

表3 マグネシウム製剤溶解後の経過時間と *Karenia mikimotoi* 殺滅率の関係

溶解後時間	0 分	15 分	30 分	60 分	240 分
殺滅率 (%)	100	100	100	100	100

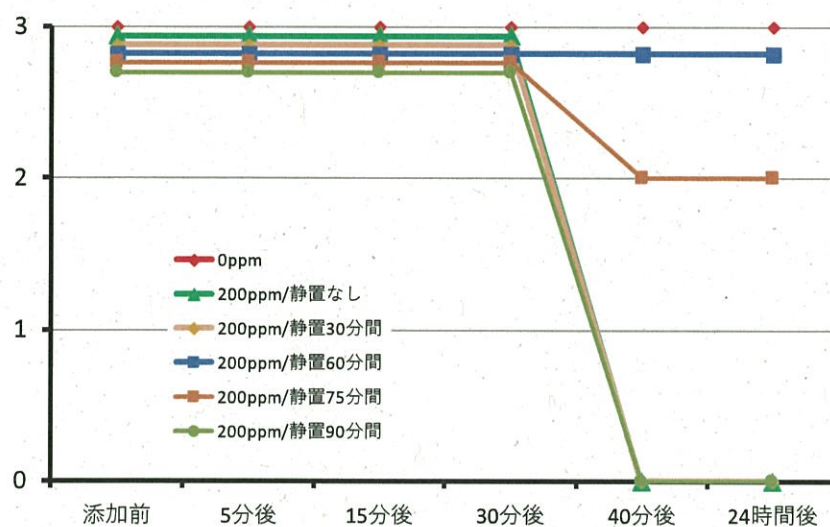


図 35 マグネシウム製剤添加海水の静置時間とブリの生残

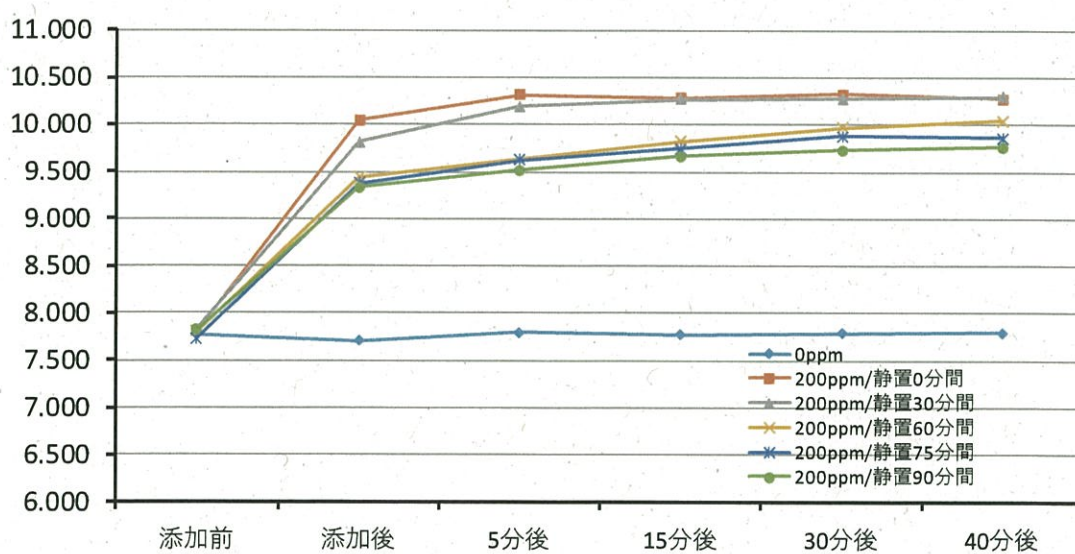


図 36 マグネシウム製剤添加海水における pH の推移

表 4 マグネシウム製剤溶解後の経過時間とブリ生存時間の関係

	0 分	15 分	60 分	240 分
生存時間	55 分	1 時間 36 分	3 時間 3 分	4 時間 19 分

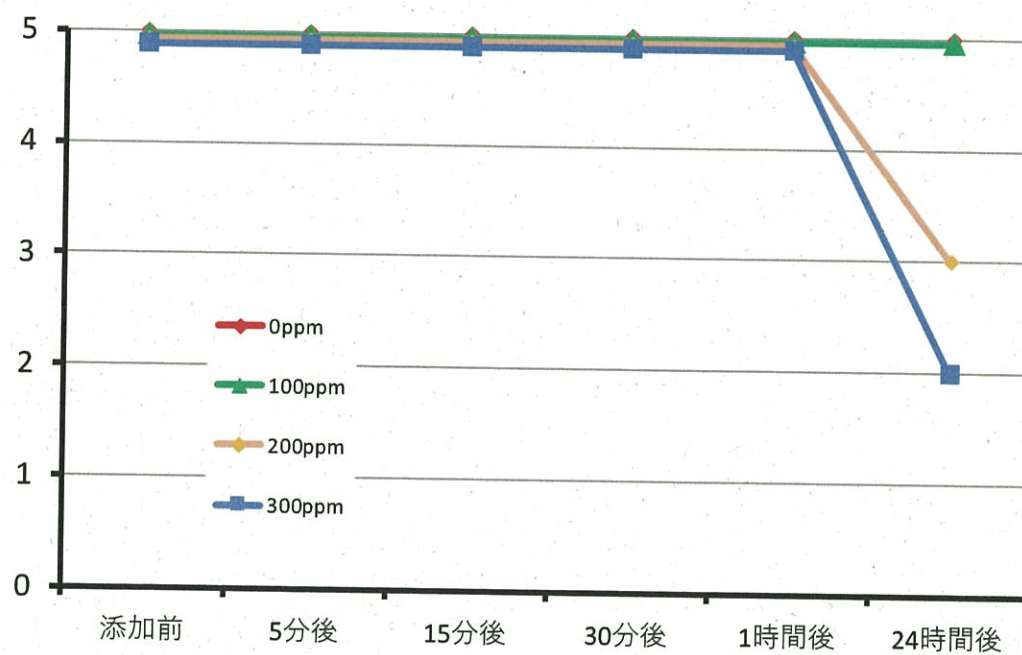


図 37 マグネシウム製剤の添加濃度とクロアワビの生残



図 38 200 ppm 曝露後のクロアワビの逃避行動

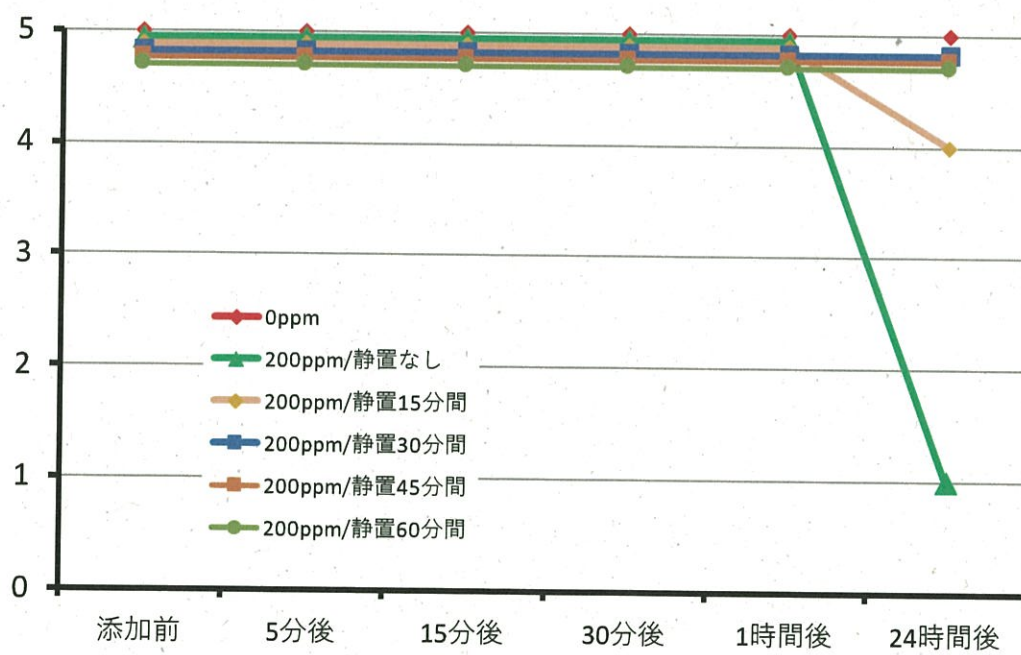


図 39 マグネシウム製剤添加海水の静置時間とクロアワビの生残.

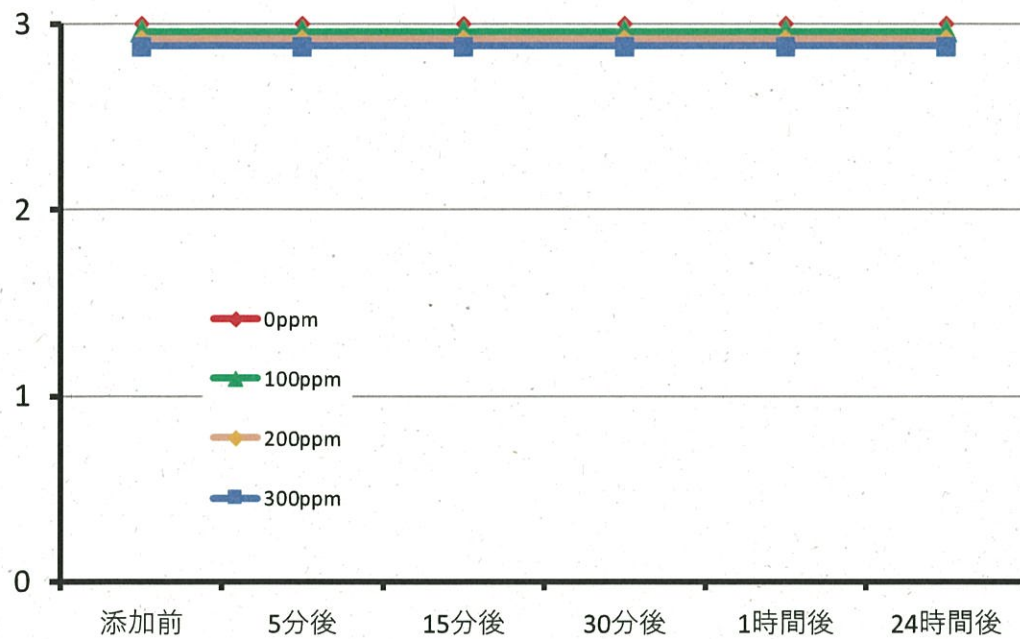


図 40 マグネシウム製剤添加濃度とヒオウギガイの生残.

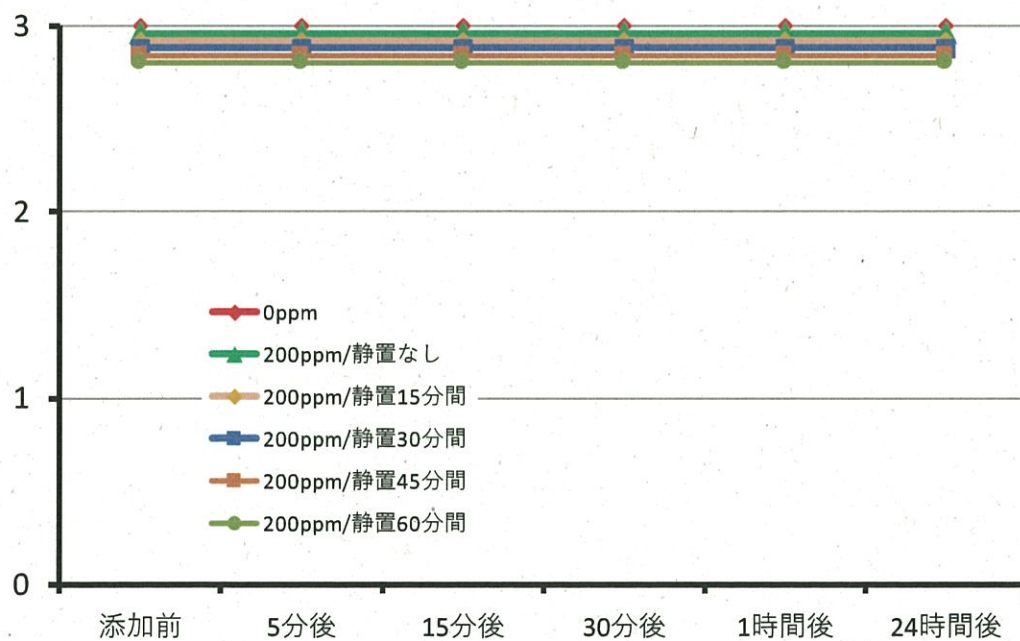


図 41 マグネシウム製剤添加海水の静置時間とヒオウギガイの生残.

2) 有害赤潮の防除および漁業被害軽減のための技術開発

イ. 生簀等の魚介類を守る技術開発と実証

④ 物理化学的防除策および過飽和救命策併用によるブリ類の救命

水産研究・教育機構 西海区水産研究所

松山幸彦, 長副 聡

海洋エンジニアリング株式会社

伊藤信夫, 吉永 潔

1 全体計画

(1) 目的

瀬戸内海, 土佐湾, 八代海海域, 鹿児島湾など西日本沿岸では, 近年, シャットネラ属, カレニア属, 及びコクロディニウム属による赤潮の発生規模が拡大していること, 赤潮の初期発生海域や時期, 発生環境に周期性が少なく, かつ赤潮発生規模が全海域に及ぶことから, これら予察技術の確立や餌止め, 避難の実施による赤潮駆除技術対策は手詰まりとなっているのが実情である。従来型の対策(生簀沈下, 避難, 餌止め)では, 赤潮による漁業被害を必ずしも抑制できていないことから, 何らかのブレイクスルーが必要である。有明海や八代海海域を中心に赤潮による漁業被害は未だに増え続けており, 魚病とともに魚類・貝類養殖業の主要な阻害要因となっている。

本課題では, 西日本海域において頻発するシャットネラ属, カレニア属, 及びコクロディニウム属による赤潮に伴う漁業被害を必要最小限の費用で軽減し, 赤潮の防除, 漁場環境の保全に資することを目的とする。特に, シャットネラ属とコクロディニウム属は物理的防除で細胞の殺滅と魚毒性を軽減させることが容易であること, 物理的防除が困難なカレニア属であっても, 魚類の死亡が鰓の呼吸機能障害に起因すること, この影響緩和のために, 酸素の過飽和が有効であるとの既存試験結果が示されている。そこで, 赤潮プランクトンが魚介類に及ぼす悪影響を物理的手法で駆除しつつ, 溶存酸素を高める手法を併用して, 赤潮が発生しても養殖魚を出荷して被害を軽減する等の実用策の可能性を模索することで, 漁業被害防止策の基礎を確立する。

2 平成31年度(令和元年度)計画及び結果

(1) 目的

全体計画と同じ

(2) 方法

1) 高濃度酸素発生装置の改良

過年度までに効果が検証された試作品について、高濃度酸素供給機能を付加し、その性能を評価する。

2) 赤潮海水を用いた救命試験の実施

初年度については、赤潮モニタリング結果に基づき、試験に好適な時期と海域を事前に特定し、発生した赤潮海水を採取してすみやかに室内へ持ち込み、救命試験を実施する。駆除による魚毒性への影響等について、投入した供試魚の生残を調べることで判定する。

本年度は7月14日に伊万里湾で発生した *Karenia mikimotoi* 赤潮発生時に、現地での救命試験を実施した。

3) 酸素供給装置の効果検証

赤潮防除試験と同時に、酸素供給装置の有無が致死赤潮存在下における魚類の延命にどの程度効果があるのか、天然赤潮海水を用いた室内試験で検討する。本年は天然赤潮海水を室内に持ち込んでの試験が実施できなかったため、*Chattonella antiqua* と *K. mikimotoi* の強毒株 (Kim et al. 2019) で試験を実施した。

(3) 結果及び考察

1) 高濃度酸素発生装置の改良

本課題では、採用する機器の選定、実海域における酸素濃度上昇速度の確認および高濃度酸素が養殖魚類に及ぼす毒性等についての検討を行った。

採用する機器の選定については、魚類養殖の生け簀への適用性、作業性（軽量、コンパクト）、経済性（価格、レンタルサービス）を考慮し、株式会社ワイビーエムサービス社製のファビー（酸素濃縮器：高濃度酸素ガスを発生させ溶存酸素量を向上させる）とフォームジェット（ガスの高効率溶解装置）を採用した。本装置による高濃度酸素生産手法の概念図を図1に示した。

本装置は大きく水中ポンプ、酸素濃縮装置およびキャビテーションとコアンダ効果によるフォームジェット産生部からなり、すべて通常電源で稼働する。酸素濃縮装置では、現地空気を窒素吸着タイプの樹脂を通過させて酸素濃度を上昇させ、これをフォームジェット内部で海水と混合することで、高濃度酸素海水を生成する。水中ポンプとフォームジェット部分は水中にあり、酸素濃縮装置は船上に固定し、細いチューブを経由してフォームジェットへ濃縮酸素を供給するシステムである。発電機の音以外は非常に静穏で、試験中に魚が音や微細気泡に反応して暴れることはない。

図2に八代海の樋島において現地試験を実施した時の様子を示す。本試験はシャットネラ赤潮発生時に実施したものの、現地入りした前日にシャットネラ細胞密度が数十 cells/mL 以

下と致死濃度を下回っており、試験魚を用いた救命試験は実施できずに、酸素の濃度確認の試験を行った。

生け簀の大きさは1.5 m×1.5 m×1.5 m（生簀仕切りシートは長さ3 m）であり、6.75 m³内部の酸素濃度は約4分で20 mg/L以上、10分で30 mg/L以上に到達した（図3）。なお、AAQとRINKOの計測値では計測値に5 mg/L程度の差違が認められたが、これはAAQの計測限界を超えているためと判断されたので、以後はRINKOの数字を中心に考察する。

昨年度は試験海域での溶存酸素濃度が20 mg/L程度であったが、酸素濃縮装置をやや大型化したことで、今年度は40 mg/L近い濃度まで試験生簀内部の溶存酸素を上昇させることに成功した。本試験はブリ稚魚を5尾投入したが、40 mg/Lの試験で異常行動は認められず、ガス症の発症も認められなかったことから、高濃度酸素が養殖魚類（ブリ類）に及ぼす毒性等はないと考えられた。

別途八代海の伊唐湾でも同様の試験を実施したが、溶存酸素濃度は樋島の試験同様に上昇すること、試験魚としてマアジを収容しても、異常行動は認められなかった。一方で、水中ポンプに異物が絡んでインペラーの回転が停止するなどのトラブルも発生したことから、長時間の稼働の場合は、水中ポンプに異物が入らないように工夫が必要なことも課題として明らかとなった。

2) 赤潮海水を用いた救命試験の実施

本年度の有明海から八代海における有害赤潮は、沿岸海域有害赤潮広域分布情報および現地漁業協同組合を通じ情報を確認し、八代海で発生したシャットネラ赤潮時に2度現地試験を予定していたが、到着日前日に赤潮が減少するなど、両海域で救命試験を実施することはできなかった。

一方、令和元年6月中旬より、長崎県と佐賀県の県境に位置する伊万里湾において、2年連続となる*Karenia mikimotoi*の大規模赤潮が発生した。現地における調整を行った結果、図4に示した定点に遊魚用の筏があり、ここで高密度の赤潮が発生している情報を得たので、赤潮海水を室内に持ち込むのではなく、この遊魚用筏で救命試験を実施することとした。令和元年7月14日に高濃度酸素発生装置とブリ稚魚を陸送し、用船された船で試験地へ移動した。

図5に示したように、現地は広範囲で緑褐色に着色しており、顕微鏡で検鏡すると、最大14,875 cells/mLの*K. mikimotoi*が発生していた。試験当日は曇天で風も弱く、*K. mikimotoi*は海面近くに蟄集して高密度となっていた。試験期間中、全7回の検鏡を実施したが、すべての期間、ブリにとって致死濃度で*K. mikimotoi*が存在していた。

試験生簀を遊魚用生簀の内側に固定して、ここで高濃度酸素産生試験を実施した（図6）。図7に試験結果を示した。無通気の場合、溶存酸素濃度は8～9 mg/Lで推移した。比較的溶存酸素濃度が高い理由は、高濃度の*K. mikimotoi*の光合成活性によるものと推察された。この

状況でブリ稚魚を5尾収容したものの、25分過ぎから横転が始まり、40分後には5尾全数が死亡した。

次に囲い膜を施した状態で通気を行ったものの、この試験で用いた酸素濃縮装置が最も小型のタイプであり、水中ポンプの威力も小さかったため、溶存酸素濃度は10~11 mg/L までしか上昇せず、上昇幅が想定よりかなり低かった。この状態でブリ稚魚を収容したものの、35分過ぎから横転が始まり、59分後には5尾全数が死滅した。最後に、試験生簀を囲い膜で覆い、同様の試験を実施したところ、溶存酸素濃度が13~15 mg/L を維持することができた。この状態でブリ稚魚を収容したところ、試験終了時の2時間30分後まで全数が生残するなど、顕著な延命効果が認められた。このため、少なくとも *K. mikimotoi* に関しては、溶存酸素濃度を13 mg/L 以上に保つことで、致死濃度の *K. mikimotoi* が存在しても、延命させることが可能と判断された。

一方で、この試験で救命できたブリ稚魚を、移送に用いたろ過海水へ収容して小型電動ポンプで通気を施していたものの、10分以内で4尾が死亡するという特異な現象が認められた。この理由として、ブリ稚魚は高濃度酸素で救命できたものの、試験中鰓細胞が損傷を受けてガス交換機能が低下しているため、通常の酸素濃度に戻すと十分な量の酸素を自ら取り込むことができずに、窒息死していたものと推察された。このため、赤潮終息後も、鰓の損傷が回復し、自ら酸素を十分に取り込めるまでにしばらく高濃度酸素状態を保っておく必要があり、この所要時間等の算出等について新たな課題として浮かび上がった。

3) 酸素供給装置の効果検証

伊万里湾における *Karenia mikimotoi* 赤潮発生時に実施した救命試験において、赤潮濃度が致死濃度を下回っていても、ブリの鰓組織の損傷自体が続いているために、通常の海水中の溶存酸素に戻して試験魚が死亡する現象がみられた。そこで、鰓の損傷がどの程度の期間を通じて回復するのか、室内実験において確認することとした。

Chattonella antiqua 強毒株 (OP27) を室内で培養し、最終濃度 2,900 cells/mL となるようにろ過海水で希釈した。対照区は6Lの海水にブリ稚魚(尾叉長約56 mm)を3尾収容し、通常空気で通気して生残状況を確認した。次に同じ *C. antiqua* 海水を18L用意し、これを酸素ポンプで緩やかに通気して酸素濃度を7~33 mg/L まで上昇させ、ここにブリ稚魚を9尾収容した。そして、136分後に9尾とも生残していることを確認後、3尾を通常海水に戻した。その後、256分後に3尾、376分後に3尾を同様に通常海水に収容して様子を確認した。その結果、対照区の方は、41, 72, 73分後に死亡して全滅した(図8)。高濃度酸素条件下で生残したブリ稚魚を、136分後、256分後、376分後に通常海水に戻したものの、すべての試験区で新たな死亡は発生しなかった。よって、*C. antiqua* については、鰓の損傷が軽微であるため、高濃度酸素条件下から元の酸素濃度に戻しても、自ら酸素を取り込んで生残できるものと考えられる。

次に、*Karenia mikimotoi* 強毒株 (NGU04 株) を室内で培養し、最終濃度 3,310 cells/mL となるようにろ過海水で希釈した。対照区は 6L の海水にブリ稚魚 (尾叉長約 61 mm) を 3 尾収容し、通常空気で通気して生残状況を確認した。次に同じ *K. mikimotoi* 海水を 18L 用意し、これを酸素ポンペで緩やかに通気して酸素濃度を 7~33 mg/L まで上昇させ、ここにブリ稚魚を 9 尾収容した。そして、93 分後に 9 尾とも生残していることを確認後、3 尾を通常海水に戻した。その後、213 分後に 3 尾、333 分後に 3 尾を同様に通常海水に収容して様子を確認した。その結果、対照区の方は、22, 30, 31 分後に死亡して全滅した (図 9)。高濃度酸素条件下で生残したブリ稚魚を、93 分後、213 分後に戻した試験区で死亡が発生した。93 分後に戻した試験区は 25 分以内に 3 尾全滅したが、213 分後に戻した試験区は 65 分後に全滅するなど、やや死亡までの時間が伸張した。333 分後に通常海水へ戻したものについては、死亡は発生しなかった。よって、*K. mikimotoi* については、鰓の損傷が重篤であるものの、致死密度より低下したのち 2 時間目以降から鰓の損傷が回復しはじめ、4 時間経過した段階で、自らの呼吸によって生残できるまで回復することが判明した。軽微であるため、高濃度酸素条件下から元の酸素濃度に戻しても、自ら酸素を取り込んで生残できるものと考えられる。

K. mikimotoi に曝露された魚類の鰓の回復について、松山ら (2017) において、チミジンのアナログである 5-bromo-2'-deoxyuridine を用いて検討されている。マダイ及びブリ幼魚に対して、BrdU を腹腔内注射し、鰓組織切片上で BrdU 陽性細胞を検出したところ、マダイでは曝露直後は鰓組織の損傷が見られるが、BrdU 陽性細胞も多く、細胞の増殖が活発であった。4 日目には BrdU 陽性細胞が減少しており、8 日目以降はほとんど見られなかった。ブリ幼魚でも同様に、曝露直後から鰓組織の損傷が見られたが BrdU 陽性細胞も多く見られ、細胞の増殖が活発と考えられた。このように、*K. mikimotoi* によって損傷を受けた魚類の鰓細胞は、損傷を受けた直後から組織修復のために細胞が活発に増殖していることが分かっており、今回のように曝露後 2 時間を経過すると徐々に酸素濃度の低下への適応が進んでいたことと矛盾しない。

引用文献

松山幸彦, 永江 彬, 栗原健夫, 中野昌次, 橋本和正, 塚本達也, 長副 聡, 藤浪祐一郎, 堀田卓朗, 吉田一範, 野田 勉, 河野芳巳, 太田耕平, 松原孝博, 清水園子: 1) 有害プランクトンによる魚介類へい死機構解明. 平成 28 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」4. シャットネラ等の魚介類への影響, 毒性発現機構の解明」報告書, 2017; 平成 29 年 3 月, 157-174.

Daekyung Kim, Li Wencheng, Yukihiko Matsuyama, Kichul Cho, Yasuhiro Yamasaki, Satoshi Takeshita, Kenichi Yamaguchi, Tatsuya Oda. Extremely high level of reactive oxygen species

(ROS) production in a newly isolated strain of the dinoflagellate *Karenia mikimotoi*, European Journal of Phycology 54(4), 2019, 632 – 640.

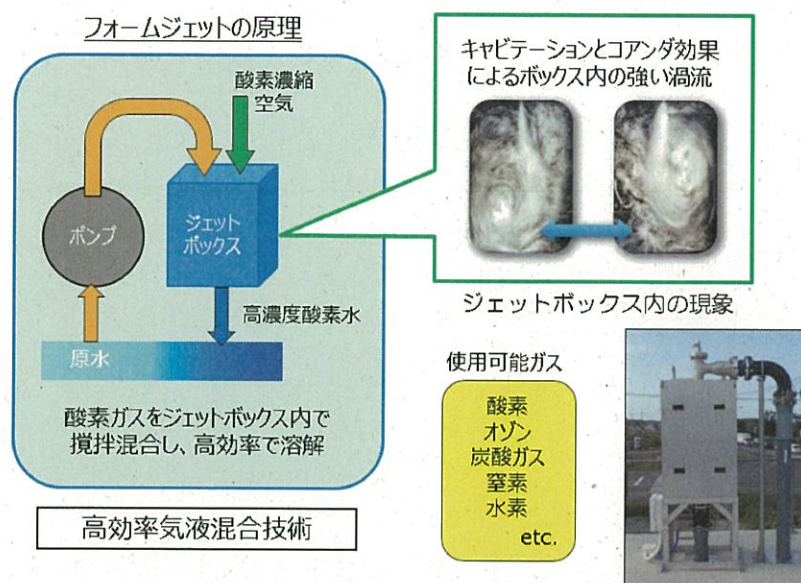
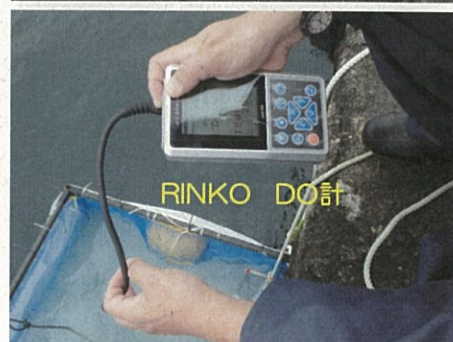
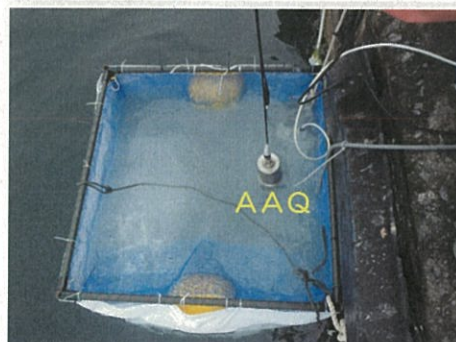


図 1 酸素濃縮器とフォームジェットによる高濃度酸素水生産の概念図

試験に使用
した高濃度
酸素供給装
置



酸素濃度
計測機器



当日協力機関： 樋島漁業協同組合・上天草市

図 2 八代海における高濃度酸素水生産装置の稼働状況