

熊本県水産研究センター研究報告

第9号

目次

熊本県海域におけるマダイ、ヒラメの Age-length key 及びマダイの Age-weight key の作成	森下貴文, 石動谷篤嗣, 大塚 徹	1
熊本県八代海におけるシラス漁業の春漁の漁獲量及び漁獲時期の予測	木村 修, 大塚 徹	6
有明海における <i>Chattonella</i> 赤潮の日周鉛直移動がクルマエビに与える影響	荒木希世, 松岡貴浩, 森下貴文, 川崎信司	13
環境負荷低減型マダイ用飼料の開発	阿部慎一郎, 齋藤 剛, 梅山昌伸, 中野平二	19
カワハギの種苗生産に関する研究	中根基行, 吉川真季, 阿部慎一郎, 中野平二	25
トラフグのヘテロボツリウム (<i>Heterobothrium okamotoi</i>) 症に対するフェバンテルの駆虫効果に関する研究	木村武志	33
2011 年冬季に茂串湾で赤潮化した <i>Cochlodinium</i> sp.type-Kasasa の発生状況と増殖に係る水温の影響及び粘土の散布効果について	高日新也, 安東秀徳, 大塚 徹, 川崎信司	77
2011 年冬季に茂串湾で発生した <i>Cochlodinium</i> sp.type-Kasasa の有害性について	高日新也, 中野平二, 大塚 徹, 川崎信司	81
2010 年に八代海で赤潮化した <i>Chattonella antiqua</i> の発生状況と日周鉛直移動	櫻田清成, 高日新也, 梅本敬人	85

平成25年4月

熊本県水産研究センター

熊本県海域におけるマダイ、ヒラメの Age-length key 及び マダイの Age-weight key の作成

森下貴文, 石動谷篤嗣*¹, 大塚 徹*²

Age-length key of the red sea bream *Pagrus major* and bastard halibut *Paralichthys olivaceus*
and age-weight key of the red sea bream *Pagrus major* in the Kumamoto sea area.

Takafumi Morishita, Atsushi Ishidouya and Toru Otsuka

キーワード: Age-length key、Age-weight key、年齢別漁獲尾数

マダイ、ヒラメは、本県沿岸漁業の重要魚種であり、平成 21 年の漁獲量はマダイ 821t、ヒラメ 192t、生産額はマダイ 7 億 8000 万円、ヒラメ 2 億 1500 万円と、両魚種合わせて全体の漁獲金額の 13%を占めている¹⁾。また、平成 23 年度の市場調査結果から漁獲の中心は、図 1 に示すように、マダイが尾叉長 15~30cm が全体の 78%、ヒラメが全長 30~50cm の個体が全体の 72%となっている。

本県海域のマダイ、ヒラメは、日本海西部・東シナ海系群（以下、「系群」と言う。）に属している。これらの資源を管理し、有効活用していくため、独立行政法人水産総合研究センターが中心となり、毎年、資源量の推定、資源評価が実施されている。この資源量推定値は、系群に属する各県の年齢別漁獲尾数等を用いて、Virtual Population Analysis (VPA) により算出されている²⁾。

本県ではヒラメについて、昭和 61 年度のマダイ放流技術開発試験³⁾において牛深、松島及び本渡周辺で漁獲されたヒラメの耳石を用いた年齢査定及び von Bertalanffy の成長曲線を求めた報告がある。また、マダイについて、天草海域で漁獲されたマダイの鱗の鱗紋と体長の関係を用いた年齢査定及び von Bertalanffy の成長曲線を求めた報告がある⁴⁾。しかし、年齢別漁獲尾数を算出する際の年齢分解に必要な本県独自の Age-length key (年齢全長相関表) が作成されていないため、現在は過去の漁業種類別年齢組成データ等⁵⁾を用いて算出している。しかし、資源の適正な管理及び有効活用のためには正確な資源量の推定が必要である。このためより正確な年齢別漁獲尾数を算出し、系群の

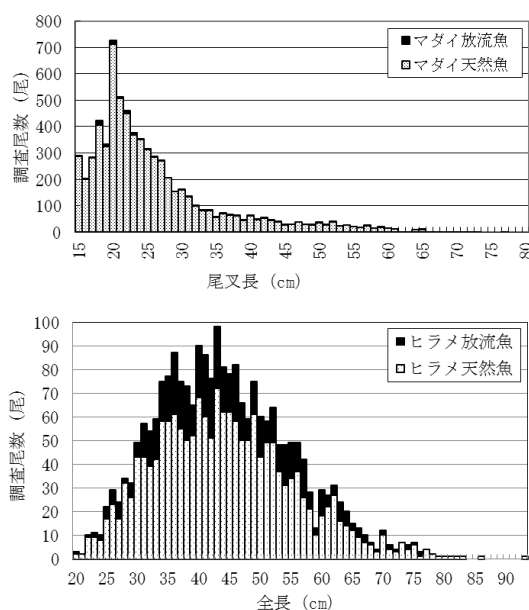


図1 平成23年度市場調査によるマダイ尾叉長 (n=6,877)、ヒラメ全長 (n=2,336) の組成

資源量推定精度を向上させるためマダイ、ヒラメの Age-length key を作成した。また、市場調査によるマダイの調査を効率化し、効果算出の精度を向上させることを目的として Age-weight key (年齢体重相関表) を作成した。

方法

ヒラメ

ヒラメは平成 15 年 10 月から平成 23 年 2 月までに漁獲された 916 個体を用いた。これらの標本は、全長、体長、体重、雌雄、生殖腺重量を測定し、採取した耳石を用いて年齢査定を行った。なお、年齢査定は分析機関に委託した。

成長式は von Bertalanffy の成長式を適用し、

*1 現環境立県推進課, *2 現水産振興課

表 1 解析に用いたヒラメの個体数、年齢、全長及び体重

年齢	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	13
個体数	51	100	142	92	40	15	4	1	1	1	1
雄 尾叉長 (mm)	197.7	400.8	462.7	482.5	531.9	582.0	546.0	610.0	820.0	683.0	
雄 標準偏差	23.8	60.6	37.9	53.6	61.4	93.9	32.9				
雄 体重 (g)	73.7	676.7	1,070.7	1,170.3	1,621.9	2,286.7	1,639.8	2,340.0	5,835.0	3,055.0	
雄 標準偏差	25.5	302.5	355.6	434.5	663.3	1,119.3	266.1				
雌 個体数	30	123	99	116	59	24	12	5	1		1
雌 全長 (mm)	196.3	441.7	530.2	568.4	623.7	703.4	741.9	732.6	705.0		913.0
雌 標準偏差	33.3	64.1	70.4	65.6	64.6	56.0	69.2	25.3			
雌 体重 (g)	80.4	1,010.1	1,712.1	2,029.6	2,806.4	4,054.8	4,622.9	4,722.0	3,745.0		11,440.0
雌 標準偏差	43.4	428.0	717.5	815.0	932.4	1,116.5	931.7	305.6			

成長曲線の当てはめは、重みつき最小 2 乗法を用いた。Age-length key の作成は年齢毎に平均全長及び標準偏差を算出し、各年齢について階級幅を 20mm とした階級値の正規分布の確率密度を算出し、各階級の確率密度にデータの個体数及び階級幅を乗じて頻度分布に直して Age-length key を作成した。

マダイ

マダイは平成 18 年 4 月から平成 23 年 1 月までに漁獲された 1,294 個体を用いて行った。各測定項目及び耳石による年齢査定及び Age-length key の作成はヒラメと同様に行った。また、各階級において、各年齢の標本数を階級の合計標本数で除して各年齢の確率を算出して Age-weight key を作成した。

結果と考察

ヒラメ

ヒラメは雌の成長が早いことが知られており、今回の解析に当たっても雌雄別に成長式を求めた。算出に用いた標本群の年齢別、雌雄別の状況を表 1 に示した。標本群の年齢は耳石による年齢査定で 0 歳から 13 歳までであったが、このうち漁獲の中心であり、個体数が 30 個体以上であった 4 歳までの雄 425 尾、雌 427 尾の全長データを用いて算出を行った。

ヒラメの全長を L (mm)、年齢を t とする関係式は以下のように算出された。

ヒラメ (雄)
 $Lt = 601.4 (1 - \exp^{-0.6894(t+0.5779)}) \dots 1$ 式

ヒラメ (雌)
 $Lt = 636.7 (1 - \exp^{-0.7459(t+0.4948)}) \dots 2$ 式

昭和 61 年の報告では、用いた尾数は雄個体が 3 歳までの 102 尾、雌個体が 5 歳までの 123 尾と少ないことから、以下のような式となっている。

ヒラメ (雄)
 $Lt = 551 (1 - \exp^{-0.43(t+0.86)}) \dots 3$ 式

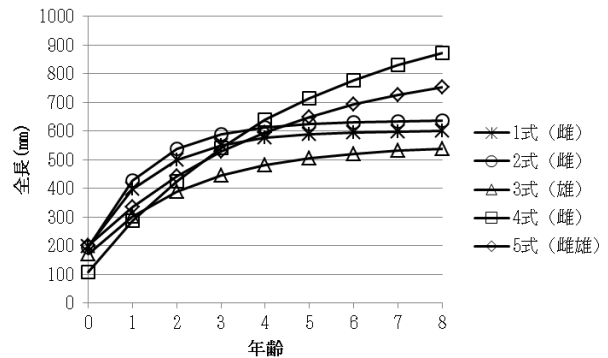


図 2 ヒラメの各成長式から得られた成長曲線

表 2 高齢ヒラメの全長の実測値と算出された推定値

年齢	性別	実測値	計算推定値		
		全長 (mm)	2式	4式	5式
13	雌	913.0	636.7	995.1	825.2

ヒラメ (雌)

$Lt = 1066 (1 - \exp^{-0.20(t+0.55)}) \dots 4$ 式

なお、成長に雌雄差が見られるヒラメについて、採取海域、時期、サイズ、個体数などのサンプリング方法に偏りがあったため、雌雄別に分けずに得られた年齢群すべてを用いて以下の成長式を作成した。

ヒラメ (雌雄)

$Lt = 859.4 (1 - \exp^{-0.2284(t+1.1170)}) \dots 5$ 式

これら成長式 1~5 を用いた成長曲線を図 2 に示した。

今回の漁獲群中、最高齢の個体は雌個体の 13 歳で全長 913mm、体重 11.4kg でこの個体が最大級であった。これを各式から算出される推定値と比較すると表 2 のようになった。本検討で得られた成長式のうち、2 式では用いた年齢群が 4 歳までであることから高齢魚になるに従い乖離が大きくなり、また 5 式でも過小に評価することが懸念される。また既報の 4 式では過大評価になると考えられた。このため高齢魚を含めた Age-length key の作成に当たっては 5 式を用いて行い、表 3 の Age-length key を作成した。

表3 ヒラメの Age-length key (高齢魚含む)

全長 mm	年齢							
	0	1	2	3	4	5	6	7≤
120	99.8%	0.2%						
140	99.9%	0.1%						
160	99.9%	0.1%						
180	99.9%	0.1%						
200	99.8%	0.2%						
220	99.3%	0.7%						
240	96.9%	3.0%	0.1%	0.1%				
260	81.0%	18.1%	0.5%	0.4%				
280	27.2%	68.3%	2.6%	1.8%	0.1%			
300	2.1%	89.6%	5.1%	3.0%	0.2%			
320	0.1%	88.4%	7.4%	3.9%	0.3%			
340		84.3%	10.3%	4.9%	0.4%	0.1%		
360		79.1%	13.9%	6.3%	0.5%	0.1%		
380		72.7%	18.4%	8.0%	0.8%	0.1%		
400		65.1%	23.5%	10.2%	1.1%	0.2%	0.1%	
420		56.5%	28.8%	12.7%	1.6%	0.2%	0.1%	
440		47.5%	34.0%	15.8%	2.3%	0.3%	0.1%	
460		38.5%	38.3%	19.2%	3.3%	0.4%	0.1%	
480		30.1%	41.4%	23.0%	4.7%	0.6%	0.2%	
500		22.6%	42.6%	27.0%	6.6%	0.9%	0.3%	
520		16.3%	41.8%	31.0%	9.0%	1.4%	0.4%	
540		11.3%	39.0%	34.9%	12.1%	2.1%	0.6%	0.1%
560		7.4%	34.4%	38.1%	16.0%	3.1%	0.9%	0.1%
580		4.6%	28.5%	40.2%	20.6%	4.5%	1.3%	0.2%
600		2.7%	22.1%	40.8%	25.6%	6.5%	1.9%	0.5%
620		1.5%	15.8%	39.4%	30.5%	9.2%	2.8%	0.9%
640		0.8%	10.4%	36.0%	34.5%	12.7%	4.0%	1.6%
660		0.4%	6.3%	30.9%	37.1%	16.9%	5.6%	2.7%
680		0.2%	3.5%	24.9%	37.6%	21.7%	7.7%	4.5%
700		0.1%	1.7%	18.7%	35.7%	26.7%	10.2%	6.9%
720			0.8%	13.1%	31.7%	31.3%	13.0%	10.1%
740				0.3%	8.5%	26.4%	35.0%	16.1%
760				0.1%	5.1%	20.5%	37.4%	19.1%
780					2.9%	14.9%	38.3%	22.1%
800					1.5%	10.3%	37.9%	24.9%
820					0.8%	6.8%	36.5%	27.6%
840					0.4%	4.3%	34.5%	30.3%
860					0.2%	2.6%	32.0%	33.1%
880					0.1%	1.5%	29.4%	36.2%

表4 ヒラメの Age-length key (高齢魚除く)

全長 mm	年齢				
	0	1	2	3	4≤
120	99.8%	0.2%			
140	99.9%	0.1%			
160	99.9%	0.1%			
180	99.9%	0.1%			
200	99.8%	0.2%			
220	99.3%	0.7%			
240	96.9%	3.0%	0.1%	0.1%	
260	81.0%	18.2%	0.5%	0.4%	
280	27.2%	68.3%	2.6%	1.8%	0.1%
300	2.1%	89.7%	5.1%	3.0%	0.2%
320	0.1%	88.4%	7.4%	3.9%	0.3%
340		84.4%	10.3%	4.9%	0.4%
360		79.2%	14.0%	6.3%	0.5%
380		72.8%	18.4%	8.0%	0.8%
400		65.2%	23.5%	10.2%	1.1%
420		56.7%	28.9%	12.8%	1.6%
440		47.7%	34.1%	15.8%	2.4%
460		38.8%	38.6%	19.3%	3.4%
480		30.4%	41.7%	23.2%	4.7%
500		22.9%	43.1%	27.3%	6.6%
520		16.6%	42.6%	31.6%	9.2%
540		11.6%	40.1%	35.9%	12.5%
560		7.8%	35.8%	39.7%	16.7%
580		4.9%	30.3%	42.8%	21.9%
600		3.0%	24.2%	44.7%	28.1%
620		1.7%	18.2%	45.2%	35.0%
640		0.9%	12.8%	44.0%	42.3%
660		0.5%	8.5%	41.4%	49.7%
680		0.2%	5.3%	37.7%	56.8%
700		0.1%	3.1%	33.3%	63.5%
720			1.7%	28.6%	69.6%
740			0.9%	24.1%	75.0%
760			0.5%	19.8%	79.7%
780			0.2%	16.0%	83.8%
800			0.1%	12.7%	87.1%
820				10.0%	90.0%
840				7.7%	92.2%
860				5.9%	94.1%
880				4.5%	95.5%

また、本県沿岸で漁獲されるヒラメは 2~3 歳群が中心であり、資源量の評価等を行うに当たっては4歳魚までのデータを用いて得られた1及び2式により求められた値より Age-length key を表4のように作成した。

より正確な成長式の算出や高齢魚を含む Age-length key の精度を上げていくため、高齢魚のデータが必要とされる。

表5 解析に用いたマダイの個体数、年齢、尾叉長及び体重

年齢	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10≤
個体数	169	566	322	106	43	24	23	7	11	6	17
尾叉長(mm)	167.7	223.8	291.9	346.0	402.4	458.8	505.5	572.4	579.8	591.7	645.9
標準偏差	19.1	37.0	34.4	39.6	61.3	73.6	84.3	63.1	68.2	36.7	58.0
体重(g)	110.6	263.8	370.2	893.5	1,392.6	1,966.0	2,610.3	3,658.6	3,767.7	3,757.5	4,921.2
標準偏差	38.6	136.5	218.4	299.4	564.4	933.2	1,220.3	1,313.1	1,277.1	783.8	1,277.8

マダイ

算出に用いた標本群の年齢別の尾叉長、体重の状況を表5に示した。

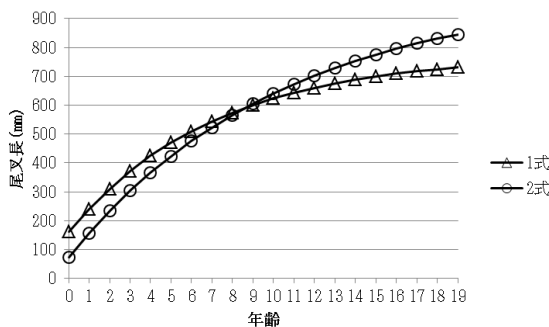


図3 マダイの各成長式から得られた成長曲線

これらからマダイの尾叉長を L (mm)、年齢を t とする関係式は、以下ようになった。

$$Lt = 774.1 (1 - \exp^{-0.1403(t+1.6643)}) \dots 1式$$

昭和62年の報告では、用いた尾数は13歳までの120尾であり、以下のような式となっている。

$$Lt = 994.6 (1 - \exp^{-0.0958(t+0.7985)}) \dots 2式$$

これら成長式 1~2 式を用いた成長曲線を図3に示した。

今回の漁獲群で尾叉長が最大個体は19歳で727mm、体重が6.4kgであった。これを各式から算出される推定値と比較すると表6のようになり、既報の2式では過大評価になると考えられた。

表 6 高齢マダイの尾叉長の実測値と算出された推定値

年齢	実測値		計算推定値		尾叉長 (mm)
	尾叉長 (mm)		1式		
			2式		
19	727.0		731.5		845.3

このため Age-length key の作成に当たっては 1 式を用いて行い、表 7 の Age-length key を作成した。

また、表 8 にマダイの Age-weight key を示した。このことにより、系群の資源評価の精度向上、市場調査による放流効果調査の効率化と精度向上が見込まれる。

ヒラメと同様、より正確な成長式の算出や高齢魚を含む Age-length key の精度を高めていくため、高齢魚のデータが必要とされる。

表 7 マダイの Age-length key

尾叉長 mm	年齢											
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10 _≦	
140	70.5%	29.5%										
150	73.4%	26.6%										
160	72.3%	27.7%										
170	66.8%	33.1%	0.1%									
180	56.0%	43.8%	0.2%									
190	39.7%	59.8%	0.5%									
200	21.7%	77.0%	1.2%									
210	8.7%	88.7%	2.6%									
220	2.6%	92.5%	4.8%	0.1%	0.0%							
230	0.6%	90.7%	8.4%	0.1%	0.1%							
240	0.1%	85.5%	14.0%	0.3%	0.1%							
250	77.1%	22.0%	0.6%	0.2%								
260	66.0%	32.5%	1.2%	0.2%								
270	53.0%	44.5%	2.1%	0.4%	0.1%							
280	39.6%	56.1%	3.6%	0.5%	0.1%							
290	27.7%	65.4%	5.8%	0.8%	0.1%	0.1%						
300	18.3%	71.3%	8.9%	1.2%	0.2%	0.1%						
310	11.5%	73.2%	13.2%	1.7%	0.3%	0.1%						
320	7.0%	71.2%	18.8%	2.4%	0.5%	0.2%						
330	4.0%	65.5%	25.9%	3.5%	0.7%	0.3%						
340	2.2%	56.8%	34.3%	5.1%	1.1%	0.5%						
350	1.1%	45.9%	43.3%	7.3%	1.6%	0.7%						
360	0.6%	34.3%	51.4%	10.2%	2.4%	1.1%						
370	0.2%	23.5%	57.2%	13.9%	3.5%	1.6%						
380	0.1%	14.7%	59.4%	18.4%	4.9%	2.4%				0.1%		
390		8.4%	57.6%	23.5%	6.9%	3.4%				0.1%		
400		4.4%	52.0%	29.1%	9.4%	4.8%	0.1%	0.2%				
410		2.1%	43.7%	34.7%	12.4%	6.6%	0.2%	0.3%				
420		0.9%	33.9%	39.7%	15.8%	8.9%	0.3%	0.5%				
430		0.4%	24.2%	43.3%	19.4%	11.4%	0.5%	0.8%				
440		0.1%	15.8%	45.0%	22.8%	14.2%	0.8%	1.2%				
450		9.5%	44.5%	25.9%	17.0%	1.2%	1.8%				0.1%	
460		5.2%	42.2%	28.3%	19.8%	1.7%	2.6%				0.1%	
470		2.7%	38.5%	30.0%	22.5%	2.4%	3.6%				0.2%	
480		1.3%	34.0%	31.1%	25.0%	3.3%	4.8%	0.1%	0.4%			
490		0.6%	29.1%	31.5%	27.2%	4.4%	6.3%	0.2%	0.6%			
500			0.2%	24.2%	31.1%	29.2%	5.6%	8.0%	0.5%	1.1%		
510			0.1%	19.4%	30.1%	30.6%	7.0%	9.9%	1.1%	1.7%		
520				15.1%	28.2%	31.4%	8.5%	11.9%	2.1%	2.7%		
530					11.3%	25.8%	31.5%	9.9%	13.8%	3.7%	4.0%	
540					8.1%	22.9%	30.7%	11.1%	15.6%	5.9%	5.7%	
550						5.6%	19.7%	29.3%	12.1%	17.0%	8.7%	7.7%
560						3.8%	16.5%	27.2%	12.7%	17.9%	11.8%	10.2%
570						2.4%	13.5%	24.9%	12.9%	18.5%	14.7%	13.0%
580						1.6%	10.9%	22.6%	12.9%	18.7%	17.2%	16.2%
590						1.0%	8.7%	20.4%	12.7%	18.8%	18.8%	19.7%
600						0.6%	7.0%	18.4%	12.3%	18.7%	19.3%	23.7%
610						0.4%	5.6%	16.7%	11.9%	18.5%	18.8%	28.1%
620						0.2%	4.5%	15.2%	11.5%	18.3%	17.3%	33.0%
630						0.1%	3.6%	13.9%	10.9%	18.1%	15.1%	38.3%
640						0.1%	2.8%	12.8%	10.3%	17.7%	12.4%	43.9%
650						2.2%	11.7%	9.7%	17.2%	9.6%	49.5%	
660						1.8%	10.7%	8.9%	16.7%	7.0%	54.9%	
670						1.4%	9.8%	8.2%	15.9%	4.8%	59.9%	
680						1.1%	9.0%	7.4%	15.2%	3.1%	64.3%	
690						0.8%	8.3%	6.6%	14.3%	1.9%	68.1%	
700						0.7%	7.6%	5.9%	13.5%	1.1%	71.3%	
710						0.5%	7.0%	5.2%	12.7%	0.6%	74.0%	
720						0.4%	6.6%	4.6%	11.9%	0.3%	76.2%	
730						0.3%	6.2%	4.0%	11.3%	0.1%	78.0%	
740						0.3%	5.9%	3.6%	10.7%	0.1%	79.5%	
750						0.2%	5.7%	3.1%	10.2%		80.7%	
760						0.2%	5.6%	2.8%	9.7%		81.7%	
770						0.1%	5.6%	2.5%	9.3%		82.5%	
780						0.1%	5.6%	2.2%	9.0%		83.1%	

表 8 マダイの Age-weight key

体重 (g)	標本数 (n)	年齢											
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10 _≦	
0-200	373	164	206	3									
		0.440	0.552	0.008									
200-400	355	5	297	52	1								
		0.014	0.837	0.146	0.003								
400-600	235		54	168	11	2							
			0.230	0.715	0.047	0.009							
600-800	113		6	72	32	3							
			0.053	0.637	0.283	0.027							
800-1,200	93		1	24	48	14	6						
			0.011	0.258	0.516	0.151	0.065						
1,200-1,600	25		2	1	11	9	2						
			0.024	0.012	0.133	0.108	0.024						
1,600-2,000	22			1	2	8	9	2					
				0.045	0.091	0.364	0.409	0.091					
2,000-3,000	32			1	1	7	4	9	3	4	2	1	
				0.031	0.031	0.219	0.125	0.281	0.094	0.125	0.063	0.031	
3,000-4,000	12						1	3	1	3	1	3	
							0.083	0.250	0.083	0.250	0.083	0.250	
4,000 _≦	29						2	4	3	4	3	13	
							0.069	0.138	0.103	0.138	0.103	0.448	

要 約

マダイ、ヒラメの資源量を正確に推定するためには、適切な年齢別漁獲尾数の算出方法が必要である。そこで、本県海域で作成されていなかったマダイ、ヒラメの Age-length key を作成した。また、市場調査によるマダイの放流効果調査の尾数を増加させ、効果算出の精度を高めるためにマダイの Age-weight key を作成した。

謝 辞

本研究をとりまとめるにあたり、貴重な助言をいただいた独立行政法人水産総合研究センター西海区水産研究所資源培養グループ鈴木健吾主任研究員に厚く御礼申し上げます。

なお、本研究の年齢組成の業務委託の一部は、水産庁委託事業「我が国周辺水域資源調査推進事業」により行った。

文 献

- 1)九州農政局統計部：第57次熊本県農林水産統計年報，熊本. 2011
- 2)水産庁増殖推進部・水産総合研究センター：我が国周辺海域の漁業資源評価，東京. 2011
- 3)熊本県：昭和61年度熊本県水産試験場事業報告書, 熊本. 1988;59-60.
- 4)熊本県：熊本県水産試験場研究報告第5号, 熊本. 1988;7-12.
- 5)九州西ブロック熊本県.：熊本県広域資源管理推進指針，熊本. 1992;19-30. 46-52.

熊本県八代海におけるシラス漁業の春漁の漁獲量 及び漁獲時期の予測

木村 修、大塚 徹

The Study of Fish catches of the Whitebait *Engraulis japonica* in the Yatsushiro sea, Kumamoto Prefecture
Osamu Kimura and Toru Otsuka

キーワード：八代海、カタクチイワシ、シラス、機船船びき網

熊本県八代海では、シラス(主にカタクチイワシの仔稚魚)を漁獲対象に機船船びき網漁業が行われている。この漁法は2隻の船で網を曳く漁法で、網船2隻、魚探船1隻、運搬船1隻の4隻が1カ統として構成されており、1回の漁の曳網面積も膨大である。このため50統あまりが許可され、漁場は八代海の中部沿岸域における各地先の共同漁業権漁場内に限られている。操業は周年行われるが、全長3cm程度までのシラス及び全長5cm程度までのカエリを漁獲する春の操業が主体であり、夏季から冬季の漁獲は少ない。経営体によっては、加工場を所有するものもあり、当該地域の、重要な水産業となっている。

近年の機船船びき網漁業におけるシラスの漁獲量は、農林水産業統計調査によると、図1のように1999年と2000年に2,500トン以上を記録したが、概ね1,000トン前後で推移している。

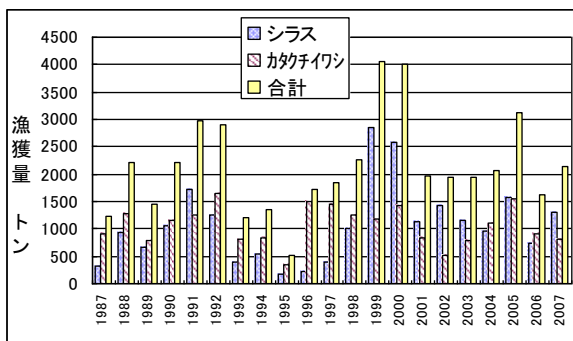


図1 機船船びき網漁業の漁獲状況(農林水産業統計)

この機船船びき網でのシラス漁業については、大塚らが漁獲物に関する調査の報告¹⁾や漁獲されるシラスの八代海における動態²⁾について報告しており、その中で混獲物がシラスの商品価値を落とすことや他魚種の資源に与える影響の懸念から、資源管理型漁業の推進のため、環境要因等のデータ等から年間漁

獲量の予測を行う必要性を述べている。

このため、本研究では、年間のシラス漁獲量の推定に向けて、気象や水温といった環境及び当水産研究センターが行なった仔稚魚調査におけるカタクチイワシ仔稚魚採取量と漁獲量との関係について検討した。

方 法

(1) 年間漁獲量と気象及び海洋環境との関係

分析は、1987年から2007年までの20年間のデータを用いた。漁獲量は農林統計の機船船びき網漁獲における年間のシラス漁獲量を、気象及び海洋環境は永井らの報告³⁾を参考に気象庁の八代市における気温、降水量、日照時間を、八代海の水温、塩分は水産研究センターが毎月1回行っている八代海内湾調査の定点21~Mまでの15定点の水深10mの観測値の平均値を用いた。なお本調査で10mが欠測の場合は5mの値を用いた。

気象の観測地点である八代市と、八代海内湾調査の調査定点を図2に示した。

分析方法は、機船船びき網漁業の年間のシラスの漁獲量を目的変数とし、説明変数は、気象については1月から6月までの各月の平均気温・降水量・日照時間を、海洋環境については1月から3月までの水温・塩分を用いて重回帰分析を行った。また、重回帰分析を行う前に、目的変数と説明変数の全てについて相関を求め、説明変数の選択を行った。また説明変数相互間で強い相関があると、個々の回帰式の単相関係数の符号(+、-)と偏回帰係数の符号と合わない、偏回帰係数の値が大きく変動する、寄与率は高いが個々の偏回帰係数が統計的に有意でない、といった多重共線性という現象が現れる⁴⁾。このため説明

変数間で相関係数を算出し、説明変数間の相関係数が有意でない（有意差5%未満）組み合わせを選択した。なお、分析にはマイクロソフト社のエクセルを使用した。

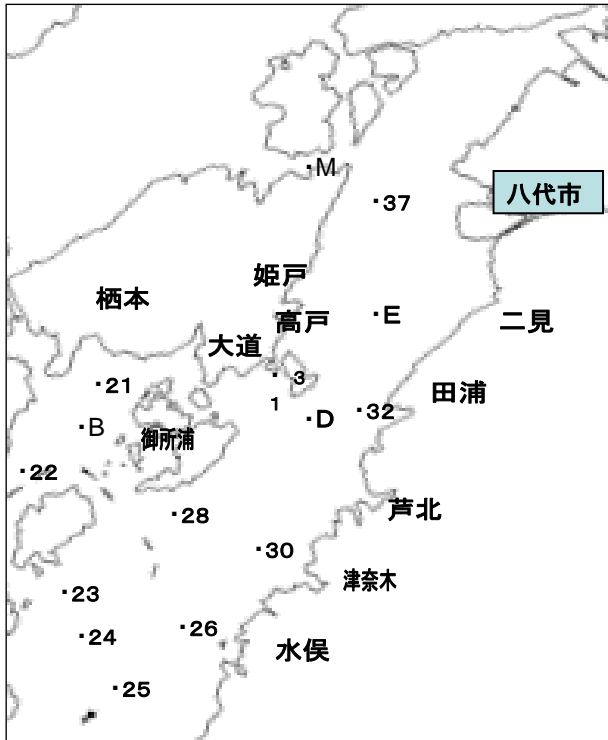


図2 気象観測及び八代海定線調査の定点

(2) 年間漁獲量と仔稚魚調査におけるカタクチイワシ仔稚魚数との関係

年間漁獲量の分析には2000年から2007年までの8年間の農林水産統計値を用いた。水産研究センターが行った仔稚魚調査は、口径1.3m・側長4.5m・目合い335 μ mの稚魚ネットを2ノット5分間、水平で表層及び中底層別に曳網するもので、調査定点は図3に示すように、有明海9定点、八代海7定点(2007年のみ8定点)、天草西海4定点で、月1回実施している。

分析方法は、目的変数について、年間のシラス漁獲量を用い、説明変数は3海域におけ

る3月と4月の表層と中底層のカタクチイワシ仔稚魚採取数の合計を調査定点数で除した平均値を用い、(1)と同様の方法で分析を行った。また、(1)で、有意であった気象についても説明変数に加味した。

(3) 春漁の漁獲開始日、漁獲終了日と気象との関係

漁獲開始日及び漁獲終了日は、2003年から2009年までの7年間の各地先毎の機船船びき網の操業隻数の記録から、3月以降で複数隻の操業が確認された日を漁獲開始日とし、6月以降で複数隻の操業が最後に行われた日を漁獲終了日とした。気象は(1)と同じ気温・降水量・日照時間を用いた。

分析方法は目的変数を、各年の4月1日から漁獲開始日まで、及び漁獲終了日までの経過日数とし、説明変数を1月から6月までの気象環境として、先述した(1)と同様の方法で分析した。

結 果

(1) 年間漁獲量と気象及び海洋環境との関係

シラス漁獲量と1月から6月までの気象及び海洋環境との相関を見ると、表1に示すように、シラス漁獲量と気温、日照時間及び降水量といった気象または、水温、塩分といった海洋環境との相関が、各々単独の観測項目では5%水準で有意なものはない。

(2) 年間漁獲量と仔稚魚調査におけるカタクチイワシ仔稚魚数との関係

分析に用いたカタクチイワシ仔稚魚調査結果、気象、海象及びシラス漁獲量について表2-1~4に示した。

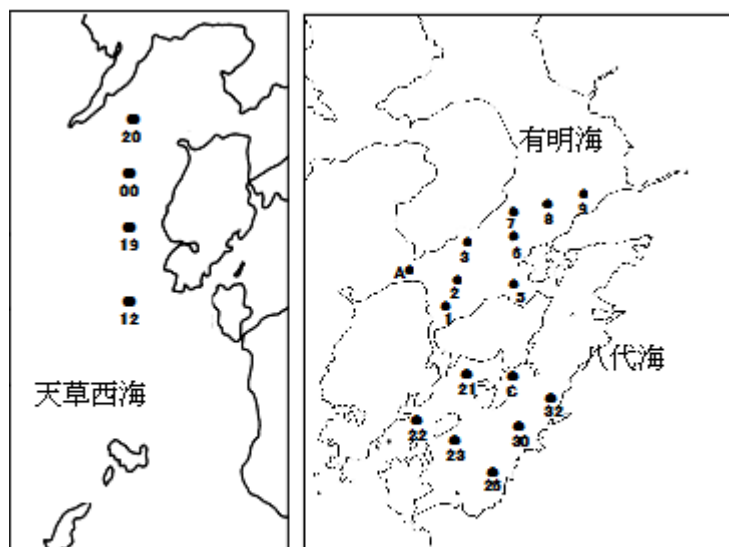


図3 仔稚魚調査定点図

表1 シラス漁獲量と気象及び海洋環境との相関

環境項目	1月 気温	2月 気温	3月 気温	4月 気温	5月 気温	6月 気温	1月 日照時間	2月 日照時間	3月 日照時間	4月 日照時間	5月 日照時間	6月 日照時間
相関係数	0.04	-0.22	0.33	0.19	0.07	0.20	-0.03	0.11	-0.05	0.00	0.32	-0.21

環境項目	1月 降水量	2月 降水量	3月 降水量	4月 降水量	5月 降水量	6月 降水量
相関係数	-0.18	-0.06	0.03	-0.20	-0.03	0.17

環境項目	1月 水温	1月 塩分	2月 水温	2月 塩分	3月 水温	3月 塩分
相関係数	0.34	-0.31	0.11	-0.25	0.16	0.01

表2-1 解析に用いたカタクチイワシ仔稚魚調査の採取数(2ノットで5分間曳網)

年/調査月・海域	3月			4月		
	有明海	八代海	天草西海	有明海	八代海	天草西海
2000	88.7	60.3	654.8	3.1	15.0	8.0
2001	0.9	3.9	7.8	0.8	1.6	4.0
2002	0.0	0.1	0.3	0.4	0.3	5.3
2003	0.0	0.4	53.8	0.7	14.4	586.5
2004	0.1	0.4	20.5	115.2	51.3	1441.0
2005	34.3	5.9	105.3	434.6	74.3	162.5
2006	3.4	19.4	65.5	13.7	19.3	1838.0
2007	0.0	1.7	59.3	231.9	26.8	38.0

表 2-2 解析に用いた水温 (°C)・塩分 (PSU)

年/調査月	1月		2月		3月	
	水温	塩分	水温	塩分	水温	塩分
2000	14.93	33.54	12.59	33.65	13.64	34.00
2001	13.46	33.5	12.87	33.52	14.34	33.49
2002	14.01	33.53	12.84	33.64	14.09	33.65
2003	13.4	33.69	12.15	33.54	12.72	33.57
2004	13.76	33.63	12.61	33.76	13.93	33.74
2005	14.53	33.43	12.4	33.45	12.31	34.11
2006	12.91	33.76	12.76	33.76	13.75	33.55
2007	14.31	33.5	13.38	33.22	15.09	33.71

表 2-3 解析に用いた日照時間 (hr)、降水量 (mm)

年/調査月	1月		2月		3月	
	日照時間	降水量	日照時間	降水量	日照時間	降水量
2000	104.5	75	151.1	48	193.7	106
2001	103.1	92	107	108	150.1	70
2002	82.2	64	167.7	77	191.5	88
2003	112.5	60	132.2	59	169.6	132
2004	144.3	44	150.9	91	162.8	131
2005	83.6	66	92	105	156.9	92
2006	125.1	78	105.4	101	179	95
2007	109.9	44	147.6	126	201.7	106

表 2-4 解析に用いたシラス漁獲量 (t)

年	漁獲量
2000	2,594
2001	1,139
2002	1,426
2003	1,163
2004	964
2005	1,581
2006	728
2007	1,312

有明海、八代海、天草西海の3月と4月のカタクチイワシ仔稚魚の採取数、1月から3月の八代海の水温、塩分、八代市の気温、降水量、日照時間と機船船びき網の年間のシラス漁獲量との相関係数を表3に示した。

シラス漁獲量は、3月の3海域のカタクチイワシ仔稚魚採取数、1月水温、3月塩分、2月気温との、相関が高かった。

シラス漁獲量とこの6項目について、総当たりで組み合わせを行い、使用した説明変数の全てが、5%水準で有意である組み合わせを調べた。

3月の有明海、八代海、天草西海の採取数は相互に相関があり、同時に使用すると何れかが有意でなくなるため同時には使わなかった。

この6種の説明変数の組み合わせで、回帰分析を行い、それぞれの回帰式の中で、各説

明変数が有意かどうかを調べ、表4にその結果を示した。回帰式そのものが有意である組み合わせは8種類となったが、説明変数の全てが有意になる組み合わせはグループ1の3月天草西海の採取数と1月水温、グループ2の3月八代海の採取数と1月水温の2グループであった。このうち相関係数が高いグループ1の説明変数で以下の相関式を作成した。

Y: 機船船びき網漁業で漁獲されるシラスの年間漁獲量

X1: 3月の天草西海でのカタクチイワシ仔稚魚調査採取数

X2: 1月の水温

$Y=1.437 X1+433.5 X2-4842$ (重相関係数: 0.968、有意F: 0.00099)となった。

表3 シラス漁獲量とカタクチイワシ仔稚魚採集数・海洋環境・気象との相関

仔稚魚採集数	3月有明海	3月八代海	3月天草西海	4月有明海	4月八代海	4月天草西海
相関係数	0.91	0.76	0.89	0.05	-0.03	-0.63

海洋環境	1月水温	1月塩分	2月水温	2月塩分	3月水温	3月塩分
相関係数	0.87	-0.50	-0.11	-0.12	-0.14	0.70

気象	1月気温	2月気温	3月気温	1月日照時間	2月日照時間	3月日照時間	1月降水量	2月降水量	3月降水量
相関係数	0.40	-0.75	-0.15	-0.45	0.29	0.37	0.13	-0.54	-0.05

表4 説明変数の組み合わせによる回帰分析結果

グループ1			グループ2			グループ3		
説明変数	有意	重相関係数	説明変数	有意	重相関係数	説明変数	有意	重相関係数
3月天草西海仔稚魚採集数	○	0.968	3月八代海仔稚魚採集数	○	0.959	3月天草西海仔稚魚採集数	○	0.974
1月水温	○		1月水温	○		1月水温	○	
					3月塩分	×		

グループ4			グループ5			グループ6		
説明変数	有意	重相関係数	説明変数	有意	重相関係数	説明変数	有意	重相関係数
3月天草西海仔稚魚採集数	×	0.977	3月八代海仔稚魚採集数	×	0.969	3月有明海仔稚魚採集数	○	0.961
1月水温	○		1月水温	○		1月水温	×	
2月気温	×		2月気温	×				

グループ7			グループ8		
説明変数	有意	重相関係数	説明変数	有意	重相関係数
1月水温	×	0.872	1月水温	○	0.941
3月塩分	×		2月気温	×	

この結果、3月の天草西海のカタクチイワシ仔稚魚の採取数が多く、1月の水温が高いほどその年のシラスの漁獲量が多い結果となった。算定した予測値と実数のグラフを図4に示す。

本報告における分析は2000年から2007年までの値を用いて行ったが、得られた相関式を用いて2008年及び2009年の漁獲量算定値を算出したところ、2008年の算定値が1,706t、農林水産統計における漁獲量は1,841t、2009年の算定値が1,595t、漁獲量は1,395tと、ほぼ同程度の値となった。

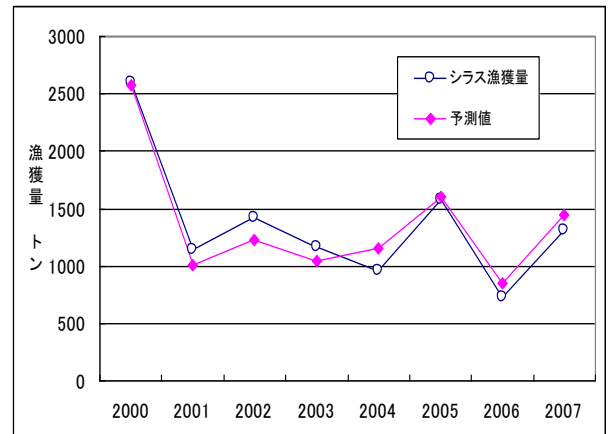


図4 関係式における算定値と実数

(3) 春漁の漁獲開始日、漁獲終了日と気象との関係

操業状況の観察結果から判断した漁獲開始日と春漁の終了日を表5に示した。漁獲開始日の操業は、御所浦や水俣、終了日は大道や姫戸で確認されることが多かった。

八代市の2003年から2009年までの1月から6月までの平均気温、日照時間、降水量と漁獲開始日(4月1日からの経過日数)、漁獲終了日(4月1日からの経過日数)との関係について分析した結果を表6に示した。

表5 2003年から2009年のシラス春漁の開始日及び終了日の4月1日からの経過日数

	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009
開始日	5月29日	5月20日	4月2日	4月12日	4月4日	4月11日	5月5日
経過日数	60	51	2	12	4	11	36

終了日	6月20日	6月5日	6月29日	6月12日	6月17日	6月18日	7月17日
経過日数	81	66	90	73	78	79	108

表6 漁獲開始日と終了日の気象との相関

項目	気温						日照時間					
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
開始日	-0.65	0.34	0.06	0.69	0.67	-0.11	0.49	0.35	-0.45	0.01	-0.45	0.36
有意(F)	0.1139			0.0856	0.1015							
終了日	0.06	0.28	0.18	0.03	-0.47	-0.11	-0.71	-0.21	-0.58	0.34	0.67	0.35
有意(F)							0.0715		0.1717		0.0981	

項目	降水量					
	1	2	3	4	5	6
開始日	-0.28	-0.27	0.90	0.64	-0.03	-0.30
有意(F)			0.0052	0.1244		
終了日	0.02	0.63	0.19	-0.19	-0.79	-0.16
有意(F)		0.1325			0.0356	

1) 漁獲開始日

漁獲開始日は、1月、4月、5月の気温、3月、4月の降水量が、相関係数が0.5以上であったが、有意Fが危険率5%水準を下回ったのは3月の降水量のみであった。漁獲開始日と3月の降水量の相関式は以下のとおりとなった。

$$Y_1 : \text{漁獲開始日}$$

$$X_1 : \text{3月降水量}$$

$$Y_1 = 1.10 X_1 - 98$$

(相関係数R : 0.904 有意F : 0.0052)

この結果、3月の降水量が少ないほど早く漁獲が開始される傾向があることがわかった。

2) 漁獲終了日

漁獲終了日は、1月、3月、5月の日照時間、2月、5月の降水量が相関係数が0.5以上であったが、有意Fが危険率5%水準を下回ったのは5月降水量のみであった。漁獲終了日と5月の降水量の相関式は以下のとおりとなった。

$$Y_2 : \text{漁獲終了日}$$

$$X_2 : \text{5月降水量}$$

$$Y_2 = -0.1 X_2 + 103$$

(相関係数R : 0.787 有意F : 0.0356)

この結果、5月の降水量が多いほど早く

漁期が終わる予測となった。

考 察

年間のシラス漁獲量の予測について1月から6月までの気象及び海洋環境との相関を見ると、気温、日照時間及び降水量といった気象または、水温、塩分といった海洋環境との相関が、各々単独の観測項目では有意なものではなかった。これは気象・海洋データが20年余と少ないこと、観測点が八代海内部であり、シラスは湾口の外側で産卵ふ化した個体が八代海に移動して漁獲されること等から、環境要因としては外海域の影響が強いことが要因として推察された。また、霍田⁵⁾が述べているようにカタクチイワシは他の多獲性魚と比べて資源の安定性が高いこと、産卵期間が長いことが要因と推察される。

年間漁獲量、カタクチイワシ浮游期仔稚魚調査における採取数、海洋環境及び気象の関係においては、3月の有明海の採取数と年間漁獲量との相関が最も高かった。また、採取数も天草西海、有明海、八代海の順に多く、八代海でのシラスの漁獲資源は、他の海域からの加入による部分が多いことが示唆され、その中でも、漁獲量との相関が最も高かったのは3月の天草西海のカタクチイワシ仔稚

魚調査採取数と1月の水温の組み合わせであった。これは、八代海のシラス資源は、天草西海からの加入によるところが大きいことを示唆していると考えられ、これらの結果は大塚らの報告を支持することとなった。また、1月の水温が高いと漁獲量が多い結果となったが、これは1月は、産卵直前であり、水温が高いと成熟が促進され、産卵数が増加するなど資源量の増加にプラスに作用すると推察された。

気象予報から漁獲開始日の予測を検討したところ、漁獲開始日は、3月の降水量が多いほど遅くなり、終了日は、5月の降水量が多いほど早くなる傾向が見られた。この要因として、漁獲が開始される3月は産卵開始時期であり、中田ら⁶⁾によるとカタクチイワシの卵は、発生中期に表面へ浮上し、発生が進むと再び沈降するとしていることから、3月の降雨による表層水の低塩分化がその後の卵の発生にマイナスに影響し、漁獲開始の遅れに繋がるのではないかと推察される。

また、漁獲終了は通常6月であり、魚体が大きくなりすぎて商品価値が低下することや混獲物が多くなることで、終漁を迎えることになる。5月の降水量が多いと陸域からの栄養塩が多く供給され、動植物プランクトンの増加が促され、カタクチイワシの生長が促進されることから魚体の大型化が早まり、終漁が早くなると推察される。

要 約

気象、海洋環境、カタクチイワシ仔稚魚の採取数からシラス及びカタクチイワシの漁獲量との関係を調べたが、3月のカタクチイワシ仔稚魚の採取数、1月の水温、2月の気温、3月の塩分などが相関が高かった。

参考文献

- 1) 大塚 徹・村上清典、熊本県八代海における船びき網漁業の漁獲物に関する調査、熊本県水産研究センター研究報告第7号、2007、1-4
- 2) 大塚 徹・村上清典、熊本県八代海におけるシラス漁業とカタクチイワシ仔稚魚の動態、熊本県水産研究センター研究報告第7号、2007、5-23
- 3) 永井 達樹・桧垣 鋭弘・橋本 博明・石岡 清秀、重回帰分析雨による瀬戸内海産カタクチイワシの漁獲量予測、南西水研研報、1993、NO.26、9-19
- 4) 内田 治、すぐわかる EXCEL による多変量解析 東京図書株式会社、2001、92-99
- 5) 霍田 義成、カタクチイワシの成熟・産卵と再生産力の調節に関する研究、水工研研報、1992、13、129-130
- 6) 中田 尚宏・今井 千文、神奈川県城ヶ島沖における魚卵・仔魚の垂直分布について、神水誌研報 1981、第3号 19-28

有明海における *Chattonella* 赤潮の日周鉛直移動が クルマエビに与える影響

荒木希世, 松岡貴浩, 森下貴文, 川崎信司

Impacts of Diel Vertical migration of *Chattonella antiqua* (Raphidophyceae)
on the Benthic Crustacean (*Penaeus japonicus*) in Ariake Bay

Kiyo Araki, Takahiro Matuoka, Takahumi Morishita and Shinji Kawasaki

キーワード: 有明海、*Chattonella*、赤潮、日周鉛直移動、クルマエビ

有明海においては、ノリ養殖に被害を与える珪藻類による赤潮発生に加え、近年、*Chattonella antiqua* (Raphidophyceae)などの有害プランクトンによる赤潮が多く発生している¹⁾。*Chattonella*赤潮による魚類養殖への被害は甚大で、八代海における*Chattonella*赤潮による1990~2010年までの被害累計額は約46億円にも及ぶ^{1,2)}

一方、魚類養殖が行われていない海域や天然資源への*Chattonella*赤潮の影響については、未だ十分に把握されていないのが現状である。

*Chattonella antiqua*は、室内実験において、夜間は底層に移動して窒素やリンなどを効率的に取り込む日周鉛直移動という生態特性を持つことが明らかにされている^{7,8)}が、その生態的意義については多く論議されている^{3,4,5,6)}

そこで、本研究においては、近年*Chattonella*赤潮が頻発する有明海において、赤潮発生期における本種の日周鉛直移動を観測するとともに、有明海における重要な漁業種類である底生性甲殻類のクルマエビに着目し、その漁獲や操業状況を把握することで*Chattonella*赤潮による天然資源への影響の程度を検討することとした。

方法

***Chattonella*の日周鉛直移動** *Chattonella*の日周鉛直移動の調査は、2010年6月21日から8月24日にかけて有明海全域で発生した*Chattonella*赤潮を対象に、観測地点★(水深18m)において(図1)、2010年7月15日午後5時40分(日没前)から翌日7月16日午前7時(日出後)にかけて停泊した船上で60分毎に行った。試水の採取は、バンドーン型採水器(株式会社離合社製)で表層、

水深2m、5m、10m及び海底上1mの5水深で採水し、船上で光学顕微鏡により直ちに*C. antiqua*の細胞数を計数した。また、試水はクーラーボックスで保管し、観測終了後に持ち帰り、Whatman GF/Cガラス繊維ろ紙1.2 μ m(GEヘルスケア・ジャパン株式会社製)でろ過後、オートアナライザー((株)ビーエルテック株式会社 Traccs2000)でDIN、P04-P、SiO₂-Siの分析を行った。水温及び塩分は、多項目水質計(JFEアドバンテック株式会社製 AAQ1183-H)を用いて、また、潮流は、調査船ひのくにに搭載する潮流計(FURUNO CI-35)により観測を行った。なお、調査期間中は、中潮に相当した。

クルマエビの操業状況 熊本有明海域(熊本県荒尾市~宇土市)においてクルマエビ漁を行う「げんしき網」操業漁船を対象に、クルマエビの漁獲状況を把握するため、年間全ての漁について操業日・漁獲量等の記録を行った。また、大潮を挟む13~15日間を1漁期とし、調査海域が網羅できるように任意に抽出した標本船ごとに1~2回

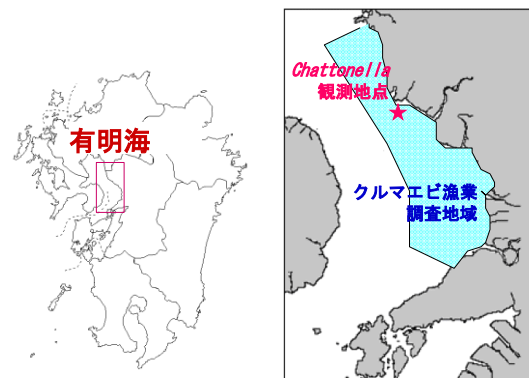


図1 観測地点

標本船／漁期の頻度で総漁獲尾数を計数し、個体ごとの体長・体重を測定した。また、調査期間中の漁期ごとの操業隻数を把握し、漁期ごとの漁獲量やCPUE (kg/day/隻) を算出した。

なお、*Chattonella* 赤潮期間中に通常の漁を停止したため、熊本市地区の漁業者に別途試験操業を依頼することでデータの補完を行った。

調査結果

Chattonella の日周鉛直移動

1, *Chattonella* の鉛直分布

調査期間中に観測された赤潮プランクトンは *C. antiqua* で、ほぼ単一種から構成されていた。

調査開始時（日没前）に水深2m層 (627cells/ml) にあった最高細胞数の層は、日没以降は水深5m付近へと移動し、午前4時には5m層で観測期間中最大細胞数1,178cells/mlが確認された。また、午前2時から4時にかけては、海底直上層（水深19m）においても赤潮警報レベルに相当する15cells/mlを確認した。一方、日出後は、海面

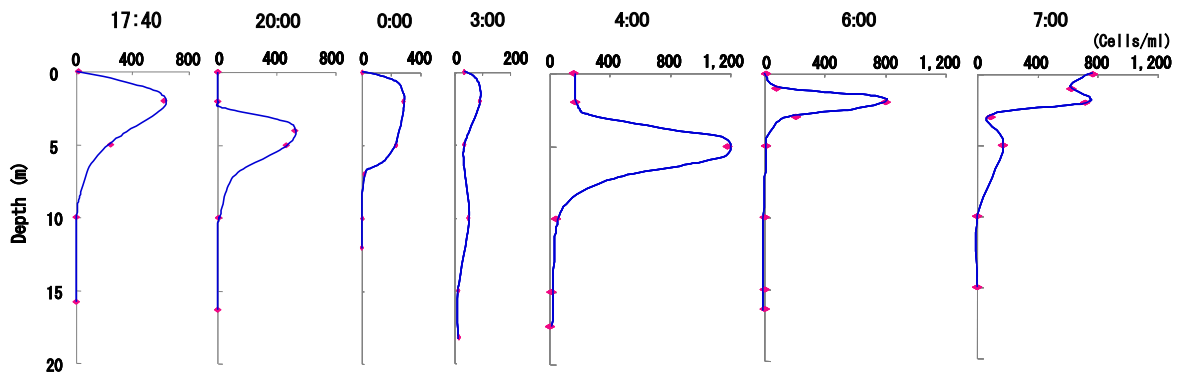


図2 *C. antiqua* の鉛直分布の推移

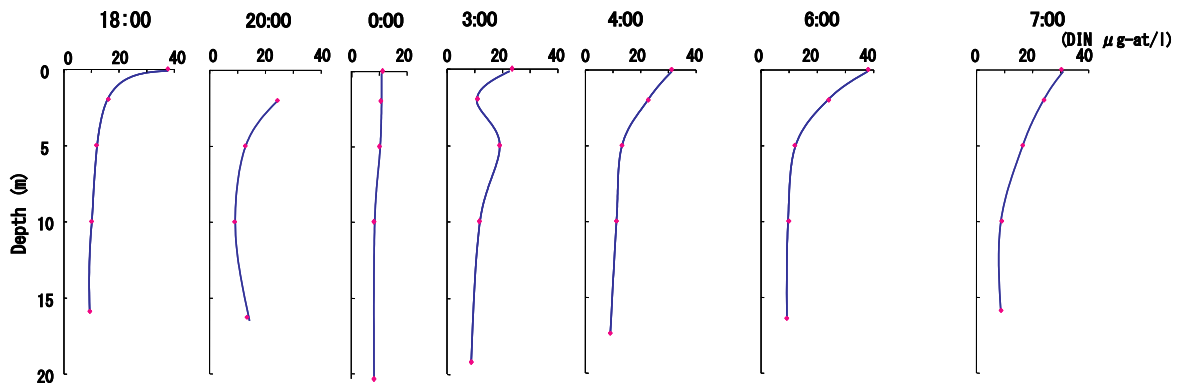


図5 DINの鉛直分布の推移

付近に最大細胞数の層は上昇し、午前7時には、表層0mで最大細胞数770cells/mlであった(図2)。

2, 海洋環境

水温は、0m層 24.4~25.5°C、5m層 22.9~24.6°C、15m層 22.5~22.8°Cの範囲を推移し、各層における水温の大きな変化は認められなかった(図3)。

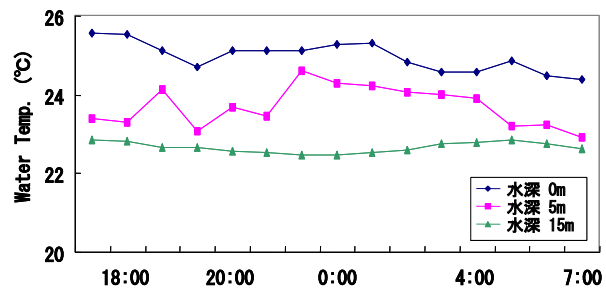


図3 水温の推移

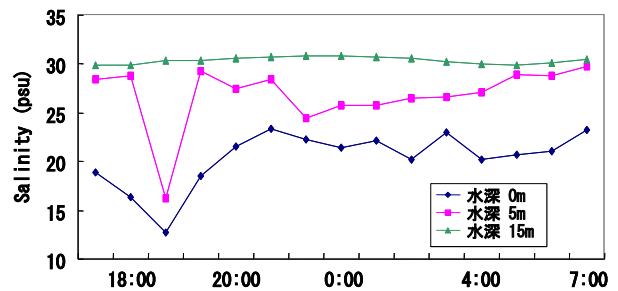


図4 塩分の推移

塩分は、17時40分から21時にかけて塩分の低下がみられ、19時には0m層で12.6psu、5m層で16.2にまで低下した。その後の各水深毎の塩分の

急激な変化はなく、0m層は21~23psu、5m層は26~29psu、15m層は30~31psuの範囲を変動した(図4)。

DINは、調査時間を通して表層から底層まで8 μ g-at/L以上であった。特に表層では、18時及び4時から8時にかけて30 μ g-at/L以上の高い値が確認された(図5)。

潮流は、上げ潮時には水深2m層において北西から北北西方向に最大1.5kt、10m層においては23時に南東から北西方向に転じ、最大流速1.1ktであった。満潮時刻にあたる午前0時には流速は2m層、10m層ともに最小の0.3ktとなった。満潮時刻を過ぎると水深2m層と10m層ともに南東から南南東方向の下げ潮に転じ、2m層と10m層ともに4時に最大となり、それぞれ1.7kt、1.6ktであった。調査期間中の潮流は、水深2m層で、上げ潮時に最大約77cm/s、下げ潮時に最大約93cm/sであった。

クルマエビの操業状況

1. クルマエビの旬別の漁獲量とCPUEの推移

熊本県有明海域(荒尾~宇土市地先)における旬別の漁獲量及びCPUEの推移を図7に示した。5月前期から漁獲が始まり、6月後期にかけて漁獲量・CPUEともに上昇したもののその後減少に転じた。8月以降は、漁獲量も約0.6t/潮以上、CPUEも2.6kg/day/隻以上の水準となり、11月後期に漁期は終了した。

なお、漁獲が落ち込んだ6月後期から8月前期にかけては、熊本有明海の全域において*Chattonella*赤潮の警報が発令された期間に相当し、クルマエビの操業場所及び水深帯(主漁場は水深2~8m)は、赤潮発生海域と一致していた。

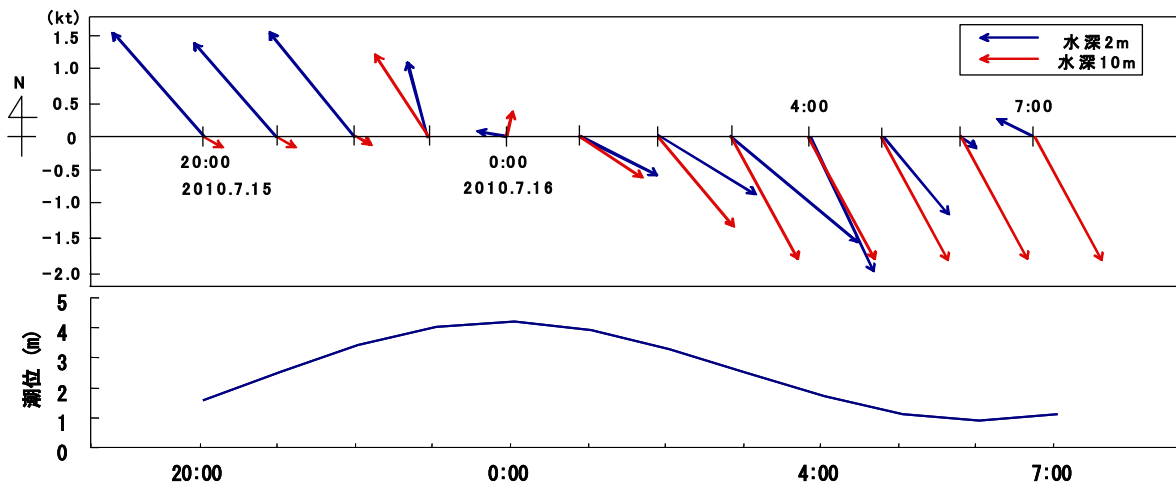


図6 潮流と潮汐の推移

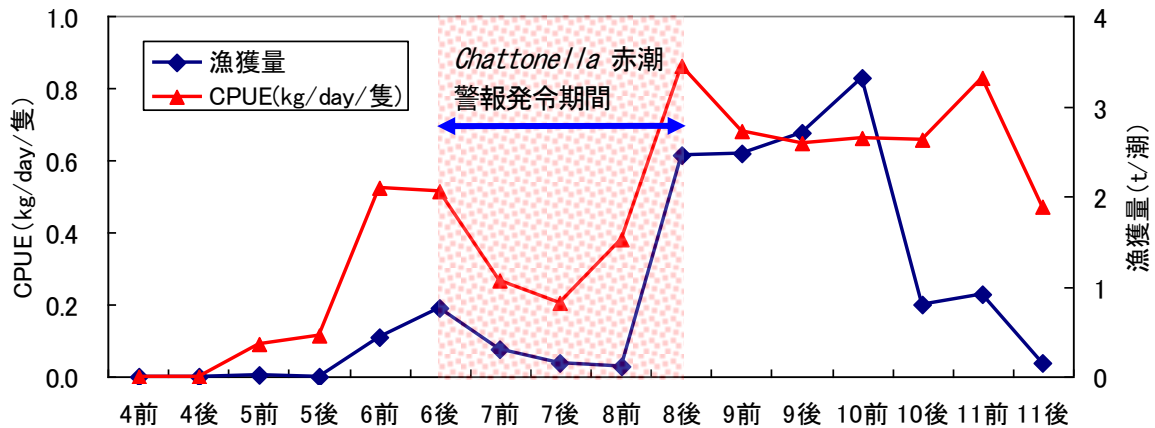


図7 熊本県有明海域における旬別の漁獲量とCPUEの推移

2. クルマエビの日別漁獲量の推移

赤潮発生期間中は、網汚れを避けるために出漁を控える漁船も多いため、漁獲量の減少が出漁隻数の減少によるものかどうか確認するため、標本船が出漁しない日に操業を依頼して通常通りの操業を行う試験操業を実施した(図8)。その結果、漁獲量はほぼゼロの状態が続き、図7と同様の結果であった。

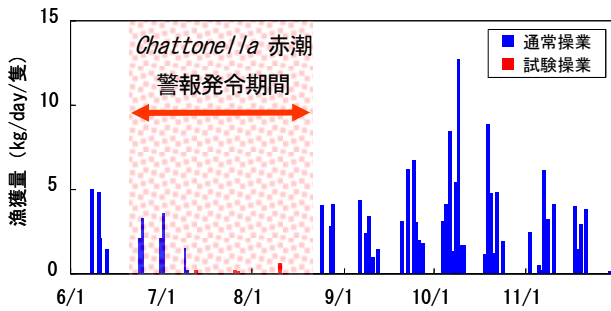


図8 クルマエビ標本船の日別漁獲量の推移

考察

Chattonellaの日周鉛直移動

これまで、*Chattonella* の日周鉛直移動に関しては、*Chattonella* 自身が、水深7m付近まで能動的に移動することが可能であり、有明海湾奥部において、夜間に底層で濃密域を形成したとの報告もある。^{10,11)} また、メゾコズム実験では、水深7.5mまで鉛直移動することが確認されている。⁸⁾ 現場海域では、潮流などの影響もあると考えられるが、有明海の熊本県海域においては、*C. antiqua* が水深19mの海底直上層まで到達していることが確認された。また、降雨と河川からの淡水の流入とみられる期間を除いては、調査地点の流速は速いものの(図6)、水温、塩分とも表層と下層では差があり(図3、4)、表層域の海水が潮流や攪拌等

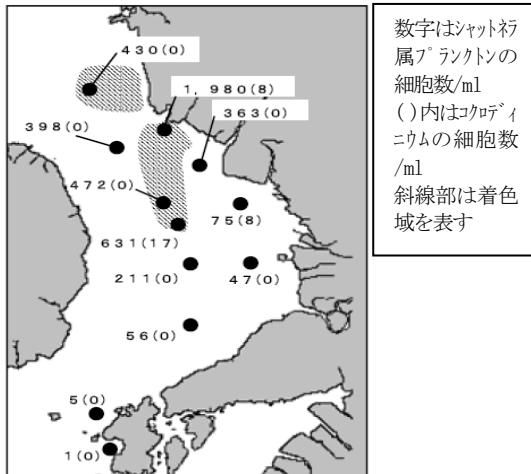


図9 日中の*Chattonella*赤潮の分布状況⁹⁾
(2010年7月16日 午前中観測)

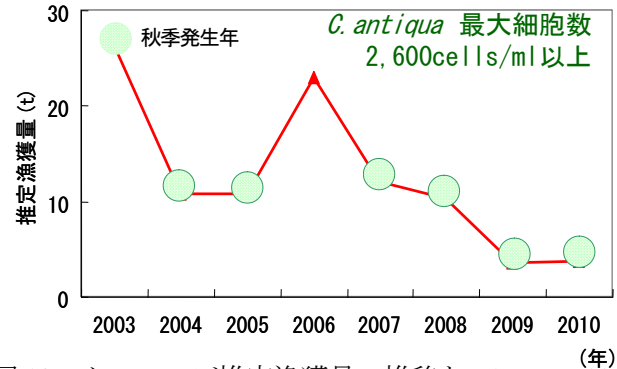


図10 クルマエビ推定漁獲量の推移と*Chattonella*赤潮発生との関係

により底層へ入り込んでいたとは考えられない。したがって、今回確認された*Chattonella*の鉛直移動は、本種の能動的移動により沈降・浮上したと推察される。

室内実験においては、日周鉛直移動を行い、夜間は底層に移動して窒素やリンなどを効率的に取り込む生態特性を持つことが知られているが⁹⁾、今回の観測においては、降雨(7月9日~19日)の影響を受けて、当該海域には*Chattonella*の増殖に必要な栄養塩が表層から底層まで十分に供給されていた状況でありながらも(図5)、夜間における*Chattonella*の底層への能動的移動が確認された。日周鉛直移動は、微細藻類の生態を考える上で重要な生物現象であるが、近年、室内実験により日周鉛直移動リズムが光環境との関係、つまり、鉛直移動が明暗周期に同調して特定の波長の光下のみで起こる波長依存的な減少であることも解明されつつあり、¹²⁾ 本種の特異的な生態については、更なる研究が期待される。

Chattonella赤潮の発生とクルマエビ漁獲との関連性

2010年7月5日から7月21日にかけて、熊本有明海全域において*Chattonella*が増殖して赤潮化し、最高細胞数は13,800cells/mlに達した(図9)。この赤潮発生期間と、クルマエビの漁獲量及びCPUEの減少時期とは一致していた(図7、8)。また、併せて実施した試験操業の結果からも、6月後半から8月後半にかけての漁獲量の減少は、単なる出漁隻数の減少によるものでなく、漁獲対象となるクルマエビの漁場内での生息量が低いことに起因していたものと推察された。

日没以降に底層へと移動した*C. antiqua*の濃密域は、水深19mにおいても15cells/mlに達しており、夜間に形成された最大細胞数の層は水深5m付近で、クルマエビの主漁場水深である2~7m

と一致していた。

クルマエビ漁業と2010年に発生した*Chattonella*赤潮との関係を見ると、6月後半から8月後半にかけて漁獲量の落ち込みが見られ、CPUEは0.2~0.9kg/day/隻にまで減少した。クルマエビの操業場所及び水深帯は、赤潮発生海域と一致していた。また、赤潮と同調した漁獲量の減少傾向は、他の赤潮発生年でも認められており(図10)、*Chattonella*赤潮の発生が、クルマエビの漁獲量に影響を与えていたと考えられる。また赤潮が終了した後に、漁獲が回復することは、赤潮により、漁場からクルマエビが逸散し、その後再び漁場に蟄集することが考えられる。

他方、*C. antiqua*の毒性に関しては、体長5cmのクルマエビを用いた*C. antiqua*の室内暴露試験において、2,000cells/mlで24時間で80%の個体が死亡したことが確認されている。¹³⁾*C. antiqua*の毒性に関しては、暴露試験に用いるクルマエビの活力や*C. antiqua*の活性等も影響することから、単に細胞数のみで評価することは難しく、今後、毒性の評価方法の検討が必要ではあるが、夜行性で底層に生息するクルマエビにとって、また、特に深場への移動能力に乏しく干潟域に生息する小型の当歳エビにとっては、*C. antiqua*の影響は大きいことが予想される。

漁獲量の減少傾向に歯止めがかからず、また、放流効果の低迷が続く有明海のクルマエビ漁業^{14, 15, 16, 17)}について、さらには、クルマエビ以外の底生性の甲殻類や干潟を利用する様々な底生生物への影響など、近年の有明海の漁業生産力の低下との関連性も含め、*Chattonella*赤潮が与える影響について、更なる研究が必要であると考えられる。

要 約

近年、有明海において頻発する*Chattonella*赤潮は、赤潮の発生とクルマエビ漁獲量及び漁獲努力量の減少との関連性から、底生性甲殻類であるクルマエビの漁獲量の減少に影響を与えていることが示唆された。

また、有明海において*C. antiqua*の日周鉛直移動が確認され、本種が、栄養塩が十分に供給される状況下にあっても、能動的な輸送により夜間には海底直上層(水深19m)まで到達していることが明らかとなった。

謝 辞

本調査を行うにあたり、調査の趣旨にご理解とご協力をいただいたクルマエビ漁業者の方々に厚くお礼申し上げます。

文 献

- 1) 昭和61年~平成17年九州海域の赤潮. 水産庁九州漁業調整事務所. 1986~2005.
- 2) 昭和61年度~平成17年度熊本県水産研究センター事業報告書. 熊本県水産研究センター. 1986~2005.
- 3) Eppley R. W., O. Holm-Hansen and J. D. H. Strickland: Some observations on the vertical migration of dinoflagellates. *J. Phycol.* 4, 1968, 330-340.
- 4) Kamikowski D. and S. J. Zentara: The diurnal vertical migration of motile phytoplankton through temperature gradients. *Limnol. Oceanogr.* 22, 1977, 148-151
- 5) Cullen J. J. and S. G. Horrigan: Effects of nitrate on the diurnal vertical migration, carbon to nitrogen ratio, and the dinoflagellate *Gymnodinium splendens*, *Mar. Biol.* 62, 1981, 81-89
- 6) Salonen K., R. I. Jones and L. Arvola: Hypolimnetic phosphorus retrieval by diel vertical migrations of lake phytoplankton. *Freshwater Biol.*, 14, 1984, 431-438
- 7) Watanabe M., Kohama K. and Kimura T.: Diel vertical migration and nocturnal uptake of nutrients by *Chattonella antiqua* under stable stratification. *Limnol. Oceanogr.* 36, 1991, 593-602
- 8) 渡辺正孝: メゾコスム内の環境制御による藻類種の変遷と*Chattonella*赤潮発生. 月刊海洋, 27, 1995, 597-602
- 9) 熊本県水産研究センター赤潮情報: 赤潮警報, 2010
- 10) 中野拓治, 山田耕士, 金子俊幸, 中嶋雅孝, 本城凡夫: 有明海における*Ceratium furca*と*Chattonella*属の日周鉛直運動の特徴および躍層との関係. 水環境学会誌, 29(8), 2006, 489-494
- 11) 片野俊也, 吉田誠, 山口創一, 李周妍, 韓明

- 洙, 速水祐一: 有明海の赤潮原因藻類*Chattonella*の固定方法の開発およびそれを利用した*Chattonella*個体群の日周鉛直移動調査. 佐賀大学有明海総合研究プロジェクト成果報告集, 5, 2009, 85-94
- 12) 紫加田知幸, 松永茂, 山口峰雄: ラフィド藻 *Chattonella antique*における日周鉛直移動の光位相制御. 2011年日本ベントス学会・日本プランクトン学会合同大会講演要旨集. 2011, 58p
- 13) 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6, 2004, 69-73
- 14) 荒木希世, 木村修, 増田雄二: クルマエビ共同放流推進事業ー有明四県クルマエビ共同放流推進事業ー. 熊本県水産研究センター事業報告書. 2007, 60-61
- 15) 荒木希世, 木村修: クルマエビ共同放流推進事業ー有明四県クルマエビ共同放流推進事業ー. 熊本県水産研究センター事業報告書. 2008, 68-70
- 16) 荒木希世, 栗元美代子, 木村修: 有明海再生拡充事業: クルマエビ 有明四県クルマエビ共同放流推進事業ー. 熊本県水産研究センター事業報告書. 2009, 60-65
- 17) 荒木希世, 栗元美代子, 川崎信司: 有明四県クルマエビ共同放流推進事業 有明海再生拡充事業. 熊本県水産研究センター事業報告書. 2010, 58-63

環境負荷低減型マダイ用飼料の開発

阿部慎一郎, 齋藤 剛, 梅山昌伸, 中野平二

Development of low emission feed for Red Sea Bream
Shinichiro Abe, Tsuyoshi Saito, Masanobu Umeyama and Heiji Nakano

キーワード：マダイ、飼料、環境負荷

海面魚類養殖業は沿岸漁業の重要な位置を占めているが、生産の拡大とともに、養殖魚の飼育に伴う環境負荷物質、特にリンや窒素といった富栄養化の原因物質の増加による養殖漁場の底質や水質の悪化が進み、養殖魚の生残率や成長の低下を引き起こしている。

このため、海面魚類養殖業が今後も持続して発展していくには、漁場を良好な環境に維持する必要があり、そのため漁場に排出される窒素、リンを可能な限り削減することが求められる。

窪田ら¹⁾によると、魚類養殖で給餌により発生する汚濁負荷物質の割合は、給餌された餌料の水中への溶出が6~13%、残餌が2~31%、糞尿が18~26%とされ、合計で給餌量の26~70%にのぼる。

したがって、海面養殖業における汚濁負荷物質を削減するためには、飼料に含まれる窒素、リン成分を削減することが重要である。この削減のためには飼料中の魚粉の割合を低減することが求められるが、極端な低減は成長の低下をもたらし、養殖経営の効率を下げることとなる。そのため、本研究では、環境負荷物質のうちリン成分の削減を目的として、魚粉低減飼料を作成し、一般的な飼料との飼育成績を比較して、魚粉低減飼料の餌としての性能を評価した。また、魚粉低減飼料では、魚粉の代換タンパク質として大豆粕やコーングルテンミールが使用される。しかし、一般に海産魚は淡水魚に比べ植物性タンパク質のリン利用効率が低いことが知られ、そのままでは飼料としての効率が

低下することが予想される。このため本試験ではサケマス用飼料で、植物性タンパク質のリン利用効率を上げることが報告されているクエン酸を利用することとし、その添加量と有効性について検討を行った。

さらに各試験終了時に、環境負荷量を算出し、環境に与える影響について考察した。

なお本研究は水産庁委託事業である「環境負荷低減型配合飼料開発事業」により実施し、本県の他、東京海洋大学、高知大学、三重県、和歌山県、愛媛県、大分県、鹿児島県、(社)日本養魚飼料協会が研究に参加した。

材料及び方法

試験は魚粉低減飼料の有効性(試験1)、クエン酸添加効果の有効性(試験2)、クエン酸添加量の検討(試験3)の3試験を行った。

試験は熊本県水産研究センターの海面筏で4.5m×4.5m×3.5m(深さ)の網生簀を用いて実施した。

試験には各試験毎に東京海洋大学が設計した配合組成に基づき、社団法人日本養魚飼料協会が作成したEP飼料を用いた。各試験の餌組成と一般成分を表1~7に示した。

表1 試験1に用いた試験飼料の組成

(%)	1区	2区	3区	4区
魚粉	50	30	30	30
オキアミミール	0	5	5	5
脱脂大豆粕	5	10	10	10
コーングルテンミール	5	14	14	14
小麦粉	19	20	19.2	18.4
タピオカ	3	3	3	3
脱脂米ぬか	5	0	0	0
魚油	10	10	10	10
大豆油	0	5	5	5
ミネラル(無リン)	1	1	1	1
第1リン酸カルシウム	0	0	0.8	1.6
ビタミン類	2	2	2	2
計	100	100	100	100

表 2 試験 1 に用いた試験飼料の一般成分

成分	1区	2区	3区	4区
水分	5.1	3.7	4.2	3.2
粗蛋白質	47.0	45.5	44.7	45.3
粗脂肪	14.1	17.9	18.4	17.7
粗灰分	10.9	8.2	8.6	9.2
リン	1.54	1.08	1.28	1.47

- 1区：通常飼料
- 2区：魚粉低減飼料（第1リン酸カルシウム無添加）
- 3区：魚粉低減飼料+第1リン酸カルシウム0.8%
- 4区：魚粉低減飼料+第1リン酸カルシウム1.6%

表 3 試験 2 に用いた試験飼料の組成

(%)	1区	2区	3区	4区
魚粉	50	35	35	35
脱脂大豆粕	5	10	10	10
コーングルテンミール	5	14	14	14
小麦粉	8	8	6	5.4
タピオカ	15	15	15	15
魚油	10	10	10	10
大豆油	4	5	5	5
ミネラル(無リン)	1	1	1	1
第1リン酸カルシウム	0	0	0	0.6
ビタミン類	2	2	2	2
クエン酸	0	0	2	2
計	100	100	100	100

表 4 試験 2 に用いた試験飼料の一般成分 (5mm サイズ)

成分	1区	2区	3区	4区
水分	2.5	2.8	2.2	4.0
粗蛋白質	46.1	44.4	44.5	44.6
粗脂肪	22.1	24.0	23.3	23.2
粗灰分	9.7	8.0	7.8	8.4
リン	1.37	1.15	1.14	1.27

表 5 試験 2 に用いた試験飼料の一般成分 (8mm サイズ)

成分	1区	2区	3区	4区
水分	4.3	3.8	5.0	4.4
粗蛋白質	44.1	42.5	42.6	42.7
粗脂肪	21.1	23.0	22.3	22.2
粗灰分	9.28	7.65	7.46	8.03
リン	1.31	1.10	1.09	1.21

- 1区：通常飼料
- 2区：魚粉低減飼料（クエン酸、第1リン酸カルシウム無添加）
- 3区：魚粉低減飼料+クエン酸2%（第1リン酸カルシウム無添加）
- 4区：魚粉低減飼料+クエン酸2%+第1リン酸カルシウム0.6%

表 6 試験 3 に用いた試験飼料の組成

(%)	1区	2区	3区	4区
魚粉	50	35	35	35
脱脂大豆粕	5	10	10	10
コーングルテンミール	5	14	14	14
小麦粉	8	8	7.5	7
タピオカ	15	15	15	15
魚油	10	10	10	10
大豆油	4	5	5	5
ミネラル(無リン)	1	1	1	1
ビタミン類	2	2	2	2
クエン酸	0	0	0.5	1
計	100	100	100	100

表 7 試験 3 に用いた試験飼料の一般成分

成分	1区	2区	3区	4区
水分	4.1	2.3	2.6	1.7
粗蛋白質	44.7	45.3	44.6	44.8
粗脂肪	20.1	20.6	20.5	20.9
粗灰分	8.9	7.5	7.3	7.5
リン	1.27	1.05	1.03	1.05

- 1区：通常飼料
- 2区：魚粉低減飼料（クエン酸無添加）
- 3区：魚粉低減飼料+クエン酸0.5%
- 4区：魚粉低減飼料+クエン酸1%

試験には県内養殖業者から養殖マダイ2才魚を購入して用いた。試験毎の各区の供試尾数を表8に示した。

表 8 各試験の供試尾数

試験種類	供試尾数 (1区あたり)	総供試 尾数	開始時供試魚 平均体重(g)
試験1 魚粉低減飼料の有 効性	119または 120	478	302.6
試験2 クエン酸添加効果の有 効性	103	412	343.6
試験3 クエン酸添加量の 検討	103	412	471.7

試験毎の各区の試験期間を表9に示した。

表 9 各試験の試験期間

試験項目	試験期間	試験日 数
試験1 魚粉低減飼料の有効性	2004年7月7日～ 2004年11月26日	139
試験2 クエン酸添加効果の有効性	2005年7月7日～ 2005年11月9日	125
試験3 クエン酸添加量の検討	2006年7月14日～ 2006年10月21日	99

飼育方法は、まず供試魚の馴致のため、通常の EP 飼料又は魚粉低減飼料を魚体重の 1~2% を給餌する予備飼育を 10 日以上にわたり行った。その後引き続いて試験を開始し、休日を除き毎日 1 回手まきによる飽食給餌とした。

測定項目は、開始時と中間時に尾叉長 (FL) 及び体重 (BW) を 1 試験区あたり 30 尾測定 (試験 3 のクエン酸添加量の検討では 50 尾) し、終了時には全数測定した。なお、試験 1 の魚粉低減飼料の有効性試験では、試験開始時と試験終了時の魚体重の差を増重量として各区の有意差検定を行い、そのほかの試験では、試験終了の各区の魚体重の有意差検定を行った。試験毎の検定方法を表 10 に示した。

表 10 各試験の有意差検定方法

試験項目	検定方法	危険率 (%)
魚粉低減飼料の有効性	Fisher's PLSD test	5
クエン酸添加効果の有効性	パートレット検定、一元配置分散分析、Fisher's PLSD test	5
クエン酸添加量の検討	パートレット検定、一元配置分散分析、多重比較検定	5

魚体の成分分析は凍結保存したサンプルを、凍結状態で 2cm 以下のブロックに切断し、東京海洋大学においてスラリー状に前処理後、分析機関において分析した。分析項目は、水分、タンパク質、脂肪、灰分、全窒素及び全リンで、水分は常圧加熱乾燥法 (105℃)、粗蛋白は、ケルダール法により得られた T-N から係数 6.25 を用いた計算法、脂肪はエーテル抽出法、炭水化物は差引計算法、灰分は乾式灰化法、全窒素はケルダール法及び全リンについてはバナドモリブデン酸吸光光度法で分析した。

環境負荷の検討 魚体成分分析結果から、前述の水産庁委託事業参加グループの中で示された次式により魚体への窒素およびリンの蓄積量、環境への負荷量を求めた。

$$\text{窒素負荷量 (T-N; kg/生産量 t)} = \left\{ C \times Nf - \frac{(Bf \times Nbf - Bi \times Nbi)}{(Bf - Bi)} \right\} \times 10$$

$$\text{窒素蓄積率 (T-N; \%)} = \frac{\left(Bf \times \frac{Nbf}{100} - Bi \times \frac{Nbi}{100} \right)}{F \times \frac{Nf}{100}} \times 10^2$$

$$\text{リン負荷量 (T-P; kg/生産量 t)} = \left\{ C \times Pf - \frac{(Bf \times Pbf - Bi \times Pbi)}{(Bf - Bi)} \right\} \times 10$$

$$\text{リン蓄積率 (T-P; \%)} = \frac{\left(Bf \times \frac{Pbf}{100} - Bi \times \frac{Pbi}{100} \right)}{F \times \frac{Pf}{100}} \times 10^2$$

F:	1 尾当たりの給餌量 (g)
Nf:	飼料中の窒素含量 (%)
Pf:	飼料中のリン含量 (%)
Bf:	実験終了時の魚体重 (g)
Bi:	実験開始時の魚体重 (g)
Nbf:	実験終了時の魚体窒素含量 (%)
Nbi:	実験開始時の魚体窒素含量 (%)
Pbf:	実験終了時の魚体リン含量 (%)
Pbi:	実験開始時の魚体リン含量 (%)
C:	増肉計数

結果

魚粉低減飼料の有効性

試験期間中の尾叉長、体重の推移を図 2, 3 に、増重量、増肉係数を表 11 に示した。尾叉長、体重とも各区で同様の成長を見せたが、10 月 30 日から 11 月 26 日の間において、2 区と 4 区が若干の落ち込みが見られた。

増重量、増肉係数について比較した結果、3 区は 1 区と同様の成長を示したが、2 区および 4 区は 1 区に比べ劣っていた。

試験開始時からの増重量について検定を行った結果、1 区と 2 区、1 区と 4 区、2 区と 3 区、3 区と 4 区において有意差が見られたものの、2 区と 3 区間の有意差以外は、飼料のリン含量との相関は見られなかった。

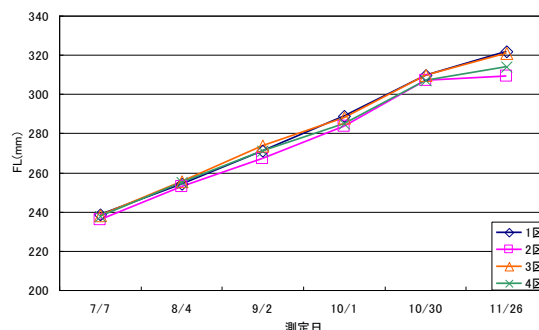


図 2 尾叉長の推移

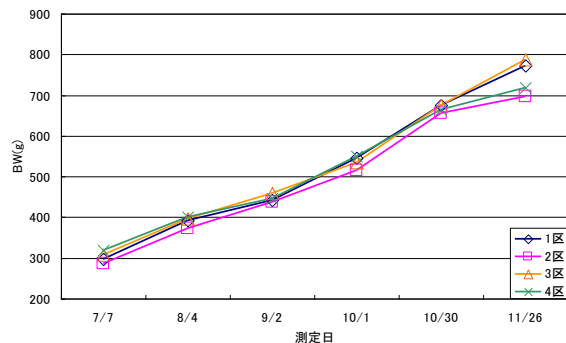


図3 体重の推移

表11 増重量・増肉計数

試験区	増重量(g)	増肉係数
1	476.3	1.73
2	409.7	1.84
3	479.4	1.59
4	400.1	2.24

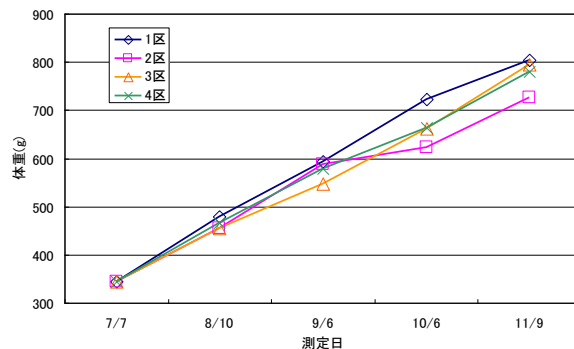


図5 体重の推移

表12 増重量・増肉係数

試験区	増重量(g)	増肉係数
1	461.2	1.80
2	382.3	2.06
3	451.0	1.85
4	437.2	1.88

クエン酸添加効果の有効性

試験期間中の尾叉長、体重の推移を図4,5に増重量、増肉係数を表12に示した。

尾叉長は、8月に3区がやや劣ったものの、ほぼ同様に推移した。9月以降は、他の区に比べ2区の成長が劣った。試験終了時には、1区が最も大きく、次いで3区、4区、2区の順となり、2区が他の区に比べ低い傾向を示した。

体重は、9月までは3区が最も悪い結果となった。2区は9月までは順調な成長を示したものの、9月以降は急激に成長が劣った。終了時の体重の検定では、1区と2区、2区と3区、2区と4区に有意差が認められた。

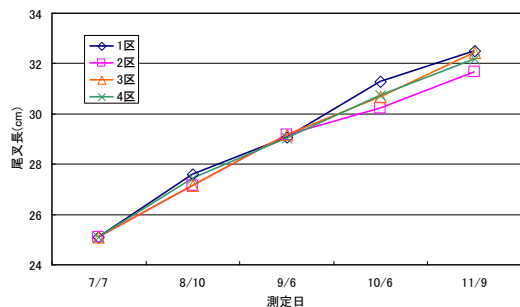


図4 尾叉長の推移

クエン酸添加量の検討

試験期間中の尾叉長、体重の推移を図6,7に増重量、増肉係数を表13に示した。

試験終了時の尾叉長は、2区、1区、4区、3区の順となった。試験終了時の体重は4区、1区、2区、3区の順となった。

試験終了時の体重の検定では、それぞれの区について有意差は認められなかった。

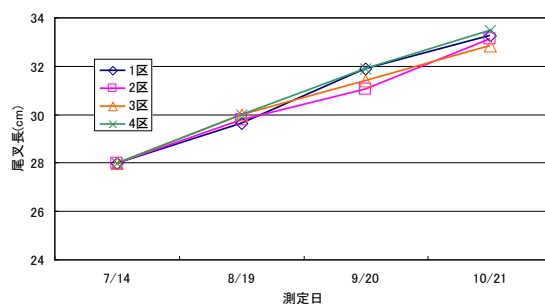


図6 尾叉長の推移

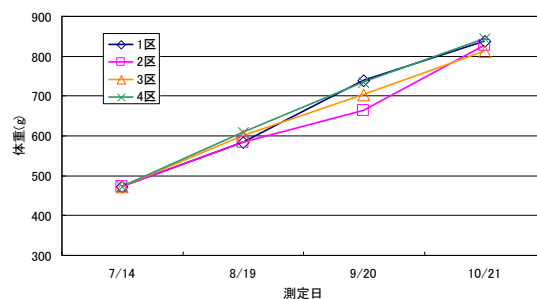


図7 体重の推移

表 13 増重量・増肉係数

試験区	増重量(g)	増肉係数
1	364.9	1.63
2	355.1	1.67
3	339.4	1.78
4	371.1	1.60

環境への負荷の検討

試験毎に、環境負荷低減効果の検討を行った。各試験間で、用いたマダイのサイズが異なるため、比較は各試験毎の魚粉主体飼料（1区）に対しての低減の割合（%）で行った。表 14、15 にその結果を示した。

各試験区を比較すると、魚粉低減飼料に第 1 リン酸ナトリウムを 1.6%添加した場合（試験区 1 の 4 区）は、窒素量、リン量とも環境への負荷が増加した。一方魚粉低減飼料に第 1 リン酸ナトリウムを 0.8%加えた区（試験区 1 の 3 区）及び魚粉低減飼料にクエン酸を 0.5、1、2%加えた区では、窒素負荷量の明確な削減効果は見られなかったが、リン負荷量は、13.3～56.0%の高い削減率を示した。また魚体内へのリン保有率も 31.94～60.23%と同様の傾向を示した。（表 16）

表 14 窒素およびリン負荷量

試験区	窒素負荷量 (kg/生産量 t)	リン負荷量 (kg/生産量 t)	
魚粉低減飼料の有効性試験	1	110.9	24.3
	2	120.5	20.4
	3	100.8	17.9
	4	151.3	33.4
クエン酸添加効果の有効性試験	1	101.4	18.0
	2	112.9	16.5
	3	100.4	13.0
	4	101.1	15.6
クエン酸添加量の検討	1	90.0	13.4
	2	88.2	8.1
	3	94.8	8.1
	4	84.1	5.9

表 15 窒素およびリン削減率

試験区	窒素削減率 (%)	リン削減率 (%)	
魚粉低減飼料の有効性試験	1	-	-
	2	▲8.7	16.0
	3	9.1	26.3
	4	▲36.4	▲37.4
クエン酸添加効果の有効性試験	1	-	-
	2	▲11.3	8.3
	3	1.0	27.8
	4	0.3	13.3
クエン酸添加量の検討	1	-	-
	2	2.0	39.6
	3	▲5.3	39.6
	4	6.6	56.0

表 16 リン保有率

試験区	リン保有率 (%)	
魚粉低減飼料の有効性試験	1	26.99
	2	24.50
	3	31.94
	4	20.60
クエン酸添加効果の有効性試験	1	27.04
	2	31.12
	3	38.01
	4	34.49
クエン酸添加量の検討	1	38.34
	2	50.08
	3	52.32
	4	60.23

考 察

試験 1 の魚粉低減飼料の有効性試験では、魚粉を対照区の 40%に削減し、第 1 リン酸カルシウムを 0.8%加えた試験区（3区）と、対照区（1区）が尾叉長、体重、増重量、増肉係数のいずれについても同等の成長を示した。一方、魚粉を対照区の 40%に削減し、第 1 リン酸カルシウムを 1.6%加えた試験区（4区）の成長が劣っていた点については、飼料成分中のリン量は通常飼料に近い値であったことから、過剰症による影響とは考えにくく、原因については不明であった。1区と3区の増重量に有意差が認められなかったこと及び増肉係数は3区が1区に比べ良好な値を示したことから、魚粉低減飼料に

0.8%の第1リン酸カルシウムを加えたものと通常飼料の飼育成績は同様と判断され、魚粉低減飼料のマダイに対する有効性が示された。

試験2のクエン酸添加効果の有効性試験では、魚粉低減飼料にクエン酸を加えなかった区(2区)は通常飼料区(1区)に比べて成長が悪かったが、2区にクエン酸を2%添加した3区及び3区にリン成分を添加した4区の両区は、1区と同様の成長を示した。このことから、魚粉低減飼料へのクエン酸添加の有効性が明らかになった。また、3区と4区の間では差が見られなかったことから、クエン酸を添加した魚粉低減飼料には、リン成分を新たに添加する必要が無いと考えられた。また、クエン酸2%添加区(3区、4区)のリン保有率は、38.01%と34.49%であり、通常飼料区の27.04%に比べ改善が見られており、供試魚のサイズは異なるが、リン吸収率が改善されたことが推察された(表16)。このクエン酸添加効果について佐藤²⁾はマダイ稚魚を用いた試験で、リン無添加餌料に3%クエン酸を添加すると、飼料中のリン吸収率が改善され、リン添加飼料区と同等の成長が得られ、さらに魚体内へのリン保有率も改善されるとしている。

試験3のクエン酸添加量の検討においては、試験終了時の体重の検定では、通常飼料(1区)、魚粉低減飼料・クエン酸無添加(2区)、魚粉低減飼料+クエン酸0.5%(3区)、魚粉低減飼料+クエン酸1%(4区)のそれぞれの区について有意差は認められなかった。

このことから魚粉低減飼料へのクエン酸添加量は1%では不十分で、2%が十分量であると考えられた。

この魚粉低減飼料に2%のクエン酸を加えた区のリン負荷量は生産量1tあたり13kgと算出され、リンの環境への負荷削減量は27.8%であった。本飼料は成長も通常飼料と比べ同等であることから、環境負荷低減型飼料として有望である。

要約

環境負荷物質のうちリン成分の削減を目的として、魚粉低減飼料を作成し、養殖用飼料としての性能をマダイを用いて評価した。その結果、魚粉含有量が30~35%であっても、クエン酸を2%添加することにより、通常飼料と変わらない成長を示した。また、魚粉低減飼料の環境へのリン負荷量は、通常飼料に比べ13.3~56.0削減されることが明らかになった。

参考文献

- 1) 日本水産学会編(1977)：浅海養殖と自家汚染
- 2) 佐藤秀一(2006)：養魚飼料ガイドブック，養殖臨時増刊号，緑書房，東京，pp.90-93

カワハギの種苗生産に関する研究

中根基行, 吉川真季, 阿部慎一郎, 中野平二

Filefish (*Stephanolepis cirrhifer*) parent fish management and fry production.

Motoyuki Nakane, Maki Kikkawa, Sinnitirou Abe and Heiji Nakano

キーワード：カワハギ、種苗生産

カワハギ (*Stephanolepis cirrhifer*) はフグ目カワハギ科に分類され、体表は丈夫な皮に覆われているが、その身は白身で淡泊であることから、刺身や煮つけ、鍋物など様々な調理に用いられ、大変美味で人気のある魚種である。出荷形態にもよるが、特に活魚出荷した場合には、天然魚と養殖魚の価格差も少なく、高値で取引されている。

平成 22 年度の魚類養殖実態調査では、熊本県におけるカワハギの養殖尾数は 15 経営体で 35 万尾以上が飼育されているが、人工種苗生産技術が確立されていないことから、種苗の供給の多くは天然に頼っている。また、近年養殖カワハギの需要が高まっていることもあり、天然採捕した種苗だけでは十分な種苗の確保ができていない。

カワハギとウマヅラハギを含んだハギ類の種苗生産技術開発は以前から取り組まれてきたが(高島ら¹⁾、塚島ら²⁾)、ふ化稚魚の口径がマダイなどと比べると小さいため、S 型ワムシを用いた従来の生産方法では仔魚期の生残率が低い状況であった。しかし、近年種苗生産機関において S 型ワムシよりもさらに小型の S 型ワムシタイ株が培養されるようになり、再び各種苗生産施設においてハギ類の種苗生産開発がなされるようになってきた。当水産研究センターでも、2006 年から養殖用カワハギの種苗の生産に取り組み、2009 年度試験において一定の成果を得ることが出来たため、その概要を報告する。

材料及び方法

1 親魚飼育

(1) 供試魚

試験に用いた親魚は、雄 158 尾、雌 124 尾、不明 66 尾の合計 348 尾を用いた(表 1)。2009 年 3 月 27 日から 2009 年 7 月 13 日(108 日間)とした。

(2) 飼育水槽及び飼育水温

25k1FRP 製水槽 4 面を用い、水温は自然水温(12.9℃~26.5℃)とし、3~4 回転/日の注水量で飼育を行った。

(3) 給餌

飼育に用いた飼料は水産研究センターで作成した配合飼料：アジ：アミ=4：3：3 のモイストペレット(以下 MP)と市販のエクストルーダーペレット(以下 EP:トラフグ用とマダイ用)とし、それぞれ添加剤(総合ビタミン剤)を給餌直前に外割で 1%~2%添加した。1 回あたりの給餌量は MP では魚体重の 4%、EP では 2%とした。給餌は隔日給餌を基本とし、産卵開始までに肥満度 20 前後で管理することを目標に、体長測定時の結果から給餌量や給餌回数を調整した。

(4) 受精卵回収及び産卵数推定

採卵は、親魚を収容した水槽内に 5 月 1 日から産卵板(ポリカーボネイト製波板 65.5cm×45.5cm)を 30 枚設置し、翌日、産卵板に付着した卵を板のまま収容した

(図 1)。卵数の推定は、波板 10cm×10cm (100cm²) に付着した卵数を計数後、波板 1 枚あたりの面積 (2980cm²) に拡大して推計した。

また、水槽底に沈下した卵についてもプールクリーナー (宮川商事製) を用いてゆっくりと吸引し、目合い 1mm のプランクトンネットに卵を回収して計数した (図 2)。

2 生殖腺の観察及び卵質評価

生殖腺の発達状況において 5 月と 7 月に卵巢及び精巢の一部を Davidson 固定液を用いて固定後、常法により組織切片を作成し、ヘマトキシリン・エオジン染色を行い顕微鏡観察を行った。

卵質を評価するため、卵に含まれる ω-3 不飽和脂肪酸量について、5 月と産卵期間中の 7 月の親魚体内卵について、6 月に産卵された受精卵について外部機関に委託して分析を行った。

3 種苗生産

(1) 飼育水および水温

使用した海水は、砂ろ過海水を使用し、注

水は 0~4.0 回転/日程度とし、自然水温で飼育した。

(2) 飼育水槽

水槽は、FRP 製 30kL 水槽 1 基を用い、受精卵を約 27 万粒収容してふ化させ、飼育を行った。水槽内への注水、通気等の配置を図 3 に示した。通気は飼育当初は微通気とし、稚魚の成長に併せて通気量を調節した。

(3) 餌料

餌料系列及びその他添加物について表 2 に示した。S 型ワムシタイ株を日令 3 から日令 9 まで、S 型ワムシを日令 9 から日令 35 まで、アルテミアを日令 22、配合飼料を日令 14 から日令 45 まで、オキアミを日令 39 から日令 45 まで、イカナゴと配合飼料大粒を日令 40 から日令 45 まで与えた。生物飼料の栄養強化として、S 型ワムシタイ株と S 型ワムシはスーパー生クロレラ V12 ((株) クロレラ工業製) で連続培養し、稚魚に給餌する 17~18 時間前にドコサユーグレナドライ ((株) 秋田十条化成製) を投与した。アルテミアは稚魚に給餌する 5 時間前にバイオクロミスパウダー ((株) クロレラ工業製) を投与した。

表1 カワハギ親魚の飼育状況と体長測定の結果

水槽	水槽1	水槽2	水槽3	水槽4
生産年群	3才魚	3才魚	2才魚	2才魚
収容尾数(雄・雌・不明)	44・35・8	20・11・36	45・36・19	49・42・3



図 1 産卵板



図 2 プールクリーナーで回収した受精卵

表2 種苗生産における餌料系列

	日齢3	日齢9	日齢14	日齢22	日齢33	日齢39	日齢45
S型ワムシタイ株	■	■	■				
S型ワムシ		■	■	■	■	■	■
アルテミア				■			
稚魚用配合飼料			■	■	■	■	■
オキアミ						■	■
イカナゴ						■	■
配合飼料大粒						■	■
クロレラ	■	■	■	■	■	■	■
貝化石		■	■	■	■	■	■

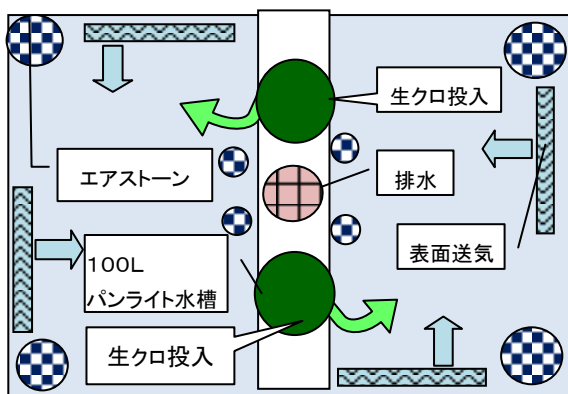


図3 水槽配置図

結果

1 親魚飼育と産卵

飼育期間中の水温は 12.9℃～26.5℃で推移した。

3月から5月までの総給餌量と魚体測定の結果を表3に、5月及び7月に行った体長、体重、肝臓重量及び生殖腺重量の測定の結果と、肝臓重量の割合(%)と肥満度の個体別の測定結果について表4に示した。産卵開始までに肥満度を20前後を目標に飼育管理した結果、5月のサンプリング時点で各水槽の平均肥満度が19.1から20.9とほぼ目標通りに飼育管理することができた。

産卵は2009年5月19日に水槽1および2で確認され、その後飼育期間中はほぼ毎日飼育水槽内で卵が認められた。水槽3と4については2009年5月20日に確認された。その後、少量であるがほぼ毎日水槽内に卵が確認

された。6月22日にはプールクリーナーの回収作業により4水槽あわせて700g以上の卵を回収した。1gあたりの卵数を約5,400粒とすると(推定卵量は380万粒以上)と推定された。カワハギの産卵は一か月以上続くことが報告¹⁾されており、本試験でも同様の結果となった。

表3 水槽別の飼育期間中の総給餌量と体長測定の結果

水槽		水槽1	水槽2	水槽3	水槽4
総給餌量(kg)	EP(kg)	14.2	14.2	15.7	15.7
	MP(kg)	11.1	11.1	14.4	14.4
3月27日	平均体重(g)	283.0	295.5	173.3	183.2
	平均体長(cm)	20.4	20.7	17.5	17.7
	平均肥満度	19.0	19.7	19.3	20.2
4月10日	平均体重(g)	322.2	316.3	184.0	176.8
	平均体長(cm)	21.0	20.8	17.6	17.5
	平均肥満度	20.2	20.1	19.9	19.3
5月11日	平均体重(g)	337.9	334.4	187.3	219.1
	平均体長(cm)	21.5	21.8	17.5	18.7
	平均肥満度	19.9	19.1	20.6	20.5

表4 脂肪酸分析及び組織観察に供したサンプルの個体別体組成

個体番号	魚令	5月サンプリング							
		体重(g)	体長(cm)	全長(cm)	肝臓(g)	生殖腺(g)	比肝重(%)	肥満度	雌雄
3オ①	3才魚	313.9	20.5	25.2	32.7	14.0	10.4	19.8	♀
3オ②	3才魚	342.0	21.1	25.5	40.3	7.2	11.8	20.6	♀
3オ③	3才魚	368.1	20.9	25.5	16.5	58.3	4.5	22.2	♀
3オ④	3才魚	313.4	21.2	25.5	21.5	1.0	6.9	18.9	♂
3オ⑤	3才魚	290.4	21.3	25.4	18.5	0.9	6.4	17.7	♂
3オ⑥	3才魚	483.0	25.4	29.3	38.4	1.2	8.0	19.2	♂
2オ①	2才魚	157.0	17.0	19.8	11.1	11.1	7.1	20.2	♀
2オ②	2才魚	212.2	17.4	20.4	14.7	14.7	6.9	25.0	♀
3オ③	2才魚	273.2	19.7	22.9	15.5	15.5	5.7	22.7	♀
2オ④	2才魚	342.0	20.7	24.2	25.0	25.0	7.3	24.1	♂
2オ⑤	2才魚	272.5	19.8	23.1	16.2	16.2	5.9	22.1	♂
2オ⑥	2才魚	294.2	20.2	23.3	21.6	21.6	7.3	23.3	♂
		7月サンプリング							
3オ⑦	3才魚	306.8	20.7	24.6	24.7	21.0	8.1	20.6	♀
3オ⑧	3才魚	370.2	20.7	24.8	45.0	30.5	12.2	24.3	♀
3オ⑨	3才魚	382.8	21.8	25.9	37.9	26.4	9.9	22.0	♀
2オ⑦	2才魚	334.4	19.8	23.6	31.8	23.1	9.5	25.4	♀
2オ⑧	2才魚	336.8	20.3	25.0	32.2	14.3	9.6	21.8	♀
2オ⑨	2才魚	361.1	20.4	24.7	40.4	23.3	11.2	24.0	♀

2 生殖腺の観察及び卵質評価

生殖腺の観察では、5月の個体において精巣で部分的に精子が観察されたが、未熟な状態であった(図4)。また卵巢は周辺仁期から卵黄球期のさまざまな形態が混在していたが、周辺仁期の細胞の割合が多く観察されたことから十分に発達していないことがうかがえた(図5)。7月の卵巢の観察においても両期の混在した状況であったが、卵黄球期の割合が多くなり、成熟が進んでいることが推察された(図6、図7)。

ω -3不飽和脂肪酸量は5月が1尾を除いて、38.3mg/100gから83.1mg/100gであったが、産卵期間中の7月のサンプリングでは144.8mg/100gから4642.2mg/100gとなり、6月の底掃除から得られた卵については5289.2mg/100gとなった(図8)。

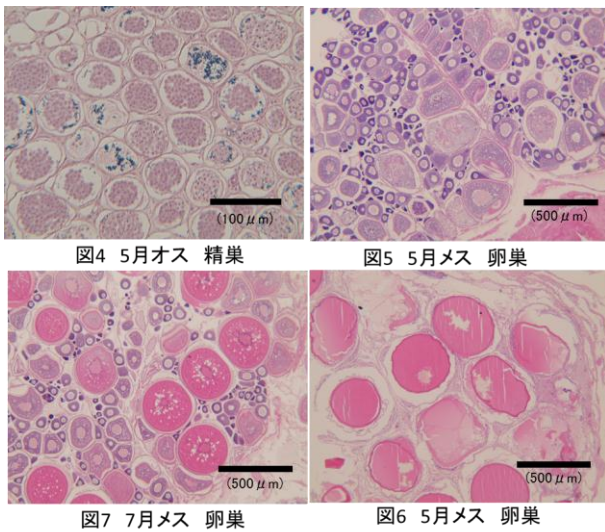


図4 5月オス 精巣

図5 5月メス 卵巢

図7 7月メス 卵巢

図6 5月メス 卵巢

3 種苗生産

試験は5月25日から7月9日までの45日間行い、試験期間中の水温は18.5℃から24.1℃で推移した。

試験期間中の飼育尾数については随時夜間計数を行ったが蟄集形成(パッチ)が著しく、期間途中での正確な数値の把握は困難であった。

期間中の総給餌量は、S型ワムシタイ株が16.6億個体、S型ワムシが118.9億個体、アルテミアが525万個体、配合飼料が4,887.3g、オキアミ1,980g、イカナゴ450g、配合飼料大粒522gであった。また他添加剤の生クロレラ21.7L、貝化石15,050gであった。(表5)

飼育期間中の平均全長の推移を図9に示した。日齢6日、平均全長2.76mmで仔魚消化管内にワムシの卵を確認し、日齢8日にはワムシの摂餌を確認することができた。日齢14日には配合飼料の給餌を開始し、同日中に配合飼料の摂餌を確認することができた。

日齢22日には水槽内でパッチを形成していた。日齢31日には小型魚がパッチを形成し、その小型魚を大型魚が攻撃していたので、日齢35日と日齢36日に小型魚が形成したパッチを目合いの細かいプラスチック製籠ですくい取り、別の30kL水槽に分槽した。日齢44日に10,104尾を、日齢45日に21,257尾、合計31,361尾を取り上げた。平均全長は20.3mmであった。使用推定卵量からの生残率は11.6%であった。

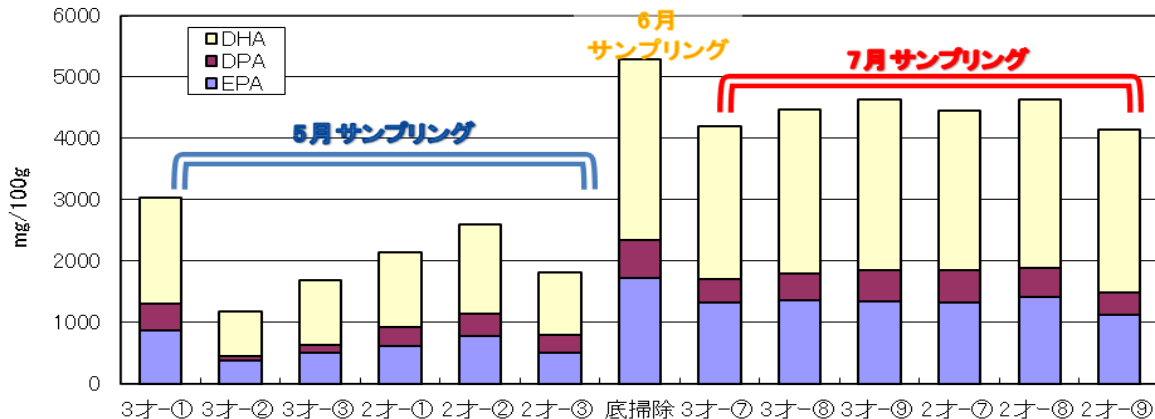


図8 ω-3不飽和脂肪酸の含有量

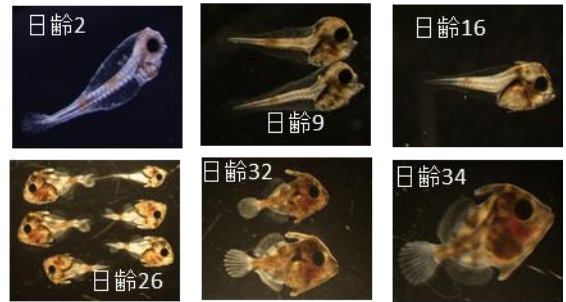
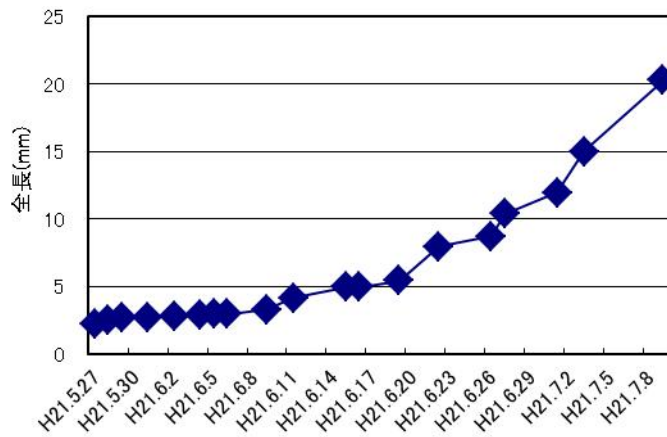


図9 平均全長の推移と仔魚の成長

表5 カワハギ種苗生産の飼育記録

2009年 月 日	日令	平均全長 (mm)	餌種類						水槽内添加物		換水率 (回転/日)	水温	DO	備考	
			SS型フムシ (億個)	S型フムシ (億個)	アルテミア (万個)	配合 (g)	オキアミ (g)	イカナゴ (g)	ヒラメF6 (g)	生クロ (L)					貝化石 (g)
5月25日	0										0	19.9		ふ化	
5月26日	1										0	19.7	8.1		
5月27日	2	2.26									0	19.6	8.6	一部開口	
5月28日	3	2.54	3.5								0.5	19.1	8.4		
5月29日	4	2.71	0.8								0.1	18.5	8.6	腸管内にクロレラ 夜間計数14.2/L・25t≒ 35.6万尾	
5月30日	5		0.18								0.2	18.8	8.7		
5月31日	6	2.76	0.5								0.2	19.3	8.4	腸管内にフムシ卵	
6月1日	7		4.6								0.7	18.7	9.2		
6月2日	8	2.83	4.05								0.5	19.0	8.3	フムシ接種確認	
6月3日	9		3	0.8							0.9	19.3	8.5		
6月4日	10	2.88		4.9							0.65	19.4	7.5		
6月5日	11	3.01		3.5							0.7	20.8			
6月6日	12	2.97		5							0.6	21.0	8.1		
6月7日	13			5.2							0.45	20.8	8.3		
6月8日	14			5.8			4				0.8	20.7	7.9	オトヒメ・アングロース100	
6月9日	15	3.32		2.8			9.9				0.6	20.9	7.8		
6月10日	16			2.2			15				0.6	21.3	7.9		
6月11日	17	4.17		4			39.4				0.6	20.9	8.0	夜間計数3.4/L・25t≒ 8.6万尾	
6月12日	18			2.5			27.3				0.6	20.8	8.1		
6月13日	19			3.16			13.8				0.6	21.4	5.9	表層を盛んにつつく	
6月14日	20			3.4			74.9				0.6	21.3	5.3		
6月15日	21	4.99		3.75			52.9				0.6	21.2	8.5		
6月16日	22	4.99		4	525		23.9				0.7	21.4	7.4	500/バッチ形成するが、 採餌行動はなし53Lux 520採餌行動確認150 Lux ブライン給餌	
6月17日	23			7.1			50				0.7	21.6	7.8		
6月18日	24			5.4			66.9				0.6	22.0	7.8	夜間計数2.67/L・25t≒ 5.6万尾	
6月19日	25	5.43		3.58			70.3				0.6	22.1	7.9		
6月20日	26			7.05			50				0.7	22.1	8.1		
6月21日	27			5.6			77				0.7	23.1	5.6		
6月22日	28	7.98		7.2			70				1	23.5	7.7		
6月23日	29			6			131				0.8	23.4	7.7		
6月24日	30			5.25			162.8				0.8	22.4	7.9	夜間計数2.07/L・25t≒ 5.1万尾	
6月25日	31			5.84			141				0.8	22.7	7.8		
6月26日	32	8.75		4			140.2				0.8	22.5	7.7		
6月27日	33	10.4		4			333.7				0.8	22.9	8.0		
6月28日	34			2.85			205				0.8	23.0	8.2		
6月29日	35			4			284.2				0.8	23.4	7.7	小型魚バッチをとりあげ	
6月30日	36						484				0.8	23.7	7.8	小型魚バッチをとりあげ	
7月1日	37						230				800	2.1	24.2	7.5	飼育水が臭う オトヒメ1・アングロース100・ 200
7月2日	38						245.1				200	2.1	23.5	7.7	底掃除 19:30、5Luxでも採餌行 動
7月3日	39	16					220	200			4	23.2	8.0	底掃除	
7月4日	40						350	150	50	24	600	4	23.1	8.1	
7月5日	41						300	400		18	200	4	23.6	8.0	
7月6日	42						265	580	100	130	4	23.4	8.2		
7月7日	43						500	400	200	300	4	24.1	8.0		
7月8日	44						250	250	100	50	4	24.0	7.9	10,104尾取り上げ	
7月9日	45	20.3									4	23.7	7.9	21,257尾取り上げ	
MAX			4.6	7.2	525	500	580	200	300	1	800	4	24.2	9.2	
MIN			0.18	0.8	525	4	150	50	18	0.1	150	0	18.5	5.3	
AVERAGE			2.4	4.4	625	157.7	330	113	104	0.6	470	1.1	21.6	7.9	
TOTAL			16.83	118.88	525	4887.3	1980	450	522	21.7	15050	47.544	971.3	338	

考 察

カワハギ種苗生産に取り組んだ中で、効率的に稚魚を生産するために、卵質の向上、産卵された受精卵の回収、ふ化仔魚への給餌方法の検討、共食いの防止の4点の課題に取り組んできた。以下、これらの項目別に考察を行う。

卵質の向上

2006年生産における親魚には、餌としてモイストペレット、むき身カキを用い、魚体重の5%量を毎日与えたが、産卵を確認できたのは2回で、種苗生産に使用できた受精卵は親魚12尾に対し15,000粒であった。2007年生産では総合ビタミン剤を添加したMPを餌として用い、魚体重の6%量を毎日給餌したが、給餌量が過大であったため、親魚の肥満度が上昇し、卵質を示すSAI（無給餌生残指数）が6.6と低く、ふ化仔魚がふ化後1週間で81%減耗するなど、卵質に問題が認められた。

このため、2008年以降、モイストペレット（以下MP）とエクストルーダーペレット（以下EP：トラフグ用とマダイ用）とし、添加剤（総合ビタミン剤）を給餌直前に添加した。1回あたりの給餌量はMPでは魚体重の4%、EPでは2%とし、定期的に体長測定を行い、親魚の肥満度20を目安として給餌量を管理した結果、順調に採卵できるようになった。

また、卵質について、指標の一つである高度不飽和脂肪酸量は生産不調であった2007年は既に報告のあるマダイ稚魚の1/2程度しかなかった。しかし2009年では、水槽内での産卵確認前の5月では1尾を除いて38.3mg/100gから83.1mg/100gであったが、産卵期間中の7月のサンプリングでは144.8mg/100gから4642.2mg/100gとなり、6月の底掃除から得られた卵については5289.2mg/100gとなった。産卵が確認されたからの含有量は2006年の卵と同等以上認め

られた。

さらに生殖腺観察の結果からは、5月のサンプリングでは、精巣で部分的に形成されていたが、器官の多くは未成熟な状態であり（図4）、卵巣では卵母細胞の成熟度に大きな差があり、周辺仁期（ハトキリンに核が濃染し、油球はない）から卵黄球期（卵母細胞内に油球）の様々な形態が存在し、特に周辺仁期の卵母細胞が多く観察され、卵巣としては未熟であった（図5）。7月のサンプルでは、5月と同様に周辺仁期、卵黄球期および最終成熟期の卵母細胞が混在していたが、卵黄球期以降の卵母細胞が増加しており卵黄形成や卵巣細胞の成熟が進行していると示唆された（図6、図7）。一部の個体では、卵黄形成の進行が十分でない個体も観察された（図10）。産卵期間中の生殖器官においては組織観察から未成熟な卵細胞が多数観察された。未成熟な卵細胞は親魚の栄養状態により左右されるので、餌料の品質により卵質が向上することや低下することが推察された。

カワハギの受精卵中の脂肪酸含有量に関する知見と生殖組織の組織観察に関する報告は見あたらないが、本研究によりMPとEPに総合ビタミン剤を添加することで、安定した卵質が得られることが脂肪酸分析と組織観察の結果から示された。

受精卵の回収

カワハギの受精卵は粘性沈着卵であるため、水槽内で産卵した場合、受精卵は水槽底に沈下する。このため受精卵をきれいな状態で効率よく回収する方法が必要であった。2006年生産ではアクリル板と付着器（商品名 ポリモン、キンラン）、2007年生産は海水のろ過に用いる樹脂製マット（商品名 サランロック 厚み10mm）を親魚水槽内に吊り下げ、効率的な受精卵回収を試みた。その結果、受精卵はアクリル板には付着したものの、付着器

には付着せず、また樹脂製マットでは受精卵はマット内面に入り込み、計数が出来ないといった問題が発生した。このため、2008年からアワビ種苗生産に用いるポリカーボネイト製波板を親魚水槽の底全体に設置した。ポリカーボネイト製波板を使った採卵では、一定面積に付着した受精卵数を計数し、全体の面積で割り戻す方法で比較的容易に産卵数の推定が可能となった。また、この方法はプールクリーナーで直接水槽底から受精卵を回収する方法に比べて、比較的汚れが少ない状態で受精卵を稚魚生産水槽に收容することができ、よりきれいな状態の受精卵を大量に回収する方法を確立できた。

ふ化仔魚への給餌方法の検討

ハギ類はふ化直後のサイズがマダイなどに比べ小さいため、マダイの種苗生産で用いられているS型ワムシ、アルテミアノープリウス、配合飼料の給餌系列では飼育が困難であった。このためウマズラハギの種苗生産において高見ら¹⁾は日令3から日令10までマガキトロコフォーラ幼生とマガキD型幼生を給餌し、その後S型ワムシ、チグリオパス、ミンチ肉の餌料系列を用い27%の生残率を得ている。また塚島ら²⁾はカワハギの種苗生産でS型ワムシ、チグリオパス、アルテミアノープリウス、イシダイ卵、イシダイ仔魚の餌料系列及びS型ワムシをプランクトンネットで小型個体を選別して給餌、アルテミアノープリウス、魚卵、仔魚の餌料系列で行ったが、生残率は7.5%に留まっている。当センターのカワハギ種苗生産では2006年生産では日令2から日令7までシカメガキ卵とD型幼生、S型ワムシタイ株を日令4に、S型ワムシを日令4から日令28まで、アルテミアノープリウスを日令19から日令33まで、配合飼料を日令20から給餌し、12.3%の生残率を得た。しかし、カキ受精卵及びD型幼生の給餌は、

カキを採取後、むき身にして、生殖巣を切開法で採卵した後、受精させなければならず、大量生産には適していない。そこで2009年生産ではカキ受精卵、D型幼生の代わりに日令2から日令9までS型ワムシタイ株の給餌を行い11.6%の生残率を得ることが出来た。S型ワムシタイ株を利用することで作業の省力化と大量生産への対応が可能となった。

高見ら¹⁾はS型ワムシ給餌と併用しながら日令20からチグリオパスを5日間給餌、塚島ら²⁾はS型ワムシ給餌と併用しながら日令18からチグリオパスとアルテミアを5日間給餌している。しかし当センターの飼育では日令16で配合飼料へ餌付させることが出来たため、アルテミアの給餌は日令22の1日のみで、この点でも作業を効率化することが出来た。

共食いの防止

ハギ類の種苗生産における共食いの発生について、高見ら¹⁾の報告では共食いに関する記載は見られない。また塚島ら²⁾の報告でも生産途中で白点虫による大量減耗が発生したためか、記載が見られない。しかし当センターでのカワハギ種苗生産では、2006年は日令19前後から、2009年は日令30以降共食いが観察されている。この対策として2009年の生産ではプラスチック製の籠で、パッチを形成した小型魚をすくい上げ、別水槽に分槽した。分槽した水槽に收容した小型魚はその後順調に生育した。分槽後の大型魚には、冷凍イカナゴ、冷凍オキアミやヒラメ成魚用EPを稚魚の口径に合わせることなくそのまま給餌した。これは、この時期のカワハギ稚魚が常に何かをつつく摂餌様行動が盛んに観察され、この行動から、口径にあわせた給餌では摂餌様行動への嗜好性を満たせないと思われたため、稚魚の嗜好性を満足させ、さらに稚魚にとって餌になり得るものとして、口径以上の大きさの餌を与えた。3種類とも非常に餌付は良

く、共食い防止の効果も高かった。

以上のように、2006年から2009年にカワハギ種苗生産技術開発に取り組んだ結果、受精卵数は15,000粒から、2,700,000粒に増加し、卵質向上、共食いの対策が効果を上げ、生産尾数は1289尾から31,361尾に増加し、当センターの施設規模における種苗生産技術を確立することが出来た。現在、県内の種苗生産業者への種苗生産技術を移転しているところであり、今後はそれぞれの種苗生産業者の施設に合わせた技術改良を行っていく予定である。

要 約

養殖用カワハギ種苗を生産するため、カワハギ種苗生産の技術開発を行った。親魚養成では肥満度20を目安に給餌量を調整することで、卵質を安定させることが可能になった。また、ポリカーボネイト製波板を用いた効率的な受精卵の回収方法を確立した。さらに、S型ワムシタイ株を用いることで、ふ化直後の餌不足を解消でき、日令19以降に発生する共食いの防止には、小型群の分槽と、大型群への大型餌料の給餌が効果的であった。

謝 辞

本研究を行うにあたり、S型ワムシタイ株の種株を提供していただいた独立行政法人水産総合研究センター日本海区水産研究所初期餌料グループとS型ワムシを提供していただいた財団法人くまもと里海づくり協会に深謝します。

文 献

1) 高見東洋, 宇都宮 正: ウマヅラハギの種苗生産に関する研究. 山口県内海水産試験場調査研究業績 1969; 18-2: 1-29.

2) 塚島康生、北島 力、吉田範秋、松村晴治: カワハギの種苗生産 長崎県水産試験場事業報告 1982; : 168-169.

3) 畑井喜司雄、小川和夫 監修: 新魚病図鑑. p165

トラフグのヘテロボツリウム (*Heterobothrium okamotoi*) 症に対する

フェバンテルの駆虫効果に関する研究

木村武志

I 序 論

I.1 熊本県におけるトラフグ養殖の経緯

トラフグ *Takifugu rubripes* は 1950 年代から天然魚を用いた蓄養が開始されたが初期の生産量は 100 トン程度であった(安田 1960)。その後 1981 年頃から熊本県、長崎県及び愛媛県などの主要養殖県で人工種苗を用いた本格的な養殖が始まり、農林水産統計調査によると 1987 年の生産量は 1,000 トンあまりであったが、順調に生産量が増加し 1997 年には 5,900 トンに達した (Fig. 1)。

これは我が国の経済状態が好調で、高級魚であるトラフグの消費が拡大したことや、養殖マダイ *Pagrus major* の生産が 8 万トン代に達し、供給過剰により価格低下が進み、養殖業界が代替の養殖魚種としてトラフグを導入したことが要因となっている。また種苗生産技術の安定化、特に養成親魚からの採卵技術の開発によって種苗供給体制が充実したこと(中田ら 1997)、養殖トラフグの減耗要因の一つである噛み合いを防ぐ「歯切り」技術等の養殖技術の定着による歩留の安定化が要因と考えられる。

トラフグ養殖は、全長 50mm 程度まで陸上水槽で人工生産した種苗を海面水温が 20℃を越える 4 月～5 月に海面の網生簀に収容し開始される。種苗は、10 m×10 m×6 m (縦×横×深さ) 程度の網生簀に 10,000 尾程度が収容され、全長 10cm 程度になった時点で最初の歯切りの作業が行われ、1 生簀あたり 5,000 尾程度に分養される。その後、歯切り作業を繰り返しながら 3,000 尾程度の密度で飼育され、翌年の 9 月以降に 700g 以上の個体で出荷される。この間、飼料は、冷凍されたアミ類や魚類と魚粉主体の粉末配合飼料を混合して調整されたモイストペレット (以下 MP) であり、固形のエクストルーダーペレット (以下 EP) は、養殖開始時に僅かに使用さ

れる程度である。

一般的にトラフグ養殖が経営的に成立するためには、出荷時までの歩留が 50%以上で単価 3,000 円/kg 以上とされており (佐野 1998)、収容密度がマダイの約 10 kg/m³に比較して、約 3 kg/m³ 程度と低いことから、出荷までの歩留りをいかに高めるかが重要となる。歩留りが 50%以上であれば、単価が高いことや、出荷サイズの 1 kg 未満まで約 1.5 年で成長し、飼育期間が比較的短いこと、マダイと比較して餌料効率が高いこと、給餌・排泄による環境負荷が低いこと等、魚類養殖においては利点が多いと考えられる。

トラフグ養殖は熊本県においても順調に生産量を増加させてきたが、1996年に真珠養殖業者との間でいわゆるホルマリン問題が発生し、その後生産量が低下した (Fig. 2)。

この問題は単生類デイクリドフォラ科の *Heterobothrium okamotoi* (以下ヘテロボツリウム) が、トラフグの鰓及び鰓腔壁に多数寄生して起こるヘテロボツリウム症の治療のためにホルマリンが用いられたことによる。このホルマリンを用いた処理は、海面に設置した容積が 5k1 から 10k1 程度のビニルシート製のプールに、海水を用いて 500～1000 ppm の濃度に希釈したホルマリンを入れ、ヘテロボツリウムの寄生を受けたトラフグを 10～30 分浸漬し、トラフグを生簀に戻すのに合わせて、ホルマリンを含む海水を海域へ廃棄するという方法で行われていた。この廃棄されたホルマリンによって近隣の真珠養殖場のアコヤガイ *Pinctada fucata martensii* に大量死が発生したとして問題となった。

この問題は、水産用医薬品として承認されていないホルマリンを使用することが薬事法に違反することだけでなく、食品としての養殖トラフグの安全性

や、廃棄されたホルマリンが周辺環境に与える影響が危惧されるなど、社会問題となった（巻末付表1参照）。このため、熊本県は「ホルマリンを使用しないトラフグ養殖の実現」に向け、漁業調整委員会のホルマリン使用禁止に向けた指示の発効や、ホルマリンの代替薬浴剤として、ブリ *Seriola quinqueradiata* に寄生する単生虫ハダムシ *Benedenia seriolae* の駆虫用薬浴剤として承認されていた過酸化水素製剤をトラフグにも用いられるように効能拡大を行うなど対応に取り組んだ。

その結果、県内におけるホルマリン使用は解消されたが、過酸化水素製剤がヘテロボツリウムの成虫には効果がないことや、水温が25℃以上では使用できなど十分な対応ができず、併せて粘液胞子虫が寄生して起こる「やせ病」等の新たな疾病の発生も重なり（Tin Tun 2000）、出荷までの平均歩留は30%程度まで低下した。また、1990年代末からの景気の下降による国内消費の低迷や、中国産養殖トラフグの輸入が1996年の1,627トンから2002年には2,135トンと急増したため、国内養殖トラフグ単価の急激な低下を招き、トラフグ養殖から撤退する業者も発生した。

熊本県においては、1996年には142あったトラフグ養殖経営体が2002年には87まで減少し（熊本県2002）、農林水産統計によると1996年に1,800トンあった生産量も2002年には831トンまで減少するなど、トラフグ養殖経営は危機的な状況に陥った。さらに2003年4月には長崎県においてホルマリン問題が発生し、養殖トラフグの安全性が再度問われることとなり、熊本県では、ホルマリンを使用せずに養殖されたトラフグを県が認証する「適正養殖認証制度」を開始し、トラフグ養殖生産量の回復と持続的な生産の確保に取り組んだ。また、養殖業界からはトラフグの安定生産のためにヘテロボツリウムの駆除効果が不十分な過酸化水素製剤に代わる新たな駆虫剤が強く要望された。

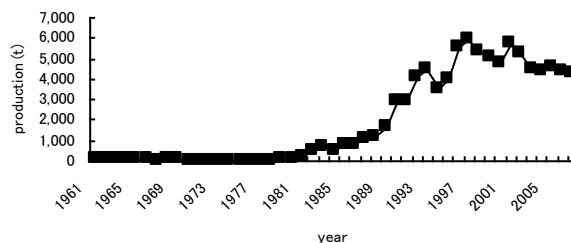


Fig. 1. The production of cultured tiger puffer in Japan

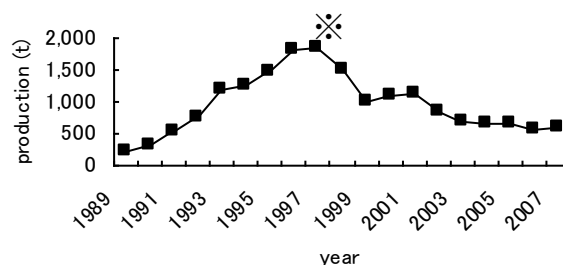


Fig. 2. The production of cultured tiger puffer in Kumamoto prefectural

※ The occurrence year of “The formalin problem”

1.2 トラフグ養殖に発生するヘテロボツリウム症

トラフグのヘテロボツリウム症は1960年代の蓄養の時代から被害の報告があるが（岡本1963）、近年の養殖生産量の増加に従いトラフグ養殖の生産性を左右する重要な疾病の一つとなっている。この疾病は単生類ヘテロボツリウムの未成熟虫が鰓弁上に、成虫が鰓腔壁に多数寄生し吸血することにより発生し、寄生を受けたトラフグは貧血症状を呈する（Fig. 3 A）。

また、成虫は寄生のために鰓腔壁内に体の後半部分を埋め込んでおり、この寄生部位での炎症また、寄生部位への海水の浸入および細菌の二次感染等により鰓腐れの状態を起こすことも知られている（小川2005）（Fig. 3 B）。

多数の寄生が起こった場合には、極度の貧血により死亡する場合もあるが、多くの場合は他の寄生虫の寄生や、ビブリオ病、滑走細菌症などとの混合感染を引き起こして死亡するケースが多い。この疾病の

診断は、貧血による鰓の退色や体色の黒化などの外観症状から行えるが、解剖による虫体の確認が必要である。

ヘテロボツリウムの成虫は1日に約720個の卵を産み出し、これらが1本のフィラメントでつながるため、非常に絡まりやすい形状となる。またヘテロボツリウムの寿命は約3ヶ月とされておりこの間、連続して産卵することが知られている。このためヘテロボツリウムの寄生が多数になると鰓から糸状の卵をひきずりながら遊泳するトラフグや、飼育網生簀の網地に絡まった多量の卵塊が養殖場では観察される (Ogawa Inouye 1997a)。

卵は20℃、7日間でふ化し、ふ化仔虫はその後2日間高い寄生能力を有して再寄生を繰り返すが、再寄生できなかった仔虫は比重が海水より重く走光性も示さないため自然と沈下していく (小川 2005)。

熊本県内のトラフグ養殖場でのヘテロボツリウム寄生は、水温が25℃以上の7～8月には少ないが、水温が低下しはじめる9月以降急激に増加する傾向がある。このため新たな種苗が陸上の飼育施設から海面の養殖場に6月頃に収容された後、10月頃から寄生数の増加が観察されるのが一般的であるが、近隣の養殖場にすでにヘテロボツリウムが寄生した1歳魚がいる場合、6月～8月の魚体重が30g程度の小型魚でも大量の寄生を受け、被害が大きくなる傾向がある。このように0歳魚では2度の危険期を有するが、1歳魚では成虫の継続的な寄生が見られても、他の疾病の感染が無い場合は重篤な状態に陥ることは少ない。

本種は宿主特異性が高くトラフグに対して特異的に寄生するため、トラフグが自然宿主と考えられ、ヘテロボツリウムに対して免疫を獲得することも示唆されており、寄生があっても他のストレスに対して対応できれば順調に生育する場合も見られる (小川 2005)。

この例としてトラフグは適水温外では海底に潜砂して眠り、ストレス対応を行うことが知られており、熊本県水産研究センターの陸上水槽で、数年にわたり飼育しているトラフグも、常にヘテロボツリウム

の寄生が見られ、水槽内に多数の卵も確認されるが、水槽底にじっと着底してストレス対応を行っていることから、順調に生育している (熊本県 2001、小川 2005)。

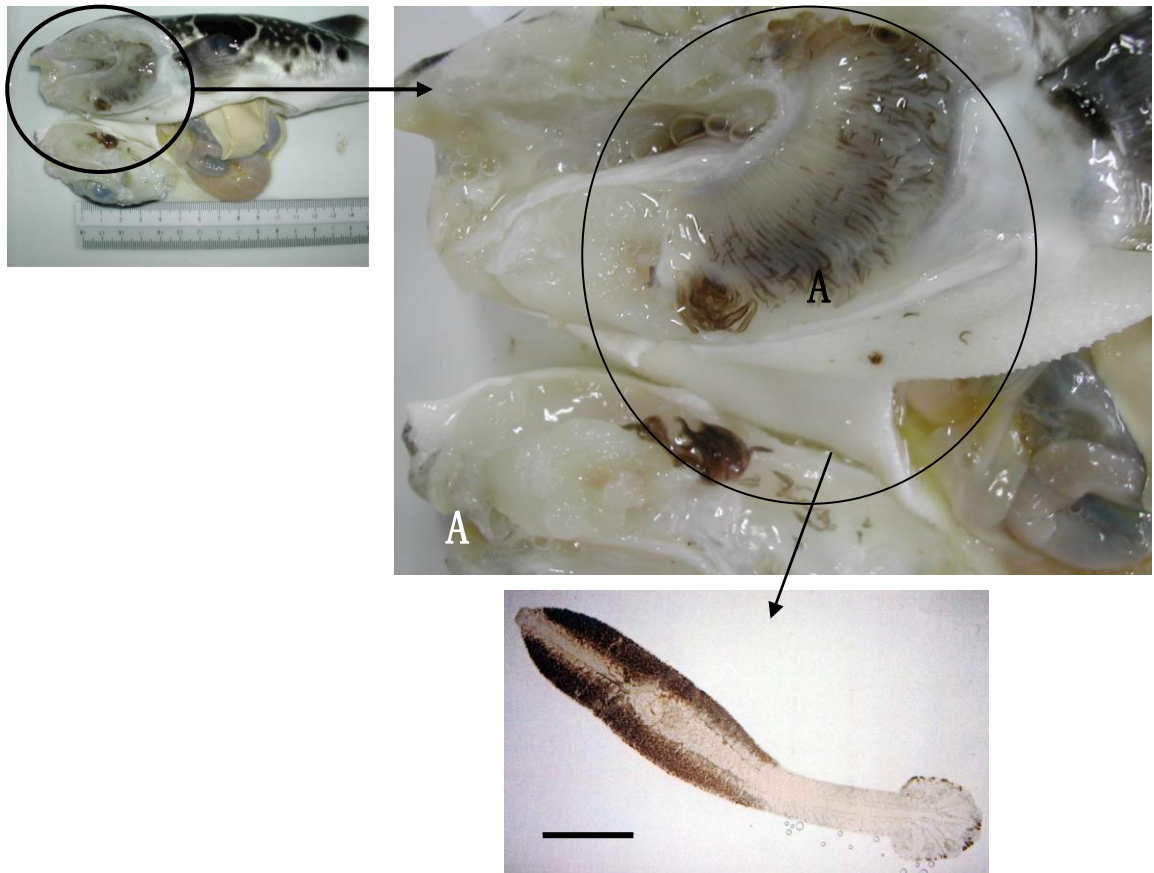
しかし養殖場においては網生簀の底に着底することは波浪等の影響で困難であることなどから、多くのストレスがかかり、度重なる再寄生によりトラフグが重篤な状態に陥ることが多い。

また、ヘテロボツリウム症においては、成虫の吸血量が未成熟虫に比べ格段に多いこと (安崎 2003)、寄生部位における細菌の二次感染の発生及び成虫の飼育生簀内での産卵による再寄生の発生など成虫がトラフグに与える影響が大きいと言える。しかし、既に承認されている過酸化水素製剤では鰓腔壁に寄生した成虫を駆除することは困難であることから、ふ化幼生の再寄生を防止し、できるだけ養殖場におけるヘテロボツリウムの数を減らし、寄生数を低減させることが重要な対策となっている。ヘテロボツリウムの卵は10分以上の乾燥によってふ化できなくなるため、頻繁な網換えと、トラフグの状態が良好であれば過酸化水素製剤の薬浴による仔虫の駆除は有効である。また新たな種苗を導入する際に、寄生歴のあるトラフグとできるだけ距離が離れた漁場を利用すれば、ふ化幼生が寄生する前に海底に沈下することも期待できる。

しかし頻繁な網替えは作業の負担を大きくし、また、養殖業者ごとに決められた区画内で行われる養殖漁業においては漁場を分けた利用は実現が困難な状況である (小川 2005)。したがって養殖業者からはヘテロボツリウムの成虫を効果的に駆除する新たな薬剤の開発が強く求められた。

この論文は、養殖トラフグのヘテロボツリウム症対策として、経口駆虫剤フェバンテルについてその薬剤動態及びヘテロボツリウム駆虫効果についてこれまで公表してきた内容に、未発表のものを加え効果的なヘテロボツリウム症対策について考察した。

Fig. 3. The tiger puffer seriously parasitized by *Heterobothrium okamotoi*
A: heavy anemia, B: rotted gill and cavity wall



Mature worm of *Heterobothrium okamotoi* (Bar=3mm)
(Pictures of *Heterobothrium okamotoi* was presented by Dr. Motoyuki Nakane)



II フェバンテルの薬効機序

フェバンテルは、分子量が 446.49 のベンツイミダゾール化合物の一種であるフェンベンダゾールの腸管吸収性を良くした誘導体（プロドラッグ）で、水およびアルコールに不溶性の特性を持つ無味・無臭の白色粉末状の薬剤である（Fig. 4）（吐山 1994）。投与生物に吸収された後、酵素等により代謝されて速やかに活性物質であるフェンベンダゾールに代わるように設計されており（Baert *et al.* 1993; Debacker *et al.* 1993; Ben-Zvi *et al.* 1996）、吸収性が良いために、消化管以外に寄生する寄生虫に対して有効性が高い。このためフェバンテルは動物用医薬品として 1978 年にオーストラリアで承認されて以来、馬、牛、豚及び羊等の駆虫剤として 23 カ国以上で承認されており、日本においても馬用の経口投与剤が承認されており、フェンベンダゾールについては豚用の動物用医薬品として承認されている（食品安全委員会 2006）。

フェバンテルは実験動物及び家畜における試験で 40%以上が腸管から吸収され、その開裂したイミダゾール環がメトキシアセチル基の除去後に酵素的に閉環し、速やかかつ高度に駆虫活性を有するベンツイミダゾール化合物であるフェンベンダゾールが形成される。

フェンベンダゾール（分子量 299.35）は白色の粉末又は結晶性の粉末で、臭いはほとんどなく、酢酸にやや溶け易く、メタノール及びクロロホルムに極めて溶けにくく、水にはほとんど溶けないなどの物理化学的性質を持つ。

一般的にベンズイミダゾール化合物は比較的緩徐に作用する遅効性の駆虫薬で、その生物学的有効率および駆虫活性は有効成分の最高濃度にほとんど依存せず、宿主の消化管および血漿中の有効成分濃度の持続時間に依存するとされる（吐山 1994）。

フェバンテルは実験動物及び家畜体内でフェンベンダゾールおよびオキシフェンダゾールに変化した後、さらに酸化反応によって無活性のスルホン代謝物になり、糞便および腎臓を介して排泄される。代謝物の最高血漿中濃度到達時間（Tmax）はヒツジで

は 6～12 時間後、雌牛では 12～24 時間後である。半減期（T1/2）はヒツジでは 24 時間、ブタでは 3 日間である。

フェバンテル及びフェンベンダゾールの魚類における体内動態及び魚類寄生虫への作用機序について報告例は無いが、一般的にベンツイミダゾール系駆虫剤は寄生虫細胞の微小管細胞質蛋白単位（チューブリン）との結合により駆虫効力を持つ。まず、ベンズイミダゾールと遊離チューブリンとの結合によって、チューブリンから微小管への多量体化が阻害され、寄生虫細胞内の生命維持に重要な細胞骨格の形成障害が発生する。次に栄養素および代謝基質の取り込みと、細胞内移送の抑制が起こり、特にグルコース取り込み減少によって内因性グリコーゲンの消費量増加ないしは合成減少が生じる。これによりアデノシン三リン酸合成およびアデニンヌクレオチドの代謝が強く抑制され、寄生虫はその貯蔵物質を利用し尽くして死亡するとされている（吐山 1994）。

養殖魚の経口投与による寄生虫駆除剤としては、スズキ目魚類のハダムシ症薬剤としてプラジクアンテルが水産用医薬品の承認がなされている。プラジクアンテルは安全域の極めて広い条虫駆虫薬であり、動物及び人にも用いられており、その作用機序として、寄生虫の外皮を破壊すること、寄生虫の無機イオンの能動的移動を阻害し痙攣や収縮を起こすこと、さらに寄生虫のグルコース吸収を抑制する等の栄養素の代謝を阻害することが知られており、これらの作用機序によりハダムシがプラジクアンテルに経口的あるいは直接接触することにより、虫体の固着盤が変形し、吸着能を失い脱落するのではないかと推測されている（吐山 1994、横山 2004）。

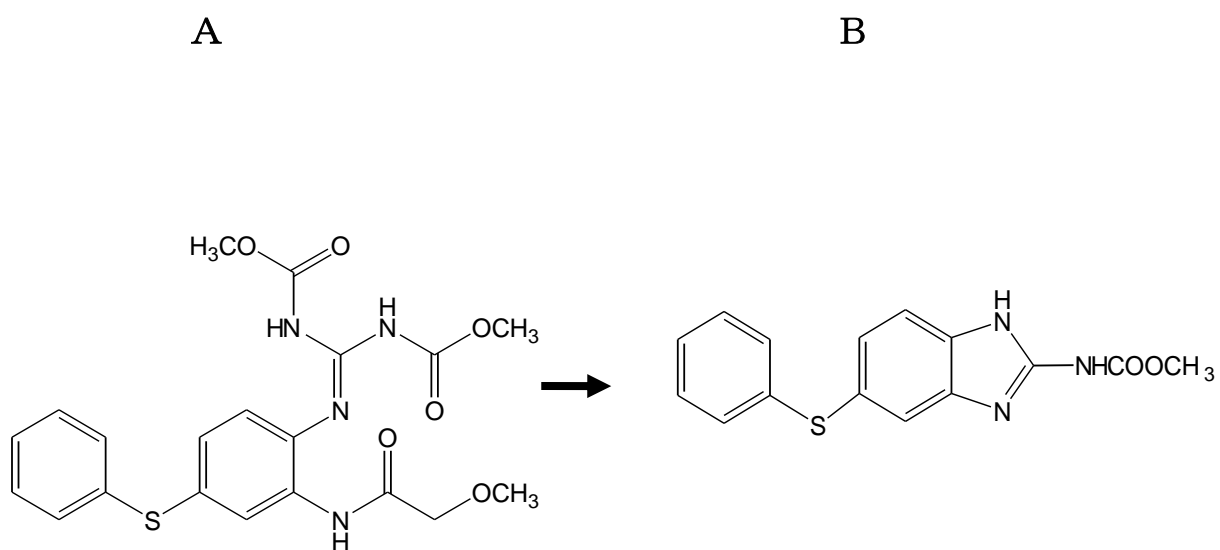


Fig. 4. The formula for febanfel (A) and fenbendazole (B)

Ⅲ フェバンテルのトラフグにおける吸収および組織分布

フェバンテルはフェンベンダゾールのプロドラッグであり、家畜動物の寄生虫駆除薬として広く用いられているが、魚類に経口投与した場合の体内動態及び組織への分布については明らかにされていない。そこでフェバンテルのヘテロボツリウム症に対する投薬効果を明らかにするに当たり、これまで薬効機序が明らかにされているほ乳類と同様に、フェバンテルがトラフグ体内に吸収された後に、薬効を発揮するフェンベンダゾールへの変換が行われるか、また、血中濃度の推移および組織への分布の変化に関する知見を収集することを目的として検討を行った。

材料及び方法

供試魚には熊本県水産研究センターで飼育中の病歴のない健康なトラフグ1年魚（平均魚体重215 g）63尾を用いた。

投薬試験に先立って屋内に設置した2 kL水槽を用い、通気を行いながら、16回転/日の割合で砂濾過海水による流水飼育による5日間の馴致飼育を行った。試験期間中の水温は22.7～23.3℃（平均水温23.1℃）で変化した。馴致期間中の飼育餌料は、配合飼料（メルシャン株式会社ヒラメマッシュ73）とアミ、イカナゴおよびアジのミンチ肉を重量比3：3：3の割合でよく混練したのち、ペレット状に成形したモイストペレットを-20℃の冷凍庫で凍結して保存し、凍結したまま魚体重の1.0%量を毎日与えた。

投薬にはフェバンテルを有効成分として1 g中250 mgを含有する試験薬剤を用い、給餌率を0.8%として、トラフグ魚体重1kg当たり、フェバンテル濃度が25 mgとなるように調整したMPを1回投与した。

血液中の薬剤濃度を測定するための採材は、投薬前、投薬終了4、8、12、18、24、36、48 および 72 時間後の合計9回行った。

毎回無作為に取り上げた5尾を解剖して、それぞれから肝静脈血を採取し、遠心分離で得られた血漿

を分析試料とした。採血にはヘパリン処理し、23Gの注射針をつけた注射筒を用いた。また、腎臓、筋肉及び皮膚は投薬前、投薬後4、12及び24時間後に採取し、個体別、臓器別に分析を行うまで-80℃で凍結保存した。

フェバンテルの分析方法は、試料0.5 gをアセトニトリルで抽出し、n-ヘキサンによる脱脂及び Mega BE-C18 (Varian) によるクリーンアップを行った後、最終液量を0.5 mLとし、高速液体クロマトグラフ法で測定して、フェバンテル濃度を求めた。

高速液体クロマトグラフへの注入量は10 μLで、カラムはWakosil 5C18 (φ4.6 mm×250 mm：和光純薬) を40℃で用いた。移動相はアセトニトリルと水を6：4の割合で混合して用い、流量1.0 mL/minとし、波長280 nmで測定した。

フェンベンダゾール及び変異体については、フェンベンダゾール及びオクスフェンダゾールを酸化してオクスフェンダゾール・スルホンとして定量した。すなわち、試料0.5 gをアセトニトリル抽出し、n-ヘキサンによる脱脂及び Mega BE-C18 によるクリーンアップに続いて、硫酸及び過マンガン酸カリウムによりフェンベンダゾール及びフェンベンダゾールスルホキシドを酸化しオクスフェンダゾール・スルホンに誘導して、一括物をクロロホルムで抽出した。最終液量を1.0 mLとして、高速液体クロマトグラフ法で、オクスフェンダゾール・スルホン濃度を求めた。

高速液体クロマトグラフへの注入量は10 μLで、カラムはGS-320HQ (φ7.6 mm×300 mm：Asahipak) を室温(25℃)で用いた。移動相はメタノール、アセトニトリル及びエタノールを6：4：2の割合で混合して用い、流量0.6 mL/min.として、励起波長が254 nm、蛍光波長は415 nmで検出した。

フェバンテルとオクスフェンダゾール・スルホンの濃度は標準品を用いた検量線から算出した。検出限界はフェバンテル及びオクスフェンダゾール・スルホンともに0.05 μg/gであった(巻末資料付表2参照)。

投与された薬物の体内における動態を把握するため、薬剤の効果に大きく影響する因子である最高血

中濃度 (Cmax) と最高血中濃度到達時間 (Tmax) 及び血中濃度下面積 (AUC) について試験結果に基づく検討を行った (菅野 2004)。

すなわち、フェバンテルを魚体重1 kg 当たり 25mg で投与した場合の個体別血漿及び各臓器中のフェバンテル及びオクスフェンダゾール・スルホン濃度について次のように解析した。フェバンテルを投与した後の血漿及び各臓器中のフェバンテル及びオクスフェンダゾール・スルホン濃度の対数を時間に対してプロットし、最終実測値を含む数時点の直線部分から消失速度定数 (kel) を求め、半減期 ($T_{1/2}$) を算出した。最終実測値までの血漿中濃度-時間曲線下面積 (AUC) は台形法にて算出した。投与後の血漿及び各臓器中のフェバンテル及びオクスフェンダゾール・スルホンの最高濃度 (Cmax) 及び最高濃度到達時間 (Tmax) は実測値を用いた。

これらの解析は解析ソフト (WinNonlin Ver. 3. 3, Pharsight Corporation) を用いて行った。

結 果

試験中の摂餌や遊泳状態は良好で、給餌したフェバンテル入りの餌料は給餌直後に全て摂餌され、死亡や摂餌不良に陥る個体は観察されなかった。

フェバンテルを魚体重1 kg 当たり 25 mg の濃度で1回経口投与したトラフグの血漿中のフェバンテル及びオクスフェンダゾール・スルホン濃度の分析結果を Table 1 に示した。いずれの供試魚においてもフェバンテルの血中濃度変化は同様の変化を示した。

すなわち、投与後の濃度のピークは投薬4時間後で、平均で $0.58 \mu\text{g/g}$ の濃度を示し、8時間後にはピークの30%まで減少し平均 $0.17 \mu\text{g/g}$ となった。その後36時間後にはいずれの供試魚も検出限界以下となった。

これに対し、オクスフェンダゾール・スルホンの血中濃度のピークはいずれの供試魚においても投薬後12時間後で、その後最終採材時である72時間後まで血漿中から検出された。

フェバンテルとオクスフェンダゾール・スルホン

の経過時間ごとの濃度は、0時間からフェバンテルの場合は投薬4時間後、オクスフェンダゾール・スルホンの場合は投薬12時間後のピークを過ぎた後、徐々に減少するコンパートメントモデル曲線を示した (Fig. 5)。

フェバンテル及びオクスフェンダゾール・スルホンの筋肉、皮膚、腎臓および肝臓中の濃度の測定結果を、それぞれTable 2, 3, 4, および5に示した。

フェバンテルは投与4時間後に筋肉で $0.088 \mu\text{g/g}$ 、皮膚で $0.18 \mu\text{g/g}$ 、腎臓で $0.41 \mu\text{g/g}$ 及び肝臓で $1.9 \mu\text{g/g}$ (いずれも平均値) とわずかに認められたのみで、それ以後は検出されなかった。

オクスフェンダゾール・スルホンは筋肉および皮膚及び腎臓でいずれも血中濃度と同様に投与12時間後に筋肉で $1.85 \mu\text{g/g}$ 、皮膚で $2.7 \mu\text{g/g}$ 、腎臓で $5.0 \mu\text{g/g}$ と最も高い値を示した。これに対し肝臓では投与4時間後に $29.0 \mu\text{g/g}$ と最も高い値を示し、他の採材部位に比べて最高濃度に達する時間も早く、濃度も高い値を示した。

さらに分析結果から算出したフェバンテルおよびオクスフェンダゾール・スルホンの最高濃度 (Cmax)、最高濃度到達時間 (Tmax)、半減期 ($T_{1/2}$) および無限濃度曲線下面積 (AUC) を、それぞれTable 6および7に示した。

フェバンテルのCmaxは肝臓で $1.86 \mu\text{g/g}$ と最も高く、次いで血漿の $0.58 \mu\text{g/g}$ 、腎臓の $0.41 \mu\text{g/g}$ 、皮膚の $0.18 \mu\text{g/g}$ および筋肉の $0.09 \mu\text{g/g}$ の順であった。また、フェバンテルのTmaxは全ての組織で4時間後であった。フェバンテルの $T_{1/2}$ は血漿および肝臓でそれぞれ6.9時間および5.1時間であった。腎臓、皮膚、筋肉については検出が1時点のため算出できなかった。AUCは腎臓が $3.33 \mu\text{g/g}$ 、皮膚が $1.96 \mu\text{g/g}$ 、筋肉が $1.43 \mu\text{g/g}$ を示したのに対し、肝臓で $18.74 \mu\text{g/g}$ と高い値となった。

オクスフェンダゾール・スルホンのCmaxはフェバンテルの結果と同様に肝臓で最も高く、 $29.02 \mu\text{g/g}$ 、次いで血漿の $10.28 \mu\text{g/g}$ 、腎臓の $5.04 \mu\text{g/g}$ 、皮膚の $2.74 \mu\text{g/g}$ および筋肉の $1.85 \mu\text{g/g}$ の順であった。オクスフェンダゾール・スルホンのTmaxは肝臓で4時

間であったが、それ以外の組織では12 時間であった。算出されたオクスフェンダゾール・スルホンのT_{1/2}は血漿で12.2、腎臓で6.9、皮膚で10.1、筋肉で13.3 および肝臓で8.6 時間であった。AUCは腎臓が83.34 $\mu\text{g/g}$ 、皮膚が40.06 $\mu\text{g/g}$ 、筋肉が26.16 $\mu\text{g/g}$ を示したのに対し、肝臓で453.90 $\mu\text{g/g}$ とフェバンテルと同様に肝臓で高い値となった。

考 察

フェバンテルは投与後にフェンベンダゾールへ速やかに移行することがこれまで牛、豚、羊、家きん等示されている(Baert *et al.* 1993 ; Debackere *et al.* 1993 ; BenZvi *et al.* 1996)。本章ではフェバンテルを投与したトラフグの血漿中のフェバンテル濃度がオクスフェンダゾール・スルホンの濃度より明らかに低く、またフェバンテルの血中濃度のピークがオクスフェンダゾール・スルホンのピークより早い時間に来ていることを明らかにした。これはトラフグに経口投与されたフェバンテルはトラフグ体内で速やかにフェンベンダゾール及びその変異体に移行することを示すと考えられた。

また、血漿を含む各臓器のフェバンテルのC_{max}が肝臓で最も高い値を示し、T_{max}が各臓器とも4.0 時間であること、オクスフェンダゾール・スルフォンにおいてC_{max}は同様に肝臓で最も高い値を示し、T_{max}は肝臓において4.0 時間で、他の臓器では12 時間であったこと、さらにAUCの値も血漿が全体の29.5%、肝臓が全体の53.7%を占め、筋肉、皮、腎臓へのフェンベンダゾールの分布量が小さいことなどから、トラフグに経口投与されたフェバンテルは肝臓でフェンベンダゾールなどに変換され血液を介して各臓器へ移送されたと考えられた。

哺乳類における試験結果でも、投与されたフェバンテルは肝臓でフェンベンダゾールなどの変異体へ変換されることから(吐山 1994)、フェバンテルは、哺乳類と同様にトラフグにおいても肝臓でフェンベンダゾールなどへ変換されると考えられる。

トラフグに寄生するヘテロボツリウムは吸血によ

り栄養を補填して成長するため、血漿中に十分な濃度の駆虫剤が供給されることで駆虫効果が期待される。本章においてフェバンテルを投与した4時間後のトラフグの血漿中にオクスフェンダゾール・スルフォンが存在することが明らかになり、フェバンテルの変異体がヘテロボツリウムに対する駆虫効果を有する可能性が考えられた。一般的にベンツイミダゾール系駆虫剤は遅効性であり、2～3日の連続投与が必要とされていることから、駆虫を効果的に行うために、投与濃度及び投与日数について検討する必要があると考えられた。

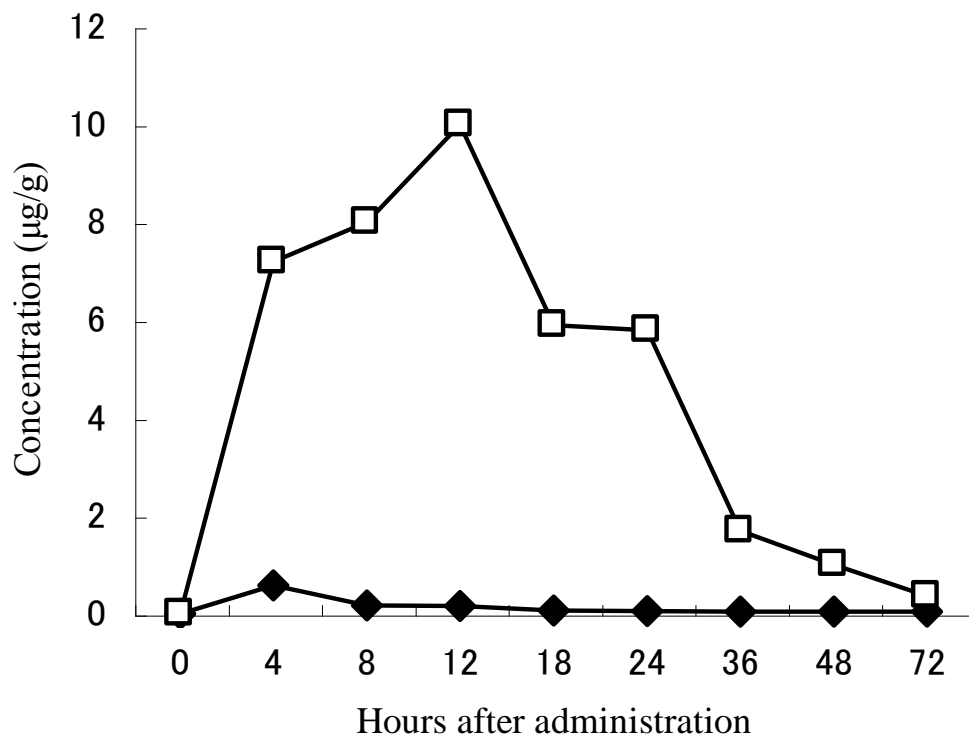


Fig. 5. The concentration-time profile of febantel and oxfendazole sulphone in the plasma after oral administration of febantel. The symbols \blacklozenge and \square represent febantel and oxfendazole-sulphone, respectively.

Table 1. Concentration of febantel and oxfendazole-sulphone in plasma of cultured tiger puffers following oral administration of febantel at the dose of 25 mg/kg body weight

Fish number	Concentration of febantel ($\mu\text{g/g}$)								
	Before administration	Time after administration							
		4h	8h	12h	18h	24h	36h	48h	72h
1	<0.05	1.50	0.35	0.18	0.09	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
2	<0.05	<0.05	0.25	0.24	0.10	0.07	<0.05	<0.05	<0.05
3	<0.05	0.36	0.07	0.20	0.08	0.07	<0.05	<0.05	<0.05
4	<0.05	0.41	<0.05	0.06	0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
5	<0.05	0.59	0.19	0.10	<0.05	0.07	<0.05	<0.05	<0.05
average	0*	0.58*	0.17*	0.16	0.07*	0.06*	<0.05*	<0.05*	<0.05*
S.D.		0.55	0.14	0.07	0.02	0.01	0.00	0.00	0.00

Fish number	Concentration of oxfendazole-sulphone ($\mu\text{g/g}$)								
	Before administration	Time after administration							
		4h	8h	12h	18h	24h	36h	48h	72h
1	<0.05	13.00	11.00	8.80	5.30	7.10	1.50	0.58	0.24
2	<0.05	0.16	14.00	14.00	0.77	6.50	1.60	0.13	<0.05
3	<0.05	6.30	4.00	9.40	12.00	4.10	2.30	2.70	0.61
4	<0.05	7.50	0.79	13.00	4.60	5.60	2.20	0.45	0.48
5	<0.05	9.00	10.00	6.20	6.70	5.60	0.66	1.20	0.42
average	0*	7.20	8.00	10.00	5.90	5.80	1.70	1.00	0.36*
S.D.		4.70	5.40	3.20	4.10	1.10	0.66	1.00	0.22

*: Calculation values below the detection limit were regarded as=0 $\mu\text{g/g}$ before the drug administration and 0.05 $\mu\text{g/g}$ after administration.

Table 2. Concentration of febantel and oxfendazole-sulphone in muscle of cultured tiger puffers following oral administration of febantel at the dose of 25 mg/kg body weight

Fish number	Concentration of febantel ($\mu\text{g/g}$)			
	Before administration	Time after administration		
		4h	12h	24h
1	<0.05	0.15	<0.05	<0.05
2	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
3	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
4	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
5	<0.05	0.14	<0.05	<0.05
average	0*	0.09*	0.05*	0.05*
S.D.		0.05	0.00	0.00

Fish number	Concentration of oxfendazole-sulphone ($\mu\text{g/g}$)			
	Before administration	Time after administration		
		4h	12h	24h
1	<0.05	1.5	2.3	0.75
2	<0.05	<0.05	1.9	0.87
3	<0.05	0.51	2.2	0.54
4	<0.05	0.29	2.1	<0.05
5	<0.05	1.2	0.76	0.57
average	0*	0.71*	1.85	0.55*
S.D.		0.62	0.63	0.31

*: Calculation values below the detection limit were regarded as=0 $\mu\text{g/g}$ before the drug administration and 0.05 $\mu\text{g/g}$ after administration.

Table 3. Concentration of febantel and oxfendazole-sulphone in skin of cultured tiger puffers following oral administration of febantel at the dose of 25 mg/kg body weight

Concentration of febantel ($\mu\text{g/g}$)				
Fish number	Before administration	Time after administration		
		4h	12h	24h
1	<0.05	0.34	<0.05	<0.05
2	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
3	<0.05	0.11	<0.05	<0.05
4	<0.05	0.09	<0.05	<0.05
5	<0.05	0.29	<0.05	<0.05
average	0*	0.18*	0.05*	0.05*
S.D.		0.13	0	0

Concentration of oxfendazole-sulphone ($\mu\text{g/g}$)				
Fish number	Before administration	Time after administration		
		4h	12h	24h
1	<0.05	1.2	2.4	1.6
2	<0.05	<0.05	3.7	1.8
3	<0.05	0.71	2.5	<0.05
4	<0.05	0.94	3.8	1.3
5	<0.05	1.6	1.3	1.3
average	0*	0.90*	2.7	1.2*
S.D.		0.58	1	0.68

*: Calculation values below the detection limit were regarded as=0 $\mu\text{g/g}$ before the drug administration and 0.05 $\mu\text{g/g}$ after administration.

Table 4. Concentration of febantel and oxfendazole-sulphone in kidney of cultured tiger puffers following oral administration of febantel at the dose of 25 mg/kg body weight

Fish number	Concentration of febantel ($\mu\text{g/g}$)			
	Before administration	Time after administration		
		4h	12h	24h
1	<0.05	—*1	<0.05	<0.05
2	<0.05	—*1	<0.05	<0.05
3	<0.05	0.76	<0.05	<0.05
4	<0.05	<0.05	—*1	—*1
5	<0.05	—*1	<0.05	<0.05
average	0*2	0.41	0.05	0.05
S.D.		0.5	0	0

Fish number	Concentration of oxfendazole-sulphone ($\mu\text{g/g}$)			
	Before administration	Time after administration		
		4h	12h	24h
1	<0.05	5.1	5.3	2.9
2	<0.05	<0.05	5.6	4
3	<0.05	1.7	5.2	2.2
4	<0.05	2.2	6.6	2.2
5	<0.05	4.9	2.5	2.2
average	0	2.8	5	2.7
S.D.		2.2	1.5	0.79

*1 : not analyzed

*2: Calculation values below the detection limit were regarded as=0 $\mu\text{g/g}$ before the drug administration and 0.05 $\mu\text{g/g}$ after administration.

Table 5. Concentration of febantel and oxfendazole-sulphone in liver of cultured tiger puffers following oral administration of febantel at the dose of 25 mg/kg body weight

Fish number	Concentration of febantel ($\mu\text{g/g}$)			
	Before administration	Time after administration		
		4h	12h	24h
1	<0.05	3	<0.05	0.12
2	<0.05	<0.05	2	0.13
3	<0.05	0.41	1.2	<0.05
4	<0.05	<0.05	<0.05	0.26
5	<0.05	5.8	0.08	0.11
average	0*	1.9*	0.68*	0.13*
S.D.		2.5	0.89	0.08

Fish number	Concentration of oxfendazole-sulphone ($\mu\text{g/g}$)			
	Before administration	Time after administration		
		4h	12h	24h
1	<0.05	37	30	10
2	<0.05	0.11	22	9.8
3	<0.05	15	27	6
4	<0.05	26	25	6.3
5	<0.05	67	10	11
average	0*	29	23	8.6
S.D.		25	7.7	2.3

*: Calculation values below the detection limit were regarded as=0 $\mu\text{g/g}$ before the drug administration and 0.05 $\mu\text{g/g}$ after administration.

Table 6. The C_{max}, T_{max}, T_{1/2} and AUC of average concentration of febantel in organs of the tiger puffer administrated of febantel

organ	C _{max} (µg/g)	T _{max} (h)	T _{1/2} * ¹ (h)	AUC* ² (µg/g)
plasma	0.58	4	6.94	7
muscle	0.09	4	—* ³	1.43
skin	0.18	4	—	1.96
kidny	0.41	4	—	3.33
liver	1.86	4	5.06	18.74

*1: $T_{1/2} = \ln^2 / k_{el}$ *2: calculated by the log-trapezoidal rule *3: Not calc

Table 7. The C_{max}, T_{max}, T_{1/2} and AUC of average concentration of oxfendazole-sulphone in organs of the tiger puffer administrated of febantel

organs	C _{max} (µg/g)	T _{max} (h)	T _{1/2} * ¹ (h)	AUC* ² (µg/g)
plasma	10.28	12	12.17	241.6
muscle	1.85	12	6.86	26.16
skin	2.74	12	10.07	40.06
kidny	5.04	12	13.33	83.34
liver	29.02	4	8.55	453.9

*1: $T_{1/2} = \ln^2 / k_{el}$ *2: calculated by the log-trapezoidal rule

While fenbendazole (whose metabolite was measured based on the concentration of oxfendazole-sulphone)

IV フェバンテルのヘテロボツリウム症に対する投与効果

前章においてフェバンテルをトラフグに経口投与した場合に、投与4時間後に肝臓においてフェンベンダゾールなどの変異体へ移行し、血中に分布することが確認された。次いで本章では、人為感染及び自然感染によってヘテロボツリウムの寄生を受けたトラフグに対して濃度及び投与日数を変えてフェバンテルを投与し、ヘテロボツリウムに対する駆虫効果について検討した。

材料及び方法

供試魚は人為感染及び自然感染魚を用いた両試験とも熊本県水産研究センターで飼育中のトラフグ1歳を用いた。

人為感染魚を用いた試験にはヘテロボツリウム無感染のトラフグ85尾(平均体重108g)を用いた。投与した薬剤はIVの試験と同様のものを用い、投薬餌料は前章と同様に調整して、0.8%の給餌率で投与を行った。

人為感染魚を用いた試験はフェバンテルの投薬濃度が魚体重1kg当たり25mg、50mg、100mgとして1回投与区、50mgを2日間投与区及びフェバンテル無投与の対照区の合わせて5区を設定した(Table 8)。

人為感染に用いたヘテロボツリウムの卵は、熊本県水産研究センターのヘテロボツリウムが寄生した3歳のトラフグ約40尾(平均魚体重約2.0kg)を飼育している15kL水槽から採取した。飼育水槽内の排水パイプや通気ホースに絡んだ卵を採集後、0.45 μ mのフィルターで濾過した海水を用いて洗浄し、500mlの培養フラスコに収容して25°Cで培養した。培養5日後にふ化したオンコミラキジウムを感染源に用いた。

感染はChigasaki *et al.* (2000)の方法に従って行った。すなわち、ヘテロボツリウム無感染のトラフグを収容している水槽の注水を止め、通気のみとした水槽内にオンコミラキジウムをトラフグ1尾当たり平均251個体になるように加えて、4時間放置し感染させた。その後注水を再開してMPを給餌しな

がら10日間飼育し、0.5kLの水槽5個に17尾ずつ収容して濾過海水を用い10回転/日の流水とし、通気をしながら水温約25°Cで飼育を行い投薬を開始した。

未成熟虫の寄生数は投薬終了3日後に各試験区から無作為に8尾ずつ取り出して計数した。計数はAnshary *et al.* (2001)の方法を基にして、鮫島ら(未発表)が改変した次の方法に従って行った(巻末付図2参照)。

まずハサミでトラフグを開腹し、肝動脈を切断し十分放血させた。次に鰓葉を1枚ずつ切り取り、左右両側で6枚の鰓葉を10%の海水ホルマリン溶液を入れたサンプル瓶に収容した。その後攪拌子を入れ、マグネチックスターラーで鰓葉がサンプル瓶内で十分に回転するよう10分間攪拌し、鰓葉から寄生虫を脱落させた。その後、口を上にして固定した北原式定量ネット(口径22.5cm、側長80cm、目合い40 μ m)の口の上に鰓葉及びヘテロボツリウム成虫を回収するように1mm目合いのネットをかぶせた採集用具に(Fig. 6)、サンプル瓶中の内容物を乗せ濾過海水を流しながら洗浄し、北原式定量ネット内に寄生虫を回収した。さらにネット全体を濾過海水で3回繰り返し洗浄した後、集められた内容物をペトリ皿に移し、実体顕微鏡下で観察し計数した。

自然感染魚を用いた試験にはヘテロボツリウムが感染したトラフグを各試験区とも25尾ずつ(平均体重254g)を用いた。試験には4kL水槽を用い、濾過海水を用いて6回転/日の流水とし、通気を行いながら飼育した。試験期間中の水温は22.0°Cから22.8°Cで推移した。投薬試験はフェバンテルを魚体重1kg当たりそれぞれ12.5mg及び25mgとして5日間連続して投薬する区と、50mgを3日間投薬する区、及びフェバンテルを無投与の対照区の合わせて4区を設定した。投与した薬剤及び投薬餌料は人為感染魚の試験と同様のものを用い、0.8%の給餌率で投与を行った。成虫及び未成熟虫の寄生数は投薬終了3日目にそれぞれの試験区から無作為に8尾ずつ取り上げて計数した。

人為感染魚試験においては未成熟虫のみを、自然

感染魚試験においては、未成熟虫と成虫を併せて計数した。成虫の計数は鰓葉を取り出す時に、鰓腔壁に寄生している成虫を1個体ずつピンセットで分離しながら計数した。

人為感染及び自然感染試験とも対照区と各投薬試験区の寄生数の平均値の差を、マン・ホイットニーU検定で処理した ($p=0.05$)。

駆虫率は次式により求めた。

$$\% \text{ efficacy} = [1 - (\text{Pa}/\text{Pb})] \cdot 100$$

Paは投薬後の平均寄生数

Pbは対照区の平均寄生数

結 果

試験中の摂餌や遊泳状態は良好で、給餌したフェバンテル入りの餌料は給餌直後に全て摂餌され、死亡や摂餌不良に陥る個体は観察されなかった。

人為感染魚を用いたヘテロボツリウムに対する有効性試験の結果は、対照区の平均寄生数が73.6個体であったのに比べ25mgの1日投与区では78.6個体と寄生数が増加し、駆虫効果は得られなかった。

50mgの1日投与区では71.9個体で駆虫率は2.4%となり、寄生数は減少したが対照区の寄生数との有意差はなかった。

100mgの1日投与区は83.0個体と25mg投与区と同様に寄生数の増加が見られた。

これに対し、50mgの2日投与区では、寄生数が28.6個体と大幅に減少し、駆虫率は61.1%で、対照区との寄生数と有意な差が得られた (Table 9)。

自然感染魚を用いた試験では、未成熟虫について対照区の寄生数が113.0個体であったのに対し、12.5mgの5日投与区で寄生数が3.3個体と大幅に減少し、駆虫率は97.1%で、対照区の寄生数と有意な差が得られた。

25mgの5日投与区は寄生数が5.9個体で、駆虫率が94.8%で、対照区の寄生数と有意な差が得られた。

50mgの3日投与区は寄生数が3.3個体、駆虫率が97.1%で対照区の寄生数と有意な差が得られた。

成虫については、対照区の寄生数が7.1個体であ

ったのに対し、12.5mgの5日投与区で寄生数が0.86個体と減少し、駆虫率は88%で、対照区の寄生数と有意な差が得られた。25mgの5日投与区は寄生数が0.29個体で、駆虫率が96%で、対照区の寄生数と有意な差が得られた。50mgの3日投与区は寄生数が0.40個体、駆虫率が94%で対照区の寄生数と有意な差が得られた。(Table 10)。

考 察

これまでベンズイミダゾール系薬剤の魚の寄生虫に対する効果については、ニジマス (*Oncorhynchus mykiss*)、のギロダクチルス (*Gyrodactylus masu*) の寄生に対して、フェンベンダゾールやトリクラベンダゾールが薬浴による効果を持っていること (Tojo *et al.* 1992)、経口投与剤として、トリクラベンダゾールやニトロスカネートが効果を持っていることがこれまで報告されている (Tojo and Santamarina 1998)。本章の結果はベンズイミダゾール系薬剤の一つであるフェバンテルがトラフグに寄生するヘテロボツリウムに対しても駆虫効果を持つことを明らかにした初めての報告である。

フェバンテルは投与された動物体内でフェンベンダゾールに移行し、血中に分布したフェンベンダゾールを寄生虫が吸血することで、寄生虫のグリコーゲン合成の阻害や、細胞骨格を形成するチューブリンの合成が阻害されることにより徐々に効果を現すため、遅効性で、血中濃度の高さよりも一定濃度の維持がより効果的な薬剤である (吐山, 1994)。

本試験でも、人為感染魚を用いた試験において、フェバンテルの投与濃度を魚体重1kg当たり50mg及び100mgで1日だけ投与したより、50mgを2日投与した場合が高い駆虫効果を示しており、投与濃度を高めるより、投与日数を長くするほど高い駆虫効果が得られる傾向が伺われ、トラフグのヘテロボツリウム症においても哺乳類の場合と同様の薬剤特性を示したものと考えられる。

さらに、自然感染魚を用いた試験では魚体重1kg当たり12.5mgと、人為感染魚を用いた試験より低濃度の投与でも5日間の連続投与を行うことにより、

高い駆虫効果を示したことから、フェバンテルのヘテロボツリウム駆除に対する薬剤特性が明らかにされた。

本報告はフェバンテルを魚体重1 kg あたり12.5mg、25mg 及び50mg を連続経口投与した場合にヘテロボツリウムの未成熟虫のみならず成虫にも駆虫効果を持つことを示した重要なレポートである。

なぜなら、ヘテロボツリウム症は成虫が未成熟虫にくらべはるかに大量の血液を吸血することや (Ogawa *et al.* 2005)、成虫が体の後半部分をトラフグの鰓腔壁に埋め込んで寄生し、この寄生部位への海水の進入による炎症、壊死および細菌の2次感染等によりトラフグに鰓腐れの状態を起こすなどトラフグに与える影響はるかに大きいからである (小川 2005)。また、ヘテロボツリウムの駆虫用薬浴剤として使用されている過酸化水素製剤は未成熟虫のみに対する駆虫効果を薬効としており、薬浴処理を行って未成熟虫は駆除できても、生残した成虫が約3ヶ月間の寿命の間に繰り返し産卵を行い、そのほとんどが生簀網に付着してふ化するため、再寄生を防止することができない。このため出荷までに繰り返し薬浴作業を行うこととなり、養殖作業上の負担も大きい (小川 2005)。さらに、過酸化水素の持つ強力な酸化力、腐食性によってヘテロボツリウムを変性させ駆除することから、この作用機序によるトラフグ自身に対する負担も大きい。これらの点から、成虫に対する高い駆虫効果を持つフェバンテルはヘテロボツリウム症に対する画期的な薬剤と考えられる。

前章ではフェバンテルを魚体重1kg 当たり25 mg を1回投与した場合の、フェバンテル及び変異体の総量であるオクスフェンダゾール・スルフォンの血中及び臓器における濃度変化を明らかにした。また本章においてフェバンテルがヘテロボツリウムの駆虫効果を表すには複数回の投与が必要であることが明らかになった。このためフェバンテルを複数回投与した場合のフェバンテル及び変異体の血中の濃度変化とヘテロボツリウムの駆虫の関係について次章で検討を行った。

Table 8. Summary of indoor trials of febantel against *Heterobothrium okamotoi* of cultured tiger puffer used land base tank

Experimental group	Experimentally infected tiger puffer	Naturally infected tiger puffer
		control
	25mg/kg /day※	12.5mg/kg /5days
	50mg/kg /day	25mg/kg /5days
	100mg/kg /day	50mg/kg /3days
	50mg/kg /2 days	

※The dose of 25 mg/kg body weight of tiger puffer

Table 9. Efficacy of febantel against immature *Heterobothrium okamotoi* in experimentally infected tiger puffer (n=8)

Experimental group	immature worms	
	Average no. of worms	Efficacy rate (%)
Control	73.6 (±20.0)	—
25 mg/kg/day	78.6 (±22.6)	-6.8
50 mg/kg/day	71.9 (±22.9)	2.4
100 mg/kg/day	83.0 (±20.1)	-12.8
50 mg/kg/day for 2days	28.6 (±24.1)*	61.1

*: significant difference ($p < 0.05$)

Table 10. Efficacy of febantel against mature and immature *Heterobothrium okamotoi* naturally infected tiger puffers (n=8)

Experimental group	Mature worms		Immature worms	
	Average no. of worms	Efficacy rate (%)	Average no. of worms	Efficacy rate (%)
Control	7.1 (\pm 8.1)	—	113.0 (\pm 101.6)	—
12.5 mg/kg/day for 5 days	0.86 (\pm 2.3) [※]	88	3.3 (\pm 4.3) [※]	97
25 mg/kg/day for 5 days	0.29 (\pm 0.8) [※]	96	5.9 (\pm 9.3) [※]	95
50 mg/kg/day for 3 days	0.40 (\pm 1.1) [※]	94	3.3 (\pm 3.9) [※]	97

※: significant difference (p <0.05)

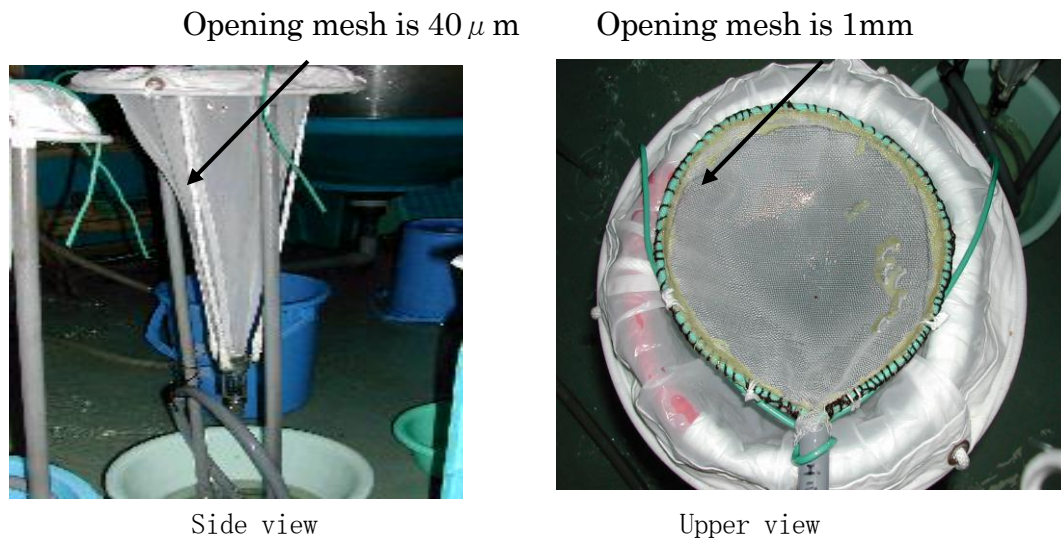


Fig. 6. The outward appearance of the collection equipment of *Heterobothrium okamotoi*

V フェバンテルの体内濃度の経時変化とヘテロボツリウム駆虫の関係

前章ではフェバンテルをトラフグに経口投与した場合に、トラフグ体内で速やかに変異体のフェンベンダゾールなどへ代謝されること、また、魚体重 1kg 当たり 25 mg を 5 日間経口投与した場合に、ヘテロボツリウムの成虫及び未成熟虫に対して顕著な駆虫効果を示すことを明らかにした。

しかし、投薬期間中にトラフグ体内でフェンベンダゾールなどの変異体の血中濃度がどのように変化し、駆虫効果が示されるのか詳細な検討はされていない。そこで本章ではトラフグ魚体重 1 kg 当たり 25 mg のフェバンテルを 5 日間投与した場合に、血漿中でのフェバンテル及びその変異体であるフェンベンダゾール、オクスフェンダゾール及びオクスフェンダゾール・スルフォン濃度の変化を測定し、同時に投薬期間中のヘテロボツリウムの寄生数を調査し、血漿中の薬剤濃度の変化と駆虫効果の関係を検討した。

材料及び方法

供試魚には熊本県水産研究センターで飼育中のヘテロボツリウムが自然感染したトラフグ 1 年魚 103 尾（平均魚体重は 164.5 g）を用いた。2 k1 水槽を用い、22°C に加温し、通気を行いながら、5 回転/日の割合で砂濾過海水による流水飼育を行った。給餌には前章で用いた MP を用いて日間給餌率 2.0% で 1 日 1 回給餌し、給餌後に水槽の底面を掃除して排泄物を除去した。

投薬は、フェバンテルが魚体重 1 kg 当たり 25 mg 摂取されるように調整・混合した MP を用いて、日間給餌率 2.0% で、1 日 1 回の投薬を 5 日間行った。投薬期間終了後は、通常の MP による飼育に切替えた。

第 III 章でトラフグにフェバンテルを投与した場合に血中のオクスフェンダゾール・スルフォンの最高濃度までの到達時間が 12 時間であったことから、血中濃度分析用の血液の採取時間は投薬 12 時間後として、5 日間の投薬期間中に毎日 5 尾ずつを無作為に選んで行った。投薬終了後は 3、8、13 及び 18

日後にそれぞれ 10 尾ずつを無作為に選んで採血した。

採血にはヘパリン処理した 23 G 針付きの 5 ml シリンジを用いて、約 4 ml を目安に尾柄部静脈から行った。採血後、10 ml 遠沈管に収容し、1,200G、15 分間、5°C で遠心分離を行った後、血漿約 2 ml をセラムチューブに収容して分析を行うまで -80°C で保存した。血漿中のフェバンテル及びフェンベンダゾールの代謝産物の濃度は、前章に準じて高速液体クロマトグラフ法により測定したが、フェンベンダゾール、オクスフェンダゾール及びオクスフェンダゾール・スルフォン濃度についてそれぞれ個別に検量線を求め算出した。

血液を採取した個体は、そのつど解剖して前章の方法によりヘテロボツリウムの成虫および未成熟虫を計数した。未成熟虫は把握器数別に、L1 から L4 の 4 つのステージに分けて計数し（巻末付図 1 参照）、投薬前の寄生虫数との差を、マン・ホイットニー U 検定によって処理した ($p=0.05$)。投薬前の寄生虫数は試験開始前に 20 尾を無作為に選出して調査した。

結 果

試験中の摂餌や遊泳状態は良好で、給餌したフェバンテル入りの餌料は給餌直後に全て摂餌され、死亡や摂餌不良に陥る個体は観察されなかった。

フェバンテルを魚体重 1 kg 当たり 25 mg、5 日間投薬されたトラフグの血漿中のフェバンテル濃度は投薬開始 1 日目に平均で 0.32 $\mu\text{g/g}$ の値を示した後、低下して投薬期間中は 0.13~0.15 $\mu\text{g/g}$ の値を示し、投薬終了後 3 日目で検出されなくなった。

フェンベンダゾールは投薬 1 日目に平均で 2.02 $\mu\text{g/g}$ の値を示した後、投薬期間中は 3.88~5.30 $\mu\text{g/g}$ の値を示し、投薬終了後 3 日目で平均 0.12 $\mu\text{g/g}$ が検出されたが、8 日目には検出限界以下となった。

オクスフェンダゾールは投薬 1 日目で 0.18 $\mu\text{g/g}$ の値を示した後、投薬期間中は 0.26~0.53 $\mu\text{g/g}$ の値を示し、投薬終了後 3 日目で平均 0.06 $\mu\text{g/g}$ が

検出されたが、その後8日目には検出限界以下となった。

オクスフェンダゾール・スルフォンは投薬1日目で0.09 $\mu\text{g/g}$ の値を示した後、投薬期間中は0.12~0.19 $\mu\text{g/g}$ の値を示し、投薬終了後3日目には検出限界以下となった (Table 11)。

ヘテロボツリウムの成虫の寄生数は、投薬前には平均で2.4個体であったが、投薬3日目から1.4個体へ減少し、投薬5日目では0となった。その後時間が経過するに従い、寄生数がわずかに増加し、投薬終了13日後では1.9個体が寄生していた。(Table 12)。

未成熟虫の寄生数は、投薬前には平均で87.5個体であったが、投薬4日目から16.0個体と顕著な減少が見られ、投薬終了3日後で3.3個体となった。その後増加する傾向にあり、投薬終了8日後では13.3個体が寄生し、18日後には44.3個体が寄生していた (Table 13)。

事前調査の寄生数と各調査日の寄生数との比較を行った結果、投薬4日目から、投薬終了13日後まで成虫及び未成熟虫数が統計的に有意に減少していた。

考 察

III章では、フェバンテルを魚体重1kg 当たり25mgを1回経口投与した場合に、トラフグ血漿中から検出されたのはフェバンテルの代謝体であるオクスフェンダゾール・スルフォンが殆どであり、その血中濃度はおよそ12時間後に最高値の10.28 $\mu\text{g/g}$ を示し、また半減期は12.17時間と算出された。このことから25mg/kgの量を1日1回の投与し続けた場合、投与12時間後にオクスフェンダゾール・スルフォンは最高血中濃度の10 $\mu\text{g/g}$ 程度に達した後、24時間後には約5 $\mu\text{g/g}$ まで減少する。次いで翌日の投与がなされ、血中濃度は再び上昇する。以降この体内濃度が繰り返されると推察された。

また一般的に薬剤が反復投与された場合、体内濃度が高まるにつれて体外への排出も多くなることで体内濃度が一定となる恒常状態になり、この恒常状態に達するための投与期間は半減期の約5倍程度と

されており(藤野ら 1990)、オクスフェンダゾール・スルフォンのトラフグにおける半減期が12.17時間であることから、恒常状態には、約60時間程度で達すると推定された。

本章の結果では、トラフグの血漿中から検出されたのはフェバンテル代謝体の3化合物のうち殆どがフェンベンダゾールであり、オクスフェンダゾール及びオクスフェンダゾール・スルフォンはわずかに検出されたにすぎなかった。

このことからヘテロボツリウムに対して駆虫効果を示しているのは主にフェンベンダゾールであると考えられた。またトラフグの血漿中ではフェンベンダゾールが主要なフェバンテルの代謝体であることや、オクスフェンダゾールの検出量が少なかったことからフェンベンダゾールとオクスフェンダゾールの反応が可逆的であることも考えられた。また、少量ではあるがオクスフェンダゾール・スルフォンが検出されたため、魚類においても哺乳類と同様の代謝経路が存在する可能性が示された (Fig. 7)。

投与開始後2日目からフェンベンダゾールの血中濃度は4~5 $\mu\text{g/g}$ で、5日目までほぼ安定した値を示したことからトラフグ体内においてフェンベンダゾールが恒常状態を示したものと考えられる (Fig. 8)。

また、フェバンテル等のベンツイミダゾール系薬剤は寄生虫の消化管の上皮細胞における微小管構造(チューブリン)に特異的に結合し、これを変性させ(Lacey 1990)、寄生虫のグルコースの吸収能力を失せ、体内に蓄積したグリコーゲンを消費しつくさせて運動麻痺を起こさせる。これにより寄生虫が駆虫できることから、寄生虫の顕著な減少は投薬開始から3、4日後になる(吐山 1994)。本章においてもヘテロボツリウムの成虫及び未成熟虫の寄生数は3日目から減少傾向になり、有意差が認められるのは投薬開始から4日目であったことから、同様の作用によりヘテロボツリウムに対してフェバンテルが効果を示したものと推察される。

このことから、フェバンテルをトラフグに魚体重1kg 当たり25mgを5日間経口投与した場合、血中

の薬剤濃度は投薬開始2日目から4~5 $\mu\text{g/g}$ の恒常状態に達し、4日目から有意な駆虫効果が示され、5日間の連続投与で顕著な駆虫効果を示すことが明らかになった。

本章ではⅢ章で得られた結果から、採血をオクスフェンダゾール・スルフォンの T_{max} である投薬12時間後に設定したが、投薬1日目におけるフェンベンダゾールの血漿中濃度は平均で $2.02 \mu\text{g/g}$ までしか上昇せず、Ⅲ章の結果に比べ低い値を示した。これは前章における試験が0.8%の給餌率で投薬したのに対し、本試験では2.0%と約2.5倍であったことから、餌料の消化に時間を要しフェバンテルの吸収が遅れたか、餌料が未消化のまま排泄された可能性があり、このため血中濃度が上昇しなかったと考えられる。

中野ら（未発表）が本章と同様に2.0%の給餌率でフェバンテルを魚体重1 kg 当たり25mg で1回投与した試験においても、フェンベンダゾールの最高血中濃度は $5.93 \mu\text{g/ml}$ であったことや、薬剤の経口投与時の餌料量については、ニジマス稚魚を用いて給餌率を変えて同量のサルファ剤を経口投与した場合に、給餌率が高いほど体内のサルファ剤濃度が低くなることが報告されている（魚病の本 1983）。このため、投薬時はできるだけ餌料量を少なくすることが必要であるとしており、経口投与時の給餌量は通常の約50%量を推奨している（魚病の本 1983）。

また、畑井ら（1975）はクロラムフェニコールの経口投与をMPで行う際に、配合飼料の割合を高め海水中への薬剤入り餌料の散逸を防ぐことが必要と報告をしているが、本試験においては、MPは凍結されたまま給餌し、給餌直後に全て摂餌したことから、この散逸によるフェンベンダゾールの体内濃度の低下は考えられない。

また、トラフグは、餌料を鋭い歯で砕いて吸引する摂餌形態であることから、餌料の大きさが口より大きな場合は、かみ砕いた際に餌料が海水中へ散逸する割合が高まることが危惧され、このため魚体の大きさに合わせて形成するMPの大きさも重要になると考えられる。

このように、経口投与剤の投薬時における給餌率、餌料サイズについては十分注意を払う必要がある。特にトラフグは環境変化等によって摂餌した餌料を嘔吐したり、投餌量が過剰な場合は餌料を未消化のまま排泄したりすることがあり、より注意を要する。

Table 11. Plasma concentration–time profiles of febantel, fenbendazole, oxfendazole and oxfendazole sulphone of tiger puffer following oral administration of febantel at the dose of 25 mg/kg for 5 days. *1

Sampling date	Febantel : μ g/g	Fenbendazole	Oxfendazole	Oxfendazole–sulphone	
Day 1 *2	administration period	0.32 (0.19) 5/5 *4	2.02 (2.26) 5/5	0.18 (0.14) 3/5	0.09 (0.00) 1/5
Day 2 *2		0.15 (0.06) 5/5	4.38 (1.64) 5/5	0.29 (0.13) 5/5	0.12 (0.04) 2/5
Day 3 *2		0.15 (0.03) 5/5	5.14 (2.10) 5/5	0.42 (0.11) 5/5	0.18 (0.03) 4/5
Day 4 *2		0.13 (0.04) 5/5	5.30 (0.95) 5/5	0.53 (0.17) 5/5	0.19 (0.08) 5/5
Day 5 *2		0.14 (0.05) 4/5	3.88 (1.58) 5/5	0.26 (0.11) 5/5	0.13 (0.03) 4/5
Day 8 *3	nd 10/10 *5	0.12 (0.05) 3/10	0.06 (0.01) 3/10	nd 10/10	
Day 13 *3	nd 10/10	nd 10/10	nd 10/10	nd 10/10	
Day 18 *3	nd 10/10	nd 10/10	nd 10/10	nd 10/10	

*1 :Values for Day 1–Day5 are average of 5 individuals, and the rest are average of 10 individuals.

*2 :Blood was sampled 12 h after administration.

*3 :Day 8, Day13 and Day 18 represent 3 days, 8 days and 13 days after oral administration of febantel for 5 consecutive days, respectively.

*4 :The values represent, from left to right, average concentration(μ g/g) , standard deviation in parenthesis and number of fish detected/ number of fish examined.

*5 :Not detected.

Table 12. The efficacy on febantel against mature worm of *Heterobothrium okamotoi* following oral administration at the dose of 25mg/kg for 5 days for tiger puffer*1

Sampling period	Average number of mature worms (SD)	
Before administration	2.4 (3.7)	
Day 1	administration period	2.2 (2.4)
Day 2		5.0 (4.5)
Day 3		1.4 (2.3)
Day 4		0.8 (1.6)
Day 5		0.0 (–) a*2
Day 8	0.5 (1.2) a	
Day 13	0.5 (0.9)	
Day 18	1.9 (2.9)	
Day 23	0.7 (1.8) a	
Day 28	0.1 (0.3) a	

*1: Before administration value is average of 20 individuals, the 1st~5th values are average of 5 individuals, and the other values are average of 10 individuals.

*2: Significant difference ($p < 0.05$).

Table 13. The efficacy of febantel against immature of *H. okamotoi* following oral administration at the dose of 25mg/kg for 5 days for tiger puffer*1

Sampling period	Average worm number (SD)				Total
	Stage of immature worm				
	L1	L2	L3	L4	
Before administration	–	–	–	–	87.5 (42.2)
Day 1	17.2 (13.4)	2.2 (1.2)	2.8 (2.8)	37.2 (32.9)	59.4 (49.1)
Day 2	19.4 (10.9)	3.0 (2.8)	2.6 (2.1)	13.4 (5.0)	38.4 (16.5)
Day 3	11.4 (8.9)	1.8 (2.1)	3.6 (2.1)	36.2 (37.0)	53.0 (38.7)
Day 4	5.0 (5.5)	0.6 (0.8)	2.0 (2.2)	8.4 (8.0)	16.0 (12.8) ^{a*2}
Day 5	3.0 (3.6)	0.6 (0.5)	2.4 (2.3)	5.8 (7.4)	11.8 (11.3) ^a
Day 8	2.2 (1.8)	0.3 (0.6)	0.3 (0.9)	0.3 (0.9)	3.3 (3.2) ^a
Day 13	13.1 (11.6)	0	0	0.2 (0.6)	13.3 (11.8) ^a
Day 18	3.2 (2.7)	5.8 (5.8)	6.1 (6.7)	1.3 (1.7)	16.4 (14.4) ^a
Day 23	8.3 (5.7)	1.1 (1.1)	3.0 (2.5)	31.9 (18.2)	44.3 (23.6) ^a
Day 28	2.8 (3.2)	5.0 (4.1)	3.3 (2.1)	38.2 (30.4)	29.6 (33.7) ^a

*1 Before administration value is average of 20 individuals, the 1st~5th values are average of 5 individuals, and the other values are average of 10 individuals.

*2 Significant difference ($p < 0.05$).

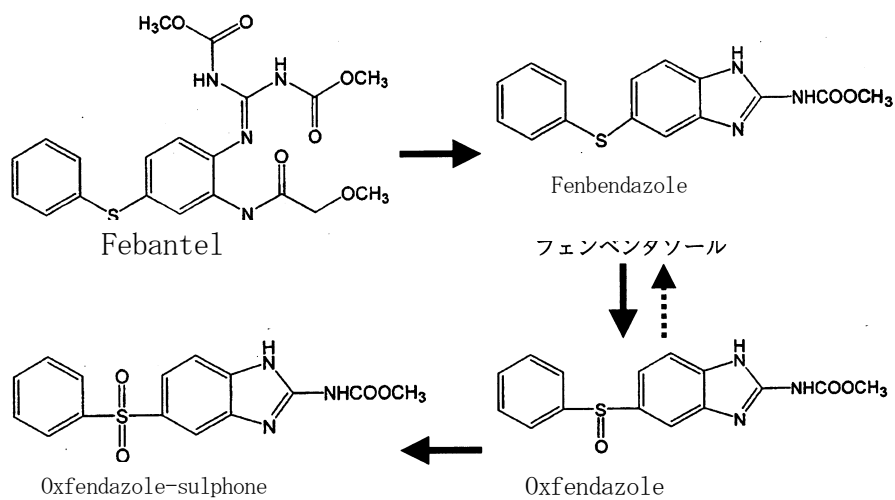


Fig. 7. The pathway of febantel to it metabolized in the body of livestock animals and tiger puffer

←... : The pathway forecast with tiger puffer

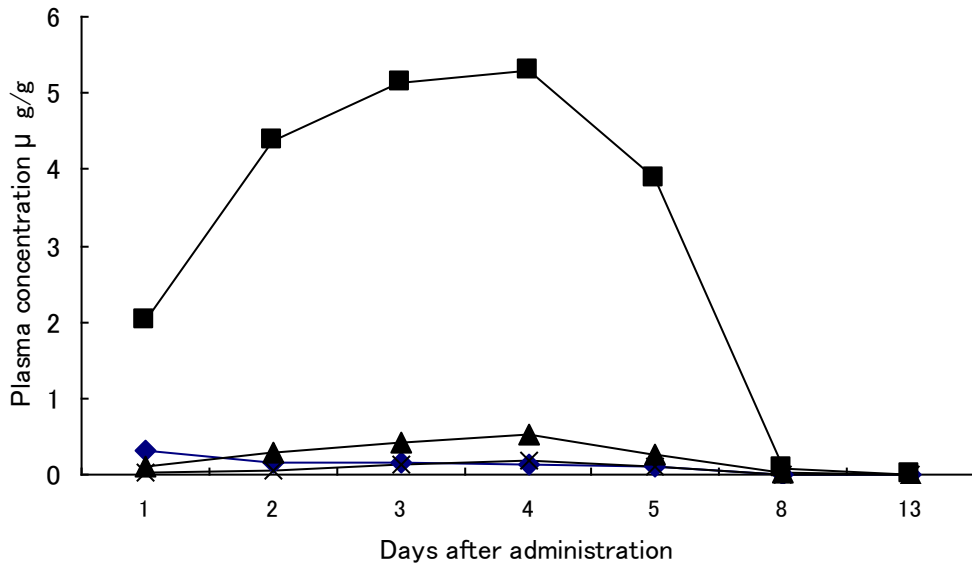


Fig. 8. The concentration-time profile of febantel, fenbendazole, oxfendazole and oxfendazole-sulphone in the plasma of tiger puffer following oral administration of febantel at the dose of 25 mg/kg for 5 days to infected tiger puffers. The symbols \blacklozenge , \blacksquare , \blacktriangle , and \times represent febantel, fenbendazole, oxfendazole and oxfendazole-sulphone, respectively.

VI フェバンテルの残留性

これまでの章において、フェバンテルをトラフグに経口投与した場合に体内で有効成分のフェンベンダゾールへ移行すること、魚体重1kg当たり25mgを5日間投与することでヘテロボツリウムに対する駆虫効果を持つ血中濃度に達することが明らかにされた。しかし、フェバンテルがヘテロボツリウムに対する駆虫効果を有したとしても、薬剤が投与された後もフェバンテル、活性型のフェンベンダゾール及びその代謝産物がトラフグの可食部位に残留した場合は食品衛生法第十二条により食品として流通できない。

また、一般的にベンツイミダゾール系の薬剤は、畜産動物においては排泄速度が遅く、3~4日にわたるとされている(吐山 2004)。このため、フェバンテルをトラフグ魚体重1kg当たり50mg(有効投与量の25mgの2倍量)を5日間経口投与した後、経時的に可食部位である筋肉及び皮膚中からフェバンテル及びその変異体を一括してオクスフェンダゾール・スルフォンとして検出することで、これらの残留期間について検討した。

材料及び方法

供試魚には熊本県水産研究センターで飼育中のヘテロボツリウムが未感染のトラフグ1年魚50尾(平均体重188.6g)を用いた。

飼育は1t水槽を用い、22℃(22.2~23.5℃)に加温し、通気を行いながら、砂ろ過海水を10回転/日になるように注水して行った。飼料はⅢ章と同様のMPを調整し、プラスチック容器に入れて-20℃で凍結保存して用いた。

投薬期間前後は、給餌率を2.0%とし、1日1回給餌して給餌後に水槽の底面を掃除して、排泄物を除去した。

投薬は給餌率を1.5%とし、1回の給餌でトラフグ魚体重1kg当たりフェバンテルがこれまでの試験で得られた投与濃度の25mgの倍量である50mgを摂取されるように餌料に添加し、5日間経口投与し

た。投薬終了後は通常のMPを給餌した。

試料は可食部位である筋肉および皮膚について採材を実施した。

試料の採材回数は、投薬前、5日間の投薬終了1日後、1週間後、2週間後、3週間後、4週間後及び5週間後の計7回行い、それぞれ無作為に5尾を取り上げ、胸鰭上部から背鰭間の筋肉及び表皮をそれぞれ約3g採取した。なお採材の際には肝静脈を切断し十分に脱血を行った。また、皮膚については付着した毛細血管内の血液を除去した。

採取した試料は分析するまで-80℃以下で保存し、分析方法はⅢ章と同様に高速液体クロマトグラフ法を用い、フェバンテルについては単独で、また変異体については一括してオクスフェンダゾール・スルフォンとして検出した。検出限界はいずれも0.05μg/gであった。

結 果

試験期間中の摂餌は良好で、投与した餌料が水槽底に残ることはなかった。しかし、トラフグ養殖では一般的に観察される噛み合いによる尾鰭の部分的な欠損や吻端部の発赤等が観察され、投薬4日目および5日間の投薬終了1週間後にこの噛み合いによると思われる死亡が1尾ずつ認められた。しかし、これら以外に異常を示す個体は認められなかった。

筋肉中のフェバンテルは5日間の投与期間終了1日後及び1週間後に検出限界以下であったためこれ以降の分析は行わなかった。また、皮膚では5日間の投薬終了1日後に5尾全てから検出され、その濃度は $1.06 \pm 0.33 \mu\text{g/g}$ を示したが、1週間後及び2週間後には検出限界以下であった。このため3週間以降の分析は行わなかった。

一方、オクスフェンダゾール・スルフォンは、筋肉においては5日間の投薬終了1日後の試料で検出限界以下であった。また、皮膚では5日間の投薬終了1日後に5尾全てから検出され、その濃度は平均で $1.92 \pm 0.54 \mu\text{g/g}$ であった。さらに2週間後に1尾から $0.02 \mu\text{g/g}$ が検出され、2週間以降は検出限

界以下となった(Table 14)。

考 察

フェバンテルについては、魚体重 1kg 当たり 50 mg を給餌率 1.5 % で 5 日間経口投与した場合に、投薬終了 1 日後および 1 週間後に検出限界以下となり、速やかに排泄されるものと考えられた。しかし、その変異体の総量であるオクスフェンダゾール・スルフォンについては 5 日間の投薬終了から 1 週間経過後の 1 尾の皮膚から検出された。

これは前章において投与されたフェバンテルは速やかに変異体へ移行し、体内濃度としてはオクスフェンダゾール・スルフォン量がフェバンテル量にくらべ、圧倒的に高いことが明らかにされており、このことから排泄に時間がかかったものと考えられた。

また、前章において、変異体の総量であるオクスフェンダゾール・スルフォンの中でも、最もフェンベンダゾール量が多いことが示されたことから、検出されたものの大部分はフェンベンダゾールと推察される。このオクスフェンダゾール・スルフォンについては、投薬終了 2 週間後及び 3 週間後は検出されなかった。

休薬期間の設定方法には、従来からの無残留法や、一日摂取許容量 (ADI : Acceptable Daily Intake) を毒性学的に推定し、それを基に許容残留濃度を定め休薬期間を設定する国際残留基準値法が用いられている (小久江 2004)。また ADI は通常安全を図るため、無毒性量 (NOAEL : Non observed adverse effect level) を 100 で除した値が用いられている。フェバンテルにおける ADI については、フェバンテル、及びその変異体であるフェンベンダゾール、オクスフェンダゾールのグループ ADI とし、その値を 0.007 mg/kg 体重/日としている (内閣府食品安全委員会 2003)。

本章においてトラフグに経口投与したフェバンテル及び変異体のオクスフェンダゾール・スルフォンは分析した各臓器から投薬終了 2 週間後で検出されず、さらに 3 週間後も検出されなかったこと、フェバンテル及び変異体の検出限界値が 0.05 μ g/g であ

ること、フェバンテルの ADI がその変異体であるフェバンテル、フェンベンダゾール、オクスフェンダゾールを含めたグループ ADI とした値を 0.007 mg/kg 体重/日とされていること (内閣府食品安全委員会 2003)、及び本章における投与濃度が有効投与量の 2 倍量であることを考え合わせ、出荷までの休薬期間は 3 週間 (21 日間) と設定できると考えられた。

つまり、ADI が 0.007 mg/kg 体重/日ということは、体重 60 kg の人の場合、1 日の摂取許容量は 0.42 mg であり、仮に分析値の検出限界値の 0.05 μ g/g がトラフグに残留していた場合に、このトラフグを 8.4 kg 摂取しなければならないことになり、十分な安全域を見込んでいると考えられる。

これまでに、トラフグに経口投与されたフェバンテルがトラフグの体内で有効成分であるフェンベンダゾールに速やかに移行し、魚体重 1kg 当たり 25 mg を 5 日間投与することで血中のフェンベンダゾール濃度が 4~5 μ g/g で維持され、ヘテロボツリウムの成虫及び未成熟虫の駆除に効果的であることが明らかにされた。

また、魚体中のフェンベンダゾールは投薬終了から 3 週間検出限界値以下となり、駆虫剤として実用化の可能性が高まった。このことから、ヘテロボツリウム症薬剤としての養殖現場における臨床治療試験について次章で検討することとした。

Table 14. The concentration–time profile of febantel and oxfendazole sulphone in the muscle and skin of tiger puffer after oral administration at the dose of 50mg/kg for 5 days

Sampling period	Febantel (μ g/g)		Oxfendazole sulphone (μ g/g)	
	muscle	skin	muscle	skin
Before administration	nd ^{*1}	nd	nd	nd
1 day after finished administration	nd	1.06 (0.33) 5/5 ^{*3}	nd	1.92 (0.54) 5/5
1 week after finished administration	nd	nd	nd	0.02 (0.04) 1/5
2 weeks	— ^{*2}	nd	—	nd
3 weeks	—	—	—	nd

*1: not detected.

*2: Not measured.

*3: The values show average concentration, () : standard deviation, detection numbers/numbers (n=5).

VII 養殖場における臨床試験

これまでにフェバンテルがトラフグに経口投与された後、体内で有効成分のフェンペンダゾールへ移行し、血中濃度が高まることが確認され、ヘテロボツリウム症に対して効果的に作用することがヘテロボツリウムに感染したトラフグを用いた試験で確認された。その用法・用量は魚体重 1kg 当たり 12.5mg あるいは 25mg の 5 日間の投与であり、またフェバンテルの経口投与はヘテロボツリウムの未成熟虫のみならず、吸血量が多く、他の感染症を誘引する要因である成虫にも効果的に作用することが確認された。

さらにフェバンテル及びその変異体はトラフグから投薬終了 2 週間後に検出限界以下まで排泄され、フェバンテルの休薬期間は投薬終了 3 週間後が適当と判断された。これらの結果は、フェバンテルが養殖トラフグのヘテロボツリウム症薬剤として有効であることを示している。

しかし、実際に薬剤が使用される海面の養殖場の飼育環境は水槽試験環境と異なり、水温の変動が大きく、また飼育尾数も数千尾単位である。このためヘテロボツリウム寄生も様々な状態であり (Ogawa and Inouye 1997a)、さらにヘテロボツリウムのみならず、*Neobenedenia girelloe*、*Gyrodactylus rubripedis* 及び *Trichodina fugu* 等 13 種類もの寄生虫の感染を受けている (Ogawa and Inouye 1997b)。これらの寄生虫が、トラフグの摂餌性に影響を及ぼすことは十分予測されることから、経口投与剤であるフェバンテルの有効性についてはトラフグ養殖場で臨床投薬試験を実施し、さらに有効性について検討する必要があると考えられた。

このため魚体重 1kg 当たり 12.5mg あるいは 25mg を 5 日間経口投与する用法・用量を用いて、民間の海上のトラフグ養殖場でヘテロボツリウムに感染したトラフグを供試魚とした本剤の投薬効果を検討した。

材料及び方法

臨床試験は民間の海面のトラフグ養殖場で飼育中のトラフグに対して、フェバンテルの投薬濃度を魚

体重 1kg 当たり 12.5 mg を 5 日間経口投与する区 (以下「12.5mg 区」)、25 mg を 5 日間経口投与する区 (以下「25mg 区」) 及び無投薬の対照区 (以下「対照区」) の 3 試験区を 1 回の試験として設定し、2003 年の 9 月から 12 月にかけて熊本県の 3 養殖場でのべ 5 回、愛媛県の 1 養殖場で 1 回実施した (Table 14)。

いずれのトラフグも海面で 7m×10m×7m×10m×4.5m×10m (深さ) の網生け簀で飼育されている 1 年魚を用いた。

試験期間はいずれの試験も、投薬を開始する 5 日前に、ヘテロボツリウムの寄生数と魚体重を無作為に 20 尾を選んで計数・測定した後 5 日間の投薬を行い、その 3 日後に各試験区から無作為に 20 尾を選んで寄生数を調査する 13 日間とした。

試験に用いた薬剤は前章と同様のものを用いた。投薬は 1 日当たりの投薬濃度が魚体重 1kg 当たり 12.5mg 及び 25mg になるように薬剤を調整した MP を作成して、5 日間経口投与した。無投薬対照区は、薬剤を含まない同様の MP を与えた。投薬期間以外は薬剤を含まない MP を与え、投薬期間中は投薬餌料のみの給餌とし、1 日当たりの給餌率は Table 15 に示す割合とした。

試験期間中は、水温と溶存酸素の測定を行い、死亡尾数及び摂餌状態についての観察を実施した。摂餌状況については以下に示す 5 段階の評価基準を設け、記録を行った。

基準 1 : 活発 (規定量の餌料を 5 分以内に摂餌)

基準 2 : 良好 (規定量の餌料を 5 分～10 分以内に摂餌)

基準 3 : やや緩慢 (規定量の餌料の 70～100% を摂餌)

基準 4 : 緩慢 (規定量の餌料の 70% 以下を摂餌)

基準 5 : 不良 (全く摂餌せず)

寄生数の計数は、前章の方法で実施し、寄生虫の駆虫率の算出は、同一濃度投薬区における投薬前と投薬終了時の寄生数を用いて次に示す計算式で行い、投薬前後の寄生虫数の差の有意性についてはマン・ホイットニー U test を用いて検定を行った。

$$\% \text{ efficacy} = [1 - (Pa/Pb)] \cdot 100$$

Pa : フェバンテル投与後の平均寄生虫数

Pb : フェバンテル投与前の平均寄生虫数

結 果

試験期間は水温が 26.8°C から 14.9°C への低下する水温下降期で、溶存酸素も 5.8 mg/L から 8.6 mg/L の間で変化したが、飼育環境に異常は観察されなかった。

水温の低下に伴い、各試験区のトラフグの摂餌行動は 1 の活発から 2 の良好の間で変化したが、トラフグは設定量の餌量を順調に摂餌した。

また、死亡率も D 区の対照区を除くと 0.1% 以下であり、それら死亡魚についても噛み合いの傷が観察されたことから、トラフグ養殖に特徴的な噛み合いが死亡原因と考えられ、その他に異常な死亡は観察されなかった (Table 16)。

試験期間中の各試験区の対照区におけるヘテロボツリウムの成虫の寄生数は、A 区で 4.8 ± 2.4 個体から 5.3 ± 3.1 個体に、B 区で 9.5 ± 8.5 個体から 11.8 ± 7.7 個体に、C 区で 4.5 ± 2.2 個体から 10.3 ± 9.6 個体に、D 区で 8.7 ± 2.7 個体から 14.2 ± 5.5 個体に、E 区で 3.6 ± 4.3 個体から 7.2 ± 6.1 個体に及び F 区で 4.4 ± 4.7 個体から 4.4 ± 4.3 個体へと、F 区を除くといずれも増加し、特に C 区及び E 区については 100% を超える増加となった。また対照区の未成熟虫の寄生数は、A 区で 23.0 ± 7.2 個体から 22.3 ± 8.2 個体に、B 区で 28.1 ± 11.8 個体から 22.0 ± 12.6 個体に、C 区で 13.3 ± 6.1 個体から 25.2 ± 14.0 個体に、D 区で 21.5 ± 6.5 個体から 45.9 ± 21.5 個体に、E 区で 24.2 ± 12.3 個体から 35.6 ± 38.7 個体に及び F 区で 7.3 ± 4.9 個体から 20.3 ± 13.9 個体へと、A 及び B 区を除くといずれも増加し、特に D 区及び F 区については 100% を超える増加となった (Table 17)。

各投薬区における成虫の駆虫効果については、25mg 区が 12.5mg 区に比べいずれも高い駆虫率を示した。このうち D 区を除いた 5 区で 50% 以上の駆虫率を示し、投薬前後の寄生数にも有意差が得られた。これに比べ 12.5mg 区では、A 区、B 区、E 区及び F 区で寄生数の減少は見られたものの、いずれも駆虫

率は 50% を下回り、投薬前後での寄生数の有意差は全ての区で得られなかった。

未成熟虫については、25mg 区において 6 区の試験すべてで寄生数が減少し、このうち A、B、D、E 及び F 区では投薬前後の寄生数に有意差が見られ、B 区、D 区及び F 区で 50% 以上の駆虫率が得られた。これに対し、12.5mg 区では 6 区の試験のうち、C 区を除く 5 区の試験で寄生数は減少し、A 及び C 区を除く 4 区では寄生数の有意な差が見られ、E 及び F 区では 50% 以上の駆虫率が得られた。

考 察

民間養殖場における臨床試験では、D 区において対照区の死亡率が 0.1% を上回ったが、投薬区の死亡率がいずれも 0.1% を下回りかつ摂餌状況が投薬開始 3 日目以降改善され活発な摂餌が観察されたことから、対照区の死亡原因としてヘテロボツリウム症が推察された。また、試験期間中に投薬による摂餌性の低下および死亡魚の増加といった薬剤の影響は観察されず、これまでの陸上水槽での試験結果も踏まえ、フェバンテルを魚体重 1 kg 当たり 12.5 mg 及び 25 mg 5 日間投与した場合のトラフグに対する安全性については問題ないと考えられた。

本試験でのヘテロボツリウムの駆虫率は陸上水槽を用いたこれまでの試験に比べ、低い結果となり、特に 12.5mg 区において低い値となった。

この要因として、試験を行った 9 月から 12 月の水温が、24°C から 17°C の間でありヘテロボツリウムの増殖に適した水温帯であったことから (Ogawa and Inouye 1997b)、成虫が産卵したフィラメント状の卵が生簀の網に絡まっている状況が観察された。これらの卵からふ化したオンコミラキジウムは、ほぼ生簀内にとどまるため (小川 2006)、ヘテロボツリウムの再寄生が頻繁に行われていることが考えられた。

また、養殖場でのエラムシの寄生はトラフグ毎にかなりの差があることが観察され、投薬後の寄生数にもかなりのバラツキが見られた。これは、投薬時にすでにエラムシ寄生の影響で摂餌性が低下し、本剤を十分に取り込めなかった個体が含まれたために、

十分な駆虫効果が得られなかったためと考えられる。この影響が投薬濃度の低い 12.5mg 区において 25mg 区より顕著に現れ、投薬前後の寄生数で有意差が得られなかった試験区が多く発生したと推察される。

このように本剤のような経口投与剤の使用に当たっては、十分に摂餌性が確保されなければ十分な効果は期待できない。さらにトラフグは末広(1944)が示した硬骨魚類の胃の形状分類 (Fig 10) によると I 型に分類され、マダイのように発達した明瞭な形状をした胃を持っておらず (Takii 1997)、消化は緩慢で、給餌が過剰な場合やストレス条件下では、未消化の餌料を排泄・嘔吐したりすることから、給餌に当たっては量及び摂餌状況に注意が必要である。常日頃の飼育観察を十分に行い、ヘテロボツリウムの寄生状況を把握し、摂餌低下状態に陥る前に投薬を行う等の対応が必要と考えられる。

ヘテロボツリウム症における貧血、鰓腔壁の膿瘍形成及び細菌の 2 次的感染といった諸症状は、主に成虫によるものである。これは、成虫の吸血量が、未成熟虫に比べ格段に多いことや(安崎 2003)、成虫が把握器により鰓腔壁へ固着しており、固着した周辺組織に海水が浸入して炎症を生じたり、細菌への感染門戸となるからである(小川 2005)。このため成虫の駆虫が、ヘテロボツリウム症の対策についてはより重要と考えられ、これまでの章から、フェバンテルは成虫に対する高い駆虫効果を持っていることからヘテロボツリウム症の有効な薬剤であると考えられる。

今回の試験結果からフェバンテルのヘテロボツリウムに対する駆虫効果、特に成虫に対する効果が養殖場でも明らかになり、また水温低下時においてもフェバンテルを混合したことによる摂餌低下が発生せず、駆虫効果を発揮した。過酸化水素製剤では成虫への効果が無いことから、ヘテロボツリウム症の対策として有効な薬剤であると考えられた。

Table 15. Summary of field trials of febantel against *Heterobothrium okamotoi* of cultured tiger puffer

Location	Test No.	Experimental group	Average body weight	Number of fish	Experimental period (days)	Feeding rate*
Kumamoto	A	control	68.8	3,683	Sept. 12–23 (13)	5.0
		12.5 mg	64.2	3,625		
		25 mg	69.7	3,588		
	B	control	110.1	2,700	Oct. 23–Nov. 5 (13)	3.0
		12.5 mg	111.6	2,700		
		25 mg	107.6	2,700		
	C	control	53.6	4,510	Oct. 31–Nov. 12 (13)	4.0
		12.5 mg	73.5	3,130		
		25 mg	80.6	3,450		
	D	control	79.3	2,800	Dec. 18–30 (13)	3.0
		12.5 mg	83.2	3,000		
		25 mg	83.8	3,000		
E	control	105.6	2,864	Dec. 18–30(13)	1.5	
	12.5 mg	112.0	2,863			
	25 mg	108.9	2,478			
Ehime	F	control	207.5	3,200	Nov. 19–Dec. 3(13)	2.2
		12.5 mg	214.4	3,700		
		25 mg	199.6	3,700		

*(Wet weight of feed/fish body weight) × 100 (%)

Table 16. Appetite and number of dead fish in field trials of febantel

Examination group	Conditions	Experimental period in days												% cumulative mortality (% daily mortality) *				
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12			13		
A	Control	A*	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	40	(0.091)
		B*				3		1		3	6	7	7	6	7			
	12.5mg/kg	A	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	32	(0.074)
		B				4		1		2	3	4	7	4	7			
	25mg/kg	A	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	30	(0.070)
		B					5		1		2	2	4	6	4	6		
B	Control	A	2	2	2	2	-	2	2	2	2	2	2	2	2	33	(0.094)	
		B	3	1	5			1	2	1	2	4	15		2			
	12.5mg/kg	A	2	2	2	2	-	2	2	2	1	1	1	1	1	23	(0.066)	
		B	3	2	5			1			2	3	10					
	25mg/kg	A	2	2	2	2	-	2	2	2	2	2	2	2	2	15	(0.043)	
		B	2	2	3						1	2	7					
C	Control	A	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	43	(0.079)	
		B						4	4	8	5	1	7	4	10			
	12.5mg/kg	A	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	17	(0.045)	
		B						1		1		3	6	3	3			
	25mg/kg	A	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	25	(0.060)	
		B						2	2	6	1	4	3	3	4			
D	Control	A	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	61	(0.168)	
		B			3	2	3	5	3	3	7	10	10	0	15			
	12.5mg/kg	A	2	2	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	15	(0.038)	
		B			2	3	2	2	3	0	2	0	0	0	1			
	25mg/kg	A	2	2	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	29	(0.074)	
		B			2	3	3	1	3	3	3	2	3	0	6			
E	Control	A	1	1	1	1	-	1	1	1	1	1	1	1	1	8	(0.021)	
		B						1		1	2	1	2		1			
	12.5mg/kg	A	1	1	1	1	-	1	2	2	2	2	2	2	2	9	(0.024)	
		B						1	2	1	1	2	1		1			
	25mg/kg	A	2	2	2	2	-	2	2	2	2	2	2	2	2	15	(0.047)	
		B						4	2	1	2	1	3		2			
F	Control	A	1	1	1	1	-	1	2	2	2	2	-	1	1	1	(0.002)	
		B											1					
	12.5mg/kg	A	1	1	1	1	-	1	1	1	1	1	-	1	1	1	(0.002)	
		B									1							
	25mg/kg	A	1	1	1	1	-	1	1	1	1	1	-	1	1	0	(0.000)	
		B																

*A : Appetite of fish, Appetite of fish is indicated as follows

- 1 :Excellent activity (all feed eaten with in 5 min.)
- 2 : Good activity (all feed eaten with in 5 – 10 min.)
- 3 :No or reduced eating activity

*B : Number of dead fish

— : without observation

Gray area shows drug administration period

*: Daily mortality (total of dead fish/initial number of fish/experimental period in days) × 100 (%)

Table17. Efficacy of febantel against *Heterobothrium okamotoi* in the field trials

Experimental group		number of mature worms			number of immature worms		
		before administration (S.D.)	after administration (S.D.)	Efficacy rate (%)	before administration (S.D.)	after administration (S.D.)	Efficacy rate (%)
A	Control	4.8(2.4)	5.3(3.1)		23.0(7.2)	22.3(8.2)	
	12.5mg/kg _i	4.4(2.4)	4.2(2.3)	4.5	23.8(8.4)	20.7(8.0)	13.2
	25mg/kg	5.2(3.1)	1.9(1.9)*	63.5	26.4(11.3)	21.8(10.8)*	17.4
B	Control	9.5(8.5)	11.8(7.7)		28.1(11.8)	22.0(12.6)	
	12.5mg/kg _i	7.3(5.5)	5.1(6.3)	22.7	32.8(11.2)	16.2(13.9)*	50.6
	25mg/kg	9.2(4.1)	3.6(3.3)*	56.6	45.1(13.0)	8.6(8.3)*	80.9
C	Control	4.5(2.2)	10.3(9.6)		13.3(6.1)	25.2(14.0)	
	12.5mg/kg _i	4.6(2.2)	5.3(3.2)	-15.2	19.4(8.8)	21.9(9.5)	-12.9
	25mg/kg	3.8(2.0)	1.8(1.5)*	52.6	20.6(9.2)	15.6(8.0)	24.3
D	Control	8.7(2.7)	14.2(5.5)		21.5(6.5)	45.9(21.5)	
	12.5mg/kg _i	7.7(4.5)	10.6(4.5)	-37.7	22.6(12.8)	15.4(10.1)*	31.9
	25mg/kg	9.7(5.5)	6.7(3.3)	30.9	27.7(22.2)	12.9(8.5)*	53.4
E	Control	3.6(4.3)	7.2(6.1)		24.2(12.3)	35.6(38.7)	
	12.5mg/kg _i	9.8(6.6)	7.1(5.6)	27.6	45.5(19.3)	25.8(22.9)*	43.3
	25mg/kg	15.8(8.0)	3.6(4.2)*	77.2	51.0(21.3)	32.2(36.1)*	36.7
F	Control	4.4(4.7)	4.4(4.3)		7.3(4.9)	20.3(13.9)	
	12.5mg/kg _i	2.6(3.7)	2.2(2.8)	18.5	10.3(7.3)	3.2(4.1)*	68.9
	25mg/kg	3.7(5.8)	0.9(1.5)*	75.7	17.5(15.2)	6.8(23.2)*	60.6

* : Significantly lower ($p < 0.05$) than that before administration

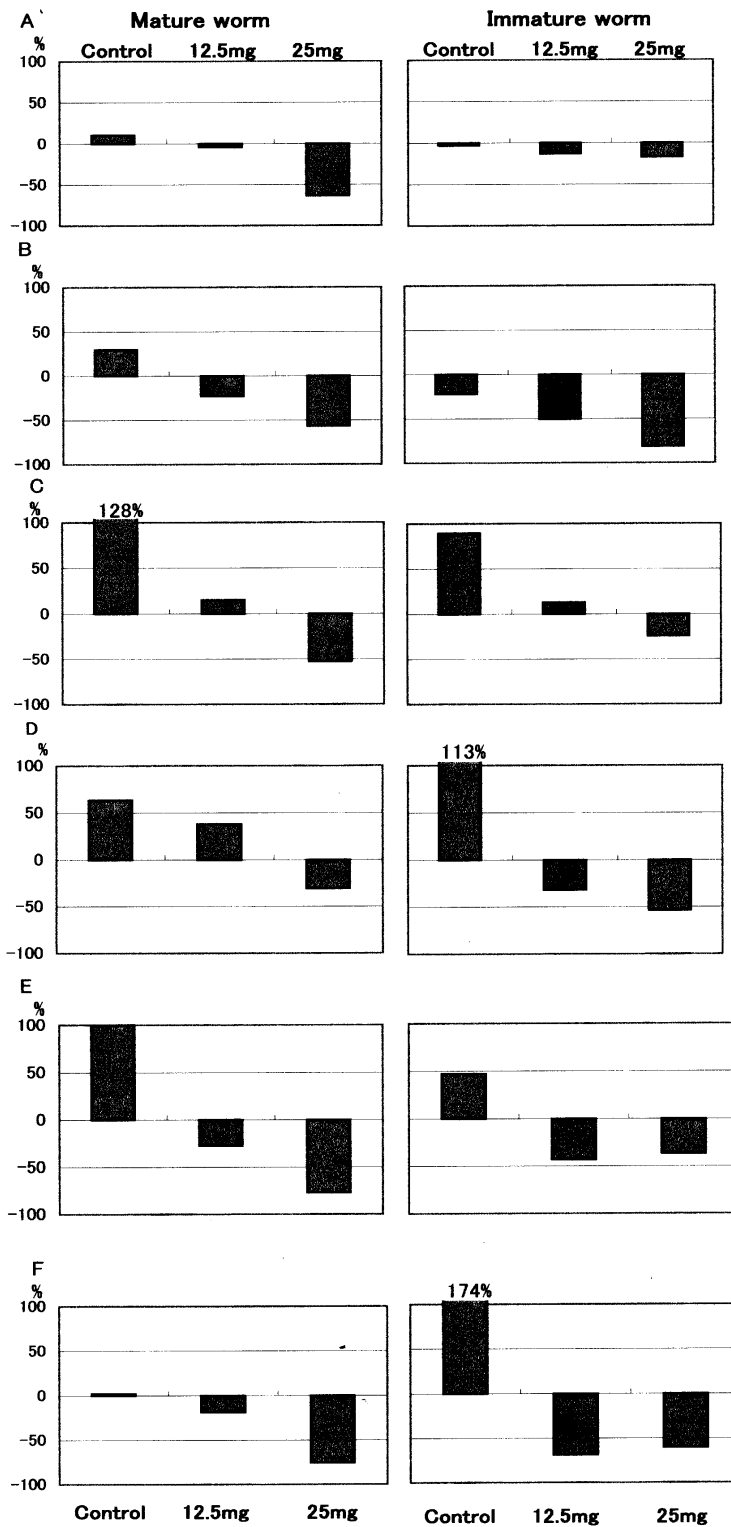


Fig. 9 Changes in the numbers of mature (left column) and immature (right column) worms of *Heterobothrium okamotoi* before and after administration of febanfel. Results are the percentage increase or decrease in worms after drug administration as compared with those before administration.

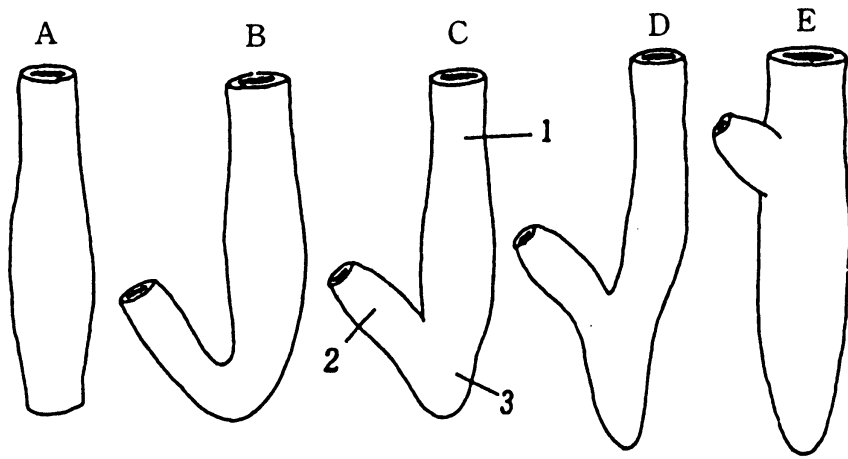


図 2-21 硬骨魚類の胃の外形。A：I型，B：U型，C：V型，D：Y型，E：ト型。1：噴門部，2：幽門部，3：盲囊部。 e) style

1 : pyloric, 2 : pylorus, 3 : cecum

IX 総合考察

トラフグ養殖は 1990 年代に西日本の主要養殖県において生産が頭打ちになっていたマダイに代わる養殖魚として生産量を拡大したが、この生産拡大を支えていたものはホルマリン薬浴によるヘテロボツリウムの駆除技術であった。このホルマリン使用は、熊本県においては 1996 年にトラフグ養殖場の近隣の真珠養殖場における母貝の死亡といった事件で問題化した。またホルマリンはトラフグに対して医薬品としての使用が認められておらず、ホルマリンを使用したトラフグが流通することで、食の安全・安心への危惧や、さらに薬浴後に海域へ廃棄されるホルマリンが周辺環境に与える影響が懸念されるなど環境問題としても取り上げられ社会問題化した。関係機関の取り組みによってホルマリン使用問題は沈静化した。ヘテロボツリウム症による被害が顕在化し、生産量は低下した。過酸化水素を主成分とする新たなヘテロボツリウム駆虫薬剤が 1998 年に承認されたが、親虫への効果がないことや、水温 25°C 以上ではトラフグに対する毒性が高まることなどから養殖業者から新たな駆虫薬の開発が望まれた (第 I 章)。

このため熊本県は明治製菓株式会社との新たな駆虫薬の開発試験に着手した。まず 1996 年から、ヘテロボツリウムの駆虫効果が考えられる既存の動物用医薬品等のスクリーニング試験を開始し、既存の約 100 程度の駆虫剤について駆虫効果やトラフグへの安全性について投薬試験を行い、2001 年にフェバンテルの効果に着目して動物用医薬品の承認申請に必要な各種試験に着手した。

フェバンテルはフェンベンダゾールのプロドラッグであり、家畜動物に投与された場合、有効成分であるフェンベンダゾールが各種体内酵素による分解等の影響を受けず、腸管から吸収され、肝臓でフェンベンダゾールへ移行した後、血液を介して寄生虫が寄生する臓器まで移行することで、本来の薬効が期待できる。しかし、投与後のフェンベンダゾールへの移行については、ほ乳類を中心とした動物試験による結果が示されているだけで、トラフグにおけ

る作用機序の確認が必要とされた (第 III 章)。

トラフグへフェバンテルを投与した結果、フェバンテルとフェンベンダゾール濃度の差から、トラフグ体内でも速やかにフェンベンダゾールへ移行することが明らかになった。また、フェンベンダゾールはトラフグの血中や主要臓器及び皮膚に分布することが明らかにされ、特に肝臓に集中して濃度が高まることが示されたことから、フェバンテルはトラフグへ経口投与された後に肝臓でフェンベンダゾールへ移行すると推察された (第 IV 章)。

次に、ヘテロボツリウムに対する駆虫効果について検討を行ったところ、投薬日数が多くなると駆虫効果が高まる傾向が明らかにされ、遅効性であるフェンベンダゾール系薬剤の特徴がトラフグのヘテロボツリウム症に対しても明らかになった。さらに、吸血量の多い親虫に対しても顕著な駆虫効果が明らかにされた (第 V 章)。これは従来の過酸化水素製剤が成虫を駆除できないという大きな短所を有することに対して、フェバンテルがトラフグ養殖業界の期待に十分答えられる薬剤であると考えられる。

フェバンテルをヘテロボツリウムが寄生したトラフグに魚体重 1 kg 当たり 25 mg・5 日間投与する用法・用量で駆虫効果が明らかにされたことから、フェバンテル及びフェンベンダゾールの血中濃度の変化とヘテロボツリウムの駆虫の関係についてさらに詳細な検討を行ったところ、投与開始後 2 日目からフェンベンダゾールの血中濃度は 4~5 $\mu\text{g/g}$ となり、投薬終了の 5 日目まではほぼ安定した値で恒常状態を示し、ヘテロボツリウムの寄生数も投薬 3 日目から減少傾向を示し、4 日目には投与前との寄生数と比べて有意に減少した (第 VI 章)。

さらに、投与後の残留期間について魚体重 1 kg 当たり 25 mg の 2 倍量の 50mg を 5 日間投与し、可食部位の筋肉及び皮におけるフェバンテル及びフェンベンダゾール濃度を投与 5 週間後まで測定した結果から、12.5 mg 及び 25 mg を 5 日間投与した場合、休薬期間は安全域を考慮し、投薬終了後 3 週間に設定できると考えられた (第 VII 章)。

フェバンテルの用法・用量、安全性及び残留期間

が明らかにされたため、民間の養殖場における臨床試験を熊本県及び愛媛県の合計4養殖場で飼育中のトラフグを対象に6回実施した。それらの結果、フェバンテル投与によるトラフグへの悪影響は認められなかったが、駆虫効果はそれまでの陸上水槽におけるそれと比較して低く、特に12.5 mgを投与されたトラフグでは駆虫効果が確認できなかった(第七章)。このように駆虫効果にバラツキが見られた要因として、無投薬の対照区においてヘテロボツリウム寄生数が増加したこと、生簀網に絡まった状態の虫卵が観察されたことから、ヘテロボツリウムの再寄生が行われていることが推察された。このため投薬とともに、生け簀網の交換による虫卵の除去や、近隣の養殖場での一斉投薬など、再寄生を防除する養殖管理を併せて行うことが投薬効果を一層高めるためには必要であることが示唆された。

これらの試験結果を基に、トラフグのヘテロボツリウム症薬剤として2003年に製造・販売の承認申請がなされ、各種審査を経て、2004年7月14日に承認された。

水産用医薬品としてヘテロボツリウムの駆虫用に薬浴剤としてすでに使用が認められている過酸化水素製剤は、未成熟虫のみに対する駆虫効果を薬効としており、薬浴によって未成熟虫は駆除できても、生残した成虫が約3ヶ月間の寿命の間に繰り返し1日当たり250個程度の産卵を行い、そのほとんどが生簀網に付着し、ふ化するため再寄生を防止することができない。このため出荷までに繰り返し薬浴作業を行うこととなり、養殖作業上の負担も大きい。また、過酸化水素の持つ強力な酸化力、腐食性といった化学的な作用機序によってヘテロボツリウムを駆除することから、トラフグに対する負担も大きく、作業ミスによってはトラフグを死に至らしめる危険性もあるため、水温25℃以上では使用できない。これに対し、フェバンテルは、家畜動物における安全性が高いことも報告されており、これまでの試験でもフェバンテルを投与したトラフグに死亡、摂餌不良及び異常な遊泳といった影響は見られておらず、これまでの用法・用量下ではフェバンテルはトラフ

グに対して安全であると考えられた。さらに成虫に対して高い駆虫効果を持つこと、経口駆虫薬のため通常の給餌作業と変わることなく実施できることなど、ヘテロボツリウム症に対する画期的な薬剤と考えられ、市販後はトラフグ養殖には欠かせない薬剤となっている。また、人体に対するフェバンテルを投与されたトラフグの食品としての安全性についても2008年食品安全委員会の『動物用医薬品「ふぐ目魚類用フェバンテルを有効成分とする寄生虫駆除剤(マリンバンテル)の再審査」に係る食品健康影響評価』において適正に使用され、休業期間が守られていれば人体への影響のないことが審議・報告されている。

しかし、有効な薬剤が使用できるようになったものの、トラフグのもつ生理学的な特徴からトラフグ養殖には高い養殖技術と管理が漁業者には要求される。すなわち、トラフグの胃の構造はマダイなどと比較して非常に単純で、餌料を貯蔵するようになっていないことから、過剰な給餌を行った場合に、未消化のままの排泄、ストレスによる餌料の嘔吐、急激な摂餌性の低下など、投与した薬剤がトラフグ体内で効果的な濃度に達しない場合が想定される。このためフェバンテルの投与に当たっては十分な摂餌性の確保や、適正な給餌量の把握を行う必要がある。熊本県水産研究センターが作成した「トラフグ養殖マニュアル」には、摂餌性を低下させないため、日頃より良質なタンパク質に基づく餌料の作成、適正な給餌量の調整、ストレス除去のための歯切り作業の実施や選別作業の徹底による噛み合いの防止等、十分な観察と管理の必要性が述べられている。このようにトラフグの飼育管理には日々の詳細な観察が必須であり、自動給餌器による飼育が基本となっているマダイ、ブリ養殖とは大きく異なる点である。

以上、本稿ではトラフグに寄生するヘテロボツリウムを効果的に駆除するための経口薬剤としてフェバンテルのトラフグ体内での動態及び用法・用量をはじめ明らかにした。さらにフェバンテルの効果を最大限に発揮させるための飼育管理技術を合わせて示してきた。本稿の成果はトラフグ養殖の安定に

大いに貢献するものと信ずる。

要 約

- 1 トラフグに特異的に寄生し、トラフグ養殖の重要疾病であるヘテロボツリウム症治療薬の開発研究を行った。
- 2 研究には、家畜動物の経口駆虫剤として用いられているフェンベンダゾールのプロドラッグであるフェバンテルを用い、トラフグ体内での変異体への移行状況、臓器中の濃度、ヘテロボツリウムの駆除効果、血中濃度変化、残留期間及び養殖場における効果について試験を行った。
- 3 トラフグに **25mg/kg** 魚体重を 1 回経口投与した場合のフェバンテルの C_{max} は、肝臓で $1.86 \mu\text{g/g}$ と最も高く、次いで血漿の $0.58 \mu\text{g/g}$ 、腎臓の $0.41 \mu\text{g/g}$ 、皮膚の $0.18 \mu\text{g/g}$ および筋肉の $0.09 \mu\text{g/g}$ の順であり、フェバンテルの T_{max} は全ての組織で4時間後であった。
- 4 フェバンテルは投薬濃度 **12.5mg/kg** 魚体重～**25mg/kg** 魚体重を5日間連続投与することで鰓に寄生するヘテロボツリウムの未成熟虫のみならず鰓腔壁に寄生する成虫に対しても駆除効果が得られた。
- 5 フェバンテルを **50mg/kg** 魚体重5日間経口投与した場合、変異体の総量であるオクスフェンダゾール・スルフォンについては5日間の投薬終了から1週間経過後に1尾の皮膚から検出されたことから、投薬から出荷までの休薬期間は3週間(21日間)と設定できると考えられた。
- 6 養殖場での試験においてもフェバンテルの効果は明らかになり、また水温低下時においてもフェバンテルを混合したことによる摂餌低下が発生せず、駆虫効果を発揮した。

※本論文は2010年3月鹿児島大学大学院連合農学研究科学位論文である。

謝 辞

本研究は、明治製菓株式会社動薬飼料部及び薬品

総合研究所との共同研究として実施し、特に樺山(旧姓森田) 淳、榎本純吾の両氏には研究全般を通じて精力的に取り組んでいただいた。また、研究期間中に熊本県水産研究センター養殖研究部に所属した職員各位、特に鮫島 守、野村昌功の両氏には薬剤のスクリーニングから製造・販売承認に至るまでを通じて精力的に取り組んでいただいた。さらに臨床試験において全面的に協力をいただいた愛媛県魚病センター(当時) 川上秀昌、板野公一の両氏、天草市水産研究センター岩崎政彦氏には心からお礼申し上げます。さらに論文をとりまとめるに当たってご指導いただいた鹿児島大学水産学部 山本 淳 教授に心からお礼申し上げます。

文 献

- Anshary, H., K. Ogawa, M. Higuchi and T. Fujii (2001): A study of long-term change in summer infection levels of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* with the monogenean *Neoheterobothrium hirame* in the central Sea of Japan, with an application of a new technique for collecting small parasites from the gill filaments. *Fish Pathol.*, 36, 27-32.
- Baert, L., S. Van Poucke, H. Vermeersch, J. P. Pemon, J. Vercruyssen, P. Bastiaensen, and P. De Backer. (1993): Pharmacokinetics and anthelmintic efficacy of febantel in the racing pigeon (*Columba livia*). *J. vet. Pharmacol. Therp.*, 16, 223-231.
- Ben-Zvi, Z., E. Gussarsky, C. van Creveld and R. Yagil. (1996): The bioavailability of febantel in dehydrated camels. *J. Vet. Pharmacol. Therap.*, 19, 288-294.
- Buchamann, K. and J. Bjerregaard. (1990): Mebendazole treatment of pseudodactylogyrosis in an intensive eel-culture system. *Aquaculture*, 86,

- 139-153.
- Székely, C., and K. Molnár. (1987): Mebendazole is an efficacious drug against pseudodactylogyrosis in European eel (*Anguilla anguilla*). *J. Appl. Ichthyol.*, **3**, 183-186.
- Debacker, M., J. Landuyt, J. Vercruysse, and Q. McKellar. (1993): The influence of *Ostertagia circumcincta* and *Trichostrongylus colubriformis* infections on the pharmacokinetics of febantel in lambs. *J. vet. Pharmacol. Therap.*, **16**, 261-274.
- Hoberg, E. P., PhD, G. L. Zimmerman, DVM, PhD, L. G. Rickard, MS, D. J. Schons, MS (1988): Efficacy of febantel against naturally acquired gastrointestinal nematodes in calves, and recognition of *Oesophagostomum venulosum* in Oregon cattle., *Am. J. Vet. Res.*, **49**, 1540-1542.
- 江草周三 (2004): 魚介類の感染症・寄生虫病, 恒星社厚生閣, 東京, pp. 369-375
- 畑井喜司雄, 松島又十郎, 岩橋義人, 佐々木正, 江草周三 (1975): 魚類におけるクロラムフェニコールの吸収および排泄, 魚病研究; **10**(1), 38-47.
- 「魚病の本」編集委員会 (1983): 魚病の本, 地球社, 東京, pp. 79-81.
- 末広恭雄 (1944): 生物学の進歩 第二集, 魚類の消化系の解剖と生理, 共立出版株式会社, 東京, pp. 283-338.
- 藤野澄子・齊藤秀哉・菅野盛夫 (1990): 最新薬理学, 講談社サイエンティフィク, 東京 pp. 16.
- 菅野 彊 (2004): 薬物動態ものがたり, アドバンス・クリエイト, 東京, pp. 10
- 小久江 栄一 (2004): 水産用医薬品ガイドブック, 養殖臨時増刊号, 緑書房, 東京 pp. 68
- Kim, K. H., and E. S. Choi. (1998): Treatment of *Microcotyle sebastis* (Monogenea) on the gills of cultured rockfish (*Sebastes schlegelii*) with oral administration of mebendazole and bithionol. *Aquaculture*, **167**, 115-121.
- 熊本県水産研究センター資料 (2001): トラフグ養殖マニュアル, 熊本県, pp. 14
- 久保埜和成 (2004): 水産用医薬品ガイドブック, 養殖臨時増刊号, 緑書房, 東京, pp. 32-35
- Lacey, E. (1990): Mode of action of benzimidazoles. *Parasitology Today*, **6**, 112-115.
- Chigasaki, M., M. Nakane, K. Ogawa and H. Wakabayashi. (2000): Standardized method for experimental infection of tiger puffer *Takifugu rubripes* with oncomiracidia of *Heterobothrium okamotoi* (Monogenea: Diclidophoridae) with some data on the oncomiracidial biology. *Fish Pathology*, **35**, 215-221.
- 内閣府食品安全委員会 (2003): フェバンテルに係る食品健康影響評価. 平成 15 年 12 月 18 日付け厚生労働省発食安第 1218002 号
- 内閣府食品安全委員会動物用医薬品専門調査会 (2006): 動物用医薬品評価書, プラジクアンテルを有効成分とするすずき目魚類用寄生虫駆除剤 (水産用ベネサル、ハダクリン) の再審査に係る食品健康影響評価について
- 農林水産省 (2007): 平成 19 年漁業・養殖業生産統計年報
- Hirazawa, N., T. Ohtaka, and K. Hata. (2000): Challenge trials on the anthelmintic effect of drugs and natural agents against the monogenean *Heterobothrium okamotoi* in the tiger puffer *Takifugu rubripes*. *Aquaculture*, **188**, 1-13.
- 岡本 亮 (1963): 瀬戸内海におけるフグの吸虫被害について, 水産増殖 臨時号, **3**, pp. 17-27.

- 小川和夫 (2005) : 魚類寄生虫学. 東京大学出版会, 東京, pp.141-146.
- Ogawa, K. and K. Inouye (1997a) : *Heterobothrium* infection of cultured tiger puffer, *Takifugu rubripes*--a field observation, *Fish pathol.*, 32, 15-20.
- Ogawa, K. and K. Inouye (1997b) : Parasites of cultured tiger puffer (*Takifugu rubripes*) and their seasonal occurrences, with descriptions of two new species of *Gyrodactylus*. *Fish pathol.*, 32, 7-14.
- Ogawa, K., M. Yasuzaki, and T. Yoshinaga (2005) : Experiments on the evaluation of the blood feeding of *Heterobothrium okamotoi* (Monogenea: Diclidophoridae). *Fish Pathol.*, 40, 169-174.
- Ogawa, K. and H. Yokoyama. (1998) : Parasitic diseases of cultured marine fish in Japan. *Fish Pathol.*, 33, 303-309.
- 佐野隆三 (1998) : 水産技術と経営 12、トラフグの種苗生産と養殖、水産技術経営研究会
- Takii, K., K. Konishi, M. Ukawa, M. Nakamura, and H. Kumai. (1997) : Comparison of digestive and absorptive functions between tiger puffer and red sea bream, *Fisheries Sci.*, 63, 349-354
- Takii, K., K. Konishi, M. Ukawa, M. Nakamura, and H. Kumai. (1997) : Comparison of digestive and absorptive functions between tiger puffer and red sea bream, *Fisheries Sci.*, 63, 349-354
- Tun, T., H. Yokoyama, K. Ogawa and H. Wakabayashi (2000) : Myxosporeans and their Hyperparasitic microsporeans in the intestine of emaciated tiger puffer. *Fish Pathol.*, 35, 145-156
- Tojo, J., M.T. Santamarina, F.M. Ubeira, J. Estevez, and M.L. Sanmartín. (1992) : Anthelmintic activity of benzimidazoles against *Gyrodactylus* sp. infecting rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Dis. Aqua. Org.*, 12, 185-189.
- Tojo, J., and M.T. Santamarina. (1998) : Oral pharmacological treatment for parasitic disease of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. II: *Gyrodactylus* sp. *Dis. Aqua. Org.*, 33, 187-193.
- 吐山豊秋 (1994) : 新編 家畜薬理学 改訂版, 養賢堂, 東京, pp.326-327.
- 中田 久, 松山 倫也, 池田 義弘, 松浦 修平 (1997) : トラフグ親魚からの採卵技法の開発, 日水誌, 63, 728-733.
- 安田治三郎 (1960) : 水産増殖 7, フグの蓄養と養殖, 日本水産資源保護協会, 東京, pp.31-40
- 安崎正芳, 良永知義, 小川和夫 (2003) : トラフグに寄生する単生類 *Heterobothrium okamotoi* の感染初期生態および吸血量の推定、平成 15 年度日本水産学会大会講演要旨集, 講演番号 526, p105.
- Wollweber, H., H. Kölling, A. Widdig, H. Thomas, H.-P. Schulz, and P. Mürmann. (1978) : Febantel, a new broad-spectrum anthelmintic. *Arzneimittel-forschung drug reseach*, 28, 2193-2195.
- 横山勝義 (2004) : 水産用医薬品ガイドブック, 養殖臨時増刊号, 緑書房, 東京, pp. 54-55.

2011年冬季に茂串湾で赤潮化した *Cochlodinium* sp. type-Kasasa の発生状況と 増殖に係る水温の影響及び粘土の散布効果について

高日新也, 安東秀徳, 大塚 徹, 川崎信司

Studies on generating situation, influence of the water temperature concerning multiplication and clayey spraying effect of *Cochlodinium* sp. type-Kasasa in Mogushi Bay in 2011 winter

Shinya Takahi, Hidenori Ando, Toru Otuka and Shinji Kawasaki

キーワード：赤潮、茂串湾、*Cochlodinium*

Cochlodinium sp.type-Kasasa (以下、笠沙型) は1982年及び1985年に鹿児島県南さつま市笠沙町片浦湾で赤潮化し、ブリ等の養殖魚類に約1億7千万円の被害が発生したことで知られる¹⁾。この渦鞭毛藻は、養殖魚類の大量へい死を引き起こす有害藻類として知られる *C.polykrikoides* (以下ポリクリコイデス) とは形態や遊泳様式が異なることが指摘されているが¹⁾、片浦湾以外での赤潮形成は稀であり、熊本県海域では2006年10月に羊角湾で²⁾、2010年11月に茂串湾で³⁾ 確認されているのみである。笠沙型及びポリクリコイデスの赤潮は主に夏季に発生し、いずれも高水温、高塩分条件下で最も増殖するとされているが、笠沙型は至適増殖水温より低い水温でも赤潮を形成する潜在的増殖能を有する、との指摘もある⁴⁾。

また、ポリクリコイデス等の有害赤潮に対する防除手段としては、鹿児島県薩摩川内市入来町産のモンモリロナイト系粘土(以下、入来モンモリ)の散布が知られており、熊本県では、ポリクリコイデスに対し散布が行われ一定の効果が確認されているが、笠沙型に対する効果を検証した例は少ない。

今回、2011年冬季に熊本県天草市牛深町茂串湾(図1)で発生した本種の発生状況を調査するとともに、増殖に係る水温の影響や入来モンモリの散布効果について検証するための各種試験を実施した。

方 法

赤潮発生状況調査 2011年10月31日に、熊本県天草市茂串湾(図1)において、地元の漁協に

より初めて *Cochlodinium* 赤潮が確認された。赤潮海水を水産研究センターに持ち帰り、光学顕微鏡によって検鏡をおこなったところ、形態はポリクリコイデスに良く似ているものの、波形に大きく揺れながら遊泳し、2細胞までしか連鎖しないなどの、笠沙型と疑われる遊泳様式が観察された。そこで、海水試料を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赤潮研究部宛に送付し、種同定を依頼したところ、本種は笠沙型であることが判明した。

以降、翌年1月4日に栄養細胞が確認されなくなるまで、週に1回程度の頻度で現場海域における着色状況を確認し、表層における水温、塩分及び笠沙型の栄養細胞数の計測を行った。

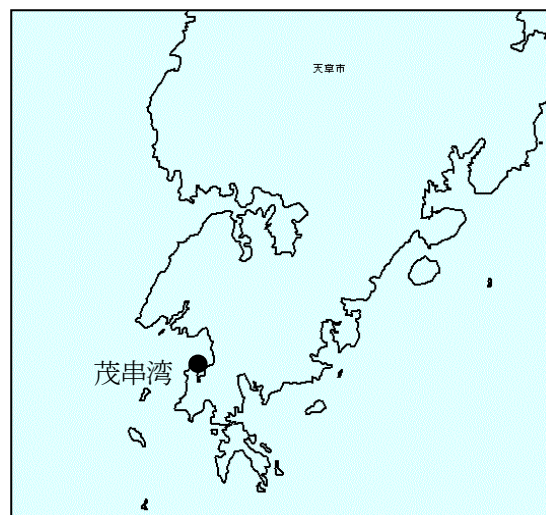


図1 調査地点

増殖に及ぼす水温の影響評価試験 11月15日に茂串湾で発生していた笠沙型赤潮プランクトンを現場海水とともにバンドン採水器で採水し、

10L ポリタンクを用いて水産研究センターに持ち帰った。持ち帰った海水を 500ml のビーカー5 本にそれぞれ 300ml ずつ分注し、温度勾配装置に格納し、それぞれの液温を 16、17、19、21、23°C の 5 段階に調整して試験区とした。それぞれの試験区においては、試験開始 2 時間前から各温度への馴致を行い、試験開始直前及び試験開始後 24 時間後に各区の海水を検鏡し、栄養細胞数を計測した。試験は照度 20,000Lux で 24 時間明期で行った。

入来モンモリの散布効果試験 11 月 10 日に茂串湾で発生していた笠沙型赤潮プランクトンを現場海水とともにバンドン採水器で採水し、10L ポリタンクを用いて水産研究センターに持ち帰り、海水を 2L ビーカー5 本にそれぞれ 1L ずつ分注した後、0、350、500、1,000、5,000mg/L の濃度となるように入来モンモリを添加して試験区とした。分注前と添加直後及び 24 時間経過には、海水をガラス棒で十分に攪拌し、それぞれ一部を検鏡して笠沙型の細胞活力の確認と細胞数の計測を行った。笠沙型の活力の変化については、細胞が運動しているものと運動停止しているものをそれぞれ計数し、ともに生残しているものとした。

結果及び考察

赤潮発生状況調査 茂串湾内における笠沙型の最大細胞密度の推移を図 2 に示した。笠沙型の細胞密度は、10 月 31 日に 2,420cells/ml 確認されて以降増加し、11 月 17 日に発生期間中で最大の 20,100cells/ml に達した。翌週の 11 月 25 日に 40cells/ml まで減少し、以降 12 月上旬まで 200-400cells/ml で推移したが、12 月 13 日に再び高密度化 (10,500cells/ml) した。12 月 22 日には 130cell/ml、同月 28 日には 530cells/ml 確認され、栄養細胞が確認されなくなったのは翌月の 1 月 4 日であった。

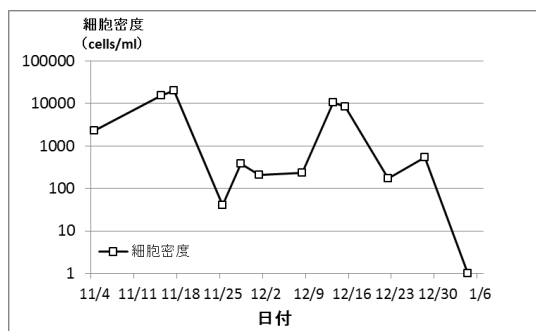


図 2 笠沙型の最大細胞密度の推移

栄養細胞出現期間中の水温、塩分の変化を図 3 に示した。表層水温は期間中低下しつづけ 16.0-22.5°C の範囲で推移し、そのうち 1,000cells/ml 以上に高密度化した 10 月 31 日から 11 月 17 日にかけての表層水温は 21.3-22.5°C、12 月 15 日の表層水温は 17.1°C であった。また、栄養細胞出現期間中の塩分は、33.09-34.02psu で推移し、大きな変化はみられなかった。

なお、11 月 1-17 日に、地元漁協によりほぼ毎日粘土散布が行われたものの、笠沙型の細胞密度の減少は短時間にとどまり、散布翌日には再び高密度化する、という現象が地元漁協により確認された。

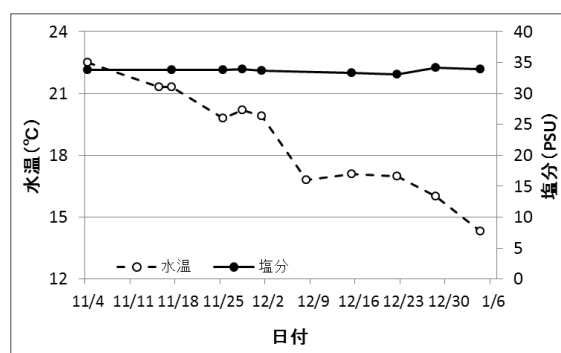


図 3 表層水温と表層塩分の推移

増殖に及ぼす水温の影響評価試験 各試験区の細胞密度の変化を図 4 に示した。各試験区の試験前のクロロディニウム細胞密度は 4,900-6,000cells/ml (平均 5390cells/ml) であり、塩分は平均 32.90psu であった。24 時間経過後には、すべての試験区の細胞密度が増加しており、その相対値 (%) は 148-168% であった。この結果から、笠沙型は 16-23°C の幅広い水温帯で増殖可能であることが明らかとなった。この結果は笠沙型の大村湾産株及び伊万里湾産株は 17.5-30.0°C の広い範囲で 1,000cells/ml を超えて増殖できる、とする山砥らの報告⁴⁾と概ね一致しており、今回茂串湾で発生した笠沙型についても、冬季の低水温下においても赤潮を形成可能であることを裏付けた。実際に、12 月 15 日に行なった現場調査では、8,300cells/ml の笠沙型赤潮を確認したが、そのときの表層水温は 17.1°C であった。

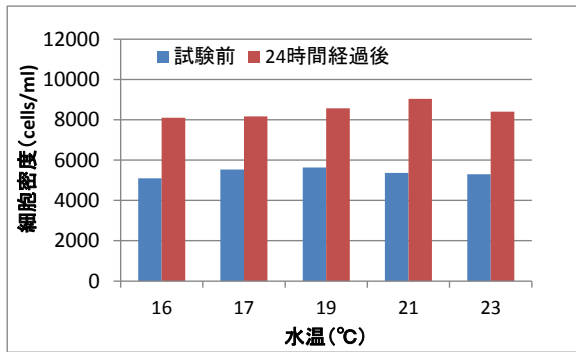


図4 各水温における細胞密度の推移

ポリクリコイデスと笠沙型の至適増殖水温を比較すると、ポリクリコイデスは25-27.5°C、笠沙型は27-30°Cという報告があり、いずれも高温条件下で高密度に増殖する特性を持つとされている⁴⁾。

しかし、熊本県で過去に発生した事例では、ポリクリコイデス赤潮は24-29°Cの水温帯でのみ確認されているのに対し⁵⁾、今回茂串湾で発生した笠沙型はそれよりも低い17-23°Cの水温帯での高密度化が確認されている。このことから、笠沙型とポリクリコイデスは水温に関して異なる増殖特性を持ち、笠沙型の増殖可能な水温帯はポリクリコイデスと比較して広範囲である可能性がある。このためクロロディニウムの種間のみならず、海域間、株間の増殖条件についてもさらに検証する必要がある。

入来モンモリの散布効果試験 各試験区の入来モンモリ曝露前後の細胞密度の変化を図5に示す。各試験区における曝露前と曝露直後の細胞密度を比較すると、350mg/L及び1,000mg/Lの試験区では、100-200cells/mlの運動停止細胞が確認され、運動している細胞と運動停止細胞を合計した細胞密度は、ともに曝露前の細胞密度よりも減少した。また、5,000cells/mlの試験区では、曝露後にはいずれの細胞もほとんど確認されなかった。

それぞれの試験区での散布効果率について、

散布効果率 = (曝露前の細胞密度 - 曝露直後の合計細胞密度) / 曝露前の細胞密度

として求めたところ、350mg/Lで23.7%、1,000mg/Lで81.5%、5,000mg/Lで99.9%であった。ポリクリコイデスに対する散布効果は200-1,000mg/Lで得られるとされ¹⁾、笠沙型も同等の効果であると考えられた。

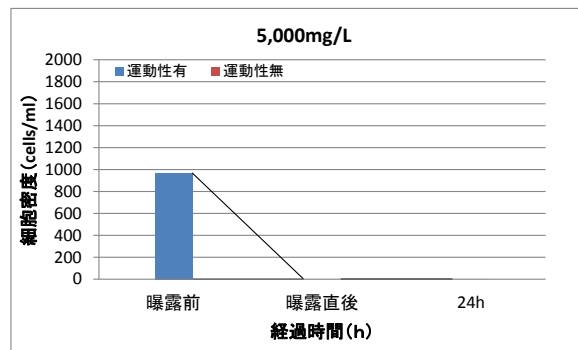
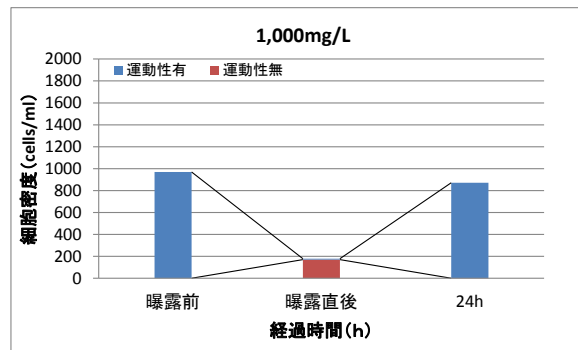
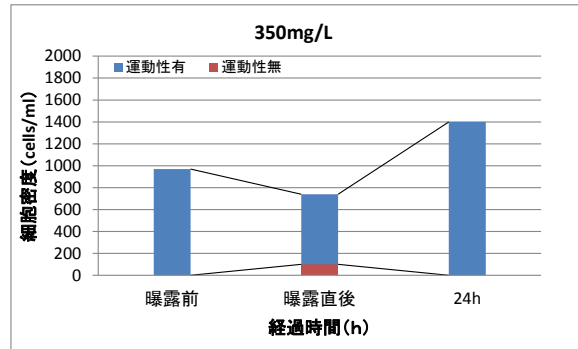
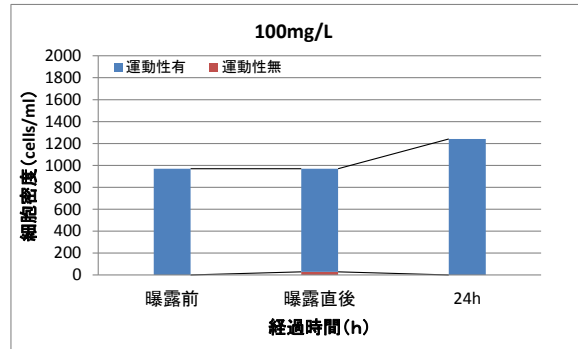
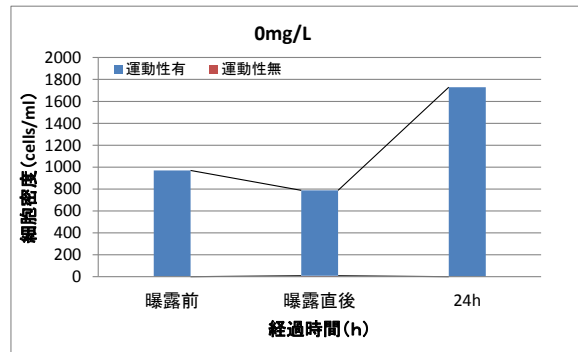


図5 入来モンモリ曝露後の細胞密度の推移

それぞれの試験区を曝露後 24 時間静置し、再度攪拌して細胞密度を計測したところ、350mg/L 及び 1,000mg/L の試験区で、合計細胞密度が大幅に増加した。また、いずれの試験区でも運動停止細胞が減少しており、ほぼすべての細胞が活発に運動していた。このうち 1,000mg/L の試験区においては、曝露直後に運動している細胞がほとんど確認されなかったにも関わらず、24 時間後の合計細胞密度が大幅に増加していたことから、曝露後に運動停止した細胞が時間経過とともに運動性を取り戻し、増殖を行ったことが示唆された。入来モンモリによる細胞駆除のメカニズムははっきりとわかっていないものの、今回の試験から、その散布効果は散布する濃度が低いと、曝露直後の短時間に限ると考えられた。

今回の結果から考えられる、赤潮発生現場における効果的な粘土散布方法としては、①高濃度で散布を行い、確実に駆除する②低濃度の散布を繰り返し行い、大増殖を抑制する、などの方法が考えられるが、いずれにおいても魚類養殖への影響が懸念されるため、慎重に検討していく必要がある。

要 約

2011 年冬季に熊本県天草市牛深町茂串湾で発生した笠沙型の発生状況を調査した結果、本種は同海域で 10 月下旬から翌 1 月上旬まで長期間発生し、そのうち赤潮状態時の最低水温は 17.1°C であった。

室内での増殖試験においても、笠沙型は 16-23°C の幅広い水温帯で増殖したことから、冬季の低水温下において赤潮を形成可能であることが確認された。

入来モンモリによる笠沙型の散布効果率は 350mg/L で 23.7%、1,000mg/L で 81.5%、5,000mg/L で 99.9% であった。しかし、曝露後 24 時間の静置で、1,000mg/L 以下の散布濃度では再び増殖したことから、効果は短時間に限ると考えられた。

謝 辞

本研究を行うにあたり、ご助言、ご協力をいただきました有限会社島田水産の方々、熊本県海水養殖漁業協同組合の職員の方々、笠沙型の種同定を行なっていただいた瀬戸内海区水産研究所赤潮研究部山口峰生博士に厚くお礼申し上げます。

文 献

- 1) 鹿児島県水産試験場：鹿児島県の赤潮生物(増補版)，No.A-8 (1995)
- 2) 水産庁九州漁業調整事務所：平成 18 年九州海域の赤潮 (2006)
- 3) 水産庁九州漁業調整事務所：平成 22 年九州海域の赤潮 (2010)
- 4) 山砥稔文・坂本節子・山口峰夫、村田圭助・櫻田清成・高野義人・岩滝光儀・松岡數光：西九州沿岸における有害無殻渦鞭毛藻 *Cochlodinium* sp.type-Kasasa の分布と増殖特性, 藻類学会 58, 167-172 (2010)
- 5) 村田圭助・櫻田清成：八代海における *Cochlodinium polykrikoides* 赤潮の発生環境と対応, 日本プランクトン学会報 56, 52-55 (2009)

2011年冬季に茂串湾で発生した *Cochlodinium* sp. type-Kasasa の有害性について

高日新也, 中野平二, 大塚 徹, 川崎信司

Studies on harmful effect of *Cochlodinium* sp. type-Kasasa in Mogushi Bay in 2011 winter

Shinya Takahi, Heiji Nakano, Toru Otuka and Shinji Kawasaki

キーワード：赤潮、茂串湾、*Cochlodinium*

Cochlodinium sp.type-Kasasa (以下笠沙型) は1982年及び1985年に鹿児島県南さつま市笠沙町片浦湾で赤潮化し、ブリ等の養殖魚類に約1億7千万円の被害が発生したことで知られる¹⁾。この渦鞭毛藻は、養殖魚類の大量へい死を引き起こす有害藻類として知られる *C.polykrikoides* (以下ポリクリコイデス) とは形態や遊泳様式が異なることが指摘されているが¹⁾、片浦湾以外での赤潮形成は稀であり、有害性に関する知見は少ない。そこで、本種の有害性について検討するため、2011年11月に熊本県天草市牛深町茂串湾で発生した赤潮を用いて、魚類に対する曝露試験を実施した。

方法

1 シマアジの曝露試験 供試魚には平均尾叉長35.8cm、平均魚体重1,080gで5日間絶食状態のシマアジを用いた。

11月17日に茂串湾で発生した笠沙型赤潮を容量約5m³の漁船の活け間に揚水し、前述の供試魚を入れ、試験区とした。また、湾外の海水を同漁船の別の活け間に揚水し、供試魚を入れ、対照区とした。(図1)

供試尾数は各10尾とし、通気を十分に行いながら、水温、塩分、DO及び供試魚の死亡数を記録した。試験に用いた活け間はシマアジが遊泳するのに十分な容積であった。

2 ブリの曝露試験1 供試魚には平均尾叉長66.5cm、平均魚体重5,250gで5日間絶食状態のブリを用いた。

試験はシマアジの場合と同様に茂串湾で発生した笠沙型赤潮を容量約5m³の漁船の活け間に揚水し、供試魚を入れ、試験区とした。

供試尾数は2尾とし、通気を十分に行いながら、水温、塩分、DO及び供試魚の死亡数を記録した。試験に用いた活け間はブリが遊泳するのに十分な容積であった。

3 ブリの曝露試験2 供試魚には平均尾叉長68.2cm、平均魚体重5,300gで5日間絶食状態のブリを用いた。

前項のブリの曝露試験1終了後の海水を同湾内の非着色域の海水と混合し、笠沙型の細胞密度を希釈した後、供試魚を入れ試験区とした。また、湾外の海水を同漁船の容量約5m³の別の活け間に揚水し、供試魚を入れ、対照区とした。

供試尾数は各4尾とし、通気を十分に行いながら、水温、塩分、DO及び供試魚の死亡数を記録した。試験に用いた活け間はブリが遊泳するのに十分な容積であった。

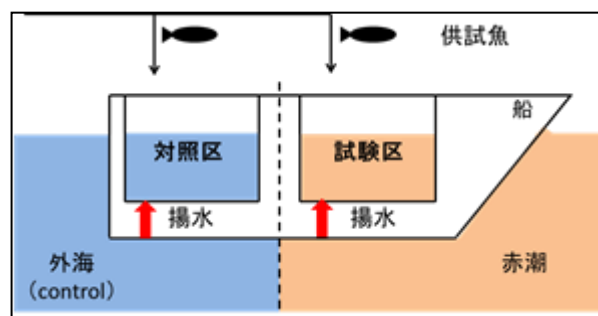


図1 曝露試験の方法

4 へい死魚の魚体検査

曝露試験において発生したへい死魚について水産研究センターに持ち帰り、外観や内臓等の観察及び脳、腎臓からの魚病細菌の検査を行った。

表1 シマアジ曝露試験における水質、クロロディニウムの細胞密度、魚の状態の変化

時間		試験区					対照区				
経過時間(h)	時刻	水温(°C)	塩分(psu)	DO(mg/L)	クロロディニウム細胞密度(cells/ml)	魚の状態	水温(°C)	塩分(psu)	DO(mg/L)	クロロディニウム細胞密度(cells/ml)	魚の状態
0	13:57	21.3	33.85	8.41	5800	1尾へい死	21.9	34.02	6.95	0	異常無し
1	14:55	21.2	33.83	7.09	7400	1尾へい死	21.8	33.94	6.77	0	異常無し
2	15:51	21.1	33.86	7.15	3300	2尾へい死	21.8	34.03	6.87	0	異常無し
3	16:50	21.1	33.8	7.08	5200	2尾へい死	21.7	34.01	6.72	0	異常無し
4	17:52	21	33.83	7.06	4000	1尾へい死	21.7	34.04	6.78	0	異常無し
5	18:49	20.8	33.89	7.02	4000	1尾へい死	21.6	34.03	6.69	0	異常無し
6	19:53	21.5	33.98	6.74	4700	2尾生残	20.7	33.87	6.96	0	全て生残
平均値		21.1	33.86	7.22	4914		21.6	33.99	6.82	0	

表2 ブリ曝露試験1における水質、クロロディニウムの細胞密度、魚の状態の変化

時間		試験区				
経過時間(h)	時刻	水温(°C)	塩分(psu)	DO(mg/L)	クロロディニウム細胞密度(cells/ml)	魚の状態
0	14:50	21.3	33.75	7.78	9900	動きが鈍化
1	15:48	21.1	33.81	7.18	6700	2尾へい死
平均値		21.2	33.78	7.48	8300	

表3 ブリ曝露試験2における水質、クロロディニウムの細胞密度、魚の状態の変化

時間		試験区					対照区				
経過時間(h)	時刻	水温(°C)	塩分(psu)	DO(mg/L)	クロロディニウム細胞密度(cells/ml)	魚の状態	水温(°C)	塩分(psu)	DO(mg/L)	クロロディニウム細胞密度(cells/ml)	魚の状態
0	16:20	21.1	33.85	6.96	4300	異常無し	21.7	33.9	6.98	0	異常無し
1	17:22	21	33.87	6.84	6100	異常無し	21.6	33.9	6.99	0	異常無し
2	18:23	21	33.8	6.88	6700	異常無し	21.5	33.83	6.77	0	異常無し
3	19:20	20.7	33.87	6.85	5500	異常無し	21.4	33.81	6.81	0	異常無し
4	20:20	21.4	33.88	6.81	7200	2尾へい死、2尾生残	20.6	33.88	6.9	0	全て生残
平均		21.0	33.85	6.87	5960		21.4	33.86	6.89	0	

結果

1 シマアジの曝露試験 表1及び図2に試験中の水温、塩分、DO、笠沙型の細胞密度及び供試魚のへい死状況を示した。

試験区のシマアジは6時間経過時までに計8尾がへい死し、生残率は20%であった。対照区のシマアジではへい死はなかった。このとき、それぞれの区の水温は20.7~21.9°C、塩分は33.80~34.04psuの範囲であり、試験中に大きな変化はなかった。また、試験区のDOは、対照区においてほとんど変化がみられなかったが、試験区では8.41mg/Lから6.74mg/Lに低下した。試験区における笠沙型の平均細胞密度は約4,900cells/mlであった。

2 ブリの曝露試験1 表2に試験中の水温、塩分、DO、笠沙型の細胞密度及び供試魚のへい死状況を示した。

試験魚は1時間以内にすべてへい死し、このときの笠沙型の平均細胞密度は約8,300cells/mlであった。

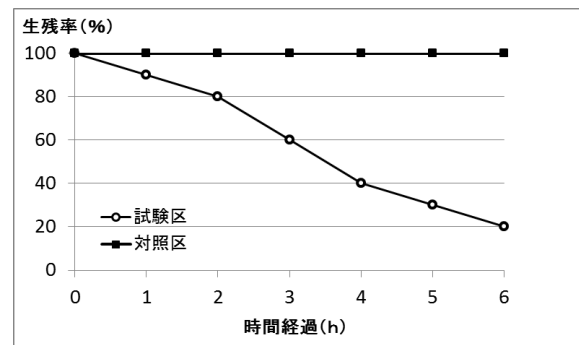


図2 シマアジ曝露試験のへい死状況

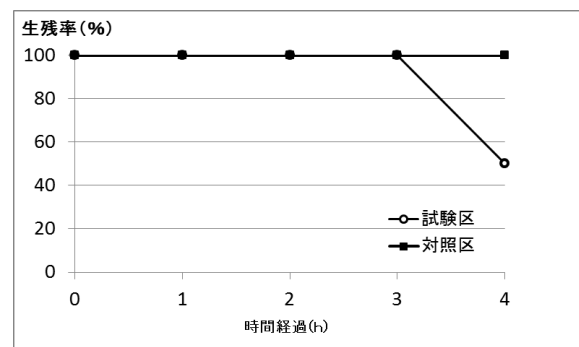


図3 ブリ曝露試験2のへい死状況

3 ブリの暴露試験2 表3及び図3に試験中の水温、塩分、DO、笠沙型の細胞密度及び供試魚のへい死状況を示した。

試験区のブリは4時間経過時までには2尾がへい死し、生残率は50%であった。対照区のブリではへい死は確認されなかった。このときの水温は20.6~21.7°C、塩分は33.81~33.90psu、DOは6.81~6.99の範囲であり、試験中に大きな変化はみられなかった。試験区における笠沙型の平均細胞密度は約6,000cells/mlであった。

4 へい死魚の魚体検査

試験によりへい死した供試魚をセンターに持ち帰り、検査を実施したところ、鰓蓋の発赤、脳の発赤、心外膜の白濁等の所見が認められたため、レンサ球菌症が疑われたが、脳、腎臓から0.5% BHI 培地を用いて菌分離を行ったところ、全ての検体で分離は出来なかった。このことから、へい死した供試魚の死亡はレンサ球菌症によるものではないことが確認された。

表4 死魚検査結果

魚種	検査尾数	外部所見による異常箇所	内部所見による異常箇所
ブリ	4	① 表皮のスレ(4尾中4尾) ② 鰓の出血(4尾中1尾) ③ 鰓の貧血(4尾中3尾) ④ 鰓蓋の発赤(4尾中3尾)	① 脳の発赤(4尾中2尾) ② 心外膜の白濁(4尾中1尾) ③ 脾臓の肥大(4尾中4尾)
シマアジ	4	① 表皮のスレ(4尾中4尾) ② 鰓の発赤(4尾中4尾) ③ 眼球の出血(4尾中2尾) ④ 眼球の白濁(4尾中1尾)	① 脳の発赤(4尾中2尾) ② 心外膜の白濁(4尾中1尾)

考 察

今回、シマアジ及びブリを用いて、2011年11月に茂串湾で発生した笠沙型赤潮の魚類への有害性について、笠沙型を4,300~8,300cells/mlの濃度で暴露する試験したところ、へい死した供試魚の死魚検査では、多くの供試魚から鰓蓋の発赤、脳の発赤、心外膜の白濁等の所見がみられ、貧血の症状が確認された。またへい死したいずれの供試魚からもレンサ球菌症の原因菌は分離されなかった。このことから、この症状は笠沙型赤潮に暴露されたことにより短期間で引き起こされたものであり、笠沙型はシマアジ、ブリを短時間のうちにへい死させる有害なプランクトンであることが分かった。

笠沙型による細胞密度と暴露時間及びへい死率の組み合わせは、シマアジは約4,900cells/ml・6時間で80%であった。ブリでは、8,300cells/ml・1時間で100%、約6,000cells/ml・4時間で50%であった。本県では過去に本種による赤潮被害は発生

していないが、ポリクリコイデスでは、1,825細胞/mlでトラフグ、マダイをへい死させた事例がある³⁾ことから、近似種である笠沙型も、ポリクリコイデスと同等の高い有害性を持っていると考えられる。

今回の試験では、笠沙型はいずれも短時間のうちにシマアジ、ブリをへい死させたことから、笠沙型が今回より低い細胞密度であっても、長時間の暴露によって魚類をへい死させる可能性がある。しかし、笠沙型のシマアジ、ブリに対する最低致死細胞密度や、シマアジ、ブリ以外の魚種に対する有害性については明らかにされていない。併せてクロロディニウムによる魚類のへい死機構については、細胞毒性物質や産生される多糖成分の関与が示唆されてはいるものの²⁾、明確には分からないのが現状であり、さらなる研究が必要である。

有害赤潮から漁業被害を抑制する技術としては餌止めがあり、高い効果があることが知られている。今回の試験では、全ての供試魚が絶食されている状態であったため、へい死数が抑制されている可能性があり、今後は笠沙型赤潮に対する餌止め効果についても検討し、有効な被害防止対策技術を確認していく必要がある。

要 約

2011年11月に茂串湾で発生した笠沙型赤潮は、シマアジ、ブリを短時間のうちにへい死させる有害なプランクトンであることが分かった。

笠沙型による細胞密度と暴露時間及びへい死率の組み合わせは、シマアジは約4,900cells/ml・6時間で80%であった。ブリでは、8,300cells/ml・1時間で100%、約6,000cells/ml・4時間で50%であった。

赤潮でへい死したシマアジ、ブリには鰓蓋の発赤、脳の発赤、心外膜の白濁等の所見がみられ、これらは赤潮の曝露によって引き起こされたと考えられた。

謝 辞

本研究を行うにあたり、ご助言、ご協力をいただきました有限会社島田水産の方々及び熊本県海水養殖漁業協同組合の職員及び組合員の方々に厚くお礼申し上げます。

文 献

- 1) 鹿児島県水産試験場:鹿児島県の赤潮生物(増補版) , No.A-8, 1995
- 2) 山崎康裕・小田達也 : *Cochlodinium polykrikoides*による魚介類の斃死要因, 日本プランクトン学会報56, 38-42 (2009)
- 3) 熊本県 : 熊本県の赤潮 (2000)
- 4) 熊本県 : 熊本県水産研究センター研究報告第6号, 69-73 (2004)

2010年に八代海で赤潮化した

Chattonella antiqua の発生状況と日周鉛直移動

櫻田清成, 高日新也, 梅本敬人

Occuration and vertical migration of *Chattonella antiqua* in 2010 in Yatsushiro Sea

Kiyonari Sakurada, Shinya Takahi and Takato Umemoto

キーワード：赤潮、八代海、日周鉛直移動、*Chattonella*

八代海では、近年有害プランクトン赤潮による漁業被害の発生が問題となっている。特に *Chattonella antiqua* (図1) 赤潮による魚類養殖業への被害はブリなどを中心に1990年に約10億円、2009年に約9億円、2010年には約16億円であり、熊本県と鹿児島県を合わせた被害累計額は約46億円に及ぶ。^{1,2)}

八代海における *C.antiqua* の発生は、1979年に初認され、1988年に最初の被害が報告されている。²⁾ 本種は *Cochlodinium* や *Heterocapsa circularisquama* などの他の有害プランクトンにくらべ、生活史や各海域の培養株における増殖特性、予察など、^{6,7,8)} 比較的研究の進んだ種である。八代海では、現場海水から分離された培養株についての増殖特性(至適水温25°C、至適塩分20psu)が解明され、⁹⁾ 予察については本報告第7号、8号に報告されている。³⁾

本報告では、2010年に八代海で発生した *C.antiqua* の発生状況について、また、24時間連続観測により明らかとなった本種の日周鉛直移動について報告する。



図1 *Chattonella antiqua* (上天草市松島町沖)

方法

1. 定期観測 八代海における *C.antiqua* の発生状況を把握するため、2010年6月8日から

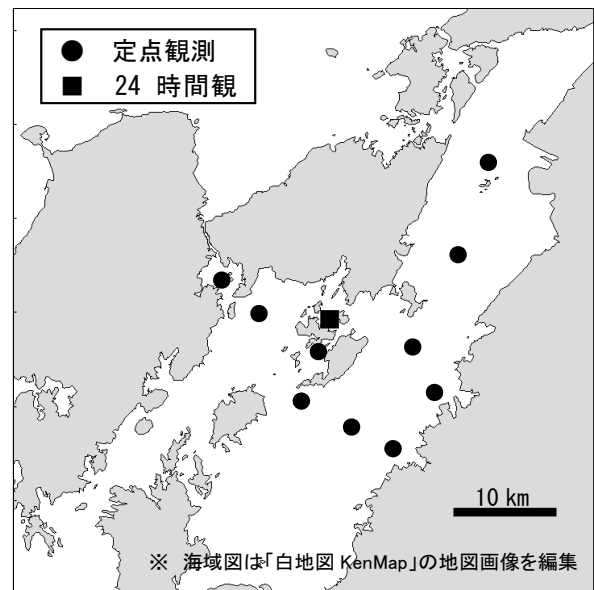


図2 調査点図

9月16日まで週1回、10点(図2)において調査船による植物プランクトンとDIN、P04-P、SiO₂-Si、水温及び塩分の定期観測を行った。観測層は表層(表面下0.5m層)、2m層、5m層、10m層、20m層、30m層、海底上1m層(以下B-1とする)とし、水温、塩分については、各調査点で多項目水質計(JFEアドバンテック株式会

社製 AAQ1183-H) により計測を行った。採水はバンドーン型採水器 (株式会社離合社) を用い、クーラーボックスに保管して水産研究センターに持ち帰り、直ちに光学顕微鏡により *C.antiqua* の細胞密度を計数し、Whatman GF/C ガラス繊維ろ紙 $1.2\mu\text{m}$ (GE ヘルスケア・ジャパン株式会社製) でろ過後、オートアナライザー ((株) ビーエルテック株式会社 Traccs2000) で水質分析を行った。

C.antiqua の分布状況については、本調査に加え、天草市や熊本県海水養殖漁業協同組合、漁業者が実施した検鏡結果を合わせて解析を行った。

また、赤潮発生時の気象統計データは、気象庁の気象統計情報のうち八代観測点の観測結果を (<http://www.jma.go.jp/jma/menu/report.html>) 用い、球磨川の流量は国土交通省九州地方整備局八代河川国道事務所の雨量・水量・水質情報 (http://www.qsr.mlit.go.jp/yatusiro/river/kumagawa/kuma_uryou/index.htm) を用いた。

2. 24 時間連続観測 八代海における *C.antiqua* の日周鉛直移動を把握するため、天草市横浦島沖 (図 2) で *C.antiqua* の細胞密度と水質について調査船による観測を行った。観測は、2010 年 7 月 22 日 10 時から 2010 年 7 月 23 日 10 時にかけて 60 分毎に行った。試水の採取は、バンドーン型採水器で表層から海底上 1m 層の間を 2m 間隔で採水し、直ちに光学顕微鏡により *C.antiqua* の細胞数を計数した。また、水質については定期観測と同様に実施した。

結果

2010 年の発生状況

1. *Chattonella* の発生状況 八代海における 2010 年の *C.antiqua* の発生 (図 3) は、6 月 2 日に葦北郡芦北町沖で 1cells/ml が確認され、その後 6 月中旬にかけて 10 cells/ml 以下の密度で推移し、6 月 30 日に天草市楠浦湾で赤潮を形成した ($\text{max}310\text{cells/ml}$)。また同時期に天草市御所浦島周辺海域や同市宮野河内湾で赤潮が形成され、7 月 5 日には同市牧島地先で 2010 年夏季の最高密度である $34,000\text{cells/ml}$ を記録した。その後、赤潮は八代海南部海域へ拡大し、同市浅海湾や同市久玉湾等の湾内で濃

密な赤潮を形成した (図 4) 後、赤潮形成から約 1 ヶ月後の 7 月 28 日に終息した。

本赤潮による漁業被害は、天草市で 7 月 2 日にブリやシマアジのへい死が確認され、その後天草市、上天草市で被害が拡大した。2010 年夏季の *Chattonella* による被害額は、7 月から 8 月にかけて 15.9 億円 (表 1) に上った。

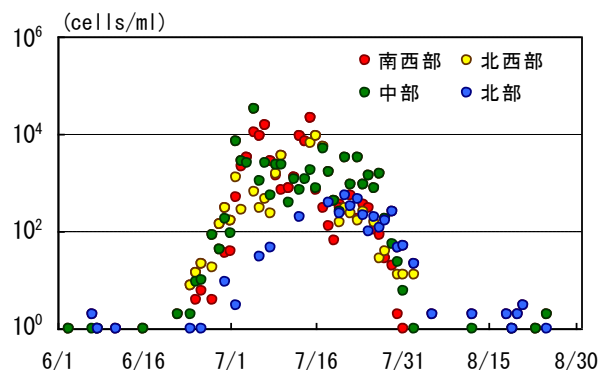


図 3 *C.antiqua* 細胞数の推移

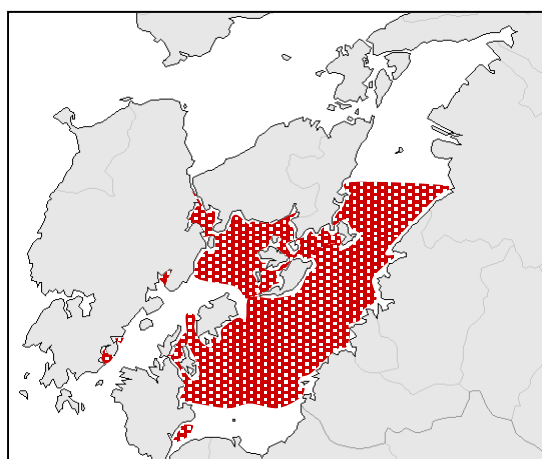


図 4 2010 年夏季の *C.antiqua* の着色域

表 1 2010 年の *C.antiqua* による漁業被害

	被害期間	へい死尾数	被害金額 (円)
天草市	7/2-7/26	1,048,056	1,586,792,765
上天草市	7/7-8/6	32,770	8,116,700
計	7/2-8/6	1,080,826	1,594,909,494

2. 気象・海況 2010 年の 4 月から 8 月にかけて八代観測点における気象の推移 (旬別) をみると、気温は $13.8\sim 28.7^\circ\text{C}$ であり、平年と同程度で推移した。降水量は $11.5\sim 370.5\text{mm}$ で、5 月中旬から 7 月中旬にかけて概ね平年より高い値で推移し (図 5)、風速は $1.1\sim 2.0\text{m}$ で平年と同程度であった (図 6)。日照時間は $21.5\sim 85.9\text{h}$ で推移し、6 月中旬から 7 月中旬にか

けて平年より低い値であった（図7）。また、球磨川の河川流量は856～11,074tで推移し、過去4年平均より6月下旬は約4,000t、7月下旬は約7,000t高く、7月下旬は約4,000t低い値であった（図8）。

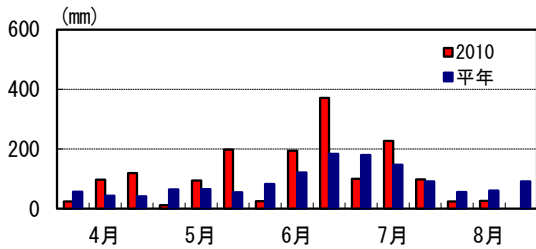


図5 降水量の推移 (八代観測点)

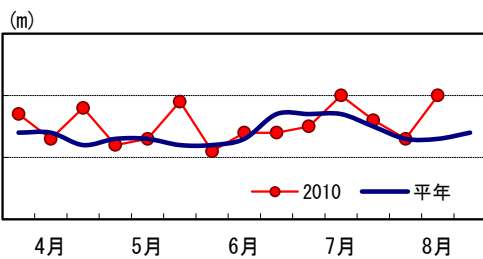


図6 風速の推移 (八代観測点)

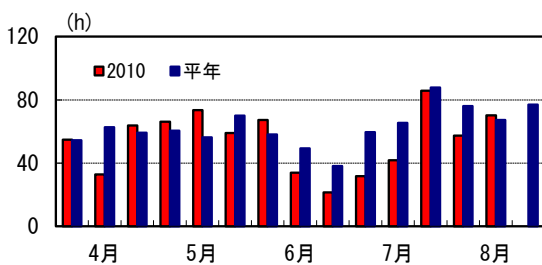


図7 日照時間の推移 (八代観測点)

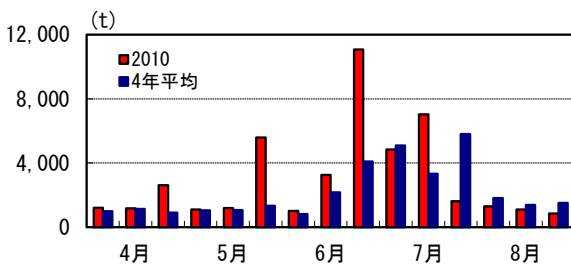


図8 球磨川流量の推移

6月から8月にかけての海況は、八代海中部の5調査点の平均で、表層水温が21.3～29.0℃で、7月上旬以降平年より1℃程度高い値で推移（図9）し、底層水温が19.6～25.7℃で、7月上旬から8月上旬にかけて平年より0.5℃程度低い値で推移した（図10）。表層塩分は、18.2～32.29psuで推移し、6月下旬から7月中旬に

かけて平年より低い値であった（図11）。また、表層DINは、0.4～5.7μg-at/Lで、6月下旬に5μg-at/Lを上回るが、概ね1μg-at/Lを下回り、平年より低い値で推移した（図12）。

葦北郡芦北町沖及び天草市楠浦湾における小型珪藻 *Skeletonema* spp. の分布については、芦北町沖で7月上旬に3,000cells/mlを上回るbloomが確認されたが、両点ともに概ね100cells/ml以下で推移した（図13）。

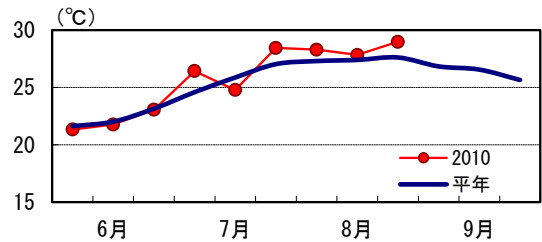


図9 表層水温の推移 (八代海中部5点平均)

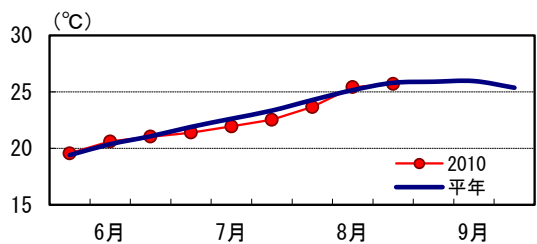


図10 底層水温の推移 (八代海中部5点平均)

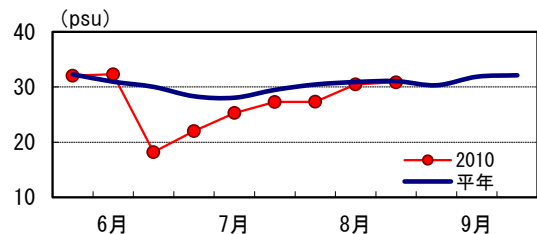


図11 表層塩分の推移 (八代海中部5点平均)

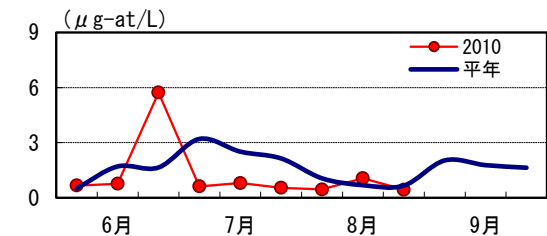


図12 表層DINの推移 (八代海中部5点平均)

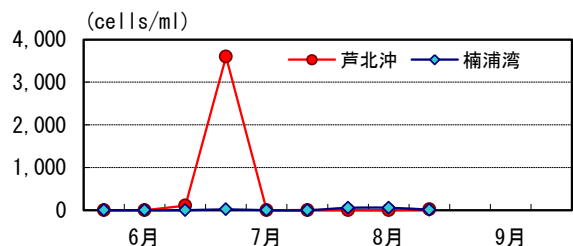


図13 *Skeletonema* spp.の推移 (10m柱状採水)

Chattonella の鉛直移動

1. *Chattonella* の鉛直分布 *C. antiqua* の分布層 (図 15) について、期間を通じほぼすべての層で本種の分布が確認された。表層-10mの本種の分布は 0~482cells/mL、水深 12-20m は 3~272cells/mL、水深 22-30m は 1~96cells/mL、水深 30m 以深では 2~58cells/mL であり、今回の結果から水深 20m より深い層でも 50cells/mL 以上の分布が確認された。

C. antiqua の鉛直移動について、22 日 10 時に水深 2m 層でみられた細胞群は、22 日 18 時まで水深 0~2m 層に分布していたが、22 日 19 時から徐々に沈降を開始し、23 日 5 時には水深 16m に達した。23 日 6 時には、一部の細胞群が水深 4~6m 層への移動し、23 日 7 時から 8 時にかけては、表層から中層まで広く分布し、水深 18m で 100cells/mL を超える細胞群が確認された。その後全体的に上層へ浮上し、23 日 10 時には水深 4~6m 層への移動が確認された。また、これらの鉛直移動から、*C. antiqua* の移動速度を求めると、下層への移動速度は約 1.0m/h、上層への移動速度は約 2.0m/h と見積もられた。

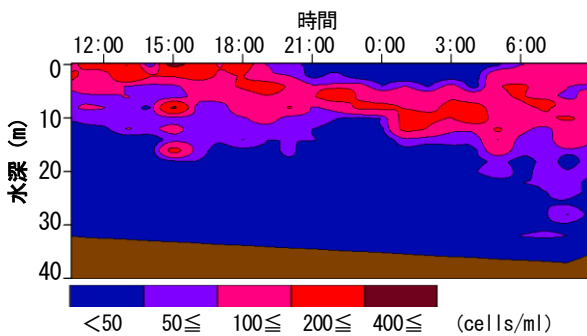


図 14 天草市横浦島沖における 2010.7.22.10:00-2010.7.23.10:00 の *C. antiqua* の鉛直分布。

図内の色調は *C. antiqua* の細胞密度 D (cells/mL) を示す。■ : $0 \leq D < 50$ 、■ : $50 \leq D < 100$
■ : $100 \leq D < 200$ 、■ : $200 \leq D < 400$ 、■ : $400 \leq D$

2. 海域環境 水温の鉛直構造をみると、表層から B-1m にかけて 22.4~28.9°C であり、表層-2m は 26.2~28.9°C、水深 4-6m は 22.5~26.8°C、水深 8m 以深は 22.4~24.2°C であった。塩分は表層から B-1m にかけて 26.2~31.8psu であり、表層-2m は 26.2~28.2psu、水深 4-6m は 27.0~31.6psu、水深 8m 以深は 30.0~31.8psu であった。水温と塩分については、調査期間を通じ水深 4-6m に顕著な躍層が確認さ

れた。DIN は表層から B-1m にかけて 0.3~5.5 $\mu\text{g-at/L}$ であり、表層-8m は 0.3~3.3 $\mu\text{g-at/L}$ 、水深 10-20m は 0.3~5.5 $\mu\text{g-at/L}$ 、水深 22m 以深は 2.7~5.1 $\mu\text{g-at/L}$ であった。また、 $\text{PO}_4\text{-P}$ は表層から B-1m にかけて 0.0~0.5 $\mu\text{g-at/L}$ であり、表層-8m は 0.0~0.3 $\mu\text{g-at/L}$ 、水深 10-20m は 0.0~0.4 $\mu\text{g-at/L}$ 、水深 22m 以深は 0.3~0.5 $\mu\text{g-at/L}$ であった。DIN 及び $\text{PO}_4\text{-P}$ は、水温や塩分に比べ緩やかな躍層が水深 10-20m で確認された。

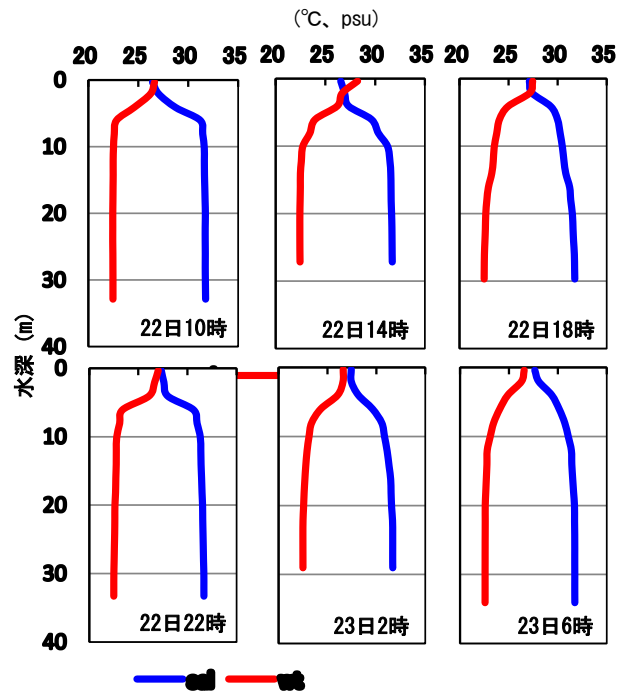


図 15 水温・塩分の鉛直断面

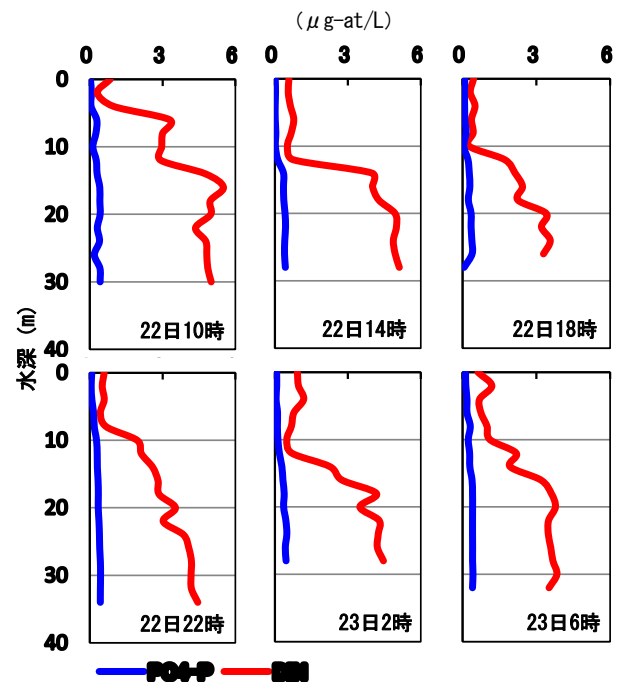


図 16 DIN・ $\text{PO}_4\text{-P}$ の鉛直断面

考 察

Chattonella 赤潮の発生要因 *Chattonella* の発生期については、シストの状態や底層環境が影響を与えると言われているが、¹⁵⁾、2010年の底層の環境は、6月上中旬の底層水温が、平年より高く赤潮発生年の推移に近い値で推移しており（図18）、6月中旬に20°Cに達したことから、シストの発芽には好適な環境であったと考えられる。

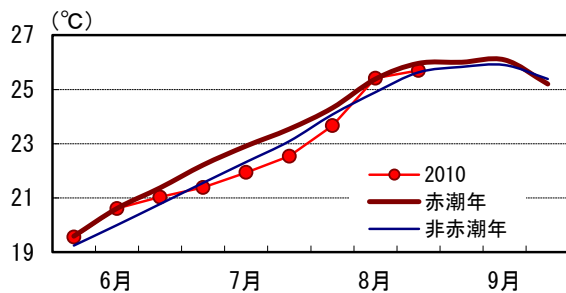


図17 *Chattonella* 発生年・非発生年・2010年の底層水温
(発生・非発生は過去20年間の平均値)

2009年に本種は、八代海全域にわたって大規模な赤潮となり、一部の海域では最高20万 cells/mlを上回る極めて濃密な赤潮を形成した。¹⁾この大規模赤潮により、海底上には多量のシストが供給されたことが確認されており、2010年に発芽可能なシスト量は例年以上に豊富であったと考えられた。これらのことから、2010年の*Chattonella*赤潮形成の要因として、シスト量が豊富であり、発芽に好適な環境であったことが推察された。

水温、塩分などの海域環境や競合種等が影響を与える*Chattonella*増殖期について、2010年の推移をみると、2010年は平年と同程度の降水がみられ、豊富な栄養塩が陸水から供給された。その結果、本種の競合種である*Skeletonema* spp.等の珪藻類は、豊富な栄養塩を利用して急速に増殖し、一時的に*Chattonella*の増殖は抑制された。しかし、*Chattonella*の発芽量も多く、両種の栄養塩の競合により表層域の栄養塩は急速に枯渇した。また、*Skeletonema* spp.の増殖に顕著な影響を与える日照時間は、6月中旬から7月中旬にかけて例年より低い値で推移し、*Skeletonema* spp.の増殖には不適な環境となり減少した。栄養塩類は*Chattonella*の増殖にも必須であるが、*Chattonella*は鉛直移動を行うことで、

躍層下の豊富な栄養塩類を活用することができ、表層の栄養塩が低下しても優占することができ、増殖期も好適な海域環境であったと推察された。

これらのことから、2010年夏季は、発生期、増殖期ともに*Chattonella*の発生に適した海況であり、長期間にわたり赤潮を形成したと推察された。

Chattonella の日周鉛直移動 八代海で2010年に発生した*Chattonella*について、細胞群は日没前後の19時に沈降を始め、水深16mまで沈降した後、翌朝の6時に浮上する状況が明らかとなった。本種の生態的挙動について、自力での到達深度は7.5mであり、躍層下の豊富な栄養塩は利用できないとの報告がある。¹⁵⁾今回の結果から、本種は鉛直移動により水深10-20mの躍層下もしくはその周辺の豊富な栄養塩を活用し増殖していたと推察された。

水温や塩分、DIN等の状況を見ると、躍層は調査時間を通じてほぼ同じ水深帯にあった。このことから、潮流や風による攪拌、差し込み等による*Chattonella*の受動輸送は考え難い。よって、今回確認された本種の鉛直移動は、*Chattonella*の能動的移動により沈降・浮上したものと考えられた。

*Chattonella*の沈降可能深度は、これまでの報告に比べ10m深い18mであった。八代海では、*Chattonella*赤潮の被害防止策として、本種細胞群が沈降可能深度とされていた水深7.5mより深い水深20~30mまで養殖生簀を沈降させる手法がいくつかの海域で実施されている。2010年夏季に発生した*Chattonella*は、今回の調査点の底層である水深30m付近でも50cells/mLを上回る分布が確認されており、このことが同年の漁業被害拡大の一因と推察された。*Chattonella*による漁業被害を防止・軽減するためには、本種の生態特性をより明らかにし、養殖魚そのものの*Chattonella*に対する抵抗性を高め、有害性を低下させる手法の開発など、今後のさらなる知見の蓄積が必要である。

要 約

八代海における2010年の*Chattonella antiqua*は、6月下旬から7月下旬にかけて約1ヶ月にわたり赤潮を形成した。

水温は平年並みであったが、塩分、栄養塩は平年より低い値で推移した。

7月22-23日の観測により、*Chattonella* は沈降・浮上の鉛直移動を行い、最大沈降深度は水深18mであった。

2010年の赤潮形成の要因は、*Chattonella* のシストが大量に存在したことと、6月上中旬の底層水温が例年より高く、シストの発芽が促進されたことが影響したと思われる。

謝 辞

本調査に協力いただいた熊本県水産研究センター養殖研究部の鳥羽瀬憲久氏（故人）、調査結果の整理や解析に協力いただいた西海区水産研究所の吉田誠氏、調査内容の設計にご助言頂いた天草市水産研究センターの岩崎主任に心から感謝いたします。

文 献

- 1) 昭和61年度～平成22年度熊本県水産研究センター事業報告書。熊本県水産研究センター。1986～2010。
- 2) 昭和61年～平成17年九州海域の赤潮。水産庁九州漁業調整事務所。1986～2005。
- 3) 櫻田清成, 木野世紀, 糸山力生, 小山長久。八代海における有害プランクトンの発生状況と予察法の検討。熊本県水産研究センター研究報告2006; 7: 31-44。
- 4) 羽田良禾。広島沿岸域の赤潮プランクトン(鞭毛虫類について)。広島水試1972; 28
- 5) Ono, C., H. Takano. *Chattonella antiqua* (Hada) Ono comb. Nov. And its occurrence on the Japanese coast. Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab 1980; 102: 93-100。
- 6) 今井一郎。有害赤潮ラフィド藻 *Chattonella* のシストに関する生理生態学的研究。南西水研研報1990; 23: 63-166。
- 7) 山口峰生, 今井一郎, 本城凡夫。有害赤潮ラフィド藻 *Chattonella antiqua* と *C. marina* の増殖速度に及ぼす水温、塩分および光強度の影響。日水誌1991; 57: 1277-1284。
- 8) 平成2年度赤潮対策技術開発試験東部瀬戸内海シャットネラ赤潮総合解析報告書(1990)。水産庁。144。
- 9) 鹿児島県の赤潮生物(増補版)(1995)。鹿児島県水産試験場。A-8。
- 10) 大内 晟, 高山晴義。主成分分析による赤潮凶について。日水誌1981; 47: 1275-1279。
- 11) 大内 晟。重回帰式による赤潮発生予測日水誌1982; 48: 1245-1250。
- 12) 大内 晟, 高山晴義。赤潮凶による *Gymnodinium* '65年型赤潮の予察について。日水誌1984; 50: 1201-1205。
- 13) 大内 晟。判別分析による赤潮予知。日水誌1984; 50: 1647-1651。
- 14) 平山 泉。八代海の環境の長期変動。月刊海洋2005; 37: 8-11。
- 15) 今井一郎。ラフィド藻赤潮の発生機構と予知。有害・有毒赤潮の発生と予知・防除。水産資源保護協会2000; 29-70。
- 16) 紫加田知幸, 櫻田清成, 城本祐助, 小山長久, 生地暢, 吉田誠, 大和田紘一。八代海におけるラフィド藻 *Chattonella antiqua* の増殖および栄養塩との関係。日水誌2011; 77: 40-52。

REPORT OF KUMAMOTO PREFECTURAL FISHERIES RESEARCH CENTER

No. 9 APRIL 2013

- Takafumi Morishita, Atsushi Ishidouya and Toru Otsuka..... 1
Age-length key of the red sea bream *Pagrus major* and bastard halibut *Paralichthys olivaceus* and age-weight key of the red sea bream *Pagrus major* in the Kumamoto sea area.
- Osamu Kimura and Toru Otsuka..... 6
The Study of Fish catches of the Whitebait *Engraulis japonica* in the Yatsushiro sea, Kumamoto Prefecture.
- Kiyo Araki, Takahiro Matuoka, Takahumi Morishita and Shinji Kawasaki..... 13
Impacts of Diel Vertical migration of *Chattonella antique* (Raphidophyceae) on the Benthic Crustacean (*Penaeus japonicus*) in Ariake Bay.
- Shinichiro Abe, Tsuyoshi Saito, Masanobu Umeyama and Heiji Nakano..... 19
Development of low emission feed for Red Sea Bream.
- Motoyuki Nakane, Maki Kikkawa, Sinitirou Abe and Heiji Nakano..... 25
Filefish (*Stephanolepis cirrhifer*) parent fish management and fry production.
- Takeshi Kimura..... 33
Efficacy of Febantel against Monogenean *Heterobothrium okamotoi* Infection of Tiger Puffer *Takifugu rubripes*.
- Shinya Takahi, Hidenori Ando, Toru Otuka and Shinji Kawasaki..... 77
Studies on generating situation, influence of the water temperature concerning multiplication and clayey spraying effect of *Cochlodinium* sp. type-Kasasa in Mogushi Bay in 2011 winter.
- Shinya Takahi, Heiji Nakano, Toru Otuka and Shinji Kawasaki..... 81
Studies on harmful effect of *Cochlodinium* sp. type-Kasasa in Mogushi Bay in 2011 winter.
- Kiyonari Sakurada, Shinya Takahi and Takato Umemoto..... 85
Occuration and vertical migration of *Chattonella antiqua* in 2010 in Yatsushiro Sea.