

クロマグロ卵のふ化実験方法の検討

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: 升間, 主計, 手塚, 信弘, 二階堂, 英城, 武部, 孝行, 井手, 健太郎 メールアドレス: 所属:
URL	https://fra.repo.nii.ac.jp/records/2014667

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



クロマグロ卵のふ化実験方法の検討

升間主計*1・手塚信弘*2・二階堂英城*1・武部孝行*1・井出健太郎*1

(*1 奄美栽培漁業センター, *2 能登島栽培漁業センター)

種苗生産技術開発において、海産魚の卵質評価の有力な指標として正常ふ化率が調べられている。その調査方法は、直接、ふ化水槽等でふ化させて推定する方法やビーカー等の小容器内でふ化させて推定する方法など、各種苗生産機関や魚種によって様々である。また、正常ふ化仔魚は目視によって、仔魚の体が真っ直ぐに伸びているかどうかで判断されている。

奄美栽培漁業センターでは、1997年からクロマグロ *Thunnus thynnus orientalis* の産卵に成功し、その卵質を評価するために正常ふ化率を求めてきた。その方法は、2つの500mlガラスビーカーに約30粒の卵を収容し、恒温器内に静置してふ化させ、目視によって正常ふ化仔魚数を計数することによって求めた。しかし、その値にはしばしば大きなばらつきが生じたことから、ふ化実験方法を検討する必要がある。

本報告では、クロマグロ卵の評価に適したふ化実験方法について検討したのでその結果を報告する。

材料と方法

1999年6月21日から7月14日までに、奄美栽培漁業センター内で養成した親魚群から自然産卵によって得られた受精卵の一部をふ化実験に用いた。ふ化飼育には、約25℃に設定した温度勾配恒温器 (MTI-202B, EYELA) を用いた。実験に供した卵は、4細胞期から初期桑実期に達していた。

実験1 6月21日と23日に得られた卵を用いて、6

ウェルマルチウェルプレート (蓋付きマルチウェルプレート6ウェル, 東京硝子器械) と500mlビーカーでのふ化を比較した (表1)。紫外線殺菌海水約10mlを満たした6ウェルマルチウェルプレート1~2枚の各ウェル (21日は6ウェル, 23日は10ウェル) に、ピペットを用いて受精卵を収容したところ、収容卵数は11~39粒であった。同殺菌海水約500mlを満たした500mlビーカーには、同様の方法で受精卵を収容し、収容卵数は29~35粒であった。マルチウェルプレートとビーカーは、卵収容後に温度勾配恒温器内に静置してふ化させた。ふ化後、ビーカーでは目視によって、ピペットを用いて正常ふ化仔魚を除きながら計数し、マルチウェルプレートでは実体顕微鏡下で同様に計数し、正常ふ化率を求めた。

実験2 7月3日と7月5日に得られた卵を用いて、ふ化までの振盪の効果を調べた (表1)。6ウェルマルチウェルプレートを用いて、実験1と同様に8~42粒の卵を各ウェルに収容した。マルチウェルプレートは、温度勾配恒温器内に設置した振盪器 (MTS4, IKA-Schüttler, 100回/分) 上に置くか、または静置してふ化まで飼育した。

実験3 7月5日と7月14日に得られた卵を用いて、振盪および抗生物質 (硫酸ストレプトマイシン, 明治製薬) の効果を調べた (表1)。各ウェルには23~67粒の卵を収容した。抗生物質を添加した区では静置してふ化まで飼育し、その他は実験2と同様に行った。なお、振盪区は6つのウェルの内、5つのウェル

表1 クロマグロ卵のふ化飼育実験の概要

実験名	ふ化飼育実験	飼育容器	例数
実験1-1	静置	500mlビーカー	2
	静置	6穴マルチウェルプレート	6
実験1-2	静置	500mlビーカー	2
	静置	6穴マルチウェルプレート	10
実験2-1	静置	6穴マルチウェルプレート	6
	振盪	6穴マルチウェルプレート	6
実験2-2	静置	6穴マルチウェルプレート	6
	振盪	6穴マルチウェルプレート	6
実験3-1	静置	6穴マルチウェルプレート	5
	静置+抗生物質	6穴マルチウェルプレート	6
実験3-2	振盪	6穴マルチウェルプレート	6
	静置	6穴マルチウェルプレート	6
	静置+抗生物質	6穴マルチウェルプレート	6
	振盪	6穴マルチウェルプレート	6

に卵を収容した。抗生物質は針先に少量を付着させ、各ウェルの飼育海水に溶かした。

解析 統計解析にはパソコンソフト (StatView, SAS Institute Inc.) を用いて、実験 1, 2 では Mann-Whitney の U 検定、実験 3 では Kurskal-Wallis の検定を用いた。また、実験 3 の結果で有意差が認められた場合には、各実験区間で Mann-Whitney の U 検定を行った。

結 果

実験 1 ビーカーふ化飼育と 6 ウェルマルチウェルプレートでのふ化飼育において、2 回の実験ともに正常ふ化率には差が認められなかった (図 1) (実験 1-1 ; $p=0.317$, 実験 1-2 ; $p>0.999$)。特に、マルチウェルプレートでのふ化では、飼育水が白濁するこ

ともなかった。この結果から、以下での実験はすべて 6 ウェルマルチウェルプレートを用いて行った。

実験 2 図 2 に平均正常ふ化率を示した。繰り返した 2 回の実験で、実験 2-1 では $p=0.078$, 実験 2-2 では $p=0.0065$ となり有意差は認められなかったが、図 2 からは振盪ふ化飼育区で正常ふ化率が高い傾向がうかがえた。実験 2-2 では、振盪ふ化飼育区の正常ふ化率が静置ふ化飼育区に比べて有意に高い結果が示された。

実験 3 図 3 に正常ふ化率を示した。実験 3-1 および 3-2 では、それぞれ Kurskal-Wallis の検定の結果、 $p=0.0044$ および 0.0031 と高い有意差が認められた。また、各実験区間では、静置ふ化飼育区と静置 + 抗生物質ふ化飼育区間に有意差はなく ($p>0.20$)、振盪ふ化飼育区とその他の試験区間では $p<0.01$ と高い有意差が認められた。

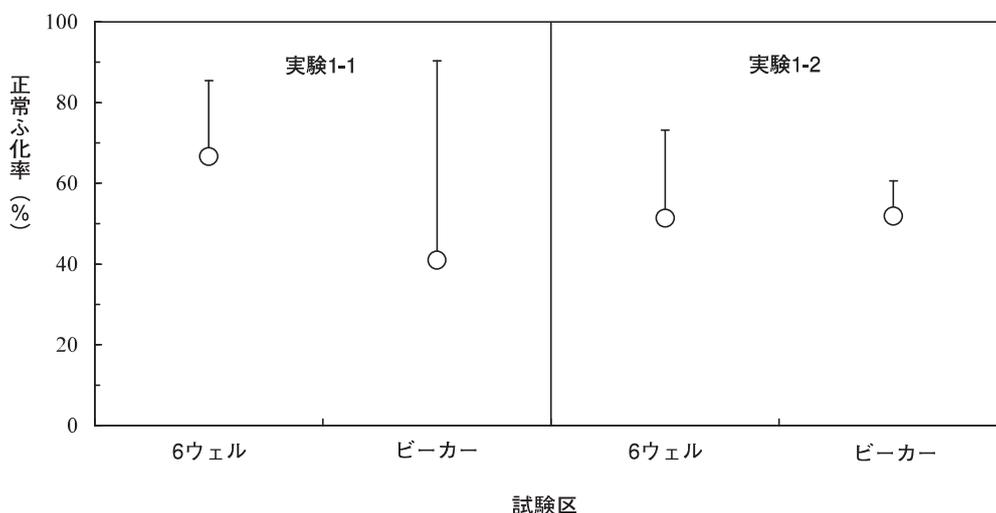


図 1 6 ウェルマルチウェルプレートとビーカーふ化管理による平均正常ふ化率 (縦棒は標準偏差を示す)

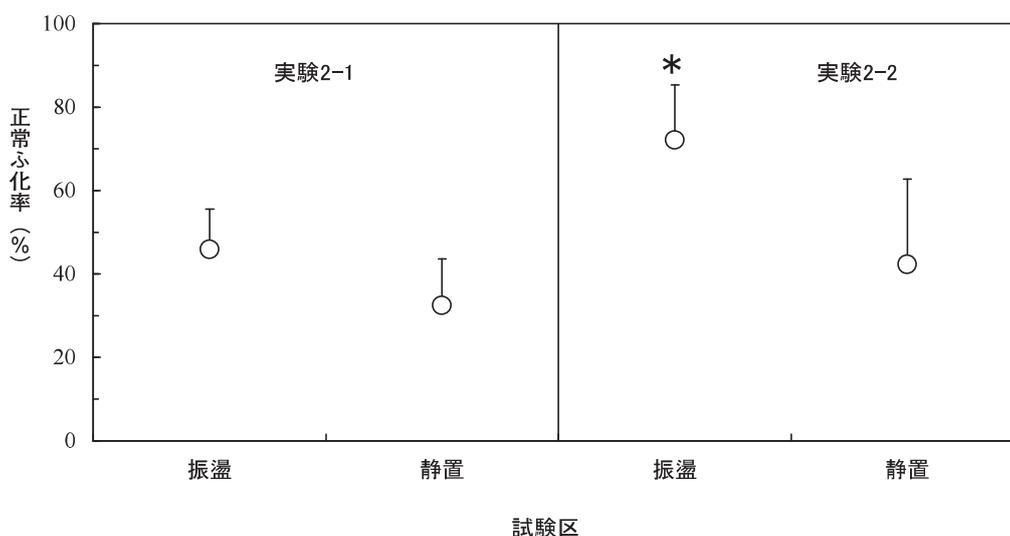


図 2 振盪と静置ふ化管理による平均正常ふ化率 (縦棒は標準偏差を示す) *は $p<0.01$ 以下で有意を示す

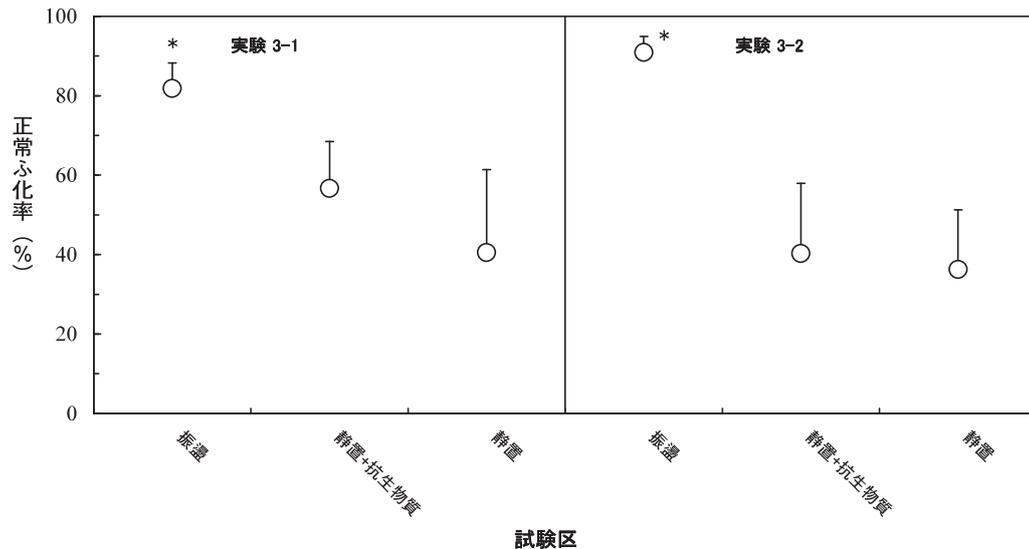


図3 震盪, 静置+抗生物質および静置ふ化管理による平均正常ふ化率 (縦棒は標準偏差を示す)
*は $p < 0.01$ 以下で有意を示す

考 察

実験1の結果では, 6 ウェルマルチウェルプレートとビーカーのふ化飼育結果には差が認められず, またふ化後の飼育水の白濁もないことから, 6 ウェルマルチウェルプレートがふ化実験に利用可能であると判断された。Kaji¹⁾ は, キハダ *Thunnus albacares*, クロマグロおよびスジアラ *Plectropomus leopardus* のふ化仔魚の飢餓耐性試験に6 ウェルマルチウェルプレートを用いているが, ふ化実験に利用した例を見ない。マルチウェルプレートのふ化実験への利用は, ビーカーに比べて, 比較的例数を多く取りやすく温度管理も容易であり, さらに実体顕微鏡下で詳しい形態観察もできることから, ふ化実験に適した方法であり, 他の魚種にも応用可能と考えられる。

これまでクロマグロのふ化実験は, 静置条件下で行われている。遠藤²⁾ は, 100ml ビーカーに50粒, 宮下³⁾ は 1 l の海水を満たしたプラスチックボールに50粒の卵を収容しふ化させている。三村ら⁴⁾ はヒラメ *Paralichthys olivaceus* 卵のふ化飼育試験で, 100ml のろ過海水を入れた200ml容量のサンプル瓶に受精卵を約50粒または100粒収容し, 水中ポンプと空気曝気によって水流を発生させた 1 kℓ のポリカーボネイト水槽に浮かべて, サンプル瓶を振盪し, 卵と卵が癒着しないようにしてふ化させ, 高いふ化率を得ている。三村ら⁴⁾ は, 著者らのふ化方法と同じ効果を期待して行ったと考えられる。宮下³⁾ と三村ら⁴⁾ は, ふ化率のばらつきについては言及していないが, 特に, ふ化に関する問題点の指摘はない。中田ら⁵⁾ は, ふ化前に沈

下するプリ *Seriola quinqueradata* 卵のふ化実験で200粒の卵を500ml ビーカーに収容し, 卵が沈下しないようにエアストーンによる微通気条件下でふ化を行っている。しかし, 岩谷⁶⁾ はキジハタ *Epinephelus akaara* で受精卵からふ化するまでに通気が影響し, ふ化率を低下させることを指摘し, ふ化率の算定を行う場合には無通気で行った方が良いと述べている。魚種によってふ化方法に工夫がなされている。

今回検討した振盪は, 卵と卵との密着を防ぐこと, 通気による影響がないこと, 特に, 本種の卵はプリ同様にふ化前に沈下することから³⁾, 卵が容器の底に沈下することを防ぐ効果が期待でき, その結果, 正常ふ化率が高くなったと考えられる。

今回の結果は, クロマグロ卵のふ化実験において, 6 ウェルマルチウェルプレートの利用がビーカーと同様に可能であり, さらに, 振盪条件下でふ化させることによって, 静置条件下に比べて, 高い正常ふ化率が得られることを示した。このことは, 本種のふ化飼育実験で正常ふ化率を求め, より正確な卵質評価を行うためには, 振盪条件下で実験を実施するか, または宮下⁴⁾ のように比較的大きな容器に卵と卵が密着しない状態で行うことが必要であることを示している。

文 献

- 1) Kaji, T., M. Tanaka, and M. Tagawa (1999) Laboratory study of density-dependent survival after handling in yolk-sac larvae of tunas and a grouper. *Fish. Sci.*, **65**, 482-483.
- 2) 遠藤文則 (1995) クロマグロ種苗生産における

- 現状. 水産増殖, **43**, 263-267.
- 3) 宮下 盛 (2001) クロマグロの種苗生産に関する研究. 博士学位論文, 近畿大学, 1-183.
- 4) 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.
- 5) 中田 久・中尾貴尋・荒川敏久・松山倫也 (2001) ブリの人工授精における排卵後経過時間と受精率との関係. 日水誌, **67**, 874-880.
- 6) 岩谷芳自 (1999) キジハタのふ化およびふ化仔魚に与える通気の影響. 栽培技研, **27**, 59-61.