

室内培養における結合型残留塩素および*Flabobacterium* sp. による養殖ノリのスミノリ症の発症

伏屋 満・二ノ方圭介・植村宗彦・盛田 信

Occurrence of "Suminori" disease in cultivated *Porphyra* by combined chlorine and *Flabobacterium* sp. *in vitro*

FUSEYA Mituru*1, NINOKATA Keisuke*2, UEMURA Munehiko*1, and MORITA Shin*1

Abstract: "Suminori" disease which is one of diseases in the nori culture farm brings about a decline of quality of the dried nori sheets. Thalli suffering from the disease show a symptom of the cell burst or the protoplasm discharge when the thalli are dipped into fresh water even if they look normal.

The bacteria isolated from the diseased thalli was reported to be a cause of the disease, but it could be affected by combined chlorine. Therefore, we study a condition of the occurrence of "Suminori" disease *in vitro* using combined chlorine and the bacteria that was isolated from the diseased thalli.

As a result, the symptom of "Suminori" disease occurred over the thalli when combined chlorine was added to 4~5 $\mu\text{gCl}_2/\ell$ through flowing water cultivation. Moreover, this symptom lasted when the *Flabobacterium* sp. which was isolated from the diseased thalli was inoculated.

キーワード；ノリ、スミノリ症、結合型残留塩素

スミノリ症とはノリ養殖における病害の一つで、「漁場では肉眼的には正常に見え、成長も普通以上であり、かつ死細胞もほとんどないノリ葉体を淡水に浸漬すると他の顕著な病害に起因することなく、細胞が急速に吸水膨潤して細胞が破れ連鎖的に原形質吐出を起こす症状を呈し、この様な症状を示す葉体を通常の方法で製造すると墨を塗った紙のようにつやのない真っ黒な色調で、商品価値のない品質低下の著しい乾ノリになる病気」¹⁾とされ、各地のノリ養殖業に多大な被害を与えている。特に有明海のノリ漁場では1975~1990年にしばしば大発生し、その病状は縁辺部に多数の細菌が附着し、末期には枯死したり異常な細胞が増えて、しろぐされ症と呼ばれる病気に移行するとされている。^{1) 2)}

愛知県では、1991年以降、年末から1月にかけて、図1

に示す知多半島常滑市地先等で、しばしばスミノリ症が発生し甚大な被害が出ているが、附着細菌数が少なく、しろぐされ症の発生もない点で有明海の場合とは症状が異なっている。^{3) 4)}

一方、アンモニアと遊離型残留塩素が反応してできる結合型残留塩素のモノクロラミンは、遊離型残留塩素と比較して低濃度でノリの生育に影響を及ぼす⁵⁾ことが明らかにされている。さらに、結合型残留塩素を添加した培養試験⁶⁾ではスミノリ症の徴候が見られている。モノクロラミンは、都市下水処理水を塩素消毒する際に生成される⁷⁾ので、下水処理水が流入するノリ養殖漁場にも存在する可能性がある。また、伊勢湾に注ぐ河川水での培養試験⁸⁾でもスミノリ症の徴候が見られたことから、細菌以外にも結合型残留塩素がスミノリ症の発症に関与している

*1 愛知県水産試験場漁業生産研究所 (Marine Resources Research Center, Aichi Fisheries Research Institute, Toyohama, Minamichita, Aichi, 470-3412, Japan)

*2 中部国際空港株式会社 (Central Japan International Airport Co., Ltd., Nagono 1-chome, Nakamura-ku, Nagoya, 450-0001, Japan)

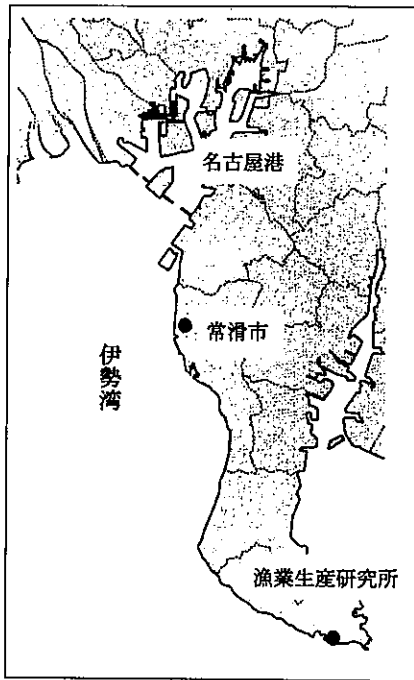


図1 スミノリ症発生地および試験場所

可能性はあるが、発生機構の解明には至っていない。

このため、本研究では、愛知県のノリ養殖場で発生するスミノリ症の原因を解明する目的で、残留塩素とスミノリ症ノリ葉体から分離した細菌を用いて、室内培養試験によりスミノリ症の発症を試みた。

材料および方法

1 培養および海水への残留塩素添加方法

(1) 使用ノリ葉体

使用した種苗はいずれも養殖ササビノリで、当研究所で保存している「FC」, 「MS」および「ユノウラ」と、市販されている「1+6号」(仮称) および「B」(仮称)を用いた。1999年秋に各種苗の糸状体からノリ網に採苗し、当研究所の種苗は当研究所地先海面、市販されている種苗は常滑市地先ノリ漁場において約1ヶ月養殖し、最大葉長約40mmとなった幼葉を、風乾後-30℃で冷凍保存したものを用いた。

(2) 培養方法

海水の流水培養とした。当研究所屋内に、図2の模式図に示す断面が台形のプラスチック製白色雨樋の流水路を設け、ここに地先から採水して砂ろ過した海水を毎分33ℓ(流速約20cm/s)流した。また、使用海水の栄養塩濃度はスミノリ症の発生が見られる常滑市地先より通常低いため、最上流部に塩化アンモニウム(和光純薬工業製、試薬特級)とリン酸水素二ナトリウム(無水)(和光純薬工業製、試薬特級)の混合液を定量ポンプ

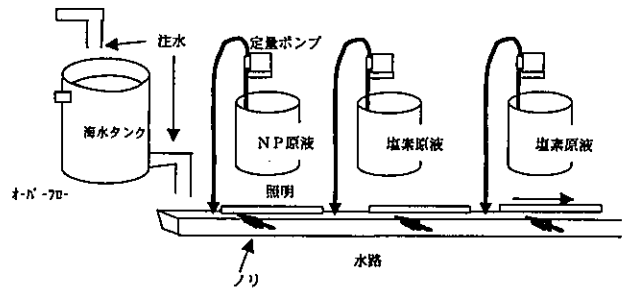


図2 培養装置模式図

(イワキ製作所製、EX-B30VC型)で滴下し、アンモニア態窒素を100 $\mu\text{g}/\ell$ とリン酸態リンを10 $\mu\text{g}/\ell$ を補給した。

約10cmに切断したノリ葉体の付着したノリ網を水路に対して直角に固定し、直上から毎日12時間白色蛍光灯を当てた。1999年12月から2000年4月までの試験期間中、水温は7.4~14.2℃、塩分は31.4~32.8だった。また、使用海水について適宜DPD比色法(JIS K0102 33.2; HACH社製Ultra low range用試薬を使用)により残留塩素の指標となる酸化性物質の測定を行ったが、検出されなかった。

(3) 残留塩素添加方法

残留塩素添加海水への葉体の浸漬は、試験中に有効塩素濃度が低下する影響を少なくするため、流水路の途中に高濃度の残留塩素原液を添加する方法で行った。すなわち有効塩素濃度が5~20mgCl₂/ℓの残留塩素原液を作成し、設定濃度となるような比率で定量ポンプにより流水路に滴下した(図2)。原液の有効塩素濃度は徐々に低下するため、浸漬開始時と以後毎日1~2回ヨウ素滴定法(JIS K0102 33.3)で原液の有効塩素濃度を求め、その都度設定濃度になるよう滴下量を調整した。このため、浸漬した有効塩素濃度は、遊離型の場合が設定値の90~100%、結合型の場合は78~100%の範囲であった。また、複数の濃度区を設定した試験では水路の複数個所に滴下し、各試験区の設定濃度は、上流部の滴下量の合計値とした。残留塩素原液は、遊離型残留塩素の試験では次亜塩素酸ナトリウム液(旭硝子製、食品添加用; 有効塩素12.6%以上)を海水で希釈し、結合型残留塩素の試験ではモノクロラミンを主体とするため、塩化アンモニウムと次亜塩素酸ナトリウム液を、窒素5gに対して有効塩素1gの割合で水道水に溶かし、数時間以上放置してモノクロラミンを生成させた後10倍量の海水に希釈して作成した。

2 残留塩素の種類、濃度および浸漬時間の影響

試験材料は「FC」を用い、予め1日間培養後、付着細菌を殺菌するため酸処理剤(商品名「グローゲン」、第

一製網製の0.5%海水溶液 (pH 1.9) に3分間浸漬し (以下酸処理とする), 更に1日間培養し, 大型葉体を引き抜いて最大葉長を4cmに揃えた。これを有効塩素の設定濃度 (5, 20, 80 $\mu\text{gCl}_2/\ell$) と浸漬時間 (6, 12, 24, 48, 96時間) を変えて遊離型または結合型の残留塩素原液を添加し, 浸漬中および浸漬5日後までの原形質吐出率や浸漬5日後の葉長を測定した。原形質吐出率は, 淡水に10分間浸漬した後, 数枚の葉先を40倍の倍率で顕微鏡観察し, 原形質が吐出した細胞数と正常細胞数の割合 (%) を測定して平均した。葉長は大きい方から5個体の平均とした。試験途中で枯死した場合は測定を中止した。

3 ノリ種苗の違いの影響

種苗による差を見るため, 前述した5種類のノリ葉体を用いた。冷凍保存ノリ幼葉を, 設定濃度5 $\mu\text{gCl}_2/\ell$ で結合型残留塩素を添加した海水に48時間浸漬後酸処理を行い, 以後培養を続けて原形質吐出率の推移を残留塩素未添加の場合と比較した。

4 スミノリ症に関係する細菌の分離とその病原性の検討

スミノリ症に関係する細菌を確認するため, 常滑市地先ノリ漁場で1999年12月27日に採取した秋芽網 (11月から養殖して2回収穫された網) および冷蔵網 (11月に種網として一旦冷凍保存され, 12月中旬から養殖開始された未収穫網) のスミノリ症葉体から細菌を分離し, その病原性を調べた。すなわち, それぞれのノリ葉体を少量の滅菌海水とともにホモジナイザー (佐久間製作所製, 500D型) で30秒間細かく切断し, 孔径20 μm のミューラーゲゼでろ過した液をZoBell2216E平板培地に塗抹して, 20°Cで7日間培養した。出現した細菌コロニーの中から無作為にコロニーを10個ないし12個分離し, 各1コロニー分の細菌を, メンブレンフィルター (孔径0.45 μm) でろ過滅菌した培養海水150mlに分散した。この海水とともに解凍したノリ幼葉を5個体ずつ透明ポリカーボネイト製培養容器 (容量250ml) に入れ, 1日間11°Cで振とう後換水し, 再び11°Cで振とう培養して, その後のノリ葉体の原形質吐出率等を追跡した。原形質吐出率が増加した菌株を, 「スミノリ症関係細菌」として選択し, ZoBell2216E平板培地に生育したコロニーの形状, グラム染色, OF試験, 運動性等の性状⁹⁾ を調べた。

5 スミノリ症に対する残留塩素と細菌の複合した影響の検討

スミノリ症の発症原因として, 結合型残留塩素の添加と「スミノリ症関係細菌」の感染の2つの要因が考えら

れる。このため, 冷凍ノリ葉体に順次この両方の処理をするとともに, 培養開始から結合型残留塩素の添加開始までの日数と, 添加終了から細菌の感染開始までの培養日数を変えて培養し, 結合型残留塩素の添加と「スミノリ症関係細菌」の感染が複合した場合のノリ葉体への影響を調べた。

一連の試験手順を図3に示した。すなわち, 冷凍ノリ葉体「1+6号」を流水培養し, 次いで設定濃度5 $\mu\text{gCl}_2/\ell$ で結合型残留塩素を48時間添加し, 再度流水培養したのち葉長3cmの10個体を取り上げ, スミノリ症関係細菌を感染させた。感染方法は, フラスコ内でメンブレンフィルター (孔径0.45 μm) でろ過滅菌した培養海水250mlに, ノリ葉体と上記試験で分離したスミノリ症関係細菌の菌株 (No.101) を1白金耳分散させ, 12°Cで1日振とうした。その後, 感染葉体を1 ℓ のろ過滅菌海水に移して通気培養した。なお, 他の細菌の影響を少なくするため結合型残留塩素添加終了時と細菌感染前に葉体を酸処理した。

試験区は, 培養開始から結合型残留塩素の添加開始までの日数を0, 1, 6日間とした3とおりと, 添加終了から細菌の感染開始までの培養日数を0, 1, 5, 9日間とした4とおりを組み合わせ, 12試験区とした。培養開始から感染9日後まで適宜原形質吐出率や形態等の異常を観察した。

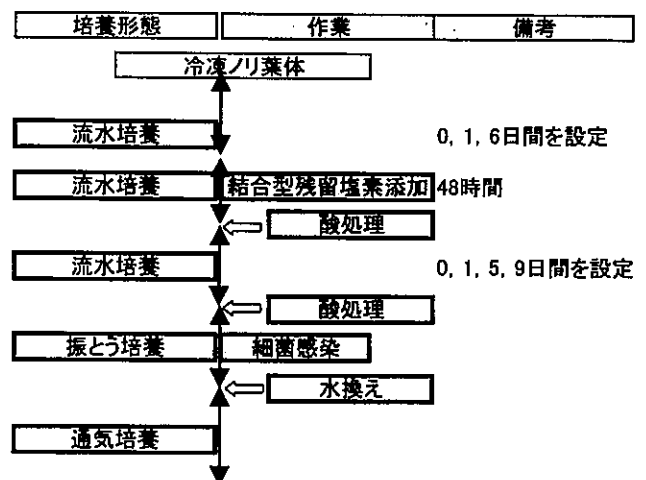


図3 スミノリ症に対する結合型残留塩素と細菌の複合影響を検討する試験の培養手順

結果

1 残留塩素の種類, 濃度および浸漬時間の影響

遊離型残留塩素を設定濃度5, 20, 80 $\mu\text{gCl}_2/\ell$ で添加した場合, 成長は20 $\mu\text{gCl}_2/\ell$ 以上で劣り, 死細胞は80 $\mu\text{gCl}_2/\ell$ の48時間以上添加区のみ葉体縁辺部に出現した。また原形質吐出率は全ての試験区で添加中, 添加後とも増加せず5%以下で, 対照区と大差なかった。従っ

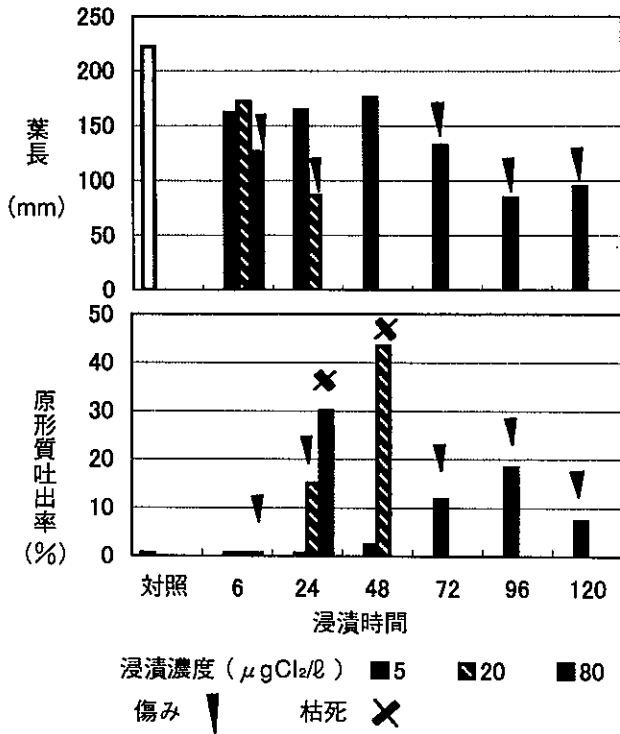


図4 結合型残留塩素添加海水に浸漬したノリの浸漬5日後の葉長と原形質吐出率の最大値
 上図；浸漬開始5日後の葉長，下図；浸漬終了後5日間での原形質吐出率最大値

て、遊離型残留塩素はスミノリ症は起こさないと判断される。一方、結合型残留塩素の場合、図4に示すように、成長は対照区に比べて全ての試験区で劣り、特に傷みの出現した5 μgCl₂/ℓの72時間以上、20 μgCl₂/ℓの24時間以上、80 μgCl₂/ℓの6時間以上の試験区では培養5日後の葉長が対照区の60%以下にとどまった。また20 μgCl₂/ℓでは48時間以上、80 μgCl₂/ℓでは24時間以上の添加で枯死に至った。原形質吐出率は5 μgCl₂/ℓでは72時間以上、20および80 μgCl₂/ℓでは24時間以上の添加で10%以上となった。特に5 μgCl₂/ℓの72時間添加では、縁辺部以外の死細胞が少なく、淡水浸漬時の原形質吐出のタイプは養殖漁場でのスミノリ症に類似して、隣接する細胞とつながるように連続的であった。しかし、ここでは示していないが、添加を中止し通常海水で培養を継続すると、全ての試験区で1ないし2日後までに原形質吐出率は急速に低下した。また、5 μgCl₂/ℓが継続した場合でも、96時間をピークに原形質吐出率は低下した。

結合型残留塩素の添加により設定濃度5 μgCl₂/ℓ以上の場合、葉体に認められた他の現象としては、①細胞形状の変化（丸化、細胞間隔の拡大、大きさの不均一化）、②形態の変化（縁辺部の巻きこみ、弾力性喪失、細胞多層化）、があった。これらの変化は、原形質吐出率と

異なって、添加をやめても戻らないか戻りにくかった。

2 ノリ種苗の違いの影響

5種類の養殖ノリの原形質吐出率の推移を、図5に示した。どの種苗も、設定濃度5 μgCl₂/ℓで結合型残留塩素を48時間添加した場合は、浸漬しない場合より高い値となり、いずれの種苗も2日間の添加終了時点で30%

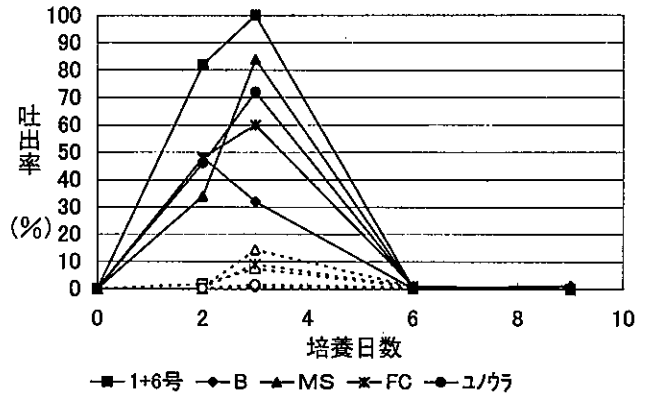


図5 結合型残留塩素添加海水に浸漬した種苗の異なるノリの原形質吐出率の推移
 黒塗り印・実線は最初の2日間結合型残留塩素添加海水に浸漬、白抜き印・点線は未浸漬

以上の高い値を示した。更に、種苗「B」を除いて培養3日目には更に増加した。種苗による差としては、常滑地先で多用されている「1+6号」が最も高く培養3日目に100%となり、当研究所の3つの種苗も50%以上となった。しかし、常滑市地先のノリ漁場において漁業者からスミノリ症になりにくいと評価されている「B」は培養3日目に約30%と低下した。また、いずれの種苗も添加終了4日後（培養6日目）には原形質吐出しなくなった。

3 スミノリ症に関係する細菌の分離とその病原性の検討

スミノリ症の秋芽網葉体から分離した細菌12株はコロニーの色が黄色9、白色2、橙色1で、この中からスミノリ症関係細菌として黄色の1株（No.101）が得られ、一方冷蔵網スミノリ症葉体から分離した細菌10株はコロニーの色が黄色7、白色3で、この中からスミノリ症関係細菌として黄色の1株（No.213）が得られた。この2株に感染したノリ葉体の原形質吐出率は、7日後には50%以上に増加し、これを酸処理した場合、翌日には原形質吐出率が低下した。また、感染3日目の葉体から再度分離した細菌は黄色の菌が優占し、これらは感染させた菌と同様原形質吐出率の増加をもたらした。その他の菌株は、感染後も対照区同様原形質吐出率の増加が認められなかった。

発症した2株は、いずれも、コロニーの形状は湿潤性

のある黄色で光沢があり、周辺が円滑でやや隆起した正円形であった。菌の形態は桿菌で、大きさは $0.4\sim 0.5\mu\text{m}\times 2.1\sim 5.7\mu\text{m}$ 、非運動性であり、生化学的性状ではグラム染色は陰性、OF試験が非分解、寒天非分解であった。

4 スミノリ症に対する残留塩素と細菌の複合した影響の検討

培養開始とともに結合型残留塩素を添加した場合、図6のAに示すように、添加2日後には原形質吐出率は70%以上となり、添加終了後は速やかに低下した。また、結合型残留塩素添加の終了後1日以内にスミノリ関係細菌を感染させると、原形質吐出率は感染翌日には一旦低下するが感染4日後には再度70%以上となり、その後死細胞が出現して、葉体は小穴が多数開いて弾力を失った。しかし、結合型残留塩素の添加終了5日後では原形質吐出率は10%以下に低下しており、それ以降細菌を感染させても、以後の原形質吐出率の増加は比較的ゆるやかだった。また、形態異常や死細胞の出現はなかった。

こうした傾向は培養を開始して翌日から結合型残留塩素を添加した場合でも、認められた。(図6B)ただし、感染前の培養が9日間では、試験中の原形質吐出率は50%を超えなかった。

一方、培養開始後6日目から結合型残留塩素を添加した場合、図6のCに示すように、原形質吐出率は他のケースと同様添加中に増加し、添加を終了すると減少した。また細菌感染の影響としては、添加の終了直後および1日後の感染では感染5日目に原形質吐出率が50%以上に増加したが、形態的な異常や死細胞の出現はなかった。添加終了後から細菌感染までの培養日数が更に長いと、感染後の原形質吐出率の増加は遅れ、添加終了9日後の感染では、感染9日後でも原形質吐出率は30%にとどまった。

なお、葉体が傷んだ場合を除いたほとんどのケースで、細菌感染以後の原形質吐出率は増加ないし維持された。

以上の結果から、結合型残留塩素により一過性の原形質吐出率の増加が起こり、スミノリ関係細菌により継続的な原形質吐出率の増加が起こった。またこの2つの処理の間隔が短いと細菌感染後の原形質吐出率の増加は急激でしかも持続し、更に冷凍ノリの培養開始から両処理までの日数が短いと原形質吐出率の増加以外に細胞や形態への異常が認められた。

考 察

1 スミノリ症の発症に及ぼす結合型残留塩素の影響

今回行った高濃度原液を流水に連続添加する方法では、分解の早い物質でも一定範囲の濃度を維持することが出来る。この方法によりノリ葉体の障害濃度を求めたところ、遊離型残留塩素の添加では $20\mu\text{gCl}_2/\text{l}$ 以上の設定濃度で成長低下等が見られたが、一方結合型残留塩素では設定濃度 $5\mu\text{gCl}_2/\text{l}$ で、ノリ葉体の成長劣化や死細胞が出現し、更にスミノリ症の特徴である原形質吐出率の増加^{2,4)}や、細胞・形態の異常⁴⁾が認められた。添加原液での有効塩素濃度の低下を考慮すると、結合型残留塩素のノリへの障害濃度は $4\sim 5\mu\text{gCl}_2/\text{l}$ と考えられる。この濃度は多くの海産植物に対する影響濃度を下回り、^{10,11)} o-トリジン法 (JIS K0102 33.1) の検出限界を根拠とした水産用水基準¹¹⁾の残留塩素濃度の $10\mu\text{gCl}_2/\text{l}$ よりも低いことから、現在の水産用水基準がノリ養殖に対しては不十分であると同時に、モニタリング法として別の測定法が必要であることを示している。

ノリに対する結合型残留塩素の影響の中で、原形質吐出率の顕著な増加は本報告で初めて確認されたものであり、スミノリ症との関係から注目すべきものである。特に、冷凍ノリ葉体を結合型残留塩素濃度が $5\mu\text{gCl}_2/\text{l}$

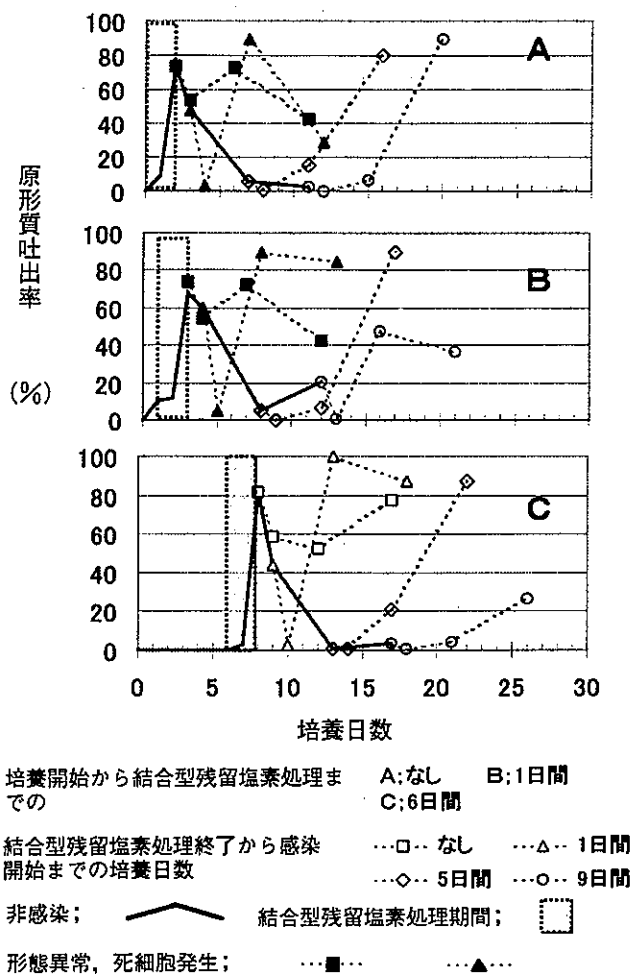


図6 結合型残留塩素添加海水に浸漬後細菌感染したノリの原形質吐出率の推移

の添加海水に直接浸漬した場合、種苗の違いにかかわらず原形質吐出率が過去の有明海や愛知県海域で発生したスミノリ症と同程度かそれ以上となったことは、結合型残留塩素がスミノリ症の原因として重要な意味を持っていると考えられる。しかし、この原形質吐出率の増加は、浸漬終了とともに低下する一過性のものに過ぎず、スミノリ症の持続性等色々な事例^{3,4)}を説明するためには、さらに別の要因を考慮する必要がある。また、こうした症状の強さは、種苗の違いや冷凍の有無等葉体側の影響も受けており、結合型残留塩素をノリ養殖場でのスミノリ症の原因と決定するためには、今回得られた知見と個々のスミノリ症事例との整合性について検討する必要がある。

2 スミノリ症関係細菌の影響

川村²⁾は、有明海におけるスミノリ症が冷凍前のノリ養殖育苗期に生理状態が悪化した葉体に*Flabobacterium*属等の特定の条件性細菌が増殖する細菌性疾病と報告している。今回常滑市地先のスミノリ症葉体から分離した2株の細菌は、その性状から海洋細菌の簡易同定表⁹⁾により*Flabobacterium*属に同定された。この細菌はフラスコ内で、解凍直後の葉体に感染し、スミノリ症を発生させたが、解凍してから感染するまでの培養日数が長いとスミノリ症にならなかった。本報告での細菌感染条件は、閉鎖系で高い菌濃度を設定した点が漁場環境とかけ離れており、これらの結果だけでこの細菌を原因菌と推定することはできない。このため、現時点では結合型残留塩素によって生じたスミノリ症状の継続に関係する「スミノリ症関係細菌」と考えられる。

3 室内培養におけるスミノリ症の発生条件

結合型残留塩素とスミノリ症関係細菌の組み合わせにより、室内試験でスミノリの症状を発生させることが可能となった。その条件は以下のとおりである。

すなわち、冷凍葉体を直接 $4\sim 5\mu\text{gCl}_2/\text{l}$ の結合型残留塩素添加海水に48時間以上浸漬したノリ葉体は、原形質吐出率が高まりスミノリの症状が起こる。ここで浸漬を中止すると速やかに原形質吐出率は低下し、スミノリ症状は回復する。しかし、浸漬終了後時間を経ずにスミノリ症関係細菌の感染を受けると、このスミノリ症状が持続する。この時、酸処理を行なって殺菌すると原形質吐出率は低下することから、スミノリ症状の持続にはスミノリ症関係細菌が関与していると推定される。

要約

結合型残留塩素を海水に添加する流水培養により、水産用水基準より低濃度の $4\sim 5\mu\text{gCl}_2/\text{l}$ でノリ葉体への悪影響が見られた。特に冷凍葉体を直接浸漬した場合、48時間で原形質吐出率が増加してスミノリ症状が

起こった。浸漬終了後原形質吐出率は回復したが、スミノリ症の養殖ノリから分離した*Flabobacterium*属の細菌が感染すると、スミノリ症状は持続した。

謝辞

本稿のご校閲並びに貴重なご助言をいただいた三浦昭雄東京水産大学名誉教授、宮崎大学工学部鈴木祥広博士並びに当研究所阿知波英明主任研究員に深くお礼申し上げます。また、試験材料を提供いただいた常滑市鬼崎漁業協同組合の中村充男氏、細菌性状検査に協力いただいた内水面漁業研究所岩田友三技師に感謝の意を表します。

文献

- 1) 川村嘉応 (1992) スミノリ症, のり病症名の統一について. 水産庁, 27-37.
- 2) 川村嘉応 (1994) 養殖ノリのスミノリ病に関する研究. 佐賀有明水振セ研報, 16, 29-98.
- 3) 伏屋満・中村富夫・阿知波英明・中嶋康生 (1994) ノリ病害防除技術の開発 (スミノリ症防除試験). 平成5年度愛知水試業務報告, 50-51.
- 4) 中嶋康生・石元伸一・ニノ方圭介・八木昇一 (1997) ノリ漁場管理技術の開発 (スミノリ症の漁場環境). 平成8年度愛知水試業務報告, 57-59.
- 5) Maruyama, T., Ochiai, K., Miura, A., and Yoshida, T. (1988) Effects of chloramine on the growth of *Porphyra yezoensis* (Rhodophyta), *Nippon Suisan Gakkaishi*, 54(10), 1829-1834.
- 6) 植村宗彦・伏屋満 (1999) スミノリ症発症試験. 平成10年度愛知水試業務報告, 56-57.
- 7) 鈴木祥広・丸山俊朗・高見 徹 (1996) 下水処理水の塩素消毒によるモノクロラミンの生成量とその減衰速度. 下水道協会誌論文集, 33(407), 93-103.
- 8) 深谷昭登司・中嶋康生・阿知波英明・中村富夫 (1995) ノリ病害防除技術の開発 (スミノリ症発症試験). 平成6年度愛知水試業務報告, 55-56.
- 9) 日本海洋学会編 (1990) 沿岸環境調査マニュアルII, 恒星社厚生閣, 東京, pp. 386.
- 10) 藤田直治 (1988) 塩素処理排水の水生生物に与える影響. 用水と廃水, 30(6), 3-11.
- 11) 日本水産資源保護協会 (1995) 水産用水基準, 日本水産資源保護協会, 東京, pp. 68.