

## 生物資源開発科学専攻

氏名	土橋 靖史
学位記番号	生博 甲第 146 号
学位記授与の日付け	平成 16 年 3 月 25 日
学位論文題目	マハタの種苗生産技術開発に関する研究
論文審査委員	主査 教 授・柏木 正章 教 授・前川 行幸 教 授・宮崎 照雄 助教授・吉岡 基 独立法人水産総合研究センター 養殖研究所チーム長 田中 秀樹

### 要 旨

マハタ、*Epinephelus septemfasciatus* はスズキ目ハタ科マハタ属に属し、本州中部以南の太平洋西部およびインド洋に分布している、主に釣りや底曳網で漁獲される市場価値の高い魚種である。近年、本種の養殖が各地で行われているが、その種苗のはほとんどは韓国等の外国から輸入される天然稚魚である。そのために、需要と供給のバランスが著しく不安定で、国内の関連業界は人工種苗量産技術の開発を強く望んでいる。本種の種苗生産に関する研究は、愛媛県、長崎県、近畿大学、民間会社等において 1990 年代から行われているが、まだ量産できる段階には至っていない。

三重県ではマハタを養殖用対象種として取り上げ、種苗を量産するための研究を 1996 年から開始した。筆者はこの研究に開始当初から参加している。この間の研究により、以下の知見を得ることができた。

#### 1) 雄性化のためのホルモン投与法の検討

マハタ未熟雌に経口または医療用シリコンチューブの埋込によってメチルテストステロン (MT) を投与した。対照区の生殖腺は実験期間を通じ、全て周辺仁期の未熟卵で占められていた。MT 経口投与区は、2 ヶ月後には精子も見られたが、周辺仁期の卵が数多く残存しており、雄性化の程度は低かった。MT インプラントの埋込による投与区は 1mg、4mg ともに 2 ヶ月後には活発な精子形成が見られた。1 年後には、経口投与区は完全な雌、MT インプラント 1mg 区は雌雄同体に戻っていたが、4mg 区は雄の状態を維持していた。したがって、MT インプラントの埋込により体重 1kg 当たり 2mg の MT

を投与することによって、マハタ未熟雌を完全かつ持続的に雄性化できることが明らかになった。

#### 2) 種苗生産における仔魚の活力とその生残におよぼす水温、照明およびフィードオイルの影響

マハタの種苗生産過程における仔魚の活力を判定するために、無給餌生残指数 (SAI) を測定した。仔稚魚の生残率向上を目的として、水温、照明、飼育水へのフィードオイル添加の影響について検討した。SAI と開口時生残率の間には強い正の相関が認められ ( $r=0.862$ ,  $p < 0.01$ )、SAI は仔魚の活力判定指標として有効なことがわかった。孵化直後から日齢 10 までの仔魚の生残率は、水温では自然区 (19.5~20.5°C) より 25.0°C 区で、照明では自然光区より自然光+人工光の昼夜連続区で、オイル添加試験では無添加区より添加区で、それぞれ高かった。これらの良い方の条件で、SAI が 10 以上の仔魚を大量飼育した時の日齢 10 の生残率は 36.4~68.7% で、これは他の種苗生産機関から報告されている 11.7~35.0% よりも高かった。

#### 3) 種苗生産におけるウイルス性神経壊死症 (VNN) 防除策の検討

マハタの種苗生産で発生する VNN の防除を目的として、PCR 法を用いたウイルス遺伝子検出による親魚の選別、オキシダント海水による受精卵消毒、およびオゾン処理海水による仔魚の飼育を実施した。その結果、2000~2001 年の 8 例の飼育例全てで VNN の発生は認められず、稚魚まで生産することができた。取り上げた稚魚を砂ろ過海水で飼育したところ、4 例の飼育例全てで VNN による大量死が発生したのに対し、オゾン処理

海水での7例の飼育例全てで引き続きVNNの発生は認められなかった。以上の結果からこれらの対策は、マハタ種苗生産におけるVNN防除対策として有効であると判断された。

#### 4) 人工種苗の環境ストレス耐性

マハタ人工種苗を対照区、高水温区、低水温区、低塩分区、低酸素区に5尾ずつ収容し、耐性を調査した。同様の試験をクエ人工種苗、マダイ人工種苗、マハタ人工種苗1才魚を用いて行った。対照区では各魚種とも実験終了時まで、死亡は認められなかった。高水温区の死亡水温はクエよりも低く、マダイ、マハタ1才魚より高かっ

た。低水温区の死亡水温はクエよりも高く、マダイ、マハタ1才魚と差はなかった。塩分が1pptにまで低下した後死亡に至るまでの時間は、クエよりも短く、マハタ1才魚と差はなく、マダイよりも長かった。低酸素区の死亡時の溶存酸素量はクエ、マハタ1才魚と差はなく、マダイよりも低かった。以上の結果からマハタ人工種苗の環境ストレス耐性は、同じマハタ属のクエよりも弱いものの、海産魚養殖の代表的魚種であるマダイよりは強い耐性を示し、養殖対象魚種としての適正を備えているものと考えられた。

### 生物資源開発科学専攻

氏名	西村 富生
学位記番号	生博 甲第147号
学位記授与の日付け	平成16年3月25日
学位論文題目	放線菌を利用した高付加価値カルミア組織培養菌からの小型鉢物の作出技術に関する研究
論文審査委員	主査 教授・久能 均 教授・橋 昌司 教授・久松 真 富山県立大学工学部 教授・古米 保

#### 要旨

本研究は、北米原産の花木カルミアを研究材料として、実用的で効率的な組織培養苗大量増殖技術の確立並びに小型鉢物生産による栽培期間短縮と早期着花技術の開発を目指したものである。あわせて、内生放線菌を共生させることによって耐病性向上など高付加価値を付与した優良鉢物生産技術の開発をも目指した。

組織培養法で大量増殖したカルミア苗を矮化剤（パクロブトラゾール）処理し、2カ年で小型鉢物を生産する技術を開発した。温室内で風雨を避けて生育させた親株から伸長した新梢を、初代培養のための採芽に用いた。継代培養に適した増殖培地は天然型サイトカイニンである2iPを1mg/l添加したWPM（Woody Plant Medium）培地であった。馴化前の、サイトカイニンの影響の除去に適した植込培地はサイトカイニン無添加WPM培地であった。馴化容器として128穴セルトレイが適していた。馴化開始時の発根促進のためにインドール酢酸

(IBA) 100mg/lの3時間処理が適していた。小型鉢物生産には、春期に伸長する新梢にジベレリン生合成阻害剤であるパクロブトラゾールを20～200mg/lの濃度で、約20日間隔で2回処理すると、苗伸長抑制と花芽形成促進に有効であることが明らかとなった。施肥はN:P:K=10:18:15の元肥で十分で、追肥をすると花芽形成が抑制され、萎縮葉の発生を助長することが判明した。パクロブトラゾール処理で矮化させた苗にジベレリン(GA<sub>3</sub>) 200mg/lを1年後に散布すると春梢が再伸長し、パクロブトラゾールがジベレリン生合成を阻害することが確認された。

圃場生育カルミアから分離した73菌株の内生放線菌について、カルミア組織培養培地での増殖性と苗への影響、抗菌スペクトラムなどを検討し、AOK-30株を選抜した。この菌株の生理的、形態的性状、菌体内アミノ酸、菌体内糖の解析と16S rDNA塩基配列解析および電顕観察とによって*Streptomyces padanus* AOK-30と同定した