

# 栽培漁業技術開発研究

第33巻 第2号

2006年3月

---

## 目 次

---

コブシメ卵のふ化水槽およびふ化イカ収集装置	岡 雅一・手塚信弘	55
サワラの種苗生産単価の試算	岩本明雄・山崎英樹・藤本 宏・奥村重信・山本義久・小畑泰弘	61
閉鎖循環システムを用いたマダイの種苗生産	鴨志田正晃・山崎英樹・山本義久	67
ブリおよびヒラマサの種苗生産過程におけるウイルス性腹水症の疫学調査	西岡豊弘・塩澤 聡・小金隆之・小磯雅彦・虫明敬一・有元 操	77
サワラの初期発育過程	松岡正信	85
瀬戸内海燧灘にみられた越冬期の抱卵ガザミについて	渡辺昭生	89
スズキ目魚類に投薬した塩酸オキシテトラサイクリンとアルキルトリメチルアンモニウムカルシウムオキシテトラサイクリンの筋肉における残留状況	渡辺研一・島 康洋・芦立昌一・西岡豊弘・佐藤 純・堀田卓朗・飯田貴次	93

---

# SAIBAI GYOGYO GIJUTSU KAIHATSU KENKYU

—Technical Reports of Japanese Sea Ranching Programs—

Vol. 33, No. 2, 2006

---

## CONTENTS

---

Masakazu OKA and Nobuhiro TEZUKA	New system for egg management and collection of newly hatched larvae in laboratory-reared giant cuttlefish <i>Sepia latimanus</i>	55
Akio IWAMOTO, Hideki YAMAZAKI, Hiroshi FUJIMOTO, Shigenobu OKUMURA, Yoshihisa YAMAMOTO, and Yasuhiro OBATA	Estimation of seed production costs for the Japanese Spanish mackerel, <i>Scomberomorus niphonius</i>	61
Masaaki KAMOSHIDA, Hideki YAMAZAKI, and Yoshihisa YAMAMOTO	Seed production of red seabream, <i>Pagrus major</i> , using a closed recirculating system	67
Toyohiro NISHIOKA, Satoshi SHIOZAWA, Takayuki KOGANE, Masahiko KOISO, Keiichi MUSHIAKE, and Misao ARIMOTO	Occurrence of viral ascites in seed production of Japanese amberjack ( <i>Seriola quinqueradiata</i> ) and yellowtail amberjack ( <i>S. lalandi</i> )	77
Masanobu MATSUOKA	Early development in Japanese Spanish mackerel <i>Scomberomorus niphonius</i>	85
Akio WATANABE	Appearance of the Ovigerous Swimming Crab <i>Portunus tri-tuberculatus</i> during Overwintering Period in Hiuchi-Nada, the Central Seto Inland Sea	89
Ken-ichi WATANABE, Yasuhiro SHIMA, Masakazu ASHIDATE, Toyohiro NISHIOKA, Jun SATOH, Takuro Hotta, and Takaji IIDA	Residue of oxytetracycline hydrochloride and alkyl trimethyl ammonium calcium oxytetracycline in the muscle of Perciform fish species	93

---

### コブシメ卵のふ化水槽およびふ化イカ収集装置

岡 雅一・手塚信弘

効率的なコブシメの水槽内大量卵管理、ふ化等の技術確立を目的として、新たなふ化盆、および卵管理、ふ化イカ収集が一貫して行える水槽を試作した。試作したポリエチレン製ふ化盆は、従来のアトキンス式ふ化盆の3倍の卵収容数となり、さらに5 m<sup>3</sup>FRP水槽の利用により、従来のタテ型ふ化槽と比べ卵収容数は11倍の約22,000個に増え、水槽設置スペースの利用効率が飛躍的に上昇した。5 m<sup>3</sup>FRP水槽に備えたふ化イカ収集装置により、タテ型ふ化槽からふ化水槽への卵の移槽作業とふ化イカ取り揚げ作業が不要となった。その結果、同水槽1面の利用で、年間6万個の卵を管理することが可能になった。

栽培技研, 33(2), 55-60, 2006

### サワラの種苗生産単価の試算

岩本明雄・山崎英樹・藤本 宏・奥村重信・山本義久・小畑泰弘

2003年に屋島栽培漁業センターで平均全長約40 mm種苗20.5万尾を生産した事例で、生産単価の試算を行った。ここでは人件費、光熱水料、親魚購入費、餌料費、備品費、標識代、資材・消耗品費について、親魚養成、餌料培養、種苗生産の各工程別に試算した。その結果、施設の減価償却を考慮しない実額ベースでの経費の総合計は11,633千円となり、本種の種苗1尾当たりの生産単価は56.74円/尾と試算された。サワラは魚食性種であるので、総経費のうち餌料培養費が約48.1%と高い割合を占めた。

栽培技研, 33(2), 61-65, 2006

### 閉鎖循環システムを用いたマダイの種苗生産

嶋志田正晃・山崎英樹・山本義久

マダイ受精卵から全長30 mmまでの飼育について閉鎖循環システム(循環ろ過区)と流水区さらに止水区を設定し、これらの飼育成績と水質について比較した。飼育成績では、生残は循環ろ過区の方が流水区より良好で成長と形態異常については差異がなかった。また、水質では、循環ろ過区は試験開始30日目以降にアンモニア態窒素濃度は1 ppm、亜硝酸態窒素濃度は4 ppmまで急増したが大量死亡はなかった。システムの換水率は1.1%/日に抑えることができた。以上から、本システムを用いて極少量の換水で実用レベルのマダイの種苗生産が可能であると考えられた。

栽培技研, 33(2), 67-76, 2006

### ブリおよびヒラマサの種苗生産過程におけるウイルス性腹水症の疫学調査

西岡豊弘・塩澤 聡・小金隆之・小磯雅彦・虫明敬一・有元 操

1987年~2000年の14年間に行ったブリとヒラマサの種苗生産および中間育成でのウイルス性腹水症(VA)の発生状況に関する疫学的調査を行った。親魚の養成および産卵条件とVA発生の有無との間には特に関係はみられなかった。14年間にブリでは11年、ヒラマサでは8年の事例でVAが発生した。魚種間で発生状況に差はなく、発病サイズが全長約20~200 mm、発病水温が約22~24°Cであった。感染経路は、親魚からの垂直伝播が示唆され、VAの防除にはウイルス保有親魚の選別と飼育水温を25°C以上に加温することが有効と考えられた。

栽培技研, 33(2), 77-83, 2006

### サワラの初期発育過程

松岡正信

サワラ仔稚魚生体のシリーズ標本写真を初めて示した。人工受精卵を0.5トンの水槽内でふ化させ、仔稚魚飼育を行った。生体標本の外部形態の発達過程を実態顕微鏡で観察し、写真撮影を行った。ふ化後4日齢の仔魚は、いくらかの油球を持っていたが、クロダイのふ化仔魚を摂餌し始めた。10日齢の仔魚では、脊索はまだ直線的であったが、尾鰭条の原基が形成された。その後、形態変化が急速に進み、15日齢では発育がかなり進んだ状態であった。18日齢では、すべての鰭条が完全に形成され、稚魚となっていた。

栽培技研, 33(2), 85-87, 2006

### 瀬戸内海燧灘にみられた越冬期の抱卵ガザミについて

渡辺昭生

燧灘において越冬期に12個体の抱卵ガザミの出現を確認し、その出現状況と卵の発育について検討した。越冬期抱卵ガザミは全甲幅200 mm以上の大型の個体が多く、漁獲時の卵塊は10個体が発育初期、他の2個体は発眼期であった。越冬期抱卵ガザミが漁獲された海域の2004年2、3月および12月の底層水温は、平年より約1°C以上高かったことから、高水温により産卵が促進された可能性が示唆された。越冬期の抱卵ガザミ5個体を16°Cで飼育した結果、3個体が幼生のふ化まで生残したが、ふ化した幼生は水槽の底面に沈降したことから異常ふ化であったと考えられた。

栽培技研, 33(2), 89-91, 2006

### スズキ目魚類に投薬した塩酸オキシテトラサイクリンとアルキルトリメチルアンモニウムカルシウムオキシテトラサイクリンの筋肉における残留状況

渡辺研一・島 康洋・芦立昌一・西岡豊弘・佐藤 純・堀田卓朗・飯田貴次

12種のスズキ目魚類に塩酸オキシテトラサイクリン(OTC)またはアルキルトリメチルアンモニウムカルシウムオキシテトラサイクリン(OTC-Q)を、体重1 kg当たり50 mg/日となるように7日間経口投与し、その後、OTCでは30日間、OTC-Qでは20日間休薬した。投薬および休薬終了の翌日に筋肉を採取して-80°Cで保存し、HPLCを用いて筋肉中のOTC濃度を測定した。すべての魚種において投薬終了翌日には高濃度のOTCが検出されたが、休薬終了翌日には食品中の動物用医薬品の残留基準値以下の濃度であった。

栽培技研, 33(2), 93-101, 2006

# コブシメ卵のふ化水槽およびふ化イカ収集装置

岡 雅一\*1・手塚信弘\*2

## New system for egg management and collection of newly hatched larvae in laboratory-reared giant cuttlefish *Sepia latimanus*

Masakazu OKA and Nobuhiro TEZUKA

A new system for egg management and collection of newly hatched larvae of the giant cuttlefish *Sepia latimanus* was developed in order to accommodate a large number of eggs which were collected from broodstock under captive conditions. The new system consists of containers (708×460×83 mm) made from polyethylene, FRP tanks (4,280×1,750×1,010 mm, water volume: 5 m<sup>3</sup>) and a device for the automatic collection of newly hatched larvae. The new container type can accommodate three times as many eggs as the existing Atokins type container (310×310×60 mm). Total capacity of the FRP tank for egg accommodation was about 22,000 eggs, being 11-fold that of the Atokins type tank (420×2220×400 mm). It was clarified that we could manage 60,000 eggs per year using the new system three consecutive times. In addition, the new system saved on occupied tank areas and cut back on tasks such as egg transportation from Atokins type tanks to hatching tanks as well as the collection of hatched larvae using dip nets.

2006年1月12日受理

コブシメは、奄美諸島から沖縄諸島、先島諸島に至る海域で、もり突きおよび小型定置網の重要な漁獲物である<sup>1,2)</sup>。その増養殖方法について、天然の卵を採集しふ化イカを飼育する方法<sup>3)</sup>、天然の親イカを水槽に搬入して採卵し<sup>4,5)</sup>、ふ化イカを放流する方法の開発が行われた<sup>6-8)</sup>。一連の開発の中で、日本栽培漁業協会八重山事業場（現、(独)水産総合研究センター八重山栽培漁業センター）において、天然の親イカから水槽内で大量に採卵する技術はほぼ確立され、年間5万個以上の大量採卵が実現されてきた<sup>5,9-14)</sup>。

コブシメの卵管理については、コウイカで報告されているアトキンス式ふ化槽に卵を収容し、海水循環のもとで卵管理する方式<sup>15)</sup>を参考に、コブシメ卵のサイズ<sup>3,16)</sup>を考慮し、市販のプラスチック製アトキンスふ化盆を改良したものに採集した卵を収容し、ふ化盆をタテ型ふ化槽<sup>17)</sup>に収容して流水で管理する方法が行われてきた（図1）<sup>4)</sup>。しかし、大量の卵管理には、多くのふ化盆が必要となったのに加え、卵膜が半透明となり発生が進んでいる

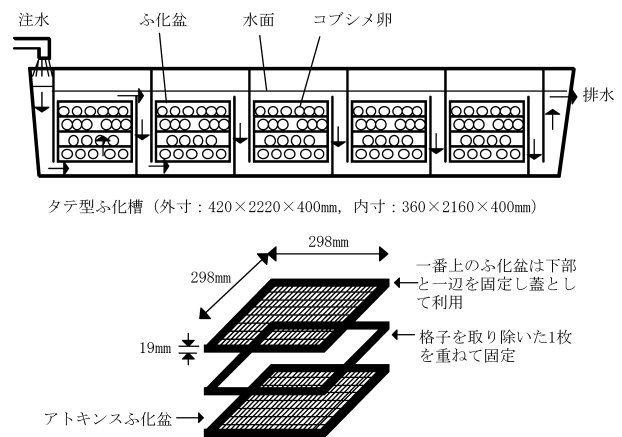


図1. コブシメ卵管理用アトキンス型ふ化盆とタテ型ふ化槽

卵と卵膜が白いままの死卵とを識別可能な段階で、タテ型ふ化槽に収容していた卵を取り揚げ、死卵を除去し、別に用意したふ化用水槽（2 m<sup>3</sup>FRP水槽）へ収容し、さ

\*1 水産総合研究センター，上浦栽培漁業センター 〒879-2602 大分県佐伯市上浦大字津井浦（Kamiura Station, National Center for Stock Enhancement, Fisheries Research Agency, Tsuiura, Kamiura, Saiki, Oita 879-2602, Japan).

\*2 水産総合研究センター，能登島栽培漁業センター 〒926-0216 石川県鹿島郡能登島町曲 15-1-1.

らにそのふ化用水槽ではふ化イカを収集する一連の作業に多大な労力がかかっていた。

そこで、本研究ではふ化盆の大型化およびふ化イカ収集の自動化による省力化を目的に、新たなふ化盆の試作に加え、卵管理、ふ化イカ収集作業が一つの水槽で一貫して行うことのできる水槽を考案して試用した結果、従来の方法と同レベルの卵の正常発生率を確保しながら、ふ化用水槽とふ化イカ収集作業の行程を省略することが可能になったので、その概要を報告する。

## 材料および方法

**ポリエチレン製ふ化盆** プラスチック製アトキンスふ化盆（外寸：310×310×20.5 mm、内寸：298×298×19 mm、長方形網目）に代わる新たなふ化盆として、図2に示した既製品のポリエチレン製籠（外寸：708×460×83 mm、内寸：660×420×70 mm）の片側長辺の内側に、深さ半分的位置に25 mm目のポリエチレンネットの蓋（650×410 mm）をポリエチレン製結束バンド（長さ100 mm、幅5 mm）で取り付けただけのものを作製した。水槽内で採卵された卵を約300個収容後、蓋の固定されていない片側長辺をポリエチレン製結束バンドで、籠の深さの半分位置で固定した。

ポリエチレン製籠の選択にあたっては、底面の格子状目合から卵がこぼれ落ちないサイズであり、側面の格子状目合はふ化イカが通り抜けることのできるサイズのものを選択した。卵の短径については、17.4–26.4 mmと報告されている<sup>4)</sup>。ふ化イカの外套幅については報告がないため、伊野波<sup>3)</sup>のふ化イカの描画から、外套幅は外套長の81%であることを求め、奥谷<sup>16)</sup>が報告している外套長（11–15 mm）をもとに推定すると推定外套幅は8.9–12.2 mmであった。これらの条件から、底面の格子状開口部が10×10 mm、側面の格子状開口部が14.5×14.5 mmのサイズのポリエチレン製籠を選択した。なお、ポリエチレンネットの目合サイズについては、伊野波<sup>3)</sup>がふ化直前の卵は短径28.4 mm、長径33.6 mmまで大きく

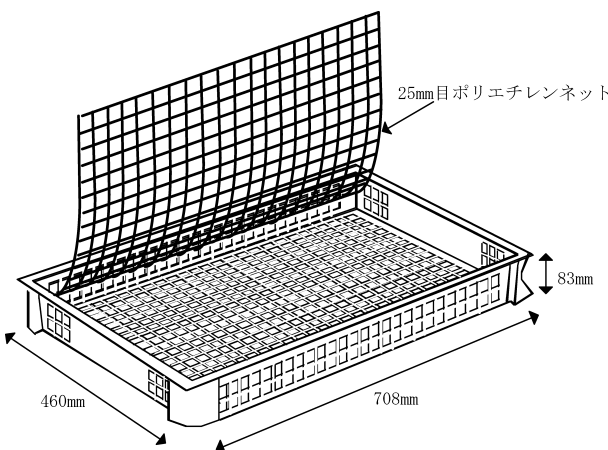


図2. コブシメ卵用のポリエチレン製ふ化盆

なると報告していることから、ふ化前の卵が通り抜けず固定ができ、ふ化イカが充分網目を抜けることのできるサイズである25 mm目（開口部23×23 mm）のものを選択した。

ポリエチレン製籠にポリエチレンネット製蓋を取り付けたのは、卵を固定することにより、エアレーションもしくは注水で生じる水流による物理的刺激によって、ふ化直前の卵が卵黄を残したまま異常ふ化することを防止するためである。

**ふ化水槽およびふ化イカ収集装置** 新たにふ化管理に使用する水槽を図3に示した。角形5 m<sup>3</sup>FRP水槽（外寸：4,280×1,750×1,010 mm、内寸：3970×1450×900 mm）中央部8箇所、卵を収容したポリエチレン製ふ化盆を最大9個重ねて収容した。一番上に位置するふ化盆の上に同型の空のポリエチレン製籠を重ね、重り（コンクリート製ブロック）を乗せてふ化盆を固定した。各箇所は約10 cmの間隔をあけて、2カ所からエアーストーンによるエアレーションを行った。

水槽隅の水面下の塩ビ製小型のバルブ（先端内径6.5 mm）2カ所から、合計7–15 l/minの注水を水槽長辺に沿った方向に行き水流を作った。注水箇所からFRP水槽の長辺を挟んだ一角に、5 mm目合のポリエチレンネット（長さ70 cm、深さ80 cm）製の堰を設け、図3右端に示したようなふ化イカ収集装置を作製し取り付けした。ふ化盆の外側に出てきたふ化イカは、水流に流され堰付近で滞留し、水槽角の水面に設置された排水口（内径40 mm塩ビ管）から、排水とともに水槽外に設置した角型ポリプロピレン製200 l水槽（外寸：880×640×515 mm、内寸：800×560×480 mm）中に設置したポリエチレン製水切籠（480×370×180 cm、開口部目合2×3 mm）に自動的に収容される。

このふ化水槽は室内窓際に配置されたので、ほぼ自然日長の環境にあった。試験期間中、水温のコントロールはせず自然水温とした。

**5 m<sup>3</sup> FRP ふ化水槽とタテ型ふ化槽の正常発生卵率の比較** 200 m<sup>3</sup> コンクリート水槽1面に収容した天然親イ

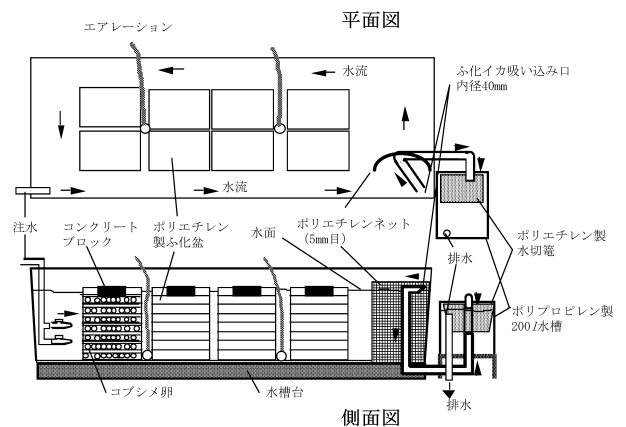


図3. 5 m<sup>3</sup> FRP ふ化水槽とふ化イカ収集装置  
5 m<sup>3</sup> FRP ふ化水槽（外寸：4280×1750×1010 mm）。

カ 38 尾 (雌 30 尾, 雄 8 尾) から, 1993 年 2 月 21 日~7 月 14 日の産卵期間中 2~3 日ごとに, 人工産卵床<sup>4,5)</sup>によって採卵された卵のうち 100 個をプラスチック製アトキンスふ化盆に収容し, タテ型ふ化槽 (外寸: 420×2,220×400 mm, 内寸 360×2160×400 mm) で 15 l/分の流水により卵管理した。残りの卵をポリエチレン製ふ化盆に収容し, 5 m<sup>3</sup> FRP ふ化水槽で 15 l/分の流水で管理した。伊野波<sup>3)</sup>はふ化前 2 週間以内では卵膜が薄くなり, わずかな物理的刺激で卵黄を残してふ化すると報告しているので, 死卵の除去をふ化前 2 週間の時点で行うと定め, 管理水温 ( $T^{\circ}\text{C}$ ) と平均ふ化日数 ( $D$  日) の関係式<sup>4)</sup>,  $D = 1.47 \times 10^5 T^{-2.45}$  を用いてふ化日を予想し, ふ化前 2 週間の日を推定した。その時点では, 卵膜が半透明の発生卵と, 未受精もしくは初期に発生停止した卵膜が白い死卵は, 容易に見分けがつく。また, 所定の発生段階まで到達していない発生異常の卵は, 卵膜を通して判別がつくので, 死卵と発生異常卵を除外したものを正常発生卵と呼称し, その割合を調査して, 2 つのふ化槽間で比較した。

**ふ化イカ収集装置の効果** ふ化イカ収集装置の効果を知るため, ポリエチレンネット製の堰の有, 無条件下で, ふ化イカ収集速度を調査した。1996 年 5 月 15 日 14 時に, 同年 3 月初旬から 5 月初旬までに採卵された約 22,000 個の卵管理に使用中の 5 m<sup>3</sup> FRP ふ化水槽の中央部水面で, 150 尾のふ化イカ (5 月 15 日朝 9:00 に収集装置で収集され, ほとんどが 5 月 14~15 日にかけてふ化したと考えられたふ化イカ) を放流し, 5 分ごとに収集装置により収集されたふ化イカ尾数を 15 時 20 分までの 80 分間にわたって調査した。試験開始にあたっては, すでに収容されているふ化イカが浮遊していないことを事前に確認した。5 月 16 日の 14 時に, 5 m<sup>3</sup> FRP ふ化水槽のふ化イカ収集装置の一部であるポリエチレンネット製の堰を取り外し, 同様に調査を行った。いずれも試験開始時の水温は 23.9°C で, 注水量は 15 l/分であった。

**ふ化イカの収集日周期** 1996 年 5 月 19 日 16 時から 66 時間にわたり, 5 m<sup>3</sup> FRP ふ化水槽でふ化し, 収集装置によって収集されたふ化イカの尾数を 2 時間ごとに調査した。調査開始時の 5 m<sup>3</sup> FRP ふ化水槽には, 3 月初旬から 5 月初旬までに採卵された約 22,000 個の卵が収容されており, 調査の対象であるふ化イカは, これらの卵の一部からふ化した。ふ化イカの採卵日は特定できないが, 3 月初旬から 5 月中旬における平均管理水温は 23°C であり, 管理水温 ( $T^{\circ}\text{C}$ ) と平均ふ化日数 ( $D$  日) の関係は,  $D = 1.47 \times 10^5 T^{-2.45}$  で表され, 卵は平均ふ化日数から約 5 日前後の範囲でふ化することから<sup>4)</sup>, 産卵からふ化まで平均 68 日 (63~73 日) かかったと予想された。5 月 19 日からふ化を開始した卵は, ほぼ 3 月上旬から中旬に採卵したものと推測された。

日中ふ化盆中に隠れているふ化イカ数を推定するため, 試験終了後の 5 月 22 日 11 時に, 物理的刺激を与え

てもふ化の恐れのないステージの卵 (およそ産卵後 1 から 2 週間) を収容しているポリエチレン製ふ化盆 9 枚につき, ふ化盆中に残っているふ化イカ数を調査した。そのステージの卵を選択したのは, ふ化間近の卵は, ふ化盆の移動時のわずかな物理刺激でふ化してしまい, 調査が不可能であるからである。

## 結 果

**ふ化水槽間の正常発生卵率の比較** 図 4 に 5 m<sup>3</sup> FRP ふ化水槽とタテ型ふ化槽の正常発生率の変化を示した。産卵月によって正常発生率は大きく変化した, ふ化槽の違いによる正常発生率の差は認められなかった。

**ふ化イカ収集装置の効果** 図 5 にポリエチレンネット製の堰ありと堰なしにおける経過時間 ( $x$ : 分) と累積収集ふ化イカ数 ( $y$ : 尾) の関係を示した。堰あり試験では, 80 分後に累積で 136 尾が収集され, 浮遊個体は 1 尾しか確認されなかった。その結果, 13 尾がポリエチレン製ふ化盆の側面部や内部に着底していると推測され, 両者の

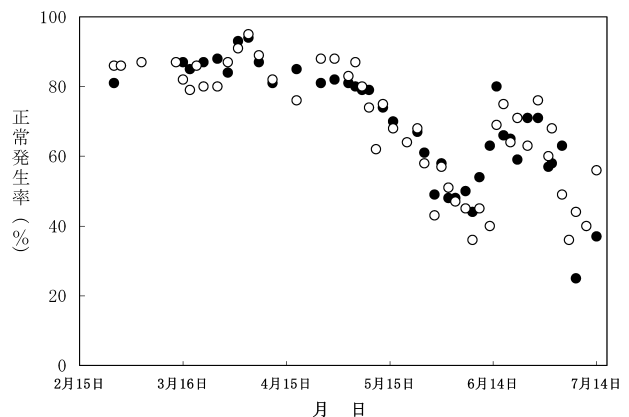


図 4. 5 m<sup>3</sup> FRP ふ化水槽とタテ型ふ化槽のコブシメ卵の正常発生率の比較  
○: タテ型ふ化槽, ●: 5 m<sup>3</sup> FRP ふ化水槽.

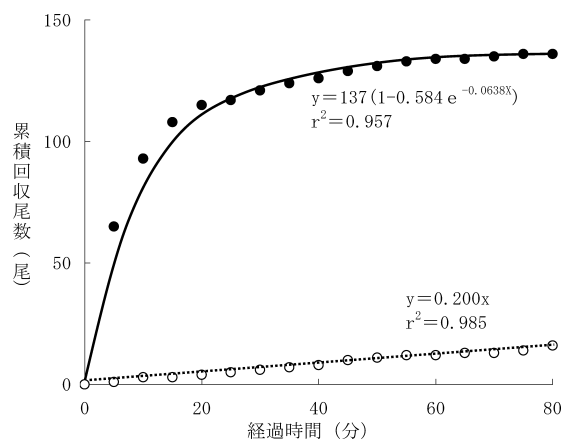


図 5. ふ化イカ収集装置のポリエチレンネット製堰の効果  
●: ポリエチレン製堰あり, ○: ポリエチレン製堰なし.

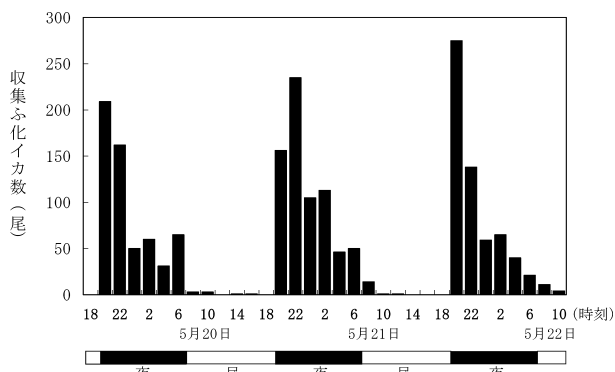


図 6. ふ化イカ収集装置による 2 時間ごとの収集尾数の変化

関係について、 $y=137(1-e^{-0.0638x})$ 、 $r^2=0.957$  の式を得た。堰なし試験では 1 次の線形関係が成り立ち、 $y=0.200x$ 、 $r^2=0.985$  の関係式を得た。60 分経過後の両者の累積収集ふ化イカ数は、134 尾と 12 尾であり、回収率は 89% と 8% であったことから、ポリエチレンネット製堰の収集速度に与える効果は明らかであった。

**ふ化イカの収集日周期** 2 時間ごとの収集ふ化イカ数の変化を図 6 に示した。日没直後にあたる 18~20 時におけるふ化イカの収集尾数は最大となり、時間経過とともに減少する傾向が認められた。また、日中はほとんど収集されなかった。5 月 22 日に物理的刺激を与えてもふ化の恐れのないステージの卵が収容されているポリエチレン製ふ化盆 9 枚を調査したところ、ふ化盆中に残っているふ化イカ合計 8 尾を確認した。ふ化の恐れのない卵を収容したふ化盆を対象とした調査結果は、他の 63 枚のふ化盆についても同じであると仮定した場合、5 m<sup>3</sup> FRP ふ化水槽全体では 64 尾のふ化イカが日中にふ化盆中に潜っていると推定された。

## 考 察

**5 m<sup>3</sup> FRP ふ化水槽とふ化イカ収集装置の効果** 本研究で試作した 5 m<sup>3</sup> FRP ふ化水槽と従来のタテ型ふ化槽で管理した卵の正常発生率に差はみられなかったことから、卵管理の機能には、二者間で差はないと考えられる。

本研究では、5 m<sup>3</sup> FRP 水槽に取りつけたふ化イカ収集装置の自動収集についても検討した結果、水槽内に設置したポリエチレンネット製堰の収集効果は明らかであり、ふ化イカの収集速度は 1 時間程度で約 90% に達した。この自動収集に関する試験では、夜間ふ化したイカの一部はふ化盆の側面部や内部に着底し、一晩ではすべ

て回収されないと推測されていた。回収されないふ化イカの割合を推測するため、ふ化が行われていない卵を収容したふ化盆の調査を行ったが、ふ化が盛んに行われているふ化盆とふ化が行われていないふ化盆とでは、状況が違う可能性がある。しかし、ふ化が盛んに行われているふ化盆に残っているふ化イカの調査は不可能であったので、あえてこの調査結果から推定を試みた。5 m<sup>3</sup> FRP ふ化水槽全体では 64 尾のふ化イカが回収されないと推定され、5 月 21 日 18 時から 5 月 22 日 8 時までに収集されたふ化イカの合計は 609 尾であったことから、回収されないふ化イカ数は全体の 1 割程度と推定された。残っていたふ化イカがいつ収集されるかについて、今回は確認していないが、ふ化 2 日目の夜間の収集率も 9 割程度であるとする、翌日にはほとんどが収集されるものと考えられる。

タテ型ふ化槽の利用時には、ふ化前 2 週間前後になるとふ化盆を別途ふ化水槽へ移槽しふ化イカを人手で回収した。今回のふ化イカ収集装置により、これらふ化盆の移槽作業とふ化イカ取り揚げ作業が不要となった。また、ふ化イカをネットで取り揚げる必要がないので、ふ化イカにダメージを与えることもなくなった。

**ふ化盆とふ化水槽の収容能力** 以上のように、本研究で考案したふ化イカ収集装置は有効に機能した。そこで、5 m<sup>3</sup> FRP ふ化水槽の卵収容能力を従来のシステムと比較しながら評価する。従来のプラスチック製アトキンスふ化盆 (内寸: 298×298×19 mm) と今回のポリエチレン製ふ化盆 (内寸: 660×420×70 mm) の内寸面積比は、1:3.1 である。収容卵数は約 100 個と約 300 個であり、新たなポリエチレン製ふ化盆はプラスチック製アトキンスふ化盆と比較して約 3 倍の収容能力となった。

次に 5 m<sup>3</sup> FRP ふ化水槽とタテ型ふ化槽の卵収容数、および占有面積の比較を行い、表 1 に示した。5 m<sup>3</sup> FRP ふ化水槽には、ポリエチレン製ふ化盆を 72 枚収容可能で、卵収容数は約 21,600 個である。これに対して、タテ型ふ化槽には、プラスチック製アトキンスふ化盆 20 枚が収容可能で、卵収容数は約 2,000 個であることから、5 m<sup>3</sup> FRP ふ化水槽はタテ型ふ化槽の約 11 倍の卵収容能力をもつと推定される。

5 m<sup>3</sup> FRP ふ化水槽の占有面積は、水槽周囲に 60 cm 幅の作業用スペースを確保し、収集装置であるポリプロピレン製水槽 (外寸: 88×64 cm) の設置側 1 辺のみポリプロピレン製水槽を含め 1.2 m の作業スペースを設けるとした場合、6.08×2.95 m=17.9 m<sup>2</sup> である (図 7)。一方、

表 1. タテ型ふ化槽と 5 m<sup>3</sup> FRP ふ化水槽の卵収容能力、および占有面積の比較

ふ化水槽種類	ふ化盆種類	ふ化盆当たり収容卵数 (個)	最大ふ化盆収容数 (個)	最大収容卵数 (個)	占有面積* (m <sup>2</sup> )
タテ型ふ化槽	アトキンスふ化盆	100	20	2,000	31.1
5 m <sup>3</sup> FRP ふ化水槽	ポリエチレン製ふ化盆	300	72	21,600	17.9

注: 5 m<sup>3</sup> FRP ふ化水槽 1 面の収容卵数と同数を収容する場合の占有面積。配置は図 7 に示した。

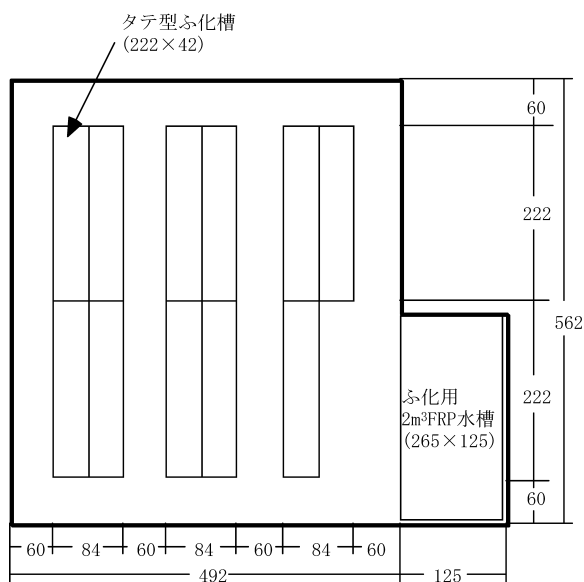
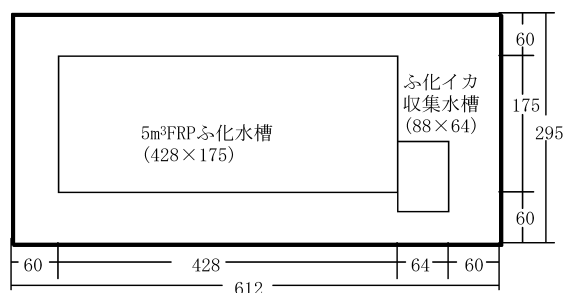


図7. 5 m<sup>3</sup> FRP ふ化水槽と同じ卵収容能力を有するタテ型ふ化水槽の配置の一例と専有面積の比較  
 □: 作業スペースも含めた専有面積 (数字の単位は cm).

タテ型ふ化水槽 11 面を、縦、横 2 列ずつ隣接した 4 面を 1 区画として、計 3 区画を並列に図 7 のように配置した場合の占有面積は、区画間および周辺に 60 cm の作業スペースをとり、さらに、死卵を取り除いた後に、収容するふ化用の水槽 (2 m<sup>3</sup> FRP 水槽、外寸: 125×265 cm, 3.31 m<sup>2</sup>) を加え、31.1 m<sup>2</sup> と計算された。これらの比較により、5 m<sup>3</sup> FRP ふ化水槽の方が占有面積効率は大きく優れていることが示された。

八重山栽培漁業センターでは、5 m<sup>3</sup> FRP ふ化水槽 1 面だけを用い、1993~1995 年に年間総採卵数 55,557~66,205 個<sup>10~12)</sup>の卵管理を実施してきた。同水槽の卵収容能力は約 2 万個であったことから、産卵期間中に同水槽は 3 回利用されていることになる。このように、本研究で考案した 5 m<sup>3</sup> FRP 水槽 1 面の利用で、年間 6 万個程度の卵を管理することが可能になった。

## 謝 辞

1985 年から 1996 年当時の日本栽培漁業協会八重山事業場職員の皆様には、本試験に御協力を頂き感謝します。水産総合研究センター八重山栽培漁業センター團

重樹技術開発員にはデータの補完をいただき感謝申し上げます。多大な理解と激励をいただいた水産総合研究センター八重山栽培漁業センターの與世田兼三場長、上浦栽培漁業センターの職員諸氏にお礼申し上げます。また、本稿を取りまとめるにあたり、多大な励ましをいただき、原稿の校閲を賜った東京海洋大学北田修一教授と浜崎活幸助教授に深謝いたします。

## 文 献

- 1) 奥谷喬司 (1979) コウイカ目の分類と生態 (2). 海洋と生物, 1(3), 37-42.
- 2) 大迫正尚・村田 守 (1985) 北西太平洋における頭足類の資源評価, 世界の頭足類の資源評価 (抄訳). Advances in assessment of world cephalopod resources (FAO FISHERIES TECHNICAL PAPER 231 1983 J. F. CADDY 編, 高木善之介訳). 海洋水産資源開発センター, 東京, pp. 33-95.
- 3) 伊野波盛仁 (1988) コブシメ, サンゴ礁域の増養殖. 緑書房, 東京, pp. 269-279.
- 4) 岡 雅一・手塚信弘・伏見 浩 (1989) コブシメの水槽内採卵と卵のふ化, 栽培技研, 18, 1-14.
- 5) OKA, M. (1993) Methods to collect Eggs of Giant Cuttlefish in an Aquarium. Recent Advances in Fisheries Biology. Tokai University Press, Tokyo, pp. 397-402.
- 6) 岡 雅一 (1994) ふ化イカを放して, 甲を集める—コブシメ放流に関する一つの試み—. さいばい, (70), 8-12.
- 7) 山下貴示・岡 雅一・大角伸一・浜崎活幸 (2001) ふ化イカを放して, 甲を集める—コブシメ放流に関する一つの試み—. その後の経過, さいばい, (99), 16-19.
- 8) OKA, M., T. YAMASHITA, S. OSUMI, and K. HAMASAKI (2003) Recapture Rates of Released Hatchlings of Giant Cuttlefish *Sepia latimanus* Quoy and Gaimard. Stock Enhancement and Sea Ranching. Blackwell Publishing, pp. 525-534.
- 9) 岡 雅一 (1994) 成体の確保と採卵, コブシメ, 日本栽培漁業協会事業年報 (平成 4 年度). 日本栽培漁業協会, pp. 79-80.
- 10) 岡 雅一 (1995) 成体の確保と採卵, コブシメ, 日本栽培漁業協会事業年報 (平成 5 年度). 日本栽培漁業協会, pp. 91-92.
- 11) 岡 雅一 (1996) 成体の確保と採卵, コブシメ. 日本栽培漁業協会事業年報 (平成 6 年度), 日本栽培漁業協会, pp. 74-75.
- 12) 岡 雅一 (1997) 成体の確保と採卵, コブシメ. 日本栽培漁業協会事業年報 (平成 7 年度), 日本栽培漁業協会. pp. 90-92.
- 13) 岡 雅一 (1998) 成体の確保と採卵, コブシメ. 日本栽培漁業協会事業年報 (平成 8 年度), 日本栽培漁業協会. pp. 93-94.
- 14) 大角伸一 (1999) 成体の確保と採卵, コブシメ. 日本栽培漁業協会事業年報 (平成 9 年度), 日本栽培漁業協会. pp. 106-107.
- 15) 竹田文弥・山内幸児 (1963) コウイカ類稚仔の飼育について. 兵庫県水産試験場報告別冊 (1), pp. 1-18.
- 16) 奥谷喬司 (1968) イカ類の初期生活史に関する研究-VII, コブシメの卵及びふ化稚仔. Japan. J. Malac. (VENUS), 37,



245-248.  
17) 野村 稔・隆島史夫・尾城 隆・平野礼次郎・片田 実・  
渡辺 武・佐野徳夫・木島利通 (2001) 5.2 種苗生産の原

理. 新水産ハンドブック, 講談社サイエンティフィック, 東  
京, 342-347 pp.

## サワラの種苗生産単価の試算

岩本明雄\*<sup>1</sup>・山崎英樹\*<sup>1</sup>・藤本 宏\*<sup>1</sup>  
奥村重信\*<sup>1</sup>・山本義久\*<sup>1</sup>・小畑泰弘\*<sup>2</sup>

### Estimation of seed production costs for the Japanese Spanish mackerel, *Scomberomorus niphonius*

Akio IWAMOTO, Hideki YAMAZAKI, Hiroshi FUJIMOTO,  
Shigenobu OKUMURA, Yoshihisa YAMAMOTO, and Yasuhiro OBATA

Seed production costs for the Japanese Spanish mackerel were estimated based on the accounting of seed production operations at Yashima Station of the NCSE from May to June 2003 in which 205,000 seeds of ca. 40 mm in mean total length were produced. Accounting was divided into three processes: egg collection, live bait culture and larval rearing. Each process consisted of seven calculated items (manpower, electricity, fuel and water, broodstock purchase, feeding, equipment, marking reagents, and materials and consumption); however depreciation costs were disregarded. As a result, estimated seed production costs were 11,633,000 yen for total operation and the unit cost was calculated at 56.74 yen per seed. Live bait culture cost was of relatively high proportion, ca 48.1%, of the total cost since the Japanese Spanish mackerel is a highly piscivorous species.

2006年1月4日受理

サワラは、我が国では漁業資源として東シナ海系群と瀬戸内海系群の2系群が資源評価<sup>1,2)</sup>されている広域回遊性種であり、特に瀬戸内海において重要な漁業資源の一つとなっている。瀬戸内海の漁獲量は、漁獲努力量の増大などで1986年に6,255トンに達したが、この年をピークに1998年には約1/30の196トンまで急減した<sup>2)</sup>。この漁獲の急減を受け、屋島栽培漁業センターでは資源回復のため、本種の種苗放流を積極的な資源培養の手段として位置づけ、1998年から瀬戸内海東部海域を対象に放流試験を開始した。近年では大阪府、岡山県でも自主的な種苗生産・放流が始まり、種苗放流による経済効果を明らかにするために種苗生産単価算出の必要性が生じてきた。ここでは、屋島栽培漁業センターが2003年に行った種苗生産事例をもとに種苗生産単価を試算したので報告する。

#### 材料と方法

経費は、1. 人件費、2. 光熱水費、3. 親魚購入費、4. 餌料費、5. 備品費、6. 資材・消耗品費について、日本栽培漁業協会<sup>3)</sup>に従い、親魚養成、餌料培養、種苗生産の各生産工程別に試算を行うことにした。しかし、本種の場合、親魚は天然漁獲親魚から採卵していることからその区分を採卵経費(工程1-1)と卵管理費(工程1-2)に、また、餌料培養については、ワムシとマダイのふ化仔魚などを培養および生産していることからワムシ培養費(工程2-1)と餌料用ふ化仔魚生産費(工程2-2)に区分し、さらに種苗生産経費(工程3)を加えた5区分で試算した。

経費計算は表1,2に示した種苗生産事例をもとに、積算された経費の合計値を取り揚げ尾数で除し、1尾当たりの種苗生産単価を算出した。なお、サワラの種苗生産に使用した水槽は、サワラ種苗生産150kl水槽2面、マ

\*<sup>1</sup> 独立行政法人水産総合研究センター 屋島栽培漁業センター 〒761-0111 香川県高松市屋島東町234 (Yashima Station, National Center for Stock Enhancement, FRA 234 Yashimahigashi, Takamatsu, Kagawa, 761 0111 Japan).

\*<sup>2</sup> 独立行政法人水産総合研究センター 玉野栽培漁業センター 〒706-0002 岡山県玉野市築港5-21-1.

表1. 2003年 屋島栽培漁業センターにおけるサワラの種苗生産結果の概要

生産区分	水槽		収容		取り揚げ			生残率 (%)
	容量 (kl)	面数	月日	尾数 (万尾)	飼育日数 (日)	尾数 (万尾)	平均全長 (mm)	
1 回次	150	1	5.20	21.4	24	9.4	36.4	44.4
2 回次	150	1	5.20	23.0	23, 24	11.1	35.3	48.0
合計	150	2	5.20	44.4	23~24	20.5	35.8	46.2

表2. 使用した餌料と給餌量

餌料の種類	1 回次	2 回次	合計
シオミズツボワムシ (億個体)	311	307	618
マダイふ化仔魚 (億尾)	2.6	2.6	5.2
マダイ受精卵 (kg)*1	24.6	19.4	44
育成仔魚*2 ヒラメ (万尾)	0	100	100
マダイ (万尾)	0	162	162
イカナゴ 小 (kg)*3	170	170	340
イカナゴ 大 (kg)*4	189	134	323

\*1 受精卵のまま給餌。

\*2 全長約 10 mm.

\*3 全長 30~40 mm.

\*4 全長 40~50 mm.

ダイふ化仔魚生産用マダイ 150 親魚水槽 1 面ならびに 50 kl 水槽 5 面, ヒラメとマダイの育成仔魚生産用 50 kl 水槽 1 面, ワムシ培養に 5 kl 水槽 8 面, 20 kl 水槽 2 面である。

**1. 人件費** 人件費は工程ごとの必要人数を割り出し (表 3), 業務時間, 日数および雇用単価から算出した。採卵経費の正規職員の人件費は香川県の県有船が採卵作業に出動する際の人件費である。なお, 正規職員の雇用単価は, 2001 年の全国の納税者 1 人当たりの平均所得 5,647<sup>4)</sup> 千円を労働日数 252 日 (8 時間) として, 1 時間当たりの単価 2,801 円を用いた。また, 臨時職員の人件費は 1 時間当たり 900 円とした。

## 2. 光熱水費

**2.1 電気代** 取水ポンプ, ブロワー, 小割網洗浄に要する電気代を試算した。種苗生産期間が約 1 ヶ月と短いた

め, 事務所, 冷凍・冷蔵庫, ボイラー, 電気ヒーターなどで使用される電気代は無視した。屋島栽培漁業センターの 2003 年の種苗生産期である 5 月の電気料金は 499,653 円, 電気使用量は 39,740 kWh であったので, 電力 1 kWh 当たり約 12.6 円を要したことになる。

**2.1.1 取水ポンプ** 屋島栽培漁業センターでは 15 kWh 取水ポンプ 1 台で 80 kl/h のろ過海水を使用しており, 飼育海水 1 kl に換算した単価は 2.36 円 (15 kWh/80 kl × 12.6 円) となる。経費試算表の内訳 (付表) に示した各区分での使用海水量に 1 kl 当たり単価を乗じて電気代とした。

**2.1.2 ブロワー** サワラの種苗生産期は定格出力 7.5 kWh のブロワー 2 台が稼働しており, 各工程でのブロワーの使用電力量を経費試算表の内訳 (付表) に示したとおりとして電気代を求めた。また, 種苗生産期以外の 12 月中旬から 4 月までの約 135 日間については, 餌料用ふ化仔魚生産に必要なマダイ親魚は陸上水槽の 50 kl 水槽 5 面を用いて養成を行っており, この期間は 7.5 kWh のブロワーを 1 台稼働し, その使用電力量から電気代を求めた (付表)。なお, 種苗生産期と 12 月中旬から 4 月までを除く期間のマダイ親魚養成は海上の小割網生簀で行っているためブロワーは使用しない。

**2.1.3 洗浄機** マダイ親魚養成の小割網の洗浄機は, 7.5 kWh のモーターをもち, 海上飼育期間中, 毎日 2 時間, 100 日稼働するものとした (付表)。

**2.2 燃油代** 採卵に使用する船舶の重油使用量は約 800 l/1 回, 出動回数は 3 回とした。屋島栽培漁業セン

表3. 工程別の必要人員

業務内容	正規職員				臨時職員			
	職員数	1日・1人 当たりの 業務時間 (時間)	標準日数	人・時	職員数	1日・1人 当たりの 業務時間 (時間)	標準日数	人・時
1-1. 採卵作業	10	7	3	210				
1-2. 卵管理	1	1	4	2	1	2	4	8
2-1. ワムシ培養	1	2	30	60	1	2	30	60
2-2. 餌料用ふ化仔魚生産								
・マダイ親魚管理	1	0	252	50	2	3	252	1,512
・卵回収	1	1	25	13	2	2	25	100
3. 種苗生産								
・環境管理	1	8	30	240	1	1	30	30
・給餌その他	2	5	20	200	4	6	20	480
・アルテミアふ化					1	2	25	38

ターでの加温用に使用する灯油はボイラーごとに個別のタンクが設置されており、実際に使用した灯油量(付表)から工程別の燃油代を積算した。

**2.3 水道代** 種苗生産時の水槽、器具の洗浄に使用する水道代は5月の水道料金80千円のうち2/3を、マダイ親魚養成で使用する小割網の洗浄に要する水道代は2003年7月から12月の水道料金296千円のうち2/3を使用するとして積算した(付表)。

**3. 餌料代** ワムシ培養(工程2-1)では培養と栄養強化に必要な濃縮クロレラの費用であり、餌料用ふ化仔魚生産(工程2-2)ではマダイ親魚のモイストペレット製造に要する冷凍スルメイカ・マアジ、配合飼料の購入費用である。種苗生産(工程3)ではイカナゴとイカナゴに添加する栄養強化剤および餌料用育成仔魚の生産に使用するアルテミアの購入費用である(付表)。

**4. 親魚購入費** 2003年に実際に採卵に使用したサワラ親魚購入費(工程1-1)と餌料用ふ化仔魚生産(工程2-2)に必要なマダイ親魚の購入費である。マダイ親魚は5年間採卵に使用するとして積算した(付表)。

**5. 備品費** モイストペレット製造器(工程2-2 サンコーテクノ 餌料攪拌機 MGM200)、フィッシュポンプ(工程3 ヤンマー 種苗移送ポンプ YFP65型)、魚数計(工程3 日本海洋 FCH-10 稚魚カウンター)、底掃除機(工程3 ヤンマー水槽底掃除機 SMM1-DX)の高額機材については償却年数を8年<sup>4)</sup>として試算した。フィッシュポンプと魚数計はトラフグと共用しているため2魚種で除した。底掃除機は2台分である(付表)。

**6. 資材・消耗品費** 各工程で使用される0.5klポリカーボネイト水槽およびバケツ、タオル、タモ網、ホース類等の購入費用である(付表)。ポリカーボネイト水槽ならびに餌料用マダイ親魚養成に使用する小割網は償却年数を5年<sup>4)</sup>として計算した。

## 結 果

2003年の種苗生産に要した総経費は11,633千円であった。費目別の経費ならびに経費割合を図1に示した。工程別の経費一覧とその積算内訳ならびに経費割合を付表、図2に示した。

**費目別の経費** 費目別にみると、人件費の経費割合が34.8%で、以下、餌料費24.5%、光熱水費19.6%、備品費8.6%、資材・消耗品費6.5%、親魚購入費6.0%となった(図1)。

**工程別の経費** 工程別では、餌料用ふ化仔魚生産費とワムシ培養費を合わせた餌料培養経費の経費割合が48.1%と高く、以下、種苗生産経費40.2%、採卵経費10.7%、卵管理費1.0%であった(付表、図2)。

**種苗単価** 全長約40mmのサワラ種苗20.5万尾を生産する総経費は11,633千円を要し、サワラ1尾当たり56.74円と試算された(付表)。

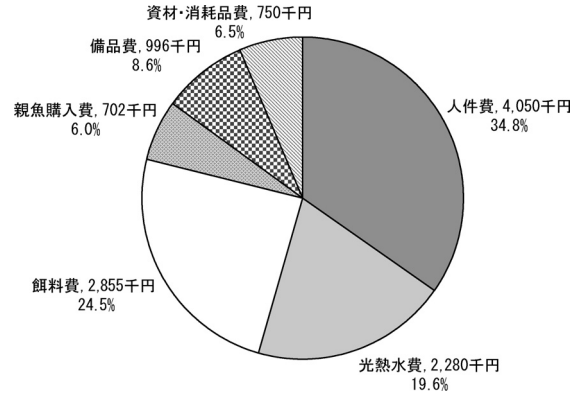


図1. 費目別の経費

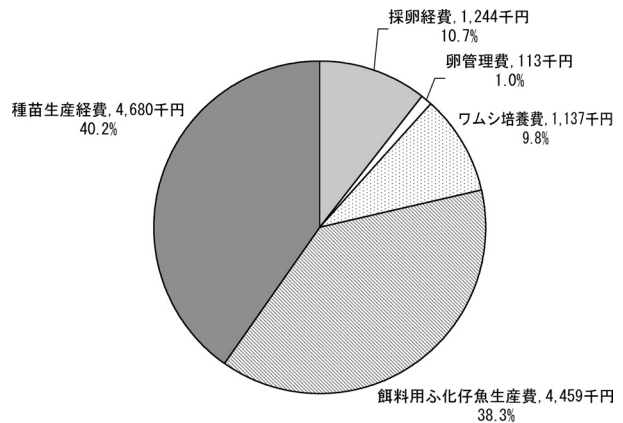


図2. 工程別の経費

## 考 察

天然のサワラの初期餌料はカタクチイワシシラスであるが<sup>3)</sup>、人工種苗生産下ではその確保が困難なことから、これに替わる餌料として屋島栽培漁業センターでは、マダイ親魚約200尾を周年養成し、約5億尾のふ化仔魚と約9千万粒の受精卵をサワラ仔魚の餌料に供している。この餌料用ふ化仔魚生産費が全体の経費の38.3%を占める。また、ワムシは、直接サワラの餌料とならないが、飼育水槽に20万尾/klの密度で餌料用のマダイふ化仔魚を収容しているため、この餌料として約600億個体のワムシが必要であり、この培養費が全体の9.8%を占めている。このように本種の場合、餌料培養にかかわる経費が全体の48.1%を占め、種苗生産コストを押し上げる一番の要因となっている。ヒラメの場合は親魚養成に6.4%、餌料培養に15.7%、種苗生産に47.4%、以下、管理業務、研究業務、放流業務合わせて30.5%で、マダイについてもおおむねこのような構成割合である<sup>3)</sup>。この報告<sup>3)</sup>では経費でなく業務量の構成割合を示しており、かつ、管理業務費などが含まれるので直接的な比較はできないが、本種の場合、餌料培養経費の占める割合が非常に高いことがわかる。これは摂餌開始から強い魚食性を示すサワラ特有の他の魚類栽培種と大きく異なる点で

あろう。

一方、費目別でみると人件費の経費割合が全体の34.8%（ワムシ培養経費と餌料用マダイ親魚養成経費の中の人件費含む）であった。これまでの一般的な栽培漁業対象種では、施設の減価償却を考慮しない実額ベースでの人件費の構成比の平均が49.0%で、量産化が進んで人件費の構成比が小さいヒラメの42.4%、マダイの46.8%、アワビ類の46.0%<sup>3)</sup>と比較しても小さい。これは、本種の種苗生産が25日間という短期間で終了することに由来する大きな特徴と考えられる。

今回、他の栽培漁業対象種と極めて生態の異なったサワラの種苗生産単価を試算したところ、全長40 mm 種苗1尾当たりの単価は56.74円/尾と算定された。種苗生産技術の開発が進んでいるブリについて、同じような試算方法で算出した全長30 mm 種苗の生産単価の57.75円/尾<sup>6)</sup>と比較しても同程度に試算された。これは2003年の本種の種苗生産が順調に推移して生残率が比較的高く、かつ、短期間に種苗生産が終了したことが挙げられよう。種苗生産が不調に推移した場合、生産単価の上昇は明らかであり、種苗生産技術が不安定な現状では、経費の削減に目標を置くよりは、安定的な種苗量産化技術の確立が生産経費軽減の上では有効かもしれない。今後、本種の種苗量産化技術を進展させていくうえで、各工程別に経費の見直しを行い、削減費目を検討していく必要があろう。

なお、今回、ここでは、施設の減価償却費は試算に含めなかったが、減価償却を伴う150 kℓ 種苗生産水槽4面（予備水槽含む）、ふ化仔魚生産用の50 kℓ マダイ親魚水槽6面（育成仔魚生産水槽含む）とその周辺設備、取水・ろ過施設、ワムシ培養水槽、ワムシ栄養強化設備について試算したところ、その減価償却費は2,263千円となった。この試算については、1965年3月31日大蔵省令第15号の減価償却資産の耐用年数等に関する省令について基づいて、以下のような定額法で算出した。

$$\text{減価償} = (\text{取得原価} - \text{残存価額}) / \text{耐用年数}$$

サワラの生産に直接関係のない施設は償却費の算出に当たって除き、他の種苗生産と共用している50 kℓ 水槽については2魚種で、取水・ろ過施設、ワムシ培養水槽、ワムシ栄養強化設備については3魚種で案分して試算した。施設の減価償却費を加算すると、総種苗生産経費は13,896千円となり、1尾当たりの生産単価は11.04円アップの67.78円、総経費に対する減価償却費比率は

16.3%になった。先の報告<sup>3)</sup>では一般的にその比率は3割を超える水準となっているが、ここではその半分程度に収まっている。これは屋島栽培漁業センターが開設して40年経過していることからワムシ培養棟や空気供給設備などすでに減価償却が済んでいる施設を利用していることなどの理由によるものと考えられる。経費試算した翌年の2004年に150 kℓ 水槽の施設整備を実施しており、この減価償却費を含めるとその比率は25.6%に達し、総種苗生産経費は15,637千円、1尾当たり76.28円となった。このように、施設の減価償却費とその比率については、施設の状況によって大きく変動することもあることから、ここでは施設の減価償却費を含まない直接経費での種苗生産単価の算出を行った。

現在、瀬戸内海では本種の資源回復計画が実施されているが、積極的な資源回復を図るうえでは、種苗放流尾数の増大も必要である\*。この場合、関係府県が連携して資源回復に取り組むという考え方のもとで、特に餌料用のふ化仔魚を供給できる機関が種苗生産実施機関を支援するという体制づくりを構築することが大切であろう。これが可能となれば、種苗放流尾数の増大につながるとともに種苗生産経費の大きな部分が削減できることから生産単価の大幅な低減が可能となろう。

## 参考文献

- 1) 大下誠二 (2005) 平成16年サワラ東シナ海系群の資源評価、我が国周辺水域の漁業資源評価 (第3分冊)、水産庁他、1012-1020.
- 2) 永井達樹 (2005) 平成16年サワラ瀬戸内海系群の資源評価、我が国周辺水域の漁業資源評価 (第3分冊)、水産庁他、1021-1057.
- 3) 社団法人日本栽培漁業協会 (2000) 回遊性種栽培漁業地域展開促進事業 種苗生産・中間育成コスト実態調査報告書、151 pp.
- 4) 東京国税局法人課税技術係 (1997) 耐用年数の使い方、税務研究会出版局、東京、p. 30
- 5) SHOJI, J., T. MAEHARA, and M. TANAKA (1999) Short-term Occurrence and Rapid Growth of Spanish Mackerel Larvae in the Central Waters of the Seto Inland Sea, Japan. *Fish. Sci.*, **65** (1), 68-72
- 5) 須田 明・岩本明雄・藤本 宏・山崎英樹・小畑泰弘 (2004) 瀬戸内海東部水域に放流されたブリ早期種苗群から期待される生産効果の総合評価、栽培資源調査検討資料 17, 59 pp.

\* 小畑 泰弘・北田 修一・岩本 明雄 (2003) 瀬戸内海東部海域のサワラ資源回復の可能性、2003 (平成15) 年度日本水産学会大会講演要旨

付表. サワラ種苗生産における経費試算(2003年 20.5万尾生産の事例)

費目	金額(千円)	内訳
<b>1-1. 採卵経費</b>	<b>1,244</b>	
①人件費	588	
・正規職員	588	210 人・時×@ 2,801 円 延3日出動
②親魚購入費	450	100 kg×@ 4,500 円
③光熱水費	106	
・採卵作業船舶用重油	106	2,400 l×@ 44 円 延3日出動
④資材・消耗品費	100	バケツ, タオル等
<b>1-2. 卵管理費</b>	<b>113</b>	
①人件費	13	
・正規職員	6	2 人・時×@ 2,801 円
・臨時職員	7	8 人・時×@ 900 円
②光熱水費	1	
・電気代	1	使用海水量 0.5 kl×10 個×10 回転×5 日
③資材費	100	0.5 kl ポリカーボネイト水槽×10個/5年
<b>2-1. ワムシ培養費</b>	<b>1,137</b>	
①人件費	222	
・正規職員	168	60 人・時×@ 2,801 円
・臨時職員	54	60 人・時×@ 900 円
②餌料費	650	
・濃縮クロレラ	550	55 缶×@10,000 円 商品名: 生クロレラ V12 クロレラ工業
・HFA 強化濃縮クロレラ	100	5 缶×@20,000 円 商品名: スーパー生クロレラ V12
③光熱水費	215	
・電気代	15	使用海水量 20 kl×25 日
・灯油代	200	ブローワー電力量 15 kW/h×24 時間×30 日×1/10 4,760 l×@ 42 円
④消耗品費	50	
<b>2-2. 餌料用ふ化仔魚生産費</b>	<b>4,459</b>	
①人件費	1,502	
・正規職員	141	50.4 人・時×@ 2,801 円
・臨時職員	1,361	1,512 人・時×@ 900 円
②光熱水費	1,710	
陸上養成(1~6月)		
・電気代	576	使用海水量 150 kl×3.2 回転×50 日+50 kl×5 槽×3.45 回転×135 日 ブローワー電力量 15 kW×24 時間×30 日×3/10+7.5 kW×24 時間×135 日×2/3 (生産期外)
・灯油代	917	21,842 l×@ 42 円
海上養成(7~12月)		
・電気代	19	小割網洗浄作業用 7.5 kW×2 時間×100 日
・水道代	197	小割網洗浄作業用
③マダイ親魚購入費	252	1,260 kg×@ 1,000 円/5年
④餌料費	670	
・鮮魚, 冷凍餌料	500	鮮魚・冷凍魚 2,500 kg×@ 200 円
・配合飼料	170	モイスト用 34 袋×@ 5,000 円
⑤備品費	125	
・モイスト製造器	125	2,000 千円/2魚種/8年
⑥資材費	100	10 枚×@50,000 円/5年 小割網
⑦消耗品費	100	
<b>3. 種苗生産経費</b>	<b>4,680</b>	
①人件費	1,725	
・正規職員	1,232	440 人・時×@ 2,801 円
・臨時職員	493	547.5 人・時×@ 900 円
②餌料費	1,535	
・イカナゴ	1,500	1,000 kg×@ 1,500 円
・アルテミア(育成仔魚用)	25	5 缶×@ 5,000 円
・栄養強化剤等添加物	10	2 袋×@ 5,000 円
③光熱水費	249	
・電気代	108	使用海水量 150 kl×2 槽×2.5×30 日 ブローワー電力量 22.5 kW×24 時間×30 日×4/10
・燃油代	88	2,100 l×@ 42 円
・水道代	53	
④備品費	871	
・フィッシュポンプ代	125	2,000 千円/2魚種/8年
・魚数計代	256	4,100 千円/2魚種/8年
・底掃除機代	490	1,960 千円×2台/8年
⑤資材・消耗品費	300	飼育用資材・消耗品 1 式
<b>計</b>	<b>11,633</b>	
<b>40 mm 種苗 円/1尾</b>	<b>56.74</b>	20.5 万尾生産

# 閉鎖循環システムを用いたマダイの種苗生産

鴨志田正晃\*1・山崎英樹\*2・山本義久\*2

## Seed production of red seabream, *Pagrus major*, using a closed recirculating system

Masaaki KAMOSHIDA, Hideki YAMAZAKI, and Yoshihisa YAMAMOTO

We reared red seabream from eggs until 30 mm in TL using a closed recirculating system having a flow-through system, and a zero-exchange water system as control, and compared survival rates, growth, morphological abnormalities, and water quality of the rearing tanks. The closed recirculating system consisted of two rearing tanks of 4 kl in water volume, a biofiltration tank, a foam separation unit, and a UV irradiation unit. Mass mortality did not occur during the experiment using the closed recirculating system and survival rates were higher than those of the flow-through system; moreover, little difference was observed in growth and morphological abnormality rates, although the maximum values of  $\text{NH}_4\text{-N}$  and  $\text{NO}_2\text{-N}$  reached 1 ppm and 4 ppm 30 days after starting the experiment. About 1.1% of rearing water in the closed recirculating system was replaced by fresh seawater per day. Based on these results, red seabreams can be reared on a practical level using the closed recirculating system by supplying small quantities of fresh seawater.

2006年1月10日受理

現在、我が国では沿岸環境保全の一環として、飼育水を排水せずに高度に浄化し、繰り返し使用する「閉鎖循環式」の高密度飼育システム（以下、閉鎖循環システム）が汚濁負荷削減と高効率な養殖を同時に達成できる有力な手段として注目されている<sup>1)</sup>。種苗生産分野においても沿岸環境の保全は取水海水の水質にも関係する重要な課題であり今後積極的に周辺海域への汚濁負荷量の削減に取り組む必要があると考えられる。また、栽培漁業では費用対効果を上げるために種苗生産コストの低減が求められており、その一つの対策として親魚養成や種苗生産工程における取水および調温にかかるコストを削減するためには、通常の掛け流し飼育に比べ新しい海水の注水量が少なくエネルギー損失の少ない閉鎖循環システムの導入は有効と考えられる。さらに、閉鎖循環システムは、取水海水からの病原体の進入の危険性を減らすことができ、疾病防除の側面からも本システムの必要性は今後高まるものと考えられる。しかしながら、我が国の海産魚類の種苗生産において閉鎖循環システムを用いて飼

育を行った事例は少なく、近年では、睦谷ら<sup>2)</sup>のオニオコゼの報告があるものの、実用規模では、ほとんど利用されていないのが現状である。

このような背景から、独立行政法人水産総合研究センター屋島栽培漁業センター（元：日本栽培漁業協会屋島事業場）では、2000年より養殖用の閉鎖循環システムを参考に種苗生産用のシステム開発に取り組んだ。Tomoda *et al.*<sup>3)</sup>は、泡沫分離装置、生物ろ過槽、紫外線殺菌装置などからなる閉鎖循環システムを試作し、生物餌料としてワムシとアルテミアを用い、全長9 mmサイズまでのマダイ *Pagrus major* 仔魚の初期飼育に成功している。しかし、Tomoda *et al.*<sup>3)</sup>の試験では、既存の養殖用の閉鎖循環システムを参考に15%/日の新しい海水をシステム内に注水しており、調温にかかるコストの低減や注水した海水由来の病原体の侵入の可能性を低くするためには、新しい海水を注水しない飼育方法の開発が必要と考えられる。このような観点から、著者らは、極力換水量を抑えるために、底掃除と泡沫分離の排水を補充す

\*1 独立行政法人水産総合研究センター栽培漁業部 〒220-6115 神奈川県横浜市西区みなとみらい2-3-3 (Fisheries Research Agency, Fisheries Stock Enhancement Department, 2-3-3 Minatomirai, Yokohama, Kanagawa 220-6115, Japan).

\*2 独立行政法人水産総合研究センター屋島栽培漁業センター 〒761-0111 香川県高松市屋島東町234.

る以外には新しい海水の注水を行わずに、ふ化から全長 30 mm サイズのマグイ稚魚期までの閉鎖循環飼育を試みたので報告する。

## 材料と方法

**閉鎖循環システムの概要** 本試験で用いた閉鎖循環システムは、生物ろ過槽の硝化能力を高めるために Tomoda *et al.*<sup>3)</sup> が用いたシステムを一部改良し、上向流式ろ過であった生物ろ過槽を下向流式ろ過とし、塩ビパイプに穴を開け生物ろ過槽全体にシャワー状に注水するように変更した。システムの構成は、飼育水槽 2 面、受水槽、泡沫分離装置、生物ろ過装置、紫外線殺菌装置、および循環ポンプ 2 台とした (図 1)。飼育水槽には、5 kJ FRP 水槽 (実水量 4 kJ) を用い水槽内にチタン製熱交換器と通気用のユニホース ((株)ユニホース) を設置した。受水槽には、0.4 kJ の FRP 水槽 (実水量 0.3 kJ) を用い生物餌料回収ネット (ワムシの場合は 63 μm ナイロンネット、アルテミアの場合は 200 目ポリエチレンネット)、プレフィルター (旭化成; サランロック 0M-150)、および通気用のユニホースを設置した。泡沫分離装置には、カーバスエアレーター (自給式気液混合装置) を備えた KA 式泡沫分離装置 (実水量 0.4 kJ, TAS 環境エンジニアリング) を用いた。生物ろ過装置は、0.4 kJ の FRP 水槽 (実水量 0.3 kJ) の上層にろ過材として多孔性ソフトセラミック (汪林; フィルテックス FB-3) 40 kg, 下層にサンゴ砂 60 kg を配置し、上方向から下方へろ過水を還流させる方式とし、ろ過材上に通気用のユニホースを設置した。紫外線殺菌装置には、フロンライザー 2DL (千代田工販)、循環ポンプには、マグネットポンプ (SANSO;

PMD-613, 循環量約 28 l/分) を使用した。次に各装置の基本的な機能は、受水層では生物餌料の回収と粒子の大きい懸濁物の除去、泡沫分離装置では飼育水中の懸濁物の除去、生物ろ過装置ではアンモニア態窒素と亜硝酸態窒素の硝化、紫外線殺菌装置では飼育水中の細菌数の低下を目的としている。次に浄化工程は、物理ろ過工程と生物ろ過工程の二つの循環工程で構成されている。物理ろ過工程は、飼育水槽のストレーナーから排水された飼育水中の生物餌料を受水槽中の生物餌料回収ネットで回収した後、プレフィルターで粒子の大きい懸濁物が吸着され、さらに浄化ポンプで泡沫分離装置に送られて汚濁物質が泡沫水として排水槽に排水され、浄化された飼育水が受水槽に戻り再び循環するシステムである。生物ろ過工程は、物理ろ過工程で浄化された飼育水が生物ろ過槽内のろ過材で硝化され、さらに飼育水循環ポンプで紫外線殺菌装置に送られて殺菌された後、飼育水槽に注水され、余剰の海水は再び生物ろ過槽でろ過される循環システムである。物理ろ過工程の総水量は、0.7 kJ でポンプの循環量から循環率は 58 回転/日であり、一方、生物ろ過工程は、同様に総水量は 0.3 kJ で循環率は 134 回転/日と高くなっているのが特徴である。

**生物ろ過槽の熟成** 生物ろ過槽を熟成させるために試験開始 1 カ月前から飼育水槽内の飼育水の循環率が 5 回転/日となるようにシステムの運転を開始し、生物ろ過槽には、有機物源としてトラフグ用配合飼料 (オリエンタル酵母工業株式会社) を 200 目のネットに入れて生物ろ過槽内に垂下し、硝化細菌の増殖を促した。

**試験区と供試魚** 試験区は、各区個別に水槽を設置し、閉鎖循環システムを用いた循環ろ過-1 区と 2 区、対照として従来から行われている掛け流しの流水区と換水を全

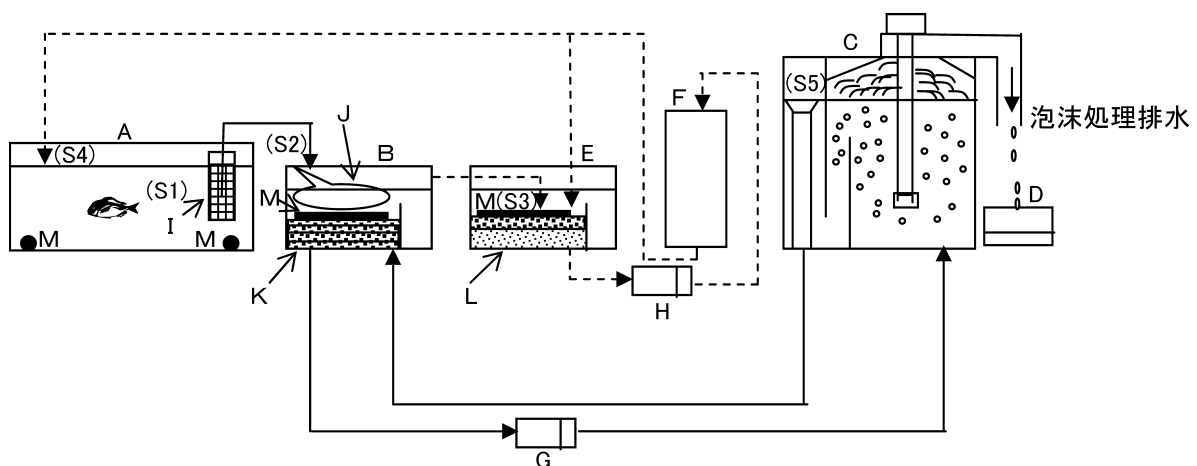


図 1. 閉鎖循環システムの概略図

—▶: 物理ろ過工程の水の流れ, - - -▶: 生物ろ過工程の水の流れ。

A: 飼育水槽 (2 水槽), B: 受水槽, C: 泡沫分離装置, D: 排水槽, E: 生物ろ過槽, F: UV 装置, G: 浄化ポンプ, H: 飼育水循環ポンプ, I: 排水ストレーナー, J: 生物餌料回収ネット, K: プレフィルター, L: ろ過材, M: ユニホース。

水質分析用の採水地点

S1: 飼育水, S2: 物理ろ過前, S3: 物理ろ過後, S4: 生物ろ過 UV 後, S5: 泡沫処理後。



表 1. 閉鎖循環飼育によるマダイの飼育試験結果

試験区	収容尾数 (尾)	平均飼育水温 (範囲) (°C)	試験 日数	試験終了時			
				尾数 (尾)	飼育密度 (尾 /kl)	平均全長 <sup>2)</sup> ±標準偏差 (mm)	生残率 <sup>3)</sup> (%)
循環ろ過-1区	41,600	21.7 (19.0-22.3)	47	28,200	7,050	28.5±2.47	67.8 <sup>**</sup> 54.6 <sup>**</sup> 41.3 <sup>**</sup> } <sup>**</sup>
循環ろ過-2区	43,600	21.7 (18.8-22.3)	47	23,800	5,950	30.3±3.88	
流水区	43,600	21.7 (18.9-22.3)	47	18,000	4,500	31.2±3.59	
止水区 <sup>1)</sup>	41,500	22.0 (21.7-22.4)	36	40	10	20.9±2.80	0.1

- 1) 試験開始後 35~36 日目に 6,900 尾が死亡し、ほとんど全滅したため飼育を中止した。  
 2) *t* 検定の結果: \*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ .  
 3)  $\chi^2$  独立性の検定の結果: \*\*:  $p < 0.01$ .

く行わない止水区の合計 4 区を設けた (表 1)。供試魚には、2002 年 10 月 8 日に民間の種苗生産会社 (株式会社吉川水産) より入手したマダイ受精卵から得られたふ化仔魚を用い、循環ろ過-1 区では 41,600 尾、循環ろ過-2 区では 43,600 尾、流水区では 43,600 尾、止水区では 41,500 尾を収容し飼育を開始した。

**飼育条件** 飼育水温は、水槽内のチタン製熱交換器にて 22°C を維持するように調整した。各試験区の飼育用水には、急速ろ過器でろ過した海水を孔径 10  $\mu\text{m}$  のカートリッジフィルター (ADVANTEC: TCW-10N-PPDE) と 3  $\mu\text{m}$  のカートリッジフィルター (ADVANTEC: TCW-3N-PPDE) で 2 段階にろ過した海水 (以下、ろ過海水) を用いた。試験開始後 3 日目までは各試験区ともに換水または循環は行わなかった。循環ろ過-1 区と 2 区は、試験開始後 4 日目より循環ろ過を開始し、循環率は、当初の 1 回転/日から 7 日目には 1.5 回転/日、12 日目から 2 回転/日、23 日目から 3 回転/日とし、33 日目から試験終了 (試験開始後 47 日目) の間は 5 回転/日とした。循環ろ過区は、蒸発により減水した場合は水道水を、泡沫分離と底掃除により減水した水量をろ過海水で補充した。流水区は、ろ過海水の掛け流しによる換水率を循環ろ過区の循環率と同一に設定した。止水区は、換水は行わず、循環ろ過区同様に蒸発分を水道水で、底掃除により減水した分をろ過海水で補充した。

通気は、飼育水が環流するように水槽の 2 隅に設置したユニホースにより行い、マダイ仔魚の開鰓を促すため、試験開始後 5 日目から 9 日目の間は微通気とし、その後、仔魚の成長に合わせて適宜増加させた。また、同時に  $\phi 40 \text{ mm}$  の塩ビ製パイプをコの字型に組み合わせて作製した油膜除去装置を飼育水面に設置し、適宜飼育水表面の油膜を除去した。

水質の安定を図るため、貝化石 (フィッシュグリーン: 株式会社グリーン・カルチャ) を受精卵収容前に 2 kg、試験開始後 7 日目からは毎日各飼育水槽に 80~200 g ずつ散布した。

底掃除には、 $\phi 13 \text{ mm}$  の塩ビ製のサイフォンを用い、試験開始後 20 日目までは行わず、21 日目以降より 1 週間に 2 回、35 日目以降は毎日水槽底面の残餌や排泄物の堆積物を除去した。

**給餌** 餌料として L 型ワムシ (小浜株) を試験開始後 1 日目から 30 日目の間、アルテミア幼生を試験開始後 20 日目から 44 日目の間、マダイ用配合飼料 (オリエンタル酵母工業株式会社) を試験開始後 26 日目から試験終了時の間給餌した。

L 型ワムシは、1 kl アルテミアふ化槽 2 面を用いて、水道水で 80% に希釈した海水を使用し、800~1,700 個体/ml の密度で培養したものを用いた。ワムシの餌料には、スーパー生クロレラ V12 (クロレラ工業株式会社) を 1 日にワムシ 1 億個体当たり 300 ml 添加して培養槽内で同時に栄養強化も行った。収穫したワムシは、ろ過海水で十分洗浄した後、飼育水中のワムシ密度が 5 個体/ml となるように給餌した。ワムシの給餌期間中はスーパー生クロレラ V12 を水道水で 100 倍に希釈した後、飼育水中のクロレラ密度が 50 万セル/ml となるように、 $\phi 4 \text{ mm}$  のビニールホースで少量ずつ添加した。

アルテミア幼生は、200 l アルテミアふ化槽に収容し、パワッシュ A (オリエンタル酵母工業株式会社) を 75 ml/kl の割合で添加して 16~22 時間栄養強化した後、ろ過海水で洗浄し給餌した。循環ろ過区と流水区の給餌量は、試験開始後 20 日目から 30 日目の間は 100~900 万個体/日、31 日目から 39 日目の間は 1,600~2,000 万個体/日、40 日目から試験終了時の間は 900~1,600 万個体/日である。また止水区では、試験開始後 20 日目から 30 日目の間は 100~450 万個体/日、31 日目から 35 日目の間は 700~800 万個体/日である。

配合飼料は、自動給餌器を用いて 1 日に 10 回に分けて給餌した。循環ろ過区と流水区の給餌量は、試験開始後 26 日目から 30 日目の間は 30~70 g/日、31 日目から 40 日目の間は 100~250 g/日、41 日目から試験終了時の間は 270~330 g/日である。また止水区では、試験開始後 26 日目から 30 日目の間は 30~70 g/日、31 日目から 35 日目の間は 80~90 g/日である。

**生残と成長の推定** 飼育期間中の生残尾数は、試験開始後 6, 9, 12, 16 日目に夜間に柱状サンプリングし、容量法で推定し、試験終了時には、全数を取り揚げ、重量法で推定した。また、7 日ごとに 27~40 尾を無作為にサンプリングして全長を測定した。

**水質測定と生菌数の計数** 各試験区の飼育水の水質の測

定項目は、水温、pH、溶存酸素飽和度、アンモニア態窒素濃度、亜硝酸態窒素濃度、硝酸態窒素濃度であり、これらをpHはpHメーター (HORIBA: F-22)、溶存酸素飽和度はDOメーター (YSI: Model55)、アンモニア態窒素濃度はアンモニアメーター (Orion: EA940)、亜硝酸態窒素濃度と硝酸態窒素濃度はDR/2000 (HACH)を用いて、それぞれジアゾ化法、カドミウム還元法で測定した。また、循環ろ過区では閉鎖循環システム内の各処理工程の水質変化を把握するため、溶存酸素飽和度、アンモニア態窒素濃度、および亜硝酸態窒素濃度を測定した。採水位置は、飼育水、飼育水槽から受水槽への注水 (以下、物理ろ過前)、受水槽から生物ろ過槽への注水 (以下、物理ろ過後)、飼育水槽への注水 (以下、生物ろ過UV後)とした (図1)。

各試験区の飼育水中の一般細菌数とビブリオ属細菌数を計数するために試験開始後1, 9, 22, 35, 43日目に飼育水を採水した。採水位置は、循環ろ過区では閉鎖循環システム内の細菌数の変化を把握するため、飼育水、物理ろ過前、泡沫処理装置から受水層への注水 (以下、泡沫処理後)、生物ろ過UV後とした (図1)。採水した海水を原液として、滅菌海水で10段階希釈し、市販のMARINE AGAR 2216培地 (DIFCO) と塩化ナトリウムを添加して塩分濃度を2%に調整したTCBS培地 (DIFCO) に各希釈液の0.1 mlをコンラージ棒を使って接種し、23°Cに設定した恒温槽内で3日間培養した。発育してきたコロニーを計数し、希釈段階から当初の菌数を求めた。MARINE AGAR 2216培地によって得られた菌数を一般細菌数、TCBS培地によって得られた菌数をビブリオ属細菌数とした<sup>4)</sup>。

**形態異常魚の調査** 全長30 mmサイズでは観察による形態異常魚の確認は難しいため、形態異常魚が区別できる全長90 mmを超えるまで飼育し、形態異常魚の調査を行った。調査は、以下の方法で行った。飼育水槽には、5 k/FRP水槽 (実水量4 k) 3面を用い、試験終了後の種苗を循環ろ過区と流水区ではそれぞれ500尾、止水区では40尾を試験区ごとに分けて収容した。飼育水温は、水槽内のチタン製熱交換器にて22°Cに調整し、マダイ用配合飼料を給餌して100日間飼育した。生残魚の中から循環ろ過区では103尾、流水区では100尾、止水区では31尾をサンプリングし、外部形態の観察を肉眼で行い、形態異常魚と正常魚に区分した。

**閉鎖循環システムの硝化能力の測定** 閉鎖循環システムの硝化能力は、飼育試験開始直前 (閉鎖循環システムの運転開始1カ月後) と終了後 (閉鎖循環システムの運転開始3カ月後) に以下の方法で測定した。システム内の飼育水を全量新しいろ過海水に交換した後、飼育水槽内にアンモニア態窒素の濃度が3~8 ppmとなるように塩化アンモニウムを添加して5回転/日の循環ろ過を行い、24時間後に飼育水中のアンモニア態窒素濃度を測定した。閉鎖循環システムのアンモニア態窒素の硝化能力

は、便宜的に以下の式で求めた。

$$\text{硝化能力 (mg/h)}: \text{塩化アンモニウム添加時と} \\ \text{24時間後のアンモニア態窒素濃度の差 (mg/l)} \\ \times \text{システムの総水量 (l)} / \text{24時間 (h)}$$

**循環ろ過区と止水区の換水率の算出** 両区は換水を行わなかったが、底掃除と泡沫分離の排水量と同量分のろ過海水を添加した。このため、1日当たりの換水率は、以下の式で求めた。

$$\text{換水率 (\%)}: \text{注水したろ過海水量の累計 (kl)} / \\ \text{システム全体の総水量 (kl)} / \text{飼育日数 (日)} \times 100$$

## 結 果

**生残と成長** 生残率は、試験開始後12日目の循環ろ過-1区では52.2%、循環ろ過-2区では70.5%、流水区では61.5%、止水区では34.5%、16日目の循環ろ過-1区では65.9%、循環ろ過-2区では44.3%、流水区では42.0%、止水区では29.4%と推定された (図2)。計数日によって生残尾数の推定値に変動はあるものの、各試験区とも16日目までに生残率の低下が見られ、特に止水区が生残率の低下は顕著であった。試験終了時の生残率は、循環ろ過-1区では67.8%、循環ろ過-2区では54.6%、流水区では41.3%であり、16日目以降は、大きな生残率の低下は見られなかった (表1, 図2)。また、循環ろ過-1区と2区が生残率は、流水区が生残率より有意に高かった ( $p < 0.01$ )。一方、止水区では試験開始後34日目に表層を力なく遊泳する個体が見られ始め、35日目から36日にかけて6,900尾が死亡して生残尾数は40尾 (生残率0.1%)となり、ほぼ全滅した。

平均全長は、試験開始後19日目までは各試験区間で有意な差はなかったが、27日目の循環ろ過-1区では11.04 mm、循環ろ過-2区では11.08 mm、流水区では11.85 mm、止水区では11.12 mmであり流水区平均全長は、循環ろ過-1区と2区と比較し有意に大きくなり ( $p < 0.05$ )、33日目の循環ろ過-1区では15.16 mm、循環ろ過-2区では15.13 mm、流水区では16.97 mm、止水区では17.81 mmであり流水区と止水区平均全長は、循環ろ過-1区と2区と比較し有意に大きく、また、止水区平均全長は、流水区と比較し有意に大きくなった ( $p < 0.05$ )。試験終了時の平均全長は、循環ろ過-1区では28.50 mm、循環ろ過-2区では30.34 mm、流水区では31.18 mmであり流水区平均全長は、循環ろ過-1区平均全長と比較し ( $p < 0.01$ )、循環ろ過-2区平均全長は、循環ろ過-1区と比較し ( $p < 0.05$ ) 有意に大きくなった (表1, 図2)。

**水質の変化** pHは、循環ろ過-1区と2区では試験開始後3日目から5日目にかけて8.0から7.8まで低下し、その後、26日目までは7.8~7.7の範囲で変動したが、それ以降は急激に低下し試験終了時には7.2となった (図3)。流水区では試験開始後3日目までは7.9前後を維持

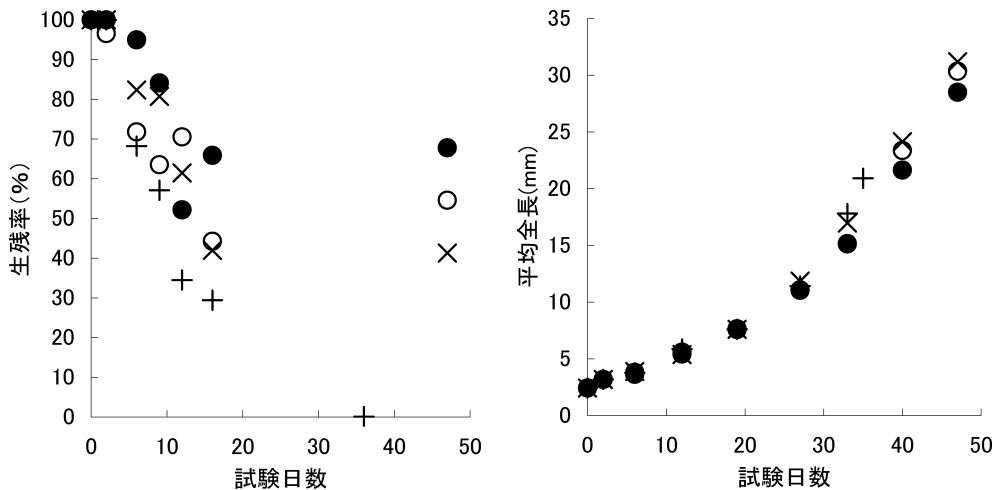


図2. 閉鎖循環飼育試験における各試験区の生残と平均全長  
 ●: 循環ろ過-1区, ○: 循環ろ過-2区, ×: 流水区, +: 止水区.

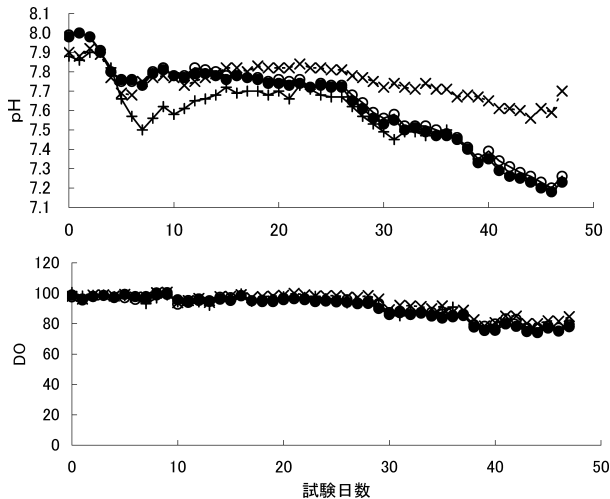


図3. 閉鎖循環飼育試験における各試験区のpHとDOの推移  
 ●: 循環ろ過-1区, ○: 循環ろ過-2区, ×: 流水区, +: 止水区.

したが、4日目から6日目にかけて7.7まで低下した。その後36日目までは7.8~7.7の範囲で変動し、それ以降、徐々に低下し44日目には7.5となった。止水区では試験開始後7日目に7.5まで低下したが、その後26日目までは7.7前後を維持し、それ以降は循環ろ過-1区と2区と同様な値であった。

溶存酸素飽和度は、各試験区とも試験開始後29日目までは90%以上を維持していたが、その後徐々に低下し、試験終了時には循環ろ過-1区、2区、流水区とも80%前後まで低下した(図3)。止水区では試験開始後35日目には87%まで低下した。

アンモニア態窒素濃度は、循環ろ過区-1区と2区では試験開始後30日目までは0.3ppm以下であったが、37日目には0.9~1ppmに上昇し、その後徐々に低下し試験終了時は0.6ppmとなった(図4)。流水区では試験開始後26日目までは循環ろ過-1区と2区と同様に推移し

たが、それ以降は循環ろ過-1区と2区ほどの上昇は見られず、試験期間を通して0.5ppm以下であった。止水区では試験開始後、徐々に上昇し、28日目には10ppmまで上昇したが、その後低下し、36日目には9ppmとなった。

亜硝酸態窒素濃度は、循環ろ過-1区と2区では試験開始後28日目までは0.2ppm以下であったが、それ以降急激に上昇し、試験終了時は3.9ppmとなった(図4)。流水区では、試験期間を通して0.1ppm以下であった。止水区では試験開始19日以降急激に上昇し、36日目には4.3ppmに達した。

硝酸態窒素濃度は、循環ろ過-1区と2区では、試験開始30日以降上昇し、試験終了時には31ppmとなった(図4)。流水区では、ほとんど上昇は見られず2ppm以下を維持した。止水区では試験開始後徐々に上昇し、36日目には5.4ppmとなった。

**生菌数の動向** 飼育水中の一般細菌数は、ふ化直後の試験開始後1日目では各試験区ともに $10^4$  CFU/ml程度であったが、ワムシの給餌開始後の9日目では急激に増加し、各試験区ともに $10^6$ ~ $10^7$  CFU/mlであった(図5)。その後は $10^5$ ~ $10^7$  CFU/mlの範囲で変動した。ビブリオ属細菌数は、試験開始後1日目では、いずれの試験区においても検出されなかったが、9日目では $10^3$ ~ $10^5$  CFU/mlまで急増し、その後は各試験区ともに $10^2$ ~ $10^5$  CFU/mlの範囲で変動した。

**閉鎖循環システム内の各処理工程の水質変化** 各処理工程でのアンモニア態窒素濃度は、試験開始後12日目の物理ろ過前では0.157ppm、物理ろ過後では0.123ppm、生物ろ過UV後では0.047ppm、23日目の物理ろ過前では0.124ppm、物理ろ過後では0.089ppm、生物ろ過UV後では0.041ppm、33日目の物理ろ過前では0.446ppm、物理ろ過後では0.310ppm、生物ろ過UV後では0.241ppm、44日目の物理ろ過前では0.561ppm、物理ろ過後では0.245ppm、生物ろ過UV後では0.225ppmであり、

物理ろ過工程と生物ろ過工程で低下した(図6)。また、物理ろ過前と後のアンモニア態窒素濃度の差は、試験開始後12日目では0.034 ppm、23日目では0.035 ppm、33日目では0.136 ppm、44日目では0.316 ppmであり、試験日数が経過するに従い、アンモニア態窒素の減少量が

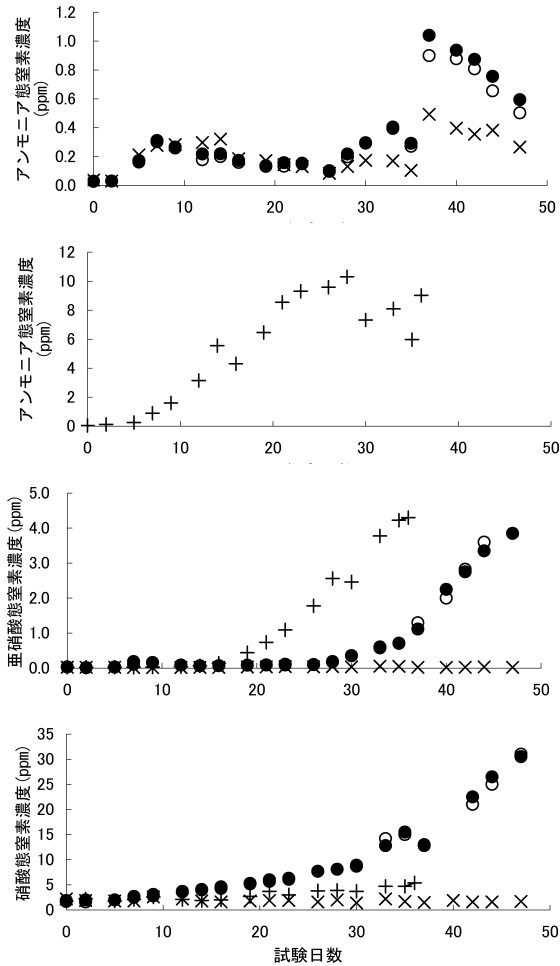


図4. 閉鎖循環飼育試験における各試験区のアンモニア態窒素濃度、亜硝酸態窒素濃度および硝酸態窒素濃度の変化  
●: 循環ろ過-1区, ○: 循環ろ過-2区, ×: 流水区, +: 止水区.

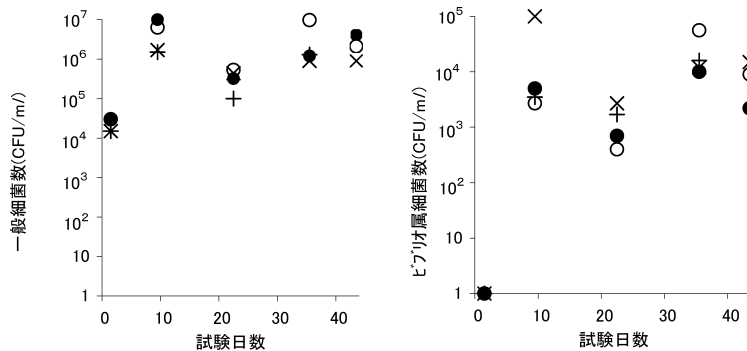


図5. 閉鎖循環飼育試験における各試験区の飼育水中の細菌数の変化  
●: 循環ろ過-1区, ○: 循環ろ過-2区, ×: 流水区, +: 止水区.

大きくなる傾向が見られた。

亜硝酸態窒素濃度は、試験開始後12日目の物理ろ過前では0.087 ppm、物理ろ過後では0.138 ppm、生物ろ過UV後では0.075 ppm、23日目の物理ろ過前では0.092 ppm、物理ろ過後では0.138 ppm、生物ろ過UV後では0.086 ppm、33日目の物理ろ過前では0.665 ppm、物理ろ過後では0.795 ppm、生物ろ過UV後では0.620 ppm、44日目の物理ろ過前では3.500 ppm、物理ろ過後では4.225 ppm、生物ろ過UV後では3.600 ppmであり物理ろ過工程で上昇し、生物ろ過工程で低下した(図6)。

溶存酸素飽和度は、試験開始後42日目の物理ろ過前では93%、物理ろ過後では97%、生物ろ過UV後では74%、43日目と44日目の物理ろ過前では83~86%、物理ろ過後では92~93%、生物ろ過UV後では69~73%であり物理ろ過後は上昇するが、生物ろ過後には生物ろ過前の80%程度に低下した(図7)。

一般細菌数は、試験日数にかかわらず、物理ろ過前では $3.1\sim 8.2\times 10^6$  CFU/mlであったが、泡沫処理後では1オーダー近く減少し $1.7\sim 5.0\times 10^5$  CFU/mlとなり紫外線殺菌後では $1.7\times 10^2\sim 3.1\times 10^3$  CFU/mlに減少した(図8)。ビブリオ属細菌数は、物理ろ過前では $3.9\times 10^3\sim 3.3\times 10^4$  CFU/mlであったが泡沫処理後では1オーダー近く減少し $9.0\times 10^2\sim 4.4\times 10^3$  CFU/mlとなり紫外線殺菌後では検出限界以下となった。

**形態異常** 100日間継続飼育した後の飼育方法が異なるマダイ稚魚における形態異常魚の出現割合は、循環ろ過区では7.8%、流水区では8.0%、止水区では9.7%であり試験区の違いにより有意な差はみられなかった(表2,  $p>0.05$ )。出現した形態異常の主なタイプは、脊椎湾曲、短軀、前頭部変形であった<sup>3)</sup>。

**閉鎖循環システムの硝化能力** 飼育試験開始時と終了時の閉鎖循環システムにおけるアンモニア態窒素の硝化能力を測定した結果、アンモニア態窒素の硝化能力は、試験開始時は183.3 mg/hで、一方、試験終了時は1,379.2 mg/hであり、終了時と開始時では7.5倍の差異があった(表3)。

**閉鎖循環飼育での1日当たりの換水率** 泡沫分離排水、

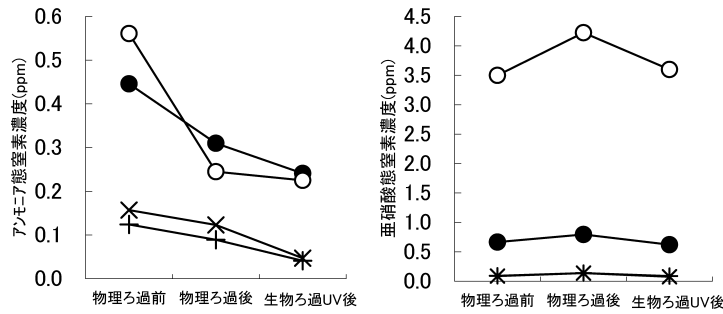


図 6. 閉鎖循環システムの各工程におけるアンモニア態窒素濃度と亜硝酸態窒素濃度の変化  
×: 試験開始後 12 日目, +: 試験開始後 23 日目, ●: 試験開始後 33 日目, ○: 試験開始後 44 日目。

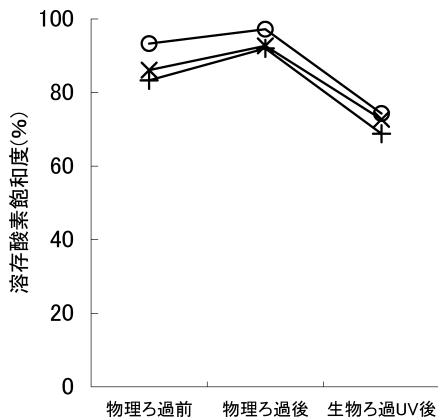


図 7. 閉鎖系循環システムの各工程における溶存酸素飽和度の推移  
○: 試験開始後 42 日目, +: 試験開始後 43 日目,  
×: 試験開始後 44 日目。

底掃除の排水の補充のために循環ろ過-1区と2区に注水したろ過海水の総量は、4,500 l (47 日間の累計) であり、システム全体の総水量は 9,000 l であるので、1日当たりの閉鎖循環システムの換水率は 1.1% であった。同様に止水区は、注水したろ過海水の総量は 900 l (36 日間の累計) であり、飼育水槽の実水量 4,000 l に対して、1日当たりの換水率は 0.6% であった。

## 考 察

**閉鎖循環システムによる種苗生産** 循環型養殖システムの研究は、主に北西ヨーロッパと北アメリカで急速に進められており<sup>6)</sup>、スウェーデンでは 80 t/年の生産が可能なヨーロッパウナギの養殖システムが稼動しており、デンマークでも年間 950 t のナマズが循環ろ過方式で生産されている<sup>7)</sup>。わが国の海産魚の養殖分野では、閉鎖循環システムを用いてヒラメやペヘレイで飼育試験が行われている<sup>8-10)</sup>が、生物餌料を使用する種苗生産の初期段階から閉鎖循環システムを用いて飼育試験が行われた事例はほとんどない。通常の循環式の高密度飼育システムでは、1日の換水率数%～十数%で養殖されるのが一般的であり<sup>11)</sup>、Tomoda *et al.*<sup>3)</sup> も閉鎖循環システムを用い

て新しい海水を1日に約 15% の割合で注水し、全長 9 mm サイズのマダイ仔魚の初期飼育に成功している。しかしながら、種苗生産コストの低減や疾病防除対策のためには、新しい海水を極力注水しない閉鎖循環システムの開発が必要であり、マダイの場合、一般的な種苗生産サイズである全長 30 mm サイズまで一貫して閉鎖循環システムで飼育を行うことができれば、事業規模の種苗生産への展開も可能と考えられる。このため、本試験では、蒸発、泡沫分離排水、底掃除排水の補充以外は注水を行わない種苗生産の可能性を検討した。

その結果、試験終了時の循環ろ過区の生残率は、54.6～67.8%と流水区を上回る成績を得ることができた(表 1)。止水区は、試験開始後 36 日目に大量死亡し、この時点で飼育水中のアンモニア態窒素濃度は 10 ppm、亜硝酸態窒素濃度は 4 ppm を超えており(図 4)、飼育魚の観察状況からも特に疾病の症状はないことから水質の悪化により死亡したと推察される。一方、循環ろ過区は、試験開始 30 日目以降、アルテミア幼生と配合飼料の給餌量がそれぞれ、1,600 万個体/日、100 g/日を超えた頃からアンモニア態窒素濃度、亜硝酸態窒素濃度、硝酸態窒素濃度ともに上昇し始め、最高時でアンモニア態窒素濃度は約 1 ppm、亜硝酸態窒素濃度は約 4 ppm、硝酸態窒素濃度は約 30 ppm まで上昇した(図 4)。しかし、止水区のような大量死亡は見られず、この濃度までであれば生残には影響しないと考えられた。平均全長は、試験開始後 19 日目までは各試験区で差は見られなかったが、その後流水区、止水区の平均全長は循環ろ過区よりも有意に大きくなり、試験終了時の流水区の平均全長は、循環ろ過-1区よりも有意に大きくなった(図 2)。一方、試験終了時の飼育密度は、循環ろ過-1区、循環ろ過-2区、流水区の順で高かった(表 1)。水質の影響を受けて死亡し飼育密度が最も低い止水区の 33 日目の平均全長は、流水区と循環ろ過区よりも有意に大きいことから、各試験区の平均全長の差は、水質の影響というよりも飼育密度の影響を受けた可能性が大きいと考えられる。また、各試験区の稚魚を 100 日間育成し形態異常について調査した結果、形態異常率は、循環ろ過区、流水区および止水区の間で有意な差は見られず(表 2)、飼育方法の違い

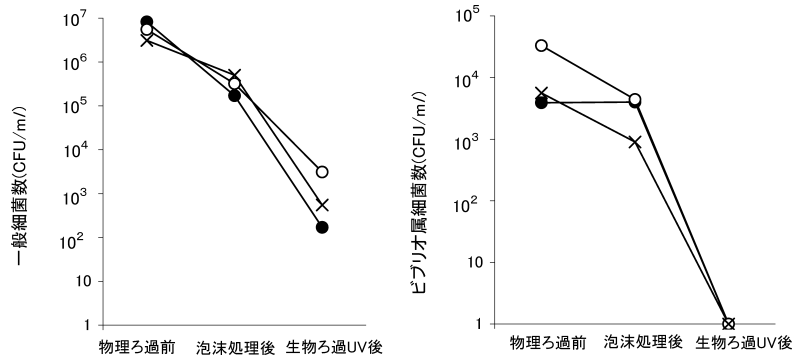


図 8. 閉鎖循環システムの各工程における細菌数の変化  
●：試験開始後 9 日目，○：試験開始後 35 日目，×：試験開始後 43 日目。

表 2. 飼育方法が異なるマダイ稚魚における形態異常魚の出現割合

試験区	形態異常魚の割合 <sup>1)</sup> (%)	調査尾数 (尾)	平均全長±標準偏差 (mm)
循環ろ過区	7.8	103	98.9±5.82
流水区	8.0	100	95.9±6.72
止水区	9.7	31	93.9±3.36

1)  $\chi^2$  独立性の検定の結果：各試験区間で有意差なし  
 $p > 0.05$ .

表 3. 飼育試験開始時と終了時の閉鎖循環システムにおけるアンモニア態窒素の硝化能力測定結果

	硝化能力* (mg/h)	アンモニア態窒素濃度 (mg/l)		
		添加時	24 時間後	システム 運転期間 (カ月)
飼育試験開始時	183.3	2.4	1.5	1
飼育試験終了時	1,379.2	7.8	1.2	3

\* 硝化能力：塩化アンモニア添加時と 24 時間後のアンモニア態窒素濃度の差×システムの総水量/24 時間。  
システムの総水量は 5,000 l.

が形態異常に及ぼす影響は少ないと考えられた。さらに、マダイの量産飼育を行っている独立行政法人水産総合研究センター伯方島栽培漁業センターの近年の飼育結果では、収容密度 1.8~2.3 万尾/kl、水温 20°C で流水飼育を行い、45~60 日間の飼育で平均全長 21.8~29.9 mm の種苗を生残率 51.9~63.3% で取り上げている<sup>12, 13)</sup>。本試験の循環ろ過区の収容密度は、1.0~1.1 万尾/kl、飼育水温は 22°C、47 日目の平均全長は 28.5~30.3 mm、生残率は 54.6~67.8% であり、飼育条件が違うので一概には比較できないが、伯方島栽培漁業センターの量産飼育の結果とほとんど変わらないと考えられる。以上のように循環ろ過区では、流水区ならびに量産規模での飼育と同等の結果が得られたことから、本閉鎖循環システムで 1 日当たりの換水率は 1.1% とほとんどろ過海水を注水せずに種苗生産サイズである全長 30 mm までのマダイの種苗生産が可能であることが明らかとなった。

### 飼育水の水質変化

**pH の動向** pH が 6 以下になるとアンモニアの硝化が阻害されることが知られており<sup>14)</sup>、対策として pH 調整のためにサンゴ砂やカキ殻などがシステム内に投与されている。本試験でも、pH 低下対策として、ろ過材にサンゴ砂を用いたほか、貝化石を毎日飼育水槽内に散布した。結果的には、循環ろ過区の pH は、試験中 7 以上を維持し (図 3)、pH 低下による硝化作用への影響は少なかったと考えられる。貝化石を飼育水槽へ添加する効果については、水槽底に沈殿した貝化石粒子に硝化細菌が付着、増殖することにより、アンモニア態窒素を硝化する作用が認められている<sup>15)</sup>ほか、飼育初期において環境変動の低減効果もあることが報告されている<sup>16)</sup>が、pH 調整効果については今後検討する必要がある。一方、pH の上昇によりアンモニア態窒素は、毒性が高い非解離状態の割合が増加することが知られており、pH 8.5 から 10 にかけて非解離のアンモニアの割合が急激に増加する<sup>17)</sup>。そのため、アンモニア態窒素が蓄積した海水の pH を過度に上昇させることは供試魚にとって極めて危険である。今回の飼育試験中の pH の変動範囲 (7.1~8.0) では、非解離のアンモニアの割合は、10% 以下と少ないことから<sup>17)</sup>、アンモニアの毒性に関しては安全な範囲であると推察された。

**溶存酸素の動向** 試験後半に窒素負荷が大きくなったときのシステム内の溶存酸素飽和度の変化を見ると、物理ろ過後 90% 前後あった溶存酸素飽和度が生物ろ過後には約 20% 低下して 70% 前後となった (図 7)。溶存酸素の減少量は、生物ろ過による海水浄化量の指標となることが報告されており<sup>18)</sup>、生物ろ過槽で硝化が盛んに行われていることがうかがえた。しかし、これ以上に窒素負荷がかかった場合には、硝化による酸素消費量がさらに多くなり、その結果、飼育水の溶存酸素濃度の低下を招くおそれがある。本試験での循環ろ過区の飼育水中の溶存酸素飽和度は 75% 以上を維持したが (図 3)、これ以上の溶存酸素濃度の低下は、硝化能力を低下させる影響<sup>17, 19)</sup>のみならず、供試魚の生残などに影響をもたらす可能性があるため、生物ろ過装置内での酸素通気の検討

も必要である。

**3 態窒素の動向** アンモニア態窒素濃度の変化を見ると、試験開始後 37 日目にピークに達した後、徐々に低下し、亜硝酸態窒素濃度は、30 日目を以降上昇し続けている (図 4)。河合ら<sup>20)</sup>は、水温 22°C で、ろ過材中のアンモニア酸化細菌数は約 1 カ月、亜硝酸酸化細菌数は約 2 カ月で最大値に達し、平衡を保つようになることを報告している。また、閉鎖循環システムにおけるアンモニア態窒素の硝化能力測定結果では、閉鎖循環システムの運転期間が 1 カ月より 3 カ月と長い方がアンモニア態窒素の硝化量が多いことから (表 3)、本試験開始時には、ろ過材中のアンモニア酸化細菌、亜硝酸酸化細菌の増殖が十分でなかったため、配合飼料の給餌量が多くなった試験後半に窒素負荷が大きくなり、アンモニア態窒素濃度、亜硝酸態窒素濃度とも上昇したのではないかと考えられる。Tomoda *et al.*<sup>3)</sup> の試験においても飼育試験開始時のろ過材の熟成期間は約 2 週間と短かったため、試験初期にアンモニア態窒素と亜硝酸態窒素の蓄積が見られており、飼育水の水質を良好に維持するためには、飼育試験開始時に十分に熟成したろ過材を用いる必要性が示唆された。

硝酸態窒素については、ヒラメの幼魚の閉鎖循環飼育では 800~900 ppm 前後で 2 週間飼育した場合、成長に影響が現れることが報告されている<sup>21)</sup>。本試験では、試験終了時に循環ろ過区で約 30 ppm まで上昇したが (図 4)、成長に大きな影響は認められなかったことから、この濃度まではマダイ稚魚に影響がないことがわかった。

**細菌数の変化** 各試験区ともにふ化直後は飼育水槽内での細菌の数は少ないが、ワムシの給餌とともに、急激に一般細菌数、ビブリオ属細菌数とも増加し、その後、一般細菌数は  $10^6 \sim 10^7$  CFU/ml、ビブリオ属細菌数は  $10^4 \sim 10^5$  CFU/ml 程度を維持した (図 5)。循環ろ過区と流水区の飼育水中の細菌数の変化は、止水区とほとんど変わらなかったことから、いったん飼育水槽内で細菌が増殖すると 5 回転/日程度の流水、あるいは循環ろ過では飼育水中の細菌数を減らすことは困難であると考えられた。飼育水中の細菌の増殖は、生物餌料や飼育魚の排泄物による影響が大きいと考えられ、疾病を防除するためには給餌する生物餌料の管理が重要と考えられた。

**システムの機能** 47 日間の飼育で生物ろ過槽の目詰まりはほとんどなく、泡沫分離装置で懸濁性有機物が有効に除去されていたと考えられる。また、泡沫分離後の海水中の一般細菌数、ビブリオ属細菌数とも泡沫分離前の 1/10 程度に減少しており (図 8)、泡沫分離装置は、丸山ら<sup>22)</sup>が報告しているように細菌の除去にも有効と考えられた。しかし、前述したように飼育水中の細菌数を減らす効果は認められなかった。

各工程での硝化作用について見ると、丸山ら<sup>22, 23)</sup>によれば泡沫分離法では、アンモニア態窒素はほとんど除去できないと報告しているが、本試験では、試験後半に物

理ろ過工程でアンモニア態窒素の硝化量が多くなっている (図 6)。本システムの物理ろ過工程では、飼育水槽と泡沫分離装置の間の受水槽にプレフィルターを設置しており、そこに増殖したアンモニア酸化細菌により試験後半にアンモニアの硝化が行われていたのではないかと推察される。一方、亜硝酸態窒素に関しては、生物ろ過工程でよりいっそう減少する傾向が見られたが、各工程における硝化細菌の動向、硝化能力などについては、今後さらに検討が必要である。

**今後の課題** 本試験では、約 1 万尾/kl の飼育密度でマダイを収容し、30 mm サイズで飼育密度 6,000~7,000 尾/kl、55~68% の高い生残率で種苗を取り上げることができた。今後はこのシステムでの適正な飼育魚の収容量を明らかにする必要がある。また、今回の試験では、生物ろ過槽の熟成期間が十分でなく、飼育後半にアンモニア態窒素濃度と亜硝酸態窒素濃度が上昇したことから適切な生物ろ過槽の熟成期間の検討も必要である。中間育成などで大型サイズまで閉鎖循環飼育を行う場合は、窒素負荷が今回の試験よりも大きくなることが予想され、アンモニア態窒素と亜硝酸態窒素の蓄積によって生残に悪影響を及ぼす可能性があることから、閉鎖循環システムの硝化能力をさらに高めることが必要である。本閉鎖循環システムでは、生物ろ過槽の容量 (300 l) は、全システム容量 (約 9,000 l) の 3.3% と小型化を図っている。種苗生産コストの低減を図るためには、生物ろ過槽の容量は変えずに硝化能力を高めることが望ましい。今後、適正な循環ろ過率およびろ過材などについてさらなる検討が必要である。

睦谷ら<sup>2)</sup>は、循環ろ過システムを用いたオニオコゼの種苗生産で飼育水槽内のストレーナーで生物餌料を飼育水槽内に残したまま循環ろ過を行うことにより、餌料コストの低減を図っている。本閉鎖循環システムでは、生物餌料を含んだ飼育排水を受水槽内のプランクトンネットで採取し取り除いており、システム全体の循環ろ過率を高くすると、飼育水槽内から流出する生物餌料が多くなる。今後、餌料コストの削減対策として、回収した生物餌料の再利用についても検討する必要がある。

## 謝 辞

本論文を取りまとめるに当たり、多大なご指導をいただいた屋島栽培漁業センター岩本明雄場長に深謝いたします。また、試験にご協力いただいた屋島栽培漁業センターの職員の方々に厚くお礼申し上げます。

## 文 献

- 1) 水産庁栽培養殖課 (1998) 環境創出型養殖技術の開発。養殖, 5, 38-40.
- 2) 睦谷一馬・中瀬玄德・柳 秀林 (2001) オニオコゼの種苗

- 生産に関する研究—II 流水飼育と循環ろ過飼育. 栽培技  
研, **29**, 1-7.
- 3) TOMODA, T., H. FUSHIMI, and H. KUROKURA (2005) Per-  
formance of a closed recirculation system for larviculture  
of red seabream, *Pagrus major*. *Fisheries Sci.*, **71**, 1179-1181.
  - 4) 山野井英夫・惣明睦枝・室賀清邦 (1998) ワムシのニフル  
スチレン酸ナトリウム浴の効果持続時間と栄養強化剤の影  
響. 水産増殖, **46**, 141-144.
  - 5) 山本義久 (2001) ニシンの種苗生産技術. (社)日本栽培漁業  
協会栽培漁業技術シリーズ No. 7, pp. 52-58.
  - 6) van RIJN, J. (1996) The potential for integrated biological  
treatment systems in recirculating fish culture—A review.  
*Aquaculture*, **139**, 181-201.
  - 7) ROSENTHAL, H., and F. A. BLACK (1993) Recirculation  
systems in aquaculture, in “Techniques for modern aquacul-  
ture (ed. by Jaw-Kai Wang)”, American society of agricultur-  
al engineering, Michigan, pp. 284-294.
  - 8) HONDA, H., Y. WATANABE, K. KIKUCHI, N. IWATA, S.  
TAKEDA, H. UMEMOTO, T. FURUTA, and M. KIYONO  
(1993) High density rearing of Japanese flounder, *Paralich-  
thys olivaceus* with a closed seawater recirculation system  
equipped with a denitrification unit. *Suisanzoushoku*, **41**, 19-  
26.
  - 9) 丸山俊朗・鈴木祥広・佐藤大輔・神田 猛・道下 保  
(1999) 泡沫分離・硝化システムによるヒラメの閉鎖循環  
式高密度飼育. 日水誌, **65**, 818-825.
  - 10) 吉野博之・GRUENBERG, D. E.・渡部 勇・佐藤 修  
(1999) 閉鎖循環式養殖システムにおける脱窒. 水産増殖,  
**47**, 445-451.
  - 11) 鈴木祥広・丸山俊朗・竹本 進・小田リサ (1999) 泡沫分  
離・硝化システムによるウナギの閉鎖循環式高密度飼育.  
水環境学会誌, **22**, 896-903.
  - 12) 日本栽培漁業協会 (2002) 日本栽培漁業協会事業年報 (平  
成 12 年度). 日本栽培漁業協会, 東京, pp. 218-219.
  - 13) 日本栽培漁業協会 (2003) 日本栽培漁業協会事業年報 (平  
成 13 年度). 日本栽培漁業協会, 東京, pp. 252-255.
  - 14) TIMMONS, M. B., and T. M. LOSORDO (eds.) (1994) “Aqua-  
culture water reuse systems: engineering design and manage-  
ment”. Elsevier, Amsterdam, p. 333.
  - 15) 小金隆之・兼松正衛 (2004) 飼育水への貝化石の添加がク  
エの成長, 生残および水質に及ぼす影響. 栽培漁業セン  
ター技報, **2**, 17-21.
  - 16) 照屋和久 (2002) クエ種苗生産の初期減耗対策. 養殖, **2**,  
66-69.
  - 17) 菊池弘太郎・清野通康・本田晴朗・佐伯功 (1987) 水質浄  
化技術開発動向調査報告—高能率魚類生産技術と関連して  
—. 電力中央研究所報告, **U86028**, 1-25.
  - 18) 平山和次 (1965) 海産動物飼育海水の循環濾過式浄化法に  
関する研究—I. 濾過による海水浄化量の指標としての溶存  
酸素飽和度の減少量. 日水誌, **31**, 977-982.
  - 19) 植本弘明・菊池弘太郎・清野通康 (1991) 高能率魚類生産  
のための水質浄化技術の開発 (6)—海洋性硝化細菌の固定  
化とその有効性—. 電力中央研究所報告, **U90056**, 1-26.
  - 20) 河合 章・吉田陽一・木俣正夫 (1964) 循環濾過式飼育水  
槽の微生物学的研究—I. 魚の飼育に伴う水質ならびに微生  
物相の変化について. 日水誌, **30**, 55-62.
  - 21) 武田重信・本田晴朗・菊池弘太郎・岩田仲弘・清野通康  
(1990) 高能率魚類生産のための水質浄化技術の開発. 5. ヒ  
ラメの長期飼育時における水質変化. 電力中央研究所報  
告, **U90042**, 1-24.
  - 22) 丸山俊朗・奥積昌世・佐藤順幸 (1996) 循環式泡沫分離—ろ  
過システムによるヒラメ蓄養水の浄化. 日水誌, **62**, 578-  
585.
  - 23) 丸山俊朗・奥積昌世・佐伯和昭・嶋村 茂 (1991) 活魚輸  
送・蓄養における泡沫分離法の飼育海水浄化能. 日水誌,  
**57**, 219-225.



# ブリおよびヒラマサの種苗生産過程における ウイルス性腹水症の疫学調査

西岡豊弘\*<sup>1</sup>・塩澤 聡\*<sup>2</sup>・小金隆之\*<sup>3</sup>  
小磯雅彦\*<sup>4</sup>・虫明敬一\*<sup>5</sup>・有元 操\*<sup>5</sup>

## Occurrence of viral ascites in seed production of Japanese amberjack (*Seriola quinqueradiata*) and yellowtail amberjack (*S. lalandi*)

Toyohiro NISHIOKA, Satoshi SHIOZAWA, Takayuki KOGANE,  
Masahiko KOISO, Keiichi MUSHIAKE, and Misao ARIMOTO

Epidemiological studies of the occurrence of viral ascites (VA) on seed production for Japanese amberjack and yellowtail amberjack conducted at the Goto Station of the National Center for Stock Enhancement were carried out from 1987 to 2000. During this period, VA in Japanese amberjack and yellowtail amberjack occurred during eight and eleven of these years, respectively. It was clarified that water temperature during disease occurrence ranged from 22 to 24°C and that severe outbreak of VA was observed in individuals ranging from 20 to 200 mm in total length in both species. According to these studies, it was postulated that the major infection route of yellowtail ascites virus (YTAV), which is a causative agent of VA, is vertical transmission from broodstock to larvae via the eggs. Both the selection of spawners and the control of high water temperature (over 25°C) in seed production operations was effective as a countermeasure against VA.

2005年12月15日受理

1980年代初頭に西日本各地のブリ *Seriola quinqueradiata* 養殖場において、多数の稚魚が腹水の貯留による腹部の膨脹を主徴とする症状を呈して死亡した。その後、1983年には瀬戸内海の一産種苗生産場でも同様の症状による死亡が認められ、ウイルス学的な研究によりウイルス性腹水症 (viral ascites, 以下 VA) と名づけられた<sup>1,2)</sup>。原因ウイルスはビルナウイルス科の *Aquabirnavirus* 属に分類され、当初、YAV (yellowtail ascites virus) と命名されたが<sup>3)</sup>、現在では国際的命名法に従い YTAV と呼ばれている。

ブリ養殖場における YTAV の感染経路は、天然採捕

されたブリ稚魚がすでに本ウイルスに感染していることから、YTAV に感染したブリ稚魚を養殖場に持ち込むことによる水平伝播と考えられている<sup>4)</sup>。高知県浦の内湾のブリ養殖場における VA の発生状況では、5月下旬から6月中旬の水温が21~23°Cの時期に平均体重3.0~15.1 g の稚魚に発病することが報告されている<sup>5)</sup>。

一方、種苗生産場においては、種苗生産や中間育成においてしばしば高い死亡率を伴うため、ブリ種苗の計画的な生産に大きな障害となっている。YTAV の感染経路については、養成親魚の一部がウイルスあるいはウイルスの中和抗体を保有していることから、感染した親魚か

\*1 独立行政法人水産総合研究センター 上浦栽培漁業センター 〒879-2602 大分県佐伯市上浦大字津井浦 (Kamiura Staion, National Center for Stock Enhancement, Kamiura, Saiki, Oita 879-2602, Japan).

\*2 独立行政法人水産総合研究センター 奄美栽培漁業センター 〒894-2414 鹿児島県大島郡瀬戸内町大字俵字崎山原 955-5.

\*3 独立行政法人水産総合研究センター 屋島栽培漁業センター 〒761-0111 香川県高松市屋島東町 234.

\*4 独立行政法人水産総合研究センター 能登島栽培漁業センター 〒926-0216 石川県七尾市能登島曲町 15-1-1.

\*5 独立行政法人水産総合研究センター 栽培漁業部 〒220-6115 神奈川県横浜市西区みなとみらい 2-3-3 クイーンズタワー B 棟 15 階.

ら卵を介した垂直感染によって YTAV が仔魚へ伝播し、稚魚期に発病すると推定されている<sup>6)</sup>。しかし、種苗生産および中間育成における VA の発生状況に関する詳細な報告はない。

そこで、社団法人日本栽培漁業協会の時代を含め独立行政法人水産総合研究センター五島栽培漁業センター（以下、五島栽培漁業センター）が、1987 年から 2000 年までの 14 年間に取り組んできたブリおよびヒラマサ *S. lalandi* の種苗生産（陸上水槽）と中間育成（主に海面小割生簀）を含めた種苗生産過程における VA の発生状況について取りまとめた。その際、各年における親魚の養成条件（飼育年数、産卵誘発方法および採卵方法）と稚魚期での VA 発生の有無との関係について検討するとともに、VA が発生した飼育事例における種苗の発病サイズや発生水温（発生時期）に関する疫学的調査を実施した。本稿では、これらの疫学的調査の結果について報告する。

## 材料と方法

**親魚養成と産卵誘発** ブリでは、天然海域で漁獲された幼魚または成魚を五島栽培漁業センターの海面小割生簀（5 m×5 m×深さ 5 m；円形、直径 10 m）で 1~4 年間養成した親魚を用いた。また、ヒラマサ親魚については天然の幼魚および成魚のほかに、種苗生産した人工種苗を養成して試験的に採卵に供した事例もあった（表 1）。採卵に供した親魚の大きさ（魚体重）は、ブリおよびヒラマサでそれぞれ 4.2~14.9 kg および 2.8~9.1 kg であった。親魚は産卵期の約 2~4 カ月前に海面小割生簀から陸上水槽（コンクリート製、実容量 90 kl）へ収容し、飼育水温をブリでは 17~20°C、ヒラマサでは 17~22°C に調整した。親魚の成熟を促進するために、電灯（100 W または 500 W）を水槽内の水中または水面上に設置し、日没後 6 時間点灯する長日処理や生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン（gonadotropin-releasing hormone: GnRH, Sigma 製）では魚体重 1 kg 当たり 50~600 μg を投与する場合もあった。また、水槽内での産卵を誘発するために、ヒト胎盤性生殖腺刺激ホルモン（human chorionic gonadotropin: HCG, 帝国臓器製薬製）を魚体重 1 kg 当たり 450~1,000 IU 注射した。養成したブリおよびヒラマサの親魚は、毎年それぞれ 2~5 月および 4~6 月に産卵を誘発した。採卵は、ブリではホルモン注射による水槽内での誘発産卵あるいは人工授精（乾導法）により、また、ヒラマサではすべてホルモン注射による誘発産卵により行った。

**種苗生産と中間育成** ブリでは受精卵またはふ化仔魚（0, 1 または 2 日齢）を飼育水槽（コンクリート製、実容量 60 kl）に収容し、飼育水温を 19~22°C に維持して飼育した。ヒラマサでは同様の水槽にふ化仔魚（1 日齢）を収容し、飼育水温は 22~25°C とした。いずれの魚種にお

いても、溶存酸素濃度が 5 mg/l 以下にならないように、エアストーンを用い通気を施した。飼育初期は水質を安定させるためナンノクロロプシス *Nannochloropsis oculata* を添加した。開口直後（3 日齢）の仔魚には S 型ワムシ *Brachionus rotundiformis* あるいは L 型ワムシ *B. plicatilis* を給餌し、その後、仔魚の成長に合わせてアルテミアの幼生および市販の配合飼料（ヒノマル印初期飼料、日本水産（株）製；初期飼料協和、協和醗酵工業（株）製）を給餌した。1990 年以前の飼育では、これらの飼餌料のほかに夜間の灯火採集で得られた天然コペポーダ類（*Acartia* spp., *Oithona* sp., *Paracalanus* sp., *Tigriopus* sp., および *Euterpina* sp.）、アルテミア幼生を全長約 1.5~3 mm まで育成した養成アルテミア、培養したタマミジンコ、マダイやインダイの受精卵やふ化仔魚、マアジ、マサバおよびイカナゴを混合したミンチ肉を給餌した。

ブリでは平均全長が 25 mm に、ヒラマサでは 35 mm に達した時点で陸上水槽から取り揚げ、中間育成工程に移行した。取り揚げた稚魚は計数した後、海面小割生簀（4 m×4 m×深さ 3 m）に 1 小割生簀当たり約 7 千尾~2 万尾を目処に収容した。その後、稚魚の成長に合わせて適宜小割生簀の数を増やし、放流するまで中間育成を行った。いずれの魚種でも中間育成期間中は、市販の配合飼料（おとひめ、日清製粉製；マリンシリーズ、大洋漁業製）を成長に合わせて総魚体重の約 3~10% を目安に給餌した。なお、2000 年では、一部の稚魚を陸上水槽に設置した小割り生簀（4 m×3 m×深さ 1.8 m）で中間育成を行った。

1990 年以前の中間育成では、これ以外にオキアミ、イカナゴおよびマアジのミンチ肉を給餌した。

海面生簀での中間育成中は、稚魚の遊泳域の水温測定と水深 5 m における海水を採取し比重を測定した後、塩分濃度に換算した。

**VA の診断** 種苗生産あるいは中間育成で発生した死亡が YTAV に由来するか否かは、CHSE-214 細胞（マスノスケの胚由来細胞）<sup>7,8)</sup> を用いたウイルスの分離・培養およびポリメラーゼ連鎖反応（polymerase chain reaction: PCR）法による YTAV 遺伝子の検出<sup>9)</sup>により判定した。なお、1994 年のブリとヒラマサの飼育事例における死亡魚は、腹水の貯留による腹部の膨脹など本症に特徴的な症状<sup>1)</sup>の有無に基づき VA と判断した。しかし、ブリおよびヒラマサとも、各年の採卵に供した親魚における YTAV の感染あるいは血液中のウイルス中和抗体の保有の有無に関する調査は実施しなかった。

CHSE-214 細胞を用いた分離・培養では、種苗生産あるいは中間育成での死亡魚から無菌的に肝臓を摘出し、9 倍量の Hanks' BSS (HBSS) を加えて海砂とともに磨砕した。磨砕した後に遠心分離（1,000×g で 15 分間、4°C）し、その上清を 0.45 μm のメンブレンフィルターでろ過した。そのろ液を適量の HBSS で希釈し、あらかじめ 1 日間培養した CHSE-214 細胞に接種して 20°C のイン

キューベーター中で培養し、細胞変性効果 (cytopathic effect: CPE) の有無を確認した。

また、PCR 法による診断では、衰弱魚および死亡魚の肝臓を採取し、ISOGEN (日本ジーン製) を用いて常法に従ってウイルス RNA を抽出した。抽出した RNA は、0.1 % DEPC (diethyl pyrocarbonate, Sigma 製) 処理水に溶解し、Suzuki *et al.*<sup>9)</sup> の方法に準じて PCR 反応を行い、増幅産物の有無を確認した。なお、反応液の全量は 50  $\mu$ l とし、逆転写酵素には Super Script TM II (GIBCO BRL 製) を、また DNA ポリメラーゼには Takara EX Taq (宝酒造製) を用いた。

**加温飼育試験** 1995 年 6 月に種苗生産において、VA による死亡が認められた際のブリ稚魚 (平均全長 42.7 mm) を取り揚げ、無作為に試験区 (19,300 尾) と対照区 (18,000 尾) の 2 群に分け、それぞれ別の陸上水槽 (コンクリート製、実容量 60 kl) 内に設置した網生簀 (4 m  $\times$  3 m  $\times$  深さ 1.8 m) に収容した。飼育用水には砂ろ過海水を使用した。試験区では網生簀に収容した当初の 5 日間は自然水温 (21.4  $\sim$  21.9  $^{\circ}$ C) とし、その後、飼育水温を約 4  $^{\circ}$ C 上昇させて 26  $^{\circ}$ C まで加温し、以後はこの水温を維持した (図 1)。対照区は試験期間を通して自然水温 (21.4  $\sim$  23.7  $^{\circ}$ C) とした。観察期間は両区とも全体で 15 日間とし、試験期間中は市販の配合飼料を適量給餌し、死亡魚は毎日腹部膨脹の有無を観察し、計数しながら除去した。

## 結 果

**親魚養成と VA 発生との関係** ブリについて、親魚の由来、養成年数、年齢、体重、産卵誘発方法、採卵方法あるいは採卵時期などの養成条件の違いと種苗生産過程における稚魚での VA 発生の有無との関連性について検討した。しかし、いずれの親魚養成に関する項目においても、VA 発生の有無との間に特に関連性は認められなかった。一方、ヒラマサでも同様に、親魚の養成条件の違いと種苗生産過程での VA 発生の有無との間に関連性は認められなかった (表 1)。

**VA の発生状況** 今回疫学的調査を行った 1987 年から 2000 年までの 14 年間に、ブリでは種苗生産において 1988 年、1989 年および 1995 年の延べ 3 年で、また、中間育成においては 1987 年から 1996 年までの各年と 2000 年の延べ 11 年で発生が認められた (表 1, 2)。

ブリの種苗生産における VA の発生は、3 年間で計 12 回の飼育事例中 3 事例あり、発病時の稚魚の全長は 18  $\sim$  40 mm、体重は 0.1  $\sim$  0.9 g の範囲で、発生時の水温は 22  $\sim$  23  $^{\circ}$ C、発生時期は 5 月下旬  $\sim$  7 月上旬であった。死亡率は 4.2  $\sim$  94.1% と飼育事例により大きく異なった (表 2)。

また、中間育成では、11 年間で計 31 回の飼育事例中の 22 事例で VA が発生した。発病時の全長は 30  $\sim$  200

mm (体重 0.3  $\sim$  104.0 g)、水温は 16  $\sim$  28  $^{\circ}$ C、発生時期は 4 月上旬  $\sim$  8 月下旬であった。死亡率は 20% を超える事例もあったが、多くは数% 程度であった (表 2)。

一方、ヒラマサの種苗生産においては、1990 年および 1992 年における計 8 回の飼育事例のうち 6 事例で VA の発生が認められた (表 1, 3)。発病時の全長は 19  $\sim$  40 mm (体重 0.1  $\sim$  0.7 g) の範囲であり、飼育水温は 21  $\sim$  24  $^{\circ}$ C、発生時期は 6 月上旬  $\sim$  7 月上旬であった。死亡率は 34.6  $\sim$  92.1% と高い値を示した。また、中間育成では、1987 年から 1995 年までの 9 年間のうち 8 年間に発生があり、中間育成事例 20 例中 17 例で発病が認められた。発病時の全長は 30  $\sim$  160 mm (体重 0.5  $\sim$  41.0 g)、水温は 21  $\sim$  29  $^{\circ}$ C、発生時期は 6 月中旬  $\sim$  8 月中旬であった。死亡率は 0.4  $\sim$  60.1% の範囲であった。1994 年を除く発生事例では、いずれも腹部が膨脹した死亡個体から、CHSE-214 細胞で CPE の発現が認められ、YTAV が分離された。

なお、両魚種を主に中間育成する 5 月  $\sim$  8 月における海面の水深 5 m の塩分濃度は、32.5  $\sim$  37.1‰ の範囲であり、年により大きく変動することはなかった。

**加温飼育試験** 加温飼育試験における両区の生残率の経時的変化を図 1 に示した。両区とも、試験開始 5 日後までの日間死亡率は最大 0.2% であったが、加温処理区では 6 日後に 3.8% となり、死亡魚が急激に増加した。死亡魚は、VA の主徴である腹水の貯留による腹部の膨脹が顕著に認められたため、本症が発病したと判断された。この時点で加温処理区では直ちに加温により飼育水温を 26  $^{\circ}$ C に上昇させたところ、試験開始 7 日後には死亡魚は急激に減少し、日間死亡率は 0.45% に低下した。その後も日間死亡率は低下し、試験終了時 (= 試験開始 15 日後) の日間死亡率は 0.1% であった。加温処理区の試験終了時の生残率は 93.4% であった。

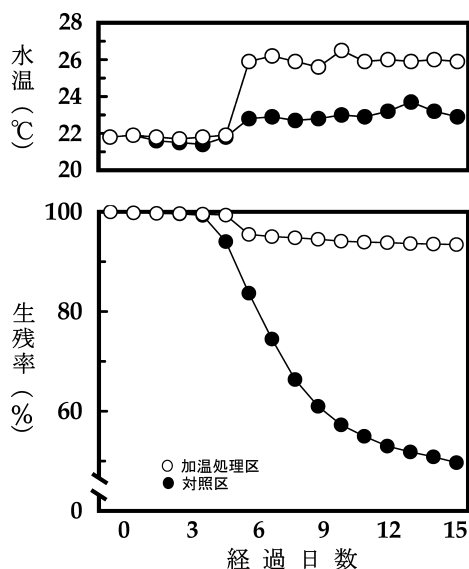


図 1. VA が発生したブリ稚魚の加温処理区と対照区の生残率と飼育水温の変化

表1. ブリおよびヒラマサの供試親魚と産卵誘発方法および稚魚におけるウイルス性腹水症の発生状況について

魚種	年	採卵に供した親魚				産卵誘発方法*2	採卵方法*3	採卵期間 (月日)	VA 発生の有無*4	
		由来*1	養成期間 (年)	年齢 (歳)	体重 (kg)				種苗生産	中間育成
ブリ	1987	天然	1~2	4~5	3.3~ 5.2	H	IS+AI	3.29~5.17	なし	あり
	1988	天然	1~3	5~7	7.1~14.6	H	IS+AI	4.6~5.16	あり	あり
	1989	天然	1, 3	4, 7	5.1~11.5	G+H	IS+AI	4.3~5.10	あり	あり
	1990	天然	2	5	6.7~13.9	G+H	IS	4.3~4.17	なし	あり
	1991	天然	1~2	4~5	4.0~ 9.4	G+H	IS	5.21~ 6.6	なし	あり
	1992	天然	1~3	4~7	6.5~ 9.8	H	IS	3.16~4.30	なし	あり
	1993	天然	2~4	5~7	6.6~11.6	H	IS	3.8~4.30	なし	あり
	1994	天然	1~3	4~6	6.9~11.4	G+H	IS	3.3~ 5.5	なし	あり
	1995	天然	1~2	4~5	8.1~11.7	H	IS+AI	3.4~ 5.8	あり	あり
	1996	天然	2	5	8.3~11.1	G+H	IS+AI	3.4~4.27	なし	あり
	1997	天然	2	5	7.0~ 9.0	G+H	IS	3.3~4.26	なし	なし
	1998	天然	1, 3	4, 7	7.9~12.4	H	IS	3.6	なし	なし
1999	天然	2	5	8.6~10.1	G+H	IS	2.14	なし	なし	
2000	天然	2~3	5~6	7.6~ 9.4	H	IS	2.4~2.12	なし	あり	
合計									3/14*5	11/14
ヒラマサ	1987	人工	3~4	3~4	6.8~ 9.1	H	IS	5.12~6.12	なし	あり
	1988	人工	4~5	4~5	4.4~ 9.0	H	IS	6.25, 7.3	なし	なし
	1989	人工	5	5	5.1~11.5	H	IS	5.13~6. 2	なし	あり
	1990	天然, 人工	2~3, 6	5~6, 6	4.3~10.5	G+H	IS	5.3~5.18	あり	あり
	1991	天然	2~4	4~6	4.7~ 9.3	G+H	IS	4.19~5.22	なし	あり
	1992	天然	1~3	4~6	5.6~12.5	H	IS	4.25~5.19	あり	あり
	1993	天然	3	6	12.9	H	IS	4.16	なし	あり
	1994	天然	2	5	4.6~ 7.4	H	IS	6.8	なし	あり
	1995	天然	4	7	13.6	H	IS	5.6	なし	あり
	1996	天然	3	6	7.6~12.0	H	IS	5.5, 5.12	なし	—*6
	1997	天然	2	5	3.8~ 6.2	H	IS	5.26	なし	—*6
	1998	天然	4	7	10.2~12.1	H	IS	6.1	なし	—*6
1999	天然	4	7	11.7	H	IS	4.30~5.18	なし	—*6	
2000	天然	1	4	8.0	H	IS	6.16	なし	—*6	
合計									2/14	8/9

\*1 天然: 天然魚を養成した親魚, 人工: 人工種苗生産魚を養成した親魚.

\*2 G: GnRH 投与, H: HCG 注射.

\*3 IS: 水槽内での誘発産卵 (induced spawning), AI: 人工授精 (artificial insemination).

\*4 VA 発生の有無は, 症状の観察, 細胞培養法あるいは PCR 法のいずれか, または組み合わせた方法で診断した (表2および3を参照).

\*5 種苗生産または中間育成過程における VA 発生事例数/種苗生産または中間育成の実施年数.

\*6 陸上水槽における種苗生産のみで, 中間育成は実施していない.

一方, 対照区では, 試験開始4日後までの日間死亡率は最大0.3%であったが, 5日後に5.3%となり, 6~8日後には10.9~11.0%と日間死亡率はピークに達し, 大量の死亡が認められた。死亡魚は, 加温処理区と同様に腹部の膨張が認められ VA により死亡したと判断された。その後は徐々に死亡尾数は減少したものの, 試験終了時においても日間死亡率は2.3%であった。対照区の試験終了時の生残率は49.7%であった。

## 考 察

**親魚養成と VA の発生** ブリでは, 種苗生産での YTAV の感染経路として, 採卵用親魚からふ化仔魚への垂直伝播が起きていると考えられている<sup>6)</sup>。そこで, ブリおよびヒラマサ親魚について, 養成条件である親魚の由来,

養成期間, 年齢, 体重および受精卵を得るための産卵誘発方法や採卵方法, 採卵期間と各魚種の種苗生産過程における VA の発生の有無について調査し, 稚魚における VA の発生を誘発もしくは抑制する親魚養成条件について検討した。しかし, 今回の調査では, いずれの項目においても稚魚での VA の発生の有無との間に関連性は認められなかった。しかし, このことから親魚の養成条件および産卵, 誘発方法が, VA の発生に関与していないとは言えず, 今後, 養成条件が親魚の血液中のウイルス中和抗体価やウイルス保有状況などに及ぼす影響について調査する必要があると考えられた。

**VA 発生時のサイズ** 両魚種ともに VA の発生件数としては, 表1に示されるように種苗生産よりも中間育成での発生頻度の方が高い結果であった。しかし, VA の発生事例における死亡率は, 両魚種ともに種苗生産, すな

表 2. ブリにおけるウイルス性腹水症の発生状況

工程	VA の発生が認められた					診断方法*1	死亡率 (%)	発生例数
	年	水温 (°C)	平均全長 (mm)	平均体重 (g)	時期			
種苗生産	1988	23	26~40	0.3~0.9	6月下旬~7月上旬	A+B	89.8	1/4*2
	1989	22	18~25	0.1~0.3	5月下旬~6月上旬	A+B	94.1	1/3
	1995	22~23	21	0.2	6月下旬~7月上旬	A+B	4.2	1/5
	合計	22~23	18~40	0.1~0.9	5月下旬~7月上旬		4.2~94.1	3/12
中間育成	1987	21~28	40~170	0.9~71.5	7月上旬~8月下旬	A+B	0.1	1/2
	1988	25~26	30~150	0.3~56.5	7月上旬	A+B	<0.1	1/2
	1989	22	50~130	1.7~32.9	6月下旬~7月上旬	A+B	1.3	1/5
	1990	20~27	50~100	1.7~13.2	6月上旬~7月上旬	A+B	4.6~10.0	2/2
	1991	20~25	60~100	3.1~13.2	6月下旬~7月中旬	A+B	0.2	4/4
	1992	21~28	110~200	17.7~104.0	6月下旬~7月下旬	A+B	7.0	3/3
	1993	22~25	60~110	2.0~9.8	7月上旬~7月中旬	A+B	8.0	2/2
	1994	24~28	92~145	10.8~39.7	7月下旬~8月上旬	A	不明	1/2
	1995	22~26	53~100	2.0~13.2	6月下旬~7月中旬	A+B	23.2	2/2
	1996	24~25	65~80	3.8~7.0	7月上旬~7月中旬	A+B	20.0	1/2
	2000	20~24	90~170	10.2~71.5	5月上旬~7月上旬	A+B+C	0.1	2/2
	2000*3	16~25	35~90	0.6~10.2	4月上旬~5月中旬	A+B+C	32.5	2/3
	合計	16~28	30~200	0.3~104.0	4月上旬~8月下旬		<0.1~32.5	22/31

\*1 A: 症状の観察, B: 細胞培養法, C: PCR 法.

\*2 VA 発生事例数/飼育事例総数.

\*3 陸上水槽での中間育成.

表 3. ヒラマサにおけるウイルス性腹水症の発生状況

工程	VA の発生が認められた					診断方法*1	死亡率 (%)	発生例数
	年	水温 (°C)	平均全長 (mm)	平均体重 (g)	時期			
種苗生産	1990	21~24	30~40	0.3~0.7	6月上旬~7月上旬	A+B	34.6~92.1	4/4*2
	1992	22~24	19~38	0.1~0.6	6月中旬~7月上旬	A+B	90.5	2/4
	合計	21~24	19~40	0.1~0.7	6月上旬~7月上旬		34.6~92.1	6/8
中間育成	1987	21~25	35~53	0.5~1.6	6月中旬~7月下旬	A+B	30.3~60.1	4/4
	1989	21~26	50~160	1.3~41.0	6月下旬~7月下旬	A+B	21.2	1/1
	1990	21~24	46~100	1.0~10.1	6月下旬~7月上旬	A+B	25.1~50.2	4/4
	1991	21~25	30~50	0.3~1.3	7月上旬~7月中旬	A+B	45.0	1/3
	1992	24	100	10.2	7月中旬~7月下旬	A+B	0.4	1/1
	1993	23~25	84~112	6.3~14.6	6月下旬~7月上旬	A+B	34.0	2/3
	1994	28~29	59~102	2.2~10.8	8月上旬~8月中旬	A	40.0	2/2
	1995	21~26	75~120	4.4~17.5	6月下旬~7月中旬	A+B	23.0	2/2
	合計	21~29	30~160	0.5~41.0	6月中旬~8月中旬		0.4~60.1	17/20

\*1 A: 症状の観察, B: 細胞培養法.

\*2 VA 発生事例数/飼育事例総数.

わち、小型個体での死亡率の方が著しく高い値を示した(表 2, 3)。VA の発症サイズについては、これまでの報告によれば、人為的に感染実験を行った場合、浸漬感染<sup>9)</sup>でも腹腔内接種<sup>10)</sup>でも体重 6 g までの種苗であれば、小型個体ほど YTAV に対する感受性が高いことが報告されている。また、天然種苗でも小型個体ほど YTAV の感染率が高かったと報告されている<sup>4)</sup>。今回の疫学調査の結果は、これらの知見とほぼ一致しており、YTAV に対する感受性が高い水温(時期)の防除対策について検討する必要があると考えられた。

**VA 発生時の水温(時期)** VA が発生した時の飼育水温は表 2 および 3 に示されるように、種苗生産ではブリお

よびヒラマサにおいて、それぞれ 22~23°C および 21~24°C であった。これらの水温範囲のうち、各魚種での発生事例において、VA の発生が集中して認められたのは、ブリで 22~23°C、ヒラマサでは 22~24°C であった。したがって、種苗生産においては水温 22~24°C の範囲で VA が最も発生しやすいと考えられた。

一方、中間育成では、ブリおよびヒラマサにおいて、それぞれ 16~28°C および 21~29°C の水温範囲で発生した。このうち、発生事例が集中したのはブリおよびヒラマサでそれぞれ 22~25°C および 23~25°C であった。したがって、中間育成においては水温 22~25°C の範囲で VA が最も発生しやすいと考えられた。

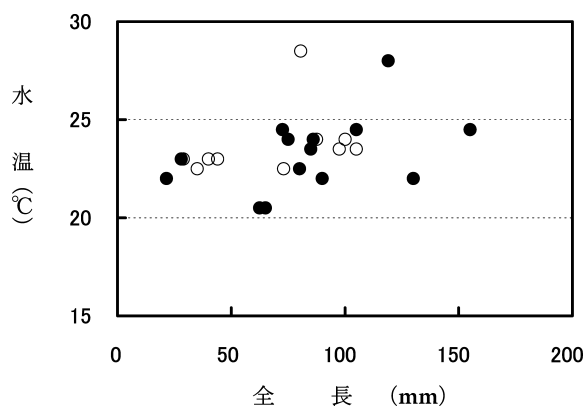


図2. ブリおよびヒラマサの種苗生産過程におけるVA発症時の全長と水温の関係  
●: ブリVA発症時の全長と水温の中央値, ○: ヒラマサVA発症時の全長と水温の中央値.

両魚種の種苗生産および中間育成におけるVAの発生事例について、発生時における全長の中央値と飼育水温の中央値の関係を図2に示す。両魚種間において、発病サイズに大きな差はなく、ブリとヒラマサでそれぞれ1事例ずつ27~28°Cの水温範囲での発生事例があった(図2)。しかし、その他の発生事例は、全長100mm以下の発生事例が多い傾向がみられるものの、すべて水温20~25°Cの範囲内で発生している。このことは、浸漬感染によりブリ稚魚にYTAVを感染させた結果、飼育水温が20°Cまたは25°CにおいてVAにより死亡するという実験結果<sup>1)</sup>とよく一致した。

**魚種間の感受性の違い** 種苗生産ではブリおよびヒラマサとも90%以上の個体が死亡する事例があり、VAの発生は、ブリのみならずヒラマサにおいても計画的な種苗生産を行う上で大きな障害の一つになりうると考えられた。また、中間育成では、ブリに比べてヒラマサの方が死亡率は高い事例が多かった。ブリとヒラマサとの間でYTAVに対する感受性を比較した報告はないが、全長50mmサイズの両魚種を $10^{5.8}$  TCID<sub>50</sub>/mlのウイルス液に60分間浸漬する感染実験を行ったところ、感受性に差は認められていない\*。また、一色・楠田<sup>11)</sup>は、ブリの天然稚魚とヒラマサ・カンパチの雑種稚魚を用いて、YTAVに対する感受性を比較した結果、ブリ稚魚の方が感受性は高かったことを報告している。ただし、この試験では、ヒラマサとカンパチの雑種稚魚が材料魚に使われているため、一概に比較はできないものと思われる。

**感染経路** すでに述べたように、ブリの種苗生産では、採卵用親魚からふ化仔魚への垂直伝播がYTAVの感染経路であると考えられている<sup>9)</sup>。すなわち、産卵を誘発するためのホルモンを注射する前の親魚からはYTAVは全く検出されなかったが、ホルモン注射48時間後に得られた卵巣液を含む卵巣および精液からはそれぞれ93%および20%と、高率にウイルスが検出されており、

垂直伝播の可能性が強く示唆されている。これは、元来産卵試験に使用した親魚がYTAVに不顕性感染しており、ホルモン注射の影響によって何らかのメカニズムにより体内でウイルスが増殖し、結果的に卵巣あるいは精液を汚染するに至ったと考えられる。全く同様の現象がシマアジ*Pseudocaranx dentex*親魚におけるウイルス性神経壊死症<sup>12)</sup>(viral nervous necrosis: VNN)原因ウイルス<sup>13)</sup>についても認められている<sup>14)</sup>。シマアジにおいてはホルモン注射が血中コルチゾールの上昇に裏づけられるストレス反応を誘発し、親魚の生体防御機能を低下させたことが原因と考えられているが<sup>14)</sup>、ブリの場合も同様の可能性が示唆された。

五島栽培漁業センターにおけるブリの親魚養成では、これまで天然の幼魚または成魚を親魚に養成し、ホルモン注射により産卵誘発を行ってきた。この過程で親魚候補群に用いた魚の一部がすでにYTAVに感染し、不顕性感染の状態でも親魚に成長し、産卵誘発刺激がストレスサーとなって体内でのウイルス増殖を引き起こし、結果的に垂直伝播に至った可能性が高いと考えられる。また、ヒラマサについても同様に天然魚を用いて親魚養成を実施していること、ホルモン注射により産卵誘発を行っていること、およびVAの発生状況がブリと類似していることから、ブリと同様に垂直伝播している可能性が高いと示唆された。ただし、両魚種とも産卵直前の時期における親魚の生殖腺のウイルス検査は実施していないので、YTAVの垂直伝播に関する直接的な証拠は得られていない。

一方、中間育成での感染経路に関しては、過去のブリ養殖場での発生事例<sup>15~18)</sup>と同様に、水平伝播が主たる感染経路と考えられる。まず、種苗生産では発病までに至らなかった不顕性感染魚が、陸上水槽での取り揚げ作業や海面小割生簀への沖出し作業などがストレスサーとなり、体内でウイルスが増殖し発病に至ったと考えられる。そして、死亡魚から排出されたYTAVが他の健全な個体に水平伝播したと考えられる。このことは、実験的にも浸漬攻撃が容易に成立すること<sup>3)</sup>からも裏づけられよう。

**対策** 本研究では、VAが自然発生したブリ稚魚の飼育水温を加温し、22°Cから26°Cまで上昇させることにより、自然水温区(対照区)に比べ死亡率を著しく低減できることが明らかとなった。また、図2に示されるように、水温25°C以上での自然発生例は非常に少ないことから、飼育水温を25°C以上に設定することにより本症の発病をある程度抑制できると考えられた。今後、ブリやヒラマサでの種苗生産試験では、親魚の産卵水温よりも6~7°C高い水温(25~26°C)で飼育することが、本症の発病抑制に効果があると考えられる。同様の知見については、浸漬攻撃を行った後に水温25°Cで飼育することに

\* 五島栽培漁業センター 長倉義智氏私信

より、20°Cで飼育した場合よりも死亡率が低く、腹水貯留の症状も少なかったことが報告されている<sup>1)</sup>。

海産魚のウイルス性疾病において、前述したシマアジのVNNでは、親魚からの垂直感染が主たる感染経路であることが証明されている<sup>19)</sup>。防除対策としては、産卵直前の親魚生殖腺をPCR法により検査し、その検査結果に基づく親魚の選別と得られた卵の消毒が、種苗生産過程におけるVNNの防除に有効であることが報告されている<sup>12, 20~22)</sup>。ブリやヒラマサの種苗を計画的かつ安定して確保するためには、VAの発生を防除する必要があり、そのためにはPCR法などを用いてYTAVを保有する親魚を選別し、PCR陰性と判定された親魚のみから採卵する手法が有効であると考えられる。ただ、VA防除のための卵消毒については、YTAVが卵内に侵入しているか否かは調べられていないため、効果は不明といわざるをえない。

VAのワクチン開発による防除の可能性もあるが、実際のところはワクチン開発の要請自体はさほど高くないと思われる。したがって、種苗生産におけるVAの防除には、産卵直前のウイルス検査に基づいてウイルスを保有しない親魚の選別と種苗の飼育水温を25~26°Cに高める方法が最も現実的であると考えられた。

## 謝 辞

本報告を取りまとめる機会を与えられるとともに、貴重なご助言をいただきました独立行政法人水産総合研究センター上浦栽培漁業センターの岡 雅一場長、中野昌次技術開発員に感謝します。また、データの取りまとめに当たり、種々のご協力をいただきました伯方島栽培漁業センターの高橋 誠技術開発員ならびに五島栽培漁業センターの濱田和久技術開発員にお礼申し上げます。

## 参考文献

- 1) 反町 稔・原 武史 (1985) 腹水症を呈するブリ稚魚から分離されたウイルスについて. 魚病研究, **19**, 231-238.
- 2) 日本魚病学会 (2004) 選定された魚病名 (2004年改訂). 魚病研究, **39**, 223-233.
- 3) 反町 稔・江草周三 (1986) ブリ稚魚に対するウイルスYAVの感染実験. 魚病研究, **21**, 133-134.
- 4) 一色 正・川合研児・楠田理一 (1989) 天然採捕ブリ稚魚におけるYAV感染. 日水誌, **55**, 633-637.
- 5) 一色 正・川合研児・楠田理一 (1989) 養殖ブリにおけるYAVと抗YAV中和抗体の保有の推移. 日水誌, **55**, 1305-1310.
- 6) 一色 正・川合研児・楠田理一 (1993) 採卵用ブリ親魚からのYAVと抗YAV中和抗体の検出. 魚病研究, **28**, 65-69.
- 7) WOLF, K., and M. C. QUIMBY (1962) Established eurythermic line of fish cell *in vitro*. *Science*, **135**, 1065-1066.
- 8) FRYER, J. L., A. YUSHA, and K. S. PILCHER (1965) The *in vitro* cultivation of tissue and cells of Pacific salmon and steelhead trout. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **126**, 566-586.
- 9) SUZUKI, S., N. HOSONO, and R. KUSUDA (1997) Detection of aquatic birnavirus gene from marine fish using a combination of reverse transcription- and nested PCR. *J. Mar. Biotechnol.*, **5**, 205-209.
- 10) 楠田理一・一色 正 (1987) ブリ稚魚のYAVに対する感受性. 高知大海洋生物研究報告, **9**, 51-57.
- 11) 一色 正・楠田理一 (1987) 各種海産魚のYAVに対する感受性. 魚病研究, **22**, 191-194.
- 12) 室賀清邦・古澤 徹・古澤 巖 (1998) 総説シマアジのウイルス性神経壊死症. 水産増殖, **46**, 473-480.
- 13) MORI, K., T. NAKAI, K. MUROGA, M. ARIMOTO, K. MUSHIAKE, and I. FURUSAWA (1992) Properties of a new virus belonging to Nodaviridae found in larval striped jack (*Pseudocaranx dentex*) with nervous necrosis. *Virology*, **187**, 368-371.
- 14) 虫明敬一 (2000) シマアジ親魚の産卵に伴って増殖するウイルス性神経壊死症 (VNN) 原因ウイルス (SJNNV) とその抑制対策. 水産増殖, **48**, 109-115.
- 15) 愛媛県魚病指導センター (1984) 2. 事業の実施状況. 愛媛県魚病指導センター事業報告書 (昭和58年度), pp. 3-37.
- 16) 愛媛県魚病指導センター (1984) (2) ハマチ稚魚の腹水症について. 愛媛県魚病指導センター事業報告書 (昭和58年度), pp. 53-56.
- 17) 愛媛県魚病指導センター (1985) 2. 診断治療業務. 愛媛県魚病指導センター事業報告書 (昭和59年度), pp. 5-20.
- 18) 愛媛県魚病指導センター (1985) 2) ブリ稚魚の腹水症について. 愛媛県魚病指導センター事業報告書 (昭和59年度), pp. 33-34.
- 19) ARIMOTO, M., K. MUSHIAKE, Y. MIZUTA, T. NAKAI, K. MUROGA, and I. FURUSAWA (1992) Detection of striped jack nervous necrosis virus (SJNNV) by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Fish Pathol.*, **27**, 191-195.
- 20) MUSHIAKE, K., T. NISHIZAWA, T. NAKAI, I. FURUSAWA, and K. MUROGA (1994) Control of VNN in striped jack: Selection of spawners based on the detection of SJNNV gene by polymerase chain reaction (PCR). *Fish Pathol.*, **29**, 177-182.
- 21) MORI, K., K. MUSHIAKE, and M. ARIMOTO (1998) Control measures for viral nervous necrosis in striped jack. *Fish Pathol.*, **33**, 443-444.
- 22) 虫明敬一・有元 操 (2000) 総説 シマアジのウイルス性神経壊死症 (VNN) に関する防除対策. 栽培技研, **28**, 47-55.

短 報

## サワラの初期発育過程

松岡正信\*

Early development in Japanese Spanish mackerel *Scomberomorus niphonius*

Masanobu MATSUOKA

Larvae and juveniles of the Japanese Spanish mackerel *Scomberomorus niphonius* were reared from fertilized eggs at laboratory. Some external development of living specimens was observed by microscope, taking photographs. Four days after hatching, larvae with some oil globule started to feed on the black sea bream *Acanthopagrus schlegeli* larvae. Ten days old larvae had rudiment of caudal fin rays, although the notochord was still straight. Metamorphosis proceeded thereafter, 15 days old specimens showed developed condition. Eighteen days old fishes with all perfectly formed fins became juveniles.

2005年9月7日受理

サワラ *Scomberomorus niphonius* は尾叉長 115 cm, 体重 10 kg に達する美味な高級魚である。瀬戸内海でのサワラ漁獲量は 1953~1975 年までの間は 900~1,700 トンの間で推移し, 1976 年に 2,500 トンとなり, 1986 年に 6,255 トンまで増加した。その後, 漁獲量は減少に転じ, 1998 年には 196 トンで最低となった。近年, このように減少したサワラ資源を回復させるために秋漁の休漁などの資源管理方策が講じられている<sup>1)</sup>。

本種の種苗生産を目的とした初期飼育は丹下ら<sup>2)</sup>が全長 6.1 mm まで, 樋口・大島<sup>3)</sup>が全長 30.9 mm まで行った。福永ら<sup>4)</sup>は全長 44.1~102 mm の幼稚魚を 2 年間で合計 5,477 尾生産し, 種苗生産の技術開発に貢献した。その後, 1998 年から社団法人 日本栽培漁業協会 屋島事業場 (現: 独立行政法人 水産総合研究センター 屋島栽培漁業センター) で種苗生産・放流が始まり, 現在では 10 万尾単位の生産が可能となり, その多くが放流されている。

このように本種の種苗生産は可能となったが, 初期発育過程における生理・生態・機能形態学的側面はほとんど明らかにされていない。本種は摂餌開始期から他の魚のふ化仔魚を主体に摂食するという特異な摂餌様式をもっており, その初期発育過程を他魚種のものと比較することは海洋における発育初期の生残や成長などの大きな研究上の意味をもつとともに, 種苗生産における生残

率の向上, 飼育技術の効率化や放流適正サイズの推定に寄与すると思われる。

本種の幼稚魚の外部形態は樋口・大島<sup>3)</sup>および Shoji<sup>5)</sup>によって示されているが, 両者とも描画スケッチであり, 情報が不十分である。特に後者はプランクトンネットで採集した固定標本を用いている。このような標本は, 曳網中のショックにより魚体が収縮したり, 変形したり, さらに, 固定により赤色素叢や黄色素叢は消失するなどの欠点がある。そこで, 本報ではシリーズ標本の麻酔生体カラー写真によって形態変化過程をより明瞭に示し, 観察結果を記載した。サワラの人工受精は, 香川県水産課, 香川県水産試験場および(社)日本栽培漁業協会 屋島事業場 (現: (独)水産総合研究センター 屋島栽培漁業センター) の職員によって, 2002 年 5 月 8~9 日の深夜, 刺し網によって漁獲された親魚を用いて行われた。5 月 11 日に(独)水産総合研究センター 瀬戸内海区水産研究所へ輸送された受精卵を 500 l ポリカーボネート水槽に約 5,000 粒収容した。水温は約 19°C に設定した。摂餌開始期までは止水とし, その後は流水飼育した。1 日齢から, 餌としてクロダイ *Acanthopagrus schlegeli* のふ化仔魚を投与し, 10 日齢以降は, マダイ *Pagrus major* のふ化仔魚も補足的に与えた。

卵は 5 月 12~13 日の深夜にふ化した。図 1A は 13 日の午前 9 時に撮影した全長 5.05 mm, 0 日齢の仔魚で,

\* 独立行政法人 水産総合研究センター 瀬戸内海区水産研究所 〒739-0452 広島県廿日市市丸石 2-17-5 (National Research Institute of Fisheries and Environment of Inland Sea, Fisheries Research Agency, Hatsukaichi, Hiroshima 739-0452, Japan).



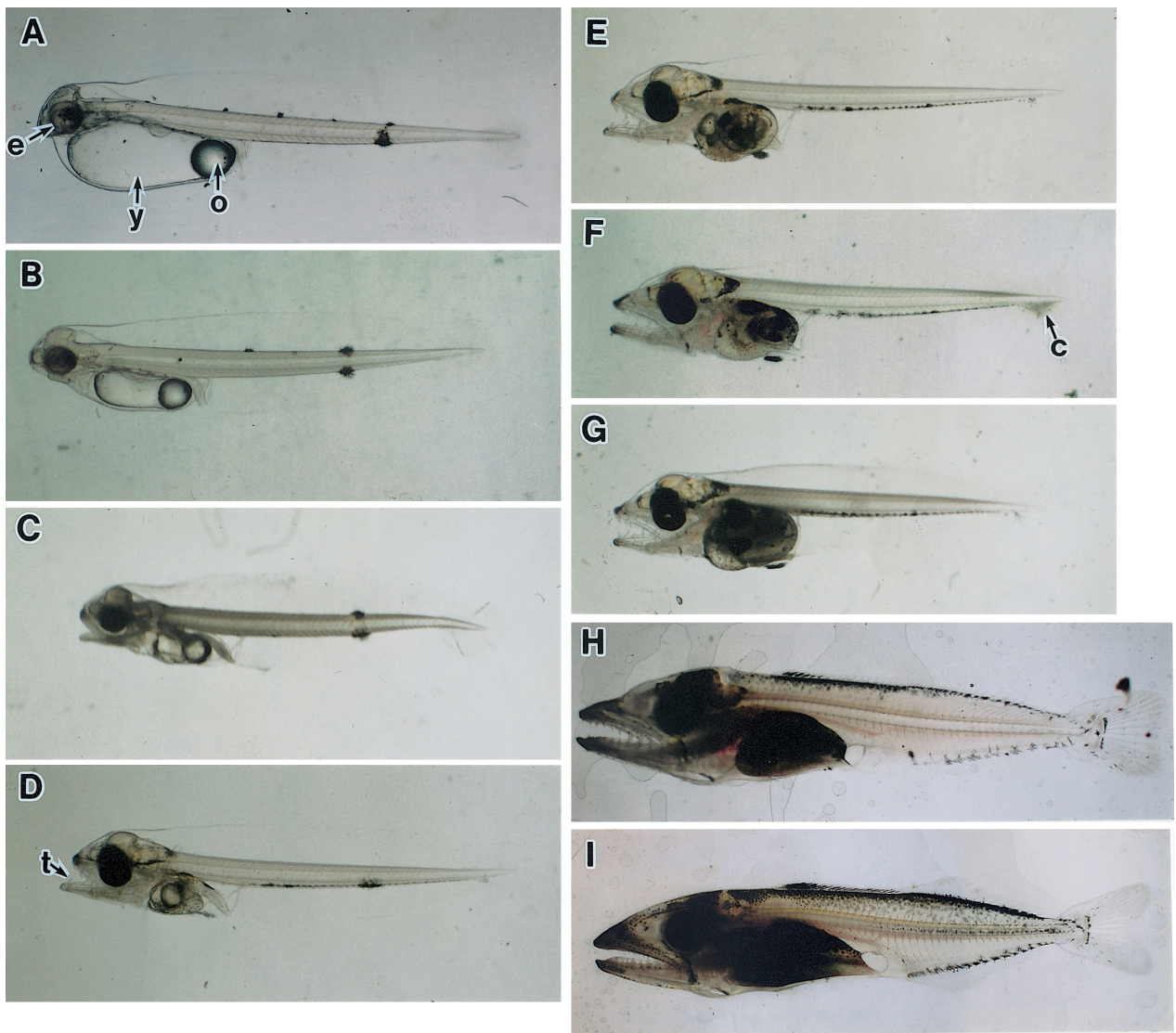


図1. サワラ仔稚魚の生体写真

A: 全長 5.05 mm, 0 日齢の仔魚. B: 全長 5.7 mm, 1 日齢の仔魚. C: 全長 6.0 mm, 2 日齢の仔魚. D: 全長 6.5 mm, 3 日齢の仔魚. E: 全長 6.6 mm, 4 日齢の仔魚. 摂餌開始期. F: 全長 8.3 mm, 7 日齢の仔魚. G: 全長 9.6 mm, 10 日齢の仔魚. H: 全長 17.0 mm, 15 日齢の仔魚. I: 全長 23.7 mm, 18 日齢の稚魚. c, 尾鰭の原基; e, 眼; o, 油球; t, 歯; y, 卵黄.

ふ化後約 5~10 時間程度経過していたものと思われた。大きな卵黄と油球をもっていた。体側背面に明瞭な 4 個の黑色素叢があり、尾部には体側背面と腹面をつなぐ黑色素叢が認められ、本種の 0 日齢仔魚の識別形質となりうる。眼は僅かに茶褐色を呈した。図 1B は全長 5.7 mm, 1 日齢の仔魚で、卵黄はかなり少なくなっていたが、油球の大きさは前日と余り変わらなかった。体側背面の黑色素叢は 2 個となり、尾部の黑色素叢は背面と腹面に分離した。図 1C は全長 6.0 mm, 2 日齢の仔魚で、卵黄はさらに減少し、油球もやや小さくなっていた。体側背面の黑色素叢が消失するとともに、腹面に数個の黑色素叢が現れた。口が開き、眼は焦げ茶色になっていた。図 1D は全長 6.5 mm, 3 日齢の仔魚で、卵黄はわずかととなり、油球も顕著に小さくなった。尾部背面の黑色素叢が消失し、体側から尾部腹面の黑色素叢数が増加した。

口は大きくなり、上下顎に鋭い牙齒が形成された。眼は黒色となり、形態的には摂餌開始期に近い状態であったが、実際の摂餌は行われなかった。図 1E は全長 6.6 mm, 4 日齢の摂餌を開始した仔魚である。卵黄は全くなく、油球がわずかに残っていた。油球が全くなくなつてから摂餌を開始する魚種あるが、本種は油球を残しながら摂餌を始めるタイプに属していた。消化管の中に捕食されたクロダイ仔魚が透けて見える。図 1F は全長 8.3 mm, 7 日齢の仔魚で、クロダイ仔魚を飽食していた。摂餌開始期に摂餌できなかった仔魚は、この頃に瀕死状態となった。図 1G は全長 9.6 mm, 10 日齢の仔魚で、尾鰭条の原基が形成されていたが、脊索は直線的であった。この頃には共食い現象が認められた。図 1H は全長 17.0 mm, 15 日齢の仔魚で、急速に形態変化が進んだ結果、尾鰭条や背鰭条も形成され稚魚期の直前の状態

である。図 11 は全長 23.7 mm, 18 日齢の既に各鱗条が定数に達した稚魚である。

海産分離浮性卵から生まれる仔魚で、ふ化当日に眼の網膜に色素が現れる魚種は非常に珍しい。Kaji *et al.*<sup>6-8)</sup>の観察では、クロマグロ *Thunnus thynnus*, キハダ *Thunnus albacares* およびハガツオ *Sarda orientalis* においては、ふ化当日に眼の網膜に色素が現れなかったという。また、上柳ら<sup>9)</sup>は、カツオ *Katsuwonus pelamis* ではふ化後 22 時間の仔魚で眼に黒色素が形成されたと報告している。サワラでは、ふ化後約 10 時間以内で網膜の色素沈着が認められたが、この現象は本種の卵径が 1.5~1.6 mm<sup>2)</sup> と大きく、発育がかなり進んだ段階でふ化するためと思われる。ふ化当日に眼の網膜に色素が現れるという点は、非常に珍しく、今後詳細に検討する必要がある。

サバ亜目魚類では一般に上下顎歯は早期に出現するが、本種では摂餌開始期前に歯が形成された。これはシオミズツボムシ、アルテミア幼生、プランクトンをほとんど摂餌せず<sup>4, 5)</sup>、仔魚を主体に摂餌するための適応と考えられる。摂餌開始期に摂餌できなかった仔魚は 3 日間で瀕死状態となった。すなわち 3 日以内に Point of No Return<sup>10)</sup> を過ぎていていると思われ、生残のためには早期の十分な投餌が必要である。種苗生産過程においては頻繁に共食い現象が認められた。これは同じサイズ同志間でも起こった。本種では、マダイやクロダイなどと比較して摂食可能な餌料サイズは大きく、発育の早期から仔稚魚を捕捉し消化する能力が備わっていると考えられる。

仔稚魚の生残にとっては、餌を食べることと捕食者に食べられないことが最も重要である。これには摂餌・遊泳能力が関与し、器官としては骨格、筋肉および感覚器などが挙げられる。これらの器官の発達過程を調べることによって、今後、本種の摂餌・遊泳能力の変化過程を明らかにする必要がある。

本報告は、サワラ仔稚魚生体のシリーズ標本写真を初

めて示したことが特徴点であるが、この報告を起点として、本種の摂餌・遊泳能力の解明を行う予定である。

本研究を行うに当たり、サワラの受精卵を提供していただいた(独)水産総合研究センター 屋島栽培漁業センターの岩本明雄場長はじめ職員の方々に御礼申し上げます。

## 参考文献

- 1) 永井達樹 (2003) サワラの資源状況と資源回復計画. 日水誌, **69**, 99-103.
- 2) 丹下勝義・竹田文弥・岩井昌三 (1968) サワラの孵化飼育試験. 昭和 43 年度兵庫水試報告, 119-120.
- 3) 樋口正毅・大島泰雄 (1974) 瀬戸内海におけるサワラとその種 苗放流に関する予察. 栽培技研, **3**, 43-60.
- 4) 福永辰広・石橋矩久・三橋直人 (1982) サワラの採卵と種苗生産. 栽培技研, **11**, 29-48.
- 5) SHOJI, J. (1997) Piscivorous habits of Spanish mackerel larvae in Seto Inland Sea. *Fish. Sci.*, **63**, 388-392.
- 6) KAJI, T., M. TANAKA, Y. TAKAHASHI, M. OKA, and N. ISHIBASHI (1996) Preliminary observations on development Pacific bluefin tuna *Thunnus thynnus* (Scombridae) larvae reared in the laboratory, with special reference to the digestive system. *Mar. Freshwater Res.*, **47**, 261-269.
- 7) KAJI, T., M. TANAKA, M. OKA, H. TAKEUCHI, S. OHSUMI, K. TERUYA, and J. HIROKAWA (1999) Growth and morphological development of laboratory-reared yellowfin tuna *Thunnus albacares* larvae and early juveniles, with special emphasis on the digestive system. *Fish. Sci.*, **65**, 700-707.
- 8) KAJI, T., M. KOMADA, H. ARAI, M. TAGAWA, and M. TANAKA (2002) Precocious development of digestive system in relation to early appearance of piscivory in striped bonito *Sarda orientalis* larvae. *Fish. Sci.*, **68**, 1212-1218.
- 9) 上柳昭治・西川康夫・松岡珉良 (1974) カツオの人工ふ化と仔魚の形態. 遠洋水研報, **10**, 179-188.
- 10) BLAXTER, J. H. S., and G. HEMPEL (1963) The influence of egg size on herring larvae (*Clupea harengus* L.). *J. Cons. int. Explor. Mer.*, **28**, 211-240.

短 報

## 瀬戸内海燧灘でみられた越冬期の 抱卵ガザミについて

渡辺 昭生\*

### Appearance of the Ovigerous Swimming Crab *Portunus trituberculatus* during Overwintering Period in Hiuchi-Nada, the Central Seto Inland Sea

Akio WATANABE

Twelve ovigerous swimming crabs were found during the overwintering period in Hiuchi-Nada, and the state of their fishing and ovarian development were studied. The carapace widths including the lateral spines of most ovigerous crabs were greater than 200 mm. The state of ovarian development in ten of these crabs was still in the early stages, and that of the other two was in the eye pigment formation stage. The bottom seawater temperatures in February, March, and December 2004 exceeded the typical average temperature of this season by more than 1°C. Therefore, it may be assumed that the higher seawater temperature induced oviposition. Five ovigerous crabs were cultured at 16°C; three survived until the hatching stage. Since the larvae had settled at the bottom of the tank, they had probably not hatched normally.

2005年11月22日受理

ガザミは燧灘における小型底びき網の重要な漁獲対象の一つで、人工種苗や抱卵ガザミの放流など、各種の資源増大の取組みがなされている。天然海域におけるガザミの卵巣の発達過程や抱卵ガザミの出現に関する研究は、瀬戸内海<sup>1,2)</sup>や太平洋沿岸<sup>3,4)</sup>での調査事例があり、卵巣は10月から発達を開始し、翌4~9月の半年間で数回産卵することが知られている。このため、4月以前に抱卵ガザミが出現することはまれであり、例外的に播磨灘<sup>1)</sup>や紀伊水道<sup>5)</sup>における漁獲の記録がみられるのみである。本研究では燧灘において越冬期に12個体の抱卵ガザミの出現を確認したことから、その出現状況を報告するとともに、飼育試験から卵の発育について若干の知見を得たので報告する。

#### 材料と方法

2004年2月12日~3月31日および2004年11月1日~2005年3月31日まで、愛媛県今治市の桜井漁業協同組合、同西条市の西条漁業協同組合および河原津漁業協同組合の各市場で水揚げされた雌のガザミのうち、抱卵

しているガザミのほぼ全数を購入した。また愛媛県四国中央市の川之江漁業協同組合の市場では前述の期間に確認した1個体の抱卵ガザミを購入した。購入した抱卵ガザミは全甲幅、体重を測定し、卵塊の色を確認した。そして、2004年12月4日~2005年2月22日に漁獲された5個体については、愛媛県中予水産試験場東予分場の屋内で、細砂を厚さ約100mmになるように敷いた1m<sup>3</sup>FRP水槽1基に順次収容し、ヒーターで16°Cに加熱して飼育した。そして、パープルポイント<sup>6)</sup>の確認後は、ふ化まで3日ごとに10粒の卵を採取し、接眼マイクロメーターにより眼点の長径(EL)、眼点の短径(ES)、卵の長径(L)および卵の短径(S)を測定し、Eye Pigmented Index<sup>6)</sup> [EPI={ (EL×ES)/(L×S) }×10<sup>3</sup>] の平均値を計算した。越冬期の抱卵ガザミは12月と2~3月に今治市比岐島周辺で漁獲されることが多かったため、毎月1回定点調査が実施されている比岐島西海域(浅海定線調査Stn.17, 図1)における1975~2005年の2,3月および12月の底層(20m層)水温を漁獲海域の水温の指標として使用した。

\* 愛媛県中予水産試験場東予分場 〒799-1303 愛媛県西条市河原津甲1188 (Toyo Branch Ehime Prefectural Chuyo Fisheries Experimental Station, 1188 Kawarazu, Saijo, Ehime 799-1303, Japan)

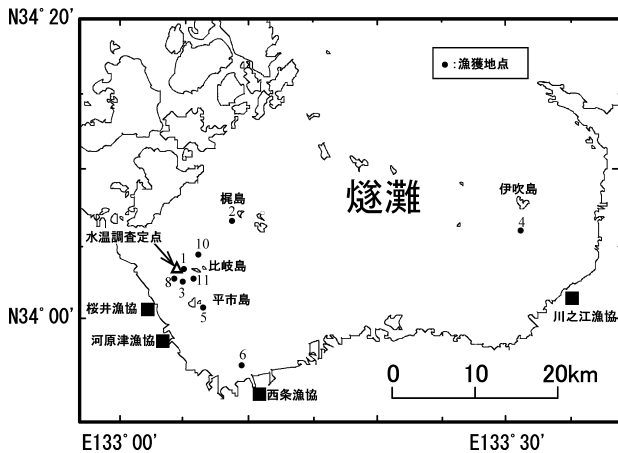


図1. 越冬期における抱卵ガザミの漁獲地点と水揚市場  
漁獲地点の数字は表1のサンプル番号を示す。サン  
プル番号7, 9, および12は漁獲地点不明。

### 結果および考察

表1に越冬期に漁獲された抱卵ガザミの概要、図1に漁獲地点を示した。抱卵ガザミは11月に1個体、12月に4個体、2月に4個体、3月に3個体漁獲された。漁獲された抱卵ガザミは、2004年11月6日の全甲幅160 mmを除き200 mm以上の大型個体であった。漁獲時の卵塊は発育段階が初期<sup>6)</sup>の淡橙色から鮮橙色を呈する個体が多かったが、2004年3月17日と同年12月20日には発眼期以降<sup>6)</sup>の灰黒色を呈した個体も漁獲された。抱卵ガザミは平市島、比岐島および梶島周辺の水深約20~30 mの海域で8個体、伊吹島周辺の水深約20 mの海域で1個体、西条漁業協同組合地先の水深約10 mの海域で1個体それぞれ漁獲された。なお、多く漁獲された平市島および比岐島周辺海域はガザミの越冬場となっている<sup>7)</sup>。図2に抱卵ガザミが多く漁獲された比岐島西海域における、12月、2月、および3月の底層水温の経年変化を示した。抱卵ガザミが漁獲された2004年2月の水温は11.81°C、3月は11.27°C、12月は18.41°C、2005年2

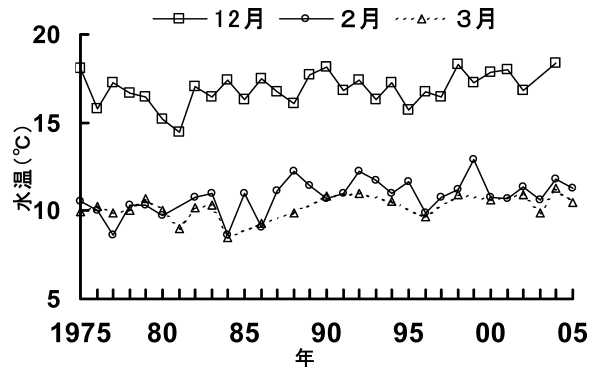


図2. 比岐島西海域における底層(20 m層)水温の経年変化

月は11.31°Cであった。特に、2個体以上漁獲された2004年2月の平均差は+1.49°C(1975年以降4番目の高水温)、2004年3月の平均差は+1.09°C(過去最高)、2004年12月の平均差は+1.49°C(過去最高)であり、各月とも平均値より1°C以上高かった。

表2に2004年12月から2005年2月に漁獲された抱卵ガザミの飼育試験結果を示した。飼育した5個体の抱卵ガザミのうち親ガニ No. 8, 10, 11の3個体が幼生のふ化まで生残した。ガザミの卵は、ふ化直前に長径が0.4 mm程度まで増大し<sup>6)</sup>、産卵回次が進むほど、あるいは飼育水温が高いほど小型化すること<sup>6)</sup>が知られている。本研究のふ化3日前の長径は0.42~0.43 mmと比較的が大きかったが、早い番仔であったことと、低水温(16°C)で飼育したことがその原因であると考えられる。

浜崎<sup>6)</sup>は卵の発育に伴ってEPI(卵の側面積に対する眼点の面積比)が直線的に増加することから、EPIとふ化までの有効積算温度(飼育水温から臨界発育温度の14.0°Cを差し引いた値をふ化前日まで積算した値)は一次関数で表すことができると述べている。そこで、本研究から得た水温16°Cで飼育した場合のEPI(x)と有効積算温度(y)を用いて次の関係式を得た。ただし、No11はふ化3日前のEPIが他の2個体と比較し極端に小さかったためデータより除外した。

表1. 燧灘で越冬期に漁獲された抱卵ガザミ

No.	漁獲日	水揚市場	漁獲海域	漁法	全甲幅(mm)	体重(g)	卵の色
1	2004/2/12	河原津漁協	比岐島周辺	底びき網	224	713	淡橙色
2	2004/2/13	河原津漁協	梶島周辺	底びき網	257	1,114	鮮橙色
3	2004/2/24	桜井漁協	比岐島周辺	底びき網	248	975	淡橙色
4	2004/3/9	川之江漁協	伊吹島周辺	底びき網	245	903	淡橙色
5	2004/3/17	西条漁協	平市島周辺	底びき網	200	657	灰黒色
6	2004/3/30	西条漁協	西条漁協地先	刺網	235	1,022	鮮橙色
7	2004/11/6	河原津漁協	不明	底びき網	160	—	鮮橙色
8	2004/12/4	桜井漁協	比岐島周辺	底びき網	264	1,128	鮮橙色
9	2004/12/17	桜井漁協	不明	底びき網	219	769	淡橙色
10	2004/12/20	桜井漁協	比岐島周辺	底びき網	205	751	灰黒色
11	2004/12/20	河原津漁協	比岐島周辺	底びき網	207	622	淡橙色
12	2005/2/22	河原津漁協	不明	底びき網	233	828	鮮橙色

表 2. 越冬期に出現した抱卵ガザミの飼育試験結果

親ガニ No	漁獲日 (A)	EPI*の平均値			ふ化3日前の 平均直径 (mm)	ふ化日 (B)	B-A	備考
		ふ化9日前	6日前	3日前				
8	2004/12/4		72.7	87.0	0.43	2005/1/17	44	3/18 再産卵, 3/28 死亡
9	2004/12/17							1/21 死亡
10	2004/12/20	64.2	83.1	100.9	0.42	2004/12/30	10	2/14 再産卵, 同日死亡
11	2004/12/20		32.2	56.1	0.43	2005/1/24	35	2/14 死亡
12	2005/2/22							2/23 死亡

\*眼点の大きさを示す指標で、眼点の長径 (EL), 短径 (ES), および卵の長径 (L), 短径 (S) より,  $[(EL \times ES)/(L \times S)] \times 10^3$  で計算される。

$$y = 37.035 - 0.3216x \quad (n=5, r=0.898)$$

つまり、発眼時の有効積算温度は 37.035 日・℃となり、1日当たりの積算温度は 2℃であるので、発眼からふ化までの所要日数は 18.5 日となる。浜崎<sup>6)</sup>は飼育試験より発眼からふ化までの所要日数 (y) と養成水温 (x) の関係を次式で示した。

$$\ln y = 10.6109 - 2.7605 \ln x$$

この関係式から 16℃で飼育した場合の発眼からふ化までの日数は 19.2 日となり、本研究から求めた 18.5 日とおおむね一致した。ところで、今回 3 個体の抱卵ガザミからふ化した幼生のほとんどは、水槽の底面に沈降していたことから異常ふ化<sup>8)</sup>であったと考えられる。飼育水の低水温が異常ふ化の大きな要因であると考えられるが、比岐島西海域の 2004 年 5 月の調査時 (5 月 11 日) の底層水温は 15.65℃であったことから、天然海域ではこの時期以前にふ化したガザミ幼生は資源に添加されない可能性が示唆される。今後、ガザミ幼生が正常にふ化する臨界温度を確認する必要があると考える。

越冬期における抱卵ガザミの出現数についての経年データはないが、本調査期間の以前に越冬期の抱卵ガザミを確認した漁業者はごく少数であったことから、本研究期間に多かった可能性が高いと考える。ガザミの卵巣の発達と産卵は水温と日長に制御され、4月中旬以降で水温が 12℃を超えたときに産卵を開始することが知られている<sup>9)</sup>。今回抱卵ガザミが漁獲された周辺の底層水温は、12℃には達していなかったが、平年より約 1℃高かったことから、高水温により産卵が促進された可能性が示唆される。さらに、燧灘の長期的な水温は冬期を中心に上昇傾向にあり<sup>10)</sup>、今後水温上昇に伴い越冬期における抱卵ガザミの出現数が増加する可能性があると考えられる。

年間に漁獲される抱卵ガザミのうち、越冬期抱卵ガザミの漁獲量はわずかであるが、加温飼育により種苗生産に利用できる可能性もあり、今後も継続的な出現状況の調査とともに、卵巣の成熟から産卵に至るまでの条件の検討が必要である。

## 謝辞

本論文をまとめるに当たり、有益なご意見とご助言をいただいた愛媛県中予水産試験場の坂口秀雄博士に感謝の意を表します。標本の採集に当たりご協力をいただいた桜井漁業協同組合の野村 泰氏、河原津漁業協同組合の川又文丸組合長、西条漁業協同組合の岩井 崇参事、川之江漁業協同組合の大西健夫氏に深謝します。

## 文 献

- 1) 大島信夫 (1938) 瀬戸内海ガザミ調査. 水産試験場報告, 9, 141-212.
- 2) 高場 稔・安江 浩 (1983) 備後灘北部における抱卵ガザミの接岸について. 第 15 回南西ブロック内海漁業研究会報告, 67-73.
- 3) 藍 憲一郎・山崎明人 (1995) 東京湾内湾部におけるガザミの繁殖生態. 千葉水試研報, 53, 17-21.
- 4) 今井秀行・秋山信彦・浜崎活幸・関谷幸生・林 繁一 (1998) 静岡県清水市沿岸におけるガザミ雌の生殖年周期. 水産増殖, 46, 75-82.
- 5) 松田泰嗣・岩本哲二 (1983) I 生殖生態と初期生活史, 成熟と産卵. ガザミ種苗の量産技術 (ガザミ種苗生産研究会), 日本水産資源保護協会, 東京, 10-17.
- 6) 浜崎活幸 (1996) ガザミの生殖と発育に関する研究. 日本栽培漁業協会特別研究報告, 8, 124 pp.
- 7) 塩田浩二・北田修一 (1992) 標識放流実験から推定した瀬戸内海燧灘のガザミの生活史. 日水誌, 58, 2297-2302.
- 8) 岩本哲二 (1983) II 種苗生産, 2 親ガニと採卵. ガザミ種苗の量産技術 (ガザミ種苗生産研究会), 日本水産資源保護協会, 東京, 41-55.
- 9) HAMASAKI, K., H. IMAI, N. AKIYAMA, and K.F. UKUNAGA (2004) Ovarian development and induced oviposition of the overwintering swimming crab *Portunus trituberculatus* (Brachyura: Portunidae) reared in laboratory. Fisheries Sci., 70, 988-995.
- 10) 宇野奈津子・秋山秀樹・斉藤 勉・瀬藤 聡 (2002) 愛媛県海域における水温・塩分の長期変動傾向について. 第 31 回南海・瀬戸内海洋調査技術会議議事録, 瀬戸内水研, 112-115.

資料

# スズキ目魚類に投薬した塩酸オキシテトラサイクリンとアルキルトリメチルアンモニウムカルシウムオキシテトラサイクリンの筋肉における残留状況

渡辺 研一\*<sup>1</sup>・島 康洋\*<sup>2</sup>・芦立 昌一\*<sup>3</sup>・西岡 豊弘\*<sup>4</sup>  
佐藤 純\*<sup>5</sup>・堀田 卓朗\*<sup>1</sup>・飯田 貴次\*<sup>6</sup>

## Residue of oxytetracycline hydrochloride and alkyl trimethyl ammonium calcium oxytetracycline in the muscle of Perciform fish species

Ken-ichi WATANABE, Yasuhiro SHIMA, Masakazu ASHIDATE, Toyohiro NISHIOKA,  
Jun SATOH, Takurou HOTTA, and Takaji IIDA

In this study, the twelve fish species employed were the red seabream *Pagrus major*, the black sea bream *Acanthopagrus schlegelii*, the yellowtail *Seriola quinqueradiata*, the purplish amberjack *S. dumerili*, the gold striped amberjack *S. lalandi*, the striped jack *Psuedocaranx dentex*, the long tooth grouper *Epinephelus brunenus*, the seven band grouper *E. septemfasciatus*, the red spotted grouper *E. akaara*, the three line grunt *Parapristipoma trilineatum*, the spotted parrot fish *Oplegnathus punctatus*, and girella *Girella punctata*. These fishes were fed moist pellets or dry pellets containing 50 mg/kg (BW) of oxytetracycline hydrochloride (OTC) or alkyl trimethyl ammonium calcium oxytetracycline (OTC-Q) for seven days (prescription period). Thereafter, feeds containing no antibiotics were provided to these fishes continuously for 20 days (OTC-Q fish) and 30 days (OTC fish) (resting period). The muscles of these fishes were individually sampled and stored at  $-80^{\circ}\text{C}$  until analysis. Sampling was conducted the following day of the prescription and resting periods. Residue in these specimens as OTC was analyzed using High Performance Liquid Chromatography. Specimens which were sampled after prescription showed high concentrations of OTC. However, rested specimens showed values lower than those set under food safety standards for human consumption.

2005年12月15日受理

水産用医薬品の製造については、その有効性、安全性、残留性等の試験結果に基づき、薬事・食品衛生審議会が用法・用量、休薬期間等を十分審査して農林水産大臣が承認している。従来の水産用医薬品における製造承認の審査については、養殖対象魚種が限られていたこともあ

り、近縁の種間では医薬品の安全性、有効性、残留性が大きく変わらないことから「水産動物への使用を目的とする動物用医薬品の製造（輸入）承認に必要な試験実施細目」（以下、「ガイドライン」という。）により、代表魚種で試験した資料が審査され「目」単位で承認されてき

\*<sup>1</sup> 独立行政法人水産総合研究センター 古満目栽培漁業センター 〒788-0315 高知県幡多郡大月町古満目 330 (Komame Station, National Center for Stock Enhancement, FRA 330, Komame, Ohtsuki, Kouchi 788-0315, Japan).

\*<sup>2</sup> 独立行政法人水産総合研究センター 能登島栽培漁業センター 〒926-0216 石川県七尾市能登島曲町 15-1-1.

\*<sup>3</sup> 独立行政法人水産総合研究センター 玉野栽培漁業センター 〒706-0002 岡山県玉野市築港 5-21-1.

\*<sup>4</sup> 独立行政法人水産総合研究センター 上浦栽培漁業センター 〒879-2602 大分県佐伯市上浦大字津井浦.

\*<sup>5</sup> 独立行政法人水産総合研究センター 五島栽培漁業センター 〒853-0508 長崎県五島市玉之浦町布浦 122-7.

\*<sup>6</sup> 独立行政法人水産総合研究センター 養殖研究所病害防除部 〒516-0193 三重県度会郡南勢町中津浜浦 422-1.

た。近年、養殖形態が少品種大量生産から多品種小量生産に転換し、魚種が多様化したことにより、承認された医薬品が同一「目」の多数の魚種に使用されている実態にある。一方で安全性に対する消費者の要求が高まってきており、安全な水産物を消費者に供給する観点から、薬事・食品衛生審議会により、「目」ごとに代表魚種以外の魚種の残留性を検証し、暫定残留基準を超える残留が認められた場合はガイドラインの見直しおよび休薬期間の変更等を進めていかなければならないと指摘されている。このことから、承認対象目ごとに代表魚種以外の魚種の魚体内における抗生物質の残留性を検証するための試験を実施する必要がある。そこで、水産物の食としての安全・安心に資することを目的として、水産用医薬品として承認された医薬品について、承認対象目ごとに代表魚種以外の魚種の水産用医薬品の残留性を検証するための試験を実施した。なお本報告は、農林水産省消費・安全局長が、独立行政法人水産総合研究センター理事長に委託して実施した試験結果をとりまとめたものである。

## 材料と方法

**試験の実施** 本試験の実施にあたっては、農林水産省生産局畜産部衛生課薬事室長が、(社)日本動物薬事協会理事長に対して平成12年3月31日に通知(12-33)した「動物用医薬品関係事務の取扱いについて(以下、「通達」という)の「残留性試験」に規定される点に留意した。

**対象医薬品** 対象となる医薬品を、スズキ目、ニシン目、ウナギ目、カレイ目およびクルマエビの細菌性疾病の治療の目的で承認されている塩酸オキシテトラサイクリン(OTC)とスズキ目およびカレイ目の細菌性疾病の治療の目的で承認されているアルキルトリメチルアンモニウムカルシウムオキシテトラサイクリン(OTC-Q)とした。

**対象目と魚種** 対象となる分類群をスズキ目とした。タイ科のマダイ *Pagrus major*, クロダイ *Acanthopagrus schlegelii*, アジ科のブリ *Seriola quinqueradiata*, カンパチ *S. dumerili*, ヒラマサ *S. lalandi*, シマアジ *Psuedocaranx dentex*, ハタ科のクエ *Epinephelus brunenus*, マハタ *E. septemfasciatus*, キジハタ *E. akaara*, イサキ科のイサキ *Parapristipoma trilineatum*, イシダイ科のイシガキダイ *Oplegnathus punctatus*, メジナ科のメジナ *Girella punctata* の合計12魚種を対象に試験を行った。

**飼育・採材実施場所と魚種** 飼育・採材を5カ所の栽培漁業センターで行った。マハタについては上浦栽培漁業センター、クエおよびブリについては五島栽培漁業センター、マダイおよびクロダイについては伯方島栽培漁業センター、キジハタについては玉野栽培漁業センター、カンパチ、イサキ、イシガキダイ、メジナ、ヒラマサ、シマアジについては古満目栽培漁業センターで行った。

通達では「2カ所で残留性試験を実施すること」とされているが、本試験では1魚種について1カ所で実施した。

**供試魚** 供試魚として、通達では「1カ月以上抗生物質等試験に影響のある物質を投与していないものを用いることが望ましい」とされているため、抗生物質の投薬歴がないものを選択することとしたが、不可能な場合には投薬歴がはっきりしているものを用い、飼育の際には最終投薬日から休薬期間の2倍以上経過していることに留意した。カンパチ、ヒラマサ、イサキでは、ハダムシ駆除の目的で、試験期間中に適宜、淡水浴を実施した。

**試験水槽** 通達では「室内水槽、野外の池、いけす等のいずれでもよい」とされているため、魚種や供試魚の大きさを考慮して、陸上水槽または海上小割網で試験した。クロダイのOTC-Q投薬区は海上小割網で、ブリは陸上水槽に設置した小割網を用いて試験を行ったが、その他の魚種では陸上水槽を用いた。

**試験供試尾数** 通達では「検体の消長を明らかにするために必要な数とする」および「1採取時点における採取尾数が5尾以上とする」とされている。本試験では投薬期間終了および休薬期間終了の翌日に5尾ずつ合計10尾をサンプリングした。試験期間中の死亡などを勘案して安全係数を2とし、1試験区20尾を供試したが、試験水槽の大きさや供試魚の大きさおよび摂餌状況などを勘案して適宜増減した。

**供試魚の収容** 抗生物質の投与1週間程度以前から試験水槽ないしは小割網に供試魚を収容し、試験水槽に馴致した。

**供試魚の大きさ** 通達では「スズキ目魚類は筋肉を採取する」、「筋肉とは、魚体の左側第一背ビレ基部で側線より上の血合い肉を含めた筋肉とする」とされている。この通達に従って分析用サンプルを採取することとし、無理なく採材可能な大きさの供試魚を用いることに留意した。

**試験実施時期** 通達では「スズキ目魚類は18~24℃で残留性試験を行う」とされている。そこで、予想される水温と試験魚の大きさを考慮して、水温に併せて設定することに留意した。

**餌の種類** 通達では「投与経路は原則として臨床適用経路」とされている。スズキ目のOTCとOTC-Qは「経口投与する」とされているため、餌に抗生物質を添加して投与した。試験開始前は、抗生物質を含まない配合飼料等を給餌した。通達では「投与期間は臨床適用の最長投与期間」とされている。抗生物質を含む配合飼料などの投与期間は、OTCとOTC-Qの使用法で「週余にわたる投薬はしないこと」と定められているため7日間とした。その後、設定されている休薬期間の間、抗生物質を含まない配合飼料などを給餌した。マダイ・クロダイで自家製のモイストペレットを給餌した以外は、市販の配合飼料とした。

**給餌法** 抗生物質を含む配合飼料などの投与期間は、毎日手撒きですべての魚に均等に配合飼料が行き渡るように給餌した。抗生物質投与期間の前後も同様な方法で給餌した。

**投薬量** 通達では「用量段階は臨床最高適用量を低容量群とする二段階以上の試験群を設定し、別に対照群を置く。養殖水産動物にあっては、臨床最高適用量の二倍量とする。」とされている。本試験の目的は、承認されている通り投薬した場合に、承認されている「目」間で休薬期間後の残留量が異なるかどうかを検証することであるため、承認されている用法用量に従い、魚体重 1 kg 当たり OTC では 50 mg/日、OTC-Q でも 50 mg/日となるように投与した。

**抗生物質の添加法** 適正給餌量の 80%程度量の配合飼料などに、規定量の OTC または OTC-Q を溶解した蒸留水を添加して配合飼料内に吸着されるまで混合し、フィードオイルでコーティングした後、給餌した。モイストペレットでは、作製する際に規定量の抗生物質を混ぜ込み、いったん凍結後、解凍して給餌した。

**観察項目** 試験期間中の、水温、給餌量、摂餌状況、死亡状況などについて、データを収集し、記録した。

**分析用試料の採材** 分析に用いる部位は背部筋肉とし、1 試料について 20 g 以上を採材した。魚種別、抗生物質別、サンプリング時期別に 5 試料ずつ採材した。1 尾で 20 g 以上を採材できない場合には、数尾をプールして 1 試料とした。プールした場合も 5 試料ずつ採材した。

**試料の保管** 採材した試料は、試料ごとにビニール袋に入れ、魚種、試験区、個体番号、採取年月日、重量などを明記して、 $-80^{\circ}\text{C}$  で凍結後、分析を依頼するまで凍結保存した。

**試料の採取時期** 通達では「検体の投与終了後に消失期に入った時点と、組織中に分析対象が検出されなくなった時点と、その間に少なくとも一点の採取時点を設定する。」とされている。本試験の目的は、休薬期間後の残留状況を明らかにすることである。そのため、投与期間終了の翌日に採材して抗生物質の取り込みを確認するとともに、スズキ目の OTC は休薬期間 30 日、OTC-Q は 20 日として承認されているため、OTC では 31 日、OTC-Q では 21 日後に試料を採取して、休薬後の抗生物質の残留状況を確認した。得られた値を食品中の動物用医薬品の暫定残留基準値と比較して、食品としての安全性を検討した。

**分析の依頼** 一連の試験終了後、 $-80^{\circ}\text{C}$  で凍結保存していた試料を財団法人日本食品分析センターにドライアイスと同封して送付し、OTC、OTC-Q いずれの抗生物質を投薬した試料も、オキシテトラサイクリンの残留状況の分析を依頼した。

**分析方法** 通達では「分析は相当の感度、精度および再現性を有する分析法を確立しておく。この場合における相当の感度、精度および再現性とは、検出限界 0.05 ppm

以下、1~2 ppm の添加回収実験における回収率 70%以上、変動係数（標準偏差/平均値） $\times 100$  が 10%程度のものをいう。」とされている。そこで、相当の感度、精度および再現性がある、以下の方法<sup>1)</sup>で分析を行った。すなわち、試料 5.00 g を採取し、エチレンジアミン四酢酸含有クエン酸緩衝液 30 ml を加え、超高速ホモジナイザーで約 1 分間攪拌した。毎分 3,000 回転で 5 分間遠心分離を行い、水層を分取した。遠心分離後の残留物にエチレンジアミン四酢酸含有クエン酸緩衝液 20 ml を加え、振とう機を用いて 5 分間激しく振り混ぜた。上記と同様の条件で遠心分離を行い、水層を分取して先の水層と合わせた。これにヘキサン 20 ml を加え、振とう機を用いて 5 分間激しく振り混ぜた後、毎分 3,000 回転で 5 分間遠心分離を行い、水層を分取した。スチレンジピニルベンゼン共重合体ミニカラム (GL-Pak PLS-2) にメタノール 10 ml、精製水 10 ml および飽和エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム溶液 5 ml を順次流してコンディショニングした後、水層を負荷した。精製水 10 ml で洗浄後、メタノール 10 ml で測定対象物質を溶出した。溶出液を減圧濃縮機を用いて  $40^{\circ}\text{C}$  以下で濃縮乾固後、1.36%リン酸カリウム溶液 1 ml に溶解し、試験溶液とした。これを液体高速クロマトグラフに注入し、オキシテトラサイクリンを測定した。本分析法における検出限界は 0.02 ppm であった<sup>1)</sup>。

#### 液体高速クロマトグラフ操作条件

機種：LC-10ATVP (株式会社島津製作所)

検出器：蛍光分光光度計 RF-10AXL (株式会社島津製作所)

カラム：Hydrosphere C18 HS-301-3  $\phi 4.6$  mm  $\times$  100 mm (ワイエムシイ)

移動相：1 mol/l イミダゾール緩衝液およびメタノールの混液 (82 : 18)

流速：0.8 ml/min

励起波長：380 nm

測定波長：520 nm

カラム温度： $40^{\circ}\text{C}$

注入量：20  $\mu\text{l}$

**統計検定** OTC または OTC-Q を投薬した区の投薬終了翌日の筋肉中における OTC 濃度について、魚種ごとの濃度の平均値に差があるかどうかについて多重比較検定をチューキー法により行った。

## 結果と考察

### 1. 飼育結果

飼育結果の概要を表 1 に示す。

分析用試料のサンプリング状況を表 2 に示す。

**マダイ** マダイは伯方島栽培漁業センターで、同センターが種苗生産した 1 歳魚を用いて試験を行った。試験期間中に、OTC-Q を投与した区 (以下 OTC-Q 区) で飛



表 1. 2004～2005 年における抗生物質の残留状況検証試験における飼育結果の概要

魚種	試験実施場所	抗生物質	試験期間	投薬期間	供試魚の大きさ		収容尾数	死亡尾数	採材尾数	生残率 (%)	水温 (°C)	備考
					全長 or 尾叉長 (cm)	体重 (g)						
マダイ	伯方島	OTC	7.22-9.2	7.27-8.2	21.1 (17.8-23.1)	135 (85-166)	20	8	10	20	26.2 (24.6-27.4)	滑走細菌症
		OTC-Q	7.22-8.23	7.27-8.2	21.1 (17.8-23.1)	135 (85-166)	20	1	10	90	26.1 (24.6-27.0)	飛び出しによる死亡
クロダイ	伯方島	OTC	7.22-9.2	7.27-8.2	21.8 (18.5-25.5)	151 (83-223)	18	5	10	50	26.2 (24.6-27.4)	滑走細菌症
		OTC-Q	7.22-8.23	7.27-8.2	測定せず	679 (480-890)	17	0	10	100	26.0 (24.2-26.8)	
ブリ	五島	OTC	9.24-11.4	9.28-10.4	測定せず	450	22	1	10	100	23.1 (21.2-25.6)	飛び出しによる死亡
		OTC-Q	9.24-10.25	9.28-10.4	測定せず	450	22	1	10	100	23.6 (22.0-25.6)	尾数調整
カンパチ	古満目	OTC	8.20-9.30	8.25-8.31	25.3 (19.8-28.0)	287 (130-390)	25	1	10	93	26.0 (24.5-27.8)	飛び出しによる死亡
		OTC-Q	8.20-9.20	8.25-8.31	25.3 (19.8-28.0)	287 (130-390)	25	0	10	100	26.1 (24.5-27.8)	
ヒラマサ	古満目	OTC	9.1-10.15	9.8-9.14	測定せず	3,500	14	0	10	100	25.7 (25.1-27.3)	
		OTC-Q	9.1-10.5	9.8-9.14	測定せず	3,500	13	0	10	100	25.6 (24.0-27.3)	
シマアジ	古満目	OTC	12.3-1.12	12.6-12.12	23.5 (20.0-25.8)	268 (147-363)	20	0	10	100	18.6 (15.2-21.1)	
		OTC-Q	12.3-1.2	12.6-12.12	23.5 (20.0-25.8)	268 (147-363)	20	0	10	100	19.3 (16.2-21.1)	
クエ	五島	OTC	10.8-11.18	10.12-10.18	測定せず	24	60	0	10	100	21.0 (18.2-23.9)	
		OTC-Q	10.8-11.8	10.12-10.18	測定せず	24	60	0	10	100	21.7 (19.9-24.0)	
マハタ	上浦	OTC	10.5-11.18	10.12-10.18	11.3 (10.4-12.8)	40.8 (28.4-55.3)	30	5	10	75	21.8 (19.4-23.8)	飛び出しによる死亡
		OTC-Q	10.5-11.8	10.12-10.18	11.3 (10.4-12.8)	40.8 (28.4-55.3)	30	7	10	65	22.7 (20.9-23.8)	飛び出しによる死亡
キジハタ	玉野	OTC	8.12-10.3	8.27-9.2	25.9 (23.5-29.2)	297 (202-464)	20	0	10	100	27.1 (25.0-28.5)	
		OTC-Q	8.12-9.23	8.27-9.2	25.1 (21.6-27.7)	272 (166-386)	20	0	10	100	27.5 (25.9-28.5)	
イサキ	古満目	OTC	8.4-9.30	8.25-8.31	23.9 (20.1-27.4)	233 (158-324)	25	0	10	100	26.2 (24.5-27.8)	
		OTC-Q	8.4-9.20	8.25-8.31	23.9 (20.1-27.4)	233 (158-324)	25	0	10	100	26.3 (24.5-27.8)	
イシガキダイ	古満目	OTC	8.9-9.30	8.25-8.31	16.6 (14.2-20.2)	132 (77-243)	50	0	10	100	26.2 (24.5-27.8)	
		OTC-Q	8.9-9.20	8.25-8.31	16.6 (14.2-20.2)	132 (77-243)	50	0	10	100	26.3 (24.5-27.8)	
メジナ	古満目	OTC	8.4-9.30	8.25-8.31	25.3 (23.2-27.4)	291 (219-348)	29	0	10	100	26.2 (24.5-27.8)	
		OTC-Q	8.4-9.20	8.25-8.31	25.3 (23.2-27.4)	291 (219-348)	29	0	10	100	26.3 (24.5-27.8)	

大きさと水温は、平均値と（最小値－最大値）で示す。  
生残率は、生残尾数÷(収容尾数－サンプリング尾数)×100で示す。

び出しによる死亡と OTC を投与した区 (OTC 区) で滑走細菌症による死亡が認められた。平均水温は OTC 区で 26.2°C, OTC-Q 区で 26.1°C であり、通達で規定される水温より 2°C 程度高かった。1 試料につき 1 個体の筋肉を採取した。

クロダイ クロダイは伯方島栽培漁業センターで、同セ

ンター地先で採捕され、海上小割網で 1 年以上飼育した 1 歳魚と年齢不明魚を用いて試験を行った。試験期間中に、OTC 区で滑走細菌症による死亡が認められた。平均水温は OTC 区で 26.2°C, OTC-Q 区で 26.0°C であり、通達で規定される水温より 2°C 程度高かった。1 試料につき 1 個体の筋肉を採取した。

表 2. 2004～2005 年における抗生物質の残留状況検証試験におけるサンプリングの概要

魚種	抗生物質	サンプリング月日		全長 or 尾叉長 (cm)		体重 (g)	
		投薬翌日	休薬後	投薬翌日	休薬後	投薬翌日	休薬後
マダイ	OTC	8.3	9.2	21.1 (20.0-22.4)	23.2 (22.0-24.1)	157 (137-175)	195 (150-222)
	OTC-Q	8.3	8.23	21.8 (20.4-23.2)	22.6 (21.2-25.2)	152 (125-191)	180 (144-245)
クロダイ	OTC	8.3	9.2	21.3 (17.9-25.5)	22.1 (19.3-24.2)	153 (94-226)	170 (110-216)
	OTC-Q	8.3	8.23	35.6 (34.8-36.5)	38.3 (35.5-41.0)	586 (358-710)	779 (665-925)
ブリ	OTC	10.5	11.4	35.3 (34.5-36.2)	38.4 (37.4-40.5)	548 (500-610)	761 (730-835)
	OTC-Q	10.5	10.25	35.5 (34.3-36.5)	37.0 (36.2-37.8)	544 (500-580)	628 (599-662)
カンパチ	OTC	9.1	10.1	30.3 (28.1-32.7)	34.2 (33.2-35.7)	334 (265-408)	532 (505-590)
	OTC-Q	9.1	9.21	28.4 (26.2-29.9)	33.4 (31.6-36.6)	288 (206-354)	455 (357-585)
ヒラマサ	OTC	9.15	10.15	72.3 (69.8-73.6)	67.7 (64.3-70.0)	4,148 (3,880-4,410)	5,174 (4,870-5,660)
	OTC-Q	9.15	10.5	73.3 (68.7-75.6)	65.3 (63.7-67.2)	4,130 (3,360-4,730)	4,694 (4,200-5,225)
シマアジ	OTC	12.13	1.12	24.7 (22.4-26.4)	25.4 (23.3-26.3)	305 (228-360)	354 (281-388)
	OTC-Q	12.13	1.2	24.2 (22.4-25.8)	26.9 (24.1-29.6)	288 (219-358)	353 (281-451)
クエ	OTC	10.19	11.18	13.2 (12.1-14.5)	14.7 (13.8-15.7)	39.9 (32.6-55.6)	46.4 (35.4-56.4)
	OTC-Q	10.19	11.8	13.4 (12.2-15.3)	14.5 (13.1-16.9)	41.3 (34.3-58.5)	47.6 (32.6-66.7)
マハタ	OTC	10.19	11.18	13.2 (12.0-13.8)	16.5 (15.7-17.0)	58.7 (33.8-69.7)	100.1 (82.5-121.6)
	OTC-Q	10.19	11.8	13.6 (13.0-14.2)	16.5 (15.7-17.0)	60.8 (52.1-75.0)	100.2 (82.5-121.6)
キジハタ	OTC	9.3	10.3	26.8 (24.2-28.9)	26.8 (25.3-28.4)	334 (261-441)	355 (298-435)
	OTC-Q	9.3	9.23	26.9 (24.4-28.0)	26.7 (25.2-28.5)	358 (331-418)	332 (293-381)
イサキ	OTC	9.1	10.1	24.4 (22.6-26.7)	24.3 (22.3-27.7)	255 (195-315)	244 (180-345)
	OTC-Q	9.1	9.21	25.4 (23.6-28.4)	22.6 (21.6-23.9)	256 (220-325)	239 (201-290)
イシガキダイ	OTC	9.1	10.1	18.1 (14.9-20.7)	22.2 (20.7-23.5)	189 (94-285)	339 (265-390)
	OTC-Q	9.1	9.21	19.8 (17.8-22.1)	20.6 (19.4-21.6)	222 (155-310)	268 (197-315)
メジナ	OTC	9.1	10.1	27.1 (25.2-30.3)	24.9 (22.7-27.3)	372 (285-512)	300 (240-405)
	OTC-Q	9.1	9.21	25.0 (23.1-27.1)	25.6 (24.1-26.8)	292 (215-405)	393 (345-441)

全長または尾叉長と体重は、平均値と（最小値-最大値）で示す。

**ブリ** ブリは五島栽培漁業センターで、同センターが種苗生産した当歳魚を用いて試験を行った。試験期間中に OTC 区で 1 尾が水槽から飛び出して死亡した。OTC 区で死亡があったため、OTC-Q 区では飼育尾数を揃える目的で 1 尾を尾数調整のため取り上げた。平均水温は OTC 区で 23.1℃、OTC-Q 区で 23.6℃であった。1 試料につき 1 個体の筋肉を採取した。

**カンパチ** カンパチは古満目栽培漁業センターで、高知

県のもじゃこ採捕漁業者が採捕した当歳魚を用いて試験を行った。試験期間中に OTC 区で 1 尾が水槽から飛び出して死亡した。平均水温は OTC 区で 26.0℃、OTC-Q 区で 26.1℃であり、通達で規定される水温より 2℃程度高かった。1 試料につき 1 個体の筋肉を採取した。

**ヒラマサ** ヒラマサは、中華人民共和国旅順地先で採捕され、高知県幡多郡大月町安満地地先の海上小割網で飼育した 2 歳魚を用いて、古満目栽培漁業センターで試験

を行った。試験期間中に死亡は認められなかった。平均水温は OTC 区で 25.6℃、OTC-Q 区で 25.7℃であり、通達で規定される水温より 2℃程度高かった。1 試料につき 1 個体の筋肉を採取した。

**シマアジ** シマアジは古満目栽培漁業センターで、同センター地先で採捕され、海上小割網で飼育した当歳魚を用いて試験を行った。試験期間中に死亡は認められなかった。平均水温は OTC 区で 18.6℃、OTC-Q 区で 19.3℃であった。1 試料につき 1 個体の筋肉を採取した。

**クエ** クエは五島栽培漁業センターで、同センターが種苗生産した当歳魚を用いて試験を行った。試験期間中に死亡は認められなかった。平均水温は OTC 区で 21.0℃、OTC-Q 区で 21.7℃であった。1 試料につき 2~4 個体の筋肉を採取した。

**マハタ** マハタは上浦栽培漁業センターで、同センターが種苗生産した当歳魚を用いて試験を行った。試験期間中に OTC 区で 5 尾、OTC-Q 区で 7 尾の死亡が認められた。いずれも水槽からの飛び出しによる事故死であった。平均水温は OTC 区で 21.8℃、OTC-Q 区で 22.7℃であった。1 試料につき 1 個体の筋肉を採取した。

**キジハタ** キジハタは玉野栽培漁業センターで、同センターが種苗生産した 3 歳魚を用いて試験を行った。試験期間中の死亡は認められなかった。平均水温は OTC 区で 27.1℃、OTC-Q 区で 27.5℃であり、通達で規定される水温より 3℃程度高かった。1 試料につき 1 個体の筋肉を採取した。

**イサキ** イサキは古満目栽培漁業センターで、民間業者が種苗生産した 2 歳魚を用いて試験を行った。試験期間中の死亡は認められなかった。平均水温は OTC 区で 26.2℃、OTC-Q 区で 26.3℃であり、通達で規定される水温より 2℃程度高かった。1 試料につき 1 個体の筋肉を採取した。

**イシガキダイ** イシガキダイは古満目栽培漁業センターで、高知県のもじゃこ採捕漁業者が採捕した当歳魚を用いて試験を行った。試験期間中の死亡は認められなかった。平均水温は OTC 区で 26.2℃、OTC-Q 区で 26.3℃であり、通達で規定される水温より 2℃程度高かった。1 試料につき 1 個体の筋肉を採取した。

**メジナ** メジナは古満目栽培漁業センターで、同センター地先で採捕され、海上小割網で 1 年以上飼育した年齢不明魚を用いて試験を行った。試験期間中に死亡は認められなかった。平均水温は OTC 区で 26.2℃、OTC-Q 区で 26.3℃であり、通達で規定される水温より 2℃程度高かった。1 試料につき 1 個体の筋肉を採取した。

いずれの魚種でも、順調にサンプリングが行われ、死亡魚の発生もマダイおよびクロダイの OTC 区で滑走細菌症が発生したものの、他では飛び出しによる死亡のみであったことから、本試験の飼育経過は順調であったと考えられた。

## 2. 抗生物質の残留状況に関する分析結果

抗生物質の残留量を分析した結果を表 3 に示す。

**マダイ** OTC または OTC-Q を投薬したマダイには、投薬終了翌日に平均 0.61 ppm または 0.51 ppm の OTC が残留していた。ただし、OTC-Q 区の 1 尾の筋肉からは OTC が検出されなかった。この個体の肥満度は 13.1 と、平均値の 15.0 よりは小さかったものの、この個体より小さな値を示す個体もあり、この個体が摂餌しなかったことにより OTC 濃度が上昇しなかったとは考えにくい。平均値は、この個体のデータを除いて計算した。休薬期間経過後は、いずれの区も OTC 濃度は検出限界未満であった。

**クロダイ** OTC または OTC-Q を投薬したクロダイには、投薬終了翌日に平均 0.35 ppm または 0.54 ppm の OTC が残留していた。休薬期間経過後は、いずれの区も OTC 濃度は検出限界未満であった。

**ブリ** OTC または OTC-Q を投薬したブリには、投薬終了翌日に平均 0.89 ppm または 1.09 ppm の OTC が残留していた。休薬期間経過後は、OTC または OTC-Q 区から 0.02~0.03 ppm または 0.04~0.05 ppm の OTC が検出されたが、いずれの抗生物質も食品安全委員会が定める食品中の動物用医薬品の残留基準値の 0.2 ppm 未満であった。

**カンパチ** OTC または OTC-Q を投薬したカンパチには、投薬終了翌日に平均 1.06 ppm または 1.14 ppm の OTC が残留していた。休薬期間経過後は、いずれの区からも 0.03~0.05 ppm の OTC が検出されたが、残留基準値未満であった。

**ヒラマサ** OTC または OTC-Q を投薬したヒラマサには、投薬終了翌日に平均 1.38 ppm または 1.05 ppm の OTC が残留していた。休薬期間経過後は、いずれの区からも 0.03 ppm 以下の OTC が検出されたが、残留基準値未満であった。

**シマアジ** OTC または OTC-Q を投薬したシマアジには、投薬終了翌日に平均 0.34 ppm または 0.22 ppm の OTC が残留していた。ただし、OTC-Q 区の 1 尾の残留は 0.02 ppm と検出限界の値であった。この個体の肥満度は 19.2 と、平均値の 20.0 よりは小さかったものの、この個体より小さな値を示す個体もあり、この個体が摂餌しなかったことにより OTC 濃度が上昇しなかったとは考えにくい。平均値は、この個体のデータを除いて計算した。休薬期間経過後は、いずれの区も OTC 濃度は検出限界未満であった。

**クエ** OTC または OTC-Q を投薬したクエには、投薬終了翌日に平均 0.43 ppm または 0.45 ppm の OTC が残留していた。休薬期間経過後は、OTC または OTC-Q 区から 0.03~0.05 ppm または 0.02~0.05 ppm の OTC が検出されたが、いずれも残留基準値未満であった。

**マハタ** OTC または OTC-Q を投薬したマハタには、投薬終了翌日に平均 0.61 ppm または 0.64 ppm の OTC が

表3. 抗生物質の残留状況検証試験における筋肉中のOTC残留量分析結果の概要

魚種	抗生物質	投薬翌日	休薬後	
		残留濃度 (ppm)	残留濃度 (ppm)	基準値との比較
マダイ	OTC	0.61 (0.40-0.89)	<0.02	基準値未満
	OTC-Q	0.51 (0.22-0.83)	<0.02	基準値未満
クロダイ	OTC	0.35 (0.19-0.52)	<0.02	基準値未満
	OTC-Q	0.54 (0.42-0.62)	<0.02	基準値未満
ブリ	OTC	0.89 (0.74-1.10)	0.02 (0.02-0.03)	基準値未満
	OTC-Q	1.09 (0.87-1.30)	0.04 (0.04-0.05)	基準値未満
カンパチ	OTC	1.06 (1.00-1.10)	0.04 (0.03-0.05)	基準値未満
	OTC-Q	1.14 (1.00-1.30)	0.04 (0.03-0.05)	基準値未満
ヒラマサ	OTC	1.38 (1.20-1.70)	- (<0.02-0.03)	基準値未満
	OTC-Q	1.05 (0.88-1.30)	- (<0.02-0.03)	基準値未満
シマアジ	OTC	0.34 (0.22-0.45)	<0.02	基準値未満
	OTC-Q	0.22 (0.17-0.25)	<0.02	基準値未満
クエ	OTC	0.43 (0.26-0.55)	0.03 (0.03-0.05)	基準値未満
	OTC-Q	0.45 (0.31-0.54)	0.04 (0.02-0.05)	基準値未満
マハタ	OTC	0.61 (0.34-1.00)	<0.02	基準値未満
	OTC-Q	0.64 (0.50-0.74)	- (<0.02-0.02)	基準値未満
キジハタ	OTC	0.51 (0.29-0.62)	<0.02	基準値未満
	OTC-Q	0.44 (0.27-0.61)	<0.02	基準値未満
イサキ	OTC	0.49 (0.11-0.71)	<0.02	基準値未満
	OTC-Q	0.57 (0.37-0.68)	- (<0.02-0.03)	基準値未満
イシガキダイ	OTC	0.26 (0.22-0.32)	<0.02	基準値未満
	OTC-Q	0.23 (0.18-0.28)	<0.02	基準値未満
メジナ	OTC	0.69 (0.54-0.90)	<0.02	基準値未満
	OTC-Q	0.57 (0.30-0.77)	- (<0.02-0.02)	基準値未満

残留 OTC の値は、平均値と（最小値-最大値）で示す。  
基準値：食品安全委員会が定める食品中の動物用医薬品の残留基準値 (0.2 ppm)。

残留していた。休薬期間経過後は、OTC を投薬した区の OTC 濃度は検出限界未満であった。OTC-Q 区から 0.02 ppm 以下の OTC が検出されたが、残留基準値未満であった。

キジハタ OTC または OTC-Q を投薬したキジハタに

は、投薬終了翌日に平均 0.51 ppm または 0.44 ppm の OTC が残留していた。休薬期間経過後は、いずれの区も OTC 濃度は検出限界未満であった。

イサキ OTC または OTC-Q を投薬したイサキには、投薬終了翌日に平均 0.49 ppm または 0.57 ppm の OTC が残留していた。休薬期間経過後は、OTC 区から OTC は検出されなかった。OTC-Q 区から 0.03 ppm 以下の OTC が検出されたが、残留基準値未満であった。

イシガキダイ OTC または OTC-Q を投薬したイシガキダイには、投薬終了翌日に平均 0.26 ppm または 0.23 ppm の OTC が残留していた。休薬期間経過後は、いずれの区も OTC 濃度は検出限界未満であった。

メジナ OTC または OTC-Q を投薬したメジナには、投薬終了翌日に平均 0.69 ppm または 0.57 ppm の OTC が残留していた。休薬期間経過後は、OTC 区から OTC は検出されなかった。OTC-Q 区から 0.02 ppm 以下の OTC が検出されたが、残留基準値未満であった。

試験結果の総括 試験した 12 魚種について、OTC、OTC-Q いずれの抗生物質も、投薬終了翌日に OTC の残留が認められた。また、それぞれの抗生物質に規定されている休薬期間経過後に、食品安全委員会が定める食品中の動物用医薬品の残留基準値 0.2 ppm を超える OTC の残留は認められなかった。

投薬終了翌日の総括 試験した 12 魚種で、投薬終了翌日の筋肉に抗生物質の残留が確認された。OTC が今回の試験と同じ方法で投与されたマダイの知見<sup>2)</sup>では、最終投薬から 24 時間後の筋肉中の OTC の残留量が 0.58 (最小 0.13~最大 0.91) ppm であり、今回の試験結果でも平均 0.61 ppm とほぼ同等であった。

OTC 投薬終了翌日における OTC の残留状況を図 1 に、OTC-Q 投薬終了翌日における残留状況を図 2 に、それぞれ魚種ごとに示した。いずれの抗生物質の場合も、シマアジを除くアジ科魚類の値が高く、シマアジとイシガキダイが低い傾向があった。

それぞれの抗生物質ごとに、OTC 残留量について多重比較した結果を表 4, 5 に示す。OTC では、ブリ属で他の魚種より統計的に有意に残留量が多かった。ブリ属の中では、ブリの残留量が少なかった。タイ科、ハタ科、イサキ、メジナの間では残留量に有意差は認められなかった。メジナとシマアジおよびイシガキダイを比較すると、メジナの残留量は有意に多かった。OTC-Q では、ブリ属間で残留量に有意差がなく、他魚種より多かった。タイ科とハタ科、イサキ、メジナでは差がなかった。マハタ、イサキ、メジナはシマアジ、イシガキダイより残留量が多かった。

以上の結果から、今回の試験条件において、単位体重当たりの抗生物質の投与量を一定とした場合、ブリ属でもっとも OTC が残留しやすいと考えられた。次にタイ科、ハタ科、イサキ、メジナが残留しやすく、シマアジとイシガキダイはもっとも残留しにくいと考えられた。

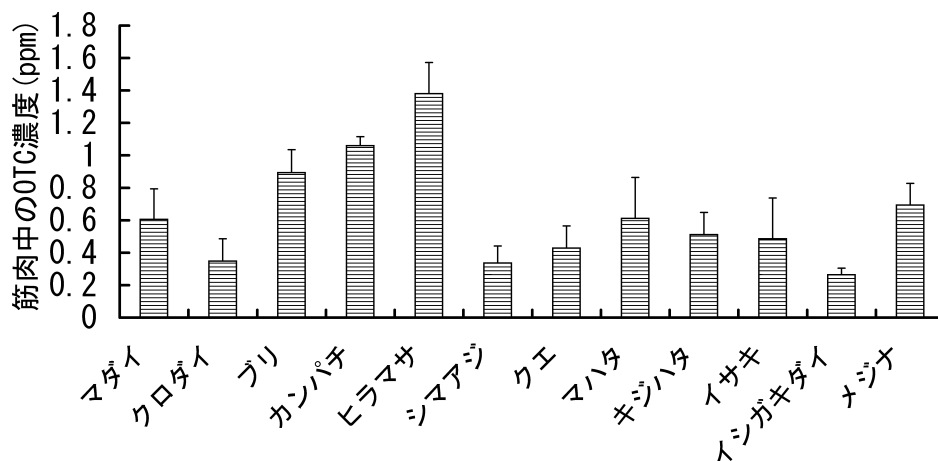


図1. 抗生物質の残留状況検証試験における OTC 投薬翌日の筋肉中における OTC 濃度の平均値（棒グラフ）と標準偏差（直線）

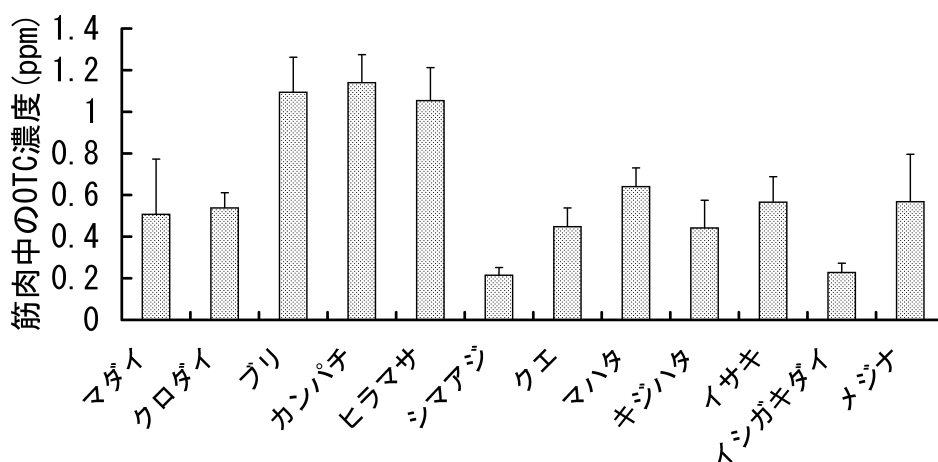


図2. 抗生物質の残留状況検証試験における OTC-Q 投薬翌日の筋肉中における OTC 濃度の平均値（棒グラフ）と標準偏差（直線）

表4. OTC を投薬翌日の筋肉中の OTC 濃度についてチューキー法により多重比較検定を行った結果

	マダイ	クロダイ	ブリ	カンパチ	ヒラマサ	シマアジ	クエ	マハタ	キジハタ	イサキ	イシガキダイ	メジナ
マダイ				**	**							
クロダイ			**	**	**							
ブリ					**						**	
カンパチ					**	**	**	**	*	**	**	*
ヒラマサ						**	**	**	**	**	**	**
シマアジ												*
クエ												
マハタ												
キジハタ												
イサキ												
イシガキダイ												**
メジナ												

\*:  $p < 0.01$   
 \*\*:  $p < 0.05$

シマアジではブリ属と同じアジ科でありながら、OTC の残留状況に著しい違いが認められた。この要因として魚種の特異性が考えられる。一方、ブリ属の試験水温が 23~26℃と生育適水温の中間から上であるのに対し<sup>3, 4)</sup>

シマアジでは 20℃未満と下限に近い温度<sup>5)</sup>であったことが影響している可能性も考えられる。水温と残留量の関係については、試験魚の大きさを考慮しつつ、水温を変えた試験を行って検証する必要がある。

表 5. OTC-Q を投薬翌日の筋肉中の OTC 濃度についてチューキー法により多重比較検定を行った結果

	マダイ	クロダイ	ブリ	カンパチ	ヒラマサ	シマアジ	クエ	マハタ	キジハタ	イサキ	イシガキダイ	メジナ
マダイ			**	**	**							
クロダイ			**	**	**						*	
ブリ						**	**	**	**	**	**	**
カンパチ					**	**	**	**	**	**	**	**
ヒラマサ					**	**	**	**	**	**	**	**
シマアジ							**			*		*
クエ												
マハタ											**	
キジハタ												
イサキ											*	
イシガキダイ												*
メジナ												

\*:  $p < 0.01$   
 \*\*:  $p < 0.05$

**休薬後の総括** 試験した 12 魚種では、休薬後の筋肉から食品中の動物用医薬品の残留基準値である 0.2 ppm を超えて OTC が検出される例は観察されなかった。したがって、安全な水産物を消費者に供給する観点から、薬事・食品衛生審議会より、「目ごとに代表魚種以外の魚種の残留性を検証し、残留基準を超える残留が認められた場合はガイドラインの見直しおよび休薬期間の変更などを進めていかなければならない」との指摘があるが、今回試験したスズキ目の魚種については、現状の休薬期間で問題ないものと考えられた。また、ガイドラインの見直しを直ちに進める必要はないものと考えられた。

## 謝 辞

本報告に当たり、試験の実施に多大なご協力をいただいた独立行政法人水産総合研究センター今村茂生理事、栽培漁業部技術開発調整官有元 操博士、技術開発課長 虫明敬一博士、古満目栽培漁業センター廣川 潤場長、

五島栽培漁業センター服部圭太場長、玉野栽培漁業センター関谷幸雄場長（現厚岸栽培漁業センター場長）、上浦栽培漁業センター岡 雅一場長に深謝の意を表する。

## 参考文献

- 1) 藤田和弘・伊藤嘉奈子・荒木恵美子・丹野憲二・村山三徳・斉藤行生 (1997) 畜水産食品中の残留オキシテトラサイクリンの分析法. 食衛誌, **38**, 12-14.
- 2) 増村和彦・竹野 登・中川敦史・今野俊逸・長野雄治 (1981) 養殖マダイに対する塩酸オキシテトラサイクリンの体内移行残留と安全性に関する研究. 広水試研報, **11**, 135-140.
- 3) 宮下 盛 (2000) ブリ・ハマチ. 最新海産魚の養殖, 熊井英水編著, 52-77.
- 4) 宮下 盛・熊井英水 (2000) カンパチ. 最新海産魚の養殖, 熊井英水編著, 78-88.
- 5) 滝井健二 (2000) シマアジ. 最新海産魚の養殖, 熊井英水編著, 131-139.

# 栽培漁業技術開発研究 投稿要領

## [投稿の資格]

投稿者は、栽培漁業に関する技術開発および研究に従事するものとする。ただし、編集委員長が特に認めた場合についてはこの限りではない。

## [投稿原稿の種類]

報文は原著論文および総説、短報、資料とする。

短報・資料は、論文としてまとまらないが、限られた部分に関する実験結果や、新しい手法など情報として価値があるものや、栽培漁業技術の発展に寄与すると考えられる技術情報等とする。

## [投稿原稿]

1. 投稿原稿は和文とする。
2. 投稿原稿は別に定める「原稿の書き方」にしたがって作成する。
3. 投稿原稿は、表題、著者名、所属および所在地、英文表題、英文著者名、英文要旨のあとに、本文、文献、表、図・写真、和文要旨の順に綴る。
4. 原則として、同一著者の同一シリーズの論文は1号につき1編を掲載する。

## [投稿の方法]

原稿を投稿する場合には、以下の印刷物の原本（各1部）および原稿を保存した電子媒体を編集事務局宛て送付する。電子媒体での送付が不可能な場合には、原稿の原本1部と写し（コピー）2部および投稿用紙1部を事務局あて郵送するものとする。

- (1) 所定の様式に従って作成した原稿
- (2) 投稿用紙（用紙は事務局あて請求のこと）

## [投稿原稿の取り扱い]

投稿された原稿は、編集委員会において審査する。内容について再検討を要すると判断された原稿は、コメントを付して著者に返送し、修正を求めることがある。

## [著者校正]

誤植防止のため、校正は原則として著者が行う。校正では原則として印刷所のミスによる誤り以外の訂正、変更をしてはならない。

## [別刷]

著者が別刷を希望する場合は、著者の実費負担にて印刷する。

## [写真]

掲載する写真は原則としてモノクロームとする。著者の希望により編集委員長が認めた場合にはカラー印刷を可とする。

## [刊行]

「栽培漁業技術開発研究」は、原則として年2回、4月および10月に刊行するとともに、電子ファイルにて水研センターのホームページに掲載する。

本誌掲載文の著作権は、水研センターに帰属する。

## [規程の変更]

この規程は栽培技研編集委員会の承認により変更することができる。

（平成 5年 10月 27日一部改訂）

（平成 13年 6月 18日一部改訂）

（平成 16年 4月 1日一部改訂）

# 栽培漁業技術開発研究 原稿の書き方

## [原稿用紙]

原稿は原則としてワードプロセッサ（パソコン）を用いて作成する。用紙はA4判白紙とし、縦長に置き、上下左右に各2 cm以上の十分な余白を設け、35字×25行の十分に行間をとった横書き形式で、文字の大きさは11あるいは12ポイント、字体は特に指定する以外は明朝体（MS明朝、平成明朝等）で作成する。手書きの場合には、A4判原稿用紙（400字詰）に明瞭な楷書で横書きとする。本文、和文・英文要旨、文献には行番号を付すこと。すべてのページにページ番号を付すこと。

## [原稿の長さ]

原稿の長さは、おおむね以下のとおりとする。

短報：刷り上がり2頁程度

その他の報文：刷り上がり10頁を限度とする

ただし、編集委員会が認めた場合、および、編集委員会が特に依頼した総説等の原稿はその限りではない。

## [原稿の構成]

投稿原稿は、表題、著者名、所属および所在地、英文表題、英文著者名、英文要旨のあとに、本文、文献、表、図・写真、和文要旨の順に綴る。

## [表題]

1. 表題は、論文内容を適切に表現する簡潔な文とし、英文表題を添える。
2. 和文表題では、生物名は原則として和名のみとし、学名は併記しない。
3. 英文表題は、生物名に続けて学名を記入しイタリックで指定する。

## [著者名]

英文著者名はローマ字で書き、名 (first name)、姓 (family name) の順とする。姓の最初の文字はキャピタル、2番目以降の文字はスモールキャピタルで指定する。

連名の場合、和文著者名では中点「・」で、英文著者名では「,」と「and」で連ねる。

(例)

ヒラメの成熟に及ぼす水温の影響について

鈴木一郎\*1・山田二郎\*1・田中三郎\*2

Effect of water temperature on the maturation of the flounder *Paralichthys olivaceus*

Ichiro SUZUKI, Ziro YAMADA, and Saburo TANAKA

## [所属および所在地]

和文著者名の右肩にアスタリスク「\*」（ただし共著者のある場合には\*1, \*2, …）を付けて指定し、本文第1頁の下段に脚注として記載する。第一著者は所属する機関名とその住所を和文と英文で記載し、第二著者以下については、所属機関名と住所を和文で記載する。

(例)

\*1 独立行政法人水産総合研究センター 八重山栽培漁業センター 〒907-0451 沖縄県石垣市桴海大田148 (Yaeyama Station, National Center for Stock Enhancement, FRA 148, Fukaioota, Ishigaki, Okinawa 907-0451, Japan).

\*2 独立行政法人水産総合研究センター 八重山栽培漁業センター 〒907-0451 沖縄県石垣市桴海大田148

## [要旨]

要旨は和文と英文を併載する。

和文要旨はA4判用紙に横書きで作成し、表題、著者名を含めて300字以内とする。

英文要旨はA4判用紙に横書きで作成し、表題、著者名を除いて200語以内とする。

## [本文の構成]

1. 原著論文の場合、本文の記載は、原則として、まえがき、材料と方法、結果、考察、要約（必要な場合）、文献の順序に従う。
2. 原著論文以外の報文は、方法、結果、考察など項目に細分しなくてもよい。
3. 見出しは左寄せで記載しゴシック指定を行う。ただし、まえがきの見出しは付けない。
4. 材料と方法や結果の項等の小見出しはゴシック指定を行い、番号は付けず、本文は追い込みとする。さらに細分化した見出しが必要な場合には、番号を、1., 2., …, (1), (2), …, 1), 2), … の順に使用して区分する。A, B, は用いない。番号および小見出しは並字で記載する。この場合も本文は追い込みとする。



(例)

## 材料と方法

親魚の飼育 採卵に用いた親魚は、20〇〇年〇月〇日に…

1. 餌料 親魚用の餌料としてイカナゴ、イワシ、などの鮮魚と配合飼料を…
- 1) 配合飼料 市販の配合飼料を…

## [文 献]

1. 引用した文献は、引用順に連番号を付ける。本文中では以下の例のように肩付き番号(上付き文字で指定する)で示し、「田中(1993)は…」のような引用は行わない。著者が複数の場合、2名までは姓を連記し、3名以上の場合には筆頭著者の姓に「ら」または「*et al.*」を付けて示す。
2. 外国語の文献を引用する場合は、著者名はキャピタル・スモールキャピタルで指定する。
3. 句読点の箇所に引用番号を付ける場合には、句読点の前に付ける。

(例)

田中<sup>1,2)</sup>は…、…が知られている<sup>3-6)</sup>。  
鈴木ら<sup>7)</sup>は…

GULLAND<sup>8)</sup>は…

4. 文献のリストは、本文の末尾にまとめて引用番号順に記載する。
5. 雑誌に掲載された論文を引用する場合は、以下の例に示すように、引用番号、著者名、年、表題、雑誌名、巻、ページの順に記載する。雑誌名は、慣用法に従って略記する。巻数はゴシックで指定する。欧文雑誌から引用する場合、雑誌名はイタリックで指定する。
6. 単行本から引用する場合は、引用番号、著者名、年、書名、出版社、出版地、ページの順に記載する。
7. 文献リストでは、著者が3名以上の場合でも著者名は全て記載する。また、同一著者や同一題名が続く場合にも「-」のように省略しない。
8. 事業報告書等で、著者名が明示されていない文献から引用する場合には、引用番号、報告県名(機関名)、年、報告書、ページの順に記載する。

(例)

・雑誌の場合

- 1) 吉村研治・宮本義次・中村俊政 (1992) 濃縮淡水クロレラ給餌によるワムシの高密度大量培養。栽培技研, **21**, 1-6.
- 2) NOGAMI, K., and M. MAEDA (1992) Bacteria as biocontrol agents for rearing larvae of the crab *Portunus trituberculatus*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*,

**49**, 2373-2376.

・単行本(引用箇所が1カ所の場合)

- 3) 田中昌一 (1985) 水産資源学総論. 恒星社厚生閣, 東京, pp. 181-183.

- 4) GULLAND, J. A. (1983) *Fish stock assessment*. Wiley, New York, pp. 83-96.

・単行本(同一の本から複数カ所を引用している場合)

- 5) 田中義麿・田中 潔 (1980) 科学論文の書き方. 裳華房, 東京, 365 pp.

- 6) COCHRAN, W. G. (1977) *Sampling techniques*. Wiley, New York, 428 pp.

・単行本(複数の論文を集めた本の中の1編を引用する場合)

- 7) 廣瀬慶二 (1992) 最近の成熟・産卵制御法. 「海産魚の産卵・成熟リズム」(廣瀬慶二編), 恒星社厚生閣, 東京, pp. 125-137.

- 8) ALLENDORF, F. W., and N. RTMAN (1987) Genetic management of hatchery stocks. in "Population genetics & fishery management" (ed. by N. RYMAN, and F. UTTER), Univ. of Washington Press, Seattle, pp. 141-160.

・事業報告書(著者名が明示されていないもの)

- 9) 茨城県 (1992) 平成2年度放流技術開発報告書, 太平洋ヒラメ班. 茨 21-茨 63.

- 10) 海洋水産資源開発センター (1992) 平成2年度沖合漁場総合整備開発基礎調査, 日本海大和推海域(本文編). 216 pp.

9. 私信, 未発表(投稿中は除く)や学会講演, シンポジウム要旨, 修士論文などは文献の項には記載しない。必要なら引用箇所に上付き指定でアスタリスク(※, ※1, ※2…)を付け, 脚注とする。

## [図・写真・表]

1. 投稿原稿に添付する原図は、そのまま印刷可能なものを原則とする。ただし、図の説明や数字、記号は原図コピーに鉛筆書きしたものでもよい。
2. 図、写真、表の原稿は、本文とは別葉とし、挿入箇所を本文原稿中の右の欄に赤字で指定する。
3. 図、写真、表の原稿の大きさは、A4判を超えないことを原則とする。刷り上がり時の大きさは、横幅が16 cm または 8 cm となるので、縮小率または刷り上がり時の大きさを必ず明記する。
4. 図、写真、表には番号と和文の説明文を付ける。
5. 図、写真の番号および説明文は、「図 1. …」、「写真 1. …」として原図の下部に直接記入する。表の番号および説明文は、「表 1. …」として表の原稿の上部に直接記入する。

## [脚 注]

脚注は、1カ所なら $\text{\textcircled{*1}}$ 、複数箇所の場合は連番号を使用し、 $\text{\textcircled{*1}}$ 、 $\text{\textcircled{*2}}$ のように上付きで指定して関連頁の下段に入れる。

## [文 字]

- 下記のとおり赤字で字体の指定を行う。  
イタリック：abcd、abcd → *abcd*  
ゴシック：abcd、abcd → **abcd**  
スモールキャピタル：ABCD → ABCD  
キャピタル：abcd、ABCD → ABCD  
キャピタル・スモールキャピタル：  
abcd、ABCD → ABCD  
上付き： $m\sqrt{2}$ 、 $m\sqrt{2}$  →  $m^2$   
：山田 $\text{\textcircled{1}}$ 、山田 $\text{\textcircled{2}}$  → 山田<sup>1)</sup>  
下付き： $O\hat{2}$ 、 $O\hat{2}$  →  $O_2$
- 数式の上付き、下付きの記号、およびギリシャ文字は明瞭に指定する。

## [生 物 名]

生物名は標準和名をカタカナで書く。学名を入れる場合には本文中の初出の箇所に記載し、イタリックで指定する。原則として命名者名を省略する。

## [電子ファイル原稿の提出要領]

- 提出する電子媒体は、3.5 インチフロッピーディスクまたは3.5 インチ MO ディスク（容量 640 MB 以下）または CD-R ディスクとする。
- フロッピーディスクおよび MO ディスクは MS-DOS フォーマットとし、CD-R ディスクは ISO9660 フォーマットとする。
- 原稿は、Windows あるいは Macintosh の MS Office や一太郎で投稿することが望ましい（その他対応ソフトウェアは表 1 を参照のこと）。文字化けなどトラブル時の内容確認のためにテキストファイルも同時に提出すること。どうしても表 1 に掲載したソフトウェアのファイルで投稿できない場合はテキストファイルのみを提出すること。
- 写真などの画像を電子ファイルで入稿する際には、必ず別ファイルとすること。また、300 dpi 以

上の TIFF か EPS ファイルとすること。JPEG も可能であるが、破壊的圧縮方法であることに留意すること。また、色再現性を高めるために、オリジナル写真、版下あるいはプリントアウトしたもの

- のを必ず添付すること。
- 日本語は全角を、英数字、小数点および斜線は半角を使用する。英文要旨や図表に全角特殊記号（÷, 凸, ∴, ♀, °C, ¥, ☆, ©, △, →, ※, ℓ など）を使用しない。
  - 改行マークは文章の段落の区切りのみに使用する。
  - スペースキーは英単語などの区切りにだけ使用し、文献などの字下げには使用しない。
  - 電子媒体を郵送する際には、ラベルに整理番号、連絡者氏名、原稿の表題、ファイル名、および原稿作成に使用したソフトウェアを明記する。ラベルが使用できない場合は別紙に明記し、電子媒体に同封して郵送すること。
  - 電子媒体の郵送に際しては、物理的な破損を防ぐために丈夫なケースで保護すること。
  - 提出する電子ファイルはバックアップコピーをとり、印刷終了時まで著者の手元に保管する。

表 1. 電子ファイル投稿時の推奨ソフトウェア

プラットフォーム	ソフトウェア
Windows	MS Office, 一太郎, Illustrator, 花子, CorelDraw
Macintosh	MS Office, 一太郎, Illustrator

## [その他]

その他の記載様式は、栽培技研の最新号に記載された論文を参照する。

(平成 5 年 4 月 14 日一部改訂)  
(平成 5 年 10 月 27 日一部改訂)  
(平成 6 年 4 月 21 日一部改訂)  
(平成 8 年 4 月 22 日一部改訂)  
(平成 10 年 12 月 21 日一部改訂)  
(平成 13 年 6 月 18 日一部改訂)  
(平成 16 年 4 月 1 日一部改訂)  
(平成 17 年 10 月 1 日一部改訂)

## 技研編集連絡

📌 本号より、編集委員として新たに島本信夫氏（兵庫県立農林水産技術総合センター但馬水産技術センター）に就任していただきました。

📌 「栽培漁業技術開発研究」は、随時投稿を受け付けています。投稿される方は、本号巻末の「栽培漁業技術開発研究 投稿規定」ならびに「栽培漁業技術開発研究 原稿の書き方」を参照してください。なお、投稿の予定がありましたら「投稿予定表」を、また、投稿の際には原稿とともに「投稿用紙」を編集幹事あてにお送り下さい。これらの用紙は、編集事務局に請求いただくか、下記ホームページからダウンロードできます。

## 編集委員会（第33巻第2号）

### 委員長

福永 辰廣（水産総合研究センター栽培漁業部）

### 委員

日野 明德（東京大学）

Marcy Wilder（国際農林水産業研究センター）

中島 博司（三重県科学技術振興センター）

島本 信夫（兵庫県立農林水産技術総合センター  
但馬水産技術センター）

廣瀬 慶二（元日本栽培漁業協会）

奥村 重信（水産総合研究センター屋島栽培漁業  
センター）

北田 修一（東京海洋大学）

石川 豊（岩手県水産技術センター）

加藤 和範（新潟県水産海洋研究所）

池田 義弘（長崎県総合水産試験場種苗量産技術  
開発センター）

田中 秀樹（水産総合研究センター養殖研究所）

西岡 豊弘（水産総合研究センター上浦栽培漁業  
センター）

### 幹事

虫明 敬一（水産総合研究センター栽培漁業部）

### 事務局

水産総合研究センター栽培漁業部

e-mail: [giken@ml.affrc.go.jp](mailto:giken@ml.affrc.go.jp)

<http://www.jasfa.or.jp/03kankou/index.html>

## 栽培漁業技術開発研究 第33巻 第2号

平成18年3月25日 印刷

平成18年3月31日 発行

編集者 福永辰廣

発行者 独立行政法人水産総合研究センター  
〒220-6115 神奈川県横浜市西区みなとみらい  
2-3-3 クイーンズタワー B 15階  
電話 045 (227) 2715

印刷者 株式会社 国際文献印刷社  
〒169-0075 東京都新宿区高田馬場 3-8-8  
電話 03 (3362) 9741-4