

学位論文審査結果の報告書

氏 名 辻 将 治

生 年 月 日 (昭和)・平成 50 年 5 月 13 日

本 籍 (国籍) 三重県

学位の種類 博 士 (農 学)

学位記番号 農 第 204 号

学位授与の条件 学位規程第 5 条該当
(博士の学位)

論 文 題 目 人工孵化マハタの形態異常低減に関する研究

(Study on the malformation in artificially hatched seven-band grouper

Hyporthodus septemfasciatus (Thunberg))

審 査 委 員

(主 査) 滝 井 健 二



(副主査) 太 田 博 巳



(副主査) 小 林 徹



(副 査) 澤 田 好 史



(副 査)



論文内容の要旨

三重県では、マダイに続く新しい養殖対象魚としてマハタ (*Hyporthodus septemfasciatus*) を選定し、1996年から養殖用の人工種苗生産技術開発に取り組んでおり、これまでの研究開発で生産技術は進歩し、毎年20~30万尾程度と産業規模での種苗生産が可能になっている。しかしながら、三重県に限らず、日本国内で生産されるマハタ人工種苗においては、一般に仔魚期（受精卵孵化~全長3 cm）と稚魚期（全長3~15 cm）に出現する形態異常が種苗の品質を低下させ、生産効率の低下を招く大きな課題となっている。そこで本研究では、マハタ人工孵化・飼育魚の形態異常の種類とその原因の特定、防止策の開発に取り組んだ。

第I章では、三重県で生産したマハタ人工種苗で発生する形態異常の出現傾向を把握し、低減すべき形態異常の種類を特定した。第II章では、仔魚期の異なる飼育水温が形態異常の出現に及ぼす影響について明らかにし、最適な飼育水温を検討した。第III章では、仔魚期における鰓の開腔不全と形態異常の発生について検討し、マハタで最も高頻度に発生する脊椎骨屈曲の出現要因と鰓の開腔不全の関係を明らかにしたうえで、その発生率を低減するため、鰓の開腔促進および阻害条件を検討した。第IV章では、稚魚期の飼育方法として給餌量と通気量（流動）が前彎症および後彎症の脊椎骨屈曲出現に及ぼす影響について検討した。

第I章 形態異常の発生状況

2004~2010年に三重県が生産したマハタ人工種苗（全長10~15 cm）の形態異常の出現傾向を把握し、低減すべき形態異常の種類を特定した。観察対象とした形態異常の種類は、脊椎骨屈曲、癒合または椎体欠損、椎体の変形、背鰭陥没の4種類とした。毎年最も高頻度に確認された形態異常は脊椎骨屈曲であり、年変動は大きい、2.5~22.2%の範囲で推移した。また、癒合または椎体欠損は0.9~21.1%、椎体の変形は0~18.2%、背鰭陥没は0~4.1%の範囲で推移した。この結果から、生産効率の向上には脊椎骨屈曲の出現率を低減することが必要不可欠であると考えられた。

第II章 飼育水温と形態異常

本研究以前では、マハタの形態異常出現要因に関する報告はほとんどなく、わずかに仔魚期の不適切な飼育水温が、顎異常を引き起こす可能性が指摘されているのみであった。本研究では、仔稚魚期の異なる飼育水温（23~29℃）が、成長、生残および形態異常の出現に及ぼす影響について明らかにし、仔魚期の最適な飼育水温を検討した。仔稚魚の成長は高水温で促進され、全長30~40 mmの稚魚の生残率は25~26℃で高かった。形態異常のうち、椎体の変形出現率は高水温で高く、神経棘の2叉は23℃で高かった。一方、脊椎骨屈曲、癒合または椎体欠損の出現と水温に関連はなく、総合的な形態異常魚の出現率は25~27℃で低かった。仔稚魚の成長、生残、形態異常発生を統合して考慮すると、マハタ仔魚期の飼育適水温は25~26℃であると考えられた。

第III章 鰓の開腔と形態異常

第II章では、脊椎骨屈曲の防除策として、鰓の一次開腔促進の有効性が推測された。多くの魚種で、飼育水面の油膜除去を行い、仔魚に水面で鰓内へ空気を供給するため空気呑み込み行動を妨げないことが鰓の一次開腔促進に有効であると報告される。しかしながら、マハタ仔魚では飼育水面の表面張力に捕らわれて死亡する浮上死による大量減耗が発生し、飼育水面への油添加による浮上死防止が推奨される。そのためマハタ種苗生産では、それに相反する油膜除去よりも浮上死対策を優先する油添加が標準的な生産方法とされる。そこで浮上死対策と鰓の一次開腔促進を両立させる新たな飼育方法確立のため、鰓の一次開腔時期の特定と、開腔促進条件を検討した。

マハタ仔魚の組織学的観察の結果、鰓の開腔開始時期はPre-flexionステージであることが明らかになり、油膜除去はそれ以前のPelagic larvaeステージから実施するのが適切であると考えられた。次に、飼育水面での仔魚の空気呑み込み行動で鰓が一次開腔することを確認するため、油膜除去区、油膜非除去区（標準飼育法）および流動パラフィン添加区の3試験区を設定し、鰓の開腔率を比較した。油膜除去区では、10日令まで油を添加し、その後Pelagic larvaeステージが主である11~12日令から油膜除去を実施した。油膜非除去区では、油を添加したうえで油膜除去を実施せず、流動パラフィン添加区では、仔魚の空気呑み込みを完全に阻害するため、流動パラフィンを厚さ約7 mmで水面に添加した。鰓の一次開腔は、油膜除去区で14日令以降に確認され、開腔率は最大平均40%であったが、油膜非除去区では2.3~19.0%、流動パラフィン区では0.8~5.8%であり、油膜除去区で有意に高い結果となった。このことから、マハタ仔魚は水面での空気呑み込みで鰓が一次

開腔し、水面に存在する油膜などの障害物除去で鰾の開腔の促進が可能であると考えられた。また、試験区間で生残率に有意差が無く、10日令まで油を添加し、11日令以降に油膜除去を実施する飼育方法で、仔魚の生残確保と鰾の一次開腔促進の両立が可能であることが明らかとなった。

一方で本研究では、他魚種と比較したマハタ鰾の一次開腔率の低さが課題となった。要因として、飼育水の水流を起こす油膜除去期間中の通気量が、仔魚の空気呑み込み行動（鰾の開腔）に影響を及ぼす可能性が考えられた。そこで、0.5 t水槽を用いて通気量が異なる4試験区（0.01, 0.05, 0.10および0.50 l/分）を設定し、仔稚魚の鰾の開腔率を比較した結果、鰾の一次開腔率は0.50 l/分区で有意に低下した。通気量0.50 l/分区における水面下5 cmの流速は1~3 cm/秒であり、同区では仔魚が水面付近で定位できず、流される様子を観察したことから、水面での仔魚の空気呑み込み行動が強水流で阻害されたと考えられる。この結果から、マハタ鰾の一次開腔促進には、油膜除去期間中の弱通気（0.01~0.10 l/分）飼育が効果的と考えられた。

第四章 給餌量および流速と稚魚の形態異常

他魚種では、鰾の一次開腔に関わらず、稚魚期の不適切な飼育環境で前彎症が増加する。そこで、陸上水槽におけるマハタ稚魚期（中間育成期）の給餌量および通気による水流が、脊椎骨屈曲（前彎症・後彎症）の出現に及ぼす影響を検討した。試験区として、弱通気・給餌少量区（A区）、弱通気・給餌多量区（B区）、中通気・給餌多量区（C区）および強通気・給餌多量区（D区）を設定した。マハタ（全長 7.2 ± 1.0 cm, 体重 6.2 ± 2.6 g, 98日令）を0.5 t水槽に100尾ずつ収容し、試験は各試験区2反復で136日令まで行った。AおよびB区は、強い水流を発生させないため1個/槽のエアストーン（0.5 l/分）で通気し、CおよびD区は、飼育水を水平方向に回転させるため、2本/槽のエアリフト（C区：1.5 l/分/本, D区：5.0 l/分/本）で通気し、各試験区で流速を測定した。また、配合飼料の日間給餌率をA区は2%, B~D区は6%に設定した。試験開始および終了時に軟X線写真撮影で鰾の開腔率および脊椎骨の屈曲（前彎症・後彎症）率を求めた。A~D区の終了時の鰾開腔率は72.3~88.7%であり、試験開始時の44.2%に対して有意に高く、鰾の二次開腔の進行が確認された。前彎症率は、A区に対しB区で有意に増加し、配合飼料の多量給餌（6%）で前彎症が増加することが明らかとなった。B区では、給餌時の稚魚の激しい遊泳や過食による体比重増加で上向き遊泳が増加するとともに、配合飼料の過食による腹部膨張で脊椎骨が圧迫されることで前彎症が増加したと考えられる。

また、後彎症は、試験開始時および他試験区と比較してD区で有意に増加し、強通気による水流の後彎症の誘導が明らかとなった。通気量増加に伴い稚魚の連続遊泳時間が長くなる過剰な遊泳で脊椎骨の負担が増大し、後彎症が増加する可能性が考えられた。また、多量給餌および強通気飼育で脊椎骨の屈曲角度が鋭角化した（最大 40° ）。これらの結果から、鰾の二次開腔が進行する間において、配合飼料の多量給餌および強通気飼育で新たな脊椎骨の屈曲が出現することが明らかとなり、少なくとも日間給餌率2%, 飼育水の最大流速0.09 m/秒以内で新たな脊椎骨屈曲の出現防止が可能であると考えられた。

結論

本研究では、マハタ人工種苗で高頻度に出現する形態異常が前彎症および後彎症の脊椎骨屈曲であることを特定し、その出現要因は、仔魚期における鰾の一次開腔不全および稚魚期における過剰給餌と飼育水の流場であることを明らかにした。また、仔魚の浮上死防止で10日令までの油添加、11日令以降の油膜除去で、仔魚の生残確保と鰾の一次開腔促進の両立が可能であることを明らかにした。また仔稚魚の成長、生残、形態異常発生を統合して考慮すると、マハタ仔魚期の飼育適水温は $25 \sim 26^\circ\text{C}$ であることが明らかとなった。さらに、稚魚期以降の鰾の二次開腔期間で、配合飼料の多量給餌および強通気飼育で新たな脊椎骨屈曲の出現が明らかになった。これらの結果から、マハタでは、鰾の一次・二次開腔期間の飼育環境調整で、脊椎骨屈曲の出現を防止することが可能になると考えられる。

しかしながら、機能的な鰾の存在または欠如との関係を含めて、稚魚期の飼育環境が新たな脊椎骨屈曲を引き起こすメカニズムは解明できていない。マハタ人工種苗のさらなる生産効率向上には、その出現メカニズム解明が、その後の異常矯正の可能性を探るうえでも必要である。

論文審査結果の要旨

マハタは大型で美味かつ高価であることから、養殖対象魚種として有望視されてきた。しかし、その種苗量産技術がいまだに確立されておらず、養殖用種苗を外国産天然稚魚に頼らざるをえない状況にある。近年になって一部の種苗生産業者が人工種苗を生産・販売するようになったが、種々の技術的問題が未解決であることから、種苗の供給が安定せずマハタ養殖の発展のボトルネックになっている。

マハタ人工種苗生産における主な問題として、孵化直後に発生する浮上斃死、鰭棘伸長後に体密度の上昇によって発生する沈降死、稚魚期の共食い、稚魚期に顕在化する形態異常が上げられる。これまで浮上斃死や共食いに対する低減策が検討・開発されてきたが、沈降死と形態異常に関する詳細な研究はほとんど行われていない。特に、形態異常は成魚販売時に見出されることが多く、時には養殖漁家経営を逼迫させることから、マハタ養殖の全国的な普及を抑制する原因の一つになっている。

本研究は、マハタ人工種苗生産に関する研究が熱心に行われている三重県水産研究所において実施されたものであり、沈降死および形態異常発生と鰓開腔・開腔不全との関連性を明らかにし、それらの解決策を提示しようとしたもので、今後のマハタ養殖の発展に必要な貴重な多くの知見を得ている。まず第Ⅰ章では、人工種苗における形態異常のパターンと出現傾向を明らかにし、低減すべき形態異常の種類を特定した。次いで第Ⅱ章では、仔魚期における飼育水温が形態異常の出現に及ぼす影響について検討し、種苗生産における仔魚期の最適飼育水温を示した。また第Ⅲ章では、仔魚期の鰓開腔不全と形態異常の発生について検討し、最も高頻度に発生する脊椎骨屈曲の出現と鰓開腔不全との関係を明らかにしたうえで、発生率低減のための鰓開腔促進および阻害条件について検討した。最後の第Ⅳ章では、稚魚期の飼育方法について注目し、給餌量と通気量（飼育水流動）が前彎症および後彎症など脊椎骨屈曲出現に及ぼす影響について検討している。以下に、その概要を示す。

第Ⅰ章 形態異常の発生

2004～2010年に三重県水産研究所・栽培漁業センターが生産した人工種苗の形態異常のパターンと出現率を明らかにし、低減すべき形態異常を特定した。パターンとして脊椎骨屈曲、椎体癒合・欠損、椎体の変形および背鰭陥没の4種に分けることができた。最も高頻度に認められたのは脊椎骨屈曲であり、年によって出現率に違いがみられたが2.5～22.2%であった。次いで椎体癒合・欠損：0.9～21.2%，椎体の変形：0～18.2%，背鰭陥没：0～4.1%となった。これらの結果から、脊椎骨屈曲の低減がマハタ人工種苗生産の高効率化に有効であることが示された。

第Ⅱ章 飼育水温と形態異常

本章では、仔稚魚飼育における水温が成長や形態異常の発生に及ぼす影響について調べた。飼育水温を 23, 25, 27 および 29°C ならびに 25, 26 および 28°C に設定し、全長 30 mm 以上に達するまでワムシ、アルテミア、市販配合飼料の順に給与して水槽飼育を行った。水温の上昇に伴って成長は速くなったが、生残率は 25°C・26°C で高かった。形態異常に注目すると、高水温で椎体の変形が増加し、23°C で神経棘の 2 叉が多くみられたが、脊椎骨屈曲、椎体癒合・欠損などと水温との間に一定の傾向は認められなかった。しかし、全体的な形態異常の出現率が 25~27°C で低かった。一方、鰓開腔・未開腔と形態異常との関係についてみると、形態異常の出現率は鰓開腔個体で 33%、鰓未開腔個体で 82% に達し、脊椎骨屈曲と椎体の変形はいずれも鰓未開腔の個体に有意に高かった。一般的に仔魚期、仔魚から稚魚への変態期、稚魚初期で大きな生理や行動とともに顕著な形態変化が起こることから、この期間における最適な飼育水温が 25~27°C であることを示唆できたことは意義深い。さらに、マハタでもマダイなどと同様に鰓の開腔が正常な形態形成に必要であるとする知見が得られた。

第Ⅲ章 鰓の開腔と形態異常

第Ⅱ章で仔稚魚の飼育適水温とともに脊椎骨屈曲と低い鰓開腔率との関係が示唆された。脊椎骨屈曲の原因として仔魚期における鰓の一次開腔不全が推察され、鰓の開腔を促進することで脊椎骨屈曲を防除できる可能性が示唆された。これまでマダイなど他の多くの魚種で、飼育水面の油膜除去が仔魚の空気呑み込み行動を促し、鰓の一次開腔率の上昇につながるということが報告されている。しかし、マハタでは仔魚期に表面張力に基づく大量の浮上死が発生し、その防除に油膜が利用されている。油膜は浮上死防除に有効であるが空気の飲み込み（鰓開腔）を阻害することから、油膜除去のタイミングを明らかにするために、詳細な組織学的検討とともにその有効性を飼育試験で確認しようとした。

まず、仔魚の組織学的観察で鰓の一次開腔が認められるのは尾椎屈曲前期であり、当該ステージ以前に油膜除去は実施するのが適切であることが推察された。そこで、仔魚の鰓の一次開腔と空気の飲み込みとの関連性を検証するため、油膜、油膜除去および流動パラフィン被膜のもとで飼育した。なお、油膜除去ではふ化後 10 日まで油膜下で、それ以降は油膜を除去して飼育した。また、流動パラフィン被膜は厚さ 7 mm になるよう試験水槽に注意深く注入した。油膜除去において鰓の一次開腔はふ化後 14 日から確認され、その最終的な開腔率は油膜および流動パラフィン被膜より顕著に高かった。この結果から、マハタ仔魚は主に水面で空気を飲み込んで鰓を開腔すること、また、鰓が開腔にはふ化後 11 日からの油膜除去が有効であることなどが示唆された。

しかし、油膜除去における鰓の開腔率が 40% と低かったことが懸念される。この原因として通気に基づく飼育水の不適切な流動が考えられたので、0.5 m³ 水槽に設置したエアストーンの通気量を 0.01, 0.05, 0.1 および 0.5 L/min に設定して飼育試験を行い、鰓の開腔率を調べた。開腔率は 0.5 L/min が他の通気量より有意に低かった。この通気量では水面下 5 cm の流速は 1~3 cm/sec であり、仔魚の空気の飲み込みが難しい速い水流であった。

本章の結果から、仔稚魚の飼育に当たってはふ化後 10 日までは油膜を設け、それ以降は油膜を除去して飼育し、0.5 m³水槽では 0.01~0.10 L/min の弱通気することで、鰾の開腔が促進され形態異常の発生を抑制できることが示唆された。しかし、本章での鰾の開腔率が比較的低かったことから、被膜除去や水流とは異なる因子が存在する可能性も残されている。

第IV章 飼育方法と稚魚の形態異常

他の魚種では脊椎骨の形態異常は仔魚期だけでなく、稚魚・成魚期でも不適切な飼育環境下で多く出現する。本章では、マハタ稚魚にも発生する脊椎骨屈曲の原因の一端を明らかにするため、給餌量と通気による水流が脊椎骨前・後湾症の出現に及ぼす影響を調べた。

0.5 m³水槽に体重 6.2 g の稚魚を 100 尾ずつ収容し、弱流速 (0.5 L/エアストーン)・少給餌 (日間給餌率 1.4%)、弱流速・多給餌 (日間給餌率 3.2%)、中流速 (1.5 L/エアリフト×2)・多給餌、強流速 (5.0 L/エアリフト×2)・飽食給餌 (日間給餌率 4.2%) で飼育した。なお、餌料として市販の稚魚用配合飼料を与え、飼育開始終了時には軟 X 線で鰾の開腔と脊椎骨屈曲を調べた。

終了時における鰾の開腔率は 72~89% であり、開始時の 44% より顕著に増加し鰾の二次開腔の進行を確認した。脊椎前湾は弱流速では少給餌より多給餌で多くみられた。この結果から、弱流速・多給餌の稚魚では配合飼料の過食で体比重の増加と腹部膨張に伴う異常な遊泳行動により、脊椎骨前湾症が多く出現した可能性が考えられる。一方、強流速・飽食給餌で脊椎骨後湾症が多く出現したのは、強流速下で長時間遊泳していたことを併せて考えると、過剰な遊泳で脊椎骨の負担が増大し発生したものと推察される。脊椎骨後湾症の屈曲角度が強流速と給餌量の増加で鋭角化したこともこの考察を裏付ける。このように、マハタでも稚魚期において水流や給餌量など飼育条件によって形態異常の発生することが示され、稚魚期における飼育水の流速および日間給餌率は、それぞれ 0.09 m/sec 以下および 2% 前後に設定することが望ましい。

これまでに記したように、本研究は重要な養殖対象魚種であるマハタの人工種苗量産化に資する数多くの新規な成果を得ている。また、これらの成果は今後のマハタ養殖の発展に直接的に貢献できる貴重なものでもある。よって、本論文は博士 (農学) の学位論文として価値あるものと認める。なお、審査にあたっては、論文に関する専攻内審査および公聴会など所定の手続きを経たうえ、平成 27 年 2 月 7 日、農学研究科教授会において、論文の価値ならびに博士の学位を授与される学力が十分であると認められた。