

1 海面増養殖技術試験

(1) 海産生物増養殖試験

海産動物増養殖試験 (トリガイ漁場形成機構調査)

岡本俊治・日比野学

キーワード；トリガイ，浮遊幼生，産卵，親貝，秋季，三河湾

目的

トリガイは、貝けた網漁業の重要な漁獲対象種であるが漁獲量の年変動が大きく、本種資源の増大、安定化を図るためには、その漁場形成機構を明らかにしなければならない。三河湾における春季の資源形成には、湾内の貧酸素水塊が解消する秋季の新規加入が重要と考えられ、これまでにこの時期の浮遊幼生の出現状況を調査し、秋季の豊富な産卵量が資源形成の重要な要因の一つであることを明らかにした。¹⁾ 秋季の豊富な産卵量を確保するためには、親貝資源の存在やその保護が必要なため、親貝生息場所を特定することを目的に昨年度に引き続き三河湾内で詳細な浮遊幼生調査を行った。

材料及び方法

平成 20 年 9 月から 12 月にかけて 4 回、三河湾内の最大 7 測点で調査を行った (図 1)。浮遊幼生の採集は、北原式プランクトンネット (目合 50 μm) を用い、海底上 1 m から海面までの鉛直びきにより行った。採集した二枚貝幼生は、間接蛍光抗体法を用いてトリガイ幼生を同定し、出現個体数を成長段階に分けて計数した。¹⁾ これらの個体数から、海底面積 1 m^2 の水柱当たりの個体数として分布密度を算出した。

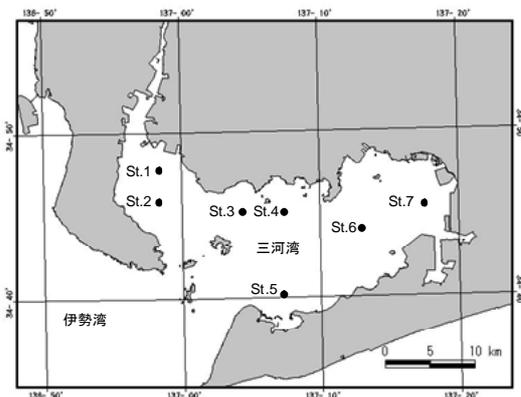


図 1 調査海域と調査測点

結果及び考察

トリガイの発生初期 (D 型) 浮遊幼生 (以下初期幼生という) は調査期間を通して出現し、調査回毎の最多出現数は 9 月 11 日に St. 1 で 5,600 個体/ m^2 、10 月 22 日に St. 2 で 2,050 個体/ m^2 、11 月 5 日に St. 3 で 16,400 個体/ m^2 であった。調査期間中、初期幼生が最も多く出現した 11 月 5 日調査時における各測点の初期幼生の出現状況を図 2 示した。初期幼生は、三河湾北部から中部の海域にかけて多く出現した。D 型幼生の出現数はその海域における産卵量をある程度反映していることから、¹⁾ 平成 20 年秋季の親貝資源は三河湾中央北部の一色干潟沖に存在していたと考えられた。

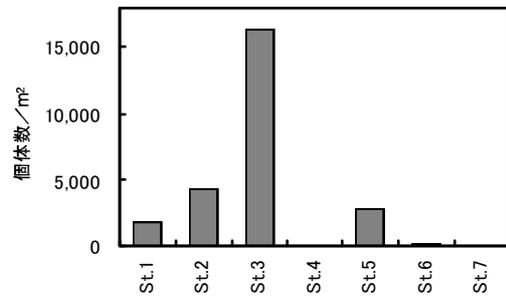


図 2 11 月 5 日調査時の各測点における初期幼生出現数

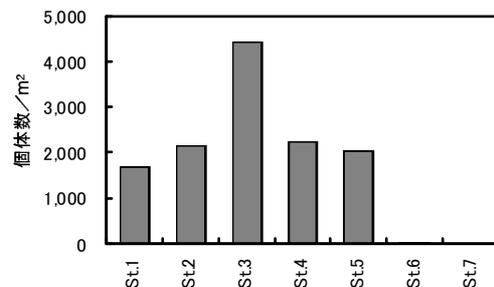


図 3 11 月 5 日調査時の各測点における殻頂期幼生出現数

また、殻頂期幼生も調査期間を通して出現し、11月5日調査時には St. 1～5 で 1,700 個体/m²以上(最多は St. 3 で 4,450 個体/m²) と三河湾西部から中部の広域にわたり多く出現した(図 3)。この幼生の出現数は、豊漁年前年の平成 18 年と同程度¹⁾ あったことから、平成 20 年の秋季産卵は活発に行われ、翌年春季に資源が形成されると考えられた。

引用文献

- 1) 岡本俊治・黒田伸郎(2007) 秋季の三河湾におけるトリガイ浮遊幼生の出現について. 愛知水試研報, 13, 1-5.

海産動物増養殖試験 (放流ミルクイ生残調査)

日比野学・岡本俊治

キーワード；ミルクイ，中間育成，ALC 標識，ペイント標識，放流効果

目 的

ミルクイは本県潜水漁業者にとって重要な漁獲対象物であり，漁業者は人工種苗の中間育成，放流に取り組んでいる。本課題では，資源の安定化に有効な種苗の放流場所，放流方法，放流後の漁場管理方法等を検討する。

ミルクイの中間育成については，近年における検討の結果，生残率の向上，安定化が図られた。しかし，放流後の生残調査においては，放流稚貝の確認が十分にできていない。今年度は，昨年度と同様にペイント標識用の稚貝を継続飼育するとともに採捕調査を行なった。また，種苗の放流直後における定着状況を把握するために ALC 標識を施した試験種苗を，調査用に設置した放流区画へ放流した。

材料及び方法

(1) ペイントマーカーによる標識放流及び採捕調査

平成 19 年度の漁業者によるミルクイの種苗放流については，師崎，日間賀島，篠島地区において平成 20 年 1 月に種苗を收容し，約 2 カ月間の中間育成の後，3 月に各地先で放流された。このうち，ペイント標識放流用の稚貝を育成するため，日間賀島地区と師崎地区において，それぞれ 700 個体及び 300 個体を継続飼育した。継続飼育は，各地区放流日に種苗を中間育成カゴに 140 個体(師崎は 150 個体) /カゴの密度で再收容し，両地区とも港内にカゴを水深 2 m 程度に垂下することにより行った。師崎地区では，テング漁場に放流された平成 19 年度ペイント標識放流個体が，操業中に再捕される可能性があるため，周知用ポスターを作成し市場等に掲示した。

(2) 中間育成と種苗放流

平成 20 年度の漁業者によるミルクイの種苗放流については，師崎，日間賀島，篠島地区において平成 21 年 1 月と 2 月に種苗を收容し，師崎では 25 日間，日間賀島では 22 日間，篠島では 50 日間の中間育成の後，3 月に各地先で放流された。

(3) 種苗の放流直後の定着状況

既報の方法¹⁾により，今年度の日間賀島地区に搬入された種苗約 8,500 個に ALC 標識を施した。標識後，日間

賀島久淵地先において 21 日間の中間育成 (1,700 個体/カゴ) を行い，育成後の生残率を確認し，放流区画に放流した。放流区画は，日間賀島北部の浅間瀬漁場内に約 1×1 m とし，区画がわかるように各辺上にペットボトルで作成した水中ブイを取り付けたコンクリートブロック 4 つを配置した。

結果及び考察

(1) ペイントマーカーによる標識放流及び採捕調査

日間賀島地区，師崎地区とも 4 月下旬までに継続飼育していたほとんど全ての個体が死亡した。水管が十分に成長していない小型稚貝期には，浮泥堆積による影響を受けやすく，今回の死亡原因は，浮泥の堆積によるものと推定された。冬季に比べ，4～5 月における浮泥堆積は大きいことが推定され，この時期には特に飼育管理に留意する必要があると考えられた。このことから，今年度はペイント標識放流が実施できなかった。

10 月 26 日に日間賀島西部の下瀬海域において，平成 13 年度に 1 歳，殻長約 80 mm でペイント標識放流された平成 11 年度生産の人工種苗が再捕された。再捕時には，殻長 137.8 mm，湿重量 521.9 g であった。このロットは過去に再捕された標識個体と同一のロットであり，²⁾³⁾ この個体の再捕により，ミルクイの成長は 3 歳以降非常に緩やかであることが確認され，9 歳以上の寿命であることが明らかになった(図)。このことから，定量的ではないものの，人工種苗が長期間生存し成貝資源として加入していることが明らかになった。

(2) 中間育成と種苗放流

平成 20 年度の中間育成の結果は，篠島地区では生残率が悪かったものの，他地区では最近年と同様の歩留まりであった(表)。また，今年度は育成日数が短かったものの，放流時には昨年と同程度の殻長サイズであった。これらの種苗の一部(日間賀島：600 個体，師崎：450 個体)は，次年度のペイント標識放流用として，飼育を継続中である。

(3) 種苗の放流直後の定着状況

標識直後の種苗の活力は良好であった。中間育成後の

3月19日における生残率は74.3%と良好であり、日間成長においても無標識種苗と遜色なかった。また、中間育成終了後に、97個体の種苗についてALC標識の有無について蛍光顕微鏡下で確認したところ、97%以上の個体で貝殻表面にALCリングが明瞭に識別でき、残りの個体においてもやや不鮮明ながら識別可能な状況であった。取り上げた約6,000個は、速やかに潜水漁業者により放流区画内に放流された。生残状況については、次年度4月より調査する予定である。

- 1) 日比野学・宮脇 大・岡本俊治(2008)アリザリン・コンプレクソン(ALC)を用いたミルクイ小型稚貝への大量標識法の検討. 愛知水試研究報告, 14, 17-18.
- 2) 黒田伸郎・岡村康弘・荒川純平(2004)重要二枚貝増養殖試験(放流ミルクイ生残調査)平成15年度愛知県水産試験場業務報告, 4.
- 3) 岡本俊治・岡村康弘・荒川純平(2005)重要二枚貝増養殖試験(放流ミルクイ生残調査)平成16年度愛知県水産試験場業務報告, 4.

引用文献

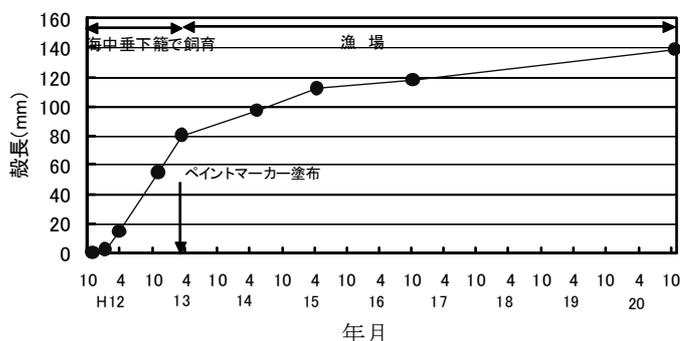


図 過去の再捕実績及び今年度再捕個体から推定されたミルクイの成長

表 最近年におけるミルクイ中間育成実績

年度	地区	飼育日数	歩留まり(%)	收容時殻長(mm)	放流時殻長(mm)	日間成長(mm/日)
16	日間賀島	75	64	3.5	10.0	0.087
	篠島	50	70	4.3	7.0	0.054
	師崎	50	62	4.3	11.3	0.140
17	日間賀島	63	78	4.5	8.7	0.067
	篠島	59	65	4.0	6.9	0.049
	師崎	53	95	4.9	8.1	0.060
18	日間賀島	50	63	4.5	10.6	0.122
	篠島	59	59	4.0	10.3	0.107
	師崎	57	61	4.0	8.2	0.074
19	日間賀島	59	70	3.7	5.5	0.031
	篠島	57	62	3.7	6.6	0.051
	師崎	57	71	3.7	6.6	0.051
20	日間賀島	22	87	5.0	5.9	0.041
	篠島	50	24	3.2	6.2	0.060
	師崎L	25	73	4.2	6.0	0.072
	師崎S	25	59	3.1	5.1	0.080

ノリ優良種苗開発試験

山本有司・石元伸一・原田靖子

キーワード；選抜育種，栄養繁殖性，高色調性

目 的

近年，温暖化の影響によると考えられる水温降下の遅れにより，秋季の育苗期にノリ葉体の障害が発生し，ノリ養殖に被害を与えており，漁業者からは高水温の被害軽減を図ることができるノリ種苗の開発が要望されている。そこで，高水温の被害軽減を目的として，高い栄養繁殖性と高色調性（色が濃い）を目標形質に選抜育種した Y-3-2A の特性評価を行った。また，新たに高水温耐性品種を作出するため交雑株から選抜育種を行った。なお，これらの試験は愛知県漁業協同組合連合会との共同試験により実施した。また，ノリ遺伝資源を保存するために，保有するフリー糸状体の維持管理培養を行うとともに，愛知県漁業協同組合連合会が実施する県内養殖用フリー糸状体の培養を指導した。

材料及び方法

(1) 品種試験

Y-3-2A，U-51 及び愛知 8 号（通称：吉川）の特性を室内培養及び野外養殖試験で比較した。室内培養では葉体の色落ち時の色調測定を以下のとおり実施した。培養条件は水温 18℃，通気量は 10ml/sec. 程度，照度約 8000lx，明期 8h 暗期 16h とした。試験には ESP 添加海水で 40 日間培養した 3 株の葉体を供し，濾過海水（ESP 無添加）で 4 日間培養した後，再度，ESP 添加海水で培養した。成葉体の色調は色彩色差計により ESP 無添加 3 日後及び ESP 添加 4 日後に測定し，ハンター Lab 表色系で色調を比較した。

次に野外試験では幼葉の成長，成葉体の葉厚，葉長，単孢子発芽体量（単孢子発芽体数/親芽数）を測定し，色彩色差計により葉体の色調を測定した。試験は鬼崎及び大井の養殖漁場において各生産者に依頼し，育苗期から生産期まで継続して実施した。3 株の貝殻糸状体から 10 月 1 日に陸上採苗を行い，芽立ちを確認した後，冷凍した。各漁場の育苗は，水温が 23℃ を下回るようになって開始し，大井漁場が 10 月 15 日から，鬼崎漁場が 10 月 17 日から行われた。育苗方法は，大井漁場は浮上イカダ方式，鬼崎漁場では浮上イカダ方式と支柱柵での半浮動方式の併用で実施された。干出は高気温となる日中を避

け，概ね日の出から数時間程度の間で行った。単張りは大井漁場が 11 月 14 日から，鬼崎漁場が 11 月 29 日から行った。養殖方式は大井漁場では浮流し柵方式で，鬼崎漁場は支柱柵方式で行った。なお，鬼崎漁場は二期作（秋芽網の網上げ 12 月 30 日，冷蔵網張込み 12 月 30 日，網上げ 2 月 17 日），大井漁場は一期作（網上げ 1 月 29 日）で行った。

新たな優良品種の作出として，水試保存株 No. 603 株と No. 604 株の交雑株から高色調性，高水温耐性，高水温時の根様糸細胞の発達に優れる株の選抜を行った。

(2) 遺伝資源収集保存

現在，保存している 578 株の系統については，温度 5℃，照度 10 lx での保存培養を継続し，年 1 回の培養液の交換を行った。また，愛知県漁業協同組合連合会が実施する県内養殖用フリー糸状体の大量培養を指導した。

結果及び考察

(1) 品種試験

室内培養試験の結果を図 1 に示した。Y-3-2A の葉体の L 値は色落ち前，色落ち後，色回復後の全てで愛知 8 号より 1~2 低く，U-51 との比較では 1~3 低かった。この結果から Y-3-2A は貧栄養時でも富栄養時でも比較的高色調性を示すと考えられた。

Y-3-2A の育苗期の葉体の成長は U-51 や愛知 8 号との比較では顕著な傾向は認められず，大差なかった。19 年度の室内試験¹⁾では Y-3-2A の生長は U-51 より遅かったが，野外試験では魚やカモに食害されることや，芽付きの多少により明瞭な差がなくなったと考えられる。次に大井漁場及び鬼崎漁場の野外試験の単孢子発芽体量を図 2 に示した。育苗期の単孢子発芽体量は，11 月 2 日の鬼崎漁場では Y-3-2A は 8.8 個を示し，0.3 個を示した U-51 より大幅に多かった。また，愛知 8 号は 7.9 個を示し，Y-3-2A とほぼ同等だった。また，11 月 8 日の鬼崎漁場は Y-3-2A は 6.0 個，U-51 は 1.4 個，愛知 8 号は 4.9 個で，Y-3-2A は U-51 より単孢子発芽体量が大幅に多く，愛知 8 号とは大差ない傾向を示した。一方，大井漁場では 11 月 5 日に Y-3-2A は U-51 の約 2 倍の単孢子発芽体量で愛知 8 号と同等だったが，11 月 13 日には Y-3-2A は U-51

より少ない値を示した。この理由としては、大井漁場では11月13日のY-3-2Aの試験網は付着珪藻が多かったため、試験網に単胞子が付着できなかったためと考えられる。また、大井漁場では鬼崎漁場と比較してU-51の単胞子発芽体量が多く、その理由としてU-51の育苗を愛知8号の隣で行ったため、愛知8号の単胞子がU-51の試験網に付着した可能性が考えられる。

次に野外試験での葉体の色調について図3に示した。大井漁場での試験結果では、12月7日の測定ではY-3-2Aの平均L値が40.9で最も低く、次いでU-51が41.9、愛知8号が42.6で最も高かったことから、Y-3-2Aが最も高色調を示したと考えられる。しかし、1月16日の色落ち時の測定ではY-3-2Aの葉体の平均L値が48.0で、愛知8号は47.2を示したことから、愛知8号がY-3-2Aより高色調を示した。一方、鬼崎漁場では12月21日と1月12日はY-3-2Aが愛知8号より平均L値が低かったが、2月13日は愛知8号が平均L値が低かった。この結果から、12月から1月中旬までの時期はY-3-2Aは高色調を示すが、1月下旬以降は愛知8号の方が高色調を示す可能性が考えられた。

なお、Y-3-2Aは出願名称「あゆち黒吉」として平成21年3月31日付で農林水産省に品種登録申請した。

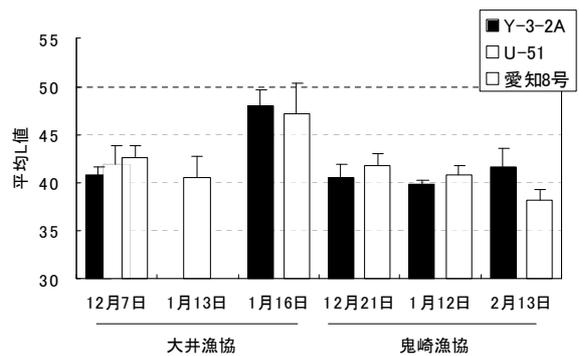


図3 野外試験での葉体の色調

表1 Y-3-2Aの特性評価(平成21年3月品種登録申請時)

	Y-3-2A	U-51
糸状体の色	黒紫	黒紫
幼葉の葉形	倒披針形	広線形
成葉の葉形	線状倒披針形	広線形
葉長	中	中
葉色	黒紫	紫褐
葉厚(栄養細胞)	薄	薄
葉厚(雄性細胞部)	やや薄	やや薄
葉厚(雌性細胞部)	やや薄	やや薄
成熟期	晩熟	晩熟
生殖細胞形成面積率	大	大
繁殖期	幼芽期から成葉期まで	幼芽期から成葉期まで
単胞子発芽体量	多数	やや少数
塩分適応性	広	広
温度適応性	中	やや弱
流失抵抗性	中	中
耐乾性	中	やや弱
栄養要求性	中	中
あかくされ病抵抗性	中	中
壺状菌病抵抗性	中	中

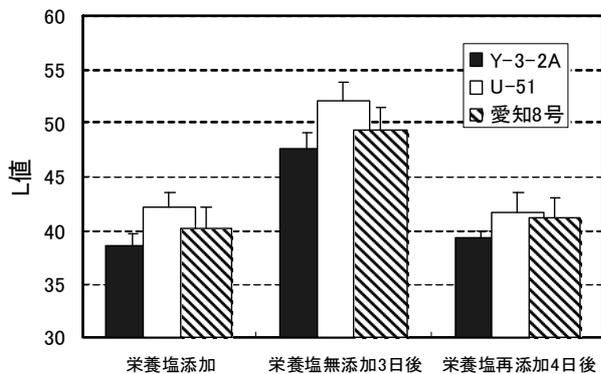


図1 室内試験での葉体の色調

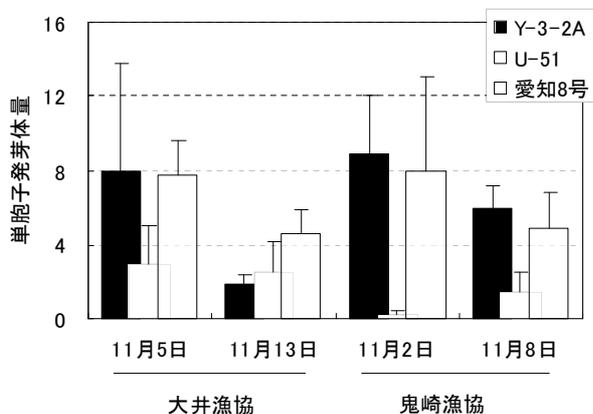


図2 野外試験での単胞子発芽体量

(2) 遺伝資源収集保存

指導に基づき愛知県漁業協同組合連合会が平成20年度の県内養殖用に配布したフリー糸状体については表に示した。

表2 養殖用に配布したフリー糸状体

用途	特性	該当する種苗	配布量(g)
標準	成長良、 細葉、 二次芽小	東三丸山単 (No.501)、味沢3号 (No.516) シカガシ: 栄生: H11 (No.529)、ワヅアサケ : H11 (No.530)、サガ5号: H11 (No.531)、 西尾14 (No.588)	189
		吉野川入沢: 1 (No.244)、小豆島: H11 (No.527)、前芝入沢 (No.544)、清吉3号 (No.591)、木更津入沢 (No.593)、木清 (No.596)	
早生	成長良、 高水温耐性、 二次芽小	MS-2 (No.509)、師崎: 吉川 (No.524)、 MS: H11 (No.528)、吉川F2 (No.592)	425
晩生	初期成長不良、 二次芽多		
合計			812

引用文献

- 1) 服部克也・蒲原 聡・原田靖子(2008)ノリ優良種苗開発試験. 平成19年度愛知県水産試験場業務報告, 5-6.

(2) ノリ品種判別技術開発試験

石元伸一・原田靖子・山本有司

キーワード；養殖ノリ，品種判別手法，遺伝子マーカー，栄養繁殖性評価，室内培養試験

目 的

近年，中国や韓国からノリ輸入の圧力が強まっていること，国内においても産地間での競争が激化していることなどから，産地において作出，開発されたノリの品種を知的財産として保護しようとする動きが強まっている。しかしながら，製品となったノリの品種を判別することが困難であることや，ノリの品種登録に求められている野外養殖試験¹⁾は海域での試験であり，環境の変化が大きい形質評価に困難が伴うとともに，労力的，経費的にも負担が大きいことから，これまでノリについては，品種登録が活発に試みられることはなかった。そこで，本課題では，登録されるノリ品種が判別できるように遺伝子マーカーの開発を行うとともに，一定した環境が保たれる室内試験により品種の形質評価を可能にするための手法のうち，生産性に大きな影響を与える栄養繁殖性についての評価手法を開発する。

材料及び方法

(1) 遺伝子マーカーの開発

本県の保有株（7株）のフリー糸状体を液体窒素で凍結し，SKミル（トクケン社製）で粉砕後，ISOPLANT II キット（ニッポンジーン社製）を用いてDNAを抽出した。これら7株及び西海区水産研究所より配布された61株のDNA（本県の保有株1株を含む）の合計68種類のDNAを鋳型として用いた。

RAPD-PCRの反応条件は，すでにこの手法での知見を有する福岡県水産海洋技術センターの条件を用いた。²⁾ RAPDプライマーは，ランダムプライマーAA～AN及びU～Zの20セット（計40種類，オペロン・バイオテクノロジー社製）のうち，昨年度検討していない206種類を用いた。

見つかった株特異的な増幅領域は西海区水産研究所へ送付した。西海区水産研究所においてクローニング及びシーケンスを行い，株特異的なSTS化プライマーを設計した。これらSTS化プライマー及び68株のDNAを用いてPCRを行い，判別の確認を行った。

(2) 室内試験での栄養繁殖性形質評価手法の開発

培養水温の違いによる栄養繁殖性の発現状況を把握す

るため，U-51（特性評価標準株），大牟田1号及びアオクビ（一般的な養殖株）の3種類の株を用い，水温別培養試験を3回実施した。培養には1L容の球形通気フラスコを使用し，容器をウォーターバスに浸漬して水温を制御した。培養水温は22℃，20℃，18℃，16℃（±0.2℃）の4温度とし，ビニロン単糸に付着させた殻胞子（採苗後冷凍保存）を培養した。培養海水及び培養容器は7日目ごとに交換し，葉体は培養14日目にビニロン単糸から剥離して，14日目及び21日目に培養枚数を調整した（1容器あたり14日目－40個体前後，21日目－10個体）。単胞子付着用ビニロン単糸（3本）は14日目に容器に收容し，7日ごとの交換時に単胞子発芽体数（ビニロン単糸1cm片面分の付着数を培養葉体枚数で除した数）を求めた。7日目及び14日目の単胞子放出については，親芽糸への単胞子発芽体付着の有無のみ観察した。また，補助的に培養7日目，14日目，21日目，28日目に，葉状体の単胞子放出痕の有無を調べ，単胞子放出葉体率（%）を求めた。

これらの結果をもとに暫定的に栄養繁殖性評価培養方法を策定し，単胞子を多数放出する愛知県保有株Y-3-2Aの評価を実施した。

結果及び考察

(1) 遺伝子マーカーの開発

上記68株についてRAPDプライマー206種類でRAPD-PCRを行ったところ，本県の8株に特異的な増幅領域が64種類観察された。これらの増幅領域を西海区水産研究所へ送付し，クローニング及びシーケンスを行い，44種類のSTS化プライマーを作成した。これらのSTS化プライマーを用いて判別の確認をしたところ，1～3種類のSTS化プライマーを組み合わせることで，本県が保有する8株すべてについて他の株と判別することが可能となった（表1）。

(2) 室内試験での栄養繁殖性形質評価手法の開発

3種類の株（U-51，大牟田1号，アオクビ）の培養では，全ての培養区で7日目及び14日目に，親芽糸への単胞子発芽体の付着及び葉状体の単胞子放出痕は確認できず，21日目にU-51では20℃区，大牟田1号では20℃区

(3) 海産生物病害対策試験

ヨシエビ病害発生状況調査

原田 誠・本田是人

キーワード；ヨシエビ, PAV, PRDV

目 的

近年、海面漁業の主要な海産生物に様々な病障害が発生し、資源の維持・増殖等に影響を与えることが懸念されている。特にクルマエビの PAV（クルマエビ類急性ウイルス血症）については既に全国的な問題となっており、本県においても種苗生産過程で検査を行うなどの防疫体制がとられている。

一方、ヨシエビについては平成 17 年度から種苗生産が開始され県内各地に放流されている。本県近海におけるヨシエビの PAV 感染状況は、本調査の他、山根ら¹⁾による報告があるが、長期的な保有状況の変動については不明である。このため、本調査では、天然ヨシエビにおける PAV の原因ウイルス（PRDV）の保有状況を継続的にモニタリングすることを目的とした。

材料及び方法

本年度は伊勢湾産ヨシエビを調査対象とした。調査には平成 20 年 9 月 5 日に小型底びき網漁業により伊勢湾で漁獲されたヨシエビの雌 30 個体を用いた。検査方法は受精嚢を部位とする PCR 法とし、供試ヨシエビを漁業生産研究所へ搬入後、ただちに受精嚢を採取し、1.5 ml マイクロチューブへ収容後 -30℃で冷凍保存して、後日検査を実施した。

結果及び考察

検査した 30 個体のうち 4 個体が陽性であった（表）。過去の本調査^{2~5)}の結果とあわせると、平成 17 年度以降、本県沿岸の天然ヨシエビから PRDV の保有が継続的に確認された。本県の放流種苗は、天然海域で漁獲される親エビを使用して生産されている。これまでに、放流種苗から PRDV の保有が確認されたことはないが、天然海域の親エビから継続して PRDV の保有が確認されたため、今後も放流種苗の出荷前検査を確実に行っていく必要がある。

引用文献

- 1) 山根史裕・西岡豊弘・瀬古慶子・徳増秀渡(2007)PCR 法による種苗生産用親ヨシエビからのクルマエビ急性ウイルス血症ウイルス検出法の検討. 栽培技研, 35(1), 55-58.
- 2) 原田 誠・本田是人(2008)ヨシエビ病害発生状況調査. 平成 19 年度愛知県水産試験場業務報告, 9.
- 3) 原田 誠・甲斐正信(2007) ヨシエビ病害発生状況調査. 平成 18 年度愛知県水産試験場業務報告, 7.
- 4) 原田 誠・甲斐正信(2006) ヨシエビ病害発生状況調査. 平成 17 年度愛知県水産試験場業務報告, 8.
- 5) 岡村康弘・甲斐正信(2005) ヨシエビ病害発生状況調査. 平成 16 年度愛知県水産試験場業務報告, 9.

表 ヨシエビ PRDV 保有検査結果

水揚年月日	検体数 (尾)	平均体長 (mm±標準偏差)	陽性個体数 (尾)	陽性率 (%)
平成 20 年 9 月 5 日	30	122.5±8.40	4	13.3

あかぐされ病対策適正化試験

石元伸一・原田靖子・山本有司

キーワード；ノリ養殖，あかぐされ病，遊走子，PCR 法

目 的

あかぐされ病は，あかぐされ病原菌 *Phythium* sp. がノリ葉体に感染することで発症し，感染葉体から漁場海水中に放出される遊走子が主たる感染源になっている。このため，あかぐされ病の病害防除や発生予察を目的として，微量な遊走子でも検出できる PCR 法¹⁾ を利用して県内ノリ漁場全域を対象としたあかぐされ病菌遊走子量の調査を平成 16 年度から実施してきた。しかし，平成 19 年度の調査などで漁場海水からの遊走子の検出頻度と，漁場でのあかぐされ病害発生状況の関係があわない場合が見られた。²⁾

検出手法開発時や全域調査時には，漁場海水中の遊走子検出による発生予察の可能性が示唆されているが，³⁾ いずれも漁場海水中の推定遊走子量と，聞き取りなどから得た発生状況との関係より判断しており，調査時に採水地点付近のノリ葉体の罹病度の確認は行われていない。そのため本年度は，あかぐされ病原菌遊走子の検出と調査地点におけるノリ葉体の罹病度を詳細に調査することで，予察の可能性について再考した。

なお，PCR 法に関して（株）白子研究開発センターがプライマー及びプライマーを設定したあかぐされ病原菌塩基配列について特許権を有していることから，同センターの使用許諾に基づき本試験を実施した。

材料及び方法

調査は，小鈴谷漁場の浮流し柵漁場で実施した。最も支柱柵漁場より（岸側）の浮流し柵を定点柵とし，ノリ網の張り込まれている柵内と柵外沖側及び柵外岸側の 3 カ所（図 1）において，1L 容サンプルビンでノリ葉体が混

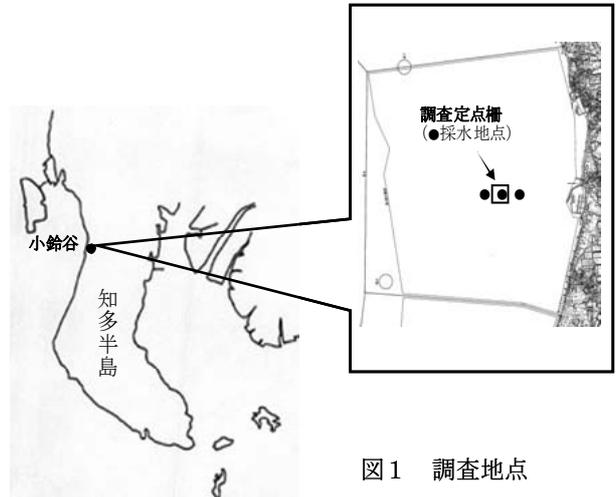


図1 調査地点

入しないように表層海水を採水した。海水は保冷して持ち帰り，既報の手法⁴⁾ により，500ml を吸引濾過して，あかぐされ病原菌遊走子をメンブレンフィルター上に集菌し，これを熱処理して鋳型 DNA を得た。この鋳型 DNA を TE により 10 倍毎の段階希釈を行い，1 倍から 10000 倍希釈の鋳型 DNA を既報³⁾ に従って 1st-PCR 及び Nested-PCR を行い，あかぐされ病原菌遊走子量の推定を行った。また，採水と同時に，柵内のノリ網について目視によるあかぐされ病発生の確認を行うとともに，ノリ葉体を採取して持ち帰り，あかぐされ病の罹病度を調べた（表）。

結果及び考察

調査は定点柵にノリ網が張り込まれた 2 日後の平成 20 年 11 月 18 日から 12 月 19 日の間に 8 回実施した。調査期間中のあかぐされ病原菌遊走子及びノリ葉体のあかぐされ病罹病度の推移を図 2 に示す。

表 あかぐされ病原菌遊走子及び葉体罹病度のグレード

遊走子 グレード	試水希釈倍率					葉体罹病 グレード	漁場目視	葉体サンプル	
	1	10	100	1000	10000			肉眼視サイズ	顕微サイズ
1>	—	—	—	—	—	0	—	—	—
1	+	—	—	—	—	1	+	—	—
2	+	+	—	—	—		—	—	+
3	+	+	+	—	—	2	—	—	+
4	+	+	+	+	—		+	+	—
5<	+	+	+	+	+	3	+	+	+
						4	+	+	+

多数：感染斑が 40 倍視野に 1 個以上

漁場海水中のあかぐされ病原菌遊走子は、ノリ葉体への感染初認より前の11月26日調査時に柵外岸側で検出(グレード2)されたが、同日の他2点及び感染が初認された12月1日調査でも検出限界以下(グレード1)であった。その後遊走子グレードは増加し、12月11日調査以降はグレード3以上の高いレベルで推移した。

ノリ葉体へのあかぐされ病感染は12月1日の調査時に顕微鏡サイズの感染斑が初認され、12月15日の調査には拡大しグレード4となった。12月11日調査時は定点柵の葉体サンプルはグレード1であったが、定点付近の浮き流し柵や支柱漁場では、グレード4の蔓延状態であった。これは定点柵のノリ網が12月3日に摘採され、同日に酸処理が実施されていたことから感染拡大がやや遅れたと考えられ、12月11日には漁場全域で蔓延状態であったと考えられる。

これらのことから、あかぐされ病原菌遊走子量とノリ葉体のあかぐされ病罹病度の関係について考えてみると、葉体への感染が始まった以降は、感染拡大と遊走子量の増加は概ね一致し、蔓延後は漁場海水中に常に高いレベルで遊走子が存在するようになると推察される。

一方、感染前に海水中の遊走子が比較的高いレベルで検出される現象も見られたことから、感染前に前兆的に遊走子量が増加することが示唆されるが、距離的に近い(約20m)他の採水地点では検出されなかった。これは前兆的な遊走子の増加が、漁場全域ではなく限定された

範囲で起こっていることが考えられ、昨年度までの調査間隔や定点数では、必ずとらえることのできる現象であるとはいえない。採水地点数を大幅に増加し、調査間隔を大幅に短縮することなどにより、前兆現象をとらえる可能性は残るものの現実的ではなく、全域モニタリング的な調査手法では、葉体への感染確認前にあかぐされ病発生を予察することは難しいと考えられる。

今後は、遊走子の初期供給場所と考えられるあかぐされ病原菌の越冬場所を特定するため、ノリ網張り込み前の漁場での調査が必要と考えられる。

引用文献

- 1) Park C. S., Kakinuma M., Amano H. (2001) Detection of the red rot disease fungi *Pythium* spp. by polymerase chain reaction. Fisheries Science, 67, 197-199.
- 2) 服部克也・蒲原 聡・原田靖子 (2008) あかぐされ病対策適正化試験. 平成19年度愛知県水産試験場業務報告, 10.
- 3) 愛知県水産試験場 (2004) DNA解析等を利用した病原菌の検出技術開発(あかぐされ), 平成15年度先端技術等地域実用化研究促進事業報告書, 16-17.
- 4) 愛知県水産試験場 (2002) DNA解析等を利用した病原菌の検出技術開発(あかぐされ), 平成13年度先端技術等地域実用化研究促進事業報告書, 20.

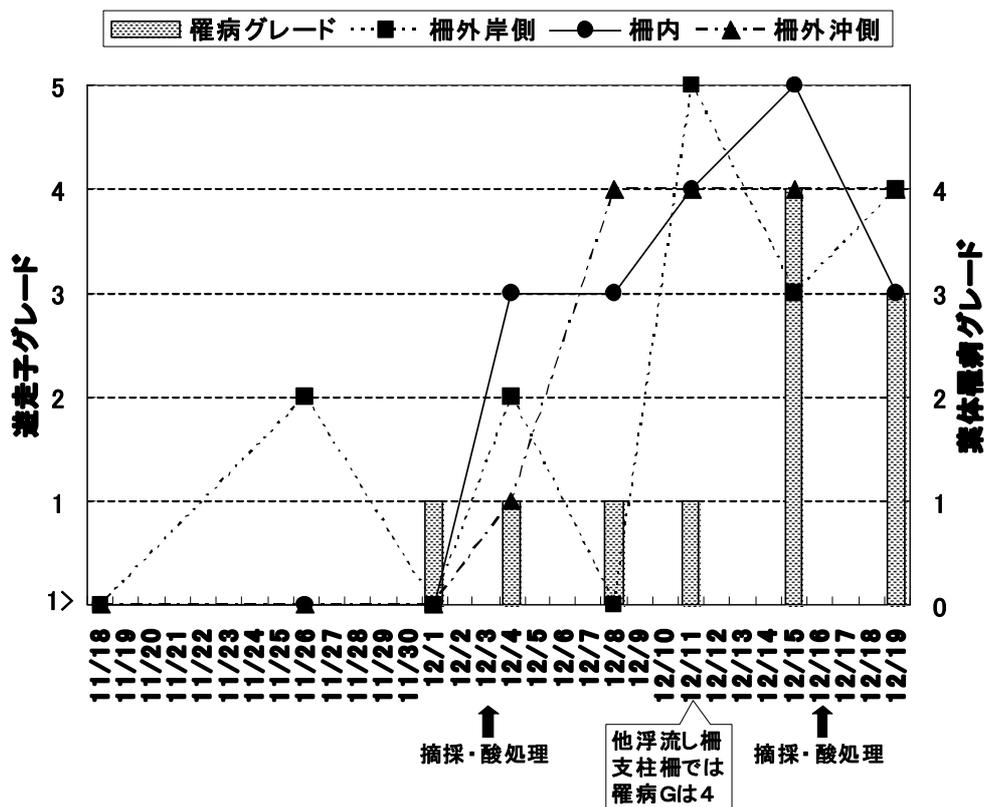


図2 あかぐされ病原菌遊走子と葉体罹病の推移

スミノリ・クモリノリ発生機構解明試験

原田靖子・石元伸一・山本有司

キーワード；ノリ，スミノリ，クモリノリ，PCR 法

目 的

愛知県内ノリ養殖漁場の一部では，スミノリ症と呼ばれる病害が年末年始頃に発生し，製品の品質低下や生産量が減少するなどの被害が出ている。また，クモリノリと呼ばれる品質評価の低い製品の中には，スミノリ症の程度が軽いものもあると考えられる。こうしたスミノリ症やクモリノリは，スミノリ症原因菌 (*Flavobacterium* sp.，以下スミノリ菌) がノリ葉体に感染して発生するとされている。¹⁾

スミノリ症の発生前に漁場でスミノリ菌の存在を把握し，養殖管理などで防除対策を行うことができれば，被害軽減に繋がると考えられる。そのため，ノリ葉体表面上のスミノリ菌の検出法²⁾を用いて漁場のスミノリ菌量を定量し，病害の状況とスミノリ菌量の関係を調査した。

また，クモリノリとスミノリ菌との関連性が示唆されているものの，^{3~5)} 症状が軽いためスミノリ症の判定基準（ノリ葉体を冷たい淡水に 10 分間浸漬した後の吐出細胞の出現割合²⁾）では吐出せず，関連性が検討できていない。クモリノリは，乾ノリ製造工程において 30~40℃程度で一定時間かけて乾燥する間にノリ葉体の細胞が徐々に吐出して起こると考えられる。そこで，クモリノリの判定基準を検討するため，乾ノリ加工場において乾燥中のノリの温度と乾燥にかかる時間を測定した。

材料及び方法

(1) 漁場調査

調査は，スミノリ症の発生例の多い鬼崎漁場及び西尾漁場にて行った（図 1）。ノリ葉体は，鬼崎漁場では支柱柵及び浮き流し漁場の養殖網から，西尾漁場では支柱柵漁場の養殖網及び 8 号線から 12 号線に傾斜張りにした試験網から採取した。期間は，鬼崎漁場では 12 月 27 日から 2 月 2 日まで，西尾漁場では 12 月 25 日から 1 月 23 日までとした。ノリ葉体の採取は鬼崎漁業協同組合のり研究部及び西三河漁業協同組合西尾支所のり研究会の協力により実施した。

スミノリ菌の検出は，1 cm²量 of ノリ葉体を 50 μl の TE を入れた 0.2 mlPCR チューブに収容し，90℃20 分の熱処理を行った後の上澄みを鋳型 DNA とした。鋳型 DNA を

段階希釈し，各段階において PCR を行い検出限界を調べることで菌量を推定した（表 1）。²⁾ また，スミノリ症の程度を推定するため，スミノリ症の判定基準²⁾ に基づき吐出グレードを判定した（表 2）。

(2) 乾ノリ加工場におけるノリ乾燥中の温度測定

乾ノリ加工場において，乾燥機に入る直前に，温度計（おんどとり Jr 無線タイプ，T&D 社製）をセンサーの先端がノリとノリ簀の間に埋まるように取り付けた（図 2）。この温度計は，ノリ簀と共に乾燥機を通した後，ノリをはぎ取る機械の前で取り外した。この測定は，1 日における乾ノリ製造の序盤と中盤の 2 回行った。

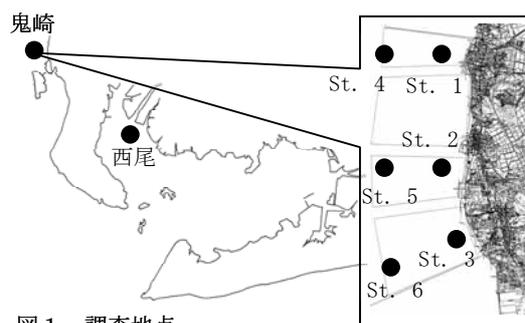


図 1 調査地点

表1 スミノリ菌量グレード

グレード	スミノリ菌量
0	数個/cm ² 未満
1	数個/cm ²
2	数十個/cm ²
3	数百個/cm ²
4	数千個/cm ²
5	数万個/cm ²
6	数十万個/cm ² 以上

表2 葉体の吐出グレード

グレード	吐出細胞の割合
0	1%未満
1	1~5%
2	5~10%
3	10~30%
4	30~50%
5	50%以上

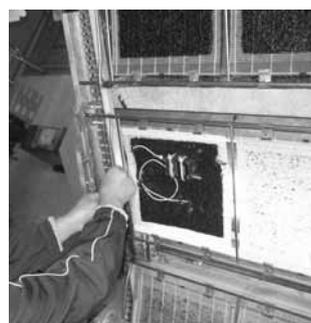


図 2 ノリ簀への温度計取り付け方法

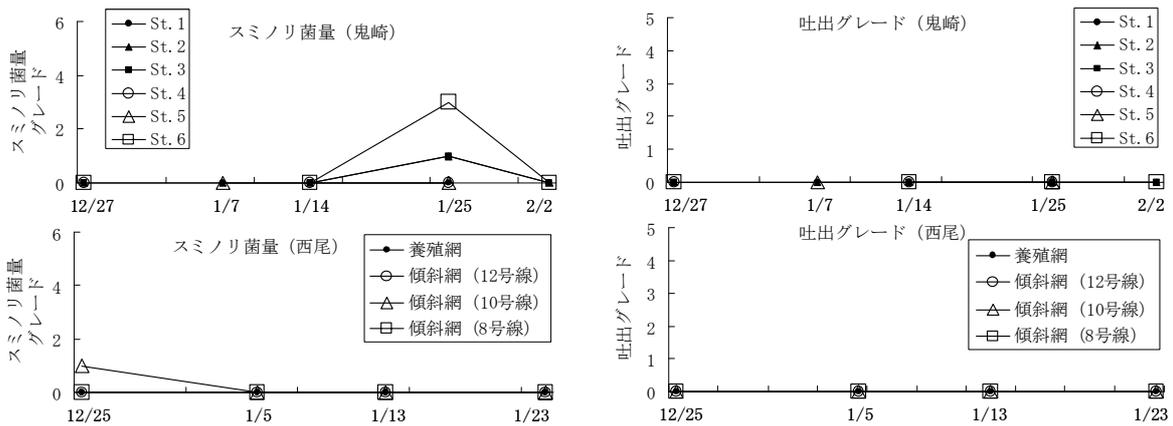


図3 ノリ葉体表面上のスミノリ菌量及びノリ葉体の吐出グレード

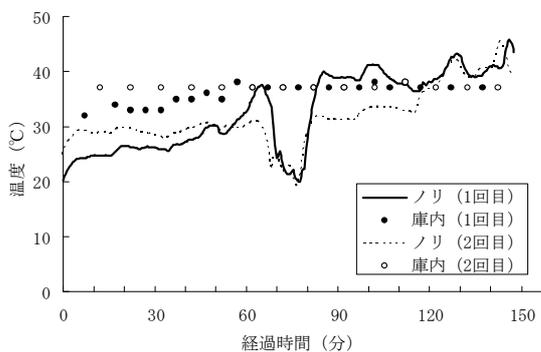


図4 乾燥中のノリの温度

した後、乾燥すると庫内温度まで急上昇した。庫内温度は、乾燥序盤の1回目ではやや低かったが、概ね37°Cであった。ノリの温度が庫内温度まで上昇した時にノリが乾燥したと考えられることから、乾燥に要した時間は、1回目は60分だったのに対し、2回目は120分かかった。この理由としては、乾燥序盤は庫内にノリがほとんど入っていなかったのに対して、中盤ではたくさんのノリが庫内に入っていたため、乾燥に時間がかかったと考えられた。今後は、これらの結果をふまえてクモリノリの判定基準となる温度と時間について検討する。

結果及び考察

(1) 漁場調査

今漁期においては調査を行った両漁場を始め、県内漁場では重度のスミノリ症は認められなかった。また、漁場での調査で検出されたスミノリ菌は微量であった。

ノリ葉体表面上のスミノリ菌量及びノリ葉体の吐出グレードを図3に示した。西尾漁場で12月25日にグレード1、鬼崎漁場で1月24日にグレード1~3のスミノリ菌が検出されたが、吐出細胞はどちらの漁場でも見られなかった。これまでにノリ葉体表面上のスミノリ菌量とスミノリ症の発生に関連性が認められており、^{2~6)} 漁場での菌量モニタリングは発症を予測し早期対策を行うためのひとつの方法になると考えられる。今後は、発症予測が可能な菌量モニタリングの方法を検討すると共に、病害防除に効果的な養殖管理方法について検討する必要がある。

(2) 乾ノリ加工場におけるノリ乾燥中の温度測定

乾燥中のノリの温度を図4に示した。乾燥機に入ってから70~80分後にノリの温度が下がったのは、乾燥機の後端でノリ簀を一旦庫外に出したためである。2回とも、ノリの温度は乾燥機の庫内温度よりも8°C程度低く推移

引用文献

- 1) 三宅佳亮・植村宗彦・伏屋 満(2005)愛知県内ノリ養殖漁場から分離されたスミノリ症原因菌のPCRによる検出, 愛知水試研報, 11, 17-24.
- 2) 愛知県水産試験場(2004)DNA解析技術による養殖ノリの病原性付着細菌検出技術の開発, 平成15年度先端技術等地域実用化研究促進事業報告書, 13-16.
- 3) 三宅佳晃・服部克也・蒲原 聡(2005)スミノリ・クモリノリ発生機構解明試験, 平成16年度愛知県水産試験場業務報告, 12-14.
- 4) 原田靖子・蒲原 聡・服部克也(2006)スミノリ・クモリノリ発生機構解明試験, 平成17年度愛知県水産試験場業務報告, 11-13.
- 5) 原田靖子・蒲原 聡・服部克也(2007)スミノリ・クモリノリ発生機構解明試験, 平成18年度愛知県水産試験場業務報告, 10-11.
- 6) 原田靖子・蒲原 聡・服部克也(2008)スミノリ・クモリノリ発生機構解明試験, 平成19年度愛知県水産試験場業務報告, 11-13.

(4) ノリ色落ち対策技術開発試験

アサリによるノリ色落ち原因プランクトン摂餌試験

大橋昭彦・荒川哲也・岡田 元

キーワード;アサリ, *Eucampia zodiacus*, ノリ色落ち

目 的

一般に1月から2月の愛知県海域は栄養塩が少なく、時には *Eucampia zodiacus* 等の赤潮により、のり養殖に色落ちの被害が発生することがある。その被害を与える代表的なプランクトンである *E. zodiacus* は大型珪藻類であるため、アサリが摂餌するかは不明であったが、昨年度試験で摂餌することが確認された。

今年度は、ノリ色落ちの被害が発生することが多い1月から2月の低水温期を想定して室内で摂餌試験を行うこととした。

材料及び方法

E. zodiacus は、渥美湾(平成20年12月)で採取・単離したものを使った。大量培養は、昨年度と同じく振とう培養器(Taitec BR-300LC)で培養した。培養は、メタ珪酸を添加したSWIIを用いた。通気は行わず、水温10℃、光強度 $17.5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、振とう回数60回/minで培養した。

アサリへの摂餌試験は、35×19×深さ21cmの塩ビ製の水槽へ8Lのろ過海水を入れ行った。水温は三河湾の最低水温を想定し6.5℃に設定した。試験開始後から24時間後まで各試験区からサイフォンで220mL採水し、無機三態窒素量、リン酸態リン量、クロロフィルa濃度の水質の変化をみた。培養液の栄養塩の影響を防ぐため、試験は *E. zodiacus* を30 μm メッシュのプランクトンネットで回収したものを使い、植物プランクトンによるアンモニア態窒素の吸収を防ぐため暗室で摂餌試験を行った。

表 試験区の設定

	アサリ(個体)	ユーカンピア(cells/mL)
実験区	5	1500
対照区 I	0	1500
対照区 II	5	0

結果及び考察

図にクロロフィルa濃度と無機三態窒素量の推移を示した。クロロフィルa濃度は、実験区、対照区Iともに試験開始から減少したが、実験区の方が速く減少した。また、24時間後の無機三態窒素量は実験区が最も増加した。この増加のほとんどは、アンモニア態窒素によるもので、アサリから排出されて増加したと考えられる。

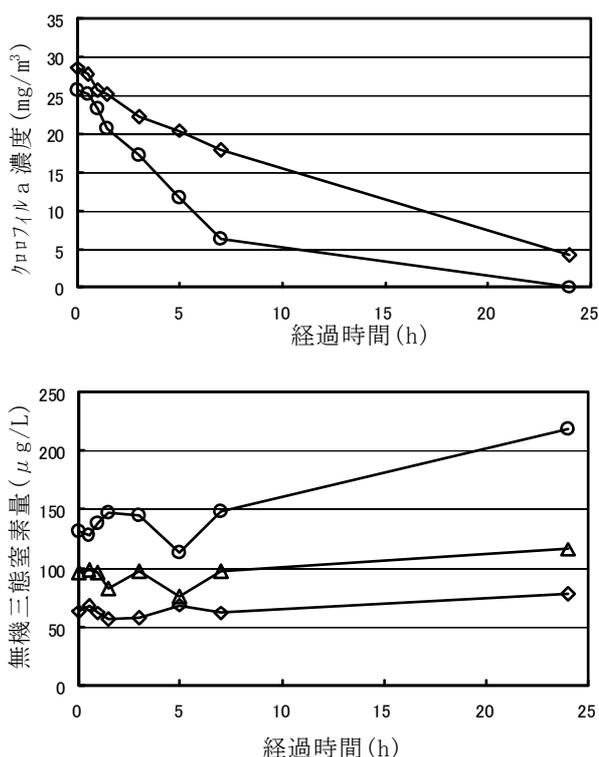


図 クロロフィルa濃度と無機三態窒素量の推移
○…実験区, ◇…対照区 I, △…対照区 II

ノリ漁場連続観測

荒川哲也・大橋昭彦・岡田 元・中村雅廣
岩瀬重元・平野祿之・山本寛幸

キーワード；ノリ色落ち，要因

目 的

ノリの色落ちは，競合生物である植物プランクトンによる赤潮の発生や，栄養塩の減少によって引き起こされるが，これらの現象を詳細にとらえた例はほとんど無い。そこで，ノリの色落ちに至る経過を明らかにすることを目的に，植物プランクトンの発生と，栄養塩濃度の変化及びノリの色落ちの過程をモニタリングする。

材料及び方法

調査点を吉田漁業協同組合の支柱柵漁場に 6 点，漁場沖に 2 点設け，1 月 19 日～2 月 13 日の期間で調査を実施した。

また，観測機器（水温，塩分，クロロフィル a，流向流速）を 2 調査点に設置した（図 1）。

採水は表層及び底上 1 m で行い，調査項目は表に示した。

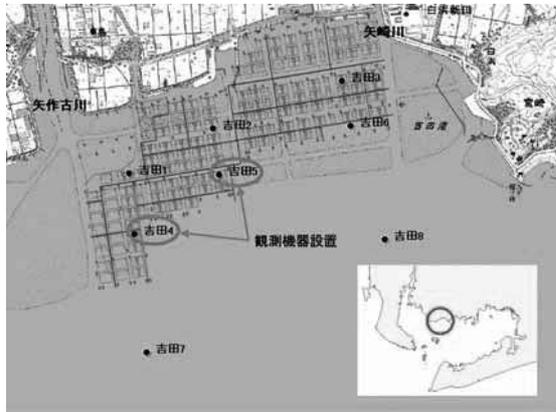


図 1 吉田ノリ漁場調査点図

表 調査項目

調査区分	調査項目
気 象	天候，雲量，風力，気温
水 質	水温，塩分，総窒素，総リン，無機態窒素，リン酸態リン，クロロフィル a
プランクトン	種類，細胞数
ノリ葉体	色調，重量，炭素窒素含有量

結果及び考察

調査期間中における表層水温は 7.5～9.8℃、表層塩分は 25.86～32.22 であった。

支柱柵陸側（調査点 1，2，3），支柱柵沖側（調査点 4，5，6），漁場沖（調査点 7，8）で区分した漁場ごとの栄養塩（DIN，PO₄-P），クロロフィル a 濃度及び葉体窒素含量の変化を図 2 に示した。

支柱柵陸側では，DIN が 48.6～161.4 μg/L，PO₄-P が 7.2～12.3 μg/L，クロロフィル a が 0.4～6.2 mg/m³，支柱柵沖側では，DIN が 26.0～77.8 μg/L，PO₄-P が 1.8～8.1 μg/L，クロロフィル a が 1.0～8.7 mg/m³ で，漁場沖では，DIN が 9.1～43.9 μg/L，PO₄-P が 0.0～3.4 μg/L，クロロフィル a が 5.8～17.7 mg/m³ で推移し，栄養塩は陸側ほど濃度が高く，クロロフィル a は低くなっていた。また，1 月末にはまとまった降雨があり栄養塩濃度の上昇がみられた。

ノリ葉体窒素含量（湿重あたり）は支柱柵陸側で 9.4～12.8 mg/g，支柱柵沖側で 6.0～11.1 mg/g と栄養塩環境を反映し沖側の方が低い値であった。色調は 1 月 29 日の調査でやや浅くなったが，降雨による栄養塩濃度の上昇により 2 月 2 日の調査では色調は回復していた。

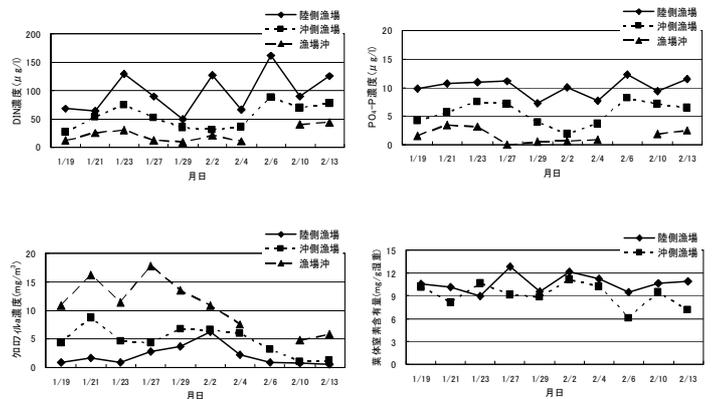


図 2 栄養塩（DIN，PO₄-P），クロロフィル a 濃度及び葉体窒素含量の変化（表底層平均値）

伊勢・三河湾から渥美外海の環境把握

大橋昭彦・荒川哲也・岡田 元
中村元彦・鶴寄直文

キーワード:伊勢湾, 三河湾, 渥美外海, 栄養塩

目 的

冬季の愛知県海域は栄養塩が減少し,時には *Eucampia zodiacus* 等の赤潮により,のり養殖に色落ちの被害が発生する。また,外海から内湾への栄養塩供給についても,ノリの色落ちとの関与が疑われ,その動向を明らかにすることが期待されている。そこで伊勢・三河湾から湾口部にかけて,栄養塩の挙動を明らかにすることを目的に,水質,プランクトン等を調査する。

方 法

伊勢湾3点,知多湾4点,渥美湾8点,湾口部2点の計17点(図1)において,月2回,水温,塩分,無機三態窒素(DIN),リン酸態リン(DIP),クロロフィルa濃度及びプランクトンの調査を行った。プランクトン検鏡は,海水1mlをプランクトン計数板にとり,確認されたプランクトンの細胞数を計数し記録した。

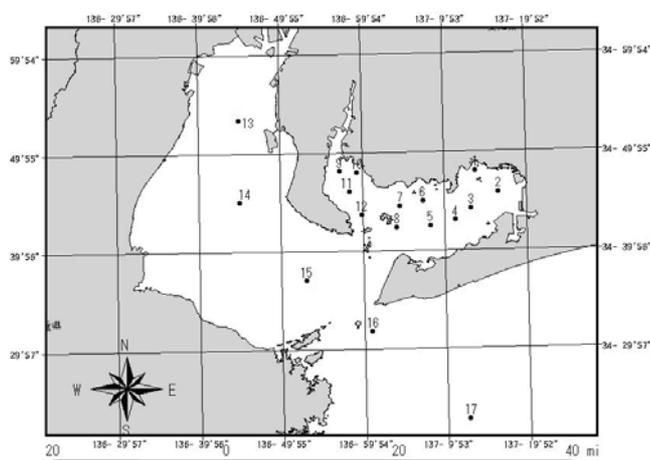


図1 調査点図

結果及び考察

ノリの色落ち原因の代表的なプランクトンである *E. zodiacus* の細胞密度の推移を図2に示した。*E. zodiacus* は,ほぼ年間を通じて確認された。特に,12月から渥美湾で確認され初めた *E. zodiacus* は,1月初旬に知多湾まで広がった。この時,知多湾と渥美湾では,他に *Chaetoceros* spp. が多く確認さ

れた。

図3には,1月上旬及び1月下旬の各点表層のクロロフィルa濃度,DIN及びDIPを示した。クロロフィルa濃度は,知多湾と渥美湾では *E. zodiacus* と, *Chaetoceros* spp. が増殖したため高く,知多湾の湾奥部では $17\text{mg}/\text{m}^3$ であった。

DIN及びDIP濃度は,渥美湾では1月上旬に貧栄養塩な状態となっているが, *E. zodiacus* 等の珪藻類が少なかった知多湾は,まだ豊富な栄養塩が存在していた。しかし,1月下旬になると知多湾,渥美湾のDIN,DIPどちらも,河口域を除いて貧栄養塩な状態となった。これは,増加した珪藻類に消費されたため減少したと考えられ,このとき,知多湾では,ノリの色落ちが発生していた。また,湾口部の調査点16では,1月下旬にDIN,DIPともに減少したが,調査点17では減少することはなく,1月上旬ともに調査点16より高い値であった。

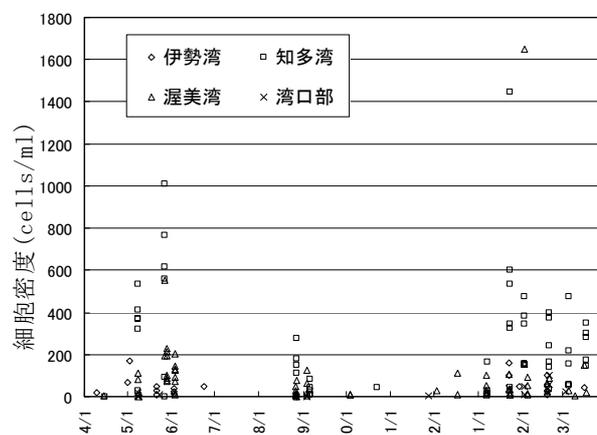


図2 *Eucampia zodiacus* 細胞密度の推移

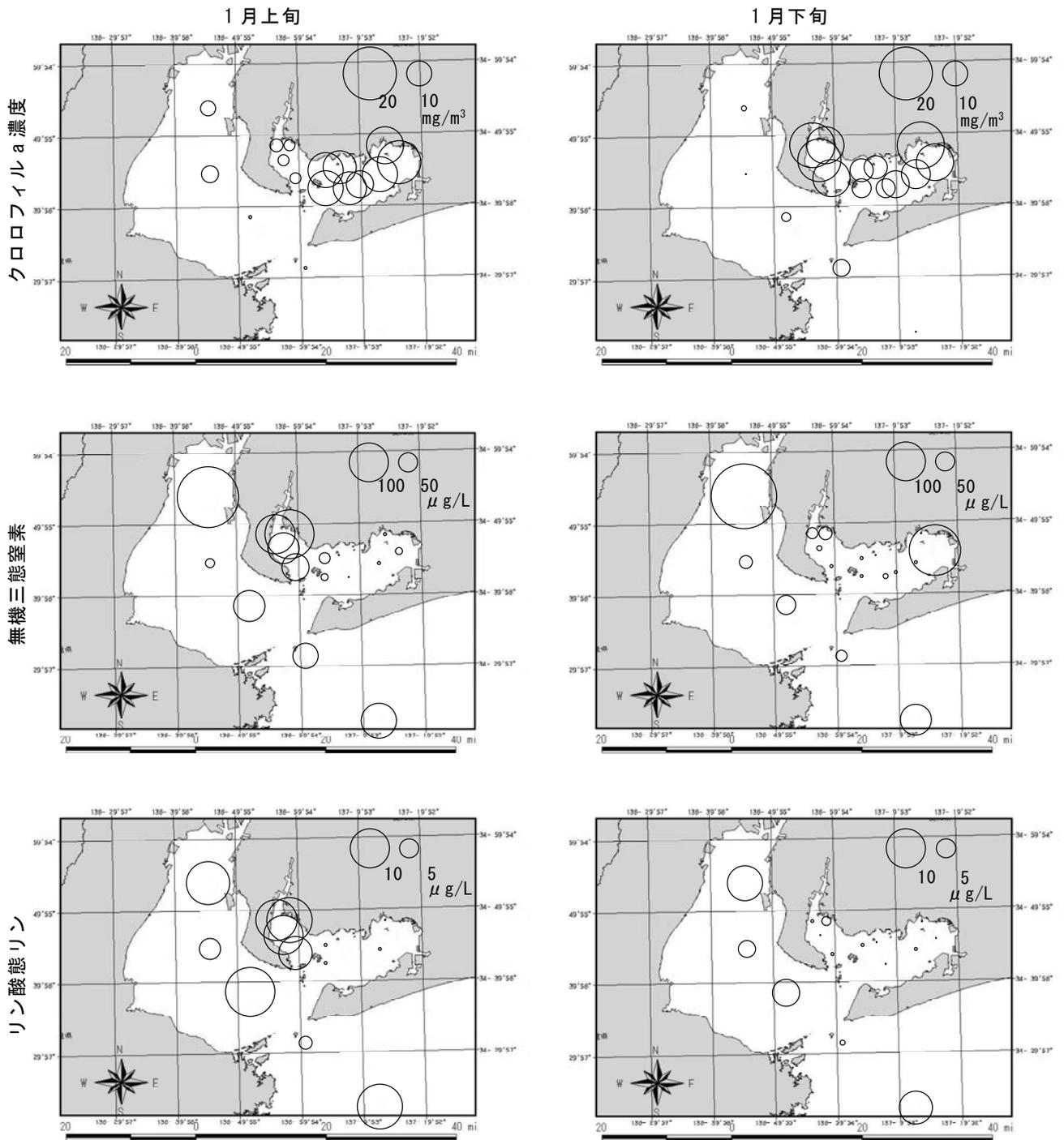


図3 1月上旬と下旬の各調査点における栄養塩及びクロロフィル a 濃度分析結果