

発表番号 34 (0318)

海苔養殖に被害を及ぼす珪藻類の大増殖のメカニズム

助成研究者：多田邦尚（香川大学農学部）

1 研究の目的

瀬戸内海の東部海域では、秋から春にかけての低水温期に、大型珪藻の *Coscinodiscus wilesii* がしばしば大増殖することが知られている。この *C. wilesii* の増殖の際には大量の栄養塩が消費されるために、*C. wilesii* は養殖海苔の色落ちの原因種でもある。

瀬戸内海の東部海域では、*C. wilesii* が大増殖するのは低水温期であるが、① *C. wilesii* 細胞は海水中で年間を通して観察されること、② *C. wilesii* 細胞の破片が、海底泥中には多量に観察されること、③ *C. wilesii* 細胞は非常に大きいことから、『*C. wilesii* が瀬戸内海の東部海域における栄養塩の循環におよぼす影響は大きい』ことが予想される。

本研究では、*C. wilesii* が低水温期に大増殖し、海水中から栄養塩を消費・除去するまでの全体のメカニズムを明らかにすることを目的とする。

2 方法

C. wilesii を室内で培養し、その増殖速度をさまざまな温度下で測定した。また、瀬戸内海播磨灘に面する香川県の志度湾において、現場観測を実施し、*C. wilesii* の細胞密度、栄養塩濃度の季節変動を調査するとともに、低水温期にはセジメント・トラップ(沈降物捕集装置)実験を実施し、*C. wilesii* のフラックス(沈降粒子束)を測定した。

3 結果と考察

C. wilesii の室内培養実験の結果、本種は水温 5°C においても増殖が認められ、幅広い温度範囲で増殖が可能であることがわかった。また、その細胞内化学組成はモル比で、C:N:P:Si= 106:15:1:52 であり、平均的な珪藻類に比べ、Si 含量が約3倍高かった。

現場観測の結果、*C. wilesii* 細胞の増加は低水温期に見られ、その際の海水中の栄養塩濃度の減少においては NO_3 と Si(OH)_4 が 1:3 の比で減少していた。さらに、セジメント・トラップ調査の結果、フラックスは調査期間中 $1.1 \times 10^4 - 1.6 \times 10^5$ cells/m²/day の間で変動しており、栄養塩濃度が低下するとフラックスはより大きくなる傾向を示した。

これらのことから、*C. wilesii* 細胞は増殖して、海水中の栄養塩濃度を低下させ、その際に自分の細胞をより早く沈降させていることが考えられた。現場から消失した栄養塩のうち、N では約 50%が、Si では約 79%が *C. wilesii* により、現場から除去されると見積もられた。このことは、*C. wilesii* が沿岸海域の栄養塩循環に大きく寄与していることを示している。

海苔養殖に被害を及ぼす珪藻類の大増殖のメカニズム

香川大学農学部 多田邦尚

1 研究の目的

瀬戸内海の東部海域では、秋から春にかけての低水温期に、大型珪藻の *Coscinodiscus wilesii* (写真1. 以下 *C. wilesii* と略記) がしばしば大増殖することが知られている。この *C. wilesii* の増殖にともなって、大量の栄養塩が消費されるために、*C. wilesii* は養殖海苔の色落ちの原因種でもある。近年、有明海では海苔不作問題が大きな社会問題となり、その原因として、湾内に珪藻類の *Rhizosolenia* spp. が大増殖したことが明らかにされた。有明海の色落ち問題も「低水温期における珪藻類の大増殖による栄養塩の消費現象」と捉えれば、それは瀬戸内海東部海域においても起きている共通の問題である。しかしながら、これまで、沿岸海域では有毒プランクトンと呼ばれる鞭毛藻類の研究は盛んに行われて来たが、珪藻類は水産養殖に被害を及ぼす例が少なく、その生理特性について現場環境と関連させて研究される事は少なかった。

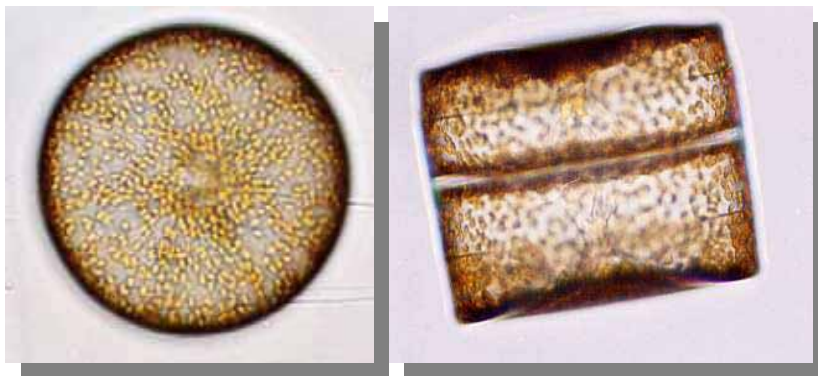


写真1 *C. wilesii*の細胞 (左は細胞を上方向から、右は横方向から見たもの)

瀬戸内海の東部海域では、*C. wilesii*が大増殖するのは低水温期であるが、
*C. wilesii*細胞は海水中で年間を通して観察されること、
*C. wilesii*細胞の破片が、海底泥中に多量に観察される (写真2) こと、
*C. wilesii*細胞は非常に大きいこと、
を考えると、『*C. wilesii*が瀬戸内海の東部海域における栄養塩の循環に及ぼす影響は大きい』ことが予想される。

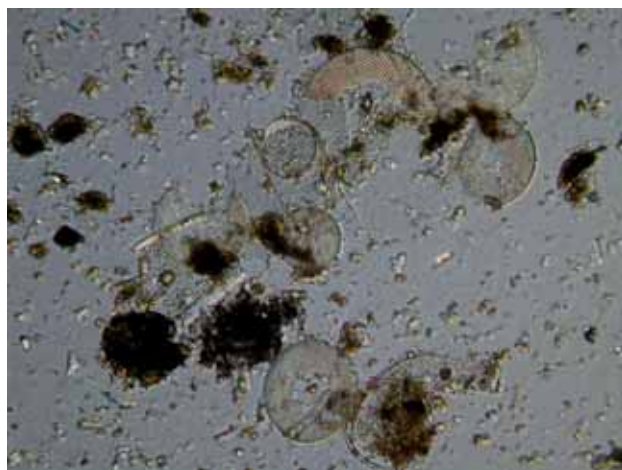


写真2 播磨灘底泥中に観察される *C. wilesii* の細胞破片

しかし、この *C. wilesii* の生物量の定量的な把握、あるいは *C. wilesii* が消費する栄養塩量、さらにはその発生の全体のメカニズムはまだ明らかにはされていない。一方、近年、瀬戸内海の水質は改善されて栄養塩濃度が下がってきたため、逆に海苔養殖のために施肥（海水への栄養塩添加）が必要との声もある。しかし、その際、海苔ではなくこれらの珪藻類が増殖してしまう可能性もあることを考えなくてはならない。

本研究では、*C. wilesii* が低水温期に大增殖し、海水中から栄養塩を消費・除去するまでの全体のメカニズムを明らかにすることを目的とする。

2. 研究の方法

2.1. *C. wilesii* の培養実験

まず、海苔不作問題の原因種である *C. wilesii* の単離・培養を行い、温度条件を変化させて、比増殖速度の測定を行った。培養には Harrison *et al.* (1980) の人工海水培地を用い、水温は 5、10、15、20、25 の 5 段階で、明暗周期は L:D=12:12 の条件下で実験を行った。さらに、これらの海苔不作問題の原因種以外の種で播磨灘で比較的優占している珪藻類 (*Ditylum* sp., *Skeletonema costatum*, *Chaetoceros* sp.) についても同様に比増殖速度の測定を行い、それらの増殖特性を比較した。

2.2. *C. wilesii* 細胞のサイズと化学組成

本種のブルームが確認された際に、プランクトンネットを鉛直曳きし試料を研究室に持ち帰った。1リットルのガラスシリンダー内に試料を入れて静置して細胞を沈降させ、濾過海水を用いて洗浄した。この操作を3回繰り返し、試料内の動物プランクトンや他の植物プランクトンを除去し、*C. wilesii* 細胞の化学分析用の高密度溶液を調製した。溶液中の細胞数を計数し、細胞のサイズも計測した後、予め強熱処理(250℃、2時間)したGF/Fフィルター上に一定量ずつ濾過した。ただし、ケイ素測定用試料についてはヌクレポアー

フィルターを用いた。フィルター上に捕集された細胞数はサンプルの容量から算出した。このサンプルを後の分析に供した。有機態炭素 (Org-C)、有機態窒素 (Org-N) はヤナコ製 CHN コーダー MT-5 を用い同時定量した (n=5)。全リンは、5%ペルオキシ二硫酸カリウム溶液を用いて分解し、モリブデンブルー法 (Murphy and Riley, 1962) を用いて測定した。ケイ素は5%炭酸カルシウム溶液を用いて抽出し (Hurd, 1973)、モリブデンブルー法 (Parsons *et al.*, 1984) を用いて測定した。

2.3. 現場観測

今回調査対象としたのは瀬戸内海播磨灘南部、香川県沿岸域の志度湾である。まず、*C. waillesii* の出現パターンと栄養塩の挙動及び水質諸要因を観察するため湾内に一つの定点 (Stn. CW) を設け、月1回のペースで調査を行った (Fig.1)。定点の水深は約12mで試料海水は3層 (0, 5, 9 m) から採水した。水温・塩分は STDDQ (アレックス電子製 ADR-1000) を用いてその場で1m毎に測定した。Chl *a* は90%アセトンで抽出後、蛍光法 (Holm-Hansen *et al.*) で測定した。栄養塩は栄養塩自動分析装置 (TRAACS2000, BRAN + RUEEBE) を用いて分析した。*C. waillesii* の生物量については試料海水を孔径150 μm のメッシュで濃縮し、顕微鏡下で計数することによって求めた。また、*C. waillesii* の沈降量は低水温期 (11月から2月) にセジメント・トラップ (直径: 7 cm, 高さ: 30 cm) を設置し2週間に1回のペースで回収、再設置を行いトラップ内に捕集された細胞数を計数することから試算した。セジメント・トラップ交換の際には表層とトラップ直上 (6 m) から採水し定期観測と同様の項目について測定を行った。調査地点は湾中央部に設置した。

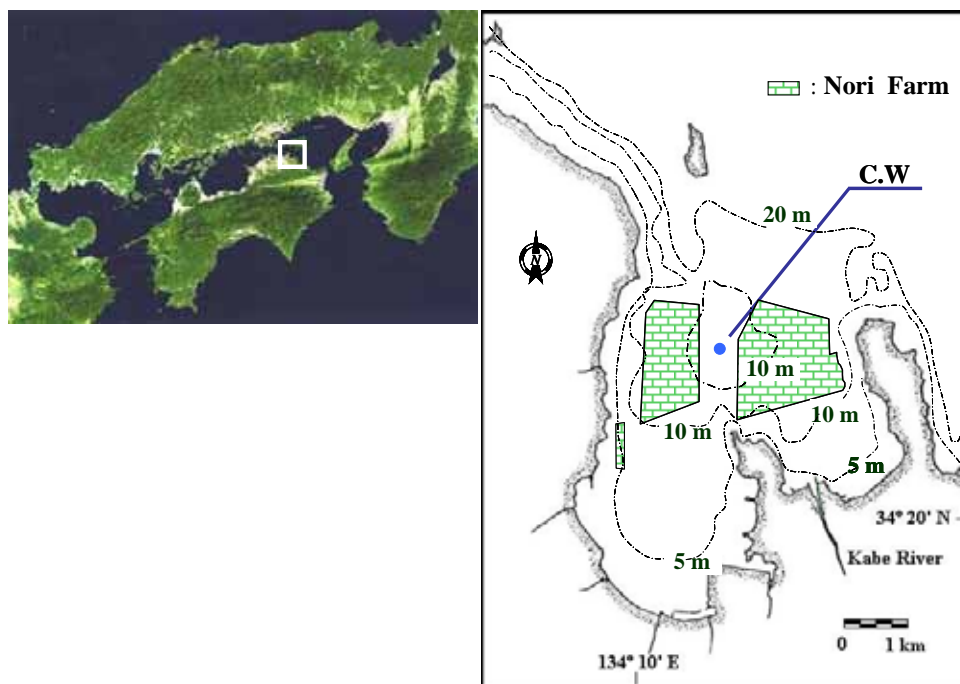


Fig. 1 The map of sampling station

3 研究の結果

3.1. *C. wilesii*の培養実験

培養実験の結果得られた比増殖速度を Table 1 に示す。

Table 1 The growth rate of diatoms under various temperature.

C.W:*C. walesii*, D.sp: *Ditylum* .sp, C.sp: *Chaetoceros* .sp

S.C: *Skeletonema costatum*

temperature()	5	10	15	20	25
C.W.	0.50	0.60	0.86	1.81	1.13
sd	0.00	0.25	0.29	0.35	0.41
D.sp	0.00	0.90	2.63	2.90	2.51
sd	ND	0.08	0.35	0.18	0.22
C.sp	0.35	0.86	1.69	1.96	3.02
sd	1.12	0.23	0.19	0.09	0.53
S.C	0.00	1.20	1.41	2.14	2.42
sd	ND	0.12	0.17	0.12	0.09

3.1.1. *Coscinodiscus walesii*の増殖特性

20-25 °Cでは分裂速度 $\mu_2 = 1 \text{ div/day}$ 以上の高い増殖速度を示し、15 °Cにおいても $\mu_2 = 0.8 \text{ div/day}$ と比較的高い値を示した。5 °Cと10 °Cでは最高値の半分以下($\mu_2 = 0.6, 0.5$)にまで低下した。

3.1.2. 3種の珪藻類の増殖特性

Ditylum .sp: 増殖速度は $\mu_2 = 0-2.90 \text{ div/day}$ の範囲で変動し 15-25 °Cの間では $\mu_2 = 2 \text{ div/day}$ 以上の高い値を示した。しかし 10 °Cでは $\mu_2 = 0.9 \text{ div/day}$ まで減少し、5 °Cでは増殖を示さなかった。

Skeletonema costatum: 増殖速度は $\mu_2 = 0-2.42 \text{ div/day}$ の範囲で変動し 20-25 °Cで最も高く 5 °Cでは増殖を示さなかった。

Chaetoceros .sp: 増殖速度は $\mu_2 = 0.35-3.02 \text{ div/day}$ の範囲で変動し、25 °Cで最高値を示し、5 °Cで最低値を示した。

3.2. *C. wilesii*細胞のサイズと化学組成

3.2.1. *C. wilesii*細胞のサイズ

今回計測された本種のサイズは、長径 $210 \mu\text{m} (\pm 14 \mu\text{m})$ 、高さ $190 \mu\text{m} (\pm 29 \mu\text{m})$ であ

った。Bienfang and Harrison (1984) の報告では本種の細胞の体積は $2.9 \times 10^5 \mu\text{m}^3$ と報告さ

れており、これと比較すると本試料は大型と考えられるが、Tada *et al.* (2000) の報告では本種の長径は $293 \mu\text{m}$ 、高さ $224 \mu\text{m}$ 、Mnabe and Ishio (1991) の報告では長径 $200 \mu\text{m}$ 、高さ $200 \mu\text{m}$ となり、それらと比較すると若干小型であった。

3.2.2. *C. wilesii* 細胞の化学組成

今回測定された本種の化学組成は、炭素含有量は $731 \pm 170\text{ng/cell}$ 、窒素 $124 \pm 36.0\text{ng/cell}$ 、リン $18.4 \pm 1.62\text{ng/cell}$ 、ケイ素 $864 \pm 73.2 \text{ng/cell}$ であった ($n=5$)。一方、Tada *et al.* (2000) の報告では本種の炭素含有量は 244ng/cell 、窒素 41.0ng/cell 、リン 7.49ng/cell となっており、本試料はサイズが若干小型であったにも関わらず炭素 731.4ng/cell 、窒素 124ng/cell 、リン 18.35ng/cell となり、含有量は本試料の方が高い値となった。

3.2.3. 現場観測

定期観測により得られた水温、細胞密度、栄養塩濃度の月別変化を Fig.2 に示した。本種は水温の最も低下する 2 月に最も高密度 (85 cells/l) に出現し、また水温の低い 11 月にも比較的高い細胞密度 (30 cells/l) を示した。栄養塩濃度は 2 月に最も低い値 (DIN(Dissolved Inorganic Nitrogen) : $2.14 \mu\text{M}$ 、 Si(OH)_4 : $4.39 \mu\text{M}$) を示した。

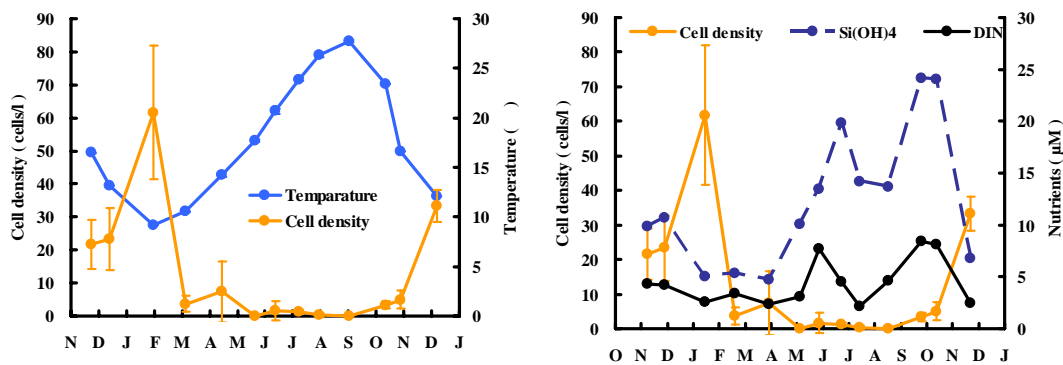


Fig. 2 The seasonal changes of water temperature, cell density of *C. wilesii* and Nutrient concentrations.

C. wilesii 細胞の増加が認められた低水温期における、海水中の栄養塩濃度の減少に注目すると、2002年11月から2003年1月にかけての栄養塩濃度の減少は NO_3 が $1.6 \mu\text{M}$ 、 Si(OH)_4 が $5.6 \mu\text{M}$ であった。また、2003年10月から11月にかけての減少は NO_3 が $5.6 \mu\text{M}$ 、 Si(OH)_4 が $17.2 \mu\text{M}$ であった。即ち、 NO_3 に対して Si(OH)_4 が3倍以上の割合で減少してい

た。

またセジメント・トラップ調査期間中に明らかな栄養塩濃度の低下が認められたが、最も顕著な濃度変化が見られたのは Si(OH)_4 であった。また、*C. wilesii* 細胞のフラックスは調査期間中 $1.1 \times 10^4 - 1.6 \times 10^5$ cells/m²/day の間で変動した。また *C. wilesii* 細胞のフラックスと DIN, Si(OH)_4 との関係について回帰分析を行ったところ負の相関が見られた (Fig.3)。(DIN: $p < 0.1$, Si(OH)_4 : $p < 0.05$)

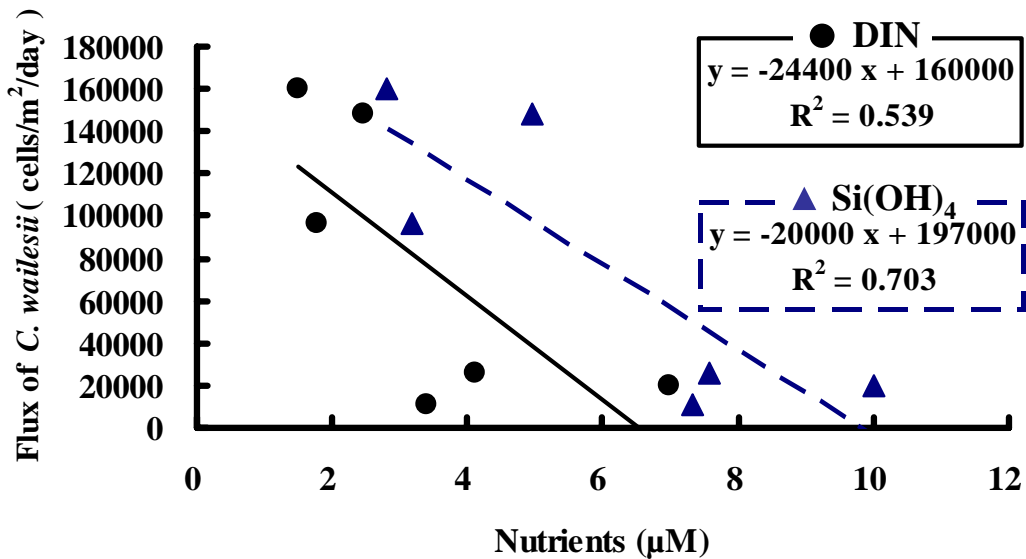


Fig.3 Correlation between flux of *C. wilesii* and nutrient concentrations

4. 考察

4.1. 各種珪藻類の増殖速度

Skeletonema costatum と *Chaetoceros* .sp の増殖速度は水温の上昇に伴い増加した。それに対して *Ditylum* .sp と *C. wilesii* の増殖速度は 20 に $\mu_2 = 2.90\text{div/day}$ となりピークを示した。*C. wilesii* の増殖速度は 10-25 で他種よりも低い値となったが、5 では夏季優占種の内、唯一増殖を示した *Chaetoceros* .sp ($\mu_2 = 0.35\text{div/day}$) よりも高い値 ($\mu_2 = 0.55\text{div/day}$) となった。

このことから、*C. wilesii* は水温の低下に伴い、他のプランクトンよりも有利に増殖できると考えられる。しかし、第2章で触れたように、志度湾の水温は最も低いときで 9.2 であるため、本種が冬季に大增殖するには増殖速度が他のプランクトンよりも低く増殖には不利であると考えられる。

西川ら (2000) は本種の最適水温が 20 であり 28 以上になると増殖に阻害を受けること、水温が 10 を下回ると増殖速度が 1/2 にまで低下すること及び 15 でも $\mu = 0.89$ と

高い値を示すことを報告しているが、本実験に用いた株は比較的高温阻害を受けるのが早かった。

C. wailesii は2-8月にかけて休眠細胞として堆積物中に存在することが報告されている(Nagai *et al.* 1996)。この休眠細胞が栄養細胞に移行するには適温と、充分量の栄養塩が必要である(長井・今井,1995)。観測中に見られた本種のブルームが過去の報告よりも比較的密度の低いものであったことは、志度湾では1年を通じて鉛直混合が起こっていることから、夏季に休眠細胞が栄養細胞に移行し、堆積物中の休眠細胞数が減ってしまった可能性が考えられる。

4.2. *C. wilesii* 細胞の化学組成

C. wilesii 細胞の化学組成比について見ると、C:N:P:Si = 103:15:1:52 となり、平均的な植物プランクトンの化学組成とされているレッドフィールド比(C:N:P = 106:16:1)には非常に近いものの、一般的な珪藻プランクトンの組成比 C:N:P:Si = 106:16:1:15 (Brzezinski, 1985) とは Si において大きく異なる結果となった。即ち、細胞内 Si 含量が他の珪藻類に比べて約3倍高い。真鍋ら(1986)も、*C. wilesii* 細胞の Si 含量が高いことを報告しており(N:Si=19.4:52.9)、今回の結果(N:Si=15:52)とほぼ一致している。

4.3. *C. wilesii* の増殖から海水中の栄養塩除去までのメカニズム

現場観測の結果より、*C. wailesii* は栄養塩を多量に消費し環境中に大きな影響を与えていること、および、*C. wailesii* の沈降速度は栄養塩(DIN, Si(OH)₄)に制御されていることが推察された。つまり栄養塩が消費されれば、その分、速やかに *C. wailesii* が沈降し環境中から Si が大量に除去され春のブルームに Si が十分量供給されないことが考えられる。これは有害な渦鞭毛藻類のブルームを誘引する可能性を示唆している。

セジメント・トラップ調査の結果、フラックスは調査期間中 1.1×10^4 - 1.6×10^5 cells/m²/day の間で変動した。この積算値を調査期間中に底層へ沈降した *C. wailesii* の細胞の総数とみなして、これに *C. wailesii* の細胞の N, Si の細胞含有量の値を乗じて *C. wailesii* が底層へ輸送した栄養塩を見積もった。即ち、この値は *C. wailesii* 細胞により海水中から細胞内に取り込まれ、更に海底へと輸送された N・Si 量であり、これを Removal Value と定義する。また、低水温期の観測期間中に栄養塩濃度の減少として観測された水柱 1 m² 当たりの減少量を Decreased Value と定義する。

その結果、Decreased Value は N で 1600 mg/m²/period、Si で 3800 mg/m²/period と見積もられた。また、Removal Value は N で 800 mg/m²/period、Si で 3000 mg/m²/period と見積もられた (Fig.4)。

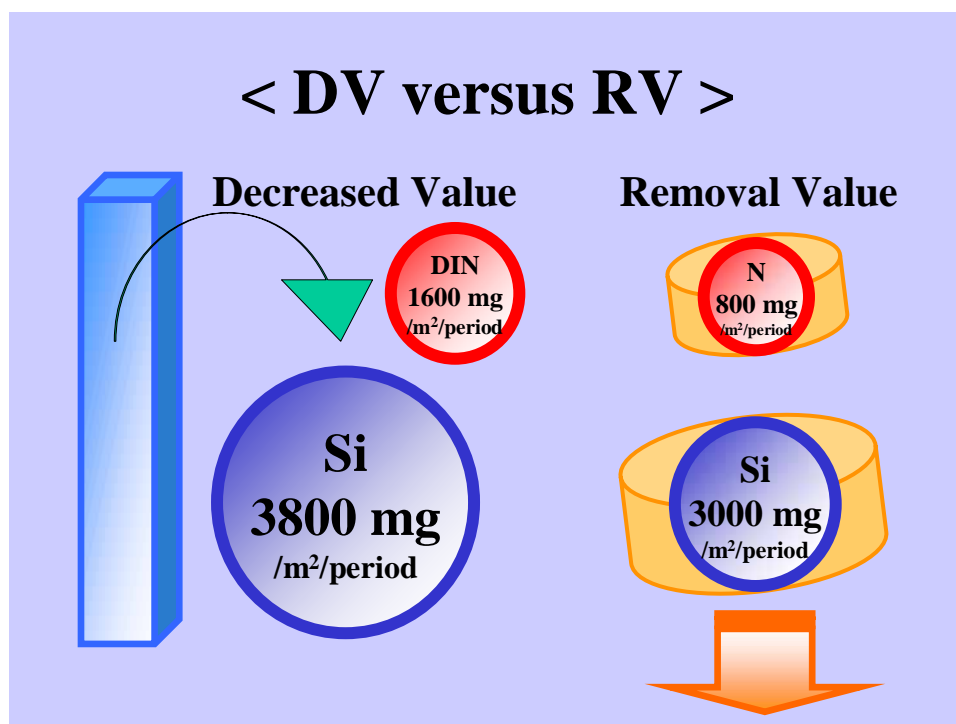


Fig.4 The estimated decreased value and removal value for N and Si in the water column

即ち、現場から消失した栄養塩のうち、Nでは約50%が、Siでは約79%が *C.walesii* により、現場から除去されると見積もられた。このことは、*C.walesii* が沿岸海域の栄養塩循環に大きく寄与していることを示している。

6 引用文献

- Bienfang, P.K. and P.J. Harrison (1984) : Co-Variation of sinking rate and cell quota among nutrient replete marine phytoplankton. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **67**, 295-302.
- Brzezinski, M.A. (1985) : The Si : C : N ratio of marine diatoms: Interspecific variability and the effect of some environmental variables. *J. Phycol.*, **21**, 345-357.
- Harrison, P.J., R.E. Waters and F.J.R. Taylor (1980) : A broad spectrum artificial seawater medium for coastal and open ocean phytoplankton. *J. Phycol.*, **16**, 28-35.
- Hurd, D.C. (1973) : Interaction of biogenic opal, sediment and seawater in the Central Equatorial Pacific. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **37**, 2257-2282.
- Murphy, J. and J.P. Riley (1962) : A modified single solution method for determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chim. Acta*, **27**, 31-36.
- Mnabe, T and S. Ishio (1991) : Bloom of *Coscinodiscus wailesii* and DO deficit of Bottom water in Seto Inland Sea. *Mar. Poll. Bull.*, **23**, 181-184.
- 真鍋武彦・近藤敬三・西山重樹 (1986) 大型珪藻 *Coscinodiscus wailesii* による栄養塩類の取り込みについて - 4. *Coscinodiscus wailesii* の生体組成ならびに沈降速度. 昭和61年度日本水産学会春季大会講演要旨集 p145.
- Nagai, S., Y. Hori, K. Miyahara, T. Manabe and I. Imai (1996) : Population dynamics of *Coscinodiscus wailesii* Gransion (Bacillariophyceae) in Harima-nada, Seto Inland Sea, Japan, pp239-242. In *Harmful and Toxic Algal Blooms* (eds. Yasumoto T., Y. Oshima and Y. Fukuyo). Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, Sendai.
- 長井 敏・今井一郎 (1999) : 海洋細菌を用いた有害大型珪藻の生物学的制御の可能性、日本微生物生態学会報, **14**, 253-262.
- 西川哲也・宮原一隆・長井 敏 (2000) : 播磨灘産大型珪藻 *Coscinodiscus wailesii* の増殖に及ぼす水温塩分の影響. **66**, 993-998.
- Parsons, T.R., Y. Maita and C.M. Lalli (1984) : A manual of chemical and biological methods for seawater analysis. Pergamon Press, Oxford. 173p.
- Tada, K., S. Pithakpol, K. Ichimi and S. Montani (2000) : Carbon, nitrogen, phosphorus and chlorophyll a content of the large diatom, *Coscinodiscus wailesii* and its abundance in the Seto Inland Sea, Japan. *Fisheries Science*. **66**, 509-514.

The mechanism of the large diatom *Coscinodiscus wailesii* bloom which is harmful species for *Nori* (*Porphyra*) culture

Kuninao TADA

Faculty of Agriculture

Kagawa University

The large diatom *Coscinodiscus wailesii* is often observed and it becomes dominant during low temperature period. *C. wailesii* is also one of the harmful species that causes serious damage to *Nori* (*Porphyra*) culture in the Seto Inland Sea, Japan. Therefore, the aim of present study was estimated the impact of *C. wailesii* during low temperature period on the bio-philic element cycle in coastal water.

C. wailesii was cultured in the laboratory and the growth rate was measured. The growth rate was varied from 0.50 to 1.81 day⁻¹ under 5 to 25 °C. The chemical composition of *C. wailesii* was determined for *C. wailesii* cells which collected during its bloom by vertical tow of plankton- net in February. C:N:P:Si mol ratio of *C. wailesii* was 103:15:1:52. It indicated that Si contents of *C. wailesii* was about three times higher than the average mol ratio of diatoms.

A monthly observation was conducted from November 2002 to December 2003 to determine the seasonal variation of *C. wailesii* density and nutrient concentration. Cell flux of *C. wailesii* was also measured by duplicates sediment traps. Deployment trap experiment was continually conducted for two weeks during low temperature period. The flux of *C. wailesii* varied from 1.1×10^4 to 1.6×10^5 cells/m²/day and large flux was observed under low nutrient concentration.

It was estimated that the uptake and sinking by *C. wailesii* account for 50% of nitrate decrease and 79% of silicate decrease of surface seawater during low temperature period. These results suggested that *C. wailesii* consumed the most of the nutrient in low temperature period and has a great role on the bio-philic element cycling of coastal water. *C. wailesii* has also high silicon contents. Si/N ratio in the surface water decreased due to the large silicate consumption of *C. wailesii*. As a result, it may cause the harmful dinoflagellate bloom in next spring.