

# カワハギ種苗量産技術開発

中里礼大・景平真明・金澤 健・井本有治

## 事業の目的

カワハギの人工種苗の安定量産技術を確立する。

## 事業の方法

### 1. 採卵

採卵に使用した親魚は 2007 年、2009 年に養殖業者から購入した天然由来の養殖魚の他、2007～2009 年産人口種苗を水産研究部地先の海面小割生け簀(5×5×5m)で養成したものをを用いた。餌料は MP を週 5 日飽食給餌した。

採卵は水槽に網を敷き込みその中へ親魚を高密度に収容する水槽内での高密度自然産卵方式をとった。ふ化仔魚が確認されたら網ごと親魚を取り出し種苗生産を開始した。収容した親魚の産卵を同調させるために、収容する際 HCG (ゴナトロピン：(株)あすか製薬)を 100 または 500IU/kg 打注した。親魚を収容した水槽の飼育水はろ過海水を流水にして自然水温(20.0℃前後)で行った。採卵のための親魚の水槽収容は 5 月 24 日から 6 月 17 日までの間で計 5 回行った(表 1)。

表 1 採卵方法

回次	収容日	親魚尾数		親魚由来	飼育水槽 (kl)	ホルモン打注量 (IU)
		雄	雌			
1	5月24日	25	25	天然	50	100
2	6月3日	19	17	人工	50	500
3	6月5日	11	11	人工	7	500
4	6月7日	8	8	人工	7	500
5	6月17日	20	20	人工	50	500

### 2. 種苗生産

採卵で得られたふ化仔魚を用い、7kL 円形キャンバス水槽 2 面、50kL 八角形コンクリート水槽 3 面で種苗生産を行った。自然採卵によりふ化仔魚が現れたら親魚を全て取りだし、採卵水槽で種苗生産を行った。飼育水については、7kL 円形キャンバス水槽はろ過海水、50kL 八角形コンクリート水槽は紫外線殺菌海水を使用した。換水は日齢 15 頃までは止水、それ以降は 1 日 5%から徐々に増加した。通

気は 7kL 円形キャンバス水槽では中央にエアーストーンを 1 個と周囲に樋を 1 基設置し、50kL 八角形コンクリート水槽では 8 辺底部それぞれに長さ約 1m のユニホースと中央付近にエアーストーンを設置して、仔魚の沈下を防ぎながら飼育水全体が対流するようにした。底質改善を目的に貝化石 10g/kL を日没後に飼育水へ添加した。また、淡水クロレラ(生クロレラ V12：クロレラ工業株式会社)を毎日、飼育水 1kL あたり 10～20mL ずつを水道水で希釈し飼育水槽へ定量ポンプを使って添加した。水温は自然水温から徐々に 24℃まで加温した。飼育水の DO は 5～7mg/L を維持するように酸素を供給した。日令 30 頃からは毎日サイホン方式により底掃除を行った。

餌料は、開口前日から日令 30 頃までは S 型ワムシ(タイ株)および S 型ワムシ(大分県漁業公社株)を飼育水槽内で 10～20 個体/mL になるよう給餌した。日令 14 頃からアルテミア幼生を、日令 17 頃から配合飼料を順次重複させながら給餌した。ワムシは淡水クロレラ(HG 生クロレラ V12：クロレラ工業株式会社)で培養した。アルテミア幼生は強化剤(スーパーカプセル A-1：クロレラ工業株式会社)で栄養強化した。

### 3. 採卵時の網取り出し時期の検討

先述のとおり、採卵方法として水槽内に網を敷き込みその中に親魚を収容してふ化仔魚が確認された日に網ごと親魚を取り出す方法を行っている。

しかし、カワハギは粘性沈着卵を産出するため網に卵が付着する可能性が示唆された。これまでふ化仔魚がみられたらすぐに網を取り上げていた。そこで網の取り出し時期の検討をするために、0.5kL および 1kL パンライト水槽を用いて網に付着する卵の割合を調べた。

7 月 8 日に 1kL パンライト水槽 2 基にそれぞれ網(3×3×3m)を敷き込み親魚を 6 尾(雄 2 尾、雌 4 尾)ずつ収容した。収容の際 HCG 打注は行っていない。2 日後の 7 月 10 日に親魚のみを取り出し網は 0.5kL パンライト水槽 2 基にそれぞれ移し、ふ化仔魚が初めて出現した 7 月 13 日に 1kL パンライト水槽および 0.5kL パンライト水槽それぞれのふ

化仔魚尾数の比較を行った。サンプリング方法としては3点柱状サンプリングとし、中央エアレーションを1時間行い仔魚の一カ所への蝟集がないことを確認後サンプリングを行った。また、2水槽を用いて2回試験を行ったので便宜上それぞれをR1、R2とする。

#### 4. 初期および中期減耗期対策の検討

カワハギの種苗生産で大きく減耗するポイントは大きく2点ある。1点目は生まれてから接餌不良個体が多いことである。接餌できなければ数日後に死んでしまう。昨年度日令0から10での50kL水槽2面での平均生残率をみると18%と低い。カワハギはふ化したてでは全長が2mmと小さく遊泳能力も低い。そのため①初期餌料としてこれまでS型ワムシ(大分県漁業公社株)を給餌していたが、S型ワムシ(タイ株)の給餌、②餌密度を10個体/mlから20個体/mlへの倍増、③エアレーション量を最小限にする方法を50kL水槽で併用して行った。今年度50kL水槽3面を使用して本試験を行った。

カワハギは日令25を過ぎる頃からお互いを突きあう”共食い”で大きく減耗する。多いときには一日に数千尾も死ぬこともあり種苗生産技術を確立するためには無視できない。昨年度日令10から50での50kL水槽での平均生残率をみると21%と低かった。そこで、低照度処理と言われる水槽上面を寒紗で覆う方法を行った。この方法は一部の業者が同じフグ目の種苗生産で行っている方法である。使用した水槽は50kL大型水槽で昨年度との日令10から取り上げ日令50までの生残率の比較を行った。

### 事業の結果

#### 1. 採卵

採卵結果を表2に示した。

今年度は計5回の採卵を行い、すべてのラウンドで多量のふ化仔魚の獲得に成功した。

昨年度と比較してホルモン打注量を低減させたが(1,000IU/kg → 100または500IU/kg)問題なく多量のふ化仔魚の獲得に成功した。

#### 2. 種苗生産

ふ化仔魚997,321尾を用いて種苗生産を行った。取り上げ尾数は、合計83,785尾で、平均生残率は8.4%、平均全長は28.3～32.8mmであった(表3)。形態異常は特に見られなかった。

表2 採卵結果

回次	収容日	ふ化確認日	飼育水槽(kl)	ふ化仔魚尾数(尾)
1	5月24日	5月29日	50	156,000
2	6月3日	6月8日	50	338,385
3	6月5日	6月9日	7	120,129
4	6月7日	6月12日	7	255,758
5	6月17日	6月22日	50	127,049
合計				997,321

#### 3. 採卵時の網取り出し時期の検討

結果を表4に示した。網への卵付着割合は1.2～8.8%となった。網があることで仔魚の遊泳障害、体表のスレ等の原因になる恐れがあるため、今回の試験により、仔魚が現れたら迅速に網を取り出すことが必要であることがわかった。

表4 網への卵付着数結果

	1kl水槽	0.5kl水槽	網への卵付着割合
R1	10,789	125	1.2%
R2	8,667	761	8.8%

#### 4. 初期および中期減耗期対策の検討

初期減耗期対策の結果について表5に示した。昨年度は初期生残率が18%であったのに対し、今年度のそれは79%と飛躍的に生残率の向上が図れた。

中期減耗期対策の結果について表6に示した。昨年度は中期生残率が22%であったのに対し、今年度のそれは42%と生残率の向上が図れた。

しかし、上記2点の対策は同ロットでの比較ではないため、来年度は同ロットでの比較検証を行う必要がある。

表5 初期減耗対策の結果

	平均ふ化仔魚尾数	平均10日令尾数	初期生残率
H22(50kl水槽2面)	155,381	27,524	18%
H23(50kl水槽3面)	232,717	184,949	79%

表3 種苗生産結果

回次	収容日	ふ化確認日	出荷時の日令	飼育水量(kl)	ふ化仔魚尾数(尾)	沖出し尾数(尾)	kl当たりの生産尾数(尾)	生残率(%)	沖出しサイズ(mm)	親魚由来
1	5月24日	5月29日	53	54	156,000	27,852	516	17.9%	29.6±4.1	天然
2	6月3日	6月8日	49	53	338,385	23,272	439	6.9%	28.3±6.6	人工
3	6月5日	6月9日	53	6.4	120,129	7,512	1,174	6.3%	32.4±8.7	人工
4	6月7日	6月12日	56	7.1	255,758	2,387	336	0.9%	32.8±7.5	人工
5	6月17日	6月22日	50	50	127,049	22,762	455	17.9%	30.4±5.9	人工
合計					997,321	83,785		8.4%		

表 6 中期減耗期対策

	平均10令尾数	平均50令尾数	中期生残率
H22(50kl水槽2面)	27,524	6,023	22%
H23(50kl水槽1面)	66,521	27,852	42%

## 今後の課題

カワハギの大きな課題であったふ化仔魚の大量確保については概ね解決した。今後はさらなる生残率向上の技術を構築する必要がある。

# ヒラメの高温耐性品種の作出－1

## 供試魚の生産

### (国庫委託)

景平真明・金澤 健・中里礼大・井本有治

#### 国庫委託事業の構成

#### ○平成 23 年度地球温暖化対策推進費

#### I. 地球温暖化による沿岸漁場環境への影響評価・ 適応技術開発事業

#### 1. 温暖化育種適応事業

- 1) ニジマスチーム
- 2) アマノリチーム
- 3) ヒラメチーム

① ヒラメ高温耐性家系の探索と形質評価法の開発並びに確保

(増養殖研究所)

② 高温耐性を持つ天然ヒラメの探索

(日本海区水産研究所・増養殖研究所・  
大分県農林水産研究指導センター)

③ 貧酸素耐性ヒラメの評価法と探索

(神奈川県水産技術センター)

④ ヒラメの高温耐性関連形質の評価と

DNA マーカー等の探索

(東京海洋大学)

本報告では大分県が担当した②「高温耐性を持つ天然ヒラメの探索」について述べる。

なお、国庫委託事業は平成 21 - 25 年度までの 5 ヶ年事業として計画され、実施者は毎年入札によって決定される。当県は当年度(2011 年)からの参加となる。

#### 事業の目的

地球的規模での温暖化に伴い海水温の上昇が顕著になると予測されており、養殖業において重要な位置を占めているヒラメ養殖業でも、疾病の増加や代謝異常による死亡など、生産性の低下が懸念されている。このような状況のなか、今後の対応策として、温暖化による海水温の上昇に対して耐性を持つ、すなわち、高い飼育水温でも成長や生残に優れた生物

特性を持つヒラメ養殖家系の開発・確保が期待されている。そこで、遺伝的多様性が豊富な素材として、種苗生産施設で飼育されている多数の天然ヒラメ親魚を対象に、遺伝的形質としての高温耐性を評価する方法の検討、ならびにそれらの特性を持つ家系を探索することを目的として、養殖生産の安定化に貢献することを目指す。

#### 事業の方法

#### 1. 種苗生産工程

若狭湾で漁獲され(独)水産総合研究センター日本海区水産研究所宮津庁舎で親魚として養成されたヒラメのうち、雌 9 尾と雄 11 尾を種苗生産に使用した。2011 年 3 月 9、10 日に宮津庁舎で人工授精により、個体毎に等量の卵と精子を交配させ、得られた受精卵を同年 3 月 10、11 日に宅配便により当研究部に搬送した。

#### 1) 無給餌生残指数(SAI)

種苗生産に用いる仔魚の活力の目安を得るため、3 月 13 日(1 日齢)に 50kL 種苗生産水槽から 3L カップで掬い出した孵化仔魚を、チップの先端をカットして口径を広げた 1,000 $\mu$ L ピペットマンを用いて、48 穴マイクロプレートに 1 尾ずつ収容した。18.5  $^{\circ}$ C に保ったインキュベーター中で、生残魚がいなくなるまで毎日生残尾数を確認した。無給餌生残指数(SAI)は下式により算出した。

$$SAI = \frac{1}{N} \times \sum_{i=1}^k (N - hi) \times i$$

N : 最初の仔魚数  
hi : i 日目の斃死仔魚の累積尾数  
k : 生残尾数が 0 となった日

#### 2) 種苗生産

受精卵は 50kL 八角水槽に収容し種苗生産した。50kL 種苗生産水槽は正八角形の壁面構造の水槽で、壁面の底辺に設置した散気管(底辺の半分の長さ)からの通気により飼育水を回転させ、そのままでは水

面中央部に強い下降流が生じるため、中央部には 1 個エアストーンを配置して下降流を散らせた。

種苗生産方法は、省力、省コスト、種苗の高活力と優れた面が多い、いわゆる「ほっとけ飼育」を採用した。「ほっとけ飼育」は止水の種苗生産水槽内に生クロレラを添加してワムシを増殖させる方法で、飼育水槽内の細菌叢が安定するため、飼育トラブルが少ないと言われている。

種苗生産水槽内のワムシの増殖を安定化するため、飼育水は 80%海水とし、低水温でも増殖率の高い L 型ワムシ小浜株を(独)水産総合研究センター日本海区水産研究所能登島庁舎から譲り受け導入した。飼育水温は無換水の間は 18.5℃に設定し、換水開始後に設定水温を徐々に下げた。最終的には 15.5℃まで下げ、100%換水後は無加温とした。

止水飼育中に摂餌量が水槽内のワムシの増殖量を上回るようになってからは、適時栄養強化した L 型および SS 型ワムシ(大分県漁業公社株)を添加した。ワムシの培養及び栄養強化はクロレラ工業社製の生クロレラ V12 ハイグレード(以下、生クロレラ HG という)で行った。

その後、ワムシ添加を継続しつつ、アルテミア添加を始め、更に配合飼料(えづけーる：中部飼料社製/アンブローズ：日本配合飼料社製)も並行して給餌した。アルテミアはクロレラ工業社製の A1 パウダーで栄養強化した。配合飼料の給餌量は(社)日本栽培漁業協会発行の栽培漁業技術シリーズ「ヒラメの種苗生産マニュアル」8.配合飼料の投餌基準(P46～52)を参照し、平均全長と飼育尾数を元に算出した。

稚魚が着底する前(27～28日齢)に、集魚灯を用いて隣接する 50kL 水槽にサイホン移動させた。移動直後に柱状採集によって、移動稚魚数の概略を把握し、その後は毎日、底掃除時に排出される斃死魚数を計数した。56日齢からは着底できずに水面付近を遊泳している劣位個体を適時掬い取り、5kL 円形水槽(5t-1、5号)に移した。生産水槽内で 0.1%程度で推移していた死亡率が、0.7%を越えるようになったため 67日齢で全個体取上げ、篩によりサイズ選別をして 10kL、5kL 円形水槽に收容した。全工程紫外線殺菌水のみを注水として使用した。

## 2. 中間育成工程

### 1) 目合い選別1回目

5月17日(67日齢)に種苗生産した全個体を 50kL 水槽から取り上げ、長径 9.5mm のネトロンネット籠で篩い大小選別をした。大群は 10kL 円形水槽 2 基(10t-1 号、2 号)に、小群は 5kL 円形水槽 2 基(5t-2、6 号)に收容した。また、種苗生産中にタモ及び柄杓で掬い出した劣位個体は 5kL 円形水槽 2

基(5t-1、5 号)で引き続き飼育した。また 10t-1、2 号で生じた劣位個体は適時タモで掬い出し 5kL 円形水槽(5t-9 号)に收容した。各水槽でみられた形態異常個体(有眼側白化、右ヒラメ、短軀等)は適時目視除去し、毎日死亡魚の数と重量を計測した。いずれの水槽も満水にはせず、水位は半分以下とし、水槽壁面に沿って注水を高圧力で噴出させ(塩ビパイプ配管の吐出口を潰して狭めた)、常に流水状態を保った。

配合飼料は中部飼料社製のえづけーる(L～LL)と日本配合飼料社製の海産仔稚魚用アンブローズ 400 を使用し、日間給餌率を 4%とし(飼料効率を 100%と仮定)、10kL 水槽は自動給餌機+手撒き給餌とし、5kL 水槽は手撒き給餌のみとした。配合飼料の粒径は、成長差を抑制するため、常に至適サイズよりも小径のものを選択した。

### 2) 目合い選別2回目

6月10日(91日齢)に 10t-1、2 号水槽の稚魚を全て取り上げ、対角線 17mm の角目トリカルネット籠で大小選別をおこない、大群を 10t-1、3 号に小群を 10t-2 号に收容した。

中間育成時(5/17～6/10)の飼育結果から、10kL 水槽の飼料効率を 140%として給餌量を算出した。10t-1、3 号水槽は日間給餌率を 3%とし、10t-2 号水槽は当初日間給餌率を 4%としたが、残餌がみられるようになったため 6月30日(111日齢)からは 3%に変更した。5kL 水槽分は飼料効率を 160%、日間給餌率を 4%とした。

### 3) 目合い選別3回目

7月7日(118日齢)には 10t-1、2、3 号水槽の稚魚を全て取り上げ、対角線長 26mm の角目トリカルネット籠、と長径 22mm の 6 角目ネトロンネット籠を用いて大中小選別をおこない、大群を 10t-1、3 号に中群を 10t-2 号に收容し、小群を 5t-9 号に移槽した。

目合い選別 2 回目以降の飼育結果から、10kL 水槽は飼料効率を 170%として給餌量を算定した。日間給餌率は 10t-1、2 号水槽を 2%とし、10t-2 号水槽はを 3%とした。5kL 水槽分は飼料効率を 190%、日間給餌率を 2%とした。

### 4) 現地養殖試験供試魚取上

7月12日に 10t-3 号を、13日に 10t-1 号を現地養殖試験用として、佐伯市蒲江西の浦の陸上ヒラメ養殖生産者の水槽に持ち込んだ。

## 事業の結果

### 1. 種苗生産工程

#### 1) 無給餌生産指数(SAI)

3月13日(1日齢)にマイクロプレートに収容した48尾のうち、3月14、15日(2、3日齢)に死亡個体が22尾と集中的に発生したが、これらは採集時のダメージによるものと判断し、計算から除外した。その後は、3月17日(5日齢)に1尾死亡した以降数日間は変化が無かったが、3月21日(9日齢)に7尾死亡し、翌22日(10日齢)に17尾が、翌23日(11日齢)に最後の1尾が死亡した。

計算の結果、本種苗生産群のSAIは41.6であった。ただし、今回のSAIは1日齢で収容し、収容直後の斃死魚を計算から除外したため、実態よりも高く評価された可能性がある。

#### 2) 種苗生産

宅配された受精卵を3月10日と11日に50kL水槽に収容した。

3月10日に宅急便で5箱に分けて到着した受精卵の水温は9.9～10.2℃であった。一旦、0.2kL卵管理水槽(無加温)に全卵収容し、柱状サンプリング(密度法)で卵を計数した。発生が正常に進んでいる正常卵は78.8万粒で、異常卵は4.2万粒であった。計数後、全卵50kL種苗生産水槽(設定水温14℃)に移槽した。

3月11日には14:40に昨日同様5箱分の受精卵が届き、直ちに0.2kL卵管理水槽に収容した。計卵準備をしているときに、昨日卵を収容した50kL水槽の底面散気管の前に大量の卵が沈んでいるのに気づき、回収し検卵したところ、一部死卵を含むものの正常発生卵が多数を占めていた。水中の卵を目視したところ明らかに疎であったため、全体的にエア量を強めた。飼育水の比重が軽いため沈殿したものと思われる。引き続き0.2kL卵管理水槽の計卵をしようとしていたところ、東日本大震災の大津波警報による避難指示がでたため、計数せずにそのまま50kL水槽に流し込み、加温設定を14℃→18.5℃に変更して退去した。

翌3月12日は依然避難勧告中であったため水槽を覗き込んだだけであったが、一部孵化仔魚が確認できた。警報が解除された3月13日には孵化が完了したと判断し、3点の柱状採集により総孵化仔魚数を42万4千尾と推定した。同日に、水中に漂う卵殻や死卵等を沈殿被覆させるため、貝化石を3kg散布した。10日齢までほぼ毎日柱状採集を実施し、概ね30万尾前後で推移した(図1)。

3月13日(2日齢)にL型ワムシを10個/mlとなるように種苗生産水槽に添加し、スーパー生クロレ

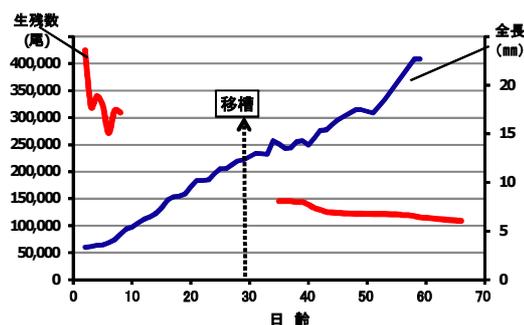


図1 種苗生産期間中の成長及び生残数

ラ V12(以下生クロレラ SV という：クロレラ工業社製)を500ml/日、水槽内に添加し、「ほっとけ飼育」を開始した。4日齢(TL3.5 ± 0.2mm)には摂餌個体がみられ始め、5日齢(TL3.6 ± 0.3mm)は多くの個体が摂餌し、6日齢(TL4.0 ± 0.2mm)では採集全個体が摂餌し捕食ワムシ数も16.0 ± 6.2個/尾と飛躍的に伸びた。

飼育水中のワムシの密度は概ね10個/ml前後で推移し、8日齢(TL5.2 ± 0.4mm)時に15.0個/mlと最高値となったが、その後は急速に低下し、12日齢(TL6.4 ± 0.4mm)時には2.0個/mlとなったため以後毎日SS型ワムシを中心に添加した。飼育水槽中のワムシ不足から13日齢(TL6.7 ± 0.7mm)の朝には一時的に仔魚の消化管内(捕食)ワムシ数が0個/尾となったが、ワムシ添加後は62 ± 14.3個/尾と速やかに回復した。15日齢(TL7.7 ± 1.1mm)には捕食ワムシ数が100を越えるようになったため、アルテミアの添加を開始した。添加量は5個/尾を開始時の目安とし、以後徐々に増やした。ワムシの添加は34日齢(TL14.3 ± 0.6mm)まで継続し、アルテミアの添加は55日齢(TL20mm前後)まで継続した。

24日齢(TL11.6 ± 0.8mm)には眼が左右対称位置からずれ始めた個体が7割程度みられ、着底前に配合飼料に餌付けさせなくてはならないため、配合飼料の給餌を開始した。同日午前中に中部飼料社製のえづけーるS(粒径0.25～0.45mm)を手撒きで散布したところ、7割以上の個体が摂餌した。以後、27日齢(TL12.1 ± 0.5mm)に集魚灯を用いたサイホン移槽を開始するまで、過剰と思われる量の配合飼料を散布した。

換水は18日齢(TL8.7 ± 0.9mm)から開始し、換水直前のpHは7.18であった。換水初日の15%/日から徐々に換水率を上げ、移槽当日の27日齢時には100%とした。移槽は元水槽の排水弁を止め、全てサイホンによる移動先水槽への送水とした。サイホンホースの吸水口を水面近くに配置し、その直上にて集魚灯として100W白熱電灯を設置した。1晩で大半の稚魚を移槽できたため翌日には撤去した。

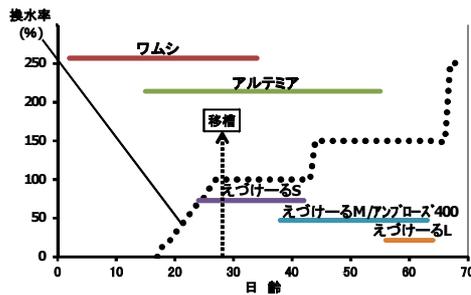


図2 種苗生産期間中の換水率の推移と餌料系列

移動稚魚数は 14.5 万尾、未移槽の残稚魚数は 3.3 万尾であった。

移送後は換水率を 100%に維持し、44 日齢(TL16.5 ± 0.8mm)時に 150%に上げ、取上直前の 67 日齢時に 250%まで上げた(図 2)。

中部飼料社製のえづけーる S(粒径 0.25 ~ 0.45mm)を 24 日齢から 42 日齢の間、えづけーる M(粒径 0.45 ~ 0.75mm)を 38 日齢から 42 日齢の間、えづけーる L(粒径 0.75 ~ 1.20mm)を 56 日齢から 65 日齢の間給餌した。また、日本配合飼料社製の海産仔稚魚用アプローズ 200(粒径 0.23 ~ 0.42mm)を 43 日齢から 46 日齢の間、アプローズ 400(粒径 0.42 ~ 0.65mm)を 43 日齢から 65 日齢の間給餌した。

35 日齢(TL13.6 ± 0.6mm)時に 50kL 水槽壁面の観察窓から着底個体が観察された。ただ、多くの個体の右眼はまだ有眼側に移動しておらず、44 日齢(TL16.5 ± 0.8mm)あたりから、概ね有眼側に右眼がみられるようになった。途中斃死個体が目立つようになり、41 日齢(TL15.4 ± 0.9mm)で日間死亡率が 4.5%に達し、検鏡により多数の滑走細菌が確認されたので、ニフルスチレン酸ナトリウムによる薬浴を、翌日から 3 日間実施した。実施後は日間死亡率が 0.5%となり、49 ~ 59 日齢までは 0.1%程度で推移した。

60 日齢以降は徐々に死亡率が増加し、0.7%に至るようになったため、これ以上の無選別飼育は困難と判断し、5 月 17 日に全量取り上げて大小選別をして 10kL 円形水槽と 5kL 円形水槽に収容した。

## 2. 中間育成工程

### 1) 目合い選別1回目

5 月 17 日(67 日齢)に、長径 9.5mm のネットロンネット籠を用い、大群(平均体重 0.33g)41,738 尾を 10kL 円形水槽 2 基に、小群(平均体重 0.23g)9,374 尾を 5kL 円形水槽 2 基に収容した。種苗生産中に、50kL 水槽から劣位個体を適時ピックアップして収容した 5kL 円形水槽 2 基(5,000 尾、2,500 尾)とを合わせて、合計 58,612 尾で中間育成を開始した。

飼料効率を 100%と想定し、日間給餌率を 4%とした。10kL 水槽は早朝 1 回(1/3 量)を自動給餌機で、残り(2/3 量)を 9 時、13 時、16 時に手撒きで給餌し、5kL 水槽は 9 時、13 時、16 時に所定量を手撒き給餌した。配合飼料は、10kL 水槽では当初えづけーる L を、6 月 3 日(84 日齢)からはえづけーる LL(粒径 1.30 ~ 2.00mm)を給餌した。5kL 水槽では当初アプローズ 400 を、5 月 27 日(77 日齢)からはえづけーる L を給餌した。

10kL 水槽 2 基(10t-1、2 号)では収容した 41,738 尾のうち、育成中(5/17 ~ 6/10)に 7,998 尾が死亡、形態異常魚 380 尾を除去し、劣位個体 4,711 尾を 5t-9 号に移動させた。5kL 水槽 4 基(5t-1、2、5、6 号)では合計 16,874 尾を収容し、育成中(5/17 ~ 6/10)に死亡魚と形態異常魚合わせて 4,784 尾減少した。10kL 水槽の劣位個体を移動させた 5t-9 号は、合計 4,711 尾を収容し、404 尾が死亡減耗した。

中間育成開始時(67 日齢)に 58,612 尾であった稚魚は、6 月 10 日(91 日齢)には 45,450 尾となった。同日、10kL 水槽 2 基分を全量取り上げ、篩選別を実施した(図 3)。

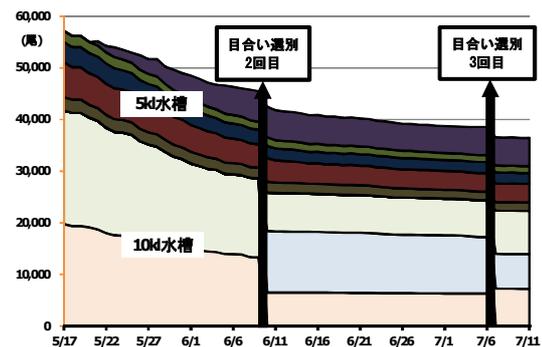


図3 中間育成時の各水槽の収容尾数の推移

\*淡色は10kL水槽群を、濃色は5kL水槽群を示す。

\*水槽毎に境界線によって区分し、下段から水槽番号の若い順に並べている。

### 2) 目合い選別2回目

6 月 10 日(91 日齢)に 10kL 水槽飼育分を全量取り上げ、対角線長 17mm のトリカルネット籠を用いて、大小選別を行った。大群(平均体重 2.32g)14,015 尾を 10t-1、3 号水槽に、小群(平均体重 1.05g)11,914 尾を 10t-2 号水槽に収容した。得られた結果から、5 月 17 日から 6 月 10 日間の飼料効率が 142%であったことがわかった。

給餌率は「事業の方法」に記したとおり。

10kL 水槽では、えづけーる LL(粒径 1.30 ~ 2.00mm)を 6 月 11 日(92 日齢)から 21 日(102 日齢)の間、林兼産業社製のジュニア A(粒径 1.1 ~ 1.3mm)を 6 月 20 日(101 日齢)から 27 日(108 日齢)の間、ジュニア B(粒径 1.5 ~ 1.7mm)を自動給餌した。

(早朝に日量の1/3給餌)として6月28日(109日齢)から30日(111日齢)の間、手撒き分(日給餌量の2/3)として6月28日から7月5日(116日齢)の間、えづけーるフロート1号(粒径1.8mm)を自動給餌分として7月1日(112日齢)から7月5日(116日齢)の間、給餌した。

5kL水槽では水槽毎に、体サイズに応じて、えづけーるL、えづけーるLL、ジュニアBの順に給餌飼料を転換した。

10kL水槽(10t-1、2、3号)では6月10日(91日齢)に収容した25,879尾のうち、7月6日(117日齢)までの間に1,285尾が死亡、劣位個体216尾を5t-9号に移動させた。5kL水槽(5t-1、2、5、6、9号)では合計16,403尾を収容し、途中10kL水槽からの劣位個体の追加216尾があり、2,642尾が死亡した。

中間育成開始時(67日齢)に58,612尾であった稚魚は、6月10日(91日齢)に45,450尾となり、7月6日(117日齢)には38,355尾となった。

### 3) 目合い選別3回目

7月7日(118日齢)に10kL水槽飼育分を全量取り上げ、対角線長26mmの角目トリカルネット籠と長径22mmの6角目ネトロンネット籠を用いて大中小選別をおこなった。大群(平均体重7.27g)14,011尾を10t-1、3号水槽に、中群(平均体重5.26g)8,531尾を10t-2号水槽に収容した。小群(平均体重3.14g)907尾を5t-9号水槽に移した。

測定の結果6月10日(91日齢)から7月6日(117日齢)の間の飼料効率率は177%であった。以後の給餌率は「事業の方法」に記したとおりに定めた。

10kL水槽では、えづけーるフロート1号(粒径1.8mm)を7月8日(119日齢)の早朝に自動給餌し(1/3日量)、残分(2/3日量)をジュニアAを手撒き給餌した。7月9日(120日齢)以降は日新丸紅のひらめF-2を早朝に自動給餌(1/3日量)し、残分(2/3日量)をえづけーるフロート2号(粒径2.3mm)を手撒き給餌した。

### 4) 現地養殖試験供試魚取上

現地養殖試験は当県ヒラメ養殖の主産地である大分県漁協下入津支店組合員のA水産に依頼した。A水産は下入津支店のヒラメ陸上養殖生産施設群のちょうど中央部に位置する。7月10日前後にA水産から「試験水槽の準備ができたので、早急に持ち込むよう」指示があったため、供試魚の選定を急いだ。当初計画では、生産した全種苗のうち最頻値付近のサイズのもを供試魚とするつもりであったが(人為的な選抜の影響を最小限とするため)、全個体を選別には時間を要するため、比較的サイズのそろっている10t-1、3号を現地養殖試験の供試魚とすることにした。それらは、種苗生産個体の中の高成長群になり、7月7日(118日齢)時点での平均全長は10t-1号が100.4±6.9mm、3号が98.9±4.5mm、2号が88.6±6.0mmであった(図4)。

7月12日(123日齢)に10t-3号水槽分を全量取り上げ、クルマエビ放流に用いられるエビカゴに100尾/カゴの密度で供試魚を収容し、冷却水を満たした1kL角形活魚水槽に午前は30カゴ(+空カゴ)、午後は35カゴ(+空カゴ)収容して酸素通気しつつ現地に搬入した。7月13日(124日齢)には10t-1号水槽分を140尾/カゴの密度で同様に現地搬入し、一部個体はサンプル及び他の試験の供試魚として残した。

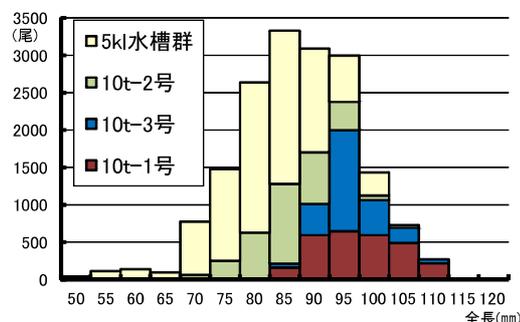


図4 中間育成終了時の各水槽の全長組成

## ヒラメの高温耐性品種の作出－2

### 現地養殖試験 (国庫委託)

景平真明・金澤 健・中里礼大・井本有治

#### 事業の目的

高水温に強いヒラメを育種すること、もしくはその方法を確立することを最終目的とする。

本事業は 2009 年度から開始され、これまでに高水温下の飼育試験によって高水温耐性家系候補魚が何尾か選ばれている。本年度からは当県が参加し、実際にヒラメ養殖場で飼育試験を実施して、候補魚を選ぼうとするものである。

#### 事業の方法

高水温耐性家系候補魚を含む、若狭湾産天然ヒラメ♂ 11 尾×♀ 9 尾から得た人工授精卵を用いて大分県水試で種苗生産し供試魚とした。

##### 1. 現地養殖試験

7 月 12、13 日に供試魚を佐伯市蒲江西野浦のヒラメ陸上養殖生産者(A 水産)の水槽に持ち込んだ。

現地養殖試験は、高水温耐性候補家系を含む種苗を用いて、実際の養殖現場で飼育試験を実施し、家系間の成長・生残を比較し、より現場に即した家系(親魚)を選定することを目的とする。

現地養殖試験を委託した A 水産の施設は、飼育用水は海底からの汲み上げ海水で、夏場に不足する溶存酸素を補うため、液体酸素を添加している。生産魚はヒラメとカワハギである。

養殖業者の種苗受け入れ後の一般的な水槽管理状況を図 1 に示した。標準的な水槽面積である 7×7m 水槽の場合、8cm サイズの種苗であれば、5,000 尾以上を収容する。密度があまり粗であると餌食いが落ちるため、最初から薄飼いはしない。その後、徐々に成長差がついてくるため、約 1 ヶ月後に大小の選別をして、2 水槽に分養する。更に成長差がついてくると更に大中小選別を実施し、3 水槽に分養する。その後は、成長差に伴う共食い等のトラブルが少なくなるため、多くの場合出荷まで選別しない。

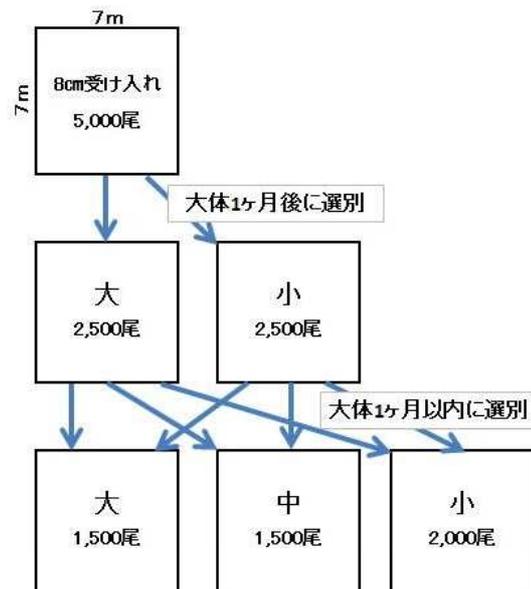


図1 一般的な種苗受け入れ後の水槽管理

出荷が始まると、水槽毎に飼育魚数に濃淡が生じるため、他の水槽のものを合わせて、無駄な水槽の解消に努める。

現地養殖試験を実施するにあたり、A 水産と交わした覚書の概要は以下のとおりである。

- ・ 供試魚は水産研究部が生産し、A 水産に無償で提供し、その施設で供試魚の養殖試験を実施する。
- ・ 養殖試験に要する経費は A 水産が負担する。
- ・ 養殖試験の期間は 1 年 3 ヶ月以上とするが、状況に応じて協議の上変更できる。
- ・ A 水産は飼育試験中の飼育管理に関する情報(給餌量、死亡数、投薬、分槽等)を日々記録する。
- ・ 供試魚が出荷サイズにまで成長したときは、A 水産はこれを販売し、養成試験に要した経費等に充当するものとする。ただし、販売額が支出を下回っても、水産研究部にその責を求めない。
- ・ 養成試験中に大量斃死や形態異常が発生した際に、互いにその責を求めない。

### 1) 供試魚の搬入

7月12日(123日齢)にA水産第一養殖場1号水槽(6×6m)に1,500尾の供試魚を、7号水槽(7×7m)に5,000尾を収容した。7月13日(124日齢)に2号水槽(7×7m)に5,000尾を収容した。各水槽には水温ロガーを設置し、飼料は栄養強化したモイストペレットを与えた。

### 2) 高水温期成長試験

7～10月の海水温が高い時期に飼育試験を実施し、高水温に強い家系を選定することを目的とする。

飼育試験期間中に選別・分槽を行わないため、10月まで1水槽内で安全に飼育可能な尾数として、1,500尾を1号水槽(6×6m)に収容した。

試験開始時に供試魚と同群の稚魚200尾の全長、体重を測定の上、鱭の一部を切除し99.5%エタノール液に保存後、(独)水産総合研究センター増養殖研究所(以下、増養殖研という)に送り、DNA解析により個体毎に父母親魚を特定した。また、10月25日(228日齢)の試験終了時に供試魚から200尾を無作為に抽出し、全長を測定後、鱭の一部を採集し、開始時と同様の処置をし、個体毎の親魚を特定した。

### 3) 養殖工程成長・生残試験

出荷に至るまでの養殖全工程における成長や生残を追跡し、顕著に成長や生残率が劣る家系(親魚)を排除することを目的とする。

飼育期間中は通常の養殖生産工程に倣って飼育するため、7月12日(123日齢)に7号水槽(7×7m)に5,000尾を、翌13日(124日齢)に2号水槽(6×6m)に5,000尾を収容した。

9月19日(192日齢)に7号水槽から目視で大サイズの1,200尾を抜き取り、4号水槽に移した。翌20日に4号水槽から200尾を無作為抽出し、個体毎に全長を測定し、鱭の一部を採取した。また7号水槽から100尾を無作為抽出し、同様の処置をした。

2号水槽は飼育トラブルにより減耗したため、選別分養は行わなかったが、10月19日(222日齢)に水槽整理の都合上、3号水槽に移槽した。

12月5日(269日齢)には高水温期成長試験に供した1号水槽分も含めて、目視による大小選別を実施し、大群を第二養殖場5号水槽に、小群を同養殖場4号水槽に分養した。

間もなく供試魚群から初出荷が始まるということで、2012年2月27日(353日齢)に無作為抽出した200尾の全長、体重を測定し、鱭の一部を切除採集した。

## 2. 短期評価試験(ヒートショック生残試験)

高水温耐性ヒラメの評価は、本来は一定期間の高水温下での飼育試験の下に判断すべきであるが、これには労力と多大なコストが掛かるため、短期間で

同様の評価を得られないかを模索している。それが水温33℃下での生残状況(死亡までの経過時間)を比較する短期評価試験である。

本年度は現地養殖試験と同ロットのものを、増養殖研と当研究部で別々に短期評価試験を行い、得られた結果に差があるかを比べる試験(①現地養殖試験群)と、本事業とは別に当研究部で独自に育種しようとしている「豊後水道漁獲♂62尾×人工産♀4尾」によって得た種苗(②大分育種対象群)を前者と同様に増養殖研と当研究部で短期評価試験を行った。結果の解析は増養殖研の業務分担となる。

短期評価試験の供試魚は、過去の飼育水温の影響をできるだけ排除するため、まず水温22℃で4日間(飼育水温が22℃を上回る場合は省く)、水温27℃で3日間水温馴致させる。その後致死的な水温である水温33℃下に曝し、個体毎の斃死までの経過時間を比較することにより、群としての高水温耐性を評価するものである。

## 事業の結果

### 1. 現地養殖試験

#### 1) 供試魚の搬入

搬入作業は滞りなく終了し、特に搬入後のトラブルも発生せず当初の計画通り飼育試験を開始した。

#### 2) 高水温期成長試験

7月12日(123日齢)に1号水槽(6×6m)に供試魚を1,500尾収容し、10月25日(228日齢)までの間無選別で飼育した。A水産地先海面の水深1mの最高水温は8月29日15時に記録した28.4℃で、試験期間中に28℃を越えた日は8月に6日、9月に1日あった。一方、養殖場内の飼育水槽の最高水温は8月13日15時に記録した27.0℃で、最低水温は試験開始初日の21.3度であった。試験期間中の平均水温は24.3±1.2℃であった(図2)。

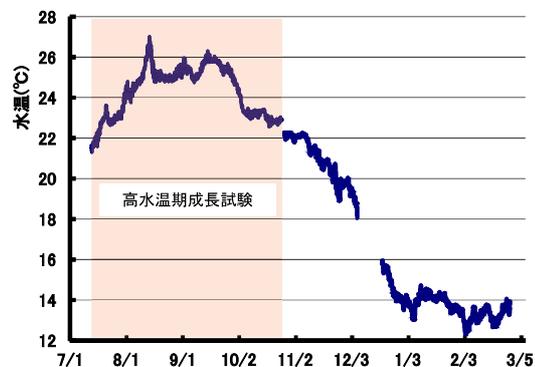


図2 試験飼育用水の水温変化

\*網掛け部分は高水温期成長試験の実施期間を表す。

試験開始時は供試魚数 1,500 尾、平均全長 101.5 ± 7.4mm であったが、終了時には 1,154 尾、219.9 ± 18.8mm になった(図 3)。並行して飼育していた他の水槽の供試魚が著しく減耗したのに対して、本試験区は安定した飼育状況であった。

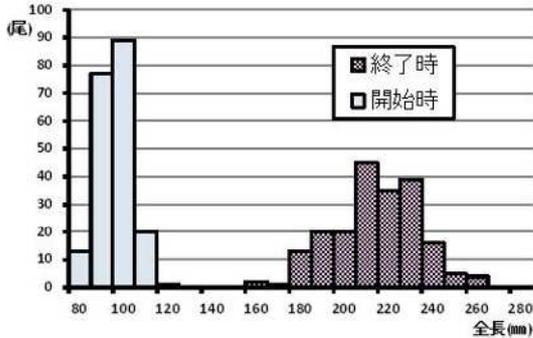


図3 高水温成長試験における開始時と終了時の抽出200尾の全長組成

7月12日(123日齢)に無作為抽出サンプリングした200尾のうち155尾と、10月25日(228日齢)にサンプリングした200尾のうち167尾について親子判別を行い、雄親、雌親別の組成を求め、成長の指標として全長を比較した(表1、2)。親子判別率は98%であった。供試魚における各親別の組成比は均等ではなく、雄では開始時(7月)が1~30%、終了時(10月)が1~22%と大きくばらばらであった。雌でも同様で前者が0~39%、後者が0~38%であった。

成長をみると雄では開始時(7月)は親魚個体番号 m1、m2、m11 が、越夏後の終了時(10月)では m1、m9 が平均よりも優れていた。雌では f8 の成長が良い傾向がみられた。しかしいずれも有意な差は認められなかった。m1 家系は昨年度(独)水産総合研究センター日本海区研究所宮津庁舎が実施した、高水温飼育試験においても成長が優れ、m9 は本年度同センター増養殖研究所が実施した 33℃ヒートショック生残試験でも生残率が高かった家系である。今後は m1、m9 を高水温耐性家系候補として、事業を進めていく予定である。

3) 養殖工程成長・生残試験

2011年(平成23年)の夏は現地養殖試験を委託したA水産を含む入津湾一帯のヒラメの陸上養殖業者にとって、過去に例を見ない生残率の低い年となった。本年度は台風が何度か来襲し、元来水交換の極めて悪い入津湾でも、昨年ほど湾内水は成層せず、底層の貧酸素層の発達も顕著ではなかったが、一帯では寄生虫病(スクーチカ症)や細菌性疾病(エドワジエラ症、新型連鎖球菌症)が頻発し、ヒラメの養成自体を断念した(全数処分)養殖場も数経営体であった。

表1 雄親魚別の種苗の成長量及び組成率の比較

♂親魚 個体番号	7/12			10/25		
	n	ave. TL (mm)	組成	n	ave. TL (mm)	組成
m1	17	99.1	11%	26	223	16%
m2	15	98.1	10%	17	220	10%
m3	47	92	30%	37	218	22%
m4	22	91	14%	21	221	13%
m5	3		2%	1		1%
m6	4		3%	5	215	3%
m7	4		3%	4		2%
m8	11	89.3	7%	12	220	7%
m9	18	95.2	12%	26	224	16%
m10	1		1%	4		2%
m11	7	97.7	5%	9	212	5%
unknown	6		4%	5		3%
全数	155	93.8	100%	167	220	100%

表2 雌親魚別の種苗の成長量及び組成率の比較

♀親魚 個体番号	7/12			10/25		
	n	ave. TL (mm)	組成	n	ave. TL (mm)	組成
f1	2		1%	0		0%
f2	1		1%	1		1%
f3	0		0%	3		2%
f4	36	92.1	23%	38	213	23%
f5	18	93.9	12%	13	214	8%
f6	14	89.9	9%	19	217	11%
f7	15	93.1	10%	23	220	14%
f8	61	95.7	39%	63	226	38%
f9	2		1%	2		1%
unknown	6		4%	5		3%
全数	155	93.8	100%	167	220	100%

A水産も例外ではなく、高水温成長試験を実施した第一養殖場1号水槽以外はトラブルが続き、2012年3月時点での供試魚全体の生残率は18%しかなかった(図4)。

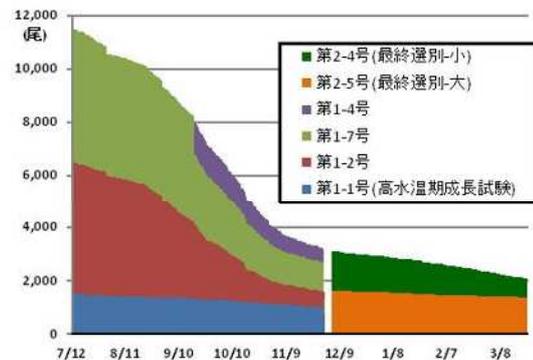


図4 供試魚の生残尾数の推移

当初計画では、養殖工程成長試験の最終サンプリングは、供試魚が2回目の夏を越す2012年10月以降の予定であったが、前述のような事情により、A水産は経営上早目の出荷をせざるを得なくなった。そのため、2012年2月27日(353日齢)に供試魚群から無作為抽出した200尾の全長、体重を測定、鰭の一部を切除採集し増養殖研究所にDNA検体として送った。200尾は各水槽(4号、5号)の生残尾数の割合を反映させるため、4号水槽(選別小群、平均全長 $258 \pm 20\text{mm}$ )から89尾、5号水槽(選別大群、平均全長 $306 \pm 22\text{mm}$ )から111尾を無作為に抽出した(図5)。なお、DNA分析(親判別)は予算の都合上、平成24年度事業で実施する予定である。

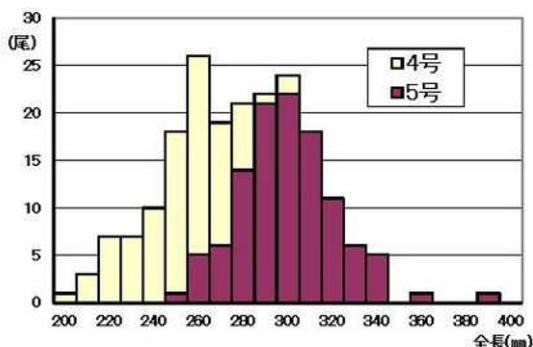


図5 出荷前供試魚の200尾抽出個体の全長組成

## 2. 短期評価試験(ヒートショック生残試験)

### ①現地養殖試験群

7月25日(136日齢)に現地養殖試験に供したものと同群の個体120尾を増養殖研に送った。

本県では8月13日(155日齢)に現地養殖試験に供したものと同群の個体110尾(以下、供試魚という)を、29℃に保った短期評価試験用の2kL円形水槽に移した。短期評価試験では、33℃のヒートショックを与える前に、水温22℃で4日間、29℃で3日間の水温馴致(無給餌)をするのが定法であるが、今回は自然水温が23℃を常時越えていたため、29℃馴致から開始した。

試験水槽は水量を1kLとし、1.39L/分(2回転/日)の滅菌海水を注水しながら、ボイラー加温(熱交換パイプによる間接加温)により水温を制御した。エアレーションは棒状エアストーンを水槽壁面から角度を付けて、4点通気することによって、水槽水をゆっくりと回転させた。特に33℃に曝露時は通気を強め、排水口の溶存酸素をDOメーターで監視しながら酸素不足にならないように心掛けた(図6)。

供試魚は、8月13日8時30分から8月16日5時30分の間、水温29℃下で馴致した。その間の水温(1分毎に自動記録)は最高水温が29.4℃、最低水温が28.7℃、平均水温は $29.0 \pm 0.2$ ℃で、供試魚に異常はなかった。



図6 短期評価試験用2kL水槽

8月16日(158日齢)の5時30分に供試魚群から無作為に10尾(予備魚)を取り出して100尾とし、設定水温を33℃にした。試験槽の水温は6時30分には33.0℃に達し、供試魚全てが死亡した13時30分までの間の最高水温は33.3℃、最低水温は32.7℃、平均水温は $33.0 \pm 0.2$ ℃であった。30分毎に測定した溶存酸素量の最高値は6.70mg/L(107.6%)、最低値は6.26mg/L(105.1%)、平均値は $6.37 \pm 0.12\text{mg/L}$ (106.2  $\pm$  0.7%)であった。

検死は30分毎に、エアレーションを止めて、主に鰓蓋の開閉の有無を目視確認して行った。経過時間(30分)毎の死亡状況を図7に示した。

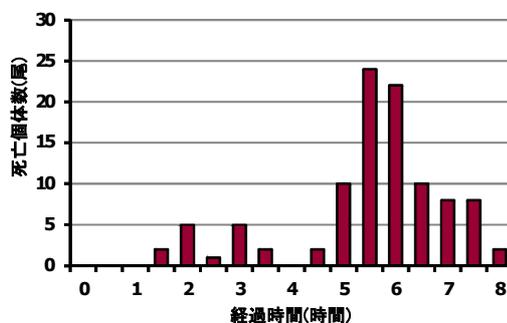


図7 現地養殖試験群の短期評価試験の結果

30分経過時には供試魚の大部分が遊泳し、一部の個体に吻部を水面から突き出す行動がみられた。1時間経過時には吻突上げ個体が目立つようになり、フラついて一瞬無眼側が上になった個体がみられた。1.5時間経過後は死亡魚が発生し、着底個体が徐々に増えてきた。3時間経過時には遊泳個体は希になり、3.5時間経過後には全ての個体が着底した。以後、遊泳する個体はほとんどみられなくなった。死亡魚は5時間経過以降急増し、5.5時間、6時間に大量斃死し、その後は生残魚数の減少とともに漸減し、8時間経過時に全個体が死亡した。供試魚の平均死亡時間は $330 \pm 89$ 分であった。死亡後全個

体を測定したところ、供試魚の平均全長は 111.1 ± 8.3mm、平均体重は 11.1 ± 2.7g であった。

本試験で得られた結果は増養殖研に報告した。

## ②大分県育種対象群

増養殖研が全国各地の種苗生産ヒラメの高水温耐性を比較する調査の一環として、大分県が育種対象(育種素材)として確保しているヒラメ群(豊後水道漁獲♂ 62 尾×人工産♀ 4 尾)も短期評価試験に供された。得られた結果を比較するために、当研究部でも並行して短期評価試験を実施した。

9 月 9 日に大分県の育種対象群を飼育している 10kL 水槽から 310 尾を無作為に抜き取り、水量を 1kL に保った 2kL 水槽に収容した。9 月 10 日(134 日齢)に配合飼料を 91g 与えた後は給餌しなかった。9 月 14 日(138 日齢)に増養殖研に 120 尾を供試魚として発送した。9 月 16 日(140 日齢)に 110 尾を残してその他を飼育水槽から除去し(無作為抽出)、注水量を 1.39L/分(2 回転/日)に調整した。自然水温が常時 24℃を越えていたため、22℃馴致工程を省き、9 月 18 日(142 日齢)の 8 時 30 分から飼育水温を 29℃に設定した(試験水槽の管理は「①現地養殖試験群」と同様)。同日 9 時 16 分に水温が 29.0℃に達し、9 月 21 日(145 日齢)の 6 時 00 分まで水温設定を維持した。その間の最高水温は 29.3℃、最低水温は 28.7℃、平均水温は 29.0 ± 0.2℃で、供試魚に異常はなかった。

9 月 21 日(145 日齢)の 6 時前に供試魚群から無作為に 10 尾(予備魚)を取り出して 100 尾とし、設定水温を 33℃にした。試験水槽の水温は 7 時 06 分には 33.0℃に達し、供試魚全てが死亡した 16 時 00 分までの間の最高水温は 33.3℃、最低水温は 32.7℃、平均水温は 33.0 ± 0.2℃であった。30 分毎に測定した溶存酸素量の最高値は 6.74mg/L(108.3%)、最低値は 6.29mg/L(106.7%)、平均値は 6.36 ± 0.10mg/L(107.3 ± 0.5%)であった。

経過時間(30 分)毎の死亡状況を図 8 に示した。

30 分経過時には供試魚の大部分が遊泳し、1 時間経過後には吻部を水面から突き出す行動が目立った。1.5 時間後にも吻上げ個体が目立ったが着底個体も 20 尾程みられた。その後、徐々に着底個体が

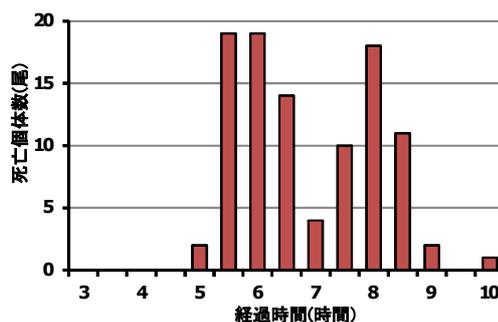


図8 大分県育種対象群の短期評価試験の結果

増え、2.5 時間後には供試魚の 3 割が、3 時間後には 7 割が、3.5 時間後には 9 割が、4 時間後にはほぼ全ての個体が着底した。4.5 時間後には横転する個体が出始め、5 時間後には死亡魚が現れた。その後はまとまった数の死亡魚が発生し、7 時間後にやや治まったがその後再び増加し、時間軸上において二峰型の死亡頻度を示した。最後の 1 尾は 9.5 時間後には身体が硬直しつつあり瀕死であったがまだ呼吸しており、10 時間後に確認したときには絶命していた。

死亡後全個体を測定したところ、供試魚の平均全長は 110.5 ± 8.4mm、平均体重は 10.9 ± 2.4g であった。体サイズは①の現地養殖試験群とほぼ同じであったが、大分県育種対象群の平均死亡時間は 413 ± 70 分と、顕著に長かった。

本試験で得られた結果は増養殖研に報告した。増養殖研での短期評価試験の結果は、やや裾野の広い一峰型のグラフであったが、平均死亡時間は概ね同じであった。なお、増養殖研が大分県以外に、5 地域で種苗生産された稚魚を用いて、同様の短期評価試験を行ったところ、大分県のものが最も平均死亡時間が長かった。大分県の種苗は、まだ選抜育種を始めていない、育種素材として確保している群であるが、最も高水温耐性(ヒートショック耐性)がある種苗として評価された。遺伝的な多様性を内包した群(天然♂ 62 尾×人工♀ 4 尾)でもあり、今後の選抜育種に期待を持たせる結果であった。

## ヒラメの高水温耐性品種の作出－3 育種素材群の種苗生産(2011年生産群)

景平真明・金澤 健・中里礼大・井本有治

### 事業の目的

大分県は全国の養殖ヒラメの3割を供給する日本一の生産地である。その中でも佐伯市蒲江の入津湾には養殖業者が集中しており、養殖ヒラメの供給拠点となっている。

近年、大分県沿岸域では海水温の上昇傾向がみられ、2008年は特に夏場の高水温が著しく、入津湾のヒラメ養殖場では各種トラブルや疾病が頻発して生残率が下がり、養殖経営を揺るがす事態となった。今後も水温の上昇が続けばヒラメ養殖の存続が危ぶまれる。

本研究ではヒラメの高水温耐性品種を確立することにより、当県のヒラメ養殖産業を支援することを目的とする。

### 事業の方法

#### 1. 親魚の確保

2010年(平成22年)に種苗生産したヒラメは、「人工産ヒラメ(♀10尾×♂10尾)の自然交配による群(2/21卵回収)」と「人工産♀5尾×天然♂11尾を人工授精させた群(4/14媒精)」で、その後の高水温選抜試験(ヒートショック)に供した。

本年は、今後「高水温耐性を持つヒラメ」を選抜育種していくための基となる「選抜育種対象群」を種苗生産し、有効な選抜を実施していくことを主な課題とした。「選抜育種対象群」を確保するにあたり、「高水温耐性に係わる遺伝子を持つ」可能性を少しでも上げることが重要である。もし、「選抜育種対象群」に求める遺伝子が存在しなければ、今後いかに選抜育種に努めても、目標(高水温耐性ヒラメ)には到達できないからである。

そこで、国内のヒラメの7系群(図1)のうち最も生息水温が高いと思われる「太平洋南部系群」を親魚として確保することを最優先に、鹿児島県や宮崎県で親魚の入手を試みたが諸般の事情により断念し、



図1 日本近海のヒラメ7系群

次善の策として、大分県漁協鶴見支店の産地市場(以下、鶴見市場という)で水揚げされるヒラメを親魚に導入することにした。鶴見市場で水揚げされるヒラメは、主に鶴見崎以南の日向灘北端(豊後水道南端)付近で小型底曳網によって漁獲される。それらが「太平洋南部系群」なのか「瀬戸内海系群」に属するのか精査していないが、できるだけ多くの個体を導入することで対応することにした。また、昨年の経験から、漁獲魚(主に底曳網による)を一時的にせよ活魚としてストックしておくことは極めて困難であるため、親魚として利用するのは雄のみとし、水揚げされた直後に採精して凍結保存することにした。

そのような経緯で、ヒラメの産卵時期とも重なる3～4月に、放精する雄のみを鶴見市場で合計62尾購入し、その場で採精して持ち帰り、液体窒素中に保存した。

種苗生産にはまとまった量の卵を確保する必要があるため、雌親魚には既に何度か種苗生産実績がある当研究部の親魚を使用した。これらは、入津湾の2008年の猛暑(生残率が極めて悪かった)を生き残った個体で、愛媛県の民間種苗会社が生産したものである。

## 2. 精子の凍結保存

精子の凍結保存と凍結精子の媒精技術は日本水産株式会社大分海洋研究センター(佐伯市鶴見有明浦)から指導を受け実施した。精子の凍結保存の手順は以下のとおりである。

- ①精液を搾出法により個体毎にスピッツ管に採取した。この際、濃厚な精液のみを採取するよう努めた。採精後スピッツ管は保冷剤を入れたクーラーボックスで研究室まで持ち帰った。
- ②顕微鏡下(100倍)で精子が十分に運動能を有するか確認した結果、採取した精液で活性が低いものは無かった。
- ③精液 1 に対し、希釈液(海産魚用リングル(表 1) + DMSO10%)を 3 の割合でよく混合し、1 分以内にドライアイス(-79℃)表面に予め空けておいた穴(半球)の中に分注機を用いて、0.05cc ずつ滴下し、ペレット状に凍結させた。
- ④完全に凍結した後、精子ペレットを冷凍保存用のバイアルに速やかに移し、液体窒素(-196℃)中に保存した。

表1 海産魚リングルの組成 (g/L)

NaCl	8.22
KCl	0.39
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.72
MgCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.23
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.28
NaHCO <sub>3</sub>	1.00
Glucose	1.00

## 3. 人工授精

精子が一定個体数量分確保できたので、4月24日に雌親魚群のうち採卵可能と思われる(腹部の張りを確認)7個体(平均全長 699 ± 31mm)に排卵誘発ホルモン(以下、HCG という)を 300IU/kg 量打注した。打注 24 時間後(4/25)の卵は搾出したが生産には使用せず、48 時間後(4/26)に得られた卵のうち、検鏡して正常(濁りの無い透明な卵)と判断した 4 個体分 510g を、62 個体分の凍結精子と媒精し、18℃に調温した 0.2kL 卵管理水槽(注水量は 1 回転/時)に収容した。凍結精子の媒精の手順は以下のとおりである。

- ① 8 粒/個体の凍結精子、合計 496 粒(62 個体分)を 1L サンプル瓶に入れ、殺菌海水 500ml を加えて素早く蓋をして数秒激しく震とうし、速やかにボールに受けた搾出卵(約 500g)にかけ、製図用羽根ぼうきで 1 分程ゆっくりと攪拌した。
- ②精子の凍結防止剤として含まれる DMSO に細胞毒性が有るため、媒精させたボールに、更に大量の殺菌海水を注ぎ、他のボールを添えた卵受ネット手網(ゴースネット)内に受精卵を入れ、殺菌海水の流水で充分洗浄した後、200L 卵管理水槽(殺菌海水：自然水温 16.7℃)に収容した。

## 4. オキシダント消毒

オキシダント消毒は(独)水産総合研究センター増養殖研究所上浦庁舎から技術指導を受けた。受精させた翌日(4/27)に受精卵の発生段階が胚体形成期(眼胞は形成されつつあったが、筋節は未分化であった)であることを確認し、オキシダント消毒をしたうえで、50kL 種苗生産水槽に卵収容した。オキシダント消毒の手順は以下のとおりである。

- ① 200L 卵管理水槽の注水・散気を止め数分間静置後、柄杓とサイホンによって、ボールを添えた卵受ネット手網に受精卵を集めた。
- ②遊離オキシダント濃度(全オキシダントではない)を 0.28ppm に調整した(目標値は 0.3ppm)電解殺菌水を受精卵を受けたボールに注ぎ、3 分間流水下で浸漬消毒した。
- ③消毒後、速やかに殺菌海水を注いだ別のボールに受精卵を移し、残留オキシダントを流した。充分に洗浄後、50kL 種苗生産用水槽に移した。

## 5. 種苗生産工程

4月27日に卵収容した。29日に孵化仔魚を多数確認したので、この日を 0 日齢とした。

### 1) 無給餌生残指数(SAI)

種苗生産に用いる仔魚の活力の目安を得るため、48 穴マイクロプレートに、オキシダント消毒後の卵を、パスツールピペットを用いて 1 穴 1 個ずつ計 48 個を収容した。20.5℃に保ったインキュベーター中で、孵化した仔魚の生残魚がいなくなるまで毎日生残尾数を確認した。無給餌生残指数(SAI)は下式により算出した。

$$SAI = \frac{1}{N} \times \sum_{i=1}^k (N - hi) \times i$$

N : 最初の仔魚数  
 hi : i 日目の斃死仔魚の累積尾数  
 k : 生残尾数が 0 となった日

### 2) 種苗生産

種苗生産方法は、省力、省コスト、種苗の高活力と優れた面が多い、いわゆる「ほっとけ飼育」を採用した。種苗生産水槽内のワムシの増殖を安定化するため、飼育水は 80%海水とし、低水温でも増殖率の高い L 型ワムシ小浜株(水産総合研究センター日本海区水産研究所能登島庁舎から譲渡)と SS 型ワムシ(大分県漁業公社株)を併用した。本種苗生産に先だって行った国委託事業のヒラメ種苗生産では、低塩分水によって受精卵を沈殿させてしまったため、今回は初めからエア量を強めに設定した。

水槽上面の照明は 8 ~ 17 時点灯とし、6月6日(38日齢)から 6 時半 ~ 17 時に変更した。飼育水温は開始時は無加温とし(16.8 ~ 16.9℃)、間もなく

20.5℃に設定した。換水を開始したのは5月15日(16日齢)からで、5%/日換水とした。換水開始日は移槽予定日から逆算して決めた。その後、10、20、40、60、80、100、150%/日と換水率を日々上げ、150%/日のとき(5/22:23日齢)に集魚灯&サイホンで隣の50kL水槽に稚魚の移槽を開始し、5月24日(25日齢)で移槽を完了した。150%換水時に加温から、自然水温飼育に切り替えた。

計画では水槽内でワムシを増殖させる「ほっとけ飼育」で種苗生産する予定であったが、種苗生産水槽内のワムシ密度が基準の10個/mlを上回る日がほとんど無かったため、ワムシ(L型ワムシ小浜株、SS型ワムシ大分県漁業公社株)を連日(2日間を除く)添加補充した。種苗生産水槽内にはクロレラ工業社製のスーパー生クロレラV12(以下、生クロレラSVという)を定量ポンプで500ml/日量を添加した。ワムシの培養及び栄養強化はクロレラ工業社製の生クロレラV12ハイグレード(以下、生クロレラHGという)で行った。

その後ワムシ添加を継続中に、アルテミア添加を始め、更に日本配合飼料社製の配合飼料アンブローズも並行して給餌した。アルテミアはクロレラ工業社製のA1パウダーで栄養強化した。配合飼料の給餌量は(社)日本栽培漁業協会発行の栽培漁業技術シリーズ「ヒラメの種苗生産マニュアル」8.配合飼料の投餌基準(P46～52)を参照し、平均全長と飼育尾数を元に算出した。配合飼料給餌は初めは手撒きで行ったが、6月6日(38日齢)からは6時30分にセットした自動給餌機で1日の給餌量の1/3を与え、残りを9、11、13、15時に手撒き給餌した。

6月15日(48日齢)に稚魚の全量を取り上げ、5kL水槽3基にほぼ3等分になるように分槽収容した。

## 事業の結果

### 1. 親魚の確保

雄62個体から採精し、凍結保存した。雄漁獲魚の入手日(入手尾数)は3/16(4尾)、3/22(20尾)、3/30(10尾)、4/6(12尾)、4/7(16尾)で、3月22日に入手した個体のうち6尾のみ翌日に採精したが(活魚として保持)、その他は入手当日に採精凍結した。

### 2. 精子の凍結保存

「事業の方法」の項および前述のとおり凍結精子を作成保存した。

### 3. 人工授精

水産研究部水槽で飼育中の雌親魚12尾のうち、

腹部が張り出し採卵可能と思われた7尾に対して、4月24日13～14時にHCGを打注し、翌25日の同時刻に搾卵した。24時間後の卵には過熟卵が含まれることが予想されたため、種苗生産に用いる予定は無かったが、翌日の予行演習も兼ねて人工授精させ、0.2kL卵管理水槽に収容した。媒精には100g/尾以上搾卵できたものを使用した。最も卵量が多かった5E76(表2)の卵は一見して白濁卵を含むのが判った。浮上卵は柱状サンプリング(密度法)によって、沈下卵は全量回収(重量法)によって卵数を算出したところ、沈下卵が61.4万粒、浮上卵が4.4万粒で、浮上卵のうち2万粒は発生が正常に進んでいなかった。

表2 HCG打注後の採卵結果及び検卵結果

タグ ナンバー	全長 (mm)	4/25 採卵量(g)	4/26 採卵量(g)	検卵 結果
5E76	712	423.8	630.3	×
2004	716	19.9	65.3	×
7140	667	50.1	100.4	◎
7971	721	—	169.2	○
0411	721	—	205.7	◎
3C0A	740	107.9	231.5	○
0453	670	196.3	180.4	×

\*◎は異常卵がほとんどみられない

○は異常卵が一部にみられるが大部分は正常

×は異常卵が多くみられる

朱文字の卵を人工授精に使用

HCG打注48時間後に親魚毎に搾卵し、「事業の方法-3.人工授精」の項に記したとおりに人工授精した。0.2kL卵管理水槽に収容後、前述の方法にて卵数を算出したところ、沈下卵が6.8万粒、浮上卵のうち正常に発生しているものが、88.5万粒、異常なものが1.1万粒であった。

### 4. オキシダント消毒

「事業の方法-4.オキシダント消毒」の項に記したとおりに実施した。

### 5. 種苗生産工程

#### 1) 無給餌生残指数(SAI)

4月27日に胚胎形成期でプレート穴に収容した卵は4月29日に孵化(0日齢)したが、孵化率は低く29%(14尾/48個)であった。翌30日(1日齢)に1尾が死亡し、5月2日(3日齢)に5尾が、翌3日(4日齢)に1尾が死亡した後は数日変化が無かったが、5月7日(8日齢)に一気に6尾が死亡し、翌8日(9日齢)に最後の1尾が死亡した。

計算の結果、本種苗生産群のSAIは17.3であった。

#### 2) 種苗生産

4月27日に受精卵を収容したときは、卵管理水槽(水温16.8～9℃)との水温差を生じさせないよ

うに、50kL 種苗生産水槽を無加温(水温 16.8 ~ 9℃)としたが、翌 28 日の 8 時に設定温度 20.5℃で加温を開始した。

4 月 29 日に孵化仔魚(0 日齢)数を柱状サンプリング(密度法)で計数したところ、14.1 万尾であった。翌 30 日(1 日齢: 平均全長 3.2 ± 0.2mm)には卵黄をかなり吸収した仔魚(眼にはグアニンが発達)がみられ始めたので、L 型ワムシ小浜株を飼育水中の密度が 10 個/ml となるように添加した。2 日齢(平均全長 3.1 ± 0.1mm)にはワムシを摂餌した仔魚がみられ始め、3 日齢(平均全長 3.6 ± 0.3mm)には、採集した全個体の消化管からワムシが確認された(20.0 ± 11.1 個/尾)。

一方、種苗生産水槽のワムシの増殖(「ほっとけ飼育」)は計画どおりに行かず、朝一のワムシ密度計数で 5 月 3 日(4 日齢)に 10.5 個/ml となった以外は、10 個/ml を上回る日は無かった。これは、ちょうどこの時に L 型ワムシの連続培養生産が不調で、ワムシの活力が低かった(動き悪い)ことが原因である。また、更に運が悪いことに、SS 型ワムシの連続培養も丁度同時期に不調で、SS 型ワムシの添加も「ほっとけ飼育」には寄与しなかった。そのため、5 月 3、4 日以外は連日ワムシ(適時 L 型・SS 型)を添加した。ワムシの添加は 5 月 21 日(21 日齢)まで継続した(図 2)。

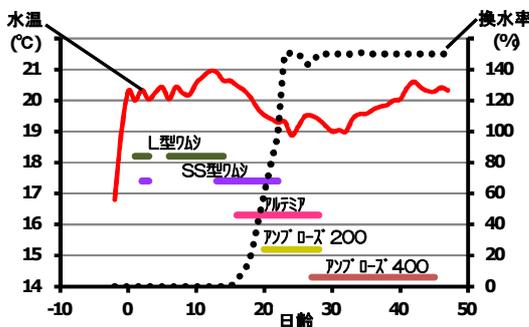


図2 種苗生産期間中の換水率と水温の推移及び餌料系列

3 日齢時に、SAI プレートで一定量の斃死があり、飼育水中に多数の懸濁物がみられたことから、仔魚の夜間計数を実施したが、10.9 万尾と大きな変化はなかった。念のために貝化石を 3kg 散布した。また、5 日齢(平均全長 3.7 ± 0.4mm)時に、ワムシを大量に摂餌している(10,14,27,28,28 個/尾)個体がいる一方

で、全く摂餌していない個体が高い割合でみられ(5 尾/10 尾)大量減耗の兆しかと思われたが、翌々日の 7 日齢(平均全長 5.0 ± 0.8mm)時には、全個体摂餌しており(31.0 ± 17.6 個/尾)、仔魚数も 7.5 万尾と大きく減耗しておらず杞憂であった。

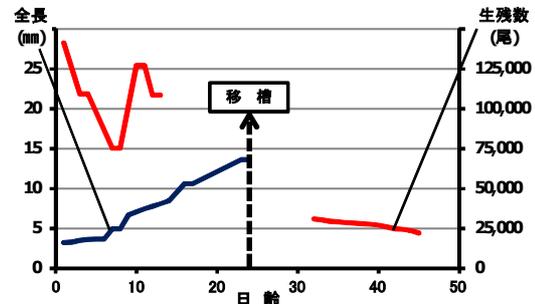


図3 種苗生産期間中の成長及び生残数

その後の、摂餌は順調で 9 日齢(平均全長 6.7 ± 0.4mm)時に平均ワムシ摂取量は 39.7 ± 10.9 個/尾、10 日齢(平均全長 7.5 ± 0.3mm)時に 56.1 ± 15.4 個/尾、12 日齢(平均全長 7.8 ± 0.5mm)時に 83.4 ± 23.6 個/尾と急激に増加し、13 日齢(平均全長 8.4 ± 0.6mm)時には計数不能となった。この頃には、眼の移動が始まっている個体が半数近くみられるようになり、16 日齢(平均全長 10.6 ± 0.4mm)時には観察した全個体で眼が移動中であった。

16 日齢あたりから水中の気泡を捕食しようとするいわゆる「エア噛み」個体が見られるようになりアルテミアの給餌を始めた。同時に換水も開始し、日々換水量を増やしていった。換水直前の飼育水の pH は 7.99 であった。20 日齢からは配合飼料のアンブローズ 200(粒径 0.23 ~ 0.42mm)の手撒き給餌も開始し、過剰と思われる量を 4 日間散布し、配合飼料に餌付させた。

23 日齢(平均全長 13.6 ± 1.3mm)の時に、集魚灯&サイホン(150%換水/日)によって、隣の 50kL 水槽への移槽を開始(15:45)した。翌朝(9:30)には 7 割ほどが移動していたが、もう一晚継続し、大部分の個体を移槽させた。移槽後直ちに多数の着底個体が見られた。移槽後はワムシ給餌を止め、アルテミア給餌を数日行った後は、全量配合飼料の給餌とした。38 日齢時からは自動給餌機による早朝給餌を始め、45 日齢まで継続し、47 日齢で全量取り上げ、5kL 水槽 3 面に移動した。

## ヒラメの高水温耐性品種の作出－４

### 育種素材群の育成及び選抜(2011年生産群)

景平真明・金澤 健・中里礼大・井本有治

#### 事業の目的

現在大分県のヒラメの陸上養殖の最大の課題は高水温期の生残率の向上である。本研究では高水温期に強い種苗を育種し、現場に供給することが最終目標である。

2011年度は「高水温耐性に係わる遺伝子」を内包する育種対象群を種苗生産し、それらに対して有効な選抜を行って選抜育種を進めていくことが課題である。新たな養殖用種苗として求められる形質は、一般種苗にも当てはまる、高成長や高活力以外に

①高水温耐性があること

②低酸素耐性があること

の2点があげられる。①はこれまでも述べてきた課題であるが、同時に入津湾の養殖現場では夏期の飼育用水の低酸素が常態化しており、取水のDO(溶存酸素量)が1mg/Lを切ることがしばしばあり、多くの養殖場では液体酸素を常時添加して高水温期を凌いでいる。

本事業では、①はある程度成長した個体にピットタグを打って個体識別し、長期的(1～2ヵ月)な高水温下での成長量で評価していく、②は種苗生産された育種種苗群を低酸素下で育成し、高成長群を選抜していくことによって実施する。

#### 事業の方法

##### 1. 中間育成

選抜育種に供すために本年度種苗生産した「育種対象群」を供試可能な3g程度に育成することを目標にした。

6月15日(47日齢)に「育種対象群」を50kL種苗生産水槽から全数取り上げ、5kL水槽3基(5t-3、4、8号)に概ね3等分して収容した。本来は飼育環境履歴を均しくするために、同一水槽で飼育管理すべきであるが、全数を収容可能な10kL水槽群が別事業のヒラメで占められていたため、次善の策として5kL水槽に分槽した。各水槽は無加温で、満水にはせず水位を半分以下とし、水槽壁面に沿って注水を

高圧力で噴出させ(塩ビパイプ配管の吐出口を潰して狭めた)、常に流水状態を保った。各水槽でみられた形態異常個体(有眼側白化、右ヒラメ、短軀等)は適時目視除去し、毎日死亡魚の数と重量を計測した。

配合飼料の給餌量は各水槽とも同一とし、摂餌状況をみながら適時給餌量を増やした。6月16日(48日齢)から7月3日(65日齢)の間は中部飼料社製のえづけーるM(粒径0.45～0.75mm)を、7月4日(66日齢)にはえづけーるM(粒径0.45～0.75mm)とLL(粒径1.30～2.00mm)の混合飼料を、7月5日(67日齢)から7月10日(72日齢)の間はえづけーるLLの単独給餌を、7月11～12日(73～74日齢)にはえづけーるフロート2号(粒径2.3mm)を、7月13日(75日齢)から27日(89日齢)の間は再びえづけーるLLを、7月28日(90日齢)から31日(93日齢)までの間は林兼産業社製のジュニアA(粒径1.1～1.3mm)を、9、11、13、15時に手撒きにより給餌した。

10kL水槽が空いたため、8月1日(94日齢)に計数計量し10t-1号水槽に全数移槽した。

##### 2. 育成及び低DO飼育選抜

常時低酸素下で飼育して、成長の良い個体を随時選抜し、年度内に「育種対象群」を500～1,000尾程度にすることを目標にした。

###### 1) 第1回選別

「育種対象群」は8月1日以降、全工程で10kL水槽で飼育管理した。10kL水槽の底面積は8.973m<sup>2</sup>で、平均体重2.89gの稚魚を14,899尾収容した(1,660尾/m<sup>2</sup>)。低DO飼育選抜は「過密な状態で飼育後、高成長群(大サイズ)を抜き取る」という方法で実施した。

水槽の水量は4kLとし、槽壁面に沿って注水を高圧力で噴出させ、常に流水状態を保った。配合飼料は林兼産業(株)のノヴァEP-0号(粒径1.8mm)を主飼料として、同社のジュニアA(粒径1.1～1.3mm)や(株)ヒガシマルの海濤(みなみ)3号(粒径0.9±0.1mm)、中部飼料(株)のえづけーるLL(粒径1.2～2.0mm)を併用した。日間給餌率を3%とし、

飼料効率、先行飼育した「国庫委託ヒラメ」の結果を参考に 180% で計算した。自動給餌機で 5 時半に日量の 1/3 を給餌し、残りの 2/3 を 10、14、18 時に給餌した。DO の測定は、最も低い値を示すと考えられる排水口で適時測定した。

9 月 1 日 (130 日齢) に全数取り上げ、20mm × 22mm (対角線 27mm) のトリカルネット籠で篩い、大サイズのみを 10t-2 号水槽に収容した。

## 2) 第2回選別

9 月 1 日 (125 日齢) に行った選別の大群 (平均全長  $102.4 \pm 8.8\text{mm}$ 、総数 9,937 尾、総重量 100,495g) を 10t-2 号で、低 DO 条件下で飼育した。

水槽の仕様、給餌方法及び管理は「第 1 回選別」と同じとした。配合飼料はノヴァ EP-0 号 (粒径 1.8mm) を 9 月 18 日 (142 日齢) まで与え、それ以降は (株) ヒガシマルのひらめ皇 EP-2 号 (粒径  $4.3 \pm 0.3\text{mm}$ ) を与えた。日間給餌率は 9 月 16 日 (140 日齢) までは 2.5% で、それ以降は 2.0% とした。飼料効率は第 1 回選別時に求められた 136% とすべきところであったが、計算ミスにより 116% で増重量を計算したため給餌量は目標を下回った。

9 月 28 日 (152 日齢) に全数を取り上げ、27mm × 28mm (対角線 38mm) のトリカルネット籠で篩い、大サイズのみ 10t-1 号に収容した。

## 3) 第3回選別

9 月 28 日 (152 日齢) に行った選別の大群 (平均全長  $131.5 \pm 7.2\text{mm}$ 、総重量 112,775g、総数 5,361 尾) を 10t-1 号で、低 DO 条件下で飼育した。

水槽の仕様、及び管理は従来どおりだが、自動給餌機は早朝 (6 時) のみ使用し (所定の給餌量の 1/3)、残り (2/3) は 9、13、16 時に手撒き給餌した。また 10 月 11 日 (165 日齢) 以降は自動給餌機の不調により、全量手撒き給餌 (9、13、16 時) とした。配合飼料は前回同様、ひらめ皇 EP-2 号 (粒径  $4.3 \pm 0.3\text{mm}$ ) を与えた。日間給餌率は 10 月 14 日 (168 日齢) までは 2.0% で、それ以降は 1.5% とし、同時に注水量も増やした。飼料効率は第 2 回選別時に求められた 125% を適用して増重量を計算した。

11 月 17 日 (202 日齢) に全数を取り上げ、175mm にラインを引いた計測板を用いて大小選別を行い、大サイズのみ 10t-2 号に収容した。

## 4) 第4回選別

11 月 17 日 (202 日齢) に行った選別の大群 (平均全長  $186.3 \pm 6.7\text{mm}$ 、総重量 108,005g、総数 1,731 尾) を 10t-2 号で、低 DO 条件下で飼育した。

水槽の仕様は、飼育当初は従来と同じ注水方法の水槽で飼育を始めたが、飼育水の DO が水槽内で均質となるように 10t-1 号に新たな注水配管を施し (図 1)、12 月 19 日に「育種対象群」を全て移槽させた。従来方式の注水口は側面の底面近くに配置され

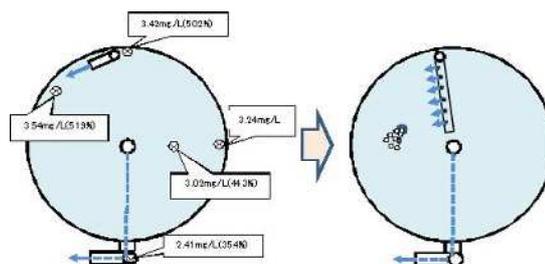


図1 10kL水槽への注水方法の変更

\*左は9/12 (9580尾、129kg) 14時の各箇所のDO値を示した

ていたが、新方式では側面から水槽中心に向かって配管された 40mm 塩ビ管にドリルで孔を開け、仰角  $45^\circ$  方向に海水を噴出させ、その先で底面水をリフトアップさせるためにエアストーンで曝気した。

第 3 回選別までは日間給餌率を定めていたが、本工程からは飽食給餌とした。8 時半頃と 15 時半頃の 2 回に分けて手撒きにより給餌した。配合飼料は 2012 年 3 月 9 日 (314 日齢) まではひらめ皇 EP-2 号 (粒径  $4.3 \pm 0.3\text{mm}$ ) を、それ以降はひらめ皇 EP-3 号 (粒径  $5.4 \pm 0.4\text{mm}$ ) とした。

12 月 19 日 (234 日齢) に全数を取り上げ計数量後、一部受傷魚を除き、新方式の 10t-1 号に移した。2012 年 1 月 13 日 (259 日齢)、2 月 13 日 (290 日齢)、3 月 16 日 (321 日齢) に抽出サンプル測定を行い、3 月 19 日 (324 日齢) に全数を取り上げ、250mm にラインを引いた計測板を用いて大小選別を行い、大サイズを洗浄清掃した 10t-1 号に再収容した。

## 5) 第4回選別以降

3 月 16 日 (324 日齢) に行った選別の大群 (平均全長  $259.1 \pm 7.7\text{mm}$ 、総重量 150.28kg、総数 752 尾) を 10t-1 号で、低 DO 条件下で飼育した。飼育管理方法は前節同様とし、ひらめ皇 EP-3 号を日に 2 回飽食給餌した。

## 事業の結果

### 1. 中間育成

移槽翌日の 6 月 16 日 (48 日齢) に 1,300 尾以上の減耗 (斃死、除去) があつた以外は特に大きなトラブルは無かつた。8 月 1 日 (94 日齢) までの間の生残率は 71.1% であつた。移槽当初は 3 水槽とも均等に収容したつもり (バケツ採りで分配) であつたが、8 月 1 日の全数計数の結果及び斃死履歴から逆算すると、5t-3、4、8 号の収容尾数はそれぞれ 6,868 尾、6,396 尾、7,697 尾で、5t-8 号が特に収容密度が高かつた。その影響は個体の成長量に表れ、平均体重 (総数) はそれぞれ、3.12g/尾 (4,410 尾)、3.02g/尾 (4,695 尾)、2.61g/尾 (5,794 尾) と収容尾数に反比例する結果となつた (図 2)。

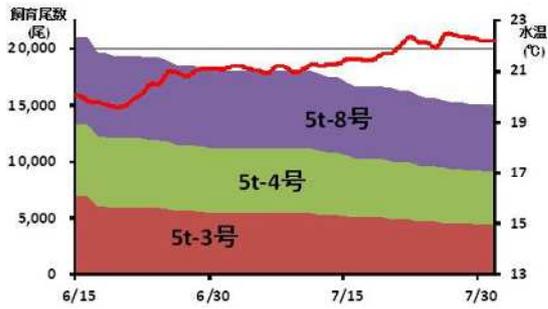


図2 取り上げ後の飼育尾数の変化と飼育水温の推移

2. 育成及び低DO飼育選抜

図3に中間育成以降の飼育水温の推移を、図4に低DO選抜に伴う飼育尾数の推移を表した。水温データがところどころ欠測しているのは、飼育施設の制御盤の内蔵メモリのトラブルに因る。低DO飼育選抜の結果、飼育尾数を目標(1,000～500尾)どおりの752尾(2012/4/1現在)にまで絞り込むことができた。各選別の詳細は以下に記す。

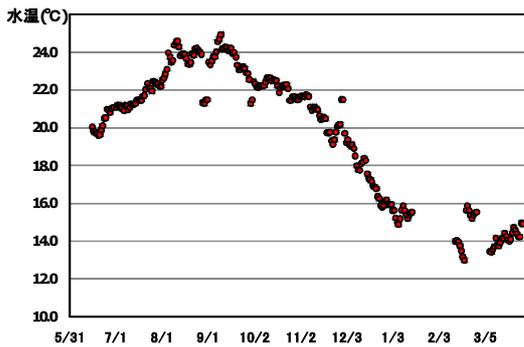


図3 中間育成後の飼育水温の推移

\*グラフ中の1円は1日(1440分)の水温の平均値を表す

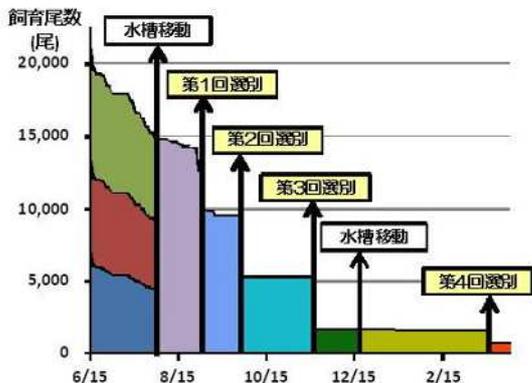


図4 低DO飼育選抜に伴う飼育尾数の推移

1) 第1回選別

収容した8月1日(94日齢)以降、大きなトラブルはなく順調に育成していたが、8月25日(118日

齢)くらいから飼育水槽中央の排水口付近に若干残餌がみられ始め、8月29日(122日齢)朝に大量斃死が発生した(図5)。急遽、排水、死体・残餌の除去、全開注水を行った。発見時点で既に大量の死体が積もっており、生残個体も重篤な酸欠個体は有眼側の体色が灰白色になっていた。全ての処理を終えるのに2時間ほど掛かり、斃死個体は計1,642尾であった。

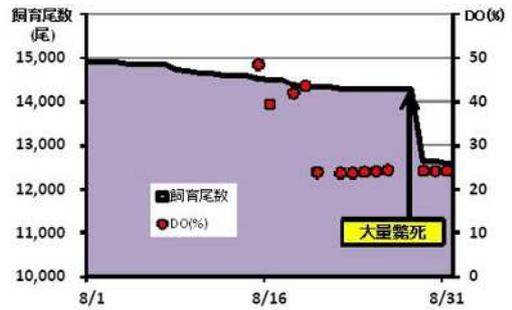


図5 飼育尾数と排水中のDOの推移(8/1-9/1)

\*DOは当日観測した値のうち最も低いものを表した

大量斃死の原因は過給餌にあったと思われる。飼育開始時に飼料効率を180%と想定したが、実際の飼料効率は136%に留まり(低DO下では飼料効率が落ちるのかもしれない)、8月末時期の日間給餌率は3.7%になっていた(計画では3%)。低DOと過給餌が重なった結果、酸欠状態となり斃死個体が発生したと思われる。

9月1日(125日齢)に20mm×22mm(対角線27mm)目合いの篩籠を用いて、大小選別を行った。大群の平均全長は102.4±8.8mmで、総重量は100,495g、総数は9,937尾(重量法)であった。小群の平均全長は86.0±6.7mmで、総重量は10,200g、総数は1,617尾(重量法)であった(図6)。大群を10t-2号に収容し、小群は処分した。

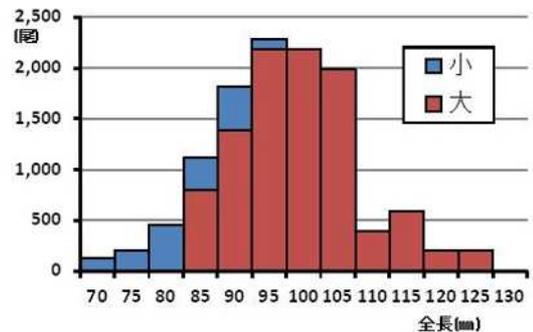


図6 「育種対象群」の全長組成(9/1)

\*大、小群それぞれの抽出サンプルの個体測定結果を群全体に引き延ばした

2) 第2回選別

収容した9月1日(125日齢)以降、大きなトラブル

ルは無く順調に成育した。9月9日(133日齢)に供試魚として310尾を無作為抽出した以外は、大きな変動は無かった(図7)。飼育条件の変更は、9月16日(140日齢)に残餌が目立ったため、日間給餌率を2.5%→2.0%に変えたことである。

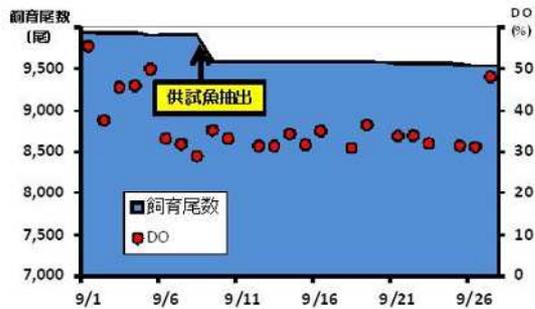


図7 飼育尾数と排水中のDOの推移(9/1-9/28)  
\*DOは当日観測した値のうち最も低いものを表した

9月28日(152日齢)に全数を取り上げ、27mm×28mm(対角線38mm)のトリカルネット籠で篩い、大小選別を行った。大群の平均全長は131.5±7.2mm、総重量は112,775g、総数は5,361尾(重量法)であった。小群の平均全長は117.5±7.6mm、総重量は62,925g、総数は4,249尾(重量法)であった(図8)。飼育期間中の飼料効率は125%であった。大群を10t-1号に収容し、小群は処分した。

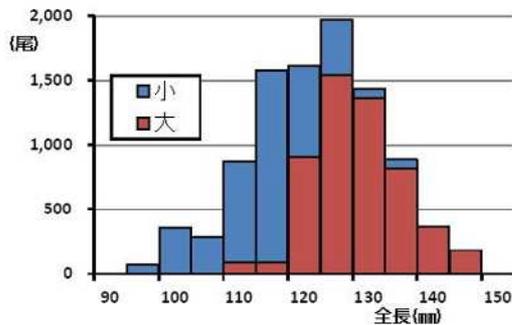


図8 「育種対象群」の全長組成(9/28)  
\*大、小群それぞれの抽出サンプルの個体測定結果を群全体に引き延ばした

### 3) 第3回選別

収容した9月28日(152日齢)以降、大きなトラブルは無かったが(図9)、本工程の後半は収容密度が高くなったためか、酸欠を示す行動(水面をあっぷあっぷする)がしばしばみられた。飼育条件の変更として、飼育魚が所定の給餌量を全て摂餌しきれない日が4日続いたので、10月15日(169日齢)以降、日間給餌率を2.0%→1.5%にし、注水量を増やした。

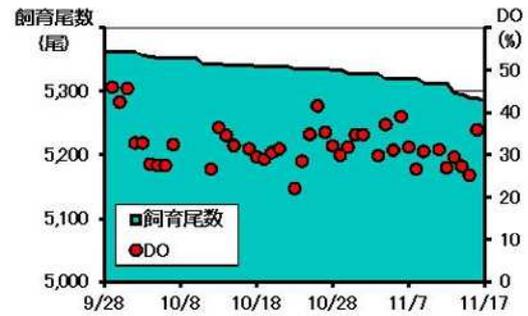


図9 飼育尾数と排水中のDOの推移(9/28-11/17)  
\*DOは当日観測した値のうち最も低いものを表した

図10に11月15日観測した給餌に伴うDOの変化を示した。初回の給餌後急速にDOが低下し、徐々に回復するが、再給餌時に再低下するため、日中は概ね低DO下にあることが判った。

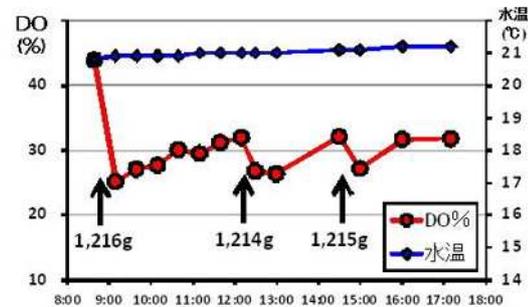


図10 給餌に伴う飼育水槽中のDOの変化  
\*矢印は給餌時をその下の数値は給餌量を示す

11月17日(202日齢)に全数を取り上げ、175mmにラインを引いた計測板を用いて大小選別を行った。大群の平均全長は186.3±6.7mm、総重量は108,005g、総数は1,731尾(実測)であった。小群の平均全長は164.1±10.6mmで、総重量は155,355g、総数は3,532尾(実測)であった(図11)。飼育期間中の飼料効率は122%であった。大群を10t-1号に収容し、小群は処分した。

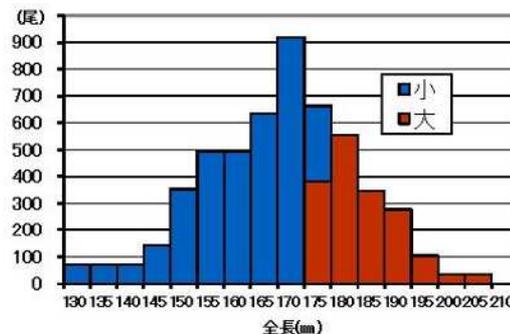


図11 「育種対象群」の全長組成(9/28)  
\*大、小群それぞれの抽出サンプルの個体測定結果を群全体に引き延ばした

4) 第4回選別

収容した11月17日(202日齢)以降、大きなトラブルは無かった。本工程ではほとんど斃死が発生せず、飼育尾数の主な減少は、12月19日(234日齢)の水槽移動時の受傷魚の除去と定期サンプリング(1/13、2/13、3/16)によるものであった(図12)。

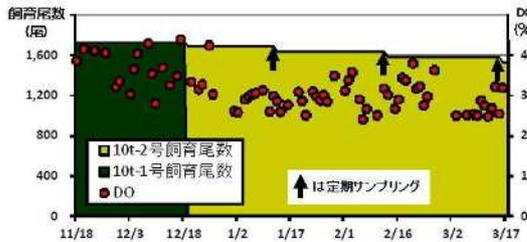


図12 飼育尾数と排水中のDOの推移(11/18-3/19)  
\*DOは当日観測した値のうち最も低いものを表した

本工程から配合飼料の給餌を、日間給餌率に沿った制限給餌から、飽食給餌に切り替えた。低DO下での飼育であったが、概ね摂餌は良好で、「育種対象群」は順調に成長した(図13)。

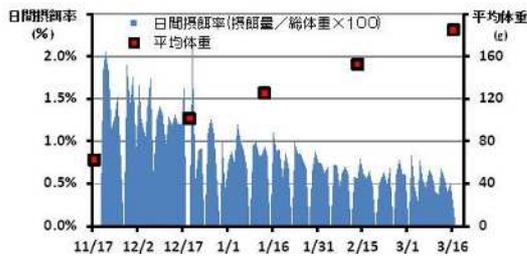


図13 日間摂餌率の推移と平均体重の変化(11/17→3/17)

図1に示したとおり、従来方式の注水口は水槽側面の底近くに配置されていたため、注水口付近及び側面では相対的にDOが高く、円心の排水口付近では1mg/L近くDO値が低かったが、新方式ではヒラメが定位している底面のDO値の差は最大でも0.5mg/L以下に収まるようになった。

12月19日(234日齢)の「育種対象群」の平均全長は212.9 ± 8.0mmで、翌年1月13日(259日齢)には226.4 ± 8.4mm、2月13日(290日齢)は239.8 ± 9.8mm、3月16日(321日齢)は253.9 ± 10.6mmであった(図14)。徐々にバラツキが大きくなってきたので、3月19日(324日齢)に全数を取り上げ、250mmにラインを引いた計測板を用いて大小選別を行った。

大群の平均全長は259.1 ± 7.7mm、総重量は150.28kg、総数は752尾(実測)であった。小群の平均全長は243.5 ± 7.3mmで、総重量は125.25kg、総数は776尾(実測)であった(図15)。飼育前半(11/18 → 12/19)の飼料効率率は121%で、後半(12/19

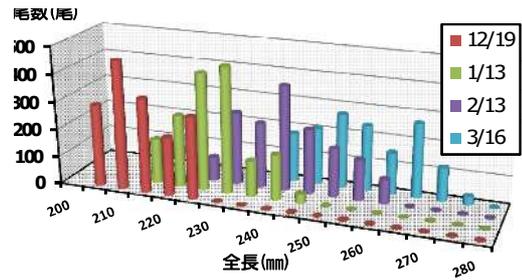


図14 育種対象群の全長組成の推移(12/19→3/16)  
\*抽出サンプルの個体測定結果を群全体に引き延ばした

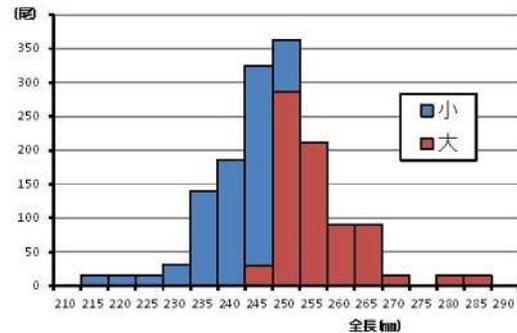


図15 「育種対象群」の全長組成(3/19)  
\*大、小群それぞれの抽出サンプルの個体測定結果を群全体に引き延ばした

→ 3/19)の飼料効率率は100%であった。大群を10t-1号に再収容し、小群は処分した。

5) 第4回選別以降

収容した3月19日(324日齢)以降、死亡魚は無かった。飼育管理は前節を踏襲したが、飼育密度が下がったためDOがやや上がり、日間摂餌率も若干上昇した(図16)。

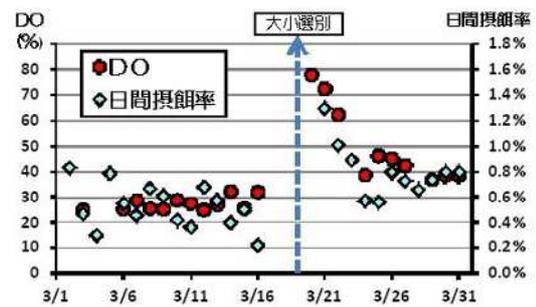


図16 育種対象群のDOと日間摂餌率の推移(2012年3月)

今後は低DO下飼育選抜(若しくは急性酸欠選抜)で更に「育種対象群」の総数を絞り込みピットタグで個体標識したうえで、28℃か29℃に加温した水槽で1~2ヵ月程度飽食給餌飼育を行い、高成長個体を親魚として選抜し、可能であればF1を種苗生産したい。