

had been determined in batch culture system using jar fermentor. Cultivation was continued until gas evolution was ceased. Of total gas 2.8 liter (65% H₂ and 35% CO₂) was evolved during 5 hours of cultivation from 9.4 g of GlcNAc at initial pH 6.5, 45°C, 250 rpm of agitation speed and 500 ml of working volume equal to the headspace in one liter jar fermentor. Maximum dry cell weight of *C. paraputrificum* 2 g was harvested. Major organic acids produced were acetic, propionic, butyric and lactic acids.

Since organic acids as by-product were produced simultaneously with hydrogen during cultivation of the strain M-21, medium pH was controlled by feeding NH₄OH. When substrate was GlcNAc, hydrogen evolution was the highest at pH 5.8 with the yields of hydrogen of around 2.4 mol H₂/mol GlcNAc, 1.3-fold of finding in the previous research. In case of ball-milled chitin, the hydrogen yield was 1.5 mol H₂/mol GlcNAc equivalent at pH 6.0, the optimum pH of major chitinases of this strain M-21. In continuous culture, hydrogen production was maintained during 8 h, the highest level at dilution rate of D=1.2/h.

The capability of *C. paraputrificum* M-21 to

degrade natural substrates was tested by cultivating it on raw shrimp and lobster shells (chitinous wastes) as the carbon sources in batch culture system. The hydrogen evolved were 11.4 mmol H₂ from 2.6 g of the former and 7.8 mmol H₂ from 1.5 g of the latter, respectively. Those amount of hydrogen evolved were enhanced two fold when both shells were pretreated by acid and alkali. Raw wastes from the starch industries such as corn fiber and gluten feed were also converted to hydrogen, i.e., 12.5 and 15.4 mmol H₂/l medium, respectively.

Detection of major chitinase of *C. paraputrificum* M-21 were carried out on cultivation in insoluble materials. When the strain M-21 was cultivated on ball-milled chitin and ball-milled shrimp shell for 14 and 12 h, respectively, chitinases ChiA and/or ChiB were detected as the major chitinase species, in the supernatants of the cultures, suggesting that they play a critical role in degradation of chitinous materials.

From the studies, a clue of clean gas production from chitinous wastes was obtained by using *Clostridium paraputrificum*, isolated from soil at Mie University campus.

生物資源開発科学専攻

氏名	近藤 茂則
学位記番号	生博 甲第 112 号
学位記授与の日付け	平成 13 年 7 月 18 日
学位論文題名	海産魚類浮性卵の卵質評価法の開発に関する研究 —シロギスを例として—
論文審査委員	主査 教授・柏木 正章 教授・宗宮 弘明 教授・前川 行幸 助教授・吉岡 基 三重大学 名誉教授・日高 磐夫

要 旨

魚類の種苗生産においては、質の良い卵と悪い卵を判別し、良質卵だけをふ化管理することが重要である。ヒラメ

やマダイなど多くの有用海産魚類が産出する浮性卵については、一般に、産卵海水との相対的な比重の違いによって決まる浮上卵率が有効な指標として広く利用されているが、

魚種によっては、この指標と正常ふ化率の間には相関関係が認められないなど、必ずしも信頼度の高いものとはなっていない。本研究では、新しい指標の発見とそれを用いた新しい評価法の開発を目的として、英虞湾に生息するシロギスを用いて以下のことを検討した。

第1章 英虞湾産シロギスの産卵特性

1. 本種の生殖に関する基礎的知見を得るために、英虞湾で毎月採集した本種の生殖腺の指数 (GSI) 測定と組織学的観察を行なった。その結果、本種の産卵期は6~9月と推定された。生殖周期は、成熟の開始時期などにおいて雌と雄とでは異なっていたが、大量の成熟卵と精子が生産される本格的な配偶子形成は、雌雄ともに5~9月に集中的に行なわれていることが明らかになった。

2. 親魚を水槽で給餌飼育し、自然産卵させた。水槽内で産卵された期間も概ね上記のとおりであった。産卵時刻は、水温が高い産卵中期に遅くなる傾向にあった。産出卵は分離・浮性・短油球・透明・球形で、卵径は0.63~0.70 mmであった。卵径と水温の間には負の相関関係が認められた ($r = -0.480 \sim -0.540$, $P < 0.01$)。

第2章 新しい卵質評価指標としての卵の比重および浸透圧の有効性

1. 新指標として、卵の比重 (中立浮力塩分, 以下NBS) と浸透圧に着目し、1細胞期からふ化直前期までの9ステージにおけるNBSと浸透圧を測定した。その結果、両指標は発生に伴って変化することがわかり、これらを指標として用いるには、測定するステージを統一する必要があると判断された。

2. 両指標の有効性を明らかにするため、これらと正常ふ化率との間の相関関係を検討した。その結果、NBSでは28, 浸透圧では480 mOsmを超える卵は、正常ふ化率が低い不良卵であり、これらを選別できる両指標は

有効と判断された。

第3章 卵比重を指標とする新しい卵質評価法 (卵比重法) の開発

1. 浸透圧よりも測定法が簡便な卵比重を指標として、塩分28の希釈海水中で浮上する卵を選別する卵比重法を考案した。その有効性を明らかにするために、選別した卵の形態異常卵率と正常ふ化率を測定し、従来の塩分32~34の産卵海水で選別する浮上卵率法と比較した。その結果、卵比重法は、異常卵率が低く、正常ふ化率が高い良質卵を選別できる有効な方法と判断された (ともに $P < 0.01$)。

2. 卵比重法では、希釈海水へ暴露される卵は塩分変化の影響を受けるため、卵の塩分耐性試験を行なった。その結果、ふ化可能塩分領域は23.3~54.8で、塩分28の希釈海水に対する耐性は十分にあることがわかった。ふ化最適塩分は39.1で、産卵海水 (34.4) よりやや高かった。このことから、卵比重法による選別後のふ化飼育には、産卵海水よりもやや高塩分の海水を使用することにより、さらにふ化率の向上が期待されることも示唆された。

3. 浮性卵が浮上することの重要性を明らかにするために、塩分20の希釈海水中で沈降した卵を人為的に浮上させる実験と塩分30~35の海水中で浮上している卵を人為的に沈降させる実験を行った。その結果、水面に浮上させた卵はふ化率が高かったが、沈降させた卵はほとんどふ化しなかった。したがって、海水中で浮上しやすい低比重卵の選別を意図した卵比重法は合理的な手法と考えられた。

以上の結果から、シロギス卵においては、卵比重を指標とする卵比重法は有効な卵質評価法と結論した。今後は、マダイやヒラメなど他魚種への適用をはかる研究が望まれる。