

九州沿岸に分布する有害渦鞭毛藻  
*Cochlodinium polykrikoides* の生理生態学的研究

2006年2月

長崎大学大学院 生産科学研究科

山 砥 稔 文

## 目 次

	頁
第1章 緒 論 .....	25
第2章 <i>Cochlodinium polykrikoides</i> 赤潮の発生および被害状況の概要 .....	27
第3章 現場海域における <i>Cochlodinium polykrikoides</i> の出現特性 .....	37
第1節 夏季の伊万里湾における <i>C. polykrikoides</i> の赤潮発生と増殖特性 .....	38
第2節 薄香湾における <i>C. polykrikoides</i> の出現密度の季節変化と増殖特性 .....	41
第4章 <i>Cochlodinium polykrikoides</i> の増殖に及ぼす物理的要因 .....	47
第1節 西九州沿岸（浅茅湾，奈摩湾，青方湾）に分布する <i>C. polykrikoides</i> の増殖に 及ぼす水温，塩分および光強度の影響 .....	47
第2節 東九州沿岸（大分県猪串湾）に分布する <i>C. polykrikoides</i> の増殖に及ぼす水温， 塩分の影響 .....	53
第5章 競合する有害赤潮鞭毛藻の増殖特性 .....	56
第1節 大村湾産 <i>Heterocapsa circularisquama</i> の二枚貝への影響と増殖特性 .....	56
第2節 大村湾産 <i>Karenia mikimotoi</i> の増殖に及ぼす水温，塩分の影響 .....	65
第3節 諫早湾に出現する有害鞭毛藻4種（ <i>Chattonella antiqua</i> , <i>Chattonella marina</i> , <i>Heterosigma akashiwo</i> および <i>Cochlodinium polykrikoides</i> ）の増殖に及ぼす 水温，塩分の影響 .....	68
第6章 総合考察 .....	75
摘 要 .....	79
謝 辞 .....	81
参考文献 .....	81
Summary .....	89

## 第1章 緒 論

九州沿岸域に分布する赤潮原因生物のうち、漁業被害をもたらす代表的な有害種としては渦鞭毛藻 *Cochlodinium polykrikoides* Margalef, *Heterocapsa circularisquama* Horiguchi, *Karenia mikimotoi* (Miyake et Kominami ex Oda) G. Hansen et Moestrup, ラフィド藻 *Chattonella antiqua* (Hada) Ono, *Chattonella marina* (Subrahmanyam) Hara et Chihara, *Heterosigma akashiwo* (Hada) Hada がある。特に、*C. polykrikoides* による赤潮は養殖魚類の大量斃死を引き起こすことで知られ、本種による漁業被害額（1999年伊万里湾では約8億円、2000年八代海では約40億円など）は他の有害赤潮種の被害に比べて顕著に大きい。本論文は *C. polykrikoides* 赤潮による漁業被害防止・軽減を図る上で必要と考えられる本種の出現・増殖機構解明のための基礎情報（年間生活様式、増殖特性等）を取得することを主目的としている。

地球表面の約71%を占める海洋では、植物プランクトンは食物連鎖における基礎生産者としての役割を果たす生物群であり、高次の海洋生物のみならず、われわれ人類の食料資源に関連する極めて重要な存在である。しかし、ある種の植物プランクトンは増殖・集積することによって赤潮を形成し、魚介類を大量斃死させたり、食物連鎖を通じて濃縮された毒素によって人類や海洋生物を死亡させたりするなどの弊害を引き起こすことがしばしばある。

赤潮は「海水中で微小な生物（主に植物プランクトン）が異常に増殖して、そのために海水の色が変わる現象」として古くから知られた現象<sup>1-4)</sup>であるが、日本では1960年代からの高度経済成長期に伴う沿岸域の都市化・工業化あるいは養殖漁業の普及拡大を背景として頻発し、それに伴って漁業被害が続出し、時に数十億円規模に達する場合が少なくないことから大きな社会問題となってきた<sup>5-7)</sup>。

世界各地の沿岸域における赤潮発生は近年、多発化・広域化傾向にある。その原因として、1) 先進国のみならず発展途上国における沿岸地域の産業発展と都市開発に伴う海域の富栄養化、2) 養殖漁業

がもたらす自家汚染による富栄養化、3) 魚介類の移植や船舶バラスト水等による有害・有毒種の移動と広域化等があげられる<sup>8)</sup>。人類や海洋生物に何らかの影響を及ぼす赤潮は2つに大別される。1) 有害種の増殖・集積によって海水が着色し、魚介類の斃死を招く「有害赤潮」、2) 有毒種を摂取した貝類が毒素を体内に蓄積し、それを食べた人間が中毒を起こす「貝毒」である。貝毒は有毒種が海水を着色させる密度に至らなくても発現することがあるため赤潮とはいえない場合もある。従って、現在ではこれら2つの事象を総称して、国際的には Harmful Algal Bloom (HAB) という言葉が用いられている<sup>1)</sup>。Bloom は「今を盛りに咲く花」を意味し、海水の着色とは関係なく、植物プランクトンの細胞密度の増加を表す言葉である<sup>9)</sup>。HABを類型化すると、1) もともと無害であるが高密度になった後に溶存酸素の不足を起こし結果的に魚介類の斃死を引き起こすブルーム、2) 人間には無害であるが魚介類の斃死被害を起こすブルーム、3) 自身のもつ毒が食物連鎖を通じて、あるいは直接に人間等の高次生物に被害を与えるブルーム、4) 海苔養殖が行われる時期に増殖して海水中の栄養塩類（無機態窒素、無機リン酸塩）を消費し、海苔の品質を低下させる珪藻類のブルーム、の4タイプに区別される<sup>9)</sup>。HABは世界規模で発生し、それに伴う被害の増加や新たな原因種の出現などが問題となっている<sup>9,10)</sup>。

日本における赤潮発生は北海道から九州までの広い範囲で確認されているが、多くは西日本沿岸域に集中している<sup>1,11)</sup>。西日本沿岸域では、赤潮監視体制が整備されている。発生件数の多い瀬戸内海と九州を例に赤潮と漁業被害件数の推移をFig. 1に示す。赤潮発生件数は瀬戸内海では1973~1976年をピークとして徐々に減少し、近年は100件前後で推移しており、九州では1981年以降おおむね90件以下で推移していたが、2000年以降100件を越えている。近年の赤潮による漁業被害件数は瀬戸内海では、年間10件前後であり、九州では10件を越えることが多い。近年の傾向として、赤潮発生件数とそれに伴う漁業被害件数は横ばいあるいは漸増で推移している。また、

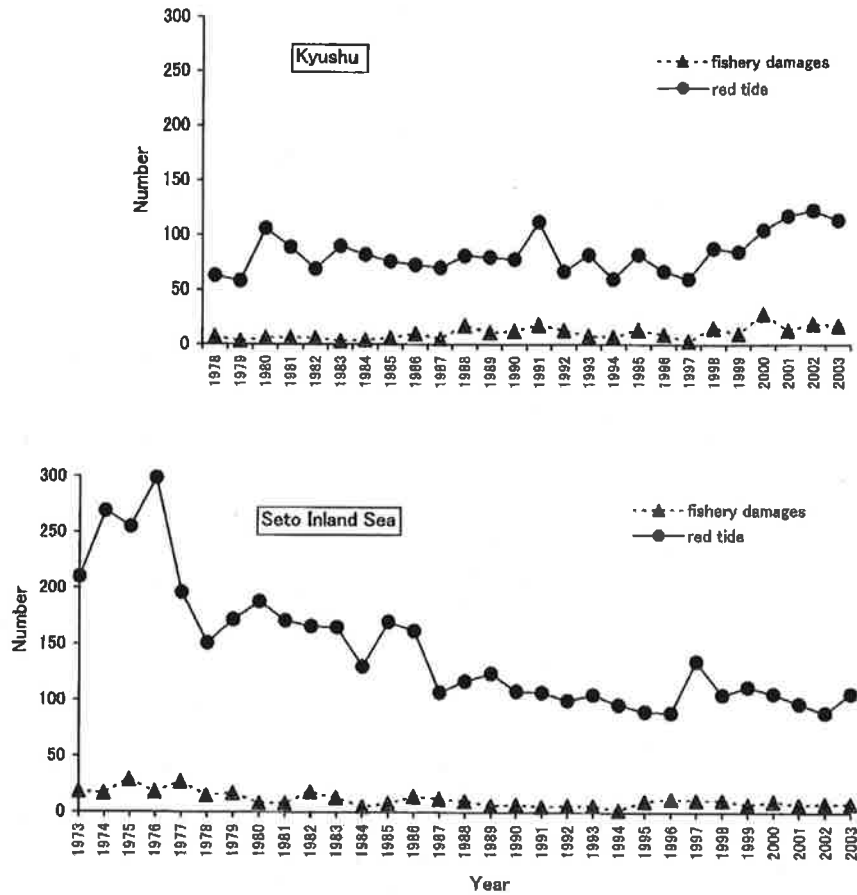


Fig. 1. Yearly changes of red tide incidences and the associated fishery damages in the Seto Inland Sea and coastal waters of Kyushu, Japan.

これらの海域での過去10年間における漁業被害金額は、ほぼ毎年のように億単位を越えてる<sup>12-14)</sup>。1件の赤潮で億単位の漁業被害金額を伴った赤潮の構成種は主に *C. polykrioides*, *H. circularisquama*, *K. mikimotoi*, *C. antiqua*, *C. marina*, *H. akashiwo* である。

赤潮による漁業被害を軽減・防止することを目的として、これまでに種々の対策が検討された<sup>15-17)</sup>。赤潮対策は、間接的対策と直接的対策に分けられる<sup>16)</sup>。間接的対策としては、水質汚濁防止法、海洋汚染防止法、農薬取締法、瀬戸内海環境保全臨時措置法などの法的規制、ヘドロ浚渫、石灰散布、海底耕耘、覆砂などの底質改善、海藻や珪藻類による海水中の栄養塩の除去による水質改善、モイストペレットの餌料開発などによる養殖技術改善、緊急避難としての生簀の移動や給餌の制限（餌止め）などがあげら

れる<sup>16,18-23)</sup>。直接的な対策としては、化学薬品による赤潮生物の殺滅、超音波による細胞破壊、海面回収法、薬剤を用いた凝集・沈降・回収法、粘土散布などが試みられている<sup>16,22,23)</sup>。しかしながら、経済性の問題、生態系への水質面からの悪影響の問題等から実用化に至っていないものが多い。現状では、養殖現場で赤潮が発生した場合の対策としては、生簀の移動や餌止めといった対処方法が主流である<sup>22,23)</sup>。最近では、海水中に存在する細菌やウイルスを用いた生物農薬開発<sup>24-32)</sup>、捕食生物を用いた赤潮生物の制御<sup>33,34)</sup>、珪藻や大型藻類による赤潮の予防のための新たな基礎研究<sup>23,35,36)</sup>が進められており、今後の研究の発展が待たれる。

このような状況の中、上記の対策とは別に、赤潮による被害を最小限に抑制するために、赤潮発生機構を解明し、赤潮発生を事前に予察することの重要

性が指摘されている<sup>37,38)</sup>。赤潮予察に関してはHAB種を中心に研究が進められてきた<sup>39-43)</sup>。予察の目標としては、その年の赤潮発生の有無、構成種や発生の時期と場所の特定、発生規模などが考えられる。赤潮発生を予察するためには、その発生機構の解明が重要となる。しかし、赤潮の発生機構は海域や原因プランクトン毎に異なるため、汎用的なものはない。また、生物の環境条件に対する応答や栄養要求は種によって異なるが、赤潮鞭毛藻も例外ではなく、むしろ過敏で種による差異が著しいといえる。同一種でも地域的な個体群によって最適増殖条件が異なることが知られている<sup>44)</sup>。従って、海域や種毎にその発生機構を解明する必要がある。赤潮の発生機構を解明するためには大きく分けて二つの取り組み方がある。1) 海況・気象条件などの環境因子の変動と赤潮発生との因果関係を明らかにしようとする環境面からの調査・研究、2) 赤潮原因生物の増殖生理や生態の解明といった生物学的方面からのアプローチである<sup>45)</sup>。現場調査から得られた環境因子と原因生物との相互関係を調べるために、実験的な解析が必要となる<sup>9)</sup>。赤潮は海水が着色するなど原因種が増加する現象であることから、その原因生物が出現し、高密度に増殖することが必要条件である<sup>46)</sup>。従って、赤潮の発生機構を論ずる上で、その種の年間生活様式や増殖最適条件を明らかにすることが第一に重要な課題となる。

九州沿岸域において甚大な漁業被害をもたらす赤潮種のうち *H. circularisquama*, *K. mikimotoi*, *C. antiqua*, *C. marina*, *H. akashiwo* については、増殖生理特性や生活史に関する比較的詳細な情報がある<sup>39,46-51)</sup>。しかし、*C. polykrikoides* は培養が困難であるとの理由から本種の増殖特性に関しては数例の報告<sup>52-54)</sup>を除き、ほとんど研究がなされていない。また、年間の生活様式に関しては、これまで遊泳細胞の状態での越冬<sup>8)</sup>と休眠シストの形成<sup>55-56)</sup>の可能性が指摘されているが、現状では的確な情報がきわめて少ない。

一方、赤潮は特定種の大増殖のみならず、単一種による場の独占という生態学的特徴を有する。競争

排除則 (competitive exclusion principle) に従えば、類似した生理要求を持つ2種は同じ生息場で共存できないと考えられる。このことは赤潮形成種と競合種との間に何等かの生理特性の差異が存在することを意味する。したがって、赤潮形成種およびそれと競合関係にある植物プランクトン他種の生理特性を比較検討する必要がある<sup>9)</sup>。

以上述べた背景から、本研究では、前述のように *C. polykrikoides* の出現・増殖機構の解明と赤潮発生予察のための基礎情報を取得することを主な目的とした。本論文は全6章から構成されている。これまで述べてきた第1章に続き、第2章では九州海域を中心に *C. polykrikoides* 赤潮の発生と漁業被害の状況を概説するとともに、*C. polykrikoides* 研究の現状を整理し、その背景を明らかにすることとした。第3章では、長崎県沿岸域を現場海域とし、*C. polykrikoides* の出現特性の解析を目的に、伊万里湾および薄香湾における現場調査に基づき、遊泳細胞の年間の出現状況と環境条件との関連を調べた。第4章では、九州沿岸域から分離した *C. polykrikoides* 培養株を用いた室内実験によって、水温、塩分および光強度に対する本種の増殖特性を明らかにした。第5章では、*C. polykrikoides* と競合関係にある *H. circularisquama*, *K. mikimotoi*, *C. antiqua*, *C. marina*, *H. akashiwo* について、長崎県沿岸域で分離した培養株を用いた室内実験により、それぞれの増殖特性を明らかにした。*H. circularisquama* については、二枚貝に及ぼす影響についても調べた。第6章では、以上の成果を総括し、*C. polykrikoides* の赤潮発生機構、出現予測および被害防止・軽減対策について論じた。

## 第2章 *Cochlodinium polykrikoides* 赤潮の発生および被害状況の概要

*C. polykrikoides* 赤潮の発生と漁業被害 *C. polykrikoides* は大西洋プエルトリコ島から Margalef によって1961年に記載<sup>57)</sup>された。西日本、韓国の南部沿岸域<sup>58)</sup>やフィリピン・ルソン島では本種赤潮による漁業被

害が生じており、今後、東アジアや東南アジア沿岸域でも本種は赤潮を形成する可能性があり<sup>56)</sup>、広域化が懸念される。韓国では、1989年以降本種赤潮が広域的に、また長期間発生し、大規模な水産被害が発生するようになり、特に1995年には韓国史上最高額である約800億 won (80億 yen) に及ぶ被害がもたらされるなど、地域経済に甚大な打撃を与えている<sup>54,58)</sup>。日本では、本種赤潮の発生およびそれによる漁業被害は1970年代後半以降に報告<sup>8,12-14,56,59,60)</sup>されるようになり、本種が重大な有害種として認識された

のは、1978年に八代海で本種赤潮によって養殖ブリなどに約5,000万円の漁業被害<sup>60)</sup>があったことが契機となっている。当時、本種は *Cochlodinium* sp. 78 八代型と仮名されたが、Yuki & Yoshimatsu<sup>61)</sup>によって *C. polykrikoides* であると同定された。

本種は渦鞭毛藻綱 (Dinophyceae)、ギムノディニウム目 (Gymnodiniales)、ギムノディニウム科 (Gymnodiniaceae) に属する無殻の藻類である。Fig. 2 に本種の栄養細胞を示す。本種の単独遊泳状態の細胞 (Fig. 2-3) は楕円体状で、長さ30~40 $\mu$ m、

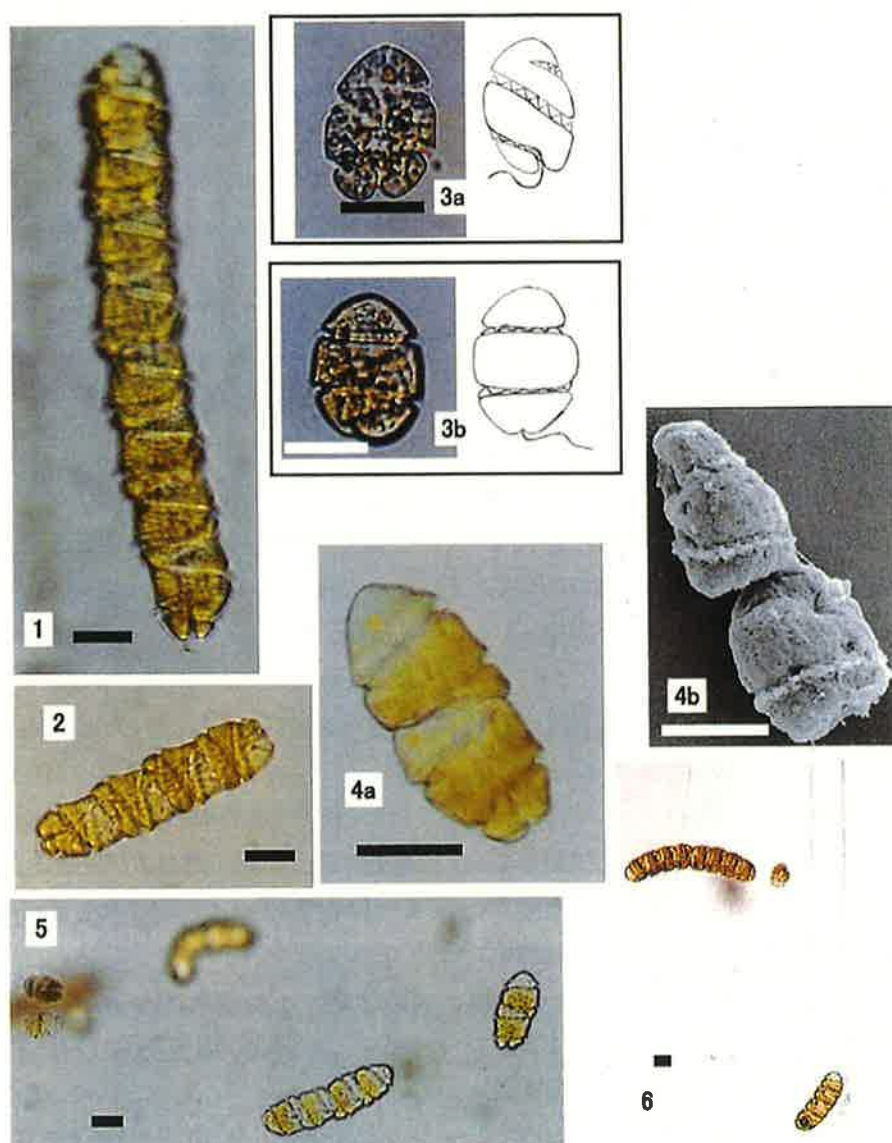


Fig. 2. Morphology of vegetative cells of *Cochlodinium polykrikoides* Margalef. 1; Chain of eight cells (LM). 2; Chain of four cells (LM). 3; Single cell, a; ventral view, b; dorsal view (LM). 4; Chain of two cells, a; LM, b; SEM. 5-6; 1 to 8 cell chains in red tide sample (LM). Scale bar; 20 $\mu$ m.

幅20~30 $\mu$ m, 背腹長18~24 $\mu$ mである。連鎖群体内の各細胞 (Fig. 2-2, 4) は上錐か下錐のどちらか一方, あるいは両方の形質が不完全なため, 単独細胞に比べて細胞長が小さい。連鎖は通常8個以下 (Fig. 2-1, 5, 6) であり, まれに16個の連鎖群体がみられる<sup>62)</sup>。本種の形態的特徴は, 松岡・岩滝<sup>56)</sup>に詳述されている。

日本における *C. polykrikoides* 赤潮の主要な発生水域は北緯36°以南の内湾および内海である (Fig. 3)。本種は当初八代海や九州各地で赤潮化し, 漁業被害を引き起こしていたが, 1996年には瀬戸内海播磨灘で蓄養ハマチなどに163万円の漁業被害を与え, 広域化の傾向を示し, 瀬戸内海, 熊野灘, 四国の高知県野見湾<sup>63)</sup>, 日本海側の島根県, 鳥取県, 兵庫県

沿岸<sup>64,65)</sup>でも赤潮発生が記録されるなど, 西日本各地で分布が確認されている。本種赤潮の発生とそれによる被害の件数は九州海域で顕著に多いことから, 九州海域における本種赤潮発生状況および漁業被害の現状を水産庁九州漁業調整事務所<sup>14)</sup>の取りまとめた資料を中心に, 鹿児島県水産試験場<sup>66)</sup>, 熊本県水産試験場<sup>67)</sup>および長崎県総合水産試験場<sup>68)</sup>がそれぞれ取りまとめた資料等を補完して整理した。資料中の *Cochlodinium* sp. type Yatsushiro や *Cochlodinium* sp. 78八代型として記載のあるものは *C. polykrikoides* とした。Table 1 に九州海域における *C. polykrikoides* 赤潮発生状況を, Table 2 に本種赤潮による漁業被害状況を示す。過去の資料等から判断すると, 日本において本種が赤潮として記録されているのは1978

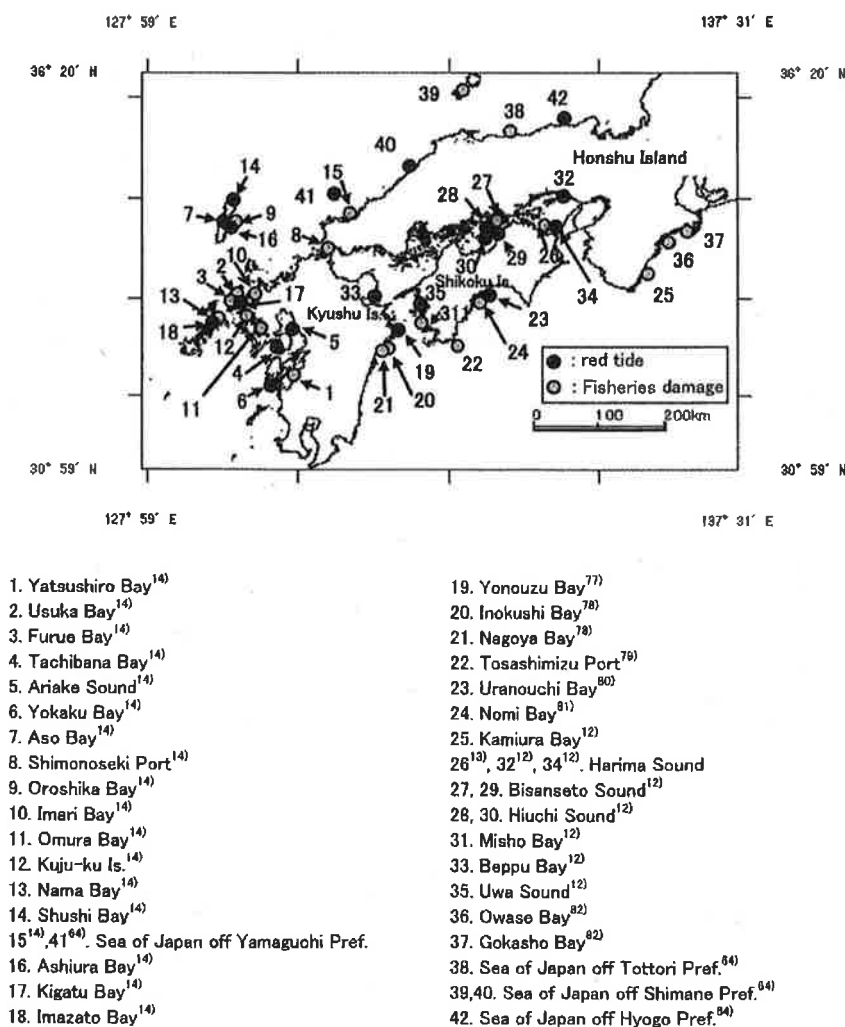


Fig. 3. Locations of *Cochlodinium polykrikoides* blooming in West Japan.

Table 1. Records of *Cochlodinium polykrioides* red tide in kyushu, Japan

No.	Location	1978	1979	1980	1981	1982	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	Total		
1	Yatsushiro Bay	3	3	3	5	3	2	2	2				1	2	4	1	1	1				1	1	2	7	3	3	50		
2	Usuka Bay													1	1													3	4	
3	Usuka Bay, Furu Bay														1													1	1	
4	Tachibana Bay														1													1	3	
5	Ariake Sea																			1	1	1	1	1	3	2	1	10	1	
6	Yokaku Bay																			1								1	1	
7	Aso Bay																				1							1	3	
8	Shimonoseki port																					1							1	1
9	Oroshika Bay																					1							1	2
10	Imari Bay																						2						1	3
11	Omura Bay																					2							1	3
12	Coastal waters of Kujukushima																									3	1	1	5	1
13	Nama Bay																												1	2
14	Shushi Bay																												1	2
15	Sea of Japan off Yamaguchi Prefecture																												1	2
16	Ashura Bay																										1		1	1
17	Kigatsu Bay																												1	1
18	Imazato Bay																												1	1
	Total	3	3	3	3	3	2	2	2	2	0	0	1	2	6	2	1	1	1	1	2	1	4	6	3	14	12	16	95	

Table 2. Records of fishers damage due to *Cochlodinium polykrioides* red tide in kyushu, Japan

No.	Location	1978	1979	1980	1981	1982	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	Total		
1	Yatsushiro Bay	3	1		3				1					2	1							1	1	2		2	1	18		
2	Usuka Bay														1														1	1
3	Usuka Bay, Furu Bay															1													1	1
4	Tachibana Bay																												0	0
5	Ariake Sea																												0	0
6	Yokaku Bay																												0	0
7	Aso Bay																												0	0
8	Shimonoseki fishing port																					1							1	1
9	Oroshika Bay																					1							1	2
10	Imari Bay																						1						1	1
11	Omura Bay																						1		1				2	2
12	Coastal waters of Kujukushima																									2			1	1
13	Nama Bay																												0	0
14	Shushi Bay																												1	1
15	Sea of Japan off Yamaguchi Prefecture																												0	0
16	Ashura Bay																												0	0
17	Kigatsu Bay																												0	0
18	Imazato Bay																												0	0
	Total	3	1	0	3	0	0	0	1	0	0	0	0	2	2	1	0	0	0	0	0	3	3	2	3	4	2	30		



年7月に九州西部海域の八代海における発生事例が初めてと考えられる<sup>69)</sup>。この時に漁業被害（養殖ハマチ、マダイ）も発生しており、鹿児島県海域で約5,000万円の被害を受けた。それ以前にも、1977年11月に長崎県薄香湾で *Cochlodinium* sp. 赤潮が発生し、養殖ハマチが被害を受けたとの記録<sup>69)</sup>や1976年9月に八代海で *Cochlodinium catenatum* 赤潮により養殖ブリが被害を受けたとの記録<sup>70)</sup>、1975年に奈津木湾（熊本県八代海）で発生したマダイへの死事例<sup>71)</sup>などある。いずれにしても本種は1970年後半頃から九州西岸域で赤潮を形成していたようである。

以降、本種赤潮は1990年までは八代海に限定して発生していたが、1991年に長崎県の橘湾や薄香湾、1995年に有明海、1996年に熊本県羊角湾、1997年に長崎県対馬浅茅湾、1998年に山口県下関漁港、対馬大漁湾と年々分布域を拡大した。1999年8月に伊万里湾海域の鷹島南岸を中心に本種赤潮が発生し、養殖魚のマダイ（36万尾）、ブリ（19万尾）、トラフグ（15万尾）、シマアジ（3万尾）が斃死して、7億6千万円という、*Cochlodinium* 赤潮としては文字通り桁違いの大きな被害をもたらした（Fig. 4, 5）<sup>71,72)</sup>。その後も、本種赤潮による漁業被害は毎年発生してお



Fig. 4. Photographs of dead fishes during *Cochlodinium polykrikoides* red tide in Imari Bay in August 1999. 1; Nishinihon News Paper reported a red tide and associated catastrophic death of farmed silver seabream *Pagrus major*. 2; White trevally *Pseudocaranx dentex*. 3; Tiger puffer *Takifugu rubripes*.

12 August 1999

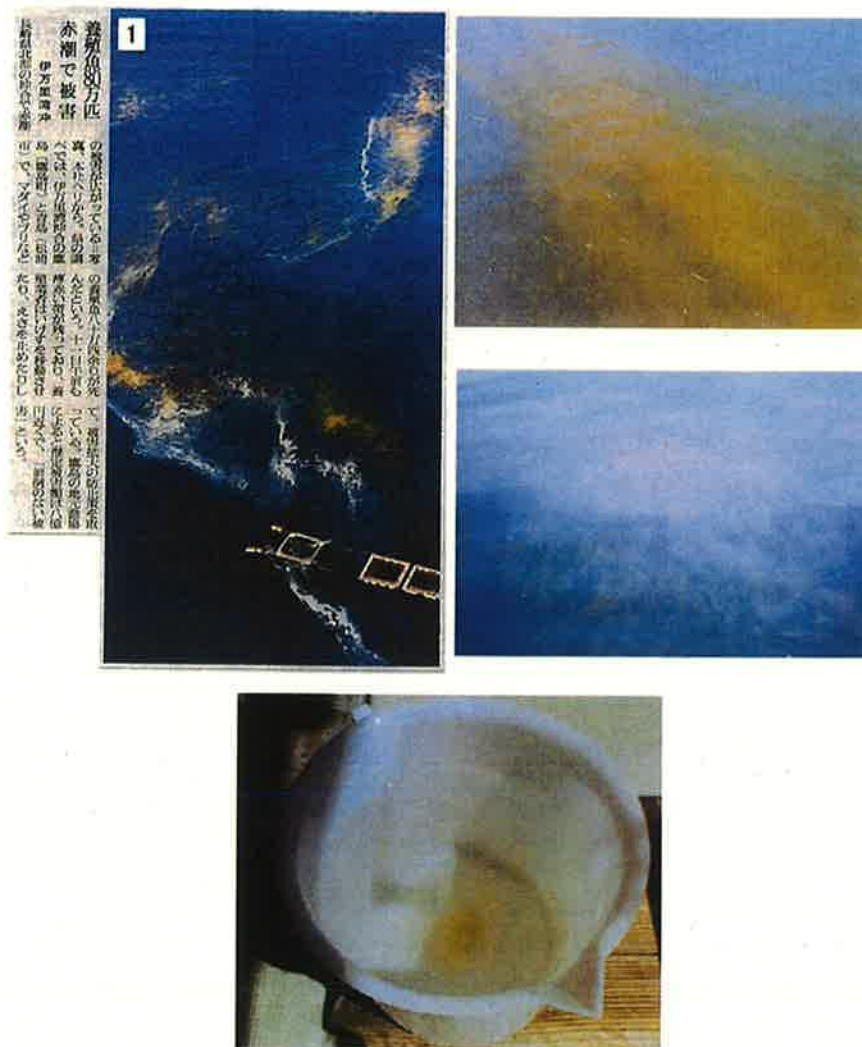


Fig. 5. The red tide of *Cochlodiniu polykrikoides* occurred in Imari Bay in August 1999. 1; Asahi News Paper reported the red tide.

り、特に、八代海においては2000年に39億8千万円、2002年に5億9千万円、2003年に2億9千万円という甚大な被害額を記録している (Table 3)。また、本種の九州海域における赤潮発生件数は1978~2003年の26年間で95件であり、3.7件/年の割合で発生していることになる (Table 1)。26年間の漁業被害件数は30件であり1.2件/年の割合で発生している (Table 2)。被害率 (漁業被害件数/赤潮発生件数×100) は32%である。九州海域における全赤潮発生件数は84件/年であり、このうちの12%が漁業被害を伴っている<sup>14,39)</sup>。本種の被害率は全赤潮平均を大きく上回っており、この点からみても本種の有害性は

顕著に高いと考えられる。近年の九州海域における本種の赤潮発生および本種による被害の件数の傾向をみると、1994~1998年の5年間に赤潮は10件、漁業被害は3件であったのに対し、1999~2003年の5年間に赤潮は51件、漁業被害は14件といずれも約5倍増となっている。さらに、前述のように本種赤潮は1999年伊万里湾で養殖魚類に約8億円の被害、八代海では養殖魚類等に2000年約40億円、2002年に約6億円と立て続けに莫大な漁業被害をもたらしている。

本種赤潮による漁業被害の内容をみると、ブリ、ヒラマサ、マダイ、マアジ、トラフグ、チヌ、シマ

Table 3. Incidence of red tide outbreaks of *Cochlodinium polykrikoides* and related damages to fishery in Kyushu and adjacent sea from 1978 to 2003

Year	Term	Locality	Fish damaged	Cell density (cells mL <sup>-1</sup> )	Economical loss (1,000 yen)
1978	7/24~9/1	Yatsushiro Sea	Yellowtail, Silver seabream	8,000	50,000
	7/29~8/2	Yatsushiro Sea	Yellowtail	12,250	11,940
	8/23~31	Yatsushiro Sea	Yellowtail, Silver seabream	19,560	38,490
1979	8/7~14	Yatsushiro Sea	Yellowtail	6,360	510
	9/4	Yatsushiro Sea			
1980	9/7~16	Yatsushiro Sea			
	7/10~11	Yatsushiro Sea			
	7/16~18	Yatsushiro Sea			
1981	7/23~29	Yatsushiro Sea			
	8/3~19	Yatsushiro Sea	Yellowtail	22,000	13,200
	8/7~8	Yatsushiro Sea	Japanese jack mackerel, Silver seabream	obscure	3,000
1982	9/6~14	Yatsushiro Sea	Yellowtail, Sea bream	3,450	16,396
	8/5~10	Yatsushiro Sea		7,000	
	8/28~9/11	Yatsushiro Sea		1,200	
1983	7/19~7/24	Yatsushiro Sea		24	
	7/23	Yatsushiro Sea		350	
	8/19~23	Yatsushiro Sea			
1984	7/18~24	Yatsushiro Sea		1,260	
	7/19~20	Yatsushiro Sea		3,000	
1985	8/15~23	Yatsushiro Sea		3,400	
	8/22~24	Yatsushiro Sea		1,400	
1989	7/9~11	Yatsushiro Sea		1,000	
	8/31~9/17	Yatsushiro Sea	Japanese jack mackerel, Silver seabream	1,000	59,322
1990	5/11	Yatsushiro Sea		3,900	
	8/1~9/10	Yatsushiro Sea	Yellowtail	495	30,300
1991	8/30~9/6	Yatsushiro Sea	Tiger puffer, Black seabream	3,158	10,080
	8/5~14	Yatsushiro Sea	Silver seabream, Yellowtail, Tiger puffer, Black seabream Japanese jack mackerel	9,440	13,090
1992	8/8~18	Yatsushiro Sea		3800	
	9/17~19	Yatsushiro Sea		350	
	9/23~28	Yatsushiro Sea		212	
	10/4~9	Yatsushiro Sea		621	
	12/1~24	Usuka Bay	Yellowtail	800	35,066
	10/13~16	Yatsushiro Sea		2,000	
1993	11/28~12/11	Usuka Bay, Furue Bay	Yellowtail	835	10,993
	10/16~20	Yatsushiro Sea		300	
1994	8/25~30	Yatsushiro Sea		1,680	
1995	8/13~9/8	Ariake Sea		13,236	
1996	8/7~27	Ariake Sea		100	
	8/27~8/28	Yokaku Bay		1,900	
1997	7/25~8/6	Aso Bay		2,182	
1998	8/3~7	Ariake Sea		1,640	
	8/6~18	Yatsushiro Sea	Yellowtail	5,297	57
	8/11~20	Shimonoseki fishing port	Fish	18,000	obscure
	8/17~21	Oroshika Bay	Yellowtail amberjack	103	1,122
1999	8/7~12	Imari Bay	Silver seabream, Yellowtail, Tiger puffer, White trevally	11,080	760,000
	8/10~16	Imari Bay		3,360	
	8/10~17	Omura Bay	Silver seabream, Yellowtail, Thread-sail filefish	2,433	1,068
	8/17~18	Omura Bay		1,100	
	8/19~26	Yatsushiro Sea	Tiger puffer	11,980	57,907
2000	8/25~30	Ariake Sea		7,960	
	7/7~8/1	Yatsushiro Sea	Tiger puffer, Silver seabream, Yellowtail, Greater amberjack White trevally, Japanese jack mackerel, Jack, Chub mackerel Yellowtail amberjack, Black seabream, Striped beakperch Marbled rockfish, Threeline grunt, Bastard halibut	28,250	3,982,839
2001	7/9~24	Yatsushiro Sea	Yellowtail	14,000	1,225
	8/21~24	Aso Bay		2,325	
	5/25~30	Yatsushiro Sea		24	
	6/14~15	Yatsushiro Sea		7,000	
	6/20~25	Yatsushiro Sea		3,000	
	7/23~30	Yatsushiro Sea		6,200	
	7/28	Yatsushiro Sea		obscure	
	8/9~8/23	Ariake Sea		151	
	8/15~24	Coastal waters of Kujukushima	Yellowtail, Tiger puffer	885	67
	8/19~22	Coastal waters of Kujukushima		491	
	8/17~27	Coastal waters of Kujukushima	Tiger puffer, White trevally	3,570	4,290
	8/27~29	Ariake Sea		2,640	
8/27~9/13	Ariake Sea		273		
8/29~9/26	Yatsushiro Sea		1,093		
9/7~13	Yatsushiro Sea		7,000		
10/30~11/8	Omura Bay	Yellowtail amberjack	450	3,810	

Table 3. つづき

2002	7/16~8/5	Yatsushiro Bay		18,300	
	7/22~7/25	Tachibana Bay		2,380	
	8/8~22	Ariake Sea		2,400	
	8/16~17	Coastal waters of Kujukushima		700	
	8/16~19		Ariake Sea	3,080	
	8/17~27	Yatsushiro Bay	Bastard halibut	2,600	obscure
	8/20~24	Yatsushiro Bay	Yellowtail, Greater amberjack	10,000	587,808
	8/24~27	Nama Bay	Yellowtail amberjack, White trevally	221	30,284
	9/5~13	Aso Bay		109	
	9/6~12	Shushi Bay		798	
	9/10~13	Ashiura Bay		358	
	9/24~10/1	Sea of Japan off Yamaguchi Prefecture	Yellowtail	2,600	15,000
	2003	6/17	Tachibana Bay		350
6/23~7/2		Yatsushiro Sea		2,300	
8/25~9/3		Yatsushiro Bay		19,800	
8/27~9/3		Ariake Sea		10,000	
8/29~9/3		Sea of Japan off Yamaguchi Prefecture		500	
9/9~10		Usuka Bay		56	
9/9~11		Imari Bay		480	
9/11~19		Yatsushiro Bay	Tiger puffer, Yellowtail, Greater amberjack, Yellowtail amberjack White trevally	390	287,382
9/16~29		Kigatsu Bay		462	
9/17~10/16		Coastal waters of Kujukushima		828	
9/17~22			Oroshika Bay	Yellowtail, White trevally	2,880
9/19~22		Shushi Bay		9,450	
9/23~27		Imazato Bay		1,950	
9/28~10/3		Nama Bay		1,173	
10/17~10/30		Usuka Bay		395	
11/20~24		Usuka Bay		189	
<b>Total</b>				<b>6,026,457</b>	

アジ、カンパチ、マサバ、クロダイ、イシダイ、カサゴ、イサキ、ヒラメ等の養殖あるいは蓄養魚が中心である<sup>14,59,66,70</sup>。最近(2002, 2003年)、島根県、鳥取県日本海沿岸で発生した本種赤潮により、磯根魚類(カサゴ等)、貝類(アワビ、サザエ等)、ウニ等に漁業被害の報告がなされている<sup>12,84,65</sup>。このように急増・広域化・拡大化する本種赤潮の被害を防止・軽減するための対策を講じることは水産業の発展のために極めて重要で、かつ緊急を要する課題である。

*C. polykrikoides* の魚毒性 本種の魚毒性については、鹿児島県水産試験場が行った天然赤潮を用いた攻撃試験の結果、重要養殖魚であるハマチ、マダイの場合、本種2,600~3,000 cells mL<sup>-1</sup>程度で強い魚毒性が発現する(1~2時間でひん死の状態となる)とされている<sup>71</sup>。Yuki & Yoshimatsu<sup>61</sup>は本種のヒラギ稚魚に対する毒性を調べた結果、本種が3,950~6,510 cells mL<sup>-1</sup>で48時間に20~40%がへい死したとしている。魚類へい死の原因物質については、八代海に出現した本種から神経毒や溶血毒、血球凝集素が検出・確認されている<sup>73</sup>。朝鮮半島南部に出現した本種から粘液物質(mucus-like substance)が放出されていることが示され<sup>74</sup>、粘液物質が魚類へい死の原因であると示唆している報告<sup>75</sup>もある。ま

た、Kim C.-S. *et al.*<sup>76</sup>は鎮海湾および忠武湾で分離された本種2株が産生している活性酸素が魚類へい死の原因であるとしているが、Kim D.-K. *et al.*<sup>75</sup>によると八代海・宇和海・伊万里湾・橘湾で分離・培養された株の活性酸素産生は確認されておらず、魚類へい死は活性酸素を含むいくつかの要因があると報告している。今後は本種細胞に存在すると推定される毒素の生化学的性質の解明およびその魚毒性因子としての関与の可能性についての検討が待たれる。

*C. polykrikoides* 赤潮の出現、分布状況 本種の九州海域における赤潮発生件数は1978年から2000年にかけては6件/年以下で推移していたが、2001から2003までの3年間は年に10件以上となっており、急増していることがわかる(Fig. 6)。Table 4に示すとおり、1978~2003年における本種の赤潮発生期間については、九州海域における発生件数の約半数を占める八代海とその他の海域ともに、5日以下あるいは6~10日間の発生が全体の75%以上を占めていることから、本種赤潮は短期間に発生・消滅する傾向が強いといえる。また本種の発生時期については、Fig. 7, Table 5に示すように、8月の発生件数、漁業被害件数が最も多く、7~9月の高水温時期の

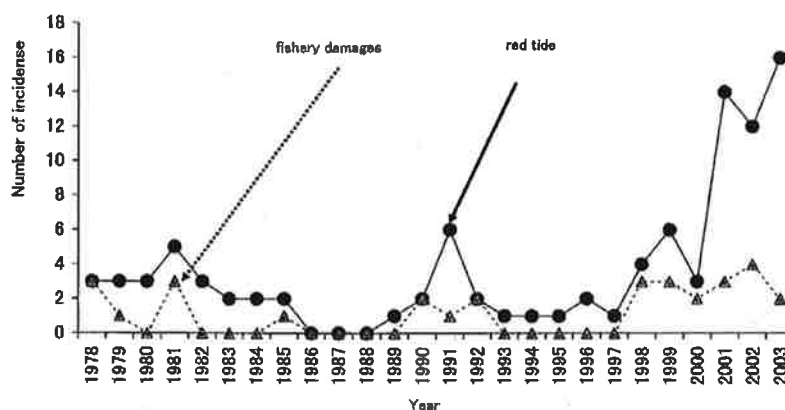


Fig. 6. Temporal changes of red tide incidences of *Cochlodinium polykrikoides* and the associated fishery damages in coastal waters of Kyushu, Japan.

Table 4. Duration of red tide of *Cochlodinium polykrikoides* in Kyushu and adjacent sea from 1978 to 2003

Location	Period (days)	Number of incidence	Ratio (%)
Yatsushiro Sea	<5	18	35
	6~10	21	41
	11~30	10	20
	>31	2	4
Other	<5	19	43
	6~10	14	32
	11~30	11	25
	>31	0	0
Total	<5	37	39
	6~10	35	37
	11~30	21	22
	>31	2	2

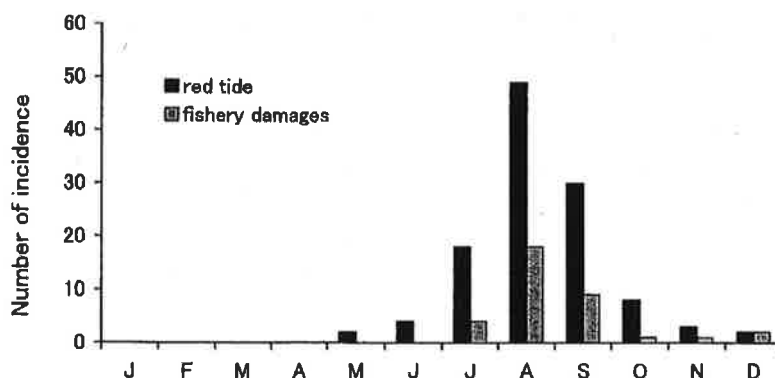


Fig. 7. Seasonal changes in red tide incidences of *C. polykrikoides* in coastal waters of Kyushu and adjacent sea from 1978 to 2003.

Table 5. Monthly occurrence of red tide outbreaks of *Cochlodinium polykrikoides* in Kyushu and adjacent sea from 1978 to 2003

Year	Location	March			June			July			August			September			October			November			December			
		early	middle	late	early	middle	late	early	middle	late	early	middle	late	early	middle	late	early	middle	late	early	middle	late	early	middle	late	
1978	Yatsushiro Sea																									
	Yatsushiro Sea																									
	Yatsushiro Sea																									
1979	Yatsushiro Sea																									
	Yatsushiro Sea																									
	Yatsushiro Sea																									
1980	Yatsushiro Sea																									
	Yatsushiro Sea																									
	Yatsushiro Sea																									
1981	Yatsushiro Sea																									
	Yatsushiro Sea																									
	Yatsushiro Sea																									
	Yatsushiro Sea																									
1982	Yatsushiro Sea																									
	Yatsushiro Sea																									
	Yatsushiro Sea																									
1983	Yatsushiro Sea																									
	Yatsushiro Sea																									
1984	Yatsushiro Sea																									
	Yatsushiro Sea																									
1985	Yatsushiro Sea																									
	Yatsushiro Sea																									
1989	Yatsushiro Sea																									
1990	Yatsushiro Sea																									
	Yatsushiro Sea																									
1991	Yatsushiro Sea																									
	Yatsushiro Sea																									
	Yatsushiro Sea																									
	Yatsushiro Sea																									
	Yatsushiro Sea																									
1992	Usuka Bay																									
1993	Yatsushiro Sea																									
1994	Yatsushiro Sea																									
1995	Ariake Sea																									
1996	Ariake Sea																									
1997	Yokaku Bay																									
1998	Aso Bay																									
1998	Ariake Sea																									
	Yatsushiro Sea																									
	Shimonoseki fishing port																									
	Oroshika Bay																									
	Imari Bay																									
1999	Imari Bay																									
	Omura Bay																									
	Omura Bay																									
	Yatsushiro Sea																									
	Ariake Sea																									
2000	Yatsushiro Sea																									
	Yatsushiro Sea																									
	Aso Bay																									
	Yatsushiro Sea																									
	Yatsushiro Sea																									
2001	Yatsushiro Sea																									
	Coastal waters of Kujukushima																									
	Coastal waters of Kujukushima																									
	Coastal waters of Kujukushima																									
	Ariake Sea																									
	Ariake Sea																									
	Yatsushiro Sea																									
2002	Yatsushiro Sea																									
	Yatsushiro Sea																									
	Yatsushiro Sea																									
	Ariake Sea																									
	Yatsushiro Bay																									
	Yatsushiro Bay																									
	Yatsushiro Bay																									
2003	Yatsushiro Bay																									
	Yatsushiro Bay																									
	Kigetau Bay																									
	Coastal waters of Kujukushima																									
	Oroshika Bay																									
	Shuahi Bay																									
	Imazato Bay																									

発生が顕著であるが、低水温期の12月にも赤潮や漁業被害の発生はみられている。

一方、2002年春季から夏季、秋季にかけて西日本各地で多数出現した本種について、2通りの出現・拡散過程が推察されている<sup>56)</sup>。一つは夏季から秋季に東シナ海東部沿岸から日本海西部沿岸にかけてその分布を広げていく海流依存型（対馬暖流域）と、他の一つは小規模な海湾で散発的に発生し、増殖に適した環境で赤潮を形成する個別発生型（西日本太平洋南岸や瀬戸内海沿岸海域）である。この2通りの出現・拡散過程を証明するためには、それぞれの海域ごとに本種の増殖特性を把握しておくことともに、遺伝学的手法を用いた裏付けが望まれる。

***C. polykrikoides* の周年生活様式** 本種の赤潮発生機構を解明する上で、本種の周年生活様式の把握が重要である。つまり、高水温期における本種の大増殖が越冬遊泳細胞と海底表層中に存在する休眠シストのいずれに起因するのかを明らかにすることである。本種の生活様式に関しては、遊泳細胞の状態での越冬<sup>8)</sup>と休眠シストの形成<sup>55,56)</sup>の可能性が指摘されているが、現状では的確な研究情報が極めて少ない。また、前述の本種「個別発生型」個体群の分布域を明確にするためにも休眠シストの確認が待たれる<sup>56)</sup>。本種の年間生活様式に関しては、第3章で述べる。

***C. polykrikoides* の増殖特性** 本種の赤潮発生機構を解明する上で、増殖特性の把握は本種の年間生活様式と並んで極めて重要である。日本沿岸域での本種の出現は前述のとおり、西日本に偏っていること、出現時期は春季から秋季に多く、大規模な赤潮形成は夏季から初秋に多いことから本種は高水温域で活発に増殖すると思われる。*C. polykrikoides* 古江湾産株<sup>52)</sup>は15~30℃で増殖、25℃で最高の増殖速度を示し、八代海産株は15~30℃で増殖、25℃で最も増殖が促進され<sup>53)</sup>、韓国産株<sup>54)</sup>では10~31℃で増殖、22~25℃の水温で最もよく成長すると報じられている。日本ではこれまで *C. polykrikoides* の人工培養例が少なく、個体群ごとの最適増殖水温や塩分については十分に検討がなされていない。本種の増殖特性に関しては第4章で述べる。

### 第3章 現場海域における *Cochlodinium polykrikoides* の出現特性

赤潮問題を解決するためには、その発生機構を明らかにすることが必要である。赤潮の発生機構を解明しようとする場合、大きく分けて二つの取り組み方があると考えられる。その一つは、環境面からの調査・研究であり、今ひとつは生物学的観点からの研究である<sup>49)</sup>。赤潮現象は単一の条件から説明することは不可能であることから、上記両面からの研究を連携し、得られた情報を総合的に解析することが重要となる。現場調査によって、赤潮原因生物の個体群動向と降水量、風などの気象条件や水温、塩分、透明度などの海象条件等の環境因子との因果関係を明らかにすることは、前者の取り組みにあたり、赤潮発生機構解明のためにはもっとも基本的なアプローチと考えられる。従来、赤潮生物の動向に関する現場調査は、その発生が盛期となる高水温期を中心に行われてきた。しかし、赤潮のシードポピュレーションとしてシスト等の休眠細胞の重要性が指摘され<sup>35,40,83,84)</sup>、赤潮発生時期以外の赤潮生物の生態解明が重要となってきた。また、赤潮の発生機構は同種でも海域によって差異があることが近年明らかになりつつある<sup>42)</sup>。

以上のような観点から、本章では現場海域における *C. polykrikoides* 赤潮の発生と環境因子との関係および本種の周年の生活様式を明らかにするために行った現場調査結果について述べる。第1節では、九州北部に位置する長崎県伊万里湾海域における夏季調査に基づき、本種の赤潮発生と環境因子との関係を調べ、大規模赤潮に至る環境要因の抽出を試みた。第2節では、赤潮の発生が多く確認されている九州北部長崎県平戸市に位置する薄香湾において一年間の定期調査を行い、*C. polykrikoides* 遊泳細胞の出現と環境因子との関係について述べた。

## 第1節 夏季の伊万里湾における*C. polykrikoides*の赤潮発生と増殖特性

伊万里湾は九州北部に位置し、強内湾型から外海開放型に至る海洋特性を備えている面積120 km<sup>2</sup>の湾である。湾の西側を北松浦半島に、東側を東松浦半島に挟まれ、湾内には青島、鷹島、飛島等の大小の島々がある。玄界灘に面しているが湾内は波静かであることから、この地域では魚類養殖業が盛んに営まれている。

伊万里湾では、1981年8月<sup>85)</sup>、1987年9月<sup>86)</sup>、1991年9月<sup>87)</sup>に、いずれも *Karenia mikimotoi* 赤潮によって養殖、蓄養魚が斃死する漁業被害があった。1999年8月、伊万里湾（長崎県海域）で初めて *C. polykrikoides* 赤潮が発生し、養殖魚類に約7億6千万円の被害を与えた<sup>88)</sup>。長崎県における本種赤潮は、1991年から2003年の間で33件発生し、このうち漁業被害を伴ったものは10件であり、被害率は30%と顕著に高い。*K. mikimotoi* 赤潮については生理生態学特性が明らかにされ、発生機構に関する検討がなされている<sup>41,50)</sup>。しかし、*C. polykrikoides* の生理生態に関しては不明の点が多く、その発生機構の

解明は数例<sup>52,53,54)</sup>を除き、ほとんど報告がない。赤潮の被害を最小限に抑制するためには、その赤潮発生機構を解明することが重要な課題となる。赤潮プランクトンは海域や種類によって発生機構が異なるため、海域や種類毎にその増殖生理特性を解明する必要がある。そこで、本章では、伊万里湾産の本種培養株を用いた室内実験を行い、増殖に及ぼす水温、塩分の影響を調べるとともに、現場環境調査資料をもとに得られた本種出現環境条件から、伊万里湾における本種赤潮発生機構について考察した。

## 方 法

**現場環境調査** 調査は伊万里湾内の鷹島浦下地先 (Fig. 8 中の Stn. 1) で、7月30日から8月12日にかけて、計7回実施した。海水採取、水温、塩分の観測は表層 (0.5 m層) で行った。採取した海水は直ちに室内に持ち帰り、界線入りスライドグラス上の海水に含まれるプランクトンを顕微鏡で計数した。水温、塩分はSY式採水筒付水温計 (吉野計器製作所製)、赤沼式比重計B (三商器械社製) を用いて測定した。潮位は長崎潮位表<sup>89)</sup>を、気象要因は長崎県

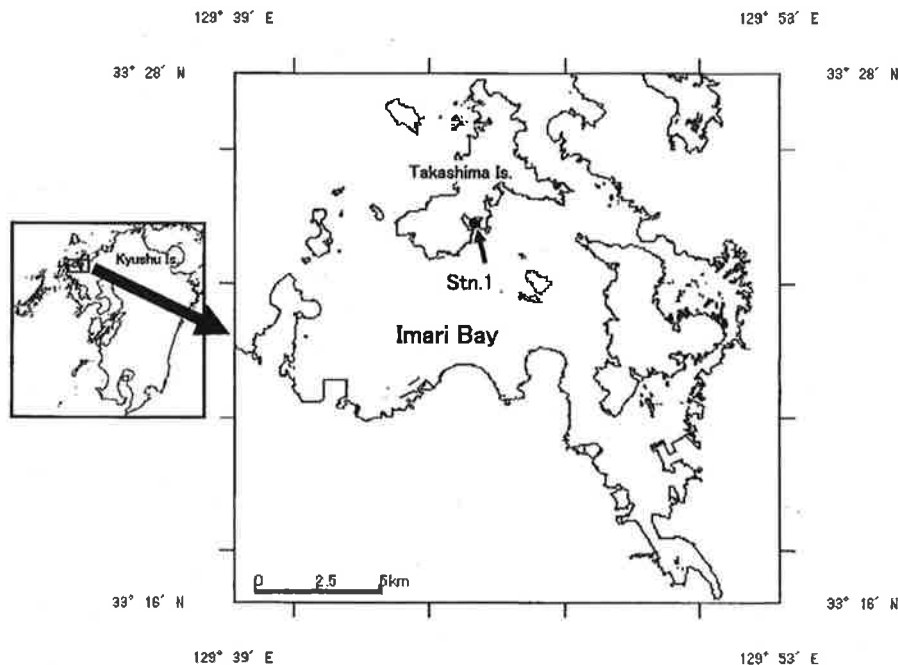


Fig. 8. Location of the sampling station in Imari Bay, west Kyushu, Japan.



気象月報<sup>90)</sup>を参照した。

供試生物および培地 実験に用いた *C. polykrikoides* は、1999年8月に伊万里湾より分離し、ピペット洗浄法および泳がせ法<sup>91)</sup>により無菌化したクローン株である。なお、本株は単独遊泳状態の細胞が縦長の楕円体状で、長さ27~33 $\mu$ m、幅18~23 $\mu$ mであり、横溝は細胞頂端体長の1/5~1/4程度後方から生じ、細胞を約2周して底端で終わること、横溝の段差は細胞長の約0.6倍であること、核が上半部に位置すること、棒状の色素体が認められること、上錐の背面側に赤色顆粒が1個認められること等の形態的特徴から、*C. polykrikoides* であると判断した。しかし、*C. polykrikoides* の連鎖は通常8個以下の細胞からなる<sup>92)</sup>が、本株の連鎖は2個以下であり、現場での赤潮時の天然細胞も同様の特徴であったことから、今後、形態的ならびに遺伝的な面から、分類学上の異同についてさらに検討を進める必要がある。保存および実験培地には1995年7月に五島西沖約60 km (32°55.5'N, 128°15.5'E) で採取した表層水 (塩分34.4, DIN:0.21 $\mu$ M, DIP:0.02 $\mu$ M) を基礎海水としたESMを用い、無菌試験は75%海水に glucose を4% (W/V), neopepton を1%加えpHを8.0に調整したESM培地を使用し、20℃で7日間培養して白濁の有無で判定した<sup>92)</sup>。

増殖に及ぼす水温と塩分の影響 実験は、試験管 ( $\phi$ 18 $\times$ 180 mm) に培地を10 mL入れ、オートクレーブ滅菌後 (120℃, 20 min) に、保存培地で対数増殖期後期まで培養した本株を100 cells mL<sup>-1</sup>の濃度に接種し、3本立て、バッチ培養法で、光強度80 $\mu$ mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, 14時間明、10時間暗の明暗サイクルの条件下で行った。塩分は、基本海水を超純水による希釈、50℃加温による濃縮により、16, 20, 24, 28, 32, 35の6段階に調整した。また、培養温度は15, 17.5, 20, 22.5, 25, 27.5, 30℃の7段階に設定した。なお、塩分実験時の水温は25℃、水温実験時の塩分は32に設定した。実験開始後、1~3日おきに培養液の一部を採取し、界線入りスライドグラスを用いて細胞数を直接計数により求め、片対数グラフにプロットした。最も傾斜が大きくなる2点について、下式

にあてはめて傾きを計算し、これを比増殖速度 ( $\mu$ ) とした。

$$\ln Nt' = \ln Nt + \mu (t' - t) \quad (t' > t)$$

ここで、 $Nt'$ ,  $Nt$  はそれぞれ  $t'$  日目,  $t$  日目の細胞数 (cells mL<sup>-1</sup>),  $\mu$  は比増殖速度 (day<sup>-1</sup>) を表す。また、定常期の最高細胞数から初期細胞数を差し引いた値を最終細胞収量 (cells mL<sup>-1</sup>) とした。

## 結 果

現場環境調査 伊万里湾で最初に本種が確認されたのは、8月2日であり、細胞密度は10 cells mL<sup>-1</sup>であった。2日後の8月4日にも10 cells mL<sup>-1</sup>を確認した。8月9日には本種は6,260 cells mL<sup>-1</sup>にまで増殖 (このときの比増殖速度は、上式により1.29 day<sup>-1</sup>) し、8月10日に最高細胞密度 (11,060 cells mL<sup>-1</sup>) となった後、8月12日には218 cells mL<sup>-1</sup>に減少し、着色域は消滅した。本種赤潮発生期間は8月6日~12日の6日間であった。同湾では、本種赤潮発生前に、*K. mikimotoi* 赤潮が発生 (7月25日~8月6日) しており、Stn. 1でも、7月30日に最高細胞密度の4,950 cells mL<sup>-1</sup>, 8月2日に10 cells mL<sup>-1</sup>, 8月4日に210 cells mL<sup>-1</sup>確認した。調査期間中の表層水温は、*C. polykrikoides* 赤潮前の7月30日~8月4日は25.3~27.1℃ (平均26.1℃) であったが、本種赤潮発生時の8月9日~11日には27.6~28.6℃ (平均27.8℃) と平均で1.7℃の上昇がみられた。塩分は、本種赤潮発生前の31.4に比べ発生時は若干高鹹となり32.6であった (Fig. 9)。

増殖に及ぼす水温の影響 本株は、温度が上昇するにつれて比増殖速度が高くなる傾向があり、27.5℃以上で飽和した。最大比増殖速度 ( $\mu_m=0.90$  day<sup>-1</sup>) を与える水温は27.5℃であり、15℃での比増殖速度は0.06 day<sup>-1</sup>と急激に減少した。本株の最終細胞収量は比増殖速度と同様に温度が上昇するにつれて増大し、17.5℃以上では2,000 cells mL<sup>-1</sup>以上の増殖能を持つことがわかった。最高最終細胞収量を与える水温は27.5~30℃であり、15℃での最終細胞収量は4 cells mL<sup>-1</sup>であった (Fig. 10)。

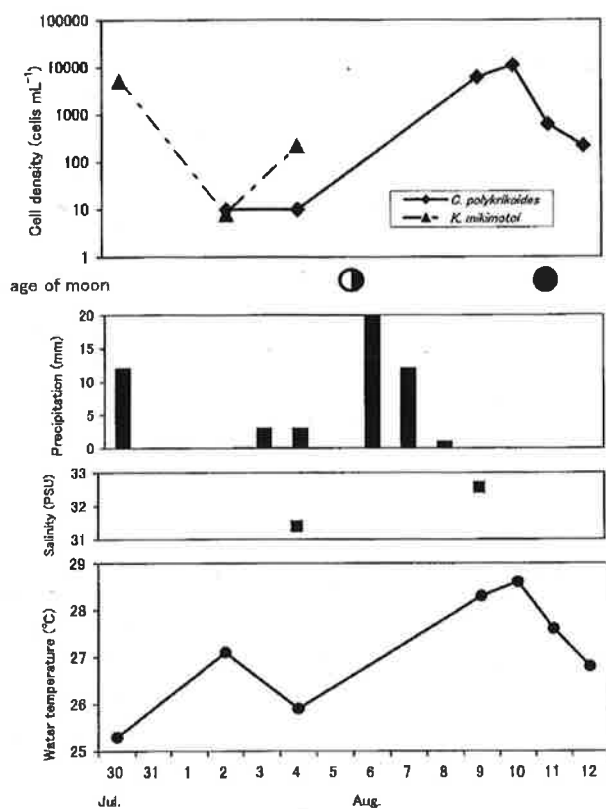


Fig. 9. Changes in cell density of *C. polykrikoides* and *K. mikimotoi*, age of moon, rainfall, salinity, and water temperature in Imari Bay, in summer in 1999.

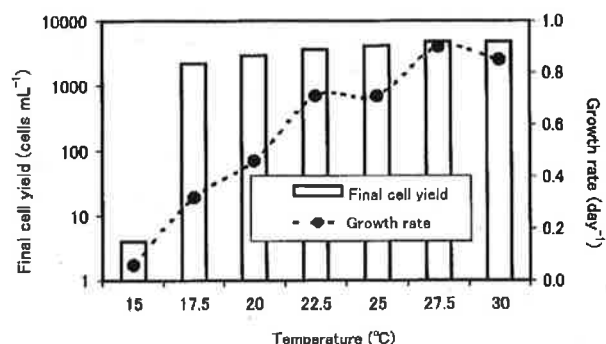


Fig. 10. Growth of *C. polykrikoides* at different temperatures.

増殖に及ぼす塩分の影響 本株は、調べたすべての塩分範囲において、比増殖速度、最終細胞収量とも塩分差による顕著な相違はみられなかったが、最高比増殖速度および最高最終細胞収量を与える塩分はいずれも32であった (Fig. 11)。

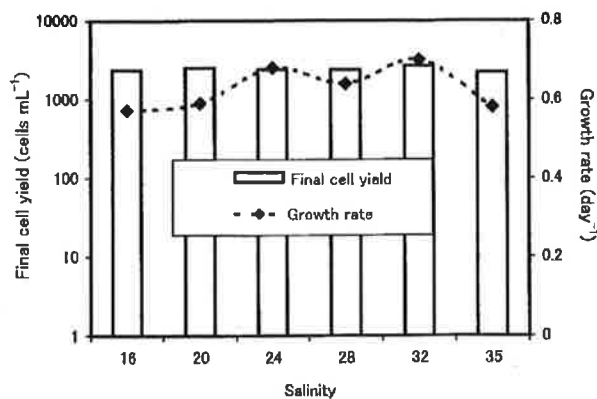


Fig. 11. Growth of *C. polykrikoides* at different salinities.

## 考 察

結果に示したように、伊万里湾産 *C. polykrikoides* 培養株は、水温17.5~30.0℃、塩分16~35の範囲で赤潮を形成する増殖能を有していることが判った。この好適温度条件は、長崎県における本種の赤潮発生時の水温範囲16.6~30.6℃とはほぼ一致した。一方、同塩分範囲は27.9~36.1で、培養実験の結果から、本株は低塩分側の16~24でも赤潮化が可能であり、広塩分性であることが明らかとなった。また、比増殖速度と最終細胞収量の両基準を含む本株の増殖の最大値は水温が27.5℃、塩分が32であった。

今回の伊万里湾における本種赤潮の特徴は、細胞数が短期間に極めて顕著に増加したことである (5日間で626倍増)。このことが、甚大な漁業被害をもたらした最大の要因と考えられる。

本種赤潮発生時の現場表層水温は、発生前に比べ1.7℃上昇し、平均27.8℃で、このときの塩分は32.6であった。これら両条件は本株の最適条件とほぼ一致している。本株は昇温するにつれて比増殖速度が高くなる傾向があることから、現場で観測された赤潮に至る昇温現象は本種の増殖を加速させた一因となったと考えられる。八代海での本種赤潮発生時の表層水温は27~28℃<sup>53)</sup>であり、今回の伊万里湾の本種赤潮の発生条件とよく一致した。また、本種赤潮直前の *K. mikimotoi* 赤潮の最高細胞密度を記録した7月30日の表層水温は25.3℃であり、*K. mikimotoi* 増

殖の最適温度条件<sup>60)</sup>とよく一致していた。その後、*K. mikimotoi* の細胞密度が顕著に減少した8月2日には表層水温は27.1℃に上昇した。これらのことから判断すると、今回のこれら2種の赤潮の消長には、水温変動が大きく関与した可能性が高い。しかし、*C. polykrikoides* 赤潮発生時の比増殖速度は上式より1.29 day<sup>-1</sup>と試算され、培養実験で得られた最大比増殖速度 ( $\mu_m=0.90$  day<sup>-1</sup>) を上回っており、短期間での赤潮化には他の要因の関与も考えられる。

そこで、当時の伊万里湾の気象海況についてみると、本種赤潮発生期間中の小潮は8月6日で、これは本種赤潮の対数増殖期に一致し、大潮は8月11日で<sup>68)</sup>、赤潮消滅とほぼ一致する (Fig. 9)。つまり、小潮による海水交換の減少が本種赤潮化を促進させ、大潮による海水交換の増大が赤潮を希釈し、消滅に導いた要因の一つと考えられる。また、渡辺<sup>71)</sup>は本種細胞密度の短期間の顕著な増加現象を、当時の気象条件によって説明している。つまり、8月7～9日までの3日間に南南西から東南の風 (最大風速4～6 m s<sup>-1</sup>, 平均風速1.8～2.5 m s<sup>-1</sup>) が吹き、このさほど強くはない南よりの風が長期間吹き続けたことが、本種の増殖を乱すことなく集積させるのに有効であったとしている。さらに、本種赤潮前に発生していた *K. mikimotoi* 赤潮の消滅後、8月6～8日までの3日間、連日1～20 mmの降雨<sup>80)</sup> (Fig. 9) により陸域から供給されたと考えられる栄養塩を本種が優先的に摂取できた可能性が考えられる。

つまり、今回の短期間での本種赤潮化は、*K. mikimotoi* 赤潮の消滅によって栄養の競合要因がなくなったところに、降雨による栄養供給を受け、水温、塩分が最適条件になったことにより、増殖を加速させた本種は南寄りの風によって鷹島南部海域に集積され、さらに、小潮による滞留効果が加わったことによって引き起こされたと考えられ、複数要因の相乗効果によるものと推察された。

## 第2節 薄香湾における *C. polykrikoides* の出現密度の季節変化と増殖特性

無殻渦鞭毛藻 *C. polykrikoides* による赤潮は近年、九州をはじめとする西日本各地および韓国南部沿岸域で頻発し、養殖魚類等を斃死させる漁業被害を与え続けている<sup>54,63,64)</sup>。また、フィリピン・ルソン島でも本種赤潮による魚類の斃死が確認されるなど、本種赤潮は東南アジア沿岸域において、多発化・広域化する傾向にある<sup>56)</sup>。本種赤潮は数億から数十億円の莫大な漁業被害 (養殖魚類の大量斃死) を伴うことが多く、水産業の振興上大きな問題となっている<sup>14,72)</sup>。本種赤潮による魚類斃死被害の防除・軽減を行う上で、本種の生活様式、増殖特性、種間競合等を把握し、赤潮の発生機構を解明することは早急に解決すべき今後の重要な検討課題とされてきた<sup>56)</sup>。

本種の赤潮発生機構を解明する上で、第一に重要なことは年間生活様式の把握である。つまり、本種の高水温期における大増殖が遊泳細胞と休眠シストのどちらに起因するのかを明らかにすることが必要である。年間の生活様式に関しては、これまで遊泳細胞の状態での越冬<sup>8)</sup>と休眠シストの形成<sup>55,56)</sup>の可能性が指摘されているが、現状では研究情報がきわめて少ない。また、本種の増殖特性については、数例の報告がある<sup>52,53,54)</sup>。しかし、赤潮種の増殖特性は培養株が分離された海域によって差異があり得る<sup>33,34)</sup>ので、原因種の基礎的増殖特性は海域ごとに把握しておく必要がある。さらに、本種出現の直前後に、渦鞭毛藻 *K. mikimotoi* および珪藻類の出現が現場で観察される場合がある<sup>8,72,85)</sup>ため、本種出現と植物プランクトン種間の相互関係を把握する必要がある。本研究では、1991年から2003年の間に、秋季から冬季 (9～12月) に計5回本種赤潮が発生し、漁業被害を2回出した薄香湾<sup>87,96,97)</sup>を対象海域として、本種の出現・増殖機構の解明という観点から、現場における本種、*K. mikimotoi* および珪藻類の出現密度の推移を調べるとともに、同湾から分離した *C. polykrikoides* 培養株を用い、増殖に及ぼす水温、塩分の影響について室内実験を行った。

## 材料と方法

出現密度の季節変化 現場調査は2004年3月から2005年3月までのほぼ1年間にわたり、薄香湾内に設けた5定点 (Stn. 1~5, 平均水深24.4 m) で、毎月1回の頻度で *C. polykrikoides* および *K. mikimotoi* の出現密度を調べた (Fig. 12)。採水は原則として、各調査定点の0.5, 2, 5, B-1 m (海底面上1 m) で行い、夏季から秋季にかけての高水温期 (7~10月) には10 m 層を追加し、北原式採水器によって0.5~2 L 採取した。採水時に各層における水温と塩分を現場用多項目水質計 Quanta (Hydrolab 社製) により測定した。*C. polykrikoides* および *K. mikimotoi* 細胞数は各層毎の試水をセルローズアセテートフィルター (東洋ろ紙社製,  $\phi$  8  $\mu$ m) によって常圧濃縮後 (濃縮率は約100~500倍), 全量を計数した。珪藻類は7~12月の間、各調査定点の0.5, 2, 5, B-1 m 層で生海水 (1 mL) 中の細胞数を計数した。2004年2月と2005年3月の低水温期には、採水を2~10 L に増量した調査を1定点 (Stn. 5の0.5, 2, 5 m層) で実施し、上記測定項目に加え、*C. polykrikoides* 遊泳細胞の連鎖状態を観察した。2004年3月には5定点 (Stn. 1-5), 2004年4月~2005年3月には Stn.

4において、月1回の頻度で、KK式コアーサンプラーまたはエクマンバージ型採泥器により採泥調査を行った。泥試料 (0~1 cm) は終点希釈法<sup>9)</sup> により、*C. polykrikoides* 休眠シストの存在密度を測定した。

供試株と培地 実験に用いた *C. polykrikoides* は2003年10月に分離した薄香湾産2株 (03U06, 03U12) で、いずれもピペット洗浄法および泳がせ法<sup>10)</sup> によって細菌による汚染を最小限に抑えたクローン株である。供試株の保存および実験培地には ESM<sup>10)</sup> を用いた。

増殖に及ぼす水温と塩分の影響 実験は水温を10, 12.5, 15, 17.5, 20, 22.5, 25, 27.5, 30℃の9段階、塩分を16, 20, 24, 28, 32, 36の6段階とし、それらを組み合わせて計54通りに設定した。塩分は1995年7月に五島列島西沖約60 km (32°55.5'N, 128°15.5'E) で採取した表層水をGF/Cでろ過したものを基本海水 (塩分34.4) とし、これを超純水で希釈、あるいは50℃の恒温器を用いた加温濃縮によって調整した。実験は試験管 ( $\phi$  15×150 mm) に培地を5 mL 入れ、オートクレーブ滅菌後 (120℃, 20 min) に、対数増殖期後期まで前培養した本株を100 cells mL<sup>-1</sup> の密度になるように実験培地へ接種し、3本立て、バッチ

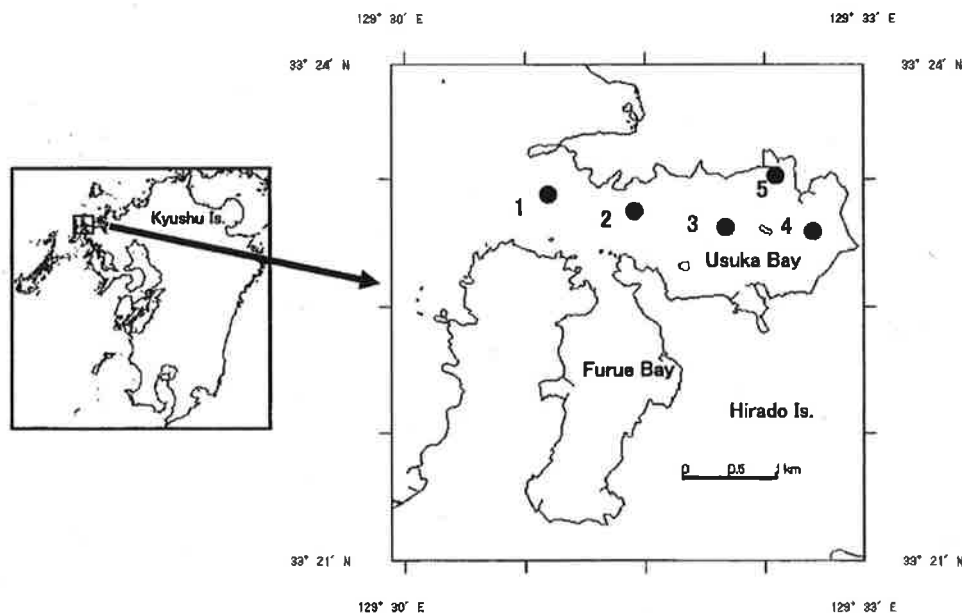


Fig. 12. Location of the sampling station in Usuka Bay, west Kyushu, Japan.

培養法で、光強度 $80\mu\text{mol m}^{-2}\text{ s}^{-1}$ 、14時間明10時間暗の明暗サイクルの条件下で行った。なお、前培養条件は水温 $17.5^\circ\text{C}$ （低温度実験区へ移行）および $22.5^\circ\text{C}$ （高温度実験区へ移行）とし、塩分は28とした。培養温度は1日に $1\sim 2.5^\circ\text{C}$ ずつ上昇あるいは下降させ、0～2日目までの3日間で各実験温度へ移行した。細胞数は実験開始後、2日おきに培養液の一部を採取して界線入りスライドグラスを用いて直接計数し、片対数グラフにプロットし、その直線部分である対数増殖期について最小二乗法により比増殖速度 ( $\mu$ ;  $\text{day}^{-1}$ ) を求めた。また、定常期の最高細胞密度から初期細胞密度を差し引いた値を最終細胞収量 ( $\text{cells mL}^{-1}$ ) とした。

## 結 果

出現密度の季節変化 薄香湾における水温、塩分および *C. polykrikoides* 細胞密度（全定点平均値）の季節変化を Fig. 13 に示す。本種の出現は2004年4月

から2005年2月までに継続して確認され、細胞密度は $2\sim 320\times 10^3\text{ cells L}^{-1}$ の範囲であった。本種出現時の水温・塩分範囲は $13.5\sim 27.6^\circ\text{C}$ と塩分 $32.83\sim 34.42$ であった。細胞密度の最高値が観察されたのは9月（Stn. 4, 2 m層）であり、水温 $24.9^\circ\text{C}$ 、塩分 $33.45$ であった。2004年3月、2005年の3月上旬には本種は確認できなかった。今回の本種出現密度調査の結果から、本種の出現がみられた場合の現場の水温、塩分値と細胞密度との関係を集約し、Fig. 14 に示す。現場で本種の出現が $100,000\text{ cells L}^{-1}$ 出現した時の水温・塩分条件は $24.9\sim 25.3^\circ\text{C}$ と塩分 $33.45$ であった。2004年2月と2005年3月中旬の低水温期における本種の細胞密度と出現時の水温・塩分条件をTable 6 に示した。本種の出現は低水温期には通常の1 L程度の採水量ではみられないが、10 L程度の採水を行うことで $0.1\sim 10\text{ cells L}^{-1}$ と低密度ながら確認された。本種出現時の水温・塩分範囲は $12.3\sim 12.9^\circ\text{C}$ と塩分 $34.00\sim 34.80$ であった。本種遊泳細胞は2004年2月には単細胞および2, 3, 4連鎖、2005年3月中旬

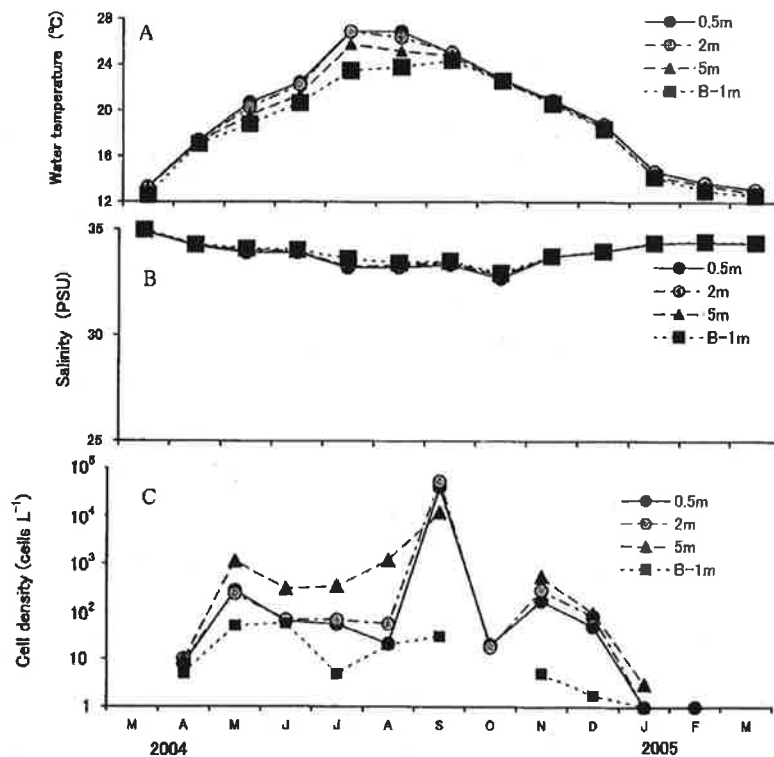


Fig. 13. Seasonal changes of water temperature (A), salinity (B) and cell densities of *Cochlodinium polykrikoides* (C) in the mean of 5 stations (Stn. 1-5) in Usuka Bay from March 2004 to March 2005.

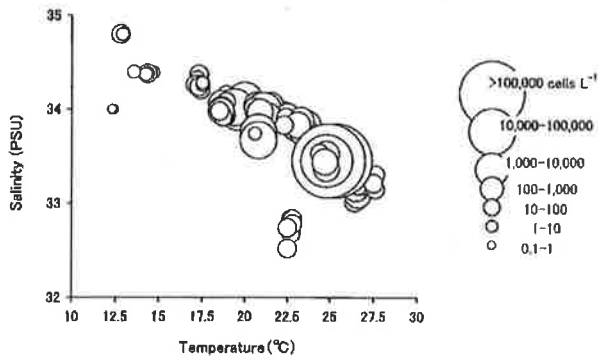


Fig. 14. Relationships among abundance of *C. polykrikoides*, water temperature and salinity in Usuka Bay from February 2004 to March in 2005.

Table 6. Cell density of *C. polykrikoides*, water temperature and salinity at Station 5 in Usuka Bay in February 2004 and March 2005

Date	Depth (m)	Cell density (cells L <sup>-1</sup> )	Water temperature (°C)	Salinity (PSU)
Feb. 2004	0.5	8	12.8	34.80
	2	10	12.8	34.80
	5	2	12.9	34.80
Mar. 2005	0.5	0.1	12.4	34.00
	2	0.2	12.3	34.00
	5	0	12.3	34.00

には単細胞および2連鎖の状態を確認された。終点希釈法による底泥からの休眠シストの発芽は全ての試料で確認されなかった。同湾における珪藻類細胞密度(全定点平均値)の推移(7~12月)をFig. 15に示す。7~8月には158~523 cells mL<sup>-1</sup>で推移していたが、9月は44~77 cells mL<sup>-1</sup>に減少、10月は529~860 cells mL<sup>-1</sup>に増加、11月には32~50 cells mL<sup>-1</sup>と再び減少、12月には66~104 cells mL<sup>-1</sup>とやや増加した。9月から12月にかけては増減を繰り返す傾向があった。同湾における *C. polykrikoides* と *K.*

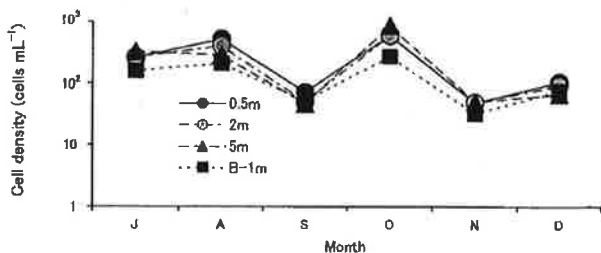


Fig. 15. Changes of cell densities of diatoms in the mean of 5 stations (Stn. 1-5) in Usuka Bay from July to December in 2004.

*mikimotoi* の細胞密度の全定点平均値の推移(7~10月)をFig. 16に示す。*K. mikimotoi* 遊泳細胞の出現がみられたのは7, 8, 10月であった。*K. mikimotoi* 遊泳細胞が最も多く出現したのは7月であり、5~10 mに高密度に分布し、最高細胞密度は10 m層で11.1×10<sup>3</sup> cells L<sup>-1</sup>であった。8月の最高出現密度は265 cells L<sup>-1</sup>と減少した。9月には出現は認められず、10月に再び出現が観察されたが、最高細胞密度は10 cells L<sup>-1</sup>であった。この期間中で *C. polykrikoides* の遊泳細胞が最も多く出現したのは9月(最高出現密度 320×10<sup>3</sup> cells L<sup>-1</sup>)で、10 m以浅では100 cells L<sup>-1</sup>以上みられ、5 m層以浅では10,000 cells L<sup>-1</sup>以上の高密度で分布していた。その前後の7, 8, 10月の出現(最高出現密度 60~5.14×10<sup>3</sup> cells L<sup>-1</sup>)は比較的少なかった。

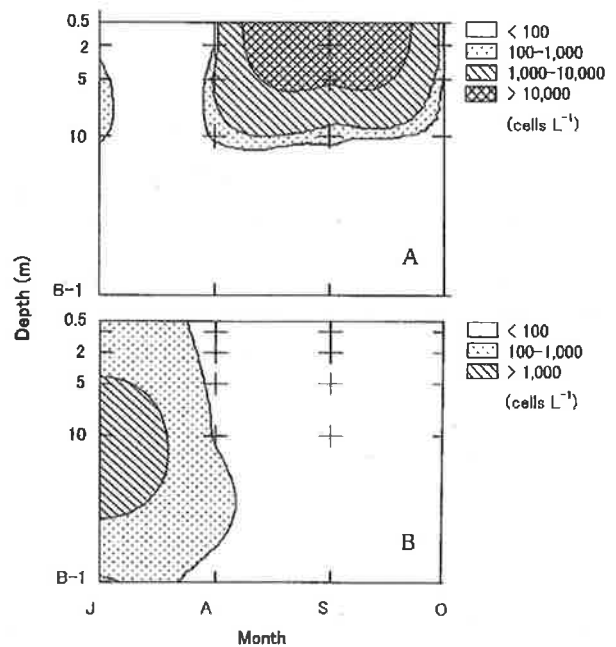


Fig. 16. Changes of cell densities of *C. polykrikoides* (A) and *Karenia mikimotoi* (B) in the mean of 5 stations (Stn. 1-5) in Usuka Bay from July to October in 2004.

増殖に及ぼす水温と塩分の影響 *C. polykrikoides* 2株の水温と塩分との組み合わせにおける最終細胞収量をFig. 17, 比増殖速度をFig. 18に示す。10℃では2株ともすべての塩分で増殖はみられなかった。12.5℃では03U06株が塩分32, 03U12株が塩分24~36で増殖が認められ、最終細胞収量は17~36 cells mL<sup>-1</sup>,

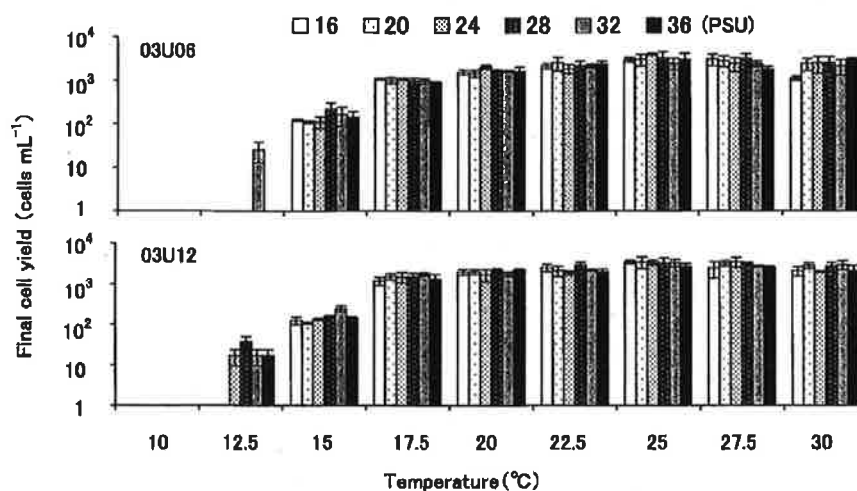


Fig. 17. Final cell yield of two strains of *C. polykrikoides* at different temperature and salinity combinations. Vertical bars indicate standard deviations.

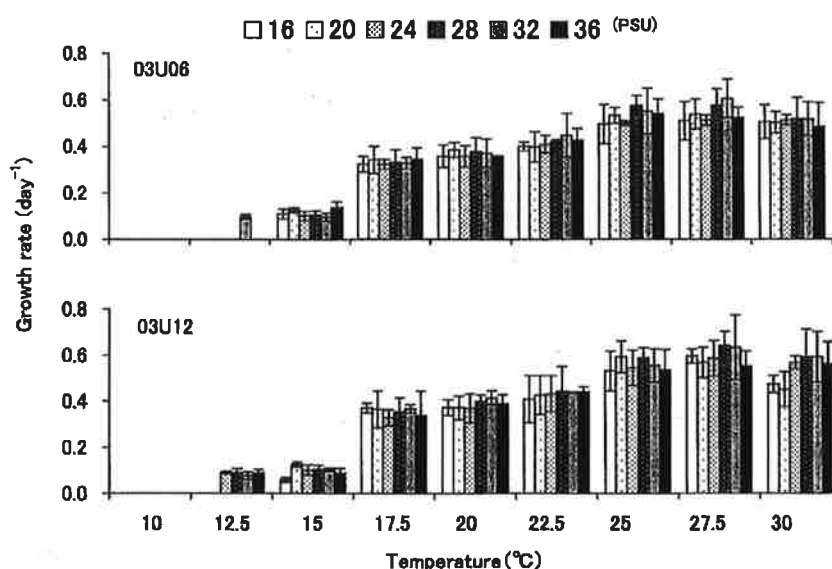


Fig. 18. Growth rate of two strains of *C. polykrikoides* at different temperature and salinity combinations. Vertical bars indicate standard deviations.

比増殖速度は $0.08 \sim 0.10 \text{ day}^{-1}$ であった。15～30℃では2株とも全ての塩分で増殖が認められ、最終細胞収量は $0.108 \times 10^3 \sim 3.47 \times 10^3 \text{ cells mL}^{-1}$ 、比増殖速度は $0.06 \sim 0.64 \text{ day}^{-1}$ であった。2株の最大比増殖速度は $0.60 \sim 0.64 \text{ day}^{-1}$ であり、その時の水温・塩分の組み合わせはそれぞれ、03U06株が27.5℃と塩分32、03U12株が27.5℃と塩分28であった (Fig. 18)。

## 考 察

*C. polykrikoides* の出現は薄香湾において、Fig. 13, Table 6 に示したように2004年2月から2005年3月の14カ月間ほぼ周年にわたって継続的に確認 ( $0.1 \sim 320 \times 10^3 \text{ cells L}^{-1}$ ) され、高水温期に多く、低水温期に少ない傾向にあった。出現が確認されなかったのは2004年3月と2005年3月上旬の2回のみであった

が、その前後の2004年2月と2005年3月中旬には、採水量を多くすることで、低細胞密度 ( $0.1 \sim 10 \text{ cells L}^{-1}$ ) での出現が観察された。これらのことから、出現がみられなかった調査時にも本種は非常に低密度で存在していた可能性が考えられる。本種出現時の最低水温は $12.3^\circ\text{C}$ であり、長崎県県北水産業普及指導センターが薄香湾汐ノ浦地先で、概ね毎月3回実施している水温調査(1987~2000年)の表層水温の最低値である $12.0^\circ\text{C}$ にほぼ近い値であった。したがって、薄香湾では本種は周年にわたって、遊泳細胞の状態が存在できるものと考えられる。冬季における本種遊泳細胞は他海域においても観察されている<sup>8,99)</sup>ことから、冬季水温が $12^\circ\text{C}$ 以上で推移する海域では、本種は遊泳細胞の状態越冬可能であると指摘できる。薄香湾では、冬季の最低水温期(水温 $12.3 \sim 12.9^\circ\text{C}$ )における本種遊泳細胞の出現様式は単細胞、2, 3, 4連鎖の状態を観察された。他の海域で本種が冬季に確認された時の遊泳細胞は単細胞の状態を観察されている<sup>8)</sup>。このように本種は低密度出現時には単細胞で観察されることがあり、本種単細胞には他の形態的類似種の存在が知られている<sup>100)</sup>ことから、今後は赤潮発生予察の観点からも、本種の単細胞の形態的特徴を明確に把握しておく必要がある。

*C. polykrikoides* は、Fig. 13, 15からみて、珪藻類の細胞密度が低い時期に多く、逆に珪藻類が多い時には少ない出現にとどまった。また、*C. polykrikoides* と *K. mikimotoi* の関係をみると、両者間には種の交替現象がみられた。つまり、*C. polykrikoides* は *K. mikimotoi* の細胞密度が高い7月には少なかったが、*K. mikimotoi* の細胞密度が低下した8月には増加しはじめ、*K. mikimotoi* が出現しなかった9月には急増した。その後、*C. polykrikoides* が激減した10月になると *K. mikimotoi* が少量で再び出現した。このような *C. polykrikoides* と *K. mikimotoi* の交替や<sup>72,95)</sup> *C. polykrikoides* と珪藻類および *K. mikimotoi*<sup>8)</sup> の種間交替現象は他の海域でも観察されていることから、これらの間には増殖の競合関係があることが示唆された。さらに、今回の調査結果から、昼間 *C. polykrikoides* は5m以浅、*K. mikimotoi* は

5~10m層に高密度に分布することが明らかとなった。これらのことは、現場調査と培養実験の結果から、*C. polykrikoides* は5.9m以浅で赤潮を形成する増殖能を有すると推測されている<sup>101)</sup>こと、*K. mikimotoi* の分布の中心は大村湾では10m層にあること<sup>102)</sup>とよく一致した。

今回のFig. 17, 18に示した室内実験結果に基づくと、*C. polykrikoides* は低水温( $12.5^\circ\text{C}$ )での増殖が可能であった。これまで調べられてきた他海域産株でも低水温( $10 \sim 12.5^\circ\text{C}$ )で増殖し、遊泳細胞の状態越冬出来る可能性が示唆されており<sup>101)</sup>、同様の低温耐性をもつ薄香湾個体群はやはり遊泳細胞での越冬が可能と考えられる。*C. polykrikoides* が現場で赤潮と視認される細胞密度はおよそ $500 \text{ cells mL}^{-1}$ 以上である<sup>101)</sup>。本実験株2株は $17.5 \sim 30^\circ\text{C}$ 、塩分16~36の範囲で共通して細胞最終収量が $867 \text{ cells mL}^{-1}$ 以上であったことから、 $17^\circ\text{C}$ 程度の水温でも赤潮を形成する増殖能を有していると考えられる。このことは、薄香湾で12月に赤潮を形成した時の水温・塩分条件が $16.6 \sim 18.5^\circ\text{C}$ 、塩分34.11~35.92であった<sup>87,96)</sup>ことと一致する。大分県猪ノ串湾でも約 $17^\circ\text{C}$ で本種赤潮が観察されている<sup>99)</sup>。また、高知県野見湾で本種赤潮が発生し<sup>63)</sup>、その時の水温は $17 \sim 19^\circ\text{C}$ であったとの情報を高知県水産試験場の担当者から得ている(私信)。本実験株2株は $12.5 \sim 30^\circ\text{C}$ 、塩分16~36の範囲では、比増殖速度が増殖最適温度( $27.5^\circ\text{C}$ )および塩分(28~32)に向かって緩やかに上昇する共通の増殖応答を示した。本種の水温・塩分に関する最適増殖条件については、古江湾産株が $25^\circ\text{C}$ と塩分34<sup>92)</sup>、韓国産株が $22 \sim 25^\circ\text{C}$ と塩分35付近<sup>94)</sup>、伊万里湾産株が $27.5^\circ\text{C}$ と塩分32<sup>72)</sup>、対馬浅茅湾、上五島奈摩湾および青方湾産株が $27.5^\circ\text{C}$ と塩分28~32<sup>101)</sup>との結果が報告されている。最適塩分範囲は本実験株とほぼ同じであるが、最適増殖を与える水温に関しては報告結果に差がみられ、本株は若干高水温を好むと判断された。八代海での赤潮現場調査の結果では、本種赤潮は表層水温 $27 \sim 28^\circ\text{C}$ で発生しており<sup>80)</sup>、今回得られた培養実験の最適温度とほぼ一致していた。



以上のことから *C. polykrikoides* は冬季水温が12℃以上で推移する薄香湾において、遊泳細胞の状態ですぐ越冬し、冬季（17℃程度）でも赤潮を形成する増殖能を有し、高水温（25～27.5℃程度）、高塩分（28～32）条件では短期間に高密度に増殖する可能性が高いと判断された。今後は、本種の越冬遊泳細胞が次の高水温期における赤潮の seed population となっていることを証明するため、遺伝学的方法による裏付けが望まれる。また、本種とその類似種の単細胞状態での形態的特徴の把握が必要となる。

#### 第4章 *Cochlodinium polykrikoides* の増殖に及ぼす物理的要因

赤潮による被害を最小限に抑制するために、赤潮の発生機構を解明することは重要である。しかし、赤潮の発生機構は海域や原因プランクトン毎に異なるため、汎用的なものはない。また、生物の環境条件に対する応答や栄養要求は種によって異なるが、赤潮鞭毛藻も例外ではなく、むしろ過敏で種による差異が著しいといえる。同一種でも地域的な個体群によって最適条件が異なることが知られている<sup>44)</sup>。従って、海域や種毎にその発生機構を解明する必要がある。本種の赤潮発生機構を解明する上で、増殖特性の把握は生活様式と並んで極めて重要である。日本沿岸域での本種の出現は前述のとおり、西日本に偏っていること、出現時期は春季から秋季に多く、大規模な赤潮形成は夏季から初秋に多いことから本種は高水温域で活発に増殖すると思われる。

松岡・岩滝<sup>56)</sup>は、2002年春季から夏季、秋季にかけて西日本各地で多数出現した本種について、2通りの出現・拡散過程が推察されるとしている。一つは夏季から秋季に西九州を中心とする東シナ海東部沿岸から日本海西部沿岸にかけてその分布を広げていく海流依存型（対馬暖流域）と、他の一つは小規模な海湾で散発的に発生し、増殖に適した環境で赤潮を形成する個別発生型（東九州、西日本太平洋南岸および瀬戸内海沿岸海域）である。この2通りの出現・拡散過程を証明するためには、それぞれの海

域ごとに本種の増殖特性を把握しておくことが第一に望まれる。

本種は人工培養例が少なく、個体群ごとの最適増殖水温や塩分については、これまで十分に検討がなされていない。

以上の観点から本章では、九州の西岸域（第1節）と東岸域（第2節）の両海域から分離した本種培養株を用い、増殖に及ぼす水温、塩分の影響について調べ、その増殖特性について比較した。

#### 第1節 西九州沿岸（浅茅湾、奈摩湾、青方湾）に分布する *C. polykrikoides* の増殖に及ぼす水温、塩分および光強度の影響

*C. polykrikoides* は大規模な赤潮を形成し、養殖魚類に甚大な漁業被害を及ぼすことで知られる無殻の渦鞭毛藻である。本種による赤潮は近年、西日本<sup>14)</sup>および韓国南部沿岸域<sup>54)</sup>でしばしば認められ多発化・広域化の傾向にある。長崎県でも1991年から2003年の間に33件発生し、漁業被害を伴ったものが10件<sup>55)</sup>で被害率（漁業被害件数／赤潮発生件数）は30%と高い。特に、1999年8月に伊万里湾で発生した本種による赤潮は養殖魚類に約7億6千万円の被害をもたらした大きな社会問題となった。赤潮の被害を最小限に抑制するためには原因種の消長を予測することが重要な課題である。本種の増殖特性は数例<sup>52-54,72)</sup>を除いてほとんど研究されておらず、重要な検討課題とされてきた<sup>56)</sup>。赤潮現象は特定種の大増殖が前提であるが、このような赤潮種の大増殖の要因が何であるのかを知るためには原因種の基本的増殖条件を明らかにすることが必須である。本研究では、本種赤潮消長予測の基礎資料を得るために西九州沿岸の3海域から分離した培養株を用い、増殖に及ぼす水温、塩分および光強度の影響について室内実験を行った。

#### 実験方法

供試株と培地 実験に用いた *C. polykrikoides* は2002年8月に分離した五島列島・青方湾産2株

(02B1, 02B2), 奈摩湾産1株 (KG8-ND14), 2003年6月に分離した対馬・浅茅湾産1株 (03H1) の計4株で, いずれもピベット洗浄法, 泳がせ法<sup>99)</sup>によってバクテリアによる汚染を最小限に抑えたクローン株である。供試株の保存および実験培地にはESM<sup>99)</sup>を用いた。

**増殖に及ぼす水温と塩分の影響** 実験は水温を10, 12.5, 15, 17.5, 20, 22.5, 25, 27.5, 30℃の9段階, 塩分を16, 20, 24, 28, 32, 36の6段階とし, それらを組み合わせて計54通りに設定した。塩分は1995年7月に五島西沖約60 km (32°55.5'N, 128°15.5'E) で採取した表層水をGF/Cでろ過したものを基本海水 (塩分34.4) とし, これを超純水で希釈, あるいは50℃の恒温器を用いた加温濃縮によって調整した。実験は試験管 (φ15×150 mm) に培地を5 mL入れ, オートクレーブ滅菌後 (120℃, 20 min.) に, 対数増殖期後期まで前培養した本株を100 cells mL<sup>-1</sup>の濃度になるように実験培地へ接種し, 3本立て, バッチ培養法で, 光強度80 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, 14時間明10時間暗の明暗サイクルの条件下で行った。なお, 前培養条件は水温17.5℃ (低温度実験区へ移行) および22.5℃ (高温度実験区へ移行) とし, 塩分は28とした。培養温度は1日に1~2.5℃ずつ上昇あるいは下降させ, 0~2日目までの3日間で各実験温度へ移行した。細胞数は実験開始後, 2日おきに培養液の一部 (100 μL) を採取して界線入りスライドグラスを用いて直接計数し, 片対数グラフにプロットし, その直線部分である対数増殖期について最小二乗法により比増殖速度 (μ; day<sup>-1</sup>) を求めた。また, 定常期の最高細胞数から初期細胞数を差し引いた値を最終細胞収量とした。

**増殖に及ぼす光強度の影響** 実験は光強度を10, 20, 40, 80, 100, 120, 140 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>の7段階に, 水温は25℃, 塩分は32に設定した。水温・塩分実験と同様の方法により比増殖速度および最終細胞収量を求めた。また, 比増殖速度と光強度の関係は以下の(1)式<sup>91,103)</sup>による双曲線で記述した。

$$\mu = \mu_m \frac{I - I_0}{(K_s - I_0) + (I - I_0)} \quad (1)$$

ここで, μは比増殖速度 (day<sup>-1</sup>), Iは光強度 (μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), I<sub>0</sub>は光強度のしきい値 (μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), μ<sub>m</sub>は最大比増殖速度 (day<sup>-1</sup>), K<sub>s</sub>は半飽和定数でμ<sub>m</sub>/2を与える光強度 (μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) をそれぞれ示す。(1)式から反復計算アルゴリズム (Levenberg-Marquardt法) により<sup>100)</sup>, 最大比増殖速度 (μ<sub>m</sub>), 増殖の半飽和定数 (K<sub>s</sub>) および光強度のしきい値 (I<sub>0</sub>) を求めた。

## 結 果

**増殖に及ぼす水温と塩分の影響** 4株の水温と塩分との組み合わせにおける最終細胞収量および比増殖速度の違いをFig. 19およびFig. 20にそれぞれ示す。10℃ではKG8-ND14株が塩分20~36で増殖し, 最終細胞収量は0.021×10<sup>3</sup>~0.108×10<sup>3</sup> cells mL<sup>-1</sup>, 比増殖速度は0.08~0.09 day<sup>-1</sup>であった。他の3株では全ての塩分において増殖がみられなかった。12.5℃ではKG8-ND14株が全ての塩分, 02B1株が塩分24~36, 02B2株が塩分28~36, 03H1株が塩分20~32で増殖が認められ, 最終細胞収量は0.021×10<sup>3</sup>~1.24×10<sup>3</sup> cells mL<sup>-1</sup>, 比増殖速度は0.07~0.13 day<sup>-1</sup>であった。15℃では4株とも全ての塩分で増殖が認められ, 最終細胞収量は0.029×10<sup>3</sup>~3.48×10<sup>3</sup> cells mL<sup>-1</sup>, 比増殖速度は0.06~0.22 day<sup>-1</sup>であった。17.5~30℃では4株とも全ての塩分で増殖が認められ, 最終細胞収量は1.02×10<sup>3</sup>~8.77×10<sup>3</sup> cells mL<sup>-1</sup>, 比増殖速度は0.21~0.61 day<sup>-1</sup>であった。4株の最大比増殖速度は0.57~0.61 day<sup>-1</sup>であり, それを与える水温・塩分の組み合わせはそれぞれ, KG8-ND14, 02B1, 03H1株が27.5℃, 32, 02B2株が27.5℃, 28~32であった (Fig. 20)。

**増殖に及ぼす光強度の影響** 各光強度における4株の最終細胞収量をFig. 21に示す。10~140 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>で増殖が認められ, 最終細胞収量は10 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>では0.060×10<sup>3</sup>~0.160×10<sup>3</sup> cells mL<sup>-1</sup>と低い値であったが, 20~140 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>では0.547×10<sup>3</sup>~8.58×10<sup>3</sup> cells mL<sup>-1</sup>と光強度の増加にともない高くなる傾向にあった。4株の比増殖速度と光強度との関係をFig. 22に示す。比増殖速度は光強度の増加と

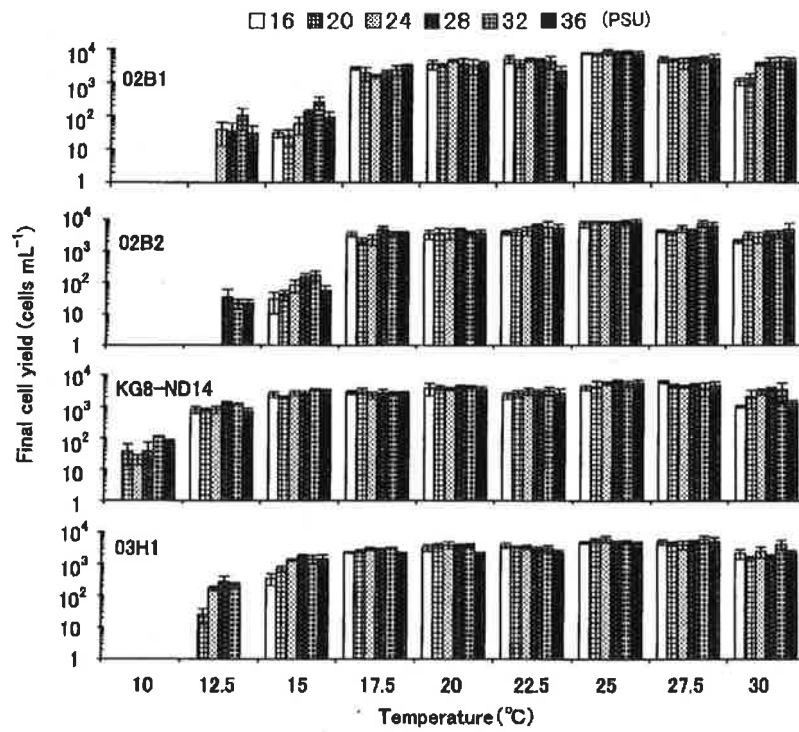


Fig. 19. Final cell yield of the four strains of *C. polykrikoides* at various temperature and salinity combinations.

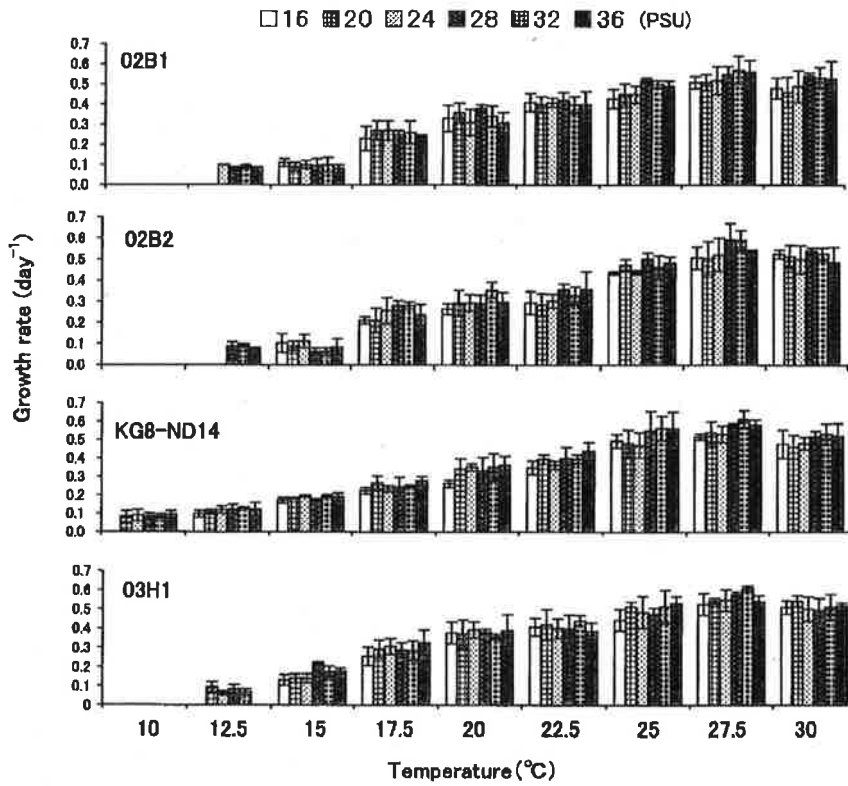


Fig. 20. Growth rate of the four strains of *C. polykrikoides* at various temperature and salinity combinations.

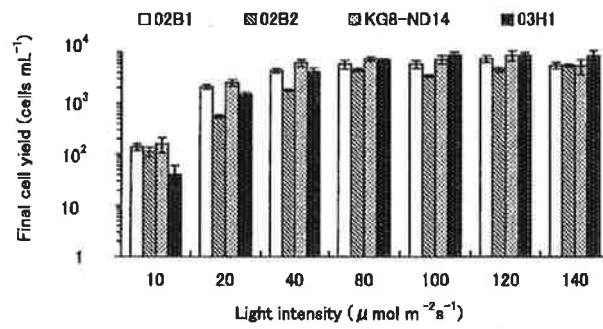


Fig. 21. Final cell yield of four strains of *C. polykrikoides* at various light intensities.

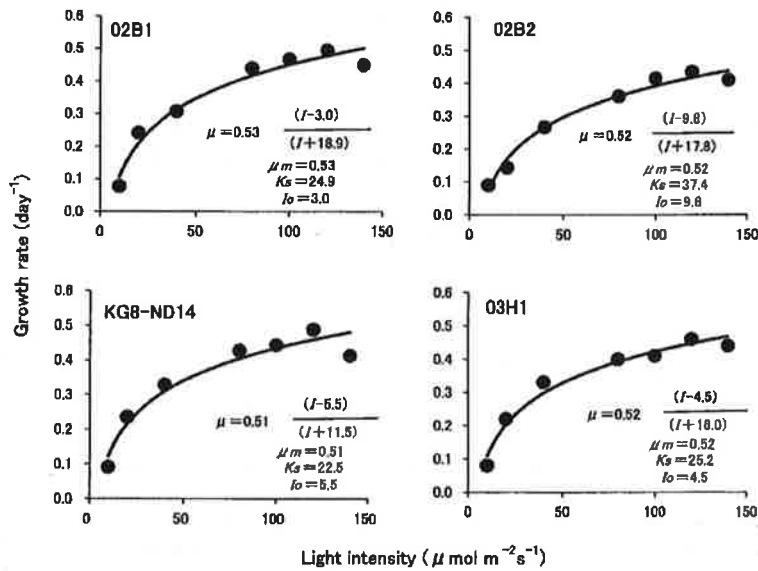


Fig. 22. Growth rate of four strains of *C. polykrikoides* as a function of light intensity.

ともに高くなり、 $120 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ではほぼ飽和した。  
 (1)式によって得られた4株の $\mu_m$ は $0.51 \sim 0.53 \text{ day}^{-1}$ 、  
 $K_s$ は $22.5 \sim 37.4 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、 $I_0$ は $3.0 \sim 9.8 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の範囲にあった。これらの結果に基づき、4株の比増殖速度と光強度の関係をFig. 22の式でそれぞれ表した。

## 考 察

長崎県沿岸域では *C. polykrikoides* は7~12月に赤潮を形成し、赤潮と視認される細胞密度は $500 \text{ cells mL}^{-1}$ 程度である<sup>6)</sup>。今回の水温・塩分実験結果に基づくと、本種は水温、塩分を個別要素としてみ

た場合、 $10 \sim 30^\circ\text{C}$ 、塩分 $16 \sim 36$ の範囲で増殖が可能であることから広温性・広塩性種であるといえる。特に、 $17.5 \sim 30^\circ\text{C}$ 、塩分 $16 \sim 36$ の範囲においては、4株に共通して細胞最終収量が $1.00 \times 10^3 \text{ cells mL}^{-1}$ を越える (Fig. 19) ことから赤潮を形成する増殖能を有していると考えられる。本種4株は $15 \sim 30^\circ\text{C}$ 、塩分 $16 \sim 36$ の範囲では、比増殖速度が増殖最適温度( $27.5^\circ\text{C}$ ) および塩分 ( $28 \sim 32$ ) に向かって緩やかに上昇する共通の増殖応答を示した (Fig. 20) ため、4株の比増殖速度の平均値を西九州沿岸域における本種の比増殖速度として、過去の現場環境との関係について検討した。4株の平均値から得た本種の水温・塩分に対する比増殖速度をFig. 23に、1991~2002年

に長崎県沿岸海域で本種の出現が100 cells mL<sup>-1</sup>以上みられた場合の現場の水温, 塩分値<sup>106)</sup>を Fig. 24 に示す。現場で本種が100~500 cells mL<sup>-1</sup>出現した時の水温は16.7~29.0℃, 塩分は32.25~36.15, 500~1000 cells mL<sup>-1</sup>出現した時の水温は17.0~28.0℃, 塩分は29.33~36.01であり, いずれも室内実験で1.00×10<sup>9</sup> cells mL<sup>-1</sup>以上の最終細胞収量を得られる水温17.5~30℃, 塩分16~36のほぼ範囲内にあった。また, 本種が1,000 cells mL<sup>-1</sup>以上出現した時の水温は26.0~

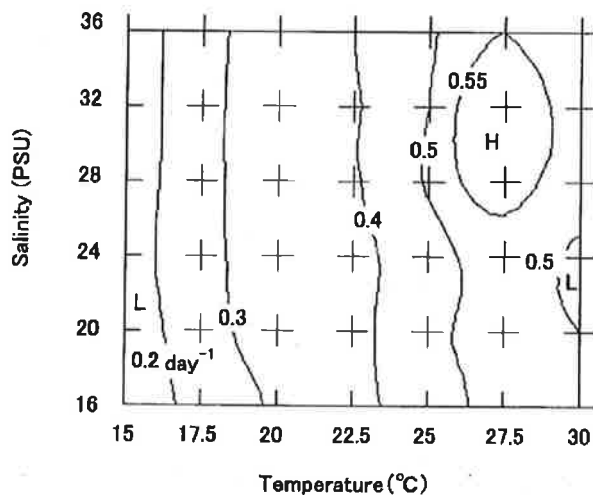


Fig. 23. Growth rate of *C. polykrikoides* averaged the four strains.

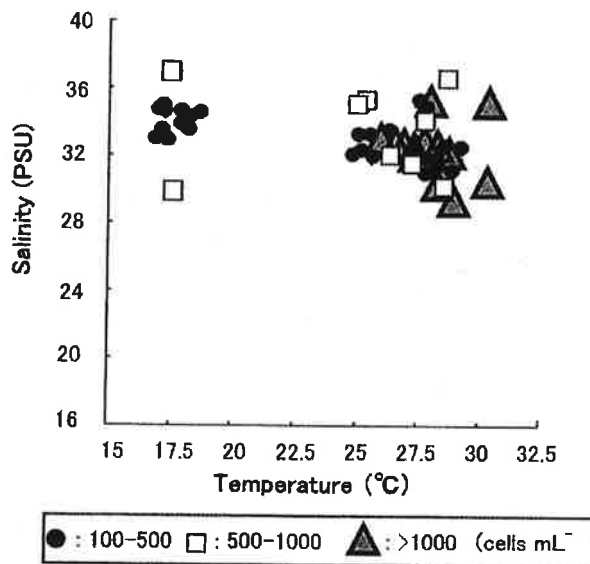


Fig. 24. Relationship between abundance of *C. polykrikoides*, water temperature and salinity in coastal waters of Nagasaki Prefecture during 1991-2002.

30.4℃, 塩分は29.36~35.21の範囲にあり, 培養実験で比増殖速度が0.55 day<sup>-1</sup>以上と顕著に高くなる27.5℃, 塩分28~36と一致した。このことは本種が高水温, 高塩分の条件下で大規模な赤潮を形成する特性を有していることを意味している。

また, 本実験結果から本種は10℃でも増殖可能であることが明らかとなった (Fig. 19, 20)。本実験供試株産地周辺で記録された冬季最低水温は, 奈摩湾 (冷水地先) で12.8℃<sup>106)</sup>, 浅茅湾 (辺田島地先) で12.1℃<sup>107)</sup>であることから, これらの海域では本種は遊泳細胞の形態で越冬できる可能性が示唆された。

本種の水温, 塩分に関する増殖特性についてこれまでの報告をみると, 古江湾産株では25℃, 塩分34で最高の増殖速度を示し<sup>52)</sup>, 八代海産株では25℃で最も増殖が促進される<sup>53)</sup>とされている。韓国産株を用いた実験では22~25℃の水温, 35内外の比較的高い塩分で最もよく成長するとされている<sup>54)</sup>。伊万里湾産株の最適増殖条件は27.5℃, 塩分32である<sup>72)</sup>。これらを実験結果と比べると, 好適塩分はほぼ同じ範囲にあるが, 好適水温は株間による差異が認められ, 本実験株は伊万里湾産株と同程度の好適水温であると判断できる。一方, 八代海での赤潮現場調査の結果から, 本種赤潮は表層水温27~28℃で発生しており<sup>53)</sup>, 今回得られた最適温度とほぼ一致している。既知の赤潮鞭毛藻の最適および好適水温範囲<sup>108)</sup>をみると, 25℃以上に最適および好適域を有する種は少ない。赤潮鞭毛藻の増殖に最適な塩分は, ラフィド藻では8~30, 渦鞭毛藻では12~30の範囲内にあり, 赤潮鞭毛藻は天然海水よりもその1/4~4/5の低塩分でよく増殖する<sup>109)</sup>ため, 30をこえた最適域を有する種は少ない。加えて, 今回の培養実験で得られた数値をこれまでに報告されている有害赤潮鞭毛藻の *Chattonella antiqua*, *C. marina*, *Heterosigma akashiwo*, *Karenia mikimotoi*, *Heterocapsa circularisquama* の増殖特性 (水温, 塩分) と比較したところ, 本種は *H. circularisquama* と同様に比較的高水温, 高塩分を好むことが明らかとなった。また, 本株の最大比増殖速度は *C. antiqua*, *C. marina*, *H. akashiwo*, *K. mikimotoi*

と同程度で、*H. circularisquama* の0.7倍であることがわかった (Table 7)。従って、本種が27.5℃、塩分28~36付近の高水温、高塩分条件で最適増殖すること、塩分16~36の広範囲で高い潜在的増殖能を有することは、他の競合藻類に比べ赤潮形成に有利な条件を有しており、特に高水温の夏季にはその特徴が顕著に現れると考えられる。

今回の光強度に対する増殖特性応答実験結果から、本種4株は光強度条件に対して同様の増殖応答を示すことが判明した (Fig. 22)。従って、4株の比増殖速度の平均値を (1) 式にあてはめたところ、西九州沿岸域における本種の  $\mu_m$  は  $0.54 \text{ day}^{-1}$ 、 $K_s$  は  $29.2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 、 $I_0$  は  $4.5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  となり、比増殖速度と光強度との関係は以下の (2) 式で表すことができた。

$$\mu = 0.54 \frac{(I - 4.5)}{(I + 20.2)} \quad (2)$$

本種の光強度に関する増殖特性について、これまでの報告をみると、八代海産株では増殖の最適光条

件は  $90 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ <sup>52)</sup> とされ、韓国産株を用いた実験では5000 Lux程度 (単位換算<sup>110)</sup> で  $57 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  程度と推定) で飽和している<sup>54)</sup> と思われる。本実験株はこれら他海域産株に比べ高い光強度を要求すると判断できる。また、今回の培養実験で得られた数値をこれまでに報告されている有害赤潮鞭毛藻の *C. antiqua*, *C. marina*, *H. akashiwo*, *K. mikimotoi* の増殖特性 (光強度) と比較したところ、本種は他有害種とほぼ類似した光強度で最大比増殖速度を示す生理特性を有することが明らかとなった (Table 8)。

今回の実験で求めた  $K_s$  と  $I_0$  値を現場海域に適用してみる。2002年の大村湾における7~12月の現場環境調査結果では、海水表面下 (0~0.3 m) の光強度は平均で  $479.2 \mu\text{mol mL}^{-2} \text{ s}^{-1}$  であった。また、長崎県沿岸各海域で本種が  $500 \text{ cells mL}^{-1}$  以上確認された時の透明度の平均値3.9 mから消散係数を計算し、 $K_s$ ,  $I_0$  および  $20 \mu\text{mol mL}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (赤潮形成可能光強度) に相当する水深を求めると<sup>111)</sup>、それぞれ5.2 m,

Table 7. Summary of reported maximum growth rates ( $\mu_m$ ), optimum temperature and salinity in batch culture on various noxious red tide flagellates

Species	$\mu \text{ m}(\text{day}^{-1})$	Optimum conditions		Reference
		Temperature (°C)	Salinity (PSU)	
<i>Chattonella antiqua</i>	0.67	25	25	103)
<i>Chattonella marina</i>	0.56	25	20	103)
<i>Heterosigma akashiwo</i>	0.64	15~25	25	93)
<i>Karenia mikimotoi</i>	0.73	25	25	112)
<i>Heterocapsa circularisquama</i>	0.90	30	30	113)
<i>Cochlodinium polykrikoides</i>	0.57~0.61	27.5	28~32	This study

Table 8. Summary of reported maximum growth rates ( $\mu_m$ ) of saturated light intensity in batch culture on various noxious red tide flagellates

Species	$\mu \text{ m}(\text{day}^{-1})$	Saturation ( $\mu \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )	Reference
<i>Chattonella antiqua</i>	0.92	110	103)
<i>Chattonella marina</i>	0.63	110	103)
<i>Heterosigma akashiwo</i>	0.65	118	93)
<i>Karenia mikimotoi</i>	0.82	110	112)
<i>Cochlodinium polykrikoides</i>	0.54	120	This study

8.7 m および 5.9 m となった。昼間に現場で本種が 500 cells mL<sup>-1</sup> 以上確認された時の水深は 5 m 以浅であり、本種の  $K_s$  値および赤潮形成可能光強度に相当する水深 5.2 m および 5.9 m とほぼ一致した。本種が 100 cells mL<sup>-1</sup> 以上確認された時の水深は 10 m 以浅であり、本種のしきい値に相当する水深 8.7 m とよく一致した。これらのことから、本種は 8.7 m 程度でも増殖が可能であり、5.2~5.9 m 以浅では赤潮を形成する増殖能を有すると推測される。

以上から、本種が現場海域で赤潮を形成する条件は水深 5.2~5.9 m 以浅、12.5~30℃、塩分 16~36 であり、特に 27.5℃、塩分 28~32 付近では短期間で高濃度に赤潮を形成する可能性を指摘することができる。従って、現場海域が上記水温、塩分条件にある場合には、漁場のモニタリング体制を強化するとともに鉛直的な観測を行う必要がある。

## 第 2 節 東九州沿岸（大分県猪串湾）に分布する *C. polykrikoides* の増殖に及ぼす水温、塩分の影響

無殻渦鞭毛藻 *C. polykrikoides* による赤潮は近年、九州をはじめとする西日本各地および韓国南部沿岸域で頻発し、養殖魚類等を斃死させる漁業被害を与え続けている<sup>54,63,64</sup>。また、フィリピン・ルソン島でも本種赤潮による魚類の斃死が確認されるなど、本種赤潮は東南アジア沿岸域において、多発化・広域化する傾向にある<sup>56</sup>。本種赤潮は数億から数十億円の莫大な漁業被害（養殖魚類の大量斃死）を伴うことが多く、水産業の振興上大きな問題となっている<sup>14,72</sup>。本種赤潮による魚類斃死被害の防除・軽減を行う上で、本種の増殖特性を把握し、赤潮の発生機構を解明することは早急に解決すべき今後の重要な検討課題とされてきた<sup>56</sup>。

松岡・岩滝<sup>56</sup>は、2002年春季から夏季、秋季にかけて西日本各地で多数出現した本種について、2通りの出現・拡散過程が推察されるとしている。一つは夏季から秋季に西九州を中心とする東シナ海東部沿岸から日本海西部沿岸にかけてその分布を広げて

いく海流依存型（対馬暖流域）と、他の一つは小規模な海湾で散発的に発生し、増殖に適した環境で赤潮を形成する個別発生型（東九州、西日本太平洋南岸および瀬戸内海沿岸海域）である。この2通りの出現・拡散過程を証明するためには、それぞれの海域ごとに本種の増殖特性を把握しておくことが第一に望まれる。本種の増殖特性については、数例の報告がある<sup>52,54,72,101</sup>。しかし、これらは、いずれも西九州沿岸域産培養株を用いたものであり、個別発生型とされる海域から分離された培養株を用いた報告はみあたらない。一般に植物プランクトンの増殖特性は海域ごとに差異があると考えられる<sup>93,94</sup>ので、赤潮原因種でもその基礎的増殖特性は海域ごとに把握する必要がある。本研究では、本種赤潮発生機構解明のための基礎資料を得るために、東九州大分県猪串湾から2004~2005年に分離した本種培養株を用い、増殖に及ぼす水温、塩分の影響について室内実験を行った。

## 材料と方法

供試株と培地 実験に用いた *C. polykrikoides* は 2004年5月（IN-5ND81株）と2005年1月（05IN18株）に猪串湾（Fig. 25）から分離された株で、いずれもピペット洗浄法および泳がせ法<sup>91</sup>によってバクテリアによる汚染を最小限に抑えたクローン株である。供試株の保存および実験培地にはESM<sup>92</sup>を用いた。IN-5ND81株は岩滝光儀博士（長崎大学環東シナ海海洋環境資源研究センター）から譲受した。増殖に及ぼす水温と塩分の影響 実験は水温を10, 12.5, 15, 17.5, 20, 22.5, 25, 27.5, 30℃の9段階、塩分を16, 20, 24, 28, 32, 36の6段階とし、それらを組み合わせて計54通りに設定した。塩分は1995年7月に五島列島西沖約60 km（32°55.5'N, 128°15.5'E）で採取した表層水をGF/Cでろ過したものを基本海水（塩分34.4）とし、これを超純水で希釈、あるいは50℃の恒温器を用いた加温濃縮によって調整した。実験は試験管（φ15×150 mm）に培地を5 mL入れ、オートクレーブ滅菌後（120℃, 20 min）に、対数増

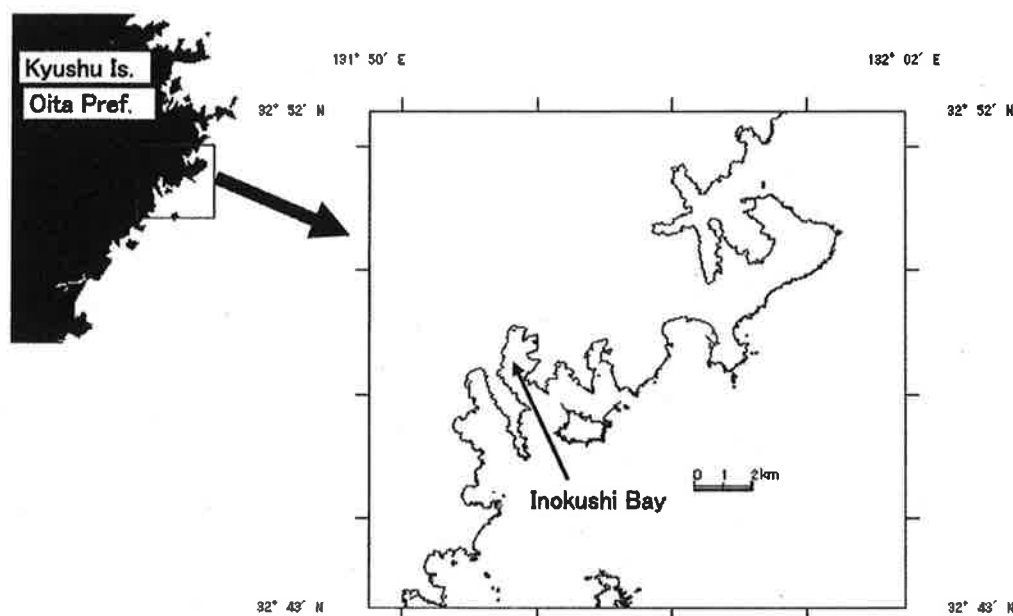


Fig. 25. Sampling site of the strain of *Cochlodinium polykrikoides* in Inokushi Bay, Kyushu.

殖期後期まで前培養した本株を  $100 \text{ cells mL}^{-1}$  の密度になるように実験培地へ接種し、3本立て、バッチ培養法で、光強度  $80 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 、14時間明10時間暗の明暗サイクルの条件下で行った。なお、前培養条件は水温  $17.5^\circ\text{C}$ （低温度実験区へ移行）および  $22.5^\circ\text{C}$ （高温度実験区へ移行）とし、塩分は28とした。培養温度は1日に  $1 \sim 2.5^\circ\text{C}$  ずつ上昇あるいは下降させ、0～2日目までの3日間で各実験温度へ移行した。細胞数は実験開始後、2日おきに培養液の一部を採取して界線入りスライドグラスを用いて直接計数し、片対数グラフにプロットし、その直線部分である対数増殖期について最小二乗法により比増殖速度 ( $\mu; \text{day}^{-1}$ ) を求めた。また、定常期の最高細胞密度から初期細胞密度を差し引いた値を最終細胞収量 ( $\text{cells mL}^{-1}$ ) とした。

## 結 果

*C. polykrikoides* 2株の水温と塩分との組み合わせにおける最終細胞収量を Fig. 26、比増殖速度を Fig. 27に示す。  $10^\circ\text{C}$  では05IN18株は塩分16～32で増殖し、最終細胞収量は  $0.060 \times 10^3 \sim 0.153 \times 10^3 \text{ cells}$

$\text{mL}^{-1}$ 、比増殖速度は  $0.07 \sim 0.10 \text{ day}^{-1}$  であった。IN-5ND81株では全ての塩分において増殖がみられなかった。  $12.5^\circ\text{C}$  では05IN18株は全ての塩分、IN-5ND81株は塩分24～36で増殖が認められ、最終細胞収量は  $0.10 \times 10^3 \sim 0.96 \times 10^3 \text{ cells mL}^{-1}$ 、比増殖速度は  $0.09 \sim 0.14 \text{ day}^{-1}$  であった。  $15 \sim 27.5^\circ\text{C}$  では2株とも全ての塩分で増殖が認められ、最終細胞収量は  $0.073 \times 10^3 \sim 7.03 \times 10^3 \text{ cells mL}^{-1}$ 、比増殖速度は  $0.10 \sim 0.57 \text{ day}^{-1}$  であった。  $30^\circ\text{C}$  では05IN18株は全ての塩分、IN-5ND81株は塩分20～36で増殖が認められ、最終細胞収量は  $0.080 \times 10^3 \sim 1.66 \times 10^3 \text{ cells mL}^{-1}$ 、比増殖速度は  $0.21 \sim 0.48 \text{ day}^{-1}$  であった。2株の最大比増殖速度は  $0.56 \sim 0.57 \text{ day}^{-1}$  であり、それを与える水温・塩分の組み合わせは、  $25^\circ\text{C}$ 、28であった (Fig. 27)。

## 考 察

今回の Fig. 26、27に示した室内実験結果に基づく、猪串湾産 *C. polykrikoides* 株は水温、塩分を個別要素としてみた場合、  $10^\circ\text{C}$  あるいは  $12.5^\circ\text{C} \sim 30^\circ\text{C}$ 、塩分16～36の範囲で増殖が可能であることから広温性・広塩性種であるといえる。



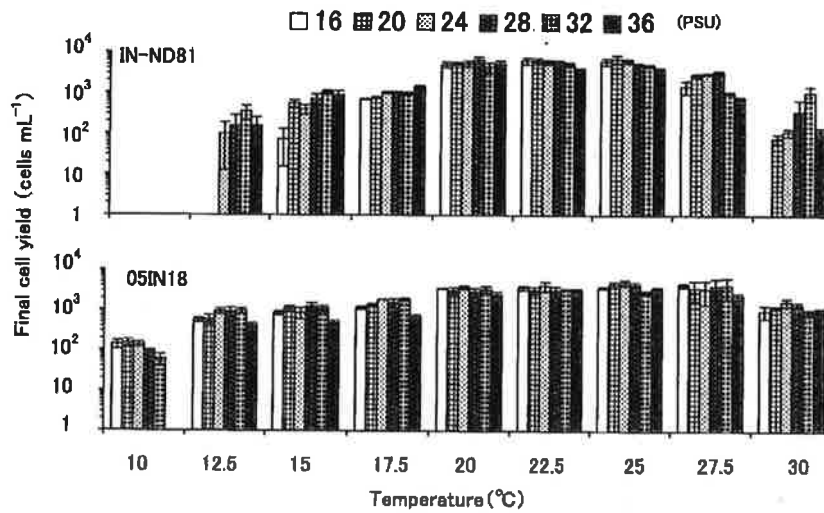


Fig. 26. Final cell yield of two strains of *C. polykrikoides* at different temperature and salinity combinations. Vertical bars indicate standard deviations.

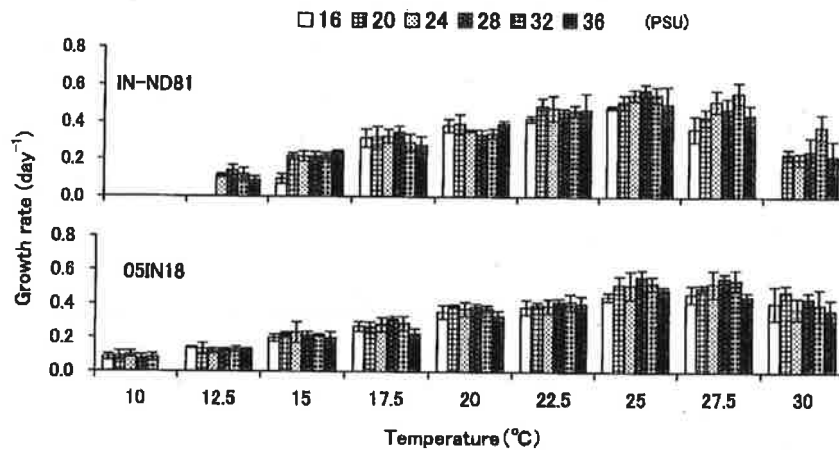


Fig. 27. Growth rate of two strains of *C. polykrikoides* at different temperature and salinity combinations. Vertical bars indicate standard deviations.

*C. polykrikoides* が現場で赤潮と視認される細胞密度はおよそ500 cells mL<sup>-1</sup>以上である<sup>10)</sup>。本実験株2株は12.5あるいは15℃～30℃、塩分16～36の範囲においては、最終細胞収量が500 cells mL<sup>-1</sup>を越えることから低水温でも赤潮を形成する増殖能を有していると考えられる。特に15～30℃では2株に共通して細胞最終収量が1,000 cells mL<sup>-1</sup>を越えることから本種2株は赤潮を形成する可能性が高いと考えられる。本種赤潮が猪ノ串湾で2003年4月上旬から5月中旬にかけて発生した時の水温は約17℃であった<sup>69)</sup>。

このことは、薄香湾で12月に赤潮を形成した時の水温・塩分条件が16.6～18.5℃、塩分34.11～35.92であった<sup>87,96)</sup>ことと一致する。他の海域でも高知県野見湾で本種赤潮が発生し<sup>63)</sup>、その時の水温は17～19℃であったとの情報を高知県水産試験場の担当者から得ている(私信)。

本実験株2株は10℃あるいは12.5～30℃、塩分16～36の範囲では、比増殖速度が増殖最適条件(水温25℃、塩分28)に向かって緩やかに上昇する共通の増殖応答を示した。西九州産の本種の水温・塩分に

関する最適増殖条件については、古江湾産株が25℃と塩分34<sup>52)</sup>、八代海産株では25℃で最も増殖が促進される<sup>53)</sup>とされている。伊万里湾産株が27.5℃と塩分32<sup>72)</sup>、対馬浅茅湾、上五島奈摩湾および青方湾産株が27.5℃と塩分28~32<sup>100)</sup>との結果が報告されている。これらを実験結果と比べると、好適塩分はほぼ同じ範囲にあるが、好適水温については、本実験株は古江湾産株、八代海産株と同程度と判断できる。東九州産本実験株の好適水温25℃は西九州産株の好適水温25~27.5℃の範囲に収まることから、両海域産本種株の増殖特性には、顕著な違いは認められなかった。また、本実験株は10~12.5℃での増殖が可能であった。猪串湾森崎地先で記録された1998~2003年における冬季最低水温は15℃を下回ることがない<sup>144)</sup>ことから、この海域では本種は遊泳細胞の状態越冬できる可能性が示唆された。これまで調べられてきた西九州の他海域産株でも低水温(10~12.5℃)で増殖し、遊泳細胞の状態越冬できる可能性が示唆されており<sup>101)</sup>、同様の低温耐性をもつ猪串湾個体群も遊泳細胞での越冬が可能と考えられる。

以上のことから *C. polykrikoides* は冬季水温が15℃以上で推移する猪串湾において、遊泳細胞の状態越冬し、低水温(17℃程度あるいはそれ以下)でも赤潮を形成する増殖能を有し、水温25℃、塩分28では短期間に高密度に増殖する可能性が高いと判断された。今後は、本種の越冬遊泳細胞が次の高水温期における赤潮の seed population となっていることや本種の各海域ごとの出現・拡散課程を証明するため、遺伝学的方法による裏付けが望まれる。

## 第5章 競合する有害赤潮鞭毛藻の増殖特性

九州沿岸域における赤潮発生状況をみると、赤潮発生件数とそれに伴う漁業被害件数はほぼ横ばいで推移しているが(Fig. 1)、近年(1994年から2003年)の漁業被害金額は毎年のように億単位を越えており、被害規模は増大傾向にある<sup>14)</sup>。1件の赤潮で億単位の甚大な漁業被害金額を伴った赤潮の構成

種の主なものとしては *Cochlodinium polykrikoides*, *Heterocapsa circularisquama*, *Karenia mikimotoi*, *Chattonella antiqua*, *Chattonella marina*, *Heterosigama akashiwo* が挙げられる<sup>14)</sup>。赤潮は特定種の大増殖のみならず、単一種による場の独占という生態学的特徴を有する。競争排除則(competitive exclusion principle)に従えば、類似した生理要求を持つ2種は同じ生息場で共存できないと考えられる。このことは赤潮形成種と競合種との間に何等かの生理特性の差異が存在することを意味する。したがって、赤潮形成種およびそれと競合関係にある植物プランクトン他種の生理特性を比較検討する必要がある<sup>9)</sup>。以上の観点から本章では、*C. polykrikoides* と競合関係にあると考えられる *H. circularisquama*, *K. mikimotoi*, *C. antiqua*, *C. marina*, *H. akashiwo* の増殖に及ぼす水温、塩分の影響を中心に調べた。

## 第1節 大村湾産 *H. circularisquama* の二枚貝への影響と増殖特性

渦鞭毛藻 *H. circularisquama* による赤潮は、西日本沿岸海域においてしばしば発生し、近年、多発化・広域化する傾向にある<sup>46,47,115)</sup>。本種は魚類に対する影響はほとんどないが、二枚貝等の貝類を特異的に斃死させ、水産業に多大な被害を及ぼしている<sup>116-122)</sup>。赤潮被害防止のためには、本種の毒性、増殖特性、分布状況等の基本的な情報を把握することは重要である。

本種赤潮による漁業被害は、細胞密度およそ4,000 cells mL<sup>-1</sup>以上で引き起こされることが知られている<sup>47,121)</sup>。本種の毒性には地域差があることや海水が着色しないような低密度でも二枚貝に影響を及ぼすことが明らかとなってきた<sup>47)</sup>。貝類養殖が盛んに行われている長崎県大村湾では本種は1995<sup>123)</sup>と1999年<sup>124)</sup>に、それぞれ最高細胞密度48,000と3,700 cells mL<sup>-1</sup>の赤潮を記録したが、いずれも漁業被害は報告されていない。西日本で最高細胞密度が10,000 cells mL<sup>-1</sup>をこえた本種赤潮は10例以上あるが<sup>47)</sup>、漁業被害が報告されていないのは唯一大村湾のみである。また、

赤潮発生機構解明の基礎となる増殖特性については、数例の報告<sup>47,49,113)</sup>がある。しかし、赤潮種の増殖特性は培養株が分離された海域ごとに差異があり得る<sup>83,94)</sup>ので、原因種の基本的増殖特性を海域ごとに把握する必要がある。さらに、最近、本種と形態的に酷似する種の存在が報告され<sup>125)</sup>、同定が困難な場合があり、正確な識別には細胞表面を覆う鱗片の形態を電子顕微鏡で観察する必要がある<sup>126)</sup>。

本種の出現は、全国第2位の真珠生産量のある長崎県にとって脅威であり、また同様に有明海の水産振興上重要なアサリ増養殖にとって憂慮される。近隣の福岡県<sup>116,118)</sup>や熊本県<sup>127)</sup>では本種赤潮による二枚貝の斃死が確認されており、本種の分布拡大が懸念される。本研究では、長崎県大村湾で分離した培養株が貝類斃死をもたらす細胞密度を把握し、また、本株の増殖に及ぼす水温、塩分および光強度の影響を明らかにした。さらに、長崎県沿岸域で貝類養殖が行われている海域を中心に、本種の出現動態を正確に把握するため、細胞表面の鱗片形態に基づいて種同定を行い、本種の分布についても知見を得たので、併せて報告する。

## 材料および方法

供試株と培地 大村湾の試水から1999年9月に99o1株、2002年8月にOM8-ND12株を分離した。これらはいずれもピペット洗浄法および泳がせ法<sup>91)</sup>により洗浄し、クローン株とした。供試株の保存および実験培地にはESM<sup>92)</sup>を用いた。なお、これら2株については常法<sup>125)</sup>に従って透過型電子顕微鏡 (JEOL製 JEM1010) による鱗片観察結果に基づき種の同定を行った (Fig.28)。

*H. circularisquama* 培養株がアコヤガイの生残に及ぼす影響 実験には、OM8-ND12株と99o1株を用いた。OM8-ND12株については、ガラスフィルター (GF/C) ろ過した海水 (塩分34.0) で、0, 500, 1,000, 5,000, 10,000 cells mL<sup>-1</sup>の密度に調整し、500 mL容ビーカーに400 mL入れた。これらの海水に長崎県総合水産試験場で生産し、当水試棧橋に垂下していた殻長13.1±1.3 mmのアコヤガイ *Pinctada fucata* を4個体ずつ収容した。99o1株については、GF/C ろ過した飼育海水 (塩分34.6) で、0, 500, 1,000, 5,000 cells mL<sup>-1</sup>の密度に調整し、500 mL容ビーカーに300 mL入れた。これらの海水に当水試

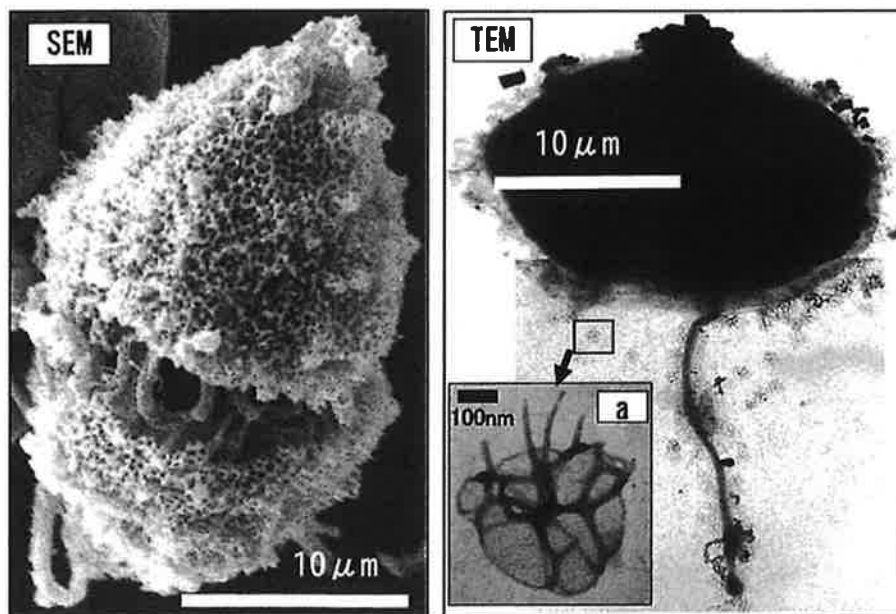


Fig. 28. SEM(left) and TEM(right) photographs of *H. circularisquama* (99o1 strain) collected from Omura Bay. (a) body scale.

で生産・飼育していた殻長 $0.82 \pm 0.12$  mmのアコヤガイを30個体ずつ収容した。観察は4日間行い、アコヤガイの挙動の変化および生残の有無を観察した。生死の判別は外套膜をピンセットで強く刺激し、閉殻運動の有無で確認した。環境水は毎日全量交換し、*H. circularisquama* の細胞密度を初期設定値に調整した。飼育は水温 $22.5^{\circ}\text{C}$ 、光強度 $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、14時間明、10時間暗の明暗サイクルの条件下で行った。通気は実験期間を通じて、本種細胞の破壊が生じない程度(約 $10 \text{ mL min}^{-1}$ )に調節した。

***H. circularisquama* 培養株がアサリの生残に及ぼす影響** 実験には、OM8-ND12株と99o1株を用い、それぞれGF/Cろ過海水(塩分34.0)で、0, 1,000, 5,000, 10,000 cells  $\text{mL}^{-1}$ の密度に調整し、500 mL容ビーカーに450 mL入れた。これらの海水に、OM8-ND12株の実験では殻長 $31.6 \pm 2.0$  mm、99o1株の実験では殻長 $31.4 \pm 1.8$  mmのアサリ *Ruditapes philippinarum* を3個体ずつ収容した。供試したアサリは有明海小長井町地先で採取し、当水試で砂ろ過海水により実験まで数日間静置飼育していた。観察は8日間行い、アサリの挙動の変化および生残の有無を観察した。生死の判別は外套膜をピンセットで強く刺激し、閉殻運動の有無で確認した。環境水は毎日全量交換し、細胞密度を初期設定値に調整した。水温は、アサリを採取した現場水温に合わせ、 $20^{\circ}\text{C}$ と $25^{\circ}\text{C}$ の2区に設定した。光条件、通気はアコヤガイの斃死実験と同様にした。

**増殖に及ぼす水温と塩分の影響** 実験には99o1株を用いた。1995年7月に五島西沖約60 km ( $32^{\circ}55.5'N$ ,  $128^{\circ}15.5'E$ )で採取した表層水をGF/Cでろ過し、基礎海水(塩分34.4)とした。水温は10, 12.5, 15, 17.5, 20, 22.5, 25, 27.5,  $30^{\circ}\text{C}$ の9段階、塩分は16, 20, 24, 28, 32, 36の6段階とし、それらを組み合わせて計54通りに設定した。塩分については、前述の基礎海水を超純水で希釈、あるいは $50^{\circ}\text{C}$ に保たれた恒温器を用いた加温濃縮によって調整した。実験は、ガラス製の試験管( $\phi 15 \times 150$  mm)に培地を5 mL入れ、オートクレーブ滅菌後( $120^{\circ}\text{C}$ , 20 min.)に、保存培地で対数増殖期後期まで前培養された本

株を100 cells  $\text{mL}^{-1}$ の密度になるように実験培地へ接種し、3本法、バッチ培養法で、光強度 $80 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、14時間明、10時間暗の明暗サイクルの条件下で行った。なお、前培養条件は水温 $17.5^{\circ}\text{C}$ および $22.5^{\circ}\text{C}$ 、塩分28とした。培養温度は1日に $1 \sim 2.5^{\circ}\text{C}$ ずつ上昇あるいは下降させ、実験開始後2日以内に各実験温度へ移行した。細胞密度は実験開始後2日おきに培養液の一部を採取し、界線入りスライドグラスを用いて直接計数し、片対数グラフにプロットし、その直線部分である対数増殖期について、最小二乗法により比増殖速度( $\mu$ ;  $\text{day}^{-1}$ )を求めた。また、定常期の最高細胞密度から初期細胞密度を差し引いた値を最終細胞収量とした。

**増殖に及ぼす光強度の影響** 実験には、99o1株を用いた。光強度は10, 20, 40, 80, 100, 120, 140  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の7段階に、水温は $25^{\circ}\text{C}$ 、塩分は32に設定した。水温・塩分実験と同様の方法により比増殖速度および最終細胞収量を求めた。なお、初期細胞密度は500 cells  $\text{mL}^{-1}$ とした。また、比増殖速度と光強度の関係は以下の(1)式による双曲線で記述した。

$$\mu = \mu_m \frac{I - I_0}{(K_s - I_0) + (I - I_0)} \quad (1)$$

ここで、 $\mu$ は比増殖速度( $\text{day}^{-1}$ )、 $I$ は光強度( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )、 $I_0$ は光強度の閾値( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )、 $\mu_m$ は最大比増殖速度( $\text{day}^{-1}$ )、 $K_s$ は半飽和定数で $\mu_m/2$ を与える光強度( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )をそれぞれ示す。(1)式から、反復計算アルゴリズム(Levenberg-Marquardt法)<sup>100</sup>により、最大比増殖速度( $\mu_m$ )、増殖の半飽和定数( $K_s$ )および光強度の閾値( $I_0$ )を求めた。

**分布調査** 調査は2002年1~12月に、長崎県の伊万里湾、大村湾、九十九島、西彼杵半島沿岸、浅茅湾、三浦湾、橘湾、有明海に設定した定点(計42定点)で、夏季(6~9月)を中心にして概ね月1~2回の頻度で、*H. circularisquama* の栄養細胞密度を調べた(Fig. 29)。採水は原則として水深2 m層で、必要に応じて0.5, 5, 10, B-1 m(海底面上1 m)層でも行った。採取した試水中の本種と予想される栄養細胞について、必要に応じて当日から翌々日ま

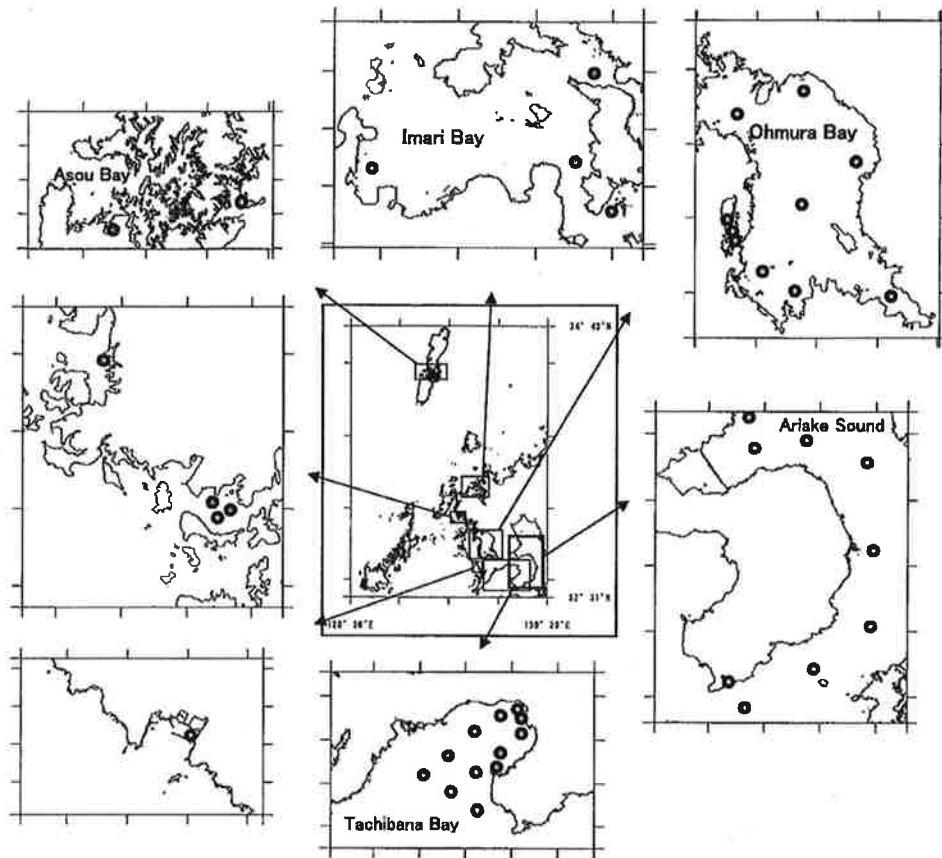


Fig. 29. Sampling stations (●) in coastal waters of Nagasaki Prefecture.

で研究室で透過型電子顕微鏡によって鱗片を観察し、種の同定を行った。

## 結 果

*H. circularisquama* 培養株がアコヤガイの生残に及ぼす影響 99o1株を用いて行った斃死実験結果をFig. 30に示す。実験開始3時間後には、500~5,000 cells mL<sup>-1</sup>の実験区に共通してアコヤガイが擬糞を排出する行動がみられ、500 cells mL<sup>-1</sup>では50%の個体で外套膜、鰓の収縮が、1,000および5,000 cells mL<sup>-1</sup>では73~87%の個体で外套膜、鰓の収縮および刺激に対する閉殻動作が緩慢となる麻痺症状が観察された。アコヤガイの斃死は5,000 cells mL<sup>-1</sup>では6時間後、1,000 cells mL<sup>-1</sup>では16時間後、500 cells mL<sup>-1</sup>では24時間後にみられた。斃死率は暴露時間の経過とともに増加し、実験開始から3日後に5,000 cells mL<sup>-1</sup>

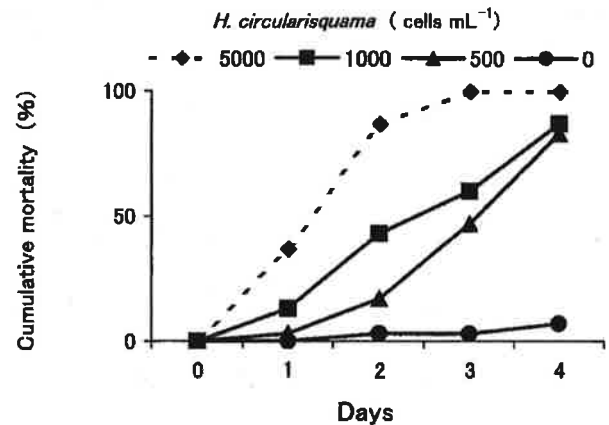


Fig. 30. Effect of *H. circularisquama*, 99o1 strain, on the survival of *P. fucata* (N=30, shell length 0.82±0.12 mm)

で100%の個体が、500および1,000 cells mL<sup>-1</sup>では4日後までにそれぞれ83および87%の個体が斃死した。

OM8-ND12株を用いて行った斃死実験結果をFig. 31に示す。アコヤガイは実験開始直後から、

500~10,000 cells mL<sup>-1</sup>の実験区に共通して異物混入時に生じる開閉運動 (clapping)<sup>128)</sup>を開始し、その頻

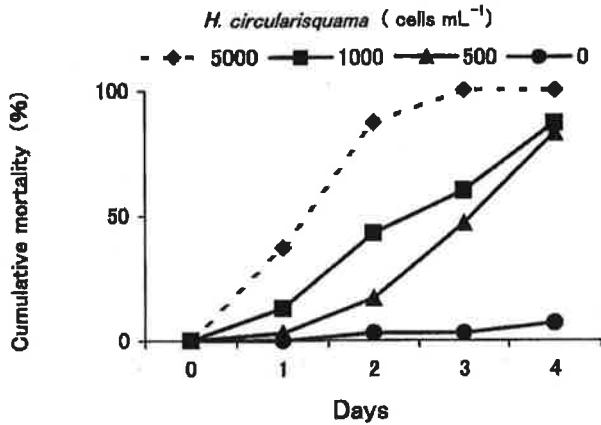


Fig. 31. Effect of *H. circularisquama*, OM8-ND12 strain, on the survival of *P. fucata* (N=4, shell length 13.1±1.3 mm)

度は数回/分であった。対照区 (0 cells mL<sup>-1</sup>) では、clapping は確認されなかった。アコヤガイの斃死は5,000および10,000 cells mL<sup>-1</sup>の実験区では、実験開始から24時間後にみられた。斃死率は時間の経過につれて増加し、2日後には両区では100%の個体が斃死した。斃死前には麻痺症状が観察された。0~1,000 cells mL<sup>-1</sup>実験区では4日後まで斃死はみられなかった。

*H. circularisquama* 培養株がアサリの生残に及ぼす影響 99o1株を用いた斃死実験結果をFig. 32に、OM8-ND12株を用いた斃死実験結果をFig. 33に示す。20℃ではアサリは10,000 cells mL<sup>-1</sup>で実験開始から3~4日後、5,000 cells mL<sup>-1</sup>で4~5日後に斃死がみられ、6日後には5,000および10,000 cells mL<sup>-1</sup>で100%の個体が斃死した。0および1,000 cells mL<sup>-1</sup>

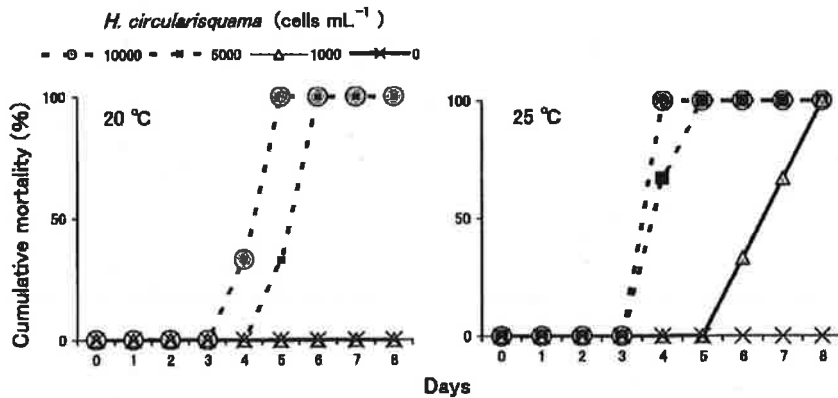


Fig. 32. Effect of *H. circularisquama*, 99o1 strain, on the survival of *R. philippinarum* (N=3, shell length 31.40±1.8 mm)

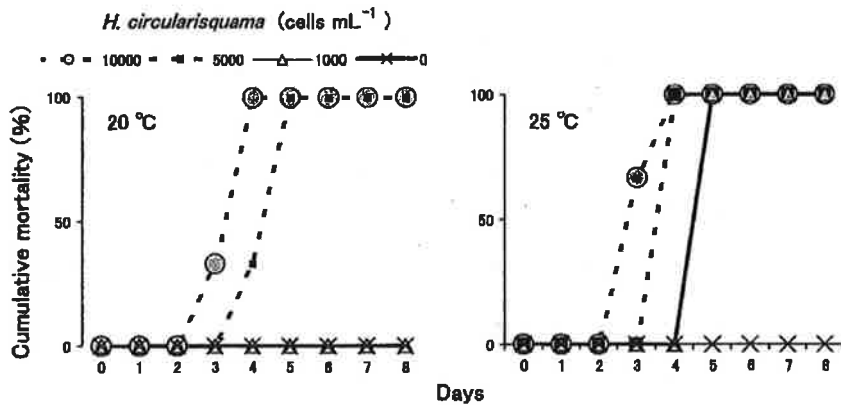


Fig. 33. Effect of *H. circularisquama*, OM8-ND12 strain, on the survival of *R. philippinarum* (N=3, shell width 31.6±2.0 mm)

では8日後まで斃死はみられなかった。25℃では10,000 cells mL<sup>-1</sup>で実験開始から3～4日後、5,000 cells mL<sup>-1</sup>で4日後に斃死がみられ、5日後には5,000および10,000 cells mL<sup>-1</sup>で100%の個体が斃死した。1,000 cells mL<sup>-1</sup>では実験開始から5～6日後に斃死がみられ、8日後には100%の個体が斃死した。対照区(0 cells mL<sup>-1</sup>)では8日後まで斃死はみられなかった。斃死したアサリは斃死する1～2日前に刺激に対する閉殻動作が緩慢となる麻痺症状や殻内からひも状の粘質物質をはき出す症状を示した。両温度で両株に共通して、5,000および10,000 cells mL<sup>-1</sup>では実験開始直後に閉殻状態が観察された。

**増殖に及ぼす水温と塩分の影響** 各水温・塩分条件における99o1株の増殖曲線をFig. 34に示す。10℃ではすべての塩分で増殖がみられなかったが、遊泳細

胞は塩分28～36で10日間観察された。12.5℃では、高塩分の32～36で4～8 cells mL<sup>-1</sup>の最終細胞収量が得られた。15℃の低塩分側(16～24)では増殖がみられなかったが、高塩分側(28～36)では増殖が認められ、246～838 cells mL<sup>-1</sup>の最終細胞収量が得られた。17.5～30℃では、すべての塩分で増殖が認められ、得られた最終細胞収量は24～174×10<sup>3</sup> cells mL<sup>-1</sup>の範囲にあった。特に、15℃の塩分36、17.5℃の塩分24～36、20～30℃のすべての塩分で、現場において本種による海水の着色が認められるとされる700 cells mL<sup>-1</sup>以上<sup>(29)</sup>の最終細胞収量を得た。比増殖速度は、水温・塩分ともに高いほど大きい傾向がみられ、最大比増殖速度の0.91 day<sup>-1</sup>は30℃、塩分32の条件で得られた(Fig. 35)。

**増殖に及ぼす光強度の影響** 各光強度における99o1

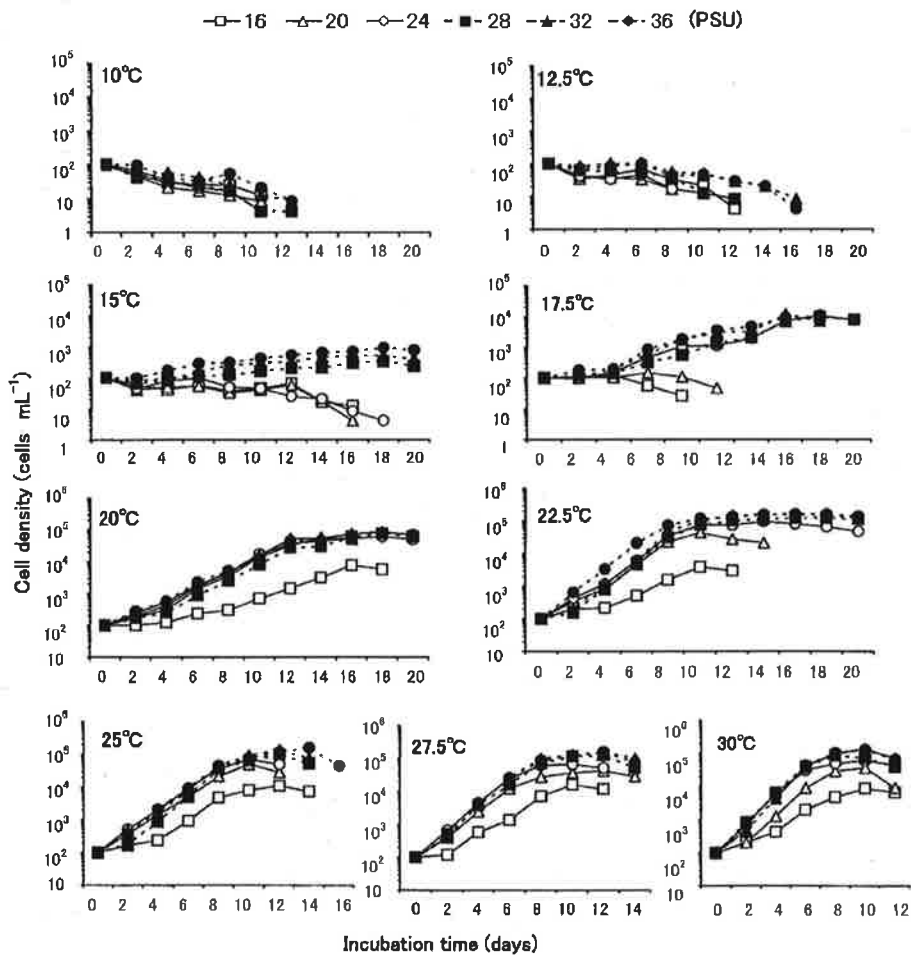


Fig. 34. Growth curves of *H. circularisquama*, 99o1 strain, grown at various temperature and salinity combinations.

株の増殖曲線を Fig. 36 に示す。本株は  $20 \sim 140 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  の範囲でよく増殖し、最終細胞収量は  $20.5 \times 10^3 \sim 60.5 \times 10^3 \text{ cells mL}^{-1}$  の範囲にあった。  $10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  の弱光下における最終細胞収量は  $253 \text{ cells mL}^{-1}$  と少なかった。比増殖速度は光強度の増加とともに大きくなり、  $80 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  でほぼ飽和した (Fig. 37)。(1) 式により、本株の  $\mu_m$  は  $0.86 \text{ day}^{-1}$ 、  $K_s$  は  $24.0 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、  $I_0$  は  $15.5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  であり、比増殖速度と光強度との関係は図中の式で表すことができた。

*H. circularisquama* の出現状況 2002年1～12月ま

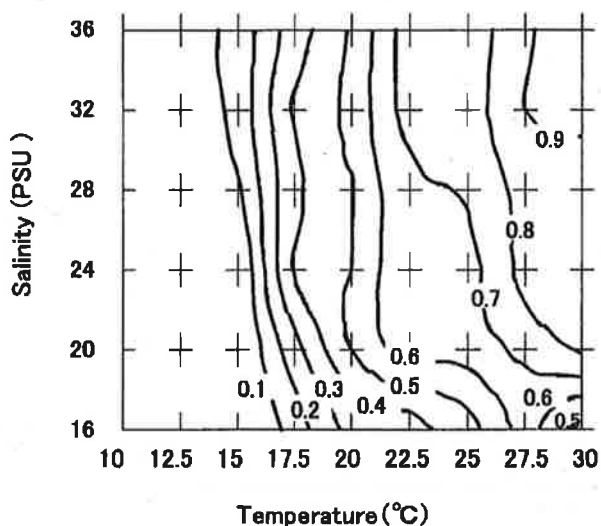


Fig. 35. Growth rate ( $\text{day}^{-1}$ ) of *H. circularisquama*, 9901 strain, under various temperature and salinity combinations.

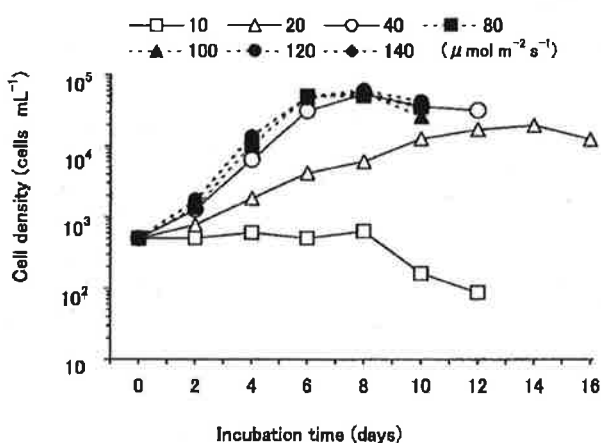


Fig. 36. Growth curves of *H. circularisquama*, 9901 strain, under various light intensities.

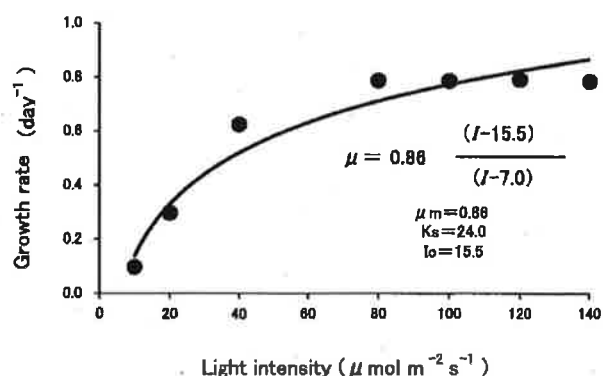


Fig. 37. Growth rate of *H. circularisquama*, 9901 strain, under various light intensities.

での *H. circularisquama* の出現状況を Fig. 38 に示した。本種は伊万里湾では7月22日に  $1.0 \text{ cell mL}^{-1}$ 、7月30日に  $90 \text{ cells mL}^{-1}$ 、大村湾では8月9日に  $0.3 \text{ cells mL}^{-1}$ 、8月20日に  $0.7 \sim 4 \text{ cells mL}^{-1}$ 、9月5日に  $0.7 \sim 2 \text{ cells mL}^{-1}$ 、橘湾では10月8日に  $0.001 \text{ cells mL}^{-1}$  確認された。

## 考 察

二枚貝への影響 アコヤガイ稚貝の顕著な斃死は、殻長  $0.82 \pm 0.12 \text{ mm}$  と殻長  $13.1 \pm 1.26 \text{ mm}$  の両サイズともに  $5,000 \text{ cells mL}^{-1}$  でおこり、  $500$  および  $1,000 \text{ cells mL}^{-1}$  では、小型の稚貝 (殻長  $0.82 \pm 0.12 \text{ mm}$  サイズ) の生残にも影響を及ぼすことがわかった。このことは、永井<sup>130)</sup> が培養株を用いて行ったアコヤガイ稚貝 (平均殻高  $1.88 \text{ mm}$ ) の暴露実験で顕著な斃死は  $3,000 \text{ cells mL}^{-1}$  以上で観察されたことと類似している。また、Nagai *et al.*<sup>131)</sup> は本種赤潮海水を用いて行った暴露実験で、アコヤガイ成貝 (平均殻高  $70 \text{ mm}$ ) の24時間後における斃死は  $2,000 \text{ cells mL}^{-1}$  で認められ、  $\text{LD}_{50}$  はおよそ  $5,000 \text{ cells mL}^{-1}$  であったとしており、今回の実験に用いたような稚貝だけでなく、成貝でも本種が  $5,000 \text{ cells mL}^{-1}$  存在すれば、生残に影響を及ぼすと考えられる。

アサリの顕著な斃死は  $20^\circ\text{C}$  および  $25^\circ\text{C}$  に共通して  $5,000$  および  $10,000 \text{ cells mL}^{-1}$  でみられた。アサリは  $1,000 \text{ cells mL}^{-1}$  の場合、  $20^\circ\text{C}$  では斃死せず、  $25^\circ\text{C}$  では  $5 \sim 8$  日間ですべての個体が斃死したことから、



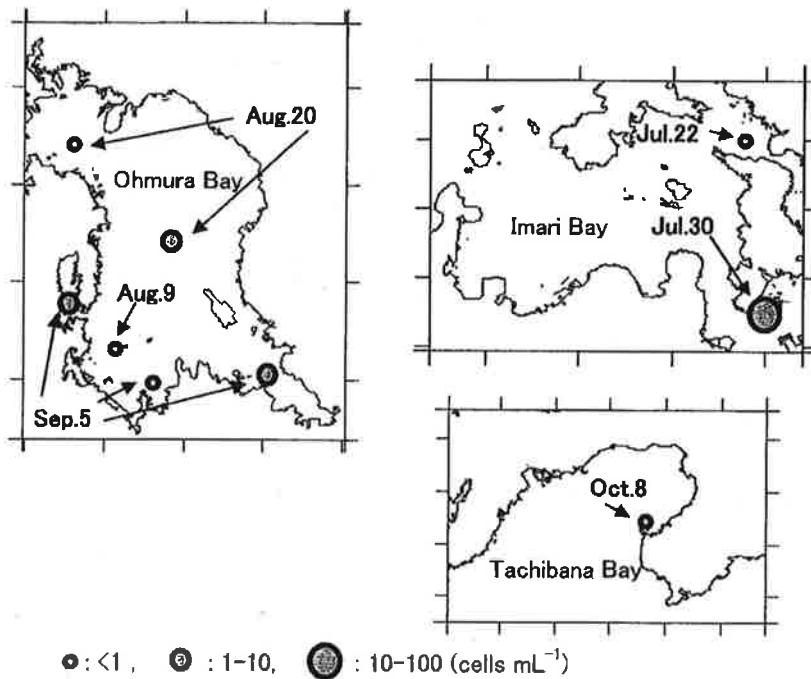


Fig. 38. Distributions of the maximum *H. circularisquama* cell densities in coastal waters of Nagasaki Prefecture in 2002.

同じ細胞密度であっても高水温時に影響を受けやすいことが示唆された。このことは、22℃で英虞湾株に暴露されたアサリが5日後までに、100~1,000 cells mL<sup>-1</sup>では斃死せず、5,000~10,000 cells mL<sup>-1</sup>では顕著な斃死が認められたとされる報告<sup>17)</sup>と類似している。また、赤潮海水(細胞密度10,000 cells mL<sup>-1</sup>)を用いて行った暴露実験<sup>18)</sup>では、アサリ5個体(殻高3.5±0.2 mm)は5日間にすべて斃死したことや尊田・木村<sup>12)</sup>が三河湾における赤潮現場のアサリの斃死状況から、高水温の状況で本種が1,000 cells mL<sup>-1</sup>を越える期間が1週間ほど続いたことは、アサリの斃死をもたらすのに十分な細胞密度であったと考えられるとしていることとよく一致した。

本邦における本種赤潮による漁業被害をみると<sup>19)</sup>、本種の最高細胞密度が4,000 cells mL<sup>-1</sup>以上になると貝類の斃死がみられるようになり、10,000 cells mL<sup>-1</sup>以上の場合には11事例のすべてで漁業被害が報告されている。大村湾では、本種赤潮は1995年の9月3~19日(17日間)に発生し、最高細胞密度は48,000 cells mL<sup>-1</sup>であり<sup>23)</sup>、1999年の9月13日~10月6日(24日間)に発生し、最高細胞密度は3,700 cells mL<sup>-1</sup>

であった<sup>24)</sup>。これらの赤潮発生海域ではアコヤガイ等の二枚貝の養殖が行われているが、漁業被害は報告されていないことから、本種大村湾株は無毒あるいは毒性が低いのではないかと推察されていた。しかし、今回の暴露実験によって、本種は1,000~10,000 cells mL<sup>-1</sup>でアコヤガイおよびアサリに対する毒性を有していることが明らかとなった。大村湾の真珠養殖業者(漁業士4名等)に対する聞き取り調査の結果、1995年の赤潮発生時に水色変化がわずかにみられた段階で、即座に原因種を確認(長崎水試による形態および遊泳様式による査定)し、主要な養殖貝は本種の分布密度が表層付近で少ない時間帯である早朝に他海域へ移送して生残したが、移送しなかった蓄養中のサザエ(200個体)はすべて斃死したとの情報を得ている。また、当時の本種赤潮現場調査で高密度発生海域<sup>23)</sup>は養殖筏からわずかにはずれていたことが確認されている。従って、大村湾株は貝に対する毒性は有するものの、赤潮発生前の養殖業者の迅速な対応などによって、大村湾では漁業被害を免れてきたと考えられる。

増殖特性 培養実験に基づくと、大村湾株は水温、

塩分を個別要素としてみた場合には12.5~30℃、塩分16~36の範囲で増殖が可能であることから、広温性・広塩性であるといえる。15℃の塩分36、17.5℃の塩分24~36、20~30℃の塩分16~36の範囲では、最終細胞収量が700 cells mL<sup>-1</sup>を越えていることから、これらの条件下では、本株は赤潮形成能を有していると考えられる。本株の比増殖速度は、水温、塩分が高いほど比増殖速度が大きく、最大比増殖速度は30℃、塩分32の条件で得られた。植物プランクトンの増殖特性は、同一種であっても株間による違いがあると指摘されているため<sup>93,94</sup>、異なる海域から分離された本種の水温・塩分に対する増殖応答について比較した。山口<sup>49</sup>は、英虞湾産株<sup>130</sup>と広島湾産、伊万里湾産、浦ノ内湾産および八代海産の4株は、10℃では全く増殖できず、15℃では高塩分のみで増殖し、増殖速度は高水温、高塩分で大きい傾向がみられ、最大増殖速度は30℃、塩分20~30で得られたことから、これら5株は高水温、高塩分を好むといった共通の特性を有しているとしている。大村湾株は低水温(12.5℃)でもわずかに増殖できることを除くと、これらの5株と類似した増殖特性を有していることが明らかとなった。大村湾株の比増殖速度(Fig. 35)と過去の本種出現環境との関係について検討した。1995~2002年に長崎県沿岸海域に本種が出現した時のT-SダイアグラムをFig. 39に示した。本種は17.7~30.2℃、塩分は20.75~33.86の範囲で観察された。そのうち500 cells mL<sup>-1</sup>以上の密度で本種が観察された時の水温は26.5~30.0℃、塩分21.50~32.16の範囲にあり、比増殖速度が0.8 day<sup>-1</sup>以上と高くなる条件(27.5~30℃、塩分20~36)とほぼ一致した。本種は現場出現環境からみても高水温、高塩分条件で最適増殖を示すことがわかる。一方、本株は低水温の10℃では増殖できないものの高塩分条件(28~36)で遊泳細胞が10日間確認され、12.5℃の高塩分(32~36)条件ではわずかながら増殖が認められた。このことは、広島湾での観測結果で本種の増殖下限が11.2~12.5℃であったことや広島湾株を用いた培養実験の結果、本種は12.5~32.5℃で増殖可能であったこと<sup>49</sup>と良く一致する。

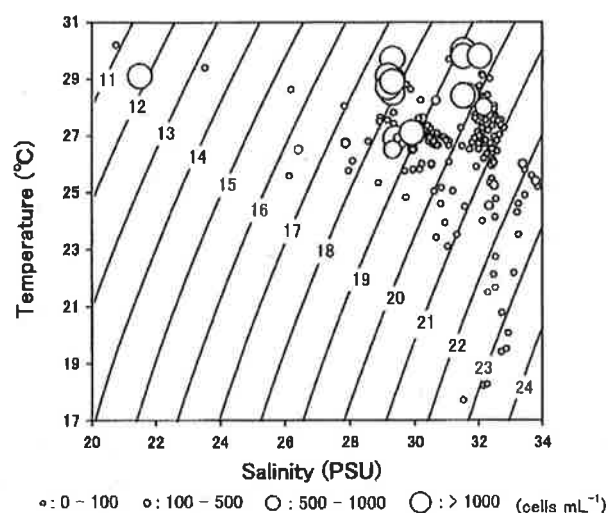


Fig. 39. Relationship between water temperature and salinity for cell densities of *H. circularisquama* in coastal waters of Nagasaki Prefecture in 1995-2002. Diagonal lines shows seawater densities ( $\sigma_t$ ).

本種培養株の光強度に対する各パラメーターは、 $\mu_m$ は0.86 day<sup>-1</sup>、 $K_s$ は24.0  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、 $I_0$ は15.5  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ であり、比増殖速度は80  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ で飽和することが明らかとなった。本種の光強度に関する増殖特性について、これまでの報告をみると、英虞湾株<sup>49</sup>では25℃の場合、100  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 程度で飽和していると思われる、今回の実験結果とほぼ類似していた。今回の実験で求めた値を現場海域に適用してみる。2002年の大村湾における9月の現場環境調査結果から、海水表面下(0~0.3 m)の光強度は平均で512  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ であった。また、大村湾における本種赤潮調査時<sup>123,124</sup>の透明度の平均は4.5 mであったことから、(2)式<sup>111</sup>)により消散係数を求め、(3)式<sup>111</sup>)により、本種の増殖が飽和する光強度(80  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )および赤潮を形成する増殖能を有する光強度(20  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )に相当する水深を求めると、それぞれ4.0 mおよび7.0 mとなった。

$$K = 2.1/T \quad (2)$$

ここで、 $K$ は消散計数( $\text{m}^{-1}$ )、 $T$ は透明度(m)をそれぞれ示す。

$$I_d = I_0 e^{-kd} \quad (3)$$

ここで、 $I_d$ は深度 $d$ における光強度( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )、 $I_0$ は海表面における光強度( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )を示す。

現場で本種が700 cells mL<sup>-1</sup>以上確認された時の水深は5 m以浅<sup>123,124,132)</sup>であったことから、本種は4 m以浅で高密度に分布し、5~7 m付近の中層域でも赤潮を形成することが可能であると推測された。これらのことは1995年11月の広島湾で本種遊泳細胞が0~2 m層に多数分布していたこと<sup>129)</sup>や1992年9月の英虞湾で本種細胞は水深5 m付近に高密度に分布していた現場観察結果<sup>117)</sup>とよく一致している。従って、室内実験および現場赤潮調査から、本種は高水温、高塩分を好み、水温30℃、塩分28~32で最もよく増殖し、水深5 m以浅において高密度の赤潮を形成する可能性を指摘することができる。今後は、現場観測(水温、塩分)によって、本種の比増殖速度の上昇が予測された場合には、漁場監視モニタリングを強化し、本種出現の初期段階を把握することによって赤潮被害の防除を図ると同時に、本種赤潮の発生前、盛期、終期にかけて栄養塩等の詳細な調査を実施することによって、当該海域における本種赤潮発生機構を総合的に解明する必要がある。

**出現状況** 今回の分布調査では、*H. circularisquama*が大村湾、伊万里湾、橘湾に出現することが確認された。本種は大村湾では1995年<sup>123)</sup>と1999年<sup>124)</sup>、伊万里湾では1996年<sup>132)</sup>にいずれも9月に赤潮を形成し、両海域では既に出現が認められていた。しかし、当時の種同定は光学顕微鏡による外部形態に基づいていただけで種同定の確実性に欠けていた。今回の鱗片の観察により存在が再確認された。また、これまで報告のなかった橘湾でも本種が存在していることが明らかとなった。従って、これらの海域では本種出現に対するモニタリング体制を充実させる必要がある。

## 第2節 大村湾産 *K. mikimotoi* の増殖に及ぼす水温、塩分の影響

渦鞭毛藻 *K. mikimotoi* による赤潮は1965年に大村湾で発生して以来<sup>133)</sup>、西日本沿岸海域において多発している<sup>12,14)</sup>。本種赤潮は魚介類に甚大な漁業被害を及ぼすことが多く<sup>13,14)</sup>、水産振興上の大きな問題となっている。大村湾では前述の1965年に発生した本

種赤潮により、魚介類に約7億円の莫大な漁業被害を出した<sup>69)</sup>。近年(2001, 2002年)においても本湾で本種赤潮は魚貝類に被害を及ぼした<sup>134)</sup>。赤潮による被害を防止・軽減するためには、赤潮の発生機構を解明することは重要である。赤潮現象は特定種の大増殖が前提であるが、このような赤潮種の大増殖の要因が何であるのかを知るためには、原因種の基本的増殖条件を明らかにすることが必須である。一般的に植物プランクトンの増殖特性は海域ごとに差異があると考えられる<sup>33,34)</sup>ので、赤潮原因種でもその基本的増殖特性は海域ごとに把握する必要がある。特に、水温は赤潮原因種の生存、増殖、生活史等にきわめて重要な影響を及ぼす。本研究では、大村湾における本種赤潮発生機構解明の観点から、その基礎資料を得るために同湾で2004年に分離した培養株を用い、増殖に及ぼす水温と塩分の影響について室内実験を行った。

## 試料および方法

**供試株と培地** 実験に用いた *K. mikimotoi* 0401株は2004年6月に大村湾(Fig. 40)から分離し、ピペット洗浄法および泳がせ法<sup>31)</sup>によってバクテリアによる汚染を最小限に抑えたクローン株である。供試株の保存および実験培地にはESM<sup>32)</sup>を用いた。

**増殖に及ぼす水温と塩分の影響** 実験は水温を7.5, 10, 12.5, 15, 17.5, 20, 22.5, 25, 27.5, 30℃の10段階、塩分は16, 20, 24, 28, 32, 36の6段階とし、それらを組み合わせて計60通りに設定した。塩分は1995年7月に五島西沖約60 km(32°55.5'N, 128°15.5'E)で採取した表層水をGF/Cフィルターを用いてろ過し、基礎海水(塩分34.4)とし、これを超純水で希釈、あるいは50℃の恒温器を用いた加温濃縮によって調整した。培養はガラス製の試験管(φ15×150 mm)に培地を5 mL入れ、オートクレーブ滅菌後(120℃, 20 min.)に、保存培地で対数増殖期後期まで前培養された各株を100 cells mL<sup>-1</sup>の密度になるように実験培地へ接種し、3本立て、バッチ培養法で、光強度80 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>、14時間明、10時間暗の明暗

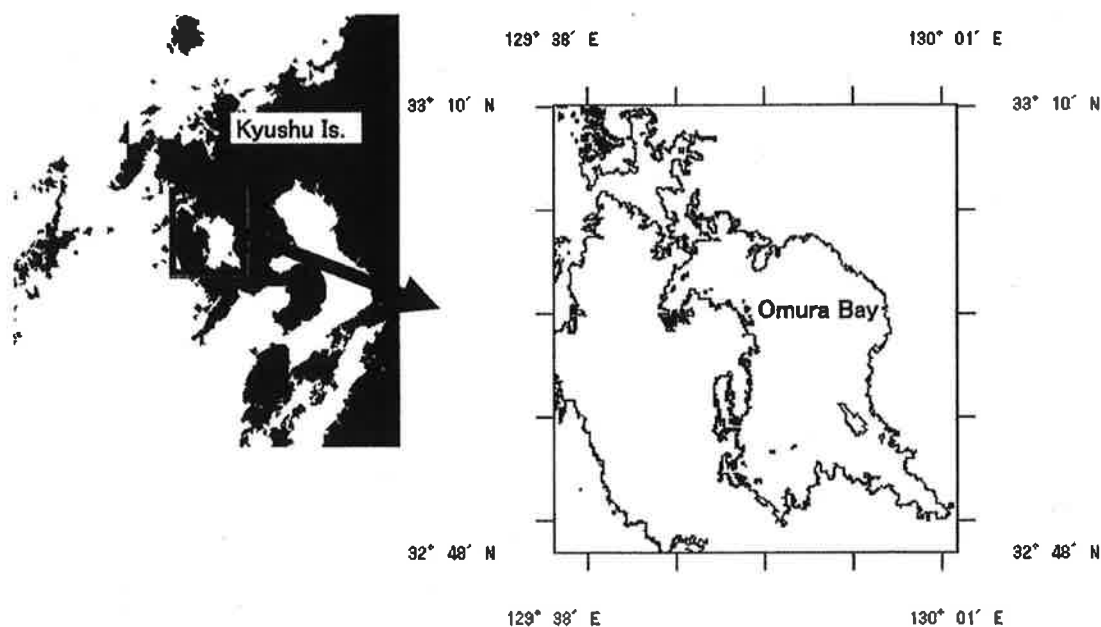


Fig. 40. Sampling site of a strain of *Karenia mikimotoi* in Omura Bay, Kyushu.

サイクルの条件下で行った。なお、前培養条件は水温を15, 17.5, 22.5℃, 塩分を28とした。培養温度は1日に1~2.5℃ずつ上昇あるいは下降させ、0~2日までの3日間で各実験温度へ移行した。塩分は28から各設定条件へ直接移行した。細胞密度は実験開始後2日おきに培養液の一部を採取し、界線入りスライドグラスを用いて直接計数し、片対数グラフにプロットし、その直線部分である対数増殖期について最小二乗法により比増殖速度 ( $\mu$ ; day<sup>-1</sup>) を求めた。また、定常期の最高細胞密度から初期細胞密度を差し引いた値を最終細胞収量 (cells mL<sup>-1</sup>) とした。大村湾における *K. mikimotoi* の発生環境 上記培養実験から得られる本藻の増殖特性と大村湾におけるこれらの発生状況および発生環境の関係を検討した。検討に当たっては、長崎県県央水産業普及指導センターおよび長崎県総合水産試験場によって実施された本湾における現場赤潮調査<sup>136)</sup> で得られたデータの一部を利用した。

## 結 果

各水温・塩分条件における0401株の最終細胞収量および比増殖速度を Fig. 41 に示す。7.5℃では、塩分

24~28で増殖し、最終細胞収量は57~67 cells mL<sup>-1</sup>, 比増殖速度は0.08~0.11 day<sup>-1</sup>であった。10~30℃ではすべての塩分で増殖が認められ、得られた最終細胞収量は153~22.5×10<sup>3</sup> cells mL<sup>-1</sup>, 比増殖速度は0.12~0.58 day<sup>-1</sup>の範囲にあった。最大比増殖速度 (0.58 day<sup>-1</sup>) は25℃, 塩分24の条件で得られた。

## 考 察

被害を与える細胞密度までの増殖環境 *K. mikimotoi* が室内実験で増殖した水温範囲は7.5~30℃, 塩分範囲は16~36であったことから、本種は広い温度・塩分において増殖可能な生理的特性を有していることが明らかとなった。

本種は数千 cells mL<sup>-1</sup> 程度 (1,280~3,420 cells mL<sup>-1</sup>) でも養殖ブリ, 畜養マダコ, アオリイカを斃死させている<sup>136-137)</sup>。室内実験で得られた本種の最終細胞収量は水温15~30℃で、0.453×10<sup>3</sup>~22.5×10<sup>3</sup> cells mL<sup>-1</sup>であった。従って、本種は広い温度範囲で魚介類の生残に影響を及ぼす細胞密度まで増殖することが可能である。

比増殖速度と現場出現環境 本種の水温・塩分に対する比増殖速度を Fig. 42 に、1987~2004年に大村湾

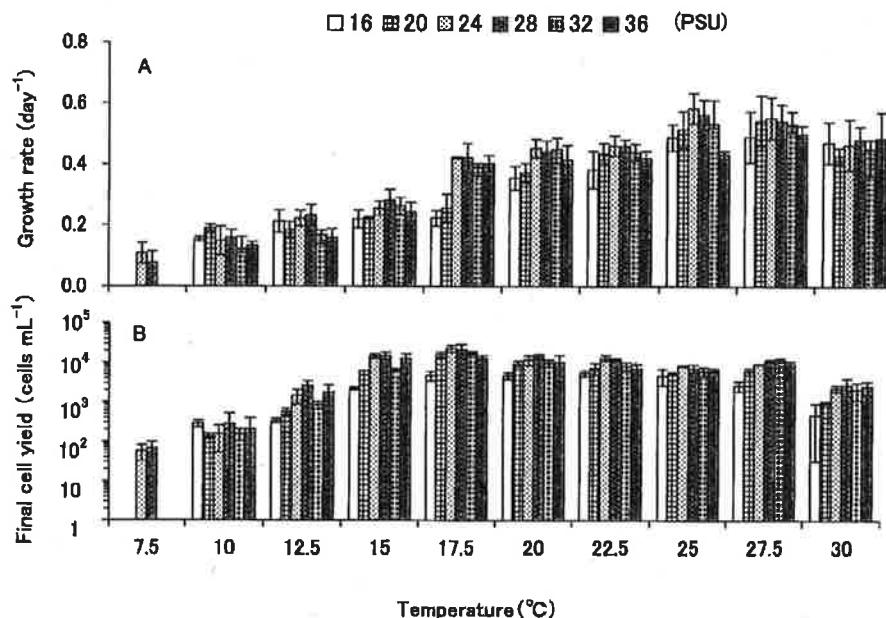


Fig. 41. Growth rate (A) and final cell yield (B) of *Karenia mikimotoi* at different temperature and salinity combinations.

で本種の出現した現場の水温、塩分値を Fig. 43 に示す。本種出現時の現場水温は 19.5~31.0°C、塩分は 24.40~34.42 であり、ほぼ室内実験で比増殖速度が 0.4 day<sup>-1</sup> 以上となる水温 17.5~30°C、塩分 16~36 の範囲内にあった。至適増殖環境（比増殖速度 0.5 day<sup>-1</sup> 以上を示す水温、塩分環境）に相当する本種高細胞密度水塊の形成が多く観察されている。このことから本種は広い水温、塩分範囲で高密度に増殖する特性を有しており、高水温条件（25~30°C）ではその特

性が顕著になると考えられる。大村湾における本種の近年の発生状況を Table 9 に示す。現場海域では、本種は 5 月中旬から 10 月下旬までの広い水温範囲において赤潮が確認されている。このことから、本種は広い水温範囲で高密度増殖できることがわかる。水温に対する増殖応答—他海域産株との比較 山口ら<sup>112)</sup>は周防灘産株は 10~30°C で増殖、25°C で最大増

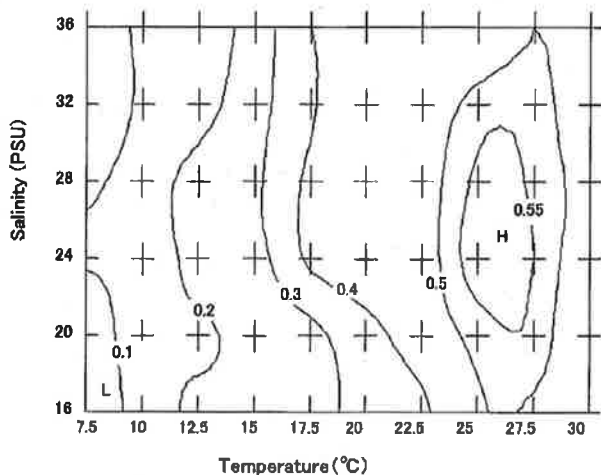


Fig. 42. Growth rate (day<sup>-1</sup>) of *Karenia mikimotoi*.

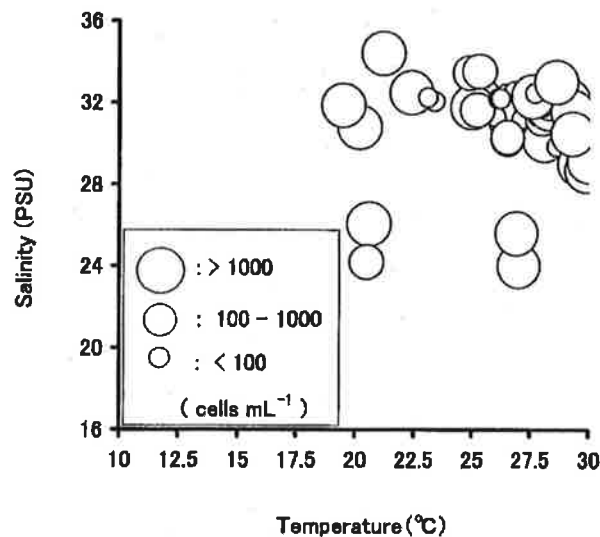


Fig. 43. Relationship among abundance of *Karenia mikimotoi*, water temperature and salinity in Omura Bay during 1987-2004.

Table 9. Recent red tide occurrences and their periods of *Karenia mikimotoi* in Omura Bay

Year	May			Jun			July			August			September			October		
	early	middle	late	early	middle	late	early	middle	late	early	middle	late	early	middle	late	early	middle	late
1980																		
1986																		
1996																		
1997																		
1999																		
2000																		
2001																		
2002																		
2004																		

殖速度を示したと報告している。本株は7.5~30℃で増殖し、最大比増殖速度は25℃で得られたことから、周防灘産株に比べ、最適増殖水温は同程度であるが、低水温に対する限界耐性はやや大きいと考えられた。本株は7.5℃の低水温でも増殖可能であった。この水温は大村湾中央部における冬季最低水温(7.6℃)<sup>138)</sup>にほぼ近いこと、中田ら<sup>139)</sup>が冬季の大村湾で本種遊泳細胞を確認していることから、本種は大村湾では遊泳細胞の状態越冬する可能性が考えられる。また、有明海では、冬季水温が9.3℃で本種遊泳細胞が認められている<sup>140)</sup>。従って、本種は冬季水温が10℃を下回るような海域でも遊泳細胞の状態越冬する可能性を指摘できる。

### 第3節 諫早湾に出現する有害鞭毛藻4種 (*C. antiqua*, *C. marina*, *H. akashiwo* および *C. polykrikoides*) の増殖に及ぼす水温、塩分の影響

西日本における代表的な沿岸浅海域の一つであり、古くから多様な生物資源の宝庫として知られてきた有明海<sup>140-144)</sup>では、近年、赤潮の発生件数が増加し、それによる漁業被害件数も増加傾向にある<sup>145-146)</sup>。有明海全体でみると、珪藻類を原因種とする赤潮が多いのに対して、有明海の中西部長崎県側に位置する一支湾の諫早湾<sup>140)</sup>ではラフィド藻 (*C. antiqua*, *C. marina*, *H. akashiwo*) や渦鞭毛藻 (*C. polykrikoides*) などの有害赤潮が多発する傾向にある<sup>148)</sup>。諫早湾の主な漁業対象種はアサリ等の貝類で<sup>149,150)</sup>、その他定置網漁業等も行われている。同湾では1998年以降毎年、夏

季にアサリの斃死が生じ、大量斃死もしばしば確認されるようになり<sup>150)</sup>、安定した生産を阻害する最大の要因となっている。また、タイラギ、マテガイ、コケガラス等の二枚貝、クロダイ、コノシロ、スズキ等の魚類、シャコ、イシガニ等の甲殻類の斃死も確認<sup>145,150)</sup>されるなど、水産振興上大きな問題となっている。これらの斃死要因については、*Chattonella* 赤潮<sup>150,151)</sup>や貧酸素と高水温<sup>150)</sup>の可能性が考えられているが、これらの要因が単独あるいは複合してアサリの斃死を引き起こしているのかという疑問に対して明確な解答はない。いずれにしてもアサリ等浅海定着性底生生物は赤潮、貧酸素、高水温等環境変化にその生残が強く影響される。従って、アサリの大量斃死を防止・軽減するためには、貧酸素や赤潮の発生機構を解明することは急務である。赤潮現象は特定種の大増殖が前提であるが、このような赤潮種の大増殖の要因が何であるのかを知るためには、原因種の基本的増殖条件を明らかにすることが必須である。一般的に植物プランクトンの増殖特性は海域ごとに差異があると考えられる<sup>83,94)</sup>ので、赤潮原因種でもその基本的増殖特性は海域ごとに把握する必要がある。また、内湾域において特定の赤潮原因プランクトンは毎年特定の季節に優占することが知られている<sup>152,153)</sup>。この傾向は諫早湾においてもみられ、数種の有害種が特定の季節に赤潮を形成している<sup>148)</sup>。このように特定有害種が特定時期に赤潮を引き起こす環境要因として、水温、塩分が考えられる。特に、水温は赤潮原因種の生存、増殖、生活史等にきわめて重要な影響を及ぼす<sup>89)</sup>。諫早湾の海域特性の一つとして、夏季に30℃以上の高水温環境が表層を

中心に形成されることが挙げられる。また、本湾では前述の高水温時に有害赤潮原因種として *C. antiqua*, *C. marina*, *H. akashiwo*, *C. polykrikoides* の4種がこれまでに確認されてきた<sup>154)</sup>。本研究では、諫早湾における有害赤潮発生機構解明の観点から、その基礎資料を得るために同湾で2003~2004年に分離した有害赤潮種4種 *C. antiqua*, *C. marina*, *H. akashiwo*, *C. polykrikoides* の培養株を用い、増殖に及ぼす水温と塩分の影響について室内実験を行った。

## 試料および方法

**供試株と培地** 実験に用いた *C. antiqua* 04A3株は諫早湾口部、*C. marina* 04A1株は諫早湾内でいずれも2003年11月に採取した底泥中のシストを発芽させ、得られた遊泳細胞から分離した。*H. akashiwo* 04A2株は諫早湾内の海水中から2004年8月に採取、分離した。*C. polykrikoides* IS-ND69株(2003年の8月に諫早湾の海水中から分離)は岩滝光儀博士(長崎大学環東シナ海海洋環境資源研究センター)から譲受した。以上4株はいずれもピペット洗浄法および泳がせ法<sup>91)</sup>によってバクテリアによる汚染を最小限に抑えたクローン株である。供試株の保存および実験培地にはESM<sup>92)</sup>を用いた。

**増殖に及ぼす水温と塩分の影響** 実験は水温を10, 12.5, 15, 17.5, 20, 22.5, 25, 27.5, 30, 32.5℃の10段階、塩分は16, 20, 24, 28, 32, 36の6段階とし、それらを組み合わせると計60通りに設定した。塩分は1995年7月に五島西沖約60 km (32° 55.5'N, 128° 15.5'E) で採取した表層水をGF/Cフィルターを用いてろ過し、基礎海水(塩分34.4)とし、これを超純水で希釈、あるいは50℃の恒温器を用いた加温濃縮によって調整した。培養はガラス製の試験管(φ15×150 mm)に培地を5 mL入れ、オートクレーブ滅菌後(120℃, 20 min.)に、保存培地で対数増殖期後期まで前培養された各株を100 cells mL<sup>-1</sup>の密度になるように実験培地へ接種し、3本立て、バッチ培養法で、光強度80 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, 14時間明, 10時間暗の明暗サイクルの条件下で行った。なお、前培養

条件は水温を17.5, 22.5, 27.5℃, 塩分を28とした。培養温度は1日に1~2.5℃ずつ上昇あるいは下降させ、0~2日までの3日間で各実験温度へ移行した。塩分は28から各設定条件へ直接移行した。細胞密度は実験開始後2日おきに培養液の一部を採取し、界線入りスライドガラスを用いて直接計数し、片対数グラフにプロットし、その直線部分である対数増殖期について最小二乗法により比増殖速度( $\mu$ ; day<sup>-1</sup>)を求めた。また、定常期の最高細胞密度から初期細胞密度を差し引いた値を最終細胞収量(cells mL<sup>-1</sup>)とした。

**諫早湾における有害赤潮の発生環境** 上記培養実験から得られる各試験藻の増殖特性と諫早湾におけるこれらの発生状況および発生環境の関係を検討した。検討に当たっては、長崎県南水産業普及指導センターおよび長崎県総合水産試験場によって実施された本湾における現場赤潮調査<sup>154,155,156)</sup>で得られたデータの一部を利用した。

## 結 果

***Chattonella antiqua*** 各水温・塩分条件における04A3株の最終細胞収量および比増殖速度をFig. 44に示す。10~12.5℃ではすべての塩分で増殖がみられなかった。15℃では、塩分16~28で増殖し、最終細胞収量は53~167 cells mL<sup>-1</sup>, 比増殖速度は0.09~0.11 day<sup>-1</sup>であった。17.5~32.5℃では、すべての塩分で増殖が認められ、得られた最終細胞収量は0.180×10<sup>3</sup>~37.9×10<sup>3</sup> cells mL<sup>-1</sup>, 比増殖速度は0.23~0.99 day<sup>-1</sup>の範囲にあった。最大比増殖速度(0.99 day<sup>-1</sup>)は30℃, 塩分28の条件で得られた。

***Chattonella marina*** 各水温・塩分条件における04A1株の最終細胞収量および比増殖速度をFig. 45に示す。10℃ではすべての塩分で増殖がみられなかった。12.5℃では、塩分20でのみ増殖し、最終細胞収量は87 cells mL<sup>-1</sup>, 比増殖速度は0.13 day<sup>-1</sup>であった。15~32.5℃では、すべての塩分で増殖が認められ、得られた最終細胞収量は0.64×10<sup>3</sup>~40.9×10<sup>3</sup> cells mL<sup>-1</sup>, 比増殖速度は0.14~0.83 day<sup>-1</sup>の範囲にあった。最大

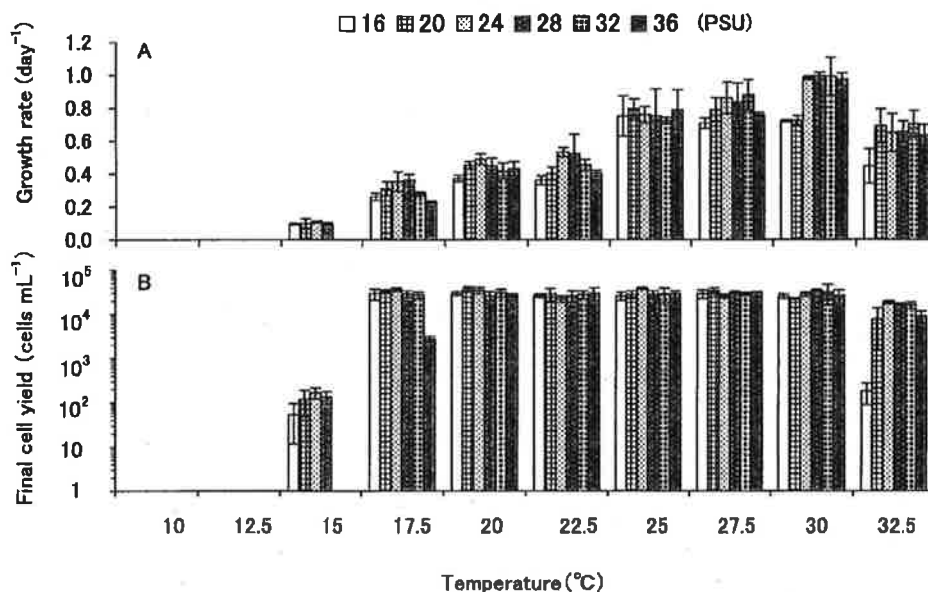


Fig. 44. Growth rate (A) and final cell yield (B) of *Chattonella antiqua* at different temperature and salinity combinations.

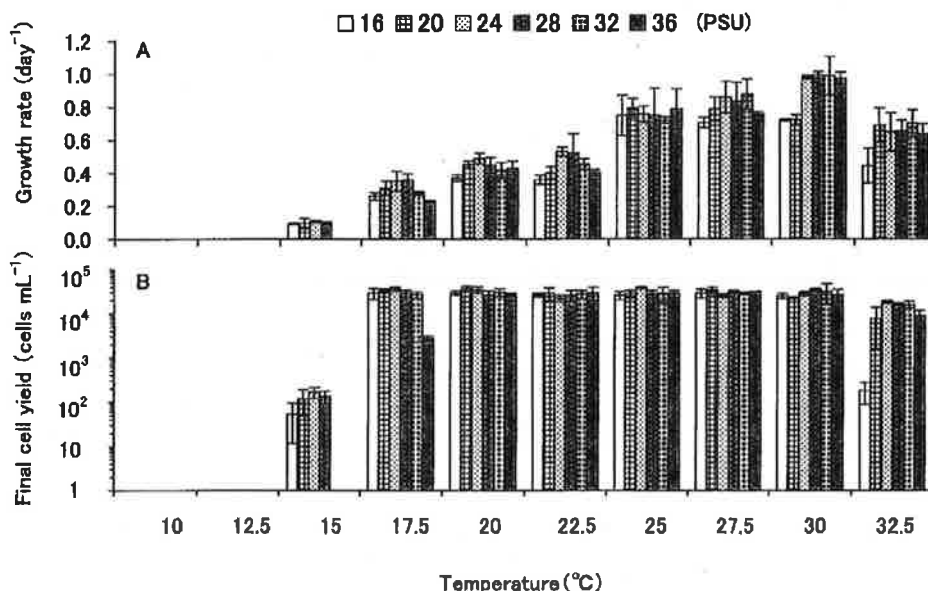


Fig. 45. Growth rate (A) and final cell yield (B) of *Chattonella marina* at different temperature and salinity combinations.

比増殖速度 ( $0.83 \text{ day}^{-1}$ ) は  $30^\circ\text{C}$ 、塩分24の条件で得られた。

*Heterosigma akashiwo* 各水温・塩分条件における04A2株の最終細胞収量および比増殖速度を Fig. 46 に示す。すべての水温、塩分の組み合わせで増殖が認められ、最終細胞収量は  $54.6 \times 10^3 \sim 118 \times 10^3 \text{ cells mL}^{-1}$ 、比増殖速度は  $0.41 \sim 1.14 \text{ day}^{-1}$  の範囲にあっ

た。最大比増殖速度 ( $1.14 \text{ day}^{-1}$ ) は  $25^\circ\text{C}$ 、塩分24の条件で得られた。

*Cochlodinium polykrikoides* 各水温・塩分条件における IS-ND69株の最終細胞収量および比増殖速度を Fig. 47 に示す。 $10^\circ\text{C}$  では、塩分28～32で増殖し、最終細胞収量は  $27 \sim 53 \text{ cells/mL}$ 、比増殖速度は  $0.04 \sim 0.05 \text{ day}^{-1}$  であった。 $12.5^\circ\text{C}$  では、塩分16～32で増



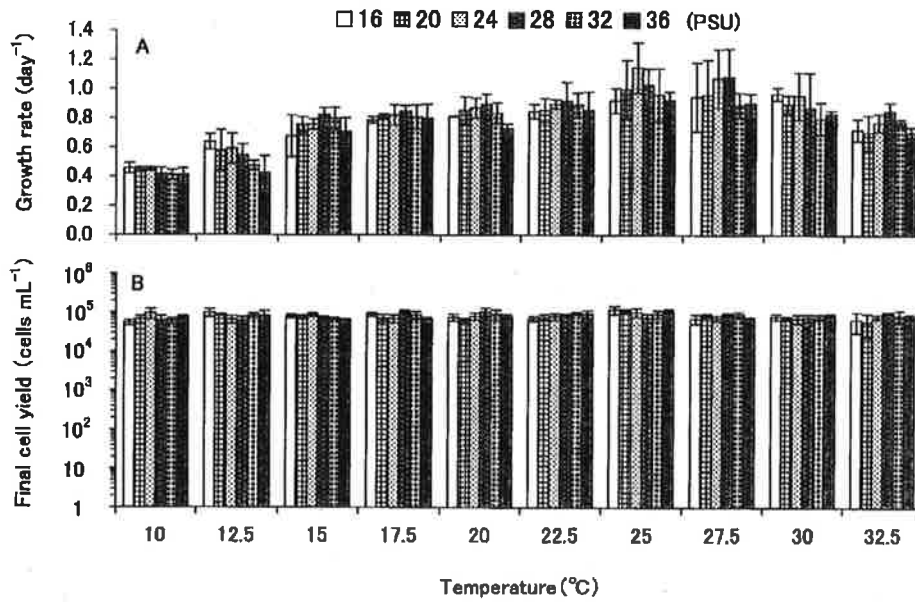


Fig. 46. Growth rate (A) and final cell yield (B) of *Heterosigma akashiwo* at different temperature and salinity combinations.

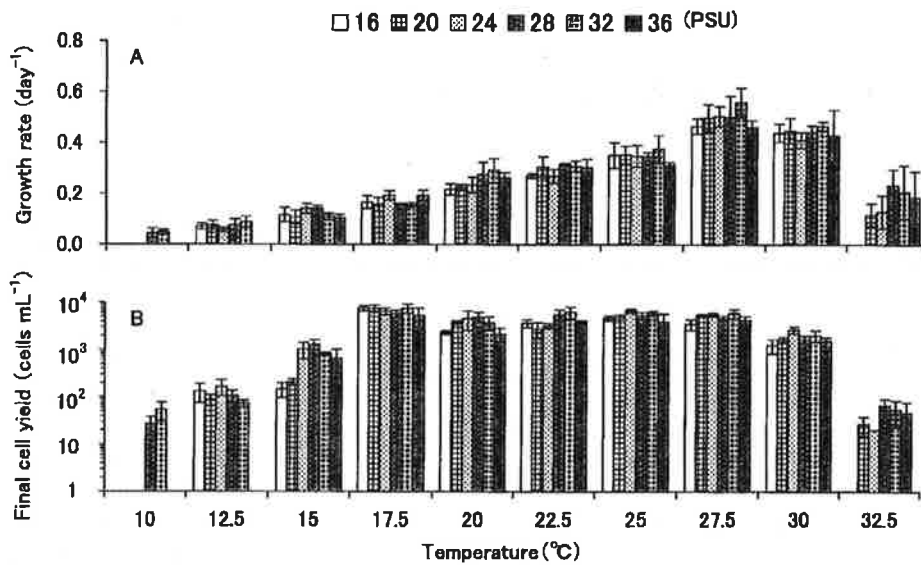


Fig. 47. Growth rate (A) and final cell yield (B) of *Cochlodinium polykrikoides* at different temperature and salinity combinations.

殖し、最終細胞収量は73~133 cells mL<sup>-1</sup>、比増殖速度は0.06~0.09 day<sup>-1</sup>であった。15~30°Cではすべての水温、塩分の組み合わせで増殖が認められ、最終細胞収量は147~7.57×10<sup>3</sup>、比増殖速度は0.10~0.56 day<sup>-1</sup>の範囲にあった。32.5°Cでは、塩分20~36で増殖し、最終細胞収量は20~67 cells mL<sup>-1</sup>、比増殖速度は0.12~0.23 day<sup>-1</sup>であった。最大比増殖速度

(0.56 day<sup>-1</sup>)は27.5°C、塩分32の条件で得られた。

## 考 察

被害を与える細胞密度までの増殖環境 4種鞭毛藻が室内実験で増殖した水温範囲は、*C. antiqua*が15~32.5°C、*C. marina*が12.5~32.5°C、*H. akashiwo*

および *C. polykrikoides* が10~32.5℃, 塩分範囲は  
いずれも16~36であったことから, これら4種は広い  
温度・塩分において増殖可能な生理的特性を有して  
いることが明らかとなった。

*C. antiqua* および *C. marina* が養殖ハマチを斃死  
させる細胞密度は300 cells mL<sup>-1</sup>以上とされる<sup>157)</sup>。今  
回の室内実験で最終細胞収量が300 cells mL<sup>-1</sup>以上得  
られたのは, *C. antiqua* が17.5~32.5℃, *C. marina*  
が15~32.5℃であった。また, *C. marina* がアサリ  
の生残に影響を及ぼす細胞密度は2.5×10<sup>4</sup>cells mL<sup>-1</sup>  
とされる<sup>151)</sup>。室内実験で *C. marina* 最終細胞収量が  
2.5×10<sup>4</sup>cells mL<sup>-1</sup>以上得られたのは17.5~30℃であっ  
た。*H. akashiwo* が養殖ハマチを致死させる細胞密  
度は数万 cells mL<sup>-1</sup>とされる<sup>158)</sup>。室内実験で得られた  
*H. akashiwo* 最終細胞収量は水温10~32.5℃で, 54.6  
×10<sup>3</sup>~118×10<sup>3</sup>cells mL<sup>-1</sup>となった。*C. polykrikoides*  
は500 cells mL<sup>-1</sup>程度 (450~865cells mL<sup>-1</sup>) で養殖  
ヒラマサ, ハマチ, トラフグを斃死させている<sup>159)</sup>。

室内実験で得られた *C. polykrikoides* 最終細胞収量  
は水温15~30℃で, 0.147×10<sup>3</sup>~7.57×10<sup>3</sup>cells mL<sup>-1</sup>  
であった。従って, これら4種鞭毛藻は広い温度範囲  
で魚類あるいは貝類の生残に影響を及ぼす細胞密度  
まで増殖することが可能である。

比増殖速度と現場出現環境 4種の水溫・塩分に対  
する比増殖速度をFig. 48に, 1994~2004年に諫早湾  
で4種の出現した現場の水溫, 塩分値をFig. 49に示  
す。*C. antiqua* 出現時の現場水溫は23.6~33.1℃,  
塩分は18.40~35.93であり, ほぼ室内実験で比増殖速  
度が0.7 day<sup>-1</sup>以上となる水溫25~32.5℃, 塩分16~  
36の範囲内にあった。*C. antiqua* が1,000 cells mL<sup>-1</sup>  
以上出現した時の水溫は26.6~33.1℃, 塩分は18.40  
~35.93にあり, 比増殖速度が0.8 day<sup>-1</sup>以上と高くな  
る水溫27.5~30℃, 塩分20~36の範囲に一致する場  
合が多い。このことは *C. antiqua* が高水溫時, 広  
い塩分範囲で短期間に高密度増殖する特性を有して  
いることを意味している。*C. marina* 出現時の現場

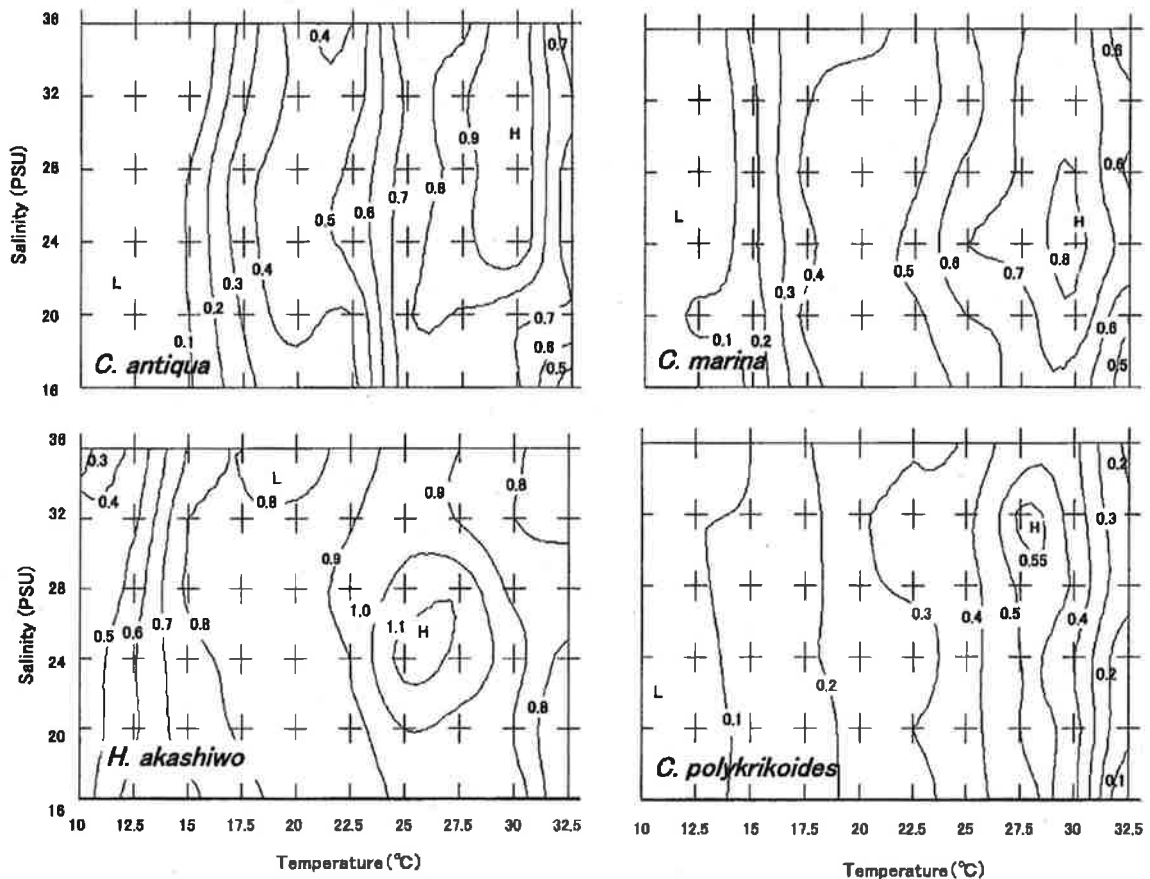


Fig. 48. Growth rate (day<sup>-1</sup>) of four phytoplankton.

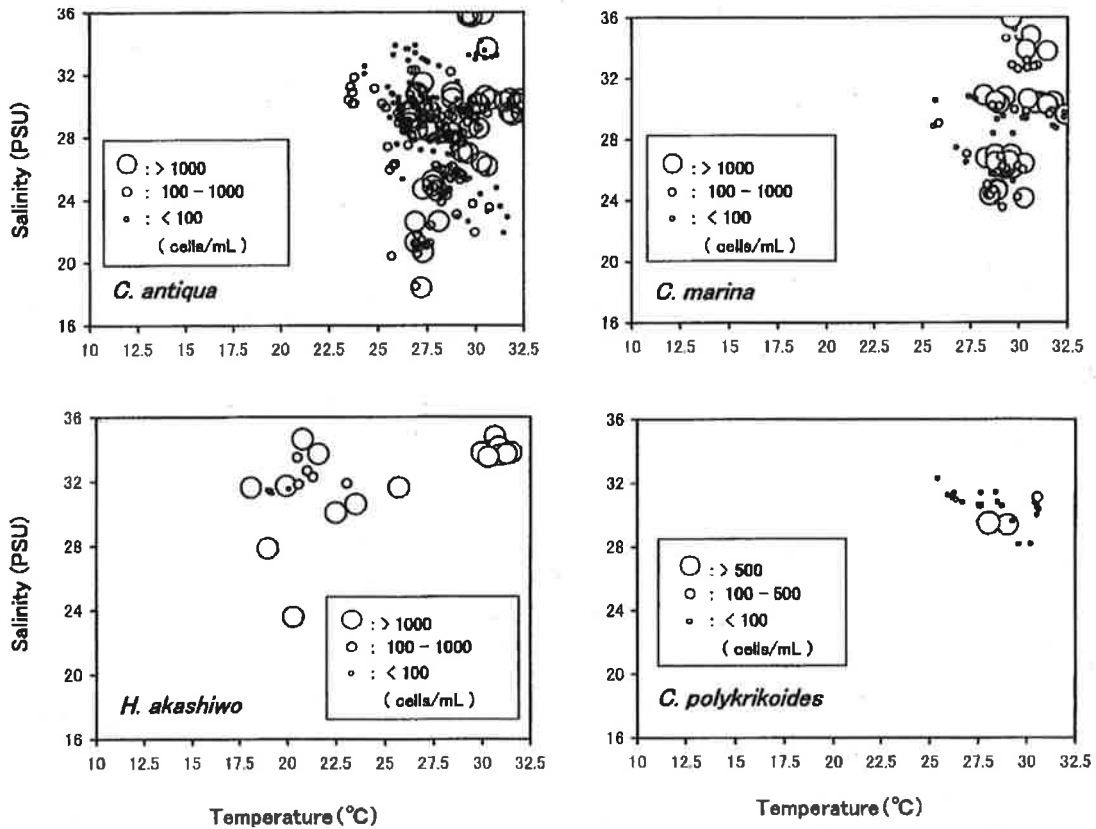


Fig. 49. Relationship among abundance of four phytoplankton, water temperature and salinity in Isahaya Bay during 1994-2004.

水温は25.6~33.1℃, 塩分は23.39~35.93にあり, ほぼ比増殖速度が $0.6 \text{ day}^{-1}$ 以上となる水温25~32.5℃, 塩分16~36の範囲内にあった。*C. marina* が $1,000 \text{ cells mL}^{-1}$ 以上出現した時の水温は28.2~32.7℃, 塩分は24.13~35.93にあり, 比増殖速度が $0.7 \text{ day}^{-1}$ 以上と高くなる水温27.5~32.5℃, 塩分20~36の範囲に一致する場合が多い。このことから *C. marina* は *C. antiqua* と同様に高水温時, 広い塩分範囲で短期間に高密度増殖する特性を有しているといえる。*H. akashiwo* 出現時の現場水温は18.1~33.1℃, 塩分は23.60~34.78にあり, ほぼ比増殖速度が $0.8 \text{ day}^{-1}$ 以上となる水温15~32.5℃, 塩分16~36の範囲内にあった。*H. akashiwo* が $1,000 \text{ cells mL}^{-1}$ 以上出現した時の水温は18.1~31.5℃, 塩分は23.60~34.78にあり, *Chattonella* で観察されたような出現時の細胞密度差と出現環境との関係はみられなかった。また, 至適増殖環境 (比増殖速度 $1.0 \text{ day}^{-1}$ 以上を示す水温, 塩分環境) に相当する水塊の形成は今のところ観察され

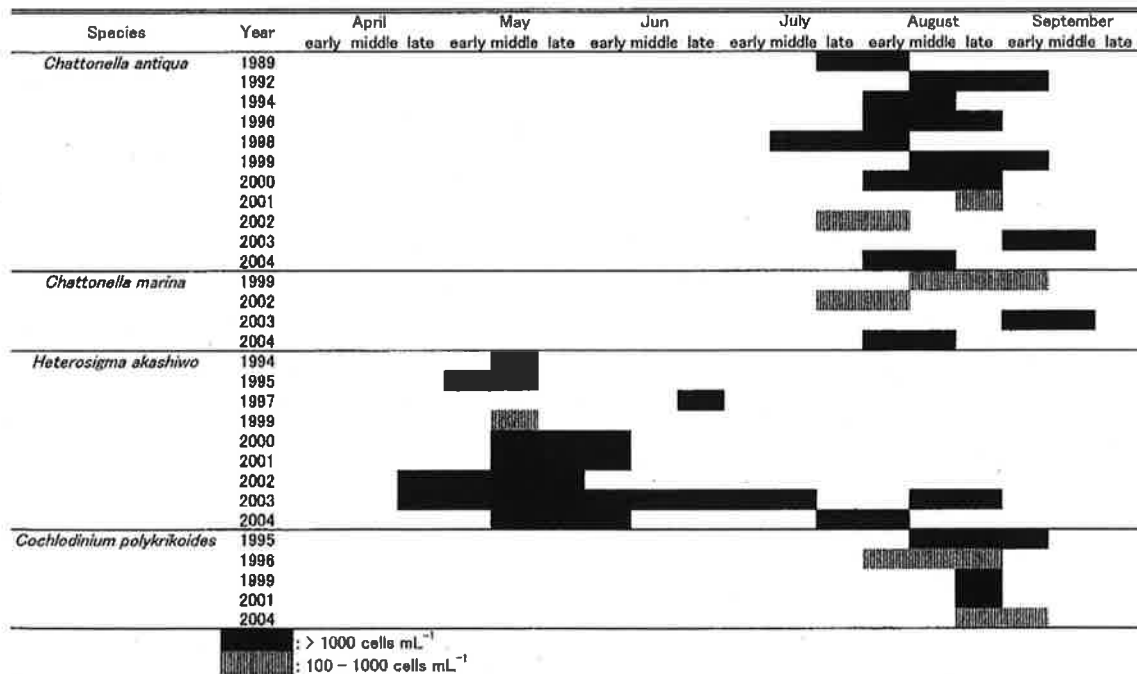
ていない。このことから *H. akashiwo* は *Chattonella* と比較して広い水温, 塩分範囲で高密度に増殖できる特性を有していると考えられる。*C. polykrikoides* 出現時の現場水温は25.2~30.5℃, 塩分は27.88~32.22にあり, ほぼ比増殖速度が $0.4 \text{ day}^{-1}$ 以上となる水温25~30℃, 塩分16~36の範囲内にあった。*C. polykrikoides* が $500 \text{ cells mL}^{-1}$ 以上出現した時の水温は27.9~29.0℃, 塩分は29.33~29.36にあり, ほぼ比増殖速度が $0.55 \text{ day}^{-1}$ 以上となる水温27.5℃, 塩分28~32 (至適増殖環境) とよく一致した。このことから *C. polykrikoides* は高水温, 高塩分条件で短期間に高密度増殖する特性を有していると考えられる。以上から, 諫早湾産有害種4種の最適水温・塩分特性を比較すると, *C. antiqua* および *C. marina* は高水温・広塩分型, *H. akashiwo* は広水温・広塩分型, *C. polykrikoides* は高水温・高塩分型の増殖特性を有していることが判明した。諫早湾における4種赤潮の近年の発生状況を Table 10に示す。現場海域で

は、*C. antiqua*, *C. marina* および *C. polykrikoides* は7月中旬から9月中旬までの高水温期に赤潮化しているのに対し、*H. akashiwo* は4月下旬から8月下旬までの広い水温範囲において赤潮が確認されている。このことから、*C. antiqua*, *C. marina* および *C. polykrikoides* は高水温期に、*H. akashiwo* は広い水温範囲で高密度増殖し、赤潮を形成していることがわかる。

水温に対する増殖応答—他海域産株との比較 *C. antiqua* 播磨灘産株<sup>160)</sup>は15~28℃で増殖、25℃で最大増殖速度を示し、10℃および31℃では増殖できない。大阪湾産株では、矢持<sup>163)</sup>は20~30℃で好適増殖、27℃では増殖量が減少、11℃以下で増殖できないとし、山口<sup>160)</sup>は15~30℃で増殖、最適増殖は25℃、10℃で増殖不可能と報告している。これに対して諫早湾産株は15~32.5℃で増殖し、最大比増殖速度は30℃で得られたことから、他海域産株よりも高水温に対する耐性限界がやや大きいと考えられた。*C. marina* 大阪湾産株は21~30℃で好適増殖、31℃で増殖量減少、13℃以下で増殖できない<sup>163)</sup>。周防灘産株は15~30℃で増殖、最適増殖は25℃、10℃で増殖

不可能である<sup>163)</sup>。鹿児島湾産株<sup>161)</sup>は17.5~27.5℃で増殖、適温は22.5℃、15℃あるいは30℃でほとんど増殖がみられないと報告されている。諫早湾産株は12.5~32.5℃で増殖し、最大比増殖速度は30℃で得られたことから、他海域産株に比べ低水温と高水温に対する耐性限界が大きく、*C. marina* も *C. antiqua* と同様により高水温で高い増殖能を示すものと判断された。また、諫早湾産の *C. antiqua* と *C. marina* が10℃で増殖できないことは、冬季水温が9~10℃まで低下する諫早湾<sup>140)</sup>では、これらの *Chattonella* 両種は遊泳細胞の状態では越冬できないことを意味している。今井<sup>91)</sup>は *Chattonella* はシストの状態では越冬し、11℃以下で成熟、15~30℃で発芽するとしている。従って、諫早湾産 *Chattonella* 両種は同湾の海洋環境によく適応した生活様式を保有していると考えられる。*H. akashiwo* 大阪湾産株では、矢持<sup>163)</sup>は概ね10~30℃で増殖し、好適増殖は18~26℃、最適増殖は22℃であり、30~31℃以上で増殖が抑制されるとし、Watanabe *et. al.*<sup>93)</sup>は15~25℃で最適増殖、10℃および30℃では増殖速度が急激に減少すると報告している。鹿児島湾産株<sup>162,163)</sup>は15~30℃で増

Table 10. Recent red tide occurrences and their periods of four phytoplankton in Isahaya Bay



殖し、最適増殖は20~25℃と報じられている。諫早湾産株は10~32.5℃で増殖し、最大比増殖速度は25℃で得られたことから、他海域産株に比べ高水温における耐性限界がより高水温側にシフトしていると判断された。特に、30~32.5℃の高水温でも高い増殖速度(0.70~0.97 day<sup>-1</sup>)を示すことがわかった。また、本株は10℃で増殖可能であったことから、諫早湾では *H. akashiwo* は遊泳細胞の状態でも越冬可能と考えられる。今井らは *H. akashiwo* はシストを形成し<sup>164)</sup>、5℃では発芽しないが10℃で僅かに発芽すると報告している<sup>165)</sup>。従って、諫早湾における *H. akashiwo* の越冬様式については2つの可能性があると考えられる。*C. polykrikoides* 古江湾産株<sup>52)</sup>は15~30℃で増殖、25℃で最高の増殖速度を示し、八代海産株は15~30℃で増殖、25℃で最も増殖が促進され<sup>53)</sup>、韓国産株では10~31℃で増殖、22~25℃の水温で最もよく成長すると報じられている<sup>54)</sup>。伊万里湾産株<sup>73)</sup>は15~30℃で増殖、最適増殖条件は27.5℃である。浅茅湾および青方湾産株は12.5~30℃、奈摩湾産株は10~30℃で増殖、最適増殖条件はいずれも27.5℃である<sup>100)</sup>。諫早湾産株は10~32.5℃で増殖し、最大比増殖速度は27.5℃で得られたことから、他海域産株に比べ低水温と高水温に対する耐性限界がやや大きく、より高水温で高い増殖能を示すものと判断された。本株は10℃で増殖できることから、諫早湾では *C. polykrikoides* も *H. akashiwo* と同様に遊泳細胞の状態でも越冬可能と考えられる。

まとめ 諫早湾産有害赤潮種4種の増殖特性には若干の相違がみられ、*C. antiqua* および *C. marina* が高水温・広塩分型、*H. akashiwo* が広水温・広塩分型、*C. polykrikoides* が高水温・高塩分型の最適増殖特性を保有するが、共通の特徴としては、広水温、広塩分の環境条件で増殖する潜在能力を持ち、特に、高水温期には短期間に高密度増殖する特性を有していると考えられる。従って、諫早湾では今後も、夏季高水温期を中心にこれら4種が赤潮を形成する可能性がきわめて高いと判断される。また、赤潮終期にプランクトンの死骸が沈降すると、特に高水温時の底層では貧酸素の形成を促進し、ひいては硫

化水素発生を促す可能性がある。今後、移設、給餌制限等が難しいアサリ等浅海定着性底生生物の被害防止・軽減のため、これら有害種が赤潮を形成する可能性が高い高水温時には、モニタリングを強化することによって初期発生段階を把握し、有効と考えられる対策(物理的細胞破壊による赤潮駆除法<sup>166)</sup>等)を講ずる必要がある。

## 第6章 総合考察

九州沿岸域に分布する赤潮原因生物のうち、漁業被害をもたらす代表的な有害種としては渦鞭毛藻 *Cochlodinium polykrikoides*, *Heterocapsa circularisquama*, *Karenia mikimotoi*, ラフィド藻 *Chattonella antiqua*, *Chattonella marina*, *Heterosigma akashiwo* がある。特に九州では、*C. polykrikoides* による赤潮は養殖魚類の大量斃死を引き起こすことで知られ、それによる漁業被害額(1999年伊万里湾では約8億円、2000年八代海では約40億円など)は他の有害赤潮種の被害に比べて顕著に大きい。*C. polykrikoides* の赤潮による漁業被害の軽減・防除を行うためには、その出現・増殖機構を解明することが重要な課題とされてきた。しかし、*C. polykrikoides* は培養が困難であるとの理由から本種の増殖特性に関しては数例の報告を除き、ほとんど研究がなされていない。また、周年の生活様式に関しては、これまで遊泳細胞の状態での越冬と休眠シストの形成の可能性が指摘されているが、現状では的確な情報がきわめて少ない。

以上の背景から、本研究では、*C. polykrikoides* の出現・増殖機構の解明のための基礎情報を取得することを主目的とした。長崎県沿岸域を現場海域とし、*C. polykrikoides* の出現特性の解析を目的に、伊万里湾および薄香湾における現場調査に基づき、遊泳細胞の年間の出現状況と環境条件との関連を調べた。また、室内実験によって水温、塩分および光強度に対する本種の増殖特性を明らかにした。さらに、*C. polykrikoides* と競合関係にある *H. circularisquama*, *K. mikimotoi*, *C. antiqua*, *C. marina*, *H. akashiwo* の増殖特性を明らかにした。加えて、*H. circularisquama*

については、二枚貝に及ぼす影響についても調べた。本研究によって得られた成果の概要を以下に要約する。

1. 現場海域における夏季の *C. polykrikoides* の消長機構を把握するため、伊万里湾内の鷹島浦下地先で、1999年7月30日から8月12日にかけて、*C. polykrikoides* の赤潮発生時とその前後の出現状況と本種出現時の環境要因を調べた。本種赤潮発生時に分離した培養株を用いた培養実験を行い、増殖に及ぼす水温、塩分の影響をあわせて調べた。1999年伊万里湾における本種赤潮の特徴として、細胞数が短期間に顕著に増加したことが確認された（5日間で626倍増）。このことが、甚大な漁業被害をもたらした最大の要因と考えられた。本種赤潮発生時の現場表層水温は、発生前に比べ1.7℃上昇し、平均27.8℃で、このときの塩分は32.6であった。これら両条件は本株の最適条件とほぼ一致した。本株は昇温するにつれて比増殖速度が高くなる傾向があることから、現場で観測された赤潮に至る昇温現象は本種の増殖を加速させた一因となったと考えられた。また、本種赤潮直前の *K. mikimotoi* 赤潮の最高細胞密度を記録した7月30日の表層水温は25.3℃であり、*K. mikimotoi* 増殖の最適温度条件とよく一致していた。その後、*K. mikimotoi* の細胞密度が顕著に減少した8月2日には表層水温は27.1℃に上昇した。これらのことから判断すると、今回のこれら2種の赤潮の消長には、水温変動が大きく関与した可能性が高いと考えられた。短期間での本種赤潮化は、*K. mikimotoi* 赤潮の消滅によって栄養の競合要因がなくなったところに、降雨による栄養供給を受け、水温、塩分が最適条件になったことにより、増殖を加速させた本種は南寄りの風によって鷹島南部海域に集積され、さらに、小潮による滞留効果が加わったことによって引き起こされたと考えられ、複数要因の相乗効果によるものと推察された。
2. 薄香湾において、*C. polykrikoides*、*K. mikimotoi* および珪藻類の出現密度の推移と *C. polykrikoides* 出現時の環境要因を調べた。また、同湾から分離

した培養株を用い、増殖に及ぼす水温、塩分の影響について室内実験を行った。*C. polykrikoides* の出現は2004年2月から2005年3月の14カ月間ほぼ周年にわたって継続的に確認（ $0.1\sim 320\times 10^6$  cells  $L^{-1}$ ）され、高水温期に多く、低水温期に少ない傾向にあった。本種出現時の最低水温は12.3℃であり、薄香湾汐ノ浦地先の表層水温の最低値である12.0℃にはほぼ近い値であったことから、薄香湾では本種は周年にわたって、遊泳細胞の状態で見られるものと考えられた。冬季水温が12℃以上で推移する海域では本種は遊泳細胞の状態で見られると指摘できた。薄香湾では、冬季の最低水温期（水温12.3～12.9℃）における本種遊泳細胞の出現様式は単細胞、2、3、4連鎖の状態で見られると観察された。*C. polykrikoides* と珪藻類および *K. mikimotoi* の間には増殖の競合関係があることが示唆された。昼間 *C. polykrikoides* は5m以浅、*K. mikimotoi* は5～10m層に高密度に分布することが明らかとなった。室内実験の結果、*C. polykrikoides* は低水温（12.5℃）での増殖が可能であった。このような低温耐性をもつ本種薄香湾個体群はやはり遊泳細胞での越冬が可能と考えられる。*C. polykrikoides* が現場で赤潮と視認される細胞密度はおおよそ500 cells  $mL^{-1}$ 以上である。本実験株2株は17.5～30℃、塩分16～36の範囲で共通して細胞最終収量が867 cells  $mL^{-1}$ 以上であったことから、17℃程度の水温でも赤潮を形成する増殖能を有していると考えられた。従って、*C. polykrikoides* は冬季水温が12℃以上で推移する薄香湾において、遊泳細胞の状態で見られると推察され、冬季（17℃程度）でも赤潮を形成する増殖能を有し、高水温（25～27.5℃程度）、高塩分（28～32）条件では短期間に高密度に増殖する可能性が高いと判断された。

3. 西九州沿岸の3海域から分離した *C. polykrikoides* 培養株4株を用い、増殖に及ぼす水温、塩分および光強度の影響について室内実験を行った。その結果、西九州産 *C. polykrikoides* は水温、塩分を個別要素としてみた場合、10～30℃、塩分16～36

の範囲で増殖が可能であることから広温性・広塩性種であることが明らかとなった。特に、17.5~30℃、塩分16~36の範囲においては、4株に共通して細胞最終収量が $1.00 \times 10^9$  cells mL<sup>-1</sup>を越えることから赤潮を形成する増殖能を有していると考えられた。4株の比増殖速度の平均値を西九州沿岸域における本種の比増殖速度として、過去の現場環境との関係について検討した。本種が1,000 cells mL<sup>-1</sup>以上出現した時の水温は26.0~30.4℃、塩分は29.36~35.21の範囲あり、培養実験で比増殖速度が0.55 day<sup>-1</sup>以上と顕著に高くなる27.5℃、塩分28~36と一致したことから、本種は高水温、高塩分の条件下で大規模な赤潮を形成する特性を有していることがわかった。また、本実験結果から本種は10℃でも増殖可能であることが明らかとなった。本実験供試株産地周辺で記録された冬季最低水温は、奈摩湾（冷水地先）で12.8℃浅茅湾（辺田島地先）で12.1℃であることから、これらの海域では本種は遊泳細胞の形態で越冬できる可能性が示唆された。本種の水温に関する増殖特性についてこれまでの報告をみると、古江湾産株、八代海産株は25℃であり、本種西九州産株が最適増殖する水温は25~27.5℃であると考えられた。光強度に対する増殖実験結果から、西九州沿岸域における本種の $\mu_m$ は0.54 day<sup>-1</sup>、 $K_s$ は29.2  $\mu$ mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>、 $I_0$ は4.5  $\mu$ mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>であった。今回求めた $K_s$ と $I_0$ 値および赤潮形成可能光強度（20  $\mu$ mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>）を現場海域に適用したところ、本種は8.7 m程度でも増殖が可能であり、5.2~5.9 m以浅では赤潮を形成する増殖能を有すると推測された。本種が現場海域で赤潮を形成する条件は水深5.9 m以浅、12.5~30℃、塩分16~36であり、特に27.5℃、塩分28~32付近では短期間で高濃度に赤潮を形成する可能性を指摘できた。

4. 東九州大分県猪串湾から2004~2005年に分離した本種培養株を用い、増殖に及ぼす水温、塩分の影響について室内実験を行った。猪串湾産 *C. polykrikoides* 株は水温、塩分を個別要素としてみた場合、10℃あるいは12.5℃~30℃、塩分16~

36の範囲で増殖が可能であることから広温性・広塩性種であると考えられた。15~30℃では2株に共通して細胞最終収量が $1.00 \times 10^9$  cells mL<sup>-1</sup>を越えることから本種は赤潮を形成する可能性が高いと考えられた。東九州産本種の水温・塩分に関する最適増殖条件については、25℃と塩分28であった。本株は低水温（10℃）での増殖が可能であった。猪串湾森崎地先で記録された1998~2003年における冬季最低水温は15℃を下回ることがないことから、この海域では本種は遊泳細胞の状態で越冬できる可能性が示唆された。

5. *C. polykrikoides* と競合関係にあると考えられる *H. circularisquama* について、長崎県大村湾で分離した培養株が貝類斃死をもたらす細胞密度を把握し、また、本株の増殖に及ぼす水温、塩分および光強度の影響を明らかにした。さらに、長崎県沿岸域で貝類養殖が行われている海域を中心に、本種の出現動態を正確に把握するため、細胞表面の鱗片形態に基づいて種同定を行い、本種の分布についても知見を得た。大村湾ではアコヤガイ等の二枚貝の養殖が行われているが、漁業被害は報告されていないことから、本種大村湾株は無毒あるいは毒性が低いのではないかと推察されていた。しかし、今回の暴露実験によって、本種は1,000~10,000 cells mL<sup>-1</sup>でアコヤガイおよびアサリに対する毒性を有していることが明らかとなった。培養実験に基づくと、大村湾株は水温、塩分を個別要素としてみた場合には12.5~30℃、塩分16~36の範囲で増殖が可能であることから、広温性・広塩性であるといえる。15℃の塩分36、17.5℃の塩分24~36、20~30℃の塩分16~36の範囲では、最終細胞収量が700 cells mL<sup>-1</sup>を越えることから、これらの条件下では、本株は赤潮形成能を有していると考えられる。本株の比増殖速度は、水温、塩分が高いほど比増殖速度が大きく、最大比増殖速度は30℃、塩分32の条件で得られた。大村湾株の比増殖速度と過去の本種出現環境との関係について検討したところ、本種は17.7~30.2℃、塩分は20.75~33.86の範囲で観察され、500 cells mL<sup>-1</sup>

以上の密度で本種が観察された時の水温は26.5～30.0℃、塩分は21.50～32.16の範囲にあり、比増殖速度が0.8 day<sup>-1</sup>以上と高くなる条件(27.5～30℃、塩分20～36)とほぼ一致した。

本種培養株の光強度に対する各パラメーターは、 $\mu_m$ は0.86 day<sup>-1</sup>、 $K_s$ は24.0  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、 $I_0$ は15.5  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ であり、比増殖速度は80  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ で飽和することが明らかとなった。現場で本種が700 cells mL<sup>-1</sup>以上確認された時の水深は5 m以浅であったことから、本種は5 m付近の中層域でも赤潮を形成することが可能であると推測された。室内実験および現場赤潮調査から、本種は高水温、高塩分を好み、水温30℃、塩分28～32で最もよく増殖し、水深5 m以浅において高密度の赤潮を形成する可能性を指摘することができた。今回の分布調査では、*H. circularisquama*が大村湾、伊万里湾、橋湾に出現することが確認された。

6. *C. polykrikoides* と競合関係にあると考えられる大村湾産 *Karenia mikimotoi* 培養株を用い、増殖に及ぼす水温と塩分の影響について室内実験を行った。*K. mikimotoi* が室内実験で増殖した水温範囲は7.5～30℃、塩分範囲は16～36であったことから、本種は広い温度・塩分において増殖可能な生理的特性を有していることが明らかとなった。本種出現時の現場水温は19.5～31.0℃、塩分は24.40～34.42であり、ほぼ室内実験で比増殖速度が0.4 day<sup>-1</sup>以上となる水温17.5～30℃、塩分16～36の範囲内にあった。至適増殖環境(比増殖速度0.5 day<sup>-1</sup>以上を示す水温、塩分環境)に相当する本種高細胞密度水塊の形成が多く観察されていることから本種は広い水温、塩分範囲で高密度に増殖する特性を有しており、高水温条件(25～30℃)ではその特性が顕著になると考えられた。本株は7.5℃の低水温でも増殖可能であった。この水温は大村湾中央部における冬季最低水温(7.6℃)にほぼ近いこと、冬季の大村湾で本種遊泳細胞が確認されていることから、本種は遊泳細胞の状態で越冬する可能性があると考えられた。

7. 諫早湾産有害赤潮鞭毛藻4種について、水温と塩

分に対する増殖応答実験を行った。*Chattonella antiqua* は15～32.5℃、*C. marina* は12.5～32.5℃、*Heterosigma akashiwo* と *Cochlodinium polykrikoides* は10～32.5℃で増殖した。増殖可能な塩分範囲は4株に共通して、16～36であった。最大比増殖速度とそれを与える水温・塩分の組み合わせは、*C. antiqua* は0.99 day<sup>-1</sup> (30℃、塩分32)、*C. marina* は0.83 day<sup>-1</sup> (30℃、塩分24)、*H. akashiwo* は1.14 day<sup>-1</sup> (25℃、塩分24)、*C. polykrikoides* は0.56 day<sup>-1</sup> (27.5℃、塩分32)であった。これら4株は既知の他海域産株に比べ、より高水温側に耐性限界を持つと考えられた。諫早湾産の *C. antiqua* と *C. marina* が10℃で増殖できないことは、冬季水温が9～10℃まで低下する諫早湾では、これらの *Chattonella* 両種は遊泳細胞の状態では越冬できないと判断された。諫早湾では *C. polykrikoides* と *H. akashiwo* は遊泳細胞の状態では越冬可能と考えられた。諫早湾産有害赤潮種4種の増殖特性には若干の相違がみられ、*C. antiqua* および *C. marina* が高水温・広塩分型、*H. akashiwo* が広水温・広塩分型、*C. polykrikoides* が高水温・高塩分型の最適増殖特性を保有するが、共通の特徴としては、広水温、広塩分の環境条件で増殖する潜在能力を持ち、特に、高水温期には短期間に高密度増殖する特性を有していると考えられた。

本研究において、*C. polykrikoides* の増殖生理特性や周年の生活様式が明らかとなった。つまり、本種は広い増殖可能範囲(水温10～32.5℃、塩分16～36)をもち、高水温(25～27.5℃)・高塩分(28～36)条件で最適増殖する特性を有する生物であると指摘できる。このような本種の増殖特性と本種赤潮発生前後の現場調査結果に基づき、本種赤潮の発生過程を想定すると、本種は遊泳細胞の状態(単細胞～4連鎖)で越冬し、温度上昇に伴って細胞密度を増大させていき、夏季小雨時には短期間に高密度増殖して、競合種(珪藻類、*K. mikimotoi*)が少ないこと、海水交換が少ないこと、適度な栄養供給があること、一定方向の風に



よる集積があることなどの条件が整った場合に、最大比増殖速度 ( $0.6 \text{ day}^{-1}$ 程度) に近い状態で細胞密度を飛躍的に増大させ、昼間には5 m以浅の水深で赤潮を形成するものと考えられる。

このように予想される *C. polykrikoides* の赤潮に対して、その発生を初期段階で把握し、漁業被害を最小限に抑制することが最も重要なことである。*C. polykrikoides* による赤潮とそれに伴う漁業被害は依然として養殖現場で発生し続けている。従って、本研究によって得られた基礎情報の一部は、本論文の取りまとめを待たず、既に現場(伊万里湾など長崎県沿岸海域)へ周知され、それを基に養殖現場での漁場監視が強化される体制が構築され、漁業被害を軽減する成果をあげている(Fig. 50)。今後は現場での検証を重ねながら、さらに精度の高い本種赤潮予察手法を開発する必要がある。

## 摘 要

九州沿岸域で漁業被害をもたらす代表的な有害種としては渦鞭毛藻 *Cochlodinium polykrikoides*, *Heterocapsa circularisquama*, *Karenia mikimotoi*, ラフィド藻 *Chattonella antiqua*, *Chattonella marina*, *Heterosigma akashiwo* がある。特に *C. polykrikoides* による赤潮は養殖魚類の大量斃死を引き起こすことで知られ、それによる漁業被害額(1999年伊万里湾で約8億円, 2000年八代海で約40億円)は他の有害種の被害に比べ顕著に大きい。*C. polykrikoides* 赤潮による漁業被害の軽減・防除を行うためには、その出現・増殖機構を解明することが重要である。しかし、*C. polykrikoides* は培養が困難であることから増殖特性に関してはほとんど研究がなされていない。また、周年の生活様式に関しては、これまで遊泳細胞の状態での越冬と休眠シストの形成の可能性が指摘されているが、現状では的確な情報がきわめて少ない。

本研究では、*C. polykrikoides* の出現・増殖機構の解明のための基礎情報を取得することを主目的とし



Fig. 50. Nagasaki News Paper reported prevention strategy from *C. polykrikoides* red tide in aquaculture area in Imari Bay.

た。長崎県沿岸域を現場海域とし、*C. polykrikoides* の出現特性の解析を目的に、伊万里湾及び薄香湾で現場調査を行い、遊泳細胞の年間の出現状況と環境条件との関連を調べた。また、室内実験によって水温、塩分および光強度に対する *C. polykrikoides* の増殖特性を調べた。さらに、*C. polykrikoides* と競合関係にある *H. circularisquama*, *K. mikimotoi*, *C. antiqua*, *C. marina*, *H. akashiwo* の増殖特性を調べた。*H. circularisquama* については、二枚貝に及ぼす影響も調べた。

1. 現場海域における夏季の *C. polykrikoides* の消長機構を把握するため、伊万里湾で、1999年に *C. polykrikoides* 赤潮発生時とその前後の出現状況と本種出現時の環境要因を調べた。その結果、*K. mikimotoi* 赤潮の消滅によって栄養の競合要因がなくなったところに、降雨による栄養供給を受け、水温、塩分が最適条件になったことにより増殖を加速させた *C. polykrikoides* は、南寄りの風によって鷹島南部海域に集積され、さらに、小潮による滞留効果に加わったことによって赤潮化したと考えられ、複数要因の相乗効果によるものと推察された。
2. 薄香湾において、*C. polykrikoides*, *K. mikimotoi* および珪藻類の出現密度の推移と *C. polykrikoides* 出現時の環境要因を調べた。*C. polykrikoides* の出現は2004年2月から2005年3月の14カ月間ほぼ周年にわたって継続的に確認された。本種出現時の最低水温は12.3℃であり、薄香湾汐ノ浦地先の最低値(12.0℃)に近い値であったことから、薄香湾では本種は周年にわたって、遊泳細胞の状態(単細胞~4連鎖)で存在できるものと考えられた。また、*C. polykrikoides* と珪藻類および *K. mikimotoi* の間には増殖の競合関係があることが示唆された。
3. 西九州沿岸の3海域から分離した *C. polykrikoides* 培養株4株を用い、増殖に及ぼす水温、塩分および光強度の影響について室内実験を行った。その結果、本実験株が増殖した水温範囲は10~30℃、塩分範囲は16~36であったことから、本株は広温

性・広塩性種であることが明らかとなった。本種が現場で1,000 cells mL<sup>-1</sup>以上出現した時の水温、塩分値は、培養実験で比増殖速度が0.55 day<sup>-1</sup>以上と顕著に高くなる27.5℃、塩分28~36と一致したことから、*C. polykrikoides* は高水温、高塩分の条件下で大規模な赤潮を形成する特性を有していることがわかった。光強度実験結果から、本株の半飽和定数 ( $K_s$ ) は29.2  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、閾値 ( $I_0$ ) は4.5  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ であった。求めた  $K_s$  と  $I_0$  値および赤潮形成可能光強度 (20  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) を現場海域に適用したところ、本種は8.7 m程度でも増殖が可能であり、5.2~5.9 m以浅では赤潮を形成する増殖能を有すると推測された。

4. 東九州沿岸大分県猪串湾から分離した *C. polykrikoides* 培養株を用い、増殖に及ぼす水温、塩分の影響について室内実験を行った。本株は10~30℃、塩分16~36の範囲で増殖が可能であった。水温・塩分に関する最適増殖条件については、25℃と塩分28であった。
5. 大村湾産 *H. circularisquama* 株5,000 cells mL<sup>-1</sup> に暴露した場合に、アコヤガイ稚貝は2~3日、アサリは4~6日で100%の個体が斃死し、本株の二枚貝に対する毒性が確認された。本株は12.5~30℃、塩分16~36の範囲で増殖し、比増殖速度は高水温・高塩分ほど高く、最大値は30℃、塩分32の時に0.91 day<sup>-1</sup>であった。本株は弱光の10  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ でも増殖し、比増殖速度は光強度の増加とともに高くなり、80  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ で飽和した。本株の比増殖速度の光強度半飽和定数は24.0  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、閾値は15.5  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ であった。鱗片観察による分布調査の結果、本種は大村湾、伊万里湾および橘湾に出現することが確認された。
6. 大村湾産 *K. mikimotoi* 培養株を用い、増殖に及ぼす水温と塩分の影響について室内実験を行った。*K. mikimotoi* が室内実験で増殖した水温範囲は7.5~30℃、塩分範囲は16~36であった。最大比増殖速度 (0.58 day<sup>-1</sup>) は25℃、塩分24の条件で得られた。
7. 諫早湾産有害赤潮鞭毛藻4種について、水温と

塩分に対する増殖応答実験を行った。*C. antiqua* は15~32.5℃、*C. marina* は12.5~32.5℃、*H. akashiwo* と *C. polykrikoides* は10~32.5℃で増殖した。増殖可能な塩分範囲は4株に共通して、16~36であった。最大比増殖速度とそれを与える水温・塩分の組み合わせは、*C. antiqua* は0.99 day<sup>-1</sup> (30℃, 塩分32)、*C. marina* は0.83 day<sup>-1</sup> (30℃, 塩分24)、*H. akashiwo* は1.14 day<sup>-1</sup> (25℃, 塩分24)、*C. polykrikoides* は0.56 day<sup>-1</sup> (27.5℃, 塩分32)であった。これら4株は既知の他海域産株に比べ、より高水温側に耐性限界を持つと考えられた。

## 謝 辞

本研究を遂行するにあたり、終始懇篤なる御指導と御鞭撻を賜りました長崎大学理事・副学長、環東シナ海海洋環境資源研究センター教授・センター長松岡数充先生に深甚なる感謝の意を表します。また、本論文について、御助言と御校閲の労を賜った長崎大学大学院生産科学研究科 石松 惇教授、小田達也教授に厚く御礼申し上げます。

本論文のとりまとめにあたり、常に適切な御助言と御指導を賜りました長崎大学環東シナ海海洋環境資源研究センター助手 岩滝光儀博士に心より感謝します。

本調査研究に際して御助言と御協力を賜った独立行政法人水産総合研究センター瀬戸内海区水産研究所の山口峰生博士、長崎慶三博士、松山幸彦博士、京都大学大学院助教授今井一郎博士、元広島県水産試験場の高山晴義博士、熊本市役所の松田篤志氏、高知県水産試験場の林芳弘研究員、大分県東国東地方振興局水産課の宮村和良氏に深く感謝します。

学位を取得するにあたって、御理解と御支援を頂いた小坂安廣場長をはじめ長崎県総合水産試験場、水産部、科学技術振興課の方々に感謝します。

本研究に際し、御協力頂いた長崎県総合水産試験場環境養殖技術開発センターに所属しておられた皆様、海洋資源科 高木信夫研究員、調査船ゆめとびの皆様、長崎県各水産業普及指導センターの担当者の

方々、長崎大学環東シナ海海洋環境資源研究センター沿岸環境学研究室(松岡研究室)の皆様に感謝します。

また、現場調査に御尽力頂いた長崎県内漁業協同組合の皆様には御礼申し上げます。

さらに、本研究を進めるにあたり、様々な場面で応援、援護して下さった長崎県水産部 松尾勝樹先輩に改めて御礼申し上げます。

最後に、本研究の進行中からとりまとめに至るまで、問題が生じた場合等、常に御助言・御議論等をしていただきました長崎県総合水産試験場漁場環境科 坂口昌生主任研究員に、深く感謝いたします。

## 参考文献

- 1) 山口峰生. 赤潮. 沿岸の環境圏, フジ・テクノシステム, 東京. 1998; 181-190.
- 2) 岩崎英雄. 赤い海. 赤潮—その発生に関する諸問題—, 海洋出版, 東京. 1976; 9-22.
- 3) 岡市友利. 赤潮現象. 赤潮の科学 (第二版) (岡市友利編) 恒星社厚生閣, 東京. 1997; 5-42.
- 4) 高野秀昭. 赤潮. 赤潮生物研究指針 (日本水産資源保護協会編) 秀和, 東京. 1987; 14-18.
- 5) 今井一郎. 赤潮の発生—海からの警告. 遺伝 2000, 54(9): 30-34.
- 6) 村上彰男. 赤潮とは. 赤潮と富栄養化. 公害対策技術同友会, 東京. 1976; 1-30.
- 7) 福代康夫. 赤潮・貝毒. 沿岸の環境圏, フジ・テクノシステム, 東京. 1998; 466-474.
- 8) 金 大一, 本城凡夫. 八代海における *Cochlodinium polykrikoides* の赤潮. 月刊海洋 2005; 37(1): 40-47.
- 9) 山口峰生. 赤潮プランクトンの増殖生理. 月刊海洋 2000; 号外21: 107-115.
- 10) 今井一郎, 山口峰生, 小谷祐一. 有害有毒プランクトンの生態. 月刊海洋 2000; 号外23: 148-160.
- 11) 環境庁水質保全局瀬戸内海環境保全室. 赤潮発生の歴史の変遷. 赤潮関連資料集, 環境庁水質

- 保全局瀬戸内海環境保全室, 東京. 1988 ; 1-34.
- 12) 水産庁瀬戸内海漁業調整事務所. 瀬戸内海の赤潮. 水産庁瀬戸内海漁業調整事務所, 広島. 1979-2004.
- 13) 水産庁瀬戸内海漁業調整事務所. 瀬戸内海の赤潮－漁業被害編－(昭和45年～平成10年). 水産庁瀬戸内海漁業調整事務所, 広島. 2000.
- 14) 水産庁九州漁業調整事務所. 九州の赤潮. 水産庁九州漁業調整事務所, 福岡. 1982-2004.
- 15) 村上彰男. 富栄養化の抑制. 赤潮－発生機構と対策(日本水産学会編), 水産学シリーズ 34, 恒星社厚生閣, 東京. 1980 ; 86-89.
- 16) 代田昭彦. 赤潮生物の駆除. 赤潮－発生機構と対策(日本水産学会編), 水産学シリーズ 34, 恒星社厚生閣, 東京. 1980 ; 105-123.
- 17) 岡市友利. 魚介類の被害防止策. 赤潮－発生機構と対策(日本水産学会編), 水産学シリーズ 34, 恒星社厚生閣, 東京. 1980 ; 124-138.
- 18) 徳島県水産試験場. プリ稚魚における絶食の影響. 徳島県水産試験場事業報告, 徳島県水産試験場, 徳島. 1981 ; 43-45.
- 19) 狭間弘学, 小川 健. 主要養殖魚類の絶食試験－Ⅲ. マダイ1年魚及びブリ稚魚について－, 和歌山水試研報 1988 ; 19 : 40-47.
- 20) 小川 健, 狭間弘学. 主要養殖魚類の絶食試験－Ⅱ. ブリ1年魚について－, 和歌山水試研報 1987 ; 18 : 38-42.
- 21) 小川 健, 藤井久之. 主要養殖魚類の絶食試験－Ⅰ. マダイ稚魚について－, 和歌山水試研報 1986 ; 17 : 88-91.
- 22) 和田 実, 中島美和子, 前田広人. 粘土散布による赤潮駆除. 有害・有毒藻類ブルームの予防と駆除(日本水産学会編), 水産学シリーズ134, 恒星社厚生閣, 東京. 2002 ; 121-133.
- 23) 今井一郎. 総説－「赤潮」特集号－赤潮の生物的防除の可能性. 日本海水学会誌 1998 ; 52(4) : 216-227.
- 24) 石田祐三郎. 赤潮藻の微生物学的防除に関する現状と将来. 赤潮と微生物－環境にやさしい微生物農薬を求めて－(石田祐三郎, 菅原 庸編), 水産学シリーズ99, 恒星社厚生閣, 東京. 1994 ; 9-21.
- 25) 深見公雄, 西島敏隆. *Gymnodinium* 殺滅細菌の生態. 赤潮と微生物－環境にやさしい微生物農薬を求めて－(石田祐三郎, 菅原 庸編), 水産学シリーズ99, 恒星社厚生閣, 東京. 1994 ; 46-56.
- 26) 坂田泰造. *Saprospira* 属細菌による珪藻殺滅. 赤潮と微生物－環境にやさしい微生物農薬を求めて－(石田祐三郎, 菅原 庸編), 水産学シリーズ99, 恒星社厚生閣, 東京. 1994 ; 57-66.
- 27) 今井一郎. *Cytophaga* 属細菌などによる赤潮藻殺滅. 赤潮と微生物－環境にやさしい微生物農薬を求めて－(石田祐三郎, 菅原 庸編), 水産学シリーズ99, 恒星社厚生閣, 東京. 1994 ; 67-76.
- 28) 満谷 淳. *Lysobacter* 属細菌などによる藍藻及び珪藻殺滅. 赤潮と微生物－環境にやさしい微生物農薬を求めて－(石田祐三郎, 菅原 庸編), 水産学シリーズ99, 恒星社厚生閣, 東京. 1994 ; 77-88.
- 29) 澤山茂樹. 真正細菌による *Alexandrium* 接合阻害. 赤潮と微生物－環境にやさしい微生物農薬を求めて－(石田祐三郎, 菅原 庸編), 水産学シリーズ99, 恒星社厚生閣, 東京. 1994 ; 89-96.
- 30) 山田 隆. ウイルスによるクロレラの殺滅. 赤潮と微生物－環境にやさしい微生物農薬を求めて－(石田祐三郎, 菅原 庸編), 水産学シリーズ99, 恒星社厚生閣, 東京. 1994 ; 97-109.
- 31) 長崎慶三. ウイルスによる *Heterosigma* 殺滅. 赤潮と微生物－環境にやさしい微生物農薬を求めて－(石田祐三郎, 菅原 庸編), 水産学シリーズ99, 恒星社厚生閣, 東京. 1994 ; 110-120.
- 32) 坂田泰造. 有毒有害プランクトン発生防除の対策－微生物による防除. 有害・有毒赤潮の発生と予知・防除(石田祐三郎, 本城凡夫, 福代康夫, 今井一郎編) 日本水産資源保護協会, 東京.

- 2000 ; 215-235.
- 33) 中村泰男. 従属栄養性渦鞭毛藻による赤潮生物の制御. 有害・有毒藻類ブルームの予防と駆除 (日本水産学会編), 水産学シリーズ134, 恒星社厚生閣, 東京. 2002 ; 81-88.
- 34) 神山孝史: 繊毛虫による赤潮生物の捕食制御. 有害・有毒藻類ブルームの予防と駆除 (日本水産学会編), 水産学シリーズ134, 恒星社厚生閣, 東京. 2002 ; 89-101.
- 35) 板倉 茂. 珪藻を用いた有害赤潮の予防. 有害・有毒藻類ブルームの予防と駆除 (日本水産学会編), 水産学シリーズ134, 恒星社厚生閣, 東京. 2002 ; 9-18.
- 36) 今井一郎. 大型藻類と魚類の混合養殖による赤潮の発生予防. 有害・有毒藻類ブルームの予防と駆除 (日本水産学会編), 水産学シリーズ134, 恒星社厚生閣, 東京. 2002 ; 19-29.
- 37) 吉田陽一. 赤潮の発生予察. 赤潮-発生機構と対策 (日本水産学会編), 水産学シリーズ 34, 恒星社厚生閣, 東京. 1980 ; 90-104.
- 38) 小野知足, 楠木 豊, 九万田一巳, 代田昭彦, 城 久, 田原恒男, 深瀬 茂, 吉田陽一, 村上彰男, 渡辺 弘. 赤潮の発生は予知できるか. 赤潮に関する近年の知見と研究の問題点 (赤潮研究会編), 日本水産資源保護協会, 東京. 1980 ; 147-181.
- 39) 今井一郎. ラフィド藻赤潮の発生機構と予知. 有害・有毒赤潮の発生と予知・防除 (石田祐三郎, 本城凡夫, 福代康夫, 今井一郎編) 日本水産資源保護協会, 東京. 2000 ; 29-70.
- 40) 長井 敏. 播磨灘における有害大型珪藻 *Coscinodiscus wailesii* の大量発生機構とその予知. 有害・有毒赤潮の発生と予知・防除 (石田祐三郎, 本城凡夫, 福代康夫, 今井一郎編) 日本水産資源保護協会, 東京. 2000 ; 71-100.
- 41) 山口峰生: 有害赤潮渦鞭毛藻 *Gymnodinium mikimotoi* の生理・生態学的特性と赤潮発生機構及び発生予察の現状. 有害・有毒赤潮の発生と予知・防除 (石田祐三郎, 本城凡夫, 福代康夫, 今井一郎編) 日本水産資源保護協会, 東京. 2000 ; 101-136.
- 42) 山本民次, 樽谷賢治, 松田 治. 有毒渦鞭毛藻 *Alexandrium tamarense* ブルームの発生メカニズムとその予知および防御の可能性. 有害・有毒赤潮の発生と予知・防除 (石田祐三郎, 本城凡夫, 福代康夫, 今井一郎編) 日本水産資源保護協会, 東京. 2000 ; 150-176.
- 43) 梶合愿一: 東北沿岸域における下痢性貝毒原因藻 - *Dinophysis fortii* と *D. acuminata* を中心に -. 有害・有毒赤潮の発生と予知・防除 (石田祐三郎, 本城凡夫, 福代康夫, 今井一郎編) 日本水産資源保護協会, 東京. 2000 ; 177-214.
- 44) 岩崎英雄. 赤潮生物の栄養要求. 赤潮-発生機構と対策 (日本水産学会編), 水産学シリーズ 34, 恒星社厚生閣, 東京. 1980 ; 11-24.
- 45) 岩崎英雄. 赤潮渦鞭毛藻の生理特性からみた赤潮の発生機構. 日本プランクトン学会報 1973 ; 19 : 46-56.
- 46) 松山幸彦. 有害渦鞭毛藻 *Heterocapsa circularisquama* に関する生理生態学的研究 - I. *H. circularisquama* 赤潮の発生および分布拡大機構に影響する環境要因等の解明. 水研センター研報 2003 ; 7 : 24-105.
- 47) 松山幸彦. 有害渦鞭毛藻 *Heterocapsa circularisquama* に関する生理生態学的研究 - II. *H. circularisquama* の毒性および貝類斃死機構の解明. 水研センター研報 2003 ; 9 : 13-117.
- 48) Yamaguchi M, Itakura S, Nagasaki K, Matsuyama Y, Uchida T, Imai I. Effects of temperature and salinity on the growth of the red tide flagellates *Heterocapsa circularisquama* (Dinophyceae) and *Chattonella verruculosa* (Raphidophyceae). *J. Plankton Res.* 1997; 19: 1167-1174.
- 49) 山口峰生. 生理学的特性に基づく新型赤潮プランクトン優占化機構の解明. 渦鞭毛藻・ラフィド藻等による新型赤潮の発生機構と出現予測技術の開発に関する研究・5ヶ年の研究報告, 瀬

- 戸内海区水産研究所, 広島. 1999 ; 7-20.
- 50) 山口峰生. *Gymnodinium nagasakiense* の赤潮発生機構と発生予知に関する生理生態学的研究. 南西水研研報 1994 ; 27 : 251-349.
- 51) 今井一郎. 有害赤潮ラフィド藻 *Chattonella* のシストに関する生理生態学的研究. 南西水研研報1990 ; 23 : 63-166.
- 52) Kim D-I, Matsuyama Y, Nagasoe M, Yamaguchi M, Yoon Y-H, Oshima Y, Imada N, Honjo T. Effects of temperature, salinity and irradiance on the growth of the harmful red tide dinoflagellate *Cochlodinium polykrioides* Margalef (Dinophyceae). *J. Plankton Res.* 2004; 26: 61-66.
- 53) 荒牧孝行, 折田和三, 徳永成光. 八代海 (鹿児島県海域) に出現した赤潮. 平成5年度赤潮対策技術開発試験, 九州シャットネラ赤潮広域共同調査報告書, 水産庁, 東京. 1994 ; 6-27.
- 54) 尹 良湖. 韓国沿岸海域における渦鞭毛藻, *Cochlodinium polykrioides* 赤潮の発生機構に関する一つの考察. 日本プランクトン学会報 2001 ; 48 : 113-120.
- 55) Kim C-H, Cho H-J, Shin J-B, Moon C-H and Matsuoka K. Overwintering potential of hyaline cysts of *Cochlodinium polykrioides* (Gymnodiniales, Dinophyceae): An annual red tide organism along the Korean coast. *Phycologia.* 2002; 41: 667-669.
- 56) 松岡数充, 岩滝光儀. 有害渦鞭毛藻 *Cochlodinium polykrioides* Margalef 研究の現状. 日本プランクトン学会報 2004 ; 51 : 38-45.
- 57) Margalef R. Hidrografiay fitoplancton de un area marina de la costa meridional de Puerto Rico. *Invest. Pesq.* 1961; 18: 33-96.
- 58) 金 鶴均, 裴 憲民, 李 三根, 鄭 昌洙. 韓国沿岸における有害赤潮の発生と防除対策. 有害・有毒藻類ブルームの予防と駆除 (日本水産学会編), 水産学シリーズ 134, 恒星社厚生閣, 東京. 2002 ; 134-150.
- 59) 水産庁九州漁業調整事務所. 九州西部海域の赤潮. 水産庁九州漁業調整事務所, 福岡. 1979-1981.
- 60) 水産庁, 福岡県, 佐賀県, 長崎県, 熊本県, 鹿児島県. 九州西岸域赤潮予察調査報告書. 水産庁, 東京. 1980.
- 61) Yuki K, Yoshimatsu S. Two fish-killing species of *Cochlodinium* from Harima Nada, seto Inland Sea, Japan. In *Red tides: Biology, Environmental Science and Toxicology* (ed. Okaichi T, Anderson D M, Nemoto T.), Elsevier, New York. 1989; 451-454.
- 62) 結城勝久, 吉松定昭. 日本の赤潮生物—写真と解説— (福代康夫, 高野秀昭, 千原光雄, 松岡数充編) 内田老鶴圃, 東京. 1992 ; 40-41.
- 63) 独立行政法人水産総合研究センター瀬戸内海区水産研究所. 漁場環境保全関係試験研究推進特別部会赤潮・貝毒部会. 議事要録16年度, 独立行政法人水産総合研究センター瀬戸内海区水産研究所, 広島. 2005 ; 10.
- 64) 独立行政法人水産総合研究センター瀬戸内海区水産研究所. 漁場環境保全関係試験研究推進会議赤潮・貝毒部会. 議事要録15年度, 独立行政法人水産総合研究センター瀬戸内海区水産研究所, 広島. 2004 ; 9.
- 65) 宮原一隆, 氏 良介, 山田東也, 松井芳房, 西川哲也, 鬼塚 剛. 2003年9月に日本海山陰沿岸海域で発生した *Cochlodinium polykrioides* Margalef 赤潮. 日本プランクトン学会報2005 ; 52 : 11-18.
- 66) 鹿児島県水産試験場. 昭和53年度鹿児島県水産試験場事業報告 (生物部編). 鹿児島県水産試験場, 鹿児島. 1980 ; 6-9.
- 67) 熊本県水産試験場. 昭和53年度熊本県水産試験場事業報告. 熊本県水産試験場, 熊本. 1979 ; 56-57.
- 68) 長崎県総合水産試験場. 赤潮プランクトン等監視調査事業報告書-1. —長崎県における赤潮の発生状況—, 長崎県総合水産試験場, 長崎. 1991-2004.

- 69) 長崎県水産試験場. 昭和53年度赤潮情報交換事業報告. 長崎県における赤潮の発生状況, 長崎県水産試験場, 長崎. 1979; 24.
- 70) 鹿児島県水産試験場. 昭和52年度鹿児島県水産試験場事業報告 (生物部編). 鹿児島県水産試験場, 鹿児島. 1978; 80-82.
- 71) 渡辺康憲. 平成11年に伊万里湾に発生したクロディニウム赤潮. 平成11年九州海域の赤潮, 水産庁九州漁業調整事務所, 福岡. 2000; 17-28.
- 72) 山砥稔文, 丸田 肇, 浦 賢二郎. 1999年に伊万里湾に出現した *Cochlodinium polykrikoides* Margalef の赤潮発生状況と増殖特性. 長崎水試研報 2003; 28; 21-26.
- 73) Onoue Y, Nozawa K.. Separation of toxins from harmful red tides occurring along the coast of Kagosima Prefecture, In *Red Tides: Biology, Environmental Science and Toxicology* (ed. Okaichi T, Anderson D M, Nemoto T). Elsevier, Amsterdam. 1989; 371-374.
- 74) Lee J S. Bioactive components from red tide plankton, *Cochlodinium polykrikoides*. *J. Korean Fish. Soc.* 1996; 29: 165-173.
- 75) Kim D-K, Oda T, Muramatsu T, Kim D-I, Matsuyama Y, Honjo T. Possible factor responsible for the toxicity of *Cochlodinium polykrikoides*, a red tide phytoplankton. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C.* 2002; 132: 415-423.
- 76) Kim C-S, Lee S, Lee C-K, Kim H-G, Jung J. Reactive oxygen species as causative agents in the ichthyotoxicity of the red tide dinoflagellate *Cochlodinium polykrikoides*. *J. Plankton Res.* 1999; 21: 2105-2115.
- 77) 大分県海洋水産研究センター. 平成9年度大分県海洋水産研究センター事業報告書. 大分県海洋水産研究センター, 大分. 1999; 171-172.
- 78) 大分県海洋水産研究センター. 平成14年度大分県海洋水産研究センター事業報告書. 大分県海洋水産研究センター, 大分. 2003; 141-142.
- 79) 高知県水産試験場. 平成3年度高知県水産試験場事業報告書. 高知県水産試験場, 高知. 1993; 230.
- 80) 高知県水産試験場. 平成8年度高知県水産試験場事業報告書. 高知県水産試験場, 高知. 1998; 240.
- 81) 高知県水産試験場. 平成13年度高知県水産試験場事業報告書. 高知県水産試験場, 高知. 2003; 53.
- 82) 金 大一. 有害渦鞭毛藻 *Cochlodinium polykrikoides* の生理生態学的研究. 博士論文, 九州大学, 福岡. 2003; 7-11.
- 83) Imai I, Itoh K. Annual life cycle of *Chattonella* spp., causative flagellates of noxious red tides in the Inland Sea of Japan. *Mar. Biol.* 1987; 94: 287-292.
- 84) Sako Y, Ishida Y, Kadota H, Hata Y. Sexual reproduction and cyst formation in the freshwater dinoflagellate *Peridinium cunningtonii*. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 1984; 50: 743-750.
- 85) 長崎県水産試験場. 昭和56年度赤潮防止対策事業報告 I. -赤潮情報交換- (長崎県における赤潮の発生状況), 長崎県水産試験場, 長崎. 1982; 18.
- 86) 長崎県水産試験場. 昭和62年度赤潮防止対策事業報告-I. -赤潮情報伝達- (長崎県における赤潮の発生状況), 長崎県水産試験場, 長崎. 1988; 15.
- 87) 長崎県水産試験場. 平成3年度赤潮貝毒監視事業報告書-I. -赤潮情報伝達- (長崎県における赤潮の発生状況), 長崎県水産試験場, 長崎. 1992; 30.
- 88) 長崎県総合水産試験場. 平成11年度貝毒成分・有害プランクトン等モニタリング事業報告書-I. -モニタリング情報活用- (長崎県下における赤潮の発生状況), 長崎県総合水産試験場, 長崎. 2000; 43.
- 89) 財団法人日本気象協会長崎支部. 長崎潮位表平成11年. 財団法人日本気象協会長崎支部, 長崎.

- 1999.
- 90) 財団法人気象業務支援センター. 気象庁月報平成11年8月(気象庁編)財団法人気象業務支援センター. 1999.
- 91) 今井一郎. 赤潮微細藻類の計数と無菌培養法. 「海洋環境アセスメントのための微生物実験法」(石田祐三郎, 杉田治男編) 恒星社厚生閣, 東京. 2000; 85-90.
- 92) 岡市友利, 西尾幸郎, 今富幸也. 有毒プランクトン研究法. 「有毒プランクトン—発生・作用機構・毒成分」(日本水産学会編), 水産学シリーズ42, 恒星社厚生閣. 東京. 1982; 26.
- 93) Watanabe M, Nakamura Y, Yamochi S, Mori S. Effects of physico-chemical factors and nutrients on the growth of *Heterosigma akashiwo* Hada from Osaka Bay, Japan. *Jpn. J. Phycol.* 1982; 30: 279-288.
- 94) 山本民次, 樽谷賢治. 広島湾産有毒渦鞭毛藻 *Alexandrium tamarense* の増殖に及ぼす水温, 塩分及び光強度の影響. 藻類 1997; 45: 95-101.
- 95) 三重県水産技術開発センター. ギムノディウム赤潮発生に対応した養殖及び漁場適正利用手法に関する研究. 昭和61年度赤潮対策技術開発試験報告書, 水産庁, 東京. 1987; 24-29.
- 96) 長崎県水産試験場. 平成4年度赤潮貝毒監視事業報告書-I. —赤潮情報伝達—(長崎県における赤潮の発生状況), 長崎県水産試験場, 長崎. 1993; 28.
- 97) 長崎県総合水産試験場. 平成15年度赤潮プランクトン等監視調査事業報告書-I. —長崎県下における赤潮の発生状況—, 長崎県総合水産試験場, 長崎. 2004; 23-28.
- 98) 伊藤克彦, 今井一郎. ラフィド藻. 赤潮生物研究指針(日本資源保護協会編) 秀和, 東京. 1987; 122-130.
- 99) 宮村和良, 田村勇司. 漁場監視強化対策事業有害プランクトン生理・生態研究. 平成14年度事業報告, 大分県海洋水産研究センター, 大分. 2003; 134-140.
- 100) 松岡数充, 小田達也. コクロディニウムの分布特性とその魚毒性. 平成16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, 水産庁, 東京. 2005. (印刷中)
- 101) 山砥稔文, 坂口昌生, 岩濤光儀, 松岡数充. 西九州沿岸に分布する有害渦鞭毛藻 *Cochlodinium polykrikoides* Margalef の増殖に及ぼす水温, 塩分および光強度の影響. 日本プランクトン学会報 2005; 52: 4-10.
- 102) 飯塚昭二, 入江春彦. 大村湾における *Gymnodinium* 赤潮発生と海底水無酸素化現象との関連. 日本プランクトン学会報 1969; 16: 99-115.
- 103) 山口峰生, 今井一郎, 本城凡夫. 有害赤潮ラフィド藻 *Chattonella antiqua* と *C. marina* の増殖におよぼす水温, 塩分および光強度の影響. 日水誌 1991; 57: 1277-1284.
- 104) Press WH, Teukolsky A, Vetterling WT, Flannery BP. 「ニューメリカルレシピ・イン・シー: C 言語による数値計算のレシピ」(丹慶勝市他訳) 技術評論社, 東京. 1993; 483-526.
- 105) 長崎県総合水産試験場. 赤潮プランクトン等監視調査事業報告書-1. —長崎県における赤潮の発生状況—, 長崎県総合水産試験場, 長崎. 1992-2003.
- 106) 長崎県. 昭和60年度重要貝類毒化対策事業報告書(毒化モニタリング). 長崎県, 長崎. 1986; 16.
- 107) 長崎県. 昭和59年度重要貝類毒化対策事業報告書(毒化モニタリング). 長崎県, 長崎. 1985; 24.
- 108) 岩崎英雄. 赤潮生物の生理学的特性. 赤潮に関する近年の知見と研究の問題点(赤潮研究会編) 日本水産資源保護協会, 東京. 1980; 103-108.
- 109) 岩崎英雄. 赤潮構成鞭毛藻の培養による研究法. 藻類研究法(西澤一俊, 千原光雄編) 共立出版, 東京. 1979; 223-240.
- 110) 稲田勝美. 光と植物生育. 養賢堂, 東京. 1984;



- 415.
- 111) T. R. パーソンズ, 高橋正征. 「生物海洋学」 (市村俊英訳) 三省堂, 東京. 1974; 83-118.
- 112) 山口峰生, 本城凡夫. 有害赤潮鞭毛藻 *Gymnodinium nagasakiense* の増殖に及ぼす水温, 塩分および光強度の影響. 日水誌 1989; 55(11): 2029-2036.
- 113) Yamaguchi M, Itakura S, Nagasaki K, Matsuyama Y, Uchida T, Imai I. Effects of temperature and salinity on the growth of the red tide flagellates *Heterocapsa circularisquama* (Dinophyceae) and *Chattonella verruculosa* (Raphidophyceae). *J. Plankton Res.* 1997; 19: 1167-1174.
- 114) 大分県海洋水産研究センター. 大分県海洋水産研究センター事業報告. 大分県海洋水産研究センター, 大分. 1999-2003.
- 115) Matsuyama Y. Harmful effect of dinoflagellate *Heterocapsa circularisquama* on shellfish aquaculture in Japan. *JARQ.* 1999; 33: 283-293.
- 116) 山本千裕, 田中義興. 福岡湾で発生した2種類の有害赤潮プランクトンについて. 福岡水試研報 1990; 16: 43-44.
- 117) 松山幸彦, 永井清仁, 水口忠久, 藤原正嗣, 石村美佐, 山口峰生, 内田卓志, 本城凡夫. 1992年に英虞湾において発生した *Heterocapsa* sp. 赤潮発生期の環境特性とアコヤガイ斃死の特徴について. 日水誌 1995; 61: 35-41.
- 118) 江藤拓也, 桑村勝士, 佐藤博之. 1997年秋季に豊前海で発生した *Heterocapsa circularisquama* 赤潮の発生状況と漁業被害の概要. 福岡水海技セ研報 1998; 8: 91-96.
- 119) 玉井恭一. *Heterocapsa circularisquama* 赤潮の発生と被害の現状. 日本プランクトン学会報 1999; 46: 153-154.
- 120) 本城凡夫. 有害プランクトンによる漁業被害の発生状況とその問題点. 有害・有毒赤潮の発生と予知・防除 (石田祐三郎, 本城凡夫, 福代康夫, 今井一郎編) 日本水産資源保護協会, 東京. 2000; 4-17.
- 121) 尊田佳子, 木村仁美. 2000年三河湾における *Heterocapsa circularisquama* 赤潮の発生状況. 愛知水試研報 2001; 8: 1-6.
- 122) 内田卓志, 松山幸彦, 山口峰生, 本城凡夫. 有害渦鞭毛藻 *Heterocapsa circularisquama* の赤潮発生機構. 有害・有毒赤潮の発生と予知・防除 (石田祐三郎, 本城凡夫, 福代康夫, 今井一郎編) 日本水産資源保護協会, 東京. 2000; 137-149.
- 123) 長崎県水産試験場. 平成7年度貝毒成分・有害プランクトン等モニタリング事業報告書-I. -モニタリング情報活用- (長崎県下における赤潮の発生状況), 長崎. 1996; 11-18.
- 124) 長崎県総合水産試験場. 平成11年度貝毒成分・有害プランクトン等モニタリング事業報告書-I. -モニタリング情報活用- (長崎県下における赤潮の発生状況), 長崎. 2000; 37-39.
- 125) Iwataki M, Takayama H, Matsuoka K, Fukuyo Y. *Heterocapsa lanceolata* sp. nov. and *Heterocapsa horiguchii* sp. nov. (Peridinales, Dinophyceae), two new marine dinoflagellates from coastal Japan. *Phycologia.* 2002; 41: 470-479.
- 126) 堀口健雄. *Heterocapsa circularisquama* の分類とその問題点-形態分類. 日本プランクトン学会報 1999; 46: 164-166.
- 127) 水産庁九州漁業調製事務所. 平成14年九州海域の赤潮. 福岡. 2003; 31.
- 128) Matsuyama Y, Uchida T, Honjo T. Effects of harmful dinoflagellates, *Gymnodinium mikimotoi* and *Heterocapsa circularisquama*, red-tide on filtering rate of bivalve molluscs. *Fish. Sci.* 1999; 65: 248-253.
- 129) 松山幸彦, 木村 淳, 藤井 育, 高山晴義, 内田卓志. 1995年広島湾西部で発生した *Heterocapsa circularisquama* 赤潮の発生状況と漁業被害の概要. 南西海区水研研報 1997; 30: 189-207.

- 130) 永井清仁. *Heterocapsa circularisquama* によるアコヤガイの斃死. 日本プランクトン学会報 1999; 46: 155-156.
- 131) Nagai K, Matsuyama Y, Uchida T, Akamatsu S, Honjo T. Effects of natural population of the harmful dinoflagellate *Heterocapsa circularisquama* on the survival of the pearl oyster *Pinctada fucata*. *Fish. Sci.* 2000; 66: 995-997.
- 132) 長崎県水産試験場. 平成8年度貝毒成分・有害プランクトン等モニタリング事業報告書-I. -モニタリング情報活用- (長崎県下における赤潮の発生状況), 長崎. 1997; 20.
- 133) 飯塚昭二, 入江晴彦. 大村湾の赤潮発生環境と発生要因. 内湾赤潮の発生機構 (花岡 資, 入江晴彦, 上野福三, 飯塚昭二, 岡市友利, 岩崎英雄編) 日本水産資源保護協会, 東京. 1972; 35-57.
- 134) 長崎県水産試験場. 赤潮貝毒監視調査事業報告書-I. -赤潮情報伝達- (長崎県における赤潮の発生状況), 長崎県水産試験場, 長崎. 2002-2003.
- 135) 長崎県水産試験場. 赤潮貝毒監視調査事業報告書-I. -赤潮情報伝達- (長崎県における赤潮の発生状況), 長崎県水産試験場, 長崎. 1988-2005.
- 136) 九州漁業調整事務所. 平成14年九州海域の赤潮. 九州漁業調整事務所, 福岡, 2004; 27-32.
- 137) 九州漁業調整事務所. 平成4年九州海域の赤潮. 九州漁業調整事務所, 福岡, 1994; 26-33.
- 138) 日本海洋学会沿岸海洋研究部会編. 大村湾. 日本全国沿岸海洋誌. 東海大学出版会, 東京. 1985; 879-900.
- 139) 中田憲一, 飯塚昭二. 赤潮鞭毛藻 *Gymnodinium nagasakiense* の越冬に関する一考察. 日本プランクトン学会報 1987; 34: 199-201.
- 140) 日本海洋学会沿岸海洋研究部会編. 有明海. 日本全国沿岸海洋誌. 東海大学出版会, 東京. 1985; 815-878.
- 141) 中田英昭. 有明海の環境と生物生産一序論-. 月刊海洋 2003; 35(4): 213-216.
- 142) 田北 徹. 有明海の漁業生産における河口域の意義について. 月刊海洋 2003; 35(4): 216-221.
- 143) 滝川 清. 有明海の環境・漁業を考える. I. 有明海の変遷と現状. I-1物理環境有明海特性. 日水誌 2002; 68: 95-96.
- 144) 藤田雄二. 有明海の環境・漁業を考える. I-4-(2) 漁業-ノリ養殖. 日水誌 2002; 68: 102-103.
- 145) 水産庁九州漁業調整事務所. 平成15年九州海域の赤潮. 福岡. 2004; 33-51.
- 146) 板倉 茂. 有明海の環境・漁業を考える. I-3. 赤潮発生の状況. 日水誌 2002; 68: 99-100.
- 147) 磯部雅彦. 有明海の環境・漁業を考える. II. 有明海の再生に向けて. II-1有明海の調査と評価の現状. 日水誌 2002; 68: 104-105.
- 148) 松岡數充. 諫早湾における赤潮原因プランクトンの最近の変化. 月刊海洋 2003; 35(4): 246-251.
- 149) 藤井明彦, 山本憲一. 2001年夏季に諫早湾の浅海域でみられた貧酸素化について. 長崎水試研報 2002; 28: 9-14.
- 150) 藤井明彦, 山本憲一. 諫早湾におけるタイラギアサリの現状と問題点. 月刊海洋 2003; 35(4): 235-240.
- 151) Kim D, Kumamoto O, Lee K, Kuroda A, Fujii A, Ishimatsu A, Oda T. Deleterious effect of *Chattonella marina* on short-necked clam (*Ruditapes philippinarum*); possible involvement of reactive oxygen species. *J. Plankton Res.* 2004; 26: 967-971.
- 152) 藤田則孝, 五十嵐輝夫, 岩井拓郎, 渡辺盛樹. 気仙沼湾における赤潮プランクトンの推移と環境. 宮城県気仙沼水試研報 1979; 5: 114-139.
- 153) 矢持 進. 大阪湾に出現する赤潮鞭毛藻6種の増殖に及ぼす水温の影響. 日本プランクトン学会報 1984; 34: 15-22.
- 154) 長崎県総合水産試験場. 赤潮プランクトン等監

- 視調査事業報告書-I。-長崎県下における赤潮の発生状況-, 長崎県総合水産試験場, 長崎. 1995-2005.
- 155) 長崎県水産試験場. 赤潮貝毒監視調査事業報告書-I。-赤潮情報伝達-(長崎県における赤潮の発生状況), 長崎県水産試験場, 長崎. 1990-1994.
- 156) 長崎県総合水産試験場. 長崎県総合水産試験場事業報告, 長崎県総合水産試験場, 長崎. 2001-2003.
- 157) 代田昭彦. 赤潮研究の現状と課題④. 水産の研究, 1988; 7(5): 36-42.
- 158) 折田和三. 1995年4月鹿児島湾で発生したヘテロシグマ赤潮について. 南西海ブロック会議赤潮・環境生物研究会議事要録平成7年度, 1996; 7.
- 159) 九州漁業調整事務所. 平成13年九州海域の赤潮. 九州漁業調整事務所, 福岡, 2002; 31-32.
- 160) Nakamura Y, Watanabe M. M. Growth characteristics of *Chattonella antiqua* (Raphidophyceae) Part 1. Effects of temperature, salinity, light intensity and pH on growth. *J. Oceanogr. Soc. Jpn.* 1983; 39: 110-114.
- 161) 野沢治治. 鹿児島湾における赤潮生物の生理特性に関する研究. 「大規模赤潮の形成及び赤潮被害抑止に関する研究」5年間の研究成果, 水産庁, 東京. 1984; 139-152.
- 162) 鹿児島県水産試験場. 平成14年度閉鎖性海域赤潮被害防止対策事業(八代海 鹿児島湾) 報告書. 水産庁, 東京. 2003; 25-30.
- 163) 鹿児島県水産試験場. 平成15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貝毒等被害防止対策事業報告書. 閉鎖性海域赤潮被害防止対策(八代海 鹿児島湾), 水産庁, 東京. 2004; 37-41.
- 164) Imai I, Itakura S, Itoh K. Cysts of the red tide flagellate *Heterosigma akashiwo*, Raphidophyceae, found in bottom sediments of northern Hiroshima Bay, Japan. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1993; 59: 1669-1673.
- 165) Imai I, Itakura S. Importance of cysts in the population dynamics of the red tide flagellate *Heterosigma akashiwo*(Raphidophyceae). *Mar. Bio.* 1999; 133: 755-762.
- 166) 中島琢自, 宮崎洋介, 小田達也. 物理的細胞破壊による赤潮防除の有効性. 平成17年度日本水産学会九州支部総会・大会講演要旨集, 福岡. 2005; 2.

## Summary

An unarmored chain-forming dinoflagellate *Cochlodinium polykrikoides* Margalef is one of important harmful red tide organisms causing mass mortality of cultured fish in western Japanese and southern Korean coastal waters. This species was first recognized in the Yatsushiro Sound in Kyushu, West Japan, in 1978 with serious economic damages to yellow-tail aquaculture industries. Thereafter this species has been continuously expanding its habitat and giving damages to aquaculture industries in coastal waters, mainly in the Kyushu. However, its biological characteristics such as optimum environmental conditions for reproduction and life history are still unclear. Using clones of nine strains of *C. polykrikoides* isolated from coastal waters Kyushu in 2002-2005, the growth rates of *C. polykrikoides* were examined in 60 different combinations of temperature (10-32.5°C) and salinity (16-36 psu) under a light condition of  $80 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  with a 14h light and 10 h dark cycle. *C. polykrikoides* grew well at a temperature range of 15-30°C, a salinity range of 16-36 psu. The highest growth rate was obtained in the combination of 25-27.5°C and 28-32 psu with the maximum growth rate ( $\mu_m$ ) of 0.56-0.64 day<sup>-1</sup>. The effect of light intensity on the growth of *C. polykrikoides* was studied at seven different levels ranging from 10 to 140  $\mu\text{mol}$

$\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$  with 14h:10h light: dark photo cycle at 25°C. *C. polykrikoides* grew well at an irradiance of  $20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  and its growth was saturated at  $120 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . The half-saturation constant for the growth of light intensity ( $K_s$ ),  $\mu_m$  and threshold value ( $I_0$ ) were  $29.2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ,  $0.54 \text{ day}^{-1}$  and  $4.5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , respectively. According to incubation experiments, *C. polykrikoides* can form red tides at the warm and high salinity environment. To understand an initial growth of this species, it is important to clarify the seasonal occurrence particularly low temperature periods. *C. polykrikoides* occurred from February 2004 to

March 2005 in Usuka Bay, west Kyushu. The highest cell density was recorded in September, with water temperature and salinity being about 25°C and 33.5 psu. From April of 2004 to March of 2005, the motile cells of *C. polykrikoides* were continuously observed at the temperature range of 12.3-27.6°C and salinity range of 32.52-34.40 psu. These field evidences suggest that *C. polykrikoides* can form red tides during warm water seasons with the high salinity environment and its vegetative cells can be over winter in enclosed bays such as Usuka Bay in West Japan.