

オキシダント海水がアカアマダイ卵に及ぼす影響

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: 竹内, 宏行, 升間, 主計, 渡辺, 税, 中川, 亨, 町田, 雅春
	メールアドレス:
URL	所属:
	https://fra.repo.nii.ac.jp/records/2014765

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



オキシダント海水がアカアマダイ卵に及ぼす影響

竹内宏行・升間主計・渡辺 税・中川 亨・町田雅春
(宮津栽培漁業センター)

アカアマダイ *Branchiostegus japonicus* は東シナ海を中心として分布し、主に延縄漁や一本釣り漁で漁獲される。関西圏、特に京都市場では高値で取り引きされており、他魚種に比べて市場価格が比較的安定して推移している¹⁾。しかし、近年資源の減少が懸念されており、漁業者から種苗放流による資源回復への要望が高くなってきている。本種は定着性が強く、広範囲な移動をしないと考えられていることから²⁾、栽培対象種として有望であり、近年長崎県、島根県、山口県などで種苗生産の技術開発が進められている。

宮津栽培漁業センターでは、1997年に天然魚からの人工授精による採卵法を開発し、10万尾を越す種苗を生産できるようになり³⁾、量産化のめどが立ちつつあった。しかし、2004年に中間育成中の全長5 cm サイズの種苗でウイルス性神経壊死症（以下、VNN）が発生し、VNN 防除対策の確立が本種の技術開発上の緊急の課題となった⁴⁾。

感染経路の調査結果から、ウイルスは天然親魚由来の垂直感染であることが明らかになり⁴⁾、2005年には nested PCR 法を用いた VNN 陰性親魚の選別を行い、これらの親魚より得られた受精卵、精子を用いて種苗生産試験を行った。しかし、2回の飼育試験のうち1回で VNN 陽性となり、親魚検査だけでは VNN 感染を完全に防ぐことができなかった⁵⁾。このため、2006年の種苗生産試験では、新たな垂直感染防除対策として、オキシダント海水による受精卵の消毒手法を検討することとした。しかし、残留オキシダントによる卵消毒は未ふ化生残卵（ふ化していないが卵膜内で生存している個体）の出現によるふ化率の低下を招くこと⁶⁾、またその出現率はオキシダント濃度、卵の発生段階、浸漬時間および魚種によって異なることが報告されている。

そこで、本種におけるオキシダント海水による卵消毒法を確立するために、本試験では受精卵へのオキシダントの影響について調べた。

材 料 と 方 法

供試卵 2006年10月20日に京都府伊根町漁協所属の底延縄漁船によって漁獲された雌活魚5尾に成熟を誘発するためゴナトロピン（帝国臓器製薬）300IU/kg を注射し、水温20℃に調整した2 kℓ FRP 水槽に収容

した。翌日に5尾から搾出した約50gの卵に冷蔵保存精子⁷⁾を媒精し、得られた約8万粒の受精卵を試験に用いた。受精率は96.4%であった。得られた受精卵は20ℓバケツに収容し（実水量15ℓ）、20℃調温海水で流水管理した（40ml/分）。さらにウォーターバス方式で約20℃に維持した。

試験区の設定 卵消毒には海水を電解処理したオキシダント海水を用い、オキシダント海水に浸漬する受精卵の発生段階は、受精直後、桑実期（受精後4時間）、胞胚期（同8時間）、囊胚前期（同12時間）、胚体形成直後（同16時間）および心拍開始時（同31時間）の6段階とした。オキシダント濃度は0、0.3、0.5および0.8mg/ℓとした。なお、浸漬時間は1分間とした。

オキシダント濃度の測定は三村ら⁸⁾に従い、ホルトリジンで発色させた試水の吸光度を分光光度計（AE-350；エルマ）で測定した。浸漬直前のバケツ内のオキシダント海水を採取して測定し、実際の浸漬濃度の値とした。

試験の手順 各発生段階の受精卵を卵管理水槽からすくって市販の観賞魚用タモ網（22×16cm）に収容し、オキシダント海水を満たした5ℓバケツに受精卵をタモ網ごと移すと同時に、20ℓバケツから内径8 mm のビニールチューブを通して濃度調整したオキシダント海水をタモ網の中に約2ℓ/分の流量でかけ流した。消毒後はタモ網ごと紫外線殺菌海水を満たした5ℓバケツへ移して軽く洗浄した後、5 ml 駒込ピペットで数十粒の卵を取り、約8 mlの海水を入れた6ウェルのマルチウェルプレート（住友ベークライト）上の3ウェルに収容した。試験区ごとに同様の操作を繰り返した。ウェルプレートは20℃に設定した恒温器内に設置したデジタルマイクロプレートシェーカー（MTS 2/4；IKA）の上に置き、150rpm で振盪してふ化させた。

結果の判定 受精48時間後に各ウェルの死亡卵、異常ふ化仔魚（形態異常魚および死亡魚）および正常ふ化仔魚を実体顕微鏡下で計数した。ふ化日翌日（受精後68時間）までに生残しているがふ化していない卵を未ふ化生残卵とした。ウェルごとに正常ふ化率（正常ふ化仔魚数/供試卵数×100）および未ふ化生残卵出現率（未ふ化生残卵数/供試卵数×100）を算出し、3ウェルの平均値、不偏標準偏差を求めた。

結 果

1 ウェル当りの卵数は20~170粒とばらつきがあったが、ふ化への影響は認められなかった ($p = 0.215$)。

各発生段階におけるオキシダント濃度別の正常ふ化率を図1に示した。正常ふ化率は、受精直後が77.0~88.3%，桑実期で85.1~89.0%，胞胚期88.6~93.2%，囊胚前期83.1~95.2%，胚体形成直後89.4~91.7%および心拍開始時94.3~98.0%であった。そのうち桑実期、胞胚期、胚体形成直後および心拍開始時においてはオキシダント濃度による差は認められなかった。一方、受精直後および囊胚前期においては、オキシダント濃度0.8mg/ℓでの正常発生率がそれぞれ77.0%、83.1%となり、対照区としたオキシダント濃度0mg/ℓの88.3%、95.2%に比べて有意な低下が認められた ($p < 0.05$)。

未ふ化生残卵の出現率を図2に示した。各発生段階での未ふ化生残卵出現率は、受精直後が0.0~8.4%，桑実期で0.0~2.2%，胞胚期0.0~0.9%，囊胚前期0.0~3.6%，胚体形成直後0.0~0.9%および心拍開始時0.8~1.8%であった。受精直後および囊胚前期においてオキシダント濃度0.8mg/ℓ処理で未ふ化生残卵の出現率が高くなる傾向が認められ、特に受精直後ではオキシダント濃度0~0.5mg/ℓ処理に比べて0.8mg/ℓ処理で有意に高くなった ($p < 0.01$)。

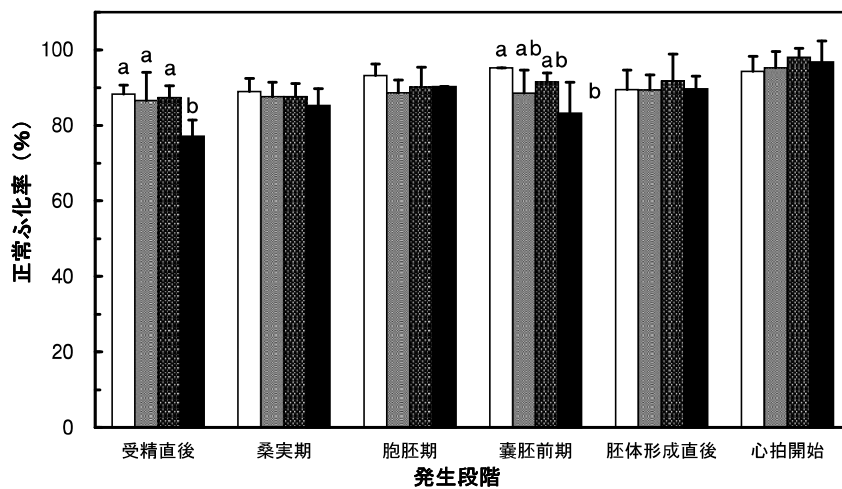


図1 アカアマダイ受精卵の各発生段階におけるオキシダント濃度と正常ふ化率の関係

バーは平均値の標準偏差，異なるアルファベットは有意差 ($p < 0.05$) を示す。

□0mg/ℓ ■0.3mg/ℓ ■0.5mg/ℓ ■0.8mg/ℓ

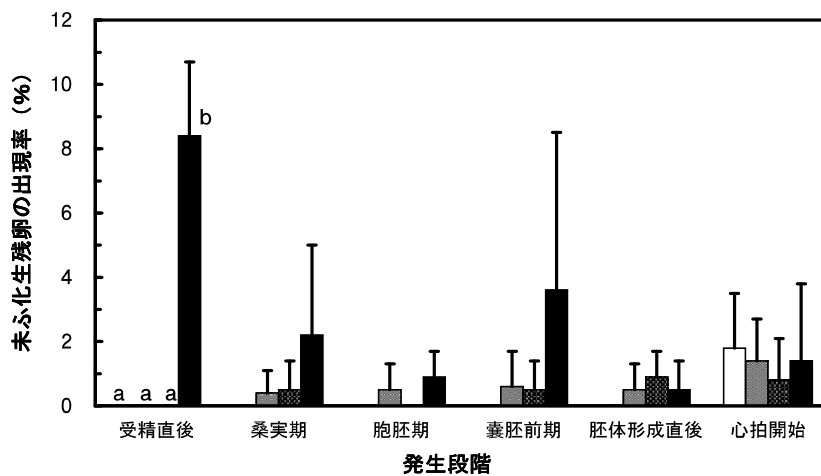


図2 アカアマダイ受精卵の各発生段階におけるオキシダント濃度と未ふ化生残卵の出現率の関係

バーは平均値の標準偏差，異なるアルファベットは有意差 ($p < 0.01$) を示す。

□0mg/ℓ ■0.3mg/ℓ ■0.5mg/ℓ ■0.8mg/ℓ

考 察

VNN ウイルスはオキシダント濃度0.5mg / ℓ, 30秒間の処理で不活化が認められる⁹⁾。本試験では、オキシダント濃度を0.3~0.8mg / ℓ, 浸漬時間1分に設定して卵への影響を検討したところ、正常ふ化率は77.0~98.0%と全体的に高く、この範囲内ではオキシダントがアカアマダイ受精卵のふ化に与える影響はそれほど大きくないものと推察された。しかし、受精直後および囊胚期における0.8mg / ℓ処理で正常ふ化率の有意な低下が認められた。また、0.8mg / ℓ処理では受精直後で未ふ化生残卵の出現率が有意に高く、オキシダントの影響と考えられた。

オキシダントに対する受精卵の耐性は、これまでにシマアジ⁹⁾、ヒラメ¹⁰⁻¹¹⁾、マツカワ¹²⁾、マハタ¹³⁾、ハマフエフキ¹⁴⁾等で検討され、オキシダント濃度の上昇や曝露時間に伴うふ化率の低下や、発生段階による感受性の違いが報告されている。ヒラメおよびマツカワでは、オゾン処理によるオキシダント海水を用いて卵消毒に適した発生段階について検討し、ヒラメでは胞胚期から心拍開始時において未ふ化生残卵の出現率が高くなること¹⁰⁾、マツカワでは受精直後、胚体形成期においてふ化率の低下が認められ、ふ化に影響を及ぼさずに卵消毒を行うには、桑実期から胞胚期が望ましいことが報告されている¹²⁾。また、ハマフエフキでは電解処理によるオキシダント海水を用いて検討し、初期桑実期および胚体形成期以降において、オキシダント海水への浸漬時間の増加に伴ってふ化率が低下し、オキシダントに対する感受性が低い胞胚期および囊胚期での卵消毒が望ましいとしている¹⁴⁾。

アカアマダイでは、受精直後、囊胚前期でオキシダント濃度が高くなるにしたがって正常ふ化率が有意に低くなる傾向が認められ、マツカワと同様に受精直後にオキシダントに対する感受性が高かったが、マツカワでふ化率の低下が認められた胚体形成期でなく、1段階前の発生段階である囊胚前期にふ化率の低下が認められるなど、他の魚種とのオキシダントに対する感受性の違いが認められた。

卵消毒による受精卵への影響としては他にヨード剤を用いた試験が多数報告されている¹⁵⁻²⁰⁾。ヒラメでは発生段階による影響を調査し、受精直後とふ化直前においてふ化率の低下や異常ふ化率の上昇を報告している¹⁵⁾。シマアジでは、4細胞期から発眼期にかけて検討した結果、発眼期にふ化率が低下する傾向が認められ¹⁶⁾、虫明ら¹⁷⁾は卵消毒を行う発生段階として、桑実期から発眼期の間が望ましいと報告している。虫明ら¹⁷⁾はその中で、桑実期以前および発眼期以降にハンドリングによる物理的損傷による影響を指

摘している。アカアマダイにおいても、対照区とした0 mg / ℓ処理において、心拍開始時に未ふ化生残卵の増加が認められており、ハンドリングの影響の可能性も考えられる。

本試験結果から、オキシダント海水によりアカアマダイの卵消毒を行う場合、囊胚期を除く桑実期から心拍開始期では、VNN ウイルスの不活化が可能なオキシダント濃度0.5~0.8mg / ℓ, 浸漬時間1分間で正常ふ化率に影響しないことが明らかとなった。一方、アカアマダイのふ化仔魚はハンドリングに弱く、ふ化仔魚での収容は困難とされている²¹⁾。そのため、実際の種苗生産試験では胚体形成期の卵を飼育水槽へ収容している。したがって、アカアマダイの卵消毒を行う場合、受精卵のハンドリング回数を少なくする観点から、飼育水槽収容直前の胚体形成期に卵消毒を行うことが実用的であり効果的と考えられる。

文 献

- 1) 京都府水産事務所 (2007) 月別・魚種別単価。平成17年海面漁業生産高資料, 30-31.
- 2) 沖山宗雄 (1964) アカアマダイ *Branchiostegus japonicus japonicus* (HOUTTUYN) の初期生活史。日水研報告, 13, 1-14.
- 3) 本藤 靖・村上直人・渡辺 税・竹内宏行・藤浪祐一郎・津崎龍雄 (2001) 人工授精によるアカアマダイの種苗生産。栽培技研, 28, 73-79.
- 4) Nishioka, T., K. Mori, T. Sugaya, H. Takeuchi, T. Tsuzaki, S. Masuma and M. Oka (2006) Epidemiological surveillance and prevention of viral nervous necrosis in red tilefish, *Branchiostegus japonicus*. Book of abstracts VNN2006 FIRST INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON VIRAL NERVOUS NECROSIS OF FISH, p.20.
- 5) 竹内宏行 (2007) ウイルス病を水際で防ぐ〜アカアマダイ親魚の選別によるウイルス性神経壊死症 (VNN) の垂直感染防除〜。豊かな海, 社団法人全国豊かな海づくり推進協会, 13, 12-14.
- 6) 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.
- 7) 藤浪祐一郎・竹内宏行・津崎龍雄・太田博巳 (2003) アカアマダイ漁獲鮮魚から採取した精巢精子の運動活性と冷蔵保存。日水誌, 69, 162-169.
- 8) 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.
- 9) 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. 33-37.
- 10) 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.
- 11) 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.
- 12) 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. 45-48.
- 13) 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.
- 14) 井手健太郎・手塚信弘・二階堂英城・武部孝行・升間主計 (2004) 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. 栽培漁業センター技報, 2, 100-103.
- 15) 佐藤 修・村上啓士・水呉 浩・木村 淳・米司 隆・伏見 徹 (1994) ポビドンヨード剤によるヒラメ卵の耐性. 広島県栽培漁業協会事業報告, 13, 83-87.
- 16) 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. 29-32.
- 17) 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.
- 18) 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.
- 19) 太田健吾・堀田卓朗・渡辺研一 (2005) ポビドンヨード剤がオニオコゼ卵のふ化と生菌数に及ぼす影響. 栽培漁業センター技報, 3, 61-67.
- 20) 堀田卓朗・西 明文・加治俊二・渡辺研一 (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. 栽培漁業センター技報, 6, 9-12.
- 21) 奥村重信 (1988) 種苗生産技術の開発, 新しい栽培種として期待される魚類, アカアマダイ. 日本栽培漁業協会事業年報 (昭和61年度), 208-209.