

養殖環境于一ム

海産魚介類の疾病対策と養殖衛生管理指導

海面防疫対策（養殖衛生管理体制整備事業）

（国庫交付金）

福田 穰・木本圭輔・甲斐桑梓

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
2017年			
12月	三重県	農林水産省 (公社)日本水産資源保護協会 水産研究・教育機構 都道府県養殖衛生管理担当者	・薬剤感受性試験の現状と問題 ・魚病症例研究会

表2 地域検討会

実施時期	実施場所	構成員	内容
2017年			
10月11～12日	岡山県	三重県, 和歌山県, 大阪府, 兵庫県, 岡山県, 広島県, 山口県, 香川県, 徳島県・瀬戸内海・四国ブロック各県の魚病発生状況と対応 高知県, 愛媛県, 福岡県, 大分県	平成29年度 瀬戸内海・四国ブロック魚病検討会 ・瀬戸内海・四国ブロック各県の魚病発生状況と対応 ・その他
2017年			
11月6～7日	宮崎県	山口県, 福岡県, 佐賀県, 長崎県, 熊本県, 大分県, 宮崎県, 鹿児島県, 沖縄県	第37回 九州・山口ブロック魚病分科会 ・九州・山口ブロック各県の魚病発生状況と対応 ・その他
2018年			
2月26～27日	熊本県	高知県, 愛媛県, 大分県, 熊本県, 宮崎県, 鹿児島県	平成29年度 南中九州・西四国水族防疫会議 ・南中九州・西四国各県の魚病発生状況と対応 ・その他

表3 県内会議

実施時期	実施場所	構成員	内容	
2017年	6月8日	佐伯市	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 水産振興課 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
2017年	6月16日	大分市	カキ類養殖業者 カキ類養殖関係漁業協同組合支店 中津市, 国東市, 杵築市, 佐伯市 北部振興局, 東部振興局, 南部振興局 漁業管理課, 水産振興課 農林水産研究指導センター水産研究部	カキ類養殖生産者協議会 ・カキ類養殖における病害
2017年	8月21日	佐伯市	豊後大野家畜保健衛生所 農林水産研究指導センター水産研究部	水産用抗菌剤使用指導体制協議

表4 医薬品の適正使用の指導

実施時期	実施場所	対象者(人数)	内容	
2017年	7月	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(49名)	水産用抗菌剤の使用における新しい指導体制
2017年	9月	佐伯市	養殖資材販売店, 関係振興局(16名)	水産用抗菌剤の使用指導体制について
2017年	9月	佐伯市	海産魚類養殖業者(臼杵, 津久見および上浦地区) 関係漁業協同組合支店, 関係振興局(15名)	〃
2017年	10月	佐伯市	海産魚類養殖業者(佐伯, 鶴見および米水津地区) 関係漁業協同組合支店, 関係振興局(17名)	〃
2017年	10月	佐伯市	海産魚類養殖業者(上入津地区) 関係漁業協同組合支店, 関係振興局(7名)	〃
2017年	11月	佐伯市	海産魚類養殖業者(下入津地区) 関係漁業協同組合支店, 関係振興局(25名)	〃
2017年	11月	佐伯市	海産魚類養殖業者(蒲江および名護屋地区) 関係漁業協同組合支店, 関係振興局(7名)	〃

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	
2017年	5月18日	佐伯市	海産魚類養殖漁家(12名)	注射ワクチン接種技術講習会
2017年4月1日～ 2018年3月31日 (随時)	佐伯市(上浦)	海産魚類養殖漁家(延96名)	水産用ワクチン使用上の諸注意	

表6 養殖衛生管理技術講習会

実施時期	実施場所	対象者(人数)	内容
2017年			
7月7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(49名)	魚病対策について
2017年			
7月7日	佐伯市	海産魚類養殖業者 漁業協同組合下入津支店, 関係振興局(13名)	ブリ類のレンサ球菌対策 フグ目魚類の疾病について
2018年			
3月16日	佐伯市	養殖資材販売店(9名)	最近の魚病発生状況について
2018年			
3月16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(40名)	効果的な投薬に必要な基礎知識

表7 養殖資機材の使用状況調査

実施時期	実施場所	対象資機材	内容
2017年			
6月13日	佐伯市	水産用医薬品	水産用医薬品使用記録および在庫の確認

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 <i>Vibrio anguillarum</i> (4株) <i>Lactococcus garvieae</i> (39株)
		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 <i>Edwardsiella tarda</i> (29株) <i>Lactococcus garvieae</i> (1株) <i>Streptococcus parauberis</i> (1株)
2017年4月1日～ 2018年3月31日	佐伯市 (上浦)	その他 (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 <i>Vibrio anguillarum</i> (6株) <i>Photobacterium damsela</i> subsp. <i>piscicida</i> (2株) <i>Edwardsiella tarda</i> (1株) <i>Lactococcus garvieae</i> (20株) <i>Streptococcus iniae</i> (10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
2017年				2017年			
4月17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害状況の把握	11月27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害状況の把握
4月18日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	11月30日	佐伯市(蒲江)	〃	〃
4月19日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	12月1日	大分市	〃	〃
4月20日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	12月1日	佐伯市(鶴見)	〃	〃
5月8日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	12月6日	佐伯市(蒲江)	〃	〃
5月23日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	12月12日	佐伯市(蒲江)	〃	〃
6月1日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	12月20日	佐伯市(蒲江)	〃	〃
6月6日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	12月21日	佐伯市(蒲江)	〃	〃
6月20日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	12月21日	佐伯市(米水津)	〃	〃
6月21日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	12月26日	佐伯市(蒲江)	〃	〃
6月22日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	2018年			
6月27日	津久見市	〃	〃	1月10日	佐伯市(蒲江)	〃	〃
6月27日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	1月11日	佐伯市(蒲江)	〃	〃
6月30日	佐伯市(鶴見)	〃	〃	1月12日	佐伯市(佐伯)	〃	〃
6月30日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	1月15日	佐伯市(蒲江)	〃	〃
7月3日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	1月19日	臼杵市	〃	〃
7月11日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	1月23日	佐伯市(蒲江)	〃	〃
7月14日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	1月30日	佐伯市(佐伯)	〃	〃
7月18日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	1月31日	佐伯市(佐伯)	〃	〃
7月25日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	2月16日	佐伯市(佐伯)	〃	〃
8月2日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	2月20日	佐伯市(蒲江)	〃	〃
8月22日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	2月22日	佐伯市(蒲江)	〃	〃
8月28日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	3月2日	佐伯市(蒲江)	〃	〃
8月29日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	3月7日	佐伯市(蒲江)	〃	〃
8月30日	佐伯市(鶴見)	〃	〃	3月13日	佐伯市(蒲江)	〃	〃
9月12日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	3月14日	佐伯市(蒲江)	〃	〃
9月19日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	3月19日	佐伯市(蒲江)	〃	〃
10月5日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	3月23日	佐伯市(蒲江)	〃	〃
10月6日	佐伯市(鶴見)	〃	〃	3月24日	佐伯市(鶴見)	〃	〃
10月18日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	3月26日	佐伯市(蒲江)	〃	〃
10月23日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	3月26日	佐伯市(佐伯)	〃	〃
10月25日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	3月27日	佐伯市(蒲江)	〃	〃
10月30日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	3月29日	佐伯市(蒲江)	〃	〃
11月9日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	3月30日	佐伯市(蒲江)	〃	〃
11月15日	佐伯市(蒲江)	〃	〃				

表10 疾病発生対策

実施時期	実施場所	対象魚	内容
2017年4月1日～			
2018年3月31日	佐伯市(上浦)	ブリ類, マダイ, ヒラメ他 (調査対象地域:豊後水道沿岸)	疾病検査および対策指導 ブリ類(92件), マダイ(6件), ヒラメ(94件), トラフグ(36件), カワハギ(24件), シマアジ(14件), クロマグロ(10件)
2017年4月1日～			
2018年3月31日	佐伯市(上浦)	クルマエビ (調査対象地域:国東半島周辺)	疾病検査および対策指導(8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739件（対前年度比96%）、診断件数は298件（98%）であった（表11）。疾病原因別にみると、ウイルス病が54件（全体の18%）、細菌病が94件（32%）、寄生虫病が71件（24%）、その他が10件（3%）、原因不明が56件（19%）、健康診断が12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94件（全体の32%）、ブリ54件（18%）、トラフグ36件（12%）、カワハギ24件（8%）、カンパチ21件（7%）、ヒラマサ17件（6%）、シマアジ14件（5%）の順に多かった。魚種別の特徴は以下のとおりである。

1) ブリ類 診断件数はカンパチで増加（対前年度比131%）したが、ブリとヒラマサで減少（74および77%）して、全体で92件（83%）であった（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、マダイイリドウイルス病の診断が増加した。

2) マダイ 診断件数は少なく（6件）、前年度並みであった（表13）。

3) ヒラメ 診断件数は94件で前年度の131%に増加した（表14）。ウイルス性出血性敗血症（22件）とスクーチカ症（12件）の増加が特徴的である。

4) トラフグ 診断件数は36件で、前年度より減少（72%）した（表15）。ヘテロボトリウム症の診断が最も多かった（8件）。

5) シマアジ 診断件数は前年度と同数（14件）であった（表16）。ミコバクテリア症の増加が特徴的である。また、県内で*Lactococcus garvieae* II型によるレンサ球菌症が初めて確認された。

6) その他の海産魚類 カワハギの診断件数が前年度より倍増（218%）した。*L. garvieae* I型（6件）および*S. iniae*（4件）によるレンサ球菌症や、ビブリオ病（4件）の診断が多かった（表17）。また、クロマグロでマダイイリドウイルス病の診断が増加した。

表11 病害相談件数および診断件数*

	2017/4	5	6	7	8	9	10	11	12	2018/1	2	3	計
相談件数	30	35	79	86	93	62	62	83	44	42	55	68	739
	(67)	(58)	(74)	(97)	(109)	(80)	(105)	(54)	(45)	(27)	(25)	(31)	(772)
診断件数	12	17	27	37	38	25	22	38	16	19	25	22	298
	(20)	(23)	(27)	(40)	(46)	(31)	(37)	(20)	(19)	(17)	(11)	(13)	(304)

*（ ）は前年度

表12 ブリ類診断状況

魚種名	疾病名	2017/4	5	6	7	8	9	10	11	12	2018/1	2	3	計
ブリ	マダイイリドウイルス病				4	2		2	3					11
	ウイルス性腹水症			1										1
	ビブリオ病			1	1									2
	細菌性溶血性黄疸								4					4
	レンサ球菌症(L.g. type I)					1								1
	レンサ球菌症(L.g. type II)		2		1	1	3	7	6				1	21
	ノカルジア症												1	1
	筋肉線虫症										1			1
	パラブラキエラ症			1										1
	不明			1	3	2						1	3	10
	輸出検査										1			1
ブリ小計		0	2	4	9	6	3	9	13	0	2	1	5	54
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	2									3
	エピテリオシスチス病					1								1
	ゼウクサプタ症						1				1	1		3
	住血吸虫症											1		1
	鰓カリグス症							1						1
	環境性疾病					1								1
	不明						1				1	1	1	4
	健康診断				1									1
ヒラマサ小計		0	0	1	4	3	3	0	0	0	2	3	1	17
カンパチ	マダイイリドウイルス病			1	2									3
	ビブリオ病			1										1
	レンサ球菌症(L.g. type I)		1											1
	レンサ球菌症(L.g. type II)					1	1			1	1			4
	ノカルジア症						1							1
	トリコジナ症			1										1
	ゼウクサプタ症	1						1		1				3
	住血吸虫症										2			2
	栄養性疾病							1						1
	環境性疾病								1					1
	不明						1				1		1	3
カンパチ小計		1	1	3	2	1	3	2	1	2	4	0	1	21
ブリ類計		1	3	8	15	10	9	11	14	2	8	4	7	92

表13 マダイ診断状況

魚種名	疾病名	2017/4	5	6	7	8	9	10	11	12	2018/1	2	3	計
マダイ	マダイイリドウイルス病					1								1
	エドワジエラ症						1							1
	滑走細菌症		1											1
	白点病						1							1
	不明				1									1
	健康診断		1											1
マダイ計		0	2	0	1	1	2	0	0	0	0	0	0	6

表14 ヒラメ診断状況

魚種名	疾病名	2017/4	5	6	7	8	9	10	11	12	2018/1	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	11	8	22
	アクアレオウイルス感染症										2	1		3
	エドワジエラ症	2		2	3	1	1	4	1		1	1	1	17
	滑走細菌症	1			1						1			3
	レンサ球菌症(<i>L. garvieae</i>)					1								1
	レンサ球菌症(<i>S. parauberis</i>)						1							1
	未同定真菌病					1								1
	鰓アメーバ症		2											2
	イクチオボド症	1		2	3							1		7
	トリコジナ症											1		1
	スクーチカ症			1	2	1			1	3	2	1	1	12
	白点病					1	1							2
	筋肉粘液胞子虫症		1											1
	ネオヘテロボツリウム症					1	1							2
	不明	2	1	2		2	1			3	2	2		15
	健康診断			1	1	1								3
ヒラメ計		6	4	9	10	10	5	4	2	7	9	18	10	94

表15 トラフグ診断状況

魚種名	疾病名	2017/4	5	6	7	8	9	10	11	12	2018/1	2	3	計
トラフグ	エピテリオシスチス病			1										1
	ビブリオ病						2							2
	滑走細菌症			1		1				1				3
	白点病						1		2					3
	トリコジナ症					2								2
	粘液胞子虫性やせ病					1			1	1				3
	ギロダクチルス症		1						1					2
	ヘテロボツリウム症	1	3			1	1		1		1			8
	栄養性疾病										1			1
	環境性疾病				2									2
	歯切り損傷					1								1
	不明	1	1		2				1	2		1		8
トラフグ計		2	5	2	4	6	4	0	6	4	2	1	0	36

表16 シマアジ診断状況

魚種名	疾病名	2017/4	5	6	7	8	9	10	11	12	2018/1	2	3	計
シマアジ	マダイイリドウイルス病								3					3
	レンサ球菌症(<i>L.g. type I</i>)								1	1				2
	レンサ球菌症(<i>L.g. type II</i>)				1									1
	ミコバクテリア症								5					5
	皮膚カリグス症									1				1
	不明						2							2
シマアジ計		0	0	0	1	0	2	0	9	2	0	0	0	14

表17 その他の海産魚類診断状況

魚種名	疾病名	2017/4	5	6	7	8	9	10	11	12	2018/1	2	3	計
マアジ	レンサ球菌症(L.g. type I)				1									1
マサバ	レンサ球菌症(L.g. type I)			1										1
	不明				1									1
クロマグロ	マダイイリドウイルス病					2		2						4
	レンサ球菌症(L.g. type I)												1	1
	環境性疾病												1	1
	不明	1							1				2	4
インダイ	白点病			1										1
インガキダイ	吸虫性旋回病					1								1
	不明						1							1
クエ	不明												1	1
メバル	マイクロコチレ症								2					2
マコガレイ	滑走細菌症								1					1
	アミルウージニウム症				1									1
カワハギ	ビブリオ病			2		1						1		4
	パスツレラ症					1								1
	レンサ球菌症(L.g. type I)	1		1			1	1	1	1				6
	レンサ球菌症(S. iniae)							2	2					4
	アミルウージニウム症					2								2
	粘液胞子虫性やせ病							1	1					2
	シリトガリコツツヒジキムシ症	1												1
	環境性疾病				1									1
	不明			1	2									3
その他の魚類計		3	0	6	6	7	2	7	7	1	0	1	5	45

表18 海産無脊椎動物診断状況

魚種名	疾病名	2017/4	5	6	7	8	9	10	11	12	2018/1	2	3	計
ヒオウギガイ	不明			1										1
クルマエビ	環境性疾病					1								1
	不明					1								1
	健康診断		3	1		2								6
海産無脊椎動物計		0	3	2	0	4	0	0	0	0	0	0	0	9

表19 淡水産動物診断状況

魚種名	疾病名	2017/4	5	6	7	8	9	10	11	12	2018/1	2	3	計
アユ	不明											1		1
コイ	イクチオボト症						1							1
淡水魚類計		0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	2

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38, 5, 3件、使用経営体数が26, 4, 3経営体、投与尾数が1,693,000, 143,000, 67,000尾、使用量が169.3, 14.3, 6.7L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96%、カンパチとヒラマサで約63%を占めた。ヒラメの β 溶血性レンサ球菌症不活化ワクチンは指導書発行件数が2件、使用経営体数が1経営体、投与尾数が24,000尾、使用量が2.4Lであった。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11, 6, 2件、使用経営体数が9, 6, 2経営体、投与尾数が401,000, 103,000, 15,000尾、使用量が40.1, 10.3, 1.5L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)不活化ワクチンはヒラメで使用され、指導書発行件数が13件、使用経営体数が7経営体、投与尾数が128,000尾、使用量が12.8L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2, 3件、使用経営体数が2, 3経営体、投与尾数が190,000, 52,000尾、使用量が19.0, 5.2L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とカンパチで使用され、指導書発行件数が4, 1件、使用経営体数が3, 1経営体、投与尾数が205,000, 125,000尾、使用量が20.5, 12.5Lであった。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4, 1件、使用経営体数が4, 1経営体、投与尾数が130,000, 50,000尾、使用量が13.0, 5.0Lであった。

5) 経口ワクチン

経口ワクチン(ブリ類の α 溶血性レンサ球菌症ワクチン)は、使用実績がなかった。

ヒラメ陸上養殖生産振興事業－1

ヒラメ食中毒防止による安全性強化対策 (県単)

甲斐桑梓・木本圭輔・福田 穰

事業の目的

大分県のヒラメ養殖業は、全国2位の生産量(2016年農林水産統計)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おり、これ以降、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、更なる安全性強化のために、本事業において以下の検査・検証を行った。

1. 種苗導入時抜き取り検査

2014年度以降、県内に導入された種苗を検査(種苗健全性調査)することにより、防疫体制の強化を図っており、2017年度も前年度と同様に検査を行った。

2. 簡易検査キットの有効性検証

食中毒防止の観点から養殖ヒラメの出荷時検査は重要である。現在、漁協や生産者による顕微鏡検査が行われているが、これは多大な労力を要するほか、検査担当者の技量にばらつきが出る可能性も考えられる。そこで、最近市販された簡易検査キットの現場導入に向け、国立研究開発法人 水産研究・教育機構 増養殖研究所と共同でその有効性について検証を行った。

事業の方法

1. 種苗導入時抜き取り検査

2017年4月～2018年3月に、池入れ直前のヒラメ種苗として養殖業者20経営体39ロット(20～30尾/ロット)の検査を実施した。また、同研究部栽培資源チームが生産したヒラメ種苗2ロット(各60尾)、(公社)大分県漁業公社が生産したヒラメ種苗1ロット(60尾)も検査した。

ナナホシクドア検査法は水産庁のマニュアル¹⁾に準じ、PCR法では感度向上のためサイクル数を35か

ら40に増やして実施した。また、すべての検体についてスィフトジーン 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²⁾でも検査を行った。なお、PCR法は1ロットにつき3～5尾をプールして1検体とし、NASBA-核酸クロマトグラフィー法は10～30尾をプールして1検体とした。

2. 簡易検査キットの有効性検証

イムノクロマトグラフィー法を応用した、ARK Checker® IC *Kudoa septempunctata* S-10(アーク・リソース株式会社)について、当研究部と増養殖研究所で同一サンプルを使用し、簡易検査キットの検出感度の検証を実施した。

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、PCR法およびNASBA-核酸クロマトグラフィー法でナナホシクドア陰性であった(表1、2)。

表1 県内導入ヒラメ種苗の検査結果(PCR法)

対象	業者数	ロット数	検体数	陽性数	
養殖場	津久見	1	1	6	0
	佐伯	4	9	36	0
	米水津	2	8	32	0
	上入津	2	6	24	0
	下入津	10	13	54	0
	名護屋	1	2	4	0
	種苗生産機関	2	3	36	0
合計	22	42	192	0	

表2 NASBA-核酸クロマトグラフィー法検査結果

対象	業者数	ロット数	検体数	陽性数	
養殖場	津久見	1	1	1	0
	佐伯	4	9	9	0
	米水津	2	8	8	0
	上入津	2	6	6	0
	下入津	10	13	13	0
	名護屋	1	2	2	0
	種苗生産機関	2	3	6	0
合計	22	42	45	0	

2. 簡易検査キットの有効性検証

二機関での検証の結果から、簡易検査キットはナナホシクドアの孢子数が 1×10^5 個/g以上であれば検

出可能であることが確認された。これは現行の顕微鏡検査と同等の検出感度を有している。

今後の問題点

1. 種苗導入時抜き取り検査

2017年度に大分県内の養殖場に導入された39ロットのヒラメ種苗からナナホシドアは検出されず、種苗生産場におけるナナホシドア防除努力が評価される。また、今年度からPCR法と併用したNASBA-核酸クロマトグラフィー法は検出感度が高く、PCR法と比べて短時間で検査が可能であること³⁾から、次年度以降の種苗導入時抜き取り検査にはNASBA-拡散クロマトグラフィー法の導入が望ましいと思われる。

2. 簡易検査キットの有効性検証

本事業成果は、生産者並びに漁協職員を対象にしてキット操作方法とともに講習会で公開済みである。県版ガイドラインでは、出荷前にロット毎通算30尾以上検査することが記載されており、現場にとって大きな負担となっているが、簡易検査キットは操作が簡便で作業負担が大幅に軽減される。また、検

査担当者の技量によるばらつきも少ないと思われる。簡易検査キットの導入にはキット購入費用が生じるものの、検査体制の強化と、大分県産養殖ヒラメの振興につながることを期待される。

文献

- 1) 農林水産省 消費・安全局 畜水産安全管理課. ヒラメに寄生した*Kudoa septempunctata*の検査方法について. 2016.6;14-26.
- 2) Yoshiko Sugita-Konishil, 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.
- 3) 甲斐桑梓, 西岡豊弘, 木本圭輔, 福田穰. ヒラメ養殖におけるナナホシドア*Kudoa septempunctata*検査キットの実用性 大分県農林水産研究指導センター研究報告 (水産研究部編). 2018 ; 7 : (投稿中).

入津湾緊急赤潮対策事業-1

高溶存酸素を活用した赤潮無害化対策

甲斐桑梓・木本圭輔・福田 穰

事業の目的

入津湾では2016年にカレニア・ミキモトイ赤潮による多大な漁業被害が発生した。特にトラフグやヒラメなどを対象にした陸上養殖では、海面養殖と異なり飼育魚を移動できないため、赤潮からの避難が困難である。陸上養殖における対策としては赤潮プランクトンが高密度になった際には取水ポンプを停止し、養殖池に赤潮プランクトンを流入させないことがあげられる。その場合に養殖池は止水環境となるため、酸素を供給して海水中の溶存酸素量(DO)を維持する必要がある。

2015年度の研究¹⁾で、カレニア・ミキモトイは過剰なDO環境下で、細胞密度の低下および蟬集、遊泳異常などが観察されており、養殖池のDOを上昇させてカレニア・ミキモトイの活性を低下させ、被害を軽減させることが期待されている。しかしながら、DOの過剰な上昇は養成魚への悪影響²⁾も危惧される。

そこで本事業では、主要な陸上養殖対象魚であるトラフグ、カワハギ、ヒラメの3魚種について、飼育水の過飽和DOの影響を検討した。

事業の方法

トラフグは平均体重 20g の県外産人工種苗、ヒラメは平均体重 18g の人工種苗((公社)大分県漁業公社産)、カワハギは平均体重 54g の天然種苗を用いてそれぞれ試験を実施した。水温を約 21℃に設定した 90cm 水槽に試験魚を 10 尾ずつ収容し、酸素ポンプに酸素調整器、ホース、酸素分散器を接続し、流量を毎分 2L に調整して水槽内の溶存酸素飽和度を約 460%まで上昇させた。約 24 時間無給時で飼育した後、外観異常、鰓血管内の気泡の有無等を調べた。

事業の結果

全ての魚種について 24 時間の飼育期間中に死亡は見られなかった。また、外観異常や、鰓血管内に気泡が観察された魚もなかった。ただし、カワハギとヒラメでは試験中に異常遊泳する個体は見られなかったが、トラフグではやや激しく遊泳する個体が存在した。

今後の問題点

試験の結果から、本事業で検討した 3 魚種は、460%飽和のDO条件下でもガス病を引き起こさないと考えられる。

トラフグで異常遊泳個体が出現したが、本試験でDOを上昇させる際に発生した大量の気泡に対して忌避反応を示した可能性が考えられる。また、実際の養殖現場ではDOを管理するために液体酸素を利用していることが多く、今回の試験方法との違いに留意する必要があると考えられる。

今後は、気泡の影響が少ない条件下で検証を進めるとともに、カレニア・ミキモトイ赤潮海水中で魚を過飽和DOに暴露するなど、より現場に近い試験を実施することも必要と思われる。

文 献

1) 大竹周作, 宮村和良. 赤潮早期予測・早期対策実証事業-2 赤潮・貧酸素水塊対策推進事業. 平成27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. 2017; 119-120.

2) 江草周三. 溶存酸素過剰に因る魚のガス病について. 魚病研究. 1969; 4: 1

水産資源回復強化事業 (県単)

甲斐桑梓・木本圭輔・福田 穰

事業の目的

現在大分県では、資源の回復、増加を目的に種苗放流を実施している。こうしたなか、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。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、ヒラメに寄生する粘液胞子虫ナナホシクドア (*Kuoda septempunctata*) 及びクルマエビに感染するホワイトスポット病原ウイルス (WSSV) について遺伝子検査を実施した。

事業の方法

水産研究部栽培資源チームが生産したヒラメ2ロットについて、Grabner et al.¹⁾の方法に従い、1ロットにつき60尾検査した。

公益社団法人大分県漁業公社が生産もしくは中間育成していたクルマエビ3ロットについて、Kimura et al.²⁾、及びKono et al.³⁾の方法に従い1ロットにつき60尾検査した。

さらに、民間業者のクルマエビについて、上記と同様に3ロット検査した(1ロット8~30尾)。

事業の結果

水産研究部栽培資源チームが生産したヒラメについて合計2ロット120尾を検査したがナナホシクドアの遺伝子は検出されなかった。

公益社団法人大分県漁業公社及び民間業者のクルマエビについて、合計6ロット238尾を検査したが、ホワイトスポット病原ウイルスの遺伝子は検出されなかった。

文献

- 1) D.S.Grabner, Yokoyama H, Shirakashi S, Kinami R. Diagnostic PCR assays to detect and differentiate *Kuoda septempunctata*, *K. thyrsites* and *K. lateolabracis* (Myxozoa, Multivalvulida) in muscle tissue of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture*.2012; 338-341: 36-40.
- 2) Kimura T, Yamano K, Nakano H, Momoyama K, Hiraoka M, Inouye K. Detection of Penaeid Rod-shaped DNA Virus (PRDV) by PCR. *Fish Pathology*.1996;31(2):93-98.
- 3) Kono T, Sava R, Sakai M, Itami T. Detection of white spot syndrome virus in shrimp by loop-mediated isothermal amplification. *Journal of Virological Methods*.2004;115:59-65.

魚病リスク回避型養殖技術開発研究

(1) 県単独事業

木本圭輔・甲斐桑梓・福田 穰・長沢貴宏^{*1}・引間順一^{*2}

事業の目的

海産養殖魚の疾病被害については、一部がワクチン開発により軽減されたが、細胞内寄生細菌による疾病や多くの寄生虫性疾病では、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。これらの疾病に対してはワクチン等の開発研究を継続しつつ、飼育管理手法等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・侵入に、魚体の生理状態悪化が加わり被害が拡大する。病原体は外部からもたらされる「外的リスク」、魚体の生理状態悪化は養殖方法で変化する「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（定量PCR）法が病原体検出に利用されるようになり、外的リスクの定量が可能になった。これに加え、内的リスクを下げることができれば、疾病を抑制すること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、外的リスクと内的リスクの関係を明らかにし、有効な薬剤やワクチン等の対策のない疾病の予防・治療技術の開発を行う。本年度は以下の項目を検討した。1) 広域スケールの病原体分布を把握するため、県南養殖海域の環境試料について病原体検出を行った（宮崎大学と共同実施）。2) 対象疾病の感染時期や感染拡大機構等を推定するため、ヒラメ陸上養殖場およびブリ海面養殖場を対象に、魚体表面や飼育水等からqPCRによる経時的病原体検出を行った。3) 魚の生理状態の指標開発を目的として、ブリ体表粘液のプロテオーム解析を行った（九州大学と共同実施）。

事業の方法

1. 広域スケール調査

2017年夏期（8月30日～10月3日）に、県南海域の魚貝類養殖場34調査地点で海水と底泥の採取を行った（表1）。海水は2リットル容の遮光採水瓶（合成洗剤による通常の洗浄作業の後、DNA汚染防止のため次亜塩素酸ナトリウム水溶液〔有効塩素濃度0.1～0.5%〕に5分間浸漬後、水道水、蒸留水で各5回すすいだもの）に表層水2リットルを採取した。底泥はエクマンバージ採泥器（15×15cm）で採取し、その表層泥を試料とした。海水試料は実験室に搬入後、直ちに7種類のフィルター（ナイロンメッシュ〔孔径100μm〕とアイソポア〔10, 5, 3, 1.2, 0.4, 0.2μm〕、Millipore社）で懸濁物を濾過した。懸濁物

表1 広域調査地点と海水検査結果

湾名	支店名	地点名	調査日	<i>N. seriolae</i>	<i>E. tarda</i>	
臼杵湾	佐賀関	筏島	2017/8/30	-	+	
		三つ子	2017/8/30	-	-	
津久見湾	津久見	日代	2017/9/5	-	-	
		赤崎内	2017/9/5	-	-	
		赤崎外	2017/9/5	-	-	
		田の浦	2017/9/5	-	-	
	保戸島	保戸島	2017/9/5	-	-	
		新長田	2017/9/28	-	-	
	上浦	津井	2017/10/3	-	-	
		浪太	2017/10/3	-	-	
	佐伯湾	佐伯	片神	2017/10/3	-	-
			塩内	2017/10/3	-	-
鶴見		片白島	2017/10/3	-	-	
		小田代	2017/9/22	-	-	
		野崎	2017/9/22	-	-	
		桑浦	2017/9/22	-	+	
米水津湾	米水津	鮪浦	2017/9/22	-	-	
		中浦	2017/9/22	-	-	
		大島	2017/9/28	-	+	
		竹野浦	2017/9/21	-	-	
		荒戸	2017/9/21	-	+	
入津湾	上・下入津	入津湾	2017/9/8	-	-	
		尾浦	2017/9/8	-	+	
	上入津	上入津	2017/9/8	-	-	
		下入津	2017/9/8	-	-	
	蒲江	名護屋	小向	2017/9/11	-	-
			屋形島内	2017/9/4	-	-
			小蒲江	2017/9/4	-	-
			猪串湾	2017/9/4	-	-
名護屋	みごの浦	みごの浦	2017/9/4	-	-	
		丸一尾	2017/9/11	-	-	
蒲江	屋形島外	2017/9/11	-	-		

*1 九州大学

*2 宮崎大学

を含むフィルターをポリプロピレン製袋に回収し、底泥試料とともに宮崎大学に送付した。これらからDNAを抽出し*Edwardsiella tarda* 遺伝子検出PCR¹⁾および*Nocardia seriolae* 遺伝子検出PCR²⁾に供した。

2. 養殖場スケール調査

1) ヒラメ陸上養殖場

佐伯市蒲江西野浦の1経営体において、2016年11月導入の種苗が収容された1養殖池を調査対象とした。2017年6～12月に月1回の頻度で、飼育魚3尾と飼育注・排水各2リットルを採取した。魚体採取時に綿棒を用いて体表、鰓、直腸から粘液を採取するとともに、シリンジを用いて尾部血管から採血した。これらを水産研究部に搬入後、綿棒で採取した粘液試料はDNA抽出（後述）に供し、血液はマイクロチューブに回収して一晩4℃で保存後、3,000G×15分、4℃の遠心分離により血清を採取した。試料採取後の魚体は通常の病魚検査（外部観察、内部観察、鰓、体表、脳等の検鏡、腎臓および脳からの菌分離）に供した。海水試料は「1. 広域スケール調査」と同様に処理した。魚体の粘液試料と海水懸濁物を含むフィルターから市販キット（QIAamp DNA Mini Kit、QIAGEN社）のグラム陽性菌用変法³⁾を用いてDNA抽出を行い、*E. piscicida* 遺伝子検出qPCR⁴⁾および*Miamiensis avidus* 遺伝子検出qPCR⁵⁾に供した。これまで、ヒラメのエドワジエラ症は*E. tarda* による感染症とされてきたが、近年の研究で*E. tarda* は*E. tarda*、*E. piscicida*、*E. anguillarum*の3種に再分類されている。日本のヒラメ由来株は*E. piscicida* に分類される⁷⁾ことから、ヒラメのエドワジエラ症原因菌検出法として*E. piscicida* 遺伝子検出qPCR⁴⁾を用いた。なお、水温ロガー（Onset社、Tidbit）を用いて池内の水温を10分間おきに記録するとともに、当該養殖場の経営者に対して疾病発生および飼育管理履歴について聞き取りを行った。

2) ブリ海面養殖場

佐伯市蒲江西野浦の1経営体において、2017年6月導入の種苗が収容された1生簀を調査対象とした。2017年6月27日以降に月1回の頻度で、飼育魚3尾と生簀脇の表層水2リットルを採取した（飼育魚の採取は2017年11月まで）。なお、当該経営体が所属する大分県漁業協同組合上入津支店管内には入津湾の湾内漁場と湾口部漁場があり、ブリ当歳魚は10月末まで湾内で飼育されたのち湾口部へ移動される⁹⁾。本調査では、湾内と湾口部漁場両方の病原体量の推

移を調べるため、対象生簀が湾内にある間は湾口部の1才魚生簀脇の表層水、湾口部に移動したのちは湾内漁場の方塊フロート付近の表層水も併せて採取した。ヒラメ養殖場の場合と同様に試料採取とDNA抽出を行ったのち、*N. seriolae* 遺伝子検出qPCR⁴⁾および*Lactococcus garvieae* 遺伝子検出PCR⁶⁾に供した。なお、水温ロガーを用いて生簀脇の1mおよび5m水深の水温を10分間おきに記録するとともに、当該養殖場の経営者に対して疾病発生および飼育管理履歴について聞き取りを行った。

3. 魚の生理状態の指標開発

2017年12月4日に当研究部の海面生簀で飼育していたブリ当歳魚（平均体重約300g）60個体を屋内2tFRP水槽に収容した。約24時間馴致後にキナルジン麻酔を施し、30個体の体表をポリプロピレン製ブラシで擦り創傷ダメージを与えた（ダメージ区）。その6, 12, 24, 48, 72 時間後および1 週間後に再度麻酔し、魚体をアルミニウム製バット上で緩やかに擦りつけ粘液を回収した。同様の操作をダメージを与えていない30個体（対照区）にも行った。回収した粘液試料のタンパク質濃度をBradford法で測定し、試料中濃度を30μg/100μlに調整した後、2D-PAGEを行った。泳動結果を画像解析ソフトProteomweaverで解析し、スポットの特定と評価を行った。

事業の結果

1. 広域スケール調査

海水試料から*N. seriolae* 遺伝子は検出されなかったが、*E. tarda* 遺伝子が5か所で検出された（表1）。

2. 養殖場スケール調査

1) ヒラメ陸上養殖場

飼育管理履歴によると、対象池では2017年6月初旬にレンサ球菌症ワクチンが接種され、6月後半からリンホシスチス病が目立つようになった。7月初旬にかけて症状の激しい個体を除去しているうち、2017年7月6日に明らかなエドワジエラ症の症状（腹部膨満、脱腸等）を示す死亡魚が10個体確認され、以降エドワジエラ症による慢性的な死亡が継続した。また、リンホシスチス病の流行とともにスクーチカ症が発生した。調査期間中、低酸素水塊の吸入等を疑わせる極端な水温変動はなかった。*E.*

*3 北村真一（愛媛大学）私信

*4 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

piscicida 遺伝子検出qPCRの結果、魚体試料では2017年6月22日に1個体の体表および鰓表面の粘液試料から*E. piscicida* 遺伝子が検出されたのち、12月まで継続して見られた。飼育排水では2018年7月18日以降継続して検出され、その最大濃度は1,153コピー/mlと推定された。*E. piscicida* 検出率は、体表と鰓の粘液試料および飼育排水で高い値を示した(表2)。*M. avidus* 遺伝子は、2017年8、9月に魚体試料と飼育排水から、10月には注水から検出された。(表3)。

表2 ヒラメ養殖場からの*E. piscicida* 検出結果

調査日	No	体表粘液(qPCR)*			菌分離		海水(qPCR)**	
		体表	鰓	直腸	腎臓	脳	注水	排水
2017/6/22	1	-	-	-	-	-	0	0
	2	-	-	-	-	-	0	0
	3	4.8	1.7	-	-	-	-	-
2017/7/18	1	-	-	-	-	NT***	-	-
	2	15.8	-	-	-	NT	0	1.6
	3	-	-	-	-	NT	-	-
2017/8/22	1	11.1	57.1	10	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	0	584
	3	87.4	34.4	-	-	-	-	-
2017/9/19	1	-	39.6	1.5	-	-	-	-
	2	-	37.6	-	-	-	0	1,153
	3	2604	110	10.5	+	+	-	-
2017/10/23	1	812	78.4	8399	+	NT	-	-
	2	19.8	779	5447	+	NT	0	23
	3	-	1.5	-	-	NT	-	-
2017/11/20	1	2.6	-	4032	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	0.004	34
	3	-	-	-	-	-	-	-
2017/12/19	1	9.7	256	-	+	+	-	-
	2	5	578	910	+	+	0.5	1.3
	3	-	11.4	25.7	+	+	-	-
検出率		48%	57%	38%	29%	20%	29%	86%

*テンプレート1μlあたりコピー数
**7枚のフィルターを統合し1mlあたりコピー数に変換
***調査せず

表3 ヒラメ養殖場からの*M. avidus* 検出結果

調査日	No	体表粘液(qPCR)*			検鏡		海水(qPCR)**	
		体表	鰓	直腸	鰓	脳	注水	排水
2017/6/22	1	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	0	0
	3	-	-	-	-	-	-	-
2017/7/18	1	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	0	0
	3	-	-	-	-	-	-	-
2017/8/22	1	53.8	886	15.3	+	-	-	-
	2	29.8	-	-	-	-	0	83.2
	3	39.3	-	-	-	-	-	-
2017/9/19	1	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	44.7	-	-	-	0	58
	3	-	13.5	-	-	-	-	-
2017/10/23	1	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	0.78	0
	3	-	-	-	-	-	-	-
2017/11/20	1	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	0	0
	3	-	-	-	-	-	-	-
2017/12/19	1	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	0	0
	3	-	-	-	-	-	-	-
検出率		14%	14%	5%	5%	0%	14%	29%

*テンプレート1μlあたりコピー数
**7枚のフィルターを統合し1mlあたりコピー数に変換

2) ブリ海面養殖場

飼育管理履歴によると、湾内から湾口部へ移動した2017年秋以降に小規模なノカルジア症の発生があった。調査期間中、低酸素水塊の流入等を疑わせる極端な水温変動はなかった。qPCRの結果、2017年11月の湾内海水の1例を除き*N. seriolae* 遺伝子は検出されなかった(表4)。一方、2017年8月28日に疾病検査を依頼された調査対象生簀の衰弱ブリ1個体の腎臓と脳から、数コロニーの*L. garvieae* II型株が分離され、以後、同株によるレンサ球菌症(II型レンサ球菌症)が流行した。*L. garvieae* I型およびII型遺伝子検出PCRを実施したところ、2017年6月の湾内海水、7月の1個体の体表粘液、湾内および湾口部海水から*L. garvieae* I型株の遺伝子が検出されたが(表5)、II型株の遺伝子は検出されなかった(表6)。

表4 ブリ養殖場からの*N. seriolae* 検出結果

調査日	No	体表粘液(qPCR)*			結節	菌分離	海水(qPCR)**	
		体表	鰓	直腸			湾内	湾口
2017/6/27	1	-	-	-	-	NT***	-	-
	2	-	-	-	-	NT	0	0
	3	-	-	-	-	NT	-	-
2017/7/25	1	-	-	-	-	NT	-	-
	2	-	-	-	-	NT	0	0
	3	-	-	-	-	NT	-	-
2017/8/28	1	-	-	-	-	NT	-	-
	2	-	-	-	-	NT	0	0
	3	-	-	-	-	NT	-	-
2017/9/25	1	-	-	-	-	NT	-	-
	2	-	-	-	-	NT	0	0
	3	-	-	-	-	NT	-	-
2017/10/30	1	-	-	-	-	NT	-	-
	2	-	-	-	-	NT	0	0
	3	-	-	-	-	NT	-	-
2017/11/27	1	-	-	-	-	NT	0.05	0
	2	NT	NT	NT	NT	NT	0	0
	3	NT	NT	NT	NT	NT	0	0
2018/2/26	1	NT	NT	NT	NT	NT	0	0
	2	NT	NT	NT	NT	NT	0	0
	3	NT	NT	NT	NT	NT	0	0
検出率		0%	0%	0%	0%	0%	11%	0%

*テンプレート1μlあたりコピー数
**7枚のフィルターを統合し1mlあたりコピー数に変換
***調査せず

表5 ブリ養殖場からの*L. garvieae* I型検出結果

調査日	No	体表粘液(PCR)			菌分離		海水(PCR)	
		体表	鰓	直腸	腎臓	脳	湾内	湾口
2017/6/27	1	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	+	-
	3	-	-	-	-	-	-	-
2017/7/25	1	+	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	+	+
	3	-	-	-	-	-	-	-
2017/8/28	1	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-
2017/9/25	1	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-
2017/10/30	1	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-
2017/11/27	1	-	-	-	-	-	-	-
	2	NT	NT	NT	NT	NT	-	-
	3	NT	NT	NT	NT	NT	-	-
2018/2/26	1	NT	NT	NT	NT	NT	-	-
	2	NT	NT	NT	NT	NT	-	-
	3	NT	NT	NT	NT	NT	-	-
検出率		6%	0%	0%	0%	0%	22%	11%

*調査せず

表6 ブリ養殖場からの*L. garvieae* II型検出結果

調査日	No	体表粘液(PCR)			菌分離		海水(PCR)	
		体表	鰓	直腸	腎臓	脳	湾内	湾口
2017/6/27	1	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-
2017/7/25	1	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-
2017/8/28	1	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-
2017/9/25	1	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-
2017/10/30	1	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-
2017/11/27	1	-	-	-	-	-	-	-
2017/12/26	1	NT	NT	NT	NT	NT	-	-
2018/1/30	1	NT	NT	NT	NT	NT	-	-
2018/2/26	1	NT	NT	NT	NT	NT	-	-
検出率		0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%

*調査せず

3. 魚の生理状態の指標開発

2D-PAGEの条件検討に基づき、等電点電気泳動の分離幅をpH3-10および5-8の2種類に設定し、2次元目に5-20%グラディエントゲルを用いた。ダメージ区と対照区の各6時間後の粘液試料を解析し、得られた泳動像から約70スポットについて試験区間で比較したところ、量的変動が見られたスポット、およびダメージ区に特異的なスポットが特定された。

今後の問題点

1. 広域スケール調査

本年度の調査で*E. tarda*が検出された5調査地点のうち、付近でヒラメ養殖が行われているのは3地点(桑浦、荒戸、尾浦)であった。一方、県内で最もヒラメ陸上養殖場が多い海域の調査点(入津湾)で*E. tarda*は検出されていない。多くのヒラメ陸上養殖場で夏期にエドワジエラ症が流行すること、養殖場スケール調査で対象としたヒラメ陸上養殖場(入津湾岸)で夏期の飼育排水から大量の*E. tarda*遺伝子が検出されたことを考慮すると、本調査結果はヒラメ養殖場で発生するエドワジエラ症に由来しない*E. tarda*を検出している可能性も考えられる。さらに、今回の*E. tarda*遺伝子検出PCR¹⁾が*E. tarda*、*E. piscicida*、*E. anguillarum*の3種を区別できていない可能性もあることから、今後はqPCR⁴⁾で再度分析する必要がある。また、*N. seriolae*についても検出感度の向上を目的にqPCR²⁾を試みる必要がある。

2. 養殖場スケール調査

1) ヒラメ陸上養殖場

当該養殖場で経営者がエドワジエラ症の発生を確認したのは7月初旬であったが、体表と鰓表面の粘液試料を用いたqPCRでは6月末に*E. piscicida*遺伝子が検出された。菌分離による検出は9月以降であったことから、本法はエドワジエラ症の早期診断に利用できる。また、飼育排水中の*E. piscicida*遺伝子量も疾病発生直後から検出されており、同様に早期診断試料として利用できると考えられる。さらに排水中*E. piscicida*遺伝子の最大濃度(1,153コピー/ml)は、これらが感染力を持つ細菌から得られたと仮定すると、浸漬感染実験レベル(10⁴CFU/ml以上)⁸⁾に近い。このことは飼育水の除菌によるエドワジエラ症防除可能性を示すほか、自然発生に近い感染実験手法開発の指標になると考えられる。なお、2017年11月からは新しい種苗が導入され、調査対象が新種苗を収容した養殖池に変更された。2018年3月までエドワジエラ症等の発生はなく、粘液や排水試料のqPCRでも*E. piscicida*は検出されていない。今後も調査を継続し、疾病の発生時期や低水温期の*E. piscicida*の動態について明らかにする必要がある。一方、*M. avidus*についても粘液や飼育排水試料のqPCRによる検出率が検鏡検査より高かったが、検出時期は現場の疾病発生確認よりも遅かった。魚体表の粘液や飼育水を試料としたqPCRでは、病原体の種類により検出感度に差がある可能性がある。

2) ブリ海面養殖場

ブリ養殖場では8月下旬からII型レンサ球菌症、秋以降に小規模なノカルジア症の発生が見られたが、本調査ではそれらに先行もしくは同期するような各病原体の増加が検出されなかった。とくに海水試料からの検出率は、ヒラメ養殖場における*E. piscicida*遺伝子検出率(86%)と比べると著しく低かった。*L. garvieae*I型株に関しては、*E. piscicida*⁹⁾と同様に実験感染魚から多量に排菌されることが知られている。¹⁰⁾*N. seriolae*と*L. garvieae*II型株が同様に排菌されていても、ブリ海面養殖場ではヒラメ陸上養殖池の排水のような飼育水の集約的採取ができないため、病原細菌遺伝子の検出率は低くなると思われる。今後は、ブリ海面養殖場の病原体をより効率的に検出する調査手法を開発する必要がある。一方、PCRでは2017年6月~7月に*L. garvieae*I型株が検出されたが、ほぼすべての養殖ブリには同株に対するワクチンが接種されていることもあり、当該期間に付近でI型レンサ球菌症の発生はなかった。仮に、I型レンサ球菌症の発生がなくとも水中に*L. garvieae*I型株が存在する時期があるとなれば、ワクチン接種率が下がらないよう注意喚起しなければならない。今回のPCR産物が非特異的な増副産物でないかどうか、qPCR等により確認する必要がある。

と考えられる。

3. 魚の生理状態の指標開発

ブリの体表粘膜に創傷ダメージを与えた場合、ダメージからの回復時には体表粘液のタンパク質組成が変化すると予想される。今回の画像解析で特定された量的変動の見られたスポットおよびダメージ区に特異的なスポットには、体表の治癒に重要なタンパク質が含まれている可能性が考えられる。今後これらのスポットを質量分析器で同定するとともに、他時点のサンプル解析を継続し、創傷ダメージ付与後の粘液タンパク質の経時的変化を追跡する。

文 献

- 1) Sakai T, Iida T, Osatomi K, Kanai K. Detection of type 1 fimbrial genes in fish pathogenic and non-pathogenic *Edwardsiella tarda* strains by PCR. *Fish Pathol.* 2007; 42: 115-117.
- 2) Miyoshi Y, Suzuki S. A PCR method to detect *Nocardia seriolae* in fish samples. *Fish Pathol.* 2003; 38: 93-97.
- 3) Chase DM, Elliott DG, Pascho RJ. Detection and quantification of *Renibacterium salmoninarum* DNA in salmonid tissues by real-time quantitative polymerase chain reaction analysis. *J. Vet. Diagn. Investig.* 2006; 18: 375-380.
- 4) Reichley SR, Ware C, Greenway TE, Wise DJ, Griffin MJ. Real-time polymerase chain reaction assays for the detection and quantification of *Edwardsiella tarda*, *Edwardsiella piscicida*, and *Edwardsiella piscicida*-like species in catfish tissues and pond water. *J. Vet. Diagn. Investig.* 2015; 27: 130-139.
- 5) Fukuda Y, Miyamura K, Hitaka E, Kimoto K, Sanada Y, Asai T, Ogawa K. Blood Fluke Infection of Japanese Amberjack *Seriola quinqueradiata* in Fish Farms along the Western Coastal Area of Bungo Channel, Japan. *Fish Pathol.* 2017; 52: 191-197.
- 6) Ohbayashi K, Oinaka D, Hoai TD, Yoshida T, Nishiki I. PCR-mediated Identification of the Newly Emerging Pathogen *Lactococcus garvieae* Serotype II from *Seriola quinqueradiata* and *S. dumerili*. *Fish Pathol.* 2017; 52: 46-49.
- 7) Shao S, Lai Q, Liu Q, Wu H, Xiao J, Shao Z, Wang Q, Zhang Y. Phylogenomics characterization of a highly virulent *Edwardsiella* strain ET080813T encoding two distinct T3SS and three T6SS gene clusters: Propose a novel species as *Edwardsiella anguillarum* sp. nov. *Syst. Appl. Microbiol.* 2015; 38: 36-47.
- 8) 馬久地隆幸, 清川智之, 本多数充, 中井敏博, 室賀清邦. ヒラメにおける *Edwardsiella tarda* の感染実験. *魚病研究.* 1995; 30: 247-250.
- 9) 松岡学. 実験感染ヒラメにおける *Edwardsiella tarda* の排菌. *魚病研究.* 2004; 39: 9-13.
- 10) 松岡学. ブリ連鎖球菌症実験感染魚からの排菌量. *愛媛県水産試験場研究報告.* 1992; 5: 39-41.

魚病リスク回避型養殖技術開発研究^{*1}

(2) 諸経費

木本圭輔・甲斐桑梓・福田 穰

事業の目的

フグ目魚類の粘液胞子虫性やせ病について、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。本年度はカワハギ海面養殖場およびトラフグ陸上養殖場において疫学調査を実施した。

事業の方法

粘液胞子虫性やせ病が頻発する佐伯市蒲江のカワハギ海面養殖場の1生簀（2017年6月導入の当歳魚天然種苗を収容）とトラフグ陸上養殖場の1養殖池（2017年5月導入の当歳魚人工種苗を収容）を調査対象とした。カワハギ養殖場では2017年6月以降、飼育魚約10尾の鰓、直腸の粘液と表層水2リットルを、トラフグ養殖場では2017年7月以降、飼育魚10尾の体表、鰓、直腸の粘液と注・排水2リットルを月1回の頻度で経時的に採取した。粘液と海水を別報¹⁾と同様に処理してDNAを抽出し、3種の粘液胞子虫（*Enteromyxum leei*、*E. fugu*、*Sphaerospora fugu*）の遺伝子検出PCR²⁾に供した。

事業の結果

カワハギ養殖業者への聞き取りでは、やせ病は9月末に発生し11月末には終息した。*E. leei* 遺伝子は、腸管で2017年9～10月、鰓で9月、海水で9～10月に検出された。*E. fugu* 遺伝子は魚体試料からは一度も検出されなかった。*S. fugu* 遺伝子は7月以降の腸管、8月以降の鰓、海水から9～11月に検出された。

トラフグ養殖業者から聞き取った飼育管理履歴によると、やせ病は対象池で発生しなかったが、別の人工種苗が導入された当歳魚池で11月末に発生した。*E. leei* 遺伝子は対象池の魚体および海水試料から検出されなかったが、やせ病が発生した池のトラフグ腸管から12月に検出された。*E. fugu* 遺伝子はすべての調査で腸管および飼育排水から検出された。*S. fugu* 遺伝子は検出されなかった。

今後の問題点

次年度は本事業のコンソーシアム内の別機関が開発したqPCRを用いて再度分析を行う。

文献

- 1) 木本圭輔, 甲斐桑梓, 福田 穰. 魚病リスク回避型養殖技術開発研究 (1) 県単事業. 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, 大分. 2019; - .
- 2) Yanagida T, Freeman MA, Nomura Y, Takami I, Sugihara Y, Yokoyama H, Ogawa K. Development of a PCR-based method for the detection of enteric myxozoans causing the emaciation disease of cultured tiger puffer. *Fish Pathol.* 2005; 40: 23-28.

*1 詳細は「平成29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。

カボスがつなぐブランド魚創出事業

木藪 仁和・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、この技術を活用し、カボス給餌で優位性が得られる新たな魚種を開発するとともに、既存魚種（かぼすヒラメ）の品質改善の技術開発を行った。

事業の方法

1. ヒラマサ

平成 2017 年 5 月 10 日に平均体重 2,926g の 2 歳魚を 3 試験区に各 6 尾、平成 2017 年 5 月 17 日には平均体重 5,180g の 3 歳魚を 3 試験区に各 5 尾、平成 2017 年 7 月 29 日には平均体重 5,078g の 3 歳魚を 2 試験区に各 10 尾収容し、研究部の 3 × 3 × 3m 生簀で飼育試験を実施した。アジ主体のモイストペレット (JM-MP) を給餌した魚を対照区とし、果皮粉末を 0.5 % 添加した JM-MP を給餌した魚を粉末区、生果皮を 7 % 添加した JM-MP を給餌した魚を生果皮区とした。

平成 2017 年 5 月開始の 2 歳魚、3 歳魚は 28 日給餌後（6 月 16 日及び 6 月 22 日）、平成 2017 年 7 月開始の 3 歳魚は 40 日給餌後（粉末 25 日+生果皮 15 日給餌後：9 月 20 日）、に、飼育魚を各区から 5 尾取り上げて血合筋試料を採取し、色彩色差計を用いた褐変時間到達時間（刺身の限界とされる指標 b^*/a^* 値 0.8 に達する時間）の比較を行った。味覚センサによる味覚分析、香り成分量（リモネン）の定量については腹部の体側筋を用い、味覚分析は別府大学食物栄養科学部で、リモネンの定量は民間検査機関で実施した。

2. カンパチ

平成 2017 年 11 月 1 日に平均体重 4,140g の 2 歳魚を各 7 尾収容し、研究部の 3 × 3 × 3m 生簀で飼育試験を実施した。30 日給餌後（12 月 6 日）に取上げ、分析を行った。試験設定及び分析方法はヒラマサと同様に実施した。

3. ヒラメ

出荷サイズ（体重約 950g）のヒラメを佐伯市蒲江の養殖場の 8 × 8m 水槽 2 面にそれぞれ 850 尾、920 尾収容し、2018 年 2 月 13 日に試験を開始した。カボス生果皮を 0.5% 添加したアジ主体のモイストペレット (JM-MP) を給餌した区を 0.5% 区、同じく 1% 添加した JM-MP を給餌した区を 1% 区とした。

10 回給餌後と 20 回給餌後、及び 20 回給餌後 7 日経過後と 27 日後に各区 3 尾を回収した。これらの体側筋を採取し、リモネン量を定量した。

4. カワハギ

蒲江の養殖業者から購入した平均体重 263g のカワハギを水産研究部の 3 × 3 × 3m 生簀 8 面に各 26 尾ずつ収容し、2017 年 10 月 25 日に試験を開始した。各区とも JM-MP に下記の油脂及びカボス資材を下記の割合で添加したものを給餌した。

- ①菜種油 10%、カボス生果皮ミンチ 14%（菜種区）
- ②大豆油 10%、カボス生果皮ミンチ 14%（大豆区）
- ③パーム油 10%、カボス生果皮ミンチ 14%（パーム区）
- ④フィートオイル 10%、カボス生果皮ミンチ 14%（DHA 区）
- ⑤カボス生果皮ミンチ 14%（ミンチ区）
- ⑥カボス生果皮チップ 14%（チップ区）
- ⑦カボス搾汁廃液 10%（廃液区）

また、JM-MP のみを給餌した区を対照区とした。

30 回給餌後に取り上げ、筋肉の味覚センサによる味覚分析、リモネン定量、肝臓の脂肪酸分析を行った。

5. トラフグ

出荷サイズ（体重約 1kg）のトラフグを佐伯市蒲江の 3 養殖場（A 社、B 社、C 社）の 8 × 8m コンクリート水槽各 1 面に A 社 1,500 尾、B 社 900 尾、C 社 500 尾を収容し、2018 年 2 月 3 日に試験を開始した。イワシを主体としたモイストペレット (S-MP) を給餌した区を対照区（A 社のみ）とし、生果皮を 5% 添加した S-MP を給餌した区を生果皮区とした。

10 回給餌後に 3 養殖場の生果皮区から各区 3 尾を取上げ、体側筋を採取してリモネンの定量を行った。また、20 回給餌後 A 社の生果皮区及び対照区から各区 3 尾を取り上げ、筋肉の味覚センサによる味覚分析及び生果皮区のリモネン定量を行った。

事業の結果および考察

1. ヒラマサ

血合筋褐変到達時間は図 1、図 2、図 3 に示したとおりである。対照区と比較して、全てのカボス給餌区で延長し、7月開始の3歳魚では100時間以上の延長があった。

リモネン量は5月開始試験の粉末区で2歳魚、3歳魚ともに0.10mg/100gであった。生果皮区で2歳魚は0.41mg/100g、3歳魚は0.43mg/100gといずれも生果皮区から多くリモネンが検出された。

味覚センサによる酸味の分析値は図4に示したとおりである。対照区と比較して、5月試験開始の3歳魚では粉末区、生果皮区の順に酸味が高くなった。2歳魚では対照区との差は見られなかった。

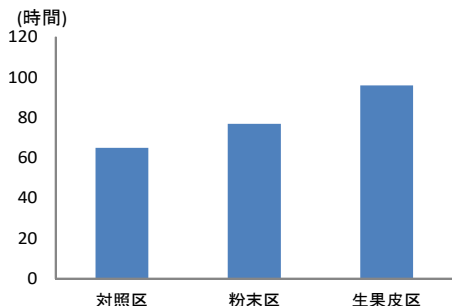


図1 血合筋の褐変到達時間 (5月開始2歳魚)

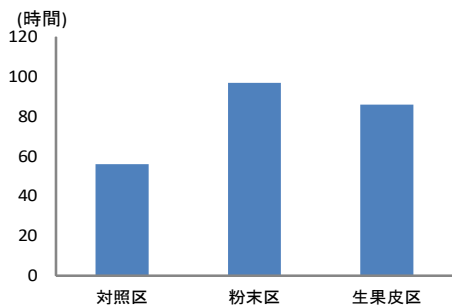


図2 血合筋の褐変到達時間 (5月開始3歳魚)

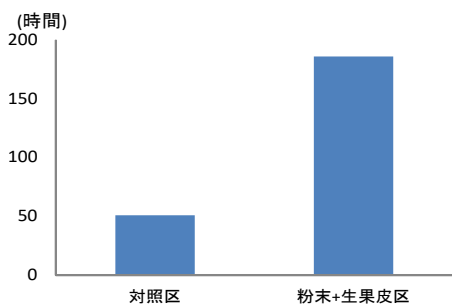


図3 血合筋の褐変到達時間 (7月開始3歳魚)

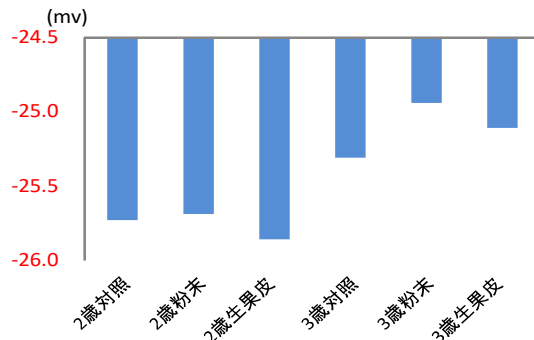


図4 ヒラマサの酸味分析値

2. カンパチ

血合筋褐変到達時間は図5に示したとおりである。粉末区、生果皮区とも延長は数時間で、ヒラマサに比べ、延長が短かった。リモネン量は粉末区0.58mg/100g、生果皮区1.70mg/100gでヒラマサと同様、生果皮区から多く検出された。

味覚センサによる酸味、苦味雑味の分析値はそれぞれ図6、図7に示したとおりである。対照区と比較して、カボス試験区は酸味が高かった。

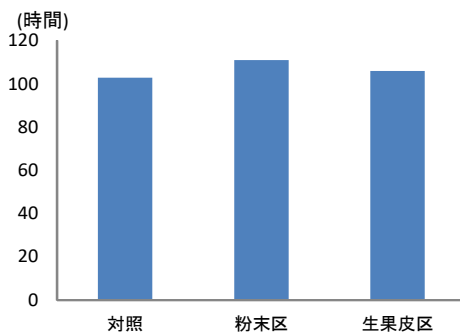


図5 血合筋の褐変到達時間 (カンパチ)

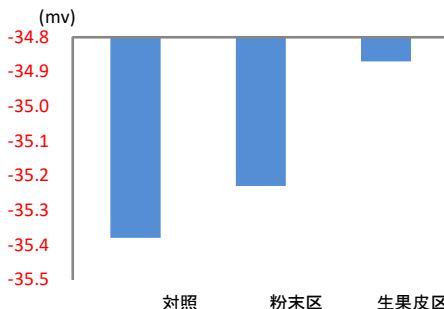


図6 カンパチの酸味分析値

3. ヒラメ

昨年度までの試験結果から、カボス果汁のMP添加では筋肉におけるリモネン量が定量限界以下であったものが、カボス生果皮への転換により検出可能になっている。今年度は時期的に最も給餌量が低下するとされている低水温期において、低濃度のカボス生果皮添加給餌試験を実施した。結果、0.5%及び1%の生果皮添加10回給餌により、それぞれ0.01mg/100g（魚筋肉、以下同様）、0.02mg/100gのリモネンが定量された。また、同様に20回給餌した場合にはそれぞれ0.02mg/100g、0.04mg/100gが定量された。

さらに、20回給餌後7日経過後及び27日経過後の筋肉中のリモネン量は0.5%区ではどちらも検出されなかったが、1%区でそれぞれ0.02mg/100g、0.01mg/100gが定量された。ヒラメは通常活魚で出荷することが多く、カボス資材投与終了後のリモネン減少が課題であったが、今回の試験により1%の生果皮を20回給餌後は、給餌を止めても27日後まではリモネンが持続することが確認された。

5. カワハギ

味覚分析の結果、チップ区と廃液区で旨味コクが高い傾向が見られた（図7）。リモネン量は筋肉からはいずれの区も検出されなかったが、肝臓からはDHA区、ミンチ区、チップ区で0.1mg/100gを超える値が検出された（図8）。

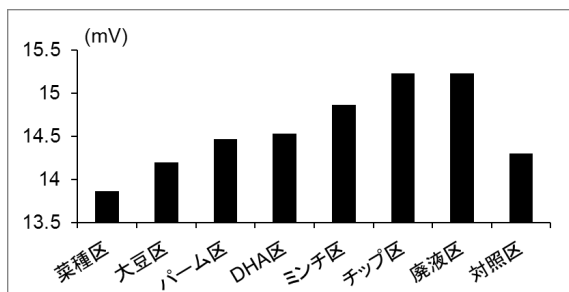


図7 旨味コクの分析値 (カワハギ)

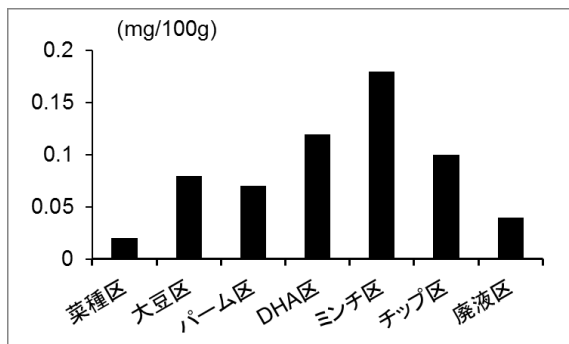


図8 肝臓中リモネン定量値 (カワハギ)

6. トラフグ

A社及びB社では10回給餌後の筋肉中のリモネン含量がどちらも0.02mg/100gであったのに対し、C社は検出されなかった。またA社の20回給餌後では0.01mg/100gであった。試験期間は2月3日から2月26日であり、トラフグは低水温期に給餌量が低下する傾向にある。今回水温は測定していないが、後半の給餌量は前半の半分になっており、減少した給餌量にもなってカボス生果皮の取り込み量が減少したことが考えられた。

(ヒラマサ・カンパチ担当 木藪仁和、ヒラメ・カワハギ・フグ担当 都留久美子)

安心・安全で環境に優しい養殖推進事業 ハダムシ対策

都留久美子・福田穰・木藪仁和

事業の目的

ブリ類の体表に寄生するハダムシ(*Benedenia seriolae*や*Neobenedeniagirellae*)は、成長不良および疾病を誘発するため、養殖業においては淡水浴や駆虫剤による駆虫を頻繁に行う必要がある。本事業では、駆虫作業の労力およびコスト軽減と、安心な養殖の推進を目的に、飼料添加物およ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. 梅酢の添加効果

大分県漁業公社で生産されたヒラマサ(平均体重83.1g)を、2017年11月6日に淡水浴した後、1.5×1.5×1.5mの小割網いけす3面に各区50尾ずつ収容した。

市販のブリ類用EP(坂本飼料株式会社)に梅酢1%添加(梅酢1%区)または5%添加(梅酢5%区)して日間給餌率2.5%で給餌した。対照区には梅酢無添加EPを同様に給餌した。なお、試験期間中の水温は17.2~20.6℃であった。

試験飼料給餌開始18日後および35日後に各区10尾を取り上げ、体表に寄生したハダムシ類をすべて回収し70%(v/v)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80.2g)を2017年10月16日に淡水浴し、3日後に試作ワクチンを体側筋に接種して1.5×1.5×1.5mの小割網いけす4面に各区50尾ずつ収容した。収容の際には各区下記の処理を行った。供試したワクチンは、DNAワクチン(DNA区)およびハダムシ虫体の磨砕液(磨砕液区)である。対照として空ベクター接種(空ベクター区)とPBS接種(PBS区)を行った。試験期間中は市販ブリ類用EPを日間給餌率2.5%で給餌した。なお、試験期間中の水温は18.9~20.6℃であった。

ワクチン接種14日後に各区10尾を取り上げ、体

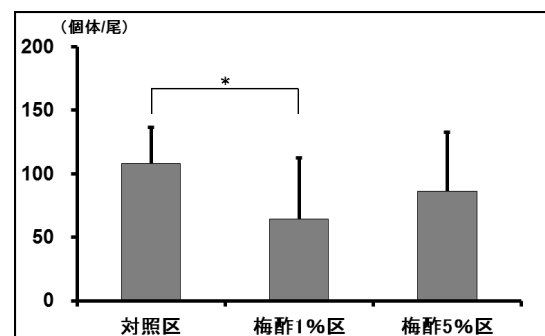
表に寄生したハダムシ類を回収し70%エタノールで固定して計数した。

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

結果及び考察

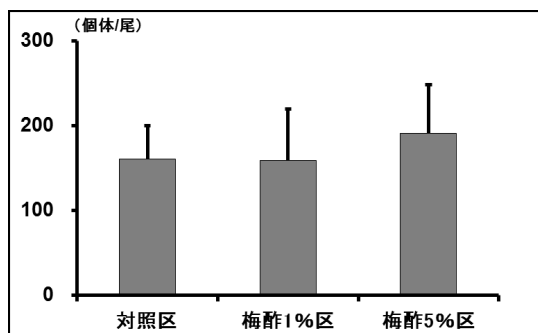
1. 梅酢の添加効果

試験開始18日後のブリ1尾あたりの平均ハダムシ類寄生数は、対照区で108.1個体、梅酢1%区で64.4個体、梅酢5%区で86.0個体であった(図1)。また、35日後ではそれぞれ161.0個体、159.4個体、190.9個体であった(図2)。試験開始18日後の梅酢1%区では対照区と比較し寄生数の有意な低下が認められた(t-test、 $p<0.05$)が、その他については有意差が認められなかった。



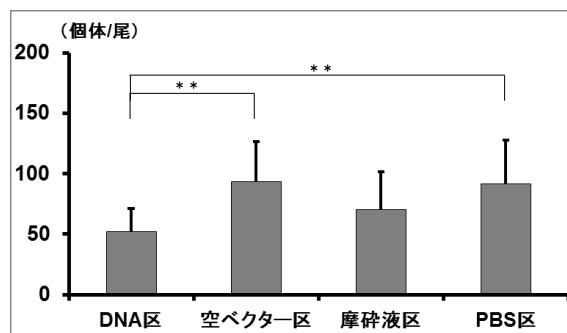
バーは標準偏差、* $p<0.05$

図1 試験飼料給餌開始18日後の平均ハダムシ類寄生数



バーは標準偏差

図2 試験飼料給餌開始35日後の平均ハダムシ類寄生数



バーは標準偏差、**p<0.01

図3 試験開始14日後の平均ハダムシ類寄生数

2. ワクチンの効果

ワクチン接種14日後のブリ1尾当たりの平均ハダムシ類寄生数は、DNA区で52.3個体、空ベクター区で93.3個体、磨砕液区で70.5個体、PBS区で91.8個体であった(図3)。空ベクター区及びPBS区と比較し、DNA区ではハダムシ寄生数が有意に低かった(t-test、 $p < 0.01$)。

水産加工品等高度利用化指導

都留久美子・木藪仁和

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、加工相談へ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にあり、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。

事業の内容および方法

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。2回延べ6人が当施設を活用して、養殖ブリ、ハモを使った加工食品（すり身、冷凍商品など）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、18件延べ30人の相談に対応した（表1）。

表1 加工相談への対応

相談件数	18
相談人数	30
対象水産物	養殖ブリ、養殖ヒラメ、養殖マグロ、マアジ、マサバ、ヘダイ、ガザミ、ハモ、ウチムラサキ、マダイ、イワシ

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2~3個体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42時間かけて緩慢解凍した。酵素はサモアーズ® PC10F（天野エンザイム株式会社製）を使用し、酵素濃度が0.2%、0.1%、0.05%、0.01%（いずれもw/w）になるように70℃の水道水に溶かした後、pH値を測定した。この酵素水溶液に解凍したブリ内臓を2~3個体分（685~1,005g）ずつ入れ、70℃の恒温機で酵素反応を促進した。1時間ごとに状態を確認し、適宜胃を取り出して100℃の水道水に約1分間浸漬し酵素反応を停止させた後、水洗した。

結果及び考察

pH値は7.5~8.0であり、今回使用した酵素の至適範囲であった。0.2%では1時間でぬめりの除去が可能であった。また、0.01%~0.1%でも2時間後にはぬめりが除去できており、短時間での処理が可能なが示された。

完成したぬめり除去胃袋の平均重量は11.3g/個体（9.3~17.9g）であり、内臓全体からの歩留まりは約3%であった。



図1 酵素反応2時間後に反応停止させ、切開、洗浄した胃袋（左から0.01%、0.05%、0.2%）

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 (県単)

都留久美子・木藪仁和

事業の目的

大分県のヒラメ養殖業は、全国2位の生産量(2016年農林水産統計)を誇る主要産業である。近年、北里大学等によりヒラメやホシガレイ等の異体類に対する緑色LED光の照射による成長促進効果が報告されている。これらの報告では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ものの、ヒラメの出荷サイズまでの効果は調べられていない。そこで、県内のヒラメ養殖業者に委託し、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。

事業の方法

飼育試験は津久見市のヒラメ養殖業者に委託した。民間種苗会社から購入したヒラメ種苗(平均体重21.0g)を角型コンクリート陸上水槽(4.5m×4.5m、水深約30cm)3面に各500尾(収容密度25尾/m²)収容し、2017年6月9日に試験を開始した(夏季試験)。飼育水は生海水を使用し、流量は1日約24回転とした。

自然光、自然日長で飼育した区を対照区とし、遮光しスタンレー電気株式会社の緑色LEDを照射した区をスタンレー区、同じく遮光し市販の緑色LED集魚灯を照射した区を市販区とした。LED光の照射時間は6:00~18:00の12時間とした。餌料はヒラメ用EP(株式会社ヒガシマル)を使用し、1日1~2回飽食給餌し、給餌量を記録した。毎月各区20尾を取り上げ、体重、全長、体長、体高、体幅を測定した。

また、同年8月21日に白点病が発生し供試魚が全滅したため、9月6日に再度試験を開始した(秋冬季試験)。秋冬季試験における種苗は、当水産研究部で生産されたヒラメ種苗(平均体重20.6g)を使用し、収容尾数は各区600尾(収容密度30尾/m²)とした。若干の天井からの自然光を取り入れた以外は、他の飼育条件は上記と同様とした。測定項目も上記と同様としたが、2018年2月からはこれらの項目に加え、内臓重量、肝臓重量、生殖腺重量を測定した。

試験期間中は温度データロガー(HOBO社製)により各水槽の水温を測定した。

結果及び考察

測定結果のうち、夏季試験および秋冬季試験の平均体重と平均全長の推移を図1~4に示した。秋冬季試験において2018年3月のサンプリング時点では、スタンレー区は対照区と比較し平均体重で約1.56倍、平均全長で1.15倍大きかった(図3、4)。体重については、対照区とスタンレー区間において、夏季試験では2か月後以降、秋冬季試験では3か月後以降で有意な差(t-test, $p < 0.05$)が確認され、緑色LED光の成長促進効果が影響していると考えられた。

また、餌料効率夏季試験ではスタンレー区123.4%、市販区120.5%、対照区110.6%、秋冬季試験ではそれぞれ102.9%、92.7%、90.7%であり(表1)、いずれもスタンレー区で高かった。

試験期間中の水温は夏季試験で18.8~26.0℃、秋冬季試験で11.7~24.9℃で推移した(図5、6)。

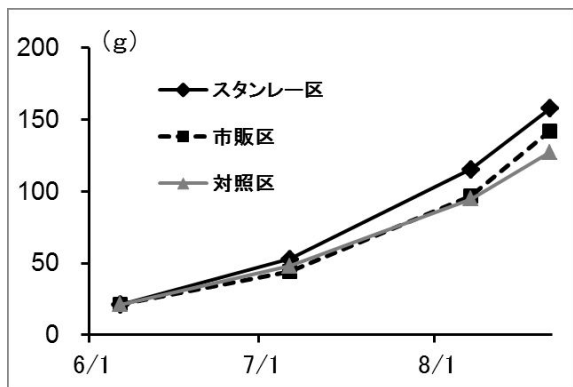


図1 夏季試験の体重の推移

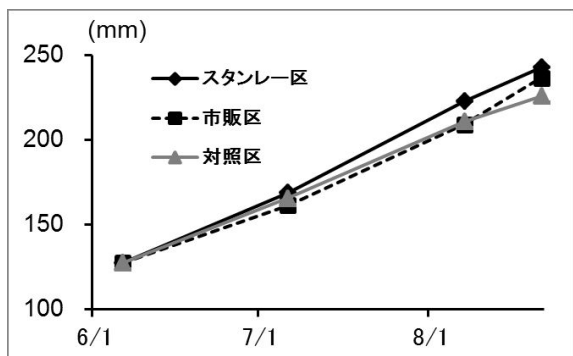


図2 夏季試験の全長の推移

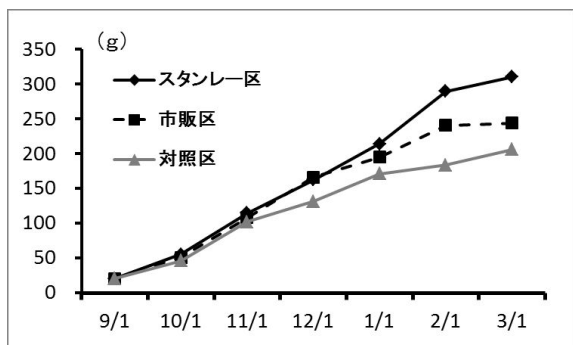


図3 秋冬季試験の体重の推移

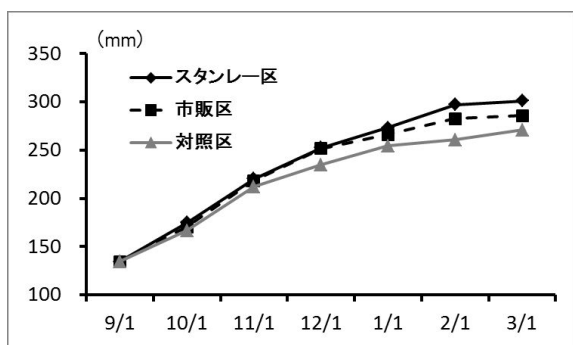


図4 秋冬季試験の全長の推移

表1 餌料効率 (%)

	スタンレー区	市販区	対照区
夏季試験	123.4	120.5	110.6
秋冬季試験	102.9	92.7	90.7

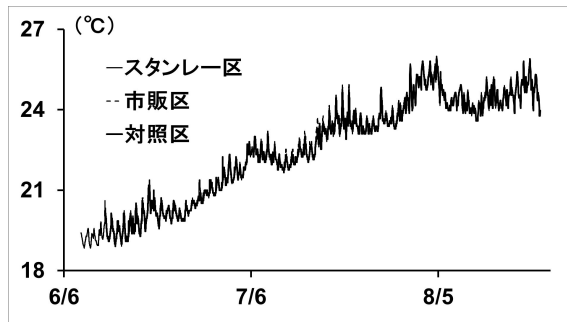


図5 夏季試験の水温



図6 秋冬季試験の水温

安心・安全で環境に優しい養殖推進事業 環境調査

井口大輝・大竹周作

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。当事業は、同法に基づく生産者の自主的な取り組みのための基礎資料を得ることを目的として、県南域の養殖漁場を対象に水質・底質のモニタリング調査を行った。

事業の方法

広域調査

2017年8月30日～10月3日に、魚類または貝類養殖場39調査点(図1)において、水質・底質のモニタリング定期調査を実施した。

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項目および、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-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¹⁾、水質汚濁調査指針²⁾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・分析結果は表1、底質の分析結果は表2に示したとおりである。

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℃・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 ≤ S < 2)はやや悪い底質環境、Ⅲ(2 ≤ S)は有機汚染が進行し悪い底質環境とし、2017年度の底質調査の結果を評価すると、データの得られた36定点の内、23点がⅠ、10点がⅡ、3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.

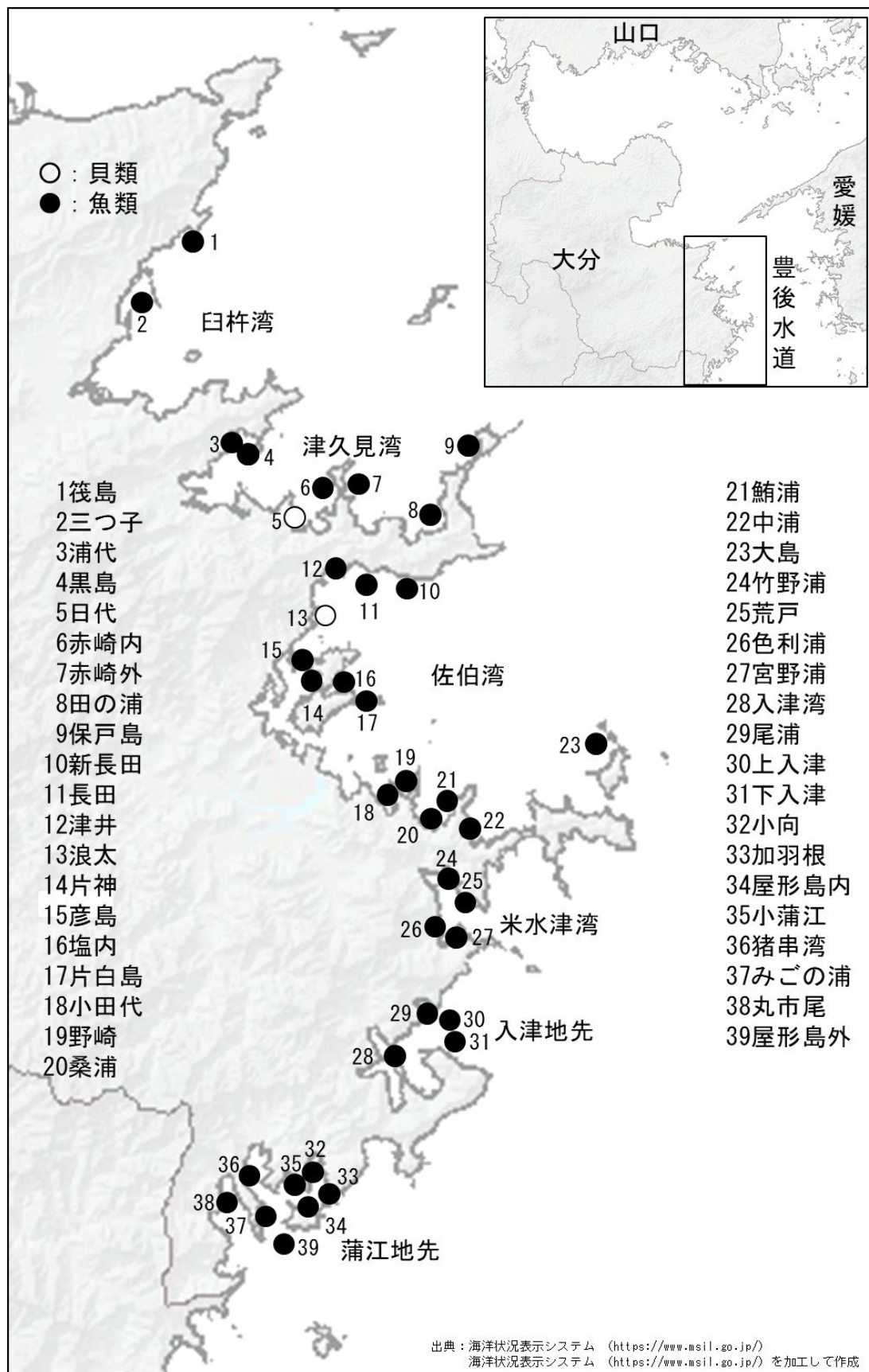


図1. 2017年度養殖漁場環境調査定点図.

調査点 項目	佐賀関		白杵		津久見						上浦				佐伯				鶴見		
	筏島	三つ子	浦代	黒島	日代	赤崎内	赤崎外	田の浦	保戸島	新長田	長田	津井	浪太	片神	彦島	塩内	片白島	小田代	野崎	桑浦	
調査月日	8/30	8/30	-	-	9/5	9/5	9/5	9/5	9/5	9/29	10/3	10/3	10/3	10/3	10/3	10/3	10/3	9/22	9/22	9/22	
水深(m)	18.3	17.5	-	-	28.1	39.6	41.4	45.3	32.4	50.0<	40.3	9.6	21.9	29.9	22.3	24.3	29.0	18.9	22.5	15.4	
Tr(m)	7.0	7.0	-	-	12.0	9.0	11.0	13.0	12.0	5.5	6.5	6.5	6.5	6.0	5.0	4.5	5.0	6.0	6.5	7.0	
水温	0	25.8	25.4	-	-	25.1	25.0	24.4	24.6	24.2	22.9	22.9	23.3	23.0	23.2	23.1	23.0	22.9	23.2	23.1	23.1
	5	24.6	24.8	-	-	24.9	24.8	24.3	24.4	23.7	22.7	22.8	22.9	22.9	22.8	22.8	22.9	23.1	23.1	22.9	
	10	24.5	24.7	-	-	24.6	24.8	24.2	24.3	23.3	22.7	22.8	-	22.8	22.7	22.7	22.8	22.9	23.1	23.1	22.8
	B	24.3	24.1	-	-	23.9	23.0	22.8	22.7	22.6	22.5	22.7	22.7	22.6	22.7	22.7	22.9	23.0	22.6	22.8	
塩分	0	33.57	33.78	-	-	33.52	33.57	33.38	33.29	32.98	33.55	33.60	33.37	33.57	33.05	33.27	33.54	33.49	26.81	31.63	31.63
	5	33.80	33.79	-	-	33.72	33.50	33.57	33.55	33.65	33.58	33.60	33.57	33.44	33.56	33.49	33.52	33.14	32.90	33.20	
	10	33.66	33.79	-	-	33.61	33.54	33.59	33.56	33.73	33.65	33.62	-	33.60	33.70	33.62	33.60	33.56	33.26	33.11	33.50
	B	33.60	33.69	-	-	33.66	33.87	33.83	33.85	33.85	33.76	33.82	33.61	33.63	33.64	33.63	33.73	33.82	33.47	33.60	33.56
DO	0	7.06	6.99	-	-	6.40	6.32	6.24	6.46	6.33	7.09	7.02	6.79	7.35	7.75	8.03	7.28	7.88	6.66	6.68	6.30
	5	7.11	6.65	-	-	6.22	5.82	5.97	6.46	6.22	7.01	7.09	7.19	7.64	6.15	6.91	7.40	7.41	6.03	6.24	6.00
	10	7.05	6.65	-	-	6.04	5.79	6.04	6.22	6.10	6.65	6.73	-	7.06	5.56	6.87	6.59	7.02	5.90	6.12	6.05
	B	6.83	6.47	-	-	5.84	5.59	6.00	5.70	6.05	5.64	5.22	6.70	6.12	5.14	6.15	6.26	6.25	5.71	5.77	5.89
DIN	0	0.19	0.62	-	-	0.88	4.95	2.18	2.82	3.54	0.68	1.04	1.47	0.18	0.35	0.20	0.67	0.15	14.12	6.02	5.77
	5	0.30	1.52	-	-	1.43	7.01	2.82	1.56	2.66	1.10	1.40	0.13	0.15	3.80	1.14	0.65	0.65	4.84	4.58	4.83
	10	0.33	1.41	-	-	2.22	5.46	2.69	2.28	3.11	2.00	1.84	-	0.40	4.87	1.05	2.17	1.47	5.31	4.95	4.82
	B	0.60	0.73	-	-	3.28	4.95	3.47	4.79	4.01	5.45	6.13	1.66	2.82	6.76	3.67	3.27	3.72	6.46	5.38	4.95
P04-P	0	0.16	0.18	-	-	0.23	0.46	0.32	0.31	0.32	0.07	0.11	0.14	0.05	0.05	0.03	0.08	0.04	0.49	0.36	0.36
	5	0.15	0.30	-	-	0.26	0.66	0.32	0.26	0.30	0.10	0.17	0.08	0.04	0.37	0.11	0.05	0.10	0.42	0.37	0.44
	10	0.15	0.30	-	-	0.32	0.65	0.35	0.31	0.34	0.14	0.22	-	0.07	0.47	0.12	0.15	0.16	0.47	0.39	0.44
	B	0.17	0.39	-	-	0.39	0.77	0.39	0.48	0.41	0.59	0.80	0.24	0.29	0.77	0.43	0.32	0.42	0.58	0.53	0.47

調査点 項目	鶴見		米水津				入津地区				蒲江南部地区									
	鮎浦	中浦	大島	竹野浦	荒戸	色利浦	宮野浦	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	9/22	9/22	9/29	9/21	9/21	9/21	9/21	9/8	9/8	9/8	9/8	9/11	-	9/4	9/4	9/4	9/4	9/11	9/11	
水深(m)	34.4	30.3	50.0<	24.9	31.3	19.4	24.9	22.4	13.6	29.0	13.9	8.5	-	16.2	18.9	19.1	22.5	11.7	32.5	
Tr(m)	8.0	7.5	10.0	7.5	7.5	6.0	7.0	12.0	9.5	15.0	7.0	5.0	-	11.0	9.0	7.0	8.0	6.0	14.5	
水温	0	23.1	23.0	22.7	23.9	23.7	23.9	23.8	24.9	23.6	23.5	26.4	-	26.6	26.6	26.3	26.5	26.7	27.1	
	5	22.8	22.8	22.7	23.4	23.2	23.8	23.5	24.4	22.9	23.5	23.1	25.4	-	26.6	26.5	26.1	26.3	26.8	
	10	22.8	22.5	22.7	23.2	23.2	23.6	23.5	23.8	22.2	23.3	23.0	-	-	25.4	25.6	25.8	26.0	21.7	26.9
	B	22.3	22.4	22.6	22.5	22.1	23.3	23.1	18.3	22.0	22.4	22.7	24.8	-	24.6	24.6	24.4	24.2	21.7	22.5
塩分	0	29.90	32.60	33.69	33.44	33.50	32.62	31.91	33.71	34.01	34.02	34.02	33.71	-	34.20	34.07	34.01	34.05	33.84	33.70
	5	33.24	33.23	33.70	33.54	33.57	33.64	33.48	33.79	34.19	34.01	34.01	33.82	-	34.06	34.07	34.00	34.04	34.06	33.75
	10	33.27	33.44	33.77	33.60	33.59	33.62	33.55	33.91	34.01	34.01	34.01	-	-	34.25	34.02	33.96	34.03	34.3	33.93
	B	33.56	33.56	33.71	33.74	33.80	33.71	33.76	34.53	34.05	34.04	34.02	33.96	-	34.07	34.06	34.04	34.23	34.30	34.34
DO	0	6.16	6.20	6.25	5.84	5.77	6.19	6.39	5.49	6.11	5.93	5.99	7.28	-	6.40	6.54	6.52	6.25	7.06	6.69
	5	5.75	5.90	6.25	5.50	5.59	6.10	5.56	5.26	5.95	5.92	6.03	6.46	-	6.28	6.53	6.43	6.25	6.62	6.48
	10	5.59	6.16	6.25	5.90	5.61	6.09	5.61	4.99	5.62	5.79	6.12	-	-	6.21	6.37	6.58	6.18	6.1	6.04
	B	5.52	5.85	6.30	5.93	6.01	6.04	5.48	0.00	5.83	5.98	6.22	6.29	-	5.89	5.86	5.55	5.75	6.16	6.10
DIN	0	6.81	5.67	4.48	7.93	6.49	6.27	8.46	5.71	3.16	4.86	3.91	0.18	-	0.89	0.51	2.54	1.23	0.65	0.24
	5	6.08	5.48	3.75	6.87	6.75	4.85	6.35	4.70	4.81	4.06	3.83	0.4	-	0.74	0.47	1.83	1.19	0.25	0.55
	10	7.73	4.74	3.42	5.52	6.82	4.52	6.34	4.94	4.87	4.94	3.83	-	-	1.45	1.11	0.82	1.73	4.3	1.21
	B	6.21	5.23	3.93	5.10	5.16	4.37	5.82	84.51	4.92	4.14	4.12	1.81	-	2.92	2.77	3.87	3.69	4.03	3.58
P04-P	0	0.36	0.46	0.47	0.78	0.64	0.47	0.62	0.64	0.31	0.56	0.44	0.05	-	0.08	0.05	0.13	0.12	0.05	0.03
	5	0.47	0.53	0.33	0.95	0.68	0.41	0.89	0.54	0.48	0.39	0.40	0.10	-	0.07	0.05	0.10	0.09	0.04	0.03
	10	0.51	0.45	0.31	0.71	0.71	0.40	0.89	0.62	0.52	0.40	0.41	-	-	0.18	0.10	0.06	0.15	0.4	0.07
	B	0.82	0.51	0.39	0.73	0.50	0.42	1.14	11.69	0.51	0.50	0.42	0.28	-	0.39	0.35	0.49	0.58	0.39	0.36

*水温は0.5m層を示す。 単位：WT(°C)、S、DO(ml/L)、DIN・P04-P(μM)
 *DO(ml/l) ÷ 0.7 = DO(mg/l)

表1. 2017年度養殖漁場環境調査結果一覧

調査 年月日	No.	調査 点名	湾・海域	漁業種類	H29年度				合成指標 (S)	底質評価
					IL(%) 450°C	IL(%) 550°C	AVS (mg/g乾泥)	COD (mg/g乾泥)		
H29.8.30	1	筏島	臼杵湾	魚類小割	2.10	3.53	0.01	4.45	-1.07	I
H29.8.30	2	三ツ子	臼杵湾	魚類小割	3.56	5.60	0.30	12.32	-0.09	II
H29.9.5	3	浦代	津久見湾	魚類小割		欠測				
H29.9.5	4	黒島	津久見湾	魚類小割		欠測				
H29.9.5	5	日代	津久見湾	真珠	2.27	3.46	0.01	5.66	-0.97	I
H29.9.5	6	赤崎内	津久見湾	魚類小割	5.28	7.05	0.32	23.67	0.79	II
H29.9.5	7	赤崎外	津久見湾	魚類小割	3.53	5.54	0.06	11.29	-0.40	I
H29.9.5	8	田の浦	津久見湾	魚類小割	3.50	5.15	0.23	16.11	-0.03	II
H29.9.5	9	保戸島	津久見湾	魚類小割	2.78	4.59	0.03	10.26	-0.65	I
H29.9.29	10	新長田	佐伯湾	魚類小割	4.80	7.55	0.24	17.15	0.32	II
H29.10.3	11	長田	佐伯湾	魚類小割	5.07	8.60	0.26	29.11	0.90	II
H29.10.3	12	津井	佐伯湾	魚類小割	2.25	3.54	0.02	9.36	-0.81	I
H29.10.3	13	浪太	佐伯湾	真珠	2.48	3.92	0.01	9.69	-0.77	I
H29.10.3	14	片神	佐伯湾	魚類小割	6.56	8.73	1.24	37.18	2.67	III
H29.10.3	15	彦島	佐伯湾	魚類小割	4.94	7.72	0.64	31.60	1.40	II
H29.10.3	16	塩内	佐伯湾	魚類小割	2.72	4.16	0.43	14.54	-0.04	II
H29.10.3	17	片白島	佐伯湾	魚類小割	2.80	4.92	0.34	0.00	-0.72	I
H29.9.22	18	小田代	佐伯湾	魚類小割	3.11	5.35	0.18	11.94	-0.33	I
H29.9.22	19	野崎	佐伯湾	魚類小割	4.15	5.87	0.05	14.61	-0.14	I
H29.9.22	20	桑浦	佐伯湾	魚類小割	2.68	4.38	0.16	9.70	-0.55	I
H29.9.22	21	鮪浦	佐伯湾	魚類小割	6.20	8.33	1.35	31.81	2.49	III
H29.9.22	22	中浦	佐伯湾	魚類小割	1.94	3.86	0.18	7.12	-0.80	I
H29.9.29	23	大島	佐伯湾	魚類小割	1.84	3.60	0.01	4.93	-1.10	I
H29.9.21	24	竹野浦	米水津湾	魚類小割	2.18	3.51	0.05	6.85	-0.90	I
H29.9.21	25	荒戸	米水津湾	魚類小割	2.60	4.64	0.10	12.16	-0.53	I
H29.9.21	26	色利浦	米水津湾	魚類小割	4.13	6.09	0.13	16.78	0.03	II
H29.9.21	27	宮野浦	米水津湾	魚類小割	3.47	4.99	0.11	16.58	-0.15	I
H29.9.8	28	入津湾	入津地区	湾央	8.49	11.65	2.74	55.20	5.51	III
H29.9.8	29	尾浦	入津地区	魚類小割	2.02	3.47	0.10	9.15	-0.79	I
H29.9.8	30	上入津	入津地区	魚類小割	2.37	3.95	0.32	9.84	-0.44	I
H29.9.8	31	下入津	入津地区	魚類小割	0.91	2.30	0.14	2.89	-1.26	I
H29.9.11	32	小向	蒲江南部	魚類小割	2.84	4.75	0.13	12.70	-0.43	I
H29.9.11	33	加羽根	蒲江南部	魚類小割		欠測				
H29.9.4	34	屋形島内	蒲江南部	魚類小割	2.47	4.28	0.05	10.65	-0.68	I
H29.9.4	35	小蒲江	蒲江南部	ひおうぎ	2.91	5.41	0.03	9.56	-0.65	I
H29.9.4	36	猪串湾	蒲江南部	魚類小割	6.34	9.26	0.40	26.90	1.25	II
H29.9.4	37	みごの浦	蒲江南部	魚類小割	3.58	6.16	0.21	16.34	-0.02	II
H29.9.11	38	丸市尾	蒲江南部	魚類小割	3.42	5.49	0.07	13.61	-0.32	I
H29.9.11	39	屋形島外	蒲江南部	魚類小割	0.78	1.92	0.00	3.29	-1.42	I

単位：IL(%)、AVS・COD(mg/g・dry)

表2. 2017年度底質分析結果

* 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)

井口大輝・大竹周作

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)を用いて分析した。

1) 調査月日

2017年 4月4日～ 7日	10月 2日～ 5日
5月8日～ 10日	11月 6日～ 9日
6月 6日～ 9日	12月 4日～ 7日
7月 3日、5～ 7日	2018年1月 9日～11日
8月 21日～ 23日	2月 7日～ 9日
9月 4日～ 7日	3月 7日～ 9日

2) 調査項目

気象、海象、水温、塩分、透明度、DO、COD、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{PO}_4\text{-P}$
(ただし、DO、COD、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 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。

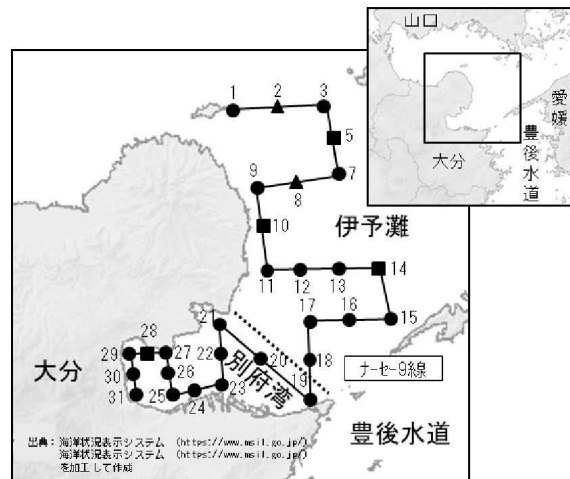


図1. 浅海定線調査定線図.

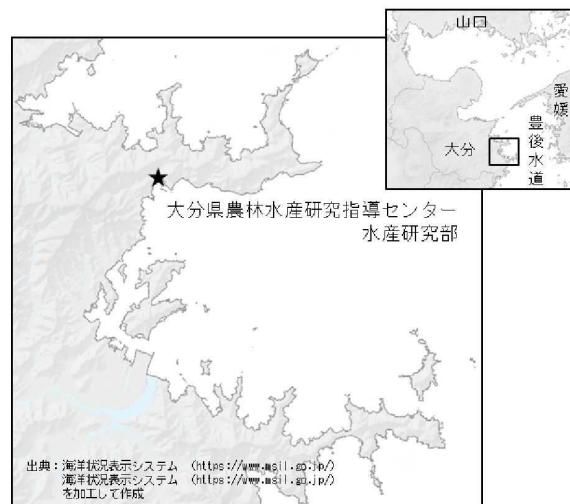


図2. 水温定点観測調査点.

事業の結果

1. 浅海定線調査等

1) 気象

図3は大分市における2017年度の気象の推移（大分气象台）である。

気温：9月および11～2月は平年より低めであったが、1年を通して概ね高め傾向で推移した。

降水量：6月および7月は平年に比べて降水量は少なかったが、6月下旬および7月上旬は、台風や梅雨前線の影響で局地的に大雨となった。また7月上旬

は「平成29年7月九州北部豪雨」が発生し、各地で被害をもたらした。9月中旬は台風18号及び前線による大雨により記録的な大雨となり、大分県でも大きな被害が発生した。また10月も同様に相次ぐ台風の接近、上陸、秋雨前線の影響等により雨の日が多く、平年を大きく上回る降水量であった。

日照時間：4月下旬から6月中旬まで多照傾向であった。6月下旬、9月中旬から10月下旬は寡照傾向であった。

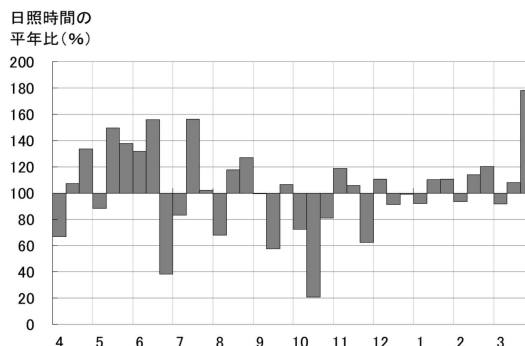
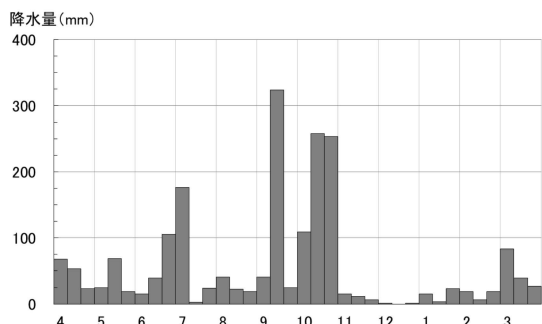
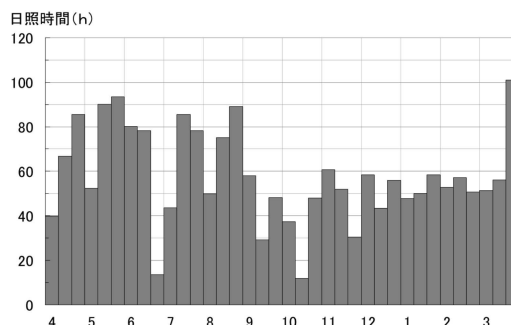
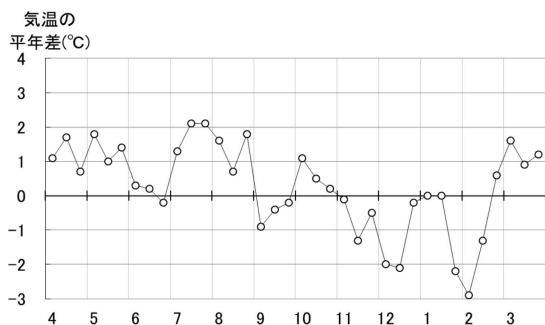
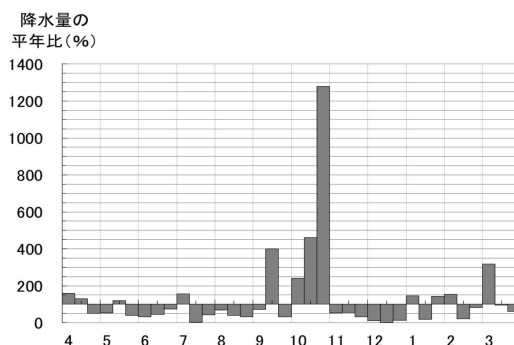
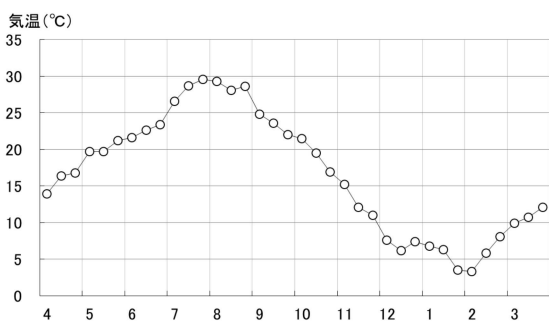


図3. 2017年度大分市における気象（気象庁気象統計情報）.

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。

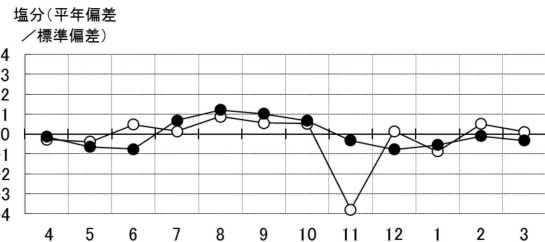
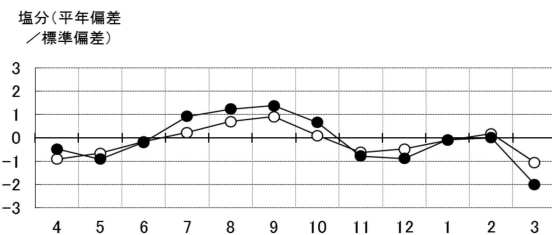
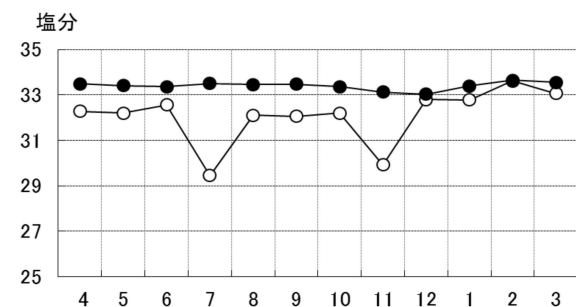
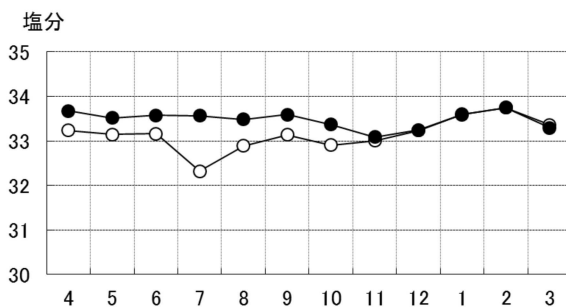
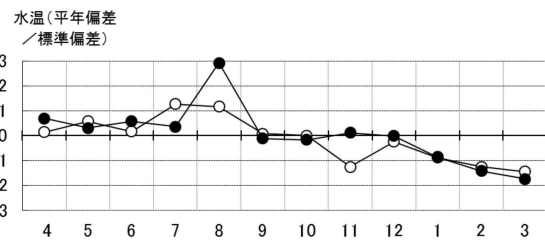
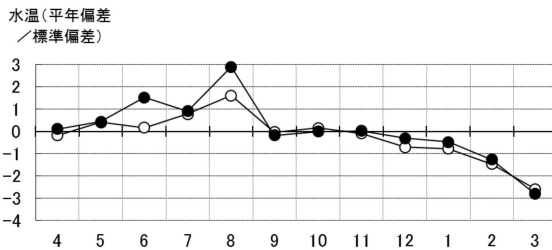
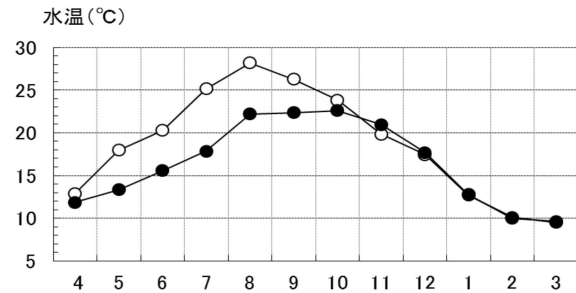
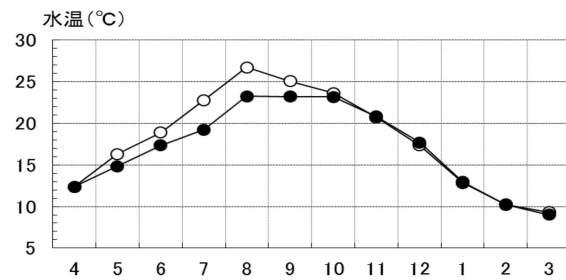
伊予灘の表層は9.3~26.7℃、底層は9.0~23.2℃で推移した。表層は7~8月が高めで、12~3月が低めで推移し、その他の月は「平年並み」であった。一方底層は6~8月が高め、2~3月が低めで推移し、その他の月は「平年並み」であった。

別府湾の表層は9.5~28.2℃、底層は9.6~22.4℃で推移した。表層は7~8月が高め、11月および1~3月が低めで推移し、その他の月は「平年並み」であった。一方底層は4月、8月が高め、1月~3月が低めで推移し、その他の月は「平年並み」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32.32~33.75PSUで、底層は33.09~33.75PSUで推移した。表層は8月、9月が「やや高め」、4、5、11、3月は「やや低め」であった。底層は7~10月が高め、5、11、12、3月が低めで推移した。別府湾の表層は29.93~33.61 PSUで、底層は33.03~33.64PSUで推移した。表層は「平年並み」の月が多い傾向であった。底層は、7~10月は高め、5、6、12月が低めで推移した。



○：表層 ●：底層

図4. 2017年度の水温および塩分の推移 (左：伊予灘、右：別府湾).

透明度

図5は透明度の観測結果である。

伊予灘は8.1~12.5mで推移した。7、9、1、2月が高め、12月が低めであった以外は「平年並み」であった。

別府湾は、5.0~12.75mで推移した。9、12、2、月が高め、1、11、3月が低めであった以外は「平年並み」であった。

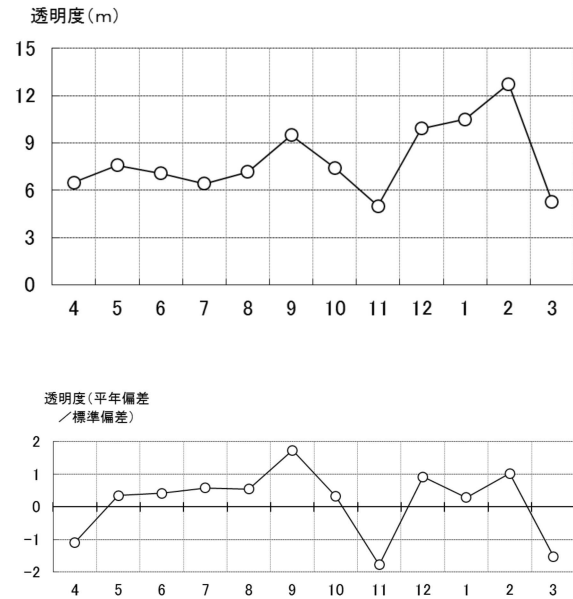
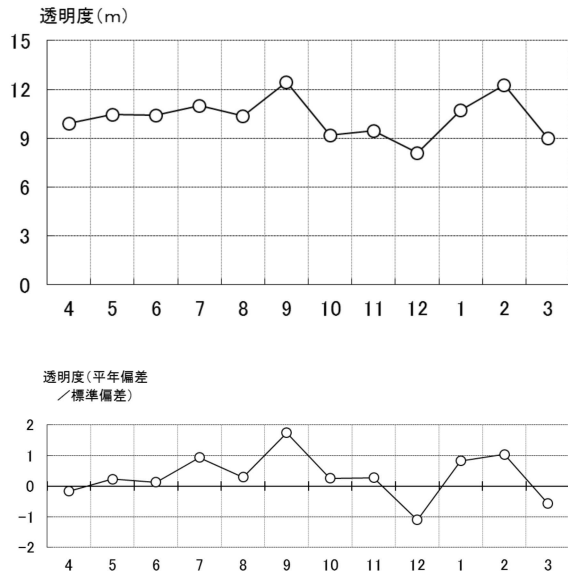


図5. 2017年度の透明度の推移 (左:伊予灘、右:別府湾).

*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)

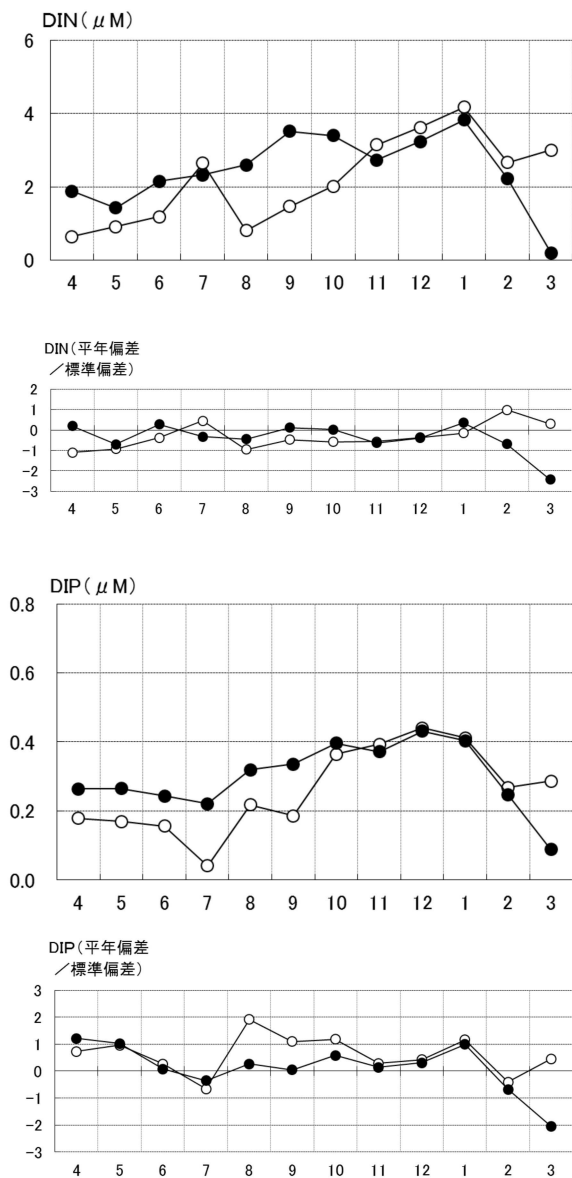
3) 栄養塩等

DINおよびPO4-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0.64~4.18 $\mu\text{mol/L}$ 、底層は0.20~3.83 $\mu\text{mol/L}$ で推移した。表層の4、5、8、2月は低めであり、その他の月は「平年並み」であった。一方底層は5、11、2、3月で低めであり、その他の月は「平年並み」であった。

別府湾のDINは、表層は0.06~0.57 $\mu\text{mol/L}$ 、底層は0.30~0.68 $\mu\text{mol/L}$ で推移した。表層は4~11月、1月~3月と多くの月で低い傾向がみられた。一方底層は平年並みの月が多い傾向であった。



伊予灘のPO4-Pは、表層は0.04~0.44 $\mu\text{mol/L}$ 、底層は0.09~0.43 $\mu\text{mol/L}$ で推移した。表層は、4、5、8~10、1月と高い傾向があり、一方底層は平年並みの月が多い傾向があった。

別府湾のPO4-Pは、表層は0.06~0.57 $\mu\text{mol/L}$ 、底層は0.30~0.68 $\mu\text{mol/L}$ で推移した。表層は平年並みの月が多い傾向がみられた。同様に底層でも平年並みの月が多い傾向であった。

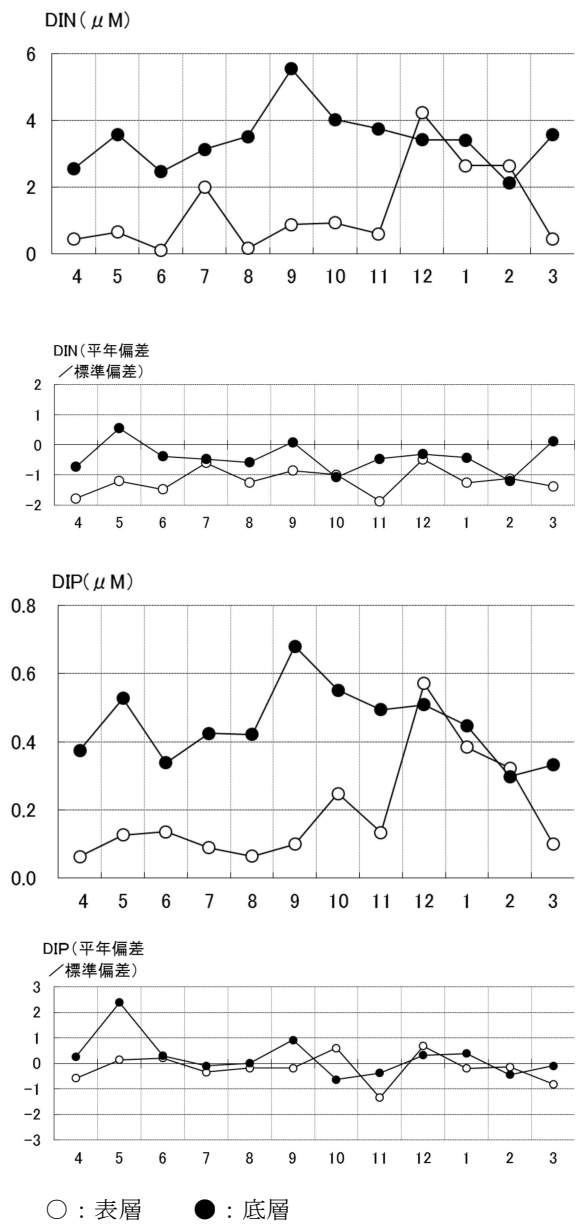


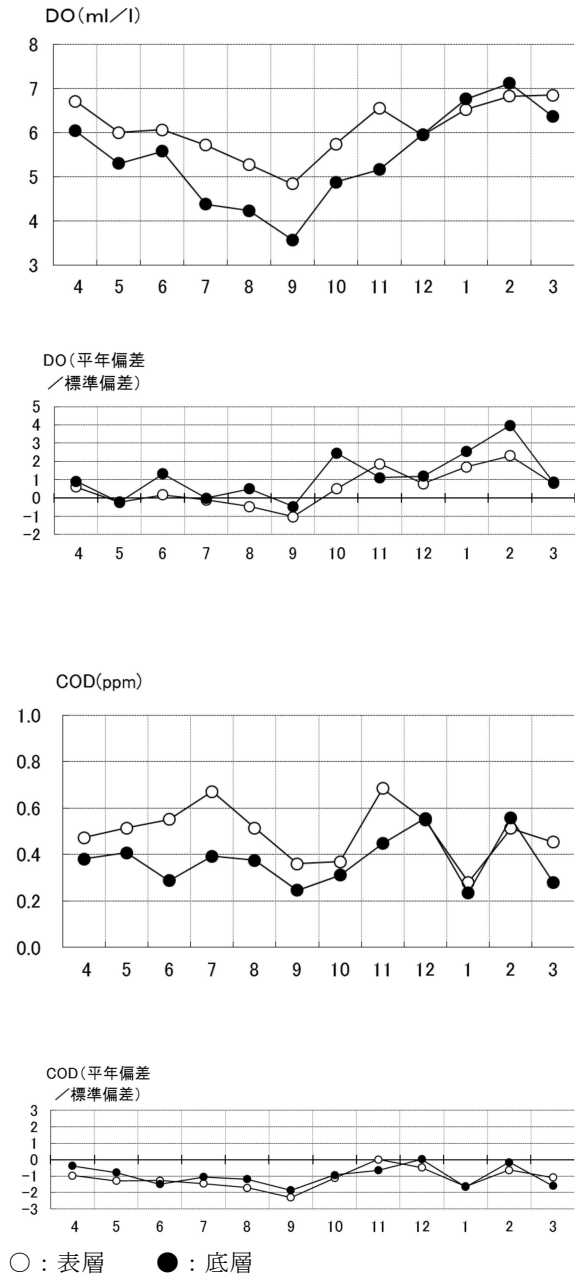
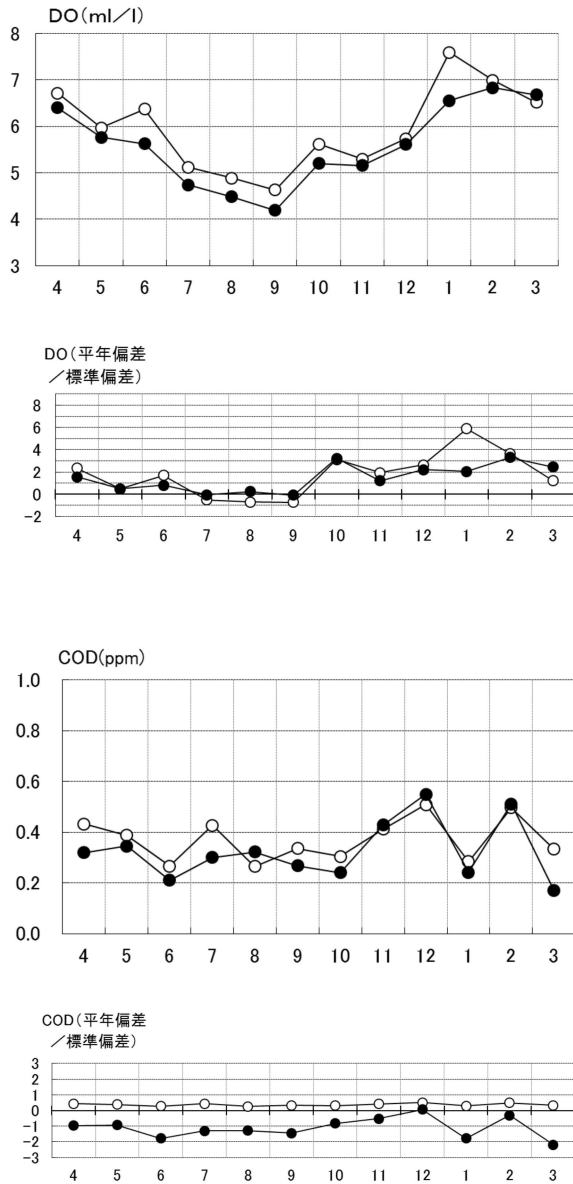
図6. 2017年度のDINおよびPO4-Pの推移 (左：伊予灘、右：別府湾).

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4.63～7.60 ml/Lで、底層が4.20～6.83 ml/Lで推移し、表層は4、10、12～2月が「甚だ高め」で、その他の月は「やや低め」～「かなり高め」で推移した。底層も「平年並み」～「甚だ高め」と高め傾向で推移した。

別府湾のDOは、表層が4.84～6.85 ml/Lで、底層が3.58～7.13 ml/Lで推移し、表層は「平年並み」～「甚だ高め」と高め傾向で推移した。底層も「平年並み」～「甚だ高め」で、高め傾向で推移した。



○：表層 ●：底層

図7. 2017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）の定点調査結果を示したものが図8である。

2017年度は、7月下旬の27.9℃が最高値で、2月上旬の12.0℃が最低値であった。年間を通じて平年値

との偏差が大きかったのは、7月上旬（+1.7℃）、7月中旬（+2.5℃）、7月下旬（+3.2℃）、12月中旬（-1.6℃）、12月下旬（-1.8℃）、1月下旬（-2.1℃）、2月上旬（-2.2℃）であった。

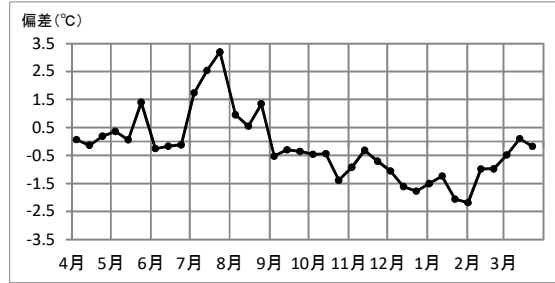
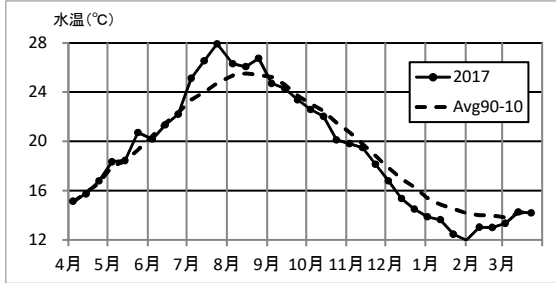


図8. 2017年度の佐伯湾定点表層水温(旬平均値)の推移.

漁場環境保全事業（赤潮）

井口大輝・大竹周作

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 *Coccolodinium 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 miki motoi* 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－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－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、2017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）を発行し、周知徹底を図った。

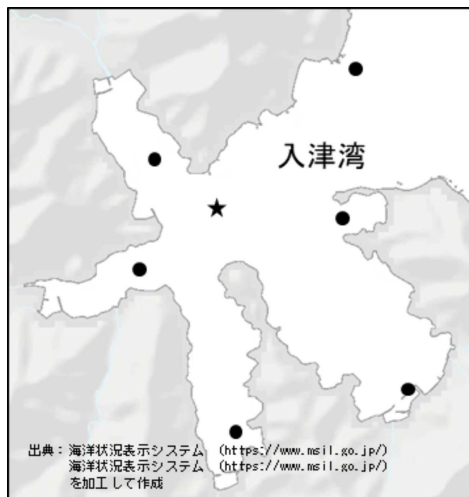
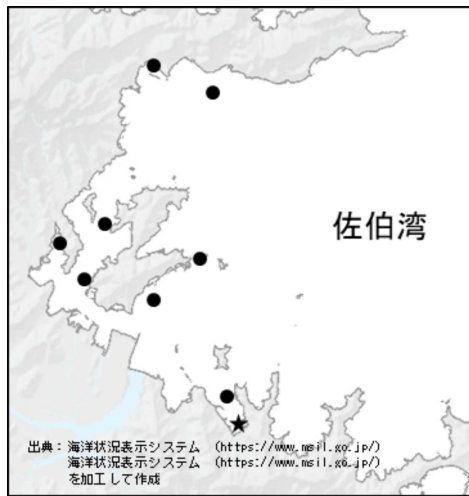
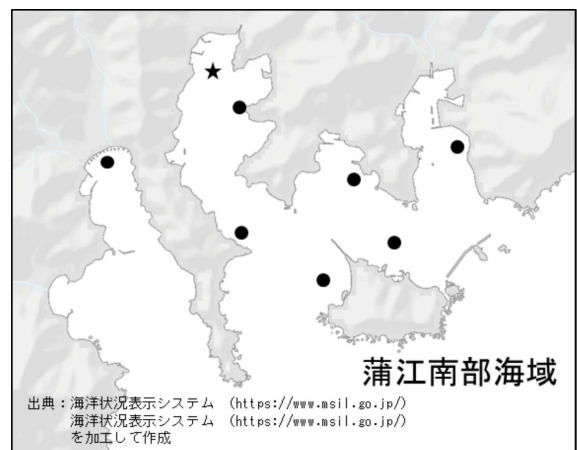
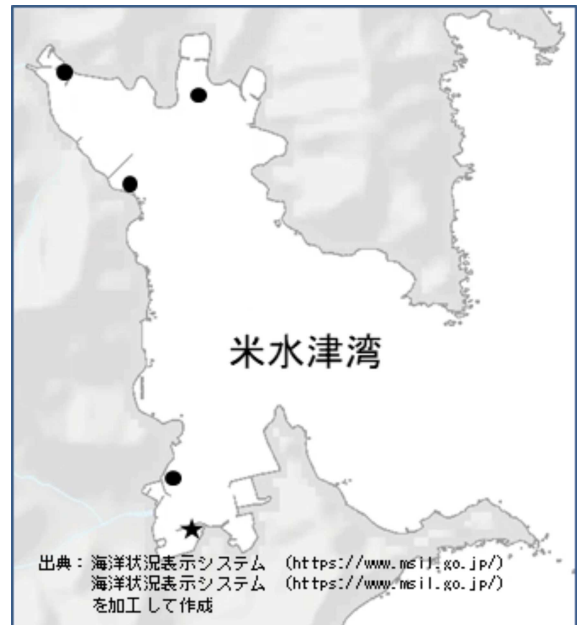
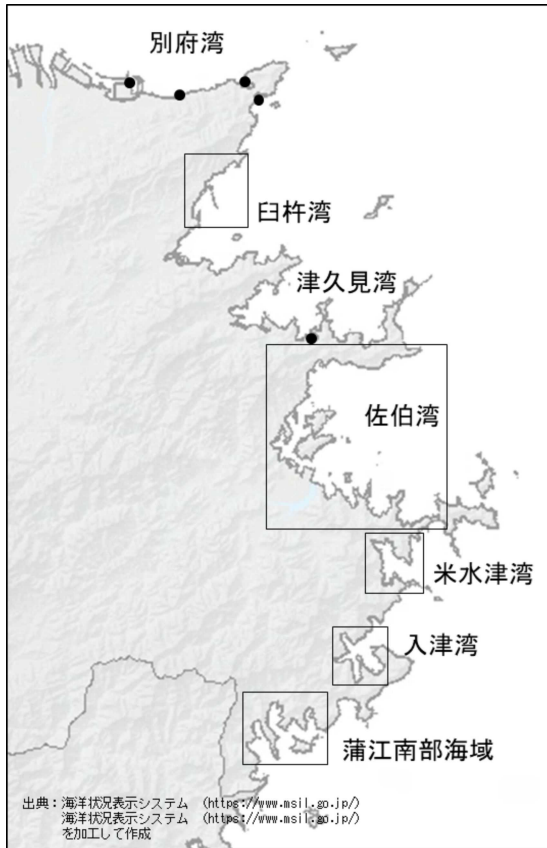


図1 漁場監視モニタリング定点
(●：通常調査点、★：精密調査点)

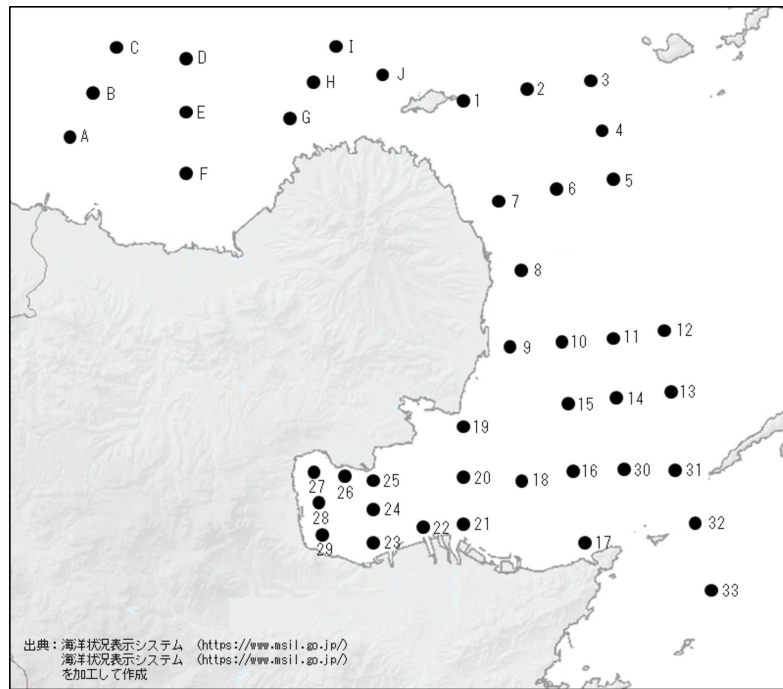


図2 広域赤潮監視調査定点

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、中旬までは晴れる日が多かったが、下旬は梅雨前線の影響から、曇りや雨の日が多かった。県内アメダスの月降水量は128.5～321.5mm（平年比48～79%）であった。月間日照時間は147.9～195.9時間（平年比109～133%）で竹田で平年並の他は多かった。月平均気温は19.6～22.9℃（平年差-1.2～+0.4℃）で、杵築で高く、国見・日田・大分・犬飼・佐伯で平年並の他は低かった。7月は、中旬までは梅雨前線や湿った空気の影響から曇りや雨の日が多く、特に上旬は北部・西部を中心に記録的な大雨となった。下旬も湿った空気や日射の影響を受け、山沿いを中心に連日雷雨が発生した。県内アメダスの月降水量は平年比44～168%で、耶馬溪・日田・犬飼・竹田で多く、佐伯・宇目・蒲江で少ない他は平年並みであった。月間日照時間は平年比90～116%で日田・大分・佐伯・蒲江で多く、宇目で少ない他は平年並みであった。月平均気温は平年差+0.8～+2.1℃で、高いかかなり高かった。8月は、月の前半は台風や湿った空気の影響を受け、曇りや雨の日が多かったが、後半は晴れの日が多かった。県内アメダスの月降水量は64.0～295.0mm（平年比41～104%）で、杵築・大分・佐伯で少ない他は平年並みであった。月間日照時間は144.4～234.2時間（平年比98

～110%）で、日田で多い他は平年並みであった。月平均気温は25.0～28.7℃（平年差+0.2～+1.5℃）で、玖珠で平年並みの他は高いかかなり高かった。

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月の期間に継続して気温が高い傾向であった。降水量は5月～8月は平年より低かった。日照時間は概ね多い傾向で推移した。佐伯市の2017年夏期は、特に梅雨時の6月下旬に降雨が多く、気温は概ね高温であったと考えられた。また、9月は台風等の影響により、降水量が平年と比べ多かった。

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 19.1～24.9℃、佐伯湾 19.4～26.4℃、米水津湾 24.5℃、入津湾 19.3～25.7℃、蒲江南部海域 19.4～26.4℃で推移した。塩分は臼杵湾 33.42～34.04、佐伯湾 33.49～34.14、米水津湾 34.07、入津湾 33.51～34.31、蒲江南部海域33.56～34.37で推移した。DINは臼杵湾 0.00～0.68μM、佐伯湾 0.01～1.44μM、米水津湾 0.50μM、入津湾 0.01～2.75μM、蒲江南部海域 0.00～1.56μMで推移した。PO4-Pは臼杵湾 0.03～0.23μM、佐伯湾 0.02～0.23μM、米水津湾 0.13μM、入津湾 0.03～0.19μM、蒲江南部海域 0.02～0.32μMで推移した。

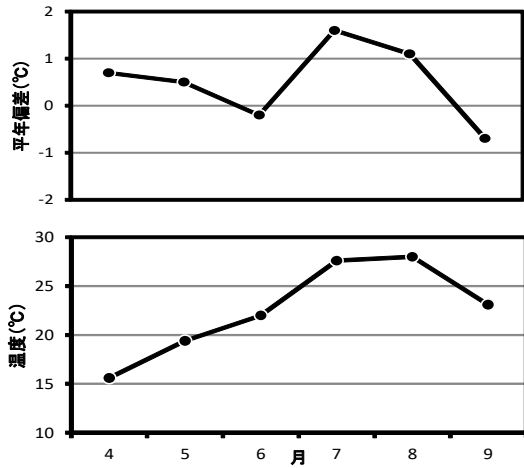


図3 月平均気温の推移と年平均偏差（上段：年平均偏差、下段：月平均気温 アメダス 佐伯）

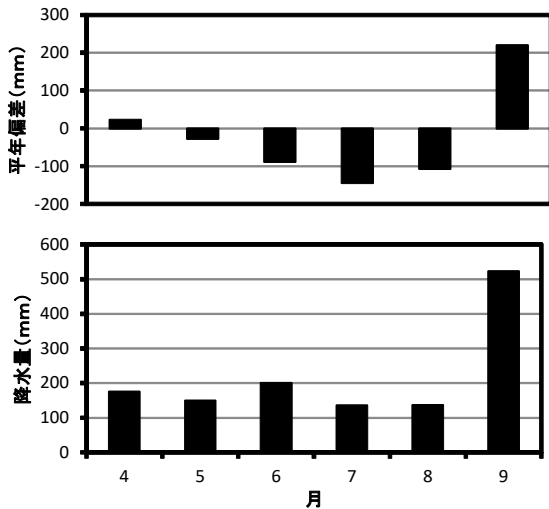


図4 月降水量の推移と年平均偏差（上段：年平均偏差、下段：月降水量 アメダス 佐伯）

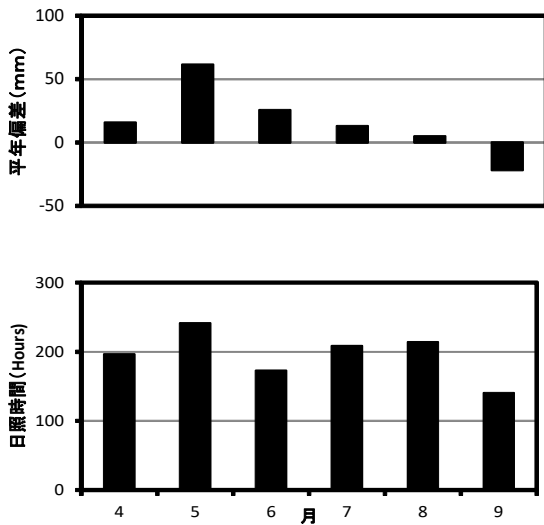


図5 月日照時間の推移と年平均偏差（上段：年平均偏差、下段：月平均気温 アメダス 佐伯）

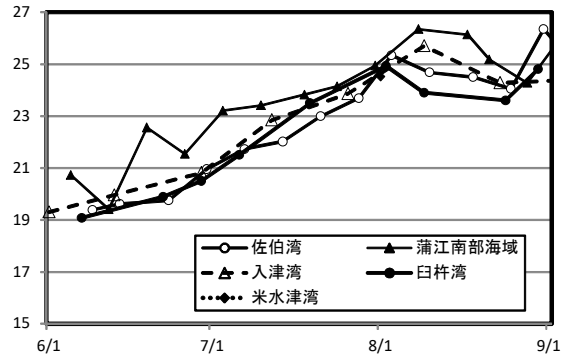


図6 豊後水道各湾の5m層水温の推移

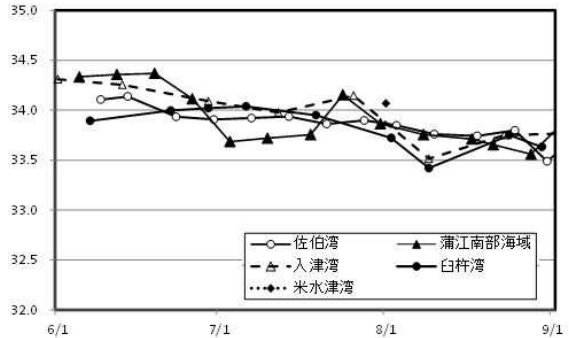


図7 豊後水道各湾の5m層塩分の推移

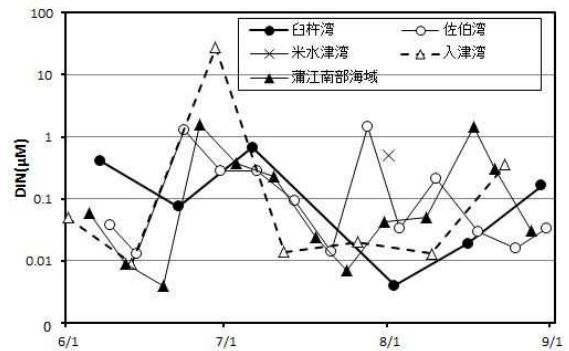


図8 豊後水道各湾の5m層DINの推移

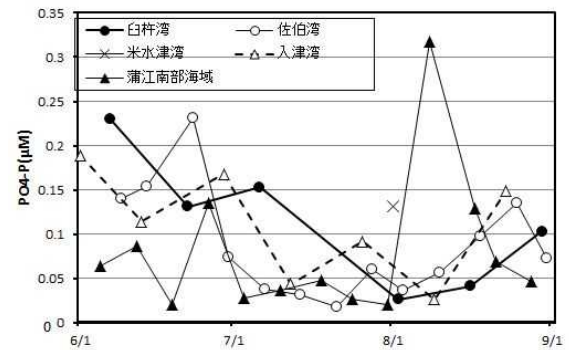


図9 豊後水道各湾の5m層P04-Pの推移

表1 2017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

整理番号	発 生 期 間			発生海域 詳細	赤潮構成プランクトン		漁業被害 の有無	最高細胞数 (cells/ml)	
	発生日	～	終息日		日数	属			種
1	2月13日	～	6月19日	(127日間)	豊後水道 (猪串湾)	<i>Cochlodinium</i>	<i>polykrikoides</i>	無	610
2	4月4日	～	4月6日	(3日間)	別府湾	<i>Noctiluca</i>	<i>scintillans</i>	無	2,550
3	5月15日	～	7月5日	(52日間)	別府湾	<i>Heterosigma</i>	<i>akashiwo</i>	無	87,000
4	6月30日	～	9月22日	(85日間)	豊後水道 (佐伯湾)	<i>Karenia</i>	<i>mikimotoi</i>	有	50,800
5	7月6日	～	8月1日	(27日間)	豊後水道 (木水津湾)	<i>Heterosigma</i>	<i>akashiwo</i>	無	21,000
6	7月12日	～	7月26日	(15日間)	別府湾 (大分市大在)	<i>Chattonella</i>	<i>sp.</i>	無	95
7	7月18日	～	9月22日	(67日間)	豊後水道 (入津湾)	<i>Karenia</i>	<i>mikimotoi</i>	有	25,580
8	7月18日	～	9月4日	(49日間)	豊後水道 (猪串湾、蒲江湾、 丸市尾湾)	<i>Karenia</i>	<i>mikimotoi</i>	有	23,700
9	7月19日	～	8月30日	(43日間)	豊後水道 (臼杵湾)	<i>Karenia</i>	<i>mikimotoi</i>	無	5,000
10	7月19日	～	8月17日	(30日間)	豊後水道 (元遠湾)	<i>Karenia</i>	<i>mikimotoi</i>	無	2,250
11	7月20日	～	8月30日	(42日間)	豊後水道 (津久見湾)	<i>Karenia</i>	<i>mikimotoi</i>	無	2,750
12	7月24日	～	9月4日	(43日間)	豊後水道 (木水津湾)	<i>Karenia</i>	<i>mikimotoi</i>	無	2,133
13	7月27日	～	8月21日	(26日間)	別府湾	<i>Karenia</i>	<i>mikimotoi</i>	無	432
14	10月2日	～	10月17日	(16日間)	豊後水道 (入津湾)	<i>Heterosigma</i>	<i>akashiwo</i>	無	12,000
15	11月26日	～	1月19日	(55日間)	豊後水道 (入津湾)	<i>Karenia</i>	<i>mikimotoi</i>	有	20,000
16	12月11日	～	1月15日	(36日間)	豊後水道 (猪串湾)	<i>Akashiwo</i>	<i>sanguinea</i>	無	213

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。赤潮発生件数16件のうち4件で漁業被害が発生した。赤潮構成プランクトンは*K. mikimotoi* 9件、*H. akashiwo* 3件、*C. polykrikoides*、*Noctiluca scintillans*、*A. sanguinea*、が各1件であった。漁業被害を伴った赤潮の構成プランクトンはすべて*K. mikimotoi*であった。

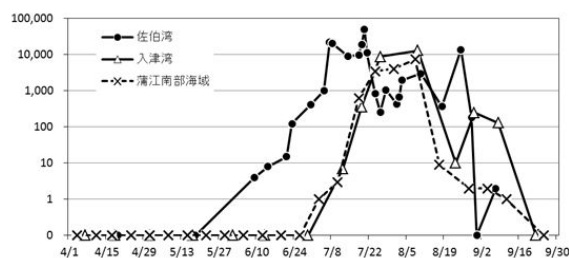


図10 2017年4月～9月の期間における佐伯湾、入津湾、蒲江南部海域の*K. mikimotoi*の最高細胞密度の推移

4) 特記事項

*K. mikimotoi*赤潮は周防灘を除く全ての湾で確認され、広範囲に赤潮の発生が確認された。このうち、佐伯湾、入津湾、蒲江南部海域で発生した*K. mikimotoi*赤潮（整理番号4、7、8）は高密度で長期間発生（図10）したことから、養殖魚、蓄養魚、天然貝類に大きな被害が発生した。主な赤潮発生要因として、以下のことが考えられた。①. 6月下旬から7月上旬まで低日照であり、低照度下で増殖できる本種にとって好環境であった（図11、12）。②. 同時期に集中的な降雨があり、短期間に陸域から栄養塩が流入したことによって、本種が栄養塩を取り込み、活発な増殖を行った（図13、14）。

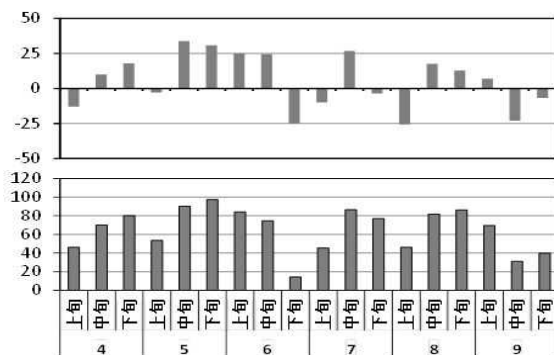


図11 アメダス（佐伯市佐伯）による日照時間の推移（上段 平年値、下段 日照時間）

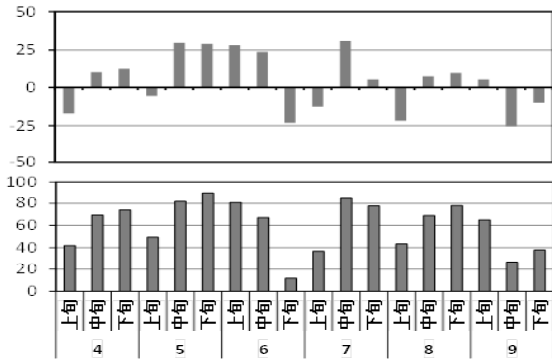


図12 アメダス（佐伯市蒲江）による日照時間の推移（上段 平年値、下段 日照時間）

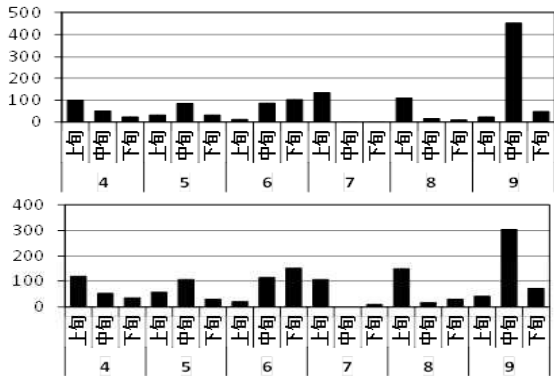


図13 アメダス（佐伯市佐伯、蒲江）による降水量の推移（上段 佐伯、下段 蒲江）

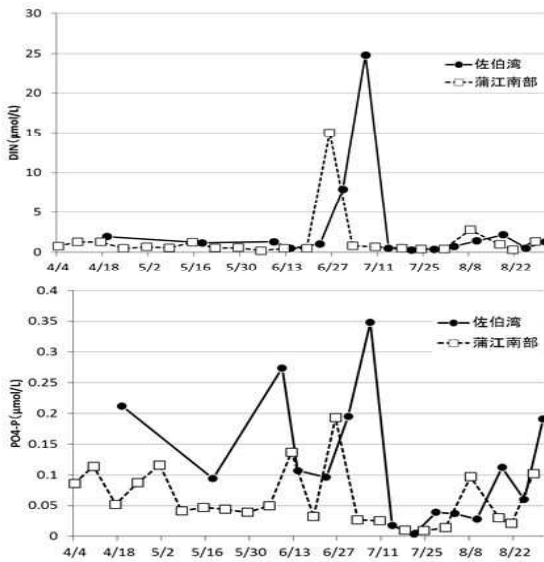


図14 佐伯湾および蒲江南部海域における表層栄養塩の推移（上段 DIN、下段 P04-P）

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5,000 cells/ml（8月2日 下ノ江奥）、H. akashiwo

は50 cells/ml（6月14日 大在、下ノ江奥）、Chattonella sppは12 cells/ml（7月12日 大在）、C. polykrikoidesは確認されなかった。

津久見湾：K. mikimotoiは2,750 cells/ml（7月20日 日代）、H. akashiwo、Chattonella spp、C. polykrikoidesは確認されなかった。

佐伯湾：K. mikimotoiは50,600 cells/ml（7月20日 長田港 ＊県南部振興局調べ）、H. akashiwoは650 cells/ml（6月14日 鶴見振興局裏）、Chattonella sppは4 cells/ml（7月28日 鶴見振興局裏、JF鶴見ポイント）、C. polykrikoidesは確認されなかった。

米水津湾：K. mikimotoiは2,133 cells/ml（7月24日 高橋商店前 ＊JF米水津支店調べ）、H. akashiwoは21,000 cells/ml（7月3日 JF米水津支店前 ＊JF米水津支店調べ）で、Chattonella spp、C. polykrikoidesは確認されなかった。

入津湾：K. mikimotoiは25,580 cells/ml（7月30日 ＊JF上・下入津支店）、H. akashiwoは12,000 cells/ml（10月2日 畑野浦 ＊JF上入津支店調べ）、C. polykrikoidesは10 cells/ml（12月10日 河内奥）、Chattonella sppは6 cells/ml（10月2日 下がり松～処理場の間 ＊県南部振興局調べ）であった。

蒲江南部海域：K. mikimotoiは23,700 cells/ml（7月24日 JF蒲江支店前）、H. akashiwoは90 cells/ml（6月26日 鶴の糞、7月3日 越田尾）、C. polykrikoidesは180 cells/ml（4月17日 猪串）で、Chattonella sppは1 cells/mlであった。

II. 広域赤潮監視調査

2017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1 cell/ml未満を示す。

5月（5月8～10日）：Chattonella spp、H. akashiwo、K. mikimotoiは検出されなかった。

6月（6月6～9日）：Chattonella sppは検出されなかった。H. akashiwoは検出限界未満～150 cells/mlで主に別府湾内の調査点において遊泳細胞が確認された。K. mikimotoiは検出限界未満～5 cells/mlで主に別府湾内の調査点において遊泳細胞が検出された。

7月（7月3～7日）：Chattonella sppは検出限界未満～2 cells/mlで散発的に遊泳細胞が確認された。H. akashiwoは検出限界未満～1 cells/mlで散発的に遊泳細胞が確認された。K. mikimotoiは検出限界未満～1 cells/mlで散発的に遊泳細胞が検出され、

8月（8月21～23日）：Chattonella spp、H. akashiwoは検出されなかった。K. mikimotoiは検出限界未満～1 cells/mlで散発的に遊泳細胞が検出された。

Ⅲ. 指導事業

1) 赤潮担当者会議

開催日：2017年6月8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

平成29年度赤潮勉強会（JF大分上入津支店）

開催日：2017年11月9日
出席者：漁業者、市役所、県振興局
講師：大竹周作

2) 講師派遣

平成29年度赤潮講習会（JF大分佐伯支店）
開催日：2017年5月24日
出席者：漁業者、市役所、県振興局
講師：大竹周作

養殖技術・経営向上対策講習会(大分県水産養
殖協議会)
開催日：2018年3月16日
出席者：漁業者
講師：井口大輝

平成29年度赤潮勉強会（JF大分臼杵支店）
開催日：2017年6月16日
出席者：漁業者、市役所、県振興局
講師：大竹周作

平成29年度南部漁業青年協議会講習会
開催日：2018年3月26日
出席者：漁業者、市役所、県振興局
講師：大竹周作

平成29年度赤潮勉強会（JF大分下入津支店）
開催日：2017年10月26日
出席者：漁業者、市役所、県振興局
講師：大竹周作

3) 赤潮情報・緊急赤潮情報の発行回数

- ・赤潮情報：3回
- ・緊急赤潮情報：35回

漁場環境保全事業（貝毒）

大竹周作・井口大輝

事業の目的

近年、貝毒原因プランクトンの発生や、それに伴う二枚貝の毒化が報告されている。本事業の目的は、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ことである。

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、名護屋湾に調査点 8点を設け（図1）、2017年4月から2018年3月の期間、貝毒原因プランクトンの出現状況に応じて毎月1回から4回の頻度で調査を実施した。調査は小蒲江湾、猪串湾では採水、環境測定、二枚貝の採取を、蒲江湾、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および3m層とし、貝毒原因プランクトンが例年高密度に検出される猪串湾の森崎では、表層、2m層、5m層、10m層、底上1m層とした。環境測定は多項目水質計（CTD 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、塩分の測定を行った。二枚貝は猪串湾では森崎の天然ムラサキイガイを、小蒲江湾では小蒲江およ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10 μ mのプランクトンネットを用い、1Lから10mlへ100倍に濃縮し、貝毒原因プランクトン用の試料とした。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、計数を行った。採取した二枚貝は調査当日に公定法に従い貝毒成分を抽出し、冷凍保存した後、ELISA法またはマウスアッセイ法を用いて毒力を測定した。ELISA法に用いる毒力（MU/g）に変換計数は、*Alexandrium catenella*が1,000 cells/L以上検出された期間は0.9を、その他は0.3を用いた。マウスアッセイ法は県衛生環境研究センターで実施した。

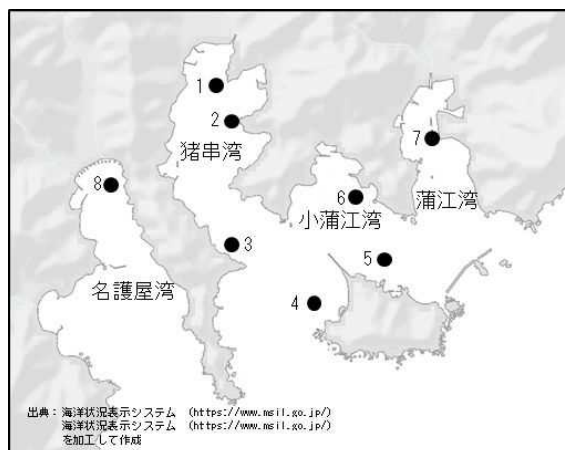


図1 調査点

(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に示した通りである。森崎はN.D.(4cells/ml未満)～311,880 cells/L、猪串はN.D.(10cells/L以下)～185,000 cells/L、鵜の糞はN.D.(10cells/L未満)～69,000 cells/L、赤バエはN.D.(10cells/L未満)～1,308 cells/L、屋形島はN.D.(10 cells/L未満)～22,000 cells/L、小蒲江はN.D.(10 cells/L未満)～13,000 cells/Lで推移した。猪串湾内では、4月上旬～5月下旬、6月下旬～7月上旬および12月下旬以降の間に細胞密度の高い期間が認められた。本種の出現時期を例年（2011～2016年）と比較すると（図3）、今年度は4月に細胞密度が高い傾向が確認された。

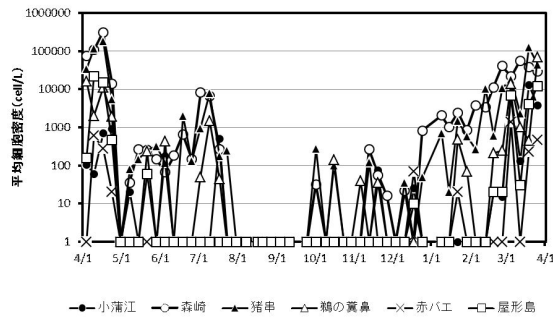


図2 猪串湾、小蒲江湾における*G. catenatum* 細胞密度の推移

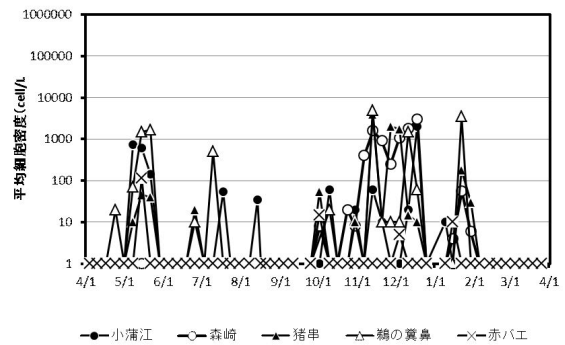


図4 猪串湾、小蒲江湾における*A. catenella* 細胞密度の推移

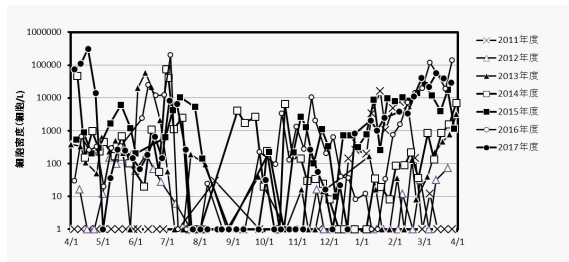


図3 2011年～2017年の猪串湾森崎地区における*G. c. catenatum* 細胞密度（5層平均）の推移

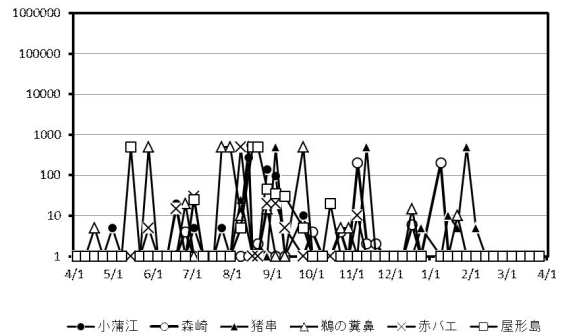


図5 猪串湾、小蒲江湾における*Dinophysis spp.* 細胞密度の推移

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に示した通りである。森崎はN.D.(4 cells/L未満)～3,000 cells/L、猪串はN.D.(10 cells/L未満)～4,000 cells/L、鵜の糞はN.D.(10 cells/L未満)～5,000 cell s/L、赤バエはN.D.(10 cells/L未満)～115 cells/L、屋形島はN.D.(10 cells/L未満)～500 cells/L、小蒲江はN.D.(10 cells/L未満)～2,000 cells/Lで推移した。細胞密度のピークは5月中旬、11月中旬～12月中旬および1月下旬の計3回確認された。

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N.D.(2 cells/L未満)～200 cells/L、猪串はN.D.(5 cells/L未満)～500 cells/L、鵜の糞はN.D.(5 cells/L未満)～500 cells/L、赤バエはN.D.(5 cells/L未満)～500 cells/L、屋形島はN.D.(10 cells/L未満)～500 cells/L、小蒲江はN.D.(10 cells/L未満)～275 cells/Lで推移した。

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。名護屋湾ではN.D.(10 cells/L未満)～201,500 cells/Lで推移した。蒲江湾ではN.D.(10 cells/L未満)～65,500 cells/Lで推移した。

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。名護屋湾ではN.D.(10 cells/L未満)～22,000 cells/Lで推移し、5月の期間に10,000 cells/L以上のピークが確認された。蒲江湾ではN.D.(10 cells/L未満)～2,500 cells/Lで推移した。

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。名護屋湾ではN.D.(5 cells/L未満)～1,500 cells/Lで推移した。蒲江湾はN.D.(5 cells/L未満)～10 cells/Lで推移した。

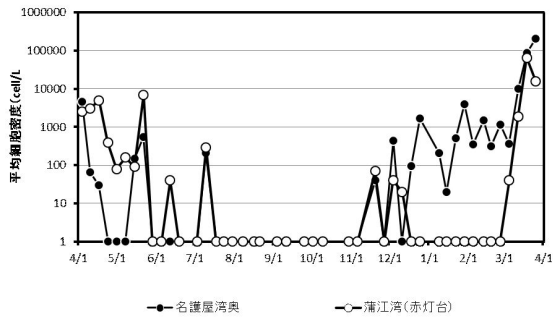


図6 名護屋湾、蒲江湾における*G. catenatum*細胞密度の推移

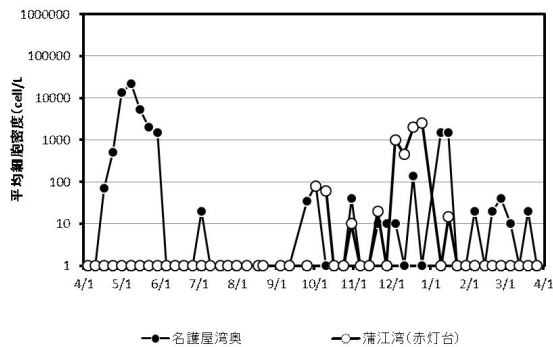


図7 名護屋湾、蒲江湾における*A. catenella*細胞密度の推移

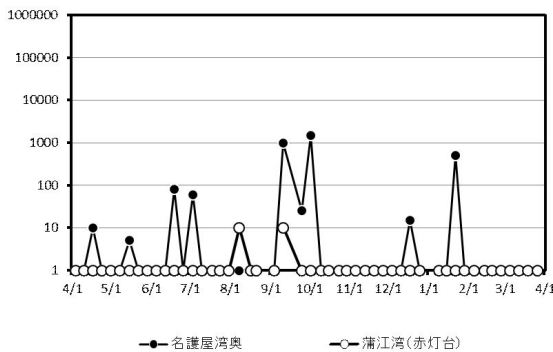


図8 名護屋湾、蒲江湾における*Dinophysis sp.*細胞密度の推移

II. 環境

1) 水温

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2009年1月～2016年12月の期間の値を使用した。各層水温は、0.5m層が15.7℃～27.0℃、2m層が15.6℃～26.5℃、5m層が15.6℃～25.6℃、10m層が15.6℃～24.6℃、底上-1m層が15.6℃～25.6℃で推移した。最高水温は0.5m層は7月に、その他の層は8月に、最

低水温は全層で1月に観測された。成層は4月中旬から9月まで認められた。月平均水温は5～6月、12～1月の期間は平年より低めで推移し、7月は平年より高めで推移した。

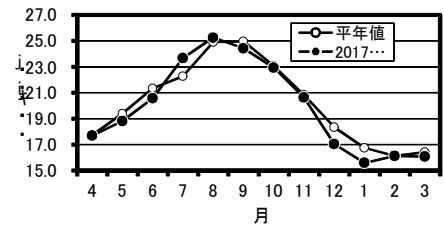
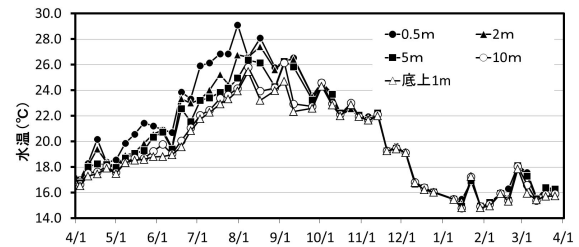


図9 2017年度猪串湾における各層水温の推移（上段）と平年値との比較（下段）。

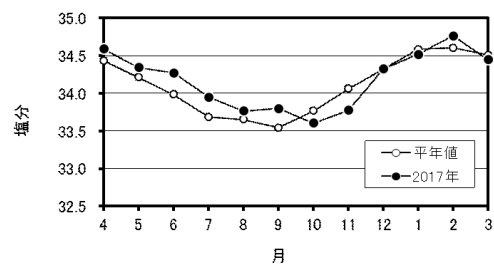
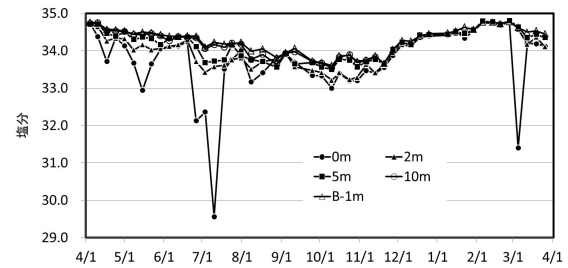


図10 2017年度猪串湾における各層塩分の推移（上段）と平年値との比較（下段）。

2) 塩分

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～2016年12月の期間の値を使用した。各層塩分は、0.5m層が29.56～34.79、2m層が33.21～34.80、5m層が33.50～34.81、10m層が33.55～34.80、底上-1m層が33.60～34.78で推移した。最低塩分は0.5m層で7月中旬、その他の層は10月中旬に観測された。最高塩分は全層で2月下旬に観測された。月平均塩分は10～11月は平年より低め、4～9月、2月は平年より高めで推移した。

Ⅲ. 二枚貝毒化状況

1. 猪串湾

ムラサキイガイの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)～456.6 MU/gで推移した。4月～5月、11月～3月に毒力の増加がみられた。特に4月、12～3月の各毒力の最高値は161.7MU/g、456.6MU/gと非常に高い値が検出された。毒力の増加時には、*A.catenella* (11～12月) および*G.catenatum* (4～5月、1～3月) が増殖、優占していたことから、各毒力の増加は各時期に増殖した優占種が主要因と考えられた。また*G.catenatum*が3月に増殖した際には、森崎で採取された天然アサリから規制値(可食部4MU/g)を超える毒力が検出され、猪串湾および周辺海域の天然二枚貝(タイラギを除く)の採捕禁止の措置を行った(採捕禁止期間 2017年3月16日～6月1日、2018年3月20～調査中)。

2. 小蒲江湾

小蒲江および赤バエの養殖ヒオウギガイ 可食部の毒力の推移は図12に示した通りである。小蒲江は*A.catenella*および*G.catenatum*が増殖した際に3回の毒力の増加が認められ、毒力は0～57.7 MU/gで推移した。一方、赤バエは比較的毒力の増加が緩慢であったが、毒力は0.1～13.3 MU/gで推移した。避難漁場として機能する赤バエで規制値を上回った場合は出荷規制の措置を取った(2017年4月20日～6月1日、2018年3月20日～)。

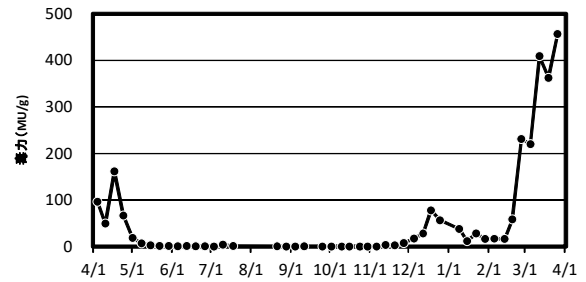


図11 猪串湾森崎の天然ムラサキイガイの毒力の推移 (ELISA測定結果は測定値に係数0.3を乗じて算出した。ただし既存漁場の12月18日～1月9日の期間は測定値に係数0.9を乗じて算出した。)

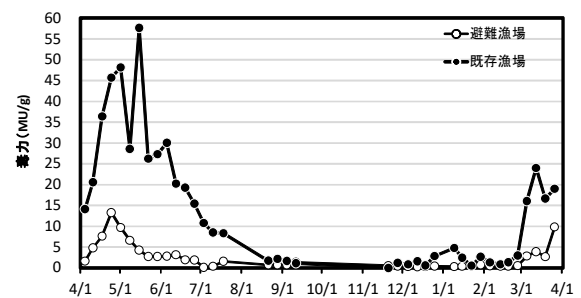


図12 小蒲江および赤バエの養殖ヒオウギガイの毒力の推移 (ELISA測定結果は測定値に係数0.3を乗じて算出した。ただし既存漁場の12月18日～1月9日の期間は測定値に係数0.9を乗じて算出した。)

赤潮早期予測早期対策実証事業－1

井口大輝・大竹周作

本事業の一部は水産庁委託事業平成29年度漁場環境・生物多様性保全総合対策委託事業 赤潮・貧酸素水塊対策推進事業「瀬戸内海等での有害赤潮発生機構解明と予察・被害防止等技術開発」(1)－② 魚介類の斃死原因となる有害赤潮等分布拡大防止のための発生モニタリングと発生シナリオの構築（瀬戸内海西部・豊後水道海域）（以後、赤潮モニタリング）、(2)－③－イ 現場マイクロゾムを用いたカレニア等有害赤潮鞭毛藻の動態と環境条件との関係の解明（以後、マイクロゾム）および(2)－④－イ 有害赤潮鞭毛藻の遊泳特性を利用した新規赤潮防除技術の開発（以後、赤潮防除）で実施した。各研究の詳細は平成29年度 赤潮・貧酸素水塊漁業被害防止対策事業「瀬戸内海等での有害赤潮発生機構解明と予察・被害防止等技術開発」報告書に記載した。

事業の目的

大分県沿岸では有害プランクトンが原因とされる赤潮や二枚貝の毒化（貝毒）が度々発生し、水産業に与える被害が問題となっている。両問題とも、有害プランクトンの現場監視による発生予報、現地指導によって、迅速な対応（給餌制限や避難など）が可能になっている。しかしながら近年の環境変化によって、発生件数、出現密度とも増加傾向にあり、より中長期の発生予測体制の構築や赤潮プランクトン増殖抑制装置の開発・導入が現場生産者から望まれている。このような要望に対応するため、これまで定量PCR法を用いた赤潮高感度監視技術の実用化および赤潮増殖抑制装置の開発が行われてきた。本課題では、これまで検討、開発された技術を利用し、赤潮中長期予測および赤潮抑制装置の現場導入を図ることが目的である。さらに赤潮の発生を防止するため、カレニア赤潮の発生を軽減する技術の開発および生理生態研究も継続した。

事業の方法

I. 中長期カレニア赤潮予察

（カレニア赤潮発生前の環境特性）

佐伯湾における*K. mikimotoi*赤潮の主な発生時期は6月中旬から8月下旬であるため、赤潮発生より以前に入手可能である1月から8月までの48変量データ（2000～2015年の気象（気象庁アメダス佐伯）・海象データ）のうち、発生・非発生の類型別に有意な差が認められた環境条件{1月降水量、3月降水量、1月日照時間、3月日照時間、2月平均気温、1月平均水温（表層）、1月平均塩分（表層）、2月平均塩分（表層）}を解析に使用した。なお、類型化は、1,000 cells/mLを目安に最高細胞密度によって行い、統計処理は、赤潮の発生と非発生の各要素の差を、Welchのt検定（ $p < 0.05$ ）およびMann-WhitneyのU検定（ $p < 0.05$ ）によって行った。赤潮発生判別は各要素の分布形状（正規性）や等分散に考慮し、「線形判別分析」もしくは「マハラノビス距離による判別分析」を行い判別得点を求めた。その後、判別得点からロジスティック回帰式を作成し、発生確率により○（発生）、△（発生/非発生）および×（非発生）に区分した。

II 赤潮増殖抑制装置を用いた効率的な赤潮抑制技術の開発（委託事業 赤潮防除）

2017年6月3日～9月7日の期間に佐伯湾松浦漁港奥（図1 Sta.A）に赤潮浮上装置（図2）を設置し水深5mの中層海水を期間中連続（推定250トン／時間）して揚水した。中層海水揚水による*K. mikimotoi*個体群への影響を調査するため、装置設置場所およびその周辺3点の計4調査点を設定し、各調査点の表層、クロロフィル極大層（極大層が未確認時は水深5m層）および揚水直後の海水の採水およびCTDによる0.5m層～海底まで水温、塩分、クロロフィルの各測定を毎週おこなった。採水した海水は濃縮処理を行わずに有害プランクトン検鏡計数に供した。

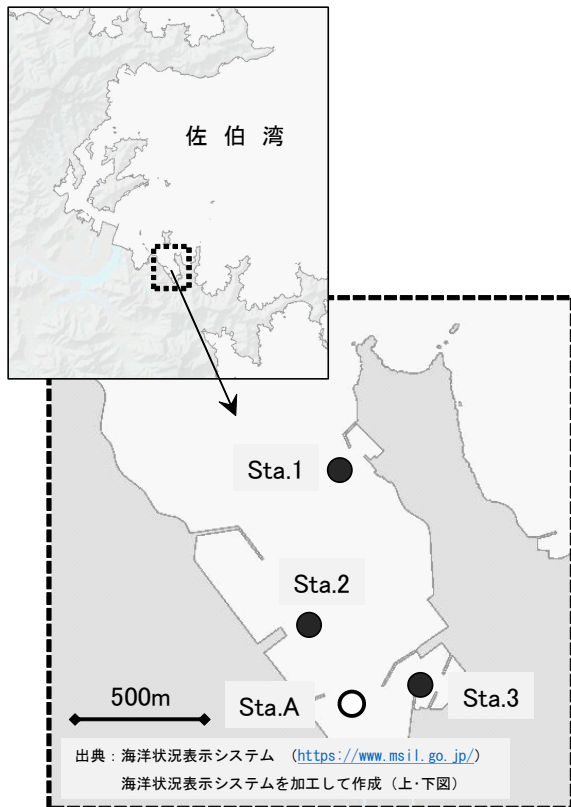


図1 赤潮浮上装置設置場所と調査点の位置
(Sta. Aに赤潮浮上装置を設置)

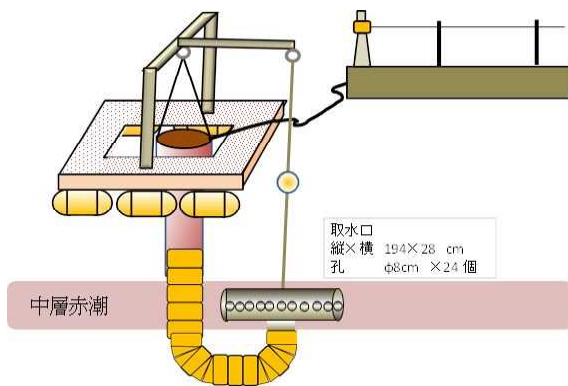


図2 赤潮浮上装置

Ⅲ. カレニア赤潮発生防止技術の開発（豊後水道における*K. mikimotoi*の発生と環境条件との関係）（委託事業 ミクロコズム）

宇和島湾および佐伯湾における2006～2017年5～8月の*K. mikimotoi*細胞密度データを用いて、本種の発生規模と環境条件との関係を解析した。ただし、2011年の宇和島湾については極端にデータ数が少なかったため、解析対象から外した。宇和島および佐伯の気象データ（降水量、日照時間）は気象庁のウェブサイト（<http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/index.php>）より得た。統計解析はIBM SPSS Statistics Desktop Version 19.0 for Windows (IBM Japan, Tok

yo, Japan)を用いて実施した。

事業の結果

I. 中長期カレニア赤潮予察

1) カレニア赤潮発生前の環境特性

代表的な解析例として、3月日照時間と1月平均塩分（表層）を用いた解析結果を図3に、その他の組み合わせによる解析結果を含めた一覧を表1に示した。これによる2016年の予察は、2通りの組み合わせで「△」、22通りの組み合わせで「○」に含まれ、2017年の予察は4通りの組み合わせで「△」、20通りの組み合わせで「○」に含まれた。2016年、2017年のいずれも発生年であったことから両年ともに的中となった。

本海域における*K. mikimotoi*赤潮の発生年は、3月の日照時間が多く、降水量が少ない条件、すなわち3月の晴天が続く条件が赤潮の発生に深く関与している可能性が高いことが示された。

また、赤潮発生時から1旬前、2旬前、3旬前まで遡り、赤潮発生年の気象項目の平年差を整理すると、赤潮発生前には、日照時間が短く、降水量が多い傾向がみられた。

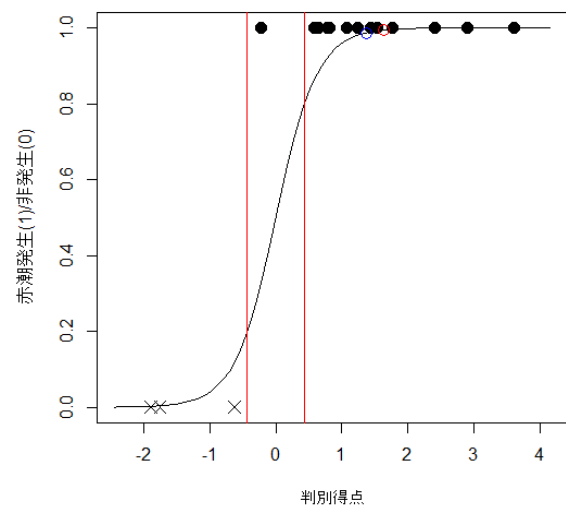


図3 佐伯湾におけるカレニア・ミキモトイ赤潮発生予察結果。使用データは、3月日照時間と1月平均塩分（表層）。●発生年、○非発生年をそれぞれ示す。青丸が2016年（発生年）、赤丸が2017年（発生年）を示す。

表1 佐伯湾における各説明変数で解析した赤潮発生の的中率と各解析方法による2016および2017年の赤潮発生予測結果

解析手法	説明変数	説明変数の数	判別期間(年)	的中率(%)	2016年予測	2016年結果	2016年的中	2017年予測	2017年結果	2017年の中
線形判別	1月降水量	2	2000~2015	88.5	○	○	◎	○	○	◎
	1月表層塩分				○	○	◎	○	○	◎
マハラノビス距離	1月降水量	2	2000~2015	83.3	○	○	◎	○	○	◎
	1月表層水温				○	○	◎	○	○	◎
マハラノビス距離	1月降水量	2	2000~2015	100.0	○	○	◎	○	○	◎
	2月表層塩分				○	○	◎	○	○	◎
線形判別	1月降水量	2	2000~2015	88.5	△	○	◎	△	○	◎
	2月気温				○	○	◎	○	○	◎
線形判別	1月降水量	2	2000~2015	96.2	○	○	◎	○	○	◎
	2月降水量				○	○	◎	○	○	◎
線形判別	1月降水量	2	2000~2015	92.3	○	○	◎	○	○	◎
	2月日照時間				○	○	◎	○	○	◎
線形判別	1月降水量	2	2000~2015	96.2	○	○	◎	○	○	◎
	1月表層塩分				○	○	◎	○	○	◎
線形判別	2月気温	2	2000~2015	96.2	○	○	◎	○	○	◎
	1月表層塩分				○	○	◎	○	○	◎
マハラノビス距離	1月表層水温	2	2000~2015	96.2	○	○	◎	○	○	◎
	1月表層塩分				○	○	◎	○	○	◎
マハラノビス距離	1月表層水温	2	2000~2015	96.2	○	○	◎	○	○	◎
	3月日照時間				○	○	◎	○	○	◎
マハラノビス距離	1月表層水温	2	2000~2015	96.2	○	○	◎	○	○	◎
	2月降水量				○	○	◎	○	○	◎
マハラノビス距離	1月降水量	2	2000~2015	83.3	○	○	◎	○	○	◎
	1月日照時間				○	○	◎	○	○	◎
マハラノビス距離	1月降水量	2	2000~2015	66.7	△	○	◎	○	○	◎
	2月気温				○	○	◎	○	○	◎
線形判別	1月日照時間	2	2000~2015	80.8	○	○	◎	△	○	◎
	2月気温				○	○	◎	○	○	◎
線形判別	1月日照時間	2	2000~2015	96.2	○	○	◎	△	○	◎
	3月日照時間				○	○	◎	○	○	◎
マハラノビス距離	2月表層塩分	2	2000~2015	83.3	○	○	◎	○	○	◎
	1月表層水温				○	○	◎	○	○	◎
マハラノビス距離	2月表層塩分	2	2000~2015	79.5	○	○	◎	△	○	◎
	1月日照時間				○	○	◎	○	○	◎
マハラノビス距離	2月表層塩分	2	2000~2015	96.2	○	○	◎	○	○	◎
	2月気温				○	○	◎	○	○	◎
マハラノビス距離	2月表層塩分	2	2000~2015	100.0	○	○	◎	○	○	◎
	2月降水量				○	○	◎	○	○	◎
マハラノビス距離	2月表層塩分	2	2000~2015	100.0	○	○	◎	○	○	◎
	3月日照時間				○	○	◎	○	○	◎
線形判別	3月降水量	2	2000~2015	100.0	○	○	◎	○	○	◎
	1月日照時間				○	○	◎	○	○	◎
線形判別	3月降水量	2	2000~2015	92.3	○	○	◎	○	○	◎
	2月気温				○	○	◎	○	○	◎
線形判別	3月日照時間	2	2000~2015	96.2	○	○	◎	○	○	◎
	1月表層塩分				○	○	◎	○	○	◎
線形判別	3月日照時間	2	2000~2015	96.2	○	○	◎	○	○	◎
	2月気温				○	○	◎	○	○	◎

II 赤潮増殖抑制装置を用いた効率的な赤潮抑制技術の開発 (委託事業 赤潮防除)

赤潮浮上装置は、平成29年6月31日～7月7日に落雷等の影響によって停止したが、それ以外の期間は正常に稼働した。赤潮浮上装置を設置した点 (Stn. A) およびその周辺3点 (Stn.1～3) における*K. mikimotoi*の細胞密度の推移を図4に示した。調査期間中の*K. mikimotoi*は7月14日に赤潮浮上装置設置箇所であるStn.Aの表層で14,200 cells mL⁻¹の最高細胞密度を記録した (図4)。その後、細胞密度は7月21日には半分以下となり、8月下旬に一気に消滅した。一方、その他の地点では、7月21日まで細胞密度が増加したが、その後の動態はStn. Aと同調していた。

以上の結果より、本装置によって中層で形成されている*K. mikimotoi*濃密度層を連続して表層付近に浮上させたにも関わらず、その明確な効果を観察できなかった。Yuasa et al. (in press)によると、*K. mikimotoi*は富栄養条件下では強光による増殖阻害が起こらないことが報告されている。また、*K. mikimotoi*赤潮発生前に雨天が続き、栄養塩濃度が高く推移した (図5)。今回、浮上装置の明確な効果が認められなかった原因として、栄養塩濃度が高く、細胞を表層に浮上させても光阻害が起こらなかったことが考えられる。また、*K. mikimotoi*が増殖初期段階の6月31日～7月6日に本装置が落雷等の影響により緊急停止し、細胞密度が低い時点で増殖を抑制することができなかったことも原因として考えられる。今後は、海底耕うんを行って栄養塩競合種である珪

藻類を増やす (今井2017) の取り組みなど、本装置の効力を高める環境づくりが必要と考えられる。

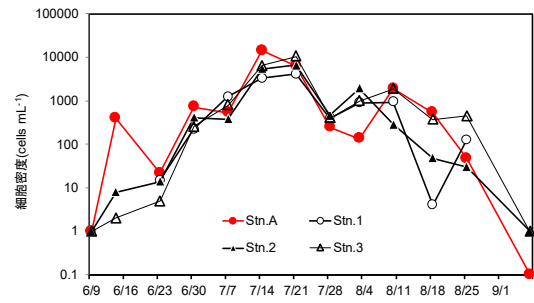


図4 佐伯湾松浦漁港周辺の各調査点の*K. mikimotoi*最高細胞密度推移

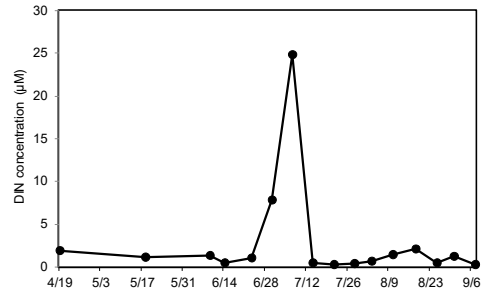


図5 佐伯湾松浦漁港周辺 (Stn. 3, 表層) におけるDIN濃度の推移

III. カレニア赤潮発生防止技術の開発 (豊後水道における*K. mikimotoi*の発生と環境条件との関係) (委託事業 ミクロゾム)

宇和島湾および佐伯湾において、それぞれ2007、2009、2012、2014、2015、2016、2017年および2007、2008、2009、2011、2012、2013、2017年に最高細胞密度が5,000 cells mL⁻¹を超えて赤潮が発生した。また、宇和島湾では2007、2014、2015、2016年に、10⁵ cells mL⁻¹を超え、高密度化した。12年間全ての年を対象として、最高細胞密度に達する1旬前から到達日までの降水量および日照時間の平均値を算出し、散布図を描いたところ、宇和島湾において日照時間が短い年に最高細胞密度が高い傾向が認められた。さらに最高細胞密度と降水量および日照時間について相関分析を行ったところ、宇和島湾の場合、最高細胞密度は日照時間と5%水準で有意な負の相関 (Pearsonの相関係数: 0.724、有意確率: 0.012) が認められたが、降水量とは有意な相関はなかった (相関係数: 0.469、有意確率: 0.145)。一方、佐伯湾の場合、最高細胞密度は降水量と1%水準で有意な正の相関が認められたが (相関係数: 0.716、有意確率: 0.009)、日照時間とは有意な相関は検出されなかった (相関係数: -0.36、有意確率: 0.25)。以上より、海域によって差異があるが、*K. mikimotoi*の発達には日照 (光) は

負の相関、降水量（出水、塩分、栄養塩濃度）は正の相関があることが分かった。これまで本課題における室内外の実験より、貧栄養環境下において強光は*K. mikimotoi*の生残に負の効果があることを見出してきた。今回の統計解析結果はそのことを支持するものであり、光および栄養塩環境が本種の動態に多大な影響を及ぼすことを強く示唆する。

文 献

- 1) Yuasa et al. Combination of strong light and nitrogen deficiency adversely affects cell viability, photosynthesis, and motility of the red-tide dinoflagellate *Karenia mikimotoi*. *Phycologia*. (in press)
- 2) 今井一郎. 海底耕耘を活用した有害証の発生抑制の試み, 月刊養殖ビジネス10月号, 49-52, 2017.

赤潮早期予測・早期対策実証事業－2

有害プランクトンによる貝類への影響評価

赤潮・貧酸素水塊対策推進事業

(国庫委託)

大竹周作・井口大輝

本事業の詳細は、平成29年度漁場環境・生物多様性保全総合対策委託事業 赤潮・貧酸素水塊対策推進事業報告書の「九州海域での有害赤潮・貧酸素水塊発生機構解明と予察・被害防止等技術開発」のうち「シャットネラ等の魚介類への影響評価、毒性発現機構の解明－4－2有害プランクトンによる貝類への影響評価」に記載した。本報告はその概要である。

事業の目的

近年、有明海、八代海などの九州西岸域、豊後水道など九州東岸域において、ラフィド藻*Chattonella*属や渦鞭毛藻*Karenia*属による大規模な赤潮が頻発し、養殖貝類や干潟域、磯根に生息する天然の貝類に対して甚大な被害をもたらしている。こうした*Chattonella*属や*Karenia*属赤潮による貝類の致死機構は不明な点が多く、養殖魚類で行われている餌止めなどの有効な対策がないことが現状である。本事業では、県下で最も貝類への被害の大きい*Karenia*属を中心とした有害プランクトンが、アワビ類に与える影響を特定し、死亡に至るメカニズムを解明することを目的とする。

事業の方法

酸素供給試験

佐伯市蒲江湾で発生した天然*K. mikimotoi* 赤潮を試験に供した。試験には容量22 Lのポリ塩化ビニ-

ル製容器を使用し、供試*K. mikimotoi*を清浄海水で設定密度に調整したものを各20 L入れ、ウォーターバスにより水温を統一した。

試験は通常のエアレーションを施した区(エア区)と酸素ポンベから酸素を供給し、溶存酸素濃度(DO)を高めた区を2つ(DO中区、DO高区)設置した。酸素濃度はそれぞれ7 mg/L、15 mg/L、30 mg/L程度になるよう設定した。エア区はエアレーションによる微通気、DO高区は酸素ポンベからの酸素供給による微通気、DO中区はエアレーションと酸素ポンベを併用して酸素濃度を調整した。試験に供したアワビは孔径5 mmのメッシュ袋(50 cm×40 cm)に各30個を収容したものを9つ用意し、各3つずつを各区に浸漬し赤潮に曝露した。曝露後6、18、28時間経過した後、アワビの状態を確認し、清浄海水に戻した。移動後24時間経過した後に再度アワビの状態を確認して生残率を算出するとともに、すべての固体をDavidson液(エタノール:330 mL、ホルマリン:220 mL、酢酸:115 mL、蒸留水:335 mL)で固定した。アワビの状態は、ひっくり返すとすぐさま起き上がる個体を「正常」、固着せずひっくり返しても起き上がらない個体を「マヒ」、ピンセットによる触診で反応が認められない個体を「死亡」と判定した。また、アワビの状態の観察時にはDOを測定するとともに曝露海水を一部採水し、光学顕微鏡を用いて*K. mikimotoi*の状態を観察後、3回計数し細胞密度を算出した。

生理コントロール試験

アワビは夜間に活動的であり、甚大な赤潮被害は夜間に多い。そこで、昼夜の生理リズムの制御

による赤潮被害の軽減効果を検証した。予め試験に用いるアワビの昼夜生理リズムを制御するため7日間の馴致飼育を行った。馴致飼育および試験は、2台のグロースチャンバー（MLR-352-PJ、Panasonic製）内で行った。馴致飼育中は明期20:00~8:00、暗期8:00~20:00とし、7Lの清浄海水と付着板を入れた容量13Lのポリ塩化ビニール製容器にアワビを20個体ずつ収容し、通気を施しながら飼育した。馴致飼育と同様の明暗期リズムの対照区と、試験時に暗期をなくし、常に電灯が点いた状態の常時点灯区を設置した。試験に供する前日まで餌として褐藻類を与え、飼育水は適宜交換した。馴致飼育および試験時の水温は両区ともに22°Cに設定した。試験には、大村湾で単離された*K. mikimotoi*強毒株のNGU04株（西海区水産研究所提供）を拡大培養して供した。試験開始時には、拡大培養した溶液を1Lずつ飼育容器に足すことで、供試海水を作成した。通気を施しながら赤潮に曝露させた状態で2、4、6、24時間経過後にアワビの状態を観察した。その後、容器の海水を清浄海水へと換水し、24時間後にアワビの状態を再度確認し、全個体をDavidson液で固定した。アワビの状態は酸素供給試験と同様に判定した。また、赤潮曝露開始時と終了時およびアワビの状態確認時には海水を一部採水し、光学顕微鏡を用いて*K. mikimotoi*の状態を観察後、3回計数し細胞密度を算出した。

事業の結果および考察

酸素供給試験

*K. mikimotoi*の細胞密度は、曝露終了時までにとどの区も減少した。*K. mikimotoi*の細胞密度は、エア区とDO中区では、開始時4,767 cells/mL、5,100 cells/mLであり、開始後18時間経過時から細胞密度が減少し、24時間経過時にはそれぞれ3,000 cells/mL、2,400 cells/mLとなった。DO高区では、開始時5,167 cells/mLであり、開始後6時間経過時から細胞密度の減少が確認され、24時間経過時には253 cells/mLとなった（図1）。また、DO高区の*K. mikimotoi*は時間の経過に伴い蟻集が確認された。DOはエア区で6.17~6.72 mg/L、DO中区で6.17~16.64 mg/L、DO高区では6.16~31.45 mg/Lで推移した。DO中区、DO

高区では18時間経過時に、酸素供給が止まっていたことによるDOの低下（6.72mg/L、13.16 mg/L）が確認されたが、その後すぐに増加し、DO高区では他区に比べて常時高い値が維持された（図2）。

赤潮曝露によるアワビへの影響は、エア区では、6時間で正常2個体、マヒ15個体、へい死13個体となり、18時間、24時間では全てがへい死した。一方、酸素を供給した区では、赤潮曝露終了時まで正常個体が残った。特にDO高区では、赤潮曝露24時間経過したものでも半数以上（18個体）が正常であった（図3）。清浄海水に移動後24時間経過後の生残率は、エア区では6時間曝露のもので0%であった。一方、DO中区では18時間曝露のもので最大で57%、DO高区で24時間曝露のものが最も高く89%であった（表1）。これらの結果から、酸素濃度を15 mg/L程度以上に上昇させることでエアレーションのみの場合に比べてアワビの生残率は上昇すると考えられた。また、供給する酸素が高濃度かつ長時間であるほど、*K. mikimotoi*の減少量およびアワビの生残効果は高くなると示唆された。24時間と長時間の酸素供給で生残率が高いことは、*K. mikimotoi*が細胞密度の減少とともに生理的にも衰弱している状態で、アワビが曝露の影響から回復したためと考えられる。DO高区で18時間曝露したものが、正常海水移動後の生残率がDO中区より低かったことは、一時的に酸素濃度が急激に低下したことが影響している可能性がある。

生理コントロール試験

*K. mikimotoi*の細胞密度は対照区4,733~5,133 cells/mL、常時点灯区4,400~5,467 cells/mLで推移した。対照区は試験区ともに、赤潮曝露6時間まではへい死やマヒは確認されなかったが、赤潮曝露24時間経過時には、アワビの個体数は対照区で正常4、マヒ2、死亡14、常時点灯区で正常4、マヒ1、死亡15となった。その後、正常個体のみを残し水槽内の海水を清浄海水に換水した後24時間経過時には正常個体はどちらの区も1個体であり、生残率は25%であった。本試験において、赤潮曝露時において、暗期に電灯を点灯することによるアワビへの影響の差は現れなかった。

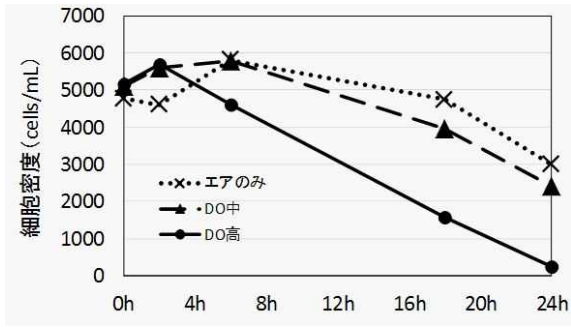


図1. 酸素供給試験中のK. mikimotoi細胞密度の推移

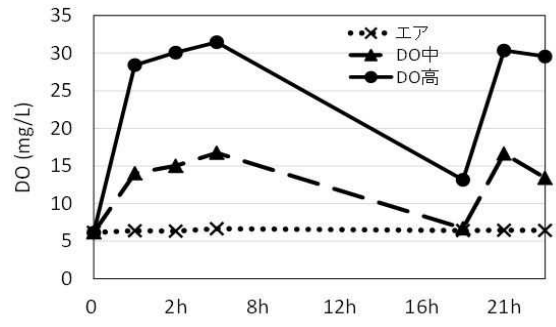


図2. 試験中のDOの推移

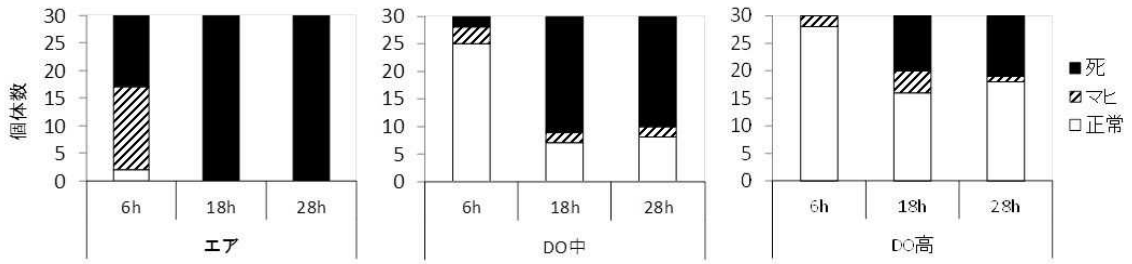


図3. 赤潮暴露時間毎のアワビの状態別個体数

表1. 清浄海水移動後24時間後のアワビの生残率

	6h	18h	24h
エア区(%)	0	-	-
DO中区(%)	24	57	50
DO高区(%)	29	25	89

赤潮に強い養殖生産に向けた支援技術開発— 1

赤潮・貧酸素水塊漁業被害防止対策事業

(国庫委託)

大竹周作・井口大輝

本事業の詳細は、平成29年度漁場環境・生物多様性保全総合対策委託事業 赤潮・貧酸素水塊漁業被害防止対策事業報告書の「瀬戸内海等での有害赤潮発生機構解明と予察・被害防止等技術開発 (2)ー③ーイ 現場マイクロゾムを用いたカレニア等有害赤潮鞭毛藻の動態と環境条件との関係の解明」に記載した。本報告はその概要である。なお本事業は独立行政法人水産総合研究センター瀬戸内海区水産研究所との共同調査として実施した。本報告では大分県が直接関係した部分のみ記載する。

事業の目的

近年、西日本の沿岸域において、カレニアやシャットネラ等鞭毛藻による有害赤潮が頻発しており、甚大な被害が報告されている。これまで直接赤潮を駆除する技術が実用化された例はほとんどなく、現在の最も有効な被害軽減策は、赤潮の発生状況を見ながら筏の移動、餌止め、出荷等を計画的に実施する「事前対策」である。効率よい事前対策の実施には、各海域における赤潮の発達や衰退が起きる際にキーとなる環境条件を事前に特定しておく必要がある。そこで本課題では、近年甚大な被害が発生している豊後水道および八代海において、現場垂下式のマイクロゾムを用いてカレニア等有害赤潮鞭毛藻の現場個体群の増殖、他生物群との共存・競合、捕食—被捕食関係とそれらに及ぼす諸環境条件との関係を定量的に明らかにする。これにより、当該海域における赤潮発生機構がより明瞭になることはもちろん、複数の環境条件の相乗効果や捕食圧など、室内実験では取得困難なパラメータを取得できるので、現存の赤潮シミュレーションモデルを大幅に補強することにもつながる。なお、本課題では有害赤潮鞭毛藻およびそれらの競合種（優占珪藻種）を研究対象とする。

事業の方法

豊後水道における*K. mikimotoi*の発生と環境条件との関係について、宇和島湾および佐伯湾における2006～2017年5～8月の*K. mikimotoi*細胞密度データを用いて、本種の発生規模と環境条件との関係を解析した。ただし、2011年の宇和島湾についてはデータ数が極めて少なかったため、解析対象から除外した。宇和島および佐伯の気象データ（降水量、日照時間）は気象庁のウェブサイト（<http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/index.php>）より得た。統計解析はIBM SPSS Statistics Desktop Version 19.0 for Windows (IBM Japan, Tokyo, Japan)を用いて実施した。

事業の結果および考察

宇和島湾および佐伯湾において、それぞれ2007、2009、2012、2014、2015、2016、2017年および2007、2008、2009、2011、2012、2013、2017年に最高細胞密度が $5,000 \text{ cells mL}^{-1}$ を超え、赤潮が発生した。また、宇和島湾では2007、2014、2015、2016年に、 $10^5 \text{ cells mL}^{-1}$ を超え、高密度化した。12年間全ての年を対象として、最高細胞密度に達する10日前から到達日までの降水量および日照時間の平均値を算出し、散布図を描いたところ、宇和島湾において日照時間が短い年に最高細胞密度が高い傾向が認められた。さらに、最高細胞密度と降水量および日照時間について相関分析を行った。その結果、宇和島湾の場合、最高細胞密度は日照時間と5%水準で有意な負の相関（Pearsonの相関係数：0.724、有意確率：0.012）が認められたが、降水量とは有意な相関はなかった（相関係数：0.469、有意確率：0.145）。

一方で、佐伯湾の場合、最高細胞密度は降水量と1%水準で有意な正の相関が認められたが（相関係数：0.716、有意確率：0.009）、日照時間とは有意な相関は検出されなかった（相関係数：-0.36、有意確率：0.25）。以上のことより、海域によって差異

があるが、*K.mikimotoi*の発達には日照（光）は負の効果、降水量（出水、塩分、栄養塩濃度）は正の効果があることが分かった。これまで本課題における室内外の実験より、貧栄養環境下において強光は*K.*

*mikimotoi*の生残に負の効果があることを見出してきた。今回の統計解析結果はそのことを支持するものであり、光および栄養塩環境が本種の動態に多大な影響を及ぼすことを強く示唆する。

赤潮に強い養殖生産に向けた支援技術開発－2 赤潮・貧酸素水塊漁業被害防止対策事業 (国庫委託)

井口大輝・大竹周作

本事業の詳細は、平成29年度漁場環境・生物多様性保全総合対策委託事業「赤潮・貧酸素水塊漁業被害防止対策事業 報告書「瀬戸内海等での有害赤潮発生機構解明と予察・被害防止等技術開発」(2)－④－イ 有害赤潮鞭毛藻の遊泳特性を利用した新規赤潮防除技術の開発に記載し、本報告はその概要である。なお本事業は国立研究開発法人水産研究・教育機構瀬戸内海区水産研究所(瀬水研)、水産工学研究所、国立研究開発法人水産研究・教育機構水産大学校との共同調査として実施した。以下に概要のみを記載した。

事業の目的

近年、豊後水道など西日本の沿岸域においてカレニア等鞭毛藻による有害赤潮が頻発しており、その発生防止策の構築あるいは駆除技術の開発が急務である。多くの有害赤潮藻類は鞭毛運動を行って遊泳し、生残や増殖に好適な環境条件の存在する深度層に定位することで細胞密度を増大させることが知られている。そこで、本課題では、このような有害種の遊泳特性に着目し、赤潮初期段階で高密度化を防ぐあるいは赤潮発生時に養殖魚介類との接触を軽減する新規の赤潮防除技術を提案することを目的とする。アイデアは二つあり、①赤潮鞭毛藻類の走光性を利用して赤潮を分散させるあるいは養殖魚介類にいない層へ集積させる技術開発、②大型パイプやポンプ等を用いて、垂表層や中層に定位している細胞を強光や低塩分等の増殖に不適な環境が存在する表層へ浮上させ、光合成・増殖の停止や死滅を誘導する技術開発である。本研究では有害赤潮鞭毛藻類の遊泳特性に着目し、赤潮初期段階で高密度化を防ぐあるいは赤潮発生時に養殖魚介類との接触を軽減する新規の赤潮防除技術の提案を目指す。

事業の方法

【サブテーマ①】

1) 改変赤潮フィルターの試作・試用

平成28年度の現場設置試験において、退色および耐久性の問題が見出された。そこで、(株)浜松ホトニクスと共同で色素等の変更やフィルターに糸を通すなどの改変を行い、性能や耐久性等を室内外で検討した。

①室内性能試験

改変赤潮フィルターの性能試験を室内で実施した。まず、円柱水槽に改変 SWM-3 培地を注入し、疑似太陽光源を照射した。*Chattonella antiqua* を接種して30分程度静置して細胞を表層に集積させた後、光路に赤潮フィルターを設置し、細胞の鉛直分布変化を観察した。

②植物プランクトンの増殖に及ぼす赤潮フィルターの影響把握

現場個体群および培養株を用いて、植物プランクトンの増殖に及ぼす赤潮フィルター被覆の影響を調べた。まず、珪藻類が優占している現場海水、あるいは *Euglena eupharyngea*、*Nannochloopsis oculata* の培養株を透明ポリカーボネート製ボトルに充填した。ボトルをそのまま、あるいは赤潮フィルターまたは遮光ネットで覆い、瀬水研 棧橋筏の表層に係留した。その後 *in vivo* クロロフィル蛍光値(天然海水)あるいは細胞密度(天然海水以外)、光合成活性を計測した。また、データロガーを用いて水温および日射量を連続観測した。

③野外設置試験

生簀網側面に赤潮フィルターを多少の水通しがある状態で設置して、養殖魚の生残や成長および環境への影響を調べた。試験は、大分県農林水産研究指導センター水産研究部の筏(佐伯湾内、1区画:3m×3m)

の3区画にて実施した。まず、平成29年9月12日に、赤潮フィルターあるいはビニールシート（灰色）をロープで筏に固定した後、網（深さ：約2.4 m）を張り、生簀中に各種環境計測用データロガーを、筏の上に日射計を設置した。また、フィルターおよびビニールシートを設置しない対象区も設けた。翌9月13日に、ブリ（体重：約800 g）を各区画の生簀に20尾ずつ投入した。その後、週に1回の頻度で採水を行い、プランクトンの種組成を算出した。一連の観測は平成29年10月3日に終了した。

2) 汚濁処理用ろ材を用いて赤潮の生簀内への流入量を抑制する方法の検討

赤潮フィルターは生簀内の赤潮の表層集積を防ぐ可能性があるが、側面からの赤潮の流入を防ぐことはできない。よって、赤潮フィルターの実用化のためには、別途側面からの流入を防ぐ技術を併用しなければならない。しかしながら、ビニールシート等で完全に側面を遮断すると、溶存酸素の低下が起こってしまう。そこで、今年度は汚濁処理現場で実用されている市販のろ材（ティービーアール社製）によって側面からの赤潮藻類の流入を抑制する方法を検討した。

①ろ材の赤潮藻類吸着力の把握

まず、ろ材が積極的に有害赤潮プランクトンを吸着するかどうかを調べた。バットに有害赤潮鞭毛藻類 *Chattonella marina* および *K. mikimotoi* 培養液を入れ、2種類の汚濁処理用ろ材を投入し、2時間振とう後、検鏡して細胞密度の変化を調べた。

②ろ材の設置方法に関する検討

生簀網にモールコードを設置した場合に生じる抵抗の試算を行った。佐伯湾のトラフグ養殖業者の生簀網（横10 m×深さ4.5 m）を想定し、現場における生簀網の抵抗値を算出した。

3) 赤潮フィルター下で飼育した養殖魚の赤潮耐性試験

トラフグ稚魚を対象に、赤潮フィルター下で飼育後、24時間赤潮暴露試験を行い、耐性の変化を調べた。水温を23、24℃に設定した500 Lの黒色円型ポリエチレンタンク水槽を用い、外部濾過装置による閉鎖循環型飼育方法で行った。

4) 現場環境における養殖魚の行動の観察

養殖現場における養殖魚の行動に及ぼす赤潮や環境条件の影響を把握するために、2017年6月下旬～9月上旬に魚探および各種環境計測機器（光量子計など）

を用いて、佐伯湾のトラフグ養殖場生簀内のトラフグ成魚の遊泳と環境条件を同時に自動観測した。

【サブテーマ②】

1) 佐伯湾における中層赤潮浮上技術の開発

2017年6月3日～9月7日の期間に佐伯湾松浦漁港奥に赤潮浮上装置を設置し、5 m層の中層海水を約250 t h⁻¹の速度で揚水した。また、揚水による *K. mikimotoi* 個体群への影響を把握するために、浮上海域およびその周辺に3定点を設置し、毎週、表層およびクロロフィル極大層（極大層が明瞭でない時は5 m層）と赤潮浮上装置の排水口付近（表層）の海水の採水と多項目水質計による水温、塩分、クロロフィル蛍光値の鉛直プロファイル観測を実施した。採水した海水は *K. mikimotoi* の検鏡計数に供した。

事業の結果および考察

【サブテーマ①】

1) 赤潮フィルターの試作・試用

①室内性能試験

50および200 μmol m⁻² s⁻¹ いずれの光量子束密度においても、*C. antiqua* は120分後には底層に集積した。すなわち、改変前のフィルター（平成27年度に報告）と比して性能はほとんど変化していないことを確認した。

②植物藻類の増殖に及ぼす赤潮フィルター被覆の影響把握

植物プランクトンの増殖速度は、赤潮フィルター被覆区では、遮光ネット区よりも増殖速度が高く、試験最終日の細胞密度あるいはクロロフィル蛍光値は対象区と同程度だった。また、対象区では光合成活性が他の試験区よりも低く、光障害が起こっていたと推察された。これらのことから、赤潮フィルター被覆は他種植物プランクトンの増殖に大きな悪影響を及ぼさないと考えられた。

③野外設置試験

フィルター設置直後に降雨があり、上部のフィルターに水が溜まり、その重圧で生簀との連結部が破損した。9月19日には、ビニールシート区でブリ8尾のへい死が認められたが、へい死個体に外傷はなかった。これは昨年度同様にDOの低下が原因だと推察され

た。

一方で、多少の水通しのある赤潮フィルター区において、DO 濃度は対象区と比して全体的に低かったが貧酸素レベルまでには到達せず、ブリのへい死も起こらなかった。また、プランクトン種組成は調査日によって試験区間で差がある場合と明確でない場合に分かれた。原因は不明だが、水通しの違いが影響したと推察される。

以上の結果より、ある程度の水通しがあれば赤潮フィルター被覆によってブリの生残や成長に大きな影響は生じないことがわかった。しかしながら、生簀の上部を覆うと降雨時に水が溜まり施設が破損するという問題が発生した。ビニールハウスのように枠を組むなど、設置方法を今後改善する必要がある。

2) 汚濁処理用ろ材を用いて赤潮の生簀内への流入量を抑制する方法の検討

①ろ材の有害赤潮藻類吸着力の把握

有害赤潮藻類培養液にモールコードを入れて振とうさせた結果、*C. marina* の細胞密度はわずかに減少し、*K. mikimotoi* の細胞密度はわずかに増加したよって、モールコードに有害赤潮藻類を吸着する効果はほとんどないと考えられた。

②ろ材の設置方法に関する検討

平成 28 年度の結果より、佐伯湾奥の流速は概ね 5 cm s^{-1} 以下であり、かなり大きく見積もって流速を 30 cm s^{-1} とすると、モールコード（直径 10 cm）を生簀網の前面のみに 10 cm 間隔で取り付けた場合、その抵抗値は 332.41 kgw と算出された。モールコードを取り付けることによって生物の付着が増大し、経過時間によってさらに抵抗は増大すると考えられるが、短期間の取り付けであれば、十分に利用可能な範囲の抵抗増大であると考えられる。

今回の試験の結果、モールコードは赤潮藻類を積極的に捕捉する力はないが、あるレベル以下の流速と設置本数であれば後の維持に問題ない範囲の抵抗で流入量を減じる効果がある可能性が見出された。

3) 赤潮フィルター下で飼育した養殖魚の赤潮耐性試験

赤潮フィルター有無で 1 ヶ月の飼育後、2 種類の *C. antiqua* 培養株に暴露したが、いずれの試験区においてもトラフグ稚魚のへい死は認められなかった。ま

た、1 ヶ月間の飼育期間中にへい死した個体はなく、赤潮フィルター区（体長約 118 mm、体重約 57 g）および対象区（体長約 122 mm、体重約 58 g）間で成長にほとんど差はみられなかった。これらの結果から、少なくともトラフグ稚魚については、赤潮フィルター下で長期間飼育しても赤潮耐性が低下しないと考えられた。

4) 赤潮発生時の養殖魚の行動の観察

試験実施箇所において、*K. mikimotoi* は平成 29 年 7 月 7 日から増加し、7 月 21 日に最高細胞密度 $6,500 \text{ cells mL}^{-1}$ に達した。8 月 25 日まで $1,000 \text{ cells mL}^{-1}$ 前後で推移した後、一気に消滅した。魚群探知機で観察したトラフグの鉛直分布については、最高水温期の 7 月下旬～8 月中旬は不明瞭だったが、昼間は表層に集積する傾向が認められた。*K. mikimotoi* 赤潮時にトラフグの鉛直分布の特別な変化は見出せなかった。よって、トラフグの行動は赤潮藻類の細胞密度、塩分や光環境にそれほど影響を受けないことが明らかとなった。

【サブテーマ②】

1) 佐伯湾における中層赤潮浮上技術の開発

赤潮浮上装置は、平成 29 年 6 月 31 日～7 月 7 日に落雷等の影響によって停止した以外は正常に稼働した。調査期間中の *K. mikimotoi* は 7 月 14 日に赤潮浮上装置設置箇所の表層で $14,200 \text{ cells mL}^{-1}$ の最高細胞密度を記録した。その後、細胞密度は 7 月 21 日には半分以下となり、8 月下旬に一気に消滅した。一方、その他の地点では、7 月 21 日まで細胞密度が増加したが、その後の動態は設置箇所と同調していた。以上の結果より、本装置によって中層で形成されている *K. mikimotoi* 濃密度層を連続して表層付近に浮上させたにも関わらず、その明確な効果を観察できなかった。*K. mikimotoi* は富栄養条件下では強光による増殖阻害が起こらないことが報告されており、赤潮発生時期前の降雨により、大量の栄養塩が供給されたことが一因と考えられた。今後は、海底耕うんを行い栄養塩競合種である珪藻類を増やす等の取り組みと併用し、本装置の効力を高める環境づくりが必要と考えられる。

低水温期発生型赤潮対策強化事業

大竹周作・井口大輝

事業の目的

猪串湾ではこれまで有害プランクトンの発生が度々確認されてきたが、最近冬季に出現する *Cochlodinium polykrikoides* (以後 *C. polykrikoides*) が赤潮を形成する事例が頻発されるようになった。2015年の冬季には高密度化した本種の赤潮が形成され、湾内の赤潮水塊の一部が湾外に流出し、沖合養殖場のブリ類に甚大な被害が発生した。そこで、猪串湾で発生する *C. polykrikoides* の赤潮発生メカニズムを解明および効率的な赤潮対策を構築する為、本種の生理生態的特性について調査、研究を行った。

事業の方法

1. 遊泳細胞の出現および分布調査

猪串湾の内外に調査点を5点(図1 Sta.A-E)設置し、2017年4月~2018年3月にかけて毎月1~4回の調査を実施した。調査は採水器(RIGO-B号 離合社製)による表層および3m層または5m層の採水、CTD(AAQ-RINKO JFEアドバンテック社製)による0.5m~海底まで0.1m毎の水溫、塩分および酸素濃度の測定を行った。湾奥のSta.Aでは精密調査点とし、さらに2m層、10m層、底上1m層の採水も行った。採水した海水は直ちに研究室に持ち帰り、濃縮処理等を行わずに、光学顕微鏡を用いて有害プランクトンの同定・計数を行った。

2. *C. polykrikoides* シストの分布と発芽

1) *C. polykrikoides* シストの分布

C. polykrikoides シスト(シスト)の分布状況を調査する為、2017年4月27日、10月11日の計2回、湾内から湾外に調査点29点を設け、エクマンバージ採泥器(15cm×15cm)を用いて採泥を行った。採取した海底泥は船上で、バット上に展開した後、表層泥を菓サジで回収し、ポリエチレン製容器に封入、遮光後、クーラーボックスに収容して持ち帰った。持ち帰った海底泥は実験室で分取し、一部を底質環境の分析試料として保存し、残りをシスト検出用の試料として冷暗所(5℃)で保存した。その後、愛媛大学にクール便(冷蔵)で送付し、Real time PCRを

用いてシストの検出を行った。なおシストの検出作業は愛媛大学に委託した。

2) *C. polykrikoides* 発芽試験

発芽試験は2017年12月18日、2018年1月22日、2月26日、3月5日に調査点3点(図1 Sta.1,15,28)回収した海底泥および海底直上海水を用いて実施した。採泥方法は既述した同様な方法で実施し、海底直上海水は採水器をを静かに着底させ採水した。発芽試験は以下の通りである。

①各調査点毎の海底直上海水をGF-Fガラスフィルターでろ過後、最終濃度が0.1%になるように二酸化ゲルマニウムを添加。

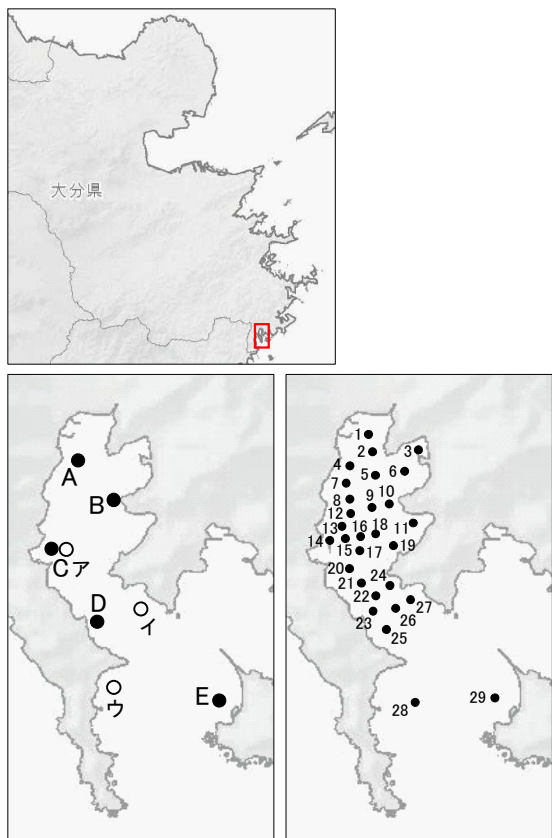
②ポリスチレン製培養フラスコに①の海水を500ml入れた後、各調査点の海底泥を0.5gづつ添加し、転倒混合で懸濁させる。

③現場の海水温に設定した培養庫内(明暗周期12時間)で一週間静置。

④各フラスコ内の海水を全て回収し、孔径5μmのプランクトンネットで100倍に濃縮後、全海水を光学顕微鏡で検鏡し *C. polykrikoides* の遊泳細胞を計数し、湿泥1g当たりの発芽細胞として換算する。発芽細胞は冷凍保存した後、愛媛大学に送付し本種であるか遺伝子を確認した。

3. 底質環境調査

2. 1)の *C. polykrikoides* シストの分布調査時に得られた底泥試料を用いて、各調査点の泥中の酸揮発性硫化物量(AVS)を検知管(ガステック社製)用いて検出を行った。検出は調査当日に実施した。



出典：海洋状況表示システム (<https://www.msil.go.jp/>)

海洋状況表示システムを加工して作成

図1 調査点(下段左：遊泳細胞分布調査、観測機器設置箇所、野々河内川採取地点、下段右：シスト調査、底質調査点)

4. 赤潮水塊の流出要因調査

本種の赤潮水塊の流出を検討する為、2015年1月～2017年6月の期間に自動昇降式多項目水質計（環境システム社製）、電磁流速計（INFINITY-EM JFEアドバンテック社製）、クロロフィル濁度計（INFINITY-CLW JFEアドバンテック社製）を設置した。各機器の設置場所および測定に関する詳細は以下のとおりである。

自動昇降式多項目水質計：湾奥のSta.Bに設置し40分毎に風速・風向並びに表層から海底までの水温、塩分、蛍光クロロフィルの測定を行った。

電磁流速計：湾口 of Sta.イの水深2mおよび14m層に設置し、30分毎に流向・流速の測定を行った。

クロロフィル濁度計：湾中央のSta.ア、湾外のSta.ウの水深3mに設置し10分毎に蛍光クロロフィルの測定を行った。

5. 猪串湾流入河川からの銅、亜鉛の流出の影響

猪串湾に注ぐ野々河内川の上流には養豚場があり、そこから猪串湾に銅、亜鉛が流入することが懸念されたので、野々河内川河口付近に調査点1点(図1×)を設け、2017年4月～2018年3月に毎月1回、

河川底の採泥を行った。得られた泥は実験室に持ち帰った後、冷暗所(5℃)で保存した。重金属の抽出および分析は底質調査方法(環境省 水・大気環境局 平成24年8月)に従い、高周波プラズマ発光分析装置(ICP-発光)を用いて亜鉛と銅の検出を行った。

6. アオサの農業利用への検討

アオサの農業利用に向けた大量回収方法について検討した。

事業の結果

1. 遊泳細胞の出現および分布推移

調査期間中の*C. polykrikoides*遊泳細胞の最高細胞密度の推移、湾奥の各層水温、塩分は図2に示したとおりである。*C. polykrikoides*遊泳細胞は未検出～149 cells/mlで推移した。水温が上昇した8月～11月には細胞は認められなかった。最高密度は2017年4月上旬に確認されたが、周年で低密度で推移した。降雨による塩分の急激な低下が確認された時には、遊泳細胞は減少した。

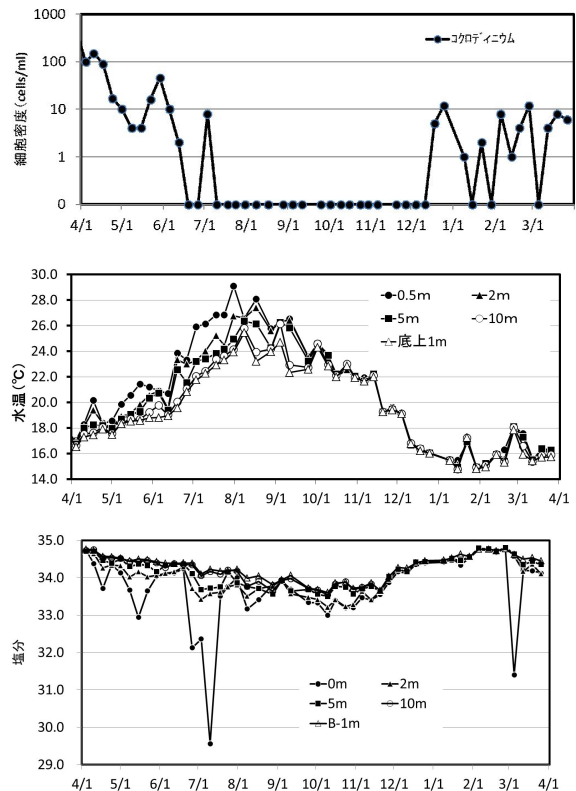


図2 全調査点の*C. polykrikoides*最高細胞密度推移及び猪串湾奥の各層水温、塩分の推移(上段：*C. polykrikoides*最高細胞密度、中段：水温、下段：塩分)

2. *C. polykrikoides*シストの分布と発芽試験

1) *C. polykrikoides*シストの分布

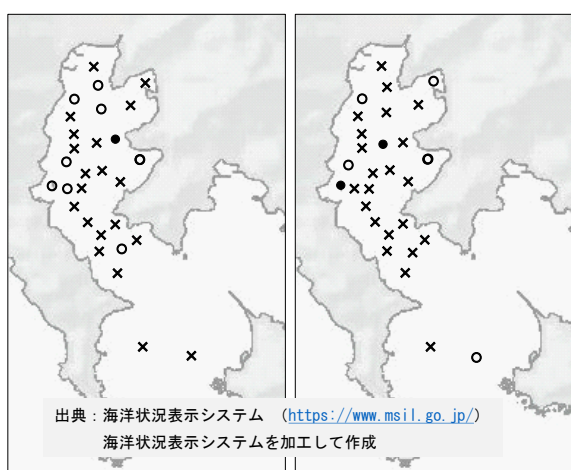
シスト分布密度の調査結果は図3に示した通りである。2017年4月27日の調査では、シスト密度は未検出～23.2 cysts/g (湿泥) であった。湾奥のSta.1で密度が最も高く、湾奥付近で密度が高い傾向が確認された。10月11日の調査では未検出～13.6 cysts/g (湿泥) で分布し、湾奥で比較的多く確認された。昨年度に比べ4月のシスト密度が低い傾向が確認された (2016年4月6日 0.4～1,046.8 cysts/g)。その要因としては調査前の3月の本種遊泳細胞が昨年度時に比べて低密度であり、それらがシスト密度減小に寄与したことが考えられる。

2) *C. polykrikoides*発芽試験

顕微鏡下で形態学的に*C. polykrikoides*であると判断された発芽細胞は、Sta.1で1月に1細胞/g (湿泥)、Sta.15で12月に1細胞/g、2月に3細胞/g、3月に1細胞/g、Sta.28で1月に各1細胞/gであった。しかし、愛媛大学による遺伝子検査の結果、発芽細胞が*C. polykrikoides*であるという確証は得られなかった。

3. 底質環境調査

AVS-S濃度を基に養殖環境基準に従い評価した、結果は図4に示した通りである。各AVS-S濃度は2017年4月27日は0.01～0.59 mg/g乾泥、10月11日は0.01～0.70mg/g乾泥で分布していた。4月の調査では要注意漁場は12点、要改善漁場は0点、危機的漁場が0点であった。10月の調査では要注意漁場が11点、要改善漁場が2点、危機的漁場が0点であり、10月に汚染が進行していることが確認された。また両期間を通して、湾内で養殖漁場が存在している湾中央西側で汚染が進んでいることが確認された。



×:1未満、○:1以上、●:10以上、●:100以上(単位:細胞/湿底泥)

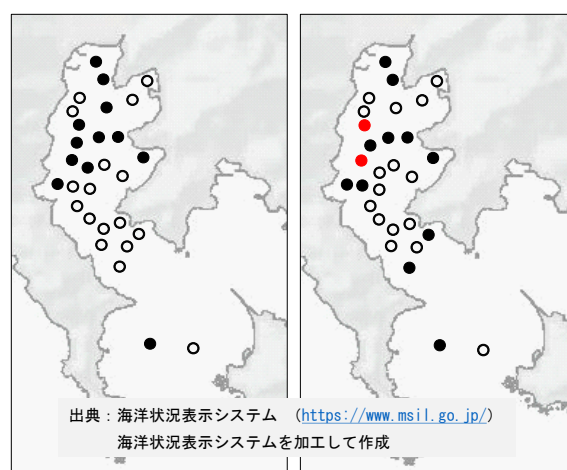
図3 *C. polykrikoides* シスト密度の分布
(左:2017.4.27日、右:2017.10.11)

4. 赤潮水塊の流出要因調査

猪串湾における潮流、風速、降水量、水温、クロロフィルの推移は図5～図10のとおりである。表層では、12月中旬から3月下旬の冬季は北西流が卓越し、4月から5月の春季は比較的弱い南東流に変わった (図5)。一方、中層 (14m層) では、冬季は南東流が卓越し、春季には比較的弱い北西流となった (図6)。つまり、冬季には表層から湾内へと流入し中層で湾外へと流出する逆エスチャリー循環が見られ、春季になると流向が逆転することが分かった。風速は冬季まで季節風である北西風が卓越し、春季にかけて弱まった (図7)。また、冬季、春季ともに降雨があり、その時には表層の北西流が弱まった (図5、8)。クロロフィルは2017年1月12日から5月31日までに越田尾で0.65～11.06 $\mu\text{g/l}$ (Chl-a)、みごの浦で1.00～17.98 $\mu\text{g/l}$ (Chl-a)で推移した。しかし*C. polykrikoides*の細胞密度が低いいため、クロロフィルによる流出の傾向は判断できなかった。これらのことから、赤潮流出の原因は以下のように考えられた；①北西の季節風が弱まり、水温が上昇してくると逆エスチャリーが解消され、表層から赤潮が流出する可能性が高まる ②降雨によっても逆エスチャリー循環が弱まるため、冬季、春季ともに赤潮流出の可能性がある (図11)。降雨による遊泳細胞の流出は、結果1とも一致した。

5. 猪串湾に流入する河川からの銅、亜鉛の流出影響調査

銅 (Cu) および亜鉛 (Zn) の底泥中の濃度は表1に示した通りであった。Cuは0.26～0.33mg/kg、Znは0.72～0.94mg/kgであり、土壤環境基準 (Cu:125mg/kg、Zn:20mg/kg) を超える値は検出されなかった。



○:健全漁場、●:要注意、●:要改善、●:危機的漁場

図4 酸揮発性硫化物濃度 (AVS-S) の分布
(左:2017.4.27日、右:2017.10.11)

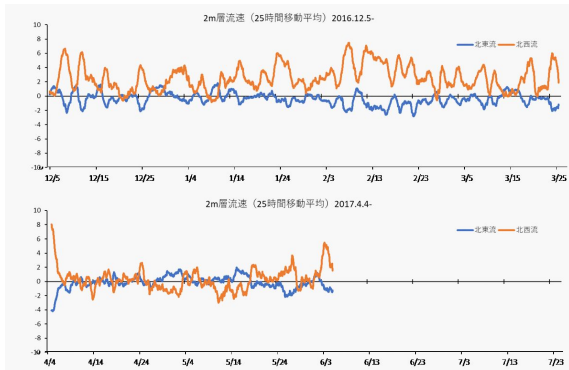


図5 猪串湾表層における潮流の推移
(上段：12～3月、下段：4月～5月)

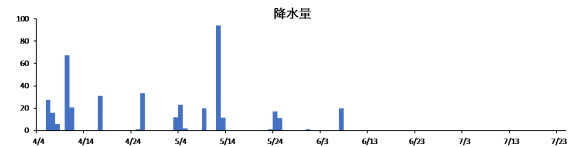
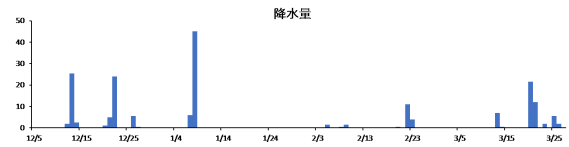


図8 猪串湾における降水量の推移
(上段：12～3月、下段：4月～5月)

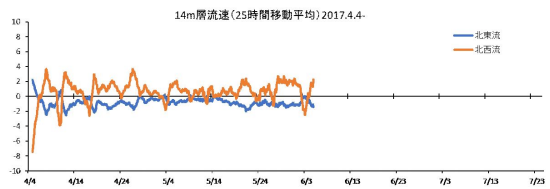
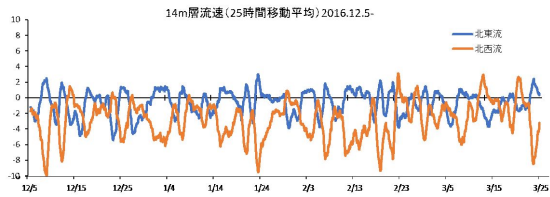


図6 猪串湾中層における潮流の推移
(上段：12～3月、下段：4月～5月)



図9 猪串湾における水温の推移
(上段：12～3月、下段：4月～5月)

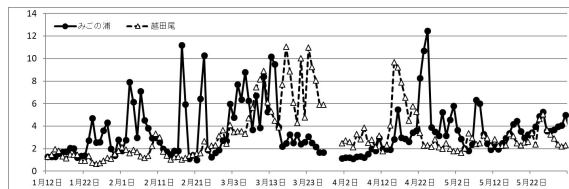


図10 猪串湾のみごの浦と越田尾におけるクロロフィルの推移 (上段：12～3月、下段：4月～5月)

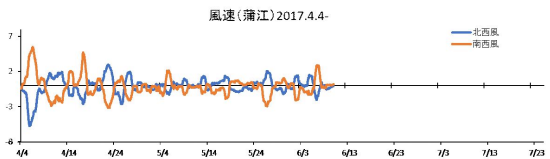
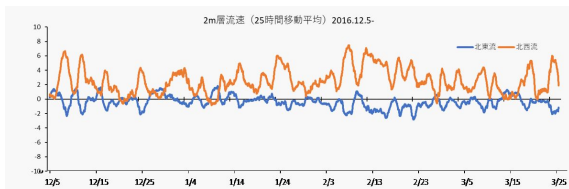


図7 猪串湾における風速の推移
(上段：12～3月、 下段：4月～5月)

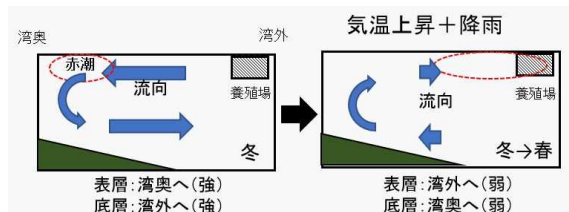


図11 猪串湾における潮流変化の概略図

表1 野々川河内河口付近における河川底泥中における銅、亜鉛の値

採集年月		金属濃度 (mg/kg)		
		Cu	Zn	
H29	4	0.27	0.83	
	5	0.27	0.74	
	6	0.28	0.84	
	7	0.31	0.82	
	8	0.26	0.72	
	9	0.29	0.74	
	10	0.32	0.78	
	11	0.32	0.79	
	12	0.31	0.80	
	H30	1	0.31	0.79
		2	0.33	0.80
		3	0.32	0.94

6. アオサの農業利用への検討

昨年度までにアオサ堆肥の作成方法は確立できたため、今年度はアオサの大規模回収方法について、7月5日に大分県漁協名護屋支店で現場関係者（漁協、漁業者）と協議した。来年度以降、猪串湾越田尾沿岸に大量発生するアオサを船の利用することも含め、漁業者の協力を得て実施することとなった。

麻痺性貝毒簡易分析キットを用いたスクリーニング手法の開発 (国庫委託)

大竹周作

本事業の詳細は、平成29年度安全な農林水産物安定供給のためのレギュラトリーサイエンス研究（麻痺性貝毒の機器分析法の高度化及びスクリーニング法の開発）委託事業報告書に記載した。本報告はその概要である。

事業の目的

大分県佐伯市猪串湾周辺海域では、麻痺性貝毒プランクトン種*G. catenatum*の発生により、貝類が毒化し、出荷自主規制が度々発生する。また最近は、カキ養殖漁場の増加や、消費者の食の安全性への意識の高まりから、水質調査および貝毒検査の要請が増加し、調査頻度が増加している。安全性を担保しながら、迅速な調査分析を行う必要があることから、簡便な貝毒リスク管理手法を開発することを目的とした。

事業の方法

1) ヒオウギガイにおけるイムノクロマト測定条件の検討

毒化初期のヒオウギガイを大分県佐伯市猪串湾から採集し、ELISA法を用いて毒量を測定した。同サンプルを委託先に送付し、マウスアッセイ法でも毒力を測定した。また、イムノクロマトキットでも測定し、既存の測定方法との整合性を検証した。

結果及び考察

1) ヒオウギガイにおけるイムノクロマト測定条件の検討

ELISA法およびマウスアッセイ法により*G. catenatum*によって毒化したと考えられるヒオウギガイの毒力を測定し、仮スクリーニングレベルの元となる無毒試料および有毒試料を得た。それらを基準に1~4MU/g相当の抽出試料を作成した。これをイムノクロマトキットで測定し、スクリーニングレベルの設定を行った。その結果、規制値(4MU/g)より低いレベルを確実に判別するためには、試料を800倍に希釈して測定することが適切であると判断された(図1)。既知の毒力であるその他の試料も、800倍の希釈率でキットにより検査した結果、マウスアッセイ法で毒力2.3 MU/g以下で陰性、2.6 MU/g以上で陽性反応が得られた(図2)。

毒力	希釈倍率											
	0	20	40	60	80	100	500	700	800	1000	1400	2000
無毒抽出試料	±	++	++			++						
1MU/g相当	±	-	±	±	±	±	±	+	+		+	
2MU/g相当	±	-	-	±	±	±	±	±	+	+	+	+
3MU/g相当	±	-	-	-	-	±	±	±	±		+	
4MU/g相当	±	-	-	-	-	-	±	±	±	±	±	+
毒化抽出試料 (5MU/g相当)	±	-	-	-	-	-	±			±		
希釈液のみ	++											

図1. 各毒力相当のイムノクロマトキット検査結果

※・判定時の符号は4段階（毒量の少ない順に++、+、±、-）。

・測定ラインのバンドが完全に形成されたら（陰性++）、やや弱いものの測定ラインが明確に形成されたら（陰性+）、弱いラインが形成されたら（陽性±）、測定ラインのバンドが（目視で）全く形成されなければ（陽性-）とする。

サンプル採集日	マウスアッセイ毒力 MU/g	希釈倍率800
2017/7/3	N.D.	++
2017/9/4	N.D.	++
2017/9/11	1.9	+
2017/6/26	2.3	+
2017/6/5	2.6	±
2017/6/12	2.8	±
2017/5/15	3.6	±
2017/3/21	3.8	±

図2. マウスアッセイ毒力に対するイムノクロマトキット検査結果

※図1と同様の判定方法。