

# 有明海で発生した珪藻Rhizosolenia imbricata Brightwellの増殖特性

誌名	日本プランクトン学会報
ISSN	03878961
著者名	佐々木,和之 鬼頭,鈞
発行元	日本プランクトン学会
巻/号	50巻2号
掲載ページ	p. 79-87
発行年月	2003年8月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター  
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council  
Secretariat



## 有明海で発生した珪藻 *Rhizosolenia imbricata* Brightwell の 増殖特性

佐々木和之<sup>1)</sup>・鬼頭 鈞<sup>2)</sup>

- <sup>1)</sup> 福岡県水産海洋技術センター 〒819-0169 福岡市西区今津 1141-1  
現在: 福岡県水資源対策局計画課 〒812-8577 福岡市博多区東公園 7-7  
<sup>2)</sup> 独立行政法人 水産大学校 〒759-6595 下関市永田本町 2-7-1

### Growth characteristics of *Rhizosolenia imbricata* Brightwell occurring in Ariake Sea

KAZUYUKI SASAKI AND HITOSHI KITO

- <sup>1)</sup> *Fukuoka Fisheries and Marine Technology Research Center, 1141-1 Imazu, Nishi-ku, Fukuoka 819-0169, Japan*  
*Present address: Fukuoka Prefectural Water Resources Planning Bureau, Planning Division, 7-7 Higashi-kohen,*  
*Hakata-ku, Fukuoka 812-8577, Japan*  
*Corresponding author: Kazuyuki Sasaki, e-mail: sasaki-k8192@pref.fukuoka.lg.jp*  
<sup>2)</sup> *National Fisheries University, 2-7-1 Nagata-honmachi, Shimonoseki 759-6595, Japan*

**Abstract** The Nori (*Porphyra tenera*) industry was seriously damaged by a red tide species *Rhizosolenia imbricata* in Ariake Sea from December 2000 to March 2001. Unlike other diatoms, such as *Skeletonema costatum*, *Chaetoceros* spp. and *Eucampia zodiacus*, which are common red tide species in this region, *R. imbricata* has never formed a red tide during the Nori culture season. The present study aims to clarify the growth characteristics of *R. imbricata* in the laboratory, and discuss the cause of its outbreak. The preliminary culture showed that *R. imbricata* could scarcely increase cell numbers in 100% and 10% SWM-III medium, but grew well in 1% SWM-III (i.e. 99% diluted medium with seawater). In 1% SWM-III, effects of water temperature, salinity and light intensity on the growth were examined. The maximum cell division rate was 1.38 per day under the conditions of  $111 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  and 20°C. Growth was characterized as a long steady state with sustaining high cell densities. The optimum temperature for growth was 20–25°C, although *R. imbricata* could not grow below 10°C. The maximum cell density was obtained under higher light intensities. Lowering salinities had an adverse effect on the growth, and *R. imbricata* could not grow in 70% seawater. However, temporal decrease of salinity accelerated cell division rates. Iron was an essential element for the growth of *R. imbricata*. Low requirements of nutrients of this species is considered as one of the most fundamental factor that allows *R. imbricata* to sustain the red tide for relatively long periods even in poor nutrient conditions.

**Key words:** *Rhizosolenia imbricata*, red tide, mono specific culture, low nutrient-requirement

有明海のノリ養殖は、例年10月上旬に開始され、珪藻プランクトンの *Eucampia*, *Chaetoceros*, *Rhizosolenia*, *Skeletonema* 等の赤潮が発生し、海水中の栄養塩が減少

する2~3月に終了するのが一般的である。しかし、2000年度は珪藻プランクトン *Rhizosolenia imbricata* Brightwell による大規模な赤潮が、秋芽生産が始まっ

た直後の12月中旬から3月末のノリ漁期終了まで長期間にわたって継続した。そのため例年に比べ早期に栄養塩不足が生じ、ノリは色落ちと成長不良を引き起こした。福岡県のノリ生産量は5億7,800万枚と例年の4割に落ち込み、ノリ業界に大打撃を与えた。これまでに、被害を伴う *Rhizosolenia* 属の赤潮は、1961年に福岡県有明海地先で発生した *R. styliformis* のみで(天野ほか1961)、この種の発生は極めて希である。

近年の有明海の海況異変については、日本海洋学会環境問題委員会(2001)が環境悪化機構究明と環境回復のための提言を行い、その項目の一つとして、特に、赤潮発生機構の究明が急務とされている。このため、沿岸漁業及び増養殖を直接的な研究対象としている各県の水産試験場等では、主な研究課題の一つとして珪藻赤潮の研究に取り組んでいる。

一般に、珪藻プランクトンは通常の培地で簡単に分離培養することが可能であるが、問題となった *R. imbricata* は既存の培地ではほとんど増殖せず、また、本種の培養に関する知見はほとんどない。そこで今回さまざまな試行錯誤を行った結果、低栄養条件下で *R. imbricata* の培養が可能であることが判明した。この技術を基に室内実験を行い、水温、塩分、照度の影響や栄養要求を明らかにし、*R. imbricata* が他の珪藻プランクトンの増殖を抑えて、長期にわたって増殖し続けた原因について検討した。

## 材料および方法

### 1. *Rhizosolenia imbricata* の分離・培養

*R. imbricata* は2001年2月22日に福岡県有明海地先の赤潮発生時の海水を取水し、マイクロピペットを用いて分離したものである。プランクトンの培養は24穴のマルチウェルプレートを使用した。予備培養は後述する1% SWM-III 改変培地を使用して、水温 20°C、照度  $28 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、11時間明、13時間暗周期で行った。本実験は予備培養した活性の高い *R. imbricata* を、実験目的に応じて調製した培養液を満たしたマルチプレートに接種した。接種時の細胞数は培養条件を統一するために、1穴に1細胞ずつ接種した。なお、*R. imbricata* は細胞が大きいので培養液はすべて2 ml とした。一つの実験区につき4穴を準備し、細胞数はこの4穴を平均し、小数点以下は切り捨てて整数で表示した。なお、細胞はすべて1細胞から増殖したものであるため、培地2 ml 当たりの数値をそのまま表示した。容器は実験途中のコンタミネーションを防ぐため密封したまま、倒立顕微鏡

を用いて生細胞のみを計数した。細胞が破壊されて空になっているものや色素が希薄で原形質流動が認められない細胞は死細胞と判断した。一日当たりの分裂速度  $\mu_2$  ( $\text{div} \cdot \text{day}^{-1}$ ) は次により求めた。

$$\mu_2 = (\ln N_t - \ln N_0) / (t \cdot \ln 2)$$

ここで、 $N_0$  ははじめの細胞数、 $N_t$  は  $t$  日後の細胞数を表す。

### 2. 実験区の設定

培地の検討を行うために、Table 1 に示したように、珪藻類や藻類の培養には通常使用されている尾形(1970)のSWM-III培養液から、ビタミン類や土壌抽出液を除いたものを基本培養液として使用した。以下、滅菌した海水で1/10ずつ希釈して10%、1%、0.1%及び0%の計5つの濃度の実験区を設定した。培地作成に使用した海水は、福岡湾湾口域から20 Lを採水し0.45  $\mu\text{m}$ のミリポアーフィルターで濾過してポリエチレン容器に蓄え、数カ月間冷暗所で保存したのものである。使用時の濾過海水の塩分は33.94、溶存態無機窒素(DIN)は4.45  $\mu\text{g at N} \cdot \text{l}^{-1}$ 、溶存態無機リン(DIP)は0.23  $\mu\text{g at P} \cdot \text{l}^{-1}$ であった。水温、塩分、照度の実験に用いた培養液は、この希釈系列から、最も良好な増殖を示し、かつ、短い実験期間で結果が得られやすい1%濃度と決定し、以下の実験に使用した。

*R. imbricata* の増殖に及ぼす水温の影響については、照度  $28 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  のもとで25°C、20°C、15°C及び10°Cの4区を、塩分の影響については水温20°C、照度  $28 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  のもとで100%海水区、90%、80%及び70%の4区を設定した。また、照度の影響につい

Table 1. Composition of modified SWM-III medium used in the present study.

NaNO <sub>3</sub>	1.0 M	2 ml
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	50 mM	2 ml
Na <sub>2</sub> EDTA	15 mM	2 ml
FeCl <sub>3</sub>	1.0 mM	2 ml
PI-metals		2 ml
Tris		500 mg
Sea water		1.0 L
pH		7.5
PI-metals		
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	12.37 g	
MnCl <sub>3</sub>	1.4 g	
ZnCl <sub>3</sub>	0.11 g	
CoCl <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O	4.8 mg	
CuCl <sub>3</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.03 mg	
H <sub>2</sub> O	2.0 L	

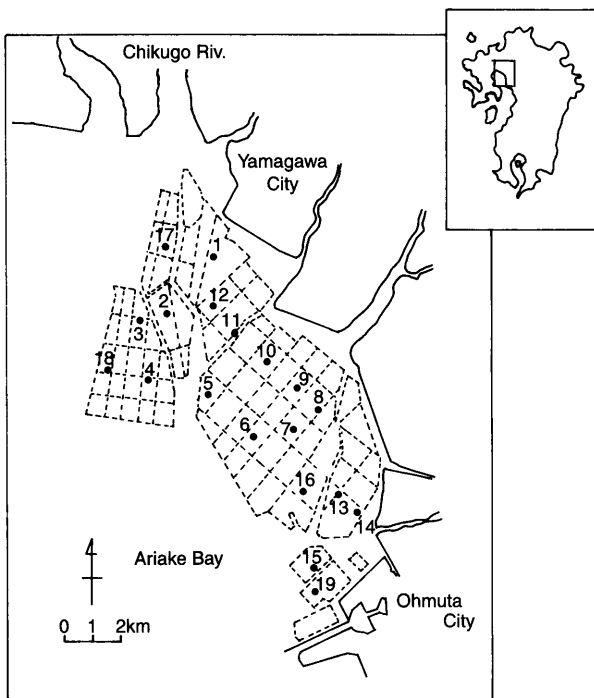


Fig. 1. Location of sampling stations in Ariake Sea.

ては水温  $20^{\circ}\text{C}$  のもとで、 $111\ \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 、 $56\ \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 、 $28\ \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  及び  $11\ \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  の 4 区を設定した。

さらに、現場状況を理解するために、培養途中でマイクロピペットを使用して  $2\ \text{ml}$  の培養液から  $0.5\ \text{ml}$  または  $1\ \text{ml}$  を抜き取り、代わりに同量の蒸留水で調製した培地を加えて塩分が基本濃度の  $75\%$  と  $50\%$  になるよう設定した。これらの擬似的な淡水化が *R. imbricata* の増殖に及ぼす影響を調べた。

次に、通常の珪藻類は SWM-III 培養液で十分増殖するのにに対し、本種がこの培養液で増殖しない理由について、また、どの培地成分が増殖に影響を及ぼしているのかを明らかにするために、 $100\%$  の SWM-III 基本培養液の構成要素である窒素、リン、鉄及びその他の微量元素の 4 項目についてすべての組み合わせ (16 通り) の培養液を調製した。培養条件は、予備培養と同じである。実験期間は基本的には対数増殖期から定常期に至るまでとし、必要に応じて衰退期までを設定した。すべての実験を通じて倒立顕微鏡による検鏡は、原則的に実験開始後 2 週間目までの対数増殖期間は細胞数が大きく変化するために 2 日間の短い間隔で、2 週間から 1 カ月間は 5 日間隔、それ以降は 10 日間隔で行った。

### 3. フィールド調査

本県有明地先のノリ漁場で実施した 19 カ所の調査地

点を Fig. 1 に示した。調査はノリ養殖が開始される 2000 年 10 月から翌年 3 月までほぼ週 2 回の頻度で行い、DIN とプランクトン沈澱量を測定した。DIN の分析には表層の海水を採水し、プランクトンは水深  $1.5\ \text{m}$  から垂直引きしたプランクトンネット (NXX13: 目合  $100\ \mu\text{m}$ ) 上に残った量を  $100\ \text{L}$  当たりの沈澱量として表した。

## 結果

### 1. 培養液中の栄養塩と金属濃度の影響

基本培養液の栄養塩と金属濃度の違いによる *R. imbricata* の増殖経過を Fig. 2 に示した。培養は全体の増殖経過を知るために衰退期までの 77 日間とした。*R. imbricata* は栄養塩と金属濃度が低い  $1\%$ 、 $0.1\%$  及び  $0\%$  の 3 区では良好に増殖し、赤潮状態となった。最高細胞密度 (以降最高密度と呼称する) は、 $0\%$  区の培養開始 55 日目の  $1,224\ \text{cells} \cdot 2\ \text{ml}^{-1}$ 、続いて、 $1\%$  区の 36 日目の  $1,010\ \text{cells} \cdot 2\ \text{ml}^{-1}$ 、 $0.1\%$  区の 41 日目の  $399\ \text{cells} \cdot 2\ \text{ml}^{-1}$  の順に高かった。これら 3 区の中では、栄養塩と金属濃度が高いほど速く最高密度に達する傾向が認められた。 $1\%$  区の増殖曲線を見ると顕著な誘導期は認められず、培養開始から 23 日までほぼ対数増殖期で、以後 35 日から 47 日まで定常期を示し、その後生細胞は急速に減少し 60 日目にはすべて死滅した。 $0.1\%$  区でも  $1\%$  区に比べ最高密度は低いもののほぼ同様な増殖曲線を示した。 $0\%$  区では  $0.1\%$  区や  $1\%$  区には見られなかった 6 日間の誘導期を経て、その後ゆっくり増殖し続け、定常期は 40 日から 62 日まで 22 日間にも及んだ。衰退期も  $0.1\%$  区や  $1\%$  区に比べ非常に緩

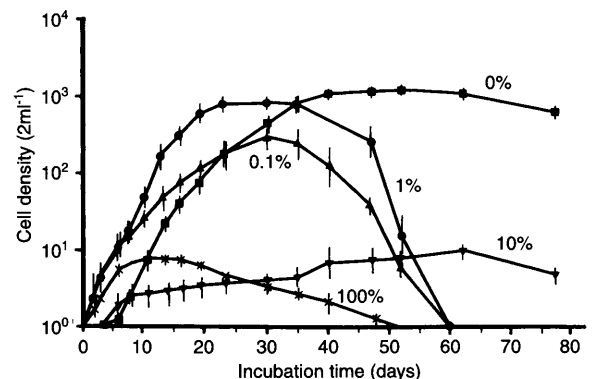


Fig. 2. Effect of dilution of modified SWM-III medium with seawater. *R. imbricata* was incubated at  $20^{\circ}\text{C}$  and  $28\ \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  with a photoperiod of 11 h light and 13 h dark. Each percentage indicates the proportion of SWM-III medium. Bars of each point indicate standard deviation.

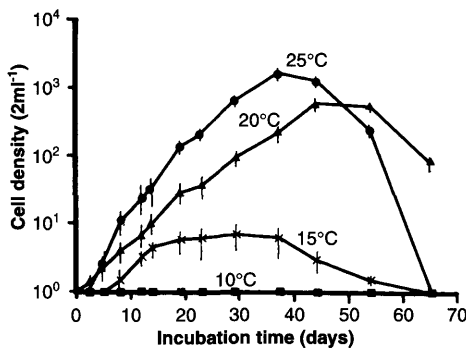


Fig. 3. Effect of water temperature on the growth of *R. imbricata*. 1% SWM-III medium was used for all experimental cultures at  $28 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .

慢なことが特徴であった。

一方、栄養塩と金属濃度の高い100%区では、最高密度は11日目のわずか  $8 \text{ cells} \cdot 2 \text{ ml}^{-1}$ 、10%区では62日目の  $10 \text{ cells} \cdot 2 \text{ ml}^{-1}$  であり、*R. imbricata* はほとんど増殖しなかった。

## 2. 温度の影響

*R. imbricata* の増殖に及ぼす温度の影響を Fig. 3 に示した。20°C 及び 25°C の2区は良好な増殖を示し、最高密度は25°C区での培養開始37日目の  $1,674 \text{ cells} \cdot 2 \text{ ml}^{-1}$ 、続いて20°C区での44日目の  $612 \text{ cells} \cdot 2 \text{ ml}^{-1}$  であった。15°C区では増殖は見られたものの最高密度は29日目の  $7 \text{ cells} \cdot 2 \text{ ml}^{-1}$  に過ぎなかった。一方、10°C区では全く増殖せず、接種29日目に4穴中、1穴で1細胞の生細胞が確認されたに過ぎなかった。また、実験終了時の65日目には25°C区、15°C区及び10°C区の3区では全細胞が死滅したのに対して、20°C区では全細胞の約14%にあたる83細胞が生存していた。

## 3. 照度の影響

*R. imbricata* の増殖に及ぼす照度の影響を Fig. 4 に示した。111  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  区、56  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  区及び28  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  区の3区とも最高密度に達するのはいずれも接種後22日目で、照度が高いほど増殖速度は速い傾向にあった。最高密度は高い順に56  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  区の  $2,921 \text{ cells} \cdot 2 \text{ ml}^{-1}$ 、28  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  区の  $1,878 \text{ cells} \cdot 2 \text{ ml}^{-1}$ 、111  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  区の  $1,348 \text{ cells} \cdot 2 \text{ ml}^{-1}$  であった。一方、最も照度の低い11  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  区では最高密度に達する時間は遅いものの29日目に  $1,742 \text{ cells} \cdot 2 \text{ ml}^{-1}$  となり、他の3区と同程度の細胞数に達した。

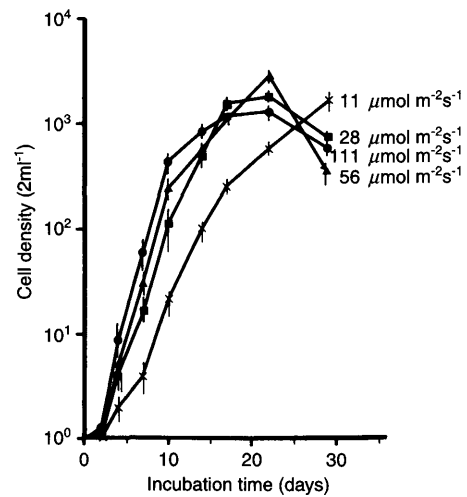


Fig. 4. Effect of light intensity on the growth of *R. imbricata*. The incubation was carried out with the medium of 1% SWM-III at 20°C.

## 4. 塩分の影響

*R. imbricata* の増殖に及ぼす塩分の影響を Fig. 5 に示した。100% 海水区、90% 海水区及び80% 海水区の3区では順調な増殖が見られたものの、最高密度は100% 海水区の30日目の  $946 \text{ cells} \cdot 2 \text{ ml}^{-1}$ 、90% 海水区の30日目の  $216 \text{ cells} \cdot 2 \text{ ml}^{-1}$ 、80% 海水区の36日目の  $368 \text{ cells} \cdot 2 \text{ ml}^{-1}$  と、塩分が低くなるにつれて低下する傾向が見られた。一方、最も塩分の低い70% 海水区では、7日目にやっと  $3 \text{ cells} \cdot 2 \text{ ml}^{-1}$  に増殖したものの、それ以降は全く増殖しなかった。

## 5. 淡水化の影響

擬似的な淡水化が *R. imbricata* に及ぼす影響を Fig. 6 に示した。上段に *R. imbricata* の細胞数の変化を、下段

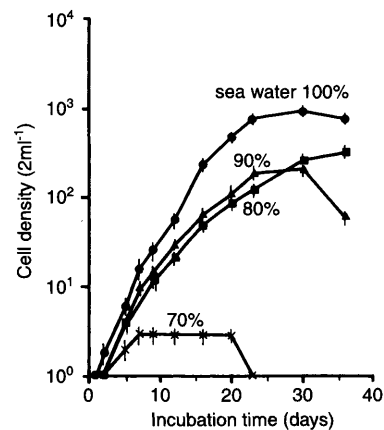


Fig. 5. Effect of salinity on the growth of *R. imbricata*. Salinity of the control (100%) was 33.94 psu. All experimental cultures were carried out with 1% SWM-III medium at  $28 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .

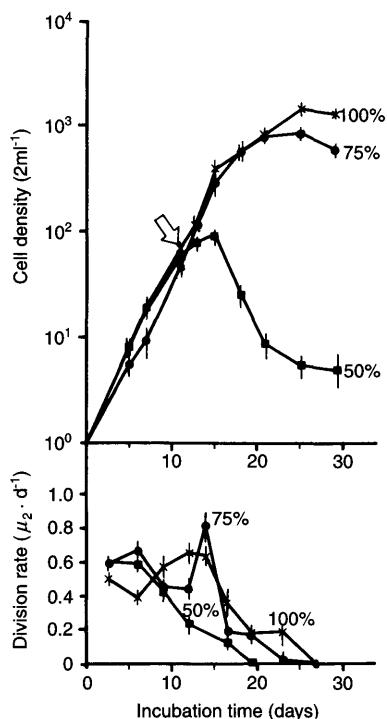


Fig. 6. Effect of dilution with distilled water on the growth of *R. imbricata* (upper), and division rate (lower). Arrow shows the addition of distilled water on day of the experiment.

には分裂速度を表した。細胞数は測定したその日に、分裂速度  $\mu_2$  は測定日と測定日の中間に図示した。なお、蒸留水で調製した培地を添加するまでは水温、照度、培地濃度等はすべて同一条件である。*R. imbricata* は塩分低下を起こす前まではそれぞれ順調に増殖したが、塩分を50%まで低下させた区は、処理開始直後の  $60 \text{ cells} \cdot 2 \text{ ml}^{-1}$  から処理4日目にかけて  $95 \text{ cells} \cdot 2 \text{ ml}^{-1}$  と引き

続き増加が見られたものの、分裂速度は  $0.43 \sim 0.60 \text{ div} \cdot \text{day}^{-1}$  から  $0 \sim 0.13 \text{ div} \cdot \text{day}^{-1}$  へと急激に減少した。一方、75%海水区では100%海水区とほぼ同程度の最高密度を示し、分裂速度の変化も100%海水区とほぼ類似した経日変化を示したが(15~18日の間で  $0.19 \text{ div} \cdot \text{day}^{-1}$  まで低下)、低塩分処理した直後に  $0.82 \text{ div} \cdot \text{day}^{-1}$  まで上昇したのが特徴的であった。

### 6. 培地組成の影響

培養開始から対数増殖期までの15日間にかけて、SWM-III培養液の構成成分の違いによって起きる *R. imbricata* の増殖速度の変化を調べ、その結果をTable 2に示した。表の中段には培養開始15日目の細胞数を、下段には培養途中で測定した0, 2, 5, 15日目のうち、最大分裂速度を示した数値を記入した。すべての実験区で細胞数の違いはあるものの増殖が認められた。そのうち、 $50 \text{ cells} \cdot 2 \text{ ml}^{-1}$ 以上増殖した区は、細胞数の多い順に、 $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ と $\text{FeCl}_3$ を添加したNo. 9区の  $277 \text{ cells} \cdot 2 \text{ ml}^{-1}$ 、続いて、 $\text{NaNO}_3$ ,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ と $\text{FeCl}_3$ を添加したNo. 6区の  $149 \text{ cells} \cdot 2 \text{ ml}^{-1}$ 、 $\text{NaNO}_3$ と $\text{FeCl}_3$ を添加したNo. 11区並びに $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ を添加したNo. 15区が同数の  $77 \text{ cells} \cdot 2 \text{ ml}^{-1}$ 、 $\text{FeCl}_3$ を添加したNo. 14区の  $74 \text{ cells} \cdot 2 \text{ ml}^{-1}$ の計5区であった。一方、ほとんど増殖が見られなかった ( $< 4 \text{ cells} \cdot 2 \text{ ml}^{-1}$ ) 実験区は、 $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ が欠乏したNo. 4区、 $\text{FeCl}_3$ が欠乏したNo. 5区、 $\text{NaNO}_3$ と $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ が欠乏したNo. 7区、 $\text{NaNO}_3$ と $\text{FeCl}_3$ が欠乏したNo. 8区、 $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ と $\text{FeCl}_3$ が欠乏したNo. 10区、 $\text{NaNO}_3$ ,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 及び $\text{FeCl}_3$ が欠乏したNo. 13区であった。栄養塩を全く添加しないNo. 1区とすべてを添加したNo. 2区は、そ

Table 2. Effects of nutrients and trace metals composition on the growth yield of *R. imbricata*. Open circles indicate nutrient addition and bars indicate absence.

No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
$\text{NaNO}_3$	—	○	—	○	○	○	—	—	—	○	○	○	—	—	—	○
$\text{Na}_2\text{HPO}_4$	—	○	○	—	○	○	—	○	○	—	—	○	—	—	○	—
$\text{FeCl}_3$	—	○	○	○	—	○	○	—	○	○	—	—	—	○	—	—
PI metals	—	○	○	○	○	—	○	○	—	—	○	—	○	—	—	—
Initial cell number ( $\text{cells} \cdot 2 \text{ ml}^{-1}$ )	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Cells number after 15 days ( $\text{cells} \cdot 2 \text{ ml}^{-1}$ )	15	27	15	2	2	149	4	3	277	2	77	15	4	74	77	27
Maximum division rate ( $\mu_2, \text{day}^{-1}$ )	0.35	0.40	0.36	0.10	0.06	0.72	0.27	0.17	0.62	0.16	0.49	0.31	0.15	0.50	0.49	0.42
Incubation period* (days)	5-15	5-15	5-15	5-15	5-15	2-5	2-5	5-15	2-5	0-2	5-15	5-15	5-15	5-15	2-5	5-15

\* Incubation period at which maximum  $\mu_2$  occurred.

れぞれ  $15 \text{ cells} \cdot 2 \text{ ml}^{-1}$  と  $27 \text{ cells} \cdot 2 \text{ ml}^{-1}$  で中程度の増殖量であった。

次に、分裂速度が速いものは  $\text{NaNO}_3$ ,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  及び  $\text{FeCl}_3$  を添加した No. 6 区の  $0.72 \text{ div} \cdot \text{day}^{-1}$ , 続いて,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  と  $\text{FeCl}_3$  を添加した No. 9 区の  $0.62 \text{ div} \cdot \text{day}^{-1}$  であった。No. 11, No. 14 及び No. 15 はほとんど変わらず  $0.49 \sim 0.50 \text{ div} \cdot \text{day}^{-1}$  であった。一方、分裂速度の遅いものは,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  が欠乏した No. 4 区の  $0.1 \text{ div} \cdot \text{day}^{-1}$ ,  $\text{FeCl}_3$  が欠乏した No. 5 区の  $0.06 \text{ div} \cdot \text{day}^{-1}$ ,  $\text{NaNO}_3$  と  $\text{FeCl}_3$  が欠乏した No. 8 区の  $0.17 \text{ div} \cdot \text{day}^{-1}$ ,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  と  $\text{FeCl}_3$  が欠乏した No. 10 区の  $0.16 \text{ div} \cdot \text{day}^{-1}$ ,  $\text{NaNO}_3$ ,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  及び  $\text{FeCl}_3$  が欠乏した No. 13 区の  $0.15 \text{ div} \cdot \text{day}^{-1}$  であった。いずれにしても,  $\text{FeCl}_3$  が欠乏すると分裂速度が遅くなり, 増殖量も減少する傾向が見られた。

## 7. フィールド調査

ノリ漁期中の2000年10月～2001年3月までの, DINとプランクトン沈澱量の推移を Fig. 7 に示した。数値は全19地点の測定値を平均して表した。DINは採苗日の10月上旬から11月下旬の育苗日までは  $13 \sim 25 \mu\text{g at N} \cdot \text{L}^{-1}$  とノリの生育にとっては十分に高い水準にあった。一方, プランクトン沈澱量は, この間,  $1 \text{ ml} \cdot 100 \text{ L}^{-1}$  以下と少なくプランクトンはほとんど増加しなかった。その後, 12月中旬から下旬にかけて増殖し, 沈澱量は  $10 \text{ ml} \cdot 100 \text{ L}^{-1}$  付近まで急激に増加した。その結果, DINはノリの成長に必要な濃度であると言われている  $10 \mu\text{g at N} \cdot \text{L}^{-1}$  (筑後川水系関連漁業調査検討委員会 1976) を大きく下回る  $2 \sim 3 \mu\text{g at N} \cdot \text{L}^{-1}$  まで激減し, ノリは色落ちと成長不良を引き起こした。この状態が3月の漁期終了時まで続いたため, 有明海のノリ生産

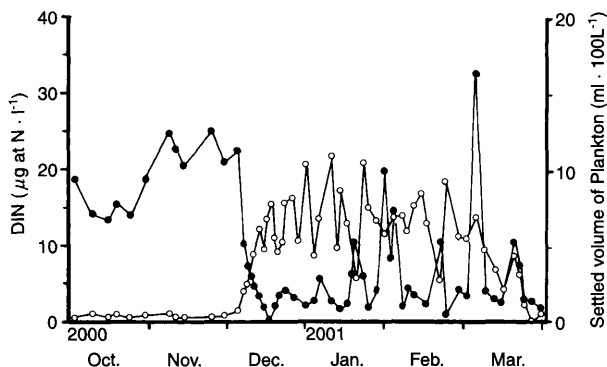


Fig. 7. Seasonal changes in DIN (closed circles) and settled volume of plankton (open circles) in Ariake Sea.

は未曾有の被害を受けた。

## 考 察

*R. imbricata* は外洋性の大型珪藻と言われている (山路 1986)。2000年に有明海で発生した本種の細胞の頂軸長は, 平均値  $20 \pm 0.05 \mu\text{m}$  ( $n=720$ ) とほぼ一定であるが, 貫殻軸長は  $60 \sim 800 \mu\text{m}$  と大きなばらつきが見られた。分裂細胞は物理的な衝撃を受けることの少ない静置したフラスコ内では長くつながっており, 実験中最大で10数cmまで達することがしばしば観察された。細胞の上下の蓋殻を円錐形, 殻環部を円筒形と見なして細胞体積を算出して Fig. 8 に示した。出現頻度は二峰型を示し, 第一峰の平均体積は  $7.8 \times 10^4 \mu\text{m}^3$ , 第二峰は  $19.0 \times 10^4 \mu\text{m}^3$  であり, 細胞は自身の2倍を超える体積になった後分裂するものと推察される。

今回, *R. imbricata* の増殖に適した培地を検討するために使用した SWM-III 改変培地は, 珪酸塩やビタミン類, 土壌抽出液等を除いている。特に珪酸塩は珪藻プランクトンの増殖にとっては不可欠な栄養素の一つと十分認識しているが, 佐々木・宇野 (1988), Uno & Sasaki (1987) は, 濃度は異なるものの同じ改変培地を用いて, 有明海で冬場のノリ時期に頻繁に赤潮を形成する珪藻 *Eucampia zodiacus*, *Chaetoceros curvisetus*, *Skeletonema costatum* 及び *Asterionella japonica* の培養実験を行っている。これらの結果と今回得られた *R. imbricata* の結果をまとめて整理し Table 3 に示した。*E. zodiacus* 等4種の最高密度は  $2.1 \sim 4.2 \times 10^4 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$  と高密度に増殖したが, *R. imbricata* は1%に希釈した SWM-III 改変培地では最高密度は  $950 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$  と少ない。これは照度が前実験の  $78 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  に比べて  $56 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  とやや低いことも原因していると推定されるが, 群としての体積は  $7.4 \times 10^7 \mu\text{m}^3 \cdot \text{ml}^{-1}$  と前述の4種の  $1.0 \times 10^7 \sim 1.1 \times 10^9 \mu\text{m}^3 \cdot \text{ml}^{-1}$  と同程度である。また, 1細胞当たりの体積が大きくこの密度

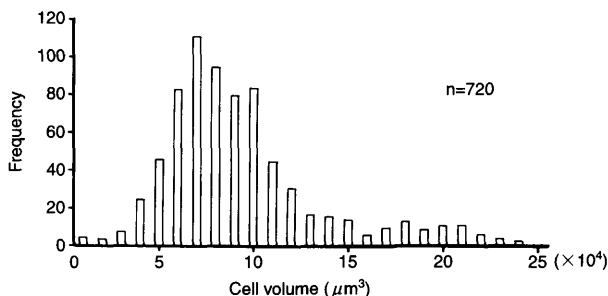


Fig. 8. Frequency distribution of cell volume for *R. imbricata*.

**Table 3.** Population cell volume of red tide diatom species occurring in Ariake Sea. Cultures were incubated in several modified SWM-III medium.

Species	Medium	Maximum cell number (cells·ml <sup>-1</sup> ) (A)	Cell volume (μm <sup>3</sup> ) (B)	Population cell volume (μm <sup>3</sup> ·ml <sup>-1</sup> ) (A×B)	Temp. (°C)	Light intensity (μmol <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	Photo cycle (h)
<i>Eucampia zodiacus</i>	SWM-III	2.1×10 <sup>4</sup> *1	2.4×10 <sup>4</sup> *2	5.0×10 <sup>8</sup>	20	78	11L:13D
<i>Chaetoceros curvisetus</i>	SWM-III	4.9×10 <sup>4</sup> *1	1.2×10 <sup>4</sup> *2	5.9×10 <sup>8</sup>	20	78	11L:13D
<i>Skeletonema costatum</i>	SWM-III	4.2×10 <sup>5</sup> *1	2.5×10 <sup>3</sup> *2	1.1×10 <sup>9</sup>	20	78	11L:13D
<i>Asterionella japonica</i>	SWM-III	6.4×10 <sup>4</sup> *1	1.6×10 <sup>4</sup> *2	1.0×10 <sup>7</sup>	20	78	11L:13D
<i>Rhizosolenia imbricata</i>	SWM-III	4.0×10 <sup>0</sup>	7.8×10 <sup>4</sup>	3.1×10 <sup>5</sup>	20	28	11L:13D
"	SWM-III (1%)	5.0×10 <sup>2</sup>	7.8×10 <sup>4</sup>	3.9×10 <sup>7</sup>	20	28	11L:13D
"	SWM-III (1%)	9.5×10 <sup>2</sup>	7.8×10 <sup>4</sup>	7.4×10 <sup>7</sup>	20	56	11L:13D

\*1 Data on diatoms were compiled from Sasaki & Uno (1988) and \*2 Uno & Sasaki (1987).

でも十分赤潮状態になることが確認された。

今回使用した培地では, *R. imbricata* は珪酸塩を添加しなくても十分増殖することが判明したため, 増殖を左右する要因は別にあるものと推定された。なお, 当有明海は一級河川の筑後川からの流入河川水により常時比重が低下する海域であるとともに, 大きな干満差によるかき混ぜにより, 海水は常時懸濁しており珪酸塩は十分であると推定される。

一方, 培地作成に使用した海水中の DIN 濃度は 4.45 μg at N·l<sup>-1</sup> であり, この濃度は Fig. 7 が示すとおり *R. imbricata* にとっては急激に増殖が開始される良好な濃度であるのに対し, ノリにとっては色落ちが始まるなど生育には不十分な濃度である。

以前に実験を行った4種の中で色落ちの原因として特に問題となっている *E. zodiacus* について見ると, 平均細胞体積は 2.4×10<sup>4</sup> μm<sup>3</sup>, 最高密度は 2.1×10<sup>4</sup> cells·ml<sup>-1</sup> から 1 ml 中の群体積は 5.0×10<sup>8</sup> μm<sup>3</sup>·ml<sup>-1</sup> と算出された。一方, *R. imbricata* については, 平均細胞体積が 7.8×10<sup>4</sup> μm<sup>3</sup>, 最高密度が 9.5×10<sup>2</sup> cells·ml<sup>-1</sup> であることから群体積は 7.4×10<sup>7</sup> μm<sup>3</sup>·ml<sup>-1</sup> と算出された。このように *R. imbricata* は *E. zodiacus* に比べて群体積では 6.8 倍小さいが細胞体積では 3.3 倍大きい。これは *E. zodiacus* では 100%, *R. imbricata* では 1% の濃度の異なる SWM-III 培養液での増殖能であるが, 両種の潜在的増殖能と見なすことができる。しかも, *R. imbricata* の場合は, Fig. 2 に示すように栄養塩を添加しない 0% の対照区の海水でも, ゆっくりではあるが赤潮状態まで高密度に増殖した。この 0% 海水区は天然海水中の栄養塩条件と見なすことができよう。したがって, 漁場では *R. imbricata* や *E. zodiacus* のような比較的細胞体積が大きい珪藻がいったん増殖し始めると, 群体積も急激に増加し, それに伴って海水中の栄養塩も急激に減少する。そのため, これらの

種が最高密度に達するとノリの色落ちが進行することになる。

有明海と同様に, 瀬戸内海の播磨灘でノリ時期に発生して問題となっている珪藻の一つに *Coscinodiscus wailesii* がある。大型珪藻 *C. wailesii* の培養は, 長井・真鍋 (1994), 西川ほか (2002) が行っており, これに用いられた培養液のリン酸濃度や窒素は, *R. imbricata* の増殖最適濃度に比べ, それぞれ 10.3~11.7 倍と高い。したがって, *R. imbricata* は *C. wailesii* に比べ栄養要求は低いと考えられる。

次に, *R. imbricata* の分裂速度を検討するために, 代表的な照度実験の結果を Table 4 に示した。対数増殖期の 4~7 日目の分裂速度は, 11 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> 区では 0.33 div·day<sup>-1</sup>, 28 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> 区では 0.67 div·day<sup>-1</sup>, 56 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> 区では 0.90 div·day<sup>-1</sup>, 111 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> 区では 0.92 div·day<sup>-1</sup> となり, 照度が高くなるにつれて速くなる傾向が見られた。また, 分裂速度の最高は培養開始 2~4 日目の 111 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> 区の 1.38 div·day<sup>-1</sup> で, この速い分裂速度は光などの条件さえ整えば, 現場海水中の他の植物プランクトン種との増殖競争において優位に作用するものと考えられる (佐々木・宇野 1994)。さらに, 野外では, 冬季でも晴天時には海表面で数百 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> の照度に達することから, *R. imbricata* は室内実験結果より速い分裂速度を

**Table 4.** Mean division rate (μ<sub>2</sub>, day<sup>-1</sup>) of *R. imbricata* under several light intensities.

Incubation time (days)	Light intensity (μmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )			
	111	56	28	11
0~2	0.21	0.29	0.00	0.00
2~4	1.38	0.87	1.05	0.50
4~7	0.92	0.90	0.67	0.33
7~10	0.98	0.99	0.91	0.81
10~14	0.22	0.30	0.55	0.51



もつと推定される。

水温については, Baars (1988) は *R. imbricata* の増殖適水温は 12~30°C で, 特に 25°C 以上で良く増殖すると報告している. 今回の実験結果でも *R. imbricata* は 10°C 以下では全く増殖せず, 15°C 以上, 特に水温 20~25°C で良好な増殖を示すこと, さらに, 水温別の生存期間の比較でも, 20°C 区が 65 日間と最も長期間生存できる水温帯であり, また 25°C 区が最高密度を示したことから, *R. imbricata* にとっては 20~25°C が至適水温と見なすことができよう. また, 有明海で *R. imbricata* が初めて赤潮を形成した 2000 年 12 月上旬の水温はまだ 14~15°C 台を維持しており, 本種にとって十分増殖可能な水温帯であったと言えよう (福永ほか 2001).

塩分が下がるほど *R. imbricata* の増殖は悪く, 80~90% 海水区の最高密度は 200~300 cells·2 ml<sup>-1</sup> で 100% 海水区の 20% 程度にしか達せず, さらに 70% 海水以下では増殖は不可能であった. このことから, *R. imbricata* は常時塩分低下が起こっている沿岸域よりも, 塩分の高い外洋に適した種であり, 小谷ほか (2002) が, 2000 年度の赤潮は沖合から沿岸域に向かって広がったことを報告した結果と符合する.

福岡管区気象台 (1990~2000) の降雨量の資料を基に, 有明海沿岸の大牟田市における *R. imbricata* の発生年に当たる 2000 年 10 月~2001 年 3 月とその前年の 1999 年及び過去 10 年間 (1990~1999 年) の月別, 旬別の降水量をとりまとめ Fig. 9 に示した. 10 年間の平均雨量や前年の降雨量も 12 月に少なく 3 月にかけて多くなる傾向にあった. 一方, 2000 年は 11 月上旬に過去 10 年平均の 8.8 倍にあたる 143 mm の大量降雨があり, 約 1 カ月後に *R. imbricata* が大発生している. この 1 カ月の期間は *R. imbricata* の室内実験における最高密度に達する期間とほぼ同じである. この *R. imbricata* の大発生は, 陸からの増殖促進物質の補給の影響も否めないが, 一時的な塩分低下が増殖の刺激となっている可能性が高い. そのことを裏づけるように, 人為的に塩分低下を起こした室内実験では (Fig. 6), 淡水注加によって海水濃度が 75% まで下がると, *R. imbricata* の分裂速度は注加直後に一時的に上昇することが特徴的であった. その後, 室内実験では低塩分状態が続くと, 最終的には分裂速度が急激に低下するのに対して, 野外では満干潮の影響により室内実験に比べて速かに塩分が回復するため, *R. imbricata* の大増殖につながったものと考えられる.

次に, 栄養要求について見ると, *R. imbricata* は FeCl<sub>3</sub> と Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, FeCl<sub>3</sub> と NaNO<sub>3</sub> や Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>,

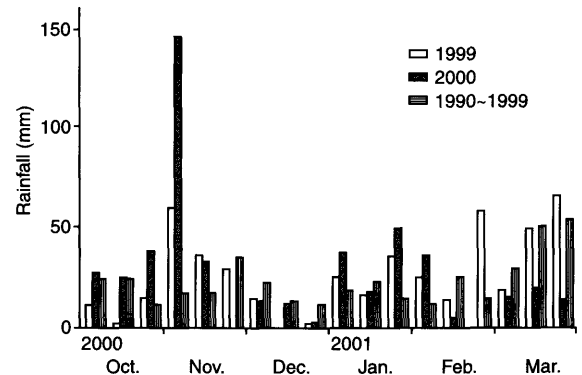


Fig. 9. Seasonal change in rainfall in Ohmuta City from Oct. 1990 to Mar. 2000.

FeCl<sub>3</sub> や Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 単独の培地で良く増殖し, FeCl<sub>3</sub> や NaNO<sub>3</sub>, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> が欠如すると増殖は悪い. さらに, FeCl<sub>3</sub>, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 及び NaNO<sub>3</sub> を単独で添加した実験区は, 窒素やリン等の成分が全部そろって FeCl<sub>3</sub>, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 及び NaNO<sub>3</sub> がそれぞれ単独で欠如した実験区に比べるとはるかに増殖が良好であった. この二つの実験区はお互いに培地を構成する組成を補完する関係にあり, それぞれの成分が独立して *R. imbricata* の増殖に影響を与えているものと推定される. 重金属のうち鉄については, Nakabayashi et al. (1989) は珪藻ブルームの形成には Fe<sup>2+</sup> が必要であること, また, Yamochi (1983) は *Heterosigma akashiwo* はキレート鉄の添加で著しく増殖することを報告している. 今回の実験結果についても, Fe が *R. imbricata* の増殖を左右する重要成分の一つで, 続いて PO<sub>4</sub> と NO<sub>3</sub> の存在が不可欠であると考えられる. なお, 珪藻類はマンガンによって増殖が促進されると言われているが (花岡ほか 1972), 今回の実験ではマンガンは PI metals の一部として添加されてはいたが, マンガン単独の実験は実施していないためその影響については言及できない.

今回の培養実験によって, *R. imbricata* は水温, 塩分, 照度の適応範囲が広く, 加えて, 他の珪藻種より低栄養条件下で増殖できる能力をもつことが判明した. このことから本種は一時的な塩分低下によって増殖が刺激されると, 細胞体積が大きく, 分裂速度が速いため海水中の栄養塩を急速に大量に取り込むことになろう. 特に, 他の珪藻類と異なる特徴, すなわち大型種でありながら低栄養塩条件下で増殖能力をもつことが, 本種を 3 カ月間もの長期間にわたる優占を可能にさせたのであろう.

最後に, 培地濃度, 照度, 水温等の実験において, *R. imbricata* の最高密度及びピークに達する期間が各実験区ごとに 2~3 倍ずれる現象が見られた. その原因として考えられることは, *R. imbricata* の細胞サイズが大き

く、通常行われるピペット1滴(おおむね0.01 ml)容量による接種では、その中に含まれる細胞数に大きな誤差が生じる。それを回避するために1細胞ずつ接種して培養開始条件をそろえて実験を行った。とは言え、対数増殖期の個々の細胞間には生理活性に差があり、それが増殖量に差をもたらしたものと推定される。

## 謝 辞

本実験を進めるに当たり、プランクトンの同定をしていただいた瀬戸内海水産研究所の板倉 茂博士に感謝の気持ちを表すとともに、未曾有のノリ不作の対応におわれた福岡県水産海洋技術センター有明海研究所職員一同に対して心から敬意を表す。

## 引用文献

- 天野泰秀・松尾新一・安部 昇 1961. 海苔天然採苗に関する試験研究. 1. 有明海における浮遊珪藻の異常発生と海苔の不作について. 福岡県有明水試事業報告 No. 4: 63-83.
- Baars, J. W. M. 1988. Autecological investigations on marine diatoms 6: *Rhizosolenia robusta* NORMAN, *Rhizosolenia imbricata* BRIGHTWELL and *Rhizosolenia shruvsolei* CLEVE. *Hydrobiol. Bull.* 22: 157-162.
- 筑後川水系関連漁業調査検討委員会 1976. 筑後川水系関連漁業調査報告書, 54 pp.
- 福岡管区气象台 1990-2000. 平成2-12年度福岡県気象月報.
- 福永 剛・小谷正幸・尾田成幸・淵上 哲・半田亮司 2001. ノリ養殖の高度化に関する調査. 平成12年度福岡県水産海洋技術センター事業報告, 166-170. 福岡県水産海洋技術センター. 福岡.
- 花岡 資・入江春彦・上野福三・飯塚昭二・岡市友利・岩崎英雄 1972. 内湾赤潮の発生機構. 水産研究叢書 23: 77-98.
- 小谷正幸・福永 剛・尾田成幸・淵上 哲 2002. 2000年度ノリ漁期における色落ちの発生状況. 福岡県水産海洋技術センター研究報告 No. 12: 117-122.
- 長井 敏・真鍋武彦 1994. 培養条件下における珪藻類の *Coscinodiscus wailesii* の増大胞子形成. 日本プランクトン学会報 40: 150-167.
- Nakabayashi, S., I. Kudo, K. Kuma, K. Toya & K. Matsunaga 1989. Existence of dissolved Fe<sup>2+</sup> in a spring bloom at Funka Bay. *Bull. Japan Soc. Fish. Oceanogr.* 53: 128-130.
- 日本海洋学会海洋環境問題委員会 2001. 有明海環境悪化機構究明と環境回復のための提言, 海の研究 10: 241-246.
- 西川哲也・宮原一隆・長井 敏 2002. 播磨灘産有害珪藻 *Coscinodiscus wailesii* GRAN の光強度に対する増殖応答. 日本プランクトン学会報 49: 1-8.
- 尾形英二 1970. 新しい海藻培養液 SWM-III について. 藻類 18: 171-173.
- 佐々木和之・宇野史郎 1988. アサクサノリとの混合培養における6種の珪藻プランクトン増殖率の比較. 日本プランクトン学会報 35: 57-65.
- 佐々木和之・宇野史郎 1994. 赤潮発生時における透析チューブ内の珪藻プランクトンの種間作用. 日本プランクトン学会報 41: 9-19.
- Uno, S. & K. Sasaki 1987. Volumetric consideration on the some species of diatom composing red tide in Nori culture area in Ariake Bay, pp. 157-160. In *International Symposium on red Tides: Biology, Environmental Science, and Toxicology* (eds. Okaichi, T., Anderson, D. M. & Nemoto, T.) Elsevier, N.Y.
- 山路 勇 1986. 日本海洋プランクトン図鑑(増補版). 保育社. 大阪, 25-27. (初版発行1966)
- Yamochi, S 1983. Mechanisms for outbreak of *Heterosigma akashiwo* red tide in Osaka Bay, Japan. *J. Oceanogr. Soc.* 39: 310-316.