

## (6) 貝類増養殖試験

### 伊勢湾，三河湾におけるバカガイの遺伝的変異

本田是人・柳澤豊重・大澤 博

#### 目 的

バカガイは、主に小型底引きで漁獲され、アサリ、トリガイ等の多獲性二枚貝とともに重要な漁業資源を形成している。しかし、バカガイの浮遊幼生期の移動拡散経路、稚貝の沈着適地等、県内海域での再生産構造に不明な点が多い。

本報では、アイソザイム分析によりバカガイについての遺伝的特質の基礎資料を得るとともに、地域間に遺伝的差異があるかどうかを検討する。

#### 方 法

バカガイの採捕地を図1に示した。



図1 バカガイの採捕地

常滑(80個体)、美浜(75個体)および吉良(45個体)の3標本群とし、各群とも91年7月と9月に貝桁網により採捕した。殻長範囲は46~79mmで、これらは分析に供試するまで-25℃に凍結保存した。

分析に用いた組織と酵素を表1に示した。消化盲のう、閉殻筋の凍結-融解によるドロップを粗抽出液とした。分析した酵素はGPI,

IDH, MDH, ME, MPI, 6PGDおよびPGMで緩衝液はTCE, LiOH, CAPMを使用した。

これら酵素の検出は水平式デンプンゲル電気泳動法により行い、マーカーの移動距離は5~6cmとした。

表1 分析に用いた組織と緩衝液

| 酵素   | 遺伝子座  | 組 織   | 緩衝液* |
|------|-------|-------|------|
| GPI  | Gpi   | 閉 殻 筋 | LiOH |
| IDH  | Idh-1 | 消化盲のう | CAPM |
| MDH  | Mdh-1 | 閉 殻 筋 | TCE  |
|      | Mdh-2 | 閉 殻 筋 | TCE  |
|      | Mdh-3 | 閉 殻 筋 | TCE  |
|      | Mdh-4 | 閉 殻 筋 | TCE  |
| ME   | Me    | 閉 殻 筋 | CAPM |
| MPI  | Mpi   | 閉 殻 筋 | LiOH |
| 6PGD | 6Pgd  | 閉 殻 筋 | CAPM |
| PGM  | Pgm   | 閉 殻 筋 | LiOH |

\*LiOH: トリス-くえん酸, pH 8.5(ゲル), 水酸化リチウム-ホウ酸, pH 8.1(電極)  
CAPM: くえん酸-アミノプロピルモルホリン, pH 6.0  
TCE: トリス-くえん酸-EDTA, pH 7.0

#### 結果および考察

バカガイ3標本群における対立遺伝子頻度を表2に示した。

表2 バカガイ3標本群における対立遺伝子頻度

| 遺伝子座  | 対立遺伝子 | 常滑(伊勢湾) | 美浜(三河湾) | 吉良(三河湾) |
|-------|-------|---------|---------|---------|
| Gpi   | a     | 0.866   | 0.620   | 0.589   |
|       | b     | 0.356   | 0.353   | 0.411   |
|       | c     | 0.031   | 0.027   | -       |
|       | d     | 0.007   | -       | -       |
| Idh-1 | a     | (8)     | (75)    | (45)    |
|       | b     | 0.919   | 0.922   | 0.986   |
|       | c     | 0.111   | 0.078   | -       |
|       | d     | -       | -       | 0.014   |
| Mdh-1 | a     | (45)    | (45)    | (45)    |
|       | b     | 1.000   | 1.000   | 1.000   |
|       | c     | (45)    | (45)    | (40)    |
|       | d     | 1.000   | 1.000   | 1.000   |
| Mdh-2 | a     | (45)    | (45)    | (45)    |
|       | b     | 1.000   | 1.000   | 1.000   |
|       | c     | (45)    | (45)    | (45)    |
|       | d     | 1.000   | 1.000   | 1.000   |
| Mdh-3 | a     | (45)    | (45)    | (45)    |
|       | b     | 1.000   | 1.000   | 1.000   |
|       | c     | (45)    | (45)    | (45)    |
|       | d     | 1.000   | 1.000   | 1.000   |
| Mdh-4 | a     | (45)    | (45)    | (40)    |
|       | b     | 1.000   | 1.000   | 1.000   |
|       | c     | (45)    | (45)    | (40)    |
|       | d     | 1.000   | 1.000   | 1.000   |
| Me    | a     | (40)    | (60)    | (40)    |
|       | b     | 0.020   | 0.037   | 0.035   |
|       | c     | 0.027   | 0.057   | 0.023   |
|       | d     | 0.028   | 0.069   | 0.053   |
| MPI   | a     | 0.233   | 0.198   | 0.256   |
|       | b     | 0.027   | 0.028   | 0.023   |
|       | c     | (75)    | (53)    | (43)    |
|       | d     | -       | 0.079   | 0.024   |
| 6Pgd  | a     | -       | 0.025   | -       |
|       | b     | -       | 0.456   | 0.397   |
|       | c     | 0.147   | 0.249   | 0.534   |
|       | d     | 0.041   | 0.133   | 0.017   |
| Pgm   | a     | (43)    | (45)    | (29)    |
|       | b     | 0.011   | 0.046   | 0.033   |
|       | c     | 0.160   | 0.247   | 0.232   |
|       | d     | 0.147   | 0.147   | 0.233   |
| PGM   | a     | 0.615   | 0.547   | 0.442   |
|       | b     | 0.007   | 0.015   | -       |
|       | c     | (18)    | (75)    | (43)    |
|       | d     | -       | -       | -       |

7酵素分析の結果, 10遺伝子座が推定された。最大対立遺伝子頻度が0.95以下を示す多型遺伝子座は常滑, 吉良でGpi, Mpi, 6Pgd, 6Pgmの4遺伝子座, 美浜ではIdh-1を加えた5遺伝子座であった。これら多型遺伝子座において, 表現型観察値とハーディ・ワインベルグの法則から期待される期待値にずれはみられなかった。

多型遺伝子座の一例として図2にGpiのアイソザイム像を示した。閉殻筋において陽極側に1本または3本のバンドが出現したことからGpiは2量体酵素で4対立遺伝子の存在が推定された。

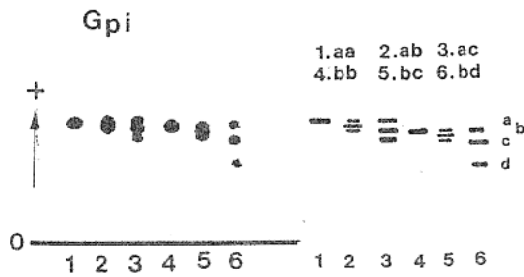


図2 Gpiのアイソザイム像

バカガイ3標本群における遺伝的変異性を表3に示した。10遺伝子座における平均対立遺伝子数は3地域で1.8~2.1であった。平均ヘテロ接合体率は観察値( $H_o$ )で0.199~0.224, 推定値( $H_e$ )が0.206~0.239で, いずれの標本群も観察値と推定値の比が1以下の値を取り, ホモ接合体過剰の傾向を示した。

表3 バカガイ3標本群における遺伝的変異性

| 地域 | 平均対立<br>遺伝子数 | 多型遺伝子座<br>の割合<br>( $P \leq 0.95$ ) | 平均ヘテロ接合体率  |            |           |
|----|--------------|------------------------------------|------------|------------|-----------|
|    |              |                                    | $H_o^{*1}$ | $H_e^{*2}$ | $H_o/H_e$ |
| 常滑 | 1.9          | 0.40                               | 0.199      | 0.206      | 0.966     |
| 美浜 | 2.1          | 0.50                               | 0.224      | 0.239      | 0.937     |
| 吉良 | 1.8          | 0.40                               | 0.215      | 0.228      | 0.943     |

\*1 観察値 \*2 期待値

バカガイ3標本群の遺伝的距離と遺伝子頻度に有意差がみられた遺伝子座数を表4に示した。Neiの式より求めた標本群間の遺伝的距離は0.0030~0.0076, 集団の遺伝的分化の程度を評価する遺伝子分化指数( $G_{st}$ )は, 0.0262であった。有意水準5%で差がみられた遺伝子座は, 常滑・美浜間でIdh-1と6Pgdの2遺伝子座, 常滑・吉良間でPgm, 6Pgdの2遺伝子座であった。また, 美浜・吉良間ではPgm, Idh-1および6Pgdの3遺伝子座において有意差が検出された。一方, 全標本群を通じて異質性を検定した結果, Pgm, Idh-1および6Pgd遺伝子座の対立遺伝子頻度に差がみられ, それぞれが均一でない繁殖集団を形成している可能性が示唆された。

表4 バカガイ3標本群間の遺伝的距離(上段)と遺伝子頻度に有意差がみられた遺伝子座数(下段)

| 地域 | 常滑 | 美浜     | 吉良     |
|----|----|--------|--------|
| 常滑 |    | 0.0064 | 0.0030 |
| 美浜 | 2  |        | 0.0076 |
| 吉良 | 2  | 3      |        |

以上の結果より, バカガイはアサリ, ホタテガイ等の海産二枚貝と同様に変異保有量が少なくないことが判明した。また, ホモ接合体過剰傾向を示した点についても類似している。魚介類において遺伝子頻度に地理的勾配がみられることはよく知られている。しかしバカガイの調査結果では遺伝的な分化のレベルが小さいが, 近接した集団間で遺伝子頻度に有意差が生じた。この差異は, 自然選択によるもの, あるいは遺伝子頻度の異なる幼生の加入等が考えられる。今後, 隣接した遺伝子の交換等, 継続した時空間的な調査が望まれる。

## (7) 魚類防疫対策事業

### 魚類防疫対策事業 特定魚類防疫強化対策事業

宮川宗記・立木宏幸・田中健二

#### 目 的

水産養殖業における魚病被害は大きく、近年、複雑化・多様化の傾向を呈している。とりわけウナギでは、ウィルス病であることが明らかになってきた「鰓病」による被害が大部分を占め、業界はその対策に苦慮している。そこで、本県主要養殖魚であるウナギを始め、アユ、マス類等の内水面養殖魚において、魚病被害の軽減および食品としての安全性の確保を図るため、防疫対策を実施した。

#### 結 果

##### 1 魚類防疫対策事業

##### (1) 魚類防疫対策会議

| 年月日      | 開催場所 | 主な構成員   | 主 な 議 題  |
|----------|------|---|--|
| 3. 8. 22 | 名古屋市 | 水産振興室<br>水産試験場内水面分場<br>県事務所水産課<br>愛知県養鰻漁業者協会<br>アユ養殖業者代表<br>マス類養殖業者代表 | <ul style="list-style-type: none"> <li>・2年度事業実績および3年度計画</li> <li>・魚病被害・医薬品使用状況調査結果</li> <li>・近年問題となっている病気</li> </ul> |

##### (2) 防疫検討会

| 魚 種 | 年月日       | 開催場所  | 主な構成員   | 主 な 議 題   |
|-----|-----------|-------|---|---|
| ウナギ | 3. 5. 17  | 名古屋市  | 水産振興室<br>水産試験場内水面分場<br>県事務所水産課<br>愛知県養鰻漁業者協会<br>アユ養殖業者代表<br>マス類養殖業者代表 | <ul style="list-style-type: none"> <li>・事業実施計画</li> <li>・魚病情報</li> </ul>          |
|     | 4. 3. 19  |       |   | <ul style="list-style-type: none"> <li>・事業実施結果</li> <li>・魚病情報</li> </ul>          |
| アユ  | 3. 12. 10 | 蒲 郡 市 | 水産試験場内水面分場<br>水産振興室<br>県事務所水産課<br>アユ養殖業者                              | <ul style="list-style-type: none"> <li>・魚病発生状況</li> <li>・ワクチンの使用状況</li> </ul>     |
| マス類 | 3. 10. 3  | 設 楽 町 | 水産試験場鳳来養魚場<br>水産振興室<br>県事務所水産課<br>マス類養殖業者                             | <ul style="list-style-type: none"> <li>・全国で問題となっている疾病</li> <li>・魚病発生状況</li> </ul> |

(3) 養殖魚巡回健康診断

| 実施時期 | 実施地域           | 内 容       |
|------|----------------|-----------|
| 4～3月 | 東三河地区<br>西三河地区 | 水産用ワクチン指導 |
| 6～7月 | 県下全域           | アユ魚病対策指導  |
| 4～8月 | 三河山間部          | マス類魚病対策指導 |

(4) 魚病被害等調査

| 実施時期 | 実施地域  | 調査経営体数 | 内 容                               |
|------|-------|--------|-----------------------------------|
| 5～9月 | 三河山間部 | 1      | ビブリオ病分布調査<br>(ニジマス)               |
| 4～3月 | 県下全域  | 延118   | 魚病分布調査<br>(ウナギ, アユ, マス類)          |
| 4～3月 | 県下全域  | 延183   | 魚病発生動向調査<br>(ウナギ, アユ, マス類, キンギョ等) |

(5) 魚病講習会

| 年月日     | 開催場所 | 対象者(人数)                  | 内 容  |
|---------|------|--------------------------|--|
| 3.11.29 | 一色町  | ウナギ養殖業者<br>関係漁協<br>(122) | <ul style="list-style-type: none"> <li>ウナギの変形発生状況調査</li> <li>養殖ウナギの寄生虫<br/>(東京大 小川和夫 助手)</li> <li>鶏卵抗体によるパラコロ病の感染<br/>予防効果(三重大 宮崎照男助教授)</li> </ul> |
| 3.10.3  | 設楽町  | マス類養殖業者<br>関係漁協<br>(14)  | <ul style="list-style-type: none"> <li>カラムナリス病, 細菌性鰓病</li> <li>水産用ワクチンの使用方法</li> </ul>   |

## (6) 医薬品適正使用対策

| 魚 類 | 年月日      | 実施場所  | 対象者（人数）                     | 内 容               |
|-----|----------|-------|-----------------------------|-------------------|
| ウナギ | 3. 5. 29 | 一 色 町 | ウナギ養殖業者<br>関 係 漁 協<br>(188) | 水産用医薬品<br>適正使用説明会 |
|     | 3. 5. 30 | 一 色 町 |                             |                   |
|     | 3. 6. 6  | 豊 橋 市 |                             |                   |
|     | 3. 6. 14 | 高 浜 市 |                             |                   |
|     | 3. 6. 26 | 弥 富 町 |                             |                   |
| ア ュ | 5～7月     | 県下全域  | アユ養殖業者<br>(20)              | 巡 回 指 導           |
| マス類 | 10 月     | 三河山間部 | マス類養殖業者<br>(11)             | 巡 回 指 導           |

## (7) 医薬品残留検査

| 対象魚類 | 対象地域  | 対象医薬品成分名                  | 検査期間  | 検体数（ <small>残留</small><br><small>検出数</small> ） |
|------|-------|---------------------------|-------|--|
| ウナギ  | 西三河地区 | ・塩酸オキシテトラサイクリン            | 9～11月 | 20(0)  |
|      |       | ・オキソリン酸                   |       | 20(0)  |
|      |       | ・ミロキサシン                   |       | 20(0)  |
| 小 計  |       |                           |       | 60(0)  |
| ア ュ  | 東三河地区 | ・オキソリン酸                   | 6～9月  | 10(0)  |
|      |       | ・スルファモノメトキシ<br>オルメトプリム配合剤 |       | 5(0)   |
|      |       | 小 計                       |       |  |
| ニジマス | 三河山間部 | ・塩酸オキシテトラサイクリン            | 6～9月  | 4(0)   |
|      |       | ・オキソリン酸                   |       | 7(0)   |
|      |       | ・スルファモノメトキシ               |       | 4(0)   |
| 小 計  |       |                           |       | 15(0)  |
| 計    |       |                           |       | 90(0)  |

## 2 特定魚類防疫強化対策事業

### (1) 養殖場の定期観測

| 実施期間 | 実施場所(カ所数) | 測定項目  |
|------|-----------|---|
| 4～8月 | 西三河地区(2)  | 水温, pH, DO, 透明度, 水色,<br>NH <sub>4</sub> -N, NO <sub>2</sub> -N, 鰓検査 |

### (2) 魚病情報の収集・伝達

#### 〔収 集〕

| 魚病情報の種類   | 件数  | 情報源                             |
|-----------|-----|---------------------------------|
| 魚病診断結果    | 94  | 水産試験場内水面分場,<br>弥富指導所,<br>飼料メーカー |
| 学会報告      | 1   | 日本魚病学会                          |
| 全国魚病発生状況等 | 1   | 養鰻研究協議会                         |
| その他       | 5   | 飼料メーカー, 養鰻業者                    |
| 計         | 101 |                                 |

#### 〔伝 達〕

| 魚病情報の種類     | 件数  | 伝達先  |
|-------------|-----|--|
| 魚病発生状況, 対策等 | 101 | ウナギ防疫検討会,<br>養鰻漁協研究会,<br>養鰻業者, 飼料メーカー<br>魚類防疫センター等 |

### (3) 防疫対策定期パトロール

| 実施時期               | 実施地域                   | 内 容   |
|--------------------|------------------------|---|
| 5～6月<br>5月<br>6～7月 | 西三河地区<br>尾張地区<br>東三河地区 | <ul style="list-style-type: none"> <li>魚病発生状況調査および対策指導</li> <li>水産用医薬品指導</li> </ul> |

# 水産用ワクチン指導

宮川宗記・立木宏幸・水野正之

## 目 的

養殖アユおよびニジマスのピブリオ病に有効な水産用ワクチンが、平成元年から販売され、水産養殖業界も治療から予防の時代を迎えている。

本県における水産用ワクチンの指導は、表1に示したように、当面水産試験場内水面分場が指導機関として行い、養殖業者の依頼により、現地でワクチン投与魚を確認の上、「水産用ワクチン使用指導書」を発行することになっており、平成3年についても、ワクチンが的確に使用されるよう指導を行った。

表1 水産用ワクチン指導機関

| 魚 種  | 指導機関名          | 担当地区         |
|------|----------------|--------------|
| ア ユ  | 内水面分場<br>弥富指導所 | 三河地区<br>尾張地区 |
| ニジマス | 鳳来養魚場<br>弥富指導所 | 三河地区<br>尾張地区 |

## 材料および方法

平成3年2～6月に、三河地区のアユ養殖業者1名から延8件のワクチン使用希望があり指導を行った。うち1件は、琵琶湖から輸送直後の稚魚(平均体重1.5g)に対する低濃度長時間浴法(100倍希釈, 10分間浸漬)の安全性試験であり、当該養殖業者の了解を得て実施した。一方、ニジマスについては、三河山間部の2業者に延2件の指導を行うとともに、鳳来養魚場において、低濃度長時間浴法(200倍希釈, 20分間浸漬)の有効性試験を実施した。

ワクチン投与に関する安全性および有効性を確認するため、投与2週間後に安全性の判定を、さらにワクチン有効期間の最終日(アユ; 120日後, ニジマス180日後)または出荷日までの発病の有無、すなわち有効性の判定を各養殖業者から聞き取り調査した。

## 結果および考察

表2に、平成3年の水産用ワクチン使用状況を示した。アユについては、計99.0ℓのワクチンが使用され、1,025,000尾がワクチン処理された。当該養殖場は、毎年ピブリオ病の発生が多く、その対策に苦慮してきた経緯があるが、平成3年については、池入れ種苗のほとんど全てをワクチン処理したことになる。その安全性については全く問題なく、また有効性に関しても全て有効との結果であり、ピブリオ病の発生は認められなかった。

うち1件について実施した低濃度長時間浴法については、運搬してきた活魚水槽内で、換水後、水量調節してそのまま処理したが、供試魚の斃死はほとんど観察されず、その安全性は確認された。また、その後の発病も認められず、有効との判定であった。

なお、アユについては、従来からのワクチン処理方法に加え、この低濃度長時間浴法が、平成4年4月に承認される運びとなり、これで作業上の問題点は解消されることになるだろう。

一方、ニジマスについては、1件でワクチン処理後にIHNが発生し多数斃死したため、その安全性や有効性を判断できなかったが、他の1件については、安全性に問題はなく、有効との判定であった。また、大型魚で実施

した低濃度長時間浴法については、供試魚に  
 ビブリオ病の発生は認められず、有効と判断  
 された。

表2 平成3年水産用ワクチン使用状況

| 魚種   | 指導書番号     | 養殖場番号 | 尾数<br>(尾) | 平均魚体重<br>(g) | 種苗由来 | 使用ワクチン量 (ℓ) | ワクチン使用月日 | ※ワクチン有効性の判断 | 備考 |
|------|-----------|-------|-----------|--------------|------|-------------|----------|-------------|----|
| アユ   | AC-1-9101 | 10    | 57,000    | 7.0          | 琵琶湖産 | 8.0         | 2.6      | 有効          | 試験 |
|      | 2         | 10    | 50,000    | 5.0          |      | 5.0         | 2.7      | 有効          |    |
|      | 3         | 10    | 104,000   | 6.0          |      | 12.5        | 2.9      | 有効          |    |
|      | 4         | 10    | 125,000   | 3.0          |      | 7.5         | 2.11     | 有効          |    |
|      | 5         | 10    | 180,000   | 3.0          |      | 11.0        | 3.16     | 有効          |    |
|      | 6         | 10    | 130,000   | 3.0          |      | 8.0         | 4.2      | 有効          |    |
|      | 7         | 10    | 112,000   | 3.1          |      | 7.0         | 4.19     | 有効          |    |
|      | 8         | 10    | 267,000   | 1.5          |      | 40.0        | 6.10     | 有効          |    |
|      | 計         |       | 1,025,000 |              |      |             | 99.0     |             |    |
| ニジマス | AC-2-9101 | 水試    | 1,000     | 700          | 水試   | 3.0         | 10.15    | 著効          | 試験 |
|      | 2         | 19    | 120,000   | 6.3          | 岐阜県産 | 15.0        | 10.21    | 不明          |    |
|      | 3         | 3-②   | 190,000   | 2.0          | 滋賀県産 | 8.0         | 10.30    | 有効          |    |
|      | 計         |       | 311,000   |              |      | 26.0        |          |             |    |

※有効性の判定 著効；通常に比べ、ビブリオ病の発病魚が、ほとんど認められなかった場合  
 有効；通常に比べ、ビブリオ病の発病魚が、かなり少なかった場合  
 無効；ワクチン処理しても、通常と同様に、ビブリオ病が発生した場合  
 不明；ビブリオ病の発病魚は認められなかったが、ワクチンの効果かどうか  
 かわからない場合



## (8) ウナギ親魚養成試験

立木宏幸・中川武芳・田中健二

### 目 的

近年ではウナギの人工種苗生産研究に用いる良質の天然親魚の入手が困難となっているため、従来の天然親魚に代わり、安定供給の可能な養殖ウナギを産卵用親魚として養成する技術の開発を目指し、国の補助事業として昭和62年度から実施してきた。5ヶ年事業の最終年度である本年度は、養成親魚の催熟効果について調査を行うとともに、産卵誘発を試み、親魚養成の可否について検討した。

### 方 法

#### 1 夏季産卵における催熟効果の検討

夏季高水温期において、平均体重 561.7 g の雌2年魚を用い、サケ脳下垂体を週1回投与してその成熟促進効果について検討した。

#### 2 親魚養成飼料の検討

平均体重 616.4～675.9 g の雌2年魚を用い、産卵前の栄養強化等のため2ヶ月間L-アスコルビン酸及びβ-カロチンを週1回給餌投与し、その投与効果について検討した。

#### 3 冬季産卵における催熟効果の検討

冬季低水温期において、平均体重 861.7～954.4 g の雌2年魚を用い、サケ脳下垂体を週1回投与してその成熟促進効果について検討するとともに、産卵誘発を試みた。

#### 4 ふ化条件の検討

受精卵のふ化に係わる環境条件として、水温及び塩分のふ化率に対する影響について検討した。

### 結 果

1 サケ脳下垂体のみでの投与による催熟処理によっても成熟が促進され、雌魚の成熟に伴

う体重変化は従来の天然魚に似た急激な増加を示す個体が観察された。しかし、催熟途中での斃死魚が多く、23～24℃の高水温での催熟による魚体への負荷が伺われた。

2 下記試験3において催熟処理を行ったところ、L-アスコルビン酸及びβ-カロチン投与区では成熟の進行により体重が増加し、排卵誘発処理可能個体が対照区に比べて多く、その投与効果が伺われた。

3 夏季高水温期と同様に多くの個体が天然魚に似た体重変化を示したことから、HCGによる初期成熟の促進処理は特に必要ないと考えられた。また、17α-OHp, Diol, LH-RHはいずれも養成親魚の最終成熟及び排卵誘発ホルモンとして有効であると判断された。17α-OHpまたはDiolを投与した5尾から合計約4,700尾のふ化仔魚が得られ、42時間の生存が確認された。

これらのことから、養殖魚を産卵用親魚として養成することが可能であると判断された。

4 25～26℃の高水温区では受精卵の発生初期からの減耗が大きく、また、比重22の低比重区のみ化尾数が少ないことから、環境水の高水温、低比重は受精卵の発生率及びふ化率を低下させる傾向があると推察された。

なお、詳細については「平成3年度ウナギ産卵親魚育成技術開発調査事業報告書」に記載した。

## (9) 地域特産種増殖技術開発調査

### (対象種 ナマコ)

柳澤豊重・本田是人

本事業の平成3年度調査試験結果は、「平成3年度地域特産種増殖技術開発事業報告書—棘皮類—」に詳述した。本報では概略を述べる。

#### 1 基礎調査

ナマコ浮遊幼生分布調査

##### 目的

本調査は、本県沿岸のナマコ浮遊幼生の分布状況を把握し、幼生着底促進技術開発等の基礎資料を得ることを目的とした。

##### 方法

調査地点及び幼生採集方法は、1990年度と同一の方法<sup>1)</sup>である。

調査は、1991年4月25～26日及び5月29～30日の2回おこなった。2回とも1990年度とほぼ同時期である。

##### 結果および考察

###### ① 1991年4月25～26日の調査結果

初期幼生分布密度は、調査全点とも0～3個体/ $m^2$ の範囲であり、採集された初期幼生総個体数は、1990年同時期の20.2%と少なかった。後期幼生は、篠島北方から佐久島南方にかけて、15～29個体/ $m^2$ の高密度点が連続して観測され、福江沖にも高密度点が観測された。1990年に観測された最高密度は26個体/ $m^2$ であったから、調査した両年では、この時期の幼生分布の最高密度は同程度であったと考えられる。しかし、採集された後期幼生総個体数は、1990年同時期の7倍であっ

た。1991年は、1990年より産卵盛期が少し早く4月上旬であり、また、幼生分布範囲が広がったと考えられる。

###### ② 5月29日～30日の調査結果

初期幼生分布は、日間賀島北方から佐久島北方に4～10個体/ $m^2$ の密度が観測されたが、それ以外の調査点では初期幼生はみられなかった。採集された初期幼生総個体数は、4月調査時の1.4倍であり、ほぼ同程度であった。後期幼生は、全調査点とも0～3個体/ $m^2$ と少なく、採集された後期幼生総個体数も、4月調査時の3.6%と大幅に減少していた。

これらの調査結果より、愛知県沿岸のナマコの産卵は、すくなくとも5月下旬まで継続されているが、その盛期は4月中旬までであろうと考えられる。産卵は、間欠的におこなわれ、地点によって産卵期が異なっている可能性がある。浮遊幼生密度は5月下旬には激減したことから幼生着底促進器具等は4月中旬までには設置を完了する必要がある。なお、両年で観測された高密度区の分布は、数値シミュレーションに基づく予測<sup>2)</sup>とよく一致していた。

#### 2 種苗生産技術開発

##### 目的

従来のナマコ種苗生産技術は、培養植物プランクトン餌料～付着珪藻による餌料系列と、水流、刷毛等での稚ナマコの物理的剥離を組み合わせた技術である。この方法では餌料供給の不安定さや生残率の低さ、投下労働力の

多大小等いくつかの欠点があった。これらの欠点を補うため、有機物餌料～海藻粉末による餌料系列、麻酔剤による剥離等の検討をおこない、個々の技術開発をおこなってきた。今年度は、これら個々の技術を総合した新しい種苗生産技術の量産レベルにおける実用性を検討することを目的とした。

## 方 法

対象種としてアオナマコを用いた。採卵は温度刺激法によりおこなった。ふ化幼生収容密度は、0.1個体/mlとし、10 m<sup>2</sup>の大型水槽を用いた。浮遊期の餌料として、植物プランクトン類を原料とした有機物餌料<sup>3)</sup>を $5.1 \times 10^4 \sim 1.3 \times 10^5$ 粒子/ml/day投与した。着底後は、上記餌料に海藻粉末<sup>4)</sup>を0.5～1g/m<sup>2</sup>/day追加した。飼育期間を通じ、毎日水槽容量と等量の換水をおこない、また、飼育水が充分混合する量のエアレーションをおこなった。

体長2mmに達した稚ナマコは、塩化カリウム0.5%海水溶液により麻酔剥離<sup>3)</sup>し、別水槽に収容し麻酔剥離の影響を調べた。

## 結果および考察

ふ化から着底までの浮遊期生残率は、91.7%であり、高い生残率を示した。着底から体長0.8～2.3mm稚ナマコまでの生残率は、90.8%であり、着底以後も高い生残率を示した。上記麻酔剤で剥離した稚ナマコを、体長5.5mmまで飼育したが、ほとんど死亡個体はなく、成長の低下もみられなかった。

これらの結果から、検討した新種苗生産技術は、量産レベルでの実用化に充分耐えられると考えられる。この技術は餌培養を必要とせず、また剥離作業が簡単なため、大型水槽を用いた大量種苗生産には、特に適切な技術と考えられる。この技術で用いる餌料は、いずれも沈澱しやすく腐敗が早い。換水とエアレーシ

ョンは、本技術の実用化にあたって特に配慮すべき要素であろう。

## 3 資源添加技術開発

### 目 的

昨年度は天然群の多い海域に種苗を放流し、非放流区とのCPUE差より、間接的に放流効果を推定した<sup>1)</sup>。今年度は、天然群の少ない海域を対象とし、より明瞭に放流効果を推定することを目的とした。特に、放流時に標識の困難な、体長1～3mmの小型ナマコ種苗の放流効果と、環境収容力の関係についての基礎資料を得ることを目的とした。

### 方 法

選定した放流実験区は、1989年度に新たに造成された潜堤であり、知多半島東部に位置する。この潜堤は、約1tほどの天然石と碎石を組み合わせ、上面がDL-1mになるよう設置されている。投影面積は約5,600m<sup>2</sup>であり、潜堤の周囲は泥、砂で囲まれる。設置された海域の天然ナマコは極めて少なく、ナマコ漁もほとんどおこなわれていない。

1991年6月25日、体長1～3mmのアオナマコ種苗を、36個体/m<sup>2</sup>の密度で放流した。

1992年1月13, 22日に、潜堤よりアオナマコを採集した。同時に、水中写真により、岩礁表面部のナマコを調査した。採集した個体は、焼印標識<sup>5)</sup>を施して1月27日に放流し、2月3日に再捕した。ペーターセン法により、潜堤部のアオナマコ現存数を求めた。

また、対照区として、潜堤ごく近傍で環境の類似し、かつ、放流のおこなわれていない岩礁部を選定した。実験区と同一日に採集と水中写真撮影をおこない、岩礁表面部のアオナマコを調査した。

## 結果および考察

焼印標識後の生残率と標識の判別率は共に100%であった。また、この潜堤部は、設置

環境から、短期間ではナマコの移入、逸散はきわめて少ないと考えられる。ペーターセン法の適用は妥当であろう。

以下調査結果の概略をのべる。

①実験区のアオナマコ生息数は、30,018±6,402個体と計算された。生息密度は、5.36個体/ $m^2$ 、生息重量は160.8g/ $m^2$ と推定される。この生息密度は、本実験区と類似した環境に設置した柴漬礁で、大型種苗の大量放流の結果得られた「4.2個体/ $m^2$ 」の生息密度<sup>6)</sup>と類似している。両者の放流密度、種苗サイズが大きく異なるのに、生息密度が類似したことは、このような環境下でのアオナマコ環境収容力を示唆する。

②水中写真の解析より、実験区岩礁表面のアオナマコ生息密度1.83個体/ $m^2$ であった。従って、実験区の調査時点におけるアオナマコ表面出現率は、34.1%と推定される。

天然群の生息状態から環境収容力の余力を推測して、放流海域を選定する場合には、ナマコの表面出現率の把握は重要な検討事項であろう。

③対照区の潜水採集密度は0.33個体/ $m^2$ であり、前述の表面出現率を適用すると、対照区の天然群生息密度は0.97個体/ $m^2$ と計算される。実験区のアオナマコ生息密度も対照区と同様であるとする、実験区の天然アオナマコ数は、5,432個体と推定される。

④以上より、実験区に生残した放流アオナマコ数は24,586個体と計算される。

⑤これらの結果より、実験区における放流種苗の生残率は、12.3%と計算される。なお、この生残率には、今回おこなった標識個体の体重範囲から、体重10g以下の個体は含まれていない。

⑥実験区で採集したアオナマコの平均体重は30.0±16.3gであり、ほぼ漁獲サイズに達していた。この体重は、1～3mmで放流された種苗の約7カ月間の成長を近似していると考えてよいであろう。

従って、⑤の生残率をそのまま放流効果と考えるとよいと思われる。また、実験区のアオナマコ生息密度が、環境収容力により制限された結果であるならば、今回より低い放流密度でも同レベルの生息密度を示す可能性があるであろう。

体長1～3mmの種苗であっても、放流環境が適切であれば放流効果が期待できる。ナマコ種苗放流効果の発現のためには、放流環境の選定が第一義的に重要であろう。

また、環境収容力には、生態の似かよった近縁種の存在が大きく影響している可能性が極めて強い。マナマコの3品種、アオナマコ、アカナマコ、クロナマコ相互の関係も、収容力解明のために今後重点をおくべき課題の一つであろう。

## 文 献

- 1) 愛知県水産試験場尾張分場(1990):  
平成2年度地域特産種増殖技術開発事業報告書, 1-28.
- 2) 愛知県水産試験場尾張分場(1988):  
昭和63年度地域特産種増殖技術開発事業報告書, 47-67.
- 3) 愛知県水産試験場尾張分場(1988):  
昭和63年度地域特産種増殖技術開発事業報告書, 27-39.
- 4) 福井県栽培漁業センター(1989):  
平成元年度地域特産種増殖技術開発事業報告書, 21-22.
- 5) 柳澤豊重ら(1984):  
水産増殖, 32(1), 15-19.
- 6) 柳澤豊重ら(1987):  
昭和62年度愛知県水産試験場業務報告,  
3-5.

## (10) 水産用医薬品簡易残留検査試験

宮川宗記・立木宏幸

### 目 的

養殖ウナギの食品としての安全性をさらに確保するため、養殖現場において検査可能な簡易残留検査法を開発することを目的に、芽胞性細菌の一種 *Bacillus subtilis* ATCC 6633による微生物検査法の検討を行ってきた。簡単な手法、迅速な結果判明、安い経費など実用性においては高く評価されたものの、低濃度の残留を検出できないことから、安全性の証明とはなり得ず、検査精度の向上を図る必要があると判断された。

表1に示したように、*B. subtilis* ATCC 6633は、ウナギ用医薬品全般にまずまずの感受性を有するが、塩酸オキシテトラサイクリン（以下OTC）については、*B. cereus* var. *mycoides* ATCC11778の方が、また、オキシソリン酸（OA）およびミロキサシン（MLX）については、*Escherichia coli* NIHJの方が、より感受性が高い（最小発育阻止濃度（MIC）の値が低い。各医薬品ごとに□で表示）。そこで、微生物検査法の第2段階として、これら高感受性菌株により、使用医薬品別に個別対応する方法の実用性およびその検出感度の検討を行った。

表1 水産用医薬品に対する標準菌株のMIC

| 菌株名  | ※ | MIC (μg/ml) |      |      |      |      |
|--|---|-------------|------|------|------|------|
|  |   | OTC         | SPM  | OA   | PA   | MLX  |
| <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633                     |   | 0.78        | 3.13 | 0.39 | 1.56 | 0.78 |
| <i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341                    |   | 3.13        | 1.56 | >400 | 100  | >400 |
| <i>Escherichia coli</i> NIHJ                           |   | 1.56        | 1.56 | 0.05 | 3.13 | 0.10 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> 209P                      |   | 0.78        | 50   | 3.13 | 25   | 12.5 |
| <i>Bacillus cereus</i> var. <i>mycoides</i> ATCC 11778 |   | 0.20        | 25   | 3.13 | 25   | 6.25 |

※ 「畜水産食品中の残留物質検査法」（厚生省環境衛生局乳肉衛生課）より

### 材料および方法

表2に試験概要を示した。当水試の加温ハウス池に、医薬品残留のないことを確認したニホンウナギを放養し、10日間程度の馴致を行った後、OTC、OA、MLXの各々規定量をウナギ用配合飼料に混合し自由摂餌により6ないし7日間経口投与した。飼育水温は28℃に、換水量は5%/日に設定し、投薬後は飽食量に近い量を毎日給餌し、通常の飼育管理を行った。

投薬終了1日後、5日後および以後5日間隔で30日後（MLXは20日後）まで、各々10尾を採捕した。ウレタン麻酔し、鰓動脈を切断し放置することで放血させた後、肝臓の前中部および背部、腹部、尾部の3カ所の筋肉（皮膚含む）を、各々秤量して1g摘出した（図1）。

OTCの検査用菌株として用いた *B. cereus* の芽胞希釈液および検査培地の調整方法は、これまで供試してきた *B. subtilis* と同様の方法で支障なかったが、OAおよびMLXの検査に用いた *E. coli* は、比較的熱に弱いことから、予めシャーレに菌液を0.1ml分注し、その後50～55℃に保温した感受性ディスク用培地10mlを加え、直ちにシャーレ内で混釈

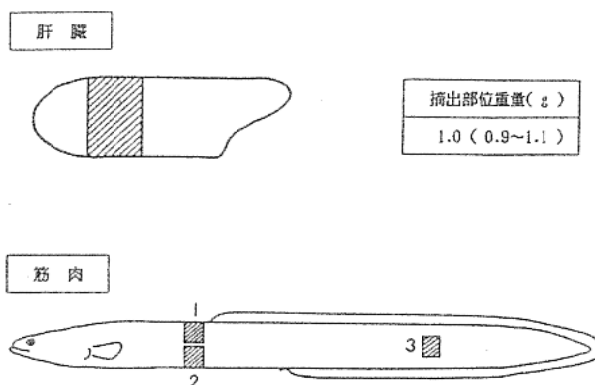


図1 検査部位

表2 試験概要

| 医薬品成分名         | OTC  | OA                              | MLX  |
|----------------|--|---------------------------------|--|
| 池形状            | コンクリート製加温ハウス池(水草 0.5 ps. 1台)                               |                                 |  |
| 池面積 (㎡)        | 19.1   |                                 |  |
| 平均水深 (m)       | 0.4  |                                 |  |
| 放養量 (kg)       | 70.0   | 70.0                            | 75.0   |
| 放養尾数 (尾)       | 370  | 370                             | 450  |
| 平均魚体重 (g)      | 189.2  | 189.2                           | 166.7  |
| 投薬前馴致期間 (日)    | 10   | 11                              | 10   |
| 使用医薬品名         | 水産用テラマイシン散<br>(ファイバー製薬)                                    | 水産用パラザン<br>(田辺製薬)               | 水産用オスカシン散<br>(住友製薬)  |
| 投薬量 (g/kgBW/日) | 0.5  | 0.4                             | 0.6  |
| 投薬期間 (日)       | 7  | 6                               | 7  |
| 投薬方法           | 経口投与(自由摂餌による給餌投薬)  |                                 |  |
| 供試菌株           | <i>Bacillus cereus</i> var.<br><i>mvcooides</i> ATCC 11778 | <i>Escherichia coli</i><br>NIHJ | <i>Escherichia coli</i><br>NIHJ<br><i>Bacillus subtilis</i><br>ATCC 6633 |

する方法で検査培地を調整した。各々の検査培地に1%量添加した菌液(芽胞希釈液)の濃度は、約 $10^6/ml$ と計数された。

こうして調整した各検査培地上に、採材した検体の断面を下にして置き、1時間冷蔵放置後、30℃で18時間培養して、検体周囲に形成された阻止帯の幅を測定した。一方、肝臓では摘出した残りの部分を、筋肉では反対側の同部位筋肉を必要量採取し、10尾分を1検体として、外部委託により公定法で残留測定し、各々簡易法の検出感度を確認した。

なお、*E. coli*の場合、投薬歴のないウナギを用いた予備試験において、わずかながら阻止帯が形成された個体もあったことから、阻止帯幅1.0mm以上を陽性として判定した。

#### 結果および考察

各試験期間中の水質環境等に特に異常は認められず、通常の飼育が続けられた結果、OTCおよびOA投与群の魚体重は、投薬終了

30日後には各々平均で275.8g、277.8gとなり、MLX投与群は20日後には平均229.4gまで成長し、供試魚にも異常は観察されなかった。

簡易検査法による経時的な阻止帯の消長を図2~4に示した。また、同一検体を公定法で残留測定した結果を図5に示した。OTCの場合、簡易法で10尾中3尾にわずかながら阻止帯が形成された投薬終了10日後の肝臓で0.24ppmであることから、*B. cereus* ATCC 11778の検出限界は0.25~0.3ppmと推定された。また、OAでは、簡易法で全個体に阻止帯が形成された30日後の肝臓で0.25ppm、10尾中9尾に検出のあった筋肉で0.13ppmであり、*E. coli* NIHJでは0.15ppm程度まで検出可能であると判断された。一方、2種類の菌株で比較したMLXの場合は、肝臓で公定法5日後にはすでに検出限界以下のため推定しにくい。筋肉では、*E. coli* NIHJによる簡易法で1.1mmの阻止帯が形成された10日後に0.18

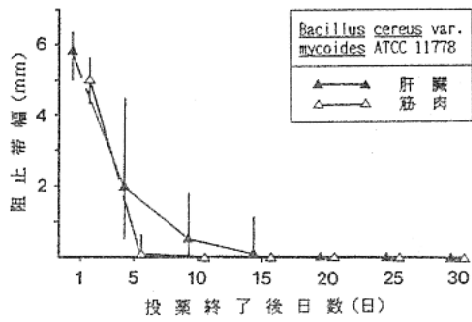


図2 簡易検査法による阻止帯の消長(OTC)

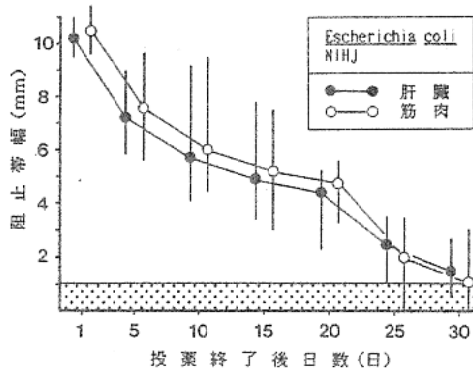


図3 簡易検査法による阻止帯の消長(OA)

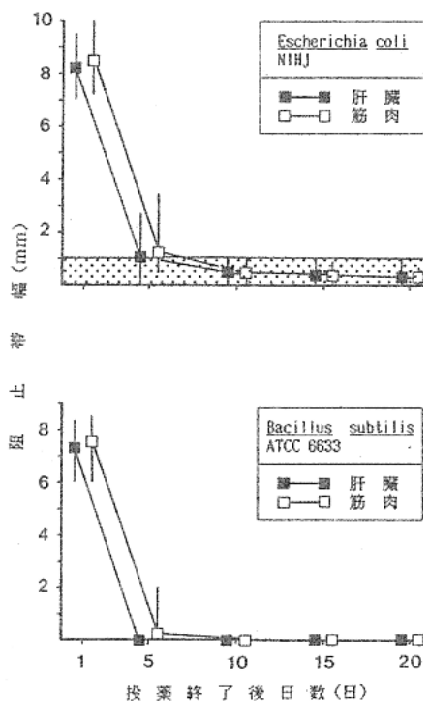


図4 簡易検査法による阻止帯の消長(MLX)

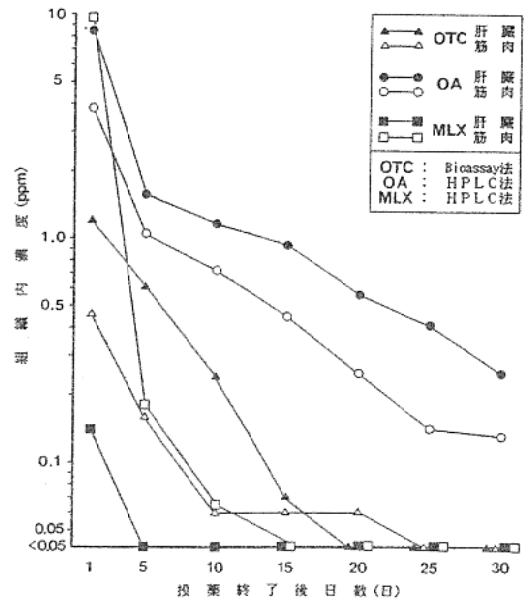


図5 ウナギ組織内濃度の消長

ppmであり、その検出限界は0.15～0.2 ppmと推定された。また、*B. subtilis* ATCC 6633では、10日後の筋肉で0.2mmの阻止帯(10尾中3尾)しか観察されておらず、こちらの検出限界は約0.3ppmと考えられた。

昨年度までの試験結果では、*B. subtilis*の検出限界は、OTCで約0.4ppm、OAでは約0.3ppmと推定されていたが、OTCには*B. cereus*を、OAとMLXには*E. coli*を用いることにより、各々検出感度を向上させることができるものと考えられた。従って、医薬品別に感受性の優れた菌株による数種類の検査培地を準備し、養殖業者の申請または担当者の判断で、最適な培地を選択し検査に供することで、かなりの低濃度まで検出可能になるものと思われる。ただし、検査精度の向上に伴い、その維持管理が複雑になるため、検査培地を各養殖現場で自ら調整するという前提においては、その実用性に疑問が残る。

## (11) ウナギ品質向上技術開発試験

田中健二・宮川宗記・中川武芳

### 目 的

多様化する消費者の食生活におけるウナギに対する嗜好を調査するとともに、従来経験的に行われていた品質評価をより客観性の高いものにし、これらの基準に基づき高品質ウナギの生産技術の開発を目指す。

### 材料および方法

- 1 一般養殖業者2業者の飼育管理状況と水質を調査し、生産されたウナギの品質特性を比較検討した。
- 2 天然ウナギと養殖ウナギの品質特性を比較検討した。
- 3 産地問屋でランクづけされた上下ランクの養殖ウナギについて品質特性を比較検討した。
- 4 飼育管理上基本となる水温の品質に及ぼす影響を高温区と低温区の2区で比較して検討した。
- 5 名古屋市内のウナギ専門店140軒に対してアンケート調査を実施するとともに、短大生と主婦を対象に天然ウナギと養殖ウナギ及び上下ランクの養殖ウナギの官能検査を行い、品質特性との関連について検討した。
- 6 上下ランクの養殖ウナギを用いて活魚流通過程で行われている活めめの品質に及ぼす影響を検討した。
- 7 経験的な評価と色度及び物性の測定結果を比較し、客観的な基準化の可能性について検討した。

### 結果および考察

- 1 一般養殖業者2業者間では、水質と歩留ま

りに著しい差があったが、生産されたウナギの体色と物性には差がなく、この原因として出荷直前の飼育状態が品質に影響を及ぼすものと考えられた。

- 2 天然ウナギは養殖ウナギよりも粗蛋白が多く、粗脂肪が少なかった。養殖ウナギの脂肪酸組成は天然ウナギに比べ偏りがあり、フィードオイルの影響が考えられた。体色は、天然ウナギの方が茶色く、肉も養殖ウナギよりも硬かった。
- 3 上ランクのウナギは、粗蛋白、粗脂肪及び遊離アミノ酸が下ランクよりも多かった。色は上ランクの方が青く、肉も下ランクに比べ柔らかかった。
- 4 高温区のウナギは低温区よりも水分が多く、粗脂肪が少なかった。イノシン酸は高温区で多く、遊離アミノ酸は低温区が多かった。色は高温区の方が緑色が強く、加熱後の硬さは低温区の方が柔らかかった。
- 5 アンケートの回収率は61.4%で、柔らかいものが好まれるなど、その内容は昨年度の三重県の報告と概ね一致していた。  
天然ウナギと養殖ウナギの官能検査では、天然ウナギの評価が高く、粗脂肪が少ないにもかかわらず脂がのっていると判断される傾向があるなど特異的であった。  
上下ランクの官能検査では、上ランクの評価が高く、品質特性と良く対応した結果が得られた。
- 6 活めめすることで体色も肉の硬さも改善され、その効果は上ランクの方が大きい傾向にあった。
- 7 全試験区を比較した結果、シラス池入れと取り揚げ時期の早いほど肉が柔らかい傾



向があり、品質には季節性が関与しているものと考えられた。

ウナギの体色の肉眼による識別と色度の測定数値を比較した結果、色度による判定の方が安定していると考えられた。

上下ランクの色度及び生の肉の硬さの測

定値と加熱後の肉の硬さを基準に品質判定を試み、概ねよい結果が得られた。

なお、この試験の詳細については、「平成3年度特定研究開発促進事業報告書」に記載した。