

## 2012年2月山川湾で発生した有害ディクチオカ藻 *Pseudochattonella verruculosa* 赤潮の発生状況と ブリに与える影響

折田和三, 西広海, 田原義雄, 徳永成光, 中村章彦

### 要 約

2012年2月, 鹿児島県指宿市山川湾で有害ディクチオカ藻 *Pseudochattonella verruculosa* が赤潮を形成した。発生当初は明瞭な着色域はなかったが, 発生期間中ピーク時には着色し, 風の影響が弱まったことにより, 表層に細胞が集積したためと推測された。発生時の水温は, 14.2 ~ 14.4 °Cで, 低水温期での赤潮形成となった。現場海域で採取したプランクトンに養殖ブリを暴露したところ, 細胞密度 2,691cells/ml で2時間30分以内にへい死し, 極めて強い魚毒性が確認された。また, 暴露によりへい死したブリの鰓は, 一次鰓弁上皮組織が伸長し, 二次鰓弁前面を覆ったり, 二次鰓弁上面の肥大により隙間が閉塞しており, *Chattonella antiqua* によりへい死したブリの鰓と様相が異なっていた。

2012年2月, 鹿児島県指宿市山川湾で養殖ブリ及びカンパチがへい死した。当初, へい死が見られた海域には明瞭な着色域がなかったことから, 直ちにへい死原因を特定できなかったが, 現場海中には微小プランクトンが優占しており, 養殖ブリのへい死原因を解明するため, 現場海域で採取したプランクトンで暴露試験を行った結果, 供試魚がへい死し, 強い魚毒性が確認された。このプランクトンは, 独立行政法人水産総合研究センター瀬戸内海区水産研究所により *Pseudochattonella verruculosa* (以下 *P.verruculosa* という) と同定された。*P.verruculosa* は, Hara *et al.*<sup>1)</sup>によりラフィド藻 *Chattonella verruculosa* と命名された種であるが, Hosoi-Tanabe *et al.*<sup>2)</sup>によりディクチオカ藻の新属 *Pseudochattonella* へ移属された。本種は, 香川県<sup>3)</sup>や山口県<sup>4)</sup>など西日本の海域で赤潮を形成したことがあり, 漁業被害も発生している。

本稿では赤潮発生時の環境等を整理するとともに, *P.verruculosa* がブリに与える影響と鰓の組織学的変化を確認したので報告する。

### 材料及び方法

#### 1 赤潮分布調査

2月10日に山川町漁協から持ち込まれた現場海水から赤潮プランクトンを確認後, 図1に示す山川湾の5定点で2月11~20日まで赤潮分布調査を実

施した。各定点の0,5,10m層からバケツ又は採水器((株)離合社製リゴーB号採水器)で採水し, プランクトン計数と栄養塩の分析に供した。また, 水温, 塩分, DO(溶存酸素量), クロロフィル a 濃度を多項目水質計(HYDROLABO社製 DataSonde5)を用いて測定した。栄養塩は, オートアナライザ(BL-TEC社製 AACS-4)でDIN(溶存態無機態窒素)およびDIP(溶存態無機態リン)を測定した。風向風速は, 気象庁HP(<http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/index.php>, 2013年3月31日)で公表されている鹿児島地方気象台指宿アメダスの毎時データを使用した。



図1 調査定点

## 2 赤潮がブリに与える影響

赤潮がブリに与える影響を把握するため、暴露試験を実施した。供試魚は、当所で飼育し、5日間餌止めしたブリ *Seriola quinqueradiata* (魚体重 800 ~ 900 g) を使用した。暴露試験は *P.verruculosa* 赤潮が発生した山川湾の着色域の表層海水をバケツにより採取し、これを当所のアクリル樹脂製透明角型 180L 容水槽に移し入れた後、通気で水槽内の DO (溶存酸素量) を維持した状態でブリ 2 尾を入れて *P.verruculosa* に暴露し、24 時間後までブリのへい死状況等を観察した。試験中の水温、塩分、DO は、多項目水質計 (HYDROLABO社製 DataSonde5) を用いて定期的に確認した。なお、通常の濾過海水を入れた水槽を対照区とした。

この試験を赤潮発生期間中の 2 月 13 日及び 14 日の合計 2 回実施し、その際の細胞密度はそれぞれ約 4,000cells/ml, 2,700cells/ml だった。

また、暴露試験に供したブリは、鰓の呼吸運動が停止した時をへい死と判定し、へい死判定後速やかに取りあげ、鰓の片側全体を切除した後、さらに鰓の第一葉及び第二葉から任意に鰓弁を切り取り、0.1%リン酸バッファ 2%グルタルアルデヒドで固定した。固定された鰓弁は、定法<sup>5)</sup>によりアルコール系列脱水、t-ブチルアルコール置換、凍結乾燥、イオンスパッタを施し、走査型電子顕微鏡 (以下 SEM という) (日立製 S-3000N) で観察した。

## 結果

### 1 赤潮発生状況

現場海水から微小プランクトンが確認され (図 2)、独立行政法人水産総合研究センター瀬戸内海区水産研究所によりディクチオカ藻 *Pseudochattonella verruculosa* (Y.Hara et Chihara) Tanabe, Hosoi, Honda, Fukaya, Inagaki et Sako と同定されたが、これは本県で初めての赤潮発生であった。本種の細胞の長さは 12.6 ~ 24.9 $\mu\text{m}$  (平均 17.6 $\mu\text{m}$ )、球形から扁平な楕円

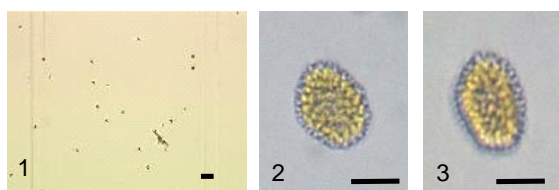


図 2 *Pseudochattonella verruculosa*  
1 赤潮海水 (低倍率) 2,3 細胞形態  
スケールバー 1:50 $\mu\text{m}$  2,3:10 $\mu\text{m}$

形で複数の形態が存在した。その細胞表面全体はイボ状の突起で覆われ、黄褐色をしており、ゆっくりと回転しながら遊泳するが停止している細胞も多かった。

本種細胞密度と風向風速の推移を図 3 に、赤潮発生期間中の細胞とクロロフィル a 濃度の分布状況を図 4 に示す。2 月 10 日に漁協が採水した持ち込みサンプルから *P.verruculosa* 細胞が確認され、翌 11 日の調査では現場海域は濁りが認識できる程度で明瞭な着色域は確認されなかったが、0m 層の最高細胞密度は 300cells/ml で水深 10m 層まで 100cells/ml を超えているところがあった。13 日には山川湾のほぼ全域に広がって着色し、0m 層で平均細胞密度は 1,994cells/ml、最高細胞密度も 3,541cells/ml となり、赤潮分布調査外のごく一部の海域では 9,175cells/ml に達した。その後、15 日には着色域がなくなり最高細胞密度は 17cells/ml となった後は、数 cells/ml で推移し再び増殖することはなかった。クロロフィル a 濃度は、着色域の確認された 13 日は 0m 層の値が 17.8 $\mu\text{g/L}$  を超えていたが、5 m 層以下では 6.6 $\mu\text{g/L}$  以下を示し、表層で濃度が高かった (図 4)。その間の風は、赤潮形成前は北西方向から吹くことが多かったが、ピークとなった 13 日前後は時折南西寄りの風が吹く程度で風速は弱くなった。着色域がなくなった 15 日以降は再び北西方向からの風に変わった (図 3)。

*P.verruculosa* 細胞が出現した際の水温・塩分・細胞密度を図 5 に示す。水温 14.2 ~ 14.4  $^{\circ}\text{C}$ 、塩分 32.8 ~ 33.1 で細胞密度が 300cells/ml 以上と高かった。

発生期間中の表層の平均水温、塩分、DO、DIN、DIP の推移を図 6 に示す。水温は 14 ~ 15  $^{\circ}\text{C}$ 、塩分は 33 ~ 34 の間にあり、大きく変動することはなかった。DO は赤潮がピークとなった 13 日が最も高く 8.9mg/L (酸素飽和度 106.5%) に達したが、その後減少した。DIN、DIP はいずれも赤潮がピークとなった 13 日が最も低く、それぞれ 5.81 $\mu\text{mol/L}$ 、0.44  $\mu\text{mol/L}$  であったが、その後上昇した。

今回の赤潮により、養殖カンパチ、ブリの 1 年魚及び 2 年魚 31,450 尾がへい死し、6,038 万円の被害が出た。

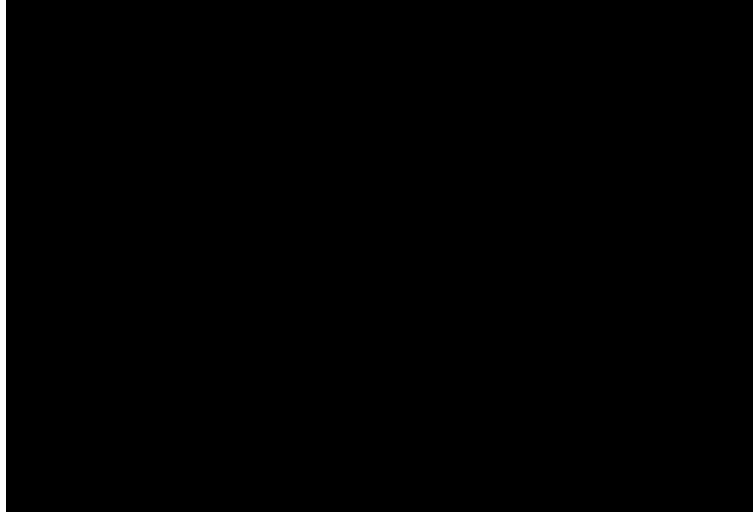


図3 *P. verruculosa* 細胞密度及び風向風速の推移

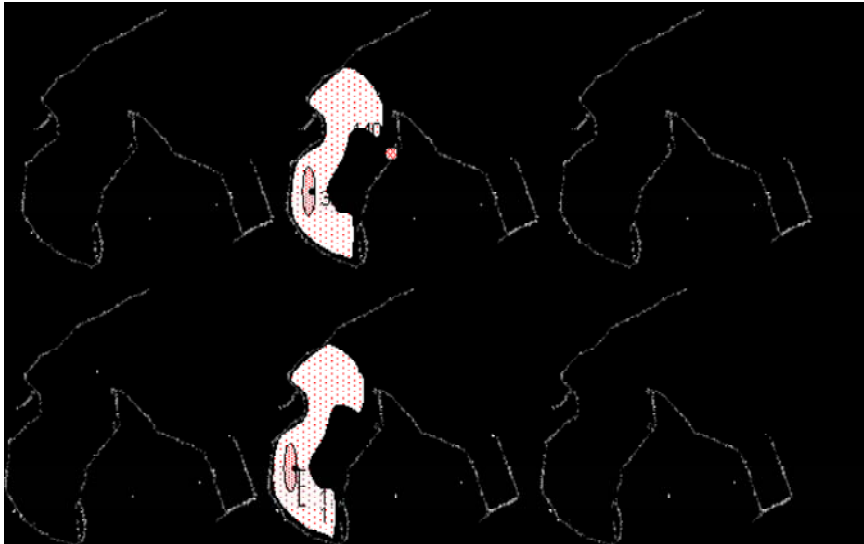


図4 *P. verruculosa* 細胞及びクロロフィルa濃度の分布状況(網掛けは着色域)  
(上段:細胞密度, 下段:クロロフィルa濃度)

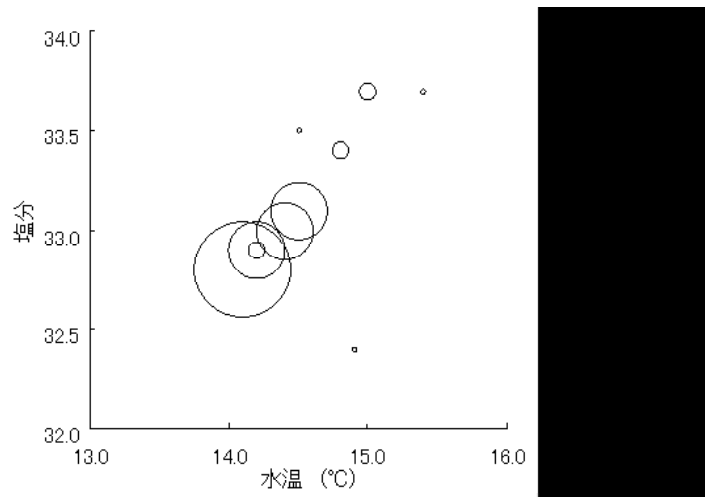


図5 *P. verruculosa* 細胞の出現水温  
・塩分・細胞密度

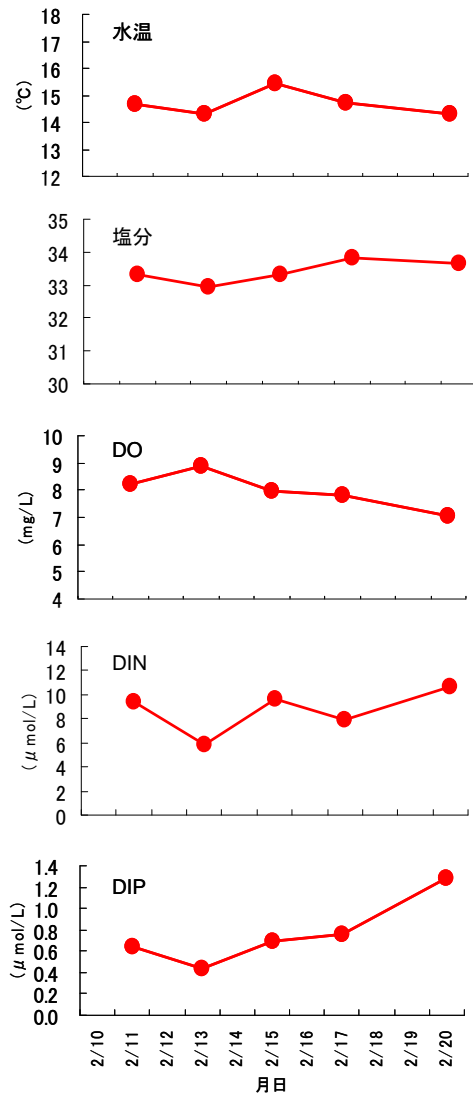


図6 表層平均水温, 塩分, DO, DIN, DIPの推移

## 2 赤潮がブリに与える影響

ブリに対する *P. verruculosa* の暴露試験結果を表 1 に示す。

1 回目の試験では, *P.verruculosa* の細胞密度は 4,000cells/ml 前後であった。暴露した 4 尾は 2 時間後に呼吸がやや荒くなり, 細胞密度 3,900cells/ml に暴露したブリ 1 尾が 2 時間 30 分後に横転し始め, 4 時間 50 分後にへい死した。残る 3 尾は 24 時間後まで生残した。2 回目の試験では, *P.verruculosa* の細胞密度 2,691cells/ml で, 1 時間 30 分後に横転し始め, 2 時間 30 分以内に暴露した 2 尾ともへい死した。*P.verruculosa* の細胞は光学顕微鏡観察では, 1 回目の試験では静止しているものが多く観察されたが, 2 回目の試験では遊泳するものが 1 回目比べて多かった。

暴露試験時の水質の測定結果を表 2 に示す。1 回目の試験では, 試験時間が 24 時間かかり, 暴露区の水温は 14.3 °C から 15.5 °C に上昇した。2 回目試験の試験時間は 2 時間 30 分で, その間 16.4 °C からほとんど変動しなかった。塩分は 2 回の試験とも 32.7 ~ 33.0 で大きな変化はなかった。また, DO は 1 回目, 2 回目の試験とも 7.6mg/L 以上 (溶存酸素飽和度 93.4%以上) あった。

へい死したブリの鰓の SEM 画像を図 7 に示す。ブリの鰓弁は, 一次鰓弁の小出鰓動脈側及び小入鰓動脈側の上皮細胞が伸張し(図 7-1), 二次鰓弁前面を覆うように広がるとともに(図 7-2), 二次鰓弁上面も肥大してその隙間が閉塞していた(図 7-3)。伸張した一次鰓弁上皮細胞は破損しているわけではなく, また表面の微小隆起 (microridge) も消失していなかったが, 鰓弁上皮の塩類細胞が通常よりも目立つようになっていた(図 7-4 矢印)。二次鰓弁間の塩類細胞は脱落等は見られなかった(図 7-5)。上皮細胞

表1 ブリに対する *Pseudochattonella verruculosa* の暴露試験結果

試験回次	試験開始日時	試験区	暴露密度 (cells/ml)	供試尾数 (尾)	結果 (へい死状況)
1回目	2月13日 13:54	暴露区1	4,125	2	24時間後に2尾とも生残
		暴露区2	3,900	2	4時間50分後に1尾 (890g) へい死 24時間後に残り1尾は生残
		対照区	0	2	24時間後に2尾とも生残
2回目	2月14日 14:30	暴露区	2,691	2	2時間17分後に1尾 (815g) へい死 2時間24分後に1尾 (828g) へい死
		対照区	0	2	24時間後に2尾とも生残

表2 暴露試験時の水質の測定結果

試験回次	試験区	水温(°C)	塩分	DO (mg/L)	DO (%)
1回目	暴露区1	14.3~15.5	32.8~33.0	7.7~8.6	94.8~102.5
	暴露区2	14.3~15.6	32.7~33.0	7.8~8.4	93.4~100.8
	対照区	15.2~15.8	33.5~33.9	7.3~8.1	89.8~98.8
2回目	暴露区	16.4~16.4	32.8~32.9	7.6~7.9	94.7~98.5
	対照区	15.9~16.0	33.9	7.4~7.7	91.7~96.3

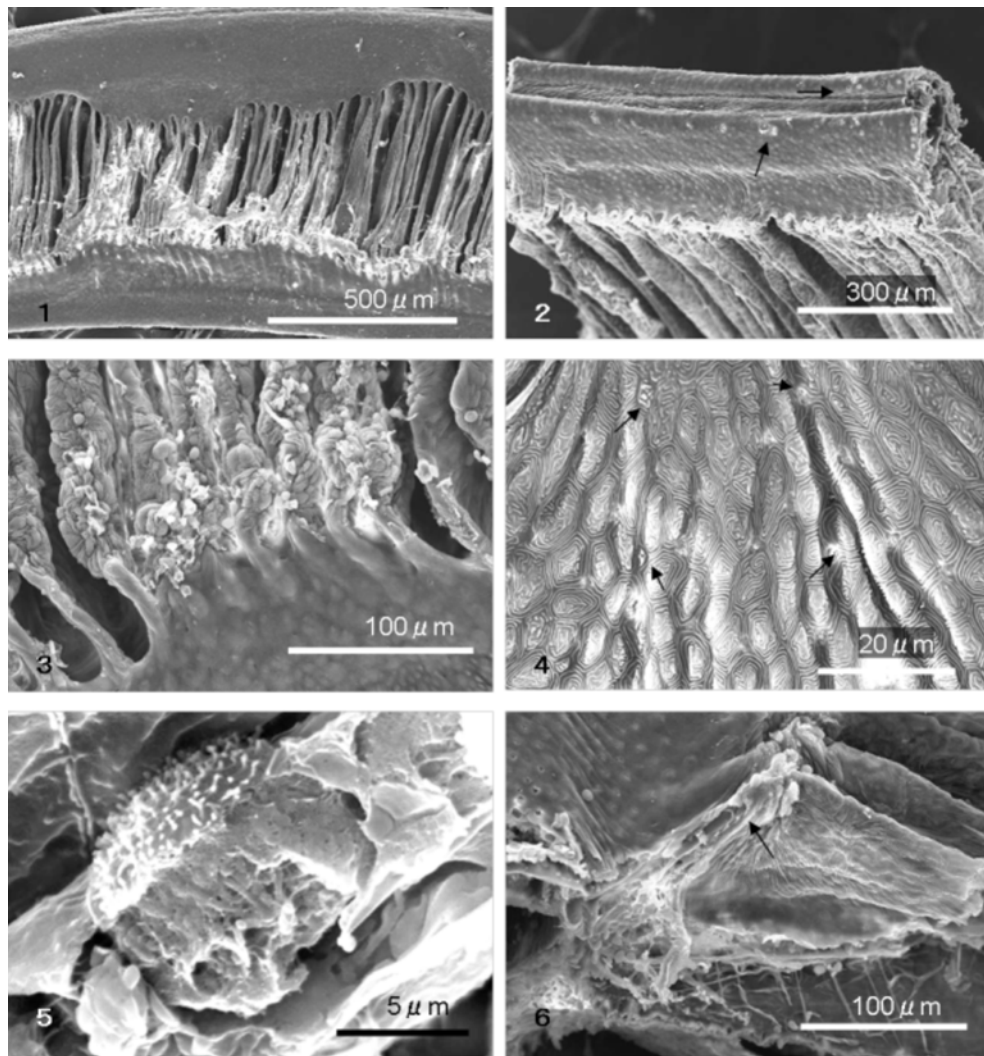


図7 へい死したブリの鰓 SEM 画像  
 1 一次鰓弁 2 一次鰓弁小出鰓動脈側(矢印:粘液細胞放出痕) 3 二次鰓弁 4 一次鰓弁上皮細胞(矢印:塩類細胞) 5 塩類細胞 6 変性部位拡大(矢印:上皮細胞伸長部位)

胞が伸長しているところは上皮組織と基底膜が剥離し、外に面している上皮細胞を含む上皮組織が二次鰓弁の頂点付近にまで引き延ばされている状態にあ

った(図 7-6 矢印)。なお、小出鰓動脈側の上皮細胞表面には、粘液細胞の放出痕が多数見られた(図 7-2 矢印)。

## 考 察

### 1 赤潮の特徴

鹿児島県の有害赤潮<sup>6)</sup>は、鹿児島湾では6月に *Chattonella marina*, 八代海では7～8月に *Chattonella antiqua* (以下 *C.antiqua* という), 8月に *Cochlodinium polykrikoides* と、春季から夏季の水温上昇期に発生する傾向がある。*Heterosigma akashiwo* (以下 *H.akashiwo* という) は鹿児島湾で4月<sup>7)</sup>に、山川湾で2月末～3月<sup>8)</sup>に赤潮を形成したことがあり、本県で発生する有害赤潮の中では比較的低温期に赤潮となる。今般、赤潮を形成した *P.verruculosa* はさらに低い2月の水温14℃台で赤潮となっており、一年を通じて最低水温期における赤潮形成となった。松本<sup>3)</sup>は、1989年1～2月に香川県内海湾で当時未同定仮称イガグリとして本種赤潮が発生したと記録し、発生時の表層水温は示されていないが、近隣の表層水温<sup>9)</sup>が9.6～10.2℃であったことから約10℃前後と推定される。また、馬場<sup>4)</sup>は1993年6月に山口県徳山市で本種赤潮が発生した際の水温は、表層で21.2～21.5℃だったとしている。

一方、室内試験では、Yamaguchi *et al.*<sup>10)</sup> は、*P.verruculosa* を水温6段階(5, 10, 15, 20, 25, 30℃)、塩分6段階(10, 15, 20, 25, 30, 35)で培養したところ、水温15℃塩分25の組み合わせで最も良く増殖し、水温25℃以上又は塩分10以下では増殖しなかったと報告している。また、本田・吉松<sup>11)</sup> は水温を4段階(10, 15, 20, 25℃)、塩分を7段階(13, 16, 19, 23, 25, 28, 32)で培養したところ、水温10～25℃、塩分16～32で増殖し、水温20℃塩分28の組み合わせで最も良く増殖したが、水温23.5℃以上では比増殖速度が低くなり、25℃では塩分32以外は増殖しなかったことから、本種は有害プランクトンの中では比較的低温域で増殖しやすい種と考えている。これらのことから、山川湾で本種赤潮が発生した際の水温14℃台は、*P.verruculosa* にとっては適水温の範囲内であったと推測される。

また、今回の赤潮は2月11日まで明瞭な着色域がなかったが、その2日後の13日に高密度となり着色域が確認され(図4)、これには風の影響が強かったと推測される(図3)。すなわち、11日までは北西方向からの風が続き、鉛直混合が起こり、10m

層付近までほぼ均一の状態であったと思われる。その後、12日夜間から風が静穏となり、風浪による鉛直混合が弱くなると *P.verruculosa* は表層付近に集積し、高密度になったと推測される。このプランクトンの表層性は、香川県においても観察されている(吉松未発表)。さらに、13日の表層DOは100%を超えていたが、植物プランクトンである *P.verruculosa* の光合成により過飽和になったものと考えられる。

その後、急速に細胞密度が低下したが、水温、塩分、栄養塩に赤潮発生期間中、大きな変動がなかった。また、2月13日のピーク後再び15日午後から北西寄りの風に転じる前から、表層から10m層まで一様に細胞密度が低下していることから、拡散による減少よりも個体群として細胞密度自体が減少したと考えられるものの、赤潮終息に転じた直接の要因についてはこれらの状況からは推測できなかった。

### 2 赤潮がブリに与える影響

今回の暴露試験では、1回目の試験で *P.verruculosa* の細胞密度が4,000cells/ml前後で暴露したところ、4尾のブリのうち1尾が4時間50分後にへい死し、残りは24時間後まで生残した。2回目の試験では、*P.verruculosa* の細胞密度は1回目の試験より低い2,691cells/mlであったものの、暴露した2尾とも2時間30分以内にへい死した。1回目の試験では赤潮が発生した山川湾の変色域の表層海水をバケツにより採取し当所に搬入した後、搬入用水槽の海水を攪拌して暴露試験用の水槽に収容したのに対し、2回目の試験では、搬入用水槽の中で *P.verruculosa* が遊泳し、パッチ状に蟻集している表層を選択的にすくい取り、暴露試験用の水槽に収容して試験に用いた。赤潮発生時の *P.verruculosa* は、顕微鏡で観察すると活発に遊泳する細胞と静止した細胞が観察されたが、細胞密度としては1回目より2回目の試験の方が少ないにもかかわらず2回目の方が短時間に2尾ともへい死したのは、細胞自体に遊泳力があり活力が高かったためと推察される。

有害赤潮プランクトンとして知られている *C.antiqua* は、本県では100cells/ml以下の少ない細胞密度でも漁業被害が発生<sup>6)</sup>しているが、*C.antiqua* の細胞の大きさは50～130μmと有害赤潮プランクトンの中では比較的大きく、*P.verruculosa* の約3～5倍の長さがある。一方、*P.verruculosa* とほぼ同じ細胞の

大きさである *H.akashiwo* は 2011 年 3 月山川湾で赤潮を発生した際、細胞密度 18,570cells/ml で漁業被害が発生<sup>8)</sup>しているが、今般の暴露試験よりも明らかに細胞密度は高い。これらのことから、*P.verruculosa* は小型の細胞にもかかわらず 3,000cells/ml 以下でも短時間でブリをへい死させるほどの極めて強い魚毒性を持つことが明らかとなった。

折田ら<sup>12)</sup>は *C.antiqua* に暴露してへい死したブリの鰓を SEM で観察しているが、*P.verruculosa* に暴露したブリの鰓には *C.antiqua* に暴露してへい死したブリで見られたような二次鰓弁上皮細胞の剥離や破損は見られなかった。その一方で、一次鰓弁上皮組織が伸長して二次鰓弁前面を覆うとともに、二次鰓弁上面も肥大してその隙間が閉塞しており、このため、二次鰓弁間の海水通過が妨げられ、ガス交換が低下し窒息によりへい死に至ったと推測される。このことから *C.antiqua* とは毒成分やへい死に至る機序が異なる可能性も考えられ、さらに精査していく必要がある。

また、今回試験に供したブリの魚体重は 800 ~ 900 g と 1 年魚サイズであったが、実際の養殖現場では出荷作業時に着色していない細胞密度でもへい死しており、今後は最低致死細胞密度を把握するとともに、出荷サイズである 2 年魚のブリやカンパチについてもその影響を把握していく必要がある。

## 謝 辞

本種の同定に協力して頂いた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 山口峰夫博士、赤潮発生状況等本種に関する情報を提供頂いた香川県赤潮研究所 吉松定昭博士に感謝申し上げます。

## 文 献

1) Hara Y, Doi K, Chihara M. Four new species of *Chattonella* (Raphidophyceae, Chromophyta) from Japan. *Jpn. J. Phycol* 1994 ; **42** : 407-420.

- 2) Hosoi-Tanabe S, Honda D, Fukaya S, Otake I, Inagaki Y, Sako Y. Proposal of *Pseudochattonella verruculosa* gen. nov., comb. nov. (Dictyochophyceae) for a former raphidophycean alga *Chattonella verruculosa*, based on 18S rDNA phylogeny and ultrastructural characteristics. *Phycological Research* 2007 ; **55**(3) : 185-192.
- 3) 松本紀男, 吉松定昭, 香川哲, 本田恵二, 宮川昌志, 一色正. 平成元年の赤潮発生状況. 香赤潮研年報 1990 ; 3-10.
- 4) 馬場俊典, 桃山和夫, 平岡美登里. 徳山市戸田地先で発生した有害赤潮プランクトンについて. 山口内海水試報 1995 ; **24** : 121-122.
- 5) (社)日本電子顕微鏡学会関東支部. 走査型電子顕微鏡 共立出版, 東京. 2000.
- 6) 鹿児島県の赤潮生物 (増補版). 鹿児島県水産試験場, 鹿児島. 1995.
- 7) 折田和三, 上野貴治, 中村章彦. 1995 年 4 月鹿児島湾奥部に発生した *Heterosigma akashiwo* 赤潮. 平成 9 年度鹿水試事報生物部編 1999 ; 117-127.
- 8) 西広海, 田原義雄. 赤潮総合対策調査事業-I (有害・有毒プランクトン対策研究). 平成 22 年度鹿水技セ事報 2012 ; 98-102.
- 9) 昭和 63 年度香川県水産試験場事業報告. 香川県水産試験場, 香川. 1989 ; 119.
- 10) Yamaguchi M, Itakura S, Nagasaki K, Matsuyama Y, Uchida T, Imai I. Effects of temperature and salinity on the growth of the red tide flagellates *Heterocapsa circularisquama* (Dinophyceae) and *Chattonella verruculosa* (Raphidophyceae). *J.Plan.Res.* 1997 ; **19**(8) : 1167-1174.
- 11) 本田恵二, 吉松定昭. *Pseudochattonella verruculosa* (Y.Hara et Chihara) Tanabe,Hosoi, Honda,Fukaya,Inagaki et Sako の増殖に及ぼす水温, 塩分, 光強度の影響. 香赤潮研報 2009 ; **7** : 1-8.
- 12) 折田和三, 西広海, 田原義雄, 中村章彦. 赤潮総合対策調査事業-V (赤潮被害防止緊急対策事業). 平成 23 年度鹿水技セ事報 2012 ; 110-123.