

## 1) 有害赤潮プランクトンの出現動態監視および予察技術開発

カ、有明海・八代海・鹿児島湾海域

### ② 八代海・鹿児島湾海域

水産研究・教育機構 瀬戸内海区水産研究所

紫加田知幸, 北辻さほ, 鬼塚 剛

水産研究・教育機構 西海区水産研究所

中野 善, 杉松宏一, 岡村和麿

熊本県水産研究センター

向井宏比古, 松谷久雄, 山下博和

鹿児島県水産技術開発センター

高杉朋孝, 宮田翔也, 吉満 敏

東町漁業協同組合

立元伸幸, 古川新平, 浦 啓介

埼玉大学大学院 理工学研究科

西山佳孝

## 1 全体計画

### (1) 目的

近年、八代海等において *Chattonella* 等鞭毛藻による赤潮が頻発し、甚大な漁業被害が報告されている。一方で、発生した有害赤潮を駆除する効果的で実用的な技術はなく、現場では餌止め、生簀避難などの事前策を講じて凌いでいるのが現状である。よって、事前策をより確実に且つ効果的に実施する方策の提案が現場から強く求められている。しかしながら、それを実現するためには赤潮動態および関与する環境条件の高頻度モニタリングとリアルタイムでの情報配信、そして高精度の赤潮短期動態予察技術が必要である。本課題では、現場観測および室内実験を行って当該海域における赤潮の短期動態と環境条件との関係を定量的に解析し、有害赤潮生物の短期動態に影響する主たる因子を特定する。また、有害赤潮生物について増殖や光合成等に関する生理学的な解析を進め、赤潮の発達や衰退を予測する上で利用可能な生物指標を見出す。最終的に、当該海域における有害赤潮の短期動態予測手法を提案する。まずは過去の被害額が大きい八代海について優先的に取り組む。

## 2 平成 31 年度計画及び結果

### (1) 目的

「全体計画と同じ」

### (2) 方法

## 1) 八代海における赤潮短期動態予測技術の開発

### ①自動観測ブイ等による環境条件の連続モニタリング（西水研，瀬水研）

八代海姫戸沖に設置されている大型観測ブイ（図1，Stn. A）に自動昇降式多項目水質計（AAQ-170W，JFE アドバンテック），流向流速計（Aquadopp Profiler，Nortek，抽出深度：1.5，5，10，20m），風向風速計（CYG-5106，Climatec，海面から高さ 3m），光量子計（DEFI-L，JFE アドバンテック，海面から高さ 3m）および硝酸塩センサー（SUNA V2，SEA-BIRD SCIENTIFIC，設置深度：1.5m）を装着して各種観測を実施した。2019年6月から9月まで，1時間間隔で水温，塩分，クロロフィル蛍光，濁度，溶存酸素飽和度，流向・流速の鉛直観測データ，海上風の風向・風速，1分間隔で光量子束密度，30分間隔で硝酸塩濃度のデータを取得した。光量子束密度および硝酸塩濃度以外の観測データは，携帯電話通信網を通してデータ処理サーバーへ送信し，ホームページ（有明海・八代海等の水質観測情報，<http://ariake-yatsushiro.jp/>）上で公開した。なお，鉛直自動観測ブイの機能維持と観測データの精度向上を図るため，1ヶ月に1回の頻度で点検を行うとともに，表層，深度10mおよび20m，クロロフィル蛍光値の極大層（明瞭でない場合5m深）から採水を行い，塩分（8400B，GUILD LINE），クロロフィル濃度（10AU，TURNER DESIGNS，Holm-Hansen 法 [Holm-Hansen et al. 1965]），懸濁物質濃度（孔径 0.45  $\mu\text{m}$  のミリポア製ニトロセルローズフィルターでろ過・乾燥後に秤量 [植松ほか・1978]）および栄養塩（TRACCS2000，BRAN+LUEBBE）の分析に供した。採水試料の分析結果の一部は，自動観測ブイに搭載した多項目水質計で得られた観測データの校正に用いた。

### ②高頻度赤潮モニタリング（熊本水研，鹿児島水技セ，東町漁協，瀬水研，西水研）

2019年5～9月，図1に示す8定点（Stn. 1, 2, 4, 5, 6, 7, A, C）において，週1回の頻度で採水（採水器：バンドーン採水器，離合社製）および多項目水質計（AAQ-RINKO176，AAQ-RINKO171，JFE アドバンテック）を用いた環境観測（海面から海底まで）を行った。採水層はStn. A，Cで表層，10，20m層およびクロロフィル極大層，その他の定点で表層，5，10m層とした。ただし，水深が10mよりも浅いStn. 1では表層，5m層，底層とした。全ての海水試料について有害赤潮プランクトン種の細胞密度および栄養塩濃度（ $\text{NO}_2\text{-N}$ ， $\text{NO}_3\text{-N}$ ， $\text{NH}_4\text{-N}$ ， $\text{PO}_4\text{-P}$ ， $\text{SiO}_2\text{-Si}$ ）の分析に供した。また，代表3定点Stn. 2, 4, 6の表層および5m層；Stn. A, Cの表層，クロロフィル極大層で採取した海水試料については植物プランクトン種組成を算出した。クロロフィル極大層が不明瞭な場合は採水を実施しなかった。植物プランクトンの細胞密度は，光学顕微鏡（IMT-2，BX53，BX51，BH2，オリンパス）下で海水試料1mL中に含まれる細胞を計数して算出した。栄養塩分析はオートアナライザー（QuAAtro39，ビーエルテック）を用いて分析した。調査期間終了後，得られたデータについて気象データ，過去のデータおよび既往知見との比較等を行い，八代海における赤潮発生シナリオを提案するとともに，短期動態に関与する主たる環境条件を考察した。また，気象観測データは気象

庁ホームページ (<https://www.jma.go.jp/jma/index.html>), 球磨川の水位データは国土交通省水文水質データベース (<http://www1.river.go.jp/>) より得た。

また、八代海での赤潮初期発生には有明海からの移入が関与している可能性が指摘されている。そこで、有明海南部で有害赤潮プランクトン種が高密度化した時点で、三角港 (Stn. M, 図 1) で週数回表層より採取した海水を検鏡し、細胞密度を算出した。

### ③有害赤潮短期動態に深く関与する環境条件の絞り込み

現場で見出された現象を詳細に検証して有害赤潮短期動態に深く関与する環境条件の絞り込み、赤潮動態予測技術を確立することを目的として、室内実験や現場データ解析を行った。

#### ア. 室内培養実験 (埼玉大, 瀬水研)

従前の現場データから赤潮鞭毛藻類の増殖動態には、直前の環境ストレスの履歴が影響している可能性が見出されている。赤潮プランクトンの生残増殖および光合成に及ぼす栄養塩枯渇期間の影響を調べた。*Chattonella* および *Karenia mikimotoi* については 2018 年度にデータを取得した (紫加田ら 2019) ので、2019 年度は競合種である珪藻類を対象とした。

*Skeletonema marinoi-dohrnii complex* について、生残に及ぼす貧栄養の継続期間の影響について実験を行った。実験には、国立環境研究所より購入した無菌クローン培養株 (NIES-324) を供した。継代培養は改変 SWM-3 培地, 25°C, 12hL:12hD (明期 6:00~18:00), 400  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  の条件で行った。対数増殖期の培養株を完全培地, N 無添加培地 (改変 SWM-3 培地成分から硝酸塩を除いた培地), P 無添加培地 (培地成分からリン酸塩を除いた培地) に接種した。*S. marinoi-dohrnii complex* の初期細胞密度は 8,000 cells  $\text{mL}^{-1}$  に設定した。培養開始 0, 2, 4, 6 日後に N 無添加培地には硝酸塩を, P 無添加培地にはリン酸塩を添加した。栄養塩添加量は、終濃度が完全培地における濃度 (硝酸塩: 1 mM, リン酸塩: 50  $\mu\text{M}$ ) となるように設定した。培養開始当日および栄養添加後から 6 日間毎日、光学顕微鏡を用いて細胞を計数して細胞密度を算出した。同時に、クロロフィル蛍光測定装置 Water-PAM (Waltz 社製) を用いて光合成活性  $F_v/F_m$  (光化学系 II 最大量子収率) を測定した。また、栄養塩を添加しない実験区を対照区として設けた。N および P 無添加培地で 12 日間培養し、2 日おきに細胞計数と光合成活性計測を行った。

#### イ. 赤潮の発達および衰退に及ぼす栄養塩濃度の影響

2019 年 8~9 月, 赤島 (図 1) において、1 週間に 1 回の頻度で表層および 2, 5 m 深より海水を採取し、*Chattonella* spp. の細胞密度を算出するとともに、栄養塩濃度の分析に供した。また、8 月 20~29 日, Stn. A, 嵐口, 幣串, 楠浦の 4 定点 (図 1) で、原則毎日 10:00~15:00 に、表層~30 m 深あるいは海底まで深度 2 m 間隔で海水を採取した。Stn. A においては、多項目水質計を用いた環境項目の鉛直観測 (海面から海底まで) も同時に実施した。海水試料は *Chattonella* spp. の計数と栄養塩分析に供した。

#### ウ. 八代海におけるシャットネラ赤潮の中長期動態予測技術の開発

これまでの本事業成果として、八代海における *Chattonella* 赤潮の発生には冬から春の気温および梅雨入り時期が関係していることが明らかとなった(北辻ら 2018, Onitsuka et al. 2015)。2018 年度は、この既往知見をもとに、2 月から 4 月の平均気温(アメダス八代)と九州南部梅雨入り日(5 月 16 日からの経過日数)の 2 変量を用いた判別分析による *Chattonella* 赤潮の中長期予察技術を開発した(紫加田ら 2019)。そこで昨年度開発した予察技術を用いて、2019 年度の発生確率と発生日の予察を行った。なお、発生確率については、判別分析で得られた判別得点をロジスティック回帰することで算出し、発生確率 80%以上を「高め」、20%以上 80%未満を「中程度」、20%未満を「低め」という 3 段階を設定した。また、発生日については、判別分析で得られた判別得点と赤潮発生日(6 月 30 日からの経過日数)の関係から推定した。ここで赤潮発生日は、八代海におけるその年の *Chattonella* 赤潮の発生開始日のことで、熊本県と鹿児島県のいずれかで最初に警報が発令された日とした。この情報は両県の赤潮発生日として、水産庁九州漁業調整事務所発行の「九州海域の赤潮」に掲載されている。

#### ④生理活性マーカー等を用いた短期動態予測手法の開発(瀬水研, 埼玉大)

生物学的な指標を用いて短期動態を予測する手法の確立を目的とし、有害赤潮プランクトンの細胞サイズや色素含量などが増殖活性の指標となるかを検証した。次に、分子マーカーを用いて増殖活性を計測する手法の検討を行った。

##### ア. 細胞形態, クロロフィル含量, 色素組成

八代海より分離された *C. antiqua* の無菌クローン株(C4)を実験に供した。対数増殖後期の培養株 1 mL を 30 mL の完全培地および N あるいは P 無添加培地が入った 50 mL 容三角フラスコに接種し、25°C, 400  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , 12hL:12hD の条件で 11 日間培養した。細胞を 2 日に 1 回 4 mL サンプリングし、細胞密度およびクロロフィル a 含量の計測および細胞形態の観察に供した。光学顕微鏡下で計数して細胞密度を算出するとともに、20 cells を 200 倍で写真撮影した。取得した画像を Image J を用いて細胞の長さおよび幅を計測した。クロロフィル a 含量はクロロフィル蛍光光度計(Model 10-005R, Turner Designs)を用いて計測した。

また、C4 株を同条件で 7 日間培養後、20 mL のサンプルを GF/F フィルターでろ過後、フィルターを 5 mL の N,N-ジメチルホルムアミドが入った褐色瓶に入れて色素を抽出した。抽出液は、クロロフィル蛍光光度計を用いたクロロフィル a 分析および UPLC(島津製作所, Nexera X2)を用いた色素組成分析に供した。各色素の同定は Call and Chang (2013)を参考にした。

次に、現場個体群について、細胞形態に及ぼす赤潮の発達段階および環境条件の影響を調べた。八代海 3~7 地点において、2019 年 8 月 22~29 日, 9 月 3 日, 9 月 18~22 日に、多項目水質計を用いた環境項目の鉛直観測(海面から海底まで)を行い、深度 2 m の間隔で海水を 1 L 採取した。全ての海水試料について *Chattonella* spp. の計数を行った後、表層あるいは *Chattonella* spp. の細胞密度極大層より採取した海水試料について、*Chattonella* spp. 細胞を 200

倍で写真撮影した。後日、15 cells の細胞を観察し、長さおよび幅を ImageJ により計測した。また、2019 年 8 月 22～29 日と 9 月 18～22 日に採取した海水試料は色素分析に供した。

#### イ. 増殖活性の指標となる光合成関連タンパクの探索

*C. antiqua* N1 株を異なる栄養塩条件下で培養した。様々な増殖段階で細胞からタンパク質を抽出し、光合成関連タンパク質をウェスタンブロッティング法により検出した。これにより、増殖と光合成関連タンパク質の発現量の関係を解析した。タンパク質抽出方法は以下の手順で行った。

- (1) 集藻した細胞をプロテアーゼインヒビターカクテル（ナカライ製）入りのバッファー（50 mM HEPES-KOH pH7.5）で懸濁し、ガラスビーズおよび超音波で細胞を破碎した。
- (2) 細胞破碎液を遠心分離（15,000 rpm, 5 min, 4℃）にかけて、可溶性タンパク質画分と膜タンパク質画分を調製し、双方の画分とも SDS を添加して加熱（80℃, 5 min）した。
- (3) 調製したサンプルのクロロフィル定量を行った後、1 レーンあたりの可溶性タンパク質量が 1.5 µg になるように 12.5% SDS ゲルへローディングし、SDS-PAGE（320 V, 20 mA, 150 min）を実施した。

集藻は、完全培地、N 無添加培地、P 無添加培地において *C. antiqua* を 2, 4, 6 日間培養した後に行い、上記のプロトコールに従って SDS-PAGE に供した。その後、光化学系 II 反応中心タンパク質である D1（東京大学 和田教授から譲渡）、CO<sub>2</sub> 固定酵素である Rubisco（Agrisera, AS03037）、光捕集タンパク質である FCP（Agrisera, AS174116）の抗体を用いて、ウェスタンブロッティング法により *C. antiqua* の各タンパク質を検出し、ImageJ software (<http://rsbweb.nih.gov/ij/>) を用いてバンド定量した。

## 2) 鹿児島湾における有害赤潮等発生監視と発生機構の解明（鹿児島水技セ）

### ①赤潮モニタリング

2019 年 4 月～7 月は毎月 2 回、2019 年 8 月～2 月は毎月 1 回の頻度で、図 2 に示す 12 定点において、採水を行った。採水層は表層と 10 m 層とした。さらに、Stn.⑪については多項目水質計を用いて海面から海底までの環境観測を実施した。海水試料は有害赤潮プランクトンの細胞密度（全定点）および植物プランクトン種組成（Stn. ②, ③, ⑪）、栄養塩濃度（全定点）の分析に供した。また、通常検鏡（全定点）および濃縮検鏡（Stn.③, ⑪）により *Chattonella* spp.細胞の計数を行った。4 月 14 日には、LAMP 法により全定点の *Chattonella* spp.細胞の有無を確認した。濃縮検鏡は 1000 倍を基本として行ったが、12 月～2 月については越冬細胞の有無を確認するため、20,000 倍を上限に細胞が確認されるまで濃縮した。LAMP 法は表層および 5 m 層の海水 1 L をヌクレポアフィルター（孔径 3 µm, Whatman 製）で減圧ろ過して行った。

### ②赤潮の発生要因・非発生要因の検証

2018 年 3 月中旬から 4 月中旬に鹿児島湾奥部で発生した *Heterosigma akashiwo* 赤潮について、県事業で得られたデータや気象データ等も含めて発生・衰退要因の解析を行った。また、2019 年の *Chattonella marina* の動態と環境条件との関係についても同様に解析した。

### ③既存データ等を用いた統計解析

調査で得られたデータについて、過去のデータ、既往知見や室内実験結果との比較等を行い、有害赤潮発生の特徴を把握するとともに、発生機構の解明に向けて解析を行った。解析においては *C. marina* および *H. akashiwo* の赤潮発生年・非発生年における環境条件の違いを検討した。2000～2019 年（過去 20 年）の本事業調査定点⑩（牛根境沖）で得られた毎月の表層および底層水温、表層塩分、表層 DIN 濃度、珪藻、湾奥部 9 定点の月別平均透明度、気象庁統計情報による溝辺アメダスにおける毎月の降水量および年間降水量、牧之原アメダスにおける毎月の平均気温、平均風速、最大風速、鹿児島市で観測された月平均全天日射量、鹿児島湾内で河川流量が最も多い天降川の湯田橋観測所における月別流量、鹿児島地方気象台における桜島の月別の噴火回数、降灰量、垂水市牛根麓の降灰量、*C. marina* 初認日、入梅日（計 18 要素のデータ）を解析に使用した。解析項目は、将来的にも同質なデータの入手が見込めること、海域を代表し得るデータであること、赤潮発生より以前に入手できることを念頭に選択した。なお月別データは、*C. marina* の解析については、赤潮発生時期が 5～6 月であることから、前年 7 月から当年 6 月までのデータを使用した。また、*H. akashiwo* の解析については、赤潮発生時期が主に 3 月と 5 月であることから、前者は前年 7 月から当年 3 月までを、後者は前年 7 月から当年 5 月までのデータを使用した。

*C. marina* については、2000 年以降の鹿児島湾の年別赤潮発生状況から「大規模発生年」、「小規模発生年」、「非発生年」の 3 つに類型化し、それぞれ環境条件データとの関連性を解析した。なお、「大規模発生」は、最高細胞密度  $100 \text{ cells mL}^{-1}$  以上、赤潮継続日数 10 日以上を満たすものとした。パターン 1 では「大規模発生年」と「小規模発生年」に対する「非発生年」、パターン 2 では「大規模発生年」に対する「小規模発生年」と「非発生年」の 2 群に分けた。次に、比較する群それぞれの環境条件の特徴を把握するため、それぞれの要素について Shapiro-Wilk 検定により正規性を、F 検定により分散について検定し、正規性を示し、かつ等分散であると判定された場合は Student の t 検定を、正規性を示すが、等分散でない場合は Welch の t 検定を、正規性を示さない場合は Mann-Whitney の U 検定を行い、その後、抽出された要素を用いて、線形判別分析及び非線形判別分析を行った。また、線形判別分析で得られた結果については、妥当性の検証を行うため、Leave-one-out cross validation を行った。*H. akashiwo* については、発生年と非発生年の 2 群に分け、それぞれの要素について、*C. marina* の解析と同様の手法で行った。

なお、*H. akashiwo* について「大規模発生年」に対する「小規模発生年」と「非発生年」の 2 群の比較、「3 月発生年」と「3 月非発生年」との比較、「5 月発生年」と「5 月非発生年」

の比較も試みたが、サンプル数不足により検定が行えなかったもので、これについては結果には記載しないこととした。

### (3) 結果及び考察

#### 1) 八代海における赤潮短期動態予測技術の開発

##### ①自動観測ブイ等による環境条件の連続モニタリング

大型観測ブイは台風通過・時化などによる一時的な停止（風速  $9 \text{ m s}^{-1}$  以上を目安に判断）を除き、観測期間を通して稼働した。

自動昇降式多項目水質計で計測された水温、塩分およびクロロフィル濃度の鉛直プロファイルを図3に示す。観測期間中、表層水温（深度 0.5m）は  $19.2 \sim 31.4^{\circ}\text{C}$  で推移し、8月1日に最高値を示した（図4）。深度 10, 20 および 30 m 層の水温はそれぞれ  $20.1 \sim 27.3^{\circ}\text{C}$ ,  $19.6 \sim 26.3^{\circ}\text{C}$  および  $19.4 \sim 26.2^{\circ}\text{C}$  の範囲で推移し、深度 10 m 層については 8 月下旬、20 および 30 m 層については 8 月中旬に最高値を示した。観測期間中、表層塩分は  $1.0 \sim 33.7$  で推移し、多くの場合、球磨川の流量上昇直後により低下した（図5）。深度 10, 20 および 30 m 層の塩分は、それぞれ  $29.2 \sim 33.9$ ,  $31.0 \sim 34.0$  および  $31.8 \sim 34.0$  の範囲で推移した。観測期間中、表層（深度 0.5 m）、深度 10, 20 および 30 m 層のクロロフィル濃度は、それぞれ  $0.20 \sim 124.2 \mu\text{g L}^{-1}$ ,  $0.82 \sim 22.6$ ,  $0.61 \sim 18.4$  および  $0.61 \sim 7.34 \mu\text{g L}^{-1}$  の範囲で推移した（図6）。

海上風は、台風5号および17号が九州の西側に接近した7月下旬および9月下旬に南向きの風が強くなった（図7, [https://www.data.jma.go.jp/fcd/yoho/typhoon/route\\_map/bstv2019.html](https://www.data.jma.go.jp/fcd/yoho/typhoon/route_map/bstv2019.html)）。また、台風8号および10号が九州に上陸した際、南西から北西向きの風が強かった。流況は深度 1.5 および 5 m では海上風の影響を受けて変化しやすい傾向にあったが、深度 10 および 20 m では北向きの流れが優位であった（図7）。

観測期間中、光量子束密度の日積算値は  $5.2 \sim 62.3 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  の範囲で推移した（図8）。硝酸塩濃度は  $34.3 \mu\text{M}$  以下で変動し、6～9月は球磨川の出水に伴って上昇した（図9）。

7月上旬および中旬にクロロフィル濃度の大きな上昇が確認された。いずれの時期においても、直前に河川流量の上昇、表層塩分の低下および硝酸塩濃度の上昇が認められた。7月下旬から8月中旬においては、7月中旬までと比較してクロロフィル濃度が低かった。この期間中、硝酸塩濃度は低い値で推移しており、栄養塩の枯渇により植物プランクトンが増殖しづらかったと推察された。8月下旬から9月上旬にかけてクロロフィル濃度の上昇が確認された。この8月下旬のクロロフィル濃度の上昇前、河川流量の上昇、表層塩分の低下および硝酸塩濃度の上昇が認められた。その後、9月下旬に硝酸塩濃度の上昇が観察され、河川流量の増加は認められたが、表層塩分の上昇は明確でなかった。その原因として、同時期に水温の低下や台風17号の通過があり、水温および塩分が鉛直的に均一であったことから、海面冷却や強風による鉛直混合が考えられた。

## ②高頻度赤潮モニタリング

### ア. 環境条件

#### A) 気象

図 10 に、八代市における 2019 年の 5～9 月までの気象条件の変化を示す。

気温は期間中、16.3 (5 月 1 日) ～30.5℃ (8 月 13 日) の範囲で推移した。5～8 月上旬まで上昇後、8 月下旬まで一旦下降し、再び 9 月上旬に上昇したが、それ以降は下降した。

降水量は、6 月 30 日、7 月 1, 3 日、7 月 22 日、8 月 15 日に 50 mm を超え、6 月 30 日に最高値 142.5 mm を記録した。また、2019 年 7 月 24 日付け気象庁報道発表資料によると、八代海が含まれる九州北部地域の梅雨入りは 6 月 26 日で平年より 21 日遅れ、梅雨明けは 7 月 24 日で平年より 5 日遅れた。なお、九州北部地域の梅雨時期における降水量の平年比は 103% であったが、八代観測所においては 165% と多かった。

日照時間は梅雨明け前の 7 月中旬及び停滞前線による影響で 8 月下旬が短かった。三角観測所における平均風速 (時別値) で、10.0  $\text{m s}^{-1}$  以上を観測したのは、6 月 7 日は低気圧を伴った前線による影響で最高 10.7  $\text{m s}^{-1}$ 、8 月 6 日は台風 8 号による影響で最高 12.9  $\text{m s}^{-1}$ 、8 月 15 日は超大型台風 10 号による影響で最高 10.9  $\text{m s}^{-1}$ 、9 月 22 日は大型台風 17 号による影響で最高 18.3  $\text{m s}^{-1}$  を観測した。

#### B) 水質

調査期間中、水温は 17.7 (5 月 8 日, Stn. A, 4, 底層) ～30.2℃ (7 月 30 日, Stn. 1, 表層) で推移した (図 11)。概して、水温は 7 月末まで上昇し、その後 8 月下旬に一旦低下後、9 月中旬に上昇し、その後低下していった。塩分は 5.4 (7 月 2 日, Stn. 2, 表層) ～34.2 (6 月 4 日, Stn. 7, 底層) で推移し、比較的大きな球磨川からの出水が起こった 6 月末～7 月下旬に Stn. 1, 2, A, 4, 5, 6 で塩分が低下し、北部の表層付近では 20 を下回った (図 12)。水温および塩分のデータより算出された Sigma-T は、2.3 (7 月 2 日, Stn. 2, 表層) ～24.6 (5 月 8 日, Stn. 4, 6, 底層) で推移した (図 13)。Sigma-T のデータによると、密度成層は 6 月末から 7 月末にかけて発達後、8 月中旬および 9 月上旬に一旦崩壊したが、9 月中旬まで維持された。Stn. 2, A, 4, 5 における密度躍層の位置は 4～8 m 深と推察された。

DIN, DIP 及び DSi 濃度はそれぞれ 0.06  $\mu\text{M}$  (7 月 2 日, Stn. C, 10 m 層) ～21.09  $\mu\text{M}$  (7 月 2 日, Stn. 2, 表層),  $\leq 0.01$   $\mu\text{M}$  (7 月 9 日, Stn. 6, A, C, 表層等) ～1.13  $\mu\text{M}$  (8 月 16 日, Stn. 6, 5m 層) および 1.74  $\mu\text{M}$  (8 月 8 日, Stn. C, 5 m 層) ～116.84  $\mu\text{M}$  (7 月 2 日, Stn. 2, 表層) の範囲で推移した (図 14～16)。調査期間中、いずれの栄養塩種も北部で高い傾向にあった。10 m より浅い深度層において、DIN および DIP 濃度は 7 月 2 日、7 月 16 日に上昇し、上昇レベルは北部 (Stn. 1, 2) で顕著であった。7 月 2 日および 16 日の北部における上昇は塩分低下と同期しており、球磨川からの供給が考えられた。7 月下旬～8 月中旬については、DIN は Stn. 4, 5, 6 で、DIP は全調査点で *Chattonella* spp. の増殖に必要となる半飽和定数 (DIN: 0.65  $\mu\text{M}$ ,

DIP : 0.26 $\mu$ M, Nakamura et al. 1988) 以下で推移した。8月20日～9月3日には、DIN および DIP 濃度ともにほとんどの調査定点で半飽和定数を上回った。この栄養塩の上昇には8月中旬から9月上旬にかけてのまとまった降雨が影響したと考えられた。しかし、9月10日になると、多くの定点の表層でDIN および DIP が半飽和定数を下回った。その後、気温が9月15日～9月20日に大きく低下して海面冷却による鉛直混合が発生し、Stn.1, 2, A, 4では9月17日にDIN および DIP がともに半飽和定数を上回った。DSiについてもDIN および DIP と同様の変動パターンが認められたが、珪藻の増殖に必要な半飽和定数(DSi : 2.0  $\mu$ M)を下回ったのは、8月8日、Stn.Cの5m層だけであった。なお、2018年度は7月下旬から8月中旬にかけて、Stn 1, 2, Aにおいてエスチャリー循環によると考えられる、下層に滞留する高濃度の栄養塩を含む水塊の北上が観察された。2019年夏もエスチャリー循環の存在は示唆された(例えば図7および図12の8月中旬から9月上旬)が、この循環流に伴う高栄養塩水塊の北上は確認されなかった。

#### イ. 植物プランクトンの発生状況

##### A) 有害赤潮プランクトン種の発生状況

*Chattonella* spp.は、6月18日にStn.1で1細胞が初認されて以降、8月16日まではStn.1, 2, A, 4で1 cells mL<sup>-1</sup>以下で散見された(図17)。また、別の赤潮調査において、8月19日に上天草市高戸で300 cells mL<sup>-1</sup>が検出された(<http://akashiwo.jp/>)。8月20日に実施した本調査では、Stn.1, 2, A, 4, 5, 6, Cにおいて1～223 cells mL<sup>-1</sup>の*Chattonella* spp.が検出され、八代海で広範囲に本種が存在することが確認された。その後、*Chattonella* spp.の最高細胞密度は8月27日に210 cells mL<sup>-1</sup>、9月3日に780 cells mL<sup>-1</sup>を記録した。なお、別の赤潮調査結果によると、9月2日に天草市栖本沖で18,600 cells mL<sup>-1</sup>、9月5日に上天草市姫戸町牟田沖で13,000 cells mL<sup>-1</sup>が検出された(<http://akashiwo.jp/>)。その直後、*Chattonella* spp.の細胞密度は急速に減少し、9月10日には最高0.33 cells mL<sup>-1</sup>(Stn. A)となった。しかし、別の赤潮調査結果によると、9月12日に八代海北部で23 cells mL<sup>-1</sup>、9月15日に上天草市姫戸町牟田漁港で2,300 cells mL<sup>-1</sup>、9月17日に御所浦島嵐口埼沖で160 cells mL<sup>-1</sup>が検出され、広範囲で10 cells mL<sup>-1</sup>以上が確認された(<http://akashiwo.jp/>)。その後、9月19日には広範囲で10 cells mL<sup>-1</sup>未満となり、9月21日には一部海域で5 cells mL<sup>-1</sup>未満が確認されるにとどまり、衰退した。

一方で、八代海で*Chattonella* spp.が頻繁に認められるようになった8月19日から有明海と八代海の接続海域であるStn. M(三角港)における採水調査を開始した。8月19日は2 cells mL<sup>-1</sup>であったが25日の42 cells mL<sup>-1</sup>まで増加した後、27日には5 cells mL<sup>-1</sup>まで減少し、9月3日に484 cells mL<sup>-1</sup>まで再び増加した。その後、9月9日から17日までは5～11 cells mL<sup>-1</sup>が確認されるにとどまり、18日は1 cell mL<sup>-1</sup>、20日以降は未検出となった。

また、8月1日～19日までに有明海で実施された別の赤潮調査結果によると、有明海北部(諫早湾周辺)において最高8 cells mL<sup>-1</sup>検出されたが、熊本県宇土半島沖では最高で2 cells mL<sup>-1</sup>であり、今回の*Chattonella* spp.赤潮発生に有明海からの移入の影響は小さかったと考え

られた (図 18, <http://akashiwo.jp/>)。

*Karenia mikimotoi* は 5 月 28 日～7 月 22 日まで検出され、最高細胞密度は  $34 \text{ cell mL}^{-1}$  (6 月 18 日 Stn. C, 表層) であった。ただし、別の赤潮調査結果によると、楠浦湾から御所浦島周辺海域で赤潮が観察され、最高で  $27,000 \text{ cells mL}^{-1}$  が記録された (6 月 18 日, 楠浦湾, 表層, <http://akashiwo.jp/>)。 *Cochlodinium polykrikoides* は 6 月 25 日に Stn. 6 で  $4 \text{ cells mL}^{-1}$ 、7 月 9 日に Stn. 2 で  $43 \text{ cells mL}^{-1}$  が検出された。別の赤潮調査結果によると、浅海湾で赤潮が観察され、最高細胞密度  $124 \text{ cells mL}^{-1}$  を記録した (6 月 29 日, 表層, <http://akashiwo.jp/>)。 *Heterocapsa circularisquama* は本調査では観察されなかった。 *Heterosigma akashiwo* は本調査では 5 月 8 日に Stn. 1 で、7 月 30 日に Stn. 2 で検出され、最高値は  $10 \text{ cells mL}^{-1}$  であった。別の赤潮調査結果によると、4 月 10 日から 5 月上旬まで八代市鏡町沖海域で赤潮が観察され、最高細胞密度は  $40,800 \text{ cells/mL}$  であった (4 月 10 日, 表層, <http://akashiwo.jp/>)。

#### B) 珪藻類の発生状況

珪藻類の細胞密度は調査期間中、最高で  $34,600 \text{ cells mL}^{-1}$  (7 月 16 日, Stn. 4, 表層), 6 月中旬と 7 月中旬に, Stn. 2, A, 4 で  $3,000 \text{ cells mL}^{-1}$  を超えた。ただし, Stn. 6, C における珪藻類の細胞密度は調査期間中一貫して  $1,000 \text{ cells mL}^{-1}$  未満であった。多くの場合, 優占種は *Skeletonema* spp. あるいは *Chaetoceros* spp. であった (図 19) が, 7 月中旬のブルームについては *Thalassiosira* spp. が優占していた。なお, *Chattonella* spp. が赤潮化した 8 月中旬以降は Stn. 2 以外の定点で, 低調であった。

#### ウ. *Chattonella* の発生要因

自動観測ブイ観測や高頻度モニタリング調査の結果から, 2019 年夏の *Chattonella* spp. 赤潮の発生および衰退過程は以下のように推察された。

- ・ 8 月中旬: 中部を中心に発達
- ・ 8 月下旬: 競合種 (珪藻類) 低調, 北部で栄養塩濃度の上昇, 低日照
- ・ 9 月上旬: 高密度域の拡大⇒栄養塩濃度の低下, 衰退
- ・ 9 月中旬: 北中部を中心に再び発達
- ・ 9 月下旬: 衰退

八代海では, *Chattonella* 赤潮の発達や衰退に栄養塩濃度が大きな影響を及ぼすことが知られている (紫加田ら 2011, 鬼塚ら 2011)。8 月中旬の時点で栄養塩濃度は低かったが, その後, 連日の降雨や強風による鉛直混合により上昇し, そのタイミングで *Chattonella* の細胞密度が上昇した。当時, 珪藻類は低調であり, 栄養塩競合種は不在であった。また, 曇天により日射量が低かったが, 限界深度 (紫加田ら 2010) を算出した結果, *Chattonella* が昼間分布していた表層～5 m 深には活発に増殖するために十分な量の光が透過していたことが分かった (図 20)。成層環境下で高密度化した *Chattonella* に栄養塩が消費され, 赤潮は衰退した。ほどなくして栄養塩濃度が回復すると, 再び *Chattonella* が増殖した。この時の栄養塩供給要因として, 死滅した *Chattonella* 細胞からの溶出や海面冷却による鉛直攪拌が考えられた。そ

の後、栄養塩が十分存在する環境下で赤潮は衰退した。衰退要因は不明だが、当時、海面冷却や台風の通過により、成層は崩壊していた。

過去において、八代海における *Chattonella* spp. の初期発生には有明海からの個体群の移入が関与する場合があった（北辻ら 2018）。しかしながら、今夏は海峡部調査結果を見る限り、該当しないと判断された。

本研究により、八代海における *Chattonella* の短期動態の見通しを立てる上で、八代海における栄養塩濃度の短期変動が重要な判断材料となることが改めて示された。しかしながら、八代海における *Chattonella* の衰退要因は栄養塩以外にも存在することが併せて示唆された。

### ③有害赤潮短期動態に深く関与する環境条件の絞り込み

#### ア. *S. marinoi-dohrnii* complex における栄養塩供給後の増殖応答

*S. marinoi-dohrnii* complex の細胞密度は完全培地で実験期間中増加し続けた（図 21）。N 無添加培地では培養開始 4 日後まで増加して、その後停滞したのに対し、P 無添加培地では培養開始 2 日後まで増加して、その後低下していった（図 21）。N および P 無添加培地における増殖速度は増殖が停止するまでは完全培地と同程度だった。いずれのタイミングで硝酸塩あるいはリン酸塩を添加した場合でも、*S. marinoi-dohrnii* complex は直ちに増殖を開始した。

以上の結果から、*S. marinoi-dohrnii* complex において、栄養塩欠乏は増殖を抑制する大きな要因であることが再確認された。一方で、*C. antiqua* や *K. mikimotoi* と比べて、*S. marinoi-dohrnii* complex は P 欠乏に弱く、欠乏状態が続くと急速に死滅すること、栄養欠乏期間に関わらず、栄養塩添加に即応して増殖を開始することが明らかとなった。

#### イ. 赤潮の発達および衰退に及ぼす栄養塩濃度の影響

赤島において *Chattonella* spp. の細胞密度は 8 月中旬と 9 月中旬にピークとなり、それぞれ直後に衰退した。調査期間中の最高細胞密度は  $164 \text{ cells mL}^{-1}$ （9 月 17 日、表層）であった（図 22）。赤島における DIN および DIP 濃度はそれぞれ  $0.9$ （9 月 6 日、5 m） $\sim 9.1 \mu\text{M}$ （8 月 26 日、5 m）および  $0.02$ （9 月 6 日、5 m） $\sim 0.5 \mu\text{M}$ （9 月 24 日、5 m）の範囲で推移した（図 23）。1 回目の *Chattonella* spp. 赤潮の発達時、DIN および DIP 濃度はともに調査期間中最大値を示したが、衰退直前には極めて低いレベルまで減少した。一方で、2 回目の *Chattonella* spp. 赤潮の発達前に DIP 濃度は明確に上昇した。衰退時、DIN および DIP 濃度はともに高レベルであった。

上述の高頻度赤潮モニタリングの結果から、4 定点における調査期間（8 月 20～29 日）は *Chattonella* spp. 赤潮発達時期に相当した。Stn. A、嵐口および幣串における最高細胞密度は 85（8 月 29 日、2 m 層）、106（8 月 27 日、表層）、135（8 月 27 日、表層）および  $324 \text{ cells mL}^{-1}$ （8 月 25 日、表層）であった（図 24）。ほとんどの調査日および定点において、*Chattonella* spp. は表層～5 m 層に多く分布していた。表層～5 m 層における DIN および DIP 濃度は、全ての定点において、8 月 28 日に上昇した（図 25）。また、楠浦を除く定点の表層では、8 月 25 日

に DIN および DIP 濃度が一時的に上昇した。Stn. A における多項目水質計による観測の結果、栄養塩濃度が上昇した 8 月 25 日、表層において水温、塩分、Sigma-T の低下が認められた (図 26)。このイベントは球磨川の河川流量の上昇タイミングとも一致していたことから (図 5)、出水によるものと考えられた。8 月 28 日の栄養塩上昇時、球磨川の流量が多かったこと (図 5)、強風が吹いていたこと (気象庁データ、八代、<http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/index.php>)、中層～海底付近の濁度が上昇していたこと (図 26) から、球磨川と海底由来の栄養塩が同時に上層に供給されたと考えられた。

以上の結果から、八代海において、栄養塩濃度の短期動態は *Chattonella* spp. の動態に先行または動態と同期することが改めて確認された。しかしながら、栄養塩濃度の低下が起こらなくても *Chattonella* spp. が衰退する場合があることも分かった。また、栄養塩の上昇および低下は極めて短期間内 (日単位以下) に起こり、特に、出水や強風などによる供給は一瞬にして起こり、そのシグナルは植物プランクトン (今回は *Chattonella*) の取り込みなどによりすぐに消滅することが改めて確認された。

#### ウ. 八代海におけるシャットネラ赤潮の中長期動態予測技術の開発

図 27 によると、2 月から 4 月の平均気温が高く梅雨入りが遅いほど *Chattonella* 赤潮が発生しやすく、平均気温が低く梅雨入りが早いほど発生しにくい傾向が認められる。2019 年は 2 月から 4 月の平均気温が 12.0℃、梅雨入り日が 5 月 31 日 (速報値および確定値) であり、図 27 にプロットすると発生確率は「高め」と判定された。実際には、最高細胞密度 100 cells mL<sup>-1</sup>、継続日数 10 日間、最大面積 100 km<sup>2</sup> を超える大規模発生年であった。

図 28 によると、判別得点が高い年は赤潮発生日が早く、判別得点が低い年は赤潮発生日が遅い傾向が認められる。2019 年の判別得点は 1.10 だったため、回帰直線から推定された赤潮発生日は 8 月 2 日で、散布図の点のばらつきを表す平均絶対誤差 10.3 日を考慮すると 7 月下旬から 8 月中旬の範囲となった。実際には、熊本県で 8 月 19 日に鹿児島県で 8 月 21 日に警報が発令された。

#### ④生理活性マーカー等を用いた短期動態予測手法の開発

##### ア. 細胞形態、クロロフィル含量、色素組成

##### A) 室内実験結果

*C. antiqua* は N および P 無添加培地において、それぞれ培養開始 7 日後および 5 日後にほぼ増殖しなくなり、細胞密度が減少に転じた。完全培地では、実験期間中、増殖速度を徐々に落としながらも増殖し続けた (図 29)。細胞長および細胞幅は、N 無添加培地で 56~64 μm および 25~33 μm、P 無添加培地で 47~64 μm および 28~35 μm、完全培地では 56~63 μm および 24~35 μm の範囲で推移した (図 29)。細胞長は、N 無添加培地および完全培地において、培養開始 7 日後まで減少し、それ以降上昇したのに対し、P 無添加培地では培養開始 9 日後まで減少して 11 日後に上昇に転じた。細胞長の減少速度は P 無添加培地で明確に高かつ

た。細胞幅は、N 無添加培地および完全培地において、実験期間中一途に減少したのに対し、P 無添加培地では培養開始 9 日後まで減少して 11 日後に上昇に転じた。細胞幅の減少速度は P 欠で明確に低かった。長幅比（細胞長／細胞幅）は、N 無添加培地、P 無添加培地および完全培地において、それぞれ 1.9～2.4、1.6～1.8 および 1.7～2.4 の範囲で推移した。実験期間中、長幅比は N 無添加培地および完全培地において一途に上昇したのに対し、P 無添加培地ではほとんど変化しなかった。N および P 欠乏培地で増殖が停止した 7 日後のデータで比較すると、長幅比は明確に P 無添加培地で低かった（図 29）。以上の結果より、栄養条件に関わらず、増殖に伴い細胞サイズは減少し、しばらくすると回復するが、N 欠乏状態や栄養塩充足状態と比べると、P 欠乏状態に陥った直後は細胞長が小さく、細胞幅が大きく、長幅比が小さくなることが明らかとなった。

細胞サイズ計測時、並行して細胞形態の観察を行った。その結果、N 無添加培地では核が鮮明に見える細胞および細胞尾部が細くなっている細胞が、P 無添加培地では中央部がくぼんだように見える細胞が特異的に認められた（図 30）。N 無添加培地では核が鮮明に見える細胞および中央部がくぼんだように見える細胞は、培養開始 3 日目から観察され始め、優占率は 5 日後にピークとなり、その後減少していった（図 31）。本実験で見出された形態的特徴は、栄養欠乏状態の指標になると考えられた。

実験期間中、*in vivo* クロロフィル蛍光値は、異なる培地間において同程度で推移した（図 32）。また、培養開始 7 日後の細胞内クロロフィル a 含量は、他の培地と比べて N 無添加培地で低かったが、有意差は認められなかった（図 33）。一方で、Violaxanthin (Vio) および Zeaxanthin (Zea) は培地間で差が認められた（図 34）。Violaxanthin と Zeaxanthin の比（Vio/Zea）は、完全培地（9.5）と比して、N 無添加培地で低く、P 無添加培地で高かった（図 35）。この結果から、Vio/Zea は栄養欠乏状態の指標になると考えられた。

#### B) 現場個体群の形態変化、クロロフィル a 含量、色素組成

高頻度モニタリング調査の結果より、調査を行った 8 月 22～29 日は 1 回目の赤潮発達期、9 月 3 日は 1 回目の赤潮衰退直前、9 月 18～20 日は 2 回目の赤潮衰退期と判断された。調査期間中、Stn. A における *Chattonella* spp. の細胞長の全定点平均値は 59～85  $\mu\text{m}$ 、細胞幅は 27～33  $\mu\text{m}$ 、長幅比は 2.1～2.8 の範囲で推移した（図 36）。それ以外の時期と比べて、1 回目の発達期において細胞長はおよび長幅比は高かった。1 回目の発達期における長幅比は調査開始日から次第に上昇していき、栄養塩供給が認められた 8 月 25 日にピークに達し、その後高い値を維持した。以上の結果より、細胞サイズ、特に長幅比は赤潮の動態に先行するあるいは同期して動き、発達フェイズを表す指標となる可能性が示唆された。ただし、栄養塩濃度が高かった 2 回目の赤潮衰退期においても長幅比は低かった。現場において細胞サイズに影響を及ぼす環境条件は栄養塩以外にも存在すると考えられた。

室内の N 無添加培地で見出された核が鮮明に見える細胞は現場個体群中でも観察された（図 37）。核が鮮明に見える細胞は 1 回目の発達期にはほとんど認められなかったが、それ

以外の時期において、サンプルごとに優占率が大きく違っていたが、頻繁に認められた。この結果から、細胞の形態から発達フェイズを推測できる可能性が示唆された。ただし、客観的な観察手法を確立することが今後の課題である。

Vio/Zea は 1 回目の発達期で高く、2 回目の衰退期で低い傾向にあった (図 38)。また、1 回目の発達期において、Vio/Zea が顕著に高いサンプルがあったが、それらは全て高密度の *Chattonella* spp. を含む赤潮海水であった。室内実験結果を踏まえると、細胞密度が高い分、栄養塩を多く消耗して P 欠乏に陥っていた結果、Vio/Zea が高かった可能性がある。本分析結果から、Vio/Zea は赤潮の発達フェイズを表す指標となり得ると考えられた。しかし、今回、海水試料では *Chattonella* spp. が優占していたとはいえ、他の植物プランクトンが含まれていたことは確かであり、今後その影響を慎重に検証しなければならない。

#### イ. 増殖活性の指標となる光合成関連タンパク質の探索

D1 のバンドは約 30 kDa の位置に検出され、推定分子量とほぼ一致していた。完全培地では、D1 の発現量は 4 日目まで高く維持されていたが、6 日目にわずかに減少した (図 39)。P 無添加培地では、D1 の発現量は 6 日間高く維持したのに対し、N 無添加培地では 2 日目から徐々に減少した (図 39)。Rubisco のバンドは約 55 kDa の位置に検出され、推定分子量とほぼ一致していた。完全培地では、Rubisco の発現量は日数とともに徐々に増加し、培養 6 日目の発現量は 2 日目の発現量の約 2 倍だった (図 40)。一方、P 無添加培地では、培養 2 日目の Rubisco の発現量は完全培地の 2 日目の発現量より 2 倍多く、さらに発現量は 6 日目まで増加し続けた。N 無添加培地では、4 日後に培養前の半分量にまで減少した (図 40)。FCP のバンドは約 17 kDa の位置に検出され、推定分子量とほぼ一致していた。FCP の発現量は、完全培地と P 無添加培地で培養 4 日目に増加して、培養 6 日目まで高いレベルを維持した (図 41)。一方、N 無添加培地では培養 2 日目から徐々に減少した (図 41)。以上の結果から、*C. antiqua* は N 欠乏状態に陥ると光合成タンパク質の量が減少し、P 欠乏では Rubisco と FCP の発現量が増加することがわかった。特に Rubisco の発現量は、栄養欠乏によって影響されることが明らかとなった。すなわち、Rubisco の発現量と増殖は、N 欠乏では正に相関し、P 欠乏では負に相関することが示唆された。これまでの研究から、栄養欠乏によって *C. antiqua* の増殖が抑制することがわかっている。したがって、光合成タンパク質の発現量が *C. antiqua* の栄養状態の指標となる可能性が示唆された。

## 2) 鹿児島湾における有害赤潮等発生監視と発生機構の解明

### ① 漁場環境調査

#### ア. 気象

図 42 に溝辺アメダスの降水量、図 43 に牧之原アメダスの日照時間を、表 1 に九州南部地域における気温、日照時間および降水量の旬別階級区分を示す。降水量は 2 月上旬～3 月上旬において概ね平年より多く、3 月中旬～6 月中旬においては概ね平年より少なかった。6 月下旬～

7月中旬については7月上旬に平年の4倍以上の降水量が観測されたこともあって平年より多く、7月下旬以降は概ね平年並みか平年より少なかった。日照時間は2月上旬～3月上旬で概ね平年より少なく、3月中旬～4月中旬においては平年より多く、8月中旬～9月上旬においては平年より少なかった。旬別階級区分によると、平均気温は、1月上旬～3月下旬においては「平年並～かなり高い」、4月上旬～8月下旬は「低い」～「かなり高い」、9月上旬～11月下旬は「平年並～かなり高い」で推移した。

#### イ. 環境

観測期間中の鹿児島湾央における環境観測結果および栄養塩分析結果を図44に、湾奥の結果を図45に示す。湾央において、水温は表層および10 m層でそれぞれ17.3～27.4℃および17.2～26.6℃の範囲で推移し、概ね平年並みであったが、7月下旬から9月は平年よりやや低めであった。塩分は、表層および10 m層でそれぞれ26.6～34.3 および31.9～34.3 の範囲で推移し、梅雨時期の少雨の影響で6月下旬まで平年より高めで推移したが、7月上旬の豪雨により大きく低下した。透明度は、3.0～14.3 mの範囲で推移し、4月上旬から6月下旬までは平年より高めであったが、7月上旬の豪雨以降は8月まで平年より低めであった。溶存酸素濃度は、表層および10 m層でそれぞれ6.2～8.5 mg L<sup>-1</sup> および5.9～8.4 mg L<sup>-1</sup> の範囲で推移し、全調査期間を通して平年と同程度であった。DIN濃度は、表層および10 m層でそれぞれ0.1～5.1 μM および0.2～2.0 μM の範囲で推移し、4月下旬および6月上旬を除き、概ね平年より低めであった。DIP濃度は、表層および10 m層でそれぞれND (<0.01 μM) ～0.18 μM およびND～0.19 μM の範囲で推移し、5月下旬および7月上旬を除き、平年並みか低めであった。SiO<sub>2</sub>は、表層および10 m層でそれぞれ1.2～28.9 μM および0.6～12.8 μM の範囲で推移し、特に6月下旬～7月下旬は平年より低めであった。クロロフィル濃度は、表層および10 m層でそれぞれ1.3～7.9 μg L<sup>-1</sup> および0.9～6.0 μg L<sup>-1</sup> の範囲で推移し、特に7月上旬から8月まで平年より高めであった。

湾奥において、水温は表層および10 m層でそれぞれ16.6～27.5℃および16.5～26.1℃の範囲で推移し、概ね平年並みであったが、7月下旬から9月は平年よりやや低めであった。塩分は、表層および10 m層でそれぞれ22.5～33.6 および29.7～33.9 の範囲で推移し、梅雨時期の少雨の影響で6月下旬まで平年より高めで推移したが、7月上旬の豪雨により大きく低下した。透明度は、2.1～9.3 mの範囲で推移し、7月上旬の豪雨以降は8月まで平年より低めであった。溶存酸素濃度は、表層および10 m層でそれぞれ6.4～9.2 mg L<sup>-1</sup> および5.1～8.7 mg L<sup>-1</sup> の範囲で推移し、全調査期間を通して平年と同程度であった。DIN濃度は、表層および10 m層でそれぞれ0.2～1.6 μM および0.2～1.9 μM の範囲で推移し、4月下旬から7月上旬にかけて平年より低めであった。DIP濃度は、表層および10 m層でそれぞれ0.01～0.24 μM および0.02～0.25 μM の範囲で推移し、4月上旬および7月は平年より高めであった。SiO<sub>2</sub>は、表層および10 m層でそれぞれ6.0～70.7 μM および1.4～34.8 μM の範囲で推移し、特に6月下旬～7月上旬は平年より低めであった。クロロフィルa濃度は、表層および10 m層でそれぞれ

1.2~10.5  $\mu\text{g L}^{-1}$  および 1.5~5.3  $\mu\text{g L}^{-1}$  の範囲で推移し、特に 7 月上旬~8 月は平年より高めであった。

また、代表点 Stn.11 における多項目水質計による各測定項目の 4~11 月のイソプレットを図 46 に示す。水温および塩分に注目すると、特に 7 月上旬~8 月に成層が形成されていた。9 月以降は徐々に成層が崩れ、12 月には表層から底層までほぼ一様な水塊となった。さらに、栄養塩 (DIN, DIP) に注目すると、4 月上旬~11 月の期間は表層~10 m 層まで概ね貧栄養状態であった。

#### ウ. 植物プランクトン

##### A) 有害赤潮プランクトンの発生状況

Stn.②, ⑧, ⑪における *Chattonella marina*, *Chattonella ovata* および *Heterosigma akashiwo* の細胞密度の推移を図 47 に示す。*C. marina* は 9 月中旬までは Stn.⑧の 10 m 層で 6 月下旬に、Stn.⑪の 10 m 層で 7 月中旬に各 1 cell  $\text{mL}^{-1}$  確認されたのみであったが、10 月中旬に Stn.⑪の表層で 16 cells  $\text{mL}^{-1}$ , St.⑪の 10m 層で 12 cells  $\text{mL}^{-1}$  確認された。全定点での最高細胞密度は 16 cells  $\text{mL}^{-1}$  (10 月中旬, Stn.⑪) であった。*C. ovata* は 9 月の下旬までは確認されなかったが、10 月の中旬に Stn.⑧の 10m 層で 7 cells  $\text{mL}^{-1}$ , Stn.⑪の表層で 3 cells  $\text{mL}^{-1}$  確認された。全定点での最高細胞密度は 7 cells  $\text{mL}^{-1}$  (10 月中旬, Stn.⑦, ⑧) であった。牛根漁協の調査結果によると、*C. marina* と *C. ovata* の合計細胞密度は 10 月 14 日に Stn.⑪近くの定点で最高 22 cells  $\text{mL}^{-1}$  まで増加し、10 月 21 日には湾奥部東部で確認されなくなった。*H. akashiwo* は 2019 年 2 月 27 日から 4 月 3 日に赤潮が発生し、終息日となった 4 月 3 日においても Stn.②の 10 m 層で 25 cells  $\text{mL}^{-1}$  確認されたが、その後は、5 月下旬に Stn.⑪の表層で 10 cells  $\text{mL}^{-1}$ , Stn.⑧の表層で 5 cells  $\text{mL}^{-1}$  確認されたのみであった。全定点での最高細胞密度は 35 cells  $\text{mL}^{-1}$  (4 月上旬, Stn.④) であった。

##### B) プランクトン種組成

プランクトン種組成を図 48~53 に示す。Stn.②表層の珪藻類は 6 月上旬, 7 月中旬~下旬, 10 月中旬で多く観察され、最高細胞密度は 7 月中旬の 3,063 cells  $\text{mL}^{-1}$  で主に *Chaetoceros* spp. が優占していた。湾奥部の Stn.⑧, ⑪の表層において、4 月下旬, 7 月中旬~下旬に珪藻類が多く観察され、最高細胞密度は Stn.⑧の 7,217 cells  $\text{mL}^{-1}$  で、*Skeletonema* spp. および *Chaetoceros* spp. が優占していた。*C. marina* 赤潮が発生しやすい時期である 5~6 月は概ね珪藻類が少なかった。Stn.②, ⑧, ⑪における鞭毛藻類の最高細胞密度は、それぞれ 85 cells  $\text{mL}^{-1}$ , 45 cells  $\text{mL}^{-1}$ , 56 cells  $\text{mL}^{-1}$  で主に *Ceratium* spp., *Dyctyocha* spp., *Prorocentrum* spp. が優占していた。

Stn.②, ⑧, ⑪の 10 m 層の珪藻類は表層と比較して少なく、最高細胞密度は 1,932 cells  $\text{mL}^{-1}$  (Stn.⑪, 4 月下旬) で *Skeletonema* spp. が優占しており、他の時期は主に *Chaetoceros* spp. が優占していた。また、表層と同様、湾奥部の 5~6 月の珪藻類は少なかった。鞭毛藻類の最高細胞密度は 126 cells  $\text{mL}^{-1}$  (Stn.⑪, 4 月下旬) で *Dyctyocha* spp. が優占していた。他の時期は 3

定点とも 100 cells mL<sup>-1</sup>未満で推移し、*H. akashiwo*, *Ceratium* spp., *Dyctyocha* spp., *Prorocentrum* spp.が優占していた。

#### C) 濃縮検鏡による有害種の検出

濃縮検鏡を行って低密度の *Chattonella* spp.の検出を試みた結果を図 54 に示す。*Chattonella* spp.は 3 月 12 日に初認 (Stn.③, 0.00025 cells mL<sup>-1</sup>) された。*Chattonella* spp.赤潮が発生しやすい 5～6 月において、*Chattonella* spp.は Stn.③, ⑪とも低密度で推移し (Stn.③:0.002～0.5 cells mL<sup>-1</sup>, Stn.⑪:0～0.002 cells mL<sup>-1</sup>), 10 月中旬に最高細胞密度となった (Stn.③:0.144 cells mL<sup>-1</sup>, Stn.⑪:17.042 cells mL<sup>-1</sup>)。湾奥部の Stn.③では、Stn.⑪で *Chattonella* spp.が検出されなかった 5 月中旬～下旬, 9 月下旬にも検出され、湾奥部の Stn.⑪よりも多くの時期で確認されたが、最高細胞密度は湾奥部の Stn.⑪の方が高かった。12 月, 1 月は 20,000 倍まで濃縮したが、細胞は確認されなかった。

#### D) LAMP 法による有害種の検出

2019 年 4 月 14 日に実施した LAMP 法の結果を図 55 に示す。西側の Stn.① (表層及び 5m 層), ② (5m 層), ④ (5m 層), ⑥ (表層), ⑦ (表層) で陽性反応がみられた。

### ②有害赤潮プランクトンの発生・非発生要因

#### ア. *H. akashiwo* 赤潮の水平分布の経時変化

県事業のデータ等を追加して作成した *H. akashiwo* 赤潮の発生状況を図 56 に、*H. akashiwo* 赤潮の最高細胞密度の推移を図 57 に示す。2019 年 2 月 26 日に実施された地元漁協の調査結果によると、桜島西側で 100 cells mL<sup>-1</sup>が確認された。翌 27 日の調査において、Stn.⑥で最高 7,775 cells mL<sup>-1</sup>を記録したほか、湾奥部東部を含む複数の地点で 1000 cells mL<sup>-1</sup>以上を確認した。28 日には牛根辺田地先で 12,916 cells mL<sup>-1</sup>, 29 日には Stn.⑪及び牛根境地先でそれぞれ 14,900 cells mL<sup>-1</sup>を確認した。3 月 2 日は 10,000 cells mL<sup>-1</sup>以上は確認されなかったものの、3 月 4 日は始良市白浜地先で 51,666 cells mL<sup>-1</sup>, 牛根境で 22,500 cells mL<sup>-1</sup>確認され、本赤潮のピークとなった。その後、10,000 cells mL<sup>-1</sup>以上が確認されたのは 3 月 8 日 (Stn.⑧, 12,400 cells mL<sup>-1</sup>)のみであったが、3 月 12 日～29 日にかけて 1,000 cells mL<sup>-1</sup>以上 (1,000～7,000 cells mL<sup>-1</sup>) の赤潮が継続した。4 月 3 日には最高細胞密度が 35 cells mL<sup>-1</sup> (Stn. ④) まで減少し、36 日間に及んだ赤潮は終息と判断した。

#### イ. 2018 年の *Heterosigma akashiwo* 赤潮の発生・衰退要因

図 58 に降水量および日照時間の推移を示す。降水量については、2 月中旬～下旬は平年並みであったが、3 月上旬に平年を大きく上回る降水量が観測された。3 月中旬から赤潮が終息する 4 月上旬までは平年より降水量が少なかった。日照時間は 2 月下旬～3 月上旬に平年より少なかったが、3 月中旬～4 月中旬においては平年より多かった。

図 59 に水温、塩分、DIN および DIP 濃度の推移について示す。赤潮発生期間の水温は 2 月上旬以降、表層では 15.6～17.0℃, 10 m 層では 15.9～16.8℃と *H. akashiwo* の増殖至適水温

15~25°C (Shikata 2009) の範囲内であった。塩分は2月上旬以降、表層は33.1~34.1, 10 m層は33.6~34.4で推移した。DIN濃度は、赤潮発生時の2月27日において、表層, 10m層とも、1,000 cells mL<sup>-1</sup>の個体群が維持されるために最低限必要となるN濃度1.7 μM (紫加田・本城 2016, 以降基準値) を大きく上回っていた。その後、表層は3月4日まで概ね基準値未満となったが、3月5日に上昇して15日までは基準値以上、20日以降は基準値未満となった。10 m層は15日まで基準値以上で、20日以降は概ね基準値未満となった。DIP濃度はDINと同様、赤潮発生時は1,000 cells mL<sup>-1</sup>の個体群が維持されるために最低限必要となるP濃度1.0 μM (紫加田・本城 2016, 以降基準値) 大きく上回っており、3月22日までは基準値以上だったが、衰退直前の3月26日には大きく低下した。競合種の珪藻は赤潮発生直前の2月5日において少なく (最高細胞密度: 12 cells mL<sup>-1</sup>), 赤潮発生期間中も低密度で推移した (最高細胞密度: 33 cells mL<sup>-1</sup>, 3月12日, Stn.⑩)。

以上のことから、*H. akashiwo* 発生期間中の水温、塩分は至適レベルであり、競合種である珪藻類が少なく、赤潮発生時には栄養塩が豊富に存在していたことが発生要因として考えられた。また、赤潮のピークであった3月4日 (51,666 cells mL<sup>-1</sup>, 始良市白浜沖) 以降は、3月8日を最後に10,000 cells mL<sup>-1</sup>以上の*H. akashiwo*は確認されなくなった。その後、3月10日~21日にかけて20 mm/日以上降水量が3回 (10日: 54mm/日, 19日: 20mm/日, 21日: 36mm/日) 観測され、栄養塩が供給された。それにより、3月29日まで1,000 cells mL<sup>-1</sup>以上の細胞密度が維持され、赤潮が長期化したと考えられた。しかし、3月29日以降はDINが枯渇状態となり、赤潮は衰退したと推察された。

#### ウ. 2019年の*Chattonella marina* 赤潮の発生・非発生要因

2019年、*Chattonella* spp.は例年の発生時期である5~6月に発生しなかったが、10月中旬に湾奥部東部で比較的高密度 (最高22 cells mL<sup>-1</sup>) で検出された (図47)。5~6月の日照時間について、平年値との差は旬ごとに变化したが、積算値は平年よりやや少なかった (図43)。また、同時期において、競合種である珪藻類は11~575 cells mL<sup>-1</sup>と少なかった (図48, 49)。5~6月の湾奥部の水温は、表層および10 m層においてそれぞれ19.6~24.5°Cおよび20.1~22.9°Cで、概ね、過去のデータから鹿児島県で考えられている現場における増殖好適水温範囲内 (23~26°C) にあった。塩分は表層および10 m層でそれぞれ32.8~33.2および33.5~33.7で、鹿児島県で考えられている現場における好適塩分範囲 (30以下, 西広海ら 2009) より高かった。栄養塩濃度は5~7月にかけて低濃度で推移し (図45)、概ね、*C. antiqua* の半飽和定数 (硝酸塩で1.0 μM, リン酸塩で0.11 μM, Nakamura et al. 1988) 以下であった。

以上のことより、5~6月は競合種である珪藻類は少なく、水温は概ね好適範囲内だったものの、塩分が高く、栄養塩が少なかったことにより、通常の発生時期である5~6月に*C. marina* 赤潮が発生しなかったと考えられた。

一方で、細胞密度の増加がみられた10月中旬の水温は表層および10 mともに25.6°C、塩分は表層で31.6, 10 m層で32.2であった。競合種である珪藻類はやや少ない~多い状況だった。

た。栄養塩は概ね少ない状況だった。水温は8月下旬をピーク(表層:27.5℃, 10 m 層:26.0℃)に下がり始め, 10月中旬に適水温となり, 珪藻類はやや少ない~多い状況で, 湾奥部の東側で増殖したが, 塩分は好適範囲より高く, 栄養塩が概ね少なかったことから, 高密度化せず, 局所的な増殖となったと考えられた。

### ③既存データ等を用いた解析

*C. marina* の検定において, 前年の7月から当年の6月までで, 有意差があったのは, パターン1では12要素(図60), パターン2では11要素だった。パターン2で有意差があった11要素は全てパターン1と共通していた。5月の透明度についてはパターン2では有意差がなかったが, パターン1では有意差があった。

有意差があった要素のうち, 5, 6月に関する要素については赤潮の発生時期であり, 赤潮発生の予察に使用できないため, それを除いた要素の中から線形判別分析及び非線形判別分析を行った。その結果, 9月の底層水温と12月の日照量の組み合わせが正判別率100%と最も高かった(図61)。しかし, Leave-one-out cross validationにより妥当性を検証したところ, 予測精度は69%となり, 赤潮発生予察に使用するには精度が低いと考えられた。これについては, サンプル数が追加されることで, 予測精度が改善されるか, 今後も検証していきたいと考えている。

*H. akashiwo* の赤潮発生-非発生間で統計的に有意な差が認められたのは, 3月の透明度のみであった。3月は*H. akashiwo* による赤潮の発生時期となっており, 赤潮発生予察に使用することはできないことから, 今後もデータを取得し, サンプル数を増やしていくことが必要である。

### 謝辞

赤島における赤潮および栄養塩濃度の短期動態調査にご協力を頂いた天草市水産研究センターに心より御礼申し上げます。

### 引用文献

Chang FH, Gall M. Pigment compositions and toxic effects of three harmful *Karenia* species, *Karenia concordia*, *Karenia brevisulcata* and *Karenia mikimotoi* (Gymnodiniales, Dinophyceae), on rotifers and brine shrimps. Harmful algae 2013; 27: 113–120.

Holm-Hansen O, Lorenzen CJ, Holmes RW, Strickland JD. Fluorometric determination of chlorophyll. ICES J. Mar. Sci. 1965; 30: 3–15.

北辻さほ, 紫加田知幸, 鬼塚剛, 青木一弘. 八代海における赤潮発生メカニズムの解析. 平成29年度漁場環境・生物多様性保全総合対策委託事業赤潮・貧酸素水塊対策推進事業「九州海域での有害赤潮・貧酸素水塊発生機構解明と予察・被害防止等技術開発」

- 報告書. 九州海域赤潮・貧酸素共同研究機関, 東京. 2018; 32-41.
- Nakamura Y, Takashima J, Watanabe M. Chemical environment for red tides due to *Chattonella antiqua* in the Seto Inland Sea, Japan Part 1. Growth bioassay of the seawater and dependence of growth rate on nutrient concentrations. J. Oceanogr. Soc. Jpn. 1988; 44: 113-124.
- 西広海, 田原義雄. 赤潮総合対策調査事業－Ⅱ (有害赤潮発生に関する生態学的研究). 平成 21 年度鹿水技セ事報. 2010 ; 103-106.
- Onitsuka G, Aoki K, Shimizu M. Meteorological conditions preceding *Chattonella* bloom events in the Yatsushiro Sea, Japan, and possible links with the East Asian monsoon. Fish. Sci. 2015; 81: 123-130.
- Shikata T. Studies on the mechanisms of bloom development in the raphidophyte *Heterosigma akashiwo*. PhD thesis, Kyushu University, Fukuoka. 2009.
- 紫加田知幸, 櫻田清成, 城本祐助, 生地暢, 吉田誠, 大和田絃一. 八代海における植物プランクトンの増殖に与える水温, 塩分および光強度の影響. 日本水産学会誌. 2010; 76: 34-45.
- 紫加田知幸, 櫻田清成, 城本祐助, 小山長久, 生地暢, 吉田誠, 大和田絃一. 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. 日本水産学会誌. 2011; 77: 40-52.
- 紫加田知幸, 本城凡夫. 赤潮ラフィド藻 *Heterosigma akashiwo* の生理生態. 「有害有毒プランクトンの科学」(今井一郎, 山口峰生, 松岡数充編) 恒星社厚生閣, 東京. 2016; 232-240.
- 紫加田知幸, 北辻さほ, 鬼塚剛, 中野善, 岡村和磨, 向井宏比古, 松谷久雄, 山下博和, 高杉朋孝, 宮田翔也, 森島義明, 西広海, 石田幸生, 古川新平, 浦啓介, 上野翼, 西山佳孝. 有害赤潮プランクトンの出現動態監視および予察技術開発⑥イ. 八代海・鹿児島湾海域. 平成 30 年度漁場環境改善推進事業「赤潮被害防止対策技術の開発」報告書. 赤潮共同研究機関, 東京. 2019; 179-224.
- 植松光夫, 南川雅男, 有田英之, 角皆静男. 海水中の懸濁粒子量の測定法. 北海道大学水産学部研究彙報 1978 ; 29: 164-172.
- 鬼塚剛, 青木一弘, 清水学, 松山幸彦, 木元克則, 松尾斉, 末代勇樹, 西広海, 田原義雄, 櫻田清成. (2011). 2010 年夏季に八代海で発生した *Chattonella antiqua* 赤潮の短期動態: 南部海域における出現特性. 水産海洋研究. 2011; 75: 143-153.

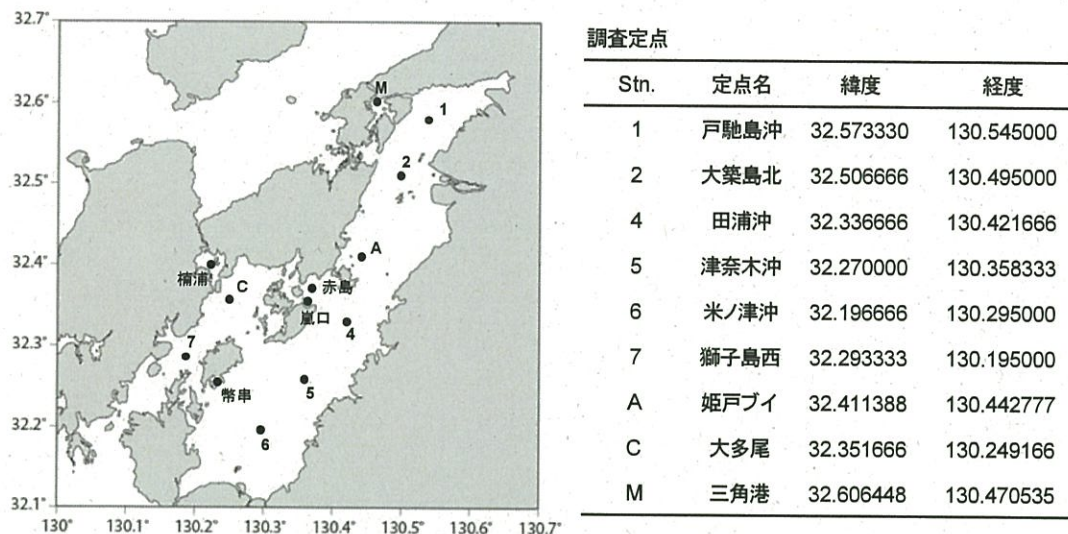


図 1. 調査定点.

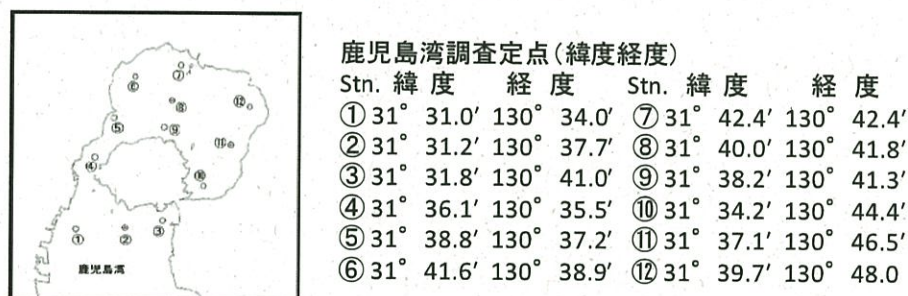


図 2. 鹿児島湾における調査定点.

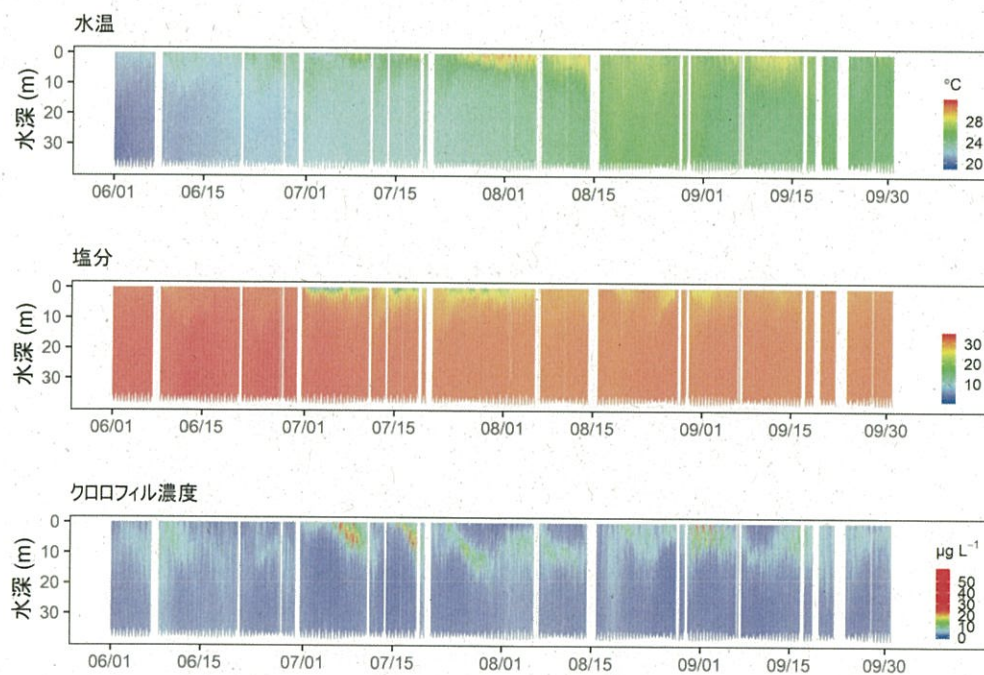


図 3. 大型観測ブイ (Stn. A) における水温, 塩分, クロロフィル濃度の鉛直プロファイルの経時変化.

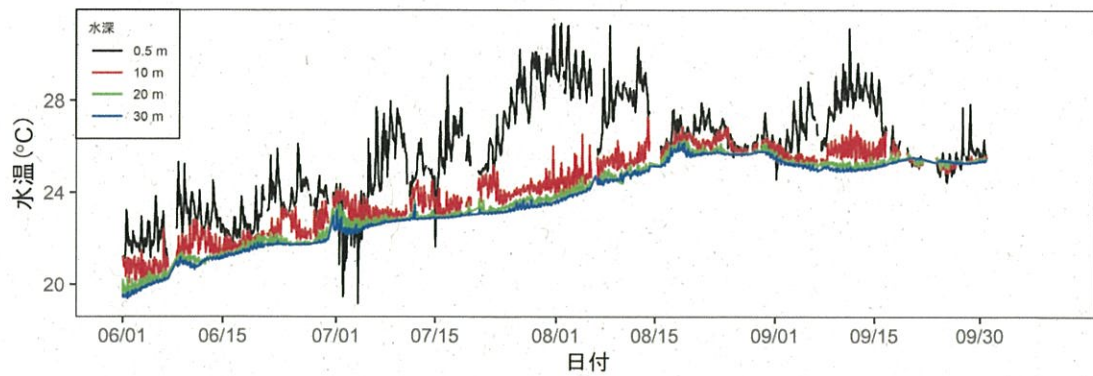


図 4. 大型観測ブイ (Stn. A) の各深度層における水温の経時変化.

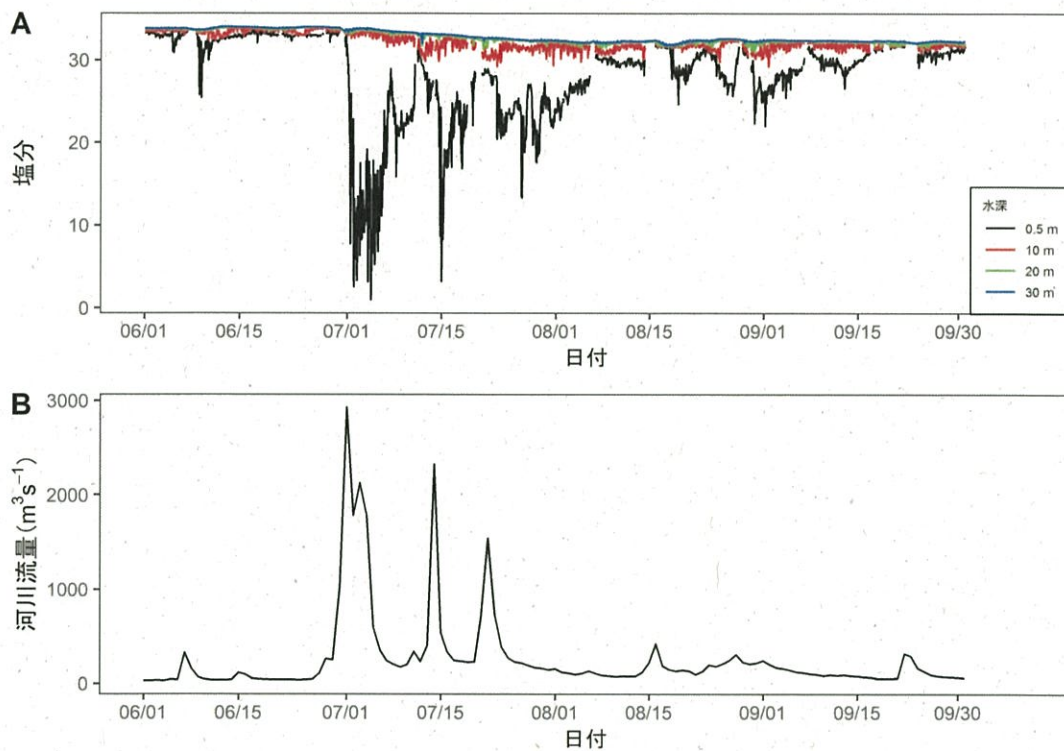


図 5. 大型観測ブイ (Stn. A) の各深度層における塩分および球磨川河口 (横石) における水位の経時変化.

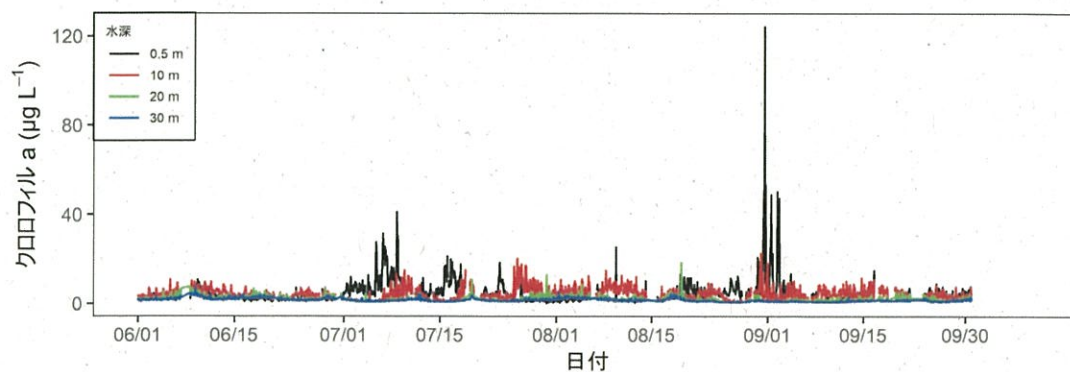


図 6. 大型観測ブイ (Stn. A) の各深度層におけるクロロフィル濃度の経時変化.

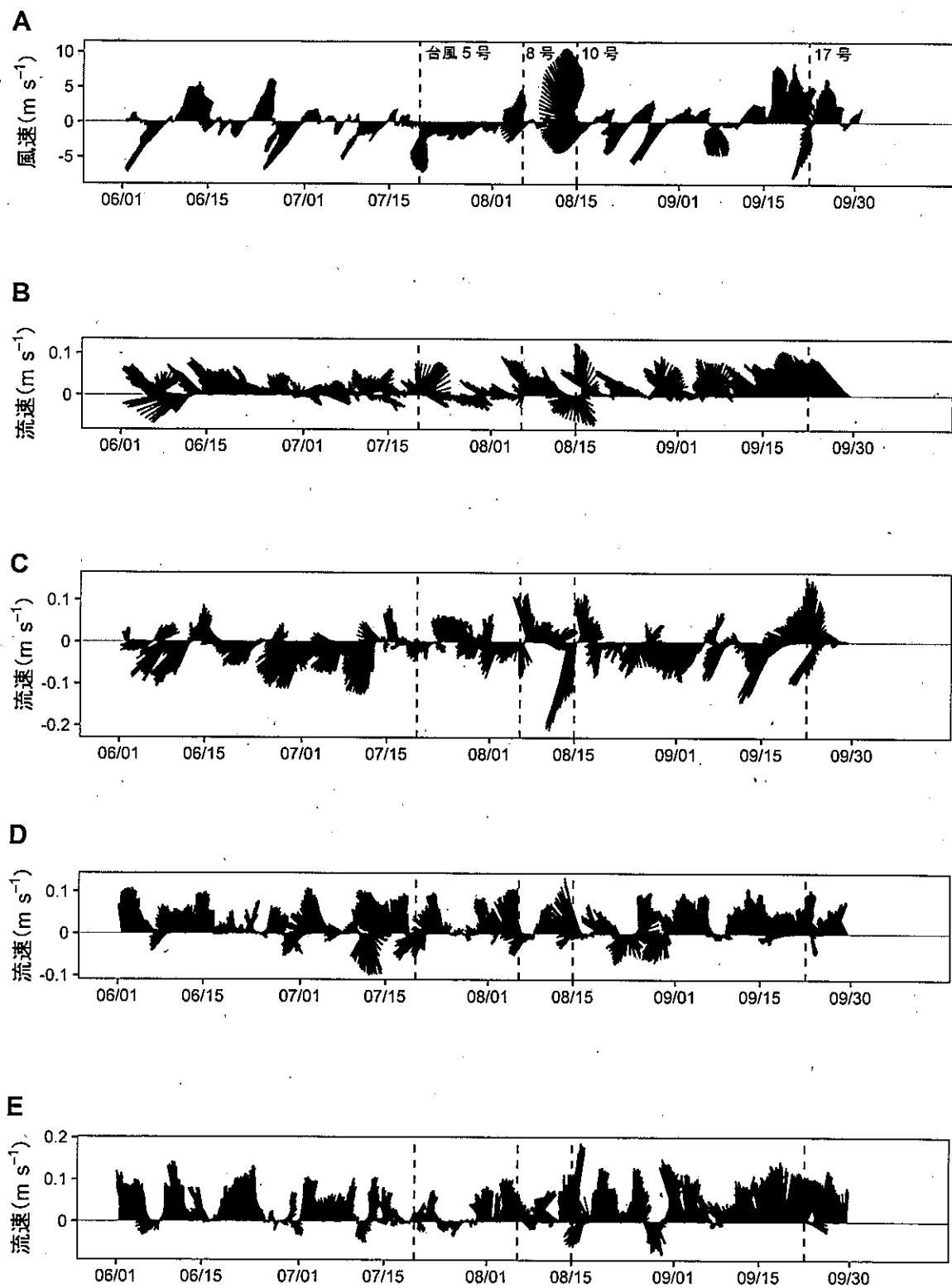


図 7. 大型観測ブイ (Stn. A) における風向風速および流向流速の経時変化.

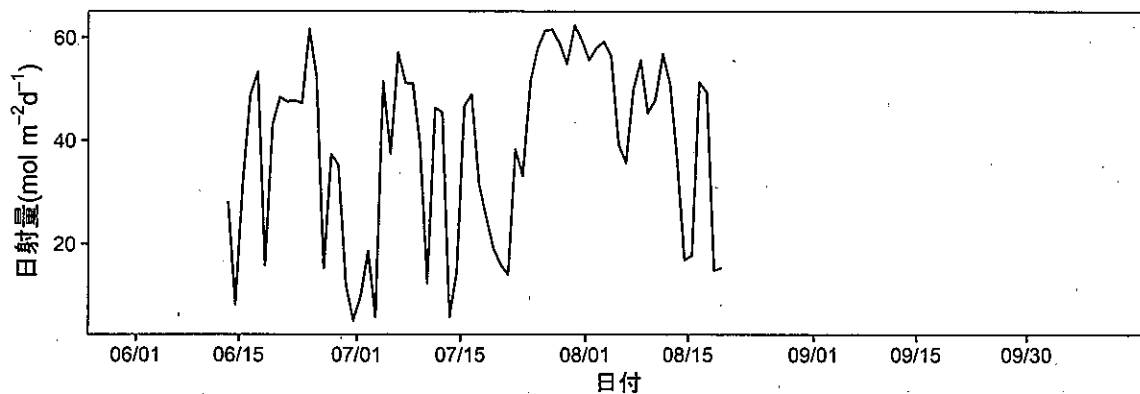


図 8. 大型観測ブイ (Stn. A) における日射量の日積算値の経時変化.

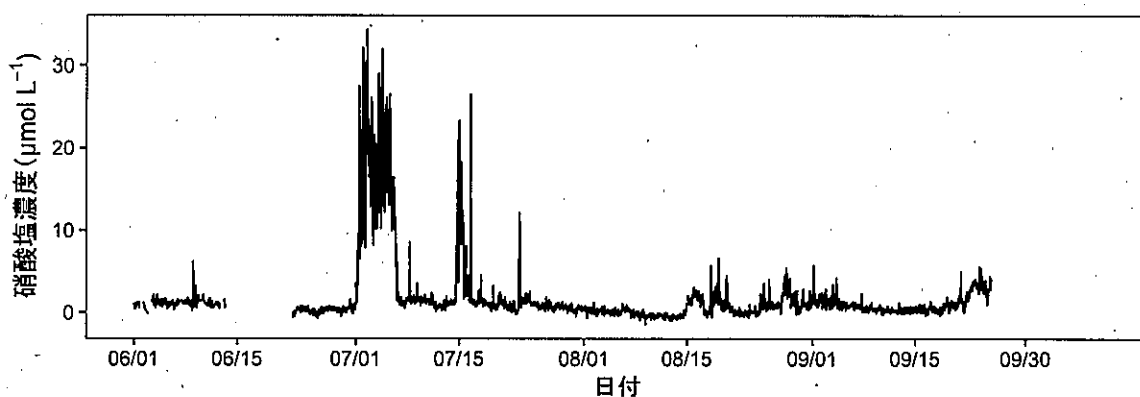


図 9. 大型観測ブイ (Stn. A) における硝酸塩センサーによって計測した硝酸塩濃度および球磨川河口 (横石) における水位の経時変化.

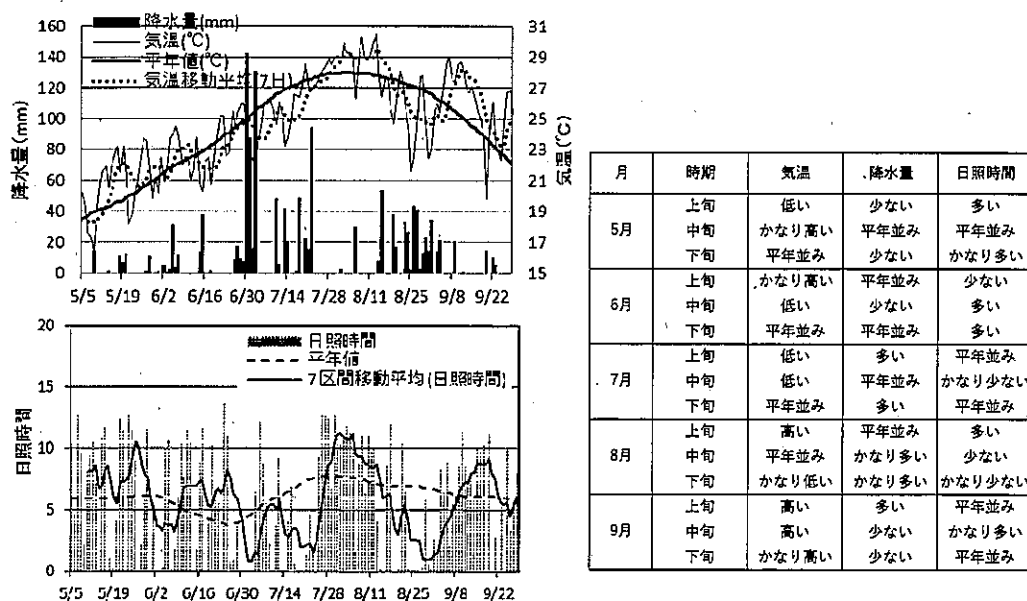


図 10. 八代市における気象条件の経日変化.