安全食品部

水産加工技術開発支援事業

保 聖子・前野幸二・折田和三

目 的

本県水産加工業の振興に資するため、水産加工利用棟の施設及び機器を開放し、加工業者等と連携しながら、消費者ニーズに即した特産品開発や、県産魚介類の素材開発活動を活性化させるとともに、最新の加工機器並びに新たな加工素材を用いた食品の開発を行う。また、加工品の物性、成分或いは製法の改良により製品の付加価値向上を図るとともに、品質劣化防止技術の研究を行い、もって品質管理の知識・技術を普及を目的とする。

(1) 水産加工・衛生管理技術支援

水産加工利用棟（オープンラボラトリー）の利用促進を図りながら、加工業者等に対する技術相談や技術指導・助言を行った。主な技術指導・助言実績を下表に記す。（表1）指導内容に関する近年の傾向としては、品質管理に関する指導に比べ新製品開発に関する指導が多い。また、施設利用については、延べ101団体（延べ 237名）の利用があった。

表1 主な製品開発

製品開発技術指導	ホタ味噌漬け 鰹節粉末エキス化 鰹節残滓魚醤油 カンパチ加工
品質分析指導	魚醤油品質分析 すり身ゼリー強度測定 ブリ類フィレ－鮮度分析
分析技術研修	鮮度分析

(2) 新たな加工素材・技術の開発

① トビウオ卵加工品開発

【目 的】

熊毛海域で漁獲されるトビウオを開き又はすり身加工する際に副産される卵巣の加工品を検討した。

【材料及び方法】

種子島漁協で水揚げされたトビウオの卵の凍結品を用いた。なお、トビウオの種類については、明らかでない。

一般に魚卵加工品として知られている形態の加工品として下記のとおり試作し、卵膜に絡まり食感に影響を及ぼす纏絡糸^{てんらくし}を電子顕微鏡にて観察した。

(1) 加工品の試作

ア ふりかけ

たらこふりかけをイメージして試作した。3%塩水で解凍後、表2に示す調味液に30分浸漬した後、フライパンでから煎りして加熱した。

イ 塩飛び子

塩タラコをイメージして試作した。3%塩水で解凍後、ボーマ10の塩水に1日浸漬した。

ウ カラスミ

上記で製造した塩飛び子を天日で3日間乾燥した。

エ トビコ（松前漬け風）

3%塩水で解凍後、醸造酢（酢酸濃度1%＝市販酢を40倍希釈）に15分浸漬した後、表3に示す調味料に漬け込み、生食用の加工品を試作した。

トビウオ卵	200g
薄口醤油	100ml
地酒	50ml
みりん	25ml

トビウオ卵	200g
薄口醤油	100ml
地酒	50ml
みりん	50ml
昆布	5g

(2) 魚卵の特性

卵膜から卵を取り出し、電子顕微鏡（SEM）により観察した。

(3) 纏絡糸の処理

食感の改善を目的に酸・アルカリ・酵母をそれぞれ作用させ、纏絡糸の除去を検討した。

【結 果】

(1) 加工品の試作

ア ふりかけ

フライパン上で卵膜を破って、粒々をほぐそうとするが、容易にほぐれなかった。見た目には、タラコと酷似するが、食べてみたときの食感はタラコほど粒々感は強くなかった。味は地酒由来の奈良漬けのような香りが強く、また辛めであった。

イ 塩飛び子

焙焼後、食したが、纏絡糸と思われるかすが最後まで口に残った。また、タラコのような粒々とした食感はなかった。

ウ カラスミ

乾燥により小さく堅くなった。見た目はカラスミ様の色合いとなった。

軽く炙ってから食したが、カラスミのようなねっとりとした食感に乏しく、ただ塩味だけが感じられた。また、魚臭が残り、纏絡糸が最後まで口に残った。

エ トビコ（松前漬け風）

3%塩水で解凍後、醸造酢（酢酸濃度1%＝市販酢を40倍希釈）に15分浸漬した後、表3に示す調味料に漬け込み、生食用の加工品を試作した。ダシ昆布から適度なねばりが出て松前漬けの様な製品となった。

図1 カラスミ

(2) 魚卵の特性

試作に供したトビウオ卵巣は、長さ約8～10cmで成熟度は分からなかった。

卵巣を覆う卵膜を破り取り出した卵は、卵径約1mmで表面には多数の纏絡糸^{てんらくし}が取り巻いており、付着卵であることが確認できた。纏絡糸は互いにからまりやすいものと思われ、容易には個々にほぐれなかった。また、ほぐそうと攪拌することで、さらに固着が強くなるようであった。

さらに、加熱することで一層その傾向が強まり、纏絡糸も複数本からまって肉眼でも糸の存在を確認できるまでになった。

また、卵の水分及び粗タンパク質について分析した結果、それぞれ、75.5%、19.2%であり、トビウオ精肉部と似通った数値であった。

(3) 纏絡糸の処理

トビウオ卵の加工品への利用に際し、粒々感を阻害し食べると最後までかすとして口に残る纏絡糸が問題となることが分かった。そこで、纏絡糸が切断できないか検討した。

ア 酸処理

食酢に浸漬した。数日間後にも纏絡糸による固まりがほぐれることはなかった。

イ アルカリ処理

重曹に浸漬した。食酢同様に固まりがほぐれることはなかった。

ウ 酵母

ドライイーストを1%、砂糖10%を加えた水溶液に浸漬して攪拌したが、数時間後も纏絡糸による固まりがほぐれることはなかった。

図2 トビウオ卵SEM写真

【考 察】

纏絡糸は卵が付着するためのものであるため未成熟卵に見られる現象であるが、トビウオ加工品の加工残滓として産出するトビウオ卵は未成熟のものが多い。そこで、卵加工の支障となる纏絡糸の処理を検討したが、解決できる処理法を見いだすことはできなかった。加熱により纏絡糸が強まることから、非加熱加工品の方が商品として向いていると思われた。

②サメ冷凍すり身化試験

【目 的】

種子島海域におけるサメによる漁業被害防止のための一環として、駆除したサメの付加価値向上を目的としてスケソウ冷凍すり身の代替としての可能性を探る。

(1) 対象魚

シロザメ、メジロザメ、イタチザメ

【方 法】

サメ肉は尿素を多く含むため、水晒しの工程が不可欠であるが、水溶性タンパク質が多く通常のミ

ンチでの晒しでは、溶解してしまう。そのため、刺身状に切り出した状態で晒しを行う。

また、サメ肉では、塩化カルシウム水溶液による晒しが製品の出来に良好な効果を及ぼすことが知られており通常の水晒しに加え、塩化カルシウムによる晒しの2通りを実施する。現在流通する冷凍すり身には加塩すり身と無塩すり身があり、加塩すり身は扱い易いが冷凍保管中の品質低下が無塩すり身に比べ大きい等それぞれに長短所がある。今回は加塩すり身についてのみの検討とした。また、メジロ・イタチ両サメについては、水晒しのみでの検討である。

(1)加工手順

(2)すり身の評価方法

シロザメについては、すり身に適した晒し方の方法について評価した。

また、メジロザメ・イタチザメについては、水晒し法による原料のすり身化への適正を評価した。

評価方法は、すり身に2%量の食塩を加え肉糊を作り、ケーシング詰めしたものを、35℃で30分、90℃で30分の2段加熱し、放冷後径5mmの球形プランジャーによる最大荷重並びに最大荷重時の凹みを測定した。

【結果及び考察】

表4・図のとおり

表4 ゼリー強度測定結果

	最大荷重(g)	凹み(mm)	ゼリー強度(g*cm)
シロザメ(塩化Ca晒し)	588	5.4	318
シロザメ(水晒し)	396	6	238
メジロザメ	531.5	5.1	271
イタチザメ	406.1	5.3	215
エノ(鮮魚)*1	532.5	8.9	474
イトヨリ(鮮魚)*2	472.5	10	473
シイラ(冷凍)*3	327.5	6	197

*1, 2, 3はH18当センター分析値(参考値)

参考：(かまぼこ形成能の見方)

荷重：高(硬い)
低(もろい)
凹み：大(弾力有り)
小(弾力なし)

図3 かまぼこ形成能

(1)シロザメによる晒し方法の検討について

すり身の硬さを示す最大荷重 (g) については、塩化カルシウム晒しの方が、水晒しに比べ約1.5と高くなっており、すり身の「足」が改善されることが確認された。

(2)すり身原料適正について

グラフにシロザメ・メジロザメ・イタチザメのかまぼこ形成能について、最大荷重と凹みの深さを

使って表した。かまぼこ形成能は、最大荷重と凹みとの総合評価となり、形成能が高い場合は、グラフ中の右上に位置することになる。3種類のサメについてみると水晒したメジロザメではエソ・イトヨリほどの評価はなく、もろくはないが、弾力性に欠ける製品となった。シロザメについては、塩化カルシウム晒しを行ったものについては、メジロザメとほぼ同様の値となり、水晒しだけでは、イタチザメとほぼ同様の値となった。ただし、水晒しだけでも、冷凍シイラと同様な評価が得られたことから、等級は高くはなくても冷凍すり身としての適性はあると思われた。

また、今回の試験では日程の都合からメジロザメ及びイタチザメについての塩化カルシウム晒しの効果は確認できなかったが、シロザメの結果からかまぼこ形成能が改善される可能性は強い。

③エクストルーダー利用による加工素材の開発

【方 法】

a) スナック様加工食品の試作

ヒゲナガエビをエクストルーダーで処理し、水産物の風味を付加した膨化食品を試作した。原料は、ヒゲナガエビをミートチョッパーにてミンチにし、エビ1に対し、コーンフラワー9の割合で混合した後、適宜水分調整した。(株)栗本鐵工所製2軸型エクストルーダKEX-30を使用し、バレル温度150℃にてエクストルージョン処理した。

b) カンパチを原料とした加工品の試作

刺身商材向けとなっている養殖カンパチについて、消費形態の多様化を図るためフレーク様加工品を試作した。

原魚のカンパチは、三枚におろし、表皮、腹骨、中骨を除去した後、プレート目5mmのミートチョッパーにてミンチ処理した。これを原料に、バレル80℃以上でエクストルージョン処理した。また、蒸煮・加熱処理する方法も試みた。これは、原魚を三枚におろした後、30分間蒸煮し、腹骨、血合肉等を除去したものを適宜な水分量になるまで加熱処理した。

【結 果】

a) スナック様加工品の試作

エクストルーダーの主軸回転数の違いにより、吐出物の膨化度が異なった。主軸回転数が70rpmでは吐出物表面がささくれた状態となり、150rpmでは吐出物は非常に固いものとなった。今回の条件では、100rpmが吐出・膨化ともに最も良かったものの、これらのエクストルージョン処理処理だけでは、サクサクとした食感が得られなかった。このため、水分を除去するため電子レンジで加熱処理したところ、サクサクとした食感のものとなった。

写真1 エビ入りスナック様加工品

b) カンパチを原料とした加工品の試作

エクストルージョン処理では、最初、ダイ温度を低温に設定して行ったところ、次第に原料投入部付近に水分の滞留を生じ、吐出が途中で止まってしまった。そのため、2回目はダイ温度を1回目より高温に再設定し処理したところ、そばろ様の適度な弾力を持った吐出物を得ることができた。一方、蒸煮・加熱処理したものは、一般的に流通しているサ

写真2 エクストルージョン処理品

ケフレーク等と遜色のないものが得られた。いずれの試作品も、調味すればおにぎりや持ち帰り弁当などの具材として利用可能と思われた。

また、においや味にクセがないことから、加工時に調味しなくても、使う際に好みの味付けが手軽にできる利便性があると思われた。

写真3 蒸煮・加熱処理品

(3) 鹿児島県水産加工連絡協議会の運営

11月28日に総会並びに研修会を開催し、エバーサルジョイント 赤松雄二氏を招いて「売れる販売手法の秘密」また、東和博特許事務所の東氏による「商法・特産品・地域ブランド」と題して基調講演を行った。

安心・安全な養殖魚生産技術開発事業Ⅱ (低コスト飼料・効率的生産手法開発事業)

前野幸二, 平江多績, 村瀬拓也, 折田和三, 村田卓也¹
ジェフリー・フレドリック・モリンソン¹, 横山佐一郎¹, 越塩俊介¹

【目 的】

本県の海面養殖業は、漁業総生産額の約5割を占め、また海面養殖業生産額の約9割はカンパチを含めたブリ類養殖業で占めており、これらは本県において重要な漁業種、魚種となっている。しかし、近年は、養魚用配合飼料の原料の5割強を占める魚粉の価格高騰により、国内の配合飼料価格も上昇しており、養殖経営に大きな影響を及ぼしている。

そこで、養殖コストを削減し経営の安定を図っていくために、本県の主要養殖魚種であるブリ及びカンパチについて、魚粉の配合割合が低く、品質で遜色のない安価な配合飼料の開発と給餌方法の改善による効率的な養殖生産手法について検討を行った。

試験1 (カンパチ飼育試験)

【方 法】

試験場所

水産技術開発センター地先の海面生簀にて実施した(図1)。

供試魚

鹿児島湾内で育成されたカンパチ当歳魚を試験に用いた。試験開始までの3週間は、試験飼料1(粒径5mm)を給餌し予備飼育を行った。

試験飼料

表1に示す組成で、養魚飼料メーカーが作製したEP飼料4種類を用いた。飼料1は、魚粉割合が従来の飼料と同等の魚粉60%飼料で、飼料2は魚粉割合を40%に低減し、その分を植物性タンパク質で代替した飼料、飼料3は、飼料2に合成タウリンを0.15%添加した飼料、飼料4は飼料2に合成タウリンを0.7%添加した飼料である。

飼育管理

海面生簀網(3m×3m×3m)8生簀にカンパチ当歳魚(開始時199.7g)を80尾ずつ收容し、平成20年8月19日から12月9日までの112日間飼育した。試験区は、飼料1給餌区を1・2区、飼料2給餌区を3・4区、飼料3給餌区を5・6区、飼料4給餌区を7・8区と設定し、給餌形態は、土・日・祝日を除く1日1回、飽食であろうと思われる量まで給餌した。飼料は、試験開始時から8週終了時までには粒径5mm、9週目以降は粒径8mmのものを給餌した。

飼育期間中の水温及び溶存酸素は、水深1mにてデータロガー(Stow Away Tidbit temp logger)及びDOメーター(YSI Model185)で測定した。

図1 試験実施場所

表1 配合飼料組成と分析結果

	飼料1	飼料2	飼料3	飼料4
魚粉	60.0	40.0	40.0	40.0
大豆油粕		6.5	6.5	6.5
コーングルテンミール		17.5	17.5	17.5
小麦粉	12.0	7.1	6.95	6.4
メチルセルロース	10.0	10.0	10.0	10.0
ビタミン混合物	2.0	2.0	2.0	2.0
ミネラル混合物	1.0	1.0	1.0	1.0
魚油	10.0	10.4	10.4	10.4
外添油(魚油)	5.0	5.0	5.0	5.0
リン酸カルシウム		0.5	0.5	0.5
タウリン(合成)			0.15	0.7
5mm				
水分(%)	2.9	2.7	3.1	4.7
粗タンパク質(%)	43.5	46.0	44.8	45.3
粗脂肪(%)	19.1	19.3	19.5	18.5
粗灰分(%)	10.5	8.4	8.2	8.0
リン(mg/g, 乾物)	16.6	12.0	15.7	15.0
8mm				
水分(%)	4.1	4.5	4.3	5.1
粗タンパク質(%)	44.2	46.0	43.8	45.6
粗脂肪(%)	18.1	16.4	18.3	17.1
粗灰分(%)	10.6	8.3	11.0	8.2
リン(mg/g, 乾物)	20.7	15.9	15.8	14.4
タウリン(%)	0.35	0.25	0.36	0.82

※分析値は、東京海洋大学による。
リンのみ鹿児島水産技術開発センター

※1：鹿児島大学水産学部

魚体測定

試験開始時及び試験終了時には、全数の魚体重と尾叉長を測定した。また、4週間毎に各区30尾の魚体重と尾叉長を測定した。

魚体の成分分析

試験開始時に5尾、試験終了時に各区5尾を取り上げ、分析に供するまで -35°C で凍結保管した。分析前に全魚体を磨砕し、一般成分及び全リンを測定した。水分は常圧加熱乾燥法、粗タンパク質はケルダール法、粗脂肪はソックスレー抽出法、灰分は直接灰化法、全リンは比色分析法で行った。また、これとは別に試験開始時に5尾、試験終了時に各区5尾を取り上げ、肝臓とそれ以外の魚体とに分け、それぞれのタウリンについて分析した。タウリンについて、試料の磨砕及び分析は東京海洋大学に依頼した。

血液性状分析

試験開始時に5尾、試験終了時に各区5尾から採血し、個体別にドライケムFDC3500i（富士フィルム社製）を用いて血液性状を測定した。

【結果及び考察】

飼育環境

飼育試験は、平成20年8月19日から12月9日までの112日間行った。期間中の水温及び溶存酸素量を図2に示した。

期間中の水温は $15.8\sim 29.7^{\circ}\text{C}$ （平均 24.2°C ）であった。試験開始から4週終了時（Ⅰ期）は $27.0\sim 29.7^{\circ}\text{C}$ （平均 28.6°C ）、5週開始時から8週終了時（Ⅱ期）は $24.7\sim 28.3^{\circ}\text{C}$ （平均 26.1°C ）、9週開始時から12週終了時（Ⅲ期）は、 $20.9\sim 24.7^{\circ}\text{C}$ （平均 23.5°C ）、13週開始時から試験終了時（Ⅳ期）では $15.8\sim 22.2^{\circ}\text{C}$ （平均 19.1°C ）であった。

DOは、 $4.2\sim 7.6\text{mg/l}$ （平均 6.3mg/l ）で推移した（図2）。

図2 飼育生簀の水温・溶存酸素の変化

飼育成績

飼育成績は、表2に示した。飼育試験開始後2週間は、殆ど疾病等は見られず飼育は順調であった。しかし、この後、約2週間イリドウイルス感染症やハダムシの寄生により、各区でへい死尾数が多い状況が続き、試験終了時における生残率は、飼料1で63.1%、飼料2で78.8%、飼料3で69.4%、飼料4で66.9%となった。

飼育期間中における各飼料別の平均体重の推移を図3に示した。魚粉40%で合成タウリンを0.7%添加した飼料4が最も良く、次いで魚粉の最も多い飼料1であった。魚粉40%で合成タウリン無添加の飼料2は最も劣ったが、飼料間で有意な差は見られなかった。

図3 平均体重の推移

表2 飼育成績

飼育期間	試験区	飼育日数	給餌回数	平均体重(g)		増重率(%)	日間増重率(%)	給餌量(g)	日間給餌率(%)	飼料転換効率(%)	増肉係数	生存率(%)
				開始時	終了時							
I期 (8/19~9/15)	1-1区	28	17	198.3	249.9	26.0	0.83	9,259	2.15	38.2	2.62	71.3
	1-2区	28	17	200.1	248.3	24.1	0.77	9,473	2.16	35.6	2.81	75.0
	2-1区	28	17	199.7	250.4	25.4	0.71	9,295	2.08	38.7	2.58	77.5
	2-2区	28	17	196.1	243.6	24.2	0.77	9,941	2.10	36.8	2.72	92.5
	3-1区	28	17	201.6	250.4	24.2	0.77	8,881	2.03	37.9	2.64	72.5
	3-2区	28	17	204.6	244.1	19.3	0.63	9,294	2.04	30.8	3.25	81.3
	4-1区	28	17	195.3	253.6	29.9	0.93	9,365	2.16	43.0	2.33	72.5
	4-2区	28	17	202.1	245.9	21.7	0.70	8,606	1.99	35.1	2.85	72.5
II期 (9/16~10/13)	1-1区	28	18	249.9	408.0	63.3	1.75	9,748	1.89	90.8	1.10	96.5
	1-2区	28	18	248.3	392.6	58.1	1.64	9,892	1.90	84.6	1.18	93.3
	2-1区	28	18	250.4	389.1	55.4	1.57	9,541	1.82	85.0	1.18	88.7
	2-2区	28	18	243.6	375.6	54.2	1.55	10,137	1.59	95.7	1.05	98.6
	3-1区	28	18	250.4	405.0	61.7	1.72	9,257	1.85	91.0	1.10	87.9
	3-2区	28	18	244.1	390.7	60.1	1.68	9,463	1.65	99.9	1.00	98.5
	4-1区	28	18	253.6	400.5	57.9	1.63	9,869	1.89	84.8	1.18	96.6
	4-2区	28	18	245.9	393.8	60.1	1.68	9,832	1.93	85.7	1.17	96.6
III期 (10/14~11/10)	1-1区	28	18	408.0	693.2	69.9	1.89	15,805	1.99	92.9	1.08	87.3
	1-2区	28	18	392.6	712.1	81.4	2.13	18,511	2.14	96.7	1.04	100.0
	2-1区	28	18	389.1	666.1	71.2	1.92	17,121	2.11	89.0	1.12	100.0
	2-2区	28	18	375.6	650.0	73.1	1.96	20,867	2.02	94.7	1.06	97.3
	3-1区	28	18	405.0	691.5	70.7	1.91	16,850	2.15	86.7	1.15	100.0
	3-2区	28	18	390.7	652.3	67.0	1.83	18,924	2.07	86.4	1.16	95.3
	4-1区	28	18	400.5	652.0	62.8	1.74	17,746	2.21	77.2	1.30	94.6
	4-2区	28	18	393.8	657.2	66.9	1.83	19,052	2.31	77.4	1.29	100.0
IV期 (11/11~12/9)	1-1区	28	17	693.2	789.6	13.9	0.47	11,163	1.16	40.2	2.49	93.8
	1-2区	28	17	712.1	778.3	9.3	0.32	14,070	1.20	26.3	3.80	100.0
	2-1区	28	17	666.1	774.1	16.2	0.54	14,117	1.27	42.1	2.38	100.0
	2-2区	28	17	650.0	735.8	13.2	0.44	18,197	1.32	33.5	2.99	100.0
	3-1区	28	17	691.5	773.9	11.9	0.40	12,474	1.20	33.4	3.00	98.0
	3-2区	28	17	652.3	758.9	16.3	0.54	15,494	1.29	42.0	2.38	100.0
	4-1区	28	17	652.0	787.8	20.8	0.68	13,921	1.32	51.2	1.95	98.1
	4-2区	28	17	657.2	798.9	21.6	0.70	14,426	1.28	54.5	1.83	98.2
通算 (8/19~12/9)	1-1区	112	70	198.3	789.6	298.2	1.23	45,975	1.33	80.4	1.24	56.3
	1-2区	112	70	200.1	778.3	289.0	1.21	51,946	1.39	75.7	1.32	70.0
	2-1区	112	70	199.7	774.1	287.6	1.21	50,074	1.36	77.4	1.29	68.8
	2-2区	112	70	196.1	735.8	275.2	1.18	59,142	1.50	68.9	1.45	88.8
	3-1区	112	70	201.6	773.9	283.9	1.20	47,462	1.34	78.4	1.28	62.5
	3-2区	112	70	204.6	758.9	270.9	1.17	53,175	1.40	73.5	1.36	76.3
	4-1区	112	70	195.3	787.8	303.4	1.25	50,901	1.40	76.8	1.30	65.0
	4-2区	112	70	202.1	798.9	295.3	1.23	51,916	1.37	77.6	1.29	68.8
	飼料	開始時	I期	II期	III期	IV期						
尾叉長(cm)	1区	23.5	25.0	28.5	32.8	33.8						
	2区	23.4	25.0	28.4	32.6	33.7						
	3区	23.6	24.9	28.5	32.7	33.9						
	4区	23.4	25.0	28.7	32.4	34.2						
肥満度	1区	15.3	15.8	17.2	19.8	20.1						
	2区	15.3	15.7	16.7	18.9	19.5						
	3区	15.4	15.9	17.1	19.2	19.6						
	4区	15.3	15.8	16.8	19.2	19.9						

日間給餌率については、I期は1.99~2.16%であったが、II期は1.59~1.93%に低下した。飼料の粒径を5mmから8mmに切り替えたIII期には、全体的に給餌量が増加し、1.99~2.31%に改善した。しかし、IV期には、再び1.16~1.32%に下がった。

通算の日間給餌率は、飼料2が1.43%で最も高く、次いで飼料4が1.39%、飼料3が1.37%、飼料1が1.36%となったが、飼料間で有意な差は見られなかった。

通算の増肉係数では、飼料2が1.37で最も高く、次いで飼料3が1.32、飼料4が1.30、飼料1が

最も低く1.28となったが、飼料間で有意な差は見られなかった。期間毎ではI期で差が見られたが、II期では差がなくなった。しかし、水温が20℃を下回ったIII期以降、飼料間で差が生じ、IV期の増肉係数は、飼料1が最も高い3.15となり、次いで飼料2の2.67、飼料3の2.69と続き、飼料4は最も低い1.89となった。これは、III期以降において飼料1の給餌率が他と比べて低下したことで、これまで他より優れていた魚体重の増重が低調になる一方、他の区では飼料1を上回る尾叉長の伸び、魚体重の増重等が見られたことから、IV期の増肉係数の差に繋がったと考えられた。

魚体の成分分析

魚体の成分分析結果を表3に示す。試験開始時は、水分含量が多く粗脂肪含量が少なかった。試験終了時では、全ての試験区で水分含量は減少し、粗脂肪含量は増加したが、飼料の違いによる魚体成分の差は見られなかった。

魚体のリン含有量は、試験開始時の7.86mg/gから試験終了時には5.96~7.45mg/gと減少した。

表3 魚体分析結果

時期	飼料	区	水分(%)		粗タンパク(%)		粗脂肪(%)		粗灰分(%)		リン(mg/g)		窒素(%)	
			分析値	平均	分析値	平均	分析値	平均	分析値	平均	分析値	平均	分析値	平均
開始			73.6	—	18.9	—	4.5	—	3.6	—	7.86	—	3.0	—
16週	飼料1	1	65.7	65.6	19.6	19.5	12.5	12.7	2.7	2.7	5.40	5.96	3.1	3.1
		2	65.6		19.3		13.0		2.7		6.52		3.1	
	飼料2	3	65.3	64.9	19.5	18.8	12.6	13.2	2.8	2.7	6.86	6.44	3.1	3.0
		4	64.5		18.2		13.7		2.7		6.03		2.9	
	飼料3	5	64.9	64.8	19.7	19.4	13.1	13.3	2.8	2.8	6.32	6.85	3.1	3.1
		6	64.8		19.2		13.4		2.8		7.38		3.1	
	飼料4	7	65.0	64.7	19.5	19.4	12.8	13.2	2.9	2.9	6.73	7.45	3.1	3.1
		8	64.4		19.3		13.7		2.9		8.16		3.1	

注)湿重量換算による。

次に、16週間の試験期間を通じて得られたリン及び窒素の蓄積率と負荷量を右式により求め、蓄積率を表4、負荷量を表5に示した。

リン蓄積率については、飼料4が最も高く、続いて飼料3、2、1の順となり、魚粉60%区より魚粉40%区で高く、また、合成タウリンの添加量が多いほど蓄積率が高かった。リン負荷量は、魚粉60%区と魚粉40%区の間では有意な差 (Tukey $p < 0.01$) が見られ、魚粉を代替した飼料の方が負荷量は少なかった。窒素の蓄積率については、飼料3が最も高く、飼料4、1、2の順となった。窒素負荷量が最も多かったのは飼料1で、次いで飼料2と飼料4が同等、最も少なかったのが飼料3となったが、大きな差ではなかった。

$$\text{リン負荷量 } (T-P; \text{kg/生産量}t) = \frac{\left\{ F \times \frac{Pf}{100} - \left(Bf \times \frac{Pbf}{100} - Bi \times \frac{Pbi}{100} \right) \right\} \times 10^6}{(Bf - Bi) \times 10^3} \quad \Lambda \quad (1.1)$$

$$= \left\{ C \times Pf - \frac{(Bf \times Pbf - Bi \times Pbi)}{(Bf - Bi)} \right\} \times 10 \quad \Lambda \quad (1.2)$$

$$\text{リン蓄積率 } (T-P; \%) = \frac{\left(Bf \times \frac{Pbf}{100} - Bi \times \frac{Pbi}{100} \right)}{F \times \frac{Pf}{100}} \times 10^2 \quad \Lambda \quad (1.3)$$

$$\text{窒素負荷量 } (T-N; \text{kg/生産量}t) = \frac{\left\{ F \times \frac{Nf}{100} - \left(Bf \times \frac{Nbf}{100} - Bi \times \frac{Nbi}{100} \right) \right\} \times 10^6}{(Bf - Bi) \times 10^3} \quad \Lambda \quad (2.1)$$

$$= \left\{ C \times Nf - \frac{(Bf \times Nbf - Bi \times Nbi)}{(Bf - Bi)} \right\} \times 10 \quad \Lambda \quad (2.2)$$

$$\text{窒素蓄積率 } (T-N; \%) = \frac{\left(Bf \times \frac{Nbf}{100} - Bi \times \frac{Nbi}{100} \right)}{F \times \frac{Nf}{100}} \times 10^2 \quad \Lambda \quad (2.3)$$

F: 1尾当たりの給餌量(g)、Nf: 飼料中の窒素含量(%), Pf: 飼料中のリン含量(%), Bf: 実験終了時の魚体重(g), Bi: 実験開始時の魚体重(g)、Nbf: 実験終了時の魚体窒素含量(%), Nbi: 実験開始時の魚体窒素含量(%), Pbf: 実験終了時の魚体リン含量(%), Pbi: 実験開始時の魚体リン含量(%), C: 増肉係数

表4 リンと窒素の蓄積率 (%)

飼料	区	リン		窒素	
		分析値	平均	分析値	平均
飼料1	1	15.6	18.6±4.3	28.9	28.9±0.0
	2	21.6		28.9	
飼料2	3	35.8	30.8±7.1	31.7	28.5±4.6
	4	25.8		25.3	
飼料3	5	30.0	32.7±3.8	35.1	33.7±1.9
	6	35.4		32.4	
飼料4	7	31.3	35.2±5.6	30.0	29.1±1.2
	8	39.1		28.2	

注) 平均値±標準偏差

次に、試験終了時のカンパチ魚体及び肝臓のタウリン含量を表6に示した。

試験開始時の魚体タウリン含量は、649.5mg/100gであった。試験終了時は、飼料1で519.6mg/100g、飼料2で461.1mg/gとなり、開始時より減少した。一方、飼料3は開始時と同程度の640.8mg/g、飼料4は706.2mg/gと増加した。飼料1と飼料4、飼料2と飼料3の間で有意な差 (Tukey $p < 0.05$) が見られた。

試験開始時における肝臓タウリン含量は、410.7mg/100gであった。終了時では、飼料1が324.5mg/100g、飼料2が292.3mg/100g、飼料3が368.8mg/100g、飼料4が363.6mg/100gとなり、全ての区で開始時より減少した。飼料1と飼料4、飼料2と飼料3の間で有意な差 (Tukey $p < 0.05$) が見られた。終了時における魚体及び肝臓のタウリン含量は、飼料中のタウリン含量を反映した結果となった。

次に、魚体と肝臓におけるタウリンの蓄積率を表7に示した。タウリン蓄積率は、魚粉60%区の飼料1で107.2%、魚粉40%区では、合成タウリン無添加の飼料2で122.7%、合成タウリンを0.15%添加した飼料3では132.4%と増加する傾向が見られたが、同じ魚粉40%区でも合成タウリンを0.7%添加した飼料4では69.9%と飼料3の約2/3に低下した。

表7 タウリンの蓄積率

飼料	一尾当りの総給餌量 (g)	飼料のタウリン含量 (mg)	開始時 (N=5)				終了時 (各飼料N=10)				タウリン蓄積率 (%)	
			重量 (g)		タウリン (mg)		重量 (g)		タウリン (mg)			
			魚体	肝臓	魚体	肝臓	魚体	肝臓	魚体	肝臓		全魚体
1	749.8	2,590.7					769.4	17.8	3,989.2	57.5	4,046.6	107.2
2	762.6	1,873.5	194.8	1.9	1,265.3	7.8	761.9	16.1	3,515.5	47.2	3,562.7	122.7
3	742.2	2,650.9					739.4	13.8	4,734.5	50.8	4,785.2	132.4
4	770.2	6,316.4					796.8	16.7	5,625.4	65.7	5,691.1	69.9

血液性状

試験開始時及び終了時の血液性状を表8に示す。

試験終了時のヘマトクリット (Ht)、総コレステロール (TCHO)、トリグリセリド (TG)、無機リン (IP)、総タンパク (TP) は、試験開始時より上昇した。グルコース (GLU) は、飼料1、3、4において試験開始時より低下したが、飼料2は上昇した。総ビリルビン (TBIL) は、飼料4だけが試験開始時より上昇したが、他の飼料との有意な差は見られなかった。

表5 リンと窒素の負荷量 (kg/t)

飼料	区	リン		窒素	
		分析値*1	平均*1	分析値*2	平均*2
飼料1	1	23.9	22.8±1.5	78.3	77.6±1.0
	2	21.7		76.9	
飼料2	3	11.7	13.5±2.6	67.9	76.4±12.0
	4	15.4		84.9	
飼料3	5	13.5	13.3±0.2	58.6	61.5±4.1
	6	13.2		64.4	
飼料4	7	13.9	13.4±0.7	73.8	76.4±3.7
	8	12.9		79.0	

注1) 平均値±標準偏差

※1:1-1式による。※2:2-1式による。

表6 魚体及び肝臓のタウリン量 (mg/100gd. b)

時期	飼料	区	魚体	肝臓
開始時			649.5	410.7
試験終了時	飼料1	1区	552.9	339.4
		2区	486.2	309.6
	飼料2	3区	465.5	298.9
		4区	456.7	285.7
	飼料3	5区	605.4	356.9
		6区	676.2	380.8
	飼料4	7区	692.9	390.9
		8区	719.5	396.3

表8 血液性状分析結果

項目\時期	開始時(n=5)		終了時							
			飼料1(N=10)		飼料2(N=10)		飼料3(N=10)		飼料4(N=10)	
Ht(%)	32.0 ± 7.0		45.4 ± 5.2	41.5 ± 4.7	40.7 ± 8.2	49.1 ± 10.5				
GOT(U/L)	44.6 ± 32.2		22.7 ± 15.7	46.2 ± 38.2	67.9 ± 76.2	95.5 ± 85.8				
GPT(U/L)	13.2 ± 6.1		11.0 ± 4.1	14.6 ± 5.6	15.2 ± 4.0	32.8 ± 36.1				
ALP(U/L)	130.0 ± 28.3		131.5 ± 29.1	146.1 ± 21.4	126.7 ± 20.5	134.6 ± 49.4				
GLU(mg/dl)	200.2 ± 64.8		169.1 ± 41.6	248.2 ± 28.4	168.0 ± 44.0	170.6 ± 35.8				
TCHO(mg/dl)	225.6 ± 34.1		361.9 ± 41.5	320.2 ± 43.3	374.2 ± 19.4	392.3 ± 58.4				
TG(mg/dl)	38.4 ± 8.0		69.3 ± 23.0	79.8 ± 23.3	44.4 ± 18.5	65.0 ± 27.7				
TBIL(mg/dl)	0.9 ± 0.5		0.6 ± 0.1	0.6 ± 0.2	0.7 ± 0.2	1.3 ± 1.0				
Ca(mg/dl)*1	15.7 ± 0.6		15.9 ± 0.1	15.9 ± 0.2	16.0 ± 0.1	15.9 ± 0.4				
IP(mg/dl)	8.7 ± 3.3		10.0 ± 2.1	9.3 ± 1.2	9.2 ± 1.9	11.3 ± 2.5				
TP(g/dl)	4.0 ± 0.7		5.5 ± 0.6	5.3 ± 0.6	5.6 ± 0.4	7.2 ± 1.3				

注) 平均値±標準偏差

* 1; ドライケム検出限界(16.0)以上の値は、16.0で集計した。

まとめ

通算の日間給餌率、日間増重率、増肉係数については、飼料間で大きな差は見られなかった。期間別の増肉係数を見ると、水温が20℃を下回った低水温期では、魚粉60%の飼料1に比べ、その他の魚粉40%飼料が優れる傾向を示し、中でも合成タウリンをより多く添加した飼料4が優れていた。また、この期間においては、増重率も他の区より優れていたことから、低水温期においては合成タウリン添加量の違いが成長に影響する可能性も考えられた。飼料への合成タウリン添加量の違いによる魚体及び肝臓のタウリン含量をみると、魚粉40%の場合、0.15%以上添加した飼料3、4で魚粉60%の飼料1を上回る結果となった。合成タウリン添加した区で比較すると、0.15%添加した飼料3では、魚粉60%の飼料1を上回る蓄積率を示すが、0.7%添加した飼料4では、逆に蓄積率が2/3程度に低下した。

今回使用した魚粉40%飼料では、魚粉60%飼料と成長や魚体成分に有意な差は見られなかったことから、魚粉を40%に削減しても成長等に大きな影響はないものと思われた。また、低水温期では、合成タウリン添加区は魚粉60%区と同等以上の成績を示したことから、水温の低い冬場においては、今回の魚粉40%飼料にはタウリンは添加した方が良いと思われた。環境面から見ると、魚粉を減らし植物性原料を使うことでリン負荷量は削減できたものの、窒素負荷量の削減については改善されなかった。

試験2 (ブリ飼育試験)

【方 法】

試験場所

水産技術開発センター内の陸上水槽にて実施した。

供試魚

試験には、鹿児島湾内で育成されたブリ当歳魚を用い、試験開始時までは市販E P飼料(粒径5mm)にて予備飼育を行った。

試験飼料

試験飼料の組成を表1に示す。飼料1は、魚粉を60%配合したもの、飼料2は魚粉を50%、飼料3は魚粉を40%にし、減じた魚粉分は大豆タンパク、フィッシュソリブル、焼酎粕で代替し、タンパク質含有量を調整したE P飼料とした。

なお、試験に用いたE P飼料は、当センター所有のエクストルーダ(KEX-30(株)栗本鐵工所)にてバレル温度140℃の条件で製造した。飼料の粒径は5mmとした。

飼育管理

1 t 円形FRP水槽12面にブリ当歳魚（試験開始時540.7g）を1水槽当たり19～20尾収容し、平成20年10月29日から12月24日までの57日間飼育した。試験区は、飼料毎に飽食であろうと思われる量まで給餌する区（以下、飽食区とする）と、飽食区の給餌量の80%を給餌する区（以下、制限区とする）の2種類をそれぞれダブルで設定した。すなわち、飼料1給餌区を1・2区、飼料2給餌区を5・6区、飼料3給餌区を9・10区とし、制限区は飼料1給餌区を3・4区、飼料2給餌区を7・8区、飼料3給餌区を11・12区と設定した。

飽食区は、それぞれ飽食であろうと思われる量まで給餌し、制限区は飽食区の給餌量を基に、試験魚尾数及び体重を考慮し、飽食給餌区の80%に相当する量を給餌した。飼育期間中、給餌は土・日・祝日を除く1日1回を基本とした。

期間中は、データロガー（Stow Away Tidbit temp logger）、DOメーター（YSI Model 85）を用いて水温及び溶存酸素量を測定した。

なお、本試験は、鹿児島大学に再委託し、水産技術開発センターにて連携を取りながら実施した。

魚体測定

試験開始時と2週間毎及び試験終了時に、全数の魚体重と尾叉長を測定した。

魚体の成分分析

試験開始時に5尾、試験終了時に各区5尾を取り上げ、-35℃で凍結保管後、全魚体を磨砕し、一般成分及び全リンを試験1と同法により測定した。

血液性状分析

試験開始時に5尾、試験終了時に各区5尾から採血し、個別別にドライケムFDC3500i（富士フィルム社製）を用いて血液性状を測定した。

【結果及び考察】

飼育環境

飼育試験は、平成20年10月29日から12月24日までの57日間行った。期間中の水温は、17.3～23.7℃（平均20.4℃）であった。開始時から2週終了時では22.5～23.7℃（平均23.1℃）、3週開始時から4週終了時では19.4～22.5℃（平均21.2℃）、5週開始時から6週終了時では17.6～20.3℃（平均19.4℃）、7週開始時から試験終了時では17.3～18.8℃（平均18.1℃）であった。

DOは、5.6～7.0mg/l（平均6.4mg/l）で推移した（図1）。

飼育成績

飼育成績は表2に示した。

飼育試験終了時の生残率は、飽食給餌区では飼料1が92.5±4%、飼料2が97.5±4%、飼料3が92.1±4%であった。制限給餌区では、飼料1が97.5±4%、飼料2が97.5±4%、飼料3が92.5±4

表1 配合飼料組成と分析結果

成分	飼料1	飼料2	飼料3
魚粉	60	50	40
分離大豆タンパク	0	8	12
フィッシュソリブル	0	3	7
焼酎粕	0	9	18
小麦粉	14	6	2
αデンプン	5	4	2
ビタミン混合物	3	3	3
ミネラル混合物	2	2	2
魚油	13	14	14
セルロース	3	1	0
合計	100	100	100
分析値			
水分(%)	12.4	10.5	8.2
粗タンパク質(%)	49.1	49.2	47.3
粗脂肪(%)	19.5	20.3	21.0
粗灰分(%)	12.2	11.8	11.0
リン(%)	1.64	1.53	1.35

図1 飼育水槽の水温

%と、全ての試験区の生残率に大きな差は見られなかった。

表2 飼育成績 (ブリ)

飼料	給餌	平均体重(g)		増重率 (%)	日間増重率 (%)	総給餌量 (g)	日間給餌率 (%)	飼料転換効率 (%)	増肉係数	生存率 (%)
		開始時	終了時							
1-1区	(飽食)	530.1	862.1	62.6	0.85	10,511	1.39	60.0	1.67	90.0
1-2区	(飽食)	539.4	870.9	61.5	0.84	11,576	1.48	55.8	1.79	95.0
1-3区	(制限)	532.4	772.5	45.1	0.65	9,091	1.25	51.5	1.94	95.0
1-4区	(制限)	537.5	796.9	48.3	0.69	9,313	1.22	55.7	1.80	100.0
2-1区	(飽食)	543.6	862.2	58.6	0.81	11,296	1.39	55.0	1.82	95.0
2-2区	(飽食)	548.0	883.0	61.1	0.84	12,285	1.48	54.5	1.83	100.0
2-3区	(制限)	545.8	771.7	41.4	0.61	9,543	1.27	47.3	2.11	100.0
2-4区	(制限)	532.6	789.1	48.2	0.69	9,442	1.29	53.0	1.89	95.0
3-1区	(飽食)	565.2	824.3	45.8	0.66	9,346	1.28	51.3	1.95	94.7
3-2区	(飽食)	531.4	754.4	42.0	0.61	8,732	1.32	46.0	2.18	89.5
3-3区	(制限)	534.9	729.7	36.4	0.54	7,950	1.13	47.8	2.09	95.0
3-4区	(制限)	547.8	754.9	37.8	0.56	7,915	1.12	49.7	2.01	90.0

※日間増重率(%)=[ln(終了時平均体重)-ln(開始時平均体重)]×100/飼育日数

	飼料	給餌	開始時	2週後	4週後	6週後	8週後
尾叉長(cm)	1	(飽食)	32.3	33.7	34.8	35.5	35.9
	2	(飽食)	32.3	33.4	34.5	35.4	35.9
	3	(飽食)	32.3	33.1	34.0	33.6	33.2
	1	(制限)	32.3	33.3	34.3	34.9	35.3
	2	(制限)	32.5	33.3	34.3	34.9	35.2
	3	(制限)	32.3	33.2	34.0	34.6	35.0
肥満度	1	(飽食)	15.8	17.5	18.1	18.5	18.6
	2	(飽食)	16.1	17.6	17.8	18.9	18.7
	3	(飽食)	16.3	16.6	17.0	17.5	16.9
	1	(制限)	15.8	17.0	17.6	18.0	17.8
	2	(制限)	15.7	16.8	17.0	17.7	17.6
	3	(制限)	16.0	16.4	17.6	17.3	17.1

次に、飼育期間における平均体重の推移を図2に示した。

平均体重は、飼料1及び飼料2の飽食給餌区が優れ、次いで飼料3の飽食給餌区となった。制限給餌区の飼料3は最も劣り、飽食区の飼料1と制限区の飼料3、飽食区の飼料2と制限区の飼料3の間で有意な差が見られた (Tukey $p < 0.05$)。総じて制限給餌区は飽食区に比べて成長が劣った。

図2 平均体重の推移

平均尾叉長及び肥満度についても、平均魚体重と同じ傾向が見られた。

二元配置分散分析の結果、給餌率及び魚粉添加率の違いは、増重率、肥満度、給餌量において、有意差 ($P < 0.01$) を与える要因となり、魚粉添加率の減少、もしくは給餌率の減少に従って低下する傾向が見られた。

飼料1と飼料2の間において増重率、肥満度は、給餌率の違いに関係なく有意な差は見られなかったが、飼料3は、飼料1及び飼料2と比較して、増重率、肥満度、給餌量は劣った。

増肉係数については、魚粉添加率の違いが有意差 ($P < 0.05$) を与える要因となり、魚粉添加

図3 増肉係数

量の低下に従って大きくなる傾向が見られた (図3)。

魚体の成分分析

魚体の成分分析結果を表3に示す。

試験終了時において飽食給餌区では飼料間の差は見られなかった。制限給餌区では、魚粉60%の飼料1に比べて魚粉50%の飼料2、魚粉40%の飼料3の粗脂肪が低い傾向が見られた。リン含有量は、飽食給餌区では魚粉割合が低い程、高くなる傾向が見られたが、制限給餌区では逆に、魚粉割合が低くなるとともにリン含有量も低くなる傾向が見られた。

表3 魚体の成分分析結果

時期	給餌	魚粉割合	水分(%)	粗タンパク質(%)	粗脂肪(%)	粗灰分(%)	リン(mg/g)	窒素(%)
開始時			67.8	19.9	8.1	2.9	4.99	3.2
終了時	飽食	60%	63.9±0.5	19.9±0.5	11.1±0.6	2.5±0.2	4.39±0.17	3.2
		50%	62.9±0.9	19.5±0.6	12.5±0.5	2.5±0.1	4.54±0.39	3.1
		40%	64.0±0.6	20.0±0.5	11.5±0.7	2.9±0.1	4.92±1.07	3.2
	制限	60%	64.0±0.3	19.6±0.0	11.3±0.3	2.8±0.2	5.20±0.39	3.1
		50%	65.1±0.4	20.0±1.1	9.6±0.7	2.9±0.1	5.07±0.60	3.2
		40%	64.8±0.2	20.1±0.1	9.9±0.0	2.6±0.1	4.72±0.38	3.2

注) 湿重量換算による。

次に、8週間の試験期間を通じて得られたリン及び窒素の蓄積率を表4に、負荷量を表5に示す。

リン蓄積率については、飽食給餌区では魚粉割合が低い方が高く、制限給餌区では、逆に魚粉割合が低い方が低くなる傾向が見られたが、有意な差ではなかった。リン負荷量については、給餌量や魚粉割合の違いによる差は見られなかった。

窒素蓄積率については、給餌量や魚粉割合の違いによる差は見られなかった。窒素負荷量については、飽食区では魚粉割合が低い方が高くなる傾向が見られたが、有意な差ではなかった。給餌量の違いによる負荷量に有意な差は見られなかった。

表4 リン及び窒素の蓄積率 (%)

飼料	魚粉割合	給餌	リン	窒素
1	60%	飽食	12.0 ± 2.1	23.3 ± 0.3
2	50%		13.4 ± 3.6	20.8 ± 1.9
3	40%		15.9 ± 14.0	20.7 ± 0.0
1	60%	制限	18.3 ± 3.2	20.6 ± 1.2
2	50%		16.3 ± 5.0	20.6 ± 2.0
3	40%		14.3 ± 5.6	21.2 ± 1.0

注) 平均値±標準偏差

表5 リン及び窒素の負荷量 (kg/t)

飼料	魚粉割合	給餌	リン ^{※1}	窒素 ^{※2}
1	60%	飽食	24.9 ± 1.9	104.3 ± 4.9
2	50%		24.1 ± 1.2	113.8 ± 3.5
3	40%		23.2 ± 5.7	123.8 ± 9.6
1	60%	制限	24.9 ± 0.4	116.7 ± 8.1
2	50%		25.2 ± 0.5	124.9 ± 6.7
3	40%		23.8 ± 2.2	122.4 ± 4.9

注1) 平均値±標準偏差

※1: 1-1式による。

※2: 2-1式による。

血液性状

試験開始時及び終了時の血液性状を表6に示す。

試験終了時におけるGOT及びGPTは、給餌量の違いが有意な差となる要因 (P<0.05) として検出され、制限給餌区では飽食給餌区より低い傾向が見られた。ALPは、魚粉割合の違いが有意な差となる要因 (P<0.01) として検出され、魚粉割合の低下に伴い上昇する傾向が見られた。

表6 血液性状分析結果

項目\時期	開始時(N=5)	終了時(各飼料N=10)											
		飼料1(飽食)		飼料2(飽食)		飼料3(飽食)		飼料1(制限)		飼料2(制限)		飼料3(制限)	
GOT(U/L)	101.8 ± 105.7	100.0 ± 96.0	90.6 ± 106.1	99.7 ± 122.2	74.6 ± 81.5	51.8 ± 48.8	63.3 ± 64.7						
GPT(U/L)	14.2 ± 11.5	17.3 ± 8.2	14.2 ± 5.5	14.3 ± 6.6	14.7 ± 6.0	10.4 ± 3.4	10.9 ± 3.5						
ALP(U/L)	176.4 ± 159.1	97.0 ± 23.5	123.4 ± 30.1	125.8 ± 58.4	75.4 ± 25.9	97.0 ± 24.5	141.6 ± 55.2						
GLU(mg/dl)	189.6 ± 38.2	163.1 ± 13.9	157.1 ± 25.9	162.6 ± 16.0	160.0 ± 33.1	159.3 ± 27.8	147.4 ± 17.8						
TCHO(mg/dl)	254.0 ± 69.6	343.3 ± 27.3	373.3 ± 33.6	348.4 ± 34.9	348.5 ± 71.4	362.4 ± 55.5	375.1 ± 49.5						
TG(mg/dl)	71.0 ± 26.3	94.7 ± 58.3	205.3 ± 143.3	76.4 ± 22.7	80.9 ± 37.6	113.8 ± 65.2	98.1 ± 35.4						
TBIL(mg/dl)	1.0 ± 0.8	0.7 ± 0.3	0.7 ± 0.2	0.6 ± 0.3	0.6 ± 0.3	0.6 ± 0.2	0.5 ± 0.2						
Ca(mg/dl)*1	15.4 ± 1.0	16.0 ± 0.0	16.0 ± 0.0	15.9 ± 0.4	16.0 ± 0.0	16.0 ± 0.0	15.7 ± 0.4						
IP(mg/dl)	7.1 ± 1.1	6.4 ± 1.0	6.2 ± 0.6	6.2 ± 1.5	6.3 ± 1.0	6.1 ± 0.9	6.7 ± 0.7						
TP(g/dl)	4.5 ± 0.8	4.5 ± 0.7	4.6 ± 1.0	4.6 ± 0.9	4.3 ± 0.6	4.3 ± 0.6	5.2 ± 0.8						

注) 平均値±標準偏差

まとめ

給餌率（飽食，制限給餌）と魚粉添加率（魚粉60%，50%，40%）の違いは，増重率，肥満度及び給餌量においては，有意な差を与える要因となり，給餌率の減少，もしくは魚粉添加率の減少に伴い，これらの値が低下する傾向が見られた。飽食区において魚粉40%の飼料3は，飼料1及び飼料2と比較して，増重率，肥満度，給餌量が劣ったのに対して，魚粉60%の飼料1と比較して魚粉50%の飼料2の増重率，肥満度，給餌量については，有意な差は見られなかったことから，魚粉割合は飼料2の50%までは削減できることが示唆された。また，増肉係数は給餌率の違いではなく，魚粉割合の違いが有意な差を与える要因となり，魚粉割合が低くなるに伴い上昇する傾向が見られたことから，今回の試験飼料の場合の給餌方法としては飽食給餌区の80%程度にしても大きく影響しないものと思われた。また，環境負荷への点をリン・窒素負荷量でみると，魚粉割合を低くし代替源を添加した場合，リン負荷量は削減するが，窒素負荷量は増加する傾向が見られた。負荷量と給餌率との関係では，総じて制限給餌を行った場合に比較して飽食給餌した方が負荷量は少なかった。

以上から，今回のブリ当歳魚の試験からは，魚粉を大豆タンパク，焼酎粕，フィッシュソリュブルで代替した場合，飼料中の魚粉割合は50%程度までは低減できる，また，増重率などの指標からみた成長状況や環境負荷の点からは，制限給餌はせずに飽食給餌することが必要であると示唆された。

なお，本事業の結果は，別途，「平成20年度持続的養殖生産・供給推進委託事業報告書」として，水産庁へ提出した。

安心・安全な養殖魚生産技術開発事業－Ⅲ (魚介類の出荷前蓄養と環境馴致による高品質化システム技術開発)

折田和三・保 聖子

【目 的】

生鮮魚介類の品質は、体成分、色調、呈味性、匂い、テクスチャーなどの物理的・化学的要素に加え、漁獲前の魚介類の生理状態、漁法、温度管理条件など鮮度や漁獲前後の取扱いなどによって大きく変化することが知られている。近年の水産物品質制御に関する基礎研究では、漁獲時あるいは養殖物の収穫時の致死条件コントロールによる高鮮度維持技術や水揚げ前の蓄養時の特殊環境馴致による体成分変動を利用した高品質化に関する研究の進展がめざましい。また、生産現場では漁獲物を安全に効率良く蓄養施設まで運搬する技術、最適な蓄養条件、蓄養時の歩留まりや最適な〆条件が求められており、新しい漁業（活魚運搬方法を含む）いわゆる加工・出荷後流通温度、適温保持流通システムに蓄養システムを加えた新しい流通システムを構築し、水産物の高品質化による高付加価値化を実現することを研究目的とする。

【方 法】

1 供試魚

第1回目：平成20年10月23日に立目崎沖においてまき網で漁獲されたゴマサバを同日朝に当センター内3m角イケスに収容した。平均尾叉長30.8cm，平均重量342gであった。その後、無給餌で3週間蓄養し、搬入当日、蓄養後1日，3日，7日，14日，21日に取り上げ、首折れ脱血処理後（海水氷2.2～4.0℃の海水氷中に30分浸漬）各種分析を行い、品質・旨味を評価指標とする水温下降期における最適蓄養条件の検討を行った。

第2回目：平成21年1月30日に阿久根市脇本で蓄養していたゴマサバを活魚車で当センターへ搬入し、3m角イケスに収容した。平均尾叉長30.6cm，平均重量358gで第1回目とほぼ同じ大きさであった。その後、無給餌で約2週間蓄養し、搬入当日、蓄養後7日，13日後に取り上げ、同様に分析を行い、水温低温期における最適蓄養条件を検討した。なお、脇本で既に7日間無給餌蓄養されていたので、飢餓状態になってからの経過日数は、7日，14日，20日にあたる。

2 測定項目

測定項目は下記のとおり。

※ ●：1回目試験 ◎：2回目試験

区分	分析項目	方法	0hr	4hr	8hr	25hr
肉質	一般成分(タンパク質)	ケルダール	●◎			
	同上(脂肪)	ソックスレー	●◎			
	同上(炭水化物)		●◎			
	同上(灰分)	マッフル	●◎			
	同上(水分)	水分計	●◎			
		遊離アミノ酸	HPLC	●◎		
鮮度	A TP関連物質	HPLC	●◎	●	●	
	グリコーゲン	酵素法	●◎	●	●	
	乳酸	酵素法	●◎	●	●	
	pH	pHメータ	●◎	●	●	
	硬直指数		◎			◎
肉質物性	そしゃく圧縮強度	レオメータ	●◎			●
	筋周膜構造	SEM	●◎			●
	官能試験	テスター	●◎			●
健康状態	血液性状	自動血液分析計	●◎			
飼育環境	水温	テータロカー水温計	常時	測定器を浸漬計測		

(1) 水温

イクス内の水深1 m位置にデータロガー (Stow Away Tidbit temp logger) を垂下して測定した。

(2) 体長・体重

各項目測定に使用する供試魚について測定前に体長 (尾叉長) (L)・体重 (W) を計測した。肥満度については $(W/L^3 \cdot 1000)$ により算出した。また、第1回目試験については、併せて内臓重量も計測した。

(3) 一般成分

供試魚は、片側を卸し、薄皮及び腹骨を取り除いたものを1尾ずつ微細化し、分析に供した。

また、粗脂肪分析については、前述同様薄皮及び腹骨を取り除き皮下から1 cmの位置までを皮下側、残りを内臓側として部位別に分析に供した。なお、微細化したサンプルは-35°Cで凍結保管し分析の際に解凍して使用した。

ア 粗タンパク：タンパク質迅速定量装置による測定後、タンパク係数6.25を乗じて算出した。

イ 粗脂肪：ソックスレー抽出法による。

ウ 炭水化物：差引き法による。

エ 粗灰分：550°C~600°Cで灰化法による。

オ 水分：常温加熱乾燥法 (105°C) による。

(4) 遊離アミノ酸

一般成分同様に処理した魚肉に20%トリクロロ酢酸を加えホモジネートした後5000 r p mで10 min遠心分離して上澄液を得た。これを適宜希釈し、0.45 μmのメンブランフィルターでろ過したものを高速液体クロマトグラフィーに付し測定した。分析条件については、以下のとおりとした。

測定カラム：S h i m-pak Amino-Na (島津製作所)

検出波長：Ex 350nm Em 450nm

反応方法：O P A (オクタフルアルデヒド) 発色法

(5) 血液性状

イクスから5尾取り上げ、FA100で深麻酔後、尾柄部静脈からシリンジで採血した。なお、シリンジには予めヘパリンを0.2 ml程度吸引しておいた。採取した血液は30分以内にミキサーにかけた後ヘマトクリット管で吸い上げ、遠心分離後、ヘマトクリット値を測定した。残った血液は遠心分離にかけ、上澄みをドライケム用プレインチューブ (0.5 ml) に移し、-80°Cで保管した。全試験期間終了後、常温で解凍し、富士ドライケムで総タンパク質 (TP-P)、血中ブドウ糖 (GLU-P)、総コレステロール (TCHO-P II)、中性脂肪 (TG-P) の4項目を測定した。

(6) p H

首折れ脱血処理後直ちに背肉の一部を5 g切り出し、氷冷下で0.02 Mヨード酢酸ナトリウム溶液を加えホモジネート後、pH測定計 (Thermo Orion) により測定した。

(7) グリコーゲン

p H同様サンプルを切り出した後、氷冷下で5%トリクロロ酢酸を加えホモジネートした後、

5000 r p mで10min遠心分離して上澄液を得た。これを50mlに定量し、F-キットスターチ (Roche Diagnostics社 ドイツ製)により測定した。

(8) A T P 関連物質

首折れ脱血処理後直ちに背肉の一部を5 g 切り出し、氷冷下で10%過塩素酸を加えホノジネートした後、5000 r p mで10min遠心分離し上澄液得た。これを中和し0.45 μ mのメンブランフィルターでろ過したものを高速液体クロマトグラフィーに付し測定した。分析条件については、以下のとおりとした。

測定カラム：S h o d e x AsahipakGS-320 7E (昭和電工)

移動相：0.2mMリン酸緩衝液(pH2.9)

検出波長：260nm

(9) 乳酸

グリコーゲン同様に抽出して得た上澄液をpH10~11に調整後100mlに定量し、F-キット乳酸 (Roche Diagnostics社 ドイツ製)により測定した。

(10) 硬直指数

第2回目試験のみ実施した。

首折れ脱血処理後、5℃冷蔵庫内で速やかに測定を開始した。測定は、尾藤ら¹⁾の硬直指数測定法に基づき、別途開発した硬直指数測定装置を用いてデジタルビデオカメラに記録後、画像から30分ごとに尾部の垂下の度合いを測定した。

(11) そしゃく圧縮強度

首折れ脱血処理後、供試魚の片側をおろし、その胸びれ後方を体側と鉛直方向に1 c m厚に3枚切りだしサンプルとした。測定にはサン科学社製レオメータC R - 500 D Xを用い、測定条件は以下のとおりとした。

MODE：2 1 使用プランジャー： ϕ 15mm円盤

繰り返し：2回 侵入深さ：6mm

侵入速度：1mm/sec クリアランス：1mm

プランジャーは、背肉部中央付近に当てた。残る半身は、2℃で25時間保存し、同様に測定した。

なお、2回目の試験では、首折れ脱血処理後のみを測定した。

*なお、上記(3)、(4) (6)~(11)の項目の値は1回目の試験では個体別に3尾分析したものの平均で表し、項目(5)のみ5尾の平均で表した。2回目試験の一般成分については、10尾微細後混和したものを分析サンプルとした。

(12) 筋周膜観察

そしゃく圧縮強度試験に供した魚体の残りのうち、前方の肉片の背肉部から ϕ 5mmの円柱コアを突き刺して、0.1Mリン酸緩衝2%グルタルアルデヒド固定液に浸漬した。また、同一の魚体を2℃で25時間保管した後、同様に肉片を取り出して固定した。数日間の固定後、筋繊維を横断する方向に2mm程度の厚さにカミソリで切り出し、2N水酸化ナトリウム溶液に浸漬し、20℃前後で1

週間放置してタンパク除去を行った。肉片がほぼ透明になったのを確認した後、蒸留水に2時間浸し、続いて通常のアルコール脱水系列で脱水、ブチルアルコール置換、凍結乾燥、コーティングを経て、SEM（日立S-3000）高真空下で観察した。

しかしながら、コア抜きによるサンプル切り出しは、鋭利性に乏しく筋周膜繊維が切れるものと思われ、上記の方法では筋周膜構造が残らず観察できなかった。そこで、第1回目21日後及び第2回目の魚体からの切り出しは、包丁で1cm×1cm×2cm程度の筋繊維方向に長く切りだし、固定後は同様に処理を行った。

【結果及び考察】

1. 蓄養環境について

(1) 蓄養期間中の水温の変化

試験期間中のイケス内の水温を下図に示す。1回目試験については、試験開始時に25℃前後であったが、徐々に低下していき試験終了時には20℃となり、水温下降期であったといえる。2回目試験については、ほぼ15℃前後で推移し、水温はほぼ一定で水温低温期であった。

図1 蓄養時の飼育水温の変化（1回目）

図2 蓄養時の飼育水温の変化（2回目）

1. 肉質成分からの評価

(1) 体長・体重・肥満度

第1回目の試験に用いたゴマサバは、体長（尾叉長）30.8cm、体重342g (n=63)であった。第2回目試験では、それぞれ30.6cm、358g (n=48)であった。これらのデータからそれぞれ算出した肥満度を図3に示す。第1回目試験の肥満度は、漁獲当初11.46であったが、4日後には、12.16となった。その後7日後には11.49に戻り、14日後で10.87、21日後で10.93となり漁獲当日と比較してもわずかに低くなる程度であった。

図3 肥満度の変化

2回目の試験については、漁獲直後のデータがなく完全に比較することはできないが、1回目とほぼ同様の傾向であった。このことから、水温下降期から水温低温期においては、21日程度蓄養しても極端な「やせ」は認められず、肥満度に関しては無給餌による影響はほとんど無いものと推察された。次に、蓄養期間の魚体重量に対する内臓重量の割合の推移を図4に示す。内臓重量の割合は、蓄養日数の経過とともに、徐々に減少する傾向が確認された。なお、蓄養2日以降から胃内容物は確認されておらず、減少が胃内容物の消化による影響とは考えにくい。このことから、無給餌状態における生命維持のために、内臓成分が何らかの寄与をしているものと示唆された。

図4 内臓重量比の推移

(2) 一般成分

第1回目の試験では、蓄養開始直後に約25%程度あった粗タンパク質が蓄養日数の経過とともに減少していき、およそ2週間で22.5%程度になった。一方、この間の粗脂肪量の推移については、蓄養開始直後から翌日にかけて粗脂肪量が増加し、その後9日目までは大きな変化は見られず、蓄養14日目以降になるとやや減少する傾向が確認された。また、水分量に関しては粗脂肪と負の相関にあり、灰分については、特段の変化は見られなかった。2回目の試験では蓄養開始日のデータが得られていないが、1回目同様粗タンパク質が減少する傾向が確認された。(図7)

また、筋肉中の粗脂肪について、皮下側及び内臓側の粗脂肪量の推移を図5、筋肉中の粗脂肪に対する皮下側脂肪の割合を図6に示す。これより、蓄養期間中は、内臓側の脂肪の変動より、皮下側の脂肪の変動が大きいことが確認された。また、皮下側及び内臓側ともに、蓄養期間が14日を経過する頃から、脂肪量は一定のレベルを保つことが確認された。

さらに、図6から全脂肪量に占める皮下脂肪の割合が蓄養9日目以降急激に下がっていく傾向が確認され、このことが「蓄養により皮下脂肪が全体に行き渡る」と言う生産現場の声を裏付ける結果と成り得るのか、さらに検証を重ねる必要がある。

図5 皮下側及び内臓側の筋肉内粗脂肪量の推移 図6 筋肉中の粗脂肪に対する皮下側脂肪の割合

図7 一般成分の推移

(3) 遊離アミノ酸

サバ精肉部における遊離アミノ酸の推移を図8に示す。増減しながら、期間中を通してわずかに増加していく傾向が見られた。「蓄養すると旨味が増す」という生産現場の声を一部裏付ける結果となったが、今回確認されたアミノ酸の増加レベルが旨味増加に寄与するか確認には至っていない。複数回試験を繰り返して、遊離アミノ酸増加と蓄養日数の関係について再現性のあるデータの積み上げが必要である。

図8 魚体筋肉中の遊離アミノ酸の推移

2. 健康状態からの評価

(1) 血液性状

ヘマトクリット値の推移を図9に示す。

蓄養全期間を通じて50%前後で推移し、特徴的な動態は見られなかった。したがって、蓄養により少なくとも21日間は、貧血の状態にはならないことが確認された。

各分析項目別の推移を図10に示す。

第1回試験では血中グルコースは、蓄養期間が長くなるにつれ、減少していった。また

血中トリグリセライドは、7日まで増加した後横ばい、14から21日にかけて再度増加した。総コレステロールは、蓄養期間が長くなるにつれ、微減していった。総タンパク質は、蓄養開始直後に増加した後、横ばいで推移した。また、第2回試験では、分析結果のばらつきが大きく、検出限界値を下回る異常値もあり、魚体がびらんした正常個体でなかったこともあり、血液性状としても信頼性に欠けるものと思われた。

図9 血中ヘマトクリット値の推移

(2) 蓄養期間中の歩留まり

第1回目の試験においては、活魚運搬船からトンネル網を伝いイクスへ池入れしたことから、へい死は少なく、開始から21日間の累計で27尾であり、歩留まりは95%であった。また、蓄養期間の経過とともに、体表粘液が明らかに増加していき、漁獲時に擦れた体表を自己修復する様子が窺えた。一方、第2回目の試験については、活魚車による搬入を行い、タモ網を使ってイクスに池入れしたことが影響したと思われ、翌日には、へい死する個体が散見され、生存している個体についても表皮のズレが発生し、状態は芳しくなかった。終了時の歩留まりは68%であった。

(蓄養により体表粘液が増加する様子)

図10 血液成分の推移

3. 鮮度による評価

(1) pH

首折れ直後のpHについては、蓄養期間中に大きく増減することはなくpH7.0前後であった。

また、首折れ後の冷蔵保管中（2℃）の変化については、4時間経過後わずかに低下し、8時間経過後もやや低下する程度であった。

冷蔵保管中の変化についても、蓄養日数との関係は認められずどの期間においても6.3～6.8のレベルで鮮度としては良好な状態が維持されていた。（図11）

図11 pHの推移

(2) グリコーゲン

死後硬直に關与するATP（アデノシン3リン酸）の再合成と深い關連のあるグリコーゲンの挙動

が蓄養中にどのように推移するのか確認する目的でグリコーゲンを測定した。魚類筋肉中のグリコーゲンの推移を図12に示す。蓄養日数によって、測定値の個体バラツキが大きく、蓄養開始から終了までのグリコーゲンの挙動を言及するに至らなかった。一方、三坂ら²⁾によると飢餓中のサクラマス当歳魚では肝臓グリコーゲンが減少するとの報告があり、また、魚類筋肉中のグリコーゲン量は肝臓と比べ非常に低いレベルであることから肝臓グリコーゲンを測定すれば、何らかの傾向が示せた可能性がある。このようなことから、グリコーゲンについては、測定部位を見直す必要があると思われた。

図12 グリコーゲンの推移

(3) ATP

1回目の試験結果を図14に示す。

致死時のATP量は死後硬直の発現に寄与するといわれるエネルギー物質である。また、一時蓄養は漁獲時に消耗したエネルギーを回復させる効果があるといわれている。これらのことから、蓄養期間ごとの普通筋中のATP量を測定した。今回の試験においては、首折れ直後のATP量が蓄養日数の経過とともに増加する傾向は確認できなかった。安崎ら³⁾によると、底引き漁獲ヒラメを4時間以上安静にするとATP量が増加し、死後硬直が遅延できるとの報告がある。一方、今回実施した試験においては、蓄養0日（漁獲当日）の首折れ直後のATP量が比較的高い値を維持しており、このことから、漁獲から当センターへ搬入されるまでに4時間程度活魚運搬船の水槽中に低密度で収容されていたことで安静が付与されエネルギー回復に繋がった可能性が考えられる。回遊魚であるサバの場合、エネルギー回復つまりATP量の回復に要する時間は、短時間である可能性が示唆された。また、蓄養1日後以降の数値については、首折れ直後も脱血水中で遊泳する個体や暴れ出す個体があり、完全に即殺に至らなかったことが、「安静」という蓄養の効果以上に悪影響を及ぼしたものと推察された。なお、第2回目の試験については、サンプル欠損等により、適正なデータが得られず考察に至らなかった。

図13 ATP量の推移

(4) 乳酸

第1回目の乳酸の分析結果を図14に示す。開始日から蓄養日数の経過と共に増加する傾向が確認された。しかしながら、ATP同様、サンプリング時に即殺に至らなかったためか開始日を除いて個体差によるバラツキが大きく、蓄養による影響を確認するに至らなかった。

図14 乳酸の推移

(5) 硬直指数

自動硬直指数測定装置で撮影した画像の一例を示す。

即殺 1 時間後

4 時間後

14 時間後

最高硬直までの時間は、7日後で約12時間、14日で約15時間、21日で約17時間かかり、蓄養日数とともに遅延が見られた。最高硬直までのパターンは、7、14日はおおむね80%までは一気に進み、その後緩やかになるのに対し、21日では50%まで一気に進んだあと、4時間程度変化無く、その後再度硬直していた。

図15 死後硬直指数

4. 肉質物性による評価

(7) そしゃく圧縮強度

2回そしゃくの圧縮強度プロファイルを図16に示す。山のパターンは稜線が凹んだ鋭いピークを持つ2峰型で2番目の山は1番目よりもやや小さくなっていた。この形状から、テクスチャーは弾力に富み、そしゃくにより筋肉の一部が破断されていくことがわかった。ゼラチンやこんにやくのような強い弾力に富む素材は1回目（p1）と2回目（p2）の山のピークは同じになるため、復元率 = p2強度 / p1強度 とし、歯ごたえの保持の程度を比較した。その結果、蓄養初日から21日後まで一様に0.8程度であり、蓄養期間による差は見られなかった。これは、25時間後の試料についても同様の傾向が見られた。

図16 サバ刺身のテクスチャープロファイル

図17 サバ刺身の弾力性の推移

圧縮強度の推移を図18に示す。蓄養初日に比べ、第1回試験1回目圧縮Fp1及び2回目圧縮Fp2は、1日後から14日後まで高くなり、21日後で下がる傾向が見られた。第2回試験1回目圧縮Sp1及び2回目圧縮Sp2でも漁獲当日のデータがないが、14日後よりも20日後で低下した。なお、25時間後の圧縮強度ではほぼ横ばいで特徴は見られなかった。このことから、蓄養により首折れ直後の歯ごたえは強くなることが示唆された。また、その保持力については、25時間後までは及ばないものと推測された。

図18 圧縮強度の推移（首折れ直後）

図19 圧縮強度（冷蔵25hr後）

(8) 筋周膜観察

コア抜き方によるサンプル採取は、筋繊維が切断され、タンパク質除去工程で筋周膜の形状が残らなかったものと思われ、観察できなかった。最終21日後のサンプルは、包丁により切り出したところ、筋周膜が観察された。

即殺直後の筋周膜は、コラーゲン繊維が切れることなく良好な形状を保っていた。コラーゲン繊維の密度は、自身の魚に比べれば荒く空隙が多く見られた。2℃保存25時間後も筋周膜の形状は保たれ、破断や崩壊は確認されなかった。

第2回試験では首折れ脱血処理後の池入れ当日（蓄養7日後）、蓄養14日後、蓄養20日後の筋周膜を比較して観察した。いずれの筋周膜の状態に大きな変化は見られなかった。

図20 首折れ脱血直後(×500)

図21 2°C25時間保管後(×500)

図22 首折れ脱血直後(×1,800)

図23 2°C25時間保管後(×1,500)

図24 蓄養7日後

蓄養14日後

蓄養20日後

【まとめ及び今後の課題】

秋季～冬季にかけての水温下降期及び水溫低温期におけるゴマサバの蓄養においては、漁獲からの池入れ時に魚体のスレが起こらないように丁寧な扱いを行うことで、蓄養期間中のへい死率を5%程度に抑えることが可能であった。

21日間の蓄養では開始時と比べ肥満度の減少は少なくほとんど影響を及ぼさないことが確認され

た。また、開始から9日目までは粗脂肪含量もほとんど減少しないことが確認された。肉質物性の側面からは、肉の弾力性を表す項目の一つである圧縮強度において、蓄養開始から2週間までは経過日数とともに数値が上昇し、歯ごたえが強くなることが確認された。

今回、天然海域でのサバを供試魚とし個体別分析とするため、個体差によるバラツキが大きく、最適蓄養条件を見いだすに至らない項目が生じた。これを解決するために、来期の試験実施においては、さらに分析個体を増やし、再現性のあるデータ採取していくことで、最適蓄養条件を見つける必要がある。

また、蓄養当日の鮮度指標が良好であった要因として、漁獲時から当センター搬入までの安静が考えられた。このことを踏まえ、漁獲直後からの時間経過に伴うストレス緩和の推移を目的とする項目については、実験的に漁獲ストレスを再度与えてから回復状態を確認する等、必要とする項目に応じた対応が必要である。

謝 辞

本研究を進めるにあたり、ご支援賜りました鹿児島県旋網漁業協同組合並びに（有）海盛水産に深く感謝申し上げます。

文 献

- 1) 尾藤方通・山田金次郎・三雲泰子・天野慶之：魚の死後硬直に関する研究－1．東海水研報(1983)
- 2) 三坂尚之・水野伸也・宮腰靖之・竹内勝巳・鷹見達也・笠原昇：飢餓中のサクラマス当歳魚の肝臓におけるトリグリセリドおよびグリコーゲン含量の変動．日水誌(2004)
- 3) 安崎友季子・滝口明秀・小林正三 底曳網漁獲ヒラメの鮮度保持と蓄養による高品質保持. 水産学シリーズ, 恒星社厚生閣(2004)

安心・安全な養殖魚生産技術開発試験－Ⅳ (養殖ブリの抗酸症に関する研究)

平江多績・村瀬拓也

【背景・目的】

近年、西日本の養殖場においてブリ *Seriola quinqueradiata* の抗酸菌症（ミコバクテリア症）による被害が増加傾向にある。ブリの抗酸菌症は 1986 年に高知県宿毛湾で報告された疾病で、本症の外観症状は腹部が著しく膨満し、体色の黄色化が認められる。¹⁾ また、解剖学的には腎・脾臓の肥大や多数の粟粒結節を形成し、各臓器は広範囲に癒着している。¹⁾ 原因細菌は *Mycobacterium marinum* の近縁種と考えられたが、これとは異なる新種の *Mycobacterium* sp. とされた。¹⁾ 本症の治療方法については、本菌に対する薬剤感受性が調べられており、数種類の薬剤で効果が認められている。²⁾ また、人為感染魚への投薬効果についても検討され、数種の薬剤について治療効果が確認されている。³⁾

その後、2004 年に南日本で本症例に類似したブリから分離された細菌は、各種性状試験や 16SrRNA の塩基配列から *M. marinum* に同定され、国内初の養殖ブリの *Mycobacterium marinum* 感染症として記載された。⁴⁾ また、ブリより分離された *M. marinum* に対する薬剤の *in vitro* と *in vivo* における効果が調べられ、*in vitro* でストレプトマイシン (SM) が *M. marinum* の発育を最も抑制し、*in vivo* においても SM を経口投与したブリの死亡率が他の試験区より有意に低い結果を得た。⁵⁾ しかし、SM は水産用医薬品として承認されていないことから養殖現場で本症が発生した場合は対策がないのが現状である。また、2004 年以降は本症の広域的な調査は行われておらず、他魚種での発生動向についても正式な報告はない。これらをふまえて、本症の実態をより詳細に把握するために、2008 年度の本研究においては、養殖ブリの抗酸菌症の発生状況調査、他魚種を含めた菌株の収集と同定及びそれらの薬剤感受性試験を行い、さらに養殖場における定期サンプリングにより養殖ブリと養殖カンパチ *S. dumerili* の *M. marinum* 抗体と菌体検出を行い、感染時期の推定を行った。

【方 法】

1. 実態調査

1) 被害調査

農林水産省消費・安全局が行っている魚病被害・水産用医薬品使用状況調査の鹿児島県における養殖ブリ類の病名・年度別推定被害金額の 2000～2005 年を集計した。

2) 診断件数

1993～2008 年度に鹿児島県水産技術開発センターが県内の養殖業者から診断の依頼を受けていたものについて抗酸菌症と診断した件数を集計した。

3) 現地調査及び診断方法

2008 年度に県内 4 カ所をモニタリング地点として 6 月～11 月までの発生動向を現地調査した。その他の養殖場は聞き取り調査を行い、発生動向を把握した。今年度に本症が発生した場所 A、B 2 地点については現地にてサンプリングを行い、鹿児島県水産技術開発センターに死魚または瀕死魚を持ち帰り検査を行った。また、発生業者に対しては個別に過去の発生

状況を含めて聞き取りを行った。

診断方法は、腹部の膨満や体色の黄色化、腹水の貯留、肝臓の発赤、腎臓、脾臓の結節を確認し、結節部や周辺組織をスライドグラスにスタンプし、火炎固定後、迅速抗酸性染色試薬カルボールフクシン液染色 A で 5 分間染色後水道水で洗浄し、さらにメチレンブルー B 液を滴下して 2 分間静置し、水道水でバックグラウンドを洗浄したものを風乾後、生物顕微鏡 1,000 倍下で観察した。顕微鏡で強抗酸性の短桿菌が確認され、その後、腎臓組織を 1 % 小川培地に接種後 25 °C で 2 週間以上培養したものに黄白色のコロニーの発育が確認され、極東製薬の抗酸菌同定キットで *M. marinum* と同定されたものを抗酸菌症と診断した。

2. 菌株収集と同定

1) 菌株収集

本県の菌株は今年サンプリングしたものと過去の魚病検査で分離し保存していたものを用いた。他県の菌株については公共研究機関に文書依頼して入手した。

2) 原因細菌の同定方法

極東製薬製の抗酸菌同定キットを用いて性状を検査した。基本的にキット同封のプロトコールに従ったが、1 % 小川培地による 37 °C・7 日間では発育を確認できなかったため性状試験は培養温度を 25 °C に変更した。性状測定項目は、37 °C・7 日間発育速度試験、コロニーの形状試験、コロニーの光発色試験（暗所、光照射後）、PAS 分解試験、ピクリン酸培地上の発育試験、アリスルファーゼ試験、Tween80 水分解試験、ウレアーゼ試験、硝酸塩還元試験の 10 項目について調べ、キット付属の臨床材料から分離される主な抗酸菌の一般性状表と比較して種を同定した。

3. 分離菌株の薬剤感受性試験

1) 供試菌株

1999～2008 年に国内の養殖場のブリ、カンパチ、シマアジの腎臓から分離され *M. marinum* に同定された 14 菌株と、鹿児島県水産技術開発センター内で攻撃試験を行ったマダイ筋肉から再分離された 1 菌株の計 15 菌株を用いた。

2) 供試薬剤

水産用医薬品として用いられている、アンピシリン (ABPC)、スルフィソゾールナトリウム (SIZ)、オキシリン酸 (OA)、フロルフエニコール (FF)、塩酸オキシテトラサイクリン (OTC)、エリスロマイシン (EM)、スルファモノメトキシシン (SMMX)、塩酸リンコマイシン (LCM)、及び水産用医薬品外のストレプトマイシン (SM) の合計 9 薬剤を供試薬剤とした。

3) 薬剤感受性試験

薬剤感受性は動物由来細菌に関する抗菌性物質の最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法 (動物用抗菌剤研究会 2003 年改定標準法) に基づき、微量液体希釈法にて測定した。感受性測定用培地には Middlebrook OADC Enrichment を添加した 7H9 (DIFCO) を用いた。各薬剤は 1280 μ g/mL の薬剤原液を 128, 64, 32, 16, 8, 4, 2, 1, 0.5, 0.25, 0.12, 0.06 μ g/mL となるよう 7H9 で希釈し、薬剤含有感受性測定用液体培地を作製した。この感受性測定用培地を 96 穴マイクロプレートの 1 ウェルあたり 0.1±0.02mL 分注した。Mycobacteria 7H11 Agar (DIFCO) で継代

培養した菌を McFarland 標準液の No.0.5 の濁度に調整した ($1 \sim 2 \times 10^8$ CFU/mL)。さらに、7H9 で 10 倍に希釈し、接種用菌液とした ($1 \sim 2 \times 10^7$ CFU/mL)。マイクロプレートに分注した感受性測定用培地に接種用菌液を 0.005mL 添加し、25℃で 14 日間培養した。接種菌の薬剤含有培地での発育を対照培地での発育と比べ、肉眼的に見て発育が完全に阻止された最小濃度を MIC とした。

4. 感染時期の検討

1) 供試魚

2008 年 6 月から 11 月にかけての半年間、鹿児島県長島町で養殖されているブリの 0 才魚と 1 才魚を毎月 5 尾ずつ、また、鹿児島市竜ヶ水のブリ 0 才魚とカンパチ 0 才魚を毎月 10 尾ずつサンプリングした。

2) ブリ、カンパチ血清中の抗 *M. marinum* 抗体の検出

ブリ、カンパチ血清中の抗 *M. marinum* 抗体の検出のために酵素抗体法 (ELISA) を用いた。

供試血清は 2008 年 6～11 月の間、定期サンプリングしたブリ、カンパチの尾柄部より 23G の注射針を付けた 2.5mL 注射筒を用いて約 2.0mL 採血し、室温で 1 時間、4℃で一晩静置した後、遠心分離 (10000rpm, 20 分) して血清を得た。血清は使用するまで -80℃で保存した。

陰性血清に、本症および本症原因細菌に感染歴がない大分県のブリ、宮崎県のカンパチの血清を供試した。ELISA の反応は定法に従い波長 405nm における吸光度を測定した。

ELISA による調査期間中のブリ、カンパチ血清の吸光度の測定値は、全て陰性対照ブリ、カンパチ血清との吸光度の差でそれぞれの吸光度を表し、吸光度 0 以上を陽性とした。また、測定値は平均値 $\pm$ S.D. で表した。

3) 抗 *M. marinum* ウサギ血清の作成

抗 *M. marinum* ウサギ血清は鹿児島大学水産学部が作成したものを使用した。詳細は社団法人日本水産資源保護協会監修の報告書に記載した。

4) ブリ、カンパチ体内における *M. marinum* 菌体の存在

菌体の確認には間接蛍光抗体法 (IFAT) を用い、次のとおり行った。2008 年 6 月から各供試魚の鰓および腎臓の一部をリングマーク付き蛍光顕微鏡用スライドガラスのリングマーク (直径 9mm) 内に塗抹し、風乾後、アセトンで 20 分固定した。さらに、風乾後、PBS で 100 倍に希釈した抗 *M. marinum* ウサギ血清を塗抹部分に重ね、30℃で 30 分反応させた。その後 PBS で 3 回洗浄し、PBS で 5000 倍に希釈した抗ウサギ IgG-FITC ヤギ血清 (和光純薬工業) を塗抹部分に重ね、30℃で 30 分反応させた。PBS で 3 回洗浄し、落射蛍光顕微鏡 (ECLIPSE E600, Nikon) を用いて観察した。リングマーク内のすべての視野を検鏡し、10 菌体以上観察されたものを +、1～9 菌体観察されたものを $\pm$ 、確認されなかったものを - とした。IFAT による原因菌の観察結果は月ごとの +、 $\pm$ 、- の割合を百分率によって表した。

【結 果】

1. 実態調査

1) 被害調査

図 1 に鹿児島県の養殖ブリ類の病名・年度別推定被害金額を示した。

2000年の全魚病被害額は20億円強で、大半はレンサ球菌症であったが、その後レンサ球菌症の被害は2002年までに激減した。しかし、2003年からはノカルジア症や細菌性溶血性黄疸症、2004年からは当該疾病である抗酸菌症の被害が目立った。なお、2004～2005年の抗酸菌症の推定被害金額は3億円程度で全体の15%～20%を占めた。

図1 鹿児島県の養殖ブリ類の病名・年度別推定被害金額

2) 診断件数

図2と図3に鹿児島県水産技術開発センターにおける抗酸菌症の診断件数を示した。

ブリ類では1993年当時はカンパチの診断件数が多かったが、2004年以降はカンパチと比べてブリの診断割合が高くなった。また、図3のブリの月別魚齢別の診断件数では9、10月に多く、0才魚よりも1才魚以上に多いことがわかった。

図2 ブリ類の抗酸菌症の年度別診断件数

図3 ブリの抗酸菌症月別魚齢別検査件数

3) 現地調査

2008年度に本県養殖場のA,Bの2地点で発生を確認した。A地点では2008年9月上旬～11月上旬(水温27～20℃)に3kg前後のブリ1才魚において本疾病が発生し、累積死亡率は5%であった。B地点では2008年8月下旬～12月下旬(水温28～18℃)に3kg前後のブリ1才魚と4.5kg前後の2才魚において本疾病が発生し、累積死亡率は14%であった。発生2地点は水深が30m前後と浅く、北または西に開口部をもつ閉鎖性の強い静穏な内湾であった。発生当初に確認したブリ病魚はA地点がBW3kg、FL60cmの1才魚、B地点がBW4.5kg、FL65cmの2才魚で、どちらも腹部の膨満や体表の黄色化がみられた。解剖すると血液混じりの大

量の腹水や肝臓の出血がみられ、腎臓と脾臓の結節及びその周辺からは強い抗酸性を示す短桿菌を確認でき、分離菌株は *M. marinum* に同定されたため抗酸菌症と診断した。なお、2008年度は他のモニタリング地点においては発生を確認することはできなかった。

4) 聞き取り調査

発生業者からの聞き取り調査では以下の知見が得られた。

抗酸菌症は 2004 年頃からブリで増えており、過去最大の累積死亡率は 20 % を超えた。ブリでは 0 才魚の発生は少なく 1 才魚で 3kg 以上の魚で多発する傾向がみられ、ノカルジア症の発生時期と前後して本症が発生した。一度発生した漁場ではその後定着したが、定着漁場でも他漁場から中間魚（1 才魚 2kg 前後）で導入したブリでは発病しなかった。定着漁場でも中間魚から飼育することで被害が軽減された地区があった。

2. 菌株収集と同定

1) 供試菌株

表 1 に示すとおり 1999 年から 2008 年に病魚の腎臓から分離された 26 菌株を収集した。表の No1 ~ No15 は図 4 に示した場所での分離細菌で、その他は南日本の他県から分離されたものである。

分離場所は鹿児島県内の離島を含む 7 カ及び他県 3 カ所の海面養殖場計 10 カ所で、ブリ 0 才, 1 才, 2 才, カンパチ 0 才, 1 才, シマアジ 1 才, ヒラマサ 1 才から分離された。なお KGM0701 と KGM0702 は 2004 年に本県ブリ 1 才魚から分離したものを人為感染試験でマダイに接種し、6 ヶ月後に患部の筋肉から再分離したもので、国内初の養殖ブリの *Mycobacterium marinum* 感染症⁴⁾の原因細菌として記載された NJB0419 株と同一由来の菌株である。

表 1 分離菌株の由来

No	菌株名	分離年	魚種	魚齢(才)	体重
1	KGM0401	2004	ブリ	0	479
2	KGM0406	2005	カンパチ	0	813
3	KGM0501	2005	ブリ	1	3,041
4	KGM0502	2005	ブリ	1	3,864
5	KGM0503	2005	シマアジ	0	331
6	KGM0504	2005	カンパチ	0	248
7	KGM0602	2006	カンパチ	1	1,152
8	KGM0603	2006	カンパチ	1	1,360
9	KGM0701	2007	ブリ	1	2,855
10	KGM0702	2007	ブリ	1	2,855
11	KGM0704	2007	ブリ	2	4,151
12	KGM0705	2007	ブリ	2	4,700
13	KGM0804	2008	ブリ	1	3,133
14	KGM0805	2008	ブリ	1	3,271
15	KGM0807	2008	ブリ	1	2,285
16	①-2	2006	カンパチ	0	不明
17	①-3	2006	カンパチ	0	不明
18	①-4	2006	カンパチ	0	不明
19	①-5	2006	カンパチ	0	不明
20	①-6	2006	カンパチ	0	不明
21	92391	1999	シマアジ	1	1,079
22	93062	1999	シマアジ	1	901
23	SMY01 071 97	2001	ブリ	0	944
24	13663	2001	ブリ	1	2,200
25	13763	2001	ブリ	1	3,000
26	Myco071952	2007	ヒラマサ	1	1,545

図 4 菌分離場所

2) 同定結果

表 2 に菌株の性状を示した。キット同封の *M. marinum* 性状表と比較した結果、供試菌株は

すべて、*M. marinum* に同定された。

表2 分離菌株の性状一覧表

	菌株名	発育 37°C/7日	集菌(S-R)	着色(暗所)	着色(光照射後)	FAS分解	ピクリン酸	アリスルファーゼ	Tween80分解	ウレアーゼ	硝酸還元
*	例: <i>M. marinum</i>	-	S	白	黄	-	-	-	+	+	-
1	KGM0401	-	S	白	黄	-	-	-	+	+	-
2	KGM0406	-	S	白	黄	-	-	-	+	+	-
3	KGM0501	-	S	白	黄	-	-	-	+	+	-
4	KGM0502	-	S	白	黄	-	-	-	+	+	-
5	KGM0503	-	S	白	黄	-	-	-	+	+	-
6	KGM0504	-	S	白	黄	-	-	-	+	+	-
7	KGM0602	-	S	白	黄	-	-	-	+	+	-
8	KGM0603	-	S	白	黄	-	-	-	+	+	-
9	KGM0701	-	S	白	黄	-	-	-	+	+	-
10	KGM0702	-	S	白	黄	-	-	-	+	+	-
11	KGM0704	-	S	白	黄	-	-	-	+	+	-
12	KGM0705	-	S	白	黄	-	-	-	+	+	-
13	KGM0804	-	S	白	黄	-	-	-	+	+	-
14	KGM0805	-	S	白	黄	-	-	-	+	+	-
15	KGM0807	-	S	白	黄	-	-	-	+	+	-
16	①-2	-	S	白~象牙	やや黄	-	-	-	+	+	-
17	①-3	-	S	白~象牙	やや黄	-	-	-	+	+	-
18	①-4	-	S	白~象牙	やや黄	-	-	-	+	+	-
19	①-5	-	S	白~象牙	やや黄	-	-	-	+	+	-
20	①-6	-	S	白~象牙	やや黄	-	-	-	+	+	-
21	92391	-	S	白	黄	-	-	-	+	+	-
22	93062	-	S	白	黄	-	-	-	+	+	-
23	SMY0107197	-	S	白	黄	-	-	-	+	+	-
24	13663	-	S	白	黄	-	-	-	+	+	-
25	13763	-	S	白	黄	-	-	-	+	+	-
26	Myc0071952	-	S	白	黄	-	-	-	+	+	-

3. 分離菌株の薬剤感受性試験

表2で *M. marinum* と同定された菌株のうち KGM0401, KGM0406, KGM0501, KGM0503, KGM0504, KGM0602, KGM0702, KGM0705, KGM0801, KGM0805, KGM0807, ①-2, 92391, SMY0107197, 13663 の15菌株について MIC を測定した。

表3に1999年~2008年に海面養殖魚から分離された *M. marinum* に対する各薬剤の MIC の分布を示した。MIC 値はほとんどが1~32 μ g/mL の範囲であったが、OA のようにすべてが128 μ g/mL 以上で全く感受性がないものや、SM のようにすべてが0.12 μ g/mL 以下の薬剤もみられた。

供試菌株の MIC 値は値の低い順に、SM が < 0.06 μ g/mL, LCM, ABPC, SMMX が 8 μ g/mL, FF が 16 μ g/mL, SIZ が 8 μ g/mL ~ 32 μ g/mL, OTC が 16 ~ 32 μ g/mL, EM が 16 ~ 64 μ g/mL, OA が > 128 μ g/mL であった。

表3 海面養殖魚から分離された *Mycobacterium marinum* の薬剤感受性 n=15

薬剤名	最小発育阻止濃度(μ g/ml)													
	<0.06	0.06	0.12	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	128<
ABPC		1				1	1	1	8	3				
SIZ						1	3	2	2	3	2		2	
OA														15
FF							3	3	2	6	1			
OTC						1	1		3	5	5			
LCM								4	10	1				
EM		1		1				2		4	3	4		
SM	10	4	1											
SMMX							1	2	7	1	1	2	1	

4. 感染時期の検討

1) ブリ，カンパチ血清中の 抗 *M. marinum* 抗体の検出

図 5～8 に ELISA に供試魚の *M. marinum* に対する抗体吸光度の推移を示した。

図 5 の長島町ブリ 0 才魚は 6 月以降全ての魚が陽性で、6 月以降の抗体価は 7 月をのぞき 11 月にかけて右肩上がりで推移した。図 6 の長島町ブリ 1 才魚は 6 月以降全ての魚が陽性で、抗体価は 6 月に一番高い値を示し、以後 10 月にかけて右肩下がりに推移し、図 5 の同地区 0 才魚と逆の推移を示した。なお、長島町ブリ 1 才魚サンプリング群では 9 月～11 月にかけて抗酸菌症の発生を確認した。

図 7 の竜ヶ水ブリ 0 才魚の 6 月には全ての魚が陽性で、抗体価は以後 8 月をのぞき 11 月にかけて右肩上がりで推移し、長島町 0 才魚と同様の推移を示したが、長島町に比べ若干低い値であった。図 8 の竜ヶ水カンパチ 0 才魚は 6 月で全ての魚が陰性であったが、7 月以降すべての魚が陽性となり、以後 11 月にかけて右肩上がりに推移した。

図 5 長島町ブリ 0 才魚

図 6 長島町ブリ 1 才魚

図 7 竜ヶ水ブリ 0 才魚

図 8 竜ヶ水カンパチ 0 才魚

図 5～8 *M. marinum* に対する抗体価の推移

2) 鰓および腎臓における菌体の検出

図 9～12 に鰓および腎臓からの *M. marinum* 菌体の検出率を示した。

図 9, 10 から長島町ブリ 0 才魚, 1 才魚ともに 9 月と 10 月に検出率が高く、明瞭なピークが確認できた。図 11 の竜ヶ水ブリ 0 才魚および図 12 のカンパチ 0 才魚では 8 月以降に検出

率が高かったが長島町のブリと比較すると総じて低く明瞭なピークもみられなかった。

図9 長島町ブリ 0才魚

図10 長島町ブリ 1才魚

図11 竜ヶ水ブリ 0才魚

図12 竜ヶ水カンパチ 0才魚

図9～12 鰓および腎臓からの *M. marinum* 菌体の検出率

考察

1. 実態調査

被害調査と魚病検査件数から、本県の抗酸菌症は2004年頃から増加傾向にあり産業的な被害も大きいことを再認識した。逆に、2000年頃まで魚病被害の大半を占めていたレンサ球菌症はワクチンの普及⁶⁾により減少していることから、今後は抗酸菌症への対策に重点を置くべきである。本疾病はブリにおいては0才魚より1才魚以上で発生が多いことが分かった。また、発生場所は閉鎖的な内湾で水深の浅い海域が多く、逆に開放的で水深の深い海域では発生が少ないことから、地形的な背景が本疾病の定着に関わっていると思われる。つまり、水深が浅い場所では海底に存在すると思われる原因細菌が魚へ供給されやすく、水深の深い場所よりも感染のリスクが高いと思われる。

また、聞き取り調査では定着したと考えられる漁場でも中間魚から飼育すれば1才魚以上の発病が少なくなった漁場があることから、本疾病を回避するにはモジャコ時期での感染を避けることが重要であると考えられる。このことは後に述べる感染時期の検討結果からも推察できる。

2. 菌株収集と同定

これまでに、養殖ブリにおける *Mycobacterium marinum* 感染症は正式に報告されているが⁴⁾、本研究では、複数箇所の南日本海域において抗酸菌症が発生し、カンパチ、シマアジ、ヒラマサからも原因細菌が分離され、全て *M. marinum* に同定された。このことから、*M. marinum*

を原因細菌とする抗酸菌症は国内の広域に複数魚種で発生していることが示唆された。今後は *M. marinum* 標準株との性状比較を行い、遺伝多型解析を用いて魚種や分離地域による違いを検討したい。

3. 分離菌株の薬剤感受性試験

各薬剤の MIC 値は ABPC と EM の 1～2 株を除いてその他は安定していた。また、魚種や採取地域による差を見出すことはできなかったことから、今後、菌株数を増やして傾向を見ることが重要と思われる。SM の MIC 値が全て 0.12 μ g/ml 以下であることから有効性が示唆され、これまでの知見に合致しているが、SM は現在水産用医薬品として承認されていないことが治療効果を検証する上でネックになる。

4. 感染時期の検討

抗体価と菌体の検出率の推移から、ブリは 0 才魚の種苗導入直後には *M. marinum* に感染し、翌年までの長い感染期間を経て 1 才魚で発病することが推測される。このことは養殖場での発生状況も示唆している。また、長島町のブリ 1 才魚は 10 月前後に抗酸菌症を確認しているが、この群の抗体価は発生時の 10 月前後よりそれ以前の未発生時である 6,7 月の方が高い。つまり、発病の 4 ヶ月前までに既に強い感染を受け続けていたことが推測される。なお、抗酸菌症と類似のノカルジア症におけるブリ血清中の抗 *Nocardia seriolae* 抗体価の推移について報告⁷⁾⁸⁾⁹⁾があり、3 報ともノカルジア症の発生が多い 10 月前後より 2～3 ヶ月前の 7～8 月の抗体価が高いことを示している。これらの結果は本研究で得られた *M. marinum* に対する抗体価の推移と共通していることは興味深い。

謝 辞

本研究を行うにあたり、サンプリングや分析についてご指導、ご協力をいただきました、鹿児島大学水産学部の山本淳教授、服部陽子氏、今岡慶明氏に謹んで感謝の意を申し上げます。

参考文献

- 1) 楠田理一，川上宏一，川合研児．養殖ブリから分離された魚類病原性 *Mycobacterium* sp.について．日水誌 1987;53:1797-1804.
- 2) 川上宏一，楠田理一．ブリのミコバクテリウム症原因菌に対する各種化学療法剤の試験管内抗菌作用．日水誌 1989;55:2111-2114.
- 3) 川上宏一，楠田理一．ブリ実験感染ミコバクテリウム症に対するリファンピシン，ストレプトマイシンならびにエリスロマイシンの有効性．日水誌 1990;56:51-53
- 4) SompothWeerakhun, NaoAoki, OsamuKurata, KishioHatai, HarunaonNibe, TatsumuHirae. *Mycobacterium marinum* Infection in Cultured Yellowtail *Seriola quinqueradiata* in Japan.魚病研究,2007;42(2):79-84
- 5) SompothWeerakhun, KishioHatai, TakuyaMurase, TatsumuHirae .*In Vitro* and *In Vivo* Activities of Drugs against *Mycobacterium marinum* in Yellowtail *Seriola quinqueradiata* .魚病研究,2008;43(3):106-111
- 6) 平江多績．養殖カンパチの新興感染症（仮称：新型レンサ球菌症）に関する研究．平成 18 年

度養殖衛生管理技術開発研究成果報告書, 2005;121-132

- 7) 板野 公一, 川上秀昌. 養殖ブリの再興感染症に関する研究. 平成 14 年度魚病対策技術開発
研究報告書, 2001;45-61
- 8) 板野公一, 川上秀昌, 河野智也, 酒井正博. 血清抗体価測定による養殖ブリの *Nocardia seriolae*
感染時期の推定, 魚病研究 2008;43(2):86-88
- 9) 山本淳, 養殖ブリの再興感染症 (ノカルジア症) に関する研究. 平成 16 年度養殖衛生管理技
術開発研究成果報告書, 2003;131-146

なお, 本研究の結果は, 別途「平成 20 年度養殖衛生管理問題への調査・研究成果報告書」
として, 社団法人日本水産資源保護協会へ提出した。

安心・安全な養殖魚生産技術開発事業－Ⅴ

(工学的手法を利用したハダムシの寄生を予防する新技術の確立)

村瀬拓也・平江多績・折田和三

【目 的】

本県主要産業の一つであるブリ類養殖においてハダムシ(*Neobenedeniagirellae*等)の寄生は病原体の感染門戸となり、大きな産業的被害をもたらしている。

現在、その対策には淡水浴を中心とした、寄生後の駆除に主眼がおかれているが、作業の重労働性や薬剤の使用にともなうコストの増加、魚へのストレスなどの問題が存在する。

今回の研究では、ハダムシ卵の付着しやすい材質や付着構造を明らかにし、ハダムシが魚体に寄生してから駆除を行うのではなく、寄生前にハダムシの卵をトラップし、除去することにより、ふ化幼生の魚体への寄生を減らす、工学的手法を用いた新たな駆除方法を考案する。

【方 法】

1. -1) ハダムシの常時入手方法確認について(写真1-1)

ハダムシの寄生したカンパチを水温を25℃に保った水槽で飼育した。排水パイプにモジ網を仕掛け、ハダムシの卵を回収した後、海水を入れたビーカー内へ移動し、25℃に設定した孵卵器で5日間保温した。その後、2000ルクスの光を10分間照射し、ハダムシ幼生をふ化させ、再度カンパチへ寄生させた。

この一連の流れを利用し、常時ハダムシならびにハダムシ卵を入手した。

1. -2) ハダムシの産卵機構について(写真1-2)

ハダムシの寄生したカンパチをFA100を使用して麻酔した。カンパチが麻酔にかかったら、魚体から成熟していると思われるサイズの大きいハダムシを剥がし取り、スライドガラスへ張り付けた。その後、海水を入れたシャーレにハダムシを張り付けたスライドガラスを入れ、産卵を始めたハダムシについて、光学顕微鏡で観察・ビデオ撮影を行った。

写真1-1 ハダムシの常時入手方法

写真1-2 ハダムシの産卵機構調査

1. -3) ハダムシ卵の形状について(写真1-3)

先(1. -1))の方法で得られたハダムシ卵を利用し、光学顕微鏡・電子顕微鏡で拡大観察した。

1. -4) ハダムシ卵が存在する水深について(写真1-4)

当センターが所有する、海面生簀内(3m×3m×3m)にてハダムシの付着したカンパチを飼育し、その中へフロートを付けた針金(図1-1)を浮かべ、底には重りを付けて針金(図1-2)を沈めた。

針金にハダムシの卵を付着させ、設置から一週間毎に水深ごとの付着数を測定した。測定時には水深毎(0~1m, 1~2m, 底面)に脱脂綿で針金からハダムシの卵を拭き取り、光学顕微鏡(×40倍)にてカウントした。

写真1-3 ハダムシ卵の形状調査

写真1-4 ハダムシ卵が存在する水深の調査

図1-1 ハダムシ卵トラップ(水中用)

図1-2 ハダムシ卵トラップ(底用)

2. ハダムシの分類学的調査(写真2-1)

先端部と固着盤の2カ所における形状の違いを用いた簡易診断法(kinami et al., 2005)により、当センターに持ち込まれたブリ類に寄生するハダムシについて分類を行った。

2. ハダムシの分類学的調査

Benedenia seriola

Neobenedeniagirellae

前端のふくらみと凹み、固着盤の形状が丸みを帯びた三角形か真円かどうかで区別した。

写真2-1 ハダムシの分類調査方法について

3. ハダムシ卵が付着しやすい素材・構造の調査(写真3-1)

水温を平均23℃に保った1.5t水槽にカンパチ20尾を投入し、ハダムシの寄生したカンパチ2尾も同時に投入した。その後、ハダムシ卵をトラップする材質を2週間設置し、ハダムシ卵の水深別付着量を測定した。更に付着量の多い材質で最終的な測定とした。用いた材質は、金網では、亜鉛引、合金、鉄被覆線、銅線を、化繊網として、スズライン、モジ網、ネトロンを、その他としてポリモン、コットン、麻布、竹簾、キンラン、濾過材を投入した。

3. 付着しやすい素材・構造の調査

亜鉛引、合金、鉄被覆線、銅線

スズライン、モジ網、ネトロン、ポリモン

コットン

麻布

竹簾

亜鉛引、鉄被覆線、合金、モジ網、ネトロン、キンラン、スズライン、濾過材

モジ網、ネトロン、キンラン、スズライン

1.5t水槽にて試験

ハダムシ卵をトラップする材質を投入し、ハダムシ卵の水深別付着量を測定。更に付着量の多い材質で最終測定。

写真3-1 ハダムシ卵が付着しやすい素材・構造の調査

【結果及び考察】

1. -1) 試験を開始した平成20年10月から試験終了時の平成21年3月までの6ヶ月間、ハダムシの卵を常に採取することが出来た。新たな知見としては、ハダムシの寄生数が多くなり、カンパチの体表に縦縞模様もしくは体表の白色化、尾鰭の出血を確認した段階で淡水浴を行うことにより、寄生宿主を繰り返し利用することが可能だった。しかし、眼球が傷つき白濁したものや体表から出血しているものはその後へい死する傾向が高かった。これは、摂餌が上手く行かない、失血等による衰弱が原因と考えられる。

1. -2) 成熟したハダムシ成虫の産卵行動が確認された。産卵は、ハダムシ咽頭の下部にある造卵器官(図1-3, 4)で行われた。造卵器官内に顆粒状の原卵物質が送り込まれると、器官全体が激しく膨張、収縮を繰り返して器官の先端まで原卵物質が押し込まれた。器官の先端は3方向に分かれておりハダムシ卵の特徴である正四面体の基礎となっている先端にまで行きつくと、次第に膨張、収縮は緩くなり、ハダムシ卵独特の形に整形された。また、卵から伸びるフィラメントも同様に整形されるが、器官の下部は螺旋状であるためフィラメントもコイルを巻いた形になった。卵の整形が終わると、しばらくしてハダムシが先端を曲げるようにして卵を体外へ排出(写真1-5)した。これらの原卵物質注入、卵整形、排出までが1個ずつ行われ、一つの産卵が終了すると直ちに次の造卵が開始された。一連の産卵までに要する時間はおおむね3~5分程度であった。

図 3.11 *Neobenedenia girellae* の全体図 (Ogawa et al., 1995 より)

図1-3 *Neobenedenia girellae* 全体図

図1-4 造卵器推定図

写真1-5 卵排出口

以上のように、一度に産卵される卵は1個であるが、次々に行われる産卵により次第に卵が絡み合い、肉眼でも確認できるまでの群体に成長していくものと推測される。

M.G.Bondadd-Reantaso とも、*Neobenedenia girellae* について、大型個体は1時間に35個産卵したこと、他のハダムシ種と比べ産卵能力が高く、成熟までの日数が短いこと、小型で成熟することから、高い繁殖能力を有すると述べている。(魚病研究, 30(3), 239-240(1995))

1. -3) ハダムシ卵はハダムシ寄生魚を飼育する室内水槽の排水口にノリ状に絡まって採取可能である(写真1-6)。このノリ状の物質を光学顕微鏡で拡大すると、四面体と長いフィラメントを確認することが出来た(写真1-7)。

写真1-6 ノリ状になったハダムシ卵

写真1-7 四面体とフィラメント

続いて、ハダムシ卵を電子顕微鏡で観察、撮影を行った。その結果、ハダムシ卵は細長いフィラメント(写真1-8, 9)以外にも、先端にフックがある2本の腕を持っていることも確認できた(写真1-10, 11)。また、フィラメントが多数絡まりあい、大きな群落を作っていることが確認出来た(写真1-12, 13)。このことから、フィラメントと2本の腕が群落形成に重要な役割を担っていると考えられる。

ハダムシ卵やフィラメントに粘液状の物質は見られない(写真1-8, 10)ことや、フィラメントや突起状の腕には表面に凹凸が見られない(写真1-8~11)ことから、生簀の網地には個々のハダムシ卵がフィラメントを使って直接一個ずつ付着するだけでなく、群体としてある程度固まった状態から多量に付着していると考えられる。また、群体の形成要因としては、前述の2本の腕以外にも、水中に漂う懸濁物やエラムシの卵などにもフィラメントが絡むことが観察された。

写真1-8

(×700倍)

写真1-9

(×4500倍)

写真1-10 (×500倍)

写真1-11 (×1800倍)

写真1-12 (×180倍)

写真1-13 (×300倍)

※写真1-8～13は走査型電子顕微鏡にて撮影。

1. -4) トラップ設置1週間後にはハダムシ卵を確認できなかった。しかし、2, 3, 4週間後には存在を確認した。水深1m(海面～1m)、水深2m(海面下1～2m)においては週を追う毎にトラップに付着した卵の数が多くなった。更に水深による付着数にも違いが見られ、海面に近い程付着数は増え、水深が深くなると、付着量は減少した。(図1-5)。水深3m(生簀網底)でのハダムシ卵付着数が少ないことは、生簀網底ではハダムシの卵が存在しにくいことを示しており、生簀網の下方においても同様であると推察されることから、ハダムシの卵は水面近くに存在しやすいと考えられる。

図1-5 ハダムシ卵付着量と水深について

図1-6 沖生簀試験時の水温の変化

2. ブリ類検体に寄生したハダムシについては、*Benedenia seriola* (以下B)と*Neobenedeniagirellae* (以下NB)を確認した。カンパチ0歳魚(平成20年導入分)については、NBが4月から11月まで確認されたが、Bは6,7月のみの確認だった。

カンパチ1歳魚(平成19年導入分)についてはBが4~7月、NBが8~11月に確認された。カンパチについて、0,1歳魚の寄生時期に違いが見られるのは、稚魚導入時の0歳魚は海外からの輸入であり、NBが寄生したまま持ち込まれ、4月からの検出につながったと考えられる。両年魚とも8月にBからNBへ寄生種が代わっているのは、高水温に対応できるNBが夏場に適応するためと考えられる(図1-7)。ブリについては、Bが0歳魚で9月にも確認されているが、場所が東シナ海側で、高水温期といわれる夏場でも最高水温が29°C程度のため、生息可能と考えられる(Bの高温限界は29度と推定されている(笠原, 1967))。また、2,3月にBの寄生が見られたことから、Bは寄生した状態で越冬し、産卵に適した水温になり次第、産卵を開始するものと考えられる。なお、当所沖生簀にて飼育していたカンパチにも3月までBの寄生を確認している。

これら持ち込まれた検体については、持ち込み前に淡水浴・薬浴を行ったり、持ってくる間にハダムシ(B, NB)が剥がれ落ちていること等から、完全な寄生期間を表すものではないが、水温帯により、ハダムシ(B, NB)の種類が入れ替わることを示唆するものである。

図1-7 水産技術開発センターにてハダムシ寄生を確認したカンパチの尾数

図1-8 付着量調査時の水温の変化

3. 最終試験時の素材毎の付着量は表1のとおりとなった。最も付着量が多かったのが、カニ類等の採卵器として使用されるポリモン(写真3-2)で、次に合金メッキであった。付着量が多く確認された金網・モジ網は現在養殖場で通常使われている物であり、現場でハダムシ寄生の強化に繋がっていると考えられる。

形状による付着量の違いについては継ぎ目の細かすぎる竹簾や布類には付着しにくいですが、僅かに隙間が見られ、表面積が大きい物質に良く付着する傾向が見られた。このことから、ハダムシ卵除去には、ポリモン等を水面下2m近くまで設置し、ハダムシが卵からふ化する前に取り上げるのが最適と考えられる。

また、当初目的と反対の結果となるハダムシ卵の付着数が他のトラップに比べ極端に少ないネトロンについては、最もハダムシ対策を必要とするブリ養殖におけるモジャコ期の代替生簀網として使用できないか研究を進めたい。

表1 最終付着量調査結果

順位	素材	付着量(個)
1	ポリモン	270+卵塊
2	合金メッキ	252
3	鉄被覆線	29
4	スズライン	10

ポリモンは2本を直接検鏡。
 合金メッキ升目は3.7 mm×60mm
 鉄被覆線升目は2.6 mm×25mm
 スズライン升目は5 mm×5mm
 を脱脂綿で拭い検鏡。

写真3-2 ポリモン

安心・安全な養殖魚生産技術開発事業－VI (安心・安全な養殖魚生産技術開発事業)

村瀬拓也・平江多績・前野幸二・新町静夫

【目的】

消費者の食への関心は急激に高まっており、養殖業ではより安全・安心な養殖魚を生産すべく各般の取り組みがなされている。本事業ではできるだけ水産用医薬品を使用しない養殖を実践するため、カンパチに添加物を加えた餌を給餌し、抗病性向上の有無を検証することを目的とした。

【方法】

試験魚には中国海南島由来のカンパチ種苗を鹿児島県内の養殖業者より入手し、予備飼育を行ったものを使用した。

飼育条件は水産技術開発センターにある生簀枠に縦・横・深さ各3mの網を設置し、平均体重約190gのカンパチ100尾を4試験区毎に収容した。

試験区はアシタバ添加区、ビワ茶添加区、ラクトフェリン添加区および対照区とし、繰り返し数は1回とした。

飼料は平成12年度魚類養殖対策調査事業の公定規格試験飼料(ドライペレット)を対照区として用い、これに上記添加物を加えた物を試験飼料とした(表1)。

給餌は土日を除き週5回、1日1回の飽食給餌とし、給餌日数が14日間となるよう飼育した。試験期間は8/21～9/12の23日間であった。

攻撃試験については、生簀を設置した海域では、毎年ハダムシ症が確認されていることから、試験飼料の給餌開始時に試験魚に対してハダムシの自然感染による攻撃が開始されたものとみなした。その後、中間と最終サンプリングの2回、ハダムシの寄生数を計測した。

また、飼育試験開始時(イニシャルサンプリング)、中間及び終了時に血液、体表粘液を採取し、血清、体表粘液のリゾチーム活性及びタンパク質量、血液成分を測定した。

表1 配合飼料組成

	単位:%				
	対照	ラクトフェリン	アシタバ	焼酎粕 ^{*1}	ビワ茶
魚粉	68.0	同左	同左	同左	同左
α-スターチ	3.0	//	//	//	//
デキストリン	3.0	//	//	//	//
魚油	10.0	//	//	//	//
n-3 高度不飽和脂肪酸	1.0	//	//	//	//
ビタミン混合物 ^{*2}	3.0	//	//	//	//
ミネラル混合物	3.0	//	//	//	//
CMC	3.0	//	//	//	//
α-セルロース	6.0	5.9	5.0	4.0	5.0
添加物	0.0	0.1	1.0	2.0	1.0
Total	100	100	100	100	100

*1 焼酎カス(液状)は水の代替として加える

*2 Stay-C35を0.3g添加した値(混合物 29.7g+StayC-35 0.3g):アスコルビン酸として飼料中濃度100ppm

【結 果】

全ての試験区において試験期間中に重篤なハダムシ寄生が見られた。この寄生数には試験区間で有意な差はみられなかった(表2)。

血液成分については、試験区間で有意な差はみられなかったが、試験開始時と比較してトリグリセリド、尿素、窒素以外で全ての試験区において低い値を示した。血液、粘液のリゾチーム活性は試験開始時と比較して中間サンプリング時、終了時ともに低くなっていたが、中間サンプリング時、終了時の間では各試験区ともほぼ同様の値を示し、試験区間で有意な差はみられなかった(図2～8)。

なお、本年度で事業終了となるため、別添資料として平成16年度からの試験結果について取りまとめた表を添付した(別表1)。

表2 ハダムシ平均寄生数±標準偏差

	対照区	ラクトフェリン	ビワ茶	焼酎粕	アシタバ
中間サンプリング	56.4±28.1	67.8±30.8	79.3±40.0	81.2±32.3	77.5±27.3
最終サンプリング	218.2±122.2	278.5±179.3	339.3±178.5	365.6±196.4	344.9±206.8

図1 試験期間中の飼育生簀の水温変化

図2 粘液リゾチーム活性平均値と標準偏差

図3 血液リゾチーム活性平均値と標準偏差

図4 血中総コレステロール量平均値と標準偏差

図5 血中総ブドウ糖量平均値と標準偏差

図6 血中トリグリセリド量平均値と標準偏差

図7 血中尿素窒素量平均値と標準偏差

図8 血中総ビリルビン量平均値と標準偏差

【考 察】

ハダムシ寄生の防御効果において試験区間で有意差がみられなかったのは、カンパチが持つ防御機構である体表粘液や血液のリゾチーム活性が上昇する前に、ハダムシが多数寄生したことが原因と考えられる。

試験魚に寄生したハダムシ(*Neobenedenia gillare*)は、水温が25℃では5~6日でふ化し、感染後、10~11日間で産卵可能な親虫になるとの報告がある。更に、一昨年7月に水技センター内で水温26~28℃で

同種ハダムシを飼育した結果、水温25℃よりも成長は早くなり、4～5日でふ化し、感染後7～8日で産卵が始まり、一連のサイクルも短縮した。今回の試験では平均水温が約29℃と高く、試験飼料給餌前に一度しか淡水浴を行わなかったため、ハダムシの寄生頻度が一段と高くなったと考えられる。

添加物入り飼料を給餌する際は、ハダムシが最も活発に活動する夏期以前に投与すべきであり、併せて淡水浴、薬浴、網替え等の寄生虫防除作業が必要に応じて行わなければならないと考えられる。

別表1 安心・安全な養殖魚生産技術開発事業

	H16	H17	H18	H19	H20
供試魚	カンパチ	カンパチ	カンパチ	カンパチ	カンパチ
添加物	竹粉 アシタバ 黒酢	竹粉 アシタバ 黒酢 ラクトフェリン 乳酸菌 1.5AF	アシタバ 黒酢 ラクトフェリン	アシタバ 焼酎粕 ラクトフェリン	アシタバ 焼酎粕(液体) ラクトフェリン ピワ茶
攻撃方法	ノカルジア菌	ノカルジア菌	ハダムシ(ネオベネデニア)	従来型レンサ球菌	ハダムシ(ネオベネデニア)
試験期間	30日間	30日間	38日間	40日間	24日間
測定方法	生残率 血液性状 リゾチーム活性(血清, 体表粘液)	生残率 血液性状 リゾチーム活性(血清)	寄生率 体表粘液(リゾチーム活性, 総タンパク) 血液性状 リゾチーム活性(血清)	生残率 体表粘液(リゾチーム活性, 総タンパク) 血液性状 リゾチーム活性(血清) 血液による殺菌活性	寄生率 体表粘液(リゾチーム活性, 総タンパク) 血液性状 リゾチーム活性(血清) 血清による殺菌活性
結果	生残率 有意差無し 5.9%	生残率 有意差無し 血液性状(総コレステロール) 有意差有り アシタバ1%区, ラクトフェリン区, 黒酢1%区 リゾチーム活性(血清, 体表粘液) 有意差有り アシタバ1%, ラクトフェリン区	体表粘液(リゾチーム活性, 総タンパク) 有意差有り ラクトフェリン区 リゾチーム活性(血清) 有意差有り アシタバ1%区, ラクトフェリン区, 黒酢1%区 血液性状(総コレステロール) 有意差有り アシタバ1%区, ラクトフェリン区, 黒酢1%区 寄生率 有意差有り ラクトフェリン区	生残率 有意差無し(攻撃後8日目で降一部差有り) ※全区50%を切っている 血液性状 有意差無し リゾチーム活性(血清, 体表粘液) 有意差無し(焼酎粕で試験終了時有意差有り) 殺菌活性 有意差無し	生残率 有意差無し 体表粘液(総タンパク) 有意差無し 血液性状 有意差無し リゾチーム活性(血清, 体表粘液) 有意差無し リゾチーム活性(血清, 体表粘液) 有意差無し

魚病総合対策事業

(養殖衛生管理体制整備事業)

平江多績・村瀬拓也

【目 的】

海面養殖魚類の魚病検査等により魚病発生状況を把握し、その予防および治療対策の普及を図る。

【方 法】

魚病検査、巡回指導、講習会により魚病被害軽減の指導を行った。魚病検査では症状観察、寄生虫、細菌、ウイルス検査、薬剤感受性試験を行い、養殖管理状況をふまえた指導を行った。また、巡回指導や講習会などでは最新の魚病情報や研究内容について情報提供を行った。

【結果および考察】

1. 総合推進対策

全国・地域防疫会議へ出席し情報交換を行った。なお、今年度の南中九州・西四国水族防疫会議は本県が幹事県となって指宿市で開催した。

2. 養殖衛生管理指導

県内の養殖現場において魚病巡回指導を行った。医薬品適正使用指導として、ワクチン講習会および医薬品適正使用講習会、県内防疫講習会を行った。また、ワクチン指導書発行については随時行い、魚病対策指導および情報提供を行った。

3. 養殖場の調査・監視

平成20年度の月別・魚種別魚病検査件数は表1のとおりであった。総検査件数は490件で、魚種別ではカンパチが最も多く275件、次いでブリ71件、ヒラメ68件、トラフグ19件、クロマグロ18件、マダイ17件、ヒラマサ5件、クルマエビ3件の順であった。

魚種別月別病名別の検査件数は表2に示したとおりで、以下に魚種ごとの診断件数の概略と発生状況を示す。

魚病検査におけるブリ0才魚の診断件数はレンサ球菌症（従来型：*Lactococcus garvieae*感染症）、ビブリオ病、ノカルジア症、類結節症、イリドウイルス感染症、ウイルス性腹水症が多かった。また、不明の中には脳脊髄炎が含まれていた。脳脊髄炎は西日本各地のブリ養殖場で発生がみられており原因は粘液胞子虫といわれているが、寄生体の周辺組織に炎症反応が見られない場合もあることから原因は確定されていない。

ブリ1才魚以上ではレンサ球菌症（従来型）、ミコバクテリア症、新型レンサ球菌症（*Streptococcus dysgalactiae*感染症）が多かった。

カンパチ0才魚では、類結節症、ノカルジア症、脳粘液胞子虫症、腎腫大症、通称キリキリ舞（脳脊髄炎）、イリドウイルス感染症、レンサ球菌症（従来型）、ビブリオ病が多かった。なお、キリキリ舞は10年以上前から原因不明の死亡で取り扱われていたが、今年度は養殖研究所と連携して原因究明を行った結果、脳に顕著な炎症反応と微胞子虫様寄生体が確認されたことから、この寄生体が原因と思われる脳脊髄炎と診断した。また、腎腫大症は腎臓が退色し腫大する病気で、10年以上前から知られているが、未だに原因は不明である。全国の腎腫大症発生状況をみると、

今年は例年と比べて特に多く見られたため、原因究明と対策が望まれている。

カンパチ1才魚以上では、新型レンサ球菌症、レンサ球菌症（従来型）、ビブリオ病の診断件数が多かった。養殖場ではレンサ球菌症（従来型）とビブリオ病は市販ワクチンによる予防が期待できるが、新型レンサ球菌症はワクチンは市販されておらず投薬治療のみの対応となっていることから、薬剤耐性菌の出現や疾病の蔓延長期化が懸念されている。

ヒラメの診断件数はレンサ球菌症、エドワジエラ症、ノカルジア症の細菌性疾病と腸管内粘液胞子虫性やせ病が多かった。

トラフグの診断件数は心臓クドア症、ヘテロボツリウム症、腸管内粘液胞子虫性やせ病、脳粘液胞子虫症等のいずれも寄生虫性の疾病が多かった。

クロマグロの診断件数は生け簀網への衝突と考えられる骨折死とイリドウイルス感染症が多く、いずれも0才魚の検査が主体であった。なお、イリドウイルス感染症については鰓の黒点を確認したうえでPCR法を用いて確定診断を行った。

マダイは養殖魚のイリドウイルス感染症と放流用種苗の健康診断が多く、その他の診断としてはエドワジエラ症、滑走細菌症、真菌症であった。

メジナでは陸上飼育施設で白点病を、オニオコゼではウズ虫寄生による死亡、放流用クエでウイルス性神経壊死症を確認した。

表1 魚種別月別魚病検査件数

魚種／月	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	総計
ブリ0才		7	3	15	6	6	5	1			1	1	45
ブリ1才～		1		3	3	8	3	2			4	2	26
ブリ小計	0	8	3	18	9	14	8	3	0	0	5	3	71
カンパチ0才	29	35	37	49	14	20	9	7	1	4		1	206
カンパチ1才～	5	2	8	13	13	7	6	2		1	6	6	69
カンパチ小計	34	37	45	62	27	27	15	9	1	5	6	7	275
ヒラマサ					2	1		1		1			5
ヒラメ		2		5	10	12	16	11	6	4		2	68
トラフグ						4	4	2	3	4		2	19
クロマグロ					4	4	7	3					18
マダイ	4	1	2	1	6	2					1		17
クルマエビ					2	1							3
イシガキダイ						1		1					2
イシダイ						1							1
カサゴ			1										1
メジナ				1									1
クロアワビ			1										1
オニオコゼ		1											1
トコブシ					1								1
クエ					1								1
ソデイカ							1						1
スジアラ							1	1					2
カツオ								1					1
アカマダラハタ												1	1
総計	38	49	52	87	62	67	52	32	10	14	12	15	490

表2 魚種別月別病名別の検査件数（ブリ，カンパチ魚齢別）

魚種（魚齢）	病名	月	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	合計
ブリ0才	レンサ球菌症（従来型）			1	2	3	3	2		1				1	13
	不明			1	1	2	1		3						8
	ビブリオ病			2		2							1		5
	ノカルジア症						1	2	2						5
	類結節症					3		1							4
	イリドウイルス感染症					1	1	1							3
	ウイルス性腹水症			3											3
	心臓クドア症					1									1
	腎腫大症					1									1
	細菌性髄膜炎					1									1
ペコ病					1									1	
小計			7	3	15	6	6	5	1			1	1	45	
ブリ1才～	レンサ球菌症（従来型）			1				2		2			2	2	9
	不明					2	1	1	2						6
	ミコバクテリア症						1	4							5
	新型レンサ球菌症					1	1	1	1						4
	ビブリオ病												2		2
	小計			1		3	3	8	3	2			4	2	26
ブリ計		0	8	3	18	9	14	8	3	0	0	5	3	71	
カンパチ0才	不明		6	9	8	18	4	6	1	2		1		1	56
	類結節症		7	5	7	9									28
	ノカルジア症				1	1		2	5	3	1				13
	脳粘液胞子虫症		4	3	1	1	3	1							13
	腎腫大症			1	5	7									13
	キリキリ舞（脳脊髄炎）			13											13
	イリドウイルス感染症				2	2	2	5	1						12
	レンサ球菌症（従来型）			1		2	2	3	1	2					11
	ビブリオ病		3	1	5	1			1						11
	滑走細菌症		5	1								1			7
	ゼウクサブタ症		2		3							1			6
	新型レンサ球菌症					1	2	2							5
	血管内吸虫症				2	1									3
	心臓クドア症		1	1											2
	トリコジナ症				2										2
	ビルナウイルス感染症		1									1			2
	鰓障害				1	1									2
	ベネデニア症					2									2
	細菌感染症（種不明）					1									1
	事故死					1									1
	細菌性髄膜炎					1									1
	リンホシスチス感染症						1								1
	繊毛虫症							1							1
小計		29	35	37	49	14	20	9	7	1	4		1	206	
カンパチ1才～	不明		1	1	3	4	7	2	3			1	2	2	26
	新型レンサ球菌症					3	5	3		2					13
	レンサ球菌症（従来型）		1	1		2							3	1	8
	ビブリオ病		2		2									2	6
	類結節症				3	2									5
	血管内吸虫症		1						1						2
	イリドウイルス感染症								2						2
	繊毛虫症							2							2
	ノカルジア症					1									1
	脳粘液胞子虫症					1									1
	細菌感染症（種不明）						1								1
	ビルナウイルス感染症													1	1
	ゼウクサブタ症												1		1
	小計		5	2	8	13	13	7	6	2		1	6	6	69
カンパチ計		34	37	45	62	27	27	15	9	1	5	6	7	275	

表2 魚種別月別病名別の検査件数（その他の魚種）

魚種 / 病名 / 月	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	合計
イシガキダイ						1		1					2
イシダイ						1							1
カサゴ			1										1
クルマエビ					1	1							2
					1								1
					2	1							3
クロマグロ					1	3	2	1					7
					2	1	2	1					6
							1	1					2
							1						1
							1						1
					1								1
					4	4	7	3					18
トラフグ						1	1	1	1	3			7
							2	1	1	1			5
									2			1	3
							1					1	2
						1							1
							1						1
						4	4	2	3	4		2	19
ヒラマサ					1	1							2
					1								1
								1					1
										1			1
					2	1		1		1			5
ヒラメ		2		2	2	3	5	3		1		2	20
				1	4	2	2	1	1	1			12
				1	1	3	2	3	1				11
					1		4	3	2				10
					1	2	2	1					6
							1		2	1			4
				1									1
							1						1
								1					1
										1			1
		2		5	10	12	16	11	6	4		2	68
マダイ	4				2	1							7
					3								3
		1	1	1									3
					1	1							2
											1		1
			1										1
	4	1	2	1	6	2					1		17
メジナ				1									1
クロアワビ			1										1
オニオコゼ		1											1
トコブシ					1								1
クエ					1								1
ソデイカ							1						1
スジアラ							1	1					2
カツオ								1					1
アカマダラハタ												1	1
総計	38	49	52	87	62	67	52	32	10	14	12	15	490

4. 輸入種苗の魚病対策について

中国産カンパチ種苗（導入稚魚）等の輸入種苗の魚病検査を行い，魚病情報の提供や魚病巡回指導，講習会において種苗の輸入に関して注意喚起を行った。なお，輸入種苗からはアニサキスは検出されなかった。

5. ワクチン使用指導および投与状況

ワクチン講習会の開催や，ワクチン使用指導書発行業務において適正使用を指導した。

平成20年度に水産技術開発センターが発行したワクチン商品名別，魚種別指導書発行件数は表3のとおりで375件，10,051千尾分であった。

また，平成9年度以降のワクチン指導書による魚種別年度別投与尾数は図1～3に示すとおりであった。

表3 平成20年度ワクチン種類別指導書発行件数（平成20年4月1日～21年3月31日）

ワクチン名（商品名）	対象魚種	件数（件）	尾数（千尾）
ピシバック 注 3混	ブリ	44	1,189
	カンパチ	17	480
	ヒラマサ	0	0
ピシバック注ビブリオ+レンサ イリド不活化ワクチン「ビケン」	ブリ	13	240
	ブリ	0	0
	カンパチ	0	0
	ヒラマサ	0	0
	シマアジ	0	0
イリド・レンサ混合不活化ワクチン「ビケン」	マダイ	1	30
	ブリ	98	2,713
	カンパチ	25	543
	ヒラマサ	2	48
	ブリ	0	0
イリド・レンサ・ビブリオ混合不活化ワクチン「ビケン」	カンパチ	1	14
	ブリ	32	1,984
	カンパチ	10	182
ポセイドン「レンサ球菌症」	ヒラマサ	0	0
	ブリ	63	564
	カンパチ	27	440
アマリン レンサ	ヒラマサ	1	12
	ブリ	4	90
	カンパチ	0	0
マリンジェンナー レンサ1	ヒラマサ	0	0
	ブリ	6	295
	カンパチ	1	25
Mバック レンサ注	ヒラマサ	0	0
	ブリ	0	0
	カンパチ	7	102
ノルボックス ビブリオ mono	ヒラマサ	5	140
	カンパチ	12	700
	ブリ	7	102
マリナコンビー2	ヒラマサ	3	32
	ヒラメ	2	30
	ブリ	0	0
Mバック イニエ	ヒラメ	2	30
	ヒラメ	3	32
	ブリ	0	0
マリンジェンナーヒラレン1	ニジマス	1	200
	ブリ	0	0
	ニジマス	1	200
ピシバック ビブリオ	ニジマス	1	200
合計		375	10,051

ただし，アマリンレンサは追加投与分を含む。

図1 ブリ，カンパチのワクチン投与尾数

図2 ヒラマサ，シマアジ，マダイのワクチン投与尾数

図3 ヒラメ，ニジマスのワクチン投与尾数

水技センターでのレンサ球菌症診断件数とワクチン投与尾数を図4に示す。

従来型レンサ球菌症 (*Lactococcus garvieae*感染症) の診断件数は、平成7年度から10年度にかけて激減し、平成10年度以降平成13年度までほぼ横ばいから微増傾向であったが、ワクチンの投与尾数が大幅に増加した平成14年度以降はさらに減少し、平成18年度まで減少した。ワクチンの普及とともにこのまま従来型レンサ球菌症の診断件数は減少し続けると思われていたが、平成19年度以降はワクチンの投与尾数が減少し、これに呼応するように従来型レンサ球菌症の診断件数が増えた。

また、平成15年度以降は新型レンサ球菌症 (*Streptococcus dysgalactiae*感染症) が発生し、レンサ球菌症の診断件数に加算されたために、レンサ球菌症全体の診断件数はほぼ横ばいから平成19年以降微増している。今後、レンサ球菌症用ワクチンの投与率が減少すれば、レンサ球菌症 (従来型) が再び流行し、また、新型レンサ球菌症との同時発生が起これるとレンサ球菌症全体の被害拡大が懸念される。これらのことから、今後もワクチンの投与率の維持・向上に努めるべきと考える。

図4 水技センターでのレンサ球菌症診断件数とワクチン投与尾数

内水面漁業総合対策研究－Ⅳ

(内水面魚病総合対策事業)

村瀬拓也・平江多績

【目 的】

内水面養殖業における魚病の多発化，複雑化に対応した魚病，防疫の知識の普及，啓発を図るとともに水産用医薬品の適正使用の指導など総合的な対策を行うことにより，県内の内水面養殖業者の経営安定と養殖魚の食品としての安全性を確保することを目的とする。

また，併せて河川事故に関する水質調査を行いその原因を究明し，指導を行う(別途報告)。

【方 法】

魚病検査，巡回指導により魚病被害軽減の指導を行った。魚病検査では症状観察，寄生虫，細菌，ウイルス検査，薬剤感受性試験を行い，養殖管理状況をふまえた指導を行った。また，巡回指導などでは最新の魚病情報や研究内容について情報提供を行った。

【結 果】

1) 魚類防疫に関する対策として，全国養殖衛生管理推進会議(10,3月)，全国アユ冷水病会議(3月)へ出席した。防疫対策巡回指導として，養殖業者への指導を行った。

2) 新型伝染性疾病対策として，アユの冷水病(*Flavobacterium psychrophilum*)及びエドワジエラ・イクタルリ(*Edwardsiella ictaluri*)感染症の原因菌の保菌検査を行った。

冷水病に関しては1養殖業者にて陽性を確認(7月)した。

エドワジエライクタルリについては，3漁協(日当山天降川漁協，検校川漁協，松永漁協)について行ったが，全て陰性であった(4,3月)。

3) 平成20年度の魚病診断は64件(ウナギ，コイ，サバヒー，アユ，ニジマス等)で，うちウナギが6割近くを占めていた(表1)。

魚種別の魚病診断内容については，ウナギでは鰓うっ血症が大半を占め，これはウイルス性の疾病であり，投薬等による対策のないことが問題となっている。

ウナギ以外の魚種では4～6月に検査持ち込みが集中している(表2)。

現在の所，夏以降の検査依頼はウナギを除いてほとんど無い状況である。これは高水温(約30℃前後)で飼育されているウナギについては周年疾病が発生しやすい条件にあると考えられる。

コイヘルペスウイルス(KHV)検査状況については，平成20年度は8件を行ったが，全て陰性であった。(図1)

なお，平成18年度から水技センターで確定診断を行っている。

アユについては，天然河川における冷水病，エドワジエラ・イクタルリ感染症の発生は確認されなかった。

表1 平成20年度 魚種別・月別魚病診断件数

魚種	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	計
ウナギ	2	3	2	3	3	2	5	2	0	5	6	3	36
コイ	1	1	1	2	0	2	0	0	2	0	0	0	9
サバヒー	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4
アユ	3	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2	6
ニジマス	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
キンギョ	1	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	4
その他	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	3
計	10	5	6	9	3	5	5	3	2	5	6	5	64

表2 平成20年度 月別・魚病別診断件数

ウナギ	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	計
鰓うっ血	0	2	1	2	0	0	2	0	0	4	4	2	17
鰓うっ血+シュートダクチロキルス	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	2
シュートダクチロキルス	0	1	0	0	0	0	3	0	0	0	1	0	5
バラコロ病	0	0	0	0	1	2	0	0	0	0	3	0	6
カラムナリス	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
腎芽腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
細菌感染症(種不明)	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	2
不明	1	1	2	2	1	0	4	1	0	3	4	2	21
計	2	5	4	5	3	2	9	2	0	8	13	4	57

コイ	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	計
不明	1	1	1	2	0	1	0	0	2	0	0	0	8
KHV検査件数	1	1	1	1	0	1	0	0	2	0	0	0	7
(うち陽性件数)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
計	1	1	1	2	0	1	0	0	2	0	0	0	8

サバヒー	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	計
カラムナリス症	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
ミズカビ病	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
不明	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
計	2	2	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7

アユ	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	計
イクタルリ検査件数	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	5
冷水病検査件数	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
(うち陽性件数)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
不明	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
計	3	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2	7

ニジマス	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	計
不明	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
計	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2

キンギョ	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	計
細菌性鰓病	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
ギロダクチルス症	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
不明	1	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	4
計	3	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	6

その他	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	計
不明	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	3

図1 県内におけるKHVの検査状況 (KHVの発生は平成15年から)