

ICTの活用と農水連携による赤潮対策技術の開発

井口大輝・中里礼大

事業の目的

大分県沿岸では有害プランクトンが原因とされる赤潮や二枚貝の毒化（貝毒）が度々発生し、水産業に与える被害が問題となっている。両問題とも、現場での赤潮監視体制が整備され、赤潮の早期発見・早期対応が可能となってきた。しかしながら、その監視は人海戦術による監視であり、現場が要望する高精度化には自動観測技術の導入が必要である。現在、IT技術の進歩によって赤潮の自動観測が可能になり、その有効性も検証されていることから、同技術を利用した豊後水道沿岸域にける赤潮監視について検証する。また、これまでの研究によって、本県で発生する赤潮被害の大部分をしめる *Karenia mikimotoi* は、夜間に海底付近の栄養塩を利用することで、効率的に増殖することが分かった。赤潮の発生を防止するため、これまで未利用だった海洋資源のうち、養殖残渣（養殖筏付着物、残餌等）及び海藻（富栄養化によって発生したアオサ等）について有機農業等と連携したリサイクル化について検討し、循環型養殖による富栄養化軽減技術を開発することを目的とする。

事業の方法

I. ICT技術を用いた赤潮監視

①自動昇降式赤潮観測機を用いた赤潮監視技術の検証

自動昇降式赤潮観測機により、有害赤潮プランクトンが監視できるかを検証するため、本機器を *Cochlodinium polykrikoides* 赤潮および貝毒プランクトンが発生する春季および冬季は蒲江南部海域猪串湾猪串に設置し、*K. mikimotoi* 赤潮が発生する夏季は佐伯湾鶴見に設置した（図1）。設置期間中、約30分～1時間に一回、表層から底層までの水温・塩分・溶存酸素・クロロフィル・濁度を鉛直的に測定し、得られた観測データについてはHP（<http://hydro.browse.jp/hydrolift/20-Oita/oitatop.html>）上でリアルタイムで配信した。得られた結果より有害プランクトンが増殖している危険性が考えられた

場合、臨時の赤潮調査や関係者への注意喚起を行った。

また、自動昇降式赤潮観測機により、有害赤潮プランクトンが監視できるかを検証するため、猪串湾および佐伯湾に調査点21点（精密調査点2点を含む）を設定し（図1）、週1回調査を行った。各調査ではCTD（JFEアドバンテック社製AAQ-RINKO）による水温、塩分、クロロフィル蛍光値の表層から海底までの鉛直測定を実施した後、バケツによる表層採水および採水器（リゴ-B号）によるクロロフィル極大層（確認されない時は5m層）の採水を行った。得られた試料海水は当日中に光学顕微鏡を用いて、濃縮せずに有害プランクトンの同定・計数に用いた。精密調査点では上記の採水層、調査項目に加え、5m層、10m層、底上1m層、底層の採水も行った。

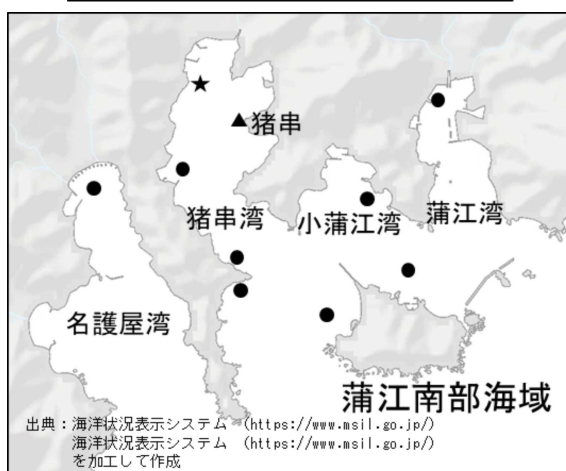
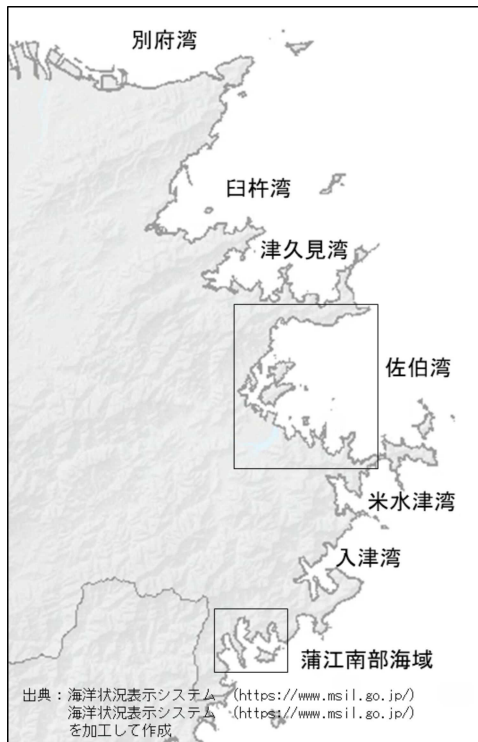


図1 赤潮監視モニタリング定点および自動昇降式赤潮観測機の設置場所（●：通常調査点、★：精密調査点、▲：自動昇降式赤潮観測機）

②次世代型赤潮監視センサーを用いた赤潮監視技術の検証

次世代型赤潮観測機は、九州大学およびJFEアドバンテック株式会社との共同研究により開発された。本機器は、二つの異なる波長における蛍光値の比で表した蛍光スペクトル移動量（Fluorescence spectral Shift Index: FSI）が有害プランクトン *Karenia mikimotoi* 及び *Chattonella sp.* の場合、他種藻類と比べて高い数値（閾値1.9以上）を表すことから、FSI値により上記2種を検出するものである。本機器について、現場海域にて実際に赤潮プランクトンを観測できるかを検証するため、2019年5月～9月の期間、大分県佐伯湾沖松浦および鶴見ポイントにおいて本機を用いた観測および、CTDによる水温、塩分、クロロフィル蛍光値の表層から海底までの鉛直測定を実施した後、バケツによる表層採水および採水器（リゴ- B号）による2m層、5m層、10m層、底上1m層、クロロフィル極大層の採水を行った。得られた試料海水は当日中に光学顕微鏡を用いて、濃縮せずに有害プランクトンおよび珪藻を含むその他優占種の同定・計数に用いた。

また、本機器のワイパー付次世代型赤潮観測センサー（図2）を鶴見ポイントの6m層および底上1.5m層に設置し、テレメーターによるデータ配信により24時間リアルタイム観測が可能か検討した（図3）。同時に、1週間に1回、センサーの写真を撮影し、付着物の状況を確認を行った。



図2 ワイパー付次世代型赤潮観測センサー

結果

I. ICT技術を用いた赤潮監視

①自動昇降式赤潮観測機を用いた赤潮監視技術の検証

2019年4月および2019年11月～3月の期間において猪串湾猪串に、2019年5月～10月の期間において佐伯湾鶴見に自動昇降式赤潮観測機を設置し、観測およびリアルタイムで情報を発信した。観測期間中、台風や長期間の雨天の影響によるバッテリー切れを起こした期間を除いて正常に稼働した。

猪串湾において、本機設置期間中に観測地点である猪串において*Cochlodinium polykrioides*赤潮および貝毒プランクトンの大規模な赤潮は発生しなかった(図4)。

佐伯湾において、本機設置期間中に*K.mikimotoi*赤潮は発生しなかった。本種は5月31日に初認され、その後広域的に遊泳細胞は確認されるが、9月4日に確認された34 cells/mlが最高細胞密度で、赤潮になるまで増殖しなかった(図5、6)。この主な要因として、梅雨時期に珪藻が優先し、その後も断続的に珪藻が発生したことによって、*K.mikimotoi*の発生が抑制されたと考えられた(図5、6)。自動昇降式観測機で得られたデータを図7に示すが、梅雨時期の期間、断続的に高いクロロフィル濃度が観測されており、検鏡の結果、珪藻が優先していたことが明らかとなっている。今年度の九州北部は観測史上最も遅い梅雨入りで、その後も長期間雨が続かなかったことが珪藻の増殖に有利になったと考えられた。

また、珪藻が優先した際の鉛直グラフを図8に示す。このように時間帯に関係なく、各層でクロロフィル濃度が高い状態だと、無害種である珪藻の可能性が高いことが明らかとなった。また昨年度の結果より、カレニア等の有害渦鞭毛藻類では、ある一定層のクロロフィル濃度が高くなり、日周鉛直移動を行うことから、本機により無害種と有害種をある程度識別できることが示唆された。ただし、無害種にも日周鉛直移動を行う種はいるため、最終的には顕微鏡を用いた検鏡での判断が望ましいと思われる。

今後さらに他種の赤潮でも観測可能かを検証し、その行動や生態のデータを蓄積することにより、赤潮プランクトンの監視および水温・塩分等の環境条件より、発生予察に繋がるのが期待される。

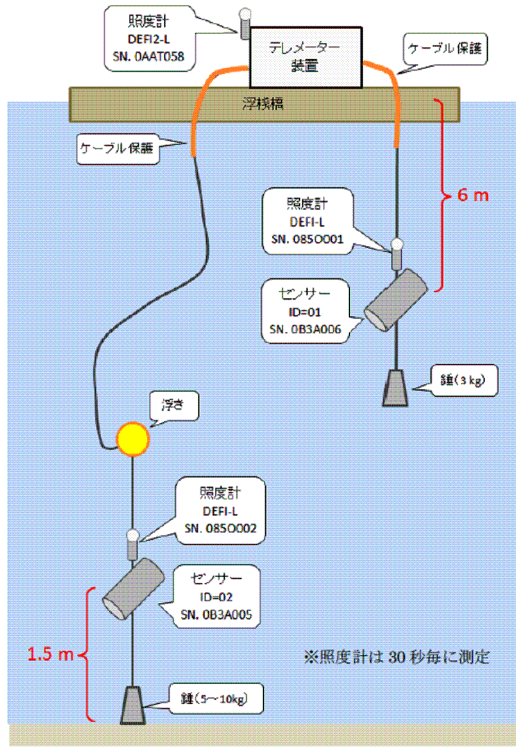


図3 各種観測センサー設置状況

II. 産業連携による漁場改善の技術開発

未利用海洋資源のうち、昨年度に引き続き、真珠残渣(アコヤガイの殻、養殖ブイに付着した海藻や貝類等)及びアオサについて検討を行った。

①真珠残渣に関する取組

今年度は、真珠堆肥を実際に使用する農家の掘り起こしを行った。方法は、海洋資材に興味を示す農家を各市町村の農業関係課、県振興局等にピックアップしてもらい、真珠堆肥のニーズについて調査を行った。

調査の結果、堆肥よりも残渣そのものに対するニーズが強いことがわかり、アコヤガイの殻及び養殖ブイの付着物についての成分分析を実施した。なお、分析については、株式会社環境研究センターに委託した。

②アオサに関する取組

今年度は、海底のアオサを効率的に回収する方法について検討した。漁業者、漁協等と検討した結果、すくい網による回収を検討することとなり、これまで実施していたタモ網による回収方法との比較を行った。

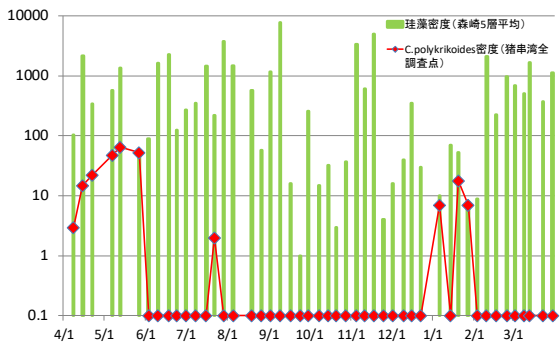


図4 猪串湾における*C. polykrikoides*の最高細胞密度と5層平均珪藻密度の推移（自動昇降式赤潮観測機は4月および11月～3月に設置、単位：cells/ml）

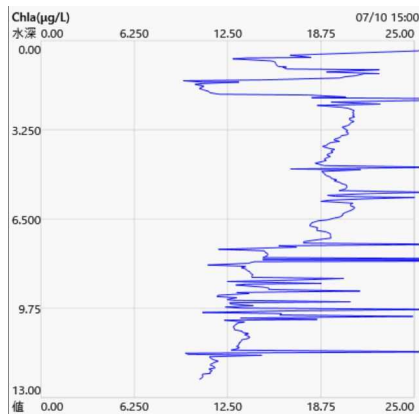


図8 自動昇降式赤潮観測機で得られたクロロフィル濃度の鉛直グラフ（7月10日 15：00）

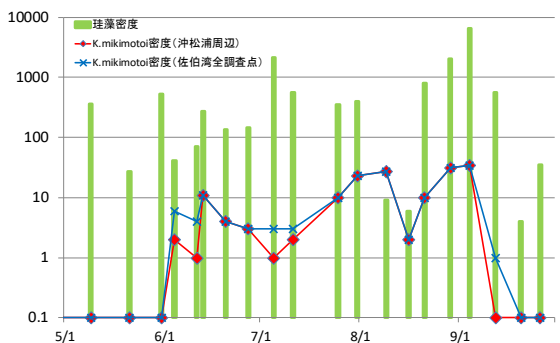


図5 佐伯湾における*K. mikimotoi*の最高細胞密度と5層平均珪藻密度の推移（自動昇降式赤潮観測機は5月～11月に設置、単位：cells/ml）

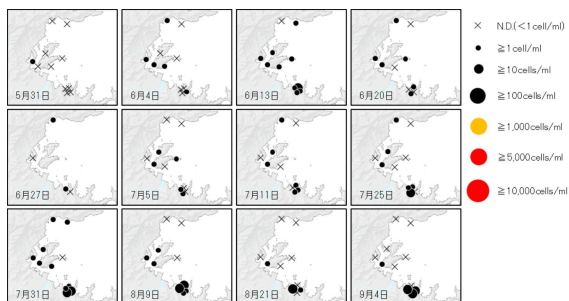


図6 佐伯湾における*K. mikimotoi*遊泳細胞密度の推移

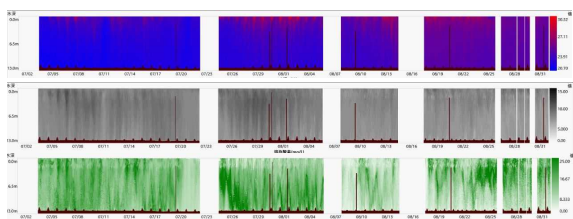


図7 7月1日～8月31日の期間における佐伯湾鶴見に設置した自動昇降式赤潮観測機データ（上段：水溫、中段：溶存酸素、下段：クロロフィル）

②次世代型赤潮監視センサーを用いた赤潮監視技術の検証

*K. mikimotoi*赤潮が発生する5～9月の期間において佐伯湾にて本機を用い観測を行った。本期間中、佐伯湾において*K. mikimotoi*による赤潮は発生しなかった。本機器を用いた調査は、発生初期段階の低密度であった5月11日から開始した。本年度は断続的に珪藻が優先している状態であり、初期発生段階では、顕微鏡観察により*K. mikimotoi*が数細胞存在が確認されたが、本機器では検出できなかった。しかし、8月9日の調査では、*K. mikimotoi*が中層域で27 cells/mlまで増殖しており、本機器により検出することができた。以上の結果より、現場海域において本機器により注意密度である200 cells/ml以下で*K. mikimotoi*を検出することができることが検証された。本機器は、これまでの調査によって珪藻等の他種が優占していない環境下では、*K. mikimotoi* 50 cells/ml以上で検出することができることが確認されており、状況によってはそれ以下の低密度でも観測できることが示唆された。

次に、鶴見ポンツーンに設置したワイパー付次世代型赤潮観測機について、*K. mikimotoi*が期間中多く確認された8月9日前後の結果を図9に示す。本機は観測期間中、太陽光不足によるバッテリー切れや台風時の避難以外は問題無く稼働し、インターネット上で観測データを確認することができた。8月9日の赤潮調査では、中層域に最高細胞密度 27 cells/mlが確認された。ワイパー付次世代型赤潮観測機でも、日中は中層に設置したセンサーがFSI値1.9以上を示し、逆に夜間は底層のセンサーが1.9以上を示したことから、低密度の*K. mikimotoi*の日周鉛直移動を観測できた可能性が高いことが示唆された。また、ワイパーの効果を図10に示す。観測センサー部分は常にワイパーの効果により付着物が付いておらず、佐伯湾では1週間に1回程度の清掃で十分稼働することが明らかとなった。

今後、珪藻等が優占している環境下では低密度の*K. mikimotoi*は観測できない等の問題点を引き続き明らかにした上で、早期に現場に普及するために、さらにその有効性について検証を続ける必要があると

考えられる。また、設置型についても引き続きデータを蓄積し、さらに赤潮発生時には昼夜連続観察を行うことにより、本機により本種の観測が可能かを明らかにする必要があると思われる。

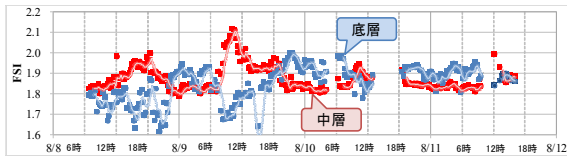


図9 佐伯湾鶴見ポンツーンにおけるワイパー付次世代型赤潮監視センサーを用いた*K. mikimotoi*の検出結果（赤：6m層、青：B-1.5m層、FSI 1.9以上で検出）

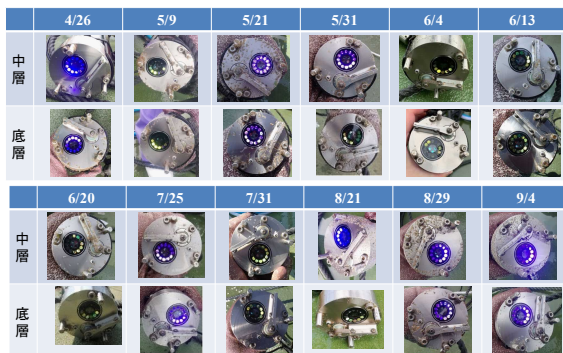


図10 佐伯湾鶴見ポンツーンに設置したセンサーのワイパー効果

II. 産業連携による漁場改善の技術開発

①真珠残渣に関する取組

真珠堆肥のニーズについて調査を行った結果、残渣のみの供給が望まれていることがわかった。

農家としては、堆肥であればそのまま畑に使用することができる点にメリットを感じるものの、堆肥となると残渣の数倍の量に増えてしまい、現地からの運搬に対して課題があるとのことであった。

残渣であれば、農家が専用の堆肥舎において当研究部考案の配合割合で堆肥を作ることが可能とな

り、真珠業者も特別に作業が生じることもなくなる。

真珠業者、農家両者にとってwin-winの関係を構築することができた。アコヤガイの殻及び養殖ブイの成分分析結果は表1、2のとおり。

②アオサに関する取組

すくい網は、目合いが7節の約3m四方の養殖網を使用し、一边にフロート、その反対側にロープを複数取り付け付けたものを使用した。その結果、タモ網による回収の場合、30分あたり56kg/人に対し、すくい網は48kg/人であり、すくい網による回収効率はタモ網に劣る結果となった。しかし、すくい網による回収は、タモ網が届かない深場のアオサを回収することが可能であることに加え、複数人で回収を行うことから体力の消耗が少ないことがメリットとしてあげられる。また、網の形状を大きくすることでより回収効果が上がることが期待できるため、タモ網との併用により効率的にアオサの回収が可能となることが示唆された。

表1 アコヤガイの殻の肥料成分及び重金属含有量

分析項目	単位	分析結果
水分	%	1.0
灰分	%	92.6
pH	-	9.1
電気伝導率	mS/cm	0.522
窒素全量	%	0.49
リン酸全量	%	0.03
加里全量	%	0.04
石灰全量	%	51.8
苦土全量	%	0.32
炭素窒素比	-	1
ナトリウム	%	0.53
鉄	%	0.01

表2 養殖ブイの肥料成分及び重金属含有量

分析項目	単位	分析結果
水分	%	0.6
灰分	%	95.5
pH	-	9.2
電気伝導率	mS/cm	0.167
窒素全量	%	0.2
リン酸全量	%	0.19
加里全量	%	0.06
石灰全量	%	50.1
苦土全量	%	0.75
炭素窒素比	-	2
ナトリウム	%	0.41
鉄	%	0.26

赤潮早期予測早期対策実証事業

井口大輝・中里礼大

本事業の詳細は、平成31年度漁場環境改善推進事業のうち栄養塩、赤潮・貧酸素水塊に対する被害軽減技術等の開発（2）赤潮被害防止対策技術の開発 報告書 2.-1）-イ. 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（瀬戸内海西部・豊後水道・土佐湾海域）（以後、赤潮モニタリング）に記載し、本報告はその概要である。

事業の目的

大分県沿岸では有害プランクトンが原因とされる赤潮や二枚貝の毒化（貝毒）が度々発生し、水産業に与える被害が問題となっている。両問題とも、有害プランクトンの現場監視による発生予報、現地指導によって、迅速な対応（給餌制限や避難など）が可能になっている。しかしながら近年の環境変化によって、発生件数、出現密度とも増加傾向にあり、より中長期の発生予測体制の構築や赤潮プランクトン増殖抑制装置の開発・導入が現場生産者から望まれている。このような要望に対応するため、これまで定量PCR法を用いた赤潮高感度監視技術の実用化が行われてきた。本課題では、これまで検討、開発された技術を利用し、赤潮中長期予測の現場導入を図ることが目的である。

事業の方法

①*K. mikimotoi*高感度監視調査

瀬戸内海西部、豊後水道、土佐湾海域において、4～6月および冬季の2～3月に、関係する6県が共同で有害プランクトンのモニタリングや、海況、水質調査等を実施するとともに、当該海域での有害プランクトンの監視体制強化のため、遺伝子検出法を用いた高感度監視調査を実施した。

②赤潮発生シナリオと予察技術の検証と改良

(1) 既存データの解析（初認日と冬季水温の関係について）

平成30年度に実施した統計解析により、当該海域

における*K. mikimotoi*の初認日が冬季水温や発生規模と関連があるか検討した。その結果、初認日と発生規模については相関が確認できたが、冬季水温と初認日との関連は認められなかった。この解析は、年代が統一されていない瀬戸内海西部・豊後水道・土佐湾海域の複数の湾のデータをすべて統合して行ったため、年代や海域ごとの特徴を抽出できなかった可能性がある。そこで本年度は、解析期間や海域別に関係性がないか再度検討した。

(2) 既存データの解析（赤潮予察技術の検証および発生規模に関与する環境因子の抽出）

平成29年度までに実施した統計解析により、*K. mikimotoi*の赤潮の発生、非発生を反映する環境因子（海象・気象）を見出し、発生シナリオの構築および判別分析による予察技術を開発した。本年度は、これまでに作成した赤潮予察技術の結果検証および赤潮発生・非発生の判別だけではなく、発生規模を分ける環境条件を検討した。

結果

①*K. mikimotoi*高感度監視調査

*K. mikimotoi*遺伝子検査の結果、従来の濃縮検鏡では検出できなかった時期でも、遺伝子検査により高感度に検出することが可能となり、*K. mikimotoi*初期個体群の動向を把握する上で有効であることが再確認された。豊後水道海域では、4月から遺伝子が検出された大分県側も、4月以降全く検出されなくなった愛媛県側も赤潮は非発生となった。本種の初期の挙動と赤潮発生状況は概ね一致し、周防灘海域では赤潮発生に先行して検出される傾向がみられた。

②赤潮発生シナリオと予察技術の検証と改良

(1) 既存データの解析（初認日と冬季水温の関係について）

Honjo et al. (1991) では、冬季（12月～3月）の水温が高いほど1 cell/mLを確認する日が早く、1,000 cells/mLに達する日も早くなることが報告されている。今年度は、冬季水温と初認日について、解析期間・海域別に解析を行い、関連性がないか検討を行った。まず、広島湾・周防灘・豊後水道・土佐湾海

域毎における冬季水温（原則12月～3月）と初認日（*K. mikimotoi*遊泳細胞を1 cell/mL確認した日の3月1日からの経過日数）を図 1に示した。海域毎に冬季水温は大きく異なり、豊後水道では平均15.3℃に対し、周防灘では平均8.9℃であった。冬季水温が高い海域ほど初認日が早くなる傾向は認められなかった。

次に、各海域の解析期間を2000年～2018年に揃えて、*K. mikimotoi*の最高細胞密度が1,000 cells/mL以上の年を発生年、1,000 cells/mL未満を非発生年と定義し、発生年のみもしくは非発生年を含む期間で解析を行った。解析は、冬季水温と初認日について、Spearmanの無相関検定により相関の有無を確認した（表 1）。その結果、山口県・福岡県・大分県を含む周防灘海域の非発生年を除いたケースで冬季水温が高ければ初認日が早くなる傾向が確認された（表 10、 $p < 0.1$ 、図 2）。また、大分県・愛媛県を含む豊後水道海域の非発生年を含む・除いたケースでは、冬季水温が高ければ初認日が遅くなるという周防灘とは逆の傾向が確認された（表 10、 $p < 0.1$ 、図 2）。*K. mikimotoi*は、培養試験において10℃以上で増殖することが確認されており（山口・本城 1989）、周防灘や博多湾では10℃、11℃以上で遊泳細胞が確認されていることから（馬場ら 1994、佐藤ら 1996）、水温約10℃が個体群密度を維持するために必要な水温だと推測される。周防灘海域における冬季平均水温は8.8℃であり、10℃という本種の個体群維持の水温閾値付近である。そのため、冬季水温が高い年ほど越冬細胞の生存確率が高くなり、初認日が早くなる可能性が考えられた。また、豊後水道海域において逆の関係が確認された一つの要因として、黒潮等の影響により海水交換が促進されると、シードポピュレーションとなる遊泳細胞の個体群密度の低下に繋がる、つまり黒潮からの暖水波及により冬季水温が高ければ、個体群密度が低下し、初認日も遅くなる可能性が考えられた。一方、各県海域で相関が認められなかった理由の一つとして、初認され始める冬季～初夏の調査頻度および方法が1つの原因だと考えられた。Honjo et al. (1991)では、週1回濃縮検鏡を行った結果であったが、各県では調査頻度は基本的に月1、2回程度であり、濃縮検鏡を行っていない年もあるため、正確な初認日を捉えられていない可能性が考えられた（表 2）。

以上の結果より、周防灘および豊後水道海域で冬季水温と初認日との間に相関が認められたものの、各県海域では相関は認められなかった。しかし今後、*K. mikimotoi*赤潮がいつ起きるかまたはその年の*K. mikimotoi*赤潮が大規模化するかどうかを推察するうえで、初期発生モニタリングが重要であり、高感度に*K. mikimotoi*を検出できる遺伝子調査とデー

タの蓄積により、*K. mikimotoi*赤潮の発生や規模の予察精度向上が期待される。

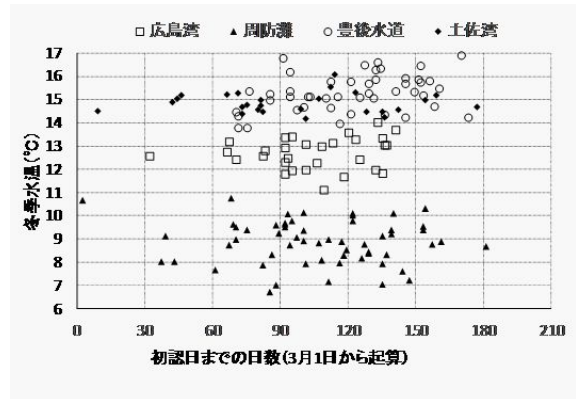


図 1 各海域における冬季水温と初認確認日との関係

解析期間 広島湾：1986～2018年、周防灘：1991年～2018年、豊後水道：1990年～2018年、土佐湾：1985年～2014年

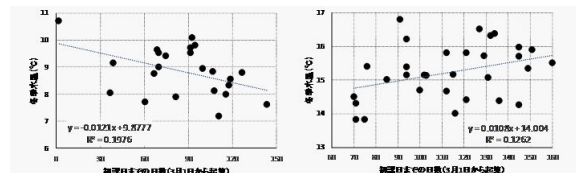


図 2 冬季水温と初認日の関係（非発生年を除く）

左：周防灘海域（山口県+福岡県+大分県）
右：豊後水道海域（大分県+愛媛県）

表 1 使用した冬季水温の解析期間と冬季水温と初認日の無相関検定結果

No.	海域	未過非発生年 (1,000 cells/mL の有無)	解析期間	ρ 値	相関係数	検定方法
1	周防灘(山口湾:山口県)	非発生年含む	2000～2017(18年観)	0.3491	-0.2224	Spearman's
		非発生年除く	2000～2016(13年観)	0.7329	-0.0209	
2	周防灘(西部海域:福岡県)	非発生年含む	2004～2017(14年観)	0.4591	-0.2095	
		非発生年除く	2005～2017(9年観)	0.2296	-0.6051	
3	周防灘(南部海域:大分県)	非発生年含む	2000～2018(19年観)	0.6548	-0.1691	
		非発生年除く	2000～2018(18年観)	0.5821	-0.2935	
4	周防灘(No.1～3全て含む)	非発生年含む	2000～2018(19年観)	0.1059	-0.2951	
		非発生年除く	2000～2017(14年観)	0.0693	-0.4446	
5	広島湾(北部海域:広島県)	非発生年含む	2000～2018(19年観)	0.9801	0.0212	
		非発生年除く	2000～2018(14年観)	0.2431	0.2352	
6	豊後水道(佐伯湾:大分県)	非発生年含む	2000～2018(19年観)	0.267	0.3262	
		非発生年除く	2000～2018(16年観)	0.8236	0.2517	
7	豊後水道(岩城湾:愛媛県)	非発生年含む	2000～2018(19年観)	0.9449	0.0666	
		非発生年除く	2000～2018(15年観)	0.8525	-0.0220	
8	豊後水道(No.6と7全て含む)	非発生年含む	2000～2018(19年観)	0.0618	0.3744	
		非発生年除く	2000～2018(17年観)	0.0672	0.3562	
9	土佐湾(浦ノ内湾:高知県)	非発生年含む	2000～2017(18年観)	0.8434	0.0334	
		非発生年除く	2000～2015(13年観)	0.5279	0.2884	

表 2 2000年～2017年における冬季～初夏の赤潮調査について

海域	担当県	調査頻度	濃縮検鏡
広島湾	広島	月1回～月3回	2001年～
周防灘	山口(徳山湾)	月1～3回	2001年～
	福岡	月1～2回	2013年～
	大分北部	月1～2回	2012年～
豊後水道	大分上浦(佐伯湾)	週1回～月1回	×
	愛媛	月1～4回	2007年～
	高知(宿毛湾)	月1回	×
土佐湾	高知(浦ノ内湾)	月1～4回	×

(2) 既存データの解析（赤潮予察技術の検証および発生規模に関与する環境因子の抽出）

平成29年度までに実施した統計解析により、赤潮発生に関与する環境因子（海象・気象）を抽出し、有害赤潮発生シナリオを構築した。また、抽出された環境因子を用いた判別分析や判別得点のロジスティック回帰による予察技術を開発した。しかし、これまでの解析では各県が定めた一定細胞密度で赤潮発生・非発生を検討するものであり、発生規模については検討していなかった。そこで本年度はさらなる発生シナリオの改良を目指し、これまでの赤潮発生・非発生を分ける環境条件に加え、赤潮発生規模に関与する環境因子を抽出し、発生シナリオの改良を検討した。本年度取得したデータによる予察結果と発生規模に関与する環境因子の抽出結果は以下の通りである。なお解析年数は2002年～2017年とした。

本年は*K. mikimotoi*赤潮の非発生年となったが、これまでに作成した予察モデルの多くは「発生年」となり、十分に的中したとは言えなかった（表 3）。大分県佐伯湾において、3月の降水量が少ない条件は、シストを形成しない本種にとって赤潮のシードポピュレーションとなる遊泳細胞が維持されやすい環境と考えられている。本年は3月の降水量が少なく、さらに冬季～春季において、高感度調査により本種遺伝子が常に検出されており、シードポピュレーションとなる遊泳細胞は存在していたと考えられた。しかし、①梅雨入りが観測史上最も遅く、本種にとって好適環境になる前に珪藻が増殖した。②梅雨入り後も断続的な雨天となり長期間の雨天が続かなかったことから、常に珪藻が優占し、降雨により栄養塩が供給されても、珪藻により消費された可能性が高く、本種の増殖が抑制されたと考えられた。以上の結果より、これまでの予察モデルにより発生年と判断された年であっても、赤潮発生直前の気象条件によっては、的中しない可能性がある。また、判別式で用いた「3月降水量」および「2月表層塩分」の組み合わせは、本年の予察を的中させており、これまでの的中率も高いため、本種赤潮の発生に強く関与している可能性が考えられ、これまでの発生シナリオを支持するものとなった。

次に、これまでの赤潮発生・非発生に関わる環境条件に加え、大規模発生・小規模発生に関する環境条件の抽出を行った。類型化は、*K. mikimotoi*の最高細胞密度が5,000 cells/ml以上の年を大規模発生年、それ未満を小規模発生年とした。その結果、大分県佐伯湾における*K. mikimotoi*赤潮の大規模発生年に関わる環境条件を表 4に示した。特に、5月の降水量が少なく、4月・5月の日照時間が長い条件、すなわちmLレベルで初期遊泳細胞が確認される直前である4月・5月の晴天が続く条件が、赤潮発生規模

に関与することが示唆された。これを基にすると、以下のような大分県佐伯湾における*K. mikimotoi*赤潮発生シナリオ（図 3）が考えられる。

本海域の赤潮観測において*K. mikimotoi*遊泳細胞が早期に観測される年は、赤潮が発生する確率が高い。4・5月に晴天が続く条件は、シストを形成しない本種にとって赤潮のシードポピュレーションとなる遊泳細胞が物理的・生物的に個体群密度を維持しやすく、個体群密度が多いほど本種赤潮が大規模発生に繋がるのが考えられた。

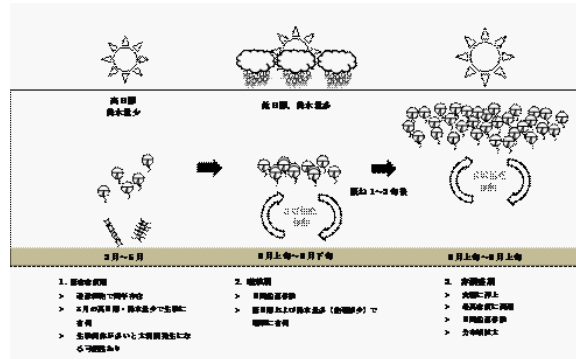


図 3 佐伯湾における*K. mikimotoi*赤潮発生シナリオ

表 3 佐伯湾（大分県海域）における判別予測・結果

海域	解析手法	説明変数	説明変数の数	判別率(%)	2018年予測	2019年予測	2020年予測	2021年予測
佐伯湾(大分県)	線形判別	5月降水量	2	2002～2017	82.3	×	×	×
佐伯湾(大分県)	線形判別	2月降水量	2	2002～2017	86.2	×	×	×
佐伯湾(大分県)	線形判別	5月降水量	2	2002～2017	100.0	○	○	×
佐伯湾(大分県)	線形判別	2月降水量	2	2002～2017	86.2	○	○	×
佐伯湾(大分県)	線形判別	5月日照時間	2	2002～2017	86.2	○	○	×
佐伯湾(大分県)	線形判別	1月表層塩分	2	2002～2017	100.0	○	○	×
佐伯湾(大分県)	線形判別	5月日照時間	2	2002～2017	100.0	○	○	×
佐伯湾(大分県)	線形判別	2月降水量	2	2002～2017	86.2	○	○	×
佐伯湾(大分県)	線形判別	1月表層塩分	2	2002～2017	86.2	○	○	×
佐伯湾(大分県)	線形判別	5月日照時間	2	2002～2017	83.3	○	○	×
佐伯湾(大分県)	線形判別	1月表層塩分	2	2002～2017	83.3	○	○	×

表 4 佐伯湾において抽出された赤潮大規模発生に関する環境要因 (**: p<0.01, *: p<0.05, +: p<0.1)

環境要因	t検定		U検定	
	p値	結果	p値	結果
5月(降水量)	0.0780	+	0.0549	+
4月日照	0.0431	*	0.0712	+
5月日照	0.0176	*	0.0712	+
1月(水試sal)	0.0005	**	0.0021	**
5月(水試sal)	0.0545	+	0.0341	*

参考文献

- Honjo T, Yamaguchi M, Nakamura O, Yamamoto S, Ouchi A, Ohwada K. A relationship between winter water temperature and the timing of summer *Gymnodinium nagasakiense* red tides in Gokasho Bay. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1991; 57: 1679-1682.
- 山口峰生, 本城凡夫. 有害渦鞭毛藻 *Gymnodinium nagasakiense* の増殖におよぼす水温, 塩分および光強度の影響. 日本水産学会誌 1989; 55: 2029-2036
- 馬場俊典, 檜山節久, 神菌真人, 江藤拓也, 岩尾昂, 樋下雄一, 小泉喜嗣, 高島景, 内田卓志, 本城凡夫. 西部瀬戸内海における赤潮渦鞭毛藻 *Gymnodinium mikimotoi* 遊泳細胞の越冬について. 日本プランクトン学会誌 1994; 41: 69-71
- 佐藤利幸, 本田清一郎, 池内仁. 福岡湾における *Gymnodinium mikimotoi* 栄養細胞の季節変化. 福岡水技研報 1996; 5: 51-58
- 宮川博妃, 茅野昌大, 和西昭仁, 馬場俊典, 俵積田貴彦, 恵崎撰, 井口大輝, 大竹周作, 岩野英樹, 木村聡一郎, 菅沼倫美, 山田英俊, 久米洋, 村田憲一, 黒田麻美, 東谷福太郎, 吉江直樹, 郭新宇, 清水園子, 武岡英隆, 松原孝博, 鬼塚剛. 魚介類の斃死原因となる有害赤潮等分布拡大防止のための発生モニタリングと発生シナリオの構築①瀬戸内海西部・豊後水道海域. 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・貧酸素水塊漁業被害防止対策事業報告書「瀬戸内海等での有害赤潮発生機構解明と予察・被害防止等技術開発」, 水産庁, 東京. 2018; 39-97.
- 黒田麻美, 村田憲一, 加川真行, 工藤孝也, 吉村栄一, 和西昭仁, 馬場俊典, 國森拓也, 俵積田貴彦, 恵崎撰, 井口大輝, 中里礼大, 木村聡一郎, 岩野英樹, 菅沼倫美, 平井真紀子, 谷口越則, 吉江直樹, 郭新宇, 清水園子, 武岡英隆, 松原孝博, 山口晴生, 鬼塚剛. 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①瀬戸内海西部・豊後水道海域・土佐湾海域. 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」事業報告書, 水産庁, 東京. 2019; 50-99.
- 俵積田貴彦, 茅野昌大, 和西昭仁, 馬場俊典, 宮村和良, 大竹周作, 岩野英樹, 伊藤龍星, 菅沼倫美, 宮川博妃, 久米洋, 村田憲一, 黒田麻美, 東谷福太郎, 武岡英隆, 郭新宇, 吉江直樹, 太田耕平, 清水園子, 松原孝博, 鬼塚剛. 魚介類の斃死原因となる有害赤潮等分布拡大防止のための発生モニタリングと発生シナリオの構築②瀬戸内海西部・豊後水道海域. 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・貧酸素水塊漁業被害防止対策事業報告書「瀬戸内海等での有害赤潮発生機構解明と予察・被害防止等技術開発」. 水産庁37-77, 2017

赤潮防除・被害軽減手法の開発— 1

漁場環境改善推進事業「赤潮被害防止対策技術の開発」 （国庫委託）

井口大輝・中里礼大・内海訓弘

本事業の詳細は、平成31年度漁場環境改善推進事業のうち栄養塩、赤潮・貧酸素水塊に対する被害軽減技術等の開発（2）赤潮被害防止対策技術の開発、報告書 2-2）-イ.-② 既存の赤潮防除技術の高度化とマニュアル作成に記載し、本報告はその概要である。なお本事業は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（瀬水研）、東町漁業協同組合との共同調査として実施した。以下に概要のみを記載した。

事業の目的

近年、豊後水道など西日本の沿岸域においてカレンシア等鞭毛藻による有害赤潮が頻発しており、その対策が強く求められている。一方で、各現場では長年の経験に基づいて構築された被害軽減技術（餌止め、生簀避難など）が実用されている。本課題では、既存の技術を対象として科学的な検証と基礎情報の収集を行い、高度化を図ること、そして技術普及を円滑に推進するためのマニュアルを作成することを目的とする。まずは、海面養殖における足し網および生簀浮沈法について検討する。

事業の方法

1) 有害赤潮プランクトンの日周鉛直移動の観測

*K. mikimotoi*は環境条件や発達段階によって鉛直移動パターンが変わることが知られている（柴加田ほか 2018）。

そこで、2019年8月27日10:00～9月6日23:40にかけて、入津湾（32° 49' 53'' N, 131° 58' 71'' E水深：約9 m）において自動昇降式多項目水質計（AAQ-RINKO、JFEアドバンテック社製）にて水温、塩分、溶存酸素濃度（DO）、クロロフィル蛍光値を約30分に一回の頻度で連続観測し

た。

2) 生簀中の養殖魚の行動観察

本調査は現場における養殖魚の行動に及ぼす赤潮および環境条件の影響を把握することを目的とした。

2019年夏、準備を進めていた佐伯湾において有害赤潮が発生しなかったため、非発生時の養殖魚の行動を観察した。佐伯湾松浦漁港のポンツーンに養殖魚用生簀（水深：約13 m、寸法：3 m×3 mの正方形、網の深さ：9.5 m）を設置し、2019年9月11日に当歳魚ブリ100尾（平均尾叉長：234 mm、平均体重：174 g）を投入した。魚群探知機（本体：HDS-10、振動子：HST-DFSBL, Lawrance）をポンツーンに、トランスデューサーを生簀中央の海面に設置し、周波数200 Hzで24時間連続観測を行った。また、2019年9月10～14日、ポンツーンにおいて自動昇降式多項目水質計で水温、塩分、DOを連続観測した。調査開始時には、表層～海底まで1m間隔で採水して検鏡を行い、*K. mikimotoi*やその他の有害種の細胞を計数した。取得した魚探データはSonar viewerで可視化し、魚群の鉛直分布を抽出した。

3) 養殖魚の生残に及ぼす赤潮の断続曝露の影響試験

2018年度の研究成果により、足し網や生簀沈下法が*K. mikimotoi*など一日の鉛直移動距離が長いプランクトンの赤潮に対して効果を発揮するか否かは、養殖魚が赤潮から逃避できるか否かに加え、赤潮の連続的な曝露に比べて、断続的な曝露で生残率が上がるあるいは延命するかが重要であることがわかった（柴加田ほか 2019b）。そこで、本課題では室内において、養殖魚の生残に及ぼす赤潮の断続曝露の影響を明らかにするための試験を実施した。

ア. *K. mikimotoi*培養株の選抜

断続曝露試験に際し、*K. mikimotoi*の培養株を確立し、

増殖速度、スーパーオキシド (O_2) レベル、ワムシを使った簡易アッセイおよび魚類曝露試験によって魚毒性の強い株を選抜した。6月3日に長崎県九十九島で採水した海水から7株 (KJK1, KJK4, KJK5, KJK7, KJK8, KJK9, KJK10)、6月11日に八代海楠浦湾で採水した海水から10株 (KU1, KU2, KU3, KU4, KU5, KU6, KU7, KU8, KU9, KU10)、6月17日に長崎県伊万里湾で採水した海水から3株 (IMR2, IMR3, IMR4) を単離した。培養株は、改変SWM-3培地で 20°C 、塩分30、 $150 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (12hL:12hD) の条件で培養した。なお、海水はそれぞれ熊本県水産研究センター、長崎県水産総合試験場より提供頂いた。

単離した全ての培養株について、増殖速度および O_2 レベルを計測した。増殖速度は、上述の条件で10日間培養し、期間中の最高増殖速度 (6~8日目) を算出した。 O_2 レベルは発光法により測定した (紫加田ほか 2019a)。また、陽性対象として、高い O_2 レベルを有する *Chattonella antiqua* 培養株 (NIES-1) を使用した。また、増殖が良好だった一部の培養株についてワムシに対する毒性を計測した。ワムシによる簡易アッセイは、48ウェルプレート (IWAKI) を用いて 20°C で実施した。シオミズツボワムシ (L型奄美株) 10個体を懸濁した改変SWM-3培地200 μL に、培養4~6日目の培養液800 μL ($1.0 \times 10^3 \text{ cells mL}^{-1}$) を添加して8時間曝露し、ワムシの半数がへい死した時間を算出した。陽性対象として、ワムシに対して強い毒性を有する *K. mikimotoi* 培養株 (No.7株) を使用した。

増殖速度、 O_2 レベルおよびワムシへの毒性の測定結果を踏まえて選抜した2株および既存の弱毒株 (ax69-9) をマダイへの曝露試験に供した。曝露試験は、前述の条件で培養した6 Lの約20,000 cells mL^{-1} の *K. mikimotoi* 培養液または改変SWM-3培地を30 cm水槽に注入した後、マダイ稚魚 (平均体長15 cm、体重72 g) を3尾ずつ収容した。最長6時間、マダイの状態を観察した。横臥した個体が認められた場合、腐敗防止のため、直ちに引き揚げた。試験期間中、経時的に水温およびDOを計測し、エアレーション強度とヒーター温度を調節してそれぞれ 25°C および $>5 \text{ mg L}^{-1}$ を維持した。なお、実験は2~3反復した。

Ⅰ. 断続曝露試験

3)ア. で選抜した *K. mikimotoi* 強毒株 ($18,600 \text{ cells mL}^{-1}$) の培養液6 Lを30 cm水槽に注入し、マダイ稚魚 (平均体長16 cm、体重78 g) を3尾ずつ収容した。1時間培養液に曝露後、新鮮な培地の入った水槽に移し、6時間経過後、再度培養液に曝露する (6時間休憩)、あるいは1時間培養液に曝露して新鮮な培地の入った水槽に移し、24時間経

過後、再度培養液に曝露する (24時間休憩) 2種類の断続曝露区、連続曝露区、コントロール (改変SWM-3培地) を設置した。なお、対象区では、マダイを1、7、25時間後に新鮮な培地の入った水槽に移した。試験期間中、エアレーション強度とヒーター温度を調節してそれぞれ水温を 25°C およびDOを $>5 \text{ mg L}^{-1}$ に維持した。

事業の結果・考察

1) 有害赤潮プランクトンの日周鉛直移動

2019年8月28日の調査において、*K. mikimotoi* が表層およびクロロフィル蛍光値極大層においてそれぞれ75および160 cells mL^{-1} の細胞密度で検出された。また、自動昇降式多項目水質計は8月28日~9月2日にかけて、時間帯によってクロロフィル蛍光値の鉛直分布が変化する様子を捉えており、特に夜間下層におけるクロロフィル蛍光値のピークは *K. mikimotoi* によるものと推察された (図1)。各調査日における *K. mikimotoi* 由来と推察されるクロロフィル蛍光値の極大層深度の最小値 (最小到達深度) および最大値 (最大到達深度) とそれらを記録した時刻を表1にまとめた。8月31日以降は昼夜連続で表層~1 m層に高いクロロフィル蛍光値を有する水塊が観察されたため最小到達深度は抽出できなかった。現地の情報によると小型の鞭毛藻類が優占していたとの情報もある。8月30日までにについては、最小到達深度は1.4~2.5 mの範囲にあった。気象庁のデータによると、8月28~30日の最寄りの観測所である蒲江における日照時間は0.7~6.5時間で曇天であった。最大到達深度は期間中、5.9~7.7 mであり、*K. mikimotoi* は夜間海底付近に集積した。また、図1を見ると、最小到達深度あるいは最大到達深度に達した個体群はその深度層に長時間停滞することなく、直ちに下降あるいは上昇を開始したことが推察された。水温、塩分およびDOはそれぞれ $22.5 \sim 26.6^\circ\text{C}$ 、 $28.1 \sim 32.1$ および $1.08 \sim 10.32 \text{ mg L}^{-1}$ の範囲で推移した。9月2日の夜間に *K. mikimotoi* 由来と考えられる中~下層のクロロフィル蛍光値が急激に減少していき、消滅した (図1)。この時期、中~下層で水温の急激な低下が認められ、さらに、*K. mikimotoi* 赤潮は局所的に発生していたとの現地情報もある。*K. mikimotoi* が死滅した可能性もあるが、海水交換等の物理的なプロセスが働いた可能性が高い。今回得られた情報は今後の鉛直移動シミュレーションなどに活用していく予定である。

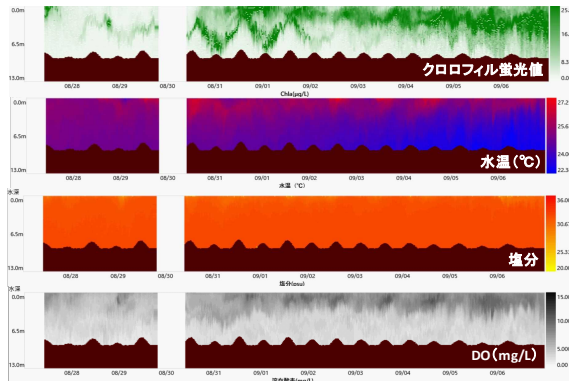


図1. 入津湾における自動昇降式多項目水質計による観測結果

表 1. 2019年入津湾における *K. mikimotoi* の鉛直移動パラメータの推定値

月日	最大到達深度 (m), 時刻	最小到達深度 (m), 時刻
8月28日	1.4, 10:20	5.9, 23:20
8月29日	2.5, 16:30	欠測
8月30日	2.1, 15:40	
8月31日	不明	7.1, 2:40
9月1日	不明	7.0, 0:40
9月2日	不明	7.7, 2:30

2) 生簀中の養殖魚の行動パターン

生簀中のブリ魚群の鉛直分布を15分おきに抽出してグラフ化したものを図2に示す。また、自動昇降式多項目水質計による観測結果を図3に示す。ブリ魚群は、9月11日10:00～19:00までは表層～下層に、19:00～翌日5:00までは表層に、以降は表層～下層に分布した。調査期間中の日没および日出時刻はそれぞれ18:30および5:45であった。すなわち、日中は上下層に分散し、夜間は表層に集積する行動パターンが観察された。2014年9月8～12日に実施した白杵湾における2歳魚の観測によると、ブリは給餌日には昼間生簀下層に集積し、日出および日没前後に離底して表層に分布するのに対し、無給餌日にはその行動パターンが不明瞭となって昼間も離底する（紫加田ら2015）。今回は1日間餌止めをした状態で試験を実施したが、この2歳魚の行動パターンとは随分異なっていた。今回の調査期間中、水温、塩分およびDOはそれぞれ22.8～27.5°C、29.1～34.45および6.0～9.8 mg L⁻¹の範囲で推移し、白杵湾での試験時の環境と大差なかった。給餌や環境条件に加え、魚齢や飼育密度はブリの行動パターンに多大な影響を及ぼすと考えられる。今後、体系的な研究が必要である。

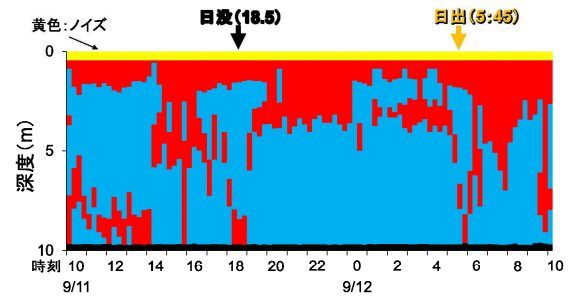


図2. 当歳魚ブリの魚群鉛直分布の経時変化。
赤色：魚群が観察された深度帯，水色：魚群が観察されなかった深度帯

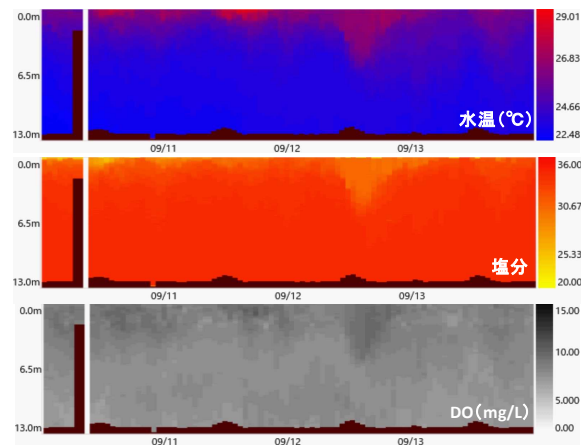


図3. ブリ行動観測前後の環境。

3) 養殖魚の生残に及ぼす赤潮の断続曝露の影響

ア. *K. mikimotoi* 培養株の選抜

K. mikimotoi 培養株の増殖速度は0.06～0.50 div. day⁻¹の範囲にあり、0.4 div. day⁻¹以上の増殖速度を示した培養株は、4株 (KU6、KU8、KU9、IMR4) であった (図4)。また、いずれの *K. mikimotoi* 培養株においても、O₂ レベルは *C. antiqua* よりも極めて低かった (図5)。ワムシの半数致死時間は3.3～6.0時間の範囲にあり (図6)、株間で大差なく、新たに分離した株の毒性は全てこれまで強毒と考えられてきたNo.7株 (4時間) と同程度であった。以上の結果を表2にまとめた。O₂ レベルやワムシ毒性では株を選抜することが困難であったため、増殖速度の高いKU9株およびIMR4株をマダイ稚魚への曝露試験に供した。その結果、マダイ稚魚は、IMR4株に曝露されると全滅したのに対して、KU9株およびax69-9株では67%の個体が生残した (図7)。また、*K. mikimotoi* (IMR4株、KU9株、ax69-9株) のマダイ稚魚への曝露前後のO₂ レベルを図8に示すが、曝露直後にO₂ レベルが変化することはなく、魚毒性との関係も認められなかった。

イ. 断続曝露試験

1)ア. の試験結果を受けて、IMR4株を本実験に供した。連続曝露区および6時間休憩区では試験開始1時間15分以内に1尾がへい死してその後へい死は認められなかった(図9)。24時間休憩区では休憩後の赤潮曝露で全滅した。コントロールにおいてへい死は認められなかった。この結果から、休憩を挟むことで、マダイが赤潮抵抗性を備えるということはないと考えられる。ただし、今回、回復ができなかったので今後再現性を検討する予定である。

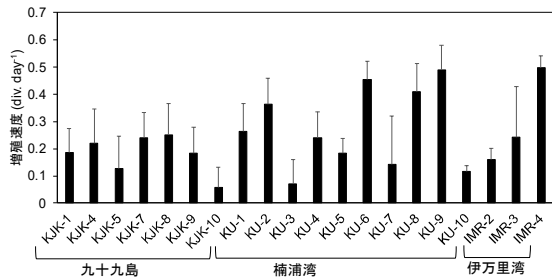


図4. *K. mikimotoi*各培養株の増殖速度

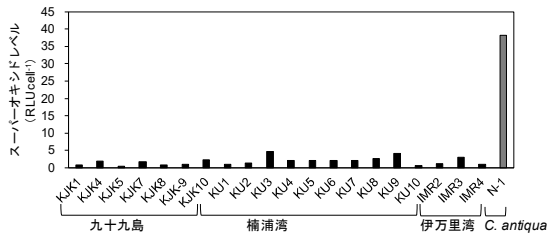


図5. *K. mikimotoi*各培養株のO₂レベル.

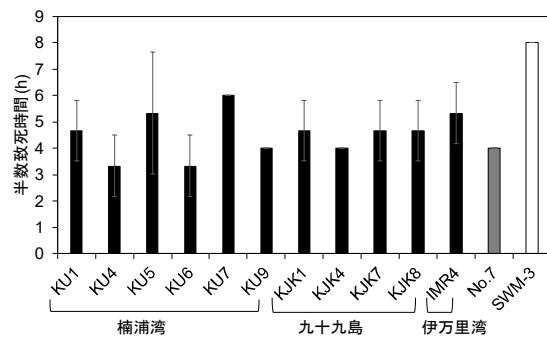


図6. *K. mikimotoi*各培養株に曝露されたワムシの半数致死時間

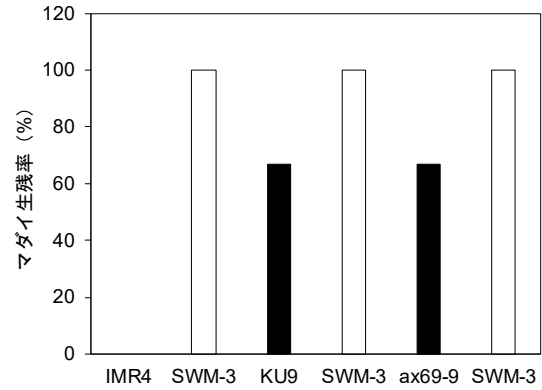


図7. *K. mikimotoi*各培養株を曝露されたマダイ稚魚の生残率

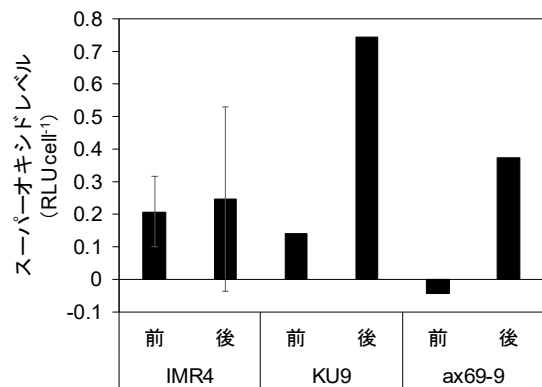


図8. *K. mikimotoi*各培養株をマダイ稚魚へ曝露する前後のO₂レベル

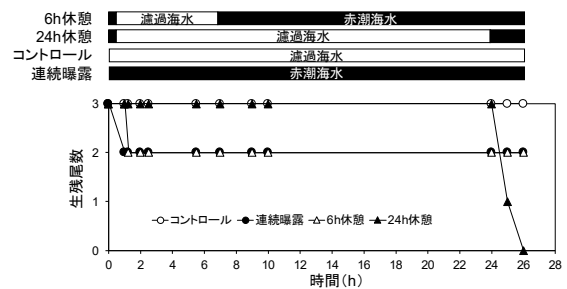


図9. *K. mikimotoi*の断続曝露試験結果

表 2. *K. mikimotoi*各培養株の増殖速度, 0_2 レベル
およびワムシへの毒性. ハイフンは欠測

分離海域	株名	増殖速度 (>0.4 div. day $^{-1}$)	O_2 レベル (>4 RLU cell $^{-1}$)	ワムシへの毒性 (半数致死時間 ≤ 6 h)
九十九島	KJK-1			○
	KJK-4			○
	KJK-5			-
	KJK-7			○
	KJK-8			○
	KJK-9			-
KJK-10			-	
桶浦湾	KU-1			○
	KU-2	○		-
	KU-3		○	-
	KU-4			○
	KU-5			○
	KU-6	○		○
	KU-7			○
	KU-8	○		-
	KU-9	○	○	○
	KU-10			-
伊万里湾	IMR-2			-
	IMR-3			-
	IMR-4	○		○

紫加田知幸, 北辻さほ, 鬼塚剛, 高山剛, 井口大輝, 中里礼大, 都留久美子, 木藪仁和, 石田幸生, 浦啓介, 古川新平, 上野翼. 既存の赤潮防除技術の高度化とマニュアル作成. 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, 水産庁, 東京. 2019b ; 263-243.

Shikata T, Onitsuka G, Abe K, Kitatsuji S, Yufu K, Yoshikawa Y, Honjo T, Miyamura K. Relationships between light environment and subsurface accumulation during the daytime in the red-tide dinoflagellate *Karenia mikimotoi*. *Mar. Biol.* 2017; **164**: 18.

Yuasa K, Shikata T, Kuwahara Y, Nishiyama Y. Adverse effects of strong light and nitrogen deficiency on cell viability, photosynthesis, and motility of the red-tide dinoflagellate *Karenia mikimotoi*. *Phycologia* 2018; **57**: 525-533.

引用文献

紫加田知幸, 鬼塚剛, 山口峰生, 高山剛, 伏屋玲子, 宮村和良, 梶川和武. 有害赤潮鞭毛藻類の遊泳特性を利用した新規赤潮防除技術の開発. 平成26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 瀬戸内海等での有害赤潮発生機構解明と予察・被害防止等技術開発報告書, 瀬戸内海赤潮共同研究機関, 水産庁, 東京. 2015 ; 168-183.

紫加田知幸, 鬼塚剛, 北辻さほ, 中山奈津子, 坂本節子, 阿部和雄, 松原賢, 大竹周作, 井口大輝, 西山佳孝. 現場ミクロゾムを用いたカレンニア等有害赤潮鞭毛藻の動態と環境条件との関係の解明. 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 瀬戸内海等での有害赤潮発生機構解明と予察・被害防止等技術開発報告書, 瀬戸内海赤潮共同研究機関, 水産庁, 東京. 2018 ; 211-224.

紫加田知幸, 北辻さほ, 坂本節子, 内田肇, 及川寛, 鈴木敏之, 山崎康裕, 内山郁夫, 成瀬清, 亀井保博, 西出浩世, 安齋賢, 西山佳孝, 西槇俊之. 魚毒性診断技術の開発. 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, 水産庁, 東京. 2019a ; 225-252.

赤潮防除・被害軽減手法の開発—2

漁場環境改善推進事業「赤潮被害防止対策技術の開発」 (国庫委託)

井口大輝・中里礼大

本事業の詳細は、平成31年度漁場環境改善推進事業のうち栄養塩、赤潮・貧酸素水塊に対する被害軽減技術等の開発(2)赤潮被害防止対策技術の開発 報告書 2.-2)-イ.③ 改良粘土散布の実証試験および新たなマグネシウム製剤の開発、対策実施マニュアルの作成に記載し、本報告はその概要である。なお本事業は国立研究開発法人水産研究・教育機構西海区水産研究所(西水研)、長崎県総合水産試験場、鹿児島県水産技術開発センター、宇部マテリアルズ株式会社との共同調査として実施した。以下に概要のみを記載した。

事業の目的

近年駆除が困難だった *Karenia mikimotoi* (以下、*K.mikimotoi*) に対して、5分間で100%の駆除効果を示すマグネシウム剤(以下、改良マグネシウム剤)が開発された。この新規防除剤について、室内試験で効果を検証し、高い駆除効果と安全性が確認され次第、改良マグネシウム剤を用いた現場実証試験を実施し、その結果、経済性についても検証したうえで対策実施マニュアルを作成することを目的とする。

事業の方法

①マグネシウム製剤の添加濃度と安全性(対象種：クロアワビ)

平均殻長19.1mmのクロアワビを供試した。試験前日に30L水槽に5個体ずつ収容し、1日間の馴致期間を設けた。改良型マグネシウム製剤100、200および300ppmを2Lの海水が入ったビーカーに添加して5分間攪拌した。対照には製剤無添加の海水2Lを用い

た。これらを供試貝を収容した水槽に散布し、止水・通気条件下で1時間曝露して生存状況等を観察した。水質(水温、DO等)測定は曝露5、15、30および60分後に実施した。曝露終了後は速やかに生残貝を清浄海水に移し、止水・通気条件下で24時間後まで経過観察を行った。

②マグネシウム製剤溶解後の静置時間と安全性(対象種：クロアワビ)

平均殻長19.6mmのクロアワビを供試した。試験前日に30L水槽へ5個体ずつ収容し、1日間の馴致期間を設けた。改良型マグネシウム製剤200ppmを2Lの海水が入ったビーカーに添加して5分間攪拌後、0、15、30、45および60分間静置した。対照には製剤無添加の海水2Lを用いた。これらを供試貝を収容した水槽に散布し、止水・通気条件下で1時間曝露して生存状況等を観察した。水質(水温、DO等)測定は曝露5、15、30および60分後に実施した。曝露終了後は生残貝を速やかに清浄海水に移し、止水・通気条件下で24時間後まで経過観察を行った。

③マグネシウム製剤の添加濃度と安全性(対象種：ヒオウギガイ)

平均殻長88.7mmのヒオウギガイを供試した。試験前日に30L水槽に3個体ずつ収容し、1日間の馴致期間を設けた。改良型マグネシウム製剤100、200および300ppmを2Lの海水が入ったビーカーに添加して5分間攪拌した。対照には製剤無添加の海水2Lを用いた。これらを供試貝を収容した水槽に散布し、止水・通気条件下で1時間曝露して生存状況等を観察した。水質(水温、DO等)測定は曝露5、15、30および60分後に実施した。曝露終了後は生残貝を速やかに清浄海水に移し、止水・通気条件下で24

時間後まで経過観察を行った。

④マグネシウム製剤溶解後の静置時間と安全性（対象種：ヒオウギガイ）

平均殻長87.5mmのヒオウギガイを供試した。試験前日に30L水槽に3個ずつ収容し、1日間の馴致期間を設けた。改良型マグネシウム製剤200ppmを2Lの海水が入ったビーカーに添加して5分間攪拌後、0、15、30、45および60分間静置した。対照には製剤無添加の海水2Lを用いた。これらを供試貝を収容した水槽に散布して、止水・通気条件下で1時間曝露し生存状況等を観察した。水質（水温、DO等）測定は曝露5、15、30および60分後に実施した。曝露終了後は生残貝を速やかに清浄海水に移し、止水・通気条件下で24時間後まで経過観察を行った。

事業の結果・考察

①マグネシウム製剤の添加濃度と安全性（対象種：クロアワビ）

各試験区のクロアワビの生残個体数を示したものが図1である。マグネシウム製剤を添加した区で曝露開始直後から水面付近まで上がってくる個体が確認され（図2）、すべての区でほとんどの個体が動かなくなった。曝露60分後に清浄海水に戻したが、濃度が濃い区ほど、裏返しても自力で元に戻れない個体が多く、衰弱した状況が確認された。24時間後には、推奨濃度200ppmでも5個体中2個体の死亡が確認された。

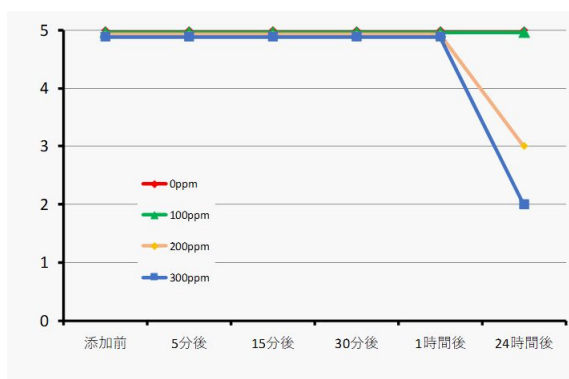


図1 マグネシウム製剤の添加濃度とクロアワビの生残



図2 200ppm曝露後のクロアワビの逃避行動

②マグネシウム製剤溶解後の静置時間と安全性（対象種：クロアワビ）

各試験区のクロアワビの生残個体数を示したものが図3である。マグネシウム製剤を添加した全ての区で、ほとんどの個体が動かなくなった。曝露60分後に清浄海水に戻した結果、静置時間が短いほど弱っている個体が多い傾向がみられた。24時間後には、静置時間なしの試験区では5個中4個体が死亡したのに対し、静置時間30分以上の試験区では全ての個体が生き残った。また、静置時間が長いほど弱っている個体が少ない傾向がみられた。

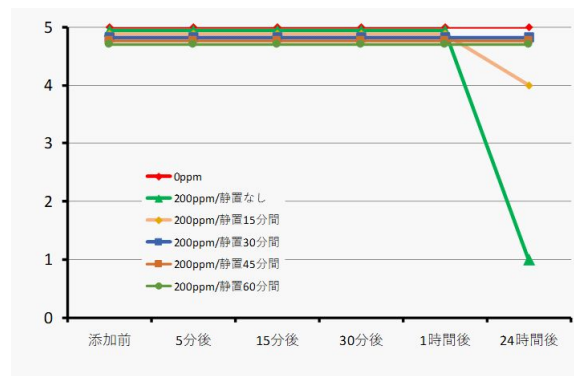


図3 マグネシウム製剤添加海水の静置時間とクロアワビの生残

③マグネシウム製剤の添加濃度と安全性（対象種： ヒオウギガイ）

各試験区のヒオウギガイの生残個体数を示したものが図4である。マグネシウム製剤の添加濃度の高低に関わらず、全ての試験区において口を開いてろ水している様子が確認された。また、曝露60分後に清浄海水に戻し、24時間観察を行ったが、全ての試験区で全個体が生き残った。

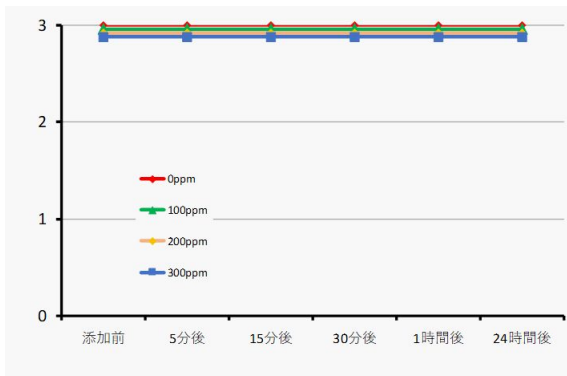


図4 マグネシウム製剤の添加濃度とヒオウギガイの生残

④マグネシウム製剤溶解後の静置時間と安全性（対象種：ヒオウギガイ）

各試験区のヒオウギガイの生残個体数を示したものが図5である。マグネシウム製剤の添加の有無、静置時間の長短に関わらず、全ての試験区において口を開いてろ水している様子が確認された。また、曝露60分後に清浄海水に戻し、24時間観察を行ったが、全ての試験区で全個体が生き残った。

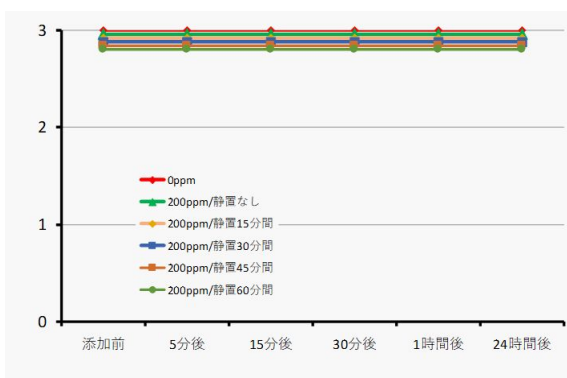


図5 マグネシウム製剤添加海水の静置時間とヒオウギガイの生残

養殖マグロ成長産業化推進事業

漁場環境改善推進事業「赤潮・貧酸素水塊の広域自動モニタリング技術の開発」

九州東部海域のマグロ漁場における有害赤潮監視システムの開発

（一部国庫補助）

井口大輝・中里礼大・内海訓弘

本事業の一部は、平成31年度漁場環境改善推進事業のうち赤潮・貧酸素水塊の広域自動モニタリング技術の開発（赤潮・貧酸素観測技術開発共同研究機関）II.-2）赤潮・貧酸素等による被害防止のための広域観測・監視ネットワークシステムの構築 ③九州東部海域のマグロ漁場における有害赤潮監視システムの開発で実施した。なお本事業は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（瀬水研）、国立研究開発法人水産研究・教育機構西海区水産研究所（西海区水研）古野電気株式会社との共同調査として実施した。各研究の詳細は、平成31年度漁場環境改善推進事業のうち赤潮・貧酸素水塊の広域自動モニタリング技術の開発報告書に記載した。

事業の目的

平成29、30年夏季、佐伯湾においてカレニア・ミキモトイ赤潮が発生し、養殖マグロに甚大な漁業被害が発生した。他の魚種と比べて養殖マグロに対する赤潮被害は大きい傾向にあると言われていたが、その原因の一つはマグロ養殖に対して餌止めや生簀避難といった既存の赤潮防除技術を適用できないことにある。また、マグロは物理的な刺激にきわめて敏感であるため、赤潮発生時に生簀へ近付くことができないので、へい死状況やへい死時の赤潮の状況を調査することが困難である。そのため、マグロの赤潮に対する応答や感受性など基本的な情報が少なく、対策を考案することすら難しい状況にある。そこで、本課題では、有害赤潮による被害軽減技術の開発を目指し、マグロ養殖場における赤潮の初期発生及び状況、赤潮に対するマグロの行動パターンを自動監視するシステムの構築に資する技術基盤を確立することを目的とする。

事業の方法

ア. 魚群探知機による赤潮モニタリング技術の開発

赤潮に対するマグロの行動パターン及び有害赤潮プランクトンの発生状況を自動監視するシステム（図1）の構築を目指し、大分県佐伯湾のマグロ養殖漁場において、魚群探知機（図2）及び自動昇降式多項目水質計（図3）を設置した。

大分県佐伯湾のマグロ養殖用深層型生簀（直径40 mの円形PEパイプ生簀、網の深さ40 m、以下試験用生簀）で試験を実施した。試験開始時、試験用生簀には3歳魚マグロ1,335尾が収容されていた。試験生簀内に、観測筏を設置し、その上に太陽光パネルと接続したテレメーター式魚群探知機及びトランスデューサーを設置した（図2）。それらを用いて、2019年7月8日より周波数50/200 kHzで24時間連続観測を行い、得られた観測データはメール形式により観測データ収集局に送信した。取得したデータは、オフライン処理で可視化（画像化）し、魚群の鉛直分布を抽出した。

また、赤潮の発生状況を把握するため、佐伯湾内に調査点11点（精密調査点2点を含む）を設定し（図4）、4月～3月に調査を行った。赤潮発生時期である5月～9月の期間は週1回、それ以外は月1回以上調査を行った。各調査ではCTD（JFEアドバンテック社製AAQ-RINKO）による水温、塩分、クロロフィル蛍光値の表層から海底までの鉛直測定を実施した後、バケツによる表層採水および採水器（リゴ-B号）によるクロロフィル極大層（確認されない場合は5m層）の採水を行った。得られた試料海水は当日中に光学顕微鏡を用いて、濃縮せずに有害プランクトンの同定・計数に用いた。精密調査点では上記の採水層、調査項目に加え、2m層、5m層、10m層、15m層、25m層、35m層、底上1m層、底上層の採水も行い、各層の溶存酸素（ウインクラ法）、栄養塩濃度（DIN、PO₄-P、DSi）の試料とした。

また、マグロ試験生簀において植物プランクトンの発生状況を把握する目的で、5m層、15m層、25m層、35m層にクロロフィル濁度計（JFEアドバンテック社製

INFINITY-CLW) を設置し、クロロフィル濃度を測定した。

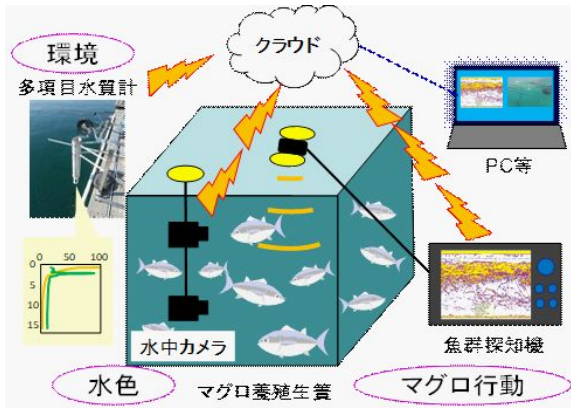


図1 「マグロ養殖場赤潮監視システム」の構想

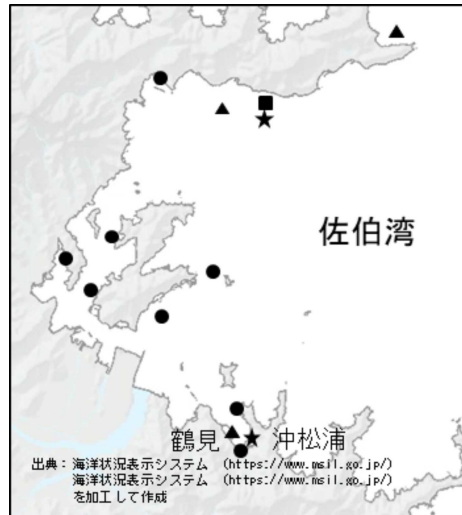


図4 佐伯湾調査地点および自動昇降式観測機 (●: 通常調査点、★: 精密調査点、▲: 自動昇降式観測機)

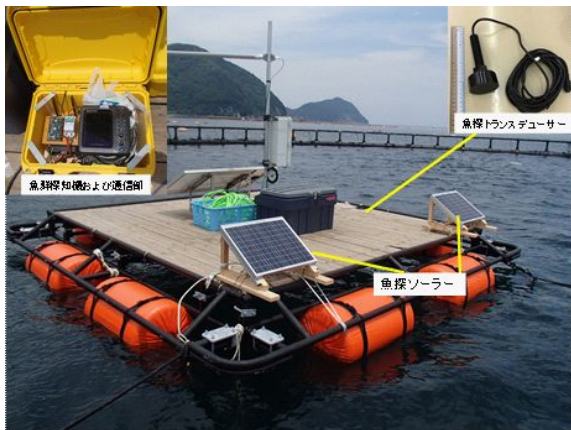


図2 観測筏及びテレメーター式魚群探知機

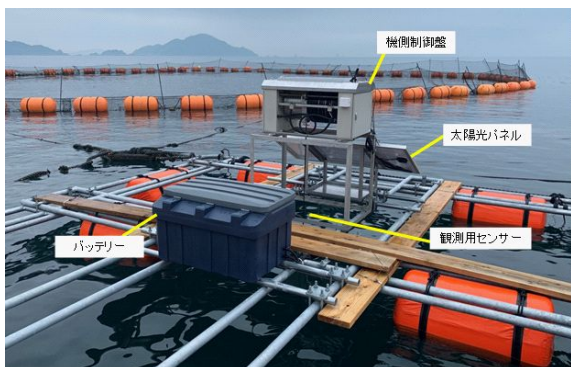


図3 自動昇降式多項目水質計

イ. 水中カメラによる赤潮モニタリング技術の開発

水色の变化からカレンシア赤潮を検出する技術を開発するため、水中カメラを設置した。設置場所は大分県佐伯湾松浦港のJFおおいの鶴見支店が管理する浮き棧橋の先端とした。浮き棧橋に5.5 mのロープと1.5 mの鎖を結び付け、鎖の先端に治具を固定し、水中カメラSFIDA (JFEアドバンテック株式会社製) を水深7 mに設置した(図5)。



図5 水中カメラの設置

事業の結果・考察

ア. 魚群探知機による赤潮モニタリング技術の開発

1) 魚群探知機を用いたマグロの行動監視

実証試験においては、2019年7月から佐伯湾マグロ試験生簀内に魚群探知機を設置し、連続観測を行った。日照不足により夜間を中心に観測ができなかった期間が生じたが、太陽パネルの増設により、8月20日以降は昼夜連続観測が可能となった(図6~8)。2019年度、K. mikimotoi 赤潮は発生しなかったため、結果的に非発生時のマグロの行動観察となった。生簀内のマグロの鉛直分布を抽出してグラフ化したものを図6~8に示す。マグロ魚群は、

給餌中はごく表層に集積するほか、日の出から日没までの間においては、上層から下層まで幅広く分布し、夜間は上層に多く分布する行動パターンが観察された（図6～8）。Itoh et al. (2003) では、バイオリギングにより天然クロマグロの行動を観察した結果、日中は下層を遊泳し、夜間は上層を遊泳する傾向があることを報告しており、今回得られた結果はそれと類似する結果となった。この結果は今回用いた種苗が天然由来の種苗だったことに起因するかもしれない。

紫加田ら（2015）は、ブリ養殖場で同様の観察を行い、給餌日には明瞭な日周パターンが観察されたのに対し、無給餌日にはそのリズムが不明瞭となることを報告している。一方で、本研究においても最大で7月18日～22日の5日間無給餌の期間があったが、明瞭な行動の変化は確認できなかった。ただし、夜間のデータが欠測していたこともあり、今後、無給餌による行動パターンの変化について更に検討する必要がある。

後述するように今年度は有害赤潮非発生年となったが、平常時における養殖マグロの行動を本システムによって昼夜観測できた。引き続き、赤潮発生時の行動と比較することによって、本システムによる新たな赤潮監視システムが構築されることが期待される。また、図1に示した構想に基づき、今後、パソコンや携帯電話等で生簀中のマグロの行動をリアルタイムで閲覧可能なソフトウェア開発を行う予定である。

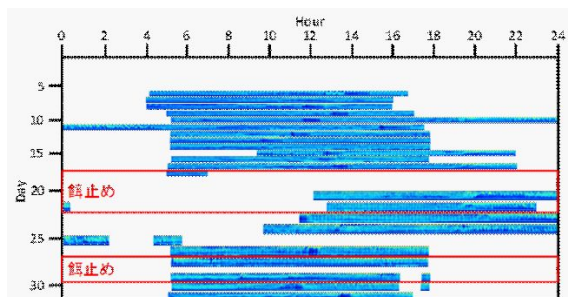


図 6 佐伯湾マグロ試験生簀における魚群鉛直分布の経時変化（2019年7月）

※暖色になる程魚影が濃いことを示す

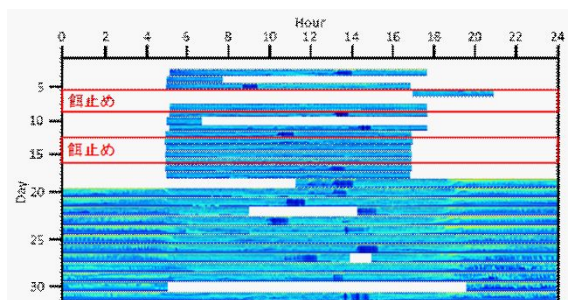


図 7 佐伯湾マグロ試験生簀における魚群鉛直分布の経時変化（2019年8月）

※暖色になる程魚影が濃いことを示す

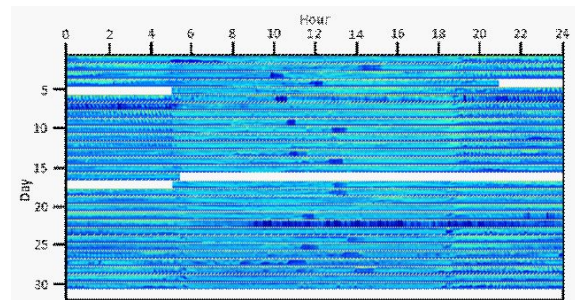


図 8 佐伯湾マグロ試験生簀における魚群鉛直分布の経時変化（2019年9月）

※暖色になる程魚影が濃いことを示す

2) 自動昇降式多項目水質計を用いた赤潮監視

2019年4月から佐伯湾マグロ養殖漁場内に自動昇降式多項目水質計を設置し、有害赤潮プランクトンの監視を行った。また、2019年5月～9月、生簀横に船を係留し、週1回の赤潮調査を行った。

2019年6月20日～8月25日、佐伯湾マグロ養殖漁場内に設置した自動昇降式多項目水質計による観測結果を図8に示す。水温は19.9～27.2℃で推移した。塩分は20.5～35.0 psuで推移し、降雨直後に表層で低下した（図9）。2019年度は、佐伯湾において*K. mikimotoi*赤潮は発生せず、マグロ試験生簀での最高細胞密度は7月31日の2 cells/mLであった（図10）。また、自動昇降式多項目水質計により7月～8月上旬において比較的高濃度のクロロフィル蛍光値が観測されたが、7月25日に採水及び検鏡した結果、表層における優占種は珪藻であることが確認された（最高細胞密度4,000 cells/mL）。また、珪藻増殖時、溶存酸素濃度の上昇が確認され、7月25日に最高10.1 mg/Lが観測された。次に、クロロフィル濁度計の測定結果を図11に示す。こちらの観測結果と自動昇降式観測機の結果と類似しており、7月～8月の期間において比較的高いクロロフィル濃度が検出されており、珪藻類によるものだと考えられた。

栄養塩濃度の推移を図12に示す。2019年5月～8月の期間において、DIN濃度は0.27～8.97 μM（平均2.79 μM）、DIP濃度はND～1.73 μM（平均0.27 μM）、DSi濃度は0.91～57.3 μM（平均7.86 μM）の範囲で推移した。DIN及びDIPの濃度は、*K. mikimotoi*が活発に増殖するために必要な濃度（半飽和定数、DIN：0.78 μM、DIP：0.14 μM、山口1994）以下であった時期や深度層があり、6月は比較的低濃度であった。また、DSi濃度は一部期間を除き、調査期間中一貫して珪藻の増殖を制限しないレベルで推移した。

*K. mikimotoi*は日周鉛直移動を行い、1日で20～25 mを往復できる（Koizumi et al. 1996）ので、本海域でも下層の栄養塩を利用して増殖する可能性が高い。自動昇降式多項目水質計や採水による水質の鉛直プロファイル観測をマグロの行動と合わせて監視することでより効率的な赤潮監視システム及び赤潮発生予測手法が構築されると考えられる。

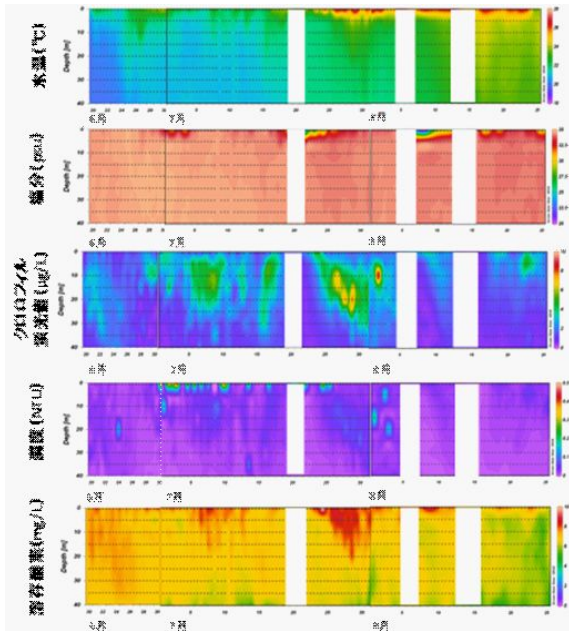


図 9 自動昇降式多項目水質計の観測結果

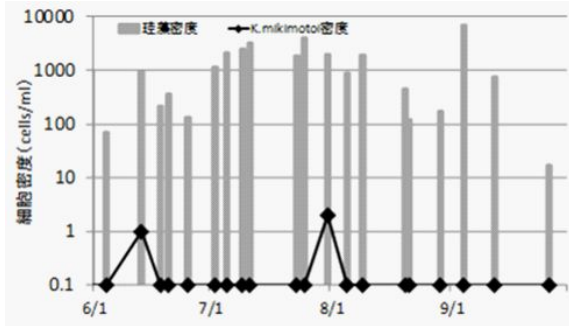


図 10 佐伯湾マグロ試験生簀横における *K. mikimotoi* 及び珪藻類の推移

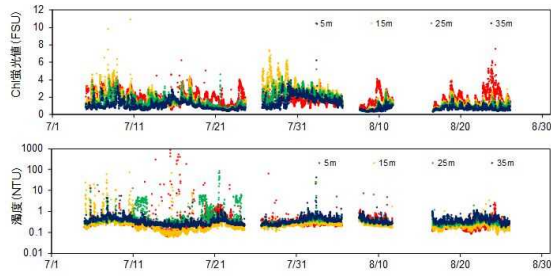


図 11 佐伯湾マグロ試験生簀におけるクロロフィル濃度及び濁度の推移
(上：クロロフィル濃度(FSU)、下：濁度(NTU))

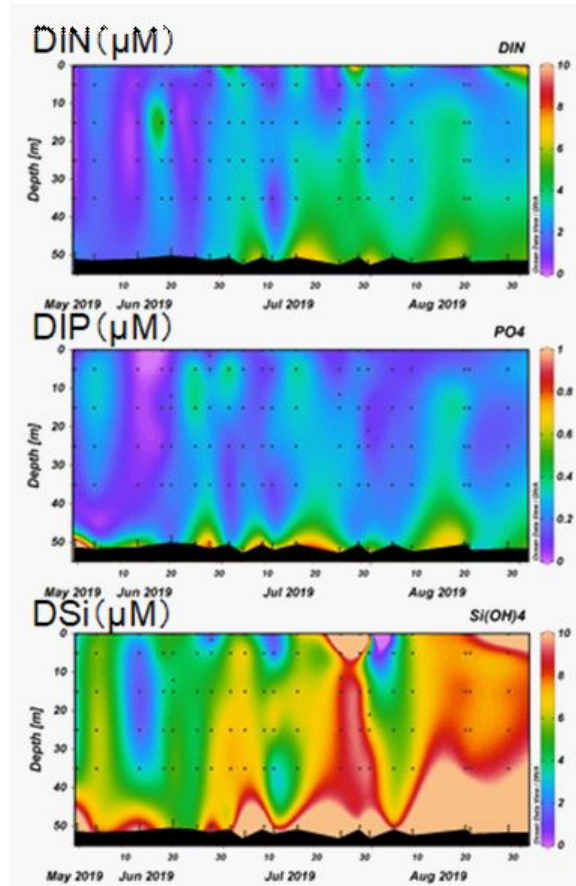


図 12 佐伯湾マグロ試験生簀における栄養塩濃度の推移

イ. 水中カメラによる赤潮モニタリング技術の開発

実証試験において、撮影スケジュールは10分ごとに2回とし、撮影期間は5月29日から9月26日までとした。撮影期間中、毎月1回データの回収と水中カメラの再設置を行った。また、撮影期間中の赤潮の発生・非発生を確認するため、検鏡による細胞の計数を実施した。機器を設置している佐伯湾JF大分鶴見浮き棧橋において5月から9月の間、週1回調査を行った。浮き棧橋からCTD (JFEアドバンテック社製AAQ-RINKO) による水温、塩分、クロロフィル蛍光値の表層から海底までの鉛直測定を実施した後、バケツによる表層採水及び採水器 (リゴ- B号) による 6 m、B-1.5 m及びクロロフィル極大層の採水を行った。得られた試料採水は当日中に光学顕微鏡を用いて、有害プランクトンと珪藻類の同定及び計数に用いた。

細胞計数による赤潮調査の結果、水中カメラ設置海域において、本年度夏季に *K. mikimotoi* による赤潮は確認されなかった。 *K. mikimotoi* の最高細胞密度は2019年8月9日の 27 cells/mLであった (表1)。一方、珪藻類の最高細胞密度は12,000cells/mL (2019年9月4日) であった。

水中カメラはプログラムどおりに作動し、34,366枚の写真が撮影された。赤潮調査が午前中に実施されたことから、赤潮観測日の10時30分の写真を取り出した (図13)。しかし、調査期間中 *K. mikimotoi* による赤潮が発生しなかつ

ったため、ベイズ推定による赤潮発生確率の算出を実施できなかったが、その一方で、珪藻優占時及び平時の貴重な水色データが得られた。

表 1 JF大分鶴見浮き桟橋における検鏡結果
(最大細胞密度 ; cells/mL)

観測日	<i>K.mikimotoi</i>	珪藻類
2019.05.31	0	375
2019.06.04	2	40
2019.06.13	2	1030
2019.06.20	0	2050
2019.06.27	3	600
2019.07.05	1	3750
2019.07.11	0	—
2019.07.25	2	1000
2019.07.31	5	700
2019.08.09	27	1
2019.08.16	1	5
2019.08.21	10	1550
2019.08.29	9	8450
2019.09.04	17	12000

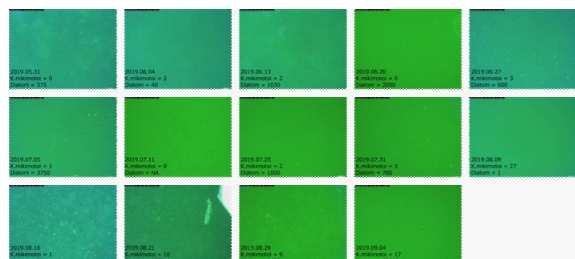


図 13 最大細胞密度と水中画像

引用文献

紫加田知幸, 鬼塚剛, 山口峰生, 高山剛, 伏屋玲子, 宮村和良, 梶川和武. 平成26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 瀬戸内海等での有害赤潮発生機構解明と予察・被害防止等技術開発. 「有害赤潮鞭毛藻類の遊泳特性を利用した新規赤潮防除技術の開発」報告書, 瀬戸内海赤潮共同研究機関, 2015 ; 168-183.

山口峰生. *Gymnodinium nagasakiense*の赤潮発生機構と発生子知に関する生理生態的研究. 南西海区水産研究所研究報告 1994 ; 27 : 251-394.

Koizumi Y, Uchida T, Honjo, T. Diurnal vertical migration of *Gymnodinium mikimotoi* during a red tide in Hoketsu Bay, Japan. *J. Plankton Res.* 1996; 18: 289-294.

Itoh T, Tsuji S, Nitta A. Migration patterns of young Pacific bluefin tuna (*Thunnus orientalis*) determined with archival tags. *Fish. Bull.* 2003; 101: 514-534.

麻痺性貝毒簡易分析キットを用いたスクリーニング手法の開発 (国庫委託)

中里礼大

本事業の詳細は、平成31年度安全な農林水産物安定供給のためのレギュラトリーサイエンス研究（麻痺性貝毒の機器分析法の高度化及びスクリーニング法の開発）委託事業報告書に記載した。本報告はその概要である。

事業の目的

佐伯市猪串湾周辺海域では、麻痺性貝毒プランクトン種 *Gymnodinium catenatum*（以下、*G. catenatum* という）及び *Alexandrium catenella*（以下、*A. catenella* という）の発生により、貝類の出荷自主規制が度々発生している。当研究部では、スクリーニング法としてELISA法を用いたモニタリングを実施することにより、貝毒の監視を行っている。本事業では、ELISA法と比べ、迅速かつ簡便に毒力を検出できるイムノクロマト法を用いた簡易分析キットの開発を目的とする。

事業の方法

1. *G. catenatum* 及び *A. catenella* によって毒化した二枚貝の測定条件の検討

G. catenatum によって毒化したムラサキガイ及び *A. catenella* によって毒化したヒオウギガイについて、下記事項について検討した。

1) 0MU/g～5MU/g毒力の調整

5MU/g相当の毒化サンプルを無毒サンプルにより希釈し、0MU/g相当から5MU/g相当の毒力を1MU/g刻みで調製する。

2) 希釈条件の検討

スクリーニングレベル2MU/gの毒力を判定するための希釈倍率を検討する。なお、判定方法は目視及びT/C値とし、目視判定については簡易分析キットのTバンドの強弱に応じて+、±、-の3段階で判定する。T/C値については、画像解析ソフトウェア（JustTLC、Sweday社製）を用いて、TラインとCラ

インの強弱を数値化しT/C値を計算する。

3) 2MU/gの毒力におけるT/C値の把握

2) で得られた希釈倍率で測定を行い、当該測定結果から2MU/g毒力のT/C値を算出する。

事業の結果

1. *G. catenatum* によって毒化したムラサキガイの測定条件の検討

1) 0MU/g～5MU/g毒力の調整

2019年2月25日～3月25日に森崎及び上浦において採取したムラサキガイのELISA検査及びマウスアッセイによる結果は表1のとおり。そのうち、2019年3月4日に採取した毒力6.03MU/gのムラサキガイを2019年1月7日に採取した毒力N.Dのムラサキガイで希釈することにより、0MU/g～5MU/g相当の毒力の試料を1MU/g刻みで調整した。

表1. *G. catenatum* によって毒化したサンプルの毒量検査結果（ELISA法及びマウスアッセイ）

No.	採取地点	採取日	毒力 (MU/g)	
			ELISA法	マウスアッセイ
1	上浦	2019/1/7	N.D	N.D
2	森崎	2019/2/25	17.27	12.74
3	森崎	2019/3/4	9.97	6.03
4	森崎	2019/3/11	4.00	3.10
5	森崎	2019/3/18	4.48	3.08
6	森崎	2019/3/25	2.71	2.10

2) スクリーニングレベル2MU/gを判定するための希釈倍率の検討

1) で得られた6試料を簡易分析キットに付属の希釈液により、100倍～400倍希釈までの4段階に希釈し、簡易分析キットによる測定を行い、スクリーニングレベル2MU/gの判定のための希釈倍率を検討した（表2）。その結果、300倍希釈において毒力1MU/g相当と2MU/g相当の目視判定及びT/C値の結果が明瞭であったことから、300倍希釈で測定を行うことが適切である可能性が示唆された。

表2. 簡易分析キット希釈条件（100倍～400倍希釈）

毒量	判定基準	希釈倍率			
		100	200	300	400
無毒試料	目視	++	++	++	++
	T/C値	0.59	0.76	0.74	0.43
1MU/g相当	目視	-	±	±	±
	T/C値	0.31	0.16	0.23	0.39
2MU/g相当	目視	-	-	-	±
	T/C値	0.13	0.11	0.12	0.55
3MU/g相当	目視	-	-	-	±
	T/C値	0.07	0.12	0.09	0.25
4MU/g相当	目視	-	-	-	-
	T/C値	0.18	0.12	0.02	0.15
5MU/g相当	目視	-	-	-	-
	T/C値	0.14	0.09	0.15	0.14

3) 2MU/gの毒力におけるT/C値の把握

表1のサンプルを簡易分析キット300倍希釈で測定し、画像解析により各検体のT/C値を算出した。T/C値とマウスアッセイ毒力を比較したところ、毒力の増加に伴いT/C値は低下（ $R^2=0.4228$ ）し、近似式（ $y=0.25444e^{-0.132x}$ ）から2MU/g相当のT/C値は0.195と算出された。スクリーニングレベルである2MU/g相当の試料のT/C値を0.195と設定した場合、試験に供したサンプル6個体全てにおいて、偽陽性及び偽陰性ともに認められなかった（図1）。

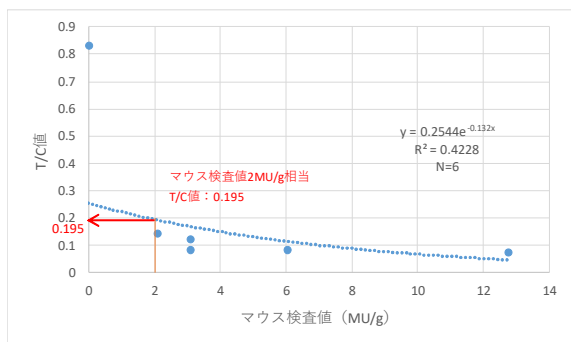


図1. マウスアッセイとT/C値の関係（300倍希釈）

1. *A. catenella*によって毒化したヒオウギガイの測定条件の検討

1) 0MU/g～5MU/g毒力の調整

2017年12月11日～2019年5月20日に採取したヒオウギガイのELISA検査及びマウスアッセイによる結果は表3のとおり。そのうち、2019年5月13日に採取した毒力2.22MU/gのヒオウギガイを2017年12月11日に採取した毒力N.Dのヒオウギガイで希釈することにより、0MU/g～2MU/g相当の毒力の試料を1MU/g刻みで調整した。

表3. *A. catenella*によって毒化したサンプルの毒量検査結果（ELISA法及びマウスアッセイ）

No.	採取地点	採取日	毒力(MU/g)	
			ELISA法	マウスアッセイ
1	一尺屋	2017/12/11	N.D	-
2	小蒲江	2017/12/11	1.83	1.81
3	小蒲江	2017/12/18	2.80	2.25
4	小蒲江	2017/12/25	4.80	2.66
5	小蒲江	2018/1/9	2.40	2.01
6	小蒲江	2018/11/12	3.60	2.69
7	丸市尾	2019/5/7	1.80	N.D
8	丸市尾	2019/5/13	2.80	2.22
9	丸市尾	2019/5/20	0.60	N.D

2) スクリーニングレベル2MU/gを判定するための希釈倍率の検討

1) で得られた3試料を簡易分析キットに付属の希釈液により、60倍～100倍希釈までの3段階に希釈し、簡易分析キットによる測定を行い、スクリーニングレベル2MU/gの判定のための希釈倍率を検討した（表4）。その結果、80倍希釈において毒力1MU/g相当と2MU/g相当の目視判定及びT/C値の結果が明瞭であったことから、80倍希釈で測定を行うことが適切である可能性が示唆された。

表4. 簡易分析キット希釈条件（60倍～500倍希釈）

毒量	判定基準	希釈倍率		
		60	80	100
無毒試料	目視	++	++	++
	T/C値	0.60	0.55	0.38
1MU/g相当	目視	-	±	±
	T/C値	0.04	0.18	0.23
2MU/g相当	目視	-	-	±
	T/C値	0.10	0.13	0.17

3) 2MU/gの毒力におけるT/C値の把握

表4のサンプルを簡易分析キット80倍希釈で測定し、画像解析により各検体のT/C値を算出した。T/C値とマウスアッセイ毒力を比較したところ、毒力の増加に伴いT/C値は低下（ $R^2=0.7648$ ）し、近似式（ $y=0.7648e^{-0.257x}$ ）から2MU/g相当のT/C値は0.134と算出された。スクリーニングレベルである2MU/g相当の試料のT/C値を0.134と設定した場合、試験に供したサンプル8個体のうち、1個体のみ偽陰性が確認されたものの、他7個体は偽陽性及び偽陰性ともに確認されなかった（図2）。なお、偽陰性となったサンプルの毒力は2.01MU/gであり、麻痺性貝毒により毒化した貝類の取扱いについて（平成27年3月6日付け厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知）において規定されている可食部毒量の規制値4MU/gを下回るものであった。

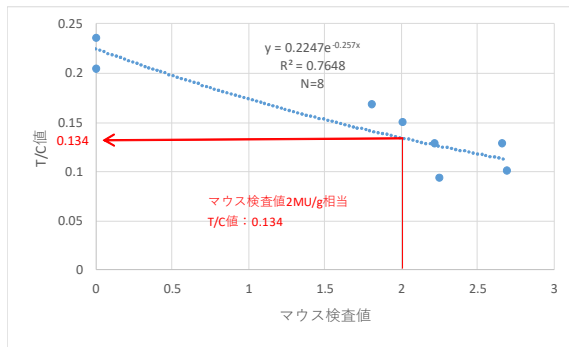


図2. マウスアッセイとT/C値の関係 (80倍希釈)