

ヘテロカプサ赤潮の消長予測技術開発

畑 直垂・藤原正嗣・増田 健・西村昭史

目的

Heterocapsa circularisquama 赤潮によるアコヤガイ等の二枚貝のへい死被害を防止するため、英虞湾を対象海域として本種の発生状況と発生環境を調査し、赤潮発生機構を解明する。また、本種の現場発生個体群の増殖速度推定法を開発し、赤潮消長予測に資する。

方法

1. *H. circularisquama* および赤潮発生環境モニタリング
英虞湾内 4 定点 (図 1) において、4 月～12 月にかけて週 1 回～月 2 回の頻度で、水質観測および採水調査を実施した。水質観測は、クロロテック (アレック電子 AAQ1183) により水温、塩分、溶存酸素、クロロフィルを測定した。採水は、地点の水深に応じて 0.5m, 2m, 5m, 10m, 20m および底上 1m 層より行い、*H. circularisquama* およびその他植物プランクトン細胞数を光学顕微鏡下で計数した。また、0.45 μm メンブレンフィルターで濾過した試水をオートアナライザー (プランルーベ社 TRAACS2000) による栄養塩分析 ($\text{NH}_4\text{-N}$, $\text{NO}_2\text{-N}$, $\text{NO}_3\text{-N}$, $\text{PO}_4\text{-P}$) に供した。St.1 については DOP と Si も分析した。

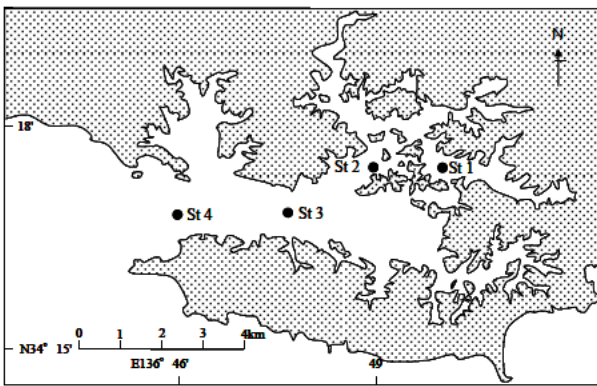


図 1. 調査側点図

2. 細胞密度の変化量を指標とした増殖速度推定法

1) 細胞密度の測定精度の検討

過去 3 年間で得た現場海水 107 試料の計数データに基づいて、試料中の *H. circularisquama* の細胞密度と変動係数 (CV) との関係を検討すると共に、1 試料あたりの計数回数を増加させることで計数精度の向上にどの程度貢献するか検討した。また、1 試料あたりの細胞カウント

数と CV 値との関係についても検討した。

2) 増殖速度の測定精度の検討

2007 年 7 月 6 日に St.1 において現場海水を採取した。現場海水に培養した *H. circularisquama* を添加し、高密度区として本種の細胞密度が 779 cells/ml, 低密度区として細胞密度 56 cells/ml の 2 つの試験区を設定した。各試験区の海水試料は、500ml 容量のポリカーボネイト製の瓶に 5 本ずつ充填し、人工気象器内で温度 25°C, 光強度 165 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{sec}$, 明暗周期 12hL : 12hD に設定して 24 時間培養した。各瓶の培養前後の *H. circularisquama* の細胞密度を測定し、培養瓶 5 本における CV 値を比較することで、培養瓶間の増殖のばらつきを評価した。また、培養瓶 5 本における増殖速度の標準偏差 (SD) を求め、 $\alpha = 0.05$, $\beta = 0.20$ と設定して、 $N = 2 (Z_{\alpha/2} + Z_{\beta}) SD_2 / \Delta_2$ の式に基づく両側 t 検定における検出力ベースの例数設計により、培養瓶の必要本数を見積もった。

3) 増殖速度のモニタリング

今年度は *H. circularisquama* が低密度しか発生しなかったため、モニタリングは実施できなかった。

結果及び考察

1. *H. circularisquama* および赤潮発生環境モニタリング

H. circularisquama は 6 月 25 日に St.1 で最初に確認された。7 月下旬には St.1 で増殖が確認されたものの、細胞密度は 7 月 27 日の 9.7 cells/ml が最高であった。8 月 6 日には増殖が終息し、赤潮には至らなかった。*H. circularisquama* の増殖制限要因としては、生物学的要因として 7 月上旬と下旬の珪藻および 8 月上旬の *Gymnodinium impudicum* の増殖、物理化学的要因として 7 月中旬の大雨による極端な塩分低下とその後の低水温、低塩分環境の継続および 8 月の溶存酸素の動態から推察される底層の比較的良好な海水交換の継続などが考えられた。

2. 細胞密度の変化量を指標とした増殖速度推定法

1) 細胞密度の測定精度の検討

試料中の *H. circularisquama* の細胞密度と変動係数 (CV) との関係を図 2 に示した。CV 値は細胞密度が低くなる程、大きくなる傾向が認められた。また、細胞密度が 20 cells/ml 以下の場合には、1 試料あたりの計数回数を 3 回から 5 回あるいは 10 回に増加させても CV 値は高くなった。一方、細胞密度が 20 cells/ml 以上の場合に

は計数回数が3回でも CV 値は30%以内で安定していた。以上の結果より、実用化に際しては、細胞密度 20 cells/ml 以上で精度を得ることを目的として、1 試料あたりの計数回数は3回に設定した。

細胞カウント数と変動係数 (CV) との関係を図3に示した。CV 値は細胞カウント数が 20 cells 以下になると急激に増大した。一方、細胞カウント数が 70 cells 以上の場合には CV 値は 20%以内で安定していた。以上の結果より、計数 1 回あたりの細胞カウント数は約 70 cells/ml 以上、少し余裕をみて 100 cells 以上を基本に設定した。

以上の検討結果を基にして、細胞密度に応じた計数条件を設定すると共に、本条件で計数した場合の予想精度を見積もって表1に示した。今後は、この表を基にして精度管理を行いつつ計数作業を行うことで、一定レベルの計数精度を得ることが可能となった。

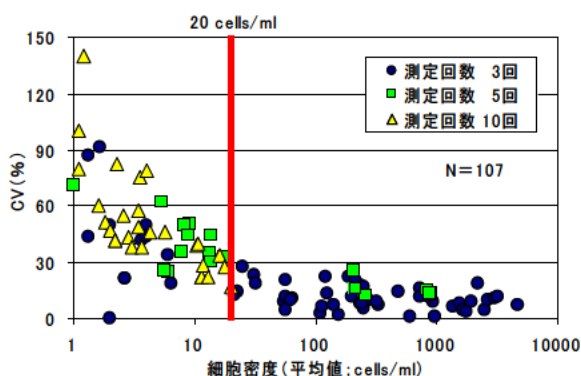


図2. 試料中の *H. circularisquama* の細胞密度と変動係数 (CV) との関係

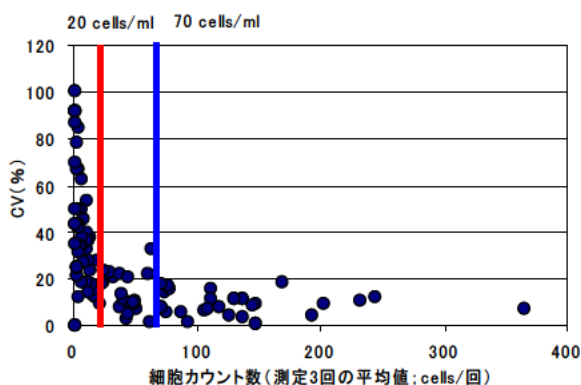


図3. 細胞カウント数と変動係数 (CV) との関係

表1. 細胞密度毎の計数条件と予想精度

細胞密度 (cells/ml)	測定回数 (回/試料)	細胞カウント数 (cells/回)	CV (%) (Mean±SD)	計算に用いたデータ数 (N)
1~4	3	全数	49.7±28.4	29
5~9	3	全数	40.6±22.2	9
10~19	3	全数	30.4±11.8	14
20~49	3	全数	19.1±5.7	6
50~99	3	全数	11.1±5.3	6
100~999	3	≥100	9.0±4.9	10
1,000~9,999	3	≥100	8.4±4.4	11

2) 増殖速度の測定精度の検討

培養瓶5本における高密度区と低密度区の培養前後の *H. circularisquama* の細胞密度および増殖速度の平均値、標準偏差 (SD)、変動係数 (CV) を比較して表2に示した。両区とも、培養後に細胞密度の CV 値が極端に大きくなることはなかったことから、培養瓶間の増殖のばらつきは、培養瓶への試水充填時の細胞密度のばらつきや計数誤差よりも小さいレベルであると推察された。

得られた増殖速度の標準偏差、すなわち SD=0.07 および 0.05 の値を基にして、両側 t 検定における検出力ベースの例数設計の式により、培養瓶の必要本数を見積もって表3に示した。手法の実用化を考えた場合には作業労力も考慮して、増殖速度の差 0.20 程度を識別できる測定精度を目標とし、培養瓶 1~2 本、少し余裕をみて 3 本で測定するのが適当であると考えられた。

表2. 培養前後の *H. circularisquama* の細胞密度および増殖速度の平均値、標準偏差、変動係数 (CV)

	高密度区		低密度区	
	mean±SD	CV (%)	mean±SD	CV (%)
培養前 (cells/ml)	779±28	3.6	56±8	13.6
培養後 (cells/ml)	1403±64	4.6	89±3	3.3
増殖速度 (divisions/day)	0.85±0.07	7.9	0.68±0.05	7.0

表3. 培養瓶の必要本数を見積もり結果

増殖速度の差 (Δ)	培養瓶の必要本数	
	高密度区 (SD=0.07)	低密度区 (SD=0.05)
0.05	31.4	16.0
0.10	7.8	4.0
0.20	2.0	1.0
0.50	0.3	0.2

※ 両側t検定における検出力ベースの例数設計
 $\alpha = 0.05, \beta = 0.20, N = 2[Z_{\alpha/2} + Z_{\beta}]SD^2 / \Delta^2$

3) 増殖速度のモニタリング

今年度は *H. circularisquama* が低密度しか発生しなかったため、モニタリングは実施できなかった。しかし、2004年と2005年の *H. circularisquama* 赤潮および2006年の *Karenia mikimotoi* 赤潮の際に、赤潮の消長に対応した増殖速度がモニタリングできている。今後は、今年度検討した条件を手法に取り入れることによって、より精度の高い増殖速度のモニタリングが可能になると考える。

関連報文

平成19年度 川上から川下に至る豊かで多様性のある海づくり事業 赤潮等被害防止対策事業 報告書