

ワムシへ投与するビタミンAの量及び期間がヒラメ白化個体、 形態異常魚の出現に及ぼす影響

三木教立・谷口朝宏・浜川秀夫
山田幸男・桜井則広

A comparative study on the occurrence of albinism
and abnormality in hatchery-reared flounder
Paralichthys olivaceus fed a diet of rotifers
whose rearing water contained
various amounts of vitamin-A

Noritatsu Miki, Tomohiro Taniguchi, Hideo Hamakawa,
Yukio Yamada and Norihiro Sakurai

これまでの実験では、ヒラメ *Paralichthys olivaceus* 仔魚期に脂溶性ビタミン類を投与したシオミズツボワムシ *Brachionus plicatilis* (以下、ワムシと略す) を給餌すると白化個体の出現率が低下することを明らかにした¹⁾。さらに、ビタミンA, D, Eを単独でまたは組合せて投与したワムシを与えた飼育実験では、これらビタミンのうち最も白化防除に作用しているのはビタミンAであることも確認した²⁾。ところで、ビタミンAを単独で投与したワムシを給餌すると成長や生残率に影響を及ぼさないが、尾柄部の形態異常魚が高率に発生することが判明した²⁾。すなわち、ビタミンAの単独投与は白化防除には有効だが、その投与量や投与期間はヒラメ仔魚本来の生理的要求量よりも過大であった可能性も考えられた。

ここでは、より効果的なビタミンAの投与方法を確立するために、ワムシに投与するビタミンAの投与量や投与期間による白化個体の出現率及び形態異常魚の出現率の変化をヒラメ仔稚魚の飼育実験により調べたので、その結果を報告する。

材 料 と 方 法

実験の区分 1989年4月1日-6月1日の間に計2回の飼育実験を実施した。すなわち、実験-IではワムシにビタミンAを投与する期間を一定にし、投与量を既報²⁾の1/10にした場合の白化個体の出現率と形態異常魚の出現頻度を調査し、実験-IIではビタミンAの一日当りの投与量を一定にし、投与期間を約 $\frac{1}{3}$ にした場合のそれぞれの出現率について調査した。

供試魚と飼育法 実験には、人工採苗して養成した親魚の水槽内自然産卵で得た卵を使用した。

実験-Iでは、1989年4月26日に採集した卵からふ化した6,000尾のふ化仔魚(平均全長 2.94 ± 1.78 mm)を供試した。飼育には、100ℓ黒色ポリエチレン水槽3個(A区, 1/10 A区,

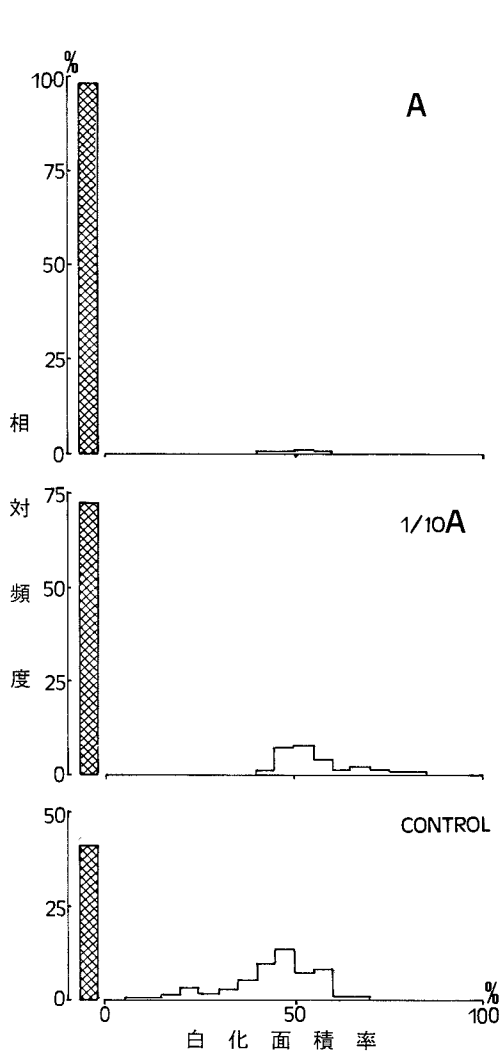


図1 実験-Iの白化面積率の個体頻度

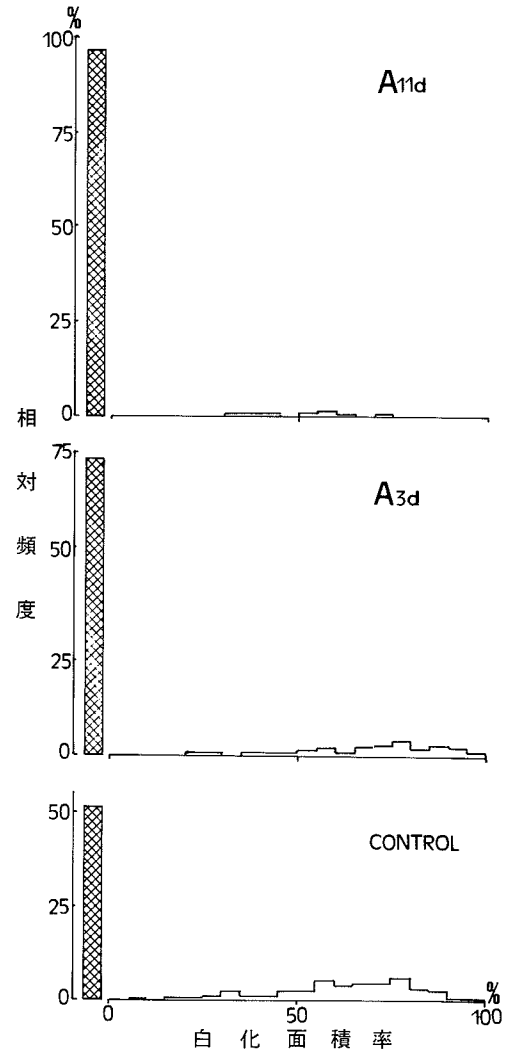


図2 実験-IIの白化面積率の個体頻度

対照区)を用いた。各水槽にはそれぞれ2,000尾のふ化仔魚を収容し、飼育実験を行った。飼育水を Waterbath 方式で加温したが、換水等の影響で日変化が大きく、その飼育水温は16.7-24.2℃(平均19.5℃)であった。換水をふ化後3日目から開始し、換水率を最大0.5回/日とした。ふ化から着底までの平均換水量は31.6ℓ/日であった。飼育期間を4月29日-6月1日までの33日間とした。

実験-IIでは、1989年4月2日に採集した卵からふ化した7,500尾のふ化仔魚(平均全長 2.97 ± 1.25 mm)を供試した。飼育には、100ℓ黒色ポリエチレン水槽3個(A_{11d}区、A_{3d}区、対照区)を用いた。各水槽にはそれぞれ2,500尾のふ化仔魚を収容し、飼育実験を行った。飼育方法は実験-Iに準じたが、その飼育水温は15.5-23.2℃(平均19.7℃)であった。また、着底までの平均換水量は31.2ℓ/日であった。飼育期間は1989年4月6日-5月1日までの25

日間とした。

餌の種類と給餌期間 ワムシ、アルテミア *Artemia* sp. 幼生（以下、アルテミアと略す）を餌料とした。ワムシをナンノクロロプシス *Nannochloropsis* sp. (約 2,000 万 cells/ml) 及びパン酵母で培養し、さらにニフルスチレン酸ナトリウム（エルバージュ 10% 顆粒）0.25 ppm とナンノクロロプシス、油脂酵母（約 0.25 g/l）で 16 時間の薬浴と二次培養を同時に行った。これを各実験区ともふ化後 1 日目から投与した。北米産のアルテミア耐久卵を水温 28°C で約 22 時間かけてふ化させ、乳化油脂剤（オリエンタル酵母社製、エステル 85）10 ppm で 3 時間以上栄養強化した。これを実験-I ではふ化後 11 日目以降、実験-II では 17 日目以降与えた。

給餌量 実験期間中は毎日各試験区とも同量の餌料を与えた。すなわち、1 試験区当りの給餌料は実験-I ではワムシが 3.89×10^7 個、アルテミアが 7.19×10^6 個であり、実験-II ではそれぞれ 2.92×10^7 個、 1.69×10^6 個であった。

ビタミンA可溶化液のワムシへの投与方法 実験-I の A 区、1/10 A 区及び実験-II の A_{11d} 区、A_{3d} 区ではビタミンA可溶化液（Dupher 社製、デュファゾール A 100 S）を直接ワムシ培養水へ投与した。この投与を二次培養終了 2 時間前に行った。実験-I の A 区、実験-II の A_{11d} 区、A_{3d} 区ではビタミンA量で 50,000 IU/l、また実験-I の 1/10 A 区では 5,000 IU/l となるようにビタミンA可溶化液の投与量を調整した。これらのビタミンを投与したワムシの給餌については、実験-I で平均全長 6.3-9.6 mm の 8 日間、実験-II の A_{11d} 区で 6.7-10.0 mm の 11 日間、A_{3d} 区で 8.0-8.2 mm の 3 日間に限定し、この期間以外ではビタミンA可溶化液を投与していないワムシを与えた。また、対照区では終始ビタミンA可溶化液を投与していないワムシを与えた。

白化個体の出現率、白化面積率^{*}の測定 有眼側の白化個体の出現率（白化個体数×100/全調査尾数）（%）、有眼側の白化面積率（白化部位の面積率×100/有眼側の体表面積）（%）の測定を実験-I ではふ化後 33 日目、実験-II では 25 日目に行った。この測定には、体色発現ステージに達している個体の中から 1 試験区当たり 200 尾以上を抽出し、生体のまま撮影した写真によって実施した。

結 果

実験-I、II の白化個体の出現率を白化面積率 5 % でヒストグラムした結果をそれぞれ図 1、図 2 に示した。

実験-I の結果 白化個体の出現率は A 区で 1.8%、1/10 A 区で 27.8%、対照区で 58.8% であった。正常個体を含めた全個体の平均白化面積率は A 区で 1.0%（Pigment Index 99.0%）、1/10 A 区で 15.5

表 1 実験-I の成長、生残率及び形態異常魚の出現率

試験区	期間 (日令)	収容尾数 (尾)	全長 (mm) (平均±SD)	生残率 (%)	形態異常魚の 出現率 (%)
A	4/29-6/1	2,000	12.2±0.80	45.3	62.0
1/10A	(33)		12.1±1.11	49.5	13.7
対照区			12.1±0.55	40.9	0

* 京都大学水産実験所・東京水産大学（1984）は昭和 58 年度健苗育成技術開発委託報告書で 100-全個体の平均白化面積率を Pigment Index としている。

% (同 84.5%), 対照区で 26.3% (同 73.7%) であった。なお、白化個体の出現率について A 区と 1/10 A 区の差の検定, さらに 1/10 A 区と対照区の差の検定では, それぞれ 1% の危険率で有意差が認められた。

表 2 実験-Ⅱの成長, 生残率及び形態異常魚の出現率

試験区	期間 (日令)	収容尾数 (尾)	全長 (mm) (平均±SD)	生残率 (%)	形態異常魚の 出現率 (%)
A _{1/10}	4/6-5/1	2,500	12.5±0.53	94.0	7.1
A _{3/10}	(25)		13.2±0.92	84.4	2.7
対照区			12.1±0.55	92.4	0

実験-Ⅱの結果 白化個体の出現率は A_{1/10} 区で 3.9%, A_{3/10} 区で 26.6%, 対照区で 49.0% であった。正常個体を含めた全個体の平均白化面積率は A_{1/10} 区で 2.0% (Pigment Index 98.0%), A_{3/10} 区で 18.6% (同 81.4%), 対照区で 29.9% (同 70.1%) であった。なお、白化個体の出現率について A_{1/10} 区と A_{3/10} 区の差の検定, さらに A_{3/10} 区と対照区の差の検定では, それぞれ 1% の危険率で有意差が認められた。

成長, 生残率及び形態異常魚の出現率 実験-Ⅰ, Ⅱの成長, 生存率及び形態異常魚の出現率を表 1 と表 2 に示した。実験-Ⅰでは, 成長, 生残率に試験区ごとで顕著な相異は認められなかった。これは実験-Ⅱでも同様な結果であった。しかし, 実験-Ⅰ, Ⅱの対照区以外の試験区では尾柄部の形態異常魚が出現した。なお, その出現頻度について実験-Ⅰの A 区と 1/10 A 区の差の検定では 1% の危険率で有意差が認められたが, 実験-Ⅱの A_{1/10} 区と A_{3/10} 区の差の検定では 1% の危険率で有意差は確認されなかった。

考 察

ビタミン A 投与ワムシの白化防除効果の再現性 筆者らは, 今回の飼育実験も含め計 6 回のビタミン A を投与したワムシを用いた白化防除実験を行った²⁾。いずれの場合も, ビタミン A を投与したワムシで飼育した方がビタミン A を投与しないワムシを用いた場合より白化個体の出現率は著しく低く, ビタミン A を投与したワムシの白化防除効果の再現性を確認した。ところで, 今回の飼育実験ではビタミン A の投与量を 1/10 にすると白化個体の出現率は上昇する傾向がみられ, これは脂溶性ビタミン類 (A, D₃, E) の投与量を変えた飼育実験結果³⁾とも良く一致した。すなわち, これまでの脂溶性ビタミン類 (A, D₃, E) 可溶化液を用いた白化防除実験では, この中のビタミン A のみが白化防除に作用している可能性が強まった。一方, ビタミン A の投与期間を 11 日間から 3 日間に短縮した場合でも白化個体の出現率が上昇する傾向がみられた。飼育仔魚の大きさにはばらつきが存在するため, ビタミン A の投与期間を短縮することで, 白化誘起の発育段階 (全長 8 mm 前後⁴⁾) にビタミン A 投与ワムシを摂取できない個体が増加することも一因として考えられた。

このように, ワムシに投与するビタミン A の投与量や投与期間を縮小することは十分な白化防除効果が得られないことが判明した。しかし, ビタミン A の総投与量ではこれまでで最も白化防除効果が得られた量と期間⁵⁾, すなわち 50,000 IU/ℓ, 11 日間に比較し, 今回の投与量の飼育実験ではビタミン A 総量で 1/10, また投与期間の飼育実験では 1/3 以下であり, 今後はビタミン A 総投与量を一定にした場合の白化個体の出現率の調査も必要であろう。

ビタミンAの投与量、投与期間による形態異常魚の出現率の変化 これまでの実験²⁾と同様、ビタミンAを単独で投与したワムシを給餌すると、形態異常魚が出現した。しかし、投与期間を $\frac{1}{2}$ 以下に短縮してもその抑制効果は明確でなかったものの、投与量を $\frac{1}{10}$ にした場合はその出現率は低下し、形態異常魚の出現を抑制する効果が認められた。すなわち、ビタミンAの多量投与による障害はごく短期間に外部から高濃度のビタミンAが与えられることによって引き起される可能性が強まった。今後は、仔魚体内でのビタミンAの挙動を把握し、効果的な白化防除策を確立する必要がある。

要 約

効果的なビタミンAの投与法を確立するために、ワムシに投与するビタミンAの投与量や投与期間による白化個体や形態異常魚の出現頻度の変化をヒラメ仔稚魚の飼育実験により調べた。

- 1) ビタミンAの投与期間を11日間から3日間に短縮すると、白化個体の出現率は上昇した。
- 2) ビタミンAの投与量を $\frac{1}{10}$ にすると、白化個体の出現率は上昇した。
- 3) ビタミンAの投与量を $\frac{1}{10}$ にすると、形態異常魚の出現率が減少したが、投与期間の短縮では形態異常魚の出現率の顕著な減少はみられなかった。

文 献

- 1) 三木教立・谷口朝宏・浜川秀夫 (1988) : ヒラメの白化出現に及ぼす脂溶性ビタミン類投与ワムシの効果 (予報). 水産増殖, 36 (2) ; 91-96.
- 2) 三木教立・谷口朝宏・浜川秀夫・山田幸男・桜井則広 (1990) : ビタミンA投与ワムシ給餌によるヒラメ白化防除. (水産増殖投稿中).
- 3) 三木教立・谷口朝宏・浜川秀夫 (1989) : 脂溶性ビタミン投与ワムシによるヒラメ白化防除と好適ビタミン量. 水産増殖, 37 (2) ; 109-114.
- 4) 福所邦彦・難波秀博・山本剛史・山崎芳恵・季 明哲・青海忠久・渡辺 武 (1987) : ヒラメ白化防除のためのマダイ卵の効果的給餌法. 養殖研究, (12) ; 1-7.