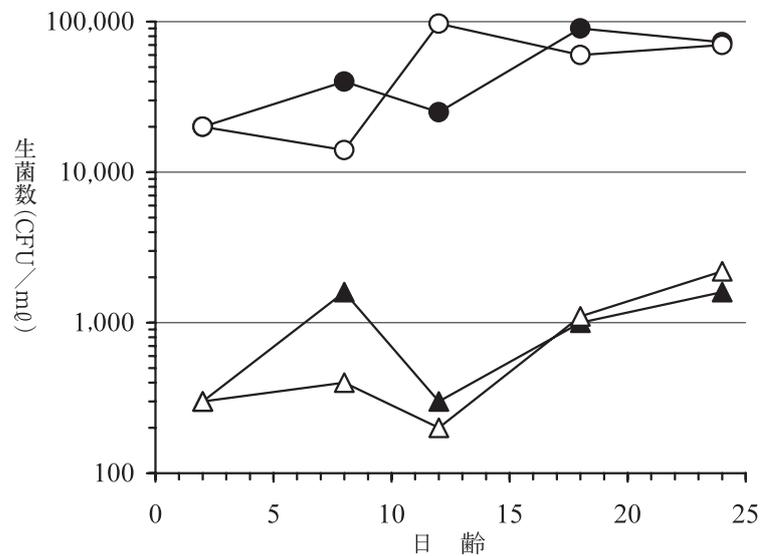


図6 プリ止水飼育試験における生菌数の推移

● 一般細菌 流水区  
 ○ 一般細菌 止水区  
 ▲ ビブリオ属細菌 流水区  
 △ ビブリオ族細菌 止水区

の止水飼育から流水飼育への切り替えについても問題がなく、ブリの種苗生産における初期減耗防除技術として止水飼育が有効である可能性が示された。

従来のブリ類の飼育方法は、他魚種の種苗生産方法と同様に、成長に伴い生物餌料の密度を考慮しながら換水率を増加させ、水質悪化を防ぐ方法がとられてきた<sup>17)</sup>。しかし、換水に使用する地先海水は、降雨や波浪などの影響や赤潮プランクトンの発生等で常に良質な水質状態ではないと考えられる。

また、取水海水の細菌数や細菌相も同様に不安定で<sup>7,8)</sup>、生体防御が十分に機能していない仔魚期には換水によるリスクは大きいと考えられている<sup>8,9)</sup>。ヒラメの止水飼育では、ワムシ由来のビブリオ属細菌の菌株数が流水飼育と比べて少なく、止水飼育は細菌相の安定性の面で優れていると報告されている<sup>10)</sup>。今回の試験において、一般細菌数では両区で差はなかったが、流水区では日齢8でビブリオ属細菌数の増加が見られたことから細菌相の変化がうかがわれた。また、流水区は、日齢5～10の5日間で生残率が約30%低下し、さらに日齢10～14にかけての摂餌がやや不活発になるなど、換水開始後に仔魚の不調が見られたことから今後は細菌相の動向を踏まえた精査が必要である。

極力換水しない飼育方法の有効性については、ヒラメのほっとけ飼育<sup>11)</sup>や、大型ハタ類での初期減耗対策に利用され、クエの種苗生産では換水率を上げると死亡個体が増加する事例が示されている<sup>9)</sup>。ほっとけ飼育では、長期間の止水飼育により全アンモニア態窒素が10ppm以上になった時点で換水を開始し、全長9mmから1回転/日以上以上の換水を実施している<sup>11)</sup>。またハタ類の飼育では貝化石を毎日飼育水槽に添加し、日齢20程度から換水を開始している<sup>9)</sup>。今回の試験では、ふ化仔魚収容時の飼育水には貝化石を添加して汲み置きしたろ過海水を使用し、飼育期間中は毎日貝化石を添加した。貝化石の添加効果については、止水飼育期間に上昇するアンモニア態窒素の硝化の促進に寄与するなど、水質の安定維持に効果があるとされている<sup>12)</sup>。止水区では、水槽底の沈殿物を覆い隠して飼育水に溶出させない効果はあったと考えられるが、有害な亜硝酸態窒素から無害な硝酸態窒素への硝化は確認できず、止水飼育の継続により有害なアンモニア態窒素と亜硝酸態窒素が蓄積され大量死亡の原因になると考えられた。一方、日齢25からの換水により、3日後にはアンモニア態窒素が1/3に減少し、止水飼育から徐々に流水に移行する方法は種苗に影響なく、長期間の止水飼育で蓄積したアンモニア態窒素や亜硝酸態窒素を速減させ、急性毒性の防除対策として有効な方法<sup>13)</sup>であると考えられた。また、止水区では、日齢25の水質はアンモニア態窒素4.25ppm、亜硝酸態

窒素0.13ppmまで上昇したが、同時期に行った干出耐性試験でも仔魚の活力に流水区との差は認められず、このレベルの水質では活力に悪影響を及ぼさないと考えられた。

天然でのブリ仔魚の生息環境から推測すると、水質悪化の影響が大きい止水飼育は不可能と考えられた。しかし、今回行ったブリの止水飼育では、流水区と比較して初期死亡を軽減する効果が示されたことから、他のアジ科魚類の種苗生産においても初期減耗防除対策としての検討価値があると考えられる。

一方、止水飼育で問題となるアンモニア態窒素、亜硝酸態窒素の蓄積による水質悪化の解決方法として、飼育途中から流水飼育へ切り替える方法の有効性を示したが、今後は初期飼育の水質環境の安定維持が可能な閉鎖系循環飼育についての検討が必須となろう。

## 文 献

- 1) 山崎英樹・塩沢 聡・藤本 宏 (2002) 日本栽培漁業協会におけるブリ種苗生産の現状. 水産増殖, 50, 503-506.
- 2) 日本栽培漁業協会 (2001) 漁獲量分布と標識放流再捕結果から見たブリの生活 (ブリ種苗放流技術開発調査 昭和63～平成9年度までの取りまとめ報告), 協会研究資料, 80, 1-34.
- 3) 今泉圭之輔 (1990) ブリ種苗生産の現状について. 水産増殖, 38, 308-309.
- 4) 藤本 宏・山崎英樹 (2001) 瀬戸内海東部海域におけるブリ早期種苗の放流効果. 栽培技研, 29, 21-34.
- 5) 大野 淳 (1992) マダいの粗放的種苗生産に関する研究. 特別研究報告, 2, 日本栽培漁業協会, 1-110.
- 6) 勝山明里 (1989) アジ科魚類2種の仔稚魚期の摂餌, 遊泳器官の発達と種苗生産上の問題点-I ブリ. 栽培技研, 18, 65-82.
- 7) 有元 操 (1999) 海産魚の種苗生産技術の問題点と微生物利用. アクアネット, 11, 22-26.
- 8) 高橋庸一 (1999) ヒラメ仔魚の「ほっとけ飼育」による疾病防除の可能性. アクアネット, 11, 38-42.
- 9) 照屋和久 (2002) クエ種苗生産の初期減耗対策. 養殖, 2, 66-69.
- 10) 阪本憲司・高橋庸一・岡 雅一・板垣恵美子 (1998) 止水方式におけるヒラメ初期飼育水の細菌相. 栽培技研, 27, 1-6.
- 11) 高橋庸一 (1993) ヒラメの種苗生産工程における飼育作業の評価と作業の効率化の検討. 栽培技

- 研, 21, 81-92.
- 12) 小金隆之 (2000) 新しい栽培漁業種として期待される魚種, クエ. 平成10年度日本栽培漁業協会年報, 193-194.
- 13) 高橋庸一 (1998) ヒラメの種苗生産マニュアルー「ほっとけ飼育」による飼育方法ー. 栽培漁業技術シリーズ, 4, pp.57.

## クロマグロ稚魚の適正給餌回数

手塚信弘\*<sup>1</sup>・升間主計\*<sup>2</sup>・武部孝行\*<sup>2</sup>・二階堂英城\*<sup>2</sup>・井手健太郎\*<sup>2</sup>

(\*<sup>1</sup> 能登島栽培漁業センター, \*<sup>2</sup> 奄美栽培漁業センター)

クロマグロ *Thunnus thunnus orientalis* は大型で商品価値が極めて高いため、乱獲による天然資源の枯渇が懸念されており、資源管理への関心が高まるとともに、国内外で養殖が盛んに行われている<sup>1)</sup>。このため、養殖あるいは放流用種苗の生産を目的とした仔稚魚の飼育試験が試みられており、陸上水槽を用いた仔稚魚の飼育に関する知見・技術が蓄積されつつある。しかし、海上飼育における飼育方法に関しては試行錯誤的に行き詰りがなされているのが現状である。中でも、稚魚への給餌方法に関しては、空腹が本種の稚魚の行動に影響している可能性が報告<sup>2)</sup>されている以外にほとんど知見が無い。

そこで、筆者らは種苗生産したクロマグロ稚魚を用いて、摂餌量を指標とした稚魚への適正な給餌回数と水温が稚魚の摂餌量および成長に及ぼす影響について検討したので報告する。

### 材料と方法

**供試魚** 50kl陸上水槽で種苗生産した平均全長57.5mm (40~75mm) の稚魚158尾 (日齢36) を、平成14年9月20日に、海上に設置した直径10m、深さ5mの円型生簀網に収容し、沖出し作業等の影響が

なくなつたと考えられた日齢39から試験を開始した。

**給餌方法と摂餌量** 餌料には総合ビタミン剤を1~2%添加した冷凍イカナゴを用い、日齢39~53はイカナゴシラスを与えた。1日当たりの給餌回数はシラスで3~7回、イカナゴでは2~5回とした (図1)。給餌は7時から18時にほぼ等間隔で行った。1回当たりの給餌量は、給餌前後の餌重量を測定して求めた。毎回残餌を出さないように飽食するまで与えた。このため給餌量を摂餌量とした<sup>3)</sup>。日間摂餌量は1日の摂餌量の合計とし、摂餌率は以下の計算式で求めた。

$$\text{摂餌率} = (\text{摂餌量}) / (\text{尾数}) / (\text{推定体重}) \times 100$$

日間摂餌率は、上式で求めた1日の摂餌率の合計とした。また、日平均摂餌量と日平均摂餌率は、期間中の日間摂餌量と日間摂餌率の平均とした。

**稚魚の成長** 試験期間中は、毎日回収した死亡魚の全長と体重を測定し、全長と飼育日数および体重の関係を求めた。試験期間中の平均生残尾数と平均推定体重を、それぞれ飼育開始時および終了時の生残尾数と推定体重から求めた。

**環境測定** 毎日、水深5mの水温をメモリー水深・水温計 (ABT-1:アレック電子株式会社製) を用いて測定した。

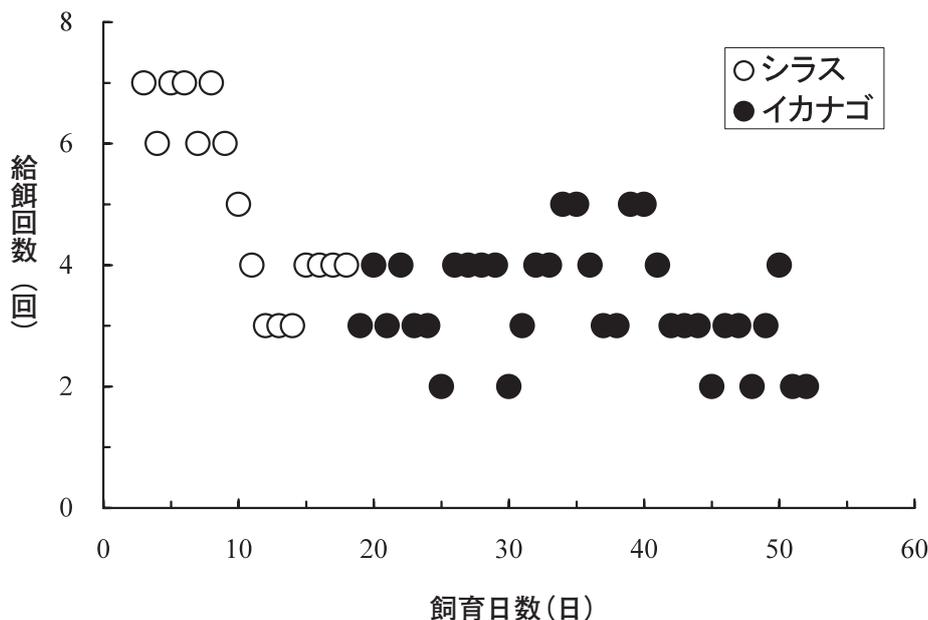


図1 試験期間中の給餌回数

## 結果と考察

**稚魚の成長の推定** 死亡した稚魚の全長 ( $y$ , mm) と飼育日数 ( $x$ ) の関係は,

シラス給餌期間 (日齢39~53):  $y = 3.1x + 57.5$  ( $r=0.85$ ,  $n=23$ ),

イカナゴ給餌期間 (日齢54~88):  $y = 4.7x + 30.4$  ( $r=0.95$ ,  $n=61$ )

で示せた。また、体重 ( $w$ , g) と全長 ( $y$ , mm) の関係は,

$$w = 3.9 \times 10^{-5} y^{3.2} \quad (r=0.99, n=52)$$

で示せた。3式の相関は統計的に有意 ( $p<0.01$ ) であり、生残する稚魚の全長および体重の推定にはこれらの式を用いた。

**シラス給餌期間中の適正給餌回数** 推定全長66.8

~113.1mm, 推定体重3.2~17.5gの稚魚にシラスを1日に3~7回給餌した場合、1日の1回目の摂餌率は前日の給餌回数に影響され、前日の給餌回数を多くすると翌日の摂餌量が少なくなる結果が示された ( $p<0.05$ , 図2)。一方、1回目の摂餌率と前日の最後の給餌からの経過時間の関係には相関が認められ ( $p<0.05$ , 図3), 前日の給餌時刻が遅いほど、翌日の1回目の摂餌率が低下することが分かった。

しかし、1日の給餌回数が5~7回の場合を除外した、3回と4回だけの場合、1回目の摂餌率と前日の給餌回数には有意な関係は認められず ( $r=0.220$ ,  $n=8$ ), 前日の給餌回数は翌日の摂餌率に影響しなかった。この時、3回と4回の日平均摂餌率はそれぞれ、69.3%と87.5%で、有意差 ( $p<0.05$ ) が認められ、シラスの給餌は4回/日が適正給餌回数と考えられた。

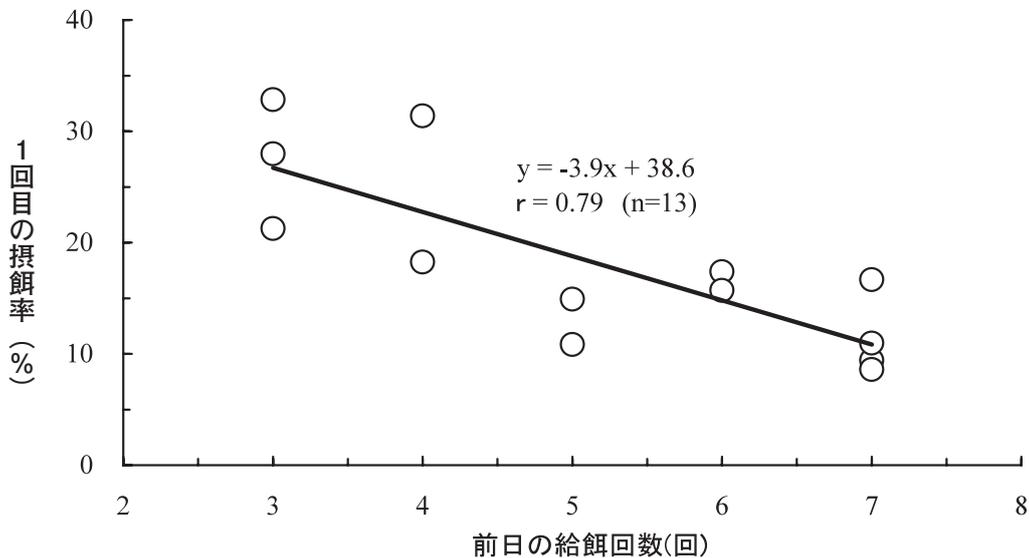


図2 シラス給餌期間中の前日の給餌回数と翌日1回目の摂餌率の関係

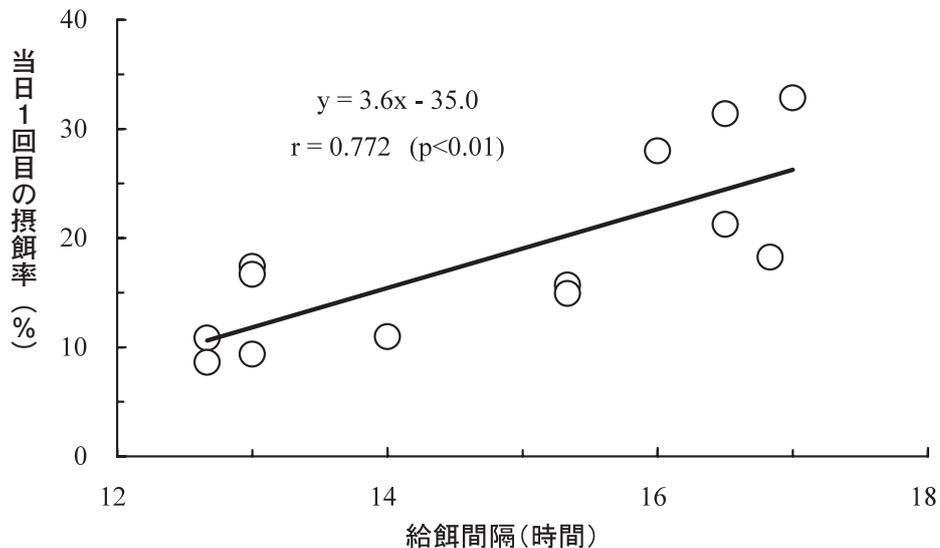


図3 シラス給餌期間中の前日の最後の給餌から翌日1回目の給餌間隔と摂餌率の関係

イカナゴ給餌期間中の適正給餌回数 推定全長119.3~273.8mm, 推定体重20.9~307.9gの稚魚にイカナゴを給餌した場合, 1日の1回目の摂餌率は前日の給餌回数に影響されなかった(図4)。1日当たりの給餌回数が2回および5回の場合の日平均摂餌率は, 3回および4回よりも有意に低下した( $p<0.05$ , 図5)ことから, イカナゴの適正給餌回数は3~4回/日と考えられた。

井上<sup>4)</sup>はブリ当歳魚にマアジを1~4回/日給餌した場合, 給餌回数が1回および4回では摂餌率と成長

率はともに給餌2~3回よりも低く, 成長に伴い給餌を3回以上に増やしても成長率は向上しないとしている。また, 荻野<sup>5)</sup>は2~4回/日の給餌では成長に顕著な差が見られないが, 1回の給餌では成長が低下している。本試験でも同様な傾向が示され, クロマグロでも成長に応じた適正給餌回数が明らかになった。

本調査では1群の稚魚群に対して1日の給餌回数を変化させる方法を用いた。今後, 複数の飼育群で給餌回数を変えた試験区を設定して, 同一水温で再度, 適

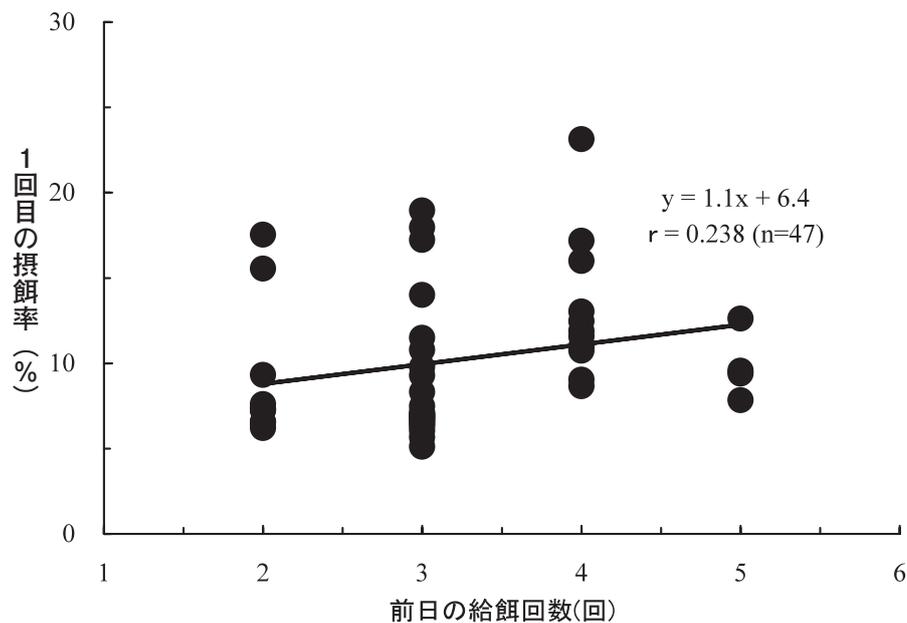


図4 イカナゴ給餌期間中の前日の給餌回数と翌日1回目の摂餌率の関係

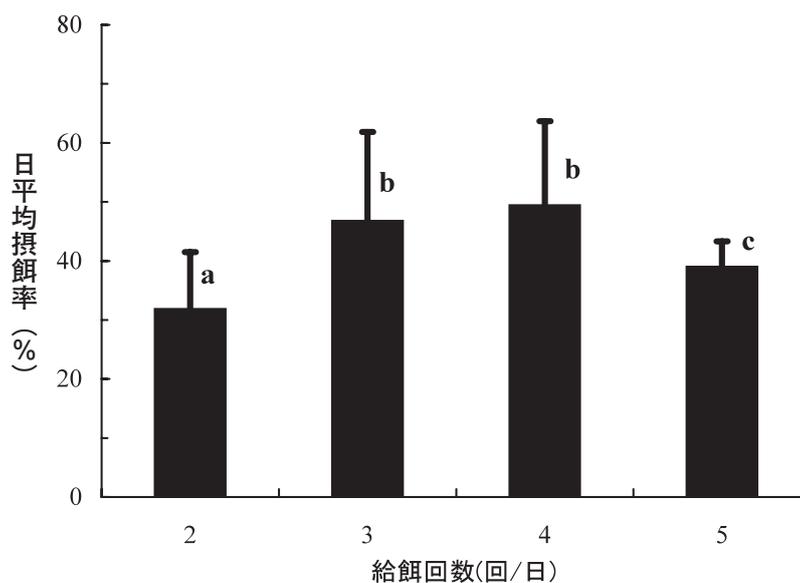


図5 イカナゴの給餌回数と日間摂餌率の関係 (異なる文字は有意差有り,  $p<0.05$ )

正給餌量等の検討を行う必要がある。

## 文 献

- 1) 熊井英水 (1998) クロマグロの人口ふ化飼育とその再生産に関する研究. 日本水産学会誌, **64**, 601-605.
- 2) 小磯雅彦 (1996) III-3 種苗生産技術の開発. K 新しい栽培種として期待される魚類, 10 クロマグロ. 日本栽培漁業協会事業年報, 平成 8 年度, 196-199.
- 3) 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) 八重山におけるクロマグロの撰餌と成長. 栽培技研, **20**, 35-40.
- 4) 井上裕雄 (1968) 養成, 2 給餌量と成長. 「養魚講座 4. ハマチ・カンパチ」(大島泰雄・稲葉伝三郎監修), 緑書房, 東京, 109-118.
- 5) 青江 弘 (1980) 給餌法, 給餌法と給餌回数, 5 ハマチ. 「魚類の栄養と飼料」(荻野珍吉編), 恒星社厚生閣, 東京, 314-315.

## シロクラベラの採卵と仔稚魚の飼育試験

浅見公雄, 與世田兼三  
(八重山栽培漁業センター)

沖縄県で3大高級魚の一つとされるシロクラベラ *Choerodon shoenleinii* は, ベラ科イラ属に属する。沖縄本島以南から西部太平洋のサンゴ礁海域に生息し, 全長1mにも達する大型魚である。

八重山栽培漁業センターでは, 2000年から本種の採卵と種苗生産技術の開発に着手し, 2001年に世界で初めての自然産卵と, 得られた受精卵からの種苗生産に成功した。本報では, 2001~2003年に行った採卵と飼育試験の概要を報告する。

## 材料と方法

**親魚の活け込みと養成方法** 2000年6月28日~10月29日に追い込み網漁で漁獲された36尾を親魚として, 屋内八角型コンクリート製110kℓ水槽2面に活け込んだ。親魚の大きさは, 平均全長45.4cm (29.5~68.5cm), 平均体重2.2kg (0.5~6.4kg) であった。

収容した親魚には, 冷凍アジの切身と活アサリで餌付けを行い, 餌付き後は冷凍アサリを主体としたモイストペレットを与えた。給餌量は魚体重の2%を基準として, 2002年8月25日まではモイストペレットを週4回, 殻付の冷凍アサリを週1回, いずれも午前10時頃に与えた。8月26日以降は, 給餌量を魚体重の4%とし, ビタミン剤(給餌量の5%)を添加した冷凍マアジと冷凍マツイカの切身(1:1)を週3回, 殻付冷凍アサリを週2回与えた。親魚の成長の測定と淡

水浴を兼ねた水槽替えは, 月1回行った。

**成熟および産卵試験** 産卵試験は110kℓ水槽を用いて行った。本試験での雌雄の判別は, Ebisawa *et al.*<sup>1)</sup>に従い全長と体色で区分した。すなわち, 雌は45cm以下で全体が緑黄色個体, 雄は全長が55cm以上で全体が青色の個体, および間性個体は全長が45~60cmの範囲で青色と黄色を同時に有す個体とした。2001年は間性個体を性別不明魚とした。

2001~2003年の採卵試験区を表1に示した。2001年は親魚35尾を用い, 1月26日に1区(雄2尾, 雌12尾, 不明魚2尾)と2区(雄5尾, 雌11尾, 不明魚3尾)の2試験区に分けて収容した。

2002年は親魚21尾を用い, 2月14日に3区(雄1尾, 雌5尾), 4区(雄2尾, 雌5尾), および5区(雌1尾, 間性個体7尾)の3試験区を設けた。

2003年は, 試験前の1月23日と29日に, 親魚15尾について生検法による成熟度調査を行い, 生殖腺の発達状況から6区(雄1尾, 雌4尾:間性個体3尾)と7区(雄1尾, 雌6尾)の2試験区を設けた。ただし, 7区では精子の有無から雄と判断したが, 6区では精子を放出せず, 体色と大きさから雄と判断した。

**採卵** 採卵は, 水槽からの排水を水槽横の採卵水槽に設置したゴース地ネット(90×240×D80cm)で受けて集卵する方法で行った。得られた卵は, 容積法により浮上卵数と沈下卵数を求めた。

**初期飼育試験** 2001年の採卵試験で得られた7.3万

表1 シロクラベラの採卵試験に供した親魚の内訳と採卵結果

年	区分	供試親魚(尾)			全長(cm)			採卵期間 (月日)	採卵回数 (回)	総採卵数 (万粒)	浮上卵数 (万粒)	沈下卵数 (万粒)	ふ化仔魚数 (万尾)
		雄	雌	間性個体	雄	雌	間性個体						
2001	1	2	12	2	66.5 —	51.8 (40.0~55.5)	53.8 (52.0~56.0)	2001.3.31~4.8	7	21.3	9.8	11.5	7.3
	2	5	11	3	66.5 (66.0~68.0)	52.8 (42.0~55.5)	55.0 (52.0~56.0)	—	0	1	8.0	0	0
2002	3	1	5	0	66.5	48.0 (40.0~55.5)	—	2002.2.21~4.8	10	8.0	2.1	5.9	0
	4	2	5	0	66.5 (66.0~68.0)	48.0 (42.0~55.5)	—	2002.3.4~3.27	2	0.9	0	0.9	0
	5	0	1	7	—	48.0	56.0 (52.0~61.5)	—	0	0	0	0	0
2003	6	1	4	3	59.0	53.0 (48.5~57.0)	56.3 (52.0~61.5)	—	0	0	0	0	0
	7	1	6	0	56.0	57.0 (45.5~61.5)	—	2003.2.21~5.15	11	28.6	6.1	22.5	1.7

尾のふ化仔魚を用いて、初期飼育試験を実施した（表2）。飼育には500ℓ黒色ポリエチレン水槽を用い、試験水槽上面は寒冷紗で遮光した。餌料系列はスジアラの飼育方法<sup>2)</sup>に準じ、日齢3～5はS型ワムシタイ株（平均背甲長130μm）を、日齢6～30まではS型ワムシ（平均背甲長160μm）を与えた。ワムシは給餌前にスーパー生クロレラV12（クロレラ工業）で15～24時間の栄養強化を行った。また、日齢15～34まで、ドコサ65E（秋田十條化成株式会社）で15～24時間栄養強化したアルテミアノープリウスを与えた。なお、飼育途中で仔魚を取り揚げ、以下の水温試験に供した。

**水温試験** 初期飼育試験で、日齢20と21に取り揚げた平均全長6.1mmの稚魚と、日齢27と34に取り揚げた平均全長9.2mmの稚魚を用いて水温試験を行った（表3）。試験区は、サイズごとに自然水温26.4℃（24.5～28.2℃）で飼育する区（自然水温区）と、28℃での加温飼育区（28℃区）をそれぞれ2水槽ずつ設定した。

飼育には500ℓ黒色ポリエチレン水槽を用い、28℃加温区は500Wの投げ込み式ヒーターで設定水温を維持した。餌料には、ドコサ65Eで15～24時間栄養強化したアルテミアノープリウスと配合飼料を用い、後者は自動給餌機を用いて30分間隔で魚体重の30%程度を給餌した。

**餌料試験** 初期餌料として日齢0～15に与える適正な餌料サイズを検討するため、サイズの異なるS型ワムシタイ株（タイワムシ区）とS型ワムシ（Sワムシ区）をそれぞれ単独で給餌する試験区を2区ずつ設けた（表4）。試験には、2003年の採卵試験で得られた1.3万尾のふ化仔魚を用い、500ℓ黒色ポリエチレン水槽4面に収容した。飼育期間は日齢3～15、飼育条件は水温26℃（500Wヒーター使用）、換水率50%/日、自然光下とした。

ワムシは、いずれも給餌前にスーパー生クロレラV12で15～24時間の栄養強化を行った。給餌は両試験

表2 採卵試験で得られた卵を用いたシロクラベラの初期飼育試験結果の概要（2001年）

水 槽	収 容			飼 育		取 り 揚 げ				
	型	容量 (kl)	月日	尾数 (万尾)	水温 (℃)	主な餌の種類	月日	飼育日数	尾数 (尾)	平均全長 (mm)
円型	0.5	3.31	2.5	23.8 (22.4～25.0)	タイ・Sワムシ アルテミア	4.27	27	171	8.5 (6.2～9.1)	0.7
円型	0.5	4.2	1.1	24.5 (22.7～25.9)	タイ・Sワムシ アルテミア	5.6	34	3,896	9.4 (8.5～10.4)	35.4
円型	0.5	4.4	1.5	25.2 (24.4～26.8)	タイ・Sワムシ アルテミア	5.1	27	242	7.2 (6.1～8.2)	1.6
円型	0.5	4.6	0.7	23.9 (22.7～25.0)	タイ・Sワムシ アルテミア	4.26	20	30	6.5 (4.6～6.8)	0.4
円型	0.5	4.8	1.5	24.7 (22.7～25.9)	タイ・Sワムシ アルテミア	4.29	21	2,448	6.1 (4.6～6.9)	16.3
小計			7.3					6,787		

表3 異なるサイズで実施したシロクラベラ水温試験結果の概要（2001年）

試験区分	水 槽		収 容		飼 育		取 り 揚 げ					
	型	容量 (kl)	月日	尾数 (尾)	平均全長 (mm)	水温 (℃)	主な餌の種類	月日	試験期間	尾数 (尾)	平均全長 (mm)	生残率 (%)
1 (自然水温区)	円型	0.5	5.1	1,231	6.1 (4.6～6.9)	26.4 (24.5～28.5)	アルテミア 配合飼料	6.21	52	491	27.7 (20.5～33.9)	39.9
2 (28℃加温区)	円型	0.5	5.1	1,231	6.1 (4.6～6.9)	28.0 (27.3～28.5)	アルテミア 配合飼料	6.21	52	802	30.5 (20.7～41.2)	65.1
3 (自然水温区)	円型	0.5	5.1	1,120	9.2 (6.1～10.4)	26.4 (24.5～28.5)	アルテミア 配合飼料	6.21	44	991	28.8 (22.3～37.3)	88.5
4 (28℃加温区)	円型	0.5	5.1	1,120	9.2 (6.1～10.4)	28.0 (27.3～28.5)	アルテミア 配合飼料	6.21	44	770	28.0 (20.6～36.6)	68.8
合計				4,702						3,054		

表4 サイズの異なるワムシを用いたシロクラベラ餌料試験結果の概要 (2003年)

試験区分	水槽		収容		飼育水温		取り揚げ			
	型	容量 (kl)	月日	尾数 (尾)	(°C)	月日	試験期間	尾数 (尾)	平均全長 (mm)	生残率 (%)
1 (タイワムシ)	円型	0.5	5.12	3,420	26.0 (25.9~28.0)	5.26	15	1,715	5.8 (4.5~6.9)	50.1
2 (タイワムシ)	円型	0.5	5.12	3,180	26.0 (25.9~28.0)	5.26	15	1,926	6.1 (4.9~7.1)	60.6
小計				6,600				3,641	6.0	55.2
3 (S型ワムシ)	円型	0.5	5.12	3,060	26.0 (25.9~28.0)	5.26	15	2,840	7.0 (6.3~7.7)	92.8
4 (S型ワムシ)	円型	0.5	5.12	3,120	26.0 (25.9~28.0)	5.26	15	2,181	7.4 (6.7~8.0)	69.9
小計				6,180				5,021	7.2	81.2

表5 採卵試験で得られた卵を用いたシロクラベラ種苗生産試験結果の概要 (2003年)

水槽		収容		飼育			取り揚げ			
型	容量 (kl)	月日	尾数 (万尾)	水温 (°C)	主な餌の種類	月日	飼育日数	尾数 (尾)	平均全長 (mm)	生残率 (%)
円型	0.5	4.2	0.36	25.2 (23.8~27.0)	タイ・Sワムシ アルテミア 配合飼料	7.1	90	716	34.9 (24.2~44.0)	19.9

区とも10時と15時の2回、飼育水中のワムシ密度10個体/mlを基準に1日2回与えた。また、飼育水には、スーパー生クロレラ V12を50万細胞/mlの基準で9時と16時の1日2回添加した。

飼育環境として、水温、溶存酸素、pHおよび照度を9時と15時の2回測定した。また、仔魚の全長、摂餌率、および消化管中のワムシ数は10時と15時の2回調べた。なお、消化管中のワムシについては咀嚼器の数のみを計数した。生残尾数は、日齢3、6および10は夜間に柱状サンプリングで、また試験終了時は全数計数で算出した。両試験区の平均摂餌数と成長の差異についてはt検定で統計処理を行った。

**種苗生産試験** 2003年の採卵試験で得られたふ化仔魚3,600尾を用い、500ℓ黒色ポリエチレン水槽で種苗生産を目的とした長期の飼育試験を行った(表5)。日齢30までの飼育方法は上述した初期飼育試験に準じ、日齢24(平均全長8.5mm)からは粒径250μmの配合飼料(協和発酵)を併用給餌した。配合飼料の粒径は、仔魚の成長に合わせて適宜大きくした。

## 結果と考察

**親魚養成と採卵** 各年度の採卵結果の概要を表1に示した。

2001年の試験では、3月31日に初めて1区で自然産

卵が確認され、4月8日までの9日間に7回(内2回は沈下卵のみ)採卵し、総採卵数21.3万粒、受精卵数9.8万粒を得た。卵は球形の分離浮性卵で平均卵径は1.10mm(1.06~1.16mm)、平均油球径は0.20mm(0.22~0.27mm)であった。産卵は、飼育水温が21~24°Cの範囲で行われ、天然魚の産卵時期<sup>1)</sup>と良く一致した。

2002年の産卵は、3区で10回、4区で2回行われたが、5区では確認できなかった。3区からは8.0万粒(浮上卵2.1万粒)、4区では0.8万粒(浮上卵なし)を採卵したが、両区とも正常発生卵は得られなかった。この原因として、体色と大きさでは雌雄の判別が不十分であり、これが産卵結果に影響したと考えられた。産卵時の水温は、前年同様に21~24°Cの範囲であった。

試験終了時に生検法で生殖腺の発達状況を調べたところ、体色と大きさから雄と判別した個体では、いずれも生殖孔が小さく性別を特定できなかった。また5区では、間性個体と判定した7尾中5尾から、卵黄体期から第3次卵黄球期までの卵巣卵が採取され、雌であることが明らかになった。このため、Ebisawa *et al.*<sup>1)</sup>が調べた天然魚とは異なり、長期育成した個体では体色と大きさから雌雄を判別できないことが分かり、2003年は生検法で雌雄を判別した。

2003年の生検法で成熟度を調査した2試験区では、生検法で確実に雄と判断した7区のみで2月21日~5月15日に11回の産卵が見られ、合計28.6万粒を採卵し

た。しかし、受精卵が得られたのは4月1日と5月11日の2回だけで、採卵数はそれぞれ1.0万粒と3.5万粒であった。一方、生検法では判別できず体色と大きさから雄と判断した6区では全く採卵できず、産卵には確実に精子を放出する雄の収容が極めて重要であると考えられた。産卵時の水温は21℃～26℃の範囲にあり、産卵末期の水温は例年より高かった。

**初期飼育試験** 試験結果の概要を表2に示した。ふ化仔魚7.3万尾（ふ化率74.5%）を用いて5例の初期飼育試験を行い、平均全長6.1～9.4mm（日齢20～34）の種苗6,787尾を取り揚げた。いずれの飼育試験でも、日齢4まで大きな減耗が認められた（図1）。これは、試験水槽上面を寒冷紗で覆い、さらに飼育水中のスーパー生クロレラ密度の影響で水中照度が500lx以下に低下したことで、仔魚の摂餌が不良となったことが原因の一つと考えられた。

**水温試験** 水温試験の結果を表3に示した。飼育水温の違いによる仔魚の成長は、平均全長6.1mmで飼育を開始した試験では、28℃区が自然水温区よりも優れていたが、平均全長9.2mmからの開始では、自然水温区と28℃区で顕著な差は認められず、本種では早期に加温を開始することが成長に有効である結果が示された。一方、生残率を見ると、全長6.1mmからの試験では52日間の飼育で自然水温区が39.9%、28℃区が65.1%、また全長9.2mmからの試験では44日間の飼育でそれぞれ88.5%と68.8%となり、今回の試験では飼育開始時のサイズを変えても飼育水温は生残率に

影響しなかった。本種の適正な飼育水温条件については、安定的にふ化仔魚が得られた時点で再検討する。

**餌料試験** 餌料試験の結果を表4に示した。取り揚げ時の平均全長は、Sワムシ区で7.2mm（6.3～8.0mm）、タイワムシ区で6.0mm（4.5～7.1mm）、また平均生残率はそれぞれ81.2%と55.2%であった。仔魚の摂餌状況を観察すると、日齢2の17時30分に100%の個体が開口し、Sワムシ区とタイワムシ区ともに日齢3の6～10時までは全く摂餌が観察されなかったが、11時には100%の個体で摂餌を確認した。両試験区の日齢3から試験終了までの1日当りの平均摂餌数を見ると（図2）、Sワムシがタイワムシよりも有意（ $p<0.05$ ）に多く摂餌される傾向が認められた。試験期間中の両区の成長は（図3）、Sワムシ区がタイワムシ区よりも有意（ $p<0.05$ ）に大きく、また、試験終了時の平均生残率も、Sワムシ区が81.2%とタイワムシ区（55.2%）より高くなった（表4）。日齢3～5のスジアラ仔魚では、Sワムシよりサイズの小さいタイワムシを多く摂餌していたが<sup>3)</sup>、シロクラベラでは、成長と生残の両面で飼育初期からSワムシの給餌が有効であることが判明した。

**種苗生産試験** 種苗生産試験では（表5）、90日間の飼育で平均全長34.9mmの種苗716尾（生残率19.9%）を取り揚げた。生残状況は、初期飼育試験と同様に日齢4まで顕著な減耗が認められた。減耗は日齢20まで続いたが、日齢20以降の生残は安定した（図4）。

**仔稚魚の形態と行動の変化** 種苗生産試験の過程

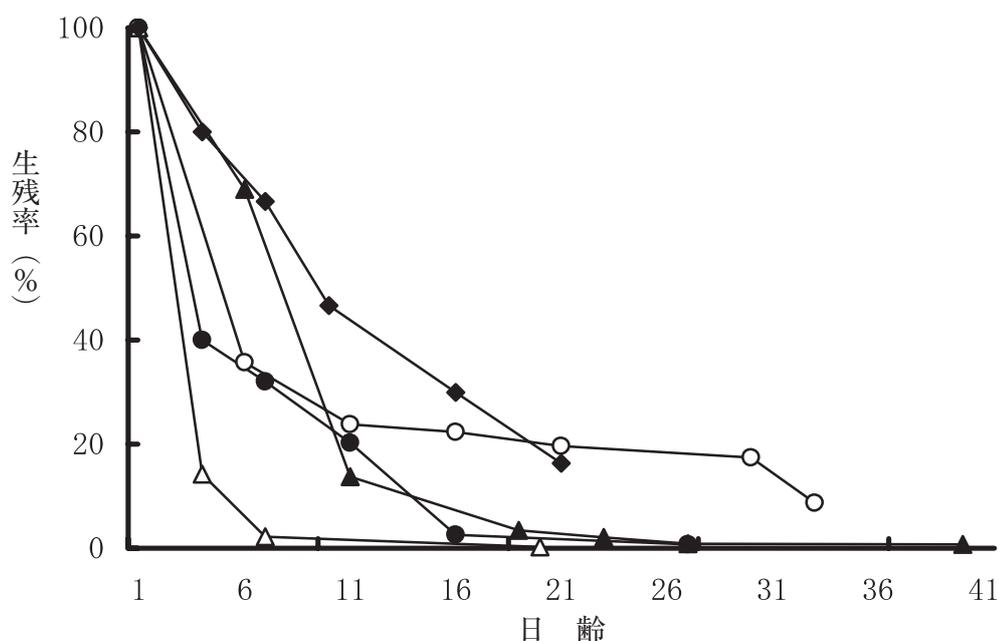


図1 シロクラベラの初期飼育における生残率の推移（2001年）

● 1回次 ○ 2回次 ▲ 3回次 △ 4回次 ◆ 5回次

で、シロクラベラ仔稚魚の形態と行動を観察した。ふ化直後の全長は3.67mm、卵黄は吻端より突出せず油球径は0.20mm、筋節数は26本で体幹部には黒色素胞

は認められなかった。日齢2（全長3.81mm）に開口し、日齢3（全長3.86mm）に初回摂餌が観察され、点状の黒色素胞が腹側部の中央に3個出現した。日齢5（全

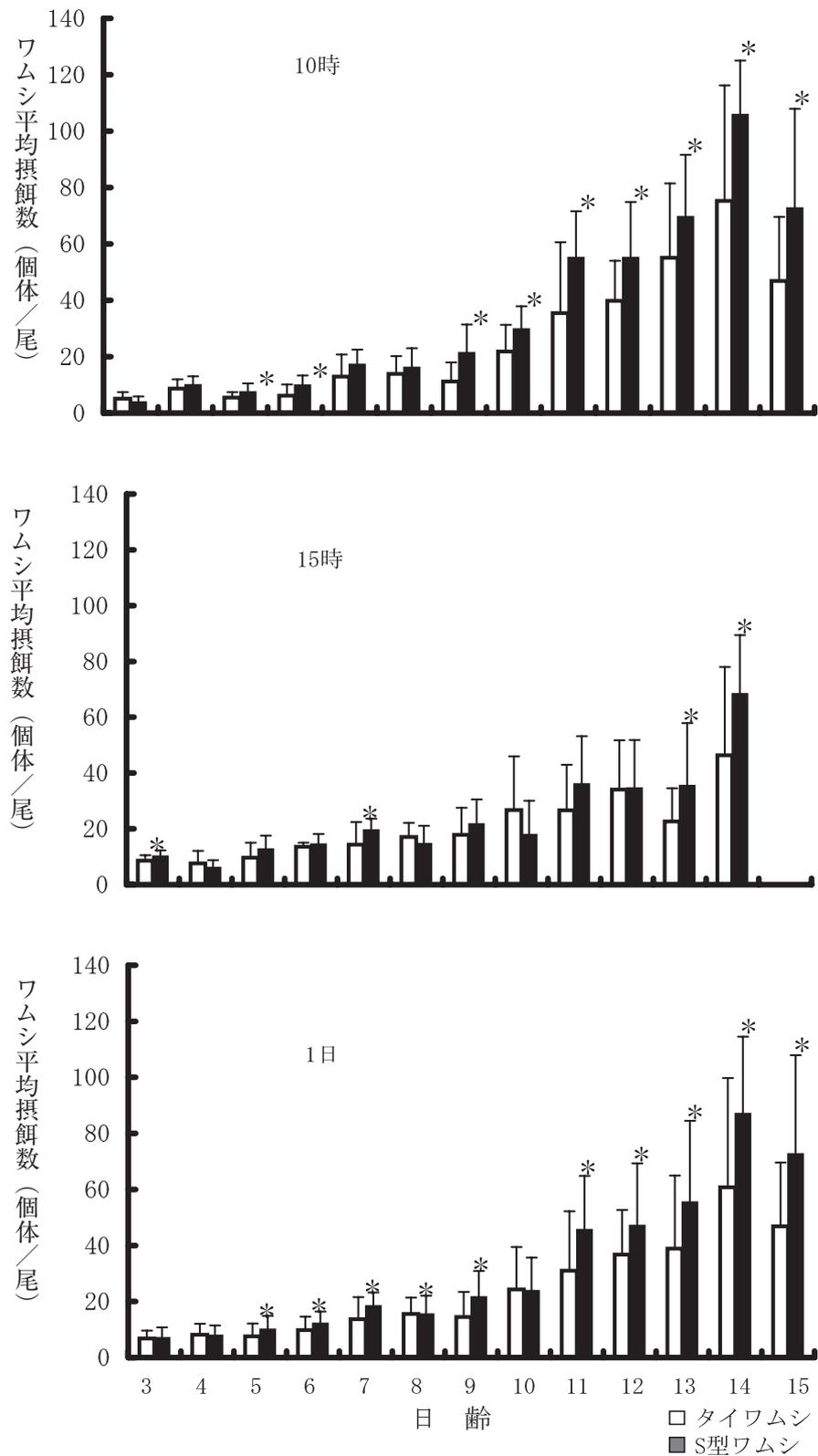


図2 サイズの異なるワムシを与えたシロクラベラ仔魚の平均摂餌数の比較

\*, 有意差あり ( $p < 0.05$ )

長3.72mm)には黒色素胞は腹側部と体幹部の中央部に散在し、日齢10の全長は4.21mmであった。脊索末端の屈曲と尾鰭の分化は、日齢20(全長6.73mm)に認められた。日齢30(全長10.3mm)には鰭条は定数に達し、体幹部には5本の弱い横縞を有し、この前後から群を形成してキンランなどの人工海藻に隠れる習性を示したことから、この時期に仔魚期から稚魚期へ移行するものと考えられた。日齢35(全長11.3mm)には、体幹部の5本の横縞は明瞭になり、体高が高くなった。日齢50(全長18.8mm)では、体幹部の横縞は消失して斑模様の不規則な黒色素胞が散在し、背鰭に2本、尾鰭には1本の強い黒色素叢が認められた。

藻場に生息することが知られているシロクラベラの仔稚魚は<sup>4)</sup>、水槽内でも1ヶ所にかたまる行動や換水用のネットなどに着く習性が観察され、行動の変化は

体幹部に現れる黒色素叢の出現と一致した。日齢44(全長14.7mm)頃には、投入した人工海藻(キンラン、植毛板)に直ぐに隠れる行動が観察されたことから、全長15mm前後には藻場などの基質に着く行動を示すようになると考えられ、小型サイズでの種苗放流の可能性が見出された。また、本種は群れで行動し、魚食性魚類で顕著に観察される共食いは観察されなかった。したがって、単独行動を行う魚種よりも追跡調査が容易であると考えられ、亜熱帯や熱帯海域における放流用あるいは養殖用種苗として大いに期待される。

## 文 献

- 1) Ebisawa, T., Kanasiro, K., Kyan, T., Motonaga, F (1995) Aspects of reproduction and sexuality

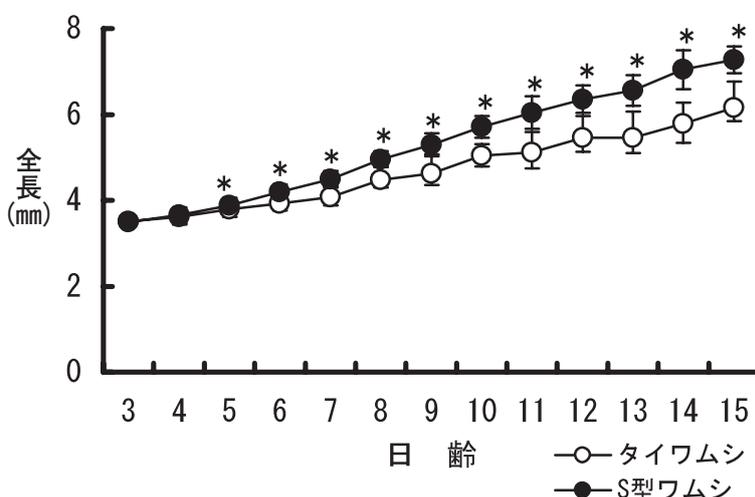


図3 サイズの異なるワムシを与えたシロクラベラ仔魚の成長の比較  
\*, 有意差あり ( $p < 0.05$ )

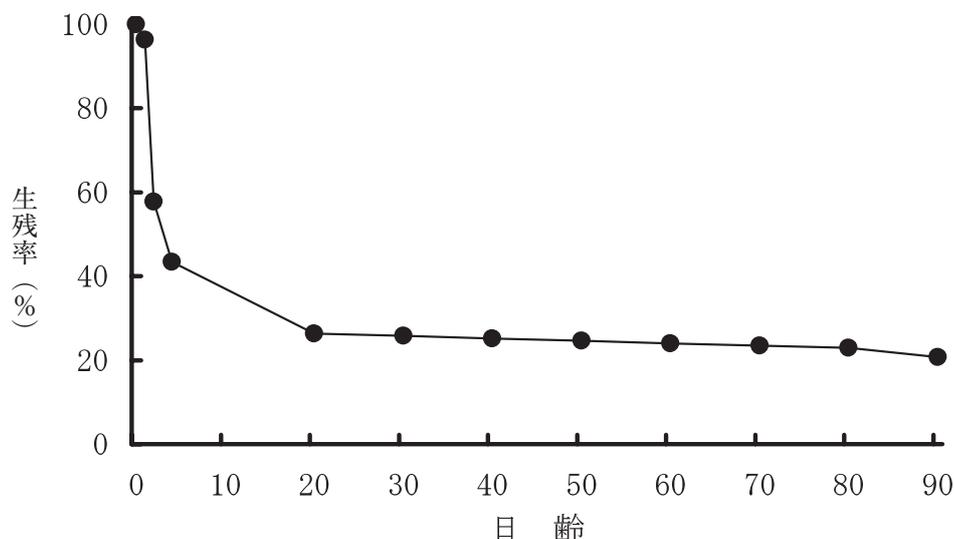


図4 シロクラベラ種苗生産試験の生残率の推移 (2003年)

- in the black-spot tuskfish, *Choerodon shoenleinii*. *Japan. J. Ichthyol.* **42**, 121-130.
- 2) 與世田兼三・團 重樹・藤井あや・黒川優子・川合真一郎 (2003) 異なった日周条件がスジアラ仔魚の初期摂餌, 初期生残および消化酵素活性に及ぼす影響. *水産増殖*, **51**, 179-188.
  - 3) 與世田兼三・浅見公雄・福本麻衣子・高井良幸・黒川優子・川合真一郎 (2003) サイズの異なる2タイプのワムシがスジアラ仔魚の初期摂餌と初期生残に及ぼす影響. *水産増殖*, **51**, 101-108.
  - 4) 金城清昭 (1998) 沖縄県海草藻場に着底するシロクラベラ *Choerodon shoenleinii* 仔稚魚の形態および成長にともなう分布と食性の変化. *日本水誌*, **64**, 427-434.

## シオミズツボワムシの培養における淡水クロレラの適正な餌料密度の検討

小磯雅彦・桑田 博  
(能登島栽培漁業センター)

海産ワムシ類の大量培養における餌料として、従来からナンノクロロプシス *Nannochloropsis oculata* とパン酵母が主に用いられてきたが<sup>1)</sup>、1990年代以降ではビタミン B<sub>12</sub>を強化した濃縮淡水クロレラ *Chlorella vulgaris* (以下、クロレラ) が開発され<sup>2)</sup>、急速に普及した。この理由として、ナンノクロロプシスでは大量培養に大きな施設と労力が必要であることや、パン酵母ではワムシ培養が不安定になりやすいことなどの問題がある。それに対して、クロレラはナンノクロロプシスと同等以上の増殖が得られ<sup>2,3)</sup>、かつ入手が簡単で、餌料としての品質が安定していることなどの利点がある。しかしながら、過去の研究で海産クロレラと記述されているものはナンノクロロプシスである可能性が高いため<sup>4)</sup>、これらの知見をクロレラに適用することはできない。一方、クロレラに関する知見としてはビタミン B<sub>12</sub>の添加効果の研究<sup>2,3)</sup>のみがあるが、ワムシ培養において適正な餌料密度を把握することは、過剰な給餌によって生じる様々な増殖阻害要因、ならびに餌不足などを排除することができるため非常に重要である。

本研究では、シオミズツボワムシ *Brachionus plicatilis* (以下、ワムシ) の培養におけるクロレラの適正な餌料密度を検討するため、異なるクロレラ密度でふ化ワムシを個別別に培養し、ワムシの生残率ならびに発達速度や産卵間隔などの生活史特性値を調べた。

## 材料と方法

**供試ワムシ** ワムシは、能登島栽培漁業センターで5年間以上継代培養している“L型ワムシ近大株”(携卵個体の平均背甲長:  $271 \pm 14 \mu\text{m}$ )を用いた。なお、試験に用いたワムシは、500 l 水槽を用いて培養水温が25℃、塩分が20psuの海水で植え継ぎ式培養を行い、培養4日目の増殖期のワムシ個体群から卵を分離してふ化させ、ふ化後2時間以内の仔虫(以下、ふ化ワムシ)を用いた。

**ふ化ワムシの採取方法** ワムシ虫体から卵を外すために、収穫したワムシ濃縮液を家庭用ミキサーで約10秒間攪拌した。攪拌したワムシ濃縮液を50ml容のシャーレに流し込み、1分間程度放置してから上澄み液を捨てて新たな海水を加える作業を5回繰り返した。そ

の後、シャーレの底面に沈んだ卵をパスツールピペットで採取した。ふ化ワムシの採取は、採取した卵を水温25℃、塩分20psuの海水を入れたシャーレに収容し、このシャーレを25℃に調温した恒温器内に2時間放置して行った。

**異なるクロレラ密度での個別別培養実試験** 餌料には、市販のクロレラ(生クロレラ V12, クロレラ工業: 密度約  $150 \times 10^8$  細胞/ml)を用いた。クロレラ密度は、1, 2, 5, 10, 20, 30および  $40 \times 10^6$  細胞/mlの7段階とした。個別別培養は、それぞれのクロレラ密度に調整した20psu 海水をマイクロプレート(24穴用)の1穴に1mlずつ入れ、その中にふ化ワムシを1個体ずつ収容して行った。クロレラ密度ごとに48個体を供試した。マイクロプレートは、25℃に調温した恒温器内のマイクロプレートシェーカー(IKA, MTS-4)の上で回転数50rpmで攪拌した。なお、クロレラ密度の減少や品質悪化を防止するために、開始24時間後にそれぞれのクロレラ密度に調整したマイクロプレートにワムシをパスツールピペットで移し替えた。試験開始から60時間後まで3時間ごとに実体顕微鏡下で観察を行い、ワムシの生残率と「ふ化から初産卵までの時間」、「第1卵から第2卵までの産卵間隔」、および「産出卵のふ化時間」の生活史特性値を調べた。

**統計処理** 調査した生活史特性値における平均値の差の検定は、Kruskal-Wallis 検定により有意水準5%で行った。検定結果が有意であった場合は、Sheffe' s 検定により多重比較を行った。

## 結 果

**生残率** 試験開始から60時間後までのワムシの生残率の推移を図1に示した。開始3時間後の生残率は、 $1 \times 10^6$  細胞/ml区~ $20 \times 10^6$  細胞/ml区では97.3~100.0%であったが、それ以上のクロレラ密度では死亡個体が認められ、 $30 \times 10^6$  細胞/ml区では89.6%、 $40 \times 10^6$  細胞/ml区では75.0%と低下した(図1)。その後は大きな変動は認められず、開始60時間後の生残率は、 $1 \times 10^6$  細胞/ml区~ $20 \times 10^6$  細胞/ml区では90%以上となり、 $30 \times 10^6$  細胞/ml区では83.3%、 $40 \times 10^6$  細胞/ml区では68.8%となった(図1)。

**生活史特性値** 異なるクロレラ密度で培養したワムシの生活史特性値を図2に示した。生残した個体は

すべてが産卵し、ふ化から初産卵までの時間は、 $1 \times 10^6$  細胞 / ml 区の 29.1 時間に対して、 $2 \sim 40 \times 10^6$  細胞 / ml 区では 23.3~24.4 時間となり、 $1 \times 10^6$  細胞 / ml 区は他の区に比べて有意に長くなった ( $p < 0.001$ , 図 2)。産卵間隔は、 $1 \times 10^6$  細胞 / ml 区が 6.7 時間、 $2 \times 10^6$  細胞 / ml 区が 5.9 時間、 $5 \sim 30 \times 10^6$  細胞 / ml 区が 5.0~5.4 時間、および  $40 \times 10^6$  細胞 / ml 区が 6.1 時間となり、 $1 \times 10^6$  細胞 / ml 区と  $5 \sim 30 \times 10^6$  細胞 / ml 区の間で有意

差が認められた ( $p < 0.05$ , 図 2)。産出卵のふ化時間は、すべての区が 14.3~15.3 時間の範囲にあり、試験区間で有意差は認められなかった (図 2)。

## 考 察

ワムシ培養におけるクロレラの適正な餌料密度を検討した結果、培養水温が 25℃、塩分が 20psu 海水の培

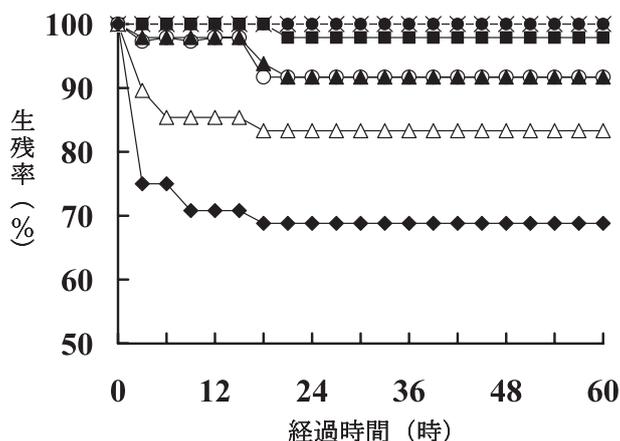


図 1 異なるクロレラ密度で培養したワムシの生残率

●,  $1 \times 10^6$  細胞 / ml ○,  $2 \times 10^6$  細胞 / ml ■,  $5 \times 10^6$  細胞 / ml ×,  $10 \times 10^6$  細胞 / ml  
▲,  $20 \times 10^6$  細胞 / ml △,  $30 \times 10^6$  細胞 / ml ◆,  $40 \times 10^6$  細胞 / ml

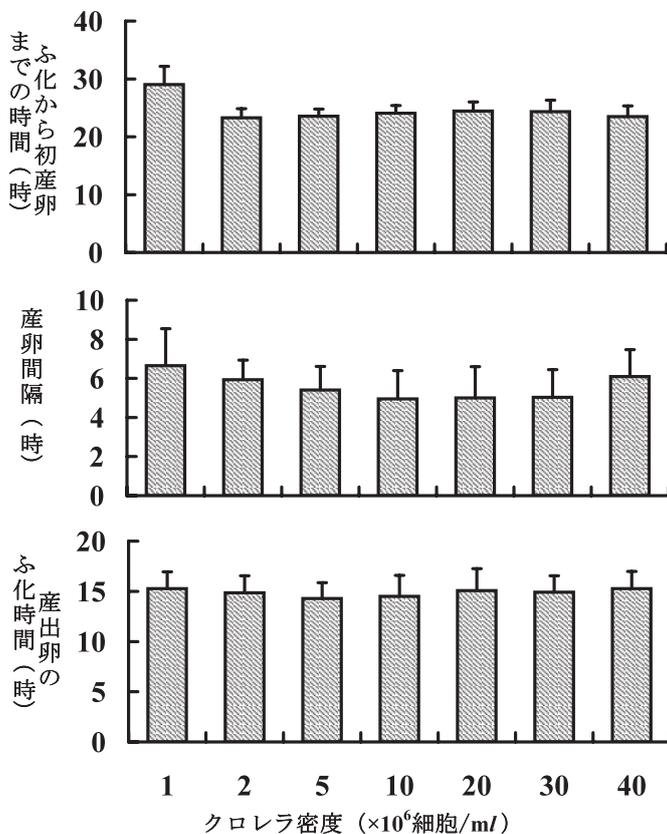


図 2 異なるクロレラ密度で培養したワムシの生活史特性値

養条件の場合、クロレラ密度が $1 \times 10^6$ 細胞/mlではふ化から初産卵までの時間や産卵間隔が長くなり(図2)、 $30 \times 10^6$ 細胞/ml以上ではふ化ワムシの生残率が低下した(図1)。これらのことから、ワムシが正常に増殖できるクロレラ密度は $2 \sim 20 \times 10^6$ 細胞/mlの範囲であった。適正なクロレラ密度は、クロレラ密度が低いほど培養水の悪化の原因となる残餌が減少し、かつ生産コストが安くなることから、 $2 \times 10^6$ 細胞/mlであると考えられた。

L型ワムシの適正な餌料密度について、海産クロレラ(ナンノクロロプシスと思われる)では、水温 $22^\circ\text{C}$ では $1.5 \times 10^6$ 細胞/ml<sup>5)</sup>、水温 $20^\circ\text{C}$ と $25^\circ\text{C}$ では $1.6 \times 10^6$ 細胞/mlと $1.8 \times 10^6$ 細胞/ml<sup>6)</sup>、水温 $23^\circ\text{C}$ では $1.5 \times 10^6$ 細胞/ml<sup>7)</sup>などとされている。*N. oculata*の直径が $2 \sim 4 \mu\text{m}$ に対して、*C. vulgaris*は $2 \sim 10 \mu\text{m}$ <sup>3)</sup>とやや大型であるが、今回得られたクロレラの適正な餌料密度の $2 \times 10^6$ 細胞/mlと比較しても、L型ワムシにおける海産クロレラの適正な餌料密度はほぼ同じであると考えられる。

ワムシの増殖は、クロレラ密度が $1 \times 10^6$ 細胞/mlと $30 \times 10^6$ 細胞/ml以上では劣ると考えられたため(図1, 2)、それらのクロレラ密度での増殖阻害要因について検討した。クロレラ密度 $1 \times 10^6$ 細胞/mlでは、ふ化ワムシの生残率への影響は認められなかったが、発達時間と産卵間隔が遅延したことや(図2)、クロレラ密度が適正なクロレラ密度の半分であることなどから、餌不足が生じたと考えられる。一方、 $30 \times 10^6$ 細胞/ml以上の密度では、発達時間と産卵間隔には影響が認められなかったが、ふ化ワムシの死亡率が高く、収容後3時間以内の死亡数が全死亡数の6割以上を占めた(図1)。高い餌料密度でのワムシの増殖阻害要因としては、直接的には、未消化のまま排出される擬糞の占める割合が多くなり増殖が低下すること<sup>6)</sup>、遊泳エネルギーコストが高くなり再生産能力が低下すること<sup>8)</sup>、摂餌過程で機械的な障害が起こること<sup>9)</sup>があり、二次的には、クロレラの添加量が多いほど溶存酸素濃度の低下が激しいこと<sup>10)</sup>などが報告されている。本試験での $30 \times 10^6$ 細胞/ml以上の密度では、ワムシが短時間で死亡していることから、高いクロレラ密度による直接的な悪影響よりは二次的に起こる溶存酸素濃度の低下の影響が疑われた。

ワムシ培養において適正な餌料密度が維持できれば、餌不足や高い餌料密度による直接的なワムシへの悪影響や、二次的に起こる溶存酸素濃度の低下などの増殖阻害要因を排除することができ、培養の安定性や効率性は向上すると考えられる。しかしながら、従来の植え継ぎ式や間引き式の培養法ではワムシ密度が経時的に変化し、それに応じた給餌量の経時的な調整

は困難と思われる。これに対して、一定のワムシ密度で培養する連続培養法<sup>11)</sup>では、より適正な餌料密度を維持しながら培養することが可能であると考えられる。

## 文 献

- 1) 藤田矢郎(1983) I-1. 種苗生産用生物餌料としての意義と問題点。「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」(日本水産学会編), 恒星社厚生閣, 東京, 9-21.
- 2) 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B<sub>12</sub>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.
- 3) Maruyama, I., T. Nakao, I. Shigeno, Y. Ando and K. Hirayama (1997) Application of unicellular algae *Chlorella vulgaris* for the mass-culture of marine rotifer *Brachionus*. *Hydrobiologia*, **358**, 133-138.
- 4) Maruyama, I., Nakamura, T., Matubayashi, and T. Maeda (1986) Identification of the algae known as "Marine Chlorella" as a member of the Eustigmatophyceae. *Japan J. Phycol.*, **34**, 319-325.
- 5) Hirayama, K., K. Watanabe, and T. Kusano (1973) Fundamental studies on physiology of rotifer for its mass culture - III. Influence of phytoplankton density on population growth. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **39**, 1123-1127.
- 6) 山崎繁久・平田八郎(1985) シオミズツボワムシ(*Brachionus plicatilis*)の摂餌率および増殖率に及ぼす給餌密度の影響. 水産増殖, **34**, 225-229.
- 7) 平山和次(1983) I5 増殖生理, 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, pp. 52-68.
- 8) Walz, N. (1993) Element of Energy Balance of *Brachionus angularis*, in "Plankton Regulation Dynamics". Springer-Verlag, Berlin, pp. 106-122.
- 9) Rothhaupt, K.O. (1993) Rotifers and continuous culture techniques, Model systems for testing mechanistic concepts of consumer-resource interactions, in "Plankton Regulation Dynamics". Springer - Verlag, Berlin, pp. 178-192.
- 10) 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. 日本誌, **60**, 207-213.

11) Fu, Y., A. Hada, T. Yamashita, and A. Hino

(1997) Development of a continuous culture system for stable mass production of the marine rotifer *Brachionus*. *Hydrobiologia*, **358**, 145-151.

## 放流時期がマツカワ放流魚の成長と生残に与える影響

森岡泰三・山本義久・福永恭平・鈴木重則・神保忠雄・錦 昭夫  
(厚岸栽培漁業センター)

種苗放流では、その放流に適した体サイズ、時期、場所、方法等を明らかにし、放流魚の成長、生残率を向上させる技術の開発が求められる。厚岸栽培漁業センターでは、厚岸湾をモデル海域としたマツカワ *Verasper moseri* の放流技術の開発に取り組んでおり、放流魚の成長と移動<sup>1)</sup>、食性<sup>2)</sup>、被食<sup>3,4)</sup>、底質選択性<sup>5)</sup>、水温・塩分濃度と成長・生残との関係<sup>6)</sup>、種間関係<sup>7)</sup>等に関する知見を得た。しかし、放流時期が放流魚の成長・生残に与える影響は不明であった。

今回の試験では、マツカワ人工種苗について、放流時期が放流後の成長・生残に与える影響と、放流後の摂餌状況および湖内の水温、餌環境を調査した。また、放流～翌春の成長速度や、その後の漁獲サイズを群間で比較するとともに、厚岸と釧路の市場調査で漁獲物に占める各放流群の割合を調べた。

### 材料と方法

**供試魚と放流群** 本調査に用いたマツカワは、2001年に当センターの同じ種苗生産過程で得られた群から選別した。種苗の放流は、図1に示す厚岸湖内の定点で2001年8月27日と9月17日、および10月10日に実施した（以下、8月群、9月群および10月群）。放流時の平均全長は、それぞれ6.9cm、7.2cm および7.1cm、放流尾数は3.0万尾、3.0万尾および3.8万尾であった(表1)。放流群を識別するための標識として、それぞれアリザリンコンプレクソン（以下、ALC）による1重、2重および3重の耳石標識を行った。

**放流当年の環境と摂餌調査** 放流当年の成育環境を把握するため、厚岸漁業協同組合が放流点付近に結氷期（12月末～翌年の3月）を除いてほぼ周年設置しているメモリー水温計の測定記録を用いて、7～12月

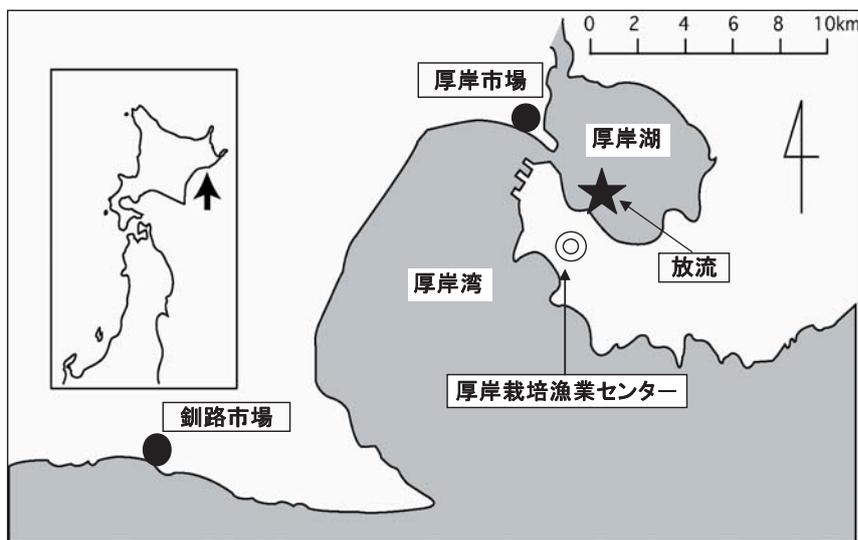


図1 マツカワの種苗放流実施海域

表1 マツカワの放流実施状況

放流群名	放流月日	放流尾数 (万尾)	平均全長 (cm)	ALC 標識
8月群	8月27日	3.0	6.9	1重
9月群	9月17日	3.0	7.2	2重
10月群	10月10日	3.8	7.1	3重

における1日の平均水温を把握した。また、網口30×30cm、目合0.5mmのソリネットを8月6日～10月18日にのべ10回、各5m曳網し、放流魚の主要餌生物<sup>2)</sup>として知られるアミ類の生息密度を把握した。一方、放流後2日間は、間口200×40cm、目合7mmのソリネットを300m曳網してマツカワを再捕し、胃内容物を調べて主要な摂餌生物を把握するとともに、摂餌率(胃内容物重量/魚体重×100)の平均値を群間で比較した。

**定置網での混獲調査** 放流～翌春の成長と生息状況を検討するため、放流した翌年の3月26日～4月13日に、厚岸沿岸の定置網に入網した若魚300尾を採集し、3群の平均全長を比較するとともに、群間の個体数組成を放流時と比較した。また、式①を用いて放流～再捕の日間成長速度(Daily growth speed: D.G.S, mm/日)を求め、群間で平均値を比較した。

$$D.G.S. = (TL2 - TL1) / (t2 - t1) \dots\dots\dots①$$

ここで、 $TL2$ は再捕時、 $TL1$ は放流時の全長(mm)を示す。 $t2 - t1$ は、放流～再捕までの日数(日)を示す。再捕魚の放流時の全長( $TL1$ )は、耳石のALC径を式②、③、④に代入して得た値を用いた。これらの直線回帰式は、放流当日に採集した各放流群100尾の測定値から算出した。なお、 $Y$ はALC径(mm)、 $X$ は全長(mm)を示す。

$$8 \text{ 月群} : Y = 0.0091X + 0.9299 \quad (r^2 = 0.73) \dots\dots\dots②$$

$$9 \text{ 月群} : Y = 0.0094X + 0.9253 \quad (r^2 = 0.70) \dots\dots\dots③$$

$$10 \text{ 月群} : Y = 0.0103X + 0.8753 \quad (r^2 = 0.79) \dots\dots\dots④$$

**放流魚の採集** 市場に水揚げされたマツカワの一部を標本として購入した。標本の採集では、放流魚の分布域全体の漁獲状況が反映される必要がある。外部標識放流魚の再捕結果<sup>1)</sup>から、厚岸湾で放流したマツカワは報告の88～100%が厚岸市場に集中していた。しかし、根室湾～えりも町のオホーツク・太平洋沿岸でも再捕が認められたことから<sup>1)</sup>、厚岸市場と釧路市場を調査対象とした。標本採集は、放流魚が漁獲サイズに達した2002年6月(1歳)から2003年11月まで実施した。購入したマツカワは、魚体測定後に耳石のALC標識の確認と輪紋による年齢査定を行った。

**魚市場における放流魚の水揚げ状況** 2002年9～11月に、厚岸市場と釧路市場に水揚げされたマツカワ放流魚の重量、尾数、金額を式④～⑨から推定した。なお、釧路市場の水揚げは、標本が購入できたししゃも桁曳き網漁に限定して調査した。なお、同漁業は2002年の地元水揚げ量の40%を占めている(釧路市漁業協同組合資料)。今回の計算では、魚の大きさによる単価は考慮せず一定とし、式の各パラメータの意味は表2に記載した。

$$\text{漁獲量} \quad Ci = C\_total \times c' ri \dots\dots\dots④$$

$$\text{漁獲尾数} \quad Mi = Ci / vi \dots\dots\dots⑤$$

$$\text{水揚げ金額} \quad Si = S\_total \times s' ri \dots\dots\dots⑥$$

ここで、

$$vi = c \times c' ri / mi \dots\dots\dots⑦$$

$$c' ri = c' i / \sum c' i \dots\dots\dots⑧$$

$$s' ri = s' i / \sum s' i \dots\dots\dots⑨$$

表2 放流効果の推定に用いたパラメーター一覧

パラメータ	パラメータの意味
$C\_total$	伝票を集計して得られた総重量(kg)
$S\_total$	伝票を集計して得られた総水揚げ金額(円)
$c$	伝票に記載された買い取り(=標本)魚の総重量(kg)
$i$	ある放流群の判別記号(例: ALC 1群の $i = 1$ , ALC 2群の $i = 2$ )
$mi$	ある放流群( $i$ )の標本数(尾)
$c' i$	ある放流群( $i$ )の標本総重量(kg, 精密測定値*1)
$c' ri$	ある放流群( $i$ )の標本重量比率(精密測定値*1)
$vi$	ある放流群( $i$ )の伝票上の1尾当たり平均重量(kg)
$s' i$	ある放流群( $i$ )の買い取り金額(円)
$s' ri$	ある放流群( $i$ )の買い取り金額の比率
$Ci$	ある放流群( $i$ )の水揚げ重量(kg)
$Mi$	ある放流群( $i$ )の水揚げ尾数(尾)
$Si$	ある放流群( $i$ )の水揚げ金額(円)

\*1 伝票に記載された重量に対し、研究室に持ち帰り秤量した重量を精密測定値とした。

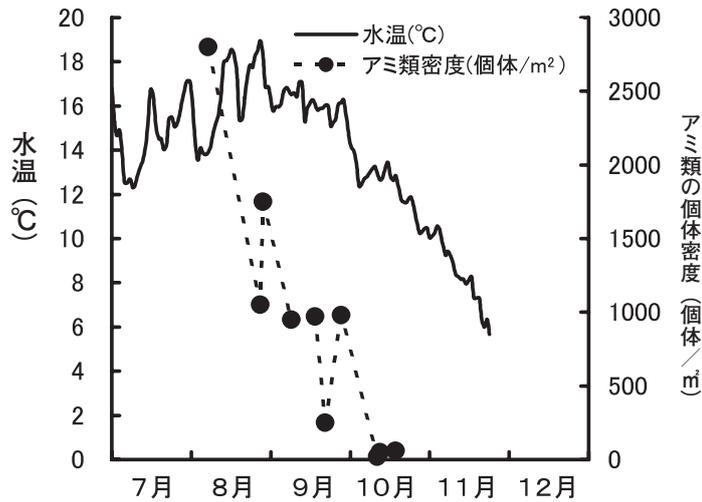


図2 放流点付近における放流当年の水温とアミ類の個体密度

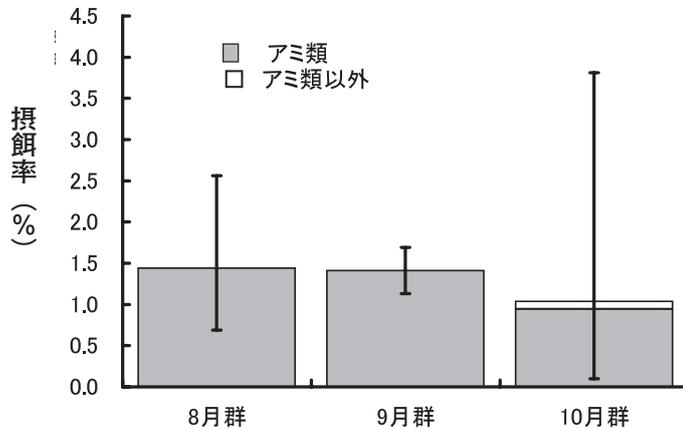


図3 放流点付近で再捕された各放流群の摂餌生物と摂餌率  
縦棒は摂餌率の範囲を示す。

3群間で摂餌率に有意差あり (クラスカルワリス検定,  $p < 0.05$ )

## 結 果

**放流当年の環境と摂餌状況** 放流点付近の水温とアミ類の生息密度は、いずれも夏期に高く秋以降に低下した(図2)。水温は8~9月が14~19°C、10月が12°C前後で、11月中旬以降は8°C以下に低下した。アミ類の生息密度は、8月上旬は約3,000個体/m<sup>2</sup>、8月下旬~9月は約1,000個体/m<sup>2</sup>、および10月は100個体/m<sup>2</sup>以下であった。

ソリネットで捕獲した放流魚の胃内容物は、アミ類が91~100%を占めた(図3)。各放流群の摂餌率は、平均で8月群1.44%、9月群1.41%および10月群1.04%であり、8月群と9月群が10月群に比べて大きく有意差が認められた(クラスカルワリス検定,  $p < 0.05$ ) (図3)。

**定置網での混獲状況** 厚岸沿岸の定置網での調査

で、水揚げされたマツカワに含まれる放流個体は、8月群184尾、9月群70尾および10月群40尾であり(表3)、放流時の個体数組成との間で有意差が認められた(Fisher,  $p < 0.05$ )。再捕魚の平均全長は、8月群115mm、9月群103mmおよび10月群89mm、また放流~再捕の日間成長速度はそれぞれ平均で0.22mm、0.13mmおよび0.08mmであった(表3)。これらの平均値には3群間で有意差が認められ(クラスカルワリス検定,  $p < 0.05$ )、放流時期が早い群ほど放流~翌春の成長が良い傾向が認められた。

**魚市場に水揚げされた放流魚** 厚岸市場で購入したマツカワは305尾で、その中に8月群139尾、9月群65尾および10月群58尾の再捕魚が含まれていた。また、100尾を購入した釧路市場では、再捕魚はそれぞれ30尾、19尾および4尾含まれていた。各市場とも、再捕時と放流時で個体数組成に有意差が認められ

(Fisher,  $p < 0.05$ ), 放流時期の早い群ほど再捕数が多くなった。平均全長は、各群とも2002年(1歳)の秋に20cmを超え、2003年(2歳)の10~11月には8月群39.2cm, 9月群37.0cm および10月群35.1cmに達し(図4), 群間で有意差が認められた(クラスカルワリス検定,  $p < 0.05$ )。

**放流魚の水揚げ状況** 2002年(1歳)の秋に、厚岸市場で17尾(伝票重量7.2kg, 測定重量7.74kg), 釧路市場で32尾(伝票重量8.7kg, 測定重量11.59kg)のマツカワを購入した。調査期間中の総漁獲量と金額は、厚岸市場が40.8kgと26,321円, 釧路市場(ししゃも桁曳き網に限定)が393.5kgと250,982円であり、これらから推定した各市場における放流魚の水揚げ量, 水揚げ尾数および水揚げ金額を表4に示した。釧路市場の水揚げ量は、厚岸市場よりも7倍以上大きかつ

た。厚岸で放流した3放流群は、厚岸市場の水揚げ量の95%, 釧路市場の69%を占めた。

## 考 察

今回の調査では、放流時期が早いほど放流してから翌年春までの成長が良く、この間の成長差が漁獲サイズに反映されている結果が示された。魚の成長速度には、種の特性や性別, 栄養状態, さらに水温, 餌料(摂餌), 塩分, 化学物質, 密度等といった様々な要因の関与が知られている。中でも水温と餌料環境が成長と生残に与える影響が大きく、場合によっては死に至る重要な要因である。

水温が本種の成長に与える影響は、20℃を上限として高水温ほど成長効率が増加し<sup>6)</sup>, 8℃以下では成

表3 放流翌春に厚岸沿岸の定置網で混獲された3群の個体数と全長、並びに放流~再捕の日間成長速度

	8月群	9月群	10月群
再捕尾数(尾)*1	184	70	40
全長(mm)*2	115.3±12.8	103.4±12.3	89.2±8.8
成長速度(mm/日)*2	0.22±0.06	0.13±0.07	0.08±0.05

\*1 放流時の個体数組成との間で有意差あり(Fisher,  $p < 0.05$ )

\*2 平均値±標準偏差。3群間で有意差あり(クラスカルワリス検定,  $p < 0.05$ )

表4 各放流群の1歳秋における厚岸と釧路市場の水揚げ状況

項目	厚岸市場			釧路市場(ししゃも桁曳き網に限定)				
	8月群	9月群	10月群	放流群計*1	8月群	9月群	10月群	放流群計*1
漁獲量(kg)	38.6	0	0	38.6(94.7)	215.9	47.5	9.2	272.6(69.3)
漁獲尾数(尾)	91	0	0	91(93.8)	633	181	45	859(59.4)
金額(円)	24,904	0	0	24,904(94.6)	101,188	23,895	5,930	131,013(52.2)

\*1 括弧内は全漁獲に占める厚岸放流群の割合(%)を示す。

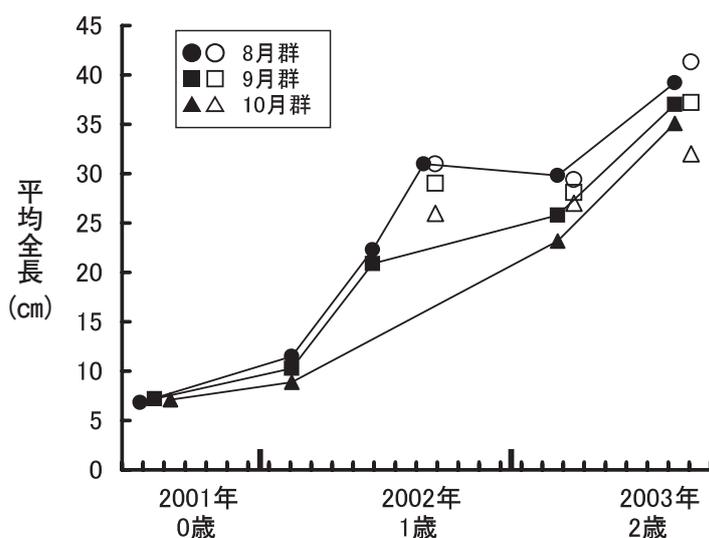


図4 厚岸市場並びに釧路市場で水揚げされた各放流群の平均全長

●: 厚岸市場 ○: 釧路市場

長がほぼ停止する<sup>8)</sup>とされている。放流当年の2001年は、8～9月に17℃前後あった水温が、11月中旬以降は8℃以下に低下した。摂餌と餌料環境については、厚岸湖に放流したマツカワの主要な摂餌対象生物がアミ類<sup>2)</sup>であることを再確認した。再捕魚の摂餌率は10月群で低く、これはヒラメ<sup>9)</sup>やマコガレイ<sup>10)</sup>、ハタハタ<sup>11)</sup>などと同様、環境中の餌生物の豊度を反映した結果であると推定された。本調査で認められたアミ類の季節的消長は、ほぼ同様の現象が湖内全域で確認されていることから<sup>12)</sup>、夏期に卓越して秋期に減少する傾向は厚岸湖の一般的特徴であると考えられた。本調査で用いた放流群は、同じ種苗生産過程で得られた群から放流サイズが揃うように選別したため、放流時期の早い群ほど成長の良い稚魚であったと判断される。したがって、放流～翌春に認められた成長速度の違いには、稚魚の履歴に加えて、放流当年における水温とアミ類の豊度が関係したと推定される。

厚岸と釧路の市場での放流魚の水揚げ数は、放流時期の早い群ほど大型で数が多いことから、早い時期での種苗放流が生残に有効であり、これが再捕数に反映したと考えられる。放流魚の死亡要因は、一般に飢餓と被食と考えられる。再捕調査ではアミ類の摂餌が確認され、また本種の稚魚は飢餓耐性が比較的大きい<sup>13)</sup>ことから、飢餓が直接の死亡原因になったとは考えにくい。しかし、飼育下のマツカワでは、1日の絶食で飽食時よりも遊泳行動が活発になる。古田<sup>14)</sup>は、絶食させたヒラメ稚魚は離底時間が長くなり、3日間の絶食で被食リスクが高まることを示し、天然海域では餌料条件の悪化に起因する飢餓が被食を増大する可能性を指摘している。飢餓による被食の増加は、ニシン<sup>15)</sup>などでも実験的に証明されており、放流時期が遅い群での再捕数の減少は、餌料条件の悪化に起因する飢餓と、飢餓による被食の可能性が関係していると考えられる。厚岸湖内では、シモフリカジカとエゾアイナメがマツカワの捕食種として確認されているが<sup>4)</sup>、放流魚の生残機構の解明は今後の課題である。

本調査で、マツカワ種苗の放流時期は、成長と生残に影響を与える大きな要因であることが明らかになった。渡辺ら<sup>1)</sup>は、厚岸湾放流群の再捕域について、根室湾から厚岸・釧路を経て十勝、えりも町にかけて再捕されるが、再捕の88～100%は厚岸水域であり、最大再捕率は15%と報告している。しかし、今回の調査で、放流魚の水揚げ量は釧路市場が厚岸市場の約7倍と推定された。最近では、放流魚の再捕は十勝水域や根室湾でも確認されて比較的まとまった水揚げ量があり、さらに漁獲量の大きい日高水域でも耳石標識魚が確認された。これらの情報は、厚岸で放流されたマツカワの移動範囲と放流効果が、従来想定していた以

上に大きいことを示しており、今後は移動範囲を確定し、市場調査網を整備することが重要である。

## 文 献

- 1) 渡辺研一・鈴木重則・錦 昭夫 (2001) 厚岸湾に放流されたマツカワ人工種苗の移動・成長と放流効果. 栽培技研, **28**, 93-99.
- 2) 渡辺研一・南 卓志 (2003) 北海道厚岸湾に放流されたマツカワ人工生産魚の食性. 日水誌, **69**, 3-9.
- 3) 渡辺研一・中川 亨 (1995) 水槽におけるマツカワ人工種苗の被捕食. 栽培技研, **24**, 27-33.
- 4) 渡辺研一・南 卓志 (2002) 厚岸湾に放流されたマツカワ人工種苗の魚類による被食. 日水誌, **68**, 214-216.
- 5) 南 卓志・澤野敬一・中川 菱, 渡辺研一 (1994) マツカワ稚魚の底質選択性について. 北水研報告, **58**, 53-60.
- 6) 安藤 忠・森岡泰三・鈴木重則・松原孝博 (2003) マツカワにおける飼育水温と塩分濃度が及ぼす成長への影響. 平成15年度日本水産学会北海道支部大会 (口頭発表).
- 7) 渡辺研一・南 卓志・飯泉 仁・今村茂生 (1996). 北海道厚岸湾における魚類の胃内容物塊から見た種間関係. 北水研報告, **60**, 239-276.
- 8) 高丸禮好・三浦宏紀. ヒラメ・カレイ類の養殖技術開発試験 (1989) 昭和63年度北海道中央水試事業報告書, 北海道, 103-108.
- 9) 古田晋平・渡辺俊明・山田秀明・宮永貴幸 (1997) 鳥取県沿岸海域に放流したヒラメ人工種苗の摂餌状態と餌料条件. 日水誌, **63**, 886-891.
- 10) 中神正康・高津哲也・松田正平・高橋豊美 (2000) 北海道津軽海峡沿岸におけるマコガレイ稚魚によるハルパクチクス目の捕食. 日水誌, **66**, 818-824.
- 11) 森岡泰三 (2002) プランクトン蝸集ランプを設置した海面網生簀におけるハタハタ仔稚魚の食性. 日水誌, **68**, 526-533.
- 12) 山田勝雅 (2003) 北海道厚岸湖に優占するアミ類 *Neomysis intermedia*, *N. mirabilis* および *N. czerniauskii* の個体群動態と分布. 北海道大学修士論文.
- 13) 高谷義幸・川真田憲治 (2000) マツカワ人工種苗の飢餓耐性. 水産増殖, **48**, 517-522.
- 14) 古田晋平 (1998) ヒラメ天然魚の摂餌行動及び被食に及ぼす飢餓の影響. 日水誌, **64**,

658-664.

- 15) Gamble J.C., Hay S. J. (1989) Predation by the scyphomedusae *Aurelis aurita* on herring

larvae in large enclosures: effects of predator size and prey starvation. *Rapp. P. -v. Reum. Cons. int. Explor. Mer*, **191**, 366-375.

## イセエビの眼球部に装着したイラストマー蛍光タグ標識の有効性の検討

成生正彦・町田雅春・橋本 博  
(南伊豆栽培漁業センター)

イセエビ *Panulirus japonicus* やクルマエビ等の十脚類が属する甲殻類の成長は、脱皮現象を伴うため、外部標識を装着すると脱皮時に標識が脱落し、栽培漁業において必要な放流後の移動、分散等の情報を入手するのが困難である。そこで、外部標識として、魚類ではトラフグ *Takifugu rubripes*<sup>1)</sup>、ブルーギル *Lepomis macrochirus*<sup>2)</sup>、サクラマス *Salmo masou*<sup>3)</sup> において、また甲殻類の *Penaeus vannamei*<sup>4)</sup> 等において有効性が報告されているイラストマー蛍光タグを用い、イセエビ眼球部における外部標識としての可能性を検討したので報告する。

### 材料と方法

**供試エビ** 試験には、2000年および2001年の秋に、静岡県南伊豆漁業協同組合より入手した平均頭胸甲長43.1mm (31~50mm)、平均体重73.1g (34~110g)の天然個体を用いた。

**標識方法** 本試験に使用したイラストマー蛍光タグ(ノースウエスト・マリン・テクノロジー)は、試験-1では緑色、試験-2では黄色とした。標識方法は、イセエビを1尾ずつ約10℃の冷却海水に浸漬し、行動が緩慢になった時に取り上げて標識を装着した。標識の装着には、注射針(26G×1/2、ニプロ)を装着し

た1mlのシリンジにイラストマー蛍光タグを吸入し、片方の眼球内に目視ではっきりと確認できる分量を注入した(図1)。注入方法は、試験-1では眼球内に直接注入し、試験2では眼柄から眼球内に注入した。

**標識の確認** 標識の確認は、イセエビの脱皮が完全に終了した直後に行い、目視および紫外線ライト(ノースウエスト・マリン・テクノロジー)を用いて装着の有無を観察した。

**試験-1** 飼育は、2001年1月16日から2002年1月7日までの356日間行った。試験区は、イラストマー蛍光タグを装着する標識区と、無標識の対照区を設けた。供試尾数は、1試験区に雌雄それぞれ10尾ずつ合計20尾を用い、標識装着後は個別飼育した。個別飼育には、FRP製の4.5kl水槽(3×1×0.5m)2面を使用し、水槽内を20mm目のトリカルネットで10区画に分け、1区画(30×45×50cm)に1個体ずつ収容した。餌料には、冷凍したオキアミとマアジを使用し、それぞれ1週間に3回および2回給餌した。飼育水には砂ろ過海水を用い、注水量0.5kl/時の流水で自然水温(12~27℃)で飼育した。試験期間中は毎日脱皮および死亡の有無を確認し、脱皮個体は頭胸甲長と体重を測定した。

**試験-2** 飼育は、2002年3月5日から2003年1月8日までの309日間行った。試験区の設定、供試尾数、



図1 イラストマー標識の装着方法

飼育方法および観察項目は試験-1に準じた。

## 結果と考察

**脱皮** 脱皮に要する平均日数を表1に示した。脱皮の回数は、試験-1の標識区ではすべての個体が3回脱皮したが、対照区では3回脱皮した個体は1尾のみであった。試験-2では、すべての試験区で脱皮回数は2回であった。甲殻類では、眼柄内神経節により脱皮成長が制御されることが知られており<sup>5)</sup>、イラストマー蛍光タグを眼球に装着することにより、脱皮が促進された可能性も考えられ、今後、眼球内にイラストマーを注入することが、脱皮回数に与える影響について、さらに試験を行う必要があると考えられた。

脱皮終了後から次の脱皮までの平均所要日数を見ると(表1)、試験-1では、雄の1回目の脱皮所要日数は、標識区<対照区、2回目は標識区<対照区であった。雌では、1回目の所要日数は標識区≒対照区、2回目が標識区<対照区となった。試験-2では、雄の1回目の脱皮所要日数は、標識区≒対照区、2回目が標識区<対照区、雌では1、2回目とも標識区>対照区であった。このように、雄では標識区が対照区より脱皮に要する日数が短くなる傾向が示されたが、雌では顕著な傾向は認められなかった。標識の装着および装着方法が脱皮間隔に与える影響については、雌雄差や標識部位についてさらに検討を要する。

**成長** 試験期間中のイセエビの平均頭胸甲長、お

よび平均体重の測定結果を表2に示した。

試験-1の標識区では、雄の成長は試験開始時の平均頭胸甲長43.5mm、平均体重78.2gから、3回の脱皮によりそれぞれ9.6mm、50.1g増加し、脱皮1回当りの成長量はそれぞれ3.2mm、16.7gであった。雌では、同様に3回の脱皮で、成長量はそれぞれ2.1mm/回、13.8g/回であった。

対照区の雄では、2回の脱皮で平均頭胸甲長が5.8mm、平均体重37.4g増加し、脱皮1回当りの成長量はそれぞれ2.9mm、18.7gであった。同様に雌の成長量は、それぞれ2.8mm/回、11.9g/回であった。雌雄とも、3回脱皮した個体はなかった。

試験-2の標識区では、雌雄とも2回の脱皮を行った。雄の成長量は平均頭胸甲長が3.8mm/回、平均体重29.0g/回、雌ではそれぞれ3.1mm/回、22.2g/回であった。同様に、対照区では、雄の成長量は平均頭胸甲長3.6mm/回、平均体重28.7g/回、雌ではそれぞれ2.8mm/回、28.0g/回であった。これらの結果から、両試験区間で成長に顕著な差は認められなかった。

**生残** 脱皮回数ごとの生残、および標識の保持率を表3に示した。試験期間中の生残状況は、試験-1では対照区で試験開始258日後に1尾が、試験-2では標識区で94日後に1尾が死亡したのみであった。このことから、片眼の眼球へのイラストマー蛍光タグ装着は、イセエビの生残状況に及ぼす影響は少ないと考えられた。

**標識装着率** 脱皮ごとに確認した標識の装着状況を

表1 イラストマー蛍光タグで標識したイセエビの脱皮に要する平均日数

区分	試験区	性別	脱皮回数		
			1	2	3
試験-1	標識区	雄	133.0 (20~196)	93.1 (24~186)	133.8 (79~243)
		雌	159.0 (43~210)	100.0 (62~144)	72.6 (51~100)
	対照区	雄	172.4 (161~193)	106.0 (66~175)	79*
		雌	182.4 (106~221)	99.3 (74~154)	—
試験-2	試験区	雄	117.5 (89~205)	128.4 (87~207)	—
		雌	142.0 (75~167)	112.8 (88~171)	—
	対照区	雄	114.0 (78~155)	143.6 (58~206)	—
		雌	110.9 (88~153)	146.0 (78~194)	—

\*: 1尾のみが脱皮した。

表2 イラストマー蛍光タグで標識したイセエビの成長

区分	試験区	性別	脱皮回数							
			0		1		2		3	
			頭胸甲長 (mm)	体重 (g)	頭胸甲長 (mm)	体重 (g)	頭胸甲長 (mm)	体重 (g)	頭胸甲長 (mm)	体重 (g)
試験-1	標識区	雄	43.5 (30.9~49.9)	78.2 (55.0~110.0)	46.9 (34.0~52.0)	90.6 (64.0~124.0)	50.4 (47.0~55.0)	103.2 (68.0~150.0)	33.1 (48.0~59.0)	128.3 (100.0~170.0)
		雌	44.2 (34.7~48.8)	76.0 (34.2~102.3)	46.8 (38.2~51.0)	89.6 (42.0~112.0)	49.0 (41.0~54.0)	112.6 (70.0~150.0)	50.4 (41.5~54.0)	117.5 (70.0~150.0)
	対照区	雄	43.4 (35.1~47.9)	71.6 (42.0~92.9)	46.7 (37.0~50.0)	88.2 (48.0~110.0)	49.2 (39.0~55.0)	109.0 (60.0~140.0)	42*	70*
		雌	41.4 (37.1~44.5)	66.7 (49.1~76.8)	44.1 (40.0~46.0)	77.4 (60.0~90.0)	46.9 (42.0~51.0)	90.4 (80.0~105.0)		
試験-2	標識区	雄	50.9 (48.0~54.0)	114.1 (98.0~134.0)	53.4 (50.0~58.0)	130.6 (110.0~152.0)	58.5 (55.0~63.0)	172.0 (120.0~220.0)		
		雌	48.8 (47.0~50.0)	110.0 (96.0~12.0)	51.8 (50.0~53.0)	126.6 (110.0~140.0)	55.0 (53.0~57.0)	154.4 (130.0~180.0)		
	対照区	雄	49.0 (47.0~52.0)	107.0 (98.0~122.0)	54.6 (51.0~61.0)	144.0 (120.0~180.0)	56.2 (51.0~60.0)	164.4 (130.0~210.0)		
		雌	51.1 (48.0~57.0)	115.0 (94.0~128.0)	54.1 (50.0~58.0)	136.5 (100.0~160.0)	56.6 (53.0~62.0)	171.0 (140.0~200.0)		

\* : 1尾のみが脱皮した。

表3 イラストマー蛍光タグを装着したイセエビの生残尾数および標識保持率

区分	試験区	性別	脱皮回数			
			0	1	2	3
試験-1	標識区	雄	10* <sup>1</sup> (100%)* <sup>2</sup>	10 (100%)	10 (50%)	9 (22%)
		雌	10 (100%)	10 (100%)	10 (100%)	5 (40%)
試験-2	標識区	雄	10 (100%)	10 (50%)	10 (50%)	—
		雌	10 (100%)	9 (66%)	9 (66%)	—

\* 1 : 脱皮した生残尾数, \* 2 : 標識保持率

見ると(表3), 眼球に直接標識を装着した試験-1では, 標識が確認できた割合(以下, 標識保持率)は, 雄雌とも脱皮回数に伴って低下し, 雄では2回目が50%, 3回目が22%であった。一方, 雌の標識保持率は2回目が100%, 3回目が40%と雄より高かった。眼柄から眼球内へ装着した試験-2では, 脱皮に伴う標識保持率の低下は著しく, 1回目の脱皮で標識保持率は雄で50%, 雌で66%であった。ただし, 1回目の脱皮で標識を保持していた個体では, 2回目の脱皮時の標識脱落はなく, 眼球内にうまく標識できたものと考えられた。

これらの結果から, 眼球に装着するイラストマー蛍光タグは, 眼柄側からではなく, 直接眼球に装着する

ほうが, 脱皮による脱落がやや少ないことがわかった。しかし, 脱皮2回目以降に標識保持率が低下することや, 雌雄による差が認められたことから, 標識方法については今後さらに検討を進める。

**標識装着の影響** クルマエビの一種である *Penaeus vannamei* では, 腹節の筋肉内にイラストマー蛍光タグを注入すると, 弱い炎症が生じ傷跡が残ることが報告<sup>4)</sup>されているが, イセエビの眼球に装着した場合には炎症反応は認められなかった。一方, 眼柄内には複眼から入力された視覚情報の処理, およびその情報を統合する神経節があるが, 眼球にイラストマー蛍光タグを注入したイセエビは, 対照区と同様の摂餌や移動行動および光に対する忌避反応を示した。このこと

から、片眼球への装着であれば、視神経に重大な影響を及ぼさないと考えられる。

以上のことから、頭胸甲長40mm以上のイセエビには、外部標識として眼球に直接注入するイラストマー蛍光タグが利用可能であり、この標識方法は生理、生態的に与える影響が少ないことが判明した。今後は、眼球への標識方法を改良して標識保持率を高めることで、放流後のイセエビの移動、分散などの調査への利用を進めていく。

## 文 献

- 1) 宮本康夫・新山 洋・安本 進・池田義弘・多部田 修 (1997) トラフグ *Takifugu rubripes* 幼魚におけるイラストマー蛍光標識の有効性について, 長崎水試研報, **23**, 27-29.
- 2) Dewey, M.R. and S.J. Zigler (1996) An evaluation of fluorescent elastomer for making bluegill sunfish in experimental studies. *Prog. Fish-Culturist*, **58**, 219-220.
- 3) 崔 美敬・山崎文雄 (1996) イラストマー蛍光タグによるサクラマス幼稚魚の標識法について. 水産育種, **23**, 41-50.
- 4) Godin, D., W.H. Carr, G. Hagino, F. Segura, J. N. Sweeney, and L. Blankenship (1996) Evaluation of a fluorescent elastomer internal tag in juvenile and adult shrimp *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*, **139**, 243-248.
- 5) 橋高二郎 (1996) エビ・カニ類の増養殖, 基礎科学と生産技術 (隆島史夫・金澤昭夫編), 恒星社厚生閣, 東京, pp. 130.

## ヤナギムシガレイ若魚の飼育における砂敷設効果について

山田達哉

(小浜栽培漁業センター)

異体類では、外敵からの逃避や潜砂性などの生態的特性から砂を敷設して飼育することの有効性が指摘され、ヒラメの種苗生産では無眼側の黒化の出現防止<sup>1)</sup>や種苗性の向上に有効であることが知られている<sup>2)</sup>。また、親魚の養成においても、ストレス軽減に有効と考えられている。

小浜栽培漁業センターでは、ヤナギムシガレイ *Tanakius kitaharai* 親魚の水槽底面に砂を敷設した養成試験で、自然産卵による受精卵が確保できた<sup>3)</sup>。しかし、この試験では、自然産卵と砂の敷設飼育との関係は明らかではなく、また砂を敷くことで排泄物や残餌による底質および水質の悪化が認められた。そこで、本試験では、まずヤナギムシガレイの砂への嗜好性を調べた。

### 材料と方法

**供試魚** 試験には、2000年に人工生産した平均全長80mmの1歳魚を供した。

**試験の設定** 試験には300ℓ角型ダイライト水槽(1.16×0.77×0.25m)を用い、図1に示したように、砂を敷いた場所(以下、砂域)と塩化ビニール製のプレートを設置した場所(以下、プレート域)を2箇所ずつ格子状に設けた。砂域には粒径0.6mmの硅砂を10mm厚に敷き、プレート域には厚さ10mmの塩化ビニール製のプレートを敷いて砂域と同じ高さになるようにした。

飼育水は、循環ろ過海水(新海水の換水率25%)をオゾン殺菌して使用した。飼育水の換水率は10回転

／日とし、水温は10℃とした。通気は微通気とし、格子の中心に設置した2×2×15cmのエアストーンで行った。

**試験方法** 試験は照明の条件を変えて2回行った。1回目の試験(試験1)は、2001年3月13日～4月15日までの33日間行った。照明には蛍光灯を使用し、水面照度100～200 lxで8:30～16:30まで6時間点灯した。試験には15尾を供し、行動等の観察は毎日点灯前の8:30、点灯後の13:30と16:30に計3回行った。

2回目の試験(試験2)は、2001年10月10日～24日までの15日間行った。試験には試験1で生き残った13尾を用いた。照明は、試験1と同様の条件としたが、2, 7, 8, 13, 14および15日目は24時間点灯した。供試魚の観察は、毎日8:30と13:30の2回行った。

**餌料および飼育管理** 餌料には、市販配合飼料のオとひめ3号(日清飼料)となぎさ5号(オリエンタル酵母工業)を1:1の比率で、毎日若干の残餌が出る量を給餌した。底掃除は1週間に5回行い、砂が排出された場合は補給を、プレート域に砂があるときにはこれを除去した。

**解析方法** 底質の嗜好性の評価として、砂域とプレート域に定位するそれぞれの尾数を調査した。定位位置は、頭部のある位置を基準とした。定位した数の検定には二項検定法を用いた。なお、水槽壁に定位していた個体は、検定から除外した。

### 結果と考察

**試験1** 33日間の試験期間における観察時間ごとの

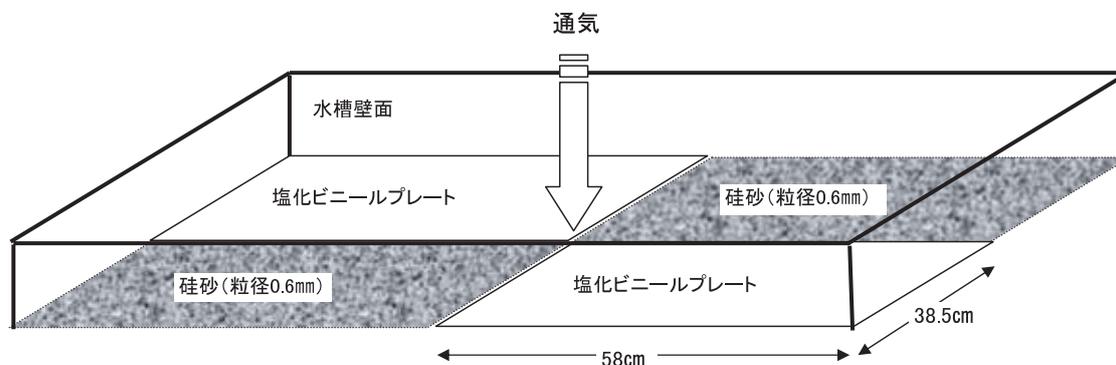


図1 ヤナギムシガレイ若魚の定位試験水槽における砂域とプレート域の配置

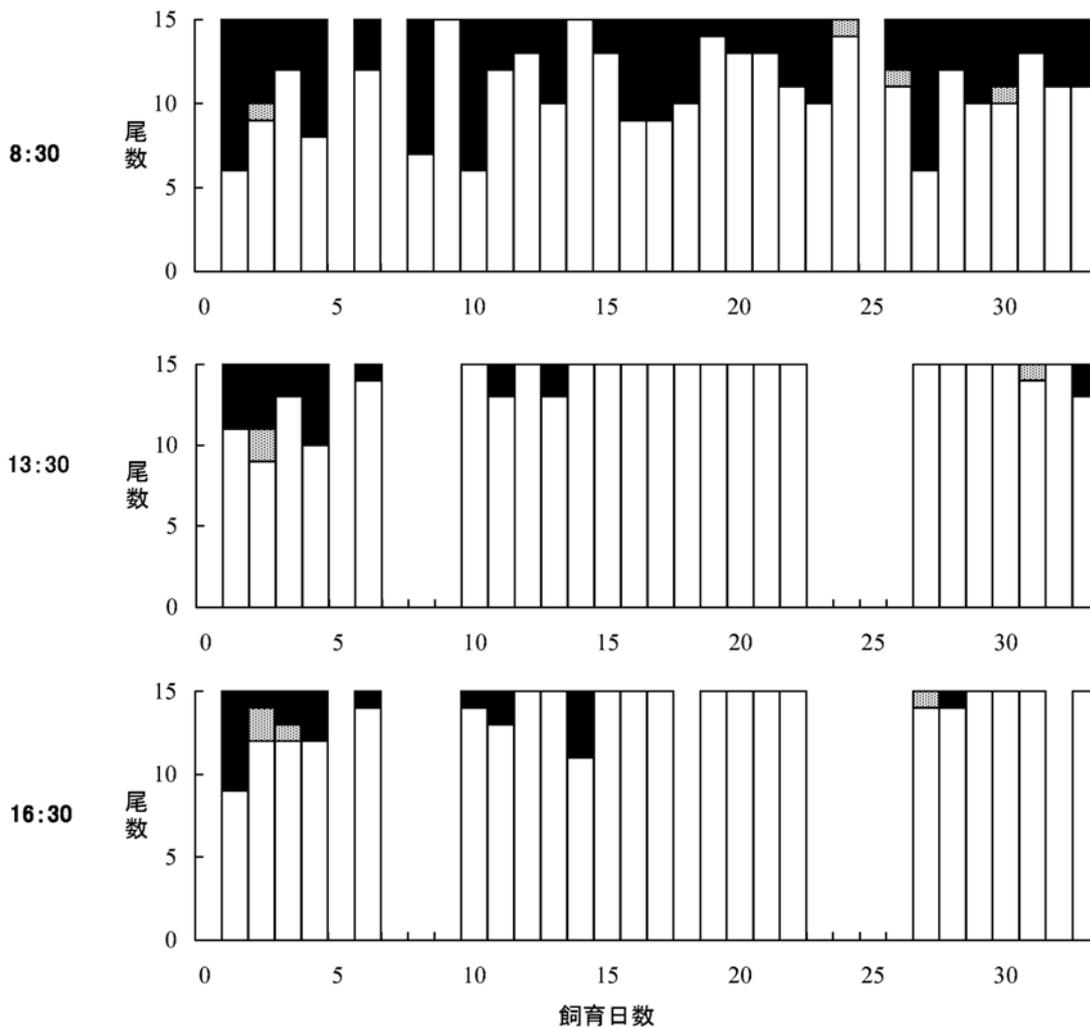


図2 試験1における観察時間ごとに見たヤナギムシガレイの定位位置

□ 砂域    ▨ 水槽壁    ■ プレート

ヤナギムシガレイの定位位置を図2に示した。期間中、8:30は30回、13:30は25回および16:30は23回の観察を行った。しかし、定位した個体数の比較では、水槽壁に定位した個体は除外したため、8:30と13:30との比較は試験1~4, 6, 10~22および27~33日目の25例であった。また、16:30との比較は、18日目と32日目の観察結果がないため23例であった。

定位位置を比較すると、点灯前の8:30では、ほとんどの観察日で数尾の個体がプレート域で観察され、砂域の個体数が有意に多かったのは全観察25例中の7例(28%)であった(表1)。しかし、点灯後の13:30と16:30では、試験開始5日目以降はほとんどの個体が砂域に定位し、有意に砂域に定位する個体は13:30で25例中22例(88%)、16:30では23例中21例(91%)

であった(表1)。このことから、ヤナギムシガレイは消灯した暗状態ではプレート域と砂域とを利用してはいるが、明状態で底掃除や給餌などの人為的な刺激が多い点灯時には、砂域を選択していると考えられた。

**試験2** 8:30と13:30に行った観察結果を図3に示した。期間中の観察数は両時間とも11回であった。ヤナギムシガレイの定位位置を見ると、点灯前の8:30は、夜間の点灯を行わなかった5日間はプレート域にも31~54%の個体が定位していた。しかし、24時間点灯した6日間は、ほとんどの個体が砂域に定位した(図3)。また、日中(13:30)にはすべての個体が砂域に定位していた。底掃除等の人為的な刺激のない夜間でも、点灯により砂域に定位したことから、光に対する忌避行動と考えられた。

表1 砂域に定位した個体の観察時間ごとの比較

飼育日数	観察時間		
	8:30	13:30	16:30
1	×	×	×
2	×	×	◎
3	×	◎	◎
4	×	×	◎
6	×	◎	◎
10	×	◎	◎
11	×	◎	◎
12	◎	◎	◎
13	×	◎	◎
14	◎	◎	×
15	◎	◎	◎
16	×	◎	◎
17	×	◎	◎
18	×	◎	—
19	◎	◎	◎
20	◎	◎	◎
21	◎	◎	◎
22	×	◎	◎
27	×	◎	○
28	×	◎	◎
29	×	◎	◎
30	×	◎	◎
31	◎	◎	◎
32	×	◎	—
33	×	◎	◎

×：危険率5%で有意差なし  
 ○：危険率5%で有意差あり，1%で有意差なし  
 ◎：危険率1%で有意差あり  
 —：調査なし

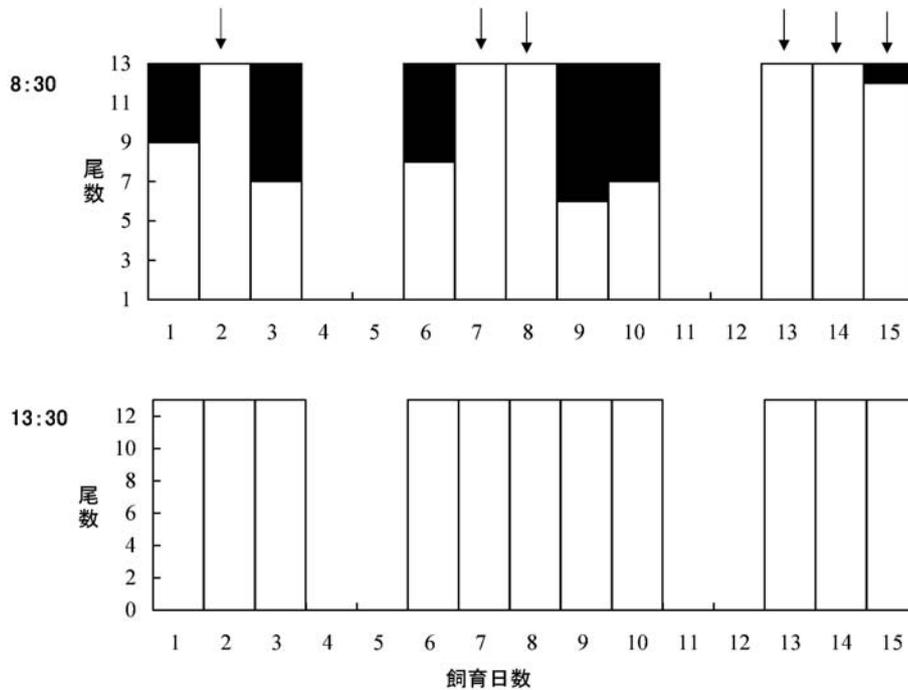


図3 夜間点灯の有無による8:30の定位位置 (試験2)

↓ 常時点灯 □ 砂域 ■ プレート域

今回の結果から、ヤナギムシガレイ若魚の飼育において、光や人為的な刺激に対する逃避場所として砂敷設の有効性が示された。今後は、親魚の養成と産卵に関する有効性を検討する。

## 文 献

- 1) 福永辰廣 (1998) 無眼側体色異常防除技術開発 (プロジェクトチーム), 日本栽培漁業協会事業年報 (平成10年度), 163-170.
- 2) 古田晋平 (1993) 放流技術と健苗性. 「放流魚の健苗性と育成技術」(北島力編), 恒星社厚生閣, 東京, 94-101.
- 3) 山田達哉 (2002) 冷水性魚類の循環飼育による親魚養成技術開発 (ヤナギムシガレイ). 日本栽培漁業協会事業年報 (平成14年度), 132-133.

## アカアマダイの中間育成における適正水温の把握について

竹内宏行<sup>\*1</sup>・本藤 靖<sup>\*2</sup>・渡辺 税<sup>\*1</sup>・村上直人<sup>\*1</sup>

(\*1 宮津栽培漁業センター, \*2 五島栽培漁業センター)

近年, アカアマダイ *Branchiostegus japonicus* については採卵および飼育技術の向上により, 万単位の種苗生産ができるようになった。しかし, 本格的な中間育成を開始したのは1999年になってからであり, 適正な飼育環境については詳細に検討されておらず, 放流サイズまでの生残率も安定していないのが現状である。

一方, 種苗放流試験は, 主に平均全長100~120mmの種苗に外部標識を装着して5~6月に行っている。放流時期については, アカアマダイは高水温に弱いため, 海水温が急激に上昇する6月までに外部標識装着可能なサイズまで中間育成する必要がある。

今後の放流技術開発を進展させる上で, 中間育成技術の安定化は不可欠である。そこで, アカアマダイの中間育成における飼育条件を把握することを目的として, 飼育水温と成長・生残の関係を調査し, 適正水温の把握に取り組んだ。

成した平均全長58.7mm (50.5~65.8mm) の稚魚を用いた。

飼育水槽には円形FRP水槽 (内径0.9m × 高さ0.8m, 水深0.4m, 実効水量1 kℓ) を使用し, 各200尾 (80尾/m<sup>2</sup>) を収容した。飼育水は, 砂ろ過海水を使用した。換水率は10回転/日から開始し, 給餌量の増加に伴い適宜増加させ, 最大15回転/日とした。飼育水の加温はチタン管製熱交換器に温水を循環させて行った。餌料には, 雑エビ: イサザアミ: マアジ: スルメイカを4:4:1:1の割合ですり潰して冷凍したミンチを用い, 1日当り3~4回に分けて飽食量を給餌した。

試験は2003年1月28日に開始し, 飼育115日目となる5月23日に終了した。その間, 約1ヵ月間隔で各試験区の生残尾数を計数し, 30尾ずつの全長を測定した。19℃区および17℃区については, 成長に伴い水槽内が過密になったので, 4月25日 (飼育87日目) に40尾/m<sup>2</sup>になるように密度調整した。

## 材料と方法

試験区は, 飼育水温をそれぞれ19℃, 17℃および自然水温に設定した3区とし, 各1水槽を設けた。供試魚は2002年10月に種苗生産し, 2003年1月まで中間育

## 結 果

試験期間中の水温の変化を図1に示した。19℃区は平均19.1℃ (17.3~20.3℃), 17℃区は平均16.8℃ (15.6~19.3℃) と設定水温をほぼ維持した。自然水温区は

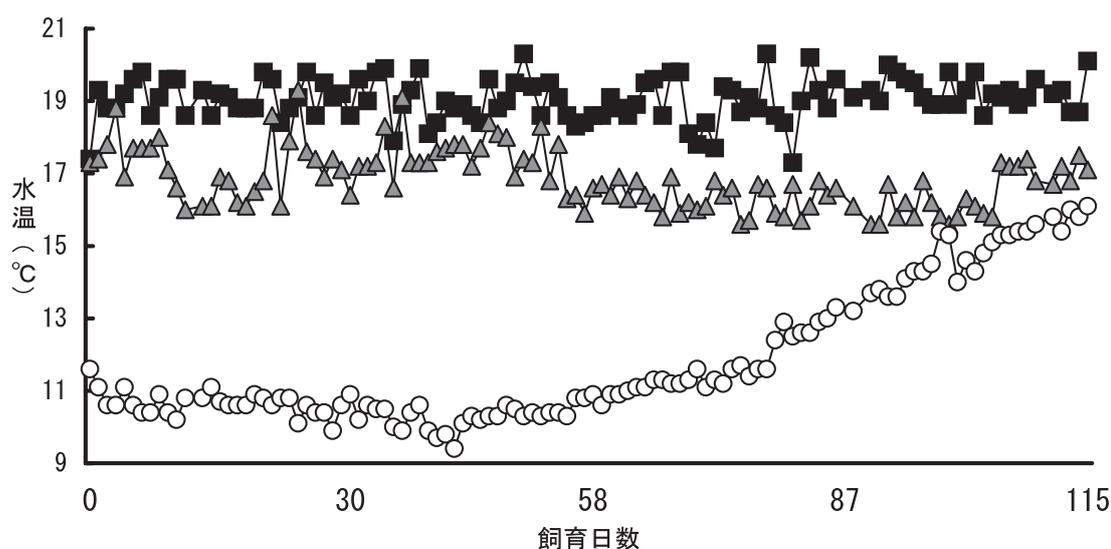


図1 アカアマダイの中間育成水温試験における水温の変化

—■—19℃区 —▲—17℃区 —○—自然水温区

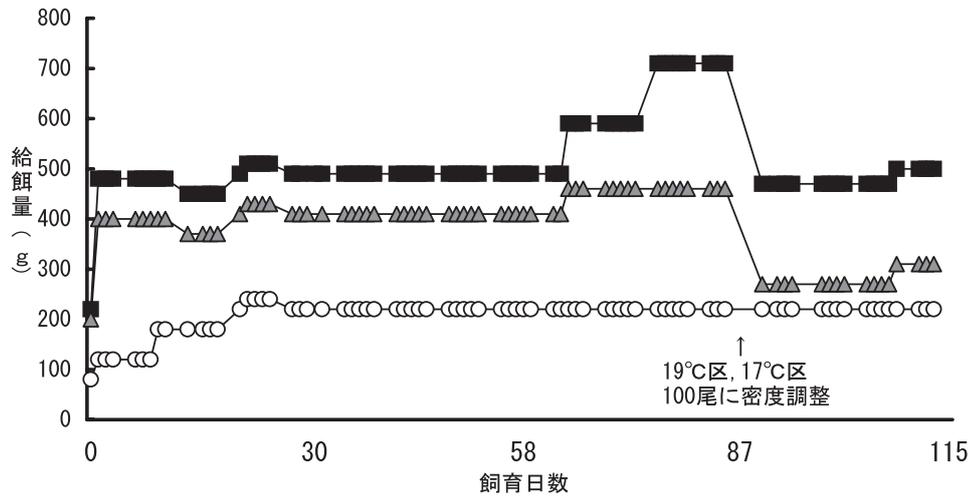


図2 アカアマダイの中間育成水温試験における給餌量の変化  
 ■—19°C区 ▲—17°C区 ○—自然水温区

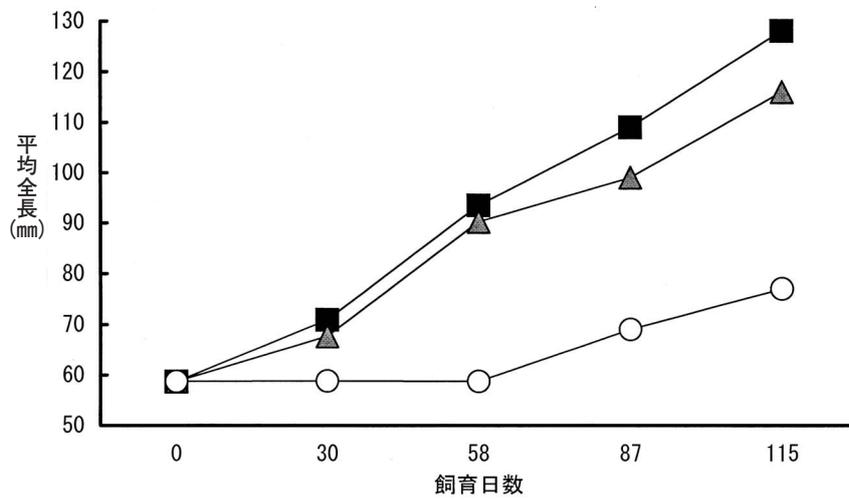


図3 アカアマダイの中間育成水温試験における平均全長の推移  
 ■—19°C区 ▲—17°C区 ○—自然水温区

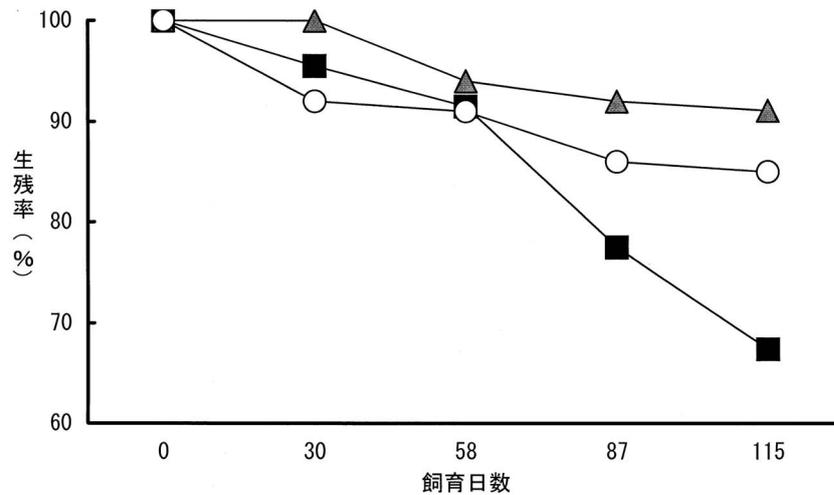


図4 アカアマダイの中間育成水温試験における生残率の推移  
 ■—19°C区 ▲—17°C区 ○—自然水温区

表1 アカアマダイの中間育成水温試験の取り揚げ時の全長と生残率

試験区	全長 (mm)		生残率 (%)
	平均	(最小～最大)	
19℃区	128.0	(96～191)	67.4
17℃区	115.7	(92～137)	91.1
自然水温区	76.5	(58～101)	85.0

平均11.8℃ (9.4～16.1℃) で推移し、冬季の水温の低下が著しかった。給餌量の変化を図2に示した。給餌量は飼育水温が高いほど多く、成長に伴い増加した。自然水温区の給餌量は飼育終了までほぼ一定であった。

平均全長および生残率の推移を図3、4に、取り揚げ時の全長と生残率を表1に示した。成長は試験期間中を通して19℃区、17℃区、自然水温区の順に良かった。19℃区と17℃区の成長差はわずかで、外部標識を施す5月下旬の時点でそれぞれ平均全長128mm、116mmと、ともに標識装着可能なサイズであった。自然水温区の平均全長は77mmにとどまり、標識装着可能サイズに達しなかった。

生残率は、飼育58日目までは91.0～94.0%と顕著な差は認められなかったが、87日目にかけて19℃区が77.5%まで低下した。この原因として、飼育密度の過密が考えられたため、その時点で19℃区および17℃区について40尾/m<sup>2</sup>に密度調整したが、19℃区が生残率は低下し続け、試験終了の時点で67.4%になった。

## 考 察

試験の結果、19℃区では成長が最も速かったが、生残率の低下が著しかった。逆に自然水温区が生残率は良好であったが、冬季の成長が停滞し、春季の標識放流に間に合わない成長速度であった。それに対して、17℃区では成長は19℃区と大差はなく、生残率は最も高かった。これらの結果から、本種の中間育成水温は19℃、17℃、自然水温の中では17℃が最も効率の良い飼育水温であることが示された。

19℃区の減耗要因として飼育密度の過密が疑われたため、飼育密度を減じたがその後も減耗が続き、効果は認められなかった。また、19℃区と17℃区の育成魚のサイズおよび収容密度はほぼ同程度であったが、生残率には差が生じたため、生残率には育成密度以外の要因が影響していると思われた。今後は17℃から自然水温の間で適正な育成水温を検討するとともに、19℃区での減耗要因を解明する必要がある。

## ヒラメ種苗における焼印標識痕の形態の変化について

村上直人・中川 亨・渡辺 税・竹内宏行  
(宮津栽培漁業センター)

種苗放流の効果を調査するために、標識放流試験が実施されている。そのための標識には、大量の種苗に装着できること、脱落または消失することなく長期間の識別が可能であり、また安価であることが求められる。

外部標識の一つとして、低コストで大量に装着が可能な焼印標識が使用されている。しかし、焼印痕の出現形態に種々のタイプが存在するが、装着後の日数の経過に伴い識別率が低下することが問題とされている<sup>1)</sup>。そこで、本試験ではヒラメ *Paralichthys olivaceus* 種苗における焼印標識の利用技術を開発するために、個体ごとの焼印痕の出現状況と形状の変化について調査を行った。

## 材料と方法

**供試魚** 試験には、2003年2月に宮津栽培漁業センターで生産したヒラメ種苗で、無眼側の体色が正常な個体50尾（平均全長141mm）を使用した。

**標識装着** 試験区として、無眼側から有眼側に貫通させて焼印する貫通区（25尾）と無眼側の体表面だけを焼く表面区（25尾）を設けた。焼印装着にはガス充填式のコードレス半田ゴテ（コテライザー 70オート、中島銅工）を使用し（図1）、貫通区は直径2mmの

円錐型（鉄メッキ製：市販のまま）のコテ先、表面区は直径3.7mmの丸棒（銅製：屋島改良型）のコテ先を用いて、背鰭基部の2ヵ所に標識した。なお、表面区では、表面のみの焼印を行うには先端が細いと力加減が難しいため丸棒のコテ先を用いた。半田ゴテの焼印時間は約0.5秒とした。焼印標識した供試魚は、スパゲティタグで個体識別を行った。

**飼育および調査方法** 飼育には2kℓ円型水槽を用い、供試魚が潜砂できるように水槽の底にはφ3.3～6.7mmのミクロスセラミック（MS-2, ノーラ）を1～2cmの厚さに敷いた。貫通区、表面区とも同一水槽に収容し、流水で飼育した。

焼印痕の調査は装着後60日までは10日間隔、その後は2ヵ月間隔で実施し、全個体の全長測定と焼印痕の撮影を行った。焼印痕を撮影するためにアクリル水槽（25×20×深さ5cm）を用い、水槽の中央の上部からフラット CCD 型スキャナー（8700U, エプソン）で撮影した。撮影は、2-フェノキシエタノール（和光純薬工業）で麻酔した供試魚を水槽（水深2cm）の中央に無眼側を上にして設置し、フルカラー、解像度300dpiで行った。焼印痕の面積は、撮影画像をPhotoshop（Adobe Photoshop Elements 2.0日本語版、アドビシステムズ）とNIHImage（National Institute of Health）を用いて測定した。

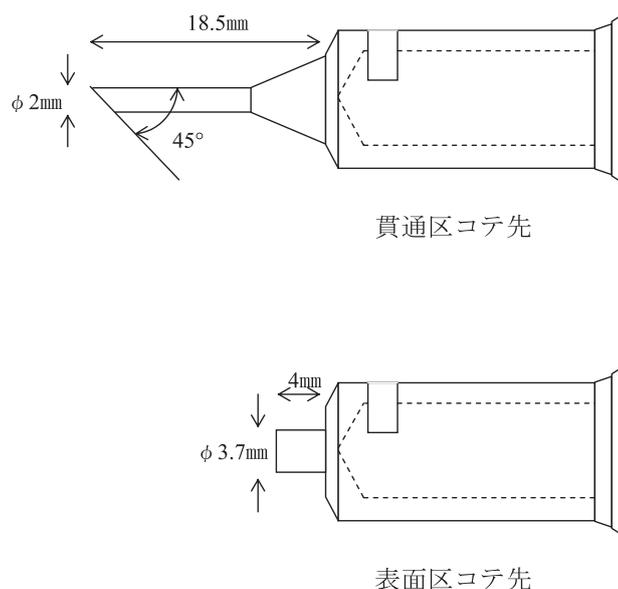


図1 焼印標識に使用したガス式充填式コードレス半田ゴテのコテ先の構造

## 結 果

**生残および成長** 焼印時間を0.5秒とした今回の試験では、貫通区、表面区ともに装着後10日目までの死亡はなかった。また、両試験区の成長は、通常の飼育時の成長と顕著な差は認められず、標識装着による影響はなかった。

**焼印痕の形態** 標識装着後10日目の時点では、貫通区、表面区とも焼印による傷が治癒しておらず、一部の個体では出血が認められた。傷の面積は、貫通区ではコテ先の接触面積の約4倍、表面区では約5倍であった。標識装着後20日目の傷跡は、貫通区で76%、表面区で96%の個体で治癒し、焼印痕が形成され、それぞれ40%と48%の個体で痕跡に色素の出現が確認さ

れた。装着後30日目には、両試験区とも全個体で傷跡が完治し、さらに形成された焼印痕は試験終了時まで識別が可能であった。

貫通区と表面区の焼印痕の形態は、色素の出現状態により黒色型と乳白色型に分類<sup>1)</sup>されているが、貫通区では90%、表面区では94%が黒色型であった(図2)。しかし、色素の出現状態は装着方法により異なり、貫通区では色素の出現範囲は痕跡の50%以上を占め形態は円形が多かったが、表面区では色素の出現範囲は50%以下であり形態は多様であった(図3)。

**焼印痕の面積** 焼印痕の面積は経過日数とともに増加し、120日目で貫通区が傷跡の1.2倍、表面区が1.4倍まで拡大した(図4)。しかし、2カ所の焼印痕が1つに結合する個体は観察されなかった。

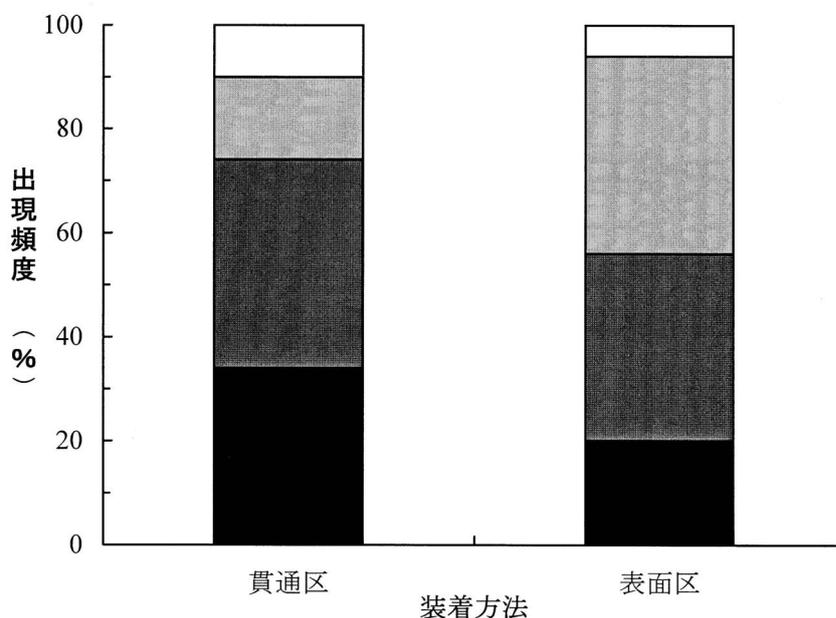


図2 焼印標識による焼印痕の出現状況

■ 黒 > 90% ■ 黒 > 50% ■ 黒 < 50% □ 乳白色

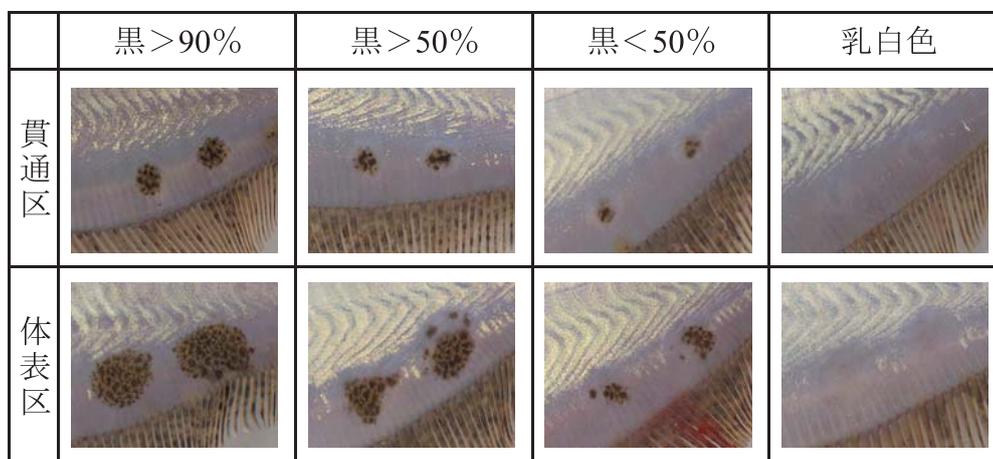


図3 焼印標識による焼印痕の形態

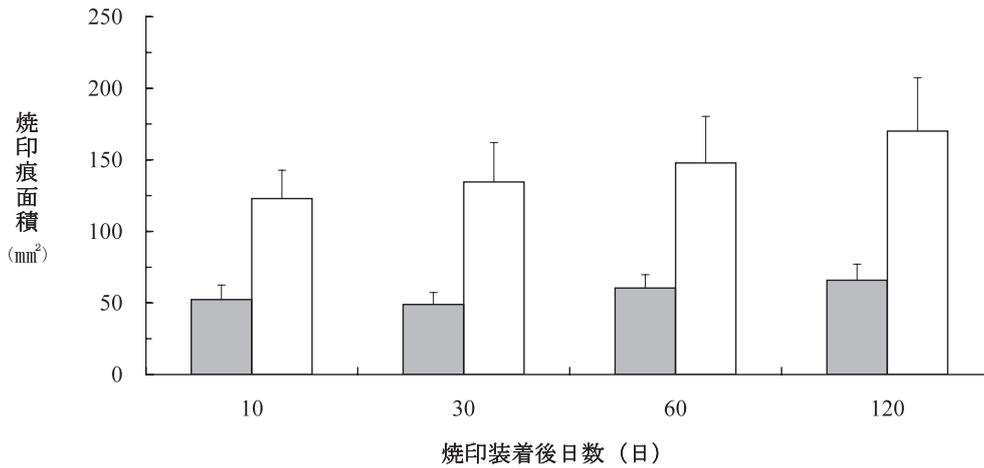


図4 焼印標識による焼印痕の面積の変化

■貫通区 □表面区

## 考 察

半田ゴテの焼印時間を1秒にした2002年の試験では、装着後10日目の死亡率は貫通区が11.5%、表面区が24.5%であったが<sup>2)</sup>、焼印時間を0.5秒に短縮した今回の試験では、両区とも焼印による生残と成長への影響は認められず、焼印痕はすべての個体で発現した。さらに、標識方法では、貫通区の方が焼印痕面積の変化が小さく、色素の形態のバラツキが少ないことに加えて装着作業が表面区と比較して容易であることから、焼印の装着方法としては、2002年度の結果<sup>2)</sup>と比較して、焼印時間0.5秒の貫通方法が適していると判断された。

本試験では、焼印痕は乳白色型と黒色型が混在した。なぜ2つのタイプが生じるのかは不明であるが、識別が容易な黒色型が標識として有効であると考えら

れる。ヒラメの焼印痕は、2年を経過すると識別率が低下するとされている<sup>1)</sup>。そのため、焼印の部位、コテ先の温度および標識後の飼育方法を検討するとともに、個体別の焼印痕の変化について調査し、長期にわたり識別可能な焼印痕を発現させる標識方法の開発が必要である。

## 文 献

- 1) 岩本明雄・藤本 宏・山崎英樹・津崎龍雄・熊谷厚志・早乙女浩一 (2001) ガス充填式半田ゴテを用いた焼印標識の実用性について. 栽培技研, 29, 13-20.
- 2) 村上直人 (2002) ヒラメ焼印標識試験. 日本栽培漁業協会事業年報 (平成14年度), 177-179.

## ヒラメとオニオコゼに装着したイラストマー標識の識別期間

太田健吾<sup>\*1</sup>・島 康洋<sup>\*1</sup>・小林真人<sup>\*2</sup>

(\*1 伯方島栽培漁業センター, \*2 本部総合企画部)

近年の種苗生産技術の向上に伴い、全国で放流を目的とした種苗生産尾数は、2002年には38種、1億6690万尾に達し、それらを用いた放流効果の実証試験には、標識魚による調査が実施されている。

放流調査に使用する標識には、外部標識と体内標識がある。外部標識には、アンカータグ等の各種標識票を装着する方法、鰭の切除または抜去および魚体表面に焼印を行う方法等がある。外部標識は現場での確認が容易であるが、魚体に対して大きな影響を及ぼすことが欠点とされている。体内標識には、墨汁、イラストマー蛍光タグの皮下注射およびアリザリンコンプレクソン (alizerin complexone) のような薬剤による耳石染色等がある。

この中で、アリザリンコンプレクソン等を用いた耳石染色による標識法は、標識の装着率が100%であることや受精卵やふ化仔魚の段階でも装着が可能であるため、多くの魚種において採用されている。しかし、この方法では、放流後の追跡調査のために、標識の有無に関わらず調査対象となる漁獲物を買取るための経費がかかること、耳石を摘出して蛍光顕微鏡下で標識の有無を確認する必要があるため、現場での標識の確認ができないことが欠点とされている。

一方、Northwest Marine Technology Inc.によって開発されたイラストマー蛍光タグ (Fluorescent Elastomer Tag) による標識法は、注入するイラストマーが少量であるため、魚体への負担が小さく、外部からも確認できるため、その有効性がトラフグ *Takifugu rubripes* 等で報告されている<sup>1-4)</sup>。

本報告では、栽培漁業対象種として代表的な魚種であるヒラメ *Paralichthys olivaceus* と、近年、西日本を中心に栽培漁業の対象種として注目されているオニオコゼ *Inimicus japonicus* を対象に、イラストマー蛍光タグ標識の有効性検討の一環として、標識の識別可能な期間を調査した。

### 材料と方法

ヒラメ 供試魚には、2001年に伯方島栽培漁業センターで生産した、平均全長131mmのヒラメ稚魚40尾を使用した。イラストマー標識の色は蛍光オレンジとし、無眼側胸鰭基部の表皮が透明な部分へ注入した。イラストマーの装着状態の変化を観察するため、

15尾にPIT (Passive Integrated Transponder) タグ (Biomark) を装着して個体識別した。

標識装着個体は、当初0.5kℓ黒色ポリエチレン水槽で飼育し、成長に応じて1~10kℓのFRP水槽へ移槽した。飼育水にはろ過海水を用い、自然水温で飼育した。餌料には配合飼料を用い、投餌回数は3~5回/週で毎回飽食量を与えた。

標識の識別状況についての観察は、装着後0, 10, 30, 91, 191, 415, 656および945日目に行った。装着後0~91日目までは、PITタグで識別した15個体について観察した。また、191日目以降は、生残している全個体を観察した。標識の識別基準は、目視により「見える」、「見えにくい」および「見えない」の3段階とし、「見える」は形状を問わずイラストマーが確認できる場合、「見えにくい」は注意深く観察しないとイラストマーが確認できない場合とした。また、同時に、紫外線ライト (フロンライザー 4DL-SK, 千代田工販) の照射により標識の残存状況の識別を行った。

オニオコゼ 供試魚には、2002年に伯方島栽培漁業センターで生産した当歳魚100尾 (平均全長83mm) を用いた。標識には蛍光オレンジ色のイラストマーを用い、頭部皮下に肉眼で明らかに確認できる分量を注入した。標識を装着した50尾を試験区、標識を装着しない50尾を対照区として、生残および標識の識別状況を観察した。

標識を装着した個体は、FRP水槽 (250ℓ, 65×140×27cm) に設置したプラスチック製のカゴ (40×30×15cm) に試験区ごとに收容した。カゴは、側面にフロートを装着して水槽内に浮かべ、自然水温による流水管理を行った。餌料には配合飼料を用い、給餌量は10~30g/回で週2回与えた。

標識の識別状況についての観察は、3か月ごとに計6回実施し、供試魚の頭部に紫外線ライトを照射して標識が識別できる個体の割合を調査した。

### 結果と考察

ヒラメ 試験期間は、2001年10月10日から2004年5月12日までの945日であった。供試魚は、試験開始の約半年後に飼育水温の上昇とともにエドワジェラ症による死亡が確認され、生残尾数は191日目には28尾、656日目には17尾、945日目には12尾となった。

飼育経過に伴う標識の識別状況の変化を表1に示した。イラストマー標識は、ヒラメの成長に伴って筋肉へ埋没することはなかったが、形状は装着時の塊状から時間の経過とともに鱗の伸張方向に分散し、線状さらには点状へと変化した。装着後191日目までの目視観察では、「見える」が87～93%と高く、「見えにくい」が7～13%、「見えない」は0%であった。しかし、以後の目視観察では、「見える」の割合は徐々に低下し、945日目では8%しか判別できなかった。このように、時間の経過とともにイラストマーの形状は点状となり目視による確認は困難となったが、紫外線ライトの照射による観察では、全ての観察日で100%識別（以下、識別割合）できた。

この結果、ヒラメの無眼側胸鰭基部に装着したイラストマー標識は、3年間の長期にわたって消失することなく、紫外線ライトを照射する調査方法で、外部から識別できる有効な標識であることがわかった。

オニオコゼ 試験期間は、2002年12月21日から2004

年6月9日までの18カ月間であった。供試魚の成長と生残率を表2に、標識の識別割合の変化を表3に示した。2002年12月～2003年6月および2003年12月～2004年6月は、他の期間に比べて海水温が低いため活発な摂餌が認められず、成長が停滞した。この間の成長量は、平均全長でそれぞれ6.8mm および0.4mmであった。一方、2003年6月～12月は、水温の上昇に伴って摂餌も活発となり、この間の成長量は平均全長で41.7mmであった。生残率は、装着後9カ月目まで100%で、15カ月目に90%に低下した。また、標識の識別割合は、装着後6カ月目までは100%であったが、その後徐々に低下し18カ月目には73%となった。

標識装着後6カ月日以降に識別割合が低下した理由として、この期間は海水温の上昇期であるため、供試魚の成長に伴い皮膚が肥厚し、標識が皮下深く埋没したことにより、識別が困難になったためであると考えられた。

今回の試験では、装着後18カ月目でも7割以上の個

表1 ヒラメに装着したイラストマー標識の識別状況の変化

観察月日	経過 日数	平均全長 (mm)	識別結果 (%)							
			直接観察				紫外線照射観察			
			観察尾数	○	△	×	観察尾数	○	△	×
2001.10.10	0	131	15	100	0	0	—	—	—	—
2001.10.20	0	138	15	93	7	0	—	—	—	—
2001.11. 9	30	162	15	87	13	0	15	100	0	0
2002. 1. 9	91	211	15	87	13	0	15	100	0	0
2002. 4.19	191	230	28	89	11	0	28	100	0	0
2002.11.29	415	352	28	57	29	14	28	100	0	0
2003. 7.28	656	404	17	76	24	0	17	100	0	0
2004. 5.12	945	475	12	8	8	84	12	100	0	0

注) 観察は0～91日目までは個体識別した15尾のみ、191～415日目は生残した全数とした。

識別結果の記号は、○：識別程度が「見える」、△：識別程度が「見にくい」、×：識別程度が「見えない」を表す。

表2 イラストマー標識試験に供したオニオコゼ稚魚の成長と生残率の変化

観察年月日	装着後の 経過月数	平均全長	生残率	
			試験区	対照区
2002. 12. 21	0	83.3	100	100
2003. 3. 21	3	87.9	100	100
2003. 6. 8	6	90.1	100	100
2003. 9. 10	9	114.6	100	100
2003. 12. 29	12	131.8	92	94
2004. 3. 7	15	131.4	90	92
2004. 6. 9	18	132.4	90	90

表3 オニオコゼ稚魚に装着したイラストマー標識の識別割合の変化

観察年月日	装着後の経過月数	識別結果 (尾)		識別割合 (%)
		可能	不可	
2002. 12. 21	0	50	0	100
2003. 3. 21	3	50	0	100
2003. 6. 8	6	50	0	100
2003. 9. 10	9	42	8	84
2003. 12. 29	12	36	10	78
2004. 3. 7	15	34	11	76
2004. 6. 9	18	33	12	73

体で標識の識別が可能であったが、今後は皮膚の肥厚に伴うイラストマーの埋没を回避するために、頭部以外の適正な装着部位について検討する必要がある。

## 文 献

- 1) 宮木廉夫・新山 洋・安元 進・池田義弘・多部田 修 (1997) トラフグ *Takifugu rubripus* 幼魚におけるイラストマー蛍光標識の有効性について. 長崎水試研報, **23**, 27-29.
- 2) Bonneau, J.L., R.F. Thurow, and D.L. Scarnecchia (1995) Capture, marking, and enumeration of juvenile bull trout and cutthroat trout in small, low conductivity streams. North American Journal of Fisheries Management, **15**, 563-568.
- 3) Dewey, M.R. and S.J. Zigler (1996) An evaluation of fluorescent elastomer for making bluegill sunfish in experimental studies. Prog. Fish-Culturist, **58**, 219-220.
- 4) 崔 美敬・山崎文雄 (1996) イラストマー蛍光タグによるサクラマス幼稚魚の標識法について. 水産育種, **23**, 41-50.

## 素掘池に放流したトラフグの生残尾数推定法の検討

清水大輔・崎山一孝  
(百島栽培漁業センター)

百島栽培漁業センターでは、1998年から塩田跡地の素掘池（以下、実験池）を利用した模擬放流試験を行い、放流種苗の種苗性評価や初期死亡の原因究明に取り組んでいる。その一環として実施するトラフグ人工種苗の初期減耗過程に関する調査では、毎日の生残尾数を把握する必要があり、夜間潜水によるライントランセクト法で尾数推定を行ってきた。しかし、この方法ではトラフグが潜水者の呼吸音や水中ライトの明かりに反応し逃避するため、推定精度に問題が残った<sup>1)</sup>。さらに、夜間潜水の危険性や作業労力の大きさも問題である。

そこで本試験では、調査時のトラフグの逃避を防止して、安全かつ精度よく生残尾数を推定する目的で、夜間にボート上から行うライントランセクト法の有効性を検討した。

## 材料と方法

試験には、百島栽培漁業センターの1号実験池（縦126m × 横42.5m）のおよそ半分を仕切網で区切って（底面積2,590m<sup>2</sup>）使用した（図1）。この池は水門を

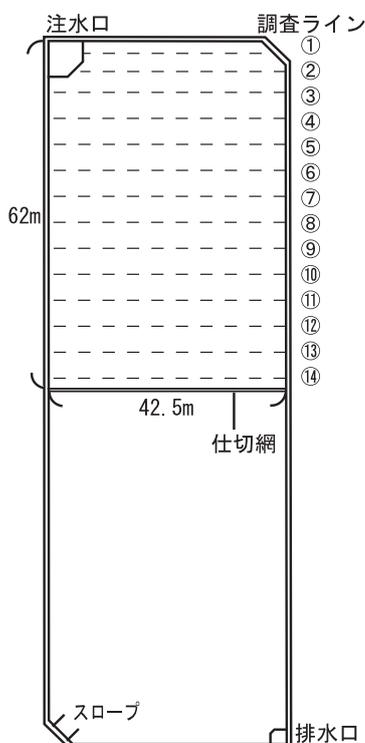


図1 実験池の形状と調査ライン

介して海につながっており、潮位の変化によって海水を交換する構造になっている。従って、最大水深（注水口部の魚溜り）は満潮時で約2.2m、干潮時では約1.2mと大きく変化する。底質が砂である点も含め、天然海域に近い環境が再現されている。

供試魚は、屋島栽培漁業センターで生産した平均体長37.2mm (29~46mm) のトラフグ種苗168尾である。2群同時放流・比較試験で、群ごとに生残尾数を推定する場合を想定し、供試魚は体長30mm を境として大小2群に分けた。その上で、大型群（100尾）には黄色、小型群（68尾）には赤色の蛍光イラストマー標識（Northwest Marine Technology）を上面から確認しやすいよう上唇に装着し、2003年6月20日に同時に放流した。

計数は放流当日も含めて5日間連続で、毎日1回ずつ実施した。5日目には実験池の海水を全て排水し、生残個体を回収した。調査ラインとして実験池の上面に、短辺と平行に約4.5m 間隔で14本のロープを設置し（図1）、夜間の最干潮時に、ロープを中心とした幅1m の範囲内に定位している個体を船上から目視計数した。発見したトラフグには、船上から蛍光ライトを照射し、標識の色を確認した。なお、計数時のトラフグの逃避を防止するために、船外機やオールは使わず、設置したロープを手繰りながら静かにボートを進めた。また、放流魚の減耗に見立てて、毎日12~25尾（放流尾数の7~15%）を計数後に間引いた。

本調査で得られた各調査ラインの観測尾数  $x_i$  と面積  $q_i$  から、個体密度  $m_i (=x_i/q_i)$  を試算した。全調査ラインの個体密度の平均値  $\bar{m}$  を、池の面積  $Q (=2,590\text{m}^2)$  に引き伸ばし推定尾数  $\hat{N}$  を算出した（式1）。また、式2により推定尾数の標準偏差  $SD(\hat{N})$  を試算した<sup>2)</sup>。

$$\hat{N} = Q\bar{m} \quad (1)$$

ただし、

$$\bar{m} = \frac{1}{n} \sum m_i, \quad m_i = x_i / q_i$$

$$v(\hat{m}) = \frac{Q-q}{Q-1} \cdot \frac{\sum q_i^2 (m_i - \bar{m})^2}{q(q-1)} \quad (2)$$

$$SD(\hat{N}) = \sqrt{Q^2 v(\hat{m})}$$

$N$ : 総尾数  
 $Q$ : 池面積 (=2,590m<sup>2</sup>)  
 $q$ : 全調査面積 (=583m<sup>2</sup>)  
 $n$ : ライン数 (=14本)  
 $x_i$ : ライン $i$ の観測尾数  
 $q_i$ : ライン $i$ の面積  
 $m_i$ : ライン $i$ の個体密度 (=  $x_i/q_i$ )

## 結 果

調査時の水位は最深部で1.2m、最浅部で0.2mであり、蛍光ライトを使用することによりすべての目視個体の標識を判別することができた。夜間のトラフグはランダム分布しておらず、仕切網や池壁付近の浅場に局在していた。また、トラフグは池底または水中に定

位し、ほぼ全ての個体が睡眠していた。

試験終了後の取揚げの結果、大型群7尾、小型群4尾の不明が生じた。そこで、これらを各群の自然死亡尾数と見なし、(放流尾数) - (総間引き尾数) - (自然死亡尾数) = (取揚げ尾数)、となるように1日当りの自然死亡率 $1-S$ を与え、計数時における毎日の生残尾数 $N$ を確定した。これと本法による推定生残尾数との比較を行った。なお、大型群では $S=0.9828$ 、小型群では $S=0.9866$ となった。

大型群、小型群それぞれについて、観測した調査ラインごとの個体密度、推定尾数 $\hat{N}$ と標準偏差 $SD(\hat{N})$ 、実際の生残尾数 $N$ 、および推定誤差を表1に、 $N$ および $\hat{N} \pm SD$ の推移を図2に示した。大型群、小型群いずれにおいても、放流当日、1日目の推定誤差は20%以上の過小評価となった。放流3~4日目の推定では、

表1 調査日・ライン別の個体密度と推定尾数および推定値の誤差

調査ライン	面積 m <sup>2</sup>	大型群 個体密度 (×10 <sup>-2</sup> )					小型群 個体密度 (×10 <sup>-2</sup> )				
		0日	1日	2日	3日	4日	0日	1日	2日	3日	4日
1	35.5	2.8	2.8	0	0	0	0	0	0	0	0
2	37.5	2.7	0	2.7	2.7	2.7	0	2.7	0	2.7	0
3	42.5	2.4	2.4	4.7	2.4	0	4.7	0	0	2.4	2.4
4	42.5	0	4.7	0	7.1	2.4	0	0	0	2.4	0
5	42.5	0	0	0	2.4	4.7	2.4	0	2.4	4.7	2.4
6	42.5	2.4	0	2.4	0	0	2.4	2.4	0	0	2.4
7	42.5	2.4	14.1	4.7	2.4	0	0	2.4	0	0	0
8	42.5	4.7	0	0	2.4	0	0	0	4.7	0	0
9	42.5	0	4.7	2.4	2.4	0	2.4	4.7	2.4	4.7	0
10	42.5	0	0	2.4	0	4.7	4.7	2.4	0	0	4.7
11	42.5	4.7	2.4	9.4	0	0	2.4	0	2.4	0	7.1
12	42.5	4.7	4.7	0.0	2.4	4.7	0	4.7	4.7	0	0
13	42.5	7.1	0	4.7	4.7	4.7	2.4	2.4	4.7	2.4	0
14	42.5	7.1	0	0	0	0	4.7	2.4	4.7	2.4	2.4
平均個体密度		2.9	2.6	2.4	2.0	1.7	1.8	1.7	1.8	1.5	1.5
推定尾数 $\hat{N} \pm SD$		75.4±14.8	66.2±23.1	61.5±16.7	52.8±13.1	44.1±14.8	47.9±12.6	44.1±12.5	47.9±13.8	39.8±13.4	39.2±15.4
生残尾数 $N$		98.3	87.7	72.5	52.6	43.8	67.1	60.3	48.6	42.0	37.5
推定値の誤差*1 (%)		-23.2	-24.6	-15.1	0.5	0.7	-28.6	-26.8	-1.5	-5.4	4.4

\*1 ( $\hat{N} - N$ )/ $N$  \*100

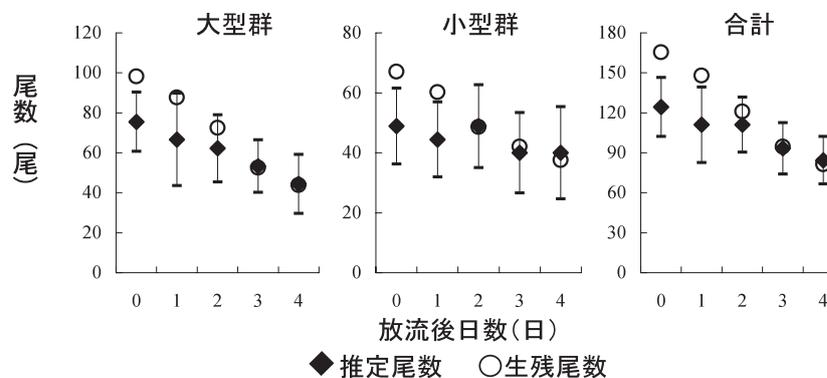


図2 推定尾数および生残尾数の推移  
記号は推定尾数の標準偏差を意味する

推定誤差が±6%の範囲内に収まり、正確に推定することができた。

## 考 察

本試験で検討した夜間の干潮時のボート上からのライントランセクト法は、潜水法に比べてトラフグの逃避が少ないことに起因して、推定値が真の値に近く、本実験池での生残尾数推定法として有効と考えられた。本試験では、放流当日および1日目の $\hat{N}$ が20%以上の過少推定となったが、これは放流前日に実験池に全注水したことによる、水の濁り、水面のアクのため、トラフグの発見もれがあったためと考えられる。濁りが解消するに従って推定値の誤差が小さくなっていることから、放流試験を行う際は、実験池への注水直後の開始は避け、濁りがとれるのを待つ必要があると考えられた。また、雨や風によって水面に波が立った場

合も発見もれが増加すると考えられる。本実験池は屋外のため、気象条件を一定にすることは不可能であるが、できるだけ好天日を選んで、発見率を向上させるよう努力する必要があると考えられた。

潜水法による計数は職員2名で約1.5時間を要すが、本計数法では1時間で計数を行え、安全確保のための監視要員を除けば、職員1名でも作業が可能である。従って、安全性の確保と労力軽減の面からも、本計数法は有効と考えられた。

## 文 献

- 1) 足立純一 (2002) 放流調査方法の開発 (生残尾数の推定). 日本栽培漁業協会年報(平成12年度), 238-240.
- 2) 北田修一 (2001) 栽培漁業と統計モデル分析. 共立出版, 東京, 199-200.

## トラフグ受精卵のヨード剤による消毒の効果

堀田卓朗\*<sup>1</sup>・藤本 宏\*<sup>2</sup>・山崎英樹\*<sup>2</sup>・渡辺研一\*<sup>1</sup>

(\*<sup>1</sup> 古満目栽培漁業センター, \*<sup>2</sup> 屋島栽培漁業センター)

トラフグ *Takifugu rubripes* は、年間に放流用として299万尾、養殖用として1,427万尾の人工種苗が生産され<sup>1)</sup>、産業上非常に重要な魚種である。本種の種苗期に発生する疾病としてウイルス性神経壊死症 (viral nervous necrosis: VNN)<sup>2)</sup>、口白症<sup>3)</sup>、ビブリオ病、滑走細菌症、イクチオボド症、ウージニウム症や白点病<sup>4)</sup> などがあり、特に VNN は垂直感染が疑われている。魚介類の垂直感染防除対策として卵消毒が行われ、サケ科魚類の伝染性造血器壊死症<sup>5)</sup> やクルマエビ類の急性ウイルス血症<sup>6,7)</sup> ではポビドンヨード、シマアジ<sup>8)</sup> やマツカワ<sup>9)</sup> の VNN ではオキシダント海水が用いられている。

本報告ではトラフグにおける垂直感染防除を目的として、ポビドンヨード (以下、ヨード剤) を用いて卵消毒を行い、ふ化に及ぼす影響と消毒効果を検討した。

### 材料と方法

**供試卵** 試験に供試した卵は、屋島栽培漁業センターにおいて5年間および3年間養成した親魚から人工授精で得た。卵の輸送は、ポリエチレン製の袋に海水10ℓと約200gの卵を収容し、酸素を封入した後発砲スチロール容器に梱包して自動車で約5時間かけて輸送した。消毒試験は、受精後約10時間経過したモルラ期の受精卵に行った。卵は試験前にろ過海水で洗浄し、卵以外の夾雑物を可能な限り除去した。試験は1回目を2004年3月20日、2回目を4月13日、3回目を5月6日に行った。2～4細胞期にかけての受精率は93～98%であった。

**有効ヨウ素濃度および浸漬時間** ヨード剤には、水産用イソジン液 (明治製菓) を用いた。消毒液は有効ヨウ素濃度が0, 25, 50および100mg/ℓとなるようにヨード剤をろ過海水に溶解して作製した。各濃度の消毒液に、卵を5, 10, 15および20分間浸漬した。未処理の卵を対照区とした。受精卵1g (約700粒) に対して、消毒液は3ℓを用いた。

**浸漬方法** 卵約2.2g (約1,500粒) をネット (10×7×6 cm, ナイロン製, 目合い0.5mm) に入れ、ネットごと消毒液に浸漬し、卵全体に消毒液が行き渡るように所定時間内でゆっくり、ネットを揺らした。

**ふ化管理** 所定時間ヨード剤に浸漬した卵は、ろ過海水を流水にした水槽にネットごと移して3分間洗浄し、ヨード剤を速やかに除去した。洗浄後の卵200粒

を薬さじですくい取り、カナマイシン硫酸塩 (ナカライテスク) を5mg/ℓとなるように添加したろ過海水500mlの入った蓋付きプラスチック瓶 (広口T型瓶, アズワン) に収容した。卵を収容したプラスチック瓶は、ろ過海水のかけ流しで強通気を施した1ℓ水槽に収容し、ふ化まで卵管理した。本種のふ化は数日間にわたり<sup>10)</sup>、ふ化により発生した有機物の腐敗による水質悪化が懸念されたため、最初ふ化を確認した日から対照区の卵がすべてふ化するまでの間、1日1回水量の60%の海水を換水した。

卵管理中の平均水温は、1回次18.1℃ (17.2～18.9℃)、2回次20.0℃ (19.5～20.5℃)、3回次18.6℃ (18.2～19.2℃) であった。

**ふ化状況の観察** 対照区の卵がすべてふ化した時点で、それぞれのプラスチック瓶に *m*-アミノ安息香酸エチルメタンスルホネート (ナカライテスク) を300mg/ℓとなるように添加して仔魚に麻酔をかけ、ふ化状況を実体顕微鏡下 (SMZ-U, ニコン) で観察した。正常ふ化仔魚、ふ化直前まで発生が進んだ未ふ化生残卵、仔魚膜異常、頭部が卵膜から抜けていない等の異常ふ化仔魚、および死亡卵に区分し、正常ふ化率、未ふ化生残卵率、異常ふ化率、死亡卵率、未ふ化生残卵と異常ふ化を合わせたふ化異常率を求めた。

**消毒効果** 浸漬が終了した卵約0.1～0.2gを、滅菌2%ペプトン水 (1.5% NaCl 加) 1mlをあらかじめ入れたストマッカーの袋 (オルガノ) に取り、ヨード剤の反応を止めた。卵の9倍量となるように滅菌人工海水を加えてホモジナイズし、10倍希釈液列を作製した。海水培地平板表面に塗抹して25℃で5日間好気的に培養して出現コロニー数から生菌数を算出し、以下の式により消毒率を求めた。

$$\text{消毒率} = (1 - \text{試験区の生菌数} / \text{対照区の生菌数}) \times 100$$

**統計検定** 正常ふ化率、死亡卵率、ふ化異常率について得られた値を逆正弦変換して2元配置の分散分析を行い、Turkeyの方法による多重比較を行った。

### 結 果

**ふ化に及ぼす影響** ふ化状況の観察結果を表1にまとめた。ヨード剤を用いた試験区の正常ふ化率は、いずれの回次も浸漬時間が長くなるにつれて低下する傾向にあった。有効ヨウ素濃度0mg/ℓの全ての試験区、

および25, 50, 100mg/ℓに5分浸漬した区と対照区の正常ふ化率に有意差は認められなかった(表2)。

未ふ化生残卵はほとんどの試験区で観察された。ヨード剤を用いた試験区の未ふ化生残卵率は、いずれの回数とも浸漬時間が長くなるにつれて、割合が増える傾向が認められた。異常ふ化仔魚は、対照区およびヨード剤を含まない試験区では観察されなかったが、ヨード剤を用いた試験区のほとんどで観察され、異常ふ化仔魚率は浸漬時間10分が高い傾向が認められた。未

ふ化生残卵数と異常ふ化仔魚数を合計して求めたふ化異常率は、ヨウ素濃度0mg/ℓの全ての試験区、および25, 50, 100mg/ℓに5分浸漬した区と対照区に有意差が認められなかった(表2)。全ての試験区で死亡卵が観察されたが、死亡卵率は試験区間で有意差が認められなかった( $p<0.05$ )。

**消毒効果** 生菌数および消毒率を表3に示した。ヨード剤を含まない試験区の消毒率は5%以下と低く、逆に処理後、生菌数が増加する傾向にあった。1およ

表1 ポビドンヨードによるトラフグの卵消毒における正常ふ化率、未ふ化生残率、異常ふ化率及び死亡卵率

ヨウ素濃度 (mg/ℓ)	浸漬時間 (分)	1 回次				2 回次				3 回次			
		正常 ふ化率 (%)	未ふ化 生残卵率 (%)	異常 ふ化率 (%)	死亡 卵率 (%)	正常 ふ化率 (%)	未ふ化 生残卵率 (%)	異常 ふ化率 (%)	死亡 卵率 (%)	正常 ふ化率 (%)	未ふ化 生残卵率 (%)	異常 ふ化率 (%)	死亡 卵率 (%)
0	0	95.3	0.9	0.0	3.8	78.8	1.4	0.0	19.8	85.3	2.5	0.0	12.2
	5	91.8	2.6	0.0	5.6	82.0	0.7	0.0	17.3	79.8	2.7	0.0	17.5
	10	92.4	0.0	0.0	7.6	85.9	0.5	0.0	13.6	81.6	4.6	0.0	13.8
	15	95.8	0.3	0.0	3.8	83.4	0.4	0.0	16.2	83.7	1.7	0.0	14.5
	20	95.4	0.4	0.0	4.3	84.3	1.6	0.0	14.1	82.6	3.4	0.0	14.1
25	5	91.8	0.0	0.0	8.2	57.0	13.5	11.6	17.9	57.5	7.8	17.9	16.8
	10	66.0	4.3	24.7	5.1	8.5	53.7	14.7	23.2	22.2	30.1	30.1	17.6
	15	17.7	55.6	22.0	4.7	3.1	71.7	3.1	22.0	5.8	64.9	16.4	12.9
	20	8.7	57.7	30.2	3.4	2.5	71.0	6.0	20.5	3.4	71.2	10.1	15.4
50	5	95.4	0.8	0.8	3.1	50.6	8.8	17.6	22.9	62.6	4.7	22.3	10.4
	10	52.9	13.1	28.8	5.2	12.6	54.9	13.0	19.5	19.7	30.7	35.5	14.0
	15	25.4	50.4	17.8	6.5	2.7	64.9	1.6	30.8	8.6	53.3	24.3	13.7
	20	7.1	67.4	19.2	6.3	0.0	74.5	0.0	25.5	4.8	67.5	11.4	16.2
100	5	90.5	0.5	4.2	4.8	73.5	5.5	5.0	16.0	79.1	2.8	4.3	13.8
	10	19.2	49.4	24.9	6.5	32.2	28.8	20.0	19.0	15.8	35.7	34.8	13.6
	15	2.1	78.5	13.6	5.8	2.5	72.5	1.3	23.8	6.6	59.5	15.0	19.0
	20	2.7	83.5	9.0	4.8	0.0	75.4	0.0	24.6	8.2	60.2	17.2	14.3

表2 正常ふ化率およびふ化異常率に関する Turkey 法による有意差検定結果 (上段: 正常ふ化率, 下段: ふ化異常率)

ヨウ素濃度 (mg/ℓ)	浸漬時間 (分)	0				25				50				100			
		0	5	10	15	0	5	10	15	0	5	10	15	0	5	10	15
0	0	-	-	-	-	-	**	**	**	-	**	**	**	-	**	**	**
0	5	-	-	-	-	-	**	**	**	-	**	**	**	-	**	**	**
0	10	-	-	-	-	-	**	**	**	-	**	**	**	-	**	**	**
0	15	-	-	-	-	-	**	**	**	-	**	**	**	-	**	**	**
0	20	-	-	-	-	-	**	**	**	-	**	**	**	-	**	**	**
25	5	-	-	-	-	-	**	**	**	-	**	**	**	-	**	**	**
25	10	**	**	**	**	*	-	*	**	-	-	**	**	-	*	**	**
25	15	**	**	**	**	**	-	-	**	-	-	-	**	-	-	-	-
25	20	**	**	**	**	**	-	-	**	-	-	-	**	-	-	-	-
50	5	-	-	-	-	-	*	**	**	-	**	**	**	-	**	**	**
50	10	**	**	**	**	**	-	-	-	**	-	*	**	-	*	**	*
50	15	**	**	**	**	**	-	-	-	**	-	-	**	-	-	-	-
50	20	**	**	**	**	**	-	-	-	**	-	-	**	-	-	-	-
100	5	-	-	-	-	-	**	**	**	-	**	**	**	-	**	**	**
100	10	**	**	**	**	**	-	-	-	**	-	-	-	**	-	-	-
100	15	**	**	**	**	**	-	-	-	**	-	-	-	**	-	-	-
100	20	**	**	**	**	**	-	-	-	**	-	-	-	**	-	-	-

\* :  $p<0.05$ , \*\* :  $p<0.01$

表3 受精卵の消毒前及び消毒後の生菌数の変化とポビドンヨードの消毒率

ヨウ素濃度 (mg/l)	消毒時間 (分)	1 回次		2 回次		3 回次	
		生菌数 (CFU/g)	消毒率 (%)	生菌数 (CFU/g)	消毒率 (%)	生菌数 (CFU/g)	消毒率 (%)
0	0	$7.0 \times 10^3$		$1.6 \times 10^3$		$3.3 \times 10^3$	
	5	$1.0 \times 10^4$	-48.2	$1.3 \times 10^4$	-722.6	$6.2 \times 10^3$	-86.4
	10	$2.2 \times 10^4$	-210.1	$8.8 \times 10^3$	-464.5	$3.2 \times 10^3$	4.5
	15	$1.5 \times 10^4$	-116.5	$2.2 \times 10^4$	-1335.5	$2.5 \times 10^4$	-642.4
25	20	$2.1 \times 10^4$	-198.6	$6.8 \times 10^3$	-338.7	$4.8 \times 10^4$	-1354.5
	5	$4.0 \times 10^2$	94.2	$7.5 \times 10^2$	51.6	$0.0 \times 10^0$	>99.9
	10	$7.0 \times 10^2$	89.9	$5.5 \times 10^1$	96.8	$5.0 \times 10^1$	98.5
	15	$4.5 \times 10^2$	93.5	$1.3 \times 10^3$	16.1	$0.0 \times 10^0$	>99.9
50	20	$1.0 \times 10^2$	98.6	$7.0 \times 10^2$	54.8	$5.0 \times 10^1$	98.5
	5	$4.5 \times 10^2$	93.5	$8.5 \times 10^2$	45.2	$1.0 \times 10^2$	97.0
	10	$5.5 \times 10^2$	92.1	$4.0 \times 10^2$	74.2	$0.0 \times 10^0$	>99.9
	15	$4.5 \times 10^2$	93.5	$1.9 \times 10^4$	-1141.9	$5.0 \times 10^1$	98.5
100	20	$0.0 \times 10^0$	>99.9	$5.5 \times 10^1$	96.8	$3.5 \times 10^2$	89.4
	5	$8.5 \times 10^2$	87.8	$1.2 \times 10^4$	-696.8	$2.5 \times 10^2$	92.4
	10	$3.0 \times 10^2$	95.7	$1.0 \times 10^2$	93.5	$5.0 \times 10^1$	98.5
	15	$5.5 \times 10^1$	99.3	$1.5 \times 10^2$	90.3	$5.0 \times 10^1$	98.5
	20	$2.5 \times 10^2$	96.4	$2.0 \times 10^2$	87.1	$0.0 \times 10^0$	>99.9

消毒率 = (1 - 消毒後の生菌数 / 消毒前の生菌数) × 100

び3回次では、ヨード剤を用いたいずれの試験区の消毒率も90%前後であった。2回次では、生菌数が全く減少していない試験区と90%台の消毒率の試験区があり、大きな差が認められた。いずれの回次においても、ヨウ素濃度の上昇、浸漬の長時間化に伴う消毒率の上昇は観察されなかった。

## 考 察

**ふ化に及ぼす影響** 対照区とヨウ素を含まない試験区間では、正常ふ化率、ふ化異常率および死亡卵率に有意差は認められなかったことから、今回行った卵へのハンドリングは、トラフグ卵のふ化に影響を及ぼさなかったと考えられた。

対照区とヨード剤を用いて5分浸漬した試験区の正常ふ化率とふ化異常率に統計的有意差が認められなかった。したがって、有効ヨウ素濃度100mg/l以下の海水に5分間浸漬することは、トラフグ受精卵に対して安全であると考えられた。

死亡卵率は試験区間で有意差が認められなかったことから、今回試験した有効ヨウ素濃度および浸漬時間内では卵発生を停止させることは無いと考えられた。しかし、未ふ化生残卵もしくはふ化異常がヨード剤を用いた試験でのべ36例中35例確認されていることから、ヨード剤は卵膜もしくはふ化酵素の発現に影響を及ぼしていると考えられた。ヒラメの受精卵をオゾン曝露海水に浸漬すると、ふ化腺の発達や卵膜の分解酵素の分泌は正常であったが、オゾン曝露海水の影響に

より卵膜の構造が変性し、未ふ化生残卵になると考えられている<sup>11)</sup>。今回のヨード剤によるトラフグの受精卵消毒において確認された未ふ化生残卵についても、同様の現象が起きていると考えられ、消毒時間が長くなるにつれ卵膜の構造がより変性した結果、未ふ化生残卵率が増えたと考えられた。また、異常ふ化仔魚は浸漬時間5分における割合は低く、10分で高く、15分以上では低くなる傾向であった。浸漬時間5分までは、ヨード剤による卵膜の構造の変性の程度は軽く、多くの受精卵において正常なふ化ができたと考えられた。一方、浸漬時間10分では変性の程度が進行したため、ふ化までは可能であったが異常ふ化の割合が増え、15分以上になると、多くの受精卵でふ化することすらできず、未ふ化生残卵となったと考えられた。

ヒラメにおける未ふ化生残卵の生存期間は、無処理のふ化のピークから約2日程度であったとの報告がある<sup>12)</sup>。今回のトラフグの未ふ化生残卵も、ヒラメ同様に未ふ化のまま死亡にいたると考えられた。また、異常ふ化仔魚のほとんどは卵膜が抜けられない状態であり、この状態は観察の翌日も続いていたことや、卵膜が仔魚の体にくい込んでいたことから、いずれ死亡すると考えられた。

**消毒効果** ヨード剤を含まない試験区では、消毒効果が認められなかったのに対して、ヨード剤を含む海水に浸漬した試験区の多くでは90%前後の消毒率が得られたことから、トラフグ受精卵をヨード剤を用いて消毒できると考えられた。しかしながら、ヨウ素濃度の上昇や浸漬時間の長期化に伴う消毒率の上昇は観察

されなかった。本種は粘着卵であり、卵の表面の粘着物質による影響が考えられるが、今後の検討課題である。なお、2回次の試験において、生菌数が増加するなど、消毒率が大きく変化した原因は、消毒前の夾雑物の除去が不十分であったことや、死卵の混入、卵の表面の粘着物質の影響等が考えられた。

以上の結果から、ヨード剤を用いてトラフグの卵消毒を行う場合、ヨウ素濃度100mg/ℓ以下、浸漬時間5分までであれば、90%の消毒率で安全に消毒できると考えられた。

## 文 献

- 1) 水産庁・独立行政法人水産総合研究センター (2004) 平成14年度栽培漁業生産，入手・放流実績 (全国). pp. 37-38, 82-84.
- 2) 中井敏博・Nguyen Huu Dung・西澤豊彦・室賀清邦・有元 操・大槻観三 (1994) クエおよびトラフグにおけるウイルス性神経壊死症の発生. 魚病研究, **29**, 211-212.
- 3) 西岡豊弘・古澤 徹・水田洋之介 (1997) 種苗生産過程の海産魚介類における疾病発生状況 (1989~1994年). 水産増殖, **45**, 285-290.
- 4) 山口県・長崎県・福岡県 (1991) トラフグ放流技術開発事業総括報告書. pp 9-13.
- 5) 「魚類防疫への挑戦」編集委員会 (1993) 一成功・失敗事例集—魚類防疫への挑戦サケ・マス編. 緑書房, 東京, 46-49.
- 6) 桃山和夫・谷村利克 (2004) クルマエビ受精卵消毒によるPAVの予防. 山口県水産試験場研究報告, **2**, 117-123.
- 7) 佐藤 純・虫明敬一・森 広一郎・有元 操・今泉圭之輔 (2003) 衆生生産過程におけるクルマエビの急性ウイルス血症 (PAV) の防除対策. 栽培技研, **30**, 101-109.
- 8) 虫明敬一・有元 操 (2000) シマアジのウイルス性神経壊死症 (VNN) に関する防除対策. 栽培技研, **28**, 47-55.
- 9) 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に関する研究 (特別研究報告15号). 日本栽培漁業協会, 東京, pp. 71.
- 10) 神谷直明・辻ヶ堂 諦 (1995) トラフグ受精卵のふ化時刻. 栽培技研, **23**, 109-112.
- 11) 三村 元・長瀬俊哉・片山康人・難波憲二 (1999) 未孵化生残卵の生理学および組織学的考察. 日水誌, **65**, 448-456.
- 12) 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 (*Paralichthys olivaceus*) 卵に対する影響. 水産増殖, **46**, 101-110.

## ヒラメ稚魚における7%食塩添加海水浴による ネオヘテロボツリウム成虫の駆除効果

西岡 豊弘  
(上浦栽培漁業センター)

単生類のネオヘテロボツリウムの一 種 *Neoheterobothrium hirame* は, ヒラメ *Paralichthys olivaceus* のネオヘテロボツリウム症の原因体であり, 寄生されたヒラメは, *N.hirame* に吸血されることにより, 顕著な貧血症状を呈する<sup>1-3)</sup>。本症は天然魚のみならず, 養殖魚や種苗生産場の養成親魚にも発生が認められたことから, 養殖業や栽培漁業の推進に影響を及ぼすことが懸念されている<sup>1,4)</sup>。

本症の治療法として, ヒラメの口腔壁に寄生している *N.hirame* 成虫を駆除する方法が挙げられ, 結果として貧血症状が回復することが報告されている<sup>5,6)</sup>。成虫の駆除法として, ピンセット等により物理的に成虫を取り除く方法や, 塩化ナトリウムを現場海水8%となるように溶解した濃塩水に, 罹病したヒラメを5分間浸漬する方法が報告されている<sup>7)</sup>。しかし, 成虫を物理的に取り除く方法では, 多くの人員と作業時間の確保が必要である。また, 20℃で濃塩水浴を行うと, ヒラメが死亡することが報告されている<sup>7)</sup>。さらに, これらの方法はヒラメの養成親魚に対して行われるものであり, ヒラメ稚魚における *N.hirame* 成虫の駆除法については未検討である。

そこで本報告では, 種苗生産したヒラメ稚魚および幼魚における *N.hirame* 成虫の駆除法を確立することを目的に, 食塩の添加濃度, 浸漬時間および浸漬時の水温について検討した。

### 材料と方法

**食塩添加海水濃度が *N.hirame* 成虫の駆除およびヒラメ幼魚の生残に与える影響** ミキサー (高速度ミキサー MX-40, 三國産業) に所定量の食塩 (塩分99%以上, 塩事業センター) と30ℓのろ過海水を入れてよく攪拌した後, 30ℓポリカーボネート水槽に移した。海水に添加する食塩の割合は3, 5, 8および10% (W/V) とし, 予備飼育, 食塩添加海水浸漬時および継続飼育中の水温は14~15℃とした。*N.hirame* が自然感染した人工生産ヒラメ幼魚 (平均全長24.5cm) 10尾をトリカルネット (N-24, 田中三次郎商店) で作製したカゴ (25×25×高さ20cm) に入れ, 各濃度の食塩添加海水に5分間浸漬した後, ろ過海水を入れ

た30ℓポリカーボネート水槽に移した。同様に食塩を添加しないろ過海水に浸漬する対照区を設けた。浸漬後のヒラメには, 配合飼料を給餌して継続飼育し生残状況を調査した。10日後にヒラメを取り揚げ, 実体顕微鏡を使用してヒラメの口腔内に寄生した *N.hirame* 成虫の寄生状況および生存状況を調査した。そして, *N.hirame* 成虫がヒラメから脱落もしくは死亡した場合をに駆除ができたと判断判定した。

**食塩添加海水濃度および浸漬時間が *N.hirame* 成虫とヒラメ幼魚の生残に与える影響** 100ℓのろ過海水に上記の方法で, 食塩を5および7% (W/V) の割合で溶解した100ℓポリカーボネート水槽を準備した。*N.hirame* が自然感染した人工生産ヒラメ幼魚 (平均全長24.5cm) 10尾をフタ付プラスチック製カゴ (46×30×高さ13cm) に入れ, 各濃度に調整した食塩添加海水に, 2.5, 5または10分間浸漬した後, ろ過海水が入った水槽に移した。対照区の設定と *N.hirame* 成虫の寄生の有無およびヒラメの生残状況の観察は, 上記と同様とした。予備飼育, 食塩添加海水浸漬時および継続飼育中の水温は14~15℃とした。

**食塩添加海水浸漬時の水温がヒラメ稚魚の生残に与える影響** ヒラメの種苗生産における飼育水温は, 18~20℃とされている<sup>8)</sup>。一方, 着底したヒラメや全長30mm以降から放流サイズの80~100mmまで育成する場合には, 飼育水温が25℃付近まで上昇する事例がある<sup>8,9)</sup>。そこで, 食塩添加海水浸漬時の水温が, ヒラメ稚魚の生残に及ぼす影響を調査した。チタンパイプヒーターまたは冷却装置 (チタチラー TC-1500SE, 山一製作所) で水温を18, 20および25℃に調製したろ過海水100ℓに, 食塩を7% (W/V) の割合で溶解して食塩添加海水を作製し, 100ℓポリカーボネート水槽に満たした。試験前に20℃で飼育していた *N.hirame* 未感染の人工生産ヒラメ稚魚 (平均全長5.0cm) をそれぞれの水温で3日間飼育し, 試験水温に馴致させた。10尾の稚魚を上記のプラスチック製籠に入れ, 5, 10および15分間それぞれの水温の食塩添加海水に浸漬した。その後, 浸漬時の水温と同一の水温としたろ過海水が入った水槽へ移し, ヒラメの生残状況を上記の方法で10日間観察した。

## 結 果

**食塩添加海水濃度が *N.hirame* 成虫およびヒラメ幼魚の生残に与える影響** *N. hirame* 成虫が寄生したヒラメ幼魚を 3, 5, 8 および 10% 濃度の食塩添加海水に 5 分間浸漬した場合の *N. hirame* 成虫の駆除率は、それぞれ 0, 90, 100 および 100% であり、添加した食塩の濃度が高いと駆除率が高かった (表 1)。ヒラメの生残率は、それぞれ 100, 100, 90 および 80% であり、添加した食塩の濃度が高いほど死亡尾数が多くなった (表 1)。また、10% 濃度の食塩添加海水に浸漬したヒラメ幼魚では、試験後 6 日目から摂餌が認められたが、他の試験区では、翌日から活発に配合飼料を摂餌した。

**食塩添加海水濃度および浸漬時間が *N.hirame* 成虫とヒラメ幼魚の生残に与える影響** 5% 食塩添加海水に浸漬した 10 日後の *N. hirame* 成虫の駆除率は、浸漬時間が長くなるほど高くなったが、10 分間浸漬した場合でも、駆除率は 60% と *N. hirame* 成虫を完全に駆除することはできなかった (表 2)。7% 食塩添加海水では、ヒラメ幼魚を 5 分間以上浸漬すると、*N. hirame* 成虫を完全に駆除することができた (表 2)。いずれの試験区のヒラメも、食塩添加海水に浸漬した翌日から摂餌する個体が認められた。5% 食塩添加海水に 5 分間浸漬した試験区では、浸漬後 2 日目に 1 尾のヒラメが死亡したが、他の試験区では死亡するヒラ

メは認められなかった (表 2)。

**食塩添加海水浸漬時の水温がヒラメ稚魚の生残に与える影響** 18℃ の水温では、浸漬時間に関係なくヒラメ稚魚の死亡は認められなかった (表 3)。水温が 20℃ 以上になると、5 分間までの浸漬では、ヒラメ稚魚の死亡は確認されなかったが、10 分間以上の浸漬ではすると 20% 以上のヒラメ稚魚が死亡した (表 3)。

## 考 察

ヒラメ幼魚に寄生した *N. hirame* 成虫を駆除する方法について検討した結果、5% 以上の食塩を添加した海水にヒラメ幼魚を 5 分間浸漬することにより、*N. hirame* 成虫が駆除できることが明らかとなった。しかし、5% 食塩添加海水では、供試したヒラメに寄生している全ての *N. hirame* を駆除することはできなかった。また、8% 以上の食塩添加海水にヒラメを 5 分間浸漬すると、ヒラメが死亡することから、5% 以上、8% 未満の食塩添加海水が、*N. hirame* 成虫の駆除に有効と考えられた。この結果を基に、7% 食塩添加海水に、ヒラメを 5 分から 10 分間浸漬したところ、ヒラメの死亡が確認されず、*N. hirame* 成虫を完全に駆除できた。本法は、鰓に寄生している *N. hirame* 未成熟虫の駆除も同様に可能である (西岡, 未発表) ことが明らかになっており、ヒラメの *N. hirame* 症の

表 1 食塩添加海水の食塩添加濃度がヒラメに寄生する *N. hirame* 成虫およびヒラメ幼魚の生残に与える影響

食塩添加濃度 (w/v : %)	浸漬時間 (分)	生残数 (尾)		駆除率*1 (%)
		開始	終了	
0	5	10	10	10*2
3	5	10	10	0
5	5	10	10	90
8	5	10	9	100
10	5	10	8	100

\*1: 生残魚の内、*N. hirame* 成虫が死亡したヒラメの割合

\*2: 試験開始 7 日後に、1 尾のヒラメの *N. hirame* 成虫が脱落した。

表 2 食塩添加海水の食塩添加濃度と浸漬時間が *N. hirame* 成虫とヒラメ幼魚の生残に与える影響

食塩添加濃度 (w/v : %)	浸漬時間 (分)	生残数 (尾)		駆除率*1 (%)
		開始	終了	
0	10	10	10	0
5	2.5	10	10	10
5	5	10	9*2	33
5	10	10	10	60
7	2.5	10	10	60
7	5	10	10	100
7	10	10	10	100

\*1: 生残魚の内、*N. hirame* 成虫が死亡したヒラメの割合

\*2: 処理後 2 日目に死亡した。

表3 7% (w/v) 食塩添加海水浸漬時の水温および浸漬時間がヒラメ稚魚の生残に与える影響

水温 (℃)	浸漬時間 (分)	生残数 (尾)		生残率 (%)
		開始	終了	
18	5	10	10	100
18	10	10	10	100
18	15	10	10	100
20	5	10	10	100
20	10	10	8	80*1
20	15	10	7	70*1
25	5	10	10	100
25	10	10	1	10*1
25	15	10	1	10*2

\*1: 処理後1日目に死亡した。

\*2: 処理後1、2日目に死亡した。

治療法として有効であると考えられる。

7%食塩添加海水浸漬時の水温がヒラメ稚魚に及ぼす影響を試験したところ、18~25℃の範囲では5分間浸漬しても、ヒラメは死亡しなかった。上述の通り14~15℃の7%食塩添加海水に5分間ヒラメを浸漬することにより、*N.hirame* 成虫の駆除が可能であったことを考えあわせると、7%食塩添加海水にヒラメ稚魚を5分間浸漬することにより、14~25℃においてはヒラメを死亡させることなく*N.hirame* 成虫の駆除が可能であると推定される。

一方、5%食塩添加海水にヒラメ稚魚を5分間浸漬した場合に、一部のヒラメが死亡した。この要因として、ヒラメの大きさ、生理状態、*N.hirame* の寄生ステージおよび寄生数の多寡などが影響した可能性が考えられる。従って、7%食塩添加海水浸漬法を用いて浴により*N.hirame* 成虫を駆除する場合には、対象とするヒラメの状態を十分に把握した後、駆除を実施する必要があると考えられる。

種苗生産用に用いるヒラメ親魚は、近年、遺伝的多様性を保持する観点から天然魚に依存している<sup>10)</sup>。天然ヒラメで本症が発生していることから<sup>1,3)</sup>、天然で*N.hirame* に感染したヒラメを種苗生産場に搬入することにより、親魚の養成期間中や種苗生産過程において、ネオヘテロボツリウム症が発生する可能性が考えられる。そこで、7%食塩添加海水に罹病ヒラメを5分間浸漬する本方法を、本症の水平感染防除および治療に活用することが重要と考える。

## 文 献

1) 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) 貧血ヒラメの血液症状、病理組織および単生類 *Neoheterobothrium hirame* の寄生状況. 魚病

研究, **35**, 131-136.

2) Yoshinaga, T., T.Kamaishi, I.Segawa, K.Yamano, H.Ikeda, and M.Sorimachi (2001) Anemia caused by challenges with the monogenean *Neoheterobothrium hirame* in the Japanese flounder. *Fish Pathol.*, **36**, 13-20.

3) 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. 魚病研究, **36**, 125-132.

4) 道根 淳 (1999) 養殖および養成親魚ヒラメで発見された寄生虫 *Neoheterobothrium* sp. について. 島根県栽培漁業センター調査報告, 第2号, 15-23.

5) 森 広一郎・本藤 靖・虫明敬一・津崎龍雄・有元 操・堤 信幸・小川和夫 (2000) ヒラメ養成親魚における貧血症 (仮) の発生とネオヘテロボツリウムの駆除効果. 平成12年度日本魚病学会春季大会講演要旨集, 34.

6) Yoshinaga, T., T.Kamaishi, H.Ikeda, and M.Sorimachi (2001) Experimental recovery from anemia in Japanese flounder challenged with the monogenean *Neoheterobothrium hirame*. *Fish Pathol.*, **36**, 179-182.

7) Isshiki, T., M.Tochino, and T.Nagano (2003) Treatments of *Neoheterobothrium* infection in Japanese flounder by 8% NaCl-supplemented seawater bathing. *Suisanzoushoku*, **51**, 363-364.

8) 太平洋北区栽培漁業協議会技術部会ヒラメ作業部会 (1994) 太平洋北区におけるヒラメ種苗生産技術集. 日本栽培漁業協会, 東京, 54-61.

9) 北部日本海ブロック種苗生産研究会 (1984) 北部日本海ブロックにおけるヒラメ種苗生産技術の現状. 日本水産資源保護協会, 東京, 46-61.

10) 福田慎作 (1998) 青森県におけるヒラメの種苗生産技術. 栽培漁業技術研修事業基礎理論コース

テキスト集Ⅻ, 仔稚魚の発育シリーズ, 日本栽培漁業協会, 東京, pp. 2.

## オキシダント海水がハマフエフキ卵のふ化に及ぼす影響

井手健太郎\*<sup>1</sup>・手塚信弘\*<sup>2</sup>・二階堂英城\*<sup>1</sup>・武部孝行\*<sup>1</sup>・升間主計\*<sup>1</sup>

奄美栽培漁業センターでは、クロマグロ *Thunnus thunnus orientalis* の種苗生産技術開発に取り組んでいる。現在の種苗生産における餌料系列は、シオミズツボワムシ→ふ化仔魚→シラス魚肉ミンチであり、ふ化仔魚の安定した供給がクロマグロ種苗生産における重要な役割を担っている。1997年から、餌料としてのふ化仔魚にはハマフエフキ *Lethrinus nebulosus* を用いている。本種は、水温22℃を下回らなければ産卵し続ける魚種であり、奄美地方では人為的に水温や照度を制御する必要がないという知見が得られている。また、魚体が大きくなるため雌1尾当りの産卵量が多く、クロマグロの種苗生産期の自然水温域が産卵期となるため、餌料として必要量のふ化仔魚を連続的に得るのに適しており、他の魚種ではこのような条件を満たしているという報告は見当たらない。

2000年のクロマグロ種苗生産過程において、飼育初期に旋回遊泳して死亡する個体が確認され、死亡魚をPCR法により検査したところ、ウイルス性神経壊死症(VNN)の原因ウイルスであるNNVの遺伝子が検出された。

VNNの感染経路として、餌料であるハマフエフキ仔魚の可能性が考えられたため、2001年から親魚の卵巣卵と精液および種苗生産に供給したふ化仔魚のNNV保有状況の調査を開始した。これまでに、1尾の死亡親魚でNNV陽性を確認し、クロマグロへの水平感染を防除するためには、ハマフエフキにおける有効なVNNの垂直感染防除対策を確立する必要が生じた。

VNNの垂直感染防除対策の有効な手段には、卵消毒が挙げられる。消毒剤として、多くの魚種でVNN垂直感染防除効果が報告<sup>1-5)</sup>されているオキシダントを用いることとし、2002年に海水電解法によるオキシダント発生装置(試作機 荏原実業, 処理能力: オキシダント濃度0.5mg/l, 1kl/時)を導入し、2003年からハマフエフキ卵のオキシダント海水による消毒を開始した。

VNNの原因ウイルスであるSJNNVでは、オキシダント濃度0.1mg/lで2.5分、0.5mg/lでは0.5分でNNVが不活化されることが報告されている<sup>1)</sup>。実際の受精卵消毒では、海水中に含まれる有機物などの影響が無視できないため、消毒剤の濃度を高め、さらに浸漬時間を長くすることが望ましい<sup>4)</sup>。一方、シロギス<sup>6)</sup>、シマアジ<sup>2)</sup>、ヒラメ<sup>7)</sup>、マツカワ<sup>4)</sup>等で、オキシ

ダントが受精卵のふ化に影響を及ぼすと報告されている。また、卵の発生段階により消毒剤に対する感受性が異なることが報告されている<sup>4,7)</sup>。

そこで本報告では、ハマフエフキにおける適切な消毒条件の一端を明らかとする目的で、受精卵を発生段階別にオキシダント濃度0.5mg/lの海水に浸漬し、オキシダントがハマフエフキ受精卵のふ化に及ぼす影響について調査した。

### 材料と方法

試験には、陸上水槽(150kl角型コンクリート水槽)で養成したハマフエフキ親魚(天然由来, 養成5年)が、2003年5月23日に自然産卵した直後の卵の一部を用いた。得られた卵の浮上卵率は87.7%, 受精率は100%であった。採卵時の水温は24.4℃であった。

採卵した卵は、直ちに紫外線殺菌海水(フロンライザー 4DL, 千代田工販)を満たした25l容のバケツに収容し、浮上卵のみをすくいとり、別の紫外線殺菌海水を満たしたバケツに移した。この作業を2回繰り返し、卵から他の夾雑物(有機物)を分離した。得られた受精卵は、500lポリカーボネート水槽に設置したゴース地製のふ化ネット(φ70×50cm)に収容し、紫外線殺菌海水の流水(4~5l/分)で管理した。

試験に供した卵の発生段階は、初期桑実期(受精後3時間)、胞胚期中期(同5時間)、囊胚期中期(同10時間)、胚体形成期(同15時間)、およびふ化直前(同22時間)とした。オキシダント海水への浸漬時間は、0(対照区)、1、2、3および5分とした。各発生段階の卵は、約20万粒をメスシリンダーで計り、タモ網(30×20×15cm, ナイロンメッシュ製)に収容した。次に、タモ網を約0.5mg/lの濃度に調整したオキシダント海水を満たした25l容のバケツに浸漬した。オキシダント海水は、内径25mmのホースでタモ網中に20l/分の流量で注水した。オキシダント濃度の測定は三村ら<sup>9)</sup>に従い、o-トリジンで発色させた試水の吸光値を分光光度計(DR/2000, HACK)により測定した。

所定の浸漬時間ごとに、タモ網内から約1,000粒の受精卵を10ml駒込ピペットで採取し、紫外線殺菌海水を満たした300mlビーカーに採取した。さらにこの卵を、6ウェルマルチウェルプレート(イワキガラス)を用いてふ化させた。1試験区当り6ウェルを用い、

1 ウェル当たり約 8 ml の紫外線処理海水と約 20~90 粒の卵を収容した。ふ化管理は、恒温室内 (26℃) に設置した振とう機 (約 50rpm) で行った。

卵の浸漬によるオキシダントの減少状況は、浸漬直前と 5 分後にバケツから流出する海水のオキシダント濃度を測定する方法で比較した。

対照区の受精卵がすべてふ化した後 (受精後 30 時間) に、実体顕微鏡下で各ウェル内の死亡卵、未ふ化生残卵 (胚は生存しているがふ化できない卵)、異常ふ化仔魚 (脊索が曲がった異常ふ化仔魚と死亡仔魚等) および正常ふ化仔魚 (脊索が正常に伸びた仔魚) を計数し、試験供試卵数をこれらの合計で求めた。また、正常ふ化率 (正常ふ化仔魚数 ÷ 試験供試卵数 × 100)、未ふ化生残卵出現率 (未ふ化生残卵数 ÷ 試験供試卵数 × 100)、を求めた。

### 結果と考察

卵の発生段階ごとにおけるオキシダント海水への浸漬で、浸漬直前と 5 分後のオキシダント濃度の測定結果を表 1 に示した。オキシダントの減衰率は初期桑実

期で 16.1% と最も高かったが、発生段階が進むにつれて低下する傾向が認められた。ヒラメ卵でも、オキシダント減衰量は卵の発達段階が進むに従って減少し、ふ化期に大幅に増加したと報告<sup>7)</sup> されており、ふ化までは卵表面の有機物が減少しオキシダントを消費しなかったと考えられた。

各発生段階におけるオキシダント海水への浸漬後の正常ふ化率を図 1 に示した。浸漬時間 1 分では、すべての発生段階で対照区と同様の高い正常ふ化率が得られた。浸漬時間 2 分では囊胚期中期までは高い正常ふ化率が得られたが、胚体形成期以降ではふ化率が低下する傾向が認められた。浸漬時間 3 分と 5 分では、胞胚期中期と囊胚期中期の正常ふ化率は高かったが、初期桑実期と胚体形成期以降ではふ化率は低下し、特に浸漬時間 5 分での低下が著しかった。

ふ化率が低下した試験区では、未ふ化生残卵が多く出現し (図 2)、同じ発生段階では浸漬時間が長くなるほど未ふ化生残卵の出現率が高くなる傾向が認められた。未ふ化生残卵は、胚は生存しているがふ化できない卵と定義されており、シロギス<sup>6)</sup>、ヒラメ<sup>7)</sup>、striped bass<sup>8)</sup> の卵をオキシダント等に暴露した際に

表 1 ハマフエフキ受精卵の消毒に用いたオキシダント濃度の減衰状況

発生段階	オキシダント濃度 (mg/ℓ)		減衰率 (%)
	消毒直前	5 分後	
初期桑実期	0.56	0.47	16.1
胞胚期中期	0.54	0.46	14.8
囊胚期中期	0.56	0.48	14.3
胚体形成期	0.56	0.50	10.7
ふ化直前	0.60	0.53	11.7

$$\text{減衰率} = \{(\text{消毒直前}) - (\text{5 分後})\} / (\text{消毒直前}) \times 100$$

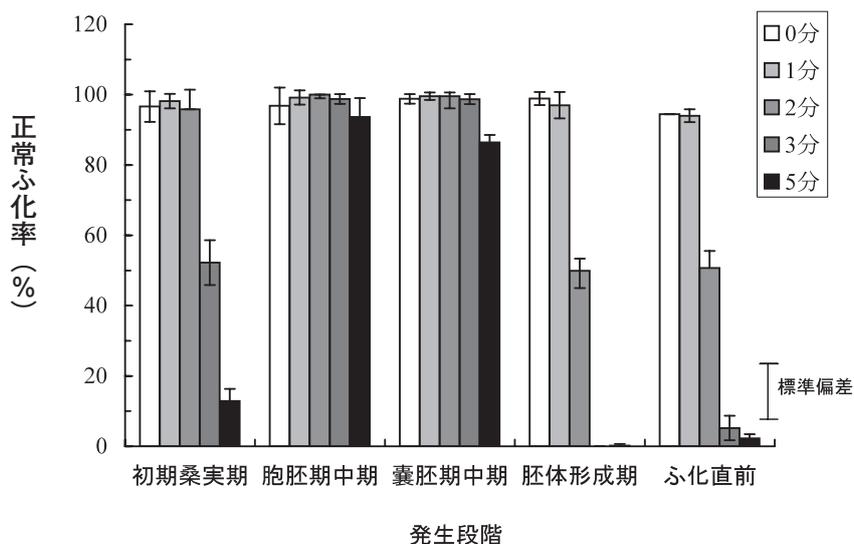


図 1 ハマフエフキ受精卵の発生段階ごとのオキシダント海水 (0.5mg/ℓ) への浸漬時間と正常ふ化率の関係

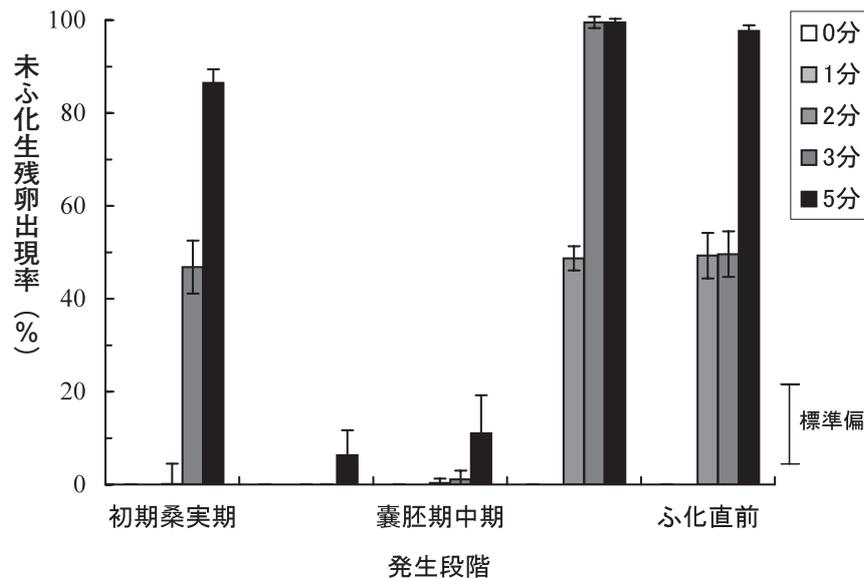


図2 ハマフエキ受精卵の発生段階ごとのオキシダント海水 (0.5mg/ℓ) への浸漬時間と未ふ化生残卵の出現率

出現することが報告されている。今回のハマフエキでも同様の現象が確認された。

一般に、魚類の卵では、発生段階により消毒剤に対する感受性が異なることが知られており<sup>4)</sup>、シマアジ<sup>10)</sup>では発眼期以降に、ヒラメ<sup>7)</sup>では胞胚期から心臓拍動期に未ふ化生残卵の発生率が高く、またマツカワ<sup>4)</sup>では受精直後および胚体形成期以降にふ化率が低下することが報告されている。ハマフエキ卵は、発生初期と胚体形成期以降は未ふ化生残卵の出現によりふ化率が低下し、マツカワと類似した傾向を示したが、他の魚種とは感受性が異なった。

今回の試験で、オキシダント海水によるハマフエキ受精卵の消毒に当たっては、未ふ化生残卵が出現してふ化率が低下する可能性があるため、感受性の低い胞胚期および囊胚期に行うことが望ましい結果が得られた。

今後の課題として、本報告の再現性の確認および消毒効果の検討が挙げられる。さらに、未ふ化生残卵は通気刺激によりふ化が促進されることから<sup>11)</sup>、物理的刺激を用いたふ化率の向上について検討を進めたい。

## 文 献

- 1) 有元 操 (1995) シマアジのウイルス神経壊死症に関する研究. 京都大学博士学位論文. pp. 52.
- 2) 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.

- 3) 室賀清邦・古澤 徹・古澤 巖 (1998) 総説 シマアジのウイルス神経壊死症. 水産増殖, **46**, 473-480.
- 4) 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疫対策に関する研究. 特別研究報告15号, 日本栽培漁業協会, 東京. 42-44.
- 5) 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.
- 6) 磯野良介・伊藤康男・木下秀明・木戸勝利 (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.
- 7) 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, *Praichthys olivaceus* 卵に対する影響. 水産増殖, **46**, 101-110.
- 8) Hall L.W. Jr., D.T. Burton, and L.B. Richardson (1981) Comparison of ozone and chlorine toxicity to the developmental stages of Striped bass, *Morone saxatilis*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **38**, 752-757.
- 9) 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 o-トリジン法による簡易測定. 水産増殖, **47**, 103-110.
- 10) 虫明敬一 (1996) シマアジおよびブリの親魚養成技術の開発に関する研究. 特別研究報告9号.

日本栽培漁業協会，東京．29-32.  
11) 塩澤 聡 (1998) オゾン殺菌システムの種苗生産への導入事例．日本栽培漁業協会栽培漁業

中央研修テキスト，日本栽培漁業協会，東京，  
1-22.

栽培漁業センター技報第2号

平成16年10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

〒220-6115

神奈川県横浜市西区みなとみらい2-3-3

クイーンズタワーB 15F

電話 045 (227) 2715

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)