

室内曝露試験による養殖ブリに対する 培養 *Chattonella antiqua* の影響評価

西 広海・田原義雄¹・平江多績・村瀬拓也¹

¹ 商工労働水産部水産振興課

養殖ブリに対する *Chattonella antiqua* の最低致死細胞密度を把握するほか、養殖ブリを遮光飼育することによるへい死抑制効果について検討するために、大量培養した *C. antiqua* に養殖ブリを曝露し、併せて遮光して試験を実施した。曝露試験におけるブリのへい死状況から、当所が保有する *C. antiqua* 培養株の養殖ブリに対する最低致死細胞密度は、1,000 cells/mL 付近であると考えられた。また養殖ブリのへい死の有無は、遮光や非遮光の違いより、*C. antiqua* の細胞密度の影響が強かったと考えられ、遮光による養殖ブリのへい死抑制効果は確認できなかった。

鹿児島県海域における *C. antiqua* による赤潮は、1988年以降、八代海において確認され、しばしば本県の魚類養殖業に対して大きな被害をもたらしてきた。^{1,2)} *C. antiqua* 赤潮の毒性を定量的に把握するには、*C. antiqua* が増殖した海水にブリ等の供試魚を曝露し、そのへい死状況を観察する必要があるが、この方法は *C. antiqua* を含む試験海水が大量に得られる赤潮発生時にしか実施できない。このため、*C. antiqua* を大量かつ安定的に培養することにより、*C. antiqua* 赤潮が発生しなくても試験を周年実施できる体制を構築する必要がある。当所では2009年7月から8月にかけて八代海で *C. antiqua* 赤潮が発生した後に、本種の大量培養技術開発試験を開始した。³⁾

また八代海熊本県海域の養殖業者によれば、2009年の *C. antiqua* 赤潮時に、遮光を行った生簀において、養殖シマアジのへい死が抑制された事例が示されている（長崎大学石丸惇教授私信）。そこで、本県の東町漁業協同組合の依頼により、遮光の有無がブリのへい死抑制に効果があるのか検討するため、2010年2月に当所が大量培養した *C. antiqua* を用いて養殖ブリに対する曝露試験を実施したものの、*C. antiqua* の細胞密度がへい死密度に達していなかったせいかな全数生残し、遮光の効果を確認できなかった。

そこで大量培養した *C. antiqua* に養殖ブリを曝露し、へい死させる本種の最低致死細胞密度を把握するほか、養殖ブリを遮光飼育することによるへい死抑制効果について検討するために養殖ブリの曝露試験を実施したので、得られた知見をとりまとめ、

報告する。

材料及び方法

当所で飼育し、一定期間餌止めしたブリを供試魚として使用した。曝露試験は当所の魚病センター隔離実験水槽室で行った。水温は、チタン棒状ヒーター（東立電機株式会社製 nitto 投込みヒーター 100V-1kw）で加温し、サーモスタット（丸五工業株式会社製 RL-100N）により 26℃に調整した。水槽にブリを収容して *C. antiqua* に曝露し、へい死状況等を観察した。なお、*C. antiqua* の属するラフィド藻綱の細胞は、細胞壁等の外皮構造を持たないため壊れやすく、⁴⁾ 通気による気泡の物理的的刺激で、*C. antiqua* の細胞の変形、破裂等が発生する可能性が考えられるので、通気量は飼育海水中の溶存酸素量（以下DOと略する）が 4mg/L 以上となる必要最低限とした。試験中の DO は、多項目水質計（HYDROLAB社製 DataSonde5）を用いて定期的に計測した。以下に示すように、合計4回の曝露試験を繰り返し実施した。

1 第1回試験

2009年8月4日に八代海南部で採取し当所で分離、継代培養した *C. antiqua* 株を大量培養し、養殖ブリに曝露してへい死するかを確認することを目的とした。200 L 容角型水槽にろ過海水を 150 L 入れ、9日間餌止めした平均魚体重 590 g のブリ 5 尾を収容し、エアレーションの条件で飼育した。

これに栄養強化海水培地を 5 L 容平底フラスコに

5 L 収容したものに、*C. antiqua* 培養株を 100 cells/mL になるよう接種し、水温は培養室のエアコンで 24 °C に設定して調整、照度を 2,400-4,300 LX、14 時間明 10 時間暗の明暗周期、塩分 35 の条件³⁾で、大量培養していた *C. antiqua* 1.5 億個（培養 9 日目）を、最終密度が 1,000 cells/mL となるよう水槽に添加し、ブリに対する影響を観察した。

試験開始から 30 分後、60 分後に水質（DO、水温、塩分）を測定するとともに、魚体の状況（へい死、遊泳等）を観察した。へい死魚は取上げ、体測を実施するとともに、鰓組織の顕微鏡観察を行った。

2 第2回試験

養殖ブリをへい死させる *C. antiqua* の最低致死細胞密度を把握するほか、養殖ブリを遮光飼育することによるへい死抑制効果について検討することを目的とした。表 1 に試験区の設定を示す。全試験区とも 200 L 容角型水槽にろ過海水を 150 L 入れ、平均魚体重 697 g のブリ 5 尾を収容し、エアレーションの条件で飼育した。供試したブリは、餌止めから 14 日経過しており、遮光区のブリは遮光して 12 日間馴致した。

5 L 平底フラスコ 8 個で大量培養していた *C. antiqua*（培養 11 日目）を、試験区 A、D は 300 cells/mL、試験区 B、E は 600 cells/mL となるよう添加し、ブリに対する影響を観察した。なお試験区 B、E は、開始 1 時間後に試験魚のへい死が見られなかったため *C. antiqua* を再添加し、細胞密度を 1,000 cells/mL 相当に調整した。

試験開始及び開始 7、60、90、160、190、300 分及び 20 時間経過時に水質（水温、塩分、DO、DO%）を測定するとともに、魚の状況（へい死、遊泳等）を観察した。へい死魚は直ちに取上げ、体測、鰓組織の顕微鏡観察を行った。また供試魚の貧血の有無を把握するため、へい死魚及び全試験区の各 2 尾について、血液性状分析（ヘマトクリット値、ヘモグロビン量）を行った。血液性状分析は、魚体の尾部血管から 22G ステンレス針を付したヘパリン (Na 塩) 処理済みの注射器 (テルモシリンジ) を用いて採血を行い、3,000 rpm、15 分間の遠心分離 (KUBOTA 製 3200) で血漿を得、ドライケム FDC3500i (富士フイルム社製) を用いて、血液中のヘモグロビン量を分析した。なお、ヘマトクリット値は微量毛細管法 (12,000 rpm、5 分間の遠心分離 (KUBOTA 製 3200)) により測定した。

表1 第2回試験における試験区設定

試験区	遮光/非遮光	<i>C. antiqua</i> の細胞密度 (cells/ml)
A	遮光	300
B	遮光	600
C	遮光	0
D	非遮光	300
E	非遮光	600
F	非遮光	0

3 第3回試験

第 2 回試験と同様の目的で、*C. antiqua* の細胞密度を変えて試験を実施した。表 2 に試験区の設定を示す。200 L 容角型水槽にろ過海水を 100 L 入れ、6 日間餌止めした魚体重約 600 g のブリ 5 尾を収容し、純酸素曝気条件下で飼育した。

5 L 平底フラスコで大量培養していた *C. antiqua*（培養 8 日目）を、1,000 cells/mL となるよう添加し、ブリに対する影響を観察した。

試験開始前及び開始 10、18、30、40、60、120 分経過時に水質（水温、塩分、DO、DO%）を測定するとともに、魚体の状況（へい死、遊泳等）を観察した。へい死魚は直ちに取上げ、体測を実施するとともに、鰓組織の顕微鏡観察を行った。

表2 第3回試験における試験区設定

試験区	遮光/非遮光	<i>C. antiqua</i> の細胞密度 (cells/ml)
A	遮光	1,000
B	非遮光	1,000

4 第4回試験

第 2 回試験と同様の目的で、第 3 回試験とは *C. antiqua* の細胞密度を変えて試験を実施した。表 3 に試験区の設定を示す。全試験区とも 200 L 容角型水槽にろ過海水を 120 L 入れ、7 日間餌止めした平均魚体重 645 g のブリ 5 尾を収容し、通常通気と純酸素曝気併用の通気条件下で飼育した。添加する *C. antiqua* は、試験開始 1 時間前に 5 L フラスコ 6 基からパンライト水槽に移して混合し、30 L パンライト水槽 2 基に分け、26 °C のウォータバスに漬けて温度を維持し、エアレーションなしで静置した。また *C. antiqua* 細胞の活性を向上させることを目的として、この状態で 1 時間直射日光に曝した。

5L 平底フラスコ 6 個で大量培養していた *C. antiqua* (培養 9 日目) を, 試験区 A, C に 1,400 cells/mL となるよう添加し, ブリに対する影響を観察した。

試験開始前及び開始 10, 30, 64, 90 分経過時に水質 (水温, 塩分, DO, DO%) を測定するとともに, 魚体の状況 (へい死, 遊泳等) を観察した。

表3 第4回試験における試験区設定

試験区	遮光/非遮光	<i>C. antiqua</i> の細胞密度 (cells/ml)
A	遮光	1,400
B	遮光	0
C	非遮光	1,400
D	非遮光	0

曝露試験に供した養殖ブリのへい死状況から, 当所が保有する *C. antiqua* 培養株の養殖ブリに対する最低致死細胞密度を把握するために, 養殖ブリのへい死時における *C. antiqua* の細胞密度と経過時間の関係と, へい死しなかった試験区における *C. antiqua* の細胞密度の推移について検討した。なお養殖ブリのへい死までの経過時間と *C. antiqua* の細胞密度の測定時間が異なることから, へい死時の *C. antiqua* の細胞密度は, へい死時の前後に測定した *C. antiqua* の細胞密度から, 各測定時刻とへい死時刻との時間比率を元に算出した。

結 果

1 第1回試験

供試したブリの生残率の推移を図1の生存曲線 (カプラン・マイヤー法) に示す。ブリは *C. antiqua* 添加直後から遊泳速度が速く, 鰓の開閉回数が多くなった。30 分後には泳ぎが緩やかになり, 大きく口を開けるようになった。その後やや平衡感覚がなくなり, 水面から鼻を出す行動が見られた。31 分後には 5 尾のうち 3 尾が腹部を上に向け, 狂奔して遊泳するようになった。そして 35 分後に 2 尾, 40 分後に 1 尾がへい死した。42 分後には残り 2 尾も腹を上に向け, 苦悶状態となり, 67 分後までにへい死した。

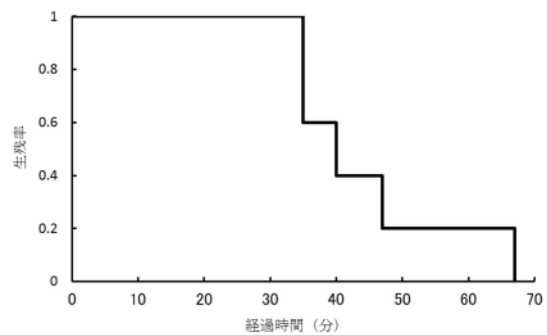


図1 第1回試験におけるブリの生残率推移

表4にブリの体測結果, 水質及び試験中の *C. antiqua* の細胞密度の推移を示す。水温は 26.3-26.9 °C, DO は 4.5-5.6 mg/L, DO% は 68.6-86.2 % であった。また *C. antiqua* の細胞密度は, 試験開始直後に 1,140 cells/mL, 60 分後には 1,050 cells/mL で推移した。鰓組織の顕微鏡観察の結果, へい死魚の鰓組織は, へい死直後はうっ血は見られなかった。

表4 第1回試験における試験期間中の水質及び *C. antiqua* の細胞密度の範囲

項 目	値
水温 (°C)	26.3 — 26.9
塩分	34.2 — 34.3
DO (mg/L)	4.5 — 5.6
DO (%)	68.6 — 86.2
細胞密度 (cells/mL)	1,050 — 1,140

2 第2回試験

表5に供試魚の生残尾数の推移及び行動観察結果を示す。試験開始7分後に, 試験区Eのブリの鰓蓋の開閉回数が増加した。60分後まで全ての試験区のブリも, 横たわったり, 苦悶したりする行動が見られなかった。70分後に試験区B, Eに *C. antiqua* を再添加し, 細胞密度を 1,000 cells/mL 相当となるよう調整した。90分後に試験区Eのブリの鰓蓋の開閉回数が増加した。120分後に試験区Eの水槽に, ストックよりブリ1尾を追加した。360分後には試験区Eに追加したブリが横たわり, 380分後にへい死した。顕微鏡観察の結果, へい死したブリの鰓には, 一部うっ血が見られた。*C. antiqua* を追加しなかった試験区のブリは, 20時間後までへい死は見られなかった。

表5 第2回試験における供試魚の生残尾数の推移及び行動観察結果

経過時間	試験区						備考
	A	B	C	D	E	F	
開始前 (13:00)	5	5	5	5	5	5	
7分後 (13:27)	↓	↓	↓	↓	↓	↓	13:23 試験区E: 鰓蓋の開閉回数が増加
60分後 (14:20)	↓	↓	↓	↓	↓	↓	
70分後 (14:30)	↓	↓	↓	↓	↓	↓	14:30 B, E区: <i>C. antiqua</i> を追加
90分後 (14:50)	5	5	5	5	5	5	14:43 試験区E: 体色がまだらに変化, 鰓の開閉が依然多い
120分後 (15:20)	5	5	5	5	6	5	15:20 試験区E: 供試魚を1尾追加
160分後 (16:00)	↓	↓	↓	↓	↓	↓	
190分後 (16:30)	↓	↓	↓	↓	↓	↓	
300分後 (18:20)	5	5	5	5	6	5	各試験区2尾より採血し, ヘマトクリット値とヘモグロビン量を測定
360分後 (19:20)	5	5	5	5	6	5	19:20 試験区E: 追加した1尾が横転
380分後 (19:40)	5	5	5	5	5	5	19:40 試験区E: 追加した1尾がへい死, 取上げ (魚体重 588g, 尾叉長 36.5cm)
20時間後 (9:20)	5	5	5	5	5	5	全試験区でへい死なし

表6にブリの血液性状分析結果を示す。試験に供したブリのうち、へい死魚(試験区E)のヘマトクリット値は40%, ヘモグロビン量は13.2 g/dL, ほか全試験区の各2尾のヘマトクリット値は39-58%, ヘモグロビン量は11.0-15.4 g/dLであった。

表7に試験中の水質の推移を示す。水温は25.4-28.1 °C, 塩分は34.4-34.6, DOは3.6-6.0 mg/L, DO%は54.6-89.8%であった。

表8に試験中の*C. antiqua*の細胞密度の推移を示す。試験区A, Dの細胞密度の設定は300 cells/mL,

試験区B, Eは600 cells/mLであったが, 試験開始直後に計数したところ, 試験区A, Dは233 cells/mL, 試験区B, Eは490 cells/mLであった。試験開始70分後に試験区B, Eに対し*C. antiqua*を追加した結果, 細胞密度は試験区Bが1,230 cells/mL, 試験区Eは1,190 cells/mLに上昇した。300分経過後の*C. antiqua*の細胞は小型, 球形化して細胞密度の減少がみられ, 20時間後の細胞密度は試験区Aが20 cells/mL, Dが63 cells/mL, 試験区Bが930 cells/mL, Eが490 cells/mLであった。

表6 第2回試験におけるブリの血液性状分析結果

試験区	ヘマトクリット (%)	ヘモグロビン (g/dL)
A	44	15.4
	52	12.5
B	39	11.7
	40	11.0
C	48	13.3
	42	14.6
D	43	11.3
	41	13.2
E	50	15.1
	58	15.3
F	40 ※	13.2 ※
	40	12.2
平均	44	13.3
	45	13.2

※ 試験区Eに追加し, へい死したブリの血液の測定値

表7 第2回試験における期間中の水質の範囲

試験区	水温 (°C)	塩分	DO (mg/L)	DO (%)
A	25.9 - 26.5	34.4 - 34.5	5.0 - 5.8	76.3 - 87.5
B	25.6 - 27.5	34.4 - 34.6	4.0 - 5.9	61.2 - 88.5
C	25.4 - 26.5	34.4 - 34.5	4.3 - 6.0	65.7 - 89.8
D	25.6 - 27.1	34.4 - 34.5	3.6 - 5.6	54.6 - 84.1
E	25.7 - 28.1	34.4 - 34.6	3.6 - 5.3	56.1 - 80.1
F	25.4 - 26.5	34.4 - 34.5	4.4 - 5.4	66.4 - 81.4

表8 第2回試験における *C. antiqua* の細胞密度の推移及び行動観察結果

(単位: cells/mL)

経過時間	試験区				備考
	A	B	D	E	
開始時 (13:20)	233	490	233	490	細胞の状況は良好
70分後 (14:30)	—	1,230	—	1,190	B, E区: <i>C. antiqua</i> を追加
300分後 (18:20)	210	1,190	245	1,090	細胞が球形化, 小型化
20時間後 (9:20)	20	930	63	490	細胞が球形で小型, 減耗が見られた

3 第3回試験

表9に供試魚の生残尾数の推移及び行動観察結果を示す。試験開始直後から、試験区A, Bともにブリの鰓蓋の開閉回数が増加した。60分後に試験区Aの1尾が腹を上に向け、66分後にへい死した。へい死したブリの鰓組織は毛羽立ったような状態が観察され、うっ血が見られた。120分後には両試験区とも生残魚は落ちており、へい死が見られな

かったため、試験を終了した。

表10に試験中の水質及び *C. antiqua* の細胞密度の推移を示す。期間中の水温は25.6-26.6°C, 塩分は34.1-34.3, DOは4.8-6.7 mg/L, DO%は73.2-101.7%であった。試験区A, Bの細胞密度の設定は1,000 cells/mLであったが、試験開始直後に計数したところ、900-920 cells/mLだった。80分後には750-780 cells/mLとなった。

表9 第3回試験における供試魚の生残尾数の推移及び行動観察結果

経過時間	時刻	試験区		備考
		A	B	
開始時	15:22	5	5	<i>C. antiqua</i> 添加直後から、鰓の開閉回数が増加
60分後	16:22	5	5	試験区A: 1尾が腹を上に向ける
66分後	16:28	4	5	試験区A: 1尾がへい死 (魚体重 725g, 尾叉長 38.5cm)
120分後	17:22	4	5	両試験区とも生残魚は落ちており、試験終了

表10 第3回試験における期間中の水質及び*C. antiqua*の細胞密度の範囲

	試験区			
	A		B	
水温 (°C)	25.8	— 26.3	25.6	— 26.6
塩分	34.1	— 34.2	34.1	— 34.3
DO (mg/L)	4.8	— 6.8	4.9	— 6.5
DO (%)	73.3	— 101.7	73.4	— 98.0
細胞密度 (cells/mL)	750	— 900	780	— 920

4 第4回試験

供試したブリの生残率の推移を図2の生存曲線(Kaplan・マイヤー法)に示す。試験開始32分後に、試験区Cのブリ1尾が横転し、40分後には両試験区の全てのブリが苦悶し始めた。試験区Aのブリは、53, 62, 64, 79, 100分後に、試験区Cのブリは、44, 47, 92, 94, 118分後に各1尾ずつい死した。

表11に試験中の水質及び*C. antiqua*の細胞密度の推移を示す。期間中の水温は25.1-26.3°C, 塩分は34.1-34.2, DOは5.3-8.9 mg/L, DO%は79.1-135.1%であった。試験区A, Cの*C. antiqua*の細胞密度の設定は1,400 cells/mLであったが、試験開始直後に計数したところ、1,750-1,860 cells/mLだったが、110分後には1,310-1,360 cells/mLとなった。

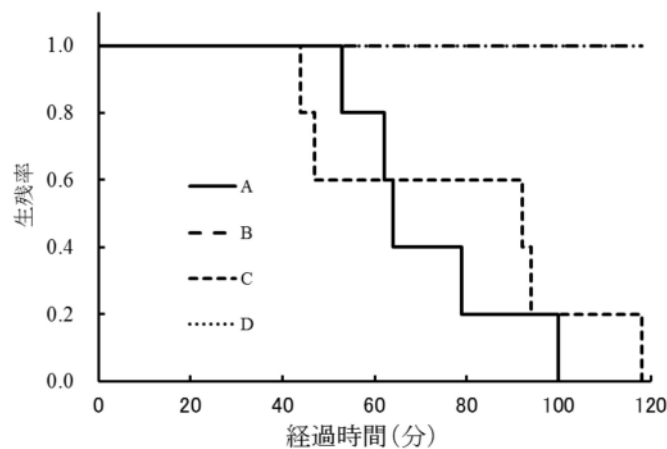


図2 第4回試験におけるブリの生残率推移

表11 第4回試験における期間中の水質及び*C. antiqua*の細胞密度の範囲

試験区	水温 (°C)	塩分	DO (mg/L)	DO (%)	細胞密度 (cells/mL)
A	25.4 — 26.2	34.1 — 34.2	5.6 — 7.3	83.6 — 111.5	1,310 — 1,750
B	25.5 — 26.2	34.1 — 34.1	5.3 — 5.7	80.3 — 85.8	
C	25.5 — 26.3	34.1 — 34.2	5.9 — 8.9	89.3 — 119.4	1,360 — 1,860
D	25.1 — 26.0	34.1 — 34.1	5.4 — 6.0	79.1 — 91.0	

図3に曝露試験に供した養殖ブリのへい死時における *C. antiqua* の細胞密度と経過時間の関係を、図4に曝露試験で養殖ブリがへい死しなかった試験区における *C. antiqua* の細胞密度の推移を示す。養殖ブリがへい死した時の *C. antiqua* の細胞密度は、ほとんどが 1,000 cells/mL 以上であったのに対し、へい死しなかった試験区における *C. antiqua* の細胞密度の推移をみると、第2回試験のB区を除き、1,000 cells/mL 以下であった。

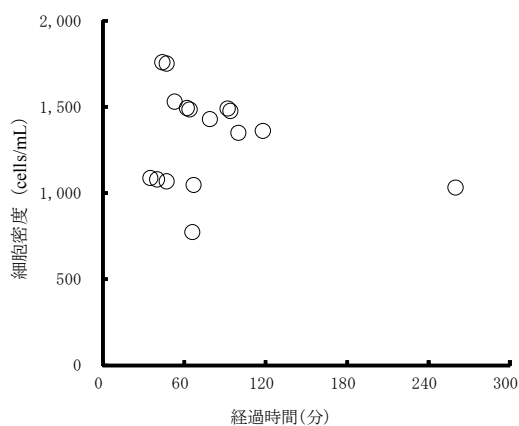


図3 曝露試験に供した養殖ブリのへい死時における *C. antiqua* の細胞密度と経過時間の関係

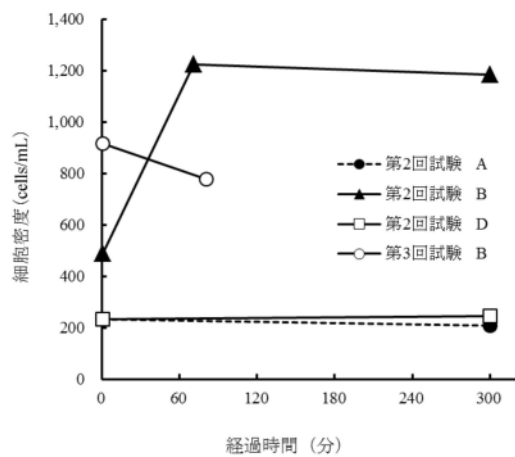


図4 曝露試験で養殖ブリのへい死しなかった試験区における *C. antiqua* の細胞密度の推移

考 察

1 養殖ブリがへい死する *C. antiqua* の最低細胞密度

第1回試験では、細胞密度 1,050-1,140 cells/mL の *C. antiqua* に曝露したところ、試験開始から約1時間で養殖ブリは全数へい死した。このことから、当所が保有する *C. antiqua* 培養株が養殖ブリをへい死させる魚毒性を有することが示唆される(図1)。

第2回試験では、開始時の *C. antiqua* の曝露試験区の細胞密度は 233 cells/mL 及び 490 cells/mL であったが、60分後までブリのへい死はみられなかった。試験開始70分後に細胞密度が 490 cells/mL の試験区に対し *C. antiqua* を追加し、細胞密度が 1,190-1,230 cells/mL となった後に追加したブリだけが、曝露260分後にへい死した(表5)。使用した *C. antiqua* は、第1回試験時は培養開始9日目で対数増殖後期、今回試験時は11日目でほぼ増殖のピークであったと考えられ、*C. antiqua* の増殖状況により毒性発現が異った可能性がある。また試験開始から300分経過後の *C. antiqua* の細胞は小型、球形化して細胞密度の減少がみられたが、これはブリの酸欠を防止するために水槽中のエア曝露が強く、物理的刺激が影響したと考えられ、このことが *C. antiqua* の細胞が毒性を発現できなかった要因となった可能性がある。なお第2回試験でブリの血液性状分析を実施したが、池田ら⁵⁾によるとブリ(養殖)のヘマトクリット値は $41.8 \pm 2.8\%$ 、ヘモグロビン量は 10.5 ± 0.6 g/dL とあり、この数値と比較すると、供した全てのブリの数値は概ね同等かそれ以上であり(表6)、へい死の有無にかかわらず貧血状態ではなかったと考えられる。

第3回試験で *C. antiqua* の細胞密度は開始時に 900-920 cells/mL であった(表10)が、遮光区の1尾が66分後にへい死したのみで、他のブリは生残した(表9)。そのため細胞密度が 1,000 cells/mL 以下では *C. antiqua* の毒性はブリをへい死させるまではなかったと考えられる。なお、第2回試験で見られた、通常空気の通気での *C. antiqua* 細胞へのダメージを防止するため、純酸素通気で試験したが、DO調整が難しく、今後は通常空気の通気と併用してDOを調整する必要があると考えられる。

第4回試験で曝露した *C. antiqua* の細胞密度は 1,750 ~ 1,860 cells/mL であった(表11)が、試験開始118分後までに全数へい死した(図2)。試験に使用する *C. antiqua* 細胞を常に良好な状態で維持することは、毒性を発現させ、再現性の高い結果を得るために重要と考えられる。今回の試験では、国立研究開発法人水産研究・教育機構西海区水産研究

所の助言を参考に、試験開始1時間前から *C. antiqua* を静置し直射日光に曝したほか、試験を午前中に実施して非遮光区に直射日光があたるように考慮した。山口ら⁶⁾は、*C. antiqua* と *Chattonella marina* は光強度 $10 \mu \text{E/m}^2/\text{s}$ では増殖できず、増殖速度が飽和する光強度は $110 \mu \text{E/m}^2/\text{s}$ であること、弱光は *Chattonella* の増殖に不適であると報告していることから、前述の操作は試験前に *C. antiqua* 細胞を良好な状態に維持することに有効であったと考えられる。今後の曝露試験でも、*C. antiqua* 細胞を良好な状態に維持することが、再現性の高い知見を得るために重要であると考えられる。

今回の曝露試験に供した養殖ブリのへい死時における *C. antiqua* の細胞密度 (図3) とへい死しなかった試験区における *C. antiqua* の細胞密度の推移 (図4) から、当所が保有する *C. antiqua* 培養株の養殖ブリに対する最低致死細胞密度は、1,000 cells/mL 付近であると考えられる。

西ら⁷⁾は、2010年に八代海で発生した *C. antiqua* 赤潮発生時に、赤潮海水を使用して養殖ブリに対する曝露試験を実施したところ、試験に供したサイズの養殖ブリ (魚体重 439-706g) では、*C. antiqua* の細胞密度が 150 cells/mL 程度からへい死がみられたと報告している。今回の試験でへい死した養殖ブリの魚体重は 531 ~ 758g で西ら⁷⁾の報告とほぼ同じサイズであり、今回の *C. antiqua* 培養株の最低致死細胞密度は、2010年の *C. antiqua* 赤潮発生時における致死細胞密度の約 6.7 倍であった。養殖ブリ等に対する影響を把握するためには *C. antiqua* に曝露する必要があるが、培養株を用いる場合は、今回の試験結果から細胞密度に注意することが重要と考えられた。養殖魚等に対する曝露試験は、実際の赤潮発生時に実施しなければならないが、機会が限られてしまうので、このように *C. antiqua* の培養株を用いていつでも試験することができれば、より多くの知見を得ることができる。

黒木ら⁸⁾は、2003年に八代海で発生した *C. antiqua* 赤潮の有害性を検討し、*C. antiqua* 赤潮海水を平均魚体重 84.6 g のブリ稚魚に曝露したところ、少なくとも 500 cells/mL でブリ稚魚を1時間以内に死亡させる有毒性があると報告している。また長崎県水産試験場が1992年8月に島原市新田町地先で採取した *C. antiqua* 赤潮海水に、平均魚体重 93 g と 474 g のブリ稚魚を曝露したところ、ブリのへい死は 200 cells/mL 以上の細胞密度で観察され、100

cells/mL 以下ではへい死しなかったこと、当歳魚 (平均魚体重 93g) に比べ1歳魚 (平均魚体重 474g) は *C. antiqua* による遊泳異常やへい死の弊害を受けやすいと推察されると報告している。⁹⁾ このように、*C. antiqua* 赤潮に対するブリの感受性は、そのサイズにより異なっている。養殖業者からは出荷サイズのブリの *C. antiqua* 赤潮に対する致死濃度を知りたいとの要望があり、今後はより大型のブリや他魚種についての影響も把握する必要がある。

2 遮光による養殖ブリのへい死抑制効果

第2回から第4回の試験では、水槽を遮光することで養殖ブリの活性が低下し、*C. antiqua* 赤潮の被害を防止することができるかを検証したが、第2回試験でへい死したのは非遮光区の1尾のみで、遮光区の全数 (5尾) と非遮光区の残り5尾は生残した (表5)。第3回試験でへい死したのは遮光区の1尾のみで、非遮光区の全数 (5尾) と遮光区の残り4尾は生残した (表9)。第4回試験では遮光区、非遮光区とも全数へい死し、その経過時間も遮光区が100分後、非遮光区が118分後と遮光区のほうが早かったが、大きな差は見られなかった (図2)。

また4回の試験における水槽内の DO は、第2回試験の試験区 D (非遮光、*C. antiqua* の細胞密度 300 cells/mL) で一時的に 4.0 mg/L を下回ったもののへい死はみられず、ほかの試験区では 4.0 mg/L 以上であり (表4,7,10,11)、試験中のブリのへい死は酸欠によるものとは考えられなかった。前述の長崎県水産試験場の試験では、遮光による生残率の向上効果を屋外で試験した (遮光区は 1t 水槽 2基のうち1基を 90%遮光幕で覆った) が、500 cells/mL に曝露したところ、へい死は遮光の有無、サイズの大小にかかわらず両区で交互に起こり、3時間50分後には両区とも全滅したとの報告があり、⁹⁾ 今回の試験も同様の結果であった。また松山ら (2016年12月11日 日本水産学会九州支部大会講演要旨) は、遮光によりブリの遊泳行動を抑制できるか検証したが、少なくとも3週間はその遊泳行動を有意に抑制することはできないと報告している。

今回の試験においては、養殖ブリのへい死は遮光の有無より、*C. antiqua* の細胞密度の影響が強かったと考えられ、遮光による養殖ブリのへい死抑制効果は確認できなかった。一方 Ishimaru *et al.*¹⁰⁾ は、*C. marina* をブリに曝露したところ、遮光区と比べ非遮光区は生残率が低く、光の強さが生残率に影響

したと報告しており、遮光によるへい死抑制効果が見られる結果であった。これらのことから、遮光による養殖ブリのへい死抑制効果の把握のためには、さらに知見を積み重ねて検証することが必要と考えられる。

謝 辞

C. antiqua の養殖ブリへの曝露方法についてご助言いただき、また本稿をとりまとめるにあたり御校閲と御鞭撻を賜った国立研究開発法人水産研究・教育機構西海区水産研究所有明海・八代海漁場環境研究センター資源培養グループ長の松山幸彦博士に心から感謝する。

養殖ブリの曝露試験にご協力いただいた水産技術開発センター職員の方々に感謝する。

文 献

- 1) 西 広海, 田原義雄, 徳永成光, 久保 満, 中村章彦. 2009年及び2010年に八代海で発生した*Chattonella antiqua*赤潮. 鹿児島県水産技術開発センター研究報告. 2011; **3**: 37-44.
- 2) 鬼塚 剛, 青木一弘, 清水 学, 松山幸彦, 木元克則, 松尾 斉, 未代有樹, 西 広海, 田原義雄, 櫻田清成. 2010年夏季に八代海で発生した*Chattonella antiqua*赤潮の短期動態—南部海域における出現特性—. 水産海洋研究. 2011; **75**(3): 143-153.
- 3) 西 広海, 田原義雄. 有害ラフィド藻 *Chattonella antiqua* の基礎的な大量培養技術開発. 鹿児島県水産技術開発センター研究報告. 2019; **7**: 25-30.
- 4) 今井一郎. ラフィド藻類における分類と同定の問題点—生態研究の立場から—. 日本プランクトン学会報 2000; **47**(1): 55-64.
- 5) 池田彌生, 尾崎久雄, 瀬崎啓次郎. VI.各種魚類の血液性状,血漿科学成分値及び臓器重量 1. 海水魚「魚類血液図鑑」緑書房, 東京. 1986; 243.
- 6) 山口峰生, 今井一郎, 本城凡人. 有害赤潮ラフィド藻 *Chattonella antiqua* と *Chattonella marina* の増殖速度に及ぼす水温, 塩分及び光強度の影響. 日本水産学会誌, 1991; **57**(7): 1277-1284.
- 7) 西 広海, 田原義雄, 徳永成光, 久保 満, 吉満 敏, 中村章彦. *Chattonella antiqua* 赤潮の養殖ブリに対する影響—養殖ブリに対する曝露試験—. 鹿児島県水産技術開発センター研究報告. 2011; **3**: 34-36.
- 8) 黒木善之, 吉村直晃, 吉田雄一, 小山長久, 木村武志. 2003年に八代海で発生した *Chattonella antiqua* の有害性の検討. 熊本県水産研究センター研究報告. 2004; **6**: 69-73.
- 9) 北川安彦, 宮原治郎, 轟木重敏, 吉田範秋. シェットネラ赤潮防止対策事業. 長崎県水産試験場事業報告書. 1995: 134-178.
- 10) Atsushi Ishimaru, Tatsuya Oda, Makoto Yoshida, and Masayori Ozaki: Oxygen Radicals are Probably Involved in the Mortality of Yellowtail by *Chattonella marina*. *Fisheries Science*. 1996; **62**(5): 836-837.