

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年6月27日現在

機関番号：12614

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22780192

研究課題名（和文） 栄養素の過不足を利用したプリ骨格異常モデルの構築

研究課題名（英文）

研究代表者

芳賀 穰 (HAGA YUTAKA)

東京海洋大学・海洋科学部・准教授

研究者番号：00432063

研究成果の概要（和文）：プリの骨格形成を蛍光色素により観察した。プリでは、孵化後 2-3 日齢から擬鎖骨が観察され、その後成長に伴って日齢 14 前後から顎骨、鰓覆骨、神経頭蓋が観察されるようになった。また、背骨に関しては日齢 15 から神経棘が観察されるようになり、成長に伴って椎体と下尾骨も観察されるようになった。しかし、予想された通り 18 日齢ごろから体表の色素が発達し始め観察が難しくなるとともに、日齢 22 前後から体幅が厚くなり観察がさらに困難となり日齢 27 では観察することができなくなることが判明した。成長の速い個体群と成長の遅い個体群を別々に観察して、栄養素の摂取の良否と骨格異常率に差があるかを検討するため 2 回の実験を実施した。その結果、一回目の実験では成長の速い個体群で有意に骨格異常率が高く、2 回目の実験では逆に成長の遅い個体群で有意に骨格異常率が高い結果となり、成長差の違いと骨格異常率には明確な関連性が見られないことが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：Fluorescent calcein staining successfully visualized cleithrum, and dentary, gill arch and neurocranium of yellowtail at 2 and 14 days post hatching (dph), respectively. Calcein staining also visualized neural spine and other elements of back bone around 15 dph. However, pigment formation at the surface of fish body hinder direct observation of back bone of fish at around 18 dph. Moreover, thickening of body often prevented direct observation of axial skeleton in fish at around 22 dph and becomes impossible at 27 dph. To analyze coincidence of growth depression and occurrence of skeletal deformity, occurrence of bone deformity was examined in fish showing different sizes from same batch of fish. in the 1st experiment, significantly higher incidence of skeletal deformity was observed in fish from bigger size of fish. However, in apparent contrast, smaller size fish showed higher frequency of occurrence of skeletal deformity. Therefore, there was no clear relationship between growth rate and occurrence of skeletal deformity in fish.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2011 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：水産学

科研費の分科・細目：水産学・水産化学

キーワード：水族栄養、プリ、骨格異常、モデル、ビタミン

ブリ類は我が国で養殖生産される魚類では年間約15万トンと生産量が最も多い。しかし、その生産には天然で採捕される稚魚を用いているため、計画的な生産を図ることが困難であるとともに、天然ブリの資源の枯渇につながる可能性もある。また、近年外国からの輸入種苗にアニサキスの感染事例が報告されていることから、防疫という観点からも国産のブリ人工種苗の生産技術を確立する必要がある。

ブリの人工種苗生産技術については、計画的に受精卵を周年にわたって確保できる技術の開発と健全な種苗を生産できる技術の開発が求められる。計画的にブリの人工種苗を生産するのに必要な基本的な技術は確立されつつあり、最近日長や水温の制御を利用した早期採卵技術も確立されている。これらの生産技術の向上により、好きな時期に受精卵を得て、計画的な生産を行う技術は完成に近づいている。しかし、ブリの人工種苗には鰓や頭部の陥没などの骨格異常が多く、養殖用種苗には適さないことが大きな障壁となっている。これらの異常個体は、商品サイズにまで育ったとしても、商品として価値がないだけでなく、外観の悪さから異常個体そのものだけでなく、飼育環境や飼い方、疾病の発生や薬物の使用が疑われてしまうなど生産場所にも強いマイナスのイメージを与える。さらに、形態異常魚が発生すると、正常な遊泳行動や摂餌行動が行えないため、結果的に飼料効率を低下させ、同じサイズまで育てるの

により多く給餌する必要があるなど経済的な損失につながる。養殖魚の骨格異常は、諸外国でも大きな問題として認識されており、ヨーロッパでは年間5000万ユーロの経済的損失があると見積もられている。人工種苗の骨格異常を防除できれば、人工種苗を用いた養殖が可能となることが期待される。ブリの人工種苗には、40~60%の割合で骨格異常が発生するため、その生産をすべて天然稚魚であるモジャコに依存している。ブリの人工種苗に多くみられる骨格異常のタイプについては、顎の不整合、頭部陥没、脊椎骨の湾曲などである。しかし、これらの発生状況も外観からの観察のみの結果であり、外観からの観察では、検知することが困難な異常については不明であり、発生時期についても明らかではない。

そこで本研究では、ブリの人工種苗を発育に沿って蛍光色素染色することで骨格形成およびその異常の発生状況を調べるとともに、成長に差がある個体群間の骨格異常の発生状況を比較して、成長の良し悪しと骨格異常の関連性について考察した。

2. 研究の目的

ブリの仔稚魚は、マダイやヒラメよりも成長や発育が早く、栄養素の摂取状態がその発育にも影響を及ぼすと考えられる。ブリ人工種苗における骨格異常について栄養素の過不足によっておこるものの発生部位や発生時期などの特徴を解明し、その発生機構を考察するため、同じ産卵群の受精卵から得られた仔稚魚を成長の早い群

と遅い群に分け、骨格異常の発生状況を調べた。また、本研究では蛍光色素染色法により生きたブリ仔魚の骨格を染色して観察する。しかし、蛍光色素染色法には、仔魚の身体の肥大成長が大きくなると、励起光の透過性が減少することと、肥厚した筋肉により視界が遮られることで、特に脊椎骨などの観察が困難になることがある。さらに、仔魚から稚魚に発育が進むにつれて、体表に色素細胞が発達するため、その色素細胞によって視界が遮られるため染色された骨格の観察が困難になることがある。しかし、本研究以前には蛍光色素染色によるブリの骨格形成過程の観察は行われていないため、観察が困難となる時期は不明である。筋肉の肥厚や体表色素の発達の程度は魚種ごとに異なるため、各発育段階ごとのブリ仔稚魚を蛍光色素で染色して観察することにより、蛍光色素染色法の本種における有効性の限界を検討した。

ないため、観察が困難となる時期は不明である。筋肉の肥厚や体表色素の発達の程度は魚種ごとに異なるため、各発育段階ごとのブリ仔稚魚を蛍光色素で染色して観察することにより、蛍光色素染色法の本種における有効性の限界を検討した。

3. 研究の方法

水産総合研究センター水産総合研究センター西海区水産研究所五島支所において平成23年1月23日孵化群、および2月5日孵化群のブリ仔魚を用いた。ホルモン投与により得られたブリの受精卵を60トン生産水槽に収容し、仔稚魚の成長に伴ってシオミ

ズツボワムシ、アルテミア幼生、配合飼料を給餌してブリを飼育した。1日齢からスーパー生クロレラV-12で強化したL型ワムシを7~10個体/mlの密度になるように維持しながら19日齢まで給餌し、19日齢から26日齢はアルテミア馴致期間であるために、ワムシ給餌量を徐々に減らした。また、19日齢から、プラスアクアラン、タウリン強化したアルテミアを28日齢まで一尾あたり20から150個体になるように徐々に増やしながらか給餌した。28日齢からは市販の配合飼料おとひめB-1の給餌を開始し、28日齢から30日齢はアルテミアの給餌量を徐々に減らした。

ブリの孵化仔魚は、孵化直後から33日目までの仔魚を0.5-1g/Lのカルセイン水溶液中で1-2時間染色し、氷麻酔により麻酔したものを蛍光顕微鏡BX-50により顕鏡した。また、成長の速さと骨格異常の関連性を調べるために、33日齢のブリ稚魚を採取して、体サイズの大きいものと小さい群に分けた後、柔X線撮影により骨格異常の発生状況を調べることににより成長と骨格異常率の関連性を調べた。全長を測定した後、各試験区90個体ずつX線検査装置PRO-TEST 100(SOFTEX社)を用いて骨格の観察を行った。電圧・電流は35kV・2mAを基本設定とした。目視により正常、下顎異常、上顎異常、脊椎骨異常、その他の5つに分類した。

4. 研究成果

蛍光色素染色では、孵化後2-3日齢から擬鎖骨が観察され、その後成長に伴って日齢14前後から顎骨、鰓覆骨、

神経頭蓋が観察されるようになった。また、背骨に関しては日齢 15 から神経棘が観察されるようになり、成長に伴って椎体と下尾骨も観察されるようになった。しかし、予想された通り 18 日齢ごろから体表の色素が発達し始め観察が難しくなることが分かった。また、27 日目以降には体幅が肥厚するため観察ができないことが明らかとなった。一方、早期成長個体と成長遅延個体での骨格異常率を比較すると、成長の早い群では 12.4%、遅い群では 13.3%であり、骨格異常率に明確な出現傾向はないことが示唆された。また、33 日齢の全長と骨格異常率の関連性を調べると、全長 12mm 以上から異常率が増加しており、17 mm 以上では逆に低下する傾向が見られた。これは、12mm 以下の個体では、骨格形成が不十分で検出しにくいことが明らかとなった。また、33 日齢で全長 17 mm 以上にまで成長した成長がかなり早い群については骨格異常の発生が少ない可能性も示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕 (計 件)

〔学会発表〕 (計 件)

〔図書〕 (計 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計◇件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組 lopment of bone disorder model by nutritional imbalance in yellowtail *Seriola quinqueradiata*

研究代表者

芳賀 穰 (HAGA YUTAKA)

東京海洋大学・海洋科学部・准教授

研究者番号：00432063