

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・甲斐桑梓・木本圭輔

#### 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. 医薬品残留検査（表8）
3. 薬剤耐性菌の実態調査（表9）

##### IV 疾病対策

1. 疾病監視対策（表10）
2. 疾病発生対策（表11）

表1 全国会議

実施時期	実施場所	構成員	内容
2018年			
12月19～20日	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, 47都道府県	・中国の海産魚養殖の現状 ・魚病症例研究会
2019年			
3月1日	東京都	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 47都道府県	・水産防疫対策の実施状況等 ・水産薬事関係の動き ・平成30年度水産防疫対策委託事業の結果概要 ・平成31年度予算の概要 ・その他

表2 地域検討会

実施時期	実施場所	構成員	内容
2018年			
10月11～12日	兵庫県	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, 高知県, 愛媛県, 福岡県, 大分県	平成30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
2018年			
11月1～2日	鹿児島県	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38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
2019年			
2月25～26日	高知県	高知県, 愛媛県, 大分県, 熊本県, 宮崎県, 鹿児島県	平成30年度 南中九州・西四国水族防疫会議 ・南中九州・西四国ブロック各県の魚病発生状況と対応 ・その他

表3 県内会議

実施時期	実施場所	構成員	内容
2018年			
6月8日	佐伯市(上浦)	海産魚類養殖関係漁業協同組合支店 白杵市, 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

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
2018年4月1日～			
2019年3月31日 (随時)	佐伯市(上浦)	海産魚類養殖漁家(延85名)	水産用抗菌剤使用指導書の発行

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
2018年			
6月14日	佐伯市	海産魚類養殖漁家(7名)	注射ワクチン接種技術講習会
2018年4月1日～			
2019年3月31日 (随時)	佐伯市(上浦)	海産魚類養殖漁家(延116名)	水産用ワクチン使用指導書の発行

表6 養殖衛生管理技術講習会

実施時期	実施場所	対象者(人数)	内容
2018年			
7月6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(78名)	魚病対策について
2018年			
11月28日	佐伯市(蒲江)	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)	トラフグの魚病対策
2019年			
3月15日	佐伯市	養殖資材販売店(17名)	最近の魚病発生状況について
2019年			
3月15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(53名)	水産用抗菌剤のEP飼料への添加方法

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
2018年			
5月30日	佐伯市(蒲江)	水産用医薬品	水産用医薬品使用実態調査
2018年			
6月4日	佐伯市	水産用医薬品	水産用医薬品使用実態調査

表8 医薬品残留検査

検査方法	採材時期	実施場所	対象魚	対象医薬品(成分)	内容	検体数
	2018年					
簡易検査法	10月15日	津久見市	ブリ	抗菌性物質一般	全て陰性(筋肉)	2
"	10月15日	佐伯市(米水津)	ブリ	"	"	3
"	11月20日	佐伯市(蒲江)	ヒラメ	"	"	2
	2019年					
"	1月15日	佐伯市(蒲江)	ヒラメ	"	"	3
					検体数合計	10

表9 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> (6株) <i>Vibrio harveyi</i> (5株) <i>Lactococcus garvieae</i> (43株)
2019年4月1日～ 2018年3月31日	佐伯市 (上浦)	ヒラメ (調査対象地域: 豊後水道沿岸)	細菌分離とディスク法による感受性測定 <i>Edwardsiella tarda</i> (33株)
		その他海産魚類 (調査対象地域: 豊後水道沿岸)	細菌分離とディスク法による感受性測定 <i>Vibrio anguillarum</i> (6株) <i>Photobacterium damsela</i> (11株) <i>Lactococcus garvieae</i> (18株)

表10 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
2018年				2018年			
4月3日	佐伯市(蒲江)	ブリ類, ヒラメ, トラフグ他	養殖場の疾病調 査および魚病被 害状況の把握	10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
4月4日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	10月18日	佐伯市(蒲江)	〃	〃
4月5日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	10月22日	佐伯市(蒲江)	〃	〃
4月10日	佐伯市(鶴見)	〃	〃	10月24日	佐伯市(蒲江)	〃	〃
4月16日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	10月30日	佐伯市(蒲江)	〃	〃
4月25日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	11月5日	佐伯市(蒲江)	〃	〃
4月27日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	11月6日	佐伯市(蒲江)	〃	〃
5月15日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	11月9日	国東市	〃	〃
5月22日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	11月14日	佐伯市(蒲江)	〃	〃
6月5日	津久見市	〃	〃	11月19日	佐伯市(蒲江)	〃	〃
6月11日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	12月4日	佐伯市(蒲江)	〃	〃
6月13日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	12月5日	佐伯市(蒲江)	〃	〃
6月21日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	12月7日	佐伯市(上浦)	〃	〃
6月28日	佐伯市(佐伯)	〃	〃	12月12日	佐伯市(蒲江)	〃	〃
6月30日	佐伯市(鶴見)	〃	〃	12月15日	佐伯市(鶴見)	輸入エビ	着地検査
7月4日	佐伯市(蒲江)	ブリ類, ヒラメ, トラフグ他	養殖場の疾病調 査および魚病被 害状況の把握	12月19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
7月12日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	12月28日	佐伯市(上浦)	〃	〃
7月19日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	2019年			
7月25日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	1月10日	佐伯市(蒲江)	〃	〃
7月27日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	1月15日	佐伯市(上浦)	〃	〃
7月30日	佐伯市(鶴見)	〃	〃	1月16日	佐伯市(蒲江)	〃	〃
8月1日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	1月21日	佐伯市(佐伯)	〃	〃
8月7日	津久見市	〃	〃	1月26日	佐伯市(佐伯)	〃	〃
8月8日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	1月28日	佐伯市(佐伯)	〃	〃
8月9日	佐伯市(上浦)	〃	〃	1月30日	佐伯市(蒲江)	〃	〃
8月20日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	2月1日	佐伯市(蒲江)	〃	〃
8月21日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	2月5日	佐伯市(蒲江)	〃	〃
8月22日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	2月6日	佐伯市(蒲江)	〃	〃
8月29日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	2月7日	佐伯市(佐伯)	〃	〃
9月5日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	2月15日	佐伯市(蒲江)	〃	〃
9月7日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	2月20日	佐伯市(蒲江)	〃	〃
9月8日	佐伯市(鶴見)	〃	〃	2月27日	佐伯市(上浦)	〃	〃
9月10日	佐伯市(蒲江)	輸入エビ ブリ類, マダイ, ヒラメ他	着地検査 養殖場の疾病調 査および魚病被 害状況の把握	3月4日	佐伯市(蒲江)	〃	〃
9月18日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	3月7日	佐伯市(上浦)	〃	〃
9月21日	佐伯市(鶴見)	〃	〃	3月11日	佐伯市(蒲江)	〃	〃
9月27日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	3月14日	佐伯市(蒲江)	〃	〃
10月4日	佐伯市(鶴見)	〃	〃	3月16日	佐伯市(鶴見)	輸入エビ	着地検査
10月6日	佐伯市(上浦)	〃	〃	3月25日	佐伯市(佐伯)	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
10月9日	佐伯市(蒲江)	〃	〃	3月26日	佐伯市(上浦)	〃	〃

表11 疾病発生対策

実施時期	実施場所	対象魚	内容
2018年4月1日～			
2019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(85件), マダイ(12件), ヒラメ(85件), トラフグ(44件), シマアジ(11件), クロマグロ(15件), カワハギ(22件)
2018年4月1日～			
2019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(4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792件(対前年度比107%)、診断件数は310件(105%)であった(表12)。疾病原因別にみると、ウイルス病が19件(全体の6%)、細菌病が123件(40%)、寄生虫病が64件(21%)、その他が1件(0.3%)、原因不明が82件(26%)、健康診断が19件(6%)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85件(全体の27%)、ブリ49件(16%)、トラフグ44件(14%)、カンパチ26件(8%)、カワハギ22件(7%)、

クロマグロ15件(5%)、マダイ12件(4%)、シマアジ11件(4%)、ヒラマサ10件(3%)の順に多かった。魚種別の特記事項は以下のとおりである。

1) ブリ類 診断件数はカンパチで増加(対前年度比124%)したが、ブリとヒラマサで減少(91および59%)して、全体でやや減少(92%)した(表13)。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く、ノカルジア症の診断が増加した。また、*Vibrio harveyi* によるビブリオ病の診断もあった。

表12 病害相談件数および診断件数\*

	2018/4	5	6	7	8	9	10	11	12	2019/1	2	3	計
相談件数	41	72	58	100	77	109	59	89	70	51	26	40	792
	(30)	(35)	(79)	(86)	(93)	(61)	(62)	(83)	(44)	(42)	(54)	(68)	(737)
診断件数	13	30	20	36	31	47	26	36	31	17	7	16	310
	(12)	(17)	(27)	(37)	(38)	(24)	(22)	(38)	(16)	(19)	(24)	(22)	(296)

\*( )は前年度

表13 ブリ類診断状況

魚種名	疾病名	2018/4	5	6	7	8	9	10	11	12	2019/1	2	3	計
ブリ	マダイイリドウイルス病					1								1
	ビブリオ病( <i>V. anguillarum</i> )		1	1	1									3
	ビブリオ病( <i>V. harveyi</i> )					1								1
	細菌性溶血性黄疸						1			1				2
	レンサ球菌症( <i>L.g. type I</i> )					1								1
	レンサ球菌症( <i>L.g. type II</i> )		1	2	3	7	1	3	4	2	1	1		25
	ノカルジア症						3	2	1	1				7
	ミコバクテリア症							1						1
	サカナヤドリヒドラ着生			1										1
	ハダムシ症									1				1
	不明		1										2	3
	健康診断					1								1
	輸出検査						2							2
ブリ小計		0	2	3	9	4	10	4	5	6	2	1	3	49
ヒラマサ	マダイイリドウイルス病						1							1
	レンサ球菌症( <i>L.g. type I</i> )		1				1							2
	ゼウクサブタ症		1									1		2
	不明		2			2							1	5
ヒラマサ小計		0	4	0	0	4	0	0	0	0	0	1	1	10
カンパチ	マダイイリドウイルス病						1							1
	ビブリオ病( <i>V. anguillarum</i> )		1			1								2
	ビブリオ病( <i>V. harveyi</i> )					2								2
	レンサ球菌症( <i>L.g. type II</i> )					1	1	1		1				4
	ノカルジア症							1	4	1		1		7
	ゼウクサブタ症						1			1				2
	不明				4	1	1	1					1	8
カンパチ小計		0	1	0	8	2	3	3	4	3	0	1	1	26
ブリ類計		0	7	3	17	10	13	7	9	9	2	3	5	85

- 2) **マダイ** 診断件数が少なかった前年度から倍増(12件)した(表14)。
- 3) **ヒラメ** 診断件数は85件で前年度の90%に減少した(表15)。エドワジエラ症(20件)、スクーチカ症(11件)、滑走細菌症(9件)およびウイルス性出血性敗血症(7件)などが主な疾病であるが、レンサ球菌症の診断がなかった。
- 4) **トラフグ** 診断件数は44件で、前年度より増加

(122%)した(表16)。ヘテロボツリウム症の診断が最も多かった(9件)。

- 5) **シマアジ** 診断件数は前年度の79%に減少した(表17)。

- 6) **その他の海産魚類** その他の魚類ではカワハギの診断件数が最も多かったが、前年度と比較すると79%に減少した(表17)。クロマグロの診断件数の増加(150%)は健康診断によるものである。

表14 マダイ診断状況

魚種名	疾病名	2018/4	5	6	7	8	9	10	11	12	2019/1	2	3	計
マダイ	マダイリドウイルス病			1										1
	エピテリオシスチス病			1									1	2
	ハダムン症									1				1
	ピバギナ症			1								1		2
	不明	1									3			4
	健康診断		1	1										
マダイ計		1	1	4	0	0	0	0	0	4	0	1	1	12

表15 ヒラメ診断状況

魚種名	疾病名	2018/4	5	6	7	8	9	10	11	12	2019/1	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	3	2									1	1	7	
	アクアレオウイルス感染症						1							1	
	エドワジエラ症		2	1	3	3	1	2	3	3	1		1	20	
	滑走細菌症			1		3					1	2	2	9	
	トリコジナ症				1					1				2	
	スクーチカ症		3	3							3	2		11	
	白点病						1								1
	ネオベネデニア症						1								1
	ネオヘテロボツリウム症						1	1							2
	不明	4	3	1	7	3	1			1	1	3	1	2	27
	健康診断	1	1								1				3
	ヒラメ計		8	11	6	11	9	6	3	5	10	8	2	6	85

表16 トラフグ診断状況

魚種名	疾病名	2018/4	5	6	7	8	9	10	11	12	2019/1	2	3	計
トラフグ	エピテリオシスチス病				1	1	2	1	1					6
	滑走細菌症						1							1
	イクチオボトド症									1				1
	白点病						5							5
	トリコジナ症		1				1							2
	粘液胞子虫性やせ病						1	1	1					3
	ネオベネデニア症							2						2
	ギロダクチルス症		1											1
	ヘテロボツリウム症					1	2	1	3			2		9
	ウドネラ症		1											1
	栄養性疾病				1									1
	不明	1		2		1	5	2	1					12
トラフグ計		1	3	2	2	3	17	7	7	0	2	0	0	44

表17 シマアジ診断状況

魚種名	疾病名	2018/4	5	6	7	8	9	10	11	12	2019/1	2	3	計
シマアジ	マダイリドウイルス病					1	2							3
	レンサ球菌症(L.g. type I)					1		1	1					3
	レンサ球菌症(L.g. type II)						2	1	1					4
	ネオベネデニア症							1						1
シマアジ計		0	0	0	0	2	4	3	2	0	0	0	0	11

表18 その他の海産魚類診断状況

魚種名	疾病名	2018/4	5	6	7	8	9	10	11	12	2019/1	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							2
	鰓アメーバ症			1										1
	不明	1												1
クロマグロ	マダイリドウイルス病					1								1
	レンサ球菌症(L.g. type I)					1								1
	住血吸虫症						1							1
	不明						1							1
	健康診断	1	1			1		1	2	2	1	1	1	11
イシダイ	ベネデニア症						1							1
イシガキダイ	マダイリドウイルス病				1									1
	吸虫性旋回病				1	1								2
マハタ	不明						1		1					2
クエ×タマカイ	ウイルス性神経壊死症						1							1
	不明												2	2
メバル	ビブリオ病		1											1
	マイクロチレ症		1											1
マコガレイ	滑走細菌症		1		1									2
	不明						1							1
カワハギ	パスツレラ症							1	5	1				7
	滑走細菌症				1					1	2			4
	レンサ球菌症(S. iniae)			1										1
	アミルウージニウム症							1						1
	粘液胞子虫性やせ病							1	1	1				3
	吸虫性旋回病					1								1
	不明	1	1	1					1		1			5
ウマヅラハギ	ビブリオ病		1											1
	レンサ球菌症(S. iniae)		1											1
	トリコジナ症		1											1
	吸虫性旋回病					1								1
	不明									1				1
その他の魚類計		3	8	4	4	7	7	4	10	6	4	1	3	61



表19 海産無脊椎動物診断状況

魚種名	疾病名	2018/4	5	6	7	8	9	10	11	12	2019/1	2	3	計
クロアワビ	不明							1	1	1				3
エゾアワビ	不明								1					1
メガイアワビ	不明							1	1	1				3
クルマエビ	不明				1						1			2
	健康診断			1	1									2
イセエビ	不明												1	1
海産無脊椎動物計		0	0	1	2	0	0	2	3	2	1	0	1	12

VI 水産用ワクチン使用状況

1. 注射ワクチン

1) 単味ワクチン ブリ属魚類のα溶血性レンサ球菌症ワクチンは、ブリ、カンパチ、ヒラマサで使用され、それぞれ指導書発行件数が48、1、2件、使用経営体数が31、1、2経営体、投与尾数が2,473,000、80,000、32,000尾、使用量が247.3、8.0、3.2L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90%、カンパチで100%、ヒラマサで約63%を占めた。β溶血性レンサ球菌症ワクチンは、ヒラメで使用実績がなかったが、カワハギで指導書発行件数が2件、使用経営体数が2経営体、投与尾数が40,000尾、使用量が4.0Lであった。ヒラメのエドワジエラ症ワクチンは、指導書発行件数が1件、使用経営体数が1経営体、投与尾数が5,000尾、使用量が1.0L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 ブリ属魚類のα溶血性レンサ球菌症およびビブリオ病ワクチンはブリ、カンパチ、ヒラマサで使用され、それぞれ指導書発行件数が4、6、3件、使用経営体数が4、5、3経営体、投与尾数が318,000、50,000、30,000尾、使用量が31.8、5.0、3.0Lであった。ヒラメのβ溶血性レンサ球菌症及びストレプトコッカス・パラウベリス感染症 (I、II型) ワクチンは、指導書発行件数が12件、使用経営体数が7経営体、投与尾数が184,000尾、使用量が

18.4Lであった。ブリとカンパチのα溶血性レンサ球菌症及び類結節症ワクチン、ブリ属魚類のα溶血性レンサ球菌症及びマダイイリドウイルス病ワクチン、マダイのβ溶血性レンサ球菌症及びマダイイリドウイルス病ワクチンは使用実績がなかった。

3) 三種混合ワクチン ブリ属魚類のα溶血性レンサ球菌症、ビブリオ病及びマダイイリドウイルス病ワクチンはブリとカンパチで使用され、指導書発行件数が7、4件、使用経営体数が4、4経営体、投与尾数が346,000、127,000尾、使用量が34.6、12.7L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、ならびにカンパチのα溶血性レンサ球菌症、ビブリオ病及びストレプトコッカス・ジスガラクチエ感染症不活化ワクチンは使用実績がなかった。

4) 四種混合ワクチン ブリ属魚類のα溶血性レンサ球菌症、ビブリオ病、類結節症及びマダイイリドウイルス病ワクチンはブリとカンパチで使用され、指導書発行件数が10、1件、使用経営体数が7、1経営体、投与尾数が201,300、26,000尾、使用量が20.13、2.6Lであった。

5) 経口ワクチン

ブリ属魚類のα溶血性レンサ球菌症ワクチンはブリで使用され、指導書発行件数が4件、使用経営体数が2経営体、投与尾数が40,000尾、使用量が15.0Lであった。

# 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、全国上位の生産量(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以降、県産養殖ヒラメでの食中毒事例はない。市場における県産ヒラメの安全性に対する信頼は回復基調にあるが、さらに安全性を確保するために、本事業では以下の検査・調査を行った。

##### 1. 種苗導入時抜き取り検査

2014年度以降毎年、県内に導入された種苗を検査(種苗健全性調査)することで、防疫体制の強化を図っており、2018年度も同様に検査を行った。

##### 2. ヒラメ養殖海域清浄性調査

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

#### 事業の方法

##### 1. 種苗導入時抜き取り検査

2018年4月～2019年3月に、養殖業者25経営体の池入れ直前のヒラメ種苗69ロット(原則20～30尾/ロット)を採取して検査を実施した。

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

##### 2. ヒラメ養殖海域清浄性調査

2018年4月～2019年3月に毎月1～2回の頻度で、佐伯市下入津地区の陸上ヒラメ養殖場の飼育注水及び、水産研究部内で使用している生海水を調査した。それぞれの調査地点において、定量送液ポンプを毎分1.5mlの送液量で約24時間連続運転させ、遮光採水瓶に約2Lになるように採水した。ナナホシクドアを含む粘液胞子虫の生活環は、魚類と環形動物を交互に宿主とするもので、環形動物の体内で形成された放線胞子と呼ばれる感染力を有した虫体が水中に放出され、魚体に接触することで経皮感染する<sup>2)</sup>。環形動物から水中に放出される正確な時機は不明だが、遊泳ではなく潮流によって拡散すると思われるため、潮流がおおきくなる大潮時に採水を行った。

実験室に搬入後、直ちに6種類のフィルター(ナイロンメッシュ[孔径100 $\mu$ m]とアイソポア[10, 5, 3, 1.2, 0.4 $\mu$ m]、Millipore社)で懸濁物を濾過した<sup>3)</sup>。懸濁物を含むフィルターからDNAを抽出しK. *septempunctata*遺伝子検出リアルタイムPCR<sup>4)</sup>に供した。

#### 事業の結果

##### 1. 種苗導入時抜き取り検査

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

表1 NASBA-核酸クロマトグラフィー法検査結果

対象	業者数	ロット数	検体数	陽性数
津久見	1	1	30	0
佐伯	4	12	248	0
米水津	2	8	160	0
養殖場 上入津	3	6	130	0
下入津	13	38	710	0
蒲江	1	2	49	0
名護屋	1	2	40	0
合計	25	69	1367	0

##### 2. ヒラメ養殖海域清浄性調査

2018年4月～2019年3月に計16回実施した採水調査の結果が表2である。両調査地点の海水からナナホ

シクドアの遺伝子は検出されなかった（表2）。

海水回収日	PCR検査結果*	
	養殖場	水産研究部
2018/4/17	-	-
2018/5/16	-	-
2018/6/14	-	-
2018/6/28	-	-
2018/7/13	-	-
2018/7/27	-	-
2018/8/10	-	-
2018/8/24	-	-
2018/9/11	-	-
2018/9/26	-	-
2018/10/25	-	-
2018/11/22	-	-
2018/12/21	-	-
2019/1/22	-	-
2019/2/19	-	-
2019/3/20	-	-

\* - : ナナホシクドア陰性

## 今後の問題点

### 1. 種苗導入時抜き取り検査

2018年度に大分県内の養殖場に導入された69ロットのヒラメ種苗からナナホシクドアは検出されず、種苗生産場のナナホシクドア防除努力が評価された。一方で、ナナホシクドアによる食中毒を防止するために、今後もNASBA-核酸クロマトグラフィー法と同等以上の検出感度を有する方法で検査を継続することが必要である。

### 2. ヒラメ養殖海域清浄性調査

ナナホシクドアについては夏季が感染時期<sup>5)</sup>とされているため、本事業においても6月から9月の間は毎月2回の調査を実施し、合計16回の採水調査を実

施したが、2地点ともナナホシクドアの遺伝子が検出されることはなかった。しかしながら、検出感度の問題に加えて、採水調査の頻度やタイミングにずれが生じた可能性も否定できないため、調査海域の清浄性を明確にするまでには至らなかった。

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

## 文献

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

## 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

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（2017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が、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については調べられていない。

そこで、県内のヒラメ養殖業者に委託し養殖行程での緑色LED照射による成長促進効果を明らかにする。また、現状LED光の灯具が高額なため、ヒラメ養殖場の全水槽に導入するのが困難であると考えられることから、今年度は1水槽にのみ灯具を設置し、高密度飼育が可能な種苗導入期から分槽までの期間緑色光を照射した場合を想定し、緑色光の限定的な使用による成長促進効果を明らかにする。

### 事業の方法

#### 1. H29試験

飼育試験は津久見市のヒラメ養殖業者に委託した。当部栽培資源チームが生産したヒラメ種苗（平均体重20.6g）を角型コンクリート水槽（4.5×4.5m、水深約0.3m）3面に各600尾（収容密度30尾/m<sup>2</sup>）収容し、2017年9月に試験を開始した。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、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、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。また、LED光を照射した2区は、天井からの若干の自然光を取り入れた。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。毎月各区約20尾を取り上げ、当部に持ち帰り、体重、全長、体長、体高、体幅を、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。試験は2018年9月まで行い、最終測定日は各区50尾を取上

げ、同様に測定を行った。

最終測定日のサンプルについて、肉質を検討するため、一般成分分析、当部職員15名による官能検査、味覚センサ分析（別府大学委託）、レオメーター（株式会社サン科学 CR-100）による物性測定を行った。一般成分分析については各区10個体分の有眼側背身を同割合で混合し、水分を常圧加熱乾燥法、粗たんぱく質を改良ケルダール法、粗脂肪をクロロホルム-メタノール法、灰分を直接灰化法により求めた。味覚センサ分析には各区10個体分の有眼側腹身を同割合で混合し、分析用サンプルとした。物性測定は有眼側背身の中央部を用い、体軸方法に対して垂直に厚さ10mmで切り出し、各区3個体から3切れについてそれぞれ3か所を測定した。

直径3mmの円柱状プランジャーを用い、貫入速度は1.0mm/秒とし、その時の最大荷重値を破断強度とした。

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。

#### 2. H30試験

飼育試験はH29試験と同様、津久見市のヒラメ養殖業者に委託した。民間種苗生産会社が生産したヒラメ種苗（平均体重14.1g）を角形コンクリート水槽（4.5×4.5m、水深約0.3m）2面に各1,500尾（収容密度74尾/m<sup>2</sup>）収容し、2018年11月に試験を開始した。

自然光、自然日長で飼育した区を対照区とし、緑色LED（スタンレー電気株式会社製）を照射した区をLED区とした。LED光の照射時間は6:00～18:00の12時間とした。LED区は天井からの若干の自然光を取り入れた。飼育水や給餌方法、体測方法、水温測定方法はH29試験と同様とした。

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

結果及び考察

1. H29試験

測定結果のうち、平均体重の推移を示したのが図1である。最終測定日における各区の平均体重はスタンレー区776.2g、市販区553.8g、対照区481.6gであり、いずれの区間にも有意な差が認められた(Steel-Dwass、対照区-スタンレー区間 $P<0.01$ 、対照区-市販区間 $P<0.05$ 、スタンレー区-市販区間 $P<0.01$ )。また、試験期間を通しての餌料効率はスタンレー区95.9%、市販区88.3%、対照区90.9%でありスタンレー区が最も高かった。

一般成分分析ではスタンレー区と対照区の間で粗脂肪、粗灰分にそれぞれ有意な差があった(Tukey-Kramer、粗脂肪： $P<0.01$ 、粗灰分： $P<0.05$ ) (表1)。官能検査では外観でスタンレー区と対照区の間で有意な差が認められた(Steel-Dwass、 $P<0.01$ )ものの、他の項目では差が無かった(図2)。味覚センサによる分析では、味のある項目として、苦味雑味、渋味刺激、旨味、旨味コクが検出され、スタンレー区は対照区と比較し苦味雑味、旨味コクが低値であった(図3)。破断強度は平均値がスタンレー区181.5g、市販区171.7g、対照区147.8gであった。スタンレー区と対照区、市販区と対照区の間で有意に差があり(Steel-Dwass、スタンレー区-対照区間 $P<0.01$ 、市販区-対照区間 $P<0.05$ )、スタンレー区、市販区、対照区の順で高かった(図4)。

試験期間中の水温は11.7~25.1℃で推移した。

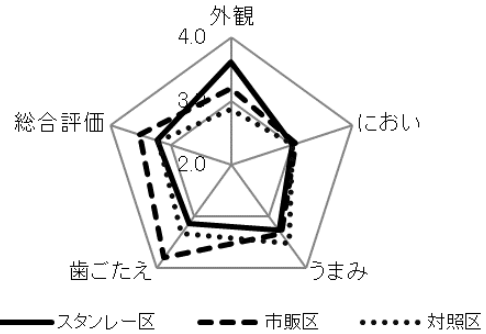


図2 官能検査の結果

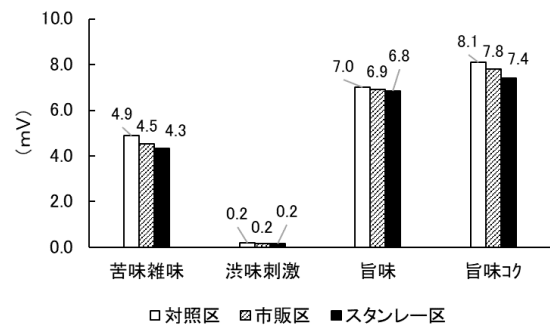


図3 味覚センサの結果

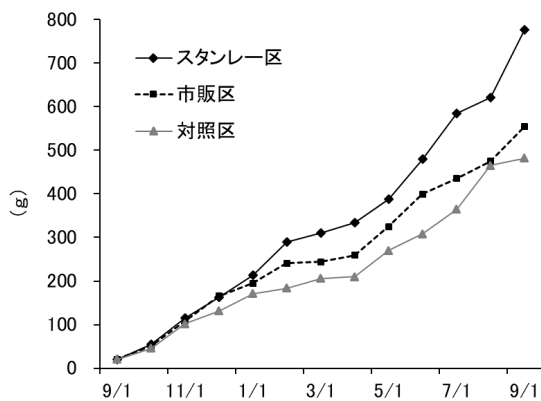


図1 平均体重の推移

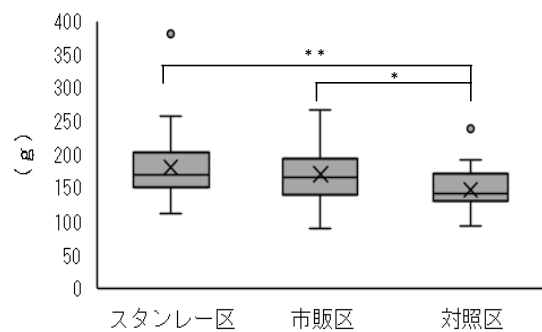


図4 各区の破断強度

表1 成分分析の結果

	水分	粗たんぱく質	粗脂肪	粗灰分
スタンレー区	75.3 ± 1.3	22.6 ± 1.5	1.2 ± 0.0	1.5 ± 0.0
市販区	74.8 ± 1.0	22.2 ± 1.2	1.1 ± 0.0	1.5 ± 0.0
対照区	75.4 ± 0.4	23.5 ± 1.3	1.0 ± 0.1	1.4 ± 0.0

Tukey-Kramer \*\*:  $P<0.01$ , \*:  $P<0.05$

## (2) H30試験

平均体重の推移を示したものが図5である。今後各区についての測定を継続して行う。

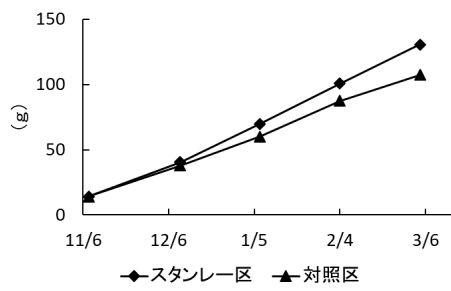


図5 平均体重の推移

## 水産資源回復強化事業

甲斐桑梓・木本圭輔・福田 穰

### 事業の目的

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

本事業では、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PCR法による検査を実施した。

### 事業の方法

公益社団法人大分県漁業公社が生産したクルマエビ2ロットについて、木村ら<sup>1)</sup>の方法に従い1ロットにつき60尾検査した。なお、3尾をプールし1検体とした。

### 事業の結果

公益社団法人大分県漁業公社が生産したクルマ種苗について、合計2ロット120尾を検査したが、WSSVの遺伝子は検出されなかった（表1）。

表1 WSSV検査結果

No.	検体採取日	平均体重 (mg)	PCR検査日	陽性数
1	2018/6/15	7.1	2018/6/19	0
2	2018/7/5	6.4	2018/7/9	0

### 文献

1) 木村武志, 山野恵祐, 中野平二, 桃山和夫, 平岡三登里, 井上潔. PCR法によるPRDVの検出. 魚病研究. 1996;31(2):93-98.

# ブリ類養殖業成長産業化推進事業

## 輸出用ブリ生産手法の確立

福田 穰・甲斐桑梓・木本圭輔

### 事業の目的

大分県の水産業の主力であるブリ類養殖業の成長産業化に向けて、養殖ブリの輸出拡大の取組を推進するために、輸出相手国の基準に対応した生産手法を確立することが、本事業の目的である。

2015年のブリの輸出実績では、米国への輸出量(6,650t)が圧倒的に多い状況にあり、米国は日本の養殖ブリの最大かつ最重要の市場となっている。<sup>1)</sup>一方で、米国食品医薬品局(FDA: Food and Drug Administration)は、米国内に供給される全ての食品にHACCPに基づく安全管理を義務付けており、米国で未承認の動物用医薬品を使用した養殖水産物の輸入を認めていない。現在日本のブリ類養殖で使用可能な水産用抗菌剤のうち、米国でも承認されている成分はフロルフェニコール(FF)とオキシテトラサイクリン(OTC)だけである。<sup>2)</sup>

養殖現場における抗菌剤の不適切な使用は薬剤耐性菌の出現につながり、魚病細菌がFFやOTCに耐性化すれば輸出用の魚類養殖生産を困難化させることになる。そこで本事業では、ブリ養殖における水産用FF製剤の投与法について比較検討を行った。

### 事業の方法

#### 1. FF製剤添加飼料からの有効成分の散逸

供試飼料にはハマチEPプレミア4号S(中部飼料)を吸水性EPとして用いた。吸水性EPにフィードオイルを25%(w/w)外添したものを非吸水性EPとした。なお、これらのEP飼料を海水に60秒間浸漬した場合の吸水率は、吸水性EPで約60%、非吸水性EPで約16%であった。

供試FF製剤には、FFを20mg/mL含む液剤であるアクアフェンL(インターベット)と、FFを25mg/g含む散剤であるアクアフェン(インターベット)を用いた。また、供試した市販展着剤は、展着剤A(グアールガム、カルボキシメチルセルロースナトリウムおよびポリアクリル酸ナトリウムの混合物)と展着剤B(アルギン酸ナトリウム)である。

飼料種類、製剤形態および展着剤種類の異なる組合せで調製した計12種のFF製剤添加EP飼料を散逸試験に供した(表1)。製剤添加の方法は、吸水性EPでは製剤を蒸留水で希釈(液剤)または懸濁(散剤)して飼料と混合後に、展着剤不使用または展着剤A、Bの添加混合で6種の製剤添加吸水性EPを調製した。非吸水性EPでは液剤および散剤を飼料と混合後に、フィードオイルまたは展着剤A、B(添加混合後に蒸留水10mLを追加混合)を添加混合して6種の製剤添加非吸水性EPを調製した。

散逸実験は、ビーカー中のろ過海水1,000mLをマグネチックスターラーで攪拌しながら、水切りネットに入れた50gのFF製剤添加EPを、水面付近に60秒間浸漬した後に水を切って回収する方法で行った(各飼料について3回実施し、得られた試料をプールしてFF定量に供した)。海水浸漬前後のFF製剤添加EPについて、重量の変化から吸水量を求めるとともに、一般財団法人日本食品検査に委託して高速液体クロマトグラフィー法により各飼料中のFFを定量した。<sup>3)</sup>各飼料の海水浸漬前後のFF濃度の変化を吸水量で補正して、飼料から失われたFF量の割合(散逸率)を算出した。

#### 2. FF製剤添加飼料投与後の魚体内の有効成分濃度

平均体重222gのブリ0歳魚を2日間絶食させて実験に供した。給餌率2%相当量のハマチEPプレミア8号(中部飼料)とFF液剤(FF投与量は10mg/kg魚体重)を混合した後、展着剤Aを添加混合して、さらに液剤と等量の蒸留水を追加混合したものを、FF添加EP飼料とした。また、マアジミンチとFF散剤添加配合飼料を8:2の割合で混合(給餌率4%相当量)成形したものをFF添加モイストペレット(MP)飼料とした。FF散剤添加配合飼料はMP用粉末飼料にFF散剤(FF投与量は10mg/kg魚体重)と展着剤Aを、調餌直前に添加混合したものである。

各区55尾の供試ブリにFF添加EP飼料(給餌率2%)およびFF添加MP飼料(給餌率4%)を自由摂餌で1回投与して、投与前および投与3、6、12および24時間後に各区10尾から採血および肝臓採取を行った(水温20℃)。採取血液からは遠心操作で血清を分離し、



実験区ごとに各個体分を等量に混合してプール血清試料としてFF定量に供した。肝臓についても同様にプール試料を作製してFF定量に供した。FFの定

量は一般財団法人日本食品検査に委託して、高速液体クロマトグラフィー法により行った。<sup>4)</sup>

表1 フロルフェニコール製剤添加飼料からの有効成分の散逸

飼料	FF製剤	展着剤	水	散逸率 (%)
吸水性EP (400g)	液剤 (5mL+水35mL)	—	—	7.10
		A (0.4%)	—	0.61
		B (1.0%)	—	6.68
	散剤 (4g+水40mL)	—	—	33.0
		A (0.4%)	—	19.3
		B (1.0%)	—	27.4
非吸水性EP (400g)	液剤 (10mL)	フィードオイル	—	73.7
		A (0.4%)	10mL	30.1
		B (1.0%)	10mL	24.5
	散剤 (8g)	フィードオイル	—	70.1
		A (0.4%)	10mL	45.7
		B (1.0%)	10mL	38.3

## 事業の結果および考察

### 1. FF製剤添加飼料からの有効成分の散逸

散逸実験に供試した12種のFF製剤添加EP飼料について、海水に60秒間浸漬した場合の有効成分の散逸率を示したものが表1である。

飼料種類と製剤形態の組合せでは、吸水性EPに液剤使用の散逸率が最も低く、展着剤不使用でも約7%にとどまった。次いで吸水性EPに散剤使用が低く、展着剤不使用で33%の散逸率となった。いずれも展着剤の使用によって散逸が低減され、吸水性EPには展着剤Aが優れているように思われる。

一方で、非吸水性EPで展着剤を使用せずにオイルコーティングした場合は、製剤形態にかかわらず70%以上が散逸した。この投薬法は、養殖現場でしばしば見かけるが、散逸リスクがきわめて高いため避けなければならない。非吸水性EPでも展着剤の使用によって散逸率を25~46%程度に抑えることができたが、展着剤はBに優位性がうかがわれた。

ブリ養殖現場における通常の投薬作業では、空腹な魚群に投与された薬剤添加飼料が、瞬時に摂食されてしまうため、飼料が海水中を60秒間漂うことはほとんどないと思われる。しかしながら、低水温期や病状悪化後の投薬など、魚群の食欲が低下して摂餌に時間がかかる場合には、漂う餌から流れ出た薬の臭いによってさらに餌食いが悪くなる悪循環が想像される。抗菌剤の散逸は、投薬効果の低下だけでなく、薬剤耐性菌出現の要因となるため、養殖現場では可能な限り散逸リスクの低い投薬法への改善努力が必要である。

### 2. FF製剤添加飼料投与後の魚体内の有効成分濃度

ブリにFFを添加した添加EP飼料またはMP飼料を自由摂餌で投与した後の、魚体内のFF濃度の変化は図1および2に示したとおりである。なお、供試し

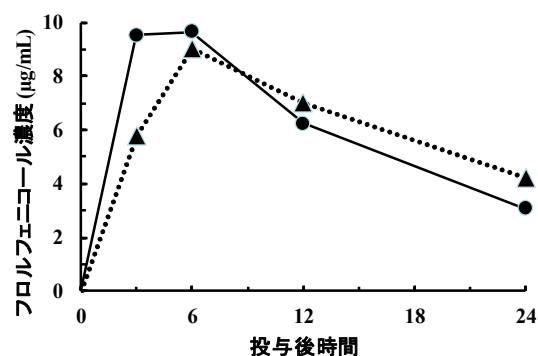


図1. EP飼料(●)およびMP飼料(▲)に添加したフロルフェニコール(10mg/kgBW)をブリに自由摂餌で1回投与した場合の血清中濃度の変化。

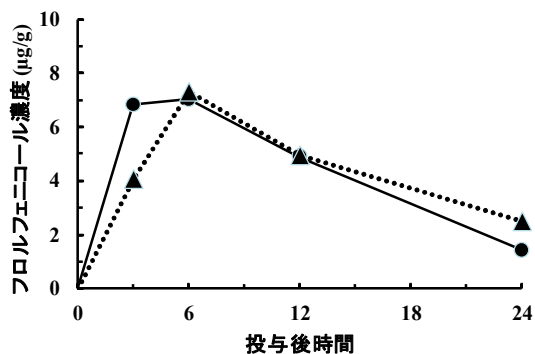


図2. EP飼料(●)およびMP飼料(▲)に添加したフロルフェニコール(10mg/kgBW)をブリに自由摂餌で1回投与した場合の肝臓中濃度の変化.

たFF添加EP飼料は、表1の非吸水性EP-液剤-展着剤A(散逸率30.1%)を想定して調製したものである。

FF投薬後の魚体内濃度は、飼料種類および製剤形態にかかわらず6時間で最大に達した。血清中FF濃度の最大値は、EP飼料で9.65μg/mL、MP飼料で9.04μg/mL、肝臓中ではEP飼料で7.03μg/g、MP飼料で7.29μg/gであり、投薬に使用した飼料の影響はみられなかった。水温23.5~25°Cで10mg/kgBWのFFをブリ0歳魚に1回強制投与した場合の最大濃度は、血液で1.5時間後に4μg/mL付近(血清に換算すると8μg/mL)、肝臓で3時間後に3μg/g付近であることが報告されている。<sup>5)</sup> 今回の実験開始時の供試魚は空胃状態であり、薬剤添加飼料の摂食は数秒で終了した。魚体内濃度の最大値を既報<sup>5)</sup>と比較しても、ブ

リの自由摂餌中に薬剤散逸はほとんどなかったものと思われる。

EP飼料など固形飼料への添加用に開発されたFF液剤に対して、FF散剤は粉末飼料との混合で均一な添加が可能なMPなどへの使用が普通である。投薬に使用する飼料種類によって製剤形態を選択し、有効成分の散逸リスクを低減するための展着剤を使用することが重要である。また、投薬時の所要時間(餌が魚に摂食されるまでの時間)を短縮するために、投薬前の餌止めが必須であることは言うまでもない。

## 文献

- 1) 山瀬茂継. 輸出促進, 「ブリ類の科学」(虫明敬一編) 朝倉書店, 東京. 2019; 186-194.
- 2) FDA. Aquaculture drugs. Fish and fishery products hazards and controls guidance fourth edition, 2011; 183-207.
- 3) 小野雄造, 渡部千会. 飼料中のフロルフェニコールの液体クロマトグラフによる定量法(中間報告). 飼料研究報告 2009; 34: 67-72.
- 4) 上野隆二, 寺門弘悦, 青木恭彦. 高速液体クロマトグラフィーによる養殖ブリ中のフロルフェニコールの定量 2000; 24: 23-29.
- 5) 武田薬品工業株式会社アグロ事業部・技術普及室. 水産用フロルフェニコール製剤「アクアフェン」について. 獣医界 1991; 132: 63-73.

## 高品質かぼす養殖魚創出事業

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、この技術を応用展開し、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。具体的には、昨年度生産マニュアルに暫定基準として記載された新たなカボス資材である生果皮について、基準量（1%15回）投与後の効果持続期間の検討を行った。

### 事業の方法

#### 1. ヒラマサ

供試魚は臼杵市佐志生（A社）、佐伯市蒲江森崎裏（B社）、佐伯市蒲江畑野浦（C社）の3生産者が養殖した体重約3～5kgのものを使用して試験を行った。A社の試験期間は2018/2/1～2018/6/7、B社は2018/5/28～2018/8/3、C社は2018/10/22～2019/1/28であった。各生産者が使用しているモイストペレット（MP）にカボス果皮粉末0.5%を外添し、20回～21回給餌した。その後は同じくカボス生果皮5%を外添し、A社、B社は9～10回で、C社は5回で生果皮を150kg給餌した。その後、A社、C社では果皮粉末を給餌し、C社は生果皮を8回追加で給餌し、生果皮総計300kgを給餌した。飼育魚をカボス給餌区と無給餌区（対照区）から各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（リモネン定量用は普通筋のみ）、味覚分析は別府大学で、リモネンの定量は民間検査機関で実施した。

#### 2. シマアジ

供試魚は佐伯市蒲江西野浦の生産者が養殖した体重約1.2kgのものを使用して試験を行った。試験

期間は2018/6/28～2018/8/21であった。生産者が使用しているMPにカボス果皮粉末0.5%を外添して試験区とした。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

供試魚は佐伯市蒲江西野浦のD社およびE社が生産した平均体重869～1051gのヒラメを使用した。試験期間はD社が2018/10/17～2018/11/19、E社は2019/1/21～2019/2/24であった。各生産者が使用しているMPに1%のカボス生果皮を外添し（以下、生果皮MP）、D社は生果皮MPを15回給餌後の11月1日、生果皮MP15回、通常MP7回、生果皮MP1回給餌後の11月9日、生果皮MP15回、通常MP7回、生果皮MP1回、通常MP1回、生果皮MP2回、通常MP3回、生果皮MP5回給餌後の11月20日にそれぞれ3尾ずつサンプリングし、筋肉、肝臓、えんがわ中のリモネンを定量した。E社は週に3～5回生果皮MPを15回給餌し、その後通常MPを7回給餌した2月25日に3尾サンプリングを行い、筋肉、肝臓、えんがわのリモネン含量について個体ごとに定量した。

また、D社の11月9日のサンプルについては対照区（生果皮MP無給餌区）を同様に3個体サンプリングし、筋肉を用いてにおい嗅ぎ付きガスクロマトグラフィーによるにおい成分の分析を行った。

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

### 事業の結果および考察

#### 1. ヒラマサ

試験結果は表1に示したとおりである。対照区が存在したA社、B社において、粉末20回程度、生果皮10回程度の給餌では、カボス給餌区の方が対照区より0.8～1.5%向上した。A社で粉末を43回、生果皮10回を給餌した6/7では肥満度が0.3%減少した。以上より、本試験におけるカボス給餌での肥満度への影響はほとんどないと考えられた。

筋肉中のリモネン量は0.02～0.40mg/100gであっ

た。粉末を給餌後、生果皮を追加給餌したA社の4/23、C社の12/6及び1/28ではリモネン量が2倍程度増加した。しかしB社ではほとんど増加は見られなかった。B社は生果皮の追加給餌中、台風による筏の移動等で約1ヶ月間で9回しか給餌ができず、休餌期間が長かったことの影響が推測された。魚への通算粉末給餌量（生果皮は粉末の20%に相当）とリモネン量に一定の関係は見られなかった。粉末給餌はA社の6/7、C社の1/10で、前回のリモネン量より減少しており、生果皮給餌に比べリモネンの蓄積の効果が小さいことが推測された。以上より、筋肉へのリモネン量増加には生果皮給餌が有効であることが示唆された。

褐変到達時間は期間中71～131時間であった。既報により、ブリでは生殖腺指数の増加に伴い褐変

到達時間が著しく減少するが<sup>1)</sup>、ヒラマサは減少しなかった。対照区と比較した褐変延長時間はB社の8/2を除き、20～37時間であった。ブリへのカボス給餌による褐変延長効果は休餌により減小し、その効果は2週間程度であること<sup>2)</sup>から、B社の8/2については前述の台風の影響と考えられた。

味覚センサによる分析値は図1、図2、図3に示したとおりである。分析サンプルはA社では4/23、B社では8/2、C社では12/6のもので、ともに果皮粉末を20回程度、生果皮を150kg給餌したものである。A社、C社では対照区と比較し、カボス給餌区で旨味コクが低値であった。B社では差が見られなかった。同様に休餌期間や時期の違いなどの影響が考えられる。

表 1 カボスを給餌したヒラマサの試験結果

生産者	検査日	給餌回数		体重 (g)	肥満度 (%)	※魚への通算粉末給餌量 (g/kg)	筋肉中のリモネン量 (mg/100g)	血合褐変時間 (時間)	褐変延長時間 (時間)	対照区と肥満度の差 (%)	生殖腺指数 (%)
		粉末	生果皮								
A社	30.3.29	20	0	4,677	15.4	1.70	0.05	対照区サンプルなし			0.80
	30.4.23	22	10	4,784	16.0	4.00	0.13	94	20	+1.5%	2.38
	30.6.7	43	10	4,526	14.5	9.57	0.02	136	29	-0.3%	3.87
B社	30.7.6	20	0	5,206	16.0	7.87	0.14	131	37	+0.8%	0.54
	30.8.2	20	9	4,858	15.1	10.27	0.15	83	-5	+1.2%	0.40
C社	30.11.26	20	0	2,966	15.2	5.55	0.10	103	対照区なし		0.06
	30.12.6	21	5	2,382	15.2	7.54	0.22	71			0.36
	31.1.10	34	5	3,212	15.2	9.08	0.16	94			0.52
	31.1.28	35	13	3,160	15.6	10.72	0.40	106			0.33

※ 生果皮は粉末に換算 (×0.2)

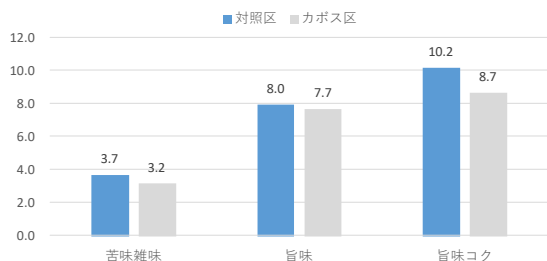


図1. A社の味覚分析結果

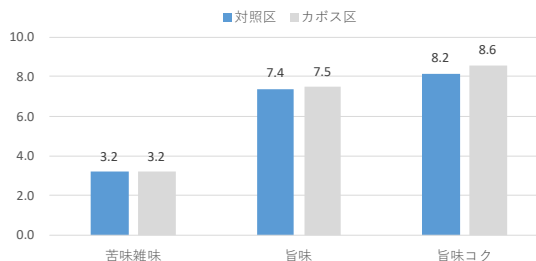


図2. B社の味覚分析結果

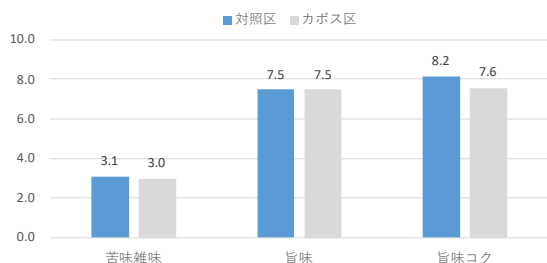


図3. C社の味覚分析結果

## 2. シマアジ

試験結果は表2に示したとおりである。肥満度は対照区と比較して、粉末25回給餌で0.9%減少、粉末30回給餌では1.1%増加した。本試験におけるカボス給餌での肥満度への影響は不明であった。

筋肉中のリモネン量は0.04~0.05mg/100gと低値であった。リモネン量を増加させるカボス給餌法の開発が必要である。

褐変到達時間は期間中50~53時間であり、対照区と比較した褐変延長時間は12~30時間であった。

味覚センサによる分析で苦味雑味、渋味刺激、旨味、旨味コクが検出されたが、対照区とカボス給餌区に差は見られなかった。

## 3. ヒラメ

D社におけるリモネン含量は、筋肉についてはかぼすヒラメ生産マニュアルにおける生果皮暫定基準の1%15回投与後0.04mg/100gに達し、その後は7回の通常MP投与を経ても0.03mg/100gまでの低下にとどまった。えんがわについても同様の傾向であったが、肝臓におけるリモネン含量は7回の通常MP投与で半減した。また、E社では15回投与直後のリモネン含量は測定していないが、D社と同様、7回の通常MP投与後は筋肉、えんがわのリモネン含量の平均値でそれぞれ0.04mg/100g、0.82mg/100gであり、両社とも生果皮の暫定基準である1%15回投与後は筋肉、えんがわについては7回程度の通常

MP投与を行っても大きな減少は見られなかった。

また、E社の3尾については個体ごとのリモネン含量について検討を行った。②のリモネン含量は筋肉、肝臓、えんがわとも①と同程度かまたはそれ以上であるのに対し、③は①の10~20%程度と非常に低く、個体差が大きいことが明らかとなった。なお、体重は①、②、③の順で大きく、①と②および③はそれぞれ100g、180gの差があったが、体重と摂餌量やリモネン吸収量の関係は不明である。

また、におい成分の分析ではHexanal、1-octen-3-one、1-octen-3-ol等の生臭さに関する成分はかぼすヒラメ、通常ヒラメともほとんど検出されず、明確な差が無かった。一方、かぼすヒラメでは柑橘系成分が多く検出された。

### 参考文献

- 1) 木藪仁和・都留久美子・川上恵・徳丸泰久：カボスを給餌して品質改良を行った養殖ブリの生産時期拡大のための諸検討(2019)大分水研調査研究報告，-
- 2) 木藪仁和・徳丸泰久：養殖業経営安全対策事業、平成24年度大分水研事業報告：105-107，2012

表2 カボスを給餌したシマアジの試験結果

検査日	粉末給餌回数	体重(g)	肥満度(%)	魚への通算粉末給餌量(g/kg)	筋肉中のリモネン量(mg/100g)	褐変到達時間(時間)	褐変延長時間(時間)	対照区と肥満度の差(%)
30.7.26	25	1,318	23.2	6.96	0.05	53	12	-0.9%
30.8.7	30	1,527	23.2	7.20	0.04	50	30	+1.1%

表3 カボス生果皮を給餌したヒラメの試験結果

生産者	検査日	給餌回数		体重(g)	リモネン含量(mg/100g)			
		生果皮	通常		筋肉	肝臓	えんがわ	
D社	2018/11/1	15	0	平均	1,051	0.04	0.66	0.80
	2018/11/9	16	7	平均	1,042	0.03	0.33	0.79
	2018/11/20	23	11	平均	932	0.04	0.55	0.75
E社	2019/2/25	15	7	①	963	0.05	0.49	0.98
				②	863	0.05	0.87	1.40
				③	782	0.01	0.08	0.09
				平均	869	0.04	0.48	0.82

## 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。今年度は酵素濃度を幅広く変え、酵素使用量と処理時間について検討した。

### 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8人が当施設を活用して、養殖ブリ、天然ワカメを使った加工食品（フライ、塩蔵ワカメなど）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、17件延べ60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	17
相談人数	60
対象水産物	養殖クロマグロ、ブリ、マアジ、マダイ、スズメダイ、ゴンズイ、アユ、イカ、ヒオウギガイ、エビ類

#### 3. 養殖ブリ内臓利用技術開発

大分県漁協のブリフィレ工場から排出された養殖ブリ内臓を用いた。内臓5～6尾分ずつをビニル袋に入れ-20℃で一旦冷凍させた後、冷蔵庫で24時間かけて緩慢解凍した。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

0.0025%、0.005%、0.01%、0.025%、0.05%、0.075%、0.1%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軽く水道水で洗浄し、5～6尾分（1,152～1,740g）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7.9～8.2であり、いずれも酵素の至適範囲であった。0.005～0.1%では、1時間でぬめりの除去が可能であった。また、0.0025%でも2時間後にはぬめりが除去できており、低濃度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15.8g/尾であり（内臓全体からの歩留まり5.2%）、昨年度は11.3g/尾（同3.0%）であり、短時間処理により歩留まりが向上する傾向があった。



図1 酵素反応2時間後に切開、洗浄した胃袋  
(左から0.05%、0.01%、0.005%、0.0025%)



図2 酵素反応1時間後に切開、反応停止後、  
洗浄した胃袋  
(左から0.025%、0.05%、0.075%、0.1%)

## 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 seriola*や*Neobenedenia girellae*)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経費軽減と、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

ブリ

大分県入津湾から購入した天然種苗(平均体重217.9g)を2018年11月6日に淡水浴し、3m角の小割網生簀に各区20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5%添加(梅酢5%区)または10%添加(梅酢10%区)して日間給餌率3%で給餌した。対照区には梅酢無添加のEPを同様に給餌した。給餌は6回/週行なった。試験期間中の水温は17.6~19.8℃であった。

試験飼料を12回給餌後および24回給餌後に各区10尾を取り上げ、体表に寄生したハダムシ類を淡水処理で全て回収し70%(v/v)エタノールで固定して計数した。

#### ヒラマサ

大分県漁業公社で生産されたヒラマサ(平均体重184.6g)を、2018年10月29日に淡水浴した後、3m角の小割網生簀3面に各区30尾ずつ収容した。その後は上記ヒラマサと同様の試験を行った。試験期間中の水温は17.2~20.6℃であった。

#### 2. ワクチンの効果

ブリ・カンパチ

ブリ(平均体重103.3g)、カンパチ(平均体重101.8g)ともに入津湾から購入した天然種苗を供試した。供試魚は、2018年9月7日に淡水浴し、4日後に供試ワ

クチン等を体側筋に接種し、イラストマーで標識した後、3m角の小割網生簀に各区20尾ずつ収容した。供試ワクチンは試作DNAワクチン(DNA区)である。対照として空ベクター(空ベクター区)とPBS(PBS区)を同様に接種した。試験期間中は市販ブリ類用EPを日間給餌量2.5%で給餌した。試験期間中の水温は21.2~25.0℃であった。

ワクチン接種22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淡水処理で全て回収し70%エタノールで固定して計数した。

#### ヒラマサ

大分県漁業公社で生産されたヒラマサ(平均体重105.9g)を2018年10月1日に淡水浴し、3日後に供試ワクチン等を体側筋に接種し、イラストマーで標識した後、3m角の小割網生簀に各区20尾ずつ収容した。供試ワクチンは、試作DNAワクチン3種類(それぞれDNA①~③区)及び3種類を混合したもの(DNA混合区)である。対照として空ベクター(空ベクター区)とPBS(PBS区)を接種した。試験期間中は市販ブリ類用EPを日間給餌量2.5%で給餌した。試験期間中の水温は21.2~25.0℃であった。

ワクチン接種14日後及び27日後にそれぞれ各区20尾を取り上げ、体表に寄生したハダムシ類を淡水処理で全て回収し70%エタノールで固定して計数した。

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

## 結果

#### 1. 梅酢の添加効果

ブリ

試験飼料12回給餌後のブリ1尾あたりの平均ハダムシ類寄生数は、対照区で2.2個体、梅酢5%区で3.2個体、梅酢10%区で1.5個体であった(図1)。また、24回給餌後ではそれぞれ3.4個体、2.3個体、3.2個体であった(図2)。12回給餌後の5%区と10%区の間だけで有意差があった(Steel-Dwass,  $p < 0.05$ )。

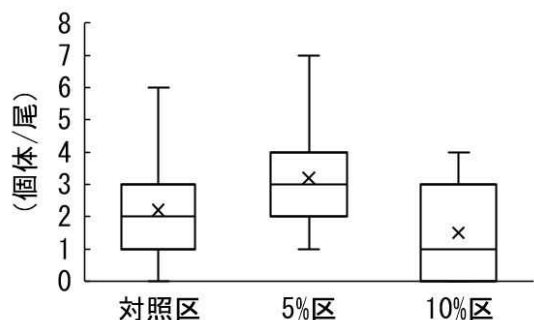


図1 試験飼料12回給餌後のハダムシ類寄生数（ブリ）

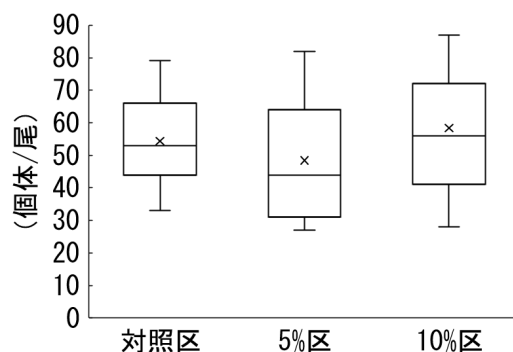


図4 試験飼料24回給餌後のハダムシ類寄生数（ヒラマサ）

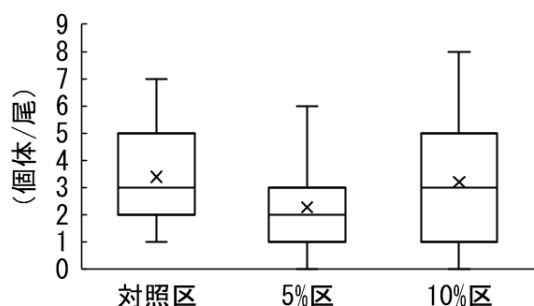


図2 試験飼料24回給餌後のハダムシ類寄生数（ブリ）

### ヒラマサ

試験飼料12回給餌後のヒラマサ1尾あたりの平均ハダムシ類寄生数は、対照区で43.0個体、梅酢5%区で48.7個体、梅酢10%区で35.2個体であった（図3）。また、24回給餌後ではそれぞれ54.3個体、48.4個体、58.4個体であった（図4）。12回給餌の5%区と10%区の間だけで有意差があった（Tukey-Kramer、 $p < 0.05$ ）。

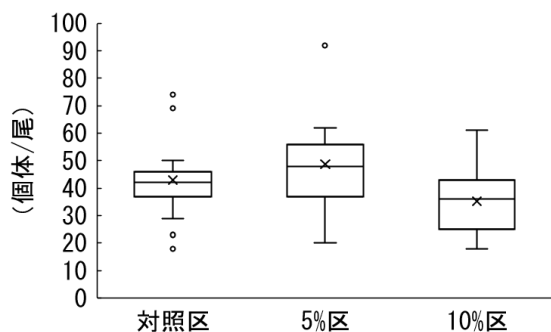


図3 試験飼料12回給餌後のハダムシ類寄生数（ヒラマサ）

## 2. ワクチンの効果

### ブリ・カンパチ

ワクチン接種22日後のブリ1尾あたりの平均ハダムシ類寄生数は、DNA区で2.8個体、空ベクター区で2.0個体、PBS区で1.7個体であった（図5）。カンパチではそれぞれ53.0個体、53.7個体、40.1個体であった（図6）。

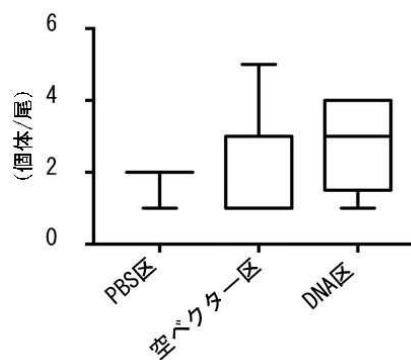


図5 ワクチン接種22日後のハダムシ類寄生数（ブリ）

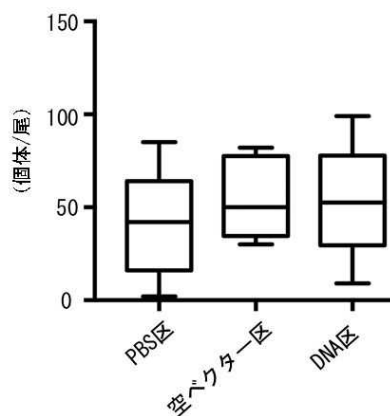


図6 ワクチン接種22日後のハダムシ類寄生数（カンパチ）



ヒラマサ

ワクチン接種14日後のヒラマサ1尾あたりの平均ハダムシ類寄生数は、DNA①区で25.7個体、DNA②区で27.4個体、DNA③区で24.0個体、DNA混合区で21.7個体、空ベクター区で28.7個体、PBS区で26.2個体であった。

ワクチン接種27日後のヒラマサ1尾あたりの平均ハダムシ類寄生数は、DNA①区で36.6個体、DNA②区で41.9個体、DNA③区で37.8個体、DNA混合区で37.2個体、空ベクター区で43.3個体、PBS区で37.6個体であった。

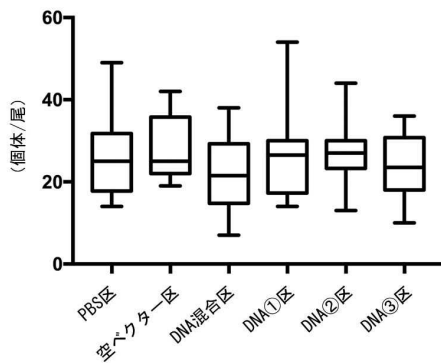


図7 ワクチン接種14日後のハダムシ類寄生数 (ヒラマサ)

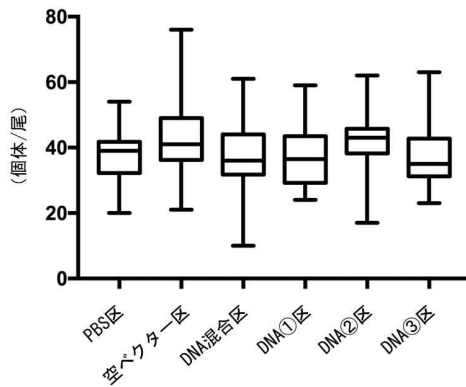


図8 ワクチン接種27日後のハダムシ類寄生数 (ヒラマサ)

## 安心・安全で環境に優しい養殖推進事業 環境調査

中里礼大・井口大輝

### 事業の目的

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

### 事業の方法

#### 広域調査

2018年8月30日～9月13日に、養殖漁場環境調査定点39点（図1）のうち、佐伯湾における調査定点10新長田～定点23大島の計14定点において、水質及び底質のモニタリング定期調査を実施した。

調査項目は、水温、塩分、透明度、溶存酸素（DO）、化学的酸素要求量（COD）、溶存無機三態窒素（DIN）及びリン酸態リン（PO<sub>4</sub>-P）の水質7項目及び、強熱減量（IL）、化学的酸素要求量（COD）及び酸揮発性硫化物（AVS）の底質3項目について調査した。

水質は、各調査点の4層（0、5、10、B-1m）または3層（0、5、B-1m）においてCTDを用いて水温、塩分、水深の測定を行った後、リゴ- 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<sup>1)</sup>、水質汚濁調査指針<sup>2)</sup>に基づき行った。なお、ILについては450℃・2時間の強熱後の測定値と、さらに550℃・6時間強熱処理した後の測定値を得た。

### 事業の結果

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

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14定点の内、7点がⅠ、6点がⅡ、1点がⅢに分類された。

### 文献

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

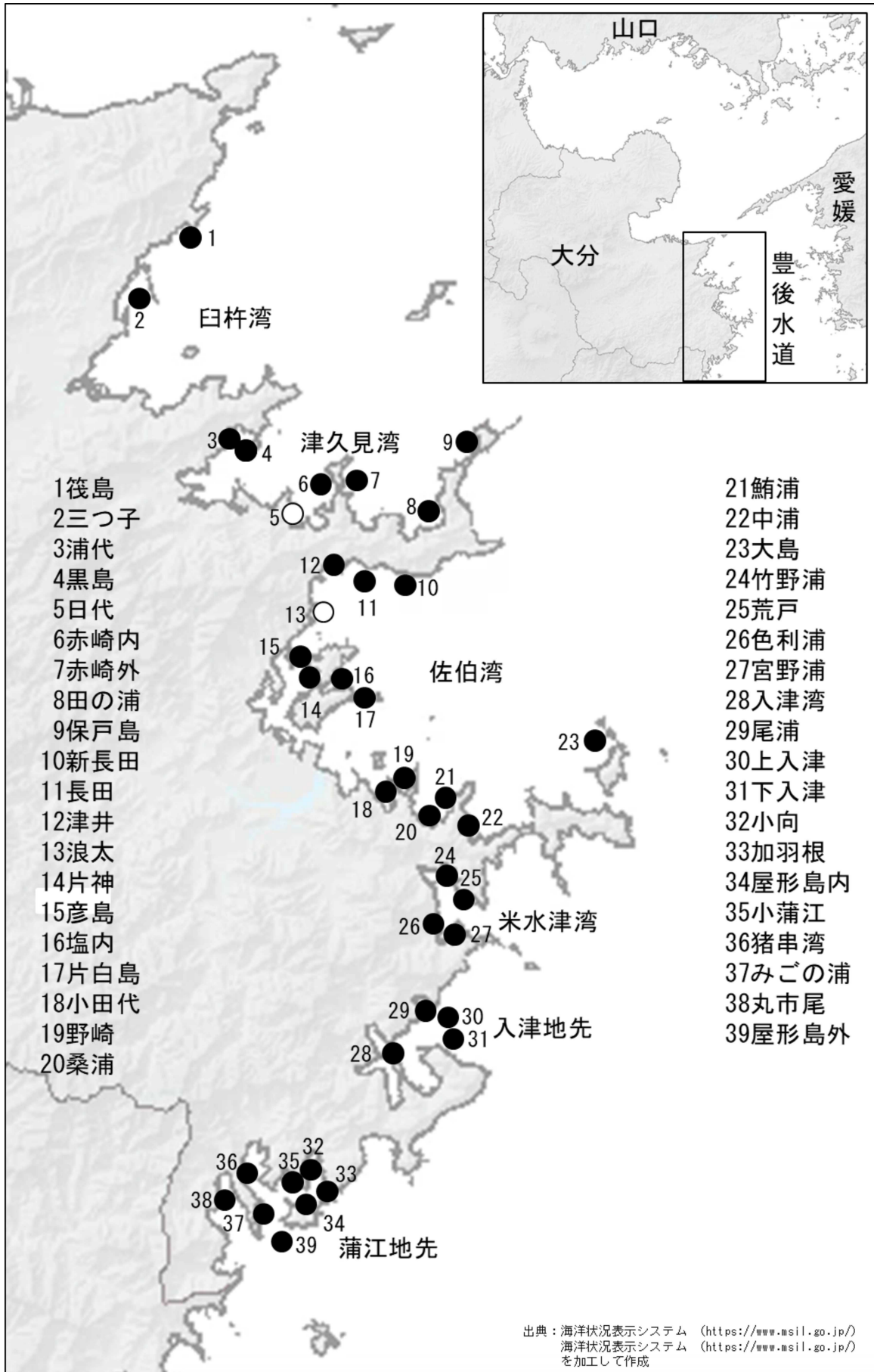


図1. 養殖漁場環境調査定点図

調査点 項目	上 浦				佐 伯				鶴 見			鶴 見			
	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	鮪浦	中浦	大島	
調査月日	9/7	8/30	8/30	8/30	8/30	8/30	8/30	8/30	9/13	9/13	9/13	9/13	9/13	9/13	
水深(m)	50.0<	40.3	16.0	26.2	22.8	20.1	25.5	32.9	22.7	23.9	20.1	38.5	32.5	50.0<	
T r (m)	10.0	7.0	5.0	5.0	3.5	5.0	7.0	7.0	5.5	7.0	8.0	8.0	7.0	10.0	
水温	0	-	25.6	26.3	26.2	26.7	26.0	25.1	25.2	23.9	23.7	23.5	23.6	23.4	22.8
	5	-	24.4	24.8	24.5	23.8	24.0	23.8	23.9	23.4	23.5	23.0	23.0	22.8	22.6
	10	-	23.9	23.7	23.7	23.3	23.3	23.5	23.5	23.2	23.2	22.9	22.8	22.5	22.4
	B	-	23.0	23.4	23.1	22.9	23.1	23.0	22.8	22.4	22.1	22.5	21.8	21.8	-
塩分	0	-	33.49	33.38	33.27	32.66	33.32	33.46	33.30	31.14	32.26	32.82	32.71	32.74	33.14
	5	-	33.62	33.49	33.56	33.52	33.43	33.65	33.54	33.27	33.30	33.36	33.36	33.26	33.26
	10	-	33.66	33.64	33.60	33.58	33.59	33.63	33.59	33.47	33.38	33.37	33.43	33.47	33.37
	B	-	33.69	33.64	33.65	33.58	33.61	33.63	33.64	33.53	33.56	33.50	33.61	33.60	-
DO	0	7.07	7.50	7.57	7.79	8.43	8.06	7.67	7.89	6.45	6.98	6.27	6.60	6.58	6.16
	5	7.01	6.49	7.60	8.01	6.71	7.21	7.28	7.57	5.80	6.45	6.06	6.13	6.23	6.30
	10	6.81	6.29	7.2	7.39	6.60	7.30	7.19	7.16	5.82	6.15	6.01	6.32	5.96	6.28
	B	5.94	6.28	6.41	6.31	5.34	6.51	6.05	5.89	5.80	5.83	6.05	5.86	6.02	6.14
D I N	0	0.66	0.05	0.30	0.06	0.08	0.04	0.06	0.06	6.88	1.87	1.68	2.45	2.20	3.76
	5	0.91	0.31	0.04	0.03	0.48	0.08	0.09	0.04	3.28	1.79	3.38	3.34	3.61	3.77
	10	1.30	0.55	0.0	0.05	0.36	0.05	0.21	0.10	3.24	3.11	2.38	3.44	3.81	4.09
	B	3.14	2.81	0.21	1.45	4.74	0.60	2.30	3.34	3.30	5.21	3.06	5.82	5.49	3.21
PO4-P	0	0.18	0.06	0.12	0.01	0.01	0.00	0.03	0.01	0.31	0.14	0.26	0.23	0.27	0.44
	5	0.21	0.07	0.02	0.02	0.10	0.10	0.13	0.03	0.38	0.23	0.38	0.34	0.40	0.41
	10	0.21	0.11	0.1	0.08	0.17	0.07	0.09	0.09	0.33	0.29	0.36	0.32	0.40	0.35
	B	0.84	0.37	0.13	0.23	0.57	0.23	0.30	0.35	0.45	0.49	0.39	0.64	0.47	0.44

\*水温は0.5m層を示す。

単位：WT(°C)、S、DO(ml/L)、DIN・PO4-P(μM)

\*DO(ml/l) ÷ 0.7 = DO(mg/l)

表1. 2018年度養殖漁場環境調査結果

調査 年月日	No.	調査 点名	湾・海域	漁業種類	H29年度					
					IL(%) 450℃	IL(%) 550℃	AVS (mg/g乾泥)	COD (mg/g乾泥)	合成指標 (S)	底質評価
H30.9.7	10	新長田	佐伯湾	魚類小割	5.16	8.84	0.13	17.18	0.28	Ⅱ
H30.8.30	11	長田	佐伯湾	魚類小割	4.37	6.61	0.28	18.76	0.34	Ⅱ
H30.8.30	12	津井	佐伯湾	魚類小割	2.48	4.50	0.05	7.97	-0.79	Ⅰ
H30.8.30	13	浪太	佐伯湾	真珠	2.78	4.55	0.00	9.00	-0.73	Ⅰ
H30.8.30	14	片神	佐伯湾	魚類小割	9.16	12.48	1.20	35.55	3.13	Ⅲ
H30.8.30	15	彦島	佐伯湾	魚類小割	6.65	10.19	0.35	22.71	1.09	Ⅱ
H30.8.30	16	塩内	佐伯湾	魚類小割	3.05	5.30	0.08	9.81	-0.56	Ⅰ
H30.8.30	17	片白島	佐伯湾	魚類小割	4.33	7.37	0.24	14.49	0.11	Ⅱ
H30.9.13	18	小田代	佐伯湾	魚類小割	7.88	11.97	0.46	31.39	1.85	Ⅱ
H30.9.13	19	野崎	佐伯湾	魚類小割	3.12	5.11	0.01	6.00	-0.77	Ⅰ
H30.9.13	20	桑浦	佐伯湾	魚類小割	3.21	5.77	0.19	9.92	-0.39	Ⅰ
H30.9.13	21	鮪浦	佐伯湾	魚類小割	4.05	6.86	0.44	16.68	0.36	Ⅱ
H30.9.13	22	中浦	佐伯湾	魚類小割	2.67	4.49	0.16	9.37	-0.57	Ⅰ
H30.9.13	23	大島	佐伯湾	魚類小割	2.43	4.34	0.00	5.52	-0.95	Ⅰ
		平均			4.38	7.03	0.26	15.31	0.17	

単位：IL(%)、AVS・COD(mg/g・dry)

表2. 2018年度底質分析結果

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

漁場評価	Ⅰ	$S < -0.1$	良好な底質環境
	Ⅱ	$-0.1 \leq S < 2.0$	やや悪い底質環境
	Ⅲ	$S \geq 2.0$	悪い底質環境

## 資源・環境に関するデータの収集・情報の提供事業－2

### 浅海定線調査等

(国庫交付金)

中里礼大・井口大輝

#### 事業の目的

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

#### 事業の方法

##### 1. 浅海定線調査

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

##### 1) 調査月日

2018年 4月 3日～ 6日	10月 2日～ 4日
5月 7日～ 9日	11月 5日～ 7日
6月 5日～ 7日	12月 3日～ 5日
7月 4日～ 6日	2019年 1月 8日～10日
8月 6日～ 9日	2月 4日～ 6日
9月10日～12日	3月 4日～ 6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）の栈橋付近における表層海水（0m）を、午前8時30分に採水し、棒状水温計で水温を測定した。平年値

は、1990～2010年の20年間の平均値を用いた。

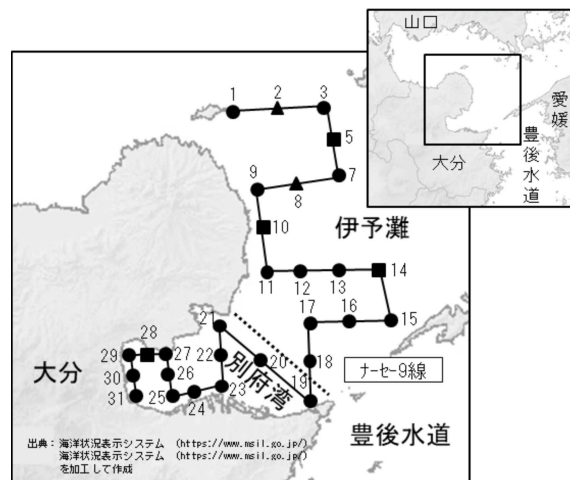


図1. 浅海定線調査定線図

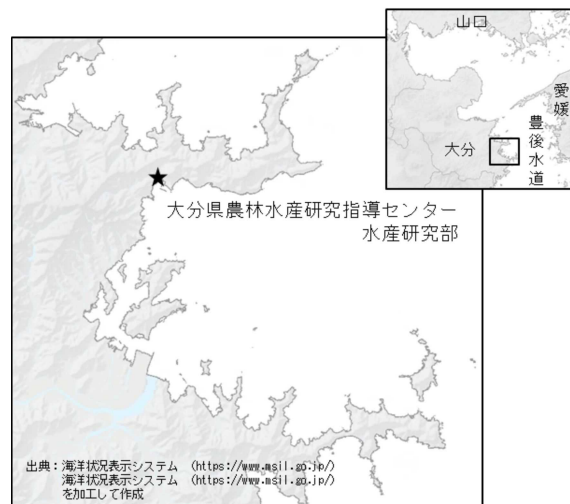


図2. 水温定点観測調査点

## 事業の結果

### 1. 浅海定線調査等

#### 1) 気象

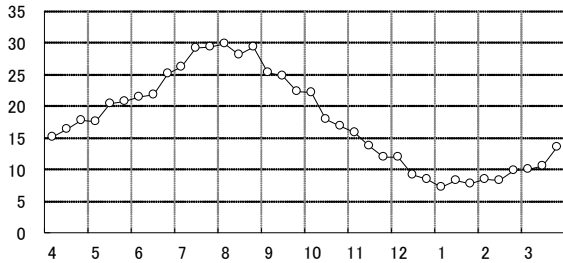
大分市における2018年度の気象の推移(大分気象台)は図3に示したとおりである。

気温:5月上旬、6月中旬、9月中旬及び10月中旬は平年より低めであったが、その他の月は高めで推移した。8月上旬、8月下旬、2月上旬、3月下旬は過去30年で最高値を記録した。

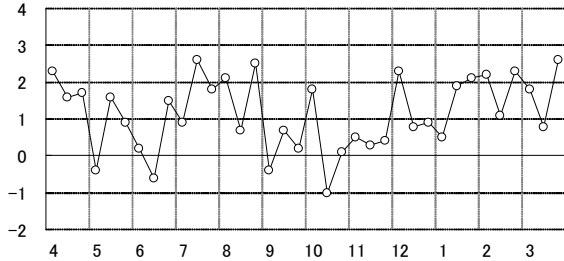
降水量:4月～8月は概ね平年より低めで推移したが、そのうち7月上旬は平成30年7月豪雨の影響により過去30年で5番目に多い降水量を観測。また、9月下旬は台風24号の影響により、過去30年で最高値を記録した。

日照時間:4月上旬から8月下旬まで多照傾向であった。9月上旬から10月下旬は寡照傾向であった。そのうち、7月中旬は太平洋高気圧に覆われて晴れた日が多かったことから、過去30年で最高値を記録した。

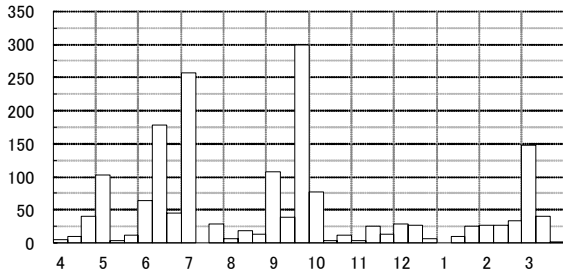
気温(°C)



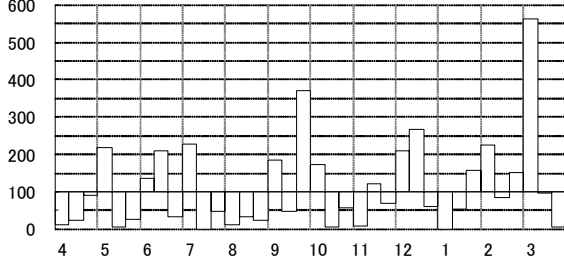
気温の  
平年差(°C)



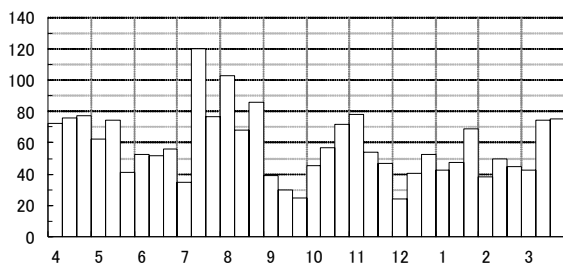
降水量(mm)



降水量の  
平年比(%)



日照時間(h)



日照時間の  
平年比(%)

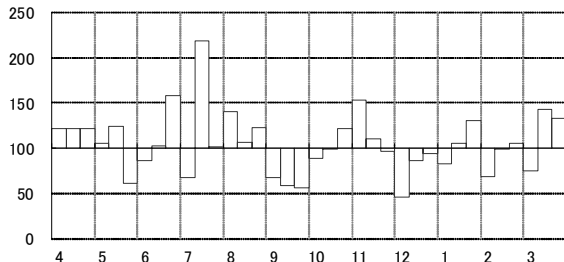


図3. 2018年度大分市における気象(気象庁気象統計情報)

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。

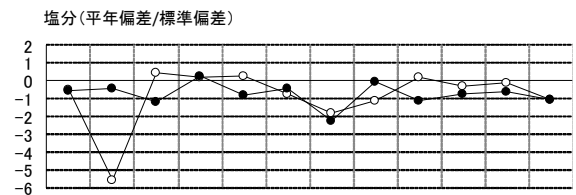
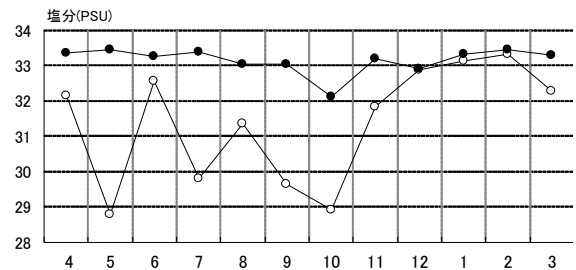
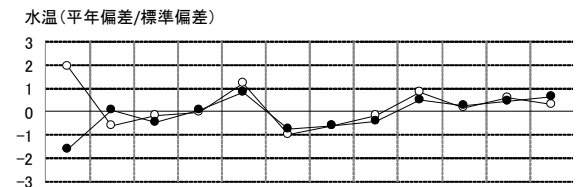
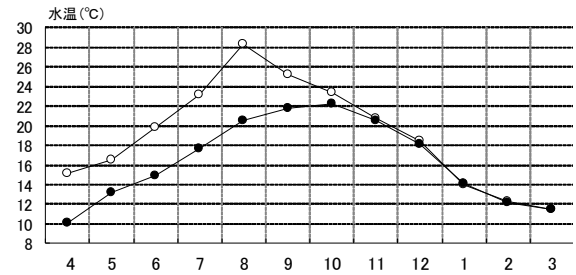
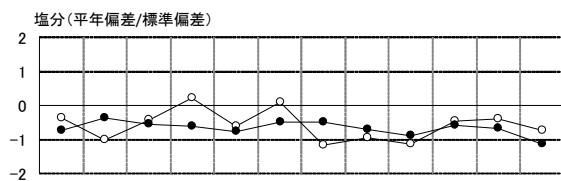
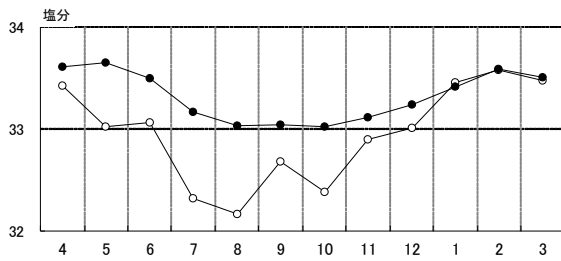
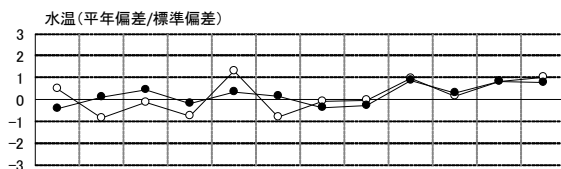
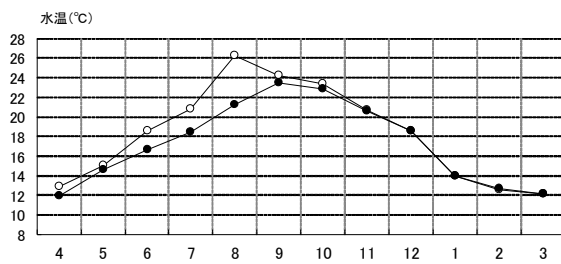
伊予灘の表層は12.13~26.30℃、底層は11.94~23.44℃で推移した。表層は、8月「かなり高め」であった以外は「やや低め」~「やや高め」であった。底層は、12月、2~3月「やや高め」であった以外は「平年並み」であった。

別府湾の表層は11.49~28.29℃、底層は10.06~22.27℃で推移した。表層は、4月「かなり高め」であった以外は「やや低め」~「やや高め」であった。

塩分

塩分の観測結果は図4に示したとおりである。

伊予灘の表層は32.16~33.58PSUで、底層は33.02~33.64PSUで推移した。表層は、周年を通して「やや低め」~「平年並み」であった。底層についても同様に周年を通して「やや低め」~「平年並み」であった。



○ : 表層 ● : 底層

図4. 2018年度の水温および塩分の推移 (左: 伊予灘、右: 別府湾)



透明度

透明度の観測結果は図5に示したとおりである。

伊予灘は7.6~12.2mで推移した。4月「かなり低め」、5月「かなり高め」であった以外は「やや低め」~「やや高め」であった。

別府湾は、4.2~11.3mで推移した。周年を通して「やや低め」~「やや高め」であった。

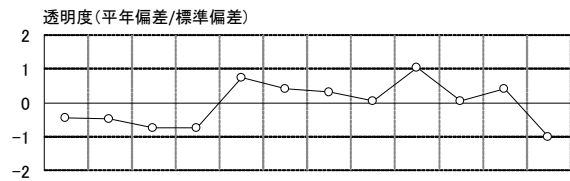
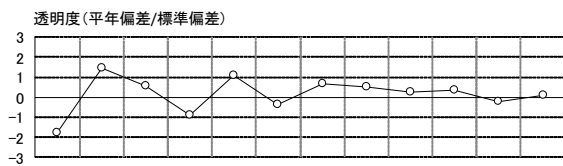
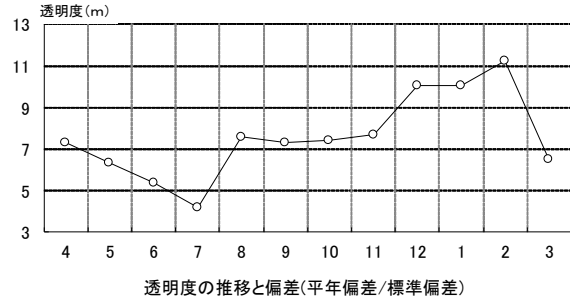
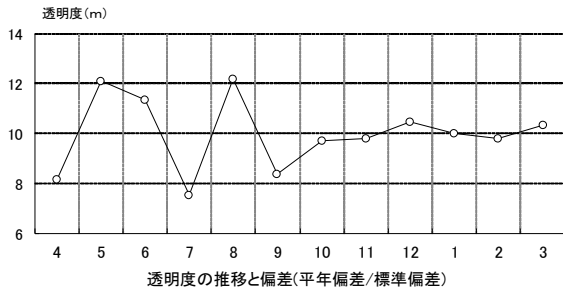


図5. 2018年度の透明度の推移 (左: 伊予灘、右: 別府湾)

\*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PO<sub>4</sub>-P

DINおよびPO<sub>4</sub>-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、表層が0.29~3.83μMで、底層は1.25~4.41μMで推移した。表層は、2月「かなり低め」であった以外は「やや低め」~「平年並み」であった。底層は、周年を通して「やや低め」~「やや高め」であった。

別府湾のDINは、表層は0.23~4.51μMで、底層は1.19~5.49μMで推移した。表層は、4月、6月、11月及び2~3月「かなり低め」であった以外は「やや低め」~「平年並み」であった。底層は、4月「かなり低め」、2月「甚だ低め」であった以外は「やや低め」~「平年並み」であった。

伊予灘のPO<sub>4</sub>-Pは、表層が0.00~0.46μMで、底層が0.06~0.45μMで推移した。表層は、9月及び1月「かなり高め」であった以外は「やや低め」~「やや高め」であった。底層は、6月「かなり低め」であった以外は「やや低め」~「やや高め」であった。

別府湾のPO<sub>4</sub>-Pは、表層が0.00~0.51μMで、底層が0.19~0.58μMで推移した。表層は、6月「かなり低め」であった以外は「やや低め」~「やや高め」であった。底層は、8月「かなり高め」であった以外は「やや低め」~「やや高め」であった。

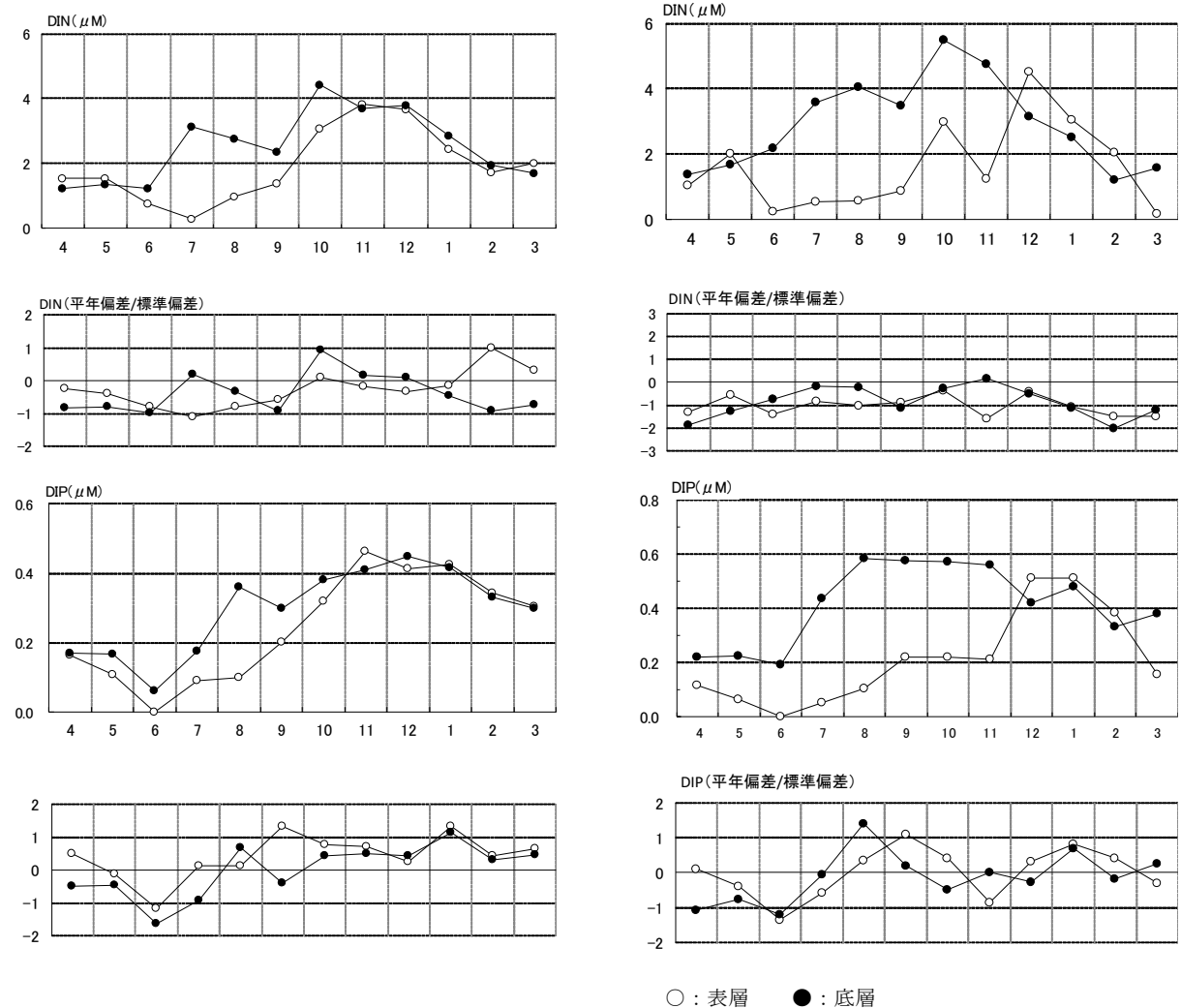


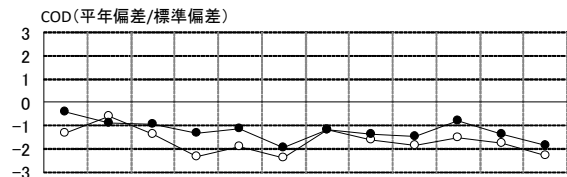
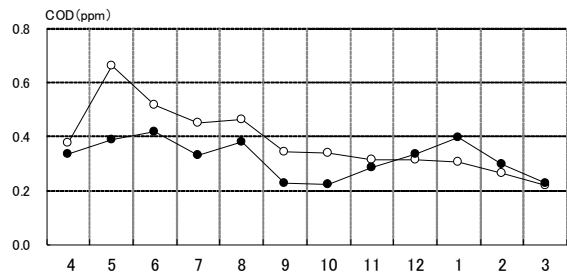
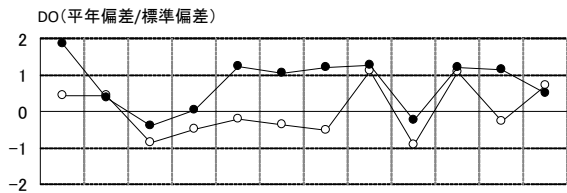
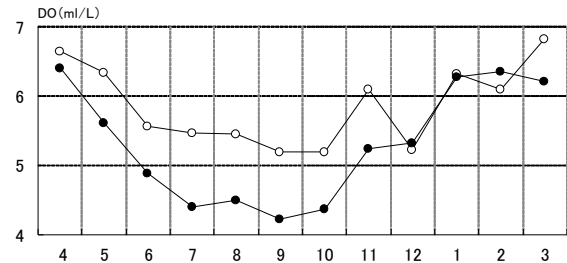
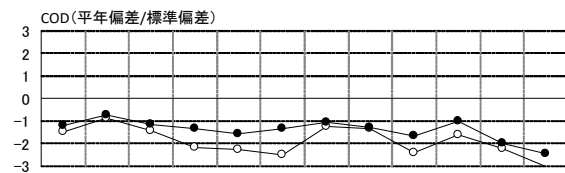
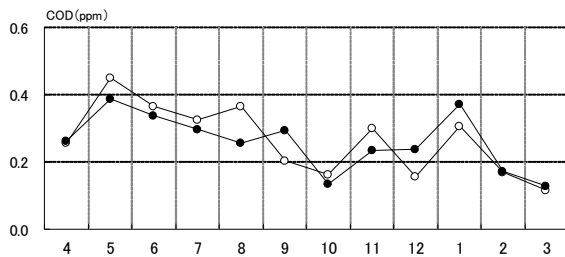
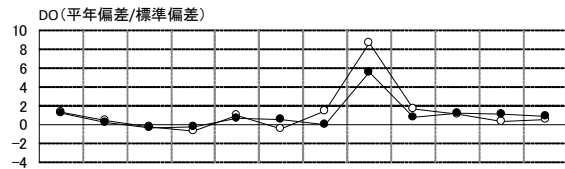
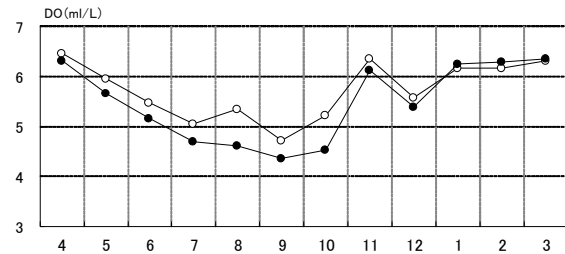
図6. 2018年度のDINおよびPO<sub>4</sub>-Pの推移 (左: 伊予灘、右: 別府湾)

DOおよびCOD

DOおよびCODの測定結果は図7に示したとおりである。

伊予灘のDOは、表層が4.76~7.12 ml/Lで、底層が4.32~6.79 ml/Lで推移し、表層は11~3月が「甚だ高め」で、その他の月は「平年並み」~「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5.18~7.05 ml/Lで、底層が4.00~7.27 ml/Lで推移し、表層は2月が「甚だ高め」、10月と3月が「かなり高め」で、その他の月は「やや低め」~「やや高め」であった。底層はすべての月で「平年並み」~「甚だ高め」で、高め傾向で推移した。



○：表層 ●：底層

図7. 2018年度のDOおよびCODの推移 (左：伊予灘、右：別府湾)

2. 水温の定点調査

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

2018年度は、8月下旬の26.3℃が最高値で、2月中旬の13.4℃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、4月上旬(+1.0℃)、5月中旬(+1.4℃)、6月下旬(+1.2℃)、7月上旬(+1.5℃)、7月中旬(+2.1℃)、7月下旬(+1.0℃)、10月中旬(-1.0℃)及び12月中旬(+1.1℃)であった。

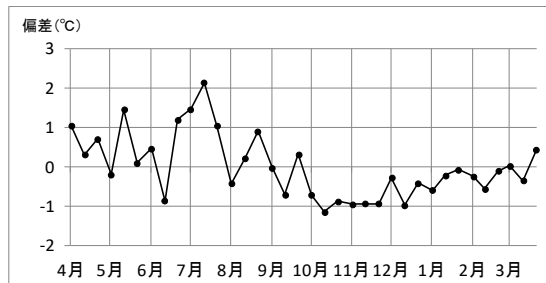
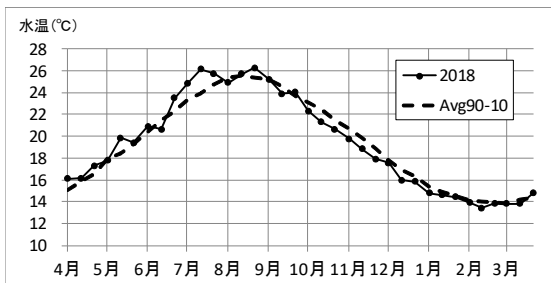


図8. 2018年度の佐伯湾定点表層水温(旬平均値)の推移

## 漁場環境保全事業（貝毒）

中里礼大・井口大輝

### 事業の目的

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

### 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、名護屋湾内に8点の調査点を設け（図1）、貝毒原因プランクトンの出現状況に応じて、2018年4月から2019年3月の期間中、毎月4回から5回の頻度で調査を実施した。

調査内容は小蒲江湾及び猪串湾では採水、環境測定及び二枚貝の採取を行い、蒲江湾及び名護屋湾では採水のみを行った。各調査点の採水層は表層および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（AAQ-RINKO<sup>®</sup> JFEアドバンテック社製）を使用して0.5m層～海底まで0.1m毎に水温、塩分等の測定を行った。採取した二枚貝は、猪串湾では森崎の天然ムラサキイガイ、小蒲江湾では小蒲江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体制を強化した。採水した海水は、実験室に持ち帰った後、直ちに孔径10 $\mu$ mのプランクトンネットを用い、1Lから10ml～100倍濃縮し、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。

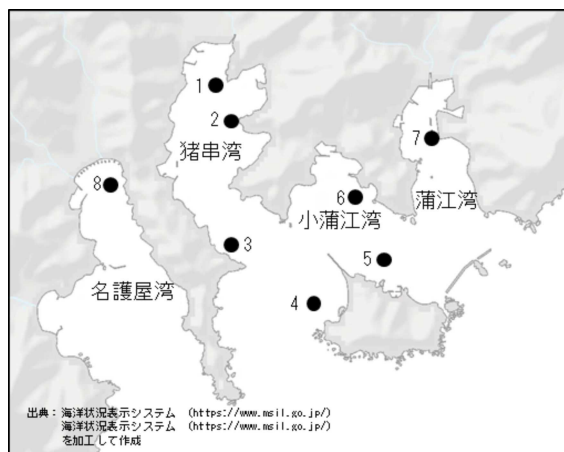


図1. 調査点

(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0～6,004cells/L、猪串は0～9,300cells/L、鵜の糞は0～1,000cells/L、赤バエは0～85cells/L、屋形島は0～2,000cells/L、小蒲江は0～180cells/Lで推移した。猪串湾内では、7月上旬～中旬、10月下旬、12月下旬～2月下旬に細胞密度が高い期間が認められた。本種の出現時期を平年（2011～2017年度）と比較すると、年度当初は低め傾向で推移したが、7月に入ってから平年並みの推移であった（図3）。

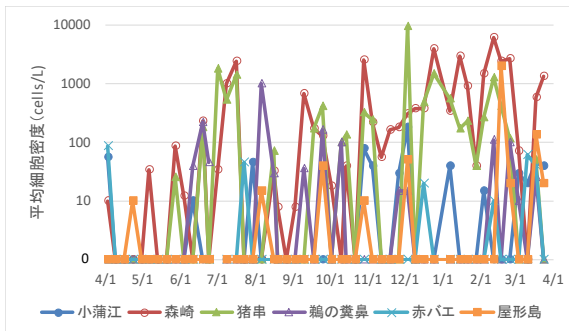


図2. 猪串湾、小蒲江湾における*G. catenatum* 細胞密度の推移

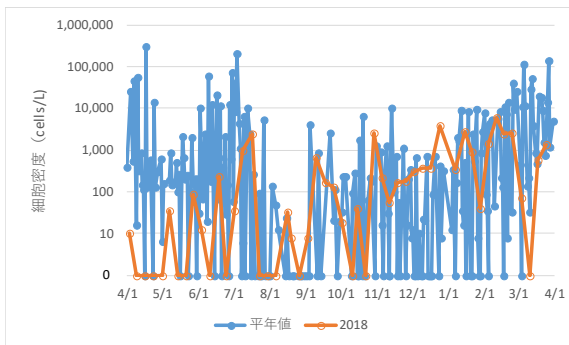


図3. 猪串湾森崎における平年値及び2018年度の*G. catenatum* 細胞密度 (5層平均) の推移

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0～15,600 cells/L、猪串は0～34,500cells/L、鵜の糞は0～4,075cells/L、赤バエは0～180cells/L、屋形島は0～270cells/L、小蒲江は0～2,050cells/Lで推移した。細胞密度のピークは11月上旬～12月上旬及び3月中旬の計2回確認された。

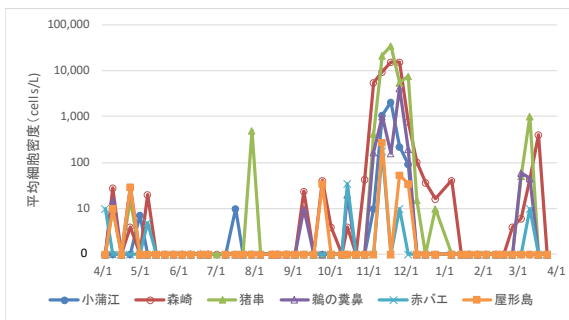


図4. 猪串湾、小蒲江湾における*A. catenella* 細胞密度の推移

3) *Dinophysis spp.*

各調査点の*Dinophysis spp.*の鉛直平均細胞密度の推移は図5に示した通りである。森崎は0～602cells/L、猪串は0～515cells/L、鵜の糞は0～500cells/L、赤バエ

は0～50cells/L、屋形島は0～115cells/L、小蒲江は0～1,500cells/Lで推移した。

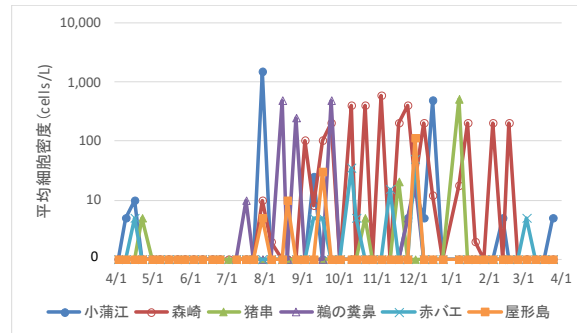


図5. 猪串湾、小蒲江湾における*Dinophysis spp* 細胞密度の推移

2. 蒲江湾、名護屋湾

1) *Gymnodinium catenatum*

*G. catenatum*の鉛直平均細胞密度の推移は図6に示した通りである。名護屋湾は0～4,030cells/Lで推移した。蒲江湾は0～240cells/Lで推移した。

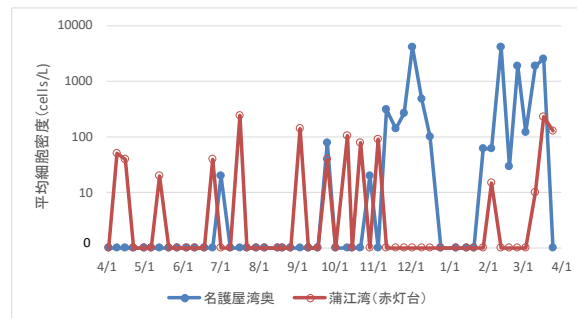


図6. 名護屋湾、蒲江湾における*G. catenatum* 細胞密度の推移

2) *Alexandrium catenella*

*A. catenella*の鉛直平均細胞密度の推移は図7に示した通りである。名護屋湾は0～1,000cells/Lで推移した。蒲江湾は0～3,000cells/Lで推移した。

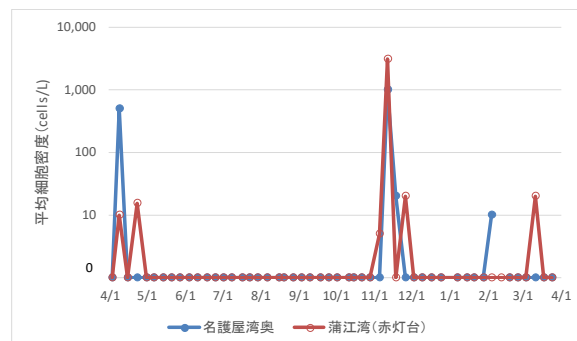


図7. 名護屋湾、蒲江湾における*A. catenella*細胞密度の推移

3) *Dinophysis spp.*

*Dinophysis spp.*の鉛直平均細胞密度の推移は図8に

示した通りである。名護屋湾は0~500cells/Lで推移した。蒲江湾は0~500 cells/Lで推移した。

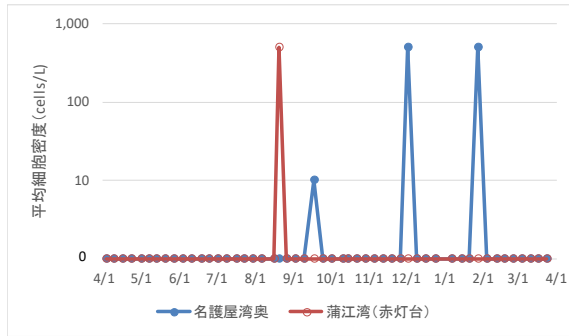


図8. 名護屋湾、蒲江湾における*Dinophysis spp*細胞密度の推移

II. 環境

1) 水温

各層水温の推移および平年値との比較は図9に示した通りである。平年値比較には2m、5m、10m、底上1mの各層の鉛直平均値を月平均して用いた。平年値は2000年1月~2017年12月の期間の値を使用した。

2018年度における各層水温は、0.5m層が15.8℃~28.4℃、2m層が15.8℃~27.4℃、5m層が15.8℃~26.9℃、10m層が15.8℃~25.5℃、底上-1m層が15.8℃~24.2℃で推移した。最高水温は0.5m層、2m層及び5m層は8月中~下旬に、10m層及び底上1mは9月上~中旬に認められた。一方、最低水温は全層で2月中旬に観測された。成層は4月下旬から9月上旬まで認められた。月平均水温は、4月、6月は高め、10月~11月は低め、12月、3月は高め傾向であった。

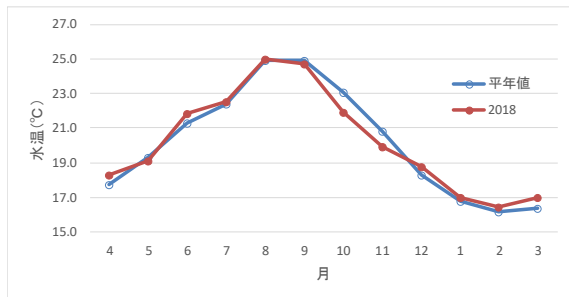
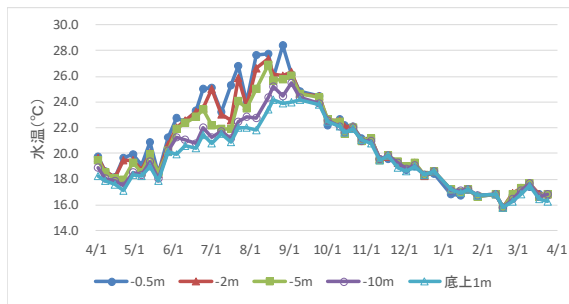


図9. 2018年度猪串湾における各層水温の推移（上段）と平年値との比較（下段）

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~2017年12月の期間の値を使用した。各層塩分は、0.5m層が18.49~34.64、2m層が31.18~34.66、5m層が33.02~34.66、10m層が33.17~34.66、底上1m層が33.26~34.67で推移した。最低塩分は0.5m層で10月上旬、2m層で7月上旬、5m層で8月上旬、10m層及び底上1m層で10月中旬に観測された。最高塩分は全層で1月下旬に観測された。

月平均塩分は7~8月、10月は平年より低めで推移した。

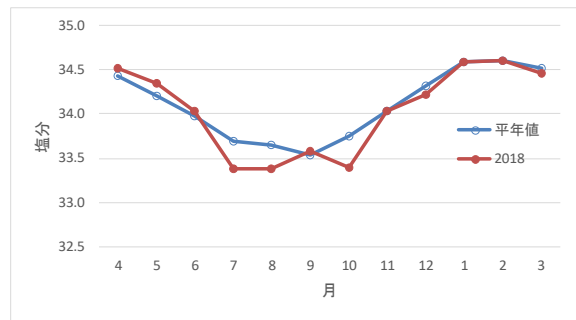
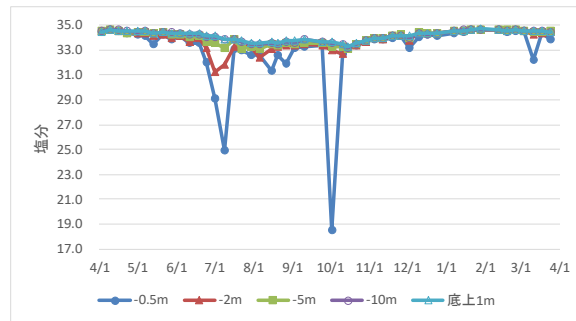


図10. 2018年度猪串湾における各層塩分の推移（上段）と平年値との比較（下段）

III. 二枚貝毒化状況

1. 猪串湾

ムラサキガイのELISA法による麻痺性貝毒毒力の推移は図11に示した通りである。毒力はN.D. (0.1 MU/g未満) ~175.6MU/gで推移した。2017年秋口から*A.catenella*、冬に入ると*G.catenatum*の増殖が確認され、毒の蓄積が進行し、3月中旬には最大456.6 MU/g確認された。4月に入り*G.catenatum*が大きく減少したことで、毒力が急激に減衰したものの、5月上旬まで4MU/gを超える毒力が確認された。2018年も2017年同様に秋口に*A.catenella*の増殖が確認され最大138.8MU/gの毒力が確認された。冬に*G.catenatum*の増殖が確認されて以降増殖が進み、2月下旬には

数千cells/Lを超える細胞密度が確認されていたことから、3月中旬においても4MU/gを超える毒力が確認された。

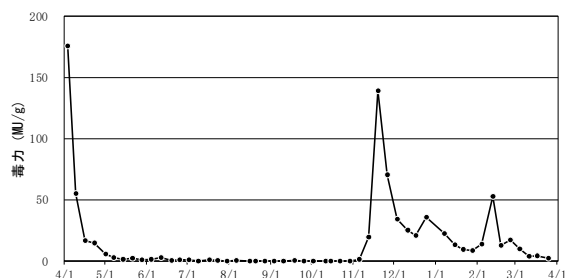


図11. 猪串湾森崎の天然ムラサキガイの毒力の推移

## 2. 小蒲江湾

小蒲江および赤バエにおける養殖ヒオウギガイ可食部のELISA法による麻痺性貝毒毒力の推移は図12に示した通りである。小蒲江は*A.catenella*及び*G.catenatum*が増殖した際に2回の毒力の増加が認められ、毒力はN.D (0.1MU/g未満) ~30.4MU/gで推移した。2018年12月末から*G.catenatum*の増殖が見られ、2月末から3月末にかけてのブルーム時にヒオウギガイの毒力の増加が認められ、避難漁場である赤バエにおいても毒力が4MU/gを超えたため、2018年4月5日から26日まで出荷自主規制措置がとられることとなった。なお、2回目に小蒲江において毒力が増加した際は、赤バエの毒力は4MU/gを超えることがなく、避難漁場としての機能を果たし、出荷が継続できた。

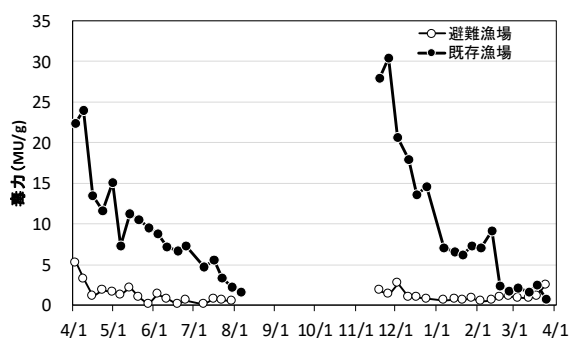


図12. 小蒲江および赤バエの養殖ヒオウギガイの毒力の推移



## 漁場環境保全事業（赤潮）

井口大輝・中里礼大

### 事業の目的

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

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

### 事業の方法

#### 1. 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、PO<sub>4</sub>-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。

#### 2. 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、2018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。

#### 3. 指導事業

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

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

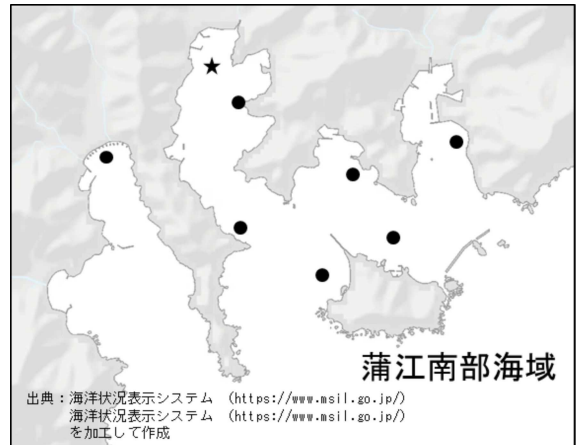
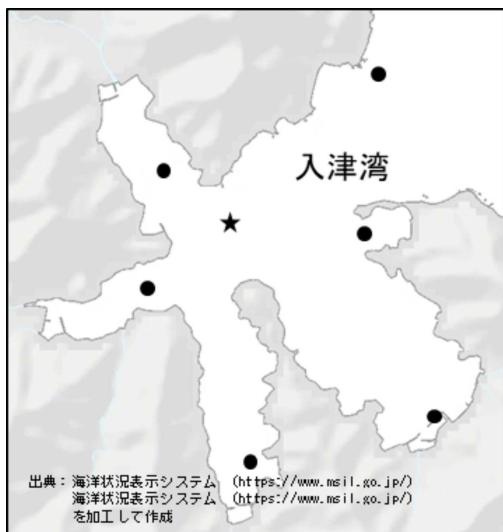
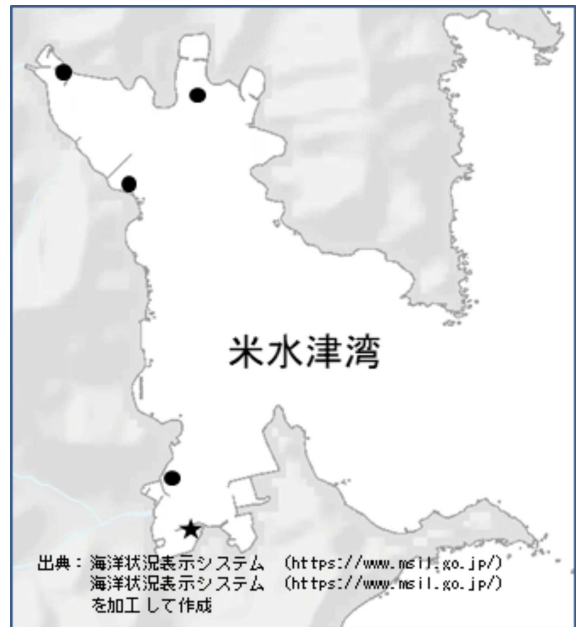
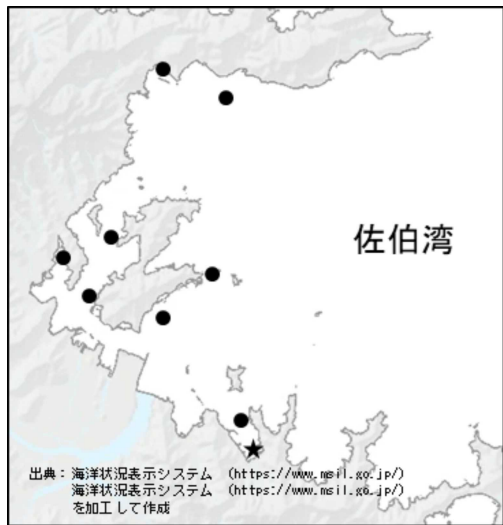
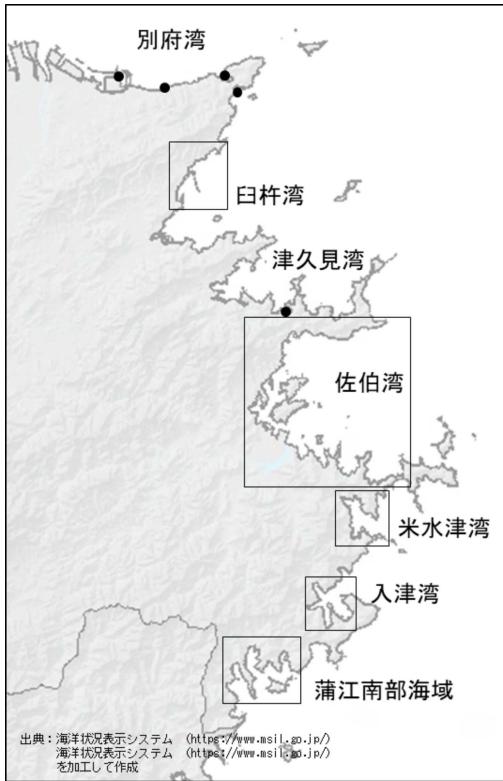


図1 漁場監視モニタリング定点  
(●：通常調査点、★：精密調査点)

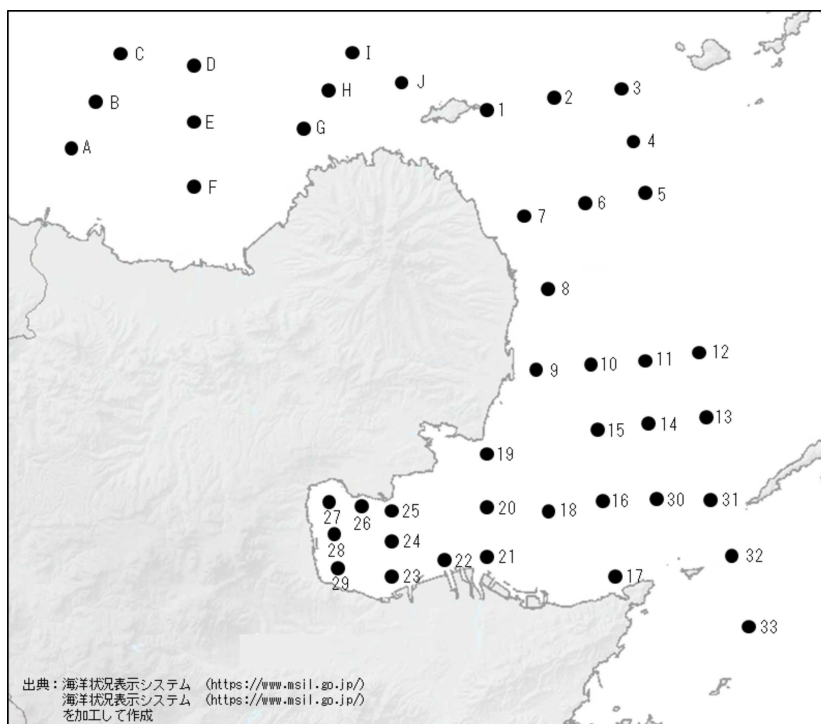


図2 広域赤潮監視調査定点

## 事業の結果

### 1. 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、降水量・日照時間・平均気温はほぼ平年並で経過した観測点が多かった。県内アメダスの月降水量は196.5～521.5ミリ（平年比76～156%）で、国見で少なく、臼杵・宇目で多く、佐賀関でかなり多い他は平年並だった。月間日照時間は123.8～165.3時間（平年比95～121%）で佐伯・宇目・蒲江で多い他は平年並だった。月平均気温は20.1～23.3℃（平年差-0.6～+0.8℃）で、玖珠・湯布院で低く、杵築・日田・佐伯・蒲江で高い他は平年並だった。7月は、上旬は活発な梅雨前線や湿った空気の影響で曇りや雨の日が多く、中旬は晴れの日が多かった。下旬は晴れる日もあったが、台風10号・12号の影響で曇りや雨の日もあった。県内アメダスの月降水量は平年比110～194%で、耶馬溪・玖珠で平年並の他は多かった。月間日照時間は平年比103～139%で、蒲江で平年並の他は多いかかなり多かった。月平均気温は平年差+1.0～+2.1℃で、高いかかなり高かった8月は、台風や湿った空気の影響を受ける時期もあったが、晴れる日が多く高温・多照であった。県内アメダスの月降水量は9.5～289.5ミリ（平年比5～81%）で、国見・院内・佐伯・宇目で平年並の他は少ない

かかなり少なかった。月間日照時間は171.3～297.4時間（平年比104～143%）で、蒲江で平年並の他は多いかかなり多かった。月平均気温は25.3～29.3℃（平年差+0.8～+2.2℃）で、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4～8月の期間に継続して気温が高い傾向であった。降水量は6～7月は平年より少し高かった。日照時間は5～7月の期間概ね平年並で推移した。佐伯市の2017年夏期は、特に7月上旬に台風7号や湿った空気の影響により降雨が多く、気温は概ね高温であったと考えられた。

#### 2) 海象

各海域の代表点の5m層の水温、塩分、DIN、PO<sub>4</sub>-Pの推移は図6～8に示したとおりである。

水温は臼杵湾19.0～23.3℃、佐伯湾19.3～24.2℃、入津湾20.5～25.3℃、蒲江南部海域21.9～26.9℃で推移した。塩分は臼杵湾33.06～34.06、佐伯湾33.07～34.13、入津湾33.02～34.09、蒲江南部海域33.02～34.20で推移した。DINは臼杵湾0.05～2.09μM、佐伯湾0.14～1.03μM、入津湾0.05～0.61μM、蒲江南部海域0.00～4.96μMで推移した。PO<sub>4</sub>-Pは臼杵湾0.01～0.23μM、佐伯湾0.01～0.20μM、入津湾0.07～0.23μM、蒲江南部海域0.00～0.34μMで推移した。

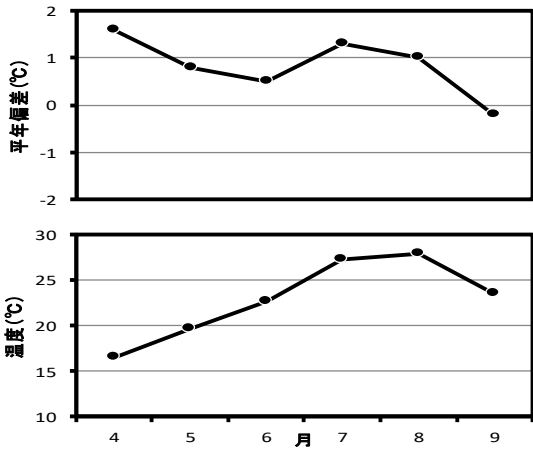


図3 月平均気温の推移と年平均偏差（上段：年平均偏差、下段：月平均気温 アメダス 佐伯）

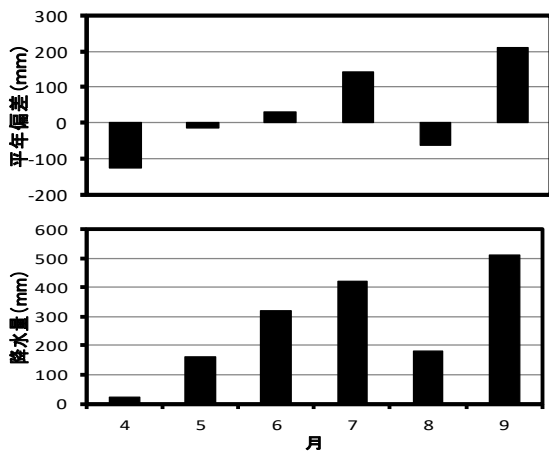


図4 月降水量の推移と年平均偏差（上段：年平均偏差、下段：月降水量 アメダス 佐伯）

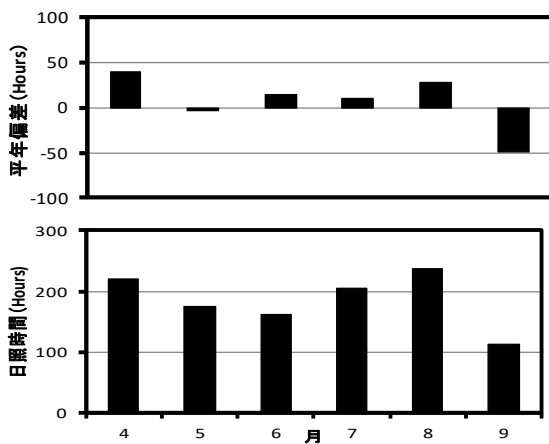


図5 月日照時間の推移と年平均偏差（上段：年平均偏差、下段：月平均日照時間 アメダス 佐伯）

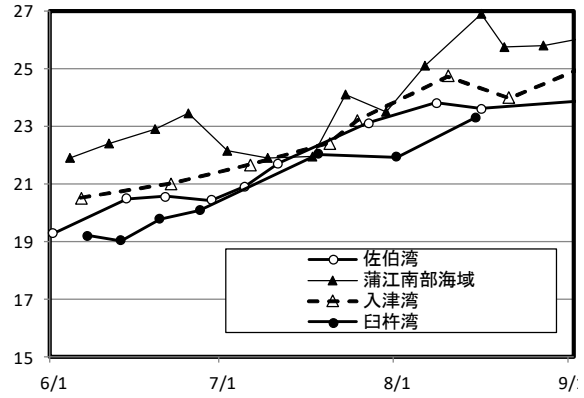


図6 豊後水道各湾の5m層水温の推移

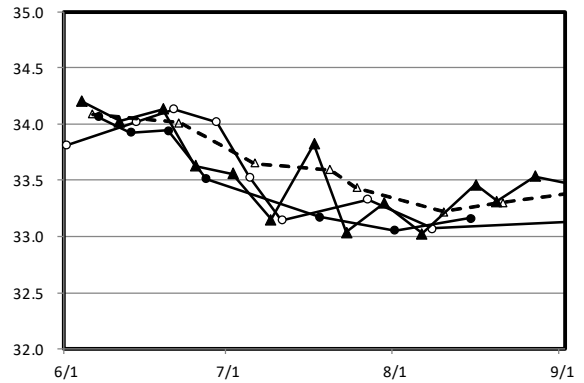


図7 豊後水道各湾の5m層塩分の推移

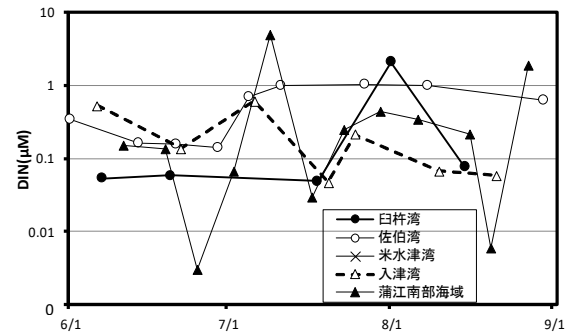


図8 豊後水道各湾の5m層DINの推移

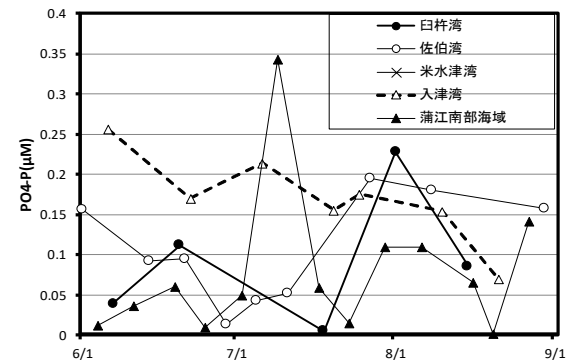


図9 豊後水道各湾の5m層PO4-Pの推移

表1 2018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	4月25日	～	5月29日	(35日間)	別府湾	<i>Heterosigma</i>	<i>akashiwo</i>	無	16,800
2	5月15日	～	5月23日	(9日間)	別府湾	<i>Heterosigma</i>	<i>akashiwo</i>	無	78,000
3	5月9日	～	7月20日	(73日間)	豊後水道 (入津湾)	<i>Ceratium</i>	<i>sp.</i>	無	580
4	6月11日	～	8月16日	(67日間)	豊後水道 (佐伯湾)	<i>Karenia</i>	<i>mikimotoi</i>	有	37,000
5	6月22日	～	7月20日	(29日間)	豊後水道 (入津湾)	<i>Prorocentrum</i>	<i>triestinum</i>	有	37,000
6	6月25日	～	8月16日	(53日間)	豊後水道 (佐伯湾)	<i>Heterosigma</i>	<i>akashiwo</i>	無	76,000
7	7月9日	～	8月10日	(33日間)	豊後水道 (入津湾沖～元猿湾沖)	<i>Karenia</i>	<i>mikimotoi</i>	無	10,000
8	7月9日	～	8月16日	(39日間)	豊後水道 (名護屋湾、猪串湾、小 蒲江湾、蒲江湾)	<i>Karenia</i>	<i>mikimotoi</i>	無	4,070
9	7月9日	～	7月25日	(17日間)	豊後水道 (米水津湾)	<i>Karenia</i>	<i>mikimotoi</i>	無	630
10	7月11日	～	8月15日	(36日間)	豊後水道 (臼杵湾)	<i>Karenia</i>	<i>mikimotoi</i>	無	8,500
11	7月13日	～	8月10日	(29日間)	豊後水道 (元猿湾)	<i>Karenia</i>	<i>mikimotoi</i>	無	250
12	7月13日	～	8月15日	(34日間)	豊後水道 (津久見湾)	<i>Karenia</i>	<i>mikimotoi</i>	無	9,000
13	7月23日	～	7月27日	(5日間)	豊後水道 (臼杵湾)	<i>Noctiluca</i>	<i>scintillans</i>	無	2,000
14	8月10日	～	9月20日	(42日間)	豊後水道 (入津湾)	<i>Prorocentrum</i>	<i>dentatum</i>	有	40,000
15	8月17日	～	9月20日	(35日間)	豊後水道 (入津湾)	<i>Chattonella</i>	<i>sp.</i>	有	300
16	8月20日	～	8月30日	(11日間)	豊後水道 (米水津湾)	<i>Cochlodinium</i>	<i>polykrikoides</i>	無	250
17	9月5日	～	9月20日	(16日間)	豊後水道 (入津湾)	<i>Karenia</i>	<i>mikimotoi</i>	無	806
18	11月5日	～	11月19日	(15日間)	豊後水道 (猪串湾)	<i>Cochlodinium</i>	<i>polykrikoides</i>	無	455

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18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* 8件、*Chattonella spp* 1件、*H.akashiwo* 3件、*C.polykrikoides* 2件、*P.triestinum* 1件、*P.dentatum* 1件、*N.scintillans* 1件、*Ceratium sp.* 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*K. mikimotoi* 1件、*Chattonella spp*1件、*P. triestinum* 1件、*P. dentatum* 1件であった。

4) 特記事項

特記事項として、*K.mikimotoi*赤潮は豊後水道海域のすべての湾で確認される等、広範囲かつ長期間の発生が確認された。このうち、佐伯湾で発生した*K.mikimotoi*赤潮（整理番号4）は高密度で発生したことから（図10）、養殖魚、蓄養魚を中心に被害が発生した。主な赤潮発生要因として、1. 5月中旬と早い時期から遊泳細胞が存在したこと（図10）。2. *K.mikimotoi*が優占時に、梅雨入りにより低日照および大量降雨が観測され、本種にとって好適な環境条件となったこと（図11、12）が複合的に関係したことが考えられる。

また、入津湾において*P.triestinum*および*P.dentatum*による高密度の赤潮が観測され、本県において初めて本種による漁業被害が発生した。両種において、養殖筏周辺および陸上水槽内で集積したことにより、夜間に貧酸素化し酸欠死したものと考えられた。

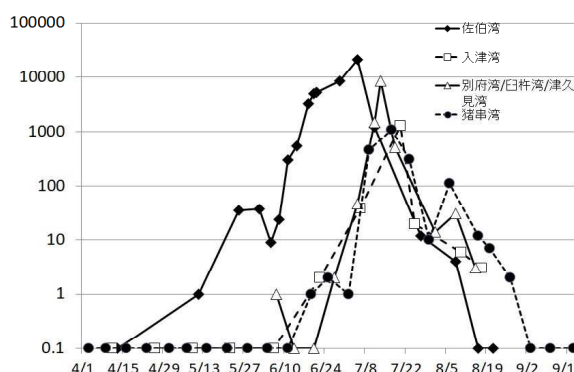


図10 2018年4月～9月の期間における佐伯湾、入津湾、別府湾/臼杵湾/津久見湾、蒲江南部海域の*K. mikimotoi*の最高細胞密度の推移

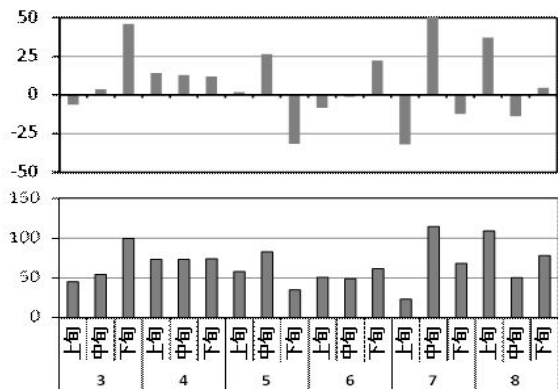


図11 アメダス（佐伯市佐伯）による日照時間の推移（上段 年平均値、下段 日照時間）

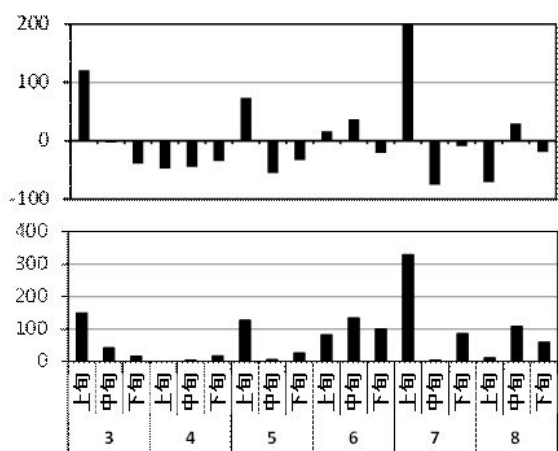


図12 アメダス（佐伯市佐伯）による降水量の推移（上段 年平均差、下段 降水量）

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8,500cells/ml（7月13日 下ノ江奥）、*H.akashiwo*は350cells/ml（8月8日 下ノ江奥）、*C.polykrikoides*は12 cells/ml（8月15日 下ノ江）、*Chattonella spp*は確認されなかった。

津久見湾：*K.mikimotoi*は9,000cells/ml（7月13日 千怒崎漁港内 ＊県中部振興局調べ）、*Chattonella spp*は2cells/ml（8月8日 日代）、*C.polykrikoides*は2cells/ml（8月8日 日代）、*H.akashiwo*は確認されなかった。

佐伯湾：*K.mikimotoi*は37,000cells/ml（7月6日 長田港 ＊県南部振興局調べ）、*H.akashiwo*は76,000cells/ml（6月25日 守後 ＊県南部振興局調べ）、*Chattonella spp*は4cells/ml（7月11日 水産試験場前）、*C.polykrikoides*は確認されなかった。

米水津湾：*K.mikimotoi*は630cells/ml（7月9日 小浦 ＊JF米水津支店 ＊県南部振興局調べ）、*C.polykrikoides*は250cells/ml（8月20日 松切 ＊JF米水津支店調

べ）、*H.akashiwo*、*Chattonella spp*は確認されなかった。

入津湾：*K.mikimotoi*は10,000cells/ml（7月9日 入津湾沖 ＊JF下入津支店調べ）、*H.akashiwo*は30cells/ml（8月10日 河内奥、楠本）、*C.polykrikoides*は20cells/ml（8月17日 楠本）、*Chattonella spp*は300cells/ml（8月17日 河内 ＊JF下入津支店調べ）であった。

蒲江南部海域：*K.mikimotoi*は4,070cells/ml（7月19日 JF蒲江支店前 ＊県南部振興局調べ）、*H.akashiwo*は75cells/ml（9月18日 森崎）、*C.polykrikoides*は455 cells/ml（11月5日 森崎浦波止前）で、*Chattonella spp*は2cells/ml（9月3日 越田尾）であった。

2. 広域赤潮監視調査

2018年5～8月に行った有害プランクトンの調査結果は以下に示したとおりである。検出限界値は1cells/ml未満を示す。

5月（5月7～9日）：*Chattonella spp*、*H.akashiwo*、*K.mikimotoi*は検出されなかった。

6月（6月1～7日）：*Chattonella spp*、*H.akashiwo*、*K.mikimotoi*は検出されなかった。

7月（7月4～6日）：*Chattonella spp*、*H.akashiwo*は検出されなかった。*K.mikimotoi*は検出限界未満～19 cells/mlで散発的に遊泳細胞が検出された。

8月（8月6～9日）：*Chattonella spp*、*H.akashiwo*は検出されなかった。*K.mikimotoi*は検出限界未満～20 cells/mlで散発的に遊泳細胞が検出された。

3. 指導事業

1) 赤潮担当者会議

開催日：2018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

2) 講師派遣

平成30年度赤潮講習会（JF大分佐伯支店）

開催日：2018年5月25日

出席者：漁業者、市役所、県振興局

講師：井口大輝

平成30年度臼杵・津久見赤潮勉強会（臼杵土木事務所）

開催日：2018年6月15日

出席者：漁業者、市役所、県振興局

講師：井口大輝

平成30年度マグロ養殖生産者連絡会（水産研究部大会議室）

開催日：2018年6月28日

出席者：漁業者、市役所、県振興局

講師：井口大輝

平成30年度赤潮研修会（JF大分上入津支店）

開催日：2019年3月5日

出席者：漁業者、県振興局

講師：井口大輝

漁業士連絡協議会魚類養殖部会総会

開催日：2019年3月15日

出席者：漁業者、県振興局

講師：井口大輝

### 3) 赤潮情報・緊急赤潮情報の発行回数

- ・赤潮情報：4回
- ・緊急赤潮情報：20回
- ・マグロ版緊急赤潮情報：13回

## ICTの活用と農水連携による赤潮対策技術の開発

井口大輝・中里礼大

### 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、現場での赤潮監視体制が整備され、赤潮の早期発見・早期対応が可能となってきている。しかしながら、その監視は人海戦術による監視であり、現場が要望する高精度化には自動観測技術の導入が必要である。現在、IT技術の進歩によって赤潮の自動観測が可能になり、その有効性も検証されていることから、同技術を利用した豊後水道沿岸域にける赤潮監視について検証する。また、これまでの研究によって、本県で発生する赤潮被害の大部分をしめる *Karenia mikimotoi* は、夜間に海底付近の栄養塩を利用することで、効率的に増殖することが分かった。赤潮の発生を防止するため、これまで未利用だった海洋資源のうち、養殖残渣（養殖筏付着物、残餌等）及び海藻（富栄養化によって発生したアオサ等）について有機農業等と連携したリサイクル化について検討し、循環型養殖による富栄養化軽減技術を開発することを目的とする。

### 事業の方法

#### 1. ICT技術を用いた赤潮監視

##### 1) 自動昇降式赤潮観測機を用いた赤潮監視技術の検証

自動昇降式赤潮観測機により、有害赤潮プランクトンが監視できるかを検証するため、本機器を *Cochlodinium polykrikoides* 赤潮および貝毒プランクトンが発生する春季および冬季は蒲江南部海域猪串湾猪串に設置し、*K.mikimotoi* 赤潮が発生する夏季は佐伯湾鶴見に設置した（図1）。設置期間中、約30分～1時間に一回、表層から底層までの水温・塩分・溶存酸素・クロロフィル・濁度を鉛直的に測定し、得られた観測データについてはHP（<http://hydro.browse.jp/hydrolift/20-Oita/oitatop.html>）上でリアルタイムで配信した。得られた結果より有害プランクトンが増殖している危険性が考えられた場合、臨時の赤潮調査や関係者への注意喚起を行った。

また、自動昇降式赤潮観測機により、有害赤潮プランクトンが監視できるかを検証するため、猪串湾および佐伯湾に調査点21点（精密調査点2点を含む）を設定し（図1）、週1回調査を行った。各調査では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（リゾーB号）によるクロロフィル極大層（確認されない時は5m層）の採水を行った。得られた試料海水は当日中に光学顕微鏡を用いて、濃縮せずに有害プランクトンの同定・計数に用いた。精密調査点では上記の採水層、調査項目に加え、5m層、10m層、底上1m層の採水も行った。



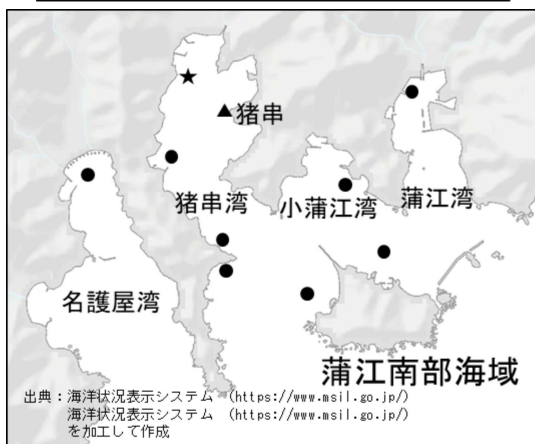
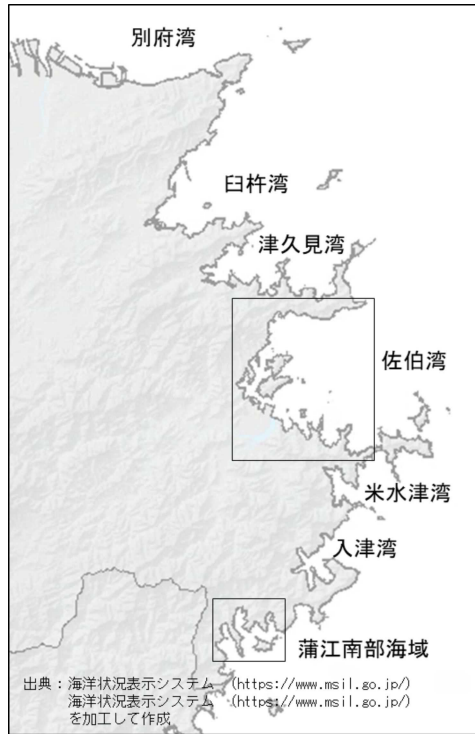


図1 赤潮監視モニタリング定点および自動昇降式赤潮観測機の設置場所 (●: 通常調査点、★: 精密調査点、▲: 自動昇降式赤潮観測機)

## 2) 次世代型赤潮監視センサーを用いた赤潮監視技術の検証

次世代型赤潮観測機は、九州大学およびJFEアドバンテック株式会社との共同研究により開発された。本機器は、二つの異なる波長における蛍光値の比で表した蛍光スペクトル移動量 (Fluorescence spectral Shift Index: FSI) が有害プランクトン *Karenia mikimotoi* 及び *Chattonella sp.* の場合、他種藻類と比べて高い数値 (閾値1.9以上) を表すことから、FSI 値により上記2種を検出するものである。本機器について、現場海域にて実際に赤潮プランクトンを観測できるかを検証するため、2018年5月～9月の期間、大分県佐伯湾沖松浦において本機を用いた観測および、CTD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2m層、5m層、10m層、底上1m層、クロロフィル極大層の採水を行った。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および珪藻を含むその他優占種の同定・計数に用いた。

## 2. 産業連携による漁場改善の技術開発

未利用海洋資源のうち、今年度は真珠残渣 (アコヤガイの殻、養殖ブイに付着した海藻や貝類等) 及びアオサについて検討を行った。なお、アオサについては、低水温期発生型赤潮対策強化事業に記載したので省略する。

### 1) 真珠堆肥作成のマニュアル化に向けた検討

真珠堆肥づくりを県内の真珠養殖業者へ普及するためには、手間をできるだけカットし、安定した堆肥を作るためのマニュアルが必要である。そこで、1tパンライト水槽を加工し、図2に示す構造のコンポストを作成し、底から常時エア-給気することにより好気発酵を促す手法を選択した。配合割合は、真珠残渣 : 米ぬか : 粃殻 = 2 : 1 : 2とした。

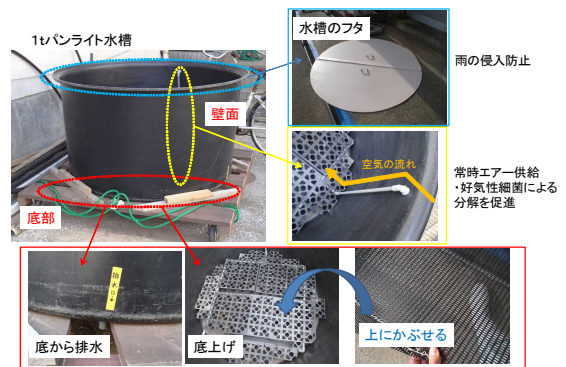


図2 真珠堆肥コンポスト概要

2) 真珠堆肥の肥料成分及び重金属含有量の把握

真珠堆肥の肥料成分及び重金属含有量の把握を目的に、水分、灰分、Ph、EC、窒素全量、リン酸全量、加里全量、石灰全量、苦土全量、C/N比、ナトリウム、アンモニア性窒素、硝酸性窒素の13項目に加え、汚泥肥料中の重金属管理手引書（農林水産省2015年3月）に従い重金属含有量を測定した。分析は、株式会社環境研究センターに委託した。

結果

1. ICT技術を用いた赤潮監視

1) 自動昇降式赤潮観測機を用いた赤潮監視技術の検証

2018年4月および2019年12月～3月の期間において猪串湾猪串に、2018年5月～11月の期間において佐伯湾鶴見に自動昇降式赤潮観測機を設置し、観測およびリアルタイムで情報を発信した。観測期間中、台風や長期間の雨天の影響によるバッテリー切れを起こした期間を除いて正常に稼働した。

猪串湾において、本機設置期間中に*Cochlodinium polykrikoides*赤潮および貝毒プランクトンの大規模な赤潮は発生しなかった（図3）。

佐伯湾において、本機設置期間中に大規模な*K.mikimotoi*赤潮が発生した。本種は5月11日に初認され、その後梅雨入りにより雨天が続き、本種にとって好適な環境条件となったため、6月11日には注意密度以上である300 cells/mlまで増殖した（図4）。その後も増殖を続け、佐伯湾全域で大規模な赤潮を形成した（図4、5）。また一方で、競合種である珪藻は、本種が増殖すると同時に衰退するといった反比例の関係性が確認された（図4）。

6月13日～6月23日までの自動昇降式観測機で得られたクロロフィル濃度の推移を図6に示した。*K.mikimotoi*は、夜間は底層に、日中は中層～表層に浮上する日周鉛直移動という特異的な行動をとることが明らかとなっている。本機器でもその日周鉛直移動がクロロフィル濃度のグラフより読み取れ、*K.mikimotoi*の増殖状況が24時間リアルタイムで監視できることが明らかとなった（図6）。また、注意密度前の6月8～9日の鉛直グラフを図7に示した。注意密度前でも、鉛直グラフを確認することにより、日周鉛直移動を行う*K.mikimotoi*等の有害プランクトンが存在している危険性を監視することが可能であることが示唆された。以上のことより、本機器により有害プランクトン*K.mikimotoi*赤潮の24時間監視が可能であることが示唆された。今後さらに他種の赤潮でも観測可能かを検証し、その行動や生態のデー

タを蓄積することにより、赤潮プランクトンの監視および水温・塩分等の環境条件より、発生予察に繋がることを期待される。

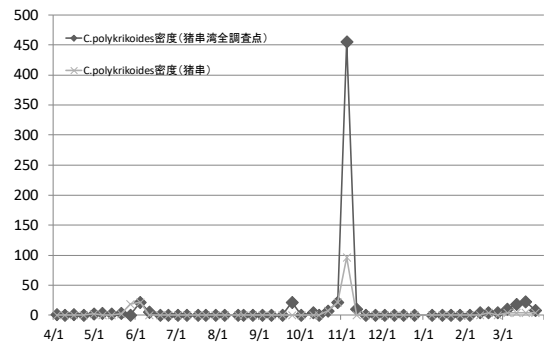


図3 猪串湾における*C.polykrikoides*の最高細胞密度の推移（自動昇降式赤潮観測機は4月および12月～3月に設置）

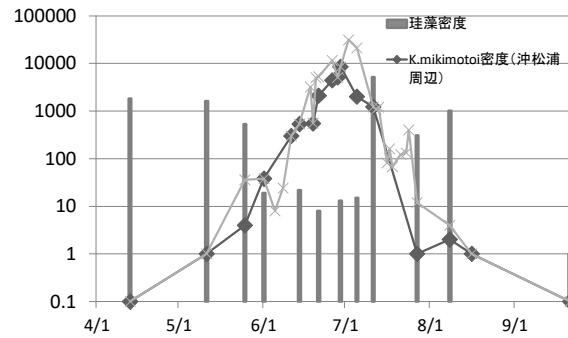


図4 佐伯湾における*K.mikimotoi*の最高細胞密度の推移（自動昇降式赤潮観測機は5月～11月に設置）

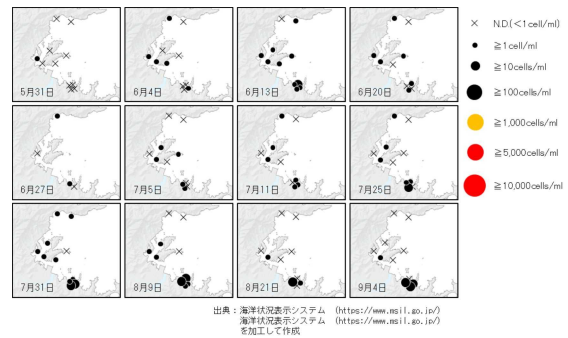


図5 佐伯湾における*K.mikimotoi*遊泳細胞密度の推移

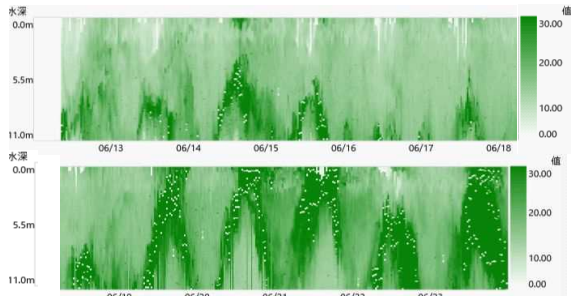


図6 6月13日～23日の期間における佐伯湾鶴見に設置した自動昇降式赤潮観測機により得られたクロロフィル濃度の推移（日付が午前0時を示す）

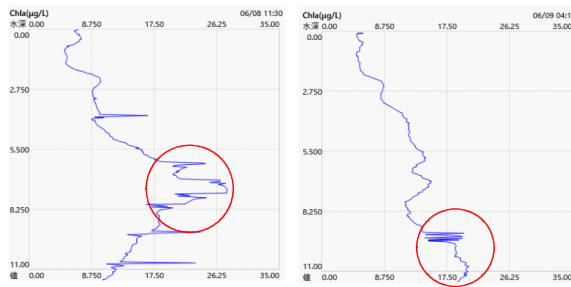


図7 自動昇降式赤潮観測機のクロロフィル鉛直グラフにより観測された*K.mikimotoi*の日周鉛直移動の様子（赤丸）（左：6月8日11：30、右：6月9日4：10のデータ）

2) 次世代型赤潮監視センサーを用いた赤潮監視技術の検証

*K.mikimotoi*赤潮が発生する5～9月の期間において佐伯湾にて本機を用い観測を行った。本期間中、佐伯湾において*K.mikimotoi*による大規模な赤潮が発生した（図4）。本機器を用いた調査は、発生初期段階の低密度であった5月11日から開始した。初期発生段階では珪藻類が優占しており、顕微鏡観察により*K.mikimotoi*が数細胞存在が確認されたが、本機器では検出できなかった（図7）。6月14日の調査では、*K.mikimotoi*が中層～底層域で46～269 cells/mlまで増殖・優占しており、本機器により検出することができた（図7）。その後、本種が増殖していくにつれFSI値も上昇していった（図7）。以上の結果より、現場海域において本機器により注意密度である200 cells/ml以下で*K.mikimotoi*を検出することができることが検証された。本機器は、これまでの調査によって珪藻等の他種が優占していない環境下では、*K.mikimotoi* 50 cells/ml以上で検出することができることが確認されており、本結果もそれを支持するものとなった。また、細胞密度上昇に伴いFSI値も上昇したことから、本機により*K.mikimotoi*の存在の有無のみではなく、細胞密度を推定できるようになることが期待される。

珪藻等が優占している環境下では低密度の*K.mikimotoi*は観測できない等の問題点を引き続き明らかにした上で、早期に現場に普及するために、さらにその有効性について検証を続ける必要があると考えられ

る。また、現在は人力によりセンサーを海中落とす方法で調査を行っているが、センサーを海中に設置し、得られたデータをインターネット上で監視できる体制を構築予定である。

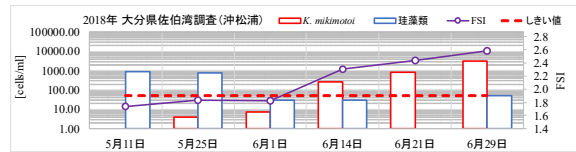


図7 佐伯湾沖松浦における次世代型赤潮監視センサーを用いた*K.mikimotoi*の検出結果（FSI 1.9以上で検出）

2. 産業連携による漁場改善の技術開発

1) 真珠堆肥作成のマニュアル化に向けた検討

水分調整及び攪拌を複数回繰り返すことで問題なく堆肥ができることがわかった。しかし、コンポストの構造上、全体を攪拌することに多大な労力を要するため、今後改善が必要である。

2) 真珠堆肥の肥料成分及び重金属含有量の把握

肥料成分及び重金属含有量については、表1のとおりである。肥料3要素の窒素全量、リン酸全量及び加里全量については、米ぬかの栄養成分の寄与度が高く、一般的な家畜糞堆肥と遜色ない肥料成分を含むことが確認できた。また、重金属含有量から堆肥の安全性の確認ができた。

表1 真珠堆肥の肥料成分及び重金属含有量

分析項目		単位	分析結果
肥料成分	水分	%	16.9
	灰分	%	45.6
	pH	-	9.1
	EC	mS/cm	2.29
	窒素全量	%	1.7
	リン酸全量	%	3.6
	加里全量	%	1.3
	石灰全量	%	18
	苦土全量	%	1.6
	C/N比	-	10
	ナトリウム	%	0.28
	アンモニア性窒素	%	0.4
	硝酸性窒素	%	<0.1
重金属含有量	ヒ素全量	mg/kg	1
	カドミウム全量	mg/kg	<0.5
	水銀全量	mg/kg	<0.1
	ニッケル全量	mg/kg	<5
	クロム全量	mg/kg	<5
	鉛全量	mg/kg	<1

## 赤潮早期予測早期対策実証事業

井口大輝・中里礼大

本事業の詳細は、平成30年度漁場環境改善推進事業「赤潮被害防止対策技術の開発」報告書（赤潮共同研究機関）2.-1)-②有害赤潮プランクトンの出現動態監視および予察技術開発（瀬戸内海西部・豊後水道・土佐湾海域）（以後、赤潮モニタリング）に記載し、本報告はその概要である。

### 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、赤潮中長期予測の現場導入を図ることが目的である。

### 事業の方法

#### 1. 中長期カレンシア赤潮予察

##### 1) *K. mikimotoi*高感度監視調査

瀬戸内海西部、豊後水道、土佐湾海域において、4～6月および冬季の2～3月に、関係する6県が共同で有害プランクトンのモニタリングや、海況、水質調査等を実施するとともに、当該海域での有害プランクトンの監視体制強化のため、遺伝子検出法を用いた高感度監視調査を実施した。

##### 2) 赤潮発生シナリオと予察技術の検証と改良

平成29年度までに実施した統計解析により、判別分析や判別得点のロジスティック回帰によって数ヶ月から数週間程度の時間スケールでの*K. mikimotoi*赤潮の予察が可能であることが分かっ

た。しかし、判別分析に用いた環境因子や判別式が、今後も予察に使用できるか検証が必要である。そこで、各県海域での解析期間を2002～2017年として環境因子の再抽出を行い、古い年～2017年の異なる解析期間で比較した（解析期間の比較）。さらに、平成29年度の瀬戸内海東部海域の手法を参考にし（長谷川ら2018）、2002～2017年の解析期間で抽出された環境因子とそれらをもとに作成した判別式について、判別の可否を1年ずつ廻り、判別率の推移を検証した（廻り解析）。

佐伯湾における*K. mikimotoi*赤潮の主な発生時期は6月～8月であるため、赤潮発生より以前に入手可能である1月から8月までの月平均表層水温、月平均表層塩分の海象データおよび佐伯市の月平均気温、合計降水量、日最大降水量、日照時間の気象データ（気象庁アメダス佐伯）の計48項目を使用した。本解析では*K. mikimotoi*の最高細胞密度が1,000 cells/mL以上だった年を赤潮発生年、1,000 cells/mL未満だった年を非発生年とした。

### 結果

#### 1. 中長期カレンシア赤潮予察

##### 1) *K. mikimotoi*高感度監視調査

*K. mikimotoi*遺伝子検査の結果、従来の濃縮検鏡では検出できなかった時期でも、遺伝子検査により高感度に検出することが可能となり、*K. mikimotoi*初期個体群の動向を把握する上で有効であることが再確認された。

##### 2) 赤潮発生シナリオと予察技術の検証と改良

解析年数の比較は、2002～2017年の16年間と1990～2017年の28年間を比較した（表1）。2つの期間では抽出される項目数および種類が一部異なっており、共通の項目として3つの環境因子が抽出された。特に「3月日照時間」については、解析年数が増えると赤潮発生年と非発生年の違いがより顕著になった。この環境要因は、昨年度作成した赤潮発生シナリオでも高い相関が確認された項目であり、赤潮発生シナリオをさらに支持できると考えられる。

2002～2017年度のデータで作成した判別式を用いて、2001年から廻って判別得点を求め、判別率を算出する廻り解析を行った。例として、「2月気温と1月表層塩分」、「3月降水量と1月表層塩分」のデー

タセットを用いて作成した判別式で遡った判別率の推移を示す(図1)。「2月気温と1月表層塩分」では、徐々に判別率が低下し、1998年より以前では、統計的に有意と言えない判別率25~75%の範囲となった。一方、「3月降水量と1月表層塩分」では遡るにつれての判別率の顕著な低下は認められず解析期間を通して87.5%~100%に留まった。また、他の環境因子の組み合わせにおいても、3月降水量を項目として使用すると、的中率が下がりにくい傾向がみられた。3月降水量は解析期間が異なっても、赤潮発生・非発生と高い相関を示し、さらに解析期間を遡っても判別率が高い数値を示すことから、佐伯湾において赤潮発生に深く関与していることが考えられた。

参考文献

長谷川尋士, 本田恵二, 濱崎正明, 宮原一隆, 原田和弘, 山本泰司, 秋山諭, 山本圭吾, 田中咲絵, 住友寿明, 池脇義弘. 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①瀬戸内海東部海域. 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」, 水産庁, 東京. 2018 ; 9-38.

表1 佐伯湾海域において抽出された環境要因

(a) 2002~2017年

環境要因	t検定		U検定	
	p値	結果	p値	結果
3月降水量	0.0010	**	0.0221	*
3月日照時間	0.0673	+	0.0143	*
2月気温	0.0569	+	0.1059	n.s
1月表層水温	0.0324	*	0.1046	n.s
1月表層塩分	0.1104	n.s	0.0594	+
2月表層塩分	0.1257	n.s	0.0594	+

(b) 1990~2017年

環境要因	t検定		U検定	
	p値	結果	p値	結果
3月降水量	0.0069	**	0.0055	**
8月降水量	0.1177	n.s	0.0735	+
3月日照時間	0.0011	**	0.0003	**
5月日照時間	0.0176	*	0.0326	*
8月日照時間	0.0984	+	0.1003	n.s
1月表層水温	0.0667	+	0.0504	+
2月表層水温	0.0920	+	0.1041	n.s

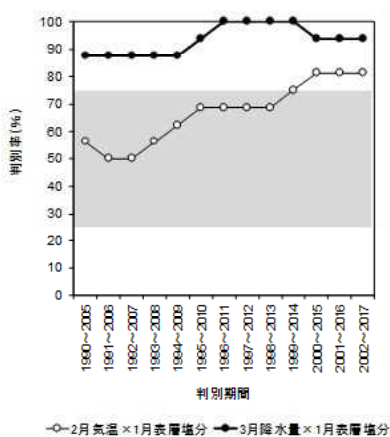


図1 佐伯湾海域における判別分析の遡り解析による判別率の推移 (灰色部分は判別率が25~75%であり優位ではない)

# 赤潮防除・被害軽減手法の開発—1

## 漁場環境改善推進事業「赤潮被害防止対策技術の開発」 (国庫委託)

井口大輝・中里礼大

本事業の詳細は、平成30年度漁場環境改善推進事業「赤潮被害防止対策技術の開発」報告書(赤潮共同研究機関)2.-2)-②-イ. 既存の赤潮防除技術の高度化とマニュアル作成に記載し、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)、国立研究開発法人水産研究・教育機構水産工学研究所、東町漁業協同組合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、その対策が強く求められている。一方で、各現場では長年の経験に基づいて構築された被害軽減技術(餌止め、生簀避難など)が実用されている。本課題では、既存の技術を対象として科学的な検証と基礎情報の収集を行い、高度化を図ること、そして技術普及を円滑に推進するためのマニュアルを作成することを目的とする。まずは、①海面養殖における足し網および生簀浮沈法、②陸上養殖における酸素注入の2件について検討する。

### 事業の方法

#### 1. 足し網および生簀沈下技術の改良およびマニュアル作成

##### 1) 有害赤潮プランクトンの日周鉛直移動の観測

初期発生段階で *Chattonella* の鉛直移動パターンと環境条件との関係を明らかにするため、平成30年8月19

日7時~20日18時に、八代海 姫戸観測ブイにおいて、3~4時間おきに採水および各種観測機器を用い、*Chattonella* spp.細胞の鉛直分布および環境条件を昼夜連続で観測した。

##### 2) 魚群探知機および環境計測機器の設置

養殖魚の行動に及ぼす環境条件の影響を把握するために、二つの養殖場に魚群探知機を設置した。現場の一つは八代海ブリ養殖場(水深:約35m、寸法:直径12mの円形、生簀深度:10m、収容尾数:3,800尾、サイズ:尾叉長約58cm、体重約3.3kg)で、平成30年9月15~18日に試運転を行った。もう一つは佐伯湾のマグロ養殖場(水深:約50m、寸法:40m×40mの正方形、生簀深度:16~25m、収容尾数:1,20尾、サイズ:約80cm、体重約10kg)で、平成30年10月31日~11月2日に試運転を行った。取得したデータをSonar viewerで可視化し、養殖魚魚群の鉛直分布を抽出した。

##### 3) 既存データの解析

現時点で最適と考えられる足し網および生簀沈下の方法を提案するために、有害赤潮プランクトン *Chattonella* および *K. mikimotoi* の日周鉛直移動について文献や独自に取得したデータを整理した。

#### 2. 養殖魚および有害赤潮プランクトンに及ぼす酸素注入の影響把握

##### 1) 陸上養殖魚への *K. mikimotoi* 赤潮曝露試験

陸上養殖魚種に天然 *K. mikimotoi* 赤潮海水を曝露し、酸素供給による影響や延命効果があるかを明らかにするため、以下の実験を行った。平成30年6月26日に佐伯湾地松浦地先において、*K. mikimotoi* 赤潮海水(4,400 cells L<sup>-1</sup>)を採取し、実験に供した。30L容パンライト水槽に赤潮海水または砂濾過海水を注入し、

ヒラメ稚魚（平均体重 31.1 g）を 3 尾ずつ収容した。溶存酸素濃度（以下、DO）は、清浄海水については、7 mg L<sup>-1</sup>（対照区）、赤潮海水については、7 mg L<sup>-1</sup>（DO 7 mg L<sup>-1</sup> 通気区）、15 mg L<sup>-1</sup>（DO 15 mg L<sup>-1</sup> 通気区）および 30 mg L<sup>-1</sup>（DO 30 mg L<sup>-1</sup> 通気区）の 3 段階に設定した。曝露時間は 24 時間実施し、経時的に魚の行動や生死の観察、多項目水質計を用いた水質環境の測定および *K. mikimotoi* 細胞密度の計数を行った。その後、生残魚を清浄海水に戻して、さらに 24 時間生存を観察した。

次に、供試赤潮海水を 1 日間静置して *K. mikimotoi* を集積させることによって得られた約 50,000 cells L<sup>-1</sup> の高濃度赤潮海水を用いて、DO 7 mg L<sup>-1</sup> 通気区および DO 30 mg L<sup>-1</sup> 通気区を設定し、2 尾のカワハギ稚魚（平均体重 11.9 g）へ同様の曝露試験を行った。

## 2) 有害プランクトンへの高濃度酸素注入

高濃度酸素注入が有害プランクトンへ与える影響を明らかにするために、毒性を有する *K. mikimotoi* および *C. marina* 培養株を選抜し、高濃度酸素を注入した有害プランクトンの生理状態および毒性の変化を経時的に観察した。*K. mikimotoi* 強毒株 (2,000 cells L<sup>-1</sup>) または *C. marina* 強毒株 (4,800 cells L<sup>-1</sup>) の培養液 100 mL と培地 300 mL を混合した試料、あるいは培地のみ 400 mL を 500 mL 容トルビーカーに入れた。次に、DO が 7 mg L<sup>-1</sup>（DO 7 mg L<sup>-1</sup> 通気区）、15 mg L<sup>-1</sup>（DO 15 mg L<sup>-1</sup> 通気区）または 30 mg L<sup>-1</sup>（DO 30 mg L<sup>-1</sup> 通気区）になるようにエアレーションおよび酸素ガス注入を行った。対照区として、何も通気しない無通気区を設定した。明暗周期 12hL:12hD で 24 時間培養し、3 時間毎に水温、DO、有害プランクトン細胞密度、スーパーオキシドレベル、光合成活性を測定し、有害プランクトンへの酸素供給の影響を評価した。また、毒性の経時変化を見るために、通気条件の異なる *K. mikimotoi* 培養液をワムシへ曝露し、ワムシの生残を観察した。

## 事業の結果・考察

### 1. 足し網および生簀沈下技術の改良およびマニュアル作成

#### 1) 有害赤潮プランクトンの日周鉛直移動の観測

調査期間中、*Chattonella* の細胞密度は細胞極大層において 770 ~ 10,770 cells L<sup>-1</sup> で推移した（図 1）。極大層深度は 0 ~ 14 m 深で推移し、6 ~ 9 時に上昇を開始して 12 ~ 13 時に表層付近に到達、夕方 17 ~ 20 時から下降を開始した。下降（8 月 19 日 17 時 ~ 20 日 3 時）および上昇速度（8 月 20 日 6 ~ 13 時）はそれぞれ 1.2 および 0.92 m h<sup>-1</sup> と推定された。細胞極大層における集積度 13 ~ 56% で、細胞極大層が表層に到達した 12 ~ 13 時に最大となり、上昇を開始する直前の早朝に最も低くなった。最大細胞密度の 50% 以上が分布する深度層（細胞集積層）の厚みは 1 ~ 14 m の範囲（平均 3.5 m）にあり、下降中に高かった。

調査期間中、水温は 25.6 ~ 29.1 °C、塩分は 30.2 ~ 32.6、クロロフィル蛍光値は 0 ~ 19.4 fsu の範囲で推移した。水温および塩分の躍層が 5 ~ 10 m に認められたが、*Chattonella* spp. は密度躍層を越えて鉛直移動していた。また、密度躍層付近にクロロフィル蛍光値の極大層が認められた。このクロロフィル極大層における海水試料を顕鏡したところ、珪藻類が優占していた。

調査期間中、日射量より算出した入射光量は、8 月 19 日に天候が良く非常に高かった（最大 1,603 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, 13 時）が、20 日は曇天のため低かった。深度ごとの水中光量子束密度より算出した消散係数は 0.32 ~ 0.73 の範囲で推移した。入射光と消散係数より算出した *Chattonella* 細胞極大層における光量子束密度は、最大で 874 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>（8 月 19 日 17 時）であった。この結果から、*K. mikimotoi* とは異なり、*Chattonella* は強光に曝されても表層まで到達し集積する性質を有することが確認された。

本調査により、極めて低い細胞密度の初期発生時における *Chattonella* spp. の鉛直移動パターンおよびそれに関連するパラメータが得られた。

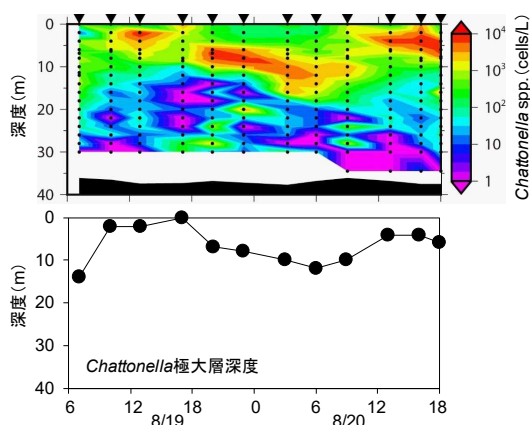


図1 *Chattonella* spp. 細胞密度の鉛直分布の日変化

## 2) 魚群探知機および環境計測機器の設置

八代海ブリ養殖場で3～4日間、佐伯湾マグロ養殖場2～3日間、生簀内の魚群データの取得に成功した。八代海ブリ養殖場における魚群の鉛直分布を1時間おきに抽出してグラフ化したものを図2に示す。日中は下層に集積している時間帯と離底している時間帯があり、夜間は上下層に広く分布していた。以前、臼杵湾のブリ養殖場で同様の観察した際は、給餌日には昼間生簀下層に分布が集中し、日の出および日没前後に離底して表層に分布する明確な日周パターンが観察されたのに対し、無給餌日にはそのリズムが不明瞭となって昼間も離底する行動が観察された。本調査期間中は、調査開始前日～調査終了前日に餌止めをしており、恐らく、このことが原因で上述のような行動パターンが観察されたと考えられた。

一方で、佐伯湾マグロ養殖場における魚群の鉛直分布を1時間おきに抽出してグラフ化したものを図3に示す。観測開始初日～2日目、マグロは昼間ほとんどの時間帯で7～8m以深の層に分布していたが、夕方と朝方、夜間には離底する行動が認められた。しかしながら、2～3日目には一貫して7～8m以深の層に分布が集中した。調査期間中、給餌時間が異なっていたことや初日のみ曇天であり、日中の天候が日によって異なっていたことが規則性に乏しい行動につながった可能性がある。

今後、環境計測機器も設置した長期的な調査を行い、養殖魚の平常時および赤潮時の行動パターンを明らかにしていく予定である。

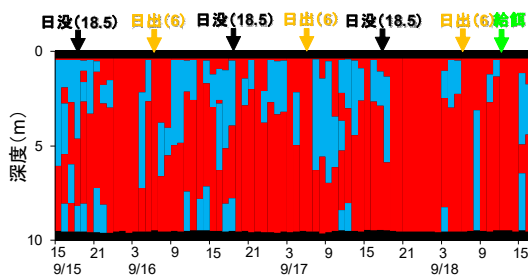


図2 八代海ブリ養殖場における魚群鉛直分布の経時変化

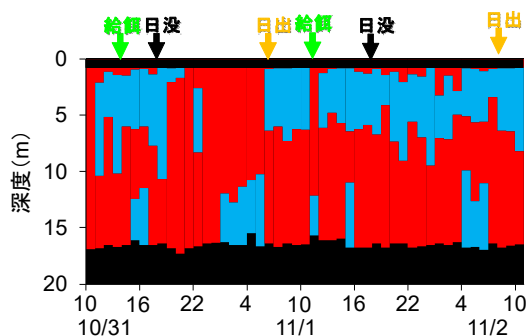


図3 佐伯湾マグロ養殖場における魚群鉛直分布の経時変化

## 3) 既存データの解析

先行研究および本研究で得られた *Chattonella* の日周鉛直移動のパラメータを表1にまとめた。これらのパラメータを整理すると、平均的には以下のような基本鉛直移動パターンが提案される。

- ・上昇開始：日出1時間前
- ・下降開始：日没1時間前
- ・上昇下降速度：1 m h<sup>-1</sup>

*Chattonella* が過去に大規模化した八代海の7月中下旬を想定し(熊本市、日没：19時半、日出5時半)、上記の鉛直移動設定で *Chattonella* の細胞極大層深度の日変化をシミュレートした。その結果、日出1時間前に10m深まで到達し、その後14時半に表層に到達して停滞するというパターンが描かれた(図4)。さらに、現場により近づけるために極大層に厚みを持たせた。細胞集積層は極大層深度を中心に均等に広がる場合もあれば、上下に偏る場合もあるので、上述した昼夜連続観測で得られた厚みの平均値4mを極大層深度の上下に付加した。その結果、図5のような *Chattonella* の



細胞集積層の鉛直移動が描かれ、細胞集積層は日出直前に 15m 深まで達した。この結果を踏まえると、*Chattonella* 赤潮の場合、足し網後の網丈を 15 m 以上にすれば *Chattonella* 集積層と遭遇しないスペースが生まれること、深度 15m 以上に生簀を沈下させれば一日中集積層に曝露されないことが推察された。しかしながら、*Chattonella* が表 1 で示されているようなパラメータで鉛直移動するのは細胞状態が健全な時や環境条件が好適な時期に限られるかもしれない。*Chattonella* は低塩分水が上層に存在する場合、塩分躍層付近に集積すること (Shikata et al. 2014)、赤潮衰退時に全層に分布して明確な鉛直移動を停止すること (鬼塚ら 2011) などが知られている。最適な足し網法および生簀沈下法を提案するために、今後さらに、様々な赤潮の段階や環境条件下で情報を収集していく必要がある。

次に、*K. mikimotoi* について同様の検討を行った。健全時の本種の日周鉛直移動パラメータを表 2 に示す。これらを踏まえると、平均的には以下のような設定が提案される。

- ・上昇開始：日出 2.5 時間前
- ・下降開始：日没 4.5 時間前
- ・上昇下降速度：2 m h<sup>-1</sup>

*K. mikimotoi* は現場において強光を避ける性質を有しており、昼間の最高到達層は光強度 100 ~ 300 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> 以下の深度層と考えられている (紫加田ら 2015)。本種が頻発する佐伯湾沖松浦の場合、夏場の晴天時で 300 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> が到達する深度は平均で 5m であり、実際に本種が 5m 層付近に集積することを確認している (紫加田ら 2014)。曇天時の場合、表層で 300 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> を下回ることがあるので、本種が表層到達することが想定され、実際に観察例も存在する (Shikata et al. 2017)。これらのことを踏まえ、晴天時と曇天時を分けて、上述の *Chattonella* と同様のシミュレーションを行った。時期は本種が佐伯湾で頻発する 7 月中旬 (大分市、日没：19 時半、日出 5 時半) に設定した。細胞濃密層の厚みは過去の観測データ (楠浦湾 4 m、吉田湾 3.7 m、佐伯湾 1.8 ~ 2.5 m) に基づき、極大層深度 ± 4 m に設定した。その結果、*K. mikimotoi* 細胞集積層は夜間、晴天時および曇天時にそれぞれ 33 および 28m 深まで下降した (図 6)。

次に、細胞集積層に曝露される 48 時間あたりののべ時間を深度ごとに算出した (図 7)。曝露時間は、晴天時で 9 ~ 25 m 層、曇天時で 4 ~ 20m 層において 16 時間で、それより浅いあるいは深い層で曝露時間は短くなることが推定された。また、下降から上昇に転じる時間帯 (夜間~昼) は浅いほど、上昇から下降に転じる時間帯 (昼~夜間) は深いほど、曝露から次の曝露までの時間 (休憩時間) は長くなることが分かった。以上を踏まえると、*K. mikimotoi* の場合、足し網をして網丈を約 30m 以上にしない限り、赤潮フリーの逃げ場を作れないし、生簀を深度 30m 以上に沈めないで赤潮との接触を完全に防ぐことはできないと推察された。すなわち、海流など物理的な因子を考えると *K. mikimotoi* 赤潮対策として、足し網法や生簀沈下法は実用的でない可能性もある。ただ、赤潮の魚毒性が時間帯によって大きく変化する、あるいは曝露から曝露までの時間が長くなれば致死率低下や延命に効果があれば、やり方によっては被害軽減効果が期待できる。今後は、赤潮の魚毒性の変動等を考慮しながら足し網および生簀沈下法をカスタマイズしていく予定である。

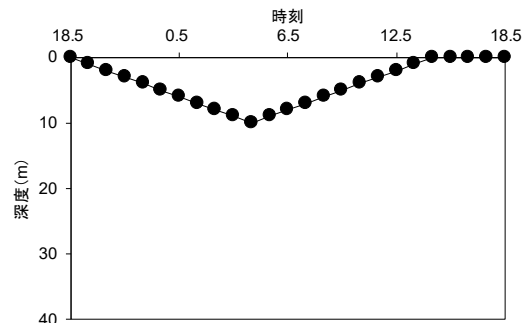


図4 *Chattonella*の細胞極大層の日周変化

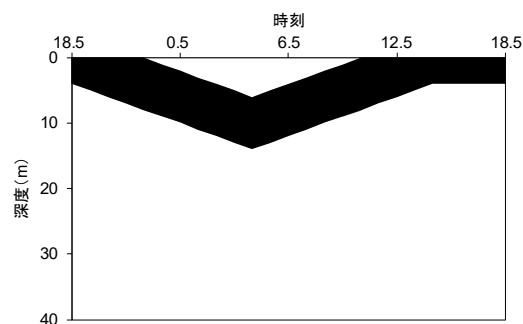


図5 *Chattonella*の細胞集積層の日周変化

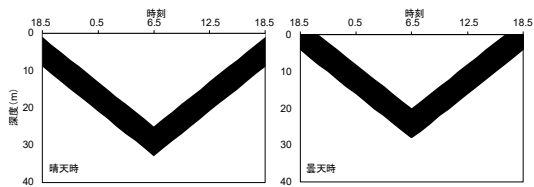


図6 *Karenia mikimotoi*の細胞集積層の日周変化

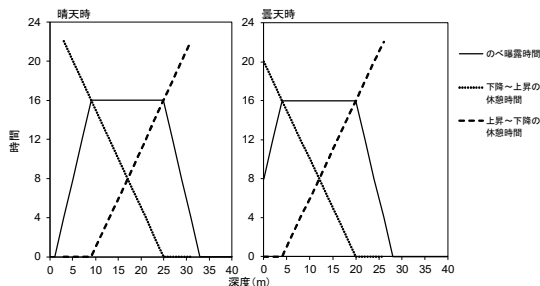


図7 深度ごとの生簀が *Karenia mikimotoi* の細胞集積層に曝露される48時間当たりののべ時間および曝露～次の曝露までの時間 (休憩時間)

表1 *Chattonella* の日周鉛直移動パラメータ

生物種	日長 (hours)	上昇開始時刻 <sup>a</sup>	下降開始時刻 <sup>b</sup>	上昇時間 (hours) <sup>c</sup>	上昇速度 (m/h)	下降速度 (m/h)	Reference
<i>Chattonella antiqua</i>	13.5	-1.0	-0.3	15	0.8	0.8	Watanabe et al. 1995
	13.5	-1.0	-2	12.5		0.6	Katano et al. 2009
	14	-0.5	-0.5	14	2.0	1	櫻田ら 2013
	13.3	+1.5	-0.5	11	1.16	0.92	紫加田ら発表表

<sup>a</sup>日出からの時間  
<sup>b</sup>日入からの時間  
<sup>c</sup>1周期24時間とした場合の値  
<sup>d</sup>上昇開始時刻と遊泳速度から算出

表2 *Karenia mikimotoi* の日周鉛直移動パラメータ

日長 (hours)	上昇開始時刻 <sup>a</sup>	下降開始時刻 <sup>b</sup>	上昇時間 (hours) <sup>c</sup>	上昇速度 (m/h)	下降速度 (m/h)	Reference
14	-0.75	-5.0	8.3		1.7	Honjo et al. 1990
13.5	-4.0	-7.0 <sup>d</sup>	10.5 <sup>d</sup>	2.2	2.2	Koizumi et al. 1996
14	-2.5	-2	14	2.2	2.2	Shikata et al. 2017

<sup>a</sup>日出からの時間  
<sup>b</sup>日入からの時間  
<sup>c</sup>1周期24時間とした場合の値  
<sup>d</sup>上昇開始時刻と遊泳速度から算出

2. 養殖魚および有害赤潮プランクトンに及ぼす酸素注入の影響把握

1) 陸上養殖魚への *K. mikimotoi* 赤潮曝露試験

実験期間中、水温はどの試験区も 20.9 °C ~ 24.6 °C の範囲で推移し、DO は対照区および DO 7 mg L<sup>-1</sup> 通気区で 6.8 ~ 7.3 mg L<sup>-1</sup>、DO 15 mg L<sup>-1</sup> 通気区で 9.0 ~

17.9 mg L<sup>-1</sup>、DO 30mg L<sup>-1</sup> 通気区で 31.1 ~ 35.6 mg L<sup>-1</sup> で推移した。 *K. mikimotoi* の細胞密度は、DO 7 mg L<sup>-1</sup> 通気区および DO 15 mg L<sup>-1</sup> 通気区では実験開始時 (約 4,400 cells mL<sup>-1</sup>) からほとんど減少しなかったのに対し、DO 30 mg L<sup>-1</sup> 通気区でのみ試験開始 12 時間後から球形の細胞が多く認められ、24 時間後には細胞密度が 1,770 cells mL<sup>-1</sup> まで減少した (図 8)。しかしながら、*K.mikimotoi* 赤潮海水 (約 4,400cells mL<sup>-1</sup>) に曝露したヒラメ稚魚は全ての試験区でへい死せず (図 8)、細胞密度の低さが原因の一つと考えられた。

次に、供試赤潮海水を静置して得られた高細胞密度の *K.mikimotoi* 赤潮海水 (約 50,000cells mL<sup>-1</sup>) をカワハギ稚魚に曝露した結果、DO7 mg L<sup>-1</sup> 通気区では試験開始約 25 分後に全ての稚魚がへい死したが、DO30 mg L<sup>-1</sup> 通気区では曝露中および清浄海水へ戻した後もへい死せず、酸素供給による延命効果が認められた (図 9)。また、DO 30 mg L<sup>-1</sup> 通気区における *K. mikimotoi* は試験開始 24 時間後には全滅した (図 9)。

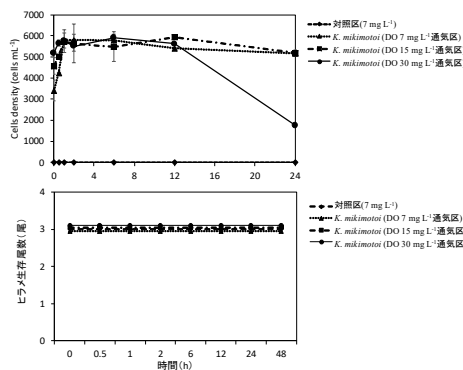


図8 ヒラメ稚魚への赤潮曝露試験における *Karenia mikimotoi* 細胞密度の推移 (上) と生存尾数の推移 (下)

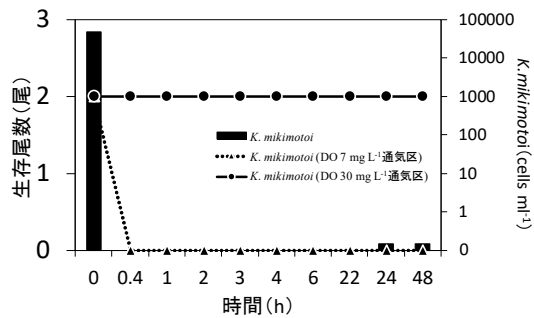


図9 DO 30mg L<sup>-1</sup>通気区における*Karenia mikimotoi*赤潮海水(約50,000 cells mL<sup>-1</sup>)の細胞密度の推移とカワハギ稚魚の生存尾数(細胞密度は0、24および48時間後のみ計測)

## 2) 有害プランクトンへの高濃度酸素注入

比較的高い魚毒性を確認した*K.mikimotoi* Km02KSSを実験に供した。赤潮プランクトン試験区の水温は19.8～23.5℃の範囲内、DOは無通気区およびDO7mg L<sup>-1</sup>通気区で6.8～7.5 mg L<sup>-1</sup>、DO15mg L<sup>-1</sup>通気区で14.1～16.3mg L<sup>-1</sup>であり、DO30mg L<sup>-1</sup>通気区では24時間後のDOは31.8～33.5mg L<sup>-1</sup>であった。*C.marina*および*K.mikimotoi*の細胞密度の時間変化を図10に示す。*C.marina*の細胞密度は通気条件に関わらず全ての試験区で減少しなかったが、*K.mikimotoi*の細胞密度はDO30mg L<sup>-1</sup>通気区において、試験開始12時間後には細胞が球形化するとともに葉緑体の凝集や破裂が認められ、細胞密度は試験開始時の29%に減少した。*K.mikimotoi*の細胞密度はその後、試験開始21時間後には全滅した。

スーパーオキシドレベルの時間変化を図11に示す。*K.mikimotoi*は全ての試験区においてスーパーオキシドレベルが $130 \sim 1.20 \times 10^4$ の範囲にあった。*K.mikimotoi*と比べて、試験開始時の*C.marina*のスーパーオキシドレベルは極めて高かったが、DO7mg L<sup>-1</sup>通気区、DO15mg L<sup>-1</sup>通気区およびDO30mg L<sup>-1</sup>通気区において、通気開始から2時間後には1桁、24時間後には2桁減少した。このことは、空気や酸素の通気によって*C.marina*のスーパーオキシド産生を抑制させ得る可能性を示唆している。スーパーオキシドは魚毒因子候補として考えられているため(小田, 2016)、酸素通気によりスーパーオキシドを低下させることで赤潮プランクトンの魚毒性を低下させる効果が期待できる。本研究では高

濃度酸素に曝した*C.marina*の魚毒性を確認できていないが、高山(1975)は*C.antiqua*培養株(3,000cells mL<sup>-1</sup>)をハマチに曝露する際に、過飽和酸素供給(酸素飽和度268%、Weiss [1970]の方法で換算すると約18.8 mg L<sup>-1</sup>)を行うことでハマチに延命効果があることを報告している。高山(1975)はハマチが高濃度の酸素を取り込むことが延命につながると考察しているが、本研究を踏まえると、それだけでなく、高濃度の酸素によって*C.marina*の魚毒性を低下させる効果もあったのかもしれない。

光合成活性の時間変化を図12に示す。*K.mikimotoi*のDO30mg L<sup>-1</sup>通気区を除いて、いずれの実験区においても光合成活性は大きな変動を示さなかった。*K.mikimotoi*のDO30mg L<sup>-1</sup>通気区においては、3時間後から徐々に光合成活性(Fv/Fm、Φ II、qP)が低下し、その後一気に低下して12時間後にはゼロとなった。すなわち、*K.mikimotoi*の光合成活性の低下は細胞密度の減少(12時間後)よりも早いタイミングで認められた。このことは、高濃度酸素の注入が光合成機能を低下させ、細胞死を助長させた可能性を示唆するものである。

*K.mikimotoi*のシオミズツボワムシアッセイ結果を図12に示す。無通気区、DO7mg L<sup>-1</sup>通気区およびDO15mg L<sup>-1</sup>通気区については、いずれの時間帯で採取された場合も、*K.mikimotoi*培養液はワムシを全滅させた。一方で、DO30mg L<sup>-1</sup>通気区については、12時間通気した後の*K.mikimotoi*培養液をワムシに曝露した結果、ワムシの生残率は7%となり、わずかに上昇した。さらに、生残率は18時間通気後で50%、24時間通気後で93%と大きく上昇していった(図13)。ただし、ワムシの生残率の上昇は、*K.mikimotoi*細胞密度の減少時(12時間後)に起こったので、*K.mikimotoi*の毒性が低下したというよりも、ワムシと*K.mikimotoi*細胞の接触頻度が減少したことに起因する可能性が高い。

以上の結果から、空気や酸素の通気は*C.marina*のスーパーオキシド産生を低下させ、*K.mikimotoi*の駆除に有効であることが明らかとなった。一方で、養殖現場に応用するためには、各養殖魚類に対する延命効果が期待できる最低限の酸素濃度を明らかにする必要がある。また、費用対効果の観点から、マイクロバブル等

を適用して効率よく高めることを検討するべきである。

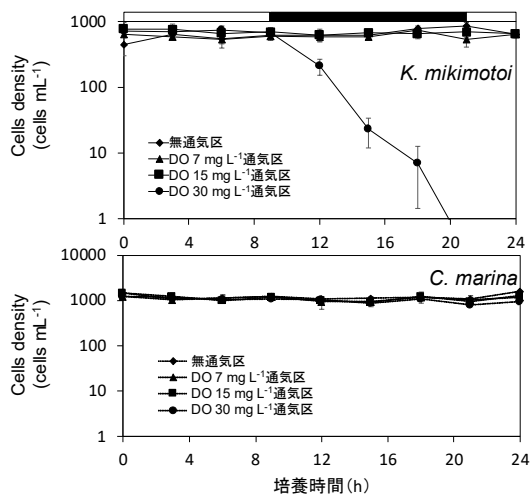


図10 有害プランクトンへの高濃度酸素注入試験における細胞密度の時間変化

上 : *K. mikimotoi*、下 : *C. marina*

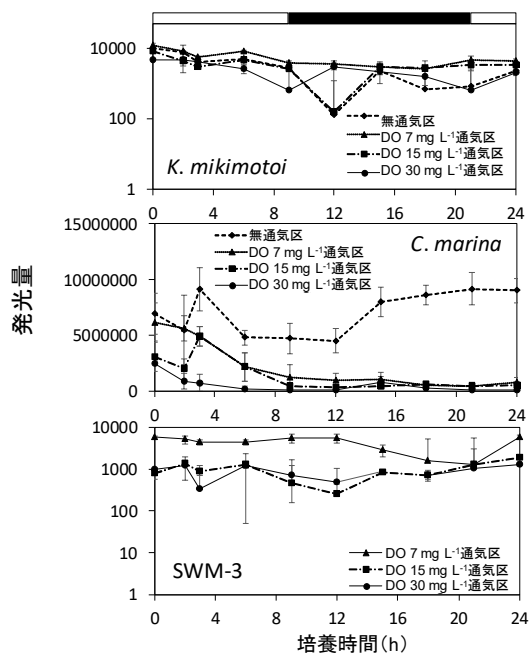


図11 高濃度酸素注入試験におけるスーパーオキシドの時間変化

上 : *K. mikimotoi*、中 : *C. marina*、下 : SWM-3培地

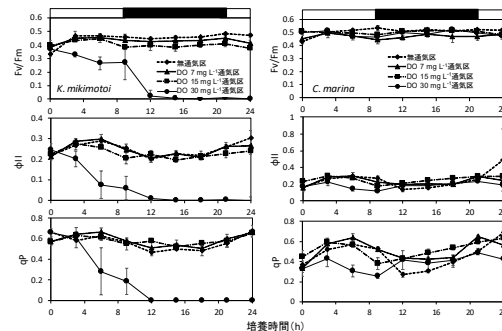


図11 高濃度酸素注入試験における光合成活性 (Fv/Fm・ΦII・qP) の推移

左 : *K. mikimotoi*、右 : *C. marina*

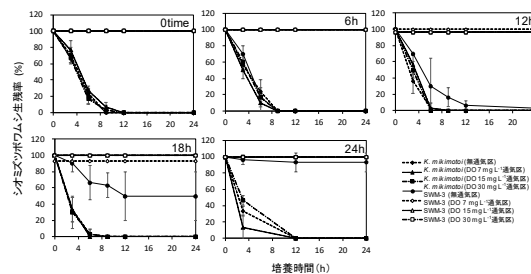


図12 高濃度酸素注入試験におけるワムシアッセイの結果

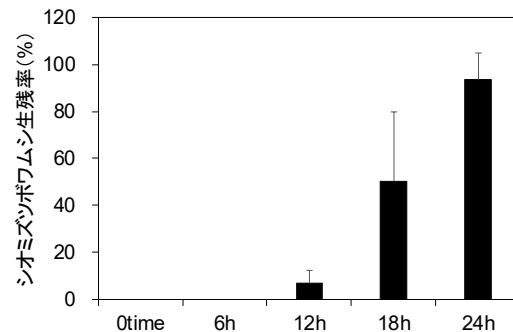


図12 高濃度酸素注入試験におけるDO 30mg L<sup>-1</sup>通気区のワムシアッセイ結果 (ワムシへの曝露12時間後)

引用文献

水野健一郎, 茅野昌大, 大竹周作, 宮村和良, 福田穰, 松山幸彦, 長江彬. 平成 27 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 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「有害プランクトンに

- よる貝類への影響評価」報告書, 九州海域赤潮・貧酸素共同研究機関, 2016 ; 175-190.
- 小田達也. 2-11 *Chattonella* の魚毒性発現機構—活性酸素関与の可能性. 今井一郎, 山口峰生, 松岡敷充編, 有害有毒プランクトンの科学, 恒星社厚生閣, 2016; 139-144.
- 鬼塚剛, 青木一弘, 清水学, 松山幸彦, 木元克則, 松尾斉, 未代勇樹, 西広海, 田原義雄, 櫻田清成. 2010 年夏季に八代海で発生した *Chattonella antiqua* 赤潮の短期動態: 南部海域における出現特性. 水産海洋研究 2011; 75: 143-153.
- 紫加田知幸, 鬼塚剛, 北辻さほ, 坂本節子, 宮村和良. 平成 25 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. 「現場ミクロコズ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」報告書, 瀬戸内海赤潮共同研究機関, 2014 ; 153-157.
- 紫加田知幸, 鬼塚剛, 山口峰生, 高山剛, 伏屋玲子, 宮村和良, 梶川和武. 平成 26 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. 「有害赤潮鞭毛藻類の遊泳特性を利用した新規赤潮防除技術の開発」報告書, 瀬戸内海赤潮共同研究機関, 2015 ; 168-183.
- Shikata T, Onitsuka G, Abe K, Kitatsuji S, Yufu K, Yoshikawa Y, Honjo T, Miyamura, K. Relationships between light environment and subsurface accumulation during the daytime in the red-tide dinoflagellate *Karenia mikimotoi*. *Mar. Biol.* 2017; **164**: 18.
- Shikata T, Sakamoto S, Onitsuka G, Aoki K, Yamaguichi M. Effects of salinity on diel vertical migration behavior in two red-tide algae. *Chattonella antiqua* and *Karenia mikimotoi*. *Plankton Benthos Res.* 2014; **9**: 42-50.
- 高山晴義. 魚類におよぼす赤潮の影響について-II DO 過飽和によるへい死の防除. 水産増殖 1975; **23**: 115-118.
- Weiss, R. F. The solubility of nitrogen, oxygen and argon in water and seawater. In: *Deep Sea Research and Oceanographic Abstracts*. Elsevier, 1970; 721-735.
- Zou Y, Yamasaki Y, Matsuyama Y, Yamaguchi K, Honjo T, Oda T. Possible involvement of hemolytic activity in the contact-dependent lethal effects of the dinoflagellate *Karenia mikimotoi* on the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Harmful Algae* 2010; **9**: 367-373.

## 赤潮防除・被害軽減手法の開発— 2

### 漁場環境改善推進事業「赤潮被害防止対策技術の開発」 (国庫委託)

井口大輝・中里礼大

本事業の詳細は、平成 30 年度漁場環境改善推進事業「赤潮被害防止対策技術の開発」報告書(赤潮共同研究機関) 2-2) -②-ウ、改良粘土散布の実証試験および新たなマグネシウム剤の開発、対策実施マニュアルの作成に記載し、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・教育機構西海区水産研究所(西水研)、長崎県総合水産試験場、鹿児島県水産技術開発センター、宇部マテリアルズ株式会社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

近年駆除が困難だった *Karenia mikimotoi* (以下、*K.mikimotoi*) に対して、5 分間で 100 %の駆除効果を示すマグネシウム剤(以下、改良マグネシウム剤)が開発された。この新規防除剤について、室内試験で効果を検証し、高い駆除効果と安全性が確認され次第、改良マグネシウム剤を用いた現場実証試験を実施し、その結果、経済性についても検証したうえで対策実施マニュアルを作成することを目的とする。

#### 事業の方法

##### 1. *K.mikimotoi*への殺滅効果試験

ラフィド藻 2 種 (*Chattonella antiqua* および *Heterosigma akashiwo*) 及び渦鞭毛藻 3 種 (*Karenia mikimotoi*、*Cochlodinium polykrikoides* および

*Cochlodinium* sp. Type Kasasa) に対する改良マグネシウム剤の駆除効果について調べた。これら 5 種の培養株に対し、改良マグネシウム剤を 10、20、50、100、200、500ppm になるように添加し、5、15 及び 60 分後に一部を顕微鏡下で計数した。

次に、平成 30 年 7 月 3 日に大分県佐伯湾にて発生した *K.mikimotoi* 赤潮海水(細胞密度: 8,881 cells/mL)を用い、改良マグネシウム剤の殺滅効果試験を行った。赤潮海水に、改良マグネシウム剤を 0、100、200、300ppm になるように添加し、防除剤添加前、添加後(5、15、30 分後、24 時間後)に顕微鏡観察により、形態の変化・遊泳細胞密度の経過観察を行った。

##### 2. 改良マグネシウム剤の魚毒性の評価

ブリ稚魚(平均体重: 8.34g)、カワハギ稚魚(平均体重: 31.5g) およびヒラメ稚魚(平均体重: 89.9g)を用い、改良マグネシウム剤の魚毒性試験を行った。各稚魚を容器に 3 尾ずつ収容し、改良マグネシウム剤を 0、100、200、300ppm の濃度で添加し、添加 1 時間後の生存状況を観察した。また、添加 1 時間後、生存した全ての供試魚を清浄海水に戻して 24 時間経過観察を行った。

##### 3. 改良マグネシウム剤の魚毒性因子の特定

改良マグネシウム剤に魚毒性が認められたことから、以下の二つの試験を実施して毒性因子について検討した。

###### 1) 高pHによるアルカローシスの影響

改良マグネシウム剤を推奨濃度である 200ppm で海水に溶解すると、pH が 9.5 ~ 10.5 程度まで上昇する。

これが魚毒性の原因である可能性があるため、溶解後にトリス塩酸塩を 500mg/L になるように溶解させ、希塩酸を用いて pH8 ~ 9 の範囲になるように調製した。この pH 調製後にブリの稚魚を收容して通気しながら生残を観察した。

2) 改良マグネシウム剤の粒子の影響

改良マグネシウム剤が二次鰓弁間へ侵入し、物理的な閉塞による窒息死の可能性が考えられたため、次のような試験設定を行った。改良マグネシウム剤を買いスリに 200ppm となるように溶解させて良く各班したのち、3 時間ほど静置してデカンテーションし、その情勢を GF/F フィルターで吸引し過ぎてすべての懸濁物を除去した。このろ液にブリの稚魚を收容して、通気しながら生存を観察した。

事業の結果・考察

1. *K. mikimotoi* への殺滅効果試験

各培養株に改良マグネシウム剤を 6 段階の濃度で添加して 1 時間様子を観察した結果を図 1 に示した。供試した 5 種の赤潮プランクトンのすべてで、50ppm 以下の濃度では殺滅効果は認められなかった。次に、推奨濃度である 200ppm とその半量である 100ppm の結果について図 2 に示した。推奨濃度である 200ppm では、*K.mikimotoi* は 90%以上殺滅されており、半量の 100ppm でも 60 %以上が殺滅されていた。また、*C.polykrikoides* は推奨濃度の 200ppm では完全に殺滅され、本剤は *K.mikimotoi* のみならず、*C.polykrikoides* に対しても高い殺滅効果を示すと考えられた。

次に大分県で発生した *K.mikimotoi* 天然赤潮に対する駆除効果について図 3 に示した。試験開始時に約 9,000 cells/ml 存在していた *K.mikimotoi* は、推奨濃度である 200 ppm で 5 分後に 900 cells/ml まで減少し、15 分後には 100%の殺滅効果を示した。また、改良マグネシウム剤を添加した *K.mikimotoi* は時間経過と共に遊泳停止・球形化・破裂し、24 時間後には正常な形態を維持したものは残らなかった。また、改良マグネシウム剤添加後の pH の推移を図 4 に示した。添加後直ぐに pH が上昇し、200ppm では 8.1 から 5 分後に 10.3 まで上昇した。

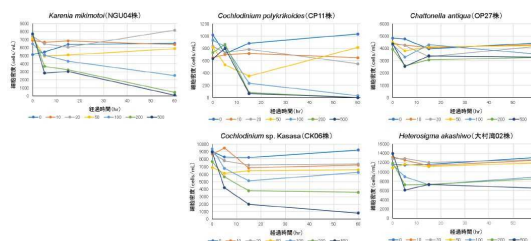


図1 5種赤潮プランクトンに対する改良マグネシウム剤の防除効果

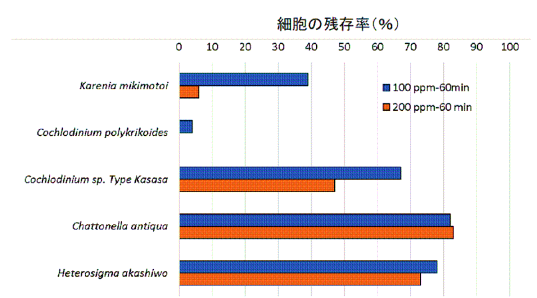


図2 5種赤潮プランクトンに対する改良マグネシウム剤 (100および200ppm) の防除効果

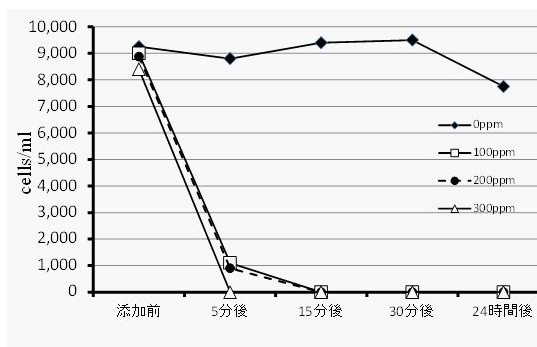


図3 天然*K. mikimotoi*赤潮に対する改良マグネシウム剤の防除効果

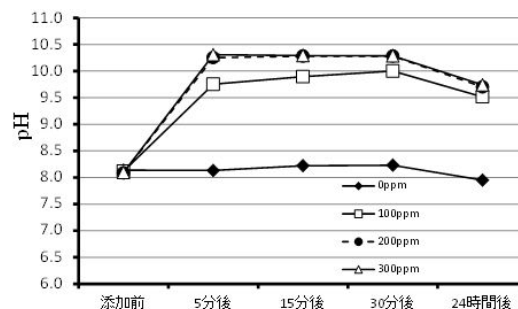


図4 改良マグネシウム剤添加によるpH推移

## 2. 改良マグネシウム剤の魚毒性の評価

各魚類に対して改良マグネシウム剤添加濃度別に調べた結果を図5 および6 に示した。ブリ稚魚では推奨濃度の半量である 100ppm で全滅した。死亡魚の特性は、添加直後から激しく遊泳し、鼻上げ行動を示したの横転、以降鰓蓋の運動停止、痙攣という症状を示しながら死亡するなど、窒息様の症状を示しながら死亡した。ヒラメ稚魚では、どの濃度でも魚毒性は確認されず、清浄海水に戻して 24 時間経過後も魚毒性は確認されなかった。

カワハギ稚魚では、改良マグネシウム剤濃度 300ppm 区で、添加 5 分後に鼻上げおよび横転行動等が見られ、清浄海水に戻して 24 時間後には 3 尾中 2 尾が死亡した。

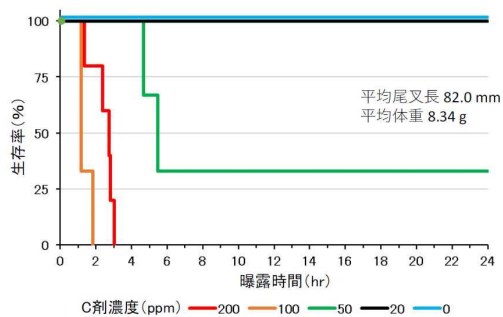


図5 改良マグネシウム剤のブリ稚魚に対する魚毒性評価

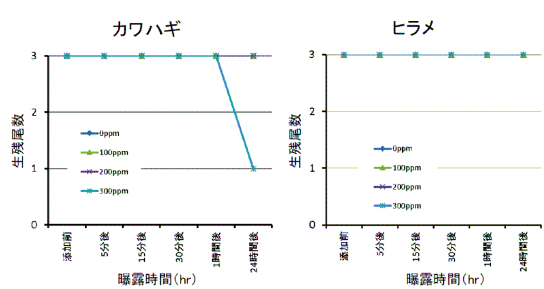


図6 改良マグネシウム剤のカワハギ稚魚およびヒラメ稚魚に対する魚毒性評価

## 3. 改良マグネシウム剤の魚毒性因子の特定

図7 に改良マグネシウム剤の処理別の魚毒性変化について示した。pH を魚の生存に安全な範囲まで低下させても延命効果が全く認められなかったことから、少なくとも pH 上昇によるアルカリローシスがブリ稚魚の生存に悪影響を与えた可能性は考えられない。また、GF/C ろ過によって完全に懸濁物がろ過された海水では pH が上昇し、かつ溶解したマグネシウムイオンはフィルターにトラップされていないにも拘わらず、魚毒性は完全に消失した。得られた結果から推定すると、改良マグネシウム剤の微粒子がブリ稚魚の鰓の二次鰓弁間に侵入・付着し、物理的閉塞させることで死に至らしめている可能性が高い。今後は鰓の二次鰓弁へ侵入しないように、粒径をコントロールする等の手法によって、魚毒性を軽減させる改良策を講じる必要がある。

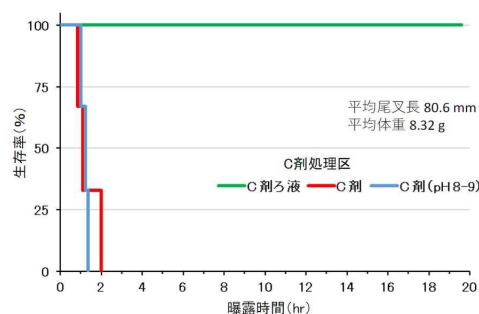


図7 改良マグネシウム剤のpH調整後とろ過(GF/C)の魚毒性の変化



## 低水温期発生型赤潮対策強化事業

中里礼大・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、近年冬季に出現する*Cochlodinium polykrikoides*（以降、*C.polykrikoides*という）が赤潮を形成する事例が頻発している。2015年冬季には、湾内において高密度化した*C.polykrikoides*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。本年度は従前から行っている赤潮対策に加え、海域中の栄養塩回収により赤潮が発生しない海域造成を目指し、猪串湾に繁茂するアオサの回収に関する調査、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Sta.AからEの調査点を設置し（図1）、2018年4月～2019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毎の水温、塩分および酸素濃度の測定を行った。また、湾奥のSta.Aを精密調査点とし、通常の採水層に加え、2m層、5m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。

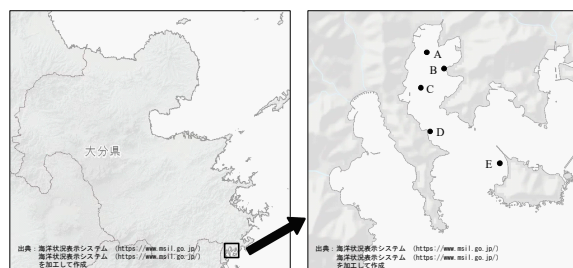


図1. 調査点位置図

#### 2. アオサの農業利用への検討

アオサの農業利用に向けた取組について下記について検討した。

##### 1) アオサ堆肥化技術の確立

2018年10月29日～12月5日にかけて、アオサ、米ぬか、粃殻をそれぞれ2:1:2の割合で混合、造粒器にて粉碎し、水分調整したものを土嚢袋に投入後、雨の影響のない日陰にて好気性発酵を促した。発酵が停止した都度、水分を追加、攪拌することで再発酵を促す作業を繰り返し、発酵が完全に終了するまで実施した。

堆肥温度の測定はティドビットV2（Onset社製）を用いて期間中2時間おきにデータを取得した。

##### 2) アオサ堆肥の肥料としての有効性検証

国立大学法人九州大学において、アオサ堆肥の肥料としての有効性を検証することを目的に、化成肥料（豆化成）との比較を実施した。試験は、アオサ堆肥区及び化成肥料を用いた慣行区の2試験区設定し、ダイズ（*Glycine max(L.)Merr.*）品種（フクユタカ）を1/5000aワグネルポットを用いて検証した。検証項目は、主茎長、SPAD値のほか、収量構成要素である莢数、粒数、百粒重、ポット収量とした。施肥量は、アオサ堆肥及び化成肥料に含まれる窒素含有率により算出し、1ポットあたりの窒素量は等量とした。

### 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～98cells/mlで推移し、7～8月、12月～1月を除き周年確認されたが、当研究部が定める注意密度30cells/mlを超過したのは、11月5日のみであった。遊泳細胞密度のピーク時の1月前に塩分濃度の急激な低下が確認されており、降雨による栄養塩の供給により細胞密度の増加が引き起こされたと考えられる。

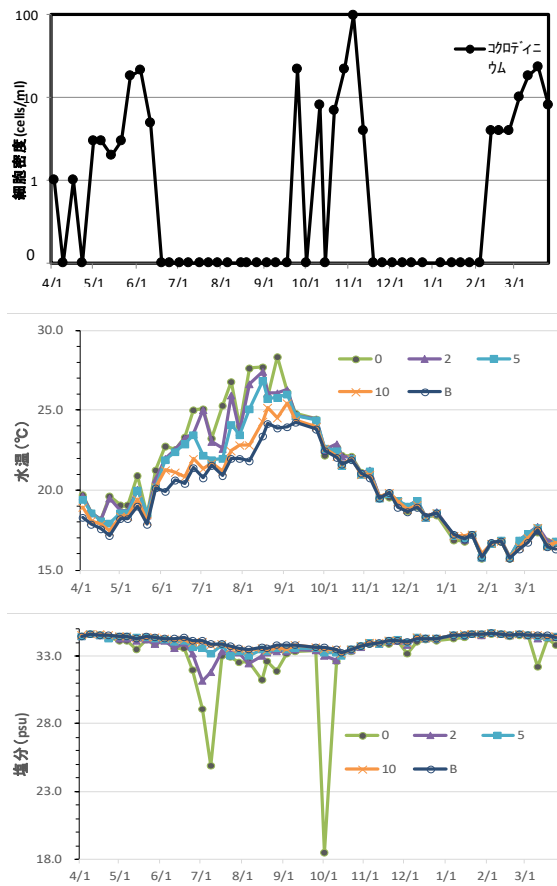


図2. 全調査点の*C. polykrikoides*最高細胞密度推移及び猪串湾奥の各層水温、塩分の推移  
(上段：*C. polykrikoides*最高細胞密度、中段：水温、下段：塩分)

2. アオサの農業利用への検討

1) アオサ堆肥化技術の確立

調査期間中の堆肥温度の推移は図3のとおりで、10.4℃～64.4℃で推移した。発酵が停止した段階で切り替えしを行う作業を計4回実施し、切り返し後に堆肥温度の上昇が確認されない時点を発酵終了とした。土嚢袋を用いた堆肥化に要する期間は1ヶ月程度と示唆された。

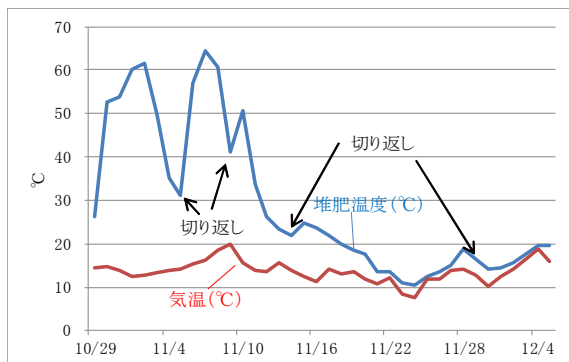


図3. アオサ堆肥の温度推移

2) アオサ堆肥の肥料としての有効性検証

アオサ堆肥区及び慣行区の検証結果は図4のとおりである。主茎長については有意な差は見られなかったが、SPAD値はアオサ堆肥区において有意に低かった。収量構成要素のうち、莢数は慣行区で有意に高く、百粒重はアオサ堆肥区で有意に高く、最終的なポット収量に有意な差は認められなかった。

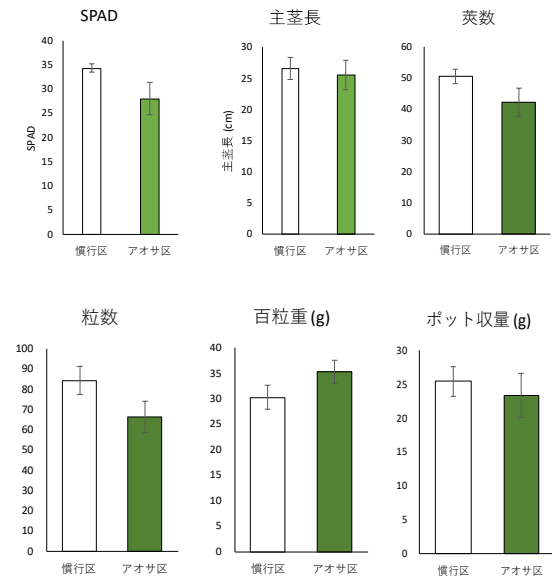


図4. 慣行区及びアオサ堆肥区の各種検証結果

# 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)

中里礼大

本事業の詳細は、平成30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。

ンドの強弱を数値化しT/C値を計算する。

### 3) 2MU/gの毒力におけるT/C値の把握

2) で得られた希釈倍率で簡易分析キットの測定を行い、多サンプルの測定結果から2MU/g毒力のT/C値を算出する。

## 事業の目的

佐伯市猪串湾周辺海域では、麻痺性貝毒プランクトン種 *Gymnodinium catenatum* (以下、*G. catenatum* という) 及び *Alexandrium catenella* (以下、*A. catenella* という) の発生により、貝類の出荷自主規制が度々発生している。当研究部では、規制値より確実に毒量の低い検体を判別できるスクリーニング法としてELISA法を用いたモニタリングを実施することにより、貝毒の監視を行っている。本事業では、新たなスクリーニング法として、迅速かつ簡便に麻痺性貝毒を検出できるイムノクロマト法を用いた簡易分析キットの開発を目的とする。

## 事業の結果

### 1. *G. catenatum*によって毒化した貝の測定条件の検討

#### ▶ ヒオウギガイ

##### 1) 0MU/g～5MU/g毒力の調整

2017年3月21日～12月21日に採取したヒオウギガイのELISA検査及びマウスアッセイによる結果は表1のとおり。そのうち、2017年4月10日に採取した毒力4.9MU/gのヒオウギガイを2017年12月21日に採取した毒力N.Dのヒオウギガイで希釈することにより、0MU/g～5MU/g相当の毒力の試料を1MU/g刻みで調整した。

表1. *G. catenatum*によって毒化したサンプルの毒量検査結果 (ELISA法及びマウスアッセイ)

No.	採取地点	サンプル	採取日	毒力(MU/g)	
				ELISA法	マウスアッセイ
1	赤バエ	ヒオウギガイ	2017/3/21	3.0	3.8
2	赤バエ	ヒオウギガイ	2017/4/10	5.1	4.9
3	赤バエ	ヒオウギガイ	2017/5/15	4.3	3.6
4	赤バエ	ヒオウギガイ	2017/6/5	2.8	2.6
5	赤バエ	ヒオウギガイ	2017/6/12	3.2	2.8
6	赤バエ	ヒオウギガイ	2017/6/26	1.9	2.3
7	赤バエ	ヒオウギガイ	2017/7/3	0.1	N.D
8	赤バエ	ヒオウギガイ	2017/9/4	0.7	N.D
9	赤バエ	ヒオウギガイ	2017/9/11	1.4	1.9
10	佐賀関	ヒオウギガイ	2017/12/21	N.D	N.D

## 事業の方法

### 1. *G. catenatum*によって毒化した貝の測定条件の検討

ヒオウギガイ及びアサリについて、下記事項について検討した。

#### 1) 0MU/g～5MU/g毒力の調整

5MU/g相当の毒化サンプルを無毒サンプルにより希釈し、0MU/g相当から5MU/g相当の毒力を1MU/g刻みで調製する。

#### 2) 希釈条件の検討

スクリーニングレベル2MU/gの毒力を判定するための希釈倍率を検討する。なお、判定方法は目視及びT/C値とし、目視判定については簡易分析キットのTバンドの強弱に応じて+、±、-の3段階で判定する。T/C値については、画像解析ソフトウェア

(JustTLC、Sweday社製)を用いて、TバンドとCバ

### 2) スクリーニングレベル2MU/gを判定するための希釈倍率の検討

1) で得られた6試料を簡易分析キットに付属の希釈液により、希釈なし～1,400倍希釈までの18段階に希釈し、簡易分析キットによる測定を行い、スクリーニングレベル2MU/gの判定のための希釈倍率

を検討した(表2)。その結果、400倍希釈において毒力1MU/g相当と2MU/g相当の目視判定及びT/C値の結果が明瞭であったことから、400倍希釈で測定を行うことが適切である可能性が示唆された。

表2. 簡易分析キット希釈条件(上段:希釈なし~400倍希釈、下段:500倍希釈~1,400倍)

毒力	判定基準	希釈倍率								
		0	20	40	60	80	100	200	300	400
0MU/g相当	目視	±	+	+	+	+	+	+	+	+
	T/C値	0.12	0.57	0.12	0.14	0.08	0.15	0.22	0.35	0.89
1MU/g相当	目視	±	-	-	-	-	-	±	±	±
	T/C値	0.12	0.04	0.12	0.14	0.08	0.15	0.22	0.35	0.89
2MU/g相当	目視	±	-	-	-	-	-	±	±	±
	T/C値	0.17	0.08	0.03	0.07	0.07	0.04	0.14	0.26	0.38
3MU/g相当	目視	±	-	-	-	-	-	±	±	±
	T/C値	0.24	0.03	0.08	0.04	0.03	0.04	0.06	0.20	0.26
4MU/g相当	目視	±	-	-	-	-	-	±	±	±
	T/C値	0.14	0.01	0.05	0.07	0.06	0.02	0.12	0.12	0.18
5MU/g相当	目視	±	-	-	-	-	-	-	-	±
	T/C値	0.16	0.08	0.03	0.03	0.03	0.05	0.04	0.05	0.15
希釈液のみ	目視	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	T/C値	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71

毒力	判定基準	希釈倍率								
		500	600	700	800	850	900	950	1,000	1,400
0MU/g相当	目視	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	T/C値	1.39	0.98	0.93	0.94	0.89	0.34	0.34	0.34	0.34
1MU/g相当	目視	+	±	±	±	±	±	±	±	±
	T/C値	0.54	0.73	0.51	0.77	0.72	0.50	0.34	1.52	0.49
2MU/g相当	目視	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	T/C値	0.36	0.29	0.49	0.68	0.53	0.79	0.34	1.32	0.88
3MU/g相当	目視	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	T/C値	0.33	0.31	0.35	0.80	0.46	0.35	0.41	0.62	0.60
4MU/g相当	目視	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	T/C値	0.26	0.21	0.29	0.31	0.42	0.39	0.34	0.41	0.48
5MU/g相当	目視	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	T/C値	0.25	0.24	0.25	0.24	0.19	0.33	0.34	0.34	0.57
希釈液のみ	目視	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	T/C値	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71

### 3) 2MU/gの毒力におけるT/C値の把握

表1のサンプルを簡易分析キット400倍希釈で測定し、画像解析により各検体のT/C値を算出した。T/C値とマウスアッセイ毒力を比較したところ、毒力の増加に伴いT/C値は低下( $R^2=0.7553$ )し、近似式( $y = 0.6024e^{-0.388x}$ )から2MU/g相当のT/C値は0.277と算出された。スクリーニングレベルである2MU/g相当の試料のT/C値を0.277と設定した場合、試験に供したサンプル10個体全てにおいて、偽陽性及び偽陰性ともに認められなかった(図1)。

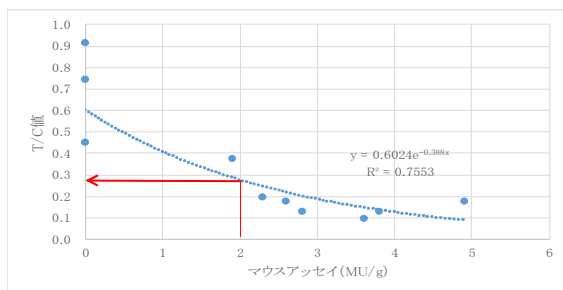


図1. マウスアッセイとT/C値の関係(400倍希釈)

#### ➤アサリ

##### 1) 0MU/g~5MU/g毒力の調整

2017年5月11日~2019年1月10日に採取したアサリ

のELISA検査及びマウスアッセイによる結果は表3のとおり。そのうち、2018年3月1日に採取した毒力4.9MU/gのアサリを2019年1月10日に採取した毒力N.Dのアサリで希釈することにより、0MU/g~5MU/g相当の毒力の試料を1MU/g刻みで調整した。

表3. *G.catenatum*によって毒化したサンプルの毒量検査結果(ELISA法及びマウスアッセイ)

No.	採取地点	サンプル	採取日	毒力(MU/g)	
				ELISA法	マウスアッセイ
1	森崎	アサリ	2017/5/11	0.8	N.D
2	うの糞	アサリ	2018/3/1	6.1	4.9
3	森崎	アサリ	2018/4/6	2.1	2.1
4	森崎	アサリ	2018/4/27	1.0	N.D
5	中津石原	アサリ	2019/1/10	N.D	N.D

### 2) スクリーニングレベル2MU/gを判定するための希釈倍率の検討

1) で得られた6試料を簡易分析キットに付属の希釈液により、希釈なし~500倍希釈までの7段階に希釈し、簡易分析キットによる測定を行い、スクリーニングレベル2MU/gの判定のための希釈倍率を検討した(表4)。その結果、300倍希釈において毒力1MU/g相当と2MU/g相当の目視判定及びT/C値の結果が明瞭であったことから、300倍希釈で測定を行うことが適切である可能性が示唆された。

表4. 簡易分析キット希釈条件(希釈なし~500倍希釈)

毒力	判定基準	希釈倍率						
		0	50	100	200	300	400	500
0MU/g相当	目視	±	+	+	+	+	+	+
	T/C値	0.46	0.73	0.78	0.89	1.32	0.92	0.91
1MU/g相当	目視	-	-	±	±	±	±	±
	T/C値	0.04	0.04	0.17	0.25	0.44	0.49	0.46
2MU/g相当	目視	-	-	-	-	-	±	±
	T/C値	0.09	0.02	0.09	0.12	0.10	0.29	0.36
3MU/g相当	目視	-	-	-	-	-	-	±
	T/C値	0.03	0.05	0.08	0.08	0.26	0.11	0.21
4MU/g相当	目視	-	-	-	-	-	-	±
	T/C値	0.05	0.04	0.05	0.05	0.12	0.17	0.16
5MU/g相当	目視	-	-	-	-	-	-	-
	T/C値	0.08	0.04	0.12	0.05	0.15	0.11	0.11
希釈液のみ	目視	+	+	+	+	+	+	+
	T/C値	0.83	0.83	0.83	0.83	0.83	0.83	0.83

### 3) 2MU/gの毒力におけるT/C値の把握

表4のサンプルを簡易分析キット300倍希釈で測定し、画像解析により各検体のT/C値を算出した。T/C値とマウスアッセイ毒力を比較したところ、毒力の増加に伴いT/C値は低下( $R^2=0.4239$ )し、近似式( $y = 0.5457e^{-0.248x}$ )から2MU/g相当のT/C値は0.277と算出された。スクリーニングレベルである2MU/g相当の試料のT/C値を0.332と設定した場合、試験に供したサンプル5個体全てにおいて、偽陽性及び偽陰性ともに認められなかった(図2)。

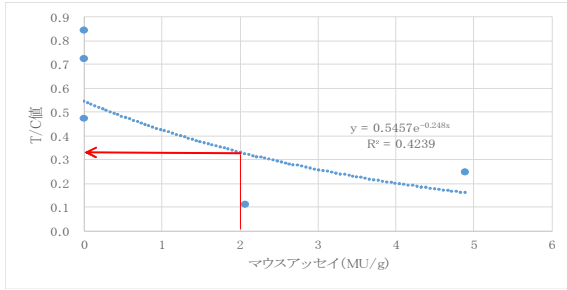


図2. マウスアッセイとT/C値の関係 (300倍希釈)