

バイオテクノロジー技術によって作出されたマス類の特性 の評価(4)

誌名	事業報告書
ISSN	02862166
著者名	山本,淳
発行元	山梨県水産技術センター
巻/号	22号
掲載ページ	p. 7-12
発行年月	1994年10月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



バイオテクノロジー技術によって作出されたマス類の特性の評価—IV

～三倍体ニジマスの酸素消費量と低酸素濃度耐性～

山 本 淳

近年の染色体操作技術の進展により、比較的簡便な方法で、全雌三倍体ニジマスが作出できるようになった。三倍体化による不妊性は、生殖腺に費やされる成分が生殖腺以外の体成分として利用され、産卵期における成長の停滞、肉質の劣化を回避できる極めて有用な手段として注目されてきた¹⁾。しかし、山本・飯田²⁾は、三倍体ニジマスの血液学的性状を検討し、三倍体ニジマスは二倍体ニジマスに比較して、赤血球のサイズが大きく、赤血球数が少ないこと、ヘマトクリット値には差がないが、血中のヘモグロビン量が少ないこと、赤血球の長径の分布を示す Price-Jones 曲線のピークが二倍体に比較して右方移動していることを明らかにした。そして、赤血球平均恒数を算出し、三倍体は平均赤血球容積値 (MCV) と平均赤血球血色素量値 (MCH) が二倍体よりも大きく、正色素性大赤血球性の貧血症状であると報告した。

ニジマス養殖では、高密度飼育の結果、飼育魚はしばしば軽い低酸素状態にさらされていると推察される。魚体の酸素利用能に影響を及ぼす前述の血液学的な差異は、従来の集約的な養魚環境に対する三倍体の適性を左右するものと考えられる。本報では、三倍体ニジマスの酸素消費量、低酸素耐性を測定するとともに、三倍体の細菌性鰓病に対する抵抗力の低下について検討した。

なお本研究は全国養鱒技術協議会育種バイオテクノロジー研究部会の連絡試験の一環として行った。

材料および方法

酸素消費量

ドナルドソン系ニジマス (以下二倍体) と同全雌三倍体 (以下三倍体) の0年魚を用いた。三倍体は、いずれの場合も、前報²⁾と同様に、雄性ホルモン投与によって性転換した雌の精子と通常雌の卵を受精させた後、26°Cで20分間の温度処理によって第2極体の放出を阻止して作出した。ふ化後に核小体数によって倍数性を調査したところ、95%以上が三倍体であった。二倍体、三倍体ともに体重13gのものをそれぞれ10尾、25gのものをそれぞれ5尾供試した。なお、供試する24時間以上前から無給餌とした。

口径50mm、長さ約350mmの円筒形の呼吸室に供試魚を收容し、この中を毎秒3~4mlの流速で新鮮な水を通させた。呼吸室通過前後の溶存酸素量を溶存酸素計 (東亜電波工業、DO-11P型) で測定し、それらの差と水量の積から魚体重1kg・1時間当たりの酸素消費量を算出した。なお、注入水の溶存酸素量は次のように調整した。飽和量の溶存酸素が必要な場合は、貯水槽へ地下水を僅かに注入し、強くエアレーションした。飽和以下の溶存酸素量はエアレーションを止

めて、貯水槽内に収容するニジマスの尾数を徐々に増やすことによって調整して低下させた。実験期間中の水温は13.0~13.5°Cであった。

低酸素耐性

体重13gの二倍体および三倍体それぞれ50尾を用いた。

供試魚を20ℓ容の密閉容器に収容し、供試魚の呼吸によって容器中の溶存酸素量を徐々に低下させた。そして、全部が横転するまでの間の供試魚の反応を観察し、その時の溶存酸素量を溶存酸素計によって測定した。

横転からの回復時間

前述の実験で横転した二倍体および三倍体それぞれ5尾を用いた。

酸素欠乏によって横転した供試魚を、通常の飼育水に戻して、回復するまでの時間を計測した。ここでは、供試魚の尾鰭を指で摘んだときに供試魚が激しくもがくようになった状態を回復とした。実験期間中の水温は13.0~13.5°Cであった。

細菌性鰓病に対する耐性

体重およそ1gの二倍体および三倍体を用いた。

馬血清を2%添加した液体サイトファーガ培地で、細菌性鰓病菌 *Flavobacterium branchiophilum* TS-1株を20°Cで5日間培養した後、地下水で適当に希釈して $10^5 \sim 10^6$ cell/mlの攻撃菌液を調製した。これに三倍体、二倍体をそれぞれ3時間浸漬した。浸漬後、通常の飼育水槽に戻して、3~5日間飼育し、鰓の表面に *F. branchiophilum* が増殖したのを確認した後、4つに区切った縦長の水槽に収容した。この水槽は、Wakabayashi and Iwado³⁾ が用いたものと同様のものである。なお、供試魚の収容方法は、二倍体と三倍体をそれぞれ別の水槽に収容した場合と、同居させた場合の2通りとした。収容量は1小区画当たり60~70尾とし、同居の場合には二倍体、三倍体それぞれ約30尾ずつとした。実験開始時の注水位置付近の溶存酸素量が飽和度として約60%、排水付近のそれが約30%となるように注水量を調節した。水温は11.5~12.0°Cであった。1尾目が死亡してから3日間、死亡魚を計数するとともに、1日8~10回溶存酸素量を測定した。

結 果

酸素消費量

図1に体重13gの二倍体および三倍体の酸素消費量を示した。溶存酸素量が4~7 ml/lでは二倍体および三倍体の酸素消費量はともに93~99 ml/kg·hであった。2.5~4 ml/lでは、二倍体および三倍体ともに70~80 ml/kg·hであり、消費量はやや低下したものの、両者の間に有意差は認められなかった ($p > 0.05$)。

図2に体重25gの二倍体および三倍体の酸素消費量を示した。溶存酸素量が2~6 ml/lでは、酸素消費量は二倍体、三倍体ともに83~120 ml/kg·hであり、有意差は認められなかった ($p > 0.05$)。しかし溶存酸素量が1.6 ml/lでは、二倍体の酸素消費量が39.5 ml/kg·hであったのに対して三倍体は16.9 ml/kg·hでその差は有意であった ($p > 0.05$)。

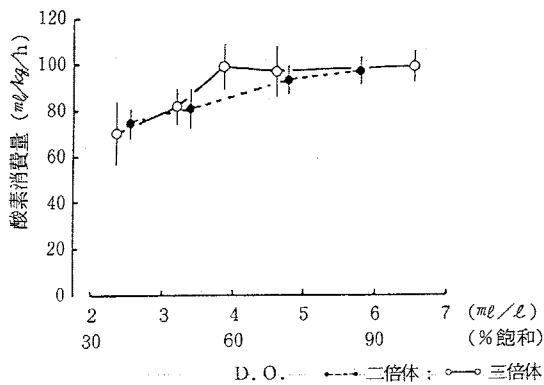


図1 体重13gのニジマスの酸素消費量

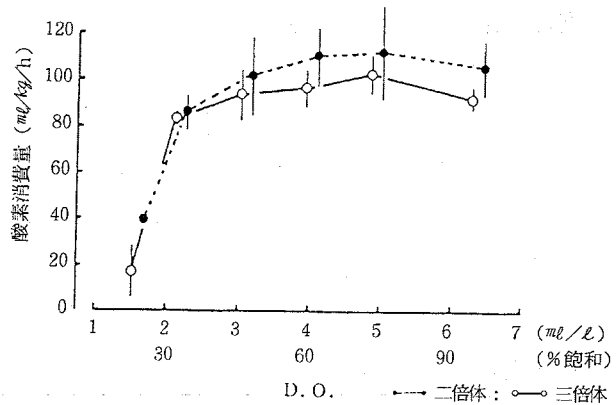


図2 体重25gのニジマスの酸素消費量

低酸素耐性および回復時間

結果を表1に示した。50尾中5尾および25尾が鼻上げした時の溶存酸素量は、二倍体がそれぞれ1.8、1.6 ml/lであったのに対して三倍体ではそれぞれ2.4、2.1 ml/lであり、いずれも二倍体と三倍体の間に有意差が認められた ($p < 0.01$)。

また、5尾および50尾が横転したときの溶存酸素量は、二倍体がそれぞれ1.1、0.8 ml/lであったのに対して三倍体は1.3、1.1 ml/lであり、いずれも二倍体と三倍体の間に有意差が認められた (5尾の時、 $p < 0.05$; 50尾の時、 $p < 0.01$)。

横転から回復するまでの時間は、二倍体が10.5分であったのに対して三倍体は15.6分であり、三倍体が有意に長い時間を必要とした ($p < 0.01$)。

表1 二倍体および三倍体ニジマスの低酸素濃度耐性と回復時間

反 応	溶存酸素量 (ml/l)	
	二 倍 体	三 倍 体
鼻上げ		
5尾/50尾	1.81 ± 0.02	2.37 ± 0.02**
25/50	1.58 ± 0.05	2.11 ± 0.06**
横 転		
5/50	1.13 ± 0.13	1.27 ± 0.04*
25/50	1.13 ± 0.02	1.14 ± 0.02
50/50	0.85 ± 0.01	1.08 ± 0.00**
回復時間	10.5 ± 1.1 min	16.2 ± 3.6**

*, 危険率 $p < 0.05$ で有意; **, 危険率 $p < 0.01$ で有意。

細菌性鰓病に対する耐性

二倍体および三倍体をそれぞれ別の水槽に収容した場合の結果を図3に示した。溶存酸素量が飽和度として50%以上あった場合には、二倍体、三倍体ともに死亡が認められなかった。二倍体では、溶存酸素量が3.1 ml/l (飽和度として45%)の時、死亡率は2%であったが、溶存酸素量が2.5、2.2 ml/lと低下するに従って、死亡率はそれぞれ19%、45%と増加した。

三倍体は、溶存酸素量の低下に伴う死亡率の増加が二倍体よりも急激であった。すなわち、溶存酸素量が2.5 ml/lの時の死亡率は62%であり、二倍体の19%に比較して3倍以上高く、大きな有意差が認められた ($p < 0.01$)。

二倍体および三倍体を同居させた場合の結果を図4に示した。溶存酸素量が3.9 ml/lの場合には二倍体、三倍体ともに死亡がなかった。二倍体では、溶存酸素量が3.5 ml/lの時、死亡率は3%であったが、溶存酸素量の低下に伴って死亡率が増加し、3.1 ml/lの時には45%、2.9 ml/lの時には64%となった。一方、三倍体は溶存酸素量の低下に伴う死亡率の増加が前述の別の水槽に収容した場合と同様に二倍体よりも急激であった。すなわち、溶存酸素量が3.5、3.1、および2.9 ml/lの時の死亡率は、それぞれ、16、58、および94%であり、溶存酸素量が2.9 ml/lの時の死亡率は、二倍体のそれに比べて有意に高い値であった ($p < 0.01$)。

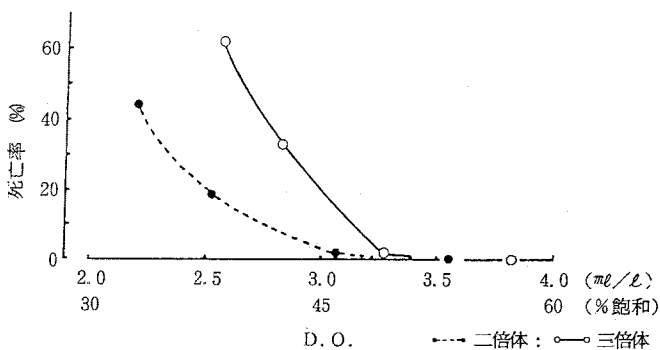


図3 細菌性鰓病に感染したニジマスの死亡率
(別個の水槽に収容した場合)

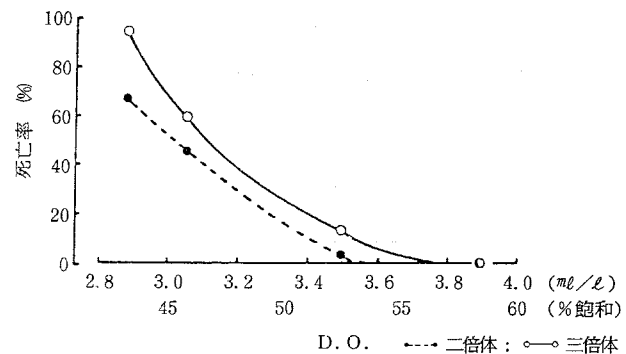


図4 細菌性鰓病に感染したニジマスの死亡率
(同一水槽に収容した場合)

考 察

一般に、魚類の酸素消費には、環境水中の溶存酸素量が低下してもある程度一定の酸素消費量を保つタイプと、溶存酸素量の低下に伴って酸素消費量が徐々に低下するタイプのあることが知られている⁴⁾。アユ、カマツカ、オイカワなどが前者であり、ニジマス、ブルーギル、ウナギ、ドジョウなどが後者である^{5~8)}。三倍体ニジマスの酸素消費は、溶存酸素量の低下に伴って減少したことから、二倍体と同様に後者の溶存酸素量依存型であると考えられる。そして、溶存酸素量が1.6 ml/lの時に三倍体と二倍体の酸素消費量に有意差が認められたことは、三倍体がより敏感に低酸素状態に反応することを示すものと考えられる。

1 個体当たりの酸素消費量は、ほかの条件が等しければ当然からだの大きいほど大きな値になり、単位体重当たりの酸素消費量はふつう体の大きいほど小さな値になる⁹⁾。本研究では、体重が13gと25gの場合について検討したが、両者の酸素消費量はほぼ同じ値であった。これは、呼吸室に収容したニジマスが13gの場合に10尾、25gの場合に5尾であったことから、多数個体の群は少数個体の群よりも単位体重当たりの酸素消費量が少なくなる群効果によって、体重の増加による酸素消費量の減少量が相殺されたためと推察される。

実際の飼育経験から三倍体が酸素欠乏に弱いと評価されているが、これまでの実験結果のうち鼻上げ時の溶存酸素量と回復時間はこれまでの評価を裏付けるものと考えられる。しかし、横転時の溶存酸素量は、二倍体と三倍体間で有意差が認められたものの極めて近い値であった。一方、大西洋サケおよびアユの場合、三倍体の赤血球1細胞の表面積は二倍体のそれよりも有意に大きい値であるが^{10,11)}、これらの値にそれぞれの血液中の赤血球数を乗じた血液単位体積当りの赤血球の総面積を算出して比較すると、逆に二倍体の方が三倍体よりも高い値となる。著者らは前報²⁾において、酸素の取り込みに利用できる赤血球の総表面積は、大西洋サケおよびアユの場合と同様にニジマスも三倍体の方が二倍体よりも小さくなることを報告した。これらを総合すると、三倍体は赤血球の総表面積が小さく、ヘモグロビン量が少ないために酸素の取り込み効率が二倍体よりも劣るため、溶存酸素量の低下により敏感に反応し、いったん酸素欠乏状態になると回復に時間がかかる、と考えられる。

細菌性鰓病はサケ科魚の稚魚期の代表的な疾病である。Wakabayashi and Iwado^{3,12)} は細菌性鰓病菌が鰓表面に多数着生すると、組織が増生し、そのため呼吸が著しく阻害され、酸素欠乏となって死亡すること、細菌性鰓病による死亡率は、環境水中の溶存酸素量に大きく左右されることを示した。本研究において、細菌性鰓病に感染した三倍体の死亡率が、水中の溶存酸素量に影響され、その影響が二倍体よりもいっそう大きいことが示された。

なお、図3の場合、供試魚を実験水槽に収容した直後は二倍体、三倍体ともに、ほぼ同じ溶存酸素量に調整できたが、症状の進行に伴って、三倍体の酸素消費量が、二倍体よりも大きく減少したために、3日間の値を平均すると、結果的に三倍体の溶存酸素量が高い設定となったものと考えられた。また、二倍体と三倍体を別に収容した場合よりも、同居させた場合の方が、二倍体および三倍体ともにより高い溶存酸素量で死亡した。後者の場合がより重篤に感染したものと考えられるが、その原因は不明である。また病理組織学的な検討を行っていないが、浸漬攻撃から死亡が始まるまでの時間に差がなかったことから両者の鰓における病変の進行には大きな差がなかったと考えられる。したがって、三倍体の細菌性鰓病による死亡率が低酸素下において、二倍体よりも明らかに高いことは、三倍体が本質的に低酸素に弱いことを示す査証の一つと見ることができよう。

一般に飼育水の溶存酸素量が低下すると、魚は鼻上げをするようになるが、鼻上げが起こるより高い溶存酸素量で、魚の成長量、摂餌量および飼料効率などが低下することが知られている。Itazawa¹³⁾ および Itazawa and Takeda¹⁴⁾ は、魚の動脈血酸素含量を測定し、ニジマスの健全臨界値は飽和度として63%であると推定している。しかし、ニジマス養殖の場合、稚魚の飼育池で

あっても、排水口付近の溶存酸素量が飽和度として50%以下になることは決して珍しくない。三倍体を飼育する際には、あらかじめ収容密度を低く設定するか、曝気などにより用水中の溶存酸素量を増加させるかして、健全臨界値以上の溶存酸素量を保つことが二倍体を飼育する場合以上に必要と考えられる。

文 献

- 1) 上野紘一 (1989) : 同質倍数体, 「水産学シリーズ, 75, 水産増養殖と染色体操作, 鈴木亮編, 恒星社厚生閣, 東京」, 70-81.
- 2) 山本 淳・飯田貴次 (1993) : バイオテクノロジー技術によって作出されたマス類の特性の評価-Ⅲ. ~ニジマス三倍体魚の血液学的性状~. 山梨県魚苗センター事業報告書, 21, 7-10.
- 3) Wakabayashi, H. and T. Iwado (1984) : Effects of a bacterial gill disease on the respiratory functions of juvenile rainbow trout. In "Fish and Shellfish Pathology" (ed. by E. A. Ellis). Academic Press, London, pp 153-160.
- 4) Hughes, G. M. (1981) : Effects of low oxygen and pollution on the respiratory systems of fish. In "Stress and Fish" (ed. by A. D. Pickering). Academic Press, London, pp.121-131.
- 5) Marvin, D. E. and A. G. Heath (1968) : Cardiac and respiratory responses to gradual hypoxia in three ecologically distinct species of freshwater fish. *Comp. Biochem. Physiol.*, 27, 349-355.
- 6) 山元憲一・高殿俊行 (1985) : 低酸素下におけるウナギ, ドジョウ, ティラピア, アユの酸素消費量の変化. 水産増殖, 33, 103-107.
- 7) 山元憲一・平野 修・伊賀上龍夫・長島 浩・雷田俊明 (1986) : 低酸素下におけるウグイ, ゲンゴロウブナ, ギンブナ, ブラックバス, カマツカの酸素消費量. 水産増殖, 34, 179-183.
- 8) 山元憲一・平野 修 (1988) : 低酸素下におけるタイリクバラタナゴ, タモロコ, オイカワ, カワムツ, コイの酸素消費量. 水産増殖, 36, 45-48.
- 9) 板沢靖男 (1977) : 呼吸, 「魚類生理学概論, 田村保編, 恒星社厚生閣, 東京」, 1-33.
- 10) Benfey, T. J. and A. M. Sutterlin (1983) : The haematology of triploid landlocked Atlantic salmon, *Salmo salar* L.. *J. Fish. Biol.*, 24, 333-338.
- 11) Aliah, R. S, Y. Inada, K. Yamaoka and N. Taniguchi (1991) : Effects of triploidy on hematological characteristics and oxygen consumption in ayu. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57, 833-836.
- 12) Wakabayashi, H. and T. Iwado (1985) : Changes in glycogen, pyruvate and lactate in rainbow trout with bacterial gill disease. *Fish Pathol.*, 20, 161-165.
- 13) Itazawa, Y. (1974) : An estimation of the minimum level of dissolved oxygen in water required for normal life of fish. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 37, 273-276.
- 14) Itazawa, Y. and T. Takeda (1979) : An estimation of minimum level of dissolved oxygen in water required for normal life of fish-II. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 45, 323-327.