

養殖環境の魚類等に及ぼす影響試験

渡邊 環・杉山昭博

目的

本県における水産養殖業はウナギ、クルマエビから近年、海産魚類へ質、量の拡大が見られる。しかし、それとともに周辺環境の影響と推測される事故等もしばしば発生している。

そこで本調査では、各種環境要因が養殖魚にどのような影響を与えるのか、また既存感染症感受性にどのような影響を与えるのかを検討することを目的として平成8年度から開始した。今年度は、血漿化学成分値で個体差の少なかったスギについて、水温別の成分値の変化を調べることを目的として試験を行った。また、各種組織像について組織切片を作成し資料として蓄積した。

1. スギ血漿化学成分値の水温別変化

(1) 材料及び方法

平成10年度までにマダイ、ハマフエフキ、ヤイトハタ、スギの血漿化学成分分析を行った結果、他の魚種に比べてスギは比較的安定した値が得られた^{1,2)}。そこで今年度は、20、25、30℃の水温下で約2週間飼育して水温に馴致させた平均体長スギについて成分分析を行った(表1)。なおそれぞれの設定水温下で飼育したスギを、たも網で取り上げ生きているうちに採血した個体群、取り上げて酸欠で死亡したと同時に採血した個体群に分けて分析を行った。

5001パンライト3基に10個体づつスギ(平均体長約30cm)を収容した。収容時飼育水温は18.2℃であった。設定水温になるまで数日間かけてゆっくりと上昇させた。飼育中は止水とし、ヒーターとサーモ

スタットを用いて水温を一定に保った。さらにエアレーションを施し、配合飼料を与え、残餌はサイフォンで吸い取り飼育水ができるだけ汚れないようにした。飼育期間中2回の全換水を行ったが、その際、同水温の海水を用いて換水を行うことにより、急激な水温変化が起こらないように注意すると共に、飼育魚に極力刺激を与えないように静かに作業を行った。

測定項目はALP、GGT、Amy、Cre、CPK、Glu、T-Cho、BUN、T-Bil、GOT、GPT、T-Pro、Alb、Ca、TG、UA、LDH、IP、Mg、FRAの20項目であった。採血時はたも網を用いて静かに取り上げ、その場で心臓穿刺により採血し、採血後直ちに分析を行った。採取した血液はヘパリン処理を施し、血漿分離を行い分析に供した。分析には臨床検査用の血液化学自動分析システム(SPOTCHEM SP-4410)を用いた。

(2) 結果及び考察

1) ALP (アルカリ性ホスファターゼ)

前年度の試験では健常なスギは全て50 IU/L以下の結果であったが、今回は試験区3と試験区5でややばらつきがあった(図1)。しかし両区間で飼育条件等に共通点はないため、環境による影響ではなく採血時の取り扱い等、他の影響によるものと考えられる。

2) GGT (γ -グルタミルトランスペプチダーゼ)

酸欠死2個体でやや高値があったものの、他個体の結果から判断すると環境の影響とは考えにくい。

3) Amy (アミラーゼ)

前年度の試験では健常なスギは全て10 IU/L以下

表1. 各試験区毎の供試魚尾数と飼育・採血時条件

試験区	1	2	3	4	5	6
採血数/飼育尾数	5/5	5/5	5/5	3/5	5/5	4/5
飼育水温(℃)	20	25	30	20	25	30
採血時の状態	生存	生存	生存	酸欠死	酸欠死	酸欠死

の結果であったが、今回は試験区3で2個体高値を示した。しかし環境の影響とは言い難い。

4) Cre (クレアチニン)

全ての個体が1 mg/dl以下であった。

5) CPK (クレアチン・フォスフォキナーゼ)

前年度の健常スギでは全ての個体が250 IU/L以下であったが、今回の試験では全試験区でばらつきがあった。試験区1~3と比較すると、試験区4~6で高値を示す個体があり、酸欠による影響を受ける成分値である可能性が示唆された。

6) Glu (グルコース)

試験区4~6は1~3区に比べてかなりのばらつきがあった。グルコース値は食餌摂取により上昇し、絶食や運動によって低下するとされている³⁾。酸欠状態の環境下で飼育している魚は呼吸が速くなると考えられるため、通常より高値を示すのではないかと考えていたが、本試験では逆の結果であった。今後、急激な酸素量変化とそうでない場合を比較する必要があるが、酸素量の変化がグルコース量に影響を及ぼす可能性が今回の試験では示唆された。

7) T-Chol (総コレステロール)

ほとんどの個体が50~100 mg/dlの値を示し、前年度の健常魚試験とほぼ同じ結果が得られたことから、この成分は水温や酸素量の変化に影響を受けないものと考えられる。しかしながら食餌条件(量、質または絶食)による影響は大きいとされているため²⁾、生存時の摂餌状態の推測には有効となる可能性がある。

8) BUN (尿素窒素)

前年度結果同様、全ての個体が10 mg/dl以下であった。この成分は水温や酸素量の変化に影響を受けないものと考えられる。

9) T-Bil (総ビリルビン)

全個体0.3 mg/dl以下であった。水温や酸素量の変化に影響を受けないものと考えられる。

10) GOT (グルタミン酸转アミノ酸トランスアミナーゼ)

試験区1~3の全個体が測定下限の10 IU/L以下であったのに対し、4~6区では57 IU/Lとやや高値を示す個体が見られた。しかしながらこの成分の測定上限は1000 IU/Lと高いため、そのばらつきが

異常を示す値なのか判断するためには、今後更に多くのデータを蓄積する必要がある。

11) GPT (グルタミン酸转アミノ酸トランスアミナーゼ)

全個体が測定下限の10 IU/L以下であった(図2)。水温や酸素量の変化に影響を受けないものと考えられる。

12) T-Pro (総蛋白)

どの試験区も3 g/dl以下の個体が殆どであり水温や酸素量に影響したと考えられる値は得られなかった。

13) Alb (アルブミン)

全個体が測定下限の1 g/dl以下であった。水温や酸素量の変化に影響を受けないものと考えられる。

14) Ca (カルシウム)

ほとんどの個体が8~15 mg/dlの値を示しており、前年度の健常魚の結果と殆ど同じであった。

15) TG (トリグリセライド)

値にばらつきがあったものの、水温や酸素量による影響と思われる変化はなかった。

16) UA (尿酸)

試験区1~3は健常魚と同じく、殆どの個体が測定下限1 mg/dl以下の値を示したのに対し、4~6区では多くの個体が1 mg/dl以上であったことから、酸素量の変化により値が影響を受ける可能性が示唆された。

17) LDH (乳酸脱水素酵素)

値にばらつきがあったものの、水温や酸素量による影響と思われる変化はなかった。

18) IP (無機リン)

値にばらつきがあったものの、水温や酸素量による影響と思われる変化はなかった。

19) Mg (マグネシウム)

試験区4~6区においてやや高値を示したが、はっきりとした変化ではないため、今後更に多くのデータを蓄積する必要がある。

20) FRA (フルクトサミン)

試験区6ではやや値がやや低くなったが、それを除くと水温が高くなるにつれて値が高くなる傾向にあった。また、酸欠個体がそうでない個体よりやや高値を示した。今年度から新しく計測可能になった

成分であり、今後更に多くのデータを蓄積する必要があるが、飼育環境の影響を判断するのに有効な測定項目となる可能性がある。

2. カニューレーション法によるスギ採血法の検討

(1) 材料及び方法

個体毎の成分値の経時的変化を観察する方法としてカニューレーション法を用いた採血方法について試験を行った。

平均体長約 30cm のスギを供試魚として用いた。陸上池からたも網で 1 個体ずつ取り上げ、2-フェノキシエタノールを入れた海水をポンプで絶えず鰓にかけることにより麻酔を施した。供試魚の口を開け、上顎から背大動脈に向けて外径約 1.4mm の先端を尖らせたステンレスパイプを突き刺す方法、下顎から心臓に向けて突き刺す方法、鰓蓋を開いて心臓に向かって突き刺す方法を試みた。なお、これらの方法は George K. Iwama⁹⁾ の方法を参考に行った。

(2) 結果及び考察

上顎及び下顎に突き刺す方法では、骨が硬くパイプが刺さらなかったため、錐を用いて骨に穴を開けたあとパイプを用いてチューブを挿入することを試みたが成功しなかった。鰓蓋を開いて心臓に向かってパイプを刺す方法では、心臓ではなく筋肉や腹腔内に刺してしまい魚体にかなりダメージを与えたため、供試魚を生かすことができなかった。パイプの形状や角度に変化をつけて試みたが同様の結果であった。3つの方法ともカニューレーション法として適切ではないと思われた。スギ専用のパイプの角度等の検討や、他の部位からのチューブ挿入の可能性についての検討が必要であり、早急に確立する技術とは言えないが、同個体の連続的な血液検査に用いる採血法としては有効な手段となるものと考えられる。

3. 臓器組織標本観察

(1) 材料及び方法

供試魚は採血後解剖し、各臓器（心臓、肝臓、腎臓、脾臓、脳、腸管、胆嚢、鰓）を摘出した。摘出した臓器は 10%リン酸緩衝ホルマリン溶液で固定後、パラフィン包埋、ヘマトキシレン・エオシン染

色の組織標本を作成した。

(2) 結果及び考察

環境変化による各臓器組織像に違いは無かった。マダイ、ハマフエフキ、ヤイトハタ、スギの各臓器について比較したが、魚種毎に特別違いは確認されなかった。各臓器の特徴を簡単に述べる。

- 1) 心臓：背側に心房、腹側に心室、頭部側に動脈球が位置した。心房と心室の間に弁があり、房壁は薄く、室壁は厚かった。心筋のスポンジ層で構成されていた。
- 2) 肝臓：肝臓の内部には肝門脈枝が通り、その周囲を脾臓組織が取り巻き、肝脾臓を形成していた。各魚種の肝量指数（肝臓重量/体重×100）を調べたところ、スギが 3.11% と最も大きかった（表 2）。

表 2. 健全魚における魚種別肝量指数

魚種名	肝量指数 (%)	個体数
マダイ	1.35	30
ハマフエフキ	1.10	30
ヤイトハタ	1.58	15
スギ	3.11	30

- 3) 腎臓：ピンセットで摘出し組織を垂直に切って切片を作成した。糸球体、基部曲節があり、ネフロン¹⁰⁾の存在を確認した。
- 4) 腸管：外側から漿膜、縦筋層、輪筋層、粘膜固有層、円柱上皮細胞が確認された。円柱上皮細胞内には粘液を分泌する杯細胞が存在した。
- 5) 鰓：鰓弁の中央を鰓弁中心静脈洞が通り、その両側に二次鰓弁が並んでいた。

4. 今後の課題

本課題では、環境が魚類にどのような影響を及ぼすかを調べるために主に血漿化学成分分析に取り組んできた。スギの幾つかの成分についてはその利用の可能性を示せたものの、その他の魚種及び成分については有効な方法を確立することが出来なかった。今後も熱ショックタンパクの測定⁹⁾等、他の新たな生理学的手法も含め、環境が魚類に与えるストレスを明らかにする方法を開発していく必要がある。

文献

- 1) 蔵下環・杉山昭博 (1999) 養殖環境の魚類等に及ぼす影響試験. 平成9年度沖水試事報. 118-124.
- 2) 蔵下環・杉山昭博 (2000) 養殖環境の魚類等に及ぼす影響試験. 平成10年度沖水試事報. 129-135.
- 3) 池田彌生・尾崎久雄・瀬崎啓次郎 (1986) 魚類血液図鑑. 緑書房. 237-326.
- 4) George K. Iwama (1994) Cannulation of Blood Vessels, Techniques in Fish Immunology 3, 1-16
- 5) George K. Iwama et al. (1998) Heat shock protein expression in fish, Reviews in Fish Biology and Fisheries 8, 35-56

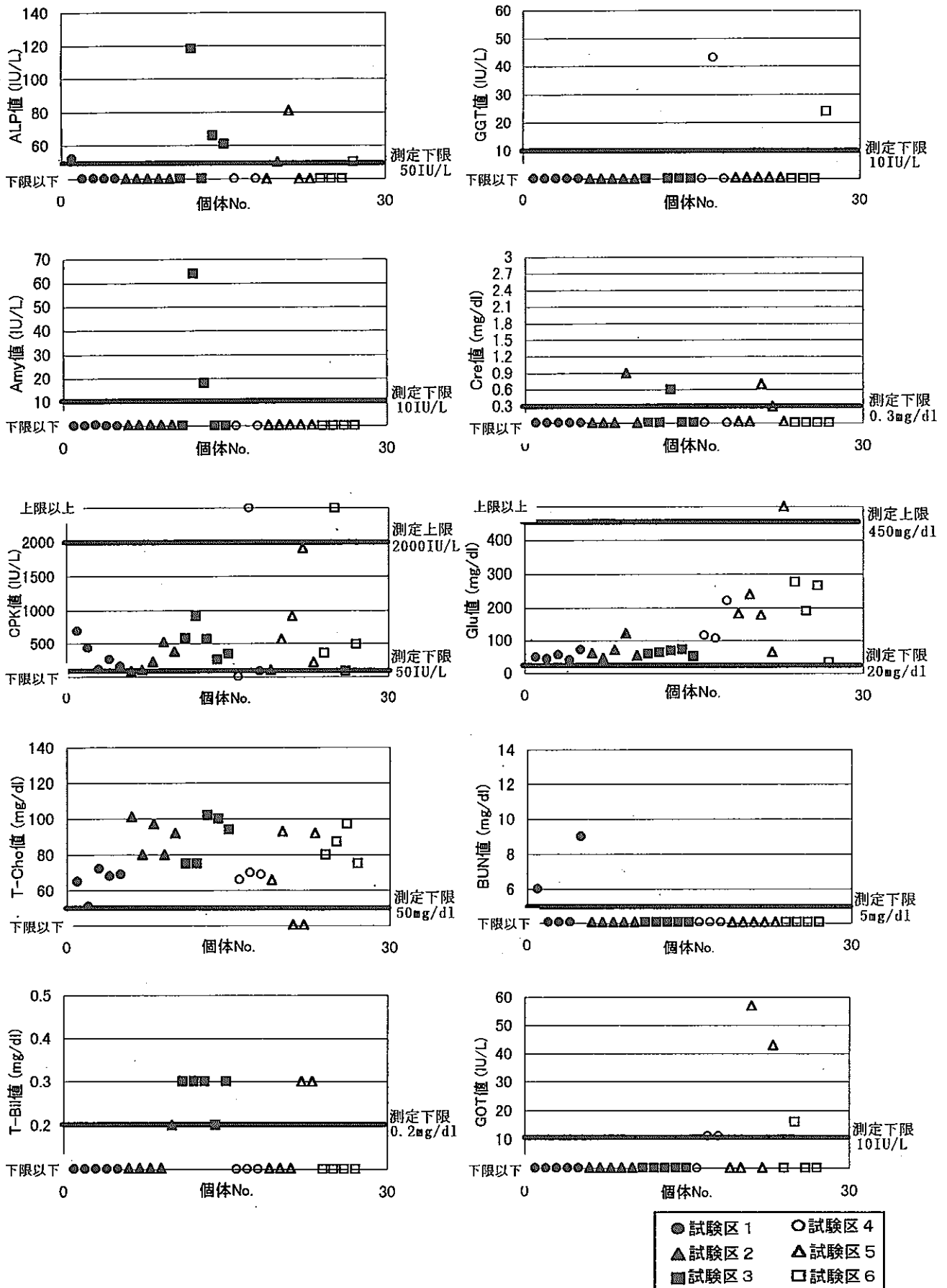


図 1. スギの各種血漿化学成分値

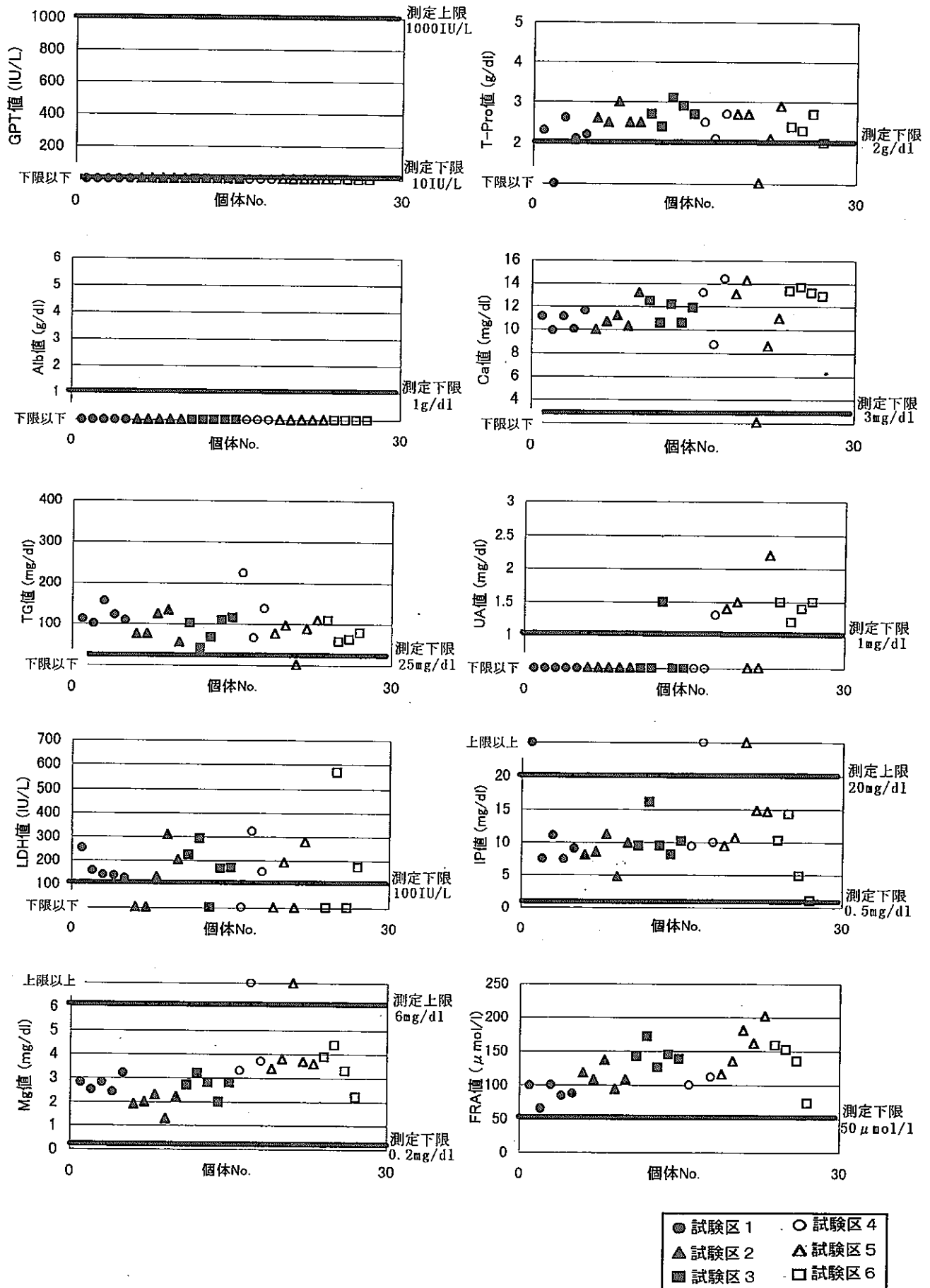


図 2. スギの各種血漿化学成分値