

# 栽培漁業技術開発研究

第35巻 第2号

2008年3月

---

## 目 次

---

ヒラメ受精卵のポビドンヨード剤による消毒効果の検討……………渡辺研一・太田健吾・高橋 誠	1
マダラ受精卵のポビドンヨード剤による消毒効果の検討……………佐藤 純・堀田卓朗・渡辺研一	5
ブリ受精卵のポビドンヨード剤による消毒効果の検討……………堀田卓朗・佐藤 純・渡辺研一	11
炭酸ガスを用いたアワビ類付着珪藻板飼育時のカイアシ類の除去方法……………中牟田弘典	15
エゾアワビ天然個体と放流個体の配偶子放出と発生および稚貝の生残の比較（短報）……………野呂忠勝・武蔵達也	21
スズキ目魚類に投薬したアンピシリン、オキシリン酸およびエリスロマイシンの筋肉に おける残留状況（資料）……………渡辺研一・森 広一郎・堀田卓朗・飯田貴次	25
カンパチとトラフグの筋肉と肝臓における抗生物質の残留に及ぼす投薬用飼料の影響（資料） ……………渡辺研一・堀田卓朗・飯田貴次	31

---

# SAIBAI GYOGYOU GIJUTSU KAIHATU KENKYU

— Technical Reports of Japanese Sea Ranching Programs —

Vol. 35, No. 2, 2008

---

## CONTENTS

---

Ken-ichi WATANABE, Kengo OHTA, Makoto TAKAHASHI	Disinfection of Fertilized Eggs of Japanese Flounder <i>Paralichthys olivaceus</i> with Povidone-Iodine	1
Jun SATOH, Takurou HOTTA and Ken-ichi WATANABE	Disinfection of Fertilized Eggs of Pacific Cod <i>Gadus macrocephalus</i> with Povidone-Iodine	5
Takurou HOTTA, Jun SATOH and Ken-ichi WATANABE	Disinfection of Fertilized Eggs of Yellowtail <i>Seriola quinqueradiata</i> with Povidone-Iodine	11
Hironori NAKAMUTA	A Novel Method of Eliminating Copepods on Attached Diatoms Collection Plates During the Artificial Mass Production of Juvenile Abalones	15
Tadakatsu NORO and Tatsuya MUSASHI	Comparison of Natural and Released Ezo Abalone <i>Haliotis discus hannai</i> with Regard to Gamete Release, Development, and Survival of Juveniles	21
Ken-ichi WATANABE, Koh-ichiro MORI, Takurou HOTTA and Takaji IIDA	Residue of Ampicillin, Oxolinic Acid and Erythromycin in the Muscles of Perciform Fish Species	25
Ken-ichi WATANABE, Takurou HOTTA and Takaji IIDA	Influence of Medication Food on Residue of Antibiotics in the Muscles and Livers of Purplish Amberjack <i>Seriola dumerili</i> and Ocellate Puffer <i>Takifugu rubripes</i>	31

---

**ヒラメ受精卵のポビドンヨード剤による消毒効果の検討**  
渡辺研一・太田健吾・高橋 誠

ヒラメ受精卵のポビドンヨード剤による適正な消毒条件を調査した。有効ヨウ素濃度 0～100 mg/l の海水に 5～20 分間浸漬したところ、5 分では対照区のふ化率と同等であった。生菌数を海水培地を用いて測定したところ、25～100 mg/l の濃度では 5 分以上浸漬すると、ほとんどの場合で消毒率が 90% を超えるか、検出限界未満となった。8 発生段階の受精卵を有効ヨウ素濃度 50 mg/l の海水に 5 分間浸漬したところ、原口閉鎖期でふ化率が低下した。以上の結果から、ヒラメ受精卵の安全で効果的な消毒条件は、原口閉鎖期以外の卵を用いて有効ヨウ素濃度 25～100 mg/l で 5 分間の浸漬であると考えられた。

栽培技研, 35(2), 1-4, 2008

**マダラ受精卵のポビドンヨード剤による消毒効果の検討**  
佐藤 純・堀田卓朗・渡辺研一

マダラ受精卵のポビドンヨード剤による適切な消毒条件を検討した。桑実期の卵を、有効ヨウ素濃度 0, 25, 50 および 100 mg/l の海水にそれぞれ 5, 10, 15 および 20 分間浸漬し、正常ふ化率と生菌数を調査した。25 mg/l のヨード海水に 5 分間浸漬した場合、正常ふ化に及ぼす影響は少ないと考えられ、生菌数は、同じ条件で対照区より 94% 以上減少し、消毒効果が確認された。以上のことから、マダラ受精卵のポビドンヨード剤による消毒は、有効ヨウ素濃度 25mg/l で 5 分間浸漬の条件で、効果的な消毒が可能と考えられた。

栽培技研, 35(2), 5-9, 2008

**ブリ受精卵のポビドンヨード剤による消毒の効果の検討**  
堀田卓朗・佐藤 純・渡辺研一

ブリ受精卵をポビドンヨード剤で消毒する際の効果的で安全な処理条件について検討した。モルラ期の卵を、有効ヨウ素濃度 (以下省略) 0, 25, 50 および 100 mg/l の海水に、0, 5, 10, 15 および 20 分間浸漬し、ふ化率と生菌数を調査した。その結果、25, 50 および 100 mg/l では 5 分間の浸漬であれば、ふ化に及ぼす影響は少ないと考えられた。生菌数は 25 mg/l 以上、浸漬時間 5 分で 90% 以上減少し、消毒効果が確認された。

栽培技研, 35(2), 11-14, 2008

**炭酸ガスを用いたアワビ類付着珪藻板飼育時のカイアシ類の除去方法**  
中牟田 弘典

アワビ類の種苗生産では、付着珪藻板飼育時にカイアシ類 (以下コペポーダという) が大量に増殖することによって、アワビ類の初期餌料となる付着珪藻の不足を招き問題となっている。そこで、炭酸ガスを通気した海水への浸漬がコペポーダやエゾアワビ稚貝に及ぼす影響を調査し、付着珪藻板からコペポーダを効率的に除去するための方法を検討した。コペポーダの炭酸ガスに対する感受性は高く、エゾアワビ稚貝より短時間に行動が抑制された。一方、エゾアワビ稚貝の生残と行動に及ぼす影響は小さかった。炭酸ガスを通気した海水にエゾアワビ稚貝飼育中の付着珪藻板を浸漬し、速やかに海水で洗浄することにより、コペポーダを効率的に付着珪藻板から除去することが可能と考えられた。

栽培技研, 35(2), 15-19, 2008

**エゾアワビ天然個体と放流個体の配偶子放出と発生および稚貝の生残の比較**

野呂忠勝・武蔵達也

岩手県沿岸で 9 月に同一漁場から採取したエゾアワビ天然個体と放流個体の雌雄それぞれ 5 個体ずつを用い、陸上施設で再生産に関する項目について比較した。その結果、放卵、放精の誘発刺激により全個体が放卵、放精し、産卵数、受精率、幼生の浮上率と生残率および平均殻長 6 mm までの稚貝の生残と成長に、差は認められなかった。以上の結果、放流後成熟したエゾアワビは、刺激があれば放卵、放精し、卵と精子は天然個体と同等の水準で受精し、発生が進むこと、さらに幼生および稚貝の生残と成長も天然個体由来の幼生および稚貝と同等であることが確認された。したがって、放流個体が再生産に寄与している可能性は高いと考えられる。

栽培技研, 35(2), 21-24, 2008

**スズキ目魚類に投薬したアンピシリン、オキシリン酸およびエリスロマイシンの筋肉における残留状況**

渡辺研一・森 広一郎・堀田卓朗・飯田貴次

4 種のスズキ目魚類にアンピシリン (ABPC)、オキシリン酸 (OA) またはエリスロマイシン (EM) を、それぞれ体重 1 kg あたり 20, 30, 50mg/日の投薬量となるように 5, 7, 5 日間経口投与し、その後、5, 16, 30 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、被検薬の濃度を測定した。ABPC ではいずれの魚種も投薬翌日に被検薬は検出されなかったが、OA および EM では高濃度の被検薬が検出された。しかし、休薬終了翌日では、いずれも動物用医薬品の残留基準値以下の残留濃度であった。

栽培技研, 35(2), 25-30, 2008

**カンパチとトラフグの筋肉と肝臓における抗生物質の残留に及ぼす投薬用飼料の影響**

渡辺研一・堀田卓朗・飯田貴次

配合飼料、モイストペレットおよび生餌に、塩酸オキシテトラサイクリン (OTC) またはエリスロマイシン (EM) を、体重 1 kg あたり 50 mg/日の投薬量となるように添加し、カンパチとトラフグに 5 日間 (EM) または 7 日間 (OTC) 経口投与して、投薬用飼料が抗生物質の残留に及ぼす影響を調査した。投薬前および投薬終了の翌日、11, 21, 31 日後の筋肉および肝臓中の OTC または EM 濃度を測定したところ、投薬用の飼料の種類が水産用医薬品の残留性に影響を与える可能性はないものと考えられた。

栽培技研, 35(2), 31-40, 2008

# ヒラメ受精卵のポビドンヨード剤による消毒効果の検討

渡辺 研一<sup>\*1</sup>・太田 健吾<sup>\*2</sup>・高橋 誠<sup>\*2</sup>

## Disinfection of Fertilized Eggs of Japanese Flounder *Paralichthys olivaceus* with Povidone-Iodine

Ken-ichi WATANABE, Kengo OHTA and Makoto TAKAHASHI

Suitable conditions for disinfection of fertilized eggs of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* with povidone-iodine were investigated. Fertilized eggs were incubated until hatching after exposure to povidone-iodine at 0 to 100 mg/ℓ concentrations for 5 to 20 min. Viable bacterial counts of both treated and untreated eggs were measured using seawater agar. The hatching rate of treated eggs at 100 mg/ℓ concentration or less for 5 min was almost the same as that of untreated eggs. A decrease of more than 90% was observed in viable bacterial counts of eggs treated with povidone-iodine at 25 to 100 mg/ℓ concentrations for 5 min. The hatching rate of fertilized eggs at the just closed blastopore stage was significantly different from that of fertilized eggs at the 7 other developmental stages. This study concluded that treatment with 25 to 100 mg/ℓ concentration of povidone-iodine for 5 min is suitable for disinfection of fertilized eggs of Japanese flounder, except for eggs that are at the just closed blastopore stage.

2008年1月30日受理

ヒラメ *Paralichthys olivaceus* は日本全国で2,500万尾あまりが放流されているもっとも重要な栽培漁業対象種の一つである<sup>1)</sup>。その種苗生産過程においては、ウイルス性表皮増生症やウイルス性神経壊死症(VNN)を始めとするウイルス性疾病、消化管白濁症やジブリオ病を始めとする細菌性疾病などが発生し、種苗の安定生産を阻害する重要な問題となっている<sup>2)</sup>。

中でもVNNは、全世界の30種を超える魚種での発生が報告されており<sup>3)</sup>、シマアジ *Pseudocaranx dentex*<sup>4)</sup>、マツカワ *Verasper moseri*<sup>5)</sup>、シーバス *Dicentrarchus labrax*<sup>6)</sup>、マハタ *Epinephelus septemfasciatus*<sup>7)</sup> などでは、種苗生産過程におけるVNNの主要感染経路が親魚からの垂直感染と考えられており、ヒラメでも垂直感染の可能性は否定できない。魚類の増養殖における垂直感染の防除対策としては、サケ・マス類でポビドンヨード剤(以下ヨード剤)を用いた卵消毒が実施されており<sup>8)</sup>、ヒラメでもいくつかの卵消毒条件に関する報告がある<sup>9,10,11)</sup>。しかしながら、これらの報告におけるふ化率

が低下しない浸漬条件は、有効ヨウ素濃度10 mg/ℓの海水に10分の浸漬から100 mg/ℓに15分まで様々であり、一定の基準が定められていない。また、シマアジ、マダイ *Pagrus major*、ホシガレイ *Verasper variegatus*、クエ *Epinephelus bruneus* などの海産魚では卵の発生段階によりヨード剤に対する感受性が異なる場合があることが報告されているが<sup>12,13,14)</sup>、本種における知見は見あたらない。

そこで、ヒラメ受精卵に対するヨード剤を用いた卵消毒に適した浸漬条件の検討および卵発生段階が異なる受精卵のヨード剤に対する感受性を明らかにするための試験を行ったので報告する。

### 材料と方法

**受精卵** 試験には、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栽培技術開発センターで、天然魚および人工生産魚を親魚になるまで養成したヒラメが自

\*1 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 (National Research Institute of Aquaculture (NRIA), Fisheries Research Agency (FRA), Kamiura, Saiki, Ooita, 879-2602, Japan).

\*2 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 栽培資源部 栽培技術研究室 〒794-2305 愛媛県今治市伯方町木浦甲2780.

然産卵した受精卵を用いた。

**ふ化に及ぼす影響** 桑実期の受精卵を用いてヨード剤に対する感受性を検討した。試験を、ポビドンヨード製剤である水産用イソジン液10%液（明治製菓）をろ過海水に有効ヨウ素濃度0, 25, 50および100 mg/ℓとなるように添加し（以下ヨード海水）、いずれの濃度とも5, 10, 15および20分間浸漬して行った。対照区として、浸漬を行わない試験区を設けた。桑実期の受精卵2.5 g（約1,500個）を10×5cm、深さ6cmのポリエチレン製ネット4個にとり、所定濃度のヨード海水30ℓを満たした水槽に移し、所定時間揺らした。所定時間経過後、ヨード海水から1個のネットを卵ごと取り出し、ろ過海水を流水とした水槽に移して3分間洗浄して、ヨード剤を洗い流した。洗浄した卵約200個を、ふ化までの間の細菌繁殖を防ぐ目的で5 mg/ℓの濃度となるように硫酸カナマイシンを添加したろ過海水1,000 mlを満たしたポリエチレン製サンプル瓶に移した。サンプル瓶を、水温維持と卵同士の付着防止を目的として、ろ過海水の流水と強曝気を施した0.5 kℓ容量のポリエチレン水槽に収容し、ふ化まで管理した。対照区の卵がほとんどふ化した時に、すべての区のサンプル瓶にホルマリンを2%濃度となるように添加して固定し、後日ふ化状況の確認を行った。ふ化状況は、40倍とした生物顕微鏡下で未ふ化卵、死亡卵、ふ化仔魚に分け、それぞれの数を測定した。ふ化率をふ化仔魚数/供試卵数×100で算出した。対照区と試験区のふ化率を比較することにより、ヒラメ受精卵に対するヨード剤を用いた受精卵消毒における安全な浸漬条件を検討した。試験は産卵日の異なる受精卵を用いて4回繰り返した。試験期間中の水温は17℃であった。それぞれの桑実期における受精率は88～94%であった。

**消毒効果の検討** ヨード海水への浸漬の前後における、受精卵の生菌数の減少状況により消毒効果を把握した。生菌数の測定は、以下の通り行った。上述のヨード海水への浸漬後、ろ過海水による洗浄を行う前に約0.1 gの卵を採取し、2%ペプトン液1 mlの入った滅菌ビニール袋にとり、ヨード剤の反応を止めた。卵の9倍量の滅菌人工海水を加えて磨砕し、それを原液として10倍希釈液列を作製し、海水培地<sup>15)</sup>表面に塗抹後25℃で5～7日間培養してコロニー数を測定した。得られた生菌数から消毒率を(1-試験区が生菌数/対照区为生菌数)×100で算出し、消毒効果を比較した。本試験は上述のふ化に及ぼす影響の検討に用いた4ロットのうち3ロットについて実施した。

**受精卵の発生段階ごとの感受性** 卵発生段階の違いによる受精卵のヨード剤に対する感受性の差を把握するために、4ロットの受精卵を用いて試験を実施した。それぞれの桑実期における受精率は、85～99%であった。受精卵の発育段階が2～4細胞期、桑実期、囊胚期、胚体形成期、原口閉鎖期、クッパー氏胞出現期、クッパー氏

胞の消滅期および心臓拍動の開始期の各段階に達したときに、有効ヨウ素濃度0または50 mg/ℓのヨード海水に5分間ふ化に及ぼす影響を調査した試験と同一の卵密度となるように浸漬した。対照区として、浸漬を行わない試験区を設けた。受精卵約200個を上述のネットにとり、600 mlのヨード海水中で揺らした。浸漬終了後、上述と同様に洗浄・ふ化管理を行い、ふ化率を求めた。

**有効ヨウ素濃度の測定** 25 mg/ℓのヨード海水を作製し、作製直後、受精卵を入れずに20分後および本試験に用いた浸漬密度の1, 2, 4, 8倍となるように受精卵を入れて20分後にそれぞれ、ヨウ素滴定法（JIS K0102 33.3 改変）<sup>16)</sup>を用いてヨウ素が中和されるのに要するチオ硫酸ナトリウム溶液の滴定量を測定し、本試験条件における有効ヨウ素濃度の減衰状況を調査した。

**統計解析** 受精卵の発生段階ごとの感受性試験で得られたふ化率について、対照区に対する有意性をダネットの方法を用いて多重比較検定を実施した。浸漬密度と有効ヨウ素濃度の減衰状況について、作製直後のヨード海水が中和されるのに要するチオ硫酸ナトリウム溶液の滴定量に対する割合を算出し、その値を逆正弦変換してTukey法を用いて多重比較を行った。

## 結 果

未処理の対照区のふ化率は平均86%であり、ヨード剤を含まない海水に5～20分浸漬した試験区の平均ふ化率は83～85%であった。一方ヨード海水に浸漬した試験区で80%以上の平均ふ化率を示したのは、いずれの濃度でも5分間浸漬した場合のみであった（表1）。

ヨード剤を含まない海水に浸漬した試験区の消毒率は、93%を示す場合もあったが、多くの場合は消毒効果が認められなかった。ヨード海水に浸漬した試験区においては、25 mg/ℓで5分浸漬した2回次の場合を除いて、いずれのロットにおいても生菌数が検出限界未満となる

表1. ポビドンヨード剤を用いたヒラメの卵消毒試験における試験区ごとのふ化率

試験区		ふ化率 (%)				
ヨウ素濃度 (mg/ℓ)	浸漬時間 (分)	1回次	2回次	3回次	4回次	平均値
対照区		83.9	84.2	89.8	88.6	86.6
	5	80.5	83.8	89.8	87.7	85.4
	10	74.6	79.7	92.8	91.2	84.6
	15	71.0	86.5	88.2	90.4	84.0
	20	72.9	79.1	91.8	90.1	83.5
25	5	84.6	83.0	76.9	88.0	83.1
	10	51.9	76.6	78.1	63.8	67.6
	15	2.3	47.9	35.1	4.1	22.4
	20	8.1	14.8	50.8	0.0	18.4
	50	5	78.5	80.4	76.1	88.7
10		49.4	84.2	40.1	57.0	57.7
15		7.1	39.5	3.6	0.0	12.5
20		0.0	16.0	0.6	0.0	4.2
100		5	88.4	82.2	87.0	89.4
	10	61.3	78.8	48.6	30.6	54.8
	15	35.9	39.0	11.1	0.0	21.5
	20	0.9	20.2	9.3	0.0	7.6

表 2. ポビドンヨード剤を用いたヒラメの卵消毒試験における消毒率

ヨウ素濃度 (mg/l)	試験区		消毒率 <sup>*1</sup> (%)		
	浸漬時間 (分)		1回次	2回次	3回次
0	5		7.7	80.0	N. E. <sup>*2</sup>
	10		82.3	70.0	0.0
	15		80.8	90.0	N. E.
	20		93.1	50.0	N. E.
25	5		Tr. <sup>*3</sup>	70.0	96.2
	10		Tr.	90.0	Tr.
	15		Tr.	Tr.	Tr.
	20		Tr.	Tr.	Tr.
50	5		Tr.	90.0	96.2
	10		Tr.	Tr.	Tr.
	15		Tr.	Tr.	Tr.
	20		Tr.	Tr.	Tr.
100	5		Tr.	Tr.	Tr.
	10		Tr.	Tr.	Tr.
	15		Tr.	Tr.	Tr.
	20		Tr.	Tr.	Tr.

\*1 消毒率 = (1 - 試験区の生菌数 / 対照区の生菌数) × 100

\*2 N.E. は生菌数が浸漬前より増加したことを示す

\*3 Tr. は検出限界未満を示す

か、消毒率が90%を超えた(表2)。

卵発生段階ごとのヒラメ受精卵のヨード剤に対する感受性試験では、試験した8ステージのうち、原口閉鎖期の卵においてヨード海水に浸漬すると対照区と比較して有意にふ化率が低下した ( $p < 0.05$ )。一方同時期の卵をヨード剤を含まない海水に浸漬した場合には、ふ化率に有意差は認められなかった ( $p > 0.05$ ) (図1)。

受精卵の浸漬密度と有効ヨウ素濃度の減衰状況を調査したところ、20分間卵を入れずに放置した場合、本試験における浸漬密度の1, 2, 4, 8倍とした場合の作製直後のヨード海水のヨウ素濃度に対する割合は、 $0.90 \pm 0.02$ ,  $0.90 \pm 0.03$ ,  $0.92 \pm 0.04$ ,  $0.85 \pm 0.04$ ,  $0.80 \pm 0.05$  (平均値 ± 標準偏差) であり、本試験条件における有効ヨウ素濃度は、作製直後の濃度より卵を入れずに放置した場合でも有意に低下した ( $p < 0.05$ )。また、受精卵の浸漬密度を4倍までとした場合には、卵を入れずに放置した場合と比較して有意差は認められなかった ( $p >$

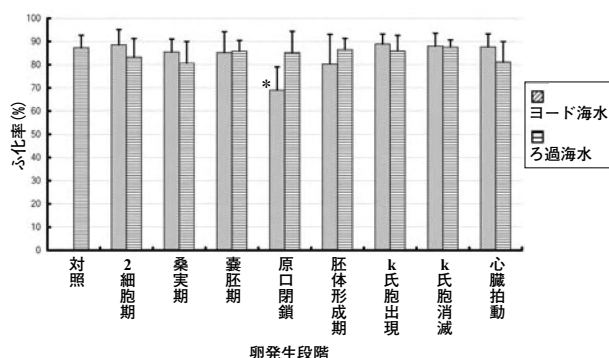


図 1. 50mg/l のヨウ素海水とろ過海水にヒラメ卵を5分浸漬した場合の卵発生段階ごとにおけるふ化率

\* ( $p < 0.05$ ): ダネット法による多重比較の結果、有意差が対照区に対して認められた場合に示す。

0.05) が、8倍とすると有意に低下した ( $p < 0.05$ )。

## 考 察

ヨード剤を含まない海水に5~20分間浸漬した場合に、ふ化率は対照区と比較して低下しなかったことから、本試験における浸漬法はヒラメ受精卵のふ化に及ぼす影響が少ないものと考えられる。ヨード剤を用いた桑実期のヒラメ受精卵の安全な消毒条件は、有効ヨウ素濃度25~100 mg/lにおいて5分間以下であったことから、ヨード剤はヒラメ卵のふ化に悪影響を及ぼすと考えられる。一方、消毒効果が認められる浸漬条件は、一例の例外はあるものの、有効ヨウ素濃度25~100 mg/lにおいて5分間以上であった。また、本試験の浸漬条件においては、受精卵をヨード海水に浸漬しても、海水にヨード剤を溶解することによる有効ヨウ素の減衰以上の減衰は認められなかった。以上の結果から、25~100 mg/lの濃度で5分間ヨード海水に浸漬することにより、ヒラメ受精卵を安全にかつ効果的に消毒できると考えられる。また、卵の浸漬密度を変えて有効ヨウ素濃度の変化を調査した結果から、ヨウ素濃度を低下させずに浸漬できる卵密度は本試験条件の4倍すなわち、1.3 g/l以下と考えられた。

ヨード剤を用いてヒラメの卵消毒条件を検討したいくつかの報告があるが<sup>9,10,11</sup>、ふ化率が低下しない浸漬条件が50 mg/lの海水に10分間<sup>9</sup>、100 mg/lの海水に15分間<sup>10</sup>もしくは10 mg/lの海水に10分間<sup>11</sup>浸漬などのように本試験結果より長時間の場合がある。この要因の一つとして、ヨード海水中の有効ヨウ素濃度が低下したことが考えられる。本試験で明らかとなったように、受精卵の収容密度を高くすると有効ヨウ素濃度の減衰が大きかった。このことから、松田ら<sup>9</sup>や中野・開の例<sup>10</sup>では、ヨード海水の有効ヨウ素が大きく減衰していた可能性が考えられ、ヨード剤を用いて卵消毒を実施する際には、受精卵の浸漬密度に十分な注意を払う必要がある。

本試験結果から、原口が閉鎖する時期のヒラメ受精卵はヨード剤に対する感受性が高いことが明らかとなった。従って、原口閉鎖期にヨード剤によるヒラメの受精卵消毒を実施することは避けるべきである。しかし、通常の卵発生において原口が閉鎖する時期は産卵の翌日であり、産卵当日に卵消毒を行うことにより、卵の発生段階を原因とする受精卵の減耗を防除できるものと考えられる。また、シマアジ、マダイおよびホシガレイなどの海産魚でも、卵の発生段階によりヨード剤に対する感受性が異なることが報告されている<sup>12,13</sup>。本種の結果も考え併せると、ヨード剤を用いた卵消毒を実施する際には、魚種ごとに適正な消毒処理条件が異なる可能性や、同一魚種においても受精卵の発生段階などの状態によっては、同一条件で消毒処理を行っても正常ふ化に与える影響が異なる可能性があることを念頭に置くべきであ

る。

本報告では有効ヨウ素濃度 25 mg/ℓ のヨード海水に 5 分および 10 分の浸漬で十分な消毒効果が得られた。一方佐藤ら<sup>11)</sup>は、本種の安全な卵消毒条件が 10 mg/ℓ の濃度で 10 分間の浸漬と報告していることから、10 mg/ℓ のヨード海水に 5 分もしくは 10 分浸漬することの消毒効果を再確認する必要があると考えられる。

以上のことから、原口閉鎖期以外の卵を用いて、ポビドンヨード剤を用いた 25 ~ 100 mg/ℓ のヨウ素を含む海水に 5 分間浸漬することにより、ヒラメ受精卵を安全かつ効果的に消毒できるものと考えられる。

## 文 献

- 1) 水産庁・独立行政法人水産総合研究センター・(社)全国豊かな海作り推進協会 (2007) 平成 17 年度栽培漁業種苗生産、入手・放流実績 (全国) ~資料編~. 148-208.
- 2) Muroga K (2001) Viral and bacterial diseases of marine fish and shellfish in Japanese hatcheries. *Aquaculture*, **202**, 23-44.
- 3) Munday BL, Kwang J, Moody N (2002) Betanodavirus infections of teleost fish: a review. *J. Fish Dis.*, **25**, 127-142.
- 4) Arimoto M, Mushiaki K, Mizuta Y, Nakai T, Muroga K, Furusawa I (1992) Detection of striped jack nervous necrosis virus (SJNNV) by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Fish Pathol.* **27**, 191-195.
- 5) Watanabe K, Nishizawa T, Yoshimizu M (2000) Selection of broodstock candidates of barfin flounder using an ELISA system with recombinant protein of barfin flounder nervous necrosis virus. *Dis. Aquat. Org.*, **41**, 219-223.
- 6) Breuil G, Pepin JF, Boscher S, Thiery R (2002) Experimental vertical transmission of nodavirus from broodfish to eggs and larvae of the sea bass, *Dicentrarchus labrax* (L). *J. Fish Dis.*, **25**, 697-702.
- 7) 土橋靖史・栗山 功・黒宮香美・柏木正章・吉岡 基 (2002) マハタ種苗生産におけるウイルス性神経壊死症 (VNN) の防除対策の検討. 水産増殖, **50**, 355-356.
- 8) 野村哲一 (1993) サケマス増殖事業におけるせつそう病の疫学的研究. さけ・ますふ研報, **47**, 1-99.
- 9) 松田浩一・山川 卓・辻ヶ堂 諦・竹内俊博 (1988) ヒラメ卵のポビドンヨード剤に対する耐性試験. 昭和 62 年度三重県水産技術センター事業報告書, 50-51.
- 10) 中野平二・開 鉄生 (1992) ヨード剤によるヒラメ卵の消毒. 平成 3 年度魚類防疫技術基盤確立事業海産魚の防疫事例集, 社団法人日本水産資源保護協会, 東京, 24-27.
- 11) 佐藤 修・村上啓士・水呉 浩・木村 淳・米司 隆・伏見 徹 (1994) ポビドンヨード剤によるヒラメ卵の耐性. 平成 5 年度広島県栽培漁業協会事業報告, 83-87.
- 12) 虫明敬一 (1994) シマアジおよびブリの親魚養成技術の開発に関する研究. 広島大学博士学位論文, 特別研究報告 9 号, 社団法人日本栽培漁業協会, 東京, pp.29-33.
- 13) Hirazawa N, Hara T, Mitsuboshi T, Ozaki J, Hata K (1999) Iodophore disinfection of eggs of spotted halibut *Verasper variegatus* and red sea bream *Pagrus major*. *Fisheries Sci.*, **65**, 333-338.
- 14) 佐藤 純・齊藤貴行・渡邊研一 (2006) クエ受精卵に対するポビドンヨード処理の消毒効果および正常ふ化率に及ぼす影響. 水産増殖, **54**, 265-268.
- 15) Yamamoto H, Ezura Y, Kimura T (1982) Effects of antibacterial action of seawater on the viability of some bacterial species. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **48**, 1427-1431.
- 16) 日本規格協会編 (2005) JIS ハンドブック 53 環境測定 II 水質. 日本規格協会, 東京, pp. 668-669.

# マダラ受精卵のポビドンヨード剤による消毒効果の検討

佐藤 純<sup>\*1</sup>・堀田卓朗<sup>\*2</sup>・渡辺研一<sup>\*1</sup>

## Disinfection of Fertilized Eggs of Pacific Cod *Gadus macrocephalus* with Povidone-Iodine

Jun SATOH, Takurou HOTTA and Ken-ichi WATANABE

Suitable conditions for disinfection of fertilized eggs of Pacific cod *Gadus macrocephalus* with povidone-iodine were investigated. The morula stage eggs were exposed to seawater containing effective iodine concentrations of 0, 25, 50, and 100 mg/ℓ for 5, 10, 15, and 20 min, and the normal hatching rates and viable bacterial counts were determined. The normal hatching rates of groups exposed to less than 25 mg/ℓ povidone-iodine and with an exposure time of 5 min were almost the same as that of the control group. A decrease of more than 93.43% was observed in viable bacterial counts of eggs treated with povidone-iodine at concentrations of 25, 50, and 100 mg/ℓ for 5 min or more. Thus, disinfection of fertilized eggs of Pacific cod with povidone-iodine was found to be safe and effective at a concentration of 25 mg/ℓ with an exposure time of 5 min.

2008年1月18日受理

ウイルス性神経壊死症 (viral nervous necrosis: VNN) は、全世界の30を超える海産の増養殖対象種に発生もしくは感染が確認されている宿主範囲の広いウイルス感染症である<sup>1)</sup>。北日本の栽培漁業対象種として期待されているマダラ *Gadus macrocephalus* の種苗生産過程においても VNN の発生が確認され<sup>2)</sup>、その防除対策の確立が望まれている。種苗生産過程における VNN の主たる感染経路がシマアジ *Pseudocaranx dentex* において詳細に検討され、採卵に用いる親魚からの垂直的な伝播であると考えられており<sup>3-5)</sup>、マダラの種苗生産過程におけるウイルス性神経壊死症原因ウイルス (nervous necrosis virus: NNV) の主たる感染経路も、採卵に用いる天然のマダラ親魚からの垂直伝播の可能性が疑われている<sup>6)</sup>。VNN の防除対策として、ノルウェーのハリバット *Hippoglossus hippoglossus* では、NNV に暴露した受精卵に対する、オゾン処理したオキシダント残留海水による受精卵洗浄の VNN 防除効果が確認されている<sup>7)</sup>。従って、受精卵の洗浄も効果を期待できる手法の一つと考えられており、いくつかの魚種では防除対策の一環として

取り入れられている<sup>8,9)</sup>。また、サケ科魚類ではポビドンヨード剤 (以下ヨード剤) を用いた受精卵消毒が有効な垂直伝播の防除対策と考えられている<sup>10)</sup>。ヨード剤に対する受精卵の感受性については、有効ヨウ素濃度や消毒処理時間に影響されることがいくつかの海産魚介類でも報告され、安全で効果的な消毒処理法が検討されている魚種もある<sup>11-14)</sup>。マダラ類の受精卵消毒については、大西洋マダラ *Gadus morhua* で報告があり、ヨード剤では、有効ヨウ素濃度 100 mg/ℓ で2分、10分および20分間浸漬した場合でも、対照区と比較して、ふ化後7日目の生残率に大きな差はなかったことや、オゾンによるオキシダント海水でも有効オキシダント濃度 2 mg/ℓ で1, 2および4分間の浸漬では対照区と変わらない、ふ化後7日目の生残率を示したことが報告されている (www.mbl.edu/aquaculture/nrac/Rob-erts.ppt)。しかし、本種 (太平洋マダラ) においては、ヨード剤による受精卵消毒方法についての詳細な報告は無い。そこで、異なる有効ヨウ素濃度と浸漬時間による消毒処理の影響と効果について調査したので報告する。

\*1 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 〒879-2602 大分県佐伯市上浦大字津井浦 (National Research Institute of Aquaculture, Fisheries Research Agency, Saiki, Oita879-2602, Japan)

\*2 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



## 材料と方法

**供試卵** 受精卵は、富山県氷見市地先の定置網から漁獲直後のマダラ親魚雌雄各3個体を用いて、人工授精（雌雄各2個体）あるいは自然産卵（雌雄各1個体）により得た。人工授精による採卵は、2004年2月12日に500ℓのろ過海水を満たした500ℓ水槽に1個体の雄から精液を海水が白濁する程度まで搾出し、その後採卵可能と判断された雌1個体を当該水槽に収容し、腹部を軽く圧迫して卵を搾出して行った。なお、この方法の採卵を異なる2ペアの親魚について別々に行った。自然産卵による採卵は、2004年2月17日にろ過海水を満たした250ℓ水槽に採卵・採精可能と判断された雌雄を収容し、経過観察している間に、自発的に産卵したものから行った。得られた受精卵は、個体毎に異なるハッチングジャー（田中三次郎商店）に収容し、流水管理した。試験には、受精後24～32時間経過し、桑実期に達したものを用いた。桑実期における受精卵の受精率は、人工授精では97.9%（ロットA）および78.0（ロットB）、自然産卵では、96.2%（ロットC）であった。試験期間中の水温は9.4～10.8℃であった。

**ヨード海水への浸漬法** ポビドンヨード製剤である水産用イソジン10%液（明治製菓）をろ過海水に有効ヨウ素濃度0、25、50および100 mg/ℓとなるように添加し（以下ヨード海水）、いずれの濃度ともそれぞれ5、10、15および20分間浸漬した。無処理の対照区として、ヨード海水に浸漬を行わない区を設けた。桑実期の受精卵5g（約5,000個）を、市販の観賞魚飼育用のネット（縦5cm、横10cmおよび深さ6cm）4個に取り、所定の濃度のヨード海水60ℓを満たした水槽に移し、それぞれの濃度において所定時間揺らした。所定時間経過後、ヨード海水から1個のネットを卵ごと取り出し、ろ過海水の水槽に移して3分間の流水による洗浄を行った。

**卵管理とふ化の観察** 洗浄した卵は、ふ化までの間の細菌繁殖を防ぐ目的で5 mg/ℓの濃度となるように硫酸カナマイシンを添加したろ過海水1,000 mlを満たしたポリエチレン製サンプル瓶に移した。サンプル瓶の水温維持と卵同士の付着防止を目的として、ろ過海水の流水と強曝気を施したポリカーボネート製500ℓ容量の水槽に収容し、ふ化させた。無処理対照区の卵がほとんどふ化したときに、すべての試験区のふ化の確認を行った。ふ化が確認されたサンプル瓶には、ふ化率の確認を行うためにm-アミノ安息香酸エチルメタンスルホン酸塩を24.5 mg/ℓとなるように添加してふ化仔魚に麻酔を施した後、生物顕微鏡下（×40）で未ふ化卵、死亡卵、ふ化仔魚、奇形仔魚および死亡仔魚の数を測定した。正常ふ化率は、ふ化仔魚数/供試卵数×100で算出した。

**生菌数の測定** 受精卵は、前出のロットBと2004年2月9日および2月17日に自然産卵（採卵方法は前出と同じ）によって得られたロットDおよびEを供試した。

生菌数の測定は、ヨード海水へ浸漬後、所定時間経過直後、すなわちろ過海水での流水洗浄を行う直前に0.1g程度を滅菌した薬匙で採取し、1 mlの2%ペプトン液（塩化ナトリウム15g、ペプトン20g、蒸留水1,000 ml、高圧蒸気滅菌）の入ったストマッカー（オルガノ）の袋に入れて、ヨード剤の反応を止めた。氷温で保管したこれらのサンプルを実験室に持ち帰り、9倍量の75%人工海水（塩化ナトリウム30g、塩化カリウム0.7g、硫酸マグネシウム7水和物5.3g、塩化マグネシウム6水和物10.8g、硫酸カルシウム2水和物1.3g、蒸留水1,000 ml、高圧蒸気滅菌前にpH=7.8に調整）を加えて磨碎し、海水培地（ポリペプトン5g、肉エキス1g、プロテオースペプトン1g、寒天15g、酵母エキス1g、Herbst's人工海水750 ml、蒸留水250 ml、高圧蒸気滅菌前にpH=7.8に調整）表面に塗抹後20℃で5日間培養してコロニー数を測定した。本法による生菌数の検出限界は $10^{0.70}$  CFU/gである。検出限界以下の場合には便宜的にこの値を生菌数とした。消毒率は、 $(1 - \text{各濃度のヨード海水に所定時間浸漬時の生菌数} / \text{ヨード剤を含まない海水に所定時間浸漬時の生菌数}) \times 100$ で算出した。

**有効ヨウ素濃度の測定と減衰** 消毒処理時のヨード海水中の有効ヨウ素濃度の減衰状況に及ぼす影響を調査した。有効ヨウ素濃度25 mg/ℓとなるように調整したヨード海水と、今回の試験で実施した0.33 g/ℓの密度となるように受精卵を入れ、20分間浸漬した場合の有効ヨウ素濃度を、JISk0102工場排水試験方法33.3残留塩素を改変した滴定法で測定した<sup>15)</sup>。有効ヨウ素濃度 $I_2$  (mg/ℓ)は、 $1/1,000N$ チオ硫酸ナトリウムによる滴定値(mℓ)×f×0.1269×1,000/Vの計算式で求めた。fは、1/1,000 Nチオ硫酸ナトリウムのファクター(f=0.9057)、Vは、滴定に供試したサンプル液の量(50 ml)とした。同じ方法で、合計で3回以上の測定を行った。

**統計解析** ふ化率の比較においては、供試受精卵のロットごとおよび濃度ごとにヨード剤を含む海水に浸漬した区とヨード剤を含まない海水に同時間浸漬した時のふ化仔魚数とそれ以外（供試卵数-ふ化仔魚数）の数値を用いてx二乗検定を行った。ヨード剤を含まない海水に同時間浸漬した時のふ化率と有意差が認められたときに、ふ化に影響を及ぼしたと判定した。

有効ヨウ素濃度の減衰については、イニシャルの有効ヨウ素濃度と受精卵を入れた場合の20分後の有効ヨウ素濃度をStudent's t-検定で比較し、検討した。

## 結果および考察

**ふ化に及ぼす影響** ロットA、BおよびCの無処理対照区の正常ふ化率は、それぞれ、62.1、73.2および82.8%であった（表1）。ヨード剤を含まない海水に5、10、15および20分間浸漬した場合の正常ふ化率は、ロットAでは、それぞれ67.3、60.8、42.4および49.1%、ロッ

ロット B では、74.0、75.7、68.5 および 64.4%，ロット C では、81.7、91.5、79.4 および 71.4%であった。ロット C の受精卵を供した試験では、有効ヨウ素濃度 25 および 50 mg/l のヨード海水に 5 分間浸漬した場合には、それぞれ 78.4 および 78.2%のふ化率となり、ヨード剤を含まない海水に浸漬した場合と比較して有意差は確認されず、正常なふ化に与える影響は少ないと考えられた。さらに、有効ヨウ素濃 100 mg/l で 5 分間の処理でも 71.5%とヨード剤を含まない海水に浸漬した場合と比較して大きなふ化率の低下は確認されなかった。一方、何れの濃度においても 10 分間以上浸漬した場合には、有意差 ( $p < 0.05$ ) が確認された。以上のことから、自然産卵によって得られた受精卵では、25 mg/l のヨード海水にマダラ卵を 10 分以上浸漬すると、正常ふ化に影響を及ぼす可能性があると考えられた。ロット A の受精卵を供した試験では、有効ヨウ素濃度 25 mg/l のヨード海水に 5 分間浸漬した場合には、54.9%のふ化率となり、ヨード剤を含まない海水に浸漬した場合と比較して有意差は確認されなかった。しかし、10 分以上の浸漬または、有効ヨウ素濃度 50 mg/l 以上のヨード海水に浸漬

した場合には、有意に正常ふ化率が低下した。ロット B の受精卵では、何れの条件でもヨード剤を含まない海水に浸漬した場合のふ化率より有意に低下した。しかし、有効ヨウ素濃度 25 から 100 mg/l で 5 分間の処理であれば、正常ふ化率が 53.9 ~ 58.8%と比較的高く、種苗生産に供試可能なふ化仔魚を得ることが可能と考えられた。

以上の結果を総合して考察すると、ヨード剤を用いてマダラ受精卵を消毒する場合に正常ふ化率に与える影響が少ない浸漬条件として、人工授精より得られた受精卵では、有効ヨウ素濃度 25 mg/l で 5 分間、自然産卵により得られた受精卵では、有効ヨウ素濃度 100 mg/l で 5 分間以内が望ましいと考えられた。従って、採卵方法に関係なく何れのロットとも有効ヨウ素濃度 25 ~ 100 mg/l においては、10 分間以上の浸漬で正常ふ化に与える影響が大きくなる可能性が確認された。

大西洋マダラでは、有効ヨウ素濃度 100 mg/l に 2、10 および 20 分間浸漬した場合のふ化率が、それぞれ、93、92 および 81% (対照区 90%) と報告されており、本報告における太平洋マダラ受精卵のヨード剤に対する

表 1. マダラ受精卵の正常ふ化率 (%) に及ぼすポピドンヨード剤の影響

消毒時間 (分)	ロット名	有効ヨウ素濃度 (mg/l)			
		0	25	50	100
0	A <sup>*1</sup>	62.1			
	B <sup>*1</sup>	73.2	—	—	—
	C <sup>*2</sup>	82.8			
	平均±標準偏差	72.7±10.34			
5	A	67.3	54.9	41.3	46.0
	B	74.0	58.8	53.9	56.7
	C	81.7	78.4	78.2	71.5
	平均±標準偏差	74.3±7.21	64.0±12.59	57.8±18.76	58.1±12.80
10	A	60.8	31.0	41.1	32.7
	B	75.7	36.2	45.9	38.5
	C	91.5	59.2	60.5	59.9
	平均±標準偏差	76.0±15.35	42.1±15.01	49.17±10.10	43.7±14.33
15	A	42.4	30.2	36.3	29.3
	B	68.5	40.6	38.0	40.6
	C	79.4	60.2	45.5	58.3
	平均±標準偏差	63.4±19.01	43.7±15.23	39.9±4.90	42.7±14.62
20	A	49.1	37.5	9.7	33.8
	B	64.4	37.1	17.0	39.3
	C	71.4	39.2	24.1	43.1
	平均±標準偏差	61.6±11.40	37.9±1.12	16.9±7.20	38.7±4.68

\*1: 人工授精により採卵

\*2: 自然産卵により採卵

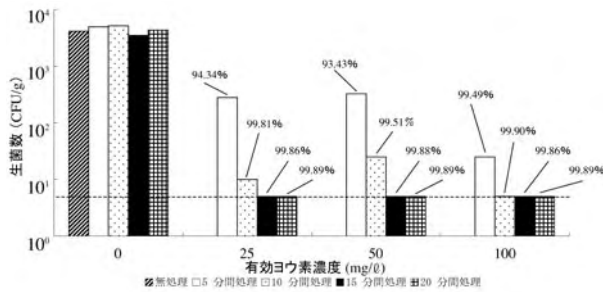


図 1-1. マダラ受精卵のポビドンヨード剤による消毒試験における生菌数の測定結果 (ロット B: 人工授精)  
 数値は, 消毒率を示す  
 ----- 点線は, 検出限界を示す

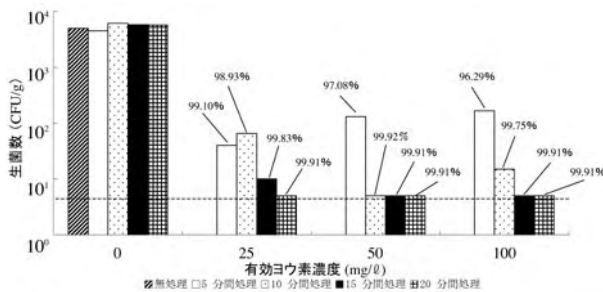


図 1-2. マダラ受精卵のポビドンヨード剤による消毒試験における生菌数の測定結果 (ロット D: 自然産卵)  
 数値は, 消毒率を示す  
 ----- 点線は, 検出限界を示す

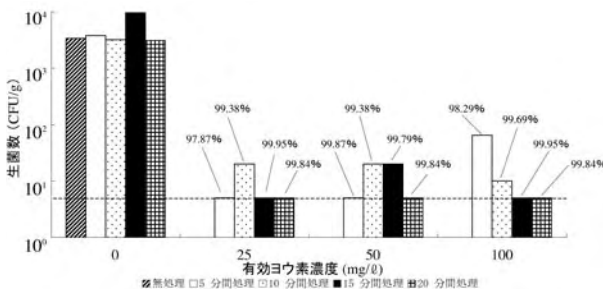


図 1-3. マダラ受精卵のポビドンヨード剤による消毒試験における生菌数の測定結果 (ロット E: 自然産卵)  
 数値は, 消毒率を示す  
 ----- 点線は, 検出限界を示す

感受性とはかなり異なった。大西洋マダラの報告における詳細な消毒処理法は不明であるが、大西洋マダラと太平洋マダラの受精卵のヨード剤処理に対する耐性は大きく異なる可能性がある。

Arimoto *et al.*<sup>16)</sup>は、シマアジのウイルス性神経壊死症原因ウイルスである SJNNV (striped jack nervous necrosis virus) が、有効ヨウ素濃度 50 mg/l で 10 分間の処理により不活化することを確認している。しかしながらマダラ受精卵では、有効ヨウ素濃度 50 mg/l の 10 分間の浸漬条件は、正常ふ化率が有意に低下したことから必ずし

も安全ではないと考えられる。従って、自然産卵により得られた受精卵では、実用的なふ化率が得られる有効ヨウ素濃度 100 mg/l で 5 分間浸漬することにより、VNN ウイルスの不活化も期待できる可能性がある。本報告で、採卵方法の違いによりヨード剤を用いた受精卵消毒が正常ふ化に影響を及ぼす可能性が示唆された。従って、実際にヨード剤による受精卵消毒を実施する際は、採卵時に起こる何らかの卵質に及ぼす影響にも留意する必要があると考えられた。これらの点を考慮すると、マダラ受精卵のヨード剤を用いた受精卵消毒においては、有効ヨウ素濃度 25 mg/l で 5 分間以内の消毒処理がふ化に及ぼす影響を最小限にできると考えられた。

**生菌数に及ぼす影響** 受精卵表面の生菌数の測定の結果、供試した受精卵の何れのロットにおいても各有効ヨウ素濃度の 20 分以上の処理条件では、生菌数が検出限界以下まで減少し、十分な消毒効果が得られることを確認した。ふ化に及ぼす影響を最小限にできる消毒処理条件と考えられる有効ヨウ素濃度 25 mg/l の 5 分間の浸漬条件でもヨード剤を含まない海水に 5 分間浸漬した場合に比較して、消毒率が 94.34% 以上 (94.34 ~ 99.87%) となり (図 1), 人工授精および自然産卵の採卵方法に関係なく効果的な消毒が期待できると考えられた。

**有効ヨウ素濃度の測定と減衰** 本試験での有効ヨウ素濃度の減衰状況について検討した。その結果、有効ヨウ素濃度 25 mg/l として作製した場合のイニシャルの有効ヨウ素濃度は  $22.3 \pm 0.21$  mg/l, 今回の試験で実施した 0.33 g/l の受精卵の密度で浸漬した場合の 20 分後では  $22.1 \pm 0.67$  mg/l と大きな差はなく、統計的な有意差も認められなかったことから、この消毒条件では、ヨウ素濃度の減衰は起こっていないと考えられた。

以上の結果から、供試する受精卵の卵質に影響を及ぼす採卵方法の違い等に留意する必要があるが、25 mg/l のヨウ素を含む海水に、桑実期のマダラ受精卵を 5 分間浸漬することで、ふ化率に与える影響が少なく、かつ効果的な卵消毒が実施できると考えられた。

## 謝 辞

本実験は、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の協力により行われた。ここに記して深謝の意を表する。

## 文 献

- 1) Mundy, B.L., J.Kwang and N.Moddy (2002) Betanodavirus infections of teleost fish: a review. *J. Fish. Dis.*, **25**, 127-142.
- 2) 室賀清邦・古澤 徹・古澤 巖 (1998) シマアジのウイルス性神経壊死症. *水産増殖*, **46**, 473-480.
- 3) 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.
- 4) 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.
  - 5) Nguyen, H.D., K. Mushiake, T. Nakai and K. Muroga (1997) Tissue distribution of striped jack nervous necrosis virus (SJNNV) in adult striped jack. *Dis. Aquat. Org.*, **28**, 87-91.
  - 6) 日本栽培漁業協会 (1999) 種苗生産技術の開発, マダラ. 日裁協事業年報 (平成9年度), 177-180.
  - 7) Grotmol, S and G. K. Totland (2000) Surface disinfection of Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus* eggs with ozonated sea-water inactivates nodavirus and increases survival of the larvae. *Dis. Aquat. Org.*, **39**, 89-96.
  - 8) 虫明敬一・有元 操 (2000) 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.
  - 9) 渡辺研一 (2000) マツカワに発生したウイルス性神経壊死症の防除に関する研究. 特別研究報告15号. 日本栽培漁業協会, 東京, 71pp.
  - 10) 吉水 守 (1998) サケ科魚類の種苗期のウイルス病対策. 月刊海洋, 号外14, 14-19.
  - 11) 虫明敬一 (1994) シマアジおよびブリの親魚養成技術の開発に関する研究. 広島大学博士学位論文, 特別研究報告9号, 社団法人日本栽培漁業協会, 東京, pp.29-33.
  - 12) Hirazawa, N., T. Hara, T. Mitsuboshi, J. Ozaki and K. Hata (1999) Iodophor disinfection of eggs of spotted halibut *Verasper variegatus* and red sea bream *Pagrus major*. *Fisheries Sci.*, **65**, 333-338.
  - 13) 佐藤 純・斉藤貴行・渡邊研一 (2006) クエ受精卵に対するポビドンヨード処理の消毒効果および正常ふ化率に及ぼす影響. 水産増殖, **54**, 265-268.
  - 14) 佐藤 純・森 広一郎・西岡豊弘・服部圭太・岡 雅一・渡邊研一 (2006) ポビドンヨードを用いたクルマエビ受精卵の消毒法. 魚病研究, **41**, 117-120.
  - 15) 日本規格協会編 (2005) JIS ハンドブック 53 環境測定II水質. 日本規格協会, 東京, pp.668-669.
  - 16) Arimoto, M., J. Satoh, K. Maruyama, G. Mimura and I. Furusawa (1996) Effect of chemical and physical treatments on the inactivation of striped jack nervous necrosis virus (SJNNV). *Aquaculture*, **143**, 15-22.

# ブリ受精卵のポビドンヨード剤による消毒の効果の検討

堀田卓朗<sup>\*1</sup>・佐藤 純<sup>\*2</sup>・渡辺研一<sup>\*2</sup>

## Disinfection of Fertilized Eggs of Yellowtail *Seriola quinqueradiata* with Povidone-Iodine

Takurou HOTTA, Jun SATOH and Ken-ichi WATANABE

A suitable method for disinfection of fertilized eggs of yellowtail *Seriola quinqueradiata* with povidone-iodine was studied. The fertilized eggs (morula stage) were exposed to povidone-iodine at 0 to 100 mg/ℓ concentrations for 0 to 20 min, and the eggs were incubated until hatching. The number of viable bacteria on eggs was measured after treatment. The hatching rate of eggs treated with 25 mg/ℓ povidone-iodine for 5 min was almost the same as that of untreated eggs. A decrease of more than 90% was observed in viable bacterial counts of eggs treated with povidone-iodine at 25 mg/ℓ for 5 min. Thus, treatment with povidone-iodine at 25 mg/ℓ (concentration) for 5 min (exposure time) is suitable for disinfection of fertilized eggs of yellowtail.

2008年2月4日受理

ブリ *Seriola quinqueradiata* は、海産養殖魚において、最も生産量の多い魚種である。しかし、その種苗の全てを天然魚に依存しており、天然魚の好不漁によって種苗の価格が変動し、養殖経営を不安定なものとしている。そこで、人工種苗を生産する技術開発がいくつかの機関で行われている<sup>1-4)</sup>。飼育下のブリの仔魚期および稚魚期には様々な疾病の発生が確認されている<sup>5)</sup>。特にウイルス性腹水症は親魚からふ化仔魚への垂直伝播が感染経路と考えられている<sup>6)</sup>。また、天然ブリ稚魚は採捕される段階で既にウイルスに感染している場合のあることがわかっており<sup>7)</sup>、天然魚を採卵親魚とする限り、得られた卵がウイルス性腹水症の原因ウイルスに汚染されている可能性を否定できない。このように垂直感染が疑われている疾病の有効な防除対策の一つとして卵消毒が行われており、サケ科魚類の伝染性造血器壊死症<sup>8)</sup>やクルマエビ *Penaeus japonicus* の急性ウイルス血症<sup>9,10)</sup>ではポビドンヨード、シマアジ *Pseudocaranx dentex*<sup>11)</sup> やマツカワ *Verasper moseri*<sup>12)</sup> のウイルス性神経壊死症ではオ

キシダント海水が用いられている。独立行政法人水産総合研究センターでは、種苗生産過程における垂直感染防除に有効とされている受精卵消毒について、ポビドンヨード剤（以下、ヨード剤）が海産魚介類の受精卵のふ化に及ぼす影響と消毒効果を、目ごとに対象種を選定して調査している。そこで、スズキ目の代表種としてブリに関する知見を得たので報告する。

### 材料と方法

**供試卵** 試験に供試した受精卵は、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、同古満目栽培漁業センター（現養殖研究所栽培技術開発センター古満目分場）において1～3年間養成した3から4歳の親魚にヒト胎盤性生殖腺刺激ホルモン（HCG）を投与し、自然産卵または人工授精により得た。試験は受精から約6時間経過したモルラ期の卵3ロットを用いて行った。それぞれのモルラ期の受精率は86.2, 98.6, 96.1%であ

\*1 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 (Goto Station, National Center for Stock Enhancement, Fisheries Research Agency, 122-7 Nunoura, Tamanoura, Goto, Nagasaki, 853-0508, Japan)

\*2 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 種苗期疾病研究グループ 〒879-2602 大分県佐伯市上浦大字津井浦

った。採卵から卵消毒およびふ化までは水温を 20℃ に保った。

**消毒条件および方法** 試験は、水産用イソジン 10% 液 (明治製菓) を水温 20℃ のろ過海水に計算上、有効ヨウ素濃度が 0, 25, 50 および 100mg/ℓ となるように添加し (以下ヨード海水), いずれの濃度とも 5, 10, 15 および 20 分間浸漬して行った。また、無処理の対照区を設けた。ヨード海水への浸漬は、縦 10cm, 横 7cm, 深さ 6cm のネット (ナイロン製, 目合い 0.5mm) にモルラ期の受精卵約 2.5g (およそ 2500 粒) をとり, ヨード海水 7.5 ℓ を満たした水槽に移し, 卵全体に消毒液が行き渡るように所定時間ゆっくり, ネットを揺らした。

**ふ化の確認** ヨード海水に所定時間浸漬した後, ネットごとろ過海水を流水とした水槽に移して 3 分間洗浄した。洗浄した卵は, ろ過海水 500 ml の入った蓋付きプラスチック瓶 (広口 T 型瓶, アズワン) に, 200 粒を収容した。なお, 用いたろ過海水には, ふ化までの間の細菌繁殖を防ぐ目的で, カナマイシン硫酸塩 (ナカライテスク) を 5mg/ℓ となるように添加した。卵を収容したプラスチック瓶は, 水温維持と卵同士の付着防止を目的として, 20℃ に調温したろ過海水の流水と強曝気を施した 0.5 または 1 kℓ 水槽に収容し, ふ化まで管理した。無処理の対照区の卵がほとんどふ化した時点で, すべての試験区のふ化の確認を行った。ふ化の確認は, ホルマリン 1.5 ml を添加して仔魚等を固定, もしくは m-アミノ安息香酸エチルメタンスルホネート (ナカライ) を 25mg/ℓ となるように添加して麻酔を施し, 実態顕微鏡下にて行った。ふ化仔魚, 卵内で胚が確認できふ化直前まで発生が進んだと思われる未ふ化卵, および死亡卵の数を測定し, それぞれの割合を算出した。

**生菌数の測定** ヨード海水への浸漬が終了した卵約 0.1

～ 0.2g を, 滅菌 2% ペプトン水 (1.5% NaCl 加) 1 ml を入れた滅菌処理済の強化ポリエチレンの袋 (ストマッカー用ポリ袋; オルガノ) に取り, ヨード剤の反応を止めた<sup>12)</sup>。これに卵の 9 倍量となるように滅菌した Herbst の人工海水<sup>13)</sup> を加えて磨砕し, それを原液として 10 倍希釈液列を作製し, 海水培地平板表面<sup>14)</sup> に塗抹して 25℃ で 5 日間好氣的に培養して出現コロニー数から生菌数を算出した。以下の式により, 消毒率を算出した。

消毒率 =  $\{1 - (\text{試験区の生菌数}) / (\text{対照区の生菌数})\} \times 100$

**有効ヨウ素濃度の測定** 有効ヨウ素濃度が計算上 25 mg/ℓ となるように, ヨード剤をろ過海水に溶解し, 溶解直後, 溶解後受精卵を入れずに 20 分経過後, 本試験と同じ 1 リットルあたり約 0.33g (以下基準量), その 2 倍, 4 倍および 8 倍量となるように受精卵を入れて 20 分後に, それぞれの有効ヨウ素濃度をヨウ素滴定法<sup>15)</sup>にて測定し, 本試験条件における有効ヨウ素濃度の減衰を調査した。溶解直後と各条件との平均値の差の検定には t-検定を用いた。

## 結 果

**ふ化に及ぼす影響** ふ化率等の値を表 1 に示した。1 回次のふ化率は, 対照区が 68.8%, 有効ヨウ素濃度 0 mg/ℓ, 浸漬時間 5, 10, 15 および 20 分は 80.1, 80.3, 79.2 および 84.7% であった。25mg/ℓ では 75.5, 66.0, 28.1 および 8.3% であり, 浸漬時間が長くなるにつれ低下する傾向を示し, 15 分を越えると大きく低下した。50 および 100mg/ℓ においても同様の傾向であった。未ふ化卵率は 0 mg/ℓ では 0 から 3.2% であった。25, 50 および 100mg/ℓ では, いずれの濃度も 5 分で数%, 10 分で 10% を超え, その後は浸漬時間が長くなる

表 1. ポビドンヨード剤によるブリの受精卵消毒におけるふ化率, 未ふ化率, 死亡卵率

単位: %

有効ヨウ素濃度 (mg/ℓ)	浸漬時間 (分)	1回次			2回次			3回次		
		ふ化率	未ふ化卵率	死亡卵率	ふ化率	未ふ化卵率	死亡卵率	ふ化率	未ふ化卵率	死亡卵率
0	0	68.8	3.2	28.0	90.0	0.0	10.0	69.4	2.8	27.8
	5	80.1	1.7	18.2	83.4	0.0	16.6	78.5	2.8	18.7
	10	80.3	0.0	19.7	82.9	0.5	16.6	78.6	1.9	19.4
	15	79.2	0.0	20.8	85.1	0.0	14.9	71.6	5.4	23.0
	20	84.7	2.0	13.3	86.9	0.5	12.6	68.0	6.0	26.0
25	5	75.5	4.1	20.4	88.9	0.9	10.3	51.5	21.6	26.8
	10	66.0	15.6	18.4	80.3	1.4	18.3	62.6	22.0	15.4
	15	28.1	48.3	23.6	71.8	15.3	12.9	3.6	73.7	22.6
	20	8.3	81.1	10.7	66.8	22.3	10.9	3.0	79.9	17.2
50	5	79.1	3.7	17.1	88.8	3.6	7.6	55.3	23.5	21.2
	10	69.5	10.5	20.0	82.2	7.0	10.7	19.3	64.2	16.5
	15	26.6	51.1	22.3	72.1	10.2	17.7	1.8	77.2	21.1
	20	7.1	67.7	25.3	58.6	22.1	19.3	0.0	76.3	23.7
100	5	78.1	1.6	20.3	84.8	1.3	13.8	72.5	9.8	17.6
	10	67.6	16.6	15.9	68.0	11.0	21.0	24.0	58.0	18.0
	15	47.6	32.2	20.3	68.2	15.4	16.4	0.0	79.7	20.3
	20	9.1	31.1	59.8	51.1	33.9	14.9	0.0	42.9	57.1

につれ上昇する傾向にあった。100 mg/l, 20分では死亡卵率が59.8%と他の消毒条件と比べて高い値を示した。2回次のふ化率は、対照区は90.0%, 有効ヨウ素濃度0 mg/lでは83.4, 82.9, 85.1および86.9%であった。25mg/lでは88.9%, 80.3%, 72.1%, 68.8%であり, 1回次同様, 浸漬時間が長くなるにつれ低下する傾向にあり, 50および100mg/lも同様であった。未ふ化卵率は, 0 mg/lでは0から0.5%であった。25, 50 mg/lでは15分以上, 100 mg/lでは10分以上では10%を超え, 1回次同様, 浸漬時間が長くなるにつれ上昇する傾向にあった。3回次は, 対照区は69.4%, 有効ヨウ素濃度0 mg/lでは78.5, 78.6, 71.6および68.0%であった。25mg/lでは51.5%, 62.6%, 3.6%, 3.0%であり15分以上, 50および100mg/lでは10分以上で大きく低下した。未ふ化卵率は, 0 mg/lでは2.8から6.0%であった。25 mg/lでは21.6, 22.0, 73.7および79.9%と15分以上, 50および100 mg/lでは10分以上で大きく上昇した。100 mg/l, 20分では死亡卵率が57.1%と他の消毒条件と比べて明らかに高い値を示した。

**消毒効果** 生菌数および消毒率を表2に示した。有効ヨウ素濃度0 mg/lの生菌数は $10^3 \sim 10^4$ CFU/gのオーダー, 消毒率は90%未満もしくは効果なしであった。一方, ヨード剤を用いた場合の生菌数は殆どで $10^2$ CFU/gから検出限界以下, 消毒率は殆どで90%以上であったが, 2回次の50mg/lに10分浸漬した区では, 消毒率が11%と効果は低かった。

表2. ポビドンヨード剤によるブリの受精卵消毒における生菌数および消毒率

有効ヨウ素濃度 (mg/l)	浸漬時間 (分)	1回次		2回次		3回次	
		生菌数 (CFU/g)	消毒率 (%)	生菌数 (CFU/g)	消毒率 (%)	生菌数 (CFU/g)	消毒率 (%)
0	0	$2.6 \times 10^3$		$1.2 \times 10^4$		$3.5 \times 10^3$	
	5	$2.9 \times 10^1$	ne	$3.6 \times 10^3$	70	$3.2 \times 10^3$	9
	10	$1.9 \times 10^3$	27	$6.0 \times 10^3$	50	$2.9 \times 10^3$	17
	15	$3.6 \times 10^3$	ne	$1.6 \times 10^4$	ne	$2.2 \times 10^3$	39
	20	$1.0 \times 10^4$	ne	$7.4 \times 10^3$	38	$3.3 \times 10^3$	6
25	5	Tr.	>99	Tr.	>99	$1.5 \times 10^2$	96
	10	Tr.	>99	Tr.	>99	$3.0 \times 10^2$	91
	15	Tr.	>99	Tr.	>99	Tr.	>99
	20	Tr.	>99	Tr.	>99	Tr.	>99
	5	Tr.	>99	Tr.	>99	$5.0 \times 10^1$	99
50	10	Tr.	>99	$1.1 \times 10^4$	11	Tr.	>99
	15	Tr.	>99	Tr.	>99	Tr.	>99
	20	Tr.	>99	Tr.	>99	Tr.	>99
	5	Tr.	>99	Tr.	>99	Tr.	>99
100	10	Tr.	>99	Tr.	>99	Tr.	>99
	15	$5.0 \times 10^1$	98	Tr.	>99	Tr.	>99
	20	Tr.	>99	Tr.	93	Tr.	>99
	5	Tr.	>99	Tr.	>99	Tr.	>99

\*Tr.: 検出限界以下  
消毒率=(1-浸漬後の生菌数/浸漬前の生菌数)×100  
ne: 効果なし

**有効ヨウ素濃度** 有効ヨウ素濃度の測定の結果を表3に示した。海水に溶解直後は $21.5 \pm 2.8$ mg/lであった。卵を入れず20分経過した場合は $19.4 \pm 2.9$ mg/l, 卵を基準量入れた場合は $17.6 \pm 3.0$ mg/l, 2, 4および8倍

表3. ポビドンヨード剤によるブリの受精卵消毒における有効ヨウ素濃度 (実測値)

経過時間 (分)	卵量	平均値±標準偏差 (mg/l)
0	無	$21.5 \pm 2.8$
20	無	$19.4 \pm 2.9$ *
20	基準量	$17.6 \pm 3.0$ **
20	2倍量	$17.2 \pm 3.9$ **
20	4倍量	$15.3 \pm 3.2$ **
20	8倍量	$12.8 \pm 3.9$ **

有効ヨウ素濃度25mg/lとなるように海水に溶解

基準量: 消毒液1lあたり卵0.33g

\*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ は経過時間0分, 卵量無と統計的有意差あり

量では,  $17.2 \pm 3.9$ ,  $15.3 \pm 3.2$ ,  $12.8 \pm 3.9$ mg/lであり, 卵量が増えると有効ヨウ素濃度は減少する傾向にあった。いずれの条件においても溶解直後と統計的有意差が認められた。

## 考 察

**ふ化に及ぼす影響** 無処理の対照区と有効ヨウ素濃度0 mg/lでは, いずれの浸漬時間もふ化率, 未ふ化卵率に大きな差は無く, 今回行った卵へのハンドリングは, ブリ受精卵のふ化に影響を及ぼすものではないと考えられた。ヨード海水に浸漬した場合は, 各回次とも浸漬時間が長くなるにつれ, ふ化率が低下し, その代わりに未ふ化卵率が上昇する傾向にあり, トラフグ *Takifugu rubripes*<sup>16)</sup>, ハモ *Muraenesox cinereus*<sup>17)</sup> においても同様の傾向が観察されている。ヒラメ *Paralichthys olivaceus* の受精卵をオゾン曝露海水に浸漬すると, ふ化腺の発達や卵膜の分解酵素の分泌は正常であったが, オゾン曝露海水の影響により卵膜の構造が変性し, 未孵化生残卵が発生する<sup>18)</sup>と報告されている。今回のブリ受精卵をヨード海水に浸漬して生じた未ふ化卵についても, 似たような現象によるものと推察され, 浸漬時間長くなるにつれ, 卵膜の構造がより変性した結果, 未ふ化卵率が増えたと考えられた。また, 1および3回次の100 mg/l, 20分では, 他の条件と比べて死亡率が高かった, これは高濃度, 長時間の浸漬した結果, 卵発生そのものに影響を及ぼしたと考えられた。試験回次ごとにふ化への影響が小さいと思われる条件は, 1回次はいずれの濃度も5分, 2回次は25および50 mg/lでは10分まで, 100 mg/lでは5分であると考えられた。3回次は, 25および50 mg/l, 5分の未ふ化卵率が0 mg/lと比べて高い値を示したが, 25 mg/lでは10分まで, 50および100 mg/lでは5分はふ化への影響は比較的小さいと考えられ, 試験回次によって異なる結果であった。シマアジ *Pseudocaranx dentex*<sup>19)</sup>, マダイ *Pagrus major*<sup>20)</sup>, オニオ

コゼ *Inimicus japonicus*<sup>21)</sup> では、受精率や採卵時期によっては、同じ条件で消毒してもふ化に与える影響が異なっていることが報告されている。今回、試験に用いた卵は受精率が異なっているだけでなく、採卵親魚も異なっている。すなわち、卵の質が異なっており、そのことが同じ条件で消毒しているにもかかわらず、結果に差を生じさせたと推察された。以上の結果から、ふ化への影響を最小限にする条件は有効ヨウ素濃度 25 から 100mg/l、浸漬時間 5 分以内であると考えられた。

**消毒効果** 0 mg/l の試験区では、消毒効果が認められなかったのに対して、ヨード剤を含む海水に浸漬した試験区の多くでは、消毒率 90% 以上であった。90% に満たない例も認められたが、同一回次・同一濃度で浸漬時間が短い条件でも消毒率が高かったこと、他の回次の同一条件では消毒率が高かったことを考え合わせると、死卵などが混入して生菌数が多く測定された異常値の可能性が考えられる。少なくとも、有効ヨウ素濃度 25mg/l、浸漬時間 5 分以上であれば、生菌数を 90% 以上減少させることが出来ると考えられた。

**有効ヨウ素濃度の測定** 計算上、有効ヨウ素濃度 25mg/l となるようにヨード剤を海水に溶解したが、実際の値は  $21.5 \pm 2.8$ mg/l と設定値より低かった。また、溶解からの時間経過および卵量が増えるにつれ、有効ヨウ素濃度は減少する傾向にあった。ヨード剤は海水中で有効ヨウ素が低下すること<sup>22)</sup>、有機物量が多い海水では著しく消費されること<sup>19)</sup> が知られており、用いる海水によっては卵を浸漬する前に著しく低下している可能性も考えられるので、消毒にはできるだけ清浄な海水を用いる必要があるだろう。また、受精卵も有効ヨウ素濃度を低下させる要因であることから、今後は有効ヨウ素濃度が維持しつつ、大量の受精卵を処理する手法を開発する必要がある。

以上の結果から、ポビドンヨード剤を用いてブリ受精卵を安全かつ効果的に消毒する条件は、有効ヨウ素濃度 25 から 100mg/l、浸漬時間 5 分であり、これらの条件では消毒率 90% 以上が期待できると考えられた。

## 謝 辞

本試験を実施するに当たり、多大なご協力を頂いた水産総合研究センター五島栽培漁業センター、同古満目栽培漁業センター（現養殖研究所栽培技術開発センター古満目分場）の職員の方々に厚くお礼申し上げます。

## 文 献

- 1) 三浦慎一・渡邊新吾・尾上静正・米田 寛 (2002) ブリ種苗生産技術開発. 平成 13 年度大分県海洋水産研究センター事業報告. 93-96.
- 2) 東 秀一・金子文勝 (2003) ブリ早期採卵及び種苗生産試

験, 平成 14 年度種苗生産事業報告書, 財団法人熊本県栽培漁業協会, 71-76.

- 3) 中田 久 (2003) トラフグおよびブリの親魚養成と採卵技術に関する研究, 長崎県水産試験場研究報告, 第 28 号 pp.63-86.
- 4) 浜田和久・虫明敬一 (2006) 日長および水温条件の制御によるブリの 12 月採卵. 日水誌, **72**, 186-192.
- 5) 西岡豊弘 (2006) IV 疾病対策. 栽培漁業技術シリーズ ブリの種苗生産技術の開発, 独立行政法人水産総合研究センター, 東京, 70-75.
- 6) 一色 正・河合研児・楠田理一 (1993) 採卵用ブリ親魚からの YAV と YAV 中和抗体の検出. 魚病研究, **28**, 65-69.
- 7) 一色 正・河合研児・楠田理一 (1989) 天然採捕ブリ稚魚における YAV 感染. 日水誌, **55**, 1305-1310.
- 8) 「魚類防疫への挑戦」編集委員会 (1993) - 成功・失敗事例集 - 魚類防疫への挑戦サケ・マス編. 緑書房, 東京, 46-49.
- 9) 桃山和夫・谷村利克 (2004) クルマエビ受精卵消毒による PAV の予防. 山口県水産試験場研究報告, **2**, 117-123.
- 10) 佐藤 純・虫明敬一・森 広一郎・有元 操・今泉圭之輔 (2003) 衆生生産過程におけるクルマエビの急性ウイルス血症 (PAV) の防除対策. 栽培技研, **30**, 101-109.
- 11) 虫明敬一・有元 操 (2000) 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.
- 12) 渡辺研一 (2000) マツカワに発生したウイルス性神経壊死症の防除に関する研究, 特別研究報告 15 号. 日本栽培漁業協会, 東京, 45-48.
- 13) 中村 浩 (1962) 海洋微生物. 微生物学ハンドブック, 技報社, 東京, pp. 610-621.
- 14) YAMAMOTO H, EZURA Y, KIMURA T. (1982) Effects of antibacterial action of seawater on the viability of some bacterial species. *Fisheries Sci.*, **48**, 1427-1431.
- 15) 日本規格協会編 (2005) JIS ハンドブック 53 環境測定 II 水質. 日本規格協会, 東京, pp.668-669.
- 16) 堀田卓朗・藤本 宏・山崎英樹・渡辺研一 (2004) トラフグ受精卵のヨード剤による消毒の効果. 栽培漁業センター技報, **2**, 92-95.
- 17) 堀田卓朗・西 明文・加治俊二・渡辺研一 (2007) ハモ受精卵のポビドンヨード剤による消毒の効果と安全性. 栽培漁業センター技報, **6**, 9-11.
- 18) 三村 元・長瀬俊哉・片山康人・難波憲二 (1999) 未孵化生残卵の生理学および組織学的考察. 日水誌, **65**, 448-456.
- 19) 有元 操 (1996) シマアジのウイルス性神経壊死症に関する研究, 特別研究報告 10 号. 日本栽培漁業協会, 東京, 33-37.
- 20) Noritaka HIRAZAWA, Takashi HARA, Jiro OKAZAKI, and Kazuhiko HATA (1999) Changes of Sensitivity of Red Sea Bream *Pagrus major* Eggs to Iodophor during the Spawning Season. *Fisheries Sci.*, **65**, 484-485.
- 21) 太田健吾・堀田卓朗・渡辺研一 (2005) ポビドンヨード剤がオニオコゼ卵のふ化と生菌数に及ぼす影響. 栽培漁業センター技報, **3**, 35-39.
- 22) 佐古 浩・石田典子・前野幸男・反町 稔 (1988) *Aeromonas salmonicida*, *Vibrio anguillarum* ならびに *V. ordalii* に対する各種消毒薬の殺菌作用, 魚病研究, **23**, 219-229.



# 炭酸ガスを用いたアワビ類付着珪藻板飼育時の カイアシ類の除去方法

中牟田弘典\*<sup>1</sup>

## A Novel Method of Eliminating Copepods on Attached Diatoms Collection Plates During the Artificial Mass Production of Juvenile Abalones

Hironori NAKAMUTA

A major problem encountered during the artificial mass production of juvenile abalones by using attached diatoms collection plates is the feeding of attached diatoms by parasitic copepods. Therefore, we investigated a suitable method to eliminate parasitic copepods from attached diatoms collection plates by attempting to promote the proliferation of attached diatoms by soaking the plates in carbon dioxide (CO<sub>2</sub>)-enriched seawater. In addition, we investigated the influence of soaking in CO<sub>2</sub>-enriched seawater on parasitic copepods and juvenile abalones. Soaking in CO<sub>2</sub>-enriched seawater affected parasitic copepods earlier than juvenile abalones. Furthermore, we could efficiently eliminate parasitic copepods from attached diatoms collection plates by washing the plates with seawater immediately after soaking in CO<sub>2</sub>-enriched seawater.

2008年1月24日受理

アワビ類, マナマコ (*Apostichopus japonicus*), ウニ類の種苗生産では, 付着珪藻を繁茂させた塩化ビニール製の波板 (以下付着珪藻板という) を用いて初期飼育 (以下付着珪藻板飼育という) を行っている<sup>1,2,3)</sup>が, 付着珪藻板にカイアシ類 (以下コペポーダという) が大量に増殖することによって, 付着珪藻の被食や凋落<sup>1,2,3)</sup>, シオダマリミジンコ (*Tigriopus japonicus*) 等のコペポーダが稚ナマコを捕食<sup>4,5)</sup>することによる減耗が問題となっている。この対策として, 佐賀県玄海水産振興センターでは, 薬事法改正 (2005年8月) 以前はトリクロロホン製剤 (水産用マブテン: 宇都宮化成工業(株)) を用いてコペポーダの駆除<sup>2)</sup>を行っていたが, 改正後は海水洗浄や水槽換え等により付着珪藻板上のコペポーダの個体数を減少させ, 付着珪藻の被食・凋落軽減及び稚ナマコの食害の軽減を図ってきた。しかし, この方法では効果

が一時的なものであることから, 週2回程度の作業が必要であり, 労力を要するため非効率的であった。

そこで, 筆者は炭酸ガスを通気した海水への浸漬 (以下炭酸ガス海水処理という) がコペポーダやエゾアワビ (*Haliotis discus hannai*) 稚貝に及ぼす影響を調査し, 付着珪藻板からコペポーダを効率的に脱落させるための方法を明らかとしたので報告する。

### 材料と方法

**コペポーダとエゾアワビ稚貝** 試験には, 佐賀県玄海水産振興センター 7 kℓ 角形 FRP 水槽 (以下 7 kℓ 水槽という) の付着珪藻板 (40 × 32 cm) に増殖しているコペポーダ (種未同定\*<sup>2)</sup>) 及び 7 kℓ 水槽で 2006 年 10 月に採苗した採苗後 23 日目の稚貝 (平均殻長 1.38 ± 0.13 mm)

\*<sup>1</sup> 佐賀県玄海水産振興センター 〒 847-0401 佐賀県唐津市唐房 6 丁目 4948-9 (Saga Prefectural Genkai Fisheries Research And Development Center, 6-4948-9, Toubou, Karatsu, Saga, 847-0821, Japan)。

\*<sup>1</sup> 現 佐賀県水産課 (佐賀県玄海町産業振興課出向中)

\*<sup>2</sup> 2007 年 7, 11 月の付着珪藻板に増殖したコペポーダは, いずれもシオダマリミジンコ (*Tigriopus japonicus*) 1 種のみであった (野田未発表)。

を使用した。試験は2006年11月に実施した。

**コペポーダに及ぼす影響** 炭酸ガス海水処理がコペポーダの生残と行動に及ぼす影響を調査した。本試験には、コペポーダの抱卵個体のみを使用した。炭酸ガスは液化炭酸ガスを、海水はろ過海水を使用して炭酸ガス海水を作製した。炭酸ガス濃度とpHには一定の関係があることが知られている<sup>6)</sup>。そのため、pHを指標として炭酸ガス濃度を調整することとし、5ℓ計量カップ(水量5ℓ)内で、海水のpHが所定の値となるまで小型分散器(セラミックエアーストーン、φ30×78mm, Nitto)から炭酸ガスを、炭酸ガス調整器(882Y, 日酸TANAKA)を用いて毎分5ℓ通気した。pHはpHメータ(D-23, HORIBA(株))で作製直後と試験終了後に、溶存酸素濃度(以下DOという)及び塩分はハンディメーター(556MPS, ワイエスアイ・ナノテック(株))で作製直後に測定した。

試験区の設定にあたり、既往知見を整理した。杉山・田中<sup>6)</sup>は、種々のpHの炭酸ガス海水にクロアワビ(*Haliotis discus*)稚貝を浸漬し、pH 5.6以下であれば10分以内に8割以上の個体が塩化ビニール製の波板から剥離されたことを報告している。また、中牟田はpH 5.2の炭酸ガス海水によりクロアワビ稚貝が剥離されたことを報告しているが<sup>7)</sup>、その際稚貝が剥離されるより早くコペポーダが異常遊泳することを観察した\*。これらのことから、コペポーダの行動に影響を与え、かつエゾアワビ稚貝の行動には影響が少ない炭酸ガス海水のpHを調査するため、海水のpHを5.0から5.5までの6段階とする試験区を設定した。試験は、無通気、自然水温(20.6～20.7℃)で行った。

生残率を比較するため、予め1ℓ駒込ピペットを用いてコペポーダ約30個体を200ℓガラスビーカーに収容(水量約10ℓ)した。その後、所定のpHに調整した炭酸ガス海水を全量で200ℓとなるように追加し、所定の時間(1, 2, 3, 4, 5, 10, 20分)浸漬した。所定時間経過後、10ℓ駒込ピペットを用いてろ過海水中(200ℓガラスビーカー、容量200ℓ)にコペポーダを戻し、1ないし24時間後に生死を判定した。生死の判定は小林・石田<sup>4)</sup>の方法に準じ、光学顕微鏡下(倍率100倍)で触角の運動の有無により行った。試験は3例ずつ実施した。

遊泳行動に及ぼす影響を比較するため、所定のpHに調整した炭酸ガス海水50ℓが入った50ℓガラスビーカーに1ℓ駒込ピペットで採取したコペポーダ1個体を浸漬し、パストゥールピペットで約1秒毎に海水を吹きかけて刺激した。胸脚をボートの橈のようにして遊泳するコペポーダ特有の遊泳行動が観察されなくなった時間(以下遊泳行動抑制時間という)を、ストップウォッチを用いて百分の一秒単位で、20例ずつ測定した。回復

時間の比較は、所定のpHに調整した炭酸ガス海水50ℓが入った50ℓガラスビーカーに1ℓ駒込ピペットで採取したコペポーダ1個体を1分間または2分間浸漬して遊泳行動が抑制された個体を、1ℓ駒込ピペットで速やかにろ過海水(50ℓガラスビーカー、容量50ℓ)に移し、ストップウォッチを用いて百分の一秒単位で10例ずつ測定した。パストゥールピペットで約1秒毎に海水を吹きかけて刺激した際に、コペポーダ特有の遊泳行動が確認された時間を回復時間とした。

**エゾアワビ稚貝に及ぼす影響** 炭酸ガス海水処理がエゾアワビ稚貝の生残と行動に及ぼす影響について試験した。エゾアワビ稚貝は、予め7ℓ水槽の付着珪藻板に繁茂した珪藻(*Navicula* sp. 及び *Cocconeis* sp. が優占)を接種して10日間培養し、密度が約50万細胞/cm<sup>2</sup>となった30ℓガラスシャーレ(容量30ℓ)に10個体ずつ、計500個体収容し、無通気、自然水温(20.6～20.8℃)条件下で、1日に1回10ℓ駒込ピペットで飼育水を交換して2日間飼育した個体を使用した。試験区は、コペポーダに関する試験同様、海水のpHが5.0から5.5まで0.1刻みの設定とした。

生残率を比較するため、稚貝10個体を入れた30ℓガラスシャーレに所定のpHに調整した炭酸ガス海水を30ℓ入れ、所定の時間(5, 10, 20, 30分)、無通気、自然水温(20.6～20.7℃)条件下で稚貝を浸漬した。所定時間経過後、ほぼ全量を10ℓ駒込ピペットを用いて廃棄し、ろ過海水30ℓを注水して1, 2日後に生死の判定を行った。生死の判定は、実体顕微鏡下(倍率50倍)で触角の運動の有無により行った。1日に1回飼育水を10ℓ駒込ピペットで交換した。

炭酸ガス海水処理が稚貝の付着行動に与える影響を比較するため、所定のpHに調整した炭酸ガス海水を稚貝10個体を入れた30ℓガラスシャーレに30ℓ入れ、5, 10, 20, 30分後にパストゥールピペットで海水を吹きかけた際に付着力が低下してガラス面から剥離させた個体の割合(以下剥離個体率という)を求めた。海水の吐出圧は、ろ過海水のみを入れた個体に海水を吹きかけた際に付着面から剥離されない程度とした。炭酸ガス海水は、コペポーダに関する試験と同様に作製した。

**実用化試験** 前述の試験結果に基づき、エゾアワビ稚貝の付着珪藻板からの脱落の危険性が低く、コペポーダの遊泳行動が抑制されたpH 5.3の炭酸ガス海水に30秒間浸漬する条件で実用化試験を3回行った。試験には、ナイロンネット(オープニング60μm, 1.1×1.1m)を設置した100ℓ角形コンテナ(内寸50×62×43cm)を使用した。炭酸ガス濃度の調整は、100ℓ角形コンテナ(水量80ℓ)内で、海水のpHが5.3となるまで小型分散器(セラミックエアーストーン、φ30×78mm, Nitto)から炭酸ガスを毎分5ℓ通気して行った。コペポ

\* 中牟田未発表

ーダが多数付着している付着珪藻板 10 枚を 1 セットとして 2 セットを 30 秒間、自然水温 (22.3℃) 条件下で試験水槽に浸漬した。所定時間経過後速やかに、カラナイホース (1.5 インチ) の先にアルミ製の散水ノズルを付けた洗浄装置<sup>1)</sup>を用いて、ろ過海水で付着珪藻板を洗浄 (水量 50 ℓ / 分で約 10 秒間) し、次式により脱落率を求めた。

$$\text{脱落率}(\%) = \frac{\text{脱落個体数}}{\text{脱落個体数} + \text{残存個体数}} \times 100$$

付着珪藻板から脱落した個体の採集は設置したナイロンネットでを行い、5 ℓ 計量カップに回収後、100 ml ビーカーと 1 ml メスピペットを用いた 2 段階抽出各 10 例による容積法で脱落個体数を推定した。付着珪藻板に残存した個体の採集は、pH 5.0 に調整した炭酸ガス海水 80 ℓ が入った 100 ℓ 角形コンテナ内に 30 秒間浸漬後、付着珪藻板 1 枚ずつをろ過海水で洗浄 (水量 50 ℓ / 分で約 10 秒) してを行い、脱落個体数と同様の方法で残存個体数を推定した。脱落・残存個体数は、抱卵個体のみでなくすべての個体を計数した。また、残存個体採集方法の精度を確認するため、残存個体採集後の付着珪藻板の一部を切り取り、万能投影機 (倍率 50 倍) で残存個体の有無を観察した。試験毎に、脱落個体数及び残存個体数から炭酸ガス海水処理前における付着珪藻板のコペポーダ付着数を推定した。

## 結 果

**コペポーダに及ぼす影響** 各炭酸ガス海水処理後のコペポーダの生残率を図 1 に、ろ過海水、各炭酸ガス海水の水質条件 (pH, DO, 塩分) 及び pH の調整に要した時間 (以下調整時間という) を表 1 に示した。生残率は、pH が低いほど、浸漬時間が長いほど低くなり、pH 5.2 以下で 10 分以上浸漬した場合に生残率 0% となった。pH が低いほど DO が低下し、今回設定した最も低い pH 5.0 ではろ過海水の 30% 程度の DO となった。塩分は試験区間で大きな差は認められなかった。炭酸ガス海水の調整時間は、pH が低いほど長かったが、いずれも 1 分

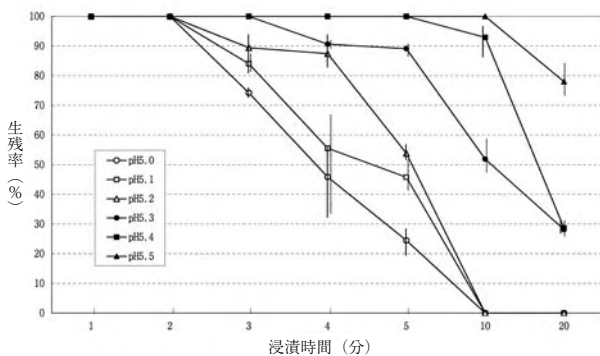


図 1. 各炭酸ガス海水処理後のコペポーダの生残率  
○□△●■▲: 平均値, —: 範囲

表 1. ろ過海水、各炭酸ガス海水の水質条件及び各炭酸ガス海水の調整時間

試験区	pH	溶存酸素濃度 (mg/ℓ)	塩分 (psu)	調整時間 (秒)
ろ過海水	7.78	7.20	34.49	-
5.0	5.00	2.43	34.40	59
5.1	5.10	3.50	34.41	44
5.2	5.20	4.32	34.45	34
5.3	5.30	4.94	34.45	27
5.4	5.40	5.53	34.47	21
5.5	5.50	5.95	34.48	17

以内と短時間であった。なお、試験終了後の pH はほとんど変化せず、pH 5.0 炭酸ガス海水 20 分間浸漬区で 0.04 上昇したのが最大であった。

各炭酸ガス海水処理時のコペポーダの遊泳行動抑制時間を図 2 に示した。遊泳行動抑制時間は、pH が低いほど短くなり、今回設定した最も高い pH 5.5 でも 10.1 ± 2.9 秒であった。

各炭酸ガス海水処理後のコペポーダの回復時間を図 3 に示した。回復時間は、pH が低いほど長くなり、同一 pH 条件では浸漬時間が長いほど長かった。

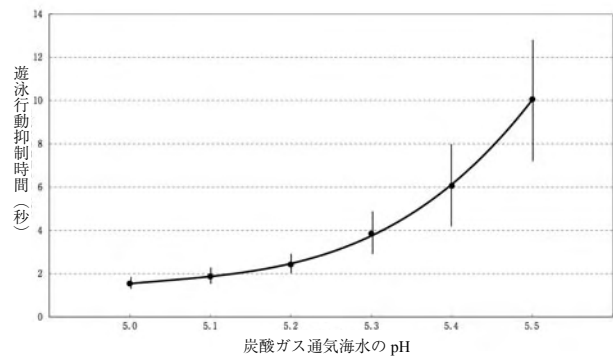


図 2. 各炭酸ガス海水処理時のコペポーダの遊泳行動抑制時間  
●: 平均値, —: 標準偏差

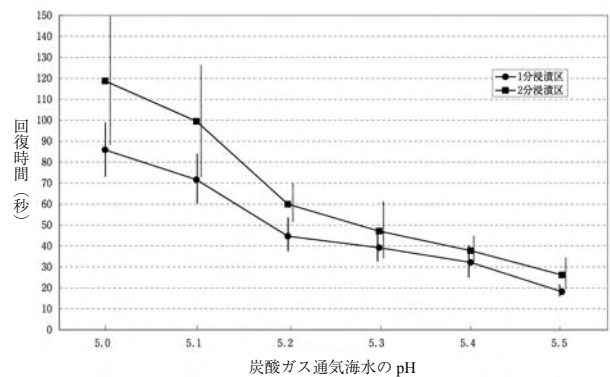


図 3. 各炭酸ガス海水処理後のコペポーダの回復時間  
●■: 平均値, —: 標準偏差

**エゾアワビ稚貝に及ぼす影響** 各炭酸ガス海水処理時のエゾアワビ稚貝の剥離個体率を図4に示した。剥離個体率は、pHが高いほど、浸漬時間が短いほど低くなり、概ねpH 5.3以上で5分間以下の浸漬条件下では10%以下となった。

また、生残率比較試験に供試した稚貝は、すべての浸漬区において死亡は認められなかった。なお、試験終了後のpHはほとんど変化せず、pH 5.0炭酸ガス海水30分間浸漬区で0.11上昇したのが最大であった。

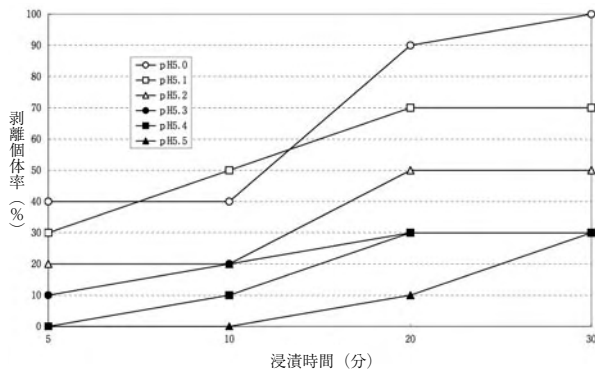


図4. 各炭酸ガス海水処理時のエゾアワビ稚貝の剥離個体率

**実用化試験** 実用化試験におけるろ過海水、炭酸ガス海水の水質条件及び調整時間を表2に示した。水質条件は5ℓ計量カップを用いたpH 5.3の試験区と大差なかったが、調整時間は10倍以上を要した。しかしながら、5分30秒と実用的な時間であった。炭酸ガス海水処理後のコペポーダの脱落数と残存数を表3に示した。本試験で用いた付着珪藻板1枚当たりには、平均915～1,375個体のコペポーダが付着していたと考えられ、コペポーダの脱落率は3例すべて99.9%以上であった。なお、残存個体採集処理後の付着珪藻板上には、コペポーダは確認されなかった。

表2. 実用化試験におけるろ過海水、炭酸ガス海水の水質条件及び調整時間

試験区	pH	水温 (°C)	溶存酸素濃度 (mg/ℓ)	塩分 (psu)	調整時間 (秒)
ろ過海水	7.80	22.15	6.93	34.51	-
5.3	5.30	22.34	4.62	34.47	330

表3. 実用化試験における炭酸ガス海水処理後のコペポーダ付着数

試験No.	脱落個体数 (個体)	残存個体数 (個体)	脱落率 (%)	付着珪藻板1枚あたりの推定平均付着個体数 (個体/枚)
1	27,500	17	99.94	1,375
2	18,300	14	99.92	915
3	25,000	26	99.90	1,250

\*1 野田未発表

\*2 中牟田・大津未発表

## 考 察

アワビ類の付着珪藻板飼育時において、コペポーダの大量発生による付着珪藻の被食や凋落は、アワビ類の初期餌料となる付着珪藻の不足を招き、その後の稚貝の生残や成長に大きな影響を及ぼす<sup>1)</sup>ため、稚貝に影響を与えず付着珪藻板上のコペポーダの個体数を効率的に減少させる方法が求められている。

炭酸ガス海水処理がコペポーダ及びエゾアワビ稚貝の生残や行動に及ぼす影響を調査したところ、コペポーダではpH 5.2以下で10分間以上浸漬すると生残率が0%となったのに対して、稚貝では、30分間浸漬しても死亡しなかった。また、コペポーダの遊泳行動が抑制される時間は、pHが低くなるほど短くなり、本試験における最も高いpH 5.5においても約10秒であったのに対して、エゾアワビ稚貝では10分間浸漬しても付着力が低下した個体は観察されなかった。従って、コペポーダの炭酸ガス海水処理に対する感受性はエゾアワビ稚貝よりも著しく高いと考えられ、付着珪藻板飼育時におけるコペポーダによる付着珪藻の減耗防止対策への炭酸ガス海水処理の有効性が示唆される。

炭酸ガス海水処理の有効性を検討した実用化試験では、コペポーダの脱落率が99.9%以上であった。一方、炭酸ガス海水処理を行わずにろ過海水で付着珪藻板を洗浄した場合にはコペポーダの脱落率が30%程度<sup>\*1</sup>との知見があることから、炭酸ガス海水処理後速やかに付着珪藻板をろ過海水で洗浄することにより、遊泳行動が抑制されたコペポーダを効率的に脱落させるものと推察された。また、本試験条件下においては、炭酸ガス海水処理後のエゾアワビ稚貝が死亡することは観察されなかった。これらのことから、エゾアワビ稚貝の付着珪藻板飼育時に炭酸ガス海水処理を行うことにより、稚貝への影響を最小限に抑えつつ、コペポーダの除去を効率的に実施できるものと考えられた。

一方、クロアワビ稚貝の炭酸ガスを用いた剥離について、杉山・田中<sup>6)</sup>がpH 5.35、水温20°Cの条件下で殻長8.3～29.8mmの稚貝を10分間炭酸ガス海水に浸漬した場合の剥離率が約90%、中牟田<sup>7)</sup>がpH 5.20、水温24.2°Cの条件下で平均殻長18.7±5.3mmの稚貝を5分間浸漬した場合の剥離率が約60%と報告している。本試験で明らかとなったコペポーダの遊泳行動が抑制される時間と比較すると、クロアワビ稚貝もコペポーダより炭酸ガス海水処理に対する感受性は低いものと考えられる。中牟田・大津<sup>\*2</sup>は、クロアワビ稚貝を用いて実用規模での炭酸ガス海水処理を実施した結果、ろ過海水での洗浄のみを実施した稚貝(採苗後22日目、平均殻長0.90±0.07mm)では、7日後の日間成長量が50.0μm/

日、生残率が76%と、炭酸ガス海水処理を実施した稚貝（採苗後26日目、平均殻長 $0.97 \pm 0.11$  mm）では、日間成長量 $50.0 \mu\text{m}/\text{日}$ 、生残率が82%の結果を得ており、生残率や成長にほとんど差が認められなかったとしている。また、コペポータ除去に必要な頻度はろ過海水洗浄のみでは週2回程度であったのに対し、炭酸ガス海水処理は月2回の実施で済み、従前のトリクロロホン製剤での駆除間隔（15.6日毎に1回）<sup>1)</sup>と同等であったとしている。以上のことから、実用規模においても炭酸ガス海水処理による付着珪藻板からのコペポータの効率的な除去が可能であると考えられた。

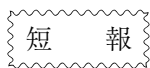
本試験で供試したコペポータの種は明らかとできていないし、抱卵個体についてのみ炭酸ガス海水処理に対する感受性を調査した。また、付着珪藻板飼育はウニ類やマナマコについても実施されている。種や発育段階による感受性の違いが容易に想像されることや、DOの低下がコペポータの遊泳行動に影響を及ぼした可能性があることから、炭酸ガス海水処理の汎用性を明らかにするために、炭酸ガス濃度の測定や異なる水温における試験など、今後詳細な検討が必要である。さらに、量産規模における炭酸ガス海水処理条件（pH、炭酸ガス濃度、水温、DO、処理時間等）についても検討が必要と考える。

## 謝 辞

本研究を進めるにあたり、ご協力いただいた佐賀県玄海水産振興センターの職員各位ならびに本報告をまとめる機会を与えていただいた佐賀県玄海水産振興センター村山孝行所長に謝意を表する。

## 文 献

- 1) 伊藤史郎・森勇一郎（1996）アワビ（エゾアワビ）の種苗生産。佐賀県栽培漁業センターにおける種苗生産マニュアル，1-43.
- 2) 伊藤史郎（1995）マナマコの人工大量生産技術の開発に関する研究。佐賀栽セ研報，4，1-87.
- 3) 後藤政則（1993）トリクロロホンのバフンウニ稚ウニに対する毒性について。佐賀栽セ研報，2，75-76.
- 4) 小林 信・石田雅俊（1984）稚ナマコの減耗要因に関する二・三の実験。栽培技研，13，41-48.
- 5) 酒井勇一・元谷 怜（2004）マナマコ栽培漁業技術開発試験。北海道栽セ事報，19-36.
- 6) 杉山元彦・田中彌太郎（1982）炭酸ガス麻酔によるアワビ稚貝の剥離について。養殖研研報，3，37-44.
- 7) 中牟田弘典（2007）炭酸ガスとエタノール製剤との併用によるクロアワビ稚貝の剥離処理。栽培技研，35，51-54.



## エゾアワビ天然個体と放流個体の配偶子放出と 発生および稚貝の生残の比較

野呂忠勝\*・武蔵達也\*

### Comparison of Natural and Released Ezo Abalone *Haliotis discus hannai* with regard to Gamete Release, Development, and Survival of Juveniles

Tadakatsu NORO and Tatsuya MUSASHI

Natural and released individuals of Ezo Abalone *Haliotis discus hannai* caught from the same fishing ground in the maturity/spawning season on the coast of Iwate Prefecture were compared with regard to reproduction under laboratory conditions. Among individuals who released gametes by artificial stimulation, no difference was observed in the number of eggs laid; fertility, settling, and larva survival rates; and survival and growth of a juvenile to an average shell length of 6 mm. Thus, it was confirmed that with adequate stimulation, released individuals show the same rate of gamete release, fertilization of egg and sperm, and developmental growth as that of natural individuals. The survival and growth of juveniles were also the same in both populations. Therefore, a possibility exists that released individuals can contribute to reproduction.

2008年2月1日受理

エゾアワビ *Haliotis discus hannai* は種苗生産技術が確立し、日本各地で資源の維持または増大のため人工種苗が放流されており、とりわけ、岩手県では近年、年間800～900万個の人工種苗を放流している<sup>1,2)</sup>。

放流事業において想定される放流効果には、放流個体の資源への加入による資源量・漁獲量増大といった直接効果と放流個体の再生産による次世代以降の資源増強といった間接効果が考えられる。エゾアワビの放流では、直接効果に関しては、放流個体の漁獲状況を調査し、漁獲量や回収率、投資効果などの多くの知見がこれまでに得られている<sup>1-5)</sup>。一方、間接効果に関しては、最近になり放流実験漁場で遺伝標識を用いて再生産状況が検討され始めたところであり<sup>6)</sup>、放流個体の成熟、産卵などの基礎的な知見については、数例が示されているに過ぎない<sup>7,8)</sup>。

そこで、著者らはエゾアワビ放流個体の漁場での再生産への寄与について検討をするため、天然個体と放流後親貝にまで成長し成熟した放流個体について、配偶子放

出状況や放出された卵と精子の受精能力およびふ化した幼生と稚貝の成育状況を比較するための飼育試験を行い、いくつかの知見が得られたので報告する。

#### 材料と方法

エゾアワビ天然個体と放流個体を用い、両者の再生産に関する特性について陸上施設で比較した。なお、天然個体を用いた試験区を天然区、放流個体を用いた試験区を放流区とした。

供試個体は、岩手県沿岸で天然個体の産卵期<sup>9)</sup>である1998年9月29日に、1987～1996年の間に年間約20万個の人工種苗が放流され、それらの大部分は放流後2年から5年の間に漁獲の制限殻長である90mmを越える大きさで漁獲されている岩手県釜石市唐丹湾<sup>3)</sup>において、SCUBA潜水により採取した天然個体と放流個体の雌雄5個体ずつである。採取した個体は、室内の水槽に収容し、自然水温(20.4～20.9℃)のろ過海水で2日間

\* 岩手県水産技術センター 〒026-0001 岩手県釜石市大字平田3-75-3 (Iwate Fisheries Technology Center, 3-75-3, Heita, Kamaishi, Iwate, 026-0001 Japan).

表 1. 供試した親貝の大きさと成熟状況および配偶子放出結果

試験区	性別	個体数	殻長 (mm) * 1	体重 (g) * 1	生殖巣指数	配偶子放出個体数	産卵数 (千粒) * 1
天然区	♀	5	95.8 ( 89.0 ~ 111.0 )	118.5 ( 82.5 ~ 193.4 )	1 ~ 3	5	701.0 ( 8 ~ 1,412 )
	♂	5	107.8 ( 98.0 ~ 120.0 )	168.3 ( 123.4 ~ 235.8 )	1 ~ 3	5	—
放流区	♀	5	101.6 ( 89.0 ~ 122.0 )	136.0 ( 98.7 ~ 212.6 )	1 ~ 3	5	670.0 ( 272 ~ 1,280 )
	♂	5	89.0 ( 85.0 ~ 93.0 )	98.7 ( 84.7 ~ 110.7 )	2 ~ 3	5	—

\* 1 : 平均値 (最小値~最大値)

飼育した。供試個体の殻長、体重および菊地ら<sup>10)</sup>の基準に準じた生殖巣指数の範囲を表 1 に示した。天然区の雌では殻長が 89.0 ~ 111.0 mm、体重が 82.5 ~ 193.4 g および生殖巣指数が 1 ~ 3 であり、同様に、放流区の雌では殻長が 89.0 ~ 122.0 mm、体重が 98.7 ~ 212.6 g および生殖巣指数が 1 ~ 3 であった。雄では、天然区は殻長が 98.0 ~ 120.0 mm、体重が 123.4 ~ 235.8 g および生殖巣指数が 1 ~ 3 であり、放流区は殻長が 85.0 ~ 93.0 mm、体重が 84.7 ~ 110.7 g および生殖巣指数が 2 ~ 3 と、天然区に比べて少し成熟していた。なお、人工種苗に特有の殻頂部の緑色の部分の有無により放流個体を天然個体と識別した<sup>2,3)</sup>。

1998 年 10 月 1 日に、岩手県でのエゾアワビ種苗生産のマニュアル<sup>11)</sup>に準じて、供試個体の放卵、放精を誘発し、人工授精により得られた幼生の飼育試験を行った。誘発と幼生の飼育期間中の水温は 20℃ に設定した。各供試個体は 20 ℓ コンテナに 1 個体ずつ収容し、紫外線殺菌装置 (千代田工販株式会社製、フロンライザ 8 H) の公称殺菌能力の約 1/100 の流量に絞った紫外線照射海水を 24 時間通水し、放卵、放精した個体を確認し計数した。24 時間の間に産出された卵を計数し、各雌個体の産卵数とし、産卵開始から 1 時間以内に産出された卵 (112 ~ 348 千粒/個) は、雌個体毎に回収し、受精率の把握、幼生の飼育試験に供した。なお、天然区の雌 1 個体は、産卵数が 8 千粒であったことから、飼育試験には用いなかった。精子は、授精に供する直前に雄個体毎に回収し、各雄個体由来の精子数が同一になるように混合し、40 万個/ml の精子濃度で雌個体由来別の卵に加え人為的に受精させた。受精率は次式により推定した。  

$$\text{受精率}(\%) = \frac{\text{受精卵数}}{\text{受精卵数} + \text{不受精卵数}} \times 100$$

受精からの積算温度が 160℃・時で、雌個体由来毎に浮上幼生を回収して計数した。幼生の浮上率は次式により推定した。

$$\text{浮上率}(\%) = \frac{\text{浮上幼生数}}{\text{受精卵数}} \times 100$$

雌個体由来別の浮上幼生は、受精からの積算温度が 1,000℃・時まで流水式飼育装置に 17 個体/ml 以下の密度で収容し、匍匐被面子幼生まで飼育した。飼育終了後、匍匐被面子幼生と奇形匍匐被面子幼生を計数した。幼生の生残率は次式により推定した。

幼生の生残率(%)

$$= \frac{\text{匍匐被面子幼生数} - \text{奇形匍匐被面子幼生数}}{\text{浮上幼生の収容数}} \times 100$$

幼生飼育終了後の 1998 年 10 月 5 日からは、以下に示す稚貝飼育に移行した。ウルベラ *Ulvella lens* や *Cocconeis* sp. などの微細藻類が附着した塩化ビニール製の波板 (32 cm × 40 cm) 4 枚をホルダー (45 cm × 29 cm × 34 cm, ポリエチレンコーティングした鉄線で作製) に固定し飼育用水槽 (64 cm × 44 cm × 38 cm) 内に設置した。各雌個体由来の正常匍匐被面子幼生数が同一になるように混合した後、3,000 個体を飼育用水槽に収容した。受精からの積算温度が 1,400℃・時まででは止水とし、以後は自然水温 (20.1 ~ 7.6℃) のろ過海水を通水し流水で管理した。餌料は、飼育開始直後には波板に附着したウルベラ *Ulvella lens* や *Cocconeis* sp. などの微細藻類とし、以後は自然に繁茂した微細藻類とした。1999 年 2 月 15 日に、稚貝を回収して計数し殻長を測定した。稚貝の生残率は次式により推定した。

稚貝の生残率(%)

$$= \frac{\text{生残稚貝数}}{\text{正常匍匐被面子幼生の収容数}} \times 100$$

雌個体の体重 100g から産出された卵の稚貝までの生残数を稚貝までの生残数とし、次式により推定した。

稚貝までの生残数(個/100g)

$$= \frac{\text{雌個体の体重 } 100 \text{ g 当たりの産卵数} \times (\text{受精率} / 100) \times (\text{浮上率} / 100) \times (\text{幼生の生残率} / 100) \times (\text{稚貝の生残率} / 100)}{100}$$

産卵数、受精率、幼生の浮上率および生残率はウィルコクソン検定により、稚貝の平均殻長は Student の *t* 検定により、それぞれ天然区と放流区の間で統計学的検定を行った。

## 結果と考察

本試験に使用した親貝は、武市<sup>3)</sup>により、天然個体、放流個体ともに 4 ~ 7 歳と推定された。

親貝の配偶子放出結果を表 1 に示す。天然区、放流区ともに配偶子放出の誘発刺激によりすべての個体が放卵、放精した。産卵数の平均値 (範囲) は、天然区では 701 千粒 (8 ~ 1,412 千粒)、放流区では 670 千粒 (272

～1,280千粒)であった。産卵数は天然区と放流区の間  
に有意な差はなかった ( $p > 0.05$ )。以上のことから、  
岩手県沿岸での天然個体の成熟時期<sup>9)</sup>に天然漁場から採  
取した放流個体は、自然界でおよそ2～5年で生殖巣が  
発達するまで成長し、紫外線照射海水の刺激により放  
卵、放精することが確認され、産卵数は天然個体と放流  
個体で差は認められなかった。放流されたエゾアワビの  
成熟、産卵に関しては、天然個体の産卵時期と同じ時期  
に成熟し産卵することが、北海道小樽市海域で確認され  
ており<sup>8)</sup>、青森県では、同一の天然漁場から採取した放  
流個体と天然個体を陸上施設で養成した結果、放流個体  
は天然個体に比べて十分に成熟し、産卵数や受精率には  
有意な差はないことが確認されている<sup>7)</sup>。これらのこと  
から、放流されたエゾアワビは、天然漁場で成熟するま  
で成育し、さらに十分な刺激さえあれば放卵、放精して  
いるものと考えられる。

人工授精による受精率および幼生と稚貝の飼育結果を  
表2に示す。受精率の平均値(範囲)は、天然区では  
86.1% (81.7～93.1%)、放流区では82.0% (60.7～  
95.8%)であった。幼生の浮上率の平均値(範囲)は、  
天然区では77.4% (54.8～97.8%)、放流区では79.5%  
(69.4～86.1%)であり、幼生の生残率の平均値(範囲)  
は、天然区では83.7% (68.9～95.6%)、放流区では  
88.5% (73.1～95.1%)であった。これら受精率、幼生  
の浮上率および生残率の各項目は、天然区と放流区の間  
に有意な差はなかった ( $p > 0.05$ )。また、天然区と放  
流区の幼生を平均殻長が6 mmになる稚貝まで飼育した  
結果、稚貝の生残率は天然区で26.7%、放流区で28.4%  
であり、稚貝の殻長の平均値±標準偏差は天然区では  
6.2 ± 2.30 mm、放流区では6.1 ± 2.11 mmとなり、両  
区で有意な差はなかった ( $p > 0.05$ )。このように平均  
殻長6 mmまでの稚貝の生残率と成長は、天然区と放流  
区の間には差は認められなかった。さらに、雌個体の体重  
100 gから産出された卵の稚貝までの生残数は、天然区  
では80.1個/100 g、放流区では78.3個/100 gであり、  
生残した稚貝の個数は、天然区と放流区の間には顕著な差  
はなかった。これらのことから、放流個体から得た卵や  
精子は、天然個体と同等の水準で受精し、発生が進むこ  
とが確認された。また、放流個体由来の稚貝の平均殻長  
6 mmまでの生残と成長は、天然個体由来の稚貝と同等  
であることが確認された。

以上のことから、岩手県沿岸に放流されたエゾアワビ  
は、放流後およそ2～5年で成熟し、天然個体と同等の  
再生産能力を有するようになり、漁場で再生産に寄与し  
ている可能性は高いと考えられる。原ら<sup>6)</sup>は、放流実験  
漁場で遺伝標識を用いてエゾアワビ人工種苗の再生産状  
況を検討した結果、親貝集団の殆どが放流個体で占めら  
れていたのに対して、そこで発生した当歳貝は多くが天  
然集団からの由来と推定されたことから、放流個体の再  
生産能力は天然個体より低い可能性を指摘しており、さ  
らにその理由として、エゾアワビの種苗生産過程では、  
放流後の生残や生産効率を考慮し、成熟制御や早成長を  
指標に継代飼育された親貝からの生産も行われ、意識  
的・無意識的な選抜により、放流個体は種(地域集団)  
が長い進化過程で獲得してきた環境適応形質を失ってい  
る可能性を指摘し、加えて実際に試験に用いた放流個体  
は数世代にわたり継代飼育された親貝からも生産されて  
いることを報告している。一方、放流個体が天然個体と  
同等の再生産能力を有する可能性が示された本試験で  
は、遺伝的変異性の維持と地域集団に近い遺伝組成とな  
るように配慮されて生産された放流個体を用いた。具体  
的には、放流個体の親貝は一部種苗生産された人工種苗  
の中から成長の優良な個体を継続飼育して親貝に仕立て  
たものであるが、大半は岩手県の天然漁場から採取した  
天然個体であり、さらに親貝はすべての個体が毎年更新  
されている<sup>11)</sup>。両試験において、放流個体の再生産能  
力への評価が異なったのは、それぞれの試験で供した放  
流個体の遺伝的特性の違いによるかもしれない。このよ  
うなことから、エゾアワビ放流個体の漁場での再生産へ  
の寄与について検討する際には、試験に供する放流個体  
の種苗生産方法に起因する遺伝的特性にも注意を払う必  
要があろう。

今後は、この放流個体の遺伝的特性を十分に考慮した  
上で、成熟、産卵期間を通して天然漁場での天然個体と  
放流個体の成熟状況を調査し、成熟や産卵の時期のずれ  
や配偶子放出量に差異がないか確認する必要がある。さ  
らに最終的には、エゾアワビの浮遊幼生期の移動範囲を  
把握した上で、遺伝標識<sup>6,12)</sup>を用いて天然漁場での放流  
個体の再生産への寄与度について把握することが望まれ  
る。

表2. 人工授精による受精率および幼生と稚貝の飼育結果

試験区	受精率 (%) *1	幼生飼育		稚貝飼育		稚貝までの生残数 (個/100 g) *3
		浮上率 (%) *1	生残率 (%) *1	生残率 (%) *1	殻長 (mm) *2	
天然区	86.1 (81.7 ~ 93.1)	77.4 (54.8 ~ 97.8)	83.7 (68.9 ~ 95.6)	26.7	6.2 ± 2.30	80.1
放流区	82.0 (60.7 ~ 95.8)	79.5 (69.4 ~ 86.1)	88.5 (73.1 ~ 95.1)	28.4	6.1 ± 2.11	78.3

\* 1: 平均値(最小値～最大値)

\* 2: 平均値±標準偏差

\* 3: 雌個体の体重100 gから産出された卵の稚貝までの生残数



## 謝 辞

調査を実施するにあたり、多大なご協力をいただいた唐丹町漁業協同組合の職員と生産者の方々に深く感謝します。

## 文 献

- 1) 武蔵達也 (2006) 岩手県におけるエゾアワビの種苗放流効果. 日水誌, **72**, 467-470.
- 2) 武蔵達也 (2006) アワビ人工種苗の放流効果. 平成 17 年度栽培漁業技術中央研修会研修会テキスト集 - 責任ある栽培漁業: 現状と展望 -. 社団法人全国豊かな海づくり推進協会, 東京, pp.1-8.
- 3) 武市正明 (1988) 大量放流されたエゾアワビ人工種苗の回収率と生残率. 栽培技研, **17**, 27-36.
- 4) 井ノ口伸幸 (1993) アワビの種苗放流と漁場利用. 日本水産学会東北支部会報, **43**, 22-24.
- 5) 煙山 彰・武市正明・内田 明 (1997) 山田町垂水におけるエゾアワビ人工種苗の放流効果. 岩手水技セ研報, **1**, 37-45.
- 6) 原 素之・干川 裕 (2007) アワビ人工種苗の再生産 - 北海道忍路湾における放流実験事例 -. 「月刊海洋」, **442**, 海洋出版株式会社, 東京, pp.274-279.
- 7) 青森県・岩手県・神奈川県・山口県・福岡県 (1991) 平成 2 年度放流技術開発事業報告書 (放流漁場高度利用技術開発事業あわび・うに類).
- 8) 干川 裕 (2005) 親アワビを増やせば稚貝も増えるのか?. 北水試だより, **67**, 6-9.
- 9) 廣瀬敏夫 (1953) 岩手県産えぞあわび *Haliotis kamtschatkana* の生態について. 「岩手県産鮑調査報告第 1 号」, 岩手県水産試験場, 岩手, pp.1-14.
- 10) 菊地省吾・浮 永久 (1974) アワビ属の採卵技術に関する研究 第 1 報 エゾアワビ *Haliotis discus hannai* INO の性成熟と温度との関係. 東北水研研報, **33**, 69-78.
- 11) 大森正明・河原郁恵・石田享一 (1995) エゾアワビ種苗生産技術の実際. 「アワビ類の種苗生産技術」(浮永久・大森正明・河原郁恵・石田享一・柳澤豊重編), 社団法人日本栽培漁業協会, 東京, pp.93-124.
- 12) 砂田桃代・菅野愛美・小林俊将・遠藤 敬・井ノ口伸幸・木島明博 (2006) マイクロサテライト DNA 標識によるエゾアワビ人工種苗の親子判定および放流効果推定への利用. 水産育種, **36**, 49-55.



# スズキ目魚類に投薬したアンピシリン, オキシリン酸 およびエリスロマイシンの筋肉における残留状況

渡辺研一<sup>\*1</sup>・森 広一郎<sup>\*1</sup>・堀田卓朗<sup>\*2</sup>・飯田貴次<sup>\*3</sup>

## Residues of Ampicillin, Oxolinic Acid, and Erythromycin in the Muscles of Perciform Fish Species

Ken-ichi WATANABE, Koh-ichiro MORI, Takurou HOTTA and Takaji IIDA

The following 4 fish species were used in this experiment: black sea bream *Acanthopagrus schlegelii*, purplish amberjack *Seriola dumerili*, striped jack *Pseudocaranx dentex*, and seven-band grouper *Epinephelus septemfasciatus*. According to the medication protocol, the fishes were fed dry pellet containing with 20 mg/kg (body weight, BW)/day ampicillin (ABPC) for 5 days solid, 30 mg/kg/day oxolinic acid (OA) for 7 days solid, or 50 mg/kg/day erythromycin (EM) for 5 days solid. Subsequently, for no medication, the fishes were fed foods without any antibiotics for 5 days (ABPC-medicated fish), 16 days (OA-medicated fish), and 30 days (EM-medicated fish). The muscles of these fishes were individually sampled on the next day after the last medication and after no medication, stored, and analyzed. ABPC was not detected in all the specimens. Specimens sampled on the next day after the last medication showed high residual concentrations of the respective antibiotics. However, specimens sampled on the next day after no medication showed residue levels lesser than those recommended by food safety standards.

2008年1月30日受理

水産用医薬品については、その有効性、安全性、残留性等の試験結果を、薬事・食品衛生審議会が用法・用量、休薬期間等について審査した結果に基づき農林水産大臣が製造を承認している。従来は、養殖対象魚種が限られており、近縁の種間では医薬品の有効性、安全性、残留性等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、代表魚種の試験結果が審査され「目」単位で承認されてきた。

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、養殖される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がある。一方で、食の安全に対する消費者の関心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、承認対象目ごとに代表魚種以外の魚種においても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。渡辺ら<sup>1,2)</sup>は、スズキ目魚類18種、カレイ目魚類4種およびクルマエビに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を経口投与し、オキシテトラサイクリンの筋肉および中腸腺における残留状況を調査した<sup>1,2)</sup>。その結果、いずれの分類群においても休薬期間経過後の可食部に抗生物質の残留は認められなかった。

<sup>\*1</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 種苗期疾病研究グループ 〒879-2602 大分県佐伯市上浦大字津井浦 (Kamiura Station, National Research Institute of Aquaculture, Fisheries Research Association, Tsuiura, Saiki, Ooita, 879-2602, Japan).

<sup>\*2</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>\*3</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 三重県度会郡南伊勢町中津浜浦 422-1

一方、それらの報告は、オキシテトラサイクリン系の抗生物質に限定されており、他に承認されている水産用医薬品についての知見はない。そこで、オキシテトラサイクリン系以外の抗生物質について、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** 本飼育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」に規定される内容に留意した。

**対象医薬品** 対象となる医薬品を、スズキ目魚類の類結節症の治療の目的で承認されているアンピシリン(ABPC)とオキシソリン酸(OA)、レンサ球菌症の治療の目的で承認されているエリスロマイシン(EM)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。渡辺ら<sup>1,2)</sup>は、スズキ目魚類18種に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を経口投与し、オキシテトラサイクリンの筋肉における残留状況を調査した。その結果を基に、投薬後の筋肉におけるオキシテトラサイクリンの残留濃度を用いてクラスター分析したところ、調査した18種のスズキ目魚類は、残留性の差異から、大きく4グループ(オキシテトラサイクリンが最も残留しやすい魚種、やや残留しやすい魚種、やや残留しにくい魚種、最も残留しにくい魚種)に分けられることが分かった<sup>3)</sup>。そこで、本報告においては、この残留性の差異に注目して、4グループから代表種1種を選定することとし、最も残留しやすい魚種としてアジ科のカンパチ、やや残留しやすい魚種としてタイ科のクロダイ、やや残留しにくい魚種としてハタ科のマハタ、最も残留しにくい魚種としてアジ科のシマアジを対象に試験を行った。

**供試魚の由来** 供試魚として、クロダイについては天然魚を、マハタ、カンパチ、シマアジについては人工生産魚を用いた。通達では「1ヵ月以上抗菌性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、試験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。

**試験実施場所** 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、マハタは上浦栽培技術開発センター、カンパチ、シマアジ、クロダイに

ついては同古満目分場で行った。

**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、魚種や大きさを考慮して、カンパチとシマアジは陸上水槽に設置した小割網、マハタ、クロダイ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」、「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。本試験では試験開始後、後述の通り投薬終了翌日および休薬期間終了翌日の2回の採材を行う計画であり、1回に5尾をサンプリングして採材するため、1試験区10尾をサンプリングすることになる。試験期間中の事故等による死亡を勘案し、安全係数を2倍としたことから1試験区20尾を供試することを基本としたが、試験水槽の大きさや対象種の大きさ等を勘案して適宜増減した。

**試験魚の収容** 被検薬の投与7~10日前から試験水槽ないしは小割網に試験魚を収容し、試験水槽に馴致した。

**試験魚の大きさ** 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。この通達にしたが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」とされているため、試験期間中の水温がこの水温となるように留意した。

**給餌する餌の種類** 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。スズキ目のアンピシリン、オキシソリン酸、エリスロマイシンは経口投与とされているため、市販の配合飼料に被検薬を添加して給餌した。試験開始前は、被検薬を含まない配合飼料を給餌した。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。投薬期間は、アンピシリンとエリスロマイシンの使用法で「5日間」とされているため、5日間とした。オキシソリン酸は「5~7日投与する」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、被検薬を含まない配合飼料を給餌した。

**給餌法** 被検薬を含む配合飼料等の投与期間は、毎日手撒きで全ての魚に均等に配合飼料等が行き渡るように給餌した。被検薬投薬期間中の前後も同様に手撒きしたが、隔日もしくは週5日の給餌とした。

**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。養殖水産動物にあつては、臨床最高適用量の二倍量とする」とされている。いずれの魚種も承認されている用法用量に従い、魚体重1kg当たりアンピシリンで20mg/日、オキシソリン酸で30mg/日、エリスロマイシンで50mg/日となるように投与した。

**投与方法** 適正給餌量の80%程度量の配合飼料に、規定

量の被検薬を蒸留水に溶解したもの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。

**飼育中のデータ収集** 試験期間中の、水温、給餌量、摂餌状況、死亡状況等について、データを収集、記録した。また、試験開始前とサンプリング時に全長または尾叉長と体重を測定し、記録した。得られたデータを用いて肥満度 =  $\{ \text{体重} \div (\text{尾叉長または全長})^3 \times 10^6 \}$  を算出した。

**分析用試料の採材** 試験水槽より供試魚を無作為に取り上げ、1試料について背部筋肉（皮膚を含まない）20g以上を採材した。オキシリン酸では40g以上を採材した。

**試料の保管** 採材した試料は、個体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、重量等を明記して、-80℃で凍結後、分析を依頼時まで凍結保存した。

**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。」こととされているが、本事業の目的は休薬期間後の被検薬の残留状況を検証することにあるので、用法用量に規定される投薬期間終了時に被検薬が残留していること、休薬期間経過後に被検薬の残留がないことを確認することとした。休薬期間は、アンピシリンで5日、オキシリン酸で16日、エリスロマイシンで30日とされているので、投薬期間終了の翌日はすべての被検薬、6日後にはアンピシリン、17日後にはオキシリン酸、31日後にはエリスロマイシンの試料を採取した。

**分析の依頼** 一連の試験終了後、-80℃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

スを同封して送付し、被検薬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）×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、以下の方法で分析を行った。

- 1. アンピシリン** 食品中に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法（平成17年1月24付け食安発第0121001号）のベンジルペニシリン分析法に準拠し、タンデム型液体クロマトグラフ-質量分析計により測定した。
- 2. オキシリン酸** 社団法人日本食品衛生協会、食品衛生検査指針-動物用医薬品・飼料添加物編-（2003）厚生労働省監修、26-43.に準拠し、蛍光検出器付き高速液体クロマトグラフにより測定した。
- 3. エリスロマイシン** 齋藤ら<sup>4)</sup>の方法に準拠し、*Kocuria rhizophila* ATCC 9341を用いた微生物学的試験法により測定した。

**統計検定** シマアジおよびクロダイにエリスロマイシンを投薬した区の試験開始前、投薬終了翌日、休薬翌日における平均肥満度について、魚種ごとにTukey法により多重比較を行って統計検定を行った。

## 結果と考察

**1. 飼育試験** 飼育試験結果の概要を表1に、飼育試験における分析用試料のサンプリング状況を表2に示す。

カンパチの試験は、上浦栽培技術開発センターが種苗

表1. 飼育試験の概要

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 (℃)	備考
					全長or尾叉長 (mm)	体重 (g)							
カンパチ	古満日	アンピシリン	10.30-11.19	11.9-11.13				20	0	10	100	23.0 (20.8-24.0)	
		オキシリン酸	10.30-11.30	11.7-11.13	196.9 (182-217)	166.9 (125-220)		20	0	10	100	22.3 (19.9-24.0)	
		エリスロマイシン	10.30-12.14	11.9-11.13				20	0	10	100	22.3 (17.5-24.0)	
シマアジ	古満日	アンピシリン	10.30-11.19	11.9-11.13				34	0	10	100	23.0 (20.8-24.0)	
		オキシリン酸	10.30-11.30	11.7-11.13	183.6 (164-200)	124.8 (89-160)		34	0	10	100	22.3 (19.9-24.0)	
		エリスロマイシン	10.30-12.14	11.9-11.13				34	0	10	100	22.3 (17.5-24.0)	
クロダイ	占満日	アンピシリン	10.30-11.19	11.9-11.13	327.3 (301-376)	747.9 (550-1150)		20	2	10	80	23.0 (20.8-24.0)	鱗に空気が溜まったため除去した
		オキシリン酸	10.30-11.30	11.7-11.13	252.6 (228-280)	381.0 (258-448)		20	1	10	90	22.3 (19.9-24.0)	鱗に空気が溜まったため除去した
		エリスロマイシン	10.30-12.14	11.9-11.13	183.0 (176-194)	149.9 (130-178)		23	0	10	100	22.3 (17.5-24.0)	
マハタ	上浦	アンピシリン	10.16-11.4	10.25-10.29				20	0	10	100	22.4 (22.2-22.7)	
		オキシリン酸	10.16-11.15	10.23-10.29	279.0 (255-310)	388.8 (315-515)		20	0	10	100	21.8 (20.4-22.8)	
		エリスロマイシン	10.16-11.29	10.25-10.29				20	0	10	100	21.0 (19.4-22.8)	

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

表 2. 分析用試料サンプリング時の魚種別全長, 体重

魚種	抗生物質	サンプリング月日	全長or尾叉長 (mm)	体重 (g)	肥満度
カンパチ	アンピシリン	投薬終了翌日 11.14	261.0 (251-269)	402.0 (350-430)	22.6 (21.3-25.6)
		休薬翌日 11.19	272.0 (256-280)	469.6 (381-511)	23.3 (22.7-24.2)
	オキシリン酸	投薬終了翌日 11.14	253.0 (246-261)	378.0 (345-405)	23.4 (21.4-25.3)
		休薬翌日 11.30	267.4 (245-304)	479.2 (378-635)	24.8 (22.6-26.0)
	エリスロマイシン	投薬終了翌日 11.14	255.4 (221-274)	389.0 (225-485)	22.7 (20.8-24.2)
		休薬翌日 12.14	283.6 (273-306)	546.8 (485-638)	24.0 (22.3-25.9)
シマアジ	アンピシリン	投薬終了翌日 11.14	204.6 (169-225)	191.6 (99-247)	21.7 (21.0-22.6)
		休薬翌日 11.19	208.4 (202-217)	196.6 (171-214)	21.7 (20.7-23.0)
	オキシリン酸	投薬終了翌日 11.14	207.4 (198-218)	186.6 (166-204)	20.9 (19.4-21.8)
		休薬翌日 11.30	214.8 (208-219)	217.8 (201-232)	22.0 (20.8-22.8)
	エリスロマイシン	投薬終了翌日 11.14	213.0 (205-223)	210.0 (187-241)	21.7 (2.6-23.0)
		休薬翌日 12.14	228.0 (218-232)	269.6 (231-291)	22.7 (22.0-24.2)
クロダイ	アンピシリン	投薬終了翌日 11.14	343.4 (309-377)	917.0 (610-1255)	22.3 (20.6-24.4)
		休薬翌日 11.19	320.8 (302-340)	734.0 (605-875)	22.1 (20.7-23.4)
	オキシリン酸	投薬終了翌日 11.14	244.0 (223-281)	352.0 (255-495)	23.0 (21.2-24.6)
		休薬翌日 11.30	262.4 (244-288)	417.0 (325-510)	22.9 (21.3-25.3)
	エリスロマイシン	投薬終了翌日 11.14	184.2 (175-196)	144.0 (128-160)	23.5 (22.3-25.3)
		休薬翌日 12.14	199.6 (192-211)	175.6 (158-208)	22.1 (21.0-22.7)
マハタ	アンピシリン	投薬終了翌日 10.30	299.4 (280-324)	473.0 (405-565)	17.7 (14.6-19.9)
		休薬翌日 11.4	293.4 (278-308)	465.0 (370-559)	18.2 (16.2-21.1)
	オキシリン酸	投薬終了翌日 10.30	310.4 (305-315)	467.0 (435-510)	15.6 (14.6-16.6)
		休薬翌日 11.15	297.2 (274-306)	474.0 (355-535)	17.9 (17.2-19.1)
	エリスロマイシン	投薬終了翌日 10.30	299.0 (270-342)	465.0 (380-605)	17.4 (15.1-20.8)
		休薬翌日 11.29	314.2 (300-325)	636.0 (555-690)	20.5 (18.9-22.0)

全長または尾叉長, 体重および肥満度は, 平均値と (最小値-最大値) で示す

$$\text{肥満度} = \text{体重} \div (\text{全長または尾叉長})^3 \times 10^6$$

生産した当歳魚を用いて, 古満目分場で行った。試験期間は 10 月 30 日から 12 月 14 日までであった。試験期間中に死亡は認められなかった。平均水温はアンピシリンを投与した ABPC 区で 23.0℃, オキシリン酸を投与した OA 区で 22.3℃, エリスロマイシンを投与した EM 区では 22.3℃であり, 通達で規定される水温範囲であった。

シマアジの試験は, 民間養殖業者が養殖中の当歳魚を用いて, 古満目分場で行った。試験期間は 10 月 30 日から 12 月 14 日までであった。試験期間中に死亡する個体は認められなかった。平均水温はカンパチと同様であり, 通達で規定される水温範囲であった。

クロダイの試験は, 愛媛県今治市周辺海域で漁獲された天然魚を用いて, 古満目分場で行った。試験期間は

10月30日から12月14日までであった。休薬期間中に、鰾に空気が溜まり死亡はしていないものの腹部を上にして遊泳する個体がABPC区で2尾、OA区で1尾出現したため、処分した。死亡した個体は認められなかった。平均水温はカンパチと同様であり、通達で規定される水温範囲であった。

マハタの試験は、上浦栽培技術開発センターが種苗生産した2歳魚を用いて、上浦栽培技術開発センターで行った。試験期間は10月16日から11月29日までであった。試験期間中に死亡する個体は認められなかった。平均水温はABPC区で22.4℃、OA区で21.8℃、EM区では21.0℃であり、通達で規定される水温範囲であった。

いずれの魚種でも、死亡原因として疾病の発生が疑われる事例はなかったことから、本飼育試験の飼育経過は順調であったものと考えられた。

**2. 被検薬の残留状況に関する分析結果** 被検薬の残留状況の分析結果を表3に示す。

**カンパチ** アンピシリンを投薬したカンパチの筋肉中には、投薬終了翌日にABPCの残留は認められなかった。オキシリン酸を投薬したカンパチの筋肉中には、投薬終了翌日に平均0.99 ppmのOAが残留していた。エリスロマイシンを投薬したカンパチの筋肉中には、投薬終了翌日に平均1.72 ppmのEMが残留していた。

休薬期間経過後は、ABPC区、OA区ではすべての個体で、EM区では4尾が検出限界未満であったが、EM区の1尾のみ暫定残留基準0.06 ppmの2倍多い0.12 ppmの残留が認められた。3種類の飼料（生餌、モイストペレットおよび配合飼料）を用いてカンパチにエリスロマイシンを投薬した場合の被検薬の残留状況（1試験区3試料について分析）を調べた試験において<sup>5)</sup>、承認された休薬期間終了の翌日に、いずれの飼料を用いて投薬した場合でもエリスロマイシンの残留は認められなかった。この試験と今回の試験とを整理すると、承認された方法でエリスロマイシンをカンパチに投薬し、所定の休薬期間経過後の筋肉における被検薬の残留量を分析したところ、全14検体中13検体では残留が認められなかったが、1検体のみに残留が認められたこととなる。こ

のような結果を考えると、残留が認められた個体は見かけ上健康ではあったが、薬物代謝に障害を持った異常な個体であった可能性や投薬期間において過剰に摂餌した可能性等が考えられる。

**シマアジ** アンピシリンを投薬したシマアジの筋肉中には、投薬終了翌日にABPCの残留は認められなかった。オキシリン酸を投薬したシマアジの筋肉中には、投薬終了翌日に平均0.14 ppmのOAが残留していた。エリスロマイシンを投薬したシマアジの筋肉中には、投薬終了翌日でも検出限界以下の個体が3尾、残り2尾も0.03、0.06 ppmと極めて少ない残留状況であった。エリスロマイシンを投薬した区の肥満度の平均値は、試験開始時<投薬終了翌日=休薬後の順に高く（ $p<0.05$ ）、投薬期間中に摂餌せずにエリスロマイシンが筋肉中に残留しなかったとは考え難い。

休薬期間経過後は、ABPC区、OA区、EM区ともすべての個体で検出限界未満であった。

**クロダイ** アンピシリンを投薬したクロダイの筋肉中には、投薬終了翌日にABPCの残留は認められなかった。オキシリン酸を投薬したクロダイの筋肉中には、投薬終了翌日に平均0.23 ppmのOAが残留していた。エリスロマイシンを投薬したクロダイの筋肉中には、投薬終了翌日に平均0.66 ppmのEMが残留していた。ただし、1試料のEM濃度は0.07 ppmであり、1尾の濃度は検出限界未満であった。これら2尾の肥満度（22.3、23.0）は、同時期の他の3尾（22.8～25.3）よりもやや小さかったが、EM区の試験開始時、投薬終了翌日、休薬翌日の肥満度の平均値に有意差は認められず（ $p>0.05$ ）、これら2尾が投薬期間中に摂餌せずにエリスロマイシンが筋肉中に残留しなかったとは考え難い。平均値は、これらのデータを除いて計算した。

休薬期間経過後は、ABPC区、OA区、EM区ともすべての個体で検出限界未満であった。

**マハタ** アンピシリンを投薬したマハタの筋肉中には、投薬終了翌日にABPCの残留は認められなかった。オキシリン酸を投薬したマハタの筋肉中には、投薬終了翌日に平均2.80 ppmのOAが残留していた。エリスロマ

表3. 筋肉中の被検薬残留量分析結果

魚種		抗生物質		
		アンピシリン	オキシリン酸	エリスロマイシン
カンパチ	投薬終了翌日	なし	平均0.99ppm	平均1.72ppm
	休薬翌日	なし	なし	1尾0.12ppm
シマアジ	投薬終了翌日	なし	平均0.14ppm	3尾検出限界以下 2尾0.03~0.06ppm
	休薬翌日	なし	なし	なし
クロダイ	投薬終了翌日	なし	平均0.23ppm	平均0.66ppm 1尾0.07ppm
	休薬翌日	なし	なし	1尾検出限界以下 なし
マハタ	投薬終了翌日	なし	平均2.80ppm	平均0.62ppm 1尾0.03ppm
	休薬翌日	なし	なし	なし

イシンを投薬したマハタの筋肉中には、投薬終了翌日に平均 0.62 ppm の EM が残留していた。ただし、1 試料の EM 濃度は 0.03 ppm であった。

休薬期間経過後は、ABPC 区、OA 区、EM 区ともすべての個体で検出限界未満であった。

**試験結果の総括** 残留農薬等ポジティブリスト制度が平成 18 年 5 月 29 日から導入され、「食品は、農薬、飼料添加物及び動物用医薬品（以下「農薬等」という。）が厚生労働大臣の定める量（一律基準）を超えて残留するものであってはならない」とされている。ただし、「別に食品の規格（残留基準）が定められている場合は、この限りでない（食品衛生法第 11 条第 3 の概要）」とされており、本報告で取り上げたスズキ目魚類におけるアンピシリン、オキシリン酸、エリスロマイシンの食品の規格（残留基準）は、食品に残留する農薬等の限量一覧表（平成 19 年 1 月 29 日更新）によると、それぞれ暫定基準で、0.06 ppm、0.05 ppm、0.06 ppm である。

試験した 4 魚種について、アンピシリンは投薬終了翌日の筋肉に残留が認められなかった。オキシリン酸では、いずれの魚種でも投薬終了翌日の筋肉に被検薬の残留が認められた。エリスロマイシンでは、シマアジの投薬終了翌日の筋肉における被検薬の残留は極めて少なかったが、他の 3 種では被検薬の残留が認められた。また、休薬期間経過後の筋肉にそれぞれの被検薬に規定されている暫定残留基準値を超える被検薬の残留は、1 尾の例外を除いて認められなかった。

**投薬終了翌日の魚種別残留濃度** オキシリン酸を投与した場合、マハタ>カンパチ>クロダイ>シマアジの順で残留濃度が高かった（表 3）。エリスロマイシンを投与した場合、カンパチ>クロダイ=マハタ>シマアジの順で残留濃度が高かった（表 3）。

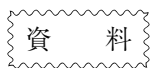
塩酸オキシテトラサイクリンとアルキルトリメチルアンモニウムカルシウムオキシテトラサイクリンをスズキ目魚類 18 種類に経口投与して、投薬終了後の筋肉における OTC の残留状況から目内の類縁関係を検討した結果では<sup>3)</sup>、材料と方法で述べたとおり、魚種による残留性の差異が認められたが、本報で用いたオキシリン酸と

エリスロマイシンでも魚種により残留性が異なる結果が得られた。しかし、魚種別間の残留濃度の多寡は、投薬する抗生物質の種類によって変わることが分かった。

**休薬後の残留性** 1 検体の例外を除き、今回試験したアンピシリン、オキシリン酸、エリスロマイシンでは、休薬後の筋肉から食品中の動物用医薬品の暫定残留基準値を超えて被検薬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等を進めていかなければならない」との指摘があるが、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。

## 文 献

- 1) 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（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. 栽培技研, **33**, 93-101.
- 2) 渡辺研一・西岡豊弘・今泉 均・崎山一孝・山田徹生・太田健吾・鈴木重則・堀田卓朗・飯田貴次（2007）スズキ目、カレイ目魚類およびクルマエビ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等における残留状況. 栽培技研, **34**, 97-106.
- 3) 渡辺研一・島 康洋・芦立昌一・西岡豊弘・今泉 均・佐藤 純・堀田卓朗・飯田貴次（投稿中）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投薬後の筋肉における残留状況によるスズキ目魚類の類型化. 水産増殖.
- 4) 齋藤文一、藤村尚子、鈴木昌二、高須一重、丹野憲二、内部博泰（1983）ブタ組織中残留マクロライド系抗生物質の分析法. 食品衛生学雑誌, **24**, 130～135.
- 5) 渡辺研一・堀田卓朗・飯田貴次 カンパチとトラフグの筋肉と肝臓における抗生物質の残留に及ぼす投薬用飼料の影響. 栽培技研, **35**, 31-40.



# カンパチとトラフグの筋肉と肝臓における 抗生物質の残留に及ぼす投薬用飼料の影響

渡辺研一<sup>\*1</sup>・堀田卓朗<sup>\*2</sup>・飯田貴次<sup>\*3</sup>

## Influence of Medicated Food on Residues of Antibiotics in the Muscles and Livers of Purplish Amberjack *Seriola dumerili* and Ocellate Puffer *Takifugu rubripes*

Ken-ichi WATANABE, Takurou HOTTA and Takaji IIDA

Purplish amberjack *Seriola dumerili* and ocellate puffer *Takifugu rubripes* were fed dry pellet, moist pellet, or raw fish containing 50 mg/kg (body weight, BW) /day of oxytetracycline hydrochloride (OTC) for 7 days solid or erythromycin (EM) for 5 days solid. Subsequently, the same feeds containing no antibiotics were fed to these fishes for the next 30 days. The muscles and livers of these fishes were individually sampled and stored at  $-80^{\circ}\text{C}$  until analysis. Sampling was conducted on the following days: the day before medication and 1, 11, 21, and 31 days after the last medication. Residues of the antibiotics in these specimens were analyzed by highperformance liquid chromatography. The type of food had no influence on the residues of the antibiotics in both species of fish.

2008年1月16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、休業期間等を十分審査して承認されている。

特に最近では、食品の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、水産用医薬品の残留性に対して影響を与える要因について、基礎的な知見を常日頃より収集しておく必要があると考えられる。

また、平成17年度に開催された薬事・食品衛生審議会の審議において、養魚用飼料の種類・形態の違いが抗生物質の残留性に影響を与える可能性が示唆され、これらに関する知見の収集が今後の課題との認識がなされて

いる。

そこで本報告では、安全な水産物を消費者に供給する観点から、養魚用飼料の種類・形態の違いが抗生物質の残留性に与える影響の有無を検証し、さらに水産用医薬品の製造承認の審査の際、残留性をみる上で必要な基礎資料を得ることを目的とした。

本報は、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** 本飼育試験の実施にあたっては、農林水産

\*1 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 種苗期疾病研究グループ 〒879-2602 大分県佐伯市上浦大字津井浦 (Kamiura Station, National Research Institute of Aquaculture, Fisheries Research Association, Tsuiura, Saiki, Ooita, 879-2602, Japan).

\*2 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

\*3 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 三重県度会郡南伊勢町中津浜浦 422-1



省生産局畜産部衛生課薬事室長が、(社)日本動物薬事協合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。

**対象抗生物質** 対象となる抗生物質を、スズキ目魚類の細菌性疾病およびフグ目魚類のピブリオ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(以下OTC)とスズキ目魚類のレンサ球菌症の治療の目的で承認されているエリスロマイシン(EM)とした。本試験は残留期間の長い抗生物質で実施することが望まれる。これらは、現在スズキ目魚類に承認されている抗生物質の中で最も長い休薬期間として承認されており、抗生物質の残留期間が長いことが予想される。EMはフグ目には承認がないが、スズキ目で最も休薬期間が長いことから、フグ目においても残留期間が長いことが予想されたため、試験することとした。

**対象魚種** 渡辺ら<sup>1,2)</sup>は、スズキ目魚類18種にOTC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を経口投与し、オキシテトラサイクリンの筋肉における残留状況を調査した。その結果を基に、投薬後の筋肉におけるオキシテトラサイクリンの残留濃度を用いてクラスター分析したところ、調査した18種のスズキ目魚類は、大きく4つのグループに分けられることが分かった<sup>3)</sup>。本報告の目的は、投薬用の飼料が抗生物質の残留に及ぼす影響を調査することにあるため、最もオキシテトラサイクリンが残留しやすかったグループに属するカンパチ *Seriola dumerili* を対象に試験を行った。また、平成17年度に開催された薬事・食品衛生審議会においては、フグ目魚類に使用する水産用医薬品の承認審査の際に、投薬用飼料の種類・形態の違いが水産用医薬品の残留性に影響を与える可能性が示唆されており、フグ目魚類の代表種であるトラフグ *Takifugu rubripes* を対象に試験を行った。

**試験実施場所と魚種** 飼育試験は、養殖研究所上浦栽培技術開発センター古満目分場で行った。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。

**供試魚の由来** カンパチについては天然種苗を養殖した2歳魚、トラフグについては人工生産した当歳魚を用いた。通達では「1ヵ月以上抗菌性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、被検薬の投薬歴がないものを選択した。

**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、魚種や大きさを考慮して、カンパチでは海上小割網を、トラフグでは陸上水槽を用いて試験を行った。

**試験魚の収容** 被検薬の投与1週間程度以前から試験水槽ないしは小割網に試験魚を収容し、試験水槽に馴致し

た。

**試験魚の大きさ** 通達では「スズキ目、フグ目魚類は筋肉(皮膚を含まない)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。この通達にしたがって分析用サンプルを採取することとし、無理なく採取可能な大きさ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、フグ目魚類は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、成長に併せて設定することに留意した。

**給餌する餌の種類** 現在、配合飼料(以下配合)、モイストペレット(以下MP)および生餌が養魚用飼料として主に使用されているため、これら3形態の飼料を用いた。配合には、いずれの魚種も魚の大きさに合わせて市販の配合を適宜用いた。MPは、いずれの魚種も市販のモイスト用マッシュに生餌(オキアミ、アミ、イカナゴ、イカ等)を製品の使用方法に従って等量となるように混合し、チョッパーを用いて混合、成形して凍結保存し、給餌前に解凍して用いた。生餌は、カンパチでは冷凍のイカナゴおよびイカを、トラフグではオキアミおよびイカナゴを給餌前に解凍して用いた。いずれの魚種も、本試験実施前は配合飼料を給餌して飼育していたため、試験水槽に収容後、1週間以上試験飼料に馴致し、馴致が終了したと判断された時点から投薬を開始した。

**投薬法と投薬期間** 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、EMおよびフグ目のOTCは経口投与とされているため、飼料に被検薬を添加して給餌した。試験開始前は、被検薬を含まない飼料を給餌した。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。投薬期間は、EMの使用法で「5日間」とされているため、5日間とした。OTCは「週余に渡る投与はしない」と定められているため7日間とした。その後、設定した休薬期間の間、被検薬を含まない飼料を給餌した。

**給餌法** 被検薬を含む飼料の投与期間は、毎日手撒きで全ての供試魚に均等に飼料が行き渡るように給餌した。被検薬投与の前後も同様に給餌したが、カンパチでは一般の養殖における給餌間隔である隔日給餌、トラフグでは平日のみ、もしくは平日と土・日曜日のいずれかを給餌することとして、週5～6日給餌のスケジュールとした。

**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。養殖水産動物にあつては、臨床最高適用量の二倍量とする。」とされている。本報の目的は、投薬に用いた飼料の種類・形態の違いにより被検薬の残留量が異なるかどうかを検証することである。従って、承認されている用法用量に従って投与することとし、いずれの魚種、被検薬も魚体重1kg当たり50mg/日となるように投与

した。

**被検薬の投与方法** いずれの飼料も適正給餌量の80%程度量により、投薬を行った。カンパチの配合では、配合の1%量の添着剤を含む総合ビタミン剤を規定量の被検薬と十分混合した後、さらに配合と十分混合し、配合の10%程度の水を振りかけて被検薬を配合に添加した後、給餌した。トラフグの配合では、水に規定量の被検薬を溶解したものを添加して配合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。MPの場合には、いずれの魚種でも混合・成型時に被検薬を添加して給餌した。生餌の場合には被検薬を餌料と十分に混合した後、1%量の添着剤を含む総合ビタミン剤を用いて添着させた後、給餌した。添加する被検薬の濃度は、魚体重と給餌量から算出して設定した。

**飼育中のデータ収集** 試験期間中の、水温、給餌量、残餌量、摂餌状況、死亡状況等について、データを収集し、記録した。また、試験開始前と採材時に尾又長または体長と体重および肝臓重量を測定し、記録した。

**分析用試料の採材** 試験水槽より供試魚を無作為に取り上げ、1試料について20g以上を採材した。採材部位は通達で残留性試験の際の分析部位として指定されている背部筋肉（皮膚を含まない）とした。また、本報の目的が養魚用飼料の種類・形態の違いが水産用医薬品の残留性に与える影響を検証することであるため、医薬品の排泄を司る肝臓の調査を行うことが目的達成のために合理的であると考え、肝臓も採取した。1尾で不可能な場合には複数尾の肝臓を貯えて20g以上となるようにした。その場合にも、3試料となるように採取して分析した。

一方、養魚用飼料の種類・形態の違いが水産用医薬品の残留性に与える影響を調査する際に、飼料中における被検薬の残存状況や、魚に投与する際の均一性が影響を及ぼす可能性がある。そこで、トラフグに用いた3種類の投薬用飼料について採取して分析した。カンパチ用飼料については、トラフグの場合とほぼ同様に投薬用飼料を作製しているため、分析を実施しなかった。

**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、被検薬、投与飼料、試験区、個体番号、採取年月日、部位、重量等を明記して、-80℃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。」こととされているが、本報の目的が投薬前、投薬後・休薬期間中の被検薬の残留状況を検証することにあるため、投薬前に被検薬の残留がないこと、用法用量に規定される投薬期間終了時に被検薬が残留していること、休薬期間中の被検薬の残留状況を確認することである。そこで、投薬開始前、投薬期間終了の、翌日、11日後、21日後および31日後に試料を採取した。スズキ目のOTCおよびEMは休薬期間30日として承認されて

いる。フグ目のOTCは休薬期間40日として承認されているが、本報の目的が残留状況を確認することであり、通常休薬期間は安全期間を設けて設定されることから、同様に試料を採取した。

**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」、「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。本事業においては、前述の通り2被検薬、2魚種、3形態の飼料で飼育試験を実施する上、残留状況を経時的に把握する目的から5点で採材し、さらに筋肉と肝臓を分析するため、試料数が非常に多くなる。そこで、1点当たり3試料を採材することとした。したがって本試験では、1試験区あたり15尾を用いることになる。試験期間中の事故等による死亡や肝臓重量が軽いため余分に用いる場合を勘案し、安全係数を2としたため1試験区30尾を供試することを基本としたが、試験水槽の大きさや対象種の大きさおよび摂餌状況等を勘案して適宜増減した。

**分析の依頼** 一連の試験終了後、-80℃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、被検薬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0.05ppm以下、1~2ppm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）×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、以下の方法で分析を行った。

**1. オキシテトラサイクリン** 食品中に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法（平成17年1月24付け食安発第0121001号）のオキシテトラサイクリン、クロルテトラサイクリンおよびテトラサイクリン試験法に準拠して、蛍光検出器付き高速液体クロマトグラフにより測定した。

**2. エリスロマイシン** 齋藤ら<sup>4)</sup>の方法に準拠して、*Kocuria rhizophila* ATCC 9341を用いた微生物学的試験法により測定した。

## 結果と考察

**1. 飼育試験** 飼育試験結果の概要を表1に、飼育試験における分析用試料のサンプリング状況を表2に示す。

**カンパチ** 試験期間は2006年11月20日から2007年1月14日までであった。試験期間中に死亡は認められなかった。OTCを投薬したカンパチでは、試験期間を通していずれの試験区も摂餌状況に大きな差はなかった。EMを投薬したカンパチでは、投薬4日目から終了時までMP区、配合区で摂餌状況が悪くなり、特に配合区で悪かった。休薬期間に入ると、配合区ではただちに摂餌

表 1. 飼育試験結果の概要

魚種	抗生物質	試験期間	投薬期間	供試尾数	水温 (°C)	生残率 (%)	備考
カンパチ	塩酸オキシテトラサイクリン	11.20-1.14	12.8-12.14	31	19.9 (17.8-21.4)	100	すべての飼料で死亡はなかった
	エリスロマイシン	11.20-1.14	12.10-12.14	31	19.9 (17.8-21.4)	100	すべての飼料で死亡はなかった
トラフグ	塩酸オキシテトラサイクリン	10.31-12.14	11.7-11.13	40	21.5 (17.5-24.0)	100	すべての飼料で死亡はなかった
	エリスロマイシン	10.31-12.14	11.9-11.13	40	21.5 (17.5-24.0)	100	すべての飼料で死亡はなかった

生残率は生残尾数 ÷ (供試尾数 - サンプリグ尾数) × 100 で算出した

表 2. 分析用試料のサンプリング結果の概要

魚種	抗生物質	投薬用飼料	体長or尾叉長 (mm)					体重 (g)				
			投薬前	投薬終了翌日	休薬11日後	休薬21日後	休薬31日後	投薬前	投薬終了翌日	休薬11日後	休薬21日後	休薬31日後
カンパチ	塩酸オキシテトラサイクリン	配合飼料	531 (508-540)	541 (535-545)	531 (524-543)	542 (530-557)	547 (538-562)	2,750 (2,390-3,060)	2,740 (2,700-2,790)	2,630 (2,370-2,770)	2,980 (2,890-3,020)	3,090 (2,930-3,260)
		モイストベレット	526 (490-546)	540 (524-558)	527 (514-538)	530 (524-540)	554 (540-562)	2,610 (2,250-2,860)	2,910 (2,770-3,010)	2,500 (2,430-2,570)	2,810 (2,720-2,940)	2,900 (2,590-3,190)
		生餌	521 (485-535)	527 (510-540)	539 (520-550)	542 (527-550)	549 (543-558)	2,570 (2,100-2,840)	2,810 (2,600-3,090)	2,930 (2,770-3,060)	3,110 (2,740-3,440)	3,080 (2,980-3,240)
	エリスロマイシン	配合飼料	531 (508-540)	530 (525-535)	531 (523-536)	550 (542-558)	532 (505-552)	2,750 (2,390-3,060)	2,780 (2,550-3,020)	2,630 (2,560-2,730)	3,130 (3,040-3,180)	2,790 (2,260-3,060)
		モイストベレット	526 (490-546)	525 (518-532)	529 (518-538)	517 (515-518)	536 (524-560)	2,610 (2,250-2,860)	2,510 (2,160-2,840)	2,600 (2,500-2,900)	2,450 (2,300-2,650)	2,450 (2,190-2,850)
		生餌	521 (485-535)	532 (512-555)	512 (505-515)	531 (525-539)	560 (555-562)	2,570 (2,100-2,840)	2,790 (2,400-3,160)	2,550 (2,430-2,670)	2,840 (2,510-3,120)	3,300 (3,190-3,480)
トラフグ	塩酸オキシテトラサイクリン	配合飼料	199 (194-204)	192 (180-204)	208 (200-214)	220 (210-237)	212 (211-213)	257 (229-292)	225 (182-272)	302 (268-332)	352 (322-410)	369 (368-370)
		モイストベレット	209 (198-203)	213 (211-215)	206 (205-207)	216 (207-222)	228 (215-237)	261 (244-294)	260 (250-271)	254 (238-276)	359 (308-405)	393 (330-425)
		生餌	200 (193-206)	211 (210-213)	204 (200-210)	205 (198-208)	225 (221-231)	259 (210-309)	271 (250-286)	254 (231-266)	271 (249-297)	374 (348-414)
	エリスロマイシン	配合飼料	199 (194-204)	194 (184-210)	209 (199-217)	211 (207-216)	205 (195-211)	257 (229-292)	225 (186-284)	314 (277-347)	334 (307-351)	310 (272-363)
		モイストベレット	209 (198-203)	189 (176-198)	207 (205-208)	215 (210-218)	212 (201-223)	261 (244-294)	212 (164-248)	278 (264-298)	329 (320-339)	340 (275-401)
		生餌	200 (193-206)	196 (184-208)	196 (187-206)	216 (207-223)	219 (213-226)	259 (210-309)	223 (199-252)	239 (201-277)	327 (300-364)	351 (313-376)

体長または尾叉長と体重は、平均値と (最小値-最大値) で示す

が活発となったが、MP区では活発となる時期が1週間程度遅れた。平均水温はOTCを投与した区、EMを投与した区ともに19.9°Cであり、通達で規定される水温範囲であった。採材は予定通り行われ、1試料は1個体の筋肉と1~2個体の肝臓を採取した。

**トラフグ** 試験期間は2006年10月31日から12月14日までであった。試験期間中に死亡する個体はなかった。いずれの被検薬においても、試験期間を通して試験区ごとの摂餌状況に大きな差はなかった。平均水温はOTC区、EM区ともに21.5°Cであり、通達で規定される水温範囲であった。サンプリングは予定通り行われ、1試料は1個体の筋肉と1~2個体の肝臓を採取した。

## 2. 被検薬の残留状況に関する分析結果

**投薬用飼料** トラフグに投薬した飼料における、被検薬の設定濃度と実際に使用した飼料における被検薬の分析結果を表3に示す。

OTCでは、すべての飼料で設定濃度とほぼ同等の濃度で残留していることが示された。また、3試料の分析

結果における変動係数はいずれの飼料でも1.2~8.8%と通達で望まれている10%を下回り、均一性が高いものと考えられた。

EMでも、すべての飼料で設定濃度とほぼ同等の濃度で残留していることが示された。また、3試料の分析結果における変動係数はいずれの飼料でも0.0~4.7%と通達で望まれている10%を下回り、均一性が高いものと考えられた。

**カンパチ** OTCを投薬した筋肉および肝臓におけるOTCの残留状況を図1、2に示した。投薬前には、いずれの試験区においても筋肉および肝臓から、OTCは検出されなかった。投薬終了翌日の筋肉では生餌>MP>配合の順に残留量が多く、肝臓ではMP>生餌>配合の順に残留量が多かった。

筋肉における休薬期間中の残留量は投薬終了翌日と同様に生餌>MP>配合の順に多かった。このことは、筋肉における休薬期間中の被検薬の残留状況は投薬後の残留状況と同一であることを示しており、特定の飼料を投

表3. トラフグに給餌した飼料ごとの抗生物質含有値 (g/kg)

飼料	塩酸オキシテトラサイクリン					エリスロマイシン				
	設定濃度	分析値	変動係数 (%)	給餌量 (g/l)	投薬量 (mg/kg(BW)/l)	設定濃度	分析値	変動係数 (%)	給餌量 (g/l)	投薬量 (mg/kg(BW)/l)
生餌	1.6	1.73±0.15 (1.6~1.9)	8.8	210	54.5	1.6	1.40±0.00 (1.4~1.4)	0.0	210	50.5
モイストペレット	4.2	4.33±0.06 (4.3~4.4)	1.3	80	54.1	4.2	4.43±0.21 (4.2~4.6)	4.7	80	52.6
配合飼料	4.7	4.93±0.06 (4.9~5.0)	1.2	68	50.3	4.7	4.47±0.12 (4.4~4.6)	2.6	68	45.6

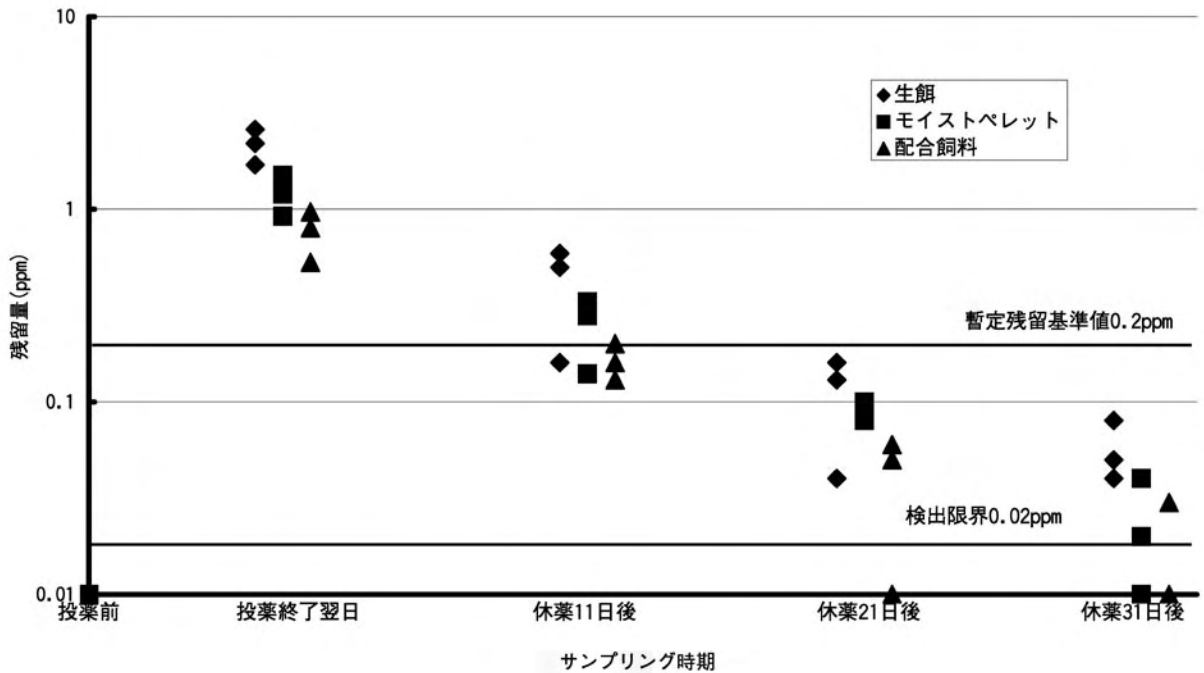


図1. 塩酸オキシテトラサイクリンを投薬したカンパチの筋肉における投薬用飼料ごとの残留値の推移

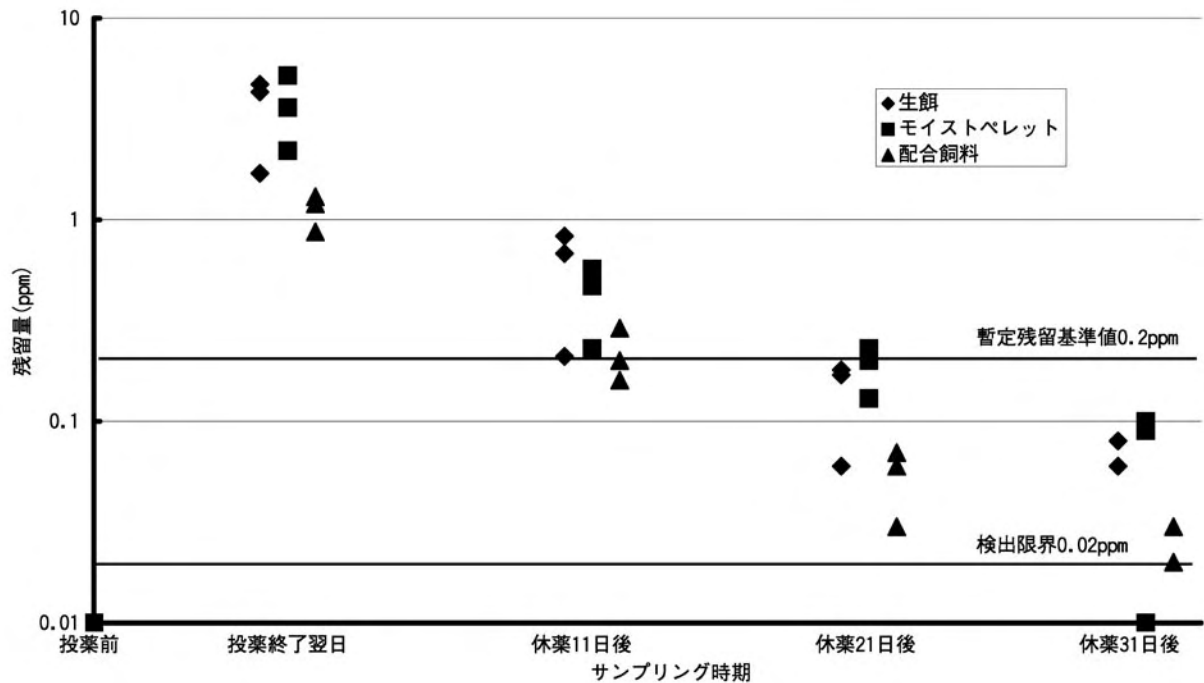


図2. 塩酸オキシテトラサイクリンを投薬したカンパチの肝臓における投薬用飼料ごとの残留値の推移

薬に用いることが被検薬の残留状況に影響を及ぼす可能性は少ないものと考えられた。

肝臓における休薬期間中の残留量は、休薬21日後で投薬終了翌日と同様にMP>生餌>配合の順に多かったが、休薬11、31日後では生餌>MP>配合の順に多く、

一定の傾向は見いだせなかった。

以上のことから、カンパチにOTCを投薬する場合に、投薬用飼料の種類がOTCの残留に影響を及ぼす可能性はないものと考えられた。

EMを投薬したカンパチの筋肉および肝臓における

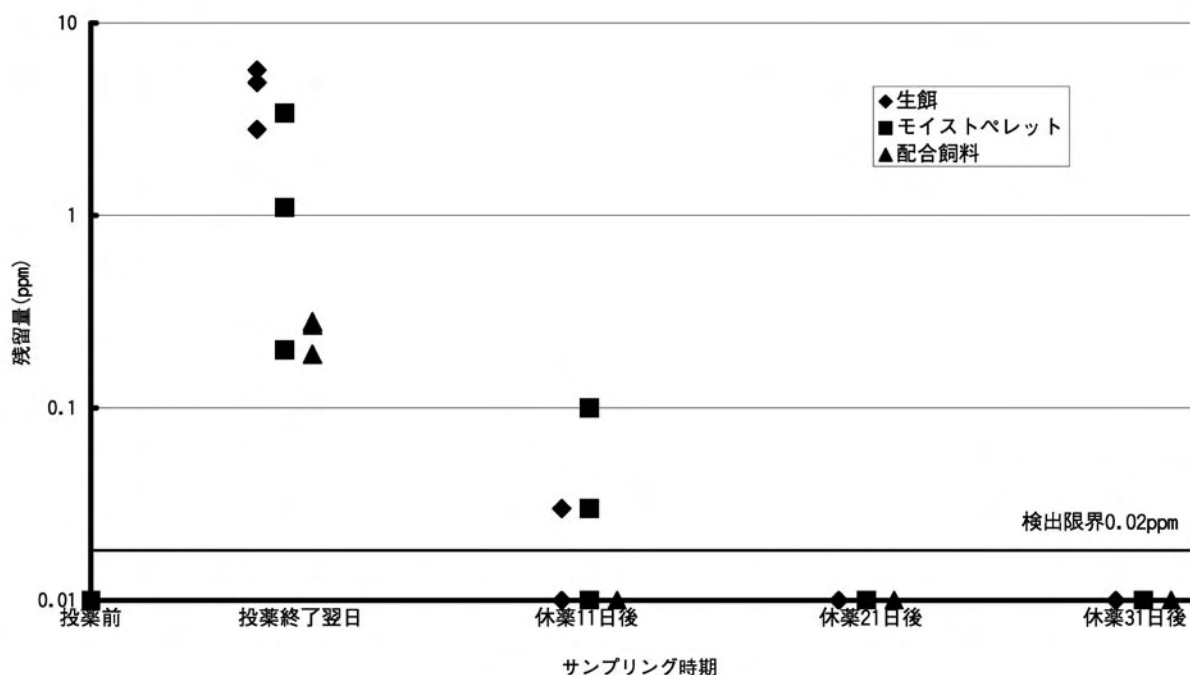


図3. エリスロマイシンを投薬したカンパチの筋肉における投薬用飼料ごとの残留値の推移

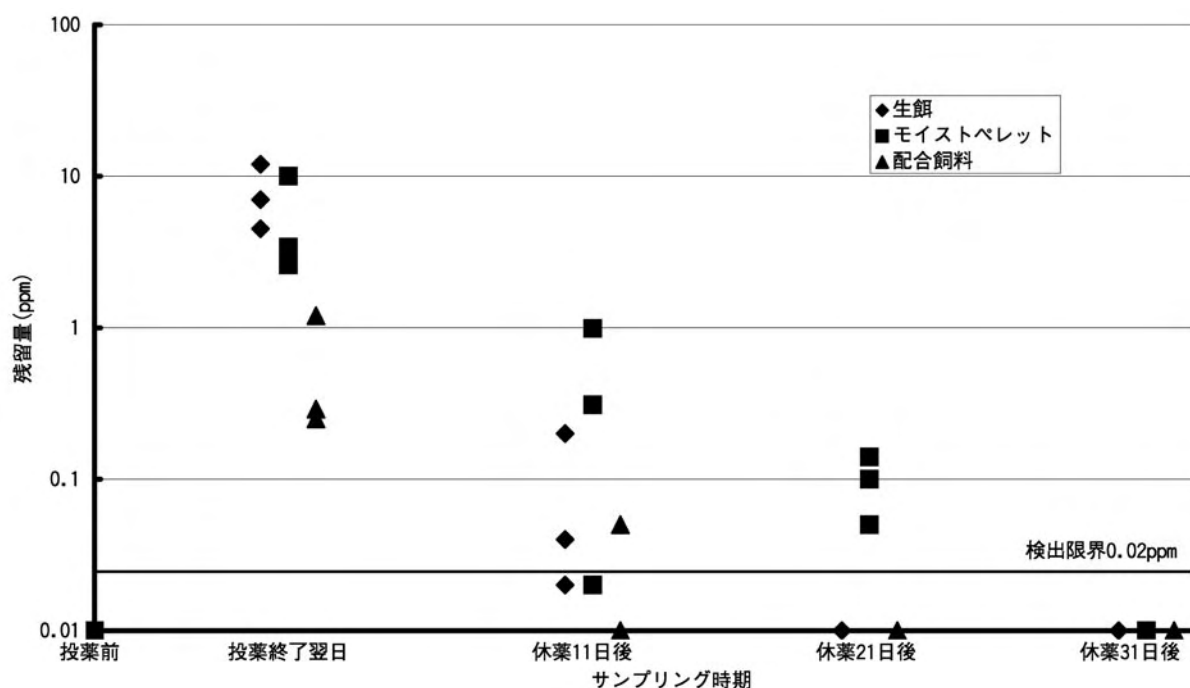


図4. エリスロマイシンを投薬したカンパチの肝臓における投薬用飼料ごとの残留値の推移

EMの残留状況を図3, 4に示した。投薬前には、いずれの試験区においても筋肉および肝臓から、EMは検出されなかった。投薬終了翌日では、筋肉、肝臓ともに生餌>MP>配合の順に残留量が多かった。

休薬期間中の筋肉においては、11日後に生餌区(検出限界未満~0.03)およびMP区(検出限界未満~0.10)で若干の残留が認められたが、21日後以降はいずれの飼料においても残留は認められなかった。生餌区で若干の残留が認められた要因は、投薬終了翌日に最も多く残留したためと考えられる。一般に摂餌量は水分の多寡が影響して、生餌、MP、配合の順に多いことが知られており、本試験におけるカンパチにOTCを投薬した区の投薬期間終了後の摂餌量も、この順に多かった。一方EMを投薬した後の摂餌量は、原因は不明であるものの生餌、配合、MPの順に多かった。したがって、MP区でEMが残留した要因として、投薬期間終了後の摂餌の悪さが影響を及ぼして薬物代謝が不活発となった可能性が考えられる。

肝臓における休薬11日後のEMの残留値は、生餌区(0.02~0.20)、MP区(0.02~0.99)、配合区(検出限界未満~0.05)であった。休薬21日後以降では、21日後のMP区で平均0.1ppmの残留が認められた他は、いずれの試験区においてもEMは検出されなかった。これらのことは、筋肉の場合と同様の要因によると考えられる。

休薬期間中の同一区内の筋肉と肝臓の残留状況を見ると、筋肉で検出限界未満となってから肝臓で検出限界未満となっており、カンパチにEMを投薬すると筋肉中の被検薬が肝臓に移動し、排泄されることが示唆される。

以上のことから、カンパチにエリスロマイシンを投薬する場合に、投薬用飼料の種類がEMの残留に影響を及ぼす可能性はないものと考えられた。

**トラフグ** OTCを投薬したトラフグの筋肉および肝臓におけるOTCの残留状況を図5, 6に示した。投薬前には、いずれの試験区においても筋肉および肝臓から、OTCは検出されなかった。投薬終了翌日の筋肉、肝臓におけるOTCの残留量は、生餌区>MP区>配合区の順に高い傾向が認められた。表3に示したように、分析結果から推定された実際の被検薬の投薬量は、生餌>MP>配合飼料の順であり、投薬終了翌日の筋肉および肝臓における残留状況と実際の投薬量は平行な関係にあった。

休薬11日後の筋肉、肝臓においても、生餌区>MP区>配合区と投薬終了翌日と同様の残留傾向が認められた。休薬21日後の筋肉および肝臓では、配合区ですべての個体から検出されなかったのに対して、MP区では1試料ずつ、生餌区では2試料ずつから検出限界に近い残留が認められた。休薬31日後には、すべての試験区でいずれの部位からも残留は認められなかった。同一区内の筋肉と肝臓における残留状況は非常に似通ってお

り、特に検出されなくなる時期には筋肉で検出されなくなった試料では肝臓でも検出されなくなった。

これらの結果から、トラフグにOTCを投薬した場合、投薬用飼料の種類がOTCの残留に影響を及ぼす可能性はないと考えられ、筋肉や肝臓におけるOTCの残留量には、投薬用飼料の種類よりも投薬されたOTCの量が影響を及ぼすことが窺えた。

EMを投薬したトラフグの筋肉および肝臓におけるEMの残留状況を図7, 8に示した。投薬前には、いずれの試験区においても筋肉および肝臓から、EMは検出されなかった。投薬終了翌日の筋肉、肝臓におけるEMの残留量は、MP区>生餌区>配合区の順に高かった。表3に示したように、分析結果から推定された実際の被検薬の投薬量は、MP>生餌>配合飼料の順であり、投薬後の筋肉および肝臓における残留状況と実際の投薬量は平行な関係にあった。

休薬11日後においては、筋肉ではいずれの飼料でも残留は認められなかった。肝臓では、MP区で若干の残留が認められたが、他は検出限界以下であった。休薬21日以降には、すべての試験区でいずれの部位からも残留は認められなかった。同一区内の筋肉と肝臓における残留状況を見ると、筋肉で残留が認められなくなった休薬11日後にも、肝臓では若干の残留が認められた。このことは、カンパチと同様に、トラフグにEMを投薬すると筋肉中の被検薬が肝臓に移動し、排泄されることを示唆する。

これらの結果から、トラフグにEMを投薬した場合、投薬用飼料の種類がEMの残留に影響を及ぼす可能性はないと考えられ、筋肉や肝臓におけるEMの残留量には、投薬用飼料の種類よりも投薬されたEMの量が影響を及ぼすことが窺えた。

**3. 試験結果の総括** トラフグの結果では、投薬用飼料の種類により筋肉、肝臓における被検薬の残留量が異なり、生餌、MP、配合の順に多かった。しかし、飼料中の被検薬濃度の多寡も同様であり、被検薬の筋肉および肝臓における残留量と飼料中の濃度とは平行の関係にあった。したがって、投薬用飼料の種類が水産用医薬品の筋肉および肝臓への残留に影響を与える可能性はないものと考えられた。

カンパチにおいても、投薬用飼料の種類により筋肉、肝臓における被検薬の残留量が異なった。しかし、OTCでは投薬終了後の残留量が多い飼料ほど休薬期間中の残留量が多く、EMでも投薬終了後の残留量が多かった生餌区で残留が認められたことや摂餌が不活発となったMP区で残留が認められており、投薬用飼料の影響よりもむしろ、これらの要因が影響を及ぼしているものと考えられ、投薬用飼料の種類が水産用医薬品の残留性に影響を与える可能性はないものと考えられた。

したがって、水産用医薬品の製造承認の審査の際、被検薬の残留性をみるための試験に用いる飼料を指定する

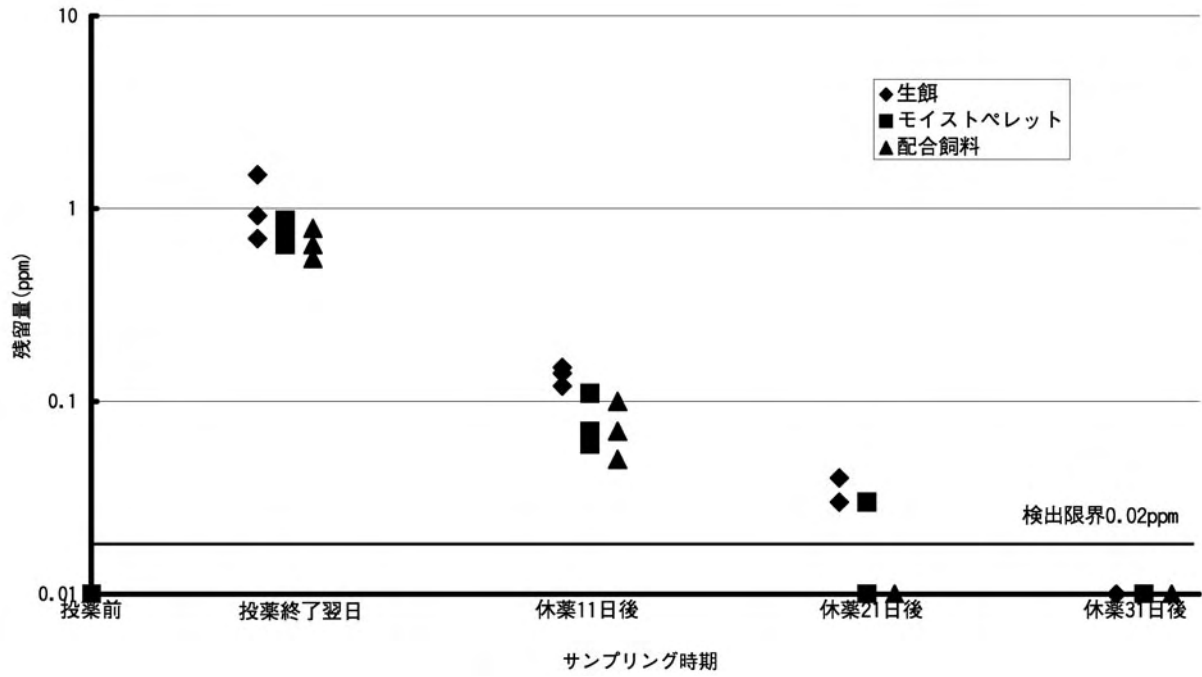


図 5. 塩酸オキシテトラサイクリンを投薬したトラフグの筋肉における投薬用飼料ごとの残留値の推移

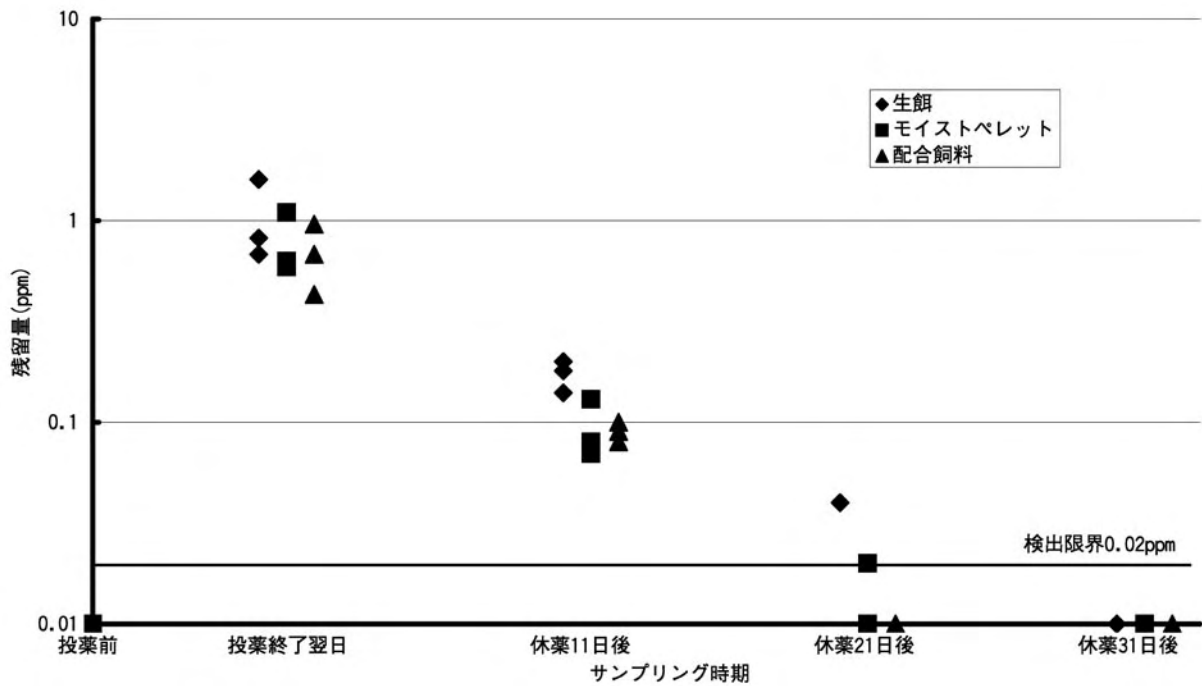


図 6. 塩酸オキシテトラサイクリンを投薬したトラフグの肝臓における投薬用飼料ごとの残留値の推移

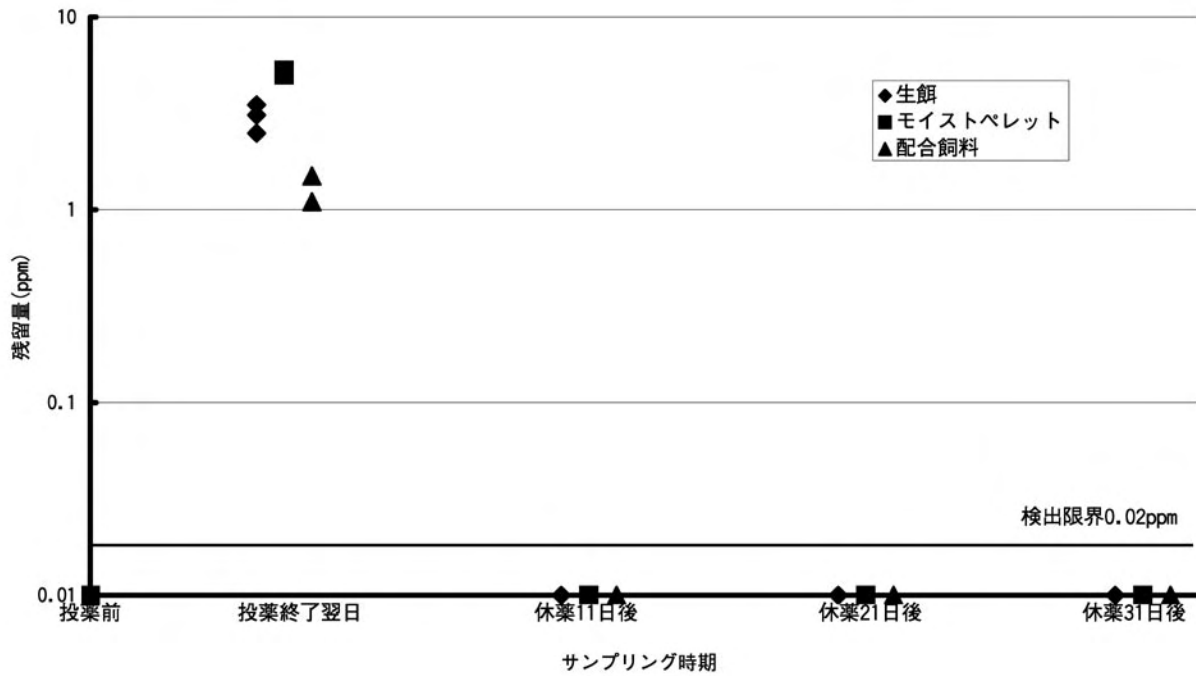


図 7. エリスロマイシンを投薬したトラフグの筋肉における投薬用飼料ごとの残留値の推移

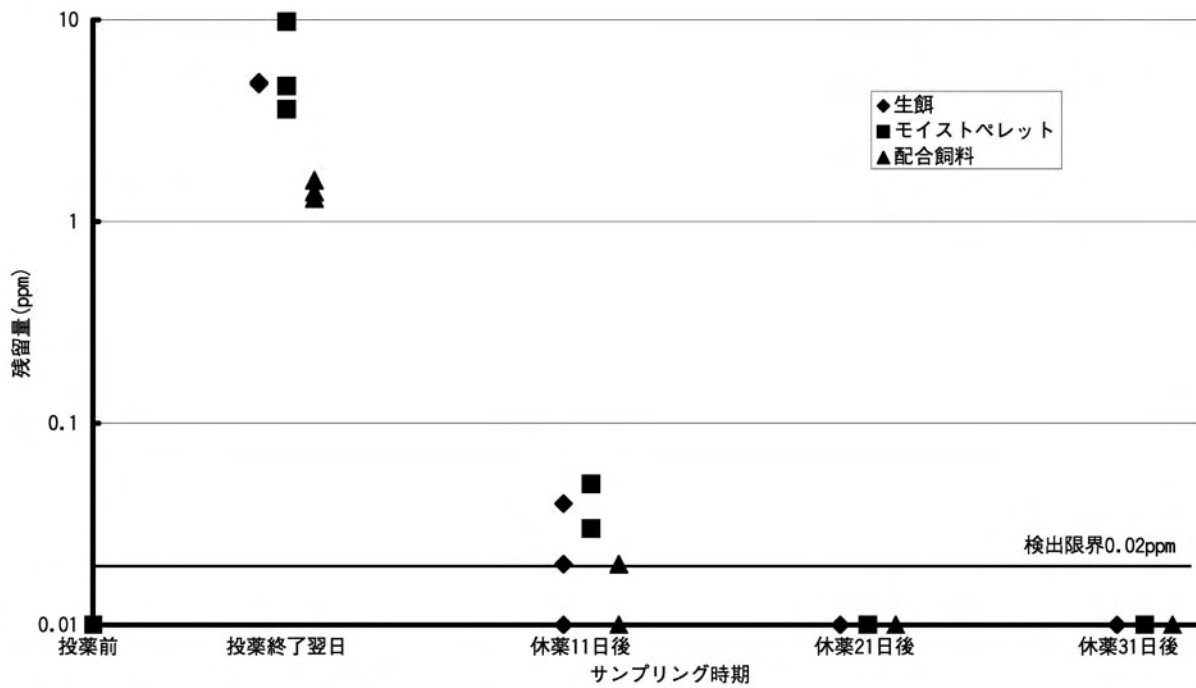


図 8. エリスロマイシンを投薬したトラフグの肝臓における投薬用飼料ごとの残留値の推移



必要はないものと考えられた。

## 文 献

- 1) 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 (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. 栽培技研, **33**, 93-101.
- 2) 渡辺研一・西岡豊弘・今泉 均・崎山一孝・山田徹生・太田健吾・鈴木重則・堀田卓朗・飯田貴次 (2007) スズキ目、カレイ目魚類およびクルマエビ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等における残留状況. 栽培技研, **34**, 97-106.
- 3) 渡辺研一・島 康洋・芦立昌一・西岡豊弘・今泉 均・佐藤 純・堀田卓朗・飯田貴次 (投稿中) 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投薬後の筋肉における残留状況によるスズキ目魚類の類型化. 水産増殖.
- 4) 齋藤文一, 藤村尚子, 鈴木昌二, 高須一重, 丹野憲二, 内田博泰 (1983) プタ組織中残留マクロライド系抗生物質の分析法. 食品衛生学雑誌, **24**, 130 ~ 135.

# 「栽培漁業技術開発研究」の発展的解消について

独立行政法人水産総合研究センター  
理事長 川 口 恭 一

小誌「栽培漁業技術開発研究」は、昭和47年3月に当時の社団法人瀬戸内海栽培漁業協会の常務理事の職に在った故大島泰雄先生（東京大学名誉教授）の提唱によって、それまでの季刊「栽培漁業」を発展解消して創刊されたもので、以来、社団法人日本栽培漁業協会、独立行政法人水産総合研究センターへと編集作業が引き継がれ、今回の35巻2号まで版を重ねることができました。

小誌は、当方の研究開発職員、公立水産試験場や栽培漁業センターの職員、漁業関係者等を対象に、栽培漁業技術に関する研究業績の他、会議資料や講演会の発表資料等で有効なデータでありながら埋もれたまま利用されずにいた貴重な知見の公開の場としての役割と、若い技術者の科学論文作成技術研鑽の場としての役割を担ってきました。これまでに485件の報文（原著論文、短報、資料）を掲載し、広く栽培漁業・養殖に携わる方々への新鮮な情報として、また多くの公的機関、大学などで引用文献として活用され、小誌の目的は十分に果たされてきたと自負しております。

このたび小誌を発展的に解消し、増養殖（栽培漁業）、資源・海洋、利用加工、漁業、水産工学等の水産技術の総合的な情報誌として、社団法人日本水産学会監修のもと公刊誌「水産技術」を、独立行政法人水産総合研究センターが編集し、創刊することになりました。

小誌のこれまでの編集に当たって、大学・関係団体の歴代の委員の方々には永きにわたり委員をお願いするとともに運営等について熱心なご指導、ご助言をいただきました。また、各ブロックの代表として都道府県水産試験場等の方々にも歴代にわたり委員をお願いし、小誌の発展にご尽力いただきました。ここに深く感謝申し上げます。

小誌のポリシーは平成20年度創刊予定の「水産技術」において引き継がれることになっていますので、小誌をご愛育いただいた都道府県等の栽培漁業関係皆様方には、引き続き「水産技術」へのご協力、積極的なご投稿を頂きたく、お願い申し上げます。

平成20年3月31日

# 「栽培漁業技術開発研究」の編集を終えて

独立行政法人水産総合研究センター  
業務推進部 次長（編集委員長）

福 永 辰 廣

小誌「栽培漁業技術開発研究」は、昭和47年3月に当時の社団法人瀬戸内海栽培漁業協会（～昭和53年）により創刊され、以来、社団法人日本栽培漁業協会（昭和54年～平成14年）、独立行政法人水産総合研究センター（平成15年～）へと編集作業が引き継がれてきました。

思えば、小生は、昭和57年から昭和61年まで編集委員を経験し、平成18年から平成20年まで創刊提唱者である故大島泰雄先生、須田 明・菅野 尚・古沢 徹元日裁協常務理事、今村茂生元水研センター栽培漁業部長に続いて、編集委員長として編集作業等に携わらせていただきました。小誌の編集に当たって、大学・関係団体の歴代の委員の方々、特に東京大学の日野明德教授、東京海洋大学の北田修一教授には永きにわたり査読をはじめ運営等についても温かいご指導、ご助言をいただきました。また、各ブロックの代表として都道府県水産試験場等の方々にも委員をお願いし、若手技術者の育成をも頭において、査読と原稿のシェープアップをお願いしました。皆様のおかげで、歴代の方々が築き上げてこられた小誌の編集方針とポリシーを守りつつ、栽培漁業等の技術開発に従事する読者に対して、役に立つ最新の技術開発の成果並びに情報をわかりやすく伝達してこられたと思っています。この場を借り、編集委員長として、皆様並びに関係者の方々に深く感謝申し上げます。

小誌は、今回の35巻2号を発刊して幕を閉じ、(社)日本水産学会の監修による水研センター編集、発刊の公刊誌「水産技術」に発展解消することになりましたが、小誌の精神は引き継がれていくものと信じております。今後は、「水産技術」を通して、さらなる栽培漁業の発展と人材の育成が遂げられることを祈念し、筆を置くことに致します。

平成20年3月31日

# 「栽培漁業技術開発研究」 歴代編集委員，編集関係者名簿

## 編集委員長

氏名	所属（当時）	在任期間
大島泰雄	常務理事（日裁協）	S46 .10 ~ S57 .9
須田 明	常務理事（日裁協）	S57 .10 ~ H3 .9
菅野 尚	常務理事（日裁協）	H3 .10 ~ H9 .3
古澤 徹	常務理事（日裁協）	H9 .4 ~ H15 .9
今村茂夫	(独)水産総合研究センター本部栽培漁業部長	H15 .10 ~ H18 .3
福永辰廣	(独)水産総合研究センター本部業務推進部次長	H18 .4 ~ H20 .3

## 大学・関係団体の委員

氏名	所属（当時）	在任期間
大島泰雄	東京大学名誉教授	S57 .10 ~ H5 .9（顧問）
平野禮次郎	東京大学名誉教授	H2 .4 ~ H7 .3
須田 明	日本鯉鮪漁業協同組合連合会	H3 .10 ~ H9 .3（顧問）
廣瀬慶二	水産庁養殖研究所，中央水産研究所	H5 .4 ~ H10 .3
北田修一	東京水産大学	H6 .4 ~ H20 .3
日野明德	東京大学	H6 .10 ~ H20 .3
Marcy Wilder	国際農林水産業研究センター	H9 .4 ~ H19 .3
福所邦彦	水産庁養殖研究所	H10 .4 ~ H13 .3
廣瀬慶二	元日本栽培漁業協会	H17 .4 ~ H20 .3

## 都道府県の委員

氏名	所属（当時）	在任期間
勝谷邦夫	岡山県水産試験場	S47 .4 ~ S48 .3
篠岡久夫	香川県水産試験場	S47 .4 ~ S49 .9
佐藤正明	広島県水産試験場	S48 .4 ~ S51 .3
井伊 明	兵庫県水産試験場	S49 .10 ~ S51 .3
大塚雄二	山口県内海水産試験場	S51 .4 ~ S53 .3
中村和夫	徳島県水産試験場	S51 .10 ~ S53 .9
浜口 章	兵庫県水産試験場	S53 .4 ~ S55 .3
田村光雄	高知県水産試験場	S53 .10 ~ S54 .3
生田敬昌	高知県水産試験場	S54 .4 ~ S55 .3
吉田俊一	大阪府水産試験場	S55 .4 ~ S57 .3
翠川忠康	和歌山県水産増殖試験場	S55 .10 ~ S58 .3
北島 力	長崎県水産試験場	S55 .10 ~ S57 .9
石田信正	宮城県栽培漁業センター	S57 .4 ~ S58 .3
今 攸	福井県栽培漁業センター	S57 .10 ~ S58 .3
平田 満	熊本県水産試験場	S57 .10 ~ S60 .9
真岡東雄	茨城県水産試験場	S58 .4 ~ S61 .3
安田 徹	福井県水産試験場	S58 .4 ~ S61 .3
森実庸男	愛媛県水産試験場東予分場	S58 .4 ~ S61 .3
関 政夫	三重県水産技術センター	S60 .10 ~ S62 .3
藤田征作	鹿児島県栽培漁業センター	S60 .10 ~ S62 .3
中本宣典	岩手県栽培漁業センター	S61 .4 ~ S62 .3
伏見 徹	広島県水産試験場	S61 .4 ~ H1 .3

都道府県の委員（つづき）

氏名	所属（当時）	在任期間
本尾 洋	京都府立海洋センター	S61 .10 ～ H1 .9
山本和稔	岩手県北部栽培漁業センター	S62 .4 ～ H2 .3
辻ヶ堂諦	三重県栽培漁業センター	S62 .4 ～ H2 .3
椎原久幸	鹿児島県栽培漁業センター	S62 .10 ～ H1 .3
小島 博	徳島県水産試験場	H1 .4 ～ H4 .3
岩田一夫	宮崎県水産試験場	H1 .4 ～ H4 .3
小林啓二	鳥取県漁業協同組合連合会	H1 .10 ～ H4 .9
藤崎洸右	愛知県水産試験場尾張分場	H2 .4 ～ H5 .3
村上幸一	北海道立釧路水産試験場	H2 .10 ～ H6 .3
山本章造	岡山県水産試験場栽培漁業センター	H4 .4 ～ H7 .3
平川諒三郎	大分県水産試験場	H4 .4 ～ H5 .9
安達二郎	島根県水産試験場鹿島浅海分場	H4 .10 ～ H7 .9
柳瀬良介	静岡県水産試験場伊豆分場	H5 .4 ～ H8 .3
高野 傑	大分県水産試験場	H5 .10 ～ H7 .3
菅野溥記	青森県水産増殖センター	H6 .4 ～ H7 .3
福土正道	青森県水産増殖センター	H7 .4 ～ H9 .3
吉松定昭	香川県水産試験場	H7 .4 ～ H10 .3
石田雅俊	福岡県水産海洋技術センター豊前海研究所	H7 .4 ～ H10 .3
杉山秀樹	秋田県水産振興センター	H7 .10 ～ H11 .3
今井利為	神奈川県水産課	H8 .4 ～ H9 .9
小野 剛	福島県水産試験場	H9 .4 ～ H12 .3
中村良成	神奈川県水産総合研究所	H9 .10 ～ H11 .3
竹内照文	和歌山県農林水産総合技術センター水産増殖試験場	H10 .4 ～ H13 .3
野口弘三	佐賀県玄海水産振興センター	H10 .4 ～ H13 .3
二平 章	茨城県水産試験場	H12 .4 ～ H15 .3
鎌田 稔	山形県水産試験場	H12 .4 ～ H17 .3
鳥羽光晴	千葉県水産研究センター富津研究所	H12 .4 ～ H17 .3
桧山節久	山口県水産研究センター内海研究部	H13 .4 ～ H15 .3
村越正慶	沖縄県栽培漁業センター	H13 .4 ～ H17 .3
井ノ口伸幸	岩手県水産技術センター	H15 .4 ～ H16 .9
桃山和夫	山口県水産研究センター内海研究部	H15 .4 ～ H18 .9
石川 豊	岩手県水産技術センター	H16 .10 ～ H19 .3
中島博司	三重県科学技術振興センター	H17 .4 ～ H20 .3
加藤和範	新潟県水産海洋研究所	H17 .4 ～ H19 .3
池田義弘	長崎県総合水産試験場	H17 .4 ～ H20 .3
島本信夫	兵庫県農林水産技術総合センター但馬水産技術センター	H18 .10 ～ H19 .3
小坂善信	青森県水産総合研究センター増養殖研究所	H19 .4 ～ H20 .3
鈴木康仁	福井県栽培漁業センター	H19 .4 ～ H20 .3
上田幸男	徳島県農林水産総合技術支援センター	H19 .4 ～ H20 .3

職員から選出された委員（旧日本栽培漁業協会）

氏名	所属（当時）	在任期間
長谷川泉	玉野	S46.10～S49.9
水田洋之介	玉野	S46.10～S51.3 S55.4～S57.3
今泉圭之輔	上浦, 玉野	S46.10～S57.9
古澤 徹	玉野	S47.4～S52.9
松永 繁	屋島, 伯方島	S48.4～S53.9
今村茂生	屋島, 伯方島	S51.4～S58.3
米田博貴	上浦	S52.10～S57.9
松永 繁	宮古 本部	S55.4～S58.3 H9.4～H10.3
松岡玳良	企画調査室	S57.4～H4.9
北田修一	企画調査室	S57.4～H6.3（幹事）
待場 純	企画調査室	S57.4～S58.3（幹事）
福永辰廣	屋島	S57.10～S61.3
加畑裕康	厚岸	S58.4～S62.3
岡 雅一	企画調査室	S58.4～S60.9（幹事）
山崎哲男	志布志	S61.4～H1.3
岩本 浩	小浜	S62.4～H2.3
服部圭太	企画調査室	S63.10～H5.3（幹事）
大槻観三	屋島	H1.4～H4.3
石橋矩久	八重山	H2.4～H5.3
丸山敬悟	五島	H4.4～H7.3
早乙女浩一	企画調査室	H5.4～H12.3（幹事）
古澤 徹	技術部	H5.10～H9.3
今村茂生	技術部	H6.10～H10.3
有元 操	上浦	H7.4～H10.3
須田 明	技術アドバイザー	H9.4～H15.9（顧問）
有瀧真人	宮古	H9.10～H13.3
浜崎活幸	八重山	H10.4～H13.3
廣瀬慶二	参与	H10.4～H16.3（幹事・顧問）
野上欣也	企画調査室	H12.4～H15.9（幹事）
虫明敬一	五島	H13.4～H17.3
奥村重信	屋島	H13.4～H18.3

職員から選出された委員（独立行政法人水産総合研究センター）

氏名	所属（当時）	在任期間
石岡宏子	(独)水産総合研究センター養殖研究所	H13.4～H14.3
奥澤公一	(独)水産総合研究センター養殖研究所	H14.4～H15.9
田中秀樹	(独)水産総合研究センター養殖研究所	H17.4～H20.3
西岡豊弘	(独)水産総合研究センター上浦栽培漁業センター	H17.4～H20.3
渡邊研一	(独)水産総合研究センター上浦栽培技術開発センター古満目分場	H18.4～H20.3
虫明敬一	(独)水産総合研究センター本部	H17.4～H18.3（幹事）
岡 雅一	(独)水産総合研究センター本部	H18.4～H19.3（幹事）
鴨志田正晃	(独)水産総合研究センター本部	H19.4～H20.3（幹事）

# 栽培漁業技術開発研究 総目次 (第31巻第1号～第35巻第2号)

栽培漁業技術開発研究は本号(第35巻第2号)をもちまして発行を終了させていただきます。なお、平成20年度より、社団法人日本水産学会監修のもと査読付き公刊「水産技術」が刊行されます。そこで、本誌「栽培漁業技術開発研究」では、第31巻第1号～第35巻第2号の掲載論文の総目次を編集し、本号に一括して掲載することに致しました(第1巻第1号～第22巻第2号までは第22巻第2号に、第23巻第1号～第30巻第2号までは第31巻第1号にそれぞれ掲載)。今後の研究および技術開発にお役立ていただければ幸いです。

## 第31巻 第1号 (2003年9月刊行)

報文	クエ卵巣内に残留した卵塊の摘出と成熟への影響……………堀田卓朗 今泉 均 河野一利 山崎哲男	1
報文	養成環境下におけるズワイガニ雌ガニの産卵とふ化……………森田哲男 野上欣也	5
報文	カンパチ種苗生産方法の改良……………塩澤 聡 竹内宏行 廣川 潤	11
報文	量産飼育におけるビタミンB1強化によるサワラ稚魚の大量死亡の防除……………山崎英樹 藤本 宏	19
報文	瀬戸内海東部海域における放流クルマエビの移動と成長 ……………谷田圭亮 池脇義弘 青山英一郎 奥山芳生 野坂元道 藤原宗弘	25
報文	瀬戸内海東部海域におけるクルマエビの放流効果 ……………谷田圭亮 池脇義弘 青山英一郎 奥山芳生 野坂元道 藤原宗弘	31

## 第32巻 第1号 (2005年1月刊行)

報文	ワムシの増殖と生産コストに及ぼす連続給餌の効果……………小磯雅彦 友田 努 桑田 博 日野明德	1
報文	オニオコゼ仔稚魚飼育における大量斃死軽減のための2,3の試み……………清川智之 佐々木 正	5
報文	種苗生産過程の海産魚介類における疾病発生状況(1994～1999)……………鴨志田正晃 高橋 誠 水田洋之介	15
報文	瀬戸内海東部海域におけるサワラ標識放流結果 I 移動回遊について……………竹森弘征 坂本 久 植田 豊 山崎英樹 岩本明雄	25
報文	瀬戸内海東部海域におけるサワラ0歳魚の成長……………竹森弘征 坂本 久 植田 豊 山崎英樹 岩本明雄	35

## 第33巻 第1号 (2005年8月刊行)

報文	養成環境下におけるズワイガニ雌ガニの生残、産卵、ふ化に及ぼす水温の影響および ふ化幼生の質の判定の試み……………森田哲男	1
報文	アサリ稚貝の成長および粗成長効率と水温の関係……………小林 豊 鳥羽光晴	9
報文	瀬戸内海東部海域におけるサワラ標識放流結果 III 当歳魚の資源尾数および再捕率について……………竹森弘征 坂本 久 山崎英樹 岩本明雄	15
報文	北海道日本海寿都海域で標識放流されたクロソイ人工種苗の再捕結果 ……………佐々木正義 滝山修市 西内修一	21
報文	クルマエビの放流効果 現状と課題……………浜崎活幸 北田修一	27
報文	アワビ類の漁獲変動：エゾアワビの漁獲量と気候変動および種苗放流の関連について ……………中村 藍 北田修一 浜崎活幸 大河内裕之	45

### 第33巻 第2号 (2006年3月刊行)

報文	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
報文	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
報文	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
報文	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
報文	サワラの初期発育過程	松岡正信	85
報文	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
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 島 康洋 芦立昌一 西岡豊弘 佐藤 純 堀田卓朗 飯田貴次	93

### 第34巻 第1号 (2006年10月刊行)

報文	岩手県沿岸におけるマツカワ標識放流試験について	佐々木律子 中井一広	1
報文	放流海域に回帰したサワラ人工1歳魚の性比と成熟状況	山崎英樹 藤本 宏	7
報文	南伊豆海域におけるイセエビのプエルルス採集量の変化と黒潮流路との関係 .....	成生正彦 山田博一 長谷川雅俊	13
報文	南伊豆海域に來遊したイセエビ幼生の漁獲への加入状況	山田博一 長谷川雅俊 成生正彦	33
報文	トラフグ放流効果調査におけるイラストマー標識の適用 .....	田中寿臣 中西尚文 阿知波英明 町田雅春 大河内裕之	43
報文	トラフグの長期飼育試験から推定したイラストマー標識の脱落率とその補正法 .....	大河内裕之 町田雅春 田中寿臣 小泉康二 阿知波英明 甲斐正信 中西尚文 中島博司	53
報文	低水温がイワガキの生残に及ぼす影響について	野呂忠勝 武蔵達也 井ノ口伸幸	59
資料	市販薬剤を用いたシオミズツボウムシ複相単性生殖卵の消毒	渡辺研一 小磯雅彦	67

### 第34巻 第2号 (2007年3月刊行)

報文	ブリ人工種苗を2年間養成した親魚を用いた12月採卵の成功	浜田和久 虫明敬一	73
報文	ガザミ類の中間育成時における生残率向上のための一考察：ガザミ類の中間育成に関するアンケート結果から .....	小畑泰弘 芦立昌一	79
短報	栄養強化剤の連続添加がワムシの回収率と栄養価に及ぼす効果	小磯雅彦 島 康洋 日野明德	89
短報	イワガキ養殖における早期種苗導入の優位性の検討	野呂忠勝 井ノ口伸幸	93
資料	スズキ目、カレイ目魚類およびクルマエビ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等における残留状況 (資料) .....	渡辺研一 西岡豊弘 今泉 均 崎山一孝 山田徹生 太田健吾 鈴木重則 堀田卓朗 飯田貴次	97
資料	模擬放流試験に用いる素堀池の環境 - III 池内の人工海藻上に出現した葉上生物 .....	清水大輔 崎山一孝 足立純一	107



## 第35巻 第1号 (2007年10月刊行)

報文	漂着海藻を利用した輸送時におけるガザミ稚ガニ脚の脱落防止効果	甲本亮太	1
報文	北海道噴火湾に放流されたマツカワ0歳魚の分布と食性	吉田秀嗣 高谷善幸 松田泰平	5
報文	選別した小型S型ワムシを用いたアカハタの種苗生産	川辺勝俊 木村ジョンソン	11
報文	アカアマダイ人工種苗の巣穴形成に及ぼす標識の影響	町田雅春 竹内宏行 中川 亨 渡辺 税 升間主計	23
報文	南伊豆海域におけるイセエビ標識放流再捕結果の検討 I 標識の有効性の検討	成生正彦 長谷川雅俊 山田博一	29
報文	南伊豆海域のイセエビプエルルス幼生の来遊量と黒潮および台風による時化との関係	山田博一 長谷川雅俊 成生正彦	43
報文	炭酸ガスとエタノール製剤との併用によるクロアワビ稚貝の剥離処理	中牟田弘典	51
報文	PCR法による種苗生産用親ヨシエビからのクルマエビ急性ウイルス血症ウイルス検出法の検討	山根史裕 西岡豊弘 瀬古慶子 徳澤秀渡	55
短報	北海道日本海南西部泊村沿岸におけるクロソイ稚魚の生息場所と行動	川井唯史 秋野秀樹 田中禎孝 武藤卓志	59
資料	ワムシ培養に関するアンケート調査結果 (2006年度)	小磯雅彦	63

## 第35巻 第2号 (2008年3月刊行)

報文	ヒラメ受精卵のポビドンヨード剤による消毒効果の検討	渡辺研一・太田健吾・高橋 誠	1
報文	マダラ受精卵のポビドンヨード剤による消毒効果の検討	佐藤 純・堀田卓朗・渡辺研一	5
報文	ブリ受精卵のポビドンヨード剤による消毒効果の検討	堀田卓朗・佐藤 純・渡辺研一	11
報文	炭酸ガスを用いたアワビ類付着珪藻板飼育時のカイアシ類の除去方法	中牟田弘典	15
短報	エゾアワビ天然個体と放流個体の配偶子放出と発生および稚貝の生残の比較	野呂忠勝・武蔵達也	21
資料	スズキ目魚類に投薬したアンピシリン, オキシリン酸およびエリスロマイシンの筋肉における残留状況	渡辺研一・森 広一郎・堀田卓朗・飯田貴次	25
資料	カンパチとトラフグの筋肉と肝臓における抗生物質の残留に及ぼす投薬用飼料の影響	渡辺研一・堀田卓朗・飯田貴次	31

# 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]

報文は原著論文及び総説、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]

1. 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) 所定の様式にしたがって作成した原稿
  - (2) 投稿用紙（用紙は事務局あて請求するか、水産総合研究センターのホームページからダウンロードのこと <http://ncse.fra.affrc.go.jp/03kankou/03index.html>）
2. 電子メールを使った投稿を行う場合には、次頁「栽培漁業技術開発研究 原稿の書き方」の「電子メールを使った原稿の提出方法」に従って原稿を送付する。

## [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。

## [投稿要領の変更]

本要領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）

（平成 18 年 5 月 17 日一部改訂）

（平成 19 年 5 月 11 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 行の十分に行間を取った横書き形式で、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 版原稿用紙（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し、全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、概ね以下の通りとする。

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. 和文表題での生物名は原則として標準和名のみとし、学名は併記しない。
3. 英文表題での生物名は英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\*<sup>1</sup>・山田二郎\*<sup>1</sup>・田中三郎\*<sup>2</sup>

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\*<sup>1</sup>, \*<sup>2</sup>, …）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)

\*<sup>1</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 (Tamano Station, National Center for Stock Enhancement, FRA 5-21-1 Chikko, Tamano, Okayama, 706-0002 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

## [要 旨]

要旨は和文と英文を併載する。

和文要旨は A4 版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 版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。ただし、著者が英訳を編集事務局に依頼する場合は、事務局が要旨の英訳を行う。

## [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、謝辞、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つけない。
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、引用順に連番号をつける。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、慣用法にしたがって略記する。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(投稿中を含む)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/…)をつけ, 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良い。
2. 図、写真、表の原稿は、本文とは別業とし、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版を超えないことを原則とする。刷り上がりの時の大きさは、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つける。
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箇所なら「\*」, 複数箇所の場合は連番号を使用し、「\*1」, 「\*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]

1. 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： $m\sqrt{}$ ,  $m\sqrt{}$  →  $m^2$   
：山田 $\sqrt{}$ , 山田 $\sqrt{}$  → 山田<sup>り</sup>  
下付き： $O\Delta$ ,  $O\Delta$  →  $O_2$
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]

1. 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 CD-R ディスク等とする。
2. フロッピーディスクは 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。
3. 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。
4. 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、300dpi 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を必ず添付すること。
5. 日本語は全角を、英数字、小数点及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, ∴, ♀, ℃, ¥, ☆, ©, △, →, ※, ℓ など)を使用しない。
6. 改行マークは文章の段落の区切りのみに使用する。

7. 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。
8. 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。
9. 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。
10. 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
Macintosh	MS Office, 一太郎, Illustrator

## [電子メールを使った原稿の提出方法]

1. 原稿の内容は Portable Document Format ファイル (以下 PDF ファイル) へ変換したものを送付する。ただし、閲覧パスワードや編集パスワード設定等の制限は行わないファイルを作成する。
2. 原稿とは、表題 (和文・英文)、著者名、著者所属先・所在地、本文、図表、写真、引用文献、謝辞、英文・和文要旨で構成されるものをいう。
3. PDF ファイル作成時に変換ミスがないか、印刷可能であるか、確認した上で投稿する。
4. 電子投稿においては、電子メールに添付された PDF ファイルで受付を行うが、何らかの原因でファイルの閲覧ができない場合は、印刷物での投稿に替えることがある。
5. 送付方法は、以下の通りとする。
  - ① 原稿送付先アドレス：[giken@ml.affrc.go.jp](mailto:giken@ml.affrc.go.jp)
  - ② メール題目 (subject)：栽培技研 (新規投稿)
  - ③ メール本文には責任著者 (編集事務局とのやりとりを行う著者)、連絡先の所在地、電話番号、メールアドレスを表記する。
  - ④ 添付ファイルは投稿用紙、所定の様式に従って作成した原稿 (表題、著者名、著者所属先・所在地、本文引用文献、謝辞、英文・和文要旨)、図表、写真の4ファイルで構成する
  - ⑤ 各添付ファイルにはファイル名として、著者名と投稿用紙、原稿、図表、写真を明記すること  
例：清水智仁 (投稿用紙) .pdf, 清水智仁 (原稿) .pdf

## [そ の 他]

1. 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。

2. 編集事務局より原稿受理の連絡があり次第、著者は印刷用の最終原稿を作成する。その際字体、写真・図表の挿入位置およびカラーの指定を原稿へ明示する。なお、受理前の提出原稿については特別な場合以外は、字体指定等行わなくてよい。

(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)

(平成 18 年 5 月 17 日一部改訂)

(平成 18 年 12 月 5 日一部改訂)

(平成 19 年 5 月 11 日一部改訂)

## 技研編集連絡

❶瀬戸内海栽培漁業協会が「栽培漁業技術開発研究」を創刊した昭和47年3月以来、版を重ねて36年が過ぎました。小誌の創刊に当たっても、それ以前に刊行されていた「季刊 栽培漁業」を発展的解消し、研究・技術者相互の研究連絡に役立てるために、栽培漁業の技術開発に役立つと考えられる研究論文や記事が掲載することを目的に新雑誌（本誌）が作られました。

❷当時の編集者大島泰雄（瀬戸内海栽培漁業協会常務理事 当時）は小誌の刊行にあたり、「栽培漁業技術に関する研究業績は正規の刊行物に掲載される報告以外にも、会議の際にプリントとして配布される形で、年にかんりの数量が蓄積されつつあるのですが、それらの多くが書庫に埋もれたまま有効に利用されずに終わっています。中略 これらの貴重な参考資料を有効に利用できるようにすることも本誌の重要な役割であると考えられます。」と記しています。

❸果たして、小誌の重要な役割は果たせてこられたのであろうか？ これまでに、たくさんの若い研究者・技術者から小誌へ投稿いただきました。初めて科学論文を投稿された雑誌が小誌であった方も多いと思います。

❹「栽培漁業技術開発研究」におきましても、次の世代の技術開発に資するため発展的解消する時が訪れました。そして、新たな技術雑誌へと生まれ変わり、新しい技術とヒトを育む所存であります。

(編集事務局)

## 編集委員会（第35巻第2号）

### 委員長

福永 辰廣（水産総合研究センター業務推進部）

### 委員

日野 明德（東京大学）

北田 修一（東京海洋大学）

小坂 善信（青森県水産総合研究センター  
増養殖研究所）

中島 博司（三重県科学技術振興センター）

鈴木 康仁（福井県栽培漁業センター）

上田 幸男（徳島県立農林水産総合技術支援センター）

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）

池田 義弘（長崎県総合水産試験場種苗量産  
開発センター）

廣瀬 慶二（元日本栽培漁業協会）

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養殖研究所）

渡辺 研一（水産総合研究センター養殖研究所）

### 幹事

鴨志田 正晃（水産総合研究センター業務推進部）

### 事務局

水産総合研究センター業務推進部栽培管理課

e-mail : giken@ml.affrc.go.jp    <http://ncse.fra.affrc.go.jp/03kankou/03index.html>

## 栽培漁業技術開発研究第35巻第2号

平成20年3月25日印刷

平成20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 日昇印刷株式会社

〒104-0043 東京都中央区湊1-14-14

電話 03 (3553) 3161 (代)

ヒラメ受精卵のポビドンヨード剤による消毒効果の検討 渡辺研一・太田健吾・高橋 誠 .....	1
マダラ受精卵のポビドンヨード剤による消毒効果の検討 佐藤 純・堀田卓朗・渡辺研一 .....	5
ブリ受精卵のポビドンヨード剤による消毒効果の検討 堀田卓朗・佐藤 純・渡辺研一 .....	11
炭酸ガスを用いたアワビ類付着珪藻板飼育時のカイアシ類の除去方法 中牟田弘典 .....	15
エゾアワビ天然個体と放流個体の配偶子放出と発生および稚貝の生残の比較（短報） 野呂忠勝・武蔵達也 .....	21
スズキ目魚類に投薬したアンピシリン，オキシリン酸およびエリスロマイシンの筋肉における残留状況（資料） 渡辺研一・森 広一郎・堀田卓朗・飯田貴次 .....	25
カンパチとトラフグの筋肉と肝臓における抗生物質の残留に及ぼす投薬用飼料の影響（資料） 渡辺研一・堀田卓朗・飯田貴次 .....	31