

ヒラメの体色異常抑制に対する脂溶性ビタミン類の効果

山本章造・尾田 正

Effects of Lipid-Soluble Vitamins on the Reduction of Colour Abnormalities of Juvenile Flounders *Paralichthys olivaceus*

Syozo YAMAMOTO and Tadashi ODA

ヒラメ *Paralichthys olivaceus* の種苗生産において出現する体色異常については、さまざまな角度から検討が加えられ^{1,2)}、変態期における栄養成分の欠陥と飼育環境に問題があることが指摘されている³⁾。さらに、生物餌料と配合飼料を併用して種苗生産を行うと、有眼側の体色異常（以下白化とする）個体は減少することが明らかになっている^{4,5)}。

また、脂溶性ビタミン類は色素細胞の分化増殖に不可欠であり、ヒラメの体色異常に関与していることが報告されている⁶⁾。そこで、ヒラメの白化個体の出現を抑制する目的で、仔稚魚に脂溶性ビタミン類を豊富に取り込ませた生物餌料を与えて飼育試験を行った。その結果について報告する。

材料と方法

供試材料 試験には、当栽培漁業センターで養成した親魚から採卵し、シオミズツボワムシ *Brachionus plicatilis*（以下ワムシと略す）を与えて飼育したふ化後9日目の仔魚を用いた。その全長は 5.5 ± 0.29 （平均値±標準偏差）mmであった。

表1 ワムシ浸漬液中のビタミンA活性 (IU/l)

試験区	1	2	3	4	5	6
活性	0	1×10^3	5×10^3	1×10^4	5×10^4	1×10^5

試験区 試験区は、脂溶性ビタミン類 (A, D³, E) 溶液の濃度を6段階にして6区設け、ビタミンAの活性を基準にして表1に示した。使用したビタミン類は、家畜用に市販されている脂溶性ビタミン強化剤（商品名、ハイドロビットAD³E, フジタ製薬k, k, 製）である。生物餌料へのビタミン類の取り込みは、ビタミン類の濃度が異なる溶液に、生物餌料を浸漬することによって行った。すなわち、規定量のビタミン類を溶解した6 lのナンノクロロプシス

Nannochloropsis oculata（以下ナンノと略す）海水中に、1日分の生物餌料を2時間浸漬してビタミン類を取り込ませた。その際、ニフルスチレン酸ナトリウムによる薬浴も同時に行った。対照は、ビタミン類を添加しない海水中に同様の方法で生物餌料を浸漬した。浸漬した生物餌料中のビタミン量は定量しなかった。

飼育条件 飼育水槽には、0.2kl容のポリカーボネイト製水槽を1区につき2槽使用し、これらに前述の仔魚を1,000尾ずつ計数して収容した。飼育水は、ろ過海水を別の水槽で17℃に調温したものを使用し、それをポンプを用いて飼育水槽に注入した。加温は自然水槽が17℃を越えた時点で中止した。1日の換水量は水槽の0.5倍量から最終的に5倍量まで徐々に増加した。飼育水の水温、pH及び溶存酸素量は毎日10時に測定し、水面上の日中最高照度は7,000lux以下になるように、遮光幕を用いて調整した。水槽の底掃除は適宜実施し、特に死亡数が増加した時期から毎日行い、その際、死魚を計数した。

餌料には、ナンノで1日培養後、パン酵母で4日間培養したS型ワムシとアメリカ（ユタ）産の24時間培養でふ化するアルテミア *Artemia salina* 幼生のみを使用した。これらは、出来るだけ脂溶性ビタミン類の混入を避けるために栄養強化は行わず、配合飼料も使用しなかった。給餌は、飼育試験開始日から14日目まではワムシのみを、15日目から終了日までにはアルテミア幼生のみとし、1日に1回11時に与えた。1日の給餌量は、ワムシが飼育水1ml当たり7.5個から20個体まで、アルテミア幼生は0.5個体から2.0個体までとし、いずれも成長に応じて徐々に増量した。

飼育試験は、1991年4月17日～5月27日までの40日間行い、飼育期間中の15日と30日目に全長と体重を測定した。飼育試験終了時に全数を取り上げて計数するとともに、各水槽60尾ずつ全長、体重を測定し、生残数、成長、体色異常及び体形異常を調査した。体色異常については、白化と無眼側の体色異常（以下黒化とする）個体の出現率

を飼育試験終了時に調査した。調査の時点で、白化個体は明瞭に区別できたが、黒化は魚体が小さすぎて識別が困難な個体が多く、黒色素の発現が明瞭な個体のみを黒化とした。白化と黒化のタイプ分けは前報⁵⁾に従った。また、体形異常は肉眼的に観察して異常なもののみとした。

結果と考察

表2 飼育期間中の水質

項目	平均	最低	最高
水温 (°C)	18.2	15.1	20.3
pH	8.03	7.91	8.09
DO (%)	98	93	100

飼育試験期間中の水質を表2に示した。平均の水温は18.2°C、pHは8.03及び溶存酸素量は98%であり、仔稚魚の飼育に特に問題はないと考えられた。

飼育試験結果を表3に示した。飼育開始時は、いずれの水槽の仔魚もワムシを積極的に摂餌し、飼育は順調であった。その結果、水槽別の生残率は、水槽No. 1を除きいずれも50%以上で高く、試験区間の差は少なかった。しかし、No. 1だけは飼育初期の減耗が激しく、飼育試験終了時の生残率が低くなった。また、日死亡数は特に計算しなかったが、飼育26日目頃からいずれの水槽にも底掃除の際に狂奔死するものが認められ始め、1日の死亡数は1水槽20~50尾と徐々に増加し、それは試験終了時まで続いた。栄養強化のための2次培養をしていない生物餌料だけで飼育を続けたことから、必須脂肪酸などの栄養的欠陥⁷⁾によって、刺激などに対して過敏になり、

狂奔死したと考えられた。

平均全長5.5mmの仔魚は40日間の飼育の結果、14.7~20.1mmに成長した。日成長量は0.23~0.37mm、平均0.29mm/日であり、この値は生物餌料と配合飼料を併用している事業規模の飼育⁸⁾に比べると若干劣った。成長は水槽間で若干の差が認められ、試験区間の平均全長は5区が少し優れたが、有意な差はなかった。

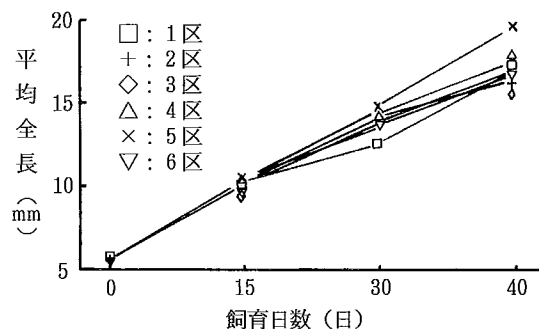


図1 試験区別の成長

次に、試験区別の成長の推移を図1に示した。飼育20日過ぎからいずれの水槽も成長の遅れた弱々しい仔魚が目立って、成長差が顕著になり、30日目には成長率は少し低下した。この時期は、死亡数が増加した時期とほぼ一致していることから、おそらく栄養的不足による成長の停滞と考えられた。仔魚の着底は飼育16日目頃から始まり、26日目には80%前後が着底した。

肥満度は0.95~1.35の範囲であり、試験区間の差は少なかった。また、試験終了時の水槽別の総重量は11.7~5

表3 飼育試験結果

試験区	水槽 No.	開始時	終了時						
			生残数 (尾)	生残率 * 1 (%)	平均全長 * 2 (mm)	平均体重 (mg)	肥満度	日成長量 * 3 (mm/日)	総重量 (g)
1	1	平均全長 (mm)	174	19.1	17.5±2.77	67.1	1.25	0.30	11.7
	2		642	70.5	16.1±2.30	50.1	1.20	0.27	32.2
2	3	5.5±0.29	596	65.5	18.4±3.16	66.3	1.06	0.32	39.5
	4		480	52.7	14.7±1.73	38.1	1.20	0.23	18.3
3	5	湿体重 (mg)	525	57.7	15.5±1.86	43.9	1.18	0.25	23.0
	6		501	55.1	17.1±2.95	63.5	1.27	0.29	31.8
4	7	0.96	678	74.5	18.7±2.96	70.6	1.08	0.33	47.9
	8		541	59.5	16.1±2.16	51.3	1.23	0.27	27.8
5	9	尾数	646	71.0	20.1±2.76	82.7	1.02	0.37	53.4
	10		1,000尾/槽	636	69.9	18.8±2.30	63.2	0.95	0.33
6	11		499	54.8	15.8±3.01	53.4	1.35	0.26	26.6
	12		466	51.2	17.9±2.43	67.2	1.17	0.31	31.3

: 1: 生残率 (%) = 終了時尾数 / (開始時尾数 - 中間測定数) × 100

* 2: 平均値 ± 標準偏差

* 3: (終了時全長 - 開始時全長) / 飼育日数

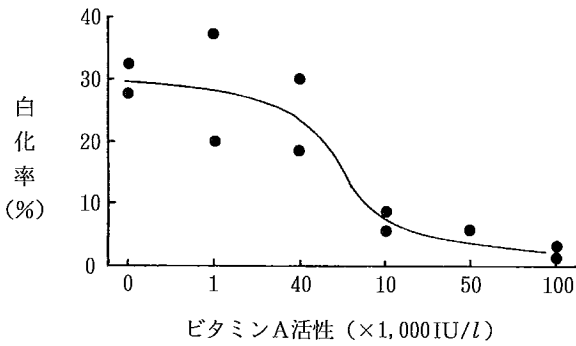


図2 ビタミンA活性と白化率との関係

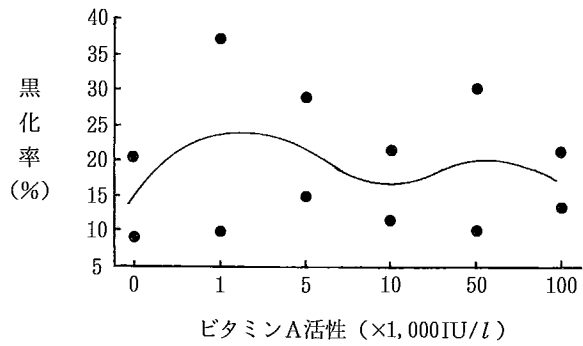


図3 ビタミンA活性と黒化率の関係

3.4gの範囲であり、水槽間の差が大きく4区で若干多い傾向がみられたものの、試験区間に有意な差はなかった。

以上の結果、異なる量の脂溶性ビタミン類を取り込ませた生物餌料を、仔稚魚に与えて40日間飼育しても、生残及び成長はほとんど変わらなかった。

次に、試験区別の白化個体の出現状況を図2に示した。ビタミンAの活性が0~5,000IUの試験区で、白化個体は18.8~37.1%の高い率で出現した。しかし、10,000IU区では平均7.2%、さらに、100,000IU区になると2.2%に低下した。また、試験区別の白化のタイプ別出現状況を表4に示した。試験区5までは、体表の80%以上に異常を示す程度の高い白化が多く、対照区と同様な傾向を示した。白化個体の出現率は脂溶性ビタミン類が多くなると低下したが、それによって白化の程度が特に低くなることはなく、また、完全に抑制されることもなかった。

一方、黒化個体の出現率を図3に示した。黒化個体は1.4~35.7%の範囲で出現し、水槽間の差が大きく、脂溶性ビタミン類の量との特別な傾向は認められなかった。

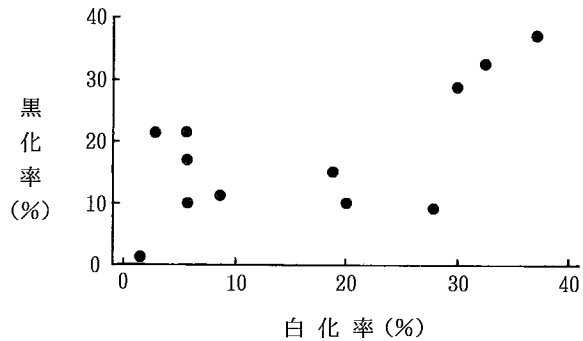


図4 白化と黒化個体出現率の関係

次に、白化と黒化個体の出現率との関係を図4に示したが、両者の相関性 ($r = 0.338$) は低かった。同じ飼育方法で、配合飼料だけが異なる条件においては、白化と黒化個体の出現率には負の相関が認められる⁵⁾が、脂溶性ビタミン類の量だけが異なる条件においては相関性は低いと考えられた。

表4 試験区別の白化出現状況

試験区	1		2		3		4		5		6	
水槽 No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
調査尾数	77	80	70	80	80	70	70	70	70	70	70	70
白化タイプ												
1												
2												
3	3											
4	4	1	1	1			1				1	1
5				2								
6												
7					2	1						
8	5	12	11	11	12	16	2	4	4	1		
9	9	13	14	2	1	4	1	2		3		
10												
白化合計 (尾)	21	26	26	16	15	21	4	6	4	4	1	2
白化率 (%)	27.3	32.5	37.1	20.0	18.8	30.0	5.7	8.6	5.7	5.7	1.4	2.9
平均 (%)	29.9		28.6		24.4		7.2		5.7		2.2	

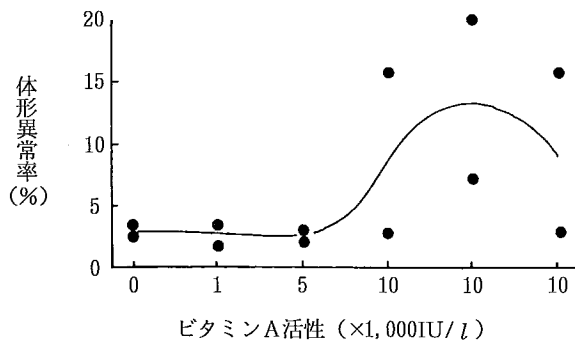


図5 ビタミンA活性と体形異常率との関係

次に、脂溶性ビタミン類の量と体形異常個体の出現状況との関係を図5に示した。体形異常は、その程度に差はあるが、尾柄部が短縮し上下に湾曲しているものが多く、また、口吻部に異常があるものも一部認められた。ビタミンAの活性が5,000IUまでの試験区では、体形異常個体の出現率は1～3%の範囲であったが、10,000IU以上になると、水槽間に大きな差はあるものの、3～20%の範囲に高くなった。飼料中のビタミンA量が多過ぎると、脊椎骨や尾骨に変形を生じることが、ヒラメ⁹⁾やマダイ、ヒラマサ、ニジマスなどの仔稚魚¹⁰⁾において観察されており、これらは脂溶性ビタミン類の過剰症と考えられている。今回の実験においては、ワムシに取り込まれた脂溶性ビタミン類を定量していないので、その量は明らかでないが、高濃度の浸漬区で体形異常が多く出現していることから、これらの異常は脂溶性ビタミン類の過剰投与による症状と考えられた。一方、ビタミンAをDやEとともに与えると体形異常が抑制されることも報告されており¹⁰⁾、体形異常の防除については今後の検討課題である。

以上の結果、ヒラメ仔稚魚の体色異常は、脂溶性ビタミン類を取り込ませた生物餌料を与えることによって、ある程度抑制できることが明らかになった。しかし、それによって白化が完全に抑制されることはなく、白化の程度が低くなることもなかった。また、脂溶性ビタミン類の過剰症と考えられる脊椎骨の異常が観察されたことから、今後は、微粒子配合飼料などを用いて、脂溶性ビタミン類の適正な投与量を検討する必要がある。

要 約

1. ヒラメの種苗生産において多発する白化個体の抑制に対する脂溶性ビタミン類の効果を明らかにする目的で、40日間の飼育試験を行った。

2. 生残率はほとんどが50%以上であり、試験区間の差が少なく、脂溶性ビタミン類との関係は特に認められなかった。
3. 成長は5区が若干優れたが、水槽間の差が大きく、試験区間に有意な差はなかった。
4. 白化個体の出現率は、ビタミンAの活性が10,000IU以上で低くなり、脂溶性ビタミン類による白化抑制の効果が認められた。
4. 黒化個体の出現率は、水槽間の差が大きく、脂溶性ビタミン類による抑制効果は認められなかった。
5. ビタミンAの活性が10,000IU以上の濃度では、体形異常個体の出現率が高くなり、これは脂溶性ビタミン類の過剰症と考えられた。
6. 白化の抑制には、脂溶性ビタミン類の適正な投与量を明らかにする必要がある。

文 献

- 1) 青海忠久, 1989: 異体類人工種苗における白化個体の出現機構に関する研究, 京都大学農学部学位論文, 193 p p.
- 2) 福所邦彦, 1990: 人工採苗ヒラメの白化現象と防除法(上), 水産の研究, 9, 42-46
- 3) 高橋庸一, 1993: ヒラメの種苗生産における体色異常個体の出現と防除, 体色異常防除試験結果報告, (1986-1989年), 特別研究報告3号, p p 58, 日本栽培漁業協会
- 4) 北島 力・林田豪介・下崎真澄・渡辺 武, 1985: 人工採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
- 5) 山本章造・尾田 正, 1991: ヒラメ仔稚魚の生残, 成長及び体色異常の出現に及ぼす配合飼料の効果, 岡山水試報, 6, 100-108
- 6) 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, 91-96
- 7) 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
- 8) 山本章造・尾田 正, 1991: ヒラメの種苗生産, 岡山水試報, 6, 236-241
- 9) 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, 38, 147-155
- 10) 竹内俊郎, 1991: 魚類における栄養素の欠乏症と要求量, 平成3年度栽培漁業技術研修事業基礎理論コース, 仔稚魚期の発育シリーズNo. 4, p p 68, 日本栽培漁業協会