

## 1999年伊万里湾に出現した *Cochlodinium polykrikoides* Margalef の赤潮発生状況と増殖特性

山砥 稔文・丸田 肇<sup>\*1</sup>・浦 賢二郎<sup>\*1</sup>

### Occurrence of *Cochlodinium polykrikoides* Red Tide and its Growth Characteristics in Imari Bay in 1999

Toshifumi Yamatogi, Hajime Maruta<sup>\*1</sup>, and Kenjirou Ura<sup>\*1</sup>

A red tide of a harmful dinoflagellate *Cochlodinium polykrikoides* (Gymnodiniales, Dinopyceae) occurred in Imari Bay, Kyushu Island, Western Japan in 1999. This red tide caused mass mortalities of cultured fish worth more than 7.6 hundred million yen. In order to evaluate the mechanism of red tide outbreak, environmental factors in this bay were studied, during the period of outbreak to termination of the red tide of this alga. The effects of temperature and salinity on growth of this alga were examined under defined batch culture conditions. Maximum growth were obtained at temperature of 27.5°C and salinity of 32. Under these conditions, maximum growth rate ( $\mu\text{m}$ ) was  $0.90\text{day}^{-1}$ . The optimum values of temperature and salinity for growth of this alga were almost same to those of water where red tide, composed of *C. polykrikoides*, had broken out, and it indicates that temperature and salinity are important factors of breakout.

1999年8月に伊万里湾（長崎県海域）で初めて *Cochlodinium 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>1)</sup>。本種による赤潮は近年、西日本および韓国沿岸域でしばしば認められ、甚大な漁業被害をもたらしている。長崎県における本藻赤潮は、1991年から2001年の間で15件発生し、このうち漁業被害を伴ったものは8件であり、被害率は53%と顕著に高い。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。しかし、赤潮の発生機構は、海域や原因プランクトンによって異なるため、海域や種類毎にその発生機構を解明する必要がある。

本研究では、今回の本藻赤潮時に分離した培養株を用いて室内実験を行い、増殖に及ぼす水温、塩分の影響を明らかにするとともに、現場環境条件から、伊万里湾における本藻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. 1 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 (0.5m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

<sup>\*1</sup>長崎県県北水産業普及指導センター

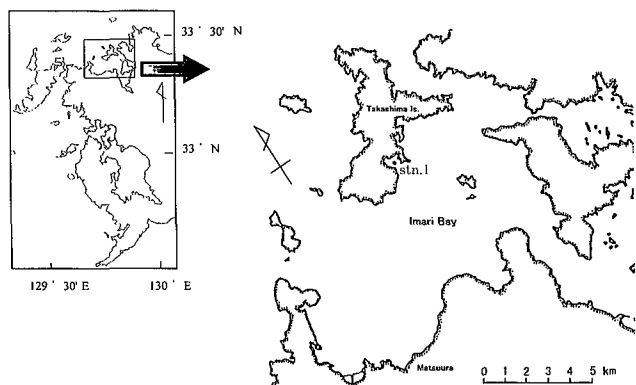


Fig. 1. Location of sampling station (●) in Imari Bay

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を用いて測定した。潮位は長崎潮位表<sup>2)</sup>を、気象要因は長崎県気象月報（松浦地域気象観測所）<sup>3)</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<sup>4)</sup>および泳がせ法<sup>5)</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>6)</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 (Fig. 2)。

保存および実験培地には1995年7月に五島西沖約60km (32° 55.5'N, 128° 15.5'E) で採取した表層水 (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%基礎海水に glucose

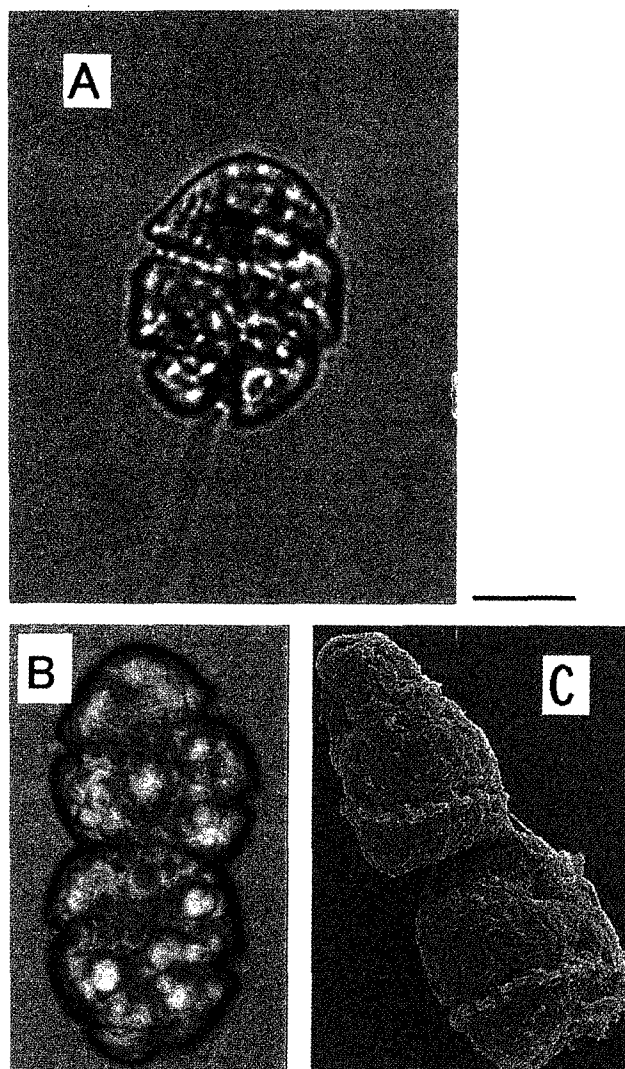


Fig. 2. Light micrographs (LM) and scanning electron micrographs (SEM) of *Cochlodinium polykrikoides* collected from Imari Bay. The scale bar is 10  $\mu$ m. A: Ventral view of a cell (LM). B: Chain of two cells (LM). C: Chain of two cells (SEM).

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>7)</sup>。

増殖に及ぼす水温と塩分の影響 実験は、試験管 ( $\phi$ 18mm $\times$ 180mm) に培地を10mL入れ、オートクレーブ滅菌後 (120℃, 20min.) に、保存培地で対数増殖期後期まで培養した本株を100cells/mLの濃度になるように接種し、3本法、バッチ培養法で、光強度80 $\mu$ mol/m<sup>2</sup>/S, 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15.0，17.5，20.0，22.5，25.0，27.5，30.0℃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。その直線部分（対数増殖期）を下式にあてはめて最小二乗法により傾きを計算し，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， $Nt'$ ， $Nt$  はそれぞれ細胞接種後  $t'$  日目， $t$  日目の細胞数 (cells/mL)， $\mu$  は比増殖速度 ( $\text{day}^{-1}$ ) 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とした。

## 結 果

**現場環境調査** 伊万里湾で最初に本藻が確認されたのは，8月2日であり，細胞密度は10cells/mLであった。2日後の8月4日にも10cells/mLを確認した。8月9日には本藻は6,260cells/mLにまで増殖（このときの比増殖速度は，上式により $1.29\text{day}^{-1}$ ）し，8月10日に最高細胞密度（11,060cells/mL）となった後，8月12日には218cells/mLに減少し，着色域は消滅した。本藻赤潮発生期間は8月7～12日の6日間であった。同湾では，本藻赤潮発生前に，*Karenia* (*Gymnodinium*) *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4,950cells/mL，8月2日に10cells/mL，8月4日に210cells/mL確認した。調査期間中の表層水温は，*C. polykrioides* 赤潮前の7月30日～8月4日は $25.3\sim 27.1^\circ\text{C}$ （平均 $26.1^\circ\text{C}$ ）であっ

たが，本藻赤潮発生時の8月9～11日には $27.6\sim 26.8^\circ\text{C}$ （平均 $27.8^\circ\text{C}$ ）と平均で $1.7^\circ\text{C}$ の上昇がみられた。塩分は，本藻赤潮発生前の31.4に比べ発生時は若干高鹹となり32.6であった（Fig. 3）。

**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， $27.5^\circ\text{C}$ 以上で飽和した。最大比増殖速度（ $\mu_{\text{m}} = 0.90\text{day}^{-1}$ ）を与える水温は $27.5^\circ\text{C}$ であり， $15^\circ\text{C}$ での比増殖速度は $0.06\text{day}^{-1}$ 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， $17.5^\circ\text{C}$ 以上では2,000cells/mL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 $27.5\sim 30.0^\circ\text{C}$ であり， $15^\circ\text{C}$ での最終細胞収量は4 cells/mLであった（Fig. 4）。

**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有意な差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. 5）。

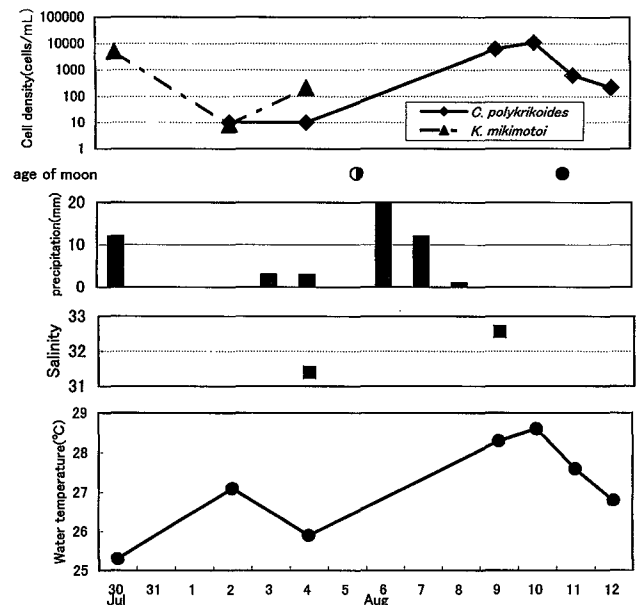


Fig. 3. Changes in the water temperature, salinity, rainfall, age of moon, and cell density of *C. polykrioides* and *K. mikimotoi* in Imari Bay, in summer in 1999.

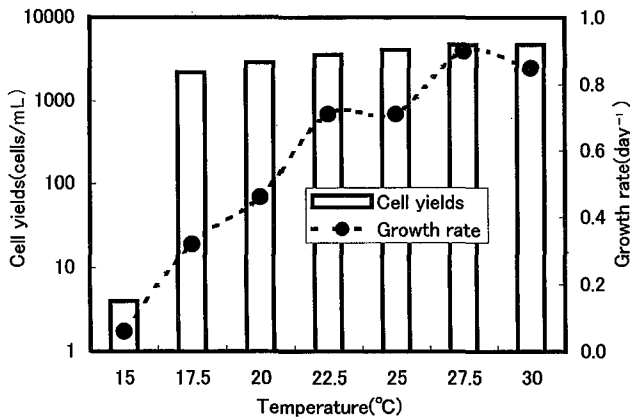


Fig. 4. Growth of *C. polykrikoides* at different temperatures.

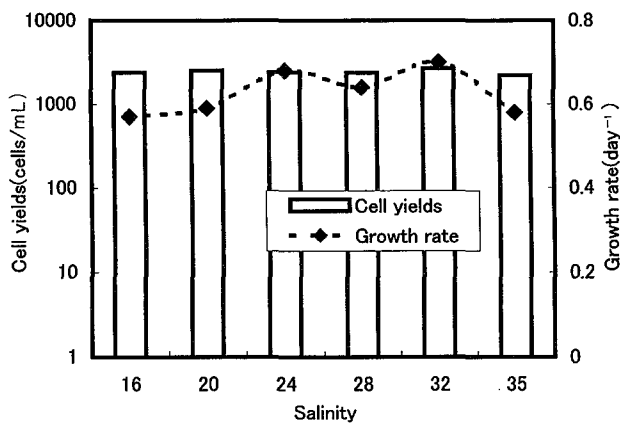


Fig. 5. Growth of *C. polykrikoides* at different salinities.

## 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、長崎県における本藻の赤潮発生時の水温範囲16.6~30.6℃とほぼ一致した。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。野外と室内実験でこれまでに観察された赤潮鞭毛藻の最適および好適水温範囲<sup>9)</sup>をみると、25℃をこえて最適

および好適域を有する種は少ない。また、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の範囲内に見られ、赤潮鞭毛藻は天然海水よりもその1/4~1/5の低塩分によく増殖する<sup>9)</sup>ため、30をこえた最適域を有する種は少ない。したがって、本株が27.5℃の高い最適温度を有することは、夏季に他の競合藻類と混在しながらも、徐々に生息域を優占できる重要な要因の一つであると考えられる。また、本株が塩分16~35の広範囲で高い増殖能を有し、32という高い最適塩分を有することは、他の競合藻類に比べ赤潮形成に有利な条件を有していると考えられる。

日本の代表的な有害赤潮鞭毛藻である *Chattonella antiqua*, *Chattonella marina*, *Heterosigma akashiwo*, *Karenia mikimotoi*, *Heterocapsa circularisquama* については今までに報告されている増殖パラメーター(水温、塩分)を、*C. polykrikoides* では、今回の培養実験で得られた数値を比較した(Table 1)。その結果、本株は上記有害種の中では比較的高水温、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 *H. circularisquama* と同程度であり、*C. antiqua*, *C. marina*, *H. akashiwo*, *K. mikimotoi* の1.2~1.6倍であることがわかった。

Table 1. Summary of reported maximum growth rate ( $\mu$  m) of temperature and salinity in batch culture on various noxious red tide flagellates

Species	Parameter	Optimum	$\mu$ m(day <sup>-1</sup> )	Reference
<i>Chattonella antiqua</i>	Temperature	25°C	0.67	10)
	Salinity	25		
<i>Chattonella marina</i>	Temperature	25°C	0.56	10)
	Salinity	20		
<i>Heterosigma akashiwo</i>	Temperature	15~25°C	0.64	11)
	Salinity	25		
<i>Karenia mikimotoi</i>	Temperature	25°C	0.73	10)
	Salinity	25		
<i>Heterocapsa circularisquama</i>	Temperature	30°C	0.90	12)
	Salinity	30		
<i>Cochlodinium polykrikoides</i>	Temperature	27.5°C	0.90	This study
	Salinity	32		

今回の伊万里湾における本藻赤潮の特徴は、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。

本藻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藻の増殖を加速させた一因となったと考えられる。また、本藻赤潮直前の *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>10)</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 $1.29\text{day}^{-1}$ と試算され、培養実験で得られた最大比増殖速度 ( $\mu_m=0.90\text{day}^{-1}$ ) 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、本藻赤潮発生期間中の小潮は8月6日で、これは本藻赤潮の対数増殖期に一致し、大潮は8月11日で<sup>2)</sup>、赤潮消滅とほぼ一致する (Fig. 3)。つまり、小潮による海水交換の減少が本藻赤潮化を促進させ、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>13)</sup> は本藻細胞数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, 平均風速1.8～2.5 m/s）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、本藻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、本藻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1～20mmの降水<sup>3)</sup> (Fig. 3)により陸域から供給されたと考えられる栄養塩を本藻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藻赤潮化は、*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藻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。

## 謝 辞

この調査研究に際してご助言を賜った広島県水産試験場の高山晴義資源環境部長、並びに独立行政法人水産総合センター瀬戸内海区水産研究所の松山幸彦研究員に深く感謝する。また、現場調査にご協力頂いた新星鹿および鷹島阿翁漁業協同組合の皆様にご御礼申し上げる。さらに、本稿をとりまとめるにあたり種々ご教示頂いた長崎大学水産学部松岡数充教授に厚く御礼申し上げる。

## 文 献

- 1) 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—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), (2000).
- 2) 日本気象協会長崎支部: 長崎潮位表. 平成11年 (1999).
- 3) 気象業務支援センター: 長崎県気象月報. 平成11年8月 (1999).

- 4) 岩崎英雄：微細藻類の分離と培養，日本水産資源保護協会，東京，1967，pp.177-183.
- 5) 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，pp.85-90.
- 6) 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，松岡敷充編），日本水産資源保護協会，東京，1992，pp.40-41.
- 7) 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，pp.26.
- 8) 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」（赤潮研究会編集委員会），日本水産資源保護協会，東京，1980，pp.103-108.
- 9) 西澤一俊，千原光雄：藻類研究法，共立出版，東京，1979，pp.223-240.
- 10) 山口峰生：*Gymnodinium mikimotoi* の赤潮発生機構と発生予知に関する生理生態学的研究，南西海区水研報，27，251-394（1994）.
- 11) 渡辺 信，中村泰男：赤潮鞭毛藻 *Heterosigma akashiwo* Hada の増殖特性．1．増殖に及ぼす水温，塩分，照度，pHの影響．国立公害研究所報告，63，51-58（1984）.
- 12) 山口峰生：新型赤潮生物の増殖に及ぼす水温と塩分の影響．渦鞭毛藻・ラフィド藻等による新型赤潮の発生機構と予察技術の開発に関する研究，平成6年度研究報告書，南西海区水産研究所，7-12（1995）.
- 13) 渡辺康憲：平成11年伊万里湾に発生したコ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，17-28，（2000）.