

## 2) 赤潮の被害軽減手法の開発

### ア. 魚毒性診断技術の開発

水産研究・教育機構 水産技術研究所（廿日市）  
湯浅光貴，西村朋宏，坂本節子  
水産研究・教育機構 水産技術研究所（横浜）  
内田 肇  
水産研究・教育機構 水産大学校  
山崎康裕  
大分県農林水産研究指導センター水産研究部  
毛利文香，西山雅人，堀 敏宏  
鹿児島県水産技術開発センター  
久保 満，西 広海，穴戸弘敏  
埼玉大学大学院 理工学研究科  
西山佳孝，小竹敬久  
北里大学 医学部  
西槇俊之，新井雄太，小川元之

## 1 全体計画

### (1) 目的

近年，本邦沿岸域において *Karenia mikimotoi* 等赤潮による甚大な被害が頻発している。有害赤潮は長期化することも多く，魚介類のへい死という直接的な被害だけでなく，餌止めなどの対策を講じることによって生じる「間接的な損失」も大きい。一方で，赤潮の魚毒性は赤潮原因プランクトンの生理状態等によって大きく変動することが知られている。そのため，魚毒性が高い時に餌止め等の苦肉の策を限定すれば被害軽減につながるはずである。これまでに，海水のスーパーオキシド ( $O_2^-$ ) レベルやワムシに対する毒性を指標にした現場赤潮の毒性を計測する技術が開発され，モニタリング項目としての実用が期待されている。しかしながら，現場を想定した条件検討や現場実証試験の蓄積等が不十分であり，現場普及には至っていない。また，有害赤潮による魚介類のへい死機構は未だ全容解明には至っておらず，原因種によって異なる毒因子が魚介類のへい死に関与する可能性があるため，原因種ごとに毒性診断技術を開発する必要がある。*Karenia* 属に関しては魚毒因子が不明であるが，細胞から毒性を含有する画分を抽出できる可能性が見出されている。そこで，本課題では，生化学的・分析化学的な技術等を用いて毒性と相関する因子を見出し，現場へ適用可能な毒性判定基準を新たに設定する。既存の毒性診断技術については手法の改良および現場普及を行う。

## 2 令和7年度計画および結果

### (1) 目的

全体計画と同じ。

### (2) 方法

#### 1) 新規毒性診断技術の開発

*Karenia* 属および *Chattonella* 属を対象とした新たな毒性診断技術を開発するために，毒性と相関する因子の探索や毒性の判定基準の確立を行った。

#### ① 生化学的手法によるカレニア属の毒性因子探索

*Karenia* 属の毒性と相関する因子を探索するため，複数の *Karenia mikimotoi* 単離培養株について水産生物に対する毒性を評価した。初めに，過年度までに確立した複数の *K. mikimotoi*

単離培養株 18 株（三重県産 2 株，徳島県産 5 株，高知県産 1 株，山口県産 1 株，大分県産 1 株，長崎県産 3 株，熊本県産 5 株）について，シオミズツボワムシ（ワムシ）に対する暴露試験を行い，毒性を評価した。ワムシへの暴露試験は，山崎ほか（2023）の方法に従い実施した。まず，48 ウェルプレート（IWAKI）の各ウェルに 0.1 mL の改変 SWM-3 培地を添加した後，20°C，150  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ，12 h 明:12 h 暗，で 7 日間培養したワムシを 0.1 mL あたり 10 個体になるようピペットを使用して実体顕微鏡（SZX9-3142-2，オリンパス）下で採取して添加した。その後，20°C，150  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ，12 hL:12 hD，改変 SWM-3 培地を用いて 7 日間培養した各 *K. mikimotoi* 培養株（1,250 cells mL<sup>-1</sup> に調製）を 0.8 mL ずつ添加し，各ウェルの最終液量を 1 mL とした。また，改変 SWM-3 培地のみにワムシを収容したものを陰性対象区とした。48 ウェルプレートは，20°C，150  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$  のインキュベーターにて静置し，暴露開始から 0，1，2，4 時間後のワムシのへい死個体数を倒立型光学顕微鏡（CKX41SF，オリンパス）下で計数してへい死率（%）を算出した。試験は 3 回繰り返し行った。

次に，ワムシへの暴露試験結果を受けて選抜した 9 株（三重県産：Mie09 株，Mie19 株，徳島県産：TNUS13\_03 株，高知県産：KSUM07 株，山口県産：YSK03 株，大分県産：Km69-9ax 株，長崎県産：IMR4 株，熊本県産：KASO09 株，KASO11 株）について，マダイおよびヒメダカに暴露して魚類に対する毒性を評価した。マダイに対する試験は，湯浅ほか（2025）に従い実施した。23°C，250  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ，12 hL:12 hD，改変 SWM-3 培地を用いて 7 日間培養した各 *K. mikimotoi* 培養株の細胞浮遊液（約 7,500 cells mL<sup>-1</sup> に調製）を 10 L 容円形水槽中に 3 L 準備した。そこへ，マダイ稚魚を 2 尾ずつ（体長:50.1 $\pm$ 10.9 mm，体重:3.04 $\pm$ 2.03 g）投入し，通気によって溶存酸素濃度を 6.0 mg L<sup>-1</sup> 以上となるように試験終了まで維持した。最長 6 時間暴露し，30 分おきに横臥個体の有無を観察した。横臥個体については水槽から取り上げて体長（mm）および体重（g）を計測した。また，横臥直後もしくは 6 時間生残した個体から鰓を採取し，片野固定液（Katano et al. 2009）に浸漬して 4°C で保存した。固定試料をパラフィン包埋して切片を作製し，ヘマトキシリン・エオジン（HE）染色およびアザン染色を行った。また，並行して透過型電子顕微鏡（TEM）による解析用の試料も作製した。組織切片を光学顕微鏡もしくは TEM で観察し，組織像を得た。試験は 2 回繰り返し行った。ヒメダカに対する暴露試験は，Yuasa and Shikata（2024）に従い実施した。25°C，250  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ，12 h 明:12 h 暗，改変 SWM-3 培地を用いて 10 日間培養した各 *K. mikimotoi* 培養株の細胞浮遊液（約 15,000 cells mL<sup>-1</sup> に調製）を 500 mL 容トルビーカー中に 200 mL 準備した。そこへ 25°C の海水で飼育したヒメダカを 4 尾ずつ（体長:26.5 $\pm$ 1.76 mm，体重:0.17 $\pm$ 0.04 g）投入し，通気によって溶存酸素濃度を 8.0 mg L<sup>-1</sup> 以上となるように試験終了まで維持した。最長 6 時間暴露し，30 分おきにへい死個体の有無を観察した。へい死個体については水槽から取り上げて体長（mm）および体重（g）を計測した。試験は 3 回繰り返し行った。

令和 6 年度までに *Karenia selliformis* の細胞浮遊液をポリカーボネートフィルターで濾過するとその濾液の魚毒性は消失するが，ガラスフィルター（GF）で濾過すると濾液に魚毒性が残存することを報告している（湯浅ほか 2025）。そこで，今年度は，ヒメダカに対して強い毒性を示した *K. mikimotoi* 培養株（Mie09 株）を用いて，ニトロセルロースフィルター（NCF; 127-008，Thermo Fisher Scientific）もしくは GF（1822-090，Cytiva）を通過した濾液のヒメダカに対する毒性を調べた。25°C，250  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ，12 h 明:12 h 暗，改変 SWM-3 培地を用いて 10 日間培養した Mie09 株の細胞浮遊液（約 15,000 cells mL<sup>-1</sup> に調製）を 200 mL 準備し，ハンディポンプ（6132-0010，Thermo Fisher Scientific）を使用して NCF もしくは GF を通過させ，各濾液を 500 mL 容トルビーカーに 200 mL 調製した。そこへ 25°C の海水で飼育したヒメダカを 4 尾ずつ（体長:26.5 $\pm$ 2.31 mm，体重:0.16 $\pm$ 0.05 g）投入し，通気によって溶存酸素濃度を 8.0 mg L<sup>-1</sup> 以上となるように試験終了まで維持した。最長 6 時間暴露し，30 分おきにへい死個体の有無を観察した。へい死個体については水槽から取り

上げて体長 (mm) および体重 (g) を計測した。試験は 3 回繰り返し行った。

## ② 分析化学的手法によるカレニアの毒性診断技術の開発

令和 6 年度の結果において、*K. mikimotoi* (IMR4 株) および *K. selliformis* (Ks-6 株) を明暗条件で培養して抽出した試料から、毒性の変化と相関のある候補化合物を見出した。これらの毒性の指標となる候補化合物 3 種について、タンデム質量分析 (MS/MS) により得られたスペクトルから共通の部分構造を持つ化合物群であることが明らかになった。令和 7 年度は、毒性の異なる *K. mikimotoi* の株間における候補化合物の組成を明らかにするため Selected reaction monitoring (SRM) 分析条件を確立した。確立した分析条件により、*K. mikimotoi* の培養株 36 株の凍結融解試料 500  $\mu\text{L}$  を分析に供した。なお、分析試料は以下のように調製した。*K. mikimotoi* 培養株 36 株をそれぞれ 200 mL を 300 mL 容三角フラスコで 20°C, 150  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , 12 h 明:12 h 暗, 改変 SWM-3 培地を用いて 10 日間培養した。それらを約 10,000 cells  $\text{mL}^{-1}$  に調製して 50 mL を分析まで -20°C で凍結保存した。

## ③ シャットネラの細胞外多糖と魚毒性の関係探索

*Chattonella marina complex* における強毒株の Ago03 株は、弱毒株の Ago04 株に比べ細胞外多糖層 (グリコカリックス) が肥大化していることから、グリコカリックス (GCX) と魚毒性との関係を比較する必要がある。これまでに、*C. marina complex* 培養株における細胞外多糖の精製手法を確立し、Ago03 株と Ago04 株間で構成単糖に明確な差がないことを明らかにした (湯浅ほか 2024)。そこで令和 7 年度は、新たに確立された複数の *C. marina complex* 培養株について構成糖の分析を行い、細胞外多糖と魚毒性の相関関係を調べた。マダイに対する暴露試験は、湯浅ほか (2025) に従い実施した。23°C, 250  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , 12 h 明:12 h 暗, 改変 SWM-3 培地を用いて 7 日間培養した各 *C. marina complex* 培養株の細胞浮遊液 (約 5,000 cells  $\text{mL}^{-1}$  に調製) を 6 L 容 30 cm 水槽中に 3 L 準備した。そこへ、マダイ稚魚を 2 尾ずつ (体長: 68.8 $\pm$ 10.8 mm, 体重: 8.38 $\pm$ 6.55 g) 投入し、通気によって溶存酸素濃度を 6.0  $\text{mg L}^{-1}$  以上となるように試験終了まで維持した。最長 6 時間暴露し、30 分おきに横臥個体の有無を観察した。横臥個体については水槽から取り上げて体長 (mm) および体重 (g) を計測した。得られたマダイの生残曲線を暴露時間で積分して生残面積を求め、魚毒性スコアを算出した。魚毒性スコアは最も生残面積の高かった Ago03 株を 100, 最も生残面積の低かった Ago04 株を 0 とした時の相対値とした。また、横臥直後もしくは 6 時間生残した個体から鰓を採取し、片野固定液もしくは樹脂に浸漬して 4°C で保存した。固定試料をパラフィン包埋して切片を作製し、HE 染色およびアザン染色を行った。また、並行して TEM による解析用の試料も作製した。組織切片を光学顕微鏡もしくは TEM で観察し、組織像を得た。GCX の精製および構成糖分析は以下の手順で行った。

1. *C. marina complex* 培養株を改変 SWM-3 培地で 25°C, 7 日間培養した。400 mL の細胞懸濁液から 2  $\mu\text{L}$  分取し、1 mL 当たりの細胞数を求めた。400 mL の細胞浮遊液を 50 mL の TPX チューブ 8 本に分注し、超音波破砕機 (UR-20P, 株式会社トミー精工) の最小出力 (Power control : 0) で処理し、GCX を細胞から剥離させた。
2. 3,500 rpm, 4°C で 5 分間遠心分離し、上清 (GCX 画分) を回収した。
3. GCX 画分を 300 kDa 限外濾過フィルター (PBMK07610, Merck Millipore) を取り付けたアミコン濃縮機 (UFSC40001, Merck Millipore) に移し、液量が 5 mL 以下になるまで濃縮した。



4. 濃縮した GCX 画分 (1 mg 程度) を 15,000 rpm で遠心し、上清を回収した。
5. 上清を水に対して透析し、その後、凍結乾燥にかけてさらに濃縮した。
6. 濃縮した GCX 画分を 2.5 mL の Phosphate-Buffered Saline (PBS) に溶解し、この内 2 mL をフィルター (孔径 0.45  $\mu\text{m}$ ) でろ過した後、Sephadex G-100 (G100120, Sigma-Aldrich) を用いてゲルろ過クロマトグラフィーに供した。
7. 溶出画分を 2 mL ずつ回収し、フェノール硫酸法により糖濃度を測定した。高分子の糖濃度が高い画分を精製 GCX とした。
8. 精製 GCX を水に対して透析後、凍結乾燥により濃縮し、糖濃度を求めた。最終的に糖濃度が  $1 \text{ mg mL}^{-1}$  となるように蒸留水に溶解した。これをさらに  $100 \text{ mg mL}^{-1}$  に分注し、終濃度 2 N のトリフルオロ酢酸 (TFA) 中で、 $120^{\circ}\text{C}$ 、60 分間の加水分解処理を行った後、遠心エバポレーターで TFA を除去した。
9. Amide-80 カラム (Dionex CarboPac PA1, Thermo Fisher Scientific) を装着した高速液体クロマトグラフィーに供して構成糖を検出した。
10. 精製した GCX の糖含有量から細胞当たりの糖量を求め、暴露試験の生残曲線から算出した魚毒性スコアとの相関関係を解析した。
11. 暴露試験に用いた株の構成糖を比較し、各構成糖の含有率の中央値を求めた。中央値より含有が多いものを高含有株、低いものを低含有株として扱い、構成糖ごとにグループ化し、構成糖と魚毒性の相関関係を解析した。

#### ④ プランクトンの毒性を識別する DNA の探索

2023 年から 2025 年にかけて、本邦沿岸域の 12 道府県 (北海道・室蘭、宮城県、神奈川県、三重県、京都府、徳島県、高知県、愛媛県、広島県、山口県、長崎県・五島、熊本県) より採取した海水試料より、*Karenia* 属培養株を 60 株程度確立した。また、2012 年から 2021 年にかけて 3 道県 (北海道・厚岸、長崎県、大分県) より確立され、水産技術研究所にて継代されていた 3 株を入手した。これらの培養株について、改変 SWM-3 培地を用いて  $25^{\circ}\text{C}$ 、塩分 33~34、12 h 明:12 h 暗、 $100 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  の条件で継代維持した。次に、各地点より選抜した代表株の DNA 抽出物について、リボソーム DNA の一領域 (ITS 領域) および葉緑体 DNA の一領域 (rbcL 領域) を標的としたプライマーセット (Sato et al. 2011; Yoon et al. 2002) を用いて PCR を行った。PCR に成功した試料について、それらの塩基配列を決定し、国内外より報告されている配列と共に多重配列整列を行った。さらに、ブートストラップサンプリングを 1,000 回に設定した最尤法に基づく分子系統解析を行い、供試株の遺伝子型分けを行った。最後に、明らかにした遺伝子型と毒性との対応関係を考察した。

#### 2) 既存の毒性診断技術のマニュアル改訂と現場検証

これまでに、 $\text{O}_2$ -レベルを指標とした魚毒性診断技術およびワムシ毒性試験による毒性診断技術についてマニュアルを作成した (湯浅ほか 2023)。しかしながら、これらの診断技術は一般のユーザーによる現場での実施例はほとんどなく、様々なケースに対応できる手法か否かについて十分に検討されていない。本課題では、本種法の実用化に向けて、これらの毒性診断技術について、現場サイドと共同で現場検証を行いながら、手法の簡易化等を検討した。

##### ① 毒性診断技術の現場検証

過年度までに、湯浅ほか (2023) で報告している既存のワムシ毒性試験 (以下、従来法とする) による毒性診断技術を簡便化した手法として、キュベットを使用した目視判定法を



報告している（湯浅ほか 2025）。また、後述する 2) ②では、マイクロチューブ（0407-02, マルエム）を使用した目視判定法について海産プランクトンの単離培養株を使用して検討している。そこで本課題では、現場赤潮海水を用いて、マイクロチューブを使用した目視判定法と従来法によるワムシ毒性試験を行い、毒性の検出結果を比較した。2025 年 9 月 17 日に鹿児島県八代海伊唐湾にてバンドーン採水器を用いて水深 1 m から採水を行い、*K. mikimotoi* を含む海水試料 ( $1,161 \text{ cells mL}^{-1}$ ) を得た。翌日に海水試料を鹿児島県水産技術開発センターから水産技術研究所廿日市庁舎へ発送した。19 日に同海水試料を受け取り、ワムシ毒性試験に供した。目視判定法は、以下の手順で実施した。まず、湯浅ほか (2025) の方法に従い、改変 SWM-3 培地で満たしたシャーレに孔径  $100 \mu\text{m}$  のセルストレーナー (352360, Corning) を浸漬させた後、 $25^{\circ}\text{C}$ ,  $150 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , 12 h 明:12 h 暗にて 7 日間培養したワムシ浮遊液をセルストレーナーに少しずつ注ぎ入れてワムシの濃縮および洗浄を行うとともに、実体顕微鏡下でワムシの個体数を計数して密度を算出した。次に、濃縮したワムシ浮遊液をマイクロチューブに  $0.2 \text{ mL}$  ずつ添加した。その後、*K. mikimotoi* の暴露細胞密度が  $440, 100 \text{ cells mL}^{-1}$  となるよう調製した現場海水をマイクロチューブに  $0.8 \text{ mL}$  ずつ添加して各マイクロチューブ内の最終液量を  $1.0 \text{ mL}$  とし、キャップで密閉した。また、改変 SWM-3 培地のみにワムシを収容したものを、陰性対照区とした。全てのマイクロチューブは、 $25^{\circ}\text{C}$ ,  $150 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  のインキュベーターにて 5 時間静置し、暴露開始から 0, 2, 5 時間後の様子を撮影し、ワムシ個体群の遊泳の有無を目視観察した。

従来法は、山崎ほか (2023) の方法に従い実施した。まず、48 ウェルプレート (3830-048, IWAKI) の各ウェルに  $0.1 \text{ mL}$  の改変 SWM-3 培地を添加した後、 $25^{\circ}\text{C}$ ,  $250 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , 12 hL:12 hD にて 7 日間培養したワムシを  $0.1 \text{ mL}$  あたり 10 個体になるようピペットで採取して添加した。その後、*K. mikimotoi* の暴露細胞密度が  $440, 100 \text{ cells mL}^{-1}$  となるよう調製した現場海水を  $0.8 \text{ mL}$  ずつ添加し、各ウェルの最終液量を  $1.0 \text{ mL}$  とした。また、改変 SWM-3 培地のみにワムシを収容したものを、陰性対照区とした。48 ウェルプレートは、 $25^{\circ}\text{C}$ ,  $150 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  のインキュベーターにて 5 時間静置し、暴露開始から 1 時間おきにワムシのへい死個体数を光学顕微鏡下で計数してへい死率を算出した。

## ② ワムシ毒性試験の簡易化とマニュアル改訂

北辻ほか (2024) は、複数の *K. mikimotoi* 株をアワビ類の稚貝とワムシに暴露したところ、株間の両者に対する毒性は概ね一致しており、ワムシ毒性試験は  $10 \text{ cells mL}^{-1}$  という低密度から毒性リスクの検出が可能なため、貝類に対する毒性のリスク評価に有効であると報告している。しかしながら、従来法による毒性診断技術には、ピペットを用いたワムシの採取に膨大な時間を要することや生死判定が主観的判断に基づいていることなど、改善すべき点が残されている。このため、へい死個体でなく生残（遊泳）個体を計数する方法（湯浅ほか 2024）やワムシ個体群の生残（遊泳）状況を目視で判定する目視判定法（湯浅ほか 2025）について検討を進めてきた。この結果、目視判定法は従来法より大幅な簡易化を図ることができたものの、操作性が良く目視判定に適した容器の選定や低い暴露密度域での毒性検出感度などを検討する必要があることが課題であった。そこで本課題では、有害種を含む 5 種 10 株の海産植物プランクトンをワムシに低密度で暴露し、目視判定法と従来法による毒性検出結果を比較した。

目視判定法は、以下の手順で実施した。まず、湯浅ほか (2024) の方法に従い、改変 SWM-3 培地で満たしたシャーレに孔径  $100 \mu\text{m}$  のセルストレーナー (352360, Corning) を浸漬させた後、 $20^{\circ}\text{C}$ ,  $100 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , 塩分 30, 改変 SWM-3 培地を用いて 7 日間培養したワムシ浮遊液をセルストレーナーに少しずつ注ぎ入れてワムシの濃縮および洗浄を行うとともに、実体顕微鏡下でワムシの個体数を計数して密度を算出した。次に、濃縮したワムシ

浮遊液をマイクロチューブ（0407-02，マルエム）に 0.2 mL ずつ添加した。その後，暴露密度が 50 cells mL<sup>-1</sup>，100 cells mL<sup>-1</sup> および 500 cells mL<sup>-1</sup> となるよう調整した珪藻 [*Leptocylindrus* sp. (HHJ1\_42 株)]，ラフィド藻 [*Chattonella marina* var. *antiqua* (NIES-1 株)]，渦鞭毛藻 [*Heterocapsa circularisquama* (ax10-8 株，ax9-9 株および KSN02 株)，*K. mikimotoi* (Mie09 株，Mie19 株，KASO11 株および IMR4 株) および *K. selliformis* (Ks-6 株)] の細胞浮遊液を各マイクロチューブに 0.8 mL ずつ添加して最終液量を 1.0 mL とし，キャップで密閉した。また，改変 SWM-3 培地のみにワムシを収容し，陰性対照区とした。全てのマイクロチューブは，20°C，100 μmol photons m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> のインキュベーターにて 5 時間静置し，暴露開始から 2 時間および 5 時間後におけるワムシ個体群の遊泳の有無を目視観察した。

従来法は，山崎ほか (2023) の方法に従い実施した。まず，48 ウェルプレート (3830-048，IWAKI) の各ウェルに 0.1 mL の改変 SWM-3 培地を添加した後，20°C，100 μmol photons m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>，および塩分 30 にて 7 日間培養したワムシを 0.1 mL あたり 10 個体になるようピペットで採取して添加した。その後，目視判定法と同様に密度調整した 5 種 10 株の細胞浮遊液を 0.8 mL ずつ添加し，各ウェルの最終液量を 1.0 mL とした。また，改変 SWM-3 培地のみにワムシを収容し，陰性対照区とした。48 ウェルプレートは，20°C，100 μmol photons m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> のインキュベーターにて 5 時間静置し，暴露開始から 2 時間および 5 時間後におけるワムシのへい死個体数を倒立型光学顕微鏡下で計数した。

### ③ スーパーオキシド検出法のマニュアル改訂および実用化

令和 7 年 5 月から 9 月にかけて八代海における有害赤潮プランクトンの定期モニタリング時に，「スーパーオキシドを指標とする赤潮の魚毒性推定マニュアル」(湯浅ほか 2023) に従い，化学発光法によるスーパーオキシド (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) レベルの計測を実施した。2025 年 5 月 20 日，6 月 17 日，7 月 1 日，9 月 12 日，9 月 25 日に図 1 で示した定点で採水した海水試料について *Chattonella* 属の細胞密度および O<sub>2</sub><sup>-</sup> レベルを計測した。

「スーパーオキシドを指標とする赤潮の魚毒性推定マニュアル」(湯浅ほか 2023) に記載されている ATTO 製のルミノメーター (AB-2270，ATTO) が 2024 年 2 月に生産終了となり，同メーカーからの後継機は発売されないことが決定した。そこで，本課題では，他メーカーの代替機を使用した O<sub>2</sub><sup>-</sup> レベルの計測を試みた。3.35×10<sup>-2</sup>～4.09×10<sup>-6</sup> U mL<sup>-1</sup> における 14 段階の濃度のキサントキシゲナーゼ (XO) とその基質である 1 mM のヒポキサントシン (088-03402，富士フイルム和光純薬) の酵素反応で生成した O<sub>2</sub><sup>-</sup> を ATTO 製ルミノメーター，BERTHOLD 製ルミノメーター (Junior LB9509，BERTHOLD)，フナコシ製ルミノメーター (V301001，フナコシ) を使用して化学発光法で検出した。計測用チューブ (5841-255，WATSON) に各濃度の XO (X1875-50UN，Sigma-Aldrich) 10 μL，1 mM の L-012 (120-04891，富士フイルム和光純薬) 10 μL，PBS 20 μL もしくは 10,000 U mL<sup>-1</sup> の Superoxide dismutase (SOD) 20 μL を計測用チューブ (5841-255，WATSON) に事前に添加し，それぞれのルミノメーターにセットした後，滅菌濾過海水に溶解した 1 mM のヒポキサントシン 960 μL をチューブに勢いよく注ぎ，直ちに計測を開始した。計測開始後 30 秒間の積算値を O<sub>2</sub><sup>-</sup> レベルとした。計測は 1 回繰り返しとした。また，25°C，150 μmol photons m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>，12 hL:12 hD，改変 SWM-3 培地を用いて 4 日間培養した *C. marina* complex 培養株 3 株 (Ago03 株，Ago04 株，Cha13ISE02 株) の細胞浮遊液についても各ルミノメーターで O<sub>2</sub><sup>-</sup> レベルを計測し，結果を比較した。計測は 3 回繰り返し行った。

### (3) 結果および考察

#### 1) 新規毒性診断技術の開発

#### ① 生化学的手法によるカレンア属の毒性因子探索

*Karenia mikimotoi* 培養株 18 株の細胞浮遊液をワムシに暴露した結果を図 2 に示した。培

養株によってワムシに対して異なる強さの毒性を示し、IMR4 株は暴露 4 時間で 91% のへい死率であったのに対し、Mie09 株は暴露 4 時間でもへい死は見られなかった。この結果を受けて、ワムシに対する毒性が強い株と弱い株の 9 株を選抜し、マダイおよびヒメダカへの暴露試験を実施した。選抜した 9 株のマダイに対する毒性は、全株で 6 時間までに 50% 以上の横臥が認められた (図 3A)。そのうち、Mie09 株は暴露 1 時間で 100% の横臥率を示したが、Km69-9ax 株および KSUM07 株は暴露 1 時間で 16%、暴露 6 時間で 50% の横臥率であった (図 3A)。ヒメダカに対する毒性について、IMR4 株、KASO09 株、Km69-9ax 株、KSUM07 株、Mie19 株、TNUS3\_03 株では暴露 6 時間で 25% 以下のへい死率であり、そのうち Km69-9ax 株では暴露 6 時間でもへい死は見られなかった (図 3B)。一方で、KASO11 株、Mie09 株、YSK03 株は暴露 6 時間で 91% 以上のへい死率を示した (図 3B)。*K. mikimotoi* 培養株を暴露したマダイ鰓組織を解析した結果、パラフィン切片では二次鰓弁上皮および基底部の剥離がより顕著に認められ、基底部の塩類細胞も完全に剥離していた (図 4)。樹脂切片では、二次鰓弁上皮基底部の基底繊維の剥離がアニリンブルー液による青色で鮮明に確認された (図 5)。TEM による観察においても、二次鰓弁上皮の剥離等が明瞭に観察された (図 6)。以上の暴露試験による各 *K. mikimotoi* 株のワムシ毒性および魚毒性の評価結果から、KASO11 株、Mie09 株、YSK03 株は魚類に対して強毒性を示すが、Km69-9ax 株および KSUM07 株は魚類に対して弱毒性であることが示唆された。一方で、Mie09 株は魚類に対しては強毒性を示すものの、ワムシに対する毒性は示さなかった。したがって、*K. mikimotoi* は魚類に対する毒成分とワムシに対する毒成分の少なくとも 2 種類の毒成分を有すること、培養株によってそれらの産生能が異なることが示唆された。

次に、Mie09 株の NCF 濾過液および GF 濾過液と濾過に使用した細胞浮遊液をヒメダカに暴露した結果、細胞浮遊液では 6 時間で 91% がへい死、GF 濾過液では 50% がへい死したのに対し、NCF 濾過液では全尾が 6 時間生残した (図 7)。以上の結果から、*K. mikimotoi* の魚毒性は NCF を通過すると消失し、GF を通過した際には残存することが明らかとなった。したがって、*K. mikimotoi* が産生する魚毒成分は、*K. selliformis* のそれと同様、NCF の成分に吸着する可能性が示唆された。

## ② 分析科学的手法によるカレニアの毒性診断技術の開発

毒性の異なる *K. mikimotoi* 株における候補化合物の組成を明らかにするため、SRM 分析条件を確立し、*K. mikimotoi* 培養株 36 株の凍結融解液について分析した。その結果、候補化合物は株間で増減は認められたものの、マダイやワムシに対する毒性との相関は認められなかった (図 8)。したがって、今回分析対象とした候補化合物は毒性の強さと量が相関しない可能性が高いことが示唆されたため、今後は分析対象となる化合物の再選定を行う必要があると考えられた。

## ③ シャットネラの細胞外多糖と魚毒性の関係探索

新たに確立した複数の *C. marina complex* 培養株についてマダイに対する暴露試験を行った結果、株によって異なる魚毒性が確認された (図 9A)。生残曲線から魚毒性スコアを算出した結果を図 9B に示した。その結果、魚毒性スコアが 75 以上の株 (11 株) と 50 以下の株 (9 株) に二分され、前者を強毒グループ、後者を弱毒グループとした (図 9B)。また、鰓組織解析の結果、パラフィン切片では二次鰓弁上皮および基底部の剥離がより顕著に認められ、基底部の塩類細胞も完全に剥離していた (図 10)。樹脂切片では、二次鰓弁上皮基底部の基底繊維の剥離がアニリンブルー液による青色で鮮明に確認された (図 11)。TEM による観察においても、二次鰓弁上皮の剥離等が明瞭に観察された (図 12)。

暴露試験に供試した *C. marina complex* 培養株について魚毒性と GCX 含有量との関係を調べた。その結果、暴露試験で強い魚毒性を示した株においても、GCX の糖含有量が有意に高いという傾向は認められなかった (図 13)。同様に、魚毒性の低い株においても、GCX



糖含有量が一貫して低いという傾向も認められなかった（図 13）。そこで、GCX の質的差異に着目し、GCX の構成糖組成と魚毒性との関係を解析した。その結果、GCX 中にラムノースを高含有する株においてのみ、強い魚毒性が発揮される傾向が認められた（図 14）。一方で、他の構成糖については、高含有群と低含有群の間に有意な生残割合の差は認められなかった（図 14）。ラムノースは脊椎動物の糖鎖にはほとんど存在しない非自己糖であることから、ラムノースを多く含む GCX が魚のエラの粘膜上皮に接触すると、非自己認識による障害を誘導する可能性が考えられた。しかし、本研究で実施した魚毒性試験および培養株数は限定的であったため、今後は数多くの魚毒性試験と GCX の糖分析を行って慎重に検証していく必要がある。さらに、GCX の性質は、構成糖組成の違いだけでなく、糖鎖の結合様式や分岐構造、分子量分布といった高次構造に強く依存する可能性がある。そのため、今後は構成糖分析に加え、核磁気共鳴解析等を用いた糖鎖構造の比較解析を行い、強毒株と弱毒株の GCX における構造的差異を明らかにする必要があると考えられた。

#### ④ プランクトンの毒性を識別する DNA の探索

ITS 領域について、供試した *Karenia* 属代表株のうち、34 株の塩基配列を決定することに成功した。600 塩基に基づく分子系統樹を作成した。これら 34 株のうち、9 県より確立した 33 株（神奈川県、三重県、徳島県、高知県、愛媛県、広島県、山口県、長崎県・五島および熊本県産株）は *K. mikimotoi* に、1 県より確立した 1 株（神奈川県産株）は *Karenia papilionacea* に属した（図 15A）。本領域において、*K. mikimotoi* は 2 つのクレード（clade I および II）より構成され、それぞれ 2 つの遺伝子型（A および B）に分けられた。なお、クレード名および遺伝子型名は、本研究により報告するものである。このうち、*K. mikimotoi* clade IA は、北太平洋産株（本研究で報告した 9 県のほか、和歌山県、香港および中国産株）で構成されると共に、clade IB も北太平洋産株（北海道・釧路産株）で構成された。また、clade IIA は太平洋産株（中国およびニュージーランド産株）で、clade IIB は北大西洋産株（ノルウェー、フランスおよびイギリス産株）で構成された（図 15B）。本邦沿岸域に分布する 2 つの遺伝子型（clade IA および clade IB）の塩基配列の差異は、平均 0.2% であった（600 塩基中平均 1 塩基置換）。また、clade IIA と IIB の塩基配列の差異は、平均 0.2% であった（600 塩基中平均 1 塩基置換）。さらに、clade IA/B と clade IIA/B の塩基配列の差異は、平均 1.0% であった（600 塩基中平均 6 塩基置換）。次に、本領域において、*K. papilionacea* は 3 つのクレード（clade I, II および III）より構成され、clade III は 2 つの遺伝子型（A および B）に分けられた。なお、クレード名および遺伝子型名は、本研究により報告するものである。このうち、*K. papilionacea* clade I は北大西洋産株（北アメリカ産株）で、clade II は北太平洋産株（本研究で報告した神奈川県および高知県産株）で、clade IIIA は南太平洋産株（ニュージーランド産株）で、clade IIIB は北太平洋産株（千葉県、瀬戸内海、高知県、中国および韓国産株）で構成された（図 15C）。本邦沿岸域に分布する 2 つの遺伝子型（clade II および clade IIIB）の塩基配列の差異は、平均 4.7% であった（600 塩基中平均 27 塩基置換）。

*rbcL* 領域について、全長配列ではないものの、18 株の部分配列を決定することに成功した。約 240 塩基に基づく分子系統樹を作成したところ、10 県（北海道・厚岸、北海道・室蘭、神奈川県、三重県、徳島県、高知県、愛媛県、広島県、山口県、長崎県・五島および熊本県産株）より確立した 18 株はいずれも *K. mikimotoi* に属したが、北海道・厚岸産の 1 株とその他の地域から確立した 17 株は、異なる遺伝子型であることが明らかとなった（図 15D）。本邦沿岸域に分布するこれら 2 つの遺伝子型の塩基配列の差異は、平均 2.9% であった（242 塩基中平均 7 塩基置換）。本研究では部分配列のみの決定に留まったため、詳細なクレード分けは行わなかったが、諸海外産株の系統的位置を鑑みると、海域により異なる遺伝子型が分布することが示唆された。また、ITS 領域と比較して遺伝子型間の塩基置換率が 15 倍程度高いことが示唆された。今後は、未供試株を含めた全株について *rbcL* 領域の全長配列を決定し、それらの系統的位置を比較することが望まれる。

また、主に西日本海域より確立した *K. mikimotoi* 培養株（山口県産 YSK03 株、高知県産 KSUM07 株）は、マダイやヒメダカに対して異なる毒性を示した一方で（図 3）、少なくとも ITS 領域における塩基置換は無かったことから、ITS 領域の遺伝子型と魚毒性との間に対応関係は無いことが示唆された。これより今後は、*rbcL* 領域の全長配列を決定すると共に、他の DNA 領域による分子系統解析もしくは他の分子生物学的解析手法により、*K. mikimotoi* の毒性の強弱と対応する DNA 領域が特定されることが望まれる。

## 2) 既存の毒性診断技術のマニュアル改訂と現場普及

### ① 毒性診断技術の現場検証

2025 年 9 月 17 日に鹿児島県八代海伊唐湾で採水した *K. mikimotoi* を含む海水試料について、水産技術研究所廿日市庁舎に到着した後に *K. mikimotoi* の細胞密度を算出した結果、550 cells mL<sup>-1</sup>であった。同海水試料を *K. mikimotoi* の細胞密度が 440 および 100 cells mL<sup>-1</sup> となるように希釈調製した試験区を設け、ワムシに暴露した。その結果、48 ウェルプレートを用いた従来法では、暴露 2 時間後の 440 cells mL<sup>-1</sup> 区で 50%、100 cells mL<sup>-1</sup> 区では 10% のワムシがへい死した。また、暴露 5 時間後の 440 cells mL<sup>-1</sup> 区で 80%、100 cells mL<sup>-1</sup> 区では 30% のワムシがへい死した（図 16）。一方で、マイクロチューブを使用した目視判定法では、440 cells mL<sup>-1</sup> 区で暴露 2 時間以降に明確なワムシ浮遊細胞の減少が観察されたものの、100 cells mL<sup>-1</sup> 区では暴露 5 時間後においてもへい死は見られなかった（図 17）。以上の結果から、*K. mikimotoi* が比較的低細胞密度（440 cells mL<sup>-1</sup>）で含まれる海水試料であっても、ワムシに対する毒性はいずれの方法でも検出可能であることが明らかとなった。一方で、100 cells mL<sup>-1</sup> 暴露区においては、従来法（48 ウェルプレート法）ではワムシに対する毒性が検出されたものの、マイクロチューブを使用した目視判定法では、毒性は検出できなかった。これより、目視判定法のワムシ毒性の検出感度は、従来法のそれと比較して低いことが示唆された。今後は、現場で採水した直後の海水を使用して、本法の検出感度や有用性を調べる必要がある。

### ② ワムシ毒性試験の簡易化とマニュアル改訂

毒性リスクの検出感度を維持した状態で試験手法のさらなる簡易化を図るために、有害種を含む 5 種 10 株の植物プランクトンをワムシに低密度で暴露し、暴露 2 時間後における従来法と目視判定法で得られた結果を比較した（図 18, 19）。暴露開始から 2 時間後、従来法では *H. circularisquama* (KSN02 株) と *K. mikimotoi* (Mie19 株および IMR4 株) の 500 cells mL<sup>-1</sup> 暴露区および *K. selliformis* (Ks-6 株) の 100 cells mL<sup>-1</sup> および 500 cells mL<sup>-1</sup> 暴露区において、半数程度のワムシがへい死した（図 18）。特に、*K. selliformis* (Ks-6 株) の 500 cells mL<sup>-1</sup> 暴露区においては、暴露開始から 1 時間以内に 8 割のワムシがへい死し、2 時間後にはワムシがほぼ全滅するという極めて強い毒性が検出された（図 18）。一方、*Leptocylindrus* sp. (HHJJ1\_42 株)、*C. marina* var. *antiqua* (NIES-1 株)、*H. circularisquama* (ax10-8 株および ax9-9 株)、および *K. mikimotoi* (Mie09 株および KASO11 株) のワムシに対する毒性はほとんど検出されなかった（図 18）。暴露開始から 5 時間後は、暴露後 2 時間と比較して一部を除いて大きな変化は認められなかったが、従来法では *H. circularisquama* (KSN02 株) と *K. mikimotoi* (Mie19 株) の 500 cells mL<sup>-1</sup> 暴露区および *K. selliformis* (Ks-6 株) の 100 cells mL<sup>-1</sup> 暴露区において、7 割～9 割程度のワムシのへい死が確認された。

目視判定法では、*H. circularisquama* (KSN02 株) と *K. mikimotoi* (Mie19 株および IMR4 株) の 500 cells mL<sup>-1</sup> 暴露区および *K. selliformis* (Ks-6 株) の 100 cells mL<sup>-1</sup> および 500 cells mL<sup>-1</sup> 暴露区において、ほぼ全てのワムシが遊泳力を失い試験管の底部に沈降した（図 19）。また、従来法で毒性が検出されなかった種および株では目視判定法でも毒性は検出されなかった。ただし、従来法でワムシのへい死率が 3 割程度であった毒性については、目視判定法による検出が困難であった。

以上の結果から、目視判定法は従来法より大幅に簡易化を図ることができた。また、本年度に使用したガラス製のマイクロチューブは、令和5年度に使用したプラスチック製のキューベットより操作性が良く、目視判定にも好適であった。しかしながら、目視判定法は従来法と比較して毒性リスクの検出感度がやや低いと考えられた。ただし、北辻ほか(2024)は、アワビ類をへい死させる毒力を持つ *K. mikimotoi* 株を  $100 \text{ cells mL}^{-1}$  で暴露した場合の2時間後および5時間後のワムシへい死率は、それぞれ4割および8割であったことを報告している。このため、本課題で用いた5種10株の植物プランクトンのうち、実際に貝類へ致死作用を示すだけの毒力を有しているのは *K. selliformis* (Ks-6株) のみであった可能性がある。したがって、毒性リスクが判定可能な養殖対象魚介類の選定、魚介類種別の毒性リスク判定基準の確立、毒性リスク判定に適した現場試料の採水・濃縮方法などの検討などをはじめとして今後も現場調査と室内実験の両面からさらなる検討を行い、目視判定法を現場での毒性判定に活用するための基礎的知見の集積に努める必要がある。

### ③ スーパーオキシド検出法のマニュアル改訂および実用化

令和7年6月17日、7月5日、23日および30日に、図1で示した定点で採水した試料中の *C. marina complex* 細胞密度および  $\text{O}_2^-$  レベルを計測した。各定点における  $\text{O}_2^-$  レベルは図20Aに、*C. marina complex* の細胞密度は図20Bに示した。6月17日のSt.8およびSt.10の採水試料に *C. marina complex* が  $1 \text{ cells mL}^{-1}$  検出されたが、他の試料では全て  $1 \text{ cells mL}^{-1}$  未満であった。 $\text{O}_2^-$  レベルは、6月17日のウスイで検出された14,245 relative luminescence units (RLU) が最高値であった。魚類のへい死リスクが生じる  $\text{O}_2^-$  レベルは約500,000 RLUであることから(湯浅ほか2023)、今回検出された  $\text{O}_2^-$  レベルは極めて低い値であり、*C. marina complex* の細胞密度も極めて低かったことから、魚毒性の低い海水であったことが推定された。

次に、各ルミノメーター製品の性能を把握するため、キサンチンオキシダーゼ系によって生成した  $\text{O}_2^-$  を ATTO 製、BERTHOLD 製およびフナコシ製のルミノメーターで計測し、検出値を比較した。キサンチンオキシダーゼ濃度が  $3.35 \times 10^{-2} \sim 4.09 \times 10^{-6} \text{ U mL}^{-1}$  の範囲で生成される  $\text{O}_2^-$  を計測した結果、ATTO 製ルミノメーターでは、35,261~321,637,061 RLU、BERTHOLD 製ルミノメーターでは、930~5,529 RLU、フナコシ製ルミノメーターでは、5~29,670 RLU の範囲で検出された(図21A)。また、*C. marina complex* 培養株の  $\text{O}_2^-$  レベルを各ルミノメーターで計測した結果、ATTO 製ルミノメーターでは、99,737~546,619 RLU、BERTHOLD 製ルミノメーターでは、300~3,938,317 RLU、フナコシ製ルミノメーターでは、6~55 RLU として検出された(図21B)。以上の結果から、同じ試料でも各メーカーのルミノメーター間で計測値が大きく異なることが明らかとなった。これは、発光レベルを表す RLU が各メーカーで統一された単位でないことが原因と考えられた。今後は、ATTO 製以外のルミノメーターが有害プランクトン種の  $\text{O}_2^-$  レベルを検出できる性能を有するか、その判断基準を検討する必要がある。

## 引用文献

- 北辻さほ, 湯浅光貴, 紫加田知幸, 山崎康裕. シオミズツボワムシへの毒性を指標とした *Karenia mikimotoi* 赤潮の貝類へい死リスクの評価. 日本プランクトン学会報 2024 ; 71: 1-9.
- 山崎康裕, 亀尾辰砂, 和田佳大, 北辻さほ, 湯浅光貴, 紫加田知幸. シオミズツボワムシに対する毒性を指標とした有害・有毒藻類の毒性リスク評価. 日本プランクトン学会報 2023 ; 70: 52-61.
- 湯浅光貴, 北辻さほ, 坂本節子, 紫加田知幸, 秋田一樹, 内田肇, 山崎康裕, 内山郁夫, 西出浩世, 斉藤義昭, 野田誠, 宮村和良, 今吉雄二, 赤塚麻美, 吉満敏, 西山佳孝, 小竹



- 敬久, 西槇俊之, 勝村啓史, 小川元之. 2) 有害赤潮の防除及び漁業被害軽減のための技術開発. 令和3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, 赤潮共同研究機関, 広島. 2023 ; 233-260.
- 湯浅光貴, 西村朋宏, 坂本節子, 紫加田知幸, 北辻さほ, 秋田一樹, 内田肇, 山崎康裕, 野田誠, 毛利文香, 宮村和良, 今吉雄二, 赤塚麻美, 西山佳孝, 小竹敬久, 西槇俊之, 勝村啓史, 新井雄太, 小川元之. 2) 赤潮の被害軽減手法の開発. ア. 魚毒性診断技術の開発. 令和5年度漁場環境・改善推進事業のうち海域特性に応じた赤潮・貧酸素水塊, 栄養塩類対策推進事業. (1) 赤潮等による漁業被害への対策技術の開発・実証・高度化報告書, 赤潮共同研究機関, 広島. 2024 ; 228-251.
- 湯浅光貴, 西村朋宏, 坂本節子, 紫加田知幸, 内田肇, 山崎康裕, 毛利文香, 西山雅人, 宮村和良, 久保満, 中島広樹, 脇田敏夫, 西山佳孝, 小竹敬久, 西槇俊之, 勝村啓史, 新井雄太, 小川元之. 2) 赤潮の被害軽減手法の開発. ア. 魚毒性診断技術の開発. 令和6年度豊かな漁場環境推進事業のうち海域特性に応じた赤潮・貧酸素水塊, 栄養塩類対策推進事業. (1) 赤潮等による漁業被害への対策技術の開発・実証・高度化報告書, 赤潮共同研究機関, 広島. 2025 ; 228-251.
- Katano T, Yoshida M, Lee J, Han MS, Hayami Y. Fixation of *Chattonella antiqua* and *C. marina* (Raphidophyceae) using Hepes-buffered paraformaldehyde and glutaraldehyde for flow cytometry and light microscopy. *Phycologia*, 2009; **48**: 473-479.
- Sato S, Nishimura T, Uehara K, Sakanari H, Tawong W, Hariganeya N, Smith K, Rhodes L, Yasumoto T, Taira Y, Suda S, Yamaguchi H, Adachi M. Phylogeography of *Ostreopsis* along west pacific coast, with special reference to a novel clade from Japan. *PLOS ONE*, 2011; **6(12)**: e27983.
- Yoon SH, Hackett DJ, Bhattacharya D. A single origin of the peridinin- and fucoxanthin-containing plastids in dinoflagellates through tertiary endosymbiosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2002; **99(18)**: 11724-11729.
- Yuasa K, Shikata T. *Karenia selliformis* grown under moderate light intensity exerts strong toxicity to fish. *Plankton Benthos Res.*, 2024; **19(3)**: 108-115.

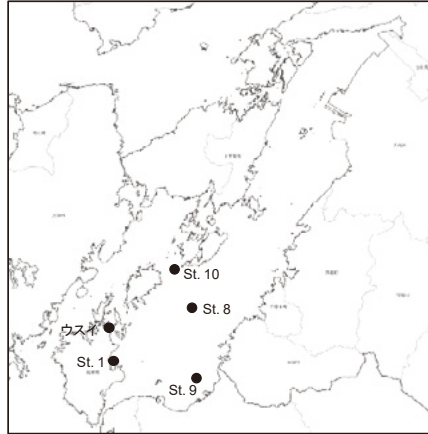


図 1. 八代海における調査定点.

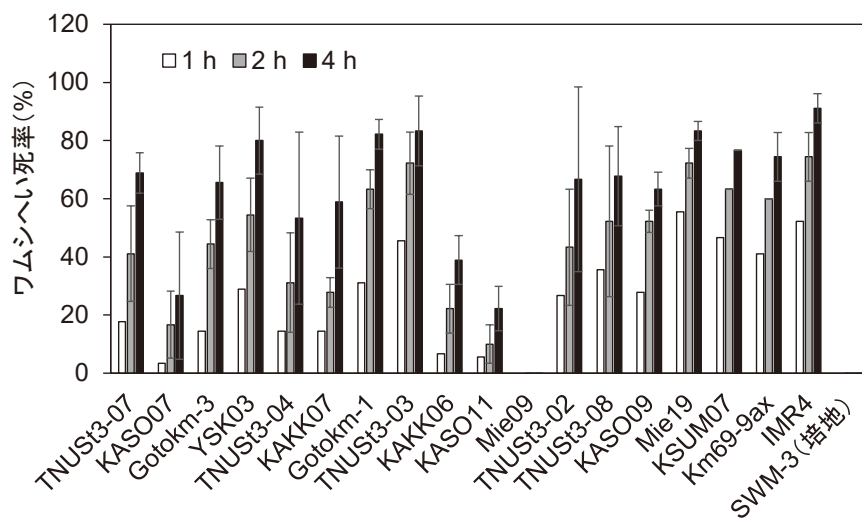


図 2. *Karenia mikimotoi* 培養株のシオミズツボワムシに対する毒性.

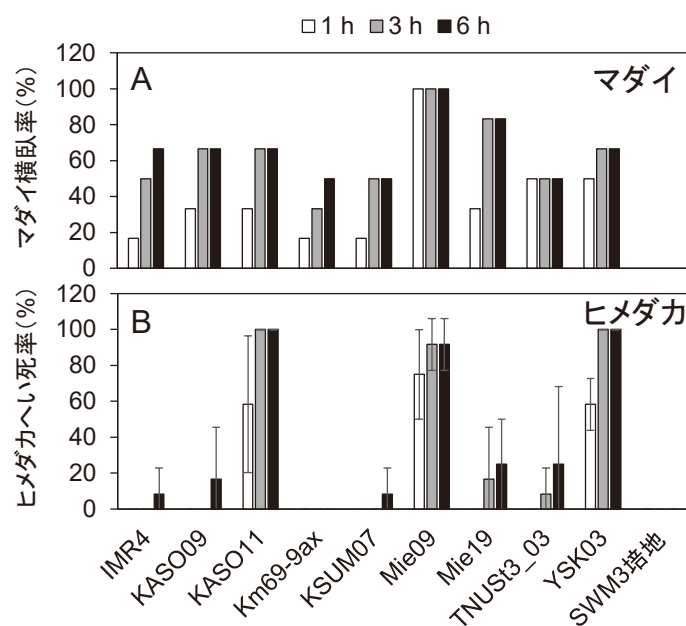


図 3. *Karenia mikimotoi* 培養株の A: マダイおよび B: ヒメダカに対する毒性.

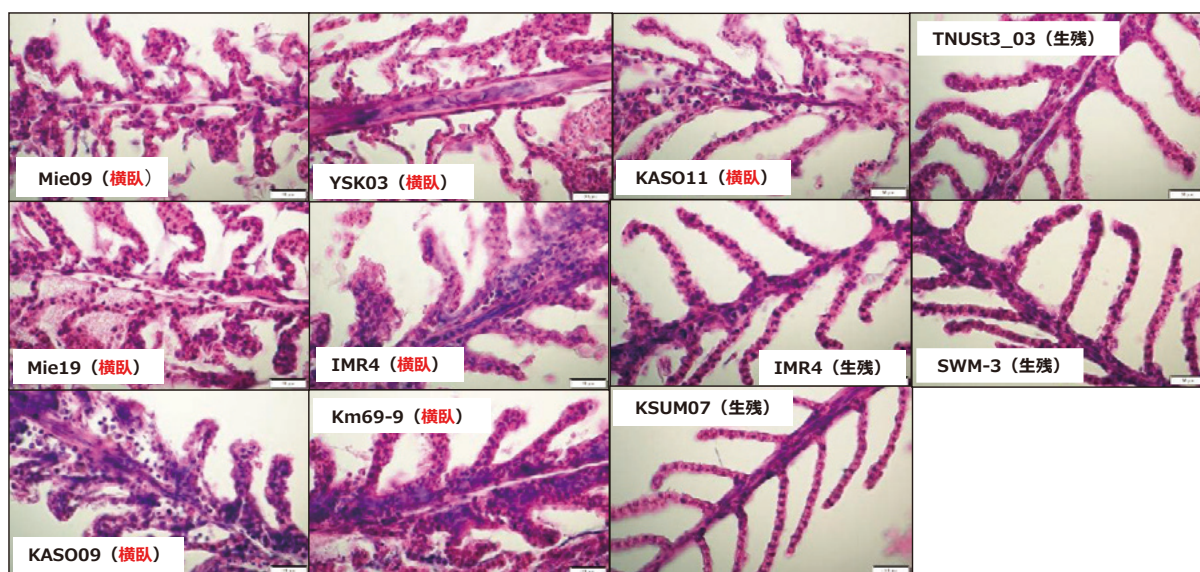


図 4. *Karenia mikimotoi* 培養株を暴露したマダイ鰓のパラフィン切片画像.

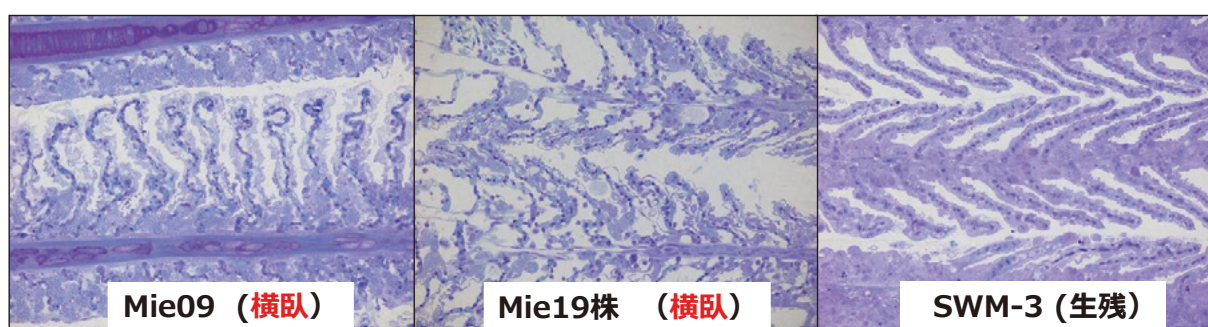


図 5. *Karenia mikimotoi* 培養株を暴露したマダイ鰓の樹脂切片画像.

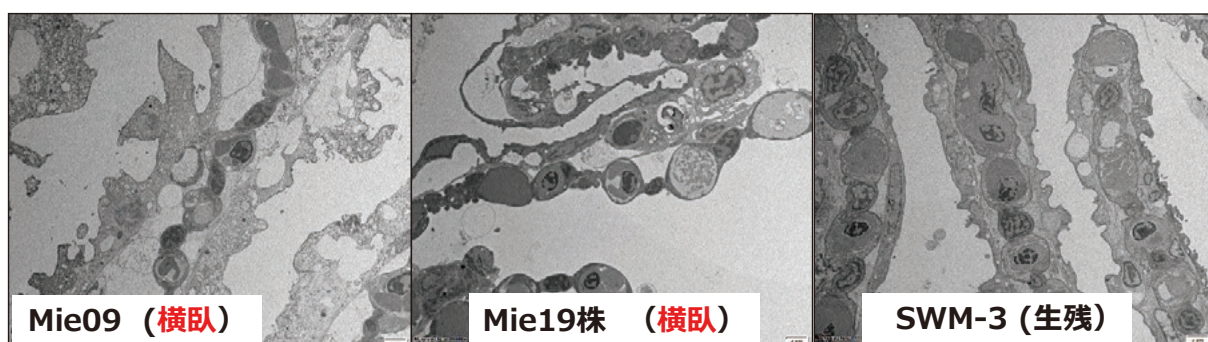


図 6. *Karenia mikimotoi* 培養株を暴露したマダイ鰓の透過型顕微鏡画像.



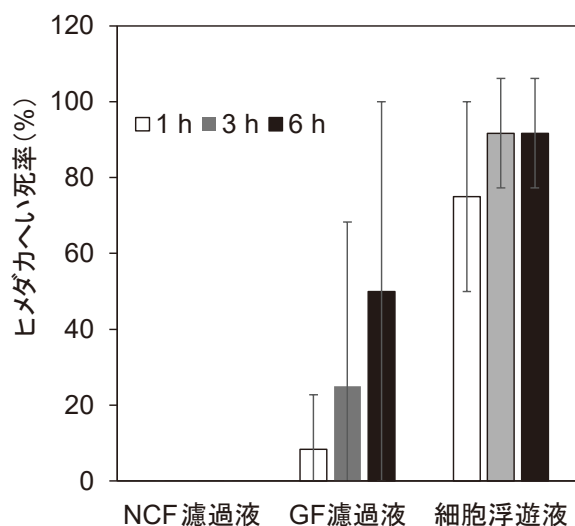
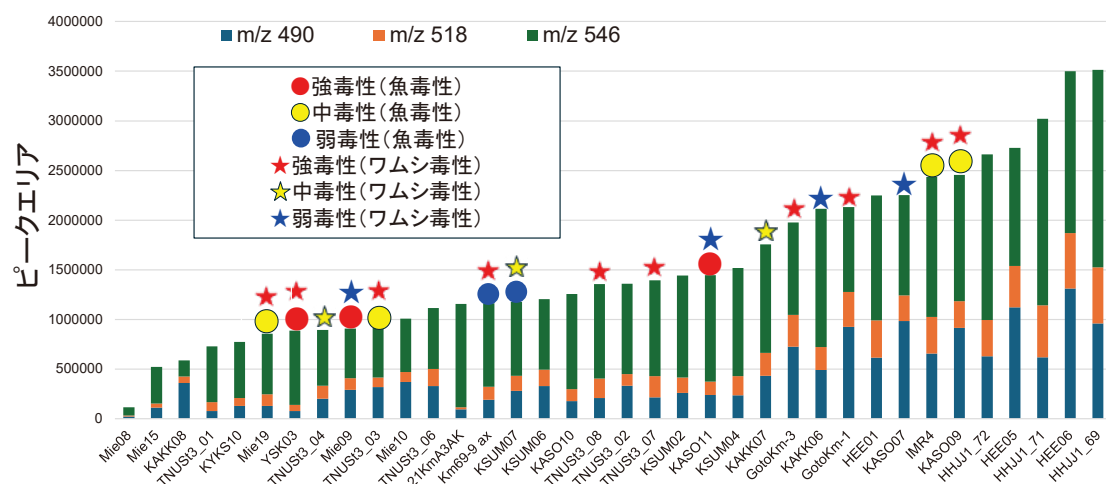


図 7. *Karenia mikimotoi* 強毒株の細胞浮遊液および濾過液のヒメダカに対する毒性.



#### K. mikimotoi培養株

図 8. Selected reaction monitoring (SRM) 分析による *Karenia mikimotoi* 株凍結融解試料中の m/z490, m/z 518, m/z 546 検出ピークエリア.

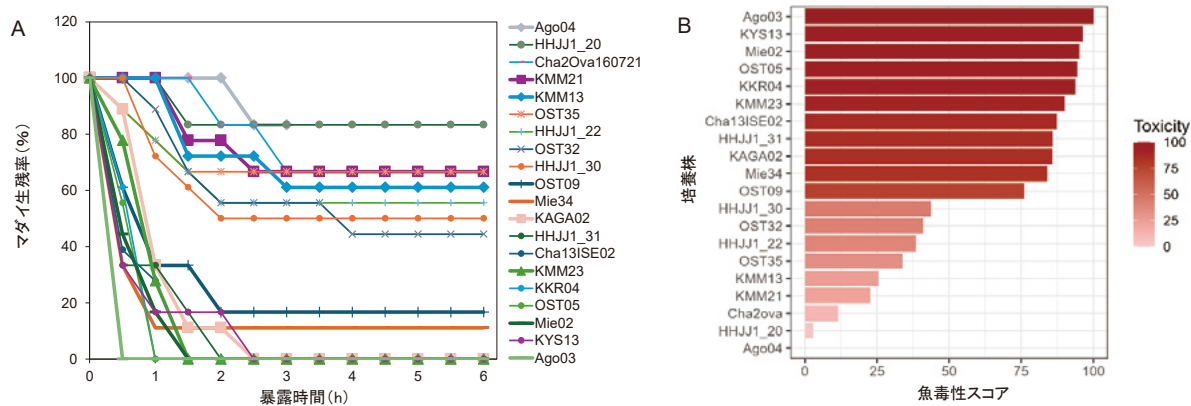


図 9. *Chattonella marina* complex 培養株のマダイに対する暴露試験における A: 生残曲線と B: 魚毒性スコア.

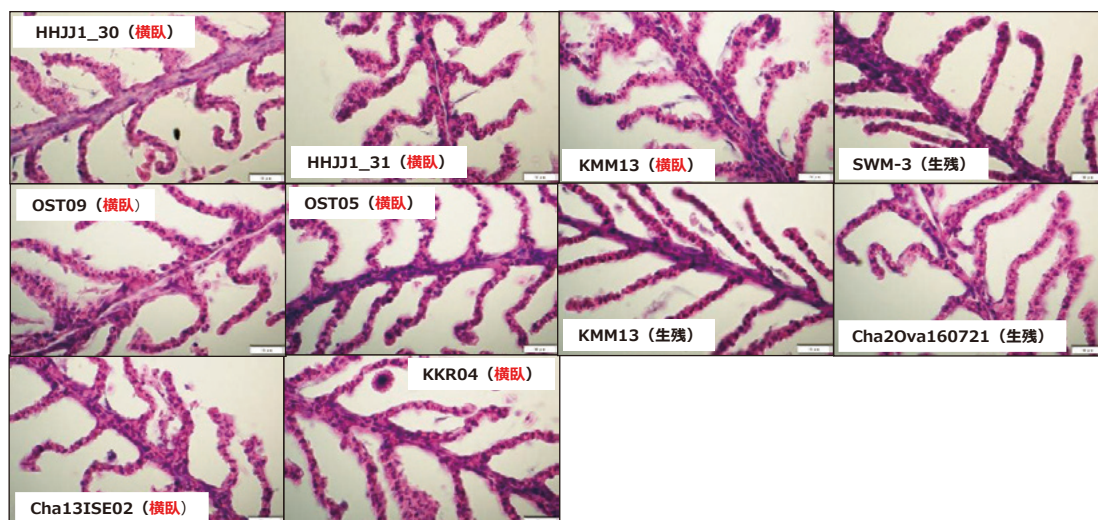


図 10. *Chattonella marina* complex 培養株を暴露したマダイ鰓のパラフィン切片画像.

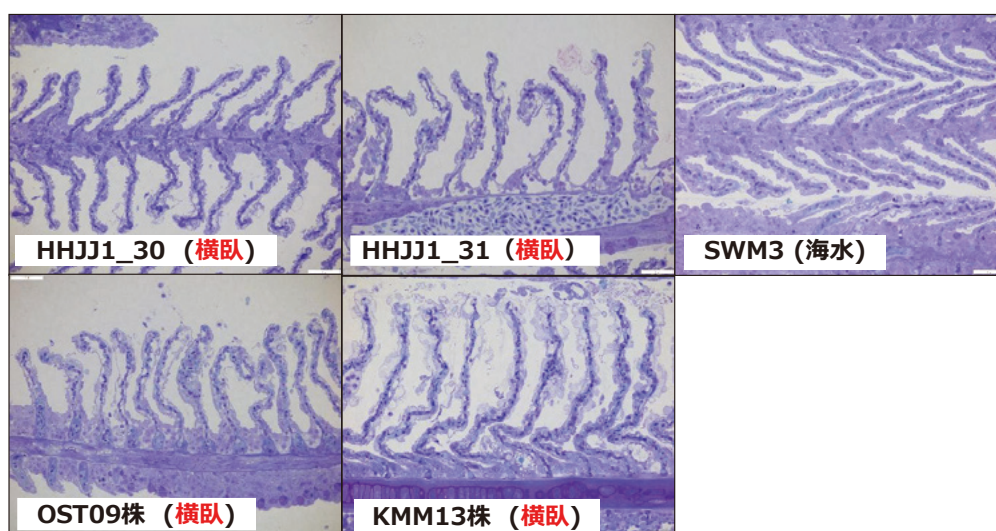


図 11. *Chattonella marina* complex 培養株を暴露したマダイ鰓の樹脂切片画像.

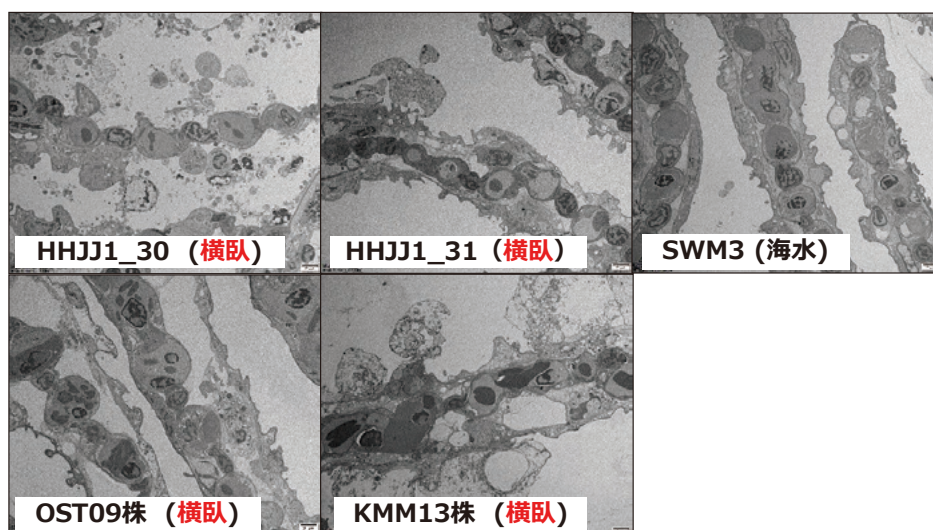


図 12. *Chattonella marina* complex 培養株を暴露したマダイ鰓の透過型顕微鏡画像.

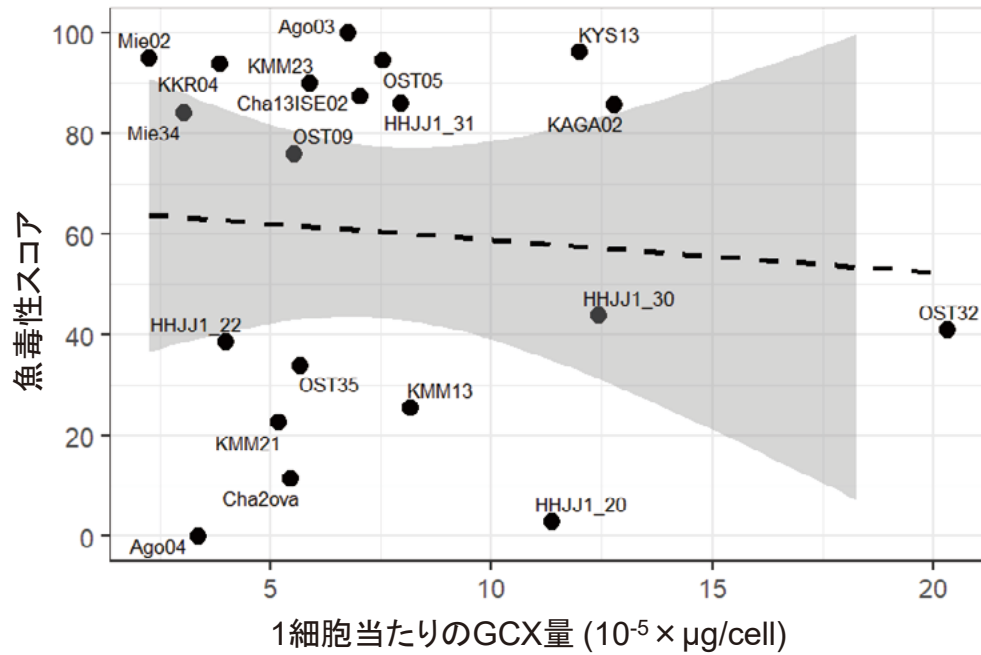


図 13. *Chattonella marina* complex 20 株における魚毒性スコアとグリコカリックス量の相関図.

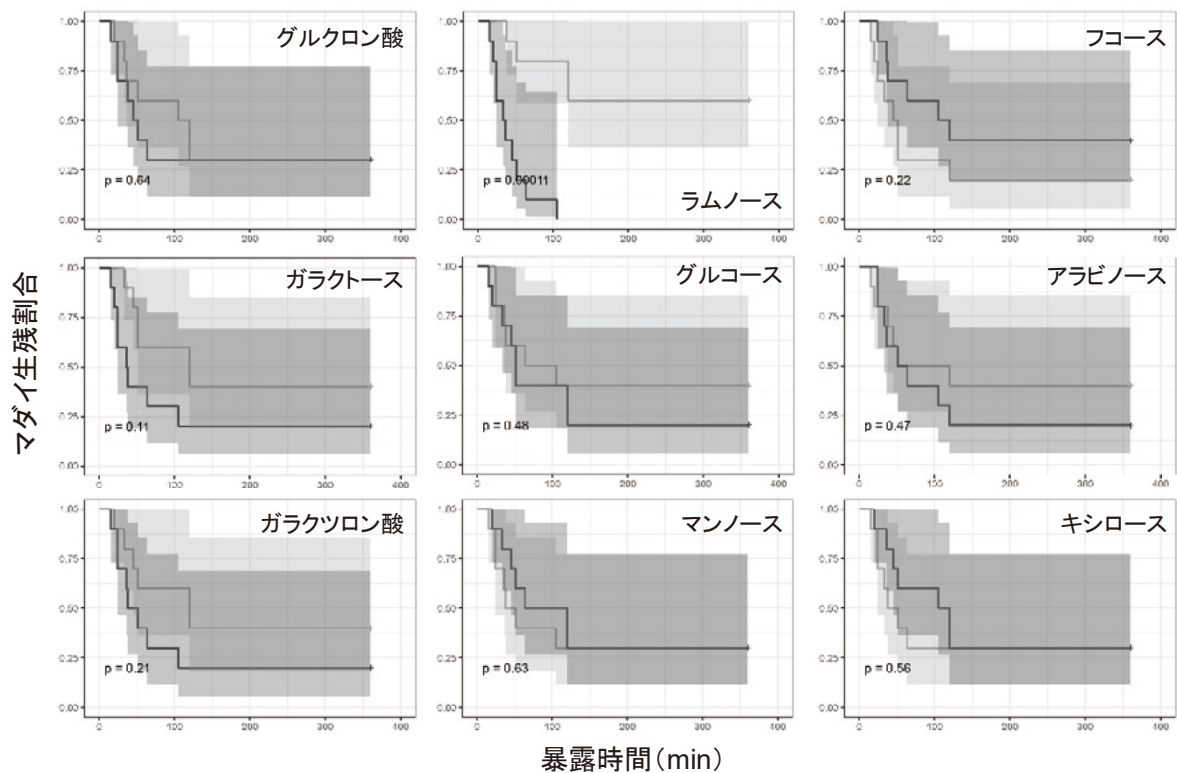


図 14. *Chattonella marina* complex 20 株のマダイに対する暴露試験の生存曲線. グリコカリックスの各構成単糖について高含有率群と低含有率群に二分した場合の生存曲線を Kaplan-Meier 法で示した. 網掛け範囲は各生存曲線における 95% の信頼区間を表している.



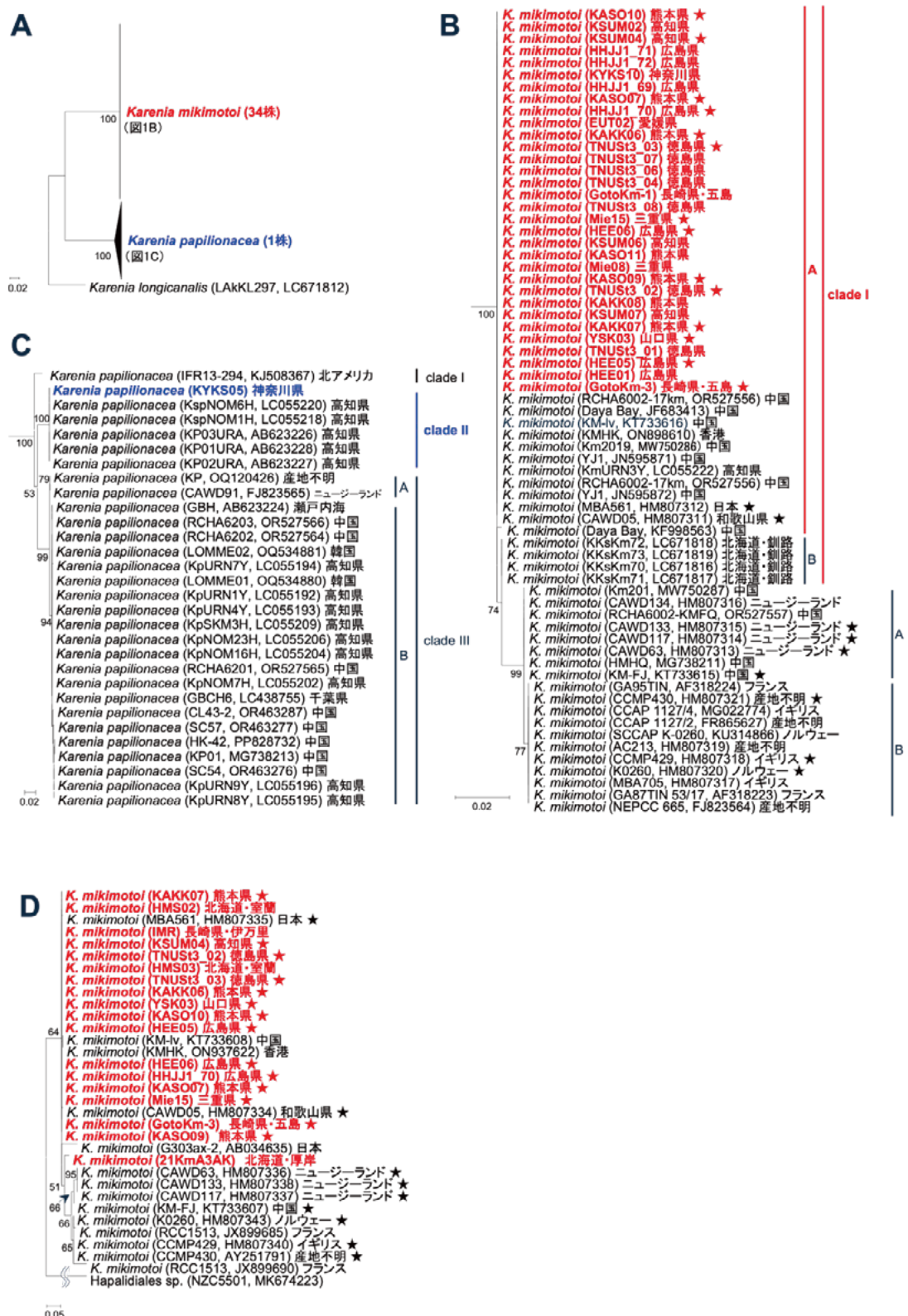


図 15. *Karenia* 属選抜株等の分子系統樹. A: ITS 領域, B: ITS 領域 (*K. mikimotoi* のみ抜き出し), C: ITS 領域 (*K. papilionacea* のみ抜き出し), D: *rbcL* 領域. 本研究において決定した配列は, 太字かつ赤字もしくは青字で示す. 枝上の数値はブートストラップ値を示し, 50 以上の場合のみ示す. ★は ITS 領域および *rbcL* 領域のいずれの分子系統樹にも使用された株であることを示す.

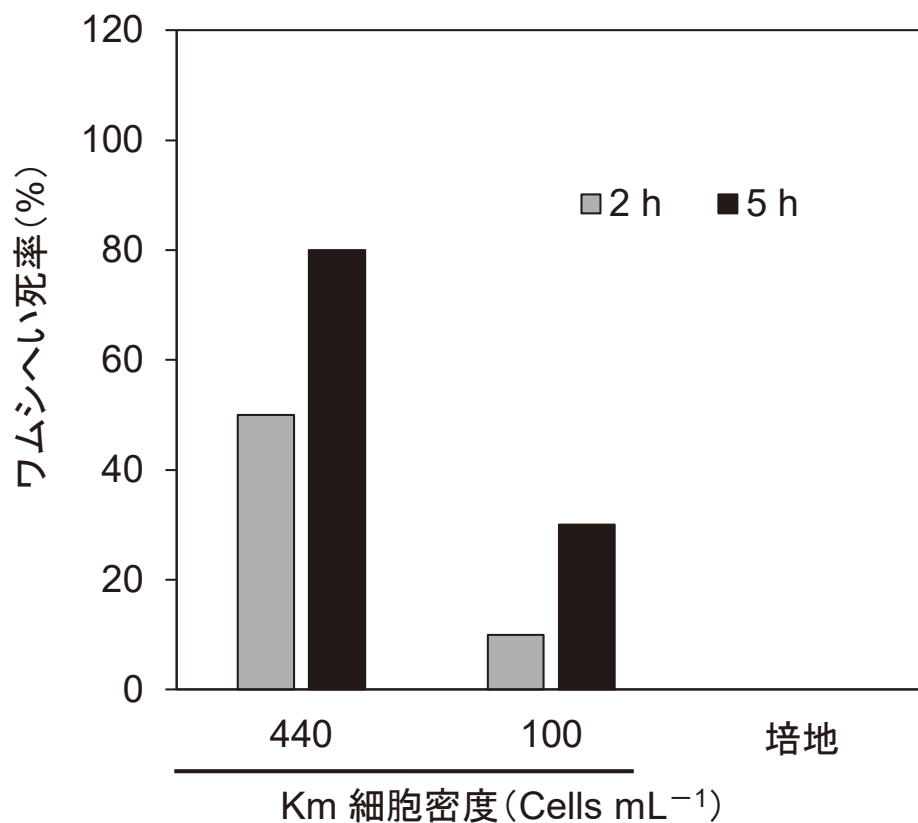


図 16. 八代海伊唐湾から採水した *Karenia mikimotoi* (Km) を含む海水試料の従来法によるシオミズツボワムシに対する暴露試験.

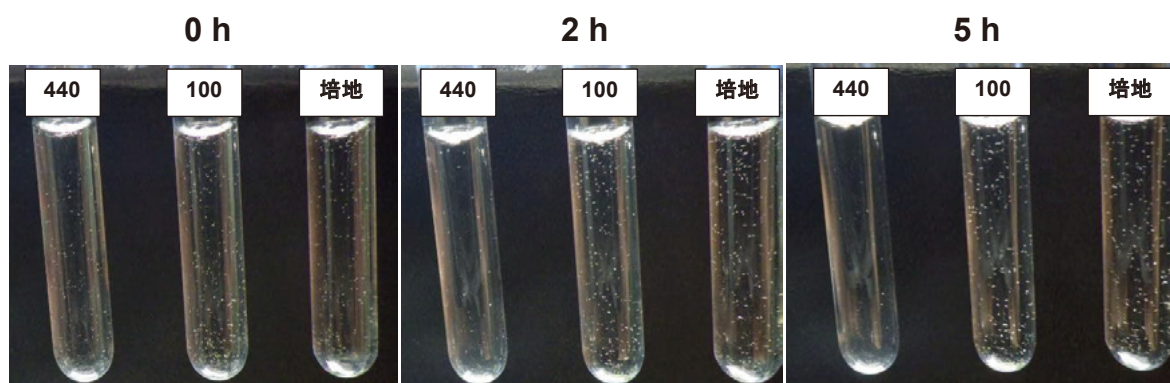


図 17. 八代海伊唐湾から採水した *Karenia mikimotoi* を含む海水試料の目視判定法によるシオミズツボワムシに対する暴露試験.

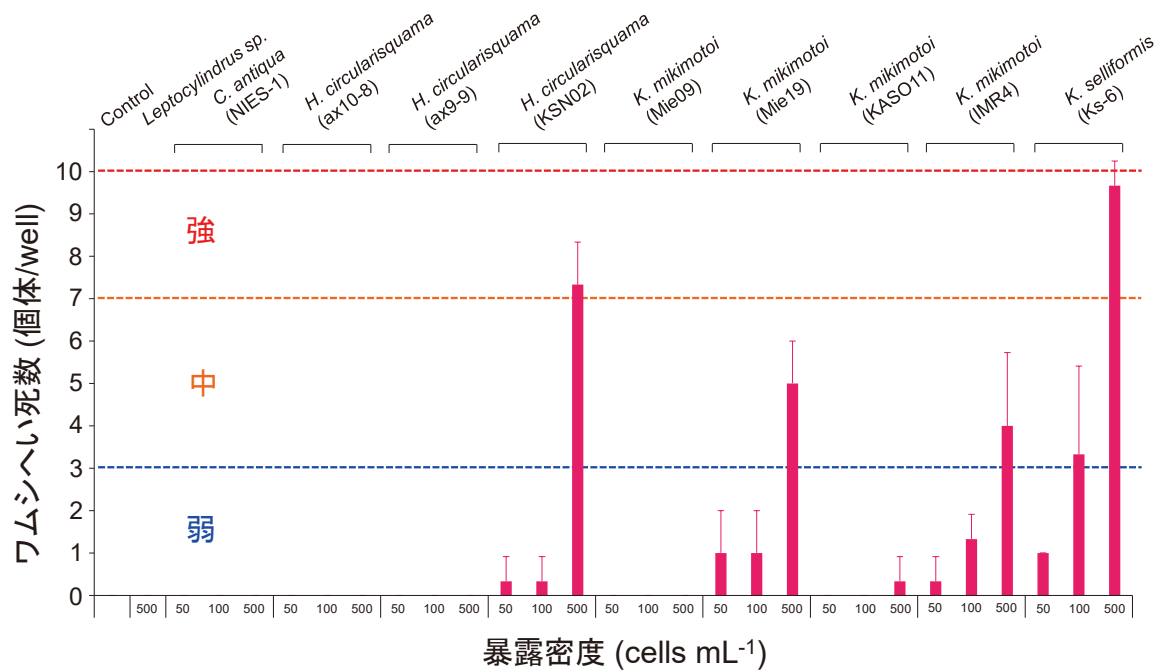


図 18. 海産プランクトン培養株の従来法によるシオミズツボワムシに対する暴露試験.

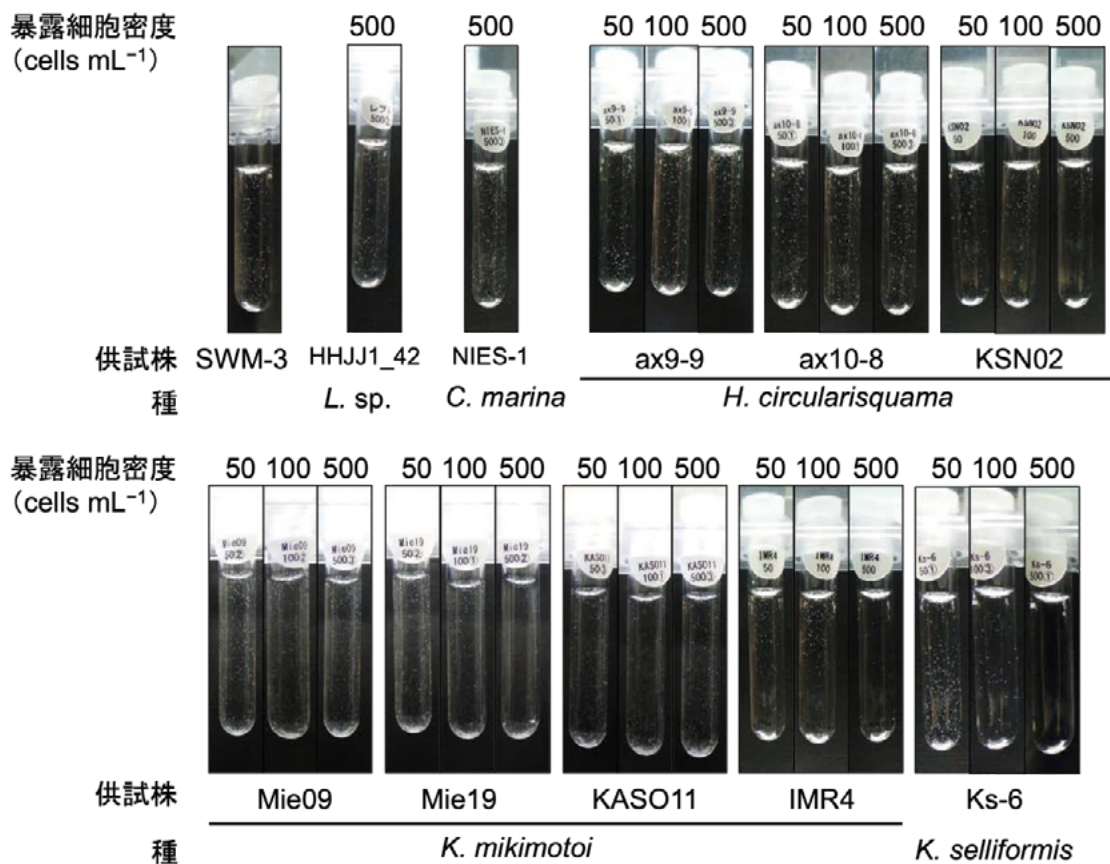


図 19. 海産プランクトン培養株の目視判定法によるシオミズツボワムシに対する暴露試験.



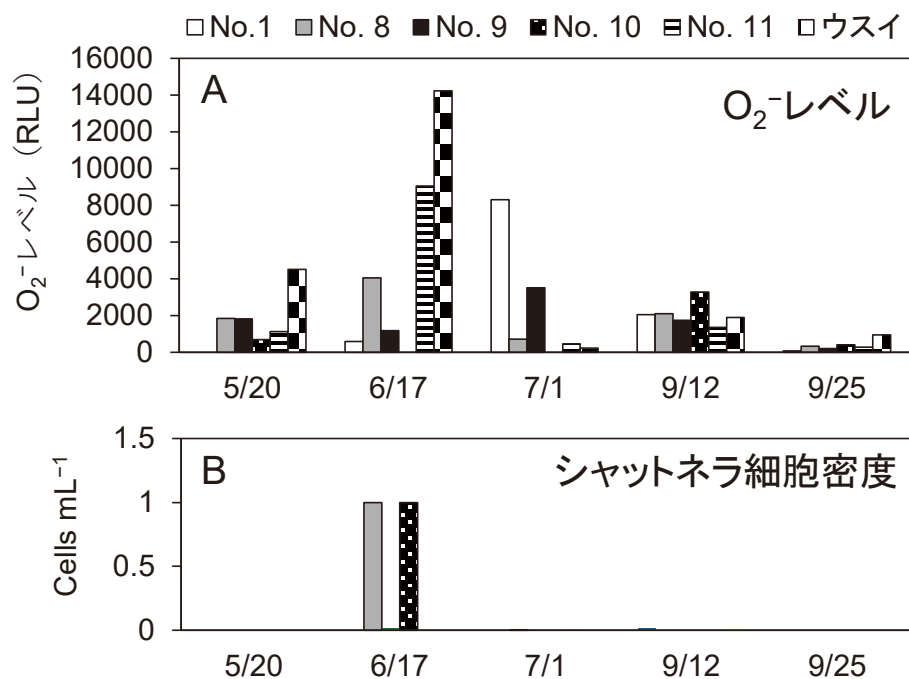


図 20. 八代海における A: スーパーオキシドレベルと B: *Chattonella marina* complex 細胞密度のモニタリング結果.

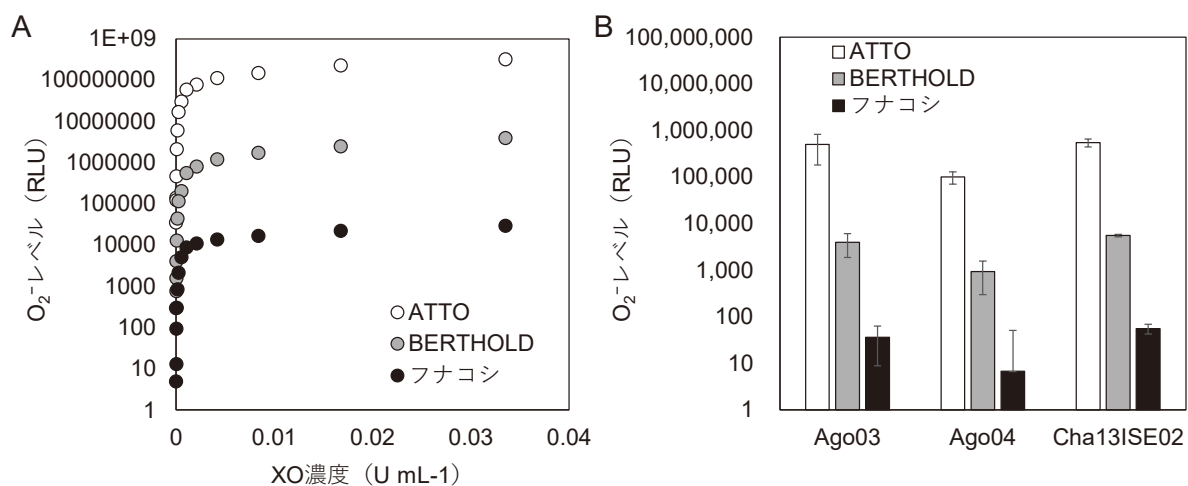


図 21. 異なるメーカーのルミノメーターを使用した A: キサンチンオキシダーゼ系で発生させたスーパーオキシドの検出と, B: *Chattonella marina* complex 培養株のスーパーオキシドの検出.

## 2) 赤潮の被害軽減手法の開発

### イ. 生け簀の魚介類を守る技術の開発・実証

#### ① ウイルス等微生物による赤潮防除法の確立と現場実証

水産研究・教育機構 水産技術研究所

中山奈津子

福井県立大学

浜口昌己

三重県水産研究所

坂下奨悟, 渥美貴史, 程川和宏, 伊藤光毅, 大田幹司

三重県水産研究所鈴鹿水産研究室

久世紘聖

愛知県水産試験場

河住大雅, 谷川万寿夫, 松村貴晴, 柘植朝太郎, 大澤 博

新潟県水産海洋研究所佐渡水産技術センター

伊藤敏晃, 夏川高輔

## 1 全体計画

### (1) 目的

有害赤潮原因藻である *Heterocapsa circularisquama* (以下, ヘテロカプサ) や *Karenia mikimotoi* (以下, カレニア) による赤潮は, 西日本や中部地方を中心に被害が確認されてきたが, 近年では, 北陸や北海道でも同種による赤潮が確認されるなど, 有害藻類の分布域は着実に拡大している。2009 年には, 新潟県佐渡島の加茂湖において, ヘテロカプサによる赤潮が発生し 2 億円に上る被害が発生した。そのため, 前事業課題では, ヘテロカプサに感染するウイルス HcRNAV を含む土着の海底泥を利用した防除技術の開発を行い, 現場での活用を可能にした。本課題では, ヘテロカプサ赤潮が発生する他の海域でも利用できるように, 本手法のマニュアル化を進める。また, 本手法を応用することで, 他の有害藻類カレニア赤潮などにも適応可能な防除技術開発に着手する。本手法は, 赤潮が発生した海域からウイルスを含む海底泥を採取し, それを同じ海域で翌年以降の赤潮発生時に散布するという, 土着の生物を利用した赤潮防除法であり, 本課題で, 効果的かつ効率的な手法への改善も試みる。

## 2 令和 7 年度計画および結果

### (1) 目的

「全体計画と同じ」

### (2) 方法

#### 1) ヘテロカプサ赤潮発生状況と HcRNAV 密度の推移及び海況

三重県英虞湾立神定点 (34°17'38"N-136°50'6"E), 愛知県三河湾 A6 地点 (34°48'12"N-137°13'34"E) および新潟県佐渡市加茂湖の潟上定点 (St.1 ; N 38°03'16.7"-E 138°26'27.4"), 原黒定点 (St.2 ; 38°04'3"N-138°26'2"E), 両津定点 (St.3 ; N 38°04'49.1"-E 138°25'51.7"), カキ殻工場近傍生物滞留域 (St.7 ; N 38°03'33.5"-E 138°26'41.5") について, 三重県水産研究所, 愛知県水産試験場および新潟県水産海洋研究所佐渡水産技術センターのご協力をいただき, 2025 年 6~10 月の間に月 1~2 回の頻度で海水及び海底泥を採取し

た(図1)。ヘテロカプサの細胞密度は直接検鏡にて、HcRNAVの密度はリアルタイムPCR法(Nakayama and Hamaguchi 2016)を用いた定量結果に基づき算出した。リアルタイムPCRによる海水および底泥中のHcRNAV定量手順は次の通りである。海水試料10 mL中のHcRNAVをPEG沈殿法により濃縮回収し、RNeasy® Plant Mini Kit (Qiagen, Valencia, CA, USA)を用いて全RNAを抽出した。底泥については、2 gの泥からRNeasy PowerSoil Total RNA Kit (Qiagen)を用いて全RNAを抽出した。得られたRNA抽出物よりReverTra Ace® qPCR RT Master Mix with gDNA remover (Toyobo Co. Ltd., Life Science Department, Osaka, Japan)を用いてcDNAを作製したのち、HcRNAV特異的プライマーによるリアルタイムPCRで定量を行った(Nakayama and Hamaguchi 2016)。

## 2) ヘテロカプサ赤潮への底泥散布とマニュアルの作成

2025年9月5日～10月1日に加茂湖でヘテロカプサ赤潮を確認した。これを受け、図1に示す湖内4地点(St.1:湖奥, St.2:湖央, St.3:湖口, St.7:湖奥・カキ殻工場近傍生物滞留域)においてHcRNAVを含む底泥の散布を実施した。散布に用いた底泥は、2023年および2024年に加茂湖内で採泥し、冷凍保存していた試料を使用直前に解凍し、海水に懸濁して用いた。底泥の散布量や手順は、Nakayama et al. (2020)に従った。

- ・ 第1回散布(9月12日):新潟県、佐渡市、加茂湖漁業協同組合等が実施した。解凍した底泥約5 kgを海水に懸濁し、St.1, St.2, St.7の3地点に懸濁液ごと投入した。
- ・ 第2回散布(9月19日):9月18日の臨時調査においてヘテロカプサの最高細胞密度が5,500 cells/mLへと増加が見られたことから実施した。解凍した底泥約5 kgを赤潮海水と混合し、約5時間静置してHcRNAVをヘテロカプサ細胞表面に吸着させた後、St.1, St.2, St.3, St.7の4地点に散布した。

次年度以降の対応に備え、9月下旬にエクスマンバージ採泥器を用いて表層泥(0～3 cm)を採取し、冷凍保存した。また、散布手順、採泥手順、保存手順等の一連の工程についてマニュアル化を進めた。

## 3) 珪藻類等共存種の分布状況

ヘテロカプサ赤潮の発生が想定される2025年7～10月の加茂湖において、競合種である珪藻類の分布および種組成に関する情報を収集することを目的に検鏡を実施した。海水は湖央に位置するSt.2において水深0～7 mの柱状採水により採取し、1 mL中の珪藻類を計数し、属レベルで分類した。

### (3) 結果および考察

#### 1) ヘテロカプサ赤潮発生状況とHcRNAV密度の推移及び海況

三重県英虞湾立神定点および同湾周辺では、2025年6月～10月上旬にヘテロカプサによる赤潮は形成されなかった。愛知県三河湾においても同種は検出されなかった。

新潟県加茂湖では、ヘテロカプサの初認は7月17日であり、最高細胞密度は湖奥(St.1)の底層(約7 m深)で約0.5 cells/mLであった。その後しばらくヘテロカプサは検出されなかったが、9月初旬に検出され、最高細胞密度は1,760 cells/mLであった。9月18日には、St.6で最高細胞密度が5,500 cells/mLに達したが、25日には325 cells/mLまで低下し、10月1日には0 cells/mLとなり終息した(図4)。

リアルタイムPCR法によるHcRNAVの定量結果を図2, 3, 5に示す。英虞湾および三河湾の観測期間中の海水中におけるHcRNAVは極めて低密度であり(図2, 3)、当該年度にヘテロカプサがほとんど増殖しなかった状況を反映していた。一方、底泥中のHcRNAV密度は、英虞湾で $1.4 \sim 12 \times 10^4$  copies/g(図2)、三河湾で $6.0 \sim 51 \times 10^3$  copies/g(図3)と、調査期間中ほぼ変化がなく、また、昨年度と同程度であった。



加茂湖では、本年度にヘテロカプサ赤潮が発生し、さらに底泥散布を実施したことに伴い、海水中の HcRNAV は変動を示した（図 4; (3)-2 参照）。加茂湖の底泥では、HcRNAV 密度は常に高密度（ $0.4 \sim 7.0 \times 10^6$  copies/g）で検出された（図 5）。これは、2009 年以降ほぼ毎年ヘテロカプサが発生しており、感染後に沈降した HcRNAV が底泥中に蓄積していることを反映するものと考えられる。今後は、底泥に蓄積する HcRNAV の感染力および蓄積深度を調査し、底泥採取の頻度低減の可否を検討する必要があると考えている。

海況について、英虞湾および三河湾の 2025 年度の状況は課題 1)ウ に記載のとおりである。加茂湖の環境（図 6）では、定点 St.2 の 7～10 月において水温は  $19.7 \sim 30.8$  °C、塩分は降雨の影響により表層で一時的な低下が認められたものの、全体としては 30 前後で安定していた。溶存酸素濃度は 6～9 月上旬まで 6 m 以深で 4 mg/L を下回る貧酸素状態を示し、ヘテロカプサ赤潮が発生した 9 月 11 日には全層で 2 mg/L 以下の貧酸素であった。9 月後半より徐々に回復し、3 m 以浅では 6 mg/L 以上を維持した。水温および低層の貧酸素の傾向は概ね例年並みであった。

## 2) ヘテロカプサ赤潮防除法の現場試験とマニュアルの作成

2025 年 9 月 5 日、St.1 および St.7 周辺においてヘテロカプサの増殖を確認した。当日の最高細胞密度は 1,760 cells/mL であった。9 月 11 日の定期観測時には、St.2 における最高細胞密度は 201 cells/mL で一時的な低下が見られたが、現場関係者と協議の上、底泥散布を実施することとした。翌 12 日、新潟県、佐渡市、加茂湖漁業協同組合の関係者が参集し、冷凍保存していた底泥約 5 kg を解凍後に海水へ懸濁し、湖奥から湖央にかけての 3 地点（St.1, St.2, St.7）へ散布した。

散布から 6 日後の 9 月 18 日の臨時調査では、ヘテロカプサの最高細胞密度が St.2 の 0 m において 5,500 cells/mL に達した。これを受け、翌 19 日に 2 回目の底泥散布の実施を決定した。散布地点は、St.1, St.2, St.7 に加え、湖口にあたる St.3 の計 4 地点、散布量は前回同様に約 5 kg とした。第 2 回散布では、底泥を解凍後にヘテロカプサ赤潮海水と混合し、約 5 時間静置して底泥中における HcRNAV のヘテロカプサ細胞表面への吸着を促進させたのち、散布した。第 2 回散布から 2 日後には、同種の密度は St.1, 2, 7 において、100～200 cell/mL となり、6 日後の 9 月 25 日の定期調査でさらに減少した。さらに、10 月 1 日の定期調査において同種の細胞密度は 0 cells/mL となり、その後も増殖は見られず、赤潮は終息した。

加茂湖の HcRNAV の推移は以下のとおりである。海水中では、8 月 25 日に HcRNAV は検出されなかったが、9 月 11 日には 25,000 copies/mL を示し、底泥散布の 6 日後にあたる 18 日には約 160,000 copies /mL まで増加した。一方、底泥中では、観測期間中常に 1 g あたり  $10^6$  copies を超える高密度で検出された。St.2 および St.1 では 9 月下旬に一時的な低下が見られたものの、その後は、2025 年夏季にヘテロカプサに感染した後産生された HcRNAV が沈降・蓄積することにより、再増加が認められた。

以上より、9 月 5 日時点のヘテロカプサの最高細胞密度が 1,760 cells/mL であり、これが一時的に集束した状態であったことを考慮して、増殖の開始時期は 8 月末と推定される。

次に、ヘテロカプサの増減と HcRNAV の推移に着目し、ヘテロカプサ赤潮終息に対する HcRNAV の効果を整理する。9 月 5 日頃にヘテロカプサが検出されてから 11 日にも同種が検出されたため、12 日に第 1 回底泥散布を実施している。散布直前の海水中 HcRNAV の密度は約 25,000 copies/mL であり、散布から 6 日後の 18 日には約 160,000 copies/mL へと増加しており、HcRNAV がヘテロカプサに感染したことが示唆された。一方で、同期間にヘテロカプサは 1,760 cells/mL から 5,500 cells/mL へと増加したため、当該期間は HcRNAV 感染が進行しつつも、ヘテロカプサの増殖速度が感染進行速度を一時的に上回った可能性がある。しかし、その後は、HcRNAV の海水中的濃度上昇（感染による暴露の増大）に加え、

19 日の追加散布の効果により海水中 HcRNAV が高密度となり、ヘテロカプサ密度の急速な低下につながったと考えられる（図 4）。なお、海水中の HcRNAV の増減は、ヘテロカプサの増減を常に正確には説明できない。HcRNAV が宿主細胞内に存在する期間（暗黒期）では、海水中に遊離する濃度が一時的に低下し得る。また、海水中の微生物、特にウイルスは懸濁物に吸着して存在する傾向があり、空間的に不均一に分布するため、採水により測定値が低く出る場合もある。

第 2 回散布では、赤潮海水と底泥を混合し約 5 時間静置する前処理を導入した。この前処理によって、HcRNAV を増やしながら散布することができ効率的である。しかし、今回底泥と混合するために汲み上げた赤潮海水には、たまたまヘテロカプサの密度が低いという問題が生じた。ただし、HcRNAV の性質を考慮すると、1 個の HcRNAV がヘテロカプサ 1 細胞に感染すれば、HcRNAV は  $10^2 \sim 10^4$  倍程度に増加する。たとえば、ヘテロカプサが 1 mL 中に 1 細胞存在する赤潮海水を 30 L 用いる場合、30L 中の総細胞数は  $3 \times 10^4$  細胞となり、HcRNAV は  $3 \times 10^6 \sim 10^8$  が投入される試算である。したがって、混合に用いる赤潮海水中のヘテロカプサ密度が数 cells/mL 程度でも、感染を介した HcRNAV の事前増幅効果により、より迅速な終息が期待できると考えられる。

課題としては、採泥作業は負荷が高いため、手順の簡略化が重要である。今後は、底泥中 HcRNAV の感染力および蓄積深度の把握により、採泥にかかる負担の軽減を検討したい。

### 3) 珪藻類等共存種の分布状況

2025 年 7～10 月にかけて、ヘテロカプサと競合関係にあると考えられる珪藻類の動向を把握するため、加茂湖の St.2（湖央）で採取した湖水について顕微鏡観察および計数を実施した。その結果、珪藻類の細胞密度は 9 月中旬までは低く推移し、9 月下旬以降に増加傾向を示した。最も高い細胞密度を示したのは 10 月 1 日で、St.2 では 3,385 cells/mL、St.6 では 2,818 cells/mL であった（図 7）。種組成は *Chaetoceros* spp. が主体であり、*Nitzschia* spp., *Skeletonema* spp., *Leptocylindrus* spp. などから構成され、昨年度とほぼ同様の傾向であった。

海況およびヘテロカプサ赤潮の推移と併せて考察すると、2025 年度は 7～9 月下旬まで高水温と貧酸素状態が継続したため、珪藻類が低密度で推移したと考えられる。特に 9 月には表層から底層まで貧酸素化が進行し、珪藻類の生残が困難となる一方、貧酸素下でも増殖可能なヘテロカプサが競合種の少ない環境で優占しやすい状況にあったと推察される。9 月末には海水中および散布した底泥中の HcRNAV による効果もあってヘテロカプサ赤潮が終息し、その後貧酸素が解消されると珪藻類が再び増加したものと考えられる。

## 謝辞

本研究の実施にあたり、現場調査および現場指導並びに現場試料の提供にご協力いただきました、新潟県佐渡水産技術センター、加茂湖漁業協同組合、佐渡市農林水産課、新潟県水産課、新潟県佐渡地域振興局水産庁舎の皆様、赤潮に関する情報提供及び現場試料提供にご協力いただきました愛知県水産試験場、三重県水産研究所や徳島県立農林水産総合技術支援センターの関係者の方々に深くお礼申し上げます。

## 引用文献

Nakayama N, Hamaguchi M. Multiplex reverse transcription quantitative PCR detection of a single-stranded RNA virus HcRNAV infecting the bloom-forming dinoflagellate *Heterocapsa circularisquama*. *Limnol. Oceanogr.: Methods* 2016; **14**: 370-380.

Nakayama N, Hamaguchi M, Yamaguchi H, Masuda K, Fujiwara M. Evaluation of a virus-based control method to protect cultured oysters from the harmful dinoflagellate *Heterocapsa circularisquama*. *Aquaculture* 529 735625.



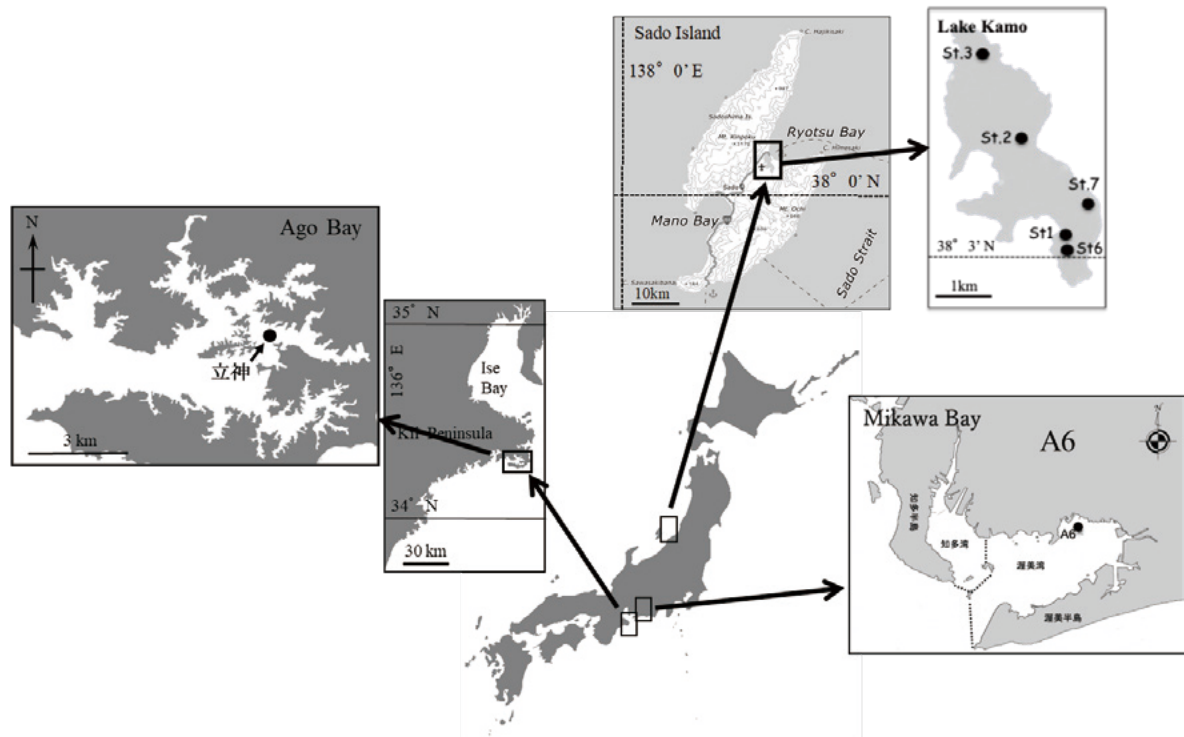


図 1. 試料採取および試験実施地点.

三重県英虞湾 ●：立神定点（左上）.

新潟県佐渡市加茂湖 ●St.1：湖奥 ●St.2：湖央, ●St.3：湖口, ●St.6：湖奥,  
●St.7：カキ殻工場前.

愛知県三河湾 ●：A6 地点（右下）.

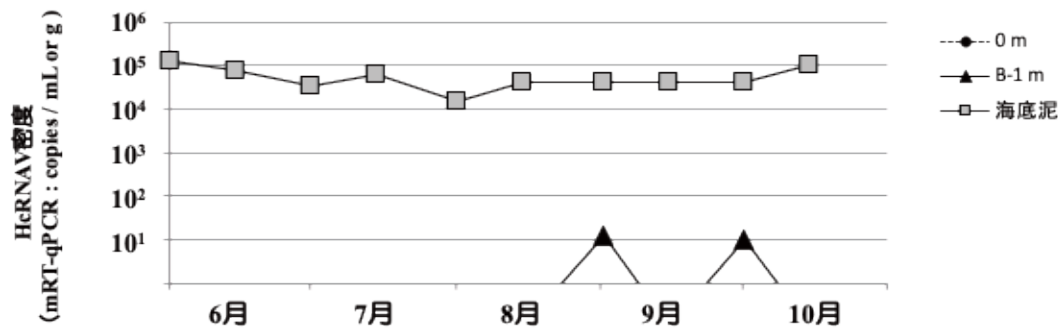


図 2. 2025 年三重県英虞湾立神定点の海水や底泥における発生状況.

HcRNAV 密度の単位は、湖水：copies/mL, 泥：copies/g. 値なしは未検出を示す.

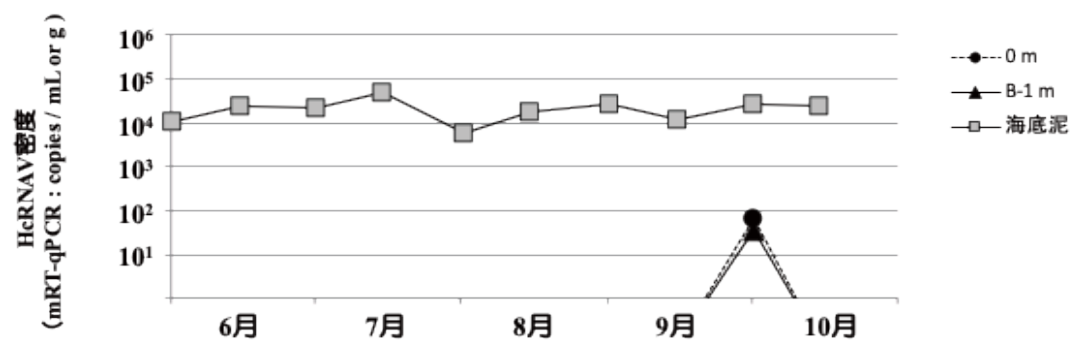


図 3. 2025 年の愛知県三河湾の海水や底泥における HcRNAV 発生状況.  
HcRNAV 密度の単位は，湖水：copies/mL，泥：copies/g. 値なしは未検出を示す.

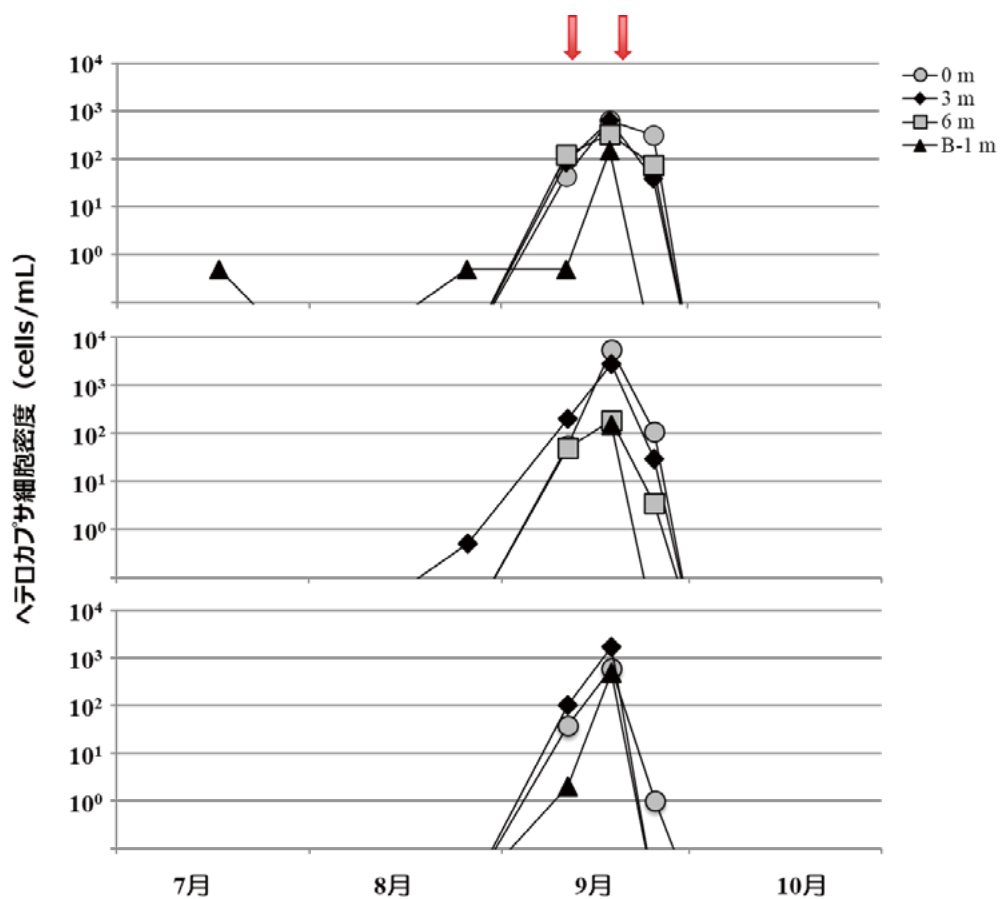


図 4. 2025 年 加茂湖の調査定点 2 点におけるヘテロカプサの発生状況.  
(上段) St.1 湖奥，(中段) St.2 湖央，(下段) St.3 湖口.  
値なしは未検出を示す.  
赤矢印は，底泥散布日.

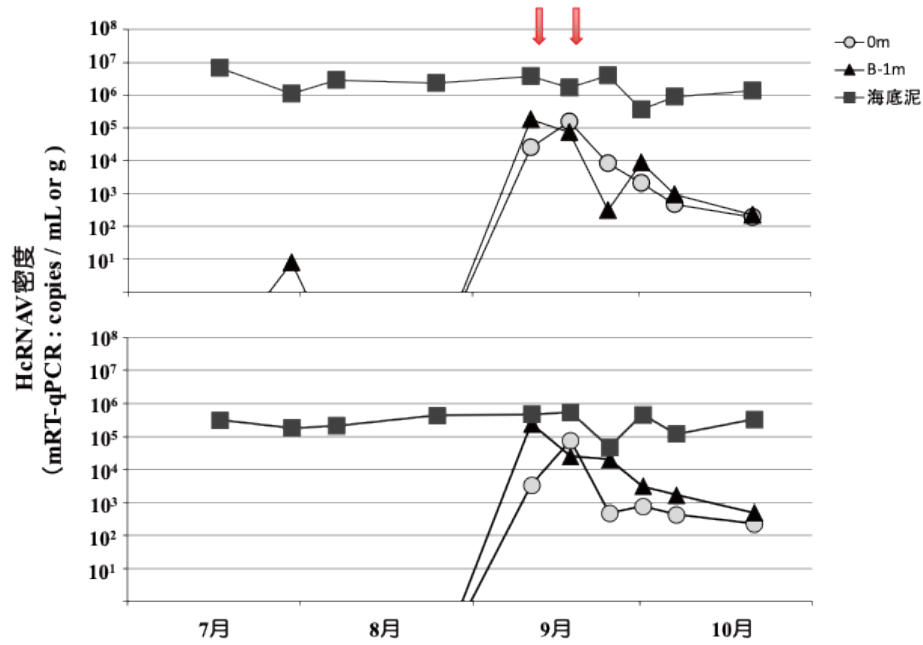


図 5. 2025 年の加茂湖の定点 St.2（湖央），St.6（湖奥）における湖水及び底泥中の HcRNAV 発生状況．

HcRNAV 密度の単位は，湖水：copies/mL，泥：copies/g．

値なしは未検出を示す．赤矢印は，底泥散布日．

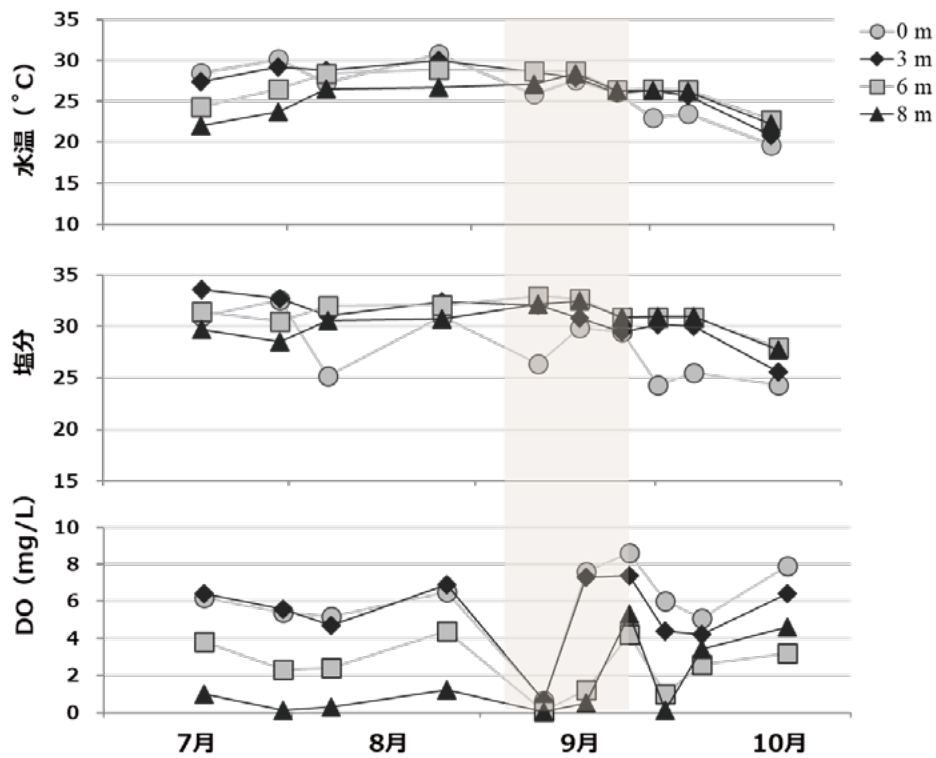


図 6. 2025 年 加茂湖原黒定点（St.2）における水温，塩分，溶存酸素量（DO）の変動．

ピンク帯はヘテロカプサ赤潮発生時

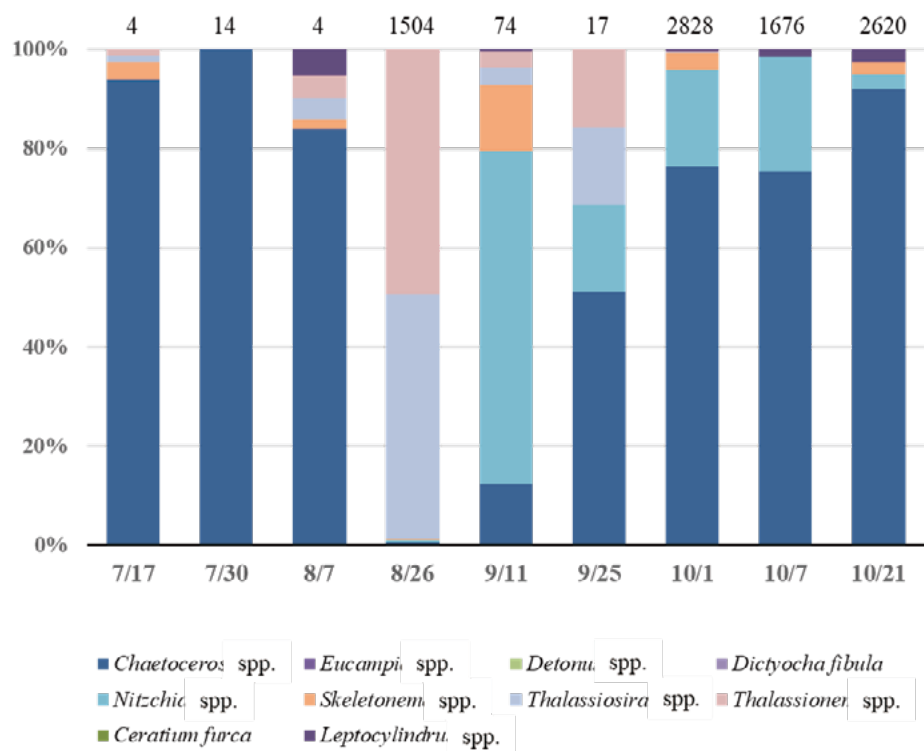
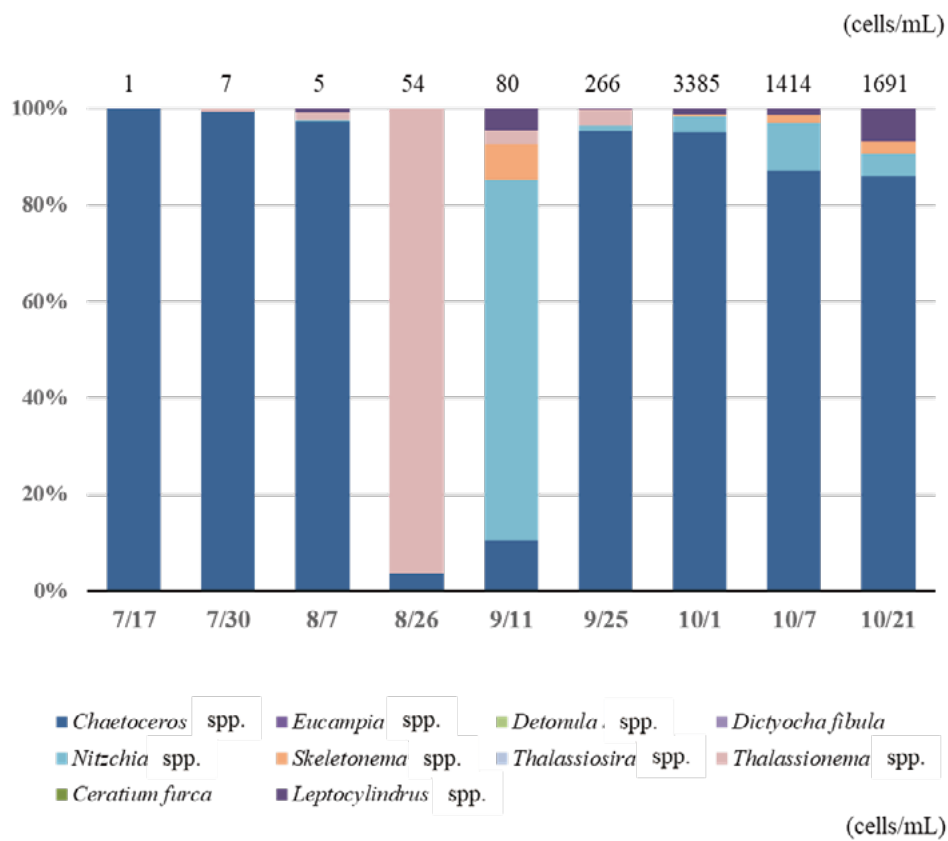


図 7. 2025 年 7～10 月における加茂湖湖水中の珪藻類分布.

上段：St.2, 下段：St.6.

グラフ上の数字は細胞密度 (cells/mL) を示す.



## 2) 赤潮の被害軽減手法の開発

### イ. 生け簀の魚介類を守る技術の開発・実証

#### ② 生け簀の魚の救命・延命技術の高度化技術開発と実証

水産研究・教育機構 水産技術研究所  
松山幸彦, 徳永貴久  
大分県農林水産研究指導センター水産研究部  
西山雅人, 毛利文香  
熊本県水産研究センター  
阿部慎一郎  
海洋エンジニアリング株式会社  
伊藤信夫, 金子和歌, 黒木貴司

## 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, 生簀容積増大, 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(Matsuyama and Oda 2020), 何らかの技術的なブレークスルーが必要である(松山ら 2014)。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。

本細部課題では, 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, 死亡魚の抑制と漁場環境の保全に資することを目的とする。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た。そこで, 赤潮プランクトンが致死密度で存在していても, 溶存酸素を高度に上昇させる手法を駆使して, 赤潮が発生しても養殖魚の被害を軽減して, 安心して出荷できる手法開発を模索することで, 漁業被害防止策の基礎を確立する。

以上, これらの革新的な取り組みによって, 養殖魚介類を守る技術の開発および実証を行う。

## 2 令和7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, 処理能力と現地での機動性を高めるための改良を検討した。さらに現地の生簀での使用を想定して, 高濃度酸素供給装置の設置・運用を改善し, その溶存酸素濃度向上性能について評価した。

#### 2) 酸素供給装置の効果検証および赤潮海水を用いた救命試験の実施

赤潮分布情報システム等による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む、あるいは現地に簡易な試験生け簀等を敷設し、高濃度酸素水供給装置を用いた救命試験を実施する。試験中の魚毒性への影響等について、養殖対象種となる試験魚を買い上げて投入し、生残時間を指標として定量化することで判定した。

酸素供給装置の有無が致死的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、現地試験もしくは室内試験で検討する。特に、低酸素環境下において、飼育魚が高濃度酸素水に蟄集する効果がみられるかどうか確認した。

### (3) 結果および考察

#### 1) 高濃度酸素発生装置の改良

高濃度酸素の達成のために必要となるナノバブル発生装置について、過年度フォームジェット方式の高濃度酸素発生装置の処理能力の向上のため、ユニットを拡大しており（松山ら 2020）、本年度もこの装置を用いて試験を実施した。すなわち、株式会社ワイビーエムサービス社製のファビー（酸素ガス濃縮装置、オージネーター601）とフォームジェット（ファインバブル発生装置, Fjp-12-SP-04S, ワイビーエム株式会社製）を採用した。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 100V の通常電源で稼働させることができる。酸素濃縮装置では、現地大気を吸引し、窒素ガス吸着タイプの特種な樹脂を通過させて酸素濃度のみを上昇させ（およそ 94% まで上昇）、この高濃度酸素をフォームジェット内部で海水と気液混合して 100 nm 程度まで微細化することで、高濃度酸素海水を生成する。高濃度酸素の給気速度は処理量を最大化するために、200L の通水量に対して 6L (6%(v/v)) に設定した。水中ポンプとフォームジェット発生部分はインシュロックで固定して一体化し、ロープで水中を上下できるようにした。酸素濃縮装置は船上に固定し、吸気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ようにした。今年度は実養殖生簀での稼働試験を実施するにあたり、吐出口にストレイナーを取り付けて、水流が 360 度均一に水平拡散するように改良した。以上の装置はコンパクトであるため、セッティングに関してウインチなどの重機は不要である。また、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。

#### 2) 酸素供給装置の効果検証および赤潮海水を用いた救命試験の実施

今年度は大分県佐伯湾と長崎県海域を対象にモニタリング結果を注視していたが、7 月から出現していた佐伯湾の *Karenia mikimotoi* は赤潮化することなく 8 月末には終息したため、大分県内での現地試験については中止した。橘湾では、有明海側で *Chattonella antiqua* による赤潮が 8 月に入ってから発生したものの、例年よりも 1 ヶ月早く 6 月末には梅雨明けとなり、筑後川の河川水量が少なかったこともあり、有明海側の赤潮が橘湾へ流入することはなかった。試験を予定していた橘湾のうち、長崎市戸石町と同牧島町に囲まれた漁場は外洋に面して台風の影響も少ないことから良好な魚類養殖場となっている。ただし、比較的水深の浅い沿岸部であり、足し網や生簀沈下などの対策が実施困難であり、かつ有明海側から赤潮が流入すると赤潮プランクトンの細胞密度も高濃度に滞留することから、従来型の赤潮対策の効果が出にくい漁場でもある。逆に潮流が緩いために高濃度酸素水の滞留効果は高く、遮蔽幕などを設置せずに救命効果を高める効果が期待されるため、この海域で漁業者の協力を得て、実生簀に養殖魚が入っている状態で稼働試験を実施した。

過年度の現地試験の結果から、本装置で発生させた高濃度酸素水は、吐出口から 5m 離れた地点でも酸素濃度の上昇効果を示すことが分かっている（松山ら 2024, 松山ら 2025）。一方で、多くの

漁場において、遮蔽幕がなければ稼働停止とともに潮流によって高濃度酸素水が流出して生簀内部の溶存酸素濃度は通常の状態に戻ってしまう(松山ら 2025)。昨年度の橘湾漁場での試験において、養殖されているシマアジが酸素濃度の高い吐出口近傍に能動的に蟬集する行動を確認している(松山ら 2025)。赤潮発生時に魚の方から高濃度酸素に蟬集するのであれば、労力とコストのかかる遮蔽幕を設置しなくても、一定の延命効果を発揮する可能性があり、実用化の最大の隘路が解決されるとの期待がある。このため、本年度は、高濃度酸素水に養殖魚が能動的に蟬集する行動を引き起こすかどうか、再確認のための予備的試験を実施した。

試験実施場所は、橘湾奥の長崎市戸石町と牧島町に囲まれた海峡部に敷設されている実生簀(32.76114N, 129.968423E)において、筏を所有している養殖業者の全面的な協力を得て実施した(図 1~2)。この漁場では令和 6 年度に *Chattonella* 赤潮が有明海方面から流入し、シマアジを中心に養殖魚がほぼ全滅した漁場である。生簀が設置されている漁場の水深は 11 m、試験を実施した生簀は 10 m × 10 m の角型網生簀で(図 2)、生簀網の底部は水深 5.1 m であった。試験実施時は、ここにトラフグ(1 才魚)、マダイ(1~2 才魚)、シマアジ(1 才魚)、マアジ、マサバ等が飼育されている。試験は 2025 年 10 月 22 日に実施した。10 m 角生簀の中央部に高濃度酸素発生装置の吐出口を設置し、吐出口のノズルを水深 0.3 m に固定し、ストレイナーを先端に取り付けることで、生簀の中央部から水平方向に 360°噴射する設営とした(図 3)。試験日は生産者の許可を得て、試験が終了するまで給餌を全面停止した。魚群の様子については、生簀中央部に設置した水中カメラ(図 4~5)でモニタリングした。

試験開始前と開始後の生簀周辺の溶存酸素濃度の測定結果を図 6 および表 1 に示した。高濃度酸素稼働前の現地の溶存酸素は、表層から計測データのある 3.5 m 深まで概ね 5.6~5.7 mg L<sup>-1</sup> の濃度であった。稼働時の溶存酸素の鉛直分布を見ると、高濃度酸素発生装置を稼働した場合、吐出口近傍では、溶存酸素濃度が 20 mg L<sup>-1</sup> を超えて高濃度状態となっていた(図 6、潮流方向によって変動あり)。酸素の上昇は網底でも 9.2 mg L<sup>-1</sup> と高くなっていた。水深が深いところまで酸素濃度が高くなっている理由としては、試験を実施した日が秋期の鉛直混合期で水温・塩分が上下で同様であったため、鉛直方向にも自然と拡散したものと推定された。次に水深 0.3 m において水平方向に離れた場合の計測結果を表 1 に示した。吐出口では 9.2~20.2 mg L<sup>-1</sup> (平均 17.3 mg L<sup>-1</sup>) であり、1 m 離れても 9.7~12.1 mg L<sup>-1</sup>、2 m 離れると 6.0~6.4 mg L<sup>-1</sup> と半減以下となり、5 m 離れて生簀の外縁部では 5.9~6.1 mg L<sup>-1</sup> と稼働前の数字とほぼ同じであった。このため、酸素飽和度で 10% 以上の上昇効果は半径 2~5 m の範囲に及んでいた。

高濃度酸素水の拡散状況を直接的に確認するために、試水を可視化して確認することとした。ナノバブルを生成させるフォームジェットの吸引口に蛍光色素フルオレセインナトリウム溶液(市販名ウラニン、原液濃度 100 ppm)を吸引させたところ、吐出口から半径 3 m 程度の範囲で着色状況が明瞭に確認できた(図 7)。これは AAQ による溶存酸素の実測結果と概ね一致していた。

水平方向と鉛直方向で高濃度酸素の拡散状況が異なる結果となったが、ここで水平方向に吐出口から 3 m 離れた範囲で球形状に高濃度酸素水が拡散すると仮定して試算を行った(図 8)。生簀の容積が 500 m<sup>3</sup> であり、半径 3 m の球形の容積は 113 m<sup>3</sup> であるため、高濃度酸素水塊の領域は、生簀全体の 22% の容積を占めることになる。生簀全体を高濃度酸素水で完全に覆うには理論的に 4 台の高濃度酸素装置を可動させる必要があるが(遮蔽幕があれば 1 基で全体を高濃度酸素で覆うことが可能)、魚の方から高濃度酸素水に蟬集するのであれば、生簀の一部の区画で高濃度酸素状態を維持できればある程度の救命効果は発揮できるものと期待される。

次に魚種ごとの蟬集の有無について調べた結果について述べる。図 9 に通常の状態の高濃度酸素を生簀に噴射したところと、気泡を取り除くためにプランクトンネットの内側に噴射して消泡した



様子を示した。昨年度の橘湾における試験において、シマアジで高濃度酸素の噴射された付近に魚群が移動・蟬集する現象が確認できたが、これが泡に反応したのか、高濃度酸素装置から供給される高濃度の溶存酸素自体に反応したのか確認できていない。今年度は、魚種ごとに泡に反応しているのか、高濃度酸素水の酸素濃度に反応しているのか確認することとした。

フォームジェットの吐出口から、完全に海水に溶解できなかった微細な気泡が出ている状態で生簀の魚に高濃度酸素水を噴射して 10 分間以上観察したところ、トラフグ、シマアジにおいては、吐出口付近に明瞭に蟬集する行動が観察された（図 9～10、表 2）。シマアジでは口をパクパク動かしている個体も多く、泡を餌と誤認している可能性が考えられた。マダイは吐出口から最も離れた生簀の外縁部に移動したことから、気泡の発生がマダイの行動に明瞭に影響を与え、接近を回避する忌避行動が観察された。マアジやマサバは高濃度酸素水に全く反応することなく、稼働前と同じように生簀全体をゆるやかに回転遊泳していた。次に気泡をプランクトンネットでブロックして高濃度酸素水だけを拡散させるために、タモ状に形成されたプランクトンネット（目開き 200  $\mu\text{m}$ ）の内側に高濃度酸素を投入して、気泡は生簀内部に漏出しないが高濃度酸素水だけが生簀全体へ流入するという条件下で同様に観察を行った。この結果、気泡なし試験区においては、すべての魚種で高濃度酸素を投入している付近に蟬集する行動は確認されなかった。従って、トラフグやシマアジで観察された蟬集行動は、空腹により気泡を餌と誤認して、あるいは気泡に興味を示して（日常の給餌時に蟬集する時の魚群の擾乱と誤認）することで吐出口に蟬集したものと考えられた。

高濃度の赤潮水塊が生簀内部へ流入した場合、ブリはより赤潮プランクトンの細胞密度が低い水塊に移動する忌避行動を示すという（濱本ら 2005）。この特性を利用して、赤潮対策として生簀の大型化（濱本ら 2005）、足し網による生簀容積の増加が行われている。昨年度はシマアジについて高濃度酸素の水塊に蟬集するような行動がみられたが、今年度の試験でも同じ行動が観察されると同時に、トラフグでも蟬集行動が確認された。このことから、トラフグとシマアジについては、遮蔽幕なしでも高濃度酸素に蟬集することが確認できたため、赤潮発生時においても、同様に飼育魚の方から高濃度酸素水塊へと能動的に蟬集することが十分に期待される。逆にマダイについては忌避行動を示すことから、肝心の高濃度酸素水塊に蟬集しないリスクもあり、何らかの事前対応（慣らし稼働など）が必要である。

魚類が低酸素からの忌避行動あるいは低酸素状態で呼吸量や生理状態を変化させることについては一般的に広く知られている。その一方で、近年の研究によると、カリフォルニア沿岸のカタクチイワシの長期的な魚群の変化は、水温以外にも、酸素濃度の高い水塊と強く一致することから、より酸素濃度の高い水塊を常に探索している可能性が示唆されている（Howard et al. 2020）。また、Pan and Perry（2024）によると、ゼブラフィッシュ稚魚では、味蕾複合体の一部であるメルケル様細胞（MLC）が酸素化学受容細胞として機能し、酸素シグナルの伝達に味覚シグナル伝達経路が使われていることが示されている。すなわち、餌料への趨向性と同じ器官に酸素濃度を感知するセンサーが存在し、酸素濃度にも正の趨向性を示す可能性が示唆される。この仮説に基づけば、生簀の内部の一部でも高濃度酸素水が存在すれば、赤潮によって養殖魚の鰓に障害が発生して養殖魚が低酸素環境に陥った場合、魚が能動的により高い酸素濃度を求めて高濃度酸素発生装置の吐出口付近へと蟬集する可能性が期待されるものである。このことによって、過年度までの本課題において、実用化の隘路とされた手間のかかる遮蔽幕の設置は省略可能で実用化へ大きく前進すると考えられる。八代海南部のブリ養殖漁場では、生簀が密に配置されているところでは、通常の溶存酸素濃度より 1  $\text{mg L}^{-1}$  以上低い水塊が存在し、給餌中は通常より 2  $\text{mg L}^{-1}$  以上低下するという（門脇・平田 1984）。このように、生簀の内部で飼育されている魚類は、赤潮発生中にとどまらず、常に低酸素ストレスにさらされており、特に給餌中は溶存酸素濃度の低下がより顕在化することから、鰓の障



害発生が激しい赤潮発生中に広く餌止めが行われることは、科学的にみて至極当然のことであろう。

今回の試験では、無気泡状態で高濃度酸素水を生簀に噴射しても、試験したすべての魚種で高い酸素濃度の水塊に蟬集することではなく、一部の魚種で泡にのみ反応して蟬集した。その後、給餌中に溶存酸素が低下するという知見に着目し、今回の試験とは別事業で調べられた高濃度酸素による試験の最中に、給餌の有無で高濃度酸素に蟬集するかどうかシマアジで検討された結果があり、これを参照すると、餌止めされたシマアジは高濃度酸素水に全く蟬集しないが、給餌後、体内の酸素濃度が低下する時間帯に至ると、明瞭に高濃度酸素水塊へ蟬集するとの観察結果も得ている（未公表データ）。今回は餌止めの条件で試験されたが、今後赤潮発生時、あるいは給餌直後などに同様の試験を実施して、魚種ごとの高濃度酸素への蟬集の有無、赤潮発生時の救命効果について再確認が必要である。

## 引用文献

- 濱本俊策, 安部昌明, 越智洋雅, 柏山浩史, 赤井紀子. シャットネラ属赤潮による養殖魚へのへい死被害にかかる聞き取り調査の概要と対応について. 平成 15 年度香川県水産業改良普及活動業績集, 2005; **25**: 11-15.
- Howard EM, Penn JL, Frenzel H, Seibel BA, Bianchi D, Renault L, Kessouri F, Sutula MA, McWilliams JC, Deutsch C. Climate-driven aerobic habitat loss in the California Current System. *Sci. Adv.* 2020; **6**(20): eaay 3188.
- 門脇秀策, 平田八郎. 浅海養殖漁場における溶存酸素量の微細分布-I 酸素の水平分布に及ぼす給餌の影響. 水産増殖 1984; **32** (3): 142-147.
- 松山幸彦, 永江 彬, 栗原健夫, 橋本和正, 山田勝雅, 島 康洋, 堀田卓朗, 吉田一範, 西川智, 太田耕平, 松原孝博. 小型魚を用いた曝露試験の確立. 平成 25 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「有害プランクトンによる魚介類へい死機構解明」報告書, 2014; 4-12.
- 松山幸彦, 長副 聡, 伊藤信夫, 吉永 潔. 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. 平成 31 年度漁場環境改善推進事業のうち赤潮・貧酸素水塊に対する被害軽減技術等の開発 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と実証 赤潮被害防止対策技術の開発報告書, 2020; 337-347.
- Matsuyama Y, Oda T. Toxic effects of harmful algal blooms on finfish and shellfish. In: Konur O (Ed). *Handbook of Algal Science, Technology and Medicine*. Academic Press, London, 2020; 543-560.
- 松山幸彦, 徳永貴久, 野田 誠, 阿部慎一郎, 伊藤信夫, 北村充彰, 藤田幸辰, 吉田 歩. ②生け簀等の魚の救命・延命技術の高度化技術開発と実証 2) 赤潮被害手法の開発 軽減のための技術開発. イ. 生け簀等の魚介類を守る技術の開発・実証, 令和 5 年度豊かな漁場環境推進事業のうち赤潮・貧酸素水塊に対する被害軽減技術等の開発報告書, 赤潮・貧酸素水塊, 栄養塩類共同研究機関. 2024; 262-275.
- 松山幸彦, 徳永貴久, 西山雅人, 毛利文香, 阿部慎一郎, 伊藤信夫, 金子和歌, 黒木貴司, 藤田幸辰, 吉田 歩. ②生け簀等の魚の救命・延命技術の高度化技術開発と実証 2) 赤潮被害手法の開発 軽減のための技術開発. イ. 生け簀等の魚介類を守る技術の開発・実証, 令和 6 年度豊かな漁場環境推進事業のうち赤潮・貧酸素水塊に対する被害軽減技術等の開発報告書, 赤潮・貧酸素水塊, 栄養塩類共同研究機関. 2025; 274-293.
- Pan, YK, Perry SF. Developing zebrafish utilize taste-signaling pathways for oxygen chemoreception. *Current Biology*, 2024; **34** (18): 4272 - 4284.e5



図1 高濃度酸素装置の試験地（長崎市牧島町地先）



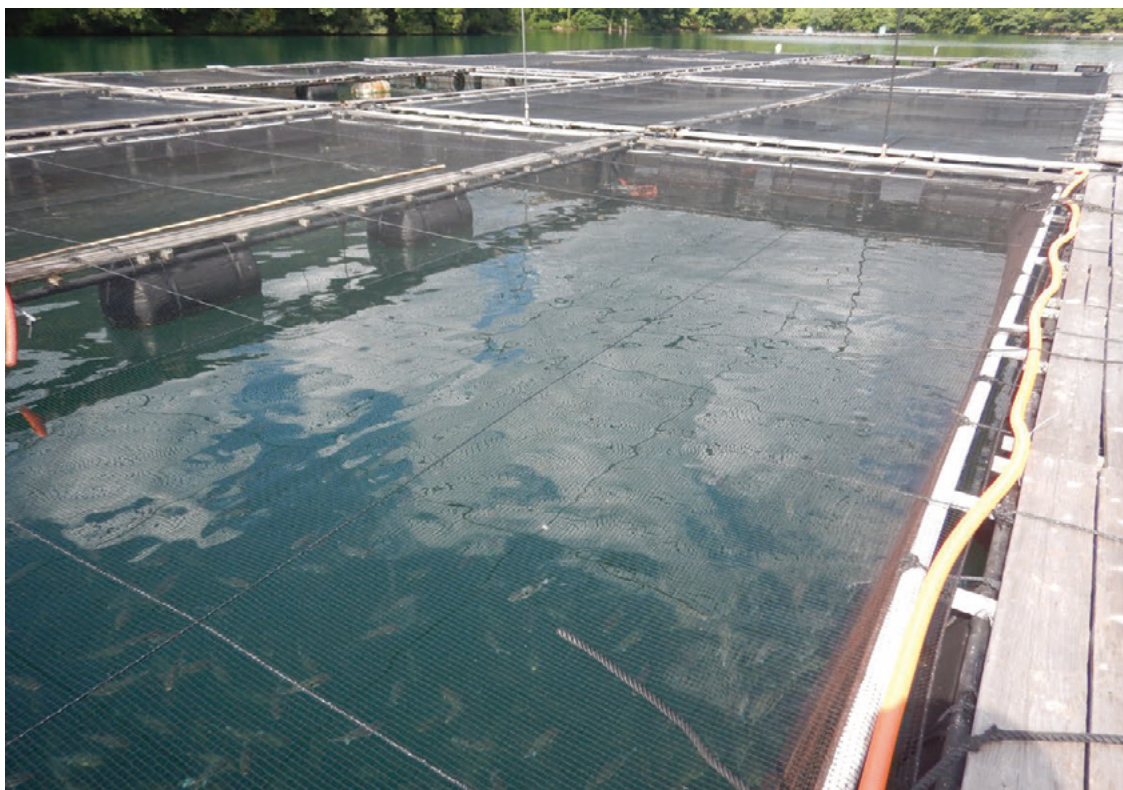


図2 試験を実施した養殖生簀（トラフグ生簀の近影，2025年10月22日撮影）



図3 高濃度酸素水の吐出状況





図4 収容魚類の行動観察用カメラ



図5 シマアジの収容状況



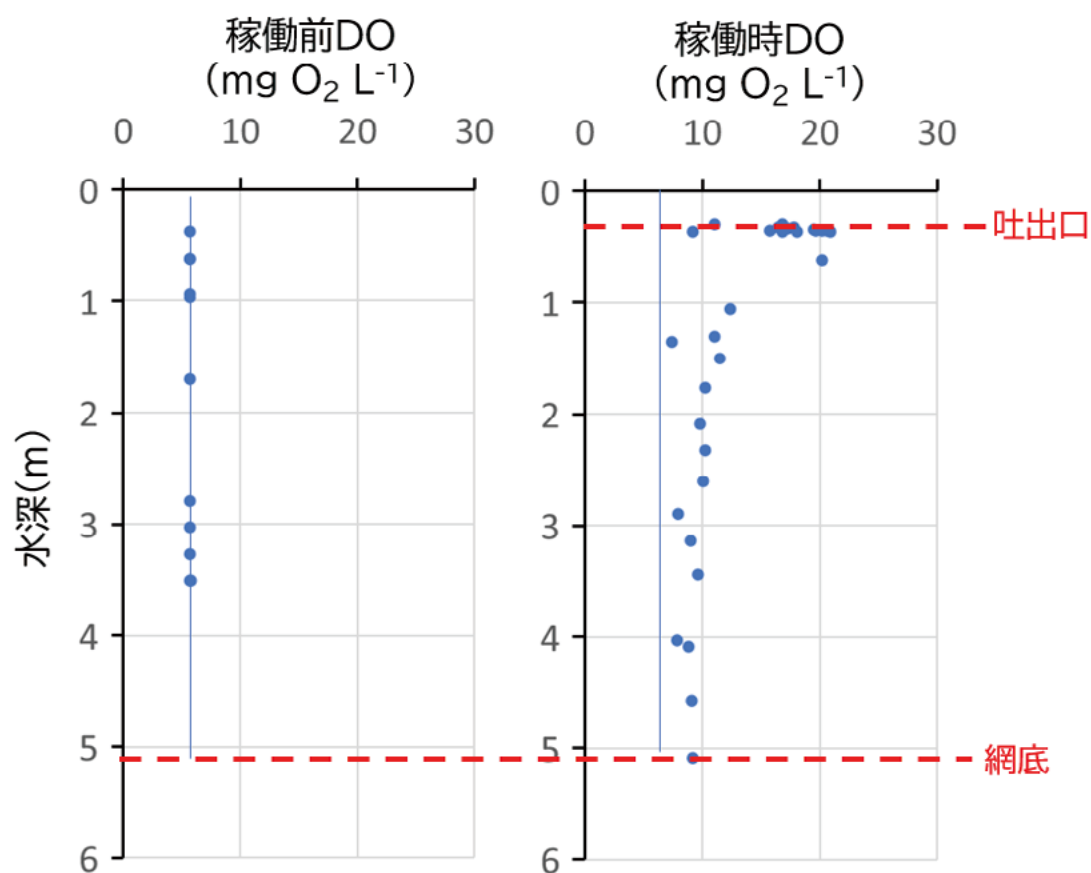


図6 高濃度酸素水の鉛直拡散状況

表1 高濃度酸素水の鉛直拡散状況

|                          | 未稼働     | 高濃度酸素装置稼働時         |                    |                  |                  |
|--------------------------|---------|--------------------|--------------------|------------------|------------------|
|                          |         | 0 m                | 1 m                | 2 m              | 5 m              |
| DO (mg L <sup>-1</sup> ) | 5.6~5.7 | 9.2~20.9<br>平均17.3 | 9.7~12.1<br>平均11.1 | 6.0~6.4<br>平均6.2 | 5.9~6.1<br>平均6.0 |
| DO (%)                   | 83~84   | 135~306<br>平均252   | 142~178<br>平均163   | 88~94<br>平均91    | 87~89<br>平均88    |

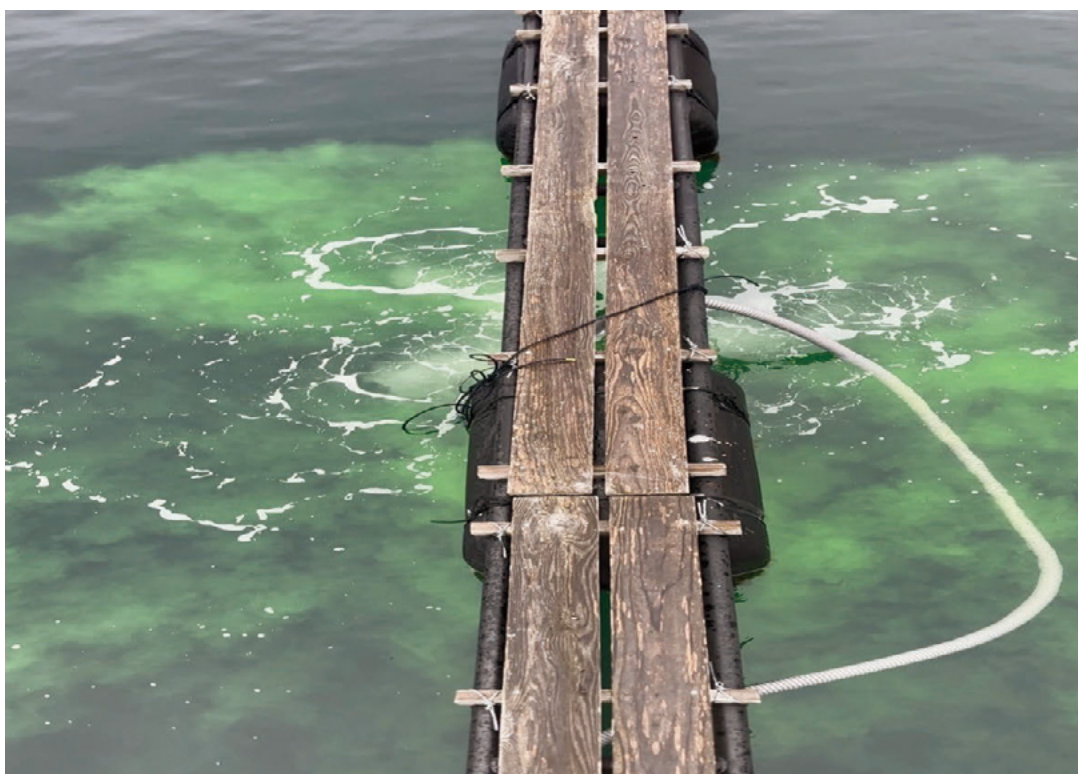


図7 試験生簀内部における着色された高濃度酸素水の拡散状況

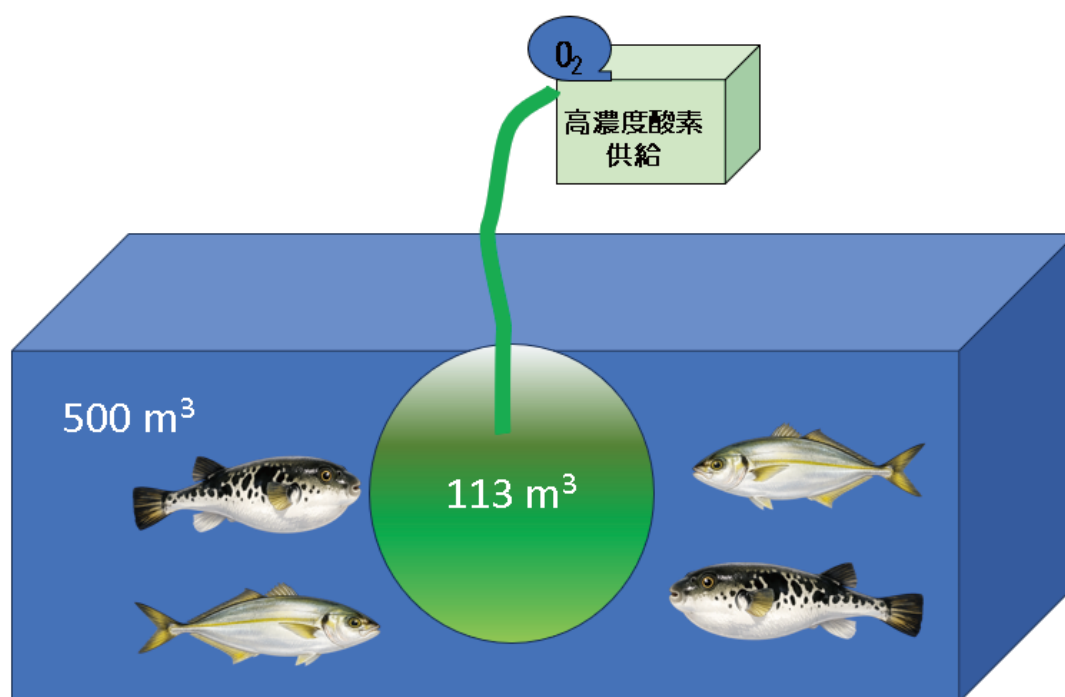


図8 試験生簀の容量と高濃度酸素水の容量比較



図9 生簀での高濃度酸素稼働試験の実施状況

上段：直接生簀に噴射したところ（気泡あり）

下段：消泡のためプランクトンネット（ $200\mu\text{m}$ ）を内張した内側に噴射した





図 10 高濃度酸素水（気泡あり）に蛸集する飼育魚

上段：吐出口に蛸集するトラフグ 1 才魚

下段：吐出口に蛸集するシマアジ 1 才魚



表2 高濃度酸素水に対する各種魚類の蝟集状況

| 試験対象魚種 | 気泡あり | 気泡なし | NOTE  |
|--------|------|------|-------|
| トラフグ   | ○    | ×    |       |
| マダイ    | ×    | ×    | 気泡で逃避 |
| シマアジ   | ○    | ×    |       |
| マアジ    | ×    | ×    |       |
| マサバ    | ×    | ×    |       |

### 3) 有害赤潮プランクトンのモニタリング技術の開発・実証及び普及並びにデータ利活用の促進

#### ア. 有害赤潮プランクトンの画像情報に基づくモニタリング技術の開発

高知県水産試験場

上村海斗

熊本大学半導体・デジタル研究教育機構

戸田真志, 佐藤竜成

高知大学農林海洋科学部

山口晴生

水産研究・教育機構 水産技術研究所

外丸裕司, 羽野健志, 坂本節子, 中野 善, 占部敦史

## 1 全体計画

### (1) 目的

西日本海域では有害赤潮プランクトンによる漁業被害が頻発しており、十数億円の漁業被害が発生する場合もある。赤潮による漁業被害を未然防止および軽減するためには、赤潮発生動向の詳細に理解する必要がある。この際、赤潮監視態勢におけるモニタリングの省力化ならびに高解像度化は極めて重要な要件となっている。本研究課題では、近年開発が急速に進んでいる画像解析技術を赤潮モニタリングに導入することで、有害赤潮プランクトンの画像情報に基づく新規モニタリング技術の開発を行う。具体的には室内実験や赤潮頻発海域での調査を通し、有害赤潮プランクトンの画像情報を各種環境・生物学的パラメータとともに蓄積する。以上により、得られた画像情報から特定赤潮プランクトンの判別ならびに挙動に関する情報解析技術の高度化を図る。

## 2 令和7年度計画および結果

### (1) 目的

全体計画と同じ

### (2) 方法

#### 1) 有害赤潮プランクトンの画像情報蓄積

##### 1-1) 海洋環境およびプランクトン調査

当該調査は高知県浦ノ内湾に設けた5定点で実施した(図1)。各項目データの取得方法については、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の開発 イ. 瀬戸内海西部・豊後水道・土佐湾海域と同様であるため省略する。

##### 1-2) プランクトン画像データの取得

高知県中央部に位置する浦ノ内湾、西部に位置する宿毛湾を対象海域として、5～9月の有害赤潮が発生している期間に、プランクトンの画像を取得した。画像撮影は、現場で採水した海水(以下「海水試料」という。)を計数板に載せて生物顕微鏡(ECLIPS Ni, Nikon)および画像撮影装置(Ds-Fi3, Nikon)を用いて実施した。海水試料は、終濃度1～10 mMの塩化ニッケルで固定してから撮影した。対物レンズを10倍、カメラをオートモードおよび自動ホワイトバランスに設定し、画像は1280×960～2880×2048 dpi, 拡張子.jpgで保存した。

##### 1-3) メタボローム解析用サンプルの取得と前処理

当該解析は*Karenia mikimotoi* および *Chattonella* spp.を対象として、赤潮(前者は1,000 cells/mL, 後者は100 cells/mL以上)が発生している期間中に週1回程度の頻度でサンプリングを行った。KU1

および KU3 の 2 定点において、多項目水質計 (AAQ-RINKO, JFE アドバンテック) のクロロフィル蛍光値が最大となる層で採水した。採水した海水試料のうち、1 mL は検鏡による細胞数の計数に供し、*K. mikimotoi*, *Chattonella* spp., *Heterocapsa circularisquama*, *Heterosigma akashiwo* および珪藻類の細胞密度をそれぞれ算出した。また、同試料のうち 100~500 mL を 150  $\mu\text{m}$  のプランクトンネットで一次濾過し、さらに目合い 3  $\mu\text{m}$  メンブレンフィルターを用いて二次濾過を行った。二次濾過は、吸引ポンプを用いて圧力が 0.02 mpa 以下となるように調整しながら実施した。二次濾過後のフィルターは、ジルコニアビーズと共にマイクロチューブに入れ、チューブ内にメタノールおよびリピトールを加えた後に激しく攪拌した。攪拌後のサンプルは、 $-30^{\circ}\text{C}$  以下で保存した。

#### 1-4) 有害赤潮プランクトンの画像情報蓄積に伴う生物学的パラメータの測定

Hano and Tomaru (2023) は、有害赤潮藻類 (*K. mikimotoi*) 細胞の生理状態別に代謝物変動を調べ、終息間近 (定常期後期) に特異的に増加する指標 (細胞内グルコース/グリシン比, 以下, GG 比) を見出している。この指標を用い、終息のおおよそ 1 週間前を事前に予測する手法の開発を目指し、現場適用に向けた検討を行った。対象海域は高知県浦ノ内湾に定めた 2 定点 (図 1, KU1, KU3) とした。R6 年 6~8 月に適宜採水し、R5 事業で報告した手法で回収したサンプルを保存した。この保存サンプルについて、サンプル調製、分析ならびにデータ解析を実施した。メタノール中に溶出した代謝物は既報 (Hano and Tomaru 2023) に準じて前処理を行い、ガスクロマトグラフ質量分析計を用いて細胞内グルコース、グリシン濃度を測定し、GG 比を算出した。また同時に測定されていた植物プランクトンデータについては、高知県の警報基準に沿って *K. mikimotoi* および *Chattonella* 属の細胞密度がそれぞれ 1,000 および 100 cells/mL を超過した状態を「赤潮」、赤潮形成後これらの基準を下回った状態を「終息」とした。

#### 1-5) 植物プランクトン画像撮影

有害赤潮プランクトンの画像識別技術を開発する上で必須となる教師画像 (教師データ) を大量に取得しようとした。本課題の対象海域 (高知県沿岸) においてしばしば *K. mikimotoi* と混在して出現する、他種赤潮形成プランクトンの教師画像を大量に得た。また、有害赤潮プランクトンとして代表的な *K. mikimotoi* については、同藻の栄養状態を正確に識別することを視野に入れ、窒素・リンで増殖が制限された細胞群を調製し、それらの画像を大量に収集しようとした。

2025 年 4 月に長崎県三重式見漁港で発生した *Alexandrium pacificum*, および 2025 年 7 月に広島湾で発生した *Ceratium furca* (現 *Tripos furca*) がそれぞれ比較的高密度で含まれる海水試料を用いて画像を撮影した。前者は海水試料を 10  $\mu\text{m}$  のふるいで濃縮した無固定のままの試料を、後者は同様にふるいで濃縮したのち終濃度 1% のグルタルアルデヒドで固定した試料を用いた。あわせて、*K. mikimotoi* 培養株については、窒素非添加、リン非添加および両者添加の SWM-3 培地で培養し、その培養期間中、蛍光度計ターナー (10-AU Fluorometer) を用いて *in vivo* クロロフィルに由来する蛍光量を経時的に測定した (高知大学実施)。その蛍光量を培養試験区間で比較することで、窒素あるいはリンによる増殖制限状態について評価した。各試料に含まれる細胞については、倒立生物顕微鏡 IX-70 (Olympus) 備えつけ 10 倍対物レンズで観察しながら撮影した。各種カメラを用いる撮影条件に関することとして、露光時間・ホワイトバランスについてはオートメーション機能を活用した。出力ファイルの解像度については 1,280×980 dpi 以上とした。

#### 2) 赤潮プランクトン画像解析技術の高度化

本課題では、深層学習の物体検出手法を利用することで、赤潮プランクトンの検出を試みる。また、併せて赤潮プランクトンの生理状態の推定も試みる。

2023 年度は、物体検知手法として広く用いられている You Only Look Once (YOLO) (Redmon et al. 2016) による検出結果を報告したが、2024 年度以降は、より精度向上が見込める DINO (DETR with Improved denoising anchorboxes) (Zhang et al. 2022) を採用している。2025 年度も引き続き DINO



を用いた解析を実施した。なお、2025年度は、2024年度の10クラスから15クラスに増加させることで、多くの種に関する検出精度の確認を行った。

DINOはDETR (Detection Transformer) を拡張、改良したものである。DETR (Carion et al. 2020) はTransformerを機構に取り入れた関係抽出型の物体検出手法である。これは自然言語処理分野で大きな成功を収めたTransformerを物体検出に応用した新しい戦略であり、全ての物体を一度に予測し、推論と正解の二部マッチング問題として捉えることでEnd-to-Endを実現し、高い精度や高速処理を達成している。

DINOはDETRと同様に関係抽出型の物体検出手法である。DINOではさらにContrastive DeNoising Trainingという機構を追加しており、ラベルに少しノイズを加えたポジティブサンプルとラベルに大きなノイズを加えたネガティブサンプルの両方を使用し、モデルがより識別力のある特徴を学習できるようにしている。DINOは、Transformerに基づくアーキテクチャにより、従来のCNNベースの物体検出手法に比して、特に複雑な背景や多様なサイズの物体を含むシーンに対して有効であり、プランクトンの自動検出にも適用できる可能性がある。上記を踏まえ、本課題ではDINOを採用した。

DINOの学習では、YOLO同様に、教師データとして画像データとその正解ラベル付されたデータが必要である。正解ラベル付は画像データに写った検知対象の領域の中心座標、および高さや幅、そしてラベル付されたクラスの情報である。本課題では、昨年度に引き続き、専門家のプランクトン分類に基づき、アノテーションツールLabelImgを用いてDINOの対象物体の位置情報およびクラスを作成した。学習用画像として2024年度の460枚から1152枚に増加させ、画像データセットは表1に示される14のクラス(2024年度は10クラス)に分類した。

生理状態の推定は、*K. mikimotoi*を対象として、窒素制限を施したもの、リン制限を施したもの、栄養が充足しているもの、の3種類にて培養し、その画像から、各生理状態が推定可能か否かを実験した。推論のモデルはプランクトン種判別にも利用しているDINOを用いた。

培養開始後10日が経過した培養株画像を教師データとして利用した。窒素制限を施したもの67枚、リン制限を施したもの68枚、栄養が充足しているもの68枚の計203枚を教師データとし、データ拡張を施した後に、学習させることで、生理状態識別のためのモデルを構築した。

### 3) 画像情報を用いた有害赤潮プランクトンの種同定マニュアル

画像情報を用いた有害プランクトンの種同定マニュアル(β版)を作成するために、既報の知見や本課題の成果を整理した。マニュアルは、海水試料の固定、画像撮影および深層学習による画像解析について詳細に記載し、「誰でもこのマニュアルを参照すれば画像取得から画像解析まで実施できるようにする」ことを目標とした。

#### (3) 結果および考察

##### 1) 有害赤潮プランクトンの画像情報蓄積

##### 1-1) 海洋環境およびプランクトン調査

当該結果については、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の開発 イ. 瀬戸内海西部・豊後水道・土佐湾海域に記載したため省略する。

##### 1-2) プランクトン画像データの取得

本年度は、7~9月に合計219枚のプランクトン画像を撮影した。浦ノ内湾で撮影した画像内の優占種は*Chattonella* spp., *H. akashiwo* および*Takayama* spp.の3種と珪藻類であった。昨年度は、終濃度10 mMの塩化ニッケルで固定すると、*Chattonella* spp.および*H. akashiwo*の細胞が変形するという事例が確認されたため、本年度は原則として5 mMの塩化ニッケルで固定したサンプルを撮影した。その結果、固定後直ちに細胞が変形する様子は観察されなかったことから、現在の画像蓄積種(プランクトン種)においてはサンプル数・作業時間に応じて終濃度1~5 mMの範囲内で固定

し、撮影することが望ましいと考えられた。

### 1-3) メタボローム解析用サンプルの取得と前処理

本年度、*K. mikimotoi* の赤潮は非発生であったため、7~8 月を中心として赤潮を形成した *Chattonella* spp. を解析対象とし、2 定点 (KU1, KU3) ×4 調査日の計 8 サンプルを解析に供した。

なお、浦ノ内湾における *Chattonella* spp. を含む有害プランクトンの細胞密度の推移については、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の開発 イ. 瀬戸内海西部・豊後水道・土佐湾海域を参照されたい。

### 1-4) 有害赤潮プランクトンの画像情報蓄積に伴う生物学的パラメータの測定

本年度は過年度 (R6 年度) に「赤潮」形成後に収集したサンプル計 15 回分 (KU1\_8 回, KU3\_7 回) の解析を行った。細胞数の推移と GG 比を図 2 に示す。赤潮状態にある細胞群の GG 比は 0.01 から 8 まで幅広い値を示した。赤潮状態が解消された場合を Yes, 維持された日を No とした。過年度データ (R4, 5 年度) のデータも統合し、ROC 曲線 (Receiver Operate Characteristic) により GG 比の閾値を算出した結果、Yes, No を最もよく予測できた GG 比の閾値が 0.81 として算出され、診断正確率は 60% であった。これは、「GG 比が 0.81 以下だと 1 週間後には終息しない」かつ「0.81 以上だと 1 週間後には終息する」と正確に診断できた確率が 60% (48 回中 29 回中) であることを意味する。一方で、7 月以降のデータのみ絞って解析した場合、診断正確率は 71% (28 回中 20 回中) にまで向上した。一般に赤潮が形成される 5~8 月の中で赤潮形成期後半に診断率が向上することが分かった。

### 1-5) 植物プランクトン画像撮影

教師画像として、*Alexandrium pacificum* が含まれる画像を 144 枚、および *Ceratium furca* (現 *Tripes furca*) が含まれる画像を 279 枚取得し、「2) 赤潮プランクトン画像解析技術の高度化」の課題に供した。

*K. mikimotoi* の試験培養 10 日目、13 日目ならびに 21 日目、窒素・リン非添加の培地で得られた *in vivo* クロロフィル蛍光量は、両栄養塩添加培地のそれと比較して明確に少なく (図 3), 供試株の増殖を窒素・リンで制限できたと判断した。そのことを裏付けるように、窒素・リンで増殖が制限された細胞群の色調は概して薄かった。また、リンで制限された細胞群のなかには、目視の限りとはいえ、細胞サイズ (特に細胞幅) がやや大きいものが散見された。Yamaguchi and Itakura (1999) においても、リン欠乏の進行に伴い *K. mikimotoi* の培養細胞群は肥大化することが報告されている。それと矛盾のない現象を捉えたことに鑑み、栄養状態が異なる *K. mikimotoi* 培養細胞群を調製できたと判断した。

本試験を通じて、それら細胞画像を大量に収集することができた。培養 10 日目、13 日目および 21 日目に得られた画像数は、それぞれ 253 枚、493 枚および 408 枚であり、トータルで 1154 枚に達した (表 2)。また、細胞の栄養状態をデジタル診断する上で必須な教師画像として、栄養充足、窒素不足およびリン不足状態の細胞画像をそれぞれ 370 枚以上得たことになる (表 2)。すなわち、栄養状態が一律に不良な細胞群の画像だけでなく、それらの不良の度合いが時系列で異なり得る画像を数百枚オーダーで確保することができた。

昨年度、それまでに蓄積した教師画像を活用することで、多種多様な植物プランクトン群集のなかで *K. mikimotoi* のみを識別することが技術的に可能となった (Kawano et al. 2025)。そういった種の識別に加え、本課題では当該種の栄養状態をもデジタルで推定しようとしている。その実現に向けてネックの一つであった「教師画像の大量取得」はおおよそ果たされた。本年度までに得た画像データはもちろん、それらに反転・回転加工を施せば教師画像は数千枚に及ぶ。このような莫大な

細胞画像に基づいて *K. mikimotoi* のデジタル識別および栄養診断を試みた例はなく、今後、それらの識別・診断技術の基盤が整備されるものと期待される。

## 2) 赤潮プランクトン画像解析技術の高度化

テスト画像中に含まれる個体数の比較的多かった *K. mikimotoi*, *Chattonella* spp., *Prorocentrum* spp., *Takayama* spp., *Cochlodinium polykrikoides*, *Alexandrium* spp., *Ceratium* spp. の各プランクトンについて、DINO を用いた検出結果を表 3 にまとめた。ここでは、各プランクトンについて、それぞれのクラスの正解ラベル付された個体数と Average Precision および F1 スコアを示している。主要な赤潮プランクトンでである *K. mikimotoi* および *Chattonella* spp. については、F1 スコアでそれぞれ 90.2%, 88.6% と、2024 年度よりは若干精度が低下したものの依然高い識別率を保っており、また、2025 年度より新たに取り組んだ *Cochlodinium polykrikoides*, *Alexandrium* spp., *Ceratium* spp. についても、96.9%, 96.2%, 92.8% と 90% を超える精度を示すことが確認できた。

ただし、*Prorocentrum* spp., *Takayama* spp. 等について、検出精度は必ずしも十分ではなく、その対策を今後検討する予定である。

図 4 および図 5 は、*K. mikimotoi* を含む赤潮プランクトンの検出実験例を示す。

以上まとめると、本課題では、物体検出アルゴリズムの DINO を用いて、赤潮プランクトンの検出精度を検証した。クラス数を 2024 年度の 10 クラスから 14 クラスに拡張し、検出可能なプランクトン種を増やす、という条件下で、転移学習や画像データに対するデータ拡張を適用して学習を行った結果、*K. mikimotoi* や *Chattonella* spp. については、検出精度は Average Precision において約 90% の精度を得られた。また、新規に取り組んだ *Cochlodinium polykrikoides*, *Alexandrium* spp., *Ceratium* spp. についてはいずれも 90% を超える精度が得られた（表 3）。しかし、*Prorocentrum* spp. 等、上記以外の赤潮プランクトンについては、改善の余地がある結果であった。

今後は DINO 以外の手法等も検討を進めることで、特に *K. mikimotoi* や *Chattonella* spp. 以外の赤潮プランクトンの検出精度向上を図る予定である。

*Karenia mikimotoi* の生理状態の推定については、上述した 10 日目の画像群で構築したモデルを使って、10, 11, 13, 15, ならびに 21 日目の画像のそれぞれについて、生理状態を推定した結果を表 4 に示す。培養の経過日に依らず、いずれの日も比較的高精度に推定できていることが確認された。

今回は教師データとして培養開始後 10 日目の画像群を用いたが、培養の経過日数によって同じ生理状態（窒素欠乏、リン欠乏、栄養充足）であっても視覚的な特徴が変化することが想定される。今後は、何日目の画像群を用いて推論モデルを構築するのが適切であるか、について実験を進めることで、推論の頑健性向上が図れるものと思われる。

## 3) 画像情報を用いた有害赤潮プランクトンの種同定マニュアル

本課題の成果や既報知見を整理し、画像情報を用いた有害プランクトンの種同定マニュアル（β 版）を検討した。本年度は海水試料の固定および画像撮影についてのマニュアルを作成した。来年度以降は画像解析のマニュアルを作成する予定である。

## 引用文献

Carion N, Massa F, Synnaeve G, Usunier N, Kirillov A, Zagoruyko S. End-to-end object detection with transformers. European conference on computer vision, Springer International Publishing, 2020: pp. 213-229.



- Hano T, Tomaru Y. Chronological age-related metabolome responses in the dinoflagellate *Karenia mikimotoi*, can predict future bloom demise. *Commun. Biol.* 2023; **6**: 273.
- Kawano T, Migita M, Kamimura K, Urabe A, Yamaguchi H, Sakamoto S, Tomaru Y, Toda M. Automated detection of harmful red tide phytoplankton using deep learning-based object detection models. *Int. J. Automation Technol.* 2025; **19**: 642-650.
- Redmon J, Divvala S, Girshick R, Farhadi A. You only look once: Unified, real-time object detection. In: *Proceedings of the IEEE conference on computer vision and pattern recognition*. Las Vegas, NV, USA. 2016; 779-788.
- Yamaguchi M, Itakura S. Nutrition and growth kinetics in nitrogen- or phosphorus-limited cultures of the noxious red tide dinoflagellate *Gymnodinium mikimotoi*. *Fish. Sci.* 1999; **65**: 367-373.
- Zhang H, Li F, Liu S, Zhang L, Su H, Zhu J, Shum HY. DINO: DETR with improved denoising anchor boxes for end-to-end object detection. 2022; arXiv:2203.03605.

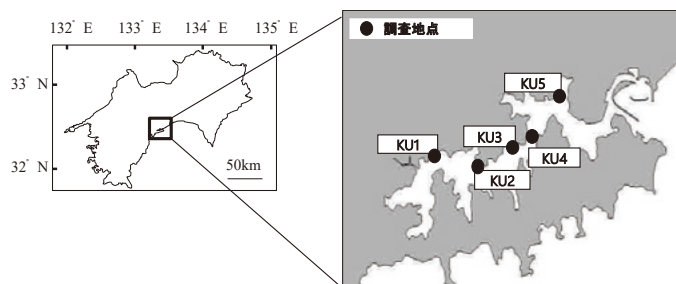


図1 調査定点（高知県浦ノ内湾）

表1 学習データにおける各クラスの個体数

|    | クラス                               | 個体数   | 継続・新設       |
|----|-----------------------------------|-------|-------------|
| 0  | <i>Karenia mikimotoi</i>          | 2,187 | 2024 年度より継続 |
| 1  | <i>Chattonella</i> spp.           | 758   | 2024 年度より継続 |
| 2  | <i>Prorocentrum</i> spp.          | 437   | 2024 年度より継続 |
| 3  | <i>Thalassiosira</i> spp.         | 24    | 2024 年度より継続 |
| 4  | <i>Dictyocha</i> spp.             | 196   | 2024 年度より継続 |
| 5  | <i>Dinophysis</i> spp.            | 9     | 2024 年度より継続 |
| 6  | <i>Ebria</i> spp.                 | 18    | 2024 年度より継続 |
| 7  | <i>Heterocapsa</i> spp.           | 24    | 2024 年度より継続 |
| 8  | <i>Takayama</i> spp.              | 2,148 | 2024 年度より継続 |
| 9  | Others                            | 347   | 2024 年度より継続 |
| 10 | <i>Cochlodinium polykrikoides</i> | 1,129 | 2025 年度に新設  |
| 11 | <i>Karenia papilionacea</i>       | 16    | 2025 年度に新設  |
| 12 | <i>Alexandrium</i> spp.           | 725   | 2025 年度に新設  |
| 13 | <i>Ceratium</i> spp.              | 1,898 | 2025 年度に新設  |

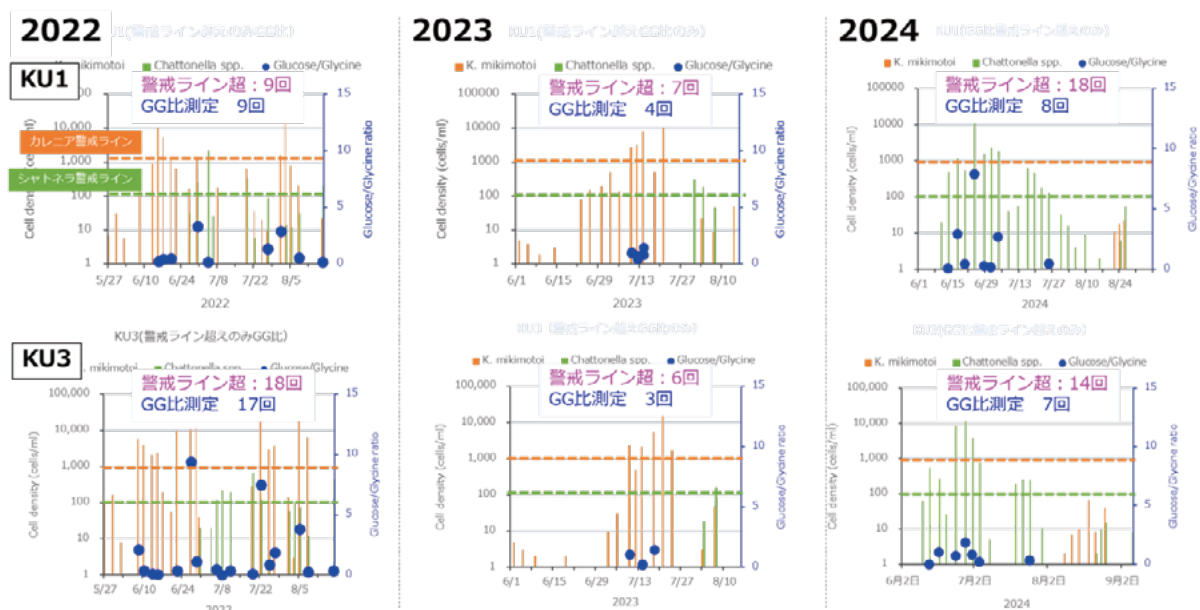


図2 細胞数の推移と GG 比の推移

（細胞数：棒グラフ，左 Y 軸，GG 比：青プロット，右 Y 軸）

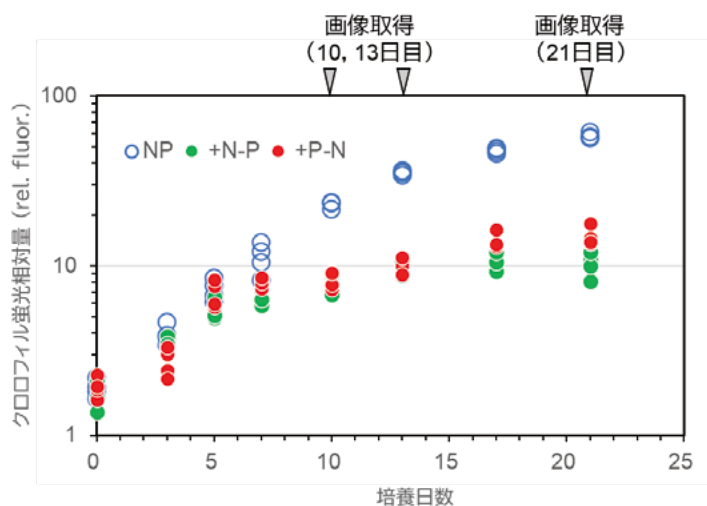


図3 栄養充足 (NP), リン制限 (+N-P) および窒素制限 (+P-N) 条件下で培養した *K. mikimotoi* の *in vivo* クロロフィル蛍光量の時系列。

表2 本試験で得られた *K. mikimotoi* の細胞画像

| 培養日数 | 栄養充足<br>画像数 | 窒素不足<br>画像数 | リン不足<br>画像数 |
|------|-------------|-------------|-------------|
| 10 日 | 85          | 83          | 85          |
| 13 日 | 157         | 170         | 166         |
| 21 日 | 141         | 121         | 146         |

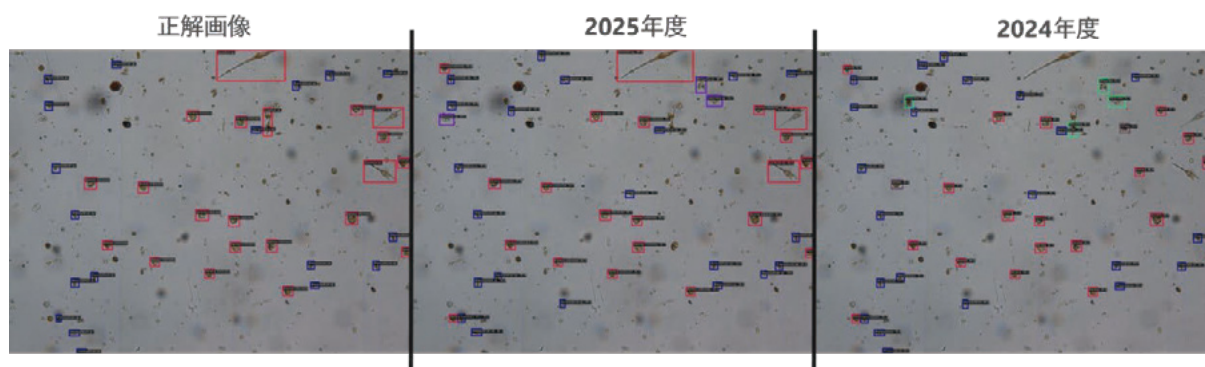


図4 検出実験例 (左: 正解画像, 中: 2025 年度モデルの検出結果, 右: 2024 年度モデルでの検出結果) (赤: *K. mikimotoi*, 青: *Prorocentrum*, 緑: *Dictyocha* spp.)

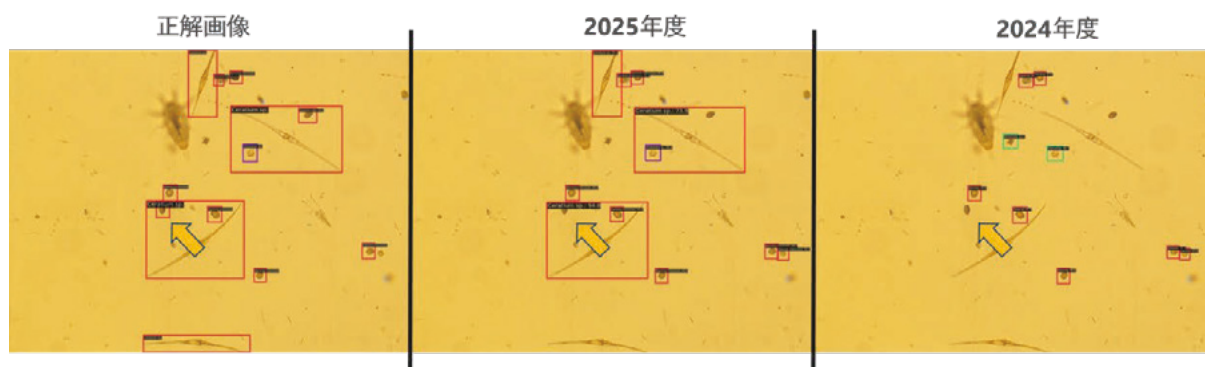


図5 検出実験例2 (左: 正解画像, 中: 2025 年度モデルの検出結果, 右: 2024 年度モデルでの検出結果) (赤: *K. mikimotoi*, 緑: *Dictyocha* spp.)



表 3 各クラスの検出結果

| クラス                               | 個体数 | AP   | F1   |
|-----------------------------------|-----|------|------|
| <i>Karenia mikimotoi</i>          | 205 | 90.0 | 90.2 |
| <i>Chattonella</i> spp.           | 107 | 84.4 | 88.6 |
| <i>Prorocentrum</i> spp.          | 90  | 64.1 | 74.9 |
| <i>Takayama</i> spp.              | 148 | 49.4 | 64.4 |
| <i>Cochlodinium polykrikoides</i> | 111 | 96.8 | 96.9 |
| <i>Alexandrium</i> spp.           | 64  | 97.1 | 96.2 |
| <i>Ceratium</i> spp.              | 145 | 90.2 | 92.6 |

表 4 生理状態の推定結果

| 10日目モデル |      | "-N" | "-P" | " +NP" | total |
|---------|------|------|------|--------|-------|
| 10日目画像  | N欠画像 | 641  | 0    | 0      | 641   |
|         | P欠画像 | 12   | 538  | 0      | 550   |
|         | 充足画像 | 0    | 0    | 886    | 886   |
| 11日目画像  | N欠画像 | 132  | 0    | 0      | 132   |
|         | P欠画像 | 87   | 11   | 3      | 101   |
|         | 充足画像 | 0    | 0    | 102    | 102   |
| 13日目画像  | N欠画像 | 1362 | 3    | 0      | 1365  |
|         | P欠画像 | 8    | 1093 | 0      | 1101  |
|         | 充足画像 | 0    | 3    | 1221   | 1224  |
| 15日目画像  | N欠画像 | 357  | 4    | 0      | 361   |
|         | P欠画像 | 0    | 255  | 0      | 255   |
|         | 充足画像 | 0    | 0    | 924    | 924   |
| 21日目画像  | N欠画像 | 471  | 6    | 0      | 477   |
|         | P欠画像 | 28   | 624  | 0      | 652   |
|         | 充足画像 | 3    | 95   | 2115   | 2213  |

註：-N：窒素欠乏細胞と検知した画像，-P：P 欠乏細胞と検知した画像，+NP：NP 充足細胞と検知した画像

### 3) 有害赤潮プランクトンのモニタリング技術の開発・実証及び普及並びにデータ利活用の促進

#### イ. 赤潮等関連情報の提供及び利活用の促進

水産研究・教育機構 水産技術研究所  
杉松宏一，福岡弘紀，岡村和磨  
株式会社アイコック  
松尾 斉，浦川俊二，嬉野克浩，前田亜貴子

## 1 全体計画

### (1) 目的

西日本の沿岸域（離島のマグロ養殖場を含む）では *Chattonella* 属や *Karenia* 属等の鞭毛藻による有害赤潮が頻発し，また閉鎖性海域では夏季に貧酸素水塊が頻繁に形成されており，有害赤潮や貧酸素水塊による漁業被害の防止・軽減，および有害赤潮の迅速な把握と予察のため，水温，塩分等の連続観測データ及び有害赤潮プランクトンの細胞数等の観測データの情報収集と迅速な提供が求められている。

本課題では，有害赤潮プランクトンおよび貧酸素水塊による漁業被害の防止・軽減，有害赤潮および貧酸素水塊の迅速な把握と予察のため，漁業者や都道府県等の行政担当者，試験研究機関の担当者及び広く一般に向けて，水質や赤潮原因プランクトンの細胞密度等の観測情報を迅速に収集するとともに，情報を提供することを目的とする。そのために，本研究では以下のことを行う。

「赤潮分布情報」および「貧酸素・水質情報」の運用と改良

瀬戸内海および九州西岸海域を対象に「赤潮分布情報」，九州西岸海域を対象に「貧酸素・水質情報」を運用し，最新の水温，塩分，溶存酸素濃度，有害赤潮プランクトンの細胞密度等の観測データを多数の提供者より収集してデータベース化し，一般向けに分かりやすく迅速に提供するとともに，利活用を促進するため全体デザイン改良の開発および予察関連情報の追加を行う。

## 2 令和7年度計画および結果

### (1) 目的

全体計画と同じ

### (2) 方法

#### 1) 「赤潮分布情報」および「貧酸素・水質情報」の運用と改良

平成25年度より開発し九州西岸海域及び瀬戸内海西部海域を対象に運用してきた「赤潮分布情報」，および令和2年度より開発し九州西岸海域を対象に運用してきた「貧酸素・水質情報」を運用し，最新の水温，塩分，溶存酸素濃度，有害赤潮プランクトンの細胞密度等の観測データを多数の提供者より収集してデータベース化し，一般向けに分かりやすく迅速に提供した。利便性を向上させるため，老朽化したOSの更新，全体デザイン改良の開発を行うとともに，「赤潮発生機構・予察関連情報」を追加・更新し，各海域で整理されている赤潮発生のメカニズムや予察情報を公表することで利活用を促進した。

### (3) 結果および考察

#### 1) 「赤潮分布情報」および「貧酸素・水質情報」の運用と改良

##### ① 「赤潮ネット（沿岸海域水質・赤潮観測情報）」

平成27年6月に開設した「沿岸海域水質・赤潮観測情報ポータルサイト」の名称を，平成30年2月に「赤潮ネット（沿岸海域水質・赤潮観測情報）」に，「沿岸海域水質・赤潮分布情報」の名称を「赤潮分布情報」に改めた。また令和4年度は，「赤潮ネット」の下部サイト「貧酸素情報」を「貧酸素・水質情報」に改め，貧酸素水塊観測時の水質（水温，塩分，溶存酸

素、クロロフィル蛍光、濁度) 情報も表示した。さらに過年度にトップページの表示を改め、サイト右上部に「赤潮発生機構・予察関連情報」を掲載させ、「八代海におけるシャットネラ赤潮発生の中長期予察」情報の発信を行った。今年度は「赤潮発生機構・予察関連情報」の拡充のため、瀬戸内海東部海域におけるシャットネラ赤潮の発生シナリオを取りまとめ同ページ内で公表し、また高知県海域における有害赤潮プランクトンの観測情報等(高知県NABRAS)へのリンクも追加し、情報の集約と利便性向上を進めた(図1)。さらにアンケートを実施し、海域ごとの「赤潮発生機構・予察関連情報」の収集を行った。アンケート結果は今後精査し、さらなる情報の集約・利便性向上を図る予定である。

「赤潮ネット」では、「水温速報」、「水温予報」、「赤潮分布情報」の他、「貧酸素・水質情報」、「公共用水域水質調査情報」等の関係サイトが運用されており、赤潮及び環境データが迅速に収集、公表され、多岐にわたる情報を収集・公表する体制が整備、運用されている。

「赤潮ネット」の下部サイトの概要を表1に示す。

赤潮ネットのアクセス数について、2025年6月から2026年1月までの、月毎のサイトアクセス数を図2に示す。有害赤潮や貧酸素水塊の発生が多発する夏季は閲覧数が増加し、7月には17,321回、8月に18,196回の閲覧数であり、前年とほぼ同数であった。赤潮ネットを運用する上で、システムの更新などでWEBページを停止・再起動する必要があるため、曜日ごとの利用者数を算出した(図3)。土日のアクセス数は平日の半分以下であり、WEBページの停止・再起動には週末が有効であることが分かった。

利便性をさらに向上させるため、全体デザイン変更の開発を行った。過年度に行った全体デザイン案をベースに開発を進め、視認性の向上を図るデザインを採用した(図4、および図5)。また、データ蓄積量が膨大になったために「赤潮分布情報」等の表示速度の低下が認められたため、今年度から年度を分けたデータベースに変更し、表示速度の向上を図った。ただし、過去データの表示速度を向上させるためには過去のデータベースも年度ごとに分ける必要があり、次年度以降の課題として残る。

## ②「赤潮分布情報」の運用

「赤潮分布情報」は、平成28年度に「赤潮情報」の適用範囲を瀬戸内海東部及び周辺海域に拡張したことにより、九州西岸域や瀬戸内海域及び周辺海域における関係県や市の機関、漁業協同組合、大学、及び水産研究・教育機構などから水質や有害赤潮等の分布情報を迅速に収集し、公表することができるようになった。「赤潮分布情報」の主な機能を表2に示す。

令和7年夏季は、伊万里湾において有害赤潮原因プランクトンの一種の *Karenia mikimotoi* による赤潮が発生し、1mL当たりの細胞数は最大17,800(7/16)を記録したが、漁業被害は確認されていない。豊後水道では7~8月にかけて同種の赤潮が愛媛県宇和島沿岸や大分県沿岸の佐伯湾で発生が見られ、特に宇和島沿岸では最大80,000細胞(7/31)を記録し、漁業被害も発生した。有明海、八代海、橘湾では、7~9月にかけて *Chattonella* 属の赤潮が発生し、八代海沿岸で最大3,000細胞を記録し、漁業被害が発生した。「赤潮分布情報」で収集、公表された伊万里湾、豊後水道を含む瀬戸内海西部、及び有明海・八代海・橘湾における有害赤潮プランクトンの細胞密度の分布情報を図6~8に例示する。

## ②「貧酸素・水質情報」の運用

有明海、八代海及び橘湾で関係機関が多項目水質計等を使用して観測する水温、塩分、溶存酸素等の鉛直データ(表3)の提供を受け、既存の「沿岸海域水質鉛直データベース」に収録した。収録したデータは関係機関で共有して活用した。「貧酸素・水質情報」で収集された観測データは、直ちに公表される。2025年夏季に収集・公表された有明海、橘湾、及び八代海における最下層の溶存酸素濃度の分布を図9に示す。

**赤潮ネット(沿岸海域水質・赤潮観測情報)**

[トップページ](#)
[概要](#)
[お知らせ](#)
[関連情報](#)
[リンク](#)
[お問い合わせ](#)

**東シナ海**

**有明海・八代海等の水質観測情報**

国立研究開発法人 水産研究・教育機構の水質連続観測情報を公表しています。

**水温・塩分速報**

国、県、市、漁業協同組合の水質連続観測情報を公表しています。

**水温予報**

自動観測された水温データをもとに、1～2週間の水温を予報しています。

**赤潮分布情報**

各機関の水質・赤潮プランクトンの観測結果を分布図で公表しています。

[ログイン](#)
[分布図](#)

**硝酸素・水質情報**

有明海・八代海等の多項目水質計による観測結果を分布図で公表しています。

**浅海定線調査情報**

有明海・八代海等の浅海定線調査結果を分布図で公表しています。

**公共用水域水質調査情報**

有明海・八代海等の公共用水域水質調査結果を分布図で公表しています。

**瀬戸内海**

**水温・塩分速報**

県及び漁業協同組合の水質連続観測情報を公表しています。

**水温予報**

自動観測された水温データをもとに、1週間の水温を予報しています。

**赤潮分布情報**

各機関の水質・赤潮プランクトンの観測結果を分布図で公表しています。

**赤潮発生機構・予察関連情報**

- ・八代海におけるシャットメウ赤潮発生の中長期予察
- ・瀬戸内海東部におけるシャットメウ赤潮の発生シナリオ
- ・高知県海域の赤潮発生予察・環境調査関連情報(高知県NABRAS内、「環境調査結果(赤潮情報)」へのリンク)
- ・有明海におけるコーカンピア赤潮の発生メカニズムと知能予察

**お知らせ**

**【ホームページURL変更のお知らせ】**  
ホームページのURLを下記の通り変更することとなりましたのでお知らせいたします。

- 変更時期 2025年4月1日より
- ホームページURL (旧) <https://akashiwo.jp> → (新) <https://akashiwo.fra.go.jp>
- 移行期間について 2025年3月24日～2025年3月31日はシステム移行期間のためアクセス不可になります。ご不便をおかけいたしますが、何卒ご理解いただきますようお願い申し上げます。
- 2024/4/2：2023年度のノリ養殖場における水温予報は終了しました。周年運用は引き続き運用しています。
- 2023/10/4：2023年度の有明海における水温予報を開始しました。周年運用は引き続き運用しています。

2025/3/24 1:30現在 有明海・八代海の水質調査結果を分布図で公表しています。

**最近の情報**

**赤潮分布情報**

|            |                  |         |
|------------|------------------|---------|
| 2026/02/09 | 東シナ海 有明海7（熊本港地先） | スケルトンマダ |
| 2026/02/10 | 瀬戸内海 愛南 御庄       | デモノフィス属 |

**公共用水域水質調査**

|            |                     |
|------------|---------------------|
| 2025/12/22 | S t - 1 福岡県環境部環境保全課 |
|------------|---------------------|

**浅海定線調査情報**

|            |                        |
|------------|------------------------|
| 2025/11/20 | 浅海定線 A（熊本県）熊本県水産研究センター |
|------------|------------------------|

[サイトポリシー](#)
[プライバシーポリシー](#)
[著作権/リンク](#)
[サイトマップ](#)

図 1. 赤潮ネット（沿岸海域水質・赤潮観測情報）

— 292 —



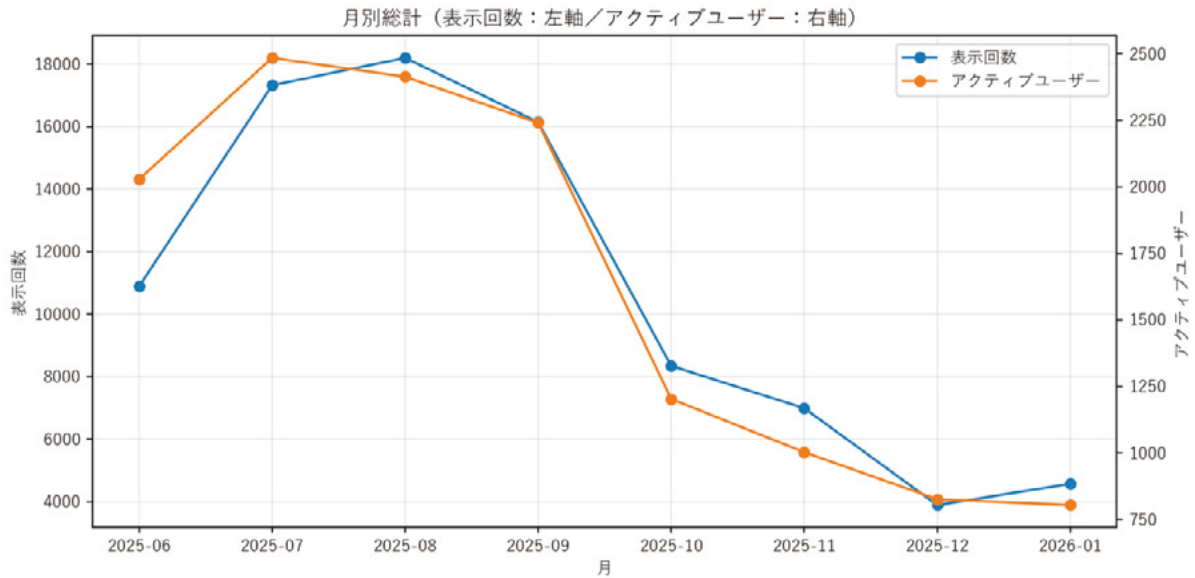


図 2. 「赤潮ネット」で閲覧された月ごとの閲覧回数. 左軸はページ閲覧数を, 右軸は来訪者数を示す

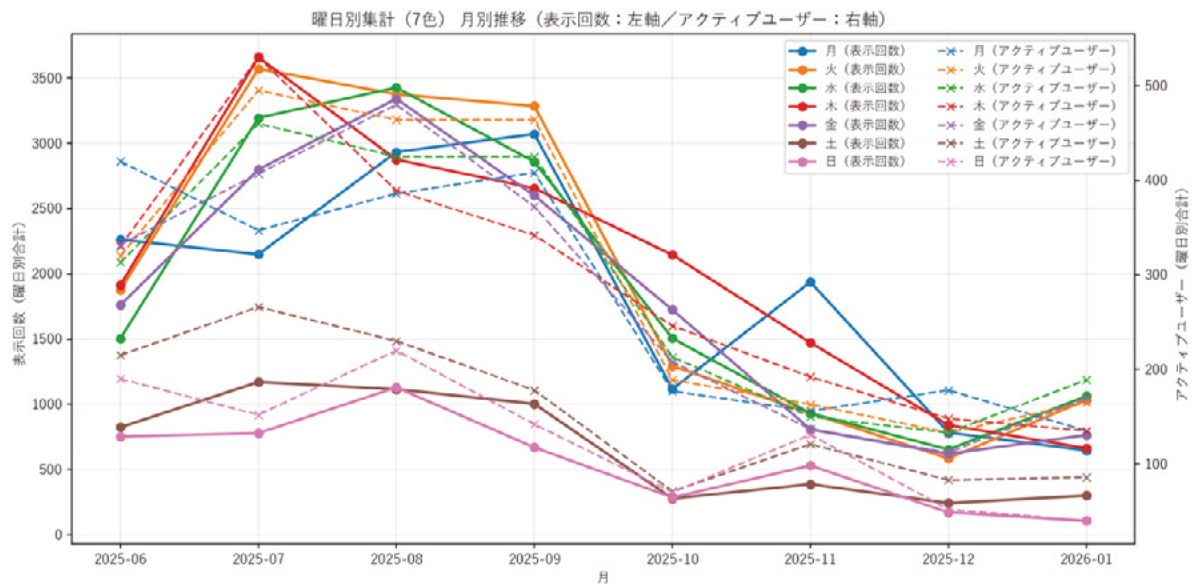


図 3. 「赤潮ネット」で閲覧された曜日ごとの閲覧回数. 左軸はページ閲覧数を, 右軸は来訪者数を示す

表 1. 「赤潮ネット（沿岸海域水質・赤潮観測情報）」の下部サイトの名称と運用内容

| 「赤潮ネット」の下部サイト名称 | 運用内容                                             |
|-----------------|--------------------------------------------------|
| 有明海・八代海等の水質観測情報 | 水産研究・教育機構水産技術研究所が運用する水質連続観測の結果を公表                |
| 水温・塩分速報         | 有明海・八代海及び瀬戸内海の関係機関が運用する水質連続観測へのリンク               |
| 水温予報            | 有明海及び瀬戸内海東部の関係機関が運用する水温予報へのリンク                   |
| 赤潮分布情報          | 東シナ海、瀬戸内海及び周辺海域の関係機関が取得した水質・赤潮プランクトンの調査結果を収集し、公表 |
| 貧酸素・水質情報        | 有明海、橘湾、及び八代海の多項目水質計による観測結果を収集し、公表                |
| 浅海定線調査情報        | 有明海沿岸4県の浅海定線調査結果を収集し、公表（平成 30 年度は非公表で試験運用）       |
| 公共用水域水質調査情報     | 有明海、橘湾、及び八代海沿岸5県の公共用水域水質調査結果を収集し、公表              |

表 2. 「赤潮分布情報」の主な機能

| 機 能            | 方 法                                     | 備 考                          |
|----------------|-----------------------------------------|------------------------------|
| 水質・赤潮分布表示      | ●及び数値(細胞数等)を表示<br>詳細な数値を表で表示            | 海区, 海域, 対象種(鞭毛藻類, 珪藻), 水質を選択 |
| 時系列表示          | 水質, 対象種の細胞密度を表示                         | 初期設定: 1 年間                   |
| 散布図表示          | 水温, 塩分, 細胞密度の散布図を表示                     | 初期設定: 1 年間                   |
| データ登録          | Excel ファイルにデータを入力し, ウェブにアップロードして登録      |                              |
| データ検索／修正／削除／出力 | データ参照可能機関が, ウェブでデータを検索し, 表示及び CSV 出力が可能 | 修正・削除はデータ取得機関のみ可能            |
| マスタ管理機能        | 認証パスワード変更, 地点登録, 入力項目, 入力対象種を設定         | 調査別のマスターデータの設定が可能            |
| 情報共有機能         | グループ内で情報(テキスト及びファイル)の投稿, 閲覧が可能。         | 参画機関は管理者が設定                  |
| ドキュメント作成支援ツール  | 「赤潮発生状況速報」等の作成が可能                       |                              |

表 3. 「貧酸素・水質情報」のため収集した鉛直データ（2025 年度）

| 海域  | 地点        | 観測回数 | 備考                         |
|-----|-----------|------|----------------------------|
| 有明海 | 奥部 8 地点   | 8 回  | 水産技術研究所観測                  |
|     | 全域 111 地点 | 2 回  | 10 機関による共同観測               |
|     | 中央部 8 地点  | 8 回  | 熊本県水産研究センター観測              |
| 橘湾  | 20 地点     | 10 回 | 長崎県総合水産試験場観測               |
| 八代海 | 21 地点     | 2 回  | 水産技術研究所・熊本県水産研究センターによる共同観測 |



図 4. 「赤潮ネット」新デザイン

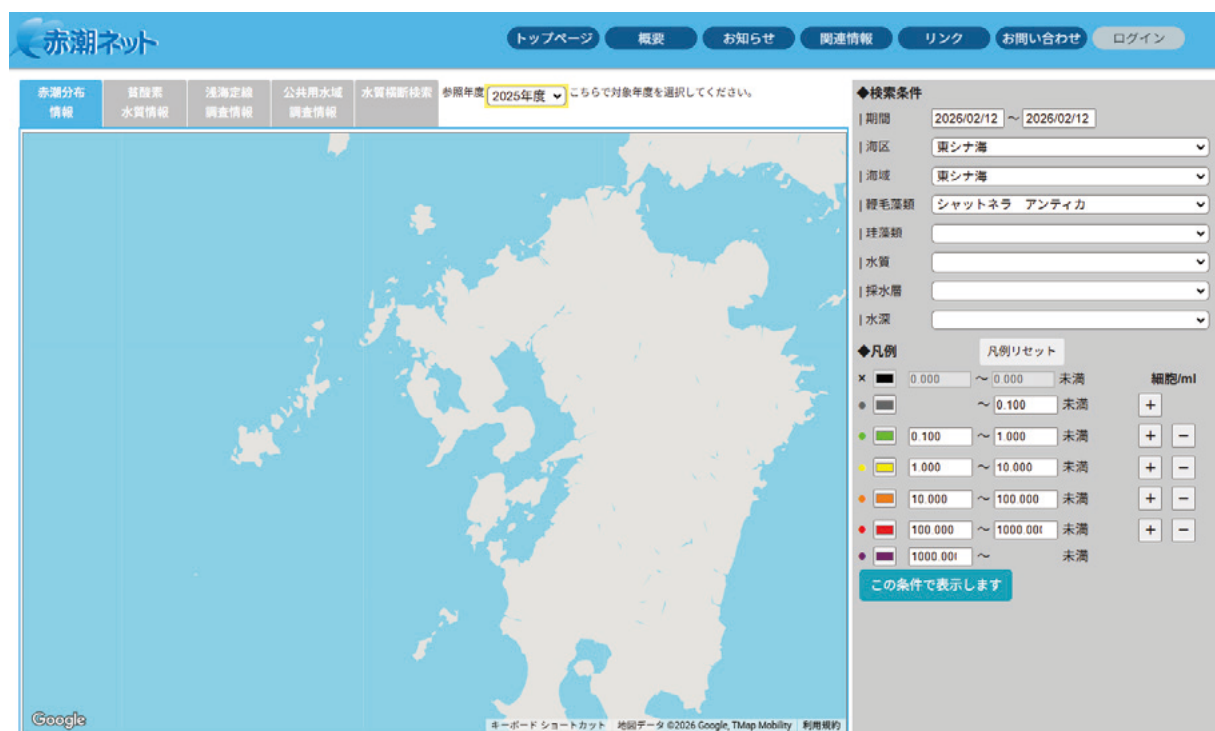


図 5. 「赤潮分布情報」新デザイン

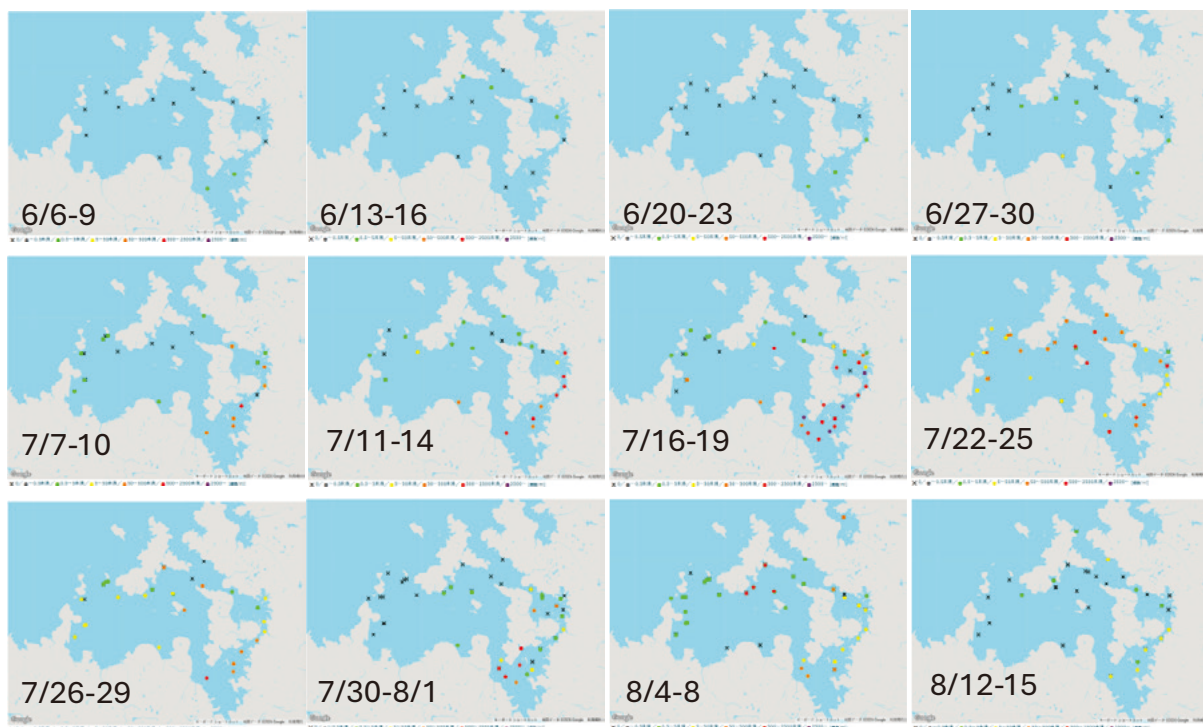


図 6.「赤潮分布情報」で収集・公表された伊万里湾における有害赤潮原因種 *Karenia mikimotoi* の細胞密度の分布（長崎県総合水産試験場，佐賀県玄海水産振興センターの調査結果による）

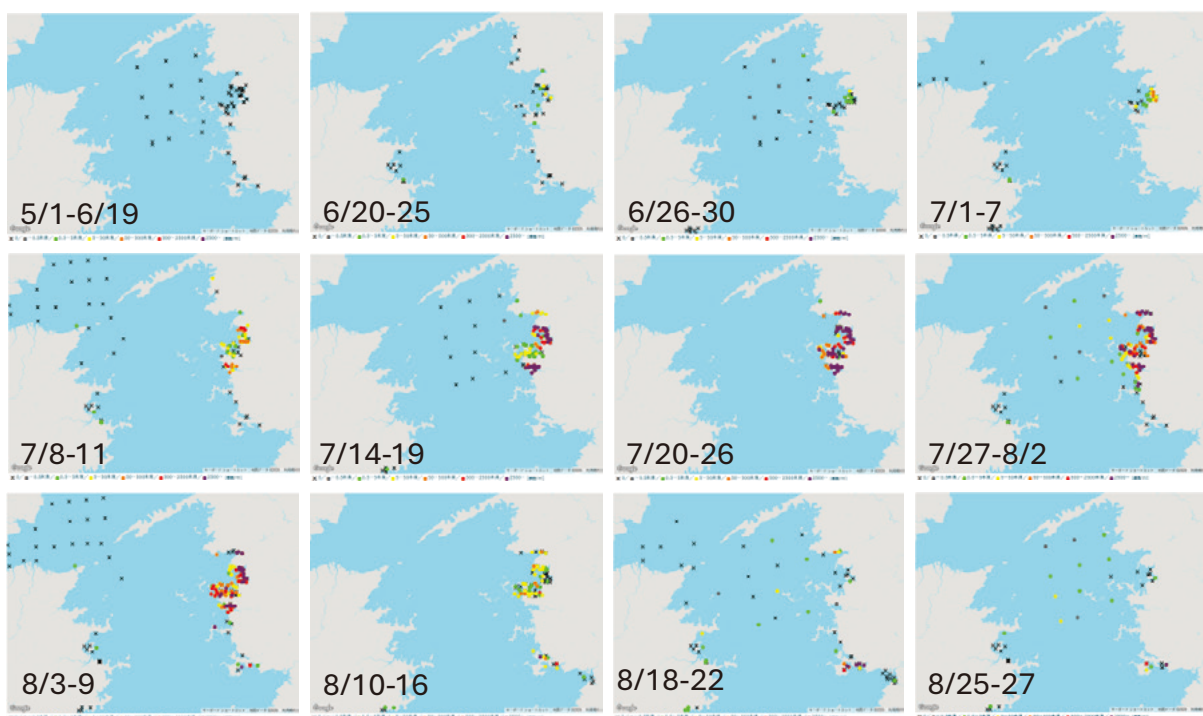


図 7.「赤潮分布情報」で収集・公表された豊後水道における有害赤潮原因種 *Karenia mikimotoi* の細胞密度の分布（大分県農林水産研究指導センター水産研究部，愛媛県農林水産研究所水産研究センター他の調査結果による）



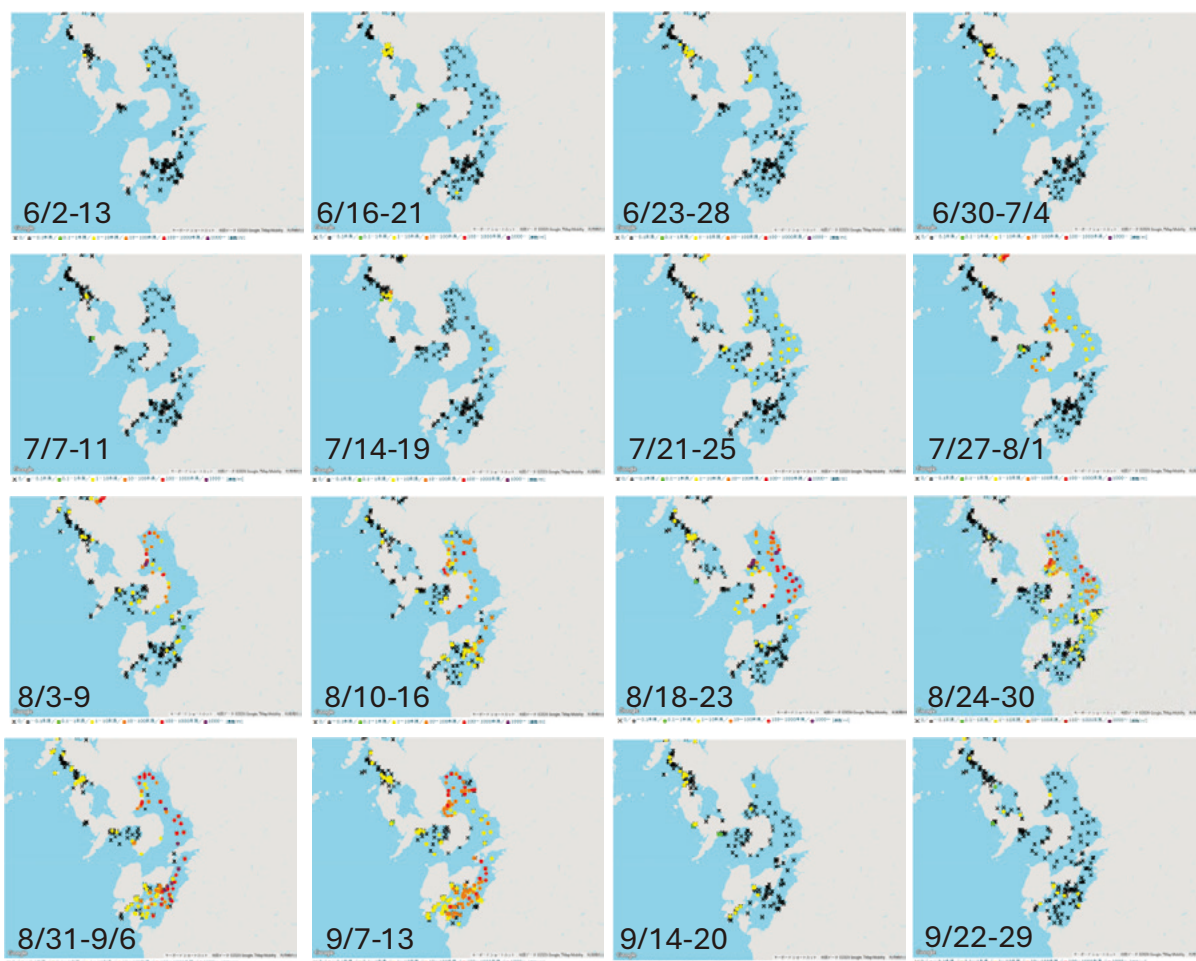


図 8. 「赤潮分布情報」で収集・公表された有明海・八代海・橘湾における有害赤潮原因種 *Chattonella* 属の細胞密度の分布（福岡県水産海洋技術センター有明海研究所，佐賀県有明海水産振興センター，長崎県総合水産試験場，熊本県水産研究センター，鹿児島県水産技術開発センター，天草市水産研究センター，熊本県海水養殖漁業協同組合，東町漁業協同組合，水産研究・教育機構の調査結果による）

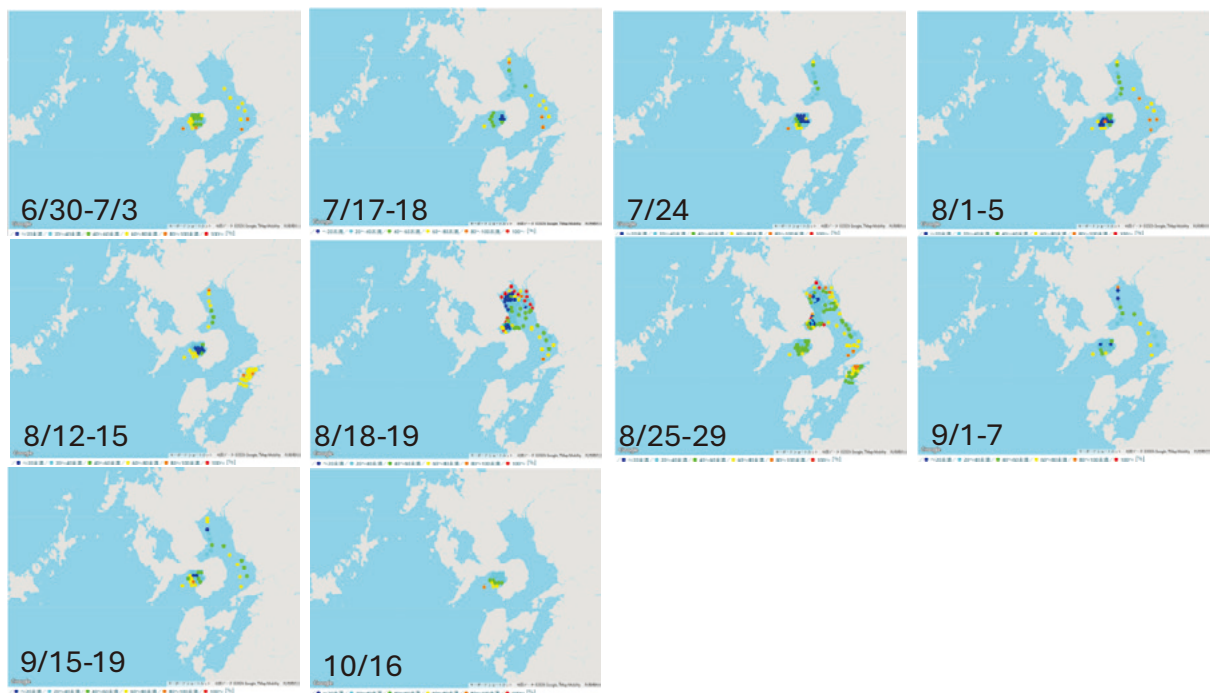


図 9. 有明海・橘湾・八代海における底層の溶存酸素（％）の分布

### 3) 有害赤潮プランクトンのモニタリング技術の開発・実証及び普及並びにデータ利活用の促進

#### ウ. モニタリング技術の普及

水産研究・教育機構 水産技術研究所  
中山奈津子, 紫加田知幸, 西村朋宏  
山口峰生, 長井敏, 松嶋良次, 児玉真史

## 1 全体計画

### (1) 目的

有害プランクトンモニタリングは赤潮・貝毒の発生予察や漁業被害軽減において重要な活動であり, 的確な調査技術や正確な種同定技術がその基盤となる。本課題ではモニタリングや調査研究の技術的な均質化, 高度化を図るため, 都道府県の職員などを対象に有害プランクトン同定研修会を開催し, 技術の普及を図る。研修会では, 有害・有毒プランクトンの形態・分子分類, 検索に関する講義, および有害・有毒プランクトンの試料処理, 計数法, 種の同定法などの実習を行うとともに, 必要に応じて本事業で開発した各種の同定技術の普及を行う。それにより, 現場における有害・有毒プランクトンに対するモニタリング技術の高度化を目指すことを目的とする。さらに, 本事業5年間で, 講義や一部実習のデジタル化を図り, 実習や意見交換を中心とする研修会の実施を目指す。

本事業は複数機関が共同で担当することから, 実施課題間の連携と進行管理を図る必要がある。そのため, 2名以上の有識者を検討委員とした事業の計画および結果検討会を開催し, 種々の検討・議論を行う。得られた指導・助言を調査・研究計画, 成果の取りまとめおよび報告書に反映することにより, より良い調査・研究成果の達成および発信を目指す。

## 2 令和7年度計画および結果

### (1) 目的

全体計画と同じ

### (2) 方法

#### 1) 有害プランクトン同定研修会（同定研修会）

水産機構水産技術研究所が外部講師（委嘱）と連携し研修会を開催した。講師は水産機構および外部講師から成る8名とした。研修会事務局を設置し, 本研修会開催に関わる準備・運営（カリキュラム作成, 研修会場および器材の調達, 研修生の募集, 講師の選定・委嘱, 観察のためのプランクトン培養株の維持・培養, 講義・実習など）を行った。また, 研修会において有害プランクトンに関する最新の情報を共有するために, 新テキストの制作を進めた。

#### 2) 事業検討会議

有害藻類生態, 海洋環境および魚毒分野に精通した有識者3名および課題実施機関が参加する事業検討会（計画および結果）を開催した。

### (3) 結果および考察

#### 1) 有害プランクトン同定研修会

令和7年11月18日（火）～21日（金）の4日間, 広島県廿日市市大野西市民センターにおいて同定研修会を開催した。水産機構は, 研修会開催に関わる一連の運営や実務（カリキュラム作成, 講義資料や参考資料の準備, 研修会場手配および顕微鏡や観察に必要な消耗品など機材, 試薬などの調達, 研修生の募集, 外部講師の委嘱, 観察のためのプランクトン培養株の収集・維持・培養, 当日の講義や実習）を担当した。詳細は以下の通りで

ある。

#### ①講師

##### 水産機構水産技術研究所

中山奈津子<sup>1), 2), 3)</sup> (廿日市庁舎 環境保全部 有害・有毒藻類グループ)

紫加田知幸<sup>1), 2), 3)</sup> (五島庁舎 環境保全部 有害・有毒藻類グループ)

西村朋宏<sup>1), 2), 3)</sup> (廿日市庁舎 環境保全部 有害・有毒藻類グループ)

山口峰生<sup>1), 2), 3)</sup> (水産研究・教育機構フェロー)

長井 敏<sup>1)</sup> (横浜庁舎 沿岸生態システム部)

松嶋良次<sup>2)</sup> (横浜庁舎 水産物応用開発部)

##### 外部講師

岩滝光儀<sup>1)</sup> (東京大学)

板倉 茂<sup>1), 2), 3)</sup> (岡部株式会社)

<sup>1)</sup>研修会開催を担当

<sup>2)</sup>デジタル資料の制作を担当

<sup>3)</sup>新テキスト作成を担当

#### ②研修対象者および受講者人数

有害・有毒プランクトンのモニタリングおよび漁業者の指導を行なっている各都府県の水産課および水産試験場の職員を対象として研修生の募集を行った。今年度は、20名の応募があったが、前年度に同一機関からの受講生がいないこと、技術の習得状況・経験などを鑑みて選考を行い、表1に示す11名を受講者とした（うち1名は欠席）。

#### ③対象プランクトン

わが国において赤潮・貝毒の原因となる有害・有毒プランクトンであり、モニタリングの対象として最低限同定技術を習得しておかなければならない種（又は属）で、かつ光学顕微鏡又は蛍光顕微鏡で同定可能なものを対象とした。また、今年度は、各県より同定依頼などの問い合わせの多かった複数種を追加した。対象プランクトンのリストを表2に示す。

#### ④時間割および研修内容

研修会の時間割および研修内容を表3に示した。今年度も企画委員会にて、受講生がより効率的に技術を習得できるよう本研修会の内容を見直しながら実施した。具体的な改善点や成果は以下の通りである。

- 実習の効率化：受講生が効率的に研修を受けられるよう、篩の作成時間や顕微鏡観察など一部のスケジュールを変更して対応した。具体的には、篩の作成について、従来の2班体制を1班に集約し、作業時間を短縮した。これにより生じた時間を顕微鏡観察に充当するなど、スケジュール内容の最適化を図った（図1）。
- 観察技術向上へ向けた取り組み：今年度は、プランクトンの観察に重点をおいた。昨年度に引き続き、研修生が視覚的に理解しやすいよう、顕微鏡映像を大型スクリーンに投影し、プランクトンの形態や遊泳について観察ポイントをリアルタイムに説明した。今年度はさらに、新テキストの一部を試験的に用いて説明し、内容の妥当性や分かりやすさについて確認した。また、プランクトン観察時に、スケッチの実施や、培養株を混合した試料に含まれるプランクトンの種類を当てるクイズを取り入れ、受講生が種同定に必要な観察ポイントを意識しながら観察できるよう努めた（図2）。加え



て、有害・有毒プランクトンの模型として、手彫りの木製模型および 3D プリンターによる樹脂製模型（試作品）を取り入れ、実際に手に取って、種同定に重要な形態学的特徴を立体的に把握しながら観察できるよう工夫した。

- 蛍光顕微鏡観察において、有毒プランクトンの微細な構造の識別を容易にするため、顕微鏡映像をモニターに映すことでリアルタイムに観察しながら詳細な説明を行った。
- プランクトンの顕微鏡画像・映像をスマートフォンや USB 型顕微観察装置で容易に写真撮影・動画撮影ができるよう各種デバイスを用意し、その取り付け方法や撮影方法および利活用方法などを紹介した。

#### ⑤講義のデジタル資料の作成

「有毒プランクトンの生理生態」に関する講義についてデジタル化および公表に向けて、著作権法などに抵触しない図表への差し替えや新たな細胞写真の収集などを行い、パワーポイントスライドを完成させた。

#### ⑥研修会の新テキストの制作

研修会用の新テキストの作成について、デジタル資料・新テキストの制作委員会を定期的に開催し、内容について協議しながら分担して制作を進めた。今年度は、図 3 に示す目次中の I-6：検鏡（光学顕微鏡の使用方法）や II-1-1～2、II-2-1～4 および II-3-2（各種プランクトンの同定方法）を完成させた（図 3）。

#### ⑦アンケートの実施

令和 7 年度有害プランクトン同定研修会終了後、受講者に対して本研修会の実施内容や今後の研修会のあり方についてアンケート調査を実施した。アンケート調査は、一昨年度に引き続き Microsoft Forms を活用したウェブ形式を導入し、アンケート項目も受講生のより具体的な意見を収集できるよう工夫した。結果の概要を表 4 に示した。アンケートの回答は、全受講者のうち出席者 10 名より得られた。アンケート結果によると、全体的に研修会の講義・実習内容に対する満足度が高かったことが窺える回答が多かった。一方で、講義内容に対しては、培養の基礎（プランクトン細胞の単離、培養株の確立や培養に必要な物品・設備など）、シストを含めた冬季の有害プランクトンの動態、赤潮の対処法および珪藻の種類・生態のより詳細な解説などを希望する意見が寄せられた。また、実習内容に対しては、海底泥からのシスト検出やプランクトン細胞の単離方法に関する実習の実施などを希望する意見が寄せられた。これらの意見の多くは、現在、本課題や他事業で制作を進めているデジタル資料（有害有毒プランクトンの生理生態〔シストに関する内容を含む〕を解説）や動画（モニタリングに関する手法を解説）を研修生に案内することで対応可能と考えている。

## 2) 事業検討会議

有害プランクトンの生態や魚毒性および海洋環境に精通した有識者 3 名（佐賀大学・速水祐一准教授、長崎大学・小田達也名誉教授、岡部株式会社・板倉茂顧問）および課題実施機関が参加する事業検討会を以下の日程および場所で開催し、種々の検討・議論を行った。

- ・令和 7 年 5 月 28～29 日：事業計画検討会（廿日市市：オンライン併用）
- ・令和 8 年 2 月 26～27 日：事業結果検討会（廿日市市：オンライン併用）

得られた指導・助言を調査や研究成果の取りまとめおよび報告書に反映することにより、より良い調査や研究成果の発信を目指した。

表 1. 令和 7 年度有害プランクトン同定研修会受講者名簿

| 府・県 | 所 属 機 関                | 氏 名     |
|-----|------------------------|---------|
| 青森  | 青森県産業技術センター 水産総合研究所    | 色川 七瀬   |
| 神奈川 | 神奈川県水産技術センター 相模湾試験場    | 野口 遥平   |
| 静岡  | 静岡県水産・海洋技術研究所 浜名湖分場    | 市川 稜    |
| 京都  | 京都府水産事務所               | 齊藤 一樹   |
| 岡山  | 岡山県農林水産総合センター 水産研究所    | 上仲 慶和   |
| 広島  | 広島県立総合技術研究所 水産海洋技術センター | 岡田 亮    |
| 山口  | 山口県水産研究センター 外海研究部      | 野村 玲偉   |
| 福岡  | 福岡県水産海洋技術センター 有明海研究所   | 堀之内 倫太郎 |
| 長崎  | 長崎県総合水産試験場             | 石川 裕平   |
| 宮崎  | 宮崎県水産試験場               | 甲斐 優輝   |
| 鹿児島 | 鹿児島県水産技術開発センター         | 久保 満    |

表 2. 同定研修会で観察対象としたプランクトン

1～24：観察必須種

25～35：観察推奨種，黄色背景：有毒種など，水色背景：有害種など

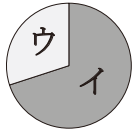
| No | 分類群       | 有毒/有害 | 学 名                                                                           |
|----|-----------|-------|-------------------------------------------------------------------------------|
| 1  | 渦鞭毛藻      | 有毒    | <i>Alexandrium catenella</i><br>(=旧A. <i>tamarense</i> )                      |
| 2  | 渦鞭毛藻      | 有毒    | <i>Alexandrium ostenferdii</i>                                                |
| 3  | 渦鞭毛藻      | 有毒    | <i>Alexandrium pacificum</i><br>(=旧A. <i>catenella</i> )                      |
| 4  | 渦鞭毛藻      | 有毒    | <i>Alexandrium tamiyavanichii</i>                                             |
| 5  | 渦鞭毛藻      | 無毒    | <i>Alexandrium fraterculus</i>                                                |
| 6  | 渦鞭毛藻      | 有毒    | <i>Dinophysis acuminata</i>                                                   |
| 7  | 渦鞭毛藻      | 有毒    | <i>Dinophysis caudata</i>                                                     |
| 8  | 渦鞭毛藻      | 有毒    | <i>Dinophysis fortii</i>                                                      |
| 9  | 渦鞭毛藻      | 有毒    | <i>Dinophysis norvegica</i>                                                   |
| 10 | 渦鞭毛藻      | 有毒    | <i>Dinophysis tripos</i>                                                      |
| 11 | 渦鞭毛藻      | 有毒    | <i>Gymnodinium catenatum</i>                                                  |
| 12 | 珪藻        | 有毒    | <i>Pseudo-nitzschia</i> sp.                                                   |
| 13 | 渦鞭毛藻      | 有害    | <i>Alexandrium leei</i>                                                       |
| 14 | 渦鞭毛藻      | 有害    | <i>Margalefidinium polykrikoides</i><br>(=Cochlodinium <i>polykrikoides</i> ) |
| 15 | 渦鞭毛藻      | 有害    | <i>Margalefidinium</i> sp. type-Kasasa<br>(=Cochlodinium sp. type-Kasasa)     |
| 16 | 渦鞭毛藻      | 有害    | <i>Heterocapsa circularisquama</i>                                            |
| 17 | 渦鞭毛藻      | 有害    | <i>Karenia mikimotoi</i>                                                      |
| 18 | 渦鞭毛藻      | 有害    | <i>Karenia papilionacea</i>                                                   |
| 19 | 渦鞭毛藻      | 有害    | <i>Karenia selliformis</i>                                                    |
| 20 | 渦鞭毛藻      | 有害    | <i>Takayama acrotracha</i>                                                    |
| 21 | ラフィド藻     | 有害    | <i>Chattonella antiqua</i>                                                    |
| 22 | ラフィド藻     | 有害    | <i>Chattonella marina</i>                                                     |
| 23 | ラフィド藻     | 有害    | <i>Chattonella ovata</i>                                                      |
| 24 | ラフィド藻     | 有害    | <i>Heterosigma akashiwo</i>                                                   |
| 25 | 渦鞭毛藻      | 有毒    | <i>Alexandrium pseudogoniaulax</i>                                            |
| 26 | 渦鞭毛藻（底生性） | 有毒    | <i>Gambierdiscus scabrosus</i>                                                |
| 27 | 渦鞭毛藻（底生性） | 有毒    | <i>Prorocentrum lima</i>                                                      |
| 28 | 渦鞭毛藻（底生性） | 有毒    | <i>Ostreopsis</i> cf. <i>ovata</i>                                            |
| 29 | 渦鞭毛藻      | 有害    | <i>Akashiwo sanguinea</i>                                                     |
| 30 | 渦鞭毛藻      | 有害？   | <i>Gymnodinium impudicum</i>                                                  |
| 31 | 渦鞭毛藻      | 有害？   | <i>Prorocentrum minimum</i>                                                   |
| 32 | 渦鞭毛藻      | 有害？   | <i>Prorocentrum shikokuense</i>                                               |
| 33 | 渦鞭毛藻      | 有害？   | <i>Prorocentrum triestinum</i>                                                |
| 34 | ラフィド藻     | 有害    | <i>Fibrocapsa japonica</i>                                                    |
| 35 | 緑藻        | 有害    | <i>Eutreptiella</i> sp.                                                       |



表 3. 令和 7 年度有害プランクトン同定研修会時間割と内容

| 日付           | 時間                                                                                      | 場所                                                                                     | 内容                                                                                                                                                                                            |
|--------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 11/18<br>(火) | 9:15~9:30<br>9:30~10:00<br>10:00~12:00<br><br>12:00~13:00<br>13:00~14:00<br>14:00~16:45 | <u>公民館</u><br><u>2F</u><br>会議室<br>会議室<br><br>児童室<br>会議室<br>実習室                         | 受付<br>挨拶, 事務連絡, 開講<br>《講義》プランクトンの分類の基礎 (東京大学 岩滝光儀)<br>・有害プランクトンの形態分類と検索<br>・ラフィド藻・無殻渦鞭毛藻の形態分類<br>--昼休み--<br>《講義》珪藻類の観察や分類 (岡部株式会社 板倉茂)<br>〈実習〉プランクトンの観察・同定技術 (有害プランクトン)<br>・光学顕微鏡で培養株や固定試料を観察 |
| 11/19<br>(水) | 9:15<br>9:30~10:30<br><br>10:30~<br>~12:00<br><br>12:00~13:00<br>13:00~16:45            | <u>公民館</u><br><u>2F</u><br>会議室<br><br>会議室<br>実習室<br><br>児童室<br>実習室                     | 集合<br>《講義》有毒プランクトンの形態分類と検索<br>(水産研究・教育機構 山口峰生)<br>〈実習〉篩作成<br>〈実習〉プランクトンの観察・同定技術 (有毒プランクトン) 固定・染色法<br>・光学顕微鏡および蛍光顕微鏡で培養株や固定試料を観察<br>--昼休み--<br>〈実習〉プランクトンの観察<br>・光学顕微鏡および蛍光顕微鏡で培養株や固定試料を観察     |
| 11/20<br>(木) | 9:15<br>9:30~11:00<br><br>11:00~12:00<br><br>12:00~13:00<br>13:00~16:45                 | <u>水技研</u><br><u>2F</u><br>水槽室<br>~移動~<br><u>公民館</u><br><u>2F</u><br>実習室<br>児童室<br>実習室 | 集合 (水技研 2F 会議室)<br>〈実習〉現場試料の処理・濃縮法<br><br>〈実習〉プランクトンの観察・カウント法<br>・カウント法の説明と実習<br>--昼休み--<br>〈実習〉プランクトンの観察・カウント法<br>・各自の顕微鏡で培養株や固定試料を観察し計数                                                     |
| 11/21<br>(金) | 9:05<br>9:15~10:15<br><br>10:15~12:00<br><br>12:00~13:00<br>13:00~14:00<br>14:00~14:30  | <u>水技研</u><br><u>2F</u><br>会議室<br><br>会議室<br><br>セミナー室<br>会議室<br>会議室                   | 集合<br>《講義》有害・有毒プランクトン分子同定法の解説<br>(水産研究・教育機構 長井敏)<br>〈実習〉有害・有毒プランクトン分子同定法の実習<br>・DNA 抽出や LAMP 法など<br>--昼休み--<br>〈実習〉有害・有毒プランクトン分子同定法の実習および解説<br>総合討論・閉会                                        |

表 4. 令和 7 年度有害プランクトン同定研修会アンケート集約結果  
回答数： 10 名（受講者数： 10 名；100%）

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. 今回の研修会で得た同定技術の習得状況について選択をお願いいたします。                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                     |
| <ul style="list-style-type: none"><li>● ア. あまり習得できなかった。 回答数： 0 名（0%）</li><li>● イ. ある程度習得できた。 回答数： 7 名（70%）</li><li>● ウ. 完全に習得できた。 回答数： 3 名（10%）</li></ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |  |
| 2. 1. でア～ウを選択した理由の記入をお願いいたします。                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                                                     |
| <ul style="list-style-type: none"><li>● 「ア. あまり習得できなかった。」を選択した理由。 回答数： 0 名</li><li>● 「イ. ある程度習得できた。」を選択した理由。 回答数： 7 名<ul style="list-style-type: none"><li>➢ これまで同定に不安があった種をしっかりと観察することができ、濃縮方法等の基礎的な部分から学ぶことができた。固定や染色については自分の手でできなかったため少しの不安があるが、それ以外については習得できた。</li><li>➢ 研修会自体は大変力がつく内容であり、素晴らしかった。研修会ではサンプル海水の中に、資料で学んだどれかがいるという前提があって検鏡を行ったのである程度同定できたが、現場では複数の要因を考えながら検鏡する必要がある。自分にはまだ自信をもって検鏡する技術がないという意味で「イ」を選択した。</li><li>➢ 京都府で貝毒の原因とされている主要種についての分類はできるようになったが、その他のプランクトンについての分類が完璧とは言えないため。</li><li>➢ さまざまな有害プランクトンの講義、篩の作成や実際の同定実習など総合的に有害プランクトンについて勉強することができたため、基礎的な知識や実際の種同定技術の向上を実感できた。一方で、研修会で解消しきれなかった疑問点や、研修会中の種同定クイズにおける正答率を考慮すると、これから実際の同定作業のなかでさらに同定技術を向上させていく必要があると感じている。</li><li>➢ 培養株について時間をかけて観察することができ、検鏡した時の大きさや動きなど、図鑑だけではわからない部分もよく理解できた。今後の同定に活かすことができると思う。</li><li>➢ 有害プランクトンを実際に観察したことで、サイズ、動き方等を肌で感じられました。</li><li>➢ 研修で教わったことを職場に戻り実践して初めて習得できたと言えると思います。したがって、「イ」を選択しました。</li></ul></li><li>● 「ウ. 完全に習得できた。」を選択した理由。 回答数： 3 名<ul style="list-style-type: none"><li>➢ 生理・生態に関する授業だけでなく、実際に培養株を見せていただけたことで、それぞれの違いについてある程度習得できました。</li><li>➢ 蛍光顕微鏡の技術や種の判別など難しい技術であるが手法を学ぶことができ、練習あるのみと思った。</li><li>➢ 同定クイズにおいて間違えた問題についても再度確認し、間違えた種についても理解を深めることが出来たため。</li></ul></li></ul> |                                                                                     |
| 3. 研修会の日数について選択をお願いいたします。                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |                                                                                     |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                                                                                     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>● ア. 現行で適当。 回答数： 9名 (90%)</li> <li>● イ. もう少し短く。 回答数： 0名 (0%)</li> <li>● ウ. もう少し長く。 回答数： 1名 (10%)</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |  |
| <p>4. 3. でイもしくはウを選択した場合、その理由の記入をお願いいたします（イの場合は削減・削除しても良い項目、ウの場合は追加すべき項目などについても、ご意見・ご要望があれば記入をお願いいたします）。</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                                                     |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>● 「イ. もう少し短く。」を選択した理由、意見もしくは要望。 回答数： 0名</li> <li>● 「ウ. もう少し長く。」を選択した理由、意見もしくは要望。 回答数： 1名</li> </ul> <p>➤ このような研修の機会がないため、追加で単離の手法を教えてください。</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                                     |
| <p>5. 研修会の開催時期について選択をお願いいたします。</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                     |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>● ア. 現行で適当。 回答数： 10名 (100%)</li> <li>● イ. 別の時期が良い。 回答数： 0名 (0%)</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |  |
| <p>6. 5. でイを選択した場合、開催希望の時期、理由の記入をお願いいたします。</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                                                     |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>● 「イ. 別の時期が良い。」を選択した理由。 回答数： 0名</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                     |
| <p>7. 今回の研修会の「講義」の内容について、お気づきの点やご意見を記載してください。</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                     |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>● 培養株の作成方法や、シストなどの冬季の動態についての内容があるとうれしいです。</li> <li>● とてもわかりやすく、非常に満足のできる講義だった。</li> <li>● 赤潮が発生した時の対処法について、プランクトンごとにどのような対応が最適なのか、簡単に示してくださると勉強になると思った。</li> <li>● 幅広い内容を凝縮して、エッセンスを解説いただきとても勉強になりました。珪藻について、種類や生態等もう少しお聞きしたかったです。</li> <li>● 資料を配布していただけたほうが、直接資料に書き込むことが出来るため、理解しやすかった。</li> <li>● 図解が多く、イメージがしやすい講義ばかりで大変良かったです。</li> <li>● 大学時代もプランクトンの講義はほとんど受講したことがなかったため、基礎的な内容から講義を受講することができ、質問も気軽にできたため良かった。</li> <li>● 有害プランクトンではありませんが、ノリの色落ちを引き起こすような珪藻類についても、詳しく教えて頂きたいと感じました。</li> </ul> |                                                                                     |
| <p>8. 今回の研修会の「実習」の内容について、お気づきの点やご意見を記載してください。</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                     |

- 海底泥からシストを見つける技術や、遺伝子検出のための処理についての内容があると嬉しいです。
- 非常に勉強になった。特に複数種を添加した状態での検鏡は現場に近い感覚で学ぶことができた。また、*Karenia* や *Alexandrium* 属の模型を用いた説明は、検鏡時に理解の助けとなった。
- 非常に多くのサンプルを見ることができてよかった。貴重な体験であった。
- 最後に数種のプランクトンを混ぜて種類を当てるテストがありましたが、これは大変有意義な実習だと思いました。ただ、答え合わせだけだったので、スクリーン等に映して解説して頂けると、もっと理解が深まると感じました。
- 実際に生きた状態で観察できたことがとても良い経験になった。担当海域の海水を持参して会場で見たいと思った（他県の海水と比較も含めて）。
- 培養株をじっくり観察出来て、図鑑だけでは分からない動きなどを学べた点が非常に良かった。
- さまざまな有害プランクトンの観察等を講師の方に直接聞きながら進めることができたため良かった。実習時に、「サンプルの輸送がその後のプランクトンの観察精度に影響を及ぼしうる」との話があったと記憶しており、サンプル輸送時の注意点やその後のサンプルの保管方法等に係る講義実習も受けたいと感じた。
- 培養株の観察・計数だけでなく、おすすめの観察グッズ等も紹介していただき、非常に参考になった。
- 特に濃縮検鏡については、その後の業務で活用させて頂きました。ありがとうございました。
- 塩ビ管を使用したプランクトンネット作成実習について、毎年同じ目合いだと、職場に同じものが溜まるので、年によって目合いを変えてもいいのかなと感じました。

#### 9. その他今回の研修会について、ご意見・ご要望がありましたらお聞かせください。

- これからもこの研修を続けてほしい。
- 先生方には大変お忙しいところ、長期間にわたりご指導頂いた心より感謝いたします。県の担当者は前任者が全員異動することがあり、独学でマニュアル等から学んだり、担当になったばかりで基礎的勉強をする間もなくすぐに赤潮が発生することがあるのが現状です。そのため、現場にすぐに応用できる技術研修を行っていただけることは大変助かります。また、先生方や他県研修生と交流を深めることで情報交換できることはこのうえなく重要なことと思います。是非、今後とも本研修会を継続していただけるようお願いいたします。その他、現場ではプランクトンの同定だけではなく、様々なことが必要となるため、プランクトンの単離手法など要望事項も追加して頂けるよう希望いたします。
- 今回はご多忙の中、研修会を開催してくださりありがとうございました。また業務などでご相談させていただくことがあるかと存じますがどうぞよろしくお願いいたします。
- 同所属内での資料共有のため、別途、資料の電子データがほしい。
- プランクトン培養の基礎（単離や培養に必要な物、設備等）について、教えていただける機会があると良い。





図 1. 研修会のようす（篩の作成）



図 2. 研修会のようす（大型スクリーンに投影して *Karenia* 属の説明）

| 目次                                   | 内容                                                                                                                           |
|--------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 有害有毒プランクトン観察手法と分類・計数法                | まえがき                                                                                                                         |
| I 概論                                 | 大まかな流れ（採水→固定・輸送・保存→検鏡・分析）                                                                                                    |
| 1 採水                                 | 適切な採水条件、採水器、採水瓶、一時保存法など                                                                                                      |
| 2 輸送・保存                              | 輸送方法、輸送上の注意、保存法                                                                                                              |
| 3 固定法                                | アルデヒド系固定、片野固定液、無固定の推奨など                                                                                                      |
| 4 運動停止法                              | シェイク、塩化ニッケル                                                                                                                  |
| 5 濃縮法                                | ふるいを用いた濃縮法、ふるいの作り方                                                                                                           |
| 6 検鏡（光学顕微鏡）                          | 光学顕微鏡の説明、光学顕微鏡の基本操作、メンテナンス                                                                                                   |
| 7 検鏡（蛍光顕微鏡）                          | 蛍光顕微鏡の説明、蛍光顕微鏡の基本操作、メンテナンス                                                                                                   |
| 8 蛍光染色法                              | DAPI、カルコフロール                                                                                                                 |
| 9 計数                                 | 界線入り計数板、希釈、詳しい分類→割合算出                                                                                                        |
| 10 写真撮影・サイズ計測法                       | 写真撮影、対物マイクロメータ、ImageJを使った方法                                                                                                  |
| 11 動画撮影                              | 動画撮影のながれ、注意すべきポイント                                                                                                           |
| 12 分子同定法                             | サンプル処理（単離動画のリンク含む、キャピラリーの作り方）（→培養）<br>→LAMP法の手順、プライマーリスト                                                                     |
|                                      | サンプル処理→qPCR法の手順、プライマーリスト                                                                                                     |
| II 生物種ごとの同定法                         | 形態的特徴に基づく大まかなカテゴライズ                                                                                                          |
| 1 ラフィド藻                              | 形態的特徴に基づく大まかなカテゴライズ                                                                                                          |
| 1 <i>Chattonella</i>                 | 3変種、光学顕微鏡下における特徴（着眼点）、シストや異常細胞の形態的特徴、類似種（ <i>Pseudochattonella verruculosa</i> 、 <i>Vicicitus globosus</i> 、底生性珪藻など）との差異、計数法 |
| 2 <i>Heterosigma akashiwo</i>        | 光学顕微鏡下における特徴（着眼点）、計数法                                                                                                        |
| 2 無殻渦鞭毛藻                             | 形態的特徴に基づく大まかなカテゴライズ                                                                                                          |
| 1 <i>Karenia mikimotoi</i>           | 光学顕微鏡下における特徴（着眼点）、固定法                                                                                                        |
| 2 <i>Karenia selliformis</i>         | 光学顕微鏡下における特徴、固定法、DAPIを用いた核位置による同定法                                                                                           |
| 3 <i>Margalefidinium</i>             | 有害種（ <i>M. polykrichoides</i> 、 <i>M. sp. type-Kasasa</i> ）の光学顕微鏡下における特徴、他の無害種との差異                                           |
| 4 <i>Gymnodinium catenatum</i>       | 光学顕微鏡下における特徴、他の連鎖種（ <i>Margalefidinium</i> など）との差異                                                                           |
| 3 有殻渦鞭毛藻                             | 形態的特徴に基づく大まかなカテゴライズ                                                                                                          |
| 1 <i>Alexandrium</i>                 | 蛍光顕微鏡＋カルコフロールを用いた分類、可能であれば分かりやすいスキーム図、分子同定                                                                                   |
| 2 <i>Heterocapsa circularisquama</i> | 光学顕微鏡下における特徴（着眼点）、遊泳の特徴（動画リンクをはる）、LAMP                                                                                       |
| 3 <i>Dinophysis</i>                  | 光学顕微鏡下における特徴（着眼点）、LAMP                                                                                                       |
| 4 珪藻                                 | 形態的特徴に基づく大まかなカテゴライズ                                                                                                          |
| 1 <i>Skeletonema</i>                 | 光学顕微鏡下における特徴                                                                                                                 |
| 2 <i>Chaetoceros</i>                 | 光学顕微鏡下における特徴                                                                                                                 |
| 3 <i>Thalassiosira</i>               | 光学顕微鏡下における特徴                                                                                                                 |
| 4 <i>Asteroplanus karianus</i>       | 光学顕微鏡下における特徴                                                                                                                 |

図 3. 新テキスト目次

令和 7 年度豊かな漁場環境推進事業のうち  
海域特性に応じた赤潮・貧酸素水塊、栄養塩類対策推進事業  
(1) 赤潮等による漁業被害への対策技術の開発・実証・高度化  
報告書

発行 令和 8 年 3 月  
国立研究開発法人 水産研究・教育機構  
編集 国立研究開発法人 水産研究・教育機構  
水産技術研究所 環境保全部  
〒739-0452 広島県廿日市市丸石 2-17-5  
電話 0829-55-0666 (代)