

図 8 に第 2 回（対照区 2）の試験結果を示した。溶存酸素濃度は開始時に 9.7 mg/L と高く、通気によって徐々に低下して 7.0~7.1 mg/L で安定した。クロロフィルは試験開始時に 32~34 µg/L であったが、試験開始後 10~24 分後にかけて一旦減少したのち、その後は 30 µg/L 前後で変動していた。ブリ稚魚は試験開始 30~46 分後にかけて供試した 5 尾すべてがへい死した。ブリ成魚については稚魚よりも遅れて異常がみられた。試験開始 55 分後~1 時間 25 分後にかけて供試した 4 尾すべてがへい死した。

図 9 に第 3 回（高濃度酸素試験区）の試験結果を示した。この試験区が高濃度酸素区の試験である。溶存酸素濃度は開始時に 28.9 mg/L と高く、その後の連続通気によって 1 時間分ほどかけて徐々に低下して 34 mg/L 前後で安定した。クロロフィルは試験開始時に 37 µg/L 前後であったが、試験開始後 50 分ほどかけて徐々に減少して 29 mg/L 前後となり、その後は 25~30 µg/L の範囲で変動していた。ブリ稚魚は試験中異常なく遊泳しており、ブリ稚魚とブリ成魚のいずれも、試験終了時の 2 時間 6 分後まで全尾生残した。

図 10 に全試験区における、ブリ稚魚と成魚の生残率の推移を示した。対照区 1 と 2 を比較すると、対照区 2 において、死亡時間がやや遅延する現象がみられたが、これは対照区 2 の試験密度が対照区 1 よりも 20%ほど低いことと、電動ポンプで注水されたため、*C. antiqua* の細胞が変形して魚毒性が低下したことが推定される。実際現地に持ち込んだ携帯型顕微鏡で対照区 2 の海水を船上で検鏡したところで、尾部の短小化を引き起こした個体が全体の 3 割ほど含まれていたことを確認している。次に稚魚よりも成魚で死亡時間が遅延した理由について考察する。一般的に、ブリは稚魚よりも成魚で赤潮プランクトンへの感受性が高まることが知られている（Matsuyama and Oda 2020）。今回用いたブリの稚魚は前日まで給餌飼育されていたこと、一方、成魚については、試験日まで 12 日間餌止めされていたことから、この餌止め期間の差異がへい死時間に影響したことが考えられる。また、形態異常を引き起こした *Chattonella* 細胞は魚毒性が低下することが知られているが（Matsuyama and Oda 2020）、今回高濃度酸素の発生装置として用いた水中ポンプは小型でキャビテーション発生が弱かったせい、7 割ほどの細胞が通常形態を保っていたことから、対照区 1 と対照区 2 の間で、魚毒性の大きな差異に繋がらなかったものと思われる。

高濃度酸素区の試験では、ブリの異常行動が全く認められず、通常海水で遊泳しているように、ゆっくりと水槽内を巡回している状態で、背側の黒化も試験終了時まで全く観察されなかった。試験終了時に通常海水に換水しても状態に変化は見られなかったことから、致死濃度の 28 倍もの *C. antiqua* に 2 時間曝露されたにも拘わらず、何ら傷害を受けていない状況であった。通常ブリの養殖場でここまで高濃度の赤潮海水が流入することは滅多にない現象なので、溶存酸素の濃度（救命のためには 14~15 mg/L 以上の酸素濃度が必要）を確保できる条件であれば、ほとんどの *C. antiqua* 赤潮発生時でも出荷サイズのブリを救命できることが実証された。

3) 酸素供給装置の効果検証

専門家からの指摘に基づき、フォームジェットによるナノバブルが、直接赤潮プランクトンに影響する可能性について検討した。通常ナノバブル発生装置は、駆動部に水中ポンプ、ナノバブル発生装置内では、キャビテーションとコアンダ効果^{*}による物理的刺激が発生する。酸素ポンペを用いた試験では、溶存酸素濃度自体は、50 mg/Lまで *C. antiqua* や *K. mikimotoi* の細胞密度減少、遊泳率の低下、細胞形態の異常などを引き起こさないことを確認している（OP27 株や NGU04 株を用いた試験の場合）。そこで、培養された *C. antiqua* と *K. mikimotoi* を用いて、細胞の残存率について室内試験で調べた。試験に用いた *C. antiqua* と *K. mikimotoi* は、過年度までに確立された強毒株（*C. antiqua* 有明海産、株番号 OP27、*K. mikimotoi* 大村湾産、株番号 NGU04）である。拡大培養のため、試験管で継代培養されている元株（水温 22 度、14hD:10hD で培養）を第 1 段階として 300 mL のフラスコで培養し（120 mL 容）、第 2 段階は 250 mL の培養液が入ったシビンに対して、フラスコ培養された株を 15~20 mL 滅菌ピペットで計量しながら必要本数接種し、これらを試験に必要な本数並べて 22 °C で培養した。継代培養から拡大培養まで、すべて MS-SNF 培養液（Kim et al. 2019）を使用した。拡大培養条件は、温度 22°C、塩分 30 psu、光強度 100 $\mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$ 、明暗条件 14hL:10hD である。

次に高濃度酸素発生試験について述べる。上述の大量培養された *C. antiqua* と *K. mikimotoi* 株（接種後 8~9 日目の定常期前期の藻体を使用）を終濃度それぞれ 498 cells/mL および 905 cells/mL となるよう GF/C ろ過海水で希釈して曝露試験に使用した。試験容器は容量 120 L のタンクに希釈した培養液を一旦収容した。対照区はろ過海水とした。試験は希釈された赤潮プランクトンを含む海水を吸引し、装置駆動後、最初の 30 L の流出水を廃棄し、その後パンプライトに処理水を受けたのち、溶存酸素濃度と吸引前と後のそれぞれの細胞密度を顕微鏡下で計数した。

表 2 および表 3 に試験結果を示す。対照区のろ過海水（溶存酸素濃度 7.1 mg/L）では、処理海水の溶存酸素濃度が 30.5 mg/L まで上昇した。*C. antiqua* 含有海水については、溶存酸素濃度は対照区よりも高い 36.0 mg/L となった。装置の前後の細胞密度の変化から、生細胞の残存率は 67% となっていた。残存細胞の形態は尾部がやや折れ曲がっているものの、短小化などはほとんどみられなかった。*K. mikimotoi* の試験区では、溶存酸素濃度は対照区とほぼ同じ 30.6 mg/L となった。装置の前後の細胞密度の変化から、生細胞の残存率は 97% となっていた。残存細胞の形態は処理前後で全く変化がみられなかったが、処理後の細胞で遊泳率が一時的に停止していた（数分で遊泳再開した）。

同じ電動ポンプを用いた八代海の試験では、試験中クロロフィル蛍光値の大きな変化がみられなかったため、今回得られたワンパスで 67% の残存率は変形しやすい培養株で得られた結果であり、恐らく天然細胞を用いるとこの残存率はもっと高くなっていた可能性が高い。過年度の伊万里湾における試験結果をみると、*K. mikimotoi* では細胞の破裂や形態変化

はみられないにも拘わらず、ブリの稚魚に対する高い救命効果がみられていることから、本装置による延命効果のほとんどが、物理的なアジテーションによる細胞の殺滅あるいは魚毒性低下ではなく、高濃度の酸素が存在することによる延命効果が主体であると判断された。

本年度、ブリの致死濃度の 28 倍の *Chattonella* 赤潮密度であっても、出荷サイズのブリを救命し、しかも鰓の傷害が発生しなかったことを実証できた。過年度は珪藻類を主体とした海水で溶存酸素濃度の上昇が抑制される減少を観察したが、少なくとも *Chattonella antiqua* と *Karenia mikimotoi* ではこうした抑制作用は認められなかった。このことから、漁業被害を与える赤潮プランクトン発生時に、酸素濃度の上昇が抑制されるというリスクはないことが確認できた。今後、実際の養殖規模の生簀のブリを救命するためには、装置の大型化など解決すべき課題もあるが、フォームジェット方式の高濃度酸素発生装置は大型のものまでラインナップが揃っているため、実現可能性は低くない。本技術による救命効果が非常に高いことが証明されたため、コストなども含めて、最終年度に試算を行うこととする。高濃度酸素発生装置を船舶あるいは台船に掲載し、目的地まで移動して筏の側で酸素発生装置を稼働させる場合、運用コストとして電源供給が課題となる。赤潮の発生期間中 24 時間稼働させることはコストやメンテナンスの関係上現実的ではないので、クロロフィル濃度を監視して、魚類の致死濃度になったら稼働させ、救命に必要な 15 mg/L の酸素濃度に達したら運転を停止するなどの間欠運転により、電源装置のガソリン消費量を抑制することが望ましい。あるいは、陸から電源を引くことが可能な場所であれば、そこに発生装置を係留し、発生させた高濃度酸素水をホースなどで生簀の内部に注水することで、発電機の搭載が不要となるので、様々なケースを想定して試算を行う予定である。

※キャビテーション：空洞現象ともいう。ポンプ、水車、船などのプロペラで、翼面上を流れる水が加速されることによって水の静圧が局部的に飽和蒸気圧以下に低下し、その部分の水が小気泡となって蒸発する現象。圧力が再び上昇して気泡が急激に凝縮・壊滅するとき、大きな衝撃的圧力が発生し、振動・騒音が生じる。

※コアンダ効果：流体が物体の表面を流れるとき、物体の表面外形へ貼りつくように沿って流れる現象。

引用文献

松山幸彦, 永江 彬, 栗原健夫, 中野昌次, 橋本和正, 坂本達也, 長副 聡, 藤浪祐一郎, 堀田卓朗, 吉田一範, 野田 勉, 河野芳巳, 太田耕平, 松原孝博, 清水園子. 1) 有害プランクトンによる魚介類へい死機構解明. 平成 28 年度漁場環境・生物多様性保全総合対策委託事業 赤潮・貧酸素水塊対策推進事業「九州海域での有害赤潮・貧酸素水塊発生機構解明と予察・被害

防止等技術開発 4. シャットネラ等の魚介類への影響, 毒性発現機構の解明」報告書, 2017; 157-174.

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, 赤潮共同研究機関, 広島. 2020; 337-347.

Kim D, Wencheng L, Matsuyama Y, Cho K, Yamasaki Y, Takeshita S, Yamaguchi K, Oda T.

Extremely high level of reactive oxygen species (ROS) production in a newly isolated strain of the dinoflagellate *Karenia mikimotoi*. *Eur. J. Phycol.* 54(4), 2019; 632-640

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.

表1 八代海で発生した赤潮時の現地救命試験の実施回数と試験条件

試験回次 (時間)	試験区名	採水 通気方法	<i>Chattonella antiqua</i> 細胞密度 (開始時)	ブリ試験尾数
第1回 (10:01~11:03)	対照区1	無攪拌 通常空気	3,009 cells/mL	稚魚: 5 成魚: 3
第2回 (12:00~13:26)	対照区2	ポンプ 通常空気	2,485 cells/mL	稚魚: 5 成魚: 4
第3回 (14:06~16:12)	高濃度酸素 区	ポンプ 高濃度酸素	2,696 cells/mL	稚魚: 5 成魚: 4

表2 ワンパスによる細胞残存率

<i>Chattonella antiqua</i>	67%
<i>Karenia mikimotoi</i>	96%

表3 溶存酸素濃度の変化

ろ過海水	7.1 → 30.5 mg/L
<i>Chattonella antiqua</i>	7.3 → 36.0 mg/L
<i>Karenia mikimotoi</i>	7.2 → 30.6 mg/L



図1 高濃度酸素発生装置一式



図2 *Chattonella antiqua* 赤潮の発生状況およびブリ救命試験の実施場所

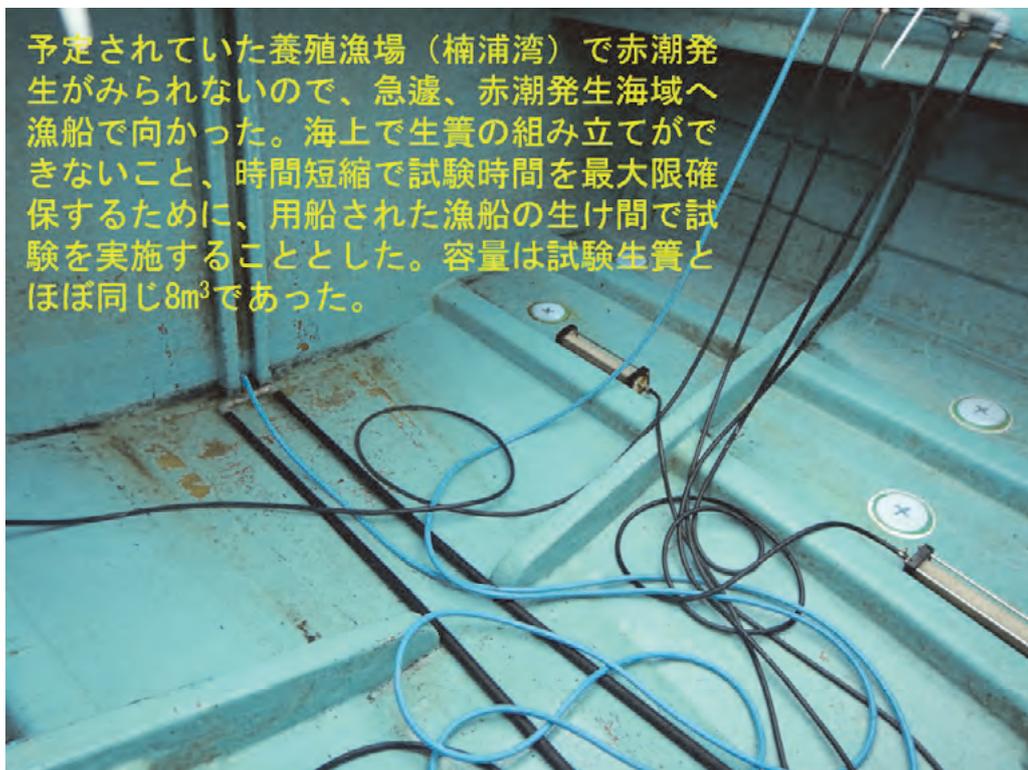


図3 試験を実施した活魚運搬船の生け間

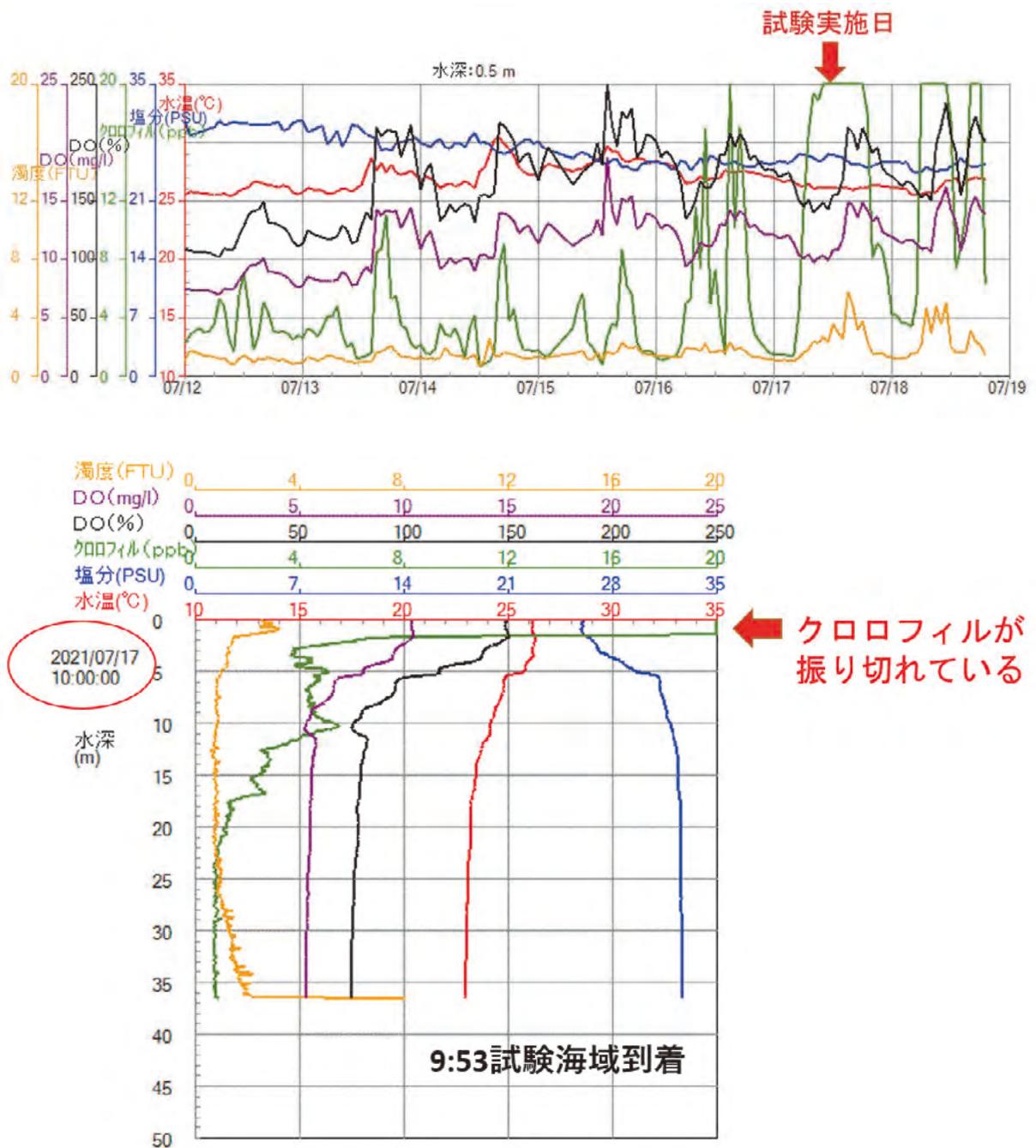


図4 八代海姫戸ブイにおけるクロロフィル濃度の経時変化および鉛直プロファイル