

### 養殖衛生管理指導事業 (南部水域)

### 養殖衛生管理体制の整備 (国庫交付金)

村瀬直哉・木本圭輔・吉井啓亮・福田 穣

### 事業の目的

食品の安全性に対する消費者の要求の高まりか ら、養殖水産物に関しては、医薬品の使用状況、飼 料の給餌状況、養殖漁場環境等について関心が寄せ られている。国内の魚類防疫体制は持続的養殖生産 確保法に基づいて整備されているが、特定疾病(レ ッドマウス病等)の国内への侵入や、血清型変異(レ ンサ球菌症) によるワクチン効果の低下等、魚病の 態様は様々に変化している。これらの状況に臨機応 変に対応するため、養殖現場の巡回指導、養殖生産 者に対する医薬品適正使用の指導、食品衛生等に対 応する養殖衛生管理技術の普及、養殖場の調査・監 視,薬剤耐性菌の実態調査等を行う必要がある。本 事業の目的は、養殖生産物の安全性を確保し、健全 な養殖魚の生産に寄与するため、疾病対策および食 品衛生に対応した養殖衛生管理体制の整備を推進す ることである。

### 事業の内容および結果

### I 総合推進対策

- 1. 全国会議(表1)
- 2. 地域検討会 (表2)
- 3. 県内会議(表3)

### Ⅱ 養殖衛生管理指導

- 1. 医薬品の適正使用の指導(表4)
- 2. 適正な養殖管理・ワクチン使用の指導(表5)
- 3. 養殖衛生管理技術の普及・啓発
  - 1)養殖衛生管理技術講習会(表6)

### Ⅲ 養殖場の調査・監視

- 1. 養殖資機材の使用状況調査(表7)
- 2. 薬剤耐性菌の実態調査 (表8)

### Ⅳ 疾病対策

- 1. 疾病監視対策 (表9)
- 2. 疾病発生対策 (表10)

### 表1 全国会議

実施時期	実施場所	構成員	内容
2020年			
3月6日	東京都	農林水産省	・水産防疫対策の実施状況等
		(公社)日本水産資源保護協会	・ 令和元年度水産防疫対策委託事業の結果概要
	水産研究•教育機構		•令和2年度予算概要
		47都道府県	・ 魚病対策の迅速化に向けた取組について ・ その他

<sup>※</sup>新型コロナウイルス(COVID-19)感染拡大防止のため書面開催とした

### 表2 地域検討会

実施時期	実施場所	構成員	内容
2019年			
11月5~6日	沖縄県	山口県, 福岡県, 佐賀県, 長崎県,	第39回 九州・山口ブロック魚病分科会
		熊本県,大分県,宮崎県,鹿児島県,	・九州・山口ブロック各県の魚病発生状況と対応
		沖縄県	・その他
2020年			
2月26~27日	宮崎県	高知県, 愛媛県, 大分県, 熊本県,	令和元年度 南中九州•西四国水族防疫会議
		宮崎県, 鹿児島県、	・南中九州・西四国ブロック各県の魚病発生状況と対応
			・その他

<sup>※</sup>令和元年度南中九州・西四国水族防疫会議については新型コロナウイルス(COVID-19)感染拡大防止のため書面開催とした

### 表3 県内会議

実施時期	実施場所	構成員	内容
2019年			
6月6日	佐伯市(上浦)	海産魚類養殖関係漁業協同組合支店 臼杵市, 津久見市, 佐伯市 中部振興局, 南部振興局 農林水産研究指導センター 農林水産研究指導センター水産研究部	魚病担当者会議 ・魚病診断状況と対応 ・水産用医薬品の適正使用

### 表4 医薬品の適正使用指導

実施時期	実施場所	対象者(人数)	内容
2019年4月1日~			
2020年3月31日	佐伯市(上浦)	海産魚類養殖漁家(延97名)	水産用抗菌剤使用指導書の発行
(随時)			

### 表5 適正な養殖管理・ワクチン使用の指導

実施	時期	実施場所	対象者(人数)	内容
2019年				
	5月29日	佐伯市(上浦)	海産魚類養殖漁家(4名)	注射ワクチン接種技術講習会
2019年				
	7月29日	7月29日 佐伯市(鶴見) 海産魚類養殖漁家(13名)		注射ワクチン接種技術講習会
2019年4月	2019年4月1日~			
		佐伯市(上浦)	海産魚類養殖漁家(延91名)	水産用ワクチン使用指導書の発行

### 表6 養殖衛生管理技術者講習会

実施時期	実施場所	対象者(人数)	内容
2019年			
7月5日	佐伯市	海産魚類養殖業者 関係漁業協同組合支店, 関係振興局等(60名)	水産用医薬品と魚病対策
2019年			
8月23日	豊後高田市 (呉崎)	水産振興課 東部振興局、中部振興局、北部振興局	魚病診断と対策の基礎
		農林水産研究指導センター水産研究部北部水産グループ(19名)	
2019年			
11月25日	佐伯市(下入津)	水産振興課	陸上養殖魚種の魚病対策
		海産魚類養殖業者	
		海産魚類養殖関係漁業協同組合支店	
		農林水産研究指導センター水産研究部(9名)	

### 表7 養殖資機材の使用状況調査

実施	実施時期 実施場所		対象資機材	内容			
2020年							
	1月17日	佐伯市(蒲江)	水産用医薬品	水産用医薬品使用実態調査			
2020年							
	3月2日	佐伯市(蒲江)	水産用医薬品	水産用医薬品使用実態調査			

### 表8 薬剤耐性菌の実態調査

実施時期	実施場所	対象魚	内容
		ブリ類 (調査対象地域:豊後水道沿岸)	細菌分離とディスク法による感受性測定 Vibrio anguillarum (5株) Photobacterium damselae (5株) Lactococcus garvieae (48株)
2019年4月1日~ 2020年3月31日	佐伯市 (上浦)	ヒラメ (調査対象地域:豊後水道沿岸)	細菌分離とディスク法による感受性測定 Edwardsiella tarda (33株) Lactococcus garvieae (1株) Streptococcus iniae (17株)
		その他海産魚類 (調査対象地域:豊後水道沿岸)	細菌分離とディスク法による感受性測定 Vibrio anguillarum (6株) Photobacterium damselae (17株) Lactococcus garvieae (61株)

表9 疾病監視対策

実施時期	実施場所	対象魚	内容	実施時期	実施場所	対象魚	内容
2019年				2019年			
4月2日	佐伯市(蒲江)	ブリ類,ヒラメ,	養殖場の疾病調	11月 18日	佐伯市(鶴見)	輸入エビ	着地検査
		トラフグ他	査および魚病被 害状況の把握	11月21日	佐伯市(蒲江)	ブリ類,マダイ、 ヒラメ他	養殖場の疾病調 査および魚病被
4月5日	佐伯市(蒲江)	"	"				害状況の把握
4月12日	佐伯市(蒲江)	"	"	11月28日	佐伯市(佐伯)	"	"
4月 10日	佐伯市(蒲江)	"	IJ	12月 5日	佐伯市(蒲江)	"	"
5月13日	佐伯市(弥生)	IJ	IJ	12月11日	佐伯市(蒲江)	"	"
5月20日	津久見市	JJ	"	12月20日	佐伯市(佐伯)	"	"
5月23日	津久見市	JJ	"	2020年			
5月23日	佐伯市(上浦)	JJ	"	1月 9日	佐伯市(蒲江)	JJ	"
5月30日	佐伯市(蒲江)	JJ	"	1月22日	佐伯市(蒲江)	JJ	"
6月3日	津久見市	"	"	1月28日	佐伯市(佐伯)	"	"
6月10日	佐伯市(弥生)	"	JJ	1月29日	佐伯市(蒲江)	"	"
6月14日	佐伯市(蒲江)	"	"	1月31日	佐伯市(蒲江)	"	"
6月28日	佐伯市(蒲江)	"	"	2月4日	佐伯市(蒲江)	"	"
7月3日	佐伯市(佐伯)	"	"	2月 5日	佐伯市(蒲江)	"	"
6月30日	佐伯市(鶴見)	"	"	2月6日	臼杵市	"	"
7月3日	佐伯市(米水津)	JJ	II.	2月 10日	佐伯市(蒲江)	"	"
7月8日	佐伯市(米水津)	"	"	2月14日	佐伯市(蒲江)	"	"
7月13日	佐伯市(鶴見)	輸入エビ	着地検査	2月 18日	佐伯市(佐伯)	"	"
7月18日	佐伯市(蒲江)	ブリ類,ヒラメ,	養殖場の疾病調	2月 19日	佐伯市(佐伯)	"	"
		トラフグ他	査および魚病被	2月28日	佐伯市(蒲江)	"	"
			害状況の把握	3月3日	佐伯市(蒲江)	"	"
7月30日	佐伯市(鶴見)	JJ	"	3月4日	佐伯市(鶴見)	"	"
8月2日	佐伯市(蒲江)	JJ	"	3月5日	佐伯市(蒲江)	"	"
8月30日	佐伯市(蒲江)	JJ	"	3月9日	佐伯市(佐伯)	"	"
9月 18日	佐伯市(佐伯)	JJ	"	3月18日	佐伯市(蒲江)	"	"
10月7日	佐伯市(佐伯)	JJ	"	3月24日	佐伯市(蒲江)	JJ	"
10月9日	佐伯市(鶴見)	JJ	"	3月26日	佐伯市(蒲江)	JJ	"
10月 15日	佐伯市(蒲江)	JJ	"	3月30日	佐伯市(蒲江)	JJ	JJ
10月17日	佐伯市(鶴見)	JJ	"				
10月 24日	津久見市	IJ	"				
11月1日	佐伯市(蒲江)	JJ	"				

### 表10 疾病発生対策

実施時期	実施場所	対象魚	内容
2019年4月1日~			
2020年3月31日	佐伯市(上浦)	ブリ類,マダイ,ヒラメ他	疾病検査および対策指導
		(調査対象地域:豊後水道沿岸)	ブリ類(103件), マダイ(13件), ヒラメ(135件), トラフグ(60件), シマアジ(42件), クロマグロ(12件), カワハギ(44件)

### V 疾病診断状況

- 1.病害相談および診断件数 相談件数は1117件(対前年度比140%)、診断件数は440件(132%)であった(表11)。疾病原因別にみると、ウイルス病が42件(全体の10%)、細菌病が183件(43%)、寄生虫病が81件(19%)、その他が5件(1%)、原因不明が98件(23%)、健康診断が18件(4%)であった。
- 2. **魚種別疾病診断件数** 魚種別診断件数はヒラメ 135件(全体の31%)、ブリ65件(15%)、トラフグ60 件(14%)、カワハギ44件(10%)、シマアジ42件

(10%)、カンパチ25件(6%)、クロマグロ15件(3%)、マダイ13件(3%)、ヒラマサ13件(3%)の順に多かった。魚種別の特記事項は以下のとおりである。

- 1) ブリ類 診断件数はブリ、ヒラマサで増加(対前年度比133%および130%)したが、カンパチで減少 (96%)して、全体でやや増加 (121%)した (表12)。 ブリとカンパチではLactococcus garvieae Ⅱ型によるレンサ球菌症が最も多かった。また、ブリ類では4年ぶりに類結節症がみられた。
- 2) マダイ 診断件数は13件に減少(59%)した(表

- 13)。エピテリオシスチス症や自点病がみられた。
- 3) **ヒラメ** 診断件数は135件に増加(159%)した (表14)。エドワジエラ症(50件)、滑走細菌症(13 件)、*Streptococcus iniae*によるレンサ球菌症(13件)、 スクーチカ症(11件)およびウイルス性出血性敗血 症(7件)がみられた。
- **4) トラフグ** 診断件数は60件に増加(136%)した (表15)。疾病別ではヘテロボツリウム症の診断が最も多かった(12件)。また、粘液胞子虫性やせ病が7件みられ、原因虫の内訳は*Enteromyxum leei*が4件、*Sphaerospora fugu*が2件、両種寄生が1件であった。
- 5) シマアジ 診断件数は42件に増加 (382%) した (表16)。疾病別ではマダイイリドウイルス病が17件と最も多く、シマアジに使用できるワクチンの販売終了が影響しているかもしれない。
- 6) その他の海産魚類 その他の魚類ではカワハギ の診断件数が44件で最も多かった (表17)。 *L. garvieae* I 型によるレンサ球菌症が17件で多く、次いでパスツレラ症が12件みられた。
- 7) 淡水魚類 水産研究部の組織再編により、2019 年度から県南部域の淡水魚類の診断も当部で実施することとなった。診断はアユの6件で、冷水病(2件) や異形細胞性鰓病(1件)が見られた(表19)。

表11 病害相談件数および診断件数\*

	2019/4	5	6	7	8	9	10	11	12	2020/1	2	3	計
相談件数	46	48	114	130	115	92	138	115	98	103	57	61	1117
	(41)	(72)	(58)	(100)	(77)	(109)	(59)	(89)	(70)	(51)	(26)	(40)	(792)
診断件数	17	19	42	47	48	35	59	50	40	36	23	24	440
	(13)	(30)	(20)	(36)	(31)	(47)	(26)	(36)	(31)	(17)	(7)	(16)	(310)

\*( )は前年度

表12 ブリ類診断状況

魚種名	疾病名	2019/4	5	6	7	8	9	10	11	12	2020/1	2	3	計
ブリ														
	マダイイリドウイルス病				1			1						2
	ビブリオ病( $V$ .anguillarum)			2										2
	類結節症				3									3
	細菌性溶血性黄疸					1	1							2
	レンサ球菌症(L.g. type I )		1		2						1			4
	レンサ球菌症( <i>L.g.</i> type II )					5	8	5	5		2			25
	ノカルジア症							4	1					5
	べこ病			1										1
	ヘテラキシネ症			1										1
	住血吸虫症				2									2
	吸虫性旋回病				1	1								2
	鰓カリグス症				1									1
	不明		1	2		2	1	3	2			2	2	15
ブリ小言	†	0	2	6	10	9	10	13	8	0	3	2	2	65
ヒラマサ														
	マダイイリドウイルス病					1	1							2
	ウイルス性腹水症				1									1
	エピテリオシスチス病								1					1
	類結節症				1			,						1
	滑走細菌症							1	1	1				1
	レンサ球菌症(L.g. type I)								1	1				2
	レンサ球菌症( <i>L.g.</i> type <b>Ⅱ</b> ) 筋肉微胞子虫症		1					1						1
	筋肉倾胞于虫症 筋肉線虫症		1 1											1 1
	肋肉椒虫症 不明		1	1	1									2
ヒラマサ小言		0	2	1	3	1	1	2	2	1	0	0	0	13
カンパチ	1	U	2	1	3	1	1	2	2	1	U	U	U	13
73 27 ( )	エピテリオシスチス病						1							1
	類結節症					1	1							1
	<sup>規制提</sup> レンサ球菌症( <i>L.g.</i> type I )					1				1	1			2
	レンサ球菌症( <i>L.g.</i> type II )						1		1	1	2			5
	ノカルジア症						1		2	•	1			4
	カルファ			2			•		~					2
	住血吸虫症			1										1
	不明			3	2	2	1				1			9
カンパチ小言		0	0	6	2	3	4	0	3	2	5	0	0	25
ブリ類計		0	4	13	15	13	15	15	13	3	8	2	2	103

表13 マダイ診断状況

魚種名	疾病名	2019/4	5	6	7	8	9	10	11	12	2020/1	2	3	計
マダイ														
	エピテリオシスチス病	1		1	1		1							4
	トリコジナ症		1											1
	白点病			1	1				1					3
	ラメロジスカス症	1	1											2
	ビバギナ症				1									1
	不明												1	1
	健康診断			1										1
マダイ	計	2	2	3	3	0	1	0	1	0	0	0	1	13

表14 ヒラメ診断状況

魚種名	疾病名	2019/4	5	6	7	8	9	10	11	12	2020/1	2	3	計
ヒラメ														
	リンホシスチス病							1						1
	ウイルス性出血性敗血症	1	1								1	3	1	7
	ウイルス性神経壊死症								2					2
	ビルナウイルス病		2											2
	アクアレオウイルス感染症				2									2
	エドワジエラ症	1	3	6	4	3	3	9	5	5	5	2	4	50
	滑走細菌症	1			1	3		3	1	1	3			13
	レンサ球菌症(L. garvieae)								1					1
	レンサ球菌症(S. iniae)		1			4	1	1	4	1				12
	イクチオボド症	2		1	1				1	2	1		2	10
	スクーチカ症	1	2		1		1				1	1	1	8
	白点病								1					1
	ネオベネデニア症								1					1
	不明	3		3	4	5	1		2	2	3	1	1	25
ヒラメ計		9	9	10	13	15	6	14	18	11	14	7	9	135

表15 トラフグ診断状況

魚種名	疾病名	2019/4	5	6	7	8	9	10	11	12	2020/1	2	3	計
トラフグ														
	エピテリオシスチス病									1				1
	滑走細菌症				2						2		1	5
	イクチオボド症			1										1
	白点病							2			1			3
	トリコジナ症										1			1
	粘液胞子虫性やせ病								1	4	1		1	7
	ギロダクチルス症	1											1	2
	ヘテロボツリウム症							7	2	2	1			12
	栄養性疾病				1						1		1	3
	歯切り損傷					1								1
	不明	1		1	1	1	5	2	1	5	3	2		22
	健康診断					1						1		2
トラフグ計		2	0	2	4	3	5	11	4	12	10	3	4	60

表16 シマアジ診断状況

魚種名	疾病名	2019/4	5	6	7	8	9	10	11	12	2020/1	2	3	計
シマアジ														
	マダイイリドウイルス病				1			8	4	3		1		17
	レンサ球菌症( <i>L.g.</i> type I)				1	1	1	3	1	2				9
	レンサ球菌症( <i>L.g.</i> type II )					1		2	2	2		2		9
	ノカルジア症								1	2				3
	ネオベネデニア症													0
	皮膚カリグス症							1						1
	不明	1		1									1	3
シマアジ計		1	0	1	2	2	1	14	8	9	0	3	1	42

表17 その他の海産魚類診断状況

魚種名	疾病名	2019/4	5	<del>лц</del> л <u>т</u> .	7	8 8	9	10	11	12	2020/1	2	3	計
<u> </u>	//\/\!\/\	2017/7		0		U		10	11	12	2020/1		J	П
	不明			1										1
マアジ														
	環境性疾病												1	1
ブリモドキ	에나마스 그 나 나나 마시크는 요수 / /													
マサバ	微胞子虫性脳脊髄炎			1										1
( ) / (	レンサ球菌症( <i>L.g.</i> type I )			1										1
	不明			1	1									2
クロマグロ														
	マダイイリドウイルス病						1							1
	レンサ球菌症( <i>L.g.</i> type I )									2				2
イシダイ	健康診断	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	12
1231	マダイイリドウイルス病						1	1						2
	不明					1	•	•						1
イシガキダイ														
	マダイイリドウイルス病				1		1							2
メジナ														
タマカイ×クエ	不明			1										1
ダマカイヘジエ	不明		1											1
カワハギ	1.93		•											-
	ビブリオ病(V.anguillarum)			3								1		4
	パスツレラ症			1	5	4		1	1					12
	レンサ球菌症(L.g. type I)	1		1	1	2	1	1	1	1	2	4	2	17
	アミルウージニウム症 粘液胞子虫性やせ病					1			1					1
	和液胞子虫性やで病 シリトガリコヅツヒジキムシ症	Ē					1		1					1
	不明	1		1		1	1	1	1	1		1	1	8
ウマヅラハギ														
	パスツレラ症					1								1
	レンサ球菌症(L.g. type I )					1								1
	不明				1	3								4
その他の魚類計	健康診断	3	2	12	10	15	6	5	5	5	3	7	6	79
ての他の無類計		3		12	10	13	U	3	J	3	3	/	O	19

### 表18 海産無脊椎動物診断状況

種名	疾病名	2019/4	5	6	7	8	9	10	11	12	2020/1	2	3	計
アコヤガィ	1													
	不明						1		1					2
海産無脊椎	<b>進動物計</b>	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	2

### 表19 淡水魚類診断状況

h 45 b						_	_	4.0						<del></del>
魚種名	疾病名	2019/4	5	6	7	8	9	10	11	12	2020/1	2	3	計
アユ														
	異型細胞性鰓病			1										1
	冷水病											1	1	2
	不明		1											1
	健康診断		1								1			2
淡水魚類計		0	2	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	6

#### Ⅵ 水産用ワクチン使用状況

### 1. 注射ワクチン

- 1) 単味ワクチン ブリ属魚類のα溶血性レンサ球 菌症ワクチンは、ブリ、カンパチ、ヒラマサで使用 され、それぞれ指導書発行件数が42、9、4件、使用 経営体数が30、5、3経営体、投与尾数が2,361,000、 389,500、71,000尾、使用量が2,361、389.5、71Lで あった。このうち, L.garvieae I 型と II 型を含む2 価ワクチンの投与尾数は、ブリで約97.2%、カンパ チで75%、ヒラマサで約100%を占めた。β溶血性レ ンサ球菌症ワクチンは、カワハギで使用され指導書 発行件数は、1件、使用経営体数が1件、投与尾数が 10,000、使用量が1Lであった。また、ヒラメのβ溶 血性レンサ球菌症ワクチン、エドワジエラ症ワクチ ン、マダイイリドウイルス病ワクチン、ウイルス性 神経壊死症不活化ワクチンは使用実績がなかった。 2) 二種混合ワクチン ブリ属魚類のα溶血性レン サ球菌症およびビブリオ病ワクチンはブリ、カンパ チ、ヒラマサで使用され、それぞれ指導書発行件数 が3、2、4件、使用経営体数が3、2、4経営体、投与 尾数が200,00、15,000、52,000尾、使用量が200、15、52L であった。ヒラメのβ溶血性レンサ球菌症及びスト レプトコッカス・パラウベリス感染症(I, II 型)ワ クチンは、指導書発行件数が8件、使用経営体数が5 経営体、投与尾数が112,000尾、使用量が112Lであ った。ブリとカンパチのα溶血性レンサ球菌症及び
- 類結節症ワクチン,ブリ属魚類のα溶血性レンサ球菌症及びマダイイリドウイルス病ワクチン、マダイのβ溶血性レンサ球菌症及びマダイイリドウイルス病ワクチンは使用実績がなかった。
- 3) 三種混合ワクチン ブリ属魚類のα溶血性レンサ球菌症、ビブリオ病及びマダイイリドウイルス病ワクチンはブリとカンパチで使用され、指導書発行件数が5、3件、使用経営体数が4、3経営体、投与尾数が161,000、35,000尾、使用量が161、35Lであった。ブリとカンパチのα溶血性レンサ球菌症、ビブリオ病及び類結節症ワクチンはブリ類での使用実績が無かった。カンパチのα溶血性レンサ球菌症、ビブリオ病及びストレプトコッカス・ジスガラクチエ感染症不活化ワクチンは使用実績がなかった。
- 4) 四種混合ワクチン ブリ属魚類のα溶血性レンサ球菌症、ビブリオ病、類結節症及びマダイイリドウイルス病ワクチンはブリとカンパチで使用され、指導書発行件数が8、1件、使用経営体数が8、1経営体、投与尾数が336,000、16,000尾、使用量が336、16Lであった。

### 5) 経口ワクチン

ブリ属魚類のα溶血性レンサ球菌症ワクチンはブリで使用され、指導書発行件数が1件、使用経営体数が1経営体、投与尾数が4,000尾、使用量が1.0Lであった。

# ヒラメ陸上養殖生産振興事業ー1

吉井啓亮・木本圭輔・村瀬直哉・福田 穣

### 事業の目的

大分県のヒラメ養殖業は、全国1位の生産量(平成30年度農林水産統計)を誇る主要産業である。2011年に厚生労働省からヒラメに寄生するナナホシクドア(Kudoa septempunctata)が食中毒の原因であることが公表され、ヒラメ消費量は激減し、養殖業は大きな打撃をうけた。大分県では全国に先駆け食中毒防止対策ガイドラインを策定して以降、県産養殖ヒラメでの食中毒事例はない。市場における県産ヒラメの安全性に対する信頼は回復基調にあるが、さらに安全性を確保するために、本事業では以下の検査・調査を行った。

### 1. 種苗導入時抜き取り検査

2014年度以降毎年、県内に導入された種苗を検査 (種苗健全性調査) することで、防疫体制の強化を 図っており、2019年度も同様に検査を行った。

### 2. ヒラメ養殖海域清浄性調査

県産養殖ヒラメの安全性確保のためには、感染種苗を導入しないことと、出荷前検査で規制することが重要である。加えて、県内ヒラメ養殖海域がナナホシクドア未定着の清浄海域であることを示すことができれば、より安心安全な養殖ヒラメの生産が可能となる。そこで、県内ヒラメ養殖海域の海水を採取し、ナナホシクドア遺伝子の検出を試みた。

### 事業の方法

### 1. 種苗導入時抜き取り検査

2019年4月~2020年3月に、養殖業者23経営体の池 入れ直前のヒラメ種苗54ロット(原則20~30尾/ロット)を採取して検査を実施した。

検査はスイフトジーン クドア「カイノス」(株式会社カイノス)を用いたNASBA-核酸クロマトグラフィー法<sup>1)</sup> で行った。なお、ロット毎に全個体の背側体側筋を各0.5g採材し、サンプル重と等量のDEPC処理水を混合して1検体とした。

### 2. ヒラメ養殖海域清浄性調査

2019年5月~2019年8月に毎月4回、2019年4月および2019年9月~2020年3月に毎月1回の頻度で、佐伯市鶴見地区の陸上ヒラメ養殖場の飼育注水及び、水産研究部内で使用している生海水を調査した。それぞれの調査地点において、2019年4月~2019年8月の調査のうち月2回は、飼育注水を遮光採水瓶に約2L直接採水し、残りの調査では、定量送液ポンプを用いて飼育水を採水した。定量送液ポンプは、毎分1.5mlの送液量で約24時間連続運転させ、遮光採水瓶に約2Lになるように採水した。

採水試料は実験室に搬入後、直ちに6種類のフィルター(ナイロンメッシュ 孔径100 $\mu$ mとアイソポア 10, 5, 3, 1.2, 0.4 $\mu$ m、Millipore社)で懸濁物を濾過した<sup>3)</sup>。懸濁物を含むフィルターからDNAを抽出し、ナナホシクドア遺伝子検出リアルタイムPCR  $^{4}$  に供した。

### 事業の結果

### 1. 種苗導入時抜き取り検査

検査に供したすべての検体について、NASBA-核酸クロマトグラフィー法でナナホシクドア遺伝子は陰性であった(表1)。

表1 NASBA-核酸クロマトグラフィー法による種苗検査結果

	A	AUC 101	_ 1 11/4	1人 1上 业L	ᇛᅹᄮ
<u></u>	象	業者数	ロット数	検体数	<u>陽性数</u>
	津久見	1	1	20	0
	佐伯	4	6	120	0
	米水津	2	7	140	0
養殖場	上入津	2	3	60	0
	下入津	11	30	599	0
	蒲江	1	2	50	0
	名護屋	1	3	80	0
種苗生	産機関	1	2	42	0
合	計	23	54	1111	0

### 2. ヒラメ養殖海域清浄性調査

2019年4月~2020年3月に計25回実施した採水調査 の結果が表2である。両調査地点の海水からナナホ シクドアの遺伝子は検出されなかった。

表2 養殖海域清浄性調査結果

	PCR	<del>哟豆响~</del> 検査結果*
採水日	養殖場	水産研究部
2019/4/19	-	-
2019/5/9	_	-
2019/5/16	_	-
2019/5/23	_	-
2019/5/30	_	-
2019/6/6	_	-
2019/6/13	_	-
2019/6/19	_	-
2019/6/27	_	-
2019/7/4	_	-
2019/7/11	_	-
2019/7/18	_	-
2019/7/25	_	-
2019/8/1	_	-
2019/8/8	_	-
2019/8/16	_	-
2019/8/22	_	-
2019/8/29	_	-
2019/9/12	_	-
2019/10/17	_	-
2019/11/14	_	-
2020/12/12	_	-
2020/1/15	_	-
2020/2/14	-	-
2020/3/17		

\* -:ナナホシクドア陰性

### 今後の問題点

### 1. 種苗導入時抜き取り検査

2019年度に大分県内の養殖場に導入された54ロットのヒラメ種苗からナナホシクドアは検出されず、種苗生産場のナナホシクドア防除努力が評価された。一方で、ナナホシクドアによる食中毒を防止するために、今後もNASBA-核酸クロマトグラフィー法と同等以上の検出感度を有する方法で検査を継続することが必要である。

### 2. ヒラメ養殖海域清浄性調査

ナナホシクドアについては夏季が感染時期<sup>5)</sup> とされているため、本事業においても5月から8月の間は毎月4回の調査を実施し、合計25回の採水調査を実施したが、2地点ともナナホシクドアの遺伝子が検出されることはなかった。

海域の清浄性を証明することができれば、大分県 産養殖ヒラメの安心・安全を提示するうえで優位性 が増す。今後も調査点や採水、分析法を精査しなが ら調査を継続する価値がある。

### 文献

- 1) Yoshiko Sugita-Konishi, Yutaka Fukuda, Koh-ichiro Mori, Toru Mekata, Toyohiko Namba, Makoto Kuroda, Akiko Yamazaki, Takahiro Ohnishi. New Validated Rapid Screening Methods for Identifying Kudoa septempunctata in Olive Flounder (Paralichthys olivaceus). Japanese Journal of Infectious Diseases. 2015; 68: 145—147.
- 2) 横山 博. 魚類に寄生する粘液胞子虫の生活環と 起源. Japanese Journal of Protozoology. 2004;37 (2).
- 3) 木本圭輔,甲斐桑梓,福田 穣,長沢貴宏,引間順一. 魚病リスク回避型養殖技術開発研究. 平成29年度大分県農林水産研究指導センター水産研究部事業報告.
- 4) Tetsuya Harada, Takao Kawai, Hiroshi Sato, Hiroshi Yokoyama, Yuko Kumeda. Development of a quantitative polymerase chain reaction assay for detection of Kudoa septempunctata in olive flounder (Paralichthys olivaceus). International Journal of Food Microbiology. 2012; 156: 161-167.
- 5) 森 広一郎. 国内ヒラメ養殖現場のクドア対策の現状. 日本食品微生物学会雑誌. 2017; 34(2): 77-80.

### 水産資源回復強化事業

吉井啓亮・木本圭輔・村瀬直哉・福田 穣

### 事業の目的

大分県では、水産資源の回復、増加を目的に種苗放流が実施されている。しかしながら、病原体を保菌した種苗が放流された場合、資源量やその他生物への影響等が懸念される。したがって、種苗放流の際には事前に検査を行い、健全な種苗だけを放流する必要がある。

本事業では、水産生物の種苗の健全性を確認するために、放流前検査を実施する。

### 事業の結果

本年度は、対象とする魚種の放流が行われなかったため、検査は実施されなかった。

### 魚病リスク回避型養殖技術開発研究

(1) 県単

木本圭輔・吉井啓亮・村瀬直哉・福田 穣

### 事業の目的

海産養殖魚の疾病被害については、一部がワクチ ンの普及により軽減されたが、細胞内寄生細菌や多 くの寄生虫による疾病では、有効な薬剤やワクチン の開発が遅れていることから、依然大きな被害が見 られる。これらに対してはワクチン等の開発研究を 継続しつつ、飼育管理手法の見直しによる被害軽減 策を講じる必要がある。養殖魚の疾病は、病原体の 感染に魚体の生理状態悪化が加わり被害が拡大す る。病原体は外部からの「外的リスク」、魚体の生 理状態悪化は養殖方法で変わる「内的リスク」とい える。近年、高精度・高感度な遺伝子検出手法であ るqPCR法が病原体検出に利用されはじめ、外的リ スクの定量が可能になった。これに加え、内的リス クを下げられれれば、疾病の抑制が可能になると考 えられる。本事業では、ヒラメのエドワジエラ症お よびスクーチカ症、ブリのノカルジア症等を対象に、 外的・内的リスクの関係を明らかにし、有効な対策 のない疾病の予防・治療技術を開発する。

本年度は、昨年度"に引き続き病原体の広域スケール調査及びブリ海面養殖場における経時的病原体検出を実施したほか、最近、養殖ブリ類等に大きな被害を与えているLactococcus garvieae II型によるレンサ球菌症(以下、II型レンサ球菌症)に関し、リスク候補である低魚粉飼料投与の影響を調べた。また、現場ではII型レンサ球菌症の市販ワクチン(L. garvieae I型とII型の二価ワクチン)の効果が低い事例が見うけられる。ワクチン効果が低い原因の一つとして抗原競合(あるワクチンに対する免疫反応が、単独で投与された場合に比べ、他のワクチン存在下で減弱される現象)の影響も否定できないことから、<sup>21</sup> 両株の混合がワクチン効果に及ぼす影響についても検討を行った。

### 事業の方法

### 1. 広域スケール調査

本年度は入津~蒲江地区を調査海域として、2019年9月9日に猪串湾、みごの浦、丸市尾、屋形島外、9月17日に小向、加羽根、屋形島内、小蒲江、9月19日に入津湾、尾浦、上入津、下入津の合計12地点で海水と底泥を採取した。海水懸濁物のろ過方法は昨年度と同様とし<sup>1)</sup>、分析まで-80℃で保存した。

### 2. 経時的養殖場調査

昨年度と同じ佐伯市蒲江畑野浦の1経営体のブリ養殖場において、2019年6月導入種苗(0才魚)および2018年6月導入種苗(1才魚)が収容された各1生簀を調査対象とした。毎月1回、各生簀脇の表層海水を2L採取するとともに、吸引ろ過後のろ物からDNAを抽出し、Nocardia seriolae \*1及びL. garvieae II型\*2の遺伝子検出qPCRに供した。また、昨年度と同様に蛍光式溶存酸素ロガーを0才魚および1才魚生簀脇(水深3m)に垂下し、溶存酸素(DO)濃度と水温を5分間おきに記録するとともに、疾病発生及び飼育管理履歴を養殖場経営者に聞き取った。

### 3. 生体防御能に対する低魚粉飼料の影響評価

### 1) 飼育試験

2019年7月23日に水産研究部地先の海面網生簀 (3×3×3m) に導入し、市販EP飼料で飼育していたブリ天然種苗当歳魚を供試した。9月30日に平均体重165gの供試魚を海面網生簀3面に各120個体収容し、それぞれ魚粉含量50%、35%、20%の試験飼料を与えた(50%区、35%区、20%区)。各試験飼料の一般成分及びエネルギー量"は大豆粕、小麦粉、α澱粉及び魚油の量で調整した(表1)。また、既報⁴~゚から魚粉中のタウリン、リジン、メチオニン、リン酸カルシウムの量をそれぞれ0.6、3.4、1.2、4.1%と

<sup>\*1</sup> 嶋原佳子・河東康彦・柳 宗悦・前野幸二・釜石 隆. 養殖場における Nocardia seriolae の分布に関する研究. 平成27年度日本魚病学会春季大会講演要旨

<sup>\*2</sup> 青木祐季奈・吉田照豊・熊倉直樹・萩﨑浩平・松本直人. 定量PCRによるLactococcus garvieae II 型遺伝子検出法の開発. 平成31年度日本魚病学会春季大会講演要旨

仮定し、各試験飼料で同等となるようそれらの結晶 アミノ酸を配合した。原料をよく混合したのち、外 添で45%の水道水を加えてシングルモイストペレッ トとして成形し、使用まで-20℃で保存した。2019 年10月1日~11月11日(42日間)に、試験飼料を5日間/週の頻度で飽食給餌した。飼育31日目及び飼育 終了時に寄生虫駆除のための淡水浴と網換えを行う とともに、試験開始前と終了時には竿秤で全魚体重 を測定した。

表1 試験飼料の配合組成と一般成分(計算値)

原料名	魚粉 50%	魚粉 35%	魚粉 20%
魚粉	50	35	20
大豆粕	11	28.6	46
小麦粉	12	12	12.7
α澱粉	10	5.5	0
セルロース	1.5	0.5	0
魚油	10	11	12
ビタミン混合	2	2	2
ミネラル混合	1	1	1
グァガム	0.5	0.5	0.5
CMC	2	2	2
タウリン	0	0.15	0.3
リジン一塩酸塩	0	0.75	1.5
メチオニン	0	0.25	0.5
リン酸カルシウム	0	0.75	1.5
合計	100	100	100
一般成分(乾物值)			
粗タンパク質	43%	43%	43%
粗脂肪	16%	16%	16%
粗糖質	19%	19%	18%
粗灰分	13%	13%	12%
エネルギー(kcal/kg)	3,750	3,739	3,720
C/P比	87.3	87.5	87.5

### 2) 感染実験

飼育試験が終了した2019年11月11日に、各試験区から無作為に45個体を採取し、試験区毎に異なるイラストマーを左眼後方に接種して標識した。各試験区の標識魚を15個体ずつ混合して45個体の魚群を3群作製し、屋内のFRP角型2トン水槽3基内に設置した網生簀(1×2×0.8m)に収容した。収容後、網ずれ等による体表の傷を修復させるため、各魚群を下記3株のL. garvieae で攻撃するまでの間、ろ過海水掛け流しで無給餌飼育を行った。

当研究部でスキムミルク中に冷凍保存(-80℃)していた*L. garvieae* 121836株(II型)、C1910191株(II型)及びKG9408株(I型)をBHI寒天培地(Difco)で培養したのち、培地上のコロニーをTodd Hewitt 液体培地(Bacto)に接種して24時間振とう培養(120rpm, 25℃)した。11月19日、11月21日、及び11月23日に各水槽の注水を止め、それぞれ振とう培養24時間後の121836株、C1910191株及びKG9408株の菌液を飼育水に添加して浸漬攻撃を行い(攻撃菌濃度は順に4.4×10⁵、3.0×10⁵、3.9×10⁵ CFU/ml)、1時間

経過後に注水を再開した。攻撃後、砂ろ過海水掛け流し、無給餌で5週間の経過観察を行うとともに、観察期間中の死亡個体及び試験終了時の生残個体について、BHI寒天培地による腎臓と脳からの細菌分離を行った。分離菌の同定は抗L. garvieae I型及びII型ウサギ血清を用いたスライド凝集反応によった。

## 4. *L. garvieae* I型・II型FKCの混合がレンサ球菌症ワクチンの効果に及ぼす影響

既報<sup> $^{^{^{\circ}}}$ </sup>で単価ワクチンの効果が確認された KG9408株と121836株をBHI寒天培地で培養した。 培地上のコロニーをTodd Hewitt液体培地に接種して24時間振とう培養(120rpm, 25°C)後に、1/200量のホルマリンを添加して25°Cで48時間静置し、BHI 寒天培地を用いた培養で不活化を確認した。 ワクチンのFKC濃度は $1.0\times10^\circ$  CFU/mlとし、二価ワクチンは単価ワクチンと抗原量が同じになるよう、 $2.0\times10^\circ$  CFU/mlの両株FKCを等量混合して作製し、使用まで4°Cで保存した。

2019年6月4日に、平均体重468gのブリ1才魚(2018年7月25日導入)を水産研究部地先の海面網生簀(3×3×3m)4面に20尾ずつ放養し、I型ワクチン、II型ワクチン、二価ワクチンの3種類のワクチン及び滅菌PBS(対照区)を0.1mlずつ腹腔内接種するとともに、試験区毎に異なるイラストマーを左眼後方に接種して標識した。

6月24日に寄生虫駆除のための淡水浴と網換えを行い、各試験区の標識魚を8個体ずつ混合して32個体の魚群を2群作製した。翌6月25日、上記と同様に培養したKG9408株(4.9×10°CFU/尾)及び121836株(5.5×10°CFU/尾)の菌液を各魚群に腹腔内接種して攻撃し、攻撃菌株別に屋内のFRP角型2トン水槽2基内に設置した網生簀(1×2×0.8m)に収容した(1型、II型攻撃群)。攻撃後、砂ろ過海水掛け流し、無給餌で30日間経過観察を行うとともに、観察期間中の死亡個体及び試験終了時の生残個体について、BHI寒天培地による腎臓と脳からの細菌分離を行った。分離菌の同定は、抗L. garvieae I型及びII型ウサギ血清を用いたスライド凝集反応によった。

### 事業の結果

### 1. 広域スケール調査

宮崎大学にて分析中。

### 2. 養殖場スケール調査

養殖業者への聞き取りによると、ノカルジア症は 例年よりやや発生が多く、II型レンサ球菌症は昨年 同様に多発したものの、0才魚の被害はやや少なかった。過去2年間と同様に、当該養殖場の海水からN. seriolae 遺伝子は検出されなかったが、L. garvieae II型の遺伝子はほぼ周年検出された(表2)。同遺伝子の最大検出濃度は2019年10月16日の0才魚生簀における1,325コピー/mlであった。ロガーによる溶存酸素濃度の記録では、夏期の測定期間後半にセンサー部への付着物の影響と思われる低い値が見られたが、それ以外に異常な値は確認されなかった。

表2 N. seriolae及びII型L. garvieae遺伝子検出結果

新 <b>木</b> ロ	N. ser	iolae	L. garvie	ae typeII
調査日	0才生簀	1才生簀	0才生簣	1才生簣
2019/4/25	- *1	-	-	2.4*2
2019/6/5	-	-	-	-
2019/7/16	-	-	0.5	12.5
2019/7/29	n.d.*3	n.d.	1.6	26.2
2019/8/20	n.d.	n.d.	3.7	13.4
2019/9/3	n.d.	n.d.	7.2	1.1
2019/9/26	-	-	7.0	6.8
2019/10/16	-	-	1,325	13.3
2019/11/14	-	-	32.7	7.1
2019/12/17	-	-	6.8	5.5
2020/2/27	-	-	0.8	3.4
2020/3/19	-	-	-	7.7
検出率	0%	0%	75%	92%

\*1: 検出せず \*2:コピー数/ml

:コピー毅/ml \*3: 未測定

### 3. 生体防御能に対する低魚粉飼料の影響評価

飼育期間中の水温は21.0~23.2℃で推移した。43 日間の飼育の結果、飼育成績は魚粉配合量が多い試 験区ほど優れており、結晶アミノ酸等の添加による 飼育成績改善効果は不明瞭であった(表3)。

表3 飼育成績

	14.5		130 13C		
測定日	測定項目等		魚粉 50%	魚粉 35%	魚粉 20%
2019/9/30	総重量	(g)	20,390	20,340	19,740
	尾数		121	122	123
	平均体重	(g)	169	167	160
2019/11/11	総重量	(g)	36,250	35,510	31,200
	尾数		121	122	123
	平均体重	(g)	300	291	254
	減耗魚尾数		0	0	0
	減耗魚総重量	(g)	0	0	0
	生残率	(%)	100	100	100
	飼育日数		43	43	43
	給餌日数		27	27	27
	増重量	(g)	15,860	15,170	11,460
	増重率	(%)	77.8	74.6	58.1
	日間増重率	(%)	1.30	1.26	1.05
	給餌量*	(g)	38,986	39,341	38,737
	日間給餌率*	(%)	3.20	3.28	3.54
	給餌日給餌率*	(%)	5.10	5.22	5.63
	增肉係数*		2.46	2.59	3.38
	飼料効率*	(%)	40.7	38.6	29.6
				* [	吃物換算值

攻撃試験では、各攻撃群の死亡魚からそれぞれの 攻撃に用いた血清型のL. garvieaeが再分離された。

各試験区(魚粉50%区、35%区、20%区)の生残率

は、121836株で100%、93%、100%、C1909191株で80%、79%、60%、KG9408株で20%、13%、27%で、各試験区の死亡速度に有意な差はなかった(ログランク検定、121836株攻撃群:  $X^2$ = 2.1, P= 0.36; C1910191株攻撃群:  $X^2$ = 1.5, P= 0.47; KG9408株攻撃群:  $X^2$ = 0.6, P= 0.76, 図1~3)。また、C1910191株で攻撃した魚粉35%及び20%区の生残魚各2個体から攻撃株が分離されたが、保菌率に有意な差はなかった(Fisherの正確確率検定、P= 0.29)。一方、試験区ごとの死亡速度を攻撃菌株別に比較すると、全試験区で有意な差が確認された(ログランク検定、魚粉50%区: $X^2$ = 29, P< 0.001; 魚粉35%区: $X^2$ = 33, P< 0.001; 魚粉20%区: $X^2$ = 23, P< 0.001, 図4~6)。魚粉20%区では、121836株とC1910191株の間でも有意差が見られた(Holm法, P= 0.014)。

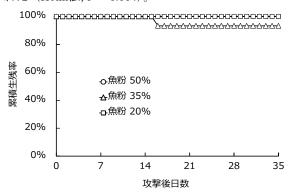


図1 II型L. garvieae 121836株攻撃後の累積生残率

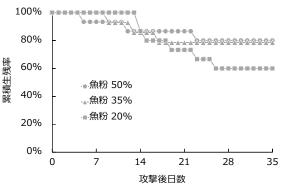


図2 II型L. garvieae C1910191株攻撃後の累積生残率

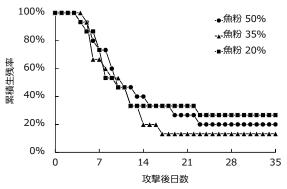


図3 【型L. garvieae KG9408株攻撃後の累積生残率

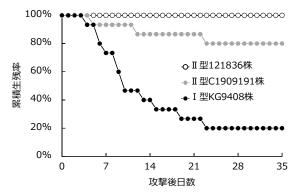


図4 各菌株攻撃後の魚粉50%区の累積生残率

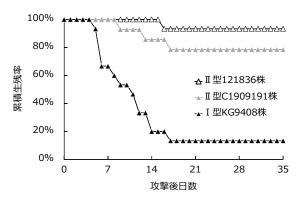


図5 各菌株攻撃後の魚粉35%区の累積生残率

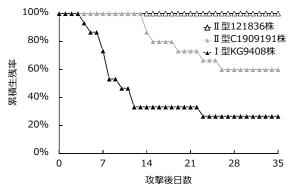


図6 各菌株攻撃後の魚粉20%区の累積生残率

## 4. *L. garvieae* I型・II型FKCの混合がレンサ球菌症ワクチンの効果に及ぼす影響

攻撃後の水温は19.3~23.5℃で推移した。各攻撃群の死亡魚からそれぞれの攻撃に用いた血清型のL. garvieaeが再分離された。I型攻撃群の生残率は、I型ワクチン区と二価ワクチン区でともに100%、対照区とII型ワクチン区で25%及び0%であり、試験区ごとの死亡速度は有意に異なった(ログランク検定: $X^2=27.1, P<0.01$ )。また、試験区ごとの対比較では、生残率100%の試験区と他試験区の間に有意差が確認された(Holm法: すべてP<0.01)。ワクチン有効率は、I型ワクチン区と二価ワクチン区で100%、II型ワクチン区で33%であった。II型攻撃群の生残率は、II型ワクチン区と二価ワクチン区でともに

100%、対照区とI型ワクチン区で86%及び50%であり、死亡速度は有意に異なった( $\hat{X}$  = 10.1, P < 0.05, 対比較で有意差なし)。ワクチン有効率はII型ワクチン区と二価ワクチン区で100%、I型ワクチン区で無効であった。また、II型攻撃群では二価ワクチン区以外の試験区各1個体から攻撃菌が分離されたが、保菌率に有意な差はなかった(Fisherの正確確率検定, P = 0.58)。

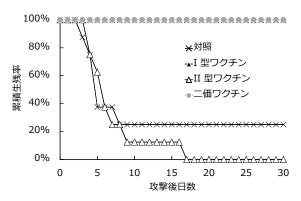


図7 I型攻撃群の累積生残率

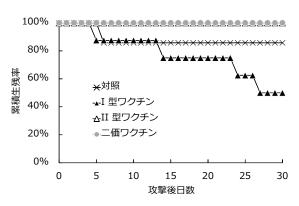


図8 II型攻撃群の累積生残率

### 今後の問題点

### 1. 広域スケール調査

昨年度の試料(佐伯湾)とともに分析予定。

### 2. 養殖場スケール調査

本年度もこれまでと同様に、海水からII 型L. garvieae 遺伝子が高い頻度で検出された。本年度、同じ養殖場で実施されたブリのII型レンサ球菌症の疫学調査®によると、原因細菌遺伝子の最大濃度が得られた10月には、すべての0才魚生簀でII型レンサ球菌症が発生していたことから、感染魚から排出されたL. garvieae II型株を検出したものと考えられる。一方、当該養殖業者の0才魚生簀で最初にII型レンサ球菌症の発生が確認されたのは2019年7月30

日であった。本養殖場にブリ種苗(大分県産天然種 苗)が導入されたのは2019年6月初旬であり、直近 の調査(6月5日)では海水からII型L. garvieae 遺伝 子は検出されなかったが、7月16日の調査では低濃 度ながら0才魚生簀脇の海水から検出された。赤潮 発生により、湾内漁場の0才魚生簀が沖合漁場(す でにII型レンサ球菌症が発生した1才魚生簀がある) に移動されたのは8月末であったが、0才魚はそれ以 前に湾内漁場に存在していたII型L. garvieae に感染 する可能性があったと考えられる。当該養殖場にお ける2017年及び2018年の調査でも、ブリ0才魚にお けるII型レンサ球菌症の初発生(8月末及び8月中旬) に先立つ5~7月に、0才魚生簀脇の海水からII型L. garvieae 遺伝子が検出されていた (図9)。漁業権に より定められた湾内漁場における漁業の時期が6月 から10月までであることを考慮すると、本来モジャ コ導入時期の本漁場には、II型レンサ球菌症の感染 魚はいないはずである。したがって、沖合漁場の感 染1才魚が何らかの理由(出荷や台風避難等)で短 期間持ち込まれることが、5~7月における湾内漁場 のII型L. garvieae の存在に繋がると推察される。ま た、例年5~7月は、ブリ稚魚へのワクチン投与の盛 期でもある(図9)。海水中から検出されたII型L. garvieae 遺伝子は、必ずしも感染能力を持つ細菌の 存在を示すものではないが、仮にワクチン投与前に ブリ0才魚がII型L. garvieae に感染していたとすれ ば、現場で生じているワクチンの効果が低い事例と 関連があるかもしれない。

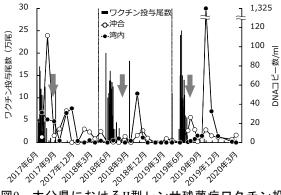


図9 大分県におけるII型レンサ球菌症ワクチン投与尾数と本研究における海水中のII型L. garvieae 遺伝子濃度及び0才魚のII型レンサ球菌症初発時期(灰色矢印)の推移(2017~2019年度)

### 3. 生体防御能に対する低魚粉飼料の影響評価

今回の試験では、低魚粉飼料の投与とレンサ球菌症による死亡との間に明瞭な関係を見いだすことはできなかったが、各試験区の生残率は、攻撃に用いた菌株により大きく異なっていた。とくに、魚粉20%区では L. garvieae  $\Pi$ 型株間でも累積死亡率に差が見られた。福田らっは、L. garvieaeのブリ類に対す

る病原性が、KG9408株と121836株で異なることを 指摘している。今回の結果は、既報と同様の結果に 加え、II型L. garvieae の株間でも病原性が異なる可 能性を示すものと考えられる。またこの結果は、低 魚粉飼料の投与がII型L. garvieae の病原性の株間差 に対するブリの感受性を高めることを示すものかも しれない。ただし、飼育試験では低魚粉飼料に対す る結晶アミノ酸等添加による飼育成績改善効果が不 明瞭であったことから、単に今回使用した低魚粉飼料の栄養価が不適切であったためである可能性は否 定できない。今後、低魚粉飼料投与の影響を明らか にし、その改善を図るためには、試験用EP飼料を 作製できる環境を整える必要がある。

## 4. *L. garvieae* I型・II型FKCの混合がレンサ球菌症ワクチンの効果に及ぼす影響

今回の結果から、 I型及びII型FKCの単価ワクチンは、同血清型レンサ球菌症に対する予防効果があること、両血清型株FKCを混合した二価ワクチンは両血清型レンサ球菌症に対して予防効果があることが再確認された。これらのことから、両株FKCの等量混合は、ワクチンの効果に影響しないと考えられる。今後は、両株の濃度バランスを変えた場合の予防効果も調べる必要がある。また、市販ワクチンの効果が低い原因として、ワクチン株と流行株の抗原性が異なる可能性も考えられることから、 L. garvieae の抗原変異についても検討する必要があろう。

### 文 献

- 1) 木本圭輔・甲斐桑梓・福田 穣・長沢貴宏. 魚 病リスク回避型養殖技術開発研究(県単独事業) 平 成30年度大分県農林水産研究指導センター水産研究 部事業報告,大分.; - .
- 2) Note for Guidance on Pharmaceutical and Biological Aspects of Combined Vaccines. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, London. 1998.
  3) 竹田正彦・示野貞夫・細川秀毅・梶山英俊、ハマチの成長、飼料効率および体成分に及ぼす飼料のカロリー・蛋白質比の影響。日本水産学会誌. 1975; 41: 443-447.
- 4) Hung P N, Peerapon K, Haruhisa F, Nobuhiro S and Toshiro M. Feeding fermented soybean meal diet supplemented with taurine to yellowtail *Seriola quinqueradiata* affects growth performance and lipid digestion. *Aquaculture Research*. 2015; 46: 1101-1110.
- 5) Koji M, Atsushi A, Yasuro I, Shunji A, Nobuhiro S,

Hiroyuki M, Hirofumi F, Tsuyoshi S, and Takeshi Y. Effects of biotechnologically processed soybean meals in a nonfishmeal diet on growth performance, bile acid status, and morphological condition of the distal intestine and liver of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Fish Sci.* 2013; 79: 447-457.

- 6) 松井崇憲・大屋 寛・森 京子. ブリ養殖用低コスト飼料の開発(ブリ等養殖業経営改善緊急対策事業、県単独事業)平成22年度大分県農林水産研究指導センター水産研究部事業報告,大分. 2011;97-99.
- 7)福田 穣・津江佑哉・追中大作・和田善信・山下亜純・浦崎慎太郎・吉岡宗祐・木本圭輔・吉田照 豊. 抗KG-型血清非凝集性Lactococcus garvieaeのブリ類に対する病原性と免疫原性. 魚病研究. 2015;50:200-206.
- 8) 村瀬直哉・木本圭輔・吉井啓亮・福田 穣. 魚 病リスク回避型養殖技術開発研究(県単独事業) 平 成31年度大分県農林水産研究指導センター水産研究 部事業報告,大分.; - .

### 魚病リスク回避型養殖技術開発研究<sup>1</sup> (2) 諸経費

木本圭輔・吉井啓亮・村瀬直哉・福田 穣

### 事業の目的

フグ目魚類の粘液胞子虫性や世病(以下、やせ病)について、疫学調査により感染時期と場所を特定するとともに、有効な薬剤および用水処理による防除技術の開発を行う。本年度は全トラフグ養殖業者を対象にや世病発生状況と種苗由来の聞き取り調査を行うとともに、昨年度に引き続きトラフグを用いた薬剤及び用水処理による防除技術開発を行った。

### 事業の方法

### 1. 疫学調査

過去3年間のやせ病発生状況と種苗由来について、 県内の全トラフグ業者(20養殖場)を対象に聞き取 り調査を行った。得られた結果について、応答変数 をやせ病の発生・非発生、説明変数を養殖場地区(7 漁協支店)、種苗由来(6種苗生産場)、年(2017~2019) とするロジスティック回帰分析を実施した。説明変 数の係数推定精度を高めるため、養殖場地区では最 も業者数の多い地区、種苗由来では最も導入回数の 多い種苗生産場を参照カテゴリーとした。

### 2. 薬剤投与による駆虫効果

(1) スクリーニング試験 2019年7月11日に愛媛県栽培資源研究所産トラフグ人工種苗当歳魚を(国研)水産研究・教育機構増養殖研究所上浦庁舎(以下、増養研)の8トン水槽に収容し、適宜歯切りを実施しながら砂ろ過UV殺菌(>44mJ/cm²)海水掛け流し、市販トラフグ用EP給餌で試験開始まで維持して試験に供した。

2019年12月4日に平均体重約200gの供試魚を増養研施設内の小型水槽32基に1尾ずつ収容し、通気及び殺菌海水  $(22^{\circ}C)$  掛け流しで馴致したのち、12月7日に愛媛県産やせ病トラフグ1才魚の生鮮腸管  $(qPCR^{*2} \circ E.\ leei及 \circ E.\ fugu$  陽性を確認)を10gず

つ各個体に自由摂餌で経口投与した。摂食しない個体が見られたため、投与後は全水槽で5時間止水にして浸漬感染を促した。翌12月8日から10日間、29種類の抗原虫薬等(詳細は実績報告書参照)を添加(飼料重量の10%の蒸留水と薬剤を混合して市販EPに吸着したのち1%の展着剤で被覆)したEP及び薬剤無添加のEP(対照区として3水槽)を給餌率1%で投与した。投薬期間中の死亡個体と10日後の生残個体から全消化管を採取し、40%重量の滅菌PBSを加えストマフィルター内でホモジナイズしたのち、ろ液25μlからDNAを抽出してE. leei及びE. fugu 遺伝子検出qPCR<sup>\*2</sup>に供した。

(2) 長期投薬試験 2019年12月9日に平均体重約200g の供試魚を当研究部内の0.5トン円形FRP水槽6基に6 尾ずつ収容し、砂ろ過UV殺菌海水(20~22℃)掛 け流しで馴致した。12月18日に愛媛県産やせ病トラ フグ1才魚の生鮮腸管を各水槽の個体に経口投与し た。摂食しない個体が見られたため、投与後は全水 槽で6時間止水にして浸漬感染を促した。翌12月19 日から8週間、カプリル酸、カプリン酸、リモネン、 サリノマイシン+アンプロリウム、アンプロリウム (詳細な添加濃度は実績報告書参照)を添加(飼料 重量の3%の魚油に薬剤を混合してEPに吸着、アン プロリウムは飼料重量の10%の蒸留水に溶解してEP に吸収)したEP及び薬剤無添加のEP(対照区)を55 日間給餌率1%で投与した。投薬期間中の死亡個体 と8週間後の生残個体から全消化管を採取し、40% 重量の滅菌PBSを添加してストマフィルター内でホ モジナイズしたのち、ろ液25μlからDNAを抽出して E. leei及びE. fugu 遺伝子検出qPCR\*2に供した。

### 3. 飼育用水の処理による感染防除効果

2019年9月3日に供試魚24尾を0.5トン円形FRP水槽に収容し、昨年度のやせ病人為感染1歳魚から経水感染させてドナーを作製した。9月20日に平均体重53gの供試魚を0.5トン円形FRP水槽4基に15尾ずつ収容し、砂ろ過UV殺菌海水(24℃)を掛け流すとと

<sup>\*1</sup> 詳細は「平成31年度農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業(実用技術開発ステージ)実績報告書」に記載した。

<sup>\*2</sup> 米加田他 (未発表)

もに、ドナー飼育水を4つの小型水中ポンプを介して供試魚水槽に供給した。水中ポンプと供試魚水槽の間には市販の小型UV殺菌装置を1つずつ組み込み、UVランプを覆う石英管をアルミパイプで被覆してUV照射量をそれぞれ137、68、14、0 mJ/cm²とした(それぞれUV100%区、50%区、10%区、0%区)。なお、UV100%区では市販のUV殺菌装置をそのまま使用し、50%及び10%区ではUVランプ表面の50%及び90%を被覆、0%区ではUVランプを除去した。試験期間中、ドナーは無給餌、供試魚には市販の配合飼料を適宜与え、8週間の経過観察を行った。試験開始前および開始から2、4、6、8週間後に、すべての供試魚の腸管後部粘液を綿棒で採取してDNAを抽出し、E. leei及びE. fugu 遺伝子検出qPCR²に供した。

### 事業の結果

### 1. 疫学調査

ロジスティック回帰分析の結果、有意な相関を持つ説明変数として、養殖場地区で2地区(ともに正の係数、P=0.002, 0.004)が得られたが、種苗由来と年では有意な相関を持つ変数は選択されなかった。

### 2. 薬剤投与による駆虫効果

- (1) スクリーニング試験 試験魚が死亡せず、摂 餌が可能で、終了時にE. leei及びE. fugu遺伝子が検 出されない薬剤として、フルベンダゾールとモキシ デクチンが選択された。
- (2) 長期投薬試験 試験終了時には全試験区の生 残個体からE. leei及びE. fuguの遺伝子が検出され、 無効と判断された。

### 3. 飼育用水の処理による感染防除効果

ドナーはやせ病により、試験開始6週間後に全滅した。供試魚では、UV0%及び10%区の生残率は73%及び80%であったが、UV50%及び100%区ではともに死亡がなかった。供試魚の腸管後部粘液におけるE. leei 遺伝子検出率は、試験開始前では全試験区で0%であったが、UV0%区で4~8週間後、UV10%区

で8週間後に検出され、試験終了時の感染率はUV0%区で86%、UV10%区で23%、UV50%及び100%区では0%であった。*E. fugu 遺*伝子検出率は、試験開始前では全試験区で0%であったが、UV0%及び10%区で2~8週間後に検出され、試験終了時の感染率はUV0%区で93%、UV10%区で92%、UV50%及び100%区では0%であった。以上から、飼育水のUV処理はやせ病の予防に有効であり、最小有効UV照射量は14~68 mJ/cm²と推定された。

### 今後の問題点

### 1. 疫学調査

ロジスティック回帰分析の結果、養殖場地区だけで有意な説明変数が選択されたことから、両病原体の感染には、種苗の由来ではなく養殖場の位置が関連すると考えられる。本成果を活用した予防対策として、やせ病陰性魚の導入に加え、陸上養殖場における飼育注水に対する紫外線処理、が考えられる。

### 2. 薬剤投与による駆虫効果

今後は、スクリーニングで選択されたフルベンダ ゾール、モキシデクチンの追試を行う必要がある。 なお、薬剤の経口投与によるや世病の治療試験を行 う際の留意点として、本症による摂餌性低下の影響 を回避するため、実験感染直後から投薬を開始すべ きことが挙げられる。また、個別飼育実験系は、群 飼育実験系の問題点(摂餌不良個体を感染源とした 水槽内再感染による薬効の不明確化)を回避できる 可能性がある。

### 3. 飼育用水の処理による感染防除効果

本研究で明らかになった最小有効照射量以上のUV照射量で飼育水の殺菌処理を行うことにより、陸上種苗生産場や陸上養殖場におけるや世病原因虫の感染を防ぐことが可能と思われる。ただし、UV殺菌の効果を確実にするためには、事前に砂ろ過等で海水中の懸濁物が除去されている必要がある。言うまでもないが、用水の殺菌処理は本病に罹病した魚群の治療や、海面養殖場における予防には無効である。

### α 溶血性レンサ球菌症の疫学調査 (国庫委託)

村瀬直哉・木本圭輔

本事業の詳細は、令和元年度水産防疫対策委託事業「水産動物疾病のリスク評価及び天然水域における疾病の清浄性確認のための調査」実施報告書(水産防疫対策事業技術開発共同機関)(1)-(ア)-②-i) α溶血性レンサ球菌症の疫学調査で報告した。本報告はその概要である。

### 事業の目的

近年、ブリ類養殖場において、Lactococcus garvieae Ⅱ型株によるα溶血性レンサ球菌症(Ⅲ型レンサ球菌症)による被害が増加している。ブリ属魚類の本病に対しては2016年に2価ワクチンが承認されて使用可能になったが、ワクチンを接種した群でも発症例がみられている。さらに、発症群への抗菌剤投与事例において再発や薬剤耐性菌の出現などの問題が提起されている。本事業ではこのような諸問題に関連する基礎的知見を得るために、疫学調査を実施した。

### 事業の方法

大分県内のブリ養殖業者3経営体を対象にアンケート調査を実施した。調査期間をは2019年5月~10月で、養殖生簀ごとにワクチン接種の有無、II型レンサ球菌症の発症と終息、水温、死亡数、投薬方法などの記録を収集した。

調査期間中に上記経営体から本症原因細菌の菌株 収集を行った。菌株の血清型判別は、抗血清による スライド凝集反応およびPCR法<sup>1)</sup>によった。

### 事業の結果

3経営体から29生簀(うちブリ当歳魚12生簀、1歳魚17生簀)の記録が回収できた。28生簀は市販の2価ワクチンを接種済であったが、そのうち27生簀でⅡ型レンサ球菌症の発症が確認された。また、生簀

によっては数か月にわたって発症がみられた。

菌株は3経営体から16株を収集し、凝集反応およびPCR法の結果から血清型は全てL. garvieae Ⅱ型に同定された。以上のことから調査対象漁場ではⅡ型レンサ球菌症の流行が長期間継続していることが示唆された。また、本調査で得られた菌株は遺伝子解析のため、国立研究開発法人水産研究・教育機構増養殖研究所に送付した。

### 今後の問題点

養殖現場において、ワクチンを接種した群における本症の発症と流行の長期化が確認されたことから、ワクチンの効果が十分でないことが示唆された。 今後はワクチン株と流行株の抗原性の違いなど、ワクチン効果に影響を与える諸要因についての解析が必要である。

### 文献

1) Kazuya Ohbayashi, Daisaku Oinaka, Truong Dinh Hoai, Terutoyo Yoshida. PCR-mediated Identification of the Newly Emergin Pathogen *Lactococcus garvieae* Serotype II from *Seriola quinqueradiata* and *S. dumerili. Fish Pathology.* 2016; 52 (1): 46-49.

### 高品質かぼす養殖魚創出事業

安原翔太·都留久美子

### 事業の目的

本県では、抗酸化物質を含む特産のカボスを給餌して品質を改善した「かぼすブリ」が養殖されており、生産が伸張している。

本事業では、この技術を応用展開し、カボス給餌で優位性が得られる新たな魚種(ヒラマサ)を開発するとともに、既存魚種(ブリ、ヒラメ)の養殖技術について生産現場の要望に即した改良を行うことを目的とした。すなわち、ブリについてはモイストペレット(MP)だけでなくエクストルーデッドペレット(EP)でも生産できる技術が望まれているため、EPにカボス生果皮ペーストを展着し給与した際の品質改良効果を検証した。

またヒラメについては、これまでMPのみで使用可能であったカボス生果皮をミンチ状に加工することにより、EPに展着することが可能となった。この新たな資材を用い、EPによるかぼすヒラメ生産の可能性について検証した。

### 事業の方法

### 1. ブリ

当研究部沖の海面小割生簀 (3×3×3m) 4面に平均 体重3,720gのブリを15尾ずつ収容し、2019年11月7 日に試験を開始した。市販のブリ類用EP(坂本飼 料株式会社)を給餌した区を対照区とし、上記EP にカボス生果皮ペースト(以下ペースト)を飼料重 量の3%または5%展着させた飼料を給餌した区をそ れぞれEPペースト3%区、EPペースト5%区とした。 また、アジを主体としたMPにカボス果皮パウダー を飼料重量の0.5%添加した区をMPパウダー区とし た。給餌は1日1回、5~6回/週行い、1回の給餌量はEP 区は魚体重の約1.6%、MP区は魚体重の3.4%とした。 試験期間中の水温は17.3~21.0℃であった。5、10、15、 20、30回給餌後に各区3尾を取り上げ体重、尾叉長 を測定し肥満度を求めた。また、血合筋を採取し、 色彩色差計(CR-13型、コニカミノルタ株式会社) で測定し、b\*/a\*値が0.8に達した時間を褐変到達時 間とした。1) 香り成分(リモネン)の定量は、3尾

分の腹部体側筋を等量ずつ混合して分析した。

リモネン定量は民間検査機関に委託して実施した。

#### 2. ヒラマサ

試験は養殖業者に委託して行った。供試魚は臼杵市佐志生の養殖業者が生産した平均体重4.6kgのヒラマサを使用した。試験期間は2019年3月13日から4月26日で、養殖業者が使用しているMPに飼料重量の5%のペーストを添加した。給餌は1日1回、2~5回/週行った。5、10、15、18回給餌後に5尾ずつ取り上げ、体重、尾叉長を測定し肥満度を求めた。リモネンの定量は、5尾分の腹部体側筋を等量ずつ混合して分析した。味覚センサによる味覚分析は、5尾分の腹部体側筋を等量ずつ混合して5、10、15回給餌後をカボス無給餌区(対照区)と比較した。血合筋の褐変到達時間は、15回給餌後のみ対照区との比較を行った。

リモネン定量は民間検査機関に、味覚分析は別 府大学にそれぞれ委託して実施した。

### 3. ヒラメ

カボス資材は県内で有機栽培により生産された カボスの搾汁かす(生果皮)をミートチョッパー (OMC-22、(株)大道産業)でミンチ状にしたもの (生果皮ミンチ)を使用した。

### 1) 夏季試験

供試魚は佐伯市蒲江のA社が養殖中の平均体重629.7gのヒラメを用いた。試験期間は5月20日~6月21日(33日間)であり、魚体重の2%量のEP(黒潮フロート、(株)ヒガシマル)にEP重量の2%の生果皮ミンチを、解凍後、等量の水に溶かし、コンクリートミキサー内で展着して給餌した。給餌は1日1回、隔日で計16回行った。最終給餌日の6日後に3尾を採取し、有眼側の背筋、背鰭及び腹鰭基底部(えんがわ)、肝臓について、3尾分を等量ずつ混合してリモネンを定量した。

### 2) 冬季試験

供試魚はA社が養殖中のヒラメを使用した。試験期間は11月25日 $\sim$ 12月10日(16日間)であり、魚体重の2%量のEPにEP重量の5%(5%区)、7%(7

%区)の生果皮ミンチを夏季試験と同様に展着して給餌した。給餌は1日1回、隔日で計8回行った。最終給餌日の2日後に各区3尾を採取して有眼側背筋中のリモネンを夏季試験と同様に定量した。また、生果皮ミンチを展着しないEPを給餌した区を対照区とし、当部職員9名(男性8名、女性1名)を対象とした筋肉による官能評価を実施した。供試魚の平均体重は対照区、5%区、7%区でそれぞれ854.3g、626.3g、647.3gであった。

また、最終給餌日の4日後に7%区及び対照区から3尾ずつ採取し、有眼側背筋部を用いてにおい嗅ぎ付きガスクロマトグラフィーによるにおい成分の分析を採取日及びその4日後に実施するとともに、別府大学教職員及び学生計22名(男性6名、女性16名)を対象とした筋肉による官能評価を採取日のみ行った。また、7%区のえんがわについて、3尾分を等量ずつ混合し、リモネンを定量した。

リモネン定量は民間検査機関に、におい成分分析は別府大学にそれぞれ委託して実施した。

### 事業の結果

#### 1. ブリ

飼育成績及び血合筋の褐変延長時間は表1、リモネン定量値は図1のとおりである。血合筋の褐変については、対照区と比較してEPペースト3%の5日給餌後、MPパウダー区の5回、10回及び30回給餌後のみ遅延効果が確認された。リモネン定量値は20回給餌後まではEPペースト区でMPパウダー区と比較して多く検出される傾向にあったが、30回給餌後ではいずれの区も同程度となった。

表1 飼育成績 (ブリ)

給餌回数	試験区	平均体重 (g)	平均肥満度(%)	褐変到達 時間(時間)	遅延時間 (時間)
	対照	3,653	16.3	90	-
5回	EPペースト3%	3,563	15.9	109	19
9Ш	EPペースト5%	3,650	16.5	85	-5
	MPパウダー	3,607	16.2	127	37
	対照	3,620	16.8	74	-
10回	EPペースト3%	3,947	17.1	58	-15
10回	EPペースト5%	4,163	16.6	70	-4
	MPパウダー	3,443	15.2	79	5
	対照	3,520	16.3	106	-
15回	EPペースト3%	3,843	17.6	81	-25
1215	EPペースト5%	3,843	16.7	83	-23
	MPパウダー	3,397	14.8	103	-3
	対照	4,013	16.5	92	-
20回	EPペースト3%	4,087	17.5	56	-36
20回	EPペースト5%	3,673	16.8	80	-12
	MPパウダー	3,517	15.3	85	-7
30回	対照	3,707	16.9	75	-
	EPペースト3%	4,097	17.3	69	-7
	EPペースト5%	4,077	17.6	59	-16
	MPパウダー	3,933	16.6	90	15

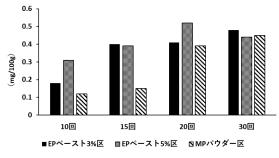


図1 リモネン定量値(ブリ)

#### 2. ヒラマサ

飼育成績及び血合筋の褐変延長時間は表2、リモネン量については図2のとおりである。リモネン量は15回給餌後までは増加傾向にあるが、18回給餌後は15回給餌後と比較して減少していた。血合筋の褐変については、対照区と比較して、23時間の遅延効果が確認された。味覚センサによる旨味コクの分析値はペースト給餌区でいずれも対照区より高い値を示していた(図3)。

表2 飼育成績(ヒラマサ)

給餌回数	平均体重 (g)	平均肥満度	褐変到達 時間(時間)	遅延時間 (時間)
対照	4,464	16.2	79	-
5回	4,776	15.4	-	-
10回	4,538	15.2	-	-
15回	5,280	15.4	102	23
18回	4,602	15.5	-	-

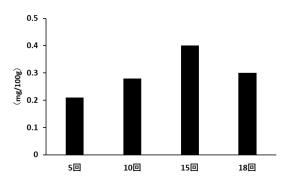


図2 リモネン定量値 (ヒラマサ)

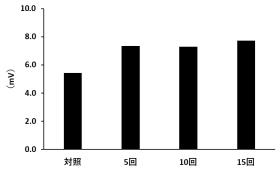


図3 味覚センサによる旨味コク分析値

### 3. ヒラメ

### 1) 夏季試験

各部位のリモネン量は、えんがわで0.17mg/100g、 肝臓で0.07mg/100gであり、筋肉からは検出されな かった。試験期間中の生果皮ミンチ給与量は合計 で魚体重1kg当たり6.6gであった。

### 2) 冬季試験

最終給餌2日後の筋肉中のリモネン量は5%区で0.04 mg/100 g、7%区で0.09 mg/100 gであった。また、最終給餌4日後の7%区えんがわのリモネン量は1.6 mg/100 gであった。試験期間中の生果皮ミンチの合計給与量は魚体重1 kg当たり5%区、7%区でそれぞれ6.7 g、9.1 gであった。

官能評価では当部においては「おいしい」、「う まみを感じる」、「くさみがない」、「カボスが香る」、 「好き」、「かぼすヒラメはこれ」のすべての設問 において5%区と答えたパネル数が最も多かった。 「おいしい」と「好き」では半数以上が5%区と答 えたのに対し、7%区と答えたパネルはいなかった (表3上)。「カボスが香る」や「かぼすヒラメはこ れ」といった、カボスの香りに直接関係するよう な設問では「わからない」が25%前後を占めた(図 4)。カボスの香りによるかぼすヒラメの判別は、 柑橘に特徴的なにおい成分であるリモネン量が 0.1mg/100g以下では困難であると考えられた。また、 後述のにおい嗅ぎ付きガスクロマトグラフィーの 分析結果では、面積の違いはあるものの両区から D-Limoneneが検出されており、このことも柑橘臭 を根拠としてかぼすヒラメを判別しづらい一因で あると考えられた。

一方、別府大学の官能評価では「臭みがない」、「好き」の項目では対照区と7%区が同数であったが、「かぼすヒラメはこっち」の項目では7%区と答えたパネルが6割以上であった(表3下)。

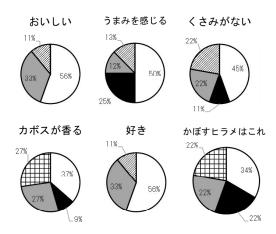
におい嗅ぎ付きガスクロマトグラフィーによる分析結果のうち、におい嗅ぎによる評価は、パネルの個人差があるのものの、対照区より7%区の方が指摘数が少ない傾向があり、7%区の方がヒトが感知するにおい成分が少ない可能性が示された。定性結果からの物質同定では、7%区からのみ.beta.-Myrceneが検出された。D-Limoneneはどちらの区からも検出された。D-Limoneneの面積結果は図5のとおりである。採取日の面積は7%区が1,821,070、対照区549,294であり、7%区は対照区の約3.3倍であった。また、4日後のD-Limoneneの面積は採取日の約80%であり、D-Limoneneのにおいは経時的に減少することが確認された。

今回の試験では、生果皮ミンチを夏季は33日間に2%16回給与し、冬季は16日間に5%と7%を8回給与した。結果、生果皮ミンチの魚体重当たりの

表3 官能評価の結果(上: 当部、下: 別府大学)

	おいしい	うまみを 感じる	くさみが ない	カボスが 香る	好き	かぼすヒラメは これ
5%区	5	4	4	4	5	3
7%区	0	2	1	1	0	2
対照区	3	1	2	3	3	2
全区	1	1	2	0	1	0
わからない	0	0	0	3	0	2

	うまみを 感じる	くさみが ない	好き	かぼすヒラメは こっち
7%区	10	11	11	14
対照区	12	11	11	8



□5%区 ■7%区 □対照区 図全区 □わからない

図4 当部における官能評価の結果

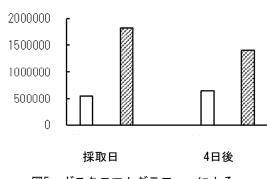


図5 ガスクロマトグラフィーによる D-Limoneneの面積

合計給与量は、夏季が6.6gであったのに対し、冬季は5%区、7%区でそれぞれ6.7g、9.1gであった。このうち、夏季の2%16回給与と冬季の5%8回給与は、合計給与量がほぼ同程度にもかかわらず、筋肉中のリモネンは、後者が0.04mg/100gだったのに対し、前者は検出限界以下であった。夏季のヒラメ筋肉からリモネンが検出されなかった原因として、夏季は産卵期後に当たることから、代謝や吸収に影響を与えたこと、低濃度で長期にわたっての給与はリモネンの蓄積を妨げる可能性があること、最終給餌日から採取日まで6日経過しておりリモネンが減少したことなどが考えられた。これ

まで、生果皮及び生果皮ミンチをカボス資材としてヒラメに給与した飼育試験はいずれも冬季に行われてお<sup>2)-5)</sup>、夏季における生果皮給与時のデータの蓄積が必要である。

### 今後の課題

### 1. ブリ

本年度の結果では、血合筋の褐変到達時間はEPペースト区で対照区と比較して早まる傾向にあった。原因としては、EPに含まれる脂肪分や抗酸化物質等の様々な要因が考えられるため、今後は原因を究明する他に、EPでも効果が出るカボス資材を検討していく必要がある。

### 2. ヒラマサ

本年度の結果から、5%のペーストを添加したMPを15回給餌することで香り成分が蓄積されるとともに、及び血合筋の褐変抑制の効果が十分に得られることが示唆された。今後は適正な添加濃度について検証予定である。

### 3. ヒラメ

今年度の結果から、生果皮ミンチをEPに展着した給餌によるかぼすヒラメ生産の可能性は、冬季のみ認められた。筋肉からのリモネンの検出はかぼすヒラメの条件として不可欠であるため、今後夏季の生産を可能とする給餌方法を確立する必要がある。

### 文献

- 1) Hiraoka Y, Ohsaka E, Narita K, Yamabe K, Seki N. Preventive method of color deterio ration of yellowtail dark muscle during froz en storage and post thawing. Fisheries Scien ce2004; 70: 1130-1136.
- 2) 木藪仁和,川上恵.カボスがつなぐブランド魚 創出事業.平成27年度大分水研事業報告書2017;8 5-87.
- 3) 木藪仁和,川上恵.カボスがつなぐブランド魚 創出事業.平成28年度大分水研事業報告書2018;1 02-105.
- 4) 木藪仁和, 都留久美子. カボスがつなぐブランド魚創出事業. 平成29年度大分水研事業報告書2019;84-86.
- 5) 木藪仁和,都留久美子. 高品質かぼす養殖魚創 出事業. 平成30年度大分水研事業報告書2019;66-68.

### 安心・安全で環境に優しい養殖推進事業 ハダムシ対策

安原 翔太・都留 久美子・福田 穣

### 事業の目的

ブリ類養殖においてハダムシ(Benedenia seriolae やNeobenedenia girellae)の体表寄生は、成長不良や疾病を誘発するため、養殖業においては淡水浴や薬剤による駆虫を頻繁に行う必要がある。本事業では、駆虫作業の労力及び経費削減と、安心・安全な養殖の推進を目的に、飼料添加物及びワクチンを用いたハダムシ対策の可能性を検討した。

### 事業の方法

### 1. カボスペーストの添加効果

大分県漁業公社で生産されたヒラマサ (平均体重302.4g) を2019年11月25日に淡水浴処理しハダムシを除去した後、海面小割生簀 (3×3×3m) 3面に50尾ずつ収容した。

市販のブリ類用EP(日清丸紅飼料株式会社)にカボス生果皮ペーストを飼料重量の5%または10%展着させた飼料を給餌して、それぞれペースト5%区、ペースト10%区とした。対照区にはペースト無添加のEPを給餌した。給餌は1日1回、6回/週行い、1回の給餌量は魚体重の4%とした。試験期間中の水温は16.6~19.8 $^{\circ}$ であった。

試験開始15日後(12回給餌後)及び30日後(24回給餌後)に各区10尾を取り上げ水道水に浸漬して、体表に寄生したハダムシ類を全て回収し70%エタノールで固定して計数した。

### 2. ワクチンの効果

大分県漁業公社で生産されたヒラマサ(平均体重217.9g)を、2019年10月8日に淡水浴処理しハダムシを除去した後、供試ワクチン等を体側筋もしくは腹腔に接種した。供試魚は試験区ごとにイラストマーで標識した後、海面小割生簀(3×3×3m)1面に各区20尾を混合収容した。試験区はDNAワクチン区、空ベクター区(DNAワクチンに対する対照区)、ハダムシホモジナイズ+アジュバント区及びPBS+アジュバント区(ハダムシホモジナイズに対する対照

区)の4区であった。試験期間中は魚体重の3%量の 市販のブリ類用EP (日清丸紅飼料株式会社)を1日1 回、6回/週給餌した。飼育期間中の水温は21.0~23.6 ℃であった。

試験開始15日後及び29日後に各区8~11尾を取り上げ水道水に浸漬して、体表に寄生したハダムシ類を全て回収し70%エタノールで固定して計数した。

なお、本試験は東京海洋大学と共同で実施した(供 試ワクチンの製作は東京海洋大学が担当)。

### 事業の結果

### 1. カボスペーストの添加効果

供試飼料12回給餌後のヒラマサ1尾あたりの平均 ハダムシ類寄生数は、対照区で41.3個体、ペースト 5%区で27.2個体、ペースト10%区で35.4個体であっ た(図1)。また、24回給餌後では、対照区で85.7個 体、ペースト5%区で128.9個体、ペースト10%区で 122.9個体であった(図2)。

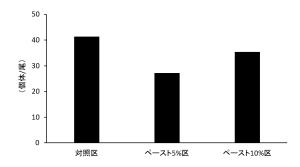


図1 12回給餌後のハダムシ類寄生数

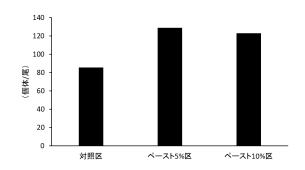
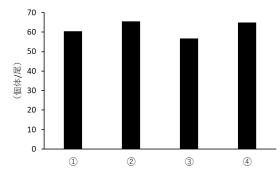


図2 24回給餌後のハダムシ類寄生数

### 2. ワクチンの効果

ワクチン接種15日後のヒラマサ1尾あたりの平均ハダムシ類寄生数は、DNAワクチン区で60.4個体、空ベクター区で65.5個体、ハダムシホモジナイズ+アジュバント区で56.8個体、PBS+アジュバント区で64.9個体であった(図3)。また、ワクチン接種29日後では、DNAワクチン区で227.0個体、空ベクター区で216.0個体、ハダムシホモジナイズ+アジュバント区で188.4個体、PBS+アジュバント区で174.4個体であった(図4)。



### 図3 ワクチン接種15日後のハダムシ類寄生数

(①DNAワクチン区、②空ベクター区、③ハダムシホモジナイズ+アジュバント区、④PBS+アジュバント区)

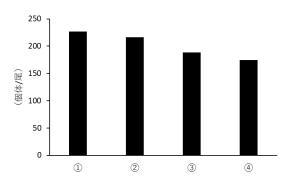


図4 ワクチン接種29日後のハダムシ類寄生数

(①DNAワクチン区、②空ベクター区、③ハダムシホモジ ナイズ+アジュバント区、④PBS+アジュバント区)

### 今後の課題

### 1. カボスペーストの添加効果

今年度の結果から、カボスペースト添加によるハ ダムシ類の駆虫効果は確認されなかった。今後はカ ボス資材以外の資材も検討する必要がある。

### 2. ワクチンの効果

今年度の結果から、DNAワクチン及びハダムシホモジナイズによるハダムシ類の駆虫効果は確認されなかった。今後は組換タンパク質等の効果についても検証する予定である。

### 水産加工品等高度利用化指導

安原翔太・都留久美子

### 事業の目的

水産加工を営む沿岸漁業者や漁協女性部などの加工技術の向上ならびに未利用・低利用資源、安価な魚介類などを用いた加工品の開発・改良の支援、流通改善を目的に、加工相談の対応などを実施した。

また、近年、養殖ブリのフィレ出荷が増加傾向あり、それに伴って内臓等の廃棄物も増加している。 当部では、未利用部位である胃袋の加工品製造について技術開発を行っているが、工程中最も課題となるのが粘液等のぬめり除去であり、昨年度に続き酵素を利用した手法を試みた。今年度は酵素濃度を昨年度より高くして酵素使用量と処理時間について検討した。

### 事業の内容及び方法

### 1. オープンラボ

漁業者などに当研究部内の加工施設の活用機会を 提供し、技術指導を行った。3回延べ9人が当施設活 用して、養殖ヒラメやハモを使った加工食品(フラ イ、すり身など)の開発・改良を行った。

### 2. 加工流通相談などへの対応

未利用資源や低価格水産物の有効利用、加工品の 品質向上などについて、9件延べ36人の相談に対応 した(表1)。

表1 加工相談の対応

相談件数	9
相談人数	36
対象水産物	養殖ヒラメ、ハモ、ブリ、ワカメ、
	ドジョウ、アジ、サバ

### 3. 養殖ブリ内臓利用技術開発

大分県漁協のブリフィレ加工場から排出された養殖ブリ内臓を用いた。内臓5~6尾分ずつをビニル袋に入れ-20℃で一旦冷凍させた後、冷蔵庫で24時間かけて緩慢解凍した。解凍後、内臓から胃袋を取り出した。酵素はサモアーゼ®PC10F(天野エンザイム株式会社製)を使用し、酵素濃度が1%、3%、5%、10%になるように70℃の水道水に溶かした。上述の酵素水溶液に胃袋を4尾分ずつ入れ、70℃の恒温機で酵素反応を促進した。60分後まで15分毎に状態を確認し、適宜胃袋を取り出して100℃の水道水に約1分間浸漬し酵素反応を停止させた後、水洗いした。

### 事業の結果

3%及び5%水溶液では、15分でぬめり除去が可能であった。また、1%水溶液でも30分後にはぬめりを除去できており、高濃度にすることで短時間での処理が可能なことが示唆された。

10%水溶液では、3%及び5%水溶液と同様に15分でぬめりが除去されていたが、45分後以降で胃袋の外側が裂ける現象が確認された(図2赤丸部分)。以上のことから、10%水溶液で45分以上の処理は、品質に悪影響を及ぼす可能性があると考えられた。



図1 酵素反応15分後に切開、洗浄した胃袋 (左から1%、3%、5%、10%)



図2 酵素反応45分後に切開、洗浄した胃袋 (左から1%、3%、5%、10%)

### 今後の課題

今年度の結果から、酵素を高濃度にすることで短時間での処理が可能なことが示唆された。今後はブリ以外の魚種の胃袋の処理方法について検証する。

### ヒラメ陸上養殖生産振興事業ー2 緑色LED光を活用したヒラメ養殖実証試験

都留久美子

### 事業の目的

大分県のヒラメ養殖業は、全国1位の生産量 (2018 年農林水産統計)を誇る主要産業である。近年、ヒラメやホシガレイ等の異体類に対する特定波長光の照射による成長促進効果が報告されており<sup>1)-4)</sup>、これらにより変態後から種苗サイズまでの効果は明らかにされているが、養殖ヒラメにおける種苗導入から出荷サイズまでの効果については調べられていない。

そこで、県内のヒラメ養殖業者に飼育を委託し 養殖行程での緑色LED照射による成長促進効果を 明らかにする。また、現状LED光の灯具が高額な ため、ヒラメ養殖場の全水槽に導入するのが困難 と考えられることから、1水槽にのみ灯具を設置し、 高密度飼育が可能な種苗導入期から分槽までの期 間緑色光を照射した場合を想定し、緑色光の限定 的な使用による成長促進効果を明らかにする(2018 年度から継続中)。さらに、灯具の設置個数につい ても検討する。

### 事業の方法

### 1. H30試験(初期限定照射の効果検証)

飼育試験は津久見市四浦のヒラメ養殖業者に委託した。民間種苗生産会社が生産したヒラメ種苗 (平均体重14.1g) を角形コンクリート水槽 (4.5×4.5m、水深約0.3m) 2面に各1,500尾 (収容密度74.1尾/㎡) 収容し、2018年11月に試験を開始した。

自然光、自然日長で飼育した区を対照区とし、緑色LED (スタンレー電気株式会社製、ピーク波長518nm)を照射した区をIED区とした。LED光の照射時間は6:00~18:00の12時間とし、灯具直下水面の光量子東密度が7~10μmol/m2・sになるよう調整した。またLED区は天井から若干の自然光を取り入れた。飼育水は生海水を使用し、流水量は1日約24回転とした。

対照区とLED区の平均体重の差が23.3 g (21.8%) となった2019年3月に、LED区の半数を同じ大きさの別水槽に分養した (初期照射区)。対照区からは約半数を取り上げ、各区の収容尾数が同尾数 (567尾、収容密度28.0尾/㎡) になるように調整し、その後は継続して飼育した。

飼料はヒラメ用EP (株式会社ヒガシマル製)を使用し、1日1回飽食給餌し、給餌量を記録した。4、6、8、9、10、11月に各区約20尾 (9月は約75尾、11月は30尾)を取り上げ、当部に持ち帰り、体重、全長、体長、体高、体幅、内臓重量、肝臓重量、生殖腺重量を測定した。また各区の増肉計数を以下の式から算出した。

増肉計数=給餌量(乾重)/{(試験終了時の平均 魚体重×生残尾数)-(試験開始時の平均魚体重×収 容尾数)-(サンプル及び斃死尾の魚体重)}(湿重) 試験期間中の水温は13.2~25.4℃であった。

### 2. R元試験(灯具設置個数の検証)

飼育試験は佐伯市蒲江のヒラメ養殖業者に委託した。民間種苗生産会社が生産したヒラメ種苗(平均体重118.8g)を角形キャンバス地水槽(8×8m、水深約0.5m)3面に各1,780尾(収容密度27.8尾/㎡)収容し、2019年6月に試験を開始した。

自然光、自然日長で飼育した区を対照区とし、緑色LED照明を天井に9個(0.14個/㎡)設置し照射した区を9個区、同様に4個(0.06個/㎡)設置した区を4個区とした。LED光の照射時間は6:00~18:00の12時間とした。4個区、9個区とも、自然光を取り入れた。飼料はヒラメ用EP(株式会社ヒガシマル製)を使用し、1日1回、飼料メーカーの給餌率表による制限給餌を行い、給餌量を記録した。試験開始から2020年2月まで、毎月各区約20尾を取上げて当部に持ち帰り、体重、全長、体長、体高、体幅、内臓重量、肝臓重量、生殖腺重量を測定した。各区の増肉計数をH30試験と同様の式によって算出した。試験期間中の水温は15.3~26.5℃であった。

### 事業の結果

### 1. H30試験(初期限定照射の効果検証)

測定結果のうち、平均体重の推移を示したのが図1である。対照区で8月26日から白点病による斃死が見られ、9月5日に全滅したため、対照区のサンプリング及び測定は9月3日で終了した。

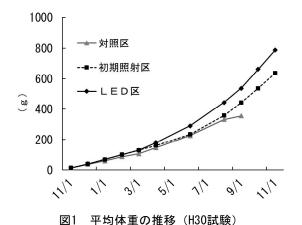
9月の平均体重は対照区355.4g、初期照射区441.9g、 LED区537.5gであり、いずれの区間もその差が有意 であった(Steel-Dwass test、p<0.01)。

11月の平均体重は初期照射区が638.1g、LED区が789.3gであり、2区間に有意な差が認められた(student's *t* test、P<0.01)。

9月のLED区の平均体重は、対照区の1.5倍、初期 照射区の1.2倍であったが、対照区については8月からの成長がほとんど見られず、白点病の影響を受けて停滞したと考えられた。また、11月の平均体重は、LED区は初期照射区の1.2倍であった。今回の試験では対照区が途中で全滅したため比較できないが、H29試験の結果では、試験開始12か月後のLED区の平均体重が対照区の1.6倍であった<sup>5)</sup>ことから、初期照射による一定の成長促進効果があったと推測された。

増肉計数は対照区1.07、初期照射区1.22、LED区 1.07であり、初期照射区でやや高い傾向にあった。

試験期間中の生残率は、分養までは図2、分養後は図3に示すとおりである。分養まではLED区が対照区よりやや斃死が多かったが、原因は不明である。また分養後はいずれの区も生残率が高く、対照区の白点病による死亡を除き98%以上で推移した。



100 95 90 85 11/8 12/6 1/3 1/31 2/28 図2 分養までの生残率の推移(H30試験)

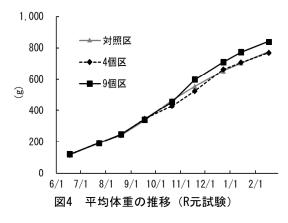
図3 分養後の生残率の推移 (H30試験)

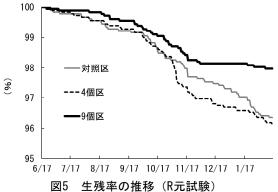
### 2. R元試験(灯具設置個数の検証)

測定結果のうち、平均体重の推移を示したのが図4 である。試験終了時の2月の各区の平均体重は対照 区が775.2g、4個区が769.0g、9個区が840.6gであり、 各区間の差は認められず (Tukey-Kramer test)、9個 区の平均体重は、対照区の1.1倍であった。H29試験、 H30試験とも対照区とLED区の間には1.5倍程度の平 均体重の差が見られたが、今回の試験では統計学的 にも差があるとは言えなかった。H29、H30試験と 今回の試験設定の違いは、水槽の広さ、給餌方法、 開始時の種苗サイズ、水温など、さまざまな点が挙 げられるため、成長の差に影響した明確な原因は不 明であった。また、4個区では11月1日から8日にか けて連日1~6尾の斃死があったため5日間給餌を中 止したことが成長に影響したと考えられ、9個区と4 個区の灯具数の違いによる成長への影響は不明であ った。

増肉計数は対照区1.19、4個区1.21、9個区1.16であり、9個区が最も低かった。

生残率は4個区で11月に25尾の斃死があったものの、試験終了時はいずれの区も96%以上と非常に高く、特に9個区は98%と顕著に高かった(図5)。





### 今後の課題

平成29年度から3カ年にかけて津久見湾、猪串湾の養殖場で委託試験を実施した。今後はヒラメ養殖生産量が最も多い入津湾に適した給餌方法、照射方法などの諸条件を検討する必要がある。

### 文献

- 1) Takeshi Y, Mizusawa K, Hasegawa E, Takahashi A. Green light stimulates somatic growth in the barfin flounder *Verasper moseri*. *J. Exp. Zool. Part A.* 2009; 311A:73-79.
- 2) 高橋明義, 清水大輔, 水澤寛太, 古藤澄久. 緑色LED光照射によるカレイ類養殖の新展開. 養殖ビジネス 2017;9:21-24.
- 3) Shimizu D, Kasagi S, Takeuchi R, Maeda T, Ando T, Takahashi A. Effects of green light on the growth of spotted halibut, *Verasper variagatus*, and Japanese flounder, *Paralichthis olivaceus*, and on the endocrine system of spotted halibut at different water temperatures. *Gen. Comp. Endocrinol.* 2019; 271:82-90.

- 4) 清水大輔,高橋明義.増養殖の高度化に向けた 光制御の利用 異体類での成果と研究の広がり.養 殖ビジネス 2020;2:4-7.
- 5) 都留久美子,木藪仁和. ヒラメ陸上養殖生産振 興事業-2 緑色LED光を活用したヒラメ養殖実証試 験. 平成30年度大分水研事業報告書2019;59-61.

### 酸素充填解凍を用いた生鮮用冷凍水産物の 高品質化技術開発

(水産庁委託事業)

都留久美子・安原翔太

### 事業の目的

本県においてブリ類養殖は県南地域での主要な水産業であり、近年はフィレやロインなどの加工 形態での出荷が増加している。さらには、輸出、フードロス等の観点から冷凍加工の技術開発が望まれているが、ブリ類の血合筋は冷凍処理により 褐変しやすいため、これを抑制する技術が必要である。

一方、マグロでは解凍時に酸素充填処理することにより褐変が抑制される技術が確立されている。

1) また、本県では特産の香酸柑橘であるカボスをブリ類の餌に混合して投与することにより、生鮮状態における血合筋の褐変を抑制する技術を確立していることから、酸素充填処理冷凍との相乗効果について検証する。

### 事業の方法

供試魚はブリ養殖業者から購入した天然種苗由来の1歳魚(平均体重3.2kg)を使用し、海上小割生簀( $3\times3\times2.5\mathrm{m}$ )3面に収容してそれぞれ異なる餌を投与した。すなわち、 $\mathrm{EP}$ 区には市販のブリ用 $\mathrm{EP}$ (ハマチソフトドライ13、坂本飼料株式会社)、 $\mathrm{MP}$ 区には当部で作成したモイストペレット、カボス区には当部で作成したカボス果皮粉末入りモイストペレット(表1)を週4~6回、合計37回飽食量給餌した。収容尾数は $\mathrm{EP}$ 区、 $\mathrm{MP}$ 区、カボス区でそれぞれ9尾、 $\mathrm{9R}$ 、 $\mathrm{10}$ 尾であった。飼育は $\mathrm{2019}$ 年 $\mathrm{10}$ 月23日から $\mathrm{12}$ 月18日までの56日間行い、飼育期間中の水温は $\mathrm{17.3}\sim21.9$ ℃であった。

給餌終了後にブリを取り上げて延髄破壊、脱血し、約2時間は冷海水中で、その後約14時間は4℃の冷蔵庫で冷却した。その後、各区3尾に約2時間の酸素充填処理を施し、専用器具で約2分半水道水による脱血を行い、3枚おろしにした胴体部分を約350gずつのブロック状に切断して真空急速凍結し

た(酸素処理区)。また、各区3尾(カボス区のみ2 尾)は酸素処理を行わず同様に凍結した(非酸素 処理区)。これらのサンプルを解凍評価まで-20℃で 保存した。

凍結保存したサンプルを、20日後、40日後、55日後、70日後に約1時間半氷水に浸漬して解凍し開封した。これを2等分し、うち1つから解凍0時間後に血合筋を含む約1cm厚さの切り身と、約2mm厚さの血合筋の薄片を作成し、0、30、60分後に切り身の写真撮影(EOS Kiss Disital X、キャノン)、薄片の色差測定(分光測色計CM-700d、コニカミノルタ)及びメト化率測定を行った。残る1つは解凍4時間後に同様の処理を行った。

また、餌及びブリ筋肉の一般成分分析と、GC/MSによる餌のポリフェノール類の定量を行った。ポリフェノール類の定量は大分県産業科学技術センターに協力いただいた。

表1 モイストペレットの原料と割合

MP区	カボス区
800	800
200	200
20	20
100	
	7
	800 200 20

### 事業の結果

血合筋の写真の結果は図1及び図2、血合筋薄片の色差測定結果は図3及び図4、メト化率測定結果は図5にそれぞれ示したとおりである。いずれの結果も凍結20日後のみを示した。また色差測定結果はb\*/a\*値及びL\*値のみを示した。凍結20日後のb\*/a\*値は解凍0時間後、4時間後とも酸素処理区

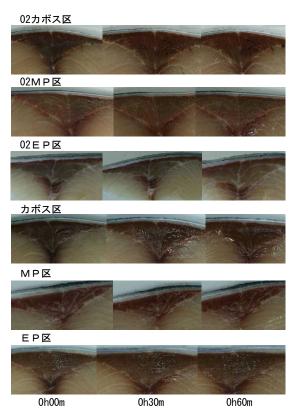


図1 凍結20日後に解凍し0時間後の切り身の写真. 「02カボス区」はカボス区を酸素充填処理しもの. 以下同様. 左から、解凍0、30、60分後.

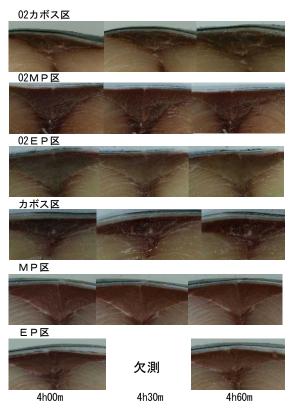


図2 凍結20日後に解凍し4時間後の切り身の写真. 左から、解凍4時間後の0、30、60分後.

と非酸素処理区では、同じ餌区間においては非酸素処理区で低い傾向にあった。また餌の種類ではカボス区、MP区、EP区の順で低い傾向にあった。L\*値は解凍0時間後、4時間後ともカボスを給餌した区で低くなる傾向があり、他区より暗い色調であった。

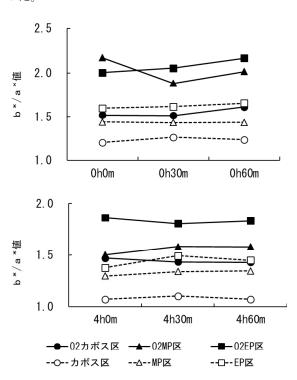


図3 凍結20日後に解凍し、0時間後(上)と 4時間後(下)のb\*/a\*値.

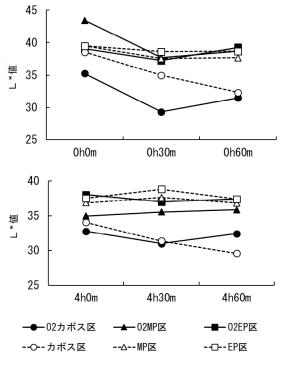


図4 凍結20日後に解凍し、0時間後(上)と 4時間後(下)のL\*値.

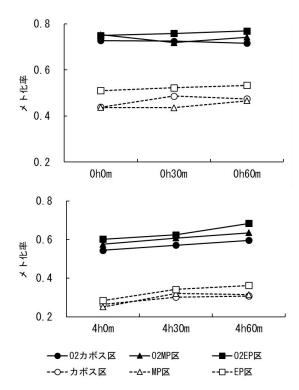


図5 凍結20日後に解凍し、0時間後(上)と 4時間後(下)のメト化率.

メト化率では、餌の違いにかかわらず酸素処理区と非酸素処理区で傾向が分かれ、解凍0時間後、4時間後とも非酸素処理区で低かった。また、いずれの区も0時間後より4時間後の方がメト化率が低い傾向にあり、解凍後に真空包装を開封し酸素と接触することでミオグロビンのオキシ化が促進されたと考えられた。

表2 一般成分分析結果(上:餌、下:筋肉)

				(%)
	水分	粗たんぱく	粗脂肪	灰分
カボス区	61.0	24.0	4.0	6.0
MP区	56.1	20.2	12.3	5.2
EP⊠	4.0	41.3	22.2	11.1
				(%)
	水分	粗たんぱく	粗脂肪	灰分
カボス区	73.3	21.3	4.5	1.5
MP区	65.0	20.5	13.3	1.5
EP区	65.4	21.7	11.8	1.5

表3 ポリフェノール類定量結果

				(mg/100g)
	ナリルチン	ナリンギン	ヘスペリジン	ネオヘスペリジン
カボス区	5.5	2.0	7.5	2.3
MP区	nd	nd	nd	nd
EP区	nd	nd	nd	nd

餌及びブリ筋肉の一般成分分析結果は表2、ポリフェノール類の定量結果は表3に示したとおりである。カボス区は餌、筋肉ともに粗脂肪の割合が低い傾向にあった。またポリフェノール類はカボス区のみで検出された。

### 今後の課題

餌の違いではカボス給餌によるb\*/a\*値の低下等が観察されたが、酸素充填処理では餌の種類にかかわらずメト化率が上昇する傾向があった。酸素充填が不十分な場合、凍結・解凍時に急激にメト化が進行する可能性があるため、今後は酸素充填時のブリ筋肉中の酸素分圧を測定し、十分な酸素の供給を行うことによるメト化の抑制効果を検証する。

### 文献

1) 今村伸太朗,鈴木道子,山下倫明,大村裕治.酸素ガス置換包装又は酸素ガス置換貯蔵を用いたマグロ類等の筋肉の冷蔵、冷凍、解凍、貯蔵法、並びに酸素ガス置換包装されたマグロ類等の筋肉.特開2015-15946,2015.

# ブリ類養殖業成長産業化推進事業

安原翔太

## 事業の目的

海面養殖の養殖魚の生育状況を把握する方法は、数匹から数十匹の魚を網もしくは釣りでサンプリングした後、麻酔をかけて体重・尾叉長等を測定するのが一般的である。しかしながら、この方法は、魚体を傷つける可能性が高く作業が重労働な上、無作為抽出が困難なため必ずしも平均値が取れているとは限らないといった問題がある。本事業では、労力削減と正確な生育データを取得することを目的に、ICT技術を活用したブリ自動体測システムを用いた測定方法について検討した。

# 事業の方法

試験は佐伯市米水津の養殖業者の海面生簀2面で行った。測定は、生簀No.1では2019年12月13日及び翌年2月27日の計2回、生簀No.2では2019年11月20日、12月13日、翌年2月6日及び2月27日の計4回行った。ウミトロン株式会社が開発したポータブルタイプの水中カメラで魚群を撮影し、同社が開発したAI技術による自動体側システムを用いて魚体の尾叉長及び体高を測定した。得られた尾叉長及び体高から平均体重を算出した。

## 事業の結果

生實No.1の自動体側システムが測定した平均尾叉 長及び測定値から算出した平均体重の推移が図1で ある。本システムでの測定で成長を確認することが できた。

生簀No.2の自動体側システムが測定した平均尾叉 長及び測定値から算出した平均体重の推移が図2で ある。生簀No.2でもNo.1と同様に、本システムでの 測定で成長を確認することができた。

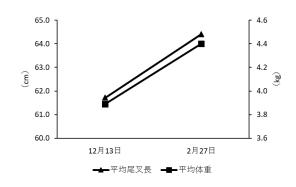


図1 平均尾叉長及び平均体重の推移(生簀No.1)

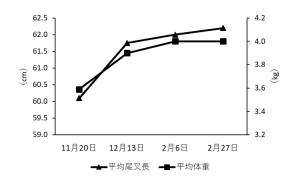


図2 平均尾叉長及び平均体重の推移(生簀No.2)

# 安心・安全で環境に優しい養殖推進事業 環境調査

中里礼大・井口大輝

# 事業の目的

持続的な養殖漁場の保全を図るため、持続的養殖 生産確保法で養殖漁場の改善が定められている。本事 業は、同法に基づく生産者の自主的な取り組みを行う ための基礎資料を得ることを目的として、水質及び底質 のモニタリング調査を行った。

# 事業の方法

#### 広域調査

2019年9月9日~9月19日に、養殖漁場環境調査定点39点(図1)のうち、入津地先及び蒲江地先における定点28入津湾~定点39屋形島外の計11定点において、水質及び底質のモニタリング調査を実施した。

調査項目は、水温、塩分、透明度、溶存酸素(DO)、化学的酸素要求量(COD)、溶存無機三態窒素(DIN)及びリン酸態リン(PO4-P)の水質7項目及び、強熱減量(IL)、化学的酸素要求量(COD)及び酸揮発性硫化物(AVS)の底質3項目について調査した。

水質は、各調査点の4層(0,5,10,B-1m)または3層(0,5,B-1m)においてCTDを用いて水温、塩分、水深の測定を行った後、リゴーB号採水器により採水した試料海水を実験室に持ち帰って分析した。

底質は、エクマンバージ採泥器 (15×15cm) で採泥 し、表層泥を試料泥として採取し実験室に持ち帰り分析 した。

分析は、海洋観測指針¹¹、水質汚濁調査指針²²に基づき行った。なお、ILについては450℃・2時間の強熱後の測定値と、さらに550℃・6時間強熱処理した後の測定値を得た。

## 事業の結果

広域調査の水質の観測及び分析結果は表1、底質の分析結果は表2に示した通りである。

過去10年間(1994~2003年)のデータがそろっている30定点について、夏季の底質データのうち、IL(450

 $\mathbb{C} \cdot 2h$ )、COD、AVSを用いて主成分分析を行い合成指標の式を求めたところ、合成指標値(S) =  $0.561 \times (IL-3.55)$  /  $2.48+0.588 \times (COD-15.05)$  /  $14.37+0.582 \times (AVS-0.28)$  / 0.52 が得られた。これを用いて I (S < -0.1) は良好な底質環境、II ( $-0.1 \le S < 2$ ) はやや悪い底質環境、III ( $2 \le S$ ) は有機汚染が進行し悪い底質環境とし、2019年度の底質調査の結果を評価すると、データの得られた11定点の内、8点が I、2点が II、1点がIIIに分類された。

# 文献

- 1) 気象庁:海洋観測指針,日本海洋学会,東京,1990, pp.149-186.
- 2)日本資源保護協会:新編水質汚濁調査指針, 恒星社厚生閣,東京,1980,pp.242-257.

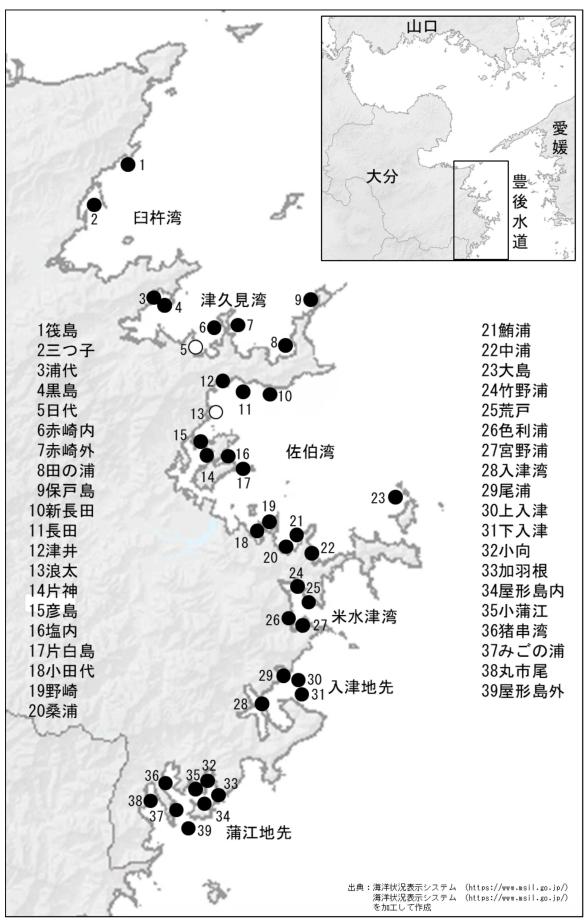


図1. 養殖漁場環境調査定点図

表1. 2019年度養殖漁場環境調査結果

調査点		入津地先				蒲江地先							
項目		入津湾	尾浦	上入津	下入津	小向	加羽根	屋形島内	小蒲江	猪串湾	みごの浦	丸市尾	屋形島外
調査月日		9/19	9/19	9/19	9/19	9/17	-	9/9	9/9	9/17	9/9	9/17	9/17
水深(m)		21. 5	15. 0	26. 5	12.0	7.5	-	13.8	13.6	19. 2	19. 2	10.5	31.0
T r (m)		7. 2	7. 5	10.0	10.0	4.5	-	5. 0	6.0	9.5	6.0	5. 0	5.0
	0	24. 6	23. 6	23. 2	23.9	24.9	-	25. 5	25. 5	24. 9	25.4	24.6	25.0
水温	5	24. 6	23. 5	23. 2	23.9	24.8	-	24. 4	24. 7	24. 7	24.8	24.8	24. 9
/ 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1	10	23. 9	22. 3	23. 1	23.3	-	-	23. 9	23.8	24.5	23.9	23.6	24. 9
	B-1	21.2	21.5	21.9	23.0	24.6	-	23.0	23. 4	22.5	21.9	23.3	22.9
	0	33. 26	33. 64	33. 71	33.63	33.39	-	32.63	32.89	33. 52	32.89	33.38	33. 64
塩分	5	33. 25	33. 66	33. 69	33.63	33.49	-	33. 28	33. 27	33. 51	33. 32	33.58	33. 63
-m_/J	10	33. 48	33. 72	33. 69	33.69	-	-	33. 41	33. 37	33. 58	33. 38	33.68	33.66
	B-1	33. 75	33. 83	33. 81	33.43	33.66	-	33.48	33. 45	33.66	33.65	33.65	33. 79
	0	6.96	6.66	5.87	6. 67	6.83	-	8.02	7. 99	6.42	7.91	6.87	7. 00
DO	5	6.88	6.28	5.72	6. 67	6.77	-	7.03	7.82	6.44	7.70	6.77	6. 91
DO	10	5.71	6.31	6.0	6. 57	-	-	7.48	7.74	6.39	7.85	-	6. 87
	B-1	0.26	6.31	6.41	6. 48	6.70	-	6. 95	7. 53	5.41	5.78	6. 29	6. 58
	0	0.31	2.41	5.06	4. 69	4.86	-	1.49	0.02	2.94	0.18	0.70	0.81
DIN	5	0.32	2.98	4.83	2.05	2.02	-	0.58	0.02	2.38	0.02	1.63	0.82
D 111	10	2.03	3.01	4.3	2.50		-	0.17	0.02	2.51	0.02	-	1.04
	B-1	35. 36	5.39	4. 43	3.06	1.32	-	0.88	0.09	5.41	4.69	2.32	2. 99
	0	0.27	0.33	0.53	0.35	0.42	-	0.06	0.05	0.42	0.06	0. 22	0.17
P04-P	5	0. 29	0.37	0.53	0. 29	0.27	-	0.15	0.07	0.36	0.08	0. 28	0.16
1011	10	0.59	0.37	0.5	0.34		-	0.16	0.10	0.49	0.08	-	0.17
	B-1	5. 11	0.51	0.39	0.36	0.25	-	0.35	0.17	0.92	0.90	0.37	0.33

\*水温は0.5m層を示す。

単位:水温(℃)、DO(m1/L)、DIN·PO4-P(μM)

 $*D0 (m1/1) \div 0.7 = D0 (mg/1)$ 

表2. 2019年度底質分析結果

調査		調査		漁業種類	H31年度						
年月日	No.	点名	湾·海域		IL(%) 450℃	IL(%) 550℃	AVS (mg/g乾泥)	COD (mg/g乾泥)	合成指標 (S)	底質評価	
R1.9.19	28	入津湾	入津地区	湾央	11.30	14.74	2.21	68.66	6.10	Ш	
R1.9.19	29	尾浦	入津地区	魚類小割	2.39	4.47	0.07	9.14	-0.74	I	
R1.9.19	30	上入津	入津地区	魚類小割	2.49	4.35	0.42	11.47	-0.23	I	
R1.9.19	31	下入津	入津地区	魚類小割	1.15	2.58	0.04	3.12	-1.30	I	
R1.9.17	32	小向	蒲江南部	魚類小割	2.31	4.22	0.07	9.81	-0.73	I	
-	33	加羽根	蒲江南部	魚類小割	-	-	-	_	-	_	
R1.9.9	34	屋形島内	蒲江南部	魚類小割	1.57	3.15	0.02	7.29	-1.05	I	
R1.9.9	35	小蒲江	蒲江南部	ひおうぎ	3.55	6.31	0.02	11.45	-0.43	I	
R1.9.17	36	猪串湾	蒲江南部	魚類小割	6.47	10.07	0.48	29.02	1.46	$\Pi$	
R1.9.9	37	みごの浦	蒲江南部	魚類小割	5.41	6.94	0.04	2.93	-0.35	I	
R1.9.17	38	丸市尾	蒲江南部	魚類小割	4.66	7.44	0.10	20.23	0.26	$\Pi$	
R1.9.17	39	屋形島外	蒲江南部	魚類小割	0.82	1.99	0.00	0.92	-1.51	I	
		平 均			3.83	6.02	0.32	15.82	0.13		

単位:IL(%)、AVS•COD(mg/g•dry)

\*合成指標値(S)=0.561×(IL-3.55)/2.48+0.588×(COD-15.05)/14.37+0.582×(AVS-0.28)/0.52

漁場評価 I S<-0.1 良好な底質環境

Ⅱ -0.1≦S<2.0 やや悪い底質環境

Ⅲ S≥2.0 悪い底質環境

# 資源・環境に関するデータの収集・情報の提供事業 - 2 浅 海 定 線 調 査 等 (国庫交付金)

中里礼大・井口大輝

# 事業の目的

本調査は、別府湾・伊予灘海域における漁場環境 の実態把握及び内海漁業資源の動向予測に必要な基 礎データ収集を目的とする。

# 事業の方法

# 1. 浅海定線調査

毎月上旬に漁業調査船「豊洋」を使用して行った。 水温と塩分はCTDで観測し、採水試料の栄養塩はオートアナライザー(SWAAT、 BLTEC社製)を用いて 分析した。

# 1)調査月日

 2019年 4月 2日~ 5日
 10月 1日~2日、7日~8日

 5月 7日~ 9日
 11月 5日~7日

 6月 4日~ 7日
 12月 4日~6日

 7月 1日~ 4日
 2020年 1月 7日~9日

 8月 7日~ 9日
 2月 3日~5日

9月 3日~ 6日 3月 2日~4日

# 2)調査項目

気象、海象、水温、塩分、透明度、DO、COD、NH<sub>4</sub>-N、NO<sub>2</sub>-N、NO<sub>3</sub>-N、PO<sub>4</sub>-P (ただし、DO、COD、NH<sub>4</sub>-N、NO<sub>2</sub>-N、NO<sub>3</sub>-N、PO<sub>4</sub>-Pについては、定点7、9、17、21、22、26、27、31のみ測定した。)

# 3)調査定線

調査定線(ナーセー9線)を図1に示す。

## 2. 水温の定点調査

## 1)調査体制

佐伯湾内に位置する水産研究部前(図2)の桟橋付近における表層海水(0m)を、午前8時30分に採水し、棒状水温計で水温を測定した。平年値

は、1990~2010年の20年間の平均値を用いた。

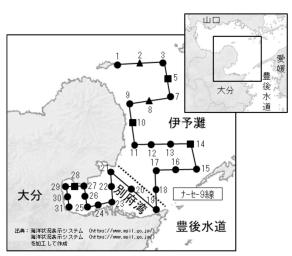


図1. 浅海定線調査定線図

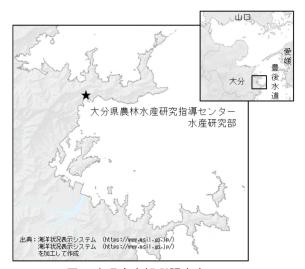


図2. 水温定点観測調査点

# 事業の結果

# 1. 浅海定線調査等

## 1) 気象

大分市における2019年度の気象の推移(大分気象台)は図3に示したとおりである。

気温:7月上旬~下旬、8月下旬は平年より低めであったが、その他の月は平年より高めで推移した。1月の月平均気温は、観測史上最高値を記録した。

降水量:7月中旬~8月下旬は平年より高めで推移したが、その他の月は概ね平年より低めで推移した。九州北部地域の梅雨入りは観測史上最も遅く、6月26日ごろであった。

日照時間:4月上旬~6月下旬、11月上旬~中旬、1 月上旬、3月中旬は平年より高めで推移し、その他の月は概ね低めで推移した。

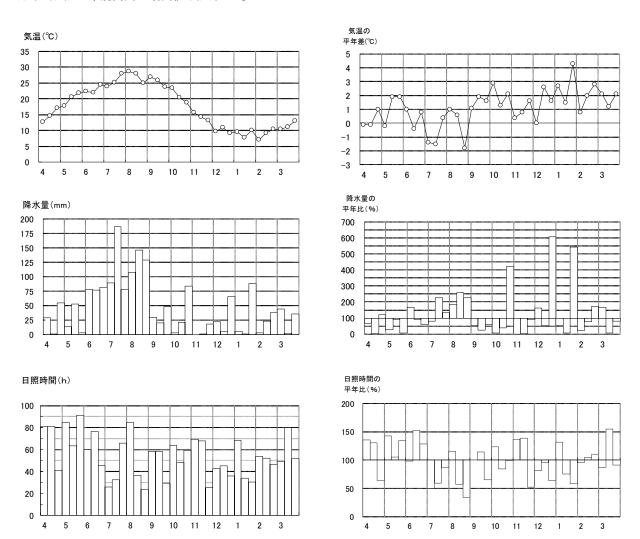


図3. 2019年度大分市における気象 (気象庁気象統計情報).

2

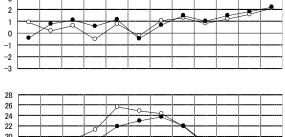
## 2) 海象

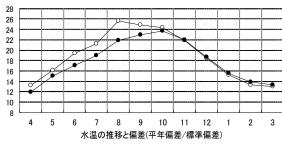
# 水 温

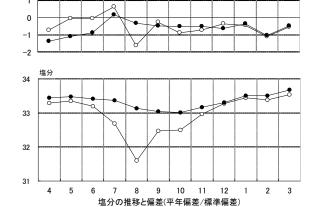
水温の観測結果は図4に示したとおりである。

伊予灘の表層は13.01~25.58℃、底層は11.94~23.70℃で推移した。表層は、11月、2月「かなり高め」、3月「甚だ高め」であった他は「平年並み」~「やや高め」であった。底層は、11月、1~2月「かなり高め」、3月「甚だ高め」であった他は「平年並み」~「やや高め」であった。

別府湾の表層は12.13~26.65℃、底層は12.17~22.68℃で推移した。表層は、10月「かなり高め」であった他はは「平年並み」~「やや高め」であった。底層は、9月「かなり低め」、11月、1~2月「かなり高め」、3月「甚だ高め」であった他は「平年並み」~「やや高め」であった。





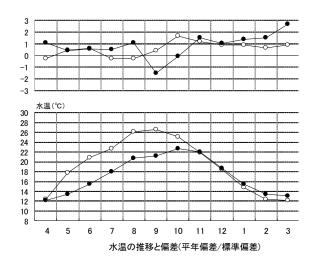


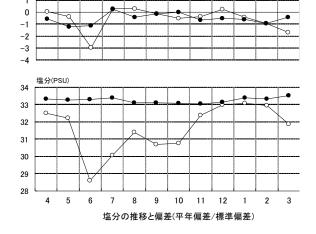
## 塩 分

塩分の観測結果は図4に示したとおりである。

伊予灘の表層は31.59~33.53PSU、底層は33.01~33.67PSUで推移した。表層は、8月「かなり低め」であった他は「やや低め」~「やや高め」であった。底層は、4月「かなり低め」であった他は「やや低め」~「平年並み」であった。

別府湾の表層は、30.04~33.06PSU、底層は33.03~33.52PSUで推移した。表層は、6月「甚だ低め」、2月「やや低め」、3月「かなり低め」であった他は「平年並み」であった。底層は、5~6月、11月、2月「やや低め」であった他は、「平年並み」であった。





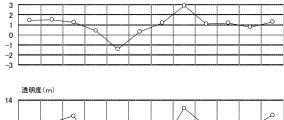
○:表層 •:底層

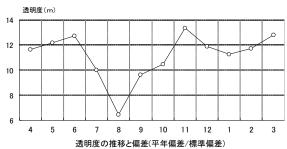
図4. 2019年度の水温および塩分の推移(左:伊予灘、右:別府湾).

## 透明度

透明度の観測結果は図5に示したとおりである。

伊予灘は6.45~13.36mで推移した。4~5月、8月「かなり低め」、11月「甚だ高め」であった他は「平年並み」~「やや高め」であった。





別府湾は、5.25~11.00mで推移した。11月「甚だ高め」であった他は「やや低め」~「やや高め」であった。

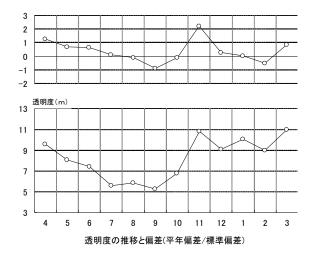


図5. 2019年度の透明度の推移(左:伊予灘、右:別府湾).

\*各項目の評価基準

評価基準 (平年偏差/標準偏差)

平年並 : -0.6~0.6

やや高め (低め) : 0.6~1.3 (-1.3~-0.6) かなり高め (低め) : 1.3~2.0 (-2.0~-1.3)

甚だ高め(低め) : 2.0∼ (∼-2.0)

#### 3) 栄養塩等

## DINおよびP04-P

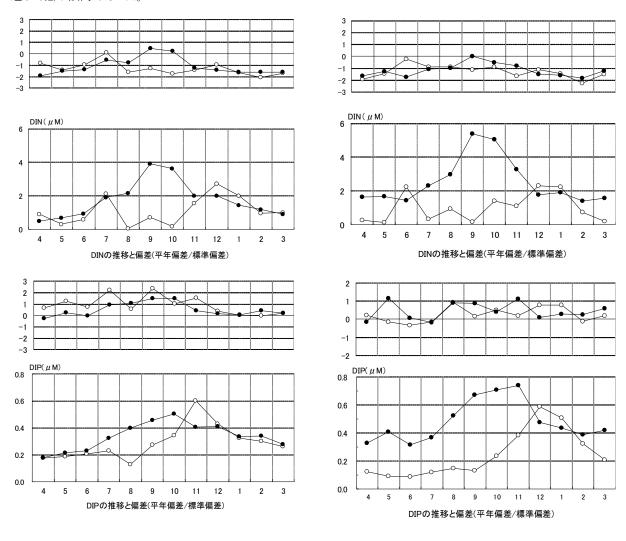
DINおよびPO4-Pの測定結果は図6に示したとおりである。

伊予灘のDINは、表層は $0.08\sim2.74\mu$ M、底層は $0.53\sim3.92\mu$ Mで推移した。表層は、7月「平年並み」であった他は、周年を通して低めで推移し、2月は「甚だ低め」であった。底層は、7月、 $9\sim10$ 月「平年並み」であった他は、周年を通して低め傾向であった。

別府湾のDINは、表層は $0.15\sim2.32\mu M$ で、底層は  $1.42\sim5.40\mu M$ で推移した。表層は、6月「平年並み」で あった他は低めで推移し、2月は「甚だ低め」で推移した。底層は、 $9\sim10$ 月「平年並み」であった他は、周年を 通して低め傾向であった。

伊予灘の $PO_4$ -Pは、表層は $0.13\sim0.60$  $\mu$ M、底層は $0.18\sim0.51$  $\mu$ Mで推移した。7月、9月「甚だ高め」、11月は「かなり高め」であった他は、「平年並み」~「やや高め」で推移した。底層は、 $7\sim8$ 月「やや高め」、 $9\sim10$ 月「かなり高め」であった他は、「平年並み」であった。

別府湾の $PO_4$ -Pは、表層は $0.09\sim0.59\mu$ M、底層は $0.32\sim0.74\mu$ Mで推移した。表層は、8月、 $12\sim1$ 月「やや高め」であった他は「平年並み」であった。底層は、5月、 $8\sim9$ 月、11月「やや高め」であった他は、「平年並み」であった。



○:表層 ●:底層

図6. 2019年度のDINおよびPO<sub>4-</sub>Pの推移 (左:伊予灘、右:別府湾).

## DOおよびCOD

DOおよびCODの測定結果は図7に示したとおりである

伊予灘のDOは、表層が5.18~6.58 ml/L、底層が4.50~6.47 ml/Lであった。表層は、6~7月「平年並み」であった他は、高め傾向であった。底層は、6~7月、1月「平年並み」であった他は高め傾向であった。

CODは、表層が0.09ppm $\sim 0.66$ ppm、底層が0.21ppm $\sim 0.63$ ppmであった。表層は、10月「平年並み」であった他は低め傾向であった。底層は、6月、2月は「かなり低め」であった他は、「やや低め」 $\sim$ 「平年並み」で推移した。

別府湾のDOは、表層が5.07~6.61ml/L、底層が3.89~6.21ml/Lで推移した。表層は「やや低め」~「やや高め」であった。底層は、4月「かなり高め」であった他は「平年並み」~「やや高め」であった。

CODは、表層が0.17ppm~0.83ppm、底層が0.19~0.50ppmで推移した。表層は、2月「甚だ低め」であった他は「かなり低め」~「平年並み」であった。底層は、6月及び2月「かなり低め」であった他は、「やや低め」~「平年並み」で推移した。

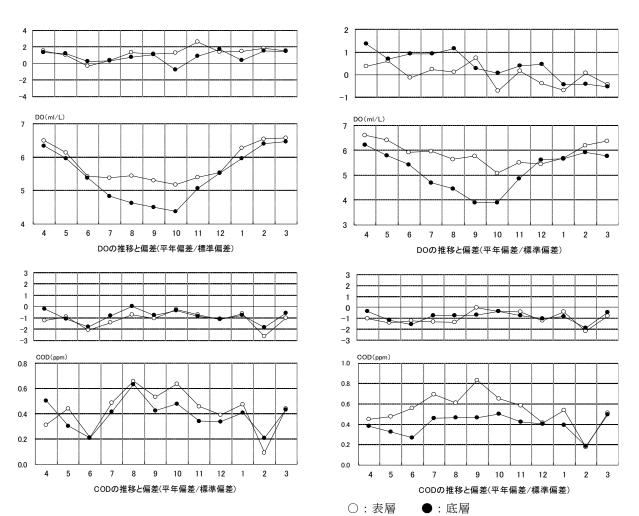
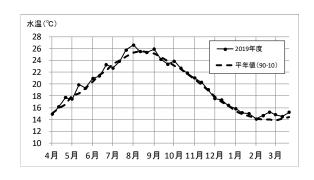


図7. 2019年度のDOおよびCODの推移 (左:伊予灘、右:別府湾).

# 2. 水温の定点調査

佐伯湾内(上浦地先)の水温(0m)の定点調査結果は図8に示したとおりである。

2019年度における旬別平均水温は、8月上旬の26.6 ℃が最高値で、2月上旬の14.1℃が最低値であり、年間を通じて概ね平年と比べ高め傾向で推移した。



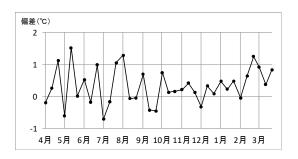


図8. 2019年度の佐伯湾定点における表層水温(旬平均値)の推移.

# 漁場環境保全事業 (貝毒)

中里礼大・井口大輝

# 事業の目的

貝毒原因プランクトンをモニタリングすることで二枚貝 の毒化を監視し、食品としての安全性を確保する。

# 事業の方法

佐伯市蒲江南部海域沿岸の蒲江湾、小蒲江湾、猪 串湾及び名護屋湾内に計8点の調査点を設け(図1)、 貝毒原因プランクトンの出現状況に応じて、2019年4月 から2020年3月の期間中、毎月4回から5回の頻度で調 査を実施した。

調査内容は、小蒲江湾及び猪串湾では採水、環境 測定及び二枚貝の採取を行い、蒲江湾及び名護屋湾 では採水のみを行った。各調査点の採水層は表層及 びChl-a極大層とし、貝毒原因プランクトンが例年高密 度に発生する猪串湾の森崎では、表層、2m層、5m層、 10m層及び底上1m層とした。環境測定は多項目水質 計(AAQ-RINKO® JFEアドバンテック社製)を使用し て0.5m層~海底まで0.1m毎に水温、塩分等の測定を 行った。採取した二枚貝は、猪串湾では森崎の天然ム ラサキイガイ、小蒲江湾では小蒲江及び赤バエの養殖 ヒオウギガイを採取した。貝毒原因プランクトンの増加が 確認された際は、二枚貝の種類および採取点を増やし て検査体制を強化した。採水した海水は、実験室に持 ち帰った後、直ちに孔径10μmのプランクトンネットを用 い、1Lから10mlへ100倍濃縮し、貝毒原因プランクトン 検査用の試料とした。貝毒原因プランクトンは固定を行 わずに光学顕微鏡を用いて種の同定、計数等を行っ た。採取した二枚貝は公定法に準拠した手法により貝 毒成分を抽出しELISA法または公定法により毒力を測 定した。ELISA法による毒力(MU/g)については、各種 原因プランクトンに応じた変換計数により測定を行って おり、Alexandrium catenellaが1,000 cells/L以上検出さ れた期間は0.9、その他は0.3を用いている。

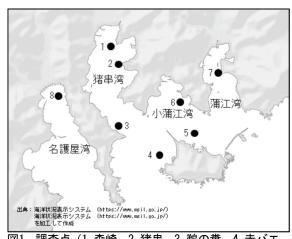


図1. 調査点(1 森崎、2 猪串、3 鵜の糞、4 赤バエ、 5 屋形島、6 小蒲江、7 蒲江、8 名護屋)

## 事業の結果

#### I. 貝毒原因プランクトン出現状況

## 1. 猪串湾、小蒲江湾

## 1) Gymnodinium catenatum

各調査点のG.catenatumの鉛直平均細胞密度の推移は図2に示した通9である。森崎は $0\sim22,564$ cells/L、猪串は $0\sim5,310$ cells/L、鵜の糞は $0\sim620$ cells/L、赤バエは $0\sim80$ cells/L、屋形島は $0\sim10$ cells/L、小蒲江は $0\sim150$ cells/Lで推移した。猪串湾内では、4月上旬 $\sim7$ 月下旬、2月中旬 $\sim3$ 月下旬に警戒密度 (100cells/1)を超える細胞が確認された。本種の出現時期を平年( $2011\sim2018$ 年度)と旬別に比較すると、概ね低め傾向で推移した(図3)。

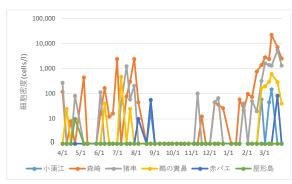


図2. 猪串湾、小蒲江湾におけるG. catenatum細胞密度の推移



図3. 森崎における平年値及び2019年度の G. catenatum細胞密度(5層平均)の旬別推移

#### 2) Alexandrium catenella

各調査点のA.catenellaの鉛直平均細胞密度の推移は図4に示した通9である。森崎は $0\sim26,200$ cells/L、猪串は $0\sim12,000$ cells/L、鵜の糞は $0\sim140$ cells/L、赤バエは $0\sim30$ cells/L、屋形島は $0\sim1,000$ cells/L、小蒲江は $0\sim80$ cells/Lで推移した。猪串湾内における細胞密度のピークは2度確認され、4月上旬~中旬及び1月上旬~中旬に確認された。

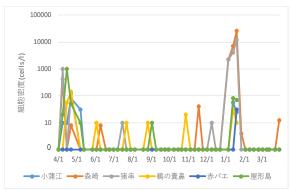


図4. 猪串湾、小蒲江湾におけるA. catenella細胞密度の推移

# 3) Dinophysis spp.

各調査点のDinophysis spp.の鉛直平均細胞密度の推移は図5に示した通りである。森崎は $0\sim1,000$ cells/L、猪串は $0\sim1,000$ cells/L、鵜の糞は $0\sim500$ cells/L、赤バエは $0\sim1,000$ cells/L、屋形島は $0\sim500$ cells/L、小蒲江は $0\sim500$ cells/Lで推移した。

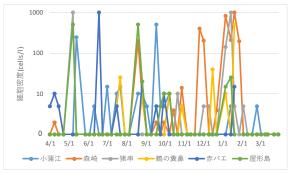


図5. 猪串湾、小蒲江湾におけるDinophysis spp細 胞密度の推移

#### 2. 蒲江湾、名護屋湾

#### 1) Gymnodinium catenatum

G.catenatumの鉛直平均細胞密度の推移は図6に示した通りである。名護屋湾は0~7,500cells/Lで推移した。蒲江湾は0~1,660cells/Lで推移した。

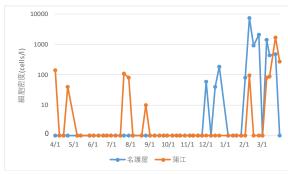


図6. 名護屋湾、蒲江湾における G. catenatum 細胞密度の推移

#### 2) Alexandrium catenella

A.catenellaの鉛直平均細胞密度の推移は図7に示した通りである。名護屋湾は0~3,500cells/Lで推移した。 蒲江湾は0~20cells/Lで推移した。



図7. 名護屋湾、蒲江湾におけるA. catenel la細胞密度の推移

# 3) Dinophysis spp.

Dinophysis spp.の鉛直平均細胞密度の推移は図8に示した通りである。名護屋湾は0~500cells/Lで推移した。蒲江湾は0~35 cells/Lで推移した。

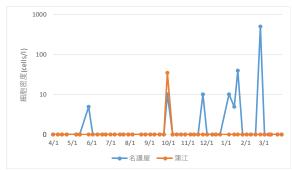


図8. 名護屋湾、蒲江湾におけるDinophysis spp細胞密度の推移

#### Ⅱ.環境

#### 1) 水温

森崎における各層水温の推移および平年値との比較は図9に示した通りである。平年値比較には2m、5m、10m、底上1mの各層の鉛直平均値を月平均して用いた。平年値は2000年1月~2018年12月の期間の値を使用した。

2019年度における各層水温は、0.5m層が16.2°C~27.3°C、2m層が16.2°C~25.8°C、5m層が16.4°C~25.3°C、10m層が16.4°C~25.2°C、底上1m層が16.4°C~24.8°Cで推移した。最高水温は0.5m層は8月上旬、2m層は87月下旬及び8月中旬、5m層は8月中及び107月上旬、10m層は8月中旬、底上1mは107月上旬に認められた。一方、最低水温は、0.5m層及び2m層は27月上旬、5m層は27月上旬及び37月上旬、1090層は37月上旬~中旬、底上11mは37月中旬に観測された。成層は47月下旬から19月下旬まで認められた。月平均水温について、17月中旬、110月上旬、12月下旬~中旬は平年よ110高め、12月上旬~中旬は平年よ12月下旬~中旬は平年よ13点。

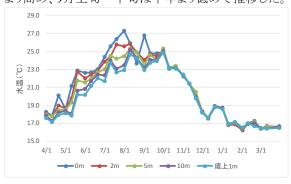




図9. 2019年度における森崎各層水温の推移(上段) と平年値との比較(下段)

## 2) 塩分

森崎における各層塩分の推移および平年値との比較は図10に示した通りである。平年値比較には2m、5m、10m、底上1mの各層の鉛直平均値を月平均して用いた。平年値は2000年1月~2018年12月の期間の値を使用した。各層塩分は、0.5m層が25.24~34.54、2m層が32.39~34.50、5m層が33.01~34.55、10m層が33.28~34.55、底上1m層が33.34~34.54で推移した。最低塩分は0.5m層で8月下旬、2m層及び5m層で7月下旬、10

m層及び底上1m層で7月中旬に観測された。最高塩分は、底上1m層は1月下旬に観測されたが、その他の層は4月上旬に観測された。

月平均塩分について、6月下旬~7月上旬は平年より 高め、7月中旬~下旬、9月上旬、10月上旬、2月上旬 ~中旬は平年より低めで推移した。

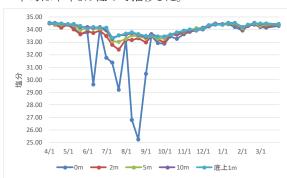




図10. 2019年度における森崎各層塩分の推移(上段) と平年値との比較(下段)

#### Ⅲ. 二枚貝毒化状況

## 1. 猪串湾

森崎における天然ムラサキイガイのELISA法による麻痺性貝毒毒力の推移は図11に示した通りである。毒力はN.D.(0.1 MU/g未満)~120.9MU/gで推移した。2018年冬場からG.catenatumの発生が確認されていたが、春先から同種細胞密度の減少に伴い毒の蓄積が解消された。2019年1月にA.catenellaのブルームが確認されたことに伴い毒化が進行し、中旬には今年度最高値120.9MU/gの毒が検出された。2月からはG.catenatumの増殖が確認され、年度末に至るまで4MU/gを超える毒の蓄積が認められた。

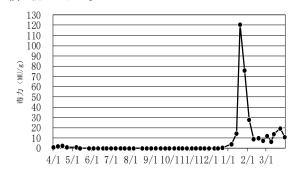


図11. 森崎における天然ムラサキイガイ毒力の推移

# 2. 小蒲江湾

小蒲江及び赤バエにおける養殖ヒオウギガイのELIS A法による麻痺性貝毒毒力の推移は図12に示した通りである。小蒲江はA.catenella及びG.catenatumが増殖した際に2回の毒力の増加が認められ、毒力はN.D(0.1M U/g未満)~7.7MU/gで推移した。2018年10月下旬から5月上旬の間、G.catenatum及びA.catenellaの増殖により毒の蓄積が認めれ、5月上旬に3.5MU/gの毒が検出された。1月上旬からはA.catenellaの増殖に伴い毒の蓄積が認められ、1月中旬に今年度最高値7.7MU/gの毒が検出された。一方、避難漁場として運用している赤バエの養殖ヒオウギガイは、最大2.2MU/gの毒の蓄積に留まり、避難漁場としての有効性が支持された。

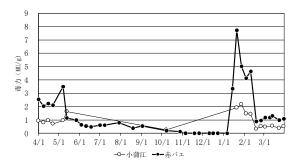


図12. 小蒲江及び赤バエにおける養殖ヒオウギガイ の毒力の推移

# 漁場環境保全事業 (赤潮)

井口大輝・中里礼大・内海訓弘

## 事業の目的

近年、西日本では有害プランクトンの発生拡大に よる甚大な被害が発生し、代表的な被害として Cochlodinium polykrikoides 赤潮(2000年熊本県35億 円)、Chattonella spp.赤潮(2009年鹿児島県20億円、 熊本県8.7億円、長崎県4.3億円、2010年鹿児島県36.8 億円、熊本県16億円、長崎県1.6億円)、Karenia mikimotoi 赤潮 (2012年愛媛県13億円) が報告され ている。大分県内においても毎年、有害赤潮による 漁業被害が報告され、今後の被害拡大が危惧される とともに、監視強化の必要な有害プランクトン種が 増大する傾向にある。漁業被害を防止するためには、 プランクトンの生理生態研究で予察技術を確立し、 定期的なモニタリング調査で赤潮発生を早期に予知 して、適切な被害防止策を講じることが、現状にお ける最善策である。しかし、漁業協同組合職員や漁 業者による初期のモニタリングは技術面において困 難であることから、業界からは有害プランクトンの 監視について一層の強化が望まれている。

本事業の目的は、魚介類を致死させる有害プランクトンの発生および養殖被害を伴う環境悪化等を予察することによって漁業被害を軽減することである。

# 事業の方法

### I. 漁場監視モニタリング調査

豊後水道に接する佐賀関以南に調査点40点(精密調査点5点を含む)を設定し(図1)、4~3月に調査を行った。各調査は岸壁または海上から行った。岸壁からの採水は採水器(リゴーB号)を用いて表層および水深2m層で実施し、同時に水温計を用いて水温の測定を行った。船舶調査ではCTD(JFEアドバンテック社製AAQ-RINKO)による水温、塩分、クロロフィル蛍光値の表層から海底までの鉛直測定を実施した後、バケツによる表層採水および採水器(リゴーB号)によるクロロフィル極大層(確認されない時は5m層)の採水を行った。得られた試料海水は当日中に光学顕微鏡を用いて、濃縮せずに有

害プランクトンの同定・計数に用いた。精密調査点では上記の採水層、調査項目に加え、5m層、10m層、底上1m層の採水も行い、各層の溶存酸素(ウインクラー法)、栄養塩(DIN、PO4-P)の試料とした。定期調査および海水持ち込み時の際の有害プランクトンが高密度に確認された湾及び赤潮多発期の6~8月には、調査回数、調査点を増やした。

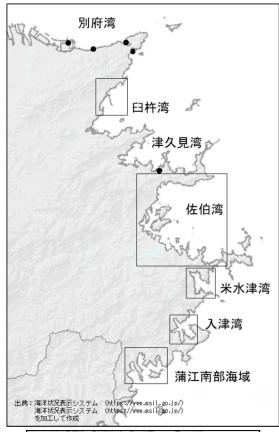
## Ⅱ. 広域赤潮監視調査

周防灘、伊予灘、別府湾に調査点44点(図2参照)を設け、2019年5月~8月の期間に毎月1回、計4回の調査を行った。各調査点ではCTD(JFEアドバンテック社製)による鉛直水温、塩分、クロロフィル蛍光値の測定および表層の採水を行った。観測時にクロロフィル極大層が観測された際には、採水器を用いてその層の採水を行った。採水した海水は翌日に光学顕微鏡を用いて、濃縮せずに有害プランクトンの同定・計数を行った。

#### Ⅲ. 指導事業

例年大きな被害を出しているカレニア赤潮シーズン前に、佐賀関以南の振興局、市町村、漁協、養殖業者を対象に赤潮担当者会議を開催し、最近の赤潮発生状況や被害についての説明を行った。また、漁業者から赤潮講習会の要望があった場合には現場に赴き講師を務めた。

赤潮発生時や有害プランクトン発生時及び赤潮になる危険がある場合には、赤潮情報(有害プランクトンが注意密度を超えた場合は緊急赤潮情報またはマグロ版緊急赤潮情報)を発行し、周知徹底を図った。











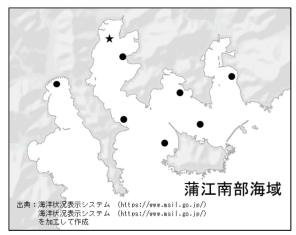


図1 漁場監視モニタリング定点

(●:通常調査点、★:精密調査点)

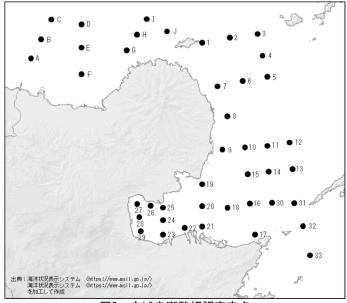


図2 広域赤潮監視調査定点

## 事業の結果

#### I. 現場監視モニタリング調査

#### 1) 気象

#### 概要 (気象月報抜粋)

6 月は、低気圧や前線の影響を受け、曇りや海女 の日があったが、高気圧に覆われ晴れる日が多かっ た。県内アメダスの月降水量は 91.5~342.0 ジ (平 年比 36~120%) で、佐賀関では多かったが、豊後 高田、日田、湯布院ではかなり少なく、その他は平 年並か少なかった。月間日照時間は 126.2~202.2時 間(平年比 95~128%)で国見でかなり多い他は、多 いか平年並で、国見と佐伯では月の極値を更新した。 月平均気温は 20.0~23.1℃(平年差-0.8~+0.9℃)で、 杵築でかなり高く、玖珠、湯布院、で低かった他は 平年並か高かった。7月は、下旬前半までは梅雨前 線や湿った空気の影響で曇りや雨の日が多く、後半 からは晴れに日が多くなったが、日射の影響により 雨となる所があった。県内アメダスの月降水量は平 年比 81~231%で、佐伯・宇目でかなり多い他は多 いか平年並だった。月間日照時間は平年比 59~75 %で、豊後高田・杵築・湯布院でかなり少ない他は 少なかった。月平均気温は平年差-1.2~0.0℃で、杵 築で平年並の他は低かった。8月は、期間の前半は 台風8号や10号の影響を受け、大雨になった日もあ ったが、高気圧に覆われる日が多かった。後半は、 前線や湿った空気の影響を受け、曇りや雨の日が続 き、多雨の傾向が顕著であった。県内アメダスの月降 水量は 284.5~665.0 ジ (平年比 149~295%) で、

広い範囲でかなり多かった。月間日照時間は 103.8  $\sim$ 168.6 時間(平年比 63 $\sim$ 80%)で、南部から中部にかけてかなり少なかった。月平均気温は 24.1 $\sim$ 27.3  $^{\circ}$  $^{\circ}$  $^{\circ}$ (平年差-0.7 $^{\circ}$  $^{\circ}$ +0.2 $^{\circ}$  $^{\circ}$  $^{\circ}$ )で、南部では低くなったがほぼ平年並だった。

## 気温・降水量

4~9月の佐伯市アメダスの各月の平均気温、降水量、日照時間の推移および平年偏差は図3~5に示したとおりである。平均気温は7~8月は気温が低く、9月は高い傾向であり、その他は平年並であった。降水量は7~8月は平年よりかなり多い傾向であった。日照時間は7~8月は梅雨前線や湿った空気の影響によりかなり低い傾向であった。佐伯市の2019年夏期は、観測史上最も遅い梅雨入りであり、7月や8月は湿った空気の影響や梅雨前線の影響により降水量が多く・日照時間が少ない傾向であったと考えられた。

#### 2) 海象

各海域の代表点の5m層の水温、塩分、DIN、PO4-Pの推移は図6~8に示したとおりである。

水温は臼杵湾  $21.5\sim24.0$ °C、佐伯湾  $20.7\sim24.4$ °C、入津湾  $21.0\sim25.2$ °C、蒲江南部海域  $20.7\sim25.3$ °Cで推移した。塩分は臼杵湾  $33.05\sim33.86$ 、佐伯湾  $32.93\sim34.11$ 、入津湾  $32.80\sim33.93$ 、蒲江南部海域  $32.74\sim34.27$ で推移した。DINは臼杵湾  $0.01\sim0.61$   $\mu$  M、佐伯湾  $0.31\sim4.32$   $\mu$  M、入津湾  $0.01\sim1.10$   $\mu$  M、蒲江南部海域  $0.02\sim4.00$   $\mu$  Mで推移した。PO4-P は臼杵湾  $0.02\sim0.29$   $\mu$  M、佐伯湾  $0.08\sim0.37$   $\mu$  M、入津湾  $0.03\sim0.31$   $\mu$  M、蒲江南部海域  $0.01\sim0.30$   $\mu$  Mで推移した。

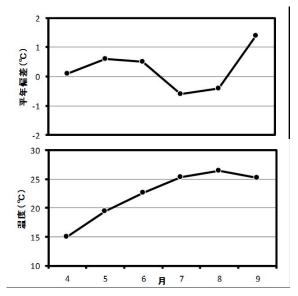


図3 月平均気温の推移と平年偏差(上段:平年偏差 差、下段:月平均気温 アメダス 佐伯)

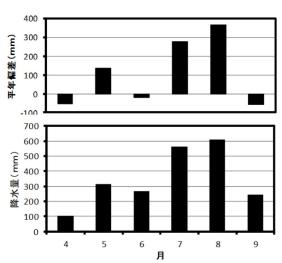


図4 月降水量の推移と平年偏差(上段:平年偏差、 下段:月降水量 アメダス 佐伯)

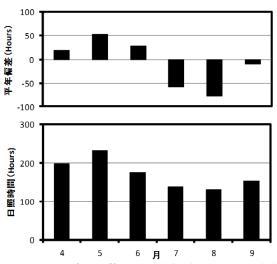


図5 月日照時間の推移と平年偏差(上段:平年偏差 差、下段:月平均日照時間 アメダス 佐伯)

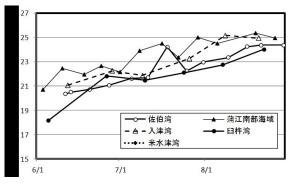


図6 豊後水道各湾の5m層水温の推移

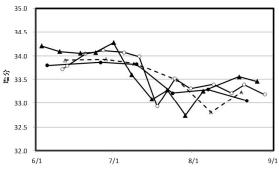
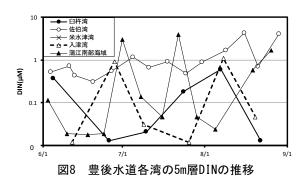
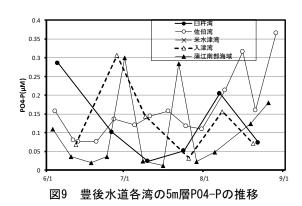


図7 豊後水道各湾の5m層塩分の推移





整理書号	<b>2</b> 5 ±		驀	髓	発生海域	赤獺構成ブ	ランクトン	進業級書	最高鐵變数
E4.6-7	発生 3	~	急息等	# <b>%</b> K	鮮穣	纒	猹	の有機	(cetis/mi)
1	5月7日	}	6月10日	(35日間)	豊後水道 (猪串湾)	Cochlodinium	polykrikoides	無	65
2	6月7日	}	7月18 <del>日</del>	(42日間)	別府湾 (別府市楠港内)	Heterosigma	a kashi wo	無	32, 500
3	6月26日	ł	7月185	(23日間)	別府湾	Chattonella	sp.	無	95
4	8月19日	*	日本に関係	(32日間)	豊後水道 (入津湾)	Karenia	mikimotoi	無	20, 000
5	8月26日	<b>{</b>	2 <b>9</b> 115	(17日間)	豊後水道 (佐伯湾)	Gonyaulax	polygramma	無	6, 275
6	9月19日	{	10月10日	(22日間)	豊後水道 (入津湾)	Prorocentrum	sigmoides	無	400
7	12月17日	}	12月27日	(11日間)	豊後水道 (猪串湾)	Akash i wo	sangui nea	無	300
8	1月27日	~	2月17日	(22日間)	豊後水道 (猪串湾)	Ceratium	spp.	無	330

表1 2019年度豊後水道西岸域および別府湾における赤潮発生状況

#### 3) 赤潮発生状況

表1は赤潮発生状況を示したものである。別府湾、 豊後水道沿岸の赤潮発生件数は8件で、漁業被害は 発生しなかった。赤潮構成プランクトンはK. mikimotoi 1件、Chattonella sp. 1件、H. akashiwo 1件、 C. polykrikoides 1件、G. polygramma 1件、P. sigmoides 1件、A. sanguinea 1件、Ceratium spp. 1件 であった。いずれの赤潮発生時でも、漁業被害は発 生しなかった。

## 4) 特記事項

特記事項として、平成29年度および平成30年度に佐伯湾等でK. mikimotoi赤潮が大規模で発生し、大きな漁業被害を発生させてきたが、今年度は入津湾の一部を除き、別府湾・豊後水道海域では本種赤潮は発生しなかった。主な要因として、梅雨時期に珪藻類が優占し、その後も断続的に珪藻発生したことによって、K. mikimotoiの発生が抑制されたと考えられた(図 10)。今年度の九州北部は観測史上最も遅い梅雨入りで、その後も長期間雨が続かなかったことが珪藻の増殖に有利になったと考えられた(図 11)。

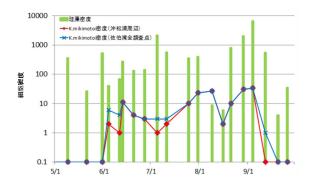


図10 2019年5月~9月の期間における佐伯湾の K. mikimotoiおよび珪藻類の細胞密度の推移

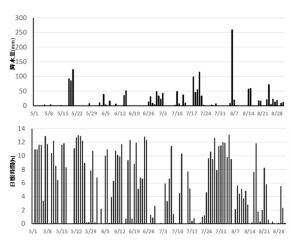


図11 アメダス (佐伯市佐伯) による降水量と日照 時間の推移 (上段 降水量、下段 日照時間)

# 5) 各湾における有害プランクトン発生状況

各湾の有害赤潮プランクトンの出現の概況については以下にまとめたとおりである。

別府湾(大在~佐賀関沿岸)、臼杵湾: K. mikimotoi は5 cells/ml (8月22日 下ノ江)、H. akashiwoは40 cells/ml (8月22日 大在)、Chattonella sppは70 cells/ml (7月1日 佐賀関地先)、C.polykrikoidesは確認されなかった。

佐伯湾: K. mikimotoiは27 cells/ml (8月9日 JF 鶴見ポンツーン)、H. akashiwoは375 cells/ml (7月5日 大入島フェリー前)、Chattonella sppは9 cells/ml (8月9日 水産試験場前)、C.polykrikoidesは確認されなかった。

入津湾: K. mikimotoiは20,000 cells/ml (8月26日 楠本 \*JF上・下入津支店調べ)、H. akashiwoは75 cells/ml (8月8日 楠本、畑野浦)、C.polykrikoidesは4 cells/ml (8月8日 畑野浦)、Chattonella sppは5 cells/ml (8月8日 尾浦)であった。

蒲江南部海域: K. mikimotoiは3 cells/ml (9月2日 森崎)、H. akashiwoは40 cells/ml (8月26日 森崎)、

*C.polykrikoides*は65 cells/ml(5月13日 猪串)で、 *Chattonella sppは*1 cells/mlであった。

#### Ⅱ. 広域赤潮監視調査

2019年5~8月に行った有害プランクトンの調査結果は以下に示したとおりである。検出限界値は1cells/ml未満を示す。

5月 (5月7~10日): Chattonella spp、H. akashiwo、 K. mikimotoiは検出されなかった。

6月 (6月4~7日): *K. mikimotoi*は検出限界未満~ 2 cells/mlの遊泳細胞が検出された。*Chattonella spp、H. akashiwo*、は検出されなかった。

7月(7月1~4日): *Chattonella spp*は検出限界未満~60 cells/mlの遊泳細胞が検出された。*H. akashiwo、K. mikimotoi*は検出されなかった。

8月(8月7~9日): Chattonella sppは検出限界未満~1 cells/mlの遊泳細胞が検出された。K. mikimotoiは検出限界未満~23 cells/mlの遊泳細胞が検出された。H. akashiwoは検出されなかった。

# Ⅲ. 指導事業

## 1) 赤潮担当者会議

開催日:2019年6月6日

開催場所:水産研究部大会議室

出席者:佐賀関以南の漁協各支店、市役所、

振興局、県庁

# 2) 講師派遣

令和元年度赤潮講習会 (JF大分佐伯支店)

開催日:2019年5月28日

出席者:漁業者、市役所、県振興局

講師:井口大輝

上浦地区赤潮対策意見交換会(水産研究部大会議室)

開催日:2019年5月30日

出席者:漁業者、市役所、県振興局

講師:井口大輝

令和元年度臼杵・津久見赤潮勉強会 (臼杵土 木事務所)

開催日:2019年6月14日

出席者:漁業者、市役所、県振興局

講師:井口大輝

魚類養殖講習会 (JF大分佐伯支店)

開催日:2019年7月5日

出席者:漁業者、市役所、国水産研究所、県

振興局、県庁 講師:内海訓弘 令和元年水産業普及指導員九州ブロック研修 会(大分県庁)

開催日:2019年10月16日

出席者:他県普及指導員、県振興局

講師:井口大輝

### 3) 赤潮情報・緊急赤潮情報の発行回数

・赤 潮 情 報 : 6 回・緊急赤潮情報:6回

・マグロ版緊急赤潮情報:1回