

小型水槽を用いたヒラメの省力型種苗生産方法の検討

板野公一・阪本憲司・高橋庸一・岡 英雄

福山大学附属内海生物資源研究所

Larviculture of Japanese Flounder with 1 m³ Tanks by the Hottoke Method

Tomokazu Itano, Kenji Sakamoto, Yoh-ichi Takahashi, and Hideo Oka

(Research Institute of Marine Bioresources, Fukuyama University.

Ohama, Innoshima, Hiroshima 722-21, Japan)

Report Res. Inst. Marine Bioresources, Fukuyama Univ., No.8, 1-10 (1997).

The Hottoke method in Japanese flounder larviculture has been carried out from 1986 in use of 50m³ tanks. The Hottoke rearing consists of four fundamentals; the rearing water during the initial rearing period is blended with condensed *Nannochloropsis* sp., the rearing of flounder larvae and the culture of rotifers are conducted at the same time in the same tank, the larvae are reared with no exchange of water for long-term period, and they are moved into a new tank just prior to the settlement. This method which emphasizes the simplification of rearing works and the reduction of rearing time has been developed to make the seed production possible by oneself.

For more efficiency of the rearing works, it was studied with three 1m³ FRP tanks in which 170,000 newly-hatched larvae were stocked. As the results, 110,000 benthic fishes were produced. Relationship between the rearing environments and larval condition was discussed.

ヒラメの放流用種苗の生産は、全国64の公立および民間の生産機関で実施され、1994年度の総生産尾数は2,744万尾に達している¹⁾。種苗生産では、20~50m³規模の水槽が使用される例が多く、生産尾数も一生産機関当たり数十万~数百万尾の生産が可能になった²⁾。しかし、一度に多量の種苗を生産する現在の種苗生産方法では、種苗の遺伝的多様性が損なわれている可能性が指摘されており³⁾、採卵の間隔を空け、小規模の種苗

生産を回数を増やすなど、現在の量産を目的とした生産方法の改善が必要とされている。

一方、種苗の生産が安定的に行われることで、それに伴う放流技術も確立されるようになること、受益者負担の考え方が示されるようになった。すなわち、現在国や県が行っている放流事業は、ヒラメの漁業で利益を上げている者(例えば漁協など)が行うべきである、という考え方である。したがって、放流種苗の遺伝的多様性を守るために、地先の海に放流するヒラメは地先で獲れた親魚を使い、さらにこれらの種苗生産を受益者である漁業関係者が行うと言う種苗生産の分散化および小規模化も、今後の栽培漁業が進む方向性の一つであると考えられる。

このためには、現在の大きな施設を使用し、餌料の培養と飼育作業に労力と資金を要する種苗生産方式を、小規模の施設で、市販品の飼餌料を利用し、飼育作業にあまり手をかけないでできる種苗生産技術へと改良する必要がある。本研究では、小型水槽を用い、飼育作業と飼餌料の培養の手間を極力減らした飼育方法を検討した。

実験方法

実験区の設定 飼育試験は3例行い(1~3区)、その概要を **Table 1** に示した。飼育には、日本栽培漁業協会伯方島事業場で1996年5月16日に産卵した20万粒の受精卵を用い、これを3等分して各水槽に収容した。ふ化は5月18日に見られ、これをふ化後0日目とした。1~3区におけるふ化仔魚数は、それぞれ6.0万尾、6.5万尾および4.5万尾で、全体のふ化率は85%であった。

飼育方法 飼育水槽には、それぞれ長円形1.0m³水槽(使用水量0.8~1.0m³)を用いた。飼育水温は、飼育水温が18℃以下に低下した場合のみチタンヒーター(300W)で18~19℃を維持するように加温を行った。通気は水槽の3ヶ所に直径30mm×長さ50mmのエアーストーンを用いて行った。通気量は、仔稚魚の成長および遊泳状態に合わせて適宜増加した。

水作りにはナンノクロロプシス *Nannochloropsis* sp.を用い、飼育開始時の密度が1,500万細胞/ml程度になるように濾過海水を加えて調整した。飼育水中のナンノクロロプシス密度が低下した場合は、市販の淡水クロレラ(クロレラ工業：生クロレラ V-12)を200

Table 1. Initial condition in Japanese flounder larviculture with three 1 m³ FRP tanks

No. of experiment	Newly hatched larvae		Density of <i>Nannochloropsis</i>		Average water temp. (°C)
	Total No. of fish	Density (ind/m ³)	Initial (10 ⁴ cells/ml)	Maximum	
1	60,000	75,000	1,536	1,840	19.8
2	65,000	81,300	1,536	1,800	20.1
3	45,000	56,300	1,568	1,760	20.1
Total(Avg.)	170,000	(70,800)	(1,547)	(1,800)	

万細胞/ml程度の密度を維持するように添加した。

換水は、高橋^{4,5)}の飼育方法(「ほっとけ飼育」)に準じワムシの流出を防ぐため、ふ化後20日目までは極力行わないようにしたが、水質の悪化が著しい場合は適宜換水を開始した。ふ化後20日目以降は100%/日以上の換水を行い、飼育水を透明にするとともに底掃除を行った。

餌料系列と投餌 餌料には、海産S型ワムシ *Brachionus rotundiformis* (以下、S型ワムシ)、アルテミア *Artemia* sp.幼生および市販の配合飼料を用いた。S型ワムシは、ヒラメのふ化と同時に5個体/mlの密度で接種し、飼育水槽内での自然増殖を期待したが、増殖が不調の場合は新たな添加を行った。アルテミア幼生の投餌はふ化後12日目から、配合飼料は21日目から行った。なお、生物餌料の栄養強化は、S型ワムシはナンノクロロプシスで6~12時間、アルテミア幼生は可消化処理クロレラ(日清サイエンス:マリンオメガ-A)で6~24時間行った。

各餌料の投餌方法、および投餌量などは高橋^{4,5)}に準じた。

環境測定 環境測定はふ化後20日目まで行った。測定項目と測定方法は以下の通りである。飼育水温(SATO:PC-9200)、pH(HORIBA:pH METER F-11)、全アンモニア態窒素(HACH:DR-2000)、ナンノクロロプシス密度(THOMA血球計算盤)およびワムシ密度(1ml×5回計数)。

結 果

飼育環境 水作りを開始した日から、ふ化後20日目までの飼育に伴う環境の変化をFig. 1に示した。各実験区ともヒラメ卵収容時の水温は産卵時の水温(18℃)に調整した。ふ化を確認後、20℃を維持するように加温を開始した。しかし、止水飼育であったため外気温の影響を受け易く、水温変動の幅は3℃近くあった。ふ化後20日目までの飼育水温の平均は1区で19.9℃、2区で20.3℃、および3区で20.2℃であった。pHは、各実験区とも同様の変動傾向を示し、飼育開始とともに低下した。これは止水飼育で通常に見られる現象であり⁴⁾、このことによる仔魚への影響は認められなかった。

全アンモニア態窒素(以下、TA-N)は、飼育経過と共に上昇し、2区ではふ化後10日目に5.5ppmまで達したが、換水の開始(Fig. 2)に伴って減少した。

成長と生残 Fig. 3に1区および2区における成長と餌料系列を示した。量産規模での成長⁵⁾は飼育水温20℃では、全長10mmで22日、全長15mmで35日を要する。今回の飼育では、それぞれ19日(1区)~23日(2区)および35日(1区)~37日(2区)となり、標準的な成長が得られた。ふ化後25日目の生残状況(Table 2)を量産規模でのそれ(平均的な生残率で60.1%)⁵⁾と比較すると、3実験区の平均が64.7%となり同程度の生残であった。

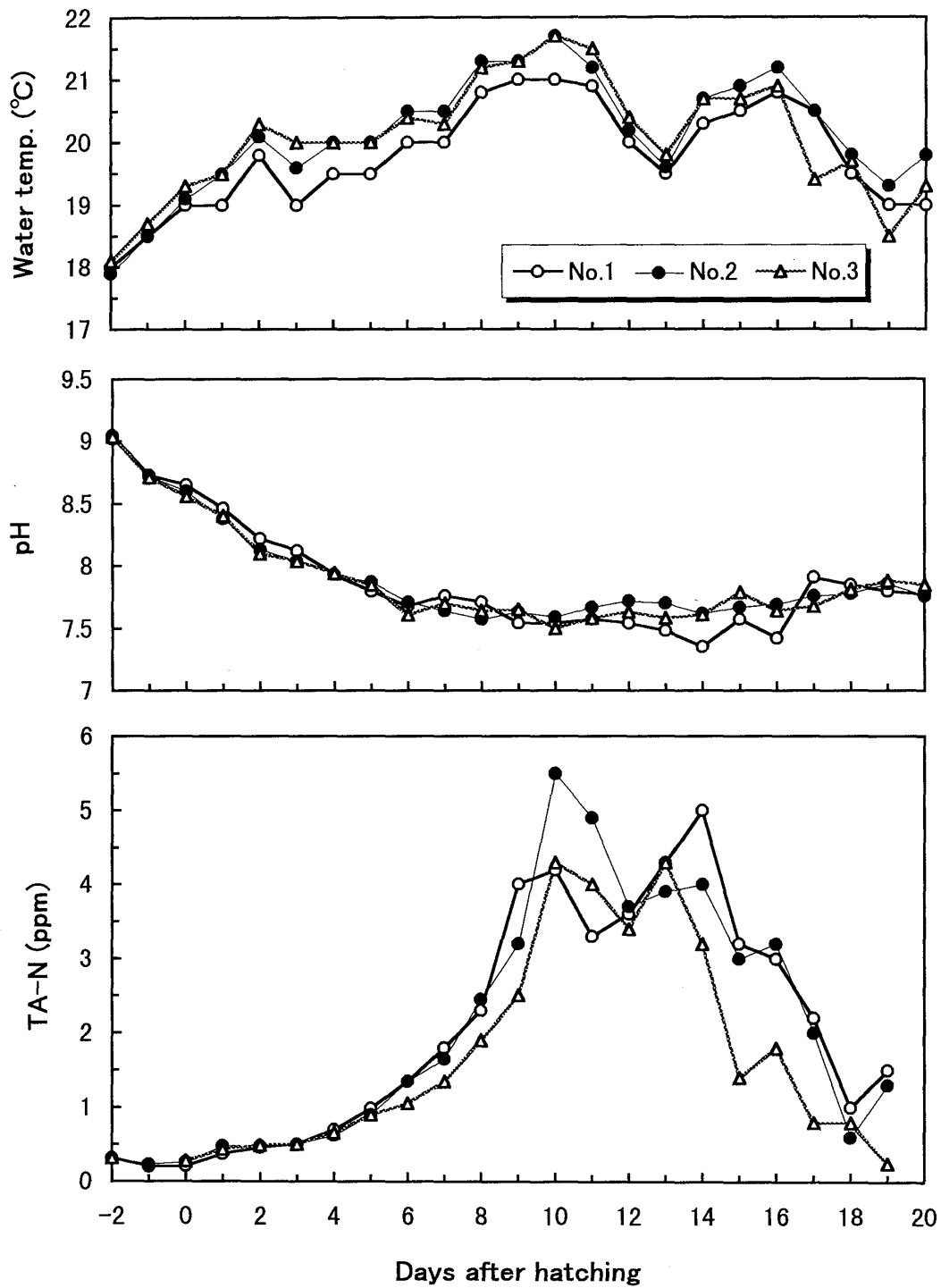


Fig. 1. Changes of rearing environments in Japanese flounder larviculture with 1 m³ tanks.

TA-N: Total ammonia nitrogen

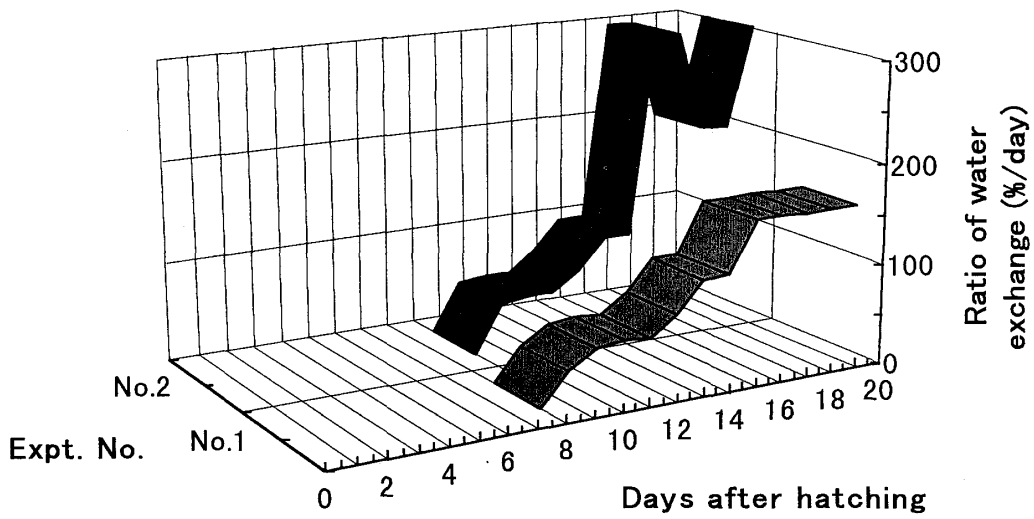


Fig. 2. Ratio of water exchange in Expts 1 and 2 of Japanese flounder larviculture with 1 m³ tanks.

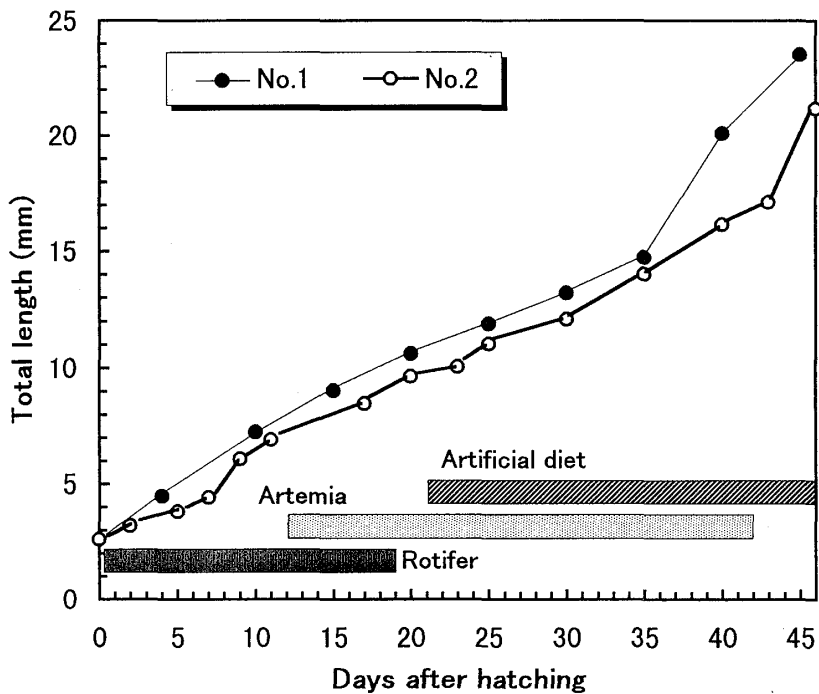


Fig. 3. Larval growth and feeding schedule in Japanese flounder larviculture with 1 m³ tanks.

Table 2. Larval growth, survival and total amount of food supply at 25 days after hatching in Japanese flounder larviculture with 1 m³ tanks

No. of experiment	Total			Total amount of food supply			
	length (mm)	Survival (10 ⁴)	Survival rate (%)	R (10 ⁸)	Ar-N (10 ⁸)	AD (g)	Chlorella (ml)
1	11.9	3.5	58.3	4.08	0.97	154	1,850
2	11.0	4.5	69.2	5.72	1.07	216	1,615
3	10.8	3.0	66.7	6.01	0.94	95	1,240
Total(Avg)		11.0	(64.7)	15.81	2.98	465	4,705

R: rotifer, Ar-N: *Artemia* nauplius, AD: artificial diets, Chlorella: commercially produced freshwater *Chlorella*.

餌料密度 Fig. 4 にナンクロロプシスと S 型ワムシ密度の変化を示した。約 1,500 万細胞/ml の密度で行った水作りは、一旦 1,800 万細胞/ml 前後まで増加したが (Table 1), ワムシの接種(ふ化後 0 日目)開始から減少し 8 日目には 200 万細胞/ml 程度まで低下した。これはワムシの摂餌による減少であり「ほっとけ飼育」では一般に見られる傾向である^{4,5)}。このため、毎日 100~300ml の淡水クロレラをワムシの餌料として添加したが (Fig. 5, 上図), ワムシの増殖は極めて不調であり (Fig. 4, 下図), 毎日の投餌を必要とした (Fig. 5, 下図)。

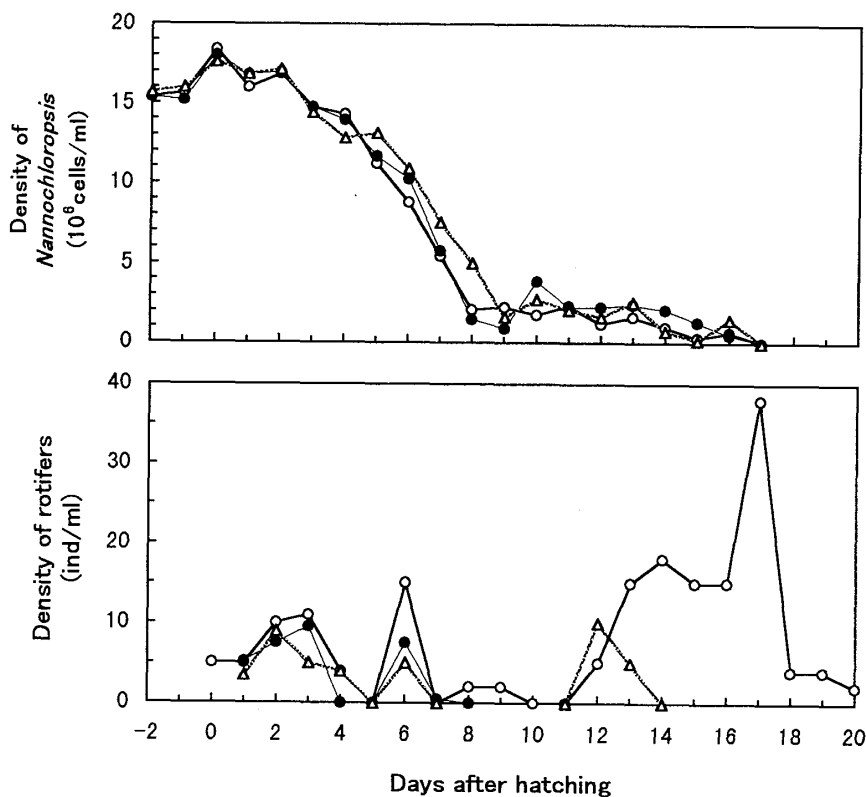


Fig. 4. Densities of *Nannochloropsis* sp. and rotifers during the initial rearing period of Japanese flounder larviculture with 1 m³ tanks.

生物餌料の使用量 着底時まで用いたS型ワムシの投餌量(Table 2)を稚魚一尾当りに換算すると、1区では1.2万個/尾、2区で1.3万個/尾、3区で2.0万個/尾であった。また、稚魚1尾当たりのアルテミア幼生投餌量は、1区と2区で2,800個/尾、3区で3,100個/尾であった。

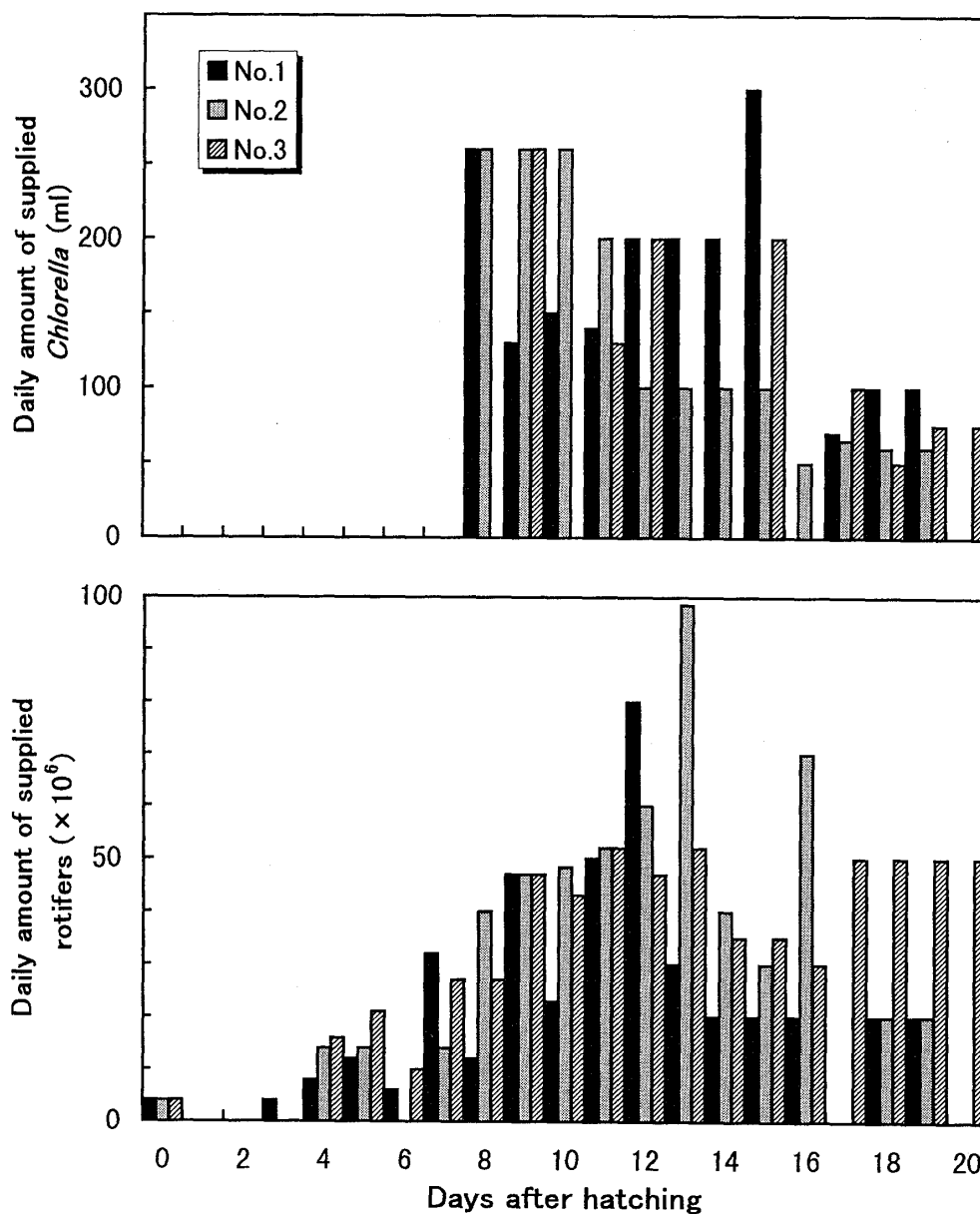


Fig. 5. Daily amount of *Chlorella* and rotifers supplied in Japanese flounder larviculture with 1 m³ tanks.

考 察

大型水槽を用いるヒラメの種苗生産では飼育方法がほぼ確立されており²⁾、仔稚魚の成長と生残は主に飼育環境の管理に影響される。小型水槽で種苗生産を行う場合、外気温の影響を受け易く飼育水温の変動が大きい。このため、止水状態で飼育を行う方法は外気温が飼育水温(19~20℃)以下の時期に限られる。1997年に同様の飼育規模で行った試験では、飼育の適水温とされている18~20℃²⁾を大幅に上回る25℃まで上昇したが、仔魚の成長や生残に悪影響を及ぼさなかった(未発表)。しかし、細菌性疾病の防除面からも、安定した飼育を行うためには23~24℃が水温上昇の限界であると考えられ、気温の上昇を予想し飼育開始時期を選定することが重要である。

飼育水の悪化は仔稚魚の排泄物や残餌、およびそれらの分解生成物などが飼育水中に蓄積されることで生じ、分解によって生じた物質、例えばアンモニア、亜硝酸および硝酸などが魚類の成長を阻害する要因として知られている⁶⁾。ヒラメの種苗生産では、水質悪化の指標としてTA-N値が測定され換水開始の基準とされている^{4,5)}。今回の飼育では、TA-N値は最高で5.5ppmまで増加したが、一般に水産用水の水質基準では、pH8.0におけるTA-Nの許容濃度は1.0ppm⁷⁾であり、1.5ppmでは魚類が健全に生きるのは困難な状況であるとされている⁸⁾。しかし、止水飼育によりTA-N値が12ppmまで上昇した飼育例⁴⁾でも、仔魚の成長や生残、および着底時の体色異常への影響は認められておらず、ヒラメ仔魚は環境の変化にかなりの対応性を持っているものと推察される。従って、今回の飼育は、飼育環境の悪化がヒラメ仔稚魚の成長や生残に悪影響を与えない範囲であったといえる。ヒラメ仔魚にとっての良い飼育環境とは、必ずしも従来の種苗生産²⁾で行われているように、換水を励行し、pHやTA-Nなどを濾過海水の値に近づけた状態ではないと考えられ⁵⁾、まず小型水槽に適した飼育環境の把握を進める必要がある。

本試験では、飼育水中でのS型ワムシの増殖が不調であったが、これは高水温(26~28℃)で培養されているワムシを直接飼育水(20℃)に収容したためで、急激な水温の低下が原因であるといえる。これまで、「ほっとけ飼育」に用いたワムシは全てL型ワムシ*Brachionus plicatilis*であり⁴⁾、15~17℃で増殖するように改良されている⁵⁾。S型ワムシを用いた「ほっとけ飼育」は新しい試みであるが、当研究所での飼育の実情に合わせて、まずS型ワムシの低温馴致を行う必要がある。

当飼育結果における、着底時までに用いたS型ワムシのヒラメ仔魚1尾当たりの投餌量は平均14,400個/尾であった。S型ワムシの摂餌量をL型ワムシの約2倍⁹⁾とし、これをL型ワムシに換算すると7,200個/尾となり、量産規模の「ほっとけ飼育」における投餌量(全長15mm時で約6,900個/尾)⁵⁾と比較してやや多いが、標準的な飼育方法²⁾に比較すればワムシの使用量は軽減できていると言える。しかし、上述したように飼育水槽内の十分な増殖が得られるようにS型ワムシの質を改良することで、使用量はさらに減少

できると考えられる。S型ワムシを用いた場合の問題点として、全長8mm以上ではS型ワムシへの嗜好が減少し¹⁰⁾、飼育水中に十分なワムシ密度が維持されているにもかかわらず飽食に至らない。従って、アルテミア幼生の投与を早めるなど、新しい投餌のスケジュールを確立する必要がある。

生物餌料の栄養価は、n-3高度不飽和脂肪酸(以下、n-3HUFA)中のエイコサペンタエン酸(以下、EPA)、およびドコサヘキサエン酸(以下、DHA)の含量によって大きく影響されるが¹¹⁻¹³⁾、海産魚に対する必須脂肪酸としての効果はEPAよりDHAの方が優れている¹⁴⁻¹⁶⁾。n-3HUFAの欠乏は、マダイ^{17,18)}、およびイシダイ¹⁸⁾やヒラメ¹⁸⁾仔稚魚の成長や生残に大きく影響を及ぼし、特にマダラ¹⁹⁾ではDHAが仔稚魚の生残を左右する要因の一つであるとされている。ヒラメ仔魚期の飼育では、ナンノクロロプシスのみで栄養強化されたワムシが用いられる例^{2,4,5)}が多いが、ナンノクロロプシスにはDHAは含まれていない²⁰⁾。しかし、これまで仔魚の成長や生残、および有眼側体色異常の出現に悪影響は認められておらず²¹⁾、生物餌料の栄養強化はヒラメの種苗生産を行う上でそれほど重要な要因ではないと考えられる。さらに、本試験では、EPAやDHAがほとんど含まれていない淡水クロレラを用いたが、ナンノクロロプシスと併用することで悪影響は認められなかった。しかし、水作りから淡水クロレラのみを用いた1997年の飼育例では、全長8mm以降の生残が急激に減少するなど栄養価の面で問題が認められた(角、未発表)。入手が簡便で安定的な市販の植物プランクトンの使用は、手の掛らない種苗生産を推進する上で重要な材料であり、ナンノクロロプシスとの併用の比率や飼育水中のワムシの栄養強化方法も含めて、さらに検討を加えて行く必要がある。

引用文献

- 1)水産庁・日本栽培漁業協会(1996)：平成6年度栽培漁業種苗生産，入手・放流実績(全国)－資料編－。水産庁・日本栽培漁業協会，409pp.
- 2)太平洋北区栽培漁業協議会技術部会ヒラメ作業部会(1994)：太平洋北区におけるヒラメ種苗生産技術集。日本栽培漁業協会，栽培漁業技術シリーズ，1，87pp.
- 3)藤井徹生・西田 睦：mt DNA Dループ領域の塩基配列から見たヒラメ人工種苗の遺伝的多様性。平成8年度日本水産学会秋季大会講演要旨，630，1996。
- 4)高橋庸一(1990)：ヒラメ種苗生産における生物餌料の軽減と飼育作業の簡素化。水産増殖，38，23-33。
- 5)高橋庸一(1998)：ヒラメの種苗生産マニュアル「ほっとけ飼育」による飼育方法。日本栽培漁業協会，栽培漁業技術シリーズ，4，57pp.
- 6)千葉健治(1980)：水の有効利用と養魚。淡水養魚と用水(日本水産学会編)。恒星社厚生閣，東京，pp.30-46。

- 7)佐野和生(1990)：第2章 海水取水システム，第1節 取水と水質．活魚大全．フジ・テクノシステム，東京，pp. 246-255.
- 8)鈴木孝明(1990)：第4章 水の循環浄化システムとその設計，第4節 浄化处理技術と実態．活魚大全，フジ・テクノシステム，東京，pp. 332-342.
- 9)森 立成・草刈宗晴・三浦宏紀・齋藤節雄・中島幹二(1990)：ヒラメ仔魚機のワムシとアルテミアの給餌量について．北水試研報，**34**，9-20.
- 10)Sakamoto K.(1996): Size of S-type rotifer preyed by Japanese flounder larvae, *Paralichthys olivaceus*. Report Res. Inst. Marine Biores., Fukuyama Univ., **7**, 13-17.
- 11)渡邊 武・北島 力・荒川敏久・福所邦彦・藤田矢郎(1978)：脂肪酸組成から見たシオミズツボワムシの栄養価．日水誌，**44**，1109-1114.
- 12)渡邊 武・大和史人・北島 力・藤田矢郎(1978)：脂肪酸組成から見た *Artemia* の栄養価．日水誌，**44**，1115-1121.
- 13)渡邊 武・大和史人・北島 力・藤田矢郎・米 康夫(1979)：シオミズツボワムシ *Brachionus plicatilis* の栄養価と ω 3 高度不飽和酸．日水誌，**45**，883-889.
- 14)Watanabe, T. and Kiron, V. (1994): Prospects in larval fish dietetics. *Aquaculture*, **124**, 223-251.
- 15)鄭 鋒・竹内俊郎・與世田兼三・小林真人・廣川 潤・渡邊 武(1996)：アルテミア幼生摂餌期のマダラ仔稚魚のアラキドン酸，EPA および DHA 要求．日水誌，**62**，669-676.
- 16)Furuita, H., Takeuchi, T., Watanabe, T., Fujimoto, H., Sekiya, S., and Imaizumi, K. (1996): Requirements of larval yellowtail for eicosapentaenoic acid, docosahexaenoic acid, and n-3 highly unsaturated fatty acid. *Fisheries Sci.*, **62**, 372-379.
- 17)Watanabe, T., Oowa F., Kitajima C., and Fujita S. (1980): Relationship between dietary value of brine shrimp *Artemia salina* and their content of ω 3 highly unsaturated fatty acids. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **46**, 34-41.
- 18)Watanabe, T. Ohta F., Kitajima C., and Fujita S. (1982): Improvement of dietary value of brine shrimp *Artemia salina* for fish larvae by feeding them on ω 3 highly unsaturated fatty acids. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **48**, 1775-1782.
- 19)鄭 鋒・竹内俊郎・與世田兼三・小林真人・廣川 潤・渡邊 武(1995)：種苗生産過程におけるマダラ仔稚魚の体脂肪酸組成の変化．日水誌，**61**，756-761.
- 20)岡内正典・周 文堅・伊 婉虹・福所邦彦・金沢昭夫(1960)：異なる増殖相におけるナンノクロロプシス *Nannochloropsis oculata* の栄養価の相違．日水誌，**56**，1293-1298.
- 21)高橋庸一(1992)：ヒラメの種苗生産における体色異常個体の出現と防除－体色異常防除試験結果報告(1986～1989年)．日裁協特別研究報告，**3**，58 pp..