

# 飼育水に添加する微細藻類種の違いがナシフグ稚魚の 鼻孔隔皮形成に与える影響

宮木廉夫, 濱崎将臣, 門村和志, 築山陽介, 藤井明彦

A study on the effects of different unicellular algae in rearing water on deformity of the inter-nostril epidermis in larval pear puffer, *Takifugu vermicularis*

Kadoo Miyaki, Masaomi Hamasaki, Kazushi Kadomura,  
Yousuke Tsukiyama and Akihiko Fujii

**Abstract:** A study was conducted to investigate the effects of different unicellular algae (*Nannochloropsis oculata* and *Chlorella vulgaris*) supply to larval-rearing water on occurrence of deformity of the inter-nostril epidermis in artificially reared pear puffer, *Takifugu vermicularis*. The larvae and juveniles of the puffer that reared in each 2 kL rearing tank from 2 days to 30 days after hatching supplied in different unicellular algae. The ratio in normal epidermis of the puffer in *Nannochloropsis*-supply tank (N.S.T) in 30, 40, 55 and 66 days after hatching was 83, 67, 76 and 72 %, respectively. On the other hands, that of *Chlorella*-supply tank (C.S.T) was 50, 42, 56 and 54 %, respectively. These results indicated that the ratio in normal epidermis of the puffer in N.S.T was higher than that of the puffer in C.S.T. From this different ratio, we came to the conclusion that a cause of deformity of inter-nostril epidermis in artificially reared pear puffer were difference of a ingredient nourishment between these unicellular algae.

魚類種苗生産過程において、前鼻孔と後鼻孔の間の隔皮が欠損し、両鼻孔が連続する異常魚が多く出現することを1986年に後藤<sup>1)</sup>がマダイ *Pagrus major* 稚魚で報告して以来、これまでに人工生産魚の多くの種類でその出現が報告されている。<sup>2,12)</sup> 傍島<sup>13)</sup> は人工生産マダイで鼻孔隔皮欠損個体の出現率が非常に高く、これらの稚魚は成長に伴って欠損率に変化が認められないことから放流標識としての有効性を示唆している。人工種苗に発現する鼻孔隔皮欠損率においては各種苗生産機関によってバラつきが認められ、その発現原因について明らかにされてない。松岡は多くの魚種で症例を観察し、鼻孔隔皮形成異常の発現要因として、飼育下における水温、環境および

栄養等が誘引していることを推察している。<sup>28)</sup> トラフグ属フグ類では、トラフグの鼻孔隔皮形成異常個体について各種苗生産機関から報告がある。<sup>14-15)</sup> 天然魚については稀であるがシマフグ *T. xanthopterus*<sup>15)</sup>、コモンフグ *T. poecilonotus*<sup>4)</sup> で報告されている。このことからフグ類における鼻孔隔皮形成は、初期餌料を含んだ外部環境に影響を受けるものと推察された。土橋ら<sup>16)</sup> はマハタの仔稚魚飼育試験で、飼育水添加用微細藻類としてナンノクロロプシス *Nannochloropsis* sp. と市

※1 土橋・他(2002)：マハタ仔稚魚の生残と形態に及ぼす濃縮淡水クロレラ添加の影響。平成14年度日本水産学会大会講演要旨集,617.

販の濃縮淡水クロレラ *Chlorella vulgaris* を別々の水槽を用いて稚魚の成長、生残および形態異常率を比較し、ナンノクロプシスを添加した水槽で生産した稚魚の方が淡水クロレラのそれに比べて形態異常の出現が低率であったことを報告している。以上のことから著者らは、飼育環境中の微細藻類の二次的な栄養成分が鼻孔隔皮形成異常の一因となるものと推察し、飼育水に添加する微細藻類をナンノクロプシス *N. oculata* と市販のDHA強化濃縮淡水クロレラ *C. vulgaris* の2種類で比較試験を行ったところ、両区におけるナシフグ稚魚の鼻孔隔皮形成率に差異が認められたので報告する。

## 材料と方法

### ナシフグ親魚および人工授精

2008年4月20日に有明海沿岸海域において待網で漁獲された成魚を総合水産試験場の屋内陸上水槽で採卵まで冷凍オキアミを用いて給餌飼育した。2008年5月29日に腹部が膨満した完熟状態の雌魚1尾(体重200g)から採卵し、さらに腹部を軽く押すと生殖孔から精液が流れ出る雄魚1尾(体重130g)から採精して、乾導法で人工授精を実施した。受精卵は100Lアルテミアふ化水槽に収容し、紫外線殺菌海水を用い、飼育水温は常温とした。

### 仔稚魚飼育

仔稚魚の飼育は2kLアルテミアふ化水槽2面を用いて行った。各水槽にふ化前の受精卵を各々20,000粒の目安で収容し、日令2から微細藻類(1区:冷蔵濃縮ナンノクロプシス, 2区:市販DHA強化淡水濃縮クロレラ;スーパー生クロレラV12, クロレラ工業)の添加とシオミズワムシ *Brachionus plicatilis* sp.complex SS型ワムシタイ株の給餌を開始した。さらに成長に伴って、日令4からシオミズツボワムシ *B. plicatilis* sp.complex L型ワムシ長崎株、日令21からアルテミア幼生 *Artemia sarina*、日令30からは市販の微粒子配合飼料(ラブ・ラーバァ2~5号:林兼産業)を順に

与えた。

なお、微細藻類は毎日午前中に1回直接飼育水に添加する方法で、添加量は両試験区において、水中密度をほぼ一定に揃えることを目的として、冷蔵濃縮ナンノクロプシス(約70億Cells/ml)を400mL、市販DHA強化淡水濃縮クロレラ(約150億Cells/ml)を150mLと設定した。2kLアルテミア水槽でのナシフグ仔稚魚の飼育はふ化後30日間行い(1次飼育:微細藻類添加試験期間)、その後各水槽内の稚魚を全数取り上げて計数後、500L黒色パンライト水槽に収容して配合飼料の単独給餌で日令66まで飼育を継続した(2次飼育)。

### 鼻孔隔皮形成の観察

飼育中の稚魚について、日令30および日令40に各々30個体、日令55には各々50個体、日令66には各々101個体について10%緩衝中性ホルマリン(和光純薬株式会社)で固定し、全長および体長を測定後、個々の個体について実体顕微鏡下で落射光を用いて左右鼻孔の隔皮形成状況を観察した。

## 結 果

### 人工授精

媒精時の水温は22.2℃で、受精率は98.7%を示した。受精卵の卵径は $0.85 \pm 0.03$  mm(平均値 $\pm$ 標準偏差, n=30)であった。

### 仔稚魚の成長

Fig.1に飼育期間中(1, 2次飼育)における1区(冷蔵濃縮ナンノクロプシス添加区)および2区(市販DHA強化淡水濃縮クロレラ添加区)のナシフグ仔稚魚の全長と飼育水温の推移を示した。日令3, 日令10および日令30における各区の稚魚の全長(平均値 $\pm$ 標準偏差)は、1区で日令3:  $2.70 \pm 0.06$  mm (n=12), 日令10:  $3.17 \pm 0.42$  mm (n=9)および日令30:  $15.31 \pm 2.47$  mm (n=30), 同様に2区では  $2.75 \pm 0.07$  mm (n=12),  $2.97 \pm 0.21$  mm (n=11)および  $14.45 \pm 2.09$  mm (n=30)で、微細藻類添加試験終了時(1次飼育:日令30)の両区の全長で平均値の差に有意差は認められなかった( $P < 0.05$ )。

日令 30 (1次飼育) の取り上げ尾数は, 1区で 290尾, 2区では 489尾であった。2次飼育終了時(日令 66) の全長は 1区:  $49.78 \pm 4.35\text{mm}$  ( $n=101$ ), 2区:  $45.15 \pm 4.28\text{mm}$  ( $n=103$ ) で両区において全長に有意差が認められた。なお, 全飼育期間中の水温は  $20.7 \sim 26.7^\circ\text{C}$  で, 1次飼育期間中の水温は両区で  $20.7 \sim 24.1^\circ\text{C}$  で推移した(Fig.1)。

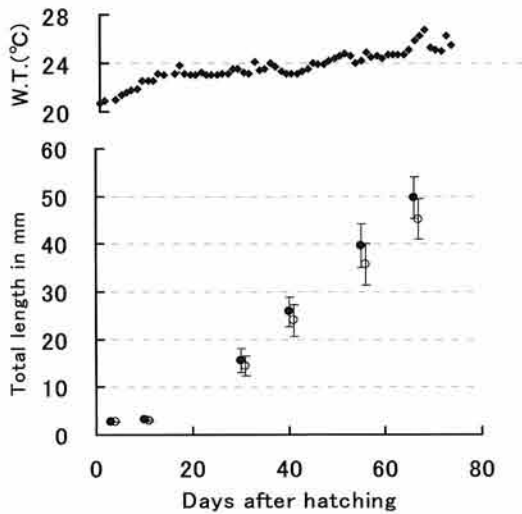


Fig.1 Changes in total length (TL:mm) and water temperature(W.T:  $^\circ\text{C}$ ) of pear puffer larvae and juveniles reared in 2-kL tanks from newly hatching to 30 days after hatching and 500L tanks from 30 to 66 days after hatching. Vertical lines show standard deviations.  
○: Nannochloropsis-supply tank,  
●: Chlorella-supply tank

### 鼻孔隔皮異常魚の出現

Fig.2 に日令 66 に観察した鼻孔隔皮形成が正常な個体 (A) および両側とも鼻孔隔皮異常である個体 (B) を示した。

また, Table.1 に日令 30, 40, 55 及び 66 における両区の鼻孔隔皮形成状況 (片側鼻孔隔皮形成異常個体, 両側鼻孔隔皮形成異常個体および鼻孔隔皮形成正常個体) の出現状況を百分率で示した。これから明らかなように鼻孔隔皮が両側とも完全な個体の出現率は 1区で日令 30, 40, 55 および 66 で各々 83, 67, 76 および 73% で日令 30 以降ほぼ一定の値で推移した。同様に 2区においても日令 30, 40, 55 および 66 で各々 50, 42, 56 および 54% と, 両区の間で日令ごとに出現率に有意な差異が認められた ( $p>0.05$ )。

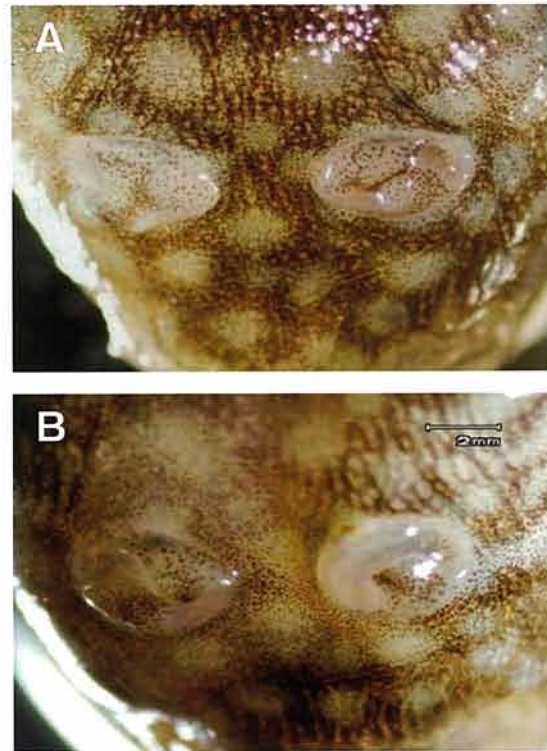


Fig.2 The nostrils of artificially reared pear puffer. A: a normal nostril structure, B: a deformed nostril structure

Table 1. Results of the observed nostrils of pear puffer juveniles raised artificially, supplying different two unicellular algae

| Test No.      | 1                      |                      |                      | 2                      |                      |                      |
|---------------|------------------------|----------------------|----------------------|------------------------|----------------------|----------------------|
|               | Deformed specimens (%) | Normal specimens (%) | Normal specimens (%) | Deformed specimens (%) | Normal specimens (%) | Normal specimens (%) |
| Days (Number) | Both sides             | One side             | (%)                  | Both sides             | One side             | (%)                  |
| 30 (n=30)     | 10                     | 7                    | 83                   | 10                     | 40                   | 50                   |
| 40 (n=30)     | 20                     | 13                   | 67                   | 32                     | 26                   | 42                   |
| 55 (n=50)     | 4                      | 20                   | 76                   | 24                     | 20                   | 56                   |
| 66 (n=101)    | 11                     | 17                   | 72                   | 18                     | 28                   | 54                   |

### 考 察

今回, 飼育水に添加する微細藻類種を変えた試験区 (1区および2区) でナシフグ仔稚魚の飼育を行ったところ, 飼育終了時に両区で成長に相違が認められた。これは 1次飼育終了時 (日令 30) で両区的全長で平均値に有意差がなかったことから, それ以降の飼育密度等が影響しているものと判断された。著者らは, 日令 30 (平均全長  $14.45 \sim 15.31\text{mm}$ ), 40 (同  $23.96 \sim 25.74\text{mm}$ ), 55 (同  $35.72 \sim 39.74\text{mm}$ ) および 66 (同  $45.15 \sim$

49.78mm) と鼻孔隔皮形成率を両区で比較したが、日令 30 以降 (全長範囲 14.45 ~ 49.78mm) には大きな変動は認められなかった。このことから全長 15mm 付近 (日令 30) では既に鼻孔隔皮形成は完了したものと判断された。藤田<sup>16)</sup>もナシフグの仔稚魚飼育を行い、日令 33 で全長 8.85mm サイズの個体に既に鼻孔が完成したことを報告している。著者らの飼育試験と藤田の仔稚魚飼育においては、日令 30 付近の全長に差異 (今回: 15mm: 日令 30, 藤田: 8.85mm: 日令 33) が認められた。これは飼育時の餌料および水温等の基本的飼育環境の相違が原因と推察される。このことから本種稚魚の鼻孔隔皮が形成される目安は全長で 9 ~ 15mm と判断された。

松岡<sup>5)</sup>は鼻孔隔皮欠損について、あくまで鼻孔の形態異常であるとの立場から、摂餌機能に及ぼす影響についても今後の課題としている。これについては独立行政法人水産総合研究センター伯方島栽培漁業センターおよび百島栽培漁業センターでは人工生産したマダイ鼻孔隔皮形成異常魚と正常魚について、嗅球の嗅応答および放流後の初期生残と成長について調査し、両者に相違は認められないことを明らかにしている。<sup>17)</sup>種苗生産時に飼育水槽中に微細藻類を添加することは、現在のところ一般的な仔稚魚の飼育方法として殆どの種苗生産機関で取り入れられ、その有効性について報告されている。<sup>18,19)</sup>先程、團ら<sup>20)</sup>は飼育環境水に淡水クロレラを添加した場合とナンノクロロプシスを添加した場合とで、その中のワムシ中の n-3HUFA 含量の変化を調べ、ナンノクロロプシス (ヤンマリン K-1, ヤンマー) を添加した場合は EPA が、一方、DHA 含有淡水クロレラ (スーパー生クロレラ V 12, クロレラ工業) を添加した場合は DHA が比較的短時間で高くなることを明らかにした。今回筆者らは團らと同様な微細藻類種を用いてナシフグ仔稚魚の飼育試験を行い、鼻孔隔皮の正常形成率に差異が現れたことから、今後は給餌前の生物餌料と飼育水中における生物餌料とで栄養価が異なることに注目して、原因解明に努めたい。

## 謝 辞

本研究を行うにあたって、採卵用親魚の入手にご協力頂いた布津漁業協同組合所属塩田一嘉氏に深謝する。また、本論文のご校閲を賜った長崎大学名誉教授多部田修博士に厚くお礼申し上げる。

## 文 献

- 1) 後藤政則: 養殖マダイにみられた鼻孔の形態異常について. 栽培技研, 15, 87-88 (1986) .
- 2) 松岡正信: クロダイの鼻孔隔皮欠損症について (短報) . *SUISANZOSHOKU*, 48, 675-676 (2000) .
- 3) 松岡正信: 天然マダイ仔稚魚の鼻孔隔皮形成過程 (短報) . *Nippon Suisan Gakkaishi*, 67, 896-897 (2001) .
- 4) 松岡正信: コモンフグ天然魚にみられた鼻孔隔皮異常について (短報) . *SUISANZOSHOKU*, 50, 233-234 (2002) .
- 5) 松岡正信: カンパチ, イサキ, キジハタおよびヒラメにおける鼻孔隔皮欠損の出現状況 (資料) . 水産増殖, 52, 307-311 (2004) .
- 6) 松岡正信: 人工採苗アユの鼻孔隔皮欠損 (短報) . 水産増殖, 52, 425-426 (2004) .
- 7) 松岡正信: 人工種苗メバル, クロソイおよびカサゴにおける鼻孔隔皮欠損の出現状況 (短報) . *Nippon Suisan Gakkaishi*, 74, 694-696 (2008) .
- 8) 松岡正信: 人工種苗サワラの鼻孔隔皮欠損 (資料) . 水産増殖, 56, 141-143 (2008) .
- 9) 山崎幸夫: スズキ人工種苗に認められる鼻孔隔皮の形態異常. 茨城水試研報, 34, 83-86 (1996) .
- 10) 安樂和彦・舛田知子・川村軍蔵・R.R.Mana: 人工種苗マダイの鼻孔隔皮形成過程 (短報) . *Nippon Suisan Gakkaishi*, 65, 501-502 (1999) .
- 11) 川嶋尚正・高瀬進: 人工生産マダイの鼻孔隔皮の形成状況. 静岡水試研報, (36), 1-5 (2001) .
- 12) 川嶋尚正・高瀬進: マダイ種苗生産過程での鼻孔隔皮の形成時期. 静岡水試研報, (37), 7-11 (2002) .
- 13) 傍島直樹・宗清正廣・船田秀之助: 鼻孔隔

- 皮の欠損によるマダイ放流種苗と天然魚の識別の可能性. 京都府海洋センター研報, **10**, 35-40 (1986) .
- 14) 長崎県: 種苗放流実態調査. 平成7~11年度放流技術開発事業報告(トラフグ), 山口県・福岡県・長崎県・三重県・愛知県・静岡県・秋田県, p.5 (2000) .
- 15) 愛知県水産試験場: 鼻孔隔皮欠損. 平成11年度放流技術開発事業報告書(中回遊種トラフグ), 愛知県水産試験場, p.17 (2000) .
- 16) 藤田矢郎: 日本産主要フグ類の生活史と養殖に関する研究. 長崎水試論文集第2集, p.121, pls 40 (1962) .
- 17) 日本栽培漁業協会: 種苗放流効果事例ファイリング事業, 栽培漁業事例集. 97-98 (2001) .
- 18) 萱場隆昭・杉本卓・佐藤敦一: マツカワ仔魚の初期摂餌及び生残に及ぼすナンノクロロプシス *Nannochloropsis oculata* 添加飼育の影響. 北水試研報, **63**, 55-63 (2002) .
- 19) 吉松隆夫・林雅弘・戸田享次・古市政幸・北島力: メナダ仔魚の必須脂肪酸要求と飼育槽へのナンノクロロプシスの添加効果 *Nippon Suisan Gakkaishi*, **61**, 912-918 (1995) .
- 20) 團重樹・小磯雅彦: 種苗生産水槽へ添加した微細藻類のワムシ n-3 高度不飽和脂肪酸含量に及ぼす影響. 水産増殖, **56**, 603-604 (2008) .