

## 噴火湾における有毒渦鞭毛藻 *Alexandrium tamarense* の出現生態

北海道南東部に位置し、半閉鎖的な内湾として知られる噴火湾はホタテ貝を中心とする貝類養殖の盛んな海域であるが、本湾において春季に増殖する有毒渦鞭毛藻 *Alexandrium tamarense* により麻痺性貝毒がホタテ貝に蓄積され、出荷が自主規制されるなど養殖業に大きな害を与えている。本種は増殖に不適な環境下でシストを形成し、海底泥中で生存するため、次年度以降のシードポピュレーションとして機能する。故に貝毒発生の可能性を推測する上でシストの分布状況を把握することは重要である。本研究では、本種の栄養細胞とシストの季節的分布を把握し、噴火湾において起こる貝毒の予測に必要な基礎的な知見を得ることを目的とした。

2010年4月から10月にかけて、噴火湾の定点(最大は8月で20点)で採水及び採泥を行った。採水は表層をバケツで、10 m と 20 m についてはCTDで行い、同時に水温、塩分、クロロフィル a 濃度を計測した。採泥はスミス・マッキンタイヤ式採泥器により海底泥表面(0-3 cm)を採集した。また実験室にて栄養塩濃度測定も行った。倒立顕微鏡を用いて海中の植物プランクトンの同定・計数を行い、海底泥中の休眠期細胞については *A. tamarense* をプリムリン染色直接計数法、珪藻類をMPN法で同定・計数した。プリムリン染色直接計数法の手順は以下の通りである。まず湿重量約5 gの泥試料を蒸留水に懸濁し、超音波処理を施した後、目合い100  $\mu\text{m}$  ネットから20  $\mu\text{m}$  ネットへと段階的に篩にかけた。目合い20  $\mu\text{m}$  のネット上に残った試料は、15 ml ポリカーボネート遠心チューブに流し入れ、蒸留水で10-25 ml に定容した。これらの泥懸濁液のうち、5 ml を15 ml 遠心チューブに収容し、5%グルタルアルデヒド溶液1 ml の添加により固定した。その後、700 $\times$ g で15分間の遠心分離を行い、上澄みは除去した。沈殿物に冷メタノール5 ml を加え、冷蔵庫内で一晩放置し色素を抽出除去した。メタノールは遠心分離器を用いて、10 ml の蒸留水と置き換えた。各チューブにプリムリン染色液(2 mg/ml) 1 ml を滴下し、暗所に30分間置いた。染色後、遠心分離で上澄みを取り除き、蒸留水中に懸濁し、再度遠心分離を行った。試料は最終的に5 ml の蒸留水に懸濁し、青色励起光下における落射蛍光顕微鏡を用いた同定・計数に供した。シストの計数は0.1~0.2 ml の染色された泥懸濁液をSedgwick-Rafterチャンバーに置き、倍率100倍にて計3回行った。その結果から湿泥1gあたりのシスト数を求めた。またMPN法については下記の通りである。まず、よく攪拌した泥試料の一部(湿泥2 g)を0.1 g ml<sup>-1</sup> になるように滅菌濾過海水に懸濁させ、10<sup>0</sup>懸濁液とした。100懸濁液を改変SWM-3培地を用いて段階希釈し、10<sup>-1</sup>から10<sup>-6</sup>までの希釈懸濁液を作製した。各希釈段階の懸濁液をそれぞれ1 ml、5区画ずつ組織培養用マイクロプレートに接種し、温度15  $^{\circ}\text{C}$ 、光強度60-70  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、明暗周期14h L:10h D の条件下で培養した。培養4-10日後に倒立顕微鏡下で観察を行い、栄養細胞が出現した区画を陽性として各希釈段階の陽性数の組み合わせから、統計表を参考にして湿泥1 g中に存在する休眠期細胞数を求めた。

5月と10月は比較的鉛直混合された水塊構造を示した。8月は躍層が発達し、高温・低

塩な水塊が認められた。栄養塩濃度は5月、8月ともに低水準で推移しており、8月は栄養塩の枯渇が表層で顕著であった。

*A. tamarense* の栄養細胞は4-6月の春季にのみ出現が確認された。4月及び6月では熱塩フロントの形成される湾口部に高密度で分布していた。5月は湾西部沿岸や北東部沿岸に集中しており、栄養塩濃度が低かった。湾西部沿岸では、栄養細胞の高密度分布域が確認されたことから、春季に低温な沿岸親潮の影響を受けにくく、底泥シストの発芽が起こりやすいと考えられた。また湾北東部でも同様に高密度域が見られたが、5月頃は湾内水の停滞によって起こる時計回りの還流に乗って栄養細胞が運搬された結果と考えられた。一方、シストは5月及び8月の海底泥において存在が確認された。両月とも栄養細胞が比較的高密度で出現した噴火湾西部沿岸に高密度域が見られた。その理由として、湾西部沿岸は湾奥に位置しており潮流の影響が頗る小さいため、ブルームの終焉とともに形成された運動性のないシストの温床になっている可能性が挙げられる。また、8月の調査結果から広範囲にシストが分布していることが確認された。本湾において冬季は季節風による再懸濁に加え、その後の海表を吹く風によって起こる鉛直混合流がシスト拡散に寄与していると考えられる。

珪藻類は春季の4-6月では概ね栄養塩の残存する湾口部に局在するという分布パターンを示した。このように、春季において珪藻類と渦鞭毛藻 *A. tamarense* の分布に違いが見られるのは、珪藻の増殖が溶存態ケイ素制限である一方で、渦鞭毛藻は珪藻ブルーム後に残存した窒素、リンを利用して増殖することが一つの理由として挙げられる。珪藻の休眠期細胞は8月において噴火湾南部沿岸から北東部沿岸にかけて比較的高密度の場所が弧状に分布していた。この事実は *A. tamarense* と同様に5月ごろの時計回りの還流による栄養細胞の運搬・供給があったことを示唆している。

本研究により噴火湾の春季ブルーム後期において *A. tamarense* の栄養細胞が確認され、その後広範囲にシストが拡散し、分布していることが明らかとなった。1992年以降、大規模な二枚貝の毒化は発生していないが、毎年の水理環境は異なっており、本種の栄養細胞やシストに与える影響が違うことから条件次第では大規模なブルームを引き起こす可能性はある。またシストの寿命は長いことから、一度シストが確認された海域では常に貝毒発生の危険性を孕んでいると考えるべきであるので、今後も継続的な調査・研究が必要である。さらに珪藻類は *A. tamarense* に先立ってブルームを起こすため、一つの有用な指標として評価できるかもしれない。したがって珪藻類の分布・生態に関して *A. tamarense* との関係に注目して知見を増やすことも重要である。

森部 和臣