
Lim, A. S., H. J. Jeong, T. Y. Jang, S. H. Jang and P. J. S. Franks (2014)

Inhibition of growth rate and swimming speed of the harmful dinoflagellate *Cochlodinium polykrikoides* by diatoms:
Implications for red tide formation*Harmful Algae* 37: 53-61.珪藻による有害渦鞭毛藻 *Cochlodinium polykrikoides* の増殖及び遊泳速度に対する阻害:
C. polykrikoides 赤潮の形成及び発生の阻害

有害渦鞭毛藻 *Cochlodinium polykrikoides* は、有害赤潮を形成し、養殖魚を中心に魚類の大量斃死を引き起こすが、毎年韓国では養殖を中心に 1 - 60 億円ほどの被害が発生している。近年、珪藻は *Cochlodinium* 赤潮の形成において決定的な役割を担っていることが報告されており、珪藻のアレロパシー効果は、渦鞭毛藻の増殖を阻害する可能性があることと先行研究で示されている。さらに珪藻のブルームにおいては、物理的接触によっても *C. polykrikoides* (以下、*Cp* と称する) の増殖を阻害している可能性がある。本研究は *Cp* と一般的な珪藻の間に相互間作用が働いていること、及び *Cp* 赤潮形成に関する珪藻との関係における基礎的な知見を得ることを目的とした。まず、珪藻による *Cp* の阻害効果を検証するため、珪藻 *Chaetoceros danicus*, *Skeletonema costatum* 及び *Thalassiosira decipiens* が存在する中で、本種の遊泳速度を測定した。さらに *Cp* を *C. danicus* 及び *S. costatum* と 10 日間培養し、*Cp* の細胞密度を調べた。

Cp は 2002 年 8 月に韓国南部沿岸のトンヨンから、*C. danicus*, *S. costatum* は 2006 年 12 月と 1999 年 2 月に場所、ジンドン、*T. decipiens* は 1999 年 10 月にハドンにおいて、それぞれ海水試料から単離された。得られた株は 2f 培地で温度 20°C、光強度 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、明暗周期 14h - 10d の環境で培養した。本研究では 8 つの実験を実施し、実験 1-6 は、*Cp* の遊泳速度に対する珪藻の栄養細胞及び培養濾液の阻害効果を検証した。実験 7-8 は、*C. danicus* と *S. costatum* が *Cp* の増殖率に影響しているかを検証した。まず実験 1, 3, 5 では、*Cp* の遊泳速度に対する珪藻の栄養細胞の阻害効果を検証するため、*S. costatum*, *C. danicus*, *T. decipiens* をそれぞれいくつかの細胞密度に分けて設定し、*Cp* を加えて遊泳速度を測定した。また実験 2, 4, 6 では、珪藻が培養されていた培地の化学的刺激による阻害効果を検証するため、*S. costatum*, *C. danicus*, *T. decipiens* の培養濾液の中に *Cp* を加え、遊泳速度を測定した。実験 2, 4, 6 では、0.7 μm GF/F グラスファイバーフィルターを用いて培地を濾過し実験に用いた。24 時間培養後、Video Analyzing System (Samsung, SRD-1673DN) と CCD カメラ (Sony, Sony 3CCD ExwareHAD) を装備する実体顕微鏡を用いて *Cp* の遊泳速度を測定した。*Cp* の 1 秒間の遊泳速度の細胞の線形移動を倍率 40 倍で 10 分間記録し、平均遊泳速度を算出した。分散分析を用いて、異なる珪藻が培地において *Cp* の遊泳速度が変動するか検討した。さらに、t 検定を用いて、ある珪藻が培地において *C. polykrikoides* の遊泳速度はコントロール (珪藻が含まれていない培地) における遊泳速度と異なっているか検討した。

実験 7-8 では、*C. danicus* と *S. costatum* が *Cp* の増殖率に影響しているか否かを検証するため、*Cp* と珪藻を含む区画、珪藻のみの区画、*Cp* のみの区画に分けて実験を実施した。*Cp* 及び珪藻の細胞密度は、各実験区から 2 日おきに 6 ml ずつ 5% ルゴール溶液で固定し、1 ml のセドウィック-ラフターチャンバーを用いて全細胞密度あるいは 200 cells 以上になるよう計数を行い、細胞密度を求めた。

実験 7-8 では、2 種類のモデルを用いて *C. danicus* と *S. costatum* の有無によって、*Cp* の増殖率が変化するかどうか検討した。モデル 1 は、珪藻の細胞密度のみが *Cp* の成長率を低下させると仮定し、モデル 2 は、渦鞭毛藻と珪藻の相互作用によって *Cp* の増殖率に負の影響を与えると仮定した。モデル 1-2 を反映した (1)-(4) 式を以下に示す。

$$\frac{dD}{dt} = \mu_D D [1 - D/K_D] - (1), \quad \frac{dC}{dt} = \mu_C C [1 - C/K_C] - (2),$$

$$\frac{dC}{dt} = \mu_C C [1 - C/K_C] - \alpha D - (3), \quad \frac{dC}{dt} = \mu_C C [1 - C/K_C] - \beta DC - (4),$$

また、(1) 式で珪藻、(2) 式で *Cp* のコントロール区における増殖率をそれぞれ示し、珪藻の細胞密度による影響を考慮した (3) 式と珪藻及び *Cp* の相互作用を考慮した (4) 式で、通常実験区における *Cp* の増殖率を示した。各パラメータは、*D* と *C* は珪藻と *Cp* の細胞密度、 μ_D と μ_C は珪藻と *Cp* の増殖率、 K_D と K_C は珪藻と *Cp* の環境収容力、 α は *Cp* の増殖率における珪藻の影響、 β は *Cp* と珪藻の負の相互作用を示した。

S. costatum, *C. danicus* 及び *T. decipiens* は、それぞれ細胞密度 >5000, 25,000 及び 1000 cells ml^{-1} の時、*Cp* の遊泳速度を低下させた。*S. costatum*, *C. danicus* 及び *T. decipiens* の培養濾液も、それぞれの細胞密度が >250,000, 50,000 及び 1,000 cells ml^{-1} の時、*Cp* の遊泳速度を低下させた。*S. costatum* は、細胞密度 >130,000 cells ml^{-1} の時、*Cp* の増殖率に負の影響を与えた。一方 *C. danicus* は、細胞密度 >1200 cells ml^{-1} で *Cp* の増殖率に負の影響を与えることができた。*C. danicus* は、細胞密度が低い場合でも *Cp* の増殖率に対して *S. costatum* よりも強い負の影響を与えた (1 細胞あたりの影響度)。(3)(4) 式から、*Cp* ($dC/dt=0$) が負の増殖率 ($dC/dt < 0$) を示す珪藻の細胞密度は以下の (5)(6) 式から求められる。

$$D_{crit} = (\mu_C C) / \alpha [1 - C/K_C] - (5), \quad D_{crit} = \mu_C / \beta [1 - C/K_C] - (6),$$

さらに *Cp* の密度が環境収容力の半分で、珪藻の影響が最も強い条件 ($C/K_C = 0.5$) は、*S. costatum* の場合細胞密度は 90,000 cells ml^{-1} (モデル 1), 46,000 cells ml^{-1} (モデル 2), *C. danicus* の限界細胞密度が 8600 cells ml^{-1} (モデル 1), 3700 cells ml^{-1} (モデル 2) となった。

以上の結果から、*S. costatum* や *C. danicus* が存在している場合、自然環境中で *Cp* の増殖率は低下する可能性があり、*Cp* 赤潮の形成を遅らせている、または防いでいる可能性が示唆された。本研究の実験とモデルを用いた解析結果から、海水中の通常の珪藻は *Cp* の増殖率と遊泳速度を阻害していることが判明した。珪藻の存在により、栄養塩が豊富に存在する深部への *C. polykrikoides* の鉛直的移動を阻害し、潜在的に赤潮の形成を抑制している可能性が示唆された。