

(2) ウナギ養殖技術試験

ウナギ養殖池の堆積物の性状

服部宗明・田中健二・中川武芳

キーワード；ウナギ，養殖，堆積物

目的

飼育池の水質改善や用水の有効利用の目的から沈殿槽を設置し、ウナギ養殖池から堆積物を取り除く業者が多く見られる。また、沈殿槽を設置していない業者でも、水車の位置を変えることにより堆積物を排水口に集め、養殖池から積極的に取り除いている。設置している沈殿槽を有効利用するためにも、また、沈殿槽を新設する際にもウナギ養殖池の堆積物の性状を知ることは重要である。今回、堆積物の沈降速度を測定し、沈殿槽設計等における基礎的データを得た。

材料および方法

1 ウナギ飼育状況及び飼育水の濁度

遮光した加温ハウスコンクリート池(20m²×水深36cm)に、平均体重34.1gのウナギ27kgを放養し、設定水温28℃で60日間飼育した。その間、練餌を飽食給餌で1日1回計51回与えた。飼育水の濁度は、週1回、水の分析第3版に従い660nmの吸光度で測定した。

2 沈降試験

上記加温ハウスコンクリート池の排水を24時間設置して得られた堆積物を湿重量で10g採集し、水を加えて1ℓとし、メスシリンダー中で、十分に混合した後、一定時毎に、水面から15cmで、2mlずつ採水し、濁度を660nmの吸光度で測定した。

結果および考察

1 ウナギの摂餌量および飼育水の濁度

ウナギの摂餌量と濁度の関係を図1に示す。摂餌量の増加とともに、それに呼応する形で、濁度の増加が見られた。しかしながら、濁度の最大値は、33日目であり、それ以後41日目、48日目と低下した。一方、摂餌量は濁度の増加に遅れて、47日目に最大量を示し、それ以後急速に低下した。

今回の試験結果のみでは、摂餌量と濁度の関係について、明確なことはいえないが、濁度が摂餌量の指標の一つとなり得ることが示唆された。今後、濁度とウナギの

飼育状況との関係について、さらに検討を進めていく必要がある。

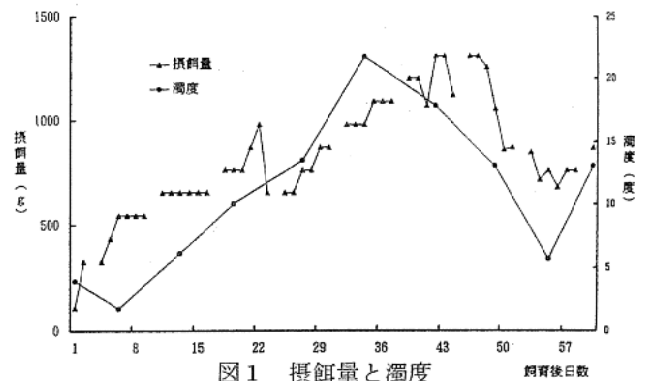


図1 摂餌量と濁度

2 沈降試験

堆積物の沈降試験の結果を表に、堆積物の沈降速度分布累積曲線を図2に示した。ウナギ養殖池排水中の堆積物の濁度は、静置して60分で15度以下に低下した。またウナギ養殖池の排水中に含まれる堆積物は、沈降速度2.5cm/分以上の粒子が85%以上を占めていた。

表 沈降速度試験結果

採水時間 (分)	濁度 (度)	沈降速度 (cm/分)
0	35.7	0
1	16.1	1.5
3	7.0	5
5	52.2	3
10	37.0	1.5
15	30.0	1
30	20.9	0.5
60	14.8	0.25
120	13.9	0.13
300	7.83	0.05
1440	1.74	0.01

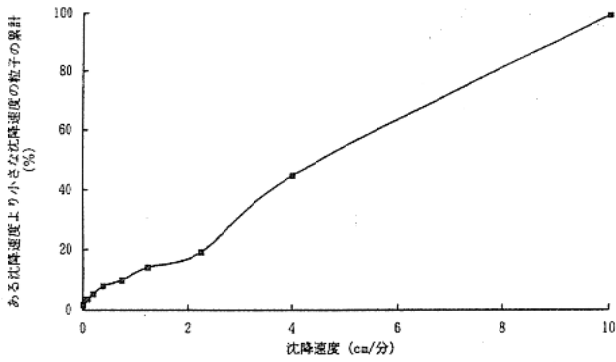


図2 沈降速度分布累積曲線

遮光したウナギ飼育池の濁度を15度程度に保つためには、沈降速度にして約0.25cm/分の粒子を取り除く必要がある。この粒子を100%取り除くには、理想的な沈殿池を使用した場合、次式により、表面負荷率は、0.25cm/分にしなければならない。

$$\left(\begin{array}{l} \text{沈殿除去率} = \text{粒子の沈降速度} / \text{表面負荷率} \\ \text{表面負荷率} = \text{排水の流量} / \text{沈殿池の水平面積} \end{array} \right)$$

ウナギの疾病被害調査

竹内喜夫・立木宏幸・服部宗明

キーワード；鰓うっ血症，鰓薄板の血液貯溜を伴う鰓病，餌止め

目 的

近年ウナギ養殖業の魚病被害は，鰓うっ血症を始めとする，いわゆる「鰓病」の被害が多くなっている。しかし，実際の養殖場の一経営体について，一魚群の疾病被害を尾数単位で調査された例がない。そこで今後の試験研究の一助とするため，標本漁家を設定し疾病被害の実態調査を行った。

材料および方法

1 被害調査

幡豆郡一色町の養殖業者1名（A養殖業者）を選定し，平成5年1月に池入れしたシラスウナギの一群全てが出荷されるまでの飼育期間中における，へい死魚取揚げ尾数，放養量，給餌量等を調査した。

(1) 調査期間：平成5年1月～平成6年7月

(2) A養殖業者の養殖規模概要

池 面 数：加温ハウス池；16面

総 池 面 積：6,600㎡

シラス池入量：100kg(推定：500,000尾)

成鰻出荷量：約80t

結果および考察

1 被害調査

(1) へい死魚取揚げ尾数の総数は53,020尾となり全池入尾数の約11%となった。そのうち，44%がパラコロ病，24%が鰓うっ血症，11%が「鰓薄板の血液貯溜を伴う鰓病」によるものであった（図1）。

(2) 1歳魚のへい死魚取揚げ尾数は17,378尾，0歳魚では35,642尾となった。1歳魚のへい死魚取揚げ尾数に対する0歳魚のへい死魚取揚げ尾数は，パラコロ病によるものが0.7倍，鰓うっ血症によるものが3.6倍，「鰓薄板の血液貯溜を伴う鰓病」によるものが16.7倍であった（図2）。

(3) 最初に出荷された魚群（Ⅰ群），全出荷量の約半量時に出荷された魚群（Ⅱ群），最後に出荷された魚群（Ⅲ群）についてへい死魚取揚げ尾数を調べると，鰓うっ血症ではⅡ群が，「鰓薄板の血液貯溜を伴う鰓病」とパラコロ病ではⅢ群が最も多かった

（図3）。

(4) 「鰓薄板の血液貯溜を伴う鰓病」によるへい死魚取揚げ尾数と放養量および給餌量との関係を調べたが明確な関係は得られなかった（図4，5）。

(5) 図5におけるタイムラグを考慮して，へい死魚取揚げ尾数と給餌量とを時系列で池ごとに比較した（図6）。多くの場合で，「餌止め」を行うことによりへい死魚取揚げ尾数が減少していることから，「鰓薄板の血液貯溜を伴う鰓病」によるへい死尾数を減少させるには「餌止め」も対処方法の一つに揚げられるのではないかと考えられた。

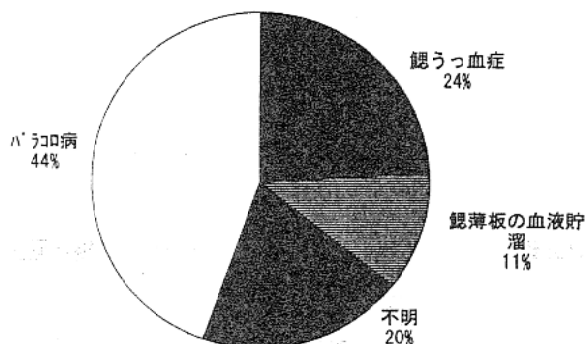


図1 疾病別へい死魚取揚げ割合

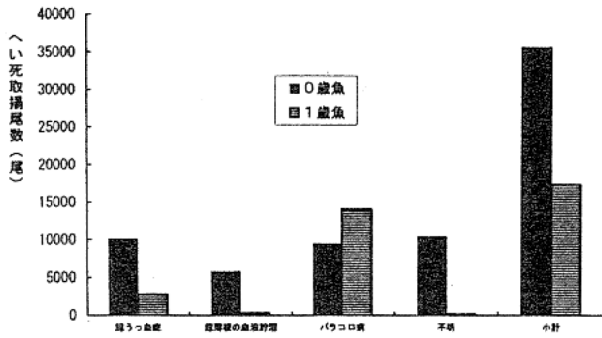


図2 魚 齡 別 比 較

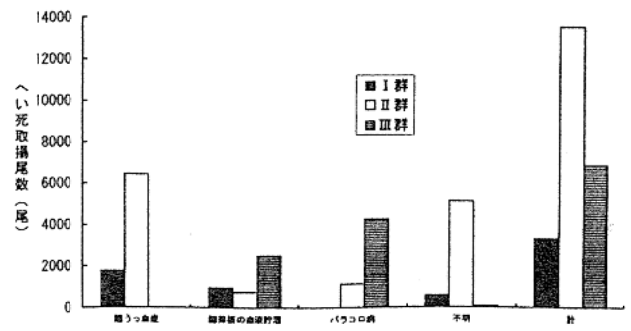


図3 成 長 群 別 比 較

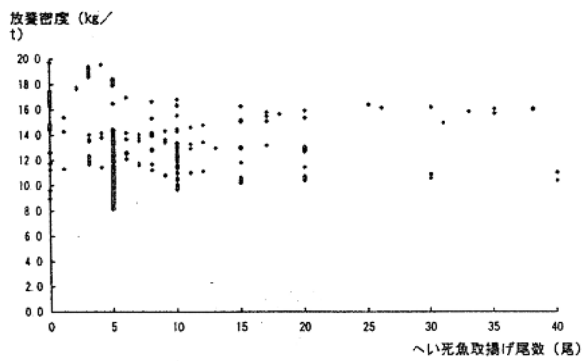


図4 放 養 密 度 と へい 死 魚 取 揚 げ 尾 数

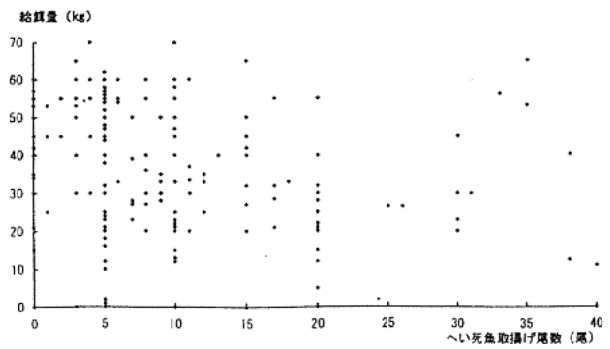


図5 給 餌 量 と へい 死 魚 取 揚 げ 尾 数

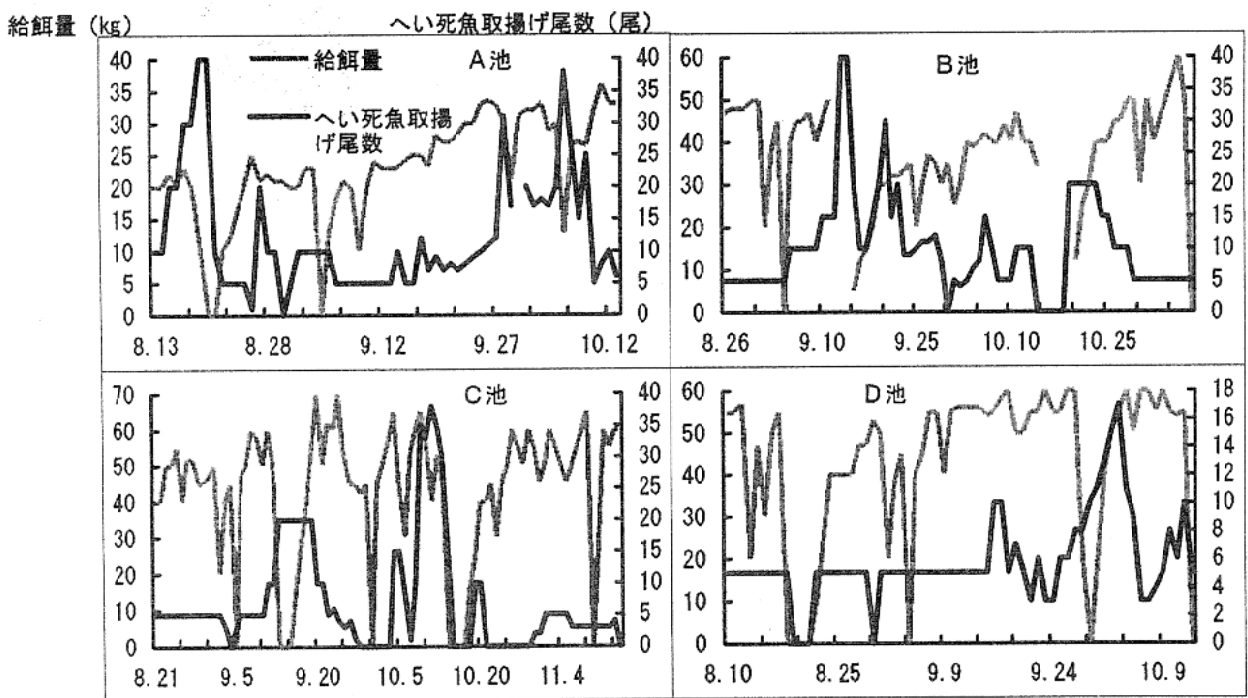


図6 鰓薄板の血液貯溜を伴う鰓病が関与するへい死魚取揚げ尾数と給餌量

鰻うっ血症感染試験

竹内喜夫・立木宏幸・服部宗明

キーワード；鰻うっ血症，昇温処理，同居感染

目 的

近年ウナギ養殖業の魚病被害で問題となっている鰻うっ血症が発症した場合，養殖現場で取られる対策の一つに昇温処理がある。これは重症魚を間引き，被害の蔓延・長期化を防ぐと考えられている。しかし，本疾病の原因となるウイルス自体に影響を及ぼしている可能性も考えられるため，自然発症した病魚の鰻の磨砕ろ液を昇温処理することにより，本疾病の原因となるウイルスに及ぼす昇温処理の影響を調べた。

材料および方法

1. 供 試 魚

当研究所でシラスウナギから養成した病歴のないニホンウナギ (*Anguilla japonica*) 360尾を使用した。

2. 接種試料の由来

幡豆郡一色町のA養魚場で発生した鰻うっ血症の病魚群から採取した5尾分の鰻を試験に供するまで -80°C で凍結保存した。

3. 磨砕ろ液の調整方法

病魚の鰻弁4.0gに20mlのPBS(-)を加えて磨砕した。この磨砕液を3,000rpmで20分間遠心分離して得られた上澄液を0.45 μm のCellulose Acetate フィルターでろ過したものを磨砕ろ液とした。

対照区では当研究所でシラスウナギから養成した病歴のないニホンウナギの鰻弁2.0gに10mlのPBS(-)を加えて同様に処理したものを磨砕ろ液とした。

4. 試験区と接種液

I区(凍結保存区)

上記磨砕ろ液を -80°C で4日間凍結保存したものを接種液とした。

II区(昇温処理区)

上記磨砕ろ液を 35°C に設定したインキュベータ内で4日間放置したものを接種液とした。

III区(対 照 区)

健康魚の鰻の磨砕ろ液を -80°C で4日間凍結保存したものを接種液とした。

各区とも，0.1ml/尾を60尾の腹腔内に接種し，試験開始7日前にあらかじめ左胸鰭を切除した同居区(各区60尾)と共に水容量400 ℓ の塩化ビニール製水槽3面に収容し30日間，無換水で飼育した。

5. 供試魚の観察

試験開始15日後および試験終了後，全ての供試魚について外部症状，内部症状の肉眼的観察と鰻の生標本を顕微鏡下で観察した。

結 果

試験期間中各区とも瀕死およびへい死魚は見られなかった。試験開始15日後，各区から10尾(接種区5尾，同居区5尾)採材し観察を行ったが異常は認められなかった。

試験終了後の観察結果を表1に示した。

考 察

今回の試験ではI区(凍結保存区)の供試魚においてのみ，一部の鰻弁中心静脈洞(CVS)にうっ血が見られた。再現率は8.3%と低いものの，II区(昇温処理区)ではそのような症状は見られなかったことから，本疾病の原因と考えられるウイルスに対して昇温処理が何等かの影響を及ぼしたと推測される。しかし，鰻うっ血症に対して昇温処理が有効であるか否かについては今回の試験のみからは判断できず，磨砕ろ液接種後に昇温処理が有効であるか否か等についての試験結果を待たねばならない。

表1 試験終了後の観察結果

	I区(凍結保存区)			II区(昇温処理区)			III区(対照区)		
	攻撃区	同居区	計	攻撃区	同居区	計	攻撃区	同居区	計
供試魚(尾)	60	60	120	60	60	120	60	60	120
A:一部の鰻弁中心静脈動にうっ血の見られた個体(尾)	4	6	10	0	0	0	0	0	0
B:一部の鰻鰭板に血液貯溜の見られた個体(尾)	1	1	2	1	1	2	20	12	32
Aの再現率(%)	6.7	10.0	8.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Bの発現率(%)	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	33.3	20.0	26.7

(3) 観賞魚養殖技術試験

キンギョの卵割阻止による雌性発生処理条件の検討 - IV

平澤康弘・高須雄二・村松寿夫

キーワード；キンギョ，第一卵割阻止，処理条件

目的

第一卵割阻止型雌性発生の高温処理開始時間についてはほぼ決定されたが，処理水温，処理時間等については不明な部分が多い。そこで①処理時間，②処理水温と処理時間の組み合わせを検討した。

方法

①処理時間の検討。

供試卵は，ゴナトロピン腹腔内注射後，23～25℃にて12時間加温飼育し，採卵して用いた。供試精子は，ドジョウ雄親魚から摘出した精巣を乳鉢で軽く擦り潰した後，pH7に調整した淡水硬骨魚類用リンゲルで100倍に希釈し，ミュラーガーゼでろ過後，8,000 erg/mm²/120 secの紫外線照射により遺伝的に不活化して用いた。

媒性は20℃の恒温水槽内で行い，7枚のガラス板へ附着させた。36分後40℃の恒温水槽へ浸漬し，浸漬後40秒から160秒までを20秒間隔で取り出し，水温20℃の飼育水槽へ収容した。試験後は通常の飼育管理を行い，正常ふ化率を求めた。試験は異なる3個体の雌から得られた卵について3回行った。

②処理水温と処理時間の組み合わせの検討

供試卵および供試精子は前出と同様に調整した。1尾の雌より得た卵を用いて，処理水温を39℃，40℃，41℃，42℃とした4試験区を設定した。処理開始時間は媒精後36分とし，各試験に処理時間を，40秒から160秒まで20秒間隔に6区設定した。試験後は通常の飼育管理を行い，正常ふ化率を求めた。

結果および考察

①の結果を図1に示した。正常ふ化率のピークは，試験1では100秒間区～120秒間区で，試験2では40秒間区，試験3では60秒間区でみられた。また，試験2では半数体区の正常ふ化率が温度処理区のそれを上回った。

今回の結果から，これまで行ってきた1分間～2分間の処理時間で適切であることが確認された。この試験ではこれ以上最適処理時間の精査はできなかったが，これ

は使用した卵の成熟度に微妙な個体間差があるためと考えられた。

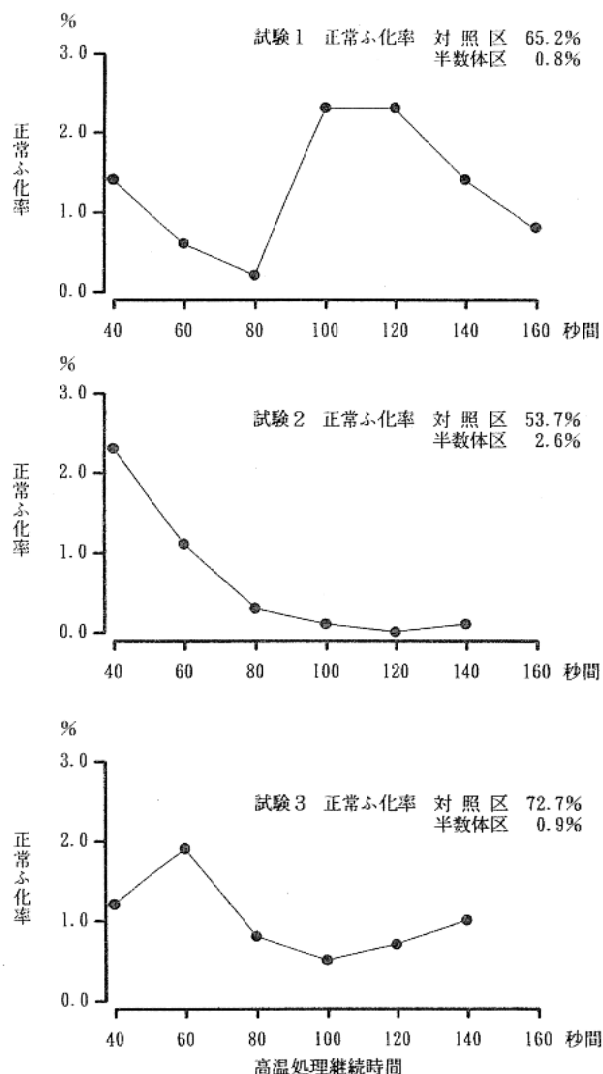


図1 第一卵割阻止処理における各高温処理継続時間に対する正常ふ化率

媒精水温：20℃，処理水温：40℃
処理開始時間：36分後
供試品種：オランダシギラ

②の結果を図2に示した。処理水温39℃、40℃、41℃の試験区では、60秒間処理区に同程度の正常ふ化のピークがみられ、42℃の試験では、40秒間処理区にやや低いピークがみられた。

このことから、処理水温は39℃、40℃、41℃で可能と考えられたが、41℃の場合、100秒間以上の処理は、熱による致命的な影響が大きくなるため不適切であると考えられた。同様に42℃処理は、40秒間の処理ですでに正常ふ化率が低下していることから、不適切であると考えられた。また、この試験に使用した卵では60秒間処理区に正常ふ化率のピークがめられるが、120秒間処理区では低く、第一卵割阻止の成否が卵質と高温処理時間の組み合わせに大きく左右されることがわかった。

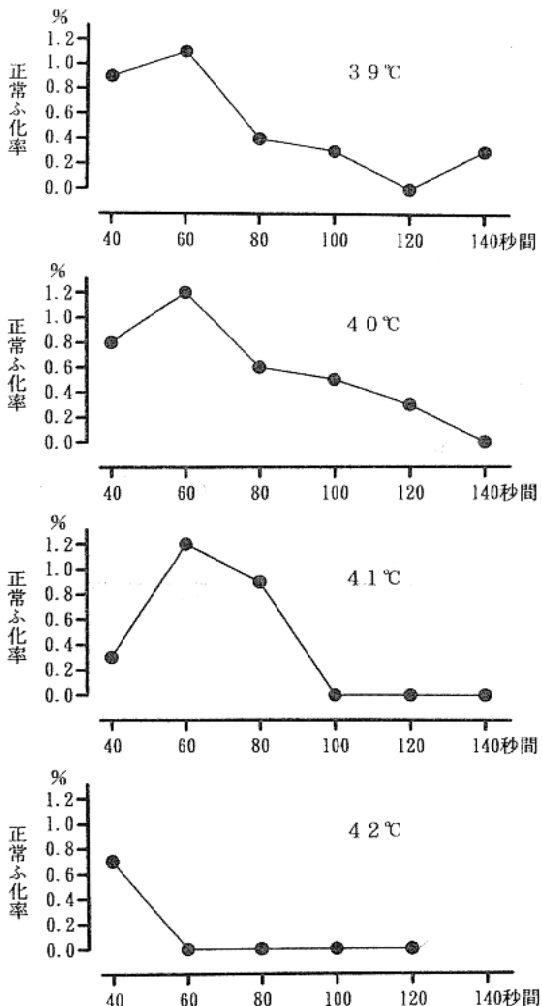


図2 第一卵割阻止処理の各処理水温と処理時間における正常ふ化率

媒 精 水 温：20℃
 高温処理開始時間：35分後
 対 照 区 ふ 化 率：86.8%，正常ふ化率：67.7%
 半 数 体 区 ふ 化 率：1.7%，正常ふ化率：0.4%
 供 試 品 種：リュウキン

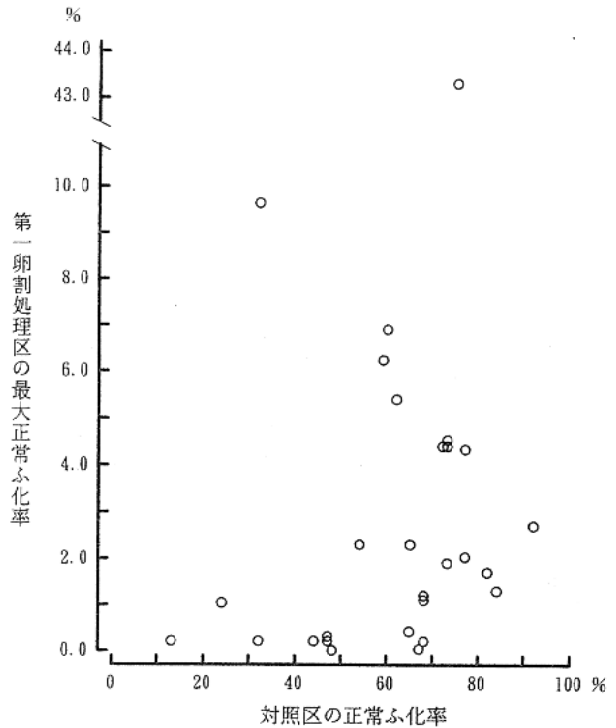


図3 対照区の正常ふ化率と第一卵割阻止処理区の最大正常ふ化率 (N = 31)

以上のことから、正常ふ化率の向上にはさらに使用卵の成熟などを考慮した処理をすることが必要と思われた。また、このことから、卵質をそろえるための雌親魚の成熟コントロールの必要性も考えられた。しかし、図3に示したように処理区の正常ふ化率と対照区の正常ふ化率と必ずしも強い相関がみられるわけではなく、一口に卵質と言われるものでも、成熟度等の卵質以外に個体の遺伝的要因なども含めた複雑な問題が含まれているように思われた。今後は、親魚の養成等の検討を行い、さらに正常ふ化率を向上させていく必要がある。

キンギョ同質三倍体に関する試験 - III

平澤康弘・高須雄二・村松寿夫

キーワード：キンギョ，同質三倍体，成長

目 的

キンギョの評価は体型，柄，色等の質的形質が最も重要視されるが，それが同程度の場合大型魚の方が観賞魚として高く評価され，商品価値も高い。そこで魚体が大型化する可能性がある三倍体を作成し，その成長特性および有効性を検討した。前報では，¹⁾ ふ化後140日間の飼育結果を報告したが，今回は同魚をふ化後30カ月まで引き続き飼育した結果および同質三倍体魚と同質二倍体魚を混養飼育した時の成長差について調査した。

方 法

飼育試験1は，前報の飼育試験Iで供試したアズマニシキ同質三倍体区から65尾，¹⁾ 対照区（同質二倍体）から75尾を無作為に抽出し，1トン水槽にて引き続き同条件下で飼育した場合の生残と成長を比較した。

供試魚は成長に伴い奇形魚の出現および飼育密度に差が出て来たため，ふ化後13カ月目に各区とも生残魚の中から正常魚25尾ずつを選抜し，飼育を継続した。生残尾数および魚体重の計測はふ化後13カ月目，24カ月目および30カ月目に行った。

飼育試験2は，前報の飼育試験Iで供試したアズマニシキ同質三倍体区および対照区（同質二倍体魚）を，¹⁾ 試験終了後1トン水槽で混養飼育し，生残尾数および成長を計測した。生残尾数は，ふ化後13カ月目，24カ月目および30カ月目に計測した。なお，飼育開始時であるふ化後7カ月目は未計測であった。

混養飼育時の三倍体魚と二倍体魚の識別は，二倍体魚の臀鰭の片側を切除することにより行った。

なお，飼育試験1および2に供試した三倍体魚は，任意に抽出した複数個体の染色体標本により，三倍体であることを確認している。¹⁾

飼育方法は，飼育試験1，2ともに止水養殖，適時換水とし，給餌は1日1回の通常の飼育管理とした。

結果および考察

図1に，飼育試験1における生残を示した。全試験期間を通じて三倍体区の生残率が二倍体区に比べ低くなったが，三倍体区は飼育の長期化に伴い魚体の変形や遊泳

異常等の奇形魚が発生し，へい死に至ることが観察されることから，このことが生残率低下の主な原因と考えられた。

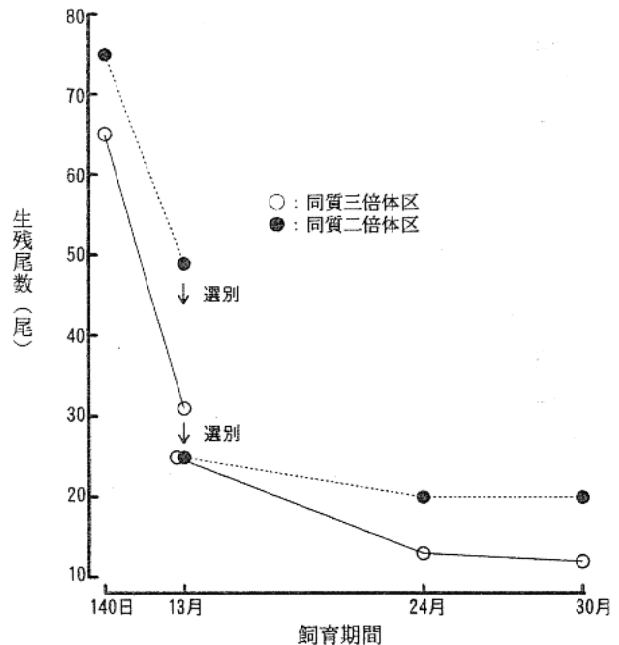


図1 キンギョ（アズマニシキ）同質三倍体魚および同質二倍体魚を30カ月間飼育したときの生残尾数

図2に各区の平均魚体重の変化を示した。平均魚体重は三倍体区が二倍体区を上回る結果が得られた。また，三倍体区は二倍体区に比べ大型化する個体が発見し，三倍体魚の大型化が示唆されたが，大型化率は低く，逆に矮小な個体が少なからず出現するなど個体間のばらつきが大きくなることがわかった。

混養による飼育試験2では、ふ化後13カ月に三倍体魚17尾、二倍体魚10尾を確認したが、以後試験終了の30カ月までへい死は認められなかった。しかし、三倍体魚は試験1と同様、飼育の長期化に伴い魚体の変形や遊泳異常等の奇形魚が発生することが認められた。

図3に飼育期間中の平均魚体重の変化を示した。飼育試験1と異なり両群とも特に大型になる個体は認められず、平均魚体重の増加は二倍体魚の方がやや上回る結果が得られた。また魚体重のばらつきにも群間差は認められなかった。

これまでの結果から、同質三倍体魚は同質二倍体魚に比べ大型化する個体が出現するが、その出現率は低く、二倍体魚と混養すると成長が抑制される可能性があること、また、成長と共に魚体の変形や遊泳異常等の奇形魚が発生しやすく、生残率が低くなることがわかった。

観賞魚は食用養殖魚と異なり出現率が低くても、形質の優良個体であれば高く評価され、この観点から同質三倍体魚は産業的に有効となる可能性が考えられた。しかし、これは一部の高級魚生産者に限られ、多くの生産者にとっては同質三倍体の作出および飼育管理は、労働力、採算性など問題が多いと考えられた。

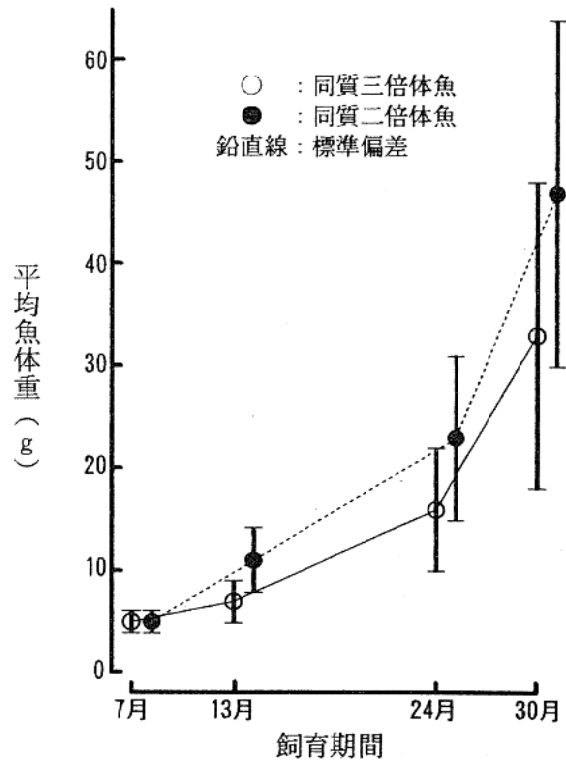


図3 キンギョ（アズマニシキ）同質三倍体魚および同質二倍体魚を30カ月間混養飼育したときの体重変化

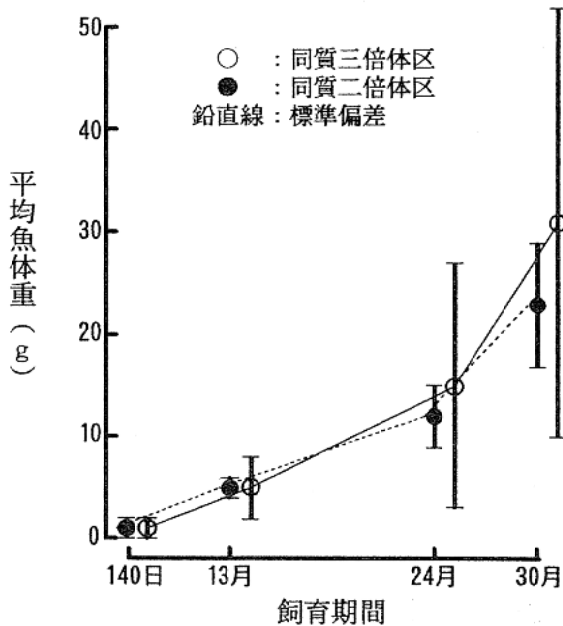


図2 キンギョ（アズマニシキ）同質三倍体魚および同質二倍体魚を30カ月間飼育したときの体重変化

引用文献

- 岡本ら (1993) キンギョ同質三倍体に関する試験. 平成4年度愛知水試業務報告, 41-42.

キンギョのクローン魚作出試験

平澤康弘・高須雄二・村松寿夫

キーワード；キンギョ，クローン

目 的

キンギョの生産性向上のため，クローン魚作出技術の開発および作出魚の有効性を検討する。

方 法

クローン魚作出は，第一卵割阻止型雌性発生魚より得た卵を第二極体放出阻止型雌性発生することにより行った。

雌親魚は，当指導所にて1991年～1992年に高温処理法により作出された第一卵割阻止型雌性発生魚を，屋外の1トン水槽で越冬させ，3月末から排卵抑制のため比較的涼しい建物の中で飼育したものを使用した。

供試卵は，魚体重1g当たりゴナトロピン10単位を腹腔内注射した雌親魚を，飼育水温より5℃高い水温で14時間飼育し採取した。

供試精子は，摘出したドジョウ精巣にpH7に調整した50倍量の硬骨魚類用リンゲル液を加え，乳鉢で軽くすり潰した後ミュラーガーゼでろ過したものを，6,000erg/mm²/90secの紫外線照射により遺伝的に不活化して使用した。なお対照区には同品種の雄精子を使用した。

クローン魚作出操作は，20.0℃の恒温水槽中で供試卵に不活化ドジョウ精子を媒精し，7.5分後，2.5℃45分間の低温処理を行った。

結 果

供試親魚の第一卵割阻止型雌性発生魚17個体のうち4個体について採卵でき，キンギョの第一卵割阻止魚から採卵可能ことが確認できた。また，採取卵は，試験結果から受精可能であることも確認できた。

表1に試験結果を示した。採卵できた4個体のうち2個体については採卵量が少ないため，対照区，半数体区は設定できなかった。いずれの供試卵も，卵質は肉眼的には均一で良質であると観察されたが，試験1および試験4の対照区のふ化率は低く，第一卵割阻止型雌性発生魚の卵は受精率が低くなる可能性が考えられた。特に試験4では，ふ化率に比べ正常ふ化率が低く，この理由として，供試精子の不活化が不十分であるため精子の遺伝子が一部残っていたこと，第一卵割阻止処理において染色体の倍化が完全に行われていない等が考えられる。

処理区の正常ふ化率は0.0%～4.3%と低く，4区では処理区より半数体区の正常ふ化率が上回った。

作出魚は現在飼育中であるが，へい死率が高く成長に伴い奇形魚の発生がみられる。生残魚は肉眼的には個体間に形質の差が観察されるが，クローン間に個体差が出現することは報告されており，今後は組織移植法またはDNAフィンガープリント法等の生化学的手法によりクローンの確認をしていく必要がある。

表1 各試験における供試卵数，ふ化率，正常ふ化率，生残尾数

試験番号 (試験日) [品種 体重]	試験区	供試卵数 (粒)	ふ化率 (%)	正常 ふ化率 (%)	生残尾数 ^{*1)} (尾)
試験1 (4/14) [オランダシガタ 40g]	処 理 区	1068	3.7	2.8	5
	対 照 区	291	42.6	40.5	50
	半数体区	268	7.1	0.7	0
試験2 (4/19) [タンチョウ 50g]	処 理 区	177	0.0	0.0	0
	対 照 区	— ^{*2)}	—	—	—
	半数体区	—	—	—	—
試験3 (4/19) [江戸水泡 ^{*3)} 60g]	処 理 区	465	10.3	4.3	0
	対 照 区	—	—	—	—
	半数体区	—	—	—	—
試験4 (4/22) [オランダシガタ 40g]	処 理 区	2131	0.7	0.2	3
	対 照 区	556	24.1	13.8	50
	半数体区	295	0.7	0.3	0

*1)1995年3月31日現在

*2)採卵数が少ないため対照区,半数体区は未設定

*3)エドニシキとスイホウガンの雑種

キンギョの細菌性疾病について

高須雄二・平澤康弘・村松寿夫

キーワード；キンギョ，細菌性疾病，簡易同定

目 的

キンギョにおける細菌性疾病は，寄生虫による疾病と比較すると診断数が少なく，また外観所見（顕微鏡等）で診断できる場合が多い。しかし，最近，外観所見では診断できない疾病が増えてきており，細菌性のものかどうか確認をし，同定する必要がある。そこで，今年度，指導所に持込みのあった病魚から細菌を分離し，簡易同定を行い，一部について薬剤感受性試験を行った。

方 法

指導所に持込まれる病魚のうち，外観所見で寄生虫が原因でないと思われるものから，BHI寒天培地，改変サイトファーガ培地で菌分離を行った。そのほか，血液専用液体培地のESP™ Blood Culture System Difco製を用いた。菌分離できたものについて，はじめに，グラム鑑別，OF試験，TSI試験，チトクローム・オキシターゼ試験，カタラーゼ試験，運動性とを調べ，ある程度菌株を集めた後まとめて，その他の性状試験をアピ20Eを用いて簡易的に行った。同定はウナギ，コイ，アユ等の細菌性疾病の生化学的性状結果を比較しながら行った。薬剤感受性試験は，各々の薬剤についてディスク拡散法により行った。

結果および考察

15尾の病魚から菌分離を行い，疾病原因と思われる細菌が分離できたのは8個体(表1)で，*Aeromonas hydrophila*と*Flexibacter columnaris*の2種類であった。

*F. columnaris*の同定は，アピ20Eの性状検査では陰性が多くなり，菌が増殖しているのか分らなくなるので適さなかった。そこで外観所見による菌の形と改変サイトファーガ寒天培地上におけるコロニーの色，形態から同定することにした。試料番号1はアピ20Eの結果から雑菌と推定し，試料番号13は菌の増殖が見られる血液ボトルから，改変サイトファーガ寒天培地に移したところ，増殖が確認できたので，これと外観所見で*F. columnaris*と推定した。

*A. hydrophila*は様々の部位から分離され，*F. columnaris*との混合感染が見られた（試料番号6）。

培養温度が高くなるにつれて，雑菌の汚染が多くなったので，エロモナス属に対しても選択鑑別培地が必要であると考えられた。

薬剤感受性については，アンピシリンに対してどの菌も感受性を示さなかった。

表1 細菌性疾病結果

試料番号 (1994年)	分離日	品 種	部位	分離培地	性状検査	結果	外観所見	総合診断
1	5.24	リュウネン	腎臓	BHI	アピ20E	—	尾ヒレ欠損，ギロダクチルス	ギロダクチルス
2	6.1	交雑種	体表	BHI	アピ20E	A	尾端欠損	エロモナス
3	6.2	ランチュウ	肝臓	BHI	アピ20E	A	腹うっ血，鰓裂腫化	不明
			脾臓	BHI	アピ20E	A	腹うっ血，鰓裂腫化	不明
4	6.24	ランチュウ	尾端	BHI	アピ20E	F	腹欠損，やせ	認められ
5	8.2	フスマニシ	尾端	BHI	アピ20E	A	体表に発赤	不明
6	9.1	アズマニシ	尾端	BHI	アピ20E	A	尾端欠損	認められ
7	9.13	ワケキ	血液	血液ボトル	アピ20E	A	異常なし	エロモナス
8	9.26	ワケキ	改変サイトファーガ	改変サイトファーガ	アピ20E	F	膿状血	不明
			腎臓	BHI	アピ20E	A	膿状血	不明
9	9.27	チョウテン	腎臓	BHI	アピ20E	検出なし	体表に粘着過多	不明
10	10.4	オランダシガシラ	腎臓	—	—	F	腹欠損	認められ
11	10.17	タンチョウ	腎臓	改変サイトファーガ	—	F	腹欠損	認められ
12	10.17	オランダシガシラ	腎臓	改変サイトファーガ	—	F	腹欠損	認められ
13	10.25	トサキ	血液	血液ボトル	—	F	腹欠損	認められ
14	10.25	コメット	血液	血液ボトル	—	F	腹欠損	認められ
15	11.15	キリコ	腎臓	—	—	F	腹欠損	認められ

A: *Aeromonas hydrophila*
F: *Flexibacter columnaris*

表2 薬剤感受性試験結果

薬剤名 (1ディスクあたりの薬剤含有量)	試料番号	2	3	4	7	13
オキシリン酸 (10μg)	(10μg)	+++	+++	++	++	—
オキシテトラサイクリン (200μg)	(200μg)	++	++	++	+++	+
エリスロマイシン (30μg)	(30μg)	++	++	—	+++	—
アンピシリン (30μg)	(30μg)	—	—	—	—	—
クロラムフェニコール (100μg)	(100μg)	+++	+++	—	+++	+++
ニフルスチレン酸ナトリウム (20μg)	(20μg)	—	—	—	+	+

(注) 試料番号は表1に対応

+++ 高感受性
++ 中感受性
+ 低感受性
— 抵抗性

(4) 冷水魚増養殖技術試験

異質三倍体ニジイワの IHN ウイルス人工感染試験

落合真哉・峯島史明・服部克也

キーワード；ニジイワ，IHN，ウイルス感受性

目 的

IHNウイルスに対して抗病性があるといわれているイワナとニジマスとを交雑した異質三倍体ニジイワについて、前年度の培養細胞を用いた IHNウイルス感受性試験においてニジイワ由来の細胞がニジマス由来の細胞よりも IHNウイルスに対する抵抗性が示唆されたので、本年度は IHNウイルス人工感染試験を行い、ニジイワの IHNウイルスに対する感受性について検討した。

材料および方法

供試魚は、一宮指導所で飼育している無斑ニジマス(ホウライマス，平均体重 2.6g)，およびホウライマスとイワナを用いて作出した無斑の異質三倍体ニジイワ(平均体重 1.5g)を，ウイルス感染区・対照区ともそれぞれ35尾ずつ用いた。

供試ウイルスは，平成5年に愛知県内の養殖場でニジマスから分離した IHNウイルスを使用した。

感染方法は，飼育水 5 l にウイルス濃度 $\log_{10} TCID_{50}/ml = 3.8$ になるようにウイルス原液を混合し通気しながら 1 時間浸漬した。対照区は飼育水のみを使用した。

飼育は 3 l のプラスチック水槽を用いて 21 日間行い，餌は少量を適宜与えた。飼育水は紫外線殺菌した水を用い各水槽に 1 l/min 注水し，水温は $12.5^{\circ}C \pm 0.5$ に設定した。

結果および考察

試験結果を表に示した。

ニジマスが約 2/3 へい死し，へい死魚すべてから IHN ウイルスが検出されたがニジイワには全くへい死が認められず，今回使用した IHN ウイルスに対するニジイワの抵抗性は高く，IHN 抗病種としての可能性が示唆された。

IHN ウイルスは株により，あるいは分離された魚種や魚の大きさにより病原性が異なることが報告されている。また感染方法によっても結果が異なることも予想されるため，今後は他の株を用いた感染試験や注射法による感

表 感染試験結果

試験区	ニジマス	ニジイワ
	(平均体重 2.6g)	(平均体重 1.5g)
感染区		
へい死率	65.7 %	0 %
へい死尾数/全尾数	23/35	0/35
対照区		
へい死率	0 %	0 %
へい死尾数/全尾数	0/35	0/35

染試験について検討する必要がある。

文 献

- 1) 水野正之ら(1993) イワナおよびホウライマス・イワナ異質三倍体由来培養細胞のウイルス感受性について。平成5年度愛知水試業務報告，24。
- 2) 岐阜県水産試験場(1992) 平成4年度魚病対策技術開発研究委託事業報告書，245-255。
- 3) 鈴木邦夫ら(1991) IHNウイルスのサクラマス稚魚および幼魚に対する病毒性の差異。北海道水産孵化場研究報告，45，23-27。

ホウライマス倍数体の塩分抵抗性

服部克也・落合真哉・峯島史明

キーワード；ホウライマス，全雌三倍体，異質三倍体雌魚，塩分抵抗性

目 的

三河一宮指導所（旧鳳来養魚場）では、ホウライマスの全雌三倍体，異質三倍体等の倍数体を作成し，これらの養殖特性について検討を行っている。大型魚生産を目的として三倍体の養殖を行う場合には，その飼育過程において成長の促進効果，呈味の改善が期待される海水飼育が取り入れられることが考えられる。また，県内山間部における冬期低水温での成長遅滞回避のため海水飼育を行う場合もあるため，ホウライマスの全雌三倍体，異質三倍体の雌魚について，血漿成分の測定による塩分抵抗性の検討を平成5年度に引き続き行った。

材料および方法

供試魚には，三河一宮指導所で飼育しているホウライマス全雌三倍体，ホウライマス異質三倍体の雌魚（ニジアマ3N，ニジイワ3N），ホウライマス通常二倍体，アマゴ通常二倍体，およびイワナ通常二倍体のいずれも1+年魚を用いた。供試魚は，Aグループ〔ホウライマス全雌三倍体・5尾，ニジアマ3N・5尾・ニジイワ3N・5尾〕，Bグループ〔ホウライマス通常二倍体・5尾，アマゴ通常二倍体・5尾，イワナ通常二倍体・5尾〕の2グループに分けて塩分抵抗性の実験に用いた。

各グループの供試魚は，ハンドクングによる血漿成分への影響を少なくするため，実験水槽へ収容する前日(24時間前)に飼育池から選別し，200lコンテナ水槽(流水)へグループ毎に収容した。これを，上面濾過装置を設置した実験水槽に収容した。実験水槽は，網仕切により3区画に分割し，これにグループ内の供試魚を1区画にそれぞれの魚種が2，2，1の比率となるように収容した。これは，採血時における魚種による取り上げ時間の偏りを避ける目的で行った。また，水温変動による影響を避けるため，実験水槽にはヒーターとウォータークーラーを設置して通常飼育水と同水温に安定させた。実験期間はエアレーションを行い，飛び出し防止と光刺激を防止するため実験水槽に蓋を施した。塩水は，人工海水（ハイマリン・ハイペット社製）を用いて調整し，塩分濃度23～24%とした。採血は塩水収容後24時間に行ったが，これは血漿成分，特に浸透圧，ナトリウム等の値が塩水収容後24

～36時間で安定し始めることから採血時間を24時間後と設定した。また採血は区画毎に行い，ヘパリン・リチウム塩を塗布した注射器で尾部から採血後，ヘマトクリット値の測定，遠心分離(3,000rpm, 15分間)により血漿を分離した。ホウライマス全雌三倍体については，倍数性を確認するため採血時に赤血球長径を計測した。得られた血漿は，直ちに-20℃で凍結保存し，東京水産大学水族生理学研究室（舞田正志助手）まで凍結した状態で送付したが，これらは舞田助手により成分測定された。血漿成分の測定は，アルカリ性フォスファターゼ，グルコース等については島津自動生化学分析装置(CL-7100型)，ナトリウムイオンについては島津クリニカルイオンメーター(CIM-101型)，クロライド測定はSchales・Schales変法を用いた。なお，対照として同様の実験水槽を用いて通常飼育水に収容した対照区を設定し，同様の測定を行った。

結 果

試験に供した試験魚の個体数と平均体重を対照区と海水区別に表1に示した。なお，アマゴおよびニジアマ3Nの魚体重は小さい値となったが，これは魚種による成長差による。血漿成分の測定結果については図1～5に示した。なお数値の統計処理には，Mann-Whitney検定を用いた。

浸透圧については図1に示したが，対照区で平均値が294～300mOsm，海水区で333～407mOsmであり，何れの魚種においても値は上昇していたが，魚種間での有意差は認められなかった。

クロライドについては図2に示したが，対照区の平均値が109～129mEq/l，海水区で136～138mEq/lであり，何れの魚種においても値は上昇した。対照区においてアマゴとニジイワ3Nの間に有意差が認められたが，海水浸漬によるクロライド値の変化は魚種により大差はなかった。

ナトリウムイオンについては図3に示したが，対照区の平均値が151～155mEq/l，海水区で162～194mEq/lであり，対照区においてイワナとニジイワ3Nの間に有意差が認められ，海水区では，ニジマス，アマゴおよ

びイワナとニジイワ3Nとの間で有意差が認められた。海水浸漬によるナトリウムイオン値の変化は、ニジマス、アマゴおよびイワナに比べてニジイワ3Nが小さい傾向が認められたが、他魚種において大きな差は見られなかった。

アルカリ性フォスファターゼについては図4に示したが、対照区の平均値が75~532 IU/l、海水区の平均値が65~395 IU/lであり、対照区でホウライマスとアマゴ、ホウライマスとニジマス3Nとの間以外において各々の魚種間で有意差が認められ、海水区ではアマゴ、イワナおよびニジマス3Nとホウライマスの間、ホウライマス全雌三倍体、ニジマス3Nおよびニジイワ3Nとイワナとの間以外において各々の魚種間で有意差が認められた。三倍体の値は二倍体の値に比べて高いこと、海水浸漬により値が減少していることが認められ、特にアマゴの値が他魚種よりも低い傾向が見られた。

グルコースについては図5に示したが、対照区の平均値が70~138 mg/dl、海水区の平均値が55~92 mg/dlであり、対照区においてアマゴとニジイワ3Nの間、アマゴ、ホウライマス全雌三倍体およびニジマス3Nとイワナとの間で有意差が認められた。また海水区ではホウライマスと全ての魚種間、イワナ、ニジマス3Nおよびニジイワ3Nとアマゴとの間に有意差が認められた。イワナとニジイワ3Nについては、他の魚種に比べて海水浸漬による値の変化が小さい傾向が見られた。

血漿中の浸透圧値およびクロライド値は魚種による差と倍数化に伴う変化は認められなかったことから、ホウライマス全雌三倍体、ニジマス3Nおよびニジイワ3Nについても通常二倍体と同様の塩分抵抗性を有していると考えられた。また、グルコースでは、魚種により値に違いが見られたが、イワナおよびニジイワ3Nの値が低く、海水浸漬による変化も小さかったこと、およびナトリウムイオン値の変化もニジイワ3Nで小さいことから、ニジイワ3Nは塩分抵抗性が高い可能性が考えられた。

なお、血漿中のアルカリ性フォスファターゼは肝臓、小腸、骨組織に由来するとされているが、細胞では表面膜に結合した形で存在し、膜の透過性に関与していると考えられている。アマゴにおいて他魚種との値の差が認められ、ニジマス3Nでは値が変化しホウライマスに近い値を示していることから、遺伝的な影響と何らかの機能的な差が推定された。今後において検討を行う必要があると思われる。

本試験は、東京水産大学・水族生理学講座・舞田正志助手との共同試験として実施した。

表1 供試魚の個体数および平均体重 (BW)

試験区	魚種	個体数	BW (g)
対照区	ホウライマス	11	510 ± 69
	アマゴ	10	257 ± 67
	イワナ	10	401 ± 178
	ホウライマス全雌三倍体	9	486 ± 95
	ニジマス3N	10	229 ± 33
	ニジイワ3N	10	426 ± 66
海水区	ホウライマス	6	427 ± 60
	アマゴ	5	242 ± 9
	イワナ	5	376 ± 72
	ホウライマス全雌三倍体	9	432 ± 86
	ニジマス3N	10	221 ± 35
	ニジイワ3N	10	343 ± 38

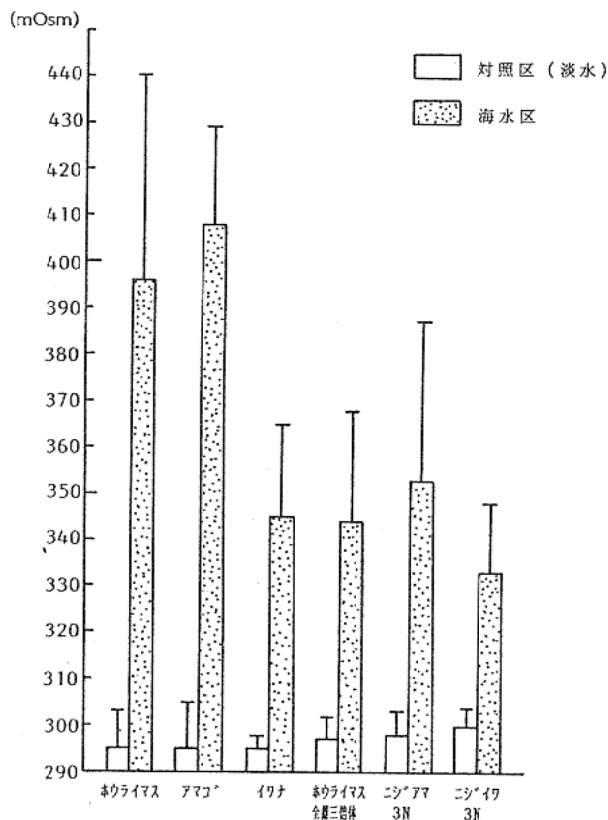


図1 各試験区における血漿中の浸透圧値

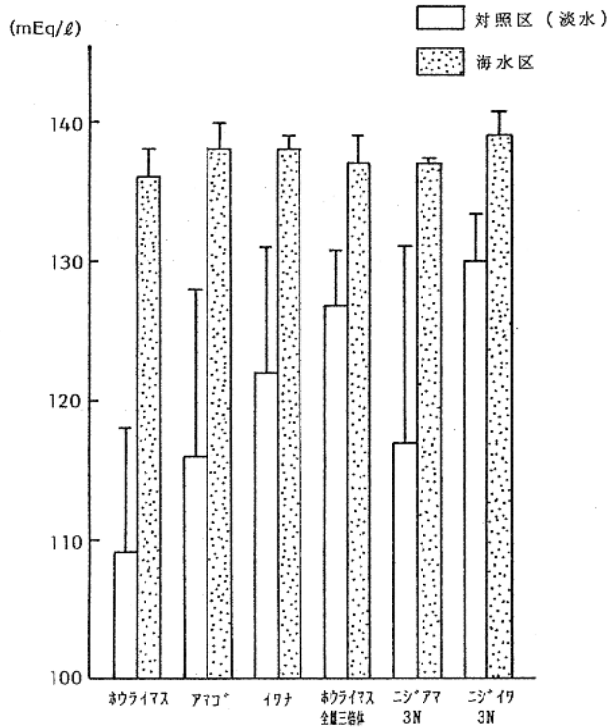


図2 各試験区における血漿中のクロライド値

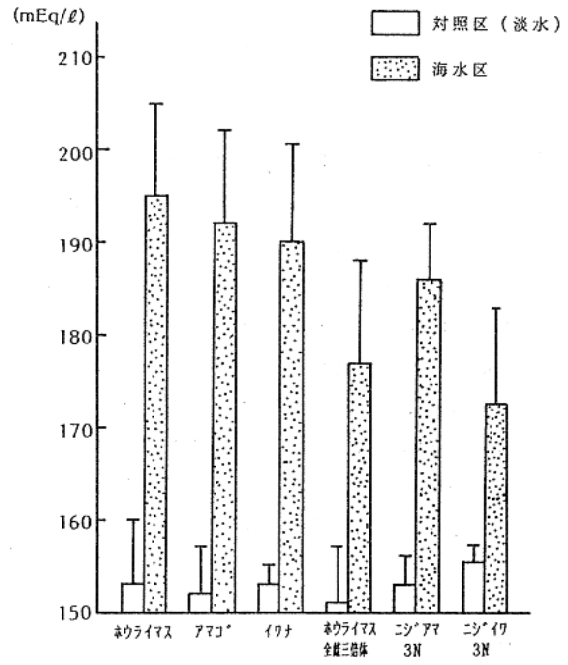


図3 各試験区における血漿中のナトリウムイオン値

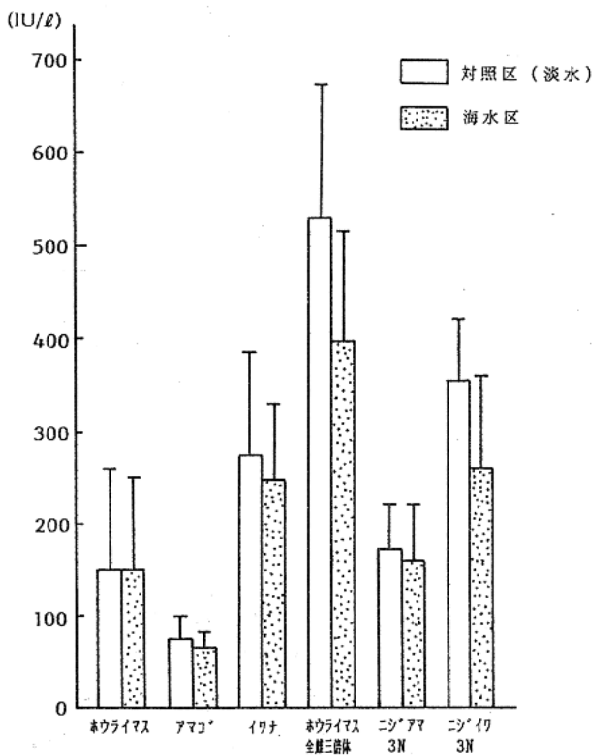


図4 各試験区における血漿中のアルカリ性フォスファターゼ値

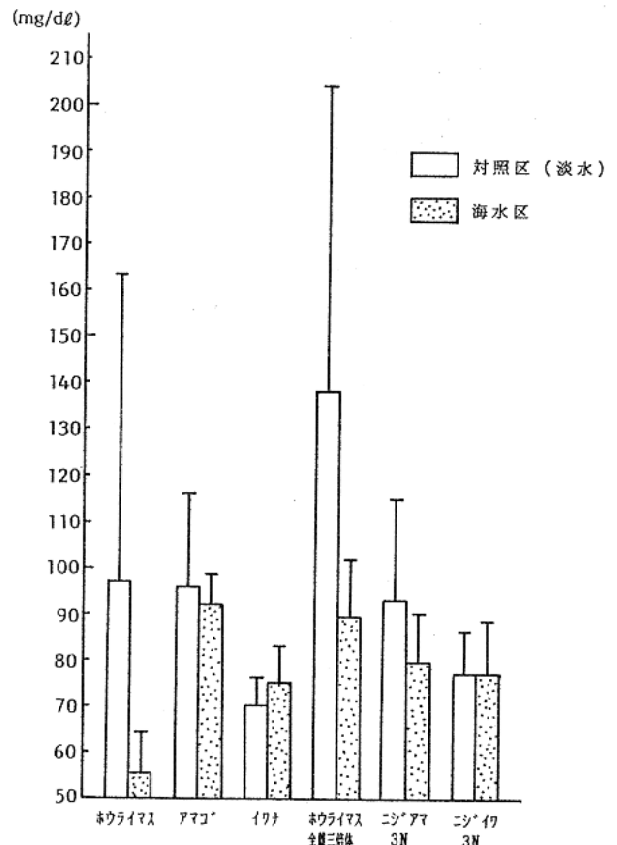


図5 各試験区における血漿中のグルコース値

全雌ニジイワ3N作出のためのイワナ性転換雄の作出

服部克也・落合真哉・峯島史明

キーワード；イワナ，性転換雄，雄性ホルモン，適正処理濃度，全雌ニジイワ3N

目 的

交雑育種および倍数体育種の手法により作出されたマス類異質三倍体の多くは、ニジマス、アマゴ等のマス類同質三倍体と同様に雄が成熟することによって商品価値が低下する。ホウライマス異質三倍体のニジイワ3Nについても、商品価値が安定している雌（不妊魚）を効率的に作出する全雌生産の必要性が指摘されている。

全雌生産を行うためには、ニジイワ3Nの雄親であるイワナについて性転換雄を作出する必要がある、これら性転換雄作出のための処理方法について検討を行った。また、得られた性転換雄を用いて全雌ニジイワ3Nの作出も検討した。

材料および方法

平成4年度におけるイワナ性転換雄作出のための処理試験区を表1に示したが、イワナ雌性発生二倍体をふ化後から浮上まで一定間隔で雄性ホルモン溶液に2時間浸漬し、浮上・餌付けから60日間雄性ホルモン含有飼料を与えて試験を行った。本年度において、これら試験魚が1+年魚として成熟することから、生残個体の全てを開腹し、生殖腺の観察を実施した。なお、雄性ホルモンとして、17 α -Methyltestosteroneを用いた。

平成5年度におけるイワナ性転換雄作出のための処理試験区については表2に示した。処理操作については、平成4年度と同様であった。なお、9~12区については、雄性ホルモン溶液浸漬処理期間終了後に試験区を設定した。これら試験魚が、本年度において0+年魚として早熟雄の出現の可能性もあることから、外部形態による観察と、雄形態を示さない個体については開腹して生殖腺の観察および一部の個体で組織標本を作成した。

平成6年度におけるイワナ性転換雄作出のための処理試験区については表3に示した。試験区は、平成5年度の試験結果から適正と考えられる濃度と期間を設定した。供試魚としては平成5年度に作出した性転換雄から全雌二倍体イワナを作出し、これを用いた。

表1 イワナ性転換雄作出の処理試験区（平成4年度）

No.	浸漬処理濃度	浸漬回数	飼料添加濃度
A区	100 μ g/l	1回/7日	1mg/kg・Diet
B区	10 μ g/l	1回/5日	1mg/kg・Diet
C区	10 μ g/l	1回/2日	1mg/kg・Diet

表2 イワナ性転換雄作出の処理試験区（平成5年度）

No.	浸漬処理濃度	浸漬回数	飼料添加濃度
1区	1.0 μ g/l	1回/2日	0.5mg/kg・Diet
2区	1.0 μ g/l	1回/4日	0.5mg/kg・Diet
3区	0.5 μ g/l	1回/2日	0.5mg/kg・Diet
4区	0.5 μ g/l	1回/4日	0.5mg/kg・Diet
5区	0.1 μ g/l	1回/2日	0.5mg/kg・Diet
6区	0.1 μ g/l	1回/4日	0.5mg/kg・Diet
7区	1.0 μ g/l	1回/7日	0.5mg/kg・Diet
8区	10 μ g/l	1回/10日	0.5mg/kg・Diet
9区	1区+2区		0.1mg/kg・Diet
10区	3区+4区		0.1mg/kg・Diet
11区	5区+6区		0.1mg/kg・Diet
12区	7区+8区		0.1mg/kg・Diet

表3 イワナ性転換雄作出の処理試験区（平成6年度）

No.	浸漬処理濃度	浸漬回数	飼料添加濃度
W区	1.0 μ g/l	1回/1日	0.5mg/kg・Diet
X区	1.0 μ g/l	1回/2回	0.5mg/kg・Diet
Y区	0.5 μ g/l	1回/1日	0.5mg/kg・Diet
Z区	0.5 μ g/l	1回/2日	0.5mg/kg・Diet

結 果

平成4年度に作出したイワナ性転換雄の生殖腺の観察を平成7年1月に行ったが、その結果を表4に示した。B区において1尾の雌は確認されたが、何れの試験区においても生殖腺は糸状（雄雌不明個体）であるか、卵巣が認められた。平成5年度に行った生殖腺の組織標本の

観察においても、セルトリ細胞の存在は確認されたが、精原細胞は認められなかったため、イワナ性転換雄作出のためには、平成4年度の処理濃度および処理回数は適正ではなかったと思われる。

平成5年度に作出したイワナ性転換雄の観察結果を表5に示した。1区、2区および3区において雄形態を示す個体の出現が高く、また、1区および3区では卵巣が観察される比率が低い傾向が認められた。浸漬処理濃度および回数は同じでも飼料濃度を低く設定した8区および9区では雄形態個体の出現は低く、卵巣が観察される比率が高かった。これらの結果から、浸漬処理として雄性ホルモン濃度は0.5~1.0 μ g/l、処理回数は間隔が短い方が良いと推定された。また、飼料添加濃度が低いと雄化しない傾向が認められ、飼料添加濃度は0.5mg/kg・Dietが適正と思われる。1区、2区、3区および9区で開腹を行い、精巣が確認された個体については、人工精しょう(pH9.0)中で精巣を細切し、これを全雌二倍体イワナおよび全雌ニジイワ3Nの作出に用いた。全雌化の確認のため全雌二倍体イワナを浮上時期にブアン固定を行ったが、今後生殖腺の組織観察を実施する予定である。なお、1区、2区、3区および4区において雄形態を示した個体については、飼育を継続し、その生殖腺の観察を行うとともに、全雌二倍体イワナおよび全雌ニジイワ3Nの作出に用いる予定である。平成4年度および5年度の処理期間中の飼育水温は10~11 $^{\circ}$ Cであった。

平成6年度においては、現在試験中であり、今後生殖腺の観察等を実施する予定であるが、鳳来養魚場から三河一宮指導所に施設が移転し、飼育水の水温が8~15 $^{\circ}$ C(湧水)から18 $^{\circ}$ C(地下水汲み上げ)となった。このため、生殖腺の発達条件を変化させないようにするため、処理期間中はチラー(流水冷却装置)を用いて、飼育水を11.5~12.5 $^{\circ}$ Cとしている。

表5 平成5年度試験の観察結果

No	雄	雄形態	雌雌不明(糸状)	雌(卵確認)
1区	7	115	36	11
2区	2	84	36	61
3区	11	80	54	45
4区	1	31	37	113
5区	3	0	37	118
6区	0	0	22	116
7区	0	48	24	106
8区	2	45	72	82
9区	4	18	16	113
10区	6	0	14	165
11区	2	0	6	151
12区	5	0	17	141

表4 平成4年度試験の生殖腺観察結果

No	雄	雌雌不明(糸状)	雌(卵確認)
A区	0	33	10
B区	1	32	8
C区	0	47	8