

# 海産魚介類の疾病対策と養殖衛生管理指導－ 1

## 海面防疫対策（養殖衛生管理体制整備事業）

### （国庫交付金）

吉岡宗祐・福田 穰・木本圭輔

#### 事業の目的

魚介類の感染症は、養殖業への被害で経営を悪化させるほか、種苗放流等を通じて自然界への病原体拡散も問題となる。また消費者は、養殖水産物に関して医薬品の使用状況、飼料の給餌状況、養殖漁場環境等について食品安全の面から高い関心を寄せている。

国内の魚類防疫体制は持続的養殖生産確保法に基づいて整備されてきたが、再興感染症（ブリのノカルジア症等）の流行やワクチンの効きにくい変異株の出現（ブリ類の $\alpha$ 溶血性レンサ球菌症）、新疾病の発生（異体類のアクアレオウイルス感染症）等、魚病の態様は刻々と変化している。また来年度から、水産防疫の枠組みが見直し（対象疾病の増加：11→24疾病）され、対策要綱も改訂（着地検査やサーベイランス等の追加）されることから、輸出入および国内防疫における疾病監視業務の重要性はさらに増すと考えられる。様々に様態が変化する魚病や、これらの状況に臨機応変に対応するため、養殖現場の巡回指導、養殖生産者に対する医薬品適正使用の指導、食品衛生等に対応する養殖衛生管理技術の普及、養殖場の調査・監視、薬剤耐性菌の実態調査等を行う

必要がある。

本事業の目的は、養殖生産物の安全性を確保し、健全な養殖魚の生産に寄与するため、疾病対策および食品衛生に対応した養殖衛生管理体制の整備を推進することである。

#### 事業の内容および結果

##### I 総合推進対策

1. 全国会議（表1）
2. 地域検討会（表2）

##### II 養殖衛生管理指導

1. 医薬品の適正使用の指導（表3）
2. 適正な養殖管理・ワクチン使用の指導（表4）
3. 養殖衛生管理技術の普及・啓発
  - 1) 養殖衛生管理技術講習会（表5）

##### III 養殖場の調査・監視

1. 医薬品残留検査（表6）
2. 薬剤耐性菌の実態調査（表7）

##### IV 疾病対策

1. 疾病監視対策（表8）
2. 疾病発生対策（表9）

表1 全国会議

実施時期	実施場所	構成員	内容
2015年			
8月10～11日	東京都	(独)水研センター増養殖研究所 農林水産省 (公社)全国豊かな海づくり推進協会 (公社)日本水産資源保護協会 都道府県養殖衛生管理担当者	1. 異体類のアクアレオウイルス感染症に関する知見 2. 異体類のアクアレオウイルス感染症に関するアンケート調査結果の報告と課題の整理 3. その他
2015年			
11月26日	東京都	農林水産省 (独)水研センター増養殖研究所 (公社)日本水産資源保護協会 都道府県養殖衛生管理担当者	1. キセノハリオチス症に関する研究成果について 2. ガイドラインの見直しに関する意見交換 3. その他
2015年			
12月2～3日	三重県	(独)水研センター増養殖研究所 (公社)日本水産資源保護協会 都道府県養殖衛生管理担当者	1. 平成27年度の疾病発生事例等について 2. レッドマウス病に関する情報について 3. プリ類の難治癒疾病に関する情報について 4. その他
2016年			
3月11～12日	東京都	農林水産省 (公社)日本水産資源保護協会 都道府県養殖衛生管理担当者	1. 水産防疫対策の概要 2. キセノハリオチス症対策の見直し 3. レッドマウス病の状況について 4. その他

表2 地域検討会

実施時期	実施場所	構成員	内容
2015年			
10月8～9日	広島	三重県、和歌山県、大阪府、兵庫県、岡山県、広島県、大分県、徳島県、高知県、香川県	1. 瀬戸内海・四国ブロック各県の魚病発生状況と対応 2. その他
2015年			
10月22～23日	山口	愛媛県、高知県、山口県、佐賀県、長崎県、大分県、熊本県、宮崎県、鹿児島県、沖縄県	1. 九州・山口ブロック各県の魚病発生状況と対応 2. 難治癒疾病の疫学調査の取組事例について 3. その他
2016年			
2月2～3日	大分	高知県、愛媛県、長崎県、大分県、熊本県、宮崎県	1. 南中九州・西四国各県の魚病発生状況と対応 2. 養殖マグロの疾病について 3. その他

表3 医薬品の適正使用の指導

実施時期	実施場所	対象者(人数)	内容
2015年			
6月3日	佐伯市(上浦)	海産魚類養殖関係漁業協同組合支店 関係市, 関係振興局(26名)	水産用医薬品の適正使用について
2015年			
7月10日	佐伯市	海産魚類養殖業者 関係漁業協同組合支店, 関係振興局(50名)	〃
2016年			
3月18日	佐伯市	海産魚類養殖業者 関係漁業協同組合支店, 関係振興局(37名)	〃

表4 適正な養殖管理・ワクチン使用の指導

実施時期	実施場所	対象者(人数)	内容
2015年	6月3日 佐伯市(上浦)	海産魚類養殖関係漁業協同組合支店 関係市, 関係振興局(26名)	水産用医薬品の適正使用について
2015年	7月10日 佐伯市	海産魚類養殖業者 関係漁業協同組合支店, 関係振興局(50名)	〃
2016年	3月18日 佐伯市	海産魚類養殖業者 関係漁業協同組合支店, 関係振興局(37名)	〃

表5 養殖衛生管理技術講習会

実施時期	実施場所	対象者(人数)	内容
2015年	6月3日 佐伯市(上浦)	陸上養殖漁業者, 関係漁業協同組合支店, 関係振興局(26名)	最近の魚病診断状況について
2015年	7月10日 佐伯市	養殖漁業者, 関係漁業協同組合支店, 関係振興局(50名)	水産用医薬品と魚病対策について
2015年	8月4日 佐伯市(上浦)	養殖漁業者(3名)	魚病診断実習
2015年	10月20日 佐伯市(上浦)	マグロ養殖生産者, 関係漁業協同組合支店, 関係振興局(20名)	養殖マグロの住血吸虫症
2015年	12月15日 佐伯市(蒲江)	陸上養殖漁業者, 関係漁業協同組合支店, 関係振興局(18名)	トラフグ肝臓の肉芽腫について
2016年	3月17日 佐伯市	養殖漁業者, 関係振興局(23名)	ブリ類ペコ病原因虫検出の試み
2016年	3月18日 佐伯市	水産養殖資材販売店等関係者(12名)	最近の魚病発生状況について
2016年	3月18日 佐伯市	養殖漁業者, 関係漁業協同組合支店, 関係振興局(37名)	水産用医薬品と魚病対策について
2016年	3月23日 大分市	カキ養殖業者, 関係漁業協同組合支店, 関係市役所, 関係振興局(34名)	カキ類の疾病について

表6 医薬品残留検査

採材時期	実施場所	対象魚	対象医薬品(成分)	内容	検体数
2015年	12月14日 佐伯市(蒲江)	ヒラメ	抗菌性物質一般	全て陰性(筋肉)	5
	12月22日 佐伯市(上浦)	ブリ	〃	全て陰性(筋肉)	5
2016年	1月7日 津久見市	ヒラメ	〃	全て陰性(筋肉)	4
検体数合計					14

表7 薬剤耐性菌の実態調査

実施時期	実施場所	対象魚	内容
2015年4月1日～ 2016年3月31日	佐伯市 (上浦)	ブリ類 (調査対象地域:豊後水道沿岸)	細菌分離とディスク法による感受性測定 <i>Photobacterium damsela</i> subsp. <i>piscicida</i> (3株) <i>Lactococcus garviae</i> (36株) <i>Vibrio anguillarum</i> (3株)
2015年4月1日～ 2016年3月31日	"	ヒラメ (調査対象地域:豊後水道沿岸)	細菌分離とディスク法による感受性測定 <i>Edwardsiella tarda</i> (98株) <i>Streptococcus parauberis</i> (10株)

表8 疾病監視対策

実施時期	実施場所	対象魚	内容	実施時期	実施場所	対象魚	内容
2015年				2015年			
5月12日	津久見市	ブリ類, マダイ, ヒラメ他	養殖場の疾病調 査および魚病被 害状況の把握	10月5日	津久見市	ブリ類, マダイ, ヒラメ他	養殖場の疾病調 査および魚病被 害状況の把握
5月28日	津久見市	"	"	10月14日	津久見市	"	"
6月4日	臼杵市	"	"	10月16日	津久見市	"	"
6月4日	津久見市	"	"	10月28日	佐伯市(蒲江)	"	"
6月10日	佐伯市(蒲江)	"	"	11月11日	佐伯市(蒲江)	"	"
6月23日	佐伯市(蒲江)	"	"	11月24日	津久見市	"	"
7月8日	佐伯市(蒲江)	"	"	11月27日	佐伯市	"	"
7月10日	佐伯市	"	"	2016年			
8月5日	佐伯市(蒲江)	"	"	1月8日	津久見市	"	"
8月26日	佐伯市(蒲江)	"	"	2月6日	大分市	"	"
8月28日	佐伯市	"	"	3月15日	国東市	"	"
9月1日	佐伯市(蒲江)	"	"	3月18日	佐伯市	"	"
9月4日	佐伯市	"	"	3月18日	佐伯市(蒲江)	"	"
9月10日	佐伯市(蒲江)	"	"	3月23日	大分市	"	"
9月18日	佐伯市	"	"	3月29日	臼杵市	"	"
9月30日	佐伯市(蒲江)	"	"				

表9 疾病発生対策

実施時期	実施場所	対象魚	内容
2015年4月1日～ 2016年	佐伯市(上浦)	ブリ類, マダイ, ヒラメ他 (調査対象地域:豊後水道沿岸)	疾病検査および対策指導 ブリ類(103件), マダイ(11件), ヒラメ(110件), トラフグ(38件), ハギ類(21件)
2015年4月1日～ 2016年	佐伯市(上浦)	クルマエビ (調査対象地域:国東半島周辺)	疾病検査および対策指導(11件)

## V 疾病診断状況

1. 病害相談および診断件数 病害相談件数は884件(対前年度比99%)、疾病診断件数は327件(93%)であった(表10)。疾病原因別にみると、ウイルス病が13件(全体に対して4%)、細菌病が139件(43%)、寄生虫病が76件(23%)、その他が9件(3%)、原因不明が65件(20%)、健康診断が25件(8%)であった。

魚種別診断件数はヒラメ110件(全体の33.6%)、ブリ54件(16.5%)、トラフグ38件(11.6%)、カンパチ28件(8.6%)、ヒラマサ21件(6.4%)、カワハギ12件(3.7%)順に多かった。魚種別の特徴を以下に示す。

1) ブリ類 診断件数はブリとカンパチで増加(対前年度比169%、108%)、ヒラマサで減少し(同62%)、全体で103件(同112%)であった(表11)。ブリとカンパチでは、新たな血清型*L.garvieae*(II型)によるレンサ球菌症が見られ、ブリでは著しく増加した。II型レンサ球菌症に対しては、従来のI型市販ワクチンの効果が低い問題があったが、平成28年3月29日付で、ブリ属魚類に対してI型とII型の両方を対象としたワクチンが承認された。また、11月以降は「大韓民国向け輸出活魚の健康証明書発行手続き要領」に従って輸出されるブリ活魚のウイルス性出血性敗血症(VHS)検査(外観による異常の有無)の依頼が増加し、12件の健康証明書を発行した。

2) マダイ 診断件数は9件から11件に増加し、エピテリオシスチス病、エドワジエラ症、ビバギナ症が見られた(表12)。

3) ヒラメ 診断件数は110件で前年度の83%に減少した(表13)。疾病別ではエドワジエラ症が49件で最も多く、滑走細菌症とスクーチカ症(ともに13件)がこれに次いだ。スクーチカ症の診断件数は前年度の約7倍に増加した。前年度に多く見られたウイルス性出血性敗血症(VHS)の診断はなかった。現在、ヒラメではレンサ球菌症(*S.iniae*, *S.parauberis*)、およびエドワジエラ症に対するワクチンが市販されており、レンサ球菌症の診断件数は前年度と同様に少数であった(*S.iniae*が0件、*S.parauberis*が6件)。県内のヒラメ養殖業者によるエ

ドワジエラ症ワクチンの使用は平成27年に開始されたばかりであり、今後、本ワクチンの効果について注目する必要がある。なお、*Kudoa.septempunctata*の寄生状況検査(全ロット調査)結果は別報に記載した。

4) トラフグ 診断件数は38件で、昨年同期(48件)に比べ79%に減少した(表14)。診断件数が多かったのは原因不明事例(9件)、ヘテロボツリウム症(8件)、白点病(5件)であった。スクーチカ症(3件)は、ヒラメでの同疾病が多発する地区で見られた。

5) シマアジ 診断件数は6件に減少しレンサ球菌症(*L.garvieae* I型)が多く見られた(表15)。

6) ハギ類 ワハギの診断件数は15件から12件に減少した(表16)。レンサ球菌症(*L.garvieae* I型)が多く見られた。本県の養殖カワハギで初発生のクビナガ鉤頭虫症は、他県からの中間魚に見られた。ウマヅラハギの診断件数は9件で、カワハギと同様にレンサ球菌症(*L.garvieae* I型)が多く見られた。

7) その他の海産魚類 診断件数は前年度21件から24件に増加した(表17)。マサバの診断件数が比較的多く、シュードモナス症、レンサ球菌症(*L.garvieae* I型)の診断件数が多かった。これまで、県内におけるニジマスの海水養殖事例は少なかったが、全国的な事例増加に伴い、今後在来マス類(ヤマメやアマゴ)の海水養殖を含めて増加する可能性が考えられる。

8) 海産無脊椎動物 診断件数の14件のうち8件はクルマエビの健康診断であった(表18)。そのほかクルマエビでは急性ウイルス血症が1件、未同定細菌症が2件みられた。昨年度同様、陸上施設(流水)で養殖されていたアワビに多毛類穿孔による死亡事例が発生した。昨年度ヒオウギガイで外套膜の萎縮を伴う異常死が発生したが、今年度の発生はなかった。また、アワビ類のキセノハリオチス症原因菌の保菌検査は、非破壊的な糞便検査を実施した(水産資源管理実践支援事業)。診断件数には含まれていないが、種苗17、親貝3件の検査を行い、全て陰性を確認した。

表10 病害相談件数および診断件数

	15	4	5	6	7	8	9	10	11	12	16	1	2	3	計
相談件数	29	51	128	127	105	97	81	41	52	51	67	55	884		
	(48)	(63)	(102)	(148)	(135)	(117)	(110)	(63)	(16)	(58)	(17)	(19)	(896)		
診断件数	13	18	45	50	38	30	29	19	19	20	29	17	327		
	(16)	(31)	(40)	(60)	(44)	(48)	(45)	(22)	(7)	(24)	(7)	(8)	(352)		

\*( )は前年度

表11 ブリ類診断況

魚種名	疾病名	15	4	5	6	7	8	9	10	11	12	16	1	2	3	計
ブリ	ビブリオ病				2											2
	細菌性髄膜炎				1											1
	細菌性溶血性黄疸						1									1
	レンサ球菌症( <i>L. garvieae</i> )				2											2
	レンサ球菌症( <i>L.g. NAG</i> )						2	7	6	1	2			3		21
	ミコバクテリア症								1							1
	脳微胞子虫症					1										1
	トリコジナ症				1											1
	住血吸虫症						1									1
	鰓カリグス症				1											1
	骨折				1											1
	不明				1		3	1	1				2		1	9
	輸出検査										1	2	5	4		12
ブリ小計				0				8	8	2	4	7	7		1	54
ヒラマサ	ウイルス性腹水症					6										6
	類結節症							1	1							2
	ゼウクサプタ症	1		1						1	1					4
	住血吸虫症	2														2
	筋肉条虫症													1		1
	鰓カリグス症							1								1
	栄養性疾病	1														1
	不明	1				1					1	1				4
ヒラマサ小計		5	1	0	9	7	0	2	1	1	2	1	1		0	21
カンパチ	リンホシスチス病				1		1									2
	エビテリオシスチス病								2							2
	類結節症						1									1
	レンサ球菌症( <i>L.g. NAG</i> )							1								1
	ノカルジア症				1					1	1	1				4
	ゼウクサプタ症					1			1	3	1					6
	住血吸虫症						1			1		1			1	4
	不明				1	2	2		1			1	1			8
カンパチ小計		0	0	3	3	5	1	4	5	2	3	1	1		1	28
ブリ類計		5	1	12	11	12	11	13	8	8	11	9	2		2	103

表12 マダイ診断状況

魚種名	疾病名	15	4	5	6	7	8	9	10	11	12	16	1	2	3	計
マダイ	エビテリオシスチス病					1				1						2
	エドワジエラ症						1			1						2
	滑走細菌症														1	1
	白点病						1									1
	ラメロディスカス症							1								1
	ビバギナ症						1						1			2
	不明														1	1
	健康診断				1											1
マダイ計		0	0	1	1	3	1	0	2	0	0	0	1	2		11

表13 ヒラメ診断状況

魚種名	疾病名	15	4	5	6	7	8	9	10	11	12	16	1	2	3	計
ヒラメ	リンホシスチス病					1										1
	エドワジエラ症	1	4	11	6	6	7	5	4	2			2	1		49
	滑走細菌症				6	2	2				1	1	1			13
	レンサ球菌症( <i>S. parauberis</i> )		1	1		1	1							1	1	6
	イクチオボド症					1										1
	トリコジナ症		1	1												2
	スクーチカ症			1	3	1				1	2	3	2			13
	粘液胞子虫性やせ病							1	1							2
	ネオヘテロボツリウム症								1							1
	環境性疾病			1												1
	椎体異常										2					2
	不明	1	3	4	4	2								2	1	17
	健康診断														2	2
ヒラメ計		2	9	19	21	12	11	7	5	7	4	8	5			110

表14 トラフグ診断状況

魚種名	疾病名	15	4	5	6	7	8	9	10	11	12	16	1	2	3	計
トラフグ	エピテリオシスチス病						2							1		3
	滑走細菌症						1									1
	イクチオボド症				1	1										2
	白点病				2			1		1	1					5
	トリコジナ症	1					1							1		3
	スクーチカ症										1	1	1			3
	ヘテロボツリウム症			1	1	2	1	1	2							8
	栄養性疾病													1		1
	歯切り損傷					1		1								2
	不明	1				2	2	2	1	1						9
	健康診断				1											1
トラフグ計		2	1	5	6	7	5	3	2	2	2	1	4	0		38

表15 シマアジ診断状況

魚種名	疾病名	15	4	5	6	7	8	9	10	11	12	16	1	2	3	計
シマアジ	シュードモナス症														1	1
	レンサ球菌症( <i>L. garvieae</i> )						1		1		1					3
	アミルウージニウム症				1											1
	不明														1	1
シマアジ計		0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	2	6

表16 ハギ類診断状況

魚種名	疾病名	15	4	5	6	7	8	9	10	11	12	16	1	2	3	計
カワハギ	エピテリオシスチス病												1			1
	レンサ球菌症( <i>L. garvieae</i> )			2		1								1		4
	レンサ球菌症( <i>S. iniae</i> )												1			1
	粘液胞子虫性やせ病												1			1
	吸虫性旋回病						1									1
	クビナガ鉤頭虫症									1						1
	不明							1					1		1	3
カワハギ小計		0	2	0	1	1	1	0	1	0	1	0	4	1	1	12
ウマヅラハギ	エピテリオシスチス病								1							1
	レンサ球菌症( <i>L. garvieae</i> )					2	1									3
	レンサ球菌症( <i>S. iniae</i> )								2							2
	トリコジナ症			1	1											2
	不明				1											1
ウマヅラハギ小計		0	0	2	3	1	0	3	0	0	0	0	0	0	0	9
ハギ類計		0	2	2	4	2	1	3	1	0	4	1	1	1		21



## VI 水産用ワクチン使用状況

### 1. 注射ワクチン

1) 単味ワクチン ブリ類の $\alpha$ 溶血性レンサ球菌症ワクチンは、ブリ、カンパチ、ヒラマサで使用され、それぞれ指導書発行件数が10、3、4件、使用経営体数が8、2、4経営体、投与尾数が264,000、140,000、70,000尾、使用量が26.4、14.0、7.0Lであった。ヒラメの $\beta$ 溶血性レンサ球菌症不活化ワクチンは指導書発行件数が3件、使用経営体数が1経営体、投与尾数が38,000尾、使用量が3.8Lであった。ヒラメのエドワジエラ症不活化ワクチンは指導書発行件数が2件、使用経営体数が2経営体、投与尾数が20,000尾、使用量が4.0Lであった。マダイイリドウイルス病ワクチン、マハタのウイルス性神経壊死症(C型)不活化ワクチンは使用実績がなかった。

2) 二種混合ワクチン ブリ類の $\alpha$ 溶血性レンサ球菌症およびビブリオ病ワクチンはブリ、カンパチ、ヒラマサで使用され、それぞれ指導書発行件数が12、5、1件、使用経営体数が9、5、1経営体、投与尾数が663,000、59,400、10,000尾、使用量が66.3、5.94、1.0Lであった。ブリとカンパチの $\alpha$ 溶血性レンサ球菌症及び類結節症ワクチンはブリで使用され、指導書発行件数が1件、使用経営体数が1経営体、投与尾数が14,000尾、使用量が1.4Lであった。ブリ属の $\alpha$ 溶血性レンサ球菌症及びマダイイリドウイルス病ワクチンは使用されなかった。ヒラメの $\beta$ 溶血性レンサ球菌症及びストレプトコッカス・パラウベリス(I,

II型)感染症不活化ワクチンは、指導書発行件数15件、使用経営体数11経営体、投与尾数425,000尾、使用量が42.5Lであった。

3) 三種混合ワクチン ブリ類の $\alpha$ 溶血性レンサ球菌症、ビブリオ病及びマダイイリドウイルス病ワクチンはブリ、カンパチ、ヒラマサで使用され、指導書発行件数が6、1、7件、使用経営体数が6、1、6経営体、投与尾数が303,000、90,000、69,000尾、使用量が30.3、9.0、6.9Lであった。ブリとカンパチの $\alpha$ 溶血性レンサ球菌症、ビブリオ病及び類結節症ワクチンはブリとカンパチで使用され、指導書発行件数が10、2件、使用経営体数が7、2経営体、投与尾数が583,000、111,000尾、使用量が58.3、11.1Lであった。カンパチの $\alpha$ 溶血性レンサ球菌症、ビブリオ病及びストレプトコッカス・ジスガラクチエ感染症不活化ワクチンは使用実績がなかった。

4) 四種混合ワクチン ブリ類の $\alpha$ 溶血性レンサ球菌症、ビブリオ病、類結節症及びマダイイリドウイルス病ワクチンはブリで使用され、指導書発行件数が4件、使用経営体数が4経営体、投与尾数が136,000尾、使用量が13.6Lであった。

### 2. 経口ワクチン

ブリ類の $\alpha$ 溶血性レンサ球菌症ワクチンは使用されなかった。

## 海産魚介類の疾病診断と養殖衛生管理指導－ 2

### 大分県におけるブリのべこ病の疫学調査 (委託)

吉岡宗祐・福田 穰

#### 事業の目的

ブリ稚魚のべこ病は、微孢子虫*Microsporidium seriolae*のシストが筋肉内に形成され体表が凸凹を呈する疾病であるが、死亡被害はなく、宿主の成長とともにシストは小さくなり消滅すると言われてきた。しかし近年は、死亡を伴う症例の発生や、出荷魚の病痕残存による商品価値低下事例が問題となっている。べこ病は、養殖海域によって発生頻度が異なると考えられているが、発生要因は未解明である。大分県での発生、被害並びに感染状況を明らかにし、ブリ類養殖業の健全な発展に資することを目的とし、疫学調査を行った。

#### 事業の方法

##### 1. 聞き取り調査

大分県内のブリ養殖漁家を対象に、2015年4月以降に導入されたブリ稚魚(モジャコ)について被害発生状況等を聞き取った。

##### 2. 原因虫遺伝子の検出

上浦および下入津地先に設けた2定点の環境水と飼育ブリから、経時的に原因虫(*M.seriolae*)遺伝子検出を行った。環境水は2015年6～11月まで2週間ごとに2L採水し、その海水をろ過したフィルター5種(ポアサイズ100, 10, 5, 3および1.2 μm)を検出に用いた。供試ブリは2015年に県内で採捕された同じ由来の稚魚を、2015年7～11月まで2定点付近で飼育した。上浦では月1回、下入津では7月と11月に、各20尾ずつ供試魚を採取し、採血を行い、肉眼で体側筋内シストの有無を観察した後、心臓、筋肉を採取して遺伝子検出に用いた。フィルター、血液、心臓、筋肉からDNAを抽出(QIAGEN社 QIAamp Mini Kit)し、定量PCRに供した。定量PCRは米加田らの方法に準じて行った。

#### 事業の結果

##### 1. 聞き取り調査

18経営体から聞き取った結果、県内業者採捕種苗を導入した経営体のうち29.4%で発生が認められたが、発生群の罹病率は0.2%以下であった。一方、県外業者から種苗を購入した2業者では、ともに発生が確認され、罹病率は10%を越えていた(表1)。県内のモジャコ採捕状況によっては、種苗を他県から購入せざるをえないことも多く、養殖現場からは問題解決を望む声が寄せられた。

表1. 大分県の2015年導入ブリ稚魚におけるべこ病罹患率

総回答数		18業者				
県内種苗導入 (17業者)	発生あり (5業者)	A社	B社	C社	D社	E社
	発生割合	0.03%	0.1%以下	0.1%以下	0.2%	不明
県外種苗導入 (2業者)	発生あり (2業者)	F社		G社		
	発生割合	10%		100%		

##### 2. 原因虫遺伝子の検出

環境水中の原因虫遺伝子は、上浦では検出されなかったが、下入津では6・7月に検出された。検出遺伝子量は $10^3$ コピー数以下の低水準であったが、べこ病が発生しにくいといわれる下入津でも原因虫の存在が示唆された(図1)。

飼育ブリにおける原因虫遺伝子は、上浦では心臓から7、8月に、筋肉から9、10月に検出された。同様に、下入津では心臓から7、11月に検出されたが、筋肉からは検出されなかった。また、体側筋内シストの肉眼観察では、上浦で10月に1検体だけ形成がみられた。この供試魚のシスト非形成部位からもPCRで原因虫遺伝子が検出されたが、心臓からは検出されなかった。すべての供試魚血液から原因虫遺伝子は検出されなかった(表2、図2、図3)。

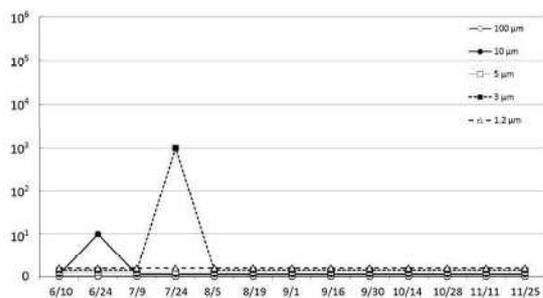


図1. 下入津地先環境水中の *M. seriolae* 遺伝子コピー数の変動

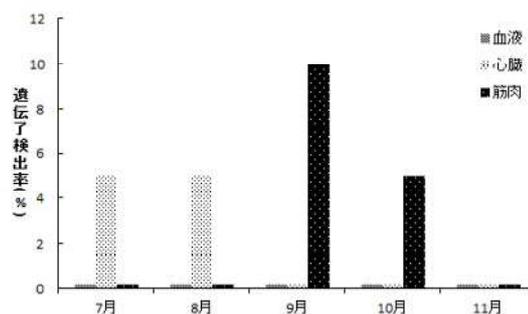


図2. 上浦地先飼育ブリの *M. seriolae* 遺伝子検出率

表2. シストの肉眼観察と  
定量PCRによる魚体内のモニタリング

観察・検出部位	地先	7月	8月	9月	10月	11月
シスト	上浦	0% (0/20)	0% (0/20)	0% (0/20)	5% (1/20)	0% (0/20)
	下入津	0% (0/20)	n.t.	n.t.	n.t.	0% (0/20)
筋肉	上浦	0% (0/20)	0% (0/20)	10%** (2/20)	5%*** (1/20)	0% (0/20)
	下入津	0% (0/20)	n.t.	n.t.	n.t.	0% (0/20)
心臓	上浦	5%* (1/20)	5%*** (1/20)	0% (0/20)	0% (0/20)	0% (0/20)
	下入津	5%* (1/20)	n.t.	n.t.	n.t.	5%* (1/20)
血液	上浦	0% (0/20)	0% (0/20)	0% (0/20)	0% (0/20)	0% (0/20)
	下入津	0% (0/20)	n.t.	n.t.	n.t.	0% (0/20)

遺伝子コピー数 \*10<sup>1</sup> \*\*10<sup>3</sup> \*\*\*10<sup>5</sup>

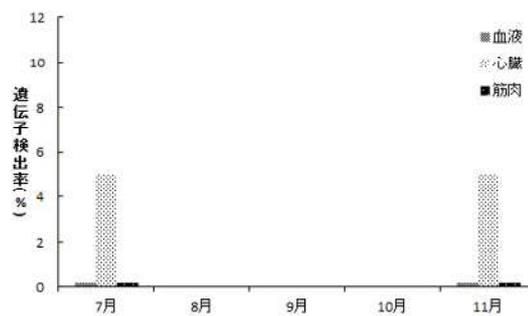


図3. 下入津地先飼育ブリの *M. seriolae* 遺伝子検出率

## 地域養殖業拡大総合対策事業－1 ヒラメ養殖業振興事業（養殖ヒラメの寄生虫対策） （県単）

吉岡宗祐・木本圭輔・福田 穰

### 事業の目的

食中毒原因寄生虫 *Kudoa septempunctata*（ナナホシクドア）のヒラメ養殖場への侵入を防ぐためには、迅速かつ徹底した対策が必要である。

2011～2013年度に、県内の感染実態を把握する目的で、県内養殖ヒラメ全ロットを対象に調査を行った結果、大分県内のヒラメ養殖場では、ナナホシクドアの感染が生じていないことが推察された。

2014年度以降は県内に導入される種苗を検査することにより、防疫体制の強化を図っており、2015年度も前年度と同様に検査を行った。また、県内導入時に検査ができなかった種苗ロットの養成魚を対象に補足調査を実施した。

### 事業の方法

2015年4～2016年3月に県内の22業者の46ロット200検体（養殖場は原則1ロット20尾、種苗生産期間は原則1ロット60尾、それぞれ5尾プール）の導入種苗ヒラメについて、PCR法によるナナホシクドア検査を行った。

補足調査は、11業者の21ロット105検体（1ロット5尾）の養殖ヒラメについて、種苗と同様にPCR法による検査を行った。

PCR法は水産庁のマニュアル<sup>1)</sup>に従った。

### 事業の結果

表1に示したように、県内に導入された供試ヒラメ種苗はすべてナナホシクドア陰性であった。また、表2に示したように、補足検査に供したヒラメもすべて陰性であった。2015年に大分県内のヒラメ養殖

場では、クドアの侵入、感染が生じていないことが推察された。

表1 県内導入ヒラメ種苗の検査結果

対象	業者数	ロット数	検体数*	陽性数	
養殖場	津久見	1	3	12	0
	佐伯	4	8	32	0
	鶴見	0	0	0	0
	米水津	2	8	32	0
	上入津	4	7	28	0
	下入津	9	15	60	0
	蒲江	0	0	0	0
	名護屋	0	0	0	0
種苗生産機関	2	5	36	0	
合計	22	46	200	0	

※1検体5尾

表2 県内養殖ヒラメの補足検査結果

対象	業者数	ロット数	検体数	陽性数	
養殖場	津久見	0	0	0	0
	佐伯	0	0	0	0
	鶴見	0	0	0	0
	米水津	2	4	20	0
	上入津	3	9	45	0
	下入津	5	7	35	0
	蒲江	0	0	0	0
	名護屋	1	1	5	0
合計	11	21	105	0	

### 文献

- 1) 水産庁栽培養殖課:ヒラメに寄生した*Kudoa septempunctata*の検査方法について. 2012.5;10-17.

## 陸上魚類養殖疾病対策研究－ 1

木本圭輔

### 事業の目的

本県のヒラメ養殖は、おもに県南の陸上養殖施設で行われており、1999～2011年に国内最大であった生産量は、2008年以降の疾病多発により減少した。2011年以降は、ヒラメ養殖の減収を補うためにトラフグやカワハギが導入されたが、原因不明の死亡が発生している。これらの魚種は全国的に生産量が少ないため、採算の面から製薬会社の医薬品開発が進まず、多くの疾病に治療薬がない。さらに、陸上養殖業は設備投資が大きく、廃業後の再開が困難である。県内ヒラメ養殖業の経営を健全化し、日本一の養殖ヒラメ生産量を維持するためには、陸上養殖魚種全般における疾病の克服が必要である。本事業では、陸上養殖魚種に対する疾病対策技術開発を目的に以下を実施した。

#### 1. エドワジエラ症ワクチン開発

過酸化水素不活化エドワジエラ症ワクチンの可能性を検討した。これまで、*Edwardsiella tarda*が完全に不活化され過酸化水素が残留しない過酸化水素水の添加量を検討したが、再現性が低かった。原因として、過酸化水素水添加時の発熱及び*E.tarda*の過酸化水素感受性の株間差が考えられた。また、昨年度は不活化菌液接種後のヒラメが大量死した。<sup>1)</sup>本年度は*E.tarda*の不活化条件、過酸化水素感受性及びヒラメの死亡に対する株間差を調べ、ワクチン効果を検討した。

#### 2. 物理・生態的療法の開発

スクーチカ繊毛虫の培養条件を検討した。

#### 3. トラフグ死亡原因の究明

トラフグの低水温期の死亡と過給餌の関連を検討するため、昨年度から実施している飼育試験を出荷サイズ(1kg)まで継続した。また、肉芽腫形成防除の可能性を調べるため、当歳魚に飼料添加物等を投与する飼育試験を実施した。

### 事業の方法

#### 1. エドワジエラ症ワクチン開発

##### 1) *E.tarda*不活化条件の検討

佐伯湾の養殖ヒラメから分離された*E.tarda* 141972株をトリプトソーヤ寒天(TSA)培地(1.5%NaCl)に塗抹して25°Cで24時間前培養したのち、ブレインハートインフュージョン(BHI)ブロス100ml(1.5%NaCl)に接種して25°Cで24時間振とう(120rpm)培養した。培養後の菌液を遠心分離(13,000×g, 15分, 4°C)して沈渣を滅菌PBSで2回洗浄し、菌体湿重量の約5倍(1.5ml)の滅菌PBSで懸濁して試験菌液とした。菌液をBHIブロス3本分作製し、それぞれを100ml丸フラスコ内で氷冷・攪拌しながら、菌体湿重量の約30倍量(18ml)の過酸化水素水(約36%; PBSにより浸透圧調整)を1分間に1ml、0.5ml、0.25mlずつ添加した。なお、*E.tarda*121371株についても0.5ml/分の添加を行った。過酸化水素水の添加開始から終了までの菌液の温度を、データロガー(おんどとりTR-52i, T&D社)で1秒ごとに測定した。また、添加終了後の菌液500μlを遠心分離(13,000g, 15分, 4°C)し、上清300μlの過酸化水素濃度を過酸化水素濃度計(PAL-39S, アタゴ社)で測定した。

##### 2) 過酸化水素感受性の株間差

2012～2015年に佐伯湾の養殖ヒラメから分離された*E.tarda* 7株(132061、141142、141201、141393、141631、150375及び151284株)、及び2014年に佐伯湾の養殖マダイから分離された141611株について、1)と同様に不活化と菌液の温度測定を行った。過酸化水素水の添加方法は0.25ml/分とし、菌液の温度上昇が停止したときの添加量を求め、供試菌体の湿重量に対する過酸化水素水の添加上限倍率として表した。過酸化水素水の総添加量は菌体湿重量の約30倍量としたが、温度上昇が停止しない場合には適宜追加した。添加終了後には菌液中の過酸化水素濃度を測定し、上記添加上限倍率と併せて供試菌株の過酸化水素感受性を推定した。

##### 3) ヒラメに対する不活化菌液の毒性の株間差

*E.tarda* 121371(過酸化水素低感受性)、141611(同高感受性)、141972株(同中程度感受性; 昨年度使用)について、1-2)と同様に過酸化水素で不活化した。不活化菌液の過酸化水素残留を防止するため、1-2)の結果に基づいて過酸化水素水添加量をすべて菌体湿重量の約17倍(10ml)とした。不活化菌

液の半量を採取し、1/200量のホルマリン原液を添加後、25℃に48時間静置して過酸化水素不活化-ホルマリン処理 (FTC) ワクチンとした。また、残りの不活化菌液を遠心分離 (13,000×g, 15分, 4℃) し、上清をろ過滅菌 (0.22μm) して上清 (SN) ワクチンとした。FTCワクチンのホルマリン不活化前生菌数は2.2~3.0×10<sup>10</sup>CFU/mlであった。2016年1月29日に、各ワクチン0.1mlを平均体重62gのヒラメ3尾に腹腔内接種し、90cm循環水槽6基 (15℃) で4週間の無給餌飼育を行った。

#### 4) ワクチンの効果

*E.tarda*121371株を用いて、1-3)と同様にFTCワクチンとSNワクチンを作製した。過酸化水素水の添加量は菌体湿重量の約30倍とした。FTCワクチンのホルマリン不活化前生菌数は2.4×10<sup>10</sup>CFU/mlであった。2016年3月11日に、平均体重99gの当研究部産ヒラメを19尾ずつ6基の円形2t水槽に分養し、FTCワクチンを注射 (F-J区) 及び浸漬 (F-M区)、SNワクチンを注射 (S-J区) 及び浸漬 (S-M区)、滅菌PBSを注射 (C-J区)、及び生海水に浸漬 (C-M区) する6試験区を設定した。同日に、イラストマー蛍光タグ (NMT社) を用いて浸漬区 (F-M、S-M、C-M区) の供試魚を試験区別に標識した。2016年3月16日に、注射区 (F-J、S-J、C-J区) の供試魚にワクチン接種 (腹腔内に0.1ml/尾) と標識を行った。浸漬区では、両ワクチン40mlを各10リットルの生海水に混合して浸漬ワクチン液 (FKCでは1.0×10<sup>8</sup>CFU/ml相当) とし、通気下で供試魚を10分間浸漬した。3月17日以降は生海水かけ流して飼育し、3~4日/週の頻度で市販EPを給餌 (給餌率約2%) した。2016年4月5日に、F-J区を除く5試験区から各区7~8尾を抽出して混合した2群 (39尾/群) を設定した。両群を121371株を添加した海水100L (6.4×10<sup>8</sup>CFU/ml) に10分間浸漬したのち、それぞれ角形0.5t水槽に收容し、無給餌・砂ろ過海水掛け流しで5週間経過観察した。試験期間中の水温は13.5~18.8℃ (平均15.9℃) であった。期間中の死亡個体と試験終了時の生残個体の腎臓からTSA培地を用いて細菌分離を行った。

#### 2. スクーチカ繊毛虫の培養条件

2016年3月24日に、スクーチカ繊毛虫の寄生を受けた佐伯湾産養殖ヒラメの脳 (虫体を含む) をBME培地 (ペニシリンとストレプトマイシンを含む) に接種して15℃で培養した。5日後に培養液100μlをBME培地90mlに再接種して脳組織を除去し、その2日後に5mlずつ18本の25cm<sup>2</sup>フラスコに分注した。当研究部で飼育中のブリ (体重371g)、ヒラメ (294g)、トラフグ (384g)、カワハギ (210g) の血清 (それぞれYTS、JFS、TPS、TFS)、牛胎児血清 (FBS)、及び滅菌PBSを各500μlずつ3本のフラスコに添加し、15℃で培養しながら虫体数を24日間記録した。

虫体数は倒立顕微鏡 (200倍) 下でフラスコあたり5視野分を計数し、添加血清ごとに平均値を求めた。

### 3. トラフグ死亡原因の究明

#### 1) 過給餌飼育試験

2014年6月からの飼育試験を継続した。<sup>1)</sup> 給餌頻度は6日/週、給餌回数は1回/日とし、飽食給餌区では3分間の給餌を5回反復した。2015年4月7日に定量区以外の歯切りを行った。毎月1回の頻度で竿秤を用いて総魚体重を測定するとともに、網交換と外部寄生虫駆除のための淡水浴を実施した。各試験区の増重量と給餌量から飼料効率等を算出した。また、測定時に各区から供試魚を採取 (2016年4月に10尾、5月に6尾、6月以降は3尾) して標準体長、体重、肝臓重量を測定し、肥満度と比肝重値を算出した。各区3尾については採血した後、Davidson液で臓器を固定して病理組織学的検査に供した。光学顕微鏡下 (100倍) で6視野中の肝臓の肉芽腫数を計数し、平均値を各個体の肉芽腫数とした。また、肝臓肉芽腫数を応答変数、比肝重値、平均水温、飼料効率及び試験区を説明変数とする一般化線型モデルを構築し、肝臓肉芽腫数の形成に重要な要因を推定した。

#### 2) 肉芽腫形成防除試験

2015年12月7日に、大分県漁業公社産トラフグ当歳魚 (平均体重192g) を海面網生簀 (3×3×3m) 6面に47~48尾ずつ收容した。肝臓肉芽腫の形成防除を目的に、グルタチオン (還元型、和光純薬)、ウルソデオキシコール酸 (以下、ウルソ; 和光純薬)、ビタミンC (L(±)-アスコルビン酸カルシウム二水和物、和光純薬)、ビタミンE (酢酸(±)-α-トコフェロール、和光純薬)、タウリン (和光純薬) を、0.1% (グルタチオン及びウルソデオキシコール酸) または1.0% (ビタミンC、ビタミンE、タウリン) になるように市販EP飼料 (ホワイト沈降タイプ、林兼産業(株)) に添加した。グルタチオン、ビタミンC、タウリンは、給餌直前に飼料重量の20%の水道水に溶解後、EP飼料と混合した。各水溶液をEP飼料に約30分間吸収させたのち、飼料重量の1%のカルボキシメチルセルロース (CMC) を加え全体をよく混合した。ビタミンEは、飼料重量の約10%のアセトンに溶解してEP飼料と混合する方法により添加し、混合後に飼料を室温で風干してアセトンを除去した。約1週間分を作製して4℃で保存し、給餌直前に上記と同様に水道水とCMCを加えた。ウルソデオキシコール酸は、給餌直前に水道水を約30分間吸収させたEP飼料に、CMCとともに混合して展着させた。対照区には水道水とCMCのみを添加した飼料を給餌した。給餌頻度は5日/週、給餌回数は1回/日とし、5分間の給餌を4回反復して飽食給餌とした。総魚体重測定及び病理組織学的検査を3-1)と同様に実施した。

## 事業の結果

## 1. エドワジェラ症ワクチン開発

1) *E.tarda*不活化条件の検討

過酸化水素水添加時の141972株菌液の最高温度は、1ml/分の場合に46.7℃、0.5ml/分で33.2℃、0.25ml/分で23.7℃であった(図1)。121371株に0.5ml/分で添加した場合、菌液の最高温度は34.4℃と類似していたが、温度上昇が見られなくなる時間が遅延した(図2)。添加終了時の菌液中過酸化水素濃度は、141972株では1ml、0.5ml、0.25ml/分の順に24.0%、18.2%、7.6%であったが、121371株の0.5ml/分添加では3.0%であった。なお、過酸化水素濃度3.0%以下を示した菌液は、過酸化水素との混和によりカタラーゼ反応を示すとともに、その遠心上清は*E.tarda*生菌と混和してもカタラーゼ反応を示さなかったことから、菌液中に過酸化水素はほとんど残留しておらず、*E.tarda*が生存していると判断された。

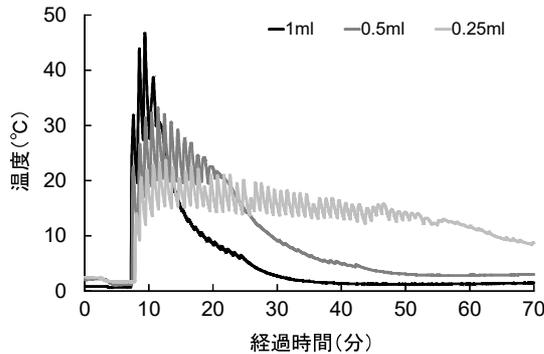


図1 過酸化水素添加量別の菌液温度変化

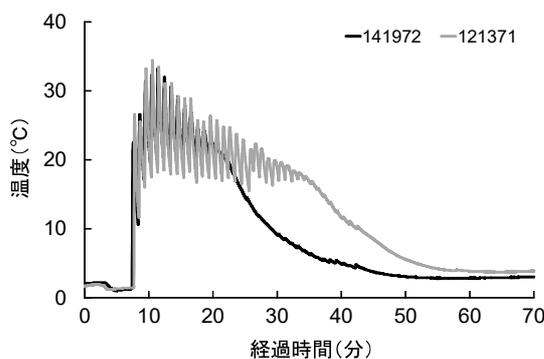


図2 141972株と121371株菌液の温度変化

## 2) 過酸化水素感受性の株間差

過酸化水素水を0.25ml/分で添加した場合の*E.tarda*8株の菌液の温度変化を図3～6に示した。いずれの菌液の温度も25℃を超えなかったが、温度上昇の停止に要する時間は菌株ごとに異なった。これら8株と1-1)で使用した121371株及び141972株の情報を表1に示した。過酸化水素水の添加上限倍率は15～38倍以上とばらついたが、業者Aのヒラメ由来

121371株、141201株、151284株では、分離年月日が異なっても他の株より高かった。また、業者Dのヒラメ由来141393株、及び業者Eのマダイ由来141611株では添加上限倍率が低く(18倍と15倍)、菌体湿重量の30倍量の過酸化水素水を添加した後の菌液中には過酸化水素が残留していた(表1)。

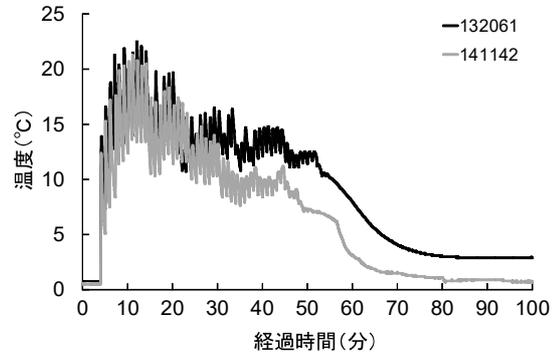


図3 132061株と141142株菌液の温度変化

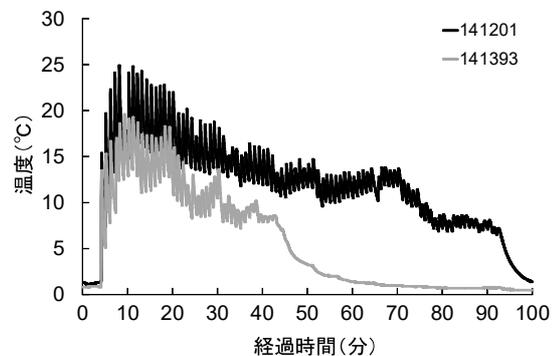


図4 141201株と141393株菌液の温度変化

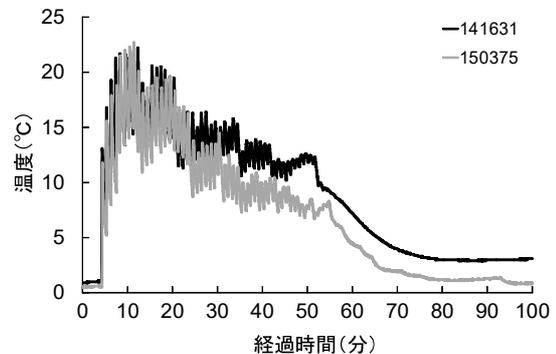


図5 141631株と150375株菌液の温度変化

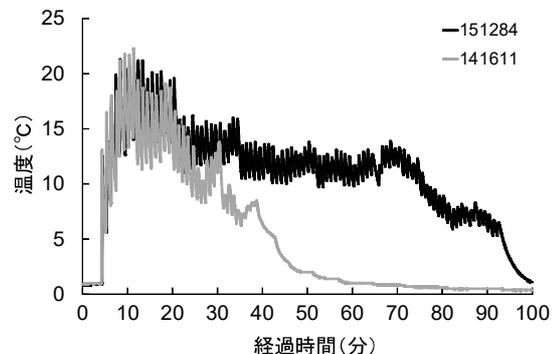


図6 151284株と141611株菌液の温度変化

表1 供試*E.tarda*株の由来と過酸化水素感受性

株番号	分離年月日	魚種	業者	飼育水温 (°C)	体重 (g)	添加上限 倍率	残留濃度 (%)
121371	2012/7/27	ヒラメ	A	-	349	>31	3.0
132061	2013/8/29	ヒラメ	B	23.4	806	22	3.0
141142	2014/7/22	ヒラメ	C	21	95	20	3.0
141201	2014/7/24	ヒラメ	A	21	413	>38	2.8
141393	2014/8/6	ヒラメ	D	22.9	350	18	6.6
141611	2014/8/27	マダイ	E	26	791	15	9.8
141631	2014/8/27	ヒラメ	F	24	1163	22	3.0
141972	2014/9/12	ヒラメ	F	23	1660	24	3.0
150375	2015/6/4	ヒラメ	D	-	107	22	3.0
151284	2015/8/10	ヒラメ	A	25	122	>38	2.8

3) ヒラメに対する不活化菌液の毒性の株間差

すべてのワクチン接種魚に死亡は生じなかった。

4) ワクチンの効果

ワクチン接種から攻撃までの摂餌状況は、SNワクチンを注射 (S-J区)・浸漬 (S-M区) した供試魚で対照区 (C-J区とC-M区) に比べ活発になったが、FTCワクチンを注射 (F-J区)・浸漬 (F-M区) した供試魚では低下した。とくにF-J区の供試魚は攻撃直前までほとんど摂餌しなかった。F-J区では同期間に6尾が死亡し、体表や鰓に滑走細菌、イクチオボド、スクーチカ等が見られたため、攻撃試験から除外した。攻撃後、両群でC-J区とC-M区が1尾ずつ死亡したが病原細菌は分離されなかった。試験終了時のS-J区、S-M区、F-M区の各1尾から*E.tarda*が分離された。

2. スクーチカ繊毛虫の培養条件

TPSとTFSでは、添加翌日にすべての虫体が死亡していた (図7)。培養期間中の平均虫体数は、YTS、JFS、FBS、PBSの順に18.3、18.2、8.1、5.9個体/視野であった。FBSでは11日目以降に虫体数が減少したが、YTSとJFSでは減少しなかった。

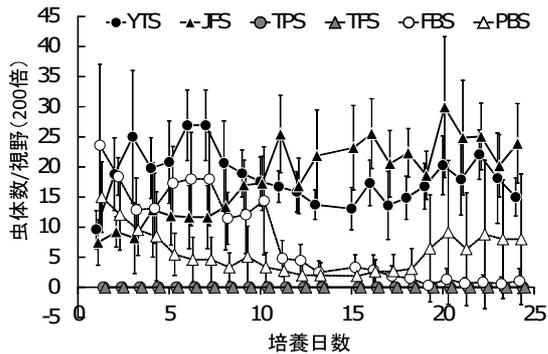


図7 各血清添加培地における虫体数の推移

3. トラフグ死亡原因の究明

1) 過給餌飼育試験

試験終了時の平均体重は、8月飽食区、10月飽食区、12月飽食区、定量区の順に1066g、1089g、1005g、617gであった (図8)。累積生残率は3飽食群で約60%であり、低水温期の大量死は再現されなかった。制限区では給餌量不足により2015年7月に死亡が生じ

た。飽食群の飼育成績は2015年1~5月に低下し、6月以降に上昇した (図10-12)。飼育通期の飼料効率は、8月飽食区、10月飽食区、12月飽食区、定量区の順に56.8%、55.8%、53.2%、53.2%であった。

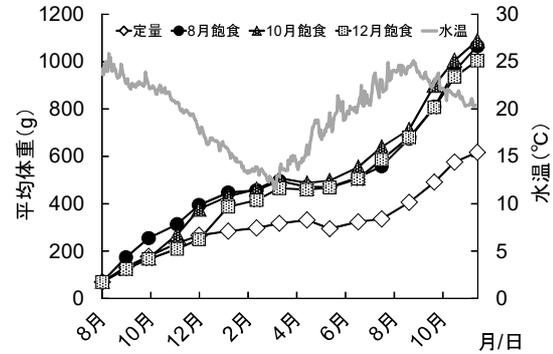


図8 水温と試験区別平均体重の経時変化

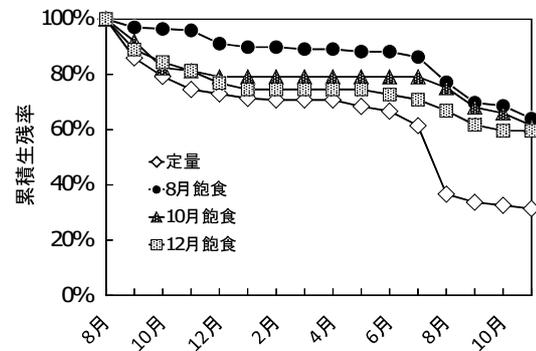


図9 試験区別累積生残率の経時変化

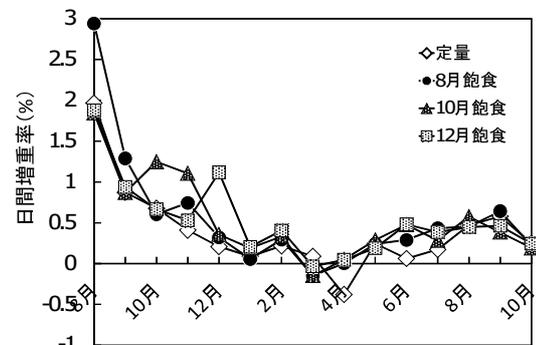


図10 試験区別日間増重率の経時変化

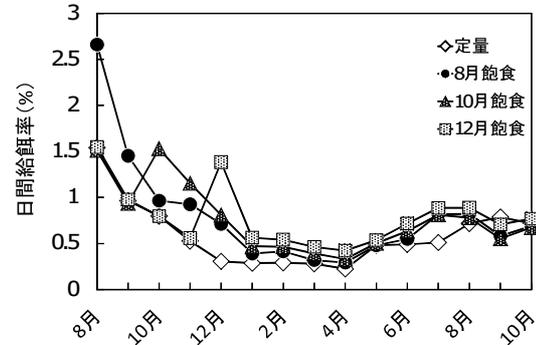


図11 試験区別日間給餌率の経時変化

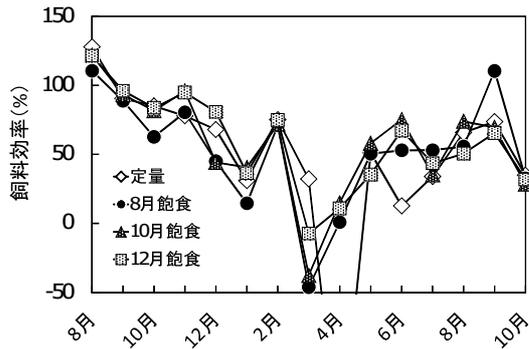


図12 試験区別飼料効率の経時変化

いずれの飽食区においても、肥満度と比肝重値は飽食給餌の開始直後から増加したが、2015年3月から低下し、9月以降に再び上昇した（図13-14）。また、飽食区の肝臓肉芽腫数は2015年1月から増加が見られ、4月以降に減少した（図15）。

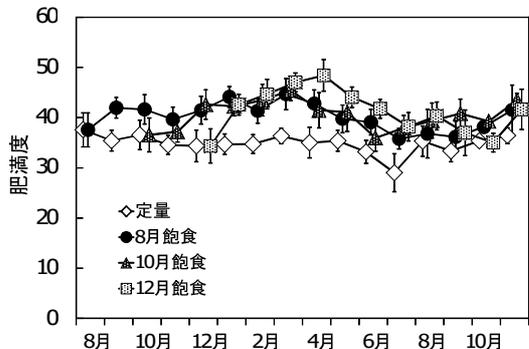


図13 試験区別肥満度の経時変化

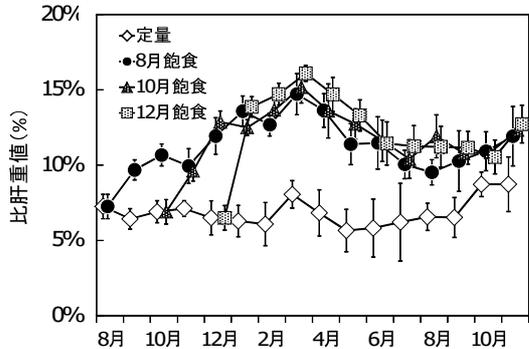


図14 試験区別比肝重値の経時変化

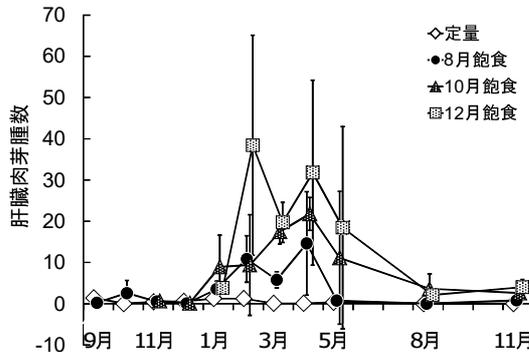


図15 試験区別肝臓肉芽腫数の経時変化

一般化線型モデルでは、肉芽腫数と有意に相関する要因（係数の推定値の95%信頼区間に0が含まれない）として比肝重値と平均水温が選ばれた（表2）。

表2 一般化線型モデル分析の結果

	係数	標準誤差	Z-value	Pr(> z )
(切片)	1.61	1.05	1.54	0.12
8月飽食	-0.06	0.57	-0.11	0.92
10月飽食	0.46	0.57	0.8	0.42
12月飽食	0.74	0.67	1.1	0.27
比肝重値	15.5	7.29	2.13	0.03
平均水温	-0.1	0.04	-2.34	0.02
飼料効率	-0.004	0.002	-1.92	0.05

AIC: 720.3

## 2) 肉芽腫形成防除試験

2016年3月の平均体重は、グルタチオン、ウルソ、ビタミンC、ビタミンE、タウリン、対照区の順に331g、282g、297g、328g、322g、328gであった（図16）。肝臓の肉芽腫数は1月以降にすべての試験区で増加し、今回飼料に添加した物質について、肉芽腫数の低減効果は認められなかった（図17）。

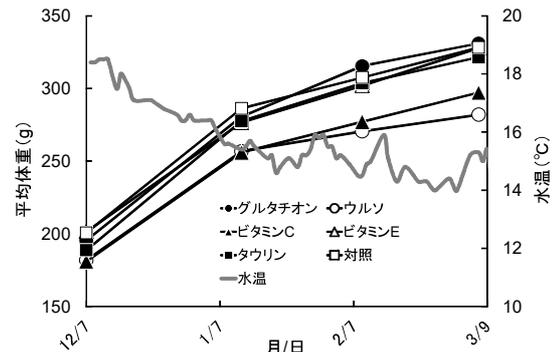


図16 水温と試験区別平均体重の経時変化

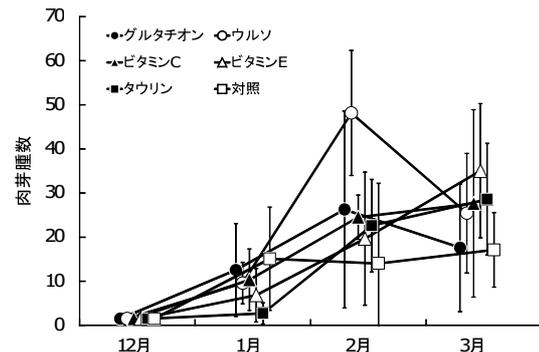


図15 試験区別肝臓肉芽腫数の経時変化

## 今後の問題点

### 1. エドワジエラ症ワクチン開発

不活化条件の検討結果から、過酸化水素水の添加により菌液が発熱し、*E.tarda*が死亡する可能性がある

るが、0.25ml/分以下の量で添加することにより、菌液の温度上昇が25℃以下に抑制できることがわかった。また、本年度は過酸化水素不活化*E.tarda*菌液投与によるヒラメの死亡は生じなかったが、121371株を用いた試験では、FTCワクチン投与魚で摂餌が低下し、SNワクチンでは向上した。これらの結果は、*E.tarda*の過酸化水素不活化菌液が、ヒラメに何らかの生理的影響を与えることを示している。一方、攻撃試験では対照区が死亡せず、ワクチン効果を確認することはできなかった。要因として実験時期の不適（低水温期）が考えられるが、*E.tarda*株の過酸化水素感受性の株間差や*E.tarda*感受性の供試魚間差等が影響していることも考えられる。次年度は複数株のワクチン効果を適水温期に調べる必要がある。

## 2. スクーチカ繊毛虫の培養条件

YTSとJFSの添加は、FBSよりもスクーチカ繊毛虫の維持に有効である可能性が示されたことから、次年度はこれらを用いて培養を行い、感染実験等に用いる。一方、TPSとTFS添加によるスクーチカ繊毛虫の死亡は、本疾病の防除の可能性を示すと考えられる。魚類血清中には補体やレクチン等の非特異的防御機構が存在するが<sup>2)</sup>、今回の事例との関係は不明である。また、本試験は各魚種1個体の血清を用いており、別個体の血清での再現性を検討していない。次年度は、各魚種の複数個体から採取した血清を用いるとともに、非働化処理の影響を含めて再

試験を行う。

## 3. トラフグ死亡原因の究明

継続試験の結果から、トラフグ肝臓の肉芽腫数は過給餌と低水温の両方が重なったときに増加すると考えられる。この結果からは、肉芽腫形成は死亡と直接の関係が無いように思われるが、肉芽腫が多く見られた2015年1～4月は、飼育成績の低下時期と一致していたことから、肉芽腫がトラフグに何らかの悪影響を与えている可能性は否定できない。一方、肉芽腫数が4月以降に減少したことは、肝臓の肉芽腫形成を抑制できる可能性を示すと考えられる。これまでのところ、今回の飼料添加物質に肉芽腫形成の抑制効果は認められないが、今後の飼育試験により、水温上昇期における飼育成績の向上等に対する影響を把握する必要がある。

## 文 献

- 1) 木本圭輔，舞田正志．陸上魚類養殖疾病対策研究－1．平成26年度大分県農林水産研究指導センター水産研究部事業報告，大分．2015；99-104.
- 2) 飯田貴次，廣野育生，引間順一．魚類の自然免疫．「魚介類の微生物感染症の治療と予防」（青木宙編），恒星社厚生閣，東京．2013；318-341.

## 陸上魚類養殖疾病対策研究－ 2

免疫応答を利用したワクチン適用可能魚種の同定 (法人委託)

福田 穰・吉岡宗祐・木本圭輔・木藪仁和・川上 恵

### 事業の概要

大分県の海産魚類養殖生産は、県水産業において重要な位置を占めるが、いずれの養殖種においても、消費者から抗菌剤に依存しない安全・安心な養殖生産が求められている。

ブリ養殖ではレンサ球菌症をはじめ数種の疾病に対するワクチンの開発と普及によって、疾病被害と抗菌剤使用が激減している。しかしながら、ワクチン開発の対象は市場規模の大きい一部の魚種に限定されており、生産量の少ない地域特産養殖魚種におけるワクチン認可は厳しい状況にある。そこで、主要魚種対象に市販されているワクチンの種を超えた(属や科など)適用拡大を目的として、魚種間での免疫応答の類似性検証を試みた。

本年度は、研究対象魚種(ブリ・ヒラマサ・ヒラメ・カワハギ)のうち、ブリとヒラマサについて、市販マダイイリドウイルス(RSIV)病ワクチンを接種した魚に感染試験を行いワクチンの有効性を確認するとともに、感染防御への液性免疫の関与を評価するために、免疫された個体の血清を未感作魚に移入した後に感染試験を行い、感染防御への液性免疫の関与を比較した。

ワクチンの有効性試験では、ワクチン接種3週間後のブリ(図1A)およびヒラマサ(図1B)にRSIVを腹腔内接種して評価した。両魚種ともにウイルス攻撃3週間後の累積死亡率は、対照区(PBS接種)と比較してワクチン区で低く、とくに低ウイルス量( $10^{0.6}$ TCID<sub>50</sub>/尾)の攻撃では有意な差が認められ( $p < 0.01$ )、市販ワクチンの有効性が確認された。

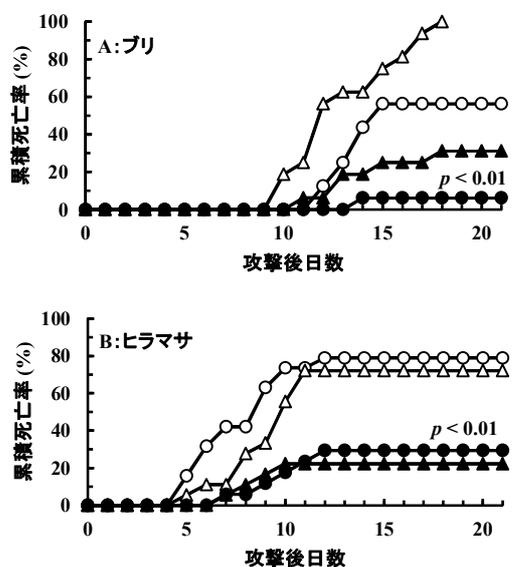


図1. 市販RSIV病ワクチン投与3週間後にRSIV Rie12-1株で攻撃したブリ(A; 158.8±19.9g, 16尾/区)およびヒラマサ(B; 65.8±7.6g, 20尾/区)の死亡率。●および▲: ワクチン投与区, ○および△: 対照区(PBS接種)。攻撃ウイルス量; ブリ水槽-1(▲△)  $10^{1.6}$ TCID<sub>50</sub>/尾), ブリ水槽-2(●○)  $10^{0.6}$ TCID<sub>50</sub>/尾), ヒラマサ水槽-1(▲△)  $10^{0.6}$ TCID<sub>50</sub>/尾), ヒラマサ水槽-2(●○)  $10^{0.6}$ TCID<sub>50</sub>/尾)。

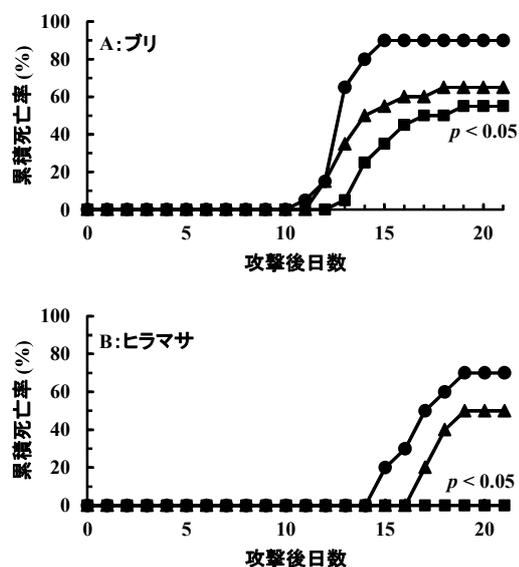


図2. 受動免疫24時間後にRSIV Rie12-1株で攻撃したブリ(A; 5.3±1.4g, 20尾/区)およびヒラマサ(B; 59.9±7.4g, 10尾/区)の死亡率。▲: 市販ワクチン免疫魚血清(中和抗体価ブリ1:10, ヒラマサ1:15)投与区, ■: 耐過魚血清(中和抗体価ブリ1:15, ヒラマサ1:20)投与区, ●: 対照血清(中和抗体価<1:10)投与区。攻撃ウイルス量; ブリ  $10^{1.6}$ TCID<sub>50</sub>/尾, ヒラマサ水槽  $10^{0.4}$ TCID<sub>50</sub>/尾)。

受動免疫試験は、カワハギに各供試血清を接種し、24時間後にRSIVを接種して評価した。両魚種ともにウイルス攻撃3週間後の累積死亡率は、対照血清投与区と比較して市販ワクチン免疫魚血清区や感染耐過魚血清投与区で低く、とくに耐過魚血清投与区では有意な差が認められ( $p < 0.05$ )、受動免疫の効果が確認されたとともに、RSIV病感染防御への液性免疫の関与が示唆された。

また、ヒラメについて2013年度に実施した受動免疫試験<sup>1)</sup>では、RSIV病実験感染で十分な死亡率が得られなかったため、感染防御への液性免疫の関与を詳細に検討するため、RSIV攻撃後1週間ごとに供試魚脾臓を採取して定量PCR法によるRSIV量測定を行った。その結果、図3に示したように、有意差はないものの耐過魚血清投与による受動免疫魚の脾臓中ウイルス量は、対照血清投与区を含む他の4区よりも低く推移した。

いずれの評価試験においても、ワクチン投与と感染試験の実施中には、組織や血液を採材し、解析のための試料を採取して共同研究機関へ提供した。

3年間の成果を総合的に解析すると、ブリ、ヒラマサおよびカワハギではワクチンの有効性が認められ、受動免疫試験により感染防御に血清抗体が機能することが明らかとなった。ヒラメはマダイイリドウイルスに感染しても死亡率が低く、明瞭な比較結果が得られなかった。ワクチン未承認魚種のカワハギは、既承認魚種(ブリ、ヒラマサ)と同様の防御

反応を示すと考えられる。

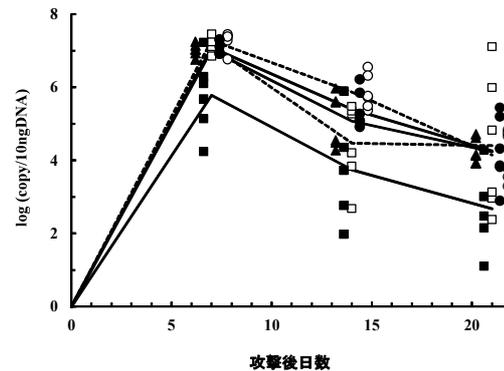


図3. 受動免疫24時間後にRSIV Rie12-1株( $10^{4.6}$ TCID<sub>50</sub>/尾)で攻撃したヒラメ(14.3±2.8g)脾臓中のRSIV量の推移. ▲: 市販ワクチン免疫魚血清(中和抗体価 1:15)投与区, ■: 耐過魚血清(中和抗体価 1:30)投与区, □: IgM除去耐過魚血清(中和抗体価未測定)投与区, ●: 対照血清(中和抗体価 < 1:10)投与区, ○: 滅菌PBS投与区.

## 文 献

- 1) 福田 穰, 吉岡宗祐, 木本圭輔. 先端技術を利用した養殖魚の病害防除法の開発. 平成25年度大分水研事業報告: 79-80.

## カボスがつなぐブランド魚創出事業

木藪 仁和・川上 恵

### 事業の目的

本県では、抗酸化物質を含む特産のカボスを給餌して品質を改善した「かぼすブリ」が養殖されており、生産が伸張している。

本事業では、この技術を応用展開し、カボス給餌で優位性が得られる新たな魚種を開発するとともに、既存魚種（かぼすヒラメ）の品質と生産性改善の技術開発を行った。

### 事業の方法

#### 1. カンパチ・ヒラマサ

平均体重 3,540g のカンパチ及び平均体重 3,363g のヒラマサを 3 × 3 × 3m 生簀に各 2 面、12 尾ずつ収容し、2015 年 8 月 3 日に試験を開始した。アジ主体のモイストペレット (JM-MP) を給餌した魚を対照区とし、果皮粉末を 0.5 % 添加した JM-MP を給餌した魚を粉末区とした。31 日及び 70 日給餌後に飼育魚を各区 4 尾取り上げて魚体測定した後に血合筋試料を採取し、味覚センサーによる味覚分析、香り成分量 (リモネン) の定量、色彩色差計を用いた褐変時間の比較を行った。味覚分析は別府大学食物栄養科学部で、リモネンの定量は民間検査機関で実施した。

#### 2. ヒラメ

出荷サイズ (体重約 700 ~ 1,400g) のヒラメを津久見市の養殖場 8 × 8m 水槽に対照区 158 尾、生果皮区 392 尾収容し、2015 年 12 月 24 日に試験を開始した。対照区にはイカナゴ主体のモイストペレット (SL-MP) を給餌し、生果皮区にはカボス生果皮ミンチを 7 % 添加した SL-MP を給餌した。16 日及び 24 日給餌後に飼育魚を各区 10 尾取り上げ、体側筋、エンガワ、肝 (24 日給餌後は体側筋のみ) を採取して、リモネンの定量を行った。さらに体側筋の味覚センサー分析を 12 日給餌後に行い、比較を行った。

#### 3. カワハギ

平均体重 171.4g のカワハギを 3 × 3 × 3m 生簀に各区 89 尾ずつ収容し、2015 年 11 月 27 日に試験を開始した。JM-MP を給餌した魚を対照区とし、果皮粉末 1.5 % 添加 JM-MP 給餌区 (パウダー区)、生果皮ミンチ 7 % 添加 JM-MP 給餌区 (生果皮 7 %

区)、生果皮ミンチ 14 % 添加 JM-MP 給餌区 (生果皮 14 % 区) を設定した。13 日及び 35 日給餌後に飼育魚を各区 10 尾取り上げ後に体側筋および肝臓試料を採取してリモネンの定量、味覚センサーによる体側筋の味覚分析を行った。

#### 4. トラフグ

平均体重 1041g のトラフグを 3 × 3 × 3m 生簀に 50 尾ずつ 3 面に収容し、2015 年 12 月 23 日に試験を開始した。JM-MP を給餌した魚を対照区とし、生果皮ミンチ 7 % 添加 JM-MP 給餌区 (生果皮 7 % 区)、生果皮ミンチ 14 % 添加 JM-MP 給餌区 (生果皮 14 % 区) を設定した。

13 日給餌後に飼育魚を各区 10 尾取り上げ、うち 5 個体から体側筋試料を採取して味覚センサーによる体側筋の味覚分析を行った。また 32 日給餌後に 5 個体を取り上げリモネンの定量をおこなった。

#### 事業の結果および考察

#### 1. カンパチ・ヒラマサ

##### 1) カンパチ

飼育成績は表 1 および 2 に示したとおりである。血合筋の褐変について、刺身の限界とされる指標 b/a 値 0.8 に達する時間は、対照区と比較して、31 日給餌後 (2015 年 9 月 8 日) で 36 時間の延長があった。70 日給餌後 (2015 年 10 月 28 日) では 12 時間の延長があり、給餌日数が増えると延長時間は短くなった。

リモネン量は 31 日給餌後 (0.17mg/100g)、70 日給餌後 (0.16mg/100g) とともに同程度であった。

味覚センサーによる分析値は、対照区と粉末区で差異は認められなかった。

表1 飼育成績 (31日給餌後)

試験区	魚体重 (g)	肥満度 (%)	色差0.8の到達時間 (A)(時間)	Aの遅延時間 (時間)	リモネン定量値 (mg/100g)
対照	3,628	16.2	102	—	
粉末区	3,452	16.5	138	36	0.17

表2 飼育成績 (70日給餌後)

試験区	魚体重 (g)	肥満度 (%)	色差0.8の到達時間 (A)(時間)	Aの遅延時間 (時間)	リモネン定量値 (mg/100g)
対照	4,233	16.0	163	—	
粉末区	3,683	16.3	175	12	0.16

## 2) ヒラマサ

飼育成績は表3および4に示したとおりである。

血合筋の褐変について、b/a 値 0.8 に達する時間は、対照区と比較して、31日給餌後（2015年9月8日）では延長がなかった。70日給餌後（2015年10月28日）では33時間の延長があった。

リモネン量は31日給餌後（0.09mg/100g）、70日給餌後（0.10mg/100g）ともに同程度であった。

味覚分析の結果は、図1および2に示したとおりである。対照区と比較して、粉末区の31日給餌後で苦味雑味が、70日給餌後で旨味コクが高かった。苦味雑味は低濃度でコクを示すことから、果皮粉末給餌によりコクや旨味が高まることが示唆された。

## 2. ヒラメ

各分析結果は図3、4及び5に示したとおりである。生果皮区のリモネン量は、16日給餌後に体側筋 0.43mg/100g、エンガワ 9.0mg/100g、肝臓 12.0mg/100g であり、24日給餌後に体側筋 0.49mg/100g であった。また、味覚分析では対照区と比較して生果皮区は、コクなどの指標である苦味雑味が高く、旨味、旨味コクが低かった。

## 3. カワハギ

各分析結果は図6および7に示したとおりである。試験魚肝臓のリモネン量は13日給餌後にパウダー区（0.01mg/100g）、生果皮7%区（0.01mg/100g）、生果皮14%区（0.02mg/100g）、25日給餌後はパウダー区で（0.01mg/100g）、生果皮7%区（検出されず）、生果皮14%区（0.01mg/100g）であった。全ての試験魚体側筋からリモネンは検出されなかった。

また13日給餌後の味覚分析を行ったところ、対照と比べ、パウダー区、生果皮14%区で苦味雑味が低かった。35日給餌後の分析では対象区と他の区で差意は認められなかった。

## 4. トラフグ

飼育成績は表8、9及び10に示したとおりである。体側筋のリモネン量は32日給餌後に生果皮7%区が0.1mg/100g、生果皮14%区が0.16mg/100gであった。味覚分析では対照区と比較して生果皮14%区で旨味が低く、苦味が高かった。

表3 飼育成績（31日給餌後）

試験区	魚体重 (g)	肥満度 (%)	色差0.8の到達時間 (A)(時間)	Aの遅延時間 (時間)	リモネン定量値 (mg/100g)
対照	3,986	15.0	123	—	
粉末区	3,544	14.7	123	0	0.09

表4 飼育成績（70日給餌後）

試験区	魚体重 (g)	肥満度 (%)	色差0.8の到達時間 (A)(時間)	Aの遅延時間 (時間)	リモネン定量値 (mg/100g)
対照	4,677	15.3	164	—	
粉末区	4,553	15.6	198	33	0.10

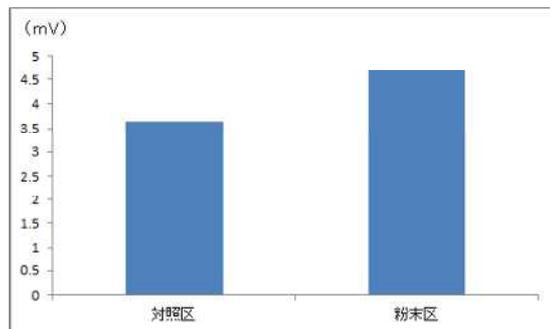


図1 苦味雑味の分析値（31日給餌後）

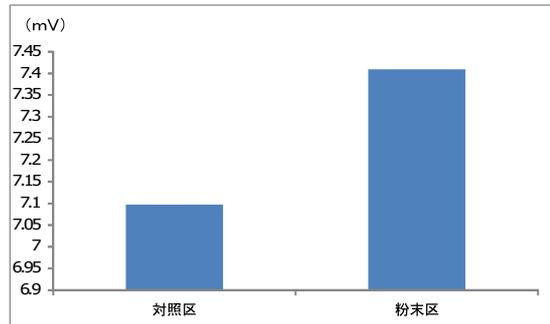


図2 旨味コクの分析値（70日給餌後）

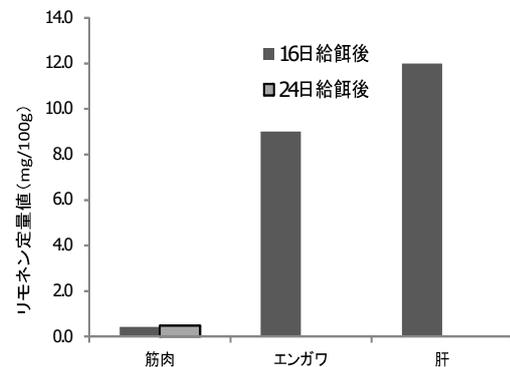


図3 リモネン定量値（ヒラメ）

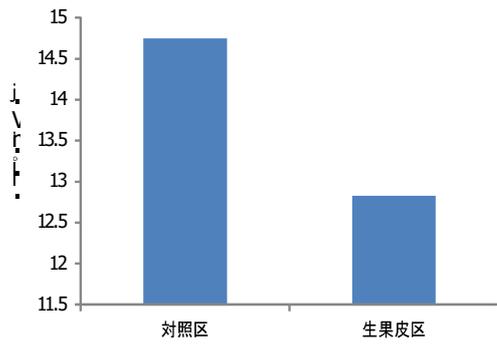


図 4 旨味コクの分析値 (ヒラメ)

図 7 苦味雑味の分析値 (カワハギ)

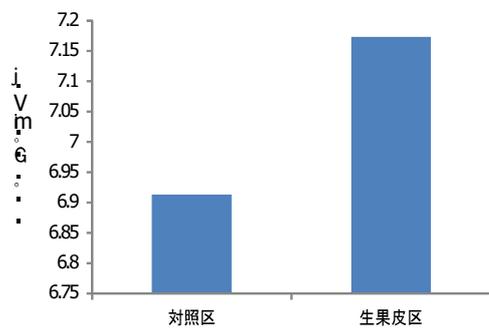
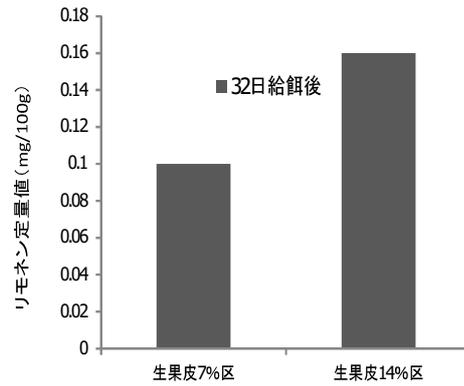


図 5 苦味雑味の分析値 (ヒラメ)

図 8 リモネン定量値 (トラフグ)

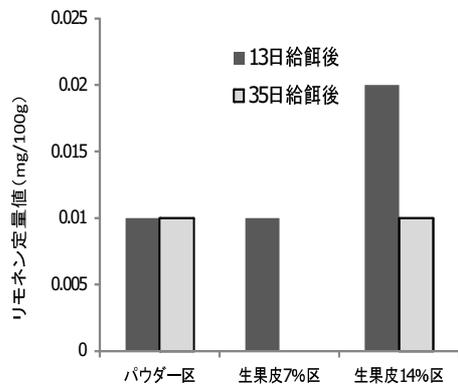
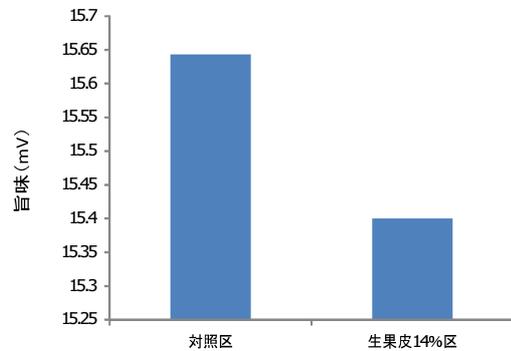


図 6 リモネン定量値 (カワハギ)

図 9 旨味の分析値 (トラフグ)

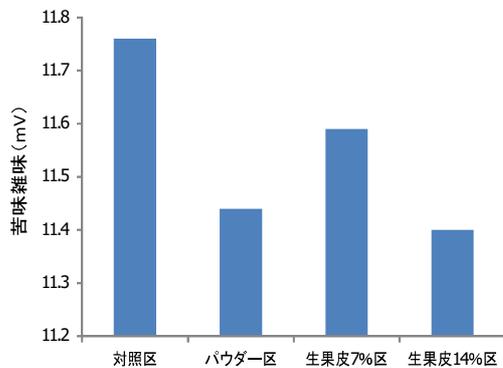
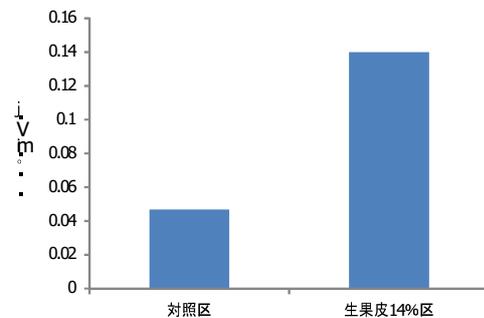


図 10 苦味の分析値 (トラフグ)

(カンパチ・ヒラマサ担当 木藪仁和、  
ヒラメ・カワハギ・フグ担当 川上恵)

## 地域養殖業振興対策事業－2

### かぼすブリ付加価値向上対策事業

木藪 仁和・川上 恵

#### 事業の目的

本県では、抗酸化物質を含む特産のカボスをブリに給餌して品質を改善した「かぼすブリ」が開発されているが、従来のカボス果汁給餌から、品質向上効果の高いカボス果皮粉末給餌への転換が図られている。

本事業では、果皮粉末の企業的量産化に向け、実験施設規模および養殖現場規模で果皮粉末試作品をブリに投与して、生産物の品質比較を行った。

#### 事業の方法

##### 1. 実験施設における試験

###### 1) 養成の早期化

大分県漁業協同組合と大分県が策定した「かぼすブリ生産マニュアル（以下マニュアル）」ではかぼすブリの生産開始を11月としている。これを早期化することについての検討を行った。平均体重2,915gのブリを3×3×3m生簀3面に収容し、2015年7月6日に試験を開始した。アジ主体のモイストペレット（MP）を給餌した魚を対照区とし、MPに2014年10月8日製造の果皮粉末0.5%（粉末区）及び市販果汁1%（果汁区）を添加給餌して試験区とした。15日及び26日給餌後に飼育魚を各区4尾取り上げ、香り成分量（リモネン）の定量、色彩色差計を用いた褐変時間の比較を行った。リモネンの定量は民間検査機関で実施した。

###### 2) 果皮粉末製造時期の検討

平均体重3,494gのブリを3×3×3m生簀4面に収容し、2015年9月29日に試験を開始した。MPを給餌した魚を対照区とし、MPに収穫時期の異なる果皮粉末0.5%及び果汁1%を添加したものを試験区とした。供試果皮粉末は、2014年10月8日（カボス区）及び同年12月10日に（黄カボス区）に製造した粉末である。また、カボス区に市販果汁を加えた区（果汁添加区）を設けた。30日給餌後に飼育魚を4尾取り上げ、リモネンの定量、色彩色差計を用いた褐変時間の比較を行った。

##### 3) 生産終期における効果の強化

マニュアルではかぼすブリの生産終了を3月としているが、生産終期では産卵準備による肉質の低下から血合筋の褐変が早くなる傾向にある。そこで当期における効果の強化を目的に、マニュアルにおける果皮粉末の添加量（0.5%）より増加した試験飼育を行った。平均体重3,904gのブリを3×3×3m生簀3面に収容し、2016年1月12日に試験を開始した。MPを給餌した魚を対照区とし、MPに果皮粉末を1%（1%区）及び3%（3%区）添加給餌して試験区とした。25日給餌後に飼育魚を4尾取り上げ、リモネンの定量、色彩色差計を用いた褐変時間の比較を行った。

##### 2. 養殖現場における試験

臼杵および佐伯市の4業者の養殖施設で養成中の4～5kgのブリで試験を実施した。各業者が使用しているMPに、試作した果皮粉末を0.5%または1%添加し、15～26日給餌したブリ（試験区）及び果皮粉末無投与ブリ（対照区）を、各区5尾取り上げ、リモネンの定量、色彩色差計を用いた褐変時間の比較を行った。リモネンについては、試験ブリの部位別の定量も行った。

##### 3. 保存中のカボス粉末の香り成分

2014年10月8日（カボス粉末）及び同年12月10日に製造した粉末（黄カボス粉末）を温度等の条件を変えて保存し、カボス粉末は2015年9月1日に、黄カボス粉末は2015年9月11日にリモネンの定量を行った。

#### 事業の結果及び考察

##### 1. 実験施設における試験

###### 1) 養成の早期化

飼育成績は表1および2に示したとおりである。血合筋の褐変について、刺身の限界とされる指標b/a値0.8に達する時間は、対照区と比較して、15日給餌後（2015年8月11日）および26日給餌後（2015年8月26日）の全ての区でほぼ20時間以上延長した。26日給餌後では果汁区で延長が46時間に及び、

果皮区の倍の効果があつた。

リモネンは 26 日給餌後に定量を行い、果皮区だけで検出され、過去の試験に比較して低い 0.05mg/100g の定量値が得られた。

表1 飼育成績 (15日給餌後)

試験区	魚体重 (g)	肥満度 (%)	色差0.8の到達時間 (A)(時間)	(A)の遅延時間 (時間)
対照	3,013	16.2	187	—
粉末区	2,620	15.7	212	25
果汁区	2,758	15.9	206	19

表2 飼育成績 (26日給餌後)

試験区	魚体重 (g)	肥満度 (%)	色差0.8の到達時間 (A)(時間)	(A)の遅延時間 (時間)	リモネン定量値 (mg/100g)
対照	3,045	16.5	152	—	—
粉末区	2,948	15.4	177	24	0.05
果汁区	2,993	15.7	198	46	0.00

## 2) 果皮粉末製造時期の検討

飼育成績は表 3 に示したとおりである。褐変時間は黄カボス区、果汁添加区、カボス区、対照区の順に長かった。リモネンは果汁添加区、黄カボス区、カボス区の順に多かった。昨年度春期に実施した試験では、褐変に至る時間の長さで黄カボスがカボスより優れていたが、リモネンの定量値では黄カボスがやや劣る結果であった。二つの試験を総合すると褐変に至る時間の長さでは黄カボスが優れ、リモネンの定量値ではほぼ同等の効果を有していることが示唆された。また、カボスに果汁を加えると、褐変に至る時間の延長及びリモネン定量値の増加があることが示唆された。

表3 飼育成績 (30日給餌後)

試験区	魚体重 (g)	肥満度 (%)	色差0.8の到達時間 (A)(時間)	(A)の遅延時間 (時間)	リモネン定量値 (mg/100g)
対照	3,603	15.9	108	—	—
カボス区	3,778	15.1	138	31	0.12
黄カボス区	3,545	16.4	161	53	0.16
果汁添加区	3,473	16.1	148	41	0.17

## 3) 生産終期における効果の強化

飼育成績は表 4 に示したとおりである。13 回給餌後、ハダシ駆除の淡水浴を実施したところ、3%区ではその後表皮の損傷が発生、摂餌が急減するとともに、損傷が日ごとに大きくなり、25 日給餌までにほとんどが死亡した。損傷個体の腎臓から細菌分離を行ったが、原因と考えられる細菌は分離されなかった。1%区でも損傷は少ないものの、4 個体で損傷が発生した。高濃度の粉末給餌がブリの生理状態に何らかの影響を与えた可能性がある。

褐変時間は 1%区では対照区より 38 時間長くなった。リモネンの定量値は 1%区で 0.84mg/100g、3

%区で 0.98mg/100g であり、添加量がこれまでの 0.5%に比べ高いものの、過去の試験に比較して特段高い値ではなかった。粉末の高濃度の添加では高い効果が見られるものの、ブリの生育に悪影響を及ぼす可能性があり、適正な添加量について検討が必要である。

表4 飼育成績 (25日給餌後)

試験区	魚体重 (g)	肥満度 (%)	色差0.8の到達時間 (A)(時間)	(A)の遅延時間 (時間)	リモネン定量値 (mg/100g)
対照	3,900	16.5	85	—	—
1%区	4,057	16.1	124	38	0.84
3%区	3,960	15.5	79	-6	0.98

## 2. 養殖現場における試験

ブリ養殖生産現場の試験結果は、表 5 に示したとおりである。リモネン定量値は 0.16 ~ 0.40mg/100g の範囲にあった。

いずれの業者の果皮区も、b/a 値 0.8 に達する対照区との時間差が 16 ~ 37 時間であり、ほぼ安定的に 10 時間以上の血合筋の褐変抑制効果があつた。

生産者 A および B ではマニュアルでの出荷開始である 11 月以前の 2015 年 7 月 22 日、8 月 10 日、9 月 22 日において、褐変抑制効果及びリモネンの検出が認められた。

特に生産者 A ではの 15 日給餌後の 7 月 22 日に高い効果が認められ、実験施設での早期化試験の結果とあわせて、販売期間の早期化の可能性が示唆された。

しかしながら、生産者 A では通常販売する 1 才魚ではなく 2 才魚を試験対象としたこと、生産者 B では通常の 2 倍 (1%) の粉末添加量で試験したため、販売期間の早期化をマニュアル化するにはさらに検討が必要である。

部位別のリモネン定量は、2015 年 12 月 14 日に生産者 C の試験区を用いて行った。定量値は図 1 に示したように、高値順に血合筋が 3.7mg/100g、肝臓が 3.3mg/100g、背身筋肉 (血合筋除く) が 1.7mg/100g、腹身筋肉 (血合筋除く) が 1.4mg/100g であつた。臭みの強い血合筋からリモネンが多く検出されたことから、魚臭の苦手な消費者にも受け入れやすいことが期待される。

## 3. 保存中のカボス粉末の香り成分

保存後の粉末のリモネン定量値は表 6 に示したとおりである。製造時のカボス粉末のリモネン量は 1,400mg/100g、黄カボス粉末は 920mg/100g であつた。カボス粉末では冷凍 (-18℃) 及び、常温・真空でリモネン残存率が高く 64% であつた。冷凍 (-30℃) では 45%、冷蔵及び常温では 4% であつた。黄カボス粉末のリモネン残存率は 74% であつた。

以上から、粉末の保存は-18℃の冷凍または常温の場合は真空処理を行い、製造後は速やかに使用することが望ましいと考えられた。

表5 プリ養殖現場における試験結果

生産者	検査日	試験区	添加濃度	添加回数	魚体重(g)	肥満度(%)	色差0.8の時間(A)	(A)の遅延時間	リモネン定量値(mg/100g)
A	7/22	対照	—	—	5,664	16.7	62	—	
		果皮	0.5	15	5,752	17.2	86	24	0.40
	8/10	対照	—	—	5,544	15.9	77	—	
		果皮	0.5	26	6,160	17.1	95	18	0.27
B	9/28	対照	—	—	3,712	17.7	77	—	
		果皮	1	22	3,680	17.9	96	19	0.19
C	10/26	対照	—	—	2,956	17.1	63	—	
		果皮	0.5	20	4,440	19.3	100	37	0.16
D	10/27	対照	—	—	3,930	16.0	146	—	
		果皮	0.5	25	3,372	15.9	163	16	未分析

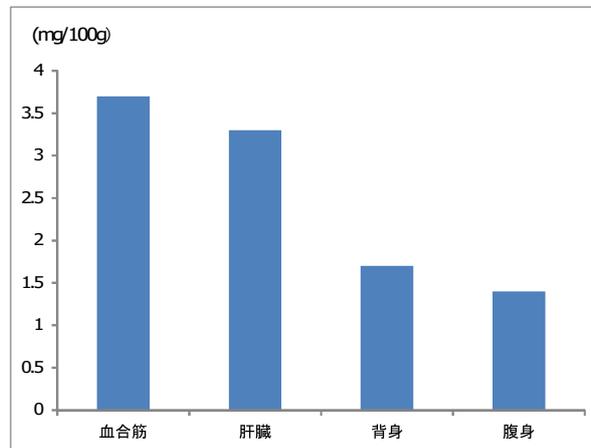


図1 試験区プリの部位別のリモネン定量値

表6 粉末のリモネン定量値

粉末 保存方法	カボス					黄カボス
	常温	常温・ 真空	冷蔵 (5℃)	冷凍 (-18℃)	冷凍 (-30℃)	冷凍 (-18℃)
定量値(mg/100g)	61	890	50	890	630	680
残留率(%)	4	64	4	64	45	74

## 安心・安全で環境に優しい養殖推進事業

ハダムシ対策

木藪仁和・川上恵

### 事業の目的

ブリ類の体表に寄生するハダムシ(*Benedenia seriolae*や*Neobenedeniagirellae*)は、成長不良および疾病を誘発するため、養殖業においては淡水浴や駆虫剤による対策を頻繁に行う必要がある。本事業では、駆虫作業の労力およびコスト軽減と、安心な養殖の推進を目的に、飼料添加物のハダムシ寄生抑制効果を検討した。

### 事業の方法

#### 1. ブリ

市販 EP 飼料を給餌した魚を対照区とし、EP に梅酢を1.0%添加したものを梅酢区とした。各区 3 × 3 × 3m 生簀 2 面を設定し、1 面あたり平均体重 429g のブリ 70 尾ずつ収容した。

日曜日を除く 1 日 1 回、各飼料を飽食給餌して、5 月 12 日～6 月 30 日の 50 日間飼育した。淡水浴は 3 ～ 4 週間に 1 回実施し、作業前に各区から 20 ～ 30 尾を取り上げ、ハダムシの総寄生数を計測した。

#### 2. カンパチ

アジ主体のMPを給餌した魚を対照区とし、梅酢を 1.0 % 添加したものを梅酢添加区とした。各区 3 × 3 × 3m 生簀 2 面を設定し、1 面あたり平均体重 388g のカンパチを 40 尾ずつ収容した。日曜日を除く 1 日 1 回、各飼料を飽食給餌して、6 月 11 日～9 月 14 日の 96 日間飼育した。淡水浴は 8 月、9 月に 1 回ずつ実施し、作業前に各区から 10 尾を取り上げ、ハダムシの総寄生数を計測した。

### 結果及び考察

#### 1. ブリ

ブリ 1 尾あたりのハダムシ寄生数については、図 1 に示したとおりである。2 回の計測いずれも梅酢区のハダムシ寄生数は対照区の約半分であった。平均体重の推移は図 2 に示したとおりで、6 月 30 日までの飼育で梅酢区がやや小さくなった。

#### 2. カンパチ

カンパチ 1 尾あたりのハダムシ寄生数については、図 3 に示したとおりである。2 回の計測いずれも梅酢区の寄生数が少ない傾向が見られた。平均体重の推移は図 2 に示したとおりで、8 月以降に梅酢区の成長が横ばいになり、平均体重で劣った。

今後は、ブリ、カンパチともに梅酢添加による成長への影響について検証を行うとともに、成長に影響しない添加濃度によるハダムシ規制の抑制効果について検討する必要がある。

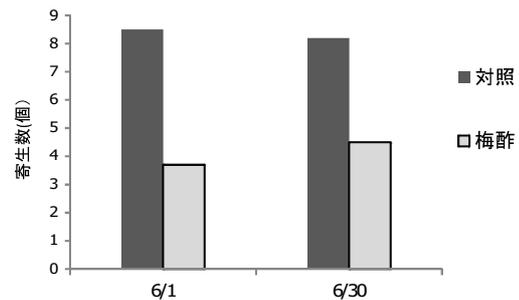


図1 ブリ1尾あたりのハダムシ寄生数.

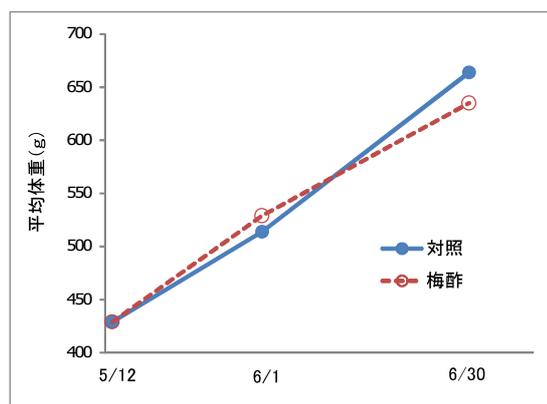


図2 ブリの平均体重.

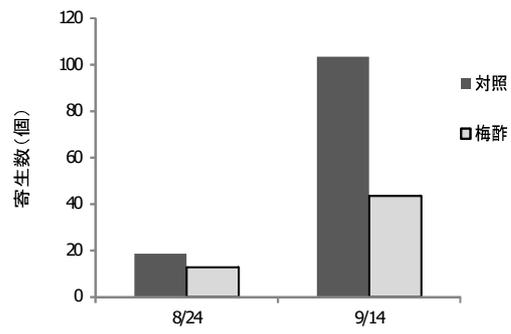


図3 カンパチ1尾あたりのハダムシ寄生数.

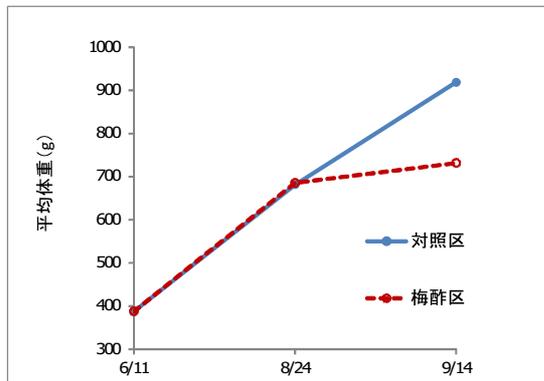


図4 カンパチの平均体重.

## 水産加工品等高度利用化指導

川上恵・木藪仁和

### 事業の目的

水産加工を営む沿岸漁業者や漁村グループ、学校栄養士などの加工技術の向上ならびに未利用・低利用資源、安価な魚介類などを用いた加工品の開発・改良の支援、流通改善を目的に、加工研修、加工相談への対応、巡回指導などを実施した。

### 事業の内容および結果

#### 1. オープンラボ

漁業者などに当研究部内の加工施設の活用機会を提供し、技術指導を行った。32 回延べ 113 人が当施設を活用して、養殖ブリ、エソ、ヒジキ等を使った加工食品（真空パック、冷凍商品など）の開発・改良を行った（表 1）。

表 1 加工流通研修内容

研修件数	32
研修人数	113
対象水産物	ブリ(養殖)、マアジ、エソ、ハモ、マサバ、ドジョウ(養殖)、ヒジキ

#### 2. 加工流通相談などへの対応

未利用資源や低価格水産物の有効利用、加工品の品質向上などについて、43 件延べ 71 人の相談に対応した（表 2）。

表 2 加工相談への対応

相談件数	43
相談人数	71
対象水産物	ブリ(養殖)、ヒラマサ(養殖)ブリ、イサキ、ボラ、エソ、サバフグ、ハモ、クルマエビ、アオリイカ、アサリ、バカガイ、コンブ、ワカメ

#### 3. 巡回指導

加工業者、漁業者等からの要望に基づいて現地に赴き、県産魚の利用、流通改善について、7 回延べ 124 人の指導を行った（表 3）。

表 3 巡回指導

指導件数	7
指導人数	124
対象水産物	ブリ(養殖)、マアジ、エソ