

ヒラメ無眼側黒化防止対策試験

松坂 洋・山田 嘉暢・川村 要

目 的

ヒラメ放流種苗の無眼側の体色異常（以下、黒化とする）の問題を解決するために、全国でその対策が検討され^{1) 2)}、平成6年度より当所においても黒化対策のための試験研究が進められてきた。

当所における検討結果から、ワムシの栄養強化条件、アルテミアの給餌期間の延長、配合飼料の給餌開始の遅延化及び低照度等が黒化を軽減することはわかったものの、完全な防除対策にはならなかった^{3)~8)}。

そこで、今年度は近年魚類種苗生産用餌料として使用され始めた冷凍コペポータを餌料系列に加え検討することとした。また、N社から新たにヒラメ用配合飼料が販売されたため、これも検討項目に加え、30mm前後からは底質（敷砂の有無）の違いも含めて無眼側の黒化対策を試みた。

材料及び方法

試験—I（0～60日令までの餌料による効果の検討）

1 供 試 魚

青森県栽培漁業振興協会で飼育されているヒラメ親魚から産卵され、平成13年6月11日に当所に受精卵で搬入し、約15～16℃で卵管理して6月12～13日にふ化した仔魚を用いた。

2 飼育環境条件

飼育環境条件は表1のとおりで、過年度と同様とし、1m³パンライト水槽を用い、1試験区を2水槽とした。

飼育水は濾過海水（15.2～23.6℃で推移）を掛け流しした。飼育水には生クロレラV12を試験開始から40日令まで添加し、試験期間は60日間とした。

3 試 験 設 定

表2のとおり試験区は5区とし、1区は対照として設定し、2区はそれに冷凍コペポータを餌料系列に加え、配合飼料の給餌開始期間を10日間遅らせた区とした。表3のとおり、3区は餌料系列では1区と変わらないが、配合飼料の給餌期間を10日間遅くした。

4、5区は1～3区と餌料系列及び給餌期間は同一とし、ワムシの栄養強化剤を変え、5区はN社製配合飼料を新製品のヒラメ用とした。

表1 試験における飼育環境条件について

環境条件	本試験における飼育環境
使用水槽	1m ³ パンライト水槽
収容尾数	5,000尾/m ³
有効水量	1.0m ³
植物プランクトン	生クロレラV12を100～150×10 ⁴ cell/mlの濃度になるように添加
光	自然光
水 温	天然水温

表2 ヒラメ黒化対策試験の生物餌料の強化内容並びに配合飼料の種類

試験区分	餌料の種類及び強化内容			
	ワムシ	アルテミア	冷凍コペポータ	配合飼料
1	アクアラン	スーパーガブセルA1	無	N社製配合飼料
2	〃	〃	有	〃
3	〃	〃	無	〃
4	スーパー生クロレラ	〃	〃	〃
5	〃	〃	〃	N社製配合飼料（ヒラメ用）

4 餌料系列及び給餌期間

表3のように、1、4、5区は各餌料の給餌期間は同一とし、従来どおりワムシは2～25日令まで、アルテミアは12～40日令まで、配合飼料は20～60日令まで給餌した。2区は餌料系列に冷凍コペポダを加え、2区と3区は配合飼料の給餌期間を30日令からとし、冷凍コペポダ及びアルテミアの給餌効果を検討した。なお、2区の冷凍コペポダの給餌期間は20～40日令とした。

5 生物餌料の栄養強化

表2のとおり生物餌料の栄養強化は、1～3区がワムシの栄養強化剤をアクアラン、4～5区をスーパー生クロレラとした。アルテミアはすべての区ともスーパーカプセルA1とした。栄養強化条件は表4のとおりとした。

6 飼育並びに試験結果の判定

試験終了まで定期的に成長を追跡するとともに、60日目の試験終了時には全数取揚げして、成長及び生残率を確認し、各試験区とも50尾の有眼側及び無眼側の体色異常について調査した。なお、黒化については前報^{5)～8)}と同様に水産庁で作成したヒラメ無眼側体色異常の出現タイプを基に分類した。

試験Ⅱ（60～90日令までの敷砂の効果の検討）

60日目に試験を終了した4区から600尾取り、300尾ずつ2分して90日目まで継続して飼育した。そして、一方には貝化石（φ0.5～1.0mmの大きさの粒子で、多孔質でイオン化の性質があるため硫化水素及びアンモニアの吸着・脱臭効果により、水質改善に役立ち、pHを8前後に調整する作用がある。外見は砂と変わらない。）を水槽底面に7mm程度に薄く敷いて飼育した（以下貝化石を敷いた区を敷砂区、貝化石を敷かない区を無砂区とする）。その間、糞や残餌による底層の著しい悪化による還元層の発生を防ぐために1週間に1度貝化石を交換した。

90日目に全数取り揚げて、成長、生残及び無眼側の体色異常を調査した。

表3 試験における餌料系列及び給餌期間について

試験区分	餌料の種類	日	令
1・4・5	ワムシ	←	→
	アルテミア	←	→
	配合飼料	←	→
2	ワムシ	←	→
	アルテミア	←	→
	冷凍コペポダ	←	→
	配合飼料	←	→
3	ワムシ	←	→
	アルテミア	←	→
	配合飼料	←	→

表4 本試験における生物餌料の栄養強化条件について

強化条件	スーパー生クロレラV12（ワムシ用）	アクアラン（ワムシ用）	スーパーカプセルA1（アルテミア用）
強化量	1000ml/m ³	300g/m ³	300ml/m ³
水槽	0.2m ³ アルテミアふ化槽	同左	同左
水温	20℃	同左	同左
時間	6時間（夕用）及び24時間（朝用）	6時間（夕用）及び24時間（朝用）	17時間（朝用）及び24時間（夕用）
ワムシ密度	1000ind./ml	15～90ind./ml	5～60ind./ml
給餌回数	朝夕2回	同左	同左

結 果

1 試験—I（0～60日令までの餌料による効果の検討）

表5に60日目の試験終了時の生残率、成長及び有眼側、無眼側の体色異常について示した。なお、本県においてはAタイプの体色異常が最も問題であるため、例年どおりAタイプ以外のB、C、Dといった体色異常はその他としてまとめて示した。各試験区とも2水槽設けて試験を行ったため、無眼側の黒化については各試験区の平均値により比較した。

(1) 生 残 率

表5の60日目の試験終了時の結果を見ると、生残率は低いもので5区の6.0%、高いもので1区の51.5%で、対照区として設定した1区が平均50.9%と最も高い生残率を示した。2～4区は2水槽の平均で30%台（2区が31.8%、3区が35.5%、4区が37.8%）であった。5区は1水槽が原因不明の摂餌不良により急激な減耗があったため1水槽は6.0%と低い生残率となり、残りの1水槽が33.9%であったものの、平均では20.0%と低くなった。

(2) 成 長

平均全長は減耗のあった5区の1水槽でやはり20.1mmと成長が悪かったが、他の水槽は25.7～31.3mmに成長した。各試験区の平均は1区が27.4mm、2区が29.9mm、3区が31.1mm、4区が27.4mm、そして5区は1水槽の成長不良により23.3mmと小型であった。各試験区間で平均全長の比較を行った結果、5%水準で5区<4区=1区<2区<3区の関係が得られた。

(3) 有眼側の体色異常（白化）

有眼側の体色異常（白化）は1.0～12.5%の範囲で出現し、特に3区が2水槽ともに高く、平均12.2%で、最も低かったのが4区の1.7%であった。その他の区は平均で4.6～8.9%であった。

表5 各区の試験終了時の生残率、成長及び体色異常について（60日令）

試験区分	生残率 (%)	平均全長 (mm)	有眼側白化率 (%)	無眼側黒化率 (%)					
				A 1	A 2	A 3	A 4	その他	N
1区	51.5	29.1	6.1	0.0	4.0	7.1	39.4	18.2	31.3
	50.2	25.7	7.0	0.0	1.0	13.5	50.0	7.7	27.9
2区	31.8	29.8	8.8	0.0	0.0	5.0	26.0	4.0	65.0
	31.7	30.0	8.9	0.0	2.0	10.0	34.0	10.0	44.0
3区	38.0	31.3	12.5	0.0	1.0	6.9	38.6	11.9	41.6
	33.0	30.9	11.8	0.0	2.0	6.0	44.0	8.0	40.0
4区	42.3	27.2	1.0	0.0	1.0	5.0	70.0	4.0	20.0
	33.3	27.6	2.3	0.0	2.9	11.4	55.2	1.0	29.5
5区	33.9	26.5	3.0	0.0	0.0	5.0	74.3	4.0	16.8
	6.0	20.1	6.2	0.0	1.6	1.6	73.8	3.3	19.7

A 1～A 4はAタイプ、その他はB、C、Dタイプの黒化を含む、Nは正常

(4) 無眼側の体色異常 (黒化)

図1に各区の黒化の出現割合を示した。表5から正常個体の出現割合は低いもので5区の16.8%、最も高いもので2区の65.0%であった。2水槽の平均では18.3~54.5%（1区29.6%、2区54.5%、3区40.8%、4区24.8%、5区18.3%）の範囲で、冷凍コペポータを与えた2区が最も高く、配合飼料にヒラメ用を用いた5区が最も低かった。

本試験の主検討目的であるAタイプの黒化対策については、表5

及び図1からわかるように、無眼側の全面が着色したA1はすべての区で出現しなかった。A3タイプ以上の強い黒化の出現率は2水槽の平均で1区が12.5%で最も高く、次いで4区の10.2%で、他の3試験区は4.1~8.5%の範囲であった。最も軽度なA4は26.0~74.3%の範囲で出現しており、例年どおり各区ともAタイプの黒化は軽度なほど高い出現割合を示した。4区及び5区は他の3試験区とワムシの栄養強化剤が異なるが、A4タイプの出現割合が高く、特にヒラメ用配合飼料を用いた5区でその割合が高かった。ワムシの栄養強化剤以外に飼育条件に違いのない1区と4区で比べると、正常個体出現割合は1区が多いが、A3以上の重度な黒化の出現割合は逆に4区の方が低かった。

表6に黒化組成の各区間の χ^2 検定結果を示した。これによると、1区と4区の間、1区、2区、3区と5区の間に1%水準で有意差が認められた。また、1区と2区、3区と4区の間に5%水準で有意差が認められた。

2 試験Ⅱ（60~90日令までの敷砂の効果の検討）

(1) 生残率及び成長

30mm前後（60日令以降）における底質の無眼側への影響を検討した結果を表7に示した。生残率は

敷砂区が73.3%、底に何も敷かなかった無砂区が78.1%とやや無砂区が上回った。成長も敷砂区が平均全長で45.9mmであったのに対し、無砂区が52.8mmと生残率と同様に無砂区が良かった。

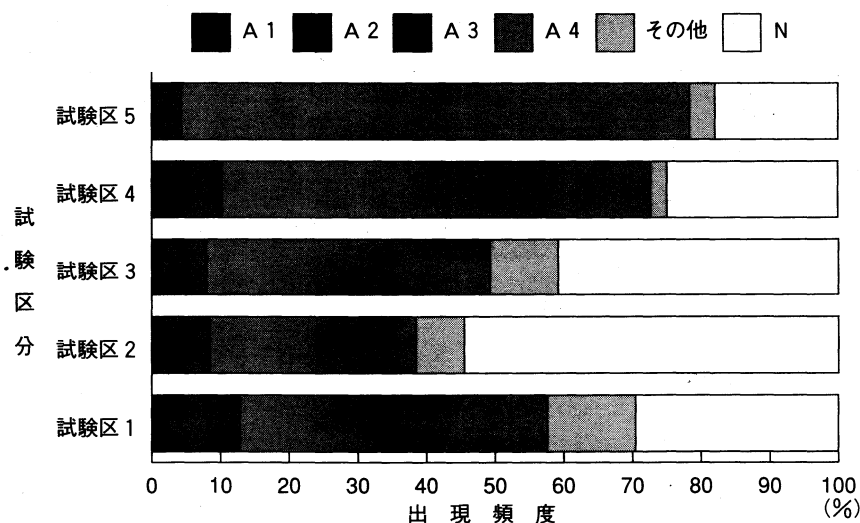


図1 各区の60日令におけるヒラメの無眼側の体色異常（黒化）の出現状況について

表6 60日令における各試験区の黒化組成の χ^2 検定結果について

試験区分	1	2	3	4	5
1区		*	—	*	**
2区			—	**	**
3区				*	**
4区					—
5区					

*:5%有意, **:1%有意

表7 各区の試験終了時の生残率、成長及び体色異常について（90日令）

試験区分	生残率 (%)	平均全長 (mm)	有眼側白化率 (%)	無眼側黒化率 (%)					N
				A1	A2	A3	A4	その他	
敷砂区（貝化石有）	73.3	45.9	1.7	0.0	0.0	7.8	32.0	30.1	30.1
無砂区（貝化石無）	78.1	52.8	2.4	2.0	13.7	31.4	28.3	21.6	2.9

A1~A4はAタイプ、その他はB、C、Dタイプの黒化を含む、Nは正常

(2) 有眼側の体色異常（白化）

90日令まで継続した水槽の白化率は60日令で1.0%であったが、90日令では敷砂区が1.7%、無砂区が2.4%とやや増加した。

(3) 無眼側の体色異常（黒化）

90日令まで継続飼育した区の黒化の出現組成を、継続飼育に用いた区の60日令の組成とともに図2に示した。

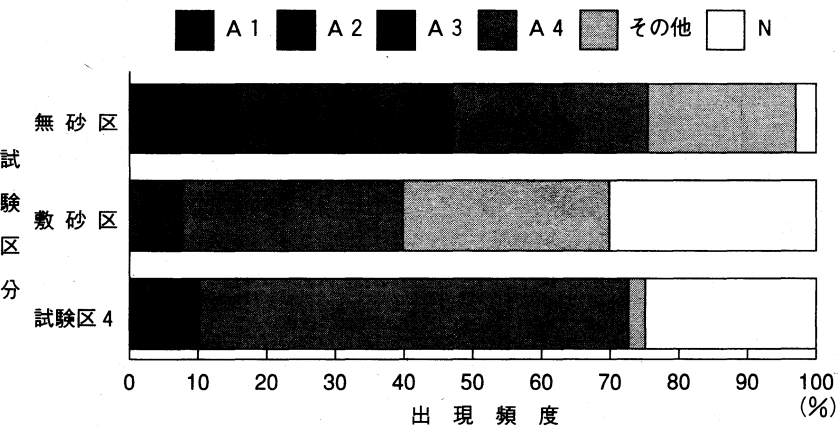


図2 各区の90日令におけるヒラメの無眼側の体色異常（黒化）の出現状況について、ただし試験区4は60日令の組成

60日令ではA3以上の黒化の出現割合はA3が8%、A2が2%で合計10%であった。90日令になると敷砂区はA2タイプが消失し、A4の出現率も減少して、CやDタイプといったその他と正常個体の割合が増加した。一方、無砂区は開始時になかった全面着色のA1が2%確認され、A2、A3タイプ及びAタイプ以外の黒化の出現割合が増加した。逆に正常個体はほとんどなくなり、60日令段階での黒化の組成に比べると貝化石の有無で黒化は明らかに違いが見られ、貝化石を敷いた場合には黒化が軽減され、そうでない場合には黒化は悪化した。

表8の χ^2 検定の結果から、各区分とも1%水準で有意差が認められ、統計上でも敷砂区では黒化が軽くなり、無砂区は黒化が悪化したことが確認された。

考察

1 試験—I（0～60日令までの餌料による効果の検討）

(1) 冷凍コペポータの脂肪酸組成について

今年度は餌料として台湾産冷凍コペポータを餌料系列に加えて飼育を試みた。用いたコペポータは *Apocyclops royi* で、表9の脂肪酸組成の分析結果をみると、沿岸性のコペポータである *Acartia* 属2種

表8 90日令における各試験区の黒化組成の χ^2 検定結果について

試験区分	4区	4-1区	4-2区
4区		**	**
敷砂区			**
無砂区			

*:5%有意、**:1%有意

表9 コペポータの脂肪酸組成の比較について（日進マリンテック分析）

脂肪酸組成 (%)	コペポータの種類		
	<i>Acartia</i> sp.	<i>Acartia</i> sp.	<i>Apocyclops royi</i>
C16:0	21.8	26.7	22.0
C16:1	3.2	2.9	9.2
C18:0	4.8	8.3	5.5
C18:1	6.7	4.5	3.7
C18:2	1.9	2.4	1.5
C18:3	4.0	1.3	4.1
C20:4n-6	1.8	2.5	3.6
C20:5n-3 (EPA)	17.9	9.3	16.0
C20:5n-6 (DPA)	3.7	2.1	0.8
C22:5n-3 (DPA)	-	0.6	1.3
C22:6n-3 (DHA)	26.8	24.4	18.1

では必須脂肪酸のドコサヘキサエン酸（DHA）が24.4%及び26.8%であるのに対し、本種は18.1%とやや低かった。一方、エイコサペンタエン酸（EPA）の割合はAcartia属2種では17.9%及び9.3%で、本種は16.0%であった。本種の全脂肪酸の総量は約7,000mg/100gで、そのうちDHAの含有量は約1,100mg/100gで含有率にすると1.1%を占めることから、ヒラメ仔稚魚の要求量とされる1.0～1.6%⁹⁾のDHAが十分に含有されており、ワムシやアルテミアのようにDHAの栄養強化をする必要がなく、栄養的にも問題ないものと考えられた。

(2) 無眼側黒化に対する餌料の影響について

今年度の試験結果からすると、約30mmサイズの60日令までは、1～3区と4～5区の間で、黒化の組成に明瞭な違いが認められた。これらの間での違いは、初期餌料であるワムシの栄養強化剤の違いであるが、アクアランを用いる（1～3区）と全体にAタイプの黒化が減少した。スーパー生クロレラを強化剤として使用した（4～5区）場合には、Aタイプの黒化の割合は高くなるが、最も軽いA4タイプの割合が多くなり、昨年と同様の傾向があった。黒化が決定されるといわれている体長約10mmのGステージにおいては、アルテミアの栄養強化剤の検討はすでに行われており、黒化に対して栄養強化剤の影響はなく、給餌期間を長くすると黒化が軽減されるとされているが¹⁰⁾、ワムシの栄養強化剤の黒化に対する影響については本県以外ではその報告はなく、ワムシの栄養強化剤が黒化に対して影響することが過去と同様否定できないものと考えられた。

60日令までで最もAタイプの黒化が少なく正常個体が多かったのは冷凍コペポダを与えた2区で、次いで冷凍コペポダ以外は各餌料の給餌期間が同じ3区であったが、統計上は有意差が見られず、アルテミアの単独給餌を上回るものかどうかは判定できなかった。しかし、本試験の設定として、冷凍コペポダに対するヒラメ稚魚の嗜好性の悪さという問題があり、単独給餌では飼育に支障をきたす可能性があったためアルテミアとの併用給餌にしたこと、また、黒化に影響を及ぼすことがわかっている配合飼料の給餌時期を遅くしたなどの黒化に変化を及ぼす要因が他にもあったが、1区と3区の組成を比較すると、配合飼料の給餌期間に違いがあったにもかかわらず、若干3区の黒化の程度が軽かっただけで、統計上は有意差が見られなかった。

これらのことから、2区の黒化の軽減は配合飼料の給餌時期を遅らせた影響よりも冷凍コペポダの効果の方が大きいものと考えられた。ただ、それを明らかにするには冷凍コペポダの単独給餌による効果を明確にするような給餌手法を考えることと配合飼料の給餌期間を同一として試験設定し、更なる検討を行う必要がある。

2 試験Ⅱ（60～90日令までの敷砂の効果の検討）

すでに、20mmサイズ以上では底面に砂を敷くと黒化が軽減されると報告されており、その理由として、鈴木¹¹⁾はヒラメ稚魚のストレスの軽減とメラノファージが食食機能を正常に保つこと、青海¹²⁾は変態過程において無眼側皮膚に残った未分化色素芽細胞が、稚魚の生息環境（潜砂の有無など）に対応して色素細胞が分化・増殖するために黒化すると推察している。また、青海¹³⁾は全長20～25mmのクローンヒラメを用いて敷砂有無の影響を調査し、潜砂できる環境があれば黒化が進行しないと報告している。そして、岩田ら¹⁴⁾は種苗の前歴（仔魚期の飼育方法）の影響があり、潜砂できる条件であれば光に関係なく黒化が生じなかったと報告している。

本試験における貝化石を用いた60日令以降90日令までの飼育結果は、成長、生残は貝化石の交換による影響でそれを敷かなかった場合より劣ったものの、ヒラメ稚魚の黒化組成の変化を見ると、明らかに底質に何も無い場合には黒化が酷くなり、逆に貝化石を敷いた方は黒化が軽減され、前述した敷砂に関する報告と同様に、貝化石は砂と同じ効果があるものと考えられる。逆にいうと本種苗群の仔魚期の飼

育において、消失すべき無眼側の未分化色素芽細胞が多く残っていたことを意味するものであり、4区の飼育条件では黒化対策の飼育としては不十分であったものと考えられる。

3 今後の検討方向について

最近、従来のワムシ、アルテミア、配合飼料の餌料系列で水温を20℃とし、生物餌料、特にアルテミアを短期間に大量に給餌することにより無眼側の黒化がほとんどないヒラメを生産した事例が報告された（茨城県温排水栽培漁業協会）^{15) 16)}。また、その再現性を検討した茨城県水産試験場栽培技術センターの飼育試験においても、生物餌料の栄養強化剤が異なっているにもかかわらず同じ結果が得られたとのことであった（太平洋北区栽培漁業協議会技術部会にて口頭発表）。その飼育結果を見ると、アルテミアの給餌量が従来では考えられない量で給餌されており、浮遊期から着底期までの成長が著しく早いことが注目される。飼育水温を上げて成長を促進させることにより、黒化に影響する変態期を短期間で終了させれば、ほとんど黒化のないヒラメの生産ができる可能性もでてきた。

今後は現在までの検討方向に加え、上記の結果を検証するために水温及び給餌量も検討項目に加えて黒化防止対策を進めていく必要があろう。

引 用 文 献

- 1) 加治 俊二・福永 辰廣 (1999)：ヒラメ種苗生産の現状と体色異常魚の魚市場での価格等に関するアンケート結果について。栽培技研, 27 (2), 67-101.
- 2) 加治 俊二 (1997)：日裁協における無眼側体色異常魚出現要因の究明及び防除技術開発の現状と今後の取り組み方について。第1回ヒラメ無眼側体色異常防除技術に関する情報交換会資料。
- 3) 青森県水産増殖センター (1994)：ヒラメ無眼側黒化個体出現に対する飼育試験。ヒラメ無眼側黒化対策に係る打合せ会議資料, 青森県水産増殖センター。
- 4) 青森県水産増殖センター (1996)：平成8年度ヒラメの無眼側体色異常出現要因の究明及び防除試験 結果報告書。
- 5) 塩垣 優 (1999)：平成9年度ヒラメ黒化対策試験報告。青森県水産増殖センター事業報告書, 28, 329-333.
- 6) 塩垣 優 (2000)：ヒラメ無眼側黒化防止対策試験。青森県水産増殖センター事業報告書, 29, 267-276.
- 7) 松坂 洋・山田 嘉暢 (2001)：ヒラメ無眼側黒化防止対策試験。青森県水産増殖センター事業報告書, 30, 267-276.
- 8) 松坂 洋・山田 嘉暢・鹿内 満春 (2002)：ヒラメ無眼側黒化防止対策試験。青森県水産増殖センター事業報告書, 31, 343-346.
- 9) 竹内 俊郎 (1998)：ヒラメ稚仔魚の栄養要求, 平成14年度栽培漁業技術研修事業基礎理論コース。稚仔魚期の発育シリーズ, 11, 日本栽培漁業協会。
- 10) 日本栽培漁業協会 (2000)：第2回ヒラメ無眼側体色異常防除技術に関する情報交換会資料。
- 11) 鈴木 伸洋 (1994)：養殖ヒラメ無眼側皮膚の微細構造とその体色異常性の組織学的検討。南西水研報, 27, 113-121.
- 12) 青海 忠久 (1997)：体色異常出現機構, ヒラメの生物学と資源培養, 水産学シリーズ, 112, 63-73.
- 13) 青海 忠久 (1996)：体色・形態異常と育成環境の関係解析。平成8年度健苗育成技術開発委託事業年度末報告会実施機関別報告書。

- 14) 岩田 伸弘・菊池 弘太郎・吉田 岳志 (1995): ヒラメ稚魚の無眼側黒化に対する飼育環境の影響. 電力中央研究所研究報告U-95002, 1-19.
- 15) 有瀧 真人 (2002): ヒラメ無眼側体色異常出現防除対策. 平成13年度太平洋北区栽培漁業協議会ヒラメ分科会, (社)日本栽培漁業協会宮古事業場資料.
- 16) 茨城県栽培漁業協会 (2002): 平成13年度太平洋北区栽培漁業協議会ヒラメ分科会. (財)茨城県栽培漁業協会資料.