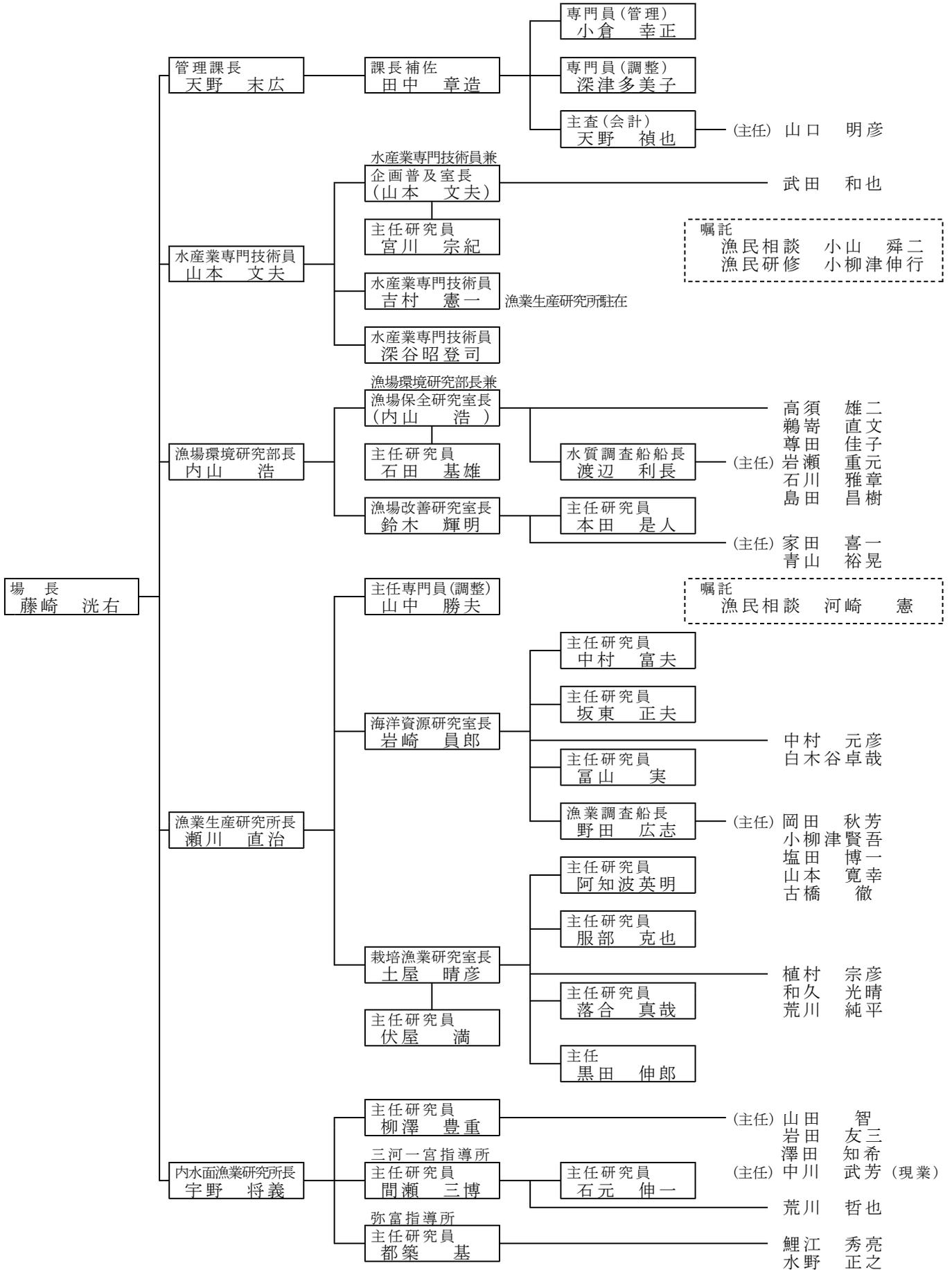


平成13年度 組織・機構図

平成13年4月16日現在



1 海面増養殖技術試験

(1) 海産生物増養殖試験

重要二枚貝増養殖試験 (トリガイ漁場形成機構調査)

落合真哉・黒田伸郎・荒川純平

キーワード；トリガイ，浮遊幼生，モノクローナル抗体，稚貝

目的

トリガイは貝桁網漁業の重要な漁獲対象種であるが、漁獲量の経年変動が大きく、この好不漁が経営に及ぼす影響は大きい。本種資源の増大、安定化を図るためには、漁場形成機構を明らかにしなければならないが、その基礎的知見となる幼生の動態、稚貝の着底場所やその後の生残、成長等の基本的生態はほとんど明らかにされていない。そこでこれらの基礎的知見を得るため、昨年度に引き続き間接蛍光抗体法を用いたトリガイ浮遊幼生調査、漁場におけるトリガイ稚貝の成長と生残調査を行った。

材料および方法

(1) 三河湾トリガイ浮遊幼生調査

平成13年4～11月の小潮時に月1～3回、三河湾内の13定点(図1)において、目合50 μ mのプランクトンネットで捕集し、間接蛍光抗体法でトリガイ浮遊幼生密度を測定した。St. 25については表層から2mおきに5層、St. 23及びSt. 26については深度0m, 4m, 10m層、その他の定点については4m層の幼生密度を測定した。

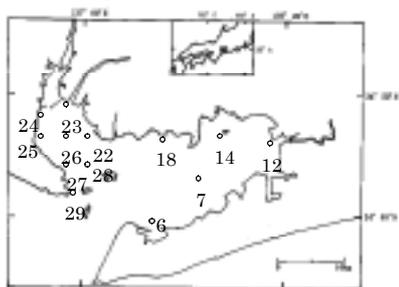


図1 浮遊幼生調査定点

(2) トリガイ分布調査

美浜町漁協地先漁場において、平成12年11月からの調査¹⁾に引き続き、稚貝の成長を平成13年5月まで追跡調査した。

また、平成13年10月～平成14年3月まで月に1回程度、同漁協北部漁場(布土沖)におけるトリガイ分布調査を

行った。

トリガイの採取には、桁幅1mの水流噴射式桁網を用い、50m程度の曳網を1回行った。ただし、3月13日は5回曳網した。

結果および考察

(1) 三河湾トリガイ浮遊幼生調査

トリガイ浮遊幼生は、4月から11月までの調査期間を通じて0～7840個体/m³の密度で確認された。幼生の密度は時期・場所により変異が大きかったが、調査期間を通じて浮遊幼生が確認されたことから調査期間中継続的に産卵が行われていたことが示唆された。

St. 25において2mごとに捕集した幼生の分布密度は上下に一樣とは限らず、St. 25の水柱における全出現数の2/3以上が特定の1つの層に出現する場合が見られた。2/3以上が出現した層は、D型期幼生及びアンボ期幼生では2m及び4m、着底期幼生では2m, 4m, 6m, 底層の各層であった(図2)。

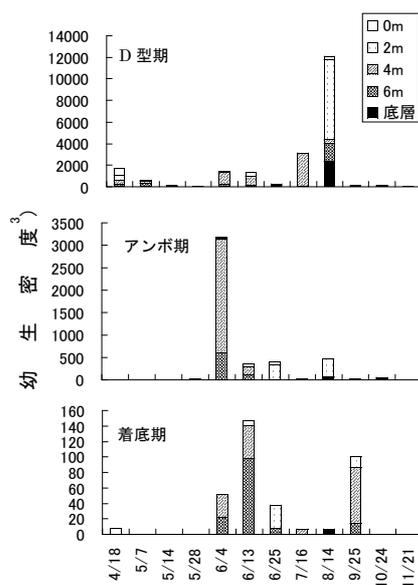


図2 St. 25 におけるトリガイ浮遊幼生出現状況

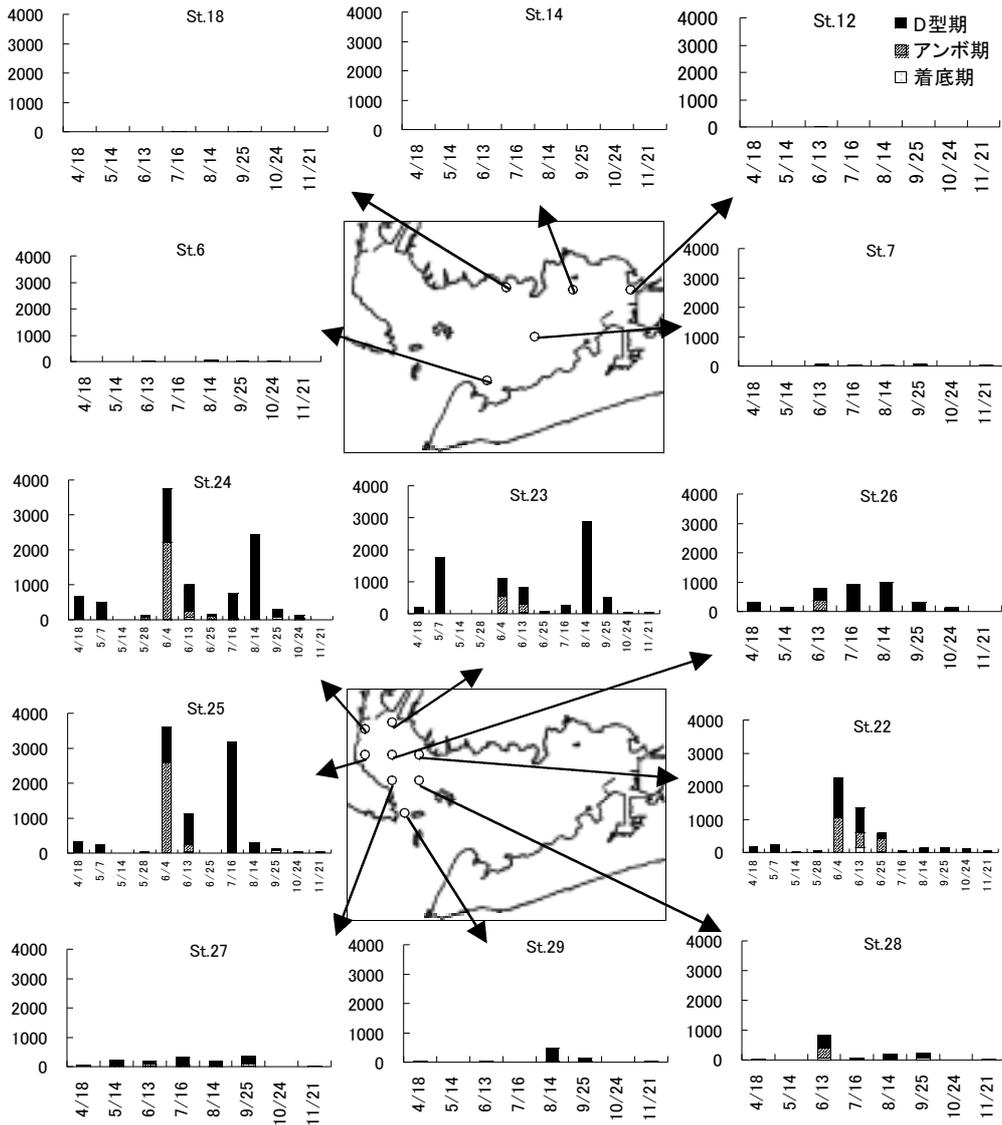


図3 三河湾におけるトリガイ浮遊幼生出現状況

図3に全13調査定点の4m層の幼生密度を示した。渥美湾で観測された幼生密度は全調査期間を通じて知多湾より少なく、最大でも67個体/m³であった。平成13年漁期のトリガイ漁業では、渥美湾で不漁、知多湾で豊漁であり、浮遊幼生の分布密度は親の資源量を反映しているものと考えられた。

今年度は4m層で全調査定点の幼生密度を調査したが、上記のように幼生は特定の深度に集積することがあり、その深度は4m層に限らないことから、今後はプランクトンネットの鉛直曳による定点採集と水中ポンプによる各層採集を組み合わせることでトリガイ浮遊幼生の水平・鉛直分布を明らかにしていく予定である。

(2) トリガイ分布調査

美浜町漁協地先漁場における平成12年秋発生群の平均

殻長を図4に示した。平成12年11月に4.2mmであった平均殻長が翌年4月には47mmとなり、この間の殻長の成長は月に1cm程度と考えられた。その後5月から操業開始となったが、その際平均殻長50mm (38~58mm) の小型個体は選別により再放流され、平均殻長60mm (51~71mm) の大型個体から漁獲されていった。

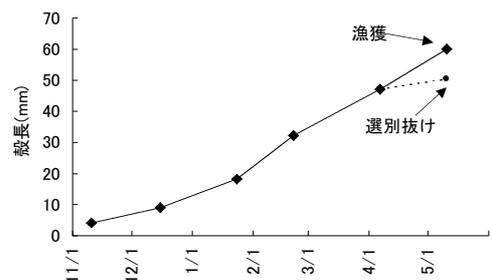


図4 平成12年秋発生稚貝の成長

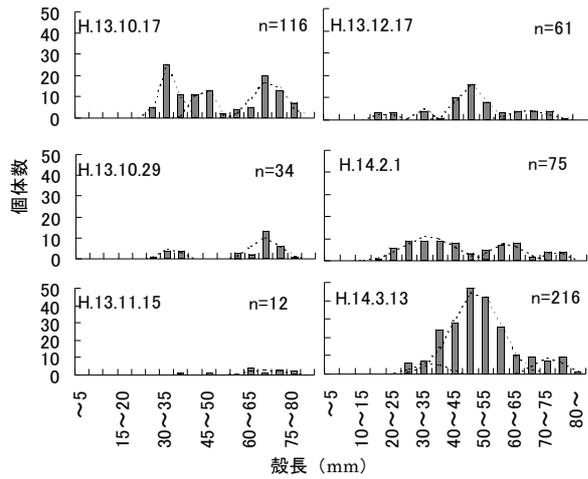


図5 トリガイ殻長組成

平成13年10月以降の美浜町漁協北部漁場（布土沖）におけるトリガイ殻長組成は図5のとおりであった。

ここで、採取個体数の少なかった10月29日及び11月15日を除いてExcelのソルバーを用いて最尤法により群解析を行ったところ、平成13年には5群の発生があったと推定された（図6）。

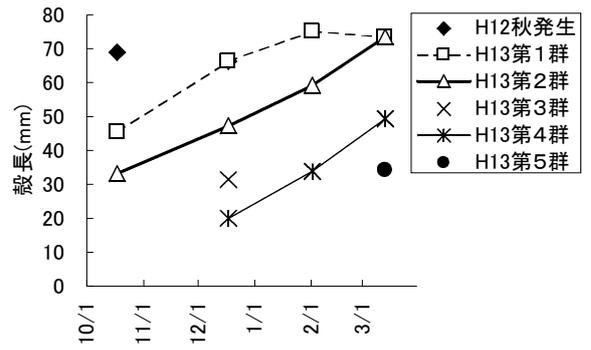


図6 平成13年トリガイ群別成長の推移

12月17日に認められた平均殻長20mmの群が成長して、平成14年2月1日には全採取個体の半数程度を、3月13日には大部分を占めるようになり、この群が平成14年漁期の漁獲対象の主群になると考えられた。

参考文献

- 1) 愛知県水産試験場（2001）平成12年度愛知県水産試験場業務報告3-6

重要二枚貝類増養殖試験 (放流ミルクイ生残調査)

黒田伸郎・荒川純平・落合真哉

キーワード；ミルクイ，中間育成，放流効果，輪紋

目 的

ミルクイは単価が高く，潜水漁業者にとって重要な漁獲対象物であるが，資源の変動が大きい。そこで，中間育成された人工種苗を放流し，その生残状況を調査することにより，資源安定化に有効な放流場所，放流方法，放流後の漁場管理方法等を検討する。

材料及び方法

本年度5月に放流予定であった平成12年12月生産のミルクイ稚貝は，中間育成中にほぼ全滅したため，本年度放流稚貝の追跡調査は実施できなかった。そこで，昨年度に追跡地区を設定して稚貝を放流した野島北岸部において再捕調査を行った。放流稚貝は，平成11年12月に人工生産され中間育成後，平成12年4月14日に放流されたものである。

平成13年6月28日に潜水により，砂上に出たミルクイ水管の「目」を目視するとともに，追跡区画内と区画外から1個体ずつを採取した。これらの個体の貝殻を殻頂を通る面で切断し，弾帯受の切断面を研磨して輪紋を観察した。

結果及び考察

調査日は曇天で波浪が高かったため透明度が低く，追跡区画内のミルクイの「目」を定量的に計数することはできなかったが，採取した個体と同じサイズの「目」を複数視認した。

区画内と区画外で採取した個体の殻長は，それぞれ7.5cm，10cmであった。貝殻の弾帯受の断面にみられた輪紋は，いずれも明瞭なものが1本であった。一方，日間賀島下瀬地区で海中飼育している1+個体の殻長を6月9日に計測したところ平均約9cmであった。ミルクイの成長速度は実験的には，個体差が大きいことが報告されているので，¹⁾ 採取された2個体は殻長には差があるものの，輪紋が同数であることから同齢であり，日間賀島の飼育個体の殻長との比較から，ともに1+であると推定された。また，区画内の個体は貝殻の殻長約2cmにあたる部分に明瞭な段差が認められ，区画外の個体は段差がみ

られないことから，区画内の個体は，昨年の放流時点で「放流痕」が生じた放流個体であることが示唆された。

以上の結果から，野島追跡区において平成12年放流稚貝は1+まで複数生残しているものと推定される。また，日間賀島下瀬地区で漁業者が海中飼育している同一コホートが平成14年3月の時点で2+となり生残していることが確認されており，中間育成後放流個体は条件がよければ長期間生残しうると考えられる。しかし，放流個体の生残を定量的に把握するためには，標識を行うことが不可欠である。今年度は放流種苗が確保できなかったため実施できなかったが，来年度以降新たな放流種苗に標識を行い，追跡調査を実施する予定である。

参考文献

- 1) 高見東洋・川本良彦(1988)ミルクイガイの増養殖に関する研究－V. 山口県内海水産試験場報告，16，1-11.

ノリ優良種苗開発試験

伏屋 満・服部克也・植村宗彦

キーワード；ノリ，育種，遺伝資源，特性評価

目 的

ノリ養殖には様々な種苗が普及しているが，近年の育苗期における高水温や病害による製品の劣化等の問題が起きており，このような状況の中，ノリ養殖業者からは，耐病性や高水温耐性に優れた特性を持つ種苗の開発が望まれている。当事業では，耐病性や環境適応性の高い種苗を開発するため，ノリ種苗を収集・保存するとともに，培養における特性評価を行った。また，培養および養殖で2種類の種苗を混合した場合の有用性を検討した。

材料及び方法

(1) 遺伝資源収集保存

既存のノリ保存系統については引続き5℃，10luxの条件でフリー糸状体の保存培養を行い，不調な系統については，15℃，200luxで回復させた。また，他藻類による汚染が著しい場合は，一旦貝片に移殖後，残留塩素1000 ppm添加海水に1時間浸漬して除藻し，フリー糸状体を再分離した。新しい系統は，養殖ノリから1系統作出した。なお，愛知県漁業協同組合連合会が実施した県内養殖用フリー糸状体の培養を指導した。

(2) 特性評価試験

保存系統の養殖ノリ等24系統および貝殻糸状体で保存している6ヶ所で採取した野生スサビノリについて，定法により糸状体及び葉体の培養を行った。葉体培養については，識別のための着色を施したビニロン単糸に採苗し，水温を17℃恒温及び23～18℃漸次低下の2とおりの設定で28日間混合し通気培養を行った。評価形質は両水温での形態，成長，栄養繁殖性，稔性，17℃での葉厚，色調，スミノリ症罹病性，あかぐされ病罹病性，23～18℃漸次低下での基部長，多層化程度，とした。

(3) 種苗混合試験

前年度の本事業結果から，培養で高水温耐性を示した「日間賀島(520, 521)」は栄養繁殖性が小さく，養殖網の寿命が短いことが予想される。一方，「師崎；吉川(524)」は高温での形態異常が出やすく，育苗期の栄養繁殖性が高いこともあって初期成長は劣るが，葉厚が薄い上に新

芽の加入があり，また色調が優れるため，高品質ノリの生産が持続する。両者の特長を備えた養殖網を作成するため，種苗の混合方法を培養で検討し，養殖を試みた。

① 培養試験

「日間賀島」と「師崎；吉川」の糸状体から定法により殻胞子を採り，その比を0：10から10：0まで7段階に混合して各々ビニロン撚糸に採苗した。22～21℃で28日間の培養後，個体数，大型個体数，基部長を測定した。

② 養殖試験

「日間賀島」，「師崎；吉川」および両殻胞子の1：1混合の3種を陸上採苗し，篠島漁場の浮上筏施設では12年10月6日から，西尾支柱柵漁場では10月5日から育苗した。いずれも通常の養殖より早い開始で，養殖管理は両漁業協同組合ののり研究会が行った。

結果及び考察

(1) 遺伝資源収集保存

平成13年度末のフリー糸状体保存系統数は521系統であった。

(2) 特性評価試験

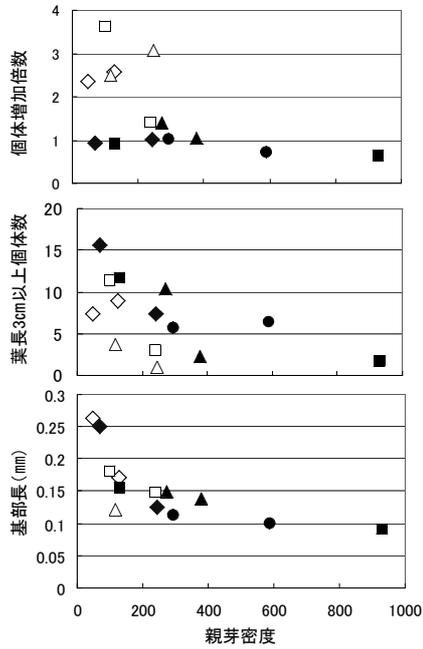
表に保存系統の培養結果を示す。色調の優れた「師崎；吉川」，高成長・高温耐性の「清田13(587)」，高成長・あかぐされ病耐性の「前芝スサビC1(544)」の3系統が養殖種苗として優れた特性を示した。また，「木更津スサビ(261)」が基部の形成，「徳島1号(464)」がスミノリ症耐性でそれぞれ顕著に優れており，育種素材として注目された。一方，野生スサビノリはいずれも成長が劣り，有用な形質も認められなかった。

(3) 種苗混合試験

① 培養試験

図1に測定結果を示した。個体増加倍数は，親芽が低密度でかつ「日間賀島」が3割以下の場合で大きかった。大型葉（上芽）の個数は親芽が低密度で「日間賀島」が7割以上の場合に多かった。基部長は親芽密度が100個/cm以下の低密度で発達が良く，種苗の混合比は無関係だった。大型葉が多く，かつ二次芽による個体の増加が認め

られた種苗の比率はなかった。しかし、低密度のサンプルが得られなかった「日間賀島」の比率が5割の場合が最も妥当と推定された。また、親芽密度は100個/cmが適当で、顕微鏡100倍視野当りでは約8個に相当する。

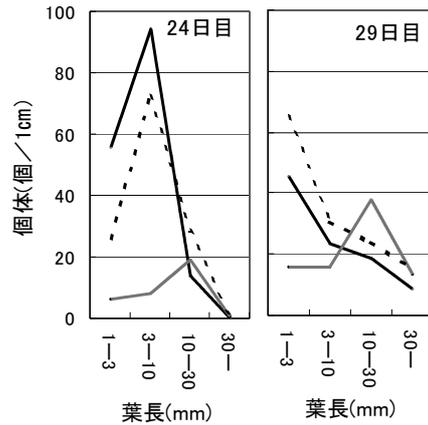


「日間賀島」 ◆10/10 ■9/10 ▲7/10 ●5/10
の比率 ◇3/10 □1/10 △0/10
個体増加倍数: 28日目個体数/7日目個体数
親芽密度: 7日目個体数、燃系1cm当たり

図1 種苗の混合比と培養成績

② 養殖試験

図2に篠島での育苗結果を示した。養殖24日目は下芽数が「師崎；吉川」で多く、上芽数は差がなかった。29日目は下芽数が「師崎；吉川」で多く、上芽数は「日間賀島」が多かった。混合種苗は ①培養試験結果と同様、上芽、下芽とも数多く、両種苗を単独で用いた場合より優れた種網と考えられた。なお、「師崎；吉川」は多層化の程度が大きかったが、どの網も養殖に使用された。しかし、西尾での育苗は、養殖25日目以降いずれの網もしろぐされ症が発生し、以後養殖を中断した。



—— 吉川 ——— 日間賀 - - - - 混合

図2 種苗の単独網と混合網の葉長組成

表 培養試験における保存系統の主な特性評価

保存No.	名称	奇形	栄養繁殖性	低温成長	高温成長	稔性	葉形	葉厚	スミノリ症耐性	あかぐされ病耐性	色調(通常)	色調(退色時)	基部	多層化	特徴
520, 1	日間賀島; 1, 2	少	無	並	良	や少	細	薄	弱	弱	薄	薄	不良	少	高温耐性
524	師崎; 吉川	少	早	並	並	並	細	薄	弱	並	濃	濃	並	並	濃色調、高栄養繁殖
249	吉田2号	少	早	極劣	並	並	細	厚	弱	弱	並	並	並	並	
260	江川細葉	多	無	極劣	劣	や少	竹広	厚	弱	弱	薄	薄	竹良	少	奇形多
261	木更津スサビ	少	少	劣	竹良	や少	竹細	並	並	弱	並	並	良	並	基部発達
409	清田; F2丸葉	多	並	極劣	極劣	並	広	極厚	弱	並	並	並	不良	並	奇形多
414	宮川; 兵庫	少	多	竹良	劣	多	並	並	弱	並	並	薄	並	並	
415	ハリマ; 兵庫	並	多	並	竹劣	多	並	並	弱	並	並	濃	竹良	並	
464	徳島1号	並	極劣	劣	極劣	無	並	並	強	並	並	薄	竹良	多	スミノリ耐性
465	二又スサビ; 徳島	並	多	劣	極劣	多	竹広	並	弱	弱	並	並	不良	多	
466	M5; 三重	少	少	竹劣	劣	や少	竹広	並	弱	並	薄	薄	竹良	多	
467	ZGRW	並	並	極劣	竹良	並	竹細	厚	並	並	並	並	不良	少	
500	味沢1号	並	多	竹劣	極劣	無	竹広	並	並	並	並	並	並	多	
292	ユノウラ、イズミ	並	無	竹劣	並	無	竹細	並	並	弱	並	並	並	並	
527	小豆島; H11	並	無	竹劣	竹良	や少	細	薄	弱	弱	並	濃	不良	少	高温耐性
534	ユノウラ、イズミ; H11	少	少	極劣	竹劣	や少	竹細	並	並	弱	並	並	不良	並	
587	清田13	並	少	良	良	や少	並	薄	並	弱	濃	並	並	並	高成長、葉薄
543	前芝; スビ`A①	並	並	竹劣	竹劣	や多	並	厚	並	弱	薄	薄	不良	並	
544	前芝; スビ`C1	少	並	良	竹良	並	細	薄	弱	強	並	濃	並	少	濃色調、あかぐされ病耐性
503	融合; 6-1	少	少	竹劣	並	や少	細	並	弱	弱	濃	濃	不良	並	
506	融合; 8-1	少	少	劣	良	や少	細	厚	弱	弱	薄	薄	並	並	
420	ナラワホソバ; 千葉; F2-2	少	早	劣	極劣	並	並	薄	弱	強	薄	薄	並	並	オオバアサクサノリ
427	ナラワホソバ; 千葉; F2-1	並	少	極劣	極劣	並	並	並	弱	弱	並	並	並	並	オオバアサクサノリ
501	東三丸山単	少	少	竹良	並	並	並	並	並	弱	並	薄	竹良	少	
培養温度		低	両	低	高	両	両	低	低	低	低	低	高	高	
培養日数		14	~28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	

注; 未測定

(2) 海産生物病害対策試験

アサリ病害発生状況調査

和久光靖・阿知波英明

キーワード；アサリ，パーキンサス，感染

目的

パーキンサス症は、軟体動物の原虫感染症の一つであり、カキ等の貝類に重大な被害をもたらすことが知られている。これまでの調査により本県においても、重要な漁獲対象物であるアサリに *Perkinsus* 属の原虫の寄生が認められ、三河湾に広く分布していることが明らかとなった。^{1, 2)} しかしながら本県におけるパーキンサス感染アサリ個体の地理的分布、季節変化については依然知見が乏しいことから、引き続き県内漁場におけるパーキンサス症発生状況を調査した。

材料および方法

平成13年6月21日、11月13日に渥美町地先の福江湾に造成した多機能増殖場においてアサリ成貝20-30個体を採取し、チオグリコレート培地を用いた培養法(RFTM法)により *Perkinsus* 属の原虫の寄生を検査した。

RFTM培地(表1)を試験管に10mlずつ分注後、オートクレイブにより滅菌し、検査直前にペニシリンカリウム、硫酸ストレプトマイシンをそれぞれ500IU/ml、500 μ g/ml になるように添加した。アサリの鰓を約5×10mmの大きさに切り取り培地に浸し20℃、暗所にて6日間培養した。培養後、鰓をルゴール液で染色し、検鏡にて原虫の寄生を確認した。試料中に原虫が1個体以上確認された場合をパーキンサス症感染と見なした。

表1 RFTM培地の組成

Fluid thioglycollate medium	29.8g
NaCl	20.0g
DW	1,000ml

結果および考察

6月21日、11月31日に採取されたアサリのパーキンサス症感染率はそれぞれ50.0%、70.0%であった(表2)。アサリ採取時の現場水温は6月21日、11月31日でそれぞれ22.5℃、16.4℃であった。パーキンサス症の主な感染期

間は夏期、水温が20℃を超えたときであるとの報告があるが、³⁾ 今回の結果では水温が20℃以下の秋期においても、これまでの本県におけるパーキンサス症感染率調査の中でも比較的高い感染率でパーキンサス症が認められた。

表2 アサリのパーキンサス感染状況

採取月日	検査個体数 (個体)	殻長 (mm)	感染率 (%)	肥満度(%)	
				感染個体	非感染個体
6月21日	20	32.2±4.0	50.0	18.9±1.60	19.5±2.23
11月13日	30	35.8±4.9	70.0	16.1±2.11	15.9±2.80

また、肥満度については、いずれの採取日のアサリでも、感染個体、非感染個体の間で有意な差が認められなかった。

参考文献

- 1) 阿知波英明・岩崎員郎・黒田伸郎・高須雄二・松村貴晴(2000)病害発生状況調査. 平成11年度水産試験場業務報告, 愛知県. 6.
- 2) 高須雄二・阿知波英明・岩崎員郎・黒田伸郎・落合真哉(2001)アサリ病害発生状況調査. 平成12年度水産試験場業務報告, 愛知県. 10.
- 3) 国際獣疫事務局魚病委員会(1997)軟体動物二枚貝の疾病. 水産動物の疾病診断マニュアル. 14pp

スミノリ症等発生機構解明試験

伏屋 満・服部 克也・植村 宗彦

キーワード；海藻類，ノリ，スミノリ症，原形質吐出

目的

平成3年度以降，愛知県内ノリ漁場では冷蔵網生産期にしばしばスミノリ症が発生し，その原因として漁場海水中のオキシダント（酸化性物質）と特定の細菌*Flavobacterium sp.*が疑われている¹⁾が，発生機構は十分に解明されていない。このため，平成13年10月から14年1月まで，近年スミノリ症が大発生したことがある常滑市および西尾市地先のノリ漁場等で水質，ノリ葉体および葉体付着細菌を調査した。調査実施にあたっては，サンプルの採取等で関係漁業協同組合および関係農林水産事務所水産課の協力を得た。

材料および方法

(1) 常滑市地先調査

平成13年10月9日以降，毎週1回，大野および鬼崎漁業協同組合の浮流し漁場2カ所（図1）の水質（水温，比重，栄養塩，オキシダント）およびノリ葉体を調査した。また，12月16日から翌年1月25日までは1週間に2～3回の調査頻度とし，加えて育苗場所の異なる2枚の冷蔵試験網（A，B）を12月12日および27日に浮流し漁場に張込んで追跡調査した。ノリ葉体の調査項目は淡水浸漬時の原形質吐出率，形態，病・障害と，概して1週間ごとのス

ミノリ関係細菌数とした。オキシダントおよび原形質吐出率の測定方法は既報²⁾に従った。スミノリ関係細菌は，Marine Broth 2216 (DIFCO社製) 平板培地を用いた塗抹培養法で計数した細菌コロニーの中から黄色小ないし中コロニーを釣菌し，振とう12℃の条件下で冷凍ノリ幼葉にスミノリ症状を発症させた細菌とした。

(2) 西尾市地先調査

平成13年10月9日以降毎週1回西尾漁業協同組合の支柱柵漁場（図1）の水質およびノリ葉体を調査した。また，12月13日から翌年1月11日までは調査頻度を1週間に2～3回とし，12月8日に支柱柵の通常より低い水位である8号線（潮位95cm）に張込んだ育苗場所の異なる3枚の冷蔵試験網（A，B，C）を中心に追跡調査した。調査方法は常滑市地先と同様とした。

結果

(1) 常滑市地先調査

10月12日開始された育苗および秋芽生産ではスミノリ症は発生しなかった。12月下旬から始まった冷蔵生産では，酸処理をしない一部の浮流し養殖網で1月初旬から原形質吐出率が増加し，中旬にはスミノリが少し製造されたが，下旬には回復した。

冷蔵試験網の原形質吐出率の推移を図2に示した。12月12日張込の網は張込11日または17日目に液胞細胞の出現，13日または19日目で原形質吐出率の増加，25日または27日目で原形質吐出率の回復が見られた。27日張込の試験網は，B網が15日目で液胞細胞および原形質吐出率の増加，29日目で原形質吐出率の回復が見られ，A網は12日目まで異常なく，以後追跡不能だった。冷蔵試験網のノリ葉体付着生菌数は，張込当初はノリ乾重1g当たり 1×10^7 c. f. u. 台が，その後1カ月間で $1 \times 10^{6 \sim 9}$ c. f. u. 台と調査期間中横ばいないし増加傾向にあった。しかし，これと原形質吐出率との関連は見られなかった。スミノリ関係細菌は12日張込網では張込後19～27日目，27日張込網では張込後4または12～29日目に検出され，菌数と原形質吐出率には相関が見られた。すなわち図3に示すように，吐出率が20%以上の場合スミノリ関係細菌数は

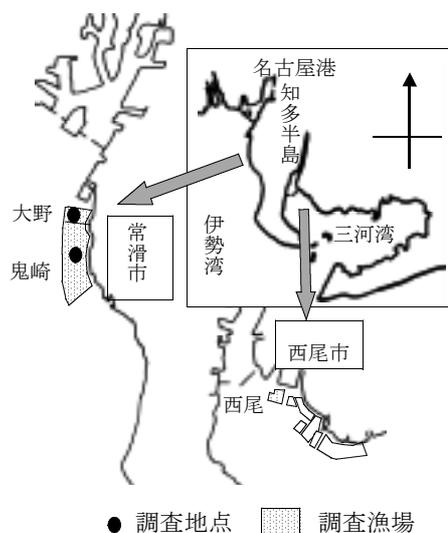


図1 調査位置図

1×10⁷c. f. u. /g以上あり、菌が検出されない場合はほとんど吐出率が10%以下だった。

水質は12月27日の名古屋港内調査を含め養殖期間中には異常が検出されなかった。

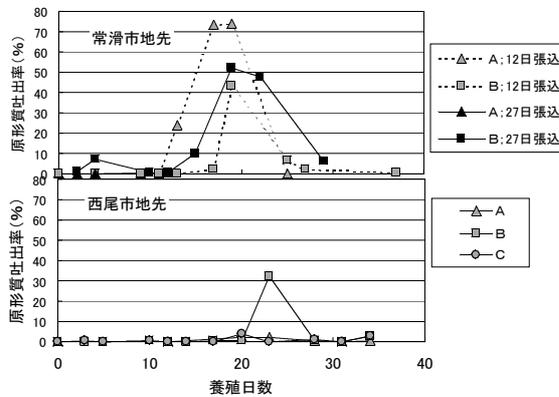


図2 冷蔵試験網の原形質吐出率の推移

(2) 西尾市地先調査

10月16日養殖が開始され、11月初旬の育苗後期に、芽付きの濃い網や伸張の早い網の一部にしろぐされ症が発生した。その後日中干出がかかるとなると中旬には回復し、以後の秋芽生産は順調だった。

冷蔵試験網は、図2に示すように、張込23日目のB網でのみ原形質吐出率が高かった。ノリ葉体付着細菌数は、当初1×10⁷c. f. u. /g台から養殖1カ月間で1×10^{7~10}c. f. u. /gと、期間中増加傾向があり、水位別では高いほうが菌数の少ない傾向にあった。しかし、原形質吐出率との関連は見られなかった。スミノリ関係細菌は張込後20~34日目に検出され、菌数と原形質吐出率には相関が見られた。すなわち吐出率が20%以上の場合スミノリ関係細菌

数は1×10⁹c. f. u. /g以上あり、1×10^{5~7}c. f. u. /gでは吐出率が数%以下、菌が検出されない場合はほとんど吐出率が1%以下と、常滑地先漁場に較べ同程度の菌数でも吐出率は低かった(図3)。水位別では吐出の少ない高水位でスミノリ菌も少ない傾向にあった。なお、スミノリ関係細菌数と生菌数とは関連が見られなかった。

水質は12月20、31日の矢作川・衣浦港口調査を含め、養殖期間中異常は検出されなかった。

考 察

13年度のスミノリ関係細菌数と原形質吐出率の関係は、浮流し柵では12年度と同程度であった。支柱柵でも無干出が続いた12年度三河の1月初旬や13年度での低水位張込でも同様(図3)である。しかし、支柱柵では日中干出がかかるとスミノリ関係細菌数は少なく、またこの細菌が存在しても吐出しにくい傾向があり、支柱柵では日中干出がスミノリ症の有効な対策と考えられる。ちなみに12年度の三河支柱柵では、張込水位を上げて日中干出を与えることにより、1月中旬には初旬に発生したスミノリ症が回復(図3)している。

過去被害が大きかったスミノリ症の発生は、今年度と異なり急激で広範囲だった。そのとき海水中からオキシダントが検出された¹⁾事例がある。一方、今年度は両漁場とも海水中にオキシダントが検出されず、スミノリ関係細菌が確認されるのに張込後2週間前後経過したのは、室内でのオキシダントを添加しない感染実験結果²⁾と類似していた。様々なスミノリ症の発生機構を解明するためには、今後もオキシダント等の水質とスミノリ関係細菌の漁場モニタリングを実施する必要がある。

スミノリ関係細菌は県内各地のノリ漁場で、12月以降分離され、正常葉体からも得られている。しかし、分離株の感染試験による検出法では1×10⁶c. f. u. /g未満の少量の菌を検出することが難しい。この菌の由来と増殖条件を明らかにするためには、より鋭敏な検出法を開発する必要がある。

参考文献

- 1) 伏屋 満ら (2001) ノリ養殖漁場におけるスミノリ症の発生と酸化性物質の検出. 愛知水試研報, 8, 21-27.
- 2) 伏屋 満ら (2001) 室内培養における結合型残留塩素および*Flavobacterium sp.*による養殖ノリのスミノリ症の発症. 愛知水試研報, 8, 15-20.

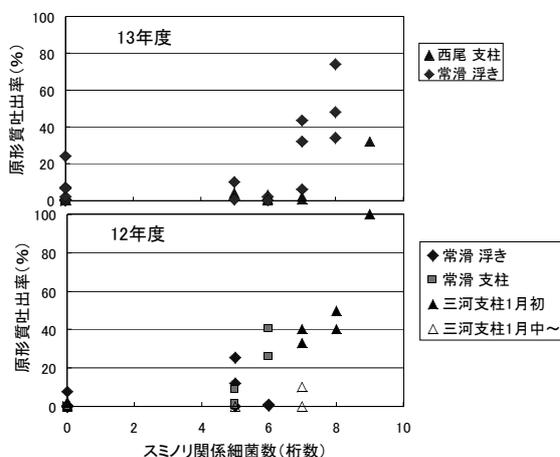


図3 冷蔵網のスミノリ関係細菌数と原形質吐出率

あかぐされ病被害軽減化対策技術開発試験

服部克也・伏屋 満・植村宗彦

キーワード；ノリ養殖，あかぐされ病，遊走子，PCR法，漁場海水からの鋳型DNA調製法

目 的

ノリ養殖業は，病害の発生，品質の低下，需要の頭打ちによる価格の低迷などから，その経営状態は思わしくない。このうち，大きな被害を与えるあかぐされ病では，生産初期（秋芽生産期）における感染の程度がその後の病害発生規模に大きな影響を与えると推察され，病害防除のために，生産初期の漁場において微量に存在する遊走子を捕捉して，対処することが求められている。このため，微量な遊走子を検出することができるPCR法を用いた遊走子捕捉手法を開発する。本年度は，① PCR反応系の検討，② 鋳型DNA調製法の検討，および③ 漁場調査予備試験を行った。

材料及び方法

① PCR反応系の検討

あかぐされ病菌に関しては，三重大学¹⁾ 佐賀県有明水産振興センター²⁾ によりPCR法が示されており，遊走子捕捉に適したものを選択した。また，検出感度，検査時間の観点からサイクル数，各反応時間，Taqポリメラーゼ，2点温度往復PCRなどを検討し，遊走子捕捉に適するPCR反応系を求めた。さらに，検出感度，特異性の向上のため1st-PCRで得られた増幅産物を鋳型DNAとするNested-PCRを検討した。

② 鋳型DNA調製法の検討

三重大学で行われている方法（アスピレーターにより遊走子をメンブレンフィルターに集菌，集菌された遊走子の剥離，遠心分離での溶液置換による海水由来塩類の除去，熱処理による鋳型DNAの抽出）を基本として，より簡便で検出感度の高い鋳型DNA調製法を検討した。

③ 漁場調査予備試験

漁場におけるあかぐされ病菌遊走子の検出を想定した予備試験のため，昨年度に高率で遊走子が検出された地点において採水し，①および②で示したPCR法および鋳型DNAの調製法を用いて遊走子の検出を検証した。

結果及び考察

① PCR反応系の検討

あかぐされ病菌遊走子を検出するPCR法としては，三重

大学の手法が検出感度の点で優れていた。また，三重大学のPCR法では40サイクルでほぼ検出限界まで達することが確認された。PCRの反応条件では，検出感度，検査時間などの点から，2点温度往復PCR法が，あかぐされ病菌遊走子を検出するPCR法として最も適していた。1st-PCRの結果を検証するために，Nested-PCR（2点温度往復PCRにより実施）を検査手順に加えた。

③ 鋳型DNA調製法の検討

PCR検査に用いる鋳型DNAの調製として，漁場海水をアスピレーションしてメンブレンフィルター上に集菌し，このメンブレンフィルターを熱処理による鋳型DNA抽出まで一括処理する手法を示した。これにより，鋳型DNAの調製が大幅に簡略化され，検出感度の安定性が得られた。

③ 漁場調査予備試験

対照として行ったモノクローナル抗体による検出では，試験期間中，0個/ℓ～20個/ℓの遊走子が確認された。

一方，①および②によるPCR法検出では，全てのサンプルにおいて遊走子を検出した。

以上のことから，本年度において検討した手法は，検出感度，検査時間および検査の簡便性において優れており，次年度以降実施予定の漁場調査において基盤となる手法をほぼ確定することができた。

なお，この試験は水産庁補助事業により実施し，その詳細については「平成13年度先端技術等地域実用化研究促進事業報告書・DNA解析等を利用した病原菌の検出技術開発」に記載した。また，三重大学のPCR法に関しては，(株)白子研究開発センターよりプライマーおよびプライマーを設定したあかぐされ病菌DNA塩基配列に対しての特許が出願されていることから，本試験では(株)白子研究開発センターから試験研究に限っての使用許諾を頂いた。

参考文献

- 1) Park, C. S., M. Kakinuma and H. Amano (2001) Detection of the red rot disease fungi *Pythium* spp. by polymerase chain reaction. *Fish. Sci.*, 67, 197-199.
- 2) 横尾一成・川村嘉彦・川原逸朗・東條元昭・水上 謙 (2000) PCR法によるアカグサレ病菌卵胞子の滅菌泥からの検出。水産増殖，48(4)，679-680.

(3) 海産種苗放流技術開発試験

トラフグ種苗生産試験

阿知波英明・和久光靖・黒田伸郎
落合真哉・荒川純平

キーワード；トラフグ，種苗生産，養成親魚，成熟促進，LHRHa

目的

愛知水試では，トラフグの採卵は4月中下旬に行ってきたが，10月以降に再捕される放流魚（当歳魚）は，天然のものと比較し小さいことがわかってきた。再捕時の大きさを天然魚と同等にするためには，採卵時期を早くすることが必要となるため，生殖腺刺激（黄体形成）ホルモン放出ホルモンの合成品（LHRHa）を用いて，4月上旬以前の採卵を試みることにした。

材料及び方法

親魚には，尾鰭と鼻孔隔皮の状況から天然魚と推定した当歳魚から養成した3，4歳魚11個体を用いた。採卵前の平成13年12月から通年週3回であった給餌頻度を週5回に増加させ，1月から採卵時にかけて飼育海水を1℃単位で9℃から16℃台まで，日照時間を30分単位で11L/13Dから13L/11Dまで段階的に増加させて行った。

平成14年3月6日にカニューレションにより卵を採取し，卵径を測定したところ，平均卵径は1個体を除き900 μ m以上であった。そこで，3月7日に雌親魚11個体全てに対しLHRHaを魚体重1kg当たり400 μ gになるよう調整して投与した。投与後4日目から毎日9時と17時に排卵の有無を確認し，排卵が認められたものについて，採卵および受精を行った。

なお，ホルモンの投与，排卵の確認，受精方法や受精率の測定方法は愛知水試¹⁾に従った。

結果及び考察

11個体のうち8個体が排卵し，排卵までに要した時間は，ホルモン投与後117時間から189時間の間に集中し，受精率は23%から91%であった（表）。一方，平均卵径が最も小さかったものと，3，4番目に小さかった計3個体は，ホルモン投与後8日目に胎盤性生殖腺刺激ホルモンを再投与したが，排卵しなかった。

平成13年3月の排卵試験と比較し，早い時期に卵径が大きくなり，排卵も集中したことから，給餌頻度を増や

すこと，日照と水温を調整することで，3月中旬の採卵が可能となった。

なお，本試験は水産庁補助事業により実施したが，この試験の他，後述するイラストマー標識を用いた放流効果調査なども実施した。詳細については「平成13年度資源増大技術開発事業報告書（トラフグ），愛知県水産試験場」に記載した。

表 ホルモン投与時の平均卵径と排卵状況

平均卵径 (μ m \pm SD)	排卵までの経過 時間 (排卵日)	採卵量 (g)	受精率 (%)
929 \pm 41	141 (3/13)	244	61
969 \pm 38	165 (3/14)	422	80
1,040 \pm 32	117 (3/12)	216	53
901 \pm 34	189 (3/15)	458	74
984 \pm 56	149 (3/13)	499	91
985 \pm 41	149 (3/13)	213	83
917 \pm 39	—	—	—
924 \pm 46	—	—	—
854 \pm 41	—	—	—
1,009 \pm 36	125 (3/12)	491	23
955 \pm 49	141 (3/13)	229	31

参考文献

- 1) 愛知水試(2001)平成12年度資源増大技術開発事業報告書（トラフグ）. pp22.

トラフグ種苗放流試験

阿知波英明・和久光靖・黒田伸郎
落合真哉・荒川純平

キーワード；トラフグ，体外マーキング，イラストマー標識，混獲率

目的

愛知水試では，従来トラフグの放流効果を放流魚が持つ自然標識（尾鰭の変形と鼻孔隔皮欠損）を利用して調査を行ってきた。しかし，尾鰭変形を明確に判断する基準がないこと，天然魚も両指標を持つ可能性が高いことなど，放流効果を求める指標としては問題があった。

そこで，昨年度から体外マーキング（イラストマー標識）を放流種苗の多くに付けて放流して，市場調査によりその混獲状況を把握することで，放流効果などを求めることとした。また，同じ系群を漁獲する三重，静岡県と種苗を生産する日本栽培漁業協会南伊豆事業場と連携を強めて事業を行うこととした。

詳細については別にとりまとめているため，ここでは平成12年度に放流したイラストマー標識魚（表1）¹⁾の，1歳魚での混獲状況を記載する。

表1 平成12年度の東海海域におけるイラストマー標識魚の放流状況

放流海域	放流個体数	イラストマー標識	
		色	装着位置
伊勢湾	10,389	茶	左胸鰭下部
	12,391		
	11,675		
	10,000		
駿河湾	21,492	赤*	左胸鰭基部
	17,665	黄*	頭 部
	9,683	黄*	左胸鰭下部
遠州灘	10,000	橙*	左右胸鰭下部
	12,791	橙*	左胸鰭基部
熊野灘	10,000	青	右胸鰭下部
	10,000	青	左胸鰭基部
	10,000	緑*	左胸鰭基部

* 蛍光色

材料及び方法

愛知県における1歳魚以上のトラフグを漁獲する主な漁法は延縄である。そこで，県内の延縄漁獲量の半分程度を水揚げする片名市場で調査を行った。

調査は，延縄の漁獲が解禁された10月から2月まで行った。市場では，全長の測定とイラストマー標識の有無などの確認を行った。なお，蛍光色のイラストマー標識の確認には，蛍光を励起させるためNMT純正紫外線ライト

(NORTHWEST MARINE TECHNOLOGY社) を使用し，11月からはNMT純正琥珀色サングラス（同社，以下サングラスとする）を使用した。

表2 イラストマー標識魚の混獲状況

月 出 漁 日 数	調 査		混獲個体数(%)		
	日 数	個 体 数	伊勢湾放 流群(赤)	駿河湾放 流群(橙)	合 計
10	4	4 1,062	5(0.5)	1(0.1)	6(0.6)
11	8	5 468	7(1.5)	0(0.0)	7(1.5)
12	5	4 348	2(0.6)	1(0.3)	3(0.9)
1	2	0 0	-	-	-
2	6	4 186	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
計	25	17 2,064	14(0.7)	2(0.1)	16(0.8)

結果及び考察

平成12年に放流した1歳魚のイラストマー標識魚は，調査期間中に16個体（混獲率0.8%）混獲された（表2）。16個体は，全て蛍光色のイラストマー標識が左胸鰭基部に付いた個体であり，14個体が伊勢湾の常滑地先放流群（赤色）で，残り2個体が駿河湾の静岡市放流群（橙色）であった。非蛍光色のイラストマー標識を胸鰭下部に付けた個体は，成長に伴い標識の確認ができにくくなってきている¹⁾ことから，これら放流群は市場調査では確認できなかったと考えられる。

一方，今年度用いたイラストマー標識は全て蛍光色であり，装着部位も胸鰭基部に統一したため，今後の市場調査では見落としなどが減るものと考えた。

なお，本試験は水産庁補助事業により実施したが，この試験の他，前述した種苗生産試験や生態調査なども実施した。詳細については「平成13年度資源増大技術開発事業報告書(トラフグ)，愛知県水産試験場」に記載した。

参考文献

- 1) 愛知水試(2001)平成12年度資源増大技術開発事業報告書(トラフグ) . pp22.

(4) 海藻類バイオテクノロジー試験

アマノリ類遺伝子判別技術開発試験

植村宗彦・服部克也・伏屋 満

キーワード；ノリ，細胞融合，DNA，RAPD-PCR法

目 的

養殖ノリは葉体の形態が単純で，環境変異が大きく，系統間の差を形態で区別することが難しい。また，細胞融合法を用いた種間交雑の系統（以下作出系統）では，その形質発現が不安定で，遺伝的な差も判明していない。そこで，作出系統の遺伝性を明らかにするため，生物の基本情報であるDNAを利用した判別手法を検討した。

今年度は，RAPD-PCRによる種判別技術の改良を行い，この技術を用いた作出系統の遺伝的な判定と形質の特性評価を行った。

材料および方法

(1) RAPD-PCRによる種判別技術の開発

作出系統の親であるT4（マルバアマノリ）およびY292（養殖ササビノリ・系統名ユノウラ）の葉状体からDNAを抽出し，オペロン社の10塩基合成オリゴヌクレオチド60種（OPB-01～20，OPI-01～20，OPX-01～20）をプライマーとしてRAPD-PCRを行った。電気泳動によるDNA増幅産物の比較を行い，それぞれの種内で増幅産物に差がなく，かつ，T4とY292を明確に識別できるプライマーを選択した。

(2) 作出系統の遺伝的な判別

作出系統の中であかぐされ病抵抗性や高水温耐性が最もT4に近いと思われた融合6-1について，(1)で選択された8種類のプライマー（OPI-02，OPI-03，OPI-09，OPI-19，OPI-20，OPX-01，OPX-06およびOPX-08）を用いてRAPD-PCRを行った。得られた増幅産物を，(1)での両親種と比較し，融合6-1の遺伝的な判別を行った。

(3) 作出系統の葉体特性評価

融合6-1の遺伝的特性を検討するため，葉体形状，生長（葉長），栄養繁殖性，稔性，高温障害度（高温耐性）および系統作出時に選抜形質としたあかぐされ病抵抗性を作出親であるT4およびY292と比較した。

結 果

(1) RAPD-PCRによる種判別技術の開発

プライマーとして用いた60種類の合成オリゴヌクレオチドのうち，T4とY292を識別することが可能と考えられたのは，OPI-02，OPI-03，OPI-09，OPI-19，OPI-20，OPX-01，OPX-06およびOPX-08の計8種類であった。

(2) 作出系統の遺伝的な判別

融合6-1において，8種類のプライマーによるRAPD-PCRで得られた識別増幅産物は全てY292の識別増幅産物と一致しており，T4と一致するものはなかった。また，融合6-1の増幅産物に，Y292の識別増幅産物と一致しない増幅産物の形成，あるいは，識別増幅産物の消失等が認められなかったことから，融合6-1にT4の遺伝子が導入されている可能性は低く，遺伝的にはY292と同一である可能性が高いと判断された。

(3) 作出系統の葉体特性評価

融合6-1と作出親のT4およびY292について特性を比較した結果，T4に特異的に認められる高水温（22℃）耐性，あかぐされ病抵抗性は融合6-1においては認められず，葉体形状，栄養繁殖性，稔性などとともに融合6-1の葉体特性はY292とほぼ同様であると見なされた。

考 察

昨年度に引き続いて行ったRAPD-PCRの検討により，DNA情報からT4とY292を種判別することが可能となった。また，融合6-1については，DNA情報および葉体特性評価から，T4由来の形質が導入されていないと判断された。これは，融合6-1が融合処理後，遺伝的判定を行わないまま選抜・継代等の操作により作出されたため，その過程でT4由来の遺伝因子が排除された可能性が考えられた。

今後は，本手法を適用することで，細胞融合法を利用した育種において，確実に融合細胞を選択することが出来るようになり，体系的な種間雑種の作出が可能になると考えられた。

なお，本試験は水産庁補助事業として実施し，その詳細については，「平成13年度先端技術等地域実用化研究促進事業報告書」に記載した。