

修士論文内容の要旨

ふりがな	いまい ゆみ	
氏名	今井 佑実	
専攻名	海洋生物資源科学専攻	
入学年度	平成 26 年 4 月	
指導教員名	主査 今井 一郎 教授	副査 久万 健志 特任教授 副査 山口 篤 准教授
論文題目	珪藻類ブルームの人為的な発生による有害渦鞭毛藻赤潮の発生予防に関する研究	

我が国沿岸域においては、養殖魚介類の大量斃死を伴う有害な赤潮が多発し、効果的な赤潮対策が望まれている。これまでに、赤潮海面の回収や超音波を用いた赤潮原因生物の殺滅など様々な物理化学的手法が提案されてきたが、経済的な負担や環境への悪影響が懸念され、一部水域の粘土散布以外は実用化されていない。そこで近年、有効な生物学的手法として、珪藻類休眠期細胞の活用が提案された。海底泥中に豊富に存在する休眠期細胞を有光層に巻き上げて発芽させ、水柱に生じた栄養細胞の増殖による栄養塩の消費を通じて、有害鞭毛藻類の増殖を未然に防ぐ手法である。2012 年より豊後水道西部沿岸域に位置する大分県佐伯湾において、実際に現場検証が行われ、珪藻類休眠期細胞の発芽とその後の栄養細胞の増殖が確認されている。しかし、海底泥を巻き上げるタイミングや巻き上げる海底泥濃度、水中の栄養塩環境について検証した例はない。そこで本研究では、赤潮発生予防策として珪藻類休眠期細胞の活用の有効性を検討することを究極の目的とし、海底泥の有光層への巻き上げを想定したボトル吊り下げ実験と、現場での海底泥巻き上げ試験により、実用化に向けた上記の課題を検証した。

吊り下げ実験による珪藻発芽試験は 2014 年 6 月 3-11 日までの 8 日間実施した。2014 年 6 月 2 日に佐伯湾沖松浦漁港において、表層水と海底泥（表層 1 cm 深）を採集した。海底泥濃度と栄養塩濃度の組み合わせから以下の 6 つの実験区を設定した。すなわち、A: 海底泥濃度 10^{-3} 区 (0.1 g L^{-1}), B: 海底泥濃度 10^{-3} と 1/100 強度 SWM-3 培地添加区, C: 海底泥濃度 10^{-3} と 1/400 強度 SWM-3 培地添加区, D: 海底泥濃度 10^{-4} 区 (0.01 g L^{-1}), E: 海底泥濃度 10^{-4} と 1/100 強度 SWM-3 培地添加区, F: 海底泥濃度 10^{-4} と 1/400 強度 SWM-3 培地添加区である。これらの実験区の容器を大分県水産研究部地先の筏（水深 10 m）の生簀にて 0 m と 5 m 層に垂下した。培養開始から 0, 1, 2, 4, 6, 8 日目に各容器から副試料を採取し、同時に環境要因（水温、塩分、光量子束密度）を測定し、Chl. *a* 濃度の変動と比較した。水柱の水温と塩分は、珪藻類の増殖にとって好適な環境であり、光量子束密度も 1 日目に 5 m 層でやや低かったが ($32.8 \mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$), 休眠期細胞の発芽とその後の増殖に十分な光強度であった。栄養を強化していない実験

区 A と D では、栄養塩が不足し (DIN: $1 \mu\text{M}$ 以下, $\text{SiO}_2\text{-Si}$: 平均 $5 \mu\text{M}$), 珪藻類の増殖にとって厳しい環境であった。栄養を強化した 4 つの実験区では珪藻類の増殖に十分な栄養塩が存在し、実験開始から 4 日目と 6 日目に栄養塩の急激な減少に伴い、Chl. *a* 濃度の上昇が確認された。1/100 強度の培地を添加した実験区 B の表層における $35.13 \mu\text{g L}^{-1}$ が最高であった。以上から、Chl. *a* 濃度の上昇には水柱の栄養塩の存在が必要であり、栄養が多いほど Chl. *a* 濃度は高く、また添加する海底泥の濃度が高いと植物プランクトンの増殖が速いことが明らかとなった。

水中に有害鞭毛藻類が存在する環境下で、海底泥中の休眠期細胞起源の珪藻類が有害鞭毛藻類を制圧し卓越するか否かを検証するため、2014 年 9 月 25 日-10 月 7 日までの 12 日間、ボトル吊り下げによる競合試験を実施した。吊り下げ実験を行い、以下の 6 つの実験区を設定した。すなわち、海底泥のみを添加した G: 海底泥濃度 10^3 区 (0.1 g L^{-1}), 有害赤潮鞭毛藻類を添加した H: 海底泥濃度 10^3 と *Karenia mikimotoi* 添加区, I: 海底泥濃度 10^3 と *Chattonella antiqua* 添加区, J: 海底泥濃度 10^4 区 (0.01 g L^{-1}), K: 海底泥濃度 10^4 と *K. mikimotoi* 添加区, L: 海底泥濃度 10^4 と *C. antiqua* 添加区である。栄養として、第 1 回目の実験で Chl. *a* 濃度が高かった 1/100 強度の SWM-3 培地を全ての実験区に添加した。これらの実験区のボトルを 1 回目と同様の方法で 12 日間吊り下げた。開始から 0, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12 日目に副試料を採取し、同時に環境要因を測定し、出現した珪藻類の同定と計数を行った。試験の結果、栄養塩の減少と Chl. *a* 濃度の上昇、及び珪藻類栄養細胞密度の増加開始時期は設定した実験区と水深ごとに異なる傾向が認められた。表層に垂下した実験区では、6-8 日目に珪藻類栄養細胞密度のピークが観察され ($10^4 \text{ cells mL}^{-1}$ のオーダーの値), 細胞密度の増加に伴い、羽状目から中心目珪藻類へと種組成が変化し、鞭毛藻は最終的に減少した。海底泥中の珪藻類休眠期細胞が光により発芽し、生じた栄養細胞の増殖が実証された。5 m 層においても、表層より 4 日ほど遅れて珪藻類栄養細胞密度の増加が確認された。以上から、水中に有害鞭毛藻類が存在しても、光が得られる環境であれば、珪藻類休眠期細胞が発芽し、その後の栄養細胞の増殖により珪藻類が有害鞭毛藻類よりも卓越することが示された。

佐伯湾の水柱における気象・海象の変化、栄養塩や植物プランクトンの変動をモニタリングした。2014 年 6 月 4-25 日の 17 日間、原則として毎日大分県水産研究部地先の筏 (水深 10 m) の生簀にて 0 m, 5 m, 9 m 層より採水した。得られた試料の栄養塩類と Chl. *a* 濃度を測定し、同時に環境要因も測定した。佐伯湾における期間中の水柱の栄養塩濃度は中層から底層にかけて低く (DIN: $1 \mu\text{M}$ 以下), 植物プランクトンの増殖にとって非常に厳しい環境であることが判明した。また、水柱が少し成層化していたことから、降雨による影響が示された。

吊り下げ実験により、珪藻類休眠期細胞の発芽とその後の栄養細胞の増殖には栄養塩が必要であることが示されたことから、低気圧の通過後水柱に栄養塩が供給された直後に、現場で海底泥巻き上げ試験を実施した。2014 年 9 月 4 日に佐伯湾沖松浦漁港において試験を行い、佐伯湾内の小田代海域を対照区として設置した。試験後毎日 11 日間、採水と環境要因の測定を行い、海水試料中の栄養塩類と Chl. *a* 濃度の測定、ならびに珪藻類栄養細胞の分類群同定と計数を行い、環境要因と珪藻類の挙動をモニタリングした。試験後、実験区の表層と底層において DIN と $\text{PO}_4\text{-P}$ 濃度が対照区よりも高い傾向が認められ、

捲き上げた海底泥から栄養塩がもたらされた可能性が示された。また、実験区と対照区どちらも *Chl. a* 濃度と珪藻類栄養細胞密度の変動は対応しており、試験後 5 日目に実験区の表層において最高細胞密度 ($2268 \text{ cells mL}^{-1}$) に達した。対照区では試験後 8 日目に細胞密度の増加 ($1130 \text{ cells mL}^{-1}$) が見られ、低気圧の影響で、水柱が攪乱し、対照区でも海底泥の捲き上げと休眠期細胞の発芽、及び栄養細胞の増殖が起こったと考えられる。しかし、表層と 2 m 層において実験区の方が対照区に比べ細胞密度が高かったことから、人為的な海底泥の捲き上げで、より多くの休眠期細胞が発芽し、その後栄養細胞が増殖した可能性が示された。

以上から、赤潮発生予防策としての珪藻類休眠期細胞の活用が有効である可能性が示唆された。今後、有害鞭毛藻類との競合試験や現場検証実験を積み重ね、将来の実用化が期待される。