

ビタミンAを多量投与したワムシ給餌が ヒラメ仔魚形態に及ぼす影響*

三木教立・谷口朝宏

Effect on the body structure of larval hatchery-reared
flounder *Paralichthys olivaceus* by feeding
a diet of rotifers with large doses of vitamin-A

Noritatsu Miki and Tomohiro Taniguchi

筆者らは、ヒラメ *Paralichthys olivaceus* の白化個体の出現を防除するため、様々な脂溶性ビタミン類を投与したシオミズツボワムシ *Brachionus plicatilis* (以下、ワムシと略す) を給餌する飼育実験を行った結果、ビタミンAが最も強く体色発現に関与していることを明らかにした¹⁾。ところで、ビタミンAを単独で投与した飼育実験のすべてで、尾柄部の形態異常を伴う個体が高率に出現した。ここでは、ビタミンAの多量投与による形態異常魚の出現頻度、形態的特徴等について調べたので報告する。

材 料 と 方 法

供試魚と飼育法 1989

年2月15日～6月1日の間にビタミンAを投与したワムシを給餌する飼育実験を計4回繰り返した(実験I～IV)。実験には、人工採苗して養成した親魚(主に2, 3年魚)の水槽内自然産卵で得た卵を使用した。それ

表1 飼育条件

実 験 区	I		II		III		IV	
	A区 対照区		A区 対照区		A区 対照区		A区 対照区	
期 間 (月/日)	2/15-3/29		4/6-5/1		4/29-6/1		5/3-6/	
収 容 尾 数 (尾)	2500		2500		2000		3000	
飼 育 水 温 (°C)	14.9-22.5		15.5-23.2		16.7-24.2		16.8-22.4	
平 均 水 温 (°C)	(19.0)		(19.7)		(19.5)		(19.1)	
平均換水量 (ℓ/日)	28.0		31.2		31.6		29.51	
給 餌 量								
ワ ム シ (10 ⁷ 個)	1.91		2.92		3.89		3.30	
アルテミア (10 ⁷ 個)	6.82		1.69		7.19		5.98	
配 合 飼 料 (g)	200						30	

ぞれの飼育実験には、100ℓ黒色ポリエチレン水槽2個を用いた(A区, 対照区)。飼育水をwater-bath方式で加温し、通気量を仔稚魚の成長に伴い増加させた(最大100ℓ/min)。実験I～IVの実験期間、収容尾数、飼育水温等については表1に示した。

餌の種類と給餌量 ワムシ、アルテミア *Artemia* sp. 幼生(以下、アルテミアと略す)及び配合飼料を餌料として用いた、ワムシをナンノクロロプシス *Nannochloropsis* sp. (約2,000万 cells/ml) 及びパン酵母で培養し、さらにニフルスチレン酸ナトリウム(エルバージュ10%顆

* 本試験の一部は平成元年度日本水産学会秋期大会(宮崎大学)において発表した。

粒) 0.25 ppm とナンノクロロプシス, 油脂酵母 (約 0.25 g/ml) で約 16 時間の薬浴と二次培養を同時に行った。これを各実験ともふ化後 1 日目から投与した。北米産のアルテミア耐久卵を水温 28°C で約 22 時間かけてふ化させ, 乳化油脂剤 (オリエンタル酵母社製, エスター 85) 10 ppm で 3 時間以上栄養強化した。これを実験-I ではふ化後 22 日以降, 実験-II では 17 日目以降, 実験-III では 11 日目以降, 実験-IV では 12 日目以降投与した。なお, 各実験においては A 区, 対照区とも同量の餌料を与え, その給餌を表 1 に併記した。

ビタミン A 可溶化液のワムシの投与方法 実験 I-IV の A 区ではビタミン A 可溶化液 (Dupher 社製, デュファゾール A-100 S) を直接ワムシ培養水へ投与した。この投与をワムシの二次培養終了 2 時間前に行い, ビタミン A 量で 50,000 IU/ℓ となるようにビタミン A 可溶化液の投与量を調整した。ビタミン A を投与したワムシをヒラメ仔魚に給餌する期間を実験-I では平均全長 5.8-10.4 mm, 実験-II では 6.7-10.0 mm, 実験-III では 6.3-9.6 mm, 実験-IV では 6.7-10.1 mm の間に限定し, この期間以外では前途の培養によって得たビタミン A 可溶化液を投与していないワムシを給餌した。

形態異常魚の出現率の測定及び観察 形態異常魚の出現率 (形態異常尾数×100/全調査尾数) の測定を実験-I ではふ化後 39 日目, 実験-II では 25 日目, 実験-III では 33 日目, 実験-IV では 29 日目に行った。形態異常の判別には, 1 試験区当り 200 尾以上抽出し, 撮影した写真によって行った。形態異常部位の観察のため, 飼育中に適宜標本を採取した。標本を 10% 中性ホルマリンで固定し, アリザリンレッド S 染色により骨格形態を調べた。

結 果

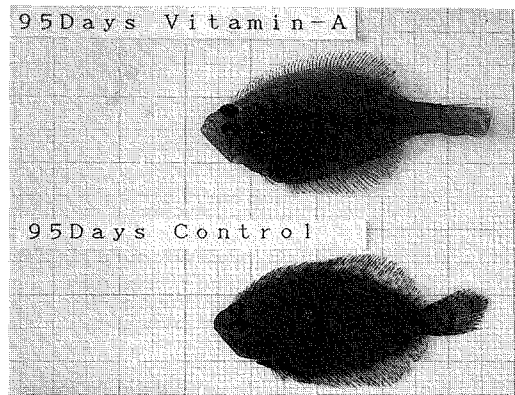
成長, 生残率及び形態異常魚の出現率 各実験の成長, 生残率及び形態異常魚の出現率を表 2 に示した。実験ごとの飼育日数は様々であったが,

表 2 成長, 成残率及び形態異常魚の出現率

実 験 区	I		II		III		IV	
	A区	対照区	A区	対照区	A区	対照区	A区	対照区
平均全長 (mm)	17.2	20.0	12.5	12.1	12.2	12.1	11.8	11.8
生 残 率 (%)	60.3	64.0	94.0	92.4	92.4	40.9	72.2	60.7
形態異常魚の出現率 (%)	100.0	0	7.1	0	0	0	17.1	0

各実験とも A 区と対照区の間では成長, 生残率に顕著な相異は認められなかった。一方, すべての実験の A 区では尾柄部の形態異常を伴う個体が高率に出現し, 特に実験-I の A 区では飼育魚のすべてが形態異常魚であった。なお, 対照区ではこの異常魚は全く確認されなかった。

形態異常部位の観察 形態異常魚の外観からは主に尾柄部の長軀化, 尾鰭の発育不全等がみられ, 長期間飼育 (全長 45 mm) しても回復しなかった (図 1)。さらに, 骨格を染色して観察した結果, 尾部棒状骨の過伸長, 神経



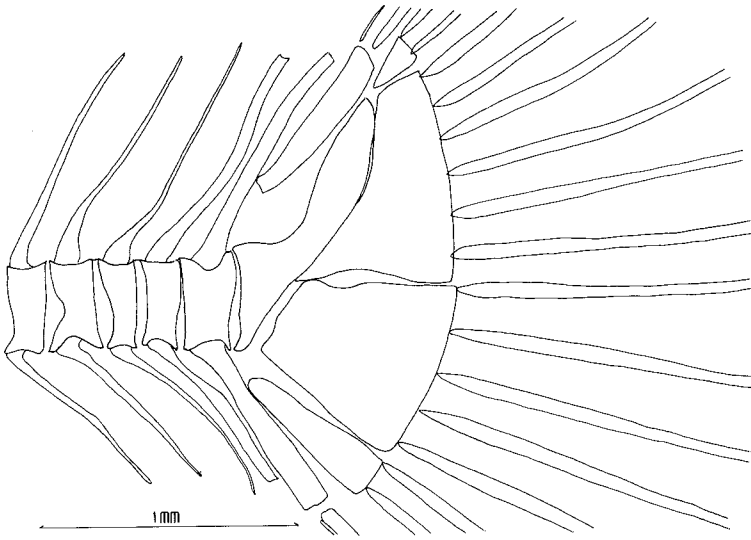


図2 通常のワムシで飼育したヒラメ仔魚 (TL 11.5mm) の尾柄部

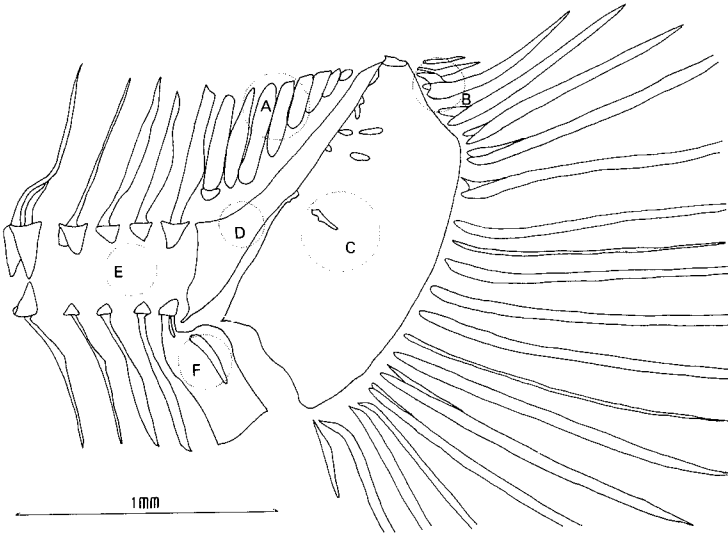


図3 ビタミンAを投与したワムシで飼育したヒラメ仔魚 (TL 12.6mm) の尾柄部

- A : 上尾骨の異常分裂
- B : 尾鰭条の異常分裂
- C : 下尾骨の融合
- D : 尾部棒状骨の過伸長
- E : 脊椎骨の形成不全
- F : 血管棘と下尾骨の融合

棘及び上尾骨の異常分裂と融合、脊椎骨の形成不全、血管棘と下尾骨の融合及び下尾骨の融合等が認められた(図2, 3). また、この異常は脊索末端が上屈し尾鰭の形成が始まる全長8-9mmの個体で、すでに下尾軸骨原基の異常として確認された。

考 察

今回の飼育実験では、ビタミンAを投与したワムシを給餌しても、ビタミンAを投与しないワムシを給餌した場合に比較し、成長及び生残率に顕著な相異は認められなかった。しかし、ビタミンAを投与したワムシをヒラメ仔魚に給餌すると、尾柄部の形態異常魚が高率に出現した。マダイ *Pagrus major* 仔魚の飼育例では、ビタミンAの過剰摂取による障害として、尾鰭軟条の屈曲や尾骨の変形などが報告されている²⁾。さらに、ビタミンAを含む脂溶性ビタミン類を投与したワムシを用いてヒラマサ³⁾ *Seriola aureovittata* やマガレイ⁴⁾ *Limarda herzensteini* 仔魚を飼育すると、尾鰭の

下葉鰭条の發育不全や尾鰭条の異常分裂などを伴う個体が高率に出現することも明らかにされている。これらの形態異常の發生部位や特徴は今回のヒラメ仔魚のそれと良く一致した。すなわち、ヒラメ仔魚でもビタミンAの過剰摂取による障害として、尾柄部の形態異常を併発する可能性も凝われた。なお、この形態異常の發生機構として、ビタミンAの代謝産物であるレイノチン酸は一般に脊椎動物の骨格形勢に関与することが明らかにされているが⁶⁾、ヒラメなどの魚類稚仔でも外部から与えられた過剰のビタミンAがレイノチン酸に誘導され、骨格形成に異常を引き起したことも十分考えられる。

ところで、ビタミンAの多量投与の影響は餌料中の他のビタミン含有量によって異なることがカワマス⁸⁾ *Salvelinus fontinalis*、マダイ⁹⁾、ヒラメ¹⁾等の飼育実験で確められている。ビタミンAの単独投与方法では形成異常魚の出現頻度が高く、ビタミンAの投与方法の再検討が急がれるが、これらの事例は白化を防除しつつ形態異常魚の発生も抑制する有効な手法となりうる可能性も考えられた。いずれにせよ、ヒラメ仔魚期におけるビタミンAの要求量、蓄積量の解明が不可欠で、これに伴う生理的、形態的变化を十分把握し、ビタミンAの投与方法を確立すべきであろう。

要 約

ヒラメ仔魚期にビタミンAを単独で投与したワムシ（培養水1ℓ当り50,000IU）を給餌して、この影響による形態異常魚の出現率、形態的特徴について調べた。

- 1) ビタミンAを投与したワムシを給餌しても成長、生存率は変わらなかったが、形態異常魚が高率に出現した。
- 2) 形態異常魚の外観からは尾柄部の長軀化等が認められ、骨格染色による観察では尾部棒状骨の過伸長や尾骨の融合などが認められた。
- 3) ヒラメ以外の魚種でもビタミンA過剰摂取による障害として尾柄部の形態異常魚の出現が報告されていることから、今回の症状はビタミンA多量投与に起因しているもの考えられた。

文 献

- 1) 三木教立・谷口朝宏・浜川秀夫・山田幸男・桜井則広（1990）：ビタミンA投与ワムシ給餌によるヒラメ白化防除。（水産増殖投稿中）。
- 2) 古市政幸・北島 力・松井誠一（1989）：マダイ仔魚に対するビタミンA過剰投与の影響。平成元年度日本水産学会秋季大会講演要旨集，p.95。
- 3) 内田隆信・与賀田稔久・黒瀬清治・北島 力（1989）：脂溶性ビタミン強化の生物餌料を与えたヒラマサ仔稚魚の尾鰭異常。平成元年度日本水産学会秋期大会講演要旨集，p.94。
- 4) 早乙女浩一・有瀧真一，（1988）：マガレイ人工種苗の体色異常。栽培技研，17(1)：9-17。
- 5) 井出宏之（1988）：トリの手足はどのようにしてできるのか。現代化学，(11)，48-53。
- 6) 青江 弘（1980）：ビタミン，魚類の栄養と飼料。荻野珍吉編。恒星社厚生閣。東京。pp.186-231。