

栽培漁業センター技報

第9号

平成21年3月

目次

ブリ養成親魚からの卵黄前駆体タンパク（ピテロジェニン）の検出 浜田和久・虫明敬一・征矢野 清・原 彰彦	1
メガネモチノウオの成長と成熟 山本和久・浅見公雄・奥澤公一・小林真人・佐藤 琢・武部孝行・與世田兼三	5
タンニン酸を用いた受精卵の粘着性除去処理がマコガレイの受精およびふ化に及ぼす影響 藤浪祐一郎・清水大輔	11
省力化型マダラ種苗生産手法の検討 友田 努・手塚信弘・小磯雅彦・荒井大介・島 康洋・榮 健次	15
黒色水槽を用いたケガニ幼生の浮遊性を確保する飼育手法の検討 市川 卓・福永恭平・村上恵祐・浜崎活幸	20
閉鎖循環飼育システムを用いたトラフグ種苗生産での低塩分条件の有効性 荒井大介・小金隆之・西郷晃一・千田直美・山本義久	24
マダイを対象とした閉鎖循環飼育－III ～種苗生産段階に適したろ材の探索～ 山本義久・荒井大介	27
七尾公設市場に水揚げされたマダラの体長組成 手塚信弘・荒井大介・小磯雅彦・友田 努・島 康洋・榮 健次	32
囲い網でのガザミ中間育成における粹取りによる生残尾数の推定方法の検討 小畑泰弘・山田徹生・崎山一孝・津崎龍雄	35
低照度ならびに低水温期における浮遊珪藻キートセロス類2種の高圧ナトリウム灯による増殖促進効果 兼松正衛・岡内正典	40

ブリ養成親魚からの卵黄前駆体タンパク（ビテロジェニン）の検出

浜田和久*¹・虫明敬一*²・征矢野 清*³・原 彰彦*⁴

(*¹ 養殖研究所栽培技術開発センター古満目分場, *² 養殖研究所栽培技術開発センター,
*³ 長崎大学, *⁴ 北海道大学大学院)

放流用あるいは養殖用を問わず、人工種苗を計画的かつ安定的に生産するための基本は、健全な卵を大量かつ安定的に確保することにある。そのため、良質卵を大量に採卵するための親魚養成技術が特に重要な意義を持っている。採卵用親魚の養成においては、日常の管理はもとより定期的な成熟状況の把握が、採卵適期を把握する上でも重要な要素となる。これまで親魚の成熟状況の把握では、カニューレーションによる卵巣卵径の観察・測定が最も一般的で多用されてきている。しかし、この手法はある程度成熟した親魚にしか使用できないこと、ハンドリングに伴い親魚に過度のストレス負荷をかけて成熟の阻害要因となること、あるいはハタ類で認められるような産卵を阻害する卵塊形成の要因になること等が指摘されている¹⁾。このため、親魚の成熟状況を判定する新たな技術が必要とされている。

本研究では、卵黄形成期の雌親魚の血中に特異的に出現する卵黄前駆体タンパク（ビテロジェニン、以下VTG）に着目し、このタンパク質濃度を定量して生殖腺の発達段階との関連を調査することにより、親魚の新たな成熟の指標として活用が可能か否かを検討した。対象種には、我が国の代表的な養殖対象種であるブリ *Seriola quinqueradiata* を用いた。

材料と方法

供試親魚 2000年11月に長崎県内の養殖業者から購入したブリ成魚（2歳魚）を五島栽培漁業センターの海面小割生簀（直径10m×深さ8m）に収容して養成した。2001年12月11日に養成親魚群のうち22尾（♂：♀=11：11）を別の小割生簀（5m×5m×深さ5m）に収容して本試験を開始した。飼料には市販の配合飼料（ハマチソフトドライペレット、坂本飼料製）を週に3回の頻度で毎回総魚体重の約3%を目安に給餌した。この間、体表に寄生する単生虫類（特に *Benedenia seriola*）は、定期的な網生簀の交換の際に約5分間の淡水浴により駆虫した。なお、各供試親魚にはあらかじめ親魚の背部筋肉内に装着したピットタグ（MPR製、長さ18mm×直径2.1mm）を装着して個体識別した。

成熟調査と採血 成熟調査は、雌親魚については生

殖孔からカニューレを挿入して卵巣卵の一部を採取し、万能投影機（V-12、ニコン製）により最大卵径を有する30粒を測定して平均値を求め、その値をその個体の平均卵巣卵径とした。また、採血は、尾柄部（尾静脈）から20Gの注射針を装着したディスプレイ・シリンジを用いて約2ml採取した。得られた血液は試験管に移し、4℃で1晩静置した後、遠心分離（3,000rpm, 15分, 4℃）により血清を分離し、測定に供するまで-80℃で凍結保存した。調査は2001年12月11日からほぼ1ヵ月間隔で2002年12月まで継続した。

ブリのVTG精製および検出系 まず、五島栽培漁業センターの海面小割生簀で養成中の天然魚由来のブリ養成親魚（5歳魚）を用いて、ブリのVTGに対するウサギ抗体（以下単に抗体）の作製に必要な高濃度のVTGを入手するため、ブリ体内でVTGを誘導させることに着手した。すなわち、ブリ親魚にプロピレングリコールで溶解したエストラジオール-17β（以下、E₂）を10mg/g・BWとなるように背部筋肉内に注射した。E₂投与は3日間隔で計3回繰り返し、最終投与から3日目に全量採血した。得られた血液は直ちに遠心分離（3,000rpm, 15分, 4℃）して血漿を分離し、精製を行うまで-80℃で保存した。次にこれらの血漿を用いて、ハイドロキシルアパタイトクロマトグラフィーおよびセファロース6Bゲル濾過クロマトグラフィーを用いてVTGの分離精製を行い、高濃度のVTGを作製した²⁾。その後、外注（タカラバイオ）によりブリVTGに対するウサギの抗体を作製した。

VTGの検出にはオクタロニー法（寒天ゲル内二重拡散法）を用いた³⁾。すなわち、アガロースA（Pharmacia社製）をPBS緩衝液で加熱溶解してゲルプレート（ゲルの厚さが約1.2mm）を作製し、このプレートに直径約2mmの穴を開け、中央の穴には抗体を2μl、周りの穴にはそれぞれサンプルとなるブリの血清を個別別に約2μl添加した。その後、室温で約18時間反応させ、血清と抗体との抗原抗体反応により生じた沈降線の有無を肉眼で確認した（写真1）。また、オクタロニー法でのVTG濃度の定量化を試みるため、0.9%生理食塩水を用いてブリ血清を256倍まで希釈した2倍希釈系列を作製した。そして、ゲル中の沈降線の有無を肉眼で確認し、沈降線が確認された最高希釈倍率から逆算して元の血中VTG濃度を算出した。

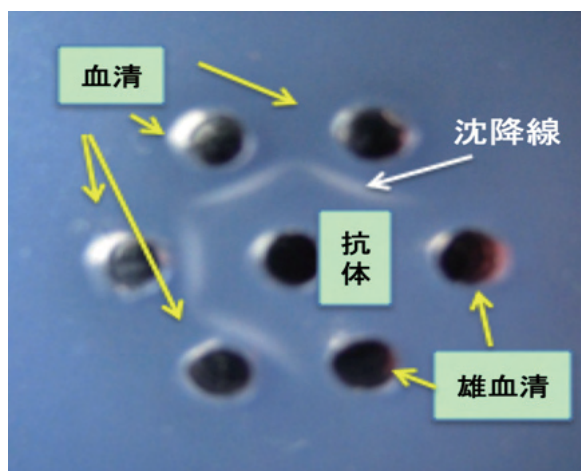


写真1 オクタロニー法での VTG 検出

結 果

成熟調査 ブリ養成親魚の卵巣卵径は、1月から徐々に増大し始め、4月の調査では平均卵巣卵径 $700.9 \pm 41.9 \mu\text{m}$ の最大値を示した。その後、排卵が認められるとともに、退行変性卵が出現して卵巣卵径は小型化し、その傾向は年末まで継続した(図1)。卵巣卵径の変動傾向は、ブリ養成親魚の産卵期とよく一致した。

VTGの検出 試験を開始した2001年12月では、試験に供した各個体の平均卵巣卵径は $120 \sim 150 \mu\text{m}$ (周辺仁期)であったが、その時点で得られた血清をオクタロニー法によりブリVTGと抗体との交叉性を調べることでVTGの検出を試みたが、いずれの個体でも抗原抗体反応の副産物である沈降線は認められなかった。

その後、1月から4月までの調査においては、いずれの個体でもオクタロニー法による沈降線の形成が認められ、親魚体内でのVTGの分泌が確認でき、雌親魚における卵黄形成の開始を示唆していることが判明した。排卵あるいは卵巣卵が退行変性した5月では、雌11尾中6尾からVTGが検出されたが、その後、6月以降12月まで全ての雌の個体でVTGは検出されなかった。また、試験開始から終了までの間、雄親魚ではいずれの個体からもVTGは検出されなかった。

次に、3月(平均卵巣卵径: $465.2 \pm 79.9 \mu\text{m}$)および4月(同: $700.9 \pm 41.9 \mu\text{m}$)の調査で得られたVTGを含む血清の2倍希釈系列を作製し、オクタロニー法でVTG濃度を推定した結果、ある程度の個体差は認められるものの、平均卵巣卵径が小さい3月の方が4月と比較して、高い希釈倍率でも検出される、すなわち、元の血中VTG濃度が高い結果が得られた(図2)。

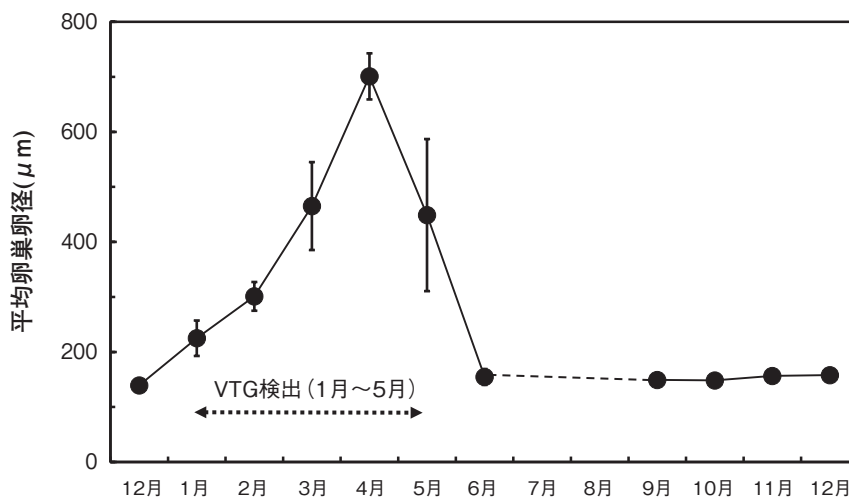


図1 ブリ養成親魚の卵巣卵径の変動と VTG 検出

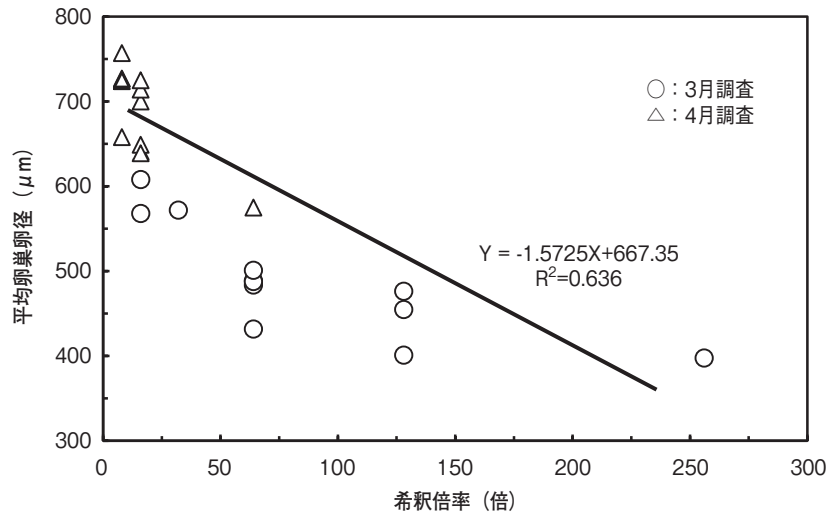


図2 プリ養成親魚の卵巣卵径と VTG 濃度

考 察

卵巣卵径の増大傾向とともにプリの血中からも VTG が検出されるようになり、プリにおいても VTG 濃度は親魚の卵成熟の進行に伴って増加することが確認された。卵の発達段階および生殖周期に伴う血中 VTG の変化に関しては、これまでサケ科魚類等の淡水魚を中心に多くの研究や調査がなされてきた⁴⁻⁷⁾。プリ養成親魚においても血中ステロイドホルモンと VTG の相関性について報告されており⁸⁾、本研究においても卵黄形成の開始により卵黄胞期の卵母細胞が出現し、血中より VTG が検出されるようになり、その一方で排卵や退化変性卵の出現により VTG が検出される個体が減少した。これらの結果は既報の結果⁸⁾と一致した。また、平均卵巣卵径が $465.2 \pm 79.9 \mu\text{m}$ の3月と同 $700.9 \pm 41.9 \mu\text{m}$ の4月において、平均卵巣卵径が小さい3月の方が平均卵巣卵径の大きい4月よりも血中の VTG 濃度が高い結果が得られた。VTG は成熟が進行している、すなわち、卵黄形成が活発に行われている時に血液中に多量に分泌され、卵内に取り込まれると言われており⁴⁾、卵巣卵径が $500 \mu\text{m}$ 前後は、第2次卵黄球期ならびに第3次卵黄球期の卵の発生段階であり、最も卵黄形成が活発な時期である。一方、卵巣卵径 $700 \mu\text{m}$ 前後では、第3次卵黄球期と完熟期の卵の発生段階であり、卵黄形成はほぼ終了していると考えられる。従って、プリにおいても平均卵巣卵径の小さな3月が平均卵巣卵径の大きい4月よりも多くに血液中に分泌しており、VTG 濃度が高かったものと考えられた。以上の結果より、VTG 濃度の動態変化はプリの性成熟や産卵期を繁殖生理学的に裏付ける上で重要な指標になり得ると考えられた。

今回 VTG 検出に用いたオクタロニー法は、操作が

簡便で特別な設備等を必要とせず、現場サイドには大きなメリットを有するが、定量的な VTG の測定には不向きである。そこで、定量的な測定が可能なマンシーニ法（寒天ゲル内一元放射免疫拡散法）や微量の濃度でも検出可能でデータが客観的に数値化できる酵素抗体法（enzyme-linked immunosorbent assay : ELISA）による測定系の開発が必要である。また、ELISA を活用することでオクタロニー法では検出不可能であった微量な VTG 濃度でも検出することが期待できるため、より早い成長段階での雌雄判別にも効力を発揮するものと思われる。さらには、ステロイドホルモン等の分析により魚類の卵形成機構ならびに性成熟過程を総合的に把握できると考えられる。今後、親魚から採血することなく、例えば、体表粘液中にも存在する VTG の検出が可能になれば、より親魚にストレス負荷をかけない成熟判定あるいは早期の雌雄判別手法の開発も可能となるであろう。

文 献

- 1) 堀田卓朗・今泉 均・河野一利・山崎哲男 (2003) クエ卵巣内に残留した卵塊の摘出と成熟への影響. 栽培漁業技術開発研究. **31**, 1-4
- 2) 原 彰彦・松原孝博・実吉峯郎・高野和則 (1984) アメマスのビテロジェニンと卵黄蛋白. 北大水産彙報. **35**, 144-153.
- 3) 原 彰彦 (1998) 魚の血液で環境ホルモン汚染をみる. 科学. **68**, 591-596
- 4) 原 彰彦 (2001) 魚類の卵形成と雌特異蛋白質 ビテロジェニン. 化学と生物. **39**, 29-36
- 5) Copeland, P. A. and Thomas, P (1988) The measurement of plasma vitellogenin levels in a

- marine teleost, the spotted seatrout (*Cynoscion nebulosus*) by homologous radioimmunoassay. *Comp. Biochem. Physiol.*, **91B**, 311-314.
- 6) Takemura, A., Hara, A. and Takao, K (1991) Immunochemical identification and partial characterization of female specific serum protein in white-edged rockfish. *Sebastes taczanowskii. Envir. Biol.Fish.*, **30**, 49-56.
- 7) Matsubara, T., Satoshi, H., Wada, T., Soyano, K. and Hara, A (1995) Seasonal changes in serum levels of vitellogenin and estradiol-17 β related to sexual maturation in rearing female Japanese sardine *Sardinops melanostictus*. *Bull. Hokkaido Natl. Fish. Res. Inst.*, **59**, 19-29.
- 8) 大池数臣・原 彰彦・足立伸次・有元 操・水田 洋之介・長浜嘉孝 (1989) ブリの卵黄形成期における血中ステロイドホルモン並びにビテロゲン量の変動. 南西水研研報, **22**, 1-11.

メガネモチノウオの成長と成熟

山本和久・浅見公雄・奥澤公一・小林真人・佐藤 琢・武部孝行・與世田兼三
(西海区水産研究所石垣支所)

メガネモチノウオ *Cheilinus undulatus* はペラ科モチノウオ属に属し、最大の全長は2m、体重で200kgに達するペラ類の中では最も大きくなる種である。本種はインド洋や太平洋域に広く分布し、日本では沖縄県以南の岩礁域やサンゴ礁外縁部に生息する¹⁾。

近年、中国、香港、東南アジア、オーストラリアなどの各国で高級食材として消費されており、乱獲や自然破壊などによって資源減少が著しいと報告されている²⁾。このため、2004年に「絶滅のおそれのある野生動植物の種の国際取引に関する条約」(CITES: 通称ワシントン条約)の附属書II(商業取引を行うことが可能であるが、輸入国の輸入許可および輸出国の輸出許可が必要)に記載された。

八重山海域における1989～2005年の本種の年間漁獲量は、1990年に最も多く6.4トンであり、その後しだいに減少し2005年には、3.0トンを下回った³⁾。このように海外だけでなく、八重山海域においても本種の資源量の減少は顕著である。

このため、西海区水産研究所石垣支所栽培技術研究室では、世界的に絶滅が危惧されているメガネモチノウオの資源保全に関する取り組みの一環として、天然魚の人工飼育を行うとともに、その飼育条件下における成長と性成熟の状況を調査した。

材料と方法

親魚の入手 メガネモチノウオの入手は2000年5月から開始し、2000年3尾、2001年10尾、2002年1尾および2004年3尾の計17尾を、主に石垣島近海での追い込み網と電灯潜り漁により漁獲した。2000年の活け込みでは収容した3尾中1尾が、2001年は10尾中5尾が死亡した。死亡は収容後の短期間で発生したことから、漁獲時の取扱による影響が大きいと判断し、2002年からの収容では魚体を捕獲する際にはできるだけ傷つけないよう漁業者に依頼したところ、収容後

の死亡は収まった。その結果、2005年4月に全長1mを越す大型の3個体と小型の8個体、計11尾が確保できた。

個体識別と育成方法 各個体には内部標識(PITタグ:16進法10桁表示)を装着し、個体識別を行った。本報では、各個体を識別する番号として標識の下3桁の数字でNo.75Bのように示した。親魚の飼育には屋内の60klの八角型コンクリート水槽3面(水槽1～3)を用いた。収容に際し、雄と予測される1mを越える大型の個体は、激しい個体干渉が予想されることから1水槽に1尾の収容とした。また、雌と予測される全長70～80cmの小型個体は、1水槽当たり2～3個体を収容した。表1に各水槽に収容した個体の全長と体重を示した。

餌料にはタカサゴとイカの切り身を週3回、殻付きのアサリを週2回与えた。給餌基準は、タカサゴとイカは総魚体重の8%、アサリは同4%とし、タカサゴとイカにはビタミン剤(ヘルシーミックス-2; 大日本製薬)を外割で給餌量の5%添加した。飼育水には砂ろ過海水(3～4kl/時)を用いた。

水温と性成熟との関係を調べるため、水槽1では冬期の加温を行った。加温は、2004年10～11月は27℃を下回らないように、2004年12月から2005年4月は24℃を下回らないようにした。また、加温の効果を検証するため、水槽2では2006年2～4月まで最低水温が25℃を下回らないように加温した。

魚体測定と雌雄判別 全供試魚について約1ヶ月間隔で、全長と体重を測定した。雌と予想した小型8個体は測定時に採血し、血液中の卵黄タンパク前駆体であるピテロジェニンの有無をオクタロニー法で調べ、卵黄形成が開始されているか否かによって雌個体の特定を行なった。オクタロニー法での測定方法として、ヘパリン処理したシリンジで採血し、約2時間静置した後に3,000 rpmで15分間遠心分離して血漿を分離した。次に、中央と周囲に直径3 mmの穴を開けた1.8%

表1 各水槽に収容したメガネモチノウオの全長と体重(2005年4月)

	水槽1			水槽2			水槽3		
	個体番号	全長(cm)	体重(kg)	個体番号	全長(cm)	体重(kg)	個体番号	全長(cm)	体重(kg)
大型個体	C6D	113.0	30.0	E64	112.0	29.0	241	108.0	26.0
	75B	70.0	7.4	F3A	70.0	6.3	958	70.0	6.6
小型個体	421	80.0	9.8	62D	73.0	7.5	32E	73.0	7.8
	043	70.5	6.9				A1A	75.0	8.2

アガロースゲルプレート (2.5×2.5 cm, 厚さ約1 mm) の穴の中央には抗ピテロジェニン血清を, 周囲にはメガネモチノウオの血漿をそれぞれ10 μ l 滴下した。抗血清として, 上浦栽培技術開発センター古満目分場より供与された抗クエピテロジェニン血清と抗ブリピテロジェニン血清を使用した。血漿と抗血清を入れたゲルプレートは24時間室温で静置した後, 抗原抗体反応による沈降線の有無を実体顕微鏡で観察した。

一方, 雄と予想した大型個体は, カニキュレーションおよび腹部への圧迫により排精の有無を確認した。

結 果

大型個体の成長 2005年4月から2007年10月までの大型3個体の全長と体重の推移を図1に示した。

No.C6D (水槽1) は飼育開始から順調に成長したが, 2007年5月頃より水温の上昇する8~9月にかけて摂餌量が減少し体重の低下が見られたが, その後は回復傾向を示した。No.E64 (水槽2) は飼育開始から順調に成長した。2006年5月頃から一時的に成長が停滞したが, 2007年1月頃より回復した。さらに2007年5月頃より水温の上昇する8~9月にかけて摂餌量が減少し, 再び体重の低下が見られたが, その後は回復傾向

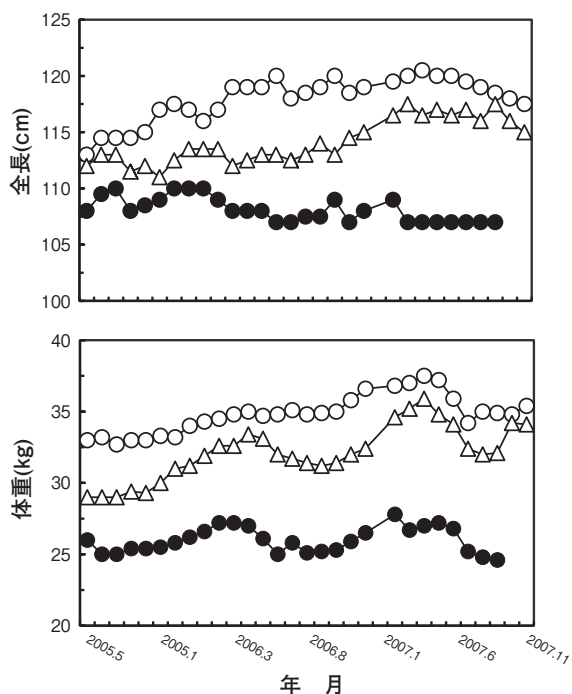


図1 大型個体の成長

○ : No. C6D, ● : No.241, △ : No.E64

を示した。No.241 (水槽3) は収容時からほとんど成長が見られず, 夏季に体重が減少し2007年10月に死亡した。死亡時には内臓 (特に肝臓) の萎縮が観察された。

小型個体の成長 2005年4月から2007年10月までの小型個体の全長と体重の推移を図2に示した。小型個体は, 収容時から順調な成長が見られた群 (No.421, 043, A1A, および32E) と, 2006年6月以降成長が停滞した群 (No.75B, 958, 62D およびF3A) に分かれた。成長の停滞は全水槽で観察され, これらの個体は全長77.0~79.0 cm, 体重8.6~9.2 kg とほぼ同じ大きさであった。2006年10月に, No.32Eの鱗が剥がれて治癒することなく死亡したことから, 2007年3月以降は収容する個体のサイズを揃えたところ, 成長は概ね順調になり個体間の干渉による鱗の剥がれや傷等は見られなくなった。

雌の性成熟と水温の関係 水槽1および水槽2の加温状態を図3に示した。水槽1では, 2004年10月中旬から2005年4月中旬までの平均水温は25.0℃となり, 加温を行わなかった他の2水槽より2.3℃高くなった。水槽2では, 2~3月の水温は自然水温より2~3℃高くなった。

2005年4~12月に実施した血漿中のピテロジェニンの検出結果を表3に示した。加温飼育した水槽1のNo.75BとNo.421で, 2005年6月に初めてピテロジェ

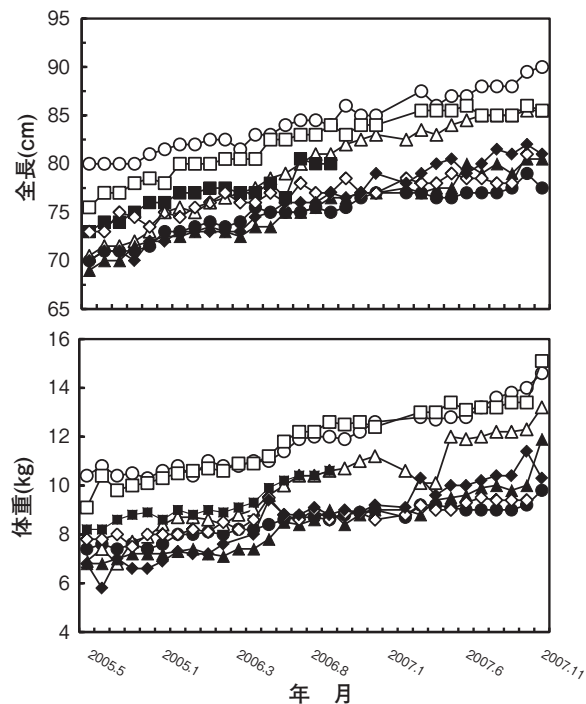


図2 小型個体の成長

○ : No. 421, ● : No.75B, △ : No.043, ▲ : No.958
□ : No.A1A, ■ : No.32E, ◇ : No.62D, ◆ : No.F3A

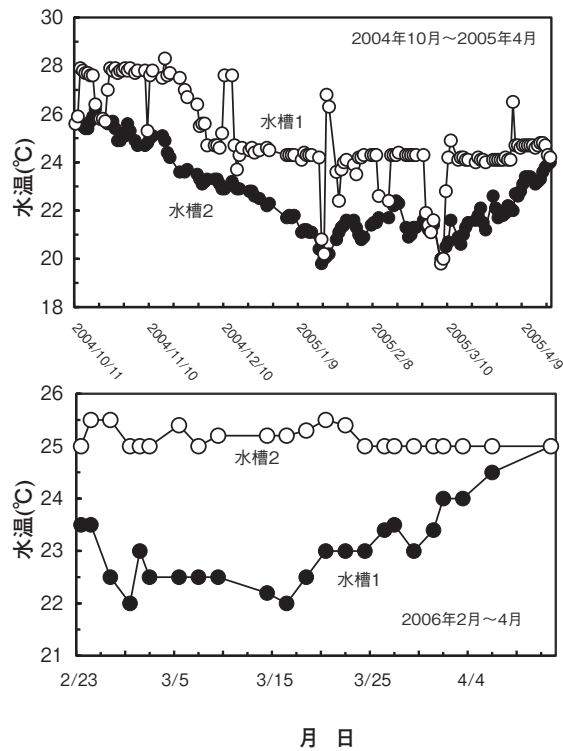


図3 加温区と無加温区の水温変動

○：加温，●：無加温

表2 各水槽に再収容したメガネモチノウオの全長と体重（2007年3月）

	水槽1			水槽2			水槽3		
	個体番号	全長 (cm)	体重 (kg)	個体番号	全長 (cm)	体重 (kg)	個体番号	全長 (cm)	体重 (kg)
大型個体	C6D	120.0	37.0	E64	117.5	35.2	241	107.0	26.7
	62D	78.0	9.2	421	87.5	12.8	043	83.5	10.1
小型個体	75B	77.0	9.2	F3A	79.0	10.3	A1A	85.5	13.0
	958	77.0	8.8						

表3 メガネモチノウオにおけるピテロジェニン検出結果（2005）

加温の有無		個体番号	2005.4	2005.5	2005.6	2005.7	2005.8	2005.9	2005.10	2005.11	2005.12
水槽1	加温	75B		-	+	+	+ / 卵		+	+	+
		421			+		+	+		+	+
		043		-	-	-	-	-	-	-	-
水槽2	自然水温	F3A		-			-	-	-	-	-
		62D		-	-	-			-	-	-
水槽3	自然水温	958		-	-	-	-		-	-	-
		32E		-	-	-	-			-	-
		A1A		-		-		-		-	-

+は抗体反応あり，-は反応なし。
空欄は技術的な問題で採血できなかった。

ニンが検出された。

また、加温の効果を検証するため、加温した水槽2と比較のため自然水温とした水槽1（2005年は加温）と水槽3（同、自然水温）のビテロジェニンの動態を調べた。2006年と2007年に実施したビテロジェニンの検出結果（表4、表5）を見ると、加温した水槽2のNo.F3AとNo.62Dがそれぞれ2006年7月と8月に初めてビテロジェニンが陽性となった。一方、2年続けて自然水温で飼育した水槽3でも、No.958とNo.32Eがそれぞれ2006年6月と9月にビテロジェニン陽性となった。2007年は新たなビテロジェニン陽性個体は出現しなかったが、2年間陽性であったNo.421が陰性となった。

採集された卵巣卵について 2005年6月にビテロジェニンが陽性となった水槽1のNo.75Bから、2005年8月にカニューレションにより平均卵径0.25±0.04 mmの卵巣卵を採取した。この卵巣卵は透明化しておらず、卵成熟前のものであった。この個体から卵巣卵が採取出来たのは8月の1回だけであった。また、No.421は2005年6月にビテロジェニン陽性となったが、カニューレションによる卵巣卵の採集はできなかった。

2006年6月には、No.75B、No.421およびNo.958からカニューレションにより卵巣卵が得られた。図4に、採集された卵巣卵の卵径分布を示した。No.958は腹部を軽く圧迫するだけで透明化した成熟卵を排出し、

平均卵径は0.75±0.06 mm（0.68～0.86 mm）であった。No.75Bからは平均卵径0.70±0.03 mm（0.64～0.75 mm）、No.421からは平均卵径0.22±0.03 mm（0.15～0.29 mm）の卵巣卵が得られた。No.958は7月の調査で腹部を圧迫しても卵巣卵は得られなかった。また、カニューレションによる採集でも、7月以降はNo.75B、No.421ともに卵巣卵を得ることができなかった。

2007年6月17日に、水槽1で約4万粒（平均卵径0.61mm）の自然産卵が見られた（表2）。さらに、6月29日、7月19日および7月22日にも産卵が見られたが、4回の産卵ともすべて未受精卵であった。図5に4回の産卵で採集された未受精卵の卵径分布を示す。平均卵径は1回目の産卵では0.61±0.014mm（0.56～0.64mm）、2回目は0.68±0.025mm（0.61～0.74mm）、3回目は0.63±0.013mm（0.60～0.67mm）、4回目は0.61mm±0.025（0.53～0.68mm）であった。

雄の成熟について 雄と予想した大型個体の成熟状況の調査は2005年4月から2007年10月まで行ったが、カニューレション法による生殖孔への挿入が困難であり、また腹部圧迫でも精子は確認できなかった。

2007年7月23日の調査では、これまでのビテロジェニン検査で一度も陽性反応が出なかった水槽3のNo.043とNo.A1Aから、腹部の圧迫により白色の精子様液体が排出された。光学顕微鏡により頭部と尾部からなる精子様構造を確認したが、運動性は確認できなかった。しかし、頭部の形状が丸みを帯びており一般

表4 メガネモチノウオにおけるビテロジェニン検出結果（2006）

加温の有無		個体番号	2006.1	2006.2	2006.3	2006.4	2006.5	2006.6	2006.7	2006.8	2006.9	2006.10	2006.11	2006.12
水槽1	自然水温	75B	-	-	-	-	+	+ / 卵	+	+	+	+	-	
		421	-	-	-	-	-	+ / 卵	+	+	+		+	+
		043	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
水槽2	加温	F3A	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-
		62D	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	
水槽3	自然水温	958	-	-	-	-	-	+ / 排卵	+	+		+	-	-
		32E	-	-	-	-	-	-	-		+	死亡		
		A1A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

表5 メガネモチノウオにおけるビテロジェニン検出結果（2007）

加温の有無		個体番号	2007.2	2007.3	2007.4	2007.5	2007.6	2007.7	2007.8	2007.9	2007.10	2007.11
水槽1	自然水温	75B	-	+			+ / 排卵	+ / 排卵	+	+	+	+
		62D	-	-	-	-		+		+		
		958	-	-	-	-	+	+ / 排卵	+	-	-	-
水槽2	自然水温	421	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		F3A	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
水槽3	自然水温	043	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		A1A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

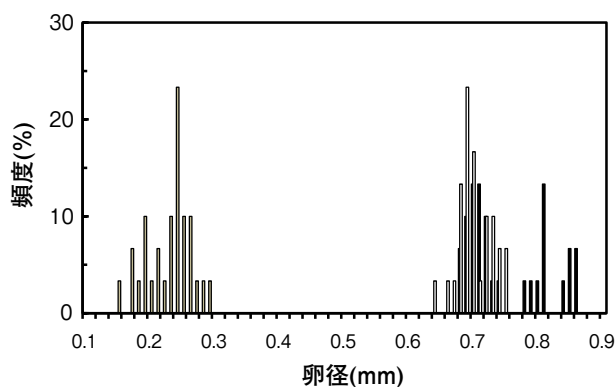


図4 2006年6月に得られた卵巣卵の卵径分布
 ■ : No. 958, □ : No.75B, ▣ : No.421
 No.958は排卵した卵, 他はカニューレーションによって採卵

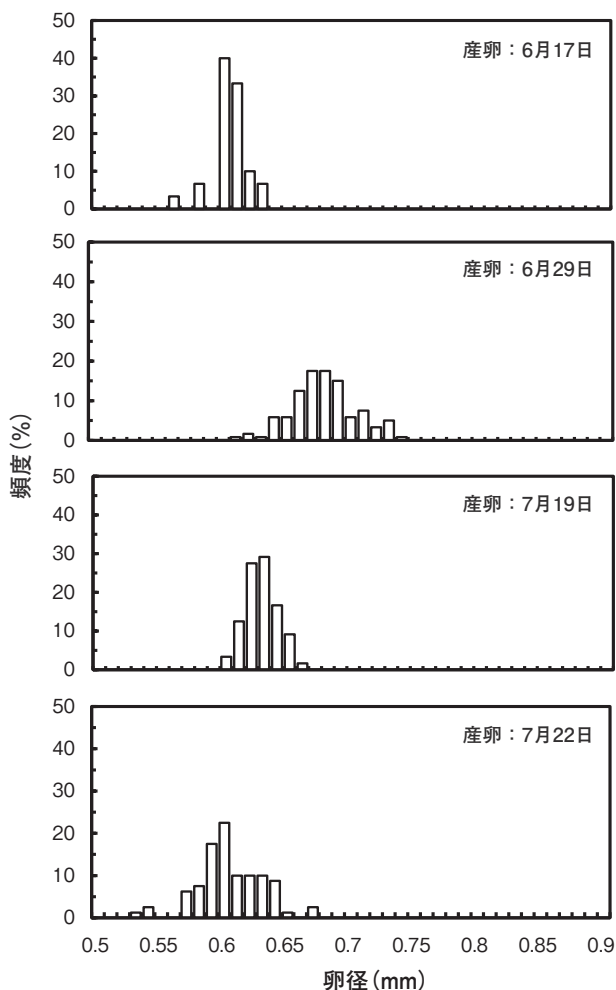


図5 2007年6月と7月に得られた未受精卵の卵径

的な精子の形状と異なっていたため、正常な精子かどうかは今後の検討が必要である。

考 察

小型個体では、2006年6月以降に成長が停滞した個体が出現し、これらの個体は全水槽で観察されたことから、加温の有無による影響とは考えられなかった。これらの個体は、全長や体重が同程度のサイズであったことから、より大型の個体からの攻撃による影響と考え、小型個体の入れ替えを行って個体間の干渉を防止したところ、その後は概ね順調に成長し鱗の剥がれや傷等も見られなくなった。これらのことから、メガネモチノウオでは同一水槽に収容する個体は極力サイズを揃え、個体間の干渉を防止することが重要と考えられた。

一方、2007年10月に死亡した大型個体 (No.241) は、小型個体の中でも比較的大型のNo.043およびNo.A1Aと同居させたが、4カ月後に2個体とも雄と確認されたため移槽し、以降4カ月間は1尾だけで飼育したことから、死亡は個体干渉の影響によるものとは考えられなかった。当個体は、活け込み時からほとんど成長しなかったことから、捕獲時の何らかの影響が原因で死亡したと考えられた。

カニューレーションによる卵巣卵の採集が困難であり雌の特定が難しい本種では、ビテロジェニン測定系が雌雄判別に有効であることが分かった。ビテロジェニンの陽性反応は早い個体では3月から観察され、一部の個体では12月まで反応が見られるが、沈降線は次第に薄くなる。このことから、血液中に分泌されるビテロジェニンが年周期的な濃度変動することが推察された。しかし、オクタロニー法では血液中のビテロジェニンの濃度測定は不可能であることから、今後本種におけるELISA等による血中ビテロジェニンの測定系の開発が必要と考えられた。

さらに、血液中のビテロジェニンを毎月調査することで、雌の性成熟の季節変動をある程度予測することが可能となり、全て未受精卵であったがカニューレーションや腹部圧迫、または自然産卵によって卵巣卵の採取に成功した。これらの結果から本種の生殖年周期を推察すると、卵黄形成は血中ビテロジェニンが検出され始める3月頃から始まり、成熟卵の得られた6～8月が産卵期と考えられた。

メガネモチノウオの生息域の北限に近い石垣島では、冬季の低水温が性成熟を抑制している可能性が高いと考えて行った加温試験では、加温した試験区の3個体中2個体で、2005年6月に初めてビテロジェニンの陽性反応が見られた。一方、自然水温で飼育した5

個体では反応が見られなかったことから、雌の性成熟に水温が一つの促進要因として関与していると考えられた。2006年には加温せず2年間自然水温で養成した2個体がビテロジェニン陽性となった。これは、2006年が前年と比較して2～3月の水温が22℃以上と高く推移したことが雌の性成熟に有効であった可能性が考えられた。しかし、成長や加齢による性成熟促進とも考えられ、加温の効果については今後さらに検討する必要がある。

産卵試験の結果、7回の卵巣卵の採集、4回の未受精卵の産卵があったが、得られた卵巣卵はほとんどが過熟の様相を呈していた。しかし、2007年7月に採集された卵巣卵と自然産卵された未受精卵の卵径のモードから、本種の成熟卵径は0.60～0.65mmであると推察された。

ベラ科イラ属のシロクラベラは雌性先熟型の性転換を行い、雌は全長24 cm前後から成熟し、雄は全長40 cm前後から出現する。全長40～65 cmは雌雄同体、65cmを超えるとほぼ総てが雄になることが報告されている⁴⁾。一方、メガネモチノウオの性転換機構についてはほとんど解明されておらず、本試験では全長1m以上の大型個体を体サイズから雄と推測し、カンデュレーションと腹部圧迫によって精子の有無を確認したが、これまで一度も精子を得ることができず、未だ性別が確定していない。精子が得られたのはそれより小型の2個体 (No.043とNo.A1A) であり、これらは飼育開始の当初から血中ビテロジェニンが陰性であった。これまで、雄のメガネモチノウオの特徴の一つとして、サイズが大きくなって頭部が大きくなり出すと言われてきたが、今回精子を排出した2個体の頭部は外見的には雌と顕著な差がなく、体サイズや頭部の外見的な形態的特徴は雄を判別する指標とはならないことが分かった。

この2個体は、収容時から他の個体よりも優れた成長を示し、精子が得られた2007年8月時点でそれぞれ全長84cm (収容時71cm) と86cm (収容時75cm) に達した。一方、小型個体のNo.421は、2006年までビテロジェニン陽性で卵巣卵も採集され雌と判定されたが、2007年には陰性になった。この個体の成長は上記の2個体を上回り全長89cmに達しており、雄に性転換可能なサイズになったと推察された。現在、雌雄判別および成熟度の把握の手法の一つとして、血液中の性ステロイドホルモン濃度の測定について取り組みを開始しており、性ステロイドホルモンによる評価系が確立すれば、これら大型2個体の性別および成熟度を判別することができると考えている。

文 献

- 1) 島田和彦 (2000) ベラ科. 日本産魚類検索 第二版 (中坊徹次編), 東海大学出版会, 東京, pp.1582-1587.
- 2) Sadovy, Y., M. Kulbicki, P. Labrosse, Y. Letourneur, P. Lolakani, and T.J. Donaldson (2003). The humphead wrasse, *Cheilinus undulatus*: synopsis of a threatened and poorly known giant coral fish. Review in Fish Biology and Fisheries, **13**, 327-364.
- 3) 太田 格・工藤利洋・海老沢明彦 (2007). 八重山海域の沿岸性魚類資源の現状. 平成17年度沖縄県水産試験場事業報告書, pp.165-175
- 4) Ebisawa, T., K. Kanasiro, T. Kyan, and F. Motonaga (1995). Aspects of reproduction and sexuality in the black-spot tuskfish, *Choerodon shoeneleinii*. *Japan. J. Ichthyol.*, **42**, 121-130.

タンニン酸を用いた受精卵の粘着性除去処理がマコガレイの受精およびふ化に及ぼす影響

藤浪祐一郎・清水大輔
(宮古栽培漁業センター)

マコガレイは2006年度現在、青森から大分までの広い地域で放流が行われている栽培漁業の重要対象種である。同年の放流尾数は187.5万尾であり、魚類では9番目、異体類ではヒラメに次ぐ順位にある。これまで水産総合研究センターでは本種の種苗生産試験に取り組んでこなかったが、前述の状況を鑑み、2006年度にマコガレイ栽培漁業に取り組む研究者の全国会議である“栽培漁業太平洋北区ブロック会議マコガレイ分科会”を立ち上げるとともに、分科会の構成県で生じている問題の解決を目的として、宮古栽培漁業センターにおいて技術開発を開始した。

マコガレイの卵は粘着沈性卵であるため、ウイルス性神経壊死症(VNN)の防除対策¹⁾として卵消毒を行う場合にはタンニン酸処理により粘着性を除去する必要がある²⁾。受精からタンニン酸処理、卵消毒という一連の作業の工程でふ化率が低下することが知られているが²⁾、その原因がタンニン酸処理にあるのか、卵消毒にあるのかは明らかにされていない。さらに、媒精からタンニン酸を添加するまでの時間、タンニン酸濃度とふ化率の関係といった基本的な情報も乏しいのが現状である。そこで我々はこれらの情報を得ることを目的として試験を行った。

材料と方法

親魚の確保 2007年および2008年の2～3月に宮古湾奥部の磯建て網で漁獲されたマコガレイを親魚とした。親魚は67.4×39.2×24.5cmの発泡スチロールの箱に1～5尾を入れ、無水で最大約1時間かけて宮古栽培漁業センターまで輸送したが、輸送中の死亡は認められなかった。搬入後は雄雌別にFRP製2kℓ水槽に収容し、換水率約300%/日でろ過海水をかけ流して管理した。なお、雌の水槽にはマイクロセラミック(粒径3～5mm; ノーラ株式会社)を厚さ約3cmとなるように敷きつめた。雌雄ともに試験終了まで給餌は行わなかった。

試験1: タンニン酸処理と卵消毒 タンニン酸処理および卵消毒が受精率、ふ化率に与える影響を調べた。卵巣が膨満し、軽い圧搾で卵が流れ出る雌を選んで人工授精に供した(表1)。圧搾によって得られた卵はナイロン袋をかぶせたプラスチック製のボウルに受

け、精液をかけた後に指で軽く混ぜ合わせた。タンニン酸処理の作業工程を図1に示した。受精卵約150gずつを試験区ごとのボウルに取り、それぞれ1ℓの海水を注いで10秒間ゆっくりと攪拌した後にウォーターバス水槽に設置した5つのゴース地のネット(φ30cm×20cm)に移した。ここで素早く精子を洗い流した。

試験区は5区設け(表2)、1区はタンニン酸処理と卵消毒を行わない対照区とした。2～5区では0.05%タンニン酸海水溶液中に30秒間浸漬することで粘着性を除去した。タンニン酸処理後は再度ろ過海水で洗卵した。2区はタンニン酸処理だけを行った。3区ではこの後に残留オキシダント濃度0.5ppmの海水に1分間浸漬して卵消毒を行った。4区ではろ過海水中で卵管理を行い、翌日に3区と同様の方法で卵消毒を行った。5区では卵消毒におけるハンドリングの影響を確認する目的で、タンニン酸処理後にろ過海水を用いて3区と同様の作業を行った。

上記の処理を行った後、各区から無作為に抽出した卵を500ml容ガラスビーカー2個にそれぞれ約200粒ずつ収容した。ガラスビーカーは11℃に設定したインキュベータ内に静置し、止水・無通気で管理した。死卵ならびにふ化仔魚は毎日計数して取り除いた。受精から2日後に各ビーカーから約100粒を抽出し、受精率を調べた。また、正常ふ化率、不完全ふ化率は下記により求めた。

正常ふ化率 = $10000 \times \frac{\text{正常にふ化した仔魚数}}{\{\text{収容卵数} - \text{受精率観察用に抽出した卵数}\} \times \text{受精率}}$

不完全ふ化率 = $10000 \times \frac{\text{卵殻から完全に抜け出せない仔魚数}}{\{\text{収容卵数} - \text{受精率観察用に抽出した卵数}\} \times \text{受精率}}$

試験2: 受精からタンニン酸を添加するまでの時間 媒精からタンニン酸を添加するまでの時間、タンニン酸の濃度、浸漬時間が受精率、ふ化率に及ぼす影響を調べることを目的として、5つの試験区を設定した(表2)。試験1と同様の方法で採卵した卵(表1)を5つのボウルに50gずつ取り分けた。それぞれの卵は約1mlの精液と混合した後、海水を添加し、10秒後(7区および9区)あるいは60秒後(8区および10区)にタンニン酸処理を行った。タンニン酸溶液の濃度と浸漬時間は0.05%で30秒(7区および8区)あるいは0.15%

表1 試験に供した親魚の概要

	性別	全長 (cm)	体重 (g)	搾取卵量 (g)	使用精液量 (g)
試験1	♀	34.7	632	188	-
	♀	42.3	1,440	530	-
	♂	26.1	216	-	12
	♂	28.1	278	-	6
試験2	♀	31.5	524	172	-
	♀	31.8	444	86	-
	♀	31.6	378	70	-
	♂	28.0	258	-	5

表2 試験設定と結果の概要

		処理方法					結果		
		受精時間 (秒)	タンニン酸処理		卵消毒	その他	受精率 (%)	正常ふ化率 (%)	不完全ふ化率 (%)
			濃度 (%)	浸漬時間 (秒)					
試験1	1区	10	-	-	-	-	94.4	79.0	0
	2区	10	0.05	30	-	-	86.4	8.6	17.0
	3区	10	0.05	30	*1	-	87.4	10.0	47.2
	4区	10	0.05	30	*2	-	88.8	19.7	44.4
	5区	10	0.05	30	-	*3	91.6	14.0	44.6
試験2	6区	10	-	-	-	-	87.9	17.6	0
	7区	10	0.05	30	-	-	78.0	43.5	11.5
	8区	60	0.05	30	-	-	76.6	40.8	2.6
	9区	10	0.15	10	-	-	74.7	21.7	0.4
	10区	60	0.15	10	-	-	78.0	8.7	0.5

*1: タンニン酸処理直後に実施, 残留オキシダント濃度 0.5 ppm の海水に1分間浸漬

*2: タンニン酸処理翌日に実施, 残留オキシダント濃度 0.5 ppm の海水に1分間浸漬

*3: タンニン酸処理直後にろ過海水を用いて卵消毒と同様のハンドリングを行った

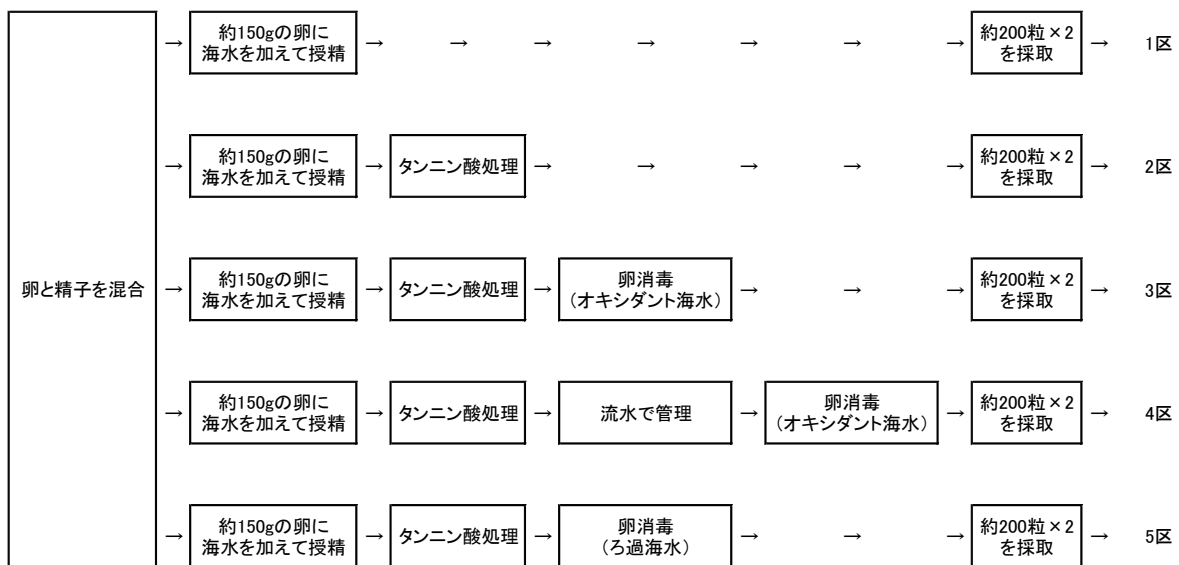


図1 試験1の工程図

で10秒（9区および10区）とした（表2）。これらの卵はろ過海水を約5分間かけ流して洗卵した後、底を抜いて70目のネットを貼り付けたポリエチレン製の300ml容コップに約300粒を収容した。各区のコップは3個とし、8℃に設定したウォーターバスに浮かべ、それぞれコップの縁から同温のろ過海水を添加して流水で管理した。なお、6区（対照区）は媒精・海水添加から30秒後に洗卵し、7～10区と同様の卵管理を行った。

受精から2日後に全てのコップから約100粒の卵を無作為に抽出し、受精率を調べた。その後、卵管理を継続し、受精から15日後に試験1に準じた方法で正常ふ化率、不完全ふ化率を調べた。

結果と考察

タンニン酸処理と卵消毒が受精率とふ化率に及ぼす影響 試験1の結果を表2に示す。受精率は対照区（1区）が94.4%と最も高くなったが、その他の区でも86.4～91.6%と高い値を示した。一方、正常ふ化率は1区が79.0%であったのに対し、タンニン酸処理を行った全ての試験区（2～5区）で8.6～19.7%と著しい低下が認められた（表2）。タンニン酸で処理した試験区では頭部が卵膜から抜け出ない不完全ふ化（写真1）が17.0～47.2%と高い割合で生じた。不完全ふ化個体の卵膜には有機物が付着していたことから、これらがふ化の障害になったと考えられた。

卵消毒を行わなかった2区の正常ふ化率は実施した3区および4区よりも低く、卵消毒がふ化に及ぼす影響はタンニン酸処理ほど大きくないと考えられた。

媒精からタンニン酸処理までの時間が受精率とふ化率に及ぼす影響 媒精から10秒と60秒後に0.05%と



写真1 タンニン酸で処理したマコガレイ卵からのふ化状況
上：正常ふ化，下：不完全ふ化

0.15%のタンニン酸処理を行った7～10区の受精率は試験区間で顕著な差異が認められなかった。観察の結果、マコガレイの精子は水温8℃の海水中で2分間ほど直線的な運動を維持したが、タンニン酸を添加した直後に精子の運動性は急速かつ急激に低下した。このことから精液量の不足、あるいは攪拌が不十分といった状況下で卵と精子が十分に接触しない段階でタンニン酸を添加した場合、精子の運動性が失われるために受精率の低下が生じると考えられた。一方、海水の添加後数秒間で付着膜の作用により卵が容器に付着してしまうことからタンニン酸の添加は早い方が望ましい。試験の結果から媒精が適切に行われていれば受精時間、すなわち、タンニン酸添加までの時間は10秒間で十分であると考えられた。

正常ふ化率は0.15%で処理した9,10区ともに0.05%で処理した7,8区よりも低い値を示した。一般にマコガレイではタンニン酸0.05%溶液に30秒浸漬することで粘着性が除去されているが、ふ化率の低下が報告されている²⁾。ふ化率を向上させるためには適正濃度と浸漬時間についての知見が不可欠であろう。今回の試験で0.15%の濃度では10秒の浸漬でもふ化率に影響することが明らかになった。今後は他の濃度、浸漬時間の条件で試験を行う必要がある。タンニン酸処理を行わなかった対照区（6区）の正常ふ化率が低かったが、この原因は不明である。

タンニン酸処理以外の粘着性除去方法としては、伊藤ら⁴⁾がコイ卵の粘着性を尿素で除去できることを報告している。マコガレイでも尿素による除去を試みたが、効果は得られなかった。さらに川之辺ら⁵⁾がCoregonus卵を陶芸用粘土で処理し、高い粘着性除去効果を得ている。これは粘土の粒子で付着膜をコーティングすることによるものと考えられる。そこで、貝化石（グリーン・カルチャ製フィッシュグリーン）懸濁液（0.05%、0.5%）を用いる手法を試みたが、効果は得られなかった。一方、陶芸用粘土や貝化石で付着膜をコーティングする手法は卵消毒の効果が期待できなくなると考えられることから、卵消毒を前提とした粘着性除去方法としては適当ではない。

現段階ではマコガレイ卵の粘着性除去にタンニン酸処理が最も現実的な方法であり、濃度や浸漬時間、洗卵方法の検討によりふ化率の向上を図るのが望ましいと考えられる。

文 献

- 1) 坂本英規・藍 憲一郎・牧野 直（2004）マコガレイ種苗生産。平成14年度千葉県東京湾栽培漁業センター業務報告書，27-31。

- 2) 坂本英規・石橋賢一・三田久徳・坂本 仁 (2005)
平成15年度千葉県東京湾栽培漁業センター業務報告書, 23-28.
- 3) 楠田 聡・寺西哲夫 (1996) 卵の粘性除去とその管理方法について. 魚と水, **33**, 37-42.
- 4) 伊藤行政・酒井治己・近藤昌和・山元憲一・高木基裕 (1999) コイ卵膜除去卵の発生. 水産増殖, **47**, 257-261.
- 5) 川之辺素一・茂木昌行 (2005) 陶芸用粘土を用いたシナノユキマス卵の粘性除去-I. 平成16年度長野県水産試験場事業報告, 69.

省力化型マダラ種苗生産手法の検討

友田 努^{*1}・手塚信弘^{*1}・小磯雅彦^{*1}・荒井大介^{*2}・島 康洋^{*3}・榮 健次^{*1}

(^{*1} 能登島栽培漁業センター, ^{*2} 屋島栽培漁業センター,
^{*3} 瀬戸内海区水産研究所伯方島栽培技術開発センター)

マダラ *Gadus macrocephalus* は、兵庫県以北の日本海から茨城県以北の太平洋およびオホーツク海にかけて広域的に分布する大型の冷水性魚類である。能登島栽培漁業センター（以下、当センター）では、前身の日本栽培漁業協会（以下、日裁協）能登島事業場の開所当初から本種の親魚養成と種苗生産に関する技術開発に取り組んできた。1998年から富山県水産試験場と共同で海洋深層水を利用した親魚養成を開始し、通常の産卵期よりも1～2カ月早い12～1月に産卵させることに成功した^{1,2)}。その後、2003年以降は50～70万尾の種苗を陸上水槽で生産し、放流できる技術水準にまで達している^{3,4)}。このような生産成績の向上は、良質卵の大量確保に加えて、ワムシ培養技術⁵⁾ および配合飼料への餌付け技術の向上⁶⁾ によるところが大きい。しかし、2006年以降はワムシ培養不調に伴う給餌量不足や培養環境悪化に伴う有害細菌、原生動物、カビ等⁷⁾ の発生によるマダラの生産不調が続き、その対策が急務となっている。一方、種苗生産現場では近年全国的に低コスト・省力化の風潮が高まっており⁸⁾、日裁協小浜事業場が開発した「ほっとけ飼育」^{9,10)} は生物餌料の使用量軽減と飼育作業の簡素化のみならず、防疫面での付加価値的な効果¹¹⁾ が注目されつつある。

そこで、ワムシ培養不調に左右されない安定的な種苗量産技術確立のための知見収集を目的とし、「ほっとけ飼育」を応用した省力化型のマダラ種苗生産手法について検討した。

材料と方法

親魚とふ化仔魚 2008年2月25日と28日に石川県七尾市のななか漁業協同組合の目支所所属の定置網で漁獲された天然魚（各日とも雌1, 雄2尾）を採卵用親魚とし、当センター内の0.5, 2kℓ円型FRP水槽1基にそれぞれ活け込み、自然産卵を待った。供試魚の大きさは、それぞれ雌6.2kg, 雄平均3.1kgおよび雌14.2kg, 雄平均4.5kgであった。なお、養成中は給餌や日長処理等の人工催熟を行わなかった。水槽収容後は定時間隔で産卵行動を観察し、自然産卵を確認後、直ちに水槽底面に付着した沈性卵を回収した。同2月27日と29日に自然産卵により得られた受精卵102.8万

粒（受精率72.4%）および275.6万粒（受精率64.7%）を50kℓ八角型コンクリート水槽（実容量46kℓ）に浮かべた20ℓハッチングジャー（MPC-20, アース）各2基に収容し、ふ化まで自然水温で卵管理した。卵管理は、電解殺菌装置（電解バリアESF-030, 荏原実業）で殺菌処理した砂濾過海水（以下、殺菌処理海水）を用いて、30回転/時の流水で行った。ふ化は3月10日および12日に完了し、ふ化仔魚の大きさはそれぞれ平均全長4.27mmおよび4.50mm, ふ化仔魚数は55.8万尾（ふ化率54.3%）および137.2万尾（ふ化率49.8%）であった。本試験にはこれらのふ化仔魚を用いた。

試験区の設定と飼育方法 試験区として低密度（1.21万尾/kℓ）の1区と高密度（2.98万尾/kℓ）の2区の計2区を設定した。試験期間は、ワムシ給餌が必要な日齢30までとした。飼育用水には、殺菌処理海水を用いた。餌料として、日齢2～30にシオミズツボワムシ *Brachionus plicatilis*（以下、ワムシ）、日齢24～30にアルテミア幼生（北米産）および日齢28～30に市販の冷凍コペポダ（雅1号；JCKロウピン貿易）を用いた。なお、日齢1～25の間、飼育水槽内においてワムシの自然増殖と栄養価の維持を図るため、予め冷凍保存しておいた濃縮ナンノクロロプシス（細胞濃度100～200億細胞/ml；2005年および2006年の春期濃縮）を殺菌処理海水で解凍して飼育水に添加した。細胞濃度が200万細胞/ml程度を維持するように濃縮ナンノクロロプシスを適宜添加した。飼育水槽内のワムシの流出を防ぐため、極力止水飼育とし、底掃除は行わなかった。その他、基本的な飼育管理は高橋^{9,10)} に準じた。

ワムシの培養 本試験ではワムシ4株を用いた。ワムシは500ℓポリカーボネイト水槽4面と1kℓアルテミアふ化槽2基を用いて植え継ぎ培養⁵⁾ を、25kℓコンクリート水槽2面を用いてケモスタット式間引き培養^{5,12)} を、80kℓコンクリート水槽1面を用いて間引き培養⁵⁾ を行った。培養水には、100%海水または80%稀釈海水（塩分26psu）を用い、水温は15～17℃とした。餌料には、市販の濃縮淡水クロレラ（生クロレラV12, クロレラ工業）を用いた。給餌量は、増殖状況に応じて適宜調整した。なお、供試したワムシ4株の体サイズを把握するため、試験期間中2回にわたり培

養水槽内のワムシを採取した。採取したサンプルは2%ホルマリン海水で固定し、後日100～400個体について背甲長をデジタルマイクロスコープ（VHX-100F, KEYENCE）により0.1 μmの精度で測定した。種苗生産試験に用いたワムシ株を表1に示す。

ワムシの栄養強化 ワムシの栄養強化は濾過海水を有効塩素濃度50ppmで殺菌処理した100%海水を用い、1kl FRP水槽5面で行った。強化にはDHA, EPAを含有する濃縮淡水クロレラ（スーパー生クロレラV12, クロレラ工業）を用い、ワムシ1億個体当たり200ml/日の割合で午前11時半に強化水槽にそのまま添加した。強化開始時の接種密度は200～600個体/ml, 強化水温12℃, 強化時間は22時間とした。

強化ワムシの観察 栄養強化後のワムシについて、その活性を把握するための指標値として、強化水槽内のワムシ密度、携卵率、総卵率、死亡個体率および回収率を調査した。計数は、時計皿を用い培養水1mlをルゴール液で固定した後、実体顕微鏡下で行った。計数は2回繰り返した。総卵率は、培養水1ml中の単性生殖卵数をワムシ個体数で除してもとめた。死亡個体率は、培養水1ml中の死亡個体数を生存個体数で除してもとめた。回収率の算出は次式に従い、栄養強化に伴うワムシ個体数の増減割合（%）で示した。

$$\text{回収率 (\%)} : R = (Nt - No) / No \times 100$$

ただし、No: 栄養強化開始時の接種密度300個体/ml,

Nt: 強化後回収できたワムシ個体数を示す。

飼育環境の調査 長期止水飼育に伴う飼育環境の変化を把握するため、試験期間中は環境調査を行った。調査項目と調査方法は以下の通りである。すなわち、水温（棒状水銀温度計）、pH（pHメーターHM 14P; TOA）、酸素飽和度（以下、DO）（DOメーターModel 550A-12; YSI）、全アンモニア態窒素（以下、TA-N）（イオンメーター370 AT; Thermo ORION）、硝酸態窒素（以下、NO₃-N）（イオンメーターEA 940; ORION）、および飼育水中のナンノクロロプシス濃度（以下、ナンノ濃度）（ピルケルチルク血球計算盤; ミナトメディカル。2回計数）、ワムシ密度、

総卵率、死亡個体率である。ワムシ密度等の計数は、時計皿を用い飼育水10mlをルゴール液で固定した後、実体顕微鏡下で行った。計数は3回繰り返した。

仔魚の成長観察と生残尾数の推定 測定サンプルとして、両試験区からふ化直後より日齢5ごとに仔魚を無作為抽出した。抽出したサンプルはメタアミノ安息香酸エチルメタンスルホン酸塩（三共）を用いて麻醉し、30～50尾について全長測定とワムシ摂餌個体率の調査を行った。全長はデジタルマイクロスコープにより0.001 mmの精度で測定した。ワムシ摂餌個体率の調査は実体顕微鏡下で行い、消化管内にワムシ（咀嚼器のみも含む）が確認された仔魚数を観察した仔魚数で除してもとめた。また、生残尾数については10日齢ごとに夜間の柱状サンプリングを行い、容量法にて推定した。

結 果

強化ワムシの活性 各ワムシ株の栄養強化に伴う生残等の状況を表2に示した。栄養強化に供したワムシの大半が培養不調（日間増殖率10%程度）であったため、強化中に大幅な減耗（平均17.7%減）が見られ、強化後の活力も不良であった。

仔魚の初期飼育環境 両試験区の初期飼育環境を図1, 2に示した。1区では日齢3のワムシ接種以降、水槽内でのワムシ増殖と仔魚による摂餌とのバランスを維持できていたが、日齢14には水槽内にナンノを摂餌する *Paraphysomonas* sp. や *Euplotes* sp. 等の原生動物が増加し、日齢16以降はナンノ濃度低下を防ぐために換水が必要となった。日齢17以降は、さらに原生動物が増加してナンノ濃度が低下して餌料不足となり、ワムシの総卵率が低下し、死亡個体率が増加した。そのため、日齢19にワムシ密度を維持するため追加給餌を行った。一方、水温、pH、DO、TA-NおよびNO₃-Nはマダラ仔魚の生残に影響ないレベルを維持できた。なお、日齢20～30間における生残率は80%から40%に急減した。

表1 省力化型マダラ種苗生産に用いたワムシ株

株の由来*	全個体の背甲長 (μm)		携卵個体の背甲長 (μm)	
	平均±標準偏差	最小～最大	平均±標準偏差	最小～最大
宮古15℃培養L型	268.0±24.7 (n=100)	191.2～313.4	280.2±20.5 (n=35)	231.3～310.2
能登島16℃培養L型 (小浜株)	207.8±20.0 (n=200)	157.5～246.8	223.5±9.6 (n=39)	196.7～240.0
厚岸16℃培養L型 (小浜株)	200.6±31.0 (n=250)	131.0～267.9	229.2±15.1 (n=77)	201.1～267.9
上浦17℃培養L型	216.8±29.0 (n=400)	140.1～292.1	238.7±16.9 (n=128)	198.7～292.1

* 宮古、厚岸および上浦のワムシ株は宅配輸送により譲受したもの

表2 省力化型マダラ種苗生産に用いたワムシ株の栄養強化に伴う生残等の状況

株	接種密度 (個体/ml)	回収密度* ¹ (個体/ml)	携卵率 (%)	総卵率* ² (%)	死亡個体率* ³ (%)	回収率* ⁴ (%)	供給先 試験区 (日齢)
能登島16℃培養L型 (小浜株)	500	503	21.9	31.1	1.0	0.6	1 (3)
上浦17℃培養L型	560	428	33.1	43.7	3.9	-23.6	1 (19)
能登島16℃培養L型 (小浜株)	500	548	27.4	37.5	1.9	9.6	2 (2)
能登島16℃培養L型 (小浜株)	300	166	5.4	9.6	7.2	-44.7	2 (7)
能登島16℃培養L型 (小浜株)	300	154	5.2	7.5	6.5	-48.7	2 (7)
能登島16℃培養L型 (小浜株)	300	186	1.1	2.2	2.2	-38.0	2 (9)
宮古15℃培養L型	400	366	30.5	41.6	5.5	-8.6	2 (9)
能登島16℃培養L型 (小浜株)	200	224	8.0	14.3	13.8	12.0	2 (11)
宮古15℃培養L型	400	349	29.1	37.2	2.6	-12.8	2 (11)
上浦17℃培養L型	500	399	36.5	47.6	7.8	-20.2	2 (14)
上浦17℃培養L型	400	393	27.5	30.7	4.5	-1.8	2 (16)
上浦17℃培養L型	400	317	32.3	35.0	3.8	-20.8	2 (16)
厚岸16℃培養L型 (小浜株)	600	492	35.3	56.9	2.0	-18.0	2 (18)
上浦17℃培養L型	500	392	40.4	49.1	4.1	-21.6	2 (19)
厚岸16℃培養L型 (小浜株)	550	567	34.7	41.1	2.0	3.1	2 (20)
上浦17℃培養L型	500	427	32.1	32.8	5.4	-14.7	2 (21)
上浦17℃培養L型	500	381	28.7	30.8	6.6	-23.8	2 (22)
上浦17℃培養L型	500	436	40.6	50.7	4.8	-12.8	2 (23)
上浦17℃培養L型	550	485	29.4	39.3	12.4	-11.8	2 (24)
上浦17℃培養L型	580	410	27.9	38.2	11.2	-29.3	2 (25)
上浦17℃培養L型	550	485	28.9	38.5	10.5	-11.8	2 (26)
上浦17℃培養L型	550	338	21.9	25.7	9.9	-38.5	2 (27)
上浦17℃培養L型	530	433	23.5	29.4	12.5	-18.2	2 (28)
上浦17℃培養L型	550	435	29.1	39.3	18.7	-20.9	2 (29)
厚岸16℃培養L型 (小浜株) +宮古15℃培養L型	550	370	25.0	29.5	11.6	-32.7	2 (30)
平均	470.8	387.3	26.2	33.6	6.9	-17.7	

栄養強化はすべて水温 12℃、100% 海水(50ppm 塩素殺菌処理)、SV12 添加量 200ml/億個体、22 時間強化の条件下で行った

*¹ 栄養強化後に回収できた生存個体数

*² 培養水1ml中の単性生殖卵の割合 = (総卵数 ÷ 生存個体数) × 100

*³ 培養水1ml中の死亡個体の割合 = (死亡個体数 ÷ 生存個体数) × 100

*⁴ 栄養強化に伴う生存個体の増減割合 = (回収密度 - 接種密度) ÷ 接種密度 × 100

2区では日齢2のワムシ接種以降、水槽内でのワムシ増殖が仔魚の摂餌速度に追いつかず、日齢7以降は1～2日間隔での追加給餌が必要であった。なお、水槽内には原生動物の増加は見られず、水温、pH、DO、TA-NおよびNO₃-Nもマダラ仔魚の生残に影響ないレベルを維持できたため、換水は日齢27以降に行った。ナンノ濃度は200万細胞/ml以上を安定維持できたものの、追加給餌したワムシに活力がなく、総卵率も低かったため、飼育水槽内におけるワムシ密度の急減と死亡個体率の増加が顕著であった。なお、両試験区とも試験期間中を通してワムシ摂餌個体率が92%以上であり、摂餌状況に問題はないと判断された。

省力化型種苗生産における飼育成績 従来型および省力化型種苗生産における初期飼育結果の概要を表3に示した。従来型の平均的な飼育成績である試験区と比較したところ、省力化型の試験区の成長は同等か劣ったものの、生残は同等もしくはそれよりも優れた。また、仔魚1万尾生産当たりのワムシ使用量は0.32～0.78億個体と従来よりも減少(25.7～69.5%減)した。しかしこの点については、市販の冷凍コペポータを飼育後半(28～30日齢)に一部の代替餌料として用いたことも減少要因として挙げられる。

表3 従来型と省力化型のマダラ種苗生産における初期飼育結果の概要（日齢0～30）

生産手法 ^{*1}	試験区	試験開始時			試験終了時				ワムシ使用量 ^{*2} (億個体)		アルテミア使用量 (億個体)		冷凍コペポータ ^{*3} 使用量 (kg)	
		平均全長 (mm)	尾数 (万尾)	密度 (尾/kℓ)	平均全長 (mm)	尾数 (万尾)	生残率 (%)	密度 (尾/kℓ)	合計	1万尾生産 当たり	合計	1万尾生産 当たり	合計	1万尾生産 当たり
従来型	1	4.12	79.4	1.73	10.13	41.3	52.0	0.90	43.5	1.05	2.0	0.05	0.0	-
省力化型	1	4.27	55.8	1.21	8.77	28.6	51.3	0.62	9.1	0.32	3.0	0.10	3.0	0.10
	2	4.50	137.2	2.98	10.01	107.5	78.4	2.34	83.9	0.78	3.3	0.03	4.0	0.04

*1 生産はすべて50kℓ八角型コンクリート水槽(実容量46kℓ)で行った

*2 従来型1区は能登島15℃および25℃培養L型(小浜株)を使用した
省力化型1区は能登島16℃培養L型(小浜株)と上浦17℃培養L型を併用した
省力化型2区は能登島16℃培養L型(小浜株)、厚岸16℃培養L型(小浜株)、上浦17℃培養L型および宮古15℃培養L型を併用した

*3 中国産コペポータ(雅1号, JCKロウピン貿易); 大きさ300~800μm, 単価2,000円/kg

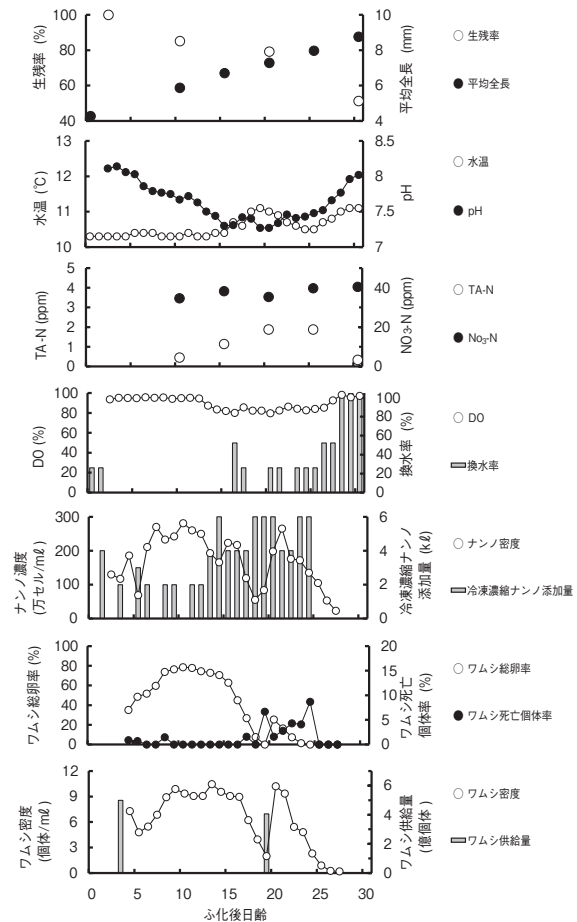


図1 省力化型マダラ種苗生産(1区)における初期飼育環境

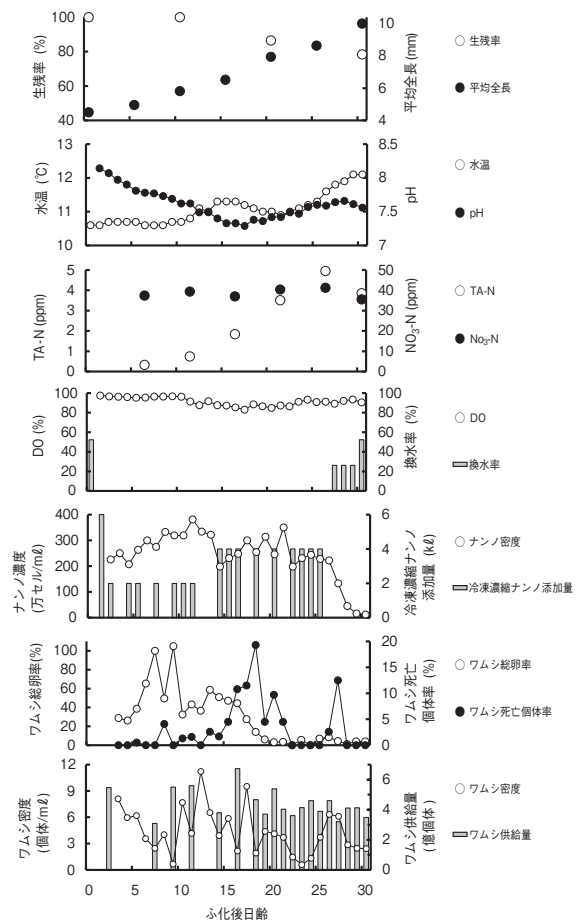


図2 省力化型マダラ種苗生産(2区)における初期飼育環境

考察

本試験で用いたワムシはいずれも培養不調であったため、飼育水槽への追加給餌が必要であったが、従来の方法と比較してワムシの使用量を25%以上減少させることができ、本試験で用いたマダラ種苗生産手法はワムシ培養と仔魚飼育作業の省力化に繋げられる可能性がある。これまでに、増殖状態の悪いワムシは仔魚に対する餌料価値も低いことが報告されており¹³⁾、本試験における仔魚の成長の悪さはこのことに起因す

る可能性も考えられる。一方、生残率は従来区と比較して本試験区で同等か高かった。

近年、ワムシの培養水温がヒラメ仔魚の飼育成績に大きく影響することが報告された¹⁴⁾。マダラにおいても飼育水温(8~10℃)に近い低水温下(14℃)で順調なワムシ培養成績をおさめた2003年と2004年には種苗の大量生産に成功しており^{3,4)}、低水温馴致の効果は極めて有効と言える。今後、低水温下でのワムシ培養を安定させることができれば、飼育水槽内での安定増殖も期待できる。これらのことから、増殖状態

の良いワムシを用いることにより10～12℃の低水温下でも「ほっとけ飼育」は十分に成立可能であるという見通しを得た。

一方で、ワムシが感染源として疑われるウイルス性や細菌性疾病^{15,16)}に加え、近年はワムシの体表に付着する微小原生動物によるマダラ仔魚の大量死亡も確認されている⁷⁾。「ほっとけ飼育」ではこのようなワムシ培養由来の疾病原因因子を極力排除する可能性が指摘されており¹¹⁾、防疫的見地からも望ましい生産手法と考えられる。したがって、「ほっとけ飼育」の成立にはワムシ培養管理の不備に起因する増殖不良の抑制、疾病原因因子の排除が必要である。その対策として、ワムシ培養における安定培養阻害要因の排除、消毒作業の徹底、および接種・供給前のワムシ洗浄作業の徹底等が一例として挙げられる。

本試験の2区においては、仔魚の収容密度が高かったことと接種したワムシが不良であったことから、追加給餌が必要であった。この点については、仔魚の収容密度と摂餌量、ワムシ接種密度と低水温下での増殖率等を考慮し、培養状態の良好なワムシを用いて飼育を行えば、高密度の「ほっとけ飼育」は成立可能であると考えられる。また、低コスト・省力化および安定化を図る場合、飼育水槽への添加藻類には、本試験の1区で観察されたように原生動物を持ち込み「ほっとけ飼育」を破綻させる可能性があり、生産単価の高い冷蔵濃縮ナンノよりも市販の濃縮淡水クロレラを用いる方が良策と考えられるため、この点についても今後検討する必要がある。

文 献

- 1) 堀田和夫・荒井大介・渡辺研一 (2004) マダラ親魚の深層水施設による早期採卵と種苗生産に成功. 海洋深層水利用研究会ニュース, **8**, 13-14.
- 2) 渡辺研一・堀田和夫・桑田博 (2005) 富山県水産試験場で海洋深層水を用いて飼育したマダラ親魚の日長処理による採卵時期の早期化. 栽培漁業センター技報, **3**, 4-8.
- 3) 久門一紀・渡辺研一・友田 努 (2003) マダラ種苗生産技術の開発. 平成15年度日本栽培漁業協会事業年報, 51-52.
- 4) 荒井大介 (2005) マダラの種苗生産技術の現状について～大量生産と放流が可能になり、地先にとどまるマダラの生態～. 豊かな海, **7**, 14-17.
- 5) 桑田 博 (2000) II 大量培養. 「海産ワムシ類の培養ガイドブック」(栽培漁業技術シリーズNo.6), (社)日本栽培漁業協会, 43-117.
- 6) 渡辺研一 (2003) 3. 冷水性魚類の早期種苗生産技術開発 (マダラ) 2) マダラ種苗生産における天然プランクトンに替わる餌料の探索と配合飼料化に向けた飼育試験. 平成14年度日本栽培漁業協会事業年報, 110-112.
- 7) 久門一紀 (2003) 3. 冷水性魚類の早期種苗生産技術開発 (マダラ) 1) 量産試験. 平成14年度日本栽培漁業協会事業年報, 109-110.
- 8) 武富正和 (2007) マダイの種苗生産—マダイ量産飼育黎明期より四半世紀が過ぎて—。「仔稚魚の生理・生態に応じた種苗量産技術」. 平成18年度栽培漁業技術中央研修会テキスト集, (社)全国豊かな海づくり協会, 1-8.
- 9) 高橋庸一 (1990) ヒラメ種苗生産における生物餌料の軽減と飼育作業の簡素化. 水産増殖, **38**, 23-33.
- 10) 高橋庸一 (1998) ヒラメの種苗生産マニュアル—「ほっとけ飼育」による飼育方法—. 栽培漁業技術シリーズNo.4, (社)日本栽培漁業協会, 57pp.
- 11) 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**, 1-5.
- 12) 奥村重信・岩本明雄 (2006) ワムシの連続注水間引き培養法と植え継ぎ培養法の比較. 栽培漁業センター技報, **5**, 43-45.
- 13) 友田 努・小磯雅彦・桑田 博・陳 昭能・竹内俊郎 (2005) 増殖ステージが異なるシオミズツボワムシのヒラメ仔魚に対する餌料価値. 日本水誌, **71**, 555-562.
- 14) 友田 努・小磯雅彦・島 康洋 (2008) シオミズツボワムシ培養水温がヒラメ仔魚飼育に及ぼす影響. 日本水誌, **74**, 625-635.
- 15) Comps M., and B. Menu (1997) Infectious diseases affecting mass production of the marine rotifer *Brachionus plicatilis*. *Hydrobiologia*, **358**, 179-183.
- 16) 室賀清邦 (1995) 海産魚介類の仔稚魚におけるウイルス性および細菌性疾病. 魚病研究, **30**, 71-85.

黒色水槽を用いたケガニ幼生の浮遊性を確保する飼育手法の検討

市川 卓*¹・福永恭平*¹・村上恵祐*²・浜崎活幸*³

(*¹ 北海道区水産研究所海区水産業研究部, *² 南伊豆栽培漁業センター, *³ 東京海洋大学)

ケガニ *Erimacrus isenbeckii* の種苗生産技術の開発は、厚岸栽培技術開発センターを含むいくつかの機関で取り組まれてきた¹⁻³⁾。ケガニ幼生は5期のゾエア幼生(以下、ゾエア)と1期のメガロパ幼生(以下、メガロパ)を経てふ化から2ヶ月程度で第1齢稚ガニへと脱皮、変態する。当センターでは、1992年に50kl水槽を用いて10.3万尾のメガロパ(生残率20.6%)を取り上げた飼育事例¹⁾を最後に、大型水槽における飼育事例での生残率は0~8.5%と低迷している。第5齢ゾエアが水槽底に沈下して大量死亡することが生残率を低下させる主たる原因として考えられ⁴⁻⁶⁾、この幼生の大量死亡を回避するためには幼生の浮遊性を確保して、幼生が沈下することを防止することが重要と考えられた。

幼生の浮遊性を確保する飼育手法としてはガザミ *Portunus trituberculatus* の種苗生産⁷⁾で実用化され、冷水性甲殻類のズワイガニ *Chionoecetes opilio* の幼生の飼育試験⁸⁾においても効果が見られている攪拌機を用いた飼育手法が知られており、ケガニ幼生の飼育試験においても2006年に検討した。また、2005年の飼育試験においてケガニ幼生が水槽の壁面および水槽底に蟻集したため(未発表)、黒色ポリエチレン製の円型水槽(以下、黒色水槽)を使用し、水槽側面からの光を遮断した飼育についても同時に検討した。

その結果、攪拌機を使用した水槽ではケガニ幼生の浮遊性は確保されたが成長が遅延し、攪拌機による幼生への物理的な影響が考えられた。一方、0.5kl黒色水槽を使用した飼育では攪拌機を使わないでも浮遊性が確保され、成長の遅延はなかった。さらにメガロパまでの生残率も高く有用性が示された⁹⁾。

そこで本試験では、黒色水槽を使用した飼育の再現を試みた。さらに黒色水槽に攪拌機を設置し、飼育水を機械的に攪拌する効果を検討した。

材料と方法

親ガニの入手とふ化 2007年2月26日に北海道噴火湾長万部沖で特別採捕の許可を受けてカニ籠漁を行った。漁獲された23尾の抱卵雌ガニは約11時間かけてトラックで当センターに輸送した。親ガニの大きさは、平均甲長が73.8mm(61.7~89.0mm)、平均体重が307g(185~530g)であった。搬入した親ガニは4kl

円形FRP水槽2槽に収容し、自然水温で養成した。給餌は週3回、冷凍チカ、冷凍アサリおよび冷凍オキアミを残餌が出る程度に与えた。ふ化した幼生はオーバーフローによって0.5kl水槽に回収した。

幼生の飼育試験 飼育試験には黒色水槽を使用する黒色水槽区と黒色水槽に攪拌機を設置した黒色水槽攪拌区を設定した。対照区は、2006年の飼育試験において生残率が低かった透明水槽を用いた区とした。各試験区とも2水槽を使用し、1槽当たり5,000尾(収容密度10,000尾/kl)のふ化幼生を収容した。

飼育方法は2006年の試験に準じた⁹⁾。飼育水温はふ化水温と等しい2℃で開始し、徐々に昇温して12℃とした。換水率は収容時が100%/日、以降脱皮する毎に50%ずつ増やして第5齢ゾエアでは300%/日とした。餌料には北米産アルテミアのノープリウス幼生(以下、アルテミア)と市販の濃縮珪藻(タラシオシラW; REED MARICULTURE)を使用した。アルテミアは24℃、48時間でふ化させた後、スーパーマイクロカプセルA-1パウダー(添加量70g/億個体、クロレラ工業)を用いて水温16℃で16時間の栄養強化を行った。アルテミアの給餌は1日1回朝に行い、飼育水中の密度を第1齢ゾエアでは1個体/ml、以降脱皮する毎に0.5個体/mlずつ増やして第5齢ゾエアでは3個体/mlとなるように添加した。濃縮珪藻は第1齢ゾエアから第3齢ゾエアまで与え、飼育水中の密度が3,000細胞/mlとなるように1日1回に添加した。

攪拌機(回転翼:長さ86cm×幅8cm)の回転速度は、ガザミやズワイガニの飼育事例^{7,8)}を参考に2006年の1.5回転/分⁹⁾から0.5回転/分とした。

生残個体の計数は、脱皮を確認した日の夜間にφ40mmの塩ビパイプを用いた柱状サンプリングによる容量法で行った。ふ化日から各齢期へ初めて脱皮した幼生を確認した日までの日数を各齢期までの所要日数とした。

試験の終了はいずれかの試験区で全ての個体がメガロパに変態した時点までとし、各区とも全数を取り上げて生残尾数と幼生の齢期の組成を調査した。試験区間の生残率の差は、分散分析(p<0.05)を用いて検定した。

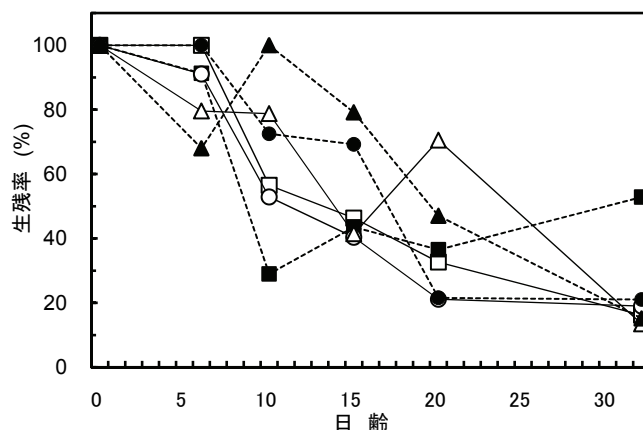


図1 飼育試験における推定生存率
(夜間の柱状サンプリングからの推定値)

□：対照区1, ■：対照区2, ○：黒色水槽区1, ●：黒色水槽区2,
△：黒色水槽攪拌区1, ▲：黒色水槽攪拌区2

結 果

試験は2007年4月5日に開始し、黒色水槽区で全ての個体がメガロパへ脱皮した5月7日（日齢32）に終了した。

ゾエアの行動を観察したところ、対照区では飼育開始直後から水槽の側面、および底面の周辺から側面部に偏在する傾向が認められ、日中に遊泳している個体は少なかった。黒色水槽区ではほとんどの個体は飼育水中に分散して遊泳していたが、一部は日中には水槽底の周辺部に蟄集して横臥しており、この傾向は第3齢期以降に強くなり脱皮の前後ではさらに顕著となった。しかし、飼育期間を通してほとんどの個体は夜間には活発に遊泳していた。黒色水槽攪拌区ではほとんどの個体は飼育水中に分散していたが、第3齢期以降は水槽底に横臥する個体が出現した。なお、晴天時の日中の照度は40～481 lxであった。

飼育途中の生存状況をみると（図1）、対照区の生存率は第3齢ゾエアが出現する日齢10前後には29.0%と56.5%に低下し、日齢20には35%前後となった。黒色水槽区では、第2～3齢ゾエア間の日齢6～10に52.9%と72.5%になり日齢20では21%まで低下したが、

その後は試験終了時の日齢32まで大きな減耗は認められなかった。黒色水槽攪拌区では、日齢6以降に緩やかな減少がみられたが、日齢20では47.0%と70.5%と他の2区よりも高い生存率であった。しかし日齢30前後に死亡個体が顕著となり、生存率は急激に低下した。試験終了時の各試験区の平均生存率は、対照区34.5%、黒色水槽区20.0%、黒色水槽攪拌区14.3%であったが、試験区間で有意差は認められなかった（表1）。

試験終了時でのメガロパの出現状況をみると（表2）、黒色水槽区と黒色水槽攪拌区では全てのゾエアがメガロパに変態したが、対照区では7.4%と17.1%であった（表2）メガロパの推定生存率 {（サンプル中のメガロパの割合）×（取り上げ総尾数）} について分散分析を行ったところ、対照区と黒色水槽区および対照区と黒色水槽攪拌区の間で有意差（ $p < 0.05$ ）が認められた。

飼育開始から各齢期までの所要日数を表3に示した。これを見ると、黒色水槽区および黒色水槽攪拌区では各齢期間の成長に顕著な差はなかったが、対照区では第3齢から第4齢間の成長が遅れる傾向が見られた。この遅れにより、メガロパまでの所要日数は対照

表1 ケガニ幼生の飼育試験における試験結果の概要

試験区	水槽 No.	収容		取り上げ				試験区毎の平均生存率(%)	水温 (°C)	
		年月日	尾数 (尾)	年月日	日齢	齢期	尾数 (尾)			生存率 (%)
対照区	1	2007/4/5	5,000	2007/5/7	32	Z ₃ ^{*1} , Z ₄ ^{*2} , Z ₅ ^{*3} , M ^{*4}	810	16.2	34.5	11.0 (2.5~13.3)
	2					Z ₃ ^{*1} , Z ₄ ^{*2} , Z ₅ ^{*3} , M ^{*4}	2,643	52.9		
黒色水槽区	1					M ^{*4}	950	19.0	20.0	11.5 (2.5~13.4)
	2					M ^{*4}	1,052	21.0		
黒色水槽攪拌区	1					M ^{*4}	673	13.5	14.3	11.0 (2.6~13.0)
	2					M ^{*4}	758	15.2		

*1 第3齢ゾエア, *2 第4齢ゾエア, *3 第5齢ゾエア, *4 メガロパ

表2 取り上げ時のメガロバの推定生残尾数と幼生の齢期の組成

試験区	水槽 No.	対照区		黒色水槽区		黒色水槽攪拌区	
		1	2	1	2	1	2
各齢期の組成 (%) *1	Z1	0	0	0	0	0	0
	Z2	0	0	0	0	0	0
	Z3	1.0	3.7	0	0	0	0
	Z4	61.0	71.6	0	0	0	0
	Z5	21.0	17.3	0	0	0	0
	M	17.1	7.4	100	100	100	100
メガロバの推定生残尾数 ²		139	196	950	1,052	673	758
メガロバ幼生の推定生残率 (%) ³		2.8 ^a	3.9 ^a	19.0 ^a	21.0 ^a	13.5 ^b	15.2 ^b

*1 取り上げ時に任意抽出したサンプル中の齢期の割合

*2 取り上げ尾数に任意抽出したサンプル中のメガロバの割合を乗じて算出

*3 *1を基に推定した尾数を用い、収容尾数5,000尾を母数としたメガロバ幼生の生残率

a, b $p < 0.05$ で有意差あり

表3 飼育試験におけるケガニ幼生の成長

試験区	水槽 No.	各齢期間の所要日数 (積算)*					
		Z1	Z2	Z3	Z4	Z5	M
対照区	1	0	6(6)	3(9)	7(16)	5(21)	11(32)
	2	0	6(6)	4(10)	6(16)	5(21)	11(32)
黒色水槽区	1	0	5(5)	4(9)	3(12)	7(19)	11(30)
	2	0	5(5)	4(9)	3(12)	7(19)	11(30)
黒色水槽攪拌区	1	0	5(5)	4(9)	5(14)	5(19)	12(31)
	2	0	5(5)	4(9)	5(14)	5(19)	12(31)

*: 各齢期を初めて確認した日数

区が32日と最も遅く、次いで黒色水槽攪拌区が31日、黒色水槽区が30日となった。

考 察

本試験では、黒色水槽は透明水槽に比べ幼生の浮遊性が確保され、幼生の成長が遅延しないことが確認された。また黒色水槽は全てが試験終了時にメガロバに変態したが透明水槽での飼育では第3～5齢ゾエアが大半を占めた。メガロバの推定生残率も黒色水槽が19.0～20.0%と有意に高く、2006年の試験結果⁹⁾をほぼ再現できたと考えられた。

しかし、黒色水槽におけるゾエア幼生の生残状況は、2006年の試験では第5齢期までほとんど死亡個体が観察されなかったが、本試験では第2～5齢期の間(日齢5～20)に大きな減少が見られた。黒色水槽での死亡原因は不明であるが、第3齢期以前から水槽底への蟄集が見られたことから、沈下した幼生が餌不足や細菌感染により死亡した可能性が考えられた。

ケガニ幼生は第1齢ゾエアにおいて、光に集まる傾向が顕著である⁹⁾ことから、蟄集には照度が関与すると思われたが、晴天時の水槽上方からの照度は2006年と顕著な差はなく、光の影響は判然としなかった。

黒色水槽に攪拌機を併用した飼育方法では、第5齢ゾエアまでの生残率およびメガロバの推定生残率が黒

色水槽のみでの飼育と同程度であった。このことから、本種のゾエア期の生残率向上には攪拌機の使用は有効でない可能性が示されたが、さらに回転速度や使用時期等について検討する余地があろう。

本試験では、ケガニ幼生の飼育において光環境の制御が幼生の浮遊性を確保するための重要な要素であり、横からの光を遮断できる黒色水槽が飼育に有効である結果を得た。同時に幼生の浮遊性は成長段階や昼夜で異なること、ガザミやズワイガニの種苗生産では実績のある飼育水の機械的攪拌を用いた飼育手法はまだ改良が必要と考えられた。黒色水槽を用いることで幼生の浮遊性を確保することは可能であるが、幼生の安定した飼育には至らず、より高い生残率を得るためにはケガニ幼生の光や重力に対する走性だけでなく、さらに水槽内の光環境について知見を収集し、ケガニ幼生に適した飼育環境を構築することが重要と考えられる。

文 献

- 1) 厚岸事業場(1982)種苗生産技術の開発(ケガニ). 日本栽培漁業協会事業年報(昭和57年度), 239-242.
- 2) 宮古事業場(1982)種苗生産技術の開発(ケガニ). 日本栽培漁業協会事業年報(昭和56年度),

- 196-175.
- 3) 尾身東美, 山下幸悦 (1978) 昭和52年度北海道立栽培漁業センター事業報告書, 54-62.
 - 4) 成生正彦 (1994) 種苗生産技術の開発 (ケガニ). 日本栽培漁業協会事業年報 (平成8年度), 196-198.
 - 5) 神保忠雄 (2003) 冷水性甲殻類の種苗生産技術の開発 (ケガニ). 日本栽培漁業協会事業年報 (平成13年度), 21-24.
 - 6) 神保忠雄 (2003) 冷水性甲殻類の種苗生産技術の開発 (ケガニ). 日本栽培漁業協会事業年報 (平成14年度), 19-22.
 - 7) ガザミ種苗生産技術の理論と実践 (1997). ガザミ種苗生産研究会編著, 68.
 - 8) 小金隆之 (2003) ズワイガニ種苗生産の基礎技術の開発. 日本栽培漁業協会事業年報 (平成14年度), 133-136.
 - 9) 市川 卓, 福永恭平, 村上恵祐, 浜崎活幸 (2007) ケガニ幼生の浮遊性を確保するための飼育手法について. 栽培漁業センター技報, 6, 24-27.

閉鎖循環飼育システムを用いたトラフグ種苗生産での低塩分条件の有効性

荒井大介^{*1}・小金隆之^{*1}・西郷晃一^{*2}・千田直美^{*2}・山本義久^{*1}

(*1 屋島栽培漁業センター, *2 東京海洋大学)

トラフグ *Takifugu rubripes* は室蘭以南の太平洋, 日本海, 渤海, 黄海および東シナ海に分布する重要な漁業対象資源であるが, 近年, 天然資源が減少している。一方で高級魚としての価値から養殖での生産・需要は増加している^{1,2)}。

現在, 本種の養殖形態は海上生簀での飼育や, 陸上水槽で注水の大部分を排水する流水飼育が多くを占めているが, 新たな流れとして陸上での閉鎖循環式養殖が注目されている³⁾。閉鎖循環飼育の利点は, 台風や降雨による取水の濁りや赤潮などの影響を受けず, さらに水温制御のコストが節減できること等が挙げられる。近年, 燃油価格の高騰により種苗コストの多くを加温代が占めていることから, 一度加温した飼育水を排水することなく, 循環させる閉鎖循環飼育は種苗コストの軽減で最も効果的である。さらに新水追加の必要がない閉鎖循環飼育システムは塩分調整が容易であることから, 汽水域で稚魚期を過ごすトラフグには⁴⁾, 生態に適した飼育方法であると考えられる。

そこで, 本報告では閉鎖循環飼育システムを用い, 低塩分海水でのトラフグ種苗生産の可能性を検討した。

材料と方法

試験区の設定 試験期間は日齢35までとし, 飼育を100%海水で行う100%海水区と80%の希釈海水で行う80%海水区の2区を設けた。

ふ化仔魚の確保 供試したふ化仔魚は, 2008年4月11日に屋島栽培漁業センター(以下, 当センター)で周年陸上養成している親魚から人工授精により得た。受精卵は17℃に加温した濾過海水を掛け流したハッチングジャー内で管理し, ふ化前日に0.6kl FRP水槽へハッチングジャーごと移して, ふ化させた。ふ化当日, 容量法で計数したふ化仔魚数は, 55万尾であった。

飼育方法 飼育には当センターの閉鎖循環飼育棟内に設置された5kl FRP角形水槽を用いた。閉鎖循環飼育システムを図1に示した。当システムは飼育水槽と2つの受け水槽, 泡沫分離装置, 生物濾過槽からなり, 飼育水はまず水中に残っている生物餌料や配合飼料を除去する袋(目合い64 μ mと200 μ m)を通り, 自吸式ポンプ(0.4kw; 三相電機)により泡沫分離装置に送られる。さらに泡沫分離装置で有機物が除去さ

れた後, 生物濾過装置(本報告では, 濾材の熟成なしで飼育を開始した)を経由して飼育水槽へ戻る。なお, 本飼育で用いた泡沫分離装置は当センターと(有)栄和商事が共同開発した装置(特願2007-314248)でありベンチュリー管負圧吸引込み方式を用いた。

ふ化仔魚の収容密度は2.0万尾/klとし, 各試験区とも10万尾を収容した。換水は日齢20までは行わず止水とし, 日齢21以後は1~5回転/日になるよう循環させた。

餌料には日齢2からL型ワムシを与え, 飼育水中の密度20~40個体/mlを維持するように給餌した。給餌したワムシの栄養強化と飢餓防止のため, 飼育水には市販の生クロレラスーパーV12(以下SV12, クロレラ工業)を淡水60lで薄め, 定量ポンプで24時間かけて連続添加した。SV12は密度200万細胞/ml以下を維持するように, 添加量は日齢2には0.2l, 日齢3~15は前日の10%増加量, 日齢16以降は1.4l/日とした。

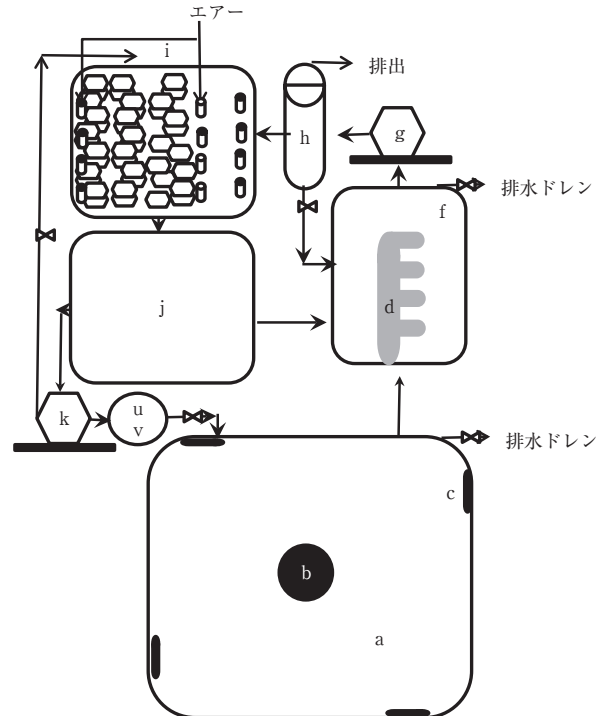


図1 閉鎖循環飼育システムのモデル図

- a: 飼育水槽, b: 中央排水アンドン, c: エアレーション
- d: 生物餌料・配合飼料回収ネット設置場所
- f: 生物餌料・配合飼料回収用受け水槽, g: 循環ポンプ
- h: 泡沫分離装置, i: 生物濾過槽
- j: 生物濾過処理水の受け水槽, k: 循環ポンプ

飼育環境の測定 試験期間中の環境測定として、溶存酸素濃度（以下、DO）、水温は（HQ40dポータブルマルチメータ；HACH）、pH（pHメータ；METTLER TOLEDO）、塩分濃度（Model 30；YSI）および3態窒素濃度（DR-5000、HACH）を測定した。3態窒素濃度の測定は、アンモニア態窒素はサリチル酸法、亜硝酸態窒素はジアゾ化法、硝酸態窒素はカドミウム還元法により行った。

成長および生残数 仔魚の成長は、試験終了まで5日毎に30尾の全長と、取り上げ時に30尾の乾燥重量（110℃、24時間）を測定した。生残数は日齢10と日齢15の夜間に柱上サンプリングして容量法による推定と、取り上げ時の魚数計（FCH-10稚魚カウンター；日本海洋）による計数を行った。

結 果

飼育環境 試験期間中の飼育環境の測定結果を図2と図3に示した。水温、DOおよびpH（図2）は両試験区で顕著な差は見られなかった。3態窒素濃度（図3）は両区ともに飼育経過に伴って上昇する傾向が認めら

れ、特にアンモニア態窒素で顕著であった。塩分濃度は、試験開始時は80%海水区が25psu、100%海水区が32.0psuであったが、終了時にはクロレラ添加時の淡水の影響により80%海水区で23.9psu、100%海水区で31.0psuとやや低下した。

成長および生残 日齢35までの両試験区の全長の比較を図4に示した。これを見ると、日齢5まで両試験区間で差は見られなかったが、日齢10では80%希釈海水区が有意に大きくなり（*Student-t*検定、 $p < 0.05$ ）、その傾向は取り上げまで変わらなかった。100%海水区では日齢30から成長が停滞し、取り上げ時の平均全長は80%海水区が12.6mm、100%海水区が8.5mmと両区間で有意差が認められた。

取り上げ時の平均乾燥重量は80%海水区で $7.25 \pm 0.41 \text{mg/尾}$ 、100%海水区で $3.74 \pm 0.61 \text{mg/尾}$ となり、試験区間で有意差が認められた（*Student-t*検定、 $p < 0.05$ ）。

生残率を表1に示した。80%海水区の生残率は試験期間を通じて100%海水区よりも高く、取り上げ時（日齢35）には80%海水区では46.0%（生残数4.6万尾）となり、100%海水区（生残率20.5%、生残数2.1万尾）

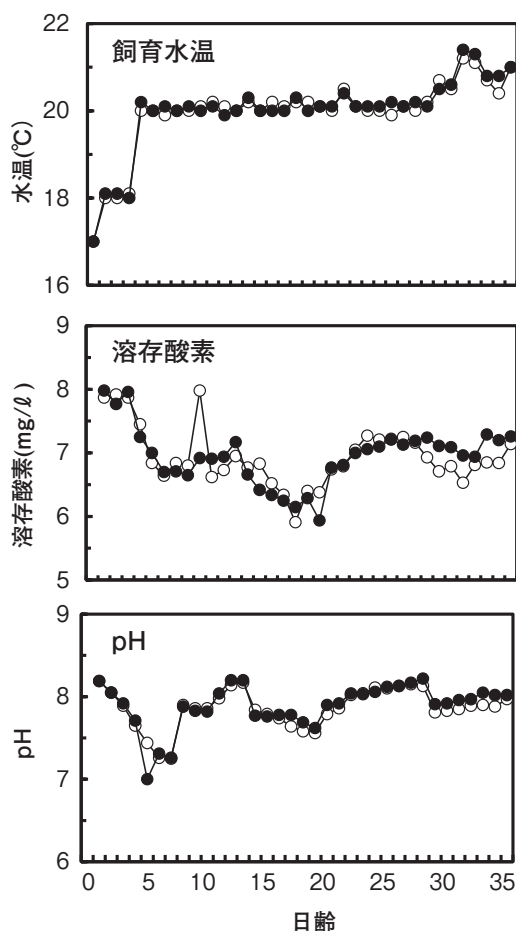


図2 トラフグ種苗の閉鎖循環飼育試験における飼育水の水温、溶存酸素、およびpH
○：80%海水区，●：100%海水区

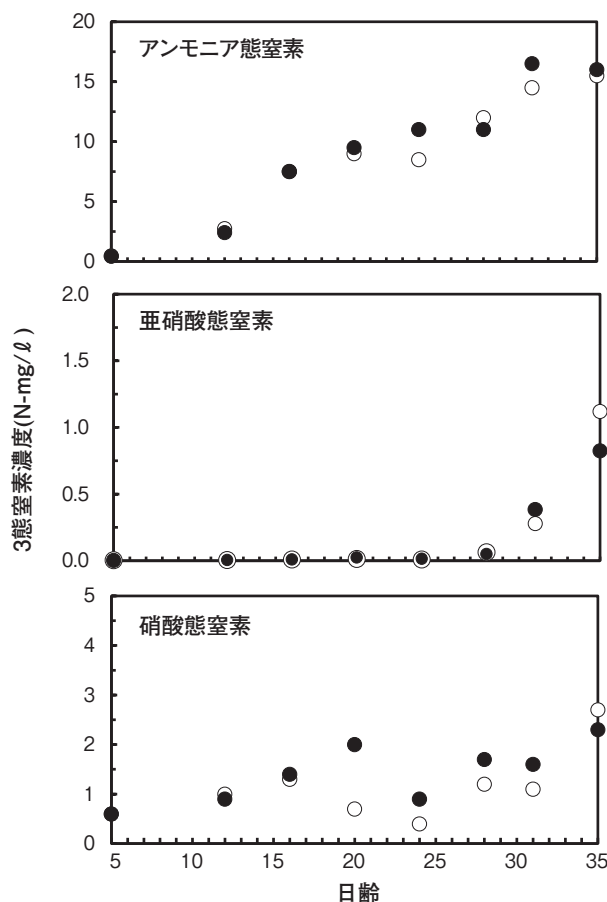


図3 トラフグ種苗の閉鎖循環飼育試験における3態窒素濃度
○：80%海水区，●：100%海水区

表1 閉鎖循環システムを用いて異なる海水濃度で飼育したトラフグ種苗の生残状況

	生残率(%)				生残尾数 (万尾)
	日齢 0	10	15	35	
100%海水区	100.0	68.0	50.0	20.5	2.1
80%海水区	100.0	79.0	71.0	46.0	4.6

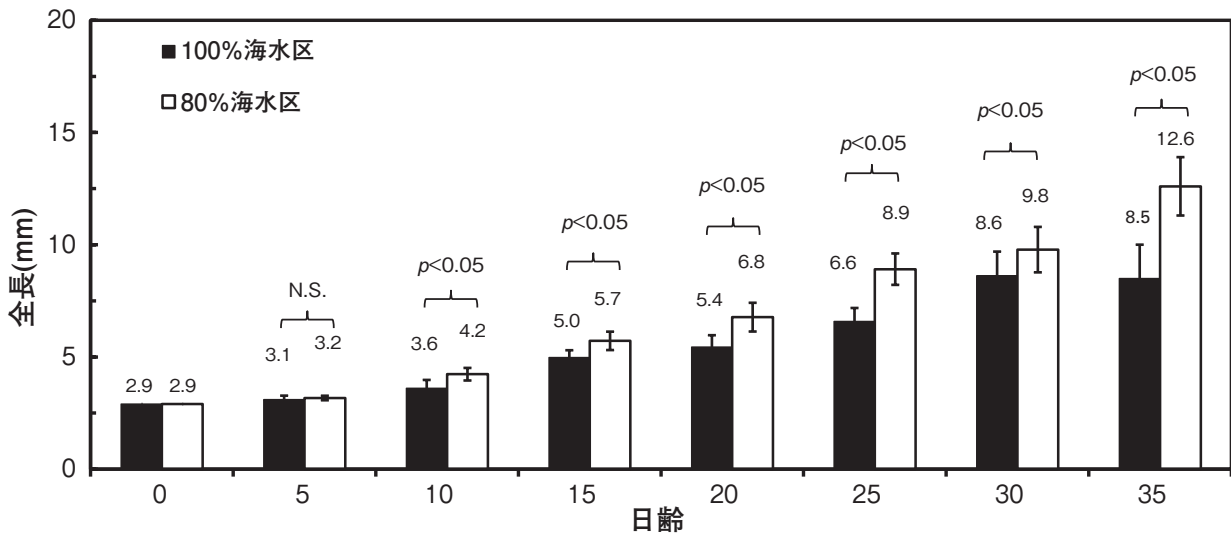


図4 閉鎖循環飼育システムを用いて異なる海水濃度で飼育したトラフグ仔稚魚の全長 (単位: mm)

の2倍以上であった。

文 献

考 察

自然環境でのトラフグは水道域や湾口部で産卵し、ふ化仔魚は内湾や浅海域で成長する過程で干潟域や河口域を成育場とすることが知られている⁴⁾。仔稚魚期をこのような汽水域で成育するトラフグでは、生態の行動に合わせた環境条件の下で種苗生産を行うことが望ましいと考えられるが、従来のかげ流し飼育では汽水環境を維持することは困難である。しかし、新水の追加をほとんど必要としない閉鎖循環飼育システムでは、本種の生態に合わせた飼育が可能である。

当システムを用いた80%海水でのトラフグ仔稚魚の種苗生産試験は、100%海水での飼育に比べ成長、生残とも優れた結果が得られた。韓ら⁵⁾は稚魚期(日齢32)からの飼育で希釈海水の効果を示したが、本報では初めてふ化仔魚からの効果を検証した。今後、さらに飼育事例を重ねることで、当システムによる希釈海水を用いた手法は本種の種苗生産技術に大きく貢献するものと考えられる。

- 1) 中野平二 (2005) トラフグ養殖生産動向と今日の課題. 日本水産資源保護協会月報, 11月号 487,6-10.
- 2) 片町太輔・塚本洋一・永井達樹 (2007) 平成19年度トラフグ日本海・東シナ海・瀬戸内海系群の資源評価. abchan.Job.affrc.go.jp/digests19/details/1974.pdf. 1391-1407.
- 3) 田中藤八郎 (2006) 陸上養殖システムの実現を. 月刊養殖11月号, 88-89.
- 4) 田北 徹・S. Intong (1991) 有明海におけるトラフグとシマフグの幼期の生態, 日水誌, 57, 1883-1889.
- 5) 韓 慶男・莊 恒源・松井誠一・古市政幸・北島力 (1995) トラフグ幼稚魚の成長, 生残, および飼料効率に及ぼす飼育水塩分の影響. 日水誌, 61, 21-26.

マダイを対象とした閉鎖循環飼育 - III ～種苗生産段階に適したろ材の探索～

山本義久・荒井大介
(屋島栽培漁業センター)

世界的な魚需要の急増により、FAO統計では2006年での魚消費量の養殖が占める割合は43%にも達し、今後さらに高まる魚の需要に対して対応できるのは養殖産業のみであると提言している¹⁾。しかし、既存の海上小割網生け簀での養殖形態では自家汚染・疾病の蔓延等による問題が山積し、新たな養殖形態として陸上での閉鎖循環飼育が注目されている。

閉鎖循環飼育の研究は屋島栽培漁業センター(以下、当センター)では、2000年よりマダイを対象とした閉鎖循環飼育システムを用いた種苗生産技術開発を開始し²⁾、現在の技術レベルは5kℓ水槽規模で1日の換水率が0.5%以下で全長30mmサイズまで約20,000尾/kℓの極めて高い種苗生産技術が確立されている。さらに、当センターでは、閉鎖度が高かつ窒素負荷が高い高密度飼育等に対応可能な高効率な閉鎖循環飼育システムを構築するためのシステム開発として、高性能で省コスト化可能な構造を有する泡沫分離装置(特願2007-314248)と新しい濾過方式の高性能且つメンテナンスフリーの生物ろ過装置を開発した(特願2008-203934)。また、より硝化能力が高い生物ろ過装置を構築するための要素解析として、前報ではろ過槽内の回転率とろ過槽の水温及びろ材の種類について検討した³⁾。今回、ろ材の種類についてさらに精査を加え、本閉鎖循環飼育システムに適したろ材の検討を行った。

材料と方法

供試ろ材 試験に供したろ材を表1と図1に示した。ろ材の種類は15種類を供試した。供試ろ材を素材別に区分すると、セラミック系ろ材は、前報で最も硝化能力が高かった①親水性多孔質セラミック(フィルテックスFB-3:フィルテック)、②ガラス質多孔質セラミック(日本板硝子)、③多孔質珪藻土焼成粒(日本板硝子)、高珪酸質多孔質セラミック(スリーストーン:三石耐火煉瓦)の④中サイズ(φ10×40~60mm)と⑤大サイズ(φ40×140~160mm)の2種の合計5種、繊維系ろ材は⑥ポリエステル繊維担体(ファビオス担体:ユニチカ)、⑦ポリマーリサイクル繊維(けまり:ユニチカ)、⑧ナイロン繊維(モジ網,105径)の3種、サンゴはサイズ別に⑨サンゴ砂(2

表1 試験に供したろ材の概要

No.	種類	サイズ(mm)	名称・規格
①	親水性多孔質セラミック	30~50	フィルテックス FB-3
②	ガラス質多孔質セラミック	φ23×35	
③	多孔質珪藻土焼成粒	6~8	珪藻土焼成粒
④	高珪酸質セラミック 中	φ10×40~60	スリーストーンM
⑤	高珪酸質セラミック 大	φ40×140~160	スリーストーンL
⑥	ポリエステル繊維担体	φ8×8	ファビオス
⑦	ポリマーリサイクル繊維	100	けまり
⑧	ナイロン繊維網	-	モジ網, 105径
⑨	サンゴ砂	2~3	
⑩	サンゴ小	5~10	
⑪	サンゴ中	20~35	
⑫	活性炭	3~8	
⑬	木炭	30~50	
⑭	塩ビ球形バイラルろ材	15~20	フジノスバイラル, VP-10
⑮	塩ビ管廃材	φ22×25	

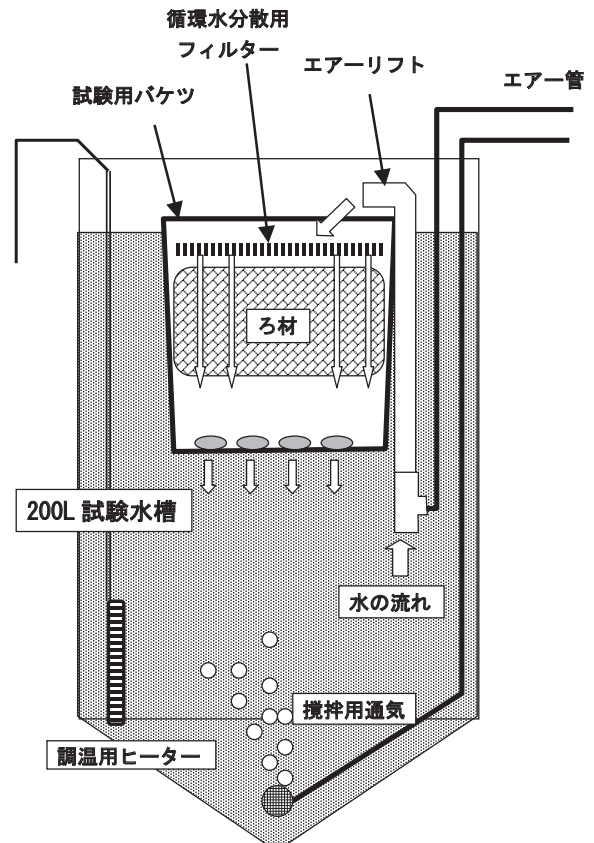


図1 硝化能力測定用の試験装置の概要

～3mm), ⑩サンゴ小 (5～10mm), ⑪サンゴ中 (20～35mm) の3種, また, ⑫活性炭 (3～8mmのヤシガラ活性炭) と⑬木炭 (30～50mm) の炭系素材2種及び塩化ビニール素材の⑭塩ビ球形スパイラルろ材 (フジノスパイラルVP-10) とφ16mmの塩ビ単管を25mm幅で切断した⑮塩ビ管廃材の2種をそれぞれ試験した。

ろ材の熟成 ろ材は塩化アンモニウムを適宜添加して約3ヶ月間熟成させ, 硝化細菌を増殖させた後に硝化能力試験を実施した。熟成方法はろ過海水を満たした4kl水槽に, 各ろ材10ℓと硝化細菌の元種用に十分に熟成させたセラミックろ材1ℓを収容したタマネギ袋を垂下し, エアーストーンで終日通気し, 熟成させた。硝化細菌着床のための栄養源として, 塩化アンモニウムを1日当たり20g添加した。熟成期間中は2005年8月26日から12月2日までの98日間で, ろ過海水で微換水 (0.2回転/日) とした。

3態窒素濃度の測定と硝化能力試験 アンモニア態窒素, 亜硝酸態窒素および硝酸態窒素の濃度は, DR/2000 (HACH) によりそれぞれサリチル酸法, ジアゾ化法, カドミウム還元法で測定した。

硝化能力試験は以下の試験設定条件で2反復行った。ろ過海水を満たした200ℓのアルテミアふ化槽に12ℓのバケツを改良した試験装置を用い (図2), 装置内にタマネギ袋に詰めた各ろ材 (熟成用のセラミックろ材を除去後) を5ℓ収容し, ろ材の全てが浸漬する様に配置し, エアーリフトで試験装置に12ℓ/分

の割合で通水する条件で行った。ろ材への通水の際には満遍なく循環水が行き渡るようにろ材上部にトリカルネットを設置した。また試験水を攪拌するために試験水槽底部にエアーストーン1個を設置し, 弱い通気を施した。

アンモニア態窒素の硝化速度の測定方法は, 水温を22℃に調整し試験装置に各ろ材を設置した後に塩化アンモニウム5gを添加し, 23時間後のアンモニア態窒素濃度 (N) を測定した。また, ろ材なしの区を設け同条件で試験し, 各試験のブランク値 (B) として補正した。硝化速度 (Y) はろ材1ℓ当たり換算して, 1時間当たりのアンモニア態窒素の硝化速度を以下の計算式で求めた。

$$Y = WV(B - N) / T / FV$$

Y: 硝化速度 (mg/h/ℓ), WV: 試験水量 (ℓ),

B: ブランク値 (mg/ℓ),

N: 試験終了後のアンモニア濃度 (mg/ℓ),

T: 試験時間 (h), FV: ろ材容量 (ℓ)

結 果

試験結果の概要を図2に示した。各ろ材の硝化能力を比較すると, 硝化速度が高い順にサンゴ小>サンゴ砂>活性炭>親水性多孔質セラミック>木炭>ナイロン繊維モジ網>ポリエステル繊維担体>サンゴ中>塩ビ球形スパイラルろ材>ガラス質多孔質セラミック>

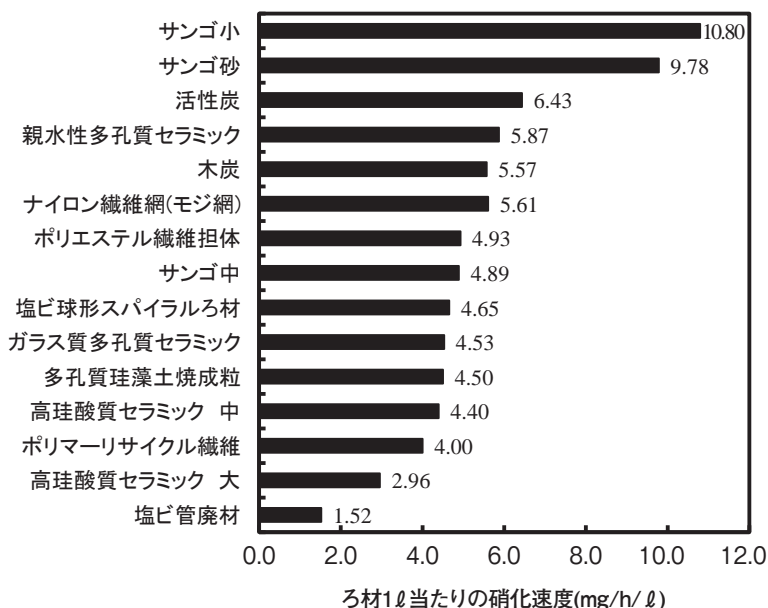


図2 ろ材1ℓ当たりのアンモニアの硝化速度の比較

多孔質珪藻土焼成粒>高珪酸質多孔質セラミックス中>けまり>高珪酸質多孔質セラミック大>塩ビ管廃材であった。サンゴ小とサンゴ砂の硝化速度はそれぞれ10.8mg/時/ℓと9.78mg/時/ℓと他のろ材と比較すると顕著に高かった。また、炭系素材の活性炭は6.43mg/時/ℓ、木炭は5.57mg/時/ℓと比較的高い能力が示された。一方、セラミック系素材では前報³⁾で最も硝化能力が高かった親水性多孔質セラミックが5.87mg/時/ℓと今回試験したろ材の中では上位であったが、サンゴ小、サンゴ砂の硝化能力よりも劣っ

た。他のセラミック系素材は2.96～4.53mg/時/ℓと硝化能力に素材毎にばらつきが見られた。塩ビ管廃材は1.52mg/時/ℓと最も硝化能力が低かったが、同じ素材（塩化ビニール）であるが形状が複雑で表面積も大きい塩ビ球形スパイラルろ材の硝化能力は4.65mg/時/ℓであり、塩ビ管廃材の約3倍の硝化能力があった。

また、今回、同素材で異なる大きさのろ材については、サンゴ系素材3種（写真1、⑨、⑩、⑪）とセラミック系ろ材の高珪酸質多孔質セラミック2種（同、④、⑤）



写真1 試験に供したろ材の一覧

(①～⑤：セラミック素材、⑥～⑧：繊維素材、⑨～⑪：サンゴ、⑫⑬：炭系素材、⑭⑮：塩化ビニール素材)

が対象であり、それぞれ硝化能力を比較するとサンゴ系ではサンゴ小>サンゴ砂>サンゴ中の順となり、セラミック系では高珪酸質多孔質セラミック中>高珪酸質多孔質セラミック大の順で、サンゴ砂以外は概ねろ材のサイズが小さいほど硝化能力が高い傾向を示した。

考 察

今回の無機のアンモニア源を用いて熟成し、硝化能力を測定した結果、素材はサンゴの能力が高く、5～10mmの小型サイズが圧倒的に高いことが判明した。また前報で最も高い硝化能力を示した親水性多孔質セラミックの1.7～1.8倍の硝化能力が小型サイズのサンゴが保持できることが示された。一方、サンゴは石灰質の溶出によりアルカリ度を上げる効果がある。閉鎖循環飼育を長期間継続すると飼育水のpHは低下し、6以下になることもしばしばあり、至適pHが9前後である硝化細菌の活性は著しく低下する⁴⁾。そのためpHを上昇させる作用があるサンゴはろ材としての価値は高い。しかし、サンゴは長期間使用すると石灰質の素材のために表面にアパタイトが形成されてアルカリが溶出されなくなると共に硝化能力が低下する報告がある⁶⁾。そのため一般的にサンゴは消耗品として考えられていて、pHの状況のみを適宜交換することが望ましい。当センターにおいてもサンゴ系のろ材は約3年間の使用後に更新している。

生物ろ過装置のろ材の機能については水浄化に関与する微生物の好気性硝化細菌を付着・増殖・維持することであり、生物膜をろ材表面に形成させ毒性の強いアンモニア態窒素と亜硝酸態窒素を毒性が弱い硝酸態窒素に硝化させることにある⁴⁾。生物ろ過装置に用いるろ材は様々な素材・形状のものが開発され検討され、排水処理関係でのろ材の具備すべき条件については、以下の項目が提示されている⁵⁾。

- 1) 適度な生物膜の付着があること、
- 2) 比表面積が大きいこと、
- 3) 空隙率がおおきいこと、
- 4) 通水抵抗が小さいこと、
- 5) 化学的・生物学的に安定で変質しないこと、
- 6) 座屈、破壊、摩耗に対して十分な機械的強度を有すること、
- 7) 浮遊物の捕捉性が高いこと、
- 8) 粒径や間隔が一定で槽内に均一な流速を生じやすいこと、
- 9) 有害物の溶出がないこと、
- 10) 水との比重差が小さく、水中構造物や槽底に大きな荷重を生じないこと、

- 11) 安価で安定した供給が可能なこと、
- 12) 輸送や組み立て施工が容易なこと。

しかし、上記の項目は相互に矛盾するものが多いため全てを満たす条件のろ材はありえない。そのため、処理目的と設計・管理条件などに応じてどの項目を優先すべきかを適格に判断する必要性が説かれている⁵⁾。

陸上の循環式養殖での適正ろ材の検討については、山形(1988)はウナギの循環ろ過システムに関する研究で種々のろ材を用いて有機物分解速度を検討し、表面積が大きいほど微生物の保持能力が高く、浄化能力が高いことを報告している⁷⁾。今回の試験結果でも同一素材で形状が異なる事例の塩ビ管廃材と塩ビ球形スパイラルろ材においても表面積や形状により明確な差が生じている。Kikuchi *et al*⁸⁾は、今回の設定と同様に無機のアンモニア源を用いて6種類の形状や表面積が異なるろ材について検討した結果、ろ材の表面積と浄化速度との間には明確な関係はみられず、形状による違いがみられると報告している。菊池⁴⁾は、有機負荷が多い場合には比表面積が多いろ材(例えば多孔質セラミック)ではろ材表面に形成される生物膜によりろ材の多孔質の表面が被われてしまう結果、いかなるろ材を用いても浄化速度に大きな違いはないとしている。

しかし、当センターのシステムを用いた場合は泡沫分離装置により効率的に有機懸濁物を除去できるため²⁾、有機物負荷がたとえ多くても泡沫分離処理により生物ろ過装置に流入する有機物負荷は少なくなり、上記の見解は当てはまらない。むしろ有機物負荷が少なく無機のアンモニアや亜硝酸が多い水を処理する場合に当てはまるため、当センターのシステムの場合は、ろ材の閉塞は少ない条件で処理する事例となると考えられる。そのため、泡沫分離装置を具備した種苗生産に特化したシステムとしてのろ材の選定条件としては、有機懸濁物が少なく、ろ材の閉塞が少ないことを前提に比表面積の大きいろ材が適正であると考えられる。

今回の試験結果により硝化能力が5mg/時/ℓ以上の上位6種類のろ材の中から選定すると、最も硝化能力が高かったサンゴ小と比表面積が大きい活性炭あるいは親水性多孔質セラミックの組み合わせが適正と考える。もちろん前記したようにサンゴは消耗品と考えて適宜交換する必要がある。また、活性炭や木炭は10～100Aの細孔を多数有し極めて比表面積が大きい吸着材や微生物の着床の基質として河川での浄化材として用いられるなどの高い機能性を有し比較的安価で容易に入手できる長所を持つ⁹⁾。また、近年、木綿や不織布(タオル状のもの)を炭化した炭化綿が注目を浴びており吸着剤やろ過材としての効果も報告

され¹⁰⁾、形状加工が容易であることから今後炭系素材のろ材としての価値についてさらなる検討が必要と考える。一方、今回試験したモジ網は経年劣化し使用済みの廃品を使用した⁸⁾が、その硝化能力は5.61mg/時/ℓと比較的高く、安価なろ材の組み合わせとしてはサンゴ小とナイロン繊維モジ網の利用が考えられ、使用済みの漁網の利用など廃物を利用し、ろ材のコストを下げられる可能性が示された。

また、ろ材の開発は盛んで様々なろ材が商品化されている。より高い硝化能力を持つろ材を探索するためには適宜適当な素材について調査する必要があるが、ろ材の表面に硝化細菌を着床させ十分な硝化機能を保持させるためには1～3か月の熟成期間が必要である⁸⁾。現在、当センターではろ材の熟成用の水槽を設けて、周年塩化アンモニウムを適宜添加し、常時熟成されたろ材を確保し、必要時に利用する方法をとっている。これまでは硝化能力試験を実施してろ過槽の熟成度合いを調査して判断してきたが、迅速な測定方法が必要とされ、近年急速に進んだ細菌の遺伝的解析により硝化細菌の種の同定についても研究が進んできている¹¹⁾。これらの研究分野を用いて、迅速な硝化能力を測定する手法を開発し、生物ろ過装置に適した高い硝化能力を持った硝化細菌の選抜、あるいは株の保存方法の検討に利用することが今後必要である。

文 献

- 1) FAO (2006) The State of World Fisheries and Aquaculture 2006, 1-180.
- 2) 鴨志田正晃・山崎英樹・山本義久 (2006) 閉鎖循環システムを用いたマダイの種苗生産, 栽培技研, **33**, 67-76.
- 3) 山本義久・鴨志田正晃・岩本明雄 (2005) マダイを対象とした閉鎖系循環飼育-I 生物ろ過槽の機能向上について, 栽培漁業センター技報, **3**, 30-36.
- 4) 菊池弘太郎 (2000) 生物ろ過のメカニズムとろ材の活用法, 養魚家のためのろ材のやさしい基礎知識. 養殖, **9**, 84-89.
- 5) 北尾高嶺 (2003) 生物学的排水処理工学, コロナ社, 東京, 1-280.
- 6) Siddall, S. E. (1974) Studies of marine closed culture systems. *Prog. Fish-Cult.*, **36**, 8-15.
- 7) 山形陽一 (1988) ウナギの高密度飼育のための循環濾過システムに関する研究, 三重県水産技術センター研究報告, **3**, 1-79.
- 8) Kikuchi, K., H. Honda and M. Kiyono (1994) Ammonia oxidation in marine biological filters with plastic filter media. *Fisheries Sci.* **60**, 133-136.
- 9) 立本英機 (2003) 木炭・活性炭が持つ水質浄化能力, 養殖, **12**, 28-31.
- 10) 門上洋一 (2003) 炭化綿による輸送水の浄化と輸送への応用, 養殖, **12**, 32-36.
- 11) 糸井史朗 (2008) 循環濾過システム, 養殖の餌と水-陰の主役たち- (杉田治男編), 恒星社厚生閣, 東京, 1-190.

七尾公設市場に水揚げされたマダラの体長組成

手塚信弘^{*1}・荒井大介^{*2}・小磯雅彦^{*1}・友田 努^{*1}・島 康洋^{*3}・榮 健次^{*1}

(*1 能登島栽培漁業センター, *2 屋島栽培漁業センター,
*3 瀬戸内海区水産研究所伯方島栽培技術開発センター)

マダラ *Gadus macrocephalus* は冷水系の底棲性魚類で、北部日本の重要な漁獲対象種である¹⁾。日本海北部におけるマダラの漁獲量は、1990年まで2,000～5,000トンであったがそれ以降1,000～3,000トンに減少している。また、石川県の漁獲量は、1990年までは700～2,400トンであったが、それ以降100～300トンに低下している^{2,3)}。この海域においては、種苗の放流や適切な資源管理等によるマダラ資源の維持、増大を早急に検討する必要があると考えられる。

能登島栽培漁業センターでは、マダラの種苗放流を行うとともに、水揚げ魚の中に占める放流魚の混入率を明らかにするため七尾公設市場で調査を実施している^{2,3)}。この調査のなかで、水揚げされたマダラの体長組成等を明らかにすることは、的確な放流効果の評価や資源管理を行う上で非常に重要であると考えられる。

本報告では、マダラの放流効果に関する基礎的知見の蓄積を目的として、石川県の七尾公設市場における体長組成の年変動や成熟魚の体長について調査を行った。また、水揚げされたマダラの体長組成と市場の記録から得られた体重を用いて推定した体長組成との比較を行った。

材料と方法

調査対象とした七尾公設市場は、主に能登半島東部の刺し網と定置網で漁獲されたマダラが水揚げされる石川県の主要な市場の一つである²⁾。調査は2004年から2008年の漁獲盛期である12月から翌年3月に（以降、調査年は調査開始の年で表す）、市場開所日のほぼ毎日実施した。調査対象としたマダラは能登半島東岸産とし、他県産や能登半島北～西部で水揚げされたマダラは除外した。水揚げされたほぼ全数のマダラの標準体長（以下、体長とする）を、1,000mm定規（ファイバー折尺78605；シンワ）を用いて0.5cm単位で測定した。測定した個体の雌雄や成熟度は市場の銘柄と手塚ら²⁾に基づいて、成熟した雄、成熟した雌、排卵し産卵直前の雌、雌雄不明その他の雌雄不明のマダラ（未成熟）の4種類に分けた。2004年は体長ではなく全長を上記の方法で測定したため、予め用意した換算式²⁾を用いて全長を体長に換算した。

一方、七尾公設市場の日別の水揚げ記録から、セリの実施日、銘柄、一山の重量と尾数を調べた。一山の重量を尾数で除して体重を求め、銘柄別の体重－体長換算式⁴⁾を用いて体重を推定した。

結 果

各年の体長測定結果を表1に示した。測定尾数は、2004年が13,020尾、2005年が7,074尾、2006年が1,704尾および2007年が2,300尾で、平均全長はそれぞれ58.7cm、62.9cm、64.7cmおよび54.4cmであった。各年の体長組成を図1に示した。2004年、2005年、2006年はそれぞれ、57cm、64cm、63cmをモードとする単峰型を示したが、2007年は36cmをモードに50cmと64cmにもピークを持つ3峰型を示した。

2004～2008年の雌雄別、成熟別の測定結果を表2と図2に示した。その結果、成熟した雄は286尾、成熟した雌は253尾、産卵直前の雌は66尾および雌雄不明魚は8,331尾であった。また、それらの平均体長は成熟した雄が65.6cm、成熟した雌が66.1cm、産卵直前の雌が74.0cmおよび雌雄不明魚が59.6cmであった。

表1 七尾公設市場に水揚げされたマダラの体長測定結果

年度	2004	2005	2006	2007
測定数 (尾)	13,020	7,074	1,704	2,300
平均 (cm)	58.7	62.9	64.7	54.4
最小 (cm)	24	17	22	21
最大 (cm)	96	96	94	96
標準偏差	6.08	6.27	8.16	14.76
モード (cm)	57	64	63	36

表2 七尾公設市場に2004年から2008年に水揚げされた成熟した雄、成熟した雌、産卵直前の雌、雌雄不明魚の体長測定結果

	成熟した雄	成熟した雌	産卵直前の雌	雌雄不明魚
測定数 (尾)	286	253	66	8,331
平均 (cm)	65.6	66.1	74.0	59.4
最小 (cm)	47	36	62	17
最大 (cm)	94	89	95	96
標準偏差	6.82	7.47	6.21	10.58
モード (cm)	67	62	77	64

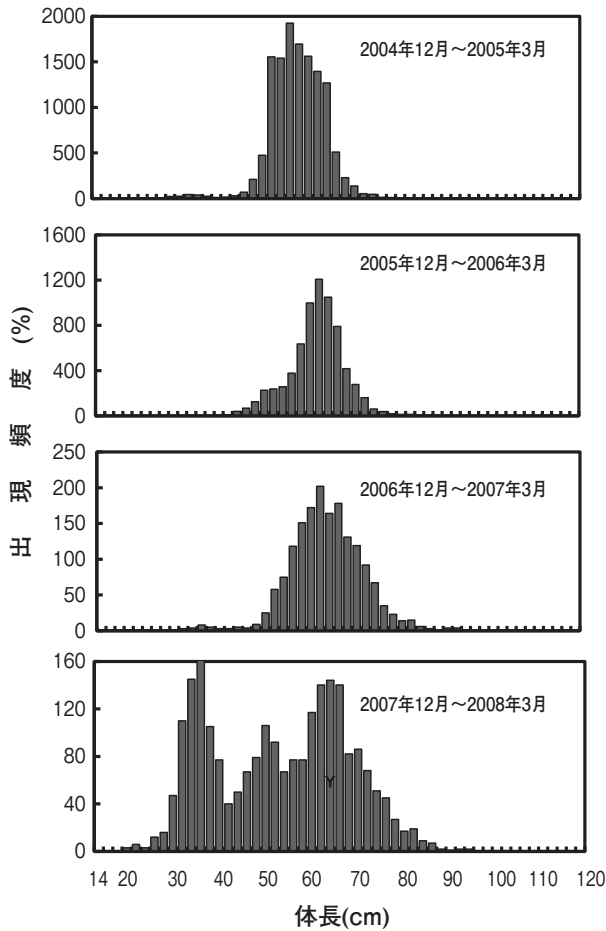


図1 七尾公設市場に水揚げされたマダラの体長組成

七尾公設市場の記録から推定した体長組成を図3に示した。2005年と2006年の体長組成は実際の測定結果と顕著な差はなかったが、2004年はやや小さい傾向が見られた。また、2007年は水揚げされたマダラの体長組成に見られる体長40cm以下の組成が、市場の記録からは見られなかった。

考 察

手塚ら⁴⁾は、七尾公設市場における2004年のマダラの水揚げ尾数の急激な増加を示し、これは2000年に七尾北湾で多数捕獲された稚魚と同一の群が、2004年に4歳になり、漁獲されたためであることを報告している。本調査における2004年の体長組成のモードが57cmであったことから、2000年に生まれたマダラが4歳で体長57cm程度から水揚げされ、翌年の2005年のモードが64cmと大きくなったのは、この年級群が成長したためと考えられた。

2007年の体長組成は、36cmにモードがあり、50cmにも峰が認められた(図1)。柴田⁴⁾は、山形県におけるマダラの被鱗体長は2歳で約30cm、3歳で約42cm

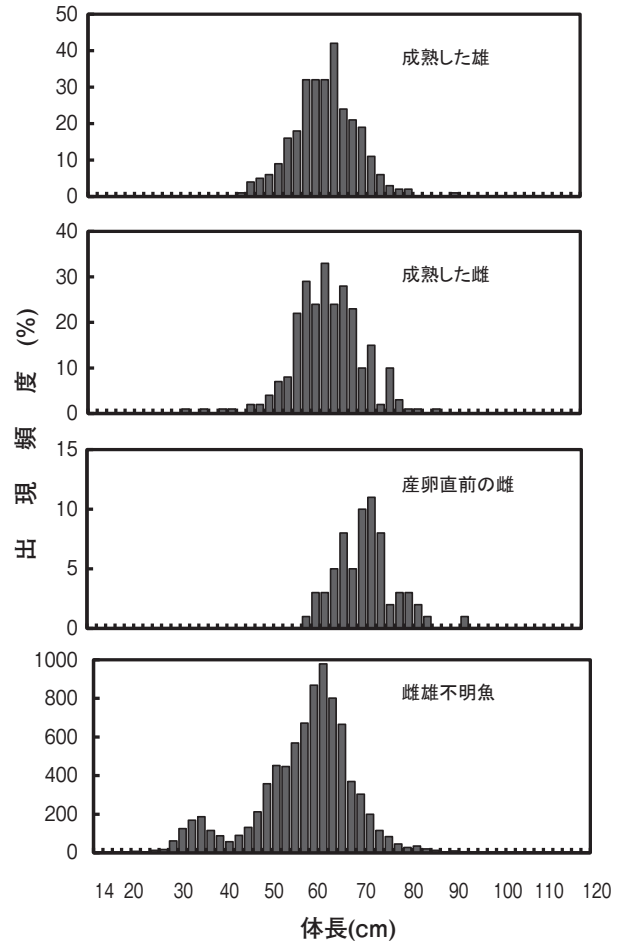


図2 七尾公設市場に水揚げされた成熟した雄、成熟した雌、産卵直前の雌、雌雄不明魚の体長組成

であることを報告しており、手塚ら⁵⁾は七尾北湾におけるマダラ天然稚魚の採取数が2005年と2006年に多かったことを報告している。これらのことから、七尾公設市場における36cmと50cmを中心とする群はそれぞれ2006年生まれの2歳と2005年の3歳であり、2000年生まれのマダラの漁獲が終了しつつある能登半島東岸で⁶⁾、新たな漁獲加入群が形成され始めている可能性が示された。

2007年の市場の記録から推定した体長組成では、体長40cm以下の組成が見られなかった。これは、体長40cm以下のマダラが市場で雑魚として扱われており、市場の記録にマダラとして残らず、重量や尾数の記録がないためであった。このことは、市場における体長測定調査の重要性を示しているが、市場の記録から得られたデータのみで年齢解析を試みる場合は、体長40cm以下のマダラを3歳以下とすれば年齢解析が可能と考えられた。

今後は、耳石等を用いてage-lengthキーを作成し、本調査で得られた体長組成から水揚げされたマダラの年齢組成を解析する必要がある。

文 献

- 1) 森岡泰三・山本和久・堀田和夫・大槻観三 (1998) 石川県能登島沖に放流されたマダラ人工種苗の成長と移動, 栽培技研, 27, 11-26.
- 2) 手塚信弘・荒井大介・小磯雅彦・友田 努・島康洋 (2008) 七尾公設市場の記録から推定したマダラの水揚げ量と産卵期, 栽培漁業センター技報, 8, 48-51.
- 3) 手塚信弘・荒井大介・小磯雅彦・友田 努・島康洋 (2008) マダラの市場調査で得られた知見ー1 銘柄別の体重ー体長等の各種関係式について, 栽培漁業センター技報, 7, 44-47.
- 4) 柴田 理 (1994) 地先資源漁場形成要因研究事業 (マダラの生態と資源に関する研究), 平成5年度 秋田県水産振興センター事業報告書, 103-111.
- 5) 手塚信弘, 荒井大介, 小磯雅彦, 友田 努, 島康洋 (2007) 七尾北湾におけるマダラ天然稚魚の移動と成長, 栽培漁業センター技報, 6, 50-53.
- 6) 手塚信弘・荒井大介・小磯雅彦・友田 努・島康洋 (2007) 能登半島東岸の七尾公設市場に水揚げされたマダラの年変動～2001年卓越年級群の漁獲状況～, 平成19年度第2回日本水産学会中部支部大会講演要旨集, 30-32.

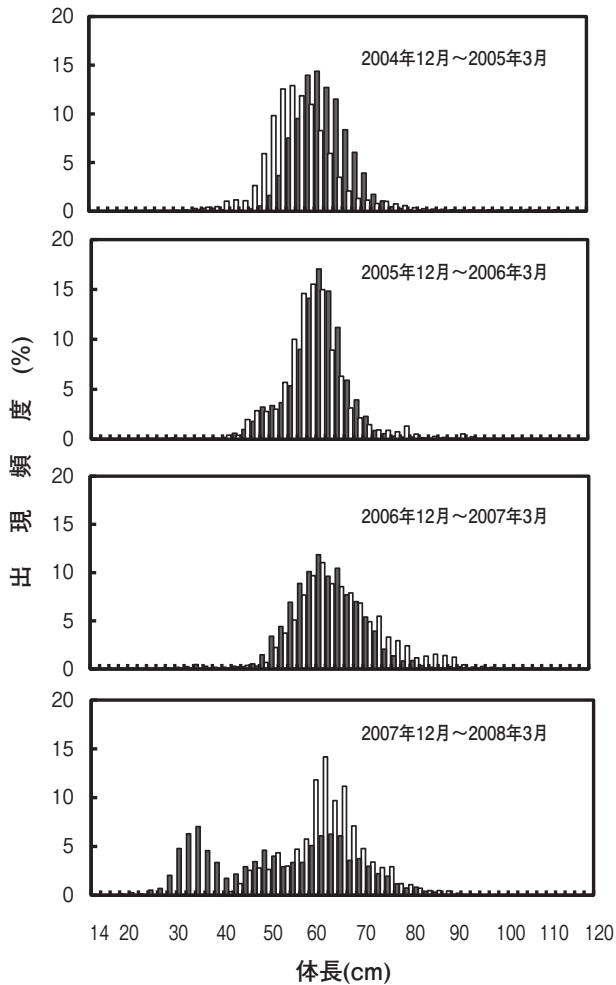


図3 水揚げされたマダラの体長組成と七尾公設市場の記録から推定した体長組成の比較
 ■：測定した体長 □：記録から推定した体長

囲い網でのガザミ中間育成における枠取りによる生残尾数の推定方法の検討

小畑泰弘^{*1}・山田徹生^{*2}・崎山一孝^{*2}・津崎龍雄^{*1}

(*1: 玉野栽培漁業センター, *2: 瀬戸内海区水産研究所百島実験施設)

ガザミの栽培漁業では、主に稚ガニの第1齢期で種苗生産を終了し、それ以降は放流地先近辺で種苗を中間育成した後、放流を行う。中間育成は、第1および2齢期から第2～5齢期まで主にコンクリート製水槽などの陸上水槽を用いて行われてきた¹⁾。しかし、中間育成時には共食いが頻繁に発生するため、陸上水槽での生残率は3割程度に留まっている。このため、中間育成施設には、陸上水槽のほか 囲い網、仕切り網および築堤式池など、底面積の大きい施設も用いられている。このうち、囲い網は、網を設置する労力は大きいものの、網を外すことにより種苗に負担をかけずに放流できる利点があるため使用率が最も高い。

一方、こうした底面積が大きな施設における中間育成時の生残尾数の推定には、主に枠取り調査が用いられる。しかし、一般的にガザミを含む水産生物はパッチ上に分布することが多く、枠取り調査では推定値の誤差が大きくなることが予想される。このため、適正なガザミの放流効果推定を行うには、枠取り調査での推定値の誤差を把握し、より正確な生残尾数（放流尾数）の推定方法を検討することが重要と考えられる。

本研究では、実験的に設置した囲い網へ収容したガザミ種苗について、齢期別の生残尾数を枠取り調査によって推定し、生残尾数の推定誤差と推定方法について検討した。

材料と方法

種苗の収容と計数および取り上げ 玉野栽培漁業センターで種苗生産した第1齢期（以下、C₁）ガザミ種苗（平均全甲幅4.8mm）10,000尾と第3齢期（C₃）種苗（平均全甲幅11.2mm）5,000尾を、平成18年7月12日に百島実験施設の素堀池（7,500m²、水深約1m）に設置した囲い網（10m×10m、モジ網、200K）2面へそれぞれ収容した。C₁およびC₃の収容前の種苗の計数はそれぞれ容積法および実数計数によって行った。囲い網の中の食害生物は事前に全て除去した。また、収容後は種苗への給餌を行わなかった。

ガザミ種苗の計数は収容後3～4日毎にスキューバ潜水により行った。囲い網底面の稚ガニは四隅と中央3カ所の計7カ所で0.4m×0.6mまたは0.5m×0.5mの方形枠を用いて計数し、側面の網に付着していた稚ガニは面毎に全数計数した（図1）。最終的に、9月5日

に池の水を全て排水して全数を取り上げ、実数計数した。また、種苗の成長を把握するため、収容8日後および17日後（それぞれ7月20日および29日）にサンプルを採集し、それらを95%エタノールまたは10%中性ホルマリンで固定した後、実験室で全甲幅を測定した。

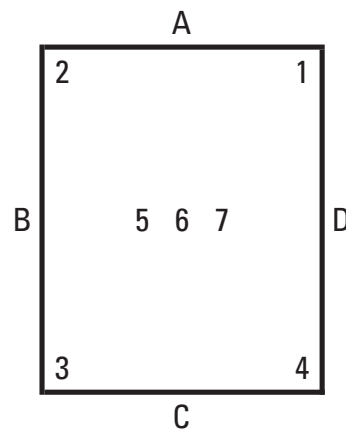


図1 囲い網の底面（1～7）および側面（A～D）の枠取り位置

生残尾数と誤差の推定 底面の生残尾数は区画法²⁾により、標準誤差SEおよび変動係数CVと併せて推定した。囲い網の底面積をM、枠取り面積をm、i番目の枠取り箇所の計数尾数をn_i、枠取りの箇所数をkとすると、生残尾数Nは単位面積当たりの平均計数尾数とMの積として

$$N = \frac{\bar{n}}{m} M = \frac{\sum_{i=1}^k n_i}{k} \frac{M}{m} \quad (i=1 \dots k)$$

で推定される。ここで、 \bar{n} はn_iの平均値である。Nの分散は

$$V(\hat{N}) = \frac{\left(\frac{M}{m}\right)^2 \left(\frac{M}{m} - k\right)}{\frac{M}{m} - 1} \times \frac{V(\bar{n})}{k} \dots \dots \dots (1)$$

で与えられる。ここで、V(\bar{n})は \bar{n} の不偏分散で

$$\hat{V}(\hat{n}) = \frac{\sum_{i=1}^k (n_i - \bar{n})^2}{k-1}$$

で推定される。NのSEとCVは

$$SE = \sqrt{\hat{V}(\hat{N})}$$

$$CV = \frac{SE}{N} = \frac{\sqrt{\hat{V}(\hat{N})}}{N} \dots\dots\dots (2)$$

で計算した。

結 果

飼育期間中の素堀池の平均水温は27.1℃であり、C₁収容区の種苗は7月29日にはC₅（平均全甲幅20.3mm）に、9月5日には平均全甲幅99.6mmに成長した。また、C₃収容区の種苗は7月29日にC₆（平均全甲幅27.3mm）、9月5日には平均全甲幅115.4mmに成長した（表1）。

枠取り調査での囲い網底面の計数尾数は、C₁収容区において収容2日後の7月14日の58尾から日数の経過とともに徐々に減少し、9月4日には0尾となった（表2）。C₃収容区では、収容1日後の7月13日には80尾であったものの、7月17日以降は4～18尾の間で増減を繰り返し、9月4日には0尾となった。囲い網側面の目視計数では、C₁収容区の計数尾数は7月20日までは514～630尾であったが、それ以降から7月29日までは175～263尾となり、9月4日には2尾となった。C₃収容区では7月20日までは232～939尾であったが、それ以降から7月29日までは24～93尾と減少し、9月4日には1尾となった。

これらの結果を用いて両試験区の生残尾数を推定した結果、C₁収容区は収容2日後に3,966尾と推定され約40%の生残率であったが、C₃収容区は収容1日後に4,994尾で約100%の生残率となり、C₁収容区の方がC₃収容区より収容直後の死亡が多かった（表3）。囲

い網底面の推定値のCVは、C₁収容区では7月26日までは0.20～0.30で横ばい傾向を示したが7月29日には0.48へ上昇した。C₃収容区では7月26日までは0.24から0.52へ上昇傾向を示したが、7月29日には0.30へ低下した。

考 察

推定値の変動係数（CV）は、C₁収容区では7月29日を除けば0.20～0.30、C₃収容区では7月26日を除けば0.24～0.37であり、両試験区ともCVが0.2を上回った。一般に、天然海域などで生物の個体数などを把握する調査では20%（0.2）の変動係数でも推定精度は低くないと考えられている³⁾が、本研究では極めて限定された区域における個体数の推定であることから、変動係数が0.2を下回るようなサンプリングがより望ましいと思われる。しかし、変動係数を小さくするには枠取り数を増加させる必要があり、作業量などから現実的ではない場合も考えられる。そこで、囲い網内の底面における生残尾数の推定結果から一定の推定精度（CV）を基準とした必要枠取り数について検討を行った。式（1）および式（2）によりCVを0.3、0.25、0.2、0.15および0.1未満となる枠取り数を計算したところ、CVを0.2未満とするために必要な枠取り数（C₁収容区：15、C₂収容区：21）は本試験で行った数の約2～3倍となった（表4）。また、この時の総区画数を400とすると、調査率はそれぞれ3.8および5.3%と計算される。これらのことから、囲い網の底面における生残尾数を推定するには、CVが0.2程度となり、5%程度の調査率が実現できる20程度の調査区画数が適当であると考えられる。また、両試験区のCVの中央値となる7月20日における枠取り数とCVの関係を見ると、CVが0.2の近傍においては枠取り数を数カ所増加させるだけで著しくCVが低下することがわかる（図2）。つまり、CVがおおよそ0.2以上においては枠取り数の増加による推定精度の向上効果が顕著になるということである。本実験では枠取り面積

表1 ガザミ稚ガニ第1齢期（C₁）と第3齢期（C₃）の試験期間中における全甲幅測定結果

試験区	月日	7月12日	7月20日	7月29日	9月5日
C ₁ 収容区	平均（mm）	4.9	14.3	20.3	99.6
	（最小-最大）	(4.3 - 6.8)	(8.2 - 17.2)	(15.2 - 32.3)	(42.7 - 129.9)
	サンプル数	30	63	57	32
C ₃ 収容区	平均（mm）	11.2	20.0	27.3	115.4
	（最小-最大）	(8.1 - 15.3)	(15.0 - 29.4)	(20.3 - 41.5)	(95.2 - 133.6)
	サンプル数	30	59	41	9

および総区画数と推定精度の関係については取り扱わなかったが、同じ枠取り数でも枠取り面積を増加させることにより調査率を向上させることができることから、それらの関係についての検討も今後の課題である。

さらに、ガザミの稚ガニは囲い網内に均等に分布していないため、枠取り場所も生残尾数の推定値に影響を及ぼす。本実験でのサンプリング時には囲い網の側面と底面の折返し部分や網の裾などに分布する傾向がみられた。したがって、枠取り場所を決定するに当たっ

ては推定値に偏りがないように行う必要があるとともに、稚ガニの分布密度が大きく異なる場所がある場合は、推定精度を高くするために生残尾数および誤差の推定を行う際に層別するなどの工夫が必要である。

本試験では、C₃収容区の1日目の推定生残尾数が4,994尾となり生残率がほぼ100%であったのに対し、C₁収容区の2日目の生残尾数は3,966尾と推定され生残率が約40%であった。ガザミの中間育成では脱皮ごとに共食い等の影響により生残尾数が約半分となる

表2 各試験区における枠取り及び目視による生残尾数の計数結果

試験区	場所	計数場所*	7月13日	7月14日	7月17日	7月20日	7月23日	7月26日	7月29日	9月4日	
C ₁ 収容区	底面	1		14	4	3	2	4	0	0	
		2		14	14	6	2	6	1	0	
		3		5	4	6	6	2	1	0	
		4		12	11	1	9	3	4	0	
		5		4	5	2	6	2	0	0	
		6		3	4	2	4	1	2	0	
		7		6	0	2	4	0	0	0	
		合計		58	42	22	33	18	8	0	
		平均		8.3	6.0	3.1	4.7	2.6	1.1	0.0	
		分散		23.6	23.0	4.1	6.2	4.0	2.1	0.0	
		箇所数		7	7	7	7	7	7	7	
		1カ所当り 枠取り面積		0.24	0.24	0.24	0.25	0.25	0.25	0.25	
		側面	A		300	180	130	55	50	50	0
			B		160	340	120	53	65	72	0
	C			48	140	180	43	70	86	1	
	D			6	130	200	24	60	55	1	
	合計			514	790	630	175	245	263	2	
C ₃ 収容区	底面	1	15		5	2	1	1	2	0	
		2	10		1	2	3	1	2	0	
		3	9		2	0	7	0	1	0	
		4	35		2	1	1	2	0	0	
		5	2		2	1	2	0	3	0	
		6	4		2	0	0	0	0	0	
		7	5		1	1	4	0	2	0	
		合計	80		15	7	18	4	10	0	
		平均	11.4		2.1	1.0	2.6	0.6	1.4	0.0	
		分散	127.0		1.8	0.7	5.6	0.6	1.3	0.0	
		箇所数	7		7	7	7	7	7	7	
		1カ所当り 枠取り面積	0.24		0.24	0.24	0.25	0.25	0.25	0.25	
		側面	A	39		170	80	12	8	9	0
			B	19		230	60	16	30	8	0
	C		116		288	50	15	20	2	0	
	D		58		251	85	20	35	5	1	
	合計		232		939	275	63	93	24	1	

*：図1参照。

表3 各試験区における生残尾数の推定結果

試験区	計数場所	推定項目	7月13日	7月14日	7月17日	7月20日	7月23日	7月26日	7月29日	9月4日
C ₁ 収容区	底面	尾数		3,452	2,500	1,310	1,886	1,029	457	0
		標準誤差		759	750	318	375	298	220	-
		変動係数		0.22	0.30	0.24	0.20	0.29	0.48	-
	側面	尾数		514	790	630	175	245	263	2
	合計	尾数		3,966	3,290	1,940	2,061	1,274	720	2
C ₃ 収容区	底面	尾数	4,762		893	417	1,029	229	571	0
		標準誤差	1,762		210	128	356	118	170	-
		変動係数	0.37		0.24	0.31	0.35	0.52	0.30	-
	側面	尾数	232		939	275	63	93	24	1
	合計	尾数	4,994		1,832	692	1,092	322	595	1

表4 調査結果から計算したCV別の必要標本数

試験区	CV	7月13日	7月14日	7月17日	7月20日	7月23日	7月26日	7月29日	平均
C ₁ 収容区	0.10		33	56	39	25	49	111	52
	0.15		15	27	18	12	24	58	26
	0.20		9	16	11	7	14	35	15
	0.25		6	11	7	5	9	23	10
	0.30		4	8	5	3	7	17	7
C ₃ 収容区	0.10	80		37	59	67	123	52	70
	0.15	40		17	28	33	66	25	35
	0.20	24		10	17	19	40	15	21
	0.25	16		7	11	13	27	10	14
	0.30	11		5	8	9	19	7	10

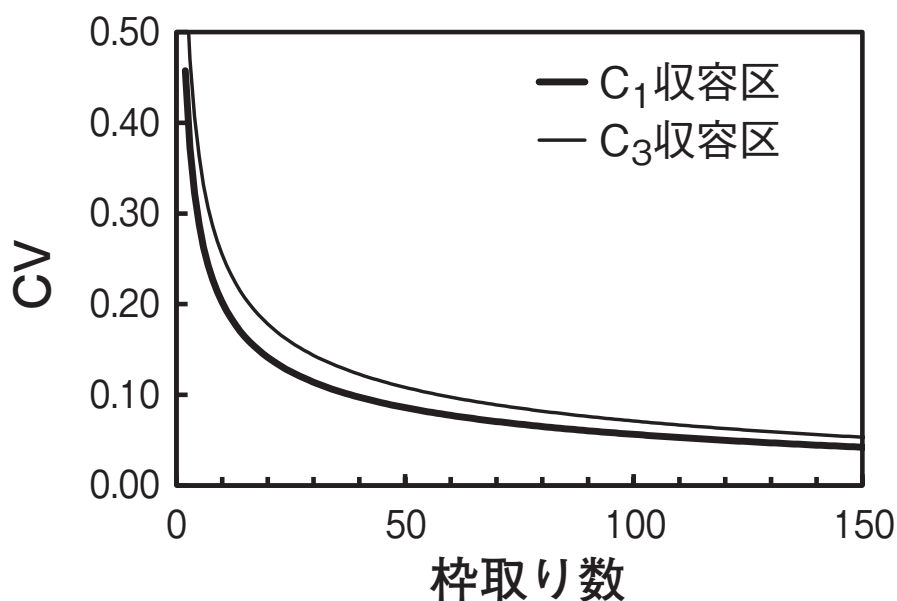


図2 枠取り数と変動係数 (CV) の関係 (7月20日の調査結果)

ことが知られており、 C_1 収容区でもその影響が考えられる。しかし、本試験での C_1 収容区の収容密度は100尾/ m^2 であり、通常の間中育成(1,000尾/ m^2 以上)に比べて極めて低かったため、生残率の低下が全て共食いによるものだと考えにくい。また、魚類などの大型の食害生物は収容前に排除したため、食害による減耗の影響もないと考えられる。一方、囲い網側面の計数尾数は両試験区とも一度増加した後に減少した(表2)。増加した時期は表1から $C_4 \sim C_5$ の時期であると考えられ、稚ガニが見やすい大きさに成長し、かつ生残尾数が比較的多い時期である。このため、 C_3 以下のサイズでは稚ガニを目視しにくく、素堀池の海水の透明度も極めて低いために、この時期の発見率が低下していたのかもしれない。着底前の付着および遊泳性の強い C_3 以下の稚ガニは囲い網に使用したモジ網には付着しやすいと考えられることから、 C_1 収容区における2日目の推定生残尾数は過小である可能性が考えられる。これらのことは、囲い網側面の計数値が生残尾数の推定値に影響を及ぼす可能性を示唆しており、側面の計数方法についても枠取りなどに変更するなどの工夫が必要と考えられる。

文 献

- 1) 小畑泰弘・芦立昌一(2007) ガザミ類の間中育成における生残率向上のための一考察: ガザミ類の間中育成に関するアンケート結果から. 栽培技研, **34**, 79-87.
- 2) 山田作太郎・北田修一(1997) サンプルング. 生物資源統計学, 成山堂書店, 東京, 156-188.
- 3) 北田修一(2001) 標識放流による生残過程の推測: 調査によるサンプルング. 栽培漁業と統計モデル分析, 共立出版, 東京, 141-170.

低照度ならびに低水温期における浮遊珪藻キートセロス類2種の 高圧ナトリウム灯による増殖促進効果

兼松正衛*1・岡内正典*2

(*1 瀬戸内海区水産研究所伯方島栽培技術開発センター, *2 養殖研究所)

単細胞性の浮遊珪藻 *Chaetoceros* 属 (以下, キートセロス) は, 甲殻類, 二枚貝類や棘皮動物など多くの種苗生産対象生物の飼育餌料に利用されており, 特に幼生期には欠かすことの出来ない重要な微細藻類である。瀬戸内海区水産研究所伯方島栽培技術開発センター (以下, 伯方島センター) では, 2006年よりアサリ *Ruditapes philippinarum* の種苗生産技術の開発に取り組み, 浮遊幼生期から殻長2mmサイズまでの種苗生産, および採卵用親貝の成熟期の主餌料としてキートセロス類を利用している。

伯方島センターにおけるキートセロス類の培養方法は, これまで屋内水槽で自然光と自然水温による粗放的な植え継ぎ式 (バッチ式) を行ってきた。しかし, 秋季から冬季にかけての照度ならびに水温が低下する時期には増殖率が低下し¹⁾, 必要な給餌量を確保することが困難な状況であった。この対策として, 高圧ナトリウム灯を補助光として利用した効果について検討を行ったので報告する。

材料と方法

培養種 市販の冷蔵濃縮キートセロス (密度: 1億細胞/ml, 10ℓ/缶; ヤンマー) *Chaetoceros gracilis* (以下, 市販株) および養殖研究所で選抜育種された *Chaetoceros* sp.²⁾ (沖縄県石垣島由来の高温耐性株。以下, MO株) の2種を用いた。

市販株は製造後2週間以内の製品を用い, 植え継ぎ培養1回当たり0.4ℓ (接種密度: 8万細胞/ml) ずつ使用した。

MO株は, 15℃および20℃の恒温室で周年維持管理した株を用いた。元株培養には300mlの容器を用い, オートクレーブ滅菌海水にギラード培地³⁾を加えて培養水とし, 定期的に植え継ぎながら無通気で維持管理した。10ℓ規模までの拡大培養は25~30℃の恒温室で行った。植え継ぎ培養では, 約100万細胞/mlまで培養したものを元種とし, 希釈して約20万細胞/mlとなるよう接種した。

培養方法 培養は前報¹⁾と同様に種苗生産実験棟内 (屋根はスレート葺き, 一部が採光のため透明ポリカーボネート製) で行った。試験には0.5ℓ透明ポリカーボネート水槽18面を使用し, 通気はエアストーン1

個で行い, 水温は自然水温, 光条件は自然光とした。

肥料には, 海水1ℓ当たり硝酸カリウム60mg, リン酸2ナトリウム12水和物6mg, メタ珪酸ナトリウム15mg, クレワット32 1.8mg, ビタミンB₁₂ 0.6mgを溶解して用いた。

培養海水は, 砂ろ過した海水をさらに0.2μm膜の海水精密ろ過装置 (HFS-40A; 荏原実業) でろ過し, 使用直前に次亜塩素酸ナトリウム (有効塩素量24ppm) で滅菌後にチオ硫酸ナトリウムで中和して用いた。なお, 市販株では, 培養日数の経過に伴って食害性微生物の混入による培養不調が起きやすいため, 食害性微生物の混入割合が少ない培養区のみから収穫した細胞を元種として再利用は2回までとした。一方, MO株では, 食害性微生物が混入しても培養不調が起きにくいいため, 収穫した細胞は最高6回まで元種として再利用した。

培養試験 試験区は, 市販株とMO株とも昼間 (6:00~19:00) に点灯する点灯区と自然光で培養する区 (対照区) を設けた。光源には高圧ナトリウム灯 (パナゴールド・D, NH360-L, 200V, 360W, 耐蝕型密閉器具 YA54033, 松下電器) を用い, 培養水槽の中央部の水面上約30cmに1個設置した。

試験は, 2007年11月1日~12月31日の61日間実施し, 毎日午前9時に培養水中の細胞密度を計数し, 同時に混入微生物の有無などを観察した。収穫は, 細胞密度が最高密度 (約100万細胞/ml) に達した時に行った。

培養結果は, 元種使用量, 培養収穫量, 培養不良率, 増殖率, 日間増殖率の平均値および最高密度までの培養日数で評価し, それぞれの値は,

元種使用量 = 接種時の密度を1億細胞/mlで換算した水量,

培養収穫量 = 収穫量 / 培養区数,

培養不良率 = 収穫時密度が接種時より低下した培養区数 / 総培養区数 × 100,

増殖率 = (収穫時濃度 - 接種時濃度) / 接種時濃度 × 100,

日間増殖率 = 増殖率 / 培養日数,

最高密度までの培養日数 = 培養水中の細胞密度が最高値に達するまでの日数,

平均日間増殖率 = 培養不良事例を除いた日間増殖率の平均値,

で求めた。なお、平均値の差の検定はウェルチのt検定 ($p=0.01$) により行った。

結 果

対照区では、試験期間中の午前9時における水面照度は400 (雨天時) ~ 9,000 lx (晴天時)、培養水温は平均14.8 °C (9.7 ~ 21.1 °C, 図1)、一日当たりの日照時間*は、平均4.4時間 (0 ~ 9.2時間) であった (図2)。一方、点灯区では、高圧ナトリウム灯により直下の水面照度が30,000 lx前後、培養水温は対照区に比べ午前9時に約0.5°C、午後5時には1 ~ 2 °C高くなった。

培養試験の結果を表1に示した。市販株を用いて点灯区38回、対照区27回の試験を行った結果、両区とも最高密度までの培養日数は同程度であったが、点灯区は対照区に比べ、平均培養収穫量が約1.8倍、平均増殖率が約1.5倍、平均日間増殖率が約1.6倍 ($p < 0.01$) 高くなった。一方、MO株を用いて行った点灯区41回、対照区22回の試験では、市販株と同様に点灯区が優れ、対照区に比べて平均培養収穫量は約1.4倍、平均増殖率は約1.6倍、平均日間増殖率は約1.8倍 ($p < 0.01$) 増加した。

市販株はMO株に比べ、点灯区と対照区ともに平均増殖率と平均日間増殖率が1.4 ~ 1.7倍高くなった。また、平均培養収穫量は、対照区では両株の間で差が認められなかったが、点灯区では市販株がMO株に比

べ約1.4倍高くなった。

なお、点灯区では市販株とMO株ともに培養が不良となった試験区は認められなかった。

考 察

高圧ナトリウム灯による微細藻類の増殖促進効果については、これまでもパプロバ・ルテリ、イソクリシス・タヒチ株、キートセロス・カルシトランスで報告されている^{4,5)}。伯方島センターにおいても低照度と低水温期の培養改善策として用いた高圧ナトリウム灯により、2種類のキートセロス類で自然条件より約1.5倍高い培養成績が得られ、照度の確保と点灯による培養水温の上昇 (1 ~ 2 °C) に効果があったと考えられた。

市販株とMO株の比較では、低照度ならびに低水温の時期には市販株の増殖が高く、また高圧ナトリウム灯による増殖促進効果も市販株が優れていた。これは、MO株が40°Cの高水温で選抜育種された株であったことから、市販株よりも低水温での増殖能力が劣っていたことによると考えられた。

本試験に用いた高圧ナトリウム灯の電気使用コストを1灯当たりで計算すると、1日13時間の使用で消費電力は4.68 kWh (360W × 13時間) であり、一日当たりのコストは103円 (2007年12月時の中国電力株式会社との契約電力代22円/kWhより)、培養一回当たりでは平均515円 (5日間使用) となった。しかし、

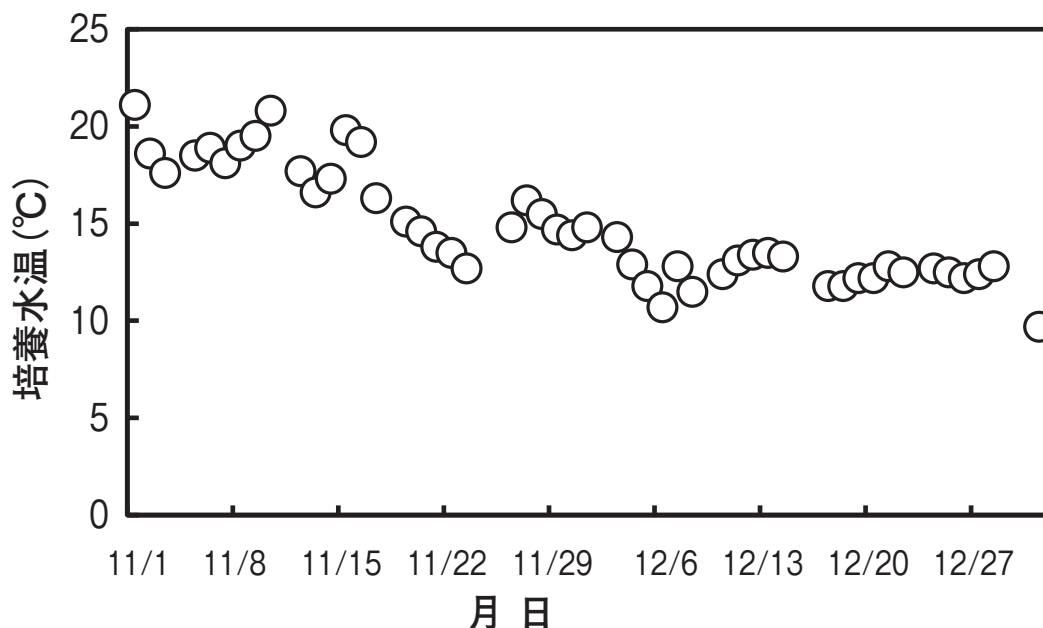


図1 自然光の条件下における培養水槽 (500 l) の水温の変化

*気象庁・愛媛県大三島アメダス測候所, http://www.jma.go.jp/jp/amedas_h/

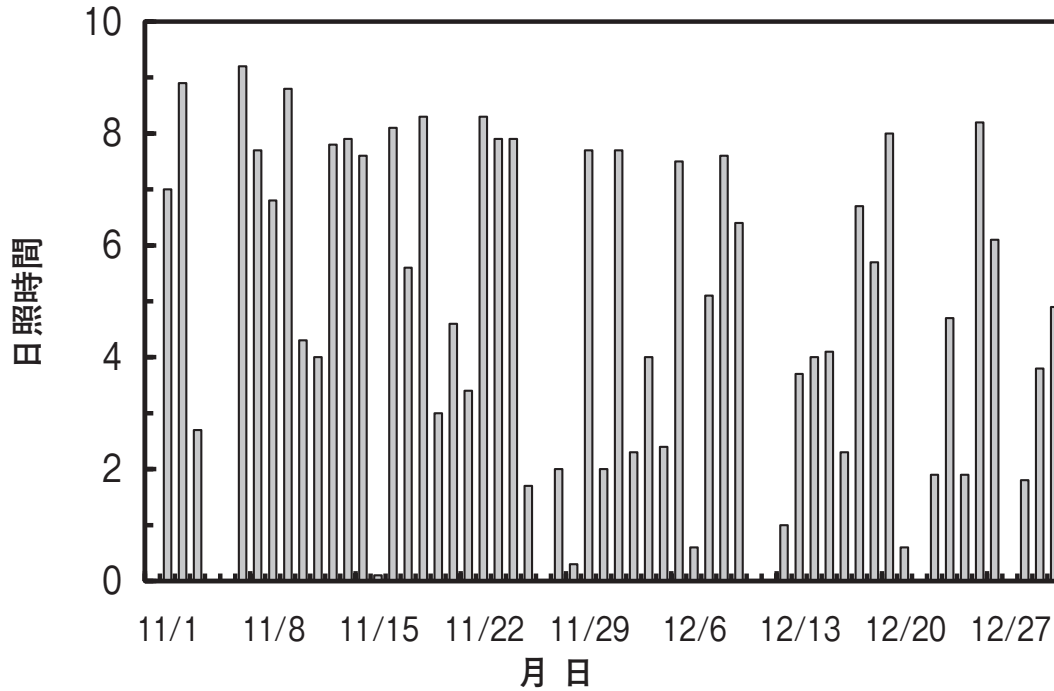


図2 試験期間中の日照時間の変化 (大三島アメダス測候所観測データから)

表1 低水温期におけるキートセロス類の培養結果

元株	試験区	総培養回数 (回)	元種使用量 (ℓ) ^{*1}	総収穫量 (ℓ)	平均培養収穫量 (ℓ/回) ^{*2}	培養不良率 (%) ^{*3}	平均増殖率 (%) ^{*4}	平均日間増殖率 (%) ^{*5}	最高密度までの培養日数	
市販株	点灯区	38	18.2	171.8	4.5	0.0	941	163	*6 **	6.5
	対照区	27	11.6	68.2	2.5	3.7	622	104		6.4
MO株	点灯区	41	34.8	132.1	3.2	0.0	625	116	**	5.0
	対照区	22	16.6	49.8	2.3	9.1	399	63		5.9

*1 接種量の合計を1億細胞/mlに換算した値。なお、総収穫量と平均培養収穫量も1億細胞/mlで換算した値
 *2 総収穫量を総培養事例数で除した値
 *3 収穫時密度が接種時密度より低下して負の増殖となった培養事例数を総培養事例数で除し、100を乗じた値
 *4 培養試験ごとの増殖率{(収穫時濃度-接種時濃度)/接種時濃度×100}の合計を総培養事例数で除した値
 *5 培養試験ごとの日間増殖率(増殖率/培養日数)の合計を総培養事例数で除した値
 *6 ** $p < 0.01$, ウェルチ t検定(有意水準1%)

同灯を使用することで平均培養収穫量(1億細胞/ml換算)が市販株で2ℓ, MO株で0.9ℓ増加することから、市販の製品(3,150円/ℓ, 同換算)を購入するより経費節減に役立つと判断された。

本試験により、冬季に照度ならびに水温が低下する伯方島センターでは高圧ナトリウム灯を利用すること

でキートセロス類の安定培養が行え、秋季に採卵したアサリの種苗生産試験への藻類供給の可能性が得られた。さらに、高圧ナトリウム灯を補助光とした珪藻類の培養手法は、春先の低水温期や梅雨期の低照度にも利用可能と考えられ、さらに検討を加えていきたい。

文 献

- 1) 兼松正衛・高橋 誠・山崎哲男・桑田 博 (2008) 市販の珪藻 *Chaetoceros gracilis* を元株としたバッチ式培養における増殖率の季節変化. 栽培漁業センター技報, 7, 33-36.
- 2) 岡内正典・山田敏之・尾崎照遵 (2008) 40℃で増殖可能な珪藻類キートセロス高温耐性株の選抜. 2008年度日本水産学会春季大会講演要旨集, 112.
- 3) 岡内正典 (2005) 植物プランクトンの分離と培養方法 (概説). 月刊養殖, 528, 82-86.
- 4) 中島幹二 (1997) ホッキガイ種苗の量産技術について. 北水試だより, 40, 1-8.
- 5) 鳥羽光晴 (2004) アサリ種苗生産の現場基礎技術—富津研究所の経験—. 千葉県水産研究センター, 15-23.

栽培漁業センター技報第9号

平成21年3月31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

有限会社 光星社

神奈川県川崎市中原区木月住吉町 22-3

電話 044 (433) 2424 (代)