

新技術開発共同研究促進事業

事務局：企画開発推進室

大学や研究機関等との共同研究や連携の強化により、高度かつ多面的な視点からの研究を行い、試験研究機能の強化を図るとともに、漁業者や水産関係団体等ニーズに即応した重要課題への対応強化を行うことを目的に実施している。（平成9～13年度は「技術開発のための共同研究推進事業」で実施、平成14年度からは本事業により実施している）

平成18年度は、次の13課題を選定し、大学等関係機関との共同研究を行ったので、その概要を報告する。

（担当：伊東）

共同研究課題名	担当科	関係機関
1. 長崎県近海における流況解析	海洋資源科	長崎大学
2. タチウオの資源生物学的特性に関する研究	海洋資源科	長崎大学
3. 長崎県沿岸域における大型褐藻類の種構成に関する研究	介藻類科	北海道大学
4. スルメイカ筋肉に適した低温保管条件の解明	加工科	北海道大学
5. アコヤガイ残滓からの有用成分の抽出	加工科	中央水研、北海道大学、滋賀大学
6. 養殖ブリの品質向上技術開発試験	加工科	長崎大学
7. 干潟域の貧酸素化解消試験	漁場環境科	水研センター養殖研究所
8. 細菌性疾病に対する免疫機構の基礎研究	養殖技術科	長崎大学
9. マハタのウイルス性神経壊死症（VNN）の防除対策	養殖技術科	北海道大学、近畿大学
10. トラフグのヤセ病防除対策	養殖技術科	東京大学
11. トラフグ口白症防除対策	養殖技術科	北海道大学
12. 環境負荷低減飼料開発に関する研究	養殖技術科	東京海洋大学
13. アサリ呼吸生理に関する研究	養殖技術科	学習院女子大学、長崎大学、水研センター養殖研

1. 長崎県近海における流況解析

高木 信夫・中田 英昭*1

長崎県沿岸域における流況は、潮汐流が卓越していることから、物質輸送や環境変動に重要な役割を担う平均的な流況（残差流の分布）を把握することは容易ではない。本研究では、野母崎-天草間および甕島北海域における残差流の分布を把握するため、長崎大学と共同で、25時間往復調査調査および係留観測を実施した。

方 法

25時間往復調査 調査においては、野母崎-天草間ラインと甕島北海域ラインの2つの調査ラインを設けた。（図1, 2）

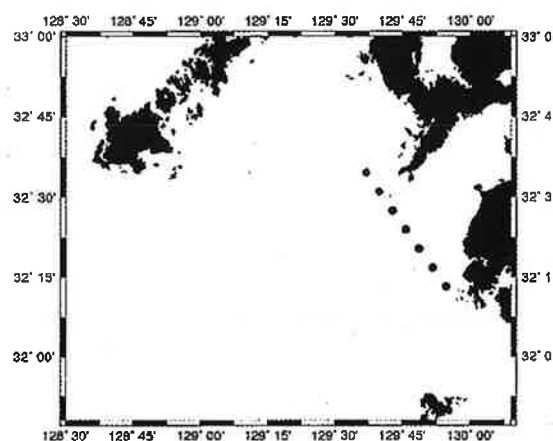


図1 野母崎-天草間の調査ライン

調査は野母崎-天草間ラインにおいては長崎県総合水産試験場の調査船鶴丸（108トン、550馬力）を用いて、平成18年1月に1回、また、甕島北海域ラインにおいては、長崎大学の練習船鶴洋丸を用いて、平成18年10月および平成19年3月に各1回、合計3回、潮流から潮汐の影響を除去するため、25時間往復調査を行い、各船舶に設置されたADCP（ドップラー超音波流速計：RDINSTRUMENTS社製300KHz）により測流し、潮流から残差流を算出した。

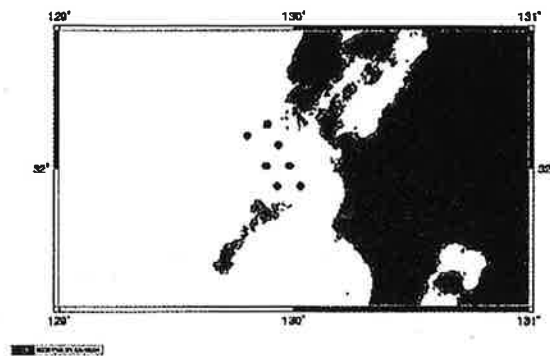


図2 甕島北海域の調査ライン

2：係留観測

平成18年5月8日から6月4日まで野母崎樺島南東10マイル沖（水深70m）に電磁流速計（RCM-16：アンデラ社製）を海底から20m立ち上げて流速を測定した。

結 果

野母崎-天草間ラインにおける調査は、GPSデータの不具合により解析には至らなかった。甕島北海域ラインの調査においては、平成18年10月、平成19年3月調査時共に北西の流れが卓越しており、（図3）1ノットを超える流れも観測された。

また、係留観測から得たデータから、調和解析を行っ

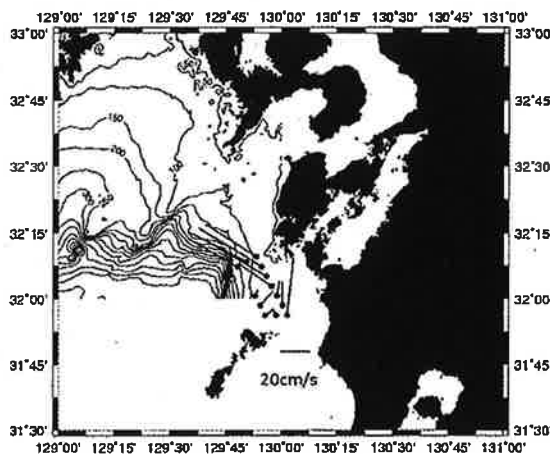


図3 甕島北調査ライン残差流（平成18年10月 水深30m）

* 1 長崎大学水産学部

た。その結果、潮汐流は半日周期流と1日周期流が強く、そのうち半日周期流が卓越していた。

まとめ

今回平成18年10月と平成19年3月に調査を実施した
甌島北海域ラインの残差流については2回とも北西流

の流れが見られた。これは、両者とも人工衛星表面水温画像から甌島東海域からの暖水の流入が認められたことから、黒潮系暖水の流入に伴う流れであると考えられた。

(担当：高木)

2. タチウオの資源生物学的特性に関する研究

一丸 俊雄・夏莉 豊^{*1}

長崎県沿岸域におけるタチウオは平成13年には2,000tを超える漁獲が見られたが、その後減少してきている。この資源を持続的かつ有効に利用するためには、的確な資源評価を行うと共に適切な資源管理方策を見いだす必要がある。しかしながら、当海域におけるタチウオについては資源解析に必要な生物学的な知見が少ない。そこで、特に産卵、加入、成長、生残といった資源生物学的な特性を明かにすることを目的として共同研究を実施した。

I. タチウオの年齢と成長

長崎県近海産のタチウオの年齢査定を行い、成長を推定した。

方 法

材料には2002年11月～2006年12月までに橘湾および五島周辺海域で漁獲された2,009個体を用いた。年齢査定には耳石を使用し、成長輪の測定は双眼実体顕微鏡下で接眼マイクロメーターを用いて行った。2,009個体のうち、性別不明や読輪できなかった個体を除いた1,926個体を解析に用いた。

結 果

耳石の成長輪は毎年5月前後に形成されると推定された。第1輪径の頻度分布を既知の報告のそれと比較すると、2.2mmを境にN型（輪径小）とW型（輪径大）の2つの発生群の存在が示唆された。そのため von Bertalanffy 成長式は、各海域ごとに発生群別と雌雄別の計4群に分けて求めた。その結果、発生群別にみるとW型の方がN型よりも成長が良く、雌雄別にみると、雌の方が雄よりも成長が良かった。最も成長が良かったものは橘湾産のW型・雌で、悪かったものが五島西沖産のN型・雄であった。本研究の最も成長の良かった橘湾産のW型・雌と既知の他海域

産の成長とを比べると、本研究は初め最も小さいが、満年齢6の時点では3番目に大きい。

ま と め

II. タチウオの成熟と産卵

長崎県近海産のタチウオの成熟と産卵について明らかにするため生殖腺についての観察を行った。

方 法

材料には2003年1月～2006年12月までに橘湾および五島周辺海域で漁獲された2051個体を用いた。これらの標本について体重を測定した後、生殖腺を摘出して重量を測定した。このうち卵巣については10%ホルマリン溶液に浸漬して保存した。

結 果

全標本のうち雄が571個体、雌が1480個体で雌の比率が高かった。雌のGSI値は冬季に低く、春季から秋季にかけて高い値を示した。

ま と め

長崎県周辺海域においてはGSI値の高い春季から秋季にかけての長期に産卵を行っている可能性が考えられる。今後、これらの卵巣の組織学的観察を行い、より詳細な知見を得る必要があると思われる。

III. タチウオの耳石に見られる微細輪紋

これまでいくつかの魚類において耳石に見られる微細輪紋が日周輪であることが明らかにされている。タチウオについても同様に微細輪紋を観察した報告はないことから、タチウオ幼魚から摘出した耳石について観察を行った。

方 法

長崎県沿岸域において2006年夏～秋季にまき網等で混獲されたタチウオの幼魚を採集した。これらの標本

*1 長崎大学水産学部

について肛門前長を測定した後耳石を摘出し、耳石を摘出した。耳石は洗浄して乾燥させた後エナメル樹脂中に封入し、サンドペーパー、ラッピングフィルムで研磨して、光学顕微鏡下で観察した。

結 果

摘出した耳石において核を中心とする同心円状の輪紋が観察された。今回観察した耳石ではエナメル樹脂中に包埋して光学顕微鏡下で観察しただけでは、輪紋は観察しにくかった。しかしながら、サンドペーパー

を用いて研磨することにより、輪紋がより明瞭に観察されるようになった。

ま と め

今回の研究においてタチウオにおいても他の魚類同様に微細輪紋が見られることが明らかになった。今後これらの観察をより詳細に行うことにより、タチウオの資源生物学的な特性に関して新たな知見が得られる可能性が考えられる。

(担当：一丸)

3. 長崎県沿岸域における大型褐藻類の種構成に関する研究

桐山 隆哉・吉村 拓^{*1}・山口 敦子^{*2}
吉田 忠生^{*3}・四井 敏雄^{*4}・藤井 明彦

本事業は、暖海性ホンダワラ類の分布や生態的特性の把握を主体に、平成15年度から実施している。平成18年度は昨年度に引き続き、「高水温対応型藻類増養殖技術開発研究事業」の一環として、暖海性大型褐藻類を主体とした分布、暖海性ホンダワラ類の分類、暖海性ホンダワラ類に対する魚の摂食等について、調査研究を行った。

方 法

1. 暖海性大型褐藻類の分布調査

暖海性ホンダワラ類の分布状況を把握するため、昨年度と同様に（独）水産総合研究センター西海区水産研究所や（株）崎陽潜水などの関係機関に聞き取りを行うと共に標本の提供を受けた。11月には、平戸市志々伎早福地先、松浦市星鹿西岸（津崎鼻～波津崎地先）、松浦市鷹島阿翁崎地先で SCUBA 潜水により、大型褐藻類の分布状況を調べた。

2. 暖海性ホンダワラ類の種の同定

採取した暖海性ホンダワラ類のさく葉標本を作成し、種の同定を行うと共に、分類に関する会議（亜熱帯性ホンダワラ属藻類の分類に関するワークショップ（鹿児島県水産技術開発指導センター主催）への参加や（独）西海区水産研究所との共同研究（九州・山口地域における藻場の変動に関する基礎研究）により、これまで不明種として扱ってきたものについて種の同定を検討した。

3. 暖海性ホンダワラ類数種に対するブダイ、ノトイスズミの摂食状況

水槽内でブダイ（TL：40cm）とノトイスズミ（TL：48cm）をそれぞれ1尾ずつ用い、暖海性ホンダワラ類5種と他のホンダワラ類6種、クロメの成体と幼体の13種を同時に与え、投与後の海藻の残存状況を調べた。

実験水槽はブダイでは1t円形水槽を用い、ノトイスズミでは15t巡流水槽の一部を網で仕切った幅1m×長さ2m×深さ0.8mの区画とした。実験は、平成18年6月23日～7月5日の間に行った。

結 果

1. 暖海性大型褐藻類の分布調査

平成15年度からの調査で、暖海性ホンダワラ類の分布は大村湾、有明海、伊万里湾を除く県内各地で確認されており、分布域の北限は対馬厳原に至っている。アトクメでは大村湾、有明海、伊万里湾、壱岐、対馬を除く県内各地で分布域の北限は平戸市度島に至っている。平成18年度も同様の場所で生育が確認された。11月に行った平戸市志々伎早福地先、松浦市星鹿西岸（津崎鼻～波津崎地先）、松浦市鷹島阿翁崎地先の調査では、暖海性ホンダワラ類の生育は確認できなかったが、アラメ、クロメ、ツルアラメなどコンブ類が2～4種と、オオバモク、ノコギリモク、ホンダワラ、マメタワラ、ジョロモク等のホンダワラ類が7～13種みられた。特に松浦市の星鹿西岸と鷹島阿翁崎地先では、アラメやホンダワラ類の生育数も多く、アラメ場やガラモ場が維持されていた。

2. 暖海性ホンダワラ類の種の同定

平成15年度からの調査で確認された種は、キレバモク、フタエモク、マジリモク、ウスバモクの4種と、不明種数種であった。不明種の内、平成18年度に新たに同定された種は、シマウラモク、ツクシモク、コブクロモクの3種であった。他の不明種については、暫定的なタイプ分けを行い、今後も種の同定を検討していく。

* 1 （独）水産総合研究センター西海区水産研究所、 * 2 長崎大学水産学部、

* 3 北海道大学名誉教授、 * 4 前県総合水産試験場長

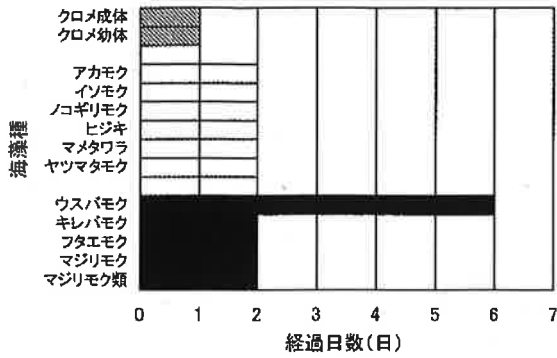


図1 ブダイに投与した海藻の残存日数

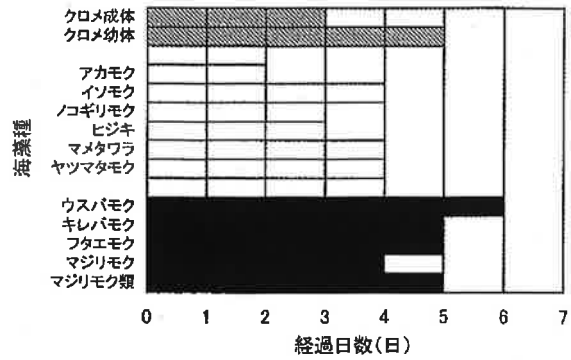


図3 ノトイズズミに投与した海藻の残存日数

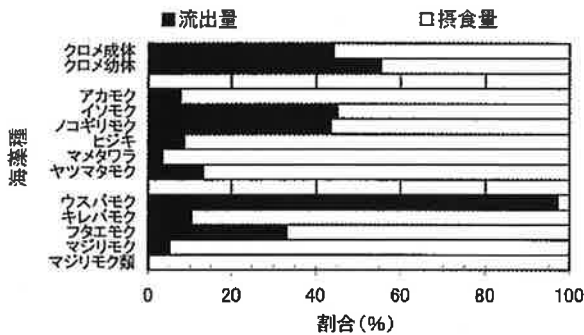


図2 ブダイの海藻に対する摂食量と流出量の割合

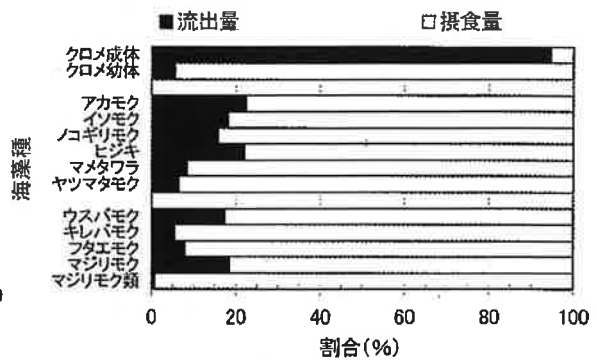


図4 ノトイズズミの海藻に対する摂食量と流出量の割合

3. 暖海性ホンダワラ類数種に対するブダイ、ノトイズズミの摂食状況

ブダイの摂食試験の結果を図1, 2に示す。投与した海藻は、1日後にクロメの成体と幼体、ヒジキがなくなり、2日後にはウスバモクを除く暖海性ホンダワラ類4種と他のホンダワラ5種がなくなった。ウスバモクはその後も残り続け、6日後になくなった。

海藻に対する摂食状況をみると、海藻種によって噛みちぎりにより流出量に差がみられ、流出量が最も多かったのはウスバモクで97%を占めた。次いで、クロメ、イソモク、ノコギリモクでは、およそ50%前後で多かった。このことからブダイは、暖海性ホンダワラの内、ウスバモク以外の種は他のホンダワラ類と大差なく摂食するが、ウスバモクは好まない種と考えられた。

ノトイズズミの摂食試験の結果を図3,4に示す。投与した海藻は、1日後にヒジキがなくなり、2日後にアカモク、3日後にクロメ成体とノコギリモク、4日後にイソモク、マメタワラ、ヤツマタモク、マジリモ

ク、5日後にクロメ幼体、キレバモク、フタエモク、マジリモク類、6日後にウスバモクがなくなった。

海藻に対する摂食状況をみると、流出量の割合はクロメ成体の95%を除くと、他は20%以下で暖海性種と他のホンダワラ類とで同様に摂食された。クロメ成体では、噛みちぎるだけでほとんど摂食しない特徴がみられた。このことから、ノトイズズミは暖海性ホンダワラ類を他の海藻と大差なく摂食し、ブダイのようにほとんど摂食しない種はみられなかった。

まとめ

1) 暖海性ホンダワラ類とアントクメの分布は、昨年と同様で、暖海性ホンダワラ類では、大村湾、有明海、伊万里湾を除く県内各地で、アントクメでは大村湾、有明海、伊万里湾、壱岐、対馬を除く県内各地で各確認された。

2) 平成18年11月では、平戸市志々伎早福地先、松浦市星鹿西岸(津崎鼻～波津崎地先)、松浦市鷹島阿翁崎地先では、暖海性ホンダワラ類の生育は確認されず、アラメ等のコンブ類が2～4種、ホンダワラ

類が7～13種みられ、アラメ場やガラモ場維持されていた。

3) これまで採取した暖海性ホンダワラ類の不明種内、新たにシマウラモク、ツクシモク、コブクロモクが同定された。

4) 水槽内で暖海性ホンダワラ類5種、その他ホンダ

ワラ類6種、クロメ（成体と幼体）をブダイとノトリスズミに投与した結果、ブダイではウスバモクをほとんど摂食しなかったが、ノトリスズミではいずれの種も大差なく摂食した。

（担当：桐山）

4. スルメイカ筋肉に適した低温保管条件の解明

桑原 浩一・今野久仁彦*

安価で取引きされている傷イカ（スルメイカ）の付加価値向上策として、イカをねり製品化する技術を開発した。現在、多くのねり製品業者は原料確保、安定生産、工程の簡略化などを容易に行うため、魚肉冷凍すり身を原料としてねり製品を生産している。イカ肉のねり製品化技術は確立したが、冷凍すり身化技術は開発されていない。

本研究は、ねり製品製造業者による安定したイカねり製品の生産を可能とするため、イカ筋肉タンパク質の冷凍変性機構の解明および冷凍変性防止技術を開発し、イカ冷凍すり身の製法を確立することを目的とした。

イカ筋肉タンパク質の変性機構を解明するためには、様々な条件での実験が必要であり、一条件での変性を解析するには、冷凍変性で数ヶ月、比較的高温下（30℃前後）の熱変性で数時間を要する。冷凍変性機構を解明するには莫大な時間が必要となるため、変性機構は異なるものの、比較的短時間で解析できる熱変性機構を明らかにした上で、これを応用しながら、冷凍変性機構の解明を行おうとした。

方 法

ATPase 活性の測定 吉富および今野の方法¹⁾でスルメイカ外套膜筋肉より筋原繊維タンパク質（Mf）を抽出した。抽出した Mf に、終濃度が 1 mM になるよう Ca あるいは EDTA（0.1 M NaCl 存在下）を添加し、35℃に所定時間保持した。ATPase 活性は、反応液組成を 0.5 M NaCl, 15 mM CaCl₂, 1 mM ATP とし、20℃で30分間反応させ、ATP の分解によって生成された無機リン酸を定量した。¹⁾なお ATPase 活性は、Mf 1 mg が 1 分間に生成した無機リン酸量を比活性値とした。

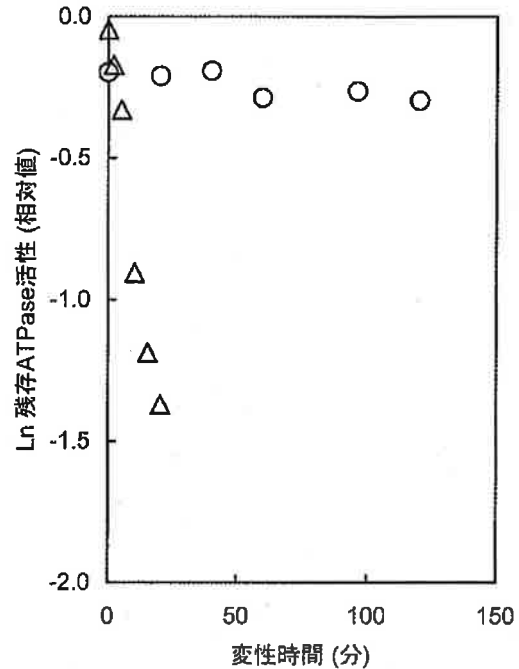


図1 35℃で加熱したスルメイカ肉筋原繊維タンパク質の残存ATPase活性
○, Ca 添加; △, EDTA 添加

結 果

Ca が Mf-ATPase 活性に及ぼす影響 Ca イオン存在下では、35℃ 2 時間の保持でも ATPase 活性の低下はごく僅かであるが、EDTA 存在下では、10分間程度のごく短時間で ATPase の失活が認められた（図1）。Ca イオンはイカ肉 Mf の熱変性に大きな影響を及ぼし、Ca イオンの存在は非存在下に比べて、イカ肉 Mf を非常に安定化させていることが明らかとなった。なお、特許出願を予定しているため、関連部分については記載しない。

文 献

- 1) 吉富, 今野. スルメイカミオシン ATPase の酵素的特性. 日水誌1982; 48: 581-586.

(担当: 桑原)

* 北海道大学大学院 水産科学院

5. アコヤガイ残滓からの有用成分の抽出

大迫 一史・桑原 浩一・斉藤 洋昭*

研究課題「アコヤガイ等二枚貝廃棄物からのセラミドアミノエチルホスホン酸の効率的抽出」において、長崎県のアコヤガイ廃棄物（界面活性剤使用素材）からの餌料製造及び栄養試験、また、小規模実証レベルでのセラミドアミノエチルホスホン酸（以下、CAEPとする）の効率的回収技術の検討を行う。

I. 長崎県のアコヤガイ廃棄物（界面活性剤使用素材）からの餌料製造及び栄養試験

実験方法および結果

図1および2に示したとおり、セラミドを含むエタノール抽出物を取り出した後のアコヤガイ加工残滓を用いて、ミルクカゼインを対照として餌料を調製した。また、このとき、タンパク質量が一定となるようにした。（表1）また、アコヤ残滓餌料とミネラル組成を一致させることが困難であったため、さらに、魚類の場合は必須ミネラルの一部を海水中から摂取することが知られているため、今回はカゼイン餌料に灰分の添加は行なわなかった。

供試カワハギは、魚体重 2.8 ± 1.5 g、全長 50.4 ± 7.8 mmのものを用いた。飼育は、500Lの円筒状の水槽を用い、1L/分の流水中で、平成18年8月9日から9月9日までの30日間行った。20尾ずつのカワハギを3区に分け、アコヤガイ残滓を主原料とした餌料、カゼインを主原料とした餌料、および市販の種苗生産用餌料（ラブ・ラアバ、林兼産業株式会社）を、1水槽あたり10g/Lで毎日与えた。

飼育後のカワハギの結果を、表2および3に示した。アコヤ残滓区およびカゼイン区の両区ともに1ヶ月間の飼育において、大きな成長は見られず（成長率、アコヤ残滓区9.5%、カゼイン区8.9%；増重率、アコヤ

残滓区5.9%、カゼイン区5.0%）、ともに市販餌料（成長率、15.7%；増重率、38.1%）より大きく劣った。また、生残率は餌料の違いに関わらず低かった。この原因については定かではない。

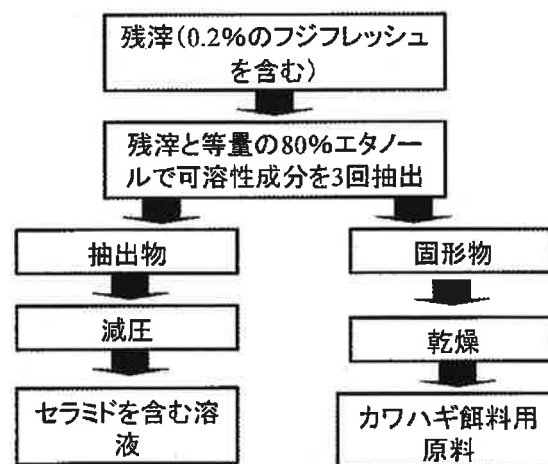


図1 アコヤガイ残滓からのセラミド抽出およびカワハギ用餌料の調製

カワハギ用餌料の調製

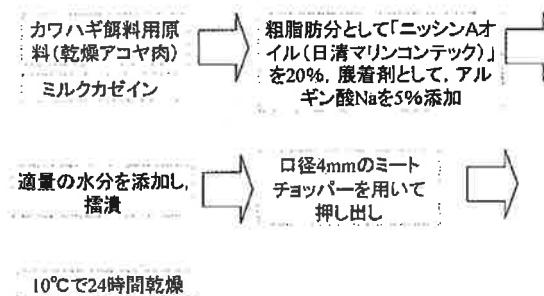


図2 カワハギ用餌料の調製

II. 小規模実証レベルでのセラミドアミノエチルホスホン酸の効率的回収技術の検討

実験方法および結果

加工残滓として排出されたアコヤガイ肉（0.5%のフジフレッシュを含む）33.1, 27.7, および29.3kgを

* (独) 水産総合研究センター 中央水産研究所

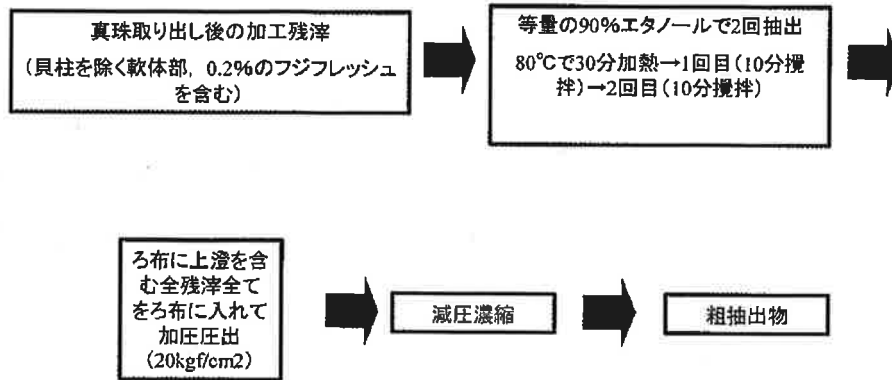


図3 セラミド粗抽出物を得るための処理工程

用いて、CAEPを含む溶媒の抽出を行った。(以下、それぞれ、ケースA、BおよびCとする)

これらの処理により得られた減圧濃縮後の粗抽出物中の粗脂肪含量をFolchらの方法で求め、次いで、オープンカラム(φ3cm×50cm)に充填したシリカゲル(Merk社製, Silica-gel 60, 70-230mesh)で、表4に示した溶媒を順次流して分画した。得られた画分を、40°Cの恒温水浴中でエバポレーターを用いて減圧蒸留し、残留した脂質を精秤して全量に対する割合を求めた。また、得られた脂質クラスはTLCプレート上で目的物質が分画されていることを確認した。

粗抽出物中の収量、粗抽出物中の粗脂肪量およびCAEP量を表5に示した。

もとのアコヤガイ加工残滓量には大差なかったが(27.7-33.1kg)、約60kgのエタノール抽出物を2-3kgにまで減圧濃縮する段階において、若干の濃縮時間の違いが大きく粗抽出物の収量に大きく影響した(0.95-3.78kg)。しかし、得られた粗脂肪量およびCAEP量には大差なかった(粗脂肪量, 31.8-37.9g; CAEP量, 4.7-5.6g)。

いずれのケースも粗脂肪の約20%がセラミド画分であった。

表6, 7に、アコヤガイ抽出物中粗脂肪の脂質クラス別の脂肪酸組成を示した。各画分ともに多量のDHAを含んだ。昨年度のわれわれの研究グループの結果から、アコヤガイセラミドは、DHAを含まないことがわかっているため、CAEP画分に見られたDHAは、極性が近いホスファチジルイノシトール等のセラ

ミド以外のリン脂質由来であると思われる。

表8にケースAで得られたエタノール抽出物中のアコヤガイ抽出物中の遊離アミノ酸組成を示した。大量のタウリンが確認されたが、一般に動物組織中の遊離アミノ酸はエタノールにより非選択的に溶出することが知られており、今回の結果は、アコヤガイ残滓から選択的にタウリンが得られた結果では無く、生体内の遊離アミノ酸の組成比をそのまま反映しているものと思われる。

まとめ

- ① アコヤガイのエタノール処理後の二次残滓は、カワハギの養殖用餌料としてカゼインと同程度であることが明らかになった。ただし、市販の養魚用餌料に比較すると成長の及ぼす効果は大きく劣った。
- ② アコヤガイ残滓から、エタノール処理により残滓の0.02%のCAEPが得られることが明らかになった。
- ③ アコヤガイ残滓からのエタノール抽出物中の粗脂肪には、CAEP以外の画分にも高レベルのDHAが含まれることが明らかになった。
- ④ アコヤガイ残滓からのエタノール抽出物中には、脂溶性栄養成分以外にも高レベルのタウリンが含まれることが明らかになった。

(担当: 大迫)

表1 カワハギ用餌料の成分組成

カワハギ養魚用餌料および乾燥アコヤ肉の一般成分(乾物換算%)				
	粗タンパク質	粗脂肪	炭水化物	灰分
アコヤ残滓餌料	59.9	17.8	12.2	10.2
カゼイン餌料	66.6	19.8	13.5	-
市販餌料*1	54%以上	9%以上	3%以下	17%以下
乾燥アコヤ肉	78.3	7.1	8.7	6.0

*1, メーカーの公表値

表2 アコヤガイ残滓餌料がカワハギの成長に及ぼす影響

		実験開始時	10日後	30日後
全長 (mm)				
アコヤ残滓区	(n=20)	50.7 ± 7.6	(n=20) 50.4 ± 8.7	(n=12) 55.5 ± 7.4
カゼイン区	(n=20)	51.1 ± 7.2	(n=18) 50.8 ± 6.9	(n=9) 55.7 ± 3.7
市販餌料区	(n=20)	49.3 ± 8.4	(n=19) 50.4 ± 8.1	(n=10) 57.0 ± 10.2
魚体重 (g)				
アコヤ残滓区		2.9 ± 1.7	2.8 ± 1.6	3.1 ± 2.0
カゼイン区		2.9 ± 1.3	2.4 ± 1.1	3.0 ± 0.8
市販餌料区		2.6 ± 1.5	2.6 ± 1.6	4.2 ± 3.0

*1, 結果はmean±S. D.で示した。

表3 アコヤガイ残滓餌料がカワハギの成長率, 増重率および生残率に及ぼす影響

	実験開始時	10日後	30日後
成長率 (%)			
アコヤ残滓区	0.0	-0.6	9.5
カゼイン区	0.0	-0.5	8.9
市販餌料区	0.0	2.3	15.7
増重率 (%)			
アコヤ残滓区	0.0	-3.4	5.9
カゼイン区	0.0	-16.2	5.0
市販餌料区	0.0	1.2	38.1
生残率 (%)			
アコヤ残滓区	100.0	100.0	60.0
カゼイン区	100.0	90.0	45.0
市販餌料区	100.0	95.0	50.0

*1, 成長率および増重率は, 実験開始時から増加した割合を百分率で示した。

*2, 生残率は, 実験開始時に対する残存尾数を百分率で示した。

表4 粗脂肪の分画に用いた抽出溶媒

		Solvent	Ratio (vol/vol)	Volume (ml)	Lipid class
Fraction	1	Dichloro-methane : Methanol	= 1 : 1	400	NL, FFA, PE
	2	Dichloro-methane : Methanol	= 1 : 5	300	CAEP
	3	Dichloro-methane : Methanol	= 1 : 20	315	PC

NL, neutral lipids; FFA, free fatty acids; PE, phosphatidylethanolamine; CAEP, ceramide amide ethyl phosphonate; PC, phosphatidylcholine

表5 アコヤガイ残滓からのエタノール抽出物回収試験

	ケースA	ケースB	ケースC
加工残滓量 (kg)	33.1	27.7	29.3
減圧濃縮後の粗抽出物量 (kg)	3.78	0.95	2.4
(加工残滓から(%))	11.42	3.43	8.19
粗脂肪量 (g)	37.9	31.8	32.0
(加工残滓から(%))	0.11	0.11	0.11
セラミド量 (g)	5.6	4.7	4.7
(加工残滓から(%))	0.02	0.02	0.02

表6 アコヤガイ抽出物中の粗脂肪の脂質クラス (%)

	ケースA	ケースB	ケースC
NL, FFA, PE	63.4	63.2	72.9
CAEP	21.2	14.7	14.7
PC	15.4	22.1	12.4

表7 アコヤガイ抽出物中粗脂肪の脂質クラス別脂肪酸組成 (mg/100g 粗脂肪)*1

	NL, FFA, PE 画分		CAEP画分		PC画分	
Total saturated	21853	± 5046	4324	± 303	5628	± 1442
C12:0	1615	± 494	0	± 0	0	± 0
C14:0	3066	± 412	141	± 26	200	± 73
C15:0	417	± 109	65	± 16	100	± 37
C16:0	11840	± 3711	3205	± 458	4517	± 1238
C17:0	968	± 250	229	± 1	326	± 43
C18:0	3948	± 1059	685	± 198	484	± 50
C20:0	0	± 0	0	± 0	0	± 0
Total monoenoic	11153	± 84	1447	± 328	1159	± 372
C16:1n7	2348	± 266	90	± 21	148	± 59
C18:1n9	1919	± 43	212	± 15	294	± 73
C18:1n7	2673	± 93	265	± 17	367	± 96
C20:1n9	1126	± 4	356	± 192	84	± 30
C20:1n7	449	± 16	46	± 20	33	± 7
C22:1n11	1464	± 104	190	± 99	64	± 29
C22:1n9	1173	± 217	288	± 70	169	± 78
C24:1n9	0	± 0	0	± 0	0	± 0
Total polyenoic	30145	± 304	8320	± 276	10017	± 2956
n-6 series	6661	± 345	1387	± 130	1400	± 365
C18:2n6	1281	± 46	145	± 32	225	± 81
C20:4n6	4311	± 450	886	± 180	796	± 186
C22:4n6	495	± 40	100	± 9	92	± 30
C22:5n6	574	± 20	256	± 28	288	± 68
n-3 series	23484	± 41	6933	± 406	8617	± 2591
C18:3n3	1115	± 27	99	± 32	179	± 80
C18:4n3	1350	± 101	127	± 59	246	± 101
C20:4n3	467	± 236	30	± 1	43	± 14
C20:5n3	6288	± 155	1333	± 78	1454	± 411
C22:5n3	837	± 10	187	± 14	221	± 73
C22:6n3	13428	± 78	5157	± 379	6474	± 1912
Total	63151	± 1	14092	± 2	16803	± 4770

* 1, 結果はmean±S. D.で示した。

表8 アコヤガイ抽出物中の遊離アミノ酸組成

遊離アミノ酸	抽出物中 (mg/100g)
Taurine	2,178
Aspartic acid	93
Threonine	24
Serine	11
Glutamic acid	309
Proline	46
Glycine	270
Alanine	169
Citruline	0
Valine	35
Cystine	24
Methionine	0
Isoleucine	26
Leucine	26
Tyrosine	18
Phenylalanine	17
Ornithine	0
Histidine	16
Lysine	15
Ammonia	8.5
Anserine	0
Arginine	0

6. 養殖ブリの品質向上技術開発試験

岡本 昭・新井 博文・橘 勝康（長崎大学水産学部）

長崎県における平成18年のブリ (*Seriola quinqueradiata*) 養殖は、平成6年と比較して、経営体数について52%、生産量は69%に減少しており、持続的、安定的な養殖業の育成が求められている。

養殖ブリの品質について、ブリ類は血合筋の占める割合が比較的多いため、血合筋が褐変した場合、生食用食材としての市場価値が下がる要素となり、養殖カンパチ等と比較しても血合筋褐変が早いことが関係業者によって指摘されている。そのため養殖ブリ血合筋の褐変抑制技術の確立が期待されている。

このため養殖ブリ血合肉に対する血合肉の色変わりを抑制するメカニズムを解明し、その抑制のためにビタミンC及びビタミンEの餌料添加効果を把握することを目的として本研究を実施した。なお、本試験は総合水産試験場の共同研究予算の他、長崎県先端技術開発協議会の研究開発助成金及び科学技術振興課の連携融合事業を利用したため報告書においては実験結果および内容が一部重複する。

実験は次の4系に分かれる。

- (1) 養殖ブリ血合筋の褐変に対するビタミンCおよびビタミンEの投与効果
 - (2) 養殖ブリ血合筋の褐変に対するビタミンEの投与効果
 - (3) 養殖ブリ血合筋の褐変に対するカテキンの投与効果
 - (4) 冷凍した養殖ブリ血合筋の褐変に対するビタミンCおよびビタミンEの投与効果
- (1) 養殖ブリ血合筋の褐色変化に対するビタミンCおよびビタミンEの投与効果

方 法

試料魚 試料魚として、養殖ブリ (*Seriola quinqueradiata*) 平均体重1.69±0.16kg、平均全長54.9±1.9cm) を用

いた。対照群餌料としてEP粉末とマアジミンチを重量比1:1で混合したモイストペレットを用いた。ビタミン投与群餌料は対照群餌料にビタミンCおよびビタミンEをそれぞれ1%添加したものとした。これらの餌料を試料魚体重1kgに対して1日23g投与し、各群5尾を7~12日間、飼育した。

採血および採肉 即殺後、尾動静脈より約10ml採血し、遠心分離後、血漿を-40℃で保存した。普通筋および血合筋を約0.5g秤取して-40℃で保存した。また、厚さ約1cmの刺身に加工して4℃で冷蔵保存し、一定時間ごとに感覚色度およびミオグロビンのメト化を測定した。

ビタミンEの定量 ビタミンEの定量はHPLC-UV法で行った¹⁾。標準物質として α -トコフェロールを用いた。同族体の総量をビタミンE量とした。

1) 血漿ビタミンEの定量 血漿0.1mlに6%ピロガロール/エタノール1ml、エタノール1mlを順に加えて攪拌した。ここに60% KOH 0.2mlを加えて攪拌し、70℃で30分間けん化を行った。10分間氷冷後、25 mM EDTA-4Na 4.5ml、酢酸エチル/n-ヘキサン (1:9, ビタミン/ビタミン) 3mlを順に加えて攪拌した。これを遠心分離し、上層をスピッツ管に移した。窒素ガスによって有機溶媒を留去し、冷イソプロパノール0.2mlを加えて再溶解した。

2) 血合筋ビタミンE含量 血合筋約0.2gに25mM EDTA-4Na 0.1ml、6%ピロガロール/エタノール1ml、エタノール1mlを順に加え、ホモジナイズした。ここに60% KOH 0.2mlを加えて攪拌し、70℃で30分間けん化を行った。以下前述に従った。

3) HPLC分析 逆相分配カラム (ODS, 4.6×150 mm, 40℃) を用いて100%アセトニトリルを移動相として流速1.0ml/分で試料を溶出させた。290 nmで検出されるピーク面積から血漿中ビタミンE濃度を算出した。

感覚色度 色彩色差計（ミノルタ社）を用いて試料の感覚色度 a*値, b*値, および L*値を経時的に測定した。

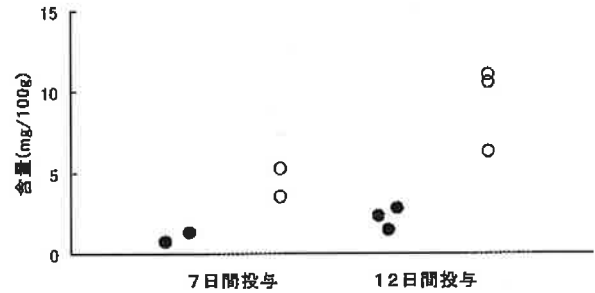
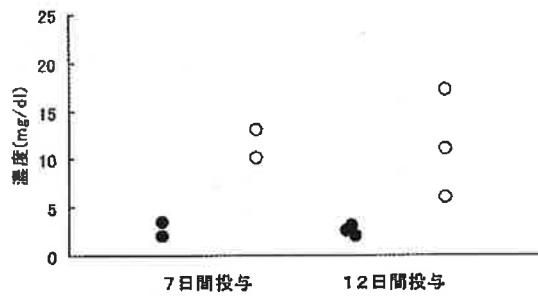
ミオグロビンのメト化 ミオグロビンのメト化は既報に準じて測定した⁶⁾。

結 果

ビタミンEの吸収 血漿および血合筋中のビタミンE量を図1に示した。血漿では、7日間飼育の対照群で平均2.7mg/dl, ビタミン投与群で平均11.6mg/dlであった。12日間飼育の対照群では平均2.4mg/dl, ビタミン投与群では平均10.9mg/dlであり、どちらの飼育期間においてもビタミン投与群は対照群よりも約4倍高かった。血合筋では、7日間飼育の対照群で平均1.0mg/100g, ビタミン投与群で平均4.3mg/100g

であった。12日間飼育の対照群は平均2.2mg/100g, ビタミン投与群は平均9.3mg/100gであり、どちらの飼育期間においてもビタミン投与群は対照群よりも約4倍高かった。

色調の変化 12日間投与した養殖ブリの刺身冷蔵保存における普通筋および血合筋の感覚色度の経時変化をそれぞれ図2および図3に示した。普通筋では、a*値, b*値, および L*値において保存96時間目まで変化がなく、両群間に差が認められなかった。血合筋では、対照群の a*値は保存96時間目まで緩やかな減少を示したが、ビタミン投与群では保存96時間目まではほぼ一定を保った。肉眼による観察でも、12日間投与での刺身保存96時間目の対照群では血合筋の褐変が見られたが、ビタミン投与群では鮮やかな赤を保っていた。b*



血漿

血合筋

図1 養殖ブリの血漿及び血合筋中のビタミンE (●; 対照群 ○; ビタミン投与群)

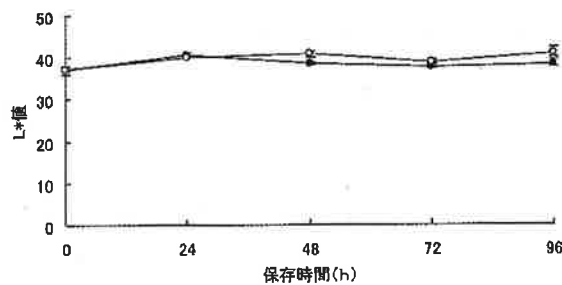
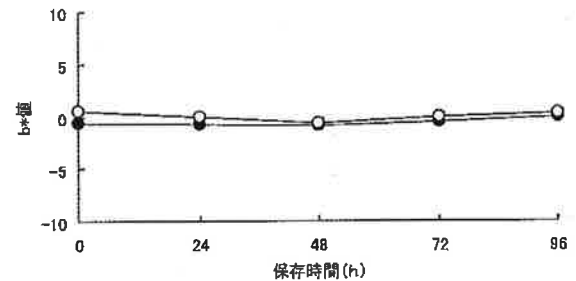
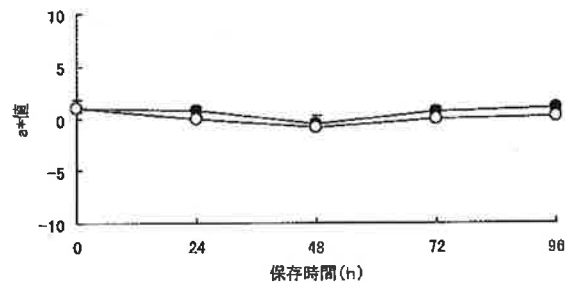


図2 冷蔵保存時における養殖ブリ普通筋の感覚色度の経時変化 (12日間飼育) (●; 対照群 ○; ビタミン投与群)

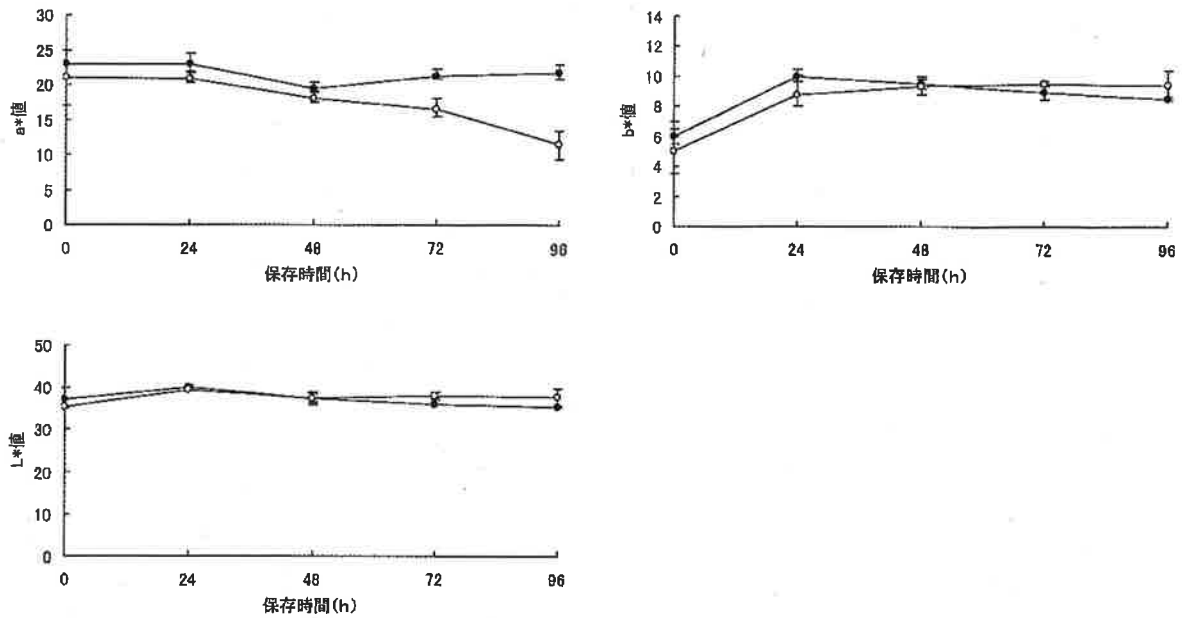


図3 冷蔵保存時における養殖ブリ血合筋の感覚色度の経時変化(12日間飼育)(●;対照群 ○;ビタミン投与群)

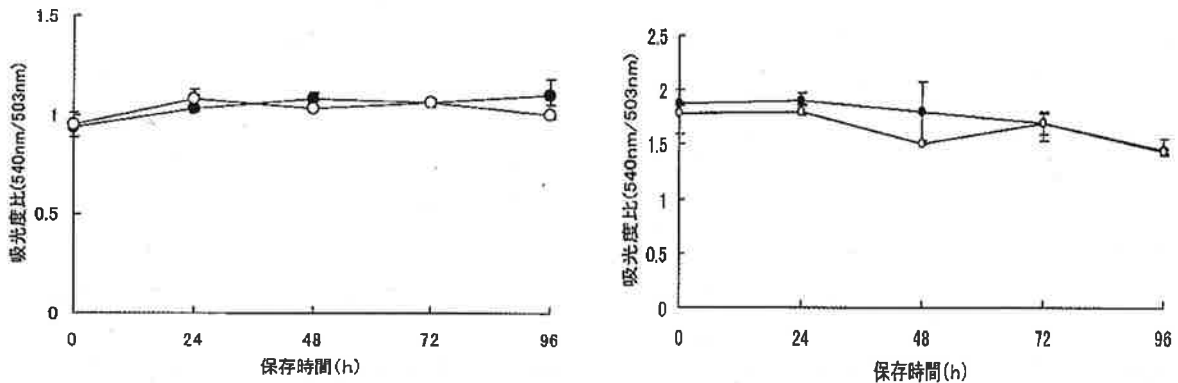


図4 冷蔵保存時における養殖ブリ血合筋のメト化の経時変化(12日間飼育)(左;普通筋 右;血合筋)(●;対照群 ○;ビタミン投与群)

値およびL*値については両群間に差が認められなかった。

ミオグロビンのメト化の変化 12日間投与した養殖ブリの刺身冷蔵保存における普通筋および血合筋のメト化の経時変化を図4に示した。普通筋では、対照群、ビタミン投与群ともに保存96時間目まで変化がなく、両群間に差が認められなかった。一方、血合筋では、両群とも保存96時間目まで緩やかに減少(メト化の亢進)したが、保存0時間から48時間目まではビタミン投与群が対照群よりも高い傾向にあった。

(2) 養殖ブリ血合筋の褐変に対するビタミンEの投与効果

方法

飼育条件、測定方法は前述したとおり。

結果

保存による血合筋の色調変化はa*値が対照群では48時間目以降減少したが、ビタミン投与群では72時間目以降減少した。

ミオグロビンのメト化は対照群では48時間目以降減少したが、ビタミン投与群では72時間目までほぼ一定であった。

ビタミンE単独であってもメト化を抑制して、褐色変化を抑制することができたが、C、Eをともに添加した方が抑制の程度は強いことが推定された。

(3) 養殖ブリ血合筋の褐変に対するカテキンの投与効果

果よる血合筋の色調変化

養殖ブリ（全長 62.6 ± 2.0 cm, 体重 2.4 ± 0.3 kg）12尾を実験に供した。基本的な飼料にカテキンを1%添加した飼料を1日当たり魚体重1kgに対して25g, 3日間投与した。色調およびミオグロビンのメト化について、群間で差が認められなかった。

これは投与期間が短かったこと、カテキン1%含有飼料を魚が完全に食べなかった可能性もある。今後、実験条件も踏まえた検討が必要である。

(4) 冷凍した養殖ブリ血合筋の褐変に対するビタミンCおよびビタミンEの投与効果

目的

冷凍保存した養殖ブリに対するビタミンCおよびビタミンEの効果について検討した。

方法

12日間投与した養殖ブリを刺殺後、フィレーにし、長崎県漁業協同組合連合会加工課の冷凍機を用い、 -60°C で2時間凍結後、 -18°C の冷凍庫で保管した。40日後に解凍し経時的に感覚色度を測定した。

結果

感覚色度の結果を図5に示す。a*値では24時間以降に明瞭な差がみられ、対照群はビタミン投与群に比較して低下した。b*値では両群間に差はなかった。L*値はビタミン投与群は上昇し6時間後には対照群と明瞭な色調の差が肉眼で観察された。両群ともに6時間以降、減少しなかった。

ビタミンCおよびビタミンEを養殖ブリに短期間大量投与した結果、ビタミン添加による肉色の抑制効果は認められた。しかし、凍結、解凍した試料は生とは異なりビタミン投与群であっても、肉眼による観察では商品価値に影響を与えるような顕著な差は認められなかった。冷凍ブリのフィレーの商品価値が向上するための色調の維持については再検討が必要である。

文献

- 1) 日本ビタミン学会 編, 「ビタミン分析法」化学同人 (1989), pp. 27-35.
- 2) 小泉千秋 編, 「魚の低温貯蔵と品質評価法」恒星社厚生閣 (1986), pp. 60-65.

(担当: 岡本)

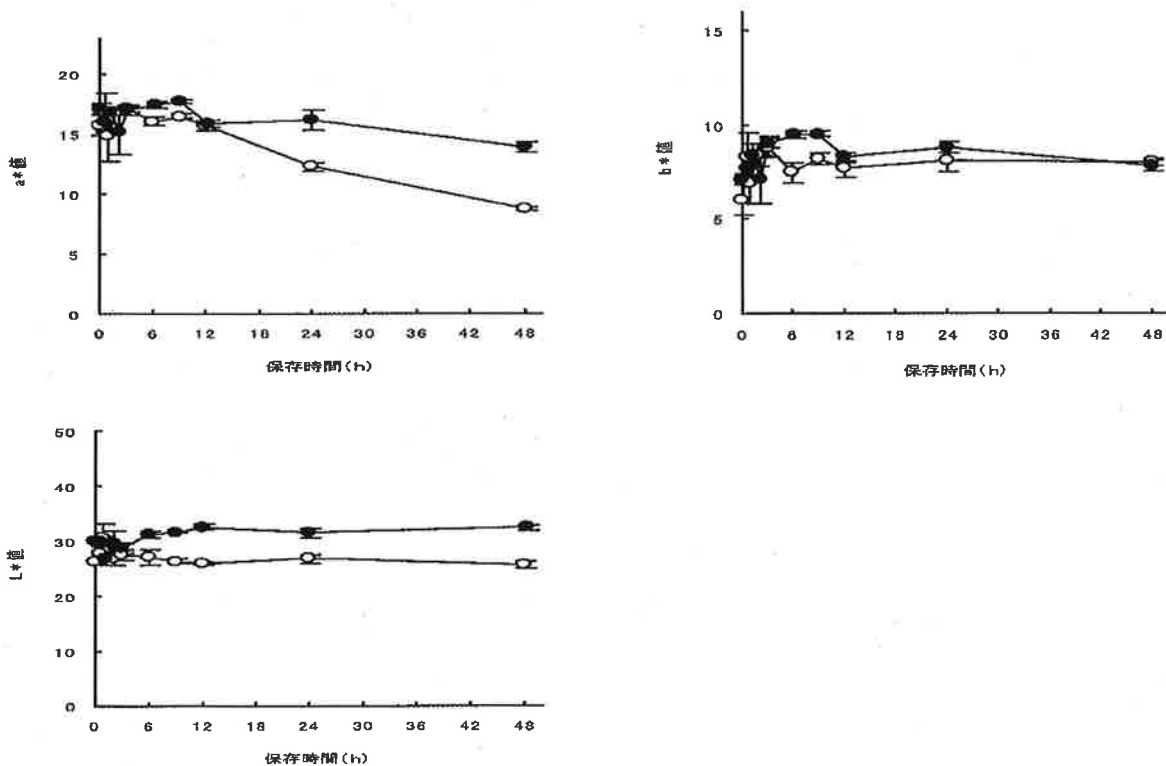


図5 40日冷凍後、解凍冷蔵保存した養殖ブリ血合筋の感覚色度の経時変化 (12日間飼育) (●; 対照群 ○; ビタミン投与群)

7. 干潟域の貧酸素化解消試験

平野 慶二・日向野純也*1

諫早湾における養殖アサリの夏季大量へい死の原因は、シャットネラ赤潮に伴って生じた高水温の無酸素が原因であることが判明している。この無酸素が生じる条件も解明されつつあり、いつ干潟域が貧酸素化（無酸素化も含む）するのかも、3～5日前には予想できる可能性が高い。

干潟域の貧酸素化予測の精度の向上と、漁業者が漁業者自らが実施できる貧酸素解消手法の開発を目指して試験を実施したので報告する。解消手法は、①沖から接近する貧酸素水塊を遮断するための囲いシートの設営、②囲い内へのエア供給からなる。

I. 貧酸素化解消試験

方 法

シートの設営は、諫早市小長井町釜地区干潟のアサリ養殖場で9月2日から3日にかけて実施した。設営施設の概念図は図1のとおり。

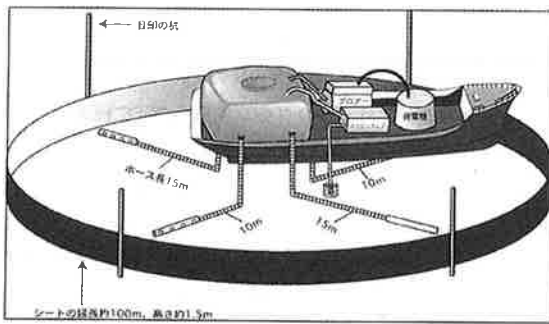


図1 貧酸素化解消試験施設の概念図

9月3日に小長井漁港内で曝気海水導入装置による曝気効率の試験を行った。試験の概念図は図2のとおり。

結 果

ブルーシート簡易膜の試験は簡易膜を展開した直後に比重の異なる水塊が接近したため、ブルーシートの形状が大きく乱れ、海底面の遮断がしっかり出来なかつ

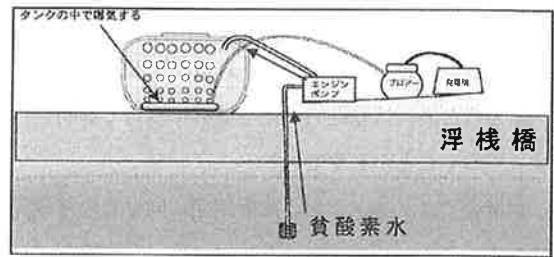


図2 曝気試験の概念図

た部分があった。

曝気効率の試験では、曝気前の海水が貧酸素化している場合、曝気効率は非常によく、曝気前にDO(%)で12.5%の海水が、ブローアのみでの曝気で56.2%に上昇した。タンク内に海水を入れる際に、少し落下させるようにしただけでも(ブローア曝気なし)66.2%にまで上昇し、落下方式とブローア曝気を組み合わせると73.2%まで上昇した。

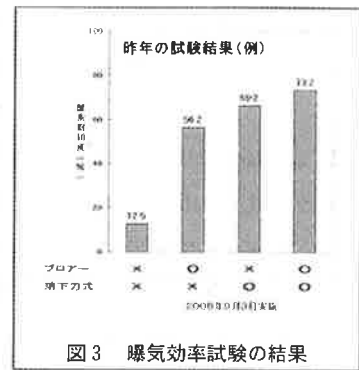


図3 曝気効率試験の結果

ま と め

1) 9月3日に小長井漁港内で曝気海水導入装置による曝気効率の試験を行った。

曝気前の海水が貧酸素化している場合、曝気効率は非常によく、曝気前にDO(%)で12.5%の海水が、ブローアのみでの曝気で56.2%に上昇した。タンク内に海水を入れる際に、少し落下させるようにしただけでも(ブローア曝気なし)66.2%にまで上昇し、落下方式とブローア曝気を組み合わせると73.2%まで上昇した。

(担当：平野)

*1 独立行政法人 水産総合研究センター 養殖研究所

8. 細菌性疾病に対する免疫機構の基礎研究

高見 生雄・金井 欣也

予防策がなく、被害的にも多い疾病については、ワクチン等の開発が必要と考えられる。そして、ワクチン開発のためには基礎的な免疫機構について解明を行っておくことが必要である。

本課題では、ワクチンの技術開発に向けての基礎資料とするために、ブリのノカルジア症、類結節症とヒラメのレンサ球菌症、エドワジエラ症を対象疾病として免疫機構の基礎的な把握を行った。

1. ブリのノカルジア症試作ワクチンの有効性試験

ノカルジア症の原因菌 *Nocardia seriolae* のホルマリン死菌 (FKC) および菌体外産物 (ECP) を用いて、浸漬および注射免疫の感染防御効果について検討した。

方法

N. seriolae NUF27を BHI ブイヨン、27°Cで4日間振とう培養し、0.5%ホルマリンで2日間不活化した (FKC)。また、NUF27を BHI 寒天でセロファン培養後、PBSで培養菌を集め、遠心上清を得た (菌体外産物)。

実験1 FKCをエタノール・エーテル1:1混液で2回処理して脂質を除去したものを脂質除去FKCとし、FKCおよび脂質除去FKCで浸漬免疫した。免疫処理の1ヶ月半後にNUF27株で浸漬攻撃した。

実験2 試験区として、FKC浸漬区、フロイントインコンプリートアジュバント (FIA) 添加FKCおよびFIA添加ECPの注射区を設定した。対照区はFIA・PBS混液注射とした。いずれの試験区も、免疫処理の1ヶ月半後にNUF27株で浸漬攻撃した。

結果

図1に実験1における攻撃後の生残率の推移を示した。いずれの試験区も対照区 (無処理区) と攻撃後の

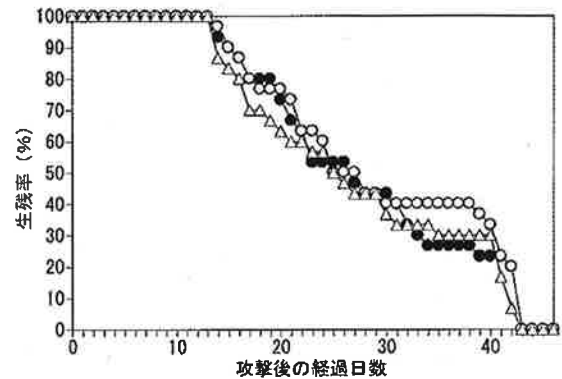


図1 ノカルジア症試作ワクチン攻撃後の死亡経過-1. ○FKC浸漬, △脂質除去FKC浸漬, ●対照

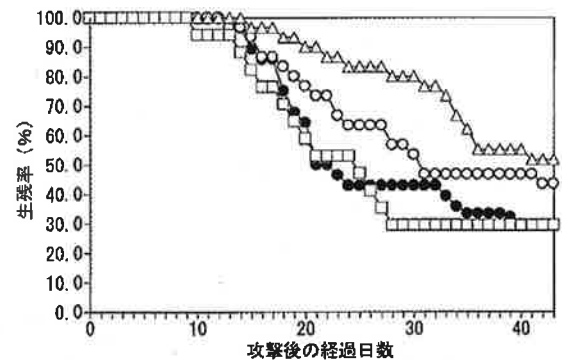


図2 ノカルジア症試作ワクチン攻撃後の死亡経過-2. ○FKC浸漬, △FIA・FKC, □FIA・EPC, ●対照

死亡経過に差がなく、免疫効果は認められなかった。図2に実験2の結果を示した。生残率が最も高かったFIA添加FKC区でさえ、ワクチンの有効率は31%と低かった。浸漬区は対照区より生残率が高かったが、有効率は20%程度であった。EPC区は対照区と同様の死亡経過を示した。

2. ヒラメのレンサ球菌症に関する研究

Streptococcus parauberis (S.p.) を原因とするレンサ球菌症が増加傾向にある。そこで基礎研究としてS.p.の病原性を検討した。

* 1 長崎大学

1) 病原性試験

方 法

I型およびII型各4菌株から作製した攻撃菌液を平均体重83gのヒラメに各菌株10尾ずつ筋肉接種し(106 CFU/100g魚体重)、水温25.5℃~27.2℃で3週間無給餌流水飼育した。

結 果

II型菌株接種魚(0~30%)に比べてI型菌株接種魚(20~60%)の死亡率が高い傾向がみられた。しかし、*S. iniae*や*E. tarda*と比べると、*S.p.*の病原性はそれほど強いものではないと考えられた(表1)。

表1 *S. parauberis*の病原性試験

菌株	血清型	死亡率 (%)
NUF1003	I型	60
NUF1006	I型	30
KRS02083	I型	30
KRS05002	I型	20
30752	II型	10
53281	II型	30
NUF1032	II型	0
KRS02109	II型	30
対照区(PBS)	—	0

ヒラメ(平均体重83g)に筋肉接種(10⁶/100g)し、水温26~27℃で3週間観察した。

ま と め

- 1) *N. seriolae* FKCを用いた浸漬ワクチンの免疫効果を調べた結果、対照区に比べると生残率が高くなったが、ワクチンの有効率は20%と低かった。
- 2) *N. seriolae*の菌体外産物注射ワクチンの有効性を調べたが、免疫効果は低かった。
- 3) ヒラメに対する*S. parauberis*の病原性を検討した結果、II型よりI型菌の病原性が強かった。

(担当：高見)

9. マハタのウイルス性神経壊死症 (VNN) の防除対策

高見 生雄 ・横山 文彦
吉水 守^{*1} ・西澤 豊彦^{*1}

マハタの VNN は、種苗期のみならず育成期にも発生し多大な被害をもたらす疾病であるが、育成期の有効な対策は確立されていない。

対策としてはワクチンが考えられるが、注射ワクチンではワクチン接種を行える魚体の大きさが限定されるため、種苗時期の魚体へのワクチン投与には経口ワクチンが有利である。このため平成16年度から NNV

の遺伝子を酵母に発現させた経口ワクチンの開発に取り組んできたが、有効なワクチンは開発できなかった。このため、平成18年度は、新たな手法によるワクチンの検討を行った。本研究の結果の一部については、特許出願予定であるため、詳細は平成19年度事業報告に平成18年度分と併せて記載する。

(担当：高見)

* 1 北海道大学

10. トラフグのヤセ病防除対策

高見 生雄・横山 文彦・柳田 哲矢*¹

トラフグのヤセ病は、平成8年頃から西日本各地で見られ始め、治療方法が無く死亡率が高いため大きな被害をもたらす疾病であり、粘液胞子虫 (*Enteromyxium leei* または *Leptotheca fugu*) が腸管へ寄生して腸管組織を著しく崩壊し、脱水症状を呈することで「痩せる」と考えられている。また、一旦、トラフグ養殖漁場に発生すると毎年発生するとされており、低水温期には一時的に症状が回復するが、昨年度までの研究で感染率は必ずしも低下しないことがわかった。粘液胞子虫が漁場内でどのように分布しており、どのようにして伝播していくのかを知ることは防疫対策上重要なことである。今年度は、種苗導入から出荷までの寄生状況の変動を明らかにする目的で、追跡調査対象経営体・生簀を設定した。

方 法

調査対象経営体の選定条件として、平成16年度と平成17年度に綿棒を用いた供試魚を殺さないPCR検出法によって *E. leei* と *L. fugu* の寄生の有無を調べた、延べ70漁場120経営体の中から、両方の粘液胞子虫が確認された経営体で、長期の追跡調査に協力してもらえる1経営体を選定した。この経営体が所有する1年魚の中から種苗の由来が異なる4生簀を、2年魚の中から2生簀を対象に粘液胞子虫の寄生の有無を供試魚を殺さないPCR検出法で調べた。なお、1生簀からのサンプリングは20尾ずつとし、サンプリングは平成

18年11月7日に実施した。

表1 調査対象イカダの粘液胞子虫の検出状況

生簀番号	魚 齢	粘液胞子虫の検出率 (%)	
		<i>E. leei</i>	<i>L. fugu</i>
1-1	1年魚	45.0	10.0
1-2	1年魚	65.0	0.0
1-3	1年魚	15.0	0.0
1-4	1年魚	35.0	10.0
2-1	2年魚	80.0	50.0
2-2	2年魚	75.0	40.0

結 果

供試魚を殺さないPCR検出法によって検査した粘液胞子虫の各生簀ごとの寄生率を表1にまとめた。*E. leei* は、全ての生簀から検出され、1年魚よりも2年魚の検出率が高かった。*L. fugu* は、1年魚では半分の2生簀から検出されたが検出率は低かった。しかし、2年魚では2生簀の両方から検出され、検出率も高くなっていた。

ま と め

- 1) 種苗導入から出荷までの *E. leei*, *L. fugu* の寄生状況を把握する目的で、追跡調査対象経営体・生簀を設定した。
- 2) 調査対象に設定した生簀の *E. leei*, *L. fugu* の検出率を調べた結果、両方の粘液胞子虫の寄生が確認され、2年魚では1年魚よりも高い検出率であった。

(担当：高見)

* 1 東京大学

11. トラフグの口白症防除対策

高見 生雄・吉水 守^{*1}・西澤 豊彦^{*1}

トラフグの「口白症」特徴は、口吻部に潰瘍患部が形成され、次いで病魚が他の個体に攻撃的な行動を示すようになり、やがて死に至る。本症の名称は病魚の概観的特徴（口吻部の潰瘍患部が軽症の場合には水中で白く見えること）にちなんで漁業者が用いた呼称に由来する。本症は、1981年頃から西日本各地で発生が知られるようになり、1985年には本症による被害量が総生産量の4.2%と高い被害率を示した。その後、被害率は減少傾向であるが、種苗期に発生した場合には全滅することもあるため、養殖トラフグの安定的生産を左右する大きな要因となっている。

本研究は、平成16年度から防疫対策の第一歩として確定診断法の開発を目指して実施した。なお、内容の詳細については、魚病研究第42巻1号に記載されたので参考にされたい。

1. トラフグ以外の魚種の感受性

トラフグ以外の魚種が感染源となる可能性を検討するために、クサフグ、ヒガンフグ、ハコフグ、イシダイ、マダイおよびメジナの本症感受性について検討した結果、フグ類3魚種のみならずサイズに関係なくブリも発症・死亡した。

2. 診断方法の開発

本症の診断法の確立を目的に、本症感染耐過トラフグの血清を用い、本症トラフグ組織より本症病原体

あるいは関連タンパク質の検出を試みた結果、本症感染耐過トラフグの血清を用いた免疫染色において、分子量100~120kで、健常魚の血清を用いた免疫染色では検出されないタンパク質（口白症関連タンパク質と仮称、以降 KAPs; kuchijirosho associated proteins と略記する）が供試した全ての個体の脳組織からのみ検出された。KAPs は脳組織磨砕液超遠心分離分画の上清分画から検出されたが、SDS-PAGE による染色性から推察される KAPs の脳組織内存在量は 1-10 mg/g tissue 以下と、発症魚の患部組織中に存在する感染体の量としては極めて少ないこと、また、検体間で KAPs の分子量に差違差異が認められること、さらに、KAPs の分子量が一般的なウイルスの構造タンパク質としては大きすぎることから、KAPs は口白症病原体ではなく、口白症関連タンパク質であると考えられると考えられた。KAPs は感染耐過魚の血清を用いた免疫染色で健常魚の脳組織からも検出され、さらに健常魚と発症魚の脳組織中における KAPs 量に大きな差異は認められなかった。これらのことから、KAPs は魚体内で新たに合成されたタンパク質ではなく、脳組織内に元々存在するタンパク質の抗原性が口白症病原体の何らかの作用により部分的に変化することによって、KAPs として新たに抗原認識されるようになったものではないかと考えられた。

(担当：高見)

* 1 北海道大学

12. 環境負荷低減飼料開発に関する研究

宮原 治郎・佐藤 秀一*

海面養殖から環境への汚染負荷を軽減していくため、前年度に引き続き東京海洋大学と共同で、ブリおよびマダイを対象に環境負荷低減飼料開発に関する研究を実施した。

なお、内容の詳細については平成18年度養殖水産物ブランド・ニッポン推進対策委託事業報告書（養殖漁場環境保全推進委託事業）を参照されたい。

I. ブリ当歳魚およびマダイ 2 歳魚を用いた植物性原料など配合飼料におけるリンの消化吸収率を高める添加物試験

ブリ当歳魚およびマダイ 2 歳魚を用い、配合飼料の主体である魚粉は魚が消化吸収できないリン化合物が多いため、リン含量が少ない植物性原料にできるだけ代替した飼料や新たな魚粉源として発酵魚粉を用いた飼料にリンの消化吸収率を高める目的でクエン酸を添加した飼料などのリンの消化吸収率および有効リン含量を測定した。

方 法

供 試 魚 ブリ当歳魚は、平成18年5月下旬から6月上旬に天然種苗を採捕したものをを用いた。容量1 t の自然採糞装置に23尾（平均体重225 g）收容し、試験飼料で3日間予備飼育して実験に供した。

マダイ 2 歳魚は、平成16年に長崎市水産センターで種苗生産されたものをを用いた。容量1 t の自然採糞装置に10尾（平均体重729 g）收容し、試験飼料で3日間予備飼育して実験に供した。

試験飼料 ブリ用試験飼料組成を表1に示した。これまでの試験結果に基づき調製した魚粉を基本とする対照飼料（対照区）、対照飼料にリン添加が必要かを検討するため第一リン酸カルシウムを1%添加した試験飼料（リン酸区）、リン含量の低い大豆油粕等で魚粉の約30%を代替し、飼料中のリン含量を約0.3%削減してクエン酸を1%添加した試験飼料（代替クエン酸

区）、代替クエン酸飼料の魚粉を発酵魚粉（県内A社製）に代替し、サプリメントオイルを除いた試験飼料（発酵魚粉区）とした。

マダイ用試験飼料は、ブリ用試験飼料からサプリメントオイルを除いたものとした。

なお、ブリおよびマダイ用試験飼料には、魚が消化吸収できない内部指標物質として50%酸化クロムを1%添加した。

表1 ブリ用試験飼料組成

	対照区	リン酸区	代替クエン酸区	発酵魚粉区
アンチビーム	49	49	35	0
発酵魚粉	0	0	0	35
大豆油粕	5	5	10.5	10.5
コーンデンプン	5	5	10.5	10.5
フェリメール	0	0	4	4
小麦粉	19	18	16	16
死オナ粉	5	5	5	5
魚油	10	10	10	10
大豆油	4	4	5	5
ミネラルミックス(リンフリー)	1	1	1	1
第一リン酸カルシウム	0	1	0	0
ヒドロキシリン酸ナトリウム	2	2	2	2
クエン酸	0	0	1	1
サプリメントオイル(魚油)	5	5	5	0
合計	105	105	105	100

給 餌 給餌は、1日2回（午前、午後）とし、ほぼ飽食量を与えた。

採 糞 午後の給餌30分後より翌朝まで採糞を行なった。その操作を分析に必要な量の糞が採集できるまで継続した。採集した糞は、遠心分離機で海水を取り除いた後、凍結乾燥を行い、分析に供した。

結 果

ブリ当歳魚およびマダイ 2 歳魚における試験飼料のリンの消化吸収率などの結果を表2に示した。

ブリにおけるリンの消化吸収率は、対照区が45.3%に対し、代替クエン酸区が47.3%と若干高く、リン酸区が32.3%と少し低く、発酵魚粉区が19.1%とかなり低かった。有効リン含量は、対照区が0.59%に対し、リン酸区と代替クエン酸区が0.49%で僅かながら低く、発酵魚粉区が0.34%で低い値を示した。

マダイにおけるリンの消化吸収率は、対照区が50.5%に対し、リン酸区が65.9%、代替クエン酸区が64.1%といずれも少し高かった。有効リン含量は、対照区

が0.70%に対し、リン酸区が1.04%と高く、代替クエン酸区が0.72%とほぼ同じ値であった。

表2 プリ当歳魚およびマダイ2歳魚における試験飼料のリンの消化吸収率などの結果

	対照区	高脂肪区	代替クエン酸区	代替脂肪酸区
プリ				
飼料中のリン含量(%)	1.31	1.51	1.04	1.79
リンの消化吸収率(%)	45.3	32.3	47.3	19.1
有効リン含量(%)	0.59	0.49	0.49	0.34
マダイ				
飼料中のリン含量(%)	1.39	1.58	1.12	-
リンの消化吸収率(%)	50.5	65.9	64.1	-
有効リン含量(%)	0.70	1.04	0.72	-

II. プリ当歳魚を用いた油脂高配合および植物性原料配合飼料における有機酸の添加効果試験
魚粉主体の配合飼料中の油脂含量を高くすると、環境への窒素やリンの排泄量が低減するとの見解があり、魚粉主体の配合飼料に油脂を高配合した効果、油脂を高配合して魚粉よりリン含量が少ない植物性原料にできるだけ代替した飼料へリンの消化吸収率を高める目的で有機酸を添加した効果を検討した。

方法

供試魚 プリ当歳魚は、「I」と同じ群のものであり、平均体重約95gのものを平成18年8月8日に3×3×3m小割生簀へ200尾収容し、平成18年8月9日から給餌し、11月29日まで海面飼育した。

試験飼料 プリ用試験飼料組成を表3に示した。魚粉(アンチョビーミール)49%の対照飼料(対照区)、対照飼料(粗脂肪約22%)より油脂を4%高配合した飼料(高脂肪魚粉区)、高脂肪魚粉区の魚粉をリン含量の低い大豆油粕などで約30%代替し、クエン酸を1%あるいはギ酸を0.87%添加した飼料(高脂肪魚粉代替クエン酸区あるいは高脂肪魚粉代替ギ酸区)とした。
給餌 給餌は、1日1回とし、ほぼ飽食量を週6日与えた。

表3 プリ用試験飼料組成

	対照区	高脂肪魚粉区	高脂肪魚粉代替クエン酸区	高脂肪魚粉代替ギ酸区
アンチョビーミール	49	49	35	35
大豆油粕	5	5	10.5	10.5
コーングルテン	5	5	10.5	10.5
フェリミール	0	0	4	4
小麦粉	19	14	11	11.13
ササゲ粉	5	5	5	5
魚油	15	14.38	16.32	16.32
大豆油	4	8.62	7.68	7.68
ミネラルミックス(リンフリー)	1	1	1	1
ビタミンB12	2	2	2	2
クエン酸	0	0	1	0
ギ酸	0	0	0	0.87
合計	105	104	104	104

結果

プリ当歳魚における海面飼育試験結果を表4に示した。

生残率は、いずれも98%以上と良好であった。

対照区(日間成長率1.82%, 増肉係数1.66)と比べて、高脂肪魚粉代替ギ酸区(日間成長率1.77%, 増肉係数1.53)の成長は少し劣ったが、高脂肪魚粉代替クエン酸区(日間成長率1.83%, 増肉係数1.52)の成長とは有意の差がなかった。また、高脂肪魚粉区(日間成長率1.88%, 増肉係数1.44)が、対照区と比べて日間成長率、増肉係数とも有意に優れていた。

表4 プリ当歳魚における海面飼育試験結果

	対照区	高脂肪魚粉区	高脂肪魚粉代替クエン酸区	高脂肪魚粉代替ギ酸区
生残率(%)	99.0	99.0	99.0	98.5
開始体重(g)	95.6	94.9	95.0	95.3
終了体重(g)	740	779	737	691
日間成長率(%)	1.82	1.88	1.83	1.77
増肉係数	1.66	1.44	1.52	1.53

プリ当歳魚における魚体への窒素とリンの蓄積率などの海面飼育試験結果を表5に示した。

魚体への窒素の蓄積率は、高脂肪魚粉区(31.8%)、高脂肪魚粉代替ギ酸区(30.4%)、高脂肪魚粉代替クエン酸区(29.7%)、対照区(27.9%)の順に高く、高脂肪飼料区が対照区より有意に高かった。

魚体へのリンの蓄積率は、高脂肪魚粉代替ギ酸区(29.2%)、高脂肪魚粉代替クエン酸区(25.7%)、高脂肪魚粉区(24.4%)、対照区(19.4%)の順に高く、高脂肪飼料区が対照区より有意に高かった。

環境への窒素の負荷量は、高脂肪魚粉区(63.6kg/t生産)、高脂肪魚粉代替ギ酸区(68.4kg/t生産)、高脂肪魚粉代替クエン酸区(72.2kg/t生産)、対照区(78.1kg/t生産)の順に低く、高脂肪飼料区が対照区より低かった。

環境へのリンの負荷量は、高脂肪魚粉代替ギ酸区(12.1kg/t生産)、高脂肪魚粉代替クエン酸区(12.7kg/t生産)、高脂肪魚粉区(14.9kg/t生産)、対照区

表5 プリ当歳魚における魚体への窒素とリンの蓄積率などの海面飼育試験結果

	対照区	高脂肪魚粉区	高脂肪魚粉代替クエン酸区	高脂肪魚粉代替ギ酸区
窒素				
魚体への蓄積率(%)	27.9	31.8	29.7	30.4
環境への負荷量(kg/t生産)	78.1	63.6	72.2	68.4
リン				
魚体への蓄積率(%)	19.4	24.4	25.7	29.2
環境への負荷量(kg/t生産)	20.1	14.9	12.7	12.1

(20.1kg/t 生産)の順に低く、高脂肪飼料区が対照区より有意に低かった。

まとめ

- 1) 養殖漁場の主要な汚染原因物質であるリンの排泄量軽減のため、ブリ当歳魚およびマダイ2歳魚を用い、配合飼料へ魚粉よりリン含量の低い植物性原料の配合割合を増加した飼料や新たな魚粉源として発酵魚粉を用いた飼料に、リンの消化吸収率を高める目的でクエン酸などを添加したときのリンの消化吸収率および有効リン含量を測定した。また、ブリ当歳魚における窒素とリンの排泄量軽減のため、魚粉主体の配合飼料に油脂を高配合した飼料、油脂を高配合した魚粉代替飼料へリンの消化吸収率を高める目的で有機酸を添加した飼料により16週間の飼育を行い、効果を検討した。
- 2) ブリ当歳魚では、対照飼料に第一リン酸カルシウムを1%添加した飼料(リン酸飼料)では、リンの消化吸収率が少し低く、魚粉(アンチョビーミール)の約30%を植物性原料で代替し、飼料中のリン含量を約0.3%削減してクエン酸を1%添加した飼料(代替クエン酸飼料)では、リンの消化吸収率が対照飼料より若干高かったが、いずれの飼料とも有効リン含量が対照飼料より僅かながら低かった。代替クエン酸飼料の魚粉を発酵魚粉に代替した飼料(発酵魚粉代替飼料)では、リンの消化吸収率がかなり低く、有効リン含量が対照飼料より少し低かったの

は、摂餌不良の影響が考えられた。

マダイ2歳魚のリンの消化吸収率では、対照飼料よりリン酸飼料と代替クエン酸飼料が高く、有効リン含量では、リン酸飼料が高く、代替クエン酸飼料と対照飼料が少し低かった。

- 3) 成長面では、対照飼料より油脂を4%高配合した飼料(高脂肪魚粉飼料)が最も優れ、高脂肪魚粉飼料の魚粉を植物性原料で約30%代替し、ギ酸を0.87%添加した飼料(高脂肪代替ギ酸飼料)が少し劣り、クエン酸を1%添加した飼料(高脂肪代替クエン酸飼料)は対照飼料と有意な差がなかった。

油脂高配合飼料のいずれとも、対照飼料と比べて魚体への窒素およびリンの蓄積率が高く、環境への負荷量が低かった。

油脂高配合飼料間では、高脂肪魚粉飼料が、高脂肪代替ギ酸飼料と高脂肪代替クエン酸飼料より魚体への窒素の蓄積率が高く、環境への負荷量が低かった。魚体へのリンの蓄積率では、高脂肪代替ギ酸飼料が高く、環境への負荷量が低かった。

- 4) これらのことから、対照飼料より油脂を4%高配合すると、環境への窒素およびリンの負荷が低くなり、リン含量の低い植物性原料などで魚粉の約30%を代替した場合、成長面も考慮すると有機酸としてはギ酸よりクエン酸が適していると推察された。

(担当：宮原)

13. アサリの呼吸生理に関する研究

松田 正彦 ・日向野純也*¹
品川 明*²・石松 惇*³

諫早湾に面する諫早市小長井町のアサリ養殖漁場では夏季にしばしば大量へい死を生じ、漁業生産上大きな問題点となっている。主なへい死原因の一つは、平成16年夏季の大量へい死時の調査¹⁾によって高水温時の無酸素環境であると説明された。

平成17年度に引き続き、へい死対策のための環境改善の目安値を得るための基礎資料として、アサリの水温別酸素消費速度 (15, 20℃) と高水温時 (水温30℃) アサリが有酸素代謝するのに必要な溶存酸素量 (DO) について検討するため、試験を行ったので報告する。

1. アサリの酸素消費速度 (水温15, 20℃)

方法

アサリを1個体ずつ、内容量約210mlの蓋付きの容器に収容し、Strathklevin社製溶存酸素計で容器内の溶存酸素量 (以下DO) をモニターした。容器の側面にはマグネチックスターラーを装着して容器内の海水を攪拌しながら、DOの変化を記録した。実験は水温15℃と20℃で行い、原則としてDOがほぼ0に近づくまで継続した。15℃はアサリ12個体、20℃は8個体を2回ずつのべ16個体実験した。実験終了後にアサリの殻長等の計測および軟体部乾燥重量 (60℃で24時間乾燥) を測定した。

結果

アサリは外界 (容器内) の酸素を消費する時間帯と消費しない時間帯を交互に発現させて容器内の溶存酸素を節約して使用しているようであったが、個体差が大きく、酸素を消費しない時間帯を計算に入れて酸素消費速度を求めるのが困難であったため、15分毎のDO読み取り値から、DO低下時についてのみ勾配を求め酸素消費速度を計算した。

結果を図1に示す。

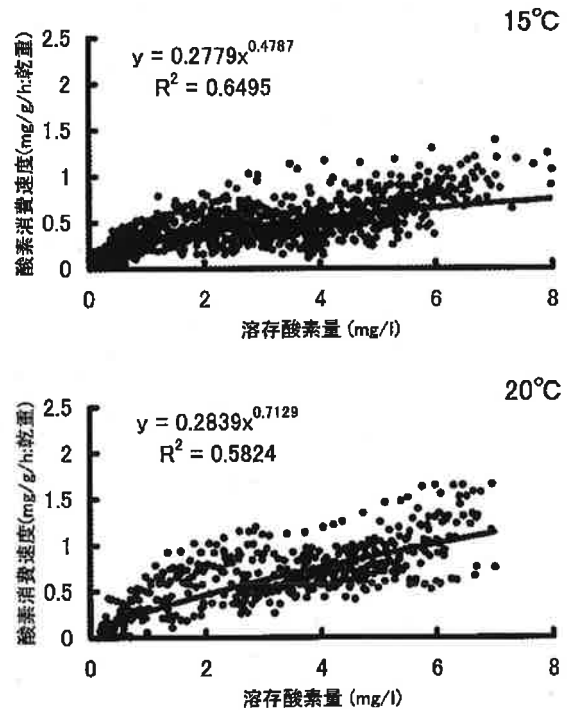


図1 溶存酸素量とアサリの酸素消費速度の関係

DOが飽和に近い場合 (6 mg/l 周辺) では軟体部乾燥重量 1 g あたりの消費速度は15℃で0.65mg/h/g, 20℃で約 1 mg/h/g であったが、DOが低下し、1 mg/l では15℃, 20℃とも0.28mg/h/g であった。平成17年度の25℃, 30℃の酸素消費速度の測定結果ではDOが6 mg/l では30℃で約 2 mg/h/g, 25℃で約 1 mg/h/g, DO 1 mg/l ではそれぞれ0.4, 0.5mg/h/g 程度であった。有酸素時、水温30℃では20~25℃と比較して見かけ上 2 倍程度、15℃と比較して見かけ上 3 倍程度、酸素消費速度 (代謝速度) が大きくなると考えられ、水温30℃を超える高水温時に貧 (無) 酸素環境となった場合、アサリの呼吸生理に大きな負担となるのではないかと推察される。

* 1 水産総合研究センター 養殖研究所 * 2 学習院女子大学 国際文化交流学部

* 3 長崎大学 環東シナ海海洋環境資源研究センター

II. 高水温時アサリの有酸素代謝に必要な溶存酸素量

方法

水温30°Cに調整した恒温槽中に濾過海水を満した容器(容量約3l)を浸漬し、殻長29.3~36.1mmのアサリを15~25個体収容した。飯島電子工業社製 DOコントローラ MC-7W を用いて空気と窒素で DO を設定値に調整し、Strathklevin 社製溶存酸素計で容器内の DO をモニターした。DO は 0, 0.5, 1.0, 有酸素 (DO 5 mg/l 以上) に設定し、12時間毎または24時間毎に5個体ずつサンプリングし、アサリの外套腔液(殻内の液体)を採取し、後日 HPLC で各種有機酸(酸欠状態でアサリが嫌気代謝²⁾を行うと増加する成分)の含量を測定した。アサリが試験途中でへい死し、サンプリングができなくなった場合は、試験を中止した。

結果

水温30°C, 各 DO のアサリ外套腔液の有機酸含量の推移を図2に示す。

DO 0 mg/l ではコハク酸が12時間後から、酢酸とへい死する直前で増加するプロピオン酸含量が24時間

後急上昇し、アサリも全滅した。DO 0.5mg/l では12時間後からコハク酸が上昇し、24時間後から酢酸やプロピオン酸も増加した。DO 1 mg/l ではコハク酸が12時間後一時的に増加したが、その後減少し、48時間後、それぞれの有機酸は増加しなかった。有酸素環境(DO 5 mg/l 以上)では有機酸含量はほとんど変化しなかった。

本試験の結果から、高水温時(水温30°C), DO 0.5 mg/l 以下の環境では、アサリは低酸素下で二枚貝に多く見られる嫌気代謝に切り替えていることがわかり、しばらくは生存が可能であるが、有機酸等の代謝産物の蓄積により死亡に至ると考えられる。DO 1 mg/l 以上の有酸素環境ではいずれの有機酸も48時間後増加しておらず、水温30°Cで DO 1 mg/l 以上の環境では嫌気代謝にはならず、アサリの生存に大きな影響はないと考えられ、環境改善を図る目安の値は DO 1 mg/l 以上と思われる。

まとめ

- 1) 有酸素時、水温30°Cの酸素消費速度は20~25°Cと比べ、見かけ上2倍、15°Cと比べ3倍と大きく、水温30°Cを超える高水温時に貧(無)酸素環境となっ

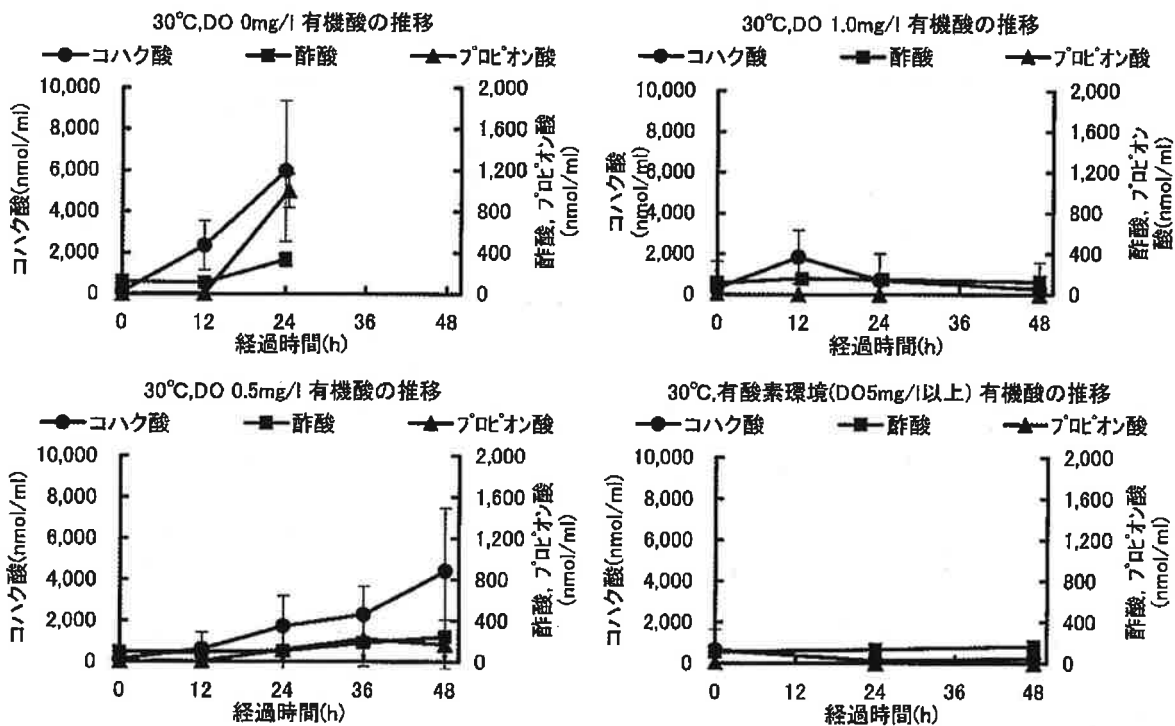


図2 水温30°C, 溶存酸素量別のアサリ外套腔液の有機酸含量の推移

た場合、アサリの呼吸生理に大きな負担となるのではないかと推察される。

- 2) 水温30℃でDO0.5mg/lの環境ではアサリは嫌気代謝に追い込まれ生存を脅かされるが、DO1.0mg/l以上では有酸素代謝し、生存に大きな影響はないのではないかとと思われる。

文 献

- 1) 平野慶二・北原茂・山砥稔文・坂口昌生・山元宣征・松田正彦：平成16年度長崎県総合水試事報，146-152 (2005)。
- 2) Hochachka P.W.：低酸素適応の生化学—酸素なき世界で生きぬく生物の戦略（橋本周久，阿部宏喜，渡部終五訳），恒星社厚生閣，東京，194pp. (1984)
(担当：松田)