

オキシダント海水がハマフエフキ卵のふ化に及ぼす影響

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: 井手, 健太郎, 手塚, 信弘, 二階堂, 英城, 武部, 孝行, 升間, 主計
	メールアドレス:
URL	所属:
	https://fra.repo.nii.ac.jp/records/2014687

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



オキシダント海水がハマフエフキ卵のふ化に及ぼす影響

井手健太郎^{*1}・手塚信弘^{*2}・二階堂英城^{*1}・武部孝行^{*1}・升間主計^{*1}

奄美栽培漁業センターでは、クロマグロ *Thunnus thunnus orientalis* の種苗生産技術開発に取り組んでいる。現在の種苗生産における餌料系列は、シオミズツボムシ→ふ化仔魚→シラス魚肉ミンチであり、ふ化仔魚の安定した供給がクロマグロ種苗生産における重要な役割を担っている。1997年から、餌料としてのふ化仔魚にはハマフエフキ *Lethrinus nebulosus* を用いている。本種は、水温22℃を下回らなければ産卵し続ける魚種であり、奄美地方では人為的に水温や照度を制御する必要がないという知見が得られている。また、魚体が大きくなるため雌1尾当りの産卵量が多く、クロマグロの種苗生産期の自然水温域が産卵期となるため、餌料として必要量のふ化仔魚を連続的に得るのに適しており、他の魚種ではこのような条件を満たしているという報告は見当たらない。

2000年のクロマグロ種苗生産過程において、飼育初期に旋回遊泳して死亡する個体が確認され、死亡魚をPCR法により検査したところ、ウイルス性神経壊死症(VNN)の原因ウイルスであるNNVの遺伝子が検出された。

VNNの感染経路として、餌料であるハマフエフキ仔魚の可能性が考えられたため、2001年から親魚の卵巣卵と精液および種苗生産に供給したふ化仔魚のNNV保有状況の調査を開始した。これまでに、1尾の死亡親魚でNNV陽性を確認し、クロマグロへの水平感染を防除するためには、ハマフエフキにおける有効なVNNの垂直感染防除対策を確立する必要が生じた。

VNNの垂直感染防除対策の有効な手段には、卵消毒が挙げられる。消毒剤として、多くの魚種でVNN垂直感染防除効果が報告¹⁻⁵⁾されているオキシダントを用いることとし、2002年に海水電解法によるオキシダント発生装置(試作機 荏原実業、処理能力:オキシダント濃度0.5mg/ℓ, 1ℓ/時)を導入し、2003年からハマフエフキ卵のオキシダント海水による消毒を開始した。

VNNの原因ウイルスであるSJNNVでは、オキシダント濃度0.1mg/ℓで2.5分、0.5mg/ℓでは0.5分でNNVが不活化されることが報告されている¹⁾。実際の受精卵消毒では、海水中に含まれる有機物などの影響が無視できないため、消毒剤の濃度を高め、さらに浸漬時間を長くすることが望ましい⁴⁾。一方、シロギス⁶⁾、シマアジ²⁾、ヒラメ⁷⁾、マツカワ⁴⁾等で、オキシ

ダントが受精卵のふ化に影響を及ぼすと報告されている。また、卵の発生段階により消毒剤に対する感受性が異なることが報告されている^{4,7)}。

そこで本報告では、ハマフエフキにおける適切な消毒条件の一端を明らかにする目的で、受精卵を発生段階別にオキシダント濃度0.5mg/ℓの海水に浸漬し、オキシダントがハマフエフキ受精卵のふ化に及ぼす影響について調査した。

材 料 と 方 法

試験には、陸上水槽(150ℓ角型コンクリート水槽)で養成したハマフエフキ親魚(天然由来、養成5年)が、2003年5月23日に自然産卵した直後の卵の一部を用いた。得られた卵の浮上卵率は87.7%、受精率は100%であった。採卵時の水温は24.4℃であった。

採卵した卵は、直ちに紫外線殺菌海水(フロンライザー 4DL, 千代田工販)を満たした25ℓ容のバケツに収容し、浮上卵のみをすくいとり、別の紫外線殺菌海水を満たしたバケツに移した。この作業を2回繰り返し、卵から他の夾雑物(有機物)を分離した。得られた受精卵は、500ℓポリカーボネート水槽に設置したゴース地製のふ化ネット(φ70×50cm)に収容し、紫外線殺菌海水の流水(4~5ℓ/分)で管理した。

試験に供した卵の発生段階は、初期桑実期(受精後3時間)、胞胚期中期(同5時間)、囊胚期中期(同10時間)、胚体形成期(同15時間)、およびふ化直前(同22時間)とした。オキシダント海水への浸漬時間は、0(対照区)、1、2、3および5分とした。各発生段階の卵は、約20万粒をメスシリンダーで計り、タモ網(30×20×15cm, ナイロンメッシュ製)に収容した。次に、タモ網を約0.5mg/ℓの濃度に調整したオキシダント海水を満たした25ℓ容のバケツに浸漬した。オキシダント海水は、内径25mmのホースでタモ網中に20ℓ/分の流量で注水した。オキシダント濃度の測定は三村ら⁹⁾に従い、o-トリジンで発色させた試水の吸光値を分光光度計(DR/2000, HACK)により測定した。

所定の浸漬時間ごとに、タモ網内から約1,000粒の受精卵を10ml駒込ピペットで採取し、紫外線殺菌海水を満たした300mlビーカーに採取した。さらにこの卵を、6ウェルマルチウェルプレート(イワキガラス)を用いてふ化させた。1試験区当り6ウェルを用い、

1 ウェル当たり約 8 ml の紫外線処理海水と約 20 ～ 90 粒の卵を収容した。ふ化管理は、恒温室内（26℃）に設置した振とう機（約 50rpm）で行った。

卵の浸漬によるオキシダントの減少状況は、浸漬直前と 5 分後にバケツから流出する海水のオキシダント濃度を測定する方法で比較した。

対照区の受精卵がすべてふ化した後（受精後 30 時間）に、実体顕微鏡下で各ウェル内の死亡卵、未ふ化生残卵（胚は生存しているがふ化できない卵）、異常ふ化仔魚（脊索が曲がった異常ふ化仔魚と死亡仔魚等）および正常ふ化仔魚（脊索が正常に伸びた仔魚）を計数し、試験供試卵数をこれらの合計で求めた。また、正常ふ化率（正常ふ化仔魚数 ÷ 試験供試卵数 × 100）、未ふ化生残卵出現率（未ふ化生残卵数 ÷ 試験供試卵数 × 100）、を求めた。

結果と考察

卵の発生段階ごとにおけるオキシダント海水への浸漬で、浸漬直前と 5 分後のオキシダント濃度の測定結果を表 1 に示した。オキシダントの減衰率は初期桑実

期で 16.1% と最も高かったが、発生段階が進むにつれて低下する傾向が認められた。ヒラメ卵でも、オキシダント減衰量は卵の発達段階が進むに従って減少し、ふ化期に大幅に増加したと報告⁷⁾されており、ふ化までは卵表面の有機物が減少しオキシダントを消費しなかったと考えられた。

各発生段階におけるオキシダント海水への浸漬後の正常ふ化率を図 1 に示した。浸漬時間 1 分では、すべての発生段階で対照区と同様の高い正常ふ化率が得られた。浸漬時間 2 分では囊胚期中期までは高い正常ふ化率が得られたが、胚体形成期以降ではふ化率が低下する傾向が認められた。浸漬時間 3 分と 5 分では、胞胚期中期と囊胚期中期の正常ふ化率は高かったが、初期桑実期と胚体形成期以降ではふ化率は低下し、特に浸漬時間 5 分での低下が著しかった。

ふ化率が低下した試験区では、未ふ化生残卵が多く出現し（図 2）、同じ発生段階では浸漬時間が長くなるほど未ふ化生残卵の出現率が高くなる傾向が認められた。未ふ化生残卵は、胚は生存しているがふ化できない卵と定義されており、シロギス⁶⁾、ヒラメ⁷⁾、striped bass⁸⁾ の卵をオキシダント等に暴露した際に

表 1 ハマフエフキ受精卵の消毒に用いたオキシダント濃度の減衰状況

発生段階	オキシダント濃度 (mg/ℓ)		減衰率 (%)
	消毒直前	5 分後	
初期桑実期	0.56	0.47	16.1
胞胚期中期	0.54	0.46	14.8
囊胚期中期	0.56	0.48	14.3
胚体形成期	0.56	0.50	10.7
ふ化直前	0.60	0.53	11.7

減衰率 = {(消毒直前) - (5 分後)} / (消毒直前) × 100

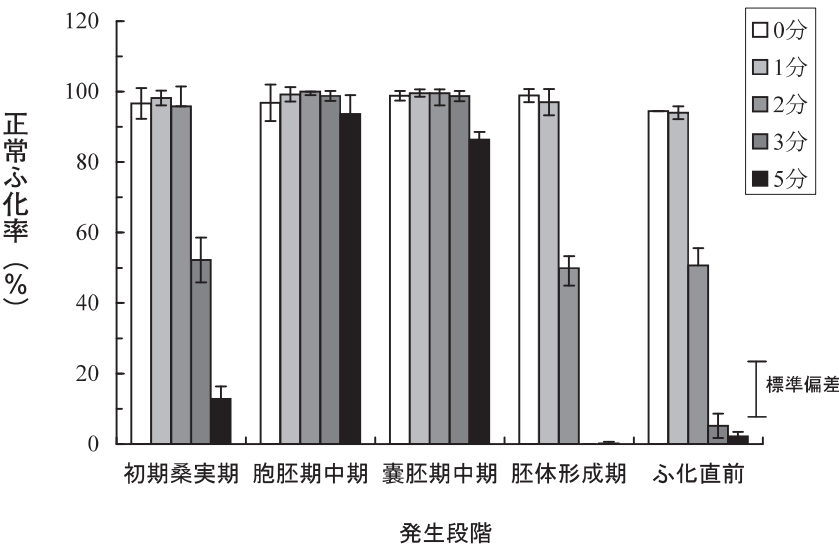


図 1 ハマフエフキ受精卵の発生段階ごとのオキシダント海水（0.5mg/ℓ）への浸漬時間と正常ふ化率の関係

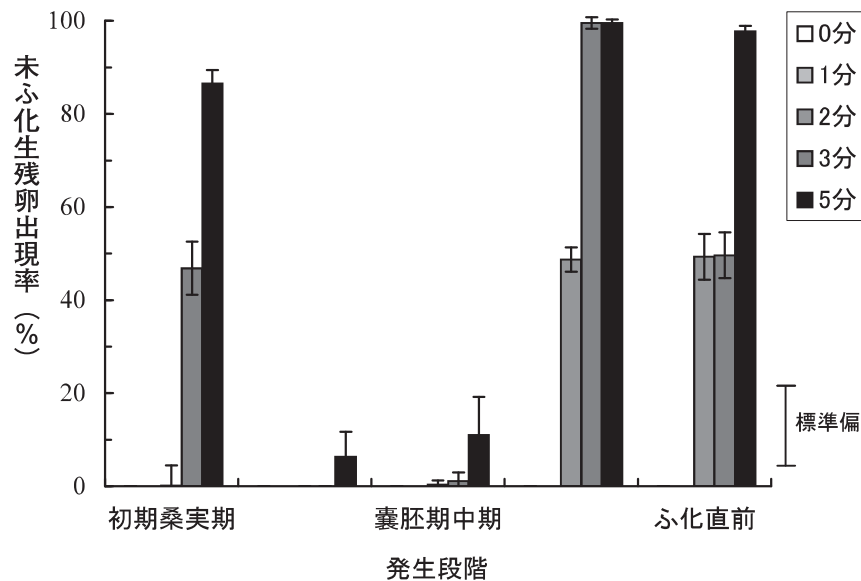


図2 ハマフエフキ受精卵の発生段階ごとのオキシダント海水 (0.5mg/ℓ) への浸漬時間と未ふ化生残卵の出現率

出現することが報告されている。今回のハマフエフキでも同様の現象が確認された。

一般に、魚類の卵では、発生段階により消毒剤に対する感受性が異なることが知られており⁴⁾、シマアジ¹⁰⁾では発眼期以降に、ヒラメ⁷⁾では胞胚期から心臓拍動期に未ふ化生残卵の発生率が高く、またマツカワ⁴⁾では受精直後および胚体形成期以降にふ化率が低下することが報告されている。ハマフエフキ卵は、発生初期と胚体形成期以降は未ふ化生残卵の出現によりふ化率が低下し、マツカワと類似した傾向を示したが、他の魚種とは感受性が異なった。

今回の試験で、オキシダント海水によるハマフエフキ受精卵の消毒に当たっては、未ふ化生残卵が出現してふ化率が低下する可能性があるため、感受性の低い胞胚期および囊胚期に行うことが望ましい結果が得られた。

今後の課題として、本報告の再現性の確認および消毒効果の検討が挙げられる。さらに、未ふ化生残卵は通気刺激によりふ化が促進されることから¹¹⁾、物理的刺激を用いたふ化率の向上について検討を進めたい。

文 献

- 1) 有元 操 (1995) シマアジのウイルス神経壊死症に関する研究. 京都大学博士学位論文. pp. 52.
- 2) 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.
- 3) 室賀清邦・古澤 徹・古澤 巖 (1998) 総説 シマアジのウイルス神経壊死症. 水産増殖, **46**, 473-480.
- 4) 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疫対策に関する研究. 特別研究報告15号, 日本栽培漁業協会, 東京. 42-44.
- 5) 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.
- 6) 磯野良介・伊藤康男・木下秀明・木戸勝利 (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.
- 7) 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, *Praichthys olivaceus* 卵に対する影響. 水産増殖, **46**, 101-110.
- 8) Hall L.W.Jr., D.T. Burton, and L.B. Richardson (1981) Comparison of ozone and chlorine toxicity to the developmental stages of Striped bass, *Morone saxatilis*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **38**, 752-757.
- 9) 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 α -トリジン法による簡易測定. 水産増殖, **47**, 103-110.
- 10) 虫明敬一 (1996) シマアジおよびブリの親魚養成技術の開発に関する研究. 特別研究報告9号,

- 日本栽培漁業協会，東京．29-32.
- 11) 塩澤 聡 (1998) オゾン殺菌システムの種苗生産への導入事例．日本栽培漁業協会栽培漁業

中央研修テキスト，日本栽培漁業協会，東京，
1-22.