

クロマグロ稚魚の輸送とハンドリングに伴う大量死について

石橋泰典

(養殖グループ)

近畿大学大学院農学研究科

* isibasi@nara.kindai.ac.jp

クロマグロ *Thunnus orientalis* の大量生産には様々な問題が存在し、とりわけ、種苗生産、養殖過程に起こる大量死の発生防止法の開発が最優先課題の一つとされている¹⁻³⁾。著者らは、これまでに衝突死、輸送直後の大量死等のクロマグロ稚魚の養成過程で発生する様々な問題に取り組み、その発生原因を様々な角度から検討した⁴⁾。その結果、クロマグロ稚魚は夜間に水槽壁面や網に接触、または衝突して大量死を引き起こすこと、暗順応下における光感度が、マダイ、トラフグ、マハタおよびカンパチなどの、国内で飼育される4種の養殖魚に比べて極めて低いこと等を明らかにした⁵⁾。また、電気生理学的にクロマグロ、マサバおよびシマアジの網膜電図を暗順応下で測定した結果、マサバおよびクロマグロのサバ科魚類の光感度が、シマアジに比べて十倍ほど低いことが確認された^{6,7)}。さらに、クロマグロの動体視に相当する夜間の時間分解能は、衝突死を起こさないマサバのそれよりも顕著に低いことが示された。すなわち、クロマグロ稚魚は、夜間の光感度が低い上に、動いているものを見分ける時間分解能が劣るため、新しい水槽や生簀に収容したり、夜間に高速で遊泳した場合、さらに、水が濁っている場合には、水槽壁面や網を十分に認知できずに衝突すると考えられた。

クロマグロ稚魚の輸送後におこる大量死は、低い

夜間視によることが示唆されたので、この対策として夜間に生簀の電照を行ったところ、大量死を軽減できることがわかった⁵⁾。しかし、施設の電照を行っても輸送直後に大量死を引き起こし、それらに皮膚損傷が観察される場合が多い(Fig. 1)。ところが、この現象は魚の大きさや取り扱い方法によって大きく異なるばかりか、最近では同様の方法で輸送しても被害の全く見られないこともある。クロマグロ稚魚は元来、皮膚が弱く、取り扱いが困難とされてきたが⁸⁾、その詳細は詳しく検討されていない。

そこで本研究は、クロマグロ稚魚の輸送技術を改善するため、近畿大学水産研究所大島実験場で飼育された稚魚を用い、生残率およびストレス反応に及ぼすハンドリング時間や方法の影響を調べた。また、取り扱い方法を変えて輸送した稚魚の生残率やストレス反応の影響についても詳しく検討した。



Fig. 1. 輸送翌日の死亡魚の皮膚状況

材料および方法

実験 I 稚魚の発育に伴うハンドリング耐性の変化

輸送の積み込み・積み下ろしの際に、網で魚を取り扱うハンドリングの影響を検討した。すなわち、様々な大きさの稚魚を目合い 2 mm の手網で 2 秒間ハンドリングして輸送水槽に 1 時間放置した後、再度 2 秒間のハンドリングを実施して、24 時間後の生残率を測定した。対照区には釣りあるいはボールで水ごと掬い取って、ハンドリング区との生残率を比較した。

実験 II 取扱い方法の違いが、全魚体のコルチゾルおよび遊離グルコース含量に及ぼす影響

29 日令の稚魚(TL: 3.4 ± 0.2 cm, BWt: 0.4 ± 0.1 g)をボールで水ごと掬い取って、1 t 水槽に收容した対照区と、目合い 2 または 0.5 mm の手網で取り上げ、5 秒間空中に乾出してから同様に收容したハンドリング区を設け、3 時間後に供試魚を採取し、全魚体のコルチゾルおよび遊離グルコース含量を測定した。

実験 III 取り扱い後のストレス反応の比較

29 日令の稚魚(TL: 3.2 ± 0.3 cm, BWt: 0.4 ± 0.1 g)をボールで水ごと掬い取り、小型水槽へ收容した対照区と、目合い 2 mm の手網で取り上げた後、5 秒間空中に乾出し收容したハンドリング区を設け、経過時間毎に供試魚を採取し、全魚体のコルチゾルおよび遊離グルコース含量の測定に供した。

実験 IV ハンドリングと輸送との関係

33 日令の稚魚(TL: 4.7 ± 0.3 cm, BWt: 1.0 ± 0.2 g)をボールまたは手網を使って 1 t 水槽にそれぞれ收容し、7 時間の車輻輸送を行った。なお、輸送水槽は各処理にそれぞれ 3 水槽ずつ設け、輸送中および輸送後の数

時間毎に、生残率を求めるとともに供試魚を採取した。各供試魚における全魚体のコルチゾルおよび遊離グルコース含量を測定した。

測定項目および分析

凍結保存した全魚体試料を、5 倍量の冷蒸留水とともにグラスホモジナイザーでホモジネートし、その一部を全魚体コルチゾル含量の測定に供した。試料は、エーテル抽出した後に四塩化炭素を加えて妨害物質を除き、コルチゾル含量をエンザイムイムノアッセイで測定した。一次抗体は、魚類のコルチゾルと高い反応を示す抗ウサギコルチゾル抗体 (FKA404-E, Cosmo Bio 製)、二次抗体は、ヤギ抗ウサギ IgG 抗体(Cappel Research Reagents, ICN, Temecula, CA)、標識コルチゾルは、ホースラディッシュペルオキシターゼで標識したコルチゾル-3-CMO-HRP (FKA403, Cosmo Bio 製)をそれぞれ用い、POD (ELISA POD 基質 OPD キット, ナカライテスク製)を基質として発色させた。発色後の試料液は、プレートリーダー(model 550; Bio-Rad Laboratories, Inc., Richmond, CA)を用いて、450nm の吸光度を測定した。

残りのホモジネートを遠心分離して上澄を採取し、全魚体の遊離グルコース含量の測定に供した。グルコース含量は、グルコース C II テストワコー(和光純薬)を用いて 490nm の吸光度をそれぞれ測定した。

統計処理 各測定値は Bartlett's test で分散の検定を行ない、統計的有意差のない場合には ($p > 0.05$), 一元配置分散分析, または二元配置分散分析の後に, Tukey 法で有意差を検定した。

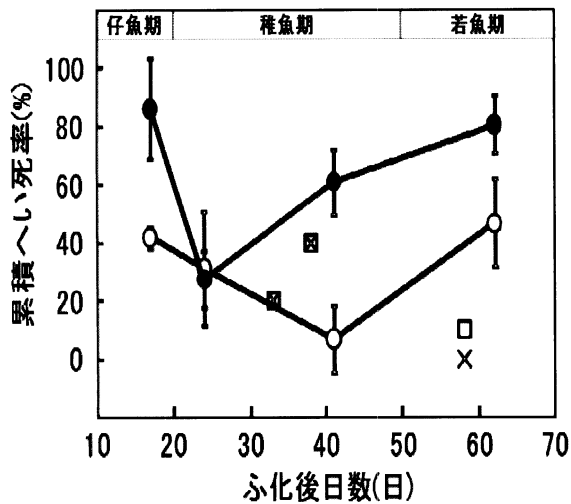


Fig. 2. クロマグロのハンドリング耐性と日令との関係

●, ×: 2秒間のハンドリング後に水槽内で1時間放置し, 再び2秒間のハンドリングを行って 24 時間後の生残率を測定, ○, □: 釣り, またはボールを使って輸送し, 24 時間後の生残率を測定. ●と○, ×と□は同じ年度の比較

結果

実験 I 稚魚の発育に伴うハンドリング耐性の変化
クロマグロはわずか 2 秒間のハンドリングを 2 回実施しただけで, 翌日に 50%以上へい死することがわかった(Fig. 2, ○, ●)。しかし, 25 日令付近の稚魚期初期にはハンドリングの影響がそれほど認められなかった。

また, 親魚群の異なる稚魚を餌料の種類を変えて飼育し, 同様の 2 秒間のハンドリング実験を実施したところ, 33 日令~58 日令の稚魚でもハンドリングの影響はほとんどみられなかった(Fig. 2, ×, □)。

実験 II 取扱い方法の違いが, 全魚体のコルチゾルおよび遊離グルコース含量に及ぼす影響

ハンドリングとボールで水とともに掬い取った魚の, 全魚体コルチゾルおよび遊離グルコース含量の変化を Table 1 に示した。水とともに掬い取った場合,

全魚体のコルチゾルおよび遊離グルコース含量は, 開始時と差異がなかったが, ハンドリングした場合は, いずれも開始時および対照区のそれらより高い傾向を示し, 遊離グルコース含量に有意な区間差が認められた。

表1. クロマグロ全魚体のコルチゾルおよび遊離グルコース含量に及ぼす取扱い方法の影響

取扱い方法 ^{*1}	コルチゾル含量 (ng/g wet)	グルコース含量 (ug/g wet)
開始時	3.8 ± 0.9 ^{*2}	854 ± 55 ^a
ボールで移動	3.5 ± 0.5	852 ± 54 ^a
目合2mネットで移動	4.3 ± 0.9	1181 ± 229 ^b
目合0.5mmネットで移動	7.4 ± 3.7	1129 ± 24 ^{ab}

*1 各取扱い時間は5秒。

*2 平均±標準偏差, n=3。

^{ab} 異なる文字間に有意差あり (p<0.05)

実験 III 取り扱い後のストレス反応の比較 ハンドリングによるへい死魚の増加は観察されなかった。Fig. 3 に示したように, ハンドリング区における移動直後の全魚体コルチゾル含量は, ボールで水ごと掬い取った魚よりも高くなる傾向を示したが, 逆に, 12 時間以降は低下する傾向を示した。また, 全魚体の遊離グルコース含量は, ハンドリング後の 3 時間後まで高い傾向にあったが, 試験区間に有意差はみられなかった。

実験 IV ハンドリングと輸送との関係 ハンドリング後に輸送した場合の生残率は, 対照区のそれよりも顕著に低く, 60 時間後には全滅した。また, 輸送後におけるハンドリング区のコルチゾル含量は有意に上昇し, 対照区との間に有意差が認められた。以上の結果, 本実験条件下では, クロマグロの輸送中および輸送後のへい死は, 主にハンドリングに起因することが示唆された。

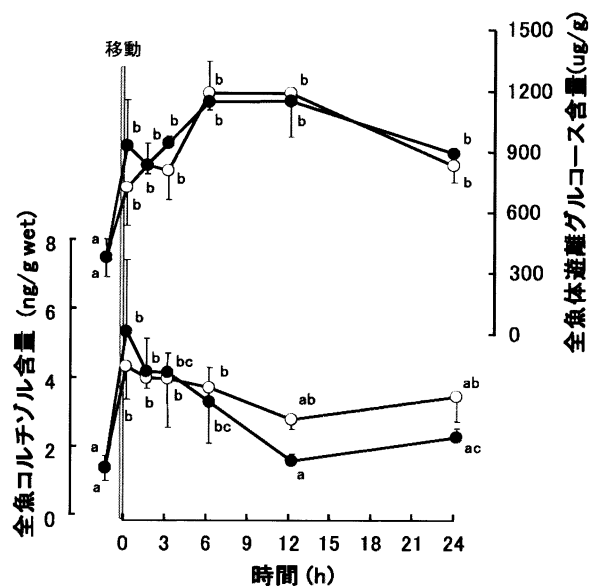


Fig. 3. クロマグロ稚魚のハンドリングと移動に伴うストレス反応の変化。

○; ボールで移動, ●: 5秒のハンドリングを伴って移動. abc 異なる文字間に有意差あり ($p < 0.05$)

考 察

25日令までのクロマグロは、わずか2秒間のハンドリングを2回実施しただけで、翌日に50%以上がへい死することがわかった(実験I, Fig. 2, ○と●)。マダイなどの養殖魚が50%斃死するのに必要なハンドリング時間は、数分から十数分程度であることを考慮すると、クロマグロのハンドリング耐性はかなり低く、皮膚が非常に弱いことに留意する必要があることが示唆された。しかし、25日令付近の稚魚期初期にはハンドリングの影響がそれほどないことが示され(実験I, Fig. 2, ○と●, 実験II), 発育に伴ってハンドリング耐性の上昇することが示された。

しかし、親魚群の異なる稚魚を餌料の種類を変えて飼育し、同様の2秒間のハンドリング実験を実施したところ、33日令～58日令の稚魚でもハン

ドリングの影響はほとんどみられなかった(実験I, Fig. 2, ×と□)。親魚群、飼育環境水中の病原体、餌料などの差異、特に、生餌を使用する場合には、ハンドリングの影響を大きく受ける傾向にある。その詳細については、今後詳しく検討する必要がある。

ストレス反応について比較すると、全魚体コルチゾールおよび遊離グルコース含量は、ハンドリング直後に増加したが、その数時間後には取り扱い方法による差がみられなくなった(実験II, Table 1, 実験III, Fig. 3)。しかし、生簀に収容した翌日には顕著なストレス反応を示すことも報告されており⁵⁾、長期にわたってハンドリングの影響を検討する必要もある。

実験IVより、ハンドリング後に輸送した魚の生残率は、対照区のそれよりも顕著に低下し、コルチゾールストレス反応が高まっていることが示唆された。実験IIのハンドリングに対する魚の生残率やストレス反応に、顕著な区間差がみられなかったため、ハンドリングと輸送のストレスが重複した際に、生残率が著しい影響を受けることが推察された。

謝 辞

本研究の実施にあたり、ご協力を頂きました近畿大学水産研究所大島実験場の方々、並びに水産増殖学研究室の教職員、学生諸氏に深謝致します。

文 献

- 1) Kumai, H. (1997). Present state of bluefin tuna aquaculture in Japan. *Suisanzoshoku* 45, 293-297.
- 2) 宮下盛 (2002). クロマグロの種苗生産に関する研究. 近畿大学水産研究所報告 8, 1-171.

- 3) Sawada, Y., Okada, T., Miyashita, S., Murata, O., and Kumai, H. (2005). Completion of the Pacific bluefin tuna (*Thunnus orientalis*) (Temminck et Schlegel) life cycle. *Aquaculture Research* 36, 413-421.
- 4) Ishibashi, Y., R. Matsuura, T. Suzuki, and Matsumoto, T. (2008). Environmental physiology of cultivated fish.
- 5) Ishibashi, Y., Honryo, T., Saida, K., Hagiwara, A., Miyashita, S., Sawada, Y., and Okada, T. (2009). Artificial lighting prevents high night-time mortality of juvenile Pacific bluefin tuna, *Thunnus orientalis*, caused by poor scotopic vision. *Aquaculture* 293, 157-163.
- 6) Matsumoto, T., Ihara, H., Ishida, Y., Okada, T., Kurata, M., Sawada, Y., and Ishibashi, Y. (2009). Electroretinographic Analysis of Night Vision in Juvenile Pacific Bluefin Tuna (*Thunnus orientalis*). *Biol Bull* 217, 142-150.
- 7) Matsumoto, T., Ihara, H., Ishida, Y., Yamamoto, S., Murata, O., and Ishibashi, Y. Spectral sensitivity of juvenile chub mackerel (*Scomber japonicus*) in visible and ultraviolet light. *Fish Physiology and Biochemistry*, in press.
- 8) 原田照雄, 熊井英水, 水野兼八郎, 修, 村., 中村元二, 盛, 宮., and 古谷秀樹 (1971). クロマグロ稚魚の飼育について. 近畿大学農学部紀要 4, 153-156.