

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16年度は、次の14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. キビナゴの日齢と成長の研究	海洋資源科	東京大学
2. 付着機能を有する卵を持つ浮魚類の産卵・加入評価に関する研究	海洋資源科	九州大学
3. 生月島北方沖海底マウンド施設海域における生物生産機構の解明	海洋資源科	静岡大学
4. ホシガレイ体色異常防除に関する研究	魚類科	京都大学
5. プリ形態異常防除に関する研究(種苗生産および健苗性向上技術の開発(早期プリ))	魚類科	福山大学、宮崎大学
6. 長崎県沿岸域における暖海性ホンダワラ類の分布と再生産	介藻類科	北海道大学、長崎大学
7. 魚介類の高度品質保持技術開発試験	加工科	長崎大学
8. 未利用魚の筋原繊維蛋白質を利用した機能性高分子ゲルの開発と応用	加工科	長崎大学
9. 新規発酵食品の開発	加工科	長崎大学
10. 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
11. 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
12. トラフグのヤセ病防除対策	養殖技術科	東京大学
13. トラフグロ白症防除対策	養殖技術科	北海道大学
14. 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

1. キビナゴの日齢と成長の研究

一丸 俊雄・白藤 徳夫*¹・渡邊 良朗*¹

五島周辺海域でキビナゴの資源評価を行う上で必要な年齢-成長に関する知見は皆無であった。そこで、本種の人工授精を行い、日齢30まで人工飼育し、耳石の検証を東京大学海洋研究所と共同で行った。その結果、耳石輪紋は1日1本形成される日輪であることが明らかになった。耳石の日輪解析により、天然で漁獲される個体の発生日および日齢の査定が可能になったことから、本種の日齢-成長の関係を明らかにするとともに、東京大学海洋研究所で研究を進めている他海域産キビナゴとの比較検討を行い、キビナゴ成長の海域特性を明らかにするため、本共同研究を実施した。

方 法

平成15年1月～平成17年12月に長崎県五島周辺海域で刺網で漁獲されたキビナゴおよび長崎県北松浦郡小佐々町地先で敷網で漁獲されたキビナゴを用いた。それぞれ体長(尾叉長)を1mm単位で計測した後、耳石(扁平石)を摘出した。耳石は洗浄して乾燥させた後、スライドガラス上にエナメル樹脂で封入した。キビナゴの耳石は、体長30mm前後までは研磨なしでも光学顕微鏡下で透過光によって輪紋を明瞭に観察することができる。体長30mm以上の個体の耳石には、体軸前方にrostrumと呼ばれる突起が発達し、耳石が肥厚して不透明になるとともに、光の屈折によって輪紋が観察しづらくなる。このような耳石については、樹脂が硬化した後、サンドペーパー(#1500, #2000)、ラッピングフィルム(#8000, #10000)を使用し、耳石扁平面に平行に耳石核または耳石縁辺のどちらかに至るまで研磨した。

日輪の計数・計測は、耳石日輪計測システム(RATOCシステムエンジニアリング社)を用いて行った。このシステムでは光学顕微鏡からビデオカメラを通して取り込んだ耳石のデジタル画像上で、JISEKI ソフ

トウェア(RATOCシステムエンジニアリング社)によって日輪の計数・計測を行うことができる。耳石核から体軸後方への最大半径を計測線とし、各個体について計測線上における耳石核から後縁までの距離(耳石半径)、各日輪の耳石核からの半径(日輪半径)、日輪と日輪間の距離(日輪間隔)を0.1 μm 単位で測定した。(図1)

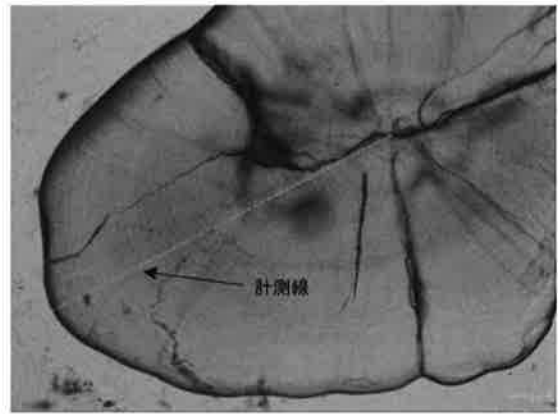


図1 耳石日輪計測システムによる解析

結 果

測定したキビナゴの尾叉長組成を見ると敷網で採集された稚魚は7～8月頃30mmをモードとする群の出現が見られ、12月には40mmをモードとする群の出現が見られた。刺網で漁獲された成魚では1月には90mmモードの群が出現し、7月にはややサイズが大きい100mmの群の出現が見られたが、10月には85mmモードの群への小型化が見られた。(図2)

日齢が査定できた個体は計60個体で、体長(尾叉長)25～76mmであった。日齢と漁獲日から逆算したところ、これらの標本の発生日は6～9月と推察された。日輪と体長の関係や耳石半径と体長の関係は前年度とほぼ同様の傾向を示した。

第1輪は核から約5 μm の位置に形成された。日輪

* 1 東京大学海洋研究所

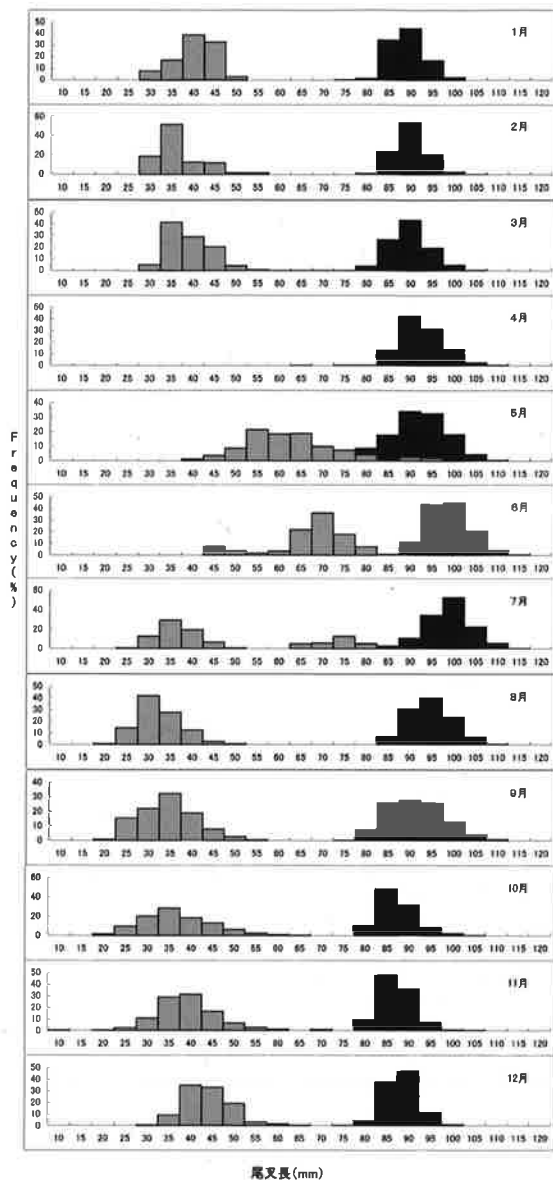


図2 キビナゴの尾叉長組成

間隔は20日齢で約 $9\mu\text{m}$ と急激に増加し、その後減少する傾向が見られ、110日齢には約 $1\mu\text{m}$ になった。(図3)

7月に出現が見られた70mm前後の個体では、核からある程度のところまで輪紋が確認された後、 $1\mu\text{m}$ の輪紋間隔を限界として、それ以上の輪紋の解読は困難であった。また、縁辺部には $2\mu\text{m}$ 程度の間隔で輪紋が確認できる場所が見られた。すべての輪紋を読み取ることができなかったものの、その数は200本以上であり、稚魚で逆算して得られている孵化時期が6~9月であることを考慮すると、これらの個体は越年している可能性が高いと考えられた。

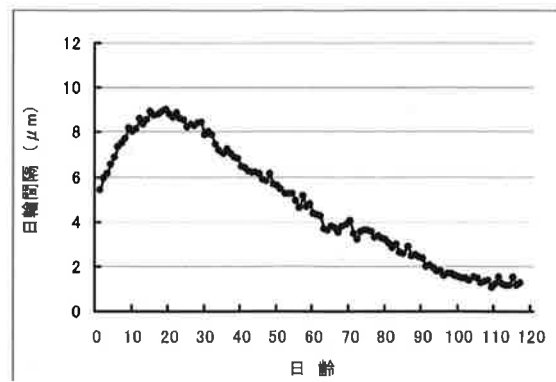


図3 日齢と平均日輪間隔の関係

まとめ

今回得られた日齢から推察される産卵期は6~9月であったが、別途行った地域型資源管理予測技術開発試験におけるキビナゴの成熟調査の結果から推察される産卵期も6~9月であり、これらの結果はよく合致した。白藤(2004)によると和歌山県串本海域におけるキビナゴの産卵期は4~11月であり、長崎県周辺海域における産卵期はこれと比べてかなり短い。

体長と日齢との間に相関が見られ、ある程度の成長推定は可能となったが、 $1\mu\text{m}$ 以下の輪紋間隔では輪紋の解読が困難であったことから、大型の個体での日齢査定方法を検討する必要があると考えられる。

2. 付着機能を有する卵を持つ浮魚類の産卵・加入評価に関する研究

一丸 俊雄・中園 明信*¹

資源量変動の大きい浮魚類の漁況予測や資源評価のために、産卵や稚仔魚加入の実態把握は重要な要素となる。本県で資源評価を行っている主要浮魚類のうちアジ・サバ・イワシ類といった魚種は分離浮性卵といった特質を持ち、卵稚仔が広範囲に浮遊していることからノルバックネット等による調査が実施されている。

しかしながら、トビウオ類については、産卵実態についてもまだ十分に解明されておらず、卵は沈性卵で付着のための特殊な構造を有していることから、ノルバックネット等による調査は不可能であり、現時点では産卵や加入に関する評価が実施できる状況下でない。

そこで、これらの魚種の繁殖生態を明らかにすると共に、産卵・加入に関わる量的な評価手法を開発するため本共同研究を実施した。

I. ホソアオトビ卵の分布調査

長崎県に來遊するトビウオ類未成魚主要3種のうちツクシトビウオとホソトビウオについては、初夏に親魚が岸近くに來遊し産卵することが明らかとなっているが、ホソアオトビについては産卵時期や産卵場所の実態が明らかにされていない。そこで、ホソアオトビの卵の分布を調べることにより、産卵期や産卵場を推定することを目的として研究を行った。

方 法

平成16年4~8月に、長崎県五島列島周辺海域及び鹿児島県屋久島周辺海域において流れ藻等を採集し、魚卵の付着の有無を調べた。卵が付着していたものは、その卵の一部を藻に付着したまま状態で切り取り、10%ホルマリン溶液で保存して、その形態について顕微鏡下で観察した。

結 果

流れ藻はそのほとんどがアカモクであった。5~7月に鹿児島県屋久島周辺海域で、7~8月には五島列島西沖の海域で、卵の付着が認められる流れ藻が採集され、顕微鏡下で卵を観察したところ、ホソアオトビの卵であることが確認された。

ま と め

卵の出現時期は鹿児島県屋久島周辺海域では5~7月と早かったのに対し、長崎県五島列島周辺海域では7~8月と遅れた。五島列島周辺海域より屋久島周辺海域の水温は高く、このような環境の違いが産卵時期の遅れにつながったものと考えられた。

II. トビウオ類親魚及び未成魚の分布調査

長崎県周辺海域においてトビウオ類親魚の漁獲は定置網によるものがほとんどであるが、ホソアオトビはまったく漁獲されていないことから、長崎県に來遊するトビウオ類未成魚に対応する親魚量の評価としては、定置網の漁獲統計のみではデータに不足を生じることになる。一方、未成魚においても漁場は長崎県北松海域や五島海域のうちのごく地先に限られており、沖における分布の実態が把握されていない。そこで、漁獲統計に依らずに、親魚來遊量あるいは未成魚來遊量の評価手法を検討することを目的としてトビウオ類の飛翔目視によるライントランセクト調査を実施した。

方 法

平成16年4~10月に、調査船ゆめとびまたは漁船により五島西沖を航行し、その間船上からの目視によりトビウオ類の飛翔尾数を確認した。同様に、佐賀県呼

* 1 九州大学大学院農学研究院

子と壱岐印通寺間、壱岐郷ノ浦と対馬巖原間、対馬比田勝と博多港間に運行するフェリー上からも目視調査を実施した。

結 果

飛翔目視観察により調査期間中のすべての月にトビウオ類の親魚が確認され、岸近くのみならず沖にも多数分布していた。

また、秋季には未成魚群の飛翔が確認され、岸近くのみならず沖にも多数分布していた。

ま と め

目視調査により、沖の海域においてもトビウオ類の飛翔が観察されたことから、この手法により本県近海に來遊するトビウオ類の親魚及び未成魚の來遊量を評価できるものと考えられる。

Ⅲ. ホソアオトビの耳石に見られる微細輪紋

長崎県に來遊するトビウオ類未成魚主要3種のうちツクシトビウオとホソトビウオについては、耳石に見られる微細輪紋が日周輪であることが飼育実験により明らかにされている。しかしながら、ホソアオトビについては、まだ明らかにされていない。そこで、ホソアオトビの卵を採集し、飼育した仔稚魚から耳石を摘出して観察し、日周性の有無について検討した。

方 法

前年度に長崎県五島西部海域で流れ藻に付着していたホソアオトビの卵から孵化した仔稚魚の耳石(Sagitta, Asteriscus, Lapillus)をそれぞれ摘出した。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。

また、長崎県北松海域において2004年夏～秋季にホソアオトビの稚魚をすくい網で採集し、2003年と2004年の秋季に船曳網の漁獲物より未成魚を採集した。これらの標本について体長を測定した後耳石を摘出し、同様の方法で観察した。

結 果

ホソアオトビの耳石にはそれぞれ同心円の輪紋が見られ、未成魚期までの観察においてはLapillusが最も適していると考えられた。輪紋は1日1本の割合で形成されており、日周輪であることが明らかとなった。

耳石半径と体長の間には正の相関が認められ、輪紋半径からその個体の成長履歴が把握できると考えられた。成長履歴を解析して得られた日齢と体長の関係から、稚魚期から未成魚期にかけてより成長の速い稚魚が選択的に生き残って未成魚群を形成したと推察された。標本の採集日と日齢から逆算して、長崎県沿岸に來遊するホソアオトビの孵化は7月にピークを迎えることが明らかとなった。

ま と め

耳石に見られる輪紋が日周輪であることが明らかになり、初期の加入機構について新たな手がかり得られることとなった。長崎県沿岸に來遊する天然のホソアオトビ未成魚の耳石日輪解析結果から推定される孵化時期は、長崎県周辺海域で卵が確認された時期とほぼ同じ時期であることが明らかとなった。

3. 生月島北方沖海底マウンド施設海域における生物生産機構の解明

高木 信夫・山本 憲一
鈴木 款*

本事業は生月島北方に設置されたマウンド施設をフィールドに設定し、この施設の栄養塩供給システム、並びにこれに伴う植物プランクトン増殖など生物生産機構について調査することを目的としている。

この調査のうち、物理的・海域調査を地球環境産業技術研究機構と長崎県総合水産試験場が担当し、化学的・生物学的海域調査を静岡大学が担当した。

方 法

海洋観測並びに採水は、5月に調査船 鶴丸と用船で、9月に調査船 鶴丸を用いて実施した。流速は携帯型のADCP (1200 KHz)と調査船設置型ADCP (300 kHz)により観測し、水温・塩分・クロロフィルはコロテックにより観測した。併せて、生月島湾口内に潮位計を設置した。また、ニスキン採水器による採水も行った。



図1 基礎生産量の測定実験

採水した海水は、3 Lナルゲン瓶に入れ、それらの瓶を光量 (100, 50, 20, 10, 1%) になるように遮断し、野外に設置した大型の水槽中で培養し (図1)、¹³C法を用いて純一次生産速度を求めた。

併せて植物プランクトンの種組成も測定した。

結 果

海洋観測の結果から、構造物により発生した内部波等を確認した。また、数値モデルと併せて湧昇メカニズムを3つの素過程 (シアー湧昇・内部波・連行) に分類した。更に構造物の直接影響範囲は半径500 m程度と推定され、観測による鉛直移動量は最大十数メートルであった。生物培養実験においては、一次生産速度 $1300\text{mgC}/\text{m}^2/\text{日}$ を得、構造物周海域において有光層中央下部で、高い純一次生産速度を確認した。

ま と め

- * マウンド施設における生物生産機構について、海洋観測並びに水槽培養実験を実施した。
- * マウンド施設における3つの湧昇メカニズムを確認した。
- * 構造物周辺海域において有光層中央下部で、高い純一次生産速度を確認した。

(担当: 高木)

* 静岡大学 生物地球環境科学科

4. ホシガレイ体色異常防除に関する研究 ～ホシガレイ体色異常発症メカニズムの解明～

山田 敏之・田川 正朋*

当水試では、ホシガレイの種苗量産技術開発に取り組んでいるが、生産した種苗に高率で体色異常個体が見られ種苗性に大きな問題を残している。

これまで、変態時に大量に分泌される甲状腺ホルモンと体色異常との関係について研究がおこなわれており、体色異常は変態の異常であると考えられるようになっている。そこで、変態時の甲状腺ホルモンの大量分泌に先駆けて魚体内で大量に分泌されるコルチゾルに着目し、コルチゾルがホシガレイの体色発現に及ぼす影響について研究を行った。前年度は、仔魚を変態開始期から変態完了まで高濃度のコルチゾルで浸漬することにより両面有色個体が高率で出現することが明らかとなった。そこで、今年度はコルチゾルの作用時期を検討するために、コルチゾル浸漬時期を変えて飼育試験を行った。

方 法

ホシガレイ仔魚は日令25まで2kl アルテミアふ化槽で予備飼育を行い、100l 透明ポリカーボネイト水槽に収容し実験に供した。試験区は、コルチゾル浸漬期間を、試験区1：日令27 (D stage) から10日間、試験区2：日令33 (E-F stage) から10日間、試験区3：日令47 (G stage) から10日間、試験区4：日令53 (H stage) から10日間に設定した。飼育は、日令75まで継続し、各試験区について全個体をサンプリングし、10%中性緩衝ホルマリンで固定した。

結 果

5月8日に最終のサンプリングを行い、体色異常のタイプ、その出現率および体色発現部位の面積等について現在解析中である。

(担当：山田)

* 京都大学 農学研究科 応用生物科学専攻 海洋生物増殖学研究室

5. ブリ形態異常防除に関する研究

門村 和志・宮木 廉夫・安元 進・黒川 忠英*¹
長倉 義智*²・浜田 和久*²

当水試ではブリ人工種苗を安定供給するための種苗量産技術の開発を目的に試験を行ってきたが、生産種苗の形態異常防除が重要な課題となっている。今年度は形態異常の原因究明を重点課題として、水産総合研究センターとの連携により研究を行ったので、概要を以下に報告する。

受精卵のビタミンA浸漬が形態異常に及ぼす影響に関する試験

ヒラメではビタミンA過剰や欠乏処理により実験的に形態異常を引き起こせることが知られている。形態異常の防除対策を検討するために、卵発生の過程でビタミンA浸漬を行い、処理のタイミングと引き起こされる異常の種類、出現率等について知見を得る目的で試験を行った。

方 法

親魚および採卵 前述の採卵試験により得た受精卵を使用した。

ビタミンA処理 受精卵は2klおよび1klアルテミア孵化槽を用いて卵管理を行い、受精後24, 48, 58時間の3段階でレチノイン酸浸漬を行った。同じ試験を2回繰り返した(2回目の処理時間は受精後24, 45, 56時

間)。レチノイン酸濃度は 10^{-7} M, 10^{-6} M, Controlの3段階を設定し、1時間浸漬後、十分に卵洗浄しウォーターバスで22°Cに設定した30lパンライト水槽に収容した。仔魚は3日令(開口)まで飼育し、生残個体を100個体程度、ホルマリン固定した。

仔稚魚飼育 2回目の試験のControlとレチノイン酸 10^{-7} M(いずれも受精後45時間目の処理区)は1klアルテミア水槽に収容し、種苗生産試験を行った。45日令まで飼育し、生残個体を全数取上げホルマリン固定した。

結 果

ビタミンA浸漬 サンプルは水産総合研究センター養殖研究所に送付し、現在解析中である。

仔稚魚飼育 Control区では平均全長33.4mmの稚魚72尾(生残率1.4%)、レチノイン酸処理区では31.4mmの稚魚87尾(生残率1.4%)を取り上げた。外部観察による形態異常率はControl区で25.0%、レチノイン酸処理区で72.4%であった。レチノイン酸区では口部異常が特に目立った。ホルマリン固定サンプルは養殖研究所へ送付し、現在解析中である。(本試験は水産総合研究センター養殖研究所、五島栽培漁業センターとの共同研究として実施した)

* 1 水産総合研究センター養殖研究所

* 2 水産総合研究センター五島栽培漁業センター

6. 長崎県沿岸域における暖海性ホンダワラ類の分布と再生産

桐山 隆哉・吉田 忠生*¹
四井 敏雄*²・藤井 明彦

本事業は、本県の暖海性ホンダワラ類の分布と再生産を明らかにするため、「藻場に対する食害実態調査事業」の一環として平成15年度から実施している。内容の詳細については、「藻場に対する食害実態調査」報告に記したので参考にされたい。

(1) 五島福江島における分布調査

調査場所は、暖海性ホンダワラ類の分布情報があった福江市崎山、岐宿、三井楽地先の3箇所を選定し、平成16年6月9、10日に SCUBA 潜水による標本採集を行った。

種類：崎山地先ではキレバモク、フタエモク、マジリモク類（3種）が、岐宿ではキレバモク、マジリモク類（1種）が、三井楽地先ではキレバモク、マジリモク類（2種）が、それぞれ確認された。崎山および三井楽地先では平成15年度の調査では確認されなかったマジリモク類がそれぞれ1種ずつの計2種が新たに確認された。

平成15年度からの調査で確認された種類は同定された種が4種（キレバモク、フタエモク、マジリモク、ウスバモク）と現在のところ別種と考えられる不明種7種（キレバモク類似したもの1種、フタエモクに類似したもの2種、マジリモクに類似したもの2種、不明種2種）である。

生態：生育はいずれの場所でも点生～疎生で疎らであり、ヤツマタモク、マメタワラ、エゾノネジモク、ヨレモク、ノコギリモクなどの在来種と混生していた。生育水深はフタエモクが1～2mの浅場に、キレバモクは1～8mに、マジリモク類は3～11mにみられた。成熟はマジリモク類の一部の個体で確認され、初期の成熟状態であった。

(2) 県下の分布調査

聞き取りや潜水調査などにより、新たに確認された暖海性ホンダワラ類の分布は、壱岐市郷ノ浦大島（マジリモク類）、平戸市志々伎（マジリモク類）、西彼杵半島の大瀬戸町福島地区（ウスバモク）と長崎市深堀（マジリモク）の4地区（3種）であった。

参考資料

- 1) 桐山隆哉・大橋智志・藤井明彦・吉村 拓：藻場に対する食害実態調査。長崎水試事報，101-103（2004）。
- 2) 桐山隆哉：長崎県における暖海性大型褐藻類の分布について～暖海性ホンダワラ類とアントクメの分布実態～。水産開発，88，1-5（2004）。

（担当 桐山）

*1 北海道大学名誉教授

*2 前長崎県総合水産試験場長

7. 魚介類の高度品質保持技術開発試験

岡本 昭・野中 健
橘 勝康*

I. イサキの生鮮度変化に及ぼす保存温度と致死条件の影響

イサキ *Parapristipoma trilineatum* について平成15年度に天然群および冬期に水揚げした養殖イサキを用いて致死後の生鮮度変化を調べた。その結果、養殖イサキ、天然イサキとも死後硬直の進行を遅延させるには10°C保存が良いと考えられた。今年度は飼育温度による生鮮度変化を比較するため、夏期に水揚げした養殖イサキを対象として保存温度の影響を調査するとともに冬期に水揚げした養殖イサキを用いて致死条件を明らかにした。

試料および方法

試料魚 試料は長崎県戸石漁業協同組合で飼育されたイサキを用いた。保存温度実験では、7~8月まで飼育したもの（以下「夏期養殖群」。平均体長 22.9 ± 1.1 cm, 平均体重 311 ± 36 g, 飼育水温約25°C）を、致死条件では1月まで飼育したもの（平均体重 286.8 ± 49.4 g, 平均体長 23.2 ± 1.6 cm, 飼育水温約15°C）を用いた。試料は実験室に運搬し、水槽中で1昼夜安静にして実験に用いた。

試験方法 保存温度実験は前報に準じて行った。¹⁾ 致死条件実験は試料魚脊椎破壊、延髄刺殺、温度ショック、苦悶死の4法を比較した。

結 果

1. 保存温度の影響

夏期養殖群を用いた保存温度の影響について、刺殺直後のATP含量は $7.8 \mu\text{mol/g}$ 以上で高いレベルであった。ATPが消失する時間は0°C, 5°Cが速く, 15°C, 20°Cで緩慢であった。10°C保存はその中間的な傾向を示した。(図1)

IMP含量は経過時間とともに増加し, 保存時間9時

間以降, 保存温度区の差が大きくなり, 15°C以下では保存温度が低いほどIMP含量の増加が速かった。20°Cでは増加は遅かったが, 24時間後には減少し, 48時間後は消失した。(図2)

K値は10°C以下は48時間後でも15%以下であった。15°Cでは上昇が速く, 18時間で20%を超え48時間後は25%になった。20°Cでは12時間後に20%を超え, 48時間後には90%を超えた。(図3)

グリコーゲン含量は12時間までは0°C, 5°Cの方が10, 15°Cよりも高かった。(図4)

乳酸含量は0°Cが高く, 20°Cが緩慢だった。5°C~15°Cはその中間を示した。(図5)

硬直指数は0, 5, 20°Cが10, 15°Cよりも速かった。(図6)

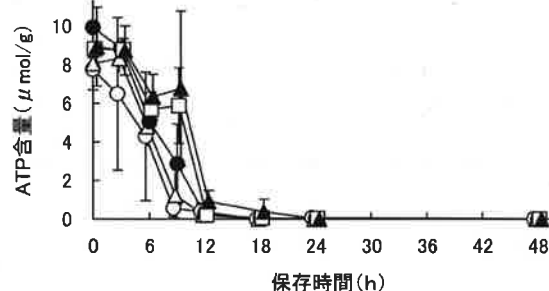


図1 養殖イサキの保存温度別 ATP 含量の経時変化
—○— 氷蔵 —△— 5°C —●— 10°C —□— 15°C —▲— 20°C

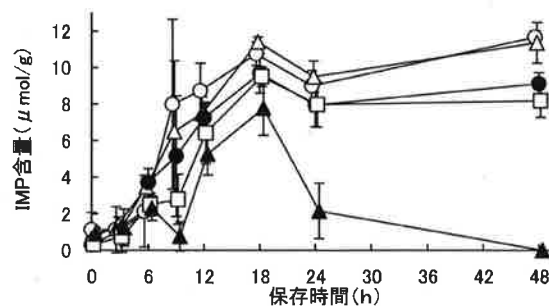


図2 養殖イサキの保存温度別 IMP 含量の経時変化
—○— 氷蔵 —△— 5°C —●— 10°C —□— 15°C —▲— 20°C

* 長崎大学水産学部

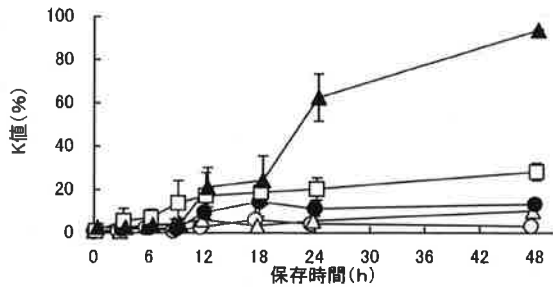


図3 養殖イサキの保存温度別K値の経時変化
 ○氷蔵 △5°C ●10°C □15°C ▲20°C

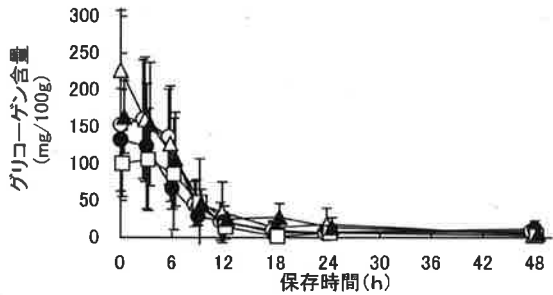


図4 養殖イサキの保存温度別グリコーゲン含量の経時変化
 ○氷蔵 △5°C ●10°C □15°C ▲20°C

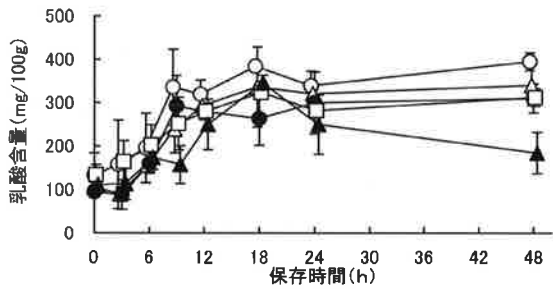


図5 養殖イサキの保存温度別乳酸含量の経時変化
 ○氷蔵 △5°C ●10°C □15°C ▲20°C

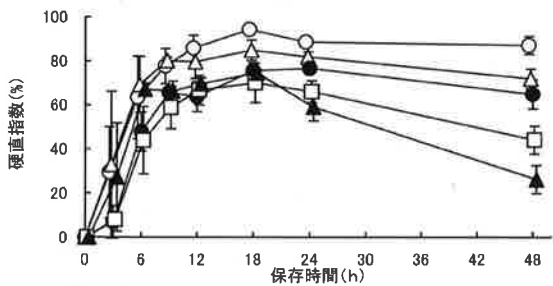


図6 養殖イサキの保存温度別硬直指数の経時変化
 ○氷蔵 △5°C ●10°C □15°C ▲20°C

以上の保存温度実験の結果より、エネルギー関連物質の低下など死後変化を遅らせるには致死後24時間までは10°Cの保存が、0, 5, 15, 20°Cでの保存より有効であると考えられた。

2. 致死条件の影響

刺殺方法の影響について、苦悶死では刺殺直後のATP含量が4.0 $\mu\text{mol/g}$ であったのに比較して、脊髓破壊、延髄刺殺、温度ショック群は7.8 $\mu\text{mol/g}$ 以上の高いレベルにあった。ATP含量は経時的に減少した。消失した時間は苦悶死では9時間、延髄刺殺、温度ショック群は18時間、脊髓破壊は24時間であった。(図7)

IMP含量は苦悶死で致死直後に4 $\mu\text{mol/g}$ を超えていた。その他の3群は1 $\mu\text{mol/g}$ 以下で非常に少なかった。延髄刺殺および温度ショックに比較して脊髓破壊では緩やかな増加であった。IMPの上昇速度は、苦悶群、温度ショック群と即殺群、脊髓破壊群の順で遅くなった。(図8)

K値は、24時間以内では苦悶群が13%で最も速く、延髄破壊群が6%で最も遅く上昇した。温度ショックと即殺群はその中間の値であった。48時間後はどの条件も20%以下であった。(図9)

刺殺直後のグリコーゲン含量は314mg/100gで苦悶死が最も少なく、脊髓破壊は531mg/100gで最も多かった。(図10) これに対し、乳酸含量は刺殺直後では苦

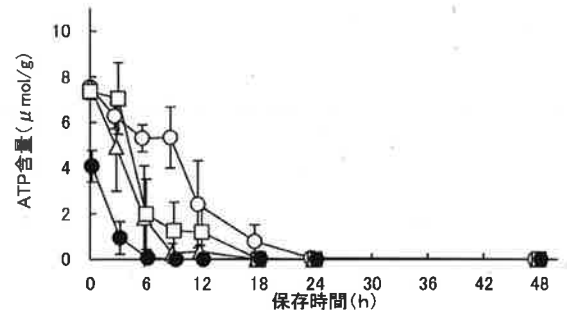


図7 養殖イサキの致死方法別ATP含量の経時変化
 ○神経締め △延髄刺殺 □温度ショック ●苦悶死

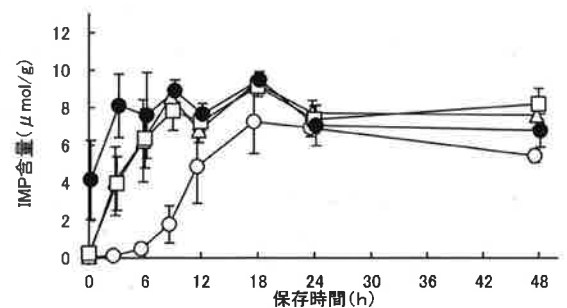


図8 養殖イサキの致死方法別IMP含量の経時変化
 ○神経締め △延髄刺殺 □温度ショック ●苦悶死

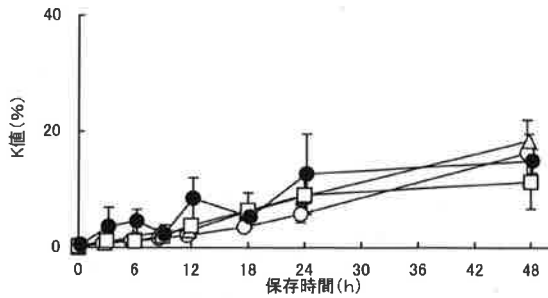


図9 養殖イサキの致死方法別 K 値の経時変化
○—神経締め △—延髄刺殺 □—温度ショック ●—苦悶死

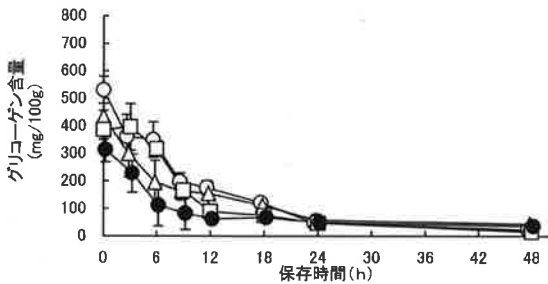


図10 養殖イサキの致死方法別グリコーゲン含量の経時変化
○—神経締め △—延髄刺殺 □—温度ショック ●—苦悶死

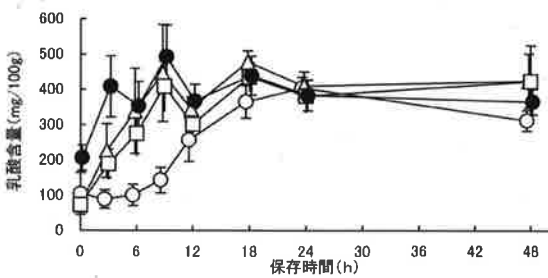


図11 養殖イサキの致死方法別乳酸含量の経時変化
○—神経締め △—延髄刺殺 □—温度ショック ●—苦悶死

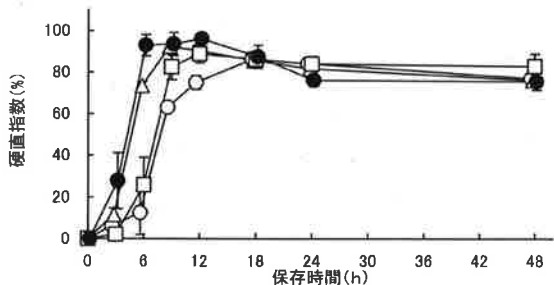


図12 養殖イサキの致死方法別硬直指数の経時変化
○—神経締め △—延髄刺殺 □—温度ショック ●—苦悶死

悶死群が206mg/100gで最も多く、他の3群は少なかった。(図11)

硬直指数が80%を超えた時間は苦悶死6時間、延髄刺殺9時間、温度ショック12時間、脊髄破壊18時間であった。この結果は ATP 含量の低下と一致した。(図12)

以上の致死条件実験の結果より、エネルギー関連物質の低下などの死後変化を遅らせるには、脊髄破壊が有効な致死方法であると考えられた。

II. ブリ類の「身やけ」の原因究明と防止対策

夏場の高水温期に養殖ブリ *Seriola quinqueradiata* を出荷した際、氷蔵中にもかかわらず保存初期に筋肉が白濁する現象が県内でも発生し消費者からのクレームの対象となった。本現象に類似した筋肉の白濁はマグロでは通称“ヤケ肉”と呼ばれ、商品価値を貶める原因となっている。ヤケ肉の発生は死後の筋肉が高温かつ低 pH であることに起因し、発生条件には環境温度、漁法、漁獲物の取り扱い、処理時間の長短、魚種、魚体の大小などの間接的要因が複雑に関係すると推定されている。

今回、養殖ブリを対象としてヤケ肉発生に伴う筋肉の変化について検討するとともに、ヤケ肉の発生条件についても検討した。

試料および方法

試料魚 試料魚には養殖ブリ当歳魚(平均体重 928.5 g ± 210.7g, 平均体長 38.1cm ± 3.7cm)を用いた。試料魚は、環境水温20°Cのいけすから研究室内の水槽に搬入し、水温を30°Cまで漸次、上昇させ、1日飼育した後実験に用いた。(以下「30°C群」という。)対照として、環境水温13°Cのいけすから研究室内の13°Cに設定した水槽に搬入し、1日休養させた試料魚を用いた。(以下「13°C群」という。)

方法 13°C群及び30°C群を脊髄破壊と苦悶死で処理後、ラウンド状態でポリ袋に入れて32°C水槽中に保存、経時的に背部普通筋を採肉した。試験項目及び方法は次のとおりである。感覚色度(L*値)は色彩色差計(ミノルタ製)を、破断強度は山電社レオナー RE3305を用い、測定条件はφ5 mm円柱プランジャー、プランジャースピード1.0 mm/s、クリアランス 3mmとした。ATP 関連化合物、乳酸量は前報に準じた。¹⁾他に圧出水分量および pH を測定した。

結果

30°C群では苦悶死で保存1時間目、脊髄破壊で保存2時間目にヤケ肉が発生した。一方、13°C群では両致死

方法とも保存期間を通じて正常であった。

L*値の経時変化 30℃群は脊髄破壊、苦悶死ともに2時間後に60を超えた。13℃群は苦悶死は経時的に増加し6時間後に60を超えた。一方、13℃群の脊髄破壊で

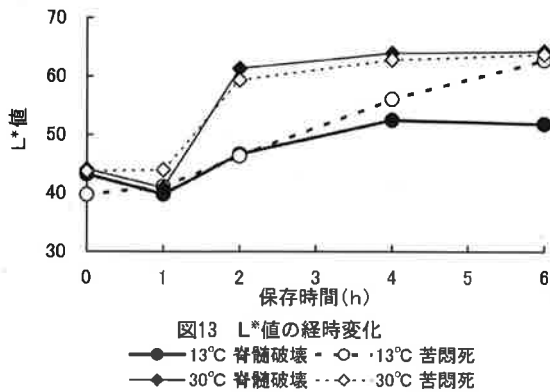


図13 L*値の経時変化
 ● 13℃ 脊髄破壊 ○ 13℃ 苦悶死
 ◆ 30℃ 脊髄破壊 ◇ 30℃ 苦悶死

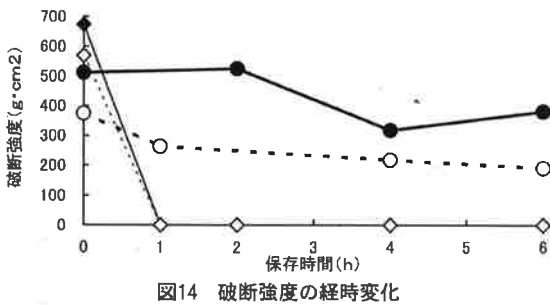


図14 破断強度の経時変化
 ● 13℃ 脊髄破壊 ○ 13℃ 苦悶死
 ◆ 30℃ 脊髄破壊 ◇ 30℃ 苦悶死

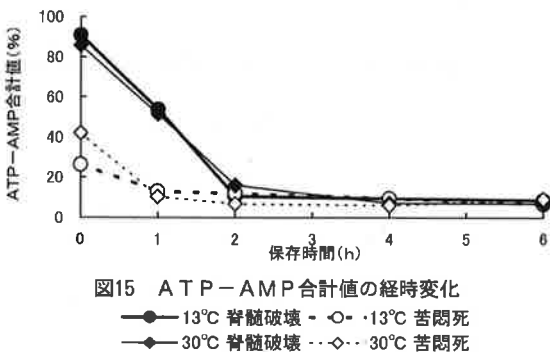


図15 ATP-AMP合計値の経時変化
 ● 13℃ 脊髄破壊 ○ 13℃ 苦悶死
 ◆ 30℃ 脊髄破壊 ◇ 30℃ 苦悶死

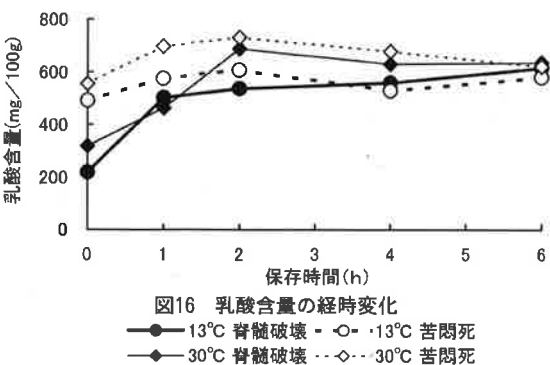


図16 乳酸含量の経時変化
 ● 13℃ 脊髄破壊 ○ 13℃ 苦悶死
 ◆ 30℃ 脊髄破壊 ◇ 30℃ 苦悶死

は致死直後約45であったが、保存6時間目で約50と緩やかに上昇した。(図13)

圧出水分量の変化 脊髄破壊処理を行った13℃群及び30℃群の致死直後と保存2時間目における圧出水分量について、30℃群では、致死直後約10%からヤケ肉の発生した保存2時間目で約40%と急激に増加した。13℃群では、致死直後平均値レベルで約10%を示し、保存2時間目で約15%を示した。

破断強度の経時変化 30℃群の致死直後の正常筋肉では、変形量約0.2~0.3cmで破断応力約500mg/cm²の筋肉の破断を示したものの、やけ肉では明確な破断変形点を見いだせなかった。そこで13℃群及び30℃群における破断強度の経時変化を図14に示した。30℃群の脊髄破壊では致死直後約700g/cm²であったが、保存2時間目で0と急激に低下した。13℃群の脊髄破壊では致死直後約500g/cm²であったが、経時的に緩やかに減少した。破断強度の経時変化を両飼育温度間で致死方法別に比較すると、13℃群では保存延長に呼応して破断強度は低下したのに対して、30℃群では保存1~2時間目にヤケ肉発生に伴う筋肉の軟化が著しかった。

ATP-AMP 三合計値の経時変化 13℃群及び30℃群における ATP-AMP 三合計値平均の経時変化を図15に示した。30℃群、13℃群の脊髄破壊では致死直後約85~90%であったが、保存2時間目で約10~16%まで減少した。一方、30℃群、13℃群の苦悶死では致死直後約26~42%であったが、保存2時間目で約7~12%と急激に減少した。両飼育温度間で比較すると ATP-AMP 三合計値の減少の様相に顕著な差は認められなかった。

乳酸含量の経時変化 乳酸含量について30℃群の脊髄破壊では致死直後約300mg/100gであったが、保存2時間目で約700mg/100gとピークに達した。苦悶死では致死直後約550mg/100gであったが、保存2時間目で約700mg/100gとピークに達した。13℃群の脊髄破壊では致死直後約200mg/100gであったが、保存6時間目でピークに達した。苦悶死では致死直後約500mg/100gから保存2時間目で約600mg/100gとピークに達し、ピークに達するまでの時間は苦悶死のほうが早かった。(図16)

pHの経時変化 pHについて、30℃群の脊髄破壊では致死直後 pH6.5から、保存2時間目で pH5.6と最低になり、保存6時間目で pH5.8となった。苦悶死は保存2時間目で pH5.6と脊髄破壊と同レベルとなり、その後ほぼ一定であった。13℃群の脊髄破壊では致死直後 pH6.6から、保存2時間目で pH6.2と最低となり、その後ほぼ一定であった。苦悶死では致死直後 pH6.4から保存2時間目で pH6.2と脊髄破壊と同様に最低の pH6.2となり、保存6時間目でも pH6.2であった。(図17)

今回、高水温にさらされた(30℃群) 養殖ブリは致死法にかかわらずやけ肉が発生した。身やけの発生に

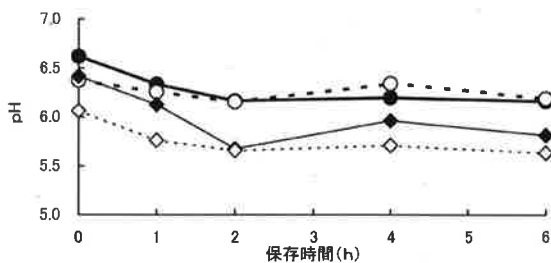


図17 pHの経時変化

● 13℃ 脊髄破壊 ○ 13℃ 苦悶死
◆ 30℃ 脊髄破壊 ◇ 30℃ 苦悶死

は高水温及びその後の取り扱いによる乳酸生成に伴う pHの低下と乳酸含量が関わっていることが推察された。

まとめ

- 1) 夏期に水揚げした養殖イサキの死後硬直の進行を遅延させるには致死後、24時間までは 10℃ 保存が良いと考えられた。
- 2) 冬期に水揚げした養殖イサキの死後硬直の進行を遅延させる致死条件は脊髄破壊処理が有効であることが考えられた。
- 3) 「身やけ」は30℃飼育群で保存1-2時間目に現れ、13℃飼育群では発生しなかった。
- 4) 「身やけ」の発生には高水温及びその後の取り扱いによる乳酸生成に伴う pHの低下と乳酸含量ピークレベルが関わっていることが推察された。

文献

- 1) 野中 健他：マアジ保存温度と致死条件が生鮮度変化に及ぼす影響.平成13年度長崎県総合水試事業報告書,201-204 (2001)

(担当 岡本)

8. 未利用魚の筋原繊維蛋白質を利用した 機能性高分子ゲルの開発と応用

大迫 一史・野崎 征宣^{*1}・古川 睦久^{*2}

目 的

本研究課題（未利用魚の筋原繊維蛋白質を利用した機能性高分子ゲルの開発と応用）においては、最終的に、開発されたハイブリッドゲルから成るマイクロカプセルを海藻シート（基質）に埋め込み、これをアワビ種苗生産に生かすことを目的としているが、水産加工開発指導センターにおいてはこのうち

アワビ餌料の基質の開発

－基質のスクリーニングと基質特性の解明及びハイブリッドカプセルを埋め込んだ試料がアワビ稚貝に与える影響の解明－

を担当している。「基質のスクリーニング」については平成14年度、「基質特性の解明」及び「ハイブリッドカプセルを埋め込んだ試料がアワビ稚貝に与える影響の解明」については平成15年度に、それぞれ本研究事業の実績報告書においてそれらを明らかにしている。今回は、「ハイブリッドカプセルを埋め込んだ試料がアワビ稚貝に与える影響の解明」において、ハイブリッドカプセルに実際にビタミン類を包埋させ、これをアワビに投餌し、その影響を調査した。

方 法

海藻 ワカメを用いた。これは、2004年に長崎県島原半島で延縄養殖により生産し、それを塩蔵加工（生原料をボイルしたのち、食塩をまぶすもの）したのち25℃で冷凍保存したのちを用いた。

アワビ餌料（基質）の調製 塩蔵加工したワカメを半

日流水中に晒し、脱塩ののちこれに対して等量の水道水を加え、全量に対して3%の炭酸水素ナトリウムを加え、加熱溶解した（海藻ペースト）。次にこれに対して10%のアルギン酸ナトリウムを加え、ビタミンC、ビタミンB₁、ビタミンB₁₂を包埋させたマイクロゲルカプセルをそれぞれ1%および5%添加した。また、マイクロカプセルゲルは、ビタミンC、ビタミンB₁およびビタミンB₁₂をそれぞれ、 8.1×10^{-6} (mol/g) ずつ含んだ。混合物は薄板状に引き延ばし（厚さ1mm）、5%塩化カルシウム水溶液中に3時間浸漬して凝固させ、塩化ビニル袋に入れ密閉し、順次投餌した。コントロールはブランク（ビタミン類を含まない）のマイクロカプセルゲルを所定量添加した。

アワビ稚貝の飼育 平成16年11月26日から12月20日までの約1ヶ月間飼育を行なった。飼育は直径10cmの塩化ビニル製筒の下部に1辺が0.5mm程度のメッシュの網を張り、上部からは4-5箇所から50cc/分程度の速度で濾過海水を滴下して行なった。塩化ビニル筒1個に対して40個体のアワビを飼育した。餌料は、上記方法で調製したシート状のものを、0.25g/個体与え、翌々日残餌を除去し、新たに投餌した。飼育水温は図1に示した。

一般成分の分析 水分は、試料10gを精秤後、105℃で恒量にして求めた。試料を600℃で灰化後恒量にして粗灰分とした。粗タンパク質含量はKjeldahl法で全窒素量を求めたのち6.25を乗じて求めた。粗脂肪含量はFolchらの方法で求めた。

脂肪酸組成の測定 上記の方法で抽出した粗脂肪30mgを精秤後、3-5滴の塩酸を滴下した30mlのメタノー

* 1 長崎大学水産学部

* 2 長崎大学工学部

ル中で3時間煮沸した。冷却後、ヘキサン（和光特級）を加えて分液ロート中で激しく振り混ぜた後ヘキサン層のみを得た。これをシリカゲル（Merk & Co Ltd 製 Kieselgel 60, 70-230 mesh）で、得られたメチルエステルをガスクロマトグラフ（島津製作所製 GC17A, カラムはSUPELCOOMEGAWAX-250）で分析した。インジェクター、カラムおよびディテクターの温度はそれぞれ、250, 205, および250°Cであった。スプリット比は5:1であった。

統計解析 平均値の比較は、Scheffeの検定法を用いて行なった。

結 果

アワビ稚貝の殻長増大率に及ぼすビタミン類の影響

図2に、アワビ稚貝の殻長増大率に及ぼすビタミン類の影響を示した。ブランクゲルを含むいずれの餌料も、実験開始時よりも高い値を示した。また、各餌料間での比較をしたところ、ビタミンCを含むゲル1%を添加した餌料に比較して、これを5%添加した餌料およびブランクゲルを5%含む餌料の効果の方が高く、また、ビタミンB₁₂を含むゲル1%を添加した餌料に比較してブランクゲルを5%添加した餌料の効果の方が高かった。

アワビ稚貝の全重の増大率に及ぼすビタミン類の影響

図3に、アワビ稚貝の全重の増大率に及ぼすビタミン類の影響を示した。ブランクゲルを含むいずれの餌料も、実験開始時よりも高い値を示した。また、各餌料間での比較をしたところ、ビタミンCを含むゲル5%を添加した餌料の効果は、ブランクゲル5%を添加した餌料のそれと同等（ $p>0.05$ ）で、他よりも有意に高かった。

アワビ稚貝の肥満度の増大率に及ぼすビタミン類の影響

図4に、アワビ稚貝の肥満度の増大率に及ぼすビタミン類の影響を示した。ブランクゲルを含むいずれの餌料も、実験開始時よりも高い値を示した。また、各餌料間での比較をしたところ、ビタミンCを含むゲル5%を添加した餌料の効果は、他よりも有意に高かった。

以上の結果から、健康な状態のアワビ稚貝にビタミン類を与えてもそう大きな影響は無いが、一定量以上のビタミンCの投与は若干の効果があるものと推定された。

アワビ稚貝の体成分に及ぼすビタミン類の影響

表1に、アワビ稚貝の体成分に及ぼすビタミン類の影響を示した。餌料種の稚貝による明瞭な傾向は認められなかったが、概して、ビタミンを含む餌料を与えると、粗脂肪含量が上昇する傾向がみられた。

アワビ稚貝の脂肪酸組成に及ぼすビタミン類の影響

表2にアワビ稚貝の脂肪酸組成に及ぼすビタミン類の影響を示した。主要脂肪酸は16:0で、これが全脂肪酸の40%近くを占めた。また、魚類には必要不可欠で、魚肉中には比較的高含量含まれるEPAは1-2%、DHAは殆ど認められず、その代わりに魚類にはほとんど含まれないアラキドン酸が比較的高含量認められた（3.9-5.4%）。

ま と め

・ 健全なアワビ稚貝に、ビタミン類を摂取させたところ、今回の実験では成長に及ぼす顕著な影響は認められなかった。ただ、ビタミンCにおいては、一定量以上の餌料への添加が若干の効果及ぼすように思われた。今後の課題として、大量斃死時における効果の把握の必要性が感じられた。

（担当 大迫）

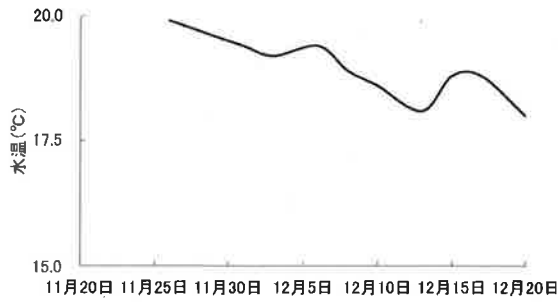


図1. アワビ飼育中の水温変化

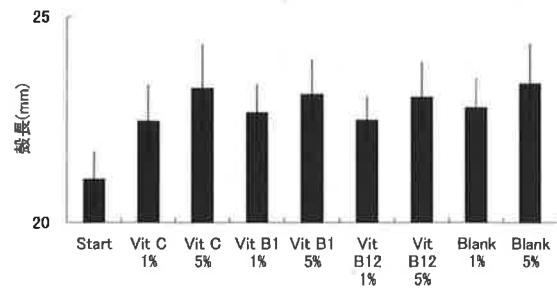


図2. アワビ殻長の増大率に及ぼす餌料の効果

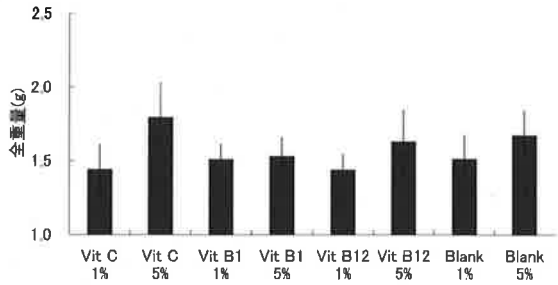


図3. アワビ全重の増大率に及ぼす餌料の効果

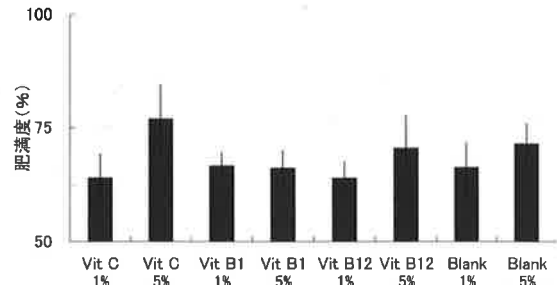


図4. アワビ肥満度の増大率に及ぼす餌料の効果

表1. アワビ稚貝の体成分に及ぼすビタミン類の影響 (%)

	粗脂肪	粗タンパク質	粗灰分
Control 1%	5.2	84.9	9.9
Control 5%	5.0	84.4	10.6
VitC 1%	6.0	80.6	13.4
VitC 5%	6.6	80.1	13.3
Vit B ₁ 1%	8.0	79.4	12.6
Vit B ₁ 5%	4.3	84.0	11.7
Vit B ₁₂ 1%	6.7	81.3	12.0
Vit B ₁₂ 5%	6.5	82.5	11.0

*1 結果は、水分および粗炭水化物を除いた全体の割合で示した。

表2. アワビ稚貝の脂肪酸組成に及ぼすビタミン類の影響 (%)

	Control 1%	Control 5%	VitC 1%	VitC 5%	Vit B ₁ 1%	Vit B ₁ 5%	Vit B ₁₂ 1%	Vit B ₁₂ 5%
C12:0	trace	trace	trace	trace	trace	trace	trace	trace
C14:0	9.4	8.8	8.2	10.1	8.9	8.1	9.2	10.0
C15:0	1.6	1.5	1.5	1.5	1.6	1.7	1.5	1.6
C16:0	38.8	35.5	38.0	36.6	39.8	37.9	35.9	37.0
C17:0	trace	trace	0.1	trace	trace	trace	0.1	0.1
C18:0	11.3	10.6	12.0	11.0	11.8	12.5	10.3	12.0
C16:1 n-7	0.9	1.0	1.0	0.8	0.8	0.8	0.9	0.7
C18:1 n-9	5.4	5.5	5.8	5.2	5.5	5.0	5.7	4.6
C18:1 n-7	4.9	6.2	5.0	5.6	4.9	6.1	4.8	5.9
C20:1 n-9	1.8	1.7	1.8	1.8	1.8	1.4	1.9	1.5
C22:1 n-11	0.2	0.2	0.1	0.1	trace	0.1	0.2	0.1
C22:1 n-9	trace	trace	0.1	0.1	0.1	trace	trace	trace
C24:1 n-9	trace	trace	trace	trace	trace	trace	trace	trace
C18:2 n-6	3.2	2.5	2.9	2.6	3.1	2.2	3.9	2.1
C18:4 n-3	0.4	0.2	0.4	0.3	0.4	0.2	0.7	0.2
C20:4 n-6	4.2	4.9	4.4	4.7	3.9	4.3	5.4	4.7
C20:4 n-3	0.2	0.3	0.2	0.3	0.2	trace	0.3	0.1
C22:4 n-6	1.3	1.7	1.4	1.6	1.2	1.2	1.7	1.5
C20:5 n-3	0.8	1.3	1.0	1.1	0.8	1.1	1.0	1.1
C22:5 n-6	trace	trace	trace	trace	trace	trace	trace	trace
C22:5 n-3	1.1	1.9	1.4	1.4	1.1	1.3	1.4	1.4
C22:6 n-3	trace	trace	trace	trace	trace	trace	trace	trace
Total saturated	61.1	56.3	59.8	59.2	62.1	60.2	57.0	60.7
Total monoenoic	13.2	14.5	13.8	13.5	13.1	13.4	13.5	12.9
Dienoic	3.2	2.5	2.9	2.6	3.1	2.2	3.9	2.1
Total polyenoic	8.0	10.3	8.8	9.5	7.7	8.1	10.6	9.1

9. 魚味噌の開発

大迫 一史・野崎 征宣*・市川 寿*

一般に、低・未利用水産資源は（とくに魚類）は、ねり製品としての原料を主体に、その利用法が考えられてきた。このことは、水産加工開発指導センターにおいての検討例も例に漏れない。一方、ゲル形成能を持たない魚類の有効利用法についての知見は少ない。よって、サイズやロットに関わらない大量処理手法開発の一環として魚味噌への利用を考えた。本研究結果については既に特許出願中である。（魚味噌および魚味噌の製造方法（特開2004-343123）

方法および結果

魚味噌の試料魚として、マアジ・ゴマサバ・エソ・スルメイカを用い、それぞれ落身及び晒肉を原料とした。また、対照として大豆を用いた。これら原料を別添フローチャートの製法でみそを調製し、半年間熟成させた。

上記の方法で調製した味噌の、色調、pH、遊離アミノ酸、エキス態窒素、ペプチド構成アミノ酸、塩分濃度、ミネラルおよび有機酸を測定した。

(1) 色調

色彩色差計（CR-300, ミノルタ）で測定した。

(2) pH

pHメーター（F-22, 堀場製作所）で測定した。

(3) エキス態窒素

5%のTCAで除タンパク質したものを試料とし、このなかの窒素量をエキス態窒素とした。

(4) 遊離アミノ酸およびペプチド構成アミノ酸

魚味噌を10g量り取り、蒸留水で5倍に希釈したものを、限外ろ過し、塩酸加水分解を行い、得られたろ液をアミノ酸分析計（島津製作所製 ALC-1000）を用いて測定し、その分析結果から遊離アミノ酸量を

差し引いて、ペプチド構成アミノ酸量とした。また、遊離アミノ酸は、これの加水分解前のものを試料とした。

(5) 塩分濃度

魚味噌を10g量り取り、蒸留水で100倍に希釈したものを、塩分濃度計（住友化学工業製 SUMISALT 300型）を用いて測定した。

(6) 無機質

魚味噌1~2gをろつばに量り取り、予備炭化を行い、次いで、電気マッフル炉に入れて550℃で灰化恒量にした。電気マッフル炉内の温度を下げ、ろつばを取り出し放冷後、灰を数滴の蒸留水で湿らせ炭素の粒が残っていないことを確認した。灰を、濃硝酸5mLに溶解し、ホットプレート上で加熱溶解後、50mLに定容した。この試料溶液をICP発光分析装置を用いて測定した。

(7) 有機酸

魚味噌を10g量り取り、蒸留水で5倍に希釈し、セルロースアセテートフィルターでろ過し、高速液体クロマトグラフ HPLC（島津製作所製 HPLC 有機酸分析システム）を用いて測定した。

結 果

(1) 熟成過程での色調変化

いずれの魚味噌も熟成過程において黒く、赤みを帯びてくるのが分かった。特に、スルメイカを原料とした魚味噌では、赤みが強かった。いずれも対照とした大豆を原料とした場合と大きな違いは認められなかった。

(2) 熟成過程でのpH変化

魚味噌熟成過程におけるpHの大きな変化は無かつ

* 長崎大学水産学部

たが、若干上昇傾向にあった。

(3) 熟成過程での遊離アミノ酸変化

いずれの魚種も仕込みから135日までは、タンパク質構成アミノ酸の上昇は見られたが、135日から180日までの間においては若干の減少傾向を示した。

(4) 熟成過程でのエキス態窒素変化

魚味噌熟成過程におけるエキス態窒素は、いずれもアミノ酸総量と呼応した変化を示した。ただし、アミノ酸総量においても同様のことが言えるが、落し身から調製した味噌の方が、晒肉から調製したそれに比較して、もともと含まれていたものが、醗酵途中に生成したものと和となるため、常に高い値を示した。

(5) 製品のペプチド構成アミノ酸

いずれの味噌も、ペプチド構成アミノ酸には、グルタミン酸およびアルギニンを多く含んだ。また、大豆味噌に含まれるそれらに比較して顕著な違いは認められなかった。

(6) 製品の塩分濃度

いずれの魚味噌、及び大豆味噌は10%程度だった。

(7) 製品のミネラル

無機質は、食塩由来のナトリウムが多く、認められた。

(8) 製品の有機酸

有機酸総量は、魚種間およびこれらに加えて大豆を原料とした味噌で大きく異なり、大豆味噌が最も豊富に有機酸を含み、1000mg/100gにも及んだ。また、酢酸および乳酸においては、大豆味噌に比較して魚味噌に多く認められる傾向にあった。

(担当：大迫)

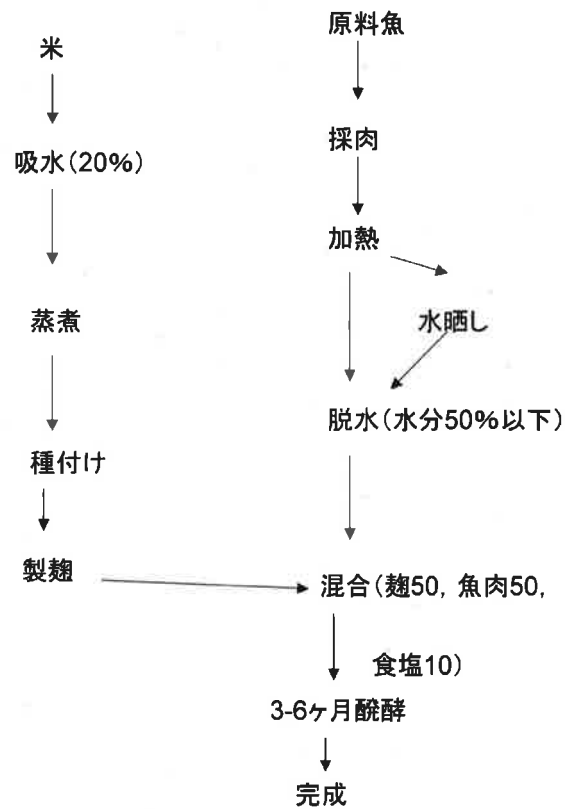


図 魚味噌製法フローチャート

10. 細菌性疾病に対する免疫機構の基礎内容

高見 生雄・金井 欣也*¹

予防策が無く、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な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連鎖球菌症、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}

1. ブリの類結節症に関する研究

方 法

魚毒性が報告されている *Photobacterium damsela* s *ubsp. Piscicida* の菌体外産生物質の性質を明らかにすることを目的に、*P.damsela subsp. piscicida* NUF89 の BHI ブイヨン培養上清からブリ稚魚に対する致死毒性を指標に各種クロマトグラフィーを用いて毒性物質の部分精製を試みた。

結 果

培養上清の硫安分画では30~50%飽和分画に毒性がみられた。DEAE-Sephacel によるイオン交換クロマトグラフィーでは第4分画に毒性が認められ、その分画を濃縮して Sephacryl S-300 によるゲルろ過を行ったところ、第4分画に毒性が認められた。その分画をポリアクリルアミド電気泳動で分析したところ、メインタンパクバンドが2本観察され、さらに別の方法を加えて精製を進めることが必要と思われた。

2. ブリのノカルジア症試作ワクチンの有効性実験

1) 実験1

方 法

菌株によるワクチンの有効性の差異を調べることを目的とした。Nocardia seriolae の保存株4株 (NUF27, NUF478, NUF856以上強毒株, NUF36弱毒株) の BHI ブイヨン振とう培養菌をホルマリンで不活化 (FKC) した。各菌株の FKC および FKC にフロイントの不完全アジュバント (FIA) を等量添加したワクチンを、それぞれ20尾宛ブリ稚魚の腹腔内に接種した。2週間後各ワクチン区を10尾ずつの2区に分け、それぞれ NUF27の培養菌を106および105CFU/100g 魚体重の割合で腹腔内接種した。

結 果

攻撃後の死亡経過を図1および2に示した。FKC 免疫区では106および105CFU 攻撃いずれも対照区と同様の死亡経過を示し、ワクチンの効果は認められなかった。

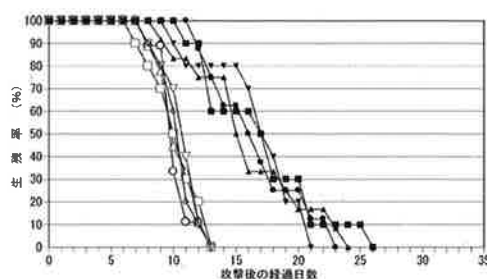


図1. *N. seriolae* 4菌株のFKCおよびFIA添加FKCで免疫したブリの腹腔内接種攻撃後の死亡経過(実験1)
攻撃菌量=1.2×10⁶ CFU/100g BW

○— 27FKC — 478FKC ●— 27FKC+FIA ■— 478FKC+FIA ▼— 586FKC+FIA ⊙— control
— 36FKC — 36FKC+FIA

アジュバント添加FKC免疫区では対照区およびFKC区に比べて死亡が遅れる傾向がみられ、アジュバ

* 1 長崎大学水産学部

ント添加が有効であると考えられた。なお、使用した4菌株の有効性に差は認められなかった。

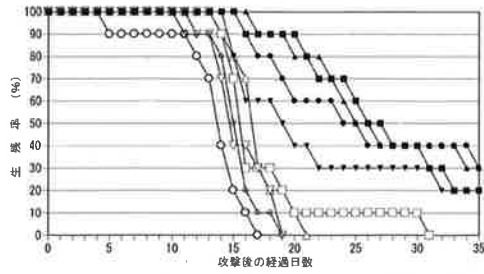


図2. *N. seriolae* 4菌株のFKCおよびFIA添加FKCで免疫したブリの腹腔内接種攻撃後の死亡経過(実験1)
攻撃菌量=1.2×10⁵ CFU/100g 魚



2) 実験2

方法

ワクチンの有効性を菌浴攻撃で判定することと浸漬ワクチンの有効性を調べることを目的とした。*N. seriolae* NUF27から調製したFKC, アジュバント添加FKCおよびアジュバント添加培養上清を各20尾宛腹腔内接種した。浸漬ワクチンでは20尾をFKC懸濁海水に30分間浸漬した。2週間後にすべての供試魚を105CFU/mlの菌懸濁海水に15分間浸漬して攻撃した。

結果

攻撃後の死亡経過を図3に示した。攻撃試験後半からハダムの寄生数が次第に増加し、それが原因と思われる死亡が現れ始めたため、26日目で試験を終了した。本実験ではいずれのワクチンもある程度の効果が認められ、とくに浸漬ワクチンが有効である可能性が示唆された。

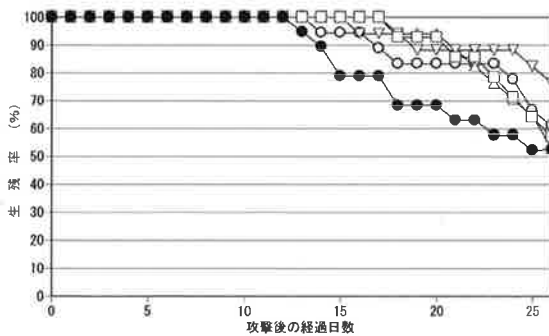


図3. *N. seriolae*各種ワクチンで免疫したブリの菌浴攻撃後の死亡経過(実験2)
攻撃菌量=2.2×10⁵ CFU/ml



3. ヒラメのエドワジエラ症試作ワクチンの有効性試験

1) 実験1

方法

過酸化水素処理菌から調製したFKCの有効性を調べることを目的とした。*Edwardsiella tarda* NUF251のトリプトソイブイオン(TS)または普通ブイオン(NB)振とう培養液に過酸化水素を20mm添加し6時間静置後、ホルマリンで不活化してFKCを作製した。これを、過酸化水素非処理FKCを含め、10mgまたは1mg/fishとなるよう各20尾宛腹腔内接種した。4週間後にすべての供試魚を108CFU/mlの菌懸濁海水に15分間浸漬して攻撃した。

結果

攻撃後の死亡経過を図4に示した。調べた中では過酸化水素処理TS培養FKCの10mg接種区の死亡が遅れる傾向がみられたが、それほど高い効果は認めら

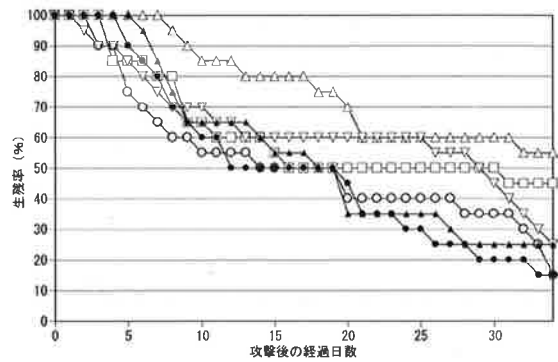


図4. *E. tarda*各種試作ワクチン接種魚の攻撃後の死亡経過

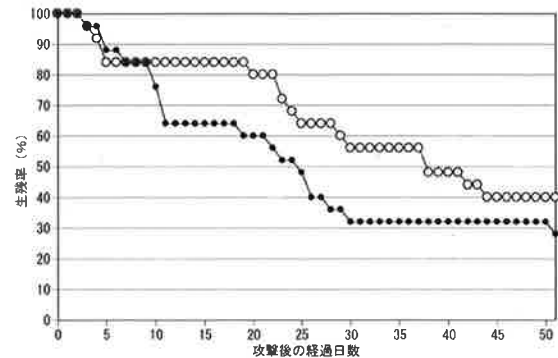
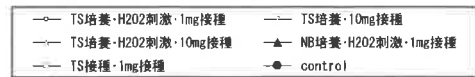


図5. *E. tarda* E31FKC経口ワクチン投与魚の攻撃後の死亡経過



れなかった。

2) 実験2

方 法

線毛高発現株による経口ワクチンの有効性を調べることを目的とした。*E.tarda* E31のTS培養菌から調製したFKCを20尾宛10mg/100g魚体重となるよう餌とともに5日間経口投与した。3週間後にすべての供試魚を105CFU/mlの菌懸濁海水に15分間浸漬して攻撃した。

結 果

攻撃後の死亡経過を図5に示した。対照区に比べてワクチン投与区の死亡が遅れる傾向がみられたが、高い効果は認められなかった。

4. ヒラメのレンサ球菌症に関する研究

原因菌 *Streptococcus iniae* の病原性および免疫原性における莢膜物質の役割を明らかにするため、*S.iniae* NUF631からトランスポゾン挿入法により作出した莢膜欠損変異株の病原性およびFKCワクチンの有効性を調べた。変異株4株の病原性を腹腔内接種法で検討したところ、2株はヒラメに対するビルレンスが著しく低下しており、莢膜の重要性が示唆された。残り2株のビルレンスは親株と差がなかったが、死亡魚か

らの再分離菌は莢膜を保有していたため実験中にトランスポゾンが脱落したものと推察された。なお、免疫原性については、対照区を含めて全体的に死亡率が低かったために親株と変異株との間に明確な差異を見出すことはできなかったが、変異株から作製したワクチンの有効性が低くなる傾向がみられた。

ま と め

- 1) 攻撃後の死亡率が低かったために、ブリ類結節症試作ワクチンの有効性は確認されなかった。
- 2) *Nocardia seriolae* は、菌株ごとに毒性が異なり、今回検討した6株のうちでは、NUF27, NUF478, NUF856株が比較的毒性が強く、NUF36, NUF858は弱毒であることがわかった。
- 3) *Nocardia seriolae* を用いた攻撃方法の検討を行った結果、筋肉接種と菌浴による攻撃が自然感染魚と類似の症状を呈することがわかった。
- 4) ブリのノカルジア試作ワクチンの有効性について、効果が期待できる結果が得られた。
- 5) ヒラメのレンサ球菌症・エドワジエラ症混合ワクチンの有効性について検討した結果、混合ワクチンは単独ワクチンに比べてエドワジエラ症や混合感染に対して若干効果が高まる可能性があることがわかった。

11. マハタのウイルス性神経壊死症（VNN）の防除対策

高見 生雄・吉水 守*1・家戸敬太郎*2

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あるが、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ており、種苗時期の魚体へのワクチン接種には経口ワクチンが有利である。北海道大学では経口ワクチンの開発を進めており、平成16年度からは有効性の検討が行える段階に来ている。この経口ワクチンのマハタのVNNに対する有効性を検討した。

1. 自然発症試験

方 法

供試魚 供試魚には魚類科が平成16年度に種苗生産したマハタの種苗5,172尾を用い、平成16年7月28日から8月8日まで20t円形水槽でUV照射を用水として1日2回転の給水条件で予備飼育をした後、試験に供した。予備飼育期間中の日間給餌率は魚体重の3~5%とした。種苗の平均魚体重は2%であったものが5.6%に増加した。

ワクチン 北海道大学と近畿大学が共同で開発したワクチン（VNNウイルスの遺伝子情報を導入した酵母を不活化したもの）を使用した。

試験区 試験区は、VNNウイルスフリーの環境で飼育される陰性対照区、VNNウイルスに感染したことを確認するための陽性対照区、ワクチンを経口投与したワクチン区、ワクチンに使用した酵母の影響を確認するために酵母を投与した酵母区、浸漬する方法でワクチン処理をした浸漬区の5つの試験区とし、供試魚尾数は各試験区ともに700尾とした。

ワクチン処理 ワクチン処理には経口投与方法と浸漬法

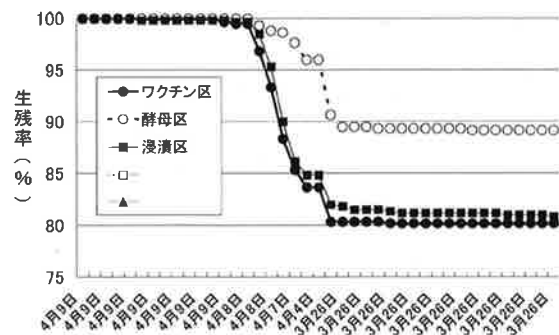
について実施した。経口投与方法では、ドライペレット（日清おとひめ2号）にワクチンを吸着させて魚体重に対する日間給餌率が3%になるように平成16年8月12日から18日までの7日間給餌した。浸漬法では平成16年8月18日にワクチンが250 μ g/mlになるように調整した海水70Lを200Lポリカーボネート水槽に入れて、酸素を供給しながら10分間の浸漬をした。

攻撃 攻撃は、ワクチン処理が終了した日から3週間後に、昨年養殖試験中のマハタにVNNが発症した総合水産試験場の棧橋筏で2m角生簀で飼育する方法で行った。この時、水温と日間死亡尾数を記録した。なお、陰性対照区はUV照射海水を用水として陸上で3t円形キャンバス水槽で飼育した。

結 果

沖だし後の各試験区の生残率を図1に示した。

図1からは、沖だし後2週間目から死亡が認められるようになり、酵母区に比べワクチン区と浸漬区が有意に生残率が悪そうに見える。しかし、9月27日~9月30日に採取された死魚についてのRT-PCR検査の結果（表1）ではVNNウイルスは陰性であったので、死亡の原因はVNNで無く、他にあることが疑われた。ここで、生簀に侵入したアイゴの稚魚が弱ったマハタをつついて体表に大きな穴を空けていたことから、9



* 1 北海道大学大学院

* 2 近畿大学水産研究所

月29日に陸上の50t コンクリート水槽に2m 角生簀を張って、収容して9月30日に混入していたアイゴを全て取り除いたところ10月1日から死亡がなくなったために死亡原因はアイゴの食害によるものと判断した。

この後、10月19日まで陸上水槽で飼育したが、海面の水温が22.6℃に低下したため自然発症の可能性がなくなったので、試験を終了した。今回の実験では、ワクチンの有効性については、明確にできなかった。しかし、nested-PCR 検査（表1）の結果ではワクチン区からは VNN ウイルスが検出されていなかったことは、ワクチンの有効性を期待できる材料と考える。

表1 PCR 検査結果

試験区	PCR検査結果 検体数	RT-PCR		nested-PCR	
		陽性数	陽性率	陽性数	陽性率
陰性対照区	2	0	0.0	0	0.0
陽性対照区	11	0	0.0	6	54.5
ワクチン区	7	0	0.0	0	0.0
酵母区	10	0	0.0	1	10.0
浸漬区	25	0	0.0	12	48.0

2. 人為感染試験

方 法

自然発症試験でワクチン処理したマハタ稚魚の中から各試験区ともに60尾を200L ポリカーボネート水槽に収容して、攻撃試験を実施した。

VNN ウイルスによる攻撃は、VNN ウイルスを接種して発病させた VNN 発病魚の飼育排水を各試験区の用水として使用する方法で行った。

結 果

攻撃1週間後に、エアレーションが停止する事故が発生し、全滅した。

ま と め

- 1) 自然発症試験を実施したが、アイゴの食害により明確な結果は得られなかった。
- 2) 攻撃試験を実施したが、エアレーションが停止する事故により試験は成功しなかった。

(担当：高見)

12. トラフグのヤセ病防除対策

高見 生雄・杉原 志貴・柳原 哲矢*¹
横山 博*²・小川 和夫*³

トラフグ養殖におけるヤセ病は、死亡率は比較的低いものの成長阻害や激ヤセにより商品価値の著しい低下をもたらすため、トラフグ養殖の継続が危ぶまれるほどの経営的な被害をもたらす。原因としては腸管に寄生する2種類の原虫類 (*Enteromyxum leei*, *Leptotheca fugu*) が関与していることが知られており、一旦発生した漁場では毎年発生するようになるため、汚染漁場は毎年拡大しており、今後、県内のトラフグ養殖における最も重要な魚病となりつつある。

本課題では、東京大学で開発されている検査方法を検証すると同時に、防除対策の基本となるヤセ病の分布や発病時期等の疫学情報を収集し、その結果を持ってヤセ病防除対策を検討することを目的とする。

1. PCR によるトラフグ腸管寄生粘液胞子虫の検出

トラフグの粘液胞子虫性ヤセ病の診断法を開発するため、腸管寄生粘液胞子虫の SSU rDNA を標的とした PCR 法について検討した。設計した3組の PCR プライマーは *E. leei*, *Enteromyxum fugu* および *L. fugu* をそれぞれ特異的に検出した。トラフグを解剖して摘出した腸管から DNA を抽出する方法、魚を殺さずに肛門から綿棒を挿入して得られた腸内容物より DNA 抽出する方法のいずれにおいても、腸管スタンプの顕

微鏡観察より高い感度で寄生虫を検出できた。

(この報告は、柳田他の連名で *Fish Pathology*, 40 (1), 23-28, 2005.3 に記載された。)

2. 県下トラフグ養殖漁場の汚染状況調査

方 法

トラフグの肛門から綿棒を挿入して得られた腸内容物から DNA を抽出して PCR 検査を実施する方法で、平成16年9月28日～同年11月11日にかけて、県下20漁業協同組合の35漁場、63経営体、1228個体のトラフグについてヤセ病の感染状況を調査した。

結 果

PCR 検査の結果、*E. leei* は63経営体中21経営体が、*L. fugu* は8経営体が感染していることがわかった。

ま と め

- 1) 肛門から綿棒を挿入して腸管内容物を採取し、PCR 検査をする方法でトラフグを生かしたままトラフグ腸管寄生粘液胞子虫の検出が可能となった。
- 2) 県下一斉のトラフグ腸管寄生粘液胞子虫の汚染状況調査を実施した結果、約3分の1トラフグ養殖業者のトラフグが *E. leei* に感染しており、約12.7%の *L. fugu* に感染していることがわかった。

(担当：高見)

13. トラフグの口白症防除対策

高見 生雄・吉水 守^{*1}

トラフグ養殖における口白症は、0歳魚に発生すると非常に高い死亡率を示す疾病であり、検査方法が確立されておらず、早期発見が難しく、原因がウイルスであるために抗菌剤等の医薬品による治療もできないためトラフグ養殖経営を圧迫する疾病である。

本課題では、北海道大学と共同で確定診断方法の開発と病原体の分離・大量培養を行い、最終的にはワクチン開発を目的とする。

1. 聞き取り調査

方 法

長崎県でトラフグ養殖に従事している63経営体に対して、口白症の診断者、診断の基とする症状、口白症がはじめて発生した年、発生する月、発症する魚令、発生した場合の被害率について面談による聞き取り調査を実施した。

結 果

アンケート数63に対して回答数は40であった。また、回答したものはすべて口白症の診断を自分ですると答えた。

口白症と診断する場合に何個の症状を基にするかについて表1にまとめた。3つの症状を元にするものもも多く、次いで1つ、2つ、0、4つ、5つの順であった。

表1. 診断基所とした症状の数

症状の数	回答者数
0	7
1	9
2	7
3	10
4	4
5	3

口白症と診断する場合に基とする症状について表2にまとめた。口白（口が白く腐れる）、体色の黒化、膨れる（腹を膨らまして基にもどらない）の3つの症状だけで全体のほぼ7割を占めており、体側白化（体側が白く光って見える）、噛み合いを加えた5つの症状で8割を超えた。従来の症状とされた肝臓の線状鬱血痕を診断の基とするのは全体の3.5%と以外に少なかった。このことから、養殖業者は外観症状に頼って診断していることが伺えた。

表2. 診断基所とした症状

症状	回答者数
口白	22
体色黒化	20
膨れる	15
体側白化	8
噛み合い	6
口赤	5
肝臓線状鬱血痕	3
口黒	3
体色黄化	2
大量死	1

表3. 口白症がはじめて発症した年

年	回答者数	年	回答者数
1983	1	1997	1
1989	2	1998	3
1990	1	1999	1
1991	1	2002	4
1992	1	2003	14
1993	1	2004	3
1996	3		

* 1 北海道大学大学院水産科学研究科

口白症が初めて発生した年は、2003年と回答した経営体が最も多く（表3）、次いで2002年、2004年と近年、再流行の兆しが伺えた。

口白症が発症する月は2月～4月の3ヶ月間を除いた全ての月であり、7月～9月の発生が盛期であった（表4）。

表4. 口白症が発症する月

月	回答者数	月	回答者数
1	1	7	12
2	0	8	11
3	0	9	11
4	0	10	7
5	1	11	7
6	5	12	5

口白症による被害は0歳魚と回答したものが全体の8割以上を占め、次いで1歳魚、2歳魚のじゅんであった（表5）

表5. 被害が出る魚令

魚令	回答者数
0	23
1	4
2	1

表6に口白症による被害率をまとめた。口白症による被害の多くが50%～100%にあり、一旦発病すると被害が大きいことが伺えた。

表6. 被害の割合

被害率 (%)	回答者数
100	5
80	1
70	4
50	4
40	3
30	2
20	3
10	1
0	1

2. トラフグの口白症原因ウイルスに対する抗血清作出の試み

トラフグの口白症の簡易・迅速診断の開発を目的に、本症原因ウイルスに対する抗血清作出を試み、蛍光抗体法への応用を試みた。

方 法

トラフグ口白症原因ウイルスに対するウサギ抗血清の作製：

トラフグの口白症原因ウイルスに対する抗体を得るために、ニュージーランドホワイトラビット（オス、2kg）を、トラフグの口白症病魚より摘出した脳のホモジナイズ液で免疫し、抗血清を作製した。すなわち、脳ホモジナイズ液を耳静脈内に1 mL注射し、さらに2 mLを等量の Freund's Complete Adjuvant（Gibco）と乳化し、臀部から背中側部皮下10個所に注射した。その後1週間毎に3回耳静脈内に1.5?2 mLの脳ホモジナイズ液を注射した。免疫スケジュール終了後、2回ブースターとして耳静脈に1.0 mLの脳ホモジナイズ液を注射した後に採血を行い、血清を56°Cで30分間加温処理して補体の非働化を行った。

蛍光抗体法によるトラフグの口白症原因ウイルス抗原の検出：

間接蛍光抗体法により本症原因ウイルス抗原の検出を試みた。まず、得られた抗血清をトラフグ正常魚より摘出した脳のアセトンパウダーで吸収した。PBSで50倍に希釈した上記血清を口白症病魚および正常魚のスタンプ標本に50 mL滴下後、37°Cで30分間反応させた。PBSで未反応血清を十分に洗い流した後、PBSで100倍に希釈した FITC 標識抗ウサギ Ig ブタ血清（DAKO）を50 mL滴下し、37°Cで30分間反応させた。再度 PBSで未反応血清を十分に洗い流しグリセリンバッファー（0.5 M 炭酸・重炭酸緩衝液（pH 9.5）：グリセリン（特級・無蛍光）= 1:9）で封入して検鏡した。

結 果

口白症病魚および正常魚スタンプ標本の蛍光抗体染色像を Fig.1および2に示した。病魚の組織全体が蛍光を発したが正常魚の組織も同様の像が観察され、吸収処理が十分でないことが明らかとなった。吸収を10

日間行った場合も同様の像であった。

以上より、得られた抗血清からトラフグの脳組織に対する抗体を十除去できず、病魚の診断が困難であった。今後は、培養細胞を樹立し、培養ウイルスを用いて抗血清を再度作製する必要があると考える。

ま と め

- 1) トラフグ養殖業者63経営体に対して口白症に関するアンケート調査を実施した。
 - 2) 養殖業者は1～3つ程度の外観症状を診断基所として、口白症の診断をしていた。
 - 3) 診断基所とする主な外観症状は、口白（口が白く腐れる）、体色の黒化、膨れる（腹を膨らまして基
- にもどらない）であった。
 - 4) 口白症は2002年頃から再流行の兆しが伺えた。
 - 5) 口白症の発生は7月から9月の3ヶ月間が盛期であった。
 - 6) 口白症が発生するのは主に0歳魚であった。
 - 7) 一旦発生した場合の被害の多くは50%以上であった。
 - 8) 口白症原因ウイルスに対する抗血清作出を試み、蛍光抗体法への応用を試みた。
 - 9) 得られた抗血清からトラフグの脳組織に対する抗体を十除去できず、病魚の診断が困難であった。

(担当 高見)

14. 環境負荷低減飼料開発に関する研究

宮原 治郎・佐藤 秀一*1

海面養殖から環境への汚染負荷を軽減していくため、昨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16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（環境負荷低減型配合飼料開発事業）を参照されたい。

I. ブリおよびマダイ当歳魚を用いた植物性原料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

ブリおよびマダイ当歳魚における植物性飼料原料の配合割合と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、飼料原料中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、(独)水産総合研究センター五島栽培漁業センターで種苗生産された早期採卵ブリを用い、平均体重136gで容量1tの自然採糞装置に40尾収容し、試験飼料で3日間予備飼育して実験に供した。

マダイ当歳魚は、長崎市水産センターで種苗生産されたものを用い、平均体重92gで容量1tの自然採糞装置に80尾収容し、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。昨年度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（魚粉対照区）とリン含量の低い大豆油粕およびコーングルテンミール等で魚粉の30%を代替し、飼料中のリン含量を約0.3%削減した試験飼料（代替対照区）、これにクエン酸を2%添加（クエン酸区）あるいは

クエン酸を2%と第一リン酸カルシウムを0.6%添加した試験飼料（クエン酸+リン酸区）とした。

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

なお、内部標準物質として酸化クロムを0.5%添加した。

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

ブリおよびマダイ当歳魚における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、魚粉対照区が42.4%に対し、代替対照区が46.5%、クエン酸区が54.4%、クエン酸+リン酸区が54.6%といずれも高かった。有効リン含量は、魚粉対照区が0.57%に対し、代替対照区が0.52%とやや低かったが、クエン酸区が0.60%、クエン酸+リン酸区が0.66%といずれも高かった。

マダイにおけるリンの消化吸収率は、魚粉対照区が53.4%に対し、代替対照区が52.1%とやや低かったが、クエン酸区が63.7%、クエン酸+リン酸区が66.0%といずれも高かった。有効リン含量は、魚粉対照区が0.72%に対し、代替対照区が0.58%とやや低かったが、クエン酸区が0.71%とほぼ同等で、クエン酸+リン酸区が0.79%と高かった。

* 1 東京海洋大学

II. ブリ当歳魚を用いた海産養殖魚用飼料原料中のリンの消化吸収率試験

ブリにおける主要な飼料原料である大豆油粕をリンの消化吸収率を高める目的で酵素等で前処理して配合した飼料原料中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、「I」と同じ群のものであり、平均体重246gで実験に供した。

試験飼料 ブリ用試験飼料組成を表3に示した。大豆油粕を乳酸菌発酵やフィターゼ処理を行い、ミートチョッパーで製造して試験飼料とした。

給餌および採糞 「I」と同様に行なった。

結 果

ブリ当歳魚における飼料原料のリンの消化吸収率などの結果を表4に示した。

リンの消化吸収率は、大豆油粕が27.3%に対し、乳酸菌発酵大豆油粕が67.3%、フィターゼ処理大豆油粕が87.3%といずれも高かった。有効リン含量は、大豆油粕が0.17%に対し、乳酸菌発酵大豆油粕が0.52%、フィターゼ処理大豆油粕が0.71%といずれも高かった。

III. ブリ当歳魚を用いた植物性原料配合飼料におけるクエン酸およびアミノ酸キレート微量元素の添加効果ならびに植物性原料の前処理効果試験

昨年度の結果より、クエン酸あるいはアミノ酸キレート微量元素の添加が、飼料中のリンの利用性向上に有効であると示唆されたので、クエン酸の添加量およびクエン酸とアミノ酸キレート微量元素の併用効果、ならびに乳酸菌発酵あるいはフィターゼ処理した大豆油粕の効果について検討した。

方 法

供試魚 ブリ当歳魚は、「I」と同じ群のものであり、平均体重約85gのものを3×3×3m小割生簀へ200尾収容し、平成16年7月28日から10月21日まで海面飼育した。

試験飼料 ブリ用試験飼料組成を表5に示した。「I」の代替対照区に対し、クエン酸を1%添加した

飼料区（対照区）、クエン酸2%とアミノ酸キレート微量元素0.1%を併用添加した試験飼料区（併用区）、乳酸菌発酵（乳酸菌発酵区）あるいはフィターゼ処理した大豆油粕を15%添加した試験飼料区（フィターゼ区）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。

結 果

ブリ当歳魚における海面飼育試験結果を表6に示した。

生残率は、いずれも96%以上と良好であった。

成長面では、対照区（日間成長率1.44%、増肉係数1.64）が最もよく、次いで併用区（日間成長率1.40%、増肉係数1.70）がよかった。一方、フィターゼ区（日間成長率1.35%、増肉係数1.70）がやや劣り、乳酸菌発酵区（日間成長率1.34%、増肉係数1.79）が最も悪かった。

ブ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7に示した。

魚体への窒素の蓄積率は、対照区（32.3%）、併用区（31.3%）、フィターゼ区（30.6%）、乳酸菌発酵区（29.2%）の順に高く、大豆油粕処理区が低い傾向であった。

魚体へのリンの蓄積率は、対照区（26.5%）と比べて、併用区（29.8%）とフィターゼ区（27.8%）が高かった。

環境への窒素の負荷量は、対照区（70.7kg/t生産）、併用区（73.7kg/t生産）、フィターゼ区（79.1kg/t生産）、乳酸菌発酵区（82.8kg/t生産）の順に低く、大豆油粕処理区が高い傾向であった。

環境へのリンの負荷量は、併用区（12.3kg/t生産）、対照区（13.8kg/t生産）、フィターゼ区（13.9kg/t生産）、乳酸菌発酵区（15.8kg/t生産）の順に低かった。

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、ブリおよびマダイ当歳魚についてリン含量の低い植物性原料の配合割合と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、リンの

消化吸収率および有効リン含量を測定した。

- 2) 魚粉（アンチョビーミール）の30%を代替し、飼料中のリン含量を約0.3%削減した飼料では、ブリおよびマダイとも有効リン含量が魚粉対照区より低かったが、クエン酸の2%添加によりブリ及びマダイとも高くなった。
- 3) 大豆油粕を乳酸菌発酵あるいはフィターゼ処理し、ミートチョッパーで製造した飼料では、いずれも大豆油粕よりリンの消化吸収率と有効リン含量がかなり高くなった。
- 4) 魚粉（アンチョビーミール）の30%を代替し、ク

エン酸を1%添加した飼料が、成長面と魚体への窒素の蓄積率では最もよく、環境への窒素の負荷量も少なかった。一方、クエン酸を2%とアミノ酸キレート微量元素を0.1%併用添加した飼料が、魚体へのリンの蓄積率が最もよく、環境へのリンの負荷量も少なかった。

- 5) これらのことから、リン含量の低い植物性原料等で魚粉の30%を代替した場合、クエン酸の添加量は、1%以下でもよい可能性が示唆された。

（担当：宮原）

表1 ブリ用試験飼料組成

	魚粉対照区	代替対照区	クエン酸区	クエン酸+リン酸区
アンチョビーミール	50	35	35	35
大豆油粕	5	10	10	10
コーングルテンミール	5	14	14	14
小麦粉	8	8	6	5.4
処オカ澱粉+小麦粉	15	15	15	15
魚油	10	10	10	10
大豆油	4	5	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	0	0	0.6
ビタミンプレミクスチャー	2	2	2	2
クエン酸	0	0	2	2
サプリメントオイル	5	5	5	5
合計	105	105	105	105

表2 ブリおよびマダイ当歳魚における試験飼料のリンの消化吸収率などの結果

	魚粉対照区	代替対照区	クエン酸区	クエン酸+リン酸区
ブリ				
飼料中のリン含量(%)	1.35	1.11	1.10	1.20
リンの消化吸収率(%)	42.4	46.5	54.4	54.6
有効リン含量(%)	0.57	0.52	0.60	0.66
マダイ				
飼料中のリン含量(%)	1.34	1.11	1.11	1.20
リンの消化吸収率(%)	53.4	52.1	63.7	66.0
有効リン含量(%)	0.72	0.58	0.71	0.79

表3 ブリ用試験飼料組成

	大豆油粕	乳酸菌発酵大豆油粕	フィターゼ処理大豆油粕
大豆油粕	30	0	0
乳酸菌発酵大豆油粕	0	30	0
フィターゼ処理大豆油粕	0	0	30
卵アルブミン	26.7	26.7	26.7
ゼラチン処理デンプン	10	10	10
デキストリン	5	5	5
鱈肝油	20	20	20
ビタミンプレミクスチャー	3	3	3
塩化コリン	0.5	0.5	0.5
ビタミンE(50%)	0.1	0.1	0.1
酸化クロム(50%)	1	1	1
イットリウム酸化物(10%)	0.05	0.05	0.05
セルロース	3.65	3.65	3.65
合計	100	100	100

表4 プリ当歳魚における飼料原料のリンの消化吸収率などの結果

	大豆油粕	乳酸菌発酵大豆油粕	フィターゼ処理大豆油粕
飼料中のリン含量(%)	0.62	0.77	0.81
リンの消化吸収率(%)	27.3	67.3	87.3
有効リン含量(%)	0.17	0.52	0.71

表5 プリ用試験飼料組成

	対照区	併用区	乳酸菌発酵区	フィターゼ区
アンチホーミール	35	35	35	35
大豆油粕	10	10	0	0
乳酸菌発酵大豆油粕	0	0	15	0
フィターゼ処理大豆油粕	0	0	0	15
コーングルテンミール	14	14	10	10
小麦粉	7	5.9	7	7
処カ澱粉+小麦粉	15	15	15	15
魚油	10	10	10	10
大豆油	5	5	5	5
ミネラルミックス(リンフリー)	1	0	1	1
ミネラルミックス(微量元素フリー)	0	1	0	0
アミノ酸キレート微量元素	0	0.1	0	0
ビタミンプレミクスチャー	2	2	2	2
クエン酸	1	2	0	0
サプリメントオイル	5	5	5	5
合計	105	105	105	105

表6 プリ当歳魚における海面飼育試験結果

	対照区	併用区	乳酸菌発酵区	フィターゼ区
生残率(%)	99.9	97.8	96.3	96.8
開始体重(g)	85.4	84.8	84.8	86.4
終了体重(g)	739	694	644	671
日間成長率(%)	1.44	1.40	1.34	1.35
日間給餌率(%)	4.0	4.1	4.2	4.0
増肉係数	1.64	1.70	1.79	1.7

表7 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結果

	対照区	併用区	乳酸菌発酵区	フィターゼ区
窒素				
魚体への蓄積率(%)	32.3	31.3	29.2	30.6
環境への負荷量(kg/t・生産)	70.7	73.7	82.8	79.1
リン				
魚体への蓄積率(%)	26.5	29.8	24.4	27.8
環境への負荷量(kg/t・生産)	13.8	12.3	15.8	13.9