

(11) ふくいサーモン養殖安定化技術開発

田中 直幸・中嶋 登・谷保 文野

1 目的

福井県内では平成 27 年から大規模なトラウトサーモンの海面養殖が行われている。トラウトサーモンはニジマス *Oncorhynchus mykiss* を海面養殖した魚の別名である。福井県産のトラウトサーモンは「ふくいサーモン」と名付けて販売されており、海面生産量の目標を 400 トンに設定し、日本一の産地を目指している。

ふくいサーモンの養殖用種苗は内水面の養魚場で約 1 年かけて生産されたのち海面での飼育に移行するが、その期間は冬から春の約 6 ヶ月間に限られる。ふくいサーモンの養殖現場で大きな問題となっているのは、①海面養殖期間中の斃死率が高いこと（20–80%で変動）、②出荷魚が小型（1.5 kg/尾）であること、の 2 点である。斃死率には、種苗の海水適応能、馴致方法および魚病などが影響を与えており、出荷魚の大きさは種苗の大きさに関連が大きい。本事業では、これらの課題を解決するため、1) 電照飼育による種苗の大型化、2) 馴致方法の最適化、3) ビブリオ病の発症リスクの解析とワクチンの有効性評価、の 3 課題に取り組み、ふくいサーモンの養殖の安定化と生産量の増大を目指す。

令和 2 年度より、「電照飼育による種苗の大型化」の課題はトラウトサーモン共同研究事業で行うこととなったため、今年度は「馴致方法の最適化」と「ビブリオ病の発症リスクの解析とワクチンの有効性評価」の委託試験を行った。

2 方法

1) 馴致方法の最適化

試験は（国研）水産研究・教育機構 水産技術研究所 宮津庁舎に委託して行った。本年は、近年商品化され、養殖魚に対して、免疫賦活効果、ストレス低減効果が報告されている昆虫由来の機能性多糖類シルクロース¹⁾の経口投与によるニジマス種苗の海水適応能向上効果を検証した。

試験には、大野市宝慶寺の養魚場（35° 54' N 136° 27' E）（以下、「宝慶寺養魚場」という。）でふ化した 0 歳魚のニジマス（Riverence 社産スチールヘッド）を使用した。令和 3 年 11 月 16 日に宝慶寺養魚場より水産試験場本場に搬入し、第 2 飼育棟 15t 水槽 2 面に約 100 尾ずつ収容した。淡水で飼育し、ヒガシマル製ニジマス用配合飼料を体重の 1.3%与えた。収容時の魚体重は 710.2g±63.9 g（平均値±標準偏差）（n = 207）であった。

海水飼育移行前に 2 週間シルクロース入りの餌を食べさせる区（以下、「シルクロース添加区」という。）と通常の餌を食べさせる区（以下、「通常飼料区」という。）の 2 区を設け、シルクロース添加区にはシルクロース®を 0.1%添加したニジマス用配合飼料を、通常飼料区は通常のニジマス用配合飼料（ともにヒガシマル製）を 12 月 1 日から体重の 1.3%与えた。12 月 16 日まで給餌を行い、その後餌止めし、12 月 20 日に水産研究・教育機構宮津庁舎へ輸送した。

輸送後は 2t 円型水槽（実水量 1.5t）2 面に各 75 尾収容した。輸送水温と合わせた淡水へ収容し、収容翌日から海水への移行を始め、約 6 時間後に 100%海水となるように調整した。

血液分析のため、両区とも海水馴致開始時、0.5 日、1 日、2 日、3 日及び 7 日の 6 回、各 10 尾をランダムにサンプリングし、合計 60 尾 から血液を採取した。採血は尾柄部からとし 21G 針を使用した。採取した血液は 1.5ml マイクロテストチューブ 2 本に分注し氷冷下で凝固させた。卓上マイクロ冷却遠心機（クボタ Model 3520）で 4℃、1G、15 分の条件で血清を分離し、生化学分析装置（富士フイルム製 富士ドライケム Nx500i）を用いて Na、尿素窒素（BUN）、血糖（Glu）を測定した。血漿浸透圧は次式によって推定した。

浸透圧（mOsm/l）= 2×血清 Na（mEq/l）+ Glu（mg/dl）/18 + BUN（mg/dl）/2.8²⁾

2) ビブリオ病の発症リスクの解析とワクチンの有効性評価

試験は福井県立大学に委託して行った。

(1) シルククロースのビブリオ感染に対する耐病性効果①

ニジマス（平均 $786 \pm 35.30\text{g}$ ）を淡水で満たした 0.5t 水槽に各 6 尾収容し、 15°C で 3 日間馴致飼育した。給餌試験にはニジマス用配合飼料（ハイパーGP d3）を使用した。飼料重量の 0.1% に相当するシルククロース粉末および、展着剤として飼料重量の 10% 相当量の植物油を塗したものを試験用飼料（0.1%シルククロースエサ）とし、通常エサとして配合飼料に 10% の植物油のみを塗したものを作製した。

給餌試験中は 1 日 1 回、飽食量の飼料（凡そ 1.5% 魚体重量）を与えた。14 日間連続給餌し、5 日間の餌止め後に海水馴致を開始した。馴致 5 日目にビブリオ（*Vibrio* sp. 210421 株、 2×10^8 CFU）を腹腔内に接種し 10 日間観察を行った。対照として PBS（Mock）を腹腔内に接種した。

(2) シルククロースのビブリオ感染に対する耐病性効果②

ニジマス（平均 $857 \pm 97\text{g}$ ）を淡水で満たした 0.5t 水槽 4 つに各 15 尾収容し、 15°C で 14 日間以上馴致飼育した。給餌試験にはニジマス用配合飼料（ハイパーGP d5）を使用し、先に述べたように試験用飼料（0.1%シルククロースエサ、通常エサ）を作製した。

給餌試験中は自動給餌器を使用し、1 日 3 回に分けて 1.5% 魚体重量の飼料を 14 日間連続給餌した。2 日間のエサ止め後に海水馴致を開始し、5 日後にビブリオ（*Vibrio* sp. 210421 株、 6×10^7 CFU）を腹腔内に接種し 8 日間観察を行った。対照として PBS（Mock）を腹腔内に接種した。

(3) ワクチンのビブリオ感染に対する予防効果

ホルマリンで不活化したビブリオ懸濁液（*Vibrio* sp. 210421 株）とアジュバント（Montanide® ISA 763）を 1 : 3 の比率で混合し、ポリトロンで乳化したものをビブリオワクチンとした。対照として PBS とアジュバントを 1 : 3 で混合したもの（アジュバント）を使用した。ニジマス（平均 $560 \pm 74\text{g}$ ）を 24 尾ずつ 1t 水槽に収容し、ワクチンを 0.1ml ずつ腹腔内に接種した。

海水馴致前にニジマスを 12 尾ずつ 0.5t 水槽に収容し、ワクチン接種後 28 日目に海水馴致を行った。馴致 7 日後にビブリオ（*Vibrio* sp. 210421 株、 2×10^8 CFU）の攻撃感染を行い、対照として 0.1ml の PBS を接種し、14 日間観察した。死亡魚および生存魚から血しょうを回収し、抗ビブリオ抗体価を定量した。

3 結果および考察

1) 馴致方法の最適化

海水への移行は搬入後 1 日養生させた後、12 月 21 日の 10 時頃から開始し（0.04‰）、6 時間後には 25.9~26.1‰まで上昇した（図 1）。完全に海水に置き換わったのは 21 時であり（30.5~31.2‰）、海水への移行は 6 時間かけて海水の割合を増やして塩分濃度を徐々に上昇させたが、6 時間後の塩分濃度は海水の約 84% に留まり、ほぼ移行できたものの完全に海水に置き換わるまで 11 時間を要した。

飼育期間中の塩分は 30.0~32.5‰で推移した。開始時の水温は $10.5 \sim 10.7^{\circ}\text{C}$ であったが、海水移行に伴い水温は $14.6 \sim 15.1^{\circ}\text{C}$ まで上昇した。

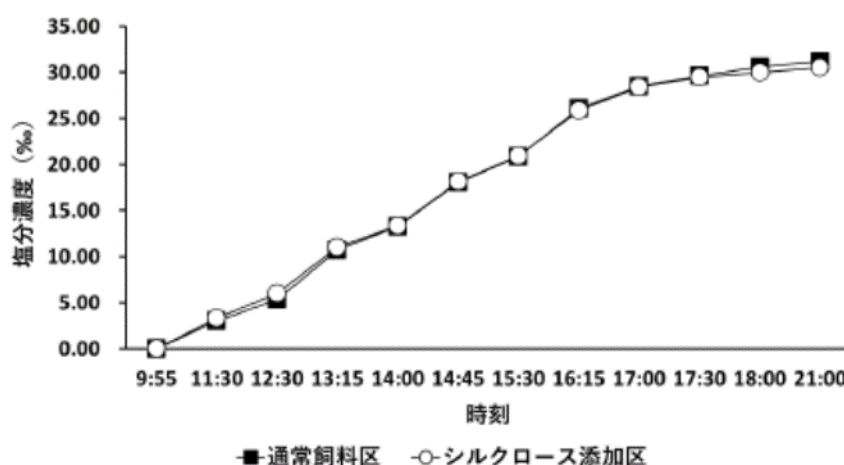


図 1 海水移行中の塩分濃度の推移

溶存酸素濃度は 84.3～87.1%で開始し、16 時の時点で 87.7～90.0%で移行中に大きな変化はみられなかった。その後サンプリングによる飼育尾数の減少に伴って徐々に上昇し、終了時には 94.3～95.1%まで上昇した。

海水移行中及び飼育期間中に狂奔、魚体の擦れや死亡は確認されず、海水移行による見かけ上の魚への影響は認められなかった。飼育水槽への収容密度は輸送前の最後の測定値を元に計算すると約 36kg/kl 以上となるが、海水馴致やその後の飼育に影響する密度ではなかったと考えられた。サンプリングしたニジマスの体測定値を表 1 に示した。各サンプリング時はランダムに取り揚げたが、平均で 170g 以上の差が生じた。

12 月 21 日から 12 月 28 日まで、計 6 回のサンプリングを行い（表 1）、12 月 28 日に飼育を終了した。飼育期間中の死亡はなかった。

血漿浸透圧は両区とも海水移行後 24 時間でピークとなった（図 2）。通常飼料区では 72 時間後に平常値 300mOsm まで低下し、シルクロース添加区は 96 時間で平常値まで低下した。24 時間後と 72 時間後の血漿浸透圧に有意差はなくて違いは見られなかった。

この実験では、実際の養殖現場で行われる海水馴致を模して 6 時間で 100%海水になるように馴致を行ったが、淡水から直接 100%海水に移行する場合と異なり、両区とも血漿浸透圧の変化は緩やかで馴致効果が得られていたと考えられる。このため、両区の供試魚は順調に海水飼育に移行し、試験期間中の死亡魚や体色の黒変個体も見られなかった。

シルクロースは免疫賦活効果とストレス低減効果が報告されており¹⁾、飼料への添加がニジマスの海水馴致能力の向上につながることを期待された。ただ、海水移行前 2 週間の投与では海水適応能向上効果は期待できないと判断された。

また昨年度の結果から、海水飼育時には良好な種苗と海面移行時の馴致が重要であることが示唆されたが³⁾、今回の結果からもそれを後押しすることとなった。

一方、シルクロースの短期添加では効果を認めることはできなかったが、長期の添加によって病気の発生やストレス低減効果による成長促進効果の可能性を排除するものではない。シルクロースの添加による飼料コストの

表 1 海水馴致ニジマスの取上げ時の体測定結果

試験区	サンプリング	日付	標準体長 (cm)	体重 (g)
通常飼料区	開始時	2021/12/21	32.5(29.8-35.6)	712.2(532-1,070)
	0.5日	2021/12/21	33.9(31.8-36.0)	802.6(494-1,000)
	1日	2021/12/22	34.3(31.5-36.4)	878.8(584-1,022)
	2日	2021/12/23	33.0(29.6-35.5)	768.6(514-966)
	3日	2021/12/24	33.5(30.2-35.6)	768.0(542-970)
	7日	2021/12/28	34.1(32.6-35.5)	872.6(742-1,002)
シルクロース添加区	開始時	2021/12/21	32.9(30.9-35.0)	790.4(544-1,068)
	0.5日	2021/12/21	34.1(31.3-35.8)	854.0(700-986)
	1日	2021/12/22	33.8(31.8-35.6)	812.8(654-940)
	2日	2021/12/23	33.7(31.4-35.5)	827.2(564-1,032)
	3日	2021/12/24	34.2(32.2-36.0)	888.3(655-1,016)
	7日	2021/12/28	33.5(30.9-36.0)	794.8(522-986)

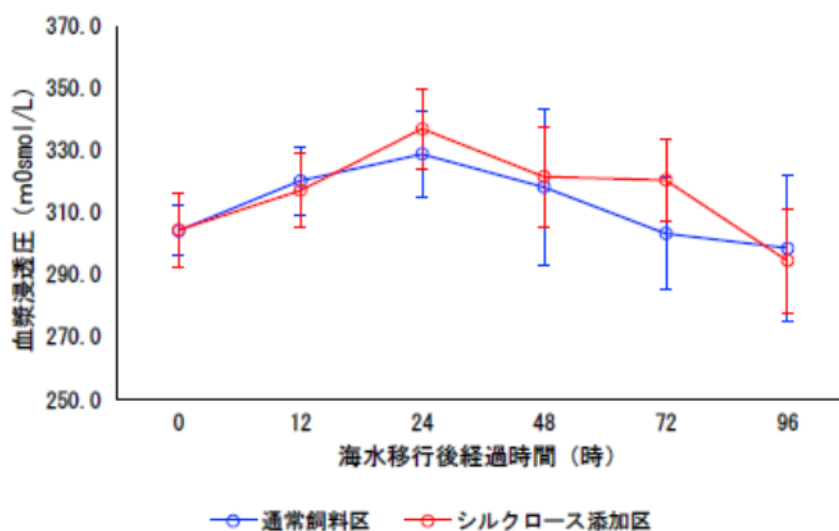


図 2 海水移行後の血漿浸透圧の変化

増加を飲み込めるほど添加効果が見込めるかは未知数ではあるが、飼料の低魚粉化や福井サーモンの差別化を検討する際の候補としての可能性は低くはないと考えられた。

3) ビブリオ病の発症リスクの解析とワクチンの有効性評価

(1) シルクローズのビブリオ感染に対する耐病性効果①

図3に本試験でのビブリオ感染後のニジマスの生残率を示す。

通常エサ群ではビブリオ感染後3日で生残率が0%に達した。一方、0.1%シルクローズエサ群のMockでは斃死が続き、生残率は50%まで低下した。さらにビブリオ感染後は16%と低い生残率であったものの通常エサ群よりも高くなった。

(2) シルクローズのビブリオ感染に対する耐病性効果②

図4に本試験でのビブリオ感染後のニジマスの生残率を示す。

PBSを接種した通常エサ区、0.1%シルクローズエサ区ではほとんど斃死が見られなかった。一方、ビブリオを攻撃感染した通常エサ群および0.1%シルクローズエサ群では生残率がそれぞれ43%、33%に達した。

(3) ワクチンのビブリオ感染に対する予防効果

図5に本試験でのビブリオ感染後のニジマスの生残率を示す。

アジュバント群のMockでは斃死は見られなかったが、ビブリオ感染では生残率が58%であった。一方、ワクチン群のMockであっても斃死が見られ、さらにビブリオ感染では45%と最も低い生残率であった。

感染試験後のニジマス（死亡魚、生存魚）から血しょうを回収し、抗ビブリオ抗体価をELISA法で測定した結果を図6に示す。ワクチン群のニジマス21尾中1尾では抗体価の上昇が見られなかったが、ほとんどの個体において上昇が確認できた。一方、アジュバント群のニジマスにおいても高い抗体価を示す個体があり、自然抗体として抗ビブリオ抗体を持つ可能性が示唆された。

生残率と抗体価の関連性を検討したが、有意な結果は見られなかった。このことから、血中

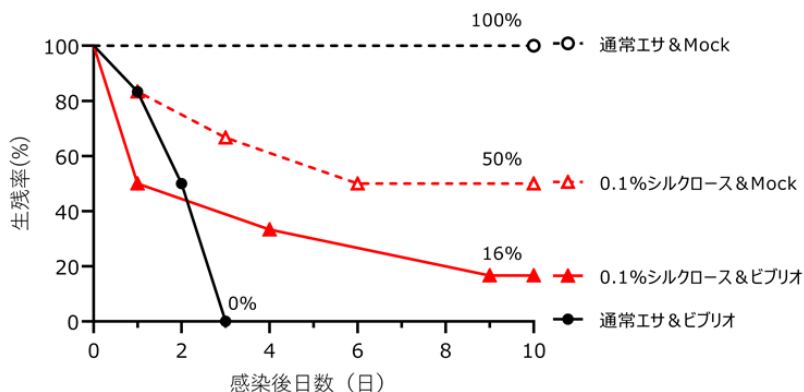


図3 ビブリオ感染後のニジマス生残率推移①

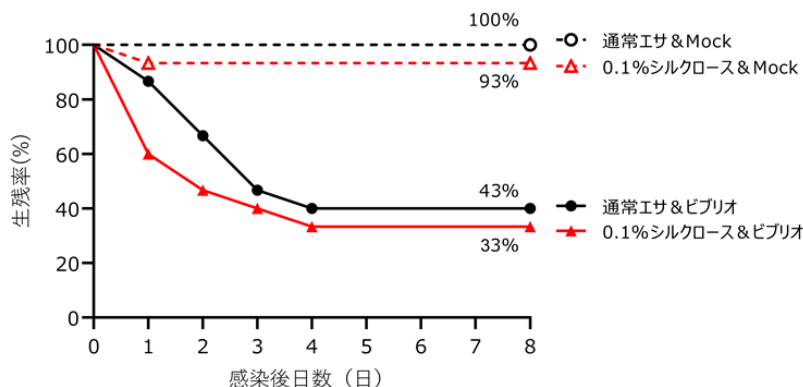


図4 ビブリオ感染後のニジマス生残率推移②

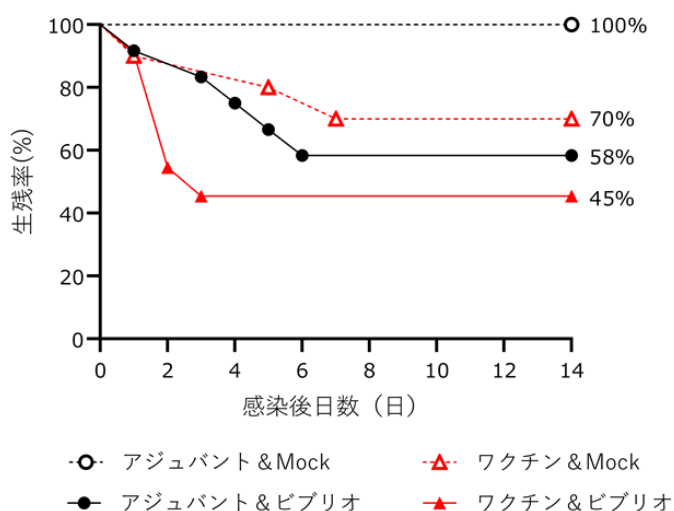


図5 ワクチン接種ニジマスの生残率推移

に抗ビブリオ抗体が存在しても海水馴致直後のニジマスでは細菌増殖を抑制できない可能性が推測された。

ビブリオワクチン投与後の抗ビブリオ抗体価に着目すると、淡水中では平均 1.110 であった値³⁾が、海水馴致後は平均 0.373 と約 66%低下していた。

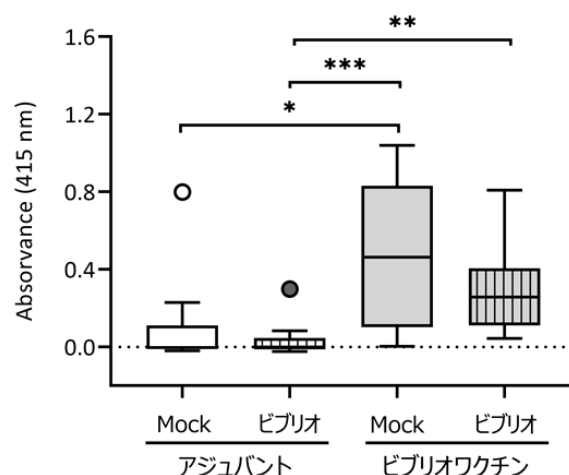


図6 ビブリオ感染試験後の抗ビブリオ抗体

4 文献

- 1) 三浦 猛・井戸 篤史・橋爪 篤史・三浦 智恵美 (2017): 飼料原料 昆虫由来免疫賦活物質「シルクロース」の魚類養殖への利用. アクアネット=Aqua net 産地と消費地をネットする水産情報誌 20(5). 湊文社: 48-54
- 2) 北村健樹 (2012): 楽しくイラストで学ぶ水電解質の知識. 南山堂: 東京: 287pp
- 3) 家接 直人・中嶋 登・谷保 文野 (2021): ふくいサーモン養殖安定化技術開発. 令和2年度福井県水産試験場事業報告:160-164