

博士論文

マダイ放流種苗の脂質蓄積に関する研究

平成 8 年 4 月

海野 徹也

目次

緒言	1
第1章 仔稚魚期における脂質蓄積過程	
第1節 仔稚魚期の脂質蓄積部位	3
第2節 腹腔内脂肪組織の発達	7
第2章 着底後の形態変化と脂質蓄積	
第1節 形態形成	11
第2節 脂質蓄積と放流サイズ	14
第3章 脂質蓄積と放流種苗の質	
第1節 脂質蓄積と絶食耐性	18
第2節 魚体成分に及ぼす給餌率の影響	22
第4章 脂質蓄積と成長変異	
第1節 成長と魚体成分	27
第2節 耳石標識法による成長履歴の推定	31
第5章 脂質蓄積からみた飼育方法の評価	
第1節 成長および体成分に及ぼす選別飼育の影響	35
第2節 種苗放流に及ぼす音響馴致飼育の影響	39
総合考察	43
要約	45
謝辞	47
引用文献	48
英文要約	54

緒言

“捕る漁業から育てる漁業”という基本概念のもとで栽培型漁業が推進され、現在では海面養殖による生産額は6100億円に達している（'95養殖経営白書）。この海面養殖の生産額は遠洋漁業を上回り沖合漁業の生産額に匹敵しており、栽培漁業は一応の成功を収めている（'95養殖経営白書）。栽培漁業の成立には養殖の対象となる人工種苗の確保、いわゆる種苗生産方法の確立が前提となるが、その基盤となる種苗生産技術の開発は決して容易なものではなかった。一般に孵化直後の仔魚は親から卵黄や油球などの内部栄養を受け継ぎ、ある程度の行動力や消化吸收能力を獲得し初期摂餌に備えるが、内部栄養を吸収し終えて数日以内に摂餌が出来なければ死に至る。この数日間を無摂餌で過ごす仔魚の摂餌能力は低下し、その後たとえ摂餌したとしても生残の可能性はない。Blaxter and Hempel (1963) は、この初期摂餌が遅れた場合の仔魚の生残臨界時点を“point of no return”と定義し、摂餌の不成立によって起こる大量への死時期を“critical period”とした。かつての種苗生産はこの“critical period”の初期減耗をいかに克服するかが最大の問題であったが、シオミズツボワムシの初期餌料への応用とそれらの大量培養技術の確立によって種苗の初期減耗は回避され、人工種苗の生残率は大幅に向上した。その後、自然採卵法による大量の良質卵の確保、油脂酵母によるシオミズツボワムシへの必須脂肪酸強化、初期配合飼料の開発や餌料系列の確立により、種苗生産技術は飛躍的な向上を遂げ今日に至っている。

栽培型漁業の基盤の一つとして期待されているのが放流事業である。放流事業は既存資源への人工種苗の添加によって、それぞれの種の資源量のかさあげを最終目的とする。種苗生産技術の向上に伴い放流種苗の安定供給が可能になった現在では、資源培養を目的とした放流事業が全国各地で行われ、放流の対象となる魚種も多様化しつつある。水産庁・日本栽培漁業協会(日栽協)による平成5年度の種苗放流実績(水産庁・日栽協, 1995)では、40種の海産種苗が放流されており、放流事業に対する期待の大きさがうかがえる。放流事業の中でもマダイは需要や価格面から最も重要視され

る魚種で、種苗放流量は2000万尾に達しており(水産庁・日栽協, 1995)、24都府県下の144機関により放流が実施されている(水産庁・日栽協, 1995)。

放流効果を左右する要因は、大きく二つに大別できる。一つは、放流種苗の環境収容力に関する放流場所や時期の問題で、もう一つは種苗の質的問題である。放流場所の環境収容力については畔田(1986)が指摘するように、放流場所の天然マダイ当歳魚の生活様式、餌料環境、他魚種との関係を含めた環境特性を検討する必要がある。また、放流された種苗が生残するか否かは直接放流効果に影響するだけに、放流種苗には養殖種苗とは異なる質的問題や至適放流サイズに関する知見が必要となる。福原(1986)は既に種苗の質的問題について言及しているが、現段階では放流種苗の質的評価や至適放流サイズに関する研究は非常に乏しく、マダイの放流サイズにしても144機関で10mmから154mm(水産庁・日栽協, 1995)と一定の傾向はない。

放流されたマダイの追跡調査は再捕率や天然魚との混獲率を中心に行われており、再捕されたマダイの摂餌生態や生理学的変化に関する知見も集積されつつある。奥石・安永(1980)は、放流後のマダイの胃内容物分析調査より放流魚が放流海域の餌料環境に適応するまでには少なくとも7日間を要することを報告している。また、佐賀水試(1979)、松宮・木曾(1982)による胃内容物組成の調査では、放流魚の摂餌が量的・質的に天然魚と同等になるには7日から10日間を要しており、人工的に飼育された種苗が自然環境に順応するにはかなりの日数を要すると考えられる。一方、放流後の種苗の魚体成分では、肥満度(長崎水試, 1979)、C/N比(立石, 1976)、脂質(Nakagawa et al., 1991; Villa-Navarro et al., 1991)が急激に減少する事が知られている。摂餌生態が天然環境に順応し、肥満度や外部形態が天然魚と類似するには30日間を要する(長崎水試, 1979; 松宮ら, 1984)。野外で放流種苗の消費する運動エネルギー量は捕食者からの逃避や索餌により人工飼育条件下に比べはるかに多いと考えられ、この間の摂餌不足や運動量増加によるエネルギー消費を放流前の蓄積脂

質によって補っていると考えらる。Tsukamoto et al. (1989) は放流後のマダイの初期減耗要因が、捕食や飢餓による死亡であると指摘している。飢餓が被捕食圧を増大すること(Yin and Blaxter, 1987)からも、放流前のエネルギー蓄積は放流魚の生残を左右する重要な要因で、放流サイズや種苗性の指標となる。

一方、集約的飼育では高い生残率を得ることが目的であるため天然環境に比べて非常に高い餌料密度が維持されている。また、食害、飢餓、環境要因の変動等の種苗の生残を脅かす条件は回避されている。魚類の卵径や孵化仔魚の大きさには個体変異が存在するが、種苗生産ではこのような変異が飼育経過と共に拡大される(山岸, 1964; Yamagishi, 1969)。そのため放流される種苗のサイズは飼育過程で生じた成長変異のため必ずしも均一ではない。このような大きさの異なる種苗を放流した場合、サイズによって著しく再捕率が低下

することが明らかにされている(高場ら, 1978)。Tsukamoto et al. (1989) も大きさの異なる種苗を放流した場合の小型種苗の減耗を指摘し、これが他魚種のみならず同種大型種苗による小型種苗の捕食である事を明らかにした。このような観点から、種苗の成長変異に伴った脂質蓄積に関する基礎的知見も必要である。

このような背景のもとに、本研究ではマダイ放流種苗における脂質蓄積過程や絶食耐性を分析し、これらを指標とし至適放流サイズや種苗の質について検討した(第1,2および3章)。また、成長率の異なる種苗間で脂質蓄積状態を比較し、種苗の成長履歴と脂質蓄積に関する基礎的知見を得ることを目的とすると共に(第4章)、脂質蓄積を指標に種苗生産過程で生じた小型種苗に対する選別飼育や、種苗放流に対する音響馴致飼育の有効性について検討した(第5章)。

第1章 仔稚魚期における脂質蓄積過程

第1節 仔稚魚期の脂質蓄積部位

一般に魚類の初期生活史の中では、孵化仔魚が卵黄を吸収し外部栄養に依存し始める時期と、仔魚から稚魚へと移行する時期が生理的にも生態的にも最も変化が大きいと考えられる。このような発育段階の移行に伴う形態学的、生理学的知見は種苗生産技術の確立や改善に大きく貢献してきた。マダイにおいても仔稚魚期における外部形態(福原, 1976a, 1976b; Fukuhara, 1985), 内部形態(Matsuoka, 1984; Matsuoka and Iwai, 1984; Kitajima et al., 1985, 1993), 行動様式(福原・国行, 1978; 福原・岸田, 1980), 生理学的変化(田中, 1969a, 1969b, 1971a; 安楽・畔田, 1973; 滝井ら, 1992a, 1992b; Uematsu et al., 1992)に関する研究がなされてきた。

仔稚魚期の脂質は、形態的变化を伴う変態期で減少することがニシン(福田ら, 1986)やサケ(中野, 1991)で知られている。これらの現象は、仔稚魚の脂質が発育段階移行のためのエネルギー源として利用されているだけでなく、いくつかの発育段階を経て体成長を営む仔稚魚にとって脂質が必須であることを示している。しかしマダイ初期発育段階における脂質蓄積に関する研究は少なく、唯一、田中(1971b)によって硬骨魚類の一例として脂質の吸収に関する研究が報告されている程度である。そこで本研究ではマダイ仔稚魚期における脂質蓄積を消化器官の発達過程との関連も含め組織学的手法を用いて観察した。

材料および方法

供試魚 1987年および1994年に広島県栽培漁業協会が孵化し50 tの陸上水槽で飼育された仔稚魚を用いた。餌料系列は両年ともほぼ同一で、孵化後4日目から38日目まではシオミズツボムシ、20日目から37日目まではアルテミア幼生、14日から52日目までは配合飼料を投与した。飼育期間中の飼育水温は1987年が18.7~19.6℃で、1994年が17.3~19.5℃であり、両年の仔稚魚の成長は同等であった。試料の採取は孵化後6, 11, 16, 22, 27, 32, 37, 42, 47, 52および56日目に行い、各ステージで

平均的な成長を示した5個体を組織学的観察のための試料とした。

組織学的観察 採集した標本を直ちに10%中性ホルマリン、もしくはブアン氏液で固定し、常法によりパラフィン包埋後、厚さ10 μ mの横断および縦断切片を作製しヘマトキシリン・エオシン(HE)染色を施した。

グリコーゲンの検出には、試料をジャンドール液で固定、常法によりパラフィン包埋後、10 μ mの切片にMcManusのPeriodic acid schiff反応(以下PAS反応)による染色およびヘマトキシリン染色を施した。なお、グリコーゲンの確認にはプレバートを唾液で処理後、PAS反応を行う対照試験を併用して識別した。

トルイジンブルー染色は、試料を2%グルタルアルデヒドおよび2.25%パラホルムアルデヒドを含む0.1Mのリン酸緩衝液(pH, 7.4)中で2日間、4℃で一次固定し、1%四酸化オスミウム液で90分間二次固定を行った。アルコールで脱水後、Quetol 812に包埋しウルトラミクロームで厚さ1 μ m切片を作製し、トルイジンブルーで染色した。

肝臓体積 HE染色を施した縦断連続切片を顕微鏡ビデオ装置に出力し、肝臓組織の外形をデジタイザーを用いコンピューターに入力し、三次元画像解析ソフト(Nikon Cosmozone-2S)を用いて立体再構築し体積を求めた(Toyoda and Uematsu, 1994)。

結 果

孵化後6日目のマダイ仔魚の消化管には餌料生物が認められ、すでに活発な摂餌が開始されていた。この時点の食道は上皮細胞と環走筋の発達が進み、柱状細胞が規則正しく配列していた。膵臓は肝臓と隣接し、エオシンで濃染されるチモーゲン顆粒の存在が認められたことから、すでに活発な消化活動が営まれていると考えられる(Fig. 1a)。肝臓は孵化後6日目には体腔前部の腹側に位置し、肝臓細胞数は非常に少ないものの、すでにグリ

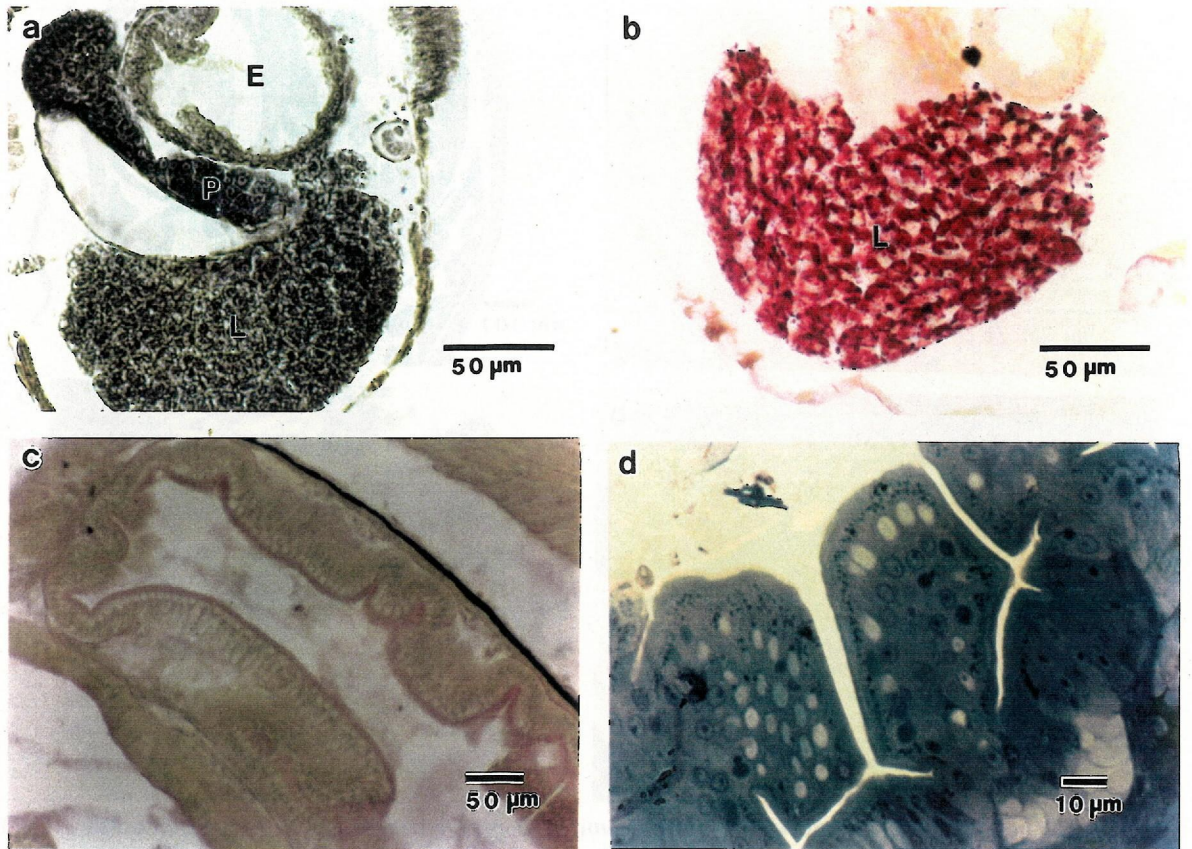


Fig.1. Histomicrographs of digestive system in the post-larval stage of red sea bream. a; Cross section through the medium part of body of a 6-day old larva. Larval esophagus, liver and pancreas differentiated in a certain extent at this stage. Stained with H-E. b; Cross section of the liver of a 6-day old larva, showing PAS-positive glycogen granules. Stained with PAS and hematoxyline. c; Longitudinal section through the posterior part of the intestine of an 11-day old larva. The intestine produces PAS-positive materials. Stained with PAS and hematoxyline. d; Cross section of the gut epithelium in the posterior part of the intestine of an 11-day old larva, showing many vacuoles in the epithelium cell. Stained with toluidine blue. E; esophagus, L; liver, P; pancreas.

コーゲンと思われるPAS陽性の顆粒が認められた (Fig.1b)。このようなグリコーゲン蓄積は孵化後6日目で降終始確認されたが、仔魚期においては肝臓での脂質蓄積は観察されなかった。

孵化後11日目になると消化管の上皮細胞は高さを増し、PAS陽性の粘液の分泌も確認された (Fig.1c)。腸後部の上皮細胞には多くの小空胞が密に分布した細胞がみられた (Fig.1c)。この上皮細胞を拡大すると、核は細胞基底部付近に位置し、核上方には大小多数の空胞が存在した (Fig.1d)。

孵化後32日目では胃は括約筋で覆われ胃腺が発達し、幽門垂も分化していることから (Fig.2a)、稚魚期への移行を完了していると思われる。このころになると仔魚期に観察された腸上皮細胞の空胞は認められなくなった。

孵化後37日目の稚魚の肝臓には脂質蓄積に起因すると思われる空胞が多くみられるようになり、Sudan III染色で脂肪滴が観察された (Fig.2b)。ま

た、体腔左側面に位置する膵臓中には脂肪細胞が観察された (Fig.2c)。

孵化後56日目になると肝臓が膵臓組織にまで発達し、肝臓と膵臓が部分的に結合した肝膵臓を形成した (Fig.2d)。

Fig.3 に仔稚魚期における肝臓体積の推移を示す。肝臓体積は成長に伴い徐々に増加したが、特に孵化後32日目から37日目にかけては体積増加が顕著であった。

考 察

マダイを含むいくつかの硬骨魚類において摂餌開始前には肝臓中のグリコーゲン蓄積は認められていない (田中, 1969a)。Lopez (1986) はマダイ仔魚における肝臓中へのグリコーゲン蓄積を孵化後16日目で確認しているが、本研究では孵化後6日目

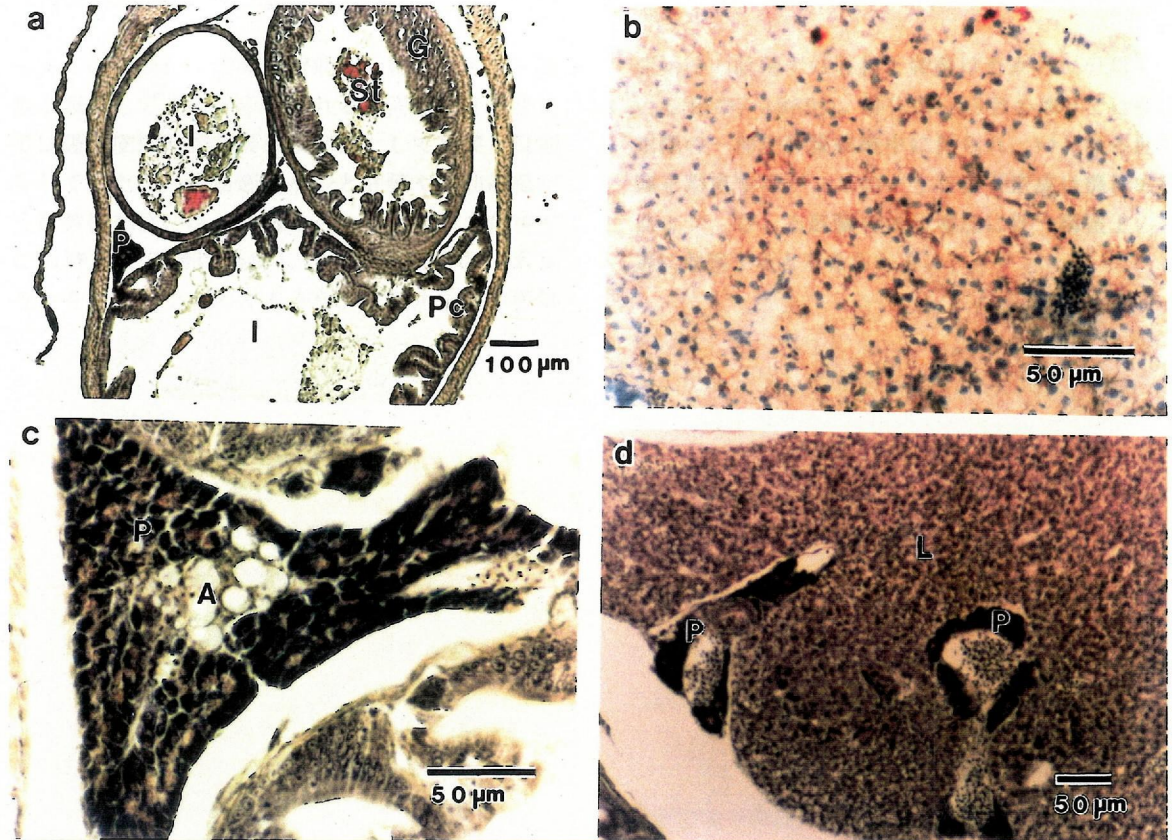


Fig.2. Histomicrographs of the digestive organs of juvenile red sea bream. a; Cross section through the medium part of body of a 32-day old juvenile. Gastric gland and pyloric caeca were developed. Stained with H-E. b; Cross section through the liver of a 37-day old juvenile, showing fat accumulation which was detected by Sudan III staining. c; Cross section through the medium part of body of a 37-day old juvenile, showing some adipocytes in the pancreas. Stained with H-E. d; Cross section of the hepatopancreas of a 56-day old juvenile. Pancreatic tissue partly invaded into the liver. Stained with H-E. A; adipocyte, G; gastric gland, I; intestine, L; liver, P; pancreas, Pc; pyloric caeca, St; stomach.

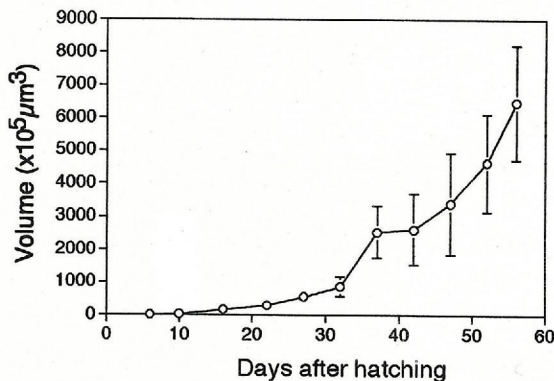


Fig.3. Changes in the liver volume in the early stage of red sea bream. Data are shown as mean and SD (n=5).

の仔魚でグリコーゲン蓄積がみられた。摂餌開始直後の仔魚の食道には柱状細胞が規則正しく配置され、膵臓ではエオシンで濃染されたチモゲン顆粒が存在していることから、消化器器官は機能的にかなり発達し、種々の物質を消化吸収する能

力を有していると考えられる。したがって肝臓中のグリコーゲンは摂餌開始直後に貯蔵されたものと考えられる。

仔魚後期のマダイ仔魚の腸管上皮細胞中には多数の空胞が認められた。田中 (1971a, 1971b) によれば、これらの腸中部上皮細胞の空胞は摂餌開始後に出現し、活発に摂餌している個体ほど分布密度に富み、摂餌を中断された個体では時間の経過と共に消失する。Iwai (1968, 1969) および Iwai and Tanaka (1968) による一連の研究において、硬骨魚類で観察されるこれらの空胞は脂肪粒子である事が確認されている。したがってマダイ仔魚後期において腸中部上皮層は脂肪の吸収部位であるとともに脂肪の貯蔵部位としても重要な役割を有していると考えられている。しかしながらこれらの腸上皮細胞の脂肪は孵化後32日目以降の個体では認められなかった。一般に、マダイにおいて孵化後30日前後は仔魚期から稚魚期への移行期である (Fukuhara, 1985)。本研究でも孵化後32日目には、発達した胃腺と幽門垂を有していた。したが

ってこの時期に消化吸収機能は大幅に向上し、成魚と類似してくると考えられる。同時に仔魚後期では腸上皮細胞が脂質蓄積部位として重要な役割をしていたが、稚魚期になると肝臓や脂肪組織が主な蓄積部位になると考えられる。肝臓の体積がこの時期に急激に増加したのは脂肪等のエネルギーを貯蔵したためであろう。 仔魚前期や摂餌

開始時の段階では肝臓と脾臓はたがいに分離している(田中, 1969a)。孵化後56日目の個体では脾臓組織の一部が肝臓組織中に見られ、いわゆる肝脾臓を形成するが、このような器官形成は機能的側面より、むしろ肝臓の体積増加に伴う構造上の問題に起因すると考えられる。

第2節 腹腔内脂肪組織の発達

腹腔内への脂質蓄積は消化管周辺に脂肪組織が形成される形で行われるが、これらの腹腔内脂肪組織は個々の脂肪細胞がコラーゲン繊維で結合した脂肪細胞の集合体である(第2章2節)。魚類の腹腔内脂肪の脂質含量は哺乳類と同様 (Fawcett, 1986; Johnson and Greenwood, 1988), 60%から80%が脂質で、その内の80%以上はトリグリセリドで占められている(Nakagawa et al., 1984, 1995; Nakagawa and Kasahara, 1986; 萱野ら, 1990)。

これまでに腹腔内脂肪組織量と給餌量の関係がスズキ (Hung et al., 1993), アユ (Yao et al., 1994) で報告されている。ニジマス幼魚では給餌量が脂肪の形態に及ぼす影響についての報告例もある (Bellardi et al., 1995)。また, *in vitro* における脂肪組織からの脂質動員能を指標に, 飼料や飼育環境がアユの生理状態に及ぼす影響を評価した例もある (Nematipour et al., 1990; Nakagawa et al., 1995)。

マダイにおいて腹腔内脂肪はエネルギー貯蔵器官として重要で, 中間育成当初の孵化後68日目のマダイで発達した腹腔内脂肪組織を有すること(海野ら, 1990)が確認されている。前節では仔魚から稚魚に移行すると共に脂肪細胞が出現することが明らかとなったが, 魚類における腹腔内脂肪組織の発達に関する研究は比較的少ない。本研究ではマダイ仔稚魚期における腹腔内脂肪組織の発達過程を組織学的に観察した。

材料および方法

供試魚 1994年に広島県栽培漁業協会で種苗生産された仔稚魚を供試魚とした。餌料系列は, 孵化後4日目から38日目まではシオミズツボウムシ, 20日目から37日目まではアルテミア, 14日から50日目までは配合飼料であった。飼育期間中の水温は17.3~19.5℃であり, 仔稚魚のサンプリングは孵化後6, 11, 22, 27, 32, 37, 42, 47, 52および56日目に行い, 以下の観察に供した。

脂肪組織の形態 試料を10%中性ホルマリン液で固定し, 実体顕微鏡下で内臓部分を露出させ2% Sudan III液に30分間浸漬した。その後, 試料を70%および95%アルコールで洗浄し, オレンジ色に染

色された脂肪組織の形態を観察した。

光顕観察と体積 平均的な成長を示した5個体をブアン氏液で固定し, 魚体サイズに応じて1日~4日間固定した。常法によりパラフィン包埋し, 食道から肛門にかけて厚さ10 μ mの縦断連続切片を作製し, HE染色した。

脂肪組織の体積はToyoda and Uematsu (1994)の方法に従い, 脂肪組織の外形をコンピューターに入力し, 三次元立体再構築して体積を求めた。また, 各發育段階毎の5個体について無作為抽出した50個以上の脂肪細胞径を測定した。成長に伴う脂肪組織の体積および細胞径の変動については, 一元配置分散分析(ANOVA)により有意差の検定を行った。

透過型電子顕微鏡観察 試料を2%グルタルアルデヒドと2.25%パラホルムアルデヒドを含む0.1Mリン酸緩衝液(pH7.4)中で2日間, 4℃で一次固定し, 1%四酸化オスmium液で90分間二次固定を行った。アルコール系列で脱水, 透徹後, 樹脂包埋した。ウルトラミクロトームで厚さ60nmの超薄切片を作製し, 酢酸ウラニルとクエン酸鉛の二重染色を施し, 日立H-60A型電子顕微鏡で加圧電圧80Kvで観察した。また, 厚さ1 μ m切片についてはトルイジンブルーで染色し光学顕微鏡下で観察した。

結果

脂肪組織の発達 連続切片による光学顕微鏡観察で, 脂肪細胞は孵化後37日目の稚魚の臍臓中で初めて観察された。以下に消化管の發育区分 (Fukuhara, 1985) に従った脂肪組織の発達過程を示す。

(孵化37日目、平均全長10.1mm)

消化管は食道から前腸部にかけて一回転しているが, 前腸部から直腸にかけての消化管の形状はほぼ直線状であった(Fig.4a)。胃は発達した胃腺と初期の幽門垂を備えていた(Fig.5a)。胃腺や幽門垂の分化は仔魚から稚魚への移行期に形成されることから(田中, 1971a), 37日目ではすでに仔魚から稚魚への移行を完了したものと思われた。脂肪細

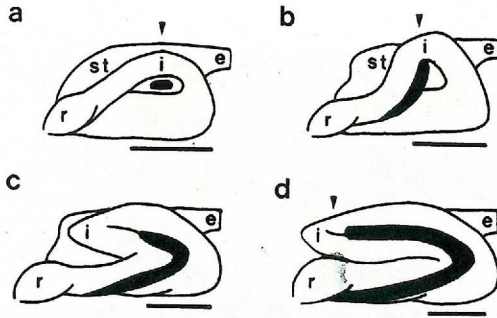


Fig.4. Schematic illustrations of typical adipose tissue (shadow) in the four developmental stages of red sea bream juveniles. a; 37 day, TL=10.1mm, b; 42 day, TL=12.3mm, c; 47 day, TL=13.5mm, d; 52 day, TL=16.8mm. Arrows on the illustrations of a, b, and d indicate position of cross section shown in Fig.5a, Fig.6a, and Fig.6c, respectively. e; esophagus, i; intestine, r; rectum, st; stomach. Each scale indicates 1 mm.

胞は右体側部の消化管回転部のほぼ中心に位置する膵臓中に認められた(Fig.4a, 5a)。光学顕微鏡による観察では、脂肪細胞の大部分は空胞で占められており(Fig.5b)、これらの脂肪滴は四酸化オスミウムで黒色に濃染された(Fig.5c)。電顕観察では、細胞質は細胞周囲に狭い帯状をなし、幾分偏平になった核が観察された(Fig.5d)。また、比較的小型の脂肪細胞では細胞質中に複数の脂肪滴を含むが(Fig.5e)、これらは発達途中の細胞であると考えられ、発達と共に脂肪滴は融合し中心性の脂肪滴を形成すると考えられる。

(孵化後42日、全長12.2mm)

消化管は、前腸から中腸部が後方に向かって隆起し始めた。脂肪組織は中腸と胃壁の間隙に沿って後方部へと伸長した(Fig.4b)。膵臓組織中の脂肪細胞は膵臓組織を周辺部に追いやるようにその数

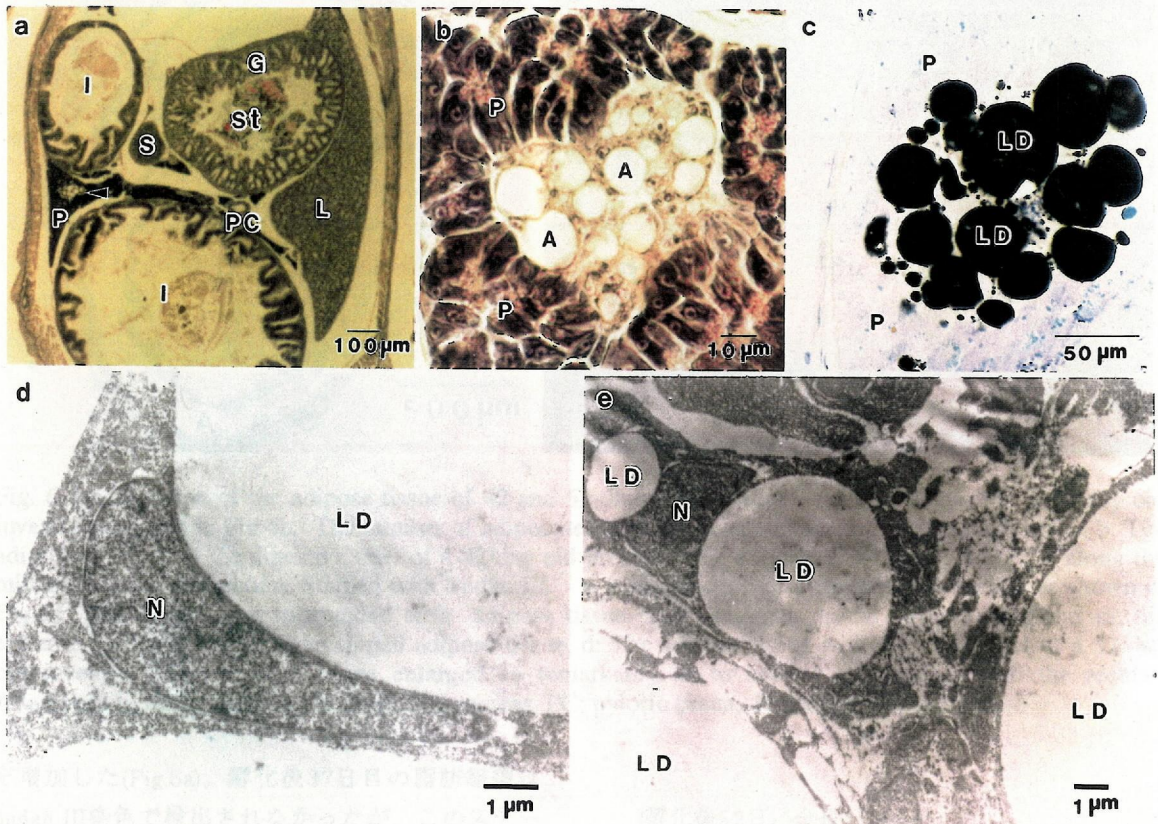


Fig. 5. The adipocytes of 37-day old juveniles of red sea bream. a: Cross section of medium part of the body as shown in Fig. 4a. Some adipocytes (arrowhead) appeared in the pancreas in right part of the body cavity. Stained with H-E. b: The adipocytes in the pancreatic tissue with high-magnification. The cytoplasm of adipocytes is a thin rim surrounding the lipid droplet. Stained with H-E. c: Semithin section of the adipocytes in the pancreas. Note the presence of osmiophilic lipid droplets in adipocytes. Fixed with OsO_4 and stained with toluidine blue. d: Electron micrograph of adipocyte of red sea bream. The nucleus is displaced to one side of cytoplasm by accumulated lipid droplet. Original magnification $\times 12,000$. e: Electron micrograph of immature adipocyte containing multiple lipid droplets. Original magnification $\times 75,000$. A; adipocyte, G; gastric gland, I; intestine, L; liver, LD; lipid droplet, N; nucleus, P; pancreas, PC; pyloric caeca, S; spleen, St; stomach.

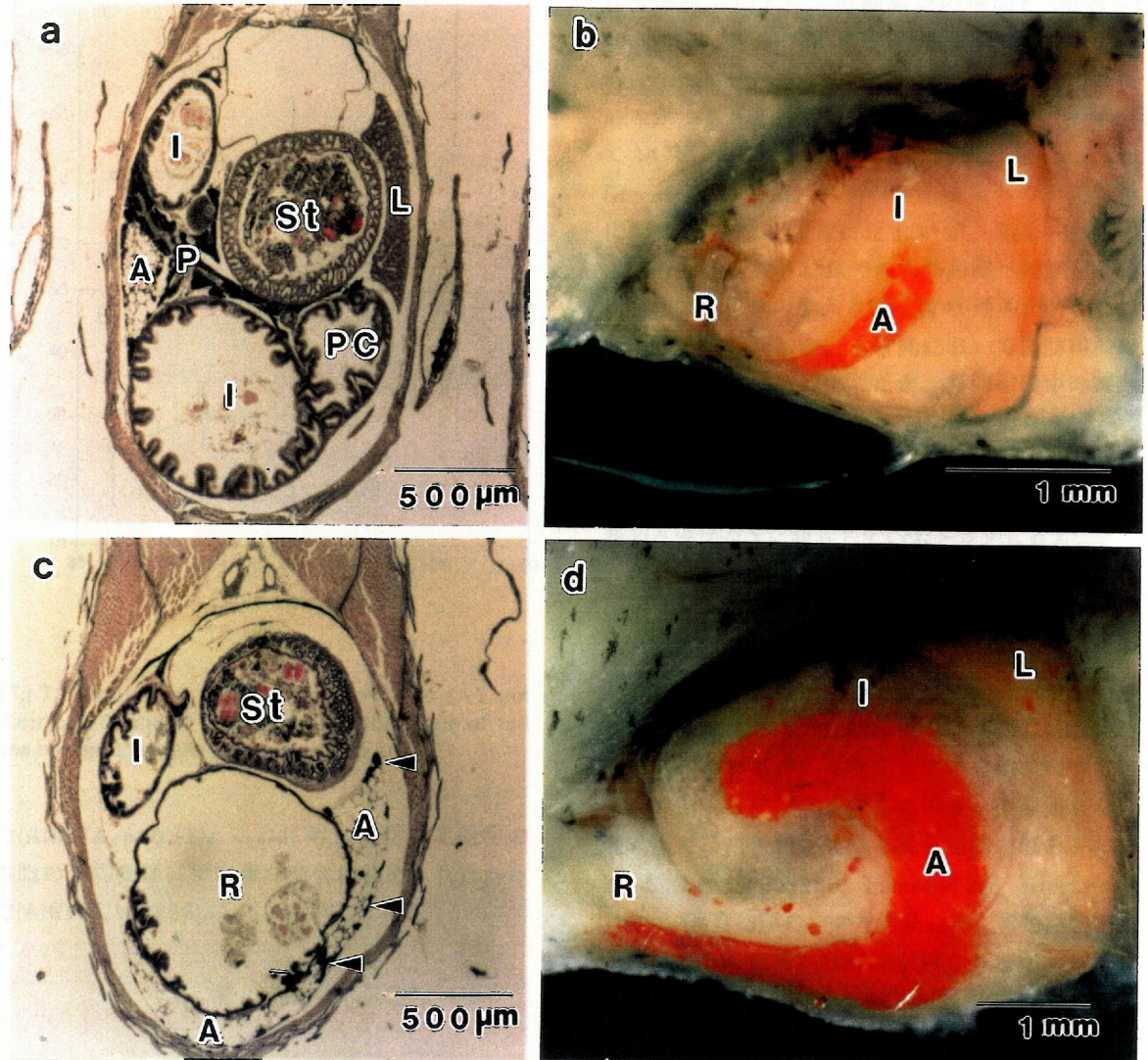


Fig. 6. Localization of the adipose tissue of 42 and 52-day old juveniles. a: Cross section of a 42-day old juvenile as shown in Fig.4b. The number of adipocytes in the pancreas increased. Stained with H-E. b: The adipose tissue with the digestive tract of a 42-day old juvenile. The adipose tissue mass elongates along the mid-gut toward the rectum. Stained with Sudan III. c: Cross section of a 52-day old juvenile as shown in Fig.4d. The rectum was surrounded with adipose tissue. The pancreatic tissue (arrowheads) was on the extreme border of the well-developed adipose tissue. d: The adipose tissue with digestive tract of a 52-day old juvenile. The adipose tissue enlarged so remarkably as to occupy the mid-gut and the rectum. A; adipose tissue, I; intestine, L; liver, P; pancreas, PC; pyloric caeca, R; rectum, St; stomach.

を増加した(Fig.6a)。孵化後37日目の脂肪組織は Sudan III染色で検出されなかったが、このステージでは脂肪組織はSudan III液で染色されるようになった(Fig.6b)。

(孵化後47日、全長13.5mm)

前腸から直腸にかけての消化管は大きくS字状に屈曲し、幽門垂も直腸付近まで伸長した(Fig.4c)。この時期になると膵臓中の脂肪組織も直腸の手前まで発達した(Fig.4c)。

(孵化後52日、全長16.8mm)

前腸から直腸にかけての消化管は大きく屈折し成魚の形状に類似してきた(Fig.4d)。脂肪組織は直腸を覆うように発達し、右体側の消化管のかなりの部分を覆うようになった(Fig.4d, 6c, 6d)。

脂肪組織の体積と細胞径 Fig. 7に成長に伴う脂肪組織の体積と平均脂肪細胞径の変化を示す。脂肪組織の体積は稚魚の成長と共に有意な増加を示し

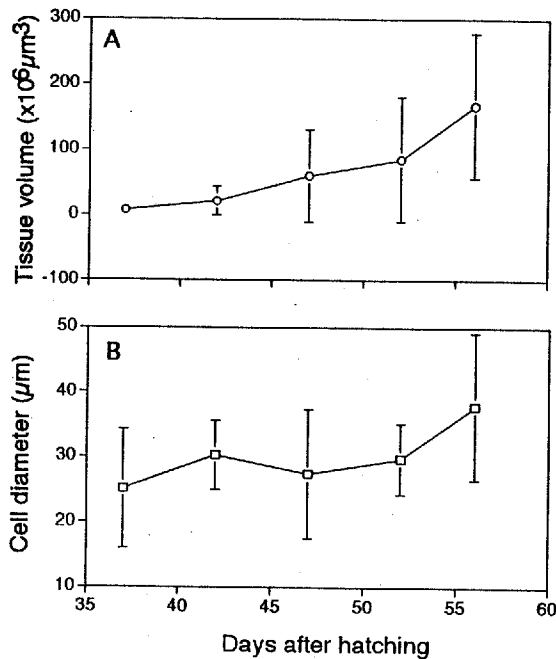


Fig.7. Changes in adipose tissue volume (A) and their cell diameter (B) in the juvenile stage of red sea bream. Data are shown as mean and SD.

た(ANOVA, $p=0.11$)。これに対して脂肪組織中の細胞の平均長径には有意な変化は認められなかった(ANOVA, $p=0.52$)。

考 察

硬骨魚類の仔魚期における脂肪の消化吸收機構は成魚とは異なり、腸中部上皮細胞が脂肪の吸収部位であると共に貯蔵部位としても重要な役割をはたす(田中, 1971b)。これらの腸上皮細胞に蓄積された脂肪粒子はマダイ仔魚においても認められるが、稚魚への移行に伴い観察されなくなる(第1章1節)。これは稚魚期への移行に伴い脂肪の消化吸收機構が成魚と類似することや(田中, 1971a, 1971b, 1975), 腸上皮細胞に蓄積された脂肪は肝臓や脂肪細胞に移送されるためである(第1章1節)。

一般に哺乳類では成熟した脂肪細胞は有糸分裂せず、細繊維芽細胞様の脂肪芽細胞の加入によっ

てその数が増大する。脂肪細胞への脂肪蓄積は脂肪芽細胞の加入による細胞数の増加と(増殖型; hyperplastic type), 細胞自体が肥大する(肥大型; hypertrophic type)かのどちらかによって行われているか、もしくはそれらの混合型によって行われている(Roncari and Van, 1978; Johnson and Greenwood, 1988)。魚類の脂肪組織への脂質蓄積に関する知見は非常に乏しいが、Bellardi et al. (1995) はニジマス幼魚での脂肪組織への脂質蓄積に脂肪細胞自体の肥大と細胞数の増加が関与していることを指摘した。本研究において脂肪組織の体積は成長と共に増加したが、脂肪組織中の細胞自体の平均長径には有意な変化は認められなかった。したがって、発達初期の脂肪組織の成長には細胞の肥大より、むしろ脂肪芽細胞の加入による数的な増加が主に関与していると考えられる。

哺乳類の脂肪細胞は白色脂肪細胞と褐色脂肪細胞に大別される(Fawcett, 1986; Johnson and Greenwood, 1988)。白色脂肪細胞は脂肪組織の大部分を占め消化管周辺や筋繊維内に分布する。褐色脂肪細胞はヒトでは新生児の肩甲間部にみられ血管系や神経系がよく発達している他、細胞質はミトコンドリアを多く含んでいる。生後間もない哺乳類では白色脂肪組織と褐色脂肪組織を有している(Fawcett, 1986; Johnson and Greenwood, 1988)。発育初期のマダイ脂肪組織に褐色脂肪細胞が認められるか否かは興味を持たれたが、組織学的な観察結果ではすべて白色脂肪細胞であった。

マダイ仔稚魚期の膵臓組織は腸管周辺部に偏在していることが田中(1969a)によって報告されているが、本研究で脂肪細胞は腸管周辺部に位置する膵臓組織中で認められた。脂肪組織は膵臓組織中で発達し、最終的には膵臓組織を周辺部に追いやりながら腸管全体を覆う様子が観察された。このような脂肪組織の発達様式は哺乳類とは大きく異なっており非常に興味深い。脂肪細胞の発達によってそれらの周辺部に追いやられた膵臓組織でも活発なチモーゲン顆粒の分泌が認められることから、これらの膵臓細胞が脂肪組織の発達や脂肪蓄積に関与している可能性もあるが、この点については今後の研究課題である。

第2章 着底後の形態変化と脂質蓄積

第1節 形態形成

仔稚魚期における形態的变化は発育段階を区分するのに有効な手段である。そして発育段階の移行期には外部器官や内部器官の変化が伴うことが予想される。外部および内部諸器官の形態変化は単に形状が変化するだけでなく、それぞれの器官の機能的変化に結びつき、さらに行動や生態の変化と深く関連している場合が多い。マダイにおいても仔魚から稚魚への移行に伴い鱗や斑紋が形成されるほか(福原,1976b,1984), 消化系器官の変化が認められている(田中,1971a)。この時期のマダイの行動様式の変化は、浮遊生活から底生生活に移行する(福原,1984; Fukuharta, 1985)と共に遊泳力が飛躍的に向上する(福原・岸田,1980, 福原, 1984)。

一方、放流マダイ種苗は陸上水槽での一次飼育を経て海上の網生け簀で集約的に中間育成される。中間育成は放流魚にとって最終段階の飼育の場であり、この時期の器官形成や変化を知ることにはマダイの発育段階を把握するためや、天然海域への適応力を推定する重要な知見となる。そこで本研究では集約的に中間育成されたマダイ種苗の外部形態ならびに内部形態の変化について調査すると共に、これらの形態変化とこの時期の生態や行動との関連について考察した。また、素堀池を利用した自然環境に近い半粗放的条件下で飼育された種苗の外部形態についても調査した。

材料および方法

集約的飼育による種苗 1989年に広島県水産試験場の小割網(5×5×5m)で中間育成されていたマダイを試料とした。網生け簀からの試料の採集は定期的実施される網替えの時にを行い、孵化後65, 76, 84および88日目に無作為に100尾程度を抽出し直ちに10%中性ホルマリンで固定した。なお、なるべく平均的な個体を抽出し以下の試料とした。

外部形態と内部形態 外部形態は体長、体重、体高、肛門長(吻から肛門までの長さ)を測定した。内

部形態については、肝臓重量、内臓重量(肝臓、腎臓および心臓は除く)および筋肉重量(可食部に相当)、幽門垂から肛門までの腸管長を測定した。また筋肉比ならびに比内臓重量は以下の計算で求めた。

$$\text{筋肉比}(\%) = \text{筋肉重量} / \text{体重} \times 100$$

$$\text{比内臓重量}(\%) = \text{内臓重量} / \text{体重} \times 100$$

鱗面積の測定 10%ホルマリン固定した試料の右体側を解剖用ナイフでそぎ取り、透明プラスチック板に固定し複写機で体表および各鱗を複写した。体表および各鱗の面積はコピーされた面積分の紙の重量を天秤で測定し、単位面積当たりの紙の重量から算出した。なお、体表面積は本来の魚体体表の曲面面積ではなく2次元投射像の面積とし、対鱗である腹鱗および胸鱗は左体側に位置する鱗の面積を測定した。

体側筋筋繊維径 10%ホルマリンで固定した試料の背鱗基底前端部の背筋を切り出し、常法によりパラフィン包埋を行い、体軸と垂直方向の厚さ約10 μ mの組織切片(縦断面)を作製し、HE染色を施し検鏡した。筋繊維の計測は水平隔壁より背側部分について行い、白色筋(普通筋)、桃色筋(中間筋)、赤色筋(血合筋)の分類はMatsuoka(1984)による形態および分布様式の違いにより行った。筋繊維長径は一個体について50個の筋繊維を無作為抽出し、接眼マイクロメーターを用いて測定した。

半粗放的飼育による種苗 1987年に高知県栽培漁業センターの飼育池(面積2,000m², 水深1-2m)で天然のプランクトンや底生生物を餌として飼育されていたマダイ稚魚を孵化後44, 48, 55, 64, 76および100日目に採集し、試料とした。採集は北原式プランクトンネット(目合GG54), たも網(網口:40cm, 目合:5mm)および巻き網を用いて毎回15:00時前後に行った。測定項目は体長、体重、口径とした。

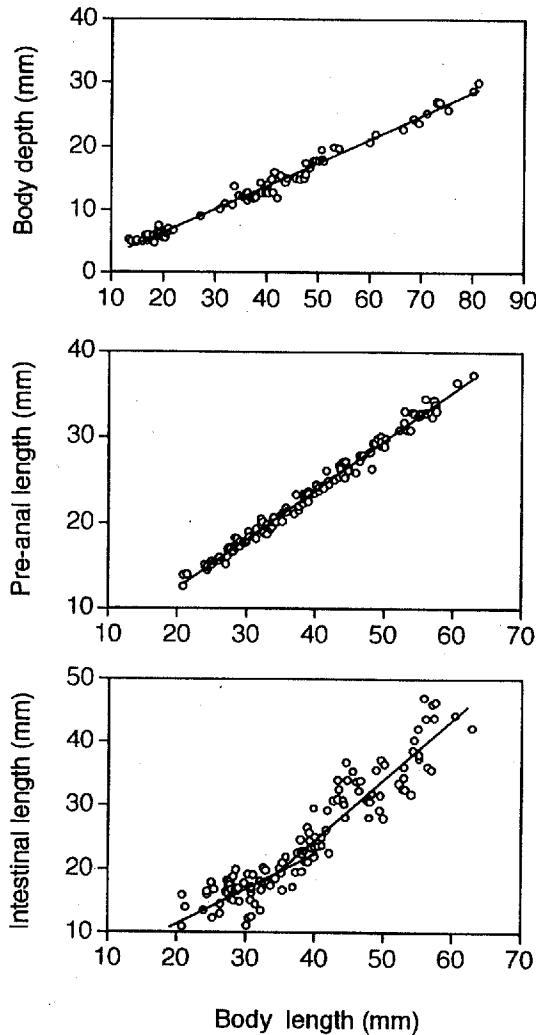


Fig.8. Relationships between body length and body depth, pre-anal length and intestinal length during secondary rearing of red sea bream.

結 果

Fig.8 に中間育成期における体長に対する体高、肛門長および腸管長の関係を示す。体長(x)と体高(y)の関係は高い相関関係を持つ直線で示された ($y = 0.432x - 1.50, r = 0.992, n = 76$)。また、体長(x)と肛門長(y)の関係も一本の直線式 $y = 0.569x + 1.061, r = 0.995 (n = 130)$ で示された。これに対して体長(x)と腸管長(y)の関係は直線関係で示されたが、体長35mm付近で変曲点が認められ、35mmまでは $y = 0.270x + 8.427, r = 0.370 (n = 43)$ 、35mm以降は $y = 0.936x - 12.969, r = 0.908 (n = 77)$ で示された。

Fig.9 に体長に対する筋肉比、内臓重量比および鱗面積比を示す。筋肉比は体長15mmで10%程度で

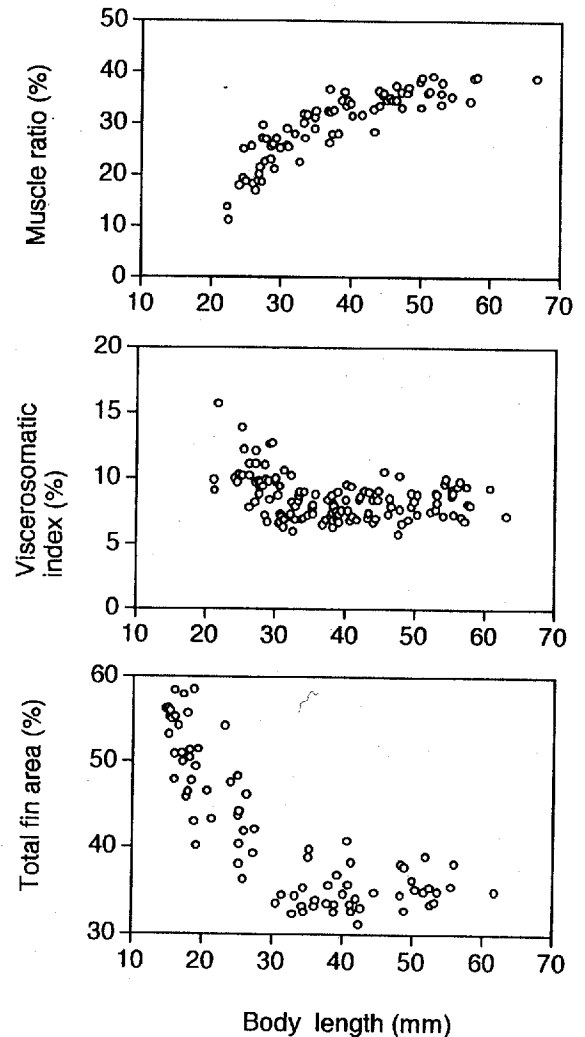


Fig.9. Changes in muscle ratio, viscerosomatic index and relative fin area during secondary rearing of red sea bream.

あったが、成長に伴い次第に増加し、体長40mm付近で40%に達し、その後一定となった。比内臓重量は体長35mm付近まで緩やかに減少したが、35mm付近で7%となり、その後はほとんど変化しなかった。また、体表面積に対する鱗面積の比率は体長15mmで50%以上を示したが、成長と共に急激に減少し、体長30mm付近で30%台になり以後安定した。

成長にともなう白色筋・桃色筋・赤色筋の筋繊維の平均長径をFig. 10 に示す。白色筋繊維は体長約10mmで約16 μ mであったが、成長と共に増加し体長30mm以降約30 μ m前後で一定となった。赤色筋繊維および桃色筋の平均長径の推移も白色筋と同様に体長30mm付近まで増加し、その後赤色筋では13 μ m、桃色筋では18 μ m程度で安定した。

考 察

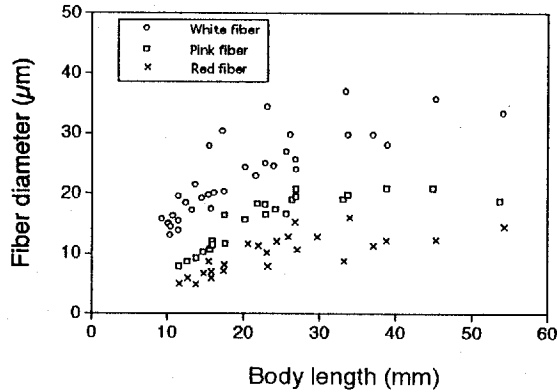


Fig.10. Changes in muscle fiber diameter during secondary rearing of red sea bream.

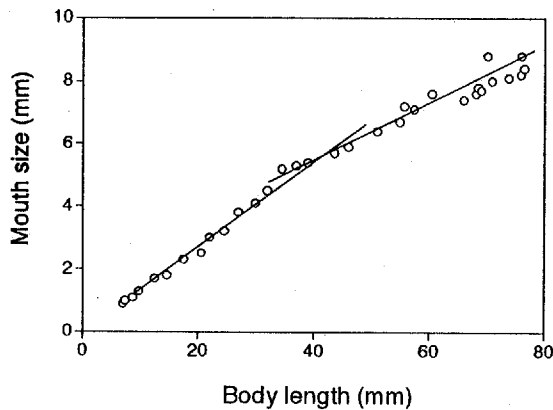


Fig.11. Relationship between body length and mouth size during semi-extensive culture of red sea bream.

高知県栽培漁業センターで半粗放的に中間育成されたマダイの体長と口径の関係をFig. 11に示す。体長 (x) と口径 (y) の関係は体長40mm付近に変曲点が存在し、40mm以下では $y=0.15x-0.30$, $r=0.997$ ($n=16$) の回帰式を示したのに対し、体長40mm以上では $y=0.082x+2.40$, $r=0.993$ ($n=17$) が得られた。

中間育成期における体表に対する鰭の面積の割合は成長に伴い減少したが、体長30mm前後で一定となった。福原 (1976a) によるマダイの鰭の形態形成に関する研究でも鰭の分枝は体長30mmで完了することから、この時期に鰭の形態・機能が新しい段階に達したと考えられる。また、本研究で体長30mmでは白色筋や赤筋の筋繊維の平均長径が一定となることが明らかとなった。筋繊維の形態変化は遊泳様式の変化と密接な関係にあることがニシン (Batty, 1984; 福田, 1990) で報告されているが、この時期のマダイは鰭や筋肉の形態形成が完了する時期であり、遊泳力も大幅に向上すると考えられる。福原 (1984) による粗放的飼育池での種苗の観察結果では、体長30mm前後までは表層と低層を生活水域として利用しているが、30mmを越えると完全に底生生活に移行する等、行動面の変化を伴っている。

さらにマダイの形態変化は体長30mm以降でも認められた。体長35mm前後では消化管長に変曲点を確認されたほか、比内臓重量が安定する時期でもあり、体長40mmでは筋肉比が一定となった。形態的な変化から、体長40mmで形態形成は完了し、ほぼ成魚の形態に類似すると考えられた。これまで述べてきたようにマダイの形態変化は体長30mmから40mmの間に多く、この時期が形態学的な転換期に相当すると考えられる。

天然環境に近い半粗放的飼育条件下で飼育された種苗においても体長40mm付近で口径が変化した。口径の変化は食性の変化に対応している場合が多い (代田, 1970)。事実、天然海域におけるマダイの胃内容物調査によると、体長40mmを境に食性が変化した浮遊性のコペポードからやや大型種のヨコエビ主体食に移行する (今林ら, 1975; 木曾, 1980; 大森, 1980)。天然海域では生活領域が拡大する時期でもあり (山口, 1978; 矢野, 1979)、稚魚から若魚期への移行期に相当すると思われる。

第2節 脂質蓄積と放流サイズ

自然海域に放流されたマダイの放流効果は天然魚との混獲率を中心に追跡されている。これに伴い再捕されたマダイの摂餌生態や形態学的変化に関する知見も集積されつつある。興石・安永(1980)は、放流後のマダイの胃内容物分析調査より放流魚が放流海域の餌料環境に適応するまでには少なくとも7日間を要することを報告している。また、松宮・木曾(1982)による胃内容物組成の調査では、放流魚の摂餌が量的・質的に天然魚と同等になるには7日から10日間を要している。これらの知見は、人工的環境下で飼育された放流魚が、放流後直には自然環境に適応できないことを示唆している。さらには捕食者からの逃避行動、索餌や潮流により放流魚の運動エネルギーは人工飼育条件下よりもはるかに高いと思われ、この間の摂餌不足や運動量増加によるエネルギー消費を放流前の蓄積エネルギーで補う必要がある。放流後の種苗の肥満度(長崎水試, 1979)やC/N比(立石, 1976)、脂質(Nakagawa et al., 1991, Villa-Navarro et al., 1991)が急激に減少することからも、放流後の環境変化が種苗に与える影響の大きさが推察でき、エネルギーの枯渇は放流後の生残に大きな影響をもたらす(Tsukamoto et al., 1989)。故に、放流前のエネルギー蓄積は放流魚の生残を左右する重要な要因であり、放流サイズの指標の一つとなる。本研究では中間育成期のマダイにおける脂質蓄積過程を追跡し、エネルギー蓄積から至適放流サイズについて検討した。

材料および方法

実験I 放流種苗の脂質の存在状態を調べるために、1987年に広島県栽培漁業協会で中間育成された放流直前の日齢95日のマダイを中性ホルマリンで固定し、筋肉・肝臓については凍結切片を作製しSudan IIIならびにヘマトキシリンによる二重染色を施し検鏡した。また、腹腔内の脂肪組織はアルコール系列で脱水後、臨界点乾燥に供し、走査型電子顕微鏡で観察した。

一般成分と脂質成分の分析のための試料は、広島県栽培漁業協会で中間育成中の種苗より孵化後68, 75, 83, 95日目に採集を行った。試料は分析まで -20°C で凍結保存した。筋肉、肝臓、内臓(肝

臓、腎臓および心臓は除く)を摘出し大きさに応じて15~30尾の各組織をプールし分析に供した。筋肉中の水分・灰分は常法により、粗タンパク質はケルダール法で求めた全窒素量に6.25を乗じて算出した。筋肉および肝臓の脂質はBligh and Dyer (1959)らの方法に従いメタノール・クロロホルム混液で抽出し重量法により求めた。腹腔内脂肪組織中の脂質は抽出した内臓にアセトンを加えて24時間放置し、得られたアセトン溶液にn-ヘキサンと蒸留水を加えて脂質をヘキサン層に転溶し、脂質を得た。なお、内臓の脂質含量は内臓重量に対する百分率で示した。

実験II 1989年に広島県栽培漁業協会で中間育成期間中のマダイより、孵化後67, 82, 94日目にサンプリングを行い、これを -20°C で凍結保存し水分含量および脂質クラス組成の分析に供した。各個体の水分含量を求めるため、乾燥器内で 60°C で6時間乾燥、さらに 105°C で16時間乾燥して乾燥重量を求めた。脂質の抽出はBligh and Dyer (1959)に従い、各個体毎の筋肉および肝臓組織0.01~0.05 gにメタノール・クロロホルム混液を加え、小型ガラスホモジナイザーで試料を粉砕して行った。この混液を濾過し、蒸留水を加え遠心分離後、脂質を含む下層のクロロホルム層を取り窒素気流下で溶媒を除去乾固し適量のエーテルを加えた。この様にして得られた脂質試料をヤترون社製クロマトロッドS-IIIに塗布しn-ヘキサン:ジエチルエーテル:酢酸(80:20:1)で展開後、イアトロスキャンTH-10(ヤترون社製)を用いて脂質クラス組成を分析した。また、腹腔内脂質の脂質クラス組成を求めるため、試料にアセトンを加え24時間放置し脂質を抽出した。この混液を濾過し、濾液にヘキサンと蒸留水を加え遠心分離後、脂質を含むヘキサン層を分取しイアトロスキャンで分析した。また、一部の個体については魚体中の水分含量とトリグリセリド(以下TG)組成の比率を求めた。

結果

Fig. 12に放流直前の種苗の筋肉および肝臓をSudan IIIで染色した組織像と、腸管を覆うように

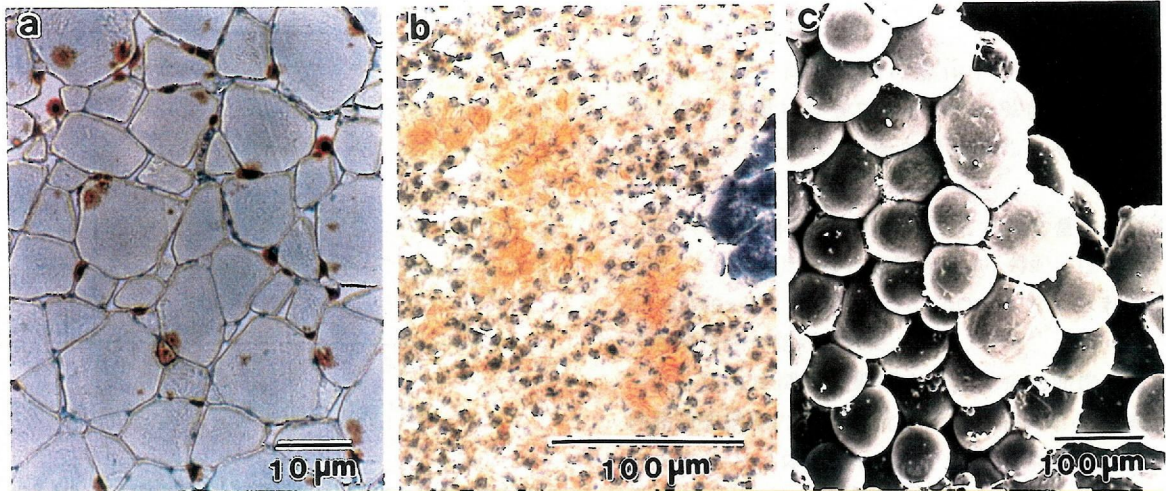


Fig.12. Lipid-depository organs of 95-day old red sea bream. a: Cross section through the white muscle, showing lipid accumulation. Stained with Sudan III. b: Cross section through the hepatopancreas. Stained with Sudan III. c: Scanning electronic microscopic photograph of the intraperitoneal adipose tissue.

Table 1. Proximate composition (%) of red sea bream during secondary rearing

Body length (mm)	27.2±5.4	33.9±5.6	40.8±4.5	53.5±9.5
Days after hatching	68	75	83	95
Muscle				
Moisture	79.3	78.6	77.3	77.3
Ash	1.8	1.6	1.6	1.5
Crude protein	17.5	18.0	19.1	19.2
Lipid	1.4	1.8	2.0	2.0
Hepatopancreas				
Lipid	Nt	7.2	14.1	11.0
Intraperitoneal fat body				
Lipid	5.1	5.3	6.0	7.5

Body lengths are represented as mean and SD. Nt: not determined.

偏在する腹腔内脂肪組織の走査型電子顕微鏡写真を示す。白筋ではSudan IIIによってオレンジ色に染色された脂肪は、筋繊維間の結合組織中に多く検出された(Fig.12a)。さらに肝膵臓中にも脂肪蓄積は認められた(Fig.12b)。また、腸管の脂肪組織では、個々の脂肪細胞がコラーゲン繊維と毛細血管でつながった脂肪細胞の集合体であることがうかがえる(Fig.12c)。したがって、放流マダイ種苗の主な脂肪蓄積部位が、筋肉、肝膵臓、腹腔内の脂肪組織であることが判明した。

中間育成期間中の筋肉中の一般成分および肝膵臓と腹腔内脂肪組織中の脂質含量を Table 1 に示す。筋肉の脂質含量は、平均体長27.2mm (68日齢)の種苗では1.4%で、成長と共に脂質含量は増加し、平均体長40.8mm (83日齢)では2.0%となった。平均体長53.5mm (95日齢、放流直前)の種苗

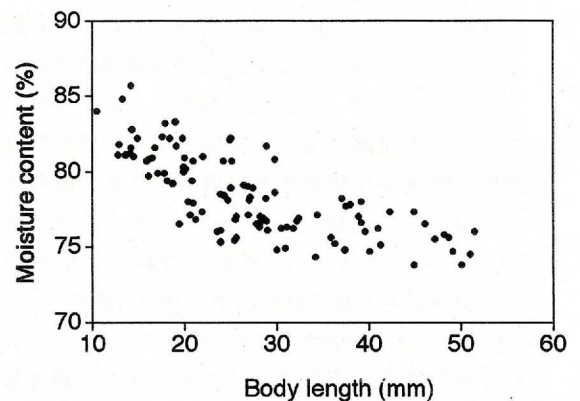


Fig.13. Changes in moisture contents during secondary rearing of red sea bream.

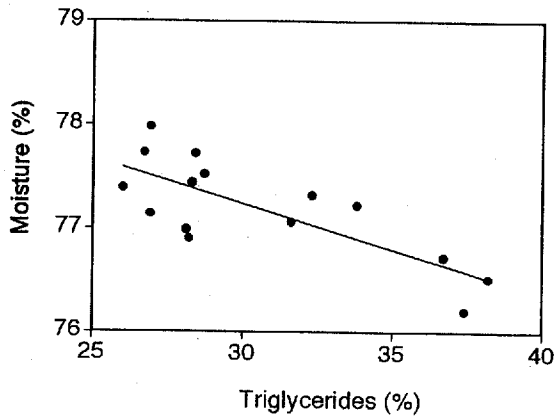


Fig. 14. Relationship between triglyceride contents (percentage among total lipid) and moisture in juvenile red sea bream.

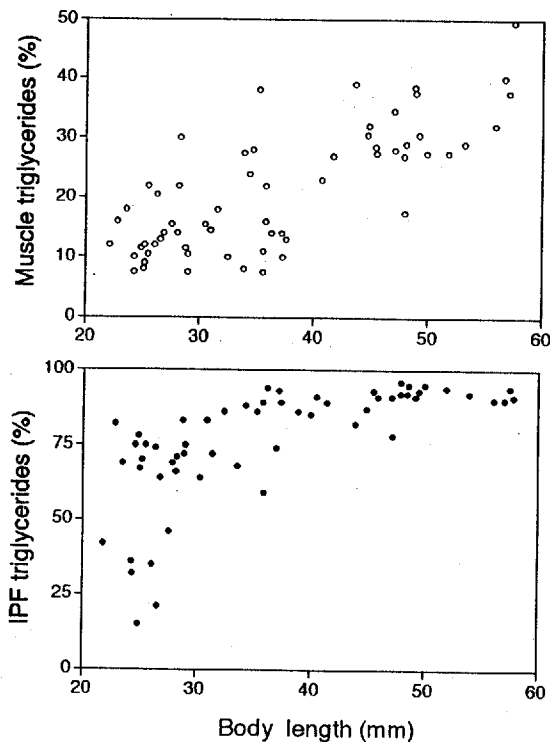


Fig. 15. Changes in triglyceride contents (percentage among total lipid) in the muscle and intraperitoneal fat body (IPF) during secondary rearing of red sea bream.

の脂質含量は2.0%で、体長40mm以降では脂質含量の増加は認められなかった。筋肉中のタンパク質含量も成長と共に増加したが40mmサイズでほとんど一定となり、脂質含量と同様の傾向を示した。一方、肝臓中の脂質含量は測定数は少ないが、概して増減が激しく特に一定の傾向は認められなかった。また、腹腔内脂肪組織の脂質含量は

成長と共に増加した。

Fig. 13に中間育成期の魚体中の水分含量を示す。水分含量は体長20mmでは80%前後であったが、体長35mmでは76%まで減少し、その後一定となった。

Fig. 14に魚体中のTG組成比と水分含量の関係を示す。TG組成比(x)と水分含量(y)の間には $y = -0.089x + 79.857$, $r = 0.761$ ($n = 15$) で示される負の相関関係が認められた。

Fig. 15に中間育成期間中の個体毎の筋肉と腹腔内脂肪組織中のTG組成比を示す。筋肉中のTG組成比をみると、体長40mmまでは15%前後の個体が多く認められたが、体長40mm以上では2倍近い30%程度となり、その後安定した。腹腔内脂肪組織のTG組成は体長20mm頃では50%程度であったが、その後急激に増加し、体長35mm~40mmでは平均約90%に達し、その後一定となった。

考 察

一般に脂質含量と水分含量には負の相関関係が存在する事が知られているが、本研究ではTG組成比と水分含量にも負の相関が認められた。これは体内への脂肪蓄積がTGの形で行われているためであろう。魚体中の水分含量は成長と共に減少したが、体長35mm付近で一定となったことから、TG蓄積もこの付近で一定になるものと考えられる。事実、筋肉中の脂質含量やタンパク質含量や、筋肉や腹腔内脂肪組織のTGの組成比は体長35mmから40mmまでは増加傾向にあったが、それ以降はほぼ一定の値を示した。このような脂質蓄積過程は半粗放的飼育条件下のマダイでも観察されており(海野ら,1989)、体長40mm付近でマダイの脂質蓄積は新たな局面をむかえると考えられる。

マダイにとって体長40mmは、外部ならびに内部形態変化を完了し成魚の形態と類似するようになる時期であり、稚魚から若魚期の転換期に相当すると考えられている(第2章1節)。この時期は、天然海域では食性が変化し(今林ら,1975;大森,1980;木曾,1980)、生活領域を拡大する時期でもある(山口,1978;矢野,1979)。福田(1985)は生活領域を拡大する降海前のサケ稚魚で脂質蓄積が充実することを報告しているが、マダイにおいてもこのような脂質蓄積過程は、生活領域拡大のための備えであると思われる。

本研究では中間育成期のマダイ放流種苗の脂質

蓄積過程を量的側面より検討したが、脂質蓄積を指標とした場合の最小放流サイズは体長40mmと結論できる。これまで放流種苗の至適放流サイズに関する研究は少ないが、福原(1975)は鰭の機能的側面から体長30mmを、高場ら(1978)は定着性より尾叉長50mmを提示している。今後は至適放流サイズを様々な側面より検討し、知見を蓄積し総合的に決定する必要がある。

第3章 脂質蓄積と放流種苗の質

第1節 脂質蓄積と絶食耐性

人工的に飼育された種苗が放流後の天然環境に順応し摂餌できるまでにはかなりの日数を必要とし(興石・安永,1980;松宮・木曾,1982),この間のエネルギーを放流前の貯蔵エネルギーによって補わなければならない(Nakagawa et al., 1991; Villanavarr et al., 1991)。このような観点から,放流種苗のエネルギー蓄積量は放流サイズの決定や種苗の質的基準の一つとなる。第2章では,種苗のエネルギー源として重要な脂質の蓄積過程を調べたが,無給餌生残日数も種苗の質を評価する有効な手段である。しかしながら,放流種苗の無給餌生残日数,いわゆる絶食耐性についての研究例は少ない。本研究では,様々な成長段階における種苗の絶食耐性,絶食に伴う魚体の性状や脂質の変化について分析し,脂質蓄積と種苗性について考察した。

材料および方法

実験 I 1987年に広島県栽培漁業協会で中間育成中の平均体長15.7mm(孵化後54日),27.2mm(孵化後68日),40.8mm(孵化後83日),53.5mm(孵化後95日)の種苗200尾を0.5 tパンライト水槽に収容し,それぞれ10, 16, 21, 22日間無給餌条件においた。死亡個体数の観察は1日3回実施し,死亡個体は適宜取り除いた。絶食試験期間中の水温は19.4~24.9℃で,換水率は0.25t/hであった。また,絶食試験終了時にすべての個体を取りあげて,-20℃で保存し魚体成分の分析に供した。生物学的測定は各群20尾について行い,体重,体長,肝臓重量,内臓重量を測定し,肥満度,比肝重量,比内臓重量を算出した。また,各群20尾をブールし魚体成分の分析に供した。筋肉中の水分含量,灰分は常法により,タンパク質はケルダール法,脂質はメタノール・クロロホルム抽出後(Bligh and Dyer, 1959),重量法により測定した。脂質クラス組成はイアトロスキャンで測定した。

実験 II 1988年に平均体長22.5mm(孵化後60日),32.3mm(孵化後73日),43.9mm(孵化後84日),49.4mm(孵化後90日)の種苗について絶食試験を実施した。絶食試験の種苗収容尾数は各群につき100尾と250尾の2つを設定した。100尾収容水槽は生残率を観察するために用い,250尾収容水槽では絶食に伴う生物学的性状を追跡するため5日毎に10尾から15尾の種苗を無作為抽出し,肥満度,比肝重量,比内臓重量を求めた。

統計学的比較は2群間が等分散の場合には二標本t検定,等分散とみなせない場合にはWelch法により有意差の検定を行った。

結 果

実験 I Fig. 16 に1987年の種苗の絶食条件下での生残率の推移を示す。16mm群では絶食試験開始当初から生残率は急激に低下し12日目での生残率は10%程度であった。絶食耐性は成長と共に向上し,27mm群の17日目での生残率は25%となった。また,40mm群の種苗の21日目における生残率は85%で,54mm群では22日目でも95%以上であった。

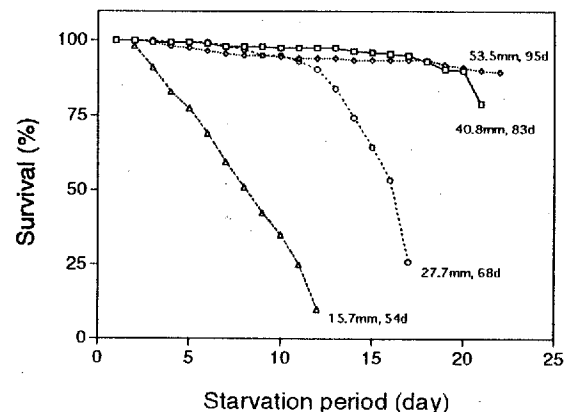


Fig.16. Survival rates of red sea bream at various growth stages during starvation in 1987.

Table 2. Biological characteristics and proximate composition of red sea bream before and after starvation at various growth stages

	Days after hatching					
	68		83		95	
	Before	After 16 days	Before	After 21 days	Before	After 22 days
Body length (mm)	27.2±5.42	30.8±1.57**	40.8±4.56	47.7±3.33***	53.5±4.91	58.9±3.90***
Condition factor	3.39±0.38	2.27±0.33***	3.36±0.44	2.64±0.24***	3.38±0.23	2.84±0.18***
Viscerosomatic index (%)	ND	ND	9.94±0.86	4.15±1.36***	11.9±2.71	4.23±0.65***
Hepatosomatic index (%)	ND	ND	1.35±0.33	0.39±0.21***	1.18±0.46	0.32±0.15***
Proximate composition (%)						
Muscle						
Moisture	79.3	84.5	77.3	83.2	77.3	81.0
Ash	1.8	4.3	1.6	2.2	1.5	1.7
Crude protein	17.5	11.0	19.1	13.8	19.2	16.4
Lipid	1.4	0.2	2.0	0.8	2.0	0.9
Hepatopancreas						
Lipid	ND	ND	14.1	1.8	11.0	3.8
Intraperitoneal fat body						
Lipid	5.1	2.6	6.0	2.9	7.5	3.0

Data are shown as mean and SD (n=20). Significant differences from the value before starvation are shown as follows, **p<0.01, ***p<0.001. ND; not determined.

Table 2 に27mm群, 40mm群, 54mm群をそれぞれ16日(生残率25%), 21日(生残率83%), 22日間(生残率95%)絶食させた場合の魚体成分を示す。絶食条件下でも各群の平均体長は有意に増加したが、肥満度, 比肝重量, 比内臓重量は有意に低下した。筋肉中の一般成分ではタンパク質や脂質が大きく減少した他, 肝臓や腹腔内脂肪組織の脂質含量も大きく減少した。ただし, 生残率が比較的高い時点で絶食試験を中断した54mm群の脂質やタンパク質の減少は他群と比べると小さかった。

Fig. 17 に絶食に伴う27mm群, 40mm群, 54mm

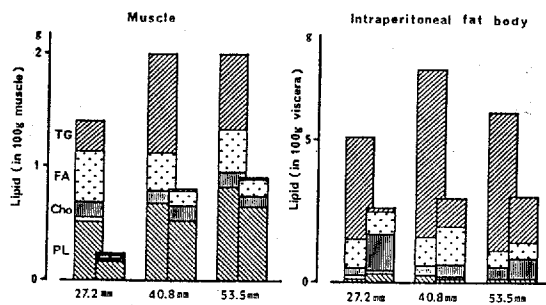


Fig. 17. Influence of starvation in lipid level and lipid class composition of red sea bream at various growth stages. The fish of 27.2, 40.8 and 53.5mm in BL were starved for 16, 21 and 22 days, respectively. Left and right column represent before and after starvation, respectively. TG; triglycerides, FA; free fatty acid, Cho; cholesterol, PL; phospholipid.

群の筋肉と腹腔内脂肪組織中の脂質クラス組成の変化を示す。絶食に伴う各群の筋肉中の脂質クラス組成の変化をみると, いずれの群でもTGがエネルギー源として動員されていたが, 遊離脂肪酸やコレステロールの組成比には大きな変化は認められなかった。また, 絶食が進行し, 生残率の低かった27mm群ではリン脂質も大きく減少した。一方, 腹腔内脂肪組織ではすべての群でTGが減少し, 遊離脂肪酸が増加した。

実験II Fig.18 に平均体長22.5mm(孵化後60日),

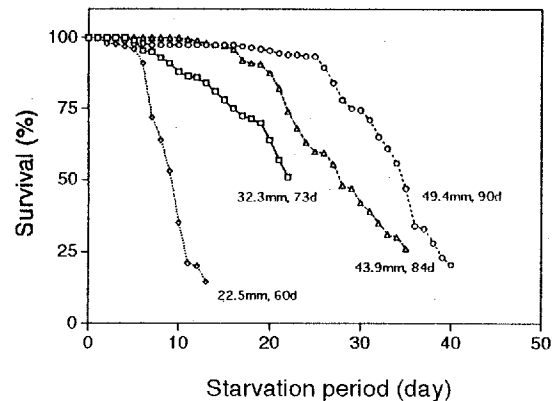


Fig. 18. Survival rates of red sea bream at various growth stages during starvation in 1988.

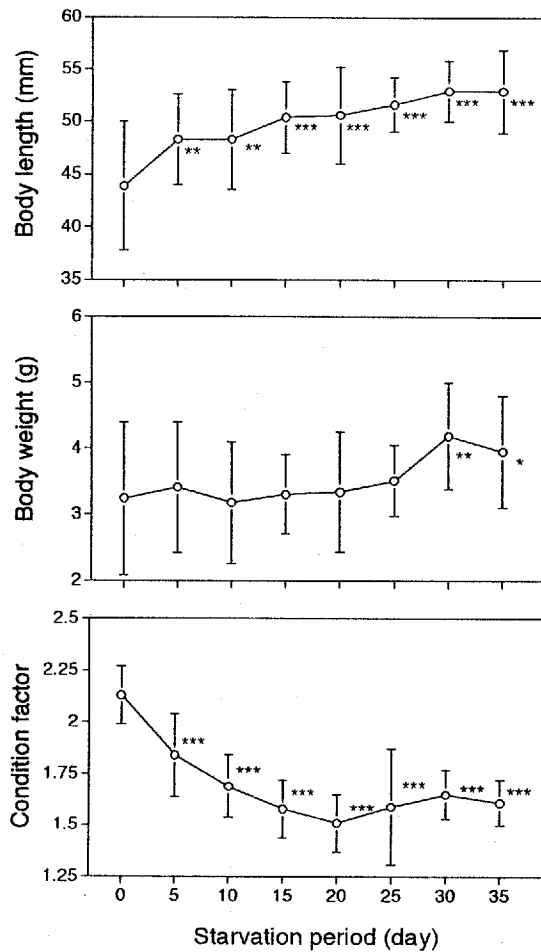


Fig.19. Changes in body length , body weight and condition factor of 43.9mm size fish during starvation. Data are shown in mean±SD (n=10-15). Significant differences against the initial value are shown as follows, ** p<0.01, *** P<0.001.

32.3mm(孵化後73日), 43.9mm(孵化後84日), 49.4mm(孵化後90日)のマダイ稚魚の絶食に伴う生残率の推移を示す。23mm, 32mm, 44mm, 49mm群の半数致死日数はそれぞれ9, 22, 27.8, 34.5日であった。

Fig. 19 に44mm群の絶食に伴う体長, 体重, 肥満度の変化を示し, Fig. 20 に比肝重量, 比内臓重量の推移を示す。体長は絶食条件下でも5日目には有意に増加し(p<0.01), その後も増加傾向を示した。体重には絶食開始当初から25日目までは有意な変化は認められなかったが, 30日目以降に有意に増加した。この時期は44mm群の生残率が急激に減少する時期とほぼ一致している事から, 比較的小型種苗が死亡し, 大型種苗が生残していたためと思われる。肥満度は5日目には有意に減少し, そ

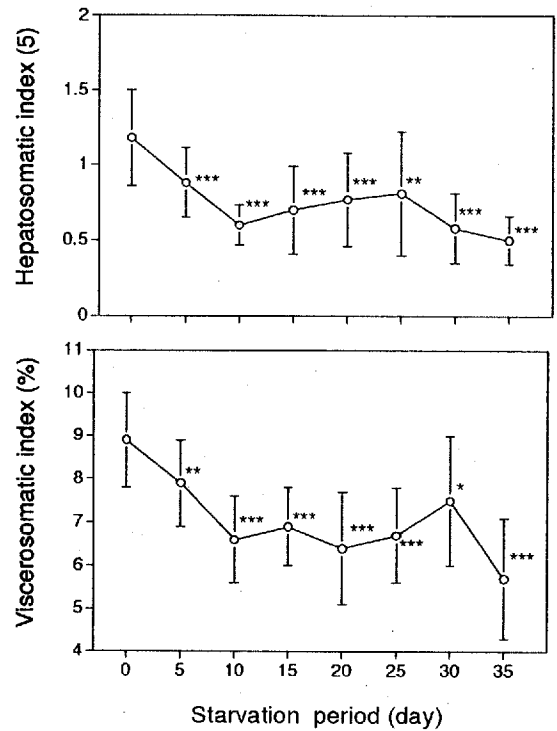


Fig.20. Changes in hepatosomatic index and viscerosomatic index of 43.9mm size during starvation. Data are shown in mean±SD (n=10-15). Significant differences against the initial value are shown as follows, * p<0.05, ** p<0.01, *** P<0.001.

の後も20日目まで減少した。また, 絶食に伴う比肝重量および比内臓重量の推移をみると, 両者とも絶食5日目には有意に低下し, 10日目までは大きく減少したが, その後はほとんど一定となった。

絶食耐性と体長およびTGの関係 1987年と1988年度の種苗の成長履歴や飼育条件はほぼ同様であったため, 1987年度の16mm群と27mm群, 1988年度の23mm, 32mm, 44mm, 49mm群の平均体長と絶食条件下での半数致死日数の関係をFig. 21 に示す。体長(x)と半数致死日数(y)との関係は $y=0.823x-7.041, r=0.984$ となる回帰直線で示された。

絶食開始当初の23mm, 27mm, 32mm, 44mm, 49mm群の魚体重100gあたりに含まれるTG量と半数致死日数との関係をFig. 22 に示す。TG量(x)と半数致死日数(y)の関係は $y=22.117x+1.803, r=0.968$ となる有意な直線回帰で示された。

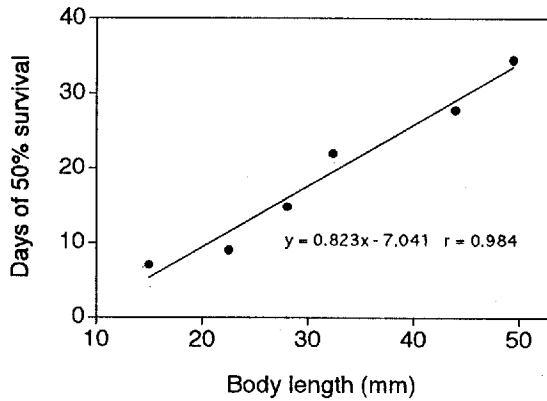


Fig.21. Relationship between body length of red sea bream and days of starvation when survival rate became 50%.

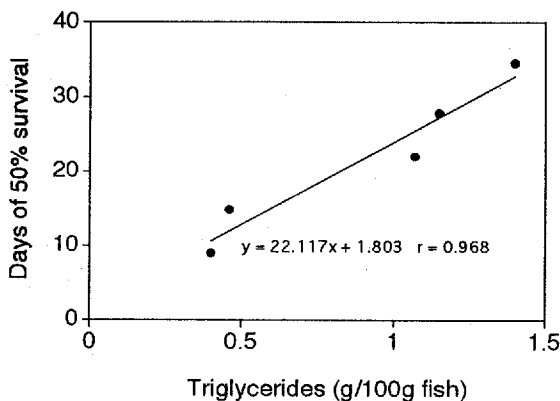


Fig.22. Relationship between triglyceride contents of red sea bream and days of starvation when survival rate became 50%.

考 察

一般に魚類の主要なエネルギー源は脂肪、タンパク質、グリコーゲンであるが、絶食条件下で脂肪は優先的にエネルギーとして利用され、脂肪が消費された後にタンパク質が消費される(Love, 1970)。このような現象は中野・白旗(1988)によってサケ稚魚で報告されており脂質が優先的かつ重要なエネルギー源であることがうかがえる。しかしながら、マダイ40mm群を絶食させた場合、すべての体脂質がエネルギー源としてまだ消費されていないにもかかわらず、体タンパク質の減少が確

認された。したがって絶食時のエネルギー代謝は坂口・浜口(1981)が指摘するように魚種や発育段階によって異なることが予想される。

絶食期間中にマダイ種苗の比肝重量、比内臓重量はいずれも急激に減少したが、これらの現象はマダイ成魚の場合(Nakagawa and Kasahara, 1986)と一致した。絶食中の比肝重量の減少は主にグリコーゲンや脂質がエネルギー源として消費されたこと、また比内臓重量の減少は主に腹腔内脂肪がエネルギーとして消費されたことに起因すると考えられる。種苗が餓死する時期の肥満度は1.7、比肝重量は0.6%、比内臓重量は6%となっており、この時期には肝臓の萎縮による機能低下や筋タンパク質の分解による遊泳力低下等もかなり進行していると思われる。

本研究において種苗の体長と絶食耐性には有意な直線関係が存在することが明らかにされたことから、種苗の大きさからある程度の絶食耐性が推定可能であると思われる。しかしながら塚本(1993)は10mm, 20mm, 40mmサイズのマダイの絶食による半数致死日数はそれぞれ3日, 5日, 10日であると報告しており、本研究結果とは大きく異なる。これは種苗の生産機関が異なる場合では種苗の絶食耐性が体長のみでは推察しがたいことを示唆している。一方、種苗のTG蓄積量と絶食耐性の間に有意な相関関係が認められた。これは成長と共に増加したTGが絶食条件下で選択的に消費されたためと考えられる。中野(未発表)は各生産機関の種苗の魚体成分を分析し、放流種苗のエネルギー蓄積が生産機関によって大きく異なることを指摘しているが、上述した生産機関による絶食耐性の差異は、種苗のTG蓄積量の差異に起因していると思われる。

マダイ放流種苗の質的評価法として、ハンドリングによる回復力(北島ら, 1979)、麻酔および乾出に対する抵抗力(丸山ら, 1986)、核酸比(中野・白旗, 1988)、横臥行動(塚本, 1990, 1993; 内田ら, 1993)等が提唱されている。本研究において種苗のTG蓄積は絶食耐性の目安となることから放流種苗の質的指標の一つと考えられる。

第2節 魚体成分に及ぼす給餌率の影響

摂餌によって獲得されたエネルギーの一部は、生命を維持し成長を支えるための代謝活動に消費されるほか、体重増加分として体内に蓄積される。故に脂質をはじめとする体内へのエネルギー蓄積は摂取エネルギーや成長とのバランスによって規定されると考えられる。事実、摂取エネルギーの差異は成長や魚体成分に影響を及ぼすことが、ベニザケ (Brett et al., 1969)、ニジマス (Elliott, 1976)、スズキ (Hung et al., 1993) 等の魚種で知られている。

一方、マダイ放流種苗の生残は放流前の飼育方法によって大きく左右されることが津村・山本 (1993) によって報告されている。飼育環境が種苗に及ぼす影響についての研究は重要と考えられるが、飼育密度が体成分に及ぼす影響についての研究 (津村・山本, 1993) がわずかにある程度である。

本研究では、給餌量が種苗の脂質蓄積状態や外部および内部形態に及ぼす影響について分析すると共に、摂餌量と成長や脂質蓄積との関係について検討した。

材料および方法

供試魚 広島県栽培漁業協会の網生け簀で中間育成中の平均体重0.69g (体長27.6mm, 64日齢) のマダイ種苗を実験に供した。0.5tバンライト水槽3基に種苗各200尾ずつを分養し、一日に全魚体重あたり6% (飽食相当量, 6%給餌区), 3% (3%給餌区), 1% (1%給餌区) の配合飼料 (初期飼料協和C-2000, 粒径2000 μ m), 協和発酵工業株式会社) を投与した。給餌は6%および3%給餌区は1日3回に分けて、1%給餌区は1日1回とした。飼育期間は42日間で、7日毎に各試験区より任意に30尾ずつとりあげ、得られた平均体重と生残尾数から給餌率を補正した。飼育期間中の水温は21.5~25.9 $^{\circ}$ Cで、換水率は0.25l/hとした。

生物学的性状 試験終了時に各区より60尾を任意抽出し、直ちに10%中性ホルマリンで固定し生物学的測定のための試料とした。測定項目は体重、体長、体高、筋肉重量、肝臓重量、内臓重量、腹腔内脂肪組織重量、腸管長で、肥満度、筋肉比

(%), 体高比 = (体高/体長) \times 10, 腹腔内脂肪組織比 (%) = (腹腔内脂肪組織重量/体重) \times 100, 比腸管長 = 腸管長/体長を算出した。

魚体成分分析 試験終了時に任意抽出した各区25尾を-20 $^{\circ}$ Cで凍結保存し、魚体成分の分析に供した。なお、分析は5尾分の各組織をプールして1回分とし、各区で計5回 (25尾) 測定した。筋肉中の水分・灰分は常法に従い、粗タンパク質量はケルダール法で、脂質はメタノール・クロロホルム混液で抽出し、重量法で脂質含量を分析した。また、脂質については脂質クラス組成をイアトロスキヤンで分析し、各区25尾より抽出した脂質をプールし脂肪酸組成の分析に供した。脂肪酸組成の分析は、調製用TLCプレートでTGとリン脂質に分画し、脂肪酸メチルエステルをUnisol 3000 (ガスクロ工業) を充填した2mのカラムを装着したガスクロマトグラフ (日立263-30) で分析した。なお脂肪酸の同定には標品 (西尾工業社製) との比較および各成分の相対保持時間の対数値と炭素数との直線関係を用いた。

絶食試験 試験終了時に6%給餌区と3%給餌区の稚魚80尾について絶食試験を行った。絶食試験中の水温は24.2~25.5 $^{\circ}$ Cで換水率は0.1l/hとした。なお、1%給餌区については死亡率が高く十分な数の魚が得られなかったため絶食試験は実施しなかった。

統計処理 生物学的性状と体成分について統計学的比較を行った。実験開始当初と試験終了時の2群間の比較には、両者の間で等分散の検定を行い、等分散の場合には二標本t検定、等分散とみなせない場合にはWelch法により有意差の検定を行った。また、試験終了時の3つの試験区の比較はFisher's PLSD法により危険率5%水準で有意差の検定を行った。また、回帰係数の差の検定は共分散分析法で行った。

結 果

飼育結果と生物学的性状をTable 3に示す。試験終了時の各区の成長率は給餌率の低下と共に低下

Table 3. Biological characteristics of young red sea bream reared with different ration size

	Initial (n=30)	After feeding		
		6%BW/day (n=60)	3%BW/day (n=59)	1%BW/day (n=50)
Body length (mm)	27.6±2.87	53.7±6.46	47.8±5.01	38.9±4.25
Body weight (g)	0.69±0.21	5.40±1.73	3.58±1.24	1.76±0.58
Growth rate (%/day)	—	1.58	1.31	0.82
Survival (%)	—	78.5	77.5	38.0
Condition factor	1.87±0.10	2.10±0.16a*	1.98±0.13b	1.76±0.10c*
Muscle ratio (%)	19.5±3.0	38.0±2.4a*	33.5±2.8b*	30.7±3.8c*
Hepatosomatic index (%)	2.01±0.56	1.80±0.37a*	1.64±0.35b*	1.10±0.36c*
Viscerosomatic index (%)	10.32±1.72	9.62±1.27a	8.63±1.19b*	8.20±1.26b*
IPF ratio (%)	ND	0.88±0.50a	0.23±0.24b	Tr
Body depth ratio	4.20±0.15	4.24±0.16a	4.07±0.13b*	3.96±0.12c*
Relative intestinal length	0.61±0.09	0.71±0.08a*	0.55±0.07b	0.57±0.07b

Values are shown as mean and SD. Values with different letters (a, b and c) have significant differences ($p < 0.05$) among 3 ration groups. Values with asterisk (*) have significant differences ($p < 0.05$) when compared with initial values. IPF; intraperitoneal fat body, ND; not determined, Tr; trace.

した。生残率は6%給餌区と3%給餌区の間で差異は認められなかったが、1%給餌区は生残率は38%と極端に低い値となった。生物学的性状を試験開始時と試験終了時との間で比べてみると、6%給餌区の肥満度は試験開始時より有意に増加したが、3%区では変化なく、1%給餌区では有意に減少した。また、各試験区の筋肉比は開始時より有意に上昇したが、上昇の程度は6%給餌区、3%給餌区、次いで1%給餌区の順で顕著であった。さらに6%給餌区の比内臓重量と比体高は試験開始時と差はなかったが、3%および1%給餌区は有意に低下した。比腸管長では6%給餌区で増加し、制限給餌した2つの区では変化は認められなかった。

試験終了時の生物学的性状を各区で比較すると、給餌量の違いにより有意差が生じたのは、肥満度、筋肉比、比肝重量、腹腔内脂肪組織比、比体高で、比内臓重量や比腸管長についても6%給餌区と2つの制限給餌区の間で有意な差異が認められた。

Fig.23 に各区の体長と体高の関係並びに体長と腸管長の関係を図示した。各区の体長(x)と体高(y)の関係は各区で以下のように高い相関関係を持つ直線式で示された。

6%給餌区; $y = 0.368x + 2.097$, $r = 0.961$ (n=60)

3%給餌区; $y = 0.429x - 1.036$, $r = 0.960$ (n=59)

1%給餌区; $y = 0.393x + 0.130$, $r = 0.966$ (n=50)

これらの回帰係数を統計学的に比較すると、傾きでは6%給餌区と3%給餌区の間、Y軸切片では6

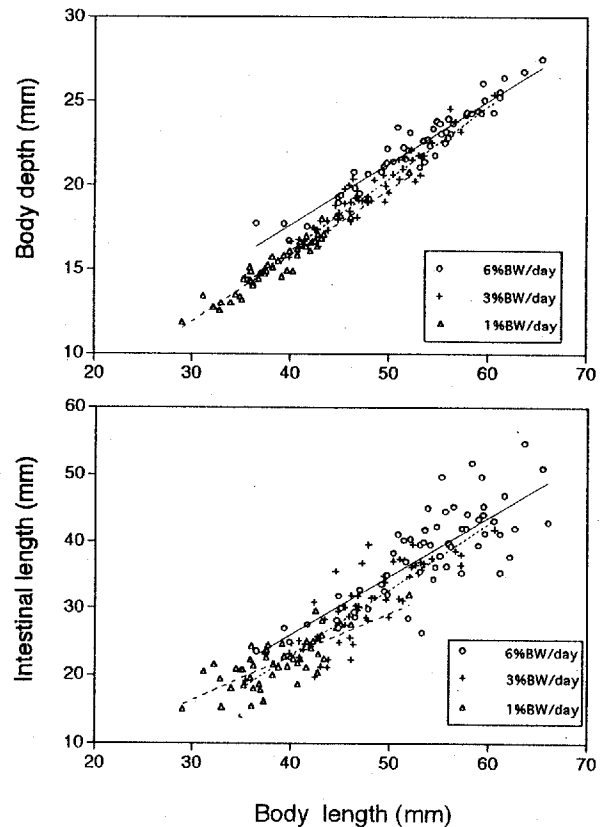


Fig.23. Relationship between body length and body depth, body length and intestinal length of red sea bream reared with different ration size.

%給餌区と制限給餌区の間で有意差 ($p < 0.01$) が認められた。

また、体長(x)と腸管長(y)の関係は以下のような

直線回帰式で示された(Fig.24)。

6%給餌区; $y=0.988x-16.526$, $r=0.845$ ($n=60$)

3%給餌区; $y=0.882x-9.309$, $r=0.801$ ($n=59$)

1%給餌区; $y=0.643x-2.886$, $r=0.760$ ($n=50$)

これらの回帰係数を各区の間で比較すると、直線

の傾きおよび y 切片ともに各区の間で有意差 ($p < 0.01$) が認められた。

飼育試験終了時の魚体の一般成分をTable 4 に示す。各試験区の試験当初と試験終了時の魚体成分を比較してみると、筋肉タンパク質含量は6%給餌

Table 4. Effect of ration size on proximate composition and triglyceride contents of young red sea bream

	Initial	After feeding		
		6%BW/day	3%BW/day	1%BW/day
Muscle				
Moisture (%)	78.7±2.0	76.9±2.1a	78.8±2.1a	83.0±2.3b*
Ash (%)	1.9±0.2	1.6±0.1a*	1.8±0.2a	2.0±0.1c*
Crude protein (%)	18.1±0.5	20.3±0.5a*	18.8±0.6b	14.8±1.3c*
Lipid (%)	1.2±0.3	1.2±0.3a	0.6±0.3b*	0.4±0.4b*
Triglyceride (mg/g)	0.96±0.4	4.54±1.6a*	0.52±0.8b	0.14±0.2c*
Hepatopancreas				
Lipid (%)	9.9±3.1	11.1±2.4a	9.0±2.8a	3.0±2.4b*
Triglycerides (mg/g)	55.9±9.7	70.2±10.3a*	40.9±12.5b	1.9±3.1c*
Intraperitoneal fat body				
Lipid (%)	9.1±1.6	10.1±1.1a	7.5±2.1b	2.0±1.9c*
Triglycerides (mg/g)	54.7±9.8	89.8±15.3a*	34.4±16.3b	3.6±4.8c*

Values are shown as mean and SD ($n=5$). Values with different letters (a, b and c) have significant differences ($p < 0.05$) among 3 ration groups. Values with asterisk (*) have significant differences ($p < 0.05$) when compared with initial values.

Table 5. Fatty acid composition in the experimental diet and muscle triglycerides of red sea bream reared with different ration size

	Diet	Initial	After feeding		
			6%BW/day	3%BW/day	1%BW/day
14 : 0	4.3	3.7	4	4.5	5.5
16 : 0	19.3	24.1	21.8	26.2	27.0
18 : 0	5.2	8.5	8.9	8.3	8.7
22 : 0	1.7	1.3	0.7	1.3	4.0
Σ Saturates	30.5	37.6	35.3	40.4	45.2
16 : 1	5.0	5.6	4.5	5.6	6.2
18 : 1	18.9	24.5	24.9	23.2	24.7
20 : 1	4.7	9.3	7.1	6.2	5.8
22 : 1	4.1	7.2	4.5	4.4	3.4
Σ Monoenes	32.7	46.6	41.0	39.4	40.1
16 : 2	0.7	Tr	Tr	Tr	0.6
18 : 2	10.5	5.5	10.3	9.2	8.5
16 : 3	Tr	1.1	0.7	0.9	Tr
18 : 3	3.4	0.7	0.9	0.9	0.9
20 : 3	Tr	0.6	0.5	0.6	Tr
16 : 4	Tr	0.9	Tr	Tr	Tr
20 : 5	11.0	1.8	3.3	2.5	1.3
22 : 5	1.3	0.6	0.8	0.7	0.7
22 : 6	9.1	4.6	7.2	5.0	2.8
Σ Polyenes	36.8	15.8	23.7	19.8	14.7

Tr; trace.

Table 6. Fatty acid composition in muscle phospholipids of young red sea bream reared with different ration size

	Initial	After feeding		
		6%BW/day	3%BW/day	1%BW/day
14 : 0	2.1	2.2	2.4	2.2
16 : 0	19.0	17.0	18.6	17.4
18 : 0	6.1	6.0	6.5	6.6
22 : 0	1.7	0.7	1.3	1.6
Σ Saturates	28.9	25.9	28.8	27.8
16 : 1	4.8	4.2	4.7	4.3
18 : 1	17.2	18.4	18.0	18.6
20 : 1	5.0	3.2	3.6	3.1
22 : 1	1.9	0.8	1.2	0.9
Σ Monoenes	28.9	26.6	27.5	26.9
18 : 2	4.5	9.8	9.1	10.5
20 : 2	Tr	0.6	0.6	Tr
16 : 3	0.6	0.8	0.7	Tr
18 : 3	Tr	0.8	0.6	0.9
20 : 3	1.4	2.1	1.8	2.3
20 : 5	8.6	8.5	5.2	6.1
22 : 5	2.6	2.7	2.0	1.3
22 : 6	24.5	22.2	23.7	24.2
Σ Polyenes	42.2	47.5	43.7	45.3

Tr, trace.

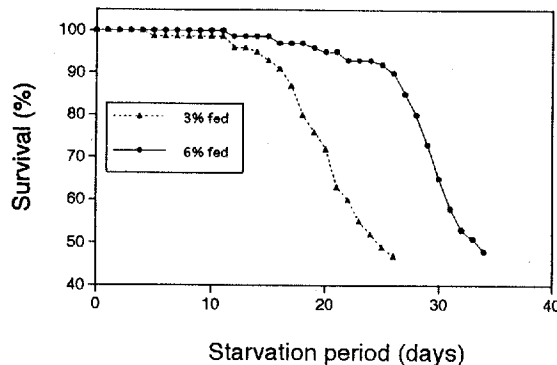


Fig.24. Starvation tolerance of young red sea bream reared with different ration size.

区で有意に増加し、3%給餌区では変化なく、1%給餌区では有意に減少した。同様の傾向は筋肉、肝臓および腹腔内脂肪組織中のTGで認められた。また、試験終了時のこれらの成分は、各区の間で有意差が認められた。

Table 5 に飼料ならびに試験開始当初と試験終了時の各区の筋肉中のTGの脂肪酸組成を示し、Table 6 にリン脂質の脂肪酸組成を示す。筋肉中の

TGの脂肪酸組成では、各区の間でモノエン酸の組成には差異は認められなかったが、C20:5 C22:6等のポリエン酸の比率は給餌率が高くなるにつれて高くなった。これに対して各区の筋肉中のリン脂質の脂肪酸組成には、給餌率の違いによる影響は認められなかった。以上の傾向は腹腔内脂肪組織でも認められた。

Fig.24 に6%給餌区および3%給餌区の絶食条件下での生残率を示した。生残率が50%に低下する日数は6%給餌区で約33日、3%給餌区で24日であった。

考 察

マダイ種苗を魚体重当たり1%の給餌率で飼育した場合、タンパク質や脂質含量は試験開始当初に比べ顕著に低下した。このような給餌条件下では、飼料中の脂質やタンパク質は基礎代謝のために消費されたと思われる。奥石・安永(1980)はマダイ稚魚の体重維持摂餌量が1.26%であったと報告しているが、本研究では1%の給餌率でも体重は2.5倍も増加している。これは配合飼料の質的差

異や比較的大型の種苗が生残したためと思われる。

3%給餌区の場合、筋肉タンパク質含量は試験開始当初より減少したものの、脂質やTG等の成分は比較的維持されたことから推察すれば、この3%の給餌率は生命維持のための代謝エネルギー要求量をほぼ満たしていると思われる。

本研究においてそれぞれの給餌区の体長と体高の間に直線関係が存在したが、これらの相関関係を統計的に比較した結果、各給餌区の間で有意差が認められた。また、3%給餌区や1%給餌区の筋肉比が6%給餌区に比べて明らかに低くなった。これは制限給餌によって骨格筋の形成が停滞したため、その影響が筋肉比や体高に反映されたと考えられる。また、内臓重量や腸管長にも給餌率の影響が認められたが、これは筋肉と同様に制限給餌によって消化管の発達が停滞したためと考えられる。

6%給餌区と3%給餌区の絶食条件下での50%生残

日数はそれぞれ33日、24日で、明らかに3%給餌区の絶食耐性が低いと言える。また広島県栽培漁業協会で中間育成された平均体長43mmの種苗の絶食耐性は30日であり(第3章1節)、3%給餌区の稚魚の絶食耐性は、中間育成中の同サイズの種苗と比較しても明らかに低いと言えよう。この3%給餌区の低い絶食耐性は前節で示したようにTG蓄積の低さに起因しているものと考えられる。

制限給餌が筋肉脂質の脂肪酸組成に及ぼす影響をみると、リン脂質の脂肪酸は給餌率の影響を受けなかったが、TGの脂肪酸組成ではC20:5 C22:6等の高度不飽和脂肪酸の比率が給餌率の減少にしたがって減少した。一般にこれらの脂肪酸はマグイをはじめとする海産魚の必須脂肪酸で、特に細胞膜の構成成分である。とりわけ制限給餌ではこれら外因性の必須脂肪酸の摂取量は減少し、しかもリン脂質に優先的に取り込まれたため、上述のような脂肪酸組成を示したと考えられる。

第4章 脂質蓄積と成長変異

第1節 成長と魚体成分

天然海域のマダイ仔稚魚の成長変異は人工的に飼育されたマダイよりも小さい事が知られている(田中, 1982, 1993)。天然海域では成長の停滞した稚魚は捕食等にさらされやすく減耗の対象となり, 結果的に成長はかなりそろふことになる(福原, 1986; Houde, 1987)。一方, 集約的飼育では高い生残率を得ることを目的とするため天然環境に比べて非常に高い餌料密度が維持され, 食害, 飢餓, 化学的環境要因の変動等の種苗の生残を脅かす条件は回避される。魚類の卵径や孵化仔魚の大きさにはある程度の個体変異が存在するが, 種苗生産の様態に保護された条件では, こうした変異が飼育経過と共に拡大される(山岸, 1964; Yamagishi, 1969)。

同一日齢で魚体サイズの異なる放流マダイの魚体成分を比較した場合, 小型種苗のエネルギーとしての脂質蓄積状態は大型種苗より劣る(Umino et al., 1991, 1992)。しかしながら, これらの研究では分析に供した種苗の日齢が同じであっても魚体サイズが異なるため, 発育段階の差異が脂質蓄積に影響した可能性がある。

本研究では, 成長率の異なる種苗間での魚体成分を明らかにするために, 実験Ⅰでは同一のロット内で成長率の異なる種苗を用い, それらが40mmサイズになった時点で脂質蓄積を含めた魚体成分を分析した。さらに実験Ⅱでは, 大きさの異なる種苗が共存した場合の摂餌量について検討した。

材料および方法

実験Ⅰ. 成長率と魚体成分

供試魚 1990年に広島県栽培漁業協会で生産されたマダイ稚魚を, 広島県水産試験場で中間育成した。中間育成は海上の網生け簀(5×5×5m)に約2万尾の稚魚を収容し, オキアミとイカナゴの練り餌と配合飼料を一日6回投与した。孵化73日経過した時点で中間育成中の網生け簀より約1000尾の稚

魚を無作為抽出し, さらに2×2×2mの網生け簀で配合飼料を1日3回投与し育成した。この飼育群が孵化73, 89, 96および111日, 平均体長33.8±1.4, 41.3±1.9, 45.5±1.4, 52.9±1.7 mm (n=30)となった時点で, 大きさが同じになるように体長約42.2±1.5, 42.0±1.2, 42.9±1.3, 43.2±1.2mmの種苗各10尾を選別し, 以下の魚体成分分析に供した。なお, 飼育水温は22.6~25.3℃であった。

魚体成分分析 体長, 体重, 肝臓重量, 内臓重量および筋肉重量を測定し, 生物学的性状として肥満度, 比肝重量, 比内臓重量, 筋肉比を算出した。

筋肉および腹腔内脂肪組織の脂質含量はメタノール・クロロホルム混液で脂質を抽出後(Bligh and Dyer, 1959), 重量法によって求めた。脂質クラス組成はイアトロスキャンを用いて測定し, TGを組織あたりの含量で示した。筋肉中のタンパク質量はLowry法(Lowry et al., 1951)で, 核酸含量は中野(1988)の方法に従った。酸性フォスファターゼ(以下ACPase: EC 3.1.3.1)の活性は筋肉ホモジネートに酢酸緩衝液(pH2.8)を加えホモジナイズし, 遠心分離後の上清を粗酵素液とした。基質としてp-Nitrophenyl phosphateを加え25℃で30分反応させ, 遊離したP-Nitrophenol量を測定し, 組織中のタンパク質当たりの比活性で示した。統計学的比較にはFisher's PLSD法により危険率1%水準で有意差の検定を行った。

実験Ⅱ. 魚体サイズと摂餌量

摂餌実験 1991年に広島県栽培漁業協会で中間育成された種苗200尾を2基の屋外1tパンライト水槽に収容し, 配合飼料を1日3回飽食投与した。孵化後110日経過した時点で以下の実験に供した。

1tパンライト水槽2基に平均体長73.7±0.77mm (n=100)の種苗を200尾ずつ収容した。個体の摂餌量はTalbot and Higgins(1983)の方法に従い, 一定

量の鉄粉を飼料中に混入させ魚に投与後、X線投影して胃内容物中の鉄粉量から摂餌量を推定した。試験用飼料の調製は、あらかじめ粒径をそろえておいた鉄粉(300~900 μ m)を飼料に対し5%の割合で混合した。さらに飼料に適当量の水を加えて造粒機で粒径5mmの円柱状のモイストベレットを作製した。

一方の水槽では上記の試験飼料を飽食相当量給餌し(飽食給餌区)、他方には飽食量の50%に相当する試験飼料を投与した(制限給餌区)。試験飼料を投与した1時間後にすべての稚魚をとりあげ、1%フェノキシエタノールで麻酔し、体重、体長を測定後、飽食給餌区では平均体長80.9 \pm 3.8mmの

大型種苗と平均体長62.6 \pm 5.1mmの小型種苗、制限給餌区では平均体長85.5 \pm 2.4mmの大型種苗と平均体長61.6 \pm 3.5mmの小型種苗をそれぞれ15尾ずつについて、ソフテックス(ソフテックス株式会社, CMB-2)を用いて軟X線投影した。

結 果

成長率と魚体成分 成長率の異なるマダイ稚魚の生物学的性状をTable 7に示す。肥満度は成長良好群、通常成長群、成長不良群の間で有意な差異が認められた。このような傾向は筋肉比においても

Table 7. Comparison of biological characteristics of young red sea bream having different growth rate

	Precocious		Moderate		Runt
	42.2 \pm 1.49 (n=10)	42.0 \pm 1.24 (n=10)	42.9 \pm 1.29 (n=10)	43.2 \pm 1.24 (n=10)	
Body length of sample (mm)					
Sampling date	Jul.21	Aug.4	Aug.17	Aug.31	
Days after hatching	73	87	96	111	
Daily growth rate(mm)	0.58	0.48	0.46	0.39	
Average body length of sampling lot (mm)	33.8 \pm 1.37 (n=30)	41.3 \pm 1.89 (n=30)	45.5 \pm 1.38 (n=30)	52.9 \pm 1.65 (n=30)	
Condition factor	3.54 \pm 0.22a (n=10)	3.25 \pm 0.16b (n=10)	3.36 \pm 0.44b (n=10)	3.12 \pm 0.70c (n=10)	
Viscerosomatic index (%)	10.2 \pm 0.79a (n=10)	10.3 \pm 0.88a (n=10)	10.3 \pm 0.57a (n=10)	8.79 \pm 0.70b (n=10)	
Hepatosomatic index (%)	1.50 \pm 0.14a (n=10)	1.23 \pm 0.20b (n=10)	1.77 \pm 0.42ab (n=10)	1.51 \pm 0.31ab (n=10)	
Muscle ratio (%)	36.0 \pm 1.2a (n=10)	31.5 \pm 1.4b (n=10)	31.8 \pm 2.5b (n=10)	28.7 \pm 2.9c (n=10)	

Data are shown as mean and SD. Values on the same line followed by different letters are significantly different at $p < 0.01$ level.

Table 8. Comparison of total lipid and triglyceride contents of young red sea bream having different growth rate

	Precocious		Moderate		Runt
	0.58	0.48	0.46	0.39	
Daily growth rate (mm/day)					
Muscle					
Lipid (%)	1.79 \pm 0.29a	2.17 \pm 0.51a	1.87 \pm 0.18a	1.24 \pm 0.33b	
Triglycerides (mg/g tissue)	2.2 \pm 0.9a	2.2 \pm 1.3a	2.9 \pm 1.1a	1.0 \pm 1.0b	
Intraperitoneal fat body					
Lipid (%)	11.72 \pm 2.42a	9.28 \pm 1.56ab	9.83 \pm 2.79ab	6.78 \pm 4.62b	
Triglycerides (mg/g tissue)	9.3 \pm 2.9a	8.0 \pm 1.2a	8.2 \pm 3.1a	4.1 \pm 3.7b	

Data are shown as mean and SD (n=10). Values on the same line followed by different letters are significantly different at $p < 0.01$ level.

Table 9. Comparison in protein, nucleic acid and acid phosphatase (ACP) activity of young red sea bream having different growth rates

Daily growth rate (mm/day)	Precocious		Moderate		Runt
	0.58		0.48	0.46	0.39
Protein (mg/100mg tissue)	18.2±0.77a		16.7±0.73ab	16.4±0.69ab	15.8±1.40c
RNA (μg/100mg tissue)	77.6±6.35a		84.3±7.56a	68.2±2.59a	58.8±10.5b
DNA (μg/100mg tissue)	14.5±0.64		15.0±0.62	12.9±0.75	14.3±2.26
Protein/DNA	1.25±0.08a		1.11±0.02b	1.27±0.05a	1.00±0.06c
RNA/DNA	5.36±0.61a		5.63±0.55a	5.31±0.17a	4.25±1.12b
ACPase (unit/min/mg.protein)	1.06±0.17a		0.72±0.17a	3.16±0.43b	5.34±0.99c

Data are showed as mean and SD (n=10). Values on the same line followed by different letters are significantly different at p<0.01 level.

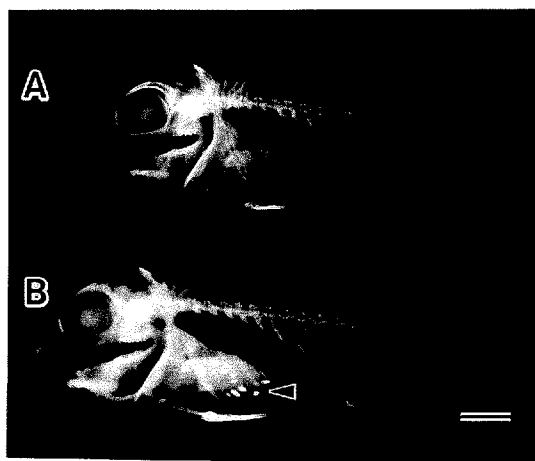


Fig.25. Radiograph of young red sea bream. Unfed (A, upper) and fed fish (B, lower), showing some iron particles in the stomach (arrow head). Scale bar=10mm

認められ、成長の良い種苗で比率が高くなった。また、比内臓重量は成長不良群が有意に低い値を示した。

Table 8 に成長率の異なる群の筋肉および腹腔内脂肪組織における脂質含量と組織当たりのTG含量を示す。成長不良群の筋肉中の総脂質およびTG含量は他群に比べて有意に低くなった。また腹腔内脂肪組織中の総脂質含量は成長良好群と成長不良

群で有意差がみられた。

Table 9 に筋肉中のタンパク質含量および核酸含量を示す。筋肉中のタンパク質含量は成長率の低下に伴い低くなり、成長良好群と成長不良群の間に有意な差異がみられた。DNA含量は各群の間ではほとんど一定であったが、RNA含量は成長不良群が有意に低くなった。その結果、成長不良群のRNA/DNA比は他群に比べて有意に低くなった。また、ACPase活性は、成長の劣った群で比活性が高くなった。

魚体サイズと摂餌率 Fig. 25 に鉄粉を含んだ試験飼料を摂餌した個体と空胃個体の軟X線写真を示す。上が空胃個体、下が摂餌個体の投影像であるが、摂餌した個体では胃の中に鉄分影が映し出された。なお、試験飼料重量(x)と鉄粉数(y)との関係は、 $y=157.43x-4.40$, $r=0.994$ (n=15) で示されたが、この回帰式を基に稚魚のX線で投射された鉄粉数より、摂餌率(%)=(摂餌量/魚体重)×100を推定した。

Table 10 に飽食給餌区と飽食量の50%に相当する試験飼料を投与した制限給餌区の大型種苗と小型種苗の摂餌率を示す。飽食給餌の場合、大型種

Table 10. Feeding rate under the coexistence of large and small sized red sea bream in satiation and restricted food supply

	Satiation		Restricted(1/2satiation)	
	Large (n=15)	Small (n=15)	Large (n=15)	Small (n=15)
Body length (mm)	8.09±0.38	6.26±0.51	8.55±0.24	6.16±0.35
Feeding rate (%)	2.57±1.04	2.69±0.66	1.36±0.52	1.02±0.74

苗の摂餌量は2.6%で、小型種苗では2.7%となり、両者の摂餌率に差異は認められなかった。一方、制限給餌の場合では、大型種苗の摂餌率は1.4%であったが小型種苗では空胃個体もみられ摂餌率は1.0%となった。

考 察

本研究では、概して成長の停滞した種苗ほど脂質やTG蓄積の低い事が判明した。第3章2節では給餌量と魚体成分との関係を調べたが、成長不良群でみられた成長の停滞と脂質蓄積の低下は、種苗を制限給餌飼育した場合と同様の現象である。事実、制限給餌による摂餌実験では小型種苗の摂餌率は大型種苗より明らかに低いことから、実際の種苗生産時でも体のサイズは種苗の摂餌量に依存していると思われる。

本研究で認められた様にサイズの異なる魚が共存した場合の小型個体の摂餌率の低下はメダカ (Magnuson, 1962), グッピー (名越, 1967), ナマズ (Randolph and Clemens, 1976), ニジマス (Yamagishi, 1962) で報告されている。これは、魚体の大きさによる社会的順位(以下サイズ階級: size-hierarchy, Brown, 1946)が形成されるため、飼育密度の上昇や給餌量の低下によって拡大され (Abbott and Dill, 1988), 小型種苗の成長停滞の主要因と考えられている。

一方、種苗生産過程で生じた小型個体のタンパク質同化能は、明らかに大型種苗や通常の成長を示した種苗より劣り、逆に細胞内分解の指標とさ

れるACPaseの活性は明らかに高いことからタンパク質の分解速度が比較的高いと考えられる。Jobling (1994) はタンパク質の合成能と分解能とのバランスが成長に関与している事を指摘しており、特に成長の悪い個体ではタンパク質の合成能が低く、逆に分解能が高いことを示唆している。この小型種苗に特異的な代謝様式も成長停滞の要因と考えられる。

上述したような小型種苗のタンパク質合成能の低下と分解の上昇は栄養成分の浪費でもあり、成長の停滞につながる。Li and Brocksen (1977) と Ejike and Schreck (1980) はサイズ階級の下位に位置するニジマス小型種苗は常に大型個体の威嚇や攻撃によりストレス蓄積状態にあり、このような状態はホルモンバランスを崩壊させ、代謝活性の増大につながることを示唆している。種苗生産のような高密度飼育ではサイズ階級は増大し、小型種苗は大型種苗からの威嚇や攻撃を受け、ストレス状態に陥りやすいと考えられる。

高密度飼育による集約的生産では種苗の量的問題は解決されるものの、個体間の成長変異は助長され、必然的に本研究で明らかにされたような脂質蓄積に劣る小型種苗を生ずる。小型個体の脂質蓄積の低下は、サイズ階級による摂餌量の低下や、代謝活性の増大による摂取エネルギーの過剰な消費が主要因であると結論される。このような問題の対策としては、低密度飼育によるサイズ階級の緩和や小型種苗の選別飼育が有効と思われる。成長変異の発現機構やサイズ階級の発現時期等の解明が今後の研究課題となる。

第2節 耳石標識法による成長履歴の推定

Pannella (1971) が耳石に数ミクロンオーダーの微細輪紋が存在し、これが日周輪であることを示唆して以来、この輪紋の形成周期や形成時期に関する研究が急速に進んだ。現在、この微細輪紋は日周輪であることが多くの魚種で証明されており、マダイにおいても孵化後4日目に最初の輪紋が形成される事が Tsuji and Aoyama (1982) によって報告されている。特に仔稚魚の研究では、この輪紋数を数えることにより孵化日や日齢査定が可能になるほか、多岐にわたる履歴情報の解釈がなされている (麦谷, 1994)。

一方、魚卵、仔魚への大量標識法として塩酸テトラサイクリン やアリザリンコンプレキソン (alizarin complexone, 以下ALC) による耳石標識法が開発された (Tsukamoto, 1985, 1988; 桑田・塚本, 1987)。耳石標識法とは魚を蛍光物質の標識剤溶液に浸漬し、耳石成長輪の形成過程で耳石中に取り込まれた標識の蛍光を利用する方法である。標識時に耳石の最外層にとりこまれリング状の蛍光標識が形成されるが、その後、このリングの外側に耳石の新しい成長層が形成されていく。ある個体の耳石標識は耳石が成長しても変わることなく、常に標識時の耳石サイズを示している。したがって、稚魚の全長と耳石サイズの間に関連関係が存在すれば、日数が経過した個体でもALC耳石径は、標識処理時の魚体サイズの指標となる。

前節では成長変異と種苗の体成分の差異を明らかにしたが、本節ではALCによる耳石標識法を利用しマダイ稚魚の成長履歴を推定し、成長変異ならびにサイズ階級の発現時期について考察した。

材料および方法

供試魚 1994年に広島県栽培漁業協会の網生け簀で飼育中のマダイ親魚(雌雄各1尾)を用いて人工受精を行い受精卵を得た。約5000個の受精卵を0.5 t ポリカーボネイト水槽に収容し、孵化仔魚を得た。餌料系列は広島県栽培漁業協会の飼育マニュアルに従い、孵化後4日目から50日目までシオミズツボウムシ、15日目から60日目までは配合飼料、20日目から50日目までアルテミアを与えた。飼育期間は60日で、飼育期間中の水温は17.1~21.0℃であった。

全長と耳石長径 仔稚魚の全長と耳石長径(扁平石)との関係を調査する目的で、孵化後4, 10, 20, 22および40日目に飼育槽より約30~100尾の仔稚魚を無作為抽出した。各個体の全長を万能投影機を用いて測定し実体顕微鏡下で扁平石を摘出した。耳石の顕微鏡写真より長径を算出して、全長との関係を調べた。

ALC標識 孵化後20日目になると、全長と耳石長径の間に有意な相関関係が認められたため、孵化後22日目および40日目にALCによる耳石標識を施した。標識は桑田・塚本(1987)の方法に従い、仔魚を30ppmのALC溶液(pH,8.0)に24時間浸漬した。孵化後60日が経過した時点ですべての稚魚をとりあげた。この中より無作為抽出した約200尾の全長を測定後、実体顕微鏡下で耳石(扁平石)を摘出し、蛍光顕微鏡下で耳石標識を観察した。観察は、孵化後22日目と40日目のALC標識が明瞭に観察できるまで、扁平石を0.3N塩酸に浸漬し耳石表面を徐々に溶解した。蛍光標識がはっきりと確認出来た時点で写真撮影を行い、孵化後22日目および40日目の耳石長径(ALC耳石リング径)を求めた。

統計処理 独立2群の差の検定では、両群間で等分散の検定を行い、等分散の場合には t 検定、等分散とみなせない場合にはWelch法により有意差の検定を行った。

結 果

全長と耳石径 Fig. 26 に孵化後4, 10および20日目における全長と耳石長径の関係を示す。孵化後4日目には全長(x)と耳石長径(y)の間には相関関係は認められなかったが($y=0.025x+2.715$, $r=0.055$, $n=45$)、孵化後10日目では10%の危険率で有意な相関が認められた($y=0.042x+2.838$, $r=0.303$, $n=41$)。20日齢の仔魚では両者の関係は相関係数 $r=0.973$ をもつ非常に有意な相関($y=0.037x+3.543$, $n=27$)が認められたことから、20日齢以降であれば耳石長径よりかなりの精度で全長が推定出来ると判断した。そのためALC標識は孵化後22日目と40日に施した。なお、孵化後22日目

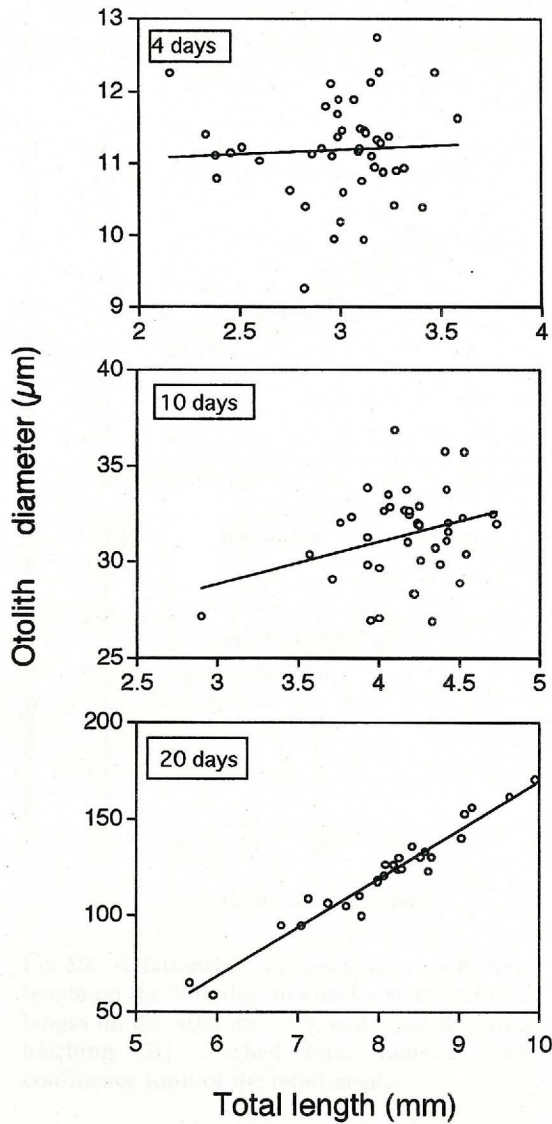


Fig.26. Relationship between total length and otolith diameter in the early stage of red sea bream.

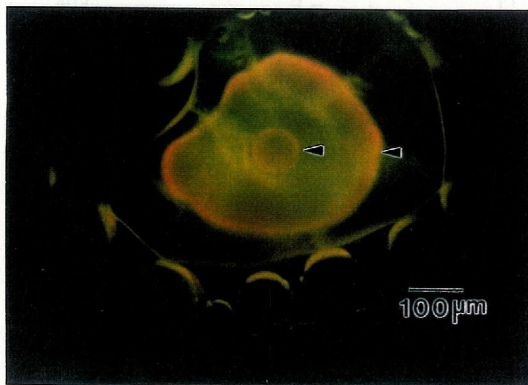


Fig.28. Micrograph of sagitta of 60-day old juvenile of red sea bream under UV light. Fish was marked with ALC twice on the 22nd and 40th day after hatching (arrowheads).

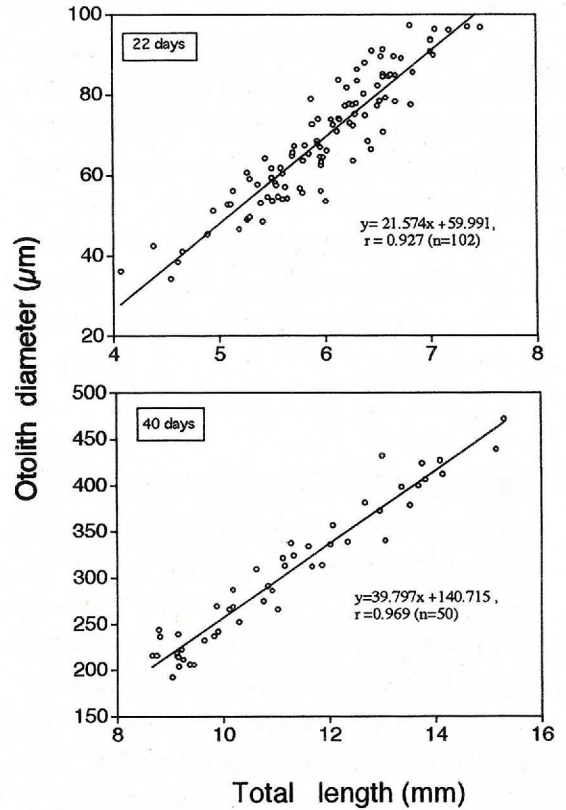


Fig.27. Relationship between total length and otolith diameter on the 22nd and 40th day after hatching.

と孵化後40日目における全長 (x) と耳石長径 (y) の関係は $y=0.0398x+3.234, r=0.927 (n=102)$ および $y=0.0235+4.004, r=0.969 (n=50)$ で表された (Fig.27)。

成長履歴の推定 Fig.28 に蛍光顕微鏡観察による60日齢の扁平石を示す。内側のALCリングが孵化後22日目に標識されたもので、外側が孵化後40日目のものである。これらの標識は観察したすべての個体について明瞭に確認されたが、塩酸による耳石表面の溶解が進行しすぎた個体もあったため一部の調査個体については耳石径の測定ができなかった。

60日齢の22および40日目のALCリング径を測定し、Fig.27に示した全長と耳石径の直線関係式を利用して60日齢の孵化22日目と40日目の成長履歴を推定した。60日齢の実測全長に対して40日目と22日目の推定全長をプロットした図をFig.29に示す。60日齢の実測全長 (x) と孵化後40日目にお

ける推定全長 (y) との関係は $y=0.302x+8.195$, $r=0.780$ ($n=156$) で有意な ($p<0.001$) 直線関係で示された。また, 60日目における実測全長 (x)

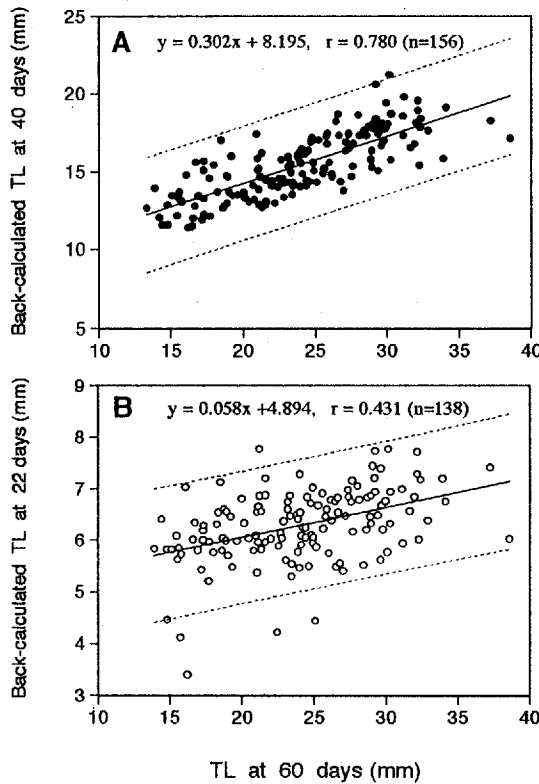


Fig.29: Relationship between measured total length on the 60th day and back-calculated total length on the 40th day (A), and 22nd day after hatching (B). Dashed lines indicate 95% confidence limit of the relationship.

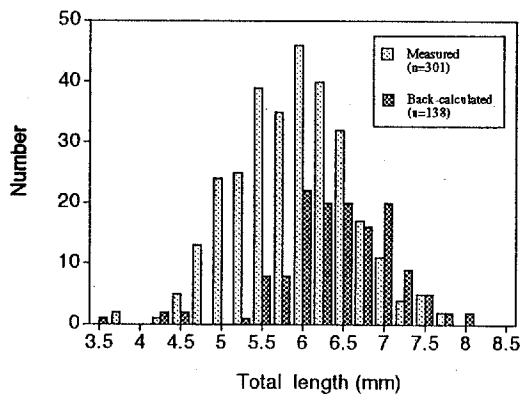


Fig.30. Size frequency distribution of measured on the 22nd day after hatching and that of back-calculated from otolith reading of 60-day old red sea bream juveniles.

と22日目における推定全長 (y) においても有意な直線関係が認められた($y=0.058x+4.894$, $r=0.431$, $n=138$)。

Fig.30 に実測された22日齢における全長組成と60日齢の稚魚より推定された孵化後22日目の全長組成を示した。22日に観測された平均全長は 5.76 ± 0.69 mm ($n=301$) で, これに対して60日齢の稚魚より推定された22日目の平均全長は 6.29 ± 0.71 mm ($n=138$) で, 両者の平均全長の間には有意差 ($t=7.375$, $p<0.001$) が認められた。

考 察

魚体のサイズと耳石長径の間に有意な相関関係が存在することはマダイ(Tsukamoto et al., 1989), スズキ(Secor and Dean, 1989), タラ(Nishimura and Yamada, 1988), キンギョ(Mugiya and Tanaka, 1992)等の多くの魚種で知られているが, これは耳石の成長が体成長に対応した形で進行しているためである。また, 摂餌量は体成長に反映されるため, 間接的には摂餌量は耳石の大きさにも影響を及ぼす(Volk et al., 1984; Zhang and Runham, 1992)。しかしながら, 本研究では4日齢(摂餌開始時)のマダイ仔魚の全長と耳石長径には相関関係は認められなかった。同様の現象はMetcalf et al. (1992)によって摂餌開始直後の大西洋サケで報告されている。これらの発育初期における耳石サイズと体成長との間に関連性が認められない理由は現在のところ不明であるが, 最近の研究では耳石の大きさが必ずしも体成長だけでなく基礎代謝量の影響を受けることが明らかにされている(Wright, 1991)。摂餌開始時期の仔魚の代謝は非常に活発であり, しかもこれらの代謝は卵黄中の内部エネルギーのみに依存している事から, この時期の耳石サイズは個体のエネルギー量や代謝に影響されるものと考えられる。孵化10日目で耳石と全長との相関関係が認められるようになったのは, この時期の成長が活発な摂餌により営まれているためであろう。

本研究において孵化後22日目の全長と60日目の推定全長との間には有意な直線関係が認められた。これは孵化後22日目までに形成された種苗の大きさの違いがその後の成長においても維持されていることを示唆している。したがってこの時期の種苗のサイズの違いは社会的順位を反映し, サイズ階級を形成していると考えられる。実際に飼

育水槽内においても孵化後20日目頃から大型個体が小型個体を追い散らす個体間干渉が観察された。

本研究において孵化後22日目に形成された成長変異(growth depensation)は、後の成長過程においても維持されていることが明らかになったが、それ以前の成長変異がいかに形成されるかは不明である。Yamagishi (1969) はマダイの成長変異が摂餌開始直後より顕著になることから、初期の摂餌が成長変異の要因であることを指摘している。谷口(1986)はマダイの半兄弟群を飼育し、遺伝的差異が成長差に影響することを立証している。このように成長変異は初期の摂餌量の差や遺伝的な要素によって発現すると考えられるが、詳細につい

での解明は今後の研究課題である。

60日齢の稚魚より推定された平均全長と孵化後22日目の実測平均全長間に有意な差異が認められたが、このことは孵化後60日目まで生存した個体は、孵化後22日目の時点では比較的大型であったことがわかる。換言すれば、成長の劣る小型種苗は種苗生産過程において淘汰の危険にさらされやすいといえる。このようなサイズ依存性の死亡は Tsukamoto et al. (1989) によって放流マダイでも報告されている。放流マダイでは、他魚種による捕食圧の違いがサイズ依存性の死亡要因と考えられているが、種苗生産では大型種苗による攻撃や捕食が死亡要因となっているのであろう。

第5章 脂質蓄積からみた飼育方法の評価

第1節 成長および体成分に及ぼす選別飼育の影響

近年、種苗の生産技術は飛躍的に向上し、大量の種苗を限られた飼育施設で生産する集約的生産が可能になった。集約的生産では種苗の量的問題は解決されたが、一方では飼育の経過と共に種苗の成長差は助長される。第4章1節でこのような種苗生産過程においてはエネルギー蓄積やタンパク質合成能の劣る成長不良魚が生じることを明らかにした。また、このような種苗は人工的な環境下でも淘汰の危険にさらされやすい(第4章2節)ばかりか、共喰いによる歩留り低下の原因にもなっている。

成長差拡大の対策として、経験的に種苗の大きさによる選別が一部の生産機関で行われているが、マダイに限らず選別飼育が後の成長に与える影響に関する知見は比較的少ない。ナマズにおいては選別が小型個体の成長回復に有効であることが報告されている(Randolph and Clemens, 1976; Carmichael, 1994)。一方、加藤・坂本(1969)はニジマス幼魚の選別後の飼育でも、小型魚の成長率は大型魚や中型魚のそれより劣ると報告した。同様の結論はJobling and Reinsnes (1986)によって報告されており、小型魚に対する選別効果の有無は一致していない。

一般に、選別群の成長の良否は、異なるサイズの無選別群やモード付近の中型魚と比較して評価されるが、大きさと発育段階が異なるため両者の成長の比較は困難である。そこで本研究では、マダイ種苗生産で生じた大型魚や小型魚に対し、同サイズの中型魚を異なるlotより選別し、両群を混合飼育することによって、選別が稚魚の成長や体成分に及ぼす影響について検討した。

材料および方法

供試魚 広島県栽培漁業協会の親魚水槽より受精直後の卵を採取し、それらを水温約17.0℃の孵化水槽に移し、仔魚を得た。5月7日に孵化した仔魚(以下Lot. 1)および5月18日に孵化した仔魚(以下Lot. 2)について、それぞれ約1万尾を0.5 m³ポリカーボネイト屋内水槽で飼育した。仔稚魚

の餌料系列および給餌量は広島県栽培漁業協会の飼育マニュアルに従い、孵化4日目よりナンノクロブシスと油脂酵母で培養したワムシを、15日からワムシと共に配合飼料を、さらに20日からは乳化オイルで栄養強化したアルテミアを給与した。孵化50日目に飼育密度を緩和するため、Lot. 1およびLot. 2より無作為抽出した約600尾について飼育を継続した。孵化50日目以降は主に配合飼料を給与し、栄養強化のため適宜マダイ受精卵を与えた。孵化後日数がLot. 1で76日目、Lot. 2で65日目となる7月22日に種苗を選別し、以下の試験に供した。なお、この時のLot. 1群の平均体長は36.1±4.6mm、Lot. 2群では29.9±5.4mmであった。

実験1: 小型魚の選別と飼育 実験に供した種苗の体長組成をFig. 31に示す。孵化後76日目のLot. 1より体長28.3~34.8mm(平均体長31.8±2.0mm)の小型種苗(以下S-1群)を70尾選別した。対照として孵化後65日目のLot. 2より体長28.0~34.8mm(31.7±

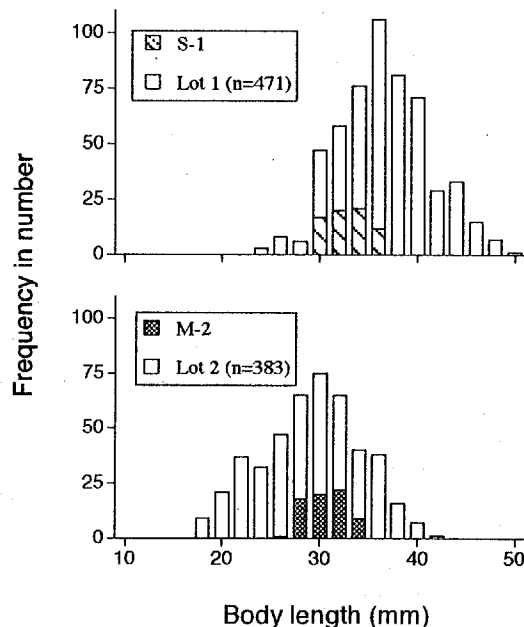


Fig.31. Size distribution of original Lot 1 (76d, 36.1±4.6mm) and Lot 2 (65d, 29.9±5.4mm). Small size group of Lot 1 (S-1, n=70, 31.8±2.0mm) and medium size group of Lot 2 (M-2, n=70, 31.7±1.9mm) were used communal stocking experiment for 48 days.

1.9mm) の中間サイズの種苗 (以下M-2群) を70尾選別した。S-1群とM-2群は別々の腹鰭を切除して標識し、両群を混合して0.5 tポリカーボネイト水槽で48日間、配合飼料を1日3回飽食量を給与した。

実験 II : 大型群の選別と飼育 実験に供した種苗の体長組成をFig. 32 に示す。Lot. 2より体長35.1~41.6mm (37.4±1.6mm) の大型魚 (以下L-2群) およびLot. 1より体長35.0~41.8mm (38.0±1.8mm) の中間サイズの種苗 (以下M-1群) をそれぞれ70尾選別し、両群を混合して48日間飼育した。

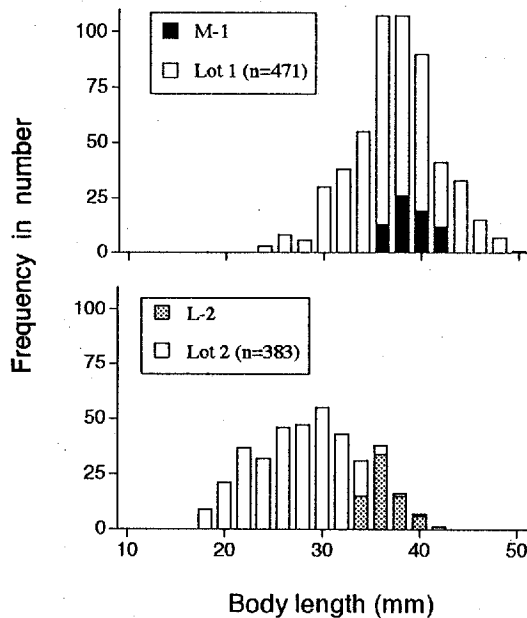


Fig.32. Size distribution of original Lot 1 (76d, 36.1±4.6mm) and Lot 2 (65d, 29.9±5.4 mm). Large size group of Lot 2 (L-2, n=70, 37.4±1.6mm) and medium size group of Lot 1 (M-1, n=70, 38.0±1.8mm) were used communal stocking experiment for 48 days.

体成分分析 混合飼育前および飼育後の稚魚は-20℃で冷凍保存し、各群10尾を分析に供した。筋肉タンパク質はLowry法 (Lowry et al., 1961) で比色定量した。筋肉脂質はBligh and Dyer (1959) の方法に従いメタノール・クロロホルム系で抽出し、重量法により定量した。TGの分析にはイアトロスキャンHT-10を用いた。筋肉中の核酸含量はSchmidt-Thanhouser-Schneider法を一部改変した中野 (1989) の方法に準じて測定した。測定値の有意差の検定は、Student t testを用いて危険率1% 以下で行った。

結 果

小型群の成長と体成分 S-1群およびM-2群の体長分布をFig. 33に示す。S-1群の体長は最大76.4mm, 最小40.3mmであった。対照としたM-1群の体長範囲は40.4mmから77.4mmであり、両群の体長組成に差異は認められなかった。

S-1およびM-2群の成長と魚体成分に及ぼす選別飼育の影響をTable 11に示す。飼育期間中における両群の生残率および日間成長率に差異はなく、飼育試験前後の変動係数にも差異は認められなかった。混合飼育前のS-1群の筋肉脂質含量はM-2群に比べて有意に低く、S-1群の筋肉組織当りのTGの絶対値はM-2群のそれの1/6程度であった。しかし、S-1群の筋肉脂質およびTG量は選別後の飼育に

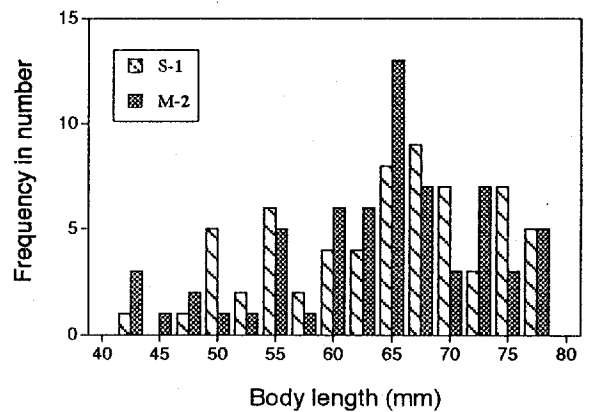


Fig.33. Size frequency distribution of small size (S-1) and medium size (M-2) groups after communal stocking for 48 days.

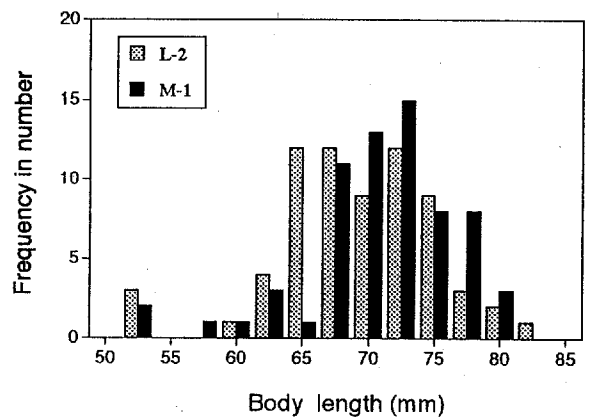


Fig.34. Size frequency distribution of large size (L-2) and medium size (M-1) groups after communal stocking for 48 days.

よって有意に増加し、飼育終了時における両群の筋肉脂質含量およびTG量は等しくなった。選別時のS-1群のRNA/DNA比はM-2群に比べて若干低かった。その後の飼育によって、両群のRNA/DNA比は上昇したが、S-1群の上昇が顕著であった。その結果、飼育終了時のS-1群の核酸比はM-2群に比べて有意に高くなった。

大型群の成長と体成分 飼育終了時におけるL-2群とM-1群の体長組成をFig. 34に示す。L-2群および

M-1群の体長範囲は、それぞれ50.1~80.7mm, 51.0~79.0mmであり、両群の体長組成に差異はなかった。

Table 12 にL-2とM-1群の成長および体成分に及ぼす選別飼育の影響を示す。飼育期間中における両群の生残率、日間成長率および変動係数に顕著な差異は認められなかった。飼育試験前のL-2群の筋肉脂質およびTG量はM-1群に比べ若干高かったが、飼育後における両群のTG量はほぼ等しくなった。一方、飼育前のL-2群のRNA/DNA比はM-1群

Table 11. Muscle constituents of medium (M-2) and small size (S-1) groups of red sea bream after communal stocking for 48 days

	Initial		Final	
	M-2	S-1	M-2	S-1
Body length (mm)	31.7±1.9 (n=70)	31.8±2.0 (n=70)	62.7±9.0 (n=64)	63.3±8.8 (n=64)
Body weight (g)	0.93±0.12 (n=20)	0.89±0.15 (n=20)	9.01±2.36 (n=20)	9.18±3.09 (n=20)
Survival (%)			91.4	91.4
Growth rate (%/day)	4.05	3.47	1.39	1.41
Coefficient of variation (%)	6.15	6.17	14.31	13.9
Muscle constituents (n=10)				
Lipid (%)	2.5±0.25	2.2±0.12a	2.5±0.32	2.7±0.30*
Protein (mg/100mg)	18.2±2.49	17.4±2.48	20.7±3.09	19.5±3.00
Triglycerides (mg/g)	7.6±2.11	1.2±0.48a	9.7±4.42	11.8±4.00
RNA/DNA ratio	3.0±0.67	2.5±0.70	8.1±0.89*	10.7±1.92a*

Data are shown as mean and SD. Values with different letters (a) have significant differences (p<0.01) between two groups. Values with asterisk (*) have significant differences (p<0.01) between initial and final values.

Table 12. Muscle constituents of medium (M-1) and large size (L-2) group of red sea bream after communal stocking for 48 days

	Initial		Final	
	M-1	L-2	M-1	L-2
Body length (mm)	38.0±1.8 (n=70)	37.4±1.6 (n=70)	69.7±5.8 (n=66)	68.0±5.9 (n=68)
Body weight (g)	1.68±0.13 (n=20)	1.70±0.15 (n=20)	11.0±1.78 (n=20)	10.3±1.99 (n=20)
Survival (%)			94.3	97.1
Growth rate (%/day)	3.71	4.31	1.22	1.24
Coefficient of variation (%)	4.76	4.35	8.26	8.66
Muscle constituents (n=10)				
Lipid (%)	2.4±0.23	2.7±0.49	2.7±0.37	2.6±0.27
Protein (mg/100mg)	17.3±1.47	17.3±1.70	18.3±1.85	19.1±2.67
Triglycerides (mg/g)	5.2±3.36	7.8±3.38	9.9±2.37*	10.0±2.07
RNA/DNA ratio	3.1±0.74	4.7±1.10a	8.7±1.26*	8.7±1.37*

Data are shown as mean and SD. Values with different letters (a) have significant differences (p<0.01) between two groups. Values with asterisk (*) have significant differences (p<0.01) between initial and final values.

に比較して有意に高かったが、飼育終了時には差異は消失した。

考 察

選別前の大型群および中型群の日間成長率(%/day)はそれぞれ4.31および3.71であり、両者の相対的な成長率の差異が選別飼育後も継続されれば、大型群は中間群より良好な成長を示すことになる。また、小型群と中型群の選別飼育についても同様に、小型群の成長は中型群より遅延すると考えられる。このような観点から、大型群や小型群の選別後の成長が対照の中型群と異なるか否かについて検討した。結果的には、大型群や小型群の日間成長率は対照とした中型群と同等であった。したがって、サイズ選別による飼育環境の変化がマダイ幼魚の成長に影響したと推察される。コイ(中村・笠原,1955,1956,1957)や雌性発生ギンブナ(中西・小野里,1987)において、餌料に関わる飼育環境が仔魚の成長に大きく関与することが報告されている。サイズ選別が餌料環境に起因して生じたサイズ階級を解消するとすれば、本研究結果はコイやギンブナと同様の事例と考えられる。

小型群と中型群の混合飼育後の成長は同等であったが、この現象が小型群の成長回復によるものか、もしくは中型群の成長低下によるものかは不明である。タンパク質合成の指標であり成長と深

い関係があるRNA/DNA比の増加が、中型群より小型群で顕著であったことから、小型群の成長は選別以前より向上したと考えられ、種苗生産で生じた小型魚でも中型魚と同程度の成長能力を潜在的に有すると考えられる。

大きさの異なる個体が共存した場合、餌環境をめぐりサイズ階級が生じ、その結果として小型個体の摂餌が阻害されることをマダイ種苗でも確認したが(第4章2節)、この様な小型種苗の社会的順位が成長停滞の主要因と考えられる。それに対して選別は形成されていたサイズ階級を解消し、小型魚の摂餌量を回復させ、さらに成長や脂質蓄積の改善をもたらしたものと思われる。

中野・白旗(1988)はサケ稚魚を用い、種苗性の指標としてRNA/DNA比が有効であることを報告した。また、蓄積脂質であるTGは、放流されたマダイが天然環境に適応するまでの主要なエネルギー源として利用される(Nakagawa et al., 1991; 津村・山本,1993)ほか、絶食耐性と深く関係していることから種苗性の質的指標となる(第3章1節)。小型種苗の選別飼育は成長のみならずRNA/DNAやTG蓄積の増大を伴うことから、種苗性の向上にとっても有効な手段といえる。

本研究では、平均体長を中心にして大型魚や小型魚を選別試験に供したが、トビやビリと称される成長変異の両端を形成する個体の試験や、選別時期とその効果に関する研究は今後の課題である。

第2節 種苗放流に及ぼす音響馴致飼育の影響

放流効果の向上には、種苗の質的向上と共に自然海域における放流マダいの減耗の緩和が重要な課題である。自然環境に適応するまでにはかなりの減耗が予想され(北田・須田,1988),この期間の魚の生理状態が放流効果に深く関与していると同時に、放流場所からの移動や分散も減耗要因と考えられている(広島県,1991)。

一般に放流されたマダいは放流後の環境の激変により摂餌量が低下する(奥石・安永,1980;松宮・木曾,1982)。したがって放流種苗は自然環境に順応するまで摂餌不足を保有エネルギーで補う必要があり、脂質等の魚体エネルギーの追跡は放流魚の順応過程を知る重要な手がかりとなる(Nakagawa et al.,1991; Villa-Navarro et al.,1991)。

音響馴致飼育は限られた海域への魚類の滞留率の向上や、飼育環境から天然群への加入を容易にする目的で行われてきた(阪口ら,1975;長崎水試,1989a,1989b)。本研究ではマダいを天然海域に放流する際の音響馴致給餌の有効性を特に脂質の蓄積状態を指標として検討した。

材料および方法

供試魚 1989年に広島県栽培漁業協会にて孵化し、一次飼育したマダいを広島県水産試験場(安芸郡音戸町)に運び中間育成した。9月19日より10月3日までの15日間、マダい幼魚10,000尾(平均尾叉長 102.7 ± 6.9 mm, 平均体重 27.4 ± 5.6 g)を同水産試験場の小割網に収容し、水中スピーカー(周波数200Hz、伝達範囲約1,000m)からの放声と同時にモイストベレットを自動給餌機を用いて投与した。投餌は1日当たり4回(9:00, 11:30, 14:30, 17:00)行った。10月3日に小割網を静かに開放してマダいを付近の海域に放流し放声と投餌を開始した。マダいの再捕は放流後68日目までの計6回、スピーカー付近より毎回10尾を釣り上げ分析に供した。

生物学的性状と体成分 再捕したマダいは直ちに -20°C で凍結し分析まで保存した。尾叉長, 体重, 肝臓重量, 内臓重量および腹腔内脂肪組織重量を測定し, 肥満度, 比内臓重量(%), 比肝重量(%), および腹腔内脂肪組織比(%)を算出した。な

お, 肥満度の算出は尾叉長を基準に以下の計算によった。

$$\text{肥満度} = (\text{体重(g)} / \text{尾叉長(cm)}^3) \times 100$$

組織の脂質は Bligh and Dyer(1959)の方法で抽出し, 脂質含量を求めた。脂質クラス組成の分析にはイアトロスキャンTH-10を用いた。筋肉の粗タンパク質の測定はケルダール法によった。

結果

放流海域の水温と放流後のマダいの成長をFig.35に示す。本実験のマダいにおける放流から10日目までの尾叉長増加は 1.95mm/日 となり, その後 0.40mm/日 と緩慢になった。放流直後より12月8日までの60日間の平均尾叉長増加は 0.56mm/日 であった。

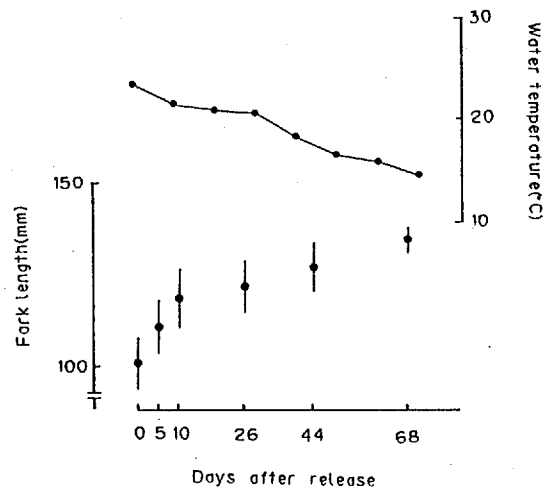


Fig.35. Growth of red sea bream released into the natural water after acoustic conditioning. Vertical bars indicate SD (n=10).

放流後の生物学的性状をTable 13に示す。放流後はこれらの生化学的性状に顕著な変化はなく, 26日目に比肝重量に減少がみられた程度であった。

筋肉, 肝臓, 腹腔内脂肪組織の一般分析および脂質クラス組成の分析結果をTable 14に示す。放流後の筋肉成分に著しい変化は認められなかった。また, 放流当初の肝臓脂質は15.2%であったが, 天然海域における時間的経過に伴い次第に減少する傾向がみられた。放流後の腹腔内脂肪組織

Table 13. Biological characteristics of red sea bream released after acoustic conditioning for feeding into the natural water

Date	Oct.2	Oct.7	Oct.12	Oct.28	Nov.15	Dec.8
Days after release	0	5	10	26	44	68
Body weight (g)	27.4±5.6 (n=10)	37.2±8.6 (n=10)	46.6±9.2 (n=10)	48.9±10.4 (n=10)	60.8±9.5 (n=10)	68.4±6.8 (n=10)
Condition factor	2.50±0.14 (n=10)	2.53±0.12 (n=10)	2.53±0.15 (n=10)	2.44±0.07 (n=10)	2.60±0.13 (n=10)	2.42±0.90 (n=10)
Viscerosomatic index (%)	8.77±0.85 (n=5)	9.99±1.74 (n=5)	10.03±0.83 (n=5)	8.66±0.58 (n=5)	9.18±1.03 (n=5)	10.0±0.90 (n=5)
Hepatosomatic index (%)	2.06±0.40 (n=5)	2.43±0.44 (n=5)	2.19±0.40 (n=5)	1.70±0.32 (n=5)	2.60±0.41 (n=5)	2.65±0.50 (n=5)
IPF ratio (%)	2.16±0.78 (n=5)	2.74±0.85 (n=5)	2.62±0.70 (n=5)	3.18±0.67 (n=5)	2.40±0.56 (n=5)	3.33±0.21 (n=5)

Data are shown as mean and SD. IPF; intraperitoneal fat body.

Table 14. Proximate and lipid class composition (%) of red sea bream released after acoustic conditioning for feeding into the natural water

Date	Oct.2	Oct.7	Oct.12	Oct.28	Nov.15	Dec.8
Days after release	0	5	10	26	44	68
Proximate composition						
Muscle						
Moisture	75.8	75.6	75.3	75.8	75.8	74.6
Ash	1.6	1.6	1.5	1.4	1.5	1.4
Crude protein	19.3	19.3	19.4	19.8	19.4	19.5
Lipid	3.3	3.5	3.6	4.2	3.4	4.6
Hepatopancreas						
Lipid	15.2	15.7	11.8	10.8	9.1	11.2
Intraperitoneal fat body						
Lipid	70.7	74.7	73.4	73.7	69.6	78.2
Lipid class composition						
Muscle						
Triglycerides	77.8	83.2	86.7	87.8	85.2	87.4
Free fatty acids	3.5	0.3	1.4	1.2	1.9	1.1
Cholesterol	0.3	0.2	0.3	0.2	0.1	0.2
Phospholipids	18.5	15.3	11.7	10.8	12.8	11.4
Hepatopancreas						
Triglycerides	71.5	74.4	78.7	49.3	64.9	55.3
Free fatty acids	21.4	16.7	9.5	35.9	12.9	28.8
Cholesterol	0.4	0.3	0.2	1.1	0.4	1.4
Phospholipids	6.7	8.6	11.6	13.7	21.9	14.6
Intraperitoneal fat body						
Triglycerides	96.7	97.5	97.0	98.3	96.9	98.6
Free fatty acids	0.8	0.6	0.6	0.3	0.7	0.3
Cholesterol	0.5	0.3	0.5	0.2	0.4	0.7
Phospholipids	2.0	0.5	1.9	1.3	1.9	0.4

の脂質に変化は認められなかった。

筋肉脂質の主成分であるTGは10月28日まで次第に増加し、相対的にリン脂質および遊離脂肪酸の割合が減少した。腹腔内脂肪組織の脂質クラス組成はTGが常に95%以上を占め、遊離脂肪酸にも変化はみられなかった(Table 14)。

筋肉の脂質量を単位体重あたりに換算し、その値の放流後の経日的変化をFig. 36に示す。構成脂質であるリン脂質量にはほとんど変化はなく一定であったが、貯蔵脂質であるTGは放流後増加し結果的に放流前より高値となった。

Fig. 37に筋肉、肝臓、腹腔内脂肪組織のTGの総量の放流後の変化を示す。貯蔵脂質量は一時減少したが、概して放流後次第に増加する傾向がみられた。放流後68日目のTG量は放流前の1.5倍に達した。

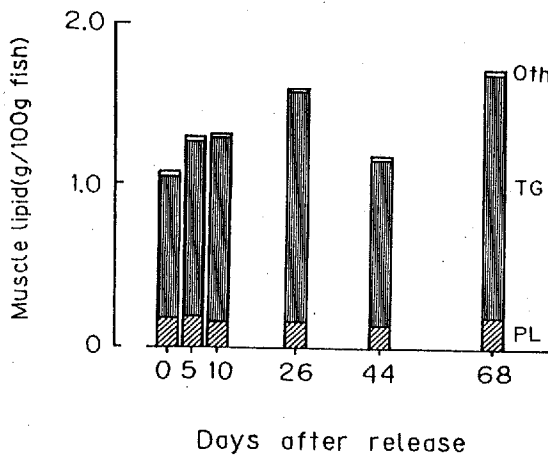


Fig.36. Changes in muscle lipid content and lipid class composition of red sea bream released into the natural water. PL, phospholipids; TG, triglycerides; Oth, others.

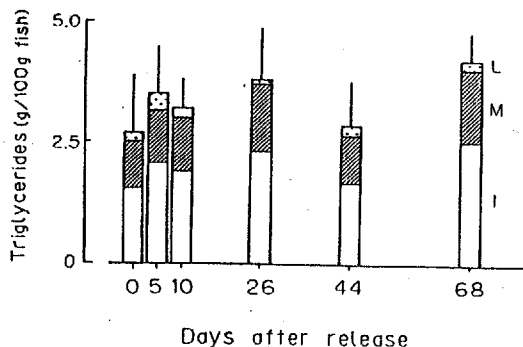


Fig.37. Change in triglycerides (g/100g fish) of red sea bream released into the natural water. I, intraperitoneal fat body; M, muscle; L, hepatopancreas.

考 察

一般に音響馴致の効果として放流地点への定着性の増大があげられる(大分水試,1988;長崎水試,1989a,1989b)。本実験の行われた海域はマダイ幼魚の生息環境として最適かどうかは不明であるが、放流直後から数日の間にわたって約半数近くの個体が放流地点に滞留していた(広島水試,1989)ことから、音響馴致によって定着性が向上したと判断できる。

放流当初に観察された平均尾叉長の増加は中間育成期のマダイ(広島水試,1985)と比較するとかなり顕著であるが、これが放流魚の成長を反映しているとは考えがたい。この点については、小型個体が逸散して大型個体の再捕率が高かったためと考えられる(高場ら,1978)。

放流されたマダイの摂餌生態や生理状態に関するこれまでの研究から、摂餌内容物が量的もしくは質的に天然魚に近づくまでに7日から10日間を要すると報告されている(興石・安永,1980;松宮・木曾,1982)。一般に放流当初は環境の変化による摂餌量の低下から放流魚は飢餓状態にあり蓄積脂質を消費しながらエネルギー不足を補うが、さらに飢餓が進行すると筋肉タンパク質も消費されるため体重も減少する(Nakagawa et al.,1991)。北田・須田(1988)は放流初期の減耗の大きいことを予測しているが、上述した飢餓による補食圧の増大(Yin and Blaxter,1987)が初期減耗要因の一つと考えられる。これに対して音響馴致後に放流したマダイの場合には、従来の放流魚に認められたような肥満度や貯蔵脂質の減少は認められなかった。これは音響馴致飼育によって、種苗の放流後の自然環境への適応がスムーズに行われたためと考えられた。

瀬戸内海は冬期の水温が低いためにマダイは代謝が不活発となり摂餌量も低下するものと考えられる。越冬期間には腹腔内脂肪組織や筋肉中のTGの減少が顕著であり、さらに構成脂質であるリン脂質まで消費されるという厳しい環境下にある(Villa-Navarro et al.,1991)。それ故、越冬前のエネルギー蓄積状態は越冬中の生残に影響を及ぼす重要な要因となる。本実験におけるマダイの12月の時点の脂質蓄積状態は良好であり、厳しい越冬期間に要求される十分なエネルギーを備えていると考えられた。実際に、本海域での越冬後のマダイの再捕率は越冬前に比べて激減するが(広島水試,

1980), 音響馴致放流されたマダイの越年前後の再捕尾数の割合は, 従来の結果に比べ3倍から8倍も高くなることが報告されている(高場ら, 1994)。

総合考察

第1章および2章では、放流マダイ種苗の成長に伴う脂質の蓄積過程を調査したが、結果を総合すれば種苗の脂質蓄積段階は発育段階に応じた4段階に区分される。まず前期仔魚期では、親魚から受け継がれた油球や卵黄を摂餌開始までの生命維持や諸器官の形成のために消費する。次に、摂餌を開始し内部栄養から外部栄養に切り替わる後期仔魚期になると、後腸の上皮細胞に脂質蓄積に伴う空胞が認められるようになる。この段階では肝臓中への脂質蓄積や脂肪細胞は認められない。したがって、後期仔魚期では腸上皮細胞が脂肪の吸収や蓄積器官としても重要な役割を有している。マダイの生活領域が浮遊生活から底生生活に移行する稚魚期では、胃や幽門垂の分化が完了し消化吸收機能が向上し成魚と類似してくる。これに伴い仔魚期に観察されていた腸上皮細胞での脂質蓄積は観察されなくなるが、肝臓中への脂質蓄積が観察されるほか、脂肪細胞が発達し脂質蓄積部位は多様化する。さらに消化管が複雑な形を呈し消化吸收能力が大幅に向上すると、筋肉、肝臓および腹腔内脂肪組織中の脂質蓄積は量的にも増加する。その後、脂質蓄積の量的増加は継続するが、体長40mmで脂質蓄積が量的にも質的にも充実する。このサイズは外部ならびに内部の器官形成を完了し、形態的に成魚と類似するようになる時期である。天然海域でも生活領域を拡大する時期であり(山口,1987; 矢野,1979), 稚魚から若魚への転換期に相当すると考えられる。

第3章1節では中間育成期間中における種苗の絶食耐性を調査したが、絶食耐性は成長と共に向上した。成長に伴う絶食耐性の向上は、第2章2節で示した様に魚体中への活発な脂質蓄積に起因したものであろう。本研究の最終目的の一つは、マダイ種苗の至適放流サイズを脂質蓄積から決定する事であったが、体長40mmでは20日間絶食しても生残率は90%以上を維持していた(第3章1節)。種苗が自然環境に適応するまでの日数が7日から10日とすれば(興石・安永,1980; 松宮・木曾,1982), この間の摂餌不足に対して十分対処できるサイズでもある。これまで報告されたマダイ種苗の至適放流サイズをみると、鯖等の機能的側面から体長30mm

(福原,1975), 放流後の定着性から尾叉長50mm(高場ら,1978), 被捕食実験から全長50mm(高根県栽培漁業センター, 1981)が提示されており、本研究結果と近似している。今後、様々な側面より放流サイズを検討し、総合的にみた至適放流サイズを決定する必要がある。

放流サイズのほかに放流効果を左右する重要な要因としては、種苗の質的問題がある。既に福原(1986)は種苗の質に関する検討の必要性を指摘していたが、量産技術に主眼がおかれ、質的評価に関する研究は後回しにされた傾向がある。中野(1993)は種苗性の定義を“形態的・生理的・生化学的健全性”を備え“種本来の行動特性”を持つ種苗の質とした。これまで種苗の質的評価法としては、ハンドリングによる回復力(北島ら,1979), 麻酔および乾出に対する抵抗力(丸山ら,1986), 核酸比(中野・白旗, 1988), 横臥行動(塚本, 1990, 1993; 内田ら,1993)等が提案されている。本研究でTG量と絶食耐性には正の相関関係が認められた(第3章1節)ことから、TG蓄積量は種苗性の指標となる。

Nakagawa et al. (1991)は廃止塩田を利用した半粗放的生産魚と集約的生産魚の間で絶食耐性を比較した結果、半粗放的生産魚の絶食耐性が高い事を報告している。ただし半粗放的生産魚の総脂質やTG蓄積は集約的生産魚と比較して決して高いものではなかった。中野(1989)は両者の間の代謝活性を生化学的側面より分析し、代謝活性では集約的生産魚の方が粗放的生産魚より大きいことを指摘した。すなわち、両者の絶食耐性の違いは蓄積エネルギーの消費速度の違いで説明できる。同様な現象はBlaxter(1976)によって天然および人工生産ニシンで報告されている。本研究では脂質やTG蓄積より種苗性を検討したが、大量のエネルギー消費に対する適応性からも種苗性を検討する必要がある。

魚の成長と脂質蓄積は摂取されたエネルギー量とそれらの体内への分配とのバランスによって規定される。もし同一の摂餌量(摂取エネルギー量)を獲得した種苗がいて、一方では、成長を停滞させたため余剰のエネルギーを脂質として体内

に蓄積し、また他方の種苗では、摂取したエネルギーをほとんど基礎代謝や成長に分配したため脂質を蓄積できなかったと仮定すれば、その結果として成長の良い個体では脂質蓄積量が低く、逆に成長の悪い個体が脂質蓄積に勝ることになる。実際に、これらの現象は産卵直後の大西洋サケで報告されている (Pedersen and Jobling, 1989; Jobling, 1994)。しかしながら、マダイ種苗の摂取エネルギーを制限給餌によって制限した場合、栄養素が成長に優先的に分配されるため、脂質蓄積は亢進されない(第3章2節)。これは Houde (1987) の指摘する様に、仔稚魚の成長速度は被補食圧と密接な関係にあり、生残を決定する重要な要因であるためであろう。換言すれば、種苗の脂質蓄積は成長が順調な個体のみが獲得できると言える。したがって脂質蓄積からみれば“発育と成長が順調な種苗”が放流種苗として望ましい。

第4章1節では、実際の種苗生産では種苗の孵化日数が同一でもその大きさは一様ではないことに着目し、種苗の成長履歴と脂質蓄積の関係について分析を行った。その結果、成長の良い種苗は脂質蓄積状態も良好で、逆に、成長の停滞した種苗の脂質蓄積は相対的に低いことが判明した。さらに大きさの異なる種苗を共存させると、サイズ階級により小型個体(成長の停滞した個体)の摂餌量はかなり低下する。しかも制限給餌によってある程度の成長率は維持されるが、脂質蓄積のみならず筋肉や消化系器官の発達は十分とは言えない(第3章2節)。成長とは単に体を伸ばすだけでなく、諸器官の機能的発達を伴わなければならない。摂餌量の低下は内部・外部器官の形態形成を停滞させることにもなり、ひいては成長の停滞という悪循環を生み出すものと思われる。

耳石標識を用いた成長履歴の推定によれば、孵

化後22日目までに生じた成長変異はその後の飼育過程でも維持される(第4章2節)。換言すれば、種苗の成長変異は発育のごく初期に発現しているのである。本研究では成長変異の発現するメカニズムについては検討していないが、初期の摂餌環境に起因している場合(中村・笠原, 1955, 1956, 1957; Magnuson, 1962, 中西・小野里, 1988)や、遺伝的な要因(Magnuson, 1962; 谷口, 1986)によるものであろう。第5章1節では選別飼育が特に小型種苗の成長回復に有効であることを示した。しかし Jobling and Reinsnes (1986) が指摘するように小型種苗の成長が遺伝的な影響を受けていれば選別後でも小型種苗の成長は停滞し、選別効果は期待できないことになる。この点に関して Umino et al. (1995) はクローンギンブナの成長に関する遺伝的影響は成長と共に低下することを明らかにしている。いずれにしてもサイズによる選別は、小型種苗の摂餌量を回復し、成長だけでなく脂質蓄積を向上させるには極めて有効な手段と言える。

塚本 (1990) は放流直後の種苗が環境の激変によって“パニック状態”に陥いる事を観察した。この異常な行動は種苗の自然環境への適応の妨げとなるほか、外敵からの捕食にさらされる危険性も含んでいる。これに対して種苗を放流環境にあらかじめ音響馴致し放流した場合、これまで報告されていたような放流直後の脂質の激減は観察されなかった(第5章2節)。これは音響馴致飼育によって、種苗が自然環境への適応をスムーズに行ったためと思われる。囲い網飼育によって環境に種苗をあらかじめ馴致させて放流する方法(津村・山本, 1993)が示されているが、これらの方法は天然環境での種苗本来の行動特性を利用した合理的な放流技術と言える。

要 約

沿岸魚類の資源の培養を目的とした放流事業が全国各地で行われ、対象魚種も多様化しつつある。中でもマダイは需要や価格面から我が国における放流事業の中心的魚種である。種苗の放流効果を左右する要因としては放流場所、放流時期、放流サイズ、種苗の質などがあげられる。養殖種苗とは異なる放流種苗の質的問題や至適放流サイズの検討は放流効果を高めることにつながる重要な課題である。一方、放流マダイの追跡調査では、放流されたマダイが自然環境に順化するまでかなりの日数を要することが明らかにされ、この間の摂餌不足によるエネルギーの枯渇が初期減耗要因の一つと考えられている。故に、放流種苗のエネルギー蓄積状態が放流後の生残を左右する重要な要因となっており、至適放流サイズや種苗の質の指標になりうると考えられる。本研究ではマダイ仔稚魚期におけるエネルギー蓄積過程を脂質を中心に調べ、脂質蓄積から種苗の至適放流サイズや種苗の質についての知見を得ることを目的とした。また、種苗の成長歴と脂質蓄積の関係、飼育方法と種苗の質的向上についても検討を加えた。

1) 仔稚魚期における脂質蓄積過程

肝臓へのグリコーゲンの蓄積は摂餌開始直後（孵化後6日）に認められたが、仔魚期を通じて肝臓での脂質蓄積や脂肪組織の形成は認められなかった。この時期に脂質の蓄積が唯一前腸の上皮細胞で観察されたことから、仔魚期では腸上皮細胞が主な脂質蓄積部位と考えられた。しかし仔魚から稚魚への移行と共に腸上皮細胞における脂質の蓄積は消失し、肝臓中での脂質蓄積や脂肪細胞の出現が観察されるようになった。

脂肪細胞は臍臓中で発達し最終的には消化管を覆うように発達した。また、脂肪組織の体積が増加する間は、脂肪細胞の平均長径に有意な変化は認められなかった。これは脂肪組織の成長には細胞肥大より脂肪細胞数の増加が優先的に関与しているためと考えられた。

2) 着底後の形態変化と脂質蓄積

着底期以降における体表面積に対する鱗面積の比率は成長と共に減少し、体長30mm前後で安定した。体重に対する内臓重量も成長と共に減少した

が、体長35mm以降で一定となった。体重に対する筋肉重量は体長15mmで10%程度であったが、成長に伴い増加し、体長40mm付近では40%となり成魚の比率に達した。また、体長に対する消化管長では体長35mm付近、口径では体長40mm付近に変曲点がみられたほか、筋繊維の平均長径も体長30mm付近で安定した。以上の結果からマダイの外部および内部形態は体長30mmから40mmで大きく変化することが明らかとなり、この時期が形態的な転換期に相当し、稚魚から若魚期への移行期と考えられた。

筋肉のタンパク質および脂質含量は体長40mmまで増加したが、それ以降では変化が認められなかった。魚体中の水分含量は体長15mmで80%以上を示したが、体長35mm以降77%前後となり、それ以降安定した。水分含量と脂質含量の間には負の相関関係が認められたことから、魚体の脂質蓄積量も体長35mmから40mm付近で安定すると考えられた。さらに、筋肉脂質中のトリグリセリド（以下TG）の比率は中間育成当初で15%程度であったが、体長40mmでは2倍近い約30%に増加した。腹腔内脂肪組織中のTGの比率は中間育成初期から急激に増加し、体長40mmの稚魚では90%程度となり成魚の組成比と等しくなった。以上の結果より、体長40mmまで成長すると脂質蓄積が量的・質的に充実することから、脂質の蓄積を指標とした場合の至適放流サイズは体長40mm以上と結論した。

3) 脂質蓄積と種苗の質

種苗の無給餌生残日数はエネルギー蓄積状態と脂質動員能を直接反映するため放流サイズ決定の重要な指標と考えられる。そこで種苗の無給餌生残日数を調べた結果、体長15mmサイズの半数致死日数は7.1日であった。絶食耐性は成長と共に向上し、体長44mmサイズでは27.8日であった。体長15～50mmの種苗の体長（X）と半数致死日数（Y）の関係は有意な直線関係（ $y=0.828x-7.041$ ， $r=0.984$ ）で示された。また、絶食により稚魚のタンパク質や脂質の著しい減少が認められたが、脂質の中でもTGの減少が顕著であり、TGが主要なエネルギー源になっていることが判明した。そこで稚魚1尾当たりのTG量（x）と半数致死日数（y）の間を調べたところ、両者の間には有意な直線関係（ $y=22.117x+1.803$ ， $r=0.968$ ）が存在した。したがって、蓄積脂質TGは放流種苗の健全

性の指標になりうると考えられた。

マダイ稚魚を体重当たり6% (飽食), 3%, 1% (制限給餌) の給餌量で48日間飼育し, 給餌量が種苗の成長, 器官形成および脂質蓄積に及ぼす影響を調査した。飽食給餌区では, 種苗の脂質蓄積は成長と共に増大した。これに対し, 3%給餌区の体長は実験当初に比べ1.7倍に増加したが, 脂質蓄積は亢進されず絶食耐性も低下した。また, 3%制限給餌群では肥満度や筋肉比のみならず体高比や消化管長比も飽食給餌群より有意に低い値を示した。このことは, 筋肉や消化管の発達は必ずしも成長と平行して営まれるものではなく, 給餌条件の影響を受けることが示唆された。

4) 脂質蓄積と成長変異

一般に種苗生産過程では飼育経過と共に個体の成長差が助長されるため, 同じ日齢であっても種苗の大きさは均一ではない。そこで異なる成長履歴を持つ種苗を体長が同サイズ (体長43mm) になった時点で, 生物学的性状および脂質の蓄積状態を分析した。その結果, 成長不良魚 (43mmに達するのに長時間を要した個体) の肥満度, 筋肉比および比内臓重量は, 平均的な成長を示した群や成長の良好な群のそれらの値より有意に低い値を示した。また, 筋肉タンパク質, 総脂質およびTG蓄積も同様の傾向を示したことから, 同じ43mmサイズでも成長率によって脂質蓄積に差異のあることが明らかとなった。

また, 大きさの異なる2群の種苗を共存させ摂餌量を比較した結果, 飽食給餌した場合には両者間の摂餌率に差異は認められなかったが, 飽食量の半分の投餌量では小型種苗の摂餌率は大型種苗より低下した。よって小型種苗の脂質の蓄積不良は, 大きさの異なる種苗が共存したためにサイズ階級 (size-hierarchy) が生じ, 小型種苗の摂餌が阻害されるためと考えられた。

60日齢の稚魚の成長履歴をアリザリンコンプレキソンによる耳石標識法により推定した結果, 60

日齢の実測全長と22日目における推定全長は有意な正の相関関係で示された。この結果は, 孵化後22日目における全長が60日目の全長に反映し, 22日目に形成された成長差がその後も維持されたことを示唆するものである。また, 孵化後22日目における仔魚の実測平均全長は, 60日齢の耳石より推定された平均全長より有意に小さかった。これは種苗生産過程で成長の劣る個体が淘汰されたためと考えられた。

5) 脂質蓄積からみた飼育方法の評価

種苗の成長および魚体成分に及ぼす選別飼育の影響を調べるため, 小型種苗を日齢の異なるロットより選別した同じサイズの中型魚と混合し48日間飼育した。その結果, 小型群の成長は中型群と等しくなり, 飼育過程で生じた小型個体でも飼育環境を変えることによって成長が改善されることが明らかとなった。また, 選別して飼育することによって小型魚のタンパク質合成能 (RNA/DNA比) やTG蓄積が向上した。これらの結果は, これまで遺伝的要因が大きいと思われていた成長の良し悪しはむしろ飼育環境の影響を大きく受けると考えられた。

放流後のマダイの生理状態に及ぼす音響馴致飼育の有効性を, 放流魚の脂質の蓄積状態から調査した。中間育成中のマダイを周波数200Hzの水中スピーカーで15日間音響馴致し, 放流後も音響馴致下で給餌を続行した。音響馴致下での放流マダイには, 馴致せずに放流したマダイで観察されるような肥満度や貯蔵脂質の急激な低下は認められなかった。TGは放流後も増加し, 越冬前には放流直後の1.5倍に増加した。以上の結果, 音響馴致飼育は放流後のマダイの環境への順化を容易にし, さらに越冬前の脂質蓄積を向上させることから, 放流後の減耗を回避する点で極めて有効な方法と考えられた。

謝 辞

本学位論文をまとめるにあたり、広島大学生物生産学部、中川平介教授には長年にわたり有益なご教示と励ましをいただいた。ここに深く感謝の意を表します。学位論文執筆にあたり、有益なご助言をたまわった広島大学生物生産学部の難波憲二教授、室賀清邦教授、今林博道教授、植松一眞教授、荒井克俊助教授に感謝します。本研究に関して有益なるご助言をいただいた笠原正五郎広島大学名誉教授、鈴木 亮前広島大学教授、黒倉寿東京大学助教授、水産庁中央水産研究所の中野 広博士、内田和男博士、広島県水産試験場の高場 稔氏、広島県栽培漁業協会の佐藤 修氏、慶徳尚壽氏、高知県栽培漁業センターの山中弘雄氏に感謝します。また、研究に際して貴重な実験材

料の提供と多大なるご協力をいただいた、広島県栽培漁業協会、広島県水産試験場、高知県栽培漁業センター、広島大学附属水産実験所の大塚 攻助教授、泉 志郎氏に心から感謝致します。

本学位論文は、昭和62年から平成7年にかけて広島大学生物生産学部、水産増殖学研究室で行った研究をまとめたものである。その間に本学部水産増殖学研究室に在籍された、ガブリエル・ゴメス・ディアス博士、大津正淳氏、中西 毅氏、武田高明氏、若松 秀氏、水族生理学研究室の岡部正也氏、浜田 稔氏、動物生態学研究室の糸崎博之氏、水族病理学研究室の森 広一郎博士には実験に際して多大なるご協力とご助言をいただいた。ここに深く感謝の意を表したい。

引用文献

- Abbott J. C. and Dill L. M., 1989. The relative growth of dominant and subordinate juvenile steelhead trout (*Salmo gairdneri*) fed equal rations. *Behavior*, 108: 104-113.
- 安楽正照・畔田正格, 1973. 天然および養成マダイ幼稚魚の体成分の差異. 西水研報, 43: 117-131.
- 畔田正格, 1986. 成育場における環境収容力の検討. マダイの資源培養技術(田中 克・松宮義晴編), 恒星社厚生閣, 東京, pp91-105.
- Batty R. S., 1984. Development of swimming movements and musculature of larval herring. *J. Exp. Biol.*, 110: 217-229.
- Bellardi S., Bianchini M. L., Domenis L. and Palmegiano G. B., 1995. Effect of feeding schedule and feeding rate on size and number of adipocytes in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *J. World Aquaculture Soc.*, 26: 80-83.
- Blaxter J. H. S. and Hempel G., 1963. The influence of egg size on herring larvae (*Clupea harengus* L.). *J. Cons.*, 28: 211-240.
- Blaxter J. H. S., 1976. Reared and wild fish - How do they compare?. *10th European Sympo. on Mar. Biol.*, 1: 11-26.
- Bligh E. G. and Dyer W. J., 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 37: 911-917.
- Brett, J. R., Shelbourn J. E. and Shoop C. T., 1969. Growth rate and body composition of fingerling sockeye salmon, *Oncorhynchus nerka*, in relation to temperature and ration size. *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 26: 2363-2393.
- Brown M. E., 1946. The growth of brown trout (*Salmo trutta* Linn.). I. Factors influencing the growth of trout fry. *J. Exp. Biol.*, 22: 118-129.
- Carmichael G. J., 1994. Effect of size-grading on variation and growth in channel catfish reared at similar densities. *J. World Aquaculture Soc.*, 25: 101-108.
- Ehrlich K. F., Blaxter J. H. S. and Pemberton R., 1976. Morphological and histological changes during the growth and starvation of herring and plaice larvae. *Mar. Biol.*, 35: 105-118.
- Ejike E. and Schreck C. B., 1980. Stress and social hierarchy rank in coho salmon. *Trans Am. Fish. Soc.*, 109: 423-426.
- Elliott, J. M., 1976. Body composition of brown trout (*Salmo trutta* L.) in relation to temperature and ration size. *J. Anim. Ecol.*, 45: 273-289.
- Fawcett D. W., 1986. A textbook of histology (11th ed.). W.B. Saunders Co., Philadelphia, London, Tokyo, pp.174-187.
- 福田雅明, 1985. 成長にともなうサケ稚魚のグリコーゲン含量と脂質含量の変化. 北水研報, 50: 79-82.
- 福田雅明・中野 広・山本和久, 1986. ニシンの発育初期における体成分の変化. 北大水産学部研究彙報, 37: 30-37.
- 福田雅明, 1990. ニシン仔稚魚の体側筋の発達と遊泳速度の変化. 日本水産学会誌, 56: 11-17.
- 福原 修, 1975. 海産魚における種苗生産の現状と2, 3の問題点. 南西水研増殖部資料, 1-19.
- 福原 修, 1976a. マダイ稚仔魚の形態学的研究-I. 鰭の形成について. 南西水研報, 9: 1-11.
- 福原 修, 1976b. マダイ稚仔魚の形態学的研究-II. 初生鱗の発生と成長. 南西水研報, 9: 13-18.
- 福原 修・国行一正, 1978. マダイ天然稚仔魚と飼育魚における二, 三の外部形態の差異について. 南西水研報, 11: 19-25.
- 福原 修・岸田 達, 1980. マダイ稚仔魚期における二, 三の行動. 南西水研報, 12: 9-20.
- 福原 修, 1984. 1-マダイ仔稚魚期の器官形成と生態の関係. 海洋と生物, 32: 184-190.
- Fukuhara O., 1985. Functional morphology and behavior of early life stage of red sea bream. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 51: 731-743.
- 福原 修, 1986. 種苗の健全性. マダイの資源培養(田中 克・松宮義晴編). 恒星社厚生閣,

- 東京, pp26-36.
- 広島県, 1991. 広島県のマダイ・種苗添加による資源のカサ上げとその管理, 広島県, 広島, pp.9-13.
- 広島県水産試験場, 1980. 広島県における種苗放流・追跡・受入れ・育成・放流の経過. 瀬戸内海栽培漁業放流技術開発事業マダイ班総合報告書, pp1-34.
- 広島県水産試験場, 1985. 中間育成. 昭和59年度回遊性魚類共同放流実験調査事業, 瀬戸内海西部海域総合報告書, pp13-19.
- 広島県水産試験場, 1989. 海洋牧場新技術導入促進事業. 平成2年度広島水試事業報告, pp75-78.
- Houde E. D., 1987. Fish early life dynamics and recruitment variability. *Am. Fish. Soc. Symp.*, 2: 17-29.
- Hung S. S. O., Conte F. S. and Hallen E. F., 1993. Effect of feeding rates on growth, body composition and nutrient metabolism in striped bass (*Morone saxatilis*) fingerlings. *Aquaculture*, 112: 349-361.
- 今林博道・高森茂樹・花岡 資, 1975. 生物群集内における稚魚期および若魚期のマダイの摂餌生態-I. 他魚種との関係. 南西水研報, 8: 101-111.
- Iwai, T. and Tanaka M., 1968. The comparative study of the digestive tract of teleost larvae-IV. Absorption of fat by the gut of halfbeak larvae. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 34: 871-875.
- Iwai T., 1968. The comparative study of the digestive tract of teleost larvae-V. Fat absorption in the gut epithelium of goldfish larvae. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 34: 973-978.
- Iwai T., 1969. Fine structure of gut epithelial cells of larval and juvenile carp during absorption of fat and protein. *Arch. Histol. Jpn.*, 30: 183-199.
- Jobling M. and Reinsnes T.-G., 1986. Physiological and social constraints on growth of Arctic charr, *Salvelinus alpinus* L.: an investigation of factors leading to stunting. *J. Fish Biol.*, 28: 379-384.
- Jobling, M., 1994. Fish Bioenergetics. Chapman & Hall, London and Tokyo, pp309.
- Johnson P. R. and Greenwood M. R. C., 1988. The adipose tissue, in "Cell and Tissue Biology" (ed. by L. Weiss), 6th ed., Urban & Schwarzenberg, Baltimore, Munich, pp.191-209.
- 加藤禎一・坂本義雄, 1969. ニジマスの成長変異に関する研究 I. 成長過程に及ぼす選別の影響. 淡水研報, 19: 9-16.
- 萱野 泰久・丁 達相・尾田 正・中川平介, 1990. キジハタ稚魚に対する至適給餌頻度. 水産増殖, 38: 319-326.
- 木曾克裕, 1980. 平戸島志々伎湾におけるマダイ当歳魚個体群の摂餌生態-I. 西水研報, 54: 291-302.
- 北田修一・須田 明, 1988. 放流魚の混獲状況からみた放流効果の諸問題. 水産増殖, 36: 107-112.
- 北島 力・藤田矢郎・大和史人・米 康夫・渡邊 武, 1979. クロレラで二次培養したパン酵母ワムシの餌料効果. 日水誌, 45: 469-471.
- Kitajima C., Tsukashima Y. and Tanaka M., 1985. The voluminal changes of swim bladder of larval red sea bream *Pagrus major*. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 51: 759-764.
- Kitajima C., Yamane Y., Matsui S. Kihara Y. and Furuichi M., 1993. Ontogenetic change in buoyancy in the early stage of red sea bream. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 59: 209-216.
- 興石祐一・安永義暢, 1980. マダイ放流技術開発に関する基礎的研究, I. マダイの健苗育成に関して. 日水研報, 31: 1-15.
- 桑田 博・塚本勝巳, 1987. アリザリン・コンプレキソンによるマダイ稚仔魚の耳石標識-I. 染色液の濃度と標識保有時間. 栽培技研, 16: 93-104.
- Li, H. W. and Brocksen, R. W., 1977. Approaches to the analysis of energetic of intraspecific competition for space by rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. Fish Biol.*, 11: 329-341.
- Lopez N. A., 1986. Morphohistological study of early development stage of red sea bream, *Pagrus major*. *The First Asian Fish. Forum*, 179-184.
- Love R. M., 1970. Chemical biology of fish.

- Academic Press, London and New York, pp133-229.
- Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L. and Randall R. J., 1951. Protein measurement with the Folin-phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193: 265-275.
- Magnuson J. J., 1962. An analysis of aggressive behavior, growth and competition for food and space in medaka (*Oryzias latipes*, Pisces, Cyprinodontidae). *Can. J. Zool.*, 40: 313-363.
- 丸山敬悟・津村誠一・森岡泰三, 1986. マダイ種苗の健全性に関する研究-I. 栽培技研, 15: 157-167.
- 松宮義晴・木曾克裕, 1982. 平戸島志々伎湾における人工マダイ放流魚の動向と順応過程. 西海水研報, 58: 89-98.
- 松宮義晴・金丸彦一郎・岡 正雄・立石 賢, 1984. マダイ人工放流魚と天然当歳魚の外部形態の比較. 日水誌, 50: 1173-1178.
- Matsuoka M., 1984. Morphometry of the myotomal muscle fibers in larvae and juveniles of the red sea bream. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 50: 1811-1816.
- Matsuoka M. and Iwai T., 1984. Development of the myotomal musculature in the red sea bream. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 50: 29-35.
- Metcalfe N. B., Wright P. J. and Thorpe J. E., 1992. Relationships between social status, otolith size at first feeding and subsequent growth in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *J. Anim. Ecol.*, 61: 585-589.
- Mugiya Y. and Tanaka S., 1992. Otolith development, increment formation, and an uncoupling of otolith to somatic growth rate in larval and juvenile goldfish. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 58: 845-851.
- 麦谷泰雄, 1994. 魚類の耳石情報解析に関する研究. 日水誌, 60: 7-11.
- 長崎県水産試験場, 1979. 長崎県におけるマダイの放流技術開発調査. 昭和53年度東支那海栽培漁業放流技術開発事業マダイ共同報告書, pp25-50.
- 長崎県水産試験場, 1989a. 音響飼育によるマダイの滞留効果. 長崎水試研報, 15: 35-45.
- 長崎県水産試験場, 1989b. 玉野浦湾における音響馴致マダイの分布. 長崎水試研報, 15: 53-59.
- 名越 誠, 1967. グッピーの成長に及ぼすSize hierarchyの影響についての実験. 三重県立大学水産学部紀要, 7: 165-189.
- Nakagawa H., Kasahara S., Tsujimura A. and Akira K., 1984. Changes of body composition during starvation in *Chlorella*-extract fed ayu. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 50: 665-671.
- Nakagawa H. and Kasahara S., 1986. Effect of *Ulva* meal supplement to diet on the lipid metabolism of red sea bream. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 52: 1887-1893.
- Nakagawa H., Imabayashi H., Kurokura H. and Kasahara S., 1991. Changes in body constituents of red sea bream, *Pagrus major*, in reference to survival during experimental stocking. *Biochem. System. Ecol.*, 19: 105-110.
- Nakagawa H., Umino T., Mori M., Sakae K. and Ohya S., 1995. Nature of adipose tissue of ayu associated with water velocity. *Fisheries Sci.*, 61: 89-90.
- 中村中六・笠原正五郎, 1955. トビゴイに関する研究-I. トビの現れる時期について. 日水誌, 21: 73-76.
- 中村中六・笠原正五郎, 1956. トビゴイに関する研究(第2報), 餌料の粒子組成と量の影響. 日水誌, 21: 1022-1024.
- 中村中六・笠原正五郎, 1957. トビゴイに関する研究-III. Mode付近の個体群の飼育及び仔魚の個別飼育の結果について. 日水誌, 22: 674-678.
- 中西照幸・小野里 担, 1987. クローンギンブナにおける成長の変異性. 日水誌, 53: 2099-2104.
- 中野 広, 1988. 稚仔魚研究のための核酸の定量法. 海洋と生物, 54: 23-26.
- 中野 広・白旗総一郎, 1988. サケの健苗性評価について. 日水誌, 54: 1263-1269.
- 中野 広・小野木博一・大橋誠之・丸山敬悟, 1989. マダイの空中乾出時の生化学的変化に関する研究, 粗放的生産魚と集約的生産魚との比較-I. 栽培技研, 17: 107-113.
- 中野 広, 1991. 生体成分の生化学分析. 魚類の初期発育(田中 克編), 恒社厚生閣, 東

- 京, pp60-70.
- 中野 広, 1993. 健全性とその基準. 放流魚の健苗性と育成技術 (北島 力編), 恒星社厚生閣, 東京, pp9-18.
- Nematipour Gh. R., Nakagawa H. and Ohya S., 1990. Effect of *Chlorella*-extract supplementation to diet on in vitro lipolysis in ayu. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 56: 777-785.
- Nishimura A. and Yamada J., 1988. Geographical differences in early growth of walleye pollock *Theragra chalcogramma*, estimated by back-calculation of otolith daily growth increments. *Marine Biol.*, 97: 459-465.
- 大分県水産試験場, 1988. 昭和62年度海洋牧場開発促進事業調査報告書, pp1-50.
- 大森迪夫, 1980. 油谷湾におけるマダイ当歳魚の食性. 西水研報, 54: 93-109.
- Pannella G., 1971. Fish otoliths: daily growth layers and periodical patterns. *Science*, 173: 1124-1127.
- Pedersen T. and Jobling M., 1989. Growth rates of large, sexually mature cod, *Gadus morhua*, in relation to condition and temperature during an annual cycle. *Aquaculture*, 81: 161-168.
- Randolph K. N. and Clemens N. P., 1976. Some factors influencing the feeding behavior of channel catfish in cultured ponds. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 6: 718-724.
- Roncari D. A. K. and Van R. L. R., 1978. Adipose tissue cellularity and obesity: New perspectives. *Clin. & Invest. Medic.*, 1: 71-79.
- 佐賀県水産試験場, 1979. 昭和54年度東支那海栽培漁業放流技術開発事業マダイ班共同報告書, pp16-21.
- 阪口清治・石岡宏子・福原 修・梅沢 敏・猪子嘉生, 1975. 音響馴致によるマダイの培養効果向上. 昭和49年度別枠研究成果農林水産技術会議資料, pp264-271.
- 坂口宏海・浜口 章, 1981. 養殖マダイの絶食時における血液, 肝すい臓成分などに与える水温の影響. 日水誌, 47: 27-33.
- Secor D. H. and Dean J. M., 1989. Somatic growth effects on the otolith-fish size relationship in young pond-reared striped bass, *Morone saxatilis*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 46: 113-121.
- 高根県栽培漁業センター, 1981. 昭和55年度日本海西部栽培漁業放流技術開発事業マダイ班共同報告書, pp81-86.
- 代田昭彦, 1970. 魚類稚仔魚期の口径に関する研究. 日水誌, 36: 353-368.
- 水産庁・(社)日本栽培漁業協会, 1995. 平成5年度栽培漁業種苗生産, 入手・放流実績(全国). 水産庁, 東京, pp103-124.
- 高場 稔・溝上昭男・猪子嘉生, 1978. マダイの追跡・放流一Ⅱ, 放流種苗の定着. 栽培技研, 7: 27-32.
- 高場 稔・海野徹也・米司 隆・伏見 徹, 1994. 広島県奥ノ内における音響馴致マダイの摂餌と分布. 水産増殖, 42: 253-259.
- 滝井建二・中村元二・高岡 治・古田晋一・熊井英水, 1992a. ふ化後におけるマダイ稚仔魚の核酸および一般成分の変化. 水産増殖, 40: 285-290.
- 滝井建二・中村元二・高岡 治・古田晋一・熊井英水, 1992b. ふ化後におけるマダイ稚仔魚の各種酵素活性の変化. 水産増殖, 40: 291-296.
- Talbot C. and Higgins P. J., 1983. Radiographic methods for feeding studies on fish using metallic iron powder as a marker. *J. Fish. Biol.*, 23: 211-220.
- 田中 克, 1969a. 仔魚の消化系の構造と機能に関する研究一Ⅰ, 前期仔魚期の消化系の発達. 魚類学雑誌, 16: 1-8.
- 田中 克, 1969b. 仔魚の消化系の構造と機能に関する研究一Ⅱ, 摂餌開始時期の仔魚の消化系の特徴. 魚類学雑誌, 16: 41-49.
- 田中 克, 1971a. 仔魚の消化系の構造と機能に関する研究一Ⅲ, 後期仔魚の消化系の発達. 魚類学雑誌, 18: 164-174.
- 田中 克, 1971b. 仔魚の消化系の構造と機能に関する研究一Ⅳ, 摂餌にともなう腸前部および中部上皮層の変化と脂肪の吸収. 魚類学雑誌, 19: 15-25.
- 田中 克, 1975. 稚魚の摂餌と発育 (日本水産学会編), 恒星社厚生閣, 東京, pp.7-23.
- 田中 克, 1982. 天然マダイ仔魚の日成長. 西水研ニュース, 40: 6-9.
- 田中 克, 1993. 飼育魚と天然魚の比較. 放流魚の建苗性と育成技術 (北島 力編), 恒星社厚生閣, 東京, pp19-30.

- 谷口順彦, 1986. 種苗生産における遺伝学的諸問題, マダイの資源培養(田中 克・松宮義晴編), 恒星社厚生閣, 東京, pp37-58.
- 立石 賢, 1976. マダイ放流種苗の追跡, 種苗の放流効果(日本水産学会編), 恒星社厚生閣, 東京, pp102-114.
- Toyoda J. and Uematsu K., 1994. Brain morphogenesis of the red sea bream, *Pagrus major* (Teleostei). *Brain Behav. Evol.*, 44:324-337.
- Tsuji S. and Aoyama T., 1982. Daily growth increments observed in otoliths of the larvae of Japanese red sea bream (*Temminck et Schlegel*). *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 48: 1559-1562.
- Tsukamoto K., 1985. Mass-marking of ayu eggs and larvae by tetracycline-tagging of otoliths. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 51: 903-911.
- Tsukamoto K., 1988. Otolith tagging of ayu embryo with fluorescent substances. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 54, 1289-1295.
- Tsukamoto K., Kuwada H., Hirokawa J., Oya M., Fujimoto H. and Imaizumi K., 1989. Size-dependent mortality of red sea bream, *Pagrus major*, juveniles released with fluorescent otolith-tags in News Bay, Japan. *J. Fish Biol.*, 35(Supplement A): 59-69.
- 塚本勝巳, 1990. 種苗性のはなし. *さいばい*, 55: 20-24.
- 塚本勝巳, 1993. 種苗の質. 放流魚の健苗性と育成技術(北島 力編), 恒星社厚生閣, 東京, pp102-113.
- 津村誠一・山本義久, 1993. 飼育方法と健苗性. 放流魚の健苗性と育成技術(北島 力編), 恒星社厚生閣, 東京, pp84-93.
- Uematsu K., Kitano M., Morita M. and Iijima N., 1992. Presence and ontogeny of intestinal and pancreatic phospholipase A2-like protein in the red sea bream, *Pagrus major*. An immunocytochemical study. *Fish Physiol. Biochem.*, 9: 427-438.
- 海野徹也・今林博道・糸崎博之・中川平介・山中弘雄, 1989. 半粗放的飼育条件下におけるマダイ幼魚の食性と体成分. 広島大学生物生産学部紀要, 28: 71-77.
- 海野徹也・高場 稔・中川平介, 1990. マダイ仔稚魚の脂質蓄積に関する研究. 広島大学生物生産学部紀要, 29: 117-125.
- Umino T., Nakagawa H. and Takaba M., 1991. Lipid accumulation and starvation tolerance in young red sea bream. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57:1897-1902.
- Umino T., Takaba M. and Nakagawa H., 1992. Growth and triglyceride accumulation in red sea bream, *Pagrus major*. *Oceanis*, 18 Fasc.1: 77-83.
- Umino T., Arai K. and Nakagawa H., 1995. Growth performance in clonal crucian carp *Carassius langsdorfii*. Effects of feeding history and genetic difference. Larvi '95-Fish & Shellfish Larviculture Symposium (Eds. P. Lavens, E. Jaspers and I. Roelants), European Aquaculture Society, Special pub., 24: 465.
- 内田和男・桑田 博・塚本勝巳, 1993. マダイの種苗性と横臥行動. *日水誌*, 58: 991-999.
- Villa-Navarro J., Takaba M. and Nakagawa H., 1991. Changes in lipid accumulation of young red sea bream *Pagrus major* released into the Inland Sea of Japan (Setonaikai). *La mer*, 29: 286-291.
- Volk, E. C., Wissmar, R. C., Simenstad, C. A. and Eggers, D. M., 1984. Relationship between otolith microstructure and the growth of juvenile chum salmon (*Oncorhynchus keta*) under different prey rations. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 41: 126-133.
- Wright P. J., 1991. The influence of metabolic rate on otolith increment width in Atlantic salmon parr, *Salmo salar* L. *J. Fish Biol.*, 38: 929-933.
- Yamagishi H., 1962. Growth relation in some small experimental populations of rainbow trout fry, *Salmo gairdneri* R., with special reference to social relations among individuals. *Japan. J. Ecol.*, 12: 43-53.
- 山岸 宏, 1964. 魚類の成長の個体変異について. *生物科学*, 16: 98-104.
- Yamagishi H., 1969. Postembryonal growth and its variability of the three marine fishes with special reference to the mechanism of growth variation in fishes. *Res. Popul. Ecol.*, 6:14-33.

- 山口正男, 1978. タイ養殖の基礎と実際. 恒星社厚生閣, 東京. pp414.
- 矢野 実, 1979, マダイ種苗放流における問題点, 種苗の放流効果 (日本水産学会編) 恒星社厚生閣, 東京, pp115-132.
- Yao S.-J., Umino T., and Nakagawa H., 1994. Effect of feeding frequency on lipid accumulation in ayu. *Fisheries Sci.*, 60: 667-671.
- Yin M. C. and Blaxter J. H. S., 1987. Escape speeds of marine fish larvae during early development and starvation. *Mar. Biol.*, 96: 459-468.
- 95' 養殖経営白書, 1995. 総論・養殖経営の現状と課題, 養殖32巻臨時増刊号, pp21-27.
- Zhang Z. and Runham N. W., 1992. Effect of food ration and temperature level on the growth of *Oreochromis niloticus* (L.) and their otoliths. *J. Fish Biol.*, 40: 341-349.

Studies on lipid accumulation in releasing red sea bream

Tetsuya Umino

Recently, fish release projects have been routinely carried out to enhance and rehabilitate natural resources of Japanese coastal waters. Red sea bream *Pagrus major* is one of the most important finfish species for this sea farming program. There is a consensus that a major loss occurs in the released fish just after released into natural waters due to insufficient food intake. Therefore, higher level of energy storage is required for seeds to be released. In particular, the lipid accumulation level of the seeds is considered as a key indicator for setting up the optimum release size as well as for evaluating seed quality. In the present study, the lipid accumulation of releasing red sea bream was investigated in relation to optimum releasing size and seed quality. I also investigated the relationship between lipid accumulation and growth depensation, and the possibility of improvement of seed quality in relation to rearing conditions.

I. Lipid Accumulation in the Early Life Stage

Development of lipid depository-organs

Glycogen first appeared in the liver on the 6th day after hatching. However, lipid accumulation in the liver was not observed during the postlarval stage. In this stage, the lipid accumulation was localized in the vacuoles of the epithelial cells in the intestine. Thus, the epithelial cells of the postlarval intestine are thought to play an important role in lipid absorption and storage. Concurrently with the development of gastric gland and pyloric caeca, the lipid vacuoles in the intestinal epithelial cells disappeared. Lipid accumulation in the liver and the adipocytes were detected histologically on the 37th day after hatching. This result indicates that the liver and adipose tissue develop to the lipid depository organs after fish grow into juvenile stage.

Development of the Adipose Tissue

The adipocytes were first observed in the pancreas of the 37-day old juveniles. The volume of the adipose tissue increased in the pancreas with the progress of the growth of fish. However, there was no remarkable change in the average size of adipocytes during the early developmental stage. The results suggest that the growth of the adipose tissue was exclusively caused by hyperplastic growth of adipocytes.

II. Morphological Development and Lipid Accumulation During Secondary Culture

Morphological Development

Until 30-35mm in body length, the relative fin area (%) (=total fin area / body surface area x 100) and viscerosomatic index (%) (=viscera weight / body weight x 100) decreased with the progress of the growth of fish and these parameters stable. Muscle ratio (%) (=muscle weight / body weight x 100) increased parabolically with growth, and the value reached constant level when body length (BL) reached 40mm. The mouth size and intestinal length increased in proportion to the BL, showing a turning point of the coefficient at 35-40mm in BL. These results revealed that morphological development in the juvenile fish is completed at 40mm in BL, at which the developmental stages of red sea bream change from juvenile to young stage.

Lipid Accumulation and release size

Moisture content of the whole body gradually decreased until 35mm in BL, and keep a constant level thereafter. Muscle protein and lipid increased with growth of fish, and became stable at 40mm in BL. Triglycerides (TG) level among total lipid in the muscle increased with the progress of the growth and

reached 30% at 40mm in BL, which was two times higher than that measured before secondary culture. TG level in the intraperitoneal fat body increased parabolically with growth, and reached constant level at 40mm in BL. These results indicate that the development of lipid accumulation in red sea bream is almost accomplished at 40mm in BL. Therefore, it can be concluded that minimum releasing size would be at 40mm from the standpoint of the lipid accumulation.

III. Lipid Accumulation and Seed Quality

Lipid Accumulation and Starvation Tolerance

Fish at various growth stages were submitted for starvation test to assess the nutritional condition and seed quality. Starvation tolerance increased with growth. The TG, the level of which increased with growth, was preferentially consumed during starvation with suppressing exhaustion of muscle protein. On the other hand, average body length highly correlated to starvation tolerance (50% survival) within the range of 15mm to 50mm in BL. Moreover, excellent correlation was found between TG level (per 100 g fish) and starvation tolerance. This result suggested that storage level of TG is a good parameter to evaluate seed quality.

Effect of Ration Size on Body Constituents

The effects of ration size, i.e. 6% (satiation), 3% and 1 % per body weight per day, on biological parameters and body constituents were investigated. When fish were fed 6% ration for 42 days, their storage level of energy such as protein, total lipid and TG, increased. When fish were reared with 3% ration, their lipid accumulation was inhibited while they experienced a body length gain 1.7 times. This indicated that increasing the body length gain has priority over lipid accumulation in the dietary energy provided. Condition factor and muscle ratio decreased with decreasing ration size. Body depth and relative intestinal length showed the same tendency. These results indicate that these indices are good parameters to assess the nutritional condition of young red sea bream.

IV. Lipid Accumulation and Growth Depensation

Growth and Body Constituents

Some biological and biochemical characteristics were compared among fish having different growth rate (runts, moderately-grown and precocious-grown) of the same lot at a similar growth stage. Runts were characterized by a low muscle ratio and viscerosomatic index. Analytical results indicated that the runts lacked energy reserves such as protein, lipid and TG. On the other hand, RNA/DNA ratios of runty fish were also lower, compared with the other groups. Low energy storage and protein synthesis of runts could be explained by low food intake under the pressure of size hierarchy.

Estimation of Growth Process Using Otolith-tagging

Growth process in seed production was estimated using otolith-tagging with alizarin complexone (ALC). Fish size on the 60th day corresponded with that estimated from otolith reading of the 22nd day. This result indicates that the size-differences is formed around on the 20th day after hatching and the differences is maintained during subsequent growth. The observed average total length on the 22nd day after hatching was 5.76 ± 0.69 mm (n=301). Back-calculated total length estimated from 60-day old juveniles was 6.29 ± 0.71 mm (n=138), which is significantly bigger than observed one. This disparity in average size could be caused by that smaller fish preferentially died or was killed during the culture in the tank.

V. Evaluation of Rearing Conditions in Relation to Lipid Accumulation

Effect of Size-grading on Body Constituents and Growth

Two experiments were carried out using juvenile red sea bream of Lot 1 (76d, 36.1 ± 4.6 mm, n=471) and Lot 2 (65d, 29.9 ± 5.4 mm, n=383). In experiment I, fish of a small size group (31.8 ± 2.0 mm, n=70) and a medium size group (31.7 ± 1.9 mm, n=70) were selected from Lot 1 and Lot 2, respectively. These two groups, after differently marked by fin-cutting, were reared together for 48 days. In experiment II, a large size group (37.4 ± 1.6 mm, n=70) and a medium size group (38.1 ± 1.8 mm, n=70), which were sorted out from Lot 2 and Lot 1, respectively, were also reared. No differences of size distribution and daily growth rate were observed after 48 days rearing between the two groups in both experiments. The size-grading resulted in the enhancement not only of RNA/DNA ratio but also of lipid and TG accumulation in the small size group. These results indicate usefulness of the size-grading for growth improvement especially in runts, and suggest that runts have an ability of growth as well as medium size fish.

Usefulness of Acoustic Conditioning

Young red sea bream fed with artificial diet under the so-called "acoustic conditioning" for 15 days in floating net cages were released into the natural water. The fish recaptured from the natural water were subjected to determination of biological characteristics and body constituents. Any apparent reduction in condition factor and storage level of lipid was not observed in the released fish, which was probably due to active feeding under the acoustic conditioning. The released fish accumulated sufficient TG before wintering. Thus, the acoustic conditioning for feeding before release was found available for increasing stocking efficiency as to alleviate perturbed condition after releasing.