

応用技術研究部

種苗生産技術開発試験Ⅰ（^単県平成8年度～^{継続}）

（マナマコ）

1 緒 言

マナマコは、本県沿岸域に広く生息し、沿岸域の漁業者にとって重要な漁業対象種である。しかし、近年漁獲量は減少しており資源の回復が強く望まれている。マナマコの増殖については、人工種苗の放流が考えられ、種苗生産技術について検討した。

2 方 法

(1) 担当者 糸山力生、北野 健

(2) 実施方法

ア 親ナマコの養成

平成10年2月に本渡市漁協からアカナマコ48個体、牛深市漁協からアカナマコ58個体、大村湾南部漁協からアオナマコ53個体を購入し、流水遮光飼育し、乾燥ワカメ及び市販海藻粉末（リビック）を適宜給餌した。性別、生殖巣指数（生殖巣重量×100／殻重量、殻重量：生殖巣、消化管、呼吸樹、体腔水を除去した殻の重量）は、5個体ずつ解剖して確認し、測定した。

イ 採卵

親ナマコは、上記3地区の養成ナマコその他、平成10年4月に五和町及び御所浦町地先で捕獲したアカナマコを用いた。採卵は、100ℓアルテミア孵化槽に親ナマコ20～25個体を入れ、5℃の昇温による温度刺激によって行った。

ウ 浮遊幼生飼育及び採苗

親ナマコからの採卵が不調であったため、平成10年4月29日に佐賀県栽培漁業センターからふ化幼生470万個体を搬入し、うち120万個体を500ℓ透明ポリカーボネイト水槽2面に収容した。飼育は、砂濾過海水を3μmのフィルターで濾過したものをを用い、止水でウォーターバスにより19～20℃に保温し、微通気で毎日20%の換水を行った。給餌は1日1回 *Pavlova lutheri* と *Cheatoceros gracilis* を合わせて4,000～25,000 cells/mlになるように給餌した。

ドリオラリア幼生の出現割合が増加した時点で付着珪藻と接触させ、稚ナマコへの変態を促した。採苗は、付着珪藻板（30cm×30cm 透明アクリル板）をそれぞれ100枚（10枚で1セット）設置した3kℓFRP循環流水槽2面に、浮遊幼生を回収濃縮したものを投入して行った。付着珪藻は、大矢野地先の天然珪藻を繁殖させた。

3 結果及び考察

(1) 親ナマコの養成

養成期間中はほとんどへい死せず、表1に示すとおり3月中旬までは、本渡産の全重量が減少した他は全重量、殻重量ともほとんど変化はなかった。4月になって大村湾産の全重量、殻重量は減少したが、他は減少傾向は見られなかった。

性別、生殖巣指数の調査は、2月13日から4月15日まで各地区5個体ずつ5回計測を行った。測定結果を表2に示した。調査した計75個体のうち雌は29個体、雄は39個体、生殖巣が確認できず性別の判断ができなかった個体は7個体であった。

生殖巣指数は個体差が大きかった。雌では大村湾産は4月に入っても高い値の個体が確認されたが、本渡産、牛深産は高い値の個体が少なく4月に入ってから低くなった。雄では牛深産は4月に入っても高い値の個体が確認されたが、大村産は2月が最高で以後下降した。本渡産は他地区と比べて高い値の個体は確認されなかった。

大村湾産の雄では2月に生殖巣指数の最高値を示しており、本渡産では雌雄とも生殖巣指数の高まりが明確でな

い。これは、親ナマコの養成が不十分だったか、成熟が予想よりも早かったことも考えられ、更に早い時期から養成した親ナマコおよび天然ナマコの成熟度を調査する必要があると思われる。

表 1 親ナマコ養成期間中の平均全重量・殻重

単位：g

本渡地先	2月13日	3月4日	3月20日	4月7日	4月13日
全重量	487.7	405.1	331.9	360.2	348.5
殻重量	236.8	200.4	229.4	199.5	207.6
牛深地先	2月17日	3月 日	3月27日	4月9日	4月15日
全重量	505.1	530.7	491.8	446.4	469.1
殻重量	306.6	286.4	306.6	246.6	309.6
大村湾	2月13日	3月4日	3月18日	4月8日	
全重量	235.7	240.9	241.4	178.0	
殻重量	114.4	124.7	135.7	96.4	

表 2 性別、生殖巣指数

本渡地先	H10.2.13 測定	3.4 測定		3.20 測定	4.7 測定	4.13 測定
♀	4.74 1.77	11.02 4.61		10.36 3.84 2.05 0.96	6.96 6.12	
♂	9.34 5.18	9.43 4.34 3.91		5.35	7.6	2.63 2.29 1.82 0.66
牛深地先	H10.2.17 測定	3.4 測定		3.27 測定	4.9 測定	4.15 測定
♀	3.07 0.51	10.95 3.13 2.32 0.74		6.01	8.06 0.70	1.87 1.19 0.33
♂	6.86 4.99 1.15	18.06		15.46 7.98 2.79 0.50	11.13 0.53 0.46	16.22 6.71
大村湾	H10.2.13 測定	3.4 測定	3.13 測定	3.18 測定	4.8 測定	
♀	0.85	12.62 12.28		9.72	18.84 10.81 1.66	
♂	20.38 13.59	9.35 6.52 0.59	5.77 4.93 4.19 2.49	7.63 7.37 2.03 1.01	8.59 7.10	

(2) 採卵

3月12日から4月27日まで13回の採卵を試みた。採卵時の自然水温は13.1℃～18.0℃であった。4月7日に大村湾産のアオナマコ20個体を用いて午前10時から採卵を開始し、午後1時10分に産卵が確認され、受精卵27が粒が得られた。4月13日に本渡産アカナマコ20個体を用いて午前10時から採卵を開始し、午後4時まで加湿したが産卵しなかったので中止し、そのまま放置していたら翌朝ふ化幼少が確認され、アウリクラリア幼生5,000個体を得られた。いずれも採卵量が少なかったため浮遊幼生飼育まで至らなかった。

(3) 浮遊幼性飼育及び採苗

浮遊幼生期の生残個体数及び体長を表3に示した。10日齢点までアウリクラリア後期幼生は確認されなかったが、13日齢ではペンタキュチュラが確認され急速に変態が進んだものと思われる。14日齢で採苗を行った。採苗後52日目で平均体長5.5mm（最大12.5mm最小1.0mm）の稚ナマコ4,300個体を得た。

表 3 変態ステージ別体長、割合

日齢	個体数 (万個)	ス テ ー ジ 別 体 長 及 び 割 合			
		アウリクラリア前期	アウリクラリア後期	ドリオラリア	ペンタキュチュラ
10	60	800 μ m 100%			
13	31	800 56	740 μ m 7%	400 μ m 33%	380 μ m 8%

謝 辞

本試験を実施するにあたりふ化幼生を分譲していただいた佐賀県栽培漁業センターに厚く御礼申し上げます。

種苗生産技術開発試験Ⅱ（^単県平成6年度～平成10年度）

（カサゴ）

1 緒 言

カサゴ（*Sebastiscus marmoratus*）は本県沿岸に生息し、漁業及び遊漁の対象種として重要である。放流用の種苗を生産するための種苗生産技術を開発することを目的として試験を行った。

2 方 法

(1) 担当者 深浦雄一、倉田清典、糸山力生、（養殖研究部）中野平二

(2) 試験方法

ア 産仔と飼育水槽

平成11年1月20日水産研究センターで飼育していたカサゴの内から、腹部が膨満し、肛門部が肥大して仔魚が出て来そうな親魚6尾（平均体重420.1g）を選別し、60cm四方のネトロン籠3個に2尾ずつ収容し、その籠を20kl角型FRP水槽に入れ5℃昇温（18℃）して産仔を試みた。産仔後は籠ごと親魚を取り除き、そのまま飼育水槽として使用した。

イ 飼育方法

(ア) 使用海水・水温・通気：海水は水産研究センターの砂ろ過海水を使用し、飼育水温は産仔後そのまま水温18℃に保ち、その後日令52日に17℃、62日（自然水温14.1℃）に15℃へ落とし、68日（自然水温15.7℃）に加温を終了した。

注水量は飼育当初0.4回転／日とし、日令7日で1.7回転／日、日令25日に3.5回転／日に徐々に増加させた。エアレーションはエアストーン9個を用いた通気のほかに表面送気を行った。また、途中から水の回転を促すためエアリフトも併用した。

(イ) 餌料系列：図1のとおり。給餌は1日3回（9：00、13：00、16：00）行った。配合飼料給餌までのワムシ給餌は5個／mlになるように残量を計数して給餌し、飢餓ワムシ対策としてナンノクロロブシスを50万細胞／mlになるよう飼育水に添加した。配合飼料給餌後は徐々に減じた。アルテミアについては夕方1回ワムシ給餌前に給餌した。

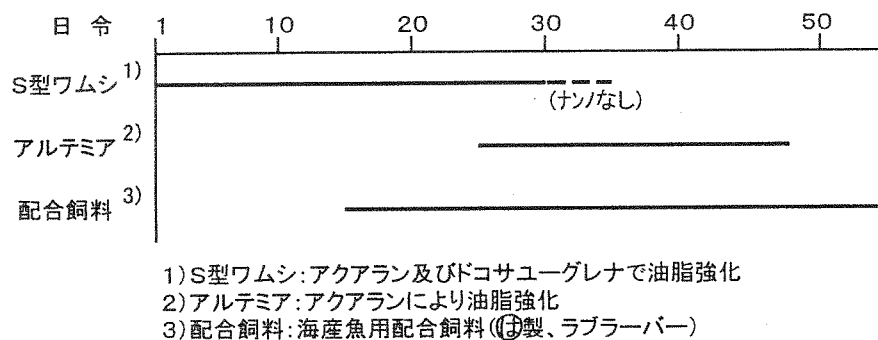


図1 カサゴ餌料系列

3 結果及び考察

種苗生産の成長、生残の概要を図2に示した。

平成11年1月22日から24日にかけて産仔があり、26日時点で220千尾（11千尾／kl、平均全長4.39mm）の産仔魚を収容した。収容密度が多く思えたので一部間引きを行い日令7日時点で138千尾（6.9千尾／kl）に調整した。

2月下旬（日令30日以降）には平均全長が10mmを超え、着底する個体が出てきた。個体間の差が大きくなり共食

いが発生したので、日令 35 日（平均全長 11.12mm）に若干の大型魚を試験的に分槽したが、分槽直後から移槽によるへい死が多く、この時点での分槽は中止した。

日令 46 日には平均全長 13.11mm まで成長し、大小差も大きくなったため、47 日に大型群 5,188 尾（平均全長 22.26mm）を分槽した。以後 20kL 水槽 2 面を使用し飼育を行った。なお、小型群の平均全長は日令 49 日時点で 14.19mm であった。

その後、飼育は順調に推移し、4 月 1 日（日令 69 日）には大型群は平均全長 41.61mm に達した。小型群は 3 月 31 日（日令 68 日）時点で平均全長 31.78mm で 14,286 尾生産した。なお、通算の生残率は間引き後（138 千尾）から日令 68 日の期間で 13.6% であり、他魚種の種苗生産と比較しても良好な生残率であった。

今回種苗生産が順調にできたのは、養成親魚で 4mm 以上の十分な大きさの産仔魚が得られたこと、残餌管理を徹底したこと、選別を早めに行ったこと、大型水槽で水の回りが比較的穏やかだったことなどが考えられた。

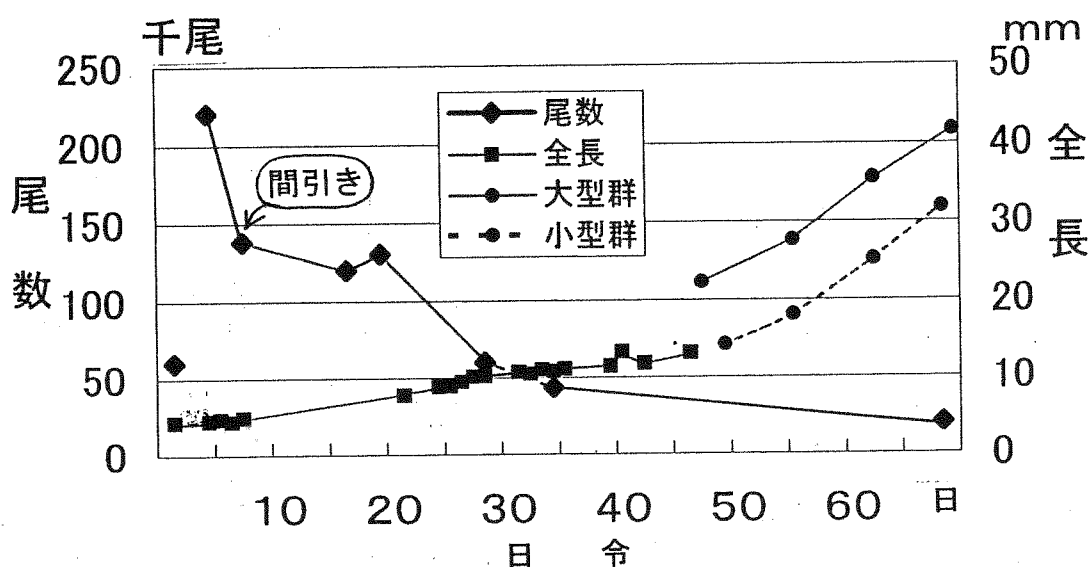


図2 カサゴ種苗生産成長生残結果

付表1-1 平成10年度カサゴ種苗生産経過(日令1~46日)

日令	月 日	水温 ℃	尾数 千尾	全長 mm	ワムシ 個/ml	アルテミア 個/ml・日	配 合 g/日	備 考
	1/22	18.6						産仔わずかにあり
1	1/23	18.7	60	4.25	(0, 10, 10)			前夜産仔あり、ワムシ(ナン)給餌、注水量0.4回転/日
2	1/24				(10, 10, 10)			
3	1/25	19.2			(10, 10, 0)			ワムシ摂餌確認、ワムシ残35個/ml、親魚取上。
4	1/26	18.9	220	4.39	(0, 0, 0)			ワムシ残11個/ml、飼育水3割入換、注水量0.5回転/日
5	1/27	18.7		4.62	(5, 0, 2)			ワムシ残5個/ml
6	1/28	18.7		4.28	5, 5, -			飼育密度多のため一部間引き
7	1/29	18.8	138	4.77	7, 7, 7			注水量1.7回転/日
8	1/30	18.3			7, 7, 7			
9	1/31	18.6			7, 7, 7			
10	2/1	18.2			5, 5, 5			ワムシ残多し、朝昼追加給餌なし
11	2/2	18.6			5, 5, 5			
12	2/3	18.2			5, 5, 5			
13	2/4	18.7			5, 5, 5			
14	2/5				5, 5, 5			
15	2/6	18.3			3, 5, 4			ワムシ不調のため給餌量減、少しへい死あり
16	2/7	18.7	120		5, 5, 5			
17	2/8	18.7			5, 5, 4		少量	配合給餌開始
18	2/9	18.7			5, 3, 5		少量	
19	2/10	18.9	130		3, 3, 3		少量	
20	2/11				5, 5, 5		少量	
21	2/12	18.5		7.71	5, 5, 5	0.1	少量	アルテミア給餌開始
22	2/13				5, 5, 5	0.5	少量	
23	2/14	18.3			5, 5, 4	0.3	少量	
24	2/15	18.3		8.75	5, 5, 5	0.5	少量	
25	2/16	18.3		8.85	3, 5, 5	0.5	少量	注水量3.5回転/日
26	2/17	18.0		9.47	4, 3, 4	0.5	少量	
27	2/18	18.6		10.11	5, 4, 4	0.7	少量	
28	2/19		60	10.20	4, 5, 5	0.7	20	
29	2/20				5, 4, 4	0.5	20	
30	2/21				5, 4, 4	0.5	20	
31	2/22	12.1		10.66	5, 4, 4	0.7	45	ナンノ終了
32	2/23	18.4		10.44	3, 4, 1	0.8	60	ワムシ不調
33	2/24	18.2		10.99	4, 4, 4	1.0	120	
34	2/25	18.4	43	10.78	5, -, -	2.5	120	ワムシ終了、底着のため計数不安
35	2/26	18.3		11.12		1.0	120	大型群分槽のため一部試験分槽
36	2/27					0.5	120	試験分槽群移槽ストレスのため大量へい死
37	2/28	16.6				0.5	90	加温不調で水温低下
38	3/1	17.1				0.5	400	自動給餌機設置、試験分槽群終了
39	3/2	17.8		11.46		0.7	200	急に大小差が目立ち出す
40	3/3	18.4		13.24		0.9	200	
41	3/4	18.7				0.5	200	
42	3/5	18.7		11.75		1.0	200	底着している固体が目立ち出す
43	3/6					0.9	200	
44	3/7	18.9				0.5	200	
45	3/8	18.5				0.5	200	
46	3/9	18.4		13.11		1.0	200	
47	3/10							120径の目合いで大型群(5, 188尾)選別分槽

1. ワムシ：日令1~5日は給餌量。6日目からは残餌量+給餌量。
2. アルテミア：夕方1回、ワムシ給餌前に給餌。

付表 1-2 大型群経過

日令	月 日	水 温 ℃	尾 数 尾	全 長 mm	ワムシ 個/ml	アサギ 個/ml・日	配 合 g/日	備 考
47	3/10	18.9				0.5	100	選別残、20kl水槽に収容
48	3/11	18.4				0.3	100	ブライン終了
49	3/12	18.4		14.19			100	
50	3/13						100	
51	3/14	18.7					100	
52	3/15	18.5					100	水温設定17℃へ、注水量2.5回転/日
53	3/16	17.3					200	
54	3/17	16.9					200	
55	3/18	16.9		17.99			200	
56	3/19	16.9					200	
57	3/20						200	
58	3/21						200	
59	3/22						200	
60	3/23	16.6					200	
61	3/24	16.9					200	水温設定15℃へ
62	3/25	16.0		25.15			200	
63	3/26	16.0					200	
64	3/27						200	
65	3/28						200	
66	3/29	15.8					200	
67	3/30	14.6					200	
68	3/31	15.3	14,286	31.78			200	50kl屋外円形水槽へ移槽

付表 1-3 小型群経過

日令	月 日	水 温 ℃	尾 数 尾	全 長 mm	ワムシ 個/ml	アサギ 個/ml・日	配 合 g/日	備 考
47	3/10	18.9	5,188	22.26		0.5	100	モジ網 (2×2×1m、220径) 2面に収容(20kl水槽内)
48	3/11	18.4				0.3	100	ブライン終了
49	3/12	18.4					100	
50	3/13						100	
51	3/14	18.7					100	
52	3/15	18.8					100	水温設定17℃へ、注水量2.5回転/日
53	3/16	17.7					240	
54	3/17	17.0					240	
55	3/18	17.1		27.61			240	
56	3/19	17.1					240	
57	3/20						240	
58	3/21						240	
59	3/22						240	
60	3/23	16.9					240	
61	3/24	17.0					240	水温設定15℃へ
62	3/25	16.3		35.48			240	
63	3/26	16.3	4,700				0	ビブサによるへい死(約500尾)、餌止め、網を外す
64	3/27						少量	
65	3/28		4,500				少量	へい死止まらず(27、28日で150尾へい死)
66	3/29	15.9					100	投薬(テラマイシン8g/日)
67	3/30	14.6					100	
68	3/31	15.3					100	投薬(テラマイシン8g/日)
69	4/1	14.7		41.61			100	へい死収まる

種苗生産技術開試験Ⅲ (県単 平成8年度～)

(コウライアカシタビラメ)

1 緒 言

コウライアカシタビラメ *Cynoglossus abbreviatus* (Gray) 有明海、不知火海の中央部から湾奥部にかけて分布して漁獲されており、特に熊本有明海地区においては漁業上重要な魚種である。そこで栽培対象魚種としての可能性を検討するため、平成8年度から種苗生産を試みている。

2 方 法

(1) 担当者 深浦雄一、倉田清典

(2) 親 魚

ア 個体別産卵調査

コウライアカシタビラメの個体別の産卵量を把握するため、雌親魚を1尾にして産卵量を調査した。収容水槽は薄く敷砂した400ℓFRP製角型水槽2基使用し、各々雌1尾と雄2尾及び3尾を収容した。自然産卵した卵をオーバーフローで水槽外に流送し、ネットで収集した。参考のため昨年と同様に複数尾の雌を収容した水槽(2kℓ容)も準備し、産卵量を調査した。

計数は採取した卵を1時間静置して、浮上卵と沈下卵に分離し、各々の海水量を1ℓにして十分攪拌し、駒込ピペットで2mlの分取を5回繰り返して行った。また、極少数の時は直接計数した。

イ 種苗生産試験

(ア) 飼育水槽及び飼育水: 2kℓ丸型FRP水槽を使用し、砂ろ過海水を使用した。

(イ) 餌料: 餌料系列について図1に示す。給餌は1日3回(9:00、13:00、16:00)行い、ワムシ給餌時には飢餓ワムシ対策としてナンノクロロプシスを9:00と13:00に飼育水に添加した。なお、途中ナンノクロロプシスの増殖が不調となり5月6日以降は生クロレラ(クロレラ工業製生クロレラV12)で代用した。

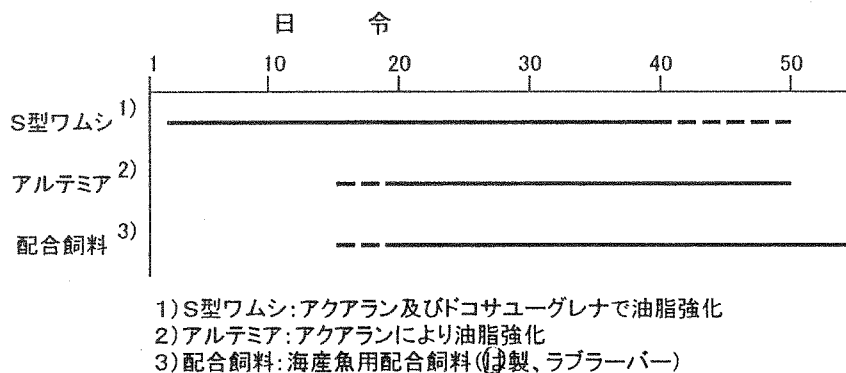


図1 コウライアカシタビラメ餌料系列

3 結 果

(1) 個体別産卵量調査

結果については表1及び図2にまとめた。

水槽I(雌1尾)は4月2日から21日の間で12回採卵でき、合計286.1千個の産卵数をみた。1回当たりの採卵量の最高は38.7千個(4月7日は朝、夕2回採卵でき、1日当たりでは61.0千個採卵。)であった。産卵状況は産卵開始の2日から2週間ほど産卵が続き、その後数日置いて2回ほど採卵された。浮上卵径は産卵前半では1.20mmを超えるものもみられたが、後半では徐々に小さくなる傾向が見られた。産卵終了後の5月6日の観察では外から卵巣の張りも黄色味も見られず、卵巣内の卵のほとんど全てを産卵したものと思われた。全長37.0cmの雌

で最高 30 万個弱の卵を産卵するものと推察された。

水槽Ⅱ（雌 1 尾）は 4 月 8 日から 24 日の間で 7 回採卵でき、合計 107.4 千個（1 回当たり最高 39.2 千個）の産卵数をみた。産卵状況は最初 4 月 8 日に 1 回目の産卵が見られた後、1 週間ほど間隔が開き 16 日から産卵の山が見られたが、水槽Ⅰより短く 9 日間で終了した。産卵終了後の 5 月 6 日の観察では外から卵巣の黄色味が見られ、張りも半分ほどあり、卵巣内の卵を全部出し切らず途中で終了したものと思われた。

水槽Ⅲ（雌 5 尾）では 4 月 2 日から 26 日で 11 回の採卵ができ、合計 183.7 千個（1 回当たり最高 45.5 千個）の採卵数をみた。

今回の結果や前年の結果（雌 11 尾で 420.8 千個の産卵数。1 回当たり最高 106.8 千個の採卵数）から見られるように、複数尾の雌を投入してもそれに比例して産卵数は増えず、受精卵の大量確保については工夫がいるものと思われた。

表 1 コウライアカシタビラメ個体別産卵量調査結果

水槽	収 容 親 魚 (産卵期間中)	産卵期間 産卵回数 水 温		浮上卵	沈下卵	計		浮上卵 ふ化率 %	備 考
				数 量 個	数 量 個	産卵量 個	浮上卵率 %		
Ⅰ (4001)	♀ 1 (H8から養成) ♂ 2 (*1)	4月2日～21日 12回 15.5～18.2℃	総 計	172,300	113,800	286,100			♀ T L 37.0 cm BW (1/20) 393g (5/6) 242.5g (*3)
			MAX	23,200	17,800	38,700	86.6	97.0	
			MIN	4,300	3,500	8,000	32.1	59.2	
			平 均	14,358	9,483	23,842	59.5	80.7	
Ⅱ (4001)	♀ 1 (H8から養成) ♂ 3 (H10.3上旬漁獲)	4月8日～24日 7回 16.3～18.2℃	総 計	44,200	63,200	107,400			♀ T L 39.0 cm BW (1/20) 462g (5/6) 389.4g (*4)
			MAX	13,400	27,500	39,200	62.3	97.0	
			MIN	2,100	3,100	5,200	29.8	46.6	
			平 均	6,314	9,029	15,343	41.8	77.3	
Ⅲ (2kl)	♀ 5 (H8から1尾 他はH9から養成) ♂ 13 (*2)	4月2日～26日 11回 15.2～18.3℃	総 計	119,900	63,800	183,700			(参考) 1尾当たり産卵量: 36,740個
			MAX	34,200	11,300	45,500	94.5	91.8	
			MIN	1,700	400	6,200	27.4	45.2	
			平 均	10,900	5,800	16,700	62.5	71.1	

*1: 平成10年3月に、新規漁獲5尾、平成9年から養成1尾計6尾収容。3月中へい死4尾。

*2: 平成10年3月に、新規漁獲18尾、平成9年から養成2尾計20尾収容。3月中へい死7尾。

*3: 5月6日時点、体重減38.3%。外から卵巣認められず。(黄色味見られず、張りなし。)

*4: 5月6日時点、体重減15.7%。外から卵巣認められる。(黄色味見られ、張りも半分ほどあり。)

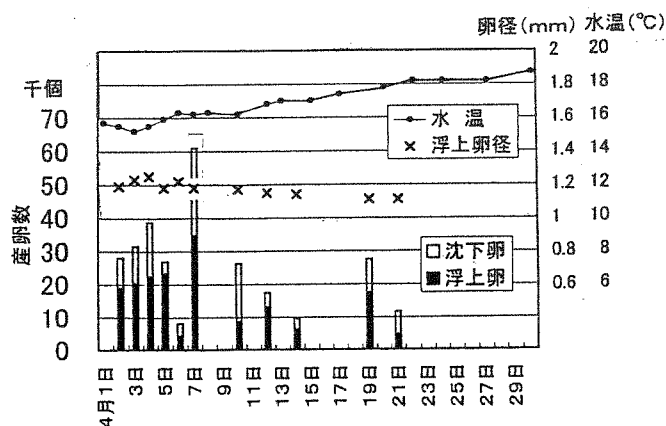


図 2-1 コウライアカシタビラメ産卵経過（水槽Ⅰ）

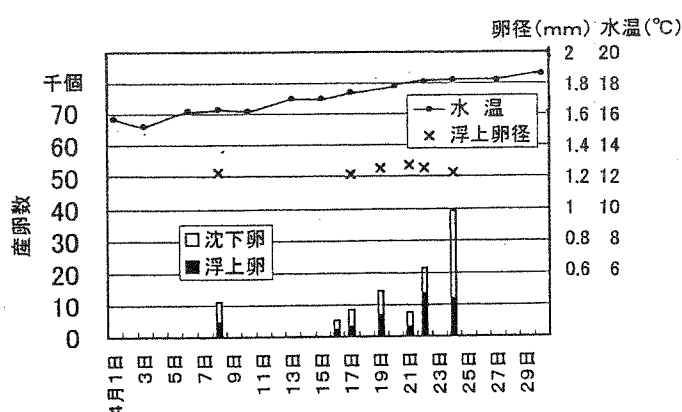


図 2-2 コウライアカシタビラメ産卵経過（水槽Ⅱ）

(2) 種苗生産概要

種苗生産結果の概要を表 2 に示した。

第 1 回、2 回飼育群はともに 4 月 7 日水温 16.2℃から生産を開始し、9 日にふ化が見られた。日令 8 日（水温 17.0℃）でワムシ摂餌を確認した。日令 10 日過ぎから生残数が急減した。その後 1 月近くたっても変態できなかったため飼育を終了した。最終的な生残は第 1 回群で日令 30 日（水温 20.2℃）で 66 尾（平均全長 7.82mm）、第 2 回群で 28 日（水温 20.2℃）で 3 尾（全長 8.2、7.3、6.5mm）であった。

第 3 回飼育群は 4 月 15 日水温 17.5℃から生産を始め、17 日にふ化（ふ化率 60.6%、24,800 尾）が見られた。日令 6 日（水温 18.2℃）でワムシの摂餌確認した。日令 22 日（水温 20.2℃）で平均全長 8.48mm となり、日令 25

日（水温 20.0℃）で変態した個体（3尾）が現れた。2週間後の日令 39 日（21.8℃）で 72.7%の変態率となり、日令 48 日（水温 21.6℃）で変態率 100 %となった。56 日令（6 月 11 日、水温 21.9℃）で平均全長 26.4mmであったが、変態期間が長期（24 日間）に渡ったため大小差（全長 50～10mm）が大きく見られた。その間の生存数の推移はふ化時 24,800 尾が 22 日令で 1,684 尾、25 日令で 800 尾、39 日令で 455 尾、56 日令で 263 尾の生残であった。

第 4 回飼育群は 4 月 22 日水温 18.1℃から始まり、24 日にふ化（ふ化率 86.1%、11,451 尾）が見られた。日令 25 日（水温 20.3℃）で変態した個体が出現し、日令 39 日（水温 21.6℃）で 78.2%の変態率となり、最終的には 56 日令（22.9℃）で平均全長 35.1mm（50～20mm）の成長をみた。第 3 回群より平均で約 10mm大きかったのは、変態終了が 7 日早く小型魚が見られなかったためと思われた。その間の生存数の推移はふ化時 11,451 尾が 22 日令で 655 尾、39 日令で 110 尾、56 日令で 57 尾の生残であった。

第 1 回、2 回より第 3 回、4 回の飼育群の生残が良かったのは、開始時の飼育水温が高くワムシ摂餌開始も早く、成長が良かったためと思われた。なお、本魚種は泳力が弱く水槽の壁や底に着く個体が多く見られ、水槽底にいる魚は底掃除で吸い出される割合が高く、減耗の一因となっていると考えられた。また、変態期間の減耗も大きく（変態直前 22 日令から 56 日令までの生残率：15.6%、8.7%）、変態できずにへい死する個体も多いと考えられた。

表 2 コウライアカシタビラメ種苗生産結果概要

回	開 始 時			ふ 化 時			飼育水温 ℃	終 了 時				備 考 (変態期間)
	月日	収容卵数	卵径mm	月日	尾数	ふ化率%		月日	日令	尾数	TL mm	
1	4月7日	17,800	1.18	4月9日	15,100	84.9%	16.2～20.2	5月8日	30	66	7.82	親魚水槽Ⅲ、朝採卵、SAI 19.8 生存数減のため途中終了、未変態
2	4月7日	14,000	1.19	4月9日	8,300	59.2%	16.2～20.2	5月6日	28	3	6.5～8.2	親魚水槽Ⅰ、朝採卵、SAI 19.1 生存数減のため途中終了、未変態
3	4月15日	40,900	1.18	4月17日	24,800	60.6%	17.3～21.9	6月11日	56	263	26.4	親魚水槽Ⅲ、朝採卵、SAI 20.4 変態期間(日令25～48日)
4	4月22日	13,300	1.25	4月24日	11,500	86.1%	18.2～22.7	6月18日	56	57	35.1	親魚水槽Ⅱ、朝採卵、SAI 13.8 変態期間(日令25～41日)

生産した稚魚の夏季以降の成長生残について図 3 に示す。

7 月 10 日時点で稚魚 125 尾を大小別に 3 水槽（400ℓ、400ℓ、250ℓ）に分けて収容したが、夏季期間中へい死が続いた。9 月 4 日に生存数 28 尾になったところで 1kl 角型 FRP 水槽へまとめて収容した。へい死はその後も続き、最終的には 11 月 6 日に生存数が 6 尾になった時点で止まった。その後、生残個体は水温の下降とともに大きな成長が見られた。

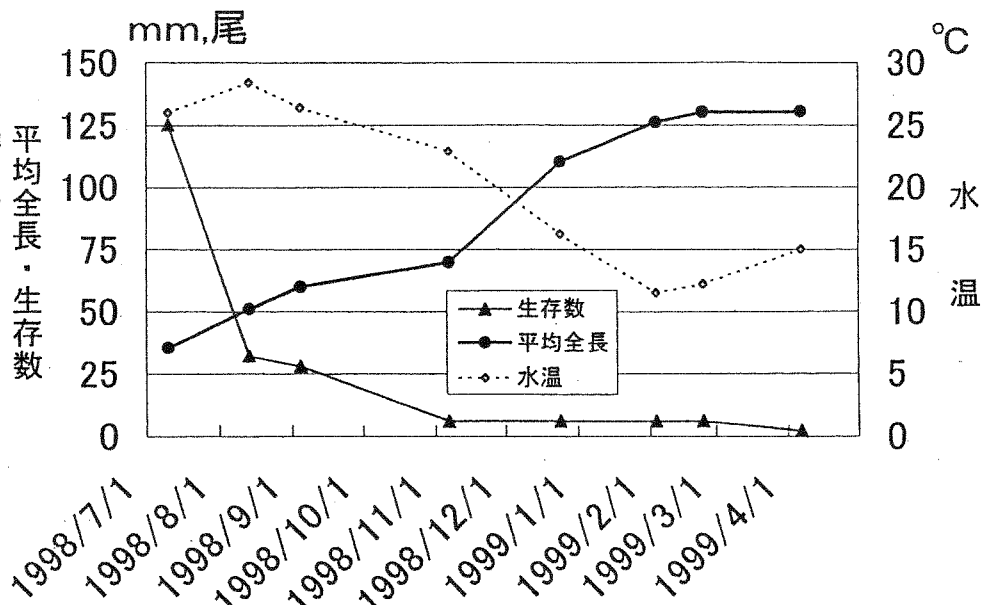


図 3 コウライアカシタビラメ成長（夏季以降）

品種改良効率化基礎技術開発研究Ⅰ（国庫委託） （平成9年度～）

（アコヤガイ 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、アコヤガイのへい死率が挿殻貝だけでなく母貝でも高まってきて問題となっている。特に高水温期のへい死が多いことから高水温に耐性をもったアコヤガイの系統群の作出を目的に研究を行ってきた。本年度は、高水温選抜および選抜したアコヤガイの特性を検討した。

2 方 法

(1) 担当者 糸山力生、深浦雄一、北野 健、倉田清典

(2) 試験方法

ア 高水温選抜

供試貝は、平成9年水産研究センター作出高水温選抜 F2 貝（平成6年8月に高水温で選抜した和歌山県太地産人工貝から平成7年3月に作出した次世代を F1 とし、平成8年6月に高水温選抜した F1 を親貝として平成9年4月に作出した次世代。）196 個体、平成9年愛媛県内海産天然採苗貝 297 個体、平成9年高知県宿毛産天然採苗貝 311 個体を用いた。高水温選抜 F2 は平成10年10月27日から、愛媛県産及び高知県産は平成10年11月4日から、35℃の海水に5日間曝露して選抜した。

イ 挿核ストレス耐性試験

高水温選抜貝の挿核ストレスに対する耐性を検討するため、愛媛県産人工採苗貝を親貝とし熊本県栽培漁業協会が平成8年に作出した高水温選抜 F1（以下「高水選抜」）162 個体、対照として平成8年長崎県産人工貝（以下「長崎人工」）324 個体、同じく平成8年愛媛県内海産天然採苗貝（以下「愛媛天然」）162 個体、平成8年熊本県苓北産人工貝（以下「苓北人工」）162 個体を用い、平成10年4月21日に挿核した後、平成11年1月まで同一漁場で飼育し、へい死率及び生産した真珠の品質を調べた。

なお、挿核については、挿核による優劣を防ぐため、同一人により行った。

ウ 血中蛋白質濃度年変化調査

高水温耐性貝は血中蛋白質濃度が高い傾向にあるが、季節による変動及び対照区との差違を調べた。

供試貝は、挿核ストレス耐性試験と同じ貝を用いた。なお、7月、10月の測定に使用した貝は、養生明け後当水産研究センター沖の筏で垂下飼育したものを用いた。1回当たりの測定は、8～50 個行った。

エ 血中蛋白質組成分析

血中蛋白質濃度の差が蛋白質組成の違いによるものなのかを調べるため、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動によって分析した。

3 結果及び考察

(1) 高水温選抜

高水温選抜により、高水温選抜 F2 貝 99 個体、愛媛県天然採苗貝 59 個体、高知県産天然採苗貝 102 個体を次世代の親貝として確保した。

選抜期間中における累積へい死率は、図1に示すとおり高水温選抜 F2 が 49.5%、愛媛県内海産は 80.1%、高知県宿毛産は 67.2%であった。高水温選抜 F2 のへい死が低い結果となった。前年度までの F1 の結果に引き続き F2 でも高水温耐性の形質が受け継がれている可能性が示唆された。

(2) 挿核ストレス耐性試験

挿核後の生残状況を図2に、調査の期間ごとのへい死率を図3に示した。

養生期間中のへい死率は、高水選抜及び苓北人工 8.6%、長崎人工 11.4%に対して愛媛天然は 30.2%であり、平成10年7月から9月の夏期のへい死率は、愛媛天然 4.7%、高水選抜 5.7%、長崎人工 9.3%に対して苓北人工

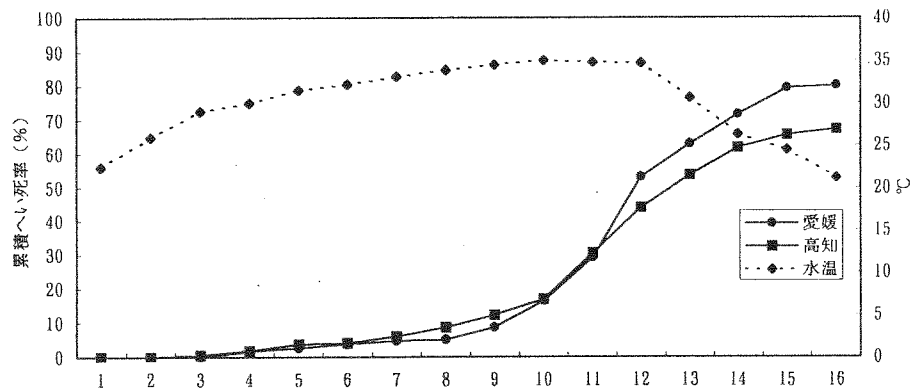
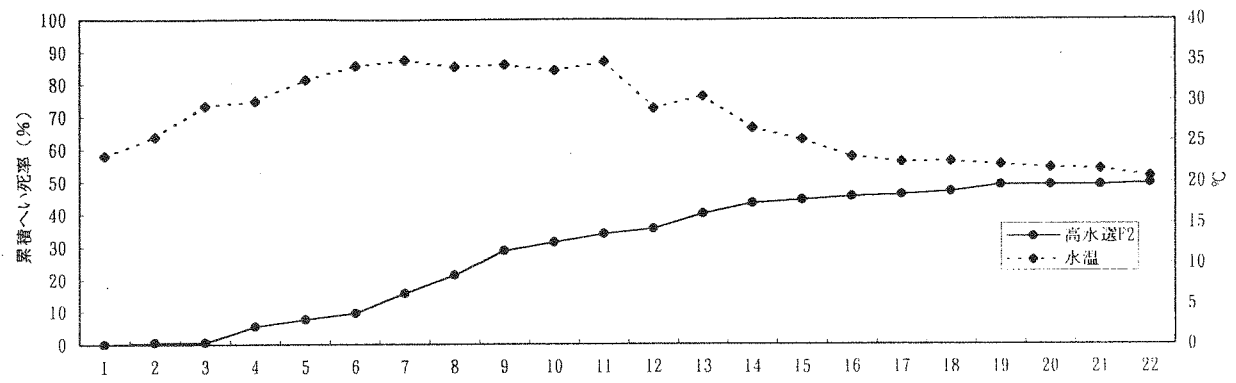


図1 高水温選抜への死状況

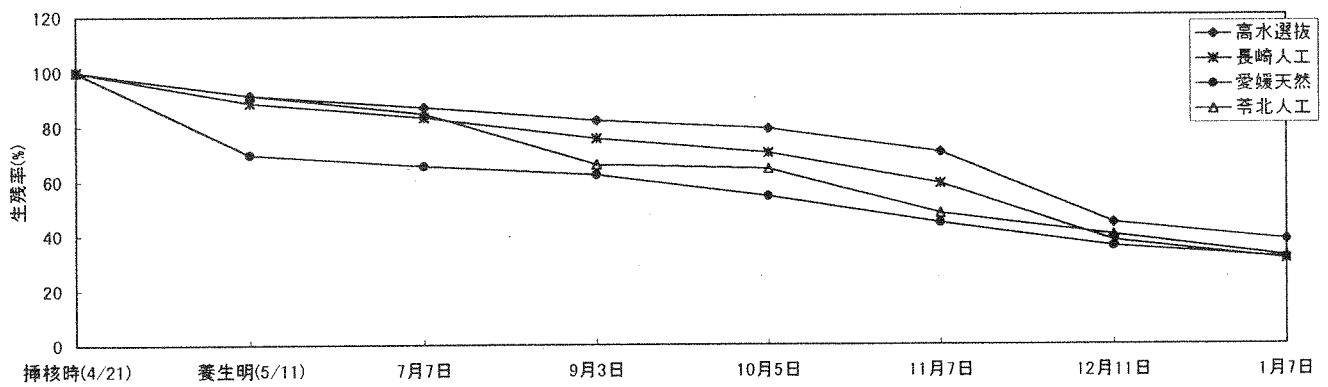


図2 生残率の推移

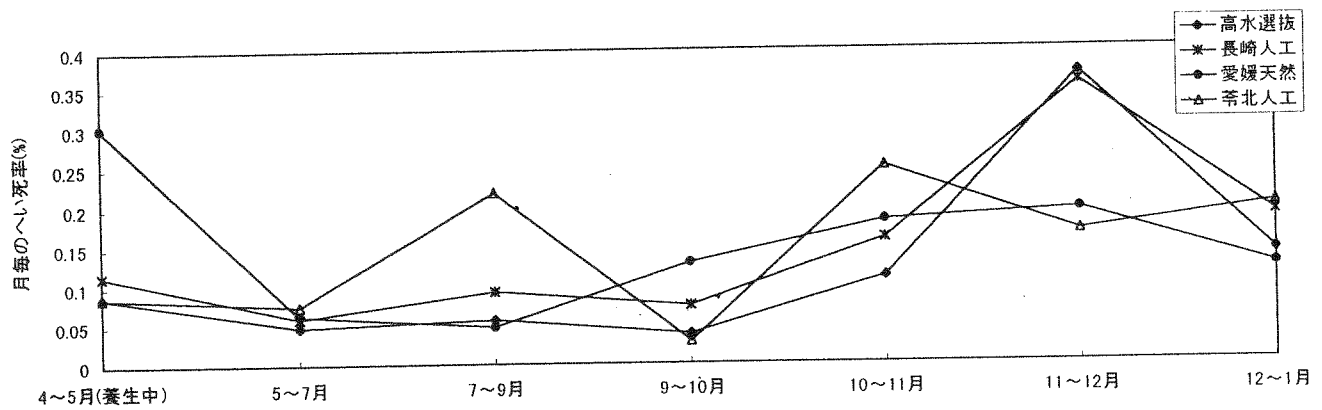


図3 へい死率の変化

は21.9%であったので、平成10年9月3日までの生残率は、高水選抜82.1%、長崎人工75.6%、愛媛天然62.3%、苓北人工66.0%となった。平成10年11月から12月のへい死率は、苓北人工16.7%、愛媛天然19.4%に対して高水選抜36.8%、長崎人工35.6%であったので、平成11年1月7日までの累積の生残率は、高水選抜が38.3%、長崎人工が30.9%、愛媛天然が31.5%、苓北人工が32.1%であった。

真珠の産出結果を表1に示した。得られた真珠のうち商品になる真珠の数量は、高水選抜、長崎人工貝が愛媛天然貝、苓北人工貝より1割ほど多かった。愛媛天然貝、苓北人工貝は大玉(9mm玉)の産出があったが、高水選抜、長崎人工貝ではなかった。高水選抜は飛びが出にくいと思われた。10,000貝剥いたときの真珠の総量は、一番成績がよい苓北人工貝と高水選抜にほとんど差がなかった。

表1 平成8年度産アコヤガイ母貝別産出真珠比較

平成10年4月21日挿核、11年1月7日浜揚げ

	品 質						大 き さ			総珠数 個 %	総量 匁	総貝数 個	剥き落とし 匁 %
	1級 個 %	2級 個 %	3級 個 %	ボケ 個 %	商品計 (個) (%)	スソ 個 %	9mm 個 %	8mm 個 %	7mm 個 %				
高水温選抜 F1	9 15.8	12 21.1	13 22.8	19 33.3	(53) (93.0)	4 7.0	0 0.0	49 86.0	8 14.0	57 100.0	13.0	62	2,097 99.1
長崎県産 人工貝	8 15.7	12 23.5	4 7.8	24 47.1	(48) (94.1)	3 5.9	0 0.0	41 80.4	10 19.6	51 100.0	10.5	52	2,019 95.5
愛媛県内海産 天然採苗貝	9 20.0	7 15.6	7 15.6	14 31.1	(37) (82.2)	8 17.8	4 8.9	40 88.9	1 2.2	45 100.0	10.5	51	2,059 97.4
熊本県苓北産 人工貝	4 8.5	17 36.2	5 10.6	13 27.7	(39) (83.0)	8 17.0	3 6.4	44 93.6	0 0.0	47 100.0	11.0	52	2,115 100.0

剥き落とし:1万貝剥いたときの真珠の総量

※ 長崎県産人工貝は生残貝の約半数を、他は生残貝全てを調査した。

(3) 血中蛋白質濃度年変化調査

調査結果を図4に示した。

高水選抜は、他の貝より血中蛋白質濃度が高い傾向にあり、特に7月が顕著であった。養生明けの5月に全ての区で血中蛋白質濃度が減少したが、他は1月の苓北人工貝を除いて7月から1月まで0.9~1.2mg/mlの範囲内であった。

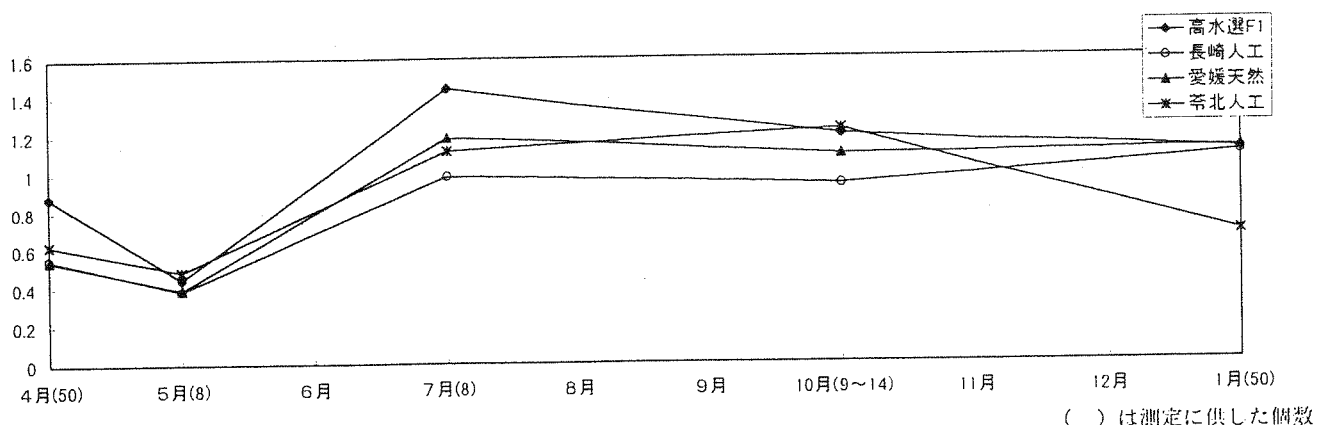


図4 血中蛋白質年変化調査

(4) 血中蛋白質組成分析

図5に示すとおり特異的なバンドは見られなかった。

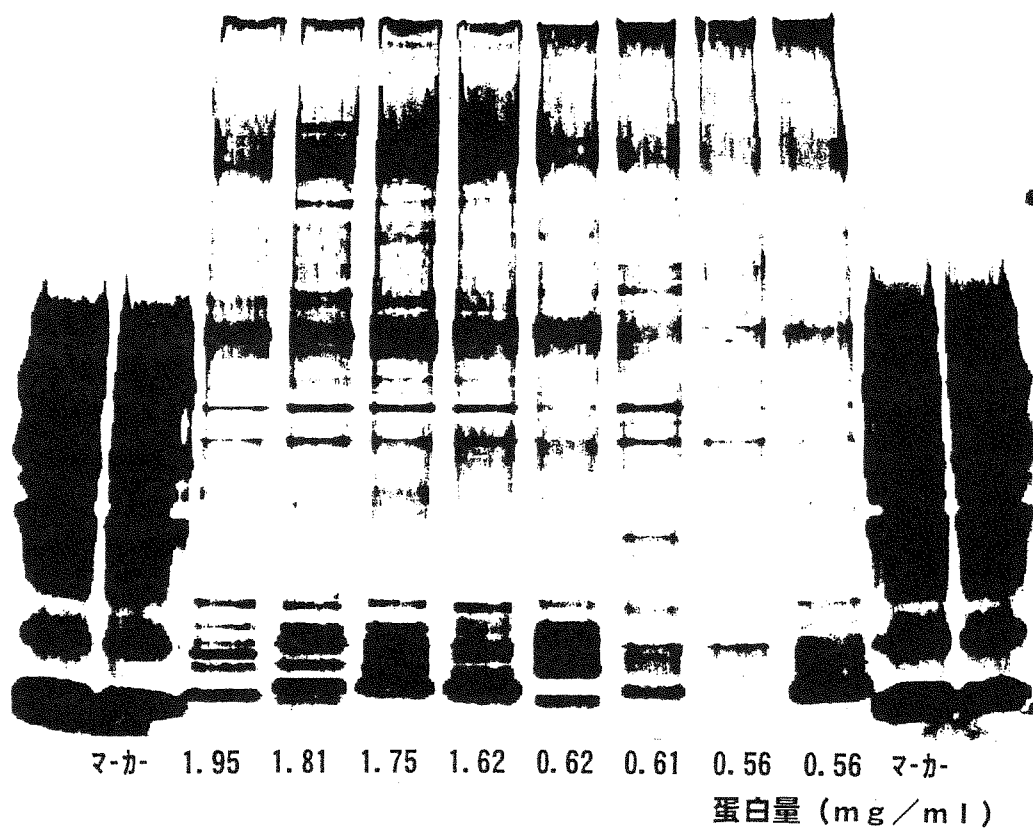


図5 血中蛋白質組成

謝辞

本試験を実施するにあたり挿核及び飼育管理をしていただいた有限会社荅北真珠に厚くお礼申し上げます。

品種改良効率化基礎技術開発研究Ⅱ（国庫委託） （平成9年度～）

（マダイのイリドウイルス感染症耐性系統作出技術の開発）

1 緒言

マダイの養殖は、海産養殖魚の中でも重要な位置を占め、また、親魚養成から種苗生産まで一貫した養殖技術が初めて開発された海産魚でもある。このため、早くから養殖用高成長魚の選抜育種が行われ成果を上げているが、耐病性については十分な成果が出ていない。現在、養殖現場でマダイのへい死原因として最も高い割合を占めるイリドウイルスに対する耐性マダイの作出を育種対象群を用いて検討する。

2 方法

(1) 担当者 北野 健、糸山力生

(2) 試験方法

ア. イリドウイルス感染による選抜個体のイリドウイルス DNA 量変化調査

イリドウイルスの有無を調べるため、平成8年8月にイリドウイルス感染試験を行って選抜した個体を継続飼育し、平成9年9月、12月、平成10年5月にそれぞれ4尾の脾臓から ISOGEN（N 社）を用いて DNA を抽出し、nested PCR を行った¹⁾。

イ. 選抜個体の脾臓を用いたイリドウイルス感染試験

平成10年に作出した天然 F1（200 個体）に、平成9年に作出したイリドウイルス感染選抜個体（試験直前にイリドウイルス PCR で陽性個体）の脾臓ホモジナイズ液を注射して感染するかどうかを調べた。

ウ. 選抜群と無選抜群の補体価比較

平成8年に作出したイリドウイルス感染選抜個体（10 個体）と無選抜個体（10 個体）の血清を用いて溶血補体価（ACH 50）を測定し、両者を比較した。溶血補体価（ACH 50）の測定は、中尾ら（1987）に準じて行った²⁾。

エ. 耐病性 DNA マーカーの探索

平成8年5月に作出したイリドウイルス感染による選抜群と無選抜群それぞれ8尾から ISOGEN（N 社）を用いて DNA を抽出し、RAPD-PCR により選抜群に特異的なバンドの探索を試みた。RAPD-PCR は、図1の条件で行い、プライマーは 10mer の RAPD Primer B Kit（O 社）を用いた。

95℃	10 分間	(AmpliTaq Gold を使用した場合)	
94℃	30 秒間	}	40 回
36℃	30 秒間		
72℃	1 分間		
72℃	5 分間		

図1 RAPD-PCR法の条件

3 結果及び考察

(1) リドウイルス感染による選抜個体のイリドウイルス DNA 量変化調査

平成8年9月～平成9年12月までの調査では、全ての個体でイリドウイルスDNA（検出されたが³⁾、平成10年5月の調査では全ての個体で検出されず、イリドウイルス DNA 量の減少が確認された（表1）。

表 1 選抜個体の PCR によるイリドウイルスの検出結果

	個体数	1 st	Nested
感染試験直後 (H 8. 9)	4	—	+
H 9. 9	4	—	+
H 9. 12	4	—	+
H 10. 5	4	—	—

+:すべての個体で検出、:すべての個体で検出されず

(2) 選抜個体の脾臓を用いたイリドウイルス感染試験

約 1 ヶ月間感染試験を継続したが、感染は成立しなかった。また、感染試験後、試験に使われた天然 F1 (4 個体) の脾臓から DNA を抽出してイリドウイルス PCR を行った結果、全て陰性であった。

(3) 選抜群と無選抜群の補体価比較

選抜群と無選抜群の溶血補体価は、それぞれ 77.7 ± 18.9 、 74.5 ± 16.2 (平均 $\pm$ 標準偏差) unit/ml であり、両者で有意差は認められなかった (表 2)。

表 2 選抜群と無選抜群の補体価の比較

(H10.9 測定)	個体数	平均尾叉長	平均体重	補体価 (平均 $\pm$ 標準偏差)
選 抜 群	10	336.3 mm	935. 8 g	77.7 ± 18.9 unit/ml
無 選 抜 群	10	321.5 mm	920.5 g	74.5 ± 16.2 unit/ml

(4) 耐病性 DNA マーカーの探索

天然 F1、民間育種 F1 各 8 個体 (各 4 個体はイリドウイルス感染による選抜個体) を用い、20 種類のラビッドプライマー (O 社) を使って RAPD-PCR を行ったが、選抜個体に特異的なバンドは得られなかった。

4 参考文献

- 1) Kurita J, Nakajima K, Hirono I and Aoki T (1998): Polymerase chain reaction (PCR) amplification of DNA of red sea bream iridovirus (RSIV). *Fish Pathol.*, **33**, 17-23.
- 2) 矢野友紀, 畑山幸宏, 松山博子, 中尾実樹 (1987): マダイ血清の代替経路による溶血補体価 (ACH 50). *日水誌*, **53**, 1887-1891.
- 3) 北野健, 糸山力生 (1998): 品種改良効率化基礎技術開発研究 II. 平成 9 年度熊本県水産研究センター事報, 188-189.

アサリ総合対策試験（^単県平成8年度～継続） （種苗生産）

1 緒 言

本県のアサリは、日本一の漁獲量を誇り干潟漁場の重要な水産資源であったが、近年では数千トン程度の漁獲量と低迷が続いている。

アサリ資源の回復を図るためには初期資源量の増加が必要であり、アサリ稚貝の増産を目的とした放流サイズまでの中間育成方法の検討を含む種苗生産技術開発試験を行った。本年度は、管理作業を極力省略した種苗生産方法及び垂下して中間育成した稚貝の種苗性について検討した。

2 方 法

(1) 担当者 糸山力生、北野 健、倉田清典、（資源研究部）陣内康成、鳥羽瀬憲久

(2) 実施方法

ア 種苗生産試験

当水産研究センター内の多目的実験プール（2,600㎡、平均水深1.5m）で直接採卵を行い、無給餌で飼育し、浮遊幼生及び着底稚貝の成長、生残を調べた。浮遊幼生が着底するまでは無換水とし、着底後は干満による自然換水とした。

採卵は、平成10年9月21日に八代市金剛地先で漁獲された母貝（平均殻長36.9mm、重量9.9g）400kgを用い、漁獲当日に約3.3kgずつ120ネットに分けて実験プールに投入した。母貝は、産卵を確認した後9月25日に取り上げた。

また、ふ化幼生の活力を調べるため対照区として9月22日にD型幼生を採取し、20℃の恒温室で無給餌、無通気で飼育した。

イ 潜砂能力試験

供試貝は、平成10年9月に種苗生産し、着底した稚貝を45日間（平成10年10月20日から12月3日）海水中に垂下して中間育成した人工貝（以下『垂下育成貝』とする。）を用いた。対照として12月2日に採捕した天然貝を用いた。

3 結果及び考察

(1) 種苗生産試験

種苗生産結果を表1、2に、対照区の生残、成長を表3に示した。

9月21日午後4時に採卵用母貝を投入後、翌22日午後3時にはD型幼生が確認できた。事前に成熟度を観察し採卵用母貝が十分に成熟した時期を選んだので輸送時の干出刺激のみで直ちに放卵したものと思われる。採卵後1週間ほどで浮遊幼生が急激に減少したが対照区は大きな減少は見られなかったため、減少の原因は卵に由来するものではないと考えられた。浮遊幼生は順調に成長しているので、実験プール内の海水中に発生していたコペポードや仔魚等が捕食したものと思われる。

ふ化後、10日齢頃から浮遊幼生が底層に偏在し始めた。着底が終了したと思われる10月21日に樋門を開放し換水を開始した。

着底密度は、地点によるばらつきが大きい。10月21日の調査時では実験プール縁辺部が多い傾向にあり、3月17日の調査時では排水口近くの最深部のみが多くなっていた。

なお、最終的な稚貝の生産は、平成11年3月17日で平均2,800個/㎡であった。

本試験では、簡便にかつ大量にD型幼生を得ることができたが、食害と思われる原因で急激に減少した。有効な外敵駆除を行えば、簡便に大量種苗生産が可能であると思われる。

表1 浮遊幼生期生残・成長

月日		9/22	9/23	9/24	9/25	9/26	9/28	9/30
密度 (個/㎡)	表層	4.6×10^5	2.4×10^5	6.5×10^4	2.0×10^4	8.4×10^3	1.2×10^2	4.1×10
	中層	—	—	7.6×10^4	—	—	1.9×10^2	1.3×10^2
	底層	—	—	1.5×10^4	—	—	2.7×10^2	1.5×10^2
平均殻長 (μm)	表層	93	99	110	116	126	135	153
	中層	—	—	109	—	—	148	151
	底層	—	—	107	—	—	145	153

月日		10/2	10/5	10/9	10/14
密度 (個/㎡)	表層	4.9×10	4.3×10	0	5.0
	中層	5.2×10	1.6×10	5.1×10^2	8.0
	底層	1.2×10^2	1.0×10^2	3.3×10^2	1.1×10
平均殻長 (μm)	表層	156	152	—	—
	中層	152	153	146	199
	底層	162	152	150	164

表2 着底期生残・成長

月日	10/21	3/17
調査点数	7	5
平均密度 (最大～最小)	760 (2,000～150) 個/㎡	2,800 (4,900～30) 個/㎡
平均殻長 (最大～最小)	232 (340～160) μm	2.4 (12.0～1.1) μm

表3 対照区生残・成長

月日	9/22	9/25	9/28	9/30	10/6	10/9
密度 (個/㎡)	0.46	0.31	0.20	0.15	0.03	0.01
平均殻長 (μm)	93	102	105	105	103	—

(2) 潜砂能力試験

潜砂能力試験結果を表4に示した。

潜砂開始個体の割合は天然貝区が多く、潜砂完了個体の割合は垂下育成貝区が多かった。また、潜砂開始時間、潜砂完了時間、潜砂所要時間では垂下育成貝区が良かった。殻長17～25mmを用いて同様の試験を行った昨年度の結果では、垂下育成貝区は天然貝よりもかなり悪い結果であったのに対し逆の結果となった。垂下式の間中育成でも10mm以内のサイズで放流すれば、潜砂能力の点からは種苗性には問題ないと思われる。

表4 静置60分間の潜砂能力試験結果

	供試個体数	平均殻長mm	60分以内に潜砂を開始した個体数	60分以内に潜砂を完了した個体数	平均開始時間	平均完了時間	平均所要時間	一晩静置後の潜砂個体数
垂下育成貝区	26	8.4	20 (77%)	20 (77%)	17分11秒	21分40秒	4分29秒	26個 (100%)
天然貝区	14	9.8	12 (86%)	10 (71%)	22分10秒	28分37秒	9分37秒	14個 (100%)

平均開始時間：60分以内に潜砂を開始した個体の開始時までの平均時間（60分以内に潜砂完了しなかった個体も含む）

平均完了時間：60分以内に潜砂を完了した個体の完了時までの平均時間

平均所要時間：60分以内に潜砂を完了した個体の開始時から完了時までの平均時間

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10年度地域先端技術共同研究開発促進事業報告書、マダイ・ヒラメの優良形質固定化技術等の高度化 平成11年3月 熊本県」で報告した。

2 方法

(1) 担当者 北野 健、糸山力生、倉田清典

(2) 試験方法

（マダイ）

ア. 雌性発生群 F2 の作出試験

平成10年4月に、極体放出阻止型雌性発生群 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℃の低温海水に15分間浸漬する方法により行った。

イ. イリドウイルス感染により選抜した耐病性雌性発生魚の特性評価

雌性発生群から昨年度選抜した選抜個体を用いて、平成10年5月と9月にそれぞれ4尾の脾臓から ISOGEN (N社) を用いて DNA を抽出し、イリドウイルスを保持しているかどうかを PCR で調べた¹⁾。

（ヒラメ）

ア. アロマターゼインヒビターの投与による性転換雄の作出

平成10年1月に作出した遺伝的全雌群を用いて、日齢30～100に非ステロイド性のアロマターゼインヒビター (AI) であるフアドロゾール (C社) を1、10、100 $\mu\text{g/g diet}$ の濃度で投与する区、AI (100 $\mu\text{g/g diet}$) とエストラジオール17 β (1 $\mu\text{g/g diet}$) の同時投与区 (AI + E2)、17 α -メチルテストステロン (10 $\mu\text{g/g diet}$) 投与区と対照区の6試験区を設け、平成10年12月にそれぞれの区の性比を調べた。

イ. アロマターゼインヒビターの投与期間による性比

平成10年1月に作出した遺伝的全雌群を用いて、日齢30～100、30～60、45～75、60～90、75～105に高水温飼育 (27℃) または AI 投与 (100 $\mu\text{g/g diet}$) を行い、平成10年12月に性比を調査した。

ウ. PCR による早期性判別

平成10年1月に作出した遺伝的全雌群を用いて、日齢30～100に通常 (18℃) または高水温 (27℃) 飼育を行って生理的全雌または全雄に誘導した。次に、日齢100でのこれらの個体の生殖腺から ISOGEN (N社) を用いて全 RNA を抽出し、Kitano *et al.* (1999)²⁾ に従って RT-PCR を行った。プライマーとして、エストロゲン合成に関与するアロマターゼの cDNA に特異的な塩基配列と、内部標準としてエロンゲーション・ファクター 1 (EF-1) の cDNA に特異的な塩基配列を用いた。

3 結果及び考察

（マダイ）

ア. 雌性発生群 F2 の作出

極体放出阻止型雌性発生魚を親魚に用いて F2 の作出を試みた結果、1群の作出に成功した。この群の孵化率は16.67%であり、対照区の98%に比べてかなり低い値を示した。

イ. イリドウイルス感染により選抜した耐病性雌性発生魚の特性評価

PCR の結果を表 1 に示した。イリドウイルス DNA は、各時期のすべての個体で検出され、約 1 年間は保持されることが明らかになった。

表 1 PCR によるイリドウイルス DNA の検出結果

	個体数	1 s t	Nested
感染試験直後 (H 9. 9)	4	—	+
H 10. 5	4	—	+
H 10. 9	4	—	+

+: すべての個体で検出、—: すべての個体で検出されず

(ヒラメ)

ア. アロマターゼインヒビターの投与による性転換雄の作出

性転換雄の出現割合を図 1 に示した。雄の割合は、対照区が 0% であったのに対して、 17α -メチルテストステロン投与区では 100% であった。また、AI を投与した 1、10、100 $\mu\text{g/g}$ diet 区では、それぞれ 30、90、100% と濃度に伴って増加し、AI 投与により遺伝的雌が生理的雄へ性転換することが明らかになった。一方、AI + E2 投与区における性転換雄の割合は 0% であった。これらのことは、アロマターゼ活性の阻害によってエストロゲンの合成が抑制されるため雄化する一方、外因性のエストロゲンの投与により雌化することを示しており、体内のエストロゲン量が雌雄の性分化に重要な役割を果たしていることを示唆している。

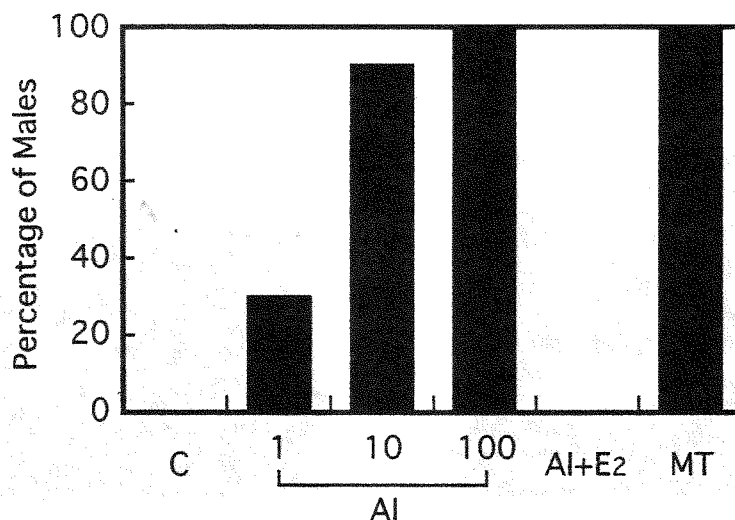


図 1 各処理における雄の割合

イ. アロマターゼインヒビターの投与期間による性比

性転換雄の出現割合を図 2 に示した。投与期間が日齢 30–100 では、雄の割合が 100% であったのに対して、日齢 30–60 では 50% と性転換の割合が減少した。しかし、投与期間が日齢 45–75、60–90、75–105 では、雄の割合がそれぞれ 70.0、94.1、83.3% であり、高い性転換の割合を示した。一方、高水温の飼育期間による性転換の割合は、日齢 30–100 では 100% であったのに対して、日齢 30–60 では 52.4% と減少したが、投与期間が日齢 45–75、60–90、75–105 では、雄の割合がそれぞれ 78.0、97.4、85.4% と高かった。このことから、性転換に影響する AI 投与期間と高水温飼育期間とは一致することが明らかになった。

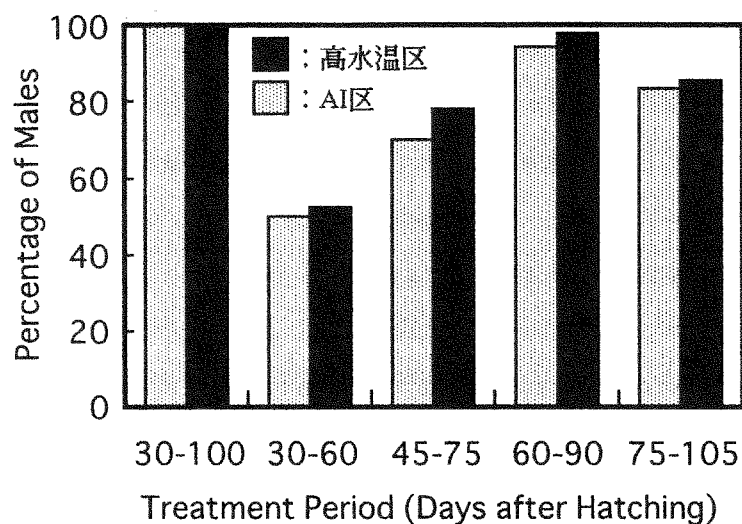


図2 処理期間別の雄の割合

ウ. PCR による早期性判別

PCR のバンドパターンを図3に示した。生理的全雌群は、すべての個体でアロマターゼの発現が認められたが、生理的全雄群では認められなかった。したがって、アロマターゼ遺伝子の発現を調べることによる性判別は大変有効な方法であると考えられた。この方法は、全雌種苗の全雌化の早期確認や放流種苗の性判別等に利用可能であると思われる。

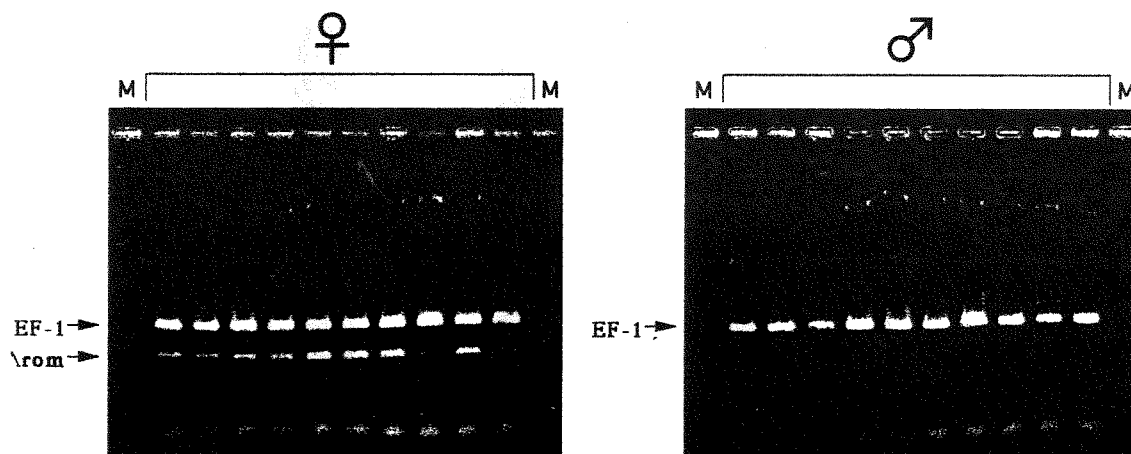


図3 PCR のバンドパターン

4 参考文献

- 1) Kurita J, Nakajima K, Hirono I and Aoki T (1998): Polymerase chain reaction (PCR) amplification of DNA of red sea bream iridovirus (RSIV). *Fish Pathol.*, **33**, 17-23.
- 2) Kitano T, Takamune K, Kobayashi T, Nagahama Y and Abe S (1949): Suppression of P450 aromatase gene expression in sex-reversed males produced by rearing genetically female larvae at a high water temperature during a period of sex differentiation in the Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *J. Mol. Endocrinol.*, in press.

遺伝子利用技術開発試験 (国庫補助 平成8年度～)

(マダイにおけるイリドウイルス量調査、輸入アサリと国内アサリの遺伝的比較、アサリにおける原虫の寄生状況調査)

1 緒言

生物特有の遺伝子を検出・比較することにより、水産養殖業に発生するウイルス病の早期発見、放流種苗の遺伝的特性、輸入水産物の国内における影響について明らかにすることを目的とする。

今年度は、養殖場でのマダイにおけるイリドウイルス量調査、有明海において中国産アサリが大量に輸入され蓄養されていることから、その影響の解明、また近年、貝類の大量へい死が発生しているため、その原因究明の一環としてアサリにおける原虫の寄生状況を調査した。

2 方法

(1) 担当者 北野 健、糸山力生

(2) 試験方法

(マダイ)

ア 養殖場でのマダイにおけるイリドウイルス量調査

供試魚は、倉岳町の養殖業者のマダイ1歳魚及び2歳魚(昨年度、イリドウイルスに感染した群)である。方法は、平成10年7-10月にそれぞれ10尾の個体の脾臓からDNAを抽出してnested PCRを行い¹⁾、イリドウイルスの有無を確認した。

イ 中国産アサリと県内産アサリの遺伝的比較

今年度の供試貝は、荒尾市の干潟域で採取したアサリ5個体である。方法は、貝柱からISOGEN(N社)を用いてDNAを抽出し、これを鋳型としてPCRによりミトコンドリアDNAのCO1領域の一部を増幅した後、この領域の塩基配列を決定し、平成8年、9年に調べた中国産アサリ及び国内産アサリの塩基配列と比較した。

ウ アサリにおける原虫の寄生状況調査

貝類に対して病原性があることが知られているパーキンサス属(特に、*Perkinsus atlanticus*以下PA)について、県内アサリにおける寄生状況の調査を行った。調査地点は、荒尾市、八代市、玉名市滑石、熊本市川口町、天草郡新和町の5地点で、5-12月に各10-20個体のアサリを調べた。方法は、鰓からISOGEN(N社)を用いてDNAを抽出し、Hamaguchi *et al.* (1998)²⁾に従ってPCRによりPAのDNAを検出し、PAの保持個体数を調べた。

3 結果及び考察

ア 養殖場でのマダイにおけるイリドウイルス量調査

養殖マダイにおけるイリドウイルスの検出個体数の割合を表1に示した。2歳魚は、1歳魚においてイリドウイルス感染症が発生する(9月発生)以前からNested PCRで陽性であったことから、昨年度から継続してイリドウイルスDNAを保持していると思われる。このことは、イリドウイルス感染試験で生残した個体は、イリドウイルスDNAを約1年間は保持するという報告と一致する³⁾。一方、1歳魚は、イリドウイルス感染症の発生時期である9月以降、イリドウイルスDNAが検出された。したがって、養殖場でのマダイにおけるイリドウイルス感染症の広がりをモニターするためには、1歳魚のPCR検査が大変有効であると思われる。

表1 PCRによるイリドウイルス検出個体数の割合(%)

	1 歳 魚	2 歳 魚
平成10年7月	0	100
8月	0	100
9月	60	100
10月	100	100

イ 中国産アサリと県内産アサリの遺伝的比較

熊本県荒尾産アサリ5個体について、ミトコンドリアDNAのCOI領域の一部である614bpの塩基配列を決定した。この領域の塩基配列について、平成8年、9年に調べた各個体の塩基配列と比較した結果を図1に示す。全ての個体で一致しなかった塩基配列の数は25と非常に少なく、各個体で高い相同性が認められた。しかし、中国産(丹東産)アサリに特異的な配列が5ヶ所存在することが明らかになり、この部分の塩基配列を比較することにより、国内産と中国産(丹東産)アサリを遺伝的に区別できる可能性が示された。

近年、大量の中国産アサリが輸入され、有明海等で蓄養されている状況がある。しかしながら、今研究においては、有明海で採取した荒尾産アサリが他の国内産アサリと高い相同性を示し、中国産(丹東産)アサリに特異的な配列を全く保持していなかったことから、中国産(丹東産)アサリの有明海産アサリへの遺伝的移入は確認できなかった。今後、有明海のサンプリング場所を増やし、丹東産以外の中国産アサリのDNA分析を行うことで、より明瞭な結論を導き出すことが可能であると思われる。

ウ アサリにおける原虫の寄生状況調査

各地点における PA 保持個体数の割合を表 2 に示した。各地点において、ほとんどの月で PA 保持個体が存在し、PA が全県に広がっていることが明らかになった。また、月による PA 保持個体数の変動は各地点で認められたものの、一貫した傾向は示さなかった。現在のところ、PA のアサリに対する病原性は明らかではないが、生殖腺への寄生により産卵に影響を及ぼす可能性もあり（浜口、私信）、今後の PA の寄生状況には注意を要すると思われる。

表 2 各地点における PA 保持個体数の割合（％）

年 月	荒尾市	八代市	玉名市	熊本市	天草郡
平成 10 年 5 月	—	—	—	—	7 0
6	—	1 0 0	7 0	2 0	4 0
7	—	5 0	1 0	6 0	—
8	1 0 0	9 0	4 0	3 0	2 0
9	—	8 0	6 0	0	—
10	1 0 0	7 0	4 0	4 0	2 0
11	—	—	2 0	3 0	—
12	8 0	1 0 0	5 0	—	3 0

4 参考文献

- 1) Kurita J, Nakajima K, Hirono I and Aoki T (1998) : Polymerase chain reaction (PCR) amplification of DNA of red sea bream iridovirus (RSIV). *Fish Pathol.*, **33**, 17-23.
- 2) Hamaguchi M, Suzuki N, Usuki H and Ishioka H (1998) : Perkinsus protozoan infection in short-necked clam *Tapes philippinarum* in Japan. *Fish Pathol.*, **33**, 473-480.
- 3) 北野健, 糸山力生 (1998) : 品種改良効率化基礎技術開発研究Ⅱ. 平成 9 年度熊本県水産研究センター事報, 188-189.