

# 修士論文内容の要旨

ふりがな 氏名	とだ たくま 戸田 拓磨	
専攻名	海洋生物資源科学専攻	
入学年度	平成 25 年 4 月	
指導教員名	主査 今井 一郎教授	副査 齊藤 誠一教授 副査 山口 篤准教授
論文題目	海底泥中の珪藻休眠期細胞を活用した有害赤潮防除に関する基礎的研究	

有害赤潮は、魚介類や有用二枚貝の大量斃死を引き起こす。これまで効果的な赤潮対策が望まれてきたが、環境への悪影響や規模、経済的負担の面から現状ではほとんど実用化されていない。近年、赤潮防除を目的とした珪藻休眠期細胞の利用が提案された。これは、珪藻類休眠期細胞を有光層に巻き上げて発芽させ、水柱に生じた珪藻類栄養細胞の増殖に伴い、水中の栄養塩を消費させて有害赤潮鞭毛藻類の増殖を防ぐ方法である。本研究は、珪藻類休眠期細胞の有光層への持ち上げを有害赤潮の発生予防策として実用化を目指し、大分県佐伯湾において、海底泥持ち上げの実用化を想定したボトル吊り下げによる珪藻類発芽実験と、実際に海底泥の持ち上げを試験的に実施した。

## 1) 現場海水と海底泥試料を用いた珪藻発芽試験

試料は2013年6月24日と7月29日に、佐伯湾沖松浦漁港において海底直上海水と海底泥(表層1cm深)を採取し、以下の6つの実験区を設定した。まず、実験区Aの海底直上水添加区、実験区Bの海底直上水と1/20強度SWM-3培地添加区、実験区Cの海底泥添加区、実験区Dの海底泥と1/20強度SWM-3培地添加区を設け、これらを4実験区の容器を大分県水産研究部地先の筏(水深10m)にて0m, 5m, 9m層に垂下した。次に、実験区B, Dと同じ容器を、それぞれ温度23°C, 明暗周期12hL : 12hD, 光強度100  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ に設定したインキュベータ内に設置し、実験区E, Fとした。これらの実験区で10日間培養試験を行った。実験開始から1, 2, 4, 7, 10日目に各容器から副試料を採取し、環境要因の測定(水温, 塩分, 光強度)を行った。そして、海水試料中の栄養塩類(DIN,  $\text{PO}_4\text{P}$ ,  $\text{SiO}_2\text{-Si}$ )とChl. a濃度の測定、出現した珪藻類の観察を行った。ボトル吊り下げによる珪藻発芽試験を実施した期間中の水温と塩分は、珪藻類の好適条件であった。光強度に関しては、9m層においても珪藻類休眠期細胞の発芽及びその後の増殖に十分な強度であった。また、光強度の値が高い層ほど、Chl.a濃度や珪藻類栄養細胞密度が高かった。栄養塩が加えられた実験区であるB, D, E, Fの実験区では増殖に十分な量の栄養塩が存在していたが、栄養塩を加えていない

実験区 A と C においては、増殖に必要な栄養塩 (DIN と  $\text{PO}_4\text{-P}$ ) が欠乏していた。出現した主要な珪藻類に関しては、海底泥添加区 C, D, F において、休眠期細胞を有する珪藻類の *Chaetoceros* spp. や *Asterionellopsis glacialis*, *Skeletonema* spp. に優占種が変化していた。これは、試験に使用した海底直上海水や海底泥中に存在していた珪藻類休眠期細胞に光が当たって発芽・復活し、その後栄養細胞として検出される水準にまで増殖量が達した結果と考えられた。以上から、珪藻類休眠期細胞が発芽・復活して栄養細胞となり、増殖していることが示され、また、珪藻類の増殖のために十分な栄養塩と光強度の存在が重要であることが解った。

## 2) 2013 年 10 月海底泥持ち上げ試験直前の現場海水・泥試料を用いた珪藻増殖試験

試料は 2013 年 10 月 7 日に佐伯湾沖松浦漁港において、海底泥 (表層 1 cm 深) を採泥し、海水を大分県農林水産研究指導センター前棧橋において表層から得て、以下の 4 つの実験区を設定した。まず実験区 1 の海底泥懸濁海水濃度  $10 \text{ g L}^{-1}$ 、実験区 2 の海底泥懸濁海水濃度  $1 \text{ g L}^{-1}$ 、実験区 3 の海底泥懸濁海水濃度  $0.1 \text{ g L}^{-1}$  という 3 つの実験区を用意した。さらに実験区 2 と同じものを、プランクトンネットを張り付けた (10 mm×10 mm) 2 L 容ペットボトルを用いて設定し、容器内外の海水交換を可能としたものを実験区 4 とした。これら 4 実験区の容器を大分県水産研究部地先の筏 (水深 10 m) にて 0 m, 5 m, 9 m 層に垂下し、8 日間培養試験を行った。実験開始から 1, 2, 4, 6, 8 日目に環境要因の測定 (水温, 塩分, 光強度) と同時に採水を行った。そして海水試料中の栄養塩類 (DIN,  $\text{PO}_4\text{P}$ ,  $\text{SiO}_2\text{-Si}$ ) と Chl. *a* 濃度の測定、出現した珪藻類の観察を行った。この期間中の現場の水温と塩分は、珪藻類の好適水温や塩分の条件に概ね一致していた。光強度に関しては、9 m 層を含むすべての層において、珪藻類休眠期細胞の発芽及びその後の増殖に十分な強度であった。実験区 1—4 において、珪藻類栄養細胞の増殖に十分な量の栄養塩 (DIN と  $\text{PO}_4$ ) が存在していたが、 $\text{SiO}_2\text{-Si}$  は珪藻類栄養細胞の増殖のためにはやや不足していた。主要な珪藻類に関しては、多くの実験区において容器内の珪藻類分類群の組成が、*Chaetoceros* spp. や *Asterionellopsis glacialis*, *Skeletonema* spp. に変化していることが確認できた。これは前回の実験と同様、海底泥中の珪藻類休眠細胞が発芽・復活し、栄養細胞となり増殖した結果と考えられた。また、9 m 層でも平均光強度  $73.18 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  であり、栄養塩がに十分量存在すれば、珪藻類栄養細胞が増殖できることがわかった。さらに、海底泥懸濁海水濃度が  $0.1 \text{ g L}^{-1}$ — $10 \text{ g L}^{-1}$  の範囲でも珪藻類休眠期細胞はボトル中で発芽・復活し、栄養細胞として順調に増殖できることがわかった。

## 3) 現場海域における海底泥持ち上げ試験

2013 年 10 月 7 日、大分県佐伯湾沖松浦漁港 (水深 11 m) において海底泥持ち上げ試験を実施した。実験開始から 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10 日目に 0, 2, 5, 10 m の各層からの採水と環境要因の測定 (水温, 塩分, 溶存酸素) を行った。海水試料中の栄養塩類 (DIN,  $\text{PO}_4\text{P}$ ,  $\text{SiO}_2\text{-Si}$ ) と Chl. *a* 濃度の測定、及び出現した珪藻類の観察を行った。海底堆積物中の発芽・復活可能な珪藻類休眠期細胞の

計数には、終点希釈法を用い、海底堆積物 1 g に存在する発芽・復活の可能な休眠期細胞数 (MPN cells  $\text{cm}^{-3}$  wet sediment) を求めた。この期間中の水温と塩分は、珪藻類の好適水温や塩分の条件の範囲内にあった。溶存酸素に関しても十分な量存在していた。栄養塩類は、本試験中の水柱環境において珪藻の増殖を制限していないことが分かった。Chl. *a* 濃度は、試験実施後 6 日目の 2 m 層において比較的高い値を示した。佐伯湾沖松浦漁港の海底泥の分類群組成は、*Chaetoceros* 属 (15180 MPN cells  $\text{cm}^{-3}$  wet sediment, 全体の 78%) と *Skeletonema* spp. (2300 MPN cells  $\text{cm}^{-3}$  wet sediment, 全体の 12%) が確認された。試験中、*Chaetoceros* 属や *Skeletonema* 属が確認され、試験実施後、海底に存在していた *Skeletonema* spp. や *Chaetoceros* spp. の休眠期細胞が発芽し、水柱で増殖した可能性が考えられた。本試験中、佐伯市は悪天候の期間が長く、積算日照時間が短かったことが、珪藻休眠期細胞の発芽・復活及び栄養細胞の増殖に影響していた可能性が考えられた。

本研究では、海底泥巻き上げ試験により、珪藻類栄養細胞の水柱での増殖を確認することができた。今後、珪藻類休眠期細胞の発芽・復活、及びその後の増殖の条件を室内実験で検討し、一方で実際に現場で持ち上げ試験を行ってデータを蓄積していく必要がある。本技術の向上と共に、赤潮の予防を可能にするマニュアルが充実し、有害赤潮の発生予防の実用化に向けて大きく前進して行くことが予想される。