

海産ミドリムシ赤潮による魚類の斃死機構 解明に関する研究

松里 寿彦・小林 博*

Studies on Death of Fish Caused by Red Tide

Toshihiko MATSUSATO · Hiroshi KOBAYASHI*

In order to clarify the mechanism of the death of marine fish caused by natural red tide, the influences of the red tide on the red sea bream, *Chrysophrys major*, and the cultured yellow tail, *Seriola quinqueradiata*, were experimentally investigated in the use of the cultured marine plankton, *Hemientreptia antiqua* HADA (Order Euglenoida), as natural red tide sea water. The plankton was cultured in large quantities by using the medium of SWM-III, under about 6,000 lux illumination and in the constant temperature room of 20°C.

In spite of an environmental characteristic that the sea water of this plankton was nearly saturated with oxygen, most of the bream started to die at the density above 2,700 cells/ml when the bream was thrown in the red tide of pH 8.3. In this case the death of the bream seems to be related with the number of the plankton and pH of the red tide, while there was no influence on the bream in the filtrate from the red tide and the surface part of the decayed and decomposed red tide.

Breathing rate, heart pulsation rate and the others were also investigated in both the species affected by the red tide. In particular, the pathological inspection of the branchia was carried out in the yellow tail, and the transparent viscous substance was found between each gill-fillament. This substance is distinguished from a lot of mucous fluid secreted after the death and perhaps prevents the ventilation of water flow. The viscosities of the red tide and its various treatment solution were measured by means of Ostward's viscosity meter and showed no remarkable difference from that of normal sea water.

When the red tide was filtered through the silk net with the opening of 95 micron, the filtration rate decreased with the lapse of the time and the rate was related with pH of the red tide. And the opening was observed to be plugged by the red tide blooms or the transparent viscous substance.

On the other hand, the filtrate from the red tide and its various treatment solution were injected into the abdominal cavity of the bream as well as into the blood vessel through the cannula of dorsal artery in the yellow tail. Any injected material did not kill the fishes at least within 48 hours.

The blood gas contents of both artery and venous blood were investigated in the yellow tail suffering from the anoxia to be compared with those from the red tide. Artery blood sampling was taken from the cannula of the dorsal artery and venous one directly from the heart. Under the usual anoxic anoxia, it was considered that a process of asphyxiation occurs in the dissolved oxygen concentration below about 1.7 ml/L. And the surfacing phenomena were not seen at the concentration above 2.0 ml/L.

When the yellow tail began to swim madly about in the red tide, the dissolved oxygen in the environment was still above 5 ml/L, and the artery blood oxygen content of the fish was 5 to 6

1974年 3月 27日 受理 南西海区水産研究所業績42号

* 農林省水産大学校, Shimonoseki Univ. of Fish., Yoshimi, Shimonoseki

Vol. % though it decreased with the lapse of the time. In this case, however, the oxygen level of the blood gas content just before the death was similar to that of the usual asphyxiation.

In the aquatic respiration of the yellow tail, the oxygen utilization and the ventilation volume were measured. Under the influence of the red tide, the utilization decreased remarkably in comparison with the same ventilation volume in normal sea water, although the ventilation volume decreased before the death, too. Moreover, the respiratory characteristics of the blood were also investigated in the yellow tail affected by the red tide as shown in Fig. 16, in which the blood has a tendency to be condensed.

From these results mentioned above, the cause of the death of the fish attributed to the red tide of *Hemientreptia antiqua* HADA seems to be based on asphyxiation which is brought about by the interception of the ventilation water in the branchial owing to the red tide blooms.

緒 言

「赤潮」に関する記録は非常に古く、ギリシア時代以前にさかのぼることができるとされており、また赤潮現象に伴って起こる魚貝類の大量斃死の例についても古くから多数の報告がなされている¹⁾。

近年、日本沿岸内湾域、とりわけ瀬戸内海において大規模な赤潮が多発し、養殖業をはじめとする沿岸漁業に甚大な被害をおよぼすに至り、大きな社会問題にまで発展し、赤潮による被害防除抑制のための技術開発、およびその基礎的研究の必要性が広く認められるに至った²⁾。しかし、赤潮にともなって、なぜ魚貝類の斃死が起こるのか、どのような機構で起こるのかといった、いわゆる斃死機構の解明に関する研究は少なく、斃死因についてはほとんど不明のまま中毒説、窒息説、ストレス説などがとえられてきた。このように斃死因解明に関する研究が遅れたのは、一つにはいわゆる「赤潮」そのものの定義が人によって異なること、一つには多くの場合に「赤潮」が突発的・偶発的であること、また赤潮に伴う魚貝類の斃死が事後に確認されることなどによるものと思われる。

赤潮による魚貝類の斃死因・斃死機構に関する既往の研究については小林³⁾が既に報告しているが、それによると1946年～1947年に米国フロリダ州沿岸で起こった、*Gymnodinium breve* Davis 赤潮をはじめとした有毒プランクトンに起因する魚類の大量斃死例、および日本沿岸の真珠貝養殖場で起こる、赤潮発生期前後の水中溶存酸素量低下による窒息死の例など様々であり、赤潮の主構成プランクトン種および発生水域の特性などにより斃死因、斃死機構が異なることを示している。

昭和44年9月広島湾奥部、西部で発生した赤潮は、瀬戸内海としては、極く小規模の赤潮であったにもかかわらず比較的大きな漁業被害を伴った⁴⁾。この赤潮の主体プランクトンは羽田⁵⁾により *Euglenoida* 目のムカシウミドリムシ、*Hemientreptia antiqua* HADA であることが明らかとなり、一般に海産ミドリムシ赤潮と称されている。その構成プランクトンは上記ムカシウミドリムシの他に、カワリウミドリムシ *Eutreptia marina* その他を含んでいる場合もある。さらに昭和45年8月、9月2回にわたり岡山県から山口県に至る瀬戸内海西部のほぼ全域に、前記海産ミドリムシ赤潮が大規模に発生し、発生海域の養殖魚や定置網漁獲物などに多大の被害を与え、漁業者のみならず沿岸住民の大きな関心をよんだ^{4,6)}。これら海産ミドリムシ赤潮による魚貝類、特に養殖・蓄養魚類の斃死の状況は従来、瀬戸内海各地で経験されていた赤潮による斃死とは次の点で異なっていた。すなわち、i) 赤潮発生時、および発生海域の溶存酸素量は飽和に近く、充分存在していること、ii) 赤潮の生物濃度(単位容積中の個体数)の非常に低い場合にも魚類の斃死がみられること、iii) しかも魚は赤潮帯を十数分通過しただけでも斃死すること、iv) 赤潮帯を通過後は魚はすみやかに正常に復する場合もあること、v) 養殖魚では同一生簀内でも養殖2年ハマチ、当才ハマチ、マダイの順に斃死し易いこと、vi) 斃死魚はほぼ例外なく鰓蓋を開き、各鰓を上げ、鰓弁が軽度のうつ血と粘液様物でおおわれていること、vii) 赤潮海水の脱脂綿濾液では、魚の斃死がみられないことなどである⁶⁾。

その後、昭和47年8月にも兵庫・香川両県を中心とした瀬戸内海東部において、前記昭和45年度をはる

かに越える大規模な海産ミドリムシ赤潮が発生し、千数百万尾の養殖ハマチが斃死するという養殖史上空前の大被害をもたらした⁹⁾。以上の3カ年にわたる海産ミドリムシ赤潮による養殖魚類を中心とした被害の状況から、海産ミドリムシ赤潮の魚に対する影響は従来知られている種々の赤潮の場合とは異なり、生きた赤潮生物が直接魚に影響すること、しかも短時間に死に至らしめるような激しいものであり、斃死魚の症状はいわゆる「窒息症状」を呈していること、また被害の状況から、従来の真珠母貝などで知られた湾奥部の局地的な被害状況とは異なり、赤潮自体が灘部全域を含めて広範囲に分布し、従って被害域も非常に広範囲におよぶことなどが明らかとなった⁷⁾。

本研究を始めるにあたり、著者らは研究の目的を海産ミドリムシ赤潮の魚類、特に養殖魚類に対する直接的斃死因、斃死機構の解明に限定し、多くの考え得る死因、斃死機構を実験的に検討して、その否定されるものを消去することにより、真の斃死機構の把握を行なうよう努めた。ほぼ2カ年にわたる研究から当初の目的の一端を明らかにすることができたので、ここに報告する。すなわち著者らが考えた、この直接的な斃死因としては次の各項である。

1. 中 毒

赤潮生物自体もしくは、赤潮発生の前後産生される何等かの有毒物質に対する魚類の斃死を全て含めて考える。

- 1) 生きている赤潮生物の産生する体内、外毒素による場合。
- 2) 赤潮生物の枯死分解の際に産生される各種有毒物質による場合。
- 3) 赤潮時、二次的に繁殖したバクテリアなどの産生する有毒物質による場合。

2. ストレス

1) 赤潮生物による、または赤潮形成条件下の水質、その他の急激な変動によるストレスなどに起因する場合。

3. 窒 息

ここでは、主として鰓のガス交換の障害に基づく窒息、いわゆる外窒息を考える。そして、次のA、Bに2大別する。

A. 水中の溶存酸素量の低下に基づく場合。

- 1) 赤潮形成に関連する低酸素水塊による場合。
- 2) 赤潮時の赤潮生物の呼吸作用による溶存酸素量の低下による場合。
- 3) 赤潮生物の枯死分解の際の酸素消費による溶存酸素量の低下による場合。

B. 魚の側のガス交換機能の障害に基づく場合。

- 1) 赤潮生物の存在によって起こる魚の窒息時酸素分圧、窒息点の上昇による場合。
- 2) 水中の溶存炭酸ガスの増加、pHの上昇などによるガス交換機能の障害による場合。
- 3) 赤潮生物の鰓に対する、直接的影響に基づくガス交換機能の障害による場合。

4. そ の 他

材 料 と 方 法

各種の実験は水産庁南西海区水産研究所および農林省水産大学校でそれぞれ行なわれた。室内実験には、主として、培養した海産ミドリムシ (*Hemieutreptia antiqua*, ムカシウミミドリムシ) と養殖ハマチ, *Seriola quinqueradiata*, マダイ, *Chrysophrys major* を用い、通常の病理解剖、血液性状検査のほか、呼吸生理の基礎的実験、酸素消費量、酸素利用率測定、血中ガス分圧測定、心臓搏動数測定などを行なった。海産ミドリムシの培養には特記しない外は海水をベースとした培養液 SWM-III⁸⁾ を用いた。それぞれ詳しい実験条件、方法は次の実験の各項においてのべることにする。

研究結果

1. 海産ミドリムシ赤潮による魚類の斃死状況

1-1 漁場における海産ミドリムシ赤潮による魚類の斃死の状況

昭和44年以降のいわゆる海産ミドリムシ赤潮により斃死した魚種は次の通りである。

養殖魚：ハマチ（当才～3年魚）、マダイ（当才～4年魚）、カンパチ、ウマズラハキ、クロダイ。

天然魚：ボラ（当才～3年魚）、クロダイ、ハゼ類、メイタガレイ、サヨリ、アイナメ、コチ。

その他：マダコ、クルマエビ、ジャコ。

このなかには直接的な斃死と認められないものもあり、また養殖場における観察ではハマチ、カンパチがほぼ全滅した場合でも、近接生簀で飼育中のマダイ、クロダイ、ウマズラハギなどには斃死が認められなかった報告例が多い。天然魚ではボラの斃死が多く報告されている。赤潮時の魚の状態については、既に概略を前項で述べた。その他、昭和47年度の瀬戸内海東部における養殖場での観察によると、養殖ハマチは大型で活発なものほど早く斃死すること、濃い赤潮内では10分間以内に死に至ること、小割、生簀内にコンプレッサーを用いて通気したところ効果はなく、むしろ被害を大きくした場合もあること、などが明らかにされている⁹⁾。

次に赤潮発生時における海況であるが、昭和44年～46年度瀬戸内海西部赤潮、昭和47年度瀬戸内海東部赤潮それぞれについて2～3の報告がなされている^{4,6,9)} それらによると、一般に表層～5m層までは溶存酸素量は過飽和に近く、塩素量はやや低く、pHはややアルカリ側に傾いており、透明度は著しく低下していることが特徴であり、特に溶存酸素量はむしろ高いことが注目されている。著者は昭和47年6月広島県大野町地先でヘテロシグマ *Heterosigma inlandica* を主体とした赤潮の昼夜観測を行なった。その結果では表層から5m層までは溶存酸素量が過飽和であり、塩素量は14～16%でやや低く、pHは表面では8.5～8.8の高い値を示した。これらの結果は前述した海産ミドリムシ赤潮の場合とほぼ同様であり、*Heterosigma* 赤潮中で魚の斃死が全く認められなかったことは、赤潮時の水質状況が同じであっても、その構成プランクトン種によっては赤潮による魚類の被害状況が異なることを意味している。従って、このことは海産ミドリムシ赤潮による魚類の斃死機構を考察する際の参考となる。

1-2 培養海産ミドリムシのマダイに対する影響

海産ミドリムシ赤潮がマダイに与える影響を確認するために、培養した海産ミドリムシを用いて実験を行なった。

実験方法および結果

実験に用いた海産ミドリムシ (*Eutreptilla* sp.) の原種は山口県内海水産試験場より分譲を受けた。これを Allen-Nelson 液と ASP₂-NTA 液の等量混合培養液で増殖させ、さらに海水培養液（戸過海水 1l 当り、NaNO₃ 10mg, K₂HPO₄ 1mg, FeCl₃ 0.2mg, VB₁₂ 1μg を添加、滅菌）に移して増殖させたものを実験に用いた。なお、培養は 5l 入のフラスコに約 2.5l 入れ、恒温室（20°C）において、約6,000ルクスの照明下（ただし夜間は10時間消燈）で行なった。プランクトン濃度は 0.1ml 中の個体数を直接顕微鏡下で計数した。供試魚のマダイ（体長約 9cm, 体重約 30g）は山口県仙崎漁協、または黒井漁協の養殖場から、あるいは下関市吉見地先の吾智網で漁獲されたものを、水産大学校内の流水式水槽（1×2.5×0.7m）に収容し飼育していたものである。実験は温度馴化の後、すべて恒温室（20°C）で行なった。

実験1 海産ミドリムシが種々の条件下において、マダイに与える影響

実験は直径 25 cm, 深さ 10 cm の円形ガラスバットに塩酸とトリス（Tris-hydroxymethyl-aminomethane）で pH を調整した前記培養で得た赤潮海水を入れ、その中にマダイ 3～5尾を投入し、約2時間以上にわたって魚体の状況を観察した。実験中は通気（CO₂ を含まない空気）により溶存酸素飽和度は常に90%以上に保った。プランクトン濃度は実験開始時および終了時に計数したが、実験中の減少率は10%

以内であった。実験開始後1時間までは15分毎に、その後は30分毎に魚の状況を記録し、斃死魚（呼吸運動が停止し、狂奔をはじめたもの）は直ちに持ちあげ、その時刻を記録した。対照には全くプランクトンを含まない海水培養液を用いた。

各 pH、各プランクトン濃度における魚の斃死状況を実験終了時の状況により斃死、横転、生存の別に分け、179尾、48実験の結果を図1に、またプランクトン濃度と斃死時間との関係を図2に、斃死率と呼吸数の経時変化を図3、にそれぞれ示した。図1からも明らかなように、1つの実験においてバット中の全個体が死亡する、いわゆる100%斃死が pH8.1 ではプランクトン濃度4,600個/ml から、pH8.3 では4,200個/ml からみられたが、pH8.5 ではその濃度はさらに低下し、2,800個/ml で全個体の斃死がみられた。pH8.7 では極めて低い濃度で僅かの斃死があったが、100%斃死はむしろ高い濃度で起こった。なお、対照実験ではいずれの pH においても魚に異常を認めなかった。斃死魚の状態は運動が次第に緩慢となり、呼吸数が増大し横転する。手で触れるなどの刺激を与えると、敏感に反応していた魚も時間の経過とともに、その反応は鈍くなる。横転後は更に呼吸数が減少し、遂に呼吸が停止するに至る。呼吸停止後で魚はけいれんを起し、狂奔し、死に至る。図2に示したように、各 pH におけるプランクトン濃度と斃死時間についても、上に述べた傾向がうかがわれ、pH8.1 試験区は5,000~8,000個/ml 程度のプランクトン濃度差では、プランクトン濃度と斃死時間の間に明瞭な関係は認められないが、それ以外の pH 試験区では、プランクトン濃度の低下は斃死時間の延長をうながす傾向がうかがわれる。なお、多くの実験例において斃死時間が2時間以内であることは、海産ミドリムシによるマダイの斃死が急性死であることを示している。図3a~b で明らかなように、赤潮海水におけるマダイの呼吸数の変化については、後述する斃死因の項とも関連するが、いずれの pH 試験区でも全斃死区、無斃死区ともに対照に比し呼吸数の増加が認められる。しかし、斃死するものは140回/分以上の呼吸数を示していることが特徴的である (pH8.1 の場合、赤潮海水に魚体を投入直後から高い呼吸数

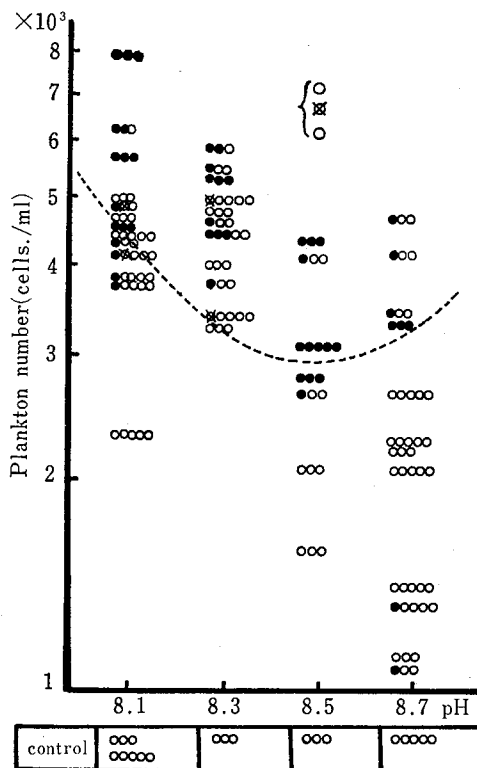


Fig. 1. Relation between plankton number and pH of sea water with the red tide bloom, in reference to living of red sea bream.

Each circle represents one individual, and filled circle, death; open circle, living; open circle with cross, lie down and breathing. Control shows the results in the experiments without the bloom.

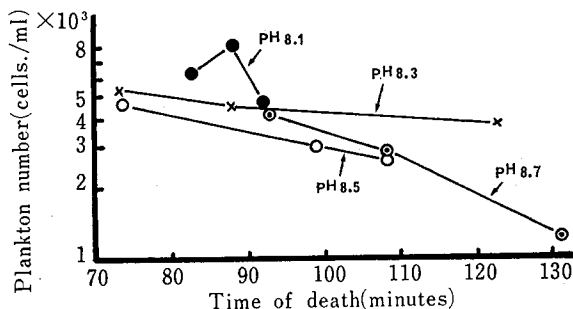


Fig. 2. Relation between the mortality time of red sea bream and plankton number of the red tide bloom.

が認められる)。対照区では呼吸数は時間の経過とともに減少していく。

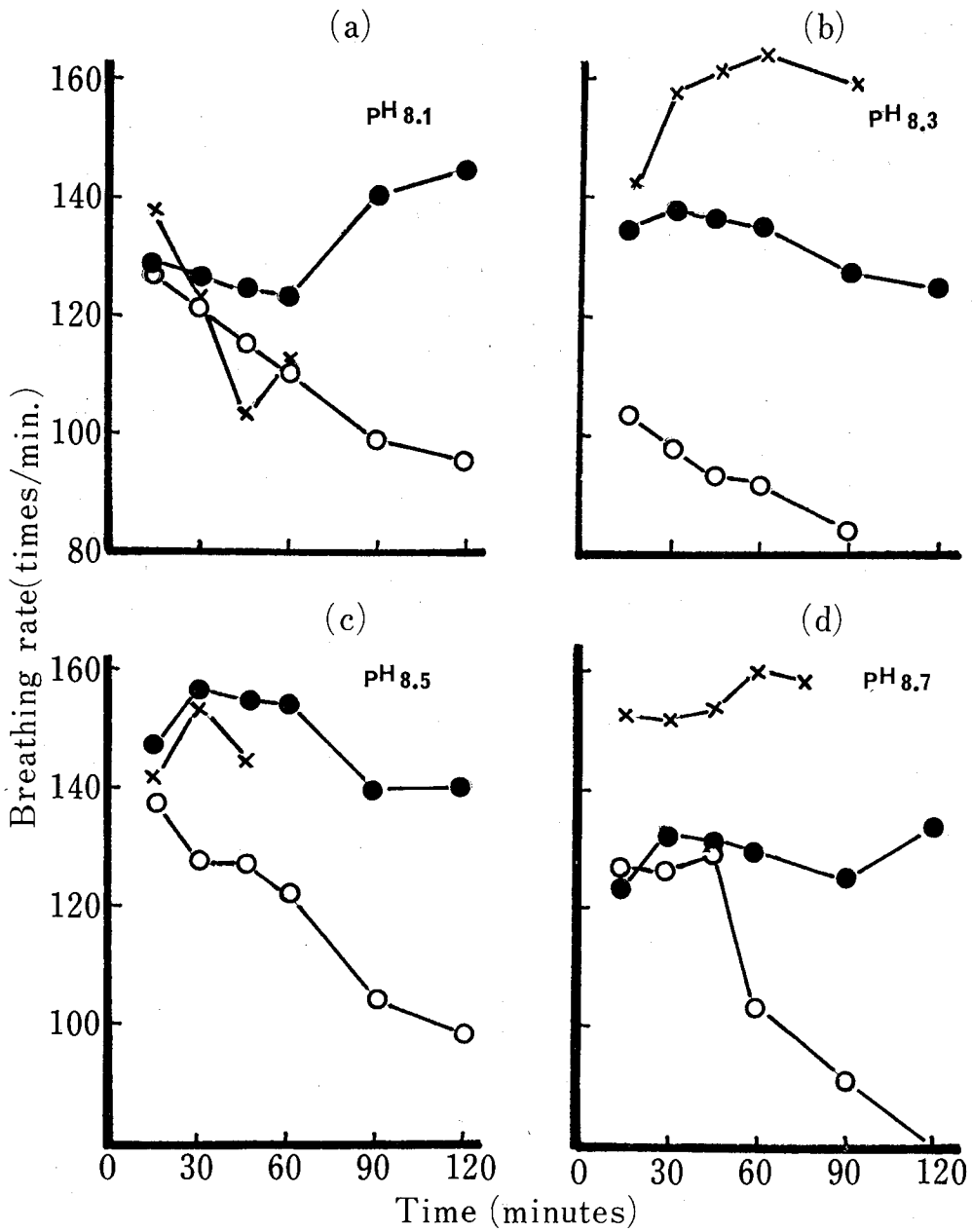


Fig. 3. Change in breathing rate of red sea bream, in the experiments that the breams are thrown in the red tide of various pH conditions. Filled circles indicate the experiment in which no fish died; crosses, all fishes died; open circles, control experiment without the bloom. Plankton number is the range of 3000 to 4500 cells per ml.

実験2・海産ミドリムシ濾液，枯死分解上澄液のマダギに対する影響

実験1と同様の方法で，海産ミドリムシ培養濾液，あるいはその枯死分解上澄液が魚におよぼす影響を実験的に検討した。濾液は定性濾紙を用い，褶曲濾過により自然落下させて作製した。枯死分解上澄液は海産ミドリムシの培養液を20°Cで，約10日間，遮光して放置することによって作製した。全ての試験液はトリスメ pH 8.45 に調整した。実験の内容および結果は表1に示したとおりである。表1で明らかのように，プランクトン個体の存在しない濾液および枯死分解上澄液はいずれもマダギに対しては顕著な影響は与えないことが確認された。

Table 1. Response of red sea bream to the red tide and its various kinds of the treatment solution.

Item	Plankton number, $\times 10^4$ (cells/ml)	Breathing rate (No./min)	Response to stimulus	No. of dead fish
1. Filtrate from the red tide	1.6 (before the treatment)	145	exist always	0
2. Surface part of the decayed and decomposed red tide	3.0 (before the treatment)	135	ditto	0
3. The red tide	2.9	155	disappear gradually	2
4. ditto	2.3	165	ditto	1
5. ditto	0.4	180	ditto	1
6. Medium for the culture	—	145	exist always	0

Notes: pH of the treatment solution, 8.5–8.7

Number of the dead fish is represented regarding one group of three fishes.

1-3 培養海産ミドリムシのハマチに対する影響

海産ミドリムシのハマチに対する影響を確認するために，培養した海産ミドリムシを用いて下記の実験を行なった。

実験方法および結果

実験に用いた海産ミドリムシ (*Hemieutreptia antiqua*) は1972年9月広島県水産試験場が広島湾より採取，単離したものを原種とした。培養液は岩崎のSW-IIの処方¹⁰⁾に，ビタミンB₁₂を2 μ g/l添加したものをを用い，培養は5l入フラスコで20°C，6,000~10,000ルクスの照明下（1日9時間照明）で行った。プランクトン濃度の測定は5~10 μ lマイクロピペット (Yankee disposable micropet Clay Adams 社製) に直接採取し，顕微鏡下で計数した。計数は3回行ない，この平均をとった。供試した当才の養殖ハマチ（体長約40cm，体重約700g）は広島県大竹市阿多田島で養殖したもので，適時運搬し，南西海区水産研究所内の大型水槽に収容していたものをを用いた。実験は海産ミドリムシ赤潮がハマチの呼吸生理，循環生理におよぼす影響を同時に検討するために，供試魚は予め脊髄を切断し，体後方の運動を不能とした。実験装置は図4に示したとおりである。心臓搏動数および鰓蓋運動数は日本光電製オシロスコープセットを用いた。心搏測定は電極挿入法は難波らの方法¹¹⁾を用いた。鰓蓋運動はエルマ製キモグラフィも併せて使用した。実験開始時と終了時にそれぞれ一般的病理解剖の他に血液性状の検査（ヘマトクリット値，ヘモグロビン含量，血球抵抗値，血漿蛋白含量，血中ガス分圧等）も行なった。実験水温はクールニック

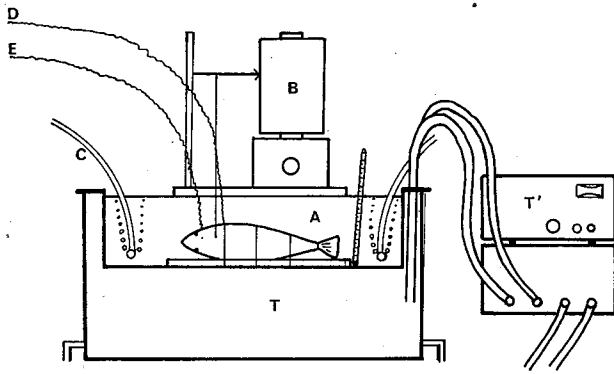


Fig. 4. Diagram illustrating the experimental apparatus for recording the breathing and heart pulsation rates in the yellow tail affected by sea water of the red tide bloom. A, experimental tray; B, kymograph; C, aeration tube; D, lead for recording of the heart pulsation; E, lead for the gill movement; T, constant temperature tank; T', circulating machine to T.

の逆洗によって、これら固形物は容易に離脱する。魚体の鰓上皮からの大量の粘液分泌は、この実験条件下では心臓搏動の完全な停止後数分から十数分後に起こるのが普通であり、また単なる実験の不幸による斃死魚、あるいは水中溶存酸素量の欠乏による窒息性窒息魚では、呼吸停止直後にこのような鰓蓋面上

スサーキュレーター（小松エレクトロニクス社製）で25~26°Cに保った。対照区は赤潮培養液の脱脂綿濾液を沓過海水に加えたものを用いた。

実験結果の代表的なものを選び、心臓搏動数、呼吸数と斃死時間との関係を図5、図6に示した。プランクトン濃度は同図に示した。実験終了時の魚体観察では、体色は褪色し、鰓蓋内側、下顎端などに軽度の発赤がみられ、鰓蓋を大きく開いている場合が多い。鰓は軽度のうっ血のほか、例外なくほぼ透明の粘性物質に被われている。粘性物質は鰓葉外面を被い、各鰓弁間に楔状の固形物が形成されている (Plate I, Fig. 8)。この固形物は黄褐色の粘性物からなり、海水中に静置するとかなり長時間にわたって形を保つ。また鰓

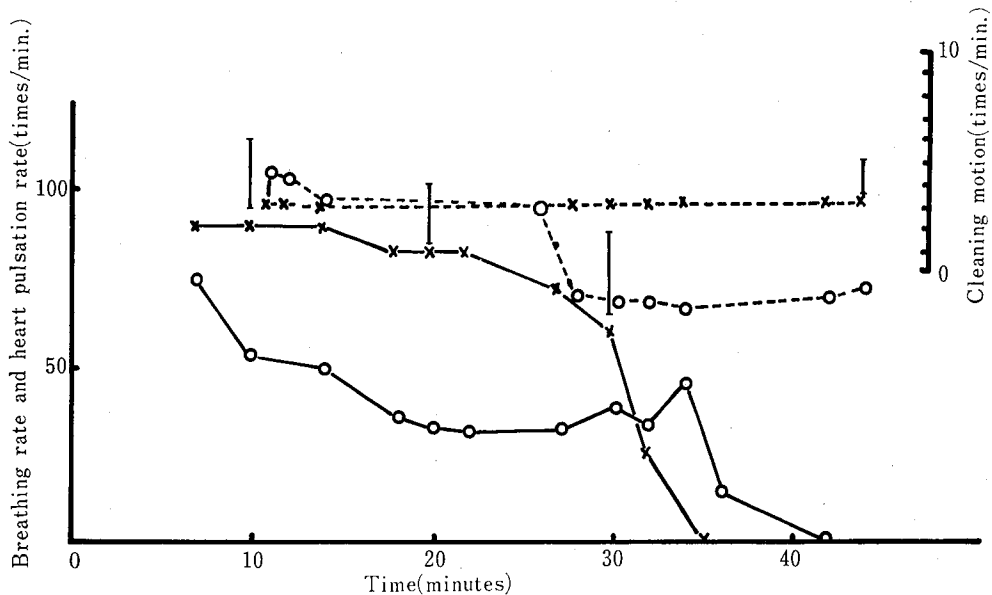


Fig. 5. Change in breathing and heart pulsation rates of the yellow tail, affected by the red tide (plankton number, about 1700 cells per ml). Open circle, heart pulsation rate; cross, breathing rate; vertical bar, frequency of cleaning motion in the breathing; broken line, control experiment in the filtrate from the red tide.

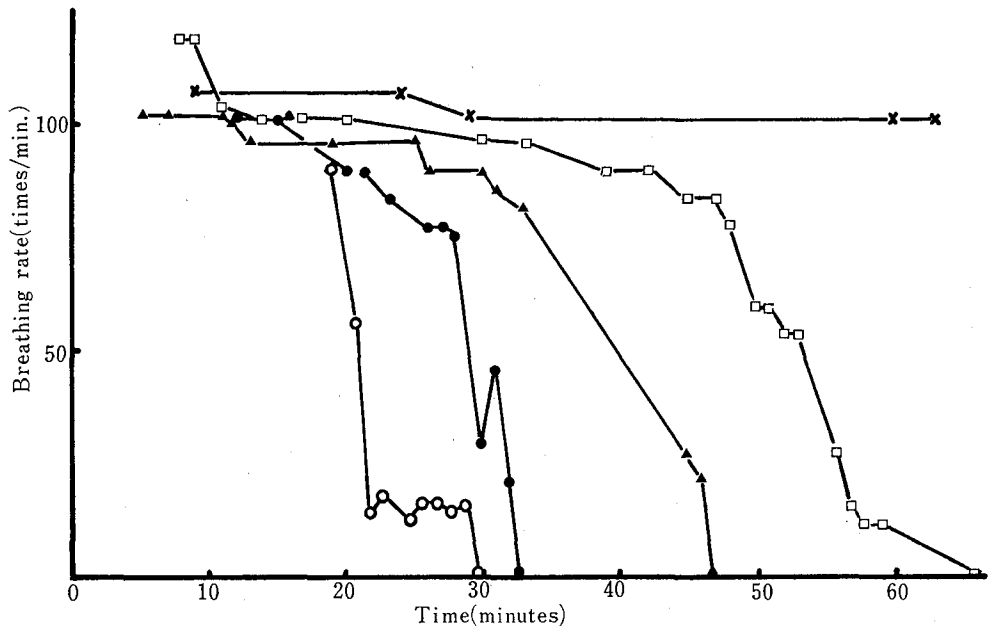


Fig. 6. Change in breathing rate of the yellow tail, affected by the red tide bloom of various concentration. Plankton number of the bloom are as follows; open circle, 2300 cells per ml; filled circle, 1300; triangle, 800; square, 500; cross, no bloom (control).

の粘性物および楔状固型物はみられないことから、これらは海産ミドリムシに由来するものと考え得る。図5、6からも明らかなように、前述したマダイの場合と同様、心臓搏動数と呼吸数はともに急速に減少していく。また赤潮海水中では、洗滌運動の回数が対照に較べて多い傾向がうかがわれる。心臓搏動数については、斃死直前の一時的な増加がみられるが速やかに搏動停止に至る。それに対し対照区はほぼ一定の値をとり、本実験条件では心搏数約70回/分、呼吸数約100回/分を示した。

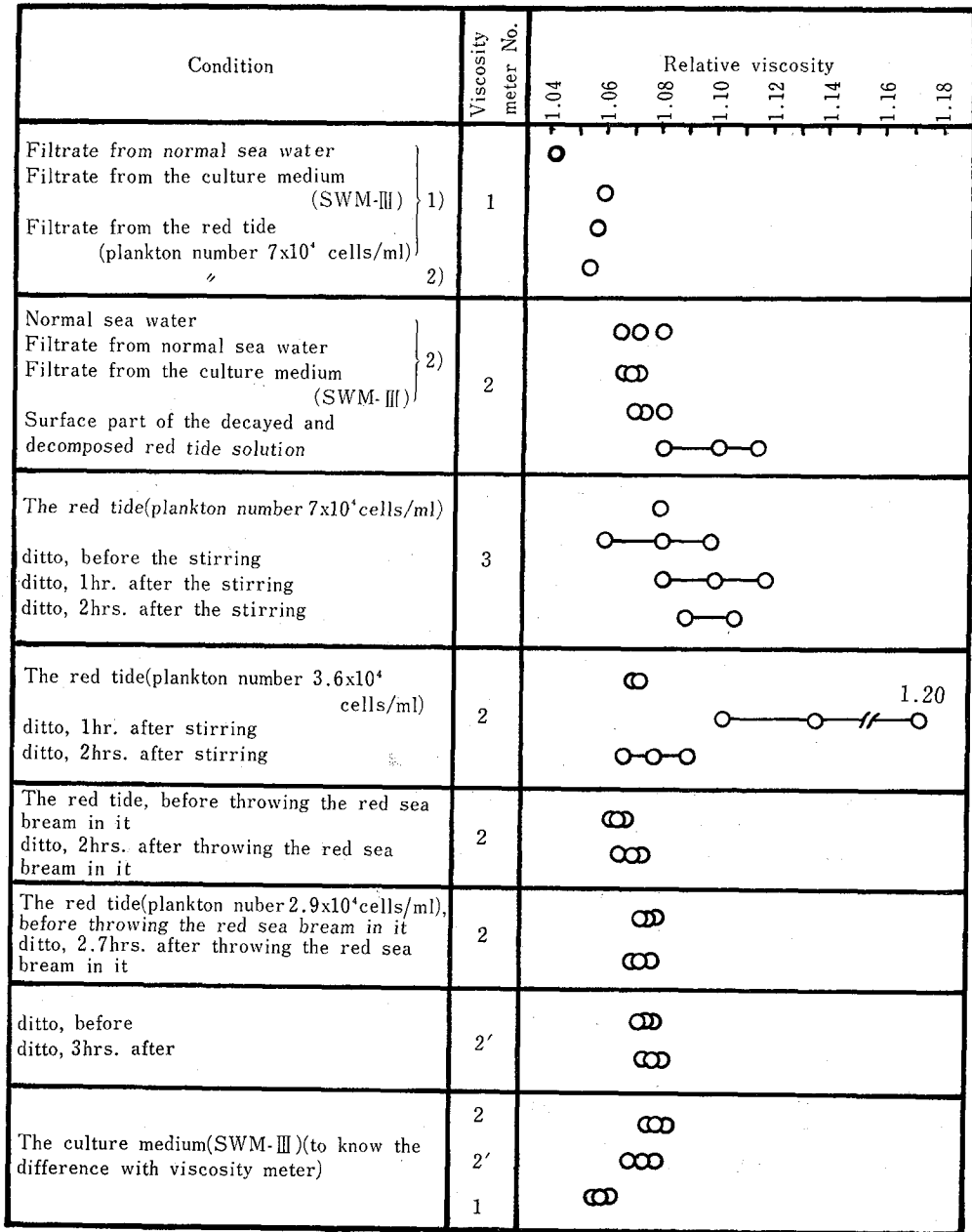
2. 海産ミドリムシの特性について

2-1 海産ミドリムシ赤潮の粘性

一般に海産ミドリムシ赤潮では、海水の粘稠度が増加するといわれており¹²⁾、海水粘稠度の変化を培養海産ミドリムシを用いて実験的に検討した。

実験方法および結果

測定はオストワルド粘度計を用い、20°Cの恒温水槽中で行なった。粘性は相対粘度で表示した。すなわち、蒸留水の粘度係数を Y_w 、比重を d_w 、粘度計での測定時間を t_w 、被検液のそれらを Y, d, t とすると相対粘度は $Y/Y_w = d \cdot t / d_w \cdot t_w$ で表わされる。この場合の比重は10ml用の比重瓶を用いて測定した。なお、粘度の測定は、同一試料を原則として3回採取して行なった。また、使用した個々の比重瓶、培養液に起因する測定の誤差は ± 0.005 (相対粘度)であった。種々の条件の培養液(1-2の実験で用いたものと同様)について行なわれた測定結果を図7に要約して示した。図7からも明らかなように、対照である培養液(SWM-III)は海水よりもやや粘度が高いが、海産ミドリムシの増殖した培養液の粘性もそれ程著しく増大しない。しかし、海産ミドリムシの枯死分解上澄液は粘度の増加が認められる。また培養液に通気しながら、ガラス棒で1時間余、激しく攪拌すると粘性は増加する。この攪拌をさらに2~3時間も続



Notes; 1) Filtration by usual filter paper
 2) Filtration by millipore filter

Fig. 7. Relative viscosity of the red tide (cultured *Hemientreptia sp sol.*) and its various kinds of the treatment solution.

けると粘性が逆に低下してくることが明らかとなった。海産ミドリムシの培養液中にマダイを投入して、その2～3時間後における粘性の変化をみたところ、投入直後の値はわずかに増加の傾向を示したとはいえ、普通の海水の値と著しい差異は認められない。相対粘度に10.09を乗じて粘度係数を求めると海産ミドリムシの培養液は11.29～10.59の範囲となり、また攪拌して粘性が最も増大した場合でも12.10となり、通常海水（15～20°C, 20‰）の粘性係数と大差はない。

2-2 海産ミドリムシの粘液様物質放出について

海産ミドリムシの諸性質、とりわけその栄養要求、生理・生態についてはすでにいくつかの報告がなされている^{13,14,15)}。またムカシウミミドリムシ *Hemientreptia antiqua* HADA の形態および構造については羽田⁵⁾、高山¹²⁾ の報告がある。高山¹²⁾ によると、ムカシウミミドリムシは培養中培養密度が高くなったり、直射日光を照射すると、培養器底に凝集して粘性の高い塊り状を呈し、容易に粘液放出、変形が行なわれるとのことである。これらを確認する目的で前述の培養海産ミドリムシを用いて以下の実験を行なった。

実験方法および結果

pH、プランクトン濃度の異なる培養海産ミドリムシ赤潮と一定のメッシュのプランクトン用網地（絹製、オープニング 95 μ ）を用いて、沝水効率の変化、虫体の変化などを検討した。沝過器は 250ml 用広口ポリビンを改造し、直径 3cm のプランクトン用網地を張り、250 ml づつ注入を繰り返して沝過し、それぞれの沝過に要する時間を測定した。pH の調整は塩酸および水酸化ナトリウムを用いた。水温は 18～19°C に保った。沝水試験終了後、沝液内の虫体および網地の目詰りの状態などを顕微鏡下で観察した。測定結果

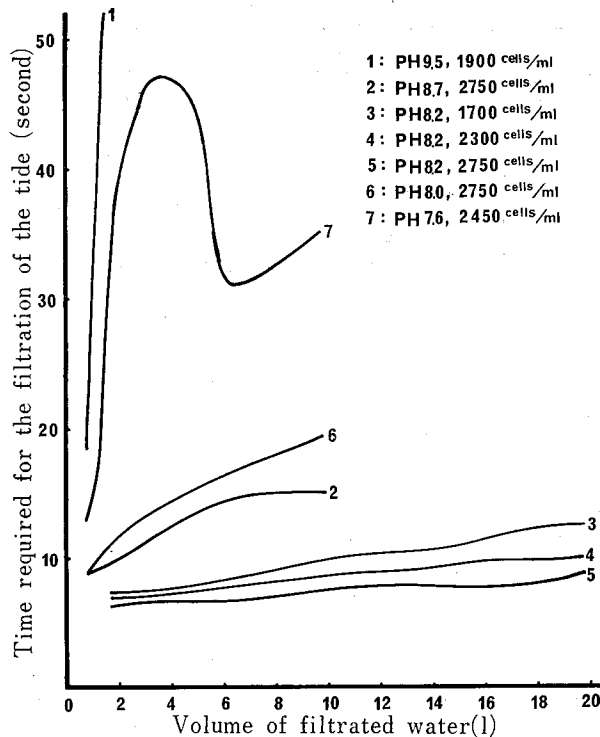


Fig. 8. Time required for the filtration of the red tide (250ml) through the silk net with opening 95 μ . Abscissa indicates total volume of the red tide through the net.

は図8に一括して示した。また汚水試験終了後の網地の状態の一部を (Plate I, Figs. 5, 6, 7) に示した。以上の実験結果から、pH 7.5~9.5 の範囲では pH 7.6 の汚水率が最も低く、pH 9.5 では急激な汚水率の低下が認められた。pH 9.5 では、虫体のほとんどが球形のシスト状であり、汚過前の赤潮海水には透明な多量の粘性物質がみられた。この粘性物質を除き球形シスト状のものだけではほとんど汚水率の低下は認められない。また同一 pH では汚過回数の少ない、いわば新しい赤潮海水ほど、汚水率が低下する。汚水試験終了後の網地の観察では、汚水率の著しい低下のない間は網目に透明な粘性物質の付着のみ認められるが、汚水率の低下に伴ない、緑褐色色素を含む細胞崩壊物により目詰りを形成している場合が多くなる。粘性物質は脆い膜状の構造をしている。虫体を検鏡中しばしば起こる粘性物質放出、球形シスト化、全細胞崩壊過程は通常は2段階で起こる。まず、健全な紡錘形虫体 (全長 60~130 μ , 巾 30~40 μ) が核を中心に球形のシスト化を起こし (直径 20~30 μ)、その際一部の粘液体を含む体表層部が剥離崩壊し、脆弱を非常に薄い膜状構造物を形成する (直径約 50 μ 余)。つづいて、球形シストが破裂し、色素を含む不定形の膜状構造となる (直径 60~100 μ)。これらの過程の一部を図版 I (Plate I, Figs. 1, 2, 3, 4) に示した。

3. 海産ミドリムシ赤潮による魚類の斃死因の実験的吟味

前述した漁場での観察および種々の実験から、海産ミドリムシ赤潮の魚毒性の有無および呼吸生理異常について、さらに検討する必要があると考え以下の実験を行なった。

3-1 海産ミドリムシ赤潮の魚毒性の有無について

実験1 各種海産ミドリムシ処理液のマダイ腹腔内注入による魚毒性の予察

供試魚および培養海産ミドリムシは、1-2の実験1と同じものを用いたが、この場合の培養液の処方 SWM-III によった。海産ミドリムシの培養液を表2に示すような種々の処理を行ない、前記マダイの腹腔内に注射して、魚の生死から毒性を予察した。供試マダイは実験の数日より恒温室内の実験水槽 (循環式, 75×45×45 cm) に移し 20°C の温度に馴らしておいた。汚液は予め滅菌蒸留水で洗滌しておいた

Table 2. Characteristics of the red tide and its various kinds of the treatment sol. injected into abdominal cavity of red sea bream.

Item	Plankton number, $\times 10^4$ (before the treatment) (cells/ml)	osmotic pressure ($\Delta^\circ\text{C}$)	pH	Notes
1. Filtrate from the red tide and dialysed	7.5	0.00		Dialysed by cellulose membrane and concentrated by Cefarax
2. ditto	2.9	0.23		
3. ditto	7.0	0.79	8.34	
4. Filtrate from the red tide	7.1	2.04	8.71	
5. Three times dilution of 4	7.1/3	2.04/3		
6. Filtrate after crush in mortar	6.3	2.04	8.63	Crush time, 30 min. Crush rate, 60.3%
7. Filtrate after crush by super sonic wave	2.9	2.04		100 V, 100 mA, 1 hr. Crush rate, 88.8%
8. Surface part of decayed and decomposed red tide sol.	7.0	2.04		Allowed to stand in dark for 3 days and 18 hrs.
9. Physiological salt sol. (I)			7.20	
10. ditto (II)			8.81	Regulated by Tris-buffer

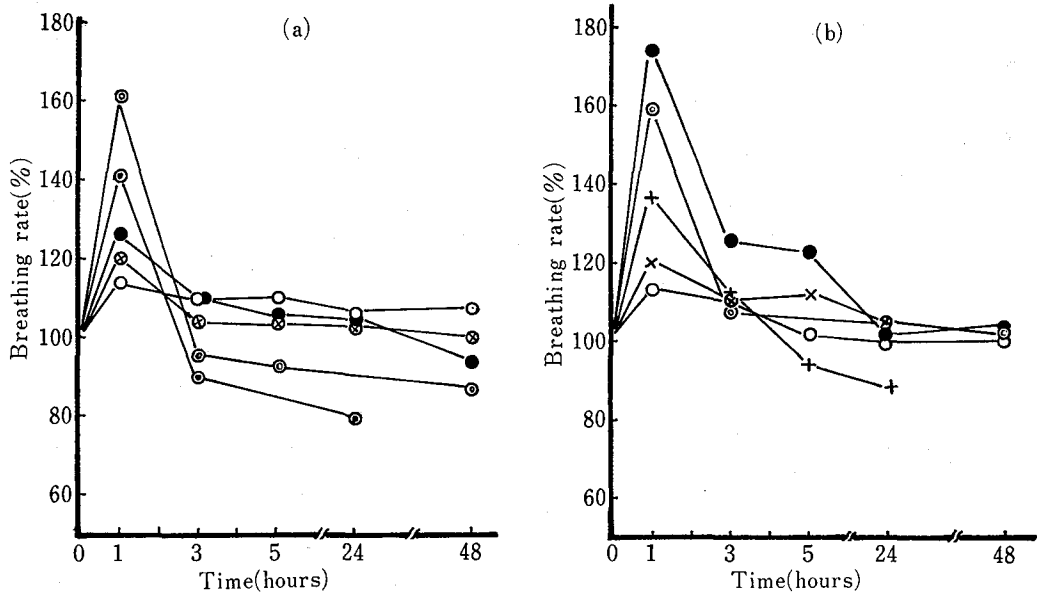


Fig. 9. Change in breathing rate of the red sea bream caused by the abdominal injection of the various treatment solution from the red tide.

Marks are as follows: in (a), the filtrate from the red tide was dialysed against running water; \odot , osmotic pressure Δ is 0°C ; \bullet , 0.23°C ; \ominus , 0.79°C ; \circ , 2.04°C ; \otimes , $2.04 \times 1/3^{\circ}\text{C}$; in (b), \circ , the filtrate from the red tide affected by super sonic wave; \bullet , the filtrate from the red tide affected by mortar's crushing; \odot , surface part of the decayed and decomposed red tide solution; \times , physiological salt solution of pH 7.2; $+$, the same solution of pH 8.8.

In each case, the value is represented by percentage against that of normal stage.

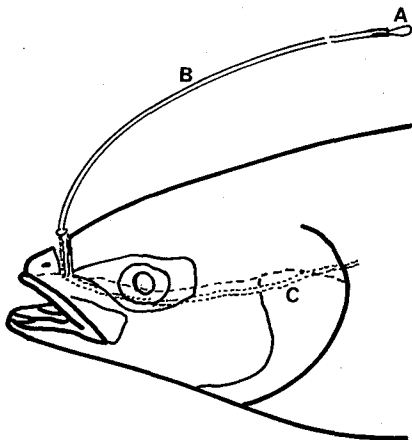


Fig. 10. Showing the insertion of a cannula in the dorsal aorta of the yellow tail for long-term blood sampling. A, glass plug; B, polyethylene tube (dia. 1.1 mm); C, needle. (modified from Smith-Bell, 1964)

ミリポーターフィルター HA (0.45μ) を通して調整し、できるだけ雑菌の混入を防いだ。注射器、その他使用器具は全て滅菌した。一実験区当りの供試尾数は3~5尾で、1尾宛の注射量は0.5mlであった。注射前と注射後1, 3, 5, 24, 48時間毎に魚の呼吸数を測定し、また魚の状況を観察した。注射前の呼吸数を100%として、呼吸数の時間的変化を図9に示した。これによれば対照区としてリンガー氏液を注入した試験区を含め、すべての実験区で呼吸数は注射1時間後に急激に増加するが、5時間後にはほぼ平常値(90回/分程度)、あるいはそれ以上にまで減少することがわかる。この実験では注射液の浸透圧、pH、河過前の培養液のプランクトン濃度などを種々検討して試験区を設定したが、いずれの試験区とも外見上異常を認めない魚では、1尾の死亡もなかった。しかし呼吸数の一時的増大の程度が注射液の種類により異なり、さらに140回/分以上の呼吸数を示す例があることなどは注目される。

実験2 培養海産ミドリムシ汚液のハマチ背動脈内注入による魚毒性の予察

供試魚は山口県豊浦郡豊浦町黒井漁協養殖場で養殖されたハマチ（体長約36cm, 体重約800g）を水産大
 学校内の水槽に収容し、蓄養したものを用いた。実験は上記ハマチに予め手術によって、ポリエチレンチ
 ューブ（直径1.3mm）のカニューレを背大動脈に行ない、それを通じて1尾当り5~7ml づつの培
 養ミドリムシ汚液を血管内に注入した（図10参照）。汚過前の培養プランクトン濃度は 7×10^4 個/ml であ
 り、汚液は血球の浸透圧と等しくするため滅菌蒸留水で約3倍に希釈した（浸透圧 $\Delta = -0.7^\circ\text{C}$ ）。また、
 汚液のpHは8.10そのままを用いた場合と、トリスを加えてpH8.48に調整した場合の2通りであった。
 1回の実験に供試魚2尾づつ用い、48時間観察を行なったが、培養ミドリムシ汚液の注入により魚体には
 何等の異常も認められなかった。

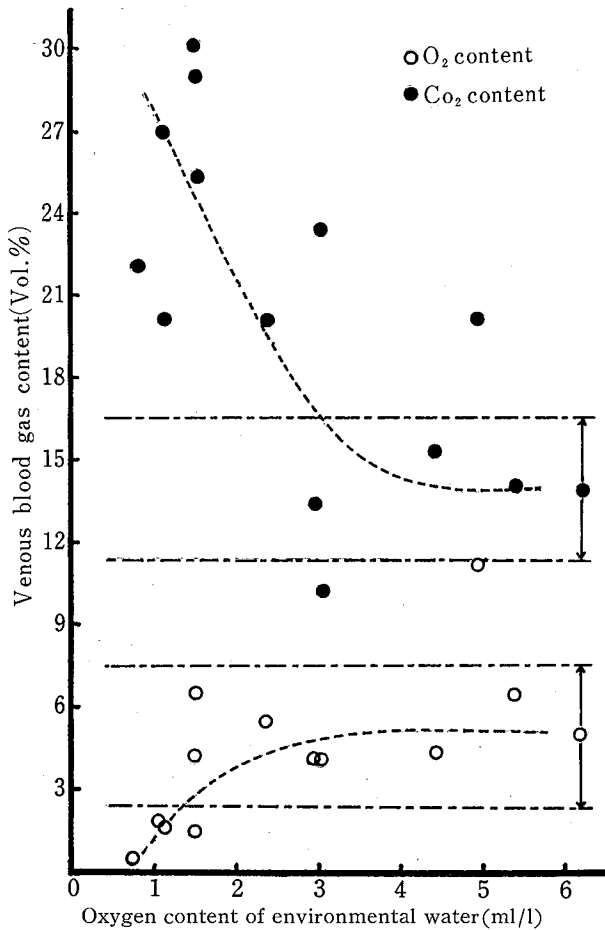


Fig. 11. Relation between venous blood gas content in the yellow tail and oxygen content of environmental water. Water temperature, 10.2-16.0°C; Open circle, oxygen content (Vol. %); filled circle, carbon dioxide (Vol. %).

The range shown by chain line represents the level in normal state.

4. 海産ミドリムシによる魚類の呼吸生理障害について

漁場における海産ミドリムシ赤潮による魚の斃死の状況などから、この赤潮は魚類の呼吸作用に何らかの悪影響を与えていることは明らかである。しかし、その詳細については不明な点が多く、それが本赤潮の被害機構解明の妨げとなった。魚類の呼吸作用に関する研究は、魚類が水中に生息するため採血方法を始めとして、種々の面に多くの困難があるが、色々な角度から海産ミドリムシ赤潮が魚類の呼吸生理におよぼす影響について検討を加えた。

4-1 水中溶存酸素量とハマチの血液ガス含量との関連について

実験方法および結果

水中低酸素がハマチの血液ガス含量に及ぼす影響を検討するため、予め供試ハマチに対し、図10に示した方法により、背大動脈にカニューレの手術を施し、動脈血を採取できるようにした。静脈血は心臓針穿によって採取した。実験は予め手術を施した供試ハマチ（2-2、実験2と同様である）1尾を、曝気を行ないながら実験水槽（30×75×40 cm 深さ）に収容し、約2時間以上新しい環境に馴らし、その後曝気を停止し、水量を半減し、一定時間毎にカニューレより採血した。同時に水槽水の溶存酸素量を測定した。血液ガス含量は血液0.5mlを用いてパンスライク検圧計により、また水中溶

存酸素量は、ウインクラー法により測定した。なお静脈血採取の際、魚体を水面近くで背位に保持するなどの操作を行なうため、魚体の疲労や興奮が長く残り、血液ガス含量に大きく影響すると考えられたので、静脈血の場合は連続採血を避けた。

水中溶存酸素の低下に伴う血液ガス含量の変化を13個体の静脈血について求めた結果を図11に示した。同図にはまたハマチの平常状態における血液ガス含量の範囲も示した。この図からわかるように血液中 CO_2 の変動は大きい。魚類においては運動、興奮などの影響による酸素消費量の増大が血中の乳酸の増加と共に極めて長く続くことが報告されており、それが静脈血中 CO_2 含量に大きく影響しているものと考えられる。しかし、一般に CO_2 含量は環境水溶存酸素量が 4.0ml/l 以下に低下すると除々に増加し、 2.0ml/l 以下では 20Vol. \% 以上にも達する。このことは既に 4.0ml/l 以下で体内組織において何か代謝機能の促進が起こっていることを示していると考えられる。血液中の O_2 含量は個体差は少く、 CO_2 含量より変動は少なかった。しかし環境水溶存酸素量が 2.0ml/l までは血中の O_2 含量の平常値の範囲からの低下はみられないが、その後 O_2 量の減少が始り 1.5ml/l 以下では急激な減少が起こることが明らかとなった。

動脈血については、8個体18実験の結果を図12に示した。この場合、1個体からの採血は3回以下にとどめた。同図にはまた平常状態における正常魚の動脈血の O_2 、 CO_2 含量も示した。測定値は静脈血の場合

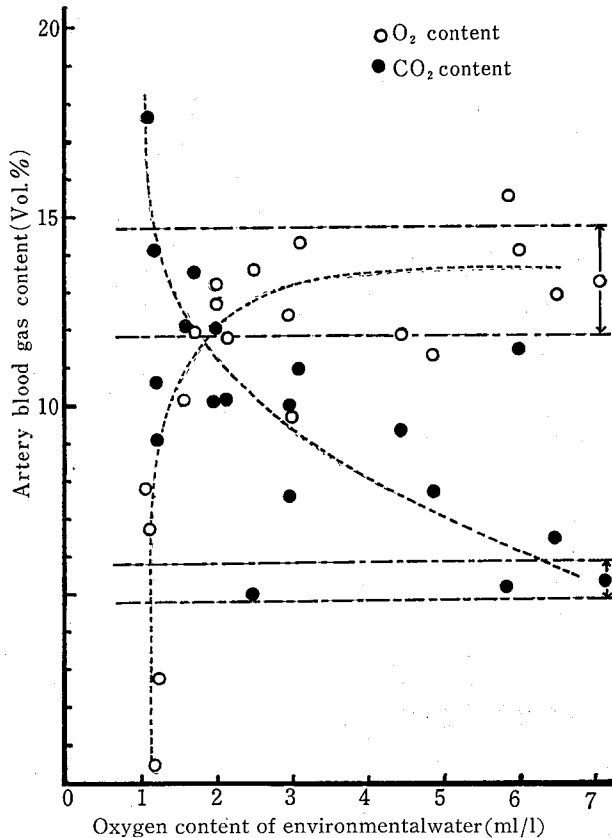


Fig. 12. Relation between artery blood gas content in the yellow tail and dissolved oxygen content of environmental water. Water temperature, $10.0-14.5^\circ\text{C}$. Other legends are same as in Fig. 11.

と同様、極めて変異が大きい。しかし動脈血の O_2 含量は環境水溶存酸素量が 2ml/l 前後までは、ほぼ正常状態の範囲内に留るが、それ以下になると急激に減少することがわかる。このことはまた、溶存酸素量が 2ml/l では「鼻あげ現象」がみられず、 1.2ml/l 前後になって狂奔が始まるという観察例と一致する。なお狂奔開始時の血液 O_2 含量は $6.6\sim 7.7\text{Vol.}\%$ を示し、斃死寸前のそれは $2.7\text{Vol.}\%$ 以下であった。他方 CO_2 含量は溶存酸素量の低下と共に除々に増加するが、やはり溶存酸素量 2ml/l 以下になって急激に増大する傾向を示している。通常動脈血の O_2 含量は CO_2 含量よりも多いのであるが、水中溶存酸素量 $1.7\sim 2.0\text{ml/l}$ 付近でその関係が逆転することが図12よりみられる。また、同図の曲線より動脈血 O_2 臨界値は溶存酸素量の 3ml/l と推察され、静脈血の結果を考慮すると、水中溶存酸素量 1.7ml/l で窒息現象の一つの過程が始まるものと考えられよう。

4-2 海産ミドリムシ赤潮中におけるハマチの血液ガス含量と呼吸状況

4-1と同様のハマチおよび培養海産ミドリムシを用い、図13に示す実験装置を用いて行なった。実験水槽に動脈血採取用カニューレを施したハマチ1尾を収容し、2~4時間にわたり実験水温 ($17\sim 18^\circ\text{C}$) に

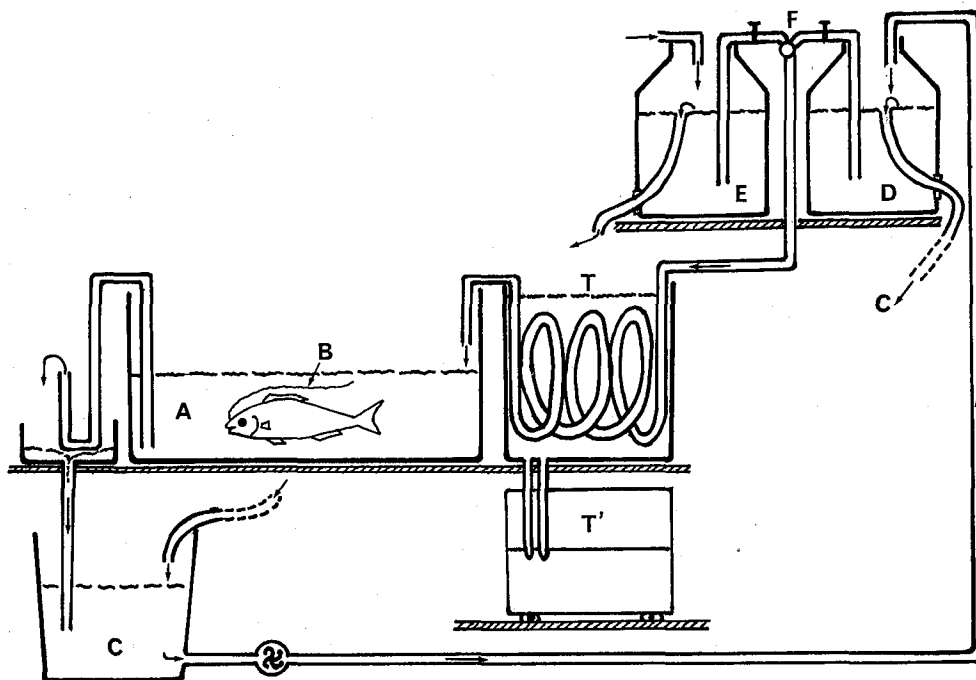


Fig. 13. Circulating apparatus of the red tide set for the purpose of the investigation of breathing and blood gas content in the yellow tail. A, experimental aquarium; B, polyethylene tube for blood sampling; C, reservoir of the red tide; D, sea water of the red tide; E, normal sea water; F, cock for changing the flow; T, T', constant temperature tank.

馴らした。魚体が安静になってから、正常海中での血液ガス含量および溶存酸素量その他を測定した。測定方法は4-1と同様である。その後、高架貯溜瓶に入れた赤潮海水を実験水槽中に流入、循環させた。その他は直接実験水槽の赤潮海水中に投入した。魚体を観察しつつ、その反応に応じて動脈血の採取と環境水の採取を行なった。3個体について動脈血の O_2 、 CO_2 含量、呼吸数および環境条件などについて測定、観察した結果を図14に示した。これによれば実験を行なった3魚体いづれの場合にも、赤潮海水中では溶存酸素量が充分あるにもかかわらず、動脈血の O_2 含量の低下が明らかにみられる。ことに、魚体 No. 3

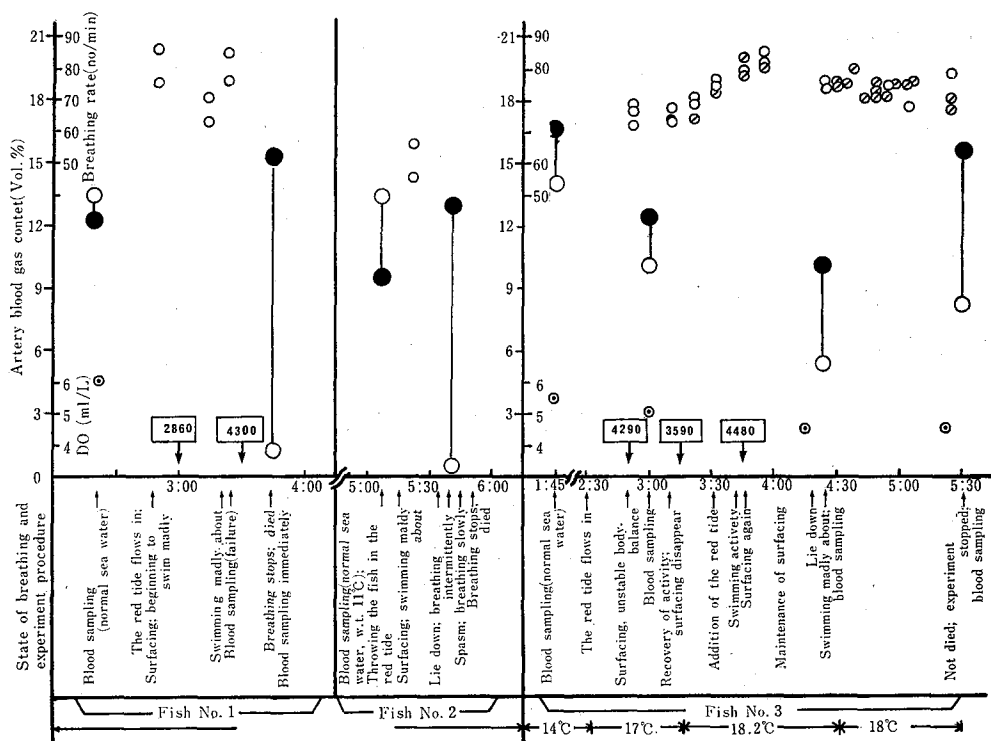


Fig. 14. Illustrating the state of breathing and artery blood gas content in yellow tail which was experimentally affected by the red tide.

Marks represent as follows: ○, oxygen content (Vol. %); ●, carbon dioxide content (Vol. %); ○, breathing rate (no./min); ⊕, breathing with the coughing ⊙, dissolved oxygen content (ppm); Boxed numeral indicates the plankton number of the red tide (cells/ml).

の場合には、血液の O_2 含量は正常魚の 11.8~14.8 Vol. % の範囲から時間の経過とともに徐々に大きく逸脱、低下してゆくことがわかる。4-1の結果に照らして、この時のハマチの血液性状は、窒息現象を示しているものと考えられる。

4-3 海産ミドリムシ赤潮中の呼吸における酸素利用率

実験材料は前記4-2の場合と同じである。ハマチの口腔水および鰓腔水を採取するために、ポリエチレンチューブ（イガラン No. 20）のカニューレを予め行なっておく（麻酔下）。カニューレの長さは約40cmで、その場所は、1本は頭蓋の鼻中隔より口腔内へ、他の1本は左胸鰭の腹側、鎖骨直下を通過して鰓腔に面した部位である。この手術魚を直径12cm、長さ約45cmのポリエチレンパイプ呼吸室の中に收容し、流水式呼吸測定装置使用の要領で実験を行なった。採水用のチューブはパイプ上の小孔にはめたゴム栓を経て装置外に取り出している。

魚をまず呼吸室内で正常海水に馴らし（約15時間）、採水を行なう。その後、ほぼ同温度の海産ミドリムシ赤潮（プランクトン濃度、26,000個/ml）約60lを循環径路に投入、これに切り換え一定時間毎に採水を行なった。なお同時に呼吸室の入口、出口からも採水を行ない、酸素消費量の測定（ウィンクラー法）に供した。ポリエチレンチューブからの採水は5mlの注射器で行ない、溶存酸素量を測定した。

口腔、鰓腔水の溶存酸素量より酸素利用率を計算した。また、呼吸室を通過する単位時間当りの流量と酸素消費量より河水量を計算した。

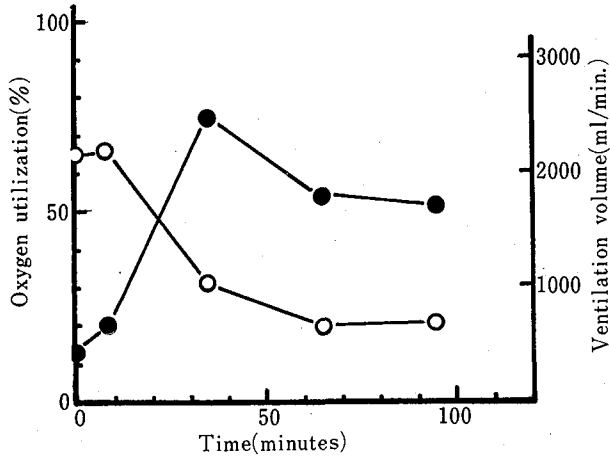


Fig. 15-a. Change in oxygen utilization and the ventilation volume in the course of breathing of the yellow tail, affected by the red tide bloom. Open circles represent utilization; filled circles, ventilation volume. The values at zero time show ones in normal sea water.

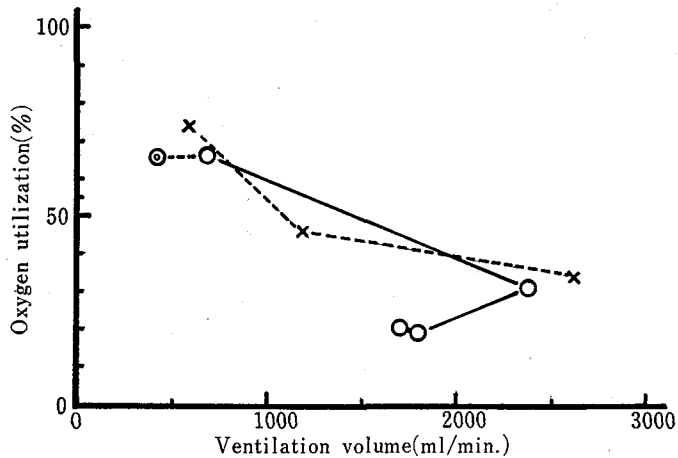


Fig. 15-b. Relation between oxygen utilization and ventilation volume in breathing of the yellow tail under the influence of the red tide bloom. Double circle represents the value in normal sea water just before the red tide affects on the fish; crosses with broken line, the control experiment in normal sea water.

実験結果を図 15 a-b に示した。赤潮海水が呼吸室に流入されると、時間の経過と共に、酸素利用率は 65% から次第に 20% 近くに低下する。一方、洄水量は時間の経過と共に増大するが、25 分後からは逆に減少を示している。洄水量と利用率の関係をみると、赤潮海水中の死直前の魚では対照と較べて同じ洄水量に対して酸素利用率が 1/2 以下になっていることを示している。

4-4 海産ミドリムシによるハマチ斃死時の血液性状の変化について

実験方法および結果

培養海産ミドリムシおよび供試ハマチは1-3の項ではべた実験と同様である。血液性状検査項目および測定方法は次のとおりである。ヘモグロビン含量—A.O.社製Hbメーター、ヘマトクリット—マイクロヘマトクリット法、血漿蛋白—日立製屈折計、血球抵抗値—マイクロキャピラリー法、血中ガス分圧およびpH—I・L社製I・Lメーター。実験開始前にSANOの方法¹⁶⁾により、シリンジを用いてキュービエ氏管より約0.5ml採血し、血液性状検査に用いた。採血後、魚はそのまま図4に示す実験水槽に收容し、呼吸停止直後に再びキュービエ氏管および背大動脈から採血した。それぞれの血液性状は図16に一括して示した。血液性状については、個体による差が一般に大きい。しかし、血液内酸素分圧については呼吸停止直後のキュービエ氏管内静脈血は20mmHg以下を示す場合が多く、また、実験開始前の血中ガス分圧との差が対照に比して大きい傾向がうかがえる。pHについても斃死時のキュービエ氏管内静脈血、および背動脈内動脈血共に7.0に近い値をとり、対照の7.4より明らかに低い値を示している。ヘマトクリット値、ヘモグロビン含量は実験開始前より実験終了時の方が高い値となる傾向を示しており、いわゆる血液濃縮を呈している。血漿蛋白には一定の傾向はみられない。血球抵抗値は対照に比し全て高い値を示している。また全溶血を起す食塩水濃度も高くなっている。これらの結果は、赤潮海水中で斃死した供試ハマチが「窒息」による斃死であることを示しているものと考えられよう。

考 察

海産ミドリムシ赤潮による魚類、特に養殖ハマチ、マダイに対する直接的な斃死因、斃死機構を究明するに際して、本研究で得られた実験結果に基づいて、種々の面から考察を行なってみる。

○海産ミドリムシ赤潮の魚毒性について

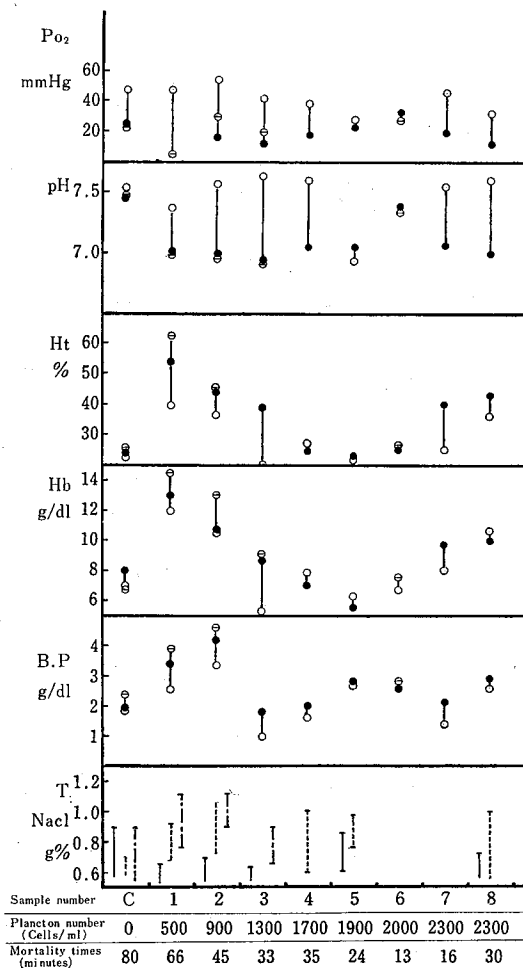


Fig. 16. Respiratory characteristics of blood of cultured yellow tail affected experimentally by the red tide. Marks represent as follows: ○ and vertical solid line, blood sampling from *Ductus cuvier* before beginning of the experiment; ● and broken line, from *Ductus cuvier* after the experiment; ⊖ and chain line, from *Aorta dorsalis* after the experiment. Abscissa; sample number of the fish (No. C is control), with together plankton number of the red tide and mortality time of the fish. Ordinates; pO₂ (mmHg), pH, Ht(%), Hb (g/dl), B.P. (blood protein content, g/dl), T, (tolerance of red corpuscle against NaCl solution, %) in up to down order.

赤潮プランクトンの魚毒性に関しては、すでに述べた *Gymnodinium breve*¹⁷⁾ のほかに、ABBOTT & BALLANTINE¹⁸⁾ による *Gymnodinium veneficum*, OLSON¹⁹⁾ による *Anabaena lemmermanni* などの報告があり、また日本では1962年相模湖で発生した *Glenodinium gymnodinium* の毒性に関して、MATIDA et al.²⁰⁾, HASHIMOTO et al.²¹⁾ の研究がある。井上²²⁾ らは広島沿岸産の *Exuviaela* sp. 赤潮の毒性を検討した結果、この赤潮 1g は約 80Mu の毒性を有することを報告しており、また岡市²³⁾ は香川県沿岸産の *Noctiluca* sp. 赤潮からもある種の有毒物質を検出している。海産ミドリムシ赤潮では、前述の相模湖の例などとは異なり、プランクトン汙液、超音波破碎汙液などに致死的な毒性は確認できず²⁴⁾、また3-1の実験1, 2からも明らかなように海産ミドリムシ赤潮のマダイ、ハマチに対する致死的な毒性は証明し得ない。従って、本論のはじめに整理した1項の1)および2)、すなわち、赤潮生物自体、もしくは赤潮発生の前後産生される何等かの有毒物質のうち、生きている赤潮生物の産出する体内、外毒素および赤潮生物の枯死分解の際に産生される各種有毒物質などは、この場合マダイ、ハマチの直接的斃死の主因とはなり得ないと思われる。さらに1項の3)、赤潮時に二次的に繁殖したバクテリアなどの産生する有毒物質については、直接、実験は行なわなかったが、潮通しの良い灘部で形成された海産ミドリムシ赤潮帯を通過した漁船の活魚槽の魚が斃死したという事実からも、また本研究では直接的死因のみを問題としていることから、現在検討中の斃死因から除外することが妥当であろうと考える。

○海産ミドリムシ赤潮による魚のストレスについて

海産ミドリムシ赤潮に限らず、全ての赤潮海域内では魚の行動および生理に何等かの影響が現われるという⁹⁾。これは、多くの場合有色素プランクトンの光合成による pH の上昇、プランクトンによる透明度の急激な変化、魚の体表、鰓に対する赤潮プランクトンの何等かの刺激によるものと思われる。小林²⁵⁾ は *Oliothodiscus* sp. 赤潮による魚類の生理的变化を詳細に検討しており、赤潮海水中では魚体の代謝機能の異常な昂進のあることを述べている。また、漁場での観察においても、赤潮形成前から魚の摂餌が落ちることが知られており、赤潮発生および形成時には特異な海気象、水質状態が起り、これらは魚に致死的不是だが何等かの影響があることは容易に推察し得る。

○海産ミドリムシ赤潮による魚類「窒息」について

海産ミドリムシ赤潮では、漁場において昼夜間を問わず実際に魚の斃死が起こること、また各種実験によっても水中の溶存酸素量が充分あるにもかかわらず、斃死が起こることから明らかなように、水中溶存酸素量の低下に基づく、単純な窒息性窒息とは認め難い。天然魚の斃死例のなかには、赤潮生物の枯死分解の際の溶存酸素量の低下に基づく斃死、および有毒な分解中間生物、例えば、アンモニアなどによる斃死も含まれるかも知れないが、養殖ハマチなどの斃死例では、単なる溶存酸素量の低下による、単純な窒息死であるという報告はみあたらない。従って前述した斃死因のなかの、3のA項は赤潮盛期における直接的斃死因とはなり得ない。次に、魚の側のガス交換機能の障害に関しては、前述した多くの実験結果から明らかなように、鰓もしくは呼吸運動の何等かの障害に起因することは事実である。Bの1)項、赤潮生物の存在によって起る魚の窒息点酸素分圧の上昇については、前述のように致死的には作用していない。Bの2項、水中の溶存炭酸ガスの増加、pHの上昇などによるガス交換機能の障害については海産ミドリムシ赤潮中では溶存炭酸ガスはむしろ減少しており、同時にpHの上昇が起こっている。pHの上昇により、呼吸数などが変化することもあるが、通常海産ミドリムシ赤潮中でのpHは8.5~8.8程度で、この程度のpHでは短時間で海産魚に致死的に作用しないことは1-2の実験1からも明らかであろう。生物濃度の高い培養プランクトン液の汙液、超音波破碎液、遠沈上澄液、枯死分解液等はいずれもハマチ、マダイなどの呼吸機能には致死的に作用せず、生きた海産ミドリムシを含む海水のみが魚に致死的に、窒息症状を呈する形で作用することが明らかとなった。

以上のように海産ミドリムシ赤潮による魚類の直接的斃死因は、3-B-3)の赤潮生物の鰓に対する直接的な影響に基づくガス交換機能障害の可能性のみが残される。つぎに、これをさらに詳細に論議する。

○海産ミドリムシ赤潮の魚類の鰓に対する直接的な影響に基づくガス交換機能障害の機構について

海産ミドリムシ赤潮による魚類の斃死の状況にはいくつかの注目すべき特徴がある。例えば、海産ミドリムシ赤潮による狂奔、衰弱魚、および死直後の魚は、例外なく鰓表面が粘液様物で被われていることである。この粘液は多くの魚で通常みられる死後数分～十数分後の鰓上皮粘液細胞からの大量の粘液分泌とは異なり、赤潮海水中で緩慢に游泳、もしくは狂奔している魚にもみられる。この粘液様物は1-3の実験1、および2-2の実験からも明らかのように、海産ミドリムシ由来の粘性物質でないかと推察される。このような粘性物質の付着とそれに伴う鰓弁間のプランクトン崩壊物からなる固形物形成が、海産ミドリムシ赤潮による魚類の直接的斃死因となり得ると考えられる。2-2の実験で観察された海産ミドリムシの粘液体放出、細胞崩壊物による鰓葉間の水の流通阻害こそ、斃死の主因ではなからうか。4-3の実験結果で明らかとなった、赤潮海水中のハマチの鰓に起こる沓水量の減少、および同一沓水量にもかかわらず赤潮海水中のハマチの酸素利用率の低下は、このことを実証するものであり、また赤潮海水中で実験的に斃死させたハマチの血液ガス含量が、通常の窒息時に起るそのレベルに近い値を示していることも、この考えを支持する。このような考え方は、漁場における魚類の斃死の状況のもう一つの特徴である、同一生簀内のハマチがほぼ全滅したにもかかわらず、マダイ、ウマズラハギなどは全滅をまぬがれた事実と関連する。すなわち、ハマチの鰓構造、呼吸様式、酸素要求量などの点からさらに次のような検討を加える。

ハマチ(体重約700g、体長33~35cm)の鰓構造は次の通りである。良く発達した口腔、鰓蓋腔内に4対の鰓弓を持ち、各鰓弓は鰓隔膜が著しく短縮したような状態で、隔壁のない2対の鰓葉からなり、各鰓葉には50~70 μ の間隙を持って多数の鰓弁が並んでいる。各鰓弁側面は、1mm当り30~32個の鰓薄板を持つ²⁶⁾。呼吸運動は鰓蓋縁が発達しているので、游泳による呼吸以外にも鰓蓋運動による呼吸も行ない得る。このことは1-3の実験のように、脊椎を切断した魚でも鰓蓋運動による呼吸のみで生存可能なことから明らかである。吸水中の海産ミドリムシは40×50~70 μ の細い篩の中を一定の水圧(1cm~0.5cm H₂O)で通ることになる²⁷⁾。海産ミドリムシの大きさは、70~130×30~60 μ であり、鰓弁-鰓薄板による篩目を通る際には何等かの抵抗があるであろう。2-2の実験で示したように、模型として用いた絹ネットの95×95 μ の篩さえも、速やかに透明な粘液様物で被われ、さらに細胞崩壊物によって目詰りを起こすに至る。ハマチの鰓の表面においても同様のことが起こり得るであろう。しかし、この場合は単なる目詰りにとどまらず、隣接する鰓弁間の粘着も起こるのであろう。尾崎²⁷⁾も述べているように、上記のような鰓弁間の小さな呼吸篩が水が比較的低い水圧でも通過し得るのは、単位面積に多数の孔がある場合であって、その表面が粘性物質に被われ、さらに鰓葉の口腔側が細胞崩壊物からなる固形物によって閉塞されたならば、鰓薄板面の水の流通は容易に阻害されるであろう。難波ら²⁸⁾のコイを用いた実験において、コイでは鰓の7/8を切除しても生存し得るとしているが、小林²⁹⁾は血液ガス含量から、ハマチ(体重800~1,000g、体長35~40cm)は水温12~25°Cで、動脈血中酸素飽和度が86%、鰓における酸素回復率は、5.0としており、コイ、ニジマスに比して、ハマチの鰓はガス交換の効率が悪く、低酸素に対する抵抗の余地が極めて小さいことを明らかにしている。鰓薄板面の水の流通阻害、沓水量の低下による鰓表面水中の急激な酸素低下、並びにそれに伴う血中酸素の欠乏によってハマチでは窒息が容易に起こり得るであろう。

また、ハマチはマダイに比し酸素要求量が2~3倍も多い魚であることも、ハマチが海産ミドリムシ赤潮に弱い理由の一つとなるであろう。その他、赤潮遭遇時の魚の行動も斃死に関係するものと思われる。例えばマダイ、ウマズラハギ、クロダイなどは赤潮海水中では静止しているのに対し、ハマチはむしろ活発に游泳する。このことは酸素要求量、沓水量などから考えてもハマチに非常に不利である。さらに洗滌運動の形、ガス交換の効率などが魚種により異なると思われるので、それが実際に漁場における斃死率の差として現われるかもしれない。しかし、マダイなどでも実際に漁場で斃死した例もあり、また、実験的にも海産ミドリムシによって斃死させることが出来るので、魚種による斃死率の差はあるにせよ、海産ミドリムシ赤潮の規模によっては全ての魚種が全滅する可能性も否定できない。

海産ミドリムシによる粘性物、固形物は清浄な海水中では、速やかに離脱する。このことは模型的に篩網に用いた沓水試験の際にしばしば経験するところであった。赤潮によって魚類が斃死するには絶えず一

定量以上の粘性物質の添加，付着，固形物の形成が鰓の表面で行なわれることが必要であろう。海産ミドリムシによる魚類の直接的な斃死因は，前述したように，海産ミドリムシそのものが非常に大きく，また，わずかな刺激に対し容易に粘性物放出，細胞崩壊を起こすことによる魚類の鰓葉表面被覆，および鰓弁間の閉塞に伴う，鰓薄板面の呼吸水の通過阻害に起因する外窒息であり，魚種による斃死率の差は魚種による呼吸機構並びに生態の差異に由来するものと思われる。さらに，赤潮時の水質変化などによる呼吸代謝機能の昂進が副因となり，魚の酸素要求が一層強くなるのに対し，それが果されず，魚類の斃死という被害をまねいているものと考えられる。

○被害防除の対策に関して

本研究によって明らかとなった海産ミドリムシ赤潮による魚類の直接的斃死因，斃死機構から導き出し得る被害防除の対策としては，生きた海産ミドリムシ（球形シスト状のものは除く）を数百個/ml以下の濃度で押さえることが考えられる。つまり，海産ミドリムシによる「赤潮」状態を除くことにつきる。超音波などにより海産ミドリムシを死滅もしくは破砕する方法は不可能ではないが³⁰⁾，水温25°Cで1kgのハマチは毎時100lの酸素飽和海水を必要とすることを考慮すると，非常に困難なことであることが解る（水温25°Cにおけるハマチの酸素消費量を360ml/kg/時，酸素利用率を約60%，海水酸素飽和量を6ml/lとして計算）。従って，赤潮によると被害防除は，基本的には赤潮の発生を防ぐことにあり，赤潮発生の要因の一つ一つを除く努力が必要であるといわねばならない。

本研究は，多種の赤潮のなかの海産ミドリムシ赤潮による魚類の直接的な斃死機構のみを検討したにすぎない。他の多くの赤潮の魚類に対する影響，さらにまた，「赤潮」の間接的，副次的影響も非常に大きい。今後はこれらに対する研究も含めて，検討されることが必要であろうと考える。

要 約

本研究は，昭和44年～47年，瀬戸内海において，養殖魚などに大被害をもたらした，海産ミドリムシ（*Hemientreptia antiqua* HADA, *Eutreptilla* sp. 等）赤潮による魚類の直接的な斃死因，斃死機構を明らかにすることを目的とし，考え得る多くの斃死因，斃死機構について実験的に検討を加え，真の斃死因，斃死機構の把握に努めた。

実験は主として，培養海産ミドリムシとハマチ *Seriola quinqueradiata*，マダイ *Chrysophrys major* を用いて呼吸生理の面を中心に行なった。主な実験の結果は次のとおりである。

1. ハマチ，マダイ共に培養海産ミドリムシ海水中でも速やかに斃死に至る。
2. 海産ミドリムシ培養液，枯死分解上澄液，破砕液などは，それらの液内飼育および腹腔内注射，血管注入によっても，ハマチ，マダイに対し致命的影響を与えない。
3. 海産ミドリムシ海水中では，溶存酸素量が充分存在するにもかかわらず実験供試魚の動脈血中酸素ガス含量の著しい低下が認められ，また，呼吸水量が同一であっても，供試魚による酸素利用率も低下する。海産ミドリムシ海水による供試魚の血液性状の変化は，供試魚が窒息に陥っていることを示す。
4. 海産ミドリムシ海水中で斃死に至った供試魚の鰓は粘性物質に被われ，しばしば鰓弁間に海産ミドリムシ細胞崩壊物からなる固形物が認められる。
5. 海産ミドリムシによる海水の粘性の変化は非常に小さいが，篩網を用いた汙水試験において海産ミドリムシは，容易に粘性物質放出，組織崩壊を起こし，それらは網目を被い，汙水率の低下をもたらす。

以上の実験結果および漁場における海産ミドリムシ赤潮による被害の実態などから，本赤潮による魚類の直接的斃死因は，赤潮生物の鰓に対する物理的影響に基づく魚の側のガス交換機能の障害による急性の窒息性窒息である。具体的には，海産ミドリムシが鰓表面で粘性物質放出，細胞崩壊を起こし，それらが鰓全面を被うとともに鰓弁間に固形物を形成し，鰓薄板面の呼吸水の流通阻害を引き起こし，それにともない，魚は急激な窒息に陥ることが明らかとなった。

謝 辞

本研究は、昭和46、47年度環境庁特別研究調査費によってなされたものである。研究の機会を与えて下さった関係各位に感謝する。

本研究を行なうに当り、研究の組立て、および研究項目について、種々の貴重な御助言をいただいた東京水産大学尾崎久雄教授に深謝する。また、電気生理の分野で御教示いただいた広島大学村地四郎教授、難波憲二教官、呼吸生理実験に関して御指導たまわった九州大学板沢助教授に厚くお礼を申し上げる。プランクトン培養その他でお世話になった広島県水産試験場、山口県内海水産試験場関係各位に感謝する。実験に際し御協力下さった曾我梶枝さん、八橋忠良氏、山元憲一氏、北川栄一氏、平井文樹氏、藤本真知子さん、高橋優氏、山本千裕氏に感謝する。

文 献

- 1) 入江春彦, 1970: 赤潮, その歴史, 地理および季節. 海洋科学, 2, 399~402.
- 2) 岡本 勝, 1973: 瀬戸内海における赤潮発生状況と漁業被害. 水産土木, 9 (1), 49~57.
- 3) 小林 博, 1973: 赤潮現象による魚類斃死の生理学的考察. 同誌, 9(1), 37~47.
- 4) 木村知博, 溝上昭男, 橋本俊将, 1973: 漁業被害をもたらした広島湾の赤潮——その発生状況と発生環境. 日本プランクトン学会誌, 19 (2), 24~38.
- 5) 羽田良禾, 1972: 広島県沿岸水域の赤潮プランクトン(鞭毛虫類について), 28pp., 広島県水産試験場.
- 6) 広島県水産試験場, 1971: 昭和45年度指定調査研究総合助成事業. 病害研究報告, 4~10.
- 7) 長崎県水産試験場, 1967: 大村湾調査(赤潮調査), 1~37.
- 8) 尾形英二, 1970: 新しい海藻培養液 SWM—III について. 藻類, 18 (3), 171~173.
- 9) 水産庁瀬戸内海漁業調整事務局, 1973: 昭和47年夏期東部瀬戸内海養殖はまち大量へい死事故の全容. 1~51.
- 10) IWASAKI, H., 1961: The life-cycle of *porphyra tenera* in vitro. Biol. Bull., 12 (1), 173-187.
- 11) 難波憲二, 村地四郎, 河本真二, 中野義久, 1973: 魚類の心電図に関する研究—I, 心電図導出方法の検討. 広島大学水畜産学部研究報告, 12 (2), 147~154.
- 12) 高山晴義, 1972: 1969および1970年広島湾に発生したベン毛虫類について. 広島県水産試験場研究報告, (3), 1~7.
- 13) 花岡 資, 入江春彦, 上野福三, 飯塚昭三, 岡市友利, 岩崎英雄, 1972: 内湾赤潮の発生機構. 水産研究叢書, 23, 105pp., 水産資源保護協会.
- 14) 花岡 資, 1973: 赤潮の発生機構. 水産土木, 9 (1), 1~5.
- 15) 村上 彰, 1973: 赤潮の発生環境. 同上, 1~5.
- 16) SANO, T., 1960: Haematological studies of the culture fishes in Japan. 4. Method from Cuiverran duct. J. Tokyo Univ. Fish., 46, 89-90.
- 17) STEIDINGER, K. A., E. A. JOYCE, Jr., 1973: Florida red tides. Florida Depart. of Nnat. Resour. Educational series, No. 17, 1-26.
- 18) ABBOTT, B. C., D. BALLANTINE, 1957: The toxin from *Gymnodinium veneficum* BALLANTINE. J. mar. biol. assoc., 36, 169-189.
- 19) OLSON, T. A., 1953: Final report on research by University. Minesota for the chemical carps biological laboratories.

- 20) MATIDA, Y., S. KIMURA, C. YOSHIMUTA, H. KUMADA and E. TOKUNAGA, 1967: A toxic fresh-water alga, *Glenodinium gymnodinium* PENARD, caused fish kills in artificially impounded lake Sagami. Bull. Fresh-water Fish. Res. Lab., 17 (2), 73-77.
- 21) HASHIMOTO, Y., T. OKAICHI, L. D. DANG and T. NOGUCHI, 1968: Glenodinine, an ichthyotoxic substance produced by a dinoflagellate, *Peridinium polonicum*. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 34 (6), 528-534.
- 22) 井上晃男, 岩崎英雄, 浅川末三, 1971: 昭和46年度日本水産学会春季大会講演要旨.
- 23) 岡市友利, 1972: 夜光虫赤潮の毒性. 海水利用学研究ノート II, 1~15.
- 24) 高山晴義, 大内 晟, 1972: ムカシウミドリムシが水産生物に与える影響について, 1) ハマチに及ぼすムカシウミドリムシの影響. 広島県水産試験場, (プリント) 20~23.
- 25) 小林 博, 西川昇平, 1971: 赤潮による被害要因の研究. 内海水域の赤潮に関する総合研究報告書 139~185, (科学技術庁).
- 26) 小林 博, 市川和博, 1970: 海産漁類の鰓弁片密度に関する知見. 水産大学校研究報告, 19 (1), 29~34.
- 27) 尾崎久雄, 1970: 呼吸の生理. 魚類生理学講座, 2, 緑書房.
- 28) 難波憲二, 狩谷貞二, 小林昭造, 1971: コイ鰓弁切除の呼吸に及ぼす影響. 日水誌, 37 (4), 277~283.
- 29) 小林 博, 1972: 血液ガス含量からみたハマチの呼吸 (予報). 昭和47年度日本水産学会秋季大会講演要旨 353.
- 30) 高山晴義, 1973: 赤潮プランクトンにおよぼす超音波の影響について. 広島県水産試験場 研究報告, (4), 1-5.

Explanation of plate

Plate I.

- Fig. 1. The normal shape of the red tide plankton, *Hemientreptia antiqua* HADA.
- Fig. 2. The initial stage of the cell releasing the mucous materials.
 - a: Spherical form without cyst membrane.
 - b: Mucous materials released from the cell.
- Fig. 3. The final stage of the cell releasing the mucous materials.
 - a: Spherical formed cell.
 - b: Mucous materials.
- Fig. 4. Collapse of the cyst.
- Fig. 5. Meshes of silk net beginning to be covered with the transparent mucous.
- Fig. 6. Meshes of silk net entirely covered with the mucoidal substances.
- Fig. 7. The clot made in the meshes by the cell collapse.
- Fig. 8. The transparent mucoidal substance and clot found between gill fillaments in the yellow tail.

Plate I

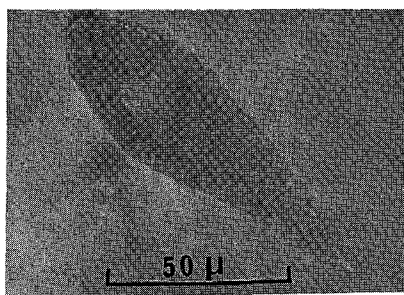


Fig. 1

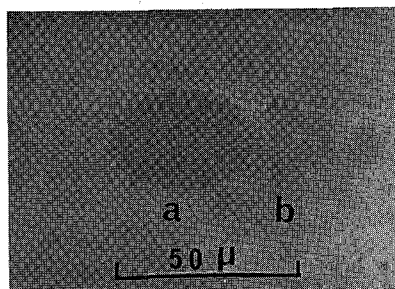


Fig. 2

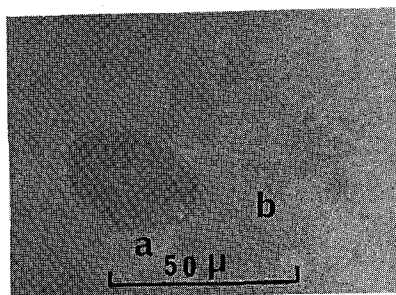


Fig. 3

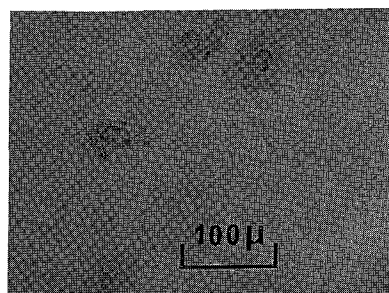


Fig. 4

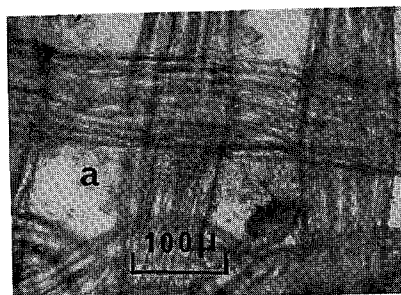


Fig. 5

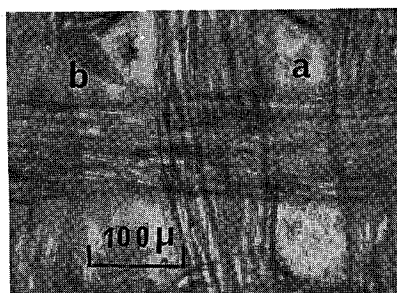


Fig. 6

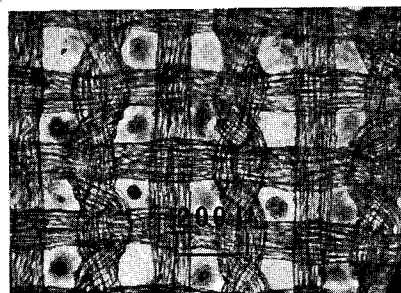


Fig. 7

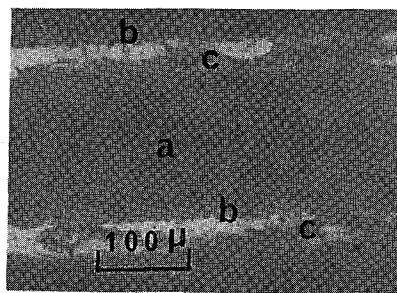


Fig. 8