

令和 6 年 5 月 25 日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K06193

研究課題名(和文) 沿岸域の養殖漁場が持つ有機物分解力の台風による活性化

研究課題名(英文) Typhoons activate the process of organic degradation in a coastal aquaculture area

研究代表者

江口 充 (Eguchi, Mitsuru)

近畿大学・農学部・教授

研究者番号：40176764

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：台風や季節風が養殖漁場の有機物分解力に与える影響を調べた。有機物分解力は環境酵素の活性で評価した。測定した酵素活性はタンパク質を分解するロイシンアミノペプチダーゼを中心にトリプシンや糖を分解する グルコシダーゼである。有機物分解力と水質項目の関係は、表層(水深1m)と底層(底上1mの底層水と0～1cmの底泥堆積物)で異なり、表層では水温と正の相関を示し、塩分と高い負の相関を示した。一方、底層では同活性が水温と負の相関を示し、DOと正の相関を示した。表層では台風などによる大雨が有機物分解力を向上させること、底層では冬季の強風による鉛直混合が有機物分解力を上げることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

養殖漁場の有機物分解力を明らかにすることは持続的な養殖生産を確保する上で重要な課題である。本研究では水域の水質・底質浄化力の解明においてカギとなる高分子(タンパク質など)から低分子有機物(アミノ酸など)への有機物分解力に着目した。養殖漁場の有機物分解力は、表層では大雨により向上すること、底層では強風による鉛直混合で活性化することを本研究により明らかにした。台風などによる大雨や季節風による強風が養殖漁場の有機物分解力に影響すること解明した点は新規な知見である。この研究成果は養殖漁場の環境容量を見積もる上で有用な情報を提供し、環境調和型の魚類養殖の構築に資するという点において社会的意義も高い。

研究成果の概要(英文)：I investigated the impact of typhoons and seasonal winds on the organic matter decomposition in aquaculture areas. The decomposition capacity of organic matter was evaluated based on the activity of environmental enzymes. The measured enzyme activities were leucine aminopeptidase, which breaks down proteins, as well as trypsin and α -glucosidase, which breaks down sugars. The relationship between organic matter decomposition capacity and water quality parameters differed between the surface layer and the bottom layer. In the surface layer, there was a positive correlation with water temperature and a strong negative correlation with salinity. In contrast, in the bottom layer, the same activity showed a negative correlation with water temperature and a positive correlation with DO. It was revealed that in the surface layer, heavy rains enhance the organic matter decomposition, while in the bottom layer, vertical mixing caused by strong winter winds increases the decomposition capacity.

研究分野：水族環境学

キーワード：有機物分解力 海洋細菌 環境酵素 細胞外酵素活性 雨水 台風 季節風 鉛直混合

1. 研究開始当初の背景

自然水域を利用するイケス養殖では自家汚染等による環境悪化を引き起こすことが以前より懸念されている。一般的にイケス養殖は風波の影響を避けるため、閉鎖性の高い内湾域に設置されることが多く、イケス養殖から排出される残餌や糞といった有機物は水域に負荷を与える。有機物負荷が水域の環境容量を超えてしまうと、底層での貧酸素水塊の形成、それに伴う底生生物の減少などの水質や底質の環境悪化に繋がる。SDGsと相まって、現在の養殖業には安定的な生産と環境を考慮した持続性が求められている。持続可能な水産養殖の実現には、養殖漁場が持つ有機物負荷に対する環境容量を把握することが重要であり、養殖漁場の有機物分解力(浄化力)を解明することは、環境容量や物質循環の量的・質的な把握に繋がる。

2. 研究の目的

2018年8月末に南鳥島付近で発生した台風21号は9/4の正午に徳島県南部に上陸し(中心気圧950 hPa)、近畿地方を横断して同日午後4時に日本海に抜けた。台風通過後(9/6)の養殖漁場(St. OJ、図1)ではDOが表層から底層まで5.0 mg/L以上となり、濁度は全層で上昇した(図2)。この台風通過前後の表層水、底層水、底泥堆積物のLAPase活性は、いずれも台風通過後の活性が台風前よりも有意に高くなっていった(図3)。台風による環境変化が水域の持つ有機物分解力を向上させた。本研究では台風、季節風、大雨などによる海洋環境の変化と水域の持つ有機物分解力の関係を明らかにすることを目的とした。

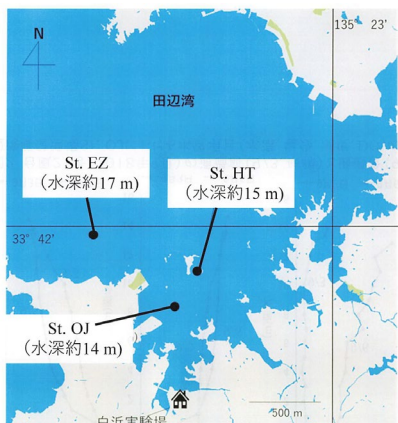


図1 野外調査を実施した和歌山県田辺湾。Sts. OJとHTは養殖場水域にあり、田辺湾湾口部に位置するSt. EZは非養殖場水域となる。

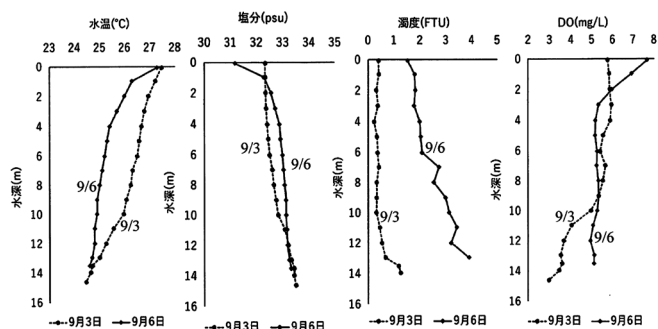


図2 台風21号(2018年9月)の通過前(9/3、破線)と通過後(9/6、実線)での和歌山県田辺湾養殖漁場St. OJにおける水質項目(水温、塩分、濁度、DO)の鉛直プロファイルの変化

3. 研究の方法

3-1. 野外調査

和歌山県田辺湾の養殖漁場と非養殖漁場を調査対象とし、各種の環境酵素(細胞外酵素)活性を水域の有機物分解力の指標として研究を実施した。

野外調査(2012年11月~2023年

3月)は養殖漁場のSt. OJ(水深約14m)とSt. HT(水深約15m)、St. OJから田辺湾湾口部に向かって北に1500m程度離れたSt. EZ(水深約17m; 養殖の影響がない水域)の3地点で行った(図1)。この3観測点で水深1mの海水(表層水)、海底直上1mの海水(底層水)、海底堆積物(0~1cm層)を採取し、各種酵素の加水分解活性の測定試料とした。毎調査時に各地点において多項目水質計を用いて各水質項目の測定を行った。測定項目は水深(m)、実用塩分(psu)、Chl a量($\mu\text{g/L}$)、濁度(FTU)、光量($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^2\cdot\text{s}^{-2}$)、DO(mg/L)である。

有機物分解力の指標とした各種酵素による加水分解活性の測定は、消光性蛍光基質を用いて行った。活性測定した酵素はタンパク質分解系のロイシンアミノペプチダーゼ(LAPase)とトリプシン、多糖類を分解する β グルコシダーゼ(BGase)である。

測定した加水分解活性について季節間の違いを、Tukey-Kramer法を用いて有意差検定を行った。 p 値が0.05未満であれば有意差ありとした。加水分解活性と環境項目との関係について、各種活性値と各種環境項目の数値からピアソンの積率相関係数を算出した。

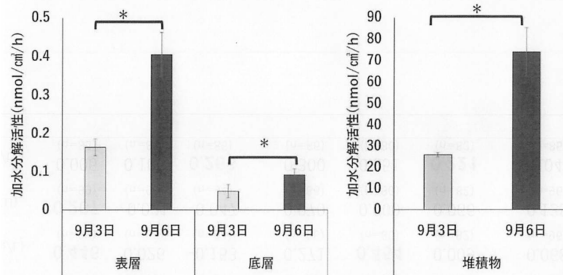


図3 2018年9月に近畿地方を通過した台風21号の通過前(9/3)と通過後(9/6)での和歌山県田辺湾養殖漁場St. OJにおけるロイシンアミノペプチダーゼ活性の変化。表層水(水深1m)と底層水(底上1m)、堆積物(0-1cm層)のいずれも、台風通過後に酵素活性が通過前よりも有意に高い($p < 0.05$)。

3-2. 台風等による大雨を想定した室内実験

表層海水の LAPase 活性は塩分と強い負の相関を示した (表 1)。滅菌した水道水を用いたこれまでの室内実験では、滅菌水道水で塩分を下げると LAPase 活性も低下する結果となり、単純な塩分低下が加水分解活性を上昇させる要因になるわけではなかった。本研究で調査対象とした養殖漁場の場合、後背地の大半は山林であり、大きな河川もない。海水の塩分を下げるとともに雨水である。ここでは実際に養殖漁場の塩分低下の原因となる雨水を用いて塩分を下げ、それによって加水分解活性にどのような影響を与えるのかを検証した。

<海水試料>

2022 年 5 月に採取した St. 0J の水深約 1 m の海水 (表層水) を加水分解活性の測定試料とした。LAPase 活性と BGase 活性を消光性蛍光基質を用いて野外調査時と同じ手順で測定した。

<雨水試料>

養殖漁場が位置する和歌山県白浜町と近畿大学農学部が位置する奈良県奈良市の両地点で同時に降雨があった日に両地点の雨水を採取し室内実験に使用した。

<室内実験の概略>

採取した St. 0J の表層水、白浜および奈良で採取した雨水 (それぞれ白浜雨水と奈良雨水)、滅菌した蒸留水を用いた。室内実験では、通常塩分 (約 33 psu) の現場海水のみの試験区 (コントロール (Ctrl) 区)、現場海水に滅菌蒸留水を添加して塩分を約 27 psu に調製した試験区 (以下、蒸留水区)、奈良雨水で塩分を約 27 psu に調製した試験区 (以下奈良雨水区)、白浜雨水で塩分を約 27 psu に調製した試験区 (以下、白浜雨水区) の合計 4 試験区を用意した。それぞれの試験区について LAPase 活性と BGase 活性を測定して比較した。なお、現場海水の pH と雨水や蒸留水添加区の pH に差は全くなく、いずれも 8.0 であった。

4. 研究成果

4-1 野外調査

<ロイシンアミノペプチダーゼ (LAPase) 活性と各種環境要因>

養殖漁場に位置する St. 0J と St. HT のデータを合わせて各種水質項目との相関関係を調べた。その結果、表層水の LAPase 活性は水温 ($r=0.353$)、Chl. *a* 量 ($r=0.496$)、濁度 ($r=0.267$) と有意な正の相関を示し、塩分と負の相関 ($r=-0.551$) を示した。底層水の LAPase 活性はいずれの水質項目とも有意な相関を示さなかった。一方、堆積物の LAPase 活性は塩分 ($r=0.255$) 及び DO

($r=0.266$) と正の相関、水温と負の相関 ($r=-0.321$) を示した (表 1)。

非養殖漁場である St. EZ の表層水の LAPase 活性も、塩分と負の相関 ($r=-0.504$) を示し、Chl. *a* 量 ($r=0.496$) 及び濁度 ($r=0.678$) と正の相関を示した (表 2)。

底層水と堆積物の LAPase 活性はいずれも各種の水質項目と有意な相関を示さなかった (表 2)。

<トリプシン (trypsin) 活性と各種環境要因>

St. 0J と St. HT の trypsin 活性の測定結果を養殖漁場のデータとしてまとめ、表層水、底層水、底泥堆積物それぞれと各種水質項目との相関関係を調べた (表 1)。表層水の trypsin 活性は Chl. *a* 量 ($r=0.271$) と DO で正の相関 ($r=0.300$) の傾向

を示した。底層水の trypsin 活性は Chl. *a* 量と正の相関 ($r=0.454$) を示した。堆積物の trypsin 活性は水温と負の相関 ($r=-0.348$) を示し、DO と正の相関 ($r=0.221$) を示した (表 1)。

表 1 養殖場水域 (St. 0J と St. HT) の表層水、底層水、堆積物それぞれの LAPase 活性、trypsin 活性、BGase 活性と各種環境要因との相関 (ピアソンの積率相関係数)。 $p < 0.05$ で有意な相関である場合は太文字で示している。

	LAPase			trypsin			BGase		
	表層水	底層水	堆積物	表層水	底層水	堆積物	表層水	底層水	堆積物
水温 (°C)	0.353 (n=99)	-0.172 (n=98)	-0.321 (n=94)	-0.033 (n=86)	-0.116 (n=80)	-0.348 (n=82)	0.189 (n=96)	-0.100 (n=91)	-0.175 (n=94)
塩分 (psu)	-0.551 (n=99)	-0.033 (n=98)	0.255 (n=94)	-0.057 (n=86)	-0.157 (n=80)	0.035 (n=82)	-0.149 (n=96)	-0.019 (n=91)	0.051 (n=94)
Chl. <i>a</i> (µg/L)	0.446 (n=99)	0.026 (n=98)	-0.153 (n=94)	0.271 (n=86)	0.454 (n=80)	0.009 (n=82)	0.068 (n=96)	0.134 (n=91)	-0.074 (n=94)
濁度 (FTU)	0.267 (n=99)	-0.021 (n=98)	-0.047 (n=94)	0.070 (n=86)	0.000 (n=80)	0.066 (n=82)	0.138 (n=96)	-0.164 (n=91)	-0.058 (n=94)
DO (mg/L)	0.006 (n=85)	0.105 (n=85)	0.266 (n=85)	0.300 (n=86)	0.051 (n=80)	0.221 (n=82)	-0.049 (n=85)	-0.030 (n=80)	-0.013 (n=87)

表 2 各地点の表層水、底層水、堆積物の LAPase 活性と各種環境要因との相関 (ピアソンの積率相関係数)。 $p < 0.05$ で有意な相関である場合は太字で示している。

	OJ			HT			EZ		
	表層水 (水深 1 m)	底層水 (底上 1 m)	堆積物 (0~1 cm)	表層水	底層水	堆積物	表層水	底層水	堆積物
水温 (°C)	0.196 (n=51)	-0.232 (n=51)	-0.440 (n=49)	0.510 (n=48)	-0.173 (n=47)	-0.413 (n=46)	0.244 (n=29)	-0.151 (n=26)	-0.143 (n=28)
塩分 (psu)	-0.421 (n=51)	0.049 (n=51)	0.377 (n=49)	-0.687 (n=48)	-0.089 (n=47)	0.250 (n=46)	-0.504 (n=29)	-0.079 (n=26)	0.245 (n=28)
Chl. <i>a</i> (µg/L)	0.410 (n=51)	-0.005 (n=51)	-0.197 (n=49)	0.493 (n=48)	0.108 (n=47)	-0.350 (n=46)	0.496 (n=29)	-0.013 (n=26)	-0.251 (n=28)
濁度 (FTU)	0.148 (n=51)	0.038 (n=51)	0.052 (n=49)	0.373 (n=48)	0.025 (n=47)	-0.079 (n=46)	0.678 (n=29)	0.056 (n=26)	0.374 (n=28)
DO (mg/L)	0.115 (n=47)	0.244 (n=47)	0.305 (n=45)	-0.121 (n=43)	-0.072 (n=42)	0.449 (n=43)	-0.146 (n=29)	-0.172 (n=26)	0.262 (n=28)

<β-グルコシダーゼ (BGase) 活性と各種環境要因>

養殖の影響を受ける St. OJ と St. HT で採取した試料のデータを合わせて、表層水、底層水、底泥堆積物それぞれのBGase活性としてまとめたものと各種水質項目との相関関係を調べたところ、BGase活性は表層水、底層水、底泥堆積物のいずれも各種水質項目との間で有意な相関はなかった(表1)。St. EZでは、表層水のBGase活性が水温($r=0.383$)と濁度($r=0.425$)で正の相関を示し、塩分と負の相関($r=-0.385$)を示した(表3)。

表3 各地点の表層水、底層水、堆積物のBGase活性と各種環境要因との相関(ピアソンの積率相関係数)。 $p<0.05$ で有意な相関である場合は太字で示している。

	OJ			HT			EZ		
	表層水	底層水	堆積物	表層水	底層水	堆積物	表層水	底層水	堆積物
水温(°C)	0.188 (n=51)	0.044 (n=48)	-0.233 (n=49)	0.298 (n=45)	-0.214 (n=43)	-0.143 (n=45)	0.383 (n=28)	-0.297 (n=25)	0.025 (n=27)
塩分(psu)	-0.068 (n=53)	-0.107 (n=50)	0.077 (n=51)	-0.506 (n=46)	0.047 (n=44)	0.057 (n=46)	-0.385 (n=28)	0.085 (n=25)	0.063 (n=27)
Chl. a(μg/L)	0.031 (n=51)	0.287 (n=48)	-0.055 (n=49)	0.203 (n=45)	-0.014 (n=43)	-0.245 (n=45)	0.235 (n=28)	0.141 (n=25)	0.055 (n=27)
濁度(FTU)	0.117 (n=51)	-0.206 (n=48)	-0.055 (n=49)	0.280 (n=45)	-0.129 (n=43)	-0.051 (n=45)	0.425 (n=28)	0.198 (n=25)	0.131 (n=27)
DO(mg/L)	-0.059 (n=45)	-0.069 (n=42)	-0.135 (n=45)	-0.026 (n=40)	0.148 (n=38)	0.105 (n=43)	0.178 (n=28)	0.364 (n=25)	0.293 (n=27)

4-2. 室内実験の研究成果

各試験区のLAPase活性をそれぞれ算出し、その平均値を比較した。各試験区におけるLAPase活性の平均値はCtrl区が $0.341 \pm 0.043 \text{ nmol} \cdot \text{cm}^{-3} \cdot \text{h}^{-1}$ 、蒸留水区が $0.280 \pm 0.010 \text{ nmol} \cdot \text{cm}^{-3} \cdot \text{h}^{-1}$ 、奈良雨水区が $0.279 \pm 0.021 \text{ nmol} \cdot \text{cm}^{-3} \cdot \text{h}^{-1}$ 、白浜雨水区が $0.678 \pm 0.018 \text{ nmol} \cdot \text{cm}^{-3} \cdot \text{h}^{-1}$ であった(図4、左)。白浜雨水区の平均値が他の試験区の平均値よりも有意に高くなった。この結果は、養殖漁場におけるLAPase活性が塩分と負の相関を示したことを支持する結果となった。一方、蒸留水区と奈良雨水区はCtrl区よりも活性が有意に低くなった。これは単純な塩分低下による影響ではなく、白浜雨水にあって奈良雨水や蒸留水にない環境因子の影響を示唆する。

各試験区のBGase活性をそれぞれ算出し、その平均値を比較した。各試験区におけるBGase活性の平均値はCtrl区が $0.023 \pm 0.002 \text{ nmol} \cdot \text{cm}^{-3} \cdot \text{h}^{-1}$ 、蒸留水区が $0.023 \pm 0.008 \text{ nmol} \cdot \text{cm}^{-3} \cdot \text{h}^{-1}$ 、奈良雨水区が $0.021 \pm 0.003 \text{ nmol} \cdot \text{cm}^{-3} \cdot \text{h}^{-1}$ 、白浜雨水区が $0.036 \pm 0.004 \text{ nmol} \cdot \text{cm}^{-3} \cdot \text{h}^{-1}$ であった(図4、右)。LAPase活性と同様に白浜雨水区の平均値が他の全ての試験区の平均値よりも有意に高い結果となった。BGase活性はCtrl区、蒸留水区、奈良雨水区では有意差はなかった。

養殖漁場のタンパク質分解(LAPase活性)は雨水による塩分低下の影響を受ける。ただ、雨水の種類によってその影響が異なることから、雨水に含まれる化学成分(例えば微量金属など)が水域の有機物分解力向上に貢献している可能性がある。

養殖漁場のLAPase活性などを指標とした有機物分解力は、表層では塩分と負の相関を示し、底層では季節風や台風などの強風の影響を強く受けることが分かった。

雨水、季節風、水温など様々な環境要因が密接に関連しながら、養殖漁場の有機物分解力は維持され発揮されているようである。

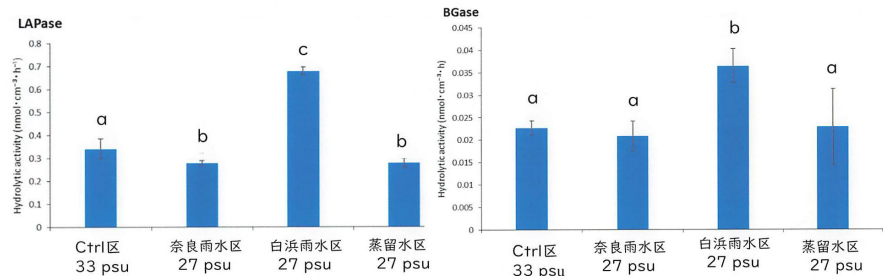


図4 各試験区の加水分解活性(A): LAPase活性(B): BGase活性を示している。それぞれのグラフでのアルファベットの違いはTukey法により $p<0.05$ 未満で有意差があったことを示している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計11件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 横地 駿、向井 励、鳥澤真介、家戸敬太郎、谷口亮人、江口 充
2. 発表標題 養殖場水域における細菌群集構造のマイクロスケール解析
3. 学会等名 令和3年度日本水産学会春季大会、東京（オンライン）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 向井 励、谷口亮人、家戸敬太郎、江口 充
2. 発表標題 魚類養殖場海域における活発な細菌の動態～クリック反応による解析～
3. 学会等名 令和3年度日本水産学会秋季大会、北海道
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 豊川 治、山崎景也、谷口亮人、家戸敬太郎、江口 充
2. 発表標題 雨水等による塩分変化が養殖場水域のタンパク質分解活性に及ぼす影響
3. 学会等名 令和3年度日本水産学会秋季大会、北海道
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 豊川治、山崎景也、谷口亮人、家戸敬太郎、江口充
2. 発表標題 養殖場水域における有機物分解と雨水による塩分低下の関係
3. 学会等名 令和4年度日本水産学会秋季大会、宮崎
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 丹原弥空、向井励、谷口亮人、家戸敬太郎、江口充
2. 発表標題 田辺湾養殖場水域における細菌炭素消費量の経時変化
3. 学会等名 令和5年度日本水産学会春季大会、東京
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 石川碧伊、武田真生、豊川治、廣岡とし、谷口亮人、家戸敬太郎、江口充
2. 発表標題 田辺湾養殖場水域における環境酵素(エンドペプチダーゼとエキソペプチダーゼ)の働き
3. 学会等名 令和5年度日本水産学会春季大会、東京
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 石川碧伊、豊川治、山崎景也、井口博紀、谷口亮人、家戸敬太郎、江口充
2. 発表標題 長期の野外観測から評価した田辺湾養殖場水域における環境酵素の活性
3. 学会等名 令和5年度日本水産学会秋季大会、宮城
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 丹原弥空、向井励、家戸敬太郎、江口充、谷口亮人
2. 発表標題 魚類養殖魚場における細菌による無機化速度と代謝活性が高い細菌数
3. 学会等名 令和5年度日本水産学会秋季大会、宮城
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 丹原弥空、家戸敬太郎、江口充、谷口亮人
2. 発表標題 海産魚類用配合飼料由来の有機物の海水における細菌分解性
3. 学会等名 令和5年度日本水産学会秋季大会、宮城
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 丹原弥空、向井励、家戸敬太郎、江口充、谷口亮人
2. 発表標題 海産稚魚用配合飼料由来の有機炭素の細菌による無機化速度
3. 学会等名 令和6年度日本水産学会春季大会、東京
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 石川碧伊、谷口亮人、家戸敬太郎、江口充
2. 発表標題 田辺湾養殖場水域の有機物分解プロセスを制御する環境酵素の温度特性
3. 学会等名 令和6年度日本水産学会春季大会、東京
4. 発表年 2024年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	谷口 亮人 (Taniguchi Akito) (10548837)	近畿大学・農学部・講師 (34419)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------