

オキシダント海水で消毒したクロマグロ受精卵のふ化管理手法

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2025-06-25 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 武部, 孝行, 升間, 主計, 手塚, 信弘, 二階堂, 英城, 井手, 健太郎 メールアドレス: 所属:
URL	https://fra.repo.nii.ac.jp/records/2014656

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.



オキシダント 海水で消毒したクロマグロ 受精卵のふ化管理手法

武部孝行, 升間主計, 手塚信弘, 二階堂英城, 井手健太郎
(奄美栽培漁業センター)

ウイルス性神経壊死症 (VNN) は様々な海産魚類において発症事例が報告されており, 特に種苗生産現場において多大な被害をもたらす重大な疾病である。その感染経路も親魚からの垂直感染, 餌料または周辺海域の環境水および生息魚類からの水平感染などが考えられている^{1,2)}。これらの感染経路を遮断し, 種苗生産現場において VNN の発生を防止するための防疫体制の構築は重要な問題である。

近年, この VNN の垂直感染防止にオゾン処理海水による魚卵の消毒が有望視されており, この面からのオゾン利用の研究が始まっている³⁾。奄美栽培漁業センターでは, 昨年度より VNN 防除対策の一環として, オキシダント海水でクロマグロ受精卵の消毒を実施している。しかし, 受精卵消毒によって未消毒のものより, ふ化率の低下, 未ふ化卵および死卵が増加する傾向が認められた。特に未ふ化卵については, 残留オキシダントの濃度が高まるごとに, その出現頻度も高くなる結果となり, シロギス⁴⁾, ヒラメ^{5,6)}, シマアジ⁷⁾, マツカワ⁸⁾, マハタ⁹⁾ などにも同様な結果が得られている。これは残留オキシダントの作用による卵膜の変性, 卵膜の膨張過程の欠如と推察されている¹⁰⁾。

そこで本試験はオキシダント海水で消毒したクロマグロの受精卵を効率良くふ化させるため, ふ化水槽内における管理手法について, 特にふ化水槽内の海水を攪拌するに当たっての注水方法について検討を行ったので報告する。

材 料 と 方 法

2003年8月3日から8月26日の間に, $\phi 40$ mm 生簀網内で養成しているクロマグロ7歳魚から自然産卵によって得られた卵を試験に供した。卵の発生時期を胚体形成期として試験を行った。卵消毒は海水電解装置(株式会社 荏原製作所製)によって得た残留オキシダント濃度約0.5ppmの海水200ℓを満たした水槽で1分間浸漬して消毒した後, 200ℓふ化水槽に収容してふ化させた。ふ化にはUV殺菌海水(株式会社 荏原製作所製)を使用し, 注水量を100回転/日に調整した。さらに, 比較としてUV殺菌海水約10mℓを満たした6穴マルチウェルプレート(以下, 6穴ウェル)の各穴に約28~32粒ずつ卵を収容して, 26℃に設定した温度勾配恒温器(EYELA MTI-202B型)内でロータリー・

スピードを約500/分に設定したマイクロプレートシェーカー(JANKE & KUNKEL GMBH & CO.KG製: IKA-Schüttler MTS4)を用いて振盪させながらふ化させ, また実験室内(24~26℃)においても同じ設定のマイクロプレートシェーカーを用いてふ化させた。

200ℓふ化水槽での総ふ化率および正常ふ化率は, 容量法によって推定し, 6穴マルチウェルプレートでは実体顕微鏡下で計数し, 6穴の平均値を求めた。対照区として消毒処理しない区を設けるべきであるが, 防疫の問題から未消毒卵のふ化は6穴マルチウェルプレートでのみ行った。各試験は2回ずつ実施した。

また, 残留オキシダント濃度の測定はo-トリジン法で行った¹¹⁾。

試験 1

従来, 当栽培漁業センターでは注水口径 $\phi 20$ の塩ビパイプによる1カ所(以降, 従来区)からの注水によって200ℓふ化水槽においてふ化管理を行っていた(図1-1)。本試験では注水方法の違いがふ化に及ぼす影響を調べるため, 注水方向を下方2カ所(以降, 下方2カ所区)と上方向2カ所(以降, 上方2カ所区)とし, 従来区との比較を行った(図1-2および図1-3)。

試験は8月3日と13日に採卵された卵を用いて行った(表1)。

試験 2

本試験では, 200ℓふ化水槽での注水方法と注水箇所数の違いがふ化に及ぼす影響について調べるため, 1区は注水口径を $\phi 13$ に細め吐出力を増加させ, 注水箇所を1カ所とし(以降, 強吐出1カ所区), 2区は $\phi 13$ の吐出口を4カ所に増やした区(以降, 4カ所区)とし, 従来区との比較を行った(図1-4)。注水方向は下方向とした。

試験は8月21, 22日に採卵された卵を用いて行った(表1)。

結 果

試験 1

表1に結果を示した。8月3日の卵をふ化させた結果では, 3区間において総ふ化率, 正常ふ化率ともに大きな差は見られなかった。8月13日の結果では, 従

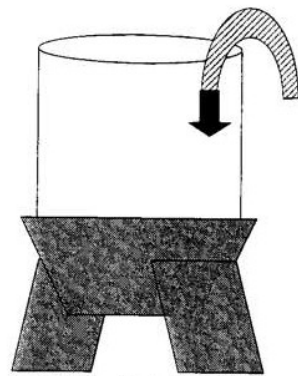


図1-1 従来注水区

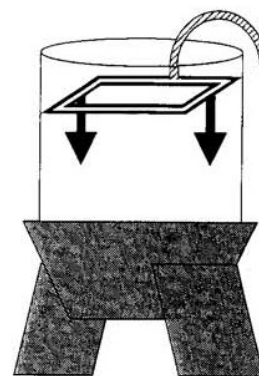


図1-2 下方2カ所注水区

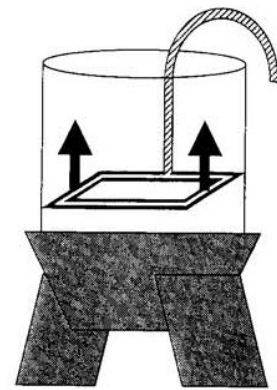


図1-3 上方2カ所注水区

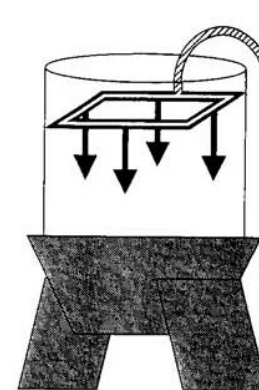


図1-4 4カ所注水区

表1 6穴ウエルとふ化水槽における総ふ化率及び正常ふ化率の結果

採卵日	6穴ウエル (消毒前)		6穴ウエル (消毒後)		200ℓ ふ化水槽		備 考
	平均 総ふ化率(%)	平均 正常ふ化率(%)	平均 総ふ化率(%)	平均 正常ふ化率(%)	総ふ化率 (%)	正常ふ化率 (%)	
8月3日	98	96	99	97	88	75	試験1：従来区
					85	77	試験1：下方2カ所区
					86	81	試験1：上方2カ所区
8月13日	72	28	92	38	72	48	試験1：従来区
					43	24	試験1：下方2カ所区
					48	25	試験1：上方2カ所区
8月15日	76	43	76	64	50	36	下方2カ所法
8月18日	98	79	99	91	89	70	強吐出1カ所法
8月20日	95	68	99	98	80	67	強吐出1カ所法
8月21日	97	62	97	80	42	20	試験2：従来区
					48	16	試験2：4カ所区
					60	28	試験2：強吐出1カ所区
8月22日	98	87	100	97	75	71	試験2：従来区
					7	7	試験2：4カ所区
					100	95	試験2：強吐出1カ所区
8月23日	65	41	71	44	58	42	強吐出1カ所法
	95	89	99	93	75	69	強吐出1カ所法
8月26日	98	93	97	96	93	48	強吐出1カ所法
	98	93	100	100	76	56	強吐出1カ所法

来区で総ふ化率、正常ふ化率ともに高く、他の2区はほぼ同じ値を示した。ふ化水槽内の卵の攪拌状況の観察では、上方、下方2カ所注水の2区は従来区と比べて、ふ化水槽内の卵の垂直方向の攪拌が少なかった。

6穴ウェルでのふ化結果と各試験区を比べると、8月3日では6穴ウェルで総ふ化率、正常ふ化率ともに高い値を示したが、8月13日では消毒後の総ふ化率で高かったが、その他ではほぼ同じ値を示した。

6穴ウェルでの消毒前後のふ化結果を比べると、8月13日で消毒後の方が消毒前に比べて、総ふ化率において大きな差が見られたが、その他の値ではほぼ同じであった。このことから、残留オキシダントによるふ化への影響はなかったものと推測された。

各試験区、6穴ウェルの総ふ化率、正常ふ化率において8月3日と8月13日で大きな差が見られたが、これは得られた卵の質によるものと思われる。

試験2

表1に結果を示した。8月21、22日の卵をふ化させた結果では、ともに強吐出1カ所区で総ふ化率、正常ふ化率ともに高い値を示したが、特に4カ所区においては著しく低かった。4カ所区のふ化水槽内の観察に

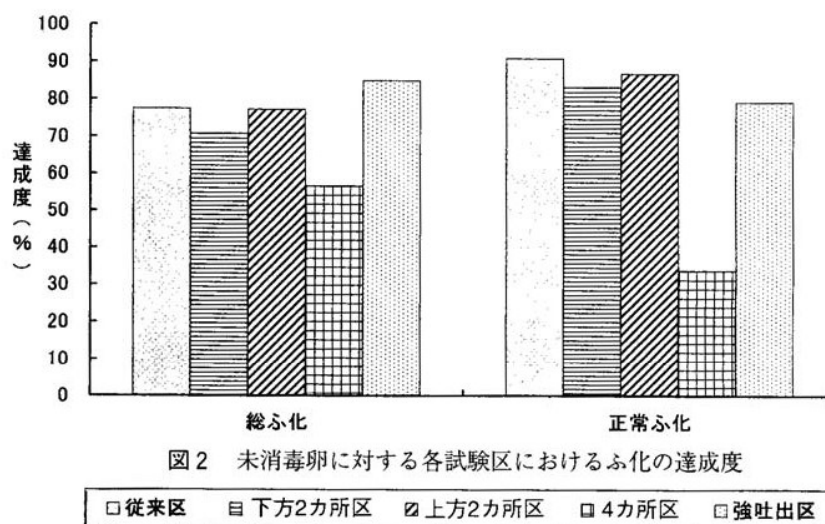
よると、ふ化前の卵がふ化水槽底に沈下し、また排水口のネットに付着しているのが他の2区に比べて多く観察された。4カ所区では、注水量が他の区と同じであることから水の吐出力が分散され、ふ化水槽内を攪拌する力が他の2区と比べて弱くなり、また排水側の排水力は他の試験区と変わらないためにネットへの卵の付着が起こったと考えられた。

6穴ウェルでの結果では、総ふ化率ではほぼ同じ結果を示した。正常ふ化率では消毒後で高い傾向が見られた。このことから、試験1と同様に、残留オキシダントによるふ化への影響はなかったものと推測された。

強吐出1カ所区と6穴ウェルの総ふ化率、正常ふ化率を比較すると、強吐出1カ所区で約15～30%低かった。

考 察

今回の試験で得られた結果に個別に行った下方2カ所法および強吐出1カ所法でのふ化結果(表1)を加え、6穴ウェルから得られた未消毒卵の総ふ化率、正常ふ化率を100とし、求めた値(以下、達成度)を用いて、ふ化方法について検討した(図2)。



各試験区の総ふ化率、正常ふ化率について分散分析を行ったところ、総ふ化率で有意差が認められた（表2-1、2-2）。さらに、各試験区間で分散分析を行ったところ、4カ所区とその他の試験区との間に有意水準5%で差が認められたが、その他の試験区間に有意差は認められなかった。この結果から、卵の攪拌が弱く、卵の沈下を生じ、かつ換水ネットに吹き寄せられるようなふ化管理はふ化率を著しく低下させることが分かった。また、統計的な有意差は認められなかったが、総ふ化率において高い攪拌力のあった強吐出1カ所区で高い傾向がうかがえた。さらに、6穴ウェルでのふ

化結果は、ふ化槽での結果に比べて常に高かった。

以上の結果から、注水方法によってクロマグロ受精卵のふ化に違いが見られることが示唆された。一方、6穴ウェルのふ化結果から、今回の残留オキシダント濃度では卵への影響が小さかったことが推測され、今回の試験の目的としていた、注水法による消毒卵のふ化の改善効果について検討することができなかった。

今後、さらに強いオキシダント濃度での卵消毒を行い、量産規模でのふ化管理に注水方法を工夫することで、ふ化率、未ふ化卵への改善が可能かどうかについて検討を行いたい。

表2-1 総ふ化率の分散分析表

要 因	平方和	自由 度	平均平方	F 値
注水方法 (SA)	5229.2	4	1307.3	4.14※
誤 差 (SE)	4417.0	14	315.5	
全 体 (ST)	9646.2	18		

※有意水準5%

表2-2 正常ふ化率の分散分析表

要 因	平方和	自由 度	平均平方	F 値
注水方法 (SA)	8327.7	4	2081.9	2.00
誤 差 (SE)	14543.4	14	1038.8	
全 体 (ST)	22871.1	18		

文 献

- 1) Mushiake, K., T. Nishizawa, T. Nakai, I. Furusawa, and K. Muroga (1994) Control of VNN in striped jack : Selection of spawners based on the detection on SJNNV gene by polymerase chain reaction (PCR). *Fish Pathol.*, 29, 177-182.
- 2) Arimoto, M., K. Mori, T. Nakai, K. Muroga, and I. Furusawa (1993) Pathogenicity of the causative agent of viral nervous necrosis disease in striped jack, *Pseudocaranx dentex* (Bloth & Schneider). *J. Fish Dis.*, 16, 461-469.
- 3) Arimoto M., J. Sato, K. Maruyama, G. Mimura, and I. Furusawa (1996) Effect of chemical and physical treatments on the inactivation of striped jack nervous necrosis virus (SJNNV). *Aquaculture*, 143, 15-22.
- 4) 磯野良介・伊藤康男・木下秀明・城戸勝利 (1993) シロギス卵・稚魚の生残に及ぼす海水オゾン処理の影響. *日水誌*, 59, 1527-1533.
- 5) 三村 元・長瀬俊哉・片山泰人・長光貴子・難波憲二 (1998) オゾン処理海水のヒラメ, *Paralichthys olivaceus* 卵に対する影響. *水産増殖*, 46, 101-110.
- 6) 三村 元・長光貴子・長瀬俊哉・難波憲二 (1998) 海水中の残留オキシダントの定性分析とヒラメ, *Paralichthys olivaceus* 卵への影響. *水産増殖*, 46, 579-587.
- 8) 渡辺研一 (2000) マツカワに発生したウイルス性神経壊死症の防除対策に関する研究. 特別研究報告15号, 社団法人 日本栽培漁業協会, 東京.
- 7) 有元 操 (1995) シマアジのウイルス性神経壊死症に関する研究. 特別研究報告10号, 社団法人 日本栽培漁業協会, 東京.
- 9) 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 (VNN) の防除対策の検討. *水産増殖*, 50, 355-361.
- 10) 三村 元・長瀬俊哉・片山泰人・難波憲二 (1999) 未ふ化生残卵の生理学のおよび組織学的考察. *日水誌*, 65, 448-456.
- 11) 三村 元・長光貴子・片山泰人・長瀬俊哉 (1999) 海水中の残留オキシダントのオートリジン法による簡易測定. *水産増殖*, 47, 103-110.