

赤潮総合対策調査事業 - (赤潮被害防止緊急対策事業)

折田和三，西広海，田原義雄，中村章彦

【目的】

赤潮発生前から終息後までの連続調査や発生時の集中調査を実施するとともに，*Chattonella*の分布状況や養殖魚に対する影響を調査することにより，赤潮の予察につながるデータを蓄積し，漁業者に的確な予察を提供する体制を構築する。

【方法】

1 シスト休眠解除に関する調査

(1)底層水温モニタリング

図1に示す4点を底層水温モニタリング定点とし，データロガー式水温計（Onset社Tidbit）を0m，10m及び底上1mに位置するよう養殖生簀鋼管枠に垂下し，1時間ごとに測定するよう設定した。なお，御所浦，幣串，脇崎は2010年10月13日から，伊唐は2011年1月17日から測定を行った。

(2)シスト発芽能確認調査

ア 発芽水温の確認

2011年4月18日に図1に示す長島周辺海域4カ所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アルミホイルで遮光するとともに，保冷剤を入れたクーラーボックスに入れ研究室まで持ち帰った。

通常，終点希釈法ではシスト発芽を促すため，10℃以下の低温下で数ヶ月保存することにより成熟させるが，今回採取したサンプルは，実海域における発芽能を把握するためこれらの処理を行わず，持ち帰った翌日に分画及び培養の処理をした。すなわち，サンプルを秤量した後，1Lあたり1mgのGeO₂を添加した滅菌濾過海水（以下GeO₂滅菌濾過海水）を適量加え，超音波処理を施した。これを150μm及び20μmメッシュで分画し，20μmメッシュ上に残った泥にGeO₂滅菌濾過海水を加え0.1g/mlに定容し，0希釈とした。さらにこれを基本に10倍，100倍に希釈した3段階の希釈配列を各々5本の試験管に分注した。

これらの試験管を16,17,18,19,22の温度に設定した人工気象器に入れ，14L:10Dの明暗周期，光強度32.42～37.14μE/m²/secの光環境下で12～19日間培養し，*Chattonella*栄養細胞が出現した希釈系列の本数から最確数を推定し，発芽シスト推定密度とした。

イ 休眠解除条件の確認

現場の冬期水温が休眠解除条件を満たしているか確認するため，10℃以下の低温下で約1ヶ月半保存したものをを用いて，上述と同様の方法により試験を行った。

(3)シスト発芽細胞の早期確認

八代海3地点（御所浦，薄井，脇崎）の0及び底上1mから1L採水し，15μmメッシュのネットで

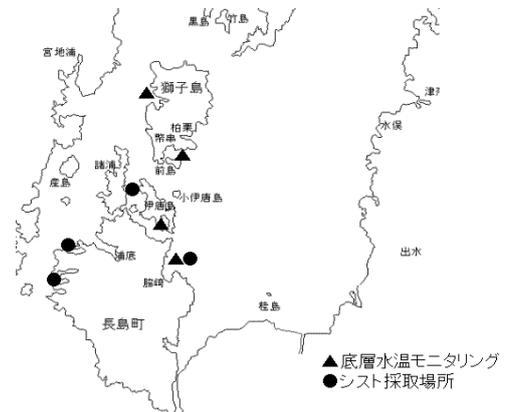


図1 採泥及び水温測定場所

5mlに濃縮した後、その中の有害プランクトン遊泳細胞を検鏡した。5月末までは、当所及び漁協の定期調査により、6月からは鹿児島大学委託調査により実施した。なお、必要に応じて、0~10m柱状採水のサンプルも用いた。

2 赤潮予察につながる水質連続測定

図2に示す3点を調査定点とし、6月1日から8月31日まで隔日、大潮時は毎日調査を実施した。

調査項目は、水質(水温、塩分、pH、DO、栄養塩類)、プランクトン組成とし、水質は多項目水質計(Hydrolabo社、DS5)で測定した。

調査水深は、0m、5m、10m、20m、底上1mとした。

なお、これらの現場調査は、鹿児島大学水産学部へ委託し、栄養塩類のみ採水されたサンプルを当所で分析した。

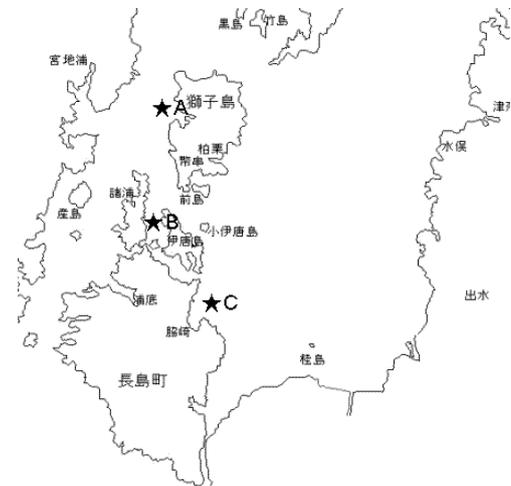


図2 水質連続調査定点

3 プリ暴露試験

(1) 餌止めプリの*Chattonella antiqua*赤潮に対する影響

水産技術開発センターで飼育されたプリ2年魚(平均体重3,250g)を供試魚に用い、1試験区当たり5尾として、0日間、5日間、14日間、30日間餌止めした4試験区を設定した。餌止めまでの間はEP飼料を週2~3日飽食給餌した。なお、試験4日前に各試験区2尾にスパゲッティタグを打ち、個体判別できるようにした。

暴露試験は、1トンパンライト水槽に濾過海水を700L入れ、酸素ポンベ及びブローアで通気、1kWチタン棒ヒーターで22℃に設定して加温し、この水槽内にタグを打った供試魚を各試験区から2尾ずつ移し入れ、1時間安静にさせた。

その後、培養した*Chattonella antiqua*を432cells/mlになるよう培養液を水槽に添加し、供試魚の様子を観察した。1時間後、変化が見られなかったため、さらに培養液を添加し、最終細胞密度1,100cells/mlとし、同様に試験開始から4時間後まで観察した。

供試魚の内、暴露試験を行わなかった各試験区3尾は、エチレングリコールモノフェニルエーテル(通称フェノキシエタノール)で深麻酔した後、全長、体重を計測し、全ての個体からヘパリン処理したシリンジで血液約4mlを尾部から採取した。

暴露試験を行った各試験区2尾は、暴露試験終了後、体測は行わずに直ちに非暴露魚と同様に血液を採取した。血液は、ヘマトクリット値測定後、遠心分離し、その上澄み液を-80℃冷凍庫に保管し、血中トリグリセリド及び血中乳酸量の測定に供した。血中トリグリセリドはドライケムFDC3500i(富士フイルム社製)を用い、TG-P(リポプロテインリパーゼ酵素法)で、血中乳酸量はF-キットL-乳酸を用いて、分光光度計により測定した。

なお、試験に供した4試験区の暴露区及び非暴露区から1尾ずつ片方の鰓の第一葉及び第二葉から任意に鰓弁を切り取り、光学顕微鏡で観察した。さらに、同様にして切り取った鰓弁を0.1%リン酸バッファ2%グルタルアルデヒドで固定した。固定した鰓弁は、各試験区毎にアルコール系列脱水、t-ブチルアルコール凍結乾燥。イオンスパッタ金属蒸着を経て、走査型電子顕微鏡で観察した。

(2) *Chattonella antiqua*赤潮がブリに与える影響

水産技術開発センターで飼育されたブリ当歳魚（平均体重800 g）を供試魚に用い、暴露区と対照区を設定し、1試験区当たり3尾とした。供試魚は、あらかじめ100 L角形水槽で微換水かつブローアで通気して、概ね隔日でEP飼料を給餌飼育した。さらに、試験の1週間ほど前から1 kwチタン棒ヒーターで毎日1 ずつ水温を加温し、最終的に23 になるようにした。

暴露試験は暴露区の水槽から飼育水を約30 Lを排水した後、八代海から分離培養し、対数増殖期にあると推定される*Chattonella antiqua*を暴露時細胞密度が2,000cells/ml以上になるよう培養液30 Lを水槽に添加し、暴露区及び対照区の供試魚の様子を観察した。

暴露区のブリは、へい死確認後直ちに切りあげ、ヘパリン処理したシリンジで血液約2 mlを尾部から採取し、尾叉長及び体重を計測した。さらに、鰓を切り取り、第1鰓弓から第1及び第2鰓弁を数枚切り出して、光学顕微鏡で観察した。また、おなじ部位から1 cmほどを切り出し0.1%リン酸バッファ2%グルタルアルデヒド固定液に浸漬した。

対照区のブリは、全ての暴露区がへい死した後切りあげ、頭部打撃により即殺し、暴露区と同様の処理を施した。

採取した血液は、ヘマトクリット値を測定後、金属ニードルプローブを取り付けたIQ Scientific Instruments社製Model IQ150で血液のpHを測定した。

固定液に浸漬された鰓弁は、定法によりアルコール系列脱水、t-ブチルアルコール凍結乾燥。イオンスパッタ金属蒸着を経て、走査型電子顕微鏡で観察した。

なお、当初、本事業に計画されていた赤潮広域集中調査及び日周鉛直分布調査は、赤潮が発生しなかったため実施しなかった。

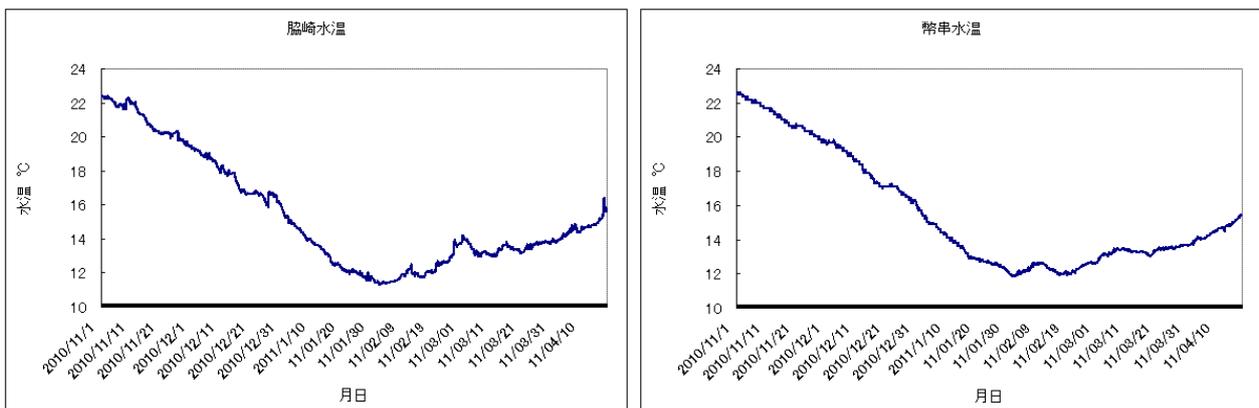
【結果及び考察】

1 シスト休眠解除に関する調査

(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、2010年11月1日から2011年4月17日までの底上1 m水温の推移を図3-1～3-4に示す。なお、伊唐は調査途中から追加設置された地点であるため、2011年1月17日から測定が開始され、御所浦についてはデータロガーが途中から陸揚げされてしまっていたため、2011年1月17日以降は欠測となった。2011年八代海における冬期水温は2月1日頃、脇崎で11.3 ，幣串11.9 ，伊唐11.2 で最低になり、その後次第に上昇に転じていた。

この間の、データロガーを設置した海域の底層水温の維持期間を表1に示す。



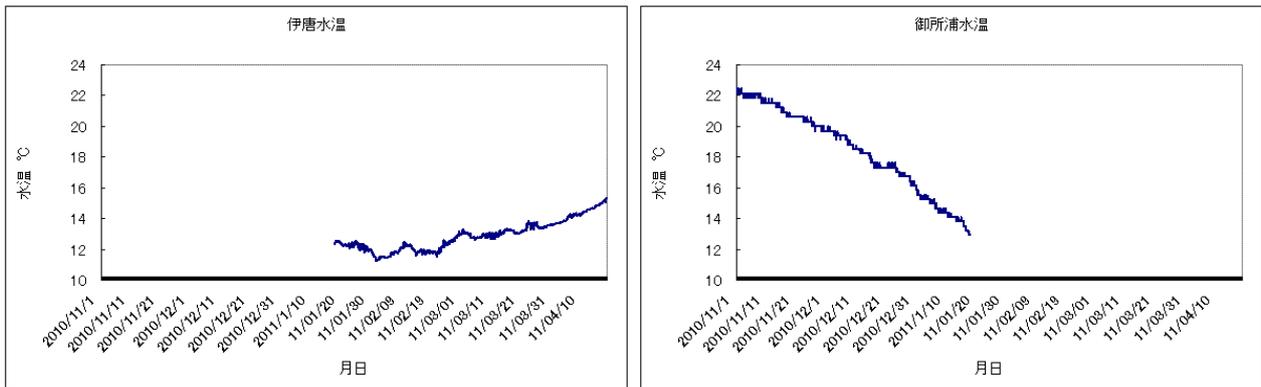


図3-1~4 各海域の底層水温の推移

データがそろっている脇崎と幣串では、水温 15 以下の期間は2,417~2,457時間, 14 以下では1,956~1,999時間, 13 以下では1,014~1,045時間, 12 以下では125~496時間であった。

表1 各海域の底層水温の維持期間

底層水温	脇崎	幣串	伊唐	御所浦
under 15°C	2,457	2,417	2,130<	313<
under 14°C	1,999	1,956	1,862<	102<
under 13°C	1,014	1,045	1,254<	9<
under 12°C	496	125	498	0<

単位:時間

※脇崎(1/18~4/17)は欠測のため、10mデータを代用

(2)シスト発芽能確認調査

ア 発芽水温の確認

*Chattonella*シストを含む海底泥を培養した結果、図4に示したような*Chattonella*の栄養細胞が確認された。尾部先端の尖り具合や頭部の扁平から*Chattonella antiqua*と推測されるが、精密な*C. antiqua*と*C. marina*の区別は行わず、*Chattonella*属としてカウントした。



図4 シストから発芽した*Chattonella*栄養細胞

発芽シスト推定密度を図5に示す。長島周辺4カ所のうち、長島西岸に位置する浜漣からのみ栄養細胞が確認され、18 で7.5MPN/湿泥g, 19 で2MPN/湿泥g, 22 で33MPN/湿泥gとなった。

イ 休眠解除条件

低温処理を施した発芽シスト推定密度を図6に示す。前述した水温別MPN試験と同様に浜漣では水温18 から発芽が確認された。発芽シスト推定密度は、22 における前回の33MPN/湿泥gから7.8MPN/湿泥gに、19 では2MPN/湿泥gが7.8MPN/湿泥gに、18 では7.5MPN/湿泥gに2MPN/湿泥gになり、前回試験に比べ19 以外はやや低下していた。

また、前回試験では発芽の見られなかった薄井でも19 区で発芽が見られ、その発芽シスト推定密度は、2MPN/湿泥gであった。

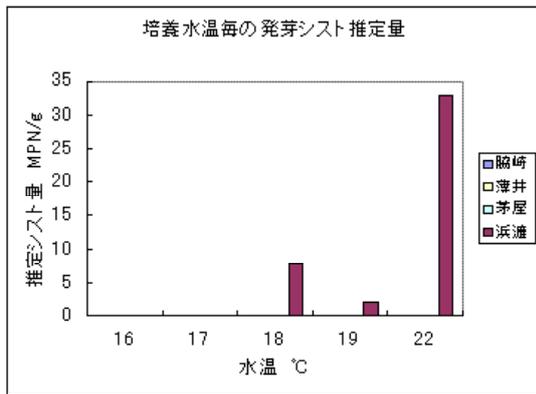


図5 培養水温毎の発芽シスト推定密度

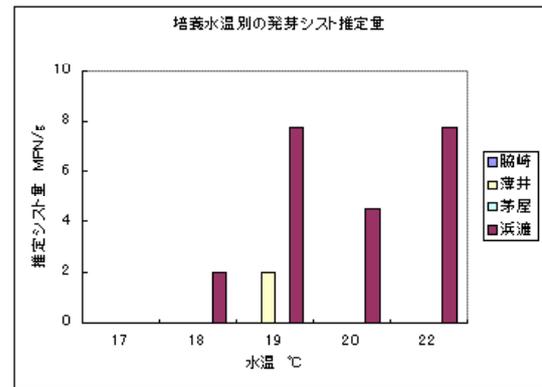


図6 低温処理後の発芽シスト推定密度

(3)シスト発芽細胞の早期確認

当所が実施した5月16日八代海赤潮調査及び5月26日水質連続調査事前調査の200倍濃縮試料からは *Chattonella* 栄養細胞は確認されなかった。その後、5月27日、東町漁協調査で伊唐，幣串，辰の鼻の0～10m柱状採水1000倍濃縮試料から *Chattonella* 栄養細胞が確認された。

今回、長島周辺海域から採取した海底泥を、八代海で *Chattonella* 赤潮が発生する時期以前、すなわち水温上昇期の水温を設定温度としてシスト発芽試験を行った。その結果、シストの発芽が見られた試験区では、水温16，17 では全く確認されず、18,19,22 で確認された。

板倉¹⁾も2010年に八代海から採取したシストを成熟処理した後、終点希釈法により発芽温度を確認したところ、17.5 から栄養細胞を確認している。これらのことから、八代海で発生する *Chattonella* のシスト発芽開始水温は17.5～18 前後と推定される。これは、八代海における5月上旬頃の底層水温に当たる。瀬戸内海における *Chattonella* のシスト密度と赤潮発生との関係については、いくつか考察されているが、今井²⁾、板倉³⁾、今井ら⁴⁾は春期のシストの密度とそれぞれの年の夏期の赤潮発生の関係は単純ではないとし、大山ら⁵⁾はシスト密度を同一定点でその年に出現する栄養細胞の最高細胞密度とに有意な正の相関が認められたとしている。八代海域において同様の検討は、これまでシストに関しての知見が少なかったこともあり、シスト現存密度と赤潮発生との相関は論じられてこなかったが、中長期予測のためには今後考察していくことが重要である。また、赤潮予察には、発芽してくる栄養細胞を早めに捉えることが必要であるが、2011年は5月27日の東町漁協調査で初認された。このときの底層水温は19 で、今回の試験で推定された発芽水温18 を超えており、発芽は始まっていたと推測される。

なお、休眠解除確認のために低温処理を施したが、薄井で新たにシスト発芽が確認されたもののMPN法で定めた22 では確認できず、浜漣でもシスト推定密度が増加していないことから、低温処理の効果は明らかにできなかった。また、浜漣における底層水温の維持期間が把握されていなかったこともあり、休眠解除に必要な水温条件を満たしていたかどうかの検討はできなかった。このことから、採泥場所と水温測定場所は少なくとも同一海域に合わせておく必要があると考える。

2 赤潮予察につながる水質連続測定

調査実施日を表2に示す。

当初、本調査は6～8月までの調査期間であったが、8月末になってから *Chattonella* 栄養細胞

表2 水質連続調査実施日

月	調査実施日	回数
6	1,2,3,4,6,8,10,13,15,16,17,18,20,22,24,28,29,30	18
7	1,2,4,6,8,11,13,14,15,16,17,18,20,22,25,27,29,30,31	19
8	1,3,5,8,10,12,17,19,22,24,26,28,29,30	14
9	16	1
		52

胞数の増加傾向が見られたため、9月に1回調査を追加し、合計52回の調査を実施した。

プランクトン組成の結果を図7に示す。6月下旬に珪藻類（スケルトネマ主体）が増殖し、7月上旬以降、8月上旬まで、珪藻類（キートセラス主体）が優占した。8月中旬頃に、珪藻類は減少したが、8月下旬にかけて、やや増殖が認められた。この間、有害プランクトンはほとんど確認されず、8月中旬に珪藻が減少した時期にも増えることはなかった。

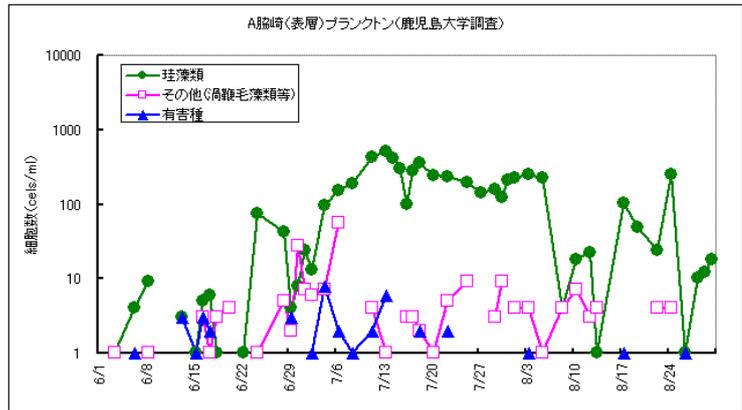


図7 プランクトン組成の推移（脇崎，表層）

調査3定点の表層水温，塩分の推移を図8 - 1 ~ 2 に示す。水温は，脇崎では7月上旬から中旬にかけて，10日間ほどで約6℃近く急上昇するなど大きく上昇・下降を繰り返しながら上昇していたが，これに対し御所浦では同時期3℃ほどで常に変動幅は小さかった。また，塩分も6月中旬から7月中旬にかけて，たびたび急低下しているが，その変動パターンは脇崎と薄井で類似していたが，御所浦で2地区が低下している時期にも低下しないなど海域特性が異なっていた。

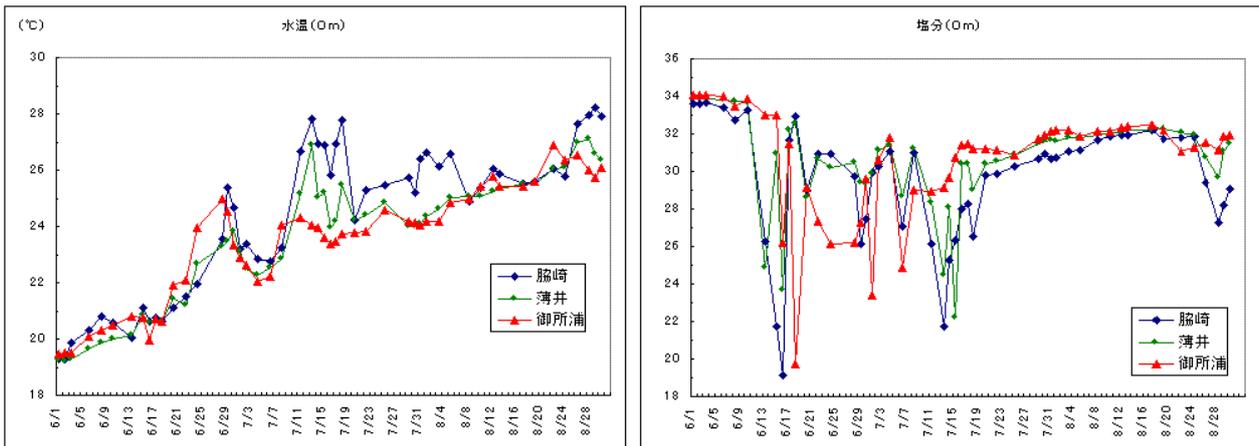


図8-1~2 表層水温，塩分の推移（脇崎，薄井，御所浦）

脇崎における水深別の変動を図9に示す。水温上昇の過程で表層と底層の水温差がほとんどなくなる時期が何度かあるが，これらは大潮時や台風通過により水温成層が崩壊して鉛直循環が起きたものと推測される。

栄養塩と降水量の推移を図10に示す。表層の栄養塩の変動は，特にDINは降水量の変動とよく一致する。また，7月中旬~8月上旬のほぼ降水のない時期も，表層ではわずかずつ上昇しているが，この時期は図9に示したように台風が襲来し，成層崩壊が起こっている。以上のことから，栄養塩の供給には八代海では梅雨期には陸水，梅雨明け後は鉛直混合の影響が大きいと推測される。

従来の赤潮調査は，発生時期を中心に月3回程度実施してきた。今回，1~2日毎の頻度で調査を実施したところ，水温上昇期には頻りに成層が崩壊し，鉛直循環していることが明らかにされた。鉛直循環は，赤潮生物が急激に成長していくきっかけの一つとして考えられており⁶⁾，今後，これらのデータを集積・解析していくことで有害赤潮生物の増殖との関係を明らかにできる可能性がある。

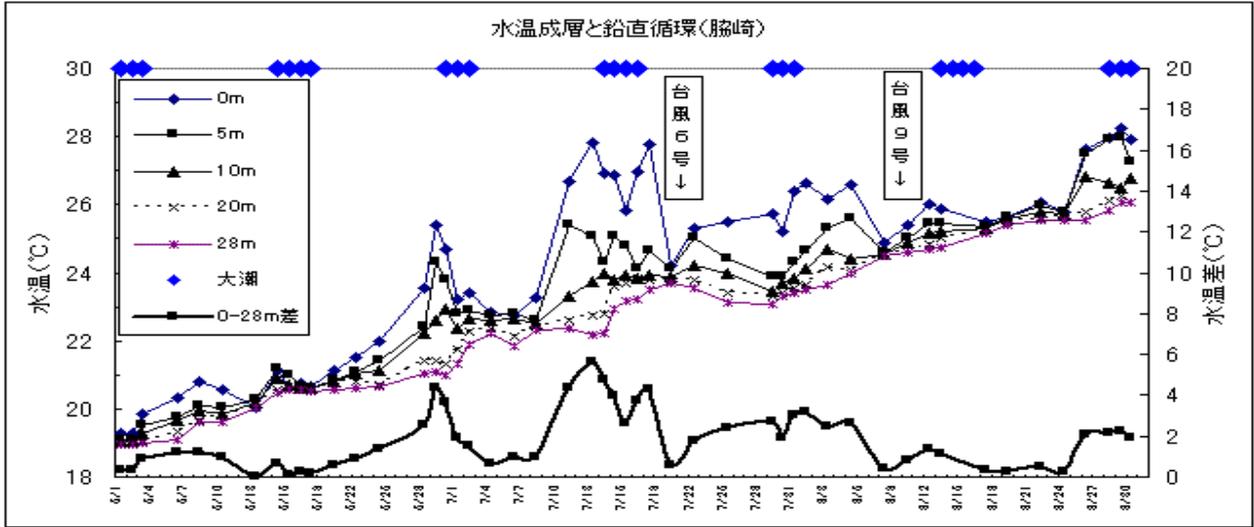


図9 水温成層と鉛直循環

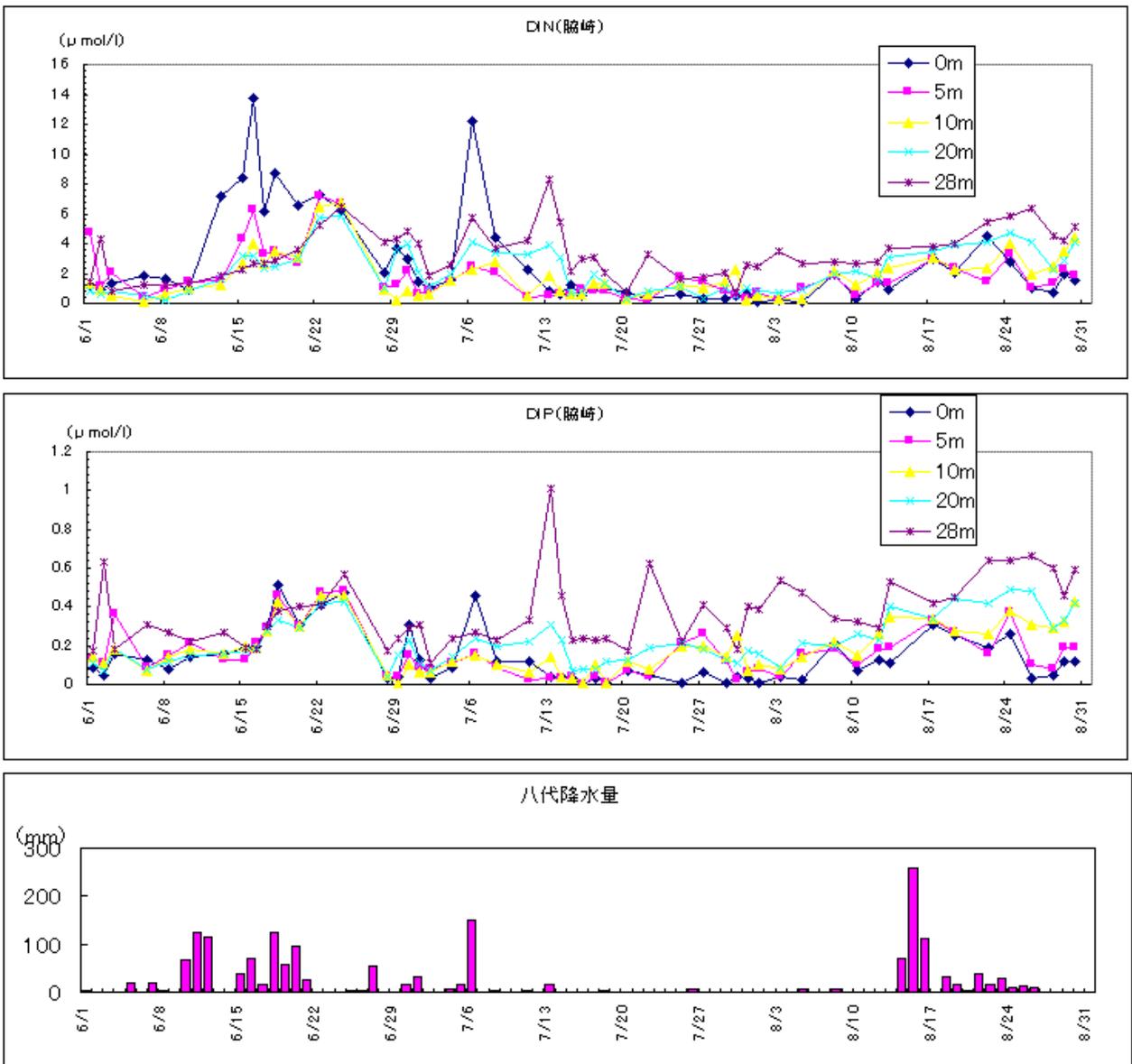


図10 八代海のDIN,DIP,降水量の推移(脇崎)

3 プリ暴露試験

(1) 餌止めプリの *Chattonella antiqua* 赤潮に対する影響

A プリの行動観察

赤潮に暴露されたプリの状況を表3に示す。約400cells/mlの細胞密度に暴露直後、数尾の遊泳が緩慢となり、タンク底面に動かなくなったが、時間とともに回復した。その1時間後、細胞密度を1,000~1,175cells/mlにあげると、再度数尾遊泳が落ち、タンク底面に動かなくなることもあったが、試験開始から4時間後の試験終了時点までいずれの区もへい死個体や著しい状態の変化はみられなかった。なお、この間に遊泳が緩慢となった個体は、タグの識別が困難なため、どの試験区の個体であるかの確認はできなかった。暴露試験中の溶存酸素濃度は、5.32~8.48mg/L、水温は22.4~24.7 で推移した。

表3 赤潮暴露に対する魚体の状況及び環境（1回目）

時刻	魚体状況等	水温	DO
10:00	試験開始 432cells/mL	22.4	8.48
	すぐに、動きが止まる		
10:07	ゆっくり泳ぎ出すが、1尾はとまったまま		8.38
10:17	さらに1尾の動きが止まる	22.4	7.79
10:29	3尾が水槽の底で動きを止める		
10:35	全てが回遊し出す		
11:00	シヤトネラ追加 1,000cells/ml	22.5	6.66
11:40	再追加 1,175cells/ml	22.6	5.61
12:00	5尾が水槽の底で動きを止める	22.6	5.67
	水温を昇温設定(→24°C)		
12:15	1尾が暴れ、泳ぎが速くなる	22.9	5.72
12:45	全尾の泳ぎが速い	23.6	7.97
13:40	シヤトネラ計数 1,062cells/ml	24.7	6.15
14:00	試験終了 へい死なし	24.7	5.32

I 血液性状等

(A) 肥満度

肥満度は次式により算出し

た。

$$F = W / L^3 \times 10^3$$

非暴露区の肥満度を図11に示

す。餌止め期間0日の平均13.9

2に対し、5日で14.12、14日で

14.80にやや増加した後、30日

で13.55に低下したが、いずれも餌止め期間0日との有意差はなかった。

(イ) ヘマトクリット値

餌止め日数による試験区毎のヘマトクリット値を図12に示す。

非暴露区では餌止め期間0日のヘマトクリット値の平均は41%、それ以外の餌止め区は平均46%以上と0日よりも高くなり、5日区では平均51%を少し有意 (P<0.05) に高くなっていった。暴露区0日は非暴露とほぼ同じ平均41%を示し、5日及び30日で平均46%を少しやや高め傾向はあるものの、有意な差はなかった。0日以外は同じ餌止め期間の非暴露区に比べて、やや低くなる傾向にあった。

(ウ) 血中トリグリセリド濃度

餌止め日数による試験区毎の血中トリグリセリド(以下血中TG)濃度を図13に示す。

非暴露区は餌止め期間0日と5日が血中TG濃度の平均129~147mg/Lであったのに対し、14日及び30日ではそれぞれ230、260mg/Lと有意 (P<0.05) に数値が高くなっていった。

一方、暴露区間は餌止め期間に差は認められず115~137mg/Lの範囲内であった。このため14日及び30日は同じ餌止め期間の非暴露区に比べ低くなっていった。

(エ) 血中乳酸量

餌止め日数による試験区毎の血中乳酸量を図14に示す。

血中乳酸量は非暴露区で餌止め期間0日以外は高くなっているように見えるが、使用した血清が溶血やゼリー化で少なくなり分析できなかったサンプルが多く、十分な比較ができなかった。

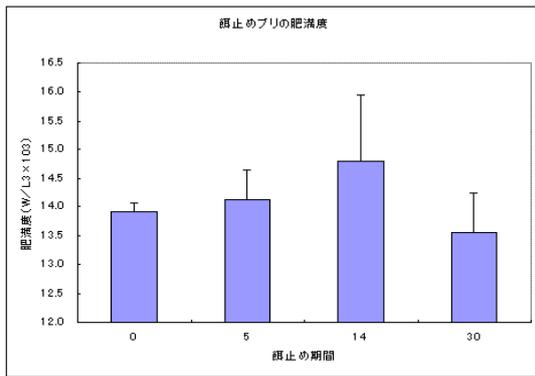


図11 肥満度

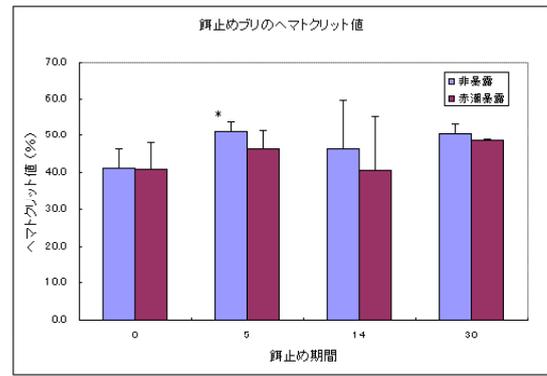


図12 ヘマトクリット値

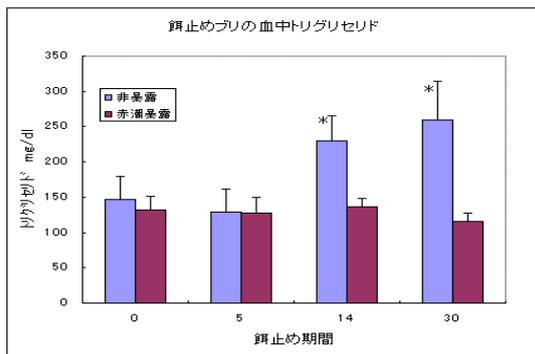


図13 血中トリグリセリド濃度

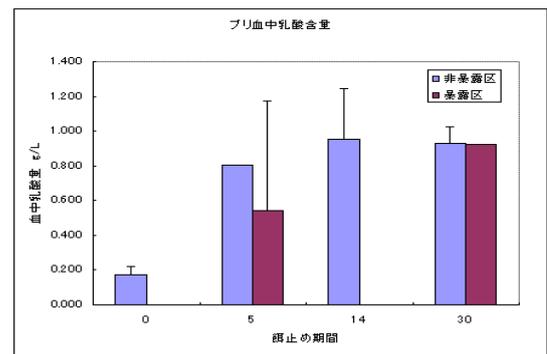


図14 血中乳酸量

ウヘい死機構の推定

光学顕微鏡の比較に大きな差は認められなかった。

走査型電子顕微鏡の観察結果は、暴露区と非暴露区のいずれの試験区でも二次鰓弁や鰓弁上皮細胞に肥大が見られたが、両者の差は明瞭ではなかった。麻酔薬として用いたフェノキシエタノールが鰓の細胞を刺激し、上皮細胞の肥大化を招いたものと思われ、今後の観察に対しては麻酔薬は使用しないなど留意して行う必要がある。

今回の赤潮暴露試験では、いずれの試験区もウヘい死は確認されず、従って餌止めの効果も把握できなかった。*Chattonella antiqua*が自然環境下で赤潮化した場合、細胞密度100cells/ml以下の低密度でも養殖魚がウヘい死することが知られている。今回試験した細胞密度は、はるかに高い細胞密度であったにも関わらずウヘい死することがなかったことから、培養により赤潮生物自体が弱毒化していた可能性が考えられる。また、試験に使用した*C. antiqua*の培養温度が24であったのに対し、暴露試験では試験に供したブリの飼育温度20からの水温ダメージを配慮し、暴露時は22で実施した。このため、*C. antiqua*細胞自体は-2の水温低下をうけることになり、この影響により活性が低下したことも弱毒化した原因の一つと考えられた。

その上で、餌止めによる魚体の体質の変化から赤潮に対する耐性について、考察した。

試験に用いたブリの肥満度は、餌止め期間による著しい減少傾向は見られず、餌止めの影響はさほど大きくなかったものと思われ、1ヶ月程度以内であれば、魚体として生命維持には問題ないと推測される。

ヘマトクリット値は餌止め0日では、非暴露区と暴露区ではほぼ同じ値を示し、木村ら⁷⁾がモジャ

コを使い赤潮暴露と非暴露を生化学的に比較した試験でも、ヘマトクリット値には差が認められなかった。今回の試験では、さらに餌止め期間による違いも比較したが、餌止め期間5日以降は高めで推移していた。ヘマトクリット値は、酸素運搬能の指標となるもので、高ければ効率よく体内に酸素を循環することができる。餌止めによりヘマトクリット値が高まるのであれば、赤潮暴露を原因とする鰓機能低下による窒息に対し、酸素運搬能を補い直前まで餌を与えている場合に比べ耐性を持つことができると考えられる。

血中TG濃度は餌止め期間の長い方が高い値を示し、いわゆる高TG血症となっていた⁸⁾。高TG血症の原因の一つに飢餓があり、今回餌止め期間14日以降で高くなっていったのは、魚体が飢餓に対応し脂肪組織から肝臓を経てエネルギーとして過剰にTGが血中に放出されたためと思われる。

餌止めの効果については、これまで給餌時と安静時の酸素消費量の違いから、餌止め期間についても同様の効果があるのではと考えられていたが、松山ら⁹⁾(未発表)は4日間の絶食では単位体重当たりの酸素消費量には変化が認められなかったとしている。今回の試験では、餌止めによりいくつかの飢餓対応と思われる魚体の変化が認められた。餌止めを行ったブリが赤潮に対して耐性があるとすれば、このような飢餓対応による生体の変化がなにがしか赤潮に対して有利に働いていることも考えられる。飢餓対応は全ての変化が同時期に起こるわけではなく、たとえば絶食によりエネルギー源としてまず肝臓グリコーゲンが使われ、次いで蓄積脂質、体組織蛋白質というように順次変化が現れる。何日間餌止めをすれば効果があるかは、飢餓対応の内何が赤潮に対して耐性を発現しているかにより明らかにできると思われ、ヘマトクリット値では餌止め期間5日で変化が見られていることなど効果ある餌止め期間としての一つの目安になると考えられる。

(2) *Chattonella antiqua*赤潮がブリに与える影響

A ブリの行動観察

赤潮に暴露されたブリの状況を表4に示す。暴露開始直前の細胞密度は2,200cells/mlであった。暴露5分後、数秒間の狂奔遊泳が始まった。狂奔遊泳しない間は、鰓蓋の開閉運動が通常よりも速くなっていた。約15分後には

遊泳が緩慢になり、横転が始まった。約25分後には、体色が白化し、横転、痙攣を繰り返した後、約30分後鰓蓋の開閉運動が停止し、へい死が確認された。その間、対照区の魚体には変化は現れなかった。

試験開始時の水温は暴露区で23.5℃、対照区で23.9℃、溶存酸素濃度は、暴露区5.70mg/L、対照区4.40mg/L。試験終了時の暴露区の水温は23.2℃、溶存酸素濃度は4.89mg/Lだった。

表4 赤潮暴露に対する魚体の状況及び環境(2回目)

時刻	魚体状況	WT	DO
9:45	Chattonella培養液添加, 暴露試験開始 細胞数確認 2,200cells/ml	23.6	5.42
9:50	1尾狂奔遊泳(10s) 鰓蓋開閉運動速くなる		
9:53	3尾狂奔遊泳短時間		
9:57	1尾狂奔		
9:59	2尾水槽底で遊泳運動低下 鰓蓋のクリーニング運動 3尾の運動低下		
10:01	1尾斜め上向きに姿勢異常 横転		
10:02	3尾狂奔遊泳		
10:04	2尾横転		
10:05	1尾完全横転	23.3	4.85
10:07	1尾体色が白化, 鰓蓋開閉運動も発作的にある程度に回数低下		
10:08	1尾激しく狂奔遊泳		
10:10	2尾の体色が白化, 横転, (丸いれんし, 時折激しく丸いれん		
10:11	3尾全て横転, うち1尾吐血		
10:12	1尾が激しく狂奔遊泳, 別の1尾がへい死		
10:14	1尾へい死	23.2	4.89
10:16	残り1尾が丸いれん		
10:17	へい死		

イ 血液性状等

(ア) 肥満度

肥満度は次式により算出した。

$$F = W / L^3 \times 10^3$$

試験区毎の肥満度を図15に示す。

暴露区は 15.0 ± 0.46 ，対照区は 14.9 ± 0.23 で両者に有意な差は認められなかった。

(イ) ヘマトクリット値

試験区毎のヘマトクリット値を図16に示す。

暴露区は 39.2 ± 0.52 ，対照区は 47.8 ± 1.56 で，暴露区の方が有意に低くなっていた($p < 0.01$)。

(ウ) 血液 pH

試験区毎の血液 pH を図17に示す。暴露区は 6.84 ± 0.25 ，対照区は 7.63 ± 0.06 で，暴露区の方が有意に低くなっていた($p < 0.05$)。

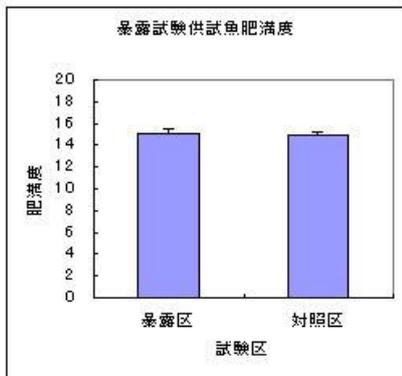


図15 肥満度

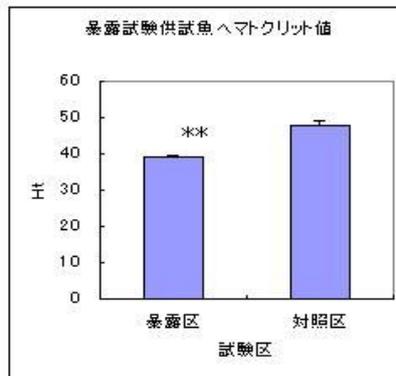


図16 ヘマトクリット値

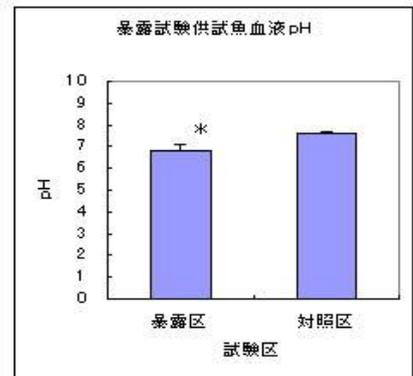


図17 血液 pH

ウ 鰓形状

光学顕微鏡による鰓の画像を図18-1～2に示す。両試験区とも明らかな組織の異常は認めらず，粘液もともに鰓弁間でその存在が認められ，明確な違いは確認されなかった。



図18-1 暴露区鰓弁



図18-2 対照区鰓弁

走査型電子顕微鏡による鰓の画像を図19-1A～3A及び1B～3Bに示す。鰓弁上皮細胞には肥大や粘液

細胞放出痕に違いは認められなかったが、暴露区では二次鰓弁の小出鰓動脈側前面に上皮細胞の破損とその細胞片が二次鰓弁前面に付着したり、隙間に入り込んでいる状態が観察された。さらに、二次鰓弁の上皮細胞は基底から剥離していわゆる浮腫になるとともに、毛細血管が拡張して基底表面の凹凸が顕著になっていた。その断面では、毛細血管内に赤血球が充満している状態が観察された。

以上のように、*Chattonella antiqua*が接触した二次鰓弁前面が、*Chattonella*細胞が持つ活性酸素等有害物質の影響により何らかの作用を受けて上皮細胞が剥離し、その剥離片が二次鰓弁間に詰まった結果、酸素を含んだ海水の二次鰓弁間の通過及びガス交換が困難になり、酸素摂取量が平常時に比べ低下して魚体の要求する酸素要求量に満たず窒息死に至ったものと思われる。

また、二次鰓弁組織の内部は充血状態になって血液の流動速度を低下させるとともに、血漿の滲出により上皮細胞と毛細血管との間隔が広がってガス交換を妨げたことも酸素摂取能の低下を招く一因となると推測される。

血液性状では、へい死したブリのヘマトクリット値及び血液pHが非暴露区に比べて有意に低かった。これらは赤潮暴露に際し、ブリが激しく苦悶したことで産生された乳酸の影響により血液が酸性に傾いたと思われ、酸性に傾いた血液はボーア効果を招いてガス交換率を低下させるので、さらにへい死を促した可能性も考えられる。

*Chattonella*に暴露された魚の走査電子顕微鏡による観察はこれまでも様々な機関で実施されているが、木村ら⁷⁾は暴露したブリが、浸漬時間が長くなるにつれて入鰓及び出鰓動脈側の一次鰓弁上皮細胞表面が膨化し、隆起していく傾向を観察している。また、小野らは¹⁰⁾小出、小入鰓動脈側面の表層に粘液細胞が脱落し空胞になっていると報告している。今回の観察で得られた症状は、二次鰓弁前面の上皮細胞剥離といったこれらとは異なるものもあり一様でない。*Chattonella*による魚類へい死機構については、未だ結論を得るに至っていないが、いずれもへい死の原因を窒息と考えていることでは一致している。鰓は、魚体の中でも外界に接している軟弱な組織であることから、物理的、化学的要因により容易に変性を受けるとされている¹¹⁾。赤潮細胞の持つ毒力や細胞密度でも生じる症状に違いが出る可能性も考えられ、今後もさらに知見を集積することが必要である。

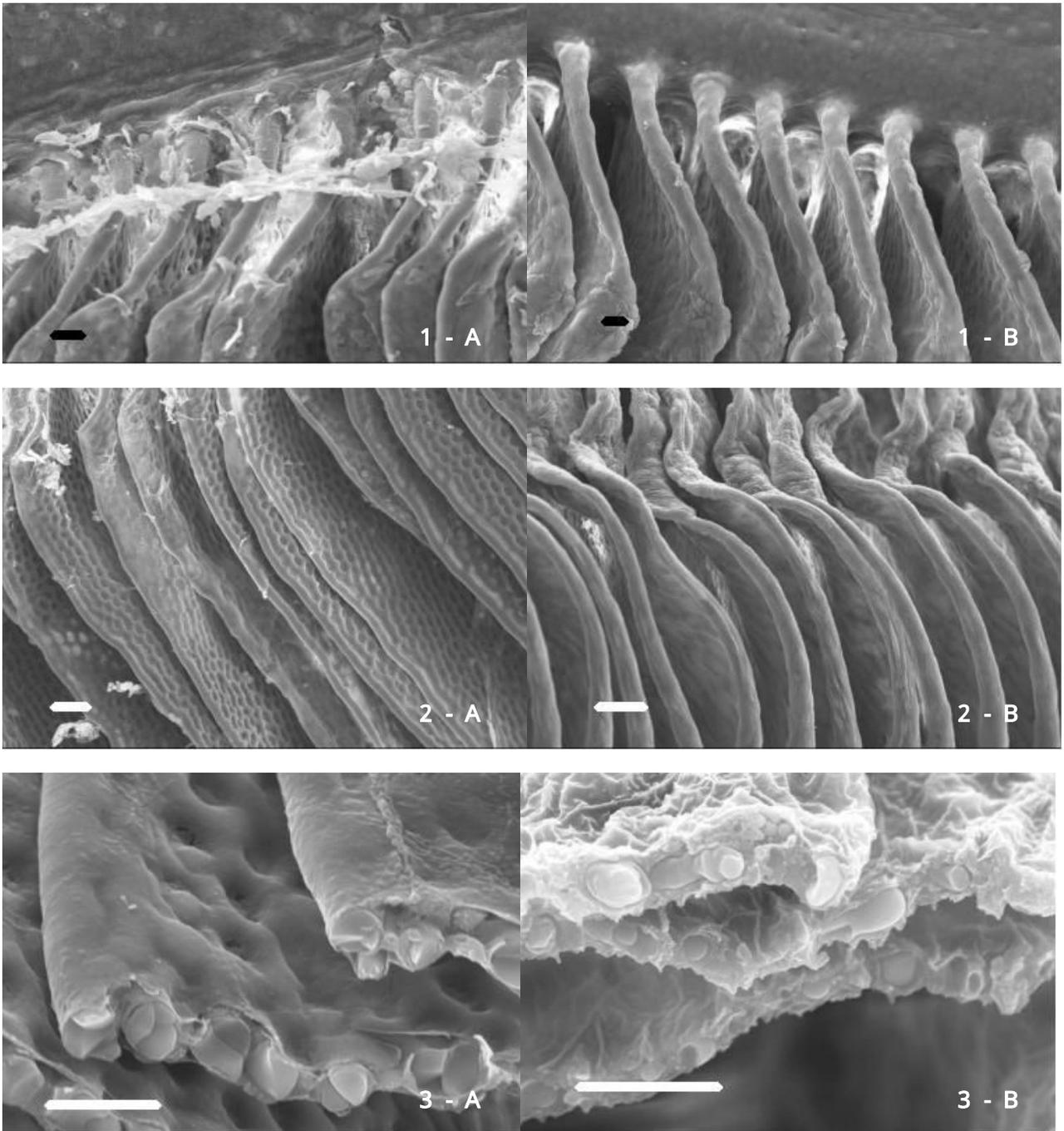


図19 プリ鰓の走査電子顕微鏡画像

- 1-A 暴露区二次鰓弁前面 1-B 対照区二次鰓弁前面 (scalebar=10 μ m)
 2-A 暴露区二次鰓弁 2-B 対照区二次鰓弁 (scalebar=10 μ m)
 3-A 暴露区二次鰓弁断面 3-B 対照区二次鰓弁断面 (scalebar=10 μ m)

文 献

- 1)板倉茂. 2011,2010年の八代海における有害赤潮ラフィド藻*Chattonella*属シストの分布, 第3回シャトネラ等赤潮対策推進協議会資料.
- 2)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, 南西海区水産研究所研究報告, 1990;(23).

- 3)板倉茂・今井一郎・伊藤克彦．東部瀬戸内海域の底泥中における有害赤潮鞭毛藻*Chattonella*(Raphidophyceae)のシストの分布，日水誌，1991;57(6);1079-1088.
- 4)今井一郎・板倉茂・大内晟．北部広島湾に置ける*Chattonella*赤潮の発生と海底泥中のシストの挙動，日水誌，1993;59(1);1-6.
- 5)大山憲一・松岡聡・本田恵二・吉松定昭．播磨灘南西部における*Chattonella*(Raphidophyceae)のシスト密度と赤潮発生との関係，香赤潮研報，2006;(5);11-21.
- 6)今井一郎．ラフィド藻赤潮の発生機構と予知，水産研究叢書，2000;48;29-70.
- 7)木村正雄・延東真．鰓の病理組織学的検査，赤潮対策技術開発試験報告書 7-(1)魚介類へい死防止技術開発試験(B)，1983;42-48pp.
- 8)菅原二三男．マクマリー・生物有機化学 ．生化学編，丸善，2002
- 9)松山幸彦．ブリ幼魚に対する餌止め(絶食)の効果について，第4回シャトネラ等赤潮対策推進協議会資料，2011
- 10)小野知足・吉松定昭．赤潮対策技術開発試験 魚介類のへい死防止に関する技術開発試験，香水試事報，1982
- 11)An Atlas of Fish Histology(Katsumi Aida, Makoto Endo, Takashi Hibiya, Toyoji Kaneko, Sadao Kiyohara, Jun Kobara, Mikio Oguri, Reynaldo Paitno, Hideo Sato, Carlos Strusmann, Yuzuru Suzuki, Juro Yamada, 1995), Kodansha International, 66-71