

ヘテロカプサ赤潮の消長予測技術開発

畠 直亜・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など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、本種の発生状況および環境調査を行い、赤潮発生機構を解明すると共に、本種の現場個体群の増殖速度推定法について検討し、赤潮消長予測技術の開発に資する。

方法

1. *H. circularisquama* 細胞数および赤潮発生環境のモニタリング

英虞湾内の 4 定点（図 1）において、6 月～10 月にかけて週 1 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すると共に、0.45 μm メンブレンフィルターで濾過した試水を栄養塩分析 ($\text{NH}_4\text{-N}$, $\text{NO}_2\text{-N}$, $\text{NO}_3\text{-N}$, $\text{PO}_4\text{-P}$) に供した。St.1 については DOP と Si も分析した。栄養塩分析は、オートアナライザ（プランルーベ社 TRAACS2000）により行った。

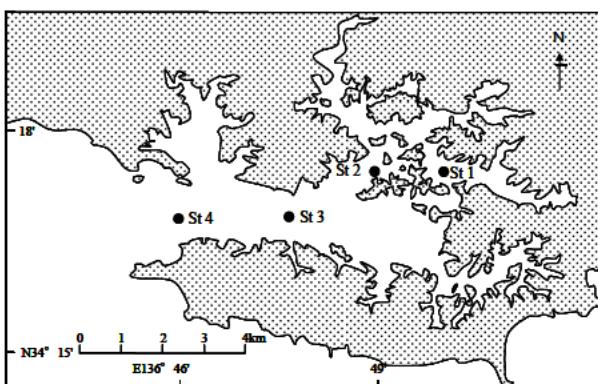


図 1. 調査測点図

2. 細胞分裂指数 (FDC) を指標とした増殖速度推定法

FDC 測定用試料に適する細胞固定液について検討を行った。

1) 各種固定液による細胞形態への影響

試験区はグルタルアルデヒド 5% 区、ホルマリン 10%

区、中性ホルマリン 10% 区、酢酸ホルマリン 10% 区、ルゴール液 10% 区の 5 区とした。*H. circularisquama* 細胞浮遊液 3ml に所定の最終濃度となるように各固定液を添加し、各区につき 300 細胞を観察して変形細胞の出現率を求めた。

2) 各種固定液による細胞残存率の経時変化

試験区はグルタルアルデヒド 1% 区、グルタルアルデヒド 5% 区、中性ホルマリン 5% 区、中性ホルマリン 10% 区、ルゴール液 5% 区、ルゴール液 10% 区の 6 区とした。*H. circularisquama* 細胞浮遊液 100ml に所定の最終濃度となるように各固定液を添加し、固定直後～5 ヶ月後まで経時的に各試験区の細胞数を調査して、試験開始時の未固定試料の細胞数との比較により細胞残存率を求めた。

3. 細胞数の増加率を指標とした増殖速度推定法

St.1 において浸漬法による現場個体群の増殖速度のモニタリングを実施した。午前 10:00 頃に 0.5m, 2m, 5m, B-1m 層より採水し、200 μm メッシュで濾過した試水を 500ml 容量のポリカーボネイト製瓶に充填し、もとの採水層に 2 本づつ垂下した。細胞数が最も多い層の試水を対象として、顕微鏡による直接計数により培養前と培養 1 日後の細胞数を求めて増殖速度（摂食圧を含む見かけの増殖速度）を算出した。増殖速度は培養瓶 2 本の平均値を用いた。なお、各試料の計数回数は、細胞数が 50 cells/ml 以上の場合は 5 回、50 cells/ml 以下の場合は 10 回とした。今年度は *H. circularisquama* の出現密度が低く、代わりに *Karenia mikimotoi* が赤潮を形成したため、*K. mikimotoi* についても増殖速度のモニタリングを実施した。

結果及び考察

1. *H. circularisquama* 細胞数および赤潮発生環境のモニタリング

H. circularisquama は 7 月 25 日～10 月 30 日にかけて出現した。最高密度は 8 月 24 日の 20 cells/ml で赤潮形成には至らなかった。近年の発生状況から見ると、発生時期はやや遅く、最高密度は低く、発生期間は長かった。

K. mikimotoi は 7 月上旬から出現密度が増加し始め、8 月 10 日に 5m 層で最高密度の 9,163 cells/ml に達した。

H. circularisquama は 7 月 25 日に出現密度 2 cells/ml で初めて確認されたが、この時 *K. mikimotoi* の出現密度は既に 84 cells/ml まで増加していた。その後も *K. mikimotoi*

は *H. circularisquama* よりも高密度で推移していた。*H. circularisquama* と *K. mikimotoi* の混合培養実験の結果 (Uchida et al., 1999) から推論すると、*K. mikimotoi* の発生が *H. circularisquama* 増殖の制限要因の一つとして作用した可能性が考えられる。

水温は 4 月～9 月まで平年よりも低めで推移し、特に底層で顕著であった。塩分も 4 月～9 月にかけて底層で低めであった。

2. 細胞分裂指数 (FDC) を指標とした増殖速度推定法

1) 各種固定液による細胞形態への影響

変形細胞の出現率はグルタルアルデヒド 5% 区で 0.7%，中性ホルマリン 10% 区で 0.0%，ルゴール液 10% 区で 0.3% と低かったのに対し、ホルマリン 10% 区では 81.3%，酢酸ホルマリン 10% 区では 12.0% と高かった。したがって、後者 2 種の固定液は *H. circularisquama* の固定に適さないと判断された。

2) 各種固定液による細胞残存率の経時変化

中性ホルマリン 5% 区、ルゴール液 5% 区および 10% 区の残存率は 1 日後には 80% 以下に低下したのに対し、グルタルアルデヒド 1% 区および 5% 区、中性ホルマリン 10% 区の残存率は 5 ヶ月においても約 90% を維持していた (図 2)。グルタルアルデヒド 2 区の比較では、5% 区の方が 1% 区よりも残存率がやや高めに推移した。以上のことから、*H. circularisquama* の固定にはグルタルアルデヒド 5% もしくは中性ホルマリン 10% が適当と判断された。

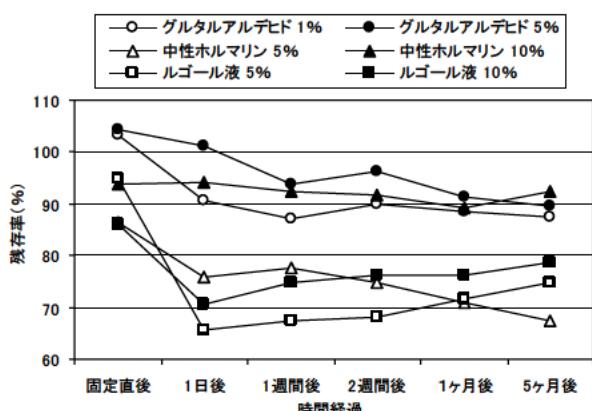


図 2. 各種固定液による細胞残存率の経時変化

3. 細胞数の増加率を指標とした増殖速度推定法

H. circularisquama の増殖速度と現場海域における細胞数の推移との間には、一定の傾向は認められなかった (図 3)。また、2 本の培養瓶の間で、増殖速度が大きくばらついた調査日が認められた。今年度は、増殖速度算定時の試料の細胞数が 0.1～20 cells/ml と低密度であったため、正確な増殖速度を得ることが困難であったと思われる。

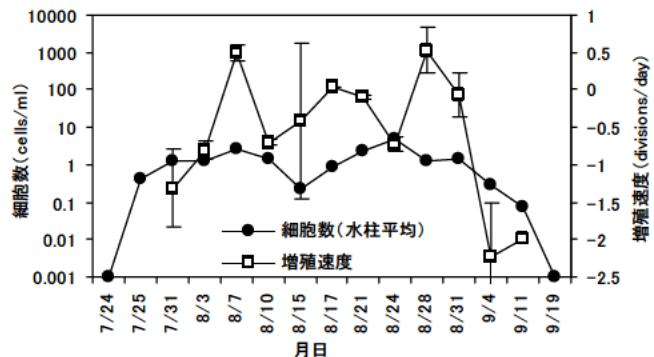


図 3. 浸漬法による *Heterocapsa circularisquama* の増殖速度と現場海域における細胞数の推移

K. mikimotoi の増殖速度は、赤潮発生初期の 8 月 7 日から赤潮ピークの 8 月 10 日にかけて 0.3 を維持し、その後赤潮が終息に向かうにつれて低下した (図 4)。このような増殖速度の推移は、過去 2 年の *H. circularisquama* 赤潮の消長過程と類似している。赤潮ピーク前の 8 月 7 日の細胞密度は 333 cells/ml、ピーク後の 8 月 15 日は 163 cells/ml といずれも 100 cells/ml レベルであった。これに対して、増殖速度はピーク前には 0.3、ピーク後には -0.4 と大きな差が見られた。このことは、細胞数と併せて増殖速度をモニタリングすることにより、赤潮の消長をより的確に把握できる可能性を示唆するものである。

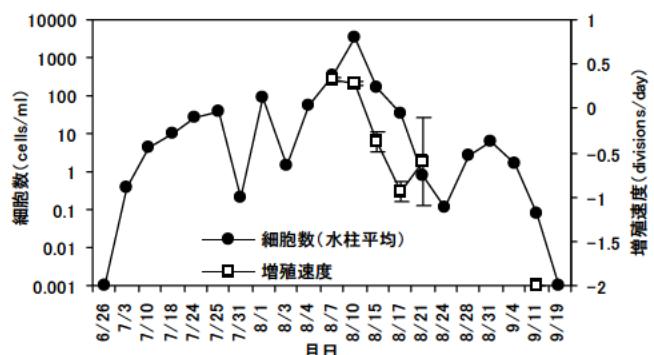


図 4. 浸漬法による *Karenia mikimotoi* の増殖速度と現場海域における細胞数の推移

関連報文

平成 18 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

参考文献

- Uchida, T., Toda, S., Matsuyama, Y., Yamaguchi, M., Kotani, Y. and Honjo, T., 1999: Interactions between the red tide dinoflagellae *Heterocapsa circularisquama* and *Gymnodinium mikimotoi* in laboratory culture. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 241(2), 285-299.