

市販配合飼料がヒラメ仔稚魚の成長, 色素発現, 脊椎骨形成に及ぼす影響

尾田 正・萱野泰久

Effect of Several Commercial Diets on Growth, Occurrence of Color Anomaly,
and Vertebral Malformation in Hatchery-reared Flounder *Paralichthys olivaceus*

Tadashi ODA and Yasuhisa KAYANO

近年, 各種魚類の稚仔魚期における栄養要求や消化吸収機構についての研究が進み, 仔稚魚用の人工配合飼料が市販されるようになった。

各飼料のアミノ酸組成, ビタミン, ミネラル含有量, 製作方法等は各々異なると思われるが, その原料組成, 添加物等細部については各社で秘密にしている部分が多い。

種苗生産に従事している担当者にとっては, どのメーカーの飼料を使うかということは, 種苗生産の成績に影響するために非常に大きな関心事となっている。特にヒラメ *Paralichthys olivaceus* 仔魚期の飼料により色素異常 (有眼側の白化) の誘因となることが明らかにされており^{1, 2)}, 飼料の選択には細心の注意を払う必要がある。

そこで今回, ヒラメ仔魚を材料とし, 3社の市販配合飼料を用いて飼育試験を行い, 成長, 色素異常, 脊椎骨の異常等について検討し, 二, 三の知見を得たので報告する。

報告に先立ち有益な助言をいただいた鹿児島大学金沢昭夫教授, 稚魚の分析をしていただいた鹿児島大学水産学部栄養化学教室の皆様へ深く感謝します。

材 料 と 方 法

供試魚 ふ化後11日目 (以後ふ化後n日目をH-nと記す) のヒラメ仔魚を用いた。供試魚として使用するまでの飼育は次のとおりであった。1986年4月6日に養成親魚から自然産卵された卵を660 lの角型水槽に收容した。H-2から午前, 午後の2回水槽中の餌料のシオミズツボワムシ *Brachionus plicatilis* (以下ワムシとする) 数を計数し, 5個体/mlに不足している数量分を与えた。予備飼育期間中の水温は16.7~19.9℃であり,

特に大きな減耗はなく飼育は順調であった。

H-11で取上げ, 1尾ずつ計数して飼育水槽に收容した。試験開始日 (H-12) における供試魚の全長は, 6.1 ± 0.29 (平均値 ± 標準偏差) mmであった。

試験飼料 試験に用いた市販配合飼料は3社の3種類であり, 各飼料の一般分析値, 粒径, 価格について表1に示した。なお, この分析値, 粒径は各社の品質表示票によるものである。

試験区 次のとおり4区設け, 1区につき2水槽を設けた。

区	飼料名
I	K
II	O
III	N
IV	生物餌量 (対照区)

I~IIIはワムシ, アルテミア *Artemia salina* 幼生と併用し, IVはワムシ, アルテミア幼生のみを与えた。なお, ワムシはクロレラ *Chlorella* sp. パン酵母で培養し, 餌として給餌する1~2日前に油脂酵母を与えた。またアルテミアは中国産を用いた。

飼育条件 試験は屋内で0.5 k l ポリカーボネイト水槽を用い, 1槽当たり1,200尾を收容した。水槽上方には遮光幕を設置し, 水面上で最高照度3~5 kluxになるようにした。また横面から光が入らないように黒色ポリエチレン幕を水槽に取付けた。

注水量は1.5 k l / 日/槽とし, 通気は小型エアーストンをういて100~200 ml / 分/槽になるように緩やかな通気を行った。

給餌は, I~III区については9時から15時まで1時間ごとに配合飼料を給餌し, 16時にアルテミア幼生を与えた。IV区は9, 12, 16時にワムシまたはアルテミア幼生

表1 試験に用いた飼料の比較

飼料名 飼料番号	K		O		N	
	1	2	1	2	1	2
粗タンパク質	54 <	55 <	55 <		52 <	
粗脂肪	10 <	10 <	5 <		11 <	
粗繊維	3 >	3 >	2 >		3.5 >	
粗灰分	13 >	13 >	15 >		16.5 >	
カルシウム	1 <	1.4 <	2.5 <		2.5 <	
リン	1.5 <	1.5 <	1.5 <		1.5 <	
粒径 (μm)	250 ~400	400 ~700	125 ~400	300 ~560	175 ~417	350 ~495
単価* (円/kg)	42,000	10,000	3,000	2,000	1,720	

* 1986年4月現在

を与えた。

水温及びpHは10時に測定した。また底掃除は毎日15~16時に行い、その際にへい死魚を計数した。

仔稚魚の成長は各区の1槽について10日毎に約30尾をランダムにサンプリングし、MS 222で麻酔後全長を測定した。

稚魚の分析 終了時稚魚の一部は -30°C で凍結させた後、鹿児島大学栄養化学教室に運搬し、分析を行った。一般組成は常法により、脂質はクロロフォルム・メタノールで抽出し、Bligh and Dyer法によりガスクロマトグラフィーで分析した。アミノ酸組成は高速液体クロマトグラフィーにより分析した。

色素異常魚調査 終了後の稚魚はまだ色素の発現が不十分である個体もいたために、さらに継続して飼育を行った。各区から200尾を計数して同水槽でアルテミア幼生、マイワシシラスの細片を適量与えて33日間飼育し、成長した稚魚を10%ホルマリン海水で固定した。固定後、50尾/槽について全長を測定し、100尾/槽の稚魚を類型区分(付図1)に従って色素異常個体を調査した。

脊椎骨異常調査 色素異常調査に供した稚魚のうち50尾/槽についてHolister法を修正したalizarin red S染色を行い、実体顕微鏡で観察した。調査は椎体を正常、癒合、変形の3つに区分した。ここでいう癒合、変形は便宜上次のように定義した。

癒合—椎体が単に癒合しているもの及び椎体が短縮あるいは変形を伴って癒合している。

変形—椎体が短縮あるいは変形している。

また、その程度により軽度、重度の2種にも区分した。

結果と考察

配合飼料の試験は'86年4月22日から5月22日まで30日間行った。平均水温は 19.0°C 、各水槽の平均pHは8.15~8.16であり、水槽間にほとんど差はなかった。

試験期間中の1日当たりの給餌量を図1に示した。総給餌量はI~IIIがワムシ58万個体、アルテミア幼生142.5万個体、配合飼料105gであり、IVはワムシ2,350万個体、アルテミア幼生1,079.1万個体であった。

生残と成長 飼育結果を表2に、5日毎の累積へい死数を図2に示した。また10日毎の成長を図3に示した。

生残率はII-2の12.0%からIV-2の73.8%までであり、2槽を平均するとIV>I>III>IIの順となり、対照区の生物餌料区が最も優れていた。また、減耗尾数のうち不明尾数が160~408尾にも達していたが、総じて生残率の

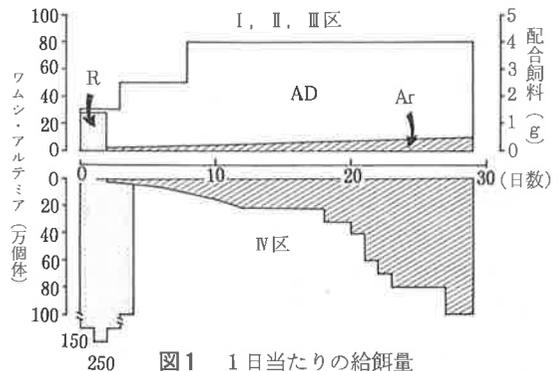


図1 1日当たりの給餌量

R : ワムシ Ar : アルテミア幼生
AD : 配合飼料

表2 試験区と飼育結果

試験区	飼料名	減耗尾数			生残尾数	生残率* ¹ (%)	全長* ² (mm)
		へい死	中間測定	不明			
I-1	K	378	0	221	601	50.1	15.0±1.74
-2	"	491	65	209	435	38.3	16.9±3.44
II-1	O	606	0	268	326	27.2	14.7±2.88
-2	"	659	71	334	136	12.0	14.0±2.21
III-1	N	315	0	408	477	39.8	13.9±2.14
-2	"	491	79	269	361	32.2	13.2±1.83
IV-1	(生物飼料)	173	0	184	843	70.3	18.8±2.35
-2	"	135	74	160	831	73.8	20.3±1.93

開始時尾数 1,200尾/区, 全長6.1mm, 期間30日

$$*1 \text{ 生残率} = \frac{\text{生残尾数}}{\text{開始時尾数} - (\text{中間測定尾数} + \text{へい死尾数})} \times 100$$

*2 平均値±標準偏差

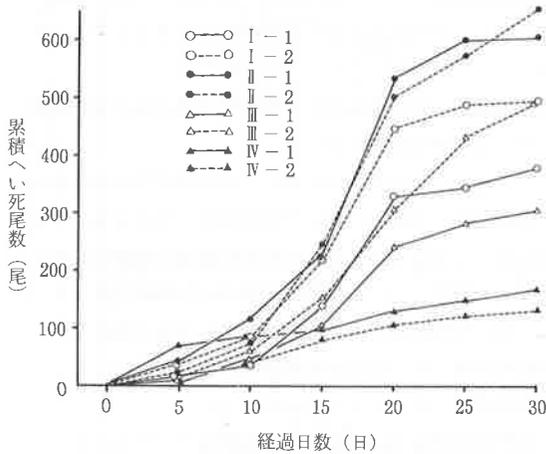


図2 累積へい死尾数

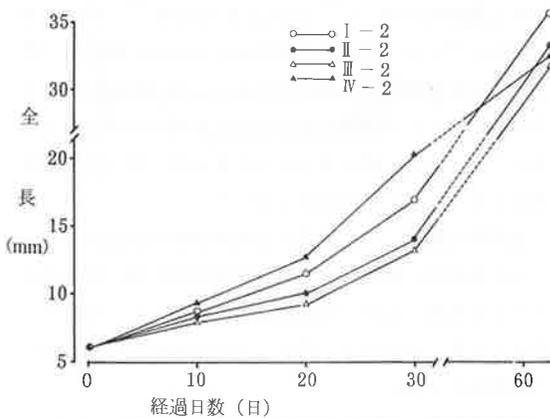


図3 各区の成長

低かった水槽に多い傾向がみられた。これは配合飼料に餌付けなかった仔魚が弱体化して成長が遅れて共食いされたのではないかと考えられた。IVは特に大きな減耗期もなく、順調に経過したが、配合飼料を与えたI~IIIは10~20日目の間の減耗が特に大きく、やはり飼育初期に配合飼料に餌付けなかった影響がこの時期に現われたものと考えられた。

成長の早さはIV>I>II>IIIとなり、やはり生物飼料区が優れていた。IIはIIIより見かけ上は優れていたが、生残尾数が少なかったことを考えると単純には断定できなかった。成長の差は開始後10日目にはすでに区間に生じており、順位が逆転することなく終了時まで続いた。また、取上げ後さらに30日間ほど飼育した結果では、I、IIがIVを上回る成長を示したが、これはIVが生物飼料のみを摂餌していたために、死餌のマイワシラスへの餌付きが悪かったためと考えられた。

魚体分析 一般分析値を表3に、また脂肪酸組成を表4に示した。

水分含量はIの79.74%からIVの81.97%の範囲にあり、各区間に大きな差は認められなかったが、配合飼料を与えたI~IIIがIVよりも高かった。これは配合飼料と生物

表3 ヒラメ稚魚の一般分析値(%)

成分	I	II	III	IV
水分	79.74	79.88	80.88	81.97
粗タンパク質	12.93	12.14	10.22	8.35
粗脂肪	3.55	3.91	3.41	3.40
粗灰分	2.58	2.20	2.34	2.95

表4 ヒラメ稚魚の脂肪酸組成 (%)

脂肪酸	I	II	III	IV
14:0	1.76	1.29	1.51	1.15
16:0	19.28	17.92	17.21	13.17
16:1 ω 7	6.13	9.13	9.90	16.69
16:2 ω 6	0.86	1.00	1.11	0.76
16:3 ω 3	1.17	1.61	2.10	2.76
18:0	7.80	8.87	8.46	6.26
18:1 ω 9	21.45	23.08	24.29	26.23
18:2 ω 6	8.77	6.83	6.12	5.14
18:3 ω 3	0.81	1.37	1.36	2.69
18:4 ω 3	0.57	0.17	0.25	0.39
20:0	—	0.17	—	—
20:1 ω 9	1.68	1.86	2.38	0.69
20:2 ω 6	0.35	0.31	0.30	0.20
20:3 ω 6	—	—	0.12	0.15
20:4 ω 6	2.31	3.21	3.33	4.03
20:4 ω 3	0.24	—	—	—
20:5 ω 3	9.05	10.30	12.55	14.81
22:2 ω 6	—	—	—	0.10
22:3 ω 6	—	0.34	—	0.54
22:3 ω 3	0.48	—	0.13	—
22:4 ω 6	—	—	—	0.09
22:4 ω 3	0.24	—	0.12	—
22:5 ω 3	1.15	2.16	1.69	1.46
22:6 ω 3	15.54	10.38	7.07	2.26
計	100.00	100.00	100.00	100.00

餌料の水分含量の差に由来しているものと思われた。粗灰分は2.20~2.95%, 粗脂肪は3.40~3.91%で各区間に大きな差は認められなかった。粗タンパク質はIが12.93%と最も高く、次いでII, IIIとなり、IVが8.35%と最も低かった。これも餌料由来と考えられたが、IとIVでは約1.5倍の差があり、これが稚魚の健苗性とどのような関連があるかは今後検討していかねばならない課題だと考えられた。

脂肪酸組成をみると、IVは16:1, 18:1などのモノエン酸含量が高く、海産魚の必須脂肪酸であるω3高度不飽和脂肪酸(ω3 HUFA)が、I~IIIに比べると少なかった。すなわち炭素数20以上のω3 HUFA含量は、IVが18.53%であるのに対し、Iでは27.06%, IIでは22.84%, IIIが21.68%であり、配合飼料区が高かった。特に海産魚に重要とされるエイコサペンタエン酸(20:5 ω 3)とドコサヘキサエン酸(22:6 ω 3)の含量は、IVでは20:5 ω 3がI~IIIより多いが、22:6 ω 3が著しく低く、非常にアンバランスであった。IVで20:5 ω 3が高かったのは、今回用いたアルテミア卵が中国産であり、この中国産は比較的高い20:5 ω 3を含んでいることが知られている³⁾が、この影響ではないかと考え

られた。またI~IIIでは22:6 ω 3が15.54~7.07%含まれていたが、これは22:6 ω 3を多量に含むイカ肝油、あるいはタラ肝油などを飼料に添加していたためではないかと推察された。

22:6 ω 3はヒラメ卵中には17~20%含まれている⁴⁾ことや、海産仔魚の餌料として最も適していると考えられる *Acartia* sp. には27~28%も含まれている⁵⁾ こと、0.1gの天然産マダイ *Pagrus major* には25%近く含まれている⁵⁾ ことを考えると、いずれの区も餌料中に不足していた。しかしIがII~IVに比べると1.5~7倍量も多かったことは注目する必要があると考えられた。

今回の飼育試験が30日間と短期間であったことや、活力テスト、自然環境適応能力テストなどを行っていないために、これらの体成分組成の違いが、養殖用種苗、放流用種苗として、その後の成長、生残にどの程度の影響を与えるかについては明らかにできなかったが、今後、検討していかねばならない重要な問題であると考えられた。

色素異常 体色異常個体の類型別出現率及び脊椎骨異常魚の出現率を表5に示した。

I~IVともに正常個体が多く、体色異常魚の出現率は、IIが最も高く23%、次いでIIIの19%、IVの9%、Iが最も低く2%であった。これらの値は、当栽培漁業センターで量産している稚魚⁶⁾ に比べると低い値であった。特に生物餌量のみを与えたIVでも9%と低かったのは意外であった。体色異常個体出現率の高い区ほど、白化程度の高いタイプ7~9が多かった。

体色異常個体(白化個体)の誘導要因としては、光⁷⁾、水温⁸⁾、生息密度⁸⁾、着底する基質⁷⁾などの環境条件以外に初期生活史の早い段階(全長8mm前後)における餌量の栄養条件^{1,2)}が挙げられている。栄養条件の中でも脂溶性ビタミン⁹⁾及びω3 HUFA¹⁰⁾が最も強く関与していることが最近明らかにされた。前述した脂肪酸組成との関係から検討すると、ω3 HUFAの最も高かったIに正常個体が多かったことは、このことと一致した。しかし、最も少なかったIVがII, IIIより正常個体が多かったことは相反していた。

著者らは前報¹¹⁾で、色素異常個体出現のcritical stageにおける飼料の摂餌状況が色素異常個体出現に関連があることを指摘したが、今回の試験においても、生残率が低かったII, IIIがIVより低かったのはそのためではないかと推察された。

脊椎骨異常 脊椎骨異常魚出現率が最も低かったのはIの26%であり、次いでIV28%、III38%、II42%であっ

表5 体色異常個体の類型別出現率 (%) 及び脊椎骨異常魚の出現率 (%)

試験区	全長* (mm)	正常 個体 タイプ-1	白化個体								合計	脊椎骨 異常魚	
			部分白化										全白化 9
			2	3	4	5	6	7	8	小計			
I	35.6±3.48	98	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	26
II	33.1±3.35	77	0	2	3	0	1	0	8	14	9	23	42
III	31.8±2.96	81	1	0	5	0	0	4	4	14	5	19	38
IV	32.5±2.63	91	0	0	1	0	0	1	0	2	7	9	28

* 平均値±標準偏差

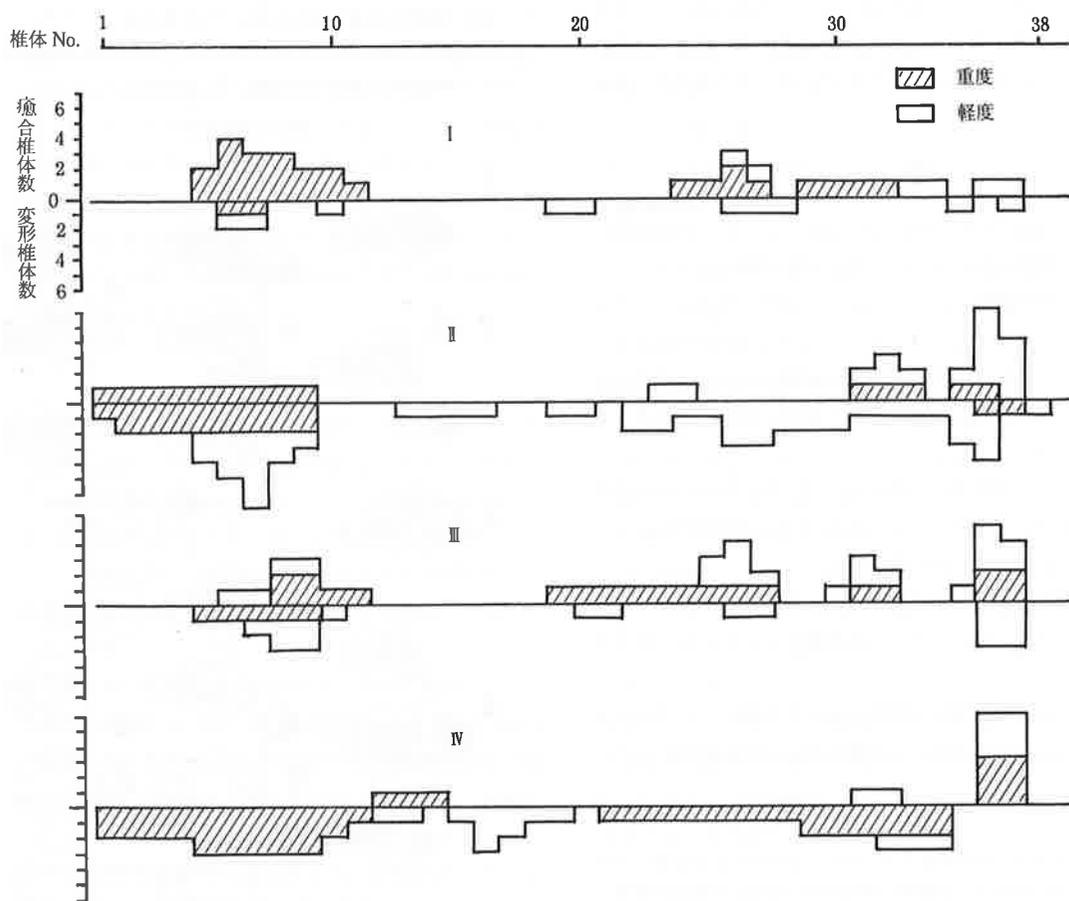


図4 脊椎骨の椎体異常出現数

た。この順位は色素異常個体出現率の順位でもあり、色素異常個体には脊椎骨異常が多いという青海¹²⁾の報告と一致した。

脊椎骨の異常部位を図4に示した。椎体の異常が最も多かったのは、椎体No. 4~10(腹椎後半), No.25~27, No.30~37(尾椎後半)であり、脊椎骨の中央部は少なかった。また癒合しているのはNo.36, 37が最も多かった。ⅣはⅠ~Ⅲに比べると癒合は少なく、変形が多い傾向にあった。

以上の検討の結果、市販配合飼料を総合的に比較すると、ⅠのKが最も優れていると考えられた。ⅡのOとⅢのNには大きな差はないものと思われた。しかし、KはO, Nに比べると単価が高いことが欠点であり、いずれの飼料を使用するかは、各種苗生産機関の実状(予算, 施設, 人員等)に応じて決定されるべきであろうと考えられた。

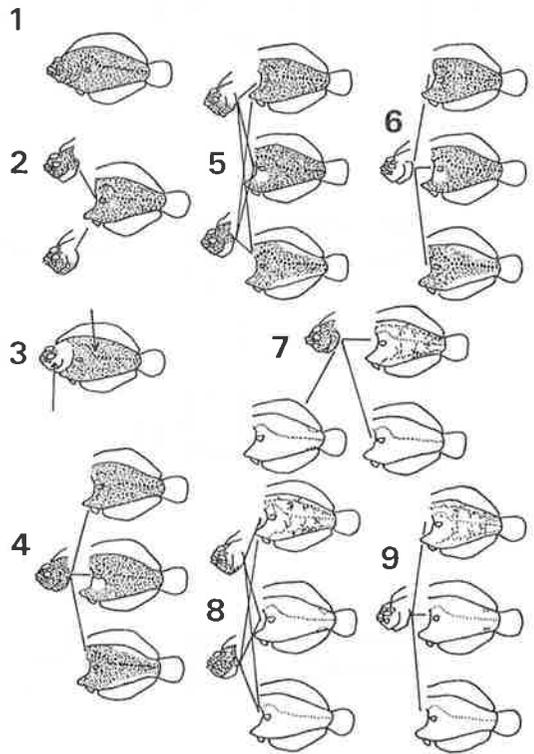
要 約

1. 平均全長6.1mm (H-12) のヒラメ仔魚を用いて、市販配合飼料K, O, Nの比較試験を行った。
2. 飼育試験は30日間行い、一部の仔稚魚はアルテミア幼生、マイワシシラスを与えてさらに33日間飼育した。
3. その結果、30日間の飼育試験の成長、生残率是对照区の生物餌料区が最も優れており、飼料間ではK>O≒Nであった。
4. 終了時稚魚の一般組成では、配合飼料を与えた稚魚の粗タンパク質、ω 3HUFA 含量が生物餌料区よりも高かった。特にKは高かった。
5. 色素異常個体出現率及び脊椎骨異常率の最も低かったのはKであり、次いで生物餌料区、N, Oの順であった。
6. 以上の結果から飼料として最も優れているのはKであり、OとNの間には明確な差は認められなかった。

文 献

- 1) 京都大学・東京水産大学, 1984: 異体類白色化個体に関する生物学的研究, 異体類白色化個体に関する栄養学的研究, 昭和59年度健苗育成技術開発委託事業報告書, 1-16
- 2) 北島 力・林田豪介・下崎真澄・渡辺 武, 1985: 人工種苗ヒラメの体色異常出現に対する微粒子飼料の抑制効果, 長崎水試研報, 11, 29-35
- 3) 京都大学・東京水産大学, 1983: 異体類白色化個体に関する生物学的研究, 異体類白色化個体出現に関する栄養学的研究, 昭和58年度健苗育成技術開発委託事業報告書, 1-30

- 4) 尾田 正・萱野泰久・村田 守, 1988: ヒラメの産卵期間中における卵質について, 岡山水試報, 3, 33-40
- 5) 渡辺 武, 1978: 脂質からみた仔稚魚用生物餌料の栄養価, 養魚と飼料脂質, 水産学シリーズ, 22, 93-111
- 6) 尾田 正・萱野泰久, 1986: ヒラメの種苗生産, 岡山水試報, 1, 176-181
- 7) E. W. LIEWES, 1984: Culture, feeding and disease of commercial flatfish species, viii+104pp
- 8) 京都大学・東京水産大学, 1986: 異体類白色化個体に関する生物学的研究, 異体類白色化個体出現に関する栄養学的研究, 昭和60年度健苗育成技術開発委託事業報告書, 1-23
- 9) 金沢昭夫, 1986: 昭和60年度同誌, 1-26
- 10) ———, 1988: 異体類種苗の白化個体出現防止のための超微粒子飼料の作成および改良, 昭和62年度同誌, 1-49
- 11) 尾田 正・萱野泰久, 1986: ヒラメの白化個体出現に及ぼす微粒子飼料の影響, 岡山水試報, 1, 80-84
- 12) 青海忠久, 1979: 人工採苗ヒラメの体色異常に伴う脊椎骨および鱗の異常, 長崎水試研報, 5, 19-25



付図1 体色異常個体の類型基準 (昭和59年度健苗育成事業連絡試験マニュアルより)