水産研究・教育機構 機関リポジトリ
FRA Japan Fisheries Research and Education Agency Institutional Repository

ハモ受精卵のポビドンヨード剤による消毒の効果と安全性

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: 堀田, 卓朗, 西, 明文, 加治, 俊二, 渡辺, 研一 メールアドレス: 所属:
URL	https://fra.repo.nii.ac.jp/records/2014736

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

栽培漁業センター技報，6，9－12，2007

ハモ受精卵のポビドンヨード剤による消毒の効果と安全性

堀田　卓朗[*1]・西　　明文[*2]・加治　俊二[*2]・渡辺　研一[*3]
（*1　養殖研究所栽培技術開発センター，*2　志布志栽培漁業センター，*3　養殖研究所病害防除部）

独立行政法人水産総合研究センターでは，種苗生産過程における垂直感染防除に有効とされている受精卵消毒について[1－6)]，ポビドンヨード剤（以下，ヨード剤）が海産魚介類の受精卵のふ化に及ぼす影響と消毒効果を，目（Order）ごとに対象種を選定して調査している。本報告ではウナギ目のハモ*Muraenesox cinereus*について検討した。

材料と方法

供試卵　試験には，志布志栽培漁業センターで養成した親魚から自然産卵で得たモルラ期の受精卵（産卵から約3時間経過）を用いた。供試卵はろ過海水で洗浄し，夾雑物を可能な限り除去した。試験は2回行い，試験1は2004年7月18日に，試験2は7月19日に行った。モルラ期での受精率はそれぞれ98.6％と95.7％であった。

有効ヨウ素濃度および浸漬時間　ヨード剤には，水産用イソジン液10％（明治製菓）を用いた。ヨード液は有効ヨウ素濃度が0，25，50および100mg／ℓとなるようにヨード剤をろ過海水に溶解して作製した。ヨード液の使用基準量は，4ℓ／卵1g（約220粒）とし，各濃度への浸漬時間は5，10，15および20分間とした。対照区はヨード剤未処理とした。

浸漬方法　試験には卵約2g（2.5mℓ，約440粒）を用い，ネット（10×7×6cm，ナイロン製，目合い0.5mm）に収容してヨード液に浸漬し，卵全体にヨード液が行き渡るように所定時間内でゆっくり，ネットを揺らした。

ふ化管理　ふ化管理には，蓋付きプラスチック瓶（広口T型瓶；アズワン）を用いた。瓶にはカナマイシン硫酸塩（ナカライテスク）の終濃度を5mg／ℓに調整したろ過海水500mℓを満たした。所定の浸漬時間に達した卵は，ネットごとろ過海水を満たした水槽で3分間流水状態で洗浄し，ヨード剤を速やかに除去した後，約200粒をプラスチック瓶に収容した。プラスチック瓶は，水温を一定に保つためろ過海水をかけ流した1kℓ水槽に入れ，瓶内で卵が塊状にならないように強通気で振盪させてふ化まで管理した。

ふ化状況の観察　ふ化状況の観察は，対照区の卵がすべてふ化した時点で行った。プラスチック瓶にホルマリン（和光純薬）を3％となるように添加して固定後，実体顕微鏡（SMZ-U；ニコン）下で観察した。なお，ふ化状況は，ふ化仔魚，未ふ化卵（胚体等の形成が確認でき，ふ化直前まで発生が進んでいたと思われる卵），および死亡卵（胚体等が確認できない卵）の3種類に分けた。

統計検定　ふ化仔魚，未ふ化卵および死亡卵の出現状況については，カイ2乗検定を用いて比較した。

生菌数と殺菌率　浸漬後の生菌数を調べた。まず，ヨード剤の反応を止めるため，約0.1～0.2gの卵を滅菌2％ペプトン水（1.5％ NaCl添加）1mℓを入れた滅菌処理済の強化ポリエチレン製の袋（ストマッカー80形；オルガノ）に収容した。これに，卵重量の9倍量の滅菌人工海水を加えてホモジナイズし，10倍希釈液列を作製した。海水培地平板[7)]に希釈液0.1μℓを塗抹後，25℃で5日間好気的に培養して出現コロニー数を求めた。消毒効果の指標として，殺菌率を以下の式により求めた。

殺菌率＝{1－（試験区の生菌数）／（対照区の生菌数）}×100

結　果

ふ化状況　卵管理中の水温は26.0～26.6℃であった。ふ化状況の観察結果および検定の結果を表1に示した。

試験1では，対照区のふ化率は64.7％，未ふ化卵率6.4％，死亡卵率28.9％であった。有効ヨウ素濃度0 mg／ℓ区のふ化率は，浸漬時間5～20分間で62.9～68.3％，未ふ化卵率5.3～7.0％，死亡卵率26.0～30.0％であり，対照区と顕著な差はなかった。25mg／ℓ区のふ化率は，浸漬時間5分間で58.7％，10分間で36.4％，15分間で2.9％，20分間で0％であり，浸漬時間が長くなるのに伴って減少した。未ふ化卵率は，5分間で9.3％，10分間で37.7％，15分間で67.8％，20分間で72.2％と浸漬時間に伴って増加した。死亡卵率は25.9～32.0％であり，各浸漬時間とも対照区と顕著な差は無かった。50mg／ℓ区のふ化率は，5分間で66.0％，10分間で7.1％，15分間，20分間で0％であり，25mg／ℓ区と同様に浸漬時間に伴って減少した。未ふ化卵率は，5分間で8.6％，10分間で74.3％，15分間で75.3％，20分間で50.3％であり，10分以上の浸漬で未ふ化卵率が増加した。死亡卵率は，15分までは18.6～25.4％と対照区と顕著な差は無かったが，20分間では

表1　ハモ受精卵をヨード液に浸漬した時の有効ヨウ素濃度と浸漬時間がふ化に及ぼす影響

試験区	有効ヨウ素濃度 (mg/ℓ)	浸漬時間 (分)	試験1				試験2			
			ふ化率 (%)	未ふ化卵率 (%)	死亡卵率 (%)	カイ2乗検定結果	ふ化率 (%)	未ふ化卵率 (%)	死亡卵率 (%)	カイ2乗検定結果
対照区	0	0	64.7	6.4	28.9		50.0	5.5	44.5	
0 mg/ℓ 区	0	5	67.0	7.0	26.0		47.4	2.6	50.0	
		10	66.0	5.3	28.6		52.4	2.8	44.8	
		15	68.3	5.4	26.3		55.5	4.2	40.3	
		20	62.9	7.0	30.0		50.4	4.0	45.6	
25 mg/ℓ 区	25	5	58.7	9.3	32.0		58.5	7.3	34.1	
		10	36.4	37.7	25.9	**	18.6	39.5	41.9	**
		15	2.9	67.8	29.2	**	0.0	55.4	44.6	**
		20	0.0	72.2	27.8	**	0.0	51.2	48.8	**
50 mg/ℓ 区	50	5	66.0	8.6	25.4		45.4	14.7	39.9	*
		10	7.1	74.3	18.6	**	3.7	49.7	46.6	**
		15	0.0	75.3	24.7	**	0.0	50.4	49.6	**
		20	0.0	50.3	49.7	**	0.0	54.2	45.8	**
100 mg/ℓ 区	100	5	68.0	9.6	22.3		17.2	34.3	48.5	**
		10	3.6	59.8	36.6	**	0.7	59.1	40.3	**
		15	0.0	1.0	99.0	**	0.0	0.0	100.0	**
		20	0.0	0.0	100.0	**	0.0	0.0	100.0	**

*：$p<0.05$，**：$p<0.01$
カイ2乗検定は，それぞれの試験区と0mg/ℓ に0分浸漬した区のふ化仔魚，未ふ化卵，死亡卵の出現状況について比較して行った

表2　ハモ受精卵をヨード液に浸漬した時の生菌数と殺菌率

試験区	有効ヨウ素濃度 (mg/ℓ)	浸漬時間 (分)	試験1		試験2	
			生菌数 (CFU/g)	殺菌率 (%)	生菌数 (CFU/g)	殺菌率 (%)
対照区	0	0	4.8×10^{3}		1.5×10^{4}	
0 mg/ℓ 区	0	5	2.1×10^{3}	56	3.1×10^{3}	80
		10	2.1×10^{3}	56	5.0×10^{3}	67
		15	2.7×10^{3}	43	2.5×10^{3}	84
		20	1.4×10^{3}	71	5.8×10^{3}	62
25 mg/ℓ 区	25	5	nd	>99	5.0×10^{1}	>99
		10	nd	>99	nd	>99
		15	nd	>99	nd	>99
		20	nd	>99	nd	>99
50 mg/ℓ 区	50	5	nd	>99	nd	>99
		10	nd	>99	nd	>99
		15	nd	>99	nd	>99
		20	nd	>99	nd	>99
100 mg/ℓ 区	100	5	nd	>99	nd	>99
		10	nd	>99	nd	>99
		15	nd	>99	nd	>99
		20	nd	>99	nd	>99

nd：検出限界以下
殺菌率=（1-消毒後の生菌数／消毒前の生菌数）×100

49.7％と対照区と比べて増加した。100mg／ℓ区のふ化率は，5分間で68.0％，10分間で3.6％，15，20分間で0％であり，25，50mg／ℓと同様に浸漬時間に伴って低下した。未ふ化卵率は，5分間で9.6％，10分間で59.8％，15分間で1.0％，20分間で0％，また死亡卵率は5分間で22.3％，10分間で36.6％，15分間で99.0％，20分間で100％となり，15分以上の浸漬でほとんどの卵が死亡した。これらの試験区のふ化状況に，対照区と有意差が認められなかったのは，0mg／ℓ区と浸漬時間5分間の25，50，100mg／ℓ区であった。

試験2では，対照区のふ化率は50.0％，未ふ化卵率5.5％，死亡卵率44.5％であった。有効ヨウ素濃度0mg／ℓに5～20分間浸漬した試験区ではふ化率47.4～55.5％，未ふ化卵率2.6～4.2％，死亡卵率40.3～50.0％と対照区と顕著な差はなかった。25mg／ℓ区のふ化率は，5分間で58.5％，10分間で18.6％，15分間，20分間で0％であり，浸漬時間に伴って減少した。未ふ化卵率は5分間では7.3％，10分間で39.5％，15分間で55.4％，20分間で51.2％であり，浸漬時間に伴い増加する傾向が認められた。死亡卵率は各浸漬時間とも34.1～48.8％と対照区と顕著な差は無かった。50mg／ℓ区のふ化率は，5分間で45.4％，10分間で3.7％，15分間，20分間で0％であり，浸漬時間に伴って低下した。未ふ化卵率は5分間浸漬した区で14.7％と対照区と比べて顕著に増加し，10分以上の浸漬で10倍近くなった。死亡卵率は，各浸漬時間とも39.9～49.6％と対照区と顕著な差は無かった。100mg／ℓ区のふ化率は，5分間で17.2％，10分間で0.6％，15分間，20分間は0％と浸漬時間に伴って低下し，他の濃度と同様の結果であったが，5分間浸漬した区でも対照区より顕著に低下した。未ふ化卵率は，5分間で34.3％，10分間で59.1％，15分間と20分間で0％であった。また，死亡卵率は，5分間で48.5％，10分間は40.3％，15分間，20分間で100％であり，15分以上の浸漬で全ての卵が死亡した。これらの試験区のふ化状況に，対照区と有意差が認められなかったのは，0mg／ℓ区と25mg／ℓに5分間浸漬した試験区のみであった。

生菌数と殺菌率　生菌数および殺菌率を表2に示した。試験1および2とも，0 mg／ℓ区の生菌数は何れの浸漬時間においても10^3～10^4CFU／gであった。一方，25 mg／ℓ区と50mg／ℓ区では10^1CFU／gおよび検出限界以下，100mg／ℓ区ではすべて検出限界以下であった。25 mg／ℓ区，50 mg／ℓ区および100mg／ℓ区の殺菌率は，すべての浸漬時間で99％以上であった。

考　察

ふ化に及ぼす影響　対照区と有効ヨウ素濃度0mg／ℓの試験区では，ふ化状況に有意差は認められず，モルラ期に卵をネットに入れて5～20分間揺する処理方法は，卵の発生とふ化に影響を及ぼさないと考えられた。

ヨード剤を用いた試験区において，対照区とふ化状況に有意差が認められなかったのは，試験1では全濃度とも浸漬時間5分間の試験区，試験2では25mg／ℓで5分間浸漬した区のみであり，ハモ卵は有効ヨウ素濃度25 mg／ℓのヨード液への10分以上の浸漬によりふ化に悪影響を受けることが明らかとなった。一方，5分間の浸漬時間では，試験によってふ化に影響を及ぼさない有効ヨウ素濃度が異なった。ホシガレイでは浮上率や発生率の低い卵は，ヨード剤の影響を受けやすいと報告されている[8)]。試験1より対照区のふ化率が低かった試験2では，ヨード剤の影響を受けやすい卵であった可能性が考えられた。これらの結果から，ハモ受精卵のふ化に影響を及ぼさない安全なヨード剤の消毒条件は，有効ヨウ素濃度25 mg／ℓ，浸漬時間5分間以下が適当であると考えられた。

今回，消毒時期をモルラ期で行ったが，ホシガレイでは受精から1時間後と眼胞およびクッパー氏胞の形成期において，またシマアジでは発眼期で消毒を実施した場合にふ化率の低下が認められている[8, 9)]。ハモでも，発生段階によってふ化率が低下する可能性が考えられることから，さらに検討を加える必要がある。

消毒効果　試験1，2とも，全ての試験区でヨード液への浸漬により99％以上の殺菌率が得られた。これらの結果からハモ受精卵の消毒に有効なヨウ素濃度は25mg／ℓ，浸漬時間は5分間が適切であると考えられた。

文　献

1）「魚類防疫への挑戦」編集委員会（1993）－成功・失敗事例集－魚類防疫への挑戦サケ・マス編．緑書房，東京，pp. 46-49.

2）桃山和夫・谷村利克（2004）クルマエビ受精卵消毒によるPAVの予防．山口県水産試験場研究報告，2，117-123.

3）佐藤　純・虫明敬一・森　広一郎・有元　操・今泉圭之輔（2003）種苗生産過程におけるクルマエビの急性ウイルス血症（PAV）の防除対策．栽培技研，30，101-109.

4）堀田卓朗・藤本　宏・山崎英樹・渡辺研一（2004）トラフグ受精卵のヨード剤による消毒の効果．栽培漁業センター技報，2，92-95.

5）虫明敬一・有元　操（2000）シマアジのウイルス性神経壊死症（VNN）に関する防除対策．栽培技研，28，47-55.
6）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，pp.71.
7）Yamamoto, H., Y. Ezura, and T. Kimura（1982）Effect of antibacterial action of seawater on the viability of some bacterial species. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 48, 1427-1431.
8）Hirazawa, N., T. Hara, T. Mitsuboshi, J. Okazaki, and K. Hata（1999）Idophore disinfection of eggs of spotted halibut Verasper variegates and red sea bream Pagrus major. *Fisheries Sci*., 65, 333-338.
8）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，社団法人日本栽培漁業協会，東京，19-32.