

修士論文内容の要旨

ふりがな	もりた こうや	
氏名	森田 航也	
専攻名	海洋生物資源科学専攻	
入学年度	平成 27 年 4 月	
指導教員名	主査 今井 一郎 特任教授	副査 和田 哲 教授 副査 山口 篤 准教授
論文題目	海底堆積物中の珪藻類休眠期細胞及び底生珪藻類を活用した赤潮防除と予知に関する研究	
<p>我が国の沿岸域では、養殖魚介類等の大量斃死を引き起こす有害赤潮が多発しており、その対策が急務となっている。近年、生物学的防除策として海底耕耘による珪藻類休眠期細胞の活用が提案されている。これは海底に豊富に存在する珪藻類休眠期細胞を有光層に巻き上げて発芽、増殖させ、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という手法である。海底耕耘の実用化に向けては様々な実験が行われているが、赤潮発生防除に実質的に有効な海底泥濃度、水理環境等のデータは乏しいのが現状である。また西日本を中心に有害赤潮を引き起こす渦鞭毛藻 <i>Karenia mikimotoi</i> は水深約 20 m に達する日周鉛直移動を行い、底層や海底泥の間隙水中の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には底生性の珪藻類が生息しており、海底の栄養塩を吸収し水柱への供給を軽減することが知られている。よって底生珪藻類は沿岸域の <i>K. mikimotoi</i> の動態に大きな影響を与えている可能性があり、両者の関係を明らかにすることは有害赤潮の初期発生水域特定の科学的根拠となり、赤潮発生予知に大きく貢献すると期待される。</p> <p>本研究では赤潮発生防除策としての珪藻類休眠期細胞の活用、及び有害赤潮発生予知の為の底生珪藻類活用の有効性を検討することを目標とし、①現場海域における珪藻類休眠期細胞の分布密度を把握し、②海底泥の有光層への巻き上げを想定した有害鞭毛藻類との競合試験を行った。また③培養実験にて底生珪藻類が <i>K. mikimotoi</i> に与える影響を検討した。結果の要旨は以下の通り。</p> <p>①2015年6月18日に大分県佐伯湾12地点から得られた海底堆積物試料を採取し、MPN法によって珪藻類休眠期細胞密度を推定した。また1年以上冷暗所で保管し再度MPN法で計数した。珪藻類休眠期細胞は平均で 1.3×10^5 MPN g^{-1} wet sediments 存在し、過去の当該海域の報告と同程度であった。比較的浅い地点では底生珪藻類の割合が高く、底生珪藻類の増殖に十分な光が海底に到達していたと考えられた。更に1年後の結果より、底生珪藻類の中には増殖に不適な環境で生存可能な生理生態学的機能を持つ種も存在することが示された。</p> <p>②ボトル吊り下げによるプランクトン競合試験は2015年8月3-17日の14日間実施した。海底泥(表</p>		

層 1 cm) 及び表層水は 7 月 28 日に佐伯湾沖松浦漁港にて採取し、以下の 6 つの実験区を設定した。すなわち A: 海底泥 0.2 g 添加, B: 海底泥 0.02 g 添加, C: 海底泥 0.002 g 添加, D: 海底泥 0.2 g と 1/100 強度 SWM-3 培地添加, E: 海底泥 0.02 g と 1/100 強度 SWM-3 培地添加, F: 海底泥 0.002 g と 1/100 強度 SWM-3 培地添加である。各実験区に *Chattonella. antiqua* (50 Cells mL⁻¹) を添加した後、大分県農林水産研究指導センターの生簀で 0, 5, 9 m 層に垂下した。培養開始 0, 1, 2, 4, 7, 10, 14 日目に副試料を採取し、同時に環境要因を測定した。副試料はクロロフィル *a* 濃度, 栄養塩濃度測定, 及び *C. antiqua* と珪藻類の同定, 計数に用いた。水柱の水温, 塩分は珪藻類の増殖に好適であり, 光量子束密度も休眠期細胞の発芽及びその後の栄養細胞の増殖に十分な光強度であった。栄養塩を強化した実験区 D の表層, 5 m 層及び実験区 E の表層では, 珪藻類が 10⁴ cells mL⁻¹ のオーダーの密度に達し, その後栄養塩濃度が大きく減少し *C. antiqua* は減少した。また栄養塩を強化していない実験区 A について, 珪藻類が最大密度となった後 *C. antiqua* 細胞密度の減少が認められた。一方泥濃度の低い実験区では珪藻類の最大密度が小さく, *C. antiqua* 細胞密度は大きく減少しなかった。以上から光が得られ, 栄養塩が豊富な環境下でも泥濃度 0.01–0.1 g L⁻¹ 程度巻き上げれば, *C. antiqua* の増殖を抑制できる可能性が示唆された。

③底生珪藻類密度の違いによる *K. mikimotoi* の動態を調査した。底生珪藻類密度の異なる海底泥を, 1/100 強度 SWM-3 培地 1.5 L の入ったアクリル管に入れ, 両実験区に *K. mikimotoi* を 200 cells mL⁻¹ で接種した。1 日静置後, 4 時間毎に 24 時間まで 8 層から採水し *K. mikimotoi* 細胞密度を計数した。また 2, 3, 6, 8 日目には水柱全体から採水し, 計数を行った。実験の結果, 低珪藻密度の実験区では *K. mikimotoi* の正常な日周鉛直移動が確認され, 実験終了時に細胞密度の増加が認められた。一方, 高密度の実験区では暗期に底層に移動したが, 明期の表層への移動が見られず, 細胞密度も減少した。両実験区とも栄養塩類は充分であり, 海底泥中の底生珪藻類が *K. mikimotoi* の挙動に何らかの影響を与えたと考えられる。

底生珪藻類, または浮遊珪藻類と *K. mikimotoi* 無菌株を用いた共培養実験を行った。滅菌した 1/10 強度 SWM-3 培地に *K. mikimotoi* (1000 cells mL⁻¹), 珪藻類 (2000 cells mL⁻¹) の無菌株を添加し, 温度 20°C, 光強度約 50 μmol photons m⁻² s⁻¹, 明暗周期 14 h L: 10 h D の条件下で 14 日間培養した。実験は 4 回行った。各実験区 0, 2, 4, 7, 10, 14 日目に細胞密度を計数し, 0, 14 日目には栄養塩測定も行った。*K. mikimotoi* は共培養の珪藻類により異なる挙動を示した。底生珪藻 *Nitzschia* sp. 1 と共培養した実験区では実験期間を通して細胞密度が減少し続けた。浮遊性珪藻類と共培養した実験区では珪藻類の細胞密度が 10⁴–10⁵ cells mL⁻¹ に達した後, *K. mikimotoi* が減少した。一方 *N. longissima* や *Nitzschia* sp. 2 と共培養した実験区では細胞密度が減少しなかった。以上から底生珪藻類の中には *K. mikimotoi* の増殖を阻害する種が存在することが明らかとなった。

最現場海底堆積物を用いた有害鞭毛藻類との培養実験を行った。2016 年 10 月 26 日, 北斗市七重浜海水浴場にて採取した海底堆積物を 500 μm メッシュで篩にかけ, 以下の実験区 (2 本立て) の実験に用いた。すなわち *K. mikimotoi* のみ, *K. mikimotoi* と海底堆積物 50 g, *K. mikimotoi* (10 μm メッシュ内) と海底堆積物 50 g, *K. mikimotoi* と *Nitzschia* sp. 1 (2000 cell mL⁻¹), *K. mikimotoi* と海底堆積物 50 g (1 週間培養後), *C. antiqua* と海底堆積物 50 g である。2 種の鞭毛藻類は約 1000 cells mL⁻¹ に調整し, 0, 2, 4, 7, 10 日目に細胞密度を計数し, 0, 10 日目は栄養塩測定を行った。*K. mikimotoi* は共培養を行ったすべての実験区で細胞密度が減少した。海底堆積物中の底生珪藻類は実験終了時約 2.0 x 10⁵ cells g⁻¹ 存在し, 栄養塩類が枯渇して

いなかったことから、底生珪藻類が *K. mikimotoi* の増殖をアレロパシー等で阻害した可能性が示された。また海底堆積物中から *K. mikimotoi* を捕食する繊毛虫 *Pleuronema* sp.が見出された。この *Pleuronema* sp.について *K. mikimotoi* との共培養実験を行い、*K. mikimotoi* 細胞密度が高い場合、効率的に減少が認められた。この実験区では、*K. mikimotoi* の潰れた細胞が観察され、実際に捕食する様子が観察されたことから、*Pleuronema* sp.が *K. mikimotoi* を捕食することが明らかとなった。

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された。海底堆積物中の底生珪藻類や *Pleuronema* sp.の動態を調査することにより、*K. mikimotoi* による有害赤潮の発生を予知できる可能性が示された。今後は赤潮が発生しやすい水域での現場実証試験や、底生珪藻類や *Pleuronema* sp.についてさらなる調査、研究を行うことが重要であり、将来の実用化が期待される。