

応用技術研究部

種苗生産技術開発試験（^県 ^単 平成11年度～

（ブリの早期採卵技術の開発）

1 緒言

ブリは、約6千5百tの養殖生産量があり、本県における重要な養殖魚種の1つである。ブリの養殖は天然海域で採捕された稚魚（モジャコ）を飼育することにより行われているが、近年、モジャコの採捕量は不安定であり、漁家経営を圧迫している1つの要因となっている。また、天然海域のモジャコ採捕は、ブリ資源に影響を与えているとの指摘もあり、養殖用人工種苗の安定供給が急務とされている。

そこで、財団法人熊本県栽培漁業協会と共同でブリの採卵技術及び種苗生産技術を開発し、養殖種苗の供給を安定化させる試験を実施している。なお、平成12年度は、本研究では早期採卵技術の確立を目的に試験を実施した。

2 方法

(1) 担当者 山下幸寿、深浦雄一、倉田清典

(2) 試験方法

ア 供試魚

平成11年5月14日及び平成12年5月19日に牛深市の養殖業者によって養成されたブリ（魚体重4～5kg）を、それぞれの年に雌雄20尾ずつ合計80尾を購入し、財団法人熊本県栽培漁業協会の海面7m角形金網生け簀に収容し飼育を行った。なお、雌雄は、購入時、腹部を圧迫した際に、精液を出したものを雄として判別した。

イ 採卵試験

栽培漁業協会の生け簀の水温が19℃に低下した平成12年11月28日に、飼育魚の約半数の35尾を、活魚トラックにより当センターの100kLコンクリート製回遊水槽に輸送した。

水槽収容時にはハダムシ(*Benedenia seriolae*)を駆除するために淡水浴を行い、雌魚の背筋部に1mg/尾のLHRH(Leutenizing hormone-Releasing hormone：黄体形成ホルモン放出ホルモン)コレステロールペレットを埋め込んだ。

その後、11月29日から蛍光灯による22時までの長日処理を行い、さらに平成13年1月12日から午前0時まで電照を延長した。

給餌は1日1回、昨年度の反省を踏まえ表1に示す割合で、当センターで作成したモイストペレットを凍結した状態で飽食するまで与えた。

飼育水槽は加温を行い、19℃を維持させた。また、注水は別に加温水槽を設け、水槽海水が4～6回転になるように砂ろ過海水及び簡易口過水を注入するとともに、ポンプと砂ろ過水をつないで循環ろ過を行った。さらに、循環水の注水口にY社製の酸素濃縮器を設置し、溶存酸素の低下に対応した。また、給餌後には半量を換水し、水槽の汚れに応じて底掃除を実施した。なお、産卵開始時期には、卵の回収のために循環を止めた。

魚体測定は約1ヶ月毎に実施し、体重、尾叉長、カニユーレにより卵径を測定した。また、水温、pH、DO、給餌量については毎日測定を行った。

表1 水産研究センター作成のモイストペレットの内容

冷凍魚介類	割合 (%)
赤アミ	37.0
アジ	24.7
イワシ	12.3
市販配合餌料	24.7
フィードオイル	0.6
総合ビタミン剤	0.6

3 結果

(1) 供試魚の状況

本年度は、(財)熊本県栽培漁業協会においては、金網生け簀に収容して飼育を実施したため、ハダムシの寄生は少なく餌食いも順調で良好な飼育状態が保てた。

当センター搬入後は、産卵に適した肥満度である20以上を目的として飼育を行った結果、表2に示すように、平成12年11月28日(当センター搬送時)に平均で17.7であった肥満度が、平成13年1月16日までに平均で21.1と増加し、昨年同様約2ヶ月間の飼育で、目標の肥満度まで向上させることができた。

また、1月中旬以降、頻繁に体表を水槽底にすりつける行動が見られた。水槽底に体表をする行動は、ブリの産卵期の生理的な行動であるといわれているが、本年度は数尾が三日月型に体表がはげ落ちるなど、昨年度より激しい状況が見られた。これは、産卵が予想される直前から換水量(3~4回転/日)を落としたりした結果、2月中旬以降ハダムシ及びエラムシの寄生が増加したためであると考えられる。

表2 魚体測定結果

項目/測定月日	11月28日	12月27日	1月16日
雌 平均尾又長(cm)	76.9	76.9	76.9
(21尾) 平均体重(g)	8,114	9,125	9,605
平均肥満度	17.8	19.1	21.5
雄 平均尾又長(cm)	74.3	77.2	77.3
(14尾) 平均体重(kg)	7,210	8,822	9,550
平均肥満度	17.6	20.1	20.6

(2) 成熟状況

カニユールによる成熟度調査結果を表3に示した。平成12年12月27日のカニユールによる成熟度調査では、平均115 μ mであった卵径が、平成13年1月16日には平均卵径が585 μ mと成熟が進み、卵黄への蓄積が終わるとされる700 μ m(第3卵黄期)まで間近な状況となった。また、図1に示すように、昨年同様1月中旬以降摂餌量が急激に低下し、産卵に向けた成熟が進んだことが確認された。

表3 成熟度調査結果

項目/測定月日	12月27日	1月16日	2月13日
平均卵径(μ m)	115	583	退行卵
最大卵径(μ m)	207	800	

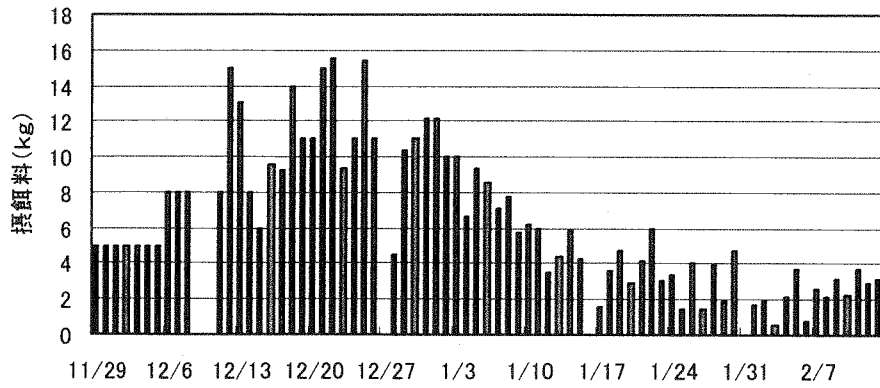


図1 プリの摂餌量の変化

(3) 産卵刺激

平成13年1月16日及び1月29日に飼育水槽の水温を14～15℃に設定し、翌日午前9時まで約15℃の状態を継続させた後、再び午後4時まで19℃に上昇させ、以後19℃を維持した。

(4) 産卵状況

本年度は、昨年度の再現試験として位置づけて試験を実施してきた。しかしながら、二度産卵刺激をかけたものの、自然産卵により受精卵を得ることはできなかった。この原因としては、下記のことが原因であると考えられる。

- ① 産卵に備え、循環口過を停止し砂口過水の注水量を増加させたこと及びボイラーの故障等のため、産卵刺激直前直後に水温が低下する状態(2～3.5℃)が継続した。
- ② 雌雄の比率が雄1：雌2であったため、雄による産卵誘発が少なかった可能性がある。

また、自然産卵が不調に終わったので、2月中旬にHCG(性腺刺激ホルモン)を用いて人工採卵を試したが、表3に示したようにほとんどの卵が退行卵となっていたため、約1万個程度の受精卵を得ることしかできなかった。なお、生殖腺指数を調べたが、(財)日本栽培漁業協会産卵時に調査された指数より低い状態にあった。

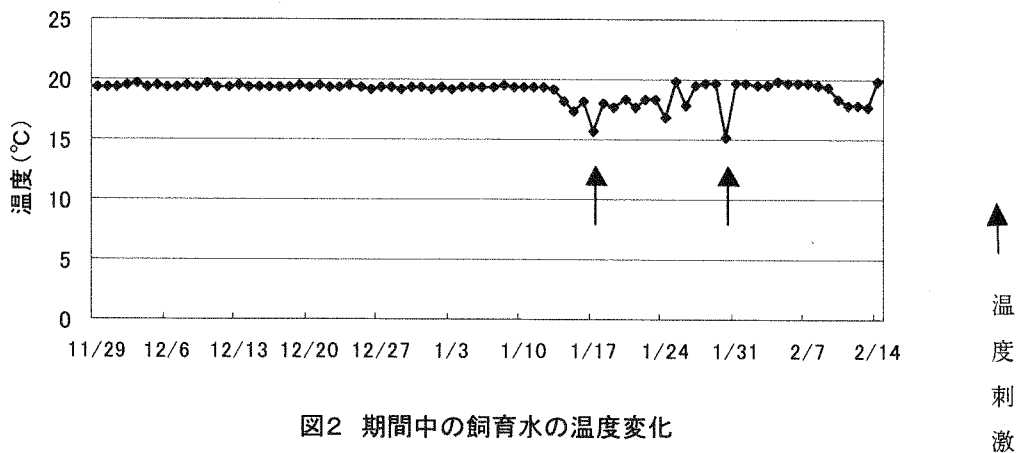


図2 期間中の飼育水の温度変化

4 今後の課題

本年度は、産卵が不調に終わり、低水温刺激による自然産卵を確立することができなかった。そのため、今後は下記のことについて改善をはかる必要があると思われる。

- ①今年度残留群と新規購入群とを隔離飼育し、雌雄の比を一定にできるようにする。(不可能である場合は、タグ等により、購入年度及び雌雄を明確に分ける。)また、新規購入群の雌雄の割合を(雄5：雌3)とする。
- ②飼育水の飼育温度を一定にするための方策の検討を行う。
- ③生殖腺指数が低かったことに対応し、陸上水槽に移送する時期を11月上旬とするとともに、成熟飼育中に与える餌の見直しを行う必要がある。
- ④受精卵を確実に得るためには、人工授精区と自然採卵区の2区を設ける必要がある。
(自然産卵区では温度刺激をかけた後、約1週間後で産卵するため、その後に人工授精を実施した場合、適期を逃す可能性があるため)

品種改良効率化基礎技術開発研究 (国庫委託)

(平成9年度～)

(アコヤガイのストレス耐性系統作出技術開発)

1 緒言

真珠養殖においては、貝柱の赤変化を伴う母貝の大量死が真珠業界に大きな打撃を与えている。この疾病は感染症が原因とされているが、その病原体の究明には至っていない。この大量死が高水温期に発生していることから、高水温選抜を行った親貝から生産されたアコヤガイの高水温に対するストレス耐性を評価し、育種形質としての有効性を判定することで「高水温ストレスに強いアコヤガイ系統」の作出技術を開発する。また、高水温耐性と血リンパ中タンパク質濃度との関連について、高水温耐性の持つ生理的な要因について検討する。

2 方法

(1) 担当者 山下幸寿, 菊川里香, 深浦雄一, 倉田清典

(2) 試験方法

ア 高水温耐性各世代貝の作出

継代を重ねることによりさらに、形質が固定されるかを明らかにするため、熊本県栽培漁業協会産高水温選抜1世代から高水温選抜を実施せず種苗生産した群、及びその貝を高水温選抜(高水温+高タンパク質選抜)した群から種苗生産した群(2世代)の高水温耐性試験を実施した。作出は、供試貝を5月より飼育水温を20℃に保ち成熟養成を行い、雌雄それぞれ10個体ずつを、1時間干出し、25℃に昇温した紫外線滅菌海水による水温刺激を用いて、自然産卵による採卵を行った。また、併せて、同様の方法で高知県竜串産の高水温耐性貝及びコントロール貝を作出した。

イ 高水温耐性試験について

継代を重ねることにより高水温耐性が増すのかを把握するため、協会高水温耐性第1世代及び協会高水温耐性第2世代貝(以下それぞれ「協1」, 「協2」という)の高水温耐性試験を実施した。試験方法は、自然水温から1℃/日ずつ上昇させ、最終的には34.3℃まで上昇させ、その間のへい死状況を比較した。

また、同様の方法で昨年度作出した高水温耐性第3世代, 愛媛高水温耐性第2世代, 高知高水温耐性第1世代(以下それぞれ「HW3」, 「愛2」, 「高1」という)の高水温耐性試験を実施した。

ウ 血リンパ中の粗タンパク質濃度を左右させている物質について

高水温選抜した貝は、血リンパ中の粗タンパク質が高くなることは、これまでの試験結果から明らかになってきている。血リンパ中の粗タンパク質濃度は、貝の身入り度状態を示す指標になることや、様々な酵素活性に関わっていることが報告されている。

そこで、今回は、粗タンパク質中のタンパク質部分及び非タンパク質部分のどちらが高低に関与しているのか明らかにするための分析を実施した。なお、タンパク質部分と非タンパク質部分の分割は、TCA(三塩化酢酸)を用いて行った。

3 結果及び考察

(1) 高水温耐性各世代貝の作出

「協1」, 「協2」, 高知県竜串産の高水温耐性第1世代及びそのコントロールは、6月中旬から7月初旬にかけて種苗生産を行い、それぞれの区とも数十万単位の稚貝が得られた。その内、「協1」では、付着幼生期に一部へい死がみられた。現在、作出した貝は、当センター沖イカダで飼育中である。

(2) 作出稚貝の高水温耐性試験

継代を重ねることにより、高水温耐性が強くなるのか把握する意味で、「協1」及び「協2」を用いて、11月29日より高水温耐性試験を実施した。その結果を、図1に示すが「協1」、「協2」ともほとんどへい死が起こらなかった。当初の選抜温度(35℃)に耐性を持つ貝は、高水温選抜を一回実施すればその耐性を持たせることができる可能性が示唆された。

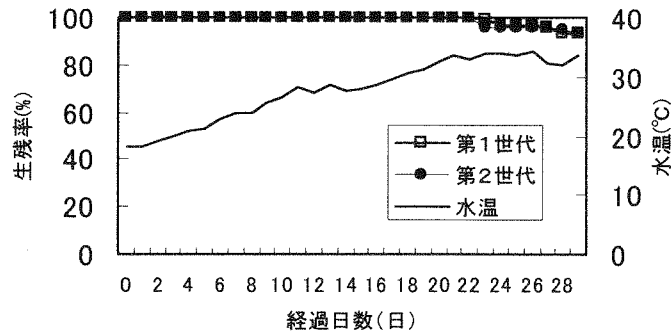


図1 各世代の高水温耐性試験結果

(3) 昨年度作出した「HW3」、「愛1」、「高1」の高水温耐性試験

昨年度作出し、当センター沖イカダで約1年半の間飼育した「HW3」、「愛1」、「高1」の高水温耐性試験を実施した。なお、高知県竜串産の天然種苗を昨年購入し、県内養殖業者が飼育していたアコヤ貝をコントロールとした。

その結果を図2に示すが、「HW3」、「愛1」、「高1」、「コントロール」の順に高水温に対する耐性があることがわかった。

この結果より、継代を重ねることにより程度は不明であるが高水温耐性が強くなっていく可能性が示唆された。

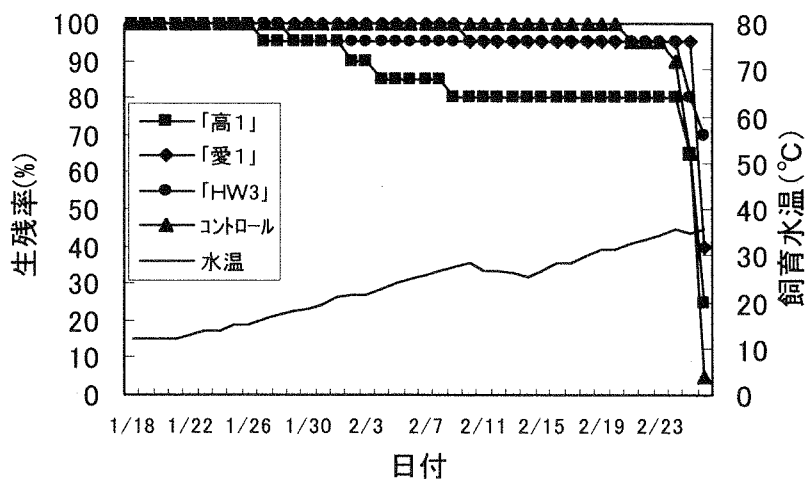


図2 昨年度作出した貝の高水温耐性試験

(4) 血リンパ中の粗タンパク質濃度を左右させている物質について

血リンパ中の粗タンパク質中のタンパク質部分及び非タンパク質部分の組成を図3に示す。この図からわかるように、粗タンパク質濃度を左右させているものは、アミノ酸やペプチドといった非タンパク質でなく、タンパク質であることがわかった。

そのため、今後どのようなタンパク質が血リンパ中の濃度を左右しているのかを明らかにしていくとともに、その機能について検討していく必要があると思われる。

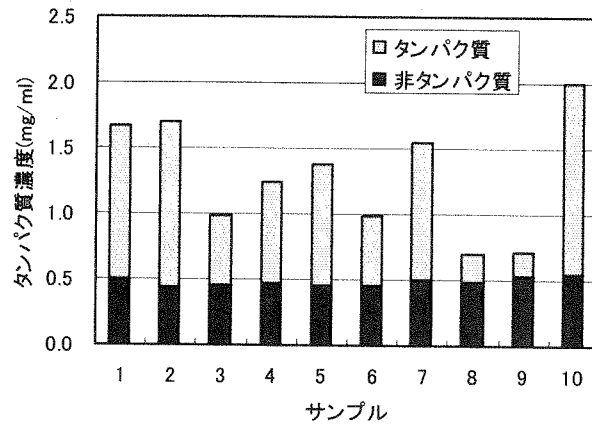


図3 血リンパ中粗タンパク質の組成

4 結果活用等

本選抜手法は、(財)熊本県栽培漁業協会において種苗生産され、県内に配布されているアコヤガイ稚貝の親貝の選抜に利用されている。平成12年度4月に種苗生産された稚貝は、現在順調に生育している。

地域先端技術共同研究開発促進事業 (国庫補助)

(平成8年度～)

(染色体操作によるマダイ・ヒラメの優良種苗の生産技術)

1 緒言

この事業は昭和61年度～平成7年度まで実施された地域バイオテクノロジー研究開発促進事業で開発された染色体操作による養殖用優良種苗の生産技術を、実用化に向けて研究を行うものである。対象魚種としてはマダイとヒラメで、マダイについてはクローン魚の作出、ヒラメについては雌性化魚の実用化について試験を行った。

なお詳細は「平成12年度先端技術等地域実用化研究促進事業報告書、マダイ・ヒラメの優良形質固定化技術等の高度化 平成13年3月 熊本県」で報告した。

2 方法

(1) 担当者 菊川里香、深浦雄一、山下幸寿、倉田清典

(2) 試験方法

ア マダイ

(7) 雌性発生群 F1 および F2 の作出

平成12年5月に天然魚第1世代群から極体放出阻止型雌性発生群 F1 および極体放出阻止型雌性発生魚 F1 から F2 の作出を試みた。極体放出阻止条件は、受精3分後に水温1～2℃の低水温海水に15分間浸漬する方法で行った。

(イ) 耐病性選抜群 F1 の作出およびイリドウイルス感染による選抜

平成12年5月にイリドウイルス選抜群と天然魚第1世代群からそれぞれ次世代を作出し、これらのほか前述で作出した雌性発生群 F1 群及び F2 群を用いて8月にイリドウイルス感染試験を行った。試験1では全尾数の1割にイリドウイルスを感染させ、試験2では全尾数にイリドウイルスを感染させた。また、それぞれの試験でワクチン区を設けた。

イリドウイルス感染の有無は、PCR、鰓の褐色点の確認、及び単クローン抗体法により調べた。また、感染試験に用いた個体を平成12年10月～11月にそれぞれ10尾(一部4尾)から脾臓DNAを抽出してPCRを行い、イリドウイルスDNAの有無を調べた。

イ ヒラメ

(7) 全雌生産種苗の養殖特性評価

水産研究センターで養成した全雌生産用親魚群(通常雌+性転換雄)を用いて県内種苗生産業者で早期種苗生産を行い、養殖業者に出荷した種苗を平成12年12月に性比及び成長を調査した。

(イ) ストレス負荷(コルチゾール投与及び高密度)による雌性化魚の性転換試験

平成12年1月に作出した遺伝的全雌群を用いて日齢30～100日に飼育密度200尾/kLでコルチゾールを1、10、100 μ g/g dietの濃度で投与する区、コルチゾール(100 μ g/g diet)とエストラジオール-17 β (1 μ g/g diet)の混合投与区(コルチ+E2)、高密度(1,000尾/kL、日齢100日から400尾/kL)飼育を行う区、対照区(コルチゾール無投与、200尾/kL)を設け、平成12年12月にそれぞれの区の性比を調査した。

3 結果及び考察

(1) マダイ

ア 雌性発生群 F1 および F2 の作出

極体放出阻止型雌性発生群 F1 および F2 の作出を試みた結果、F1 群は日齢 44 で 1,620 尾、F2 群は日齢 56 で 289 尾得られた。

イ 耐病性選抜群 F1 の作出およびイリドウイルス感染による選抜

試験 1 では選抜群 F1、雌性発生群 F1、対照群、対照群（ワクチン）を用いてイリドウイルス感染試験を行った結果、最終生残率はイリド選抜群 F1 が 37.9%、51.1%、対照群が 23.6%、対照群（ワクチン）が 53.4%、雌性発生群 F1 が 8.6%、21.3%、25.2%であった。選抜群の生残率が対照群に比べて高く、対照群（ワクチン）とほぼ同等かやや落ちる程度の生残で選抜による生残率の上昇が示された。なお、雌性発生群 F1 の生残率は対照群より高いものや同じぐらいのものがあつた（図 1）。

試験 2 では雌性発生群 F2、対照群、対照群（ワクチン）を用いてイリドウイルス感染試験を行った結果、最終生残率は雌性発生群 F2 が 7.0%、対照群が 2.6%、対照群（ワクチン）が 41.5%であった。雌性発生群 F2 は対照群に比べると生残率がやや高かったが、対照群（ワクチン）に比べると著しく低かった。これはもともと選抜を行っていない雌性発生魚を親魚に用いたためであると思われた（図 2）。

今回の結果から選抜によりワクチンと同等のイリドウイルス耐性の上昇が見られており、雌性発生を用いた形質の固定化、耐性マダイの作出が期待される。

試験経過については、試験 1 では試験開始後 6 日目と 14 日目頃の 2 回死亡のピークがみられるが、これは全尾数の 1 割にイリドウイルスを感染させたため 2 回目は水平感染による死亡と思われた。試験 2 では全尾数にイリドウイルスを感染させたため試験開始後 6 日目頃の 1 回しか死亡のピークがみられなかった。

すべての試験区において、死に始めと死亡ピーク時及び感染試験終了時供で鰓の褐色点の確認及び単クローン抗体法により調べた結果、供試魚へのイリドウイルス感染が確認された。また、感染試験終了後に生残魚のイリドウイルス DNA の有無を調べた結果、98%の個体が 1stPCR で検出され、NestedPCR では 99%の個体で検出された。

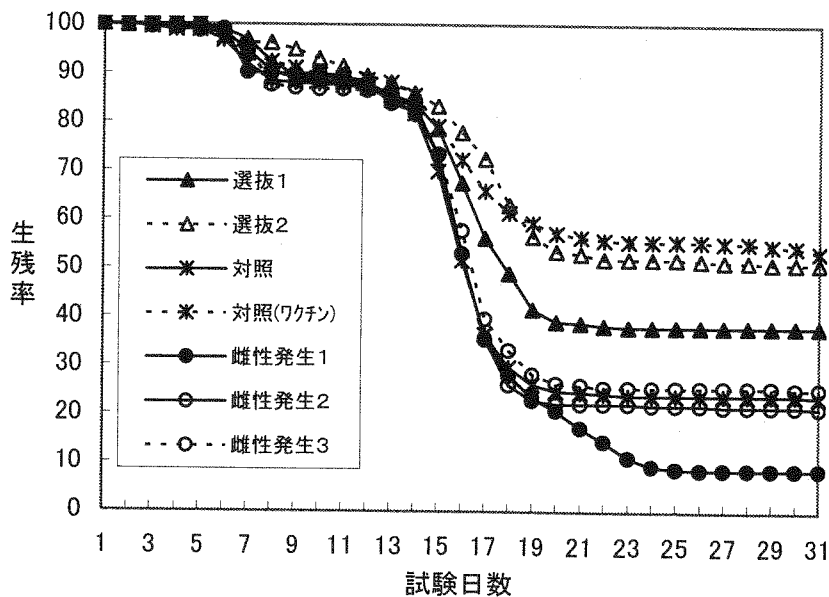


図 1 試験 1 における各群の生残率の推移

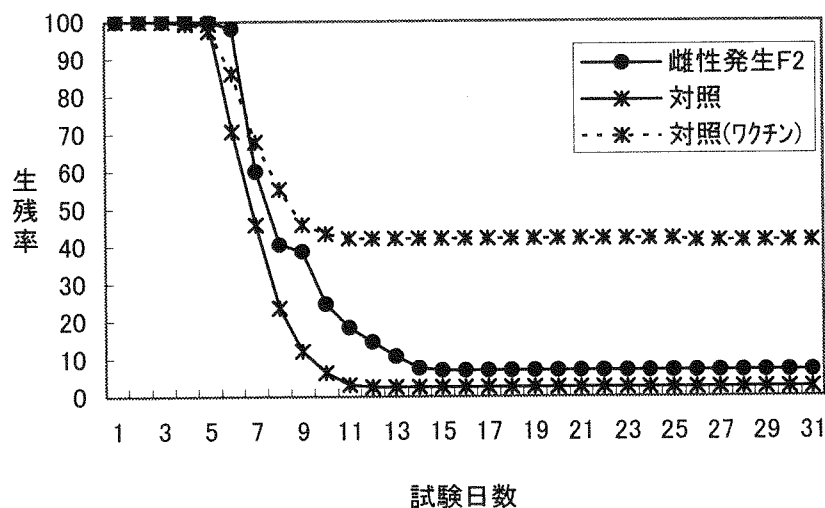


図2 試験2における各群の生残率の推移

(1) ヒラメ

ア 全雌生産種苗の養殖特性評価

全雌生産種苗の養殖特性を調べた結果、今年度の調査も雌の割合は100%であったにもかかわらず、2年続けて平成7年度に行った飼育試験に比べて平均全長及び体重が劣っていた(表1)。量産種苗になってからは他養殖種苗より成長が良好な結果が得られず養殖業者からは優良種苗としての評価が得られなかった。

表1 養殖業者で飼育された全雌生産種苗の調査結果

養殖業者	A	A	B	A	C
採卵年月	平成12年1月	平成11年1月		平成7年1月	
測定年月	平成12年12月	平成11年12月		平成7年12月	
測定尾数	20	20	20	41	45
平均全長 (mm)	280.7	250.5	280.6	376.0	315.6
平均 250.6	190.6	270.8	699.8	355.7	
雌の割合 (%)	100	100	100	100	100

イ ストレス負荷(コルチゾール投与及び高密度)による雌性化魚の性転換試験

コルチゾール投与によるストレス負荷の各試験区における雌の出現割合は、対照区が96.7%であったのに対して、コルチゾールを1、10、100 μ g/g dietの濃度で投与する区では、それぞれ81.6、70.6、50.0%とコルチゾール濃度に伴って減少した。なお、コルチ+E2区の雌の出現割合は100%であり、コルチゾール投与による性転換はエストロゲン量の減少によるものと考えられた。

一方、高密度試験区の雌の出現割合は96.2%であり、対照区(96.7%)と遜色なく、雄化の現象は観察されなかった。

4 謝辞

本事業を行うに当たっては、(財)熊本県栽培漁業協会中村真敏技師に多大な御尽力をいただきました。ここに深く感謝いたします。

遺伝子利用技術開発試験 (県 単)

(平成8年度～)

(病原体の遺伝子を利用した魚病対策技術開発)

1 緒言

生物の遺伝的多様性は、環境の変動への生物の適応力の源泉であるとともに、生物進化の素材ともなりうる生物の基本的特性である。また、遺伝的変異は、野生集団の遺伝的多様性の指標として用いられている。

近年、人工種苗が天然水域へ大量に放流されているが、このような人工種苗の遺伝的特性の把握は、必ずしも十分に行われてきておらず、種苗放流という人為的行為が野生集団の遺伝的特性(多様性)にどのような影響を与えているかについては未解決の状態である。

そこで、本研究では、天然で採捕されたマダイと人工種苗されたマダイの遺伝的特性の把握を目的とし、試験を実施した。

2 方法

(1) 担当者 山下幸寿、菊川里香、深浦雄一、中村真敏(熊本県栽培漁業協会)

(2) 試験方法

ア 供試魚

天然魚は、本渡市漁協で水揚げされた天然マダイを購入し、そこから鼻孔連結魚を除き、供試魚とした。

一方、放流魚は、県内の種苗生産業者が生産した稚魚(親魚群は天然魚)を購入し、供試魚とした。

イ DNAの抽出及び増幅

DNAは、TNE-S-U(8M)を用いたDNA抽出法により抽出した。その後、このDNAを鋳型DNAとして、以下の条件でPCRを行い、mtDNAのDループ領域を含むDNA断片を増幅した。

※PCR条件

- ・プライマー配列 下流 CATATTAAACCCGAATGATATTT(5'→3')
- 上流 ATAATAGGGTATCTAATCCTAGTTT(5'→3')
- ・反応条件

第1ステップ	94℃ 1分	1サイクル
第2ステップ	94℃ 1分	} 30サイクル
	45℃ 1分	
	72℃ 2分	
第3ステップ	72℃ 7分	1サイクル

ウ RFLP(制限酵素断片長多型)の分析方法

まず、イのPCR産物を5つの制限酵素を用い切断を行った。その反応条件及び使用した制限酵素は下記のとおりである。

・使用した制限酵素

Hae III, *Hinf* I, *Msp* I, *Taq* I, *Rsa* I

・反応条件

制限酵素 3U, 10×buffer 1μ, PCR産物 4μ, 蒸留水 4.5μ

・反応時間

37℃で1昼夜(*Taq* Iのみ 65℃)

・多型の確認

サブマリン電気泳動装置（ミュービッド）を用いて多型の確認を行った。

3 結果及び考察

(1) 5種類の制限酵素による切断型と推定分子長

本試験で出現した各酵素の制限酵素断片長多型を表1に示す。*Hha* IIIは単型であったが *Hinf* I, *Msp* I, *Taq* I 及び *Rsa* I については、多型が見られ2～4の切断型が見られた。また、マーカーの移動度から、次式に示すような近似曲線を求め、各制限酵素断片長多型の分子長を推定した。

$$N = e((M-a)/b) \quad N: \text{分子長}, M: \text{移動度}$$

表1 マダイmtDNA D-loop領域における各制限酵素による切断型と推定分子長

<i>Hha</i> III		<i>Msp</i> I		<i>Hinf</i> I		
A	B	A	B	A	B	←切断型
1173		754	604	1488	892	← DNA断片の分子長(bp)
561		604	450	215	499	
222		361	361	182	215	
173		215	232	148	182	
			215		148	

<i>Taq</i> I			<i>Rsa</i> I			
A	B	C	A	B	C	D
969	543	1573	564	564	564	564
513	417	353	423	515	303	442
325	349	170	298	294	260	369
159	159		252	248	207	260
			153	153	153	153
			131	131	131	131

(2) 天然魚及び放流魚の切断型

各酵素による切断型を *Hae* III, *Msp* I, *Hinf* I, *Taq* I, *Rsa* I の順に組み合わせ、天然魚及び放流魚のタイプ別頻度を表2に示す。

表2 天然魚及び放流魚の各酵素による切断型別出現頻度

各酵素切断型	天然魚	放流魚
A A A A A	2	
A B A A A	1	
B B A A A	3	
B B A B A	1	2
B B C A A	1	
B C A B A		2
C B B A A	1	
C C A B A		6
D A A A A	1 (尾)	(尾)

サンプル数が少なかったため、不鮮明であるあるが、天然魚の方が各酵素の切断型が7種類に均等に分布しているのに対し、放流魚は切断型が3種類しか見られず、また、C C A B A型に偏っていることが分かった。

以上の結果から、放流魚は天然魚に比べ、遺伝的多様性が少ない傾向が伺えたが、その程度については、今回の試験からは見いだすことができなかった。

その程度を明らかにしていくためには、サンプル回数や分析数を増やし、より広範囲のデータを蓄積していく必要がある。

4 謝 辞

本研究の行うにあたり、分析指導及び分析協力してくださいました熊本大学大学院自然科学研究科北野健助手に心からお礼申し上げます。

5 参考文献

- 1)財団法人日本水産資源保護協会：水産生物の遺伝的多様性の保存及び評価手法の開発事業報告(平成6年～8年度)

環境ホルモン対策技術開発試験（県 単） 平成 11 年度～12 年度

1 緒 言

環境ホルモン物質が与える魚類への影響を明らかにするため、環境ホルモンが蓄積しやすい底質で生息しているヒラメへの影響、特に性分化への影響を明らかにすることを目的に研究を行った。昨年度はトリブチルスズ（TBT）での雄化への誘導を調べ、引き続き本年度はノニルフェノール（NP）の影響による雌化への誘導を調べた。

2 方 法

(1) 担当者 深浦雄一、山下幸寿、倉田清典

(2) 試験方法

供試魚として、平成 12 年 1 月に人工採卵により作出した全雌ヒラメ群を用い、性分化時期を含む日齢 30～100 日間、全雄に誘導される高水温（27℃）下で NP を 0、100、1000 $\mu\text{g}/\text{g}$ 飼料の割合で毎日投与した。また、水温 18℃で NP を投与しない群を設け対照とした。NP 投与期間以降は自然水温で飼育し 12 月に性比を調査した。

3 結果及び考察

高水温下での雌の出現割合は、NP を投与しない群で 0% だったのに対し、NP を 100 $\mu\text{g}/\text{g}$ 投与した群は 30% 雌となり、NP 処理で雌化することが明らかになった。しかしながら、高濃度の NP（1000 $\mu\text{g}/\text{g}$ 飼料）を投与した群では 100% 雄となり、高濃度の NP は雌性化を誘発する環境ホルモンとしての作用より何らかのストレス要因として働く方が強いことが示唆された。なお、対照群は 97% 雌で、供試魚が全雌種苗であったことが確認された。

今後、この評価系や昨年度の評価系を用いて魚類への内分泌攪乱物質の影響が明らかになることが期待される。

4 謝 辞

本研究を実施するに当たって御指導、御尽力いただいた熊本大学大学院自然科学研究科北野健助手に深く感謝します。

5 参考文献

- 1) 北野 健 他：地域先端技術共同研究開発促進事業、平成 11 年度熊本県水産研究センター事報、156-157
- 2) 北野 健 他：環境ホルモン対策技術開発試験、平成 11 年度熊本県水産研究センター事報、165

高品質アコヤ貝育成促進事業 (国庫補助)

(平成11年度～)

(漁場移動試験)

1 緒言

真珠養殖業場では、平成8年度より貝柱の赤変化を伴う大量へい死が継続的に起こっている。しかしながら、その原因は感染症であることは分かっているものの、原因病原体の究明には至っていないため、養殖現場では様々な防除策の検討が行われている。

昨年度、当センターにおいても、その防除策として低水温漁場における越冬試験を実施し、その効果が明らかになるとともに、飼育水温とへい死の関係が示唆された。

そこで、本研究では、飼育漁場の積算水温と赤変化及びへい死の関係を明らかにすることを目的とする。

2 方法

(1) 担当者 山下幸寿、深浦雄一、倉田清典

(2) 試験方法

平成12年5月に天草郡倉岳町の真珠養殖業者より、平成11年高知県竜串産の2年貝を購入し試験に供した。(平成11年7月より倉岳で飼育された貝)

購入した貝は、平成12年5月16日に、図1のとおり飼育水温の違う松島町、御所浦町、荅北町、牛深市及び倉岳町の漁場に移動し、下記の項目について調査を実施した。

① へい死率調査

各漁場に移動した籠の1つをへい死率調査用とし、調査日に現場で生死を判別した。もし、へい死があった際には、収容密度を一定とするため、その個数分補充した。

② 赤変化調査及び成長等調査

調査日に、各漁場より10個ずつサンプリングを行い、当センターで貝柱の赤変化、蝶番長、湿重量等を測定した。貝柱の赤変化については、色彩色差計(MINORTA CR-300)を用いて測定した。

③ 飼育水温

飼育水温については、米国O社製の小型水温記録計を提灯籠に設置して測定を行った。

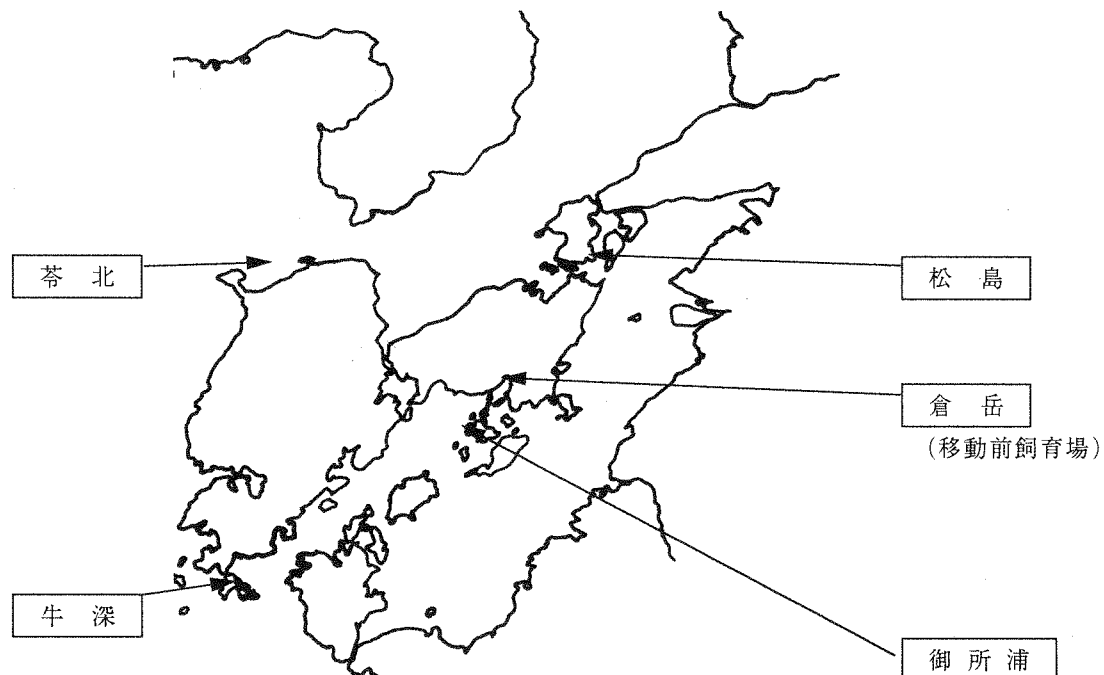


図1 移動後の飼育漁場

3 結果

(1) 積算水温と貝柱の赤変化の関係

5月16日の水温(18℃)を基準とし、その温度からの積算水温と貝柱の赤変化の指標であるa値の関係を図2に示す。折れ線グラフは、積算水温を、棒グラフはa値の値を示している。この図からわかるように、積算水温は、最も高い御所浦と最も低い牛深の間には約150℃の開きが見られた。また、a値は、積算水温の最も高かった御所浦が、219日目でa値の値が8.5と高い値を示したのに対し、その他の地区のa値は、赤変化の基準とされている3前後までしかa値の上昇が認められなかった。ただ、積算水温が1番低い牛深のa値が後半増加傾向にあったが、これは、同一漁場に赤変化した貝があったことに起因するのではないかと推定された。

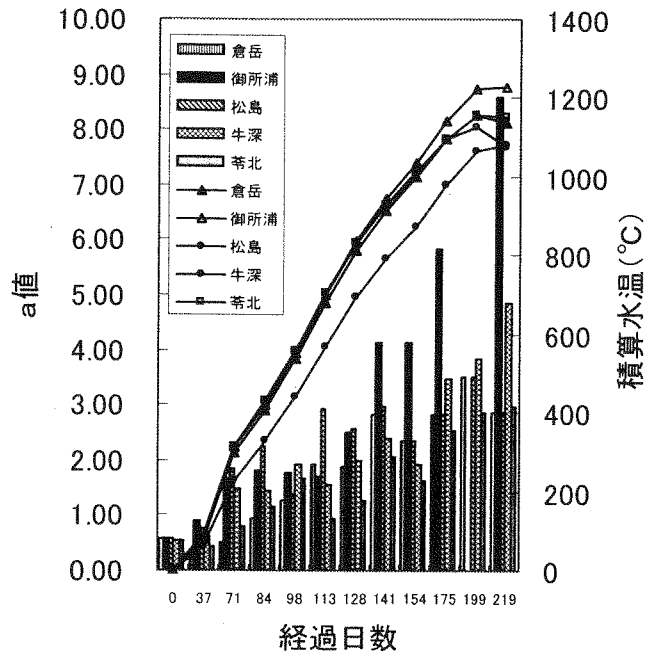


図2 水温とa値の関係

(2) 積算水温とへい死率の関係

図3に積算水温とへい死率の関係について示す。上記と同様、折れ線グラフが積算水温を、棒グラフがへい死率を示している。平成12年度は、県内の漁場でも赤変化に伴うへい死は、ほとんど確認されていないが、本試験も同様に、ほとんどへい死が確認されなかった。しかしながら、積算水温が最も高かった御所浦では、最終調査日のへい死率が6%とわずかに高い値を示し、赤変化の程度との関係が示唆された。なお、各試験区の成長に関しては、特にデータは示さないが、ほぼ同じような成長を示した。

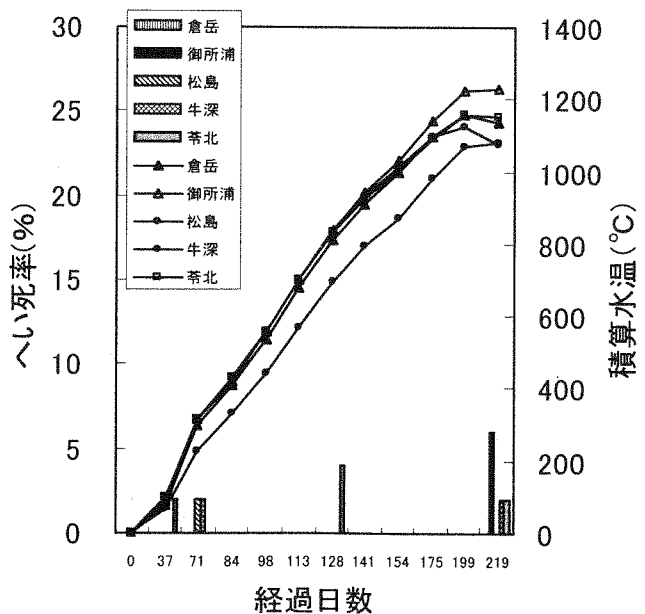


図3 積算水温とへい死率の関係

4 考 察

図4に平成11年及び平成12年の牛深，御所浦漁場の積算水温の変化を示す。この図は、本年度の試験と比較するため、上記と同様に5月16日から積算水温を水温18℃を基準として作成したものである。

平成11年は、牛深では赤変化を伴うへい死が4～5割起きている。このことを考慮のうえ、図4を見ると積算水温が高いほど貝柱の赤変化やへい死が多くなっていることが推察され、本年度試験区の御所浦の積算水温周辺がへい死の分岐点になっている可能性が示唆された。

しかしながら、5月以降の飼育水温は、天候等により左右されるため人為的に変化させるとが不可能であるので、その際の対策については今後検討していく必要があると思われる。

また、昨年度低水温漁場での越冬の効果が明らかになっているが、この効果とそれ以降の飼育水温の関係についても明らかにしていく必要があると思われる。

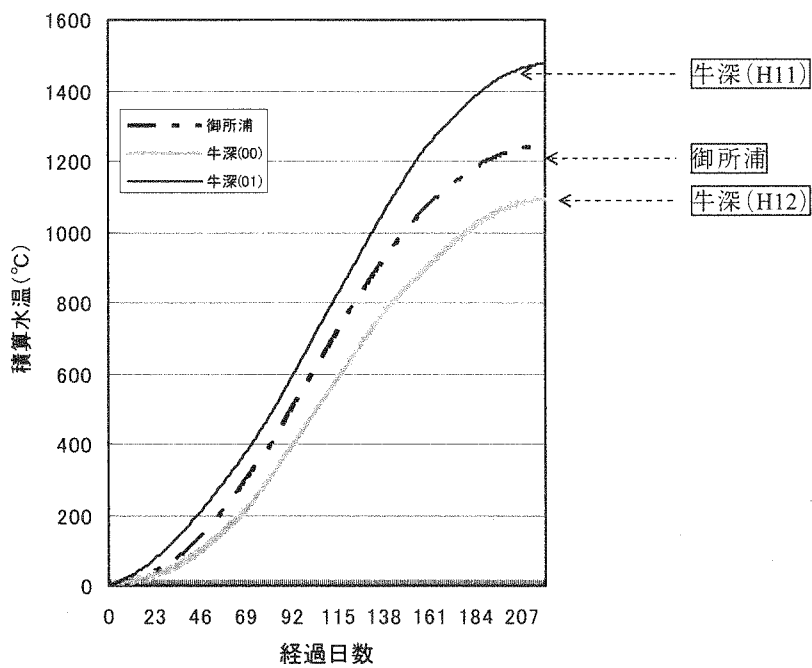


図4 平成11年と平成12年の積算水温の変化

