

技術開発のための共同研究推進事業

事務局：企画開発推進室

この事業は、漁業者や水産関係団体等の要望に即した調査研究を積極的に実施する「開かれた試験場」としての機能強化並びに各分野に亘る重要事項への対応を強化するため、他の研究機関や異業種団体等との共同研究を推進し、これまで水産試験場のみでは解決が困難とされていた諸課題の解決促進を図ることを目的とし、平成9年度から実施している。

平成11年度は、次の8課題を選定し、大学等関係機関との共同研究を行ったので、その概要を報告する。

共同研究課題名	担当科	関係機関
(1) 配合飼料の魚粉品質および養殖魚の代謝エネルギーについて	環境養殖科	東京水産大学
(2) 乳酸生成菌添加飼料投与ブリの感染防御試験	病害科	日本獣医畜産大学
(3) エソ肉の高度加工利用に関する研究	海洋資源科	長崎大学
(4) 五島近海におけるキビナゴの成熟と産卵について	海洋資源科	長崎大学
(5) マゴチおよびヨシノゴチ稚魚の発育と形態の比較	種苗量産科	長崎大学
(6) 親魚の成熟誘導及び仔稚魚飼育技術の開発	種苗量産科	長崎大学、九州大学
(7) 養殖魚飼育の海水の殺菌に関する研究	種苗量産科	ナガベア(株), MHIオーシャニクス(株), 長菱エンジニアリング(株), 長田工業(株)
(8) クロナマコの加熱に伴う物性と組織構造の変化に関する研究	加工科	県立シーボルト大学

1. 配合飼料の魚粉品質および養殖魚の代謝エネルギーについて

イワシ資源の減少に伴い、養殖用飼料として、配合飼料への転換が進んでいるが、配合飼料に必要なヒスタミンレベルの低い高品質魚粉は安定的供給が困難な状況にある。

また、効率的な給餌による餌飼料の削減、および環境への負荷軽減を図るために、養殖魚の代謝エネルギーを把握しておく必要がある。

このため、今年度は、魚粉のヒスタミン含有量がブリに及ぼす影響について、東京水産大学と共同で試験を行った。

方 法

供試魚 総合水産試験場で種苗生産（平成11年2月採卵）した早期採卵ブリを用い、1期は市販配合飼料（ソフトドライペレット：S D P）で飼育し魚体重が113～116gになったものを、2期はそれぞれの試験飼料（後述）で飼育試験したものを、それぞれ試験に供した。

試験区 ヒスタミンレベル100ppm, 1,000ppm, 2,000ppm, 3,000ppmの魚粉を49%配合した飼料（S D P）を給餌する4試験区（順に、1区、2区、3区、4区）を設定した。1期（平成11年8月4日～11月25日までの114日間）は各区に2群を設け、それぞれ、3m角生簀に250尾、2期（平成11年12月13日～平成12年3月6日までの85日間）は各区3m角生簀に120尾を収容して、飼育試験を行った。

給 餌 原則として、1期については、1日2回の6日／週（月～土曜日）、2期については、1日1回の3日／週（月、水、金曜日）、それぞれ飽食量を給餌した。

測定等 各期とも1ヶ月を目処に、魚体重等の測定を行った。

また、1期については、試験終了時に各区各群、50尾について、胃壁の状況を観察した。

結 果

飼育試験結果の概要は表1、2に示した。

1期の試験結果についてみると、飼育終了時の魚体重は、各区とも群間で40g程度の差がみられたが、平均（加重）では、736.6（3区）～783.7（2区）gで、1、2区がやや良好であった。

餌料効率は、各区の群間で2～4%の差がみられたが、平均では、53.3（1区）～56.3（2区）%で、2区がやや良好であった。

生残率は、各区の群間で2～7%の差がみられたが、平均では、88.8（4区）～94.4（2区）%で、2区がやや良好であった。

胃壁の目視観察結果では、各区とも、襞の減少、壁の薄化等の異常は確認されなかった。

2期の試験結果についてみると、飼育終了時の魚体重は、864.8（4区）～951.5（2区）gで、2区が良好であった。

餌料効率は、13.0（4区）～21.4（2、3区）%で、2、3区が良好であったが、低水温期もあり、全体に低めの値であった。

生残率は、99.2～100%で、各区に差はみられなかつた。

以上のことから、約7ヶ月間の飼育では、魚粉のヒスタミンレベル差が、ブリ当才魚に与える影響は、明確ではなかった。

今後、長期間の飼育等により、影響の有無をさらに検討する必要がある。

ま と め

1) 魚粉のヒスタミンがブリに及ぼす影響について検討するため、ヒスタミンレベルの異なる魚粉を配合した飼料によるブリ当才魚飼育試験を行った。

2) ヒスタミンレベル100ppm, 1,000ppm, 2,000ppm, 3,000ppmの魚粉を49%配合した飼料（S D P）に

よる、約7ヶ月間の飼育では、ブリに対するヒスタミンの影響は明確ではなかった。

(担当: 宮崎、矢田)

表1 ブリ当才魚の飼育試験結果概要(1期)

	1区		2区		3区		4区	
	A	B	A	B	A	B	A	B
開始時尾数	250	250	250	250	250	250	250	250
終了時尾数	224	228	243	229	234	229	231	213
へい死尾数	26	22	7	21	16	21	19	37
開始時魚体重(g)	114.2	113.2	114.4	114.2	116.2	113.0	114.4	114.3
終了時魚体重(g)	759.3	798.0	803.5	762.6	756.3	716.4	765.9	719.6
へい死魚重量(g)	8,527	8,949	2,136	7,560	4,181	7,675	4,992	15,931
総給餌量(g)	285,910	300,300	295,000	277,940	273,080	277,530	277,050	269,820
増肉係数	1.91	1.85	1.75	1.81	1.80	1.93	1.81	1.86
餌料効率(%)	52.5	54.1	57.2	55.3	55.7	51.7	55.3	53.7
生残率(%)	89.6	91.2	97.2	91.6	93.6	91.6	92.4	85.2

* 飼育期間：平成11年8月4日～11月25日

表2 ブリ当才魚の飼育試験結果概要(2期)

	1区	2区	3区	4区
開始時尾数	120	120	120	120
終了時尾数	120	119	120	120
へい死尾数	0	1	0	0
開始時魚体重(g)	785.3	842.4	784.4	803.1
終了時魚体重(g)	879.5	951.5	881.8	864.8
へい死魚重量(g)		709		
総給餌量(g)	62,740	59,949	54,732	56,933
増肉係数	5.55	4.67	4.68	7.69
餌料効率(%)	18.0	21.4	21.4	13.0
生残率(%)	100	99.2	100	100

* 飼育期間：平成11年12月13日～平成12年3月6日

2. 乳酸生成菌添加飼料投与ブリの感染防御試験

乳酸生成菌添加飼料および乳酸生成菌と担子菌抽出物の混合添加飼料がブリの感染防御能に与える効果について、連鎖球菌を用いた感染試験および免疫活性に関する試験により検討することを目的とした。

方 法

ブリ0才魚を供試魚とし、表1に示す試験区の設定で飼料を投与した。海面筏に各試験区とも100尾のブリを収容し、給餌は試験開始時の魚体重の3%を1日1回投与した。

投与期間は、中期間（感染前に5日／週を2週間）、長期間（感染前に5日／週を9週間）、および短期間（感染前5日＋感染後）の3期間でそれぞれ投与した。

表1 試験区の試験飼料

試験区	試験飼料（飼料中の添加物）
1	無添加
2	乳酸生成菌単独（0.033%）添加
3	乳酸生成菌+担子菌0.0033%添加
4	乳酸生成菌+担子菌0.0166%添加
5	乳酸生成菌+担子菌0.083%添加
6	乳酸生成菌+担子菌0.415%添加

給餌期間終了後、各区から30尾（長期間、短期間投与分は15尾）を隔離水槽へ移し、連鎖球菌症の感染試験を実施した。供試菌は *Lactococcus garvieae* (NA 9701株) を用い、BHI液体培地で1夜培養後60lの海水で200倍（短期間投与分は100lで500倍）に希釈した菌液に供試群を30分間浸漬する方法で感染試験を行った。浸漬時の供試菌の濃度は 8.7×10^6 CFU/ml（中期間投与分）、 8.0×10^6 CFU/ml（長期間投与分）、 2.0×10^6 CFU/ml（短期間投与分）であった。感染後は流水で飼育を行い、24日間（短期間投与分は15日間）斃死状況を観察した。観察期間終了時に生残魚すべてを取上げ、保菌状況を調べた。

中期間および長期間投与分については、免疫活性の試験として、給餌期間終了後に白血球貪食試験およびリゾチーム活性の測定を行った。各区から10尾を取上げ、それぞれより回収した白血球にザイモザンを混和し、1時間反応させた後、全白血球に対する貪食細胞の割合（貪食率）および貪食細胞中の平均ザイモザン数（貪食指数）を計数した。また血漿を回収し、リゾプレート法によりリゾチーム活性を測定した。

結 果

中期間投与について、感染率（感染による死魚+保菌魚）および免疫活性（貪食率・貪食指数・リゾチーム活性）の結果を表2に示した。感染率については2区で最も低く、また免疫活性については4区で比較的高い値を示した（ただし有意差はない）。この結果から、乳酸生成菌単独添加飼料の *L. garvieae* に対する感染防御効果が確認され、乳酸生成菌+担子菌0.0166%添加飼料が感染防御能を向上させる可能性が示された。

表2 感染率・免疫活性（中期間投与分）

試験区	感染率 (%)	貪食率 (%)	貪食 指数	リゾチーム 活性
1	47	9.05	1.95	1.10
2	23	10.35	2.37	1.32
3	43	8.95	2.06	1.33
4	33	11.75	2.50	1.44
5	36	9.60	2.13	1.37
6	53	6.85	2.10	1.27

長期間投与について、感染率および免疫活性の結果を表3に示した。感染率については3区以外では対象区に比べ高く、また貪食率については3、4区で比較的高い値を示した（ただし有意差はない）。この結果から、長期間投与においては乳酸生成菌単独添加飼料

表3 感染率・免疫活性（長期間投与分）

試験区	感染率 (%)	貪食率 (%)	貪食 指數	リゾチーム 活性
1	67	2.66	1.96	1.33
2	80	2.19	1.64	1.33
3	53	4.34	1.81	1.20
4	73	3.56	1.52	1.18
5	87	1.46	1.70	1.13
6	80	1.54	1.56	1.29

の感染防御効果は見られないが、乳酸生成菌+担子菌0.0033%添加飼料が感染防御能を向上させる可能性が示された。

短期間投与について、感染率の結果を表4に示した。感染率については4区で最も低い値を示した。この結果から、短期間投与においては乳酸生成菌+担子菌0.0166%添加飼料が感染防御能を向上させる可能性が示された。

表4 感染率（短期間投与分）

試験区	感染率 (%)
1	47
2	40
4	27

よって、今後長期間投与における効果的な投与法および感染後の投与による発病抑制効果について詳細な検討を行う必要がある。

まとめ

ブリの連鎖球菌症を対象として、乳酸生成菌添加飼料および乳酸生成菌と担子菌抽出物の混合添加飼料の経口投与による感染防御能への効果の検討を行った。中期間投与においては、乳酸生成菌単独添加飼料の感染防御効果が確認され、乳酸生成菌+担子菌0.0166%添加飼料が感染防御能を向上させる可能性が示された。長期間投与においては、乳酸生成菌単独添加飼料の感染防御効果は見られず、乳酸生成菌+担子菌0.0033%添加飼料が感染防御能を向上させる可能性が示された。短期間投与においては、乳酸生成菌+担子菌0.0166%添加飼料が感染防御能を向上させる可能性が示された。

今後は長期間投与における効果的な投与法および感染後の投与による発病抑制効果について試験を継続して行う予定である。

(担当: 鈴木)

3. エソ肉の高度加工利用に関する研究 (エソ肉の変性に及ぼす減圧貯蔵の影響)

水産物は、冷凍、冷藏、脱水、乾燥などによって貯蔵されているが、保存性が高まる一方、肉質の劣化などの悪影響が生じる。

特に、エソ類は、良質な水産加工原料であるが、鮮魚肉の品質が短期間しか保持できない。これは、貯蔵中にトリメチルアミノキサイドから酵素反応により、ホルムアルデヒド（以下FAと略す）を生成する特性が強いことに起因している。FAは魚肉タンパク質に作用し、肉質の劣化を引き起こすことが知られており、水産加工原料魚の品質保持に影響を与える。

水産物の貯蔵に関する研究は、数多く行われているが、減圧貯蔵の研究は例が少なく、未だその機構はよくわかつていない。そこで、本研究では、魚肉の貯蔵法の改善を目的として、落し身およびフィレーの変性に及ぼす減圧貯蔵の影響について、科学的側面からFA値、VBN値ならびに筋原繊維（以下、Mfと略す）Ca-ATPase全活性を指標として検討した。

方 法

魚肉試料の調製 供試魚は、エソ、マサバの2種類を用いた。落し身は、魚の頭部と内臓を除去後、2枚におろし、冷水中で洗浄し、スタンプ式採肉機（採肉目直徑5mm）を用いて落し身とした。フィレーは魚の頭部と内臓を除去後、3枚におろし、冷水中で洗浄し、皮を剥ぎ、約6cm×4cmのブロックに切断した。

貯蔵試料の調製 落し身とフィレーのそれぞれ約100gを缶に詰め、全自動真空巻締機（大全産業株式会社製）を用いて、88～8kPaの減圧下で密封した。なお、対照区は、常圧下で密封した。

貯蔵 氷蔵は碎氷を敷き詰めたパンに缶詰を並べ、さらに碎氷で覆い、約5℃の低温下で貯蔵した。凍蔵はパンに缶詰を並べて、-25℃（送風式）の冷蔵庫内で凍結貯蔵した。

FA値、VBN値の測定 FA値はNash¹⁾の方法を用

い、VBN値はConway法²⁾を用いて測定した。

Mf Ca-ATPase全活性の測定 Mf（筋原繊維懸濁液）調製は、加藤ら³⁾の方法に準じて調製した。得られたMf懸濁液を、Biuret法により比色定量した。

結果および考察

1. 鮮度の変化

エソの鮮度 氷蔵を15日間、凍蔵を120日間行い、その間におけるエソのFA値およびVBN値の変化を図1～4に示した。氷蔵および凍蔵試料のFA値はいずれも、経日的にフィレーより落し身の方が増加した。さらに、氷蔵の落し身では、35～8kPaが急激に增加了。また、凍蔵の落し身では、35kPaが他の減圧のものより低い値を示した。氷蔵の落し身のVBN値は、対照区のそれと比較して、いずれも違ひは見られなかつたが、経日的に、いずれも徐々に増加した。その他のVBN値の変化については、図に示したように測定値にバラツキが多く見られた。

一般に、魚肉はラウンドでの貯蔵に比べ、落し身での貯蔵において変性しやすい。特に、エソ類は貯蔵の延長に伴いFA値が増加しやすく⁵⁾、落し身はフィレーよりもその増加が著しいことが知られている。このFAは、肉質の劣化に大きく作用していることが認められている。⁶⁾

本研究でも、前記のように、冷蔵および凍蔵のいずれも、落し身のFAがフィレーのそれより大きく增加了。

2. Mf Ca-ATPase全活性

氷蔵を15日間、凍蔵を120日間行い、その間におけるエソおよびマサバのMf Ca-ATPase全活性の変化を図5～8に示した。エソの氷蔵の落し身のMf Ca-ATPase全活性は、いずれも経日的に低下し、8kPaで最も低下した。他の貯蔵のMf Ca-ATPase全活性は、対照区のそれと比較して、いずれも違ひは見

られず、さらに、経日的に大きな変化は見られなかつた。

マサバの氷藏の Mf Ca-ATPase 全活性は、落し身では、いずれも経日に低下したが、対照区および低減圧より高減圧の方が高い活性を保持した。フィレーでは、対照区のそれと比較して、いずれも違いは見られず、さらに、経日的に大きな変化は見られなかつた。凍藏の Mf Ca-ATPase 全活性は、落し身およびフィレーでいずれも経日に低下した。凍藏では、落し身よりフィレーで、対照区および低減圧より高減圧の方が高い活性を保持した。

以上の結果から、マサバでは減圧貯蔵による変性抑制効果があるのではないかと推察される。エソおよびマサバで減圧貯蔵の効果が異なることについて、十分には説明出来ないが、おそらく、白身魚と赤身魚とは、肉の特性が異なるためではないかと考えられる。

一般に、白身魚は、筋肉脂質含量が低く、赤身魚では、筋肉脂質含量が高い。また、脂質含量は同一の魚種でも漁期、漁場などによって著しく変動する。⁷⁾ このため、魚種間の脂質含量の違いが減圧貯蔵の効果に影響を及ぼしているのではないかと思われる。さらに、白身魚は、筋肉組織が粗雑であり、細胞壁に多数の小孔がある。⁷⁾ このため、減圧の影響を受ける表面積が多く、過度の減圧では、エソ（白身魚）の魚肉タンパク質に物理的な破壊が起こり、FA値の増加、Mf Ca-ATPase 全活性の低下に影響を及ぼしているのではないかと思われる。

現在、新しい食品加工法の一つとして高压処理が注目され、多くの研究がなされており、高压処理は有効氷藏期間の延長効果が期待できるものと考えられている。^{5, 8)} しかし、減圧処理の研究例は少なく、データーが揃っていないため、本実験の結果だけでは、減圧処理が氷藏または凍藏に有効氷藏期間の延長効果があつたと一概にはいえない。

本実験の結果から、魚肉の減圧処理には、魚種、筋肉の部位、脂質含量の違いなどが、魚肉タンパク質の変性に影響を及ぼすのではないかと推測される。

また、減圧処理による魚肉細胞の微細構造の変化も興味あるところであり、今後、これらの検討が必要である。

ま と め

- 1) 魚肉の貯蔵法の改善を目的として、エソおよびマサバの落し身およびフィレーの変性に及ぼす減圧貯蔵の影響について、主に MfCa-ATPase 全活性を指標として検討した。
- 2) エソの氷藏の落し身の Mf Ca-ATPase 全活性は、いずれも経日に低下し、高減圧の 8 kPa で最も低下し、その他の貯蔵は、対照区と差異がなく減圧の効果が見られなかつた。
- 3) マサバでは氷藏の落し身および凍藏のフィレーで Mf Ca-ATPase 全活性は、対照区および低減圧より高減圧の方が高い活性を保持した。

文 献

- 1) T.Nash : *Biochem.J.*, 55, 416-421 (1953).
- 2) E.J.Conway : 微量拡散分析および分析誤差論, 株式会社南江堂 (1952).
- 3) 加藤 登, 内山 均, 塚本志朗, 新井健一 : 日水誌, 43, 857-867 (1977).
- 4) A.B.Gornall, C.J.Bardawill and J.M.David : *J.Biol.Chem.*, 177, 751-799 (1979).
- 5) 吉武一将 : 平成10年度卒業論文集, 長崎大学, 224-300 (1998).
- 6) 原田勝彦 : 下関水大研報, 23, 163-241 (1975).
- 7) 日本水産学会編 : 白身の魚と赤身の魚 (1976).
- 8) 高圧バイオサイエンス, さんえい出版 (1994).

(担当:野中)

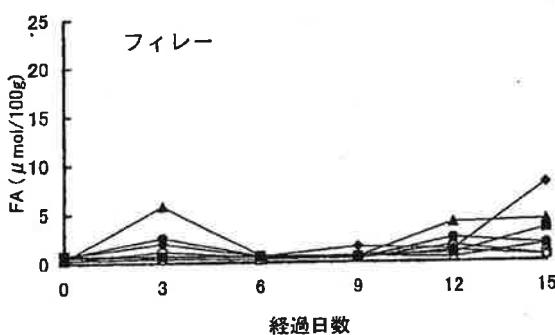
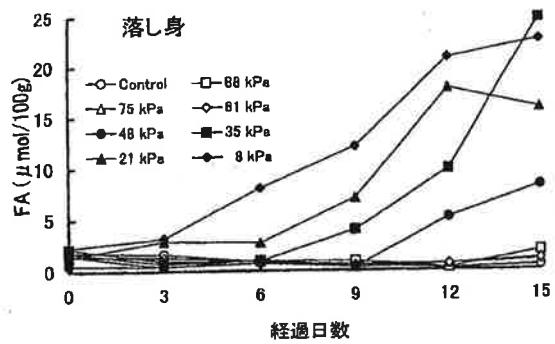


図1 減圧下で氷藏したエソのホルムアルデヒドの変化

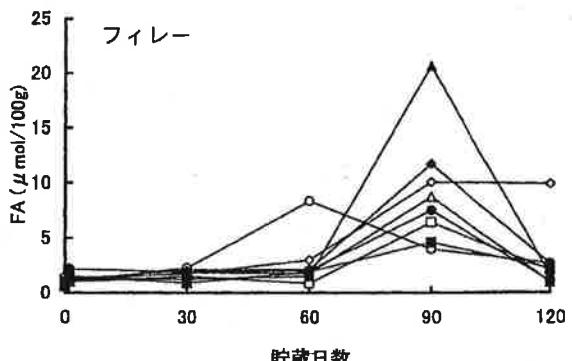
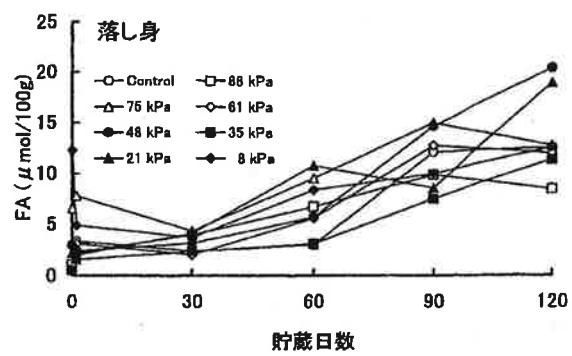


図2 減圧下で凍蔵（-25°C）したエソのホルムアルデヒドの変化

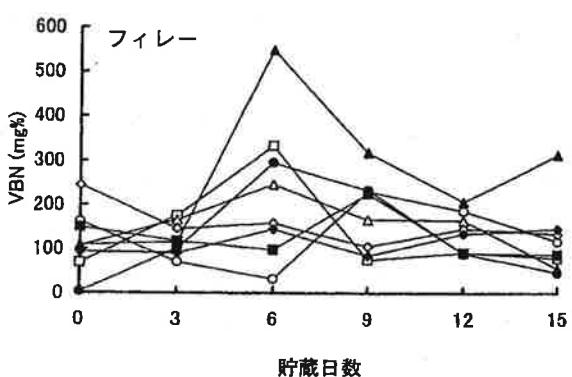
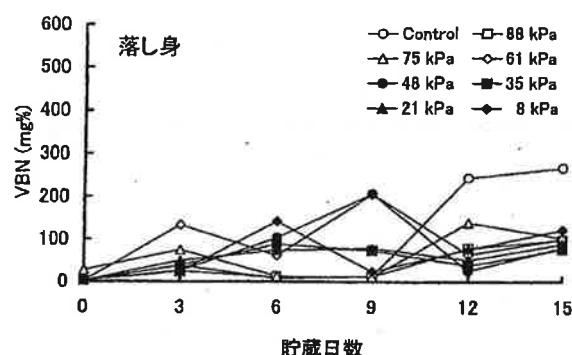


図3 減圧下で氷藏したエソのVBNの変化

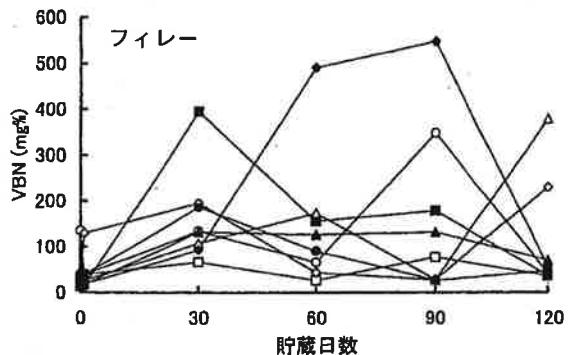
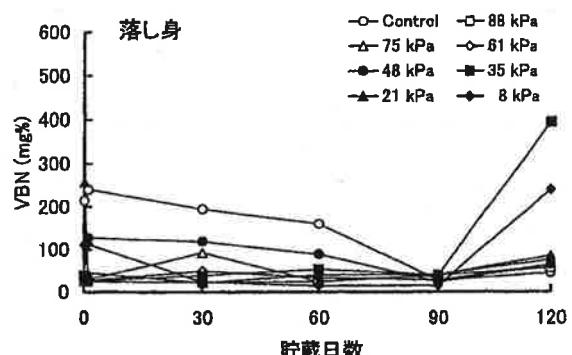


図4 減圧下で凍蔵（-25°C）したエソのVBNの変化

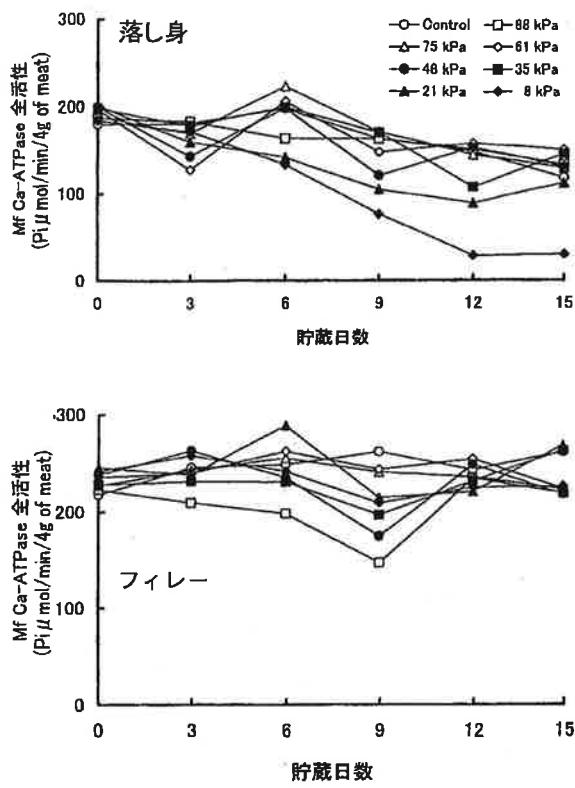


図5 減圧下で氷藏したエゾのMf Ca-ATPase全活性の変化

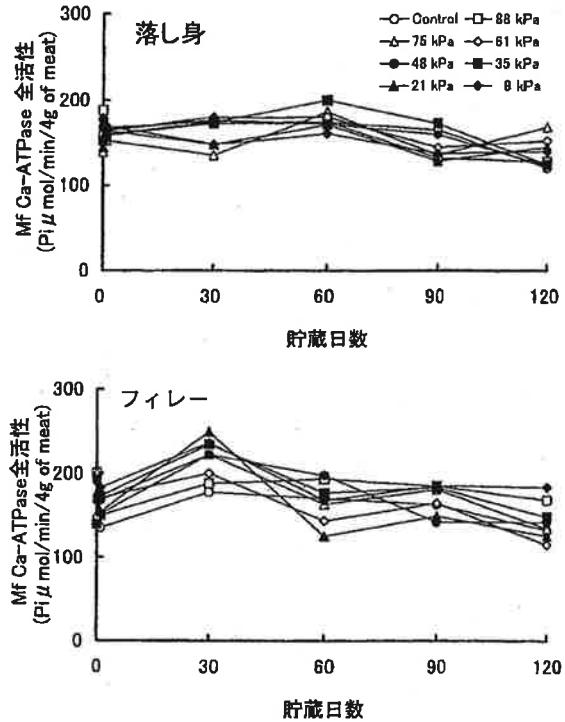


図6 減圧下で凍蔵（-25°C）したエゾのMf Ca-ATPase全活性の変化

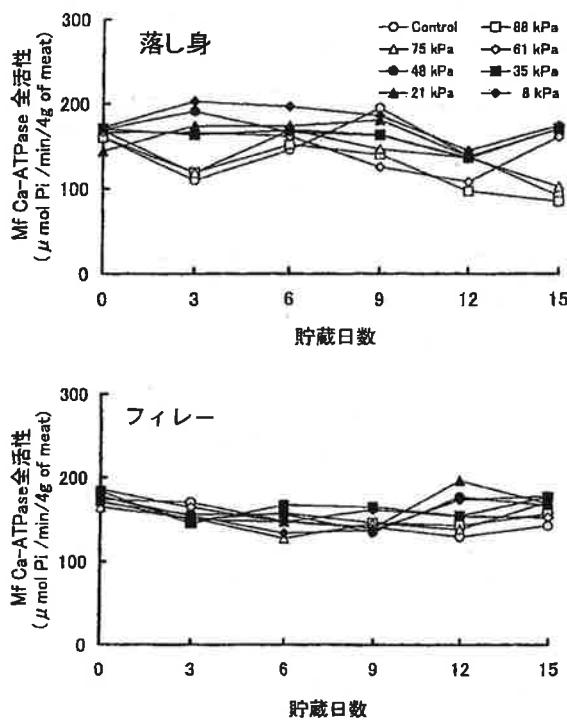


図7 減圧下で氷藏したマサバのMf Ca-ATPase全活性の変化

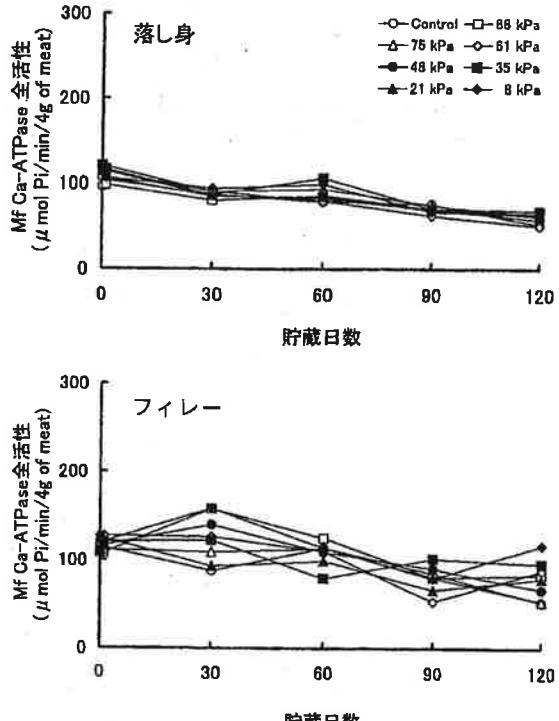


図8 減圧下で凍蔵（-25°C）したマサバのMf Ca-ATPase全活性の変化

4. キビナゴの成熟と産卵について

キビナゴの漁獲量は年変動が大きく、資源評価や漁況予測を行う必要があると判断されるが、生態的知見は皆無である。そこで五島周辺海域における本種メスの性成熟の組織学的検討を行い、産卵時期を確認することを目的に、長崎大学と共同研究を実施した。

方 法

標本は、五島周辺海域において、刺網および定置網により漁獲されたものから1999年4～11月は月3回、1999年12月～2000年3月には月2回の頻度で採集し、尾叉長・体重・生殖腺重量を測定した。

また、標本の卵巣は、10%の中性ホルマリンで固定した後、中央部より一部を切り取ってほぐし、その中からランダムに100粒の卵径を測定した。さらに、標本の一部はブアン氏液による固定を施し、パラフィンで包埋した後、ミクロトームで $5\mu\text{m}$ の切片を作成し、ヘマトキシレン・エオシンによる二重染色を行って、光学顕微鏡下で観察した。

結 果

標本の尾叉長は69～111mm（平均92mm）であった。

メスのGSI値（Gonad somatic index=生殖腺重量×100／体重）の平均値は、6月中旬に急増し、10月

中旬まで高い値を維持したが、その他の期間は低い値を示した。

メスのGSI値が1未満の個体では小さな卵群（0.03～0.20mm）のみが認められ、GSI値が2の個体では小さな卵群とは別に大きい発達中の卵群（0.21～0.45mm）も認められ、GSI値が3以上になると、この2つの卵群は明瞭になり、大きな卵群が著しい成長を示した。また、GSI値8以上の個体では卵径0.75mm以上の透明卵が認められた。

卵巣の組織学的検討の結果、周辺仁期・卵黄胞期（ $\text{GSI} < 1$ ）、卵黄球期（ $1 \leq \text{GSI} \leq 7$ ）、成熟期（ $\text{GSI} \geq 8$ ）に相当する各ステージの卵母細胞が確認された。成熟期の卵母細胞を有する個体は6月中旬～10月中旬に出現し、この時期が、五島周辺海域におけるキビナゴの産卵期と判断された。

ま と め

五島周辺海域におけるキビナゴの産卵期は、6月～10月と比較的長期間にわたることが明らかになった。

（担当：水田）

5. マゴチおよびヨシノゴチ稚魚の発育と形態の比較

宮木廉夫・荒川敏久
星野桃子*・田北徹*

従来コチ *Platycephalus indicus* とされてきた魚類は、魚種名はまだ確定されていないが形態学的・遺伝学的研究により、マゴチとヨシノゴチという2種であることが分かっている。マゴチとヨシノゴチは日本近海産のコチ科魚類の中で漁獲が多く、重要な水産資源である。近年、両種の資源に減少傾向が見られ、その適正な資源管理や種苗生産の技術が望まれている。両種の初期生活史を明らかにし、比較することは、資源管理方策や種苗放流を行う上で重要である。本研究は初期生活史研究の一端として、両種の卵発生と仔稚魚の成長に伴う形態変化を明らかにすることを目的とした。

材料と方法

採卵のための親魚には、ヨシノゴチは1999年4月12日に野母崎で延縄によって漁獲されたもの、マゴチは同年5月27日に有明海の島原沖で一本釣によって漁獲されたものを用いた。マゴチとヨシノゴチとともにホルモンペレットを親魚の魚体背面に打ち込み、人工的に成熟を促した。両種は産卵期・成熟期が異なるため、ヨシノゴチの採卵・授精は4月13日、マゴチは5月28日に行った。ヨシノゴチは4月16日、マゴチは5月30日に孵化した。その後飼育を開始し、卵発生と日令70までの仔稚魚を観察した。また、固定標本を測定して各体部位の相対成長を求めた。

結果と考察

ヨシノゴチ卵は1999年4月16日、58時間(17°C)、マゴチ卵は同年5月30日、36時間(20°C)で孵化した。飼育中は、餌の残量・水温・塩分濃度・溶存酸素量などの水質と魚の様子を毎日チェックした。両種とも胸・腹鰭が大きく、頭部に多数棘があり、背鰭棘が鋭いのが特徴である。日齢5前後の仔魚は鰓膜上の黒色素胞

に種間差があり、両種の稚魚は相対成長の共分散分析の結果から体型に差があることも判明したが、両種の形態の違いは不明瞭であった。相対成長は両種とも体長3mm、6mm前後で大きく変化し、この時期に体型の大きな変化が起こると考えられた。

本研究でヨシノゴチの方がマゴチより受精卵と孵化仔魚は大きいことが明らかにされたが、これはすでに知られていることである。ヨシノゴチの孵化時間はマゴチのそれより約1時間長かったが、ヨシノゴチの採卵が44日早かったため、飼育水温がマゴチのそれより約3°C低かったことが関連していると考えられる。従って、卵発生と孵化時間の差は種の属性の違いではなく飼育条件の違いである可能性が高い。日齢5以降も全体的な黒色素胞の分布に2種の違いが認められた。これらは両種の識別に有効だと考えられる。

両種の体部比の検討から、成魚の特徴が仔稚魚期にすでに現れることが明らかになった。すなわち、稚魚期には、すでにマゴチの方が頭が大きく、幅広く、両眼間隔はヨシノゴチの方が広い。これらの差は、成長にしたがって明瞭になる。

以上、本研究では仔稚魚の両種の相違をある程度明らかにできたが、これらは、飼育条件下の個体についての結果であり、天然の仔稚魚の同定に適応できるか否かについては、なお検討を要する。

(本事業は長崎大学水産学部田北徹教授との共同研究で行った。また、本報告は同学部学生星野桃子の卒業論文「2種の *Platycephalus* 属魚類の初期形態の比較研究」の要旨である。)

*長崎大学水産学部

6. 親魚の成熟誘導及び仔稚魚飼育技術の開発

宮木 廉夫・中田 久・山田 敏之・荒川 敏久
Ni Lar Shein^{*1}・水野かおり^{*1}・土内 隼人^{*1}
赤澤 敦司^{*1}・M.A.Rahman^{*2}・今吉 隆志^{*2}
征矢野 清^{*1}・萩原 篤志^{*1}・松山 倫也^{*2}

当水試ではマハタ、カサゴ、ブリなど新魚種の種苗生産技術開発に取り組んでいるが、これら魚種は成熟、摂餌生態等に関する基礎的な研究が進んでおらず、水試単独では課題の解決に長時間を要すると考えられる。そのため、技術開発期間の短縮を目的として、親魚の成熟誘導及び仔稚魚飼育技術についての基礎部分を大学と協同で研究している。今回は平成11年度中に得た共同研究成果の概要を報告する。

I. マハタのLH-RHaコステロールペレットを用いた排卵誘導技術について

目的

マハタの種苗生産用受精卵の安定確保を目的に、LHRHa コステロールペレットを用いた採卵技術を開発する。

材料と方法

親魚養成と生殖腺の発達状況 親魚は当場で平成3、4年に種苗生産し、その後養成したものを用いた。餌料は、サバ・イカ・オキアミ・配合飼料を4:1:1:3で調整したモイストペレット（総合栄養剤等添加）を用い、産卵前期から産卵までの期間（3～5月）はイカの切り身（ビタミンE添加）を併用給餌した。生殖腺の発達状況は、1、3、4、5月の定期サンプリングにより調査した。

ホルモン処理 LHRHa (des Gly¹⁰ [D-Ala⁶] LHRH ethylamide) コステロールペレット（直径2mm、長さ6mm）を50μg/kgの投与量で背筋部に埋め込んだ。埋め込み後18～42時間に腹部の触診を行い、排

卵確認個体については、乾導法により人工授精を行った。

ホルモン処理時卵径の検討 卵巣卵径が262～517μmの親魚20個体を使用し、排卵誘導試験を行った。

未排卵個体および排卵経験個体を用いた採卵試験

未排卵個体9尾と排卵経験個体8尾を用いて排卵誘導を行い、その採卵結果（受精率、ふ化率）を比較した。

結果

親魚の生殖腺体重比（GSI）は1～4月までは1%前後であったが、5月中旬には5%にまで増加した（雌：第3次卵黄球期、雄：排精）。ホルモン処理時卵径の検討では、卵径479μm以上の個体で排卵が誘導できた。未排卵個体および排卵経験個体の採卵試験では、前者は9個体全てから受精卵が得られた（平均浮上卵数36.5万粒、受精率68.8%）のに対し、後者では8個体中6個体からしか受精卵が得られなかった（平均受精卵数30.0万粒、受精率45.9%）。この結果から、効率良く安定的に受精卵を得るためにには、未排卵個体の使用が望ましいことがわかった。

（本事業は長崎大学水産学部征矢野清助教授との共同研究で行った。また、本報告は当水試中田久外3名が平成11年度日本水産学会秋季大会において口頭発表した課題の要旨である（平成11年度日本水産学会秋季大会講演要旨集から転載）。）

II. マハタの排卵誘導を目的とした LH-RHa の新投与技術開発

目的

これまで排卵誘導を目的とした LHRHa の投与は、

*1 長崎大学水産学部

*2 九州大学農学部

ホルモン効果が長期に渡り持続可能なコレステロールペレット移植法により行われてきた。しかし、ペレット作成に手間がかかる上、投与の際に親魚に過度のストレスを与えるなどの問題点を抱えている。そこで作業の簡素化と親魚に与えるストレスの軽減を目的とし、LHRHa の新投与技術開発を試みた。

材料と方法

注射による投与が可能で、かつ長期的なホルモン効果が期待できる溶剤としてカカオバターを選択した。カカオバターを湯煎により完全に溶かした後、これに50%エタノールに溶解した LHRHa を添加し、よく混和した。この溶液を注射筒に吸い上げた後、投与までカカオバターが凝固しない程度に冷却保存した。これを背部筋肉内に $50\mu\text{g}/\text{kg}/\text{BW}$ となるように注射した。注射後42時間目に排卵を確認し、受精率とふ化率の検定を行った。また、コレステロールペレットによる投与も試み、両者の比較検討を行った。

結果

カカオバターを用いた LHRHa 投与によって人為的排卵の誘導に成功した。コレステロールペレット同様、多くの個体は投与後42時間目までに排卵した。得られた卵の受精率およびふ化率は個体によるばらつきがあるものの、90%を越える有効なものも観察された。また、コレステロールペレットの結果と比較して顕著な違いは観察されなかった。注射された LHRHa を含むカカオバター溶液は、筋肉内で固形化することが確認された。以上の結果より、カカオバターを用いた注射による LHRHa 投与法は、コレステロールペレットに変わる有効な方法である。

(本事業は長崎大学水産学部征矢野清助教授との共同研究で行った。また、本報告は同助教授外5名が平成11年度日本水産学会秋季大会において口頭発表した課題の要旨である（平成11年度日本水産学会秋季大会講演要旨集から転載）。)

III. マハタ卵における排卵後の時間経過と受精率との関係

目的

我々は、LHRHa 投与による人為的排卵の誘導に

成功している。そこで、より良質の卵を得るために、ホルモン投与により排卵誘導された卵を用いて、排卵後の時間経過に伴う受精率の変化を調べ、媒精適期の検討を行った。

材料と方法

長崎県総合水産試験場の海面いけすにおいて飼育されていた平成3年および4年産のマハタを用い、LHRHa (des Gly¹⁰ [D-Ala⁶] LHRH ethylamide) 投与による排卵誘導を行った。ホルモン投与から42時間後に排卵した卵を搾出し、これを用いて以下の実験を行った。

実験1 ホルモン投与後42時間目を0時間とし、その後24時間目まで6時間毎に排卵された卵の一部を親魚より搾出して媒精を行い、受精率およびふ化率を調べた。

実験2 ホルモン投与後42時間目に排卵された全ての卵を親魚より搾出し、これをビーカーに移して20℃に保ったインキュベーター内に保管した。この卵も6時間毎に媒精させ、受精率およびふ化率を調べた。

結果

実験1 排卵後の時間経過に伴って受精率、ふ化率とともに低下した。0時間（ホルモン投与後42時間目）の受精率は86%以上と高値を示した。6時間目には受精率が低下をはじめ、その後は著しい低値を示した。また、ふ化率の低下は受精率のそれより顕著で、12時間目には10%以下となった。

実験2 受精率、ふ化率とともに排卵後の時間経過に伴って低下した。特にふ化率の低下は著しく、12時間目に媒精した卵からはふ化する個体が殆ど観察されなかった。

いずれの実験からも、マハタの卵では排卵確認後6時間以内に媒精を行えば比較的高い受精率が得られることが解った。良質の受精卵を得るためにホルモン投与から42時間後の採卵時期に媒精させるのがよい。

(本事業は長崎大学水産学部征矢野清助教授との共同研究で行った。また、本報告は同学部大学院生 Ni Lar Shein 外5名が平成11年度日本水産学会秋季大会において口頭発表した課題の要旨である（平成11年度日本水産学会秋季大会講演要旨集から転載）。)

IV. 初期飼育環境がマハタ仔魚の摂餌と生残に与える影響

目的

マハタの初期飼育条件を明らかにすることを目的として、通気量、ワムシ給餌密度、フィードオイルの添加効果、アカルチアの給餌効果について検討した。

材料と方法

人工授精により得たマハタ卵を200l容または1kl容の黒色ポリエチレン水槽にそれぞれ20粒/lとなるよう収容し、インドネシア産の *Brachionus rotundiformis* (被甲長80~160μmのいわゆるSS型ワムシ) を餌料として、日令9まで仔魚飼育を行った。通気量を0, 50, 200, 1000ml/分、ワムシ密度を3, 10, 30個体/ml とし、飼育期間中の成長、生残、仔魚の消化管内ワムシ数、浮上弊死数をそれぞれ求めた。またフィードオイルを飼育水に添加した場合とアカルチアノープリウスを給餌した場合についても実験を行った。

結果

通気が200ml/分のとき、日令9で生残率59.8%、全長2.91mmと最も良好な結果が得られた。無通気と1,000ml/分通気では多数の浮上弊死が見られた。ワムシ3個体/ml給餌では仔魚の摂餌数が日令7まで少なく、成長も悪かったが、日令8以後は、他の実験区と差が無くなった。フィードオイルを添加しなかった場合、日令9までの総浮上弊死数は、孵化仔魚数の43.4%に達したが、フィードオイルを添加した場合は2.0%にとどまった。ワムシ単独給餌による日令9での生残は19.5%であったのに対し、アカルチア・ワムシ併用給餌では1.1%だった。このとき、仔魚の成長に差は見られなかった。

(本事業は長崎大学水産学部萩原篤志教授との共同研究で行った。また、本報告は同学部大学院生赤澤敦司外3名が平成11年度日本水産学会秋季大会において口頭発表した課題の要旨である(平成11年度日本水産学会秋季大会講演要旨集から転載)。)

V. カサゴ産仔後期仔魚の生残に及ぼすアスコルビン酸の添加効果

目的

カサゴ仔魚飼育中(日齢3~10)に発生する大量減耗を抑え、安定した飼育技術を確立する。

材料と方法

0.5klポリカーボネイト水槽2面(試験区および対照区)に産仔仔魚を収容し、14日間の飼育試験を行い、両区の成長および生残を比較した。試験区の飼育水中には毎日2%アスコルビン酸溶液1,000mlを4~6時間かけて滴下した。餌料はS型ワムシを10個/mlの密度となるように1日2回与え、併せてナンノクロロプシスも約200万細胞/mlとなるよう添加した。

結果

飼育試験は4回実施した。1回目は両区とも顕著な大量死が起こらなかった。2~4回目は両区において成長および生残に明らかな相違がみられた。特に生残率において試験区は48~100%であったのに対して対照区では1~10%であった。これまでカサゴの種苗生産において産仔後期の仔魚を用いると大量死が起こることが経験的に知られている。今回、産仔後期の仔魚を用いた試験で、アスコルビン酸を添加することで生残率に顕著な向上が見られた。このことは産仔後期の仔魚がもつ生理的問題をアスコルビン酸添加が修復したものと推察された。

(本事業は長崎大学水産学部萩原篤志教授との共同研究で行った。また、本報告は当水試宮木廉夫外2名が平成11年度日本水産学会秋季大会において口頭発表した課題の要旨である(平成11年度日本水産学会秋季大会講演要旨集から転載)。)

VI. ブリの早期産卵における成熟促進と採卵法の検討

目的

ブリ親魚の早期採卵を目的として、環境調節(水温・日長処理)による成熟促進効果とホルモン投与による採卵法を検討した。

材料と方法

環境調節による成熟促進 親魚には天然モジャコから

養成した4歳魚（平均体重9.3kg）を使用し、水温処理（19℃または16℃一定）と日長処理（長日16L8Dまたは短日+長日8L16D,16L8D）を施した。平成9年度はA群（19℃、長日）、B群（16℃、長日）、およびC群（自然水温・日長）を、平成10年度はD群（19℃、短日+長日）、E群（19℃、長日）、およびF群（1月陸上水槽収容：19℃、長日）を設けた。陸上水槽収容（11月）から採卵までの期間について、卵巣卵の発達状況を定期サンプリングにより調査した。

ホルモン投与による採卵 ①ホルモン投与法の検討：HCG 1回投与（500IU/kg）、HCGプライミング法（プライミング100 or 50IU/kg+500IU/kg）、およびLHRHa コレステロールペレット（LHRHa200 or 400μg/kg）の3手法により採卵試験を行った。②卵巣卵径600μm未満個体からの早期採卵法の検討：卵径348~592μmの個体を用い、LHRHa ポリマーべレット（LHRHa400μg/kg）を投与し、7日目にHCG（500IU/kg）で排卵を誘導した。

結 果

環境調整による成熟促進ではA、D、E群が2月上旬に卵径700μm以上となり、ホルモン投与による成熟・排卵誘導が可能な状態になった。親魚養成時の低コスト化を目的に行ったB、F群においても2月下旬には卵径が700μmに達した。ホルモン投与による採卵では、HCGプライミング法で採卵量の増大が、LHRHa コレステロールペレットで卵質の向上（油球異常率の低下等）が確認された。しかし、HCG 1回投与でも十分良質卵が得られた。また、卵径600μm未満個体からの採卵では、1月30、31日に261万粒の浮上卵を得ることができ、未熟個体からの早期採卵が可能となった。

（本事業は九州大学農学部松山倫也教授との共同研究で行った。また、本報告は当水試中田久外5名が平成11年度日本水産学会秋季大会において口頭発表した課題の要旨である（平成11年度日本水産学会秋季大会講演要旨集から転載）。）

7. 養殖魚飼育の海水の殺菌に関する研究

宮木廉夫・荒川敏久
中瀬弘司*

魚類種苗生産には、通常ろ過海水が使用されているが、細菌やウイルスによる疾病が疑われる場合には殺菌海水の使用が望ましい。そこで、長崎県下民間企業グループが開発を進めている海水殺菌装置が魚類種苗生産に使用可能かどうかを探るため、共同研究を実施したので、概要を報告する。

材料と方法

海水殺菌装置には、オゾン発生装置と残留オゾン吸着フィルターの組み合わせにより共同研究者である県下民間企業グループが作成した試作機を用いた。飼育試験にはマゴチ仔魚（予備試験）およびカサゴ仔魚（飼育試験）を用いた。

結果

マゴチ仔魚による予備試験 平成11年5～6月にホルモン処理により天然親魚から得た受精卵からふ化した仔魚を試験水槽に収容した。仔魚は、飼育水から細菌が分離される状態では生存したが、飼育水を無菌にした状態では1日で死滅した。このことから、本装置を種苗生産に用いるには細かな調整が必要と考えられた。

カサゴ仔魚による飼育試験 平成12年1月に養成親魚から自然産出した仔魚を飼育水槽に収容した。飼育水槽には2kLアルテミアふ化槽を4面使用し、2面は対照区として砂ろ過海水の掛け流しによる飼育を、2面は海水殺菌装置を用いた飼育水の循環による飼育を試みた。

仔魚収容前の細菌コロニー数は対照区の260個/mlに対し、試験区では0個/mlであり、本試作機によ

り海水の殺菌が行われていることが明らかになった。飼育水の細菌数は、仔魚収容直後に微細藻類（ナンノクロロプシス）の添加や餌料生物（S型ワムシ）の給餌を行ったこともあり、両区とも4,000個/mlに増加した。この後、15日目の試験終了時まで対照区ではこのレベルを維持したが、試験区では10,000個/mlまで細菌数が増加した。試験区における細菌数増加の原因として、オゾンが海水中の金属元素と結合して合成されるオキシダントを除去するために加えた、残留オキシダント除去剤の影響が疑われた。

15日間の飼育試験の結果、試験区の平均全長は4.97および5.26mmで対照区の5.93および6.43mmに比べ劣った。また、生残率も対照区の47および46%に対し、9および56%でばらつきを生じた。

これらの結果、今回の試験に使用した試作機は海水の殺菌には効果があるものの、飼育水の循環方式による魚類種苗生産用として使用するに当たっては、オゾン注入方法や残留オゾンおよびオキシダントの除去方法等を再度検討する必要があると考えられた。

なお、今回の試験により得られたデータは共同研究者である長崎県下民間企業グループが新技術を開発するための基礎知見として利用される予定である。

（本事業は、（財）長崎県産業技術振興財団の助成により、長崎下民間企業グループ（ナガベア株、MHIオーシャニクス株、長菱エンジニアリング株、長田工業株）との共同研究で行った。担当：宮木）

*ナガベア株

8. クロナマコの加熱に伴う物性と組織構造の変化に関する研究

マナマコ *Stichopus japonicus* は一般的に体色の違いによってアカナマコ、アオナマコ、クロナマコと呼ばれている。クロナマコは体色が黒いため、市場価格はアカナマコ、アオナマコと比較して安く、産業的価値は低い。このため長崎県ナマコ漁獲量375t（平成10年）の約7割を占める大村湾では、クロナマコの増加が大きな問題となっている。そこで、クロナマコの有効利用を図るため調理・加工素材の開発の一環として、加熱に伴う物性と組織構造の変化について検討した。

方 法

試料 2000年1月に大村湾でなまこ桁網漁業で漁獲された体重150～250gのクロナマコを10日間蓄養して供試した。

測定試料の調製 内臓、縦走筋、石灰環および肛門を取り除いた後、体軸に対して垂直方向に3cm幅に切り取り、その切片を耐熱性パウチに入れ、恒温槽を用いて40～100℃まで10℃間隔で、それぞれ5、10および30分間加熱し、ただちに氷冷した。なお、対照には生の状態のものを用いた。

歩留りの測定 加熱前と加熱後の重量を測定した後、次式により算出した。

$$\text{歩留り} (\%) = \frac{\text{加熱後の重量} \times 100}{\text{加熱前の重量}}$$

物性の測定条件 所定温度で加熱冷却したナマコをステンレス剃刀で体軸方向と垂直方向に切片（40mm×9mm）とし、20kgロードセルを取りつけたレオメーター（（株）山電製RE-3305型）を用いて、くさび型プランジャー（No.49）を切片の体軸方向と平行方向に表皮側から定速圧縮（圧縮速度：1mm/sec、クリアランス：0.1mm）し、表面を破断するのに要した荷重（g）を破断荷重とした（図1）。また、チャート（10cm/min）に示された応力-ひずみ曲線から破断点までに描く面積を求めて、単位面積（m²）あたりに換算して破断エネルギーを求めた。

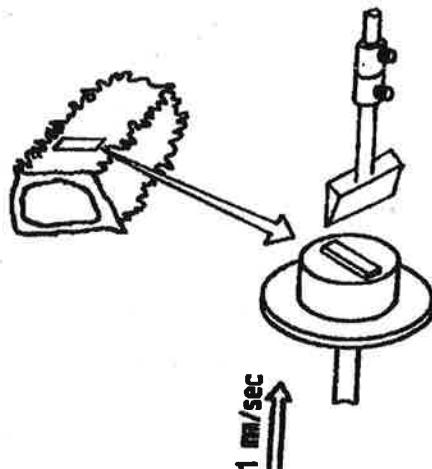


図1 物性測定の条件

光学顕微鏡による組織構造の観察 物性の測定に用いた生および加熱した試料の一部をマイルドホルム（ホルムアルデヒド8%，メタノール20%）で固定した後、流水中に1日放置、脱水してパラフィン包埋し、滑走式ミクロトーム（カールツァイス社製HM400R型）で4μmの組織切片を作成、ヘマトキシリン・エオシン染色法およびpH2.5アルシアン青染色法で染色し、光学顕微鏡で体軸方向と平行方向の組織を観察（×100）した。

官能検査 クロナマコ、アカナマコ、アオナマコおよび本センターで平成10年度に開発した「ゆでなまこ」について酢のものとチャンポンの具材としての評価を行なった。検査は10人程度で行い、年齢層は20代であった。

結 果

歩留りの変化 加熱による歩留りの変化を図2に示した。各温度帯において加熱時間が長くなるほど、また各加熱時間において加熱温度が高くなるほど、歩留りは減少した。

物性の変化 各加熱温度に対する破断エネルギーの変

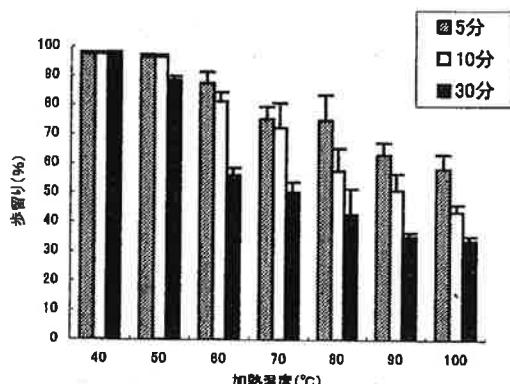


図2 加熱による歩留りの変化

化を図3に示した。破断エネルギーは生の状態を最高に60°Cまで各加熱時間とも急激に低下し、5分および10分加熱では80°Cで、30分加熱では60°Cで最低となった。クロナマコの破断エネルギーは生の状態から50°Cまでは加熱時間の長短により差異が認められるが、60°C以上ではその差は比較的小さかった。また、60°C以上の温度帯では加熱温度が上昇しても破断エネルギーの変化は小さかった。

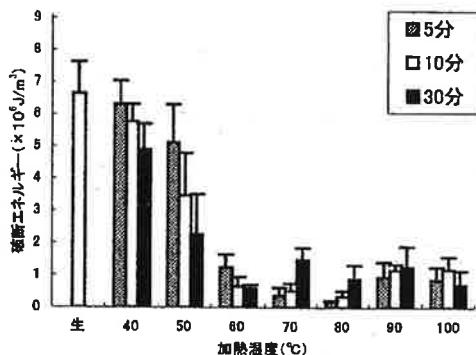


図3 加熱による破断エネルギーの変化

組織構造の観察 生の状態と40~100°Cまで20°C間隔で30分間加熱したものおよび図3で破断エネルギーが最低値を示した80°Cで5分間加熱したものをヘマトキシリソ・エオシン染色したところ生の状態および40°C30分加熱では線維状の構造物は細長く複雑にからみあつ

たが、60°C30分加熱では線維状の構造物が確認できるものの細長かった構造物は断片的になり、構造物どうしのからまりも少なくなった。80°C5分加熱、80°C30分加熱および100°C30分加熱では線維状の構造物は崩壊した。

pH 2.5アルシアン青染色した組織は、生の状態では酸性ムコ多糖類が確認できたが、60°C30分加熱では明らかでなく、消失したと思われた。

官能検査 本センターで平成10年度に開発した「ゆでなまこ」はどの料理においても苦味が強かった。また、クロナマコは生のときに他のナマコと比較しておいしさは劣るが、チャンポンの具材として用いた場合は他のナマコと遜色なかった。

まとめ

クロナマコの有効利用を図るために調理・加工素材の開発の一環として、加熱に伴う物性と組織構造の変化について検討した。歩留りは加熱温度が上昇するほど、また加熱時間が長くなるほど減少した。物性のひとつの指標である破断エネルギーは生の状態から60°Cまで加熱温度の上昇および加熱時間の増加とともに低下した。組織構造については、40~60°Cの加熱温度帯でコラーゲン線維を含む線維状の構造物が変化し、加熱に伴う組織構造の変化が物性の変化に関与したと考えられた。

備考

クロナマコを真空凍結乾燥（歩留り：1.67%）したもの的一般成分は以下の通りである。

一般成分 (%)

粗蛋白	灰分	水分	粗脂肪
45.82	32.93	8.95	1.64

(担当: 松本)