

DIP (図 11) : 広島湾 (5 m, 5~9 月) は 0.16~0.79  $\mu\text{M}$ , 山口県徳山湾 (5 m, 5~9 月) は 0.04~0.09  $\mu\text{M}$ , 福岡県周防灘 (5 m, 5~8 月) は 0.01~0.22  $\mu\text{M}$ , 大分県周防灘 (5 m, 5~8 月) は 0.03~0.17  $\mu\text{M}$ , 大分県別府湾・豊後水道海域 (10 m, 5~8 月) は 0.19~0.31  $\mu\text{M}$ , 愛媛県豊後水道海域 (10 m, 5~8 月) は 0.12~0.19  $\mu\text{M}$ , 高知県宿毛湾 (10 m, 5~9 月) は 0.06~0.32  $\mu\text{M}$ , 高知県浦ノ内湾 (5 m, 5~9 月) は 0.01~0.44  $\mu\text{M}$  で推移した。

#### ④ プランクトン

各海域の 4~9 月のプランクトンの観測値 (最高細胞密度, 珪藻は表層平均密度) を図 12 に, 4~11 月の広島湾, 周防灘海域, 別府湾, 豊後水道海域, 宿毛湾における *K. mikimotoi* および *Chattonella* spp. の観測値 (最高細胞密度) の水平分布を図 13, 図 14 に, 浦ノ内湾における *K. mikimotoi* および *Chattonella* spp. の水平分布を図 15, 図 16 に示す。

*K. mikimotoi* (図 12, 13, 15) : 大分県別府湾・豊後水道海域では, 調査期間中の検出は無く, 広島湾 (本事業の調査以外での確認), 福岡県周防灘, 大分県周防灘, 愛媛県豊後水道海域および高知県宿毛湾では, 0~2 cells/mL で推移した。山口県徳山湾では, 5 月および 6 月は検出されなかったが, 7 月 3 日に山口県の注意報基準 (100 cells/mL) を超えて 139~141 cells/mL 出現し, 7 月 8 日以降は検出されなかった。しかし, 調査期間終了後の 9 月中旬に防府市沿岸から光市沿岸にかけて, 本種赤潮が発生した (最高密度 233,000 cells/mL, 9 月 17 日, 防府市沿岸)。高知県浦ノ内湾では, 他事業調査の結果も合わせると 1~3 月は検出されなかったが, 4 月 6 日に 1 cell/mL 初認され, 5 月 14 日に 20 cells/mL, 5 月 22 日に 200 cells/mL を超え, 6 月 5 日に 2,640 cells/mL となり, 6 月下旬に終息した (最高密度 22,800 cells/mL, 6 月 18 日)。

*C. polykrikoides* (図 12) : 山口県周防灘, 福岡県周防灘, 大分県周防灘, 高知県浦ノ内湾では検出されなかった。大分県別府湾・豊後水道海域, 愛媛県豊後水道海域, 高知県宿毛湾では 4 cells/mL 以下で確認された。広島湾では 8 月下旬に初認され, 9 月 15 日に最高密度である 180 cells/mL 確認された。

*H. circularisquama* (図 12) : 4~9 月の調査期間中確認されなかった。

*Chattonella* spp. (*antiqua* + *marina* + *ovata*) (図 12, 14, 16) : 山口県徳山湾, 周防灘, 大分県別府湾・豊後水道海域, 愛媛県豊後水道海域, 高知県宿毛湾では, 8 cells/mL 以下で観察された。広島湾では, 7 月 1 日に初認され, 8 月 12 日に最高細胞密度である 18 cells/mL 検出された。それ以降は検出されなかった。高知県浦ノ内湾では 5 月 7 日に初認され, 6 月 15 日に 100 cells/mL を超え, 7 月 6 日には最高細胞密度である 25,000 cells/mL に達した。7 月 13 日には 39 cells/mL に急激に減少し, 終息した。

*H. akashiwo* (図 12) : 大分県周防灘および別府湾・豊後水道海域では検出されず, 福岡県周防灘および愛媛県豊後水道海域では 0.01~1 cells/mL だった。広島湾では, 7 月上旬を除いて 6 月上旬~8 月上旬に確認され, 最高密度は 6,048 cells/mL (7 月 10 日) だった。山口県徳山湾では 6 月 1 日~2 日に 10,000 cells/mL を超える赤潮が出現し, 6 月 4 日に 500 cells/mL 以下

となり終息した。高知県宿毛湾では、5月21日に1,180 cells/mL 確認され、1週間以内に終息した。浦ノ内湾では5月19日(13,400 cells/mL)、6月11日(35,000 cells/mL)および9月30日(29,000 cells/mL)に局所的な赤潮が発生し、1週間以内で終息した。

珪藻類(図12):表層の平均密度は、広島湾(6~9月)が2,396~33,293 cells/mL、山口県徳山湾(5~9月)が201~3,546 cells/mL、福岡県周防灘(5~8月)が40~2,141 cells/mL、大分県周防灘(4~8月)が21~2,238 cells/mL、大分県別府湾・豊後水道海域(4~8月)が3~1,845 cells/mL、愛媛県豊後水道海域(5~8月)が36~1,084 cells/mL、高知県宿毛湾(5~9月)が28~1,730 cells/mL、高知県浦ノ内湾(4~9月)が12~6,020 cells/mLの範囲で推移した。

#### ⑤ まとめ

4~11月の赤潮発生状況を表8に示す。*K. mikimotoi*赤潮が山口県周防灘、大分県周防灘および別府湾、愛媛県豊後水道海域、高知県浦ノ内湾で計5件発生した。浦ノ内湾では6月上旬に発生し、2週間で終息したが、他の海域では例年よりかなり遅い9月中旬~下旬に発生し、10月に概ね終息した。一方、*Chattonella*赤潮が豊後灘、広島湾、山口県周防灘、大分県周防灘および別府湾、高知県浦ノ内湾で6件発生し、浦ノ内湾では6月下旬に、山口県周防灘では10月下旬と例年と比較し、遅く発生した。

本年度は、高知県浦ノ内湾を除いて*K. mikimotoi*赤潮の発生が例年よりかなり遅い時期だったことから、本調査結果もふまえ、*K. mikimotoi*赤潮の発生過程や夏季に発生に至らなかった要因等について海域毎に検討した。

広島湾では、*K. mikimotoi*赤潮は非発生の年となった。*K. mikimotoi*は冬季~春季の濃縮検鏡においても、3月から6月のPCR法によっても検出されず、冬季~春季の*K. mikimotoi*の細胞密度は極めて低レベルであった。以降も当機関の調査では確認されなかったが、県の地方機関による調査で7月に2 cells/mL検出された。広島湾海域では、本年は*K. mikimotoi*の細胞密度は極めて低レベルであった。加えて、日照時間が7月を除いて平年並みから平年より多めで推移し、さらに6月以降は珪藻の平均密度が2,000 cells/mL以上で優占していた。冬季~春季の低い細胞密度に加え、平年より日照時間が多く、珪藻が増殖したため、*K. mikimotoi*が高密度化しなかったと考えられた。7月中旬については、日照時間が平年よりかなり少なく、調査3~4日前にまとまった降雨があり、河川水の流入にともなう栄養塩の供給と成層の発達により、*K. mikimotoi*の増殖の可能性があった。しかし、珪藻が7月中旬から下旬にかけて20,000 cells/mL以上まで増殖し、供給された栄養塩が消費され、*K. mikimotoi*が高密度化しなかったと考えられた。

周防灘の山口県海域では、*K. mikimotoi*赤潮は9月上旬~中旬に発生した。*K. mikimotoi*は2~6月の濃縮検鏡において検出されず、PCR法で2月に0.002 cells/mL検出された以降検出されなかった。7月3日に141 cells/mL確認されたが9月上旬まで赤潮には至らなかった。本年度は、梅雨前線の影響で7月の日照時間が短かったことで表層の珪藻密度が低い状態で推移し、*K. mikimotoi*が増殖しやすい環境であった。9月に発生した台風10号により、発達していた成層が崩壊し、中層付近にいた本種が底層の栄養塩と共に表層へ巻き上げられて増殖し、赤潮にな

ったと思われる。

周防灘の福岡県海域では、*K. mikimotoi* 赤潮は非発生の年となった。*K. mikimotoi* は濃縮検鏡で4月に0.01cells/mL、直接検鏡で6~7月に最大1 cell/mL、PCR法で2月に最大0.009 cells/mL 検出されたが、それ以外の時期には検出されなかった。本年度は、5月に珪藻類が優占していたが、栄養塩濃度が低かったことから6月に珪藻類は減少した。その後の梅雨の降水により栄養塩が供給されたが、遊泳細胞が低水準で推移したことで再度珪藻類が優占したことにより、*K. mikimotoi* が増殖しにくい環境が継続したと思われる。

周防灘の大分県海域では、9月下旬に*K. mikimotoi* 赤潮が発生した。*K. mikimotoi* は1~6月の濃縮検鏡では検出されず、PCR法で0.016 cells/mL 検出され、1 cell/mL 以上の初認日が7月22日と遅かった。9月22日に35,000 cells/mL 確認され赤潮となり、分布域は別府湾・豊後水道海域にまで拡大した。7月上旬の豪雨の後、日照時間が多く、7月中旬以降8月上旬まで珪藻類が優占したため、本種の増殖が抑制されたと思われる。これに対し、9月上旬および中旬に低日照（平年比）、9月中旬の平年を超える降水等、*K. mikimotoi* が増殖しやすい環境条件になったと考えられた。

豊後水道の大分県海域では、9月下旬に*K. mikimotoi* 赤潮が発生した。*K. mikimotoi* は2~8月の濃縮検鏡では検出されず、2月の調査時にPCR法で0.011 cells/mL 検出された以降、4~6月の調査では検出されなかった。その後、9月発生した周防灘における*K. mikimotoi* 赤潮水塊が別府湾・豊後水道海域に流入し（赤潮水塊移入型）、9月23日に別府湾にて13,000 cells/mL が確認された。しかし、養殖が盛んな県南部には拡大せず、例年漁業被害を発生させる、各湾中層で本種が増殖し赤潮化する地場発生型の赤潮は確認されなかった。既往研究によると大分県佐伯湾では、3月降水量が少ない気象条件下では、赤潮のシードポピュレーションとなる遊泳細胞が維持されやすい環境であると考えられている。2020年は、3月降水量が少なく、冬季の水温は高めであったため、本種にとって好適環境であり、PCR法によって検出されたと考えられる。しかし、4月の気温が例年よりかなり低いまま推移し、水温も低かったことから、これらの気象・海象条件、あるいはそれに関与する環境条件により、本種の増殖が抑えられたこと、また、梅雨入り後は*Gonyaulax polygramma* 等の他種の渦鞭毛藻類が常に優占していたことから、本種が断続的に増殖しにくい環境だったと思われる。

豊後水道の愛媛県海域では、宇和島湾において9月中旬に*K. mikimotoi* 赤潮が発生した。*K. mikimotoi* は濃縮検鏡において5月から検出されていたが、1 cell/mL 以上の初認日が7月13日と平年より遅く、沿岸域では9月上旬まで0~14 cells/mL で推移し、局所的な海域2か所で9月10日および9月18日に赤潮となった（最高密度35,000 cells/mL、9月23日）。遊泳細胞が確認されたものの、梅雨~夏季に赤潮の形成に至らなかった要因として、5月から8月上旬の宇和島市沿岸の水温が17.0~22.7℃と平年より1.6℃低かったことや、珪藻類が5月下旬から6月中旬以外は常に優占していたことが考えられる。一方、9月上旬および中旬の水温は25.3~26.7℃と平年より高く、日照時間が平年より短く、さらに降水量（9月中旬）も上回ったことから、*K. mikimotoi* が増殖しやすい環境条件になったと考えられる。赤潮域が拡大

しなかった原因として、宇和島湾では赤潮発生海域も含めて10月まで珪藻類が優占していたためと考えられる。

高知県宿毛湾では、*K. mikimotoi* 赤潮は非発生の年となった。*K. mikimotoi* は1~4月の濃縮検鏡において0.01 cells/mL, PCR法で0.011 cells/mL 検出され、6月に1 cell/mL 確認された。当該海域で本種の赤潮が発生しなかった要因は、5~7月にかけて水温が平年より1.0~3.4℃低く、DIPも低かったこと、近隣海域での赤潮が発生しておらず、移入・集積しなかったことがあげられる。

高知県浦ノ内湾では、*K. mikimotoi*, *Chattonella* spp. による赤潮がそれぞれ6月および6~7月に発生した。4~6月にかけて栄養塩濃度は平年より低かったものの、水温、降水量および日照時間は平年並みであり、珪藻類も低密度であったため、*K. mikimotoi* が増殖し、赤潮を形成したものと考えられた。また、*Chattonella* spp. も6月以降に増殖し、*Dictyocha* spp. と混合赤潮を形成し、両種が優占した。*Chattonella* spp. は7月中旬まで赤潮が継続したが、*Prorocentrum minimum* および *Gyrodinium dominans* の混合赤潮が7月13日に発生したことで、急激に細胞数が低下し終息した。7月下旬までは *P. minimum* が湾内で優占した。8月以降、*K. mikimotoi* および *Chattonella* spp. の細胞密度が高くなり、再び増殖傾向を示したが、増殖した珪藻類が優占種となったことで、両プランクトンの増殖が抑制された。

## 2) *K. mikimotoi* 高感度監視調査

### ① 瀬戸内海西部海域における *K. mikimotoi* 遺伝子量の挙動

顕微鏡観察で把握できる前の動向を把握するために、2020年1~6月（大分県は8月、愛媛県は10月まで）の期間における各海域の海水に存在する *K. mikimotoi* 遺伝子のモニタリングを実施した。なお、本年度の1~3月の結果については、次年度に報告することとする。

本年度の高感度調査定点の各水深における推定細胞数を表9および図17に示した。また、各定点に加え愛媛県および大分県の本事業以外の自主調査地点（E9, O9）の水柱平均値を図18に示した。本年度の *K. mikimotoi* 赤潮発生状況は、高知県浦ノ内湾では6月初旬から中旬、周防灘、別府湾、豊後水道海域では9月中旬から下旬にかけて、赤潮が発生した。これらの海域での冬季から夏季までの本種遺伝子の挙動を解析すると、まず、初期の冬季~春季（1~3月）には、大分県、福岡県、山口県の周防灘海域、大分県、愛媛県、高知県の豊後水道海域で検出され、広島県および高知県浦ノ内湾では検出されなかった。その後、例年本種が増殖する春季から初夏（4~6月）にかけては、周防灘海域、広島県、大分県別府湾・豊後水道海域では本種遺伝子は検出されなかった。愛媛県豊後水道海域においては、遺伝子は検出されたものの、増加する傾向はみられなかった。一方で、浦ノ内湾では、冬季には未検出であったが、4月の調査において遺伝子が検出され、その後、検鏡調査にて細胞数が増加傾向となり、6月に赤潮が発生した。また、先述の通り、本年度はほとんどの海域で例年に遅れて9月に赤潮が発生しており、発生直前までの遺伝子挙動が追跡できない海域もあった。しかし、7月以降も測定を継続した大分県別府湾・豊後水道海域では、赤潮が発生した別府湾にて7月に本種の遺伝子が検出された。また10月まで継続した愛媛県においては、7月以降、9月の赤潮発生に向けて検出量が増加する傾向が見られた。以上の結果から、本年度においては、

6月や9月に赤潮が発生した海域では、赤潮発生より1~2か月先行して遺伝子が検出・増加する傾向が見られた。

本年度の結果も含め、2018年度から本年度までの3年間において、冬季から増殖・赤潮発生期までの遺伝子モニタリングを実施した。そこで、3年間の各海域における赤潮の発生状況と *K.mikimotoi* 遺伝子の検出結果を比較した（図19）。

まず、広島湾については、2018年8~9月に赤潮が発生し、2019年と2020年には赤潮形成に至らなかった。本海域における遺伝子の挙動は、2018年では1月から検出され、その後4月および6月に検出された。一方で赤潮が見られなかった2019年は初検出が7月であり、2020年は検出されなかった。

周防灘海域については、2018年8月に山口県、2019年8月に大分県および福岡県、2020年9月に大分県、山口県で本種の赤潮が発生した。周防灘海域では、発生年でも1~3月の冬季に検出されない年も見受けられた。その後、3~5月においては、3年とも未検出になり、8月に赤潮が形成された2018年と2019年は5月から再度検出された。一方で9月に赤潮が発生した2020年は7月まで未検出であった。

別府湾・豊後水道では、2018年6~7月に大分県および愛媛県、2019年8~9月に大分県豊後水道海域、2020年9月に愛媛県で赤潮が発生した。本海域はいずれの年においても、1月から本種の遺伝子が検出されており、冬季でも海域内に分布している可能性が示唆された。その後も海域内では継続して検出されたが、大分県のみ赤潮であった2019年や、9月に赤潮が発生した2020年では、3~5月に検出量が減少する傾向が見られた。その後赤潮発生に向かい、増加する傾向が見られた。

高知県浦ノ内湾では、2019年と2020年に遺伝子モニタリング調査を実施した。2019年6~8月、2020年6月に本種の赤潮が発生したが、いずれの年も、赤潮発生1か月前から本種遺伝子が検出された。

以上、3年間の遺伝子モニタリング調査から、いずれの海域においても赤潮発生時には、1か月以上前から検出され、その量が増加する傾向が見られることが明らかになった。一方、冬季にシードポピュレーションが生存する年は、赤潮が発生しやすいと考えられてきたが、本年度の大分県や福岡県のように、冬季に遺伝子が検出されたものの、その後検出されなくなり赤潮非発生となる年もあり、赤潮発生直前の環境条件によっては、非発生年になると考えられた。今後も冬季細胞の検出や検出量と赤潮発生状況との相関を明らかにするために、更なるデータの蓄積が必要である。

## ② 高感度遺伝子モニタリングのマニュアル作成および予備的検討

サンプル調製として、予め孔径0.22 $\mu$ mのメンブレンフィルターでろ過した天然海水1Lに $10^1$ ~ $10^4$  cells/Lとなるよう *K.mikimotoi* 培養細胞を添加し、孔径5 $\mu$ mフィルターを用いて吸引ろ過を行ってフィルターを冷凍保存した。DNA抽出方法による検出結果の差異を検証するため、自動抽出機器（QIAcube、キアゲン）または手作業によりフィルターからDNAの抽出を行い、抽出DNA中の *K.mikimotoi* 遺伝子量を定量PCRにより測定したところ、両者で検出量

に明瞭な差はみられなかった(図 20)。次に PCR 反応試薬の差異による影響を検証するため、上記の手作業により抽出された DNA を検体として、4 種類の PCR 反応試薬、すなわち ThermoFisher 社試薬 (TaqMan™ Environmental Master Mix 2.0)、BIO-RAD 社試薬 (SsoAdvanced™ Universal Probes Supermix)、TaKaRa 社試薬 (Probe qPCR Mix) および東洋紡社試薬 (THUNDERBIRD® Probe qPCR Mix) を用いて試薬間の検出感度を比較した結果、ThermoFisher 社試薬を除き他 3 製品では同等の検出感度であった (図 21)。これらの成果を元に、遺伝子検出マニュアルのベータ版を作成した (未公開)。

### 3) 高頻度観測とデータ解析・モデル構築等

図 22 に 5 月から 10 月にかけての環境条件と宇和島湾における *K. mikimotoi* 細胞密度推移を示す。過去の本種赤潮は梅雨時期に細胞密度が増加する傾向だったが (鬼塚ら 2021)、今年度は 6~7 月の梅雨時期ではなく、9 月上旬の降水・河川流入とその後の日照低下時に細胞密度が増加した。これまで宇和海 (豊後水道東部の愛媛県海域) における本種赤潮の最も遅い発生日は 8 月 17 日 (1992 年)、最も遅い終息日は 9 月 13 日 (2017 年) であり、今年度はそれらを更新する最も遅い発生となった。

図 23 に宇和島湾奥の重点調査点 U6 における水質環境と植物プランクトン種組成・細胞密度の鉛直分布時間変化を示す。今年度は例年に比べて水温上昇が鈍く、10 m 以深で 20°C を超えたのは過去 2 年と比べて 1 ヶ月以上遅い 8 月に入ってからだった。本海域では成層期に急潮や底入り潮といった外洋水の進入による急激な水温変化がしばしば観測されるが、5 月以降に四国沖で黒潮が大きく離岸していたこともあり (海上保安庁海洋情報部 海洋速報&海流推測図 <https://www1.kaiho.mlit.go.jp/KANKYO/KAIYO/qboc/>)、8 月まで大きな水温変化は認められなかった。植物プランクトンについては、表層で栄養塩濃度が低かった 5 月下旬から 6 月下旬にかけて *Prorocentrum dentatum* 等の鞭毛藻が多かったものの、それ以外の時期は珪藻類 (*Chaetoceros* 属, *Skeletonema* 属, *Pseudo-nitzschia* 属が主体) が優占していた。

平成 30 年度に行った生物モデル計算では、7 月上旬の豪雨後の *K. mikimotoi* の動態を再現できなかった (黒田ら 2019)。豪雨後の *K. mikimotoi* の急減には何らかのマイナスの影響が考えられたが、生物モデルにそのようなプロセスは組み込んでいなかったため、豪雨による栄養塩供給の後に実際とは異なり *K. mikimotoi* 細胞密度は増加したと考えられる。そこで今年度は、この急減要因を検討するためのケース実験 (表 5) を実施した。

まず、Case 1 として淡水流入による希釈の影響を与えた計算を行った。ここで淡水流入の影響は河川水や降水による表層での直接の希釈効果に加えて、エスチュアリー循環による海水交換の影響も考慮している。図 24 によると、Case 1 は希釈効果が入っていない Control に比べて 7 月上旬の豪雨直後に若干細胞密度が低下したものの、豪雨で表層にもたらされた DIN や底層の DIN を利用して、再び高密度していた。次に、豪雨直前に起こっていた表層から底層までの DIN の枯渇 (鬼塚ら 2020) が *K. mikimotoi* に与えた影響を考慮した計算を行った。室内培養実験結果によると、窒素欠乏になった *K. mikimotoi* は日周鉛直移動リズムを消失し表層に分布することで、強光下で光合成活性低下や細胞死を引き起こす可能性が報告されている (Yuasa et al. 2018)。そこで、Case 2~5 として、それぞれ豪雨前後の鉛直移動や増殖、強光の影響を変えた計算を行った (図 24)。Case 2 と 3 では、Case 1 と同様に豪雨直後に細胞密度が低下したものの、再び増殖し高密度化していた。一方、鉛直移動不調と増殖停止が豪雨

後も継続する Case 4 と 5 では、観測された豪雨後の細胞密度低下が再現され、強光による死亡率の増加を考慮した Case 5 がもっとも観測結果に近かった。以上のモデル計算結果から、平成 30 年 7 月豪雨後の *K. mikimotoi* 細胞密度急減の要因として、淡水流入に伴う希釈に加えて、豪雨前から豪雨後にかけての鉛直移動不調、増殖停止、強光による死亡、という 3 つのプロセスが関わっていた可能性が考えられた。

これまでの研究に（高倉・吉江 2017）、直近の 4 年分（2017～2020 年）の観測データを加えた急潮強度、底入り潮強度と赤潮との関連性を解析したところ、5 月上旬の急潮強度と年最初の *K. mikimotoi* 赤潮発生日の間に有意相関（ $r = 0.60, p < 0.01$ ）が認められ、5 月上旬の急潮が強いと発生日が遅くなる傾向が明らかとなった（図 25）。一方、底入り潮強度と赤潮の間には有意な相関関係が認められなかった。降水量・日照時間・表層水温・梅雨入り/梅雨明け・赤潮発生日の経年および時間変化を（図 26）に示す。気象条件と発生日に注目すると、大雨の直後に赤潮が発生する傾向がみられ、6 月上旬の降水量と年最高細胞密度（赤潮規模）の間に有意相関（ $r = 0.58, p < 0.05$ ）が認められた。一方、日照時間とは明瞭な関連性は認められなかった。晩春から初夏にかけて表層水温が上昇し 20°C に到達する時期（図 26 中の水色）に注目すると、2002 年から 2016 年にかけて 5 月の 20°C 到達時期の早期化に同期して発生日が早期化しており、20°C 到達日と発生日の間に有意な相関関係（ $r = 0.52, p < 0.05$ ）が認められた。以上より 5 月の表層水温が赤潮発生時期に、6 月上旬の降水量が赤潮規模に影響を及ぼすことが示唆された。本研究から、宇和海における *K. mikimotoi* 赤潮予測に利用できる環境因子として、① 5 月上旬の急潮強度、② 5 月の表層水温、③ 6 月上旬の降水量が抽出された。以上の結果は、気象庁（<https://www.jma.go.jp/jma/index.html>）および宇和海水温情報システム“*You see U-Sea*”（<http://akashio.jp/kaisuion/>）の準リアルタイムデータを利用することで、*K. mikimotoi* 赤潮発生の 1～2 ヶ月前から早期・中期・直前と段階的な予測の可能性を示唆している。

#### 4) 有害鞭毛藻類の培養試験

##### ① *K. mikimotoi* の培養試験（細胞サイズの変化、画像解析アプリによる解析）

実験結果を図 27 に示す。いずれの培地においても実験開始以降、細胞は急激に増加して培養開始 10 日目にはいずれの試験区でも 10,000 cells/mL を超えた。それ以降、培養開始 33 日目までリン制限培養区の細胞密度は概ね 10,000～20,000 cells/mL で推移したが、培養開始 42 日目には急減した。窒素制限区では培養開始 10 日目以降も細胞密度は漸増しつつ 30,000～40,000 cells/mL で推移していたが、培養開始 33 日目以降に急減した。

対照区における *K. mikimotoi* の機械測定に基づいた細胞サイズ（直径）は対数増殖後期に一時的に約 23 $\mu\text{m}$  程度になったが、定常期以降、細胞減衰期で細胞密度が 10,000 cells/mL を割るまで概ね 20～22 $\mu\text{m}$  程度で推移した。窒素制限培養の *K. mikimotoi* の細胞サイズは 22～24 $\mu\text{m}$  程度で推移した。一方、リン制限培養区の細胞サイズは対数期の約 21 $\mu\text{m}$  から定常期に移行した段階で急激に増加し、最大約 28 $\mu\text{m}$  に達し、その後約 25 $\mu\text{m}$  まで減少した。各区におけるアプリ解析に基づいた細胞サイズの推移は、機械測定によるものと同様な傾向を示した。

細胞直径 1 $\mu\text{m}$  毎のヒストグラムで表した各培養内の細胞サイズ分布の推移を図 28 に示した。対照区では実験開始直後から 42 日目までサイズ分布の変動に大きな変化は見られなかった。一方、リン制限区において培養開始 10 日後以降、細胞サイズの分布が大きく変動してい

た。全細胞数に対する細胞直径  $26\mu\text{m}$  以上の細胞の割合を算出したところ、対照区ならびに窒素制限区においてはそれぞれ 1 割ならびに 2 割程度で推移していたが、リン制限区においては培養開始 10 日目に急激に上昇し 28 日目まで 6~7 割程度で推移し、その後減少した。

細胞サイズ計測アプリで測定した細胞サイズ分布の推移を図 29 に示した。細胞サイズ分布推移のパターンは細胞直径のそれと似ていた。総細胞数に対する 5000 ユニットサイズ以上の細胞割合の推移を図 27 に示した。今回の計測で細胞サイズ 5000 ユニットは、球形細胞の直径に換算した場合、約  $25.5\mu\text{m}$  であった。対照区において 5000 ユニット以上の細胞は開始直後から徐々に上昇したが概ね 3 割以下で推移した。リン制限区における細胞サイズ 5000 ユニット以上の細胞割合は最高で 9 割程度に達し、その後減少に転じた。

細胞サイズは窒素制限区で対照区よりも若干大きくなる傾向にあり、またリン制限区では明確に大きくなる傾向が観察された。窒素制限区ならびにリン制限区において細胞数が減少する前には、細胞サイズは対照区よりも大きめに推移する期間がある。現場における聞き取りにおいても、カレニア赤潮の崩壊直前には細胞サイズが大きくなる可能性が指摘されている。今回導入した細胞サイズ計測アプリでも細胞サイズの変化を的確に捉えることに成功した。今後、現場で発生したカレニア赤潮の細胞サイズデータを蓄積していくことで、細胞サイズを基にした赤潮の挙動予測または状態判断への応用が期待される。

## ② 内湾環境を室内再現可能な培養装置の新規構築

新たに設計・開発した光源を培養装置に設置したところ、装置内に満たした水の表層に対して光強度  $1.8 \times 10^3 \mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$  の光を照射することができた (図 30)。その光は、水中を透過するに伴って指数関数的に減衰し、水位全体の中ほどで検出されなくなった (図 30)。このように、室内に居ながらにして、内湾・沿岸域で観察される強光~弱光を鉛直的に近似再現・制御可能な培養装置を開発することができた。これまでに、自然の水塊構造を再現可能な室内培養装置 (Erga et al. 1999, 2015) は種々開発されているものの、光の鉛直推移を再現可能なものは筆者の知る限り認められない。筆者らが昨年度に開発した培養装置では、培地表層に対して照射可能な光強度が  $10^2 \mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$  オーダー程度にとどまる。これらを踏まえると、今回の培養装置は、内湾光環境 (特に PAR の鉛直変動) を強度面・質面で近似再現可能な点で従来装置とは一線を画す。

培養装置内の光強度を外部から推定可能な関数が得られた。それによって推定される光強度は、装置内で実測した光強度を有意 ( $p < 0.05$ ) かつ高精度 ( $r = 0.996, n = 30$ ) に回帰できることが示され (図 30 右)、培養期間中、光強度の変動をリアルタイムで捉えることが可能な技術の構築に成功できたと判断した。これによって、*K. mikimotoi* の現存量と光強度との関係を解析することが可能となり、本種の光依存的な鉛直挙動を従来よりも精度高く解析できるものと期待される。ただし現段階では、数  $\mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$  オーダーの光強度を外部から推定することは困難であり、今後、改善すべき技術的課題として検討していく必要がある。

各水温および塩分で培養した *K. mikimotoi* KmURN1Y 株の増殖速度を図 31 上に示す。水温  $32.5^\circ\text{C}$  ならびに  $7.5^\circ\text{C}$  の条件をのぞき、水温  $10\text{--}30^\circ\text{C}$  ならびに塩分 20-40 の範囲において、本株の Chl. *a* 量は培養時間の経過と共に増大する傾向にあった (データ示さず)。ここで得られた増殖速度は、水温と共に塩分によっても変動しており、両因子の相互作用を受けることが明瞭に示された。

これを受けて、*K. mikimotoi* の増殖を水温・塩分の二因子によって回帰可能な関数を以下のモデル関数を用いた重回帰分析により算定した：

$$\mu = \beta_1 T + \beta_2 T^2 + \beta_3 T^3 + \beta_4 TS + \beta_5 T^2 S + \beta_6 TS^2 + \beta_7 S + \beta_8 S^2 + \beta_9 S^3 + a$$

ここで  $\mu$  は増殖速度 (divisions/day),  $T$  は水温 (°C),  $S$  は塩分,  $\beta$  は偏回帰係数,  $a$  は定数項をそれぞれ示す。変数増減法による重回帰分析を行った結果, 偏回帰係数が求まり, 以下の回帰式を導き出すことができた。

$$\mu = -0.20068T + 0.01620T^2 - 0.00029T^3 + 0.05185S - 0.00002S^3 - 0.00005T^2S + 0.00003TS^2 - 0.27562$$

この式に水温と塩分の積項が含まれていることから, 両因子が相互作用して増殖速度に影響することがうかがえる。導き出した増殖回帰式は, 有意かつ高い重相関係数 0.935 ( $p < 0.05$ ) で表されるように極めて高精度なものであり, その式から得られる増殖速度の理論値は実測値とよく対応している (図 31 下)。ゆえに, この回帰式に基づいて様々な水温・塩分域での増殖速度を予測可能であると示唆される。

今回の試験によって, 浦ノ内湾産 *K. mikimotoi* の増殖上限水温および増殖下限水温はそれぞれ 30°C および 10°C であることが明らかとなり, このことは以前報告された広島湾産株 (山口・本城 1989) のそれらと一致した。よって *K. mikimotoi* は, 産地にかかわらず, 10°C という低水温に耐性を有しているものと示唆される。少なくとも供試株が得られた浦ノ内湾においては, 夏の一時期, ごく表層にて水温が 30°C を超えることはあるものの, 有光層全体で見ると, 水温・塩分が先の上限・下限を超えることはほぼない (Yamaguchi et al. 2018)。したがって, 浦ノ内湾において *K. mikimotoi* は周年を通じて発生するものと考えられ, 実際に山口 (1994) は, 同湾にて *K. mikimotoi* を周年検出できたことを報告している。また, 西日本海域の多くでも, 冬季の水温が 10°C を下回ることはほとんどないため, *K. mikimotoi* は栄養細胞の状態でも周年発生しているものと考えられる。

多重比較検定の結果, *K. mikimotoi* の増殖速度が統計学的に有意に高い水温および塩分は, 20°C・塩分 30, 25°C・塩分 25, 25°C・塩分 30 の組み合わせであったことから, 本種の増殖至適水温・塩分域は 20–25°C・25–30 と推測される。この増殖至適水温・塩分域は, 山口・本城 (1989) が広島湾産株で得た水温 25°C・塩分 25 を含んでおり, さらに浦ノ内湾における高密度発生時の水温 22.4–27.4°C および塩分 22.1–31.1 にも含まれている (未発表)。これらの結果に矛盾する点はないことから, 本研究の結果は支持されると判断される: 高知・広島をはじめとする西日本に分布する本種は, 比較的中～高水温, 中～高塩分域を至適増殖域として活発に増殖可能であろうと考えられる。このような環境下での *K. mikimotoi* の挙動に影響を及ぼす要因を明らかにすることが, 今後の重要課題の一つに位置づけられる。

本年度の課題遂行により, 光強度度  $1.8 \times 10^3 \mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$  の強光を照射可能なシステムが完成した。この照射システムを先に確立した培養系に実装することで, 表層に照射された強い光が水中を透過するにしたがって減衰していくという, 沿岸域で観察される光の鉛直推移を室内で近似再現・制御することが可能となった。この技術を用いることで, (本課題で明らかにした) 増殖至適水温・塩分下での *K. mikimotoi* の鉛直挙動と光強度との関係を解明し, それによって本種赤潮発生機構全容の解明が果たされる一助になると期待される。

## 5) 予察技術の検証および赤潮シナリオ作成

### ① 既存データの解析 (*K. mikimotoi* とその他のプランクトンの動態について)

豊後水道愛媛県海域の養殖現場では、*K. mikimotoi* による赤潮が発生する前には、*Prorocentrum* spp. または *H. akashiwo* による赤潮が発生すると水産関係者間で経験的に言われている。本項目では、この経験則が西部瀬戸内海の他海域にも当てはまるか確認するため、次のような解析を行った。

*K. mikimotoi* 赤潮が発生した年を対象として、*K. mikimotoi* 赤潮基準密度初認日（以下赤潮初認日）以前に *Prorocentrum* spp. および *H. akashiwo* が赤潮を形成していた割合を算出した。*K. mikimotoi*、*Prorocentrum* spp. および *H. akashiwo* の赤潮基準密度は各県の基準とした。*Prorocentrum* spp. および *H. akashiwo* についての詳細な記録が無いケースについては、「瀬戸内海の赤潮」（水産庁瀬戸内海漁業調整事務所）を参考とした。なお、各県の解析対象期間と赤潮基準密度は以下の通りとした。

広島湾では、解析対象期間が *Prorocentrum* spp. では 1992～1997 年および 2004～2020 年、*H. akashiwo* では 1992～2020 年であり、赤潮基準密度は *K. mikimotoi* が 500 cells/mL および *Prorocentrum* spp. が 500 cells/mL 以上、*H. akashiwo* が 5,000 cells/mL 以上とした。

山口県周防灘では、解析対象期間が 1989～2020 年であり、赤潮基準密度は *K. mikimotoi*、*Prorocentrum* spp. および *H. akashiwo* が 1,000 cells/mL とした。

福岡県周防灘では解析対象期間が 2001～2020 年であり、赤潮基準密度は *K. mikimotoi* が 1,000 cells/mL とした。また、*Prorocentrum* spp. および *H. akashiwo* は、瀬戸内海の赤潮に報告されている着色域が確認された場合（概ね  $10^4$  cells/mL 以上）を赤潮と定義した。

大分県周防灘では、解析対象期間が 1995～2020 年であり、赤潮基準密度は *K. mikimotoi* が 1,000 cells/mL、*H. akashiwo* が瀬戸内海の赤潮に報告されている 5,000 cells/mL とした。

大分県佐伯湾では解析対象期間が 1998～2020 年であり、赤潮基準密度は *K. mikimotoi* が 1,000 cells/mL、*H. akashiwo* が 5,000 cells/mL とした。また、*Prorocentrum* spp. は、瀬戸内海の赤潮に報告されている着色域が確認された場合を赤潮と定義した。

愛媛県岩松湾では解析対象期間を 1989～2020 年とし、赤潮基準密度を *K. mikimotoi*、*Prorocentrum* spp. および *H. akashiwo* について各 1,000 cells/mL 以上とした。

高知県宿毛湾では解析対象期間が 2004～2020 年であり、赤潮基準密度は *K. mikimotoi* が 1,000 cells/mL、*Prorocentrum* spp. および *H. akashiwo* が瀬戸内海の赤潮に報告されているそれぞれ 5,000 cells/mL および 2,960～457,900 cells/mL とした。

高知県浦ノ内湾では解析対象期間が 1993～2020 年であり、赤潮基準密度は *K. mikimotoi* が 1,000 cells/mL、*Prorocentrum* spp. および *H. akashiwo* が瀬戸内海の赤潮に報告されているそれぞれ 8,800 cells/mL および 4,180～515,000 cells/mL とした。

*K. mikimotoi* 赤潮の発生が確認された年の *K. mikimotoi* 赤潮初認日以前に、*Prorocentrum* spp. および *H. akashiwo* が赤潮を形成していた割合を表 10 に示す。*Prorocentrum* spp. および *H. akashiwo* が *K. mikimotoi* 赤潮初認日以前に赤潮を形成していた割合は海域により大きな差が認められた（0～86.7%）。このことから、*Prorocentrum* spp. および *H. akashiwo* 赤潮発生の有無を基準とした *K. mikimotoi* 赤潮の発生予察を、西部瀬戸内海全域に一般化することは困難であると推察された。

一方、愛媛県岩松湾において *Prorocentrum* spp. が *K. mikimotoi* 赤潮初認日以前に高頻度で赤潮を形成していたことは、特徴的な現象と思われた。今回は各県で異なる赤潮基準を用いた解析を実施しているため、結果の解釈には十分な注意が必要である。しかしながら、各海

域独自の基準として、他プランクトンの動態を *K. mikimotoi* 赤潮の予兆指標として使える可能性は残されているものと推察された。

## ② 既存データの解析（梅雨と *K. mikimotoi* 赤潮）

山口（2000）では、*K. mikimotoi* の増殖に適した環境として、降雨による栄養塩の添加や低日照等が報告されている。瀬戸内海西部・豊後水道・土佐湾海域でも主に梅雨時期にあたる 6～7 月の本種の赤潮発生は多いが、梅雨入り日や梅雨明け日と赤潮発生時期についての比較検討はこれまで行われていない。そこで、梅雨入り日や梅雨明け日と本種細胞密度の増加時期との関係について経年変化や海域による違いの整理を行った。

各海域の 1989～2020 年における梅雨入り日と梅雨明け日（気象庁過去の梅雨入りと梅雨明け <https://www.data.jma.go.jp/fcd/yoho/baiu/index.html>）、*K. mikimotoi* の 100 cells/mL 以上の細胞密度（以下、100 cells/mL）および 1,000 cells/mL 以上の細胞密度（以下、1,000 cells/mL）を確認した日について、図 32 にまとめた（広島湾は 1992 年～、宿毛湾は 2014 年～）。なお、海域や年によっては、定期的なモニタリングを行っておらず、着色域が出現してからの調査であるため、初認日に数千 cells/mL といった事例もあり、その場合は 100 cells/mL 初認日且つ 1,000 cells/mL 初認日として扱った。

データの少ない宿毛湾を除くと、浦ノ内湾以外の 6 海域では概ね梅雨明け日前後に 100 cells/mL に達していた。梅雨明け日と 100 cells/mL に達した日を比較すると、広島湾では梅雨明け日の平均 7.7 日後に 100 cells/mL に達していた。同様に、周防灘山口県海域では梅雨明け日の平均 2.3 日後、周防灘福岡県海域では 23.8 日前、周防灘大分県海域では 6.8 日前、佐伯湾では 10.5 日前、岩松湾では 3.4 日前にそれぞれ 100 cells/mL に達していた。瀬戸内海西部・豊後水道海域では、2012 年や 2018 年など梅雨末期の豪雨直後に *K. mikimotoi* 赤潮が大規模化しており（宮村 2016, 鬼塚ら 2021）、今回の解析結果と整合する。ただし、これら 6 海域において梅雨明け日と 100 cells/mL に達した日の間に有意な相関は認められなかった。一方、浦ノ内湾では梅雨入り前の 100 cells/mL 到達も多くみられるなど、高密度化時期が年によって大きく変動していた。また、100 cells/mL 確認日から 1,000 cells/mL 確認日まで要した日数は、初認日に 1,000 cells/mL 以上の細胞密度であった場合を除いて、広島湾で平均 12.5 日、周防灘山口県海域で 7.5 日、周防灘福岡県海域で 16.8 日、周防灘大分県海域で 11.7 日、佐伯湾で 13.9 日、岩松湾で 6.4 日、宿毛湾で 6.0 日、浦ノ内湾で 15.9 日だった。次に経年変化に注目すると、佐伯湾や岩松湾、浦ノ内湾といった地理的に南に位置する海域では、2010 年ごろを境に 100 cells/mL 到達日が早まっているようにみえる。周防灘でも一部早まっている年があるが、相対的に北に位置する海域では早期化の傾向は認められない。このような海域によって異なる経年変化の要因は現時点で不明であり、要因を探るためには海洋環境のデータも含めて解析していく必要がある。

## ③ 既存データの解析（赤潮予察技術の検証）

2017 年度までに実施した統計解析により、赤潮発生に関与する環境因子（海象・気象）を抽出し、有害赤潮発生シナリオを構築するとともに、抽出された環境因子を用いた判別分析や判別得点のロジスティック回帰による予察技術を開発した（岩野ら 2020）。この予察技術を本年度取得したデータで検証を行った（データ期間は 2002 年から 2017 年を使用）。

なお、表 11 の予測の欄では、各環境因子の組み合わせで予測した発生確率が 80%より大きい場合を「○」、20~80%を「△」、20%未満を「×」と表記し、的中の欄では、予測と赤潮発生状況（結果）が一致した場合を「◎」、「△」と予測して発生した場合を「○」、「△」と予察して非発生の場合を「△」、予察と結果が一致しなかった場合を「×」と表した。

#### 広島県海域（広島湾；表 11-1）

最高細胞密度 500 cells/mL 以上の年を「発生年」として解析を行ったところ、22 通りの組み合わせのうち 64%が「発生年」、18%がそれぞれ「非発生年」および「発生年」・「非発生年」のどちらとも区別できない「△」となった（表 11-1）。2020 年は *K. mikimotoi* 赤潮は非発生となり、多くのモデルで予察は的中しなかった。非発生と予察した説明変数のうち 4 月の気温と 5 月の表層 DIP 濃度の 2 項目による予察結果によると、2018 年、2019 年も的中していた。2019 年度に更新した *K. mikimotoi* 赤潮発生シナリオ（岩野ら 2020）では、「発生年」に比べて 4 月の気温が低め、5 月の表層 DIP 濃度が高めの年に *K. mikimotoi* 赤潮が非発生とされている。本年度の解析結果はこれらの傾向と合致しており、シナリオを支持する結果となった。

#### 山口県海域（徳山湾；表 11-2）

徳山湾における 2020 年の *K. mikimotoi* は、調査期間中のモニタリングにおいては最高細胞密度 141 cells/mL で低密度に出現したが、調査期間終了後の 9 月上旬~中旬に徳山湾を含む防府市沿岸から光市沿岸にかけて最高細胞密度 23,300 cell/mL で大規模に発生した。

2020 年は予察モデルの組み合わせの半数が「発生年」と予察しており、残り半数は発生・非発生のどちらとも区別できないと予察したが、「非発生」と予察した項目がないことから、概ね的中した。2018 年、2019 年の両年とも予察が的中した 5 月中旬表層 DO と 6 月中旬底層 DO の今年度の予察結果は「△」であり、5 月中旬表層 DO は平年並み、6 月中旬底層 DO は高めであった。

2020 年の徳山湾では、6 月までは濃縮検鏡および PCR 法で *K. mikimotoi* が検出されず、9 月以降に本種赤潮が高密度化した。例年発生することの多い 7 月に徳山湾で増殖しなかった要因として、2019 年までに構築した赤潮発生シナリオに照らすと、初期の遊泳細胞の密度が極めて低かったことが該当していた。

また、昨年度に取り組んだ *K. mikimotoi* 赤潮の規模に関する解析では、5 月に日照時間が短く、6 月下旬気温が低いなどの条件が重なると、本種が大規模に発生すると考えられた。2020 年 5 月の日照時間は平年並みで、6 月下旬気温が高く、5~9 月の調査期間中の徳山湾の本種赤潮は小規模だった。すなわち、5~6 月にかけて日照時間が長く、気温が高いことで、大規模な発生にはいたらなかったと考えられる。しかし、調査期間終了後に徳山湾を含む大規模赤潮が発生したことから、発生時期も考慮したより精度の高い予察技術の開発が課題である。

#### 福岡県海域（周防灘西部；表 11-3）

周防灘福岡県海域では、最高細胞密度が 1,000 cells/mL 以上の年を「発生年」として解析を行った。2020 年は *K. mikimotoi* 赤潮の非発生年だったが、これまでに作成した予察モデルの多くは「発生年」となり、十分に的中したとは言えなかった。

2018 年の非発生および 2019 年の発生を的中し *K. mikimotoi* 赤潮発生の予察に有効であると

考えられた7月5m層水温と4月表層DIPの組み合わせと、7月5m層水温と6月5m層DIPの組み合わせによれば2020年は「発生年」となったが、いずれも的中しなかった。一方、2020年の非発生を的中した組み合わせは5通りあり、いずれも2018年の非発生あるいは2019年の発生のどちらかを的中しており2018～2020年の3年間で2回の中する結果となった。この5通りの組み合わせに多く含まれた環境項目は、4月上旬日照時間（5通り中4個）、5月中旬気温と6月5m層DIP（5通り中2個）であった。赤潮発生年は4月上旬の日照時間が短く、5月中旬の気温が低く、6月のDIPが高い傾向があるものの、2020年は4月上旬の日照時間が昨年に続き極端に長く、5月中旬の気温が高く、6月の中～底層DIPが低かった。すなわち、4月上旬に日照が多かったことで、珪藻類が優占してDIPを消費し、*K. mikimotoi*の遊泳細胞の増殖が阻害されるとともに、その後も気象や低DIPの影響で*K. mikimotoi*密度が低水準だったことと、梅雨明け後に再度珪藻類が優占したことで、夏季に赤潮化しなかったと考えられる。検鏡結果に加え、代表点で実施しているPCR法で4～6月に*K. mikimotoi*が未検出であったことから、本シナリオどおり本種の遊泳細胞が夏季前まで低水準で推移したことがうかがわれた。

#### 大分県周防灘海域（表11-4）

大分県周防灘海域では、*K. mikimotoi*の最高細胞密度が2,000 cells/mL以上の年を「発生年」として解析を行った。2020年は発生年となったが、主に7月上旬～8月上旬に発生する例年とは異なり、9月下旬に*K. mikimotoi*赤潮が確認された。これまで作成した予察モデルでは、「発生年」と「非発生年」で分かれる予察結果となった。

予察モデル構築に用いた2002～2017年おいて的中率が最も高かった「5月表層水温」と「7月分布指標（10 cells/mL以上）」の組み合わせは、2018年と2020年を的中させており、2020年に的中した予察モデルで「5月の表層または5m層の水温」という項目が共通していた（表11-4）。

本海域の*K. mikimotoi*赤潮発生シナリオによると、遊泳細胞が早期に観測される年は本種の赤潮が発生する確率が高く、5月の表層水温が低いことが初期個体群の生残・増殖に関係している可能性があることが示唆されている。2020年は、冬季（12～2月）に越冬細胞が確認されていたこと、5月の表層水温が低かったことから、初期出現期までは発生シナリオどおりに進行したと思われる。しかし、増殖期である7月上旬の記録的な大雨やその後に珪藻類が優占したことが、結果として本種増殖を遅らせ、9月上中旬になって環境条件（低日照、降水多）が整ったことにより、9月下旬の赤潮発生に至ったと推察された。以上のことから、赤潮発生には、その直前の気象条件（降水量、日照時間）とプランクトン密度（*K. mikimotoi*、珪藻類）が大きく影響していると考えられる。

#### 大分県豊後水道海域（佐伯湾；表11-5）

佐伯湾では、最高細胞密度が1,000 cells/mL以上の年を「発生年」として解析を行った。本年の*K. mikimotoi*赤潮は、これまでに作成した予察モデルの全てで「発生年」と予察されたが、実際には非発生となり、予察は的中しなかった（表11-5）。

例年、*K. mikimotoi*が豊後水道沿岸の各湾の中層で増殖し、赤潮に至る地場発生型赤潮により漁業被害を発生させるが、本年度は佐伯湾以外でも地場発生型の赤潮は確認されなかった。

佐伯湾において *K. mikimotoi* は、9月下旬に最高細胞密度 3 cells/mL が確認され、期間を通して遊泳細胞は数細胞と低密度でしか確認されなかった。また、2月の調査では、PCR法による遺伝子検査により、本種の遺伝子が少量であるものの検出されたが4～6月の調査では全く検出されなかった。本年度は暖冬の影響もあり、冬季水温は高めであったため、冬季はシードポピュレーションとなる遊泳細胞が生存しやすい環境であったと推察される。しかし、2020年は4月の気温が例年より1.5℃低く推移し、佐伯湾では4月から7月まで1℃程度水温が低かったことが特徴的であり、これらの気象・海象条件が、本種の増殖に影響したと考えられた。また、梅雨入り後は *Gonyaulax polygramma* 等の他のプランクトンが常に優占していたことも本種の増殖を制限した可能性がある。昨年度取り組んだ本海域における赤潮の規模に関する解析によると、4・5月に晴天が続く条件は、シストを形成しない本種にとって遊泳細胞が物理的・生物的に個体群密度を維持しやすく、個体群密度が高いほど本種赤潮が大規模発生に繋がると考えられる。2020年は、4・5月の日照時間は平年より多く、本種の遊泳細胞にとって好適環境であったと考えられるが、前述の通り非発生年となった。2020年の場合、判別分析の変数として抽出されていない4月以降の水温が本種動態に影響した可能性があるが、今回の解析では確認できず、今後の課題である。

#### 愛媛県海域（岩松湾；表 11-6）

岩松湾では、*K. mikimotoi* の最高細胞密度が 1,000 cells/mL 以上の年を「発生年」として解析を行った。2020年は、これまでに作成した予察モデルの多くで「発生年」と予察されたが、実際には非発生だったため、予察は的中しなかった（表 11-6）。また、昨年度の解析で大規模赤潮に関する環境因子として抽出された項目については、2020年は5月5m層水温が平年より低かった以外は、5月および6月の気温は平年より高く、1月から6月までの日照時間は高めで推移し、1月、5月および6月の風速は平年より小さいか平年並みであり、大規模発生の傾向を示したが、こちらの結果も実際の発生状況を反映しなかった。

2002～2017年の解析期間で抽出された赤潮発生に関する環境因子の組み合わせのうち、2018～2020年の3年間にわたって的中したのは、4月下旬5m層水温と7月中旬日照時間の組み合わせのみであり、2020年は、その他の多くの組み合わせで的中しなかった。その原因として、2月上旬5m層水温は2002年以降で最も高い値が観測されており、過去の観測データから作成する予察モデルでは対応できなかった可能性がある。

*K. mikimotoi* は、岩松湾沖合域では冬季から春季にかけて濃縮検鏡およびPCR法で検出されていたものの、湾内において濃縮検鏡で遊泳細胞が確認されたのは6月下旬であり、調査期間中に1 cell/mL 以上は確認されなかった。*K. mikimotoi* が低密度のまま推移した要因は明らかではないが、5月から8月上旬の水温が17.2～23.5℃と、例年と比べて継続して2℃程度低かったことや、5月中旬以降 *Prorocentrum* spp. や *Dictyocha fibula*, 珪藻類が継続して数千 cells/mL 以上と、他のプランクトンが常に優占していたことが、本種の増殖を鈍らせた可能性がある。

#### 高知県海域（宿毛湾）

2020年は *K. mikimotoi* 赤潮の非発生年となり、遊泳細胞も最高で1 cell/mL を確認するにどまった。2002～2020年に本種の赤潮が発生した年は3か年だけであり、当該海域における

本種の予察モデルが構築できておらず、検証には至っていない。過去の本種の少数発生事例からは、隣接する海域での発生後に当該海域で発生する傾向がみられており、隣接海域からの移入・集積が当該海域での発生の一因と考えられている。2020年は本種の赤潮が隣接海域で確認されておらず、当該海域でも低密度であった。今後も、当該海域と隣接海域の発生状況に密接な関わりがあるかを検証していくことが必要である。高感度調査では本種遺伝子が2月および3月に検出されたが、検鏡による遊泳細胞の初認は6月であった。これらのことから、赤潮発生に直接結びつかないものの、当該海域において本種は検鏡では確認できない低レベルの細胞密度で周年にわたり存在している可能性がある。

#### 高知県海域（浦ノ内湾；表 11-7）

浦ノ内湾では、*K. mikimotoi* の最高細胞密度が 1,000 cells/mL 以上の年を「発生年」として解析を行った。2020年は発生年だったが、予察モデルでは多くの組み合わせで「発生年」と予察され、予察は概ね的中した（表 11-7）。

2002～2017年の解析期間で抽出された赤潮発生に関する環境因子の組み合わせのうち、2018～2020年の3年間にわたって的中した「◎」した組み合わせは5つで、それらに含まれる環境因子は1月中旬降水量、3月中旬日照時間、4月5m層および底層DIN、5月表層DO、6月降水量、6月下旬日照時間の7項目だった。更に、2019～2020年の2年間の「◎」した組み合わせは9つで、前述のもの以外に3月中旬日照時間、4月降水量、5月10m層および底層DOが含まれた。

しかし、2018～2020年の3年間にわたって、予察モデルは大きく外れることはなくほぼ的中しているものの、2002～2020年に本種の赤潮が発生しなかった年は3か年しかなく、予察モデルが機能しているかどうかは判断がつかなかった。また、近年、本種の赤潮は5～6月に発生することが多いため、予察モデルに組み込まれている環境因子が5月以降のものも多く、5月発生を予察できないことも課題である。

浦ノ内湾では、前述したように本種の赤潮がほぼ毎年発生する。しかしながら、その赤潮発生においては大規模となる年（最大細胞密度：10,000 cells/mL 以上）と小規模となる年に分けられ、昨年度の解析では大規模化する環境因子が11項目関係していることが示唆されている。特に、4月の中層～底層のDINが高い、5月の中層～底層の塩分が低い、5～6月の降水量が多いと大規模化しやすい。それら蓄積したデータを基に、浦ノ内湾では発生・非発生だけでなく大規模化についての予察モデルを新たに構築する必要があると考えられた。

#### まとめ

本年度の当該海域の環境は例年と異なり、4月および7月の気温が平年より低く、水温は4～7月、海域によっては8月まで低く推移した。また、7月上旬に記録的大雨があった一方で、8月はほとんど降水がなく、9月上旬は台風と前線の停滞により、梅雨のような環境であったことに加えて、8月まで珪藻類が各地で優占していたことも特徴である。そのためか、冬季の高水温に基づいて *K. mikimotoi* の初認日の早期化が予想されていたにも関わらず、シードポピュレーションとなる初期の遊泳細胞がPCR法でしか検出されないほど低密度であり、1 cell/mL 以上の初認日が6～7月であり、*K. mikimotoi* の増殖が抑制されていた。

予察モデルでは、モデル構築時にデータを利用した2002～2017年の的中率が100%程度で

あっても、その後の3年間は予察が的中しないケースも散見され、赤潮発生・非発生には、赤潮発生直前の環境条件が強く関与している可能性があり、中長期予察に加えて、赤潮発生直前の気象条件および遊泳細胞の監視が必要であると考えられた。また、本年度は9月に赤潮が発生したが、これまでに開発された予察モデルは、6~7月の赤潮の発生を対象としており、今年のような遅い時期に発生する赤潮の予察に適さなかった可能性もある。この他、2018年度に実施した遡り解析の結果、長期的な気候変動や海洋環境の変化が影響し、判別率が下がる項目があることが明らかとなっている（黒田ら 2019）。これらのことから、的中率が高い予察モデルであっても、長期的な気候変動等によりの中しなくなる可能性があり（長谷川ら 2018）、今後もモニタリングを継続し、環境の変化と赤潮発生との関係性を注視していく必要がある。一方で、継続して的中率が高い予察モデルは、*K. mikimotoi* 赤潮の発生に強く関与している可能性がある。昨年度取り組んだ、赤潮発生規模に関するシナリオを本年度にあてはめた場合、多くの海域で規模に関するシナリオが的中し、類似した環境因子として挙げられた赤潮発生直前の4~6月の多降水量や低日照が、*K. mikimotoi* の増殖に有利となり、赤潮が大規模化しやすいとするシナリオを支持するものとなった。

近年の赤潮の発生時期の早期化や、今年のような調査期間終了後の赤潮発生等に対応したモニタリング体制を構築し、高感度調査やモニタリングを活用した、赤潮に関与する新たな環境項目の探索や、環境変化と赤潮発生との関係性の解明により、精度の高い予察技術の開発と現場海域に適した赤潮発生シナリオの構築が必要である。

## 引用文献

Erga SR, Omar AM, Singstad I, Steinseide E. An optical detection system for the study of fine-scale vertical displacement of microalgae in an artificial water column. *Journal of Phycology* 1999; **35**: 425-432.

Erga SR, Olseng CD, Aarø LH. Growth and diel vertical migration patterns of the toxic dinoflagellate *Protoceratium reticulatum* in a water column with salinity stratification: the role of bioconvection and light. *Marine Ecology Progress Series* 2015; **539**: 47-64.

長谷川尋士, 本田恵二, 山下泰司, 濱崎正明, 宮原一隆, 原田和弘, 秋山諭, 山本圭吾, 田中咲絵, 住友寿明, 池脇義弘. 魚介類の斃死原因となる有害赤潮等分布拡大防止のための発生モニタリングと発生シナリオの構築①瀬戸内海東部海域. 平成29年度漁場環境・生物多様性保全総合対策委託事業 赤潮・貧酸素水塊対策推進事業報告書「瀬戸内海等での有害赤潮発生機構解明と予察・被害防止等技術開発」, 水産庁, 東京. 2018 ; 9-38.

岩野英樹, 畦地和久, 井口大輝, 中里礼大, 内海訓弘, 加川真行, 黒田麻美, 村田憲一, 工藤孝也, 本田宇聖, 吉村栄一, 馬場俊典, 國森拓也, 後川龍男, 恵崎撰, 竹中彰一, 平井真紀子, 鈴木健二, 谷口越則, 吉江直樹, 郭新宇, 清水園子, 松原孝博, 武岡英隆, 山口晴生, 外丸裕司, 坂本節子, 鬼塚 剛, 山口聖. 有害赤潮プランクトンの出現動態監視および予察技術開発②瀬戸内海西部・豊後水道海域・土佐湾海域. 平成31年度漁場環境改善推進事業「赤潮被害防止対策技術の開発」報告書, 水産庁, 東京. 2020 ; 57-116.

黒田麻美, 村田憲一, 加川真行, 工藤孝也, 吉村栄一, 和西昭仁, 馬場俊典, 國森拓也, 俵積田貴彦, 恵崎撰, 井口大輝, 中里礼大, 木村聡一郎, 岩野英樹, 菅沼倫美, 平井真紀子, 谷口越則, 吉江直樹, 郭新宇, 清水園子, 松原孝博, 武岡英隆, 山口晴生, 外丸裕司, 坂本節

- 子, 鬼塚 剛. 有害赤潮プランクトンの出現動態監視および予察技術開発②瀬戸内海西部・豊後水道海域・土佐湾海域. 平成 30 年度漁場環境改善推進事業「赤潮被害防止対策技術の開発」報告書, 水産庁, 東京. 2019 ; 50-99.
- 宮村和良. *Karenia mikimotoi* の赤潮動態と発生予察・対策. 「有害有毒プランクトンの科学」(今井一郎・山口峰生・松岡敷充編) 恒星社厚生閣, 東京. 2016; 191-200.
- 鬼塚 剛, 鈴川健二, 吉江直樹, 平井真紀子, 竹中彰一, 吉原勇作, 大西秀次郎, 清水園子, 竹内久登, 太田耕平, 外丸裕司, 坂本節子, 阿部和雄, 山口 聖, 紫加田知幸, 山口一岩, 武岡英隆. 宇和島湾およびその周辺海域における有害渦鞭毛藻 *Karenia mikimotoi* の出現特性: 赤潮発生年と非発生年の比較. 日本水産学会誌, 2021; <https://doi.org/10.2331/suisan.20-00055>
- 鬼塚剛, 鈴川健二, 吉江直樹, 平井真紀子, 外丸裕司, 坂本節子. 有害渦鞭毛藻カレニア・ミキモトイの日周鉛直移動調査. 2019 年度愛媛大学沿岸環境科学研究センター共同利用・共同研究拠点「化学汚染・沿岸環境研究拠点」共同研究報告書, 2020; <http://lamer-cmes.jp/performance/1910>
- Sverdrup, HU, Johnson MW, Fleming RH. *The Oceans: Their physics, chemistry, and general biology*. Prentice-Hall, New York. 1942.
- 高倉翼, 吉江直樹. 豊後水道におけるカレニア赤潮と外洋水侵入の影響に関する研究. 2016 年度 愛媛大学工学部環境建設工学科 卒業研究論文. 2017.
- Takeoka H, Koizumi Y, Kaneda A. Year-to-year variation of a *kyucho* and a bottom intrusion in the Bungo Channel, Japan. In: Yanagi T (ed). *Interaction between Estuaries, Coastal Seas and Shelf Seas*, Terra Scientific Publishing Company, Tokyo. 2000; 192-215.
- Yamaguchi H, Hirano T, Yoshimatsu T, Tanimoto Y, Matsumoto T, Suzuki S, Hayashi Y, Urabe A, Miyamura K, Sakamoto S, Yamaguchi M, Tomaru Y. Occurrence of *Karenia papilionacea* (Dinophyceae) and its novel sister phylotype in Japanese coastal waters. *Harmful Algae* 2016; **57**: 59-68.
- Yamaguchi H, Tanimoto Y, Hayashi Y, Suzuki S, Yamaguchi M, Adachi M. Bloom dynamics of noxious *Chattonella* spp. (Raphidophyceae) in contrastingly enclosed coastal environments: a comparative study of two coastal regions. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 2018; **98**: 657-663.
- 山口峰生, 本城凡夫. 有害渦鞭毛藻 *Gymnodinium nagasakiense* の増殖におよぼす水温, 塩分および光強度の影響. 日本水産学会誌, 1989; **55** : 2029-2036.
- 山口峰生. *Gymnodinium nagasakiense* の赤潮発生機構と発生予知に関する生理生態学的研究. 南西海区水産研究所研究報告, 1994; **27**: 251-394.
- 山口峰生. 有害・有毒赤潮の発生と予知・防除. 「水産増養殖叢書 48」社団法人日本水産資源保護協会, 東京. 2000 ; 101-136.
- Yuasa K, Shikata T, Kuwahara Y, Nishiyama Y. Adverse effects of strong light and nitrogen deficiency on cell viability, photosynthesis, and motility of the red-tide dinoflagellate *Karenia mikimotoi*. *Phycologia* 2018; **57**: 525-533.

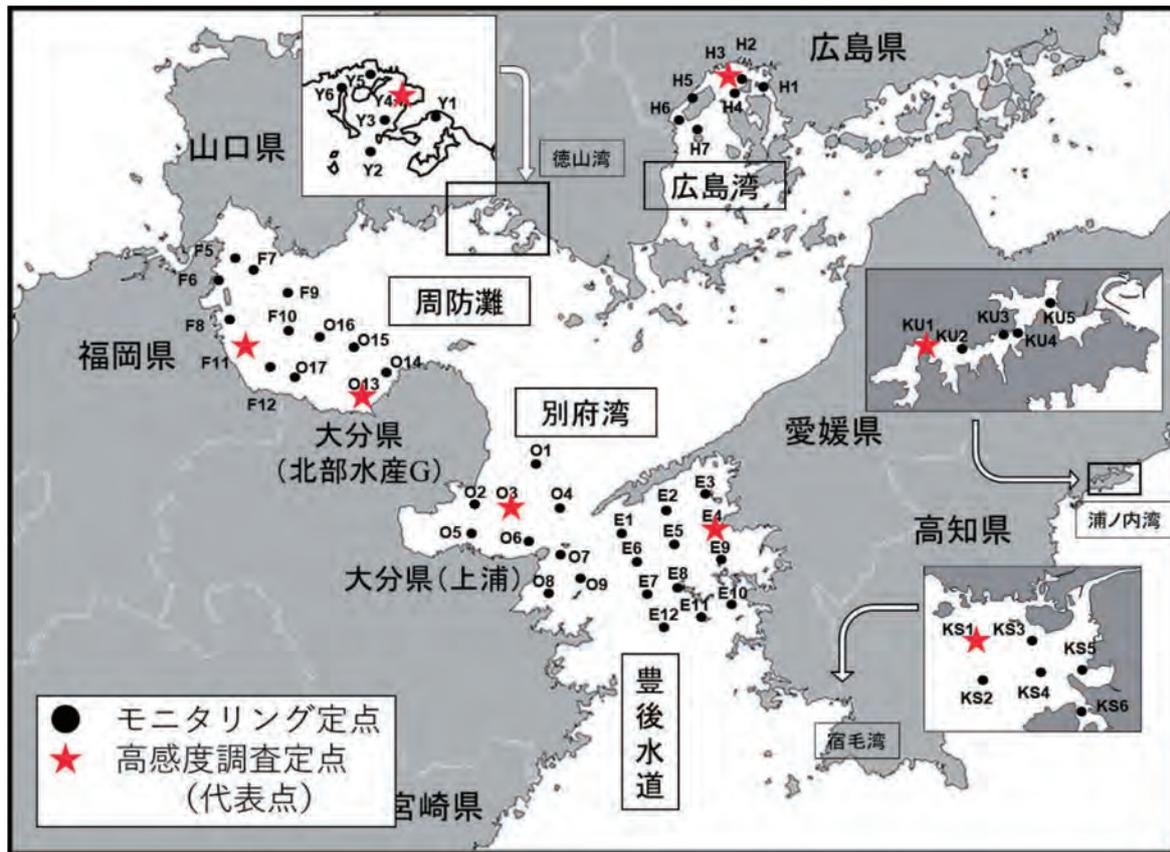


図1 モニタリング調査, 高感度監視調査の定点

表1 モニタリング調査の観測分析項目と検鏡対象プランクトン

海域		広島湾	周防灘			豊後水道・別府湾・宿毛湾			浦ノ内湾
担当県		広島県	山口県	福岡県	大分県(浅海)	大分県(上浦)	愛媛県	高知県	高知県
調査点数		7	6	8	5	9(3・6)	12	6	5
観測層(m)		0.5, 5, B-1	0.5, 5, B-1	0.5, 5, B-1	0.5, 5, (10,) B-1	0.5, 10	0.5, 10	0, 2, 5, 10	0, 2, 5, 10, B-1
調査回数		6	4	4	4	5	5	7	18
観測分析項目	水温	○	○	○	○	○	○	○	○
	塩分	○	○	○	○	○	○	○	○
	透明度	○	○	○	○	○	○	○	○
	NH4-N	○	○	○(代表点)	○	○	○	○	○
	NO2-N	○	○	○(代表点)	○	○	○	○	○
	NO3-N	○	○	○(代表点)	○	○	○	○	○
	PO4-P	○	○	○(代表点)	○	○	○	○	○
	クロロフィルa	○	○	○(代表点)	○	○	○	○	○
DO	○	○	○	○	○	○	○	○	
検鏡対象プランクトン	<i>Karenia mikimotoi</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
	<i>Chattonella antiqua</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
	<i>Chattonella marina</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
	<i>Chattonella ovata</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
	<i>Cochlodinium polykrikoides</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
	<i>Heterosigma akashiwo</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
	<i>Heterocapsa circularisquama</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
	珪藻類	○(表層)	○	○	○(代表点)	○(代表点)	○	○(代表点)	○

表2 測定・分析方法

調査・分析項目	方法(機器)	広島湾	周防灘			豊後水道・別府湾・宿毛湾・浦ノ内湾		
		広島県	山口県	福岡県	大分県(浅海)	大分県(上浦)	愛媛県	高知県
水温・塩分	多項目CTD	○	○	○	○	○	○	○
透明度	透明度板	○	○	○	○	○	○	○
NH4-N	インドフェノール青吸光度法	○	○	○	○	○	○	○
NO2-N	ナフチルエチレンジアミン吸光度法	○	○	○	○	○	○	○
NO3-N	銅カドミウムカラム還元 ナフチルエチレンジアミン吸光度法	○	○	○	○	○	○	○
PO4-P	モリブデン青(アスコルビン酸還元) 吸光度法	○	○	○	○	○	○	○
クロロフィルa	アセトン抽出吸光度法	○ (アセトン抽出蛍光法)	○	○	○			○
	DMF抽出蛍光法					○	○	
DO	ウインクラー法				○	○	○	
	溶存酸素計	○	○	○				○

表3 高感度監視調査の観測分析項目と検鏡対象プランクトン

海域		広島湾	周防灘			豊後水道・別府湾・宿毛湾			浦ノ内湾
担当県		広島県	山口県	福岡県	大分県(浅海)	大分県(上浦)	愛媛県	高知県	高知県
調査点数		1	1	1	1	1	1	1	1
観測層(m)		0.5, 5, B-1	0.5, 5, B-1	0.5, 5, B-1	0.5, 5, B-1	0.5, 10	0.5, 10	0.5, 10	0.5, 10
調査回数		4	4	4	4	4	4	4	4
観測分析項目	水温	○	○	○	○	○	○	○	○
	塩分	○	○	○	○	○	○	○	○
	透明度	○	○	○	○	○	○	○	○
	NH4-N	○	○	○	○	○	○	○	○
	NO2-N	○	○	○	○	○	○	○	○
	NO3-N	○	○	○	○	○	○	○	○
	PO4-P	○	○	○	○	○	○	○	○
	クロロフィルa	○	○	○	○	○	○	○	○
DO	○	○	○	○	○	○	○	○	
検鏡対象 プランクトン (100倍濃縮)	<i>Karenia mikimotoi</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
	<i>Chattonella antiqua</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
	<i>Chattonella marina</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
	<i>Chattonella ovata</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
	<i>Cochlodinium polykrikoides</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
	<i>Heterosigma akashiwo</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
	<i>Heterocapsa circularisquama</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
珪藻類	○	○	○	○	○	○	○	○	
PCR解析 対象 プランクトン	<i>Karenia mikimotoi</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
	<i>Chattonella spp.</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
	<i>Cochlodinium polykrikoides</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
	<i>Heterosigma akashiwo</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
<i>Heterocapsa circularisquama</i>	○	○	○	○	○	○	○	○	





図2 宇和島湾内の調査定点 (◇は重点調査点 U6), 気象観測所 (○は気象庁宇和島特別地域気象観測所), および須賀川河口位置 (黒矢印)

表5 生物モデルで実施したケース実験. Control は平成 30 年度に実施したケース, Case 1～5 は, 淡水流入に伴う希釈の影響 (1 層目は豪雨中の 7/6～8, 2 層目以深は豪雨中から豪雨後の 7/6～15), 豪雨前から豪雨中 (7/3～8) および豪雨前から豪雨後 (7/3～) の鉛直移動不調, 増殖停止, 強光の影響をそれぞれ加味したケース

	希釈の影響 (1 層目 : $0.4 \text{ d}^{-1}$ 2 層目～ : $0.15 \text{ d}^{-1}$ )	鉛直移動不調 (下降時 : $0.2 \text{ m/h}$ )	増殖停止	強光の影響 ( $>1000 \mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ で死亡率 $0.1 \text{ h}^{-1}$ )
Control	×	×	×	×
Case 1	○	×	×	×
Case 2	○	豪雨前～中	×	×
Case 3	○	豪雨前～中	豪雨前～中	豪雨前～中
Case 4	○	豪雨前～後	豪雨前～後	×
Case 5	○	豪雨前～後	豪雨前～後	豪雨前～後

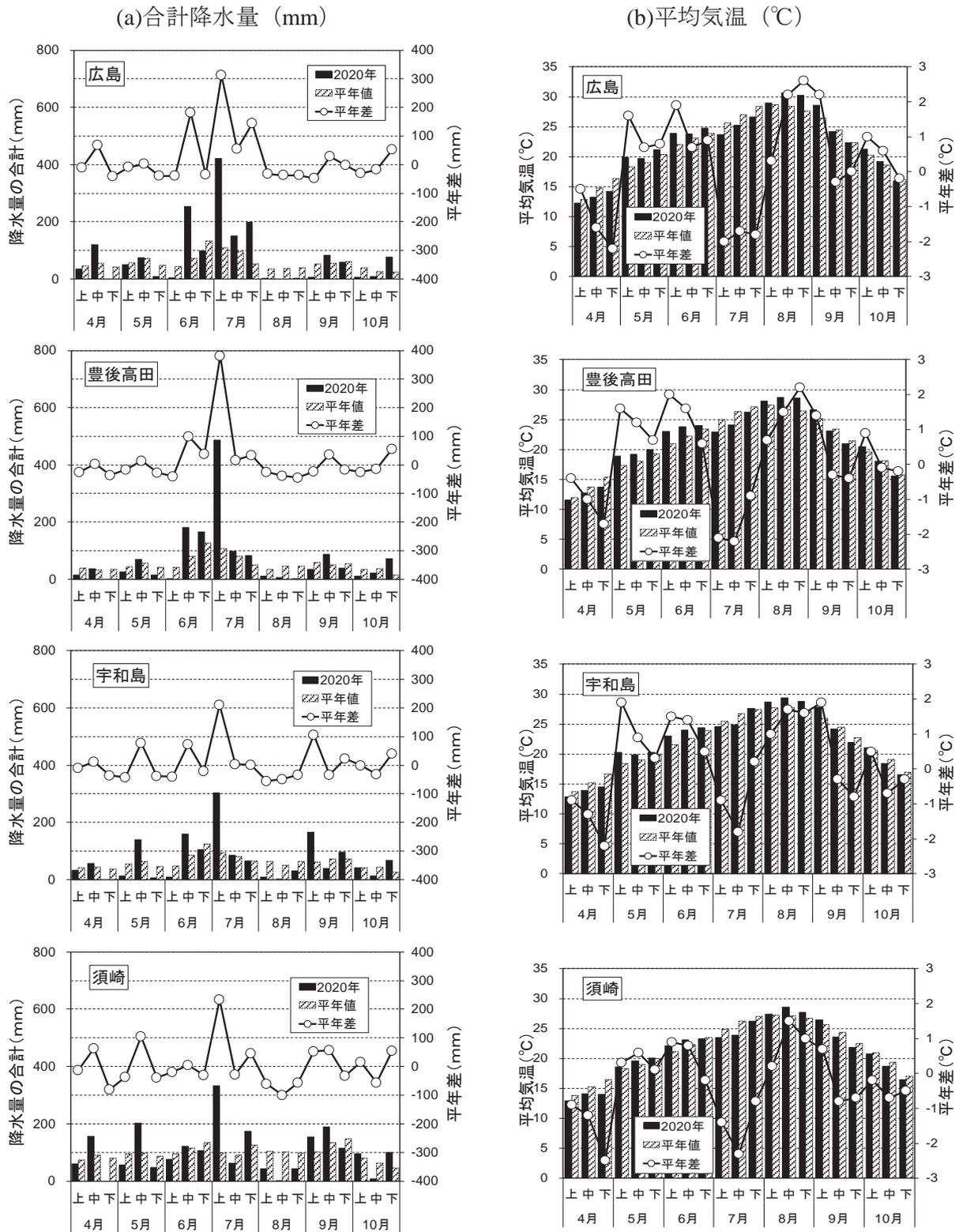


図 3-1 旬別の(a)合計降水量, (b)平均気温, (c)合計日照時間, (d)平均風速, 各項目の平年値および平年差の推移

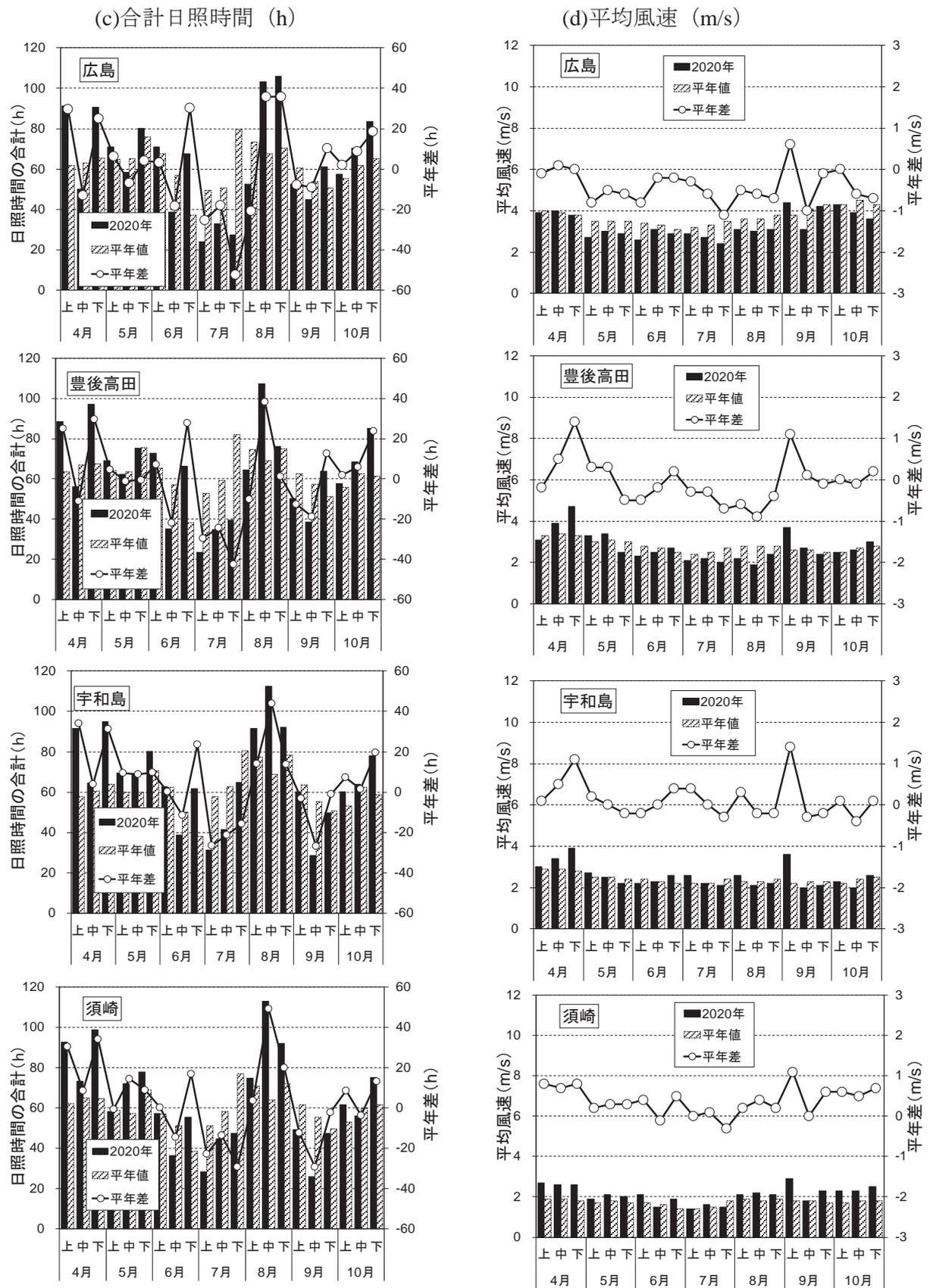


図 3-2 旬別の(a)合計降水量, (b)平均気温, (c)合計日照時間, (d)平均風速, 各項目の平年値および平年差の推移