

# 修士論文内容の要旨

ふりがな	あこう なみ	
氏名	赤穂 那海	
専攻名	海洋生物資源科学専攻	
入学年度	平成 29 年 4 月	
指導教員名	主査 今村 央 教授	副査 山口 篤 准教授 副査 松野孝平 助教 副査 今井一郎 特別研究員
論文題目	貧酸素水塊発生海域における有害鞭毛藻の赤潮動態と底生珪藻類の関係	
<p>日本沿岸海域では、養殖魚介類の大量斃死を引き起こす有害赤潮が発生しており、効果的な赤潮対策が望まれている。理想的な赤潮対策は、赤潮の発生予知や、コストが低く生態系に配慮された発生予防であると考えられる。有害赤潮を引き起こすラフィド藻 <i>Chattonella antiqua</i> や渦鞭毛藻 <i>Karenia mikimotoi</i> 等多くの鞭毛藻類は日周鉛直移動を行い、底層水中の豊富な栄養塩を利用して増殖すると考えられている。一方、沿岸浅海域の海底堆積物表面には底生性の珪藻類が多数生息しており、海底泥の間隙水中の栄養塩を吸収し、水中への栄養塩の溶出を抑制することが報告されている。また、底生珪藻類が有害鞭毛藻類を阻害する物質（アレロパシー物質）を生成する事も報じられている。つまり、海底堆積物表面の底生珪藻類が減少すると、有害鞭毛藻類が増殖しやすい環境になる可能性がある。海底の底生珪藻類および休眠期細胞は、夏季の成層条件下において貧酸素環境に晒されていると予想されるが、貧酸素環境への耐性については不明である。</p> <p>以上の事から、本研究では、沿岸海域のモニタリングと疑似現場実験により、海底堆積物中の底生珪藻類や休眠期細胞の貧酸素耐性および底生珪藻類と有害渦鞭毛藻類の関係を明らかにすることを目的とした。</p> <h3>1. 赤潮発生海域における底生珪藻類のモニタリング</h3> <p>2017年6月22日から7月31日かけて、広島県福山市田尻港（水深約4 m）において隔週毎に海水試料および海底堆積物試料を採取し、同時に水柱および堆積物中の環境要因の測定を行った。得られた海水試料は植物プランクトンの同定と計数に供し、栄養塩の測定を行った。表層0-3 cmの堆積物試料は底生珪藻類及び珪藻類休眠期細胞の同定と計数に供し、また間隙水中の栄養塩の測定を行った。細胞数の計数には、倒立型落射蛍光顕微鏡を用いて青色励起光を照射し細胞内の葉緑体が発する赤色自家蛍光をもとに行う直接検鏡法と、段階希釈した後に培養を行い細胞密度を推定するMPN法（終点希釈法）により行った。</p>		

また、MPN 法において出現した珪藻類は形態に基づいて可能な限り種レベル、あるいは属レベルで同定を行った。上記観測に加えて、2018年6月18日から9月27日にかけて広島県福山市田尻港同地点において、海底堆積物試料を採取した。また2018年6月6日から8月8日にかけて水深約5mの長崎県伊万里湾福島港において、海底堆積物試料を採取した。同時に水柱の環境要因の測定を行った。得られた堆積物試料について、上記と同様に底生珪藻類及び珪藻類休眠期細胞の同定と計数を行った。

2017年の田尻港では、底生羽状目珪藻類が7月12日以降検出されなくなり、他の浅海域に比べて細胞密度が著しく少なかった。7月31日に全層において貧酸素水塊が認められ、底生珪藻類の細胞密度の減少に影響を与えていることが示唆された。また同日には *C. antiqua* 赤潮が発生していた。このことから、底生羽状目珪藻類の細胞密度が極めて少なくなると、有害鞭毛藻類に対する抑制効果が低下し、鞭毛藻類が底層の栄養塩を取り込むことができ、赤潮が発生した可能性が示唆された。さらに、底生羽状目珪藻類および中心目珪藻類休眠期細胞は、光環境の悪化だけでなく、溶存酸素量の減少により引き起こされるアンモニア態窒素や硫化水素の発生といった環境条件の悪化によって、密度が減少すると考えられた。

## 2. 底生珪藻類の貧酸素耐性

田尻港に比べ、比較的好気条件下にある福山市鞆沖および北海道北斗市上磯漁港にて採取した海底堆積物試料を、以下の嫌気培養実験に供した。嫌気性菌培養用の酸素吸収材を用いて嫌気状態にした密閉容器内で、堆積物試料の希釈懸濁液の培養を10日間行った。培養は光条件 ( $75 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) と暗黒条件に分けて行い、明暗周期 14 h L : 10 h D、温度 25 °C の条件下で行った。上記と同様の方法によって、底生珪藻類および珪藻類休眠期細胞の計数および同定を行い、溶存酸素濃度を測定した。

嫌気状態にした密閉容器内の溶存酸素濃度は、実験開始後1日以内に  $1.5 \text{ mg L}^{-1}$  を下回り、貧酸素環境が再現された。有酸素・有光区においてのみ、全珪藻類細胞密度は増加したが、有酸素・無光区では実験終了時の生存率は 35.2% となった。一方、無酸素区では、光の有無に関わらず全細胞数は著しく減少し、有光区で 6.0%、無光区では 13.3% となった。以上から、光の有無以上に、酸素の有無が底生羽状目珪藻類および中心目珪藻類休眠期細胞の生存に影響を与えることが示された。また、無酸素区において、中心目珪藻類は有光時に比べ無光時に生存率が高かった。これは、無光区では貧酸素に耐性のある休眠期細胞として発芽せずに生き残っていたのに対し、有光区においては発芽した栄養細胞の貧酸素耐性が弱く、貧酸素によって死滅していたためと考えられる。あるいは発芽開始時に呼吸活性が上がり無酸素条件によって阻害され死滅した可能性も大きい。底生羽状目珪藻類は、光の有無に関係なく生存率が極めて低かったことから、貧酸素に対する耐性はほとんどないと考えられる。

## 3. 底層での貧酸素を想定した疑似現場実験における底生珪藻類と有害ラフィド藻 *C. antiqua* の挙動

堆積物試料、赤潮藻を死滅させる羽状目珪藻 *Entomoneis* sp. 無菌株、 $\text{Na}_2\text{S}$  (硫化ナトリウム)、*C. antiqua* について添加の有無の組み合わせで9つの実験区を設け、培養実験を行った。堆積物試料を添加した実

験区では、北海道北斗市上磯漁港にて採取した堆積物試料 50 g を 500  $\mu\text{m}$  メッシュで篩にかけ、内径 4 cm、高さ 100 cm のアクリル管の底部に敷き詰めた。Na<sub>2</sub>S を添加した実験区は、150 mg/L の Na<sub>2</sub>S 溶液と NaCl を塩分 35 となるように調整した高塩分水の混合液 (1/2 強度の SWM-3 培地を添加) をアクリル管に 300mL 添加し、上部から静かに滅菌濾過海水を 700mL 添加し設けた。これにより底層のみ貧酸素状態の成層化した海域を再現した。培養実験はインキュベーター内でアクリル管の上部の光強度は 100  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、下部は 6  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、明暗周期 14 h L : 10 h D、温度 25 °C であり、12 日間実施した。

本実験から、底生羽状目珪藻類が高密度に存在する実験区においては、暗期に底層に移動した *C. antiqua* の増殖が抑制されることがわかった。一方、底層における貧酸素環境が底生羽状目珪藻類を減少させ、独占的な栄養塩利用により *C. antiqua* は増殖することが明らかになった。羽状目珪藻 *Entomoneis* sp. は Na<sub>2</sub>S を添加した実験区においても増殖することから、貧酸素耐性が強いことが示され、高密度になると *C. antiqua* に対して増殖を阻害することが示された。

本研究において調査を行った田尻港は、広島県鞆灘の *Chattonella* 赤潮の初期発生場所であると考えられ、鞆灘における *Chattonella* 赤潮の発生を抑制するためには、田尻港における赤潮の発生を根本的に抑制することが最も効果的と考えられる。田尻港では夏期に貧酸素水塊が発生し、底生羽状目珪藻類の細胞密度が極めて少なくなっていた。この底生羽状目珪藻類の減少により、有害鞭毛藻類が独占的に底層の栄養塩を取り込むことができ、赤潮が発生するという説が提唱できる。

底生珪藻類が海底で豊富に生息する沿岸域においては、日周鉛直移動で海底に到達した有害鞭毛藻類が利用できる栄養塩は底層水中に少なく、一方でアレロパシー等により増殖阻害を受けると考えられる。海底の底生珪藻類の増殖を促進させる事は、生態系に配慮され、低コストの赤潮の発生予防法と位置付けできる。