

(2) ウナギ養殖技術試験

紐状接触材による分養初期の水づくり

中嶋康生・宮川宗記

キーワード：ウナギ養殖、水づくり、紐状接触材、亜硝酸中毒症

目的

ウナギ養殖業者にとって、水づくりは重要な作業の1つである。特に養成池では、多量のアンモニアが順調に硝化されないと亜硝酸中毒症を招きかねない。養殖業者は、新たな池にウナギ分養する時、水質の安定した他の池の水やヘドロを移植することで水づくりが順調に進むことを経験的に知っている。しかし、他の池の水やヘドロを移植する作業は重労働であり、また、池が各所に点在している場合にはそれらの作業は困難であり、やむなく新しい水で養成を始める場合もある。

そこで、亜硝酸中毒症の予防、水づくり期間の短縮、作業の軽減を目的とし、硝化細菌の付着基地として優れた紐状接触材を水質の安定した池の水やヘドロの代わりに用いて、その効果を検討した。

材料及び方法

紐状接触材は、図1に示した3種類（「バイオコード」TBR社製）を用い、各々60cmに切断してすだれ状に加工した（総使用量=20m×3種=60m）。これを表1に示した元池に4週間垂下し、活性汚泥を付着させた。その後、3種の紐状接触材の1部を取り取りMLSS（活性汚泥付着量）およびMLVSS（有機性物質量）、MLVSS/MLSS（有機性物質の割合）を測定し、表2に示した試験池に移植した。対照池には同様な形状の池を使用し、各々の池には、表1の池水を10%と河川水を90%の割合で注水した。試験開始から3週間、隔日で池水を採水し、pHおよび無機三態窒素を測定した。また、事前に紐状接触材の有効性を検討するため、以下の予備試験を行った。20lのポリタンクに池水と汚泥の付着したビニロン製の紐状接触材約4cm（MLSS 420mg/cm², MLVSS 336mg/cm², MLVSS/MLSS 0.8）を入れエアレーションを行った。試験開始から1日目、2日目、3日目にpHおよび無機三態窒素を測定し、紐状接触材の効果を検討した。

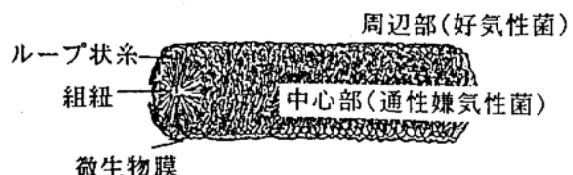


図1 紐状接触材「バイオコード」
(ビニロン、ポリプロピレン、ビニロン+ポリプロピレン3種とも基本構造は同じ)

表1 元池の形状および水質(H 9.5.16~6.13)

項目	形状および水質
池の規模	436m ² ×0.8m
池の形状	コンクリート(底:山土)
放養重量(kg)	174.5
放養密度(kg/m ³)	0.5
放養サイズ(P)	200
pH	6.13~6.26
SS(mg/l)	30.0~84.6
NH ₄ -N(mg/l)	7.5~19.5
NO ₂ -N(mg/l)	0.25~0.36
NO ₃ -N(mg/l)	130~135

表2 試験池および対照池の形状(H 9.6.13~7.3)

項目	試験池	対照池
池の規模	561m ² ×0.6m	594m ² ×0.6m
池の形状	コンクリート(底:山土)	
放養重量(kg)	674	712
放養密度(kg/m ³)	2.0	
放養サイズ(P)	25	

結果及び考察

予備試験の結果を図2に示した。1日目には試験区の亜硝酸態窒素が半減し、2日目にはアンモニア態窒素も減少した。対照区は、試験開始から終了時まで同様の値で推移した。このことより、活性汚泥の付着した紐状接触材には硝化能力が十分あると考えられた。

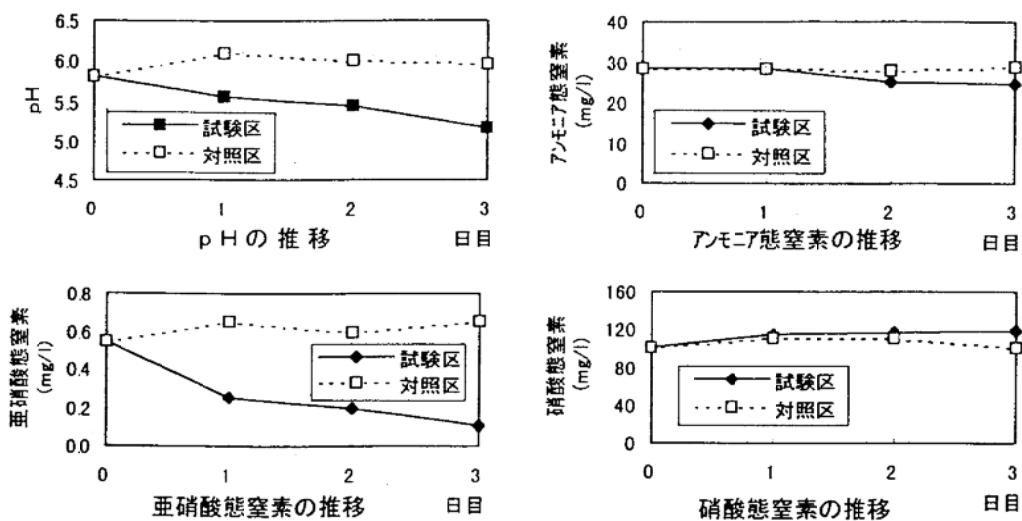


図2 予備試験時のpHおよび無機三態窒素の推移

元池に垂下した紐状接触材3種のMLSS, MLVSS, MLVSS/MLSSは、ビニロンで376mg/cm, 288mg/cm, 0.766, ポリプロピレンで166mg/cm, 120mg/cm, 0.722, ポリプロピレン+ビニロンで327mg/cm, 288mg/cm, 0.774であった。MLSSはビニロン>ポリプロピレン+ビニロン>ポリプロピレンの順で多かったが、MLVSS/MLSSはほぼ同じ値であり、付着した活性汚泥の質的には3種とも同じであると考えられた。このことより、3種の紐状接触材のうちではMLSSが多いビニロンまたはポリプロピレン+ビニロンが硝化能力に優れていると考えられた。

試験池および対照池のpH, アンモニア転窒素等の推移を図3に示した。顕著な差が認められたのは亜硝酸態

窒素であり、7日目まで試験区の方が高く推移したが、その後は対照区より低く推移し、対照区に比べ亜硝酸態窒素が速やかに硝化されていた。

以上の結果より、紐状接触材に付着した活性汚泥を移植することで亜硝酸が速やかに硝化し、亜硝酸中毒症の予防や水づくり期間の短縮に効果があると考えられたが、本試験は事前に予備試験を行ったが明確な差が現れず、その理由として本試験に使用した紐状接触材の単位水量当たりの量が予備試験に比べ少ないためであると考えられ、紐状接触材の単位水量当たりの移植量については、さらに検討が必要であると考えられた。

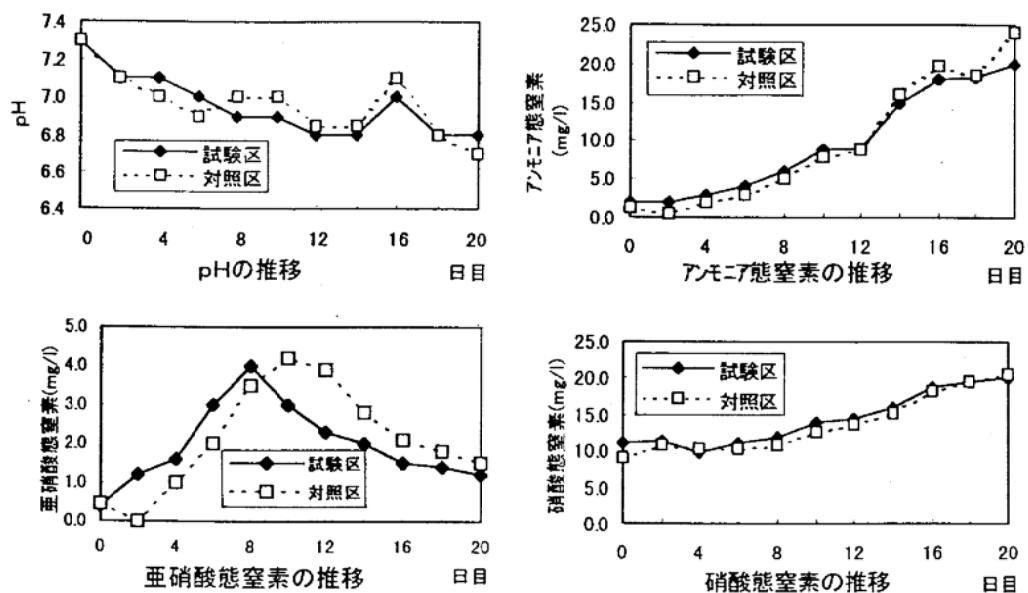


図3 試験池と対照池のpHおよび無機三態窒素の推移

冬期養殖管理手法の改善

宮川宗記・中嶋康生

キーワード；冬期養殖管理、聞き取り調査

目的

シラスウナギの異常な高騰により、養鰻経営が厳しい状況にある中で、病気の発生が多い秋以降の冬期養殖管理技術を検討し、歩留まり向上や経費節減を図ることは、高騰した種苗対策の一つとして重要であると考えられる。

一方、生産量の減少に伴い、近年の成鰻価格の変動パターンは変化しており、冬～春期の価格は以前より高く推移している。また、愛知県がウナギ養殖主産地を堅持するためには、周年安定した高品質のウナギを供給できることが必要条件であり、そのためにも冬期の適切な養殖管理技術の確立が望まれている。

そこで、今後この課題を検討していく計画であるが、飼育試験に先立ち、すでに独自の工夫で対処している養鰻業者の事例を調査した。

方法

一色うなぎ研究会員から、冬期管理に優れた養殖業者を推薦してもらい、飼育成績が良好な5業者を選定した。調査法は面接による聞き取り法を採用し、給餌・飼育管理などをその内容とした。

結果

聞き取り調査結果の概要を表に示した（養殖業者A～E）。いずれも飼育成績は良好であり、各養殖業者と共に通していえることは、事前に「きちんと選別する」、「早い時期から給餌率を控える」、「水質の安定に心掛ける」ことであり、さらに、経費節減や品質向上のため各自独自の工夫がなされていた。設定水温、給餌率、給餌間隔、飼育密度、換水率などは様々であったが、各自の養殖規模や立地条件等に合わせての工夫であると思われ、その飼育管理には細心の注意が払われていた。また、いずれの養殖業者も魚病被害は比較的少なく、秋～冬期の魚病対策技術としても有効であると考えられた。

今後、品質評価を含めたいいくつかのモデル飼育試験を予定しており、これらの事例はその計画策定の参考とした。最後に、今回の調査を快く承諾して頂いた5名の養殖業者と一色うなぎ研究会の方々に心から感謝する。

表 聞き取り調査結果の概要

項目	A	B	C	D	E
規模	総池面積 670坪、8池	3,000坪、15池	2,200坪、17池	2,400坪、18池	1,700坪、13池
種苗	沈殿槽 あり	あり	なし	あり	あり
出荷	池入時期 3月上旬	2月下旬	3～4月	3月中旬	1月下旬
出荷	池入れ量 約30kg	約100kg	約70kg	約50kg	約50kg
養殖管理	出荷時期 9月～翌6月	2月以降	1月以降	12月～翌8月	8～10月、3～6月
給餌	出荷ピーク 12月	4～7月	3～6月	2～3月	9月
水質	養成割り (時期) (7月下旬)	100～150P (5月～9月)	約20P (8月中旬)	約15P (8月～9月)	適宜 (11月以降)
給餌	密度(尾/坪) 170～250	約200	約200	約250	150～200
水質	換水 少ない	5～7%/日	少ない	10%/2日	少ない
給餌	沈殿槽清掃 月1回	週1回	—	2ヶ月に1回	毎日
給餌	飼料添加剤 なし	免疫賦活剤	なし	なし	なし
水質	オイル添加量 7～10%	3%	7%(夏期控える)	7～9%	7%(冬期5%)
給餌	浮餌の使用 なし	少量	少量	少量	なし
水質	冬期 給餌率 無理な給餌 はしない	通常の60%まで 徐々に減少	通常の40%まで 一気に減少	給餌量一定 (隔日給餌)	水温により 給餌間隔を変化
重油代	約70円/kg	約70円/kg	約55円/kg	約50円/kg	約25円/kg

ウナギの「板状充血症」再現試験

武田和也・宮川宗記

キーワード；ウナギ，鰓病，板状充血

目的

現在、加温ハウス養殖におけるウナギ魚病被害の大半はいわゆる「鰓病」であり、ウイルス性血管内皮壞死症（鰓うっ血症）とともに問題となっているのが、鰓薄板に広く血液がうっ滞する「板状充血症」と呼ばれる疾病である。この疾病的発生原因等に関する検討は進んでおらず、不明な点が多い疾病といえる。

平成4年度及び5年度に、いわゆる「板状充血症」の感染試験を実施したが、試験区と対照区に明確な差は認められなかった。一方、平成6年度にウイルス性血管内皮壞死症の感染試験を行った際、その対照区において、鰓薄板に血液貯留（点状充血）を生じた個体が多く認められた（26.7%）。そこで、平成7年度には6年度と同様の飼育条件（水温28°C、自由給餌、無換水）で、再び「板状充血症」の感染試験を実施したが、再現はできなかった。また、平成8年度には、加温ハウス養殖において考えられる悪い飼育条件下でウナギを飼育し、鰓の経時的な観察を行ったところ、一部の個体の鰓薄板に血液貯留（板状充血）が認められ、発症への飼育環境の関与が示唆された。

これまでの結果を踏まえ、本年度は供試魚を事前に加温ハウス養殖において考えられる悪い飼育条件下で飼育した後に、「板状充血症」の感染試験を行い、その再現を試みた。また、同時にストレッサーとしてコルチゾールを接種する区および飼育水にアンモニア態窒素を添加する区を設定し、発症への環境要因等の関与を併せて検討した。

方法

(1) 供試魚

当研究所においてシラスウナギから養成した病歴のないニホンウナギを供試魚群として、加温ハウス池において、設定水温30°Cで、1日1回ブラウンミール飼料を飽食給餌し、ほぼ無換水で67日間飼育した。摂餌状況は比較的良好で、特に異常や斃死もみられなかった。この魚群から20g前後の個体120尾を選別し、感染試験に供した（平均体重19.6g/尾）。なお、供試魚養成期間の水質は、アンモニア態窒素が0.2~10.0ppm、亜硝酸態窒素が0.08~0.41ppm、pHは6.58~7.75であり、飼育環境はさほど悪化しなかった。

(2) 接種液

一色地区の養殖場で自然発症した「板状充血症」の病魚の鰓を、試験に供するまで-80°Cで凍結保存した。使用時に解凍し、鰓弁10gを細かく刻んだ後に40mlの滅菌PBS(-)を加え、氷冷しながらガラスホモジナイザーで磨碎した。これを遠心分離し（3,000 rpm, 20分間）、上澄液を0.80μm及び0.45μmのメンブレンフィルターで2段階ろ過して接種液を調製した。

(3) 試験区

表1に示した4つの試験区を設定した。水槽（塩化ビニール製、1.0×1.0×0.7m）に水道水400lを入れ、十分に曝気して30°Cに加温した後に、各区ごとに処理した供試魚を30尾ずつ放養した。試験期間中は、設定水温30°C、無給餌、無換水で飼育し、7日後及び14日後に各区とも15尾ずつ鰓を観察した。

表1 試験設定

試験区	接種液 ^{*1}	ストレッサー	飼育水への添加物質	供試尾数
試験区I	自然発症魚鰓磨碎液	-	塩化アンモニウム ^{*3}	30 *4
試験区II	自然発症魚鰓磨碎液	コルチゾール ^{*2}	-	30
対照区I	滅菌PBS(-)	-	塩化アンモニウム	30
対照区II	滅菌PBS(-)	コルチゾール	-	30

*1：背鰓前方の背部筋肉内に0.3ml/尾接種。 *2：腹腔内に0.06mg（懸濁液として0.2ml）/尾/5日接種。

*3：アンモニア態窒素濃度50ppm *4：各区とも7日後及び14日後に15尾ずつ鰓を観察。

結 果

感染試験の結果を表2に示した。放養時に供試魚と同魚群の15尾の鰓を観察したところ、いずれの個体も鰓薄板に板状充血は認められなかったが、うち10尾はその一部に点状充血が認められた。また、すべての個体にショードダクチロギルスの寄生がみられた(3~11虫体/鰓葉、大多数は *Pseudodactylogyrus bini*)。

肥厚・変形の認められた個体の割合は、すべての区で増加したが、区による差はほとんど認められなかった。また、欠損はいずれの区においてもほとんど認められず、わずかに認められた個体についても症状は軽く、欠損部位は再生中であった。

点状充血は、すべての区において多くの個体の鰓薄板に認められたが、放養時にも同様に散見されたことから、

特に問題とする必要はないように思われた。

板状充血は、試験区I及び試験区IIにおいて、一部個体の鰓薄板に認められ、試験区IIの7日後には、うち3尾が軽度の「板状充血症」と診断された。軽度ではあるが試験区のみにその症状が観察されたことから、「板状充血症」がウイルス病である可能性も残されたが、両試験区とも斃死は全く認められなかった。環境要因等がその発症に関与するかどうかは、今後、再度検討する必要があるように思われた。

なお、ショードダクチロギルスの寄生率及び寄生数は、コルチゾールを接種した区で増加したのに対し、アンモニア態窒素を添加した区では減少したことから、アンモニアによる駆虫効果がうかがわれた。

表2 鰓に各症状が認められた魚の個体数

(各 n=15)

試 験 区	点 状 充 血		板 状 充 血		肥 厚 ・ 变 形			欠 損	シ ュ ー ド ダ ク チ ロ ギ ル ス 寄 生 〔寄生数/鰓葉〕	
	±	+	±	+	±	+	++			
放 養 時	9	1	0	0	2	1	0	0	15 [3~11]	
7 日 後	試験区I	8	1	1	0	1	4	1	0	4 [0~2]
	試験区II	10	4	4	3	2	4	0	2	15 [1~30<]
14 日 後	対照区I	7	0	0	0	4	3	1	0	7 [0~3]
	対照区II	8	3	0	0	4	3	1	0	15 [3~24]
	試験区I	7	3	1	0	4	3	3	1	4 [0~3]
	試験区II	11	0	3	0	4	5	1	0	14 [0~23]
	対照区I	6	0	0	0	2	4	1	1	3 [0~2]
	対照区II	10	1	0	0	1	6	0	0	15 [3~30<]

±：ごく一部に症状が観察された。 +：一部に症状が観察された。 ++：比較的広範囲に症状が観察された。

(3) 鑑賞魚養殖技術試験

キンギョのウイルス病感染試験

水野正之・鯉江秀亮・都築 基

キーワード；キンギョ、ウイルス、飼育密度

目的

キンギョ養殖において、近年、春の水温上昇期、秋の水温下降期を中心に、高い死率を伴うウイルス性疾患と思われる病害が発生している。病魚は動きが鈍くなる他は特に外見的症状を示さず、剖検的には、鰓と腎臓の褪色や腹水の貯留等が認められる。生産者は効果的な治療方法がないためその対応に苦慮している。

キンギョ養殖では、面積当たりの収益向上や病死による減耗等を始めから考慮に入れて、過密気味に養殖する傾向があり、このことが病気発生時の高い死率を高める一つの要因になっていると考えられる。

そこで、ウイルス性疾病において飼育密度が高い死率に関係があるか検討した。

材料及び方法

1 病原体

キンギョ生産者から持ち込まれた本ウイルス性疾病と思われるキンギョ（タンチョウ）の腎臓を滅菌蒸留水を加え磨碎し、 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ のアセテートセルロースフィルターでろ過した後、当所で飼育している発病歴のない当歳リュウキンを1時間浸漬し、魚が発病することにより病原性を確認した。

高い死した当歳リュウキンの腎臓を -30°C で凍結保存しておき試験に供した。

2 供試魚

弥富指導所で飼育している発病歴のない当歳リュウキン（平均体長 2.3 cm 、平均体重 1.8 g ）を用いた。

3 感染方法

高い死した当歳リュウキンの腎臓 0.1 g に滅菌蒸留水 10 mL を加えガラスホモジナイザーで磨碎した。磨碎したサンプルは $2,000\text{ G} \cdot 10\text{ 分間}$ 遠心分離し、上澄みを $0.45\text{ }\mu\text{m}$ のアセテートセルロースフィルターでろ過した。ろ液をカルキ抜きした水道水 5 L に添加した。この水にエアレーションをしながらリュウキンを1時間浸漬し、試験魚とした。

対照区の魚は、カルキ抜きした水道水のみで同様の処

置をした。

4 飼育方法

処置した魚の飼育は 60 cm ガラス水槽で行い、水量 50 L の止水でフィルターろ過し、エアレーションをし、水温は 20°C に設定した。

飼育密度は、水槽に11尾収容した区（標準密度飼育区）とその2倍量を収容した区（過密飼育区）の2通りを試験区と対照区に設けた。28日間飼育して、発病、高い死の状況を検査した。

なお、標準密度の算出には、弥富金魚漁業協同組合研究部作成の「作業のポイント」を参考にした。

結果及び考察

試験結果を図1に示した。

過密飼育区では、試験開始11日後から高い死が始まり、25日後には全滅し、生残率は 0% であった。標準密度飼育区では、試験開始14日後から高い死が始まり試験終了時の生残率は 55% であった。

一方、対照区では標準密度飼育区、過密飼育区とともに高い死はなかった。

飼育密度が高いほど発病が早く、また、生残率が低い結果となり、病死等を見込んで過密気味で養殖することは魚病対策としては逆効果になると推察された。

今後、実際の養殖現場でも、養殖密度と高い死率に相關があるか検討する必要があると思われる。

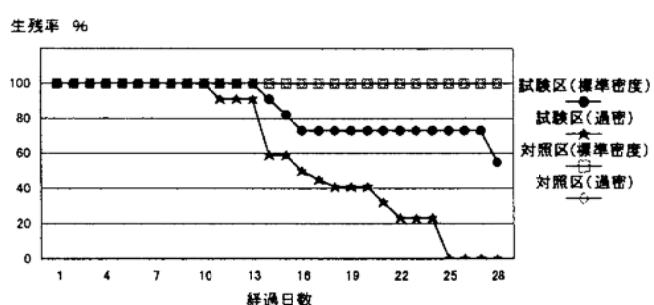


図1 密度別感染試験結果

ビタミンE添加試験

鯉江秀亮・水野正之・都築 基

キーワード；キンギョ，ビタミンE（酢酸トコフェロール），肥満度

目的

現在，金魚生産者は，従来の炊き餌から配合飼料を使う飼育へと移行している。

配合飼料による飼育では，不足する栄養を補うため，市販の栄養添加剤等も開発されている。当指導所でも市販のビタミン添加物により，低たん白質飼料の飼料効率が改善されることが報告されている¹⁾。

本年度は，ビタミンEについて添加効果を検討した。

材料及び方法

配合飼料は市販のたん白質含量の比較的高いものを使った。飼料成分は，表1のとおりで粒径が約3mmで各種ビタミン類も含まれていた。この飼料に市販のビタミンE添加剤を酢酸トコフェロール量にして50mg/kg(試験区1)，200mg/kg(試験区2)，500mg/kg(試験区3)となるように加えた。また，対照区としてビタミンEの無添加の区も設定した。供試魚は昨年度作出のタンチョウ(クローン)で，各試験区とも20尾を用いた(表2)。試験期間中の飼育は100lコンテナ水槽を用い，飼育水は地下水を利用し毎秒4ml注水し，流水にて10月3日から3月18日までの166日間行った。給餌量は，試験開始の10月3日から11月4日までは体重の5.0%，その後，11月5日から11月10日は3.0%，11月11日から11月18日は2.5%，11月19日から12月10日は2.0%，12月11日から3月18日は1.5%とした。なお，飼育中の水温変化は図1に示した。

表1 配合飼料組成

成 分	配合割合
粗たん白質	46.0 %以上
粗 脂 脂	3.0 %以上
粗 繊 綿	4.0 %以下
粗 灰 分	16.0 %以下
カルシウム	2.6 %以上
り ん	1.3 %以上
その他(ビタミン類等)	--

ビタミンEの効果は，全長，体長，体高，体幅，体重，肥満度(体重/(体長)³×1000)及び試験期間中の増重倍率((試験終了時体重-試験開始時体重)/試験開始時体重)を求め，各試験区毎に比較した。また，t検定により有意差(有意水準P<0.05)の有無を調べた。体長，体重，肥満度については，試験開始時と試験開始48日目，118日目，試験終了時(167日目)に計測した結果を散布図にして回帰直線によりその成長量(直線の傾き)を調べた。

結果及び考察

166日間飼育した結果とt検定の結果を表3，表4に示した。また，体長から見た成長を図2，体重から見た成長を図3，肥満度の推移を図4に示した。ビタミン添加区は対照区と比較し，成長が良く，試験区2と試験区3では，体幅，体重及び肥満度について対照区と有意差があった。

体長，体重の成長を回帰直線で見たところ，その傾きは試験区3が体長で0.041，体重で0.0245と対照区や他の試験区と比較し最も大きく，ビタミンEの効果を示しているものと考えられた。また，肥満度についても回帰直線の傾きは0.00304で，試験区3は対照区や他の試験区より肥満度の増加が大きかった。

参考文献

- 1) 平澤康弘・高須雄二・村松寿夫(1995)弥富金魚漁協研究部飼料試験指導.平成6年度愛知県水産試験場業務報告,37-38.

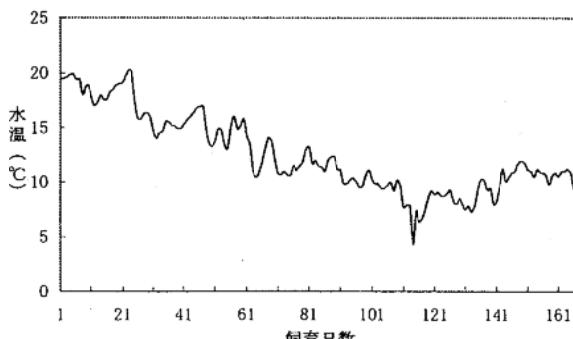


図1 飼育水温

表2 試験開始前の供試個体

試験区	平均全長	平均体長	平均体高	平均体幅	平均体重	肥満度*
	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)	(g)	標準偏差
	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差
対照区	56.5 4.86	30.8 2.63	15.9 2.11	10.3 1.18	2.3 0.77	0.59 0.10
試験区 1	59.9 6.07	32.0 3.21	16.8 2.26	10.8 1.28	2.6 1.01	0.52 0.11
試験区 2	58.8 5.57	31.8 3.06	16.6 2.04	10.9 1.22	2.6 0.93	0.55 0.10
試験区 3	58.9 6.91	31.9 3.69	16.7 2.60	10.8 1.46	2.6 1.17	0.55 0.11

肥満度*は体重(g) / 体長(mm)³ × 1,000 で求めた。

表3 試験終了時の供試個体

試験区	平均全長	平均体長	平均体高	平均体幅	平均体重	肥満度*1	増重倍率*2
	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)	(g)	標準偏差	標準偏差
対照区	66.1 5.09	37.1 2.34	21.9 2.02	15.1 1.30	5.4 1.23	1.04 0.08	1.348
試験区 1	68.3 5.73	38.8 3.20	22.9 2.24	15.8 1.86	6.3 1.94	1.05 0.11	1.423
試験区 2	69.1 5.91	38.8 3.25	23.0 2.07	16.2 1.51	6.5 1.59	1.09 0.07	1.500
試験区 3	69.5 6.61	39.3 4.30	23.5 2.66	16.3 1.88	7.0 2.47	1.11 0.09	1.692

肥満度*1は、体重(g) / 体長(mm)³ × 1,000 により求めた。

増重倍率*2は、(試験終了時体重 - 試験開始時体重) / 試験開始時体重により求めた。

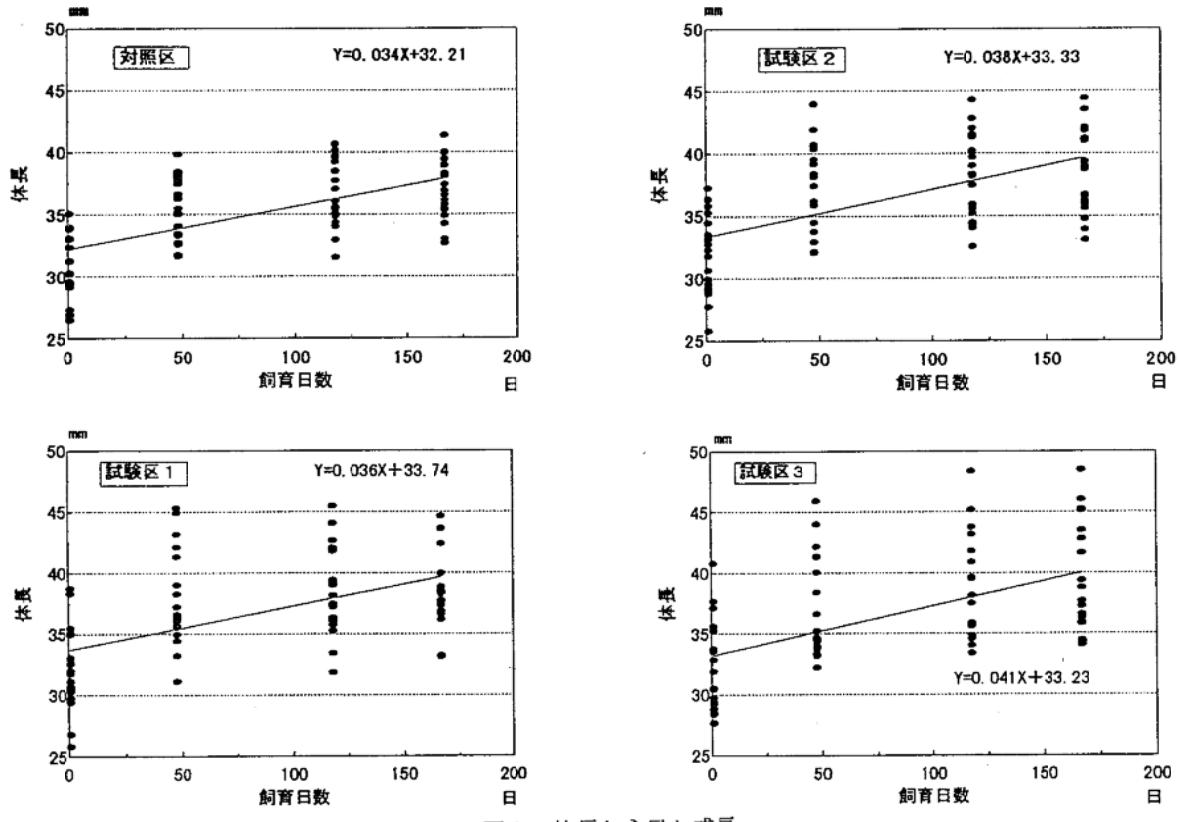


図2 体長から見た成長

表4 t検定結果(有意水準P<0.05)

項目	試験区名	試験区名	自由度	t値
体 高	対照区	試験区 3	38	- 2.106
体 幅	対照区	試験区 2	38	- 2.409
体 幅	対照区	試験区 3	38	- 2.367
体 重	対照区	試験区 2	38	- 2.454
体 重	対照区	試験区 3	38	- 2.534
肥 满 度	対照区	試験区 2	38	- 2.256
肥 满 度	対照区	試験区 3	38	- 2.667

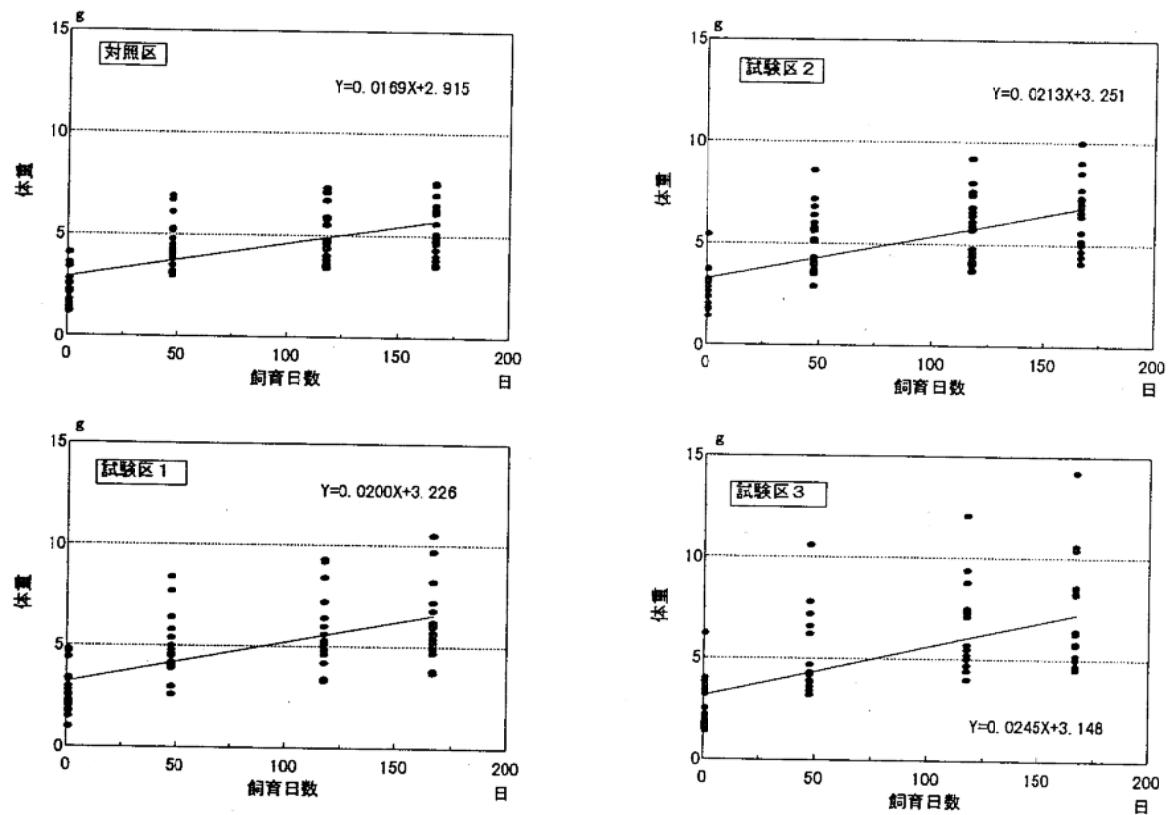


図3 体重から見た成長

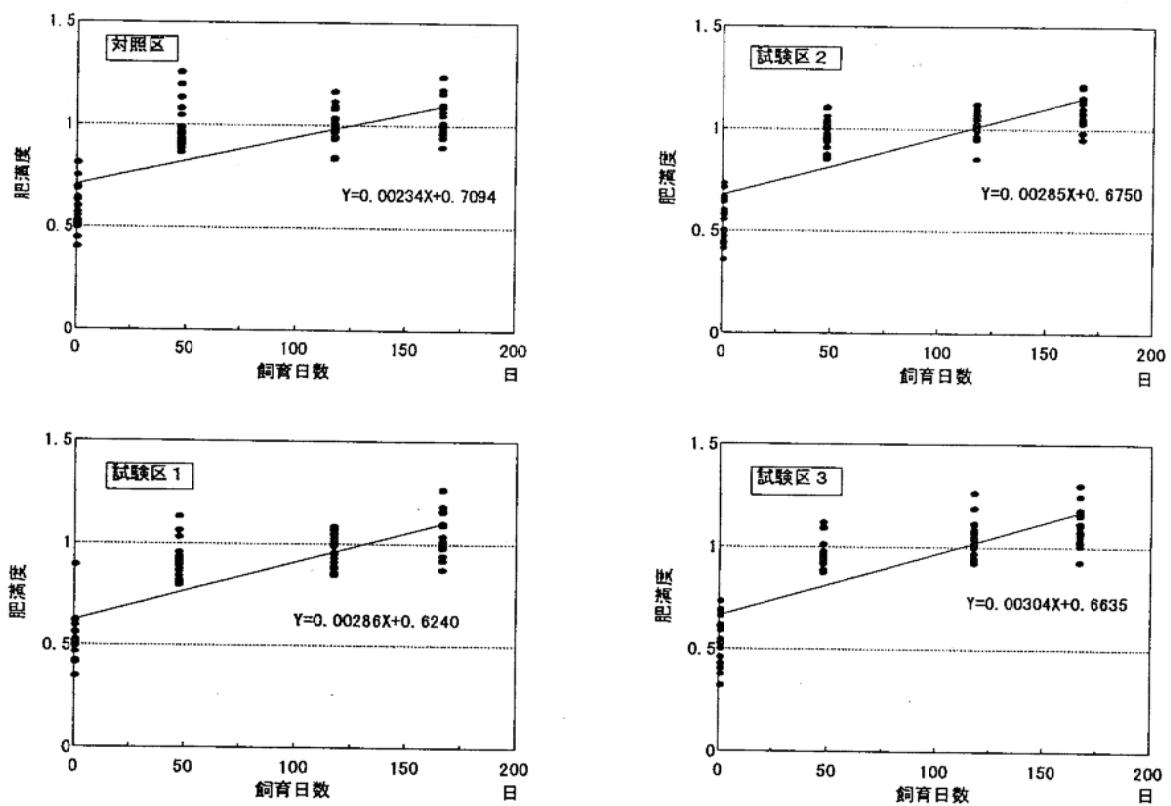


図4 肥満度(体重/(体長)³ × 1000)の推移

作出クローンの体型について

鯉江秀亮・水野正之・都築 基

キーワード；タンチョウ、体高比、尾鰭長割合

目的

平成8年度は、クローン化の有効性を見るために作出したタンチョウのクローンについて尾鰭型出現割合と緋盤量の形質調査を行った¹⁾。その結果、フナ尾の出現がなかったという点で有効性が認められた。魚類におけるクローンの作出は、アユ、ヒラメ、ニジマス等で行われており、体型等について遺伝変異の縮少が確認されている²⁾。そこで、本年度は、さらに、平成8年度作出のタンチョウのクローン（以下、クローンと略す）の体型について調査し、クローン化の有効性について検討した。

材料及び方法

平成8年度作出のクローン群について、全長、体長、体高を平成9年10月1日に測定し、体高比（体高/体長×100）と尾鰭長割合（（全長-体長）/全長×100）を求めた。また、対照として、タンチョウが平成9年4月22日及び4月27～28日に屋外コンクリート水槽で自然産卵し、ふ化したものを飼育した魚で、平成9年9月26日に同様に測定した結果を用いた。（以下、4月22日に産卵された群を対照A群、4月27～28日に産卵された群を対照B群とする）。

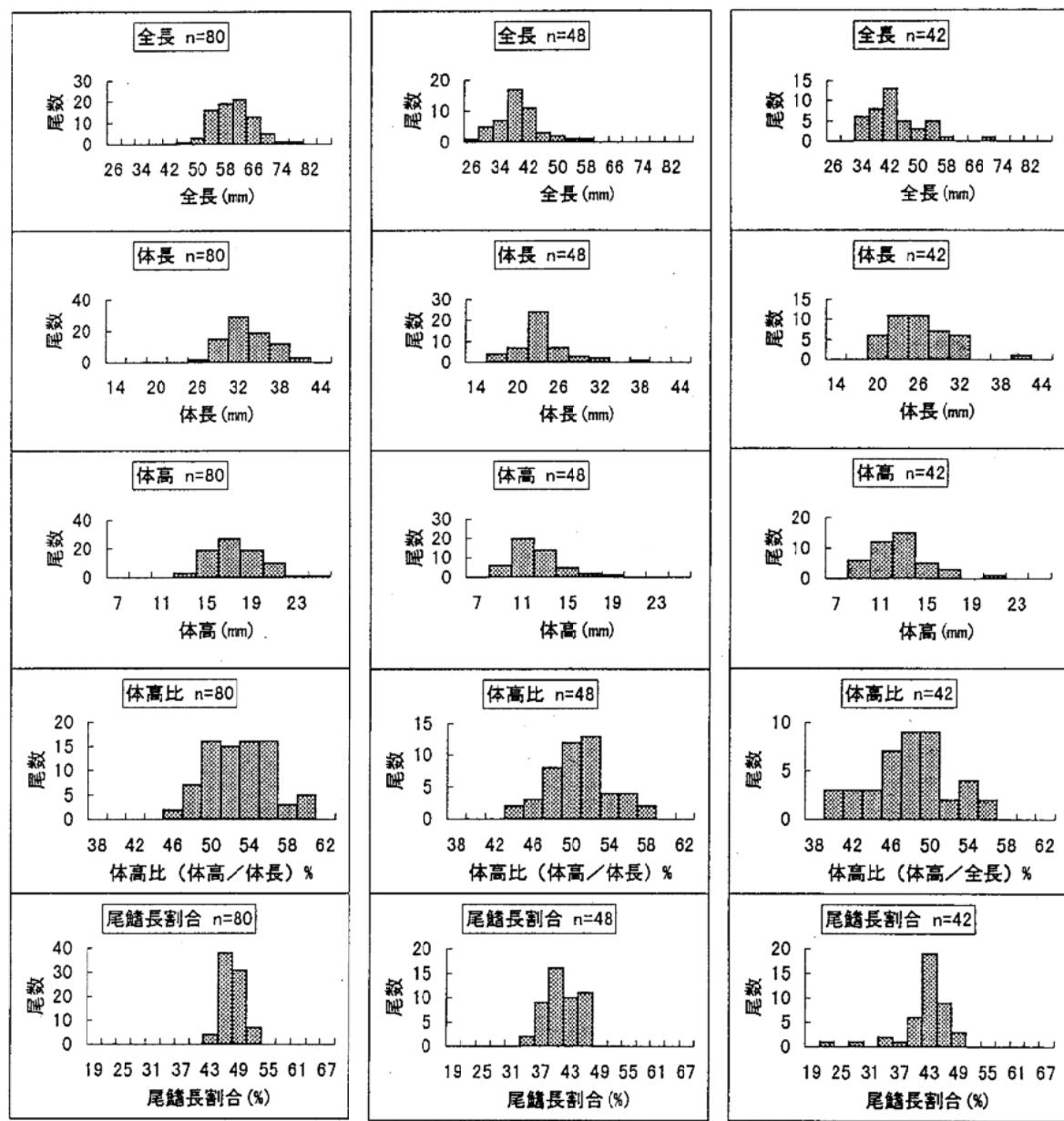
測定結果は、平均と標準偏差を求め、さらにその分散値に差があるかどうかF検定を行った。

なお、クローン群は、平成9年6月29日から7月11日にかけて水産庁養殖研究所で、DNAフィンガープリント（制限酵素：Hinf-I、プローブ：(GGAT)₄）により、クローン化の確認を行ったものである。

表1 全長、体長と体高の測定結果及び体高比と尾鰭長割合の算出結果

群名	調査個体数	平均全長	平均体長	平均体高	体高比	尾鰭長割合
		(mm)	(mm)	(mm)	(%)	(%)
		標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差
クローン群	80	58.5 6.07	31.6 3.23	16.5 2.31	52.1 3.26	45.9 2.16
対照 A 群	48	36.9 6.29	22.1 3.65	11.2 2.25	50.2 3.41	39.7 3.27
対照 B 群	42	41.8 7.17	24.4 4.16	11.6 2.44	47.3 4.12	41.5 4.02

対照A群は4月22日に産卵された群、対照B群は4月27～28日に産卵された群。



クローン群

対照A群

対照B群

図1 クローン群と対照A, B群の体型

表2 F検定結果

項目	群名	自由度 df1	群名	自由度 df2	F値
体高比	対照B群	41	クローン群	79	1.756
尾鰭長割合	対照A群	47	クローン群	79	2.820
尾鰭長割合	対照B群	41	クローン群	79	4.251

(4) 冷水魚増養殖技術試験

マス類の飼育池における酸素吸支

石田基雄・中村総之

キーワード；酸素吸支、マス類養殖

目的

近年、マス類養殖は製品の販売単価が低迷している一方で、飼料価格、労賃が上昇しているため、年々採算性がきびしくなっている。このような状況のなかで養殖方法は集約化、高密度飼育化を余儀なくされつつある。

しかし、高密度飼育は大幅なコストダウンの可能性を持つ反面、歩留まり低下のリスクも大きい。

本試験では、マス類の高密度飼育に関する基礎的知識を得ることを目的として、歩留まり低下の重要な支配要因と考えられる養殖池中の溶存酸素の挙動を明らかにする。

方 法

当指導所のマス類飼育槽内の溶存酸素量、注水量、注水の溶存酸素量、排水の溶存酸素量を測定し、酸素の供給と排出を定量化した。一方、収容量から、飼育槽中のマス類による溶存酸素消費量を推定した。これらの結果から、水槽中の酸素の挙動を定量化するとともに空中からの供給量を推定した。

また、窒素ガスをふかせて溶存酸素量を低下させた水

中にエアーレーションを施し、一定時間毎に溶存酸素量を測定することで、酸素が水中に溶け込む速度を推定した。

結果と考察

表1に計算した酸素吸支の結果及び飼育の指標値を示した。飼育水は水槽中でよく攪拌されているようで、数カ所で測定した溶存酸素量の平均値と排水の溶存酸素量はそれほど違わない。

飼育水の溶存酸素はニジマスの収容量が多く、かつ注水量の少ない水槽ほど低い。一方、空中から飼育水中への酸素供給は溶存酸素の低い水槽ほど大きい結果となった。特に、溶存酸素量がマス類養殖の限界値とされる5mgに近かったB-10水槽では飼育水槽水への酸素供給の24%が空中からと試算された。このことは、飼育水を河川水に依存している県下の養魚場では高密度飼育になるほど、エアーレーションあるいは水車による酸素供給法が重要性を増すことを意味する。

また、表2、3に示した酸素溶け込み速度試験の結果からもこのことは裏づけられた。

表2 酸素溶け込み速度実験結果（経過時間毎の溶存酸素量mg/l）

経過時間 分	0	10	20	30	40	60	70	90	120	130
B-10	4.8	4.9	4.9	—	4.9	—	4.9	—	5.0	—
B-9	4.2	5.1	6.0	6.6	7.0	7.7	—	8.3	8.7	—
Y-6	4.9	5.2	5.5	5.8	6.1	—	6.7	—	—	7.7

*B水槽：縦140×横60×深さ40cm、Y水槽：縦200×横100×深さ80cm

*B-10水槽は水を張って静置、B-9水槽は水を張ってエアーレーションをセット(5.4リットル/m²・分)、Y-6水槽はエアーレーションをセット(1.5リットル/m²・分)

*水温は19～20℃

表3 表2から求めた酸素溶け込み速度

経過時間 分	単位：mg/1時間・1m ²									
	0	10	20	30	40	60	70	90	120	130
B-10	-	240	0	—	0	—	0	—	48	—
B-9	-	2160	2160	1440	960	840	—	480	320	—
Y-6	-	1440	1440	1440	1440	—	960	—	—	800

表1 マス類の飼育槽における酸素収支

収支は1時間当たりで計算

水槽 NO	水槽 面積 m^2	注水 量	注水 量 / $1m^2$	飼育 水量 リットル	注水酸素 濃度 ppm	供給 量 g	排水酸素 濃度 ppm	排出 量 g	ニジマスによる酸素消費			空中から溶解 比率 %	溶解量 g	消費 量 g	収容 量 kg	単位 サイクル 消費 量 mg/kg	酸素 濃度 ppm	飼育 ニジマス 収容量 $/1m^2$ kg
									収容 量 kg	単位 サイクル 消費 量 mg/kg	消費 量 g							
I-3	9.0	3024	336	6750	8.5	25.7	6.3	19.1	1000	107	100	10.7	4.1	14	6.4	11.1		
I-9	9.0	5760	640	6840	8.5	49.0	5.6	32.3	800	118	272	32.1	15.4	24	5.6	30.2		
Y-4	2.0	3600	1800	1160	8.5	30.6	7.0	25.2	500	141	65	9.2	3.8	11	7.1	32.5		
Y-7	2.0	1656	828	1140	8.5	14.1	8.2	13.6	800	118	16	1.9	1.4	9	8.2	8.0		
B-2	0.84	960	1143	240	8.5	8.16	6.7	6.43	30	278	12	3.34	1.6	16	6.8	14.3		
B-5	0.84	792	943	160	8.5	6.73	8.3	6.57	30	278	1.8	0.50	0.34	5	8.4	2.1		
算出 方法	A	B	-	-	C	X	D	Y	-	E	F	Z	-	*	-	-	-	
									B×D	-	-	E×F	Y+Z-X	-	-	-	-	

※ 溶解比率は注水供給量と溶解量をたした全酸素供給量に対する溶解量の比率とした。

※ 太線で示した項目は飼育管理上ポイントとなる項目

全雌ニジイワのビブリオ病感染試験

中村総之・荒川哲也・石田基雄

キーワード；全雌ニジイワ、ビブリオ病、感受性

目的

全雌ニジイワは、平成9年7月に水産庁の特性評価の確認が得られたため、今後、養殖が事業化されるものと考えられる。全雌ニジイワの事業化にあたっては、疾病に対する感受性についての知見を得る必要がある。

これまでに、全雌ニジイワにはIHNに対する抗病性があることが確認されているが、他の疾病に対する感受性は不明である。そこで、本年度は、全雌ニジイワのビブリオ病に対する感受性を、ニジマス、イワナと比較するため、感染試験を実施した。

材料及び方法

供試魚は、当指導所で飼育しているニジマス（平均体重13.3 g／尾）、イワナ（平均体重11.7 g／尾）、全雌ニジイワ（平均体重11.7 g／尾）を用いた。

ビブリオ菌は、平成8年10月に県内の養殖場のニジマスより分離されたものを用いた。

感染方法は浸漬法で、 1.18×10^4 CFU/ml および、 1.18×10^5 CFU/ml の2段階の濃度に調整した菌液に、供試魚を収容し、通気しながら30分間浸漬した。対照区では1%NaCl液に供試魚を収容し、同様の処置をした。なお、供試魚は各試験区とも30尾とし、浸漬処理中の水温は、14.5～15.8°Cであった。

飼育は感染区、対照区とも14リットル水槽を用い、飼育水は紫外線殺菌した地下水を、約24ml/sとなるように注水した。試験期間は4週間とし、期間中の水温は、13.8～15.2°Cであった。

結果及び考察

表に感染試験結果を示した。2段階の菌濃度による浸漬感染区のへい死率は、イワナは、いずれも100.0%，ニジマスは、100.0～96.7%であったのに対し、ニジイワは、60.0～66.7%とへい死率が低い結果であった。

今回の感染試験の結果、ニジイワのビブリオ病に対する感受性は、イワナ、ニジマスと比べて低いと考えられた。しかし、菌株によっては、毒性等が異なる可能性があるため、今後は、異なった菌株で菌濃度を変えて、感受性の検討を行う必要がある。

表 ビブリオ病感染試験結果

試験区	魚種	供試数 (尾)	へい死数 (尾)	へい死率 (%)
感染区	イワナ	30	30	100.0
	ニジマス	30	30	100.0
	ニジイワ	30	18	60.0
感染区	イワナ	30	30	100.0
	ニジマス	30	29	96.7
	ニジイワ	30	20	66.7
対照区	イワナ	30	0	0.0
	ニジマス	30	1	3.3
	ニジイワ	30	0	0.0

イワナ性転換雄の作出試験

荒川哲也・中村総之・石田基雄

キーワード；イワナ，性転換雄，雄性ホルモン，全雌異質三倍体ニジイワ

目的

マス類異質三倍体は同質三倍体と同じように、雄の成熟に伴う商品価値の低下、精子形成による自然環境への影響が考えられるが、雌は不妊化し、肉質も安定するため、異質三倍体ニジイワの養殖においても全雌化することが必要である。

ここでは全雌生産をするための、雄親魚であるイワナ性転換雄の作出手法の確立を目的に、イワナの雄性ホルモン処理方法について検討を行った。

材料及び方法

平成6年度におけるイワナ性転換雄作出のための処理試験区を表1に示した。

供試魚は、平成5年度に作出した性転換雄と通常雌から全雌イワナを作出し、これを用いた。処理方法は、供試魚を、ふ化後から浮上まで一定間隔で雄性ホルモンを添加した水に2時間浸漬し、浮上・餌付けから60日間雄性ホルモン含有飼料を与えて飼育した。なお、雄性ホルモンとして、 17α -Methyltestosteroneを用いた。昨年度は試験魚の一部を開腹し、生殖腺の観察を実施したが、本年度は、残りの試験魚すべてを観察した。

表1 イワナ性転換雄作出の処理試験区（平成6年度）

No.	浸漬処理濃度	浸漬回数*	飼料添加濃度
W区	1.0 μg/l	1回/1日	0.5mg/kg
X区	1.0 μg/l	1回/2日	0.5mg/kg
Y区	0.5 μg/l	1回/1日	0.5mg/kg
Z区	0.5 μg/l	1回/2日	0.5mg/kg

*1回あたりの浸漬は2時間

平成7年度の処理試験区を表2に示した。処理方法は、雄性ホルモンの飼料添加濃度を平成6年度よりも高い1.0 mg/kgに設定して処理を行った。供試魚としては平成5年度に作出した性転換雄と通常雌から全雌イワナを作出し、これを用いた。本年度は、試験魚の全個体について開腹調査を行った。

表2 イワナ性転換雄作出の処理試験区（平成7年度）

No.	浸漬処理濃度	浸漬回数*	飼料添加濃度
A区	1.0 μg/l	1回/1日	1.0mg/kg
B区	1.0 μg/l	1回/2日	1.0mg/kg
C区	0.5 μg/l	1回/1日	1.0mg/kg
D区	0.5 μg/l	1回/2日	1.0mg/kg
E区	0.5 μg/l	1回/2日	0.5mg/kg

*1回あたりの浸漬は2時間

平成8年度の処理試験区を表3に示した。平成8年度は、浸漬開始時期の違いが雄化率に与える影響を検討するため、発眼卵の段階から浸漬する試験区および、全供試卵がふ化した段階から浸漬する試験区を設定し、浮上・餌付けからは、60日間雄性ホルモン含有飼料を与えて飼育した。また、個体による雄性ホルモン添加飼料の摂取量、取り込み量の差が、同一試験区内での雄化する個体としない個体として現れている可能性を考えられたため、浮上後も雄性ホルモン添加飼料を投与せず、浸漬処理を60日間継続する試験区も設定した。供試魚としては平成5年度および6年度に作出した性転換雄と通常雌から全雌イワナを作出し、これを用いた。

表3 イワナ性転換雄作出の処理試験区（平成8年度）

No.	浸漬処理濃度	浸漬開始時期	飼料添加濃度
1区	1.0 μg/l	発眼卵から	0.5mg/kg
2区	1.0 μg/l	全数ふ化後	0.5mg/kg
3区	0.5 μg/l	発眼卵から	0.5mg/kg
4区	0.5 μg/l	全数ふ化後	0.5mg/kg
5区	1.0 μg/l	2割ふ化後	添加せず
6区	0.5 μg/l	2割ふ化後	添加せず

*浸漬回数は、2日に1回、2時間。

なお、処理期間中の水温は、平成6、7年度は11.5～12.5℃、平成8年度は10.4～12.2℃であった。

平成9年度の処理試験区を表4に示した。平成9年度は、雄性ホルモン処理中の水温が雄化率に影響を与えて

いる可能性があるため、8°Cと11°Cに水温を設定して処理を行った。供試魚としては平成7年度に作出した性転換雄と通常雌から全雌イワナを作出し、これを用いた。

表4 イワナ性転換雄作出の処理試験区(平成9年度)

No.	浸漬処理濃度	浸漬回数*	飼料添加濃度	水温(°C)
7区	1.0 μg/l	1回/2日	0.5mg/kg	11.0
4区	1.0 μg/l	1回/2日	0.5mg/kg	8.0
9区	0.5 μg/l	1回/2日	0.5mg/kg	11.0
1区	0.5 μg/l	1回/2日	0.5mg/kg	8.0

*1回あたりの浸漬は2時間

結果及び考察

平成6年度試験魚の観察結果(前年度観察結果含む)を表5に示した。

各試験区ともに雄化個体が認められ、雄化率は10.4~23.5%であった。

表5 平成6年度試験魚の生殖腺観察結果

No.	雄 (尾)	雌 (尾)	雄 雌 同体 (尾)	不明 (糸状) (尾)	雄化率 (%)
7区	3	26	2	16	10.6
X区	5	51	2	9	10.4
Y区	1	11	1	4	11.8
Z区	2	9	2	4	23.5

注) 雄雌同体個体は雄としての利用が可能であるため、雄として雄化率を求めた。

平成7年度試験魚の観察結果を表6に示した。各試験区ともに雄化個体が認められ、雄化率は2.0~6.7%であった。なお、生殖腺が糸状で雌雄不明の割合は、飼料添加濃度を1.0 mg/kgとしたA~D区では68.9~90.2%であり、0.5 mg/kgとしたE区の60.9%より高かった。したがって、飼料添加濃度は1.0 mg/kgでは高すぎると考えられた。

表6 平成7年度試験魚の生殖腺観察結果

No.	雄 (尾)	雌 (尾)	雄 雌 同体 (尾)	不明 (糸状) (尾)	雄化率 (%)
A区	2	3	0	46	3.9
B区	2	5	0	41	4.2
C区	1	4	0	46	2.0
D区	3	11	0	31	6.7
E区	2	16	0	28	4.3

平成7年度に報告したように、平成5年度試験の結果、浸漬処理として雄性ホルモン濃度は0.5 μg/l, 処理回数は2日に1回の試験区が15.1%と最も高い雄化率が得られている。また、平成6年度試験の結果では、すべての試験区で性転換雄が認められ、その浸漬処理条件は雄性ホルモン濃度0.5~1.0 μg/l, 処理回数は1日1回または、2日に1回であったことから、雄化率は低いもののイワナ性転換雄作出のための処理条件として、雄性ホルモン濃度0.5~1.0 μg/l, 処理回数は1日1回または、2日に1回、2時間の浸漬処理が有効であると考えられる。

なお、平成8年度、9年度の試験魚は現在飼育中であり、外部形態と生殖腺の観察を今後予定している。

文 献

- 1) 服部克也ら(1995) 全雌ニジイワ3N作出のための性転換雄作出. 平成6年度愛知水試業務報告, 28-29.

ホウライマス全雌四倍体魚の作出試験

中村総之・荒川哲也・石田基雄

キーワード；圧力処理，第一卵割阻止，全雌四倍体

目的

全雌異質三倍体ニジイワ，ニジアマは，水産庁の特性評価の確認が得られ，養殖が可能になった。異質三倍体の作出には，通常受精した卵に温度処理を施し，第二極体の放出を阻止して，三倍体化する方法を用いている。

しかし，三倍体化処理による，発眼率，ふ化率の低下が認められることから，通常受精による三倍体魚の作出が可能，四倍体と二倍体との交配による異質三倍体の作出を検討する必要がある。

本年度は，第一卵割阻止で全雌四倍体魚を作出するための，圧力処理開始時間の検討および，作出魚の倍数性確認を行った。

材料及び方法

(1) 供試卵

当水試保有ホウライマス，ニジマス雌親から搾出した卵に，ホウライマス性転換雄の精子を媒精して，供試受精卵とした。

(2) 倍数化処理

倍数化のための圧力処理は， 650 kg/cm^2 ・6分間とし，計3回実施した。また，最適処理開始時間を検討するため，1回の試験あたり3～4段階に開始時間を変えて処理を行った。1回の処理あたりの供試卵数は，900～1,400粒であった。処理開始までの卵管理水温は11.1～11.6°C，処理開始時間は，積算水温47.0～58.7°C・hであった。

(3) 発眼率，正常魚出現率

供試卵の発眼率については，積算水温約230～250°C・日，正常魚出現率については，卵黄をほぼ吸収した時点で調査を行った。

(4) 倍数化の確認

得られたふ化稚魚の一部について，赤血球長径の測定により倍数性の確認を行った。

また，1，2，4区の試験魚の一部については，東京水産大学岡本信明教授にご指導いただき，赤血球長径測定の他に，赤血球の相対DNA量測定による倍数性の確認を試みた。

結果及び考察

各試験区の発眼率，正常魚出現率を，表1に示した。最も高い発眼率，正常魚出現率が得られたのは，第1回試験では，積算水温52.7°C・h，第2回試験では，53.0°C・h，第3回試験では，51.9°C・hであった。

赤血球長径の測定結果を表2に，また，相対DNA量の測定結果を，図1に示した。赤血球長径の平均値は，対照区であるニジマス二倍体が， $15.2 \pm 0.5 \sim 16.9 \pm 1.0 \mu\text{m}$ であったのに対し，四倍体化処理を行った試験区では，65個体中56個体が， $20.0 \mu\text{m}$ 以上と，明らかに大きな値を示しており，これらの個体は，圧力処理によって，倍数化されたものと考えられた。

表1 各試験区の発眼率，正常魚出現率

試験区	処理開始までの 積算水温 時 間		発眼率 (%)	正常魚 出現率 (%)
	(°C・h)	(h)		
第1回				
対照区	—	—	85.5	82.0
1区	47.0	4.08	15.0	9.4
2区	49.8	4.33	32.2	20.3
3区	52.7	4.58	56.7	30.5
4区	55.6	4.83	27.3	14.4
第2回				
対照区	—	—	80.7	66.6
5区	50.1	4.33	7.7	4.9
6区	53.0	4.58	49.7	32.9
7区	55.8	4.83	20.4	9.8
8区	58.7	5.08	6.1	3.1
第3回				
対照区	設 定 せ ず			
9区	51.9	4.55	34.5	10.5
10区	54.0	4.73	21.0	5.6
11区	56.2	4.93	16.4	1.5

注) 発眼率 = (発眼卵数 ÷ 供試卵数) × 100

正常魚出現率 = (正常ふ化仔魚数 ÷ 供試卵数) × 100

表2 赤血球長径の測定結果

試験区	測定 個体数	20.0 μm以上 の個体数	赤血球長径の平均 の範囲 (μm)
対照区	4	0	15.2±0.5~16.9±1.0
1 区	10	9	15.1±0.5~26.7±1.6
2 区	8	7	16.4±1.4~25.1±1.3
3 区	5	4	19.9±1.4~24.8±1.8
4 区	12	11	16.0±0.8~26.7±1.4
5 区	5	5	22.7±1.4~26.2±2.2
6 区	5	1	17.0±2.0~23.6±1.6
7 区	5	5	20.2±2.1~24.6±2.1
8 区	5	5	21.1±1.5~25.6±1.6
9 区			
10 区	10	9	15.6±1.1~23.7±2.2
11 区			

注) 9~11区の試験魚は混養している。

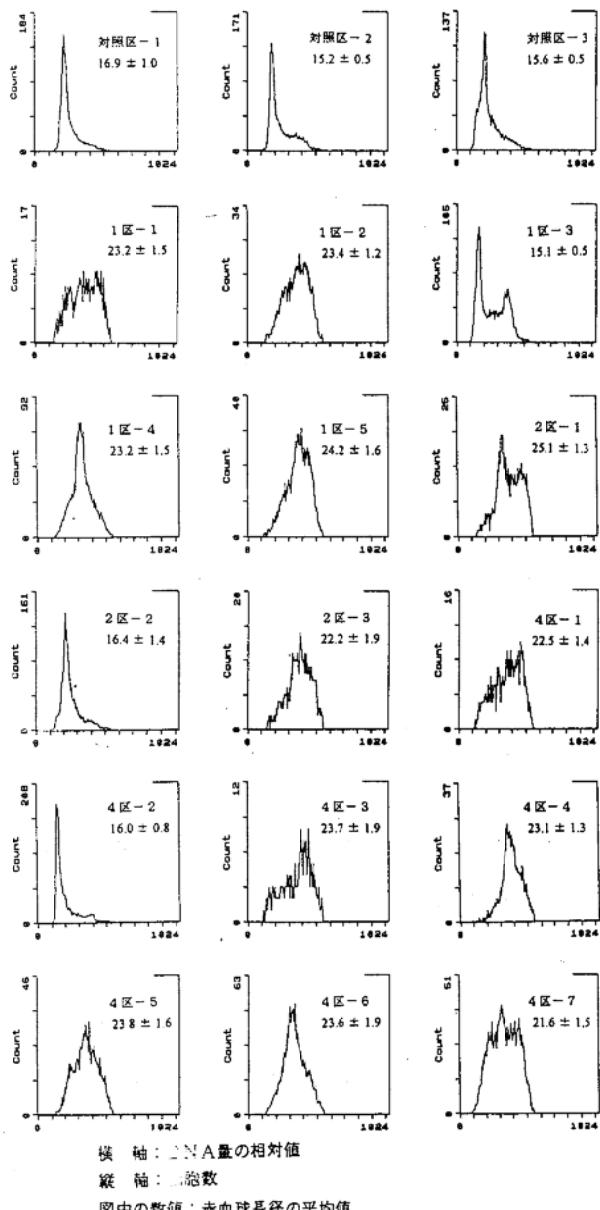


図1 赤血球の相対DNA量測定結果

次に、赤血球の相対DNA量の値を観ると、対照区のニジマス二倍体には、いずれも、明瞭なピークが認められたのに対し、四倍化処理個体の中には、1区-1, 2, 5, 2区-1, 3, 4区-1, 3, 5, 7のように、対照区の二倍体と比較して、赤血球長径の値が、 21.6 ± 1.5 ~ $25.1 \pm 1.3 \mu\text{m}$ と明らかに大きく、相対DNA量の値も大きくなっているものの、明瞭なピークを持たず、バラツキの大きい個体が多く認められた。これらの個体について、1個体のなかに、異なった倍数性の細胞が、混在していることが考えられた。また、1区-3, 2区-2, 4区-2のように明瞭なピークを持つ個体も認められたが、これらは、赤血球長径の値から、二倍体と考えられた。

以上のことから、次の①~③のことが明らかとなった。

- ① 卵管理水温 $11.1 \sim 11.6^\circ\text{C}$ では、積算水温 $47.0 \sim 58.7^\circ\text{C} \cdot \text{h}$ の範囲で倍数化処理を行えば、倍数化はされる。しかし、発眼率、正常魚出現率を考慮すると、 $53.0^\circ\text{C} \cdot \text{h}$ 前後が最適処理開始時間である。
- ② 同一の処理を行っても、倍数化される個体とされない個体が存在する。
- ③ 赤血球長径の値から倍数化されたと判断した個体であっても、完全に倍数化されていない個体が、比較的多く存在する。

今回の試験で、倍数性の確認を行った個体のなかには、完全な四倍体と言える個体は、認められなかったため、今後は、得られた試験魚を成熟期まで飼育し、赤血球長径測定等による倍数性の確認を実施するとともに、二倍体雄との通常交配により三倍体が作出されるかどうかの確認をする必要がある。

参考文献

- 1) 川田他 (1993): 平成4年度地域バイオテクノロジー実用化技術研究開発促進事業報告書. 福島県内水面水産試験場
- 2) 川田他 (1994): 平成5年度地域バイオテクノロジー実用化技術研究開発促進事業報告書. 福島県内水面水産試験場
- 3) 川田他 (1995): 平成6年度地域バイオテクノロジー実用化技術研究開発促進事業報告書. 福島県内水面水産試験場
- 4) 大塚・荒木・上田 (1994): フローサイトメーターを用いた魚類の倍数性確認方法における細胞の固定および染色条件の検討; 水産育種No.20