

令和 4 年度
北海道赤潮対策緊急支援事業のうち
漁場環境改善緊急対策事業

事業報告書

令和 6 年 3 月

北海道赤潮対策緊急支援事業共同研究機関

令和4年度 漁場環境改善緊急対策事業 事業報告書

目次

1. 研究開発の概要	1
(1) 目的	1
(2) 研究開発課題と実施体制	1
2. 研究開発の結果	3
(1) 赤潮のモニタリング及び予察の技術開発	3
ア 効率的・効果的なモニタリング手法の開発	3
イ 海洋環境・衛星画像等からの予察技術開発	17
(2) 赤潮による深い水深への影響等に関する調査	31
ア 赤潮原因プランクトンの鉛直方向への動態	32
イ 原因プランクトンの深場に生息する生物への影響評価	35
ウ 原因プランクトンの海底到達の可能性の検証	43
エ 原因プランクトンの越冬細胞生残条件の検討	52
オ 他種プランクトンとの競合関係の解明	56
成果の概要	60
(3) 開発された技術の移転	63
ア 赤潮原因プランクトン同定作業技術研修会等の開催	63

1. 研究開発の概要

(1) 目的

令和3年9月に北海道太平洋海域で発生した大規模有害赤潮は、根室、釧路、十勝、そして日高に至るまでの広い海域において、ウニやサケなどの有用水産生物に大規模なへい死を引き起こした。令和4年9月末時点で漁業被害総額は90.7億円となり、地域を担う沿岸漁業に壊滅的な打撃を与えた。このような開放海域における甚大な赤潮被害の発生は我が国で例がなく、早急に赤潮発生の機序と有害な原因プランクトンの実態を把握し、漁業被害を軽減する対策を構築する必要がある。

地方独立行政法人北海道立総合研究機構（以下、道総研）、国立研究開発法人水産研究・教育機構（以下、水産機構）、北海道は、令和3年度北海道赤潮対策緊急支援事業により、赤潮発生に影響する海洋物理条件の解析や海洋環境情報の収集解析による赤潮予察手法の検討、赤潮原因プランクトンの生理生態特性情報整理や有用水産生物への有害性の解明、被害実態整理による有害赤潮プランクトンの注意・警戒基準の検討に取り組んだ。しかし、これらの研究開発は未だ途上にあり、効率的・効果的なモニタリング体制や方法の確立、原因プランクトンの移送や海底における栄養細胞の越冬の可能性、原因プランクトンが出現した際の初動対策などについて、さらに研究を進める必要がある。

そこで、本事業では、効率的・効果的なモニタリング場所や回数等に係る手法の構築、深場など特異な環境下における被害発生機序を検討、赤潮の再発生に関わるシストや越冬細胞の存在の有無の確認、および原因プランクトンの迅速な検出、それによる赤潮への早期対応に備えたモニタリング技術の技術移転の促進を目的として実施した。

(2) 研究開発課題と実施体制

本事業は、水産庁の委託により、道総研、水産機構、北海道で構成する「北海道赤潮対策緊急支援事業共同研究機関」が実施する。本事業の実施内容には、(1) 赤潮のモニタリング及び予察の技術開発、(2) 赤潮による深い水深への影響等に関する調査、(3) 開発された技術の移転の3つの中課題を設定した。また、(1) には2つの小課題（ア 効率的・効果的なモニタリング手法の開発、イ 海洋環境・衛星画像等からの予察技術開発）、(2) には5つの小課題（ア 赤潮原因プランクトンの鉛直方向への動態、イ 原因プランクトンの深場に生息する生物への影響評価、ウ 原因プランクトンの海底到達の可能性の検証、エ 原因プランクトンの越冬細胞生残条件の検討、オ 他種プランクトンとの競合関係の解明）、(3) には1つの小課題（ア 赤潮原因プランクトン同定作業技術研修会等の開催）を設定して取り組むこととした。

研究開発課題と分担

研究開発課題	研究開発の分担
(1) 赤潮のモニタリング及び予察の技術開発 ア 効率的・効果的なモニタリング手法の開発 イ 海洋環境・衛星画像等からの予察技術開発	北海道立総合研究機構、水産研究・教育機構、北海道 北海道立総合研究機構、水産研究・教育機構、名古屋大学（再委託）
(2) 赤潮による深い水深への影響等に関する調査 ア 赤潮原因プランクトンの鉛直方向への動態 イ 原因プランクトンの深場に生息する生物への影響評価 ウ 原因プランクトンの海底到達の可能性の検証 エ 原因プランクトンの越冬細胞生残条件の検討 オ 他種プランクトンとの競合関係の解明	水産研究・教育機構 水産研究・教育機構、北里大学（再委託） 水産研究・教育機構、北海道立総合研究機構 水産研究・教育機構 水産研究・教育機構、九州大学（再委託）
(3) 開発された技術の移転 ア 赤潮原因プランクトン同定作業技術研修会等の開催	北海道、北海道立総合研究機構、水産研究・教育機構

2. 研究開発の結果

(1) 赤潮のモニタリング及び予察の技術開発

ア 効率的・効果的なモニタリング手法の開発

【担当機関・所属・担当者】

道総研中央水産試験場：西田芳則、有馬大地、安永倫明、稲川亮、宮園章

道総研函館水産試験場：板谷和彦、秋野秀樹、藤岡崇、木村俊介

道総研釧路水産試験場：嶋田宏、石田良太郎、澤村正幸、園木詩織、安東祐太郎、深井佑多佳

道総研さけます内水面水産試験場：品田晃良、春日井潔、越野陽介

水産機構水産資源研究所：黒田寛、谷内由貴子

北海道水産林務部水産振興課：佐々木剛、小笠原和重、池田聖治、大西博継、清水良典、森田恭司、清水悠人

北海道渡島総合振興局渡島地区水産技術普及指導所：金濱博樹、佐野晃平

北海道渡島総合振興局渡島北部地区水産技術普及指導所：蜜谷法行、小西哲弥

北海道胆振総合振興局胆振地区水産技術普及指導所：一ノ瀬寛之、須貝英仁

北海道日高振興局日高地区水産技術普及指導所：富安俊、下山信克、稲村明宏、船木周平

北海道十勝総合振興局十勝地区水産技術普及指導所：林浩之、熊谷孝輝

北海道釧路総合振興局釧路地区水産技術普及指導所：松尾謙人、朝倉健

北海道根室振興局根室地区水産技術普及指導所：小石辰馬、三浦裕人、北山安信、品田済

【目的（全体計画）】

Karenia selliformis の出現を効率的・効果的に把握するモニタリング手法を検討する。加えて、赤潮を形成した *K. selliformis* が沿岸部で長期間増殖・維持できたことについて、底質中の間隙水の影響を把握する。

【方法】

①太平洋沿岸 10 海域における赤潮プランクトンモニタリング及び海洋環境調査

2023 年 6 月から翌年 1 月にかけて、*Karenia selliformis* 及び *K. mikimotoi* の出現状況を把握するため、津軽海峡から根室海峡に至る 10 海域の沿岸域において（図 1）、検鏡用の採水を実施した。採水層は表面と深度約 10 m である。採水回数は基本的に月 1 回とし、2021 年に赤潮が発生した日高西部から根室太平洋に至る 5 海域においては、7 月から 12 月の採水回数を月 4 回とした。また、採水時には海面から海底までメモリー CTD（Conductivity Temperature Depth）により、深度 1 m 毎の水温、塩分、溶存酸素量、クロロフィル *a* 濃度、濁度の観測を行った。加えて、日高東部から根室太平洋に至る 4 海域においては、2023 年 6 月から翌年 1 月にかけて、上記深度約 10 m から採水した海水を珪

藻類細胞数の計数、栄養塩分析に供した。なお、上記赤潮プランクトンモニタリング及び海洋環境調査の調査地点は基本的に 1 海域 1 地点だが、十勝海域においては、外部有識者の要望により、大津沖と大津漁港の 2 地点とした。

カレンシア属の同定、珪藻類細胞の計数、栄養塩濃度の分析を株式会社エコニクスに委託した。

②太平洋沖合域における赤潮プランクトン、海洋環境調査

太平洋沖合域における *Karenia selliformis* の出現状況を把握するため、2023 年 7 月に図 2 に示す黒丸の調査点において、顕鏡用の採水を実施した。採水層は海面と深度 10 m である。調査期間は道南太平洋が 7 月 27 日～29 日、道東太平洋が 7 月 25 日～29 日で、道南太平洋では函館水試所属金星丸、道東太平洋では釧路水試所属北辰丸を用いて調査を実施した。採水した海水 500 mL をニュークリポアメンブレンフィルターで 5 mL まで濃縮し、それに片野液 5 mL を加えて固定し検鏡用のサンプルとした。サンプルを冷蔵保存の後、実験室にて倒立顕微鏡を用いて種同定および計数を行った。また同時に珪藻類の細胞数をカウントした。

太平洋における水塊分布、海洋熱波の発生状況を調べるため、図 1 に示す調査全点において CTD 観測を実施した。また、栄養塩、クロロフィル *a* 濃度の鉛直分布を把握するため、図 1 に示す P34 地点において栄養塩、クロロフィル *a* 濃度分析のための採水を実施した。採水層は基準層の 0 m、10 m、20 m、30 m、50 m、75 m、100 m、125 m、150 m、200 m とした。栄養塩のサンプルについては冷凍保存後、オートアナライザーにより、硝酸態窒素、亜硝酸態窒素、アンモニウム態窒素、リン酸態リン、ケイ酸態ケイ素の含有量を分析した。また、Trilogy を用いてクロロフィル *a* 濃度を測定した。

③大津沖合および大津漁港における底質の間隙水調査

2023 年 9 月 6 日に、大津漁港と沖合の水深 20 m 地点において（図 3）、表面水と海底直上水および底質の間隙水を採集した。表面採水はバケツ、直上水は横型バンドン採水器を着底させて採水した。底質の間隙水はスミスマッキンタイヤ型グラブサンプラーで底質をとり、間隙水採集器（図 4）を使っておおよそ底質表面から 5 cm までの間隙水を採集し、底質分析用のサンプルも採取した。沖合地点の間隙水は船上でサンプラーから回収した。港内の間隙水は底質の粘りが強く、その場で間隙水回収が困難だったため、底質表面から約 5 cm までの底質をビニール袋に取り冷蔵保存したのち実験室に持ち帰り、間隙水採集器を用いて回収した。この際、ビニール袋の上から揉み込むことで底質を均質化した。表面水、直上水、間隙水および底質のサンプルは分析まで -40℃で凍結保存した。栄養塩はオートアナライザー（QuAAtro II）により、硝酸態窒素、亜硝酸態窒素、アンモニウム態窒素、リン酸態リン、ケイ酸態ケイ素の含有量を分析した。底質は含水率、強熱減量および泥分率を測定した。

【結果および考察】

①太平洋沿岸 10 海域における赤潮プランクトンモニタリング及び海洋環境調査

赤潮の発生を早期に察知して漁業被害の軽減を図るため、これまでの調査研究から得られた知見をもとに、北海道と道総研中央水産試験場が共同で、具体的な注意喚起を行う際の基準となる *Karenia selliformis* 出現細胞密度や関係機関等の役割を示した監視体制、具体的な被害防止対策等を示した「北海道太平洋海域における有害赤潮の発生予察及び監視に関する行動計画」を 2023 年 8 月に策定し、道の HP に掲載するとともに、関係する市町村や漁業協同組合へ周知した。今後も継続して行われる研究によって得られる新たな知見を取り込みながら、*K. selliformis* の出現を効率的・効果的に把握するモニタリング手法の構築を図る。

また、これまでの培養株を用いた増殖特性や環境応答について解析した結果から、*K. selliformis* が 10℃以上で増殖可能となり、増殖至適範囲は 15～20℃であることが分かった。このことから、効率的な監視を行うため、これまでのモニタリングで得られた水温データをもとに、モニタリング計画を見直し、2024 年 6 月からは、水温が 10℃を超える 6 月から 11 月までの間に限定して、海域監視を行うこととする。

2022 年度の赤潮プランクトンモニタリングでは、*K. selliformis* は全ての海域で検出されなかったが、*Karenia mikimotoi* は 7 月～9 月に低い細胞密度で検出された（7 月下旬に根室太平洋海域で 0.1 cells/mL、十勝海域で 0.1 cells/mL、8 月上旬に釧路海域で 0.1 cells/mL 及び 0.3 cells/mL、9 月下旬に日高東部海域で 0.1 cells/mL）。2023 年度は、*K. mikimotoi*、*K. selliformis* とともに全ての海域で検出されなかった。

2023 年度における海域毎の月別表面水温、塩分の経時変化をそれぞれ図 5、図 6 に示す。表面水温は①津軽海峡を除き、5 月までは 10℃を下回っており、概ね各海域とも 8 月から 10 月にかけて 17.5～22.5℃で推移し、12 月以降に 10℃を下回る傾向であった。表面塩分の経時変化から、①津軽海峡は、周年に渡って暖流系の影響下にあり、②噴火湾湾口から④胆振東部にかけては、4 月から 9 月まで親潮の影響下にあったが、10 月からは一転し、暖流系の影響下となった。一方、⑦十勝では、5 月と 11 月を除き、周年に渡って親潮の勢力下にあった。⑧釧路から⑩根室海峡に至る海域の 8 月から 11 月にかけての高塩分化は、基本的には宗谷暖流変質水が道東沿岸流として岸沿いを流れたものと推察された。

2023 年度における珪藻類細胞数密度、栄養塩濃度（無機態窒素、リン酸態リン、ケイ酸態ケイ素）の経時変化を図 7 に示す。珪藻類細胞数密度は、概ねどの海域においても 7 月～8 月が高く、9 月頃から低下する傾向にあった。珪藻類細胞数密度が 10³ 細胞/mL 以上になると渦鞭毛藻類の増殖を抑制すると考えられているが、7 月から 8 月にかけてはその指標値を上回る海域が多かった。

2023 年度における各海域の栄養塩濃度は、無機態窒素、リン酸態リン、ケイ酸態ケイ素とともに、概ね 7 月～8 月が低く、9 月から徐々に高くなる傾向にあった。ただし、歯舞においては、9 月以降の栄養塩濃度が他の海域ほど高くなることは無かった。

次に、2023 年の珪藻類細胞数密度の経時変化を 2022 年のそれと比較する（図 8）。前述したように、2023 年の珪藻類細胞数密度は、各海域ともに、7 月～8 月に高く 9 月から低下する傾向にあったが、そのような変化傾向は 2022 年にも共通して認められた。ただし、珪藻類細胞数密度が低下を開始する時期は、各海域共通して、2022 年よりも 2023 年の方が約 1 ヶ月早かった。

2022 年と 2023 年の無機態窒素濃度の経時変化を図 9 に示す。2023 年の無機態窒素濃度は、各海域ともに、7 月～8 月が低く、9 月以降徐々に高くなる傾向にあったが、そのような変化傾向は 2022 年にも共通して認められた。また、11 月～12 月における無機態窒素濃度の最大値はえりも沖、大津沖では両年ともに $10.7 \mu\text{M}$ ($=0.15 \text{ mg/L}$) 以上を記録したが、厚岸沖、歯舞のそれは $10.7 \mu\text{M}$ ($=0.15 \text{ mg/L}$) 以上になることは無かった。

以上のことをまとめると、道東太平洋の珪藻類細胞数密度は夏季に高く、秋季から冬季にかけて低くなる。ただし、細胞数密度が低下を開始する時期には年による差がみられた。一方、栄養塩濃度は、珪藻類細胞数密度の経時変化とは逆で、夏季に低く、秋季から冬季にかけて高くなる。また、その時期の栄養塩濃度は道東太平洋の東部海域よりも西部海域で高くなる傾向にあった。

②太平洋沖合域における赤潮プランクトン、海洋環境調査

2023 年 7 月に太平洋で実施した調査では、全ての観測点において、*K. selliformis* の出現は認められなかった（図は省略）。2022 年も本調査海域には *K. selliformis* は出現していない。*K. selliformis* は北太平洋の亜寒帯域に存在し、道東沿岸流に取り込まれたため、2021 年夏季に道東太平洋の沿岸域で赤潮が発生したと考えられた（西田、2024）。2 年連続して *K. selliformis* の出現を確認できなかったことから、同種の北太平洋亜寒帯域における分布数は極度に低いと考えられる。

2023 年 7 月下旬における 100 m 深水温、海面水温偏差の水平分布を図 10 に示す。100 m 深水温 5°C 以下を親潮の指標とすると（横内ら、1992）、道東太平洋では調査海域のほぼ半分を親潮が占めている。また、水温 6°C 以上の暖水が調査海域の南方から波及している。水温偏差は総じて正であり、水温は平年よりも $2\sim 5^{\circ}\text{C}$ 高い。この水温偏差の分布を 100 m 深水温のそれと比べると、水温は親潮域で $2\sim 3^{\circ}\text{C}$ 、暖水が分布する海域で $4\sim 5^{\circ}\text{C}$ 高いのがわかる。すなわち、 $4\sim 5^{\circ}\text{C}$ の水温偏差は暖水の移流が原因で、大気からの加熱による水温上昇は $2\sim 3^{\circ}\text{C}$ 程度と考えられる。

次に、太平洋海域の成層状況を調べるため、海面と深度 30 m の密度差の水平分布を図 11 に示す。比較のため、赤潮が発生した 2021 年 7 月における密度差の水平分布も併せて示す。2023 年 7 月における道東太平洋沿岸側の密度差は $1.5\sim 2.5 \text{ kg/m}^3$ で、2021 年における沿岸側の密度差とほぼ同じであった。2021 年は夏季の強い成層構造が赤潮発生を助長したと推察されているが（Kuroda and Setou, 2021）、2023 年も 2021 年と同様に赤潮に適した海洋構造が形成されていたことがわかる。

太平洋における珪藻類分布密度の水平分布を図 12 に示す。前述した密度成層の状況を反映してか、海面、深度 10 m とともに、出現密度は沖合を中心に 1~10 細胞/mL と低かった。ただし、釧路沖、えりも沖の沿岸側では、渦鞭毛藻の増殖抑制の指標（今井、2012）となる珪藻類密度が 10^3 細胞/mL を超える地点がみられている。

P34 地点における水温、塩分の鉛直分布を図 13 に示す。水温の鉛直分布から、海面から深度 20 m までは成層が強く、水温は深度 20 m から下方にかけて徐々に低下し、深度 100 m 以深では 5°C 以下であった。塩分の鉛直分布では、34.2~34.3 の塩分極大が深度 20~40 m にかけてみられ、深度 100 m 以深の塩分は 33.3~33.4 であった。水塊特性から、塩分極大を形成している水塊は黒潮系北上暖水、深度 100 m 以深のそれは親潮系水である。したがって、P34 は親潮系水中の深度 20~40 m の亜表層を中心に黒潮系北上暖水が流入した水塊構造になっている。深度 40~100 m の水塊は黒潮系北上暖水と親潮系水の混合水と考えられる。

次に、P34 地点におけるクロロフィル *a* 濃度、硝酸態窒素濃度の鉛直分布を図 13 に示す。クロロフィル *a* 濃度は、深度 20 m では $1.8\mu\text{g/L}$ であったが、それ以外の深度では $1.0\mu\text{g/L}$ 以下であり、全体的に低い。硝酸態窒素濃度は、海面と深度 10 m では $3\mu\text{M}$ 以下であったが、深度 20 m では約 $10\mu\text{M}$ まで急増し、深度 20 m から下方にかけてはほぼ直線的に増加した。ここで興味深いのは、海面から深度 20 m までは、前述した黒潮系北上暖水の流入も相まって、強い密度成層が形成されており、海面と深度 10 m のクロロフィル *a* 濃度と硝酸態窒素濃度が極度に低いことである。このことは、成層が強いと物質循環は成層内で完結することを示している。すなわち、珪藻は成層内の硝酸態窒素を利用し細胞を維持するが、硝酸態窒素を使い切ってしまうと、やがて細胞を維持できなくなり死滅する。2021 年に大規模な赤潮が形成された前提条件として、渦鞭毛藻の競合種である珪藻類の死滅が考えられるが、その死滅を誘引する物理機構の 1 つに密度成層の強化が考えられる。また、深度 20~40 m に分布する黒潮系北上暖水の硝酸態窒素濃度が $10\sim13\mu\text{M}$ と高いことも興味深い。この水塊は黒潮系といえども黒潮と親潮の混合域から派生しているので、栄養塩濃度はある程度高いのかもしれない。このことについては、今後の課題としたい。

③大津沖合および大津漁港における底質の間隙水調査

③-1 採集地点と採集時の状況

大津漁港は十勝川河口に隣接する漁港で、河川水が直接港に浸入しないように港口が南に開いている。沖合水深 20 m 地点は十勝川河口の南東に位置し、河川水の影響を強く受ける。採集日は十勝沿岸にしてはうねりが小さかったが、1.5~2.0 m 程度のうねりがあった。河川から流出したと思われる草や木の枝などの浮遊物も散見された。沖合地点では底質採集を試みたものの、粗い粒子を含む砂質だった。少し沖合に移動したところ、泥質の場所に遭遇したため、そこで採集した。うねりの大きい砂浜の海岸線をもつ海域では砂紋

が形成され、その凹凸形状によって底質が変化するものと思われた。河川由来の泥は砂紋の凹部に溜まりやすいのかもしれない。

③-2 底質の粒度組成、水分含量および強熱減量

底質の分析結果を表 1 に示す。沖合地点の底質は水分含量 59%、強熱減量 9%、泥分率 39%であった（表 1）。測定はしなかったが、沖合の底質は灰色で硫化水素臭はほとんどなかったのに対し、港内の底質は黒色で硫化水素臭があった。港内の底質は水分含量 38%、強熱減量 4%および泥分率 48%であった。沖合の底質は港内より有機物が多かった（強熱減量高い）のは常に河川からの供給があり、比較的攪乱を受けやすいためかもしれない。港内の底質は嫌気的な環境で、泥分が高く有機物が少ないのは底質への有機物供給が表面に限られ、下層での嫌気的な有機物分解が進んでいるためと考えられる。

③-3 間隙水の栄養塩濃度

間隙水の栄養塩濃度をそれぞれの地点の表面水、直上水と比較した（表 2）。沖合地点の表面水の栄養塩濃度はいずれも直上水のそれより高く、河川水の影響がみられた。間隙水は表面水よりも栄養塩濃度が高く、TN では約 4 倍の濃度があった。港内の表層水はアンモニウム態窒素を除くと直上水と同じような値であった。間隙水の栄養塩濃度は表層水、直上水よりも顕著に高く、TN では表面水の約 50 倍、直上水の約 34 倍の高濃度でそのほとんどが NH_4 であった。

以上の調査結果から、沖合 20 m 付近および港内の底質間隙水の栄養塩濃度が高いことが確認できた。*K. selliformis* は日周鉛直移動で海底に到達し、そこで溶出する栄養塩を直接吸収すれば赤潮形成への貢献の可能性があると考えられる。しかし、*K. selliformis* が栄養塩を取り得る底質の深度を海底から 1cm と想定すると、それぞれの地点の水柱に対して水深（港 3m、沖合 20m）分がそれぞれ、1/300、1/2000 に希釈されることとなるので、赤潮形成の栄養塩ソースとしての効果は限定的かもしれない。むしろ港内における *K. selliformis* の初期群集が形成を支えていた可能性がある。一方、十勝川河口付近の底質は細砂質であることが知られており（図 3）（管ら、2009）、河口周辺の海域における泥分の多いエリア（おそらく砂紋の凹部）の広がりについての知見がないため、*K. selliformis* の個体群に対する影響は不明である。

【参考文献】

今井一郎. シャトネラ赤潮の生物学. 生物研究社 2012: 184pp.

Kuroda, H.; Setou, T. Extensive marine heatwaves at the sea surface in the northwestern Pacific Ocean in summer 2021. Remote Sens. 2021, 13, 3989. <https://doi.org/10.3390/rs13193989>.

西田芳則. 2021 年北海道太平洋大規模赤潮の発生シナリオ. 北水試だより 2024; 108: 10-

横内克巳, 平井光行, 稲掛伝三, 村上眞裕美, 安田一郎, 松尾豊, 友定彰. 東北海区漁場海況概報作成マニュアル (改訂第9版). 東北ブロック水産海洋連絡会報 1992; 21: 71-73

管一哉, 嵯峨山積, 内田康人, 仁科健二. 北海道沿岸域の地質・底質環境-5-太平洋東部海域. 北海道立地質研究所調査研究報告 2009; 38: 1-37. (付 地質図)

①根室 ②石狩湾 ③根室湾 ④根室湾 ⑤根室湾 ⑥根室湾 ⑦根室湾 ⑧根室湾 ⑨根室湾 ⑩根室湾

Hokkaido

Latitude: 41, 42, 43

Longitude: 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146

Sampling locations marked with open circles (O) and solid circles (●):

- Open circles (O): OD01, OD02, OD03, OD12, OD13, OD24, OD25, OD33, OD34, OD35, OD41, OD42, DH04, DH05, DH03, DH02, DH07, PK01, PK02, PK03, PK04, PK05, PK06, PK07, PK08, PK09, PK10, PK11, PK12, PK13, PK14, PK15, PK16, PK17, PK18, PK19, PK20, PK21, PK22, PK23, PK24, PK25, PK26, PK27, PK28, PK29, PK30, PK31, PK32, PK33, PK34, PK35, PK36, PK37, PK38, PK39, PK40, PK41, PK42, PK43, PK44, PK45, PK46, PK47, PK48, PK49, PK50, PK51, PK52, PK53, PK54, PK55, PK56, PK57, PK58, PK59, PK60, PK61, PK62, PK63, PK64, PK65, PK66, PK67, PK68, PK69, PK70, PK71, PK72, PK73, PK74, PK75, PK76, PK77, PK78, PK79, PK80, PK81, PK82, PK83, PK84, PK85, PK86, PK87, PK88, PK89, PK90, PK91, PK92, PK93, PK94, PK95, PK96, PK97, PK98, PK99, PK100.
- Solid circles (●): D21, D22, D23, D24, D25, D26, D27, D28, D29, D30, D31, D32, D33, D34, D35, D36, D37, D38, D39, D40, D41, D42, D43, D44, D45, D46, D47, D48, D49, D50, D51, D52, D53, D54, D55, D56, D57, D58, D59, D60, D61, D62, D63, D64, D65, D66, D67, D68, D69, D70, D71, D72, D73, D74, D75, D76, D77, D78, D79, D80, D81, D82, D83, D84, D85, D86, D87, D88, D89, D90, D91, D92, D93, D94, D95, D96, D97, D98, D99, D100.

9

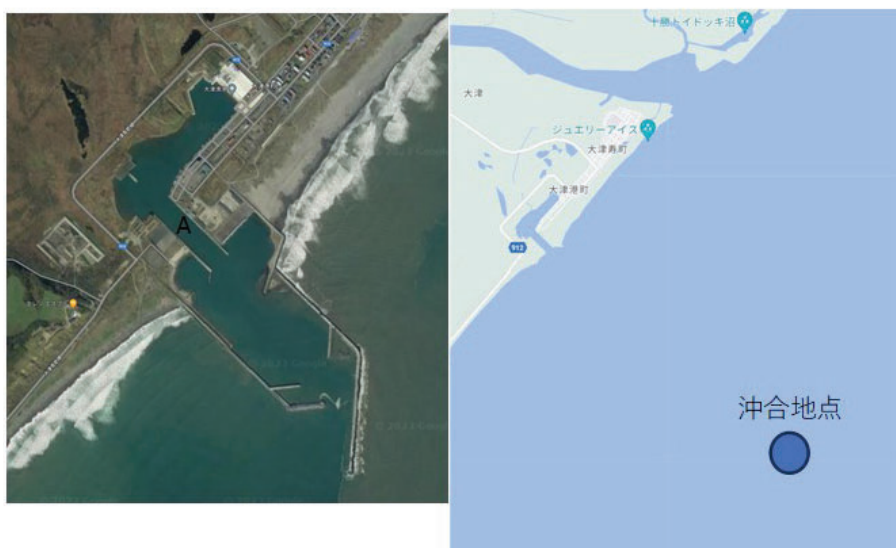


図3 調査地点 大津漁港 (A)、沖合水深 20 m (●)

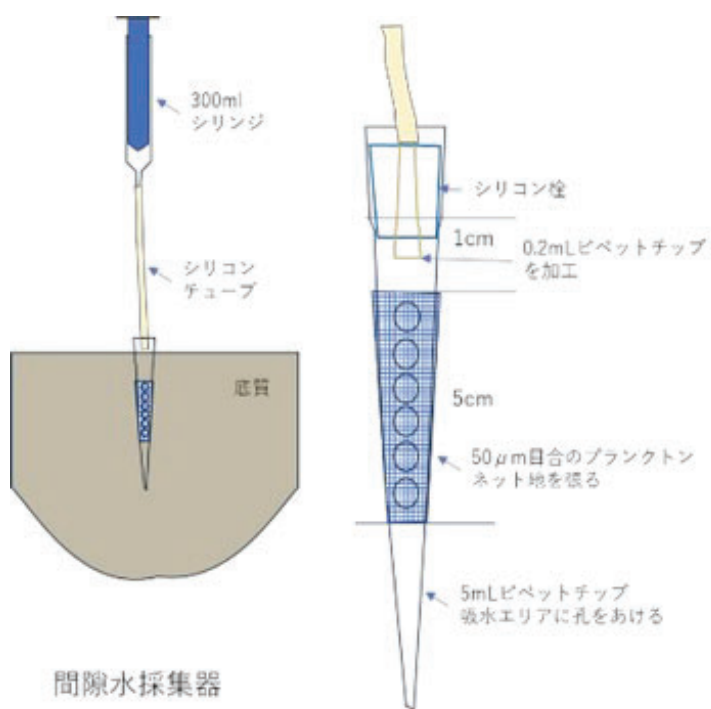


図4 間隙水採集器

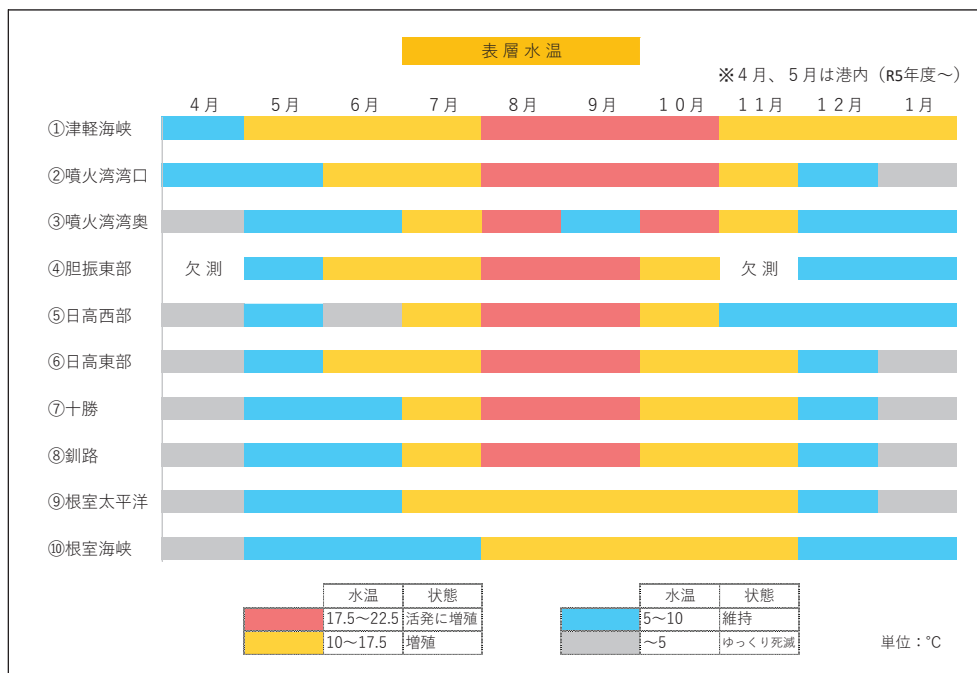


図5 表面水温

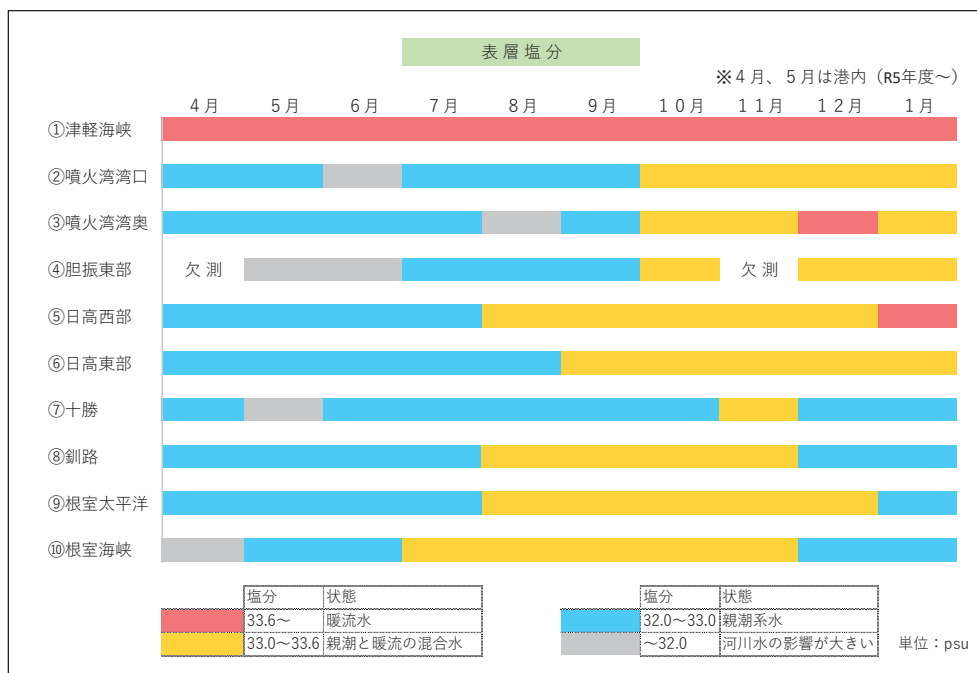


図6 表面塩分

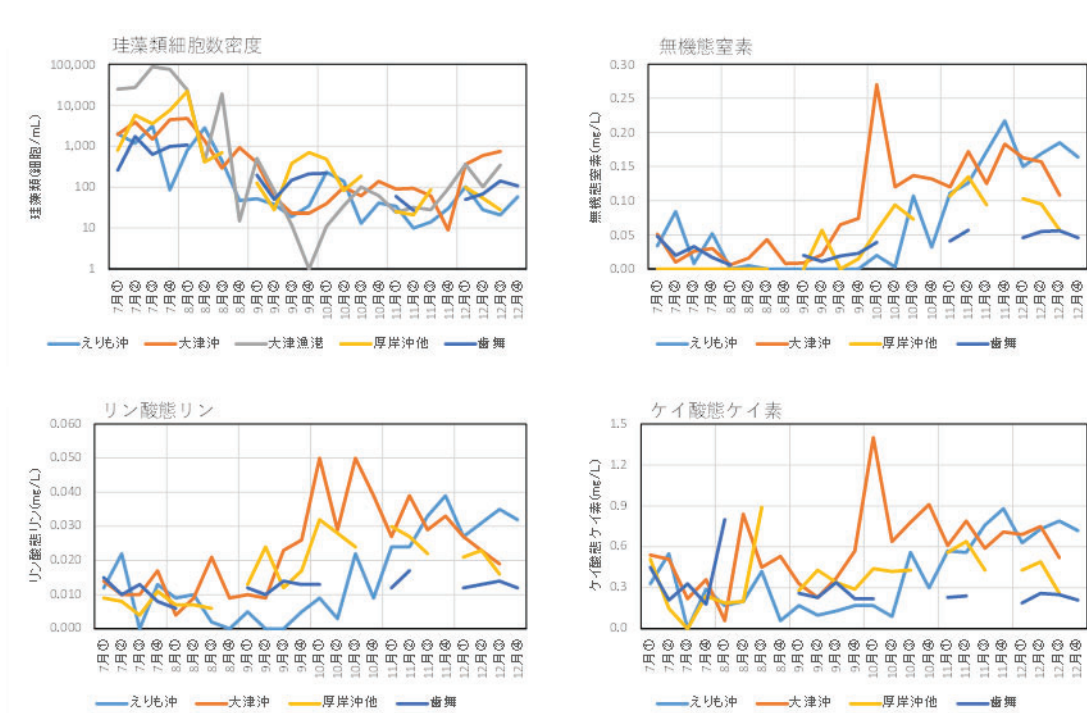


図7 珪藻類細胞数密度、栄養塩濃度の経時変化

無機態窒素は、硝酸態窒素、亜硝酸態窒素、アンモニア態窒素の合計を示す

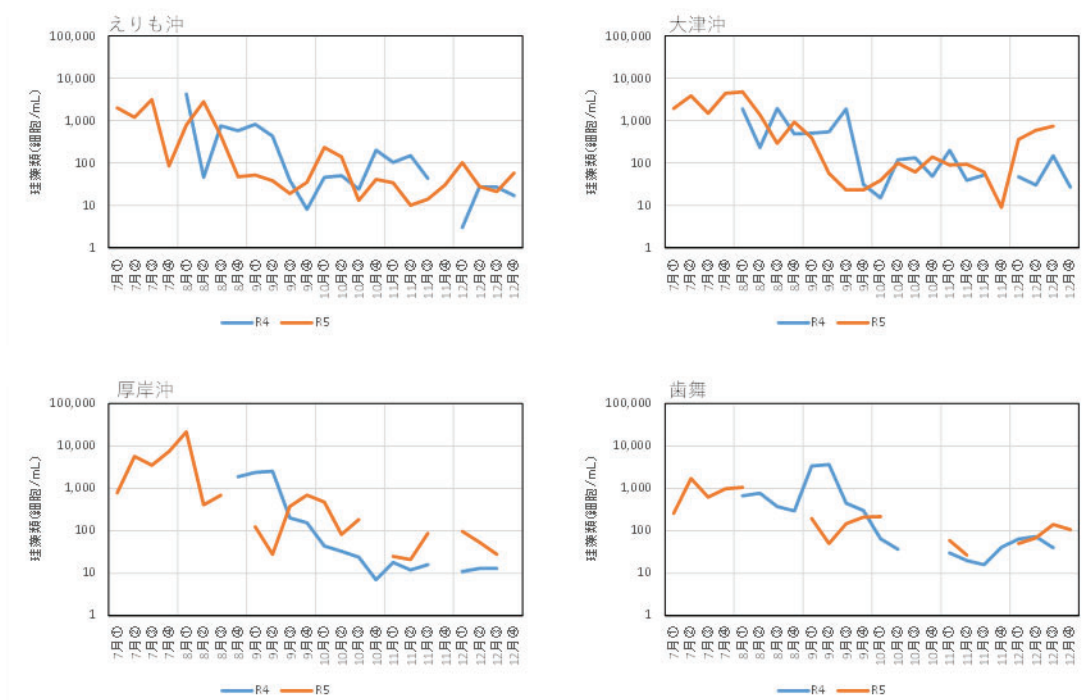


図8 2022年、2023年における珪藻類細胞数密度の経時変化

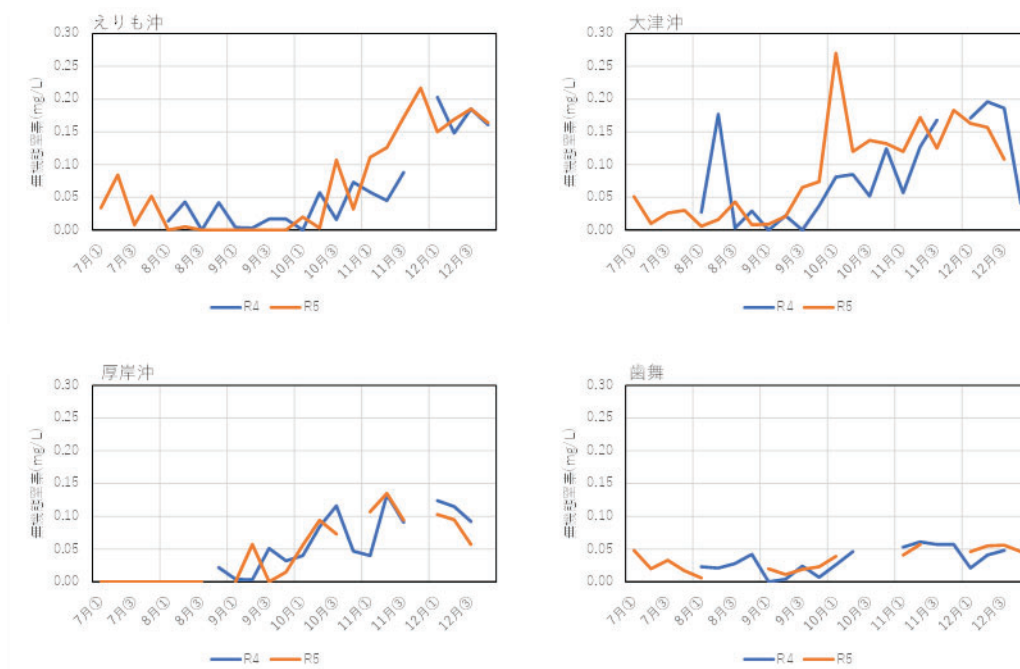


図9 2022年、2023年における無機態窒素濃度の経時変化

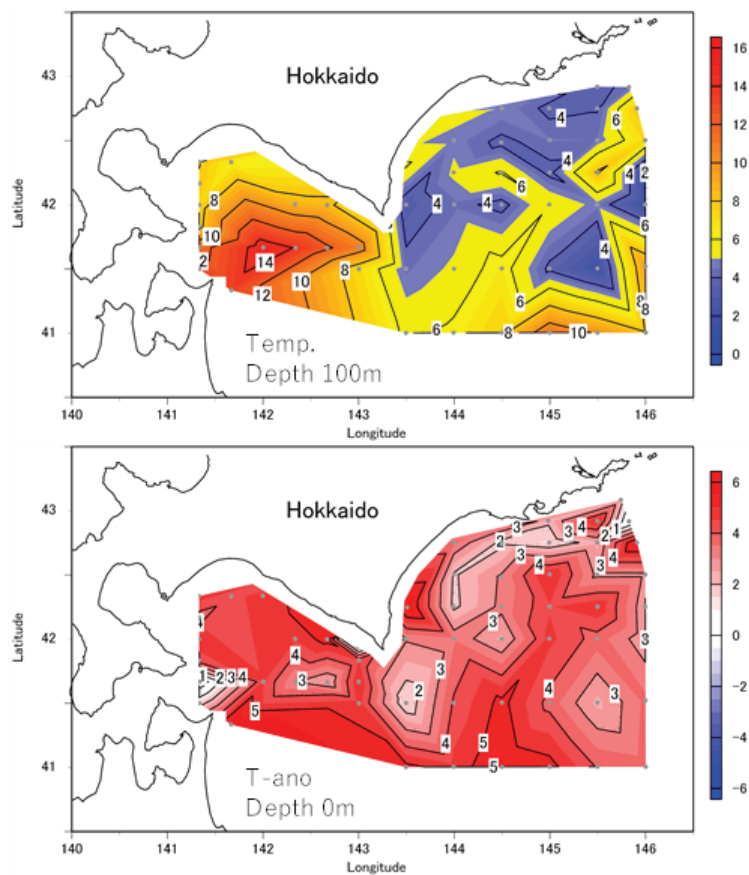


図10 2023年7月下旬の(上)100m深水温(下)海面水温偏差の水平分布

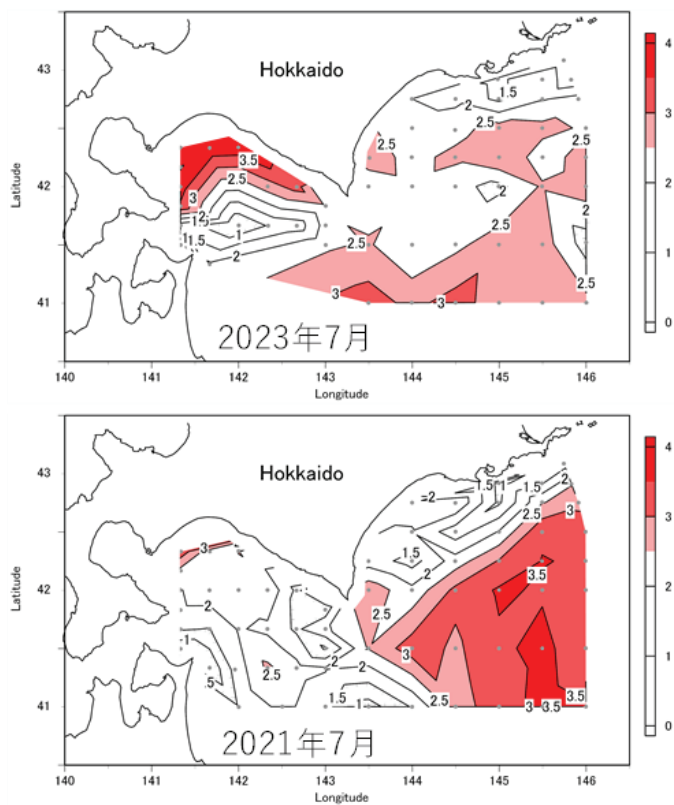


図 11 海面と深度 30 m の密度差 (上) 2023 年 7 月 (下) 2021 年 7 月

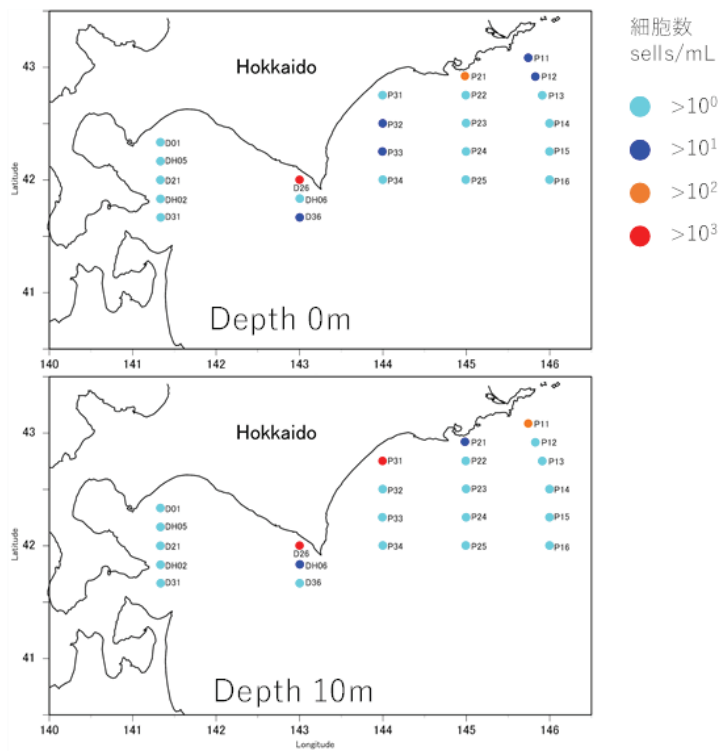


図 12 珪藻の出現状況 (上) 深度 0 m (下) 深度 10 m

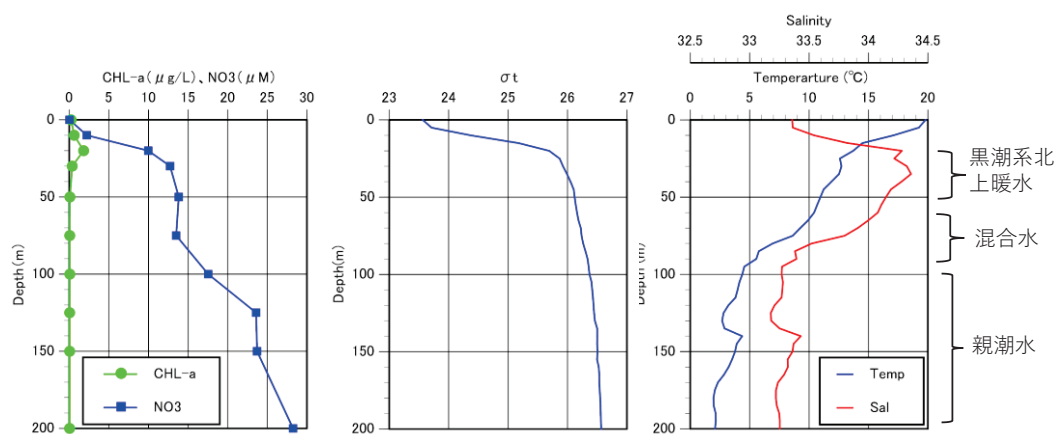


図 13 P34 における (左) クロロフィル *a* 濃度、硝酸態窒素濃度、(中) 密度、
(右) 水温、塩分の鉛直分布

表 1 底質の特徴 (単位: %W/W)

地点	水分含有率	強熱減量	泥分率
沖合20m	59%	9%	39%
港内	38%	4%	48%

表 2 表面水、海底直上水および間隙水の栄養塩濃度 (単位: μM)

地点	採水箇所	NO ₂ +NO ₃	NH ₄	PO ₄	NO ₂	SiO ₂	TN
沖合20m	表面水	21.003	3.814	-	0.423	61.796	24.817
沖合20m	直上水	0.473	0.923	0.37	0.093	13.603	1.396
沖合20m	間隙水	10.536	16.84	0.8	0.37	80.3	106.1
港内	表面水	4.68	8.8	2.55	1.17	65.48	13.48
港内	直上水	3.28	15.04	2.7	0.505	55.3	19.7
港内	間隙水	0.91	662.7	159	2.05	488.25	663.6



図 14 十勝川河口付近の海底地質

イ 海洋環境・衛星画像等からの予察技術開発

【担当機関・所属・担当者】

道総研中央水産試験場：西田芳則、有馬大地、安永倫明、稲川亮、宮園章

水産機構水産資源研究所：黒田寛、谷内由貴子

名古屋大学（再委託）：石坂丞二

【目的（全体計画）】

2021 年 9 月に北海道東部太平洋で発生した大規模有害赤潮は、サケ類やウニ類など有用水産生物の大規模なへい死を引き起こし、2023 年 12 月現在、90.7 億円の甚大な漁業被害をもたらしたと試算された。赤潮形成種の主体は *Karenia selliformis* と確認され、本種による日本国内での赤潮は初であり、かつ前例のないほど広域で発生した（Kuroda *et al.*, 2022、北海道太平洋赤潮共同研究機関, 2023）。従って、今後、*K. selliformis* による赤潮を予察する上では、従来西日本で展開されたような沿岸域中心のモニタリングだけではなく、沖合域を含めた監視も重要と考えられる。しかしながら、そのためには道東太平洋沖合広域を高頻度に観測する必要が生じるため、調査船による現場観測をベースとした沖合監視は困難である。そこで本課題は、JAXA により 2018 年に打ち上げられた高分解能 (250m) の人工衛星、GCOM-C の光学センサ (SGLI) による観測データから、カレニア赤潮を把握することを目的として、2021 年の赤潮発生時の植物プランクトン検鏡データから水塊判別アルゴリズムを作成した。また 2023 年夏季の道東太平洋沖において HPLC による植物プランクトン色素濃度と、フィルターパッド法による粒状物質と吸収係数の測定を行った。また 2023 年夏季～秋季には作成した水塊判別アルゴリズムを用いて試験的に監視を行い、実際にカレニア赤潮と判別された水塊が出現したため臨時観測を行った。

【方法】

①水塊判別アルゴリズムの作成と 2021 年大規模有害赤潮の推移

SGLI データは、JASMES にて公開されている準リアルタイム観測データを使用した (https://www.eorc.jaxa.jp/JASMES/SGLI_NRT/index_j.html)。Feng *et al.* 2020 に基づき、光の散乱指標として、波長 565 nm と 670 nm のリモートセンシング反射率から bbp-index を算出した。

$$bbp-index = \frac{R_{rs}(565) \times R_{rs}(670)}{R_{rs}(565) - R_{rs}(670)}$$

赤潮発生時の珪藻類と *K. selliformis* を主体とする *Karenia* 属渦鞭毛藻類の出現比率については 2021 年秋に顕微鏡観察によって得られた植物プランクトン計数データを用いて、衛星データとのマッチアップを行った（Kuroda *et al.*, 2022、山口ら, 2022、北海道太平洋赤潮共同研究機関, 2023）。図 2 に従い、クロロフィル *a* 濃度が 3 mg/m³ 未満の場合にはク

クロロフィル *a* 濃度と Rrs565 のデータから、低クロロフィル *a* 濃度、沿岸水、非ブルーム海水を判別した。クロロフィル *a* 濃度が 3 mg/m³ 以上で、*Karenia* 属渦鞭毛藻類が珪藻類の 10 倍以上の細胞数密度であるときは、マッチアップデータから bbp-index が常に低い（カレニア赤潮は散乱が低い）傾向が見られたため、図 1 の回帰直線式と bbp-index との大小によって、珪藻ブルーム海水とカレニア赤潮海水を判別した。なお、JASMES プロダクトのバージョンアップにより、SGLI のクロロフィル *a* 濃度 bbp-index の関係式が変わったため、回帰式を図 1 右図に修正して運用した。

②夏季の道東太平洋沖における色素分析と吸収スペクトルの測定

2023 年 7 月 25～28 日に道東太平洋沖で表面海水をバケツ採水した（図 3）。採水後、HPLC サンプルは 47mm Whatman GF/F ろ紙で 500 ml、吸収係数サンプルは 25 mm の Whatman GF/F ろ紙で 200-500 ml ろ過を行った。ろ紙は直ちに液体窒素容器内で凍結保存した。

植物プランクトンの色素分析は（株）KANSO テクノスに外注し、Van Heukelem and Thomas (2001) に従い、Zorbax Eclipse XDB- C8 column (150 mm×4.6 mm, 3.5 μm; Agilent Technologies) を取り付けた逆相 HPLC で測定し、Fucoxanthin (Fuco), Peridinin (Per), 19'-Butanoyloxyfucoxanthin (Buta), Neoxanthin, Prasinoxanthin, Violaxanthin, 19'-Hexanoyloxyfucoxanthin (Hexa), Diadinoxanthin, Alloxanthin (Allo), Zeaxanthin (Zea), Lutein, Chl.a (Chl.a, Divinyl Chl.a, Chl.a-like 1-4), Chl.b (Chl.b, Divinyl Chl.b), Chl.c (Chl.c3, Chl.c2), α-, β-Carotene の定量を行った。また、以下の Diagnostic Pigment (Uitz *et al.* 2015) を利用して、植物プランクトン群集構造を分類した。

Diagnostic pigments (DP)

$$= 1.41\text{Fuco} + 1.41\text{Per} + 0.6\text{Allo} + 0.35\text{Buta} + 1.01\text{Chl.b} + 1.27\text{Hex} + 0.86\text{Zea}.$$

$$\text{Microplankton} = 1.41 (\text{Fuco} + \text{Per}) / \text{DP}.$$

$$\text{Nanoplankton} = (0.6\text{Allo} + 0.35\text{Buta} + 1.27\text{Hex} + 1.01\text{Chl.b}) / \text{DP}.$$

$$\text{Picoplankton} = 0.86 \text{Zea} / \text{DP}.$$

吸収係数に関しては、まず 350-750 nm の間のろ紙の吸収を直接島津 MPS-2400 分光光度計で測定し、その後メタノールで植物プランクトンの色素を抽出した後に再び測定することで、植物プランクトン以外の粒子の吸収スペクトルを取得し、その差から植物プランクトンの吸収スペクトルを計算した (Kishino *et al.*, 1985, Mitchell, 1990, 平澤ら, 2001)。また、光路長拡張 (Cleaveland and Weidemann, 1993) とろ過量の補正を行い、光吸収係数のスペクトルとした。

③令和 5 年夏季～秋季の道東太平洋沖の監視

①で作成したアルゴリズムを用いて、2023 年夏季～秋季に水塊判別を行い、カレニア赤潮が生じているか否か監視を行った。その結果、10 月中旬にカレニア赤潮と判定された水

塊が道東太平洋沿岸で確認された（図 6）。*Karenia* 属渦鞭毛藻類の出現の有無を確認し、同時にどのような植物プランクトン組成の特徴があるのか確認するために、10 月 18 日に釧路沖（AK ライン）を試験調査船北辰丸にて、大津沖を十勝地区水産技術普及指導所の協力により、臨時観測や採水・検鏡を行った。

【結果および考察】

①水塊判別アルゴリズムの作成と 2021 年大規模有害赤潮の推移

本アルゴリズムでは、便宜的にクロロフィル *a* 濃度が 3 mg/m^3 以上の水塊について、珪藻優占海域とカレニア赤潮海域の判別を行った。2021 年秋に赤潮形成した際の *Karenia selliformis* 細胞数とクロロフィル *a* 濃度の関係（Kuroda *et al.*, 2022）から、クロロフィル *a* 濃度が 3 mg/m^3 以上の水塊に注目することで、*K. selliformis* 細胞数が 100 cells/mL 以上の赤潮水塊はほぼ把握可能と考えられる。先行事業（北海道太平洋赤潮共同研究機関 2023）により、*K. selliformis* は同属種で代表的な有害赤潮原因種である *K. mikimotoi* と比較して、総じて高い有毒性をもつと報告されており、漁業被害が想定される高密度期の警戒基準として 100 cells/mL 以上が設定された。よって、直ちに漁業被害が生じる 100 cells/mL 以上の *K. selliformis* を監視する目的では、クロロフィル *a* 濃度基準を 3 mg/m^3 に設定するのは妥当な基準と考えられる。

一方で、クロロフィル *a* 濃度が 3 mg/m^3 以下の低密度状態で *K. selliformis* が道東太平洋沖合に分布し、沿岸で増殖し赤潮を形成する場合、衛星データからの検出は困難となる。これは、沿岸域では河川や堆積物由来の懸濁物や溶存有機物（CDOM）の影響を受けることで、沖合で赤潮を形成した場合より推定精度が下がるためである。沿岸域での推定精度向上は、SGLI の高い空間分解能を活用する意味でも今後の課題ではあるが、まずは顕微鏡ベースのモニタリングや、分子生物学的な検出手法など、現状の衛星観測の短所を補う形での監視体制構築が有効と考えられる。

図 5 には 2021 年 8 月～11 月の水塊判別の推移を示した。2021 年秋の道東太平洋沿岸において、現場での赤潮発生による着色や、各種漁業生物の斃死が確認されたのは 9 月中旬である（Iwataki *et al.*, 2022、Hasegawa *et al.*, 2022）。しかしながら、本事業における水塊判別では、8 月中旬～9 月上旬に国後水道～根室沖にカレニア赤潮と判定された領域が見られた。これは Kuroda *et al.* (2021) における、粒子逆追跡実験による試算とも合致するため、物理的な流れや時間スケールとも整合的と考えられる。そのため、少なくとも 8 月下旬の段階で、国後水道～根室沖にある程度増殖した *K. selliformis* (100 cells/mL 以上) が分布し、移流によって道東太平洋沿岸に輸送された可能性が高いと考えられた。今後推定精度が向上すれば、2021 年のいつ頃から増殖し、どの海域が赤潮形成に寄与していたのか、より正確な検証が可能となる。

以上の結果から、2021 年と同じ発生メカニズムで赤潮が生じる場合であれば、作成された水塊判別アルゴリズムを用いることで、事前に赤潮を検出して、漁業被害が生じる数週

間前に現場へ周知することが可能と考えられる。しかしながら、図1の現場データとのマッチアップの結果では、カレンシア赤潮時と珪藻類優占時で、明瞭な区分には至らないため、2023年のようにカレンシア赤潮ではない水塊を検出する場合もある。Siswanto *et al.* (2024)では同じく SGLI データから、全光吸収スペクトルによる赤潮水塊判別手法を報告していることから、bbp-index 以外の手法や他衛星による検証も含めた精度向上が課題である。

②夏季の道東太平洋沖における色素分析と吸収スペクトルの測定

HPLC による植物プランクトン色素分析の結果、Divinyl Chl-a, b と α -Caroten に関しては検出されなかった。Divinyl Chl-a, b は、藍藻の一種である原始緑藻類の指標色素であり、原始緑藻類がサンプリング時にこの海域にはほとんど存在しなかったことを示す。Diagnostic Pigments と全クロロフィル *a* 濃度の比較によると、両者の相関はよかった ($R^2=0.947$) が、全クロロフィル *a* 濃度が3倍近くなっていた (図6)。この理由ははっきりせず、今後検討を行う必要がある。

Diagnostic Pigments に対して、7つの指標色素で区分することができると考えられる植物プランクトンは、大型 (マイクロ) プランクトンの Fuco で表される珪藻類が 0-81.3%、Peridinin : Per で表される渦鞭毛藻類が 0-21.0%を占め、全体の色素量の増加に伴い、これらの比率は増加した (図7)。逆に小型 (ピコ) プランクトンと考えられる Zea で表される藍藻類は 1.6-51.6%で、色素量の増加に伴ってその比率は減少した。中型 (ナノ) プランクトンである Chl. b (0-45.8%), Buta (0-5.4%), Hexa (0-4.6%), Allo (0-34.9%) は全体の色素量との相関は見られなかった。植物プランクトンの全体量が多い時に大型の珪藻と渦鞭毛藻類が多く、少ない時に小型の藍藻類が多い傾向は多くの海域でみられる現象である。しかし、有害赤潮が起こる前に珪藻類の割合が少なくなる傾向があることも指摘されており、色素を利用して群集構造を把握するのも一つの手法ではあると考えられる。また、衛星リモートセンシングを利用して光学的に大まかな分類群やサイズ組成を推定する手法もあり、検証データが蓄積されれば、そのような手法を試してみるものもよい。

一方で、*Karenia* 属の渦鞭毛藻類は、他の渦鞭毛藻類のように Peridinin を持っておらず、その代わり Gyroxanthin を有していることが指摘されている (Örnólfsson *et al.*, 2003)。今回の分析では Gyroxanthin の定量は行っていないが、Zea と Chl. b の間の Gyroxanthin の位置には明瞭なピークは見られず、*Karenia* 属が生息していたとしてもあまり多くはなかったと考えられる。今後、*Karenia* 属の定量を行い、また群集構造を正確に推定するには、Gyromanthin の定量も不可欠である。

粒状物質の吸収係数のスペクトルは短波長側の青色で高く、長波長側の赤色で低かった (図8)。このうち、ほぼ波長の指数関数で表すことのできる植物プランクトン以外の粒状物質の吸収係数を除くと、430 nm と 674 nm 付近にピークを持つクロロフィル *a* 濃度を主とした吸収係数のスペクトルの形となった。しかし、植物プランクトン以外の粒状物質の吸収の大きい沿岸域を中心に、植物プランクトンの吸収係数でもまだ短波長側で大きな

っていた（図 9）。これがどのような理由によるのか、本当に植物プランクトンの短波長側の吸収が高いのかどうかを、今後検討する必要がある。一部の渦鞭毛藻類では、紫外線による細胞の活性低下を防ぐために mycosporine-like amino acids (MAAs) を生産し、それを細胞内に蓄積したり、細胞外に放出することが知られており、これを衛星リモートセンシングでの有害赤潮検知に利用する手法が提案されている（Kahru and Mitchell, 1998、Kahru *et al.*, 2021）。2021 年の衛星データでは短波長側の強い吸収ははっきりとは見られなかったが、今回 HPLC での測定の結果では沿岸域では渦鞭毛藻類もやや多く、MAAs の影響は今後検討する必要があると考えられる。

③令和 5 年夏季～秋季の道東太平洋沖の監視

①で作成した水塊判別アルゴリズムを元に、2023 年夏～秋にカレニア赤潮が発生するかどうか試験的に監視を行った。その結果、10 月 12 日、10 月 16 日に釧路～十勝沿岸でカレニア赤潮と判定される水塊が出現した。同時に、沖合には 10 mg/m³ 以上の高クロロフィル *a* 水塊が存在しており、通常の秋の道東太平洋沖ではあまり例のない現象と思われた。このような状況を受け、各関係機関に予備的な情報発信を行った上で、10 月 18 日に図 4 の調査点で臨時調査を行い、採水試料の検鏡を行った。衛星データを用いた水塊判別手法自体は西日本中心に研究例が複数存在するが（Siswanto *et al.*, 2013、Feng *et al.*, 2020）、実際の水塊判別結果を元に現場への注意喚起を行い、臨時調査により実態を把握する試みは日本国内でも数少ない事例と思われる。

臨時調査を行った 10 月 18 日には、道東太平洋全域でクロロフィル *a* 濃度が低下しており、特定の植物プランクトンによる赤潮が形成された状況とは言えなかった（図 10）。同時にカレニア赤潮と判定された水塊も規模が小さくなったことで、臨時調査点では捉えきれなかった（図 11）。表 1 の検鏡結果もそれらを反映しており、小型珪藻類や小型渦鞭毛藻類が主体で、全体的に植物プランクトン密度は低かった。一方で、大津沖 3 マイル、5 マイルでは大型渦鞭毛藻類として *Polykrikos hartmannii* という種が際立って出現した（図 12）。本種は日本国内でも赤潮形成した記録がある（平成 15 年度長崎県総合水産試験場事業報告書）。よって、2023 年 10 月については、小型植物プランクトン中心に密度も低い中で、*P. hartmannii* のような大型渦鞭毛藻類がバイオマスに優占することで、水塊判別で誤検出された可能性があると考えられた。もし *P. hartmannii* の優占海域をカレニア赤潮水塊として判定していたのであれば、珪藻類と渦鞭毛藻類の光の散乱の違いを元にした水塊分類としては十分機能していたと考えられる。

結果的に、カレニア赤潮は発生していなかったものの、図 12 の単細胞タイプの *P. hartmannii* に関しては、サイズが大型であること、多くの小さい葉緑体があること、および核が真ん中に位置する特徴が *K. selliformis* と類似していた（Iwataki *et al.* 2022）。このため、誤同定を防ぐために、臨時観測結果に加えて *P. hartmannii* の写真を添えて、直ちに関係機関や水産技術普及指導所と情報共有し、*K. selliformis* が出現した状況ではないこと

を周知した。2023 年の事例から、衛星から誤検出した要因と精度向上に向けた対応を行うとともに、各現場との情報共有体制や迅速な臨時観測に向けての体制整備が課題である。

【参考文献】

①水塊判別アルゴリズムの作成と 2021 年大規模有害赤潮の推移

Feng C, Ishizaka J, Saitoh K, Mine T, Yamashita H. A novel method based on backscattering for discriminating summer blooms of the raphidophyte (*Chattonella* spp.) and the diatom (*Skeletonema* spp.) using MODIS images in Ariake Sea, Japan. *Remote Sens.* 2020; DOI: <https://doi.org/10.3390/rs12091504>.

Hasegawa N, Watanabe T, Unuma T, Yokota T, Izumida D, Nakagawa T, Kurokawa T, Takagi S, Azumaya T, Taniuchi Y, Kuroda H, Kitatsuji S, Abe K. Repeated reaching of the harmful algal bloom of *Karenia* spp. around the Pacific shoreline of Kushiro, eastern Hokkaido, Japan, during autumn 2021. *Fish. Sci.* 2022; 88: 787–803.

北海道太平洋赤潮共同研究機関. 令和 3 年度北海道赤潮対策緊急支援事業. 赤潮の発生メカニズムの解明等による発生予察手法の開発及び新たな赤潮原因プランクトンの水産生物に対する毒性の影響等の調査 事業成果報告書. 2023; 77 pp.

Iwataki M, Lum WM, Kuwata K, Takahashi K, Arima D, Kuribayashi T, Kosaka Y, Hasegawa N, Watanabe T, Shikata T, Isada T, Orlova TY, Sakamoto S. Morphological variation and phylogeny of *Karenia selliformis* (Gymnodiniales, Dinophyceae) in an intensive cold-water algal bloom in eastern Hokkaido, Japan. *Harmful Algae.* 2022; DOI: 10.1016/j.hal.2022.102204.

Kuroda H, Azumaya T, Setou T, Hasegawa N. Unprecedented Outbreak of Harmful Algae in Pacific Coastal Waters off Southeast Hokkaido, Japan, during Late Summer 2021 after Record-Breaking Marine Heatwaves. *J. Mar. Sci. Eng.* 2021; DOI: 10.3390/jmse9121335.

Kuroda H, Taniuchi Y, Watanabe T, Azumaya T, Hasegawa N. Distribution of Harmful Algae (*Karenia* spp.) in October 2021 Off Southeast Hokkaido, Japan. *Front. Mar. Sci.* 2022; DOI: 10.3389/fmars.2022.841364.

Siswanto E, Luang-on J, Ogata K, Higa H, Toratani M. Observations of water optical properties during red tide outbreaks off southeast Hokkaido by GCOM-C/SGLI: implications for the development of red tide algorithms. *Remote Sens. Lett.* 2024; 15: 121–132.

山口篤, 濱尾優介, 松野孝平, 飯田高大. 2021 年秋季北海道太平洋沿岸における有害赤潮藻 *Karenia selliformis* の水平分布および植物プランクトンの群集構造. 水産海洋研究. 2022; 86: 41–49.

②夏季の道東太平洋沖における色素分析と吸収スペクトルの測定

- Cleveland JS, Weidemann AD. Quantifying absorption by aquatic particles: A multiple scattering correction for glass-fiber filters. *Limnol. Oceanogr.* 1993; 38: 1321–1327.
- 平澤享, 鈴木光次, 岸野元彰, 古谷研, 田口哲, 斎藤誠一, 才野敏郎, 松本和彦, 播本孝史, 佐々木宏明, 藤木徹一, 古原慎一, 柏俊行. QFT 法及び現場型水中分光吸光度計による植物プランクトンの光吸収スペクトル測定プロトコル. *海の研究*. 2001; 10(6): 471–484.
- Kahru M, Mitchell BG. Spectral reflectance and absorption of a massive red tide off southern California. *J. Geophys. R.* 1998; 103(C10), 21601–21609.
- Kahru M, Anderson C, Barton AD, Carter ML, Catlett D, Send U, Sosik HM, Weiss EL, Mitchell BG. Satellite detection of dinoflagellate blooms off California by UV reflectance ratios. *Elem. Sci. Anth.* 2021; 9(1). DOI: 10.1525/elementa.2020.00157
- Kishino M, Takahashi M, Okami N, Ichimura S. Estimation of the spectral absorption coefficients of phytoplankton in a thermally stratified sea. *Bull. Mar. Sci.* 1985; 37: 634–642.
- Örnólfsson E. B., Pinckney, J. L., & Tester, P. A. (2003). Quantification of the relative abundance of the toxic dinoflagellate, *Karenia brevis* (Dinophyta), using unique photopigments. *J. Phycol.* 2003; 39(2), 449–457.
- Uitz J, Claustre H, Morel A, Hooker SB. Vertical distribution of phytoplankton communities in open ocean: An assessment based on surface chlorophyll. *J. Geophys. R. Oceans.* 2006; 111(8): DOI: 10.1029/2005JC003207.
- Van Heukelem L, Thomas CS. Computer-assisted high- performance liquid chromatography method development with applications to the isolation and analysis of phytoplankton pigments. *J. Chromatogr.* 2001; 910: 31–49.

③令和 5 年夏季～秋季の道東太平洋沖の監視

- 平成 15 年度長崎県総合水産試験場事業報告書. 赤潮プランクトン等監視調査事業. 2003; 139-141.
- Siswanto E, Ishizaka J, Tripathy SC, Miyamura K. Detection of harmful algal blooms of *Karenia mikimotoi* using MODIS measurements: A case study of Seto-Inland Sea, Japan. *Remote Sens. Env.* 2013; 129: 185–196.

【図表】

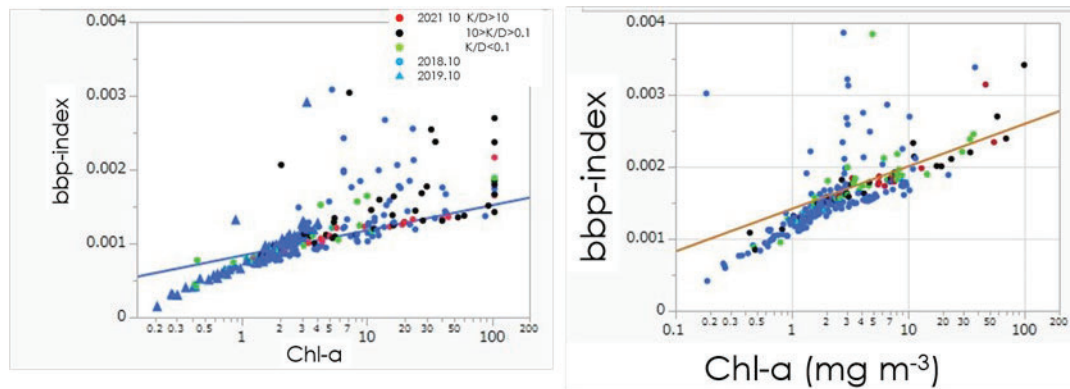


図1 珪藻類と *Karenia* 属渦鞭毛藻類の計数結果からマッチアップしたクロロフィル *a* と bbp-index の散布図と回帰直線（左：古いバージョン、右：現行バージョン）

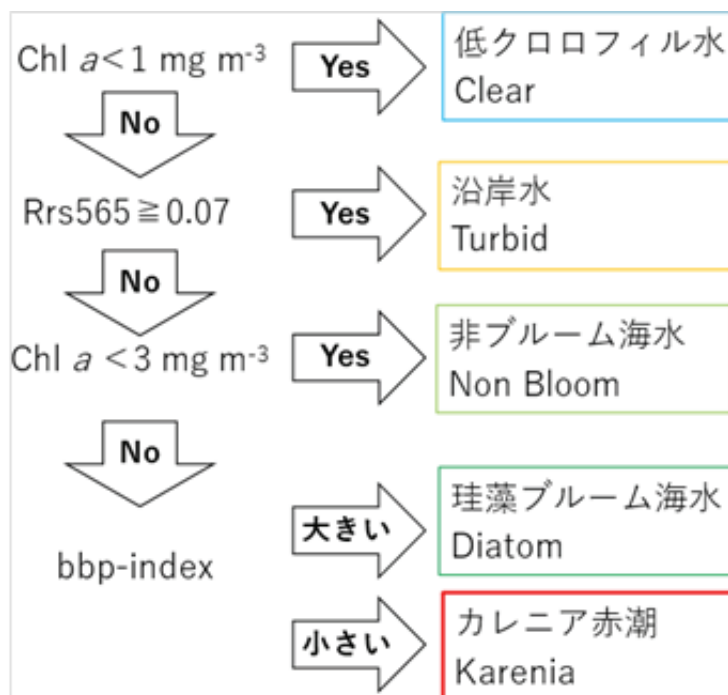


図2 水塊判別アルゴリズムの概要

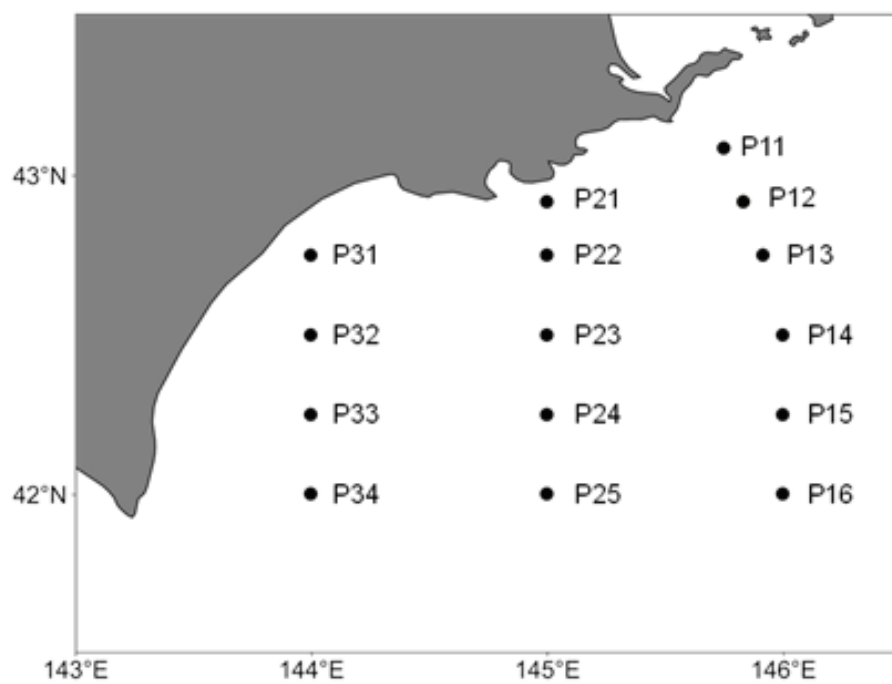


図3 HPLC、吸収スペクトル測定試料採集点

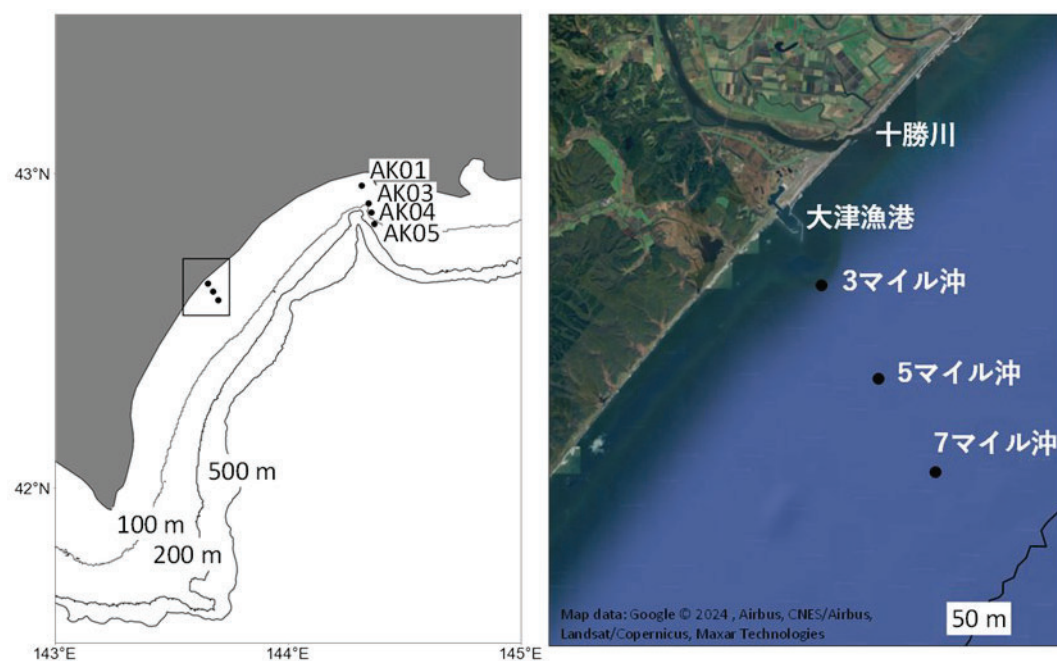


図4 2023年10月18日の臨時調査点（右：大津沖の拡大図）

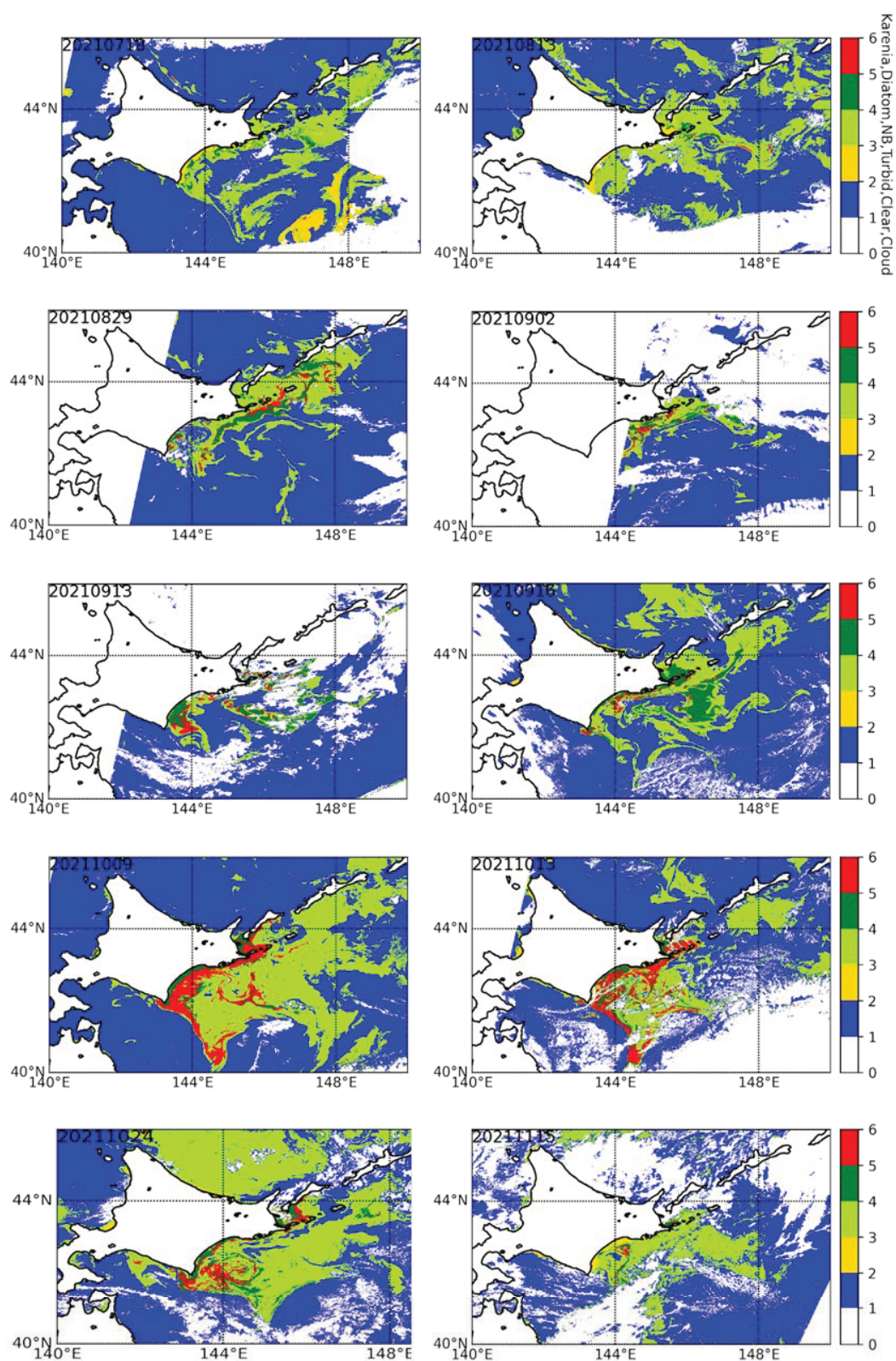


図5 2021年8月～11月の水塊判別図（赤がカレニア赤潮と推定された領域）

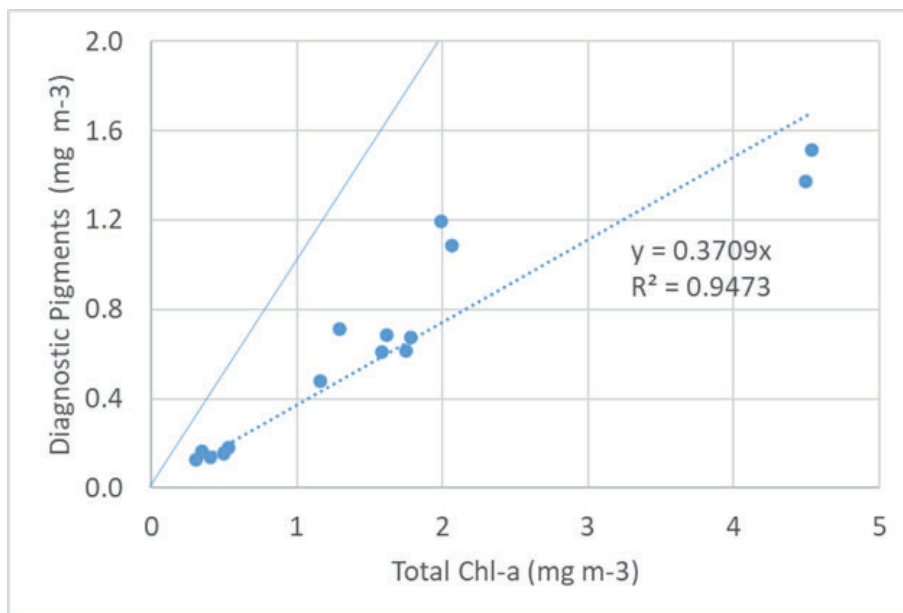


図 6 Diagnostic Pigments と全クロロフィル *a* 濃度の関係

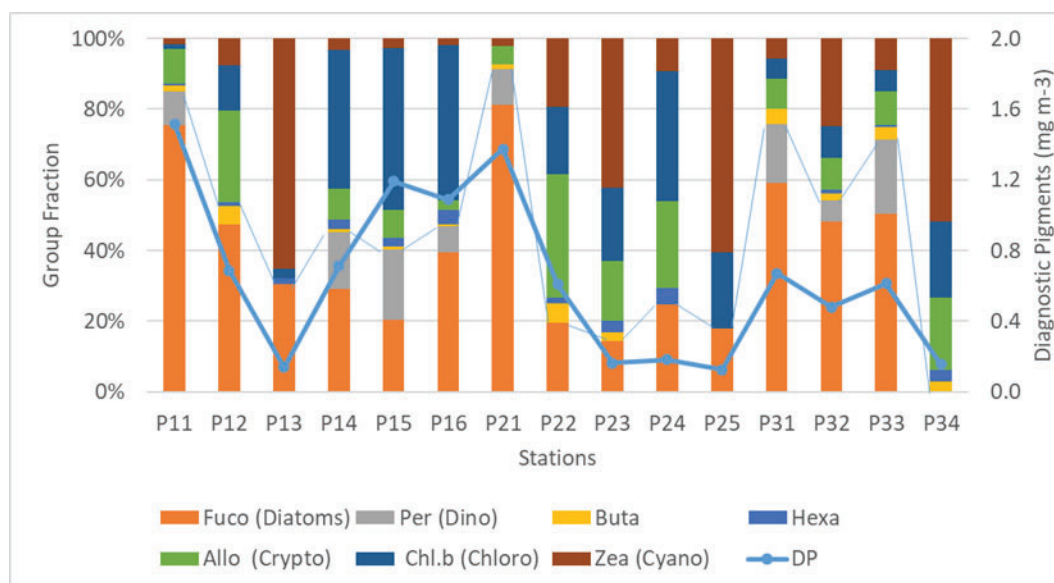


図 7 Diagnostic Pigments と各植物プランクトン分画

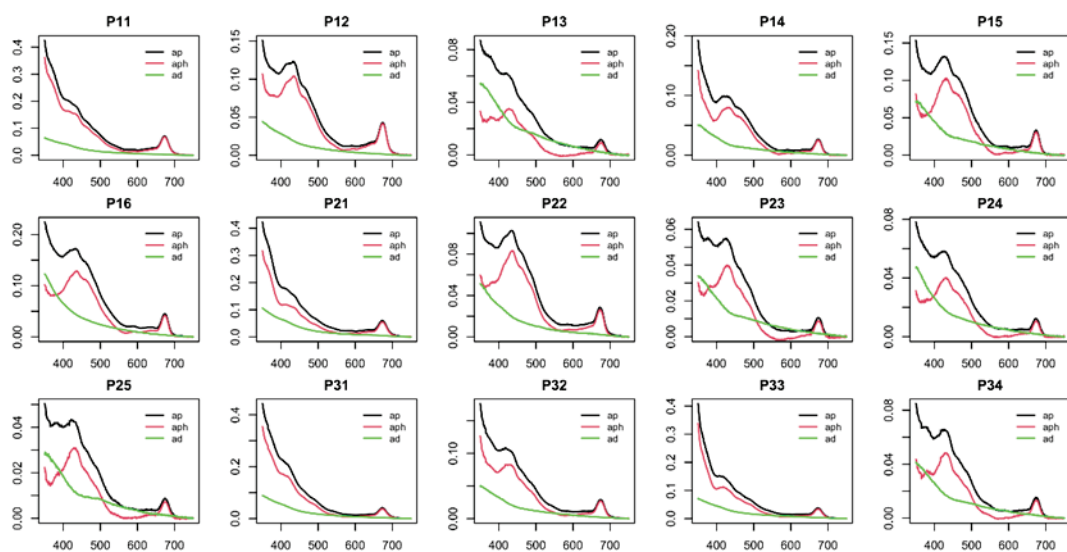


図8 全粒状物質 (a_p)、植物プランクトン以外の粒状物質 (a_d)、植物プランクトン (a_{ph}) の吸収係数スペクトル (m^{-1})

2023.08

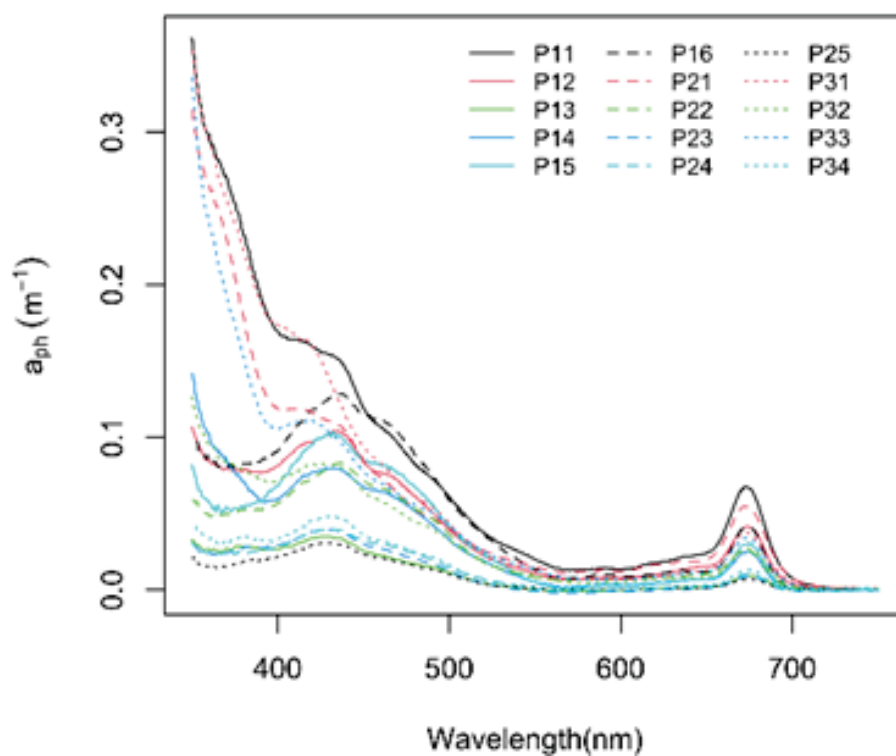


図9 植物プランクトンの光吸収係数スペクトル

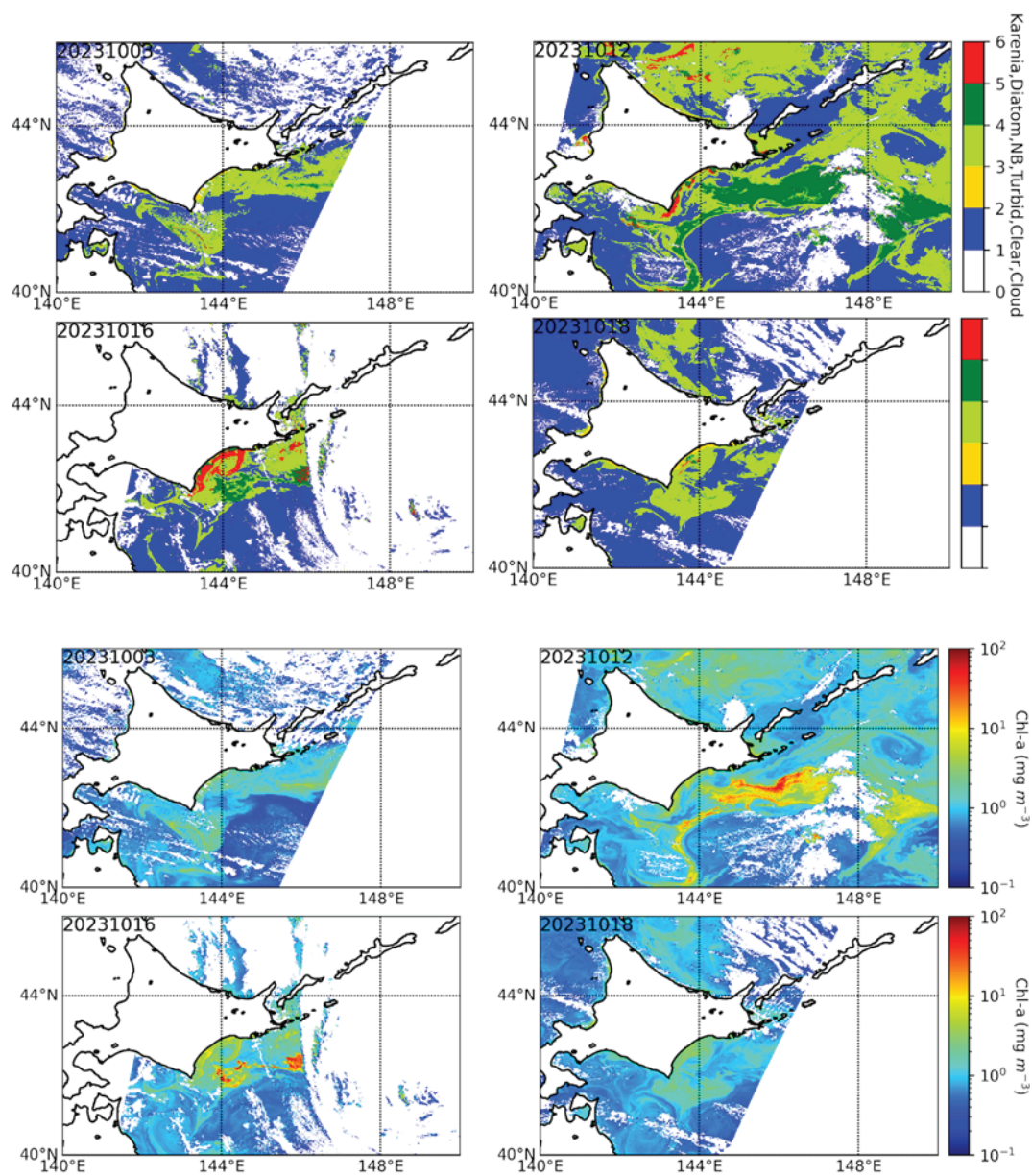


図10 2023年10月8日、12日、16日、18日の水塊判別図（上）とクロロフィル a 濃度（下）

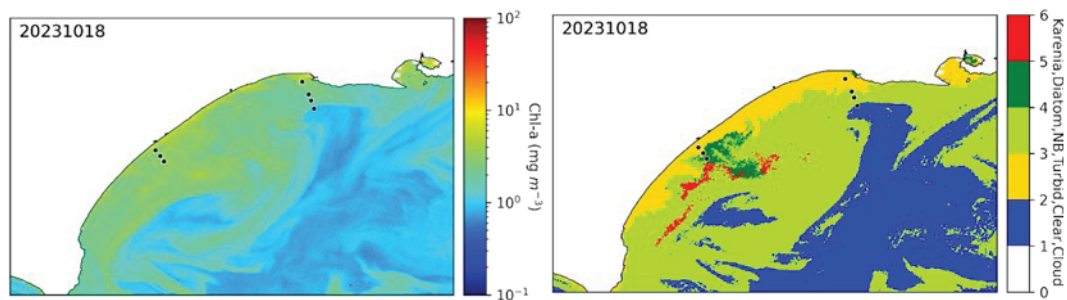


図11 2023年10月18日のクロロフィル a と水塊判別図（黒丸は臨時調査点）

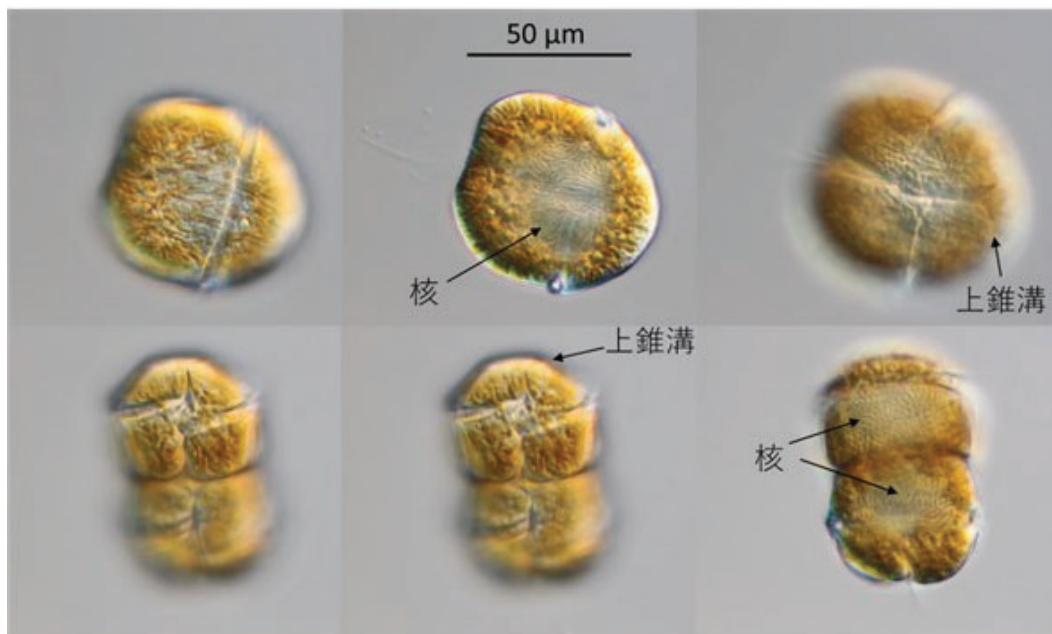


図 12 大津沖で観察された *Polykrikos hartmannii* の生細胞

表 1 2023 年 10 月 18 日の臨時検鏡結果 (単位 cells/ml)

珪藻類密度は r : 0-10 cells/ml、+ : 10-100 cells/ml

他渦鞭毛藻類には有殻無殻ともに小型種を多く含む

採水点	水深	<i>Prorocentrum</i> 属	<i>Dinophysis</i> 属	<i>Ceratium</i> 科	<i>Polykrikos hartmannii</i>	他渦鞭毛藻	珪藻	珪藻優占種	その他
AK01	0	0.2	0.1	0.1	0.6	0.6	+	<i>Thalassiosira, Thalassionema</i>	
AK01	10	0.2	0.1	0.5	0.2	0.4	+	<i>Thalassiosira, Thalassionema</i>	
AK03	0	0	0	0.2	0	0.1	+	<i>Thalassiosira, Thalassionema</i>	<i>Phaeocystis</i> 属優占
AK03	10	0.1	0	0	0	0.1	+	<i>Thalassiosira</i>	<i>Phaeocystis</i> 属優占
AK04	0	0	0	0.1	0	0.5	+	<i>Thalassiosira</i>	
AK04	10	0	0	0	0	0.2	+	<i>Thalassiosira</i>	
AK04	20	0	0	0	0	0	+	<i>Thalassiosira</i>	
AK04	30	0	0	0	0	0.1	r		
AK04	40	0	0	0	0	0	r		
AK04	50	0	0.1	0	0	0	r		
AK05	0	0	0	0.2	0.2	5.5	+	<i>Thalassiosira</i>	<i>Phaeocystis</i> 属出現
AK05	10	0	0.1	0.5	0.1	3.2	+	<i>Thalassiosira</i>	
大津3マイル	0	0.1	0.7	1	2.8	41.3	+	<i>Thalassiosira, Skeletonema</i>	
大津3マイル	10	0.3	0.6	1.5	1.9	65.6	+	<i>Thalassiosira</i>	
大津5マイル	0	0.6	1	0.6	5.8	105	+	<i>Thalassiosira</i>	濃縮作業ミスにより 実際はより高密度
大津5マイル	10	0.3	1.7	0.7	2.8	89.5	+	<i>Thalassiosira</i>	
大津7マイル	0	0.2	4.2	4.6	0.2	52.1	+		
大津7マイル	10	0.3	4	3.7	0	52.8	+		

(2) 赤潮による深い水深への影響等に関する調査

令和3年度の赤潮発生以降、ウニなど比較的浅海域に生息する魚介類への被害が大きく報告されている。また、赤潮発生現場海域では水深数十 m 以深に生息する貝類等の漁獲が激減したことや、100 m 以深のトロール調査でホシムシや貝類のへい死個体が確認された。これらのことから、比較的深い水深への、原因プランクトンの移送や海底における栄養細胞の越冬の可能性、および海底に生息する生物への有害性等について解明する必要がある。

そこで、本研究課題では、比較的深い水深への原因プランクトンの輸送や海底における栄養細胞の越冬の有無を明らかにするとともに、深場に生息する生物への有害性等について検討することにより、赤潮発生による沿岸域全体への影響の総合的な理解を深めることを目的とした。

具体的には、海流シミュレーションや現場での観測を踏まえた原因プランクトンの鉛直方向への移動について検討し、赤潮が到達すると考えられる水深について検討するとともに、海底における原因プランクトンの DNA 検出を試みて赤潮の海底到達の可能性を検証した。また、曝露試験等を通じて深場に生息するツブ類などに対する赤潮プランクトンの活性状態別の有害性評価を行った。さらに、栄養細胞の越冬の可能性や増殖過程における植物プランクトンの競合関係について室内実験によって検討した。

これらの検討は以下の5つの小課題を立てて実施した。

- ア 赤潮原因プランクトンの鉛直方向への動態
- イ 原因プランクトンの深場に生息する生物への影響評価
- ウ 原因プランクトンの海底到達の可能性の検証
- エ 原因プランクトンの越冬細胞生残条件の検討
- オ 他種プランクトンとの競合関係の解明

以下に各小課題の実施内容の詳細を報告する。

ア 赤潮原因プランクトンの鉛直方向への動態

【担当機関・所属・担当者】

水産機構水産資源研究所：黒田寛、東屋知範

水産機構水産技術研究所：紫加田知幸

【目的（全体計画）】

鉛直方向の移動を考慮した原因プランクトンの三次元的な輸送についてシミュレーションを行い、深い水深への原因プランクトンの輸送の可能性について検討する。

【方法】

①鉛直方向の移動を考慮した原因プランクトンの輸送シミュレーション

Sentinel-3A/B による衛星海色画像から *Karenia* 属細胞密度を推定し、その分布図に基づいて粒子の初期配置を決定し、鉛直運動を考慮した粒子追跡実験を実施した。粒子追跡のための流速場には $1/50^\circ$ 高解像度海洋モデル（以下、 $1/50^\circ$ モデル）による三次元流速の日平均値を採用した。本粒子追跡では時々刻々と変化する粒子位置が追跡され、水平方向は $1/50^\circ$ モデルの水平流速、鉛直方向は $1/50^\circ$ モデルの鉛直流速、鉛直渦拡散（ランダムウォーク）、*Karenia* 属の沈降速度により計算される。*Karenia* 属の沈降速度には、文献値から適当な値として 3 m day^{-1} 、極端な値として 0 m day^{-1} （沈降速度を無視）と 30 m day^{-1} を採用し、海底に着底した粒子分布『*Karenia* 着底マップ』を作成した。さらに日高湾陸棚域の海底に着底した粒子の着底メカニズムを調べた。

②*Karenia selliformis* の沈降速度の解析とシミュレーションモデルへの反映

K. selliformis の培養株を用いて、遊泳停止時の沈降速度をセットコール法（Bienfang 1981）により計測した。実験には、 15°C 、 $150 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 、12hL:12hD で培養した Ks-6 株を供し、沈降速度の計測は本種が下降運動する夕方と上昇運動する昼間に実施した。まず、対数増殖期にある本株に NiCl_2 溶液（終濃度 1.4 mM ）を添加して 15 分間静置して遊泳を停止させた。その後、セットコール管に培養液を満たし、暗条件で 1 h 静置した。セットコール管下部の採水口からサンプリング後、光学顕微鏡下で細胞計数を行って沈降速度を算出した。

さらに、昼夜平均した沈降速度（ 0.99 m day^{-1} ）を粒子追跡実験に与えて①を実施し、追跡期間 10 日以内に日高湾内に着底した粒子数を異なる沈降速度を与えたケース間で比較した。

【結果および考察】

①鉛直方向の移動を考慮した原因プランクトンの輸送シミュレーション

粒子が着底までに要した日数を調べた。その結果、沈降速度に関わらず、追跡初期からわずか 10 日以内で、道東や日高湾周辺の沿岸域に粒子が着底する（図 1）。また、沈降速度 0 m day^{-1} と 3 m day^{-1} について、10 日以上追跡期間では、赤潮被害が報告されていない噴火湾口や三陸沿岸周辺でも粒子の着底が確認されることから、10 日程度の追跡期間が妥当であると推察される。ただし、沈降速度 0 m day^{-1} と 3 m day^{-1} のケースについて、10 日以内に日高湾内に着底した粒子の水深は 20~40m で最多となり、粒子は 100m 以深にほとんど着底しない（図 2）。一方、日高管内のつぶかご漁場は水深 100~150m の陸棚上にあるため、粒子モデルで再現された着底水深は漁場水深よりも浅い傾向がある。これらの不一致の要因は特定できていないが、 $1/50^\circ$ モデルの鉛直下向き流速が過小評価されている可能性を含めて今後検討する必要がある。

日高湾陸棚海底に粒子が着底するメカニズムを調べるために、沈降速度 0 m day^{-1} の粒子追跡結果のうち、初期条件において日高湾外に配置した粒子について解析した。その結果、初期に襟裳岬周辺に配置した粒子が、襟裳岬西側に水平的に輸送され日高湾内の沿岸付近に着底する様子が再現された（図は示さない）。ただし、日高湾内での着底粒子数は 6 つの初期条件毎に異なり、2021 年 10 月 9 日と 11 月 12 日の 2 ケースについては特に少ないことがわかった（図 3）。そこで、 $1/50^\circ$ モデルにおける最下層の水平流速と鉛直流速を、それら 2 ケースとそれら以外の 4 ケースに分けて平均した（図 4）。その結果、着底しやすい 4 ケース（図 4 右）では、日高湾沿岸域の海底付近において北西向きの沿岸流が卓越し、その海底付近では下向きの鉛直流が卓越し、一方、着底しづらい 2 ケース（図 4 左）では、日高湾沿岸域の海底付近において南東向きの流れが分布する傾向があり、その海底付近では上向きの鉛直流が発生していた。これらの結果は、日高湾の岸を右手にみて流れる沿岸流による *Karenia* 属の湾奥方向への輸送と、沿岸流直下の海底エクマン境界層周辺での下降流、ならびに *Karenia* 属自身の沈降速度が日高湾内での *Karenia* 属の着底に寄与していたことを示唆している。

② *K. selliformis* の沈降速度の解析とシミュレーションモデルへの反映

室内において、人為的に遊泳運動を停止させた *K. selliformis* の沈降速度を計測した結果、沈降速度は夕方 1.225 m day^{-1} 、昼間で 0.763 m day^{-1} であった。時間帯によって沈降速度に差が生じる生理的な要因は不明であるが、日周鉛直運動リズムと連動して細胞の比重や細胞サイズなどが変化する可能性がある。

昼夜平均した沈降速度 (0.99 m day^{-1}) を用いた場合の 10 日以内に日高湾に着底した粒子数は、 0 m day^{-1} や 3 m day^{-1} の場合とよく似た傾向を示すが、例えば、2021 年 10 月 3 日を初期値としたケースについては沈降速度の感度が高いことがわかった（図 3）。

【図表】

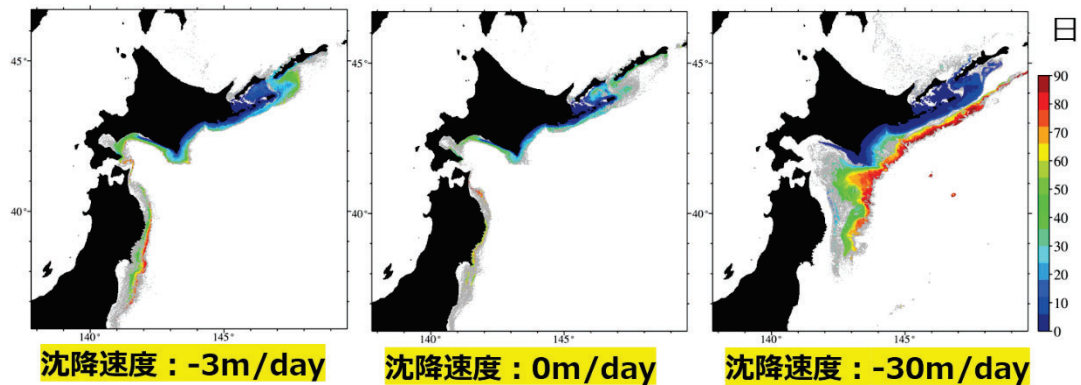


図1 初期値から着底までの日数（6つの初期値からの結果を合成、図2も同様）

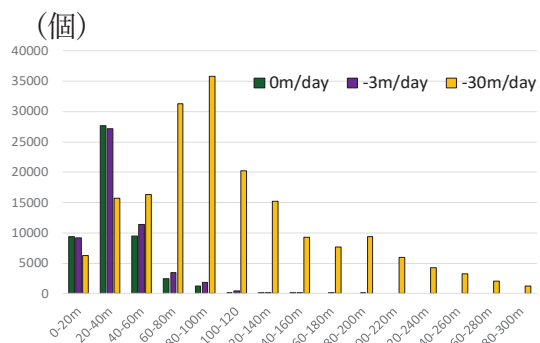


図2 10日以内に日高湾内に着底した粒子の沈降速度別の着底深度頻度分布

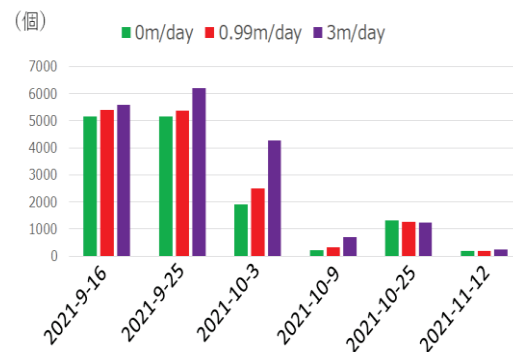


図3 10日以内に日高湾内に着底した粒子数（沈降速度&初期値別）、初期に日高湾外に配置にした粒子に限定

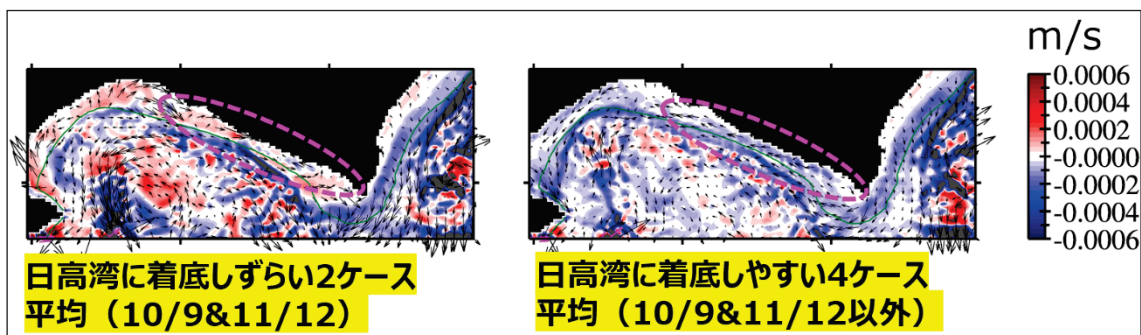


図4 2021年10月9日初期値と11月12日初期値の2ケースとそれら以外の4ケースで分けて平均した1/50°モデル最下層における水平流速（矢印）と鉛直流速（背景色）、着底しやすい4ケースにおいてマゼンタ点線内で多くの粒子が鉛直下向きに移動して着底

イ 原因プランクトンの深場に生息する生物への影響評価

【担当機関・所属・担当者】

水産機構水産資源研究所：長谷川夏樹、渡辺剛、高木聖実、中川亨、黒川忠英

水産機構水産技術研究所：紫加田知幸

北里大学（再委託）：西槇俊之、勝村啓史、新井雄太、小川元之

【目的（全体計画）】

深場に生息する生物のうち特に重要漁業生物であるツブ貝（巻貝）への *Karenia selliformis* の有害性等について影響を明らかにする。

【方法】

①深場に生息する貝類等に対する *K. selliformis* 曝露試験による有害性評価

令和3年度漁場環境改善緊急対策事業において、2021年秋季の道東太平洋赤潮に際しての浅場沿岸域の漁業被害は、*K. selliformis* 赤潮によって引き起こされたものが相当数含まれていると判断された（北海道太平洋赤潮共同研究機関，2023）。また、一部海域の深場漁場では、2021年秋以降に深場生物の大量へい死やエゾボラ等のつぶ類（巻貝）の資源減少または分布の縮小が生じたことも確認された。曝露試験によって浅海性つぶ類の一種の *Neptunea arthritica* ヒメエゾボラが *K. selliformis* に感受性を持ちへい死に至ることが確認されたが、現状では水深100 mに達するような深場への *K. selliformis* の到達と被害発生機序が不明であるため、つぶ類を中心とした深場生物への影響評価にはさらなる検討が必要な状況にあった。

K. selliformis では、同属の *K. mikimotoi* (Koizumi *et al.*, 1990) と同様に日周鉛直移動が確認されたが（北海道太平洋赤潮共同研究機関 2023）、水深100 mまでの移動は想定されにくく、海水流動による受動的移送や、増殖活性を失った後の細胞や遺骸残渣物の沈降が、深場への到達プロセスと想定される。しかし、魚類やワムシのへい死を生じさせる *K. selliformis* の有害因子は細胞表面上等に存在し、細胞が対象生物と接触または近接することで障害が生じるものと推定されている。また、*K. selliformis* の増殖活性が高い増殖期に比べ活性が低下する衰退期には有害性が低下するとともに、細胞から遊離した状態では有害性が減少または喪失することが示唆された。一方で、ウサギ赤血球の溶血活性は、衰退期の細胞浮遊液やろ液でも高く、特性の異なる複数の有害因子の存在と深場生物のへい死との関連の可能性も示唆され、被害想定生物を用いた曝露試験によるさらなる確認が必要不可欠であった（以上、北海道太平洋赤潮共同研究機関，2023）。

そこで、*K. selliformis* を長期間培養し、様々な増殖活性状態でのつぶ類に対する曝露試験を実施した。*K. selliformis* は、13°C、12L/12D（明期：150 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ）の条件で1/2 SWMIII改変培地を用いて静置培養し、植継からの培養日数1、4、7、11、14、21、28、33および38日目に、細胞密度の調整を行わない細胞浮遊液を曝露試験に供するとともに、

片野液での固定後に細胞密度と細胞破碎断片の計数や DAPI 染色も用いて性状の顕微鏡観察を行った。また、対照区として細胞添加前の培地のみの海水も試験に供した。曝露試験は、180 mL ガラスビーカーに細胞浮遊液 50 mL とヒメエゾボラ *N. arthritica* の稚貝 1 個体（殻付き重量：0.2~0.5 gWW）を収容し、3~15°C、微弱な通気、暗条件の下で最長 96 時間まで実施した（n = 8 または 10）。試験中は 24 時間中 2 回の観察を行い、稚貝の状態を、へい死（軟体部の刺激に無反応）、衰弱（付着力を喪失しているが刺激に反応あり）、正常（付着力の喪失なし）の 3 タイプに分類した。また、有害因子の特性を把握するために、11、33 および 38 日目については、細胞浮遊液を-80°C で凍結後融解した“凍結融解液”（n = 5）、細胞浮遊液をガラス繊維ろ紙（粒子保持能 0.7 μm、Whatman GF/F）で低圧ろ過した“ろ液”（n = 8 または 10）についても曝露試験に供した。

さらに、培養日数による *K. selliformis* の性状や浮遊・沈降性の変化を把握するために、培養 11、14、21、32、33 および 38 日の細胞浮遊液を用いた静置試験を行った。試験では 10 mL ガラス試験管（13 × 100 mm）に細胞浮遊液 9 mL を分注し、曝露試験と同条件の環境下に 24 時間静置後に、上~底層の 5 つ層（1 層：表層、2 層、3 層、4 層、5 層：底層）から培養液を回収、片野液での固定後に、層別の細胞密度の計数や性状観察を行った。

② *K. selliformis* に暴露した生物の鰓等組織切片解析による影響評価

①の曝露試験に際して、表 1 の供試稚貝を Davidson 固定液にて固定保存し、定法による包埋・全身組織切片の作製を行い、ヘマトキシリン・エオシン（HE）染色、アルシアンブルー HE 染色およびビクトリアン HE 染色を行い、顕微鏡観察による組織学的異常等の評価を行った（再委託）。

【結果および考察】

① 深場に生息する貝類等に対する *K. selliformis* 曝露試験による有害性評価

細胞浮遊液中の *K. selliformis* 生細胞密度は、培養 1~7 日目までは 1,000~2,000 cells mL⁻¹ で停滞した後に増加し、11 日に 3,300、14 日目に 10,500 cells mL⁻¹ と急増し、21 日目には試験中の最高密度となる 16,900 cells mL⁻¹ に達した（図 1a）。細胞密度はその後に急減し、28 日目には 2,300 cells mL⁻¹、33 日目には 3,500 cells mL⁻¹、そして 38 日目には 290 cells mL⁻¹ となった。28 日目以降の培養液中には、細胞断片も確認され、28 日目；780、33 日目；2,500、38 日目；650 particles mL⁻¹ であった。また、DAPI 染色後の蛍光顕微鏡観察では、21 日目までは内部に明瞭な青色蛍光やクロロフィルの赤色自家蛍光が確認される生細胞のみの出現であったが、28 日目以降は微弱な自家蛍光を有する細胞断片が増加し、38 日目には自家蛍光も有しない細胞断片が優占した（図 2）。

以上の結果から、曝露試験に供した *K. selliformis* については、0~21 日目までは増殖期にあり、特に細胞密度が急増した 11~21 日目までは対数増殖期であったと判断した。また、

生細胞密度が減少し、細胞断片が増加した 21 日目以降を衰退期と判断した。

1～7 日目の細胞浮遊液による曝露では、96 時間中の衰弱およびへい死した稚貝は少数であったが、対数増殖期となった 11 日目にはへい死率 75%および衰弱率 12.5% (96 時間中に衰弱は確認されたがへい死には至らなかった個体の比率) となり、以降のすべての培養日数の曝露試験 (増殖期～衰退期) でへい死率 100%となった (図 1a)。

一方、凍結融解液による曝露では、増殖期中の 11 日目にはへい死は確認されず衰弱率 40%であったが、衰退期の 33 日目にはへい死率 20%・衰弱率 60%、そして 38 日目にはへい死率 100%となった (図 1b)。また、ろ液による曝露では、11 日目は衰弱率 62.5%、33 日目は衰弱率 90%、そして 38 日目はへい死率 30%・衰弱率 10%となった (図 1c)。

以上の結果から、先行事業 (北海道太平洋赤潮共同研究機関 2023) と同様に増殖期の *K. selliformis* のヒメエゾボラに対する有害性が確認され、さらにその有害性は衰退期の細胞浮遊液でも維持されていることが確認された。また、衰退期 38 日目には生細胞密度が 290 cells mL⁻¹にまで減少し、増殖期の 7 日目や 11 日目の密度 (>1,900 cells mL⁻¹) を下回る水準となったがへい死率は 100%となり、7・11 日目の有害性を上回った。また、11 日目では、へい死確認は曝露 72 時間以降であったが、38 日目では 48 時間で大半の稚貝がへい死に至ったことから (図 3) この点からも衰退期の細胞浮遊液はより高い有害性を有していると推察された。

また、細胞浮遊液にくらべて低下するものの凍結融解液やろ液でも有害性が確認され、これらの溶液でも増殖期の 11 日目にくらべ衰退期の 33・38 日目でへい死率・衰弱率が高く、有害性が高いことが明らかとなった。長期間の培養を経た衰退期の培養液には、細胞断片をはじめとする多量の遺骸の蓄積があるため、水質が悪化しやすくヒメエゾボラの衰弱やへい死が生じた可能性も想定される。ただし、衰退期の凍結融解液では細胞浮遊液にくらべて有害性が減っていたこと、水質を悪化させやすい細胞断片を取り除いたろ液でも一定の衰弱やへい死が生じたことから、*K. selliformis* に由来する有害因子が衰退期の溶液中に多量に存在していた可能性が高いものと推察された。

北海道太平洋赤潮共同研究機関 (2023) では、輪形動物の *Branchionus plicatilis* sp. complex シオミズツボウムシに対する曝露試験で、増殖期の細胞が有する高い有害性や有害因子が細胞から遊離した状態では有害性が減少または喪失する可能性が指摘されていた。このため、細胞活性が低く死細胞由来の細胞断片が多く含まれる培養日数でのヒメエゾボラ稚貝への高い有害性は、北海道太平洋赤潮共同研究機関 (2023) で報告されたウサギ赤血球の溶血活性に関与する増殖期とは異なる衰退期の有害因子の関与がより強く疑われた。

細胞浮遊液の静置後の層別の細胞密度分布は、増殖期の 11～21 日目では均一な分布や上層への局在が確認されたが、衰退期の 32 日目と 38 日目では底層への局在が確認された (図 4)。このため、衰退期の *K. selliformis* は生細胞であっても沈降しやすい特性を有することが明らかとなった。このため、赤潮を形成後の衰退期の *K. selliformis* の生細胞や浮力を失った細胞断片などが沈降して深場に到達し、深場に生息する生物に被害をもたらす

た可能性も否定できないものと推察された。

② *K. selliformis* に暴露した生物の鰓等組織切片解析による影響評価

曝露試験に供したヒメエゾボラ稚貝の組織学的観察の結果、増殖期の 14 日目の細胞浮遊液による 24 時間曝露で衰弱した稚貝、38 日目の細胞浮遊液による 24 時間曝露で衰弱した稚貝やろ液での 96 時間曝露後の稚貝（回収時は正常）において、二次鰓弁の浮腫や上皮細胞の剥離といった鰓部位の大きな損傷が確認された（図 5a-b, d）。また、中腸線の一部においても、繊毛の均一性の喪失や好酸性細胞も消失といった組織学的異常が確認された（図 5e）。さらに、多糖類の検出を目的としたアルシアンブルー-HE 染色では、他種の赤潮プランクトンで確認されるような多糖類を含有する粘液物質による鰓組織の被覆等は（Jenkinson 1989）、*K. selliformis* 曝露試験では確認されなかった（図 5c）。このように、ヒメエゾボラ稚貝においても、先行事業（北海道太平洋赤潮共同研究機関 2023）におけるシロサケの鰓やエゾバフンウニの体表で確認されたような呼吸組織の損傷が生じて、衰弱やへい死が生じたものと推察された。なお、曝露試験の結果からは、増殖期と衰退期では異なる有害因子の関与の可能性が示唆されたが、損傷部位が鰓と中腸線で共通しており、組織学的観察による影響発生機序の分離は困難であった。また、中腸線の損傷については、その影響が稚貝にもたらす影響の程度や発生機序が不明であるため、さらなる知見の収集が必要であろう。

①および②による試験・解析によって、衰退期となり活性が低下した *K. selliformis* 生細胞やその遺骸の細胞断片は、深場へと沈降しうること、そしてつぶ類の鰓の損傷を引き起こし衰弱やへい死を生じさせるような高い有害性が維持されていることが明らかとなった。また、その有害因子については、浅場での生物・漁業被害を生じさせた因子とは異なる可能性も示唆された。なお、深場への沈降に際して、赤潮水塊が深場生物に影響を及ぼすような高い細胞密度や細胞断片密度を維持したまま拡散せずに沈降するか否かについては、流動などの物理環境による可能性の検討が必要であり、また、局所的に沈降が促進されるような *K. selliformis* の性状の変化についての検討なども必要であろう。

【参考文献】

- 北海道太平洋赤潮共同研究機関（2023）令和 3 年度北海道赤潮対策緊急支援事業 赤潮の発生メカニズムの解明等による発生予察手法の開発及び新たな赤潮原因プランクトンの水産生物に対する毒性の影響等の調査 事業成果報告書. 77 pp.
- Jenkinson, IR. 1989. Red tides: biology, environmental science, and toxicology. Elsevier, New York, pp. 435-438.
- Koizumi, Y, T. Uchida, Honjo T (1996) Diurnal vertical migration of *Gymnodinium mikimotoi* during a red tide in Hoketsu Bay, Japan. *J. Plankton Res.* 18, 289–294.

【図表】

表 1 組織切片解析に供した曝露試験のヒメエゾボラ稚貝

*回収時は正常であったが曝露中に衰弱に至った稚貝も含まれる

培養日数	曝露液	曝露時間	固定時の稚貝の状態
-	培地のみ	24	正常
14	細胞培養液	24	衰弱
38	Ks培養液	24	衰弱
38	ろ液	96	正常*

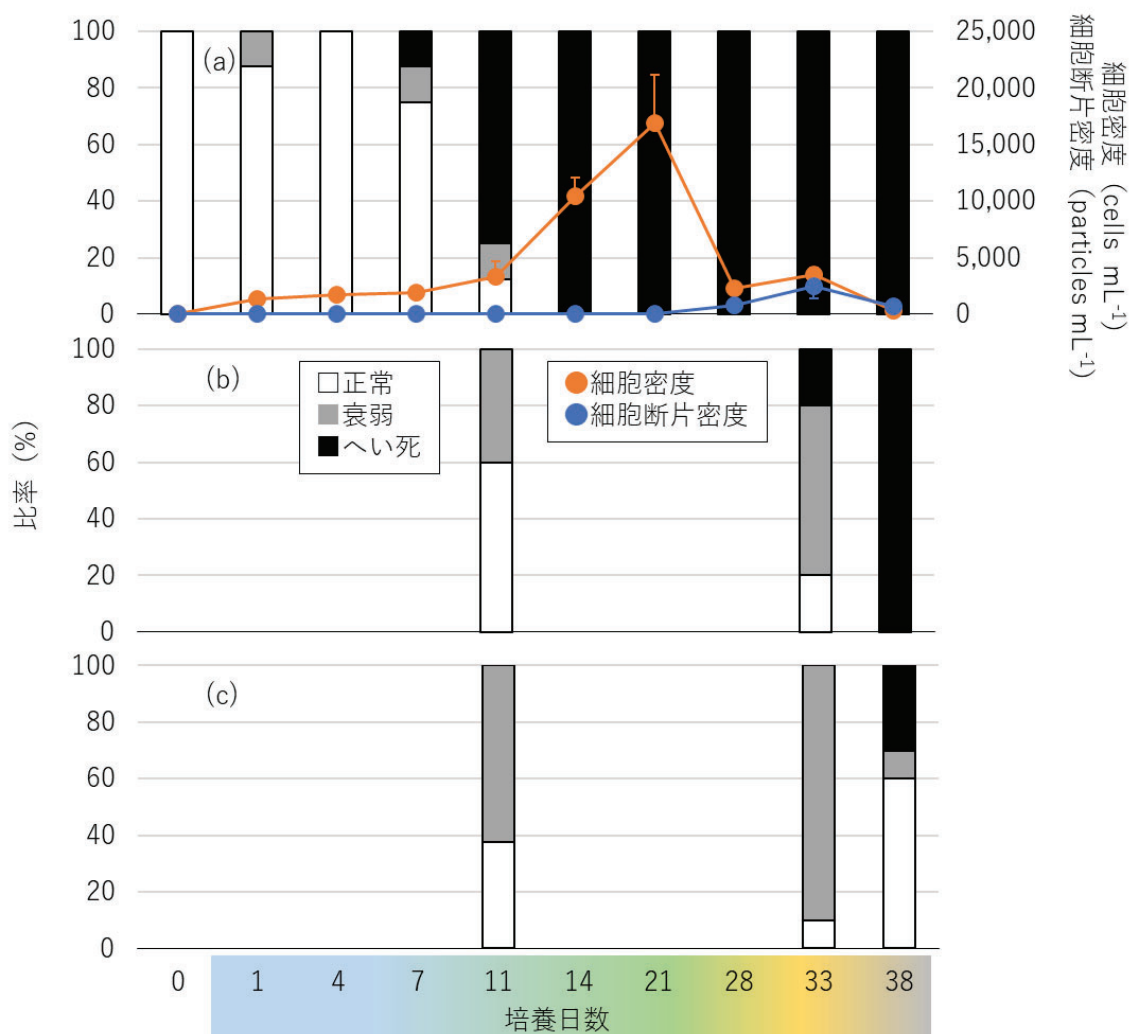


図1 ヒメエゾボラ稚貝を対象とした培養日数別 *Karenia selliformis* 曝露試験結果
(a) 細胞浮遊液による試験結果および細胞密度・細胞断片密度の推移、(b) 凍結融解液による試験結果、(c) ろ液による試験結果

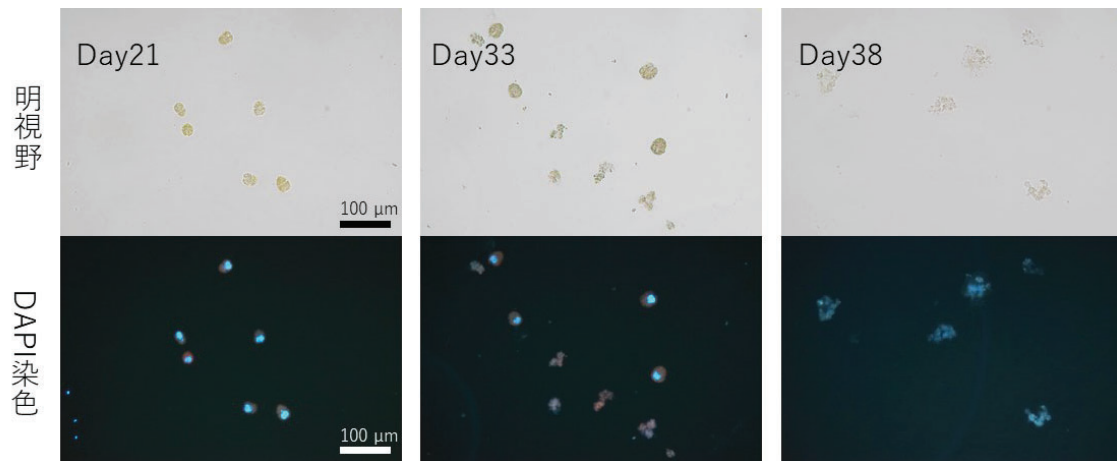


図2 培養日数別 *Karenia selliformis* の顕微鏡観察画像

(a) 11日目・細胞浮遊液

曝露時間 (hr)	0	7	22	31	46	55	72	79	96
No.1									
No.2									
No.3									
No.4									
No.5									
No.6									
No.7									
No.8									

(b) 38日目・細胞浮遊液

曝露時間 (hr)	0	2	24	32	48	56	72	80	96
No.1									
No.2									
No.3									
No.4									
No.5									
No.6									
No.7									
No.8									
No.9									
No.10									

図3 ヒメエゾボラ稚貝を対象とした培養 11日目 (a) と 38日目 (b) の

Karenia selliformis による曝露試験における状態の推移

図中の No.1~10 は各試験区 (稚貝) を表す

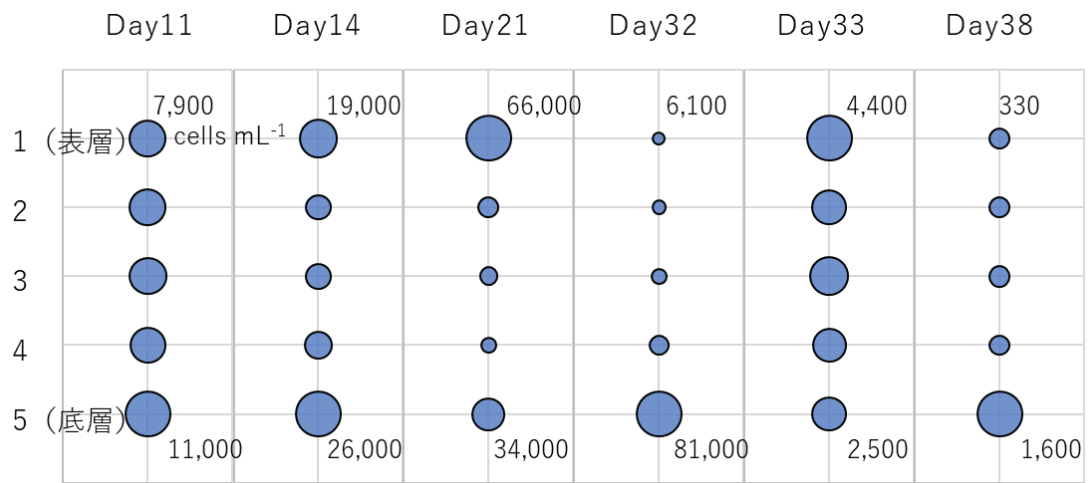


図4 培養日数別の *Karenia selliformis* を用いた静置試験における 24 時間後の試験管内における細胞分布

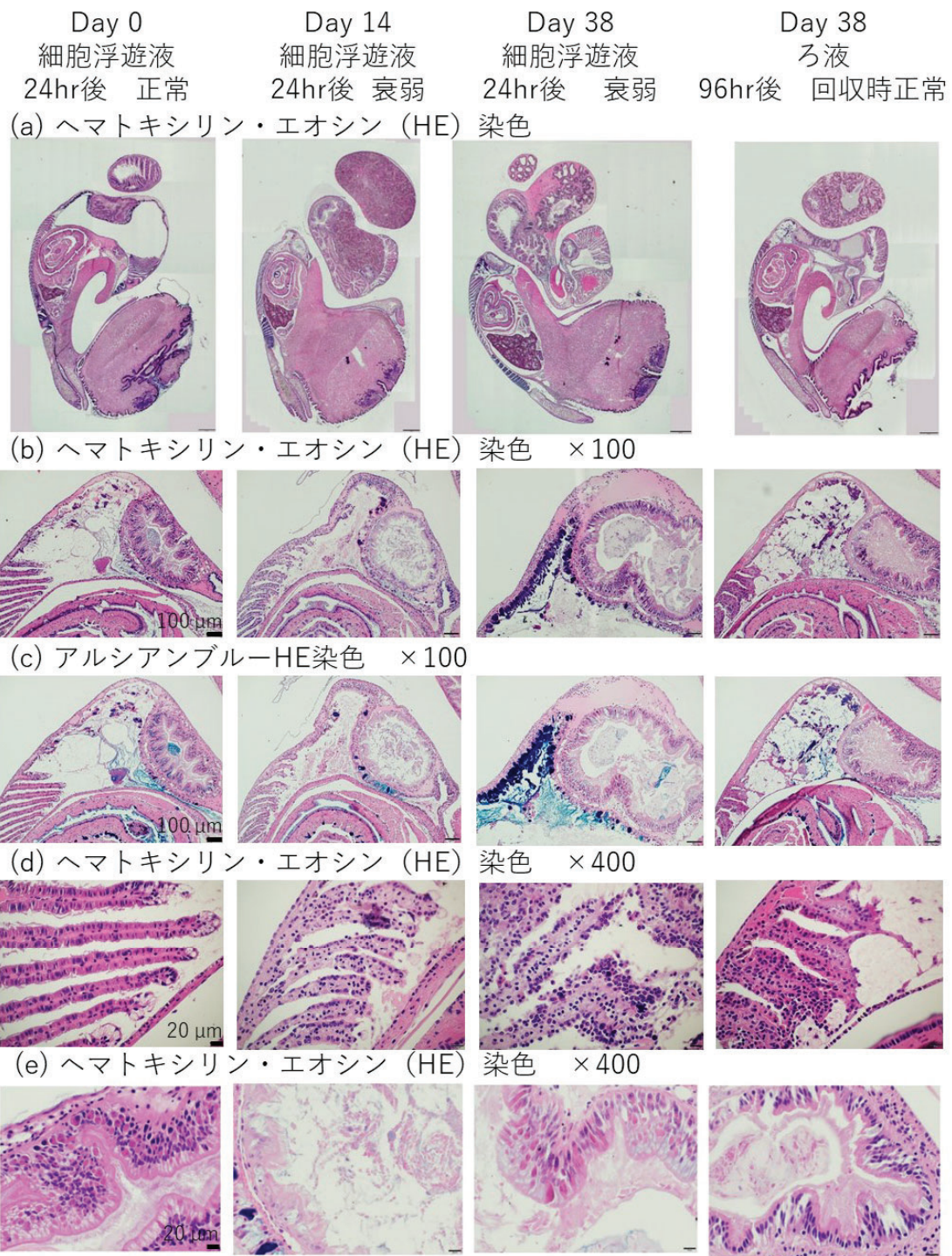


図5 曝露試験に供したヒメゾボラ稚貝の組織像

ウ 原因プランクトンの海底到達の可能性の検証

【担当機関・所属・担当者】

水産機構水産技術研究所：中山奈津子

水産機構水産資源研究所：渡辺剛

道総研中央水産試験場：萱場隆昭、吉村圭三

道総研釧路水産試験場：嶋田宏、石田良太郎、澤村正幸、園木詩織、安東祐太郎、深井佑多佳

道総研栽培水産試験場：佐野稔、渡野邊雅道、瀧谷明朗、坂上嶺、安宅淳樹、高橋昂大、高原英生、栞原康裕

【目的（全体計画）】

沿岸域で *Karenia selliformis* の細胞密度が低下し、赤潮が収束に向かいつつあると思われた 2021 年 11 月以降、漁業者から底質の変色や異臭があったとの情報とともに、水深 50 m 以深からもツブ類やタコ類の斃死が次々に報告された。加えて、釧路水試北辰丸による 11 月の着底トロール調査では水深 130 m でホシムシ等の死亡個体が大量に入網し、50 m 以深の水産生物にも *K. selliformis* の影響が及んだ可能性が示唆された。深い水深における *K. selliformis* の存在を把握するために深場の海水の検鏡や海底泥中の DNA 分析を行う。また、海底の状況を把握するための水中ドローンによる海底撮影調査も実施する。

【方法】

①環境 DNA 解析による海底泥および深場の海水中における原因プランクトンの分布調査

2021 年 11 月、浜中漁協より空釣り縄漁業で漁獲されたヤナギダコの大量死が報告された。そこで、2021 年 12 月 18 日に浜中沖のヤナギダコ漁場の 4 定点（表 1、図 1）で CTD による海洋観測を行った。また、表層と海底付近で採水を実施し、顕微鏡観察により有害赤潮原因種を同定、計数した。

2021 年 11 月～2022 年 3 月に北辰丸により、前述のホシムシが採取された調査点 SK11 付近の 14 点（図 2）で CTD による海洋観測とスミスマッキンタイヤ型採泥器による底質採取を行った。また、3 月の調査では表層と底層の採水も行った。検鏡と懸濁培養により底質における *K. selliformis* の確認を試みた。また、海底泥試料 22 検体から DNA 抽出キット (DNeasy PowerSoil Pro Kit, Qiagen, CA, U.S.A.) を用いて DNA を抽出し、渦鞭毛藻に特異的な 28S rDNA 領域のメタバーコーディング解析を実施した。

また、2021 年に北海道太平洋沿岸で発生した赤潮原因プランクトンの分布や種組成について、広く情報を収集することを目的とし、環境 DNA 解析技術を用いて網羅的解析を実施している。昨年度は、18S rDNA 領域に着目し、2021 年の赤潮発生前や発生時期の海水から得た環境 DNA を解析し、生物組成について広く評価した。今年度はより渦鞭毛藻に特化した同試料中の 28S rDNA 領域を解析した。海水試料は、2021 年 3 月から 9 月まで

水産機構水産資源研究所釧路庁舎（以下、北水研）取水から得られた海水 6 サンプル、道東から道南の沿岸域で得られた海水 14 サンプルを解析に供試した。海水試料はバケツを用いて採取し、そのうち 200~1000 mL を Sterivex HV フィルター 0.45 μm (Merk Millipore, Germany) 内に濃縮することで粒子を回収し、RNAlater™ Stabilization Solution (Thermo Fisher Scientific, Tokyo, Japan) を 2 mL 加えた後、保冷剤を入れた発泡スチロールボックスに入れて研究室に持ち帰り、解析まで冷凍保存した。DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen, CA, U.S.A.) を用いて DNA を抽出し、メタバーコーディング解析を生物技研（株）に依頼した。ブラスト検索については信頼性の高い手法 (Watanabe *et al.* 2023) を用いて行い、得られた群集データを Hellinger 変換後、Bray-Curtis 非類似度で距離行列を作成し、Ward 法で階層的クラスタリングを実施した。

②水中ドローンによる海底撮影調査

水中ドローンによりえりも漁協沖ツブ漁場の海底撮影調査を実施した。同時に簡易ドレッジによりえりも漁協沖ツブ漁場の底生生物および底質を採集して、底生生物相および土壌の土粒子の密度、粒度組成、強熱減量、土壌 pH を分析した。

【結果および考察】

①環境 DNA 解析による海底泥および深場の海水中における原因プランクトンの分布調査

①-1 浜中沖調査

各点とも水温・塩分は鉛直方向の変化が小さく、表層冷却による鉛直混合が進んだ状態と考えられた (図 3)。クロロフィル蛍光強度は、各点各層とも 3.0 未満の低い値だった。濁度は海底深度の浅い湯沸岬沖の底層付近でやや高かったものの、最大で 5 (FTU) と顕著な上昇は観測されなかった。溶存酸素濃度は深いほど低い傾向だったが、最低でも 88% と各点とも顕著な低下は観測されなかった。*K. selliformis* はヤナギダコ漁場西側定点表層を除く全地点の表層・底層で確認された (表 2)。出現した *K. selliformis* の一部は、通常の細胞より葉緑体が乏しく、検鏡下で透明に見えた。また、透明な細胞の内部には数個程度の油球が存在していた。カレニア属の他種は確認されなかった。他の有害赤潮原因種として、*Takayama* 属が若干確認された。また、水深約 93~95 m において *K. selliformis* が観察されたことから、少なくとも *K. selliformis* の栄養細胞が生きて海底付近に到達していたことが確認された。

①-2 底質調査

底質サンプル 0.1 g を 5 mL に懸濁して検鏡した結果、全サンプルで *K. selliformis* は確認されなかった (表 3)。また、底質サンプル 0.1 g を 5 mL の IMK 培地に懸濁し、*K. selliformis* 株の維持培養条件 (15°C、塩分 34、150~200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、L:D=12:12) で 2 週間培養した結果、全サンプルで *K. selliformis* は確認されなかった。3 月に採取した海水

サンプルを検鏡したところ、全サンプルで *K. selliformis* は確認されなかった。

2021 年 12 月に定点 C1 で採泥した 1 試料より *K. selliformis* と相同性が 100% (408 bp) の配列が得られた。しかしながら、得られたリード数はごく微量であり誤検出の可能性があったことから、リード数を 3 倍にして再解析した。その結果、検出されたリード数は増えなかったことから誤検出である可能性が高いと判断している。以上の結果から、少なくとも採泥した時期に、調査点の海底泥中には *K. selliformis* の死骸やシストが多量に沈殿したと認められるだけの DNA は存在していなかったと考えられる (表 3)。

①-3 環境 DNA メタバーコーディング解析

昨年度に、環境 DNA メタバーコーディング解析により、赤潮発生前から発生期間の道東から道南まで(図 4)と北水研取水中の生物組成の変化を、綱レベルの生物分類で広く把握するため 18S rDNA に基づいて整理した。それによると、生物組成は 3 つのグループに類型化され、地理的な影響を受けていることが推察された。今年度は、種レベルでの把握が可能である 28S 領域について解析を行った。2021 年 11 月の試料中 (北海道の道東から道南までの表層から採取した海水) のメタバーコーディング解析の結果 (水平分布) では、比較的道南側で *K. selliformis* のリード数が多く、渦鞭毛藻の中においても、*Karenia* 属においても主要であることが明らかになった(図 5)。また、北水研取水から得られた時系列のデータは、2021 年は赤潮発生前から *Karenia mikimotoi* が検出され、赤潮が拡大すると *K. selliformis* に置き換わっていったことが示された。また、*Karenia* 細胞数とリード数は概ね対応しており、9 月末から 10 月にかけてリード数が多かった (図 6)。一方、2022 年では、*K. selliformis* は検鏡では検出されなかったが、メタバーコーディング解析では、6 月及び 7 月に数リード検出された。このことから、2022 年夏もわずかに *K. selliformis* が発生していたことが推察されるとともに、環境 DNA によるモニタリングは赤潮発生の予見に有効な手法であると考えられた。

①-4 まとめ

以上の結果を総合して、2021 年の 11 月には調査時期よりも高密度な *K. selliformis* 個体群が鉛直混合により海底付近に輸送され、深みでの生物の斃死に関与した可能性が考えられる。ただし、12 月以降の採水・採泥調査の結果から、*K. selliformis* が高密度のまま深みに長期間滞留するなど、多量のシストが現場水域に蓄積された可能性は低いと考えられた。また、環境 DNA は *Karenia* の検出感度が高いため、赤潮発生と予見する上で有効なモニタリング手法の一つと考えられる。

②水中ドローンによる海底撮影調査

2023 年 10 月 25 日に水中ドローンを使用した、えりも岬沖海底画像撮影調査を実施した (図 7)。撮影水深は 101.7~102.0 m であり、海底の水温は 5.9~6.1℃、撮影時間は 42

分 49 秒であった。撮影時の海底付近は透視度の低い状況であった（図 8）。撮影画像からエゾボラ生貝は未確認であり、エゾボラ資源は低水準と推測された。

赤潮発生から 2 年経過した 2023 年度の日高振興協管内のえりも町漁業協同組合のエゾボラ（マツブ）の漁獲は激減している点から、撮影画像はエゾボラ資源の状況を反映している可能性が高い。また近隣の日高中央漁協でのツブ漁業は自主休漁中であった。

赤潮発生以前の 2021 年 9 月の海底画像を目視で確認した結果、表在性マクロベントスとして多数のクモヒトデ類が優占していたが、赤潮後の 2022 年および 2023 年の撮影画像上では未確認であった。

2022 年 9 月および 2023 年 10 月に実施したドレッジ調査の結果、底生生物相は環形動物、軟体動物、節足動物の 3 門が確認された。確認された軟体動物門 25 種中、二枚貝綱は 16 種類（63%）を占め、堆積物食の種が主体であり、化学合成種も 2 種類確認された。

赤潮以前の海底画像によって確認された底生生物相から棘皮動物門、特に赤潮以前の海底画像に優占していたクモヒトデ類は未採集である点から、エゾボラを主体としたツブ類同様、棘皮動物の一部（クモヒトデ類）も、赤潮の影響により個体数が減少した可能性が示唆された。

海底土壌サンプルに関しては、土粒子の密度、粒度組成、強熱減量、土壌 pH に関して分析を実施した（表 4）。

ツブ漁場に関する比較可能な過去のデータがないため、一部のホタテガイ漁場と比較した結果、ツブ漁場底質はシルト分と粘度分の比率が高く、最大粒径も小さいため、土壌の粒度が細かい傾向が見られた。この結果から、底質と堆積物食を主体とした二枚貝相との関連性が示唆された。土壌 pH に関しては海水の pH と比較してやや低い傾向が見られた。

底質分析結果に関しては赤潮以前のデータが欠落しており、赤潮前後の比較に関する議論は困難であった。

【参考文献】

Watanabe T, Hirai J, Sildever S, Tadokoro K, Hidaka K, Tanita I, Nishiuchi K, Iguchi N, Kasai H, Nishi N, Katakura S, Taniuchi Y, Kodama T, Tashiro S, Nakae M, Okazaki Y, Kitajima S, Sogawa S, Hasegawa T, Azumaya T, Hiroe Y, Ambe D, Setou T, Ito D, Kusaka A, Okunishi T, Tanaka T, Kuwata A, Hasegawa D, Kakehi S, Shimizu Y, Nagai S. 2023. Improving taxonomic classification of marine zooplankton by molecular approach: registration of taxonomically verified 18S and 28S rRNA gene sequences. PeerJ 11:e15427 <https://doi.org/10.7717/peerj.15427>

【図表】

表 1 浜中沖の調査点位置および調査日時

調査点	調査日	時間	水深 (m)	緯度	経度
ヤナギダコ漁場 東側定点	2021/12/8	09:30	94.3	42.952	145.364
ヤナギダコ漁場 中央定点	2021/12/8	10:00	94.8	42.942	145.330
ヤナギダコ漁場 西側定点	2021/12/8	10:30	93.0	42.946	145.256
湯沸岬沖	2021/12/8	11:30	35.9	43.054	145.190

表 2 浜中町沖の採水標本における有害渦鞭毛藻類の同定・計数結果

Ks : *Karenia selliformis*

調査点	深度 m	水温 ℃	塩分 PSU	細胞密度 (細胞数 / mL)			備考
				<i>Karenia selliformis</i>	他 <i>Karenia</i> 属	<i>Takayama</i> 属	
ヤナギダコ漁場 東側定点	0.0	7.3	33.3	7	0	0	Ksうち6/7が透明
ヤナギダコ漁場 東側定点	94.3	7.3	33.3	6	0	1	Ksうち4/6が透明
ヤナギダコ漁場 中央定点	0.0	7.3	33.3	2	0	1	Ksうち1/2が透明
ヤナギダコ漁場 中央定点	94.8	7.3	33.3	6	0	0	Ksうち5/6が透明
ヤナギダコ漁場 西側定点	0.0	6.8	33.2	0	0	0	
ヤナギダコ漁場 西側定点	93.0	7.2	33.3	1	0	0	Ksうち1/1が透明
湯沸岬沖	0.0	7.8	33.2	16	0	7	Ksうち6/16が透明
湯沸岬沖	35.9	7.8	33.0	8	0	4	Ksうち4/8が透明

表 3 底質サンプルのリストおよび検出された *Karenia selliformis* (K. s.) 細胞数とリード数

底質採取日	2021/11/22		2021/11/30		2021/12/6				2022/3/4		
地点	F1	F3	AK1	AK3	AK4	AT1	AT4	C1	AK1	AK3	AK4
水深 (m)	83	331	23	60	82	22	65	133	17	53	75
表層の K.s. 細胞数	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
底層の K.s. 細胞数	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
K.s. DNA のリード数	0	0	0	0	0	0	0	8	0	0	0

底質採取日	2022/3/8		2022/3/9		2022/3/8						
地点	AS1	F1	F2	F3	AT1	AT4	C1	C2	AH11	AH12	AH13
水深 (m)	20	72	189	327	17	58	128	255	21	98	297
表層の K.s. 細胞数	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
底層の K.s. 細胞数	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
K.s. DNA のリード数	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

表 4 底質分析結果の平均値 (2022～2023 年)

土質分析値		ツブ漁場
土粒子の密度	g/c m ³	2.630
石分	(7.5 mm以上) %	0.000
礫分	(2～7.5 mm) %	0.000
砂分	(0.075～2 mm) %	42.986
シルト分	(0.005～0.075 mm) %	51.200
粘土分	(0.005 mm未満) %	5.814
最大粒径	mm	1.671
均等係数	U _c	7.291
強熱減量	%	5.111
土壌pH		7.893

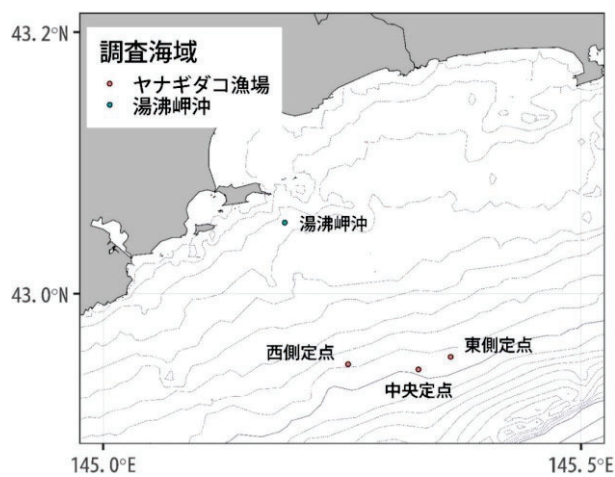


図 1 浜中沖の調査点位置 (等深線は 10 m ごと)

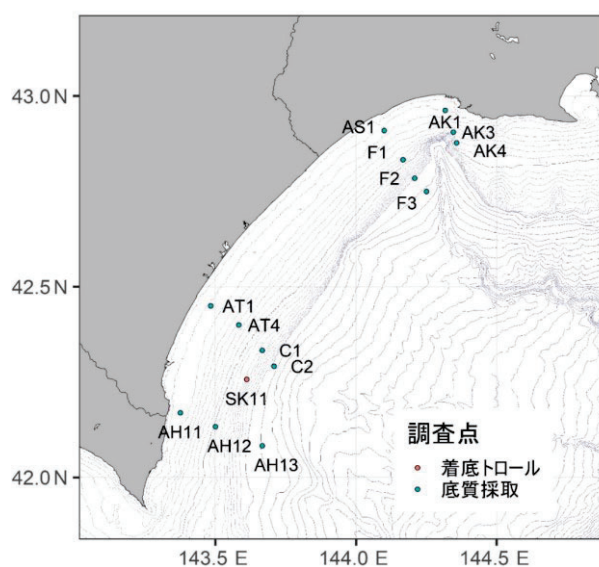


図 2 着底トロール調査点および底質採取点

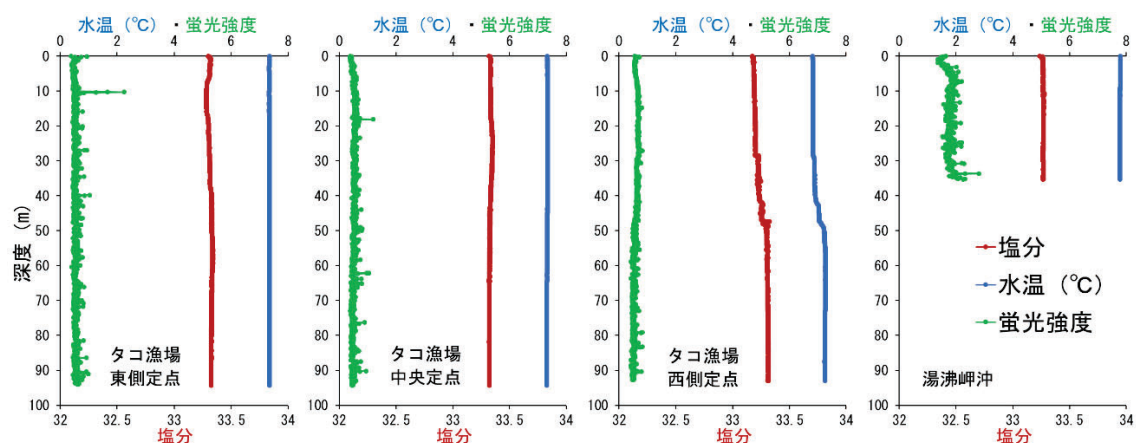


図3 浜中沖の調査点における海洋観測結果

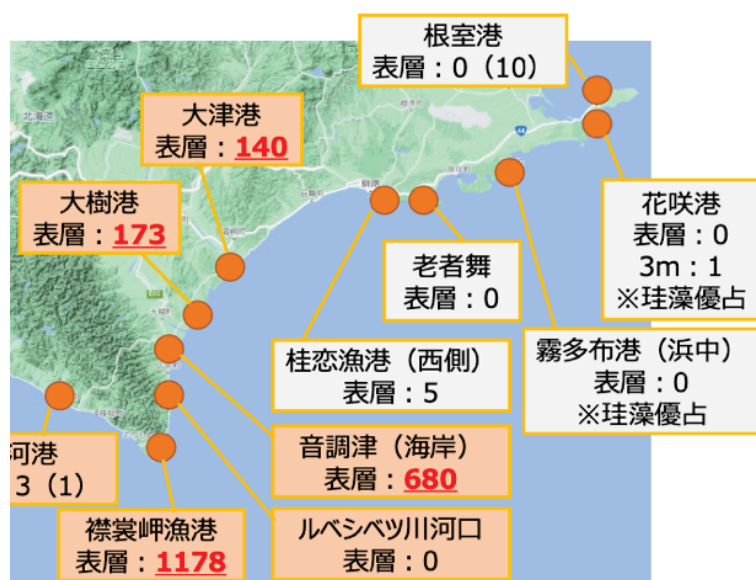


図4 北海道沿岸における試料採取地点

数字は1 mL あたりの *K. selliformis* 細胞数

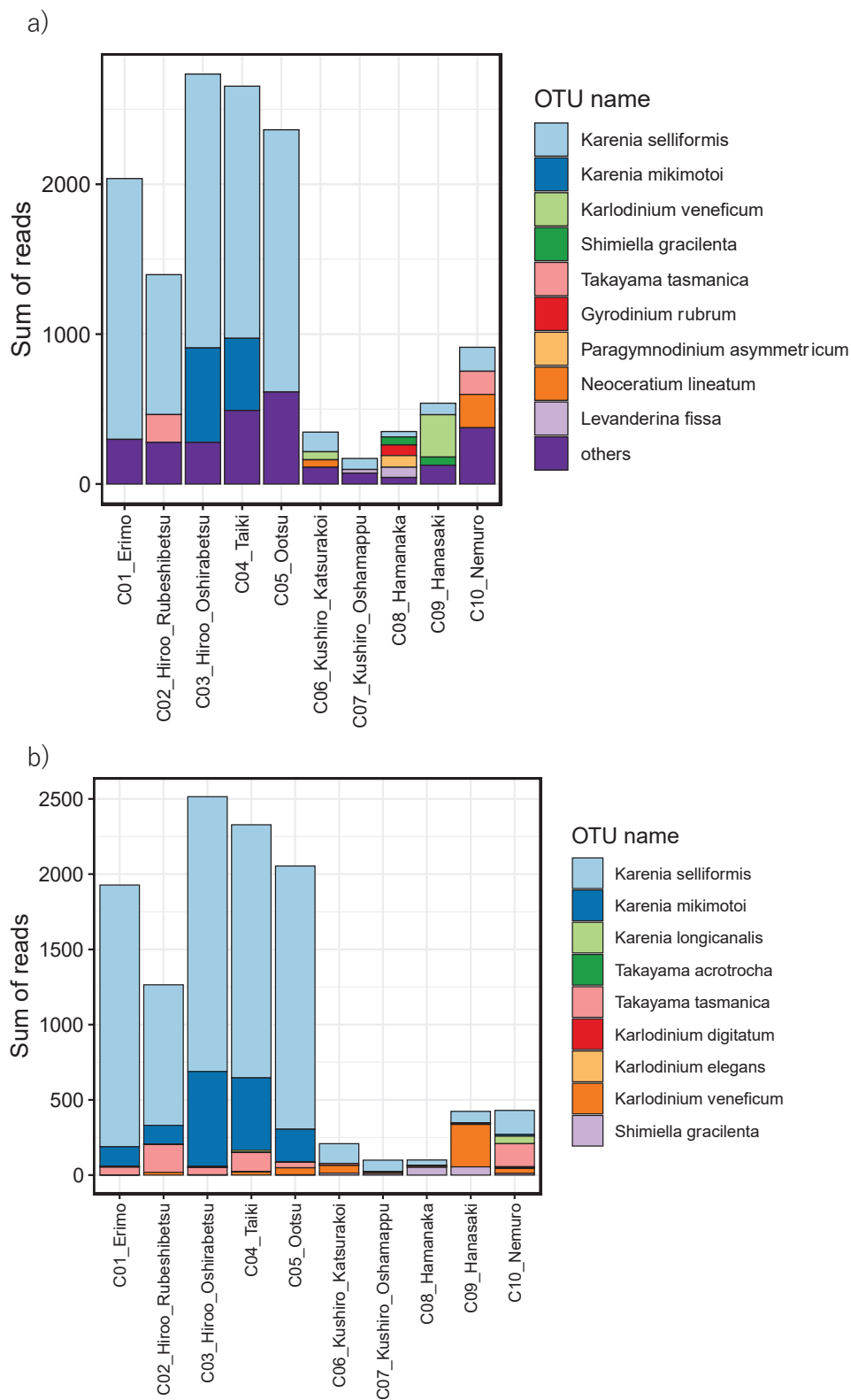


図5 28S rDNAに基づく a) 渦鞭毛藻と b) *Karenia* 科の組成

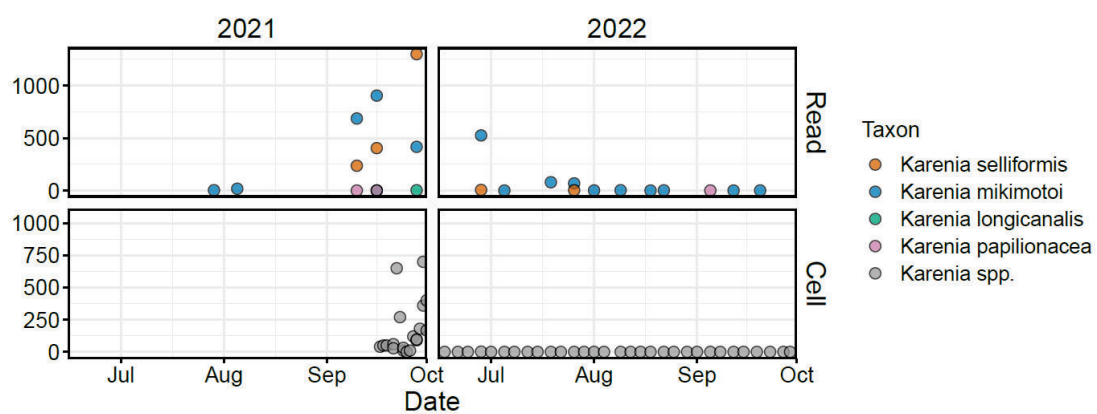


図 6 28S rDNA に基づく *Karenia* 属の時系列変動

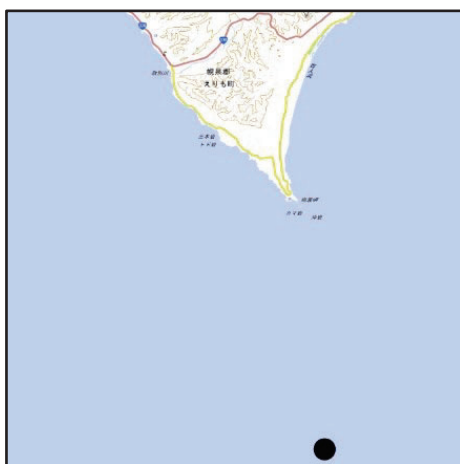


図 7 えりも岬沖海底画像撮影調査位置 (●：えりも岬沖約 16 km)

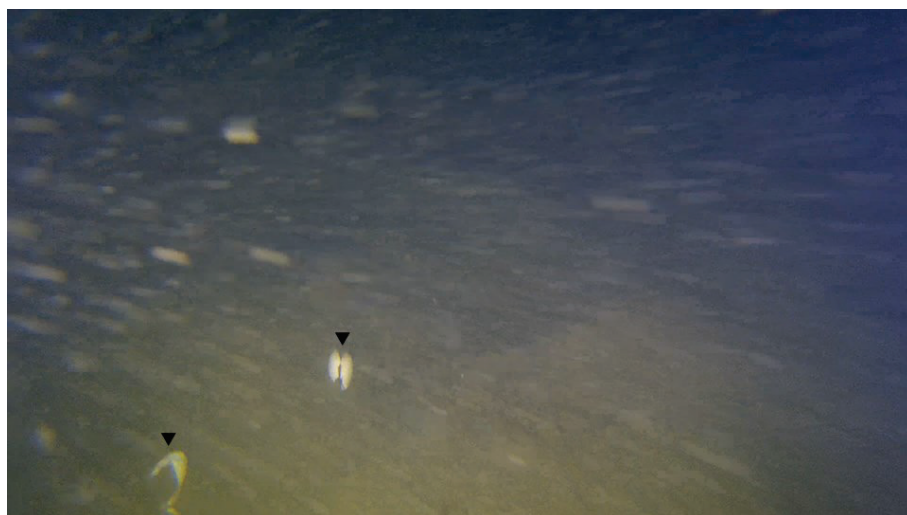


図 8 撮影映像例 ▼は堆積物食二枚貝 (*Macoma* 属) の死殻

エ 原因プランクトンの越冬細胞生残条件の検討

【担当機関・所属・担当者】

水産機構水産技術研究所：湯浅光貴、外丸裕司、坂本節子

【目的（全体計画）】

赤潮原因プランクトン *Karenia selliformis* が栄養細胞のまま越冬している可能性について培養実験により検証する。*K. selliformis* の細胞形態変化と培養環境条件との関係を明らかにする。

【方法】

① *K. selliformis* の低温下での生残条件（越冬条件）の検討

K. selliformis の栄養細胞による越冬の可能性を検証するために、2021 年に釧路市桂恋沿岸の海水から単離した *K. selliformis* 培養株（Ks-1, Ks-6, Ks-13）について、改変 SWM-3 培地中、低温（5, 7.5, 10, 12.5, 15°C）のもと、 $0 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ （暗条件）で最長 30 日間もしくは $20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 12 hL : 12 hD（弱光条件）で最長 90 日間静置培養し、細胞を光学顕微鏡で計数して細胞密度を算出した。

② 異なる培養条件下での *K. selliformis* の細胞形態変化およびクロロフィル蛍光変化の解析

当該種（Ks-6 株）の細胞当たりクロロフィル（自家）蛍光強度ならびに細胞サイズと環境条件との関係を検討した。100 mL ガラス製三角フラスコに 60 mL の基本 f/2 培地ならびに 1/10 窒素量 f/2 培地を入れ、18°C、光強度 $500-600 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ （12h:12h）で Ks-6 株の培養を行った。細胞の計数・自家蛍光強度ならびにサイズ測定は Tali イメージサイトメーターを用いて行った。培養液 100 μL に対して 1% グルタルアルデヒド (GA) 水溶液を 1/100 量添加し、直後に計測を実施した。

③ *K. selliformis* の増殖に及ぼす海水および培地の影響

K. selliformis の安定した培養条件を明らかにするため、2021 年 9 月に道東太平洋沿岸で採水した赤潮海水より分離した *K. selliformis* および *K. mikimotoi* の増殖における培地およびそのベース海水の影響を調べた。

2021 年 10 月北海道釧路市桂恋漁港、2020 年 10 月長崎県五島沖、および 2015 年 12 月広島県広島湾似島沖で採水した海水（それぞれ以下、釧路海水、五島海水、似島海水とする）をベースとして、市販の IMK 培地（富士フィルム和光：ダイゴ IMK 培地）（IMK）、改変 SWM3 培地（SWM3）および改変 f/2 培地（f/2）をそれぞれ調製し、ろ過滅菌（ $<0.22 \mu\text{m}$ ）した後、試験管に 5 mL ずつ分注した。釧路海水は *K. selliformis* 赤潮発生時、五島海水は *Cochlodinium* sp. 笠沙型発生時、似島海水は平常時に採水し、GF/F フィルターでろ

過後、遮光、室温保存したものである。実験には 2021 年 9 月に北海道厚岸湾の赤潮海水より単離した *K. selliformis* (21Ks11AK 株) および *K. mikimotoi* (21KmA3AK 株) を用いた。これらの株を似島海水で調製した f/2 と釧路海水を 1:1 で混合した培地中、18°C、光強度約 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、12h:12h 明暗周期で前培養し、試験管に分注した培地に約 200 cells mL^{-1} ずつ添加して、前培養と同じ温度、光条件下で培養した。培養の間、*in vivo* クロロフィル蛍光を測定して増殖をモニターし、増殖速度および最大収量を算出した。

【結果および考察】

① *K. selliformis* の低温下での生残条件（越冬条件）の検討

暗条件での試験の結果、3 株全てが 10 日間は全ての温度で一定の細胞密度を維持したが、10°C以上の温度では 30 日未満でほとんどの細胞が死滅した（図 1）。一方で、5 および 7.5°Cでは、一部の細胞は 30 日間生残する傾向にあった（図 1）。弱光条件では、3 株全てが 18 日間は全ての温度で細胞の生残が確認されたが、10°C以上の温度では、45 日以内に全ての細胞が死滅した（図 2）。一方で、7.5°Cでは 3 株全てで 45 日間細胞の生残が確認されたが、60 日目には全てが死滅していた（図 2）。5°Cでは 3 株全てで 90 日間細胞の生残が確認され、概ね培養開始時点の細胞密度を維持していた（図 2）。以上の結果から、*K. selliformis* は暗もしくは弱光条件において、水温が低いほど生残期間が長くなることが明らかとなった。また、弱光条件では 5°Cで 90 日以上生残できることが示唆されたため、北海道太平洋沿岸域においても比較的長期間生残できると推測された。ただし、本データは栄養塩が豊富な条件で得られたものであることには留意する必要がある。

②異なる培養条件下での *K. selliformis* の細胞形態変化およびクロロフィル蛍光変化の解析

実験区間で供試藻の細胞サイズ・自家蛍光量に差は認められなかった（図 3）。原因として、本種の栄養要求性が極めて低い可能性や、バクテリアの影響等が推察された。今後、培養株の無菌化や培地調整等、より高度な実験準備が必要と思われた。

③ *K. selliformis* の増殖に及ぼす海水および培地の影響

K. mikimotoi はいずれの培地でも増殖し、特に f/2 で良好に増殖した（表 1）。増殖は海水の影響を受け、釧路海水では良好であったが、似島海水では IMK や SWM3 で一部が増殖せず不安定であった。最大増殖速度 0.43 divisions day^{-1} は釧路海水の f/2 において、最大収量（蛍光強度）98 は似島海水の f/2 において得られた。一方、*K. selliformis* は f/2 および SWM3 で増殖したものの、IMK では増殖しなかった（表 1）。増殖は *K. mikimotoi* と同様、海水の影響を受け、釧路海水では良好であったが、似島海水では不安定であった。最大増殖速度 0.29 divisions day^{-1} は釧路海水の SWM3 で得られ、最大収量 12 は五島海水の f/2 で得られたが、いずれも同じ培地で培養した *K. mikimotoi* と比べて増殖は悪かった。

これらの結果から、*K. mikimotoi* および *K. selliformis* の増殖は海水の影響を受け、*K. selliformis* 赤潮が発生していた際に採水した釧路海水で良好に増殖したことから、赤潮発生時の水環境がこれら *Karenia* 属の増殖に適した環境にあったことが推察された。また、IMK 培地については、*K. selliformis* の増殖阻害成分が含まれることが推察された。

【図表】

表 1 異なる海水と培地の組み合わせ下における *K. selliformis* と *K. mikimotoi* の増殖速度および最大収量

増殖速度 (div./day)		<i>K. selliformis</i>			<i>K. mikimotoi</i>		
海水	培地	IMK	f/2	SWM3	IMK	f/2	SWM3
	釧路	0.03	0.28	0.29	0.36	0.43	0.41
	似島	0.03	0.10	0.04	0.15	0.42	0.28
	五島	0.04	0.27	0.06	0.29	0.41	0.25

最大収量 (蛍光値)		<i>K. selliformis</i>			<i>K. mikimotoi</i>		
海水	培地	IMK	f/2	SWM3	IMK	f/2	SWM3
	釧路	0.1	8.4	7.1	20.0	63.2	52.2
	似島	0.1	0.6	0.1	10.2	98.7	42.3
	五島	0.1	12.0	0.2	7.6	66.0	28.1

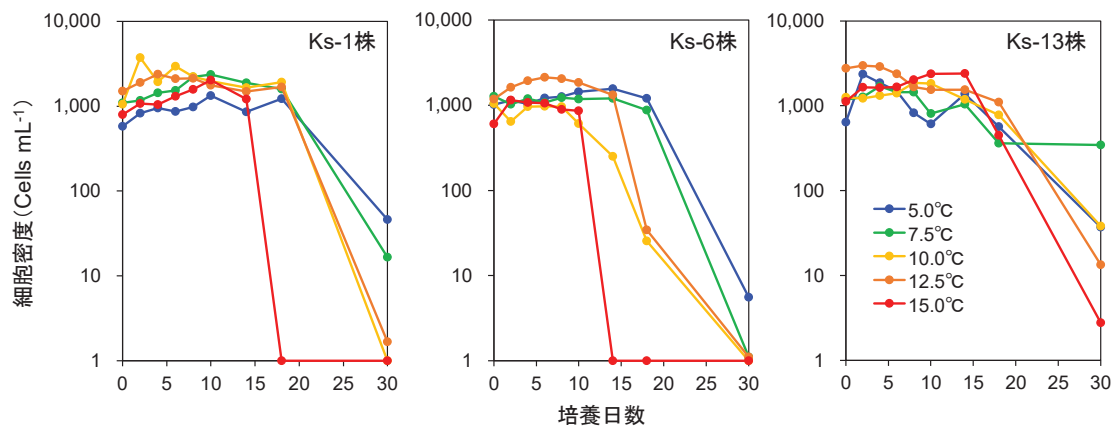


図 1 暗条件の下、異なる温度で培養した *K. selliformis* 培養株の細胞密度の変化

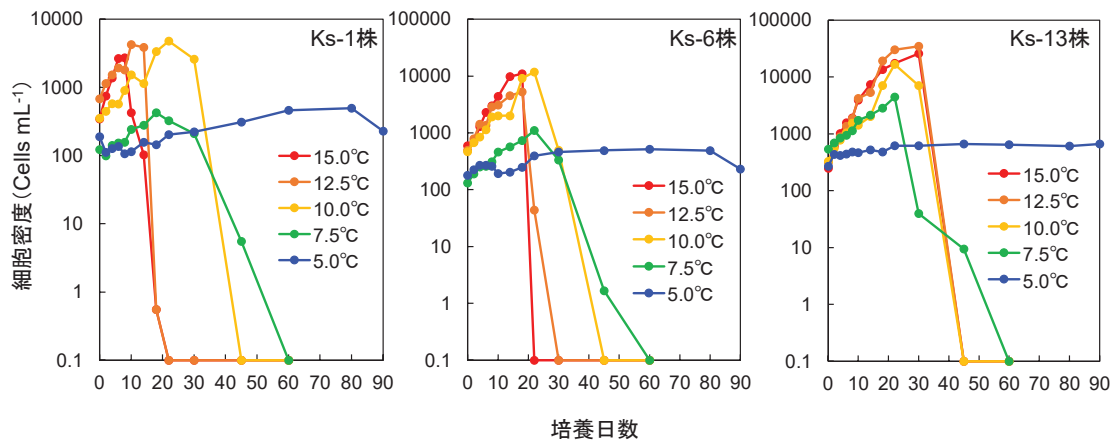


図2 弱光条件の下、異なる温度で培養した *K. selliformis* 培養株の細胞密度の変化

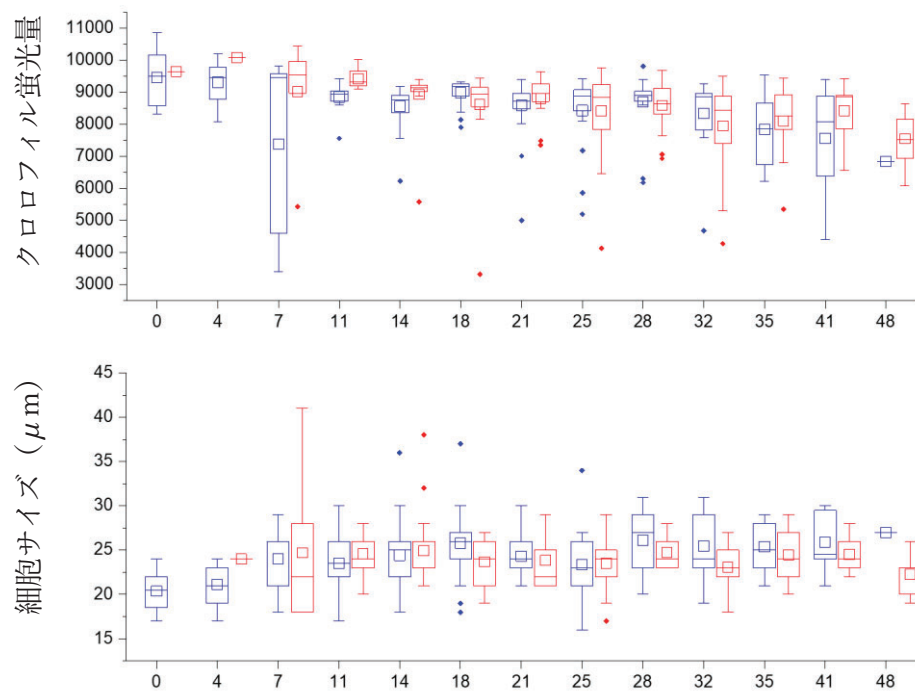


図3 *K. selliformis* (Ks-6 株) のクロロフィル蛍光強度ならびに細胞サイズ変化
青：対照区 (f/2 基本培地)、赤：窒素制限区 (N 添加 1/10 量 f/2 培地)

オ 他種プランクトンとの競合関係の解明

【担当機関・所属・担当者】

水産機構水産技術研究所：紫加田知幸、北辻さほ

水産大学校：山崎康裕

九州大学（再委託）：島崎洋平

【目的（全体計画）】

本研究では、北海道で甚大な漁業被害を引き起こした *Karenia selliformis* の優占過程・条件を明らかにするために、培養株を用いた室内実験により *K. selliformis* と他種植物プランクトンとの競合関係の解析を実施した。

【方法】

K. selliformis と同じ有害渦鞭毛藻である *Karenia mikimotoi* 及び 3 種の珪藻類 *Skeletonema* sp.、*Thalassiosira hendeyi* または *Chaetoceros diadema* を 2 者混合培養し、増殖に及ぼす影響を調べた。

① *Karenia mikimotoi*

北海道沿岸域より分離した *K. selliformis* Ks-6 株、九州沿岸域（佐伯湾）より分離した *K. mikimotoi* 69-9 株（無菌）を実験に供した。なお、過去の当方らの実験により、2 者混合培養実験は、各種を 3 段階の初期細胞密度（0, 200, 2000 cells mL⁻¹）の組み合わせで実施した。まず、260 mL 容の組織培養用フラスコ（156499、Thermo Fisher Scientific）に試験液の総量が 100 mL となるように、塩分 32 の改変 SWM-3 培地と細胞浮遊液を注入して混合した。全ての実験は、温度 15 °C、14 時間明期/10 時間暗期の明暗周期及び 150 µmol m⁻² s⁻¹ の照度で行った。培養開始後数日おきに試水を採取して片野固定液で固定した。後日、検鏡して細胞数を計数した。混合区については、DAPI 染色後、蛍光顕微鏡下で核位置を指標として種を識別しながら計数した。

② *Thalassiosira hendeyi*, *Chaetoceros diadema*

北海道沿岸より分離した *T. hendeyi* 及び *C. diadema* を 1 株ずつ実験に供した。①と同様の方法で、4 通り（*K. selliformis* : 珪藻 = 200 : 200, 2000 : 200, 200 : 2000, 2000 : 2000 cells mL⁻¹）の初期細胞密度の組み合わせで 2 者混合培養を実施し、光学顕微鏡下で細胞数を計数した。

③ *Skeletonema* sp.

北海道沿岸より分離した *Skeletonema* sp. を実験に供した。②と同様の方法で、3 通り（*K. selliformis* : *Skeletonema* sp. = 200 : 200, 2000 : 200 及び 200 : 2000 cells mL⁻¹）で 2 者混合培養を実施し、光学顕微鏡下で細胞数を計数した。

【結果および考察】

① *Karenia mikimotoi*

K. mikimotoi の増殖は、特に *K. selliformis* の細胞密度が高い場合、単独区と比べて抑制された (図 1)。単独区に対する混合区の各種の最大到達密度は、*K. mikimotoi* で 9.8 (平均値) ± 1.1 (SD) % (初期細胞密度 *K. selliformis* : *K. mikimotoi* = 2000 : 200 cells mL⁻¹) ~ $111.6 \pm 50.7\%$ (200 : 200) であったのに対し、*K. selliformis* で $46.6 \pm 8.8\%$ (200 : 2000) ~ $107.9 \pm 7.0\%$ (200 : 200) の範囲にあった。

② *Thalassiosira hendeyi*, *Chaetoceros diadema*

K. selliformis と *T. hendeyi* の混合培養実験を行った結果、混合区における *T. hendeyi* の最大到達密度は、*K. selliformis* : *T. hendeyi* = 200 : 2000 cells mL⁻¹ 区で単独区の $85.8 \pm 7.2\%$ 程度であったが、それ以外の区では 10% 未満まで抑制された。一方、混合区における *K. selliformis* の最大到達密度は *K. selliformis* : *T. hendeyi* = 200 : 2000 cells mL⁻¹ 区では $0.6 \pm 0.01\%$ まで抑制されたが、それ以外の区ではほとんど抑制されなかった (図 2)。

K. selliformis と *C. diadema* の混合培養実験を行った結果、混合区における *C. diadema* の最大到達密度は 10% 以下まで抑制された。一方、混合区における *K. selliformis* の最大到達密度は *K. selliformis* : *T. hendeyi* = 200 : 2000 cells mL⁻¹ 区では 1% 未満まで抑制されたが、それ以外の区では $82.3 \pm 4.9 \sim 94.8 \pm 27.4\%$ と抑制の程度は低かった。以上のように *K. selliformis* の細胞密度が珪藻と同じか、それ以上の場合は *T. hendeyi* と *C. diadema* の増殖を抑制したが、珪藻の初期細胞密度が *K. selliformis* よりも高い組み合わせの場合は、*K. selliformis* の増殖が顕著に阻害された (図 2)。

③ *Skeletonema* sp.

混合区における *Skeletonema* sp. の最大到達密度は単独培養区の $7.8 \pm 1.1\%$ 未満まで抑制された (図 3)。特に、*K. selliformis* : *Skeletonema* sp. = 2000 : 200 cells mL⁻¹ 区では *Skeletonema* sp. に対する顕著な増殖阻害効果が認められ、この試験区の *Skeletonema* sp. は培養開始から 4 日後に完全に死滅した。また、その他の混合区においても、*Skeletonema* sp. は経時的な細胞密度の減少率が単独培養区より大きかった。これに対して、混合区における *K. selliformis* の最大到達密度は単独培養区の $45.5 \pm 6.0 \sim 82.3 \pm 53.6\%$ の範囲にあり、*Skeletonema* sp. のように混合区の細胞密度だけが大きく減少に転じることはなかった。

【図表】

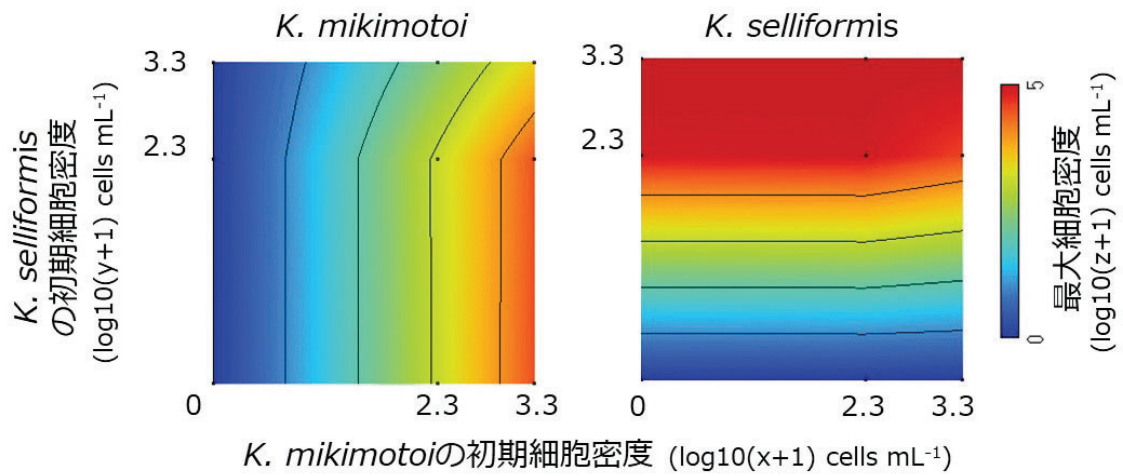


図1 *K. mikimotoi* と *K. selliformis* の混合培養における各種の最大細胞密度

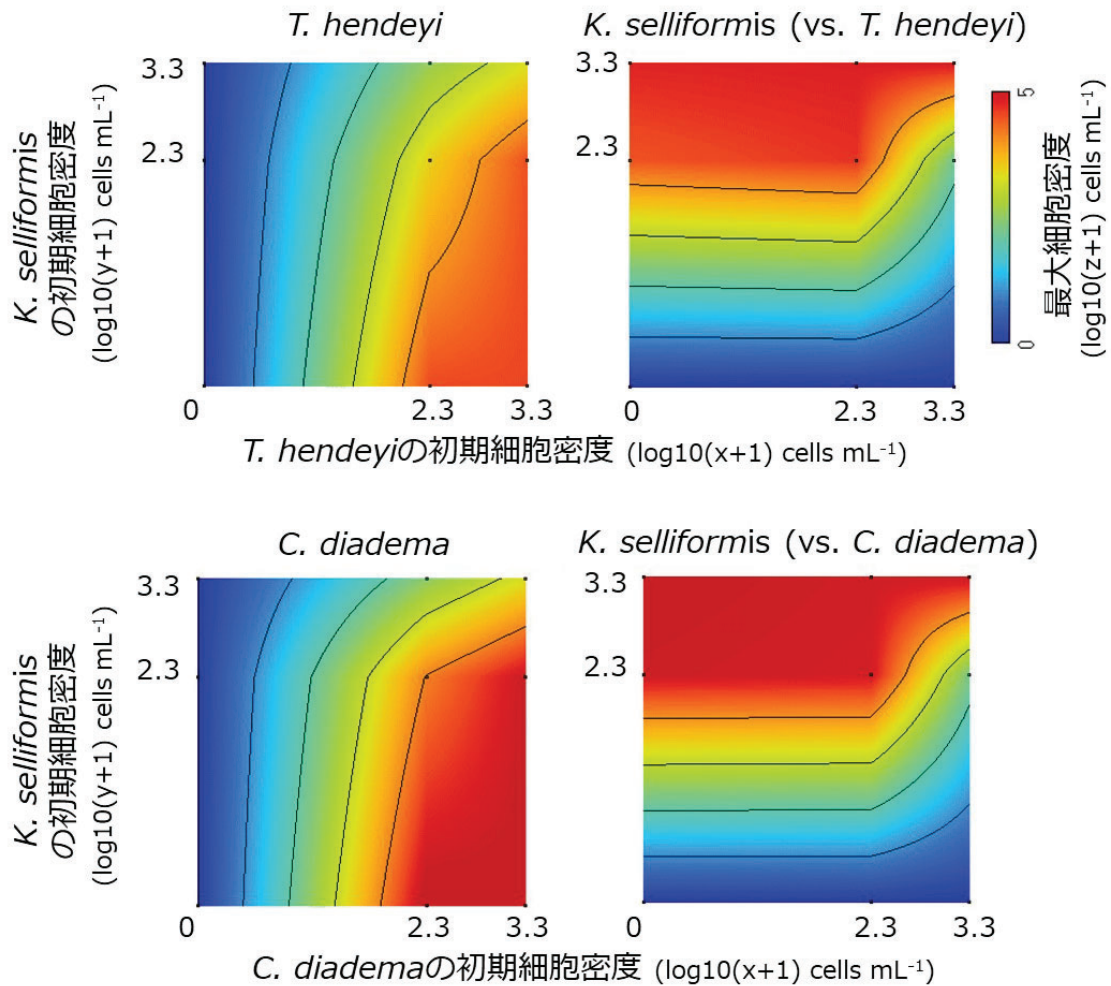


図2 *K. mikimotoi* と珪藻2種 (*T. hendeyi*, *C. diadema*) の混合培養における各種の最大細胞密度

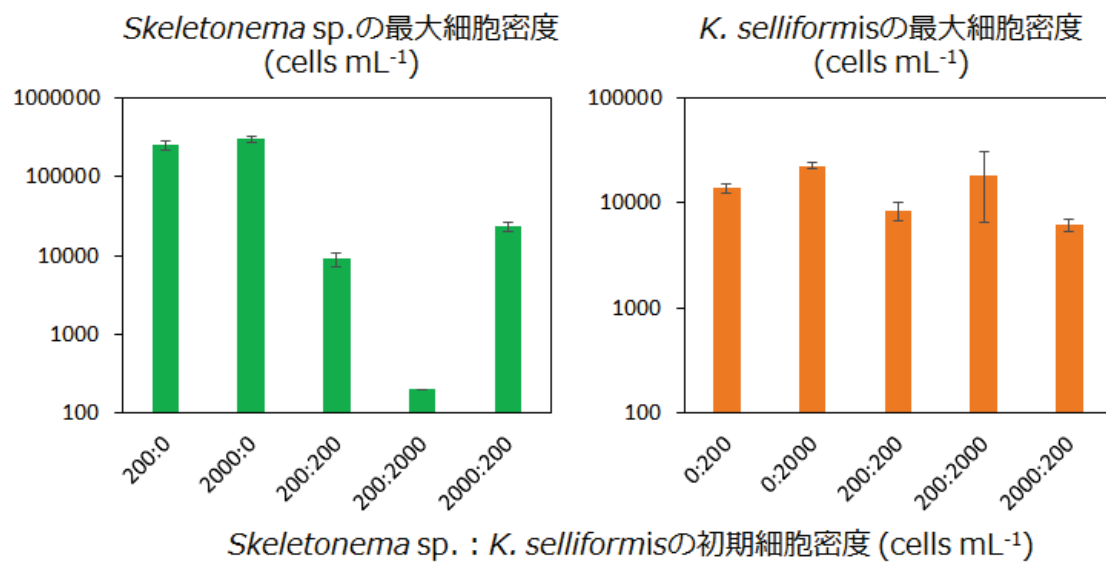


図3 *K. mikimotoi*と *Skeletonema* sp. の混合培養における各種の最大細胞密度

成果の概要

以上、本課題の成果の概要を6つの項目に分けて以下にまとめる。

①赤潮原因プランクトンの鉛直方向への動態

鉛直方向の移動を考慮した原因プランクトンの三次元的な輸送についてシミュレーションを行った結果、沈降速度に関わらず、追跡初期から10日以内に、道東や日高湾周辺の沿岸域に粒子は着底した。

一方、沈降速度 0 m day^{-1} や 3 m day^{-1} では粒子は100m以深にほとんど着底せず、粒子モデルで再現された着底水深は、つぶかご漁場がある水深よりも浅い傾向が認められた。この点については、不一致の要因は特定できていないが、 $1/50^\circ$ モデルの鉛直下向き流速が過小評価されている可能性を含めて今後検討する必要がある。

また、*K. selliformis* 細胞の沈降速度を室内実験で測定し、夕方で 1.225 m day^{-1} 、昼間で 0.763 m day^{-1} という値を得た。得られた沈降速度（昼夜平均 0.99 m day^{-1} ）を用いて鉛直方向への輸送シミュレーションを行った結果、10日以内に日高湾に着底した粒子数は、沈降速度 0 m day^{-1} や 3 m day^{-1} の場合とよく似た傾向を示し、沿岸域に *K. selliformis* が短期間で着底したであろうことが推察された。

②深い水深における海水および底泥試料中の *K. selliformis* の確認

赤潮終息期の2021年12月18日に浜中沖のヤナギダコ漁場の4定点の表層および底層で採集した海水を検鏡した結果、水深約93~95mから得られた試料中にも *K. selliformis* が観察されたことから、少なくとも *K. selliformis* の栄養細胞が生きて海底付近に到達していたことが確認された。

一方、2021年11月~2022年3月に採泥した海底泥試料の培養からは、全サンプルで *K. selliformis* の出現は確認できなかった。また、渦鞭毛藻に特異的な28S rDNA領域のメタバーコーディング解析では、1試料から *K. selliformis* と相同性が100%となる配列が得られたが、得られたリード数は極微量であった。これらの結果から赤潮終息後に *K. selliformis* の死骸やシストが多量に沈殿したと認められるだけのDNAは存在していなかったと考えられ、深みにおいて高密度の *K. selliformis* が長期間滞留した可能性や、多量のシストが蓄積された可能性は低いと考えられた。

③沿岸域における赤潮発生前後の *K. selliformis* 出現動態

メタバーコーディング解析では、2021年9月の赤潮発生より前から *Karenia mikimotoi* が検出され、赤潮が拡大すると *K. selliformis* に置き換わっていったことが示された。また、2022年は検鏡では *K. selliformis* 細胞が検出されなかったが、時系列のメタバーコーディング解析では6月及び7月に本種のDNAが数リード検出されたことから、2022年夏にもわずかに *K. selliformis* が発生していたことが推察された。

④ *K. selliformis* と他種プランクトンとの競合関係

2 者混合培養試験において *K. selliformis* と *K. mikimotoi* を混合培養した場合、*K. mikimotoi* の増殖（最大到達密度）が抑制されることが分かった。本研究課題の海水試料のメタバーコーディング解析において、2021 年 9 月の赤潮発生より前から発生していた *K. mikimotoi* がその後 *K. selliformis* へと置き換わっていったこと示す結果を得たことを述べたが、本培養試験の結果はその遷移過程に両者の競合関係が関与することを示唆するものである。

一方、*K. selliformis* と珪藻類との混合培養試験は、珪藻の種類により結果が異なった。すなわち、*K. selliformis* と *Skeletonema* sp. との混合培養の場合は *Skeletonema* sp. の増殖が抑制された。一方、*K. selliformis* と *T. hendeyi* あるいは *C. diadema* との混合培養の場合は、*K. selliformis* の細胞密度が珪藻と同じか、それ以上のときに *T. hendeyi* や *C. diadema* の増殖が抑制され、珪藻の初期細胞密度が *K. selliformis* よりも高い組み合わせの場合は、*K. selliformis* の増殖が顕著に阻害されることが分かった。

⑤ *K. selliformis* の増殖や生残に係る環境条件との関係

K. selliformis の栄養細胞は暗もしくは弱光条件において、水温が低いほど生残期間が長くなることが明らかとなった。また、弱光条件では 5°C で 90 日以上栄養細胞のまま生残できることが示唆され、北海道太平洋沿岸域においても比較的長期間生残できると推測された。

また、培養試験により、*K. selliformis* の増殖が海水に含まれる何らかの要因に影響を受けること、本種の赤潮が発生した北海道太平洋沿岸の海水には本種が増殖しやすい要因が含まれていることが示唆された。さらに、培養試験において環境中の窒素濃度の低下は *K. selliformis* の細胞サイズやクロロフィル蛍光強度には影響しなかった。この結果から本種の栄養要求性が極めて低い可能性や、バクテリアの影響等が推察され、培養株の無菌化や培地調整等、より高度な実験設定での検討が必要と思われる。

⑥ 深い水深に生息する生物への影響

2023 年 10 月 25 日に実施した水中ドローンによる海底撮影調査では、エゾボラ（マツブ）は確認できず、資源は低水準と推測された。また、2022 年 9 月および 2023 年 10 月に実施したドレッジ調査から、特に赤潮以前の海底画像に優占していたクモヒトデ類は未採集であったことから、棘皮動物の一部（クモヒトデ類）も赤潮の影響により個体数が減少した可能性が示唆された。

K. selliformis 曝露試験によるヒメエゾボラ稚貝への有害性を検討した結果、増殖期の *K. selliformis* のヒメエゾボラに対する有害性が確認され、さらにその有害性は衰退期の細胞浮遊液でも維持されていることが確認された。衰退期となり活性が低下した *K. selliformis*

生細胞やその遺骸の細胞断片は深場へと沈降しうることで、つぶ類の鰓の損傷を引き起こし衰弱やへい死を生じさせるような高い有害性が維持されていることが明らかとなった。また、その有害因子については、浅場での生物・漁業被害を生じさせた因子とは異なる可能性も示唆された。

(3) 開発された技術の移転

ア 赤潮原因プランクトン同定作業技術研修会等の開催

【担当機関・所属・担当者】

北海道水産林務部水産振興課：佐々木剛、稲村明宏、小笠原和重、中川工、池田聖治、高谷則幸、大西博継、清水良典、岡林直樹、森田恭司、清水悠人

北海道渡島総合振興局渡島地区水産技術普及指導所：金濱博樹、鈴木章彦、明石一宏、佐野晃平、倉地伊万里

北海道渡島総合振興局渡島北部地区水産技術普及指導所：蜜谷法行、小西哲弥、川村泰生

北海道胆振総合振興局胆振地区水産技術普及指導所：一ノ瀬寛之、佐々木貴浩、新田尚、須貝英仁

北海道日高振興局日高地区水産技術普及指導所：一ノ尾大介、富安俊、下山信克、小笠原昌希、高島国男、稲村明宏、船木周平

北海道十勝総合振興局十勝地区水産技術普及指導所：飯島伸之、林浩之、熊谷孝輝

北海道釧路総合振興局釧路地区水産技術普及指導所：松尾謙人、朝倉健、小林和馬

北海道根室振興局根室地区水産技術普及指導所：小石辰馬、三浦裕人、北山安信、品田済道総研水産研究本部：高嶋孝寛、三坂尚行

道総研中央水産試験場：有馬大地、宮園章

道総研釧路水産試験場：嶋田宏、安東祐太郎

道総研さけます内水面水産試験場：品田晃良

水産機構水産技術研究所：坂本節子、中山奈津子、紫加田知幸、外丸裕司、三宅陽一、湯浅光貴

水産機構水産資源研究所：黒田寛

【目的（全体計画）】

2021年9月に北海道東部太平洋で大規模に発生した赤潮は、サケ類、ウニ類などの有用水産生物のへい死の主要因と考えられる。赤潮による漁業被害を軽減するためには、モニタリングを実施して原因となるプランクトンの出現・増殖を早期に捕捉することが重要と考えられる。昨年より広域的な採水調査・分析などによる赤潮原因プランクトンの発生把握や海洋環境を観測できるモニタリング機器の導入・整備を進め、赤潮発生時の環境要因の把握、これら機器による観測精度向上に必要な体制を整えてきたところにあるが、機器の精度検証や海洋環境データの利用など、効率的・効果的な機器の活用やモニタリング体制を確立するには至っていない。また、各沿岸域の現場モニタリング担当者への原因プランクトン種同定等に係る技術移転がなされておらず、原因プランクトンが出現した際の初動対策を講じるための体制整備も不十分な状況にある。そこで、本課題では、渡島から根室の沿岸海域に勤務する水産技術普及指導所、漁業協同組合、役場職員等を対象として培養した原因プランクトンを用いた同定作業等に係る研修会等を実施し、赤潮の早期発見、

迅速な対策の実施につなげる体制を構築する。

【方法】

①普及員を対象とした研修

水産研究・教育機構水産技術研究所坂本主幹研究員、東京大学岩滝准教授を講師として、「日本海沿岸における赤潮と漁業被害の発生動向および赤潮生物の特性」、「植物プランクトンの形態識別」、「ラフィド藻の形態識別」などの座学のほか、顕微鏡を使用したプランクトンの観察やモニタリング技術の実習などを実施し、技術の習得に取り組んだ(写真1)。

・栽培水産試験場（室蘭市）会場：令和5年6月19日～20日、日高振興局から渡島総合振興局管内の普及員12名

・釧路水産試験場（釧路市）会場：令和5年6月22日～23日、根室振興局から十勝総合振興局管内の普及員9名

②漁業協同組合、役場職員等を対象とした勉強会

水産研究・教育機構水産技術研究所坂本主幹研究員、水産資源研究所黒田グループ長、道総研中央水産試験場西田研究主幹などを講師に、「赤潮に関する基礎的知見について」、「令和5年の海洋環境について」、「試料の取扱について」などの講義により勉強会を開催し、赤潮発生時の連携の構築を図った(写真2)。

・かでの2・7（札幌市）会議室：令和5年8月4日、講師などを含め68名参加

【結果および考察】

赤潮の発生する可能性のある各海域において、有害赤潮プランクトンの検鏡による種同定までを速やかに行える体制を構築することにより、初動対応の迅速化が図られ、赤潮への早期対応が可能となることが期待される。また、これにより漁業被害軽減のための初動連絡体制の構築・強化されることが期待される。

【図表】



写真1 普及員を対象とした研修（講師 左：坂本主幹研究員、右：岩滝准教授）



写真2 漁業協同組合、役場職員等を対象とした勉強会