

赤潮総合対策調査事業Ⅲ (赤潮被害防止対策調査事業)

矢野浩一，村田圭助，中島広樹，西 広海

【目 的】

新奇有害赤潮の調査体制を確立するとともに，県内で発生する赤潮の集中調査や養殖魚への影響調査等を実施することにより，漁業者に的確な情報を迅速に提供する体制を構築し，漁業被害の未然防止・軽減を図る。

【方 法】

1 新奇有害赤潮等調査

1) *Dictyocha* sp. の養殖カンパチに対する影響

*Dictyocha*藻のうち概ね8角形の骨格を持つ*Dictyocha* sp. (写真1)は，鹿児島県海域に限らず国内外の海域でよく見かける珪質鞭毛藻類で，本県海域では，通常春から初夏及び秋などに多くて数十 cells/mL出現する程度であるが，平成（以下「H」）4年及びH26，27年は，鹿児島湾や甕島周辺海域において，数百 cells/mL以上に増殖し赤潮化して，ブリ類やマグロの養殖業に被害をもたらしたと推察される事例が発生しており，養殖業関係者に不安を与えている。しかしながら，*Dictyocha* sp. の魚毒性等に関しては知見が少ないことから，本所で培養した本種の有骨格細胞及び無骨格細胞を用い，養殖カンパチ *Seriola dumerili*に対する影響（最低致死細胞密度等）を検討するため，H27年度から曝露試験を実施しており，その一環としてH28年度も下記のとおり実施した。

(1) 有骨格細胞の影響

鹿児島湾内の喜入地先でH27年6月に採取した*Dictyocha* sp. の有骨格細胞を，本所で単離後，経代培養していた株を，H28年7月に大量培養（培地：f/2培地^{1,2)} からCuとSiを除き，SeとTrisを添加した成分組成へ変更を加えた改変f/2培地と，Siを

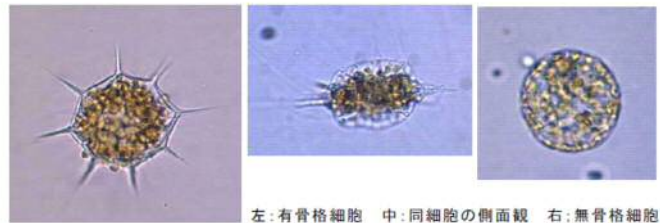


写真1 *Dictyocha* sp. の有骨格及び無骨格細胞

強化したPES³⁾とを1：1で混合)した。その*Dictyocha* sp. の細胞密度が3,500及び1,000 cells/mLになるよう濾過海水で調製した赤潮海水300～360 Lを，500Lポリカーボネートタンクに收容したものを曝露区①及び②とし，同型タンクにろ過海水のみ360 L收容したものを対照区として，カンパチ中型魚（体重約1,700～2,000 g）を試験区毎に各3尾收容し，曝露試験を開始した。試験は24時間とし，随時，水温，塩分，溶存酸素量等を計測し，供試魚の様子を観察した。また，曝露終了後，供試魚は魚体測定を行うとともに，鰓を採取し落射蛍光システム付き光学顕微鏡（オリンパス株式会社製 BX53。以下「蛍光顕微鏡」という。）で観察するとともに，走査型電子顕微鏡（(株)日立ハイテクノロジーズ社製 S-3000N。以下「SEM」という。）による観察を行った。

なお，当試験は，一連の試験としてH27年度から実施しており，それらの試験を含め，試験の詳細については，別途，本所研究報告により，「*Dictyocha* sp. の培養及び養殖カンパチに対する影響」試験として記載する。

(2) 無骨格細胞の影響

当所のろ過海水に，培養した*Dictyocha* sp. の無骨格細胞の培養株を添加し，細胞密度が10,000

cells/mL, 5,000 cells/mL及び2,000 cells/mLになるよう濾過海水で調製した赤潮海水約300 Lを500Lポリカーボネートタンクに収容したものを、それぞれ曝露区①～③とし、同型タンクに、ろ過海水のみ約300 L収容したものを対照区とした。試験には、平均体重915 g (表1) のカンパチ中型魚を試験区毎に各3尾収容し、止水、エアレーションの条件で飼育した。曝露試験は12月1日午前10:10から翌2日午前10:10までの24時間とし、随時、水質 (水温(°C), 塩分, 溶存酸素量 (以下「D0」と記す。)(mg/L), pH, Chl-a蛍光値 (μg/L)) を多項目水質計 (JFEアドバンテック社製 AAQ-RINKO) で計測し、供試魚の状態を観察した。また、曝露試験中にへい死した場合は、その直後に、また、生残した場合は24時間経過後に魚体測定を行った。また、へい死が見られた場合のみ、へい死魚と生残魚両方の鰓を採取し蛍光顕微鏡で観察するとともに、0.1molリン酸緩衝液2%グルタルアルデヒド溶液に浸漬保管し、後日、SEMによる観察を行った。

2) *Chattonella antiqua* のイワガキに対する影響

本県では、近年、イワガキ *Crassostrea nippona* の養殖に関心が集まり、各地で養殖 (試験も含む。) が行われ始めているが、魚類に対して有害な赤潮が発生しやすい海域においては、それらの赤潮がイワガキに対してどのような影響があるのか不明な点が多い。八代海にしばしば発生する *C. antiqua* 赤潮のカキ類への影響については、三重県沿岸海域プランクトン図鑑 (三重県水産研究所) によると、二枚貝 (アコヤガイ、カキ、アカガイなど) にもへい死事例があるとの記述があるが、これまで *C. antiqua* 赤潮に対するカキ類の耐性に関する知見が確認できないことから、養殖業者の赤潮対策に資するため、今回、*C. antiqua* のイワガキに対する毒性について、曝露試験により検討した。

試験に供した *C. antiqua* は、2009年に8月4日に八代海南部で採集した *C. antiqua* を本所で分離、経代培養したクローン株を、30Lポリカーボネートタンクに収容した改良f/2培地20Lにより25°Cで大量培養したものをを用いた。イワガキは、H28年11月16日に東町漁協で養殖された貝を搬入し、本所野外水槽でろ過海水を連続注水しながら飼育したものを供した。試験区は、曝露区は、*C. antiqua* の細胞密度が約1,300cells/mLになるよう濾過海水で調製した赤潮海水を60L直方体ガラス水槽に約55L収容し、対照区は、濾過海水を同じく60L直方体ガラス水槽に約55L収容した。試験は、各試験区にイワガキ6個体ずつを収容し、水温;22°C, 止水, エアレーションの条件で、3月2日の午前11時10分から翌日3日の午前11時10分までの24時間実施した。試験中、イワガキの状態を観察しながら、多項目水質計 (YSI社製 6600V2) により、随時、水温(°C), 塩分, D0(mg/L), pH, Chl蛍光値(μg/L) を計測するとともに、*C. antiqua* 細胞密度を随時計数した。また、イワガキによる *C. antiqua* 濾過能力を確認するため、水槽のガラスの片側面に白紙を張って、赤潮海水の色の濃さや濁りの変化を観察した。なお、試験開始直前に供試貝の体重と最長殻長を計測した。24時間経過後は、供試貝の生死を確認するため、ピンセットにより容易に開殻できるか試し、開殻できない場合は生存、開殻できた場合はへい死と判断した。

2 赤潮発生早期確認等調査

1) 底層水温モニタリング

長島周辺の養殖漁場のうち、脇崎、薄井、茅屋及び浜漣の計4点 (図1, ★印) で、データロガー式水温計 (Onset社Tidbit) を0 m, 10 m層及び海底上1 m層 (以下「B-1m」という。) に位置するよう養殖生簀鋼管枠等に垂下し、1時間ごとに周年測定した。

2) シスト発芽能確認調査

H28年4月18日に長島周辺4海域 (図1, ★印) 周辺の約50m×50mの範囲内3カ所と鹿児島湾奥の

垂水市牛根辺田沖1カ所(水深約80m)からエクマンバージ採泥器で海底泥を採取し、その表面から1cm程度をサジですくい取りサンプルとした。すくい取ったサンプルは、広口密閉容器に収容後、保冷剤を入れたクーラーボックスに入れて持ち帰った。サンプルは10℃の冷蔵庫内に10日間保管した後、MPN法⁴⁾を一部改変した方法により17, 18, 19, 20, 22℃で培養し、確認された栄養細胞から発芽した*Chattonella*属シストの数を推定した。なお、この方法は、近年の研究で*Chattonella*属シスト発芽時の光は、その発芽を阻害するとの知見⁵⁾が得られたため、規定の温度で培養する際、最初の4日間はアルミホイルで包んで遮光する処理を従来のMPN法に追加したもので、アルミホイルを外してからは、14L:10Dの明暗周期、光強度約35 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{sec}$ の光環境下でさらに10日間培養した。

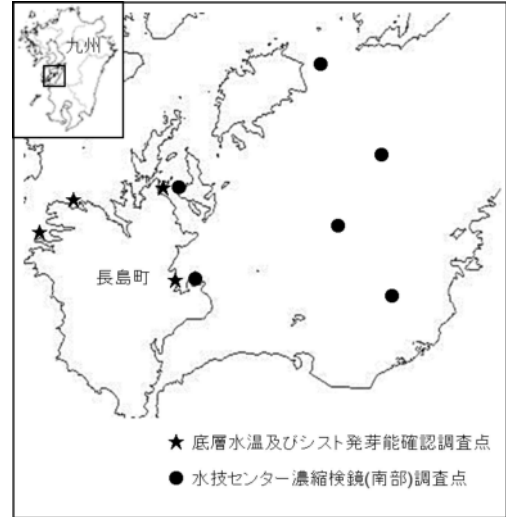


図1 調査定点 (その1)

3) 遊泳細胞の早期確認

4月から、遊泳細胞を早期に確認するため、当所が実施する赤潮(南部)調査点のうちの6定点(図1, ●印)及び八代海ライン調査の9定点(図2)で、海面表層付近をバケツで採水した表層の海水、または、0mから水深10mまでの海水を直径40mmのプラスチック製ホースで柱状採水した海水1Lを、目合15 μm のプランクトンネットで2~5 mL程度に濃縮した後、その中の*Chattonella*属遊泳細胞を検鏡した。さらに、東町漁協の定期調査における濃縮検鏡も参考にした。

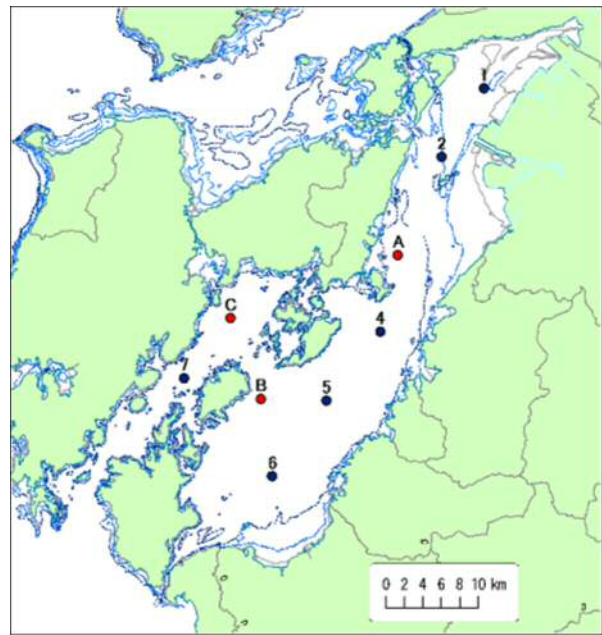


図2 調査定点 (その2:八代海ライン調査)

3 赤潮発生緊急対策試験

○ *C. antiqua*赤潮 への養殖魚曝露試験

H28年9月8~16日に八代海の本県海域で*C. antiqua*赤潮が発生し、2億1510万円の漁業被害が発生した。

その際、ブリが*C. antiqua*赤潮に曝露された際の耐性を把握するため、9月13~14日に、長島町地先の八代海において、*C. antiqua*赤潮による養殖ブリの曝露試験を実施した。

9月12日に、山川町漁協所属のブリ養殖業者から、前日より餌止めした養殖ブリの2年魚(平均体重2.85kg, 表10)6尾を入手し、同日、漁業指導取締兼調査船「おおすみ」の1tタンク2基に3尾ずつ積み込み、翌13日にかけて長島周辺海域の試験水域まで搬送し供試魚とした。曝露試験は伊唐湾に錨泊した「おおすみ」船上で行った。*C. antiqua*は、13日赤潮の集積が見られた長島西岸の浦底湾において、採水器(株式会社離合社製 リゴーB号採水器)及びバケツで、500Lポリカーボネートタンク1基に収容し、伊唐湾に搬送した。細胞密度を計数したところ、約50cells/mLであったので、これをそのまま曝露区とした。また、別の500Lポリカーボネートタンク1基に、供試魚を搬送した*C. antiqua*の入っていない海水を収容し対照区とした。各試験区には、供試魚のブリを2尾ずつ収容し、止水、エアレーシ

ヨンの条件で試験を実施した。曝露試験は9月13日午前11:30から翌14日午前6:30までの19時間とし、実施した。試験中、随時、水質（水温(°C)、塩分、DO(mg/L)、pH)を多項目水質計（JFEアドバンテック社製 AAQ-RINKO）で計測し、供試魚を観察した。また、へい死した場合はその直後に、また、生残した場合は試験終了後直ちに魚体測定を行うとともに、鰓を採取し、0.1molリン酸緩衝液2%グルタールアルデヒド溶液に浸漬保管し、後日、SEMによる観察を行った。なお、各試験区はDOが5mg/Lを下回らないよう必要に応じてエアレーション及び酸素ポンベにより調整した。

【結果及び考察】

1 新奇有害赤潮等調査

1) *Dictyocha* sp. の養殖カンパチに対する影響

(1) 有骨格細胞の影響

曝露試験の結果、細胞密度約3,500 cells/mLでは2時間以内に3尾全てがへい死したが、細胞密度1,000 cells/mLでは24時間100%生残した。また、へい死要因としては、*Dictyocha* sp.により、鰓組織が損傷を受け、窒息死した可能性が高いと推察された。なお、H27年度からの一連の当試験により、養殖カンパチ小型魚（体重約60 g）では、24時間以内の最低致死細胞密度の閾値が、約5,000~11,000 cells/mLの間に、中型魚（体重約1,700~2,000 g）では、8時間以内の最低致死細胞密度の閾値が、約1,000~3,500 cells/mLの間にあることが示唆されたが、前述のとおり、本一連試験の詳細については、別途、本所研究報告に記載するので、今回は省略する。

(2) 無骨格細胞の影響

① 供試魚の体組成

供試魚の全長、尾叉長及び体重を表1に示す。体重に関しては、全供試魚の平均が915 gであったが、曝露区①と対照区が平均より軽く、各々平均787 g (-14%)と860 g (-6%)、曝露区②と③は平均より重く、各々1,000 g (+9%)と1,013 g (+11%)であった。全長及び尾叉長の全体平均は、各々397mm、358mmであった。

② 水質の推移

曝露試験中の水質の状況を表2に示す。

水温は、19.1~21.0°Cで高低差は2°C以内。塩分は、33.6~33.8、DOは5.7~7.3mg/mL、pHは7.6~8.4で、いずれの項目も供試魚の生存に支障のない範囲で推移したと考えられた。Chl-a蛍光値については、各試験区の*Dictyocha* sp. 無骨格細胞の細胞密度に応じた数値で推移していたと考えられた。

表1 曝露試験（無骨格細胞）における供試魚の体組成

試験区	供試魚No.	全長(mm)	尾叉長(mm)	体重(g)
曝露区①	s-①	329	290	460
	s-②	417	398	1,000
	s-③	407	362	900
	平均	384	350	787
曝露区②	s-④	412	365	1,000
	s-⑤	410	368	980
	s-⑥	414	374	1,060
	平均	412	369	1,013
曝露区③	s-⑦	400	355	960
	s-⑧	397	357	940
	s-⑨	422	380	1,100
	平均	406	364	1,000
対照区	c-①	395	354	880
	c-②	403	367	1,020
	c-③	362	330	680
	平均	387	350	860
全体平均		397	358	915

表2 曝露試験中（無骨格細胞、24時間中）の水質の状況

試験区	計画細胞密度 (cells/mL)	水温 (°C)	塩分	DO (mg/L)	pH	Chl-a蛍光値 (µg/L)
曝露区①	10,000	19.6~21.0	33.6~33.8	6.5~7.3	7.6~8.4	23.2~29.9
曝露区②	5,000	19.2~20.9	33.6~33.7	6.1~7.2	7.6~8.3	12.1~14.6
曝露区③	2,000	19.1~20.8	33.6~33.7	5.7~7.3	7.6~8.2	4.6~5.3
対照区	0	19.3~20.8	33.6~33.7	5.7~7.3	7.6~8.0	0.3~0.5

③ *Dictyocha* sp. 無骨格細胞の細胞数の推移

各曝露試験区の*Dictyocha* sp. 無骨格細胞の細胞数の推移を表3に示す。曝露区①は10,000 cells/mLの計画に対し、実際は8,771~9,225 cells/mLで推移。曝露区②は5,000 cells/mLの計画に対し、実際は、3,883~5,217 cells/mLで推移。曝露区③は2,000 cells/mLの計画に対し、実際は、1,492~1,679 cells/mLで推移し、いずれの試験区でも、若干計画より低めだが、概ね当初の細胞密度を維持し大きな変動はなかった。

④ 供試魚の状態

試験開始25分後に、曝露区①で1尾のみ少し斜めに傾きながら泳ぐ。40分後には、その1尾は元に戻り正常に泳ぐようになった。また、対照区の魚はよく泳いでいたが、曝露区はどの試験区もあまり泳がず、じっとしている状態が多かった。約9時間後は、特に魚の色や状態に大きな変化はないが、曝露区②のみ、2尾が腹部を着底させていた。各試験区の海水表面を見ると、泡の発生が対照区が最も多く、次に曝露区②、③、①の順であった。24時間経過後は全試験区とも供試魚は正常に泳ぎ、特に目立った変化はなく、全供試魚とも生残した。

今回の曝露試験においては、曝露区において、若干、一時的に遊泳が不活発になる場面も見られたが全て生残し、*Dictyocha* sp. 無骨格細胞の細胞数が約9,000 cells/mL以下では、平均体重約900 gの養殖カンパチは、へい死しないことが示唆された。

表3 曝露試験中の*Dictyocha* sp. 無骨格細胞の細胞数の推移

経過時間	細胞密度 (cells/mL)		
	曝露区①	曝露区②	曝露区③
開始時	8,771	4,917	1,679
3時間00分	9,225	5,217	1,542
6時間00分	9,208	4,800	1,509
9時間20分	9,017	3,883	-
24時間00分	8,959	4,633	1,492
平均	9,036	4,690	1,556

2) *C. antiqua* のイワガキに対する影響

(1) 供試貝の体重と最大殻長

表4に示すとおり、各試験区に6個体ずつ供したが、曝露区は、平均体重が198g、平均の最大殻長が112mm、対照区は、平均体重194g、平均の最大殻長108mmで大きな差はなかった。

(2) 水質の推移

表5に示すとおり、曝露試験中の水温は21.4~23.0°C、塩分は、34.5~35.7、D0は、6.3~7.3mg/L、pHは、曝露区がやや高く8.5~8.9、対照区が7.9~8.5であり、いずれも供試貝や*C. antiqua*の生存に関して問題のない範囲で推移し、曝露区と対照区との差も特に問題のないものと考えられた。

表4 イワガキ曝露試験における供試貝の体組成

試験区	No.	体重(g)	最大殻長(mm)
曝露区	①	219	112
	②	207	115
	③	212	107
	④	204	121
	⑤	200	115
	⑥	148	104
	平均	198	112
対照区	⑦	168	95
	⑧	217	113
	⑨	178	110
	⑩	158	101
	⑪	218	105
	⑫	223	122
	平均	194	108
全体平均		196	110

表5 イワガキ曝露試験における水質の推移

時刻	経過時間 (時間:分)	試験区	水温 (°C)	塩分	DO (mg/L)	pH	Chl-a※ (μg/L)
11:10	0:00	曝露区	22.0	34.6	7.1	8.8	57.70
		対照区	21.4	35.4	7.2	8.3	0.90
11:30	0:20	曝露区	21.9	34.5	7.1	8.9	55.70
		対照区	22.0	35.2	7.3	8.5	1.20
12:00	0:50	曝露区	22.1	34.6	6.9	8.7	51.80
		対照区	22.5	35.3	6.8	8.1	1.10
13:10	2:00	曝露区	22.3	34.6	6.9	8.7	56.00
		対照区	22.8	35.3	6.8	8.2	1.20
15:10	4:00	曝露区	22.3	34.6	6.8	8.6	53.00
		対照区	23.0	35.3	6.7	8.2	0.70
17:10	6:00	曝露区	22.4	34.6	6.8	8.6	53.10
		対照区	21.6	35.4	6.7	7.9	0.90
9:10 (翌日)	22:00	曝露区	22.6	34.9	6.4	8.5	37.80
		対照区	22.1	34.9	6.9	8.1	1.40
11:10 (翌日)	24:00	曝露区	22.5	34.9	6.3	8.6	36.60
		対照区	21.7	35.7	6.9	8.1	1.80
最低値～最高値		曝露区	21.9～22.6	34.5～34.9	6.3～7.1	8.5～8.9	36.60～57.70
		対照区	21.4～23.0	34.9～35.7	6.7～7.3	7.9～8.5	0.70～1.80

※ Chl-aは、多項目水質計による蛍光値

(3) *C. antiqua* 細胞密度の推移

曝露試験中の*C. antiqua*の細胞密度の推移を表6に示す。試験開始時、1,404 cells/mLであったが、50分後に16%程減少し、その後、7時間経過後までは、ほぼ同様な細胞密度で推移した。翌日の22時間後には、当初より約40%減少しており、24時間後には、約50%の減少率であった。

また、水槽の*C. antiqua*による濁り（目視による）は、24時間後、少し薄くなった程度で、明確に解消されることはなかった。

(4) 供試貝の状況

曝露試験の開始時及び24時間後の状況を図3に示す。試験の結果、曝露区及び対照区ともに、供試貝のへい死は見られなかった。また、曝露区及び対照区ともに、24時間経過後、2個体ずつ、ナイフ等を用い強制的に開殻したところ、色やにおい等に問題なく生存が確認され、残りの各1貝は貝柱の力が強く生存が確認された。なお、開殻したイワガキは、図4に示すとおり、肥満度の低いミズガキ状態であった。さらに、曝露区の強制的に開殻した1個体（No. ②）を光学顕微鏡で観察したところ、外套膜の組織の一部が動くことを確認した。そして、開殻した曝露区のNo. ②の鰓や内臓、外套膜を蛍光顕微鏡で観察したが、内臓では蛍光で赤く発色する物質が僅かに確認されたものの、*C. antiqua*と推定されるような葉緑素を持つ微生物等はほとんど確認されなかった。その他、曝露区の貝の殻内に滲み出た液を検鏡したが、*C. antiqua*は全く確認できなかった。

(5) イワガキの耐性と濾過能力について(考察と課題)

① 耐性について

今回の試験では、*C. antiqua*の細胞密度が、800～1,400 cells/mLでは、平均体重約200 gのイワガキはへい死しないという結果となった。

表6 *C. antiqua*の細胞密度の推移

経過時間	細胞密度(cells/mL)
	曝露区
開始時	1,404
0時間50分	1,175
2時間00分	1,175
4時間00分	1,133
6時間00分	1,167
7時間00分	1,133
22時間00分	829
24時間00分	706

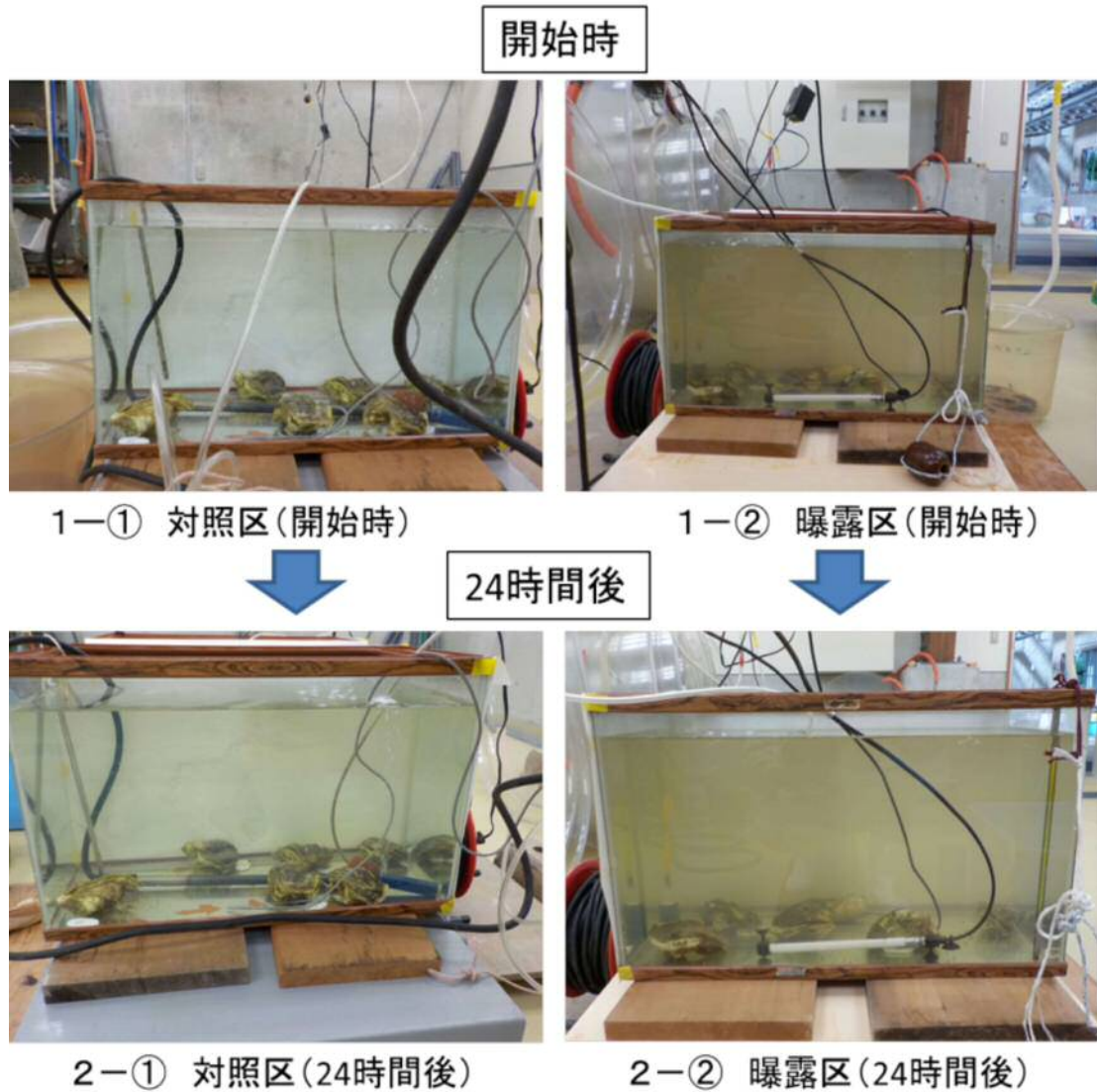


図3 イワガキ曝露試験の試験開始時と24時間後の状況写真

a) 培養株は、天然株に比べ毒力が弱いとの知見もある。本県における本種の細胞密度と漁業被害事例との関連を総合的に判断すると、天然株では30～50cells/mLが最低致死細胞密度と考えられる（本所ホームページに掲載）が、今回使用した*C. antiqua*株は、八代海で平成21年に発生した細胞の経代培養株で、西らの試験（現在、本所研究報告に投稿中）によると、約600gのブリに対する最低致死細胞密度は、1,100 cells/mL程度との結果が出ており、天然株に比べ22～37分の1程度の毒力と推定される。今回のイワガキの曝露試験では、細胞密度 800～1,400cells/mLであったので、今回使用した培養株が当時と同程度の毒力が維持



図4 イワガキ曝露試験後の状態（写真）

されていたと仮定すれば、ブリを死に至らしめる毒力と同等レベルはあったと考えられる。

b) 供試したイワガキは、供試前まで、3ヶ月ほど濾過海水中で無給餌飼育されたものであったことから、魚類の場合、赤潮被害の軽減化を図るために、餌止めをして活力を抑制するが、同様の効果が現れ、*C. antiqua*の影響を受けにくかった可能性も考えられる。

以上のことから、イワガキの*C. antiqua*に対する耐性については、今回の試験だけでは判断できず、今後更なる検討が必要である。

② イワガキによる濾過能力

a) 曝露区における*C. antiqua*の細胞密度の推移(表6)を見ると、試験開始1時間後で16%程減少し、その後は7時間後までは横ばい状態で、24時間後には細胞密度は試験開始時の半分に減少したものの、曝露区の色や濁りは明確に解消されておらず、イワガキによる濾過が十分あったとは考えにくい。また、*C. antiqua*だけを入れた対照区を設けていないことから、イワガキによる濾過が原因で細胞密度が減少したと判断できない。

b) カキ類の濾水能力については、水産庁のホームページ(http://www.jfa.maff.go.jp/j/kikaku/tamenteki/kaisetu/gyogyou_katudou/index.html, 2017年6月29日)によると、「1個のカキが1日に濾過する海水は約400Lといわれ、…」とあり、また、八矢⁶⁾によると、平均的なサイズの個体(殻長約5cm)が1時間あたりで最大約6Lの海水を濾過するとされており、仮に、それより少ない1個体が1時間あたり1L濾過するとしても、6個のイワガキで24時間で144L濾過することになり、今回の試験では、供試水量は約55Lなので、約2.6回転したことになることから、イワガキが*C. antiqua*の殻内への取り込みをある程度忌避した可能性も考えられる。

以上のことから、今回の試験では、イワガキによる*C. antiqua*の濾過能力については、疑問点が多く更なる検討が必要である。

2 赤潮発生早期確認等調査

1) 底層水温モニタリング

長島周辺4カ所に設置されたデータロガーで得られた水温データのうち、H27年12月2日からH28年5月21日までの10 m及びB-1 m水温の1時間毎の推移を図5に示す。また、H28年の冬期底層(B-1m)水温は、表7に示すとおり、脇崎で2月19日に12.6℃、薄井で2月15日に12.7℃、茅屋で2月15日に13.6℃、浜漣2月14,15日に13.8℃といずれも12℃以下には下がらず、その後5月にかけて時間の経過とともに上昇した。この間の各海域毎の底層水温の累積低温時間は、表7のとおり、最も低い13℃以下の水温が、薄井で最も長く187時間、次に脇崎で54時間、茅屋と浜漣では13℃以下には下がらず、14℃以下が茅屋で245時間、浜漣で17時間と、薄井、脇崎、茅屋、浜漣の順で底層水温の低温累積時間が長い傾向を示した。

表7 底層水温の海域別累積低温時間及び最低水温

水温区分	(単位:時間)			
	脇崎	薄井	茅屋	浜漣
15℃以下	1,849	1,776	1,187	844
14℃以下	1,054	1,183	245	17
13℃以下	54	187	0	0
12℃以下	0	0	0	0
最低水温(℃)	12.6	12.7	13.6	13.8
(最低日)	(2月19日)	(2月15日)	(2月15日)	(2月14,15日)

期間: 2015年12月1日~2016年5月21日

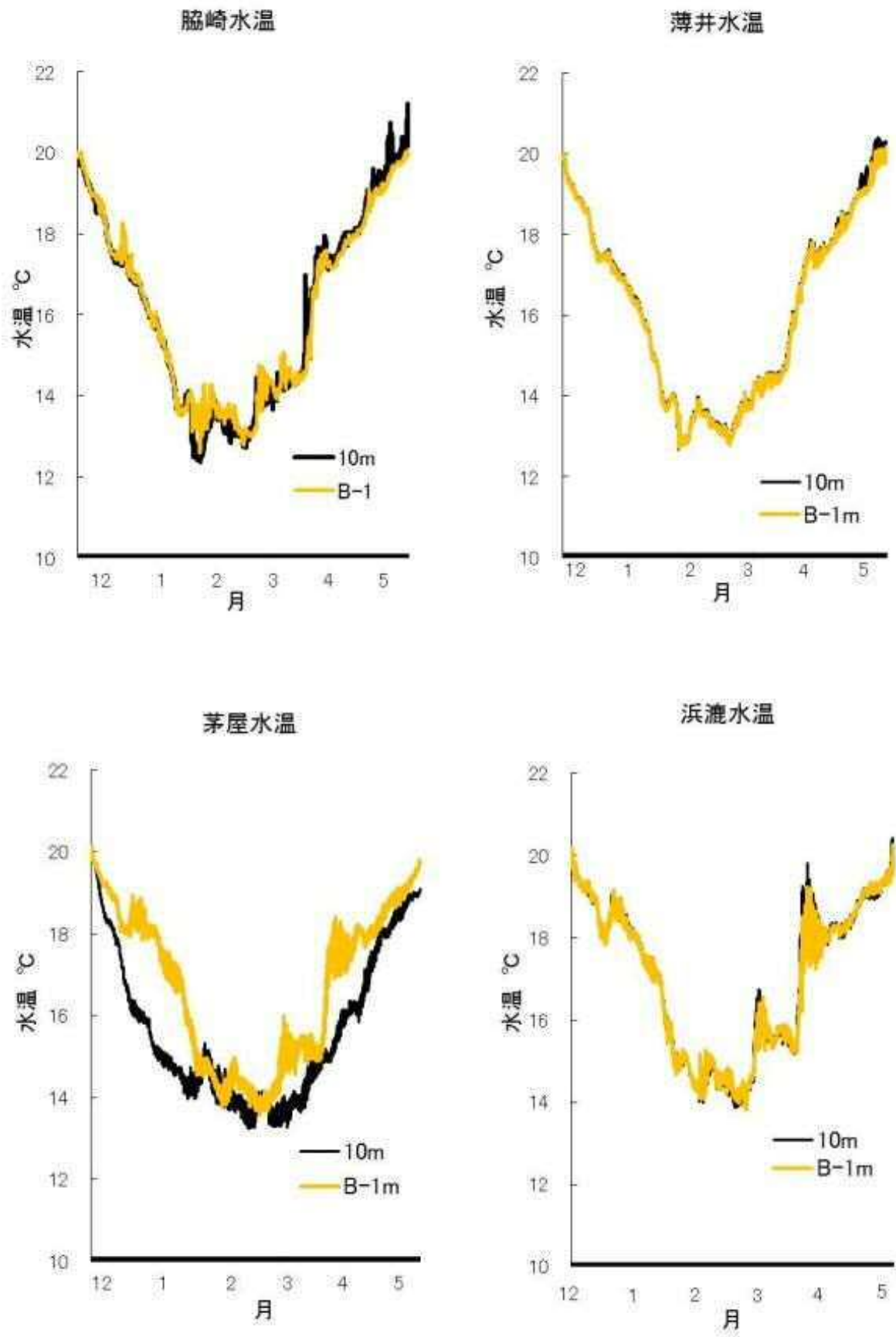


図5 長島周辺養殖漁場の冬期水温の推移 (H27年12月～H28年5月)

2) シスト発芽能確認調査

各培養温度で確認できた栄養細胞の数を図6に示す。調査した長島周辺4カ所全てで、採取されたサンプルから *Chattonella* 属の栄養細胞が確認された。その内訳は、脇崎が17, 18, 19, 20及び22℃の5温度帯全てで、薄井は17, 18, 19及び22℃の4温度帯で、茅屋は17及び20℃の2温度帯で、また、浜渡は18及び22℃の2温度帯において確認され、推定される発芽したシスト(以下「推定発芽シスト」という。)の数は2~23MPN/g湿泥、最高は脇崎の19℃における23MPN/g湿泥であった。なお、発芽したシヤットネラ属は、その形態からほとんどが *C. antiqua* と推定された(図7参照)。

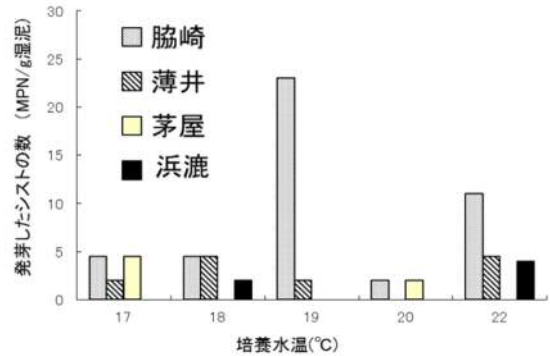


図6 培養温度別の発芽シスト数(八代海)

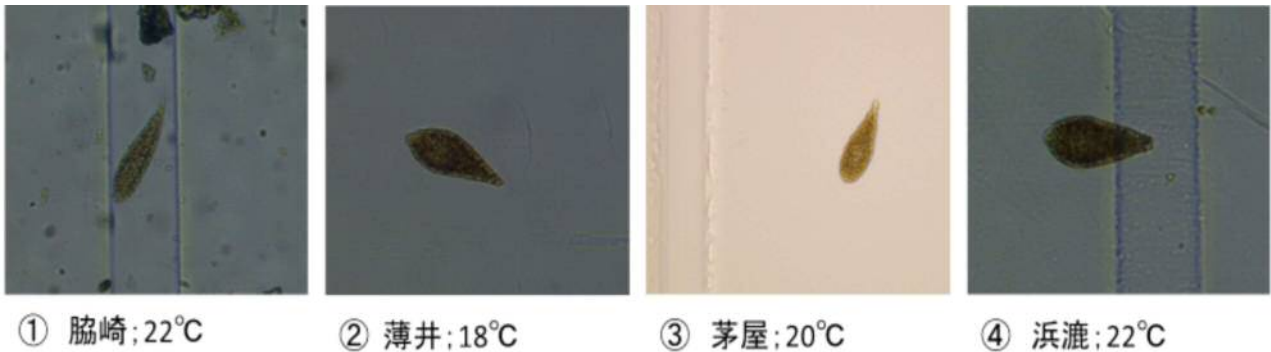


図7 発芽したと推定される栄養細胞(八代海)

表8のとおり、調査点4ヶ所全てで栄養細胞が確認されたのは、当該試験を開始した平成23年度から過去6ヶ年で初めてであり、図8に示すとおり確認された推定発芽シストの総数もこれまでで最高の数値を示した。また、過去6カ年の調査点毎の推定発芽シスト数の総数(図9)は、これまで浜渡が最も多かったが、今年度は、脇崎が最多となり、続いて浜渡、薄井、茅屋の順に高かった。年度毎の発芽シスト総数は、図8のとおり、H23年からH27年にかけては6~28.3MPN/g湿泥の間を増減していたが、H28年には70.53MPN/g湿泥と、それ以前の平均値16.6MPN/g湿泥の4倍ほどに上昇した。培養温度毎の発芽については、図10のとおり、培養温度17℃から発芽が確認され、19~22℃になると発芽能が大きく向上することが確認された。

また、鹿児島湾奥の垂水市牛根辺田沖では、図11のとおり、17, 18, 19及び22℃で発芽が見られ、発芽した栄養細胞の形態は、図12のとおり、*C. antiqua* よりやや丸みを帯びていたことから、*Chattonella marina*である可能性が高いと推定された。

なお、今回、落射蛍光顕微鏡を用いてシストそのものの直接検鏡を試みた。八代海の4定点と鹿児島湾の1点について、0.1g湿泥/mL(滅菌海水)の濃度の海水試料を各々合計3mLずつ検鏡した結果、脇崎の試料から2個体、薄井の試料から1個体確認され、その他の試料からは確認されなかった。なお、過去2カ年は1個体も確認されていない。

表8 シスト推定発芽数の経年変化(H23~28年)

調査年	培養温度	(単位: (MPN/g湿泥))				
		脇崎	薄井	茅屋	浜濃	合計
2011年	17°C					0
	18°C				2	2
	19°C		2		7.8	9.8
	20°C				4.5	4.5
	22°C				7.8	7.8
	合計	0	2	0	22.1	24.1
2012年	17°C				2	2
	18°C					0
	19°C		2			2
	20°C	2	2			4
	22°C	2				2
	合計	4	4	0	2	10
2013年	17°C					0
	18°C					0
	19°C		4.5		2	6.5
	20°C	2			2	4
	22°C				4	4
	合計	2	4.5	0	8	14.5
2014年	17°C					0
	18°C					0
	19°C			6.8		6.8
	20°C	4	2			6
	22°C	11		4.5		15.5
	合計	15	2	11.3	0	28.3
2015年	17°C					0
	18°C					0
	19°C					0
	20°C	2				2
	22°C	2		2		4
	合計	4	0	2	0	6
2016年	17°C	4.5	2	4.5		11
	18°C	4.5	4.5		2	11
	19°C	23	2			25
	20°C	2		2		4
	22°C	11	4.5		4	19.5
	合計	45	13	6.5	6	70.5
合計 (6ヶ年)	17°C	4.5	2	4.5	2	13
	18°C	4.5	4.5	0	4	13
	19°C	23	10.5	6.8	9.8	50.1
	20°C	12	4	2	6.5	24.5
	22°C	26	4.5	6.5	15.8	52.8
	合計	70	25.5	19.8	38.1	153.4
出現年	2011年	×	○	×	○	○
	2012年	○	○	×	○	○
	2013年	○	○	×	○	○
	2014年	○	○	○	×	○
	2015年	○	×	○	×	○
	2016年	○	○	○	○	○
	出現年数	5	5	3	4	6

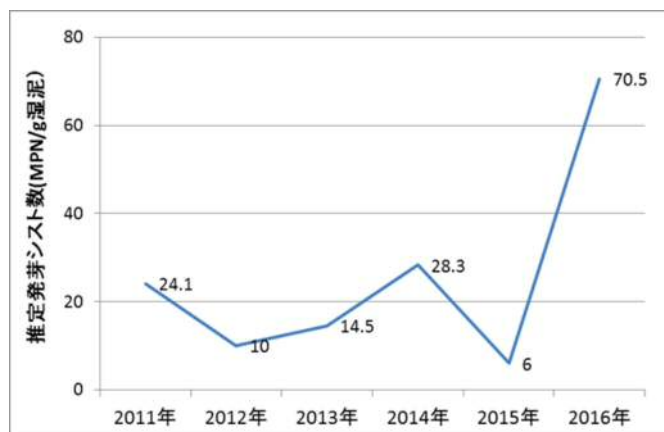


図8 発芽シストの総数 (長島4定点) の推移

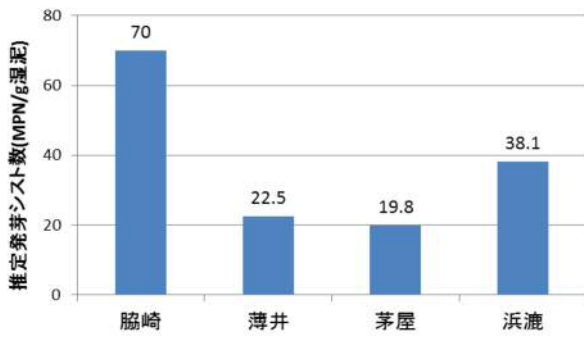


図9 調査点毎の推定発芽シスト総数
(長島4定点, H23~28年)

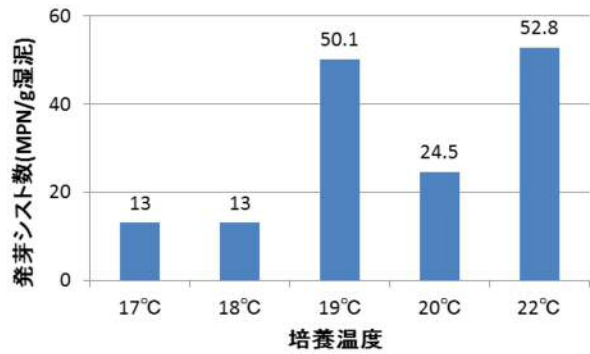


図10 培養温度毎の発芽シスト総数
(長島4定点, H23~28年)

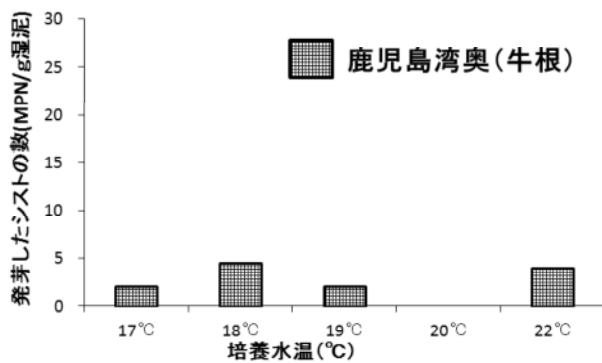


図11 培養温度別の発芽シスト数(鹿児島湾)

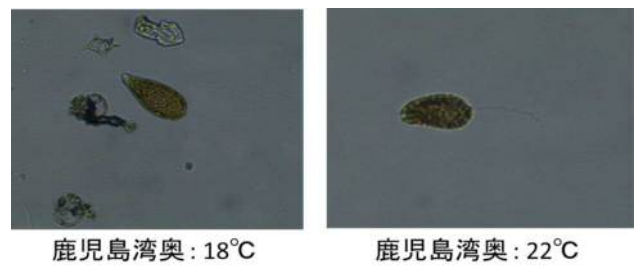


図12 発芽したと推定される栄養細胞(鹿児島湾)

3) 遊泳細胞の早期確認

八代海全体における *Chattonella* 属栄養細胞の初認日は4月26日で、東町漁協調査により、八代海熊本県海域の姫戸ブイ(図2, 定点A) 付近のCh1-a濃度極大層から0.001 cells/mL 確認された。また、八代海の本県海域における初認日は6月29日で、東町漁協調査により湯ノロブイ(図2, 定点B) 付近の柱状採水(0-10m)から0.003 cells/mL確認された。

4) 赤潮発生早期確認等調査に関する総合考察

以上、シストの休眠解除に関する底層水温のモニタリングやシスト発芽能確認調査等を行ってきたが、今年度も底層水温は、12°C以下にはならず、浜漣では13°C以下にもならなかったが、全定点で発芽が確認される(図6)とともに、発芽シスト総数はここ6年間で最も多かった(図8)ことから、八代海の *Chattonella* 属シストの休眠解除に係る底層水温は、瀬戸内海の周防灘や播磨灘における知見^{7, 8, 9)}とは異なり、13°C超でも発芽能力を獲得することが示唆された。

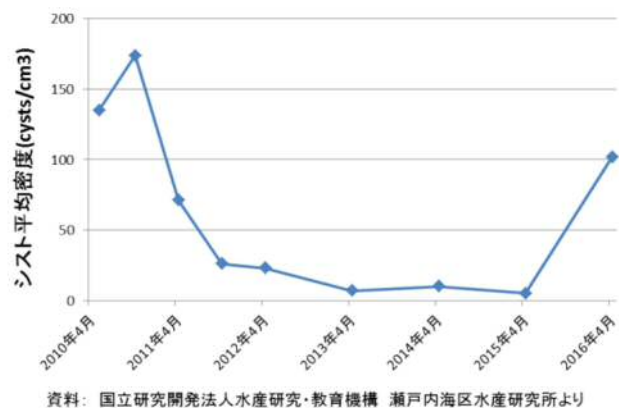


図13 八代海のシャットネラシストの平均密度

また、参考に、国立研究開発法人水産研究・教育機構瀬戸内海区水産研究所が調査した近年の八代

海のシャットネラシスト平均密度の推移を図13に、また、八代海における *Chattonella* 属発生状況の表9に示した。*Chattonella* 属シスト平均密度は、大規模発生後のH23年まで50cysts/cm³以上で、その後H27年まで急激に減少し10cysts/cm³以下となっていたところ、H28年には再び100cysts/cm³程度に急増した。このことと、今年度、本所が調査した推定発芽シスト総数がここ6ヶ年で最も多くなった(図8) ことや、表9に示すとおり、H27年に5年ぶりに本種赤潮の発生が確認され、H28年9月には漁業被害を生ずる赤潮が発生したことと、何らかの関連がある可能性も否定できないと考えられた。

表9 八代海(本県海域)におけるシャットネラ属発生状況

年	最高細胞数 (cells/ml)	赤潮化(着色)の 有無	シャットネラ属による 漁業被害の有無
2009年	3,000	有	有
2010年	2,260	有	有
2011年	0.400	なし	なし
2012年	0.013	なし	なし
2013年	0.330	なし	なし
2014年	0.670	なし	なし
2015年	470	有	なし
2016年	2,000	有	有

3 赤潮発生緊急対策試験

○ 養殖魚曝露試験

(1) 供試魚の魚体組成

今回の供試魚の魚体組成を表10に示す。曝露区は、平均全長614mm、平均尾叉長542mm、平均体重2.59kg、対照区は平均全長640mm、平均尾叉長

表10 供試魚の魚体組成

試験区	供試魚	全長(mm)	尾叉長(mm)	体重(kg)
曝露区	T-①	603	528	2.30
	T-①	625	556	2.88
	平均	614	542	2.59
対照区	C-①	649	577	3.10
	C-②	631	575	3.12
	平均	640	576	3.11
全供試魚平均		627	559	2.85

576mm、平均体重3.11kgであり、体重で2割ほど対照区が重かった。供試魚全体では、平均全長627mm、平均尾叉長559mm、平均体重2.85kgであった。

(2) 水質の推移

曝露試験中の水質の推移を表11に示す。水温は、曝露区及び対照区ともに、試験開始時26℃台であったが、10時間30分後には27℃台後半に上昇した。塩分は、曝露区の方が

表11 曝露試験中の水質の推移

時刻	経過時間 (時間:分)	試験区	水温 (°C)	塩分	DO (mg/L)	pH
11:30	0:00	曝露区	26.23	29.88	6.95	8.07
		対照区	26.51	32.68	10.34	7.71
21:00	10:30	曝露区	27.70	29.85	15.49	7.52
		対照区	27.82	32.68	13.39	7.25
平均		曝露区	27.0	29.9	11.2	7.8
		対照区	27.2	32.7	11.9	7.5

低く、平均29.9、対照区は平均32.7であった。これは、曝露区の海水は八代海の海水を当日くみ上げたものだが、対照区の海水は、前日から当日にかけ指宿市山川で採水し、供試魚を活かすため、現場への輸送中は東シナ海の外海水を掛け流しにし阿久根漁港到着後に止水状態にしたことから、外海水の影響で塩分が高かったものと考えられる。DOは試験開始時、曝露区6.95 mg/L、対照区10.34 mg/Lで、10時間30分後は、曝露区、対照区ともに13 mg/L以上となり過飽和と考えられるレベルに上がっていた。これは、一時的に両試験区ともDOが5 mg/L以下に下がったことから、酸素ポンベにより酸素を供給したことによるものと考えられる。pHは、試験開始時が、曝露区8.07、対照区7.71、10時間30分後が、曝露区7.52、対照区7.25とともに下降した。以上、DO以外は、ブリの生存に支障のない範囲で推移した。

(3) *C. antiqua* の細胞密度の推移

C. antiqua の細胞密度の推移を表12に示す。試験開始時は38cells/mLで、その後若干減少傾向を示したものの、9時間後から18時間後(試験終了1時間前)にかけてやや増加し、18時間後は試験開始前の約1.5倍の58

表12 曝露試験中の *C. antiqua* 細胞密度の推移

経過時間	細胞密度 (cells/mL)
0	38
0時間05分	27
2時間00分	34
9時間00分	42
18時間00分	58

cells/mLであった。なお、当初は、細胞密度を100cells/mL以上とその半分程度で設定する予定であったが、現場海域の細胞密度が予想よりかなり低かったことから、本種の最低致死細胞密度と考えられる30~50 cells/mL付近の細胞密度の試験区を曝露区とした。

(4) 供試魚の状況

曝露区の供試魚は、試験開始5分後に2尾ともやや苦悶する様子が見られ、1時間後には、1尾は一時的に動きが止まったり吐き出し行動が見られるとともに、対照区に比べ水面に泡が多い状態が見られた。このことは、曝露区の供試魚の方が粘液を多量に分泌していた可能性が考えられた。2時間後まで同様であったが、その後回復し、特に異常も見られず、最終的には18時間30分後の試験終了時まで、曝露区、対照区ともに生残した。なお、試験終了後に採取した鰓のSEM写真を図14-1及び2に示す。両試験区とも生残したが、対照区に比べ曝露区の方に鰓の一部に損傷が見られた。

今回の曝露試験では、これまでの知見からブリ類に対する最低致死細胞密度とされる数値付近 (27~58 cells/mL) であったにもかかわらず、3kg弱の養殖ブリはへい死が見られなかったが、一つの要因として、今回曝露試験に使用した現場の*C. antiqua*の活力が低下していた可能性も考えられた。今回八代海に発生した本種赤潮は、9月8日に本県の警報が発せられたが、16日から細胞密度が減少傾向となっており、供試した赤潮を含む海水を採取した浦底湾においても、採取日の13日から16日にかけて急激に*C. antiqua*最高細胞密度が低下 (図15) しており、13日に採取した*C. antiqua*は、活力が低下がし始めていた可能性が考えられた。

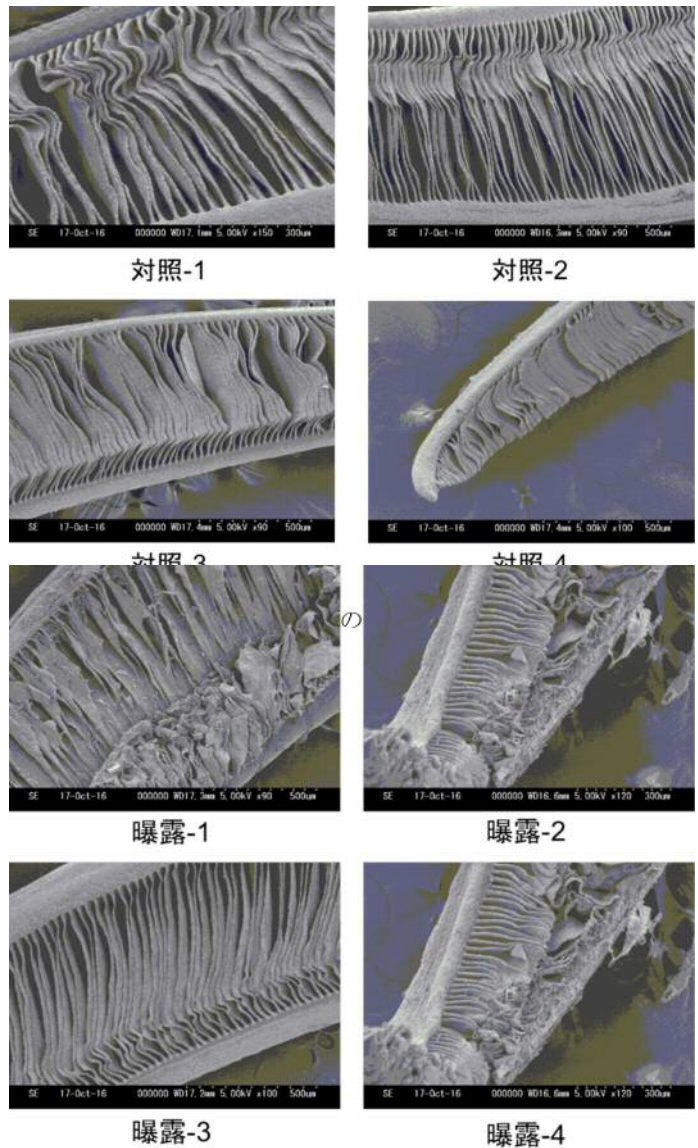


図14-2 曝露試験における鰓のSEM写真 (曝露区：生残)

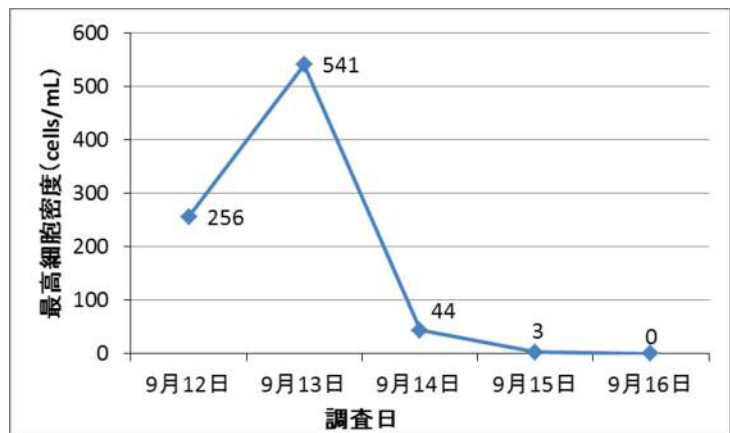


図15 浦底湾における*C. antiqua*の最高細胞密度の推移

資料：数値は本所HP及び東町漁協より

文 献

- 1) Guillard, R. R. L., Ryther, J. H. Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Husttedt, and *Detonula confervacea*(Cleve)Gran. *Can. J. Microbiol.*, 1962; **8**: 229-239
- 2) Guillard, R. R. L. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. pp *In* Smith W. L. and Chanley M. H(Eds.) *Culture of Marine Invertebrate Animals*. Plenum Press, New York. 1975; 26-60.
- 3) 有賀祐勝, 井上勲, 田中次郎, 横濱康繼, 吉田忠生 藻類学実験・実習 株式会社 講談社, 東京. 2000;170-171.
- 4) 伊藤克彦, 今井一郎(1987): 第6章 ラフィド藻, 赤潮生物研究指針, 日本水産資源保護協会, 122-130.
- 5) 紫加田知幸, 山口峰生, 坂本節子. 有害赤潮鞭毛藻*Chattonella*のシスト発芽に及ぼす光の影響. 平成24年日本水産学会春季大会(2012年3月28日, 東京海洋大学(品川))講演要旨集
- 6) 八谷三和. 有明海のカキの水質浄化機能. 西海せいかい No.15. 西海区水産研究所, 2014; 2.
- 7) 今井一郎(2012)シャットネラ赤潮の生物学. 生物研究社, 東京, pp.71-81
- 8) Imai, I. and K. Itoh (1987) Annual life cycle of *Chattonella* spp., causative flagellates of noxious red tides in the Seto Inland Sea of Japan. *Mar. Biol.*, 94:287-292
- 9) Imai, I., K. Itoh and M. Anraku (1989) Dormancy and maturation in the cysts of *Chattonella* spp. (Raphidophyceae), red tides flagellates in the Inland Sea of Japan. *In: Red Tides: Biology, Environmental Science, and Toxicology* (Okaichi, T., D. M. Anderson and T. Nemoto eds.), Elsevier, N. Y., pp. 289-292