

## 飼育水温の影響によるトラフグふ化仔魚の鼻孔隔皮欠損

櫻井繁・濱田信行

Inter-nostril Epidermis of *Takifugu rubripes* hatch larval fish by influence of breeding water temperature

Shigeru SAKURAI\*, Nobuyuki HAMADA\*\*

## はしがき

本県のトラフグ種苗放流は、2003年、三浦半島西岸中部に位置する長井漁港においてトラフグの水揚量が急増し、翌年から漁業協同組合の自主的な種苗放流が開始された<sup>1)</sup>。2006年からは財団法人神奈川県栽培漁業協会（現公益財団法人神奈川県栽培漁業協会）及び神奈川県水産技術センターによって、社団法人全国豊かな海づくり推進協会（現公益社団法人全国豊かな海づくり推進協会（以下、「海づくり協会」という））の栽培漁業実証事業を活用し、標識を付けた種苗及び無標識の種苗放流が実施された<sup>1)</sup>。

本県におけるトラフグ種苗生産は、2008年、海づくり推進協会の栽培漁業技術実証事業を活用し、独立行政法人水産総合研究センター南伊豆栽培漁業センター（現国立研究開発法人水産研究・教育機構増養殖研究所ウナギ種苗量産研究センター（以下、「ウナギ種苗量産研究センター」という））から受精卵1万粒を譲り受けて開始した<sup>2)</sup>。

これらトラフグの放流効果調査として、2005年から水揚量調査や水揚物の体長測定等の市場調査を実施し、鼻孔隔皮欠損を利用した混入率及び回収率を推定したところ、混入率は平均54.1%、回収率は平均6.8%（2005～2012年）との結果が得られた<sup>3)</sup>。

人工生産した種苗の鼻孔隔皮欠損率にはばらつきがあり、放流効果を把握するためには技術的問題がある。種苗に高確率で鼻孔隔皮欠損を発現させることができれば、鼻孔隔皮欠損を利用した放流効果調査の精度を高く求めることができる。マダイでは、

鼻孔隔皮欠損を発現させる条件として餌料の栄養状況<sup>4)</sup>や飼育水温の影響<sup>5)</sup>、ナシフグでは飼育水中の微細藻類<sup>6)</sup>などが明らかになってきているが、トラフグではその知見がない。

今回、トラフグふ化仔魚の飼育水温を変えることによって、人工生産したトラフグ種苗に高確率で鼻孔隔皮欠損を発現させる知見が得られたので報告する。

## 材料および方法

## 試験区の温度設定

ウナギ種苗量産研究センターが実施しているトラフグ種苗生産は、トラフグ親魚を短期養成し、黄体形成ホルモン放出ホルモン（LH-RHa）を注射後、人為的に卵を搾出し、人工授精させている。飼育水温は、短期養成中は自然水温、ホルモン注射後は17℃、受精卵の管理中は18℃である。ふ化した仔魚は、ふ化水温の18℃から徐々に昇温させ、22℃に達したのちは一定にし、放流する大きさの5cmまで飼育している。また、株式会社長崎県漁業公社では、種苗を早く成長させるため、飼育初期からの水温を24℃で管理し、7cmまで飼育している<sup>7, 8)</sup>。

これら飼育管理の水温を準用し、試験区に明確な差が見られやすいように、2015年は低水温区を18℃、高水温区を24℃とした。2016年は2015年の試験において、18℃区を設定したにもかかわらず、水温上昇を続けてしまったため、やむを得ず19℃区に設定し、24℃区と共に試験を行った。

## 2015年試験方法

2015年4月12日、静岡県温水利用研究センター

が採卵したトラフグ受精卵 40 万粒を水産技術センターに搬入し、18℃に加温したろ過海水を掛け流して注水している 0.5 t アルテミアふ化水槽（以下、「ふ化水槽」という）1 基に収容した。18℃に加温したろ過海水は換水率 1.5 回転/時間になるように注水し、ふ化は 4 月 17 日から始まり、ふ化率は 63% だった。ふ化仔魚の一部をふ化水槽から取り上げ、50 L 角型水槽 2 基（以下、50 L 水槽という）に 2,500 尾/基になるように入れた。

2015 年 18℃区は 18℃に加温したろ過海水を注水し、2015 年 24℃区は 200W のセラミックヒーター（ニッソー）を用いて 24℃まで 1℃/日になるように昇温した。なお、両試験区とも注水は換水率 4 回転/日になるように実施した。

#### 2016 年試験方法

2016 年 4 月 28 日、ウナギ種苗量産研究センターが採卵したトラフグ受精卵 50 万粒を水産技術センターに搬入し、18℃に加温したろ過海水を掛け流して注水しているふ化水槽 1 基に収容した。18℃に加温したろ過海水は換水率 1.5 回転/時間になるように注水し、ふ化は 5 月 3 日から始まり、ふ化率は 43% だった。ふ化仔魚の一部をふ化水槽から取り上げ、50 L 水槽 2 基に 2,500 尾/基になるように入れた。

2016 年 19℃区は 18℃に加温したろ過海水を注水し、2016 年 24℃区は 200W のセラミックヒーター（ニッソー）で 1℃/日になるように昇温した。なお、両試験区とも注水は換水率 4 回転/日になるように調整し、外気温の影響を受けないように、50 L 水槽 2 基を同じウォーターバスに入れて 18℃の加温した海水を注水して試験を実施した。

#### 餌料種類及び鼻孔隔皮欠損の観察

2015 年 18℃区及び 2015 年 24℃区は、ふ化後 0～26 日まで毎朝 8 時にシオミズツボワムシ *Brachionus plicatilis* sp. Complex（以下、シオミズツボワムシ）100 万個体を投餌するとともに、ナンノクロロプシス *Nannochloropsis* (2,000 万 cell/cc)（以下、ナンノクロロプシス）10 L が 2 時間程度でなくなるように滴下した。また、ふ化後 14～26 日まで栄養強化したアルテミアノープリウス *Artemia sarina*（以下、アルテミア）を 5～250

万個体/日になるように投餌した。サンプリングは 26 日目に実施し、18℃区は 68 個体、24℃区は 79 個体を 5% 海水ホルマリンで固定した。全長をデジタルノギスで 0.1 mm まで測定し、鼻孔の状態を実体顕微鏡で観察した。なお、26 日目に噛合いによる大量斃死が発生したため、測定可能な健全な個体が確保できず、試験を中止した。

2016 年 19℃区及び 2016 年 24℃区は、ふ化後 0～30 日まで毎朝 8 時にシオミズツボワムシ 100 万個体を投餌するとともに、ナンノクロロプシス (2,000 万 cell/cc) 10 L が 2 時間程度でなくなるように滴下した。また、ふ化後 14～30 日まで栄養強化したアルテミアを 5～250 万個体/日になるように投餌した。サンプリングは 30 日目に実施し、19℃区及び 24℃区のいずれも 100 個体を固定した。全長及び鼻孔の状態は、2015 年と同様に測定及び観察した。

なお、2015 年及び 2016 年の餌料について、シオミズツボワムシはナンノクロロプシスで通常培養及び栄養強化を行い、アルテミアはスーパードコサドライ (USC 社) で 24 時間、栄養強化した。また、投餌前に防水型デジタル水温計 (佐藤計量器製作所 SK-250WP2-K) を用いて水温の測定を行った。

## 結 果

### 水温変動の推移及び稚仔魚の成長

2015 年 18℃区、2015 年 24℃区、2016 年 19℃区及び 2016 年 24℃区における水温変化を図 1 に示す。2015 年 18℃区は、7 日目までは 18.3～19.2℃で推移したが、8 日目以降は外気温の影響を受け 19.3～22.5℃と変動した。2015 年 24℃区は、1℃/日で昇温させた 7 日目には 23.5℃に達し、実験終了 26 日目まで 23.3～23.8℃と安定した。2016 年 19℃区は、ウォーターバスに 50 L 水槽を入れていたため、試験中は 18.7～20.2℃と安定した。また、2016 年 24℃区は、1℃/日で昇温させた 6 日目には 23.5℃に達し、試験終了 30 日目まで 23.4～24.0℃で推移した (図 1)。

2015 年 18℃区及び 2015 年 24℃区の全長及び標準偏差は、 $9.6 \pm 0.9$  mm 及び  $11.2 \pm 0.9$  mm となり、t 検定を実施したところ、両試験区的全長に有意差

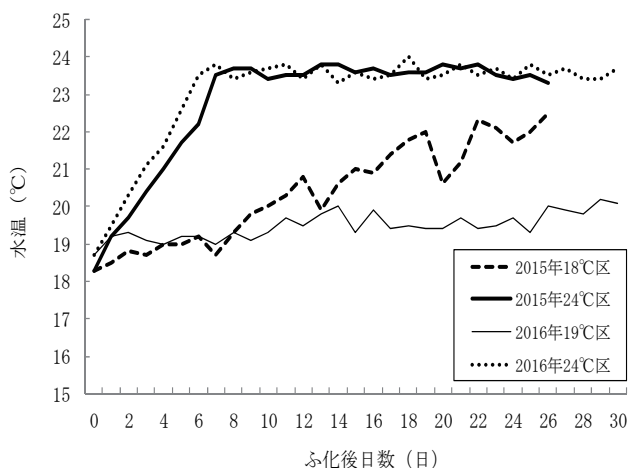


図1 4試験区の水溫変化

はみられなかった ( $P > 0.01$ ) (表1)。2016年19°C区及び2016年24°C区の全長及び標準偏差は、 $10.2 \pm 1.1$  mm及び $15.4 \pm 1.5$  mmとなり、両試験区の全長に有意差がみられた ( $P < 0.01$ ) (表1)。

表1 鼻孔隔皮欠損の状況、鼻孔隔皮欠損率及び平均全長

試験区	鼻孔欠損 (尾)				欠損率 (%)	平均全長 (mm)
	右	左	左右	無し		
2015年18°C区	3	0	65	0	100.0	9.6
2015年24°C区	18	6	23	32	59.5	11.2
2016年19°C区	3	5	91	1	99.0	10.2
2016年24°C区	10	20	19	51	49.0	15.4

### 鼻孔隔皮欠損魚の出現状況

2015年18°C区、2015年24°C区、2016年19°C区及び2016年24°C区の個体を観察し、鼻孔隔皮が正常な個体(写真1)と鼻孔隔皮が欠損した個体(左右どちらか、もしくは両方欠損した個体)(写真2)の個体数を表1に示す。

18°Cに加温したろ過海水を注水している2015年18°C区及び2016年19°C区の鼻孔隔皮欠損率は100.0%及び99.0%となり、1°C/日で加温し7日目及び6日目には設定水溫に達した2015年24°C区及び2016年24°C区は59.5%及び49.0%となった(表1)。この結果から明らかなように、鼻孔隔皮欠損率が極めて高い2015年18°C区及び2016年19°C区と、低かった2015年24°C区及び2016年24°C区について、フィッシャーの正確率検定を実施したところ、有意差が認められた ( $P < 0.01$ )。

### 考 察

今回の試験では、18°Cに加温した試験区(2015年18°C区及び2016年19°C区)と24°Cに加温した試験区(2015年24°C区及び2016年24°C区)では、鼻孔隔皮欠損率に有意差が認められた。2015年は成長差がなく2016年には成長差が生じた中で、加温しなかった区では100%近く鼻孔隔皮欠損が生じ、加温した区で欠損の発生率が高くなかったことから、鼻孔隔皮欠損に与える影響は、成長による差ではなく、飼育中の水溫が影響したと考えられた。

2015年試験区と2016年試験区を見る限りでは、水溫を上昇させたことによって26日目までに、鼻孔隔皮の形成に影響を与えたとしか判らない。今後、更に飼育水溫と飼育日数の関係について詳細な検討を行うことによって、鼻孔隔皮欠損率を高めることが考えられる。



写真1 鼻孔隔皮が正常な個体

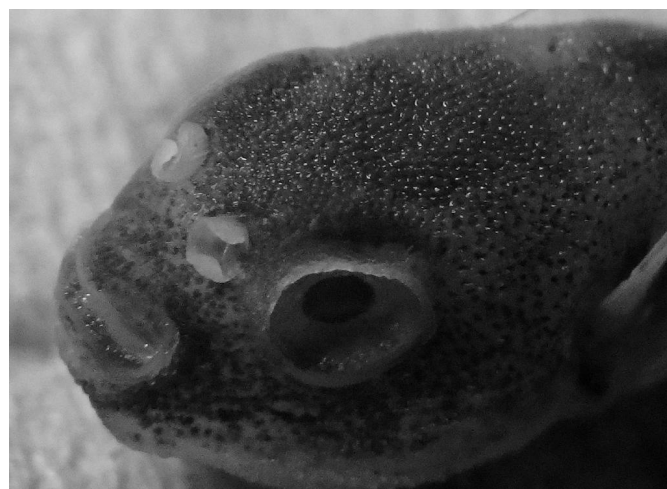


写真2 鼻孔隔皮が欠損している個体

鼻孔隔皮欠損個体の出現割合と飼育水溫の関係について、マダイでは全長 5 mm まで 20°C を維持した後、5 mm 以上から水溫を 21°C、23°C、25°C まで昇温させ、40 日まで飼育したところ、21°C では鼻孔隔皮欠損率が 80~90% になったのに対し、23°C 及び 25°C は 1~34% と低くなったと、水溫による影響が報告されている<sup>5)</sup>。

これら鼻孔隔皮に与えるのは水溫だけでなく、餌料環境なども影響している研究結果がある。人工ふ化させたマダイ仔魚に摂餌開始から天然プランクトンだけを与え、全長 12.9~29.2 mm の 26 個体の鼻孔を観察したところ、すべてが鼻孔隔皮欠損していなかった。また、全長 5 mm までは天然プランクトンを餌料とし、それ以降は人為的に生産したシオミズツボウムシを与えたところ、日令 34 日、全長 10~14 mm の 260 個体のうち 36% が鼻孔隔皮を欠損していた報告があり<sup>4)</sup>、鼻孔隔皮欠損には、栄養状態も関与していることも疑われる。同じフグ科に属するナシフグについて、飼育水中に添加する微細藻類をナンノクロプシス及び DHA を強化した淡水クロレラとしたところ、鼻孔隔皮欠損率が 73% 及び 54% となり、出現率に有意差が認められている<sup>6)</sup>。

本県のトラフグ放流効果の算定については、2005~2012 年の放流種苗の欠損率を放流前に測定した鼻孔隔皮欠損(欠損率 48~77%)を利用している。この欠損率から混入率及び回収率を推定したが<sup>3)</sup>、2014 年以降に放流している種苗の鼻孔隔皮欠損(欠損率 17~34%、未発表)は低下する傾向にある。これら鼻孔隔皮欠損を利用した放流効果の精度をさらに高めるためにも、飼育水溫だけでなく餌料栄養状況や飼育環境などの条件をさらに解明し、さらに鼻孔隔皮欠損したことによる放流後の行動試験を併せて行い、種苗の健苗性を高めることで、放流効果を高める礎となることが望まれる。

## 謝 辞

本研究の実施にあたり、試験に協力して頂いた国立研究開発法人水産研究・教育機構増養殖研究所ウナギ種苗量産研究センターの鈴木重則主任研究員、静岡県温水利用研究センターの大井英治研究員、水産技術センター栽培推進部の皆様に感謝申し上げます。

## 引用文献

- 1) 一色竜也・鈴木重則 (2012) : 神奈川県沿岸で標識放流したトラフグ人工種苗の移動と成長, 神奈川県水産技術センター研究報告, **5**, 33-39.
- 2) 神奈川県水産技術センター (2008) : 栽培漁業放流技術開発事業, 神奈川県水産技術センター業務概要, 49-50.
- 3) 櫻井繁・一色竜也・鈴木重則 (2014) : 神奈川県にけるトラフグ種苗放流効果について, 神奈川県水産技術センター研究報告, **7**, 41-48.
- 4) 松岡正信 (2009) : 天然プランクトンを餌料としたマダイ仔稚魚飼育と鼻孔隔皮欠損の関連, 水産増殖, **57**(3), 519-521.
- 5) 山田徹生・明石英幹・山本義久 (2012) : マダイ量産種苗における鼻孔隔皮欠損の形成に与える飼育水溫の影響, 水産増殖, **60**(1), 153-159.
- 6) 宮本兼夫・濱崎将臣・門村和志・築山陽介・藤井明彦 (2009) : 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, 長崎県水産試験場研究報告, **35**, 1-5.
- 7) 株式会社長崎県公社 (1997) : トラフグー I・II, 長崎県漁業公社事業報告, 19-23.
- 8) 株式会社長崎県公社 (1998) : トラフグー I・II, 長崎県漁業公社事業報告, 112-115.