

海水中に残留した微量オキシダントがクロマグロ受精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: 今泉, 均, 武部, 孝行, 二階堂, 英城, 井手, 健太郎, 升間, 主計 メールアドレス: 所属:
URL	https://fra.repo.nii.ac.jp/records/2014726

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



海水中に残留した微量オキシダントがクロマグロ受精卵のふ化に及ぼす影響

今泉 均^{*1}・武部 孝行^{*1}・二階堂英城^{*1}・井手健太郎^{*1}・升間 主計^{*2}

(^{*1} 奄美栽培漁業センター, ^{*2} 宮津栽培漁業センター)

奄美栽培漁業センターでは、2000年にクロマグロ *Thunnus orientalis* の種苗生産過程においてウイルス性神経壊死症 (VNN) の発症が確認されたため、2001年から受精卵の消毒と飼育海水の殺菌による防除対策を開始したが、十分な防除効果は得られなかった。しかし、2003年からは、卵と飼育水の殺菌にオキシダントを用いることでVNN発症の防除効果が得られるようになった¹⁾。オキシダントによる殺菌は、オゾン接触または電気分解により海水中に発生させたオキシダントの殺菌効果²⁻⁶⁾を利用し、卵の洗浄、飼育用水や排水の殺菌を行う手法であり、水産増養殖施設においてその殺菌システムが導入されつつある。

2004年からは海水電解装置を導入し、すべての飼育試験に供する受精卵の洗浄を電気分解によりオキシダントが含まれた海水 (以下、残留オキシダント海水) で行った。さらに、オキシダントを活性炭に吸着処理させた海水 (以下、殺菌海水) をふ化管理と仔稚魚の飼育水に使用することでVNNの発症が防除できた。しかし、残留オキシダント海水による卵洗浄と殺菌海水によるふ化管理の過程で、卵膜内での生存が確認されるがふ化に至らない個体 (以下、未ふ化生残卵) が高率に発生する事例がみられた (今泉, 未発表)。現行のオゾン殺菌システムでは、活性炭槽での脱オキシダントが完全に行われていないこと⁷⁾、未ふ化生残卵の発生にはオキシダントの影響が報告されていること^{8,9)}から、2004年に高率で発生した未ふ化生残卵は、卵管理に用いた殺菌海水中に残留した微量なオキシダントが原因ではないかと考えられ、注水量 (換水量) と残留オキシダントがクロマグロ受精卵に及ぼす影響について検討した。

材料と方法

残留オキシダント海水と殺菌海水の作製 海水電解装置によるオキシダント海水の作製方法は、電解殺菌装置 (荏原実業; オキシダント濃度0.5mg/ℓで処理能力45m³/時) 内の電解槽で海水の電気分解によりオキシダントを発生させ、反応槽で用水を殺菌する方法で得た。オキシダント海水中のオキシダント濃度は、電気分解における電流値を変えることで設定した。殺

菌海水は、残留オキシダント海水を同装置内の活性炭槽に通し、オキシダントを活性炭に吸着処理させて得る。受精卵の洗浄は残留オキシダント海水で、卵のふ化管理は殺菌海水で行った。

オキシダント濃度の測定 オキシダント濃度の測定は、三村ら¹⁰⁾に従いo-トリジンで発色させた試水の吸光度を分光光度計 (U-2001; 日立製作所) により測定した。三村らは吸光度測定容器に1cmセルを使用し、o-トリジン添加後1分以内に測定した場合での定量下限を0.005~0.013mg/ℓとした。本試験では、卵洗浄時の残留オキシダント海水のオキシダントを測定する場合、三村らと同様に1cmセル容器を使用した。殺菌海水中の微量濃度の測定には、感度を高めるために5cmセル容器を使用した (試料15mlに対しo-トリジン0.6ml混合)。測定感度はセル長に比例して高くなるため、この場合の定量下限は0.0010~0.0026mg/ℓとなる。ふ化水槽内の残留オキシダント濃度は、注水開始から2~3時間ごとに中央排水口付近の海水を採取して測定した。また、試験期間を通じて、ふ化水槽の注水口の殺菌海水の残留オキシダント濃度を測定した。

試験区の設定 注水量の差によるオキシダントの残留濃度が、発生段階の異なる受精卵のふ化に与える影響について、2回の試験 (試験1および2) を行った。試験1では胚胎形成期、試験2では囊胚期の卵を用いた。

試験1 供試卵と卵の洗浄 試験には、近畿大学奄美実験場で2004年8月3日午後9:00~9:30に自然産卵により得られた胚体形成期の受精卵を用いた。

センターへ搬入した受精卵は、一旦殺菌海水 (残留濃度0.018mg/ℓ) を満たした200ℓ水槽2面に収容して沈下卵および夾雑物を除去した。卵収容直後の残留オキシダント濃度は、輸送水の混入により減衰し、測定下限以下であった。約30分後、浮上卵88万粒を回収して卵洗浄を行った。

卵洗浄は、濃度約0.2mg/ℓに調整した残留オキシダント海水を満たした200ℓ水槽に1分間浸漬する方法で行った。浸漬後は、直ちにチオ硫酸ナトリウム (0.1g/オキシダント海水200ℓ) で海水中の残留オキシダントを中和した。

表1 微量の残留オキシダントがクロマクロ卵のふ化に及ぼす影響（試験1）

試験区	注水量 (回転/日)	オキシダント 最大濃度(mg/ℓ)	収容卵数 (万粒)	13時間後の結果				
				ふ化率(%)			未ふ化 生残卵率 (%)	死卵率 (%)
				正常	異常	合計		
1	1	0.001	21.0	80.7	19.3	100	0	0
2	6	0.003	21.0	75.0	25.0	100	0	0
3	12	0.005	21.0	74.4	20.5	94.9	4.0	1.1
4	24	0.007	21.0	64.0	32.0	96.0	3.2	0.8
5	48	0.014	4.0	0	11.8	11.8	86.9	1.3

卵消毒条件：胚体形成期にオキシダント0.2mg/ℓ 海水で1分間（海水温28.5℃）

注水元殺菌海水のオキシダント濃度：0.020～0.026mg/ℓ

表2 微量の残留オキシダントがクロマクロ卵のふ化に及ぼす影響（試験2）

試験区	海水の殺菌方法	オキシダント 最大濃度 (mg/ℓ)	注水量 (回転/日)	収容卵数 (万粒)	24時間後の結果				
					ふ化率(%)			未ふ化 生残卵率 (%)	死卵率 (%)
					正常	異常	合計		
1	オキシダント	0.001	1	34.2	88.8	7.5	96.3	0	3.7
2	オキシダント	0.003	6	34.2	85.4	10.4	95.8	0	4.2
3	オキシダント	0.005	12	34.2	85.0	10.0	95.0	1.7	3.3
4	オキシダント	0.012	48	4.0	9.8	13.7	23.5	72.5	4.0
5	紫外線	0.000	48	4.0	94.3	4.2	98.5	0	1.5

卵消毒条件：囊胚期にオキシダント0.2mg/ℓ 海水で1分間（海水温28.5℃）

注水元殺菌海水のオキシダント濃度：0.018～0.019mg/ℓ

卵の収容とふ化管理 ふ化管理には500ℓ水槽を用いた。試験区は、殺菌海水の注水量を1, 6, 12, 24および48回転/日に設定した5試験区を設け、それぞれ1区～5区とした（表1）。受精卵の収容は、容量法により卵洗浄後の200ℓ水槽から各ふ化水槽へ2～10ℓ容器により分配した。本試験に供した受精卵は、種苗生産試験に使用するふ化仔魚を得るためのふ化管理が目的であるため、収容卵数は1～4区が21万粒、未ふ化生残卵出現の可能性が高い5区は4万粒とした。

ふ化判定 ふ化状況の観察は、ふ化時間と水温との関係¹⁾によりふ化完了時刻を卵の発生段階と管理水温から推定し、試験開始から13時間後に行った。ふ化状況は、以下の4つに区分した。①正常ふ化：外見上正常な個体。②異常ふ化：体躯の屈曲や仔魚膜に異常が見られる仔魚、またはふ化しているが死亡している個体。③未ふ化生残卵：ふ化せず、卵膜内で心臓の動きが確認できる個体。④死卵：胚が白濁した未ふ化卵。

なお、ふ化仔魚数と未ふ化卵数は容積法により計数した。

試験2 供試卵と卵の洗浄 試験には、株式会社拓洋（奄美）で2004年8月7日午後1:00～2:00に自然産卵で得られた囊胚期の受精卵を用いた。

センターへ搬入した受精卵は、殺菌海水（残留濃度0.009mg/ℓ）を満たした200ℓ水槽2面に一旦収容し、沈下卵および夾雑物を除去した。収容時の残留オキシダントは、卵収容直後に減衰して測定下限以下となった。発生段階が囊胚期に達した浮上卵（同日午後7:30囊胚期）110万粒を500ℓ水槽1面に収容して、試験1と同様の方法で卵洗浄を行った。

卵の収容とふ化管理 ふ化管理を行う500ℓ水槽への収容方法は試験1と同様に行った。試験区は、殺菌海水の注水量を1, 6, 12および48回転/日とした4試験区（1～4区）を設けた。さらに、ふ化管理の用水に紫外線（UV）殺菌海水を用いた対照区を設け、

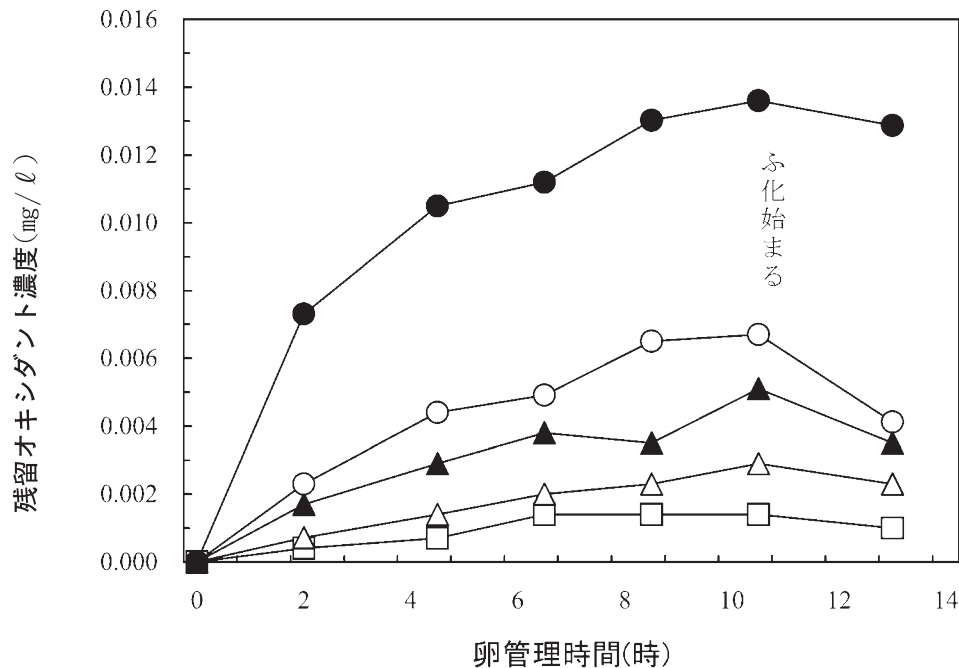


図1 注水量を変えた卵管理水槽のオキシダント濃度(試験1)

□ 1回転/日 △ 6回転/日 ▲ 12回転/日
 ○ 24回転/日 ● 48回転/日

収容卵数の差と高い回転率（48回転/日）が物理的にふ化に及ぼす影響を把握した。受精卵の収容数は1～3区が34万粒、4区と対照区は4万粒とした（表2）。

ふ化判定 ふ化状況の観察は、卵の発生段階と管理水温からふ化完了時を推定し、試験開始から24時間後に行った。ふ化仔魚数と未ふ化卵の判定と計数は試験1と同様の方法で求めた。

結 果

ふ化管理に用いた殺菌海水の注水口でのオキシダント濃度は、試験1で0.020～0.026mg/l、試験2で0.018～0.019 mg/lであった。

試験1 各試験区のオキシダントの残留濃度の変化を図1に示した。いずれの試験区も卵収容時のオキシダント濃度は0mg/lであったが、2時間後には注水量に比例して濃度が増加する傾向が認められた。2～5区では、オキシダント濃度は時間の経過に伴って増加し、10時間半後には5区で0.014mg/lと最も高くなった。1区のオキシダント濃度は、試験期間を通し

て0.001mg/l以下であった。各試験区とも、ふ化は注水開始11時間後から観察され、ふ化が完了した13時間後のオキシダント濃度はピーク時を下回った。試験期間中の管理水温は28.5～28.8℃であった。

ふ化状況を表1に示した。ふ化率は、1区と2区が100%、3区と4区は95%前後であったが、5区では11.8%と著しく低下した。正常ふ化率は注水量が少ない1区で81%と最も高く、注水量の増加に伴って減少し5区では0%であった。逆に、未ふ化生残卵率は1～4区は4%以下であったが、5区では86.9%と高くなった。異常ふ化の状況については試験区間で顕著な差は認められなかった。

試験2 各試験区のオキシダント濃度の変化を図2に示した。各試験区とも、卵収容時のオキシダント濃度は0mg/lであった。4区の濃度は、卵管理開始から4時間後までに急激に増加し、4時間以降は0.010～0.012 mg/lを維持した。3区では8時間後に0.005mg/l、2区では16時間に0.003mg/lまで増加した。1区と対照区では0.001mg/l以下であった。

試験期間中の管理水温は28.4～28.8℃であった。ふ

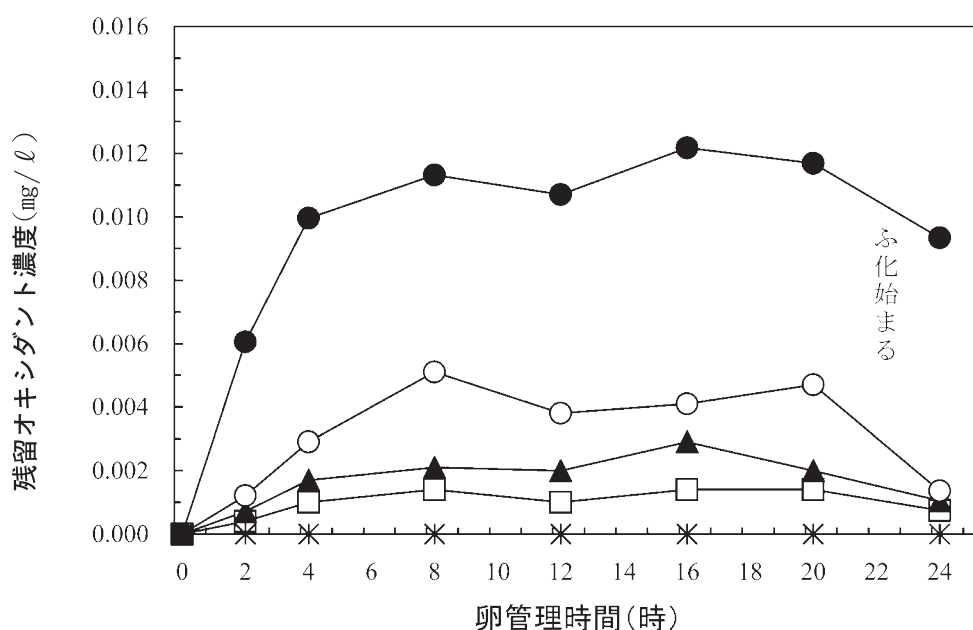


図2 注水量を変えた卵管理水槽のオキシダント濃度(試験2)

□ 1回転/日 ▲ 6回転/日 ○ 12回転/日
● 48回転/日 * UV殺菌区

化は試験開始後21時間頃から観察された。ふ化状況(表2)を見ると、正常ふ化率は1～3区と対照区は95%以上であったが、4区は9.8%と著しく低下した。未ふ化生残卵率は4区が72.5%と最も高く、3区で1.7%、他の試験区では0%であった。異常ふ化の状況については試験区間で顕著な差は認められなかった。

考 察

海水中のオキシダントが卵のふ化に与える影響については、既にシロギスやヒラメ卵で報告^{8, 9)}されており、ヒラメ卵ではオキシダントが卵膜外層を変性させ、卵膜外層の膨潤過程が欠落することで未ふ化生残卵が生じるとされている¹⁰⁾。オゾンを経水と接触させて発生させたオキシダントによる影響の調査では、暴露時間を一定にした場合はオキシダント濃度の高低が、濃度を一定にした場合は暴露時間の長短が未ふ化生残卵の発生に影響し、ヒラメ卵では未ふ化生残卵の発生に影響しないオキシダント濃度は0.8mg/l以下、暴露時間は3分間以内と報告されている⁹⁾。

オキシダントがクロマグロ卵の洗浄時に及ぼす影響について、武部ら¹²⁾は0.5mg/lのオキシダント海水で1分間洗浄した卵をUV殺菌海水(100回転/日)で管理し、19例中11例で70%以上のふ化率を得ている。また、0.5～0.8mg/lのオキシダント海水で1分間洗浄した囊胚期以降の卵では、6穴マルチウェルプレート内での振盪管理で正常ふ化率80%以上を得ている(手塚, 未発表)。このため、今回の試験で発生した未ふ化生残卵はオキシダントによる卵洗浄時の影響ではなく、卵管理時の用水中へのオキシダントの蓄積が影響を与えたと考えられた。また、流水量の多寡による卵への物理的影響も懸念されたが、48回転/日の注水を行った対照区の未ふ化生残卵率が0%であったことから、今回の注水量は卵の発生とふ化に影響しないと考えられた。

本試験において、試験開始前にふ化水槽に溜めた殺菌海水中の微量オキシダントは、消毒後の卵とともに収容されるチオ硫酸ナトリウムで中和した海水との混合により、試験開始時には0mg/lであった。しかし、ふ化管理時に微量のオキシダントを含む殺菌海水を流

水状態で用いることにより、注水量と経過時間に比例してオキシダントが蓄積され、卵のふ化に強く影響することがわかった。通常、残留量が微量であれば、オキシダントは飼育海水中の多量の有機物等と反応して減衰するため問題視されていないが、卵以外の有機物が少ない管理水槽中では、注水量を増すことで微量オキシダントが蓄積し、0.005mg/ℓ以上（ふ化水温28℃前後）の濃度が継続するとクロマグロ受精卵のふ化に悪影響を及ぼした。一方、塩澤ら⁷⁾は、シマアジ卵のふ化管理において、濃度0.005~0.1 mg/ℓ（ふ化水温22℃前後）の残留オキシダント海水とろ過海水でふ化率に差がなかったことを報告しており、オキシダントに対する受精卵への影響は魚種や水温等により異なる可能性が考えられた。

オキシダントを用いた用水の消毒手法は、ウイルス疾病の防除対策には非常に有効な手段である。しかし、これまで問題視されていなかった微量のオキシダントがふ化に影響を及ぼす危険性が判明したことから、オキシダントの残留量と対象魚種ごとの特性を常に把握しておくことが必要である。

文 献

- 1) 手塚信弘・升間主計・武部孝行・二階堂英城・井手健太郎 (2004) クロマグロ種苗生産におけるオキシダント処理海水のウイルス性神経壊死症 (VNN) への防除対策効果. 栽培漁業センター技報, 1, 76-79.
- 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) 伊藤慎吾・吉水 守・呉 明柱・日向進一・渡辺研一・早川 豊・絵面良男 (1967) 海水のオゾン処理による飼育水の殺菌効果とヒラメ (*Paraliichthys olivaceus*) およびマツカワ (*Verasper moseri*) の生存率に及ぼす影響. 水産増殖, **44**, 457-463.
- 4) 伊藤慎吾・吉水 守・絵面良男 (1967) 人工海水における低濃度オキシダントの魚類病原微生物に対する殺菌・不活化効果. 日水誌, **63**, 97-102.
- 5) 笠井久会・石川麻美・堀 友花・渡辺研一・吉水 守 (2000) 流水式海水電解装置の魚類病原細菌およびウイルスに対する殺菌効果. 日水誌, **66**, 1020-1025.
- 6) 渡辺研一・吉水 守 (2000) ウイルス性神経壊死症原因ウイルスに汚染したマツカワ受精卵のオゾン処理海水による消毒. 日水誌, **66**, 1066-1067.
- 7) 塩澤 聡 (1998) オゾン殺菌システムの種苗生産への導入事例. 栽培漁業技術研修事業, 基礎理論コーステキスト集XI, 種苗期疾病対策シリーズ. 日本栽培漁業協会, No.14, 1-22.
- 8) 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.
- 9) 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, *Paraliichthys olivaceus* 卵に対する影響. 水産増殖, **46**, 101-110.
- 10) 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o-トリジン法による簡易測定. 水産増殖, **47**, 103-110.
- 11) 宮下盛・田中祐志・澤田好史・村田修・服部亘宏・滝井健二・向井良夫・熊井英水 (2000) クロマグロ卵の発生と孵化に及ぼす水温の影響. 水産増殖, **48**, 199-207.
- 12) 武部孝行・升間主計・手塚信弘・二階堂英城・井手健太郎 (2004) 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. 栽培漁業センター技報, 1, 80-83.
- 13) 三村 元・長瀬俊哉・片山泰人・難波憲二 (1999) 未孵化生残卵の生理学的および組織学的考察. 日水誌, **65**, 448-456.