

Fig. IV-5. Frequency distribution of the caudal number of lordotic and kyphotic vertebrae at the commencement (on 98 days after hatching) and at the end (on 136 days after hatching) of experiments in each Experimental group. Open columns: From the 1st to the 4th caudal numbered vertebra; grey columns: from the 5th to the 22th caudal numbered vertebra; lattice pattern: inflated swim bladder; non-lattice pattern: uninflated swim bladder.

e) 日間給餌率の推定と補正

中間測定時 (120日令) および試験終了時 (136日令) の平均体重および死亡尾数から算出した生残尾数の値を基に、これら測定時の各試験区における実際の日間給餌率を推定した。また、配合飼料の給餌量は、試験開始時 (98日令) の稚魚の兵員体重および各試験区で設定した日間給餌率 (2%または6%) から算出したが、給餌量が一定のため、稚魚の成長とともに実際の日間給餌率が低下する。そこで、中間測定時の平均体重および生残尾数を基に、121日令の給餌から各試験区の日間給餌率に補正した。

f) 飼育水の流速の測定

各試験区の飼育水の流速は、電磁流速計 (AEM-1D; JFE アドバンテック, 兵庫) を用いて測定した (Table IV-8)。流速は、AおよびB試験区では、通気装置直上、通気装置反対側の側壁面および水槽中央部の水面と底層部で測定した (Fig. IV-6a)。また、CおよびD試験区では、エアリフト前、エアリフトとエアリフトの間、中央排水パイプおよび注水口付近の水面と底層部に流速の観測点を設定した (Fig. IV-6b)。測定は試験開始時に行い、各試験区で測定された最大値を最大流速と定義した。

g) 連続遊泳時間の測定

各試験区での遊泳行動を評価するため、ある一定方向に対する稚魚の連続遊泳時間を測定した (Table IV-8)。連続遊泳時間は、無作為に抽出した標本が、一度方向転換してから再び方向転換するまでの時間と定義し、時間

は、134日令の13:00にストップウォッチで測定した (n=10/水槽)。

h) 統計分析

データの正規性 (Shapiro-Wilk test) および等分散性 (Bartlett test) が確認された場合は、全長、体長、体重、肥満度、日間給餌率および連続遊泳時間における差異を確認するためTukey-kramer test を使用した (Tables IV-2, IV-3, IV-8)。これらのデータは、日間給餌率を除いてデータの正規性および等分散性が確認されなかった場合は、Steel-Dwass test を使用した (Tables IV-2, IV-3, IV-8)。生残率、鰾の開腔頻度 (Tables IV-2, IV-3)、各角度帯での標本の出現頻度 (Tables IV-4, IV-5, IV-6, IV-7) および脊椎骨屈曲の頻度 (Fig. IV-4) における差異を確認するため、William'sの補正を伴うG-test (Sokal and Rohlf 1983) および事後検定としてRyan's multiple range testを使用した。Tukey-kramer test, Shapiro-Wilk testおよびBartlett testは、JMP7統計ソフトウェア (SAS Institute Japan, 東京) を用いて実施し、 $P < 0.05$ の場合に差が有意とした。

IV-3. 結果

a) 生残および成長

試験1の開始時から終了までの全長、体長、体重、生残率、鰾の開腔頻度、肥満度および日間給餌率の結果を Table IV-2に示す。AおよびB試験区の全長および体長は、試験開始後に統計的に有意に増加し ($P < 0.05$), 試

Table IV-8. Continuous swimming time and maximum current at the commencement (at 98 days after hatching) of the experiments 1 and 2

	Experiment 1			Experiment 2	
	Small amount feeding (A)	Large amount feeding (B)	Low current velocity (B)	Middle current velocity (C)	High current velocity (D)
Continuous swimming time (sec)	6.43±11.37	5.11±4.64	5.11±4.64 ^c	35.31±34.47 ^b	87.08±73.72 ^a
Maximum current velocity (cm sec ⁻¹)	8.9	8.9	8.9	23.4	45.6

Continuous swimming time is presented as the mean ± standard deviation in each experimental group. Different superscript letters are significantly different ($P < 0.05$).

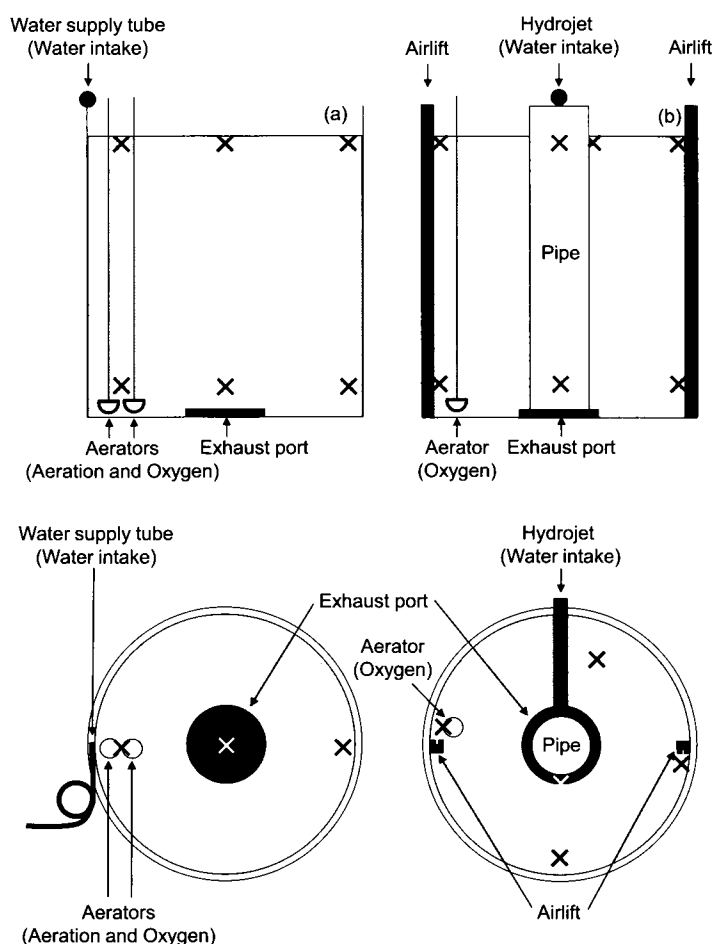


Fig. IV-6. Schematic drawing (top, side view; bottom, top view) of the experimental tanks and determination of water current velocity. (a) Experimental group A and B, and (b) Experimental group C and D. In Experimental group A and B, current velocity was determined at the water surface and the bottom of right above aerators, the other side of aerators and the center of tank. In Experimental group C and D, the points of measurement were set at the water surface and the bottom in front of the airlift, between airlifts, around the center pipe and the water intake. Black or white crosses indicate the points of measurement. Measurement was conducted at the commencement of experiment, and the maximal value obtained was defined as the maximum current velocity.

験終了時ではいずれもB試験区で有意に大きかった ($P < 0.05$)。両試験区の体重は、試験開始後に統計的に有意に増加し ($P < 0.05$; 中間測定時のA試験区を除く)、中間測定時および試験終了時の体重はいずれもB試験区で有意に大きかった ($P < 0.05$)。生残率は、中間測定時および試験終了時ともにB試験区で有意に高かった ($P < 0.05$)。試験開始時の鰾の開腔率は44.2%であり、AおよびB試験区の試験終了時の鰾の開腔率は88.7%および72.4%を示し、両試験区共に試験開始時と比較して有意に高かった ($P < 0.05$)。試験終了時の肥満度は、試験開始時と比較して両試験区ともに有意に高く ($P < 0.05$)、A試験区よりB試験区で有意に高かった ($P < 0.05$)。

試験2の開始時から終了までの全長、体長、体重、生残率、鰾の開腔頻度、肥満度および日間給餌率の結果をTable IV-3に示す。試験終了時の全長および体長は、試験開始時と比較して全ての試験区で統計的に有意に増加し ($P < 0.05$)、試験区間で有意差はみられなかった。中間測定時および試験終了時の体重は、試験開始時と比較して全ての試験区で統計的に有意に増加し ($P < 0.05$)、試験区間で有意差はみられなかった。中間測定時および試験終了時の生残率に有意差はみられなかった。試験終了時の鰾の開腔率は、B試験区で72.4%、C試験区で87.5%およびD試験区で86.5%を示し、試験開始時と比較して全ての試験区で有意に高かった ($P < 0.05$)。試験終了

時の肥満度は、試験開始時と比較して全ての試験区で有意に高く ($P < 0.05$)、試験区間で有意差はなかった。

なお、試験1, 2ともに、全ての試験区で残餌は確認されなかった。

b) 日間給餌率の推定

試験1の日間給餌率は、中間測定時および試験終了時ともにB試験区で有意に高く ($P < 0.05$)、それぞれA試験区で $1.40 \pm 0.08\%$ および $2.75 \pm 0.01\%$ 、B試験区で $2.75 \pm 0.01\%$ および $3.19 \pm 0.09\%$ であった。試験2の中間測定時および試験終了時の日間給餌率は、B試験区で $2.75 \pm 0.01\%$ および $3.19 \pm 0.09\%$ 、C試験区で $2.58 \pm 0.16\%$ および $3.28 \pm 0.25\%$ 、D試験区で $2.11 \pm 0.07\%$ および $4.24 \pm 0.09\%$ を示し、他試験区と比較して中間測定時はD試験区で有意に低かったが ($P < 0.05$)、試験終了時ではD試験区で有意に高かった ($P < 0.05$)。

c) 連続遊泳時間および最大流速

連続遊泳時間は、試験1のA試験区で 6.43 ± 11.37 秒、B試験区で 5.11 ± 4.64 秒を示し、試験区間で有意差はなかった (Table IV-8)。試験2では、B試験区で 5.11 ± 4.64 秒、C試験区で 35.31 ± 34.47 秒、D試験区で 87.08 ± 73.72 秒を示し、試験区間で有意差がみられた ($P < 0.05$, Table IV-8)。AおよびB試験区では、飼育水は $0-8.9$ cm/秒の速さで流れ、通気装置直上の底部で 8.9 cm/秒の最大流速が測定された (Fig. IV-6a)。C試験区では、飼育水は $0.1-23.4$ cm/秒の速さで流れ、エアリフト前の水面で 23.4 cm/秒の最大流速が測定された (Fig. IV-6b)。D試験区では、飼育水は $0-45.6$ cm/秒の速さで流れ、エアリフト前の水面で 45.6 cm/秒の最大流速が測定された (Fig. IV-6b)。

d) 脊椎骨屈曲の頻度

Fig. IV-4は、それぞれ第1~4椎体および第5~22椎体での前彎症 (Fig. IV-4a) および後彎症 (Fig. IV-4b) の頻度を示す。試験開始時の前彎症の頻度は 5.8% (第1~4椎体) および 11.5% (第5~22椎体) であった。試験1では、前彎症の頻度は、試験開始時とAあるいはB試験区間で有意差はなかったが、A試験区よりB試験区で高かった ($P < 0.01$)。試験2では、前彎症の頻度に有意差はなかった。試験開始時の後彎症の頻度は、どちらの脊椎骨の範囲 (第1~4椎体および第5~22椎体) も 9.6% で

あった。後彎症の頻度は、試験1では有意差はなかったが、試験2の試験開始時あるいは他試験区よりD試験区で有意に高かった ($P < 0.05$ および $P < 0.01$)。

Fig. IV-5に、各試験の各試験区における鰾の開腔個体あるいは未開腔個体の前彎症あるいは後彎症を伴う脊椎骨番号の頻度分布を示す。試験開始時では、前彎症椎体の最頻値は第3および第5~11椎体の 5.8% であり、後彎症椎体の最頻値は、第2および第3椎体の 9.6% であった。鰾の開腔個体では、前彎症あるいは後彎症域は、それぞれ第15~17椎体 (3.9%)、第1~5椎体 (1.9%) のみに位置した。A試験区では、前彎症椎体の最頻値は第16および第17椎体での 5.7% であり、後彎症椎体の最頻値は第3椎体での 7.6% であった。B試験区では、前彎症の最頻度 (21.0%) は第8椎体に位置し、後彎症の最頻度 (15.2%) は第3椎体に位置した。C試験区では、前彎症は第1~19椎体で観察され、最頻度は第5椎体での 8.7% であり、後彎症の最頻値は第3椎体での 16.4% であった。D試験区では、前彎症の最頻値は、第3椎体での 16.4% であり、後彎症の最頻値は第3椎体での 33.7% であった。

試験開始時では、第1~4椎体での正常な最大屈曲角度 (175° 以上) の頻度は 84.6% であり、 160° 以下の最大屈曲角度を伴う標本は確認されなかった (Table IV-4)。試験1では、試験終了時における第1~4椎体の正常な最大屈曲角度 (175° 以上) の頻度は、A試験区で 87.7% 、B試験区で 71.4% を示し、A試験区よりB試験区で有意に低下した ($P < 0.05$)。また、 $160 \sim 155^\circ$ の頻度は、A試験区で 0% 、B試験区で 3.8% を示し、試験区間で統計的有意差はなかったが、最大屈曲角度に対する給餌量の主効果は統計的に有意であった ($P < 0.05$)。試験開始時の第5~22椎体での正常な最大屈曲角度 ($180 \sim 175^\circ$ および $175 \sim 170^\circ$) の頻度は 63.5% および 26.9% であり、 155° 以下の最大屈曲角度を伴う標本は確認されなかった (Table IV-5)。試験1の第5~22椎体では、正常な最大屈曲角度 (175° 以上) の頻度は、A試験区で 65.1% 、B試験区で 46.7% を示し、A試験区よりB試験区で有意に低下した ($P < 0.05$, Table IV-5)。一方、 $170 \sim 165^\circ$ の頻度は、A試験区で 3.8% 、B試験区で 16.2% を示し、試験開始時およびA試験区よりB試験区で有意に高かった ($P < 0.05$)。B試験区の第5~22椎体で 150° 以下の最大屈曲角度を伴う標本が確認されたが、A試験区では、第1~22椎体まで 150° 以下の最大屈曲角度を伴う標本は確認されなかった (Tables IV-4, IV-5)。

試験2の第1~4椎体では、180~175°の頻度はB試験区で71.4%、C試験区で77.9%、D試験区で51.0%を示し、試験開始時および他試験区よりD試験区で有意に低かった ($P < 0.05$, Table IV-6)。一方、170~165°の頻度は、B試験区で9.5%、C試験区で8.7%、D試験区で25.0%を示し、試験開始時および他試験区よりD試験区で有意に高かった。試験2の第5~22椎体では、正常な最大屈曲角度 (180~175°および175~170°) の頻度は、B試験区で46.7%および27.6%、C試験区で46.2%および37.5%、D試験区で65.4%および18.3%を示し、いずれも試験区間で有意差がみられたが ($P < 0.05$, Table IV-7)、試験開始時と比較して全ての試験区で有意差はみられなかった。また、170~165°の頻度は、B試験区で16.2%、CおよびD試験区で5.8%を示し、試験開始時および他試験区よりB試験区で高かった ($P < 0.05$)。

IV-4. 考察

本研究では、マハタの稚魚期 (全長72~100 mm) における、不適切な配合飼料の給餌量および飼育水の流場が、脊椎骨屈曲 (前彎症および後彎症) を誘発することを明らかにした。本研究で得られた知見は、マハタの人工飼育期間における脊椎骨屈曲の防止に大いに貢献するものである。

試験1では、日間給餌率は、飼育期間と通してA試験区で1.40~2.00%およびB試験区で2.75~6.00%に維持されており、中間測定時および試験終了時に有意差がみられた。したがって、計画通り、試験1は、脊椎骨屈曲の出現に対する給餌量の差異の影響を確かめた試験となったと判断した。試験2では、日間給餌率は、飼育期間と通してB試験区で2.75~6.00%、C試験区で2.58~6.00%およびD試験区で2.11~6.00%に維持された。試験終了時および中間測定時に一部の試験区間で統計的有意差が確認されたが、その差は僅かであることから、試験2では、脊椎骨屈曲の出現に対する水流の影響を確かめられたと判断できる。

試験1では、試験開始時と比較して、前彎症の頻度は多量給餌で主に腹椎および腹椎から尾椎の間 (第1~11椎体) で増加し、後彎症の頻度は、統計的には有意でなかったものの、稚魚期に配合飼料の多量給餌を行ったB試験区の第1~4椎体の腹椎で多くなる傾向がみられた。このことから、稚魚期の多量給餌で主に前彎症が誘発されることが明らかになった。一方、試験2では、試験開

始時と比較して、後彎症の頻度は通気量 (流速) の増加に伴い主に腹椎 (第1~6椎体) で増加し、前彎症の頻度は、試験区間で差はなかったものの、主に腹椎および腹椎から尾椎の間 (第1~11椎体) で多くなる傾向がみられた。このことから、稚魚期の強通気飼育で主に後彎症が誘発されることが明らかになった。本研究では、鰾の開腔頻度は、試験開始時から終了時に統計的に有意に増加したことから、Pre-flexion ステージに鰾が開腔しなかった個体 (第III章第1節, 第III章第2節) が、その後の成長段階で開腔することが確認された (Nagano et al. 2007)。この現象は、鰾の二次開腔と呼ばれる (北島ら 1981; Chatain 1994; Jacquemond 2004b)。したがって、結論として鰾の二次開腔が進展する期間中の不適切な給餌量および飼育水の流場が、脊椎骨屈曲の出現に影響を及ぼすと考えられる。

前彎症は、稚魚期に配合飼料の多量給餌を行ったB試験区で有意に増加したことから、稚魚の摂餌行動が前彎症の出現に関与する可能性が考えられた。B試験区における稚魚の遊泳行動は、給餌時以外では底層に着底している個体、あるいは遊泳というより中層において主に胸鰭のみを使用した静止状態 (ホバリング) で方向転換のみを行う個体が多く確認され、平均連続遊泳時間は6.43秒と短かったが、毎回の給餌時には激しい遊泳が確認された。また、外観観察で稚魚の腹部の膨張が確認され、同区で残餌が確認されなかったことから、消化管は餌料で充満されたと推定される。タイセイヨウダラでは、椎骨の形成が開始する時期において、最適でない給餌方法に関連した餌料の過食、あるいは便秘で消化管が過剰充填となり、これにより鰾と脊索の間の圧迫が増大し、脊索を上方へ持ち上げることで脊索の屈曲が引き起こされる可能性が指摘されている (Grotmol et al. 2005)。また、ブリの2歳魚では、垂直方向の異常遊泳、餌料の飽食給餌、高い成長率あるいは性成熟と成熟に伴う異常遊泳行動が前彎症の出現と関連する可能性が指摘される (林 1990; 竹丸 2009)。したがって、マハタ稚魚期における新たな脊椎骨屈曲の出現は、これらの研究と魚の発育時期は異なるが、5回/日の給餌に伴う激しい遊泳行動と餌料が完全に消化される前の連続的な摂餌による消化管の膨張が原因である可能性が高い。さらに、浮力調整機能が欠如する鰾の未開腔個体では、恒常的な餌料の過食に伴う腹部重量の増加で体比重が増加すると推察される。マダイの鰾の未開腔個体では、浮力を獲得するた

めに体軸を斜上方に向けて遊泳することが知られていることから(北島ら 1981), マハタにおいても, 摂餌時の遊泳行動だけでなく, 中層で浮力を獲得するためのホバリング時においても, 体位を維持するうえで物理的な負荷が脊椎骨にかかり, 屈曲が引き起こされる可能性が考えられる。これらのことから, 過食で膨張した消化管が, 鰾を介してあるいは直接脊椎骨を圧迫するとともに, 摂餌に伴う度重なる急激な稚魚の遊泳行動および体比重の増加による浮力獲得に伴う恒常的なホバリングが相加的, あるいは相乗的に脊椎骨に負荷を加え, その結果, 腹椎での前彎症を引き起こしたと推察される。

一方, 後彎症でも, 稚魚期に強通気飼育を行ったD試験区で有意に増加したことから, 同区における飼育水の流場や稚魚の遊泳行動が後彎症の出現に関与する可能性が考えられた。CおよびD試験区では, 水平方向の遊泳行動が頻繁に確認され, 連続遊泳時間は, 通気量(流速)の増加とともに有意に長期化した。一般的に, 回流水槽内に魚を収容し, 一定の流速で回流水槽内に水を流した場合, 魚はある一定の場所で遊泳を継続し, 水流と同じ速さで遊泳することが知られる(塚本 1991)。特に, D試験区では, マハタ稚魚は一定の場所に留まらず, 幾つかの個体は, 4分以上の水流に対して激しい旋回遊泳を行うことが確認された。したがって, マハタ稚魚は, 最大流速(45.6 cm/秒)あるいはそれ以上の速度で遊泳し, そのような連続性の遊泳の激しさが, 稚魚期における新たな後彎症の出現要因である可能性が考えられた。魚の人工飼育下における飼育水の水流が形態異常の出現におよぼす影響は, ヨーロッパシーバス, マダイおよびタイセイヨウダラで実験的に検討されており, 稚魚の激しい遊泳行動で前彎症個体が出現するが(Divanach et al. 1997; Kihara et al. 2002; Sfakianakis et al. 2006; Helland et al. 2009), 後彎症との関係は記されておらず, その影響は不明である。しかし, ヨーロッパシーバスの稚魚では, 腹椎の後彎症は尾椎の前彎症と高い相関関係にあることが報告され(Boglione et al. 1995), 養殖ブリの2歳魚では, 魚体の中央部または中央からやや後方で後彎症が出現する一方, 同一個体の尾部で前彎症が出現し, 両者は複合的に発生することから(竹丸ら 2009), 人工飼育下で発生する後彎症と前彎症は, 脊椎骨の歪みを補正する補完的な関係にあると推察される。本研究の試験2では, 試験開始時と比較して, 後彎症の頻度は通気量(流速)の増加に伴い主に腹椎(第1~6椎

体)で増加し, 一方, 統計的に有意ではなかったが, 前彎症の頻度は, 主に腹椎および腹椎から尾椎の間(第1~11椎体)で増加傾向がみられた。したがって, 前述の他魚種と同様に, マハタでも稚魚期の激しい遊泳行動で前彎症が出現し, 脊椎骨の歪みを補正するため, 後彎症が引き起こされた可能性も考えられる。

配合飼料の多量給餌を行ったB, CおよびD試験区では, 最大屈曲角度が, 試験開始時あるいはA試験区で確認されなかった 150° 以下になることが確認され, 稚魚期における多量給餌および強水流で屈曲角度が鋭角化することが明らかとなった。そのような角度の鋭角化現象は, 鰾の二次開腔が進展する間のヨーロッパヘダイにおいても, 強制的遊泳条件下で報告されている(Chatain 1994)。マハタでは, 顎と脊柱の化骨は60日令(体長 30.1 mm, 北島ら(1991)あるいはSabate et al.(2009)の相対成長式から計算した全長は36.95 mmあるいは39.60 mm)までに既に完了し(Nagano et al. 2007), 鰾の二次開腔は, 少なくとも60日令以降に確認される(Nagano et al. 2007)。したがって, たとえ化骨の完了した稚魚でも, 脊椎骨の屈曲は, 鰾の二次開腔が進展する間の強水流で発生することから, そのような飼育水の流場には十分に注意すべきである。

一方, マダイでは, 脊椎骨屈曲の出現は, 鰾の二次開腔の開始とともに停止し, 軽微な脊椎骨屈曲(20° 以下)は矯正される事例がある(北島 1978)。また, たとえ鰾が開腔し, 化骨が完了した前彎症個体でさえ, 環境要因あるいは形態異常の程度次第で矯正されることが報告される(末廣ら 2004)。そのような形態異常の矯正は本研究で確認されなかったが, マハタにおいても, 飼育条件次第で形態異常が矯正される可能性がある。

本研究では, 鰾が一次開腔した標本と未開腔の標本で脊椎骨屈曲の出現および頻度が異なるか把握していない。他魚種では, 鰾が開腔した個体でさえ, 速い流速に伴う遊泳の激しさと尾椎に前彎症が出現する(Divanach et al. 1997; Kihara et al. 2002)。したがって, 鰾が一次開腔したマハタ稚魚も, 飼育条件次第で脊椎骨屈曲が誘発される可能性が高い。近年, マハタ仔魚期に油膜除去による鰾の一次開腔促進が試みられているが(第三章第1節), 鰾の一次開腔率が改善された場合も, 稚魚期における飼育条件には注意すべきである。ヨーロッパシーバスでは, 前彎症を伴う椎体の位置は, 鰾が開腔した魚より未開腔の魚で前方に位置し(Divanach et al. 1997;

Chatain 1994), 腹椎の後彎症も、鰓が開腔していない稚魚 (Boglione et al. 1995) だけでなく、鰓が開腔した仔魚 (Koumoundouros et al. 2002) でも確認される。これらのことは、脊椎骨屈曲の出現は、仔魚あるいは稚魚の発育ステージ、機能的な鰓の存在または欠如および流速などの条件次第で変化することを示唆しており、マハタも例外ではないと考えられる。近年、脊椎骨屈曲は、脊柱に対する筋肉の機械的負荷で発生する可能性が指摘されており (Kihara et al. 2002; Kranenbarg et al. 2005), 複雑な脊椎骨屈曲の出現機構を解明するさらなる研究が必要である。一方で少なくとも、A試験区でマハタ稚魚の脊椎骨屈曲の頻度は増加しないことから、A試験区に相当する飼育条件下で、脊椎骨屈曲の発生を防止することが可能であると考えられる。

配合飼料の少量給餌および低速水流で飼育したA試験区で脊椎骨屈曲の頻度が増加しなかった原因としては、最大流速を8.9 cm/秒、日間給餌率を1.40~2.00%および肥満度を27から28に維持する飼育条件があると考えられる。A試験区では、激しい遊泳行動が毎回の給餌時に確認されたが、給餌時以外の平均の連続遊泳時間は6.43秒と短く、無作為に抽出した標本個体が一度方向転換から再び方向転換する間の行動は、遊泳というより静止状態であった。Sabate et al. (2009) は、変態が完了しつつあるマハタ仔魚は、59日令 (変態仔魚期の末期付近 (体長15.5~20.5 mm) に初めて着底することを報告しており、その時期の平均遊泳速度は10 cm/秒弱であった。Sabate et al. (2009) は、着底 (66日令) 後の稚魚の遊泳速度を報告していないが、マハタが属する天然マハタ類は、概ね自然海域では遊泳するよりむしろ底層付近で静止していることが観察されることから (La Mesa et al. 2002), 同様の行動がマハタでも推察され、稚魚が着底時より速い速度で長期間の連続遊泳を行う可能性は低いと考えられる。したがって、A試験区で観測された最大流速 (8.9 cm/秒) は、マハタ稚魚の遊泳速度の範囲内であると考えられる。対照的に、中速あるいは高速水流で飼育したCおよびD試験区では、稚魚は遊泳速度を上回る水平方向への遊泳行動を長期間継続させられたと推察される。A試験区の飼育条件は、流速に関して天然のマハタ稚魚が生息する海洋環境に類似し、また、主に腹椎の前彎症を誘発する多量給餌でないことから、脊椎骨屈曲はA試験区で発生しなかったと考えられた。

本研究は、マハタ稚魚期 (全長72~110 mm) における不適切な飼育条件 (給餌量および飼育水の流場) が、脊椎骨屈曲を引き起こすことを明らかにした。さらに、成長および生残率は、マハタ稚魚期における多量給餌で改善された。クエの稚魚 (全長40~100 mm) において、日間給餌率1.0~6.0%の範囲内では、生残率および日間成長率は高い日間給餌率で有意に高くなる (中川ら 2011)。したがって、マハタにおいても、全長40~110 mmの範囲内では、少なくとも6.0%の日間給餌率が成長および生残率の改善に効果的であると推察される。また、強い水平方向への回転流で生じる速い水流には、餌料および酸素の拡散、排泄物の希釈および水槽の自浄といった飼育効率を改善する利点がある (Kihara et al. 2002; Helland et al. 2009)。一方、多量給餌および、または飼育水の速い流速が脊椎骨屈曲の発生を引き起こした。さらに、本研究のB、CおよびD試験区間で成長に有意差がみられず、速い流速は成長を改善しなかった。したがって、2%以上の日間給餌率および8.9 cm/秒以上の流速は、マハタ稚魚の成長と生残率および飼育効率の改善に関しては魅力的であるが、稚魚期における脊椎骨屈曲の誘発を防止するには、そのような飼育条件はできる限り避けるべきである。

和文要旨

三重県では、マダイに続く新しい養殖対象魚としてマハタ (*Hyporthodus septemfasciatus*) を選定し、1996年から養殖用の人工種苗生産技術開発に取り組んでおり、これまでの研究開発で生産技術は進歩し、毎年20~30万尾程度と産業規模での種苗生産が可能になっている。しかしながら、三重県に限らず、日本国内で生産されるマハタ人工種苗においては、一般に初期飼育期（受精卵孵化から全長約3 cm）と稚魚期（全長約3~15 cm）に出現する形態異常が種苗の品質を低下させ、生産効率の低下を招く大きな課題となっている。そこで本研究では、マハタ人工孵化・飼育魚の形態異常の種類とその原因の特定、防止策の開発に取り組んだ。

第I章では、三重県で生産したマハタ人工種苗に発生する形態異常の出現傾向を把握し、低減すべき形態異常の種類を特定した。第II章では、仔魚期の異なる飼育水温が形態異常の出現に及ぼす影響について明らかにし、最適な飼育水温を検討した。第III章では、仔魚期における鰾の開腔不全と形態異常の発生について検討し、マハタで最も高頻度に発生する脊椎骨屈曲の出現要因と鰾の開腔不全の関係を明らかにしたうえで、その発生率を低減するため、鰾の開腔促進および阻害条件を検討した。第IV章では、稚魚期の飼育方法として給餌量と通気量（流動）が前彎症および後彎症の脊椎骨屈曲出現に及ぼす影響について検討した。

第I章 形態異常の発生状況

2004~2010年に三重県が生産したマハタ人工種苗（全長10~15 cm）の形態異常の出現傾向を把握し、低減すべき形態異常の種類を特定した。観察対象とした形態異常の種類は、脊椎骨屈曲、癒合または椎体欠損、椎体の変形、背鰭陥没の4種類とした。毎年最も高頻度に確認された形態異常は脊椎骨屈曲であり、年変動は大きい。2.5~22.2%の範囲で推移した。また、癒合または椎体欠損は0.9~21.1%、椎体の変形は0~18.2%、背鰭陥没は0~4.1%の範囲で推移した。この結果から、生産効率の向上には脊椎骨屈曲の出現率を低減することが必要不可欠であると考えられた。

第II章 飼育水温と形態異常

本研究以前では、マハタの形態異常出現要因に関する

報告はほとんどなく、わずかに仔魚期の不適切な飼育水温が、顎異常を引き起こす可能性が指摘されているのみであった。本研究では、仔稚魚期の異なる飼育水温（23~29℃）が、成長、生残および形態異常の出現に及ぼす影響について明らかにし、仔魚期の最適な飼育水温を検討した。仔稚魚の成長は高水温で促進され、全長30~40 mmの稚魚の生残率は25~26℃で高かった。形態異常のうち、椎体の変形出現率は高水温で高く、神経棘の2又は23℃で高かった。一方、脊椎骨屈曲、癒合または椎体欠損の出現と水温に関連はなく、総合的な形態異常魚の出現率は25~27℃で低かった。仔稚魚の成長、生残、形態異常発生を統合して考慮すると、マハタ仔魚期の飼育適水温は25~26℃であると考えられた。

第III章 鰾の開腔と形態異常

第II章では、脊椎骨屈曲の防除策として、鰾の一次開腔促進の有効性が推測された。多くの魚種で、飼育水面の油膜除去を行い、仔魚に水面で鰾内へ空気を供給するため空気飲み込み行動を妨げないことが鰾の一次開腔促進に有効であると報告されている。しかしながら、マハタ仔魚では飼育水面の表面張力に捕らわれて死亡する浮上死による大量減耗が発生し、飼育水面への油添加による浮上死防止が推奨されている。そのためマハタ種苗生産では、それに相反する油膜除去よりも浮上死対策を優先する油添加が標準的な生産方法とされている。そこで浮上死対策と鰾の一次開腔促進を両立させる新たな飼育方法確立のため、鰾の一次開腔時期の特定と、開腔促進条件を検討した。

マハタ仔魚の組織学的観察の結果、鰾の開腔開始時期はPre-flexionステージであることが明らかになり、油膜除去はそれ以前のPelagic larvaeステージから実施するのが適切であると考えられた。次に、飼育水面での仔魚の空気飲み込み行動で鰾が一次開腔することを確認するため、油膜除去区、油膜非除去区（標準飼育法）および流動パラフィン添加区の3試験区を設定し、鰾の開腔率を比較した。油膜除去区では、10日令まで油を添加し、その後Pelagic larvaeステージが主である11~12日令から油膜除去を実施した。油膜非除去区では、油を添加したうえで油膜除去を実施せず、流動パラフィン添加区では、仔魚の空気飲み込

みを完全に阻害するため、流動パラフィンを厚さ約7 mmで水面に添加した。鰾の一次開腔は、油膜除去区で14日令以降に確認され、開腔率は最大平均40%であったが、油膜非除去区では2.3~19.0%、流動パラフィン区では0.8~5.8%であり、油膜除去区で有意に高い結果となった。このことから、マハタ仔魚は水面での空気飲み込みで鰾が一次開腔し、水面に存在する油膜などの障害物除去で鰾の開腔の促進が可能であると考えられた。また、試験区間で生残率に有意差が無く、10日令まで油を添加し、11日令以降に油膜除去を実施する飼育方法で、仔魚の生残確保と鰾の一次開腔促進の両立が可能であることが明らかとなった。

一方で本研究では、他魚種と比較したマハタ鰾の一次開腔率の低さが課題となった。要因として、飼育水の水流を起こす油膜除去期間中の通気量が、仔魚の空気飲み込み行動（鰾の開腔）に影響を及ぼす可能性が考えられた。そこで、0.5 t水槽を用いて通気量が異なる4試験区（0.01, 0.05, 0.10および0.50 l/分）を設定し、仔稚魚の鰾の開腔率を比較した結果、鰾の一次開腔率は0.50 l/分区で有意に低下した。通気量0.50 l/分区における水面下5 cmの流速は1~3 cm/秒であり、同区では仔魚が水面付近で定位できず、流される様子を観察したことから、水面での仔魚の空気飲み込み行動が強水流で阻害されたと考えられる。この結果から、マハタ鰾の一次開腔促進には、油膜除去期間中の弱通気（0.01~0.10 l/分）飼育が効果的と考えられた。

第四章 給餌量および流速と稚魚の形態異常

他魚種では、鰾の一次開腔に関わらず、稚魚期の不適切な飼育環境で前彎症が増加する。そこで、陸上水槽におけるマハタ稚魚期（中間育成期）の給餌量および通気による水流が、脊椎骨屈曲（前彎症・後彎症）の出現に及ぼす影響を検討した。試験区として、弱通気・給餌少量区（A区）、弱通気・給餌多量区（B区）、中通気・給餌多量区（C区）および強通気・給餌多量区（D区）を設定した。マハタ（全長 7.2 ± 1.0 cm, 体重 6.2 ± 2.6 g, 98日令）を0.5 t水槽に100尾ずつ収容し、試験は各試験区2反復で136日令まで行った。AおよびB区は、強い水流を発生させないため1個/槽のエアストーン（0.5 l/分）で通気し、CおよびD区は、飼育水を水平方向に回転させるため、2本/槽のエアリフト（C区：1.5 l/分/本, D区：5.0 l/分/本）で通気し、各試験区で流速を測定した。また、配合飼料の日間給餌率をA区は2%, B~D区は6%に設定した。試験

開始および終了時に軟X線写真撮影で鰾の開腔率および脊椎骨の屈曲（前彎症・後彎症）率を求めた。A~D区の終了時の鰾開腔率は72.3~88.7%であり、試験開始時の44.2%に対して有意に高く、鰾の二次開腔の進行が確認された。前彎症率は、A区に対しB区で有意に増加し、配合飼料の多量給餌（6%）で前彎症が増加することが明らかとなった。B区では、給餌時の稚魚の激しい遊泳や過食による体比重増加で上向き遊泳が増加するとともに、配合飼料の過食による腹部膨張で脊椎骨が圧迫されることで前彎症が増加したと考えられる。

また、後彎症は、試験開始時および他試験区と比較してD区で有意に増加し、強通気による水流の後彎症の誘導が明らかとなった。通気量増加に伴い稚魚の連続遊泳時間が長くなる過剰な遊泳で脊椎骨の負担が増大し、後彎症が増加する可能性が考えられた。また、多量給餌および強通気飼育で脊椎骨の屈曲角度が鋭角化した（最大40°）。これらの結果から、鰾の二次開腔が進行する間において、配合飼料の多量給餌および強通気飼育で新たな脊椎骨の屈曲が出現することが明らかとなり、少なくとも日間給餌率2%, 飼育水の最大流速0.09 m/秒以内で新たな脊椎骨屈曲の出現防止が可能であると考えられた。

結論

本研究では、マハタ人工種苗で高頻度に出現する形態異常が前彎症および後彎症の脊椎骨屈曲であることを特定し、その出現要因は、仔魚期における鰾の一次開腔不全および稚魚期における過剰給餌と飼育水の流れであることを明らかにした。また、仔魚の浮上死防止で10日令までの油添加、11日令以降の油膜除去で、仔魚の生残確保と鰾の一次開腔促進の両立が可能であることを明らかにした。また仔稚魚の成長、生残、形態異常発生を統合して考慮すると、マハタ仔魚期の飼育適水温は25~26℃であることが明らかとなった。さらに、稚魚期以降の鰾の二次開腔期間で、配合飼料の多量給餌および強通気飼育で新たな脊椎骨屈曲の出現が明らかになった。これらの結果から、マハタでは、鰾の一次・二次開腔期間の飼育環境調整で、脊椎骨屈曲の出現を防止することが可能になると考えられる。

しかしながら、機能的な鰾の存在または欠如との関係を含めて、稚魚期の飼育環境が新たな脊椎骨屈曲を引き起こすメカニズムは解明できていない。マハタ人工種苗のさらなる生産効率向上には、その出現メカニズム解明が、その後の異常矯正の可能性を探るうえでも必要である。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、終始懇切なるご指導とご校閲を賜った近畿大学水産学研究所教授 澤田好史博士に深甚なる感謝の意を表します。また、本論文のご校閲を頂き、貴重なご意見を賜った近畿大学水産学研究所教授 滝井健二博士、近畿大学農学部教授 太田博巳博士ならびに近畿大学農学部教授 小林徹博士に厚くお礼申し上げます。また、太田博巳博士には、学生時代から今日に至るまで並々ならぬご高配を賜わり、未熟な私を水産研究分野へ導いて戴いたことについて、衷心よりお礼申し上げます。さらに、福山大学生命工学部海洋生物科学科教授 有瀧真人博士には、マハタ人工種苗の形態異常低減という課題に直面し、途方に暮れていた私に有益なご助言と激励を与えて戴きました。この場を借りて心から深謝の意を表します。

長期間にわたる研究の機会と種々の便宜を与えて戴くとともに御指導下さった三重県水産研究所 西村守央元所長、中島博司元所長、紀平正人元所長および遠藤晃平所長に心からお礼申し上げます。

独立行政法人水産総合研究センター増養殖研所主任研究員 宇治督博士には、飼育試験の協力をして戴くとともに、終始貴重な御助言と御指導を賜りました。ここに記して深謝いたします。

本研究は、三重県水産研究所尾鷲水産研究室で行われ、同室の津本欣吾元室長、土橋靖史元室長、青木秀夫室長および野田千晴女史をはじめとする職員各位および（公財）三重県水産振興事業団尾鷲栽培漁業センターの徳澤秀渡元所長、瀬古慶子所長および岡田一宏所長代理をはじめとする職員各位には、マハタ親魚および仔稚魚の飼育や管理、人工授精、餌料生物の管理などについて多大のご協力を賜りました。ここに厚くお礼申し上げます。

本研究の遂行にあたり、3次元流向流速計による飼育水の流場の測定および解析に関してご助言いただいた近畿大学水産研究所大島実験場場長補佐 倉田道雄博士および近畿大学大学院農学研究科水産学専攻 伊奈佳晃博士、英文要旨のご高閲を賜りました近畿大学水産研究所浦神実験場講師 Biswas Amal博士に感謝の気持ちを表します。

さらに、研究の遂行にあたり、種々のご助言をいただいた三重大学生物資源学部教授 吉岡基博士および准教

授 淀大我博士に謹んで感謝の意を表します。当時の三重大学生物資源学部4年生 小原大昇氏および仲野祥子女史には飼育試験で多大なるご協力を賜りました。ここに感謝の意を表します。

そして、学生時代から社会人に至るまで、自分の進路に対し温かく見守り支援して下さった両親に深い感謝の意を表します。さらに、博士課程入学を快く承諾し、どのような状況においても応援してくれた素晴らしい妻に心から感謝するとともに、研究の励みとなった長女と長男に感謝します。

本研究は三重県単独事業：平成16～18年度「三重のマハタ」高品質・早期安定種苗生産技術開発事業」、平成19～22年度「マハタ・クエの種苗生産・養殖高度化技術開発事業」、平成23～24年度「東紀州地域の水産業活性化総合対策事業」および平成25～26年度「マハタの産地間競争力向上事業」によったことを記して、感謝の意を表します。また、本研究は、文部科学省グローバルCOEプログラムの支援を受けて行われた研究成果を数多く含んでおり、その支援には深く感謝致します。

文 献

- Abdel, I., E. Abellan, O. Lopez-Albors, P. Valdes, M. J. Nortes and A. Garcia-Alcazar (2004) Abnormalities in the juvenile stage of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) reared at different temperatures: types, prevalence and effect on growth. *Aquaculture International*, **12**, 523-538.
- Andrades, J. A., J. Becerra and P. Fernandez-Llebreg (1996) Skeletal deformities in larval, juvenile and adult stages of cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture*, **141**, 1-11.
- 有瀧真人・青海忠久・小林真人(1996) マガレイ仔魚の高水温飼育とアルテミア幼生早期給餌による形態異常防除. 日本水産学会誌, **62**, 857-864.
- 有瀧真人・太田健吾・堀田又治・田川正朋・田中 克(2004) 異なる飼育水温がホシガレイ仔魚の発育と変態に関連した形態異常の出現に及ぼす影響. 日本水産学会誌, **70**, 8-15.
- Aritaki, M. and T. Seikai (2004) Temperature effects on early development and occurrence of metamorphosis-related morphological abnormalities in hatchery-reared brown sole *Pseudopleuronectes herzensteini*. *Aquaculture*, **240**, 517-530.
- Barahona-Fernandes, M. H. (1982) Body deformation in hatchery reared european sea bass *Dicentrarchus labrax* (L). Types, prevalence and effect on fish survival. *Journal of Fish Biology*, **21**, 239-249.
- Bardon, A., M. Vandeputte, M. Dupont-Nivet, H. Chavanne, P. Haffray, A. Vergnet and B. Chatain (2009) What is heritable component of spinal deformities in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*)? *Aquaculture*, **294**, 194-201.
- Battaglione, S. C. and R. B. Talbot (1990) Initial swim bladder inflation in intensively reared Australian bass larvae, *Macquaria novemaculeata*(Steindachner) (Perciformes: Percichthyidae). *Aquaculture*, **86**, 431-442.
- Battaglione, S. C., S. McBride and R. B. Talbot (1994) Swim bladder inflation in larvae of cultured sand whiting, *Sillago ciliata* Cuvier (Sillaginidae). *Aquaculture*, **128**, 177-192.
- Bolla, S. and I. Holmefjord (1988) Effect of temperature and light on development of Atlantic halibut larvae. *Aquaculture*, **74**, 355-358.
- Bogliione, C., G. Marino, A. Fusari, F. Ferreri, M. G. Finioia and S. Cataudella (1995) Skeletal anomalies in *Dicentrarchus labrax* juveniles selected for functional swimbladder. ICES Mar. Sci. Symp **201**, 163-169.
- Cahu, C., J. Z. Infante and T. Takeuchi (2003) Nutritional components affecting skeletal development in fish larvae. *Aquaculture*, **227**, 245-258.
- Chang, S. L., G. H. Kou and I. C. Liao (2004) Temperature adaptation of the Japanese eel (*Anguilla japonica*) in its early stage. *Zoological Studies*, **43**, 571-579.
- Chatain, B. (1989) Problems related to the lack of functional swimbladder in intensive rearing of *Dicentrarchus labrax* and *Sparus auratus*. Advances In tropical Aquaculture AQUACOP IFREMER Actes de Colloque **9**, 699-709.
- Chatain, B. and N. Ounais-Guschemann (1990) Improved rate of initial swim bladder inflation in intensively reared *Sparus auratus*. *Aquaculture*, **84** : 345-353.
- Chatain, B. (1994) Abnormal swimbladder development and lordosis in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and sea bream (*Sparus auratus*). *Aquaculture*, **119**, 371-379.
- Ching, F. F., A. Miura, Y. Nakagawa, K. Kato, S. Senoo, W. Sakamoto, K. Takii and S. Miyashita (2014) Flow field control via aeration adjustment for the enhancement of larval survival of the kelp grouper *Epinephelus bruneus* (Perciformes: Serranidae). *Aquaculture Research*, **45**, 874-881.
- 中田 久・築山陽介・濱崎将臣・宮木廉夫(2011) I 形態異常の低減化技術開発 (クエ) 長崎県水産試験場事業報告, 51-52.
- Cobcroft, J. M. and S. C. Battaglione (2013) Skeletal

- malformations in Australian marine finfish hatcheries. *Aquaculture*, **396-399**, 51-58.
- Cook, M. A., K. M. Guthrie, M. B. Rust and P. D. Plesha (2005) Effects of salinity and temperature during incubation on hatching and development of lingcod *Ophiodon elongates* Girard, embryos. *Aquaculture Research*, **36**, 1298-1303.
- Craig, M. T. and P. A. Hastings (2007) A molecular phylogeny of the groupers of the subfamily Epinephelinae (Serranidae) with a revised classification of the Epinephelini. *Ichthyological Research*, **54**, 1-17.
- Dedi, J., T. Takeuchi, T. Seikai and T. Watanabe (1995) Hypervitaminosis and safe levels of vitamin A for larval flounder (*Paralichthys olivaceus*) fed *Artemia* nauplii. *Aquaculture*, **133**, 135-146.
- Divanach, P., C. Boglione, B. Menu, G. Koumoundouros, M. Kentouri and S. Cataudella (1996) Abnormalities in finfish mariculture: an overview of the problem, causes and solutions. Seabass and seabream culture: problems and prospects. Handbook of contributions and short communications presented at the international workshop held in Verona, Italy Oct. 16-18. European Aquaculture Soc Ostende Belgium: 45-66.
- Divanach, P., N. Papandroulakis, P. Anastasiadis, G. Koumoundouros and M. Kentouri (1997) Effect of water currents on the development of skeletal deformities in sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) with functional swimbladder during postlarval and nursery phase. *Aquaculture*, **156**, 145-155.
- Doroshev, S. I. and J. W. Cornacchia (1979) Initial swim bladder inflation in the larvae of *Tilapia mossambica* (Peters) and *Morone saxatilis* (Walbaum). *Aquaculture*, **16**, 57-66.
- Dou, S. Z., R. Masuda, M. Tanaka and K. Tsukamoto (2005) Effects of temperature and delayed initial feeding on the survival and growth of Japanese flounder larvae. *Journal of Fish Biology*, **66**, 362-377.
- Fernandez, I., F. Hontoria, J. B. Ortiz-Delgado, Y. Kotzamanis, A. Estevez, J. L. Zambonino-Infante and E. Gisbert (2008) Larval performance and skeletal deformities in farmed gilthead sea bream (*Sparus aurata*) fed with graded levels of vitamin A enriched rotifers (*Brachionus plicatilis*). *Aquaculture*, **283**, 102-115.
- Fielder, D. S., W. J. Bardsley, G. L. Allan and P. M. Pankhurst (2005) The effects of salinity and temperature on growth and survival of Australian snapper, *Pagrus auratus* larvae. *Aquaculture*, **250**, 201-214.
- Fukuhara, O. (1989) A review of the culture of grouper in Japan, *Bulletin of the Nansei Regional Fisheries Research Laboratory*, **22**, 47-57.
- Gavaia, P. J., M. T. Dinis and M. L. Cancela (2002) Osteological development and abnormalities of the vertebral column and caudal skeleton in larval and juvenile stage of hatchery-reared Senegal sole (*Solea senegalensis*). *Aquaculture*, **211**, 305-323.
- Georgakopoulou, E., P. Katharios, P. Divanach and G. Koumoundouros (2010) Effect of temperature on the development of skeletal deformities in gilthead seabream (*Sparus aurata* Linnaeus, 1758). *Aquaculture*, **308**, 13-19.
- Goolish, E. M. and K. Okutake (1999) Lack of gas bladder inflation by the larvae of zebrafish in the absence of an air-water interface. *Journal of Fish Biology*, **55**, 1054-1063.
- Graham, M. and H. Hop (1995) Aspects of reproduction and larval biology of arctic cod (*Boreogadus saida*). *Arctic*, **48**, 130-135.
- Grotmol, S., H. Kryvi and G. K. Totland (2005) Deformation of the notochord by pressure from the swim bladder may cause malformation of the vertebral column in cultured Atlantic cod *Gadus morhua* larvae: a case study. *Diseases of Aquatic Organisms*, **65**, 121-128.
- 橋本 博・今井彰彦・岩崎隆志・浜崎活幸・照屋和久・岩田和久・虫明敬一(2012) 鰺の開腔状態が異なるカ

- ンパチ仔魚の摂餌と成長. 水産増殖, **60**, 99-106.
- Hattori, M., Y. Sawada, Y. Takagi, R. Suzuki, T. Okada and H. Kumai (2003) Vertebral deformities in cultured red sea bream, *Pagrus major*, Temminck and Schlegel. *Aquaculture Research*, **34**, 1129-137.
- 服部 学(2004) 養殖マダイの脊椎骨異常に関する研究. 近大水研報, **9**, 1-66.
- Hattori, M., Y. Sawada, M. Kurata, S. Yamamoto, K. Kato and H. Kumai (2004) Oxygen deficiency during somitogenesis causes centrum defects in red sea bream, *Pagrus major* (Temminck et Schlegel). *Aquaculture Research*, **35**, 850-858.
- 林 政博(1990) 養殖ブリに発生した変形魚について. 三重水技研報. **4**. 1-12.
- 林田豪介・塚島康生・松清恵一・北島 力(1984) 人工採苗スズキの鰓異常と脊柱前彎症の関連. 長崎水試研報, **10**, 35-40.
- Helland, S., S. Lein, K. Hjelde and G. Bøverfjord (2009) Effect of water speed on lordosis and heart ventricle weight in cod. In: Bøverfjord, G., Helle, S., Hough, C. (Eds.), Control of Fish Malformations in Fish Aquaculture: Science and Practice. Rapid Press, Bertrange, Luxembourg, pp.53-57.
- 平田喜郎・浜崎活幸・照屋和久・虫明敬一(2009a) マハタおよびクエ仔稚魚の成長にともなう体密度の変化. 水産増殖, **75**, 652-660.
- 平田喜郎・浜崎活幸・今井彰彦・照屋和久・岩崎隆志・浜田和久・虫明敬一(2009b) カンパチ仔魚の生残, 成長, 摂餌および鰓の開腔に及ぼす光周期と水温の影響. 日本水産学会誌, **75**, 995-1003.
- 今井彰彦・岩崎隆志・橋本 博・平田喜郎・浜崎活幸・照屋和久・浜田和久・虫明敬一(2001) 飼育試験と鰓の個体発生から考察したカンパチ仔魚の鰓開腔メカニズム. 日本水産学会誌, **77**, 845-852.
- 板沢靖男(1991) 鰓: その浮力調節機能. 魚類生理学(板沢靖男, 羽生功編), 恒星社厚生閣, 東京, pp. 151-165.
- Jacquemond, F.(2004a) Sorting Eurasian perch fingerlings (*Perca fluviatilis* L.) with and without functional swim bladder using tricaine methane sulfonate. *Aquaculture*, **231**, 249-262.
- Jacquemond, F.(2004b) Separated breeding of perch fingerlings (*Perca fluviatilis* L.) with and without initial inflated swim bladder: comparison of swim bladder development, skeleton conformation and growth performances. *Aquaculture*, **239**, 261-273.
- 川辺勝俊・木村ジョンソン(2008) 油膜回収装置によるアカハタ仔魚の鰓開腔率改善. 水産増殖, **56**, 613-617.
- 川辺勝俊(2005) アカハタ卵の発生過程とふ化におよぼす水温の影響. 水産増殖, **53**, 333-342.
- 萱野泰久・尾田 正(1991) キジハタ卵の発生に及ぼす水温の影響について. 水産増殖, **39**, 309-313.
- Kihara, M., S. Ogata, N. Kawano, I. Kubota and R. Yamaguchi (2002) Lordosis induction in juvenile red sea bream, *Pagrus major*, by high swimming activity. *Aquaculture*, **212**, 149-158.
- 北島 力(1978) マダイの採卵と稚魚の量産に関する研究. 長崎県水産試験場論文集, **5**, 1-92.
- 北島 力(1979) クロダイ人工種苗の鰓の異常および脊柱屈曲症について. 長崎水試研報, **5**, 27-32.
- 北島 力・塚島康生・藤田矢郎・渡辺 武・米 康生(1981) マダイ仔魚の空気呑み込みと鰓の開腔および脊柱前彎症との関連. 日本水産学会誌, **47**, 1289-1294.
- 北島 力・高屋雅生・塚島康生・荒川敏久(1991) マハタの卵内発生および飼育による仔稚魚の形態変化. 魚類学雑誌, **38**, 47-55.
- Kitajima, C., T. Watanabe, Y. Tsukashima and S. Fujita (1994) Lordotic deformation and abnormal development of swim bladders in some hatchery-bred marine physoclistous fish in Japan. *Journal of the World Aquaculture Society*, **25**, 64-77.
- Kline, R. J., I. Khan, K. Soyano and M. Takushima (2008) Role of follicle-stimulating hormone and androgens on the sexual inversion of sevenband grouper *Epinephelus septemfasciatus*. *North American Journal of Aquaculture*, **70**, 266-272.
- Koh, I. C. C., K. Yokoi, M. Tsuji, Y. Tsuchihashi and H. Ohta (2010) Cryopreservation of sperm from

- seven-band grouper, *Epinephelus septemfasciatus*. *Cryobiology*, **61**, 263-267.
- Koh, I. C. C., D. Tanaka D, T. Itagane, M. Tsuji, Y. Tsuchihashi and H. Ohta (2013) Dry shipper cryopreservation of seven-band grouper (*Epinephelus septemfasciatus* Thunberg) spermatozoa. *Aquaculture Research*, **44**, 59-66.
- Komada, N. (1982) Vertebral anomalies in the cyprinid fish, *Tribolodon hakonensis*. *Japanese Journal of Ichthyology*, **29**, 185-192.
- Koumoundouros, G., P. Divanach, A. Savaki and M. Kentouri (2000) Effects of three preservation methods on the evolution of swimbladder radiographic appearance in sea bass and sea bream juveniles. *Aquaculture*, **182**, 17-25.
- Koumoundouros, G., E. Maingot, P. Divanach and M. Kentouri (2002) Kyphosis in reared sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.): ontogeny and effects on mortality. *Aquaculture*, **209**, 49-58.
- Koumoundouros, G. (2010) Morpho-anatomical abnormalities in Mediterranean marine aquaculture. *Recent Advances in Aquaculture Research*, 125-148.
- Koven, W. M., A. Tandler, G. Wm. Kissil, D. Sklan, O. Friezlander and M. Harel (1990) The effect of dietary (n-3) polyunsaturated fatty acids on growth, survival and swim bladder development in *Sparus aurata* larvae. *Aquaculture*, **91**, 131-141.
- Kranenbarg, S., J. H. Waarsing, M. Muller, H. Weinans and J. L. Van Leeuwen (2005) Lordotic vertebrae in sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) are adapted to increased loads. *Journal of Biomechanics*, **38**, 1239-1346.
- Kurata, M., M. Seoka, Y. Nakagawa, Y. Ishibashi, H. Kumai and Y. Sawada (2012) Promotion of initial swimbladder inflation in Pacific bluefin tuna, *Thunnus orientalis* (Temminck and Schlegel), larvae. *Aquaculture Research*, **43**, 1296-1305.
- Kurata, M., Y. Ishibashi, M. Seoka, T. Honryo, S. Katayama, H. Fukuda, K. Takii, H. Kumai, S. Miyashita and Y. Sawada (2013) Influence of swimbladder inflation failure on mortality, growth and lordotic deformity in Pacific bluefin tuna, *Thunnus orientalis*, (Temminck & Schlegel) postflexion larvae and juveniles. *Aquaculture Research*, doi: 10.1111/are.12304.
- Kurata, M., Y. Ishibashi, K. Takii, H. Kumai, S. Miyashita and Y. Sawada (2014) Influence of initial swimbladder inflation failure on survival of Pacific bluefin tuna, *Thunnus orientalis* (Temminck and Schlegel), larvae. *Aquaculture Research*, **45**, 882-892.
- Kurokawa, T., T. Okamoto, K. Gen, S. Uji, K. Murashita, T. Unuma, K. Nomura, H. Matsubara, S. K. Kim, H. Ohta and H. Tanaka (2008) Influence of water temperature on morphological deformities in cultured larvae of Japanese eel, *Anguilla japonica*, at completion of yolk resorption. *Journal of the World Aquaculture Society*, **39**, 726-735.
- La Mesa, G., P. Louisy and M. Vacchi (2002) Assessment of microhabitat preferences in juvenile dusky grouper (*Epinephelus marginatus*) by visual sampling. *Marine Biology*, **140**, 175-185.
- Lein, I., I. Holmefjord and M. Rye (1997) Effects of temperature on yolk sac larvae of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Aquaculture*, **157**, 123-135.
- Lijalad, M. and M. D. Powell (2009) Effects of lower jaw deformity on swimming performance and recovery from exhaustive exercise in triploid and diploid Atlantic salmon *Salmo salar* L. *Aquaculture*, **290**, 145-154.
- 牧野 直・内山雅史・岩波重之・遠山忠次・田中 克 (1995) スズキの仔魚期における鰾の分化と発達. 日本水産学会誌, **61**, 143-150.
- Marty, G. D., D. E. Hinton and R. C. Summerfelt (1995) Histopathology of swimbladder noninflation in wall-eye (*Stizostedion vitreum*) larvae: role of development and inflammation. *Aquaculture*, **138**, 35-48.
- Matsuoka, M. (1987) Development of the skeletal tissues and skeletal muscles in the red sea bream. *Bulletin of the Seikai Regional Fisheries*

- Research Laboratory*, **65**, 1-114.
- Matsunari, H., H. Hashimoto, K. Oda, Y. Masuda, H. Imaizumi, K. Teruya, H. Furuita, T. Yamamoto, K. Hamada and K. Mushiake (2013) Effects of docosahexaenoic acid on growth, survival and swim bladder inflation of larval amberjack (*Seriola dumerili*, Risso). *Aquaculture Research*, **44**, 1696-1705.
- 松里寿彦(1986) 魚類の骨異常に関する研究. 養殖研報, **10**, 57-179.
- Mihelakakis, A. and T. Yoshimatsu (1998) Effects of salinity and temperature on incubation period, hatching rate and morphogenesis of the red sea bream. *Aquaculture International*, **6**, 171-177.
- 睦谷一馬(1988) 人工飼育におけるマコガレイ仔稚魚の成長と変態について. 水産増殖, **36**, 27-32.
- Nagano, N., A. Hozawa, W. Fujiki, T. Yamada, K. Miyaki, Y. Sakakura and A. Hagiwara (2007) Skeletal development and deformities in cultured larval and juvenile seven-band grouper, *Epinephelus septemfasciatus* (Thunberg). *Aquaculture Research*, **38**, 121-130.
- 中川雅弘・堀田卓郎・吉田一範・服部圭太(2011) 配合飼料の給餌量の違いがクエ *Epinephelus bruneus* 種苗の成長と生残に及ぼす影響. 水産増殖, **59**, 579-584.
- Okamura, A., Y. Yamada, N. Horie, T. Utoh, N. Mikawa, S. Tanaka and K. Tsukamoto (2007) Effects of water temperature on early development of Japanese eel *Anguilla japonica*. *Fisheries Science*, **73**, 1241-1248.
- Ottesen, O. and S. Bolla (1998) Combined effects of temperature and salinity on development and survival of Atlantic halibut larvae. *Aquaculture International*, **6**, 103-120.
- Peruzzi, S., J. I. Westgaard and B. Chatain (2007) Genetic investigation of swimbladder inflation anomalies in the European sea bass, *Dicentrarchus labrax* L. *Aquaculture*, **265**, 102-108.
- Pierre, S., S. Gaillard, N. Prevot-Dalvis, J. Aubert, O. Rostaing-Capaillon, D. Leung-Tack and G. Joel-P (2008) Grouper aquaculture: Asian success and Mediterranean trials, *Aquatic Conservation: Marine And Freshwater Ecosystems Aquatic Conserv: Marine and Freshwater Ecosystems*, **18**, 297-308.
- Pittman, K., A. B. Skiftesvik and T. Harboe (1989) Effect of temperature on growth rates and organogenesis in the larvae of halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Rapp P-v Reun Cons Int Explor Mer* **191**, 421-430.
- Pittman, K., O. Bergh, I. Opstad and A. B. Skiftesvik (1990) Development of eggs and yolk sac larvae of halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Journal of Applied Ichthyology*, **6**, 142-160.
- Polo, A., M. Yufera and E. Pascual (1991) Effects of temperature on egg and larval development of *Sparus aurata* L. *Aquaculture*, **92**, 367-375.
- Rasband, W. S. (1997-2011) ImageJ. U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, Available at <http://imagej.nih.gov/ij/> (accessed 27 April 2011).
- Rieger, P. W. and R. C. Summerfelt (1998) Microvideography of gas bladder inflation in larval walleye. *Journal of Fish Biology*, **53**, 93-99.
- Roy, M. N., V. E. Prince and R. K. Ho (1999) Heat shock produces periodic somitic disturbances in the zebrafish embryo. *Mechanism of Development*, **85**, 27-34.
- Russo, T., M. Scardi, C. Boglione and S. Cataudella (2011) Application of the self-organizing map to study of skeletal anomalies in aquaculture: the case of dusky grouper (*Epinephelus marginatus* Lowe, 1934) juveniles reared under different rearing conditions. *Aquaculture*, **315**, 69-77.
- Ruttanapornvareesakul, Y., Y. Sakakura and A. Hagiwara (2007) Effect of proportions on survival of seven-band grouper *Epinephelus septemfasciatus* (Thunberg) and devil stinger *Inimicus japonicus* (Cuvier) larvae. *Aquaculture Research*, **38**, 193-200.
- Ruttanapornvareesakul, Y., Y. Sakakura and A. Hagiwara (2010) Screening of enzyme activity for assessing the condition of larvae in the

- seven-band grouper *Epinephelus septemfasciatus* and devil stinger *Inimicus japonicus*. *Fisheries Science*, **76**, 295-304.
- Sabate, F. S., Y. Sakakura, M. Shiozaki and A. Hagiwara (2009) Onset and development of aggressive behavior in the early life stage of the seven-band grouper *Epinephelus septemfasciatus*. *Aquaculture*, **290**, 97-103.
- Sakakura, Y., S. Shiotani, H. Chuda and A. Hagiwara (2006) Improvement of the survival in the seven-band grouper *Epinephelus septemfasciatus* larvae by optimizing aeration and water inlet in the mass-scale rearing tank. *Fisheries Science*, **72**, 939-947.
- Sakakura, Y., S. Shiotani, H. Chuda and A. Hagiwara (2007a) Flow field control for larviculture of seven-band grouper *Epinephelus septemfasciatus*. *Aquaculture*, **268**, 209-215.
- Sakakura, Y., S. Shiotani, M. Shiozaki and A. Hagiwara (2007b) Larval rearing without aeration: a case study of the seven-band grouper *Epinephelus septemfasciatus* using a wave maker. *Fisheries Science*, **73**, 1199-1201.
- Santerre, M. T. and R. C. May (1977) Some effects of temperature and salinity on laboratory-reared eggs and larvae of *Polydactylus sexfilis* (pisces: polynemidae). *Aquaculture*, **10**, 341-351.
- Sawada, Y., M. Hattori, M. Iteya, Y. Takagi, K. Ura, M. Seoka, K. Kato, M. Kurata, H. Miyatake, S. Katayama and H. Kumai (2006) Induction of centrum defects in amberjack *Seriola dumerili* by exposure of embryos to hypoxia. *Fisheries Science*, **72**, 364-372.
- 澤山英太郎・高木基裕 (2011) 躯幹部の湾曲を示すヒラメ人工種苗の特徴と遺伝要因の推定. *水産増殖*, **59**, 585-591.
- 澤山英太郎・高木基裕 (2012) ヒラメ人工種苗で見られた重度の脊椎骨癒合個体の遺伝解析. *日本水産学会誌*, **78**, 429-438.
- Seikai, T., J. B. Tanangonan and M. Tanaka (1986) Temperature influence on larval growth and metamorphosis of the Japanese flounder *Palulichthys olivaceus* in the laboratory. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **52**, 977-982.
- Sfakianakis, D. G., G. Koumoundouros, P. Divanach and M. Kentouri (2004) Osteological development of the vertebral column and of the fins in *Pagellus erythrinus* (L. 1758). Temperature effect on the developmental plasticity and morpho-anatomical abnormalities. *Aquaculture*, **232**, 407-424.
- Sfakianakis, D. G., E. Geogakopoulou, I. E. Papadakis, P. Divanach, M. Kentouri and G. Koumoundouros (2006) Environmental determinants of haemal lordosis in European sea bass, *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758). *Aquaculture*, **254**, 54-64.
- Sfakianakis, D. G., I. E. Papadakis, M. Papadaki, I. Sigelaki and C. C. Mylonas (2013) Influence of rearing temperature during early life on sex differentiation, haemal lordosis and subsequent growth during the whole production cycle in European sea bass *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture*, **412-413**, 179-185.
- Shein, N. L., H. Chuda, T. Arakawa, K. Mizuno and K. Soyano (2004) Ovarian development and final oocyte maturation in cultured sevenband grouper *Epinephelus septemfasciatus*. *Fisheries Science*, **70**, 360-365.
- 塩谷茂明・赤澤敦司・阪倉良孝・中田久・荒川敏久・萩原篤志 (2003) 仔魚飼育水槽内の流場の計測：マハタ飼育水槽の検討例. *水産工学*, **39**, 205-212.
- Shiotani, S., A. Hagiwara, Y. Sakakura and H. Chuda (2005) Estimation of flow in a rearing tank of marine fish larvae by simplified numerical computation—a case of two-dimensional flow. *Aquaculture Engineering*, **32**, 465-481.
- Sokal, R. R. and F. J. Rohlf (1983) 頻度の分析. *生物統計学* (藤井宏一訳), 共立出版株式会社, 東京, pp. 349-378.
- Song, Y. B., S. R. Oh, J. P. Seo, B. G. Ji, B. S. Lim, Y. D. Lee and H. B. Kim (2005) Larval development and rearing of longtooth grouper *Epinephelus bruneus* in Jeju island, Korea. *Journal of the World Aquaculture Society*, **36**,

- 209-216.
- 末廣考伸・那須敏朗・谷口直樹・前田茂樹・澤田好史・宮下 盛・村田 修(2004) 軟X線画像診断による骨格異常マダイの追跡試験. 近大水研報, **9**, 67-77.
- Sugama, K., T. S. Ismi and K. M. Setiawati (2004) Effect of water temperature on growth, survival and feeding rate of humpback grouper (*Cromileptes altivelis*) larvae. In "Advances in grouper Aquaculture" (ed by Rimmer MA, McBride S, Williams KC), ACIAR Monograph **110**, 61-66.
- Summerfelt, R.C.(2013) Gas bladder inflation in larval fish aquaculture. In "Larval Fish Aquaculture" (ed. By J.G. Qin), Nova Science Publishers, New York, pp. 125-142.
- 竹丸 巖・加塩信広・前野幸二(2009) 鹿児島湾の養殖ブリおよびカンパチで発生した上湾症. 水産増殖, **57**, 255-264.
- 竹丸 巖(2009) 養殖ブリ上湾症の発生と成熟との関係. 水産増殖, **57**, 301-306.
- 田中由香里・坂倉良孝・中田 久・萩原篤志・安元 進(2005) マハタ仔魚のワムシサイズに対する摂餌選択性. 日本水産学会誌, **71**, 911-916.
- 照屋和久・與世田兼三(2006) クエ仔魚の成長と生残に適した初期摂餌条件と大量種苗量産試験. 水産増殖, **54**, 187-194.
- 照屋和久・與世田兼三・岡 雅一・西岡豊弘・中野昌次・森 広一郎・菅谷琢磨・浜崎活幸(2008) 光周期がマハタ仔魚の生残, 成長および摂餌に及ぼす影響. 日本水産学会誌, **74**, 645-652.
- 照屋和久(2009) ハタ科魚類の人工繁殖と種苗放流に関する研究. 博士学位論文, 東京海洋大学, 東京.
- 照屋和久・浜崎活幸・橋本 博・片山俊之・平田喜郎・鶴岡廣哉・林 知宏・虫明敬一(2009) カンパチ仔魚の成長にともなう体密度と水槽内鉛直分布の変化. 日本水産学会誌, **75**, 54-63.
- 照屋和久(2010) ハタ科魚類の人工繁殖と種苗放流に関する技術開発研究. 日本水産学会誌, **76**, 795-798.
- Toledo, J. D., N. B. Caberoy, G. F. Quintio, C. H. Choresca and H. Nakagawa (2002) Effects of salinity, aeration and light intensity on oil globule absorption, feeding incidence, growth and survival of early-stage grouper *Epinephelus coioides* larvae. *Fisheries Science*, **68**, 478-483.
- Trotter, A. J., P. M. Pankhurst, D. T. Morehead and S. C. Battaglene (2003a) Effects of temperature on initial swim bladder inflation and related development in cultured striped trumpeter (*Latris lineata*) larvae. *Aquaculture*, **221**, 141-156.
- Trotter, A. J., P. M. Pankhurst and S. C. Battaglene (2005) A finite interval of initial swimbladder inflation in *Latris lineata* revealed by sequential removal of water-surface films. *Journal of Fish Biology*, **67**, 730-741.
- 土橋靖史・栗山 功・黒宮香美・柏木正章・吉岡基(2002) マハタ種苗生産におけるウイルス性神経壊死症. 水産増殖, **50**, 355-361.
- 土橋靖史・栗山 功・黒宮香美・柏木正章・吉岡 基(2003a) マハタの種苗生産過程における仔魚の活力とその生残に及ぼす水温, 照明およびフィードオイルの影響. 水産増殖, **51**, 49-54.
- 土橋靖史・田中秀樹・黒宮香美・柏木正章・吉岡基(2003b) マハタ雄性化のためのホルモン投与法の検討. 水産増殖, **51**, 189-196.
- 土橋靖史・高島暢子・栗山 功・羽生和宏・辻 将治・津本欣吾(2007) 水温および日長調整によるマハタの9月採卵. 水産増殖, **55**, 395-402.
- 塚本勝巳(1991) 遊泳生理. 魚類生理学(板沢靖男, 羽生功編), 恒星社厚生閣, 東京, pp. 539-584.
- Tucker, J. W.(1999) Species profile grouper aquaculture. Southern Regional Aquaculture Center; SRAC Publication **721**.
- Uji, S., T. Suzuki, T. Iwasaki, K. Teruya, K. Hirasawa, M. Shirakashi, S. Onoue, Y. Yamashita and K. Okuzawa (2013) Development of the musculature and muscular abnormalities in larval sevenband grouper *Epinephelus septemfasciatus*. *Fisheries Science*, **79**, 277-284.
- Uji, S., T. Suzuki, T. Iwasaki, K. Teruya, K. Hirasawa, M. Shirakashi, S. Onoue, Y. Yamashita, M. Tsuji, Y. Tsuchihashi and K. Okuzawa (2014) Effect of temperature, hypoxia and disinfection with ozonated seawater during somitogenesis on muscular development of the trunk in larval sevenband

- grouper, *Epinephelus septemfasciatus* (Thunberg). *Aquaculture Research*, doi : 10. 1111 /are.12425.
- Wang, L. H and C. L. Tsai (2000) Effects of temperature on the deformity and sex differentiation of tilapia, *Oreochromis mossambicus*. *Journal of Experimental Zoology*, **286**, 534-537.
- Wiegand, M. D., L. G. Buchanan, J. M. Loewen and C. M. Hewitt (1988) Effects of rearing temperature on development and survival of embryonic and larval goldfish. *Aquaculture*, **71**, 209-222.
- Wiegand, M. D., J. M. Hataley, C. L. Kitchen and L. G. Buchanan (1989) Induction of developmental abnormalities in larval goldfish, *Carassius auratus* L., under cool incubation conditions. *Journal of Fish Biology*, **35**, 85-95.
- Woolley, L. D. and J. G. Qin (2010) Swimbladder inflation and its implication to the culture of marine finfish larvae. *Reviews in Aquaculture*, **2**, 181-190.
- Wu, X., Y. Washio, M. Aritaki, Y. Fujinami, D. Shimizu, H. Hashimoto, T. Iwasaki, S. Uji and T. Suzuki (2011) Staging of initial pepsinogen and chitinase expression and complete gastric gland development within the larval stomach of Japanese flounder, spotted halibut, seven-band grouper and greater amberjack. *Aquaculture*, **314**, 165-172.
- Wullur, S., Y. Sakakura and A. Hagiwara (2011) Application of the minute monogonont rotifer *Proales similis de beauchamp* in larval rearing of seven-band grouper *Epinephelus septemfasciatus*. *Aquaculture*, **315**, 355-360.
- Yamaoka, K., T. Nanbu, M. Miyagawa, T. Isshiki and A. Kusaka (2000) Water surface tension-related deaths in prelarval red-spotted grouper. *Aquaculture*, **189**, 165-176.
- Yoseda, K., S. Dan, T. Sugaya, K. Yokogi, M. Tanaka and S. Tawada (2006a) Effects of temperature and delayed initial feeding on the growth of malabar grouper (*Epinephelus malabaricus*) larvae. *Aquaculture*, **256**, 192-200.
- 與世田兼三・照屋和久・山本和久・浅見公雄 (2006) 異なる水温と初回摂餌の遅れがスジアラ仔魚の摂餌、成長、および生残に及ぼす影響. *水産増殖*, **54**, 43-50.
- Zilberg, D., R. Ofir, T. Rabinski and A. Diamant (2004) Morphological and genetic characterization of swimbladder non-inflation in angelfish *Pterophyllum scalare* (Cichidae). *Aquaculture*, **230**, 13-27.