ノリの色落ち原因藻 *Coscinodiscus wailesii* の増殖に及ぼす 窒素，リンおよび珪素の影響

西川 哲也,^{1*} 堀 豊¹

(2003 年 9 月 16 日受付, 2004 年 5 月 25 日受理)

¹兵庫県立農林水産技術総合センター水産技術センター

Effects of nitrogen, phosphorus and silicon on a growth of a diatom *Coscinodiscus wailesii*
causing *Porphyra* bleaching isolated from Harima-Nada, Seto Inland Sea, Japan

TETSUYA NISHIKAWA^{1*} AND YUTAKA HORI¹

¹Fisheries Technology Institute, Hyogo Prefectural Technology Center for Agriculture, Forestry and Fisheries,
Akashi, Hyogo 674-0093, Japan

In order to elucidate the mechanism of *Porphyra* bleaching by *Coscinodiscus wailesii* blooming, effects of nitrogen (N), phosphorus (P) and silicon (Si) on *C. wailesii* growth under the culture were examined. The maximum growth rate (μ_m) was 1.0–1.3 divisions/d at 20°C and 0.46–0.49 divisions/d at 9°C nutrient saturated conditions respectively. The half-saturation constants for growth (K_s) of nitrate, phosphate, and silicate were estimated as 1.4 $\mu\text{M-N}$, 0.39 $\mu\text{M-P}$, 5.7–6.2 $\mu\text{M-Si}$, respectively. The minimum cell quotas of N, P and Si were calculated as 0.44 nM-N/cell, 0.030–0.040 nM-P/cell and 1.4 nM-Si/cell, respectively. *C. wailesii* did not grow on a wide variety of amino acid and organic phosphorus compounds of different molecular structure as a sole N or P source. The present study demonstrated that consumptions of the nutrients per a cell of *C. wailesii* are significantly larger than the other species causing *Porphyra* bleaching. Decrease of orthophosphate or silicate concentration in Harima-Nada during the period from February to March is presumed to be the limiting factors of *C. wailesii* bloom in spring.

キーワード : *Coscinodiscus wailesii*, 栄養塩, 増殖速度, 最小細胞内含量, ノリの色落ち

瀬戸内海東部に位置する播磨灘ではノリ養殖が盛んにおこなわれており、ノリ養殖は兵庫県の瀬戸内海海域において漁業生産量の約半分を占めている。¹⁾ 近年、ノリ養殖漁期に珪藻類が大量発生することにより栄養塩類が大量に消費され、養殖ノリに色落ち被害が発生するようになった。^{2,3)} 特に当該海域では、*Eucampia zodiacus* と並んで *Coscinodiscus wailesii* がノリの色落ち原因藻として問題視されている。^{2,3)} *C. wailesii* によるノリの色落ち被害は 1980 年代半ば頃から顕著になり、^{2,3)} 以来本種に対して多くの研究が行われてきた。これまでの成果として、長井⁴⁻⁶⁾は播磨灘の海底土中から本種の休眠期細胞を発見し、休眠期細胞は 2～8 月の海底土中に存在し、逆に栄養細胞は 10～4 月の鉛直混合期に出現することを明らかにした。また本種は秋季と春季の 2 回、出現のピークを示すことが明らかとなっている。^{5,7)} 本種は珪

藻類の中でも大型の種であることから、出現数的には小さいものの、生物量的には冬季に出現する植物プランクトン群集の中で重要な構成種となっている。⁸⁾ Tada *et al.*⁹⁾は、播磨灘において水柱内の全クロロフィル *a* 現存量に占める *C. wailesii* の割合が、冬季には最大で 67% に達することを報告している。そのため *C. wailesii* が大量発生した場合、その海域では本種によって大量の栄養塩が消費されると推察され、本種はノリ養殖の色落ち被害に大きく関与していると思われる。しかしながら、これまでの報告では、現場海域で採取された *C. wailesii* 細胞内の窒素，リンおよび珪素含量が分析されているものの、^{3,9)} これら栄養塩に対する本種の増殖応答に関する研究はほとんどおこなわれていない。本稿では、室内培養実験から本種の増殖に及ぼす栄養塩濃度の影響、栄養塩の最小細胞内含量、並びに窒素，リンの存在形態別利

用特性を明らかにし、本種のノリ養殖に及ぼす影響について検討した。

試料および方法

供試株 実験には1998年3月に播磨灘で採集し、マイクロピペット洗浄法¹⁰⁾およびNagai *et al.*の方法¹¹⁾を併用して単離、無菌化した *Coscinodiscus wailesii* のクローン株 (S-34 株) を用いた。供試株の継代培養および本実験の培地には MP1 培地^{5,12)}を用い、以下の実験は全て光強度 $150 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 、明暗周期 10 hL : 14 hD の条件下でおこなった。

増殖に及ぼす窒素・リンおよび珪素濃度の影響 目的とする栄養塩を無添加とした MP1 培地に *C. wailesii* を接種し、増殖が定常期に達するまで飢餓培養した。培養温度は *C. wailesii* の至適増殖温度¹³⁾で、本種が播磨灘において秋季の出現ピークを示す11月の平均水温を想定した 20°C 、および春季の出現ピークを示す2月の平均水温を想定した 9°C とした。飢餓培養により定常期に達した *C. wailesii* を、MP1 培地 7.5 mL を分注した6穴プレートに1穴当たり10~15細胞接種した。目的とする栄養塩の培地への添加濃度は10段階に変化させ、硝酸カリウムを0, 1, 2.5, 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500 μM 、リン酸二カリウムを0, 0.1, 0.25, 0.5, 1, 2.5, 5, 10, 25, 50 μM 、メタ珪酸ナトリウム九水和物を0, 1, 2.5, 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500 μM とした。添加濃度を変化させない場合、各栄養塩の添加濃度は窒素, リン, 珪素でそれぞれ500, 50, 500 μM とした。また培地は、各栄養塩を添加した後オートクレーブ処理 (121°C , 15 分) した。なお、本実験では天然海水を基礎とした MP1 培地を用いたため、目的とする栄養塩を無添加とした培地にも海水由来の栄養塩が含まれている。そこで、各栄養塩を添加する前の天然海水中に含まれている栄養塩濃度を真鍋と反田の方法¹⁴⁾により測定し (無機態窒素濃度 (DIN) : 4.6 μM 、リン酸態リン濃度 ($\text{PO}_4\text{-P}$) : 0.26 μM 、珪酸態珪素濃度 ($\text{SiO}_2\text{-Si}$) : 1.2 μM)、海水由来の栄養塩濃度と添加した栄養塩濃度との和を実験開始時の制限栄養塩濃度とした。培地に用いた天然海水は、2001年3月23日に播磨灘で採水し、Sterivex-GV 0.22 μm Filter unit (MILLIPORE 社製) でろ過した後、冷暗所で6か月以上保存したものを実験に用いた。*C. wailesii* の細胞密度は、定常期に達するまでの期間、毎日実体顕微鏡下で直接計数した。増殖速度 (日分裂速度; 分裂/日) は、計数した *C. wailesii* の細胞密度を日数に対して片対数グラフにプロットし、対数増殖期の直線勾配を最小自乗法により算出した。増殖速度と栄養塩濃度との関係は、以下に示した Monod の式¹⁵⁾から東海の方法¹⁶⁾により求めた。

$$\mu = \mu_m \frac{S}{K_s + S} \quad (1)$$

ここで μ は増殖速度 (分裂/日)、 S は培養開始時の栄養塩濃度 (μM)、 μ_m は最大増殖速度 (分裂/日)、 K_s は半飽和定数 (μM) をそれぞれ示す。また最大細胞密度から接種密度を減じて最大細胞収量を求めた。さらに、栄養塩制限下において増殖が定常期に達し、細胞密度が最大となった時、細胞内の栄養塩濃度は細胞の維持に必要な最小量となると仮定すれば、藻体の最大細胞収量 (N) は培養開始時の栄養塩濃度 (S_0) の増加に伴い直線的に増加し、次式で表すことができる。¹⁷⁻¹⁹⁾

$$q_0 = S_0 / N \quad (2)$$

ここでは (2) 式を用いて、最小自乗法により *C. wailesii* の各栄養塩濃度に対する最小細胞内含量 (q_0) を算出した。

窒素・リン源の存在形態別利用特性 20°C の培養温度下において、窒素源利用特性に関する実験では窒素を、リン源利用特性に関する実験ではリン源を無添加とした MP1 培地で、本種の増殖が定常期に達するまで飢餓培養した。飢餓培養した本種を各種窒素, リン源を添加した MP1 培地に10~15細胞/穴となるように接種した。窒素源の添加は、あらかじめオートクレーブ処理 (121°C , 15 分) した窒素あるいはリン無添加の MP1 培地に濾過滅菌 (TOYO ADVANTEC 社製, DISMIC-13cp, 孔径 $0.45 \mu\text{m}$) した各種窒素, リン源の水溶液を無菌的に添加した。窒素源としては、硝酸カリウム、亜硝酸カリウム、塩化アンモニウム、尿酸、尿素、およびアラニン、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸、グルタミン、グルタミン酸、グリシン、ヒスチジン、イソロイシン、ロイシン、リシン、メチオニン、フェニルアラニン、プロリン、セリン、トリプトファン、チロシン、バリン、オルニチン、タウリンの20種類のアミノ酸をそれぞれ培地に単独で添加した。リン源はリン酸二カリウム、 β -グリセロリン酸ナトリウム、トリポリリン酸ナトリウム、ピロリン酸ナトリウム、メタリン酸、ウリジン-5'-リン酸二ナトリウム、D-フルクトース-6'-リン酸二ナトリウム、アデノシン-5'-三リン酸、アデノシン-5'-二リン酸、アデノシン-5'-リン酸、p-ニトロフェニルリン酸二ナトリウム、D-グルコース-6'-リン酸二ナトリウム、 α -D-グルコース-1'-リン酸二ナトリウム、グアノシン-5'-リン酸二ナトリウム、シチジン-5'-リン酸の15種類をそれぞれ添加した。なお、各種窒素・リン源の添加濃度は、窒素濃度を500 μM 、リン濃度を50 μM とした。接種後、毎日 *C. wailesii* の細胞密度を実体顕微鏡を用いて直接計数し、各窒素, リン源における最大細胞収量を求めた。増殖量は窒素源あるいはリン源無添加区の増殖量を0、硝酸態窒素添加区およびオルトリン酸添加区の増殖量を100

とし、それに対する相対増殖量(%)で示した。

結 果

増殖に及ぼす窒素、リンおよび珪素濃度の影響

Coscinodiscus wailesii の増殖速度は培地に添加した各栄養塩濃度の上昇に伴い高くなった (Fig. 1, 2)。今回の実験では、特に低濃度の窒素添加における増殖速度の検討が不足しているが、各栄養塩濃度 (S) と増殖速度 (μ) の関係は Monod の式によりそれぞれ次のように求めることができた。まず、温度 20°C 下では窒素が $\mu = 1.3 \times S_N / (1.4 + S_N)$ 、リンが $\mu = 1.1 \times S_P / (0.39 + S_P)$ 、

珪素が $\mu = 1.0 \times S_{Si} / (5.7 + S_{Si})$ と表せた (Fig. 1)。最大増殖速度および半飽和定数はそれぞれ窒素が 1.3 分裂/日、1.4 μM 、リンが 1.1 分裂/日、0.39 μM 、珪素が 1.0 分裂/日、5.7 μM であった。また温度 9°C 下における各栄養塩濃度と増殖速度の関係は、窒素が $\mu = 0.49 \times S_N / (1.4 + S_N)$ 、リンが $\mu = 0.46 \times S_P / (0.39 + S_P)$ 、珪素が $\mu = 0.48 \times S_{Si} / (6.2 + S_{Si})$ と表せた (Fig. 2)。最大増殖速度 (μ_m) および半飽和定数 (K_s) はそれぞれ窒素で 0.49 分裂/日、1.4 μM 、リンで 0.46 分裂/日、0.39 μM 、珪素で 0.48 分裂/日、6.2 μM であった。*C. wailesii* の各栄養塩濃度に対する最大増殖速度は、20°C 下に比べ

Fig. 1 The growth rate of *C. wailesii* versus initial concentrations of nitrate (N), orthophosphate (P) and silicate (Si) in the medium at 20°C. Maximum growth rates (μ_m) and half saturation constants for growth (K_s) were calculated to be 1.3 divisions d⁻¹ and 1.4 μM in nitrate, 1.1 divisions d⁻¹ and 0.39 μM in orthophosphate and 1.0 divisions d⁻¹ and 5.7 μM in silicate, respectively.

Fig. 2 The growth rate of *C. wailesii* versus initial concentrations of nitrate (N), orthophosphate (P) and silicate (Si) in the medium at 9°C. Maximum growth rates (μ_m) and half saturation constants for growth (K_s) were calculated to be 0.49 divisions d⁻¹ and 1.4 μM in nitrate, 0.46 divisions d⁻¹ and 0.39 μM in orthophosphate and 0.48 divisions d⁻¹ and 6.2 μM in silicate, respectively.

Fig. 3 Maximum cell yields of *C. wailesii* grown with different concentrations of nitrate (N), orthophosphate (P) and silicate (Si) in the medium at 20°C. Minimum cell quotas (q_0) were calculated to be 0.44 nM/cell in nitrate, 0.030 nM/cell in orthophosphate and 1.4 nM/cell in silicate, respectively.

Fig. 4 Maximum cell yields of *C. wailesii* grown with different concentrations of nitrate (N), orthophosphate (P) and silicate (Si) in the medium at 9°C. Minimum cell quotas (q_0) were calculated to be 0.44 nM/cell in nitrate, 0.040 nM/cell in orthophosphate and 1.4 nM/cell in silicate, respectively.

9°C 下では約 1/2 に低下したが、半飽和定数はほとんど差がなかった。栄養塩制限下において、増殖が定常期に達し細胞密度が最大となった時、目的とする栄養塩濃度は細胞の維持に必要な最小量となると仮定すると、培地に添加した栄養塩濃度と最大細胞収量との関係は原点を

通る直線関係で示することができる。¹⁸⁾ 20°C 下で得られた実験結果を両対数グラフ上にプロットし、Fig. 3 に示した。最大細胞収量は栄養塩濃度が上昇するにつれて増大し、窒素が 109 μM、リンが 7.6 μM、珪素が 124 μM でほぼ飽和した (Fig. 3)。飽和濃度以下の各栄養塩濃

度において、最大細胞収量と栄養塩濃度の関係から求めた最小細胞内含量は、窒素、リン、珪素でそれぞれ 0.44, 0.030, 1.4 nM/細胞と推算された。同様に 9°C 下における最大細胞収量は、窒素が 101 μ M, リンが 12 μ M, 珪素が 86 μ M でほぼ飽和した (Fig. 4)。各栄養塩における最小細胞内含量は、窒素が 0.44 nM/細胞, リンが 0.040 nM/細胞, 珪素が 1.4 nM/細胞と推算された。

窒素・リン源の存在形態別利用特性 *C. walesii* は窒素源として亜硝酸態窒素およびアミノ酸態窒素のグルタミンの添加時にも硝酸態窒素と同程度の増殖量を示した (Fig. 5)。アンモニア態窒素の増殖量は 77% と比較的高かったが、尿酸、尿素の増殖量はそれぞれ 20, 13% と低かった。グルタミン以外のアミノ酸態窒素では、グリシンの増殖量が 76% と比較的高く、アスパラギン、セリンおよびオルニチンの増殖量が 50% 前後、アラニン、アルギニンおよびグルタミン酸の増殖量が 22~33% であった。しかし、それ以外の 12 種類のアミノ酸態窒素はほとんど、または全く増殖に利用できなかった。一方、リン源の利用特性は、ピロリン酸ナトリウムの増殖量が無機態リンの 113% と高く、トリポリリン酸ナトリウム、メタリン酸、アデノシン-5'-三リン酸、アデノシン-5'-二リン酸での増殖量が 78~89% と比較的高かった。また、D-フルクトース-6'-リン酸二ナトリウムの増殖量が 13%, *p*-ニトロフェニルリン酸二ナトリウムの増殖量が 23% であったが、それ以外の 7 種類の有機態リンはリン源としてほとんど、または全く増殖に利用できなかった。

考 察

Coscinodiscus walesii は培養実験から温度、塩分および光強度に対する至適条件下において最大増殖速度が約 1.0 分裂/日であること、温度が 5~10°C の範囲で増殖速度が最大値の 1/2 以下に低下すること等が明らかとなっている。^{13,20)} 今回の実験結果から、*C. walesii* の各栄養塩濃度に対する最大増殖速度は、20°C 下で 1.0~1.3 分裂/日、9°C 下で 0.46~0.49 分裂/日であった。このことから、本種の栄養塩濃度に対する最大増殖速度も実験温度が 10°C を下回る条件下 (9°C 下) で、至適温度条件下 (20°C) の 1/2 以下に低下することが明らかとなった。次に *C. walesii* の半飽和定数と播磨灘の栄養塩濃度の変化について比較した。播磨灘における各栄養塩濃度の月平均値は、無機態窒素濃度が 3.57~9.91 μ M, リン酸態リン濃度が 0.15~0.80 μ M, 珪酸態珪素濃度が 3.04~15.70 μ M の範囲で変動する。²¹⁾ *C. walesii* の窒素に対する半飽和定数は、周年を通して無機態窒素濃度の月平均値を下回っていた。このことから、播磨灘において本種の増殖に及ぼす無機態窒素濃度の影響は小

Fig. 5 Utilization of a variety of nitrogenous compounds by *C. walesii*, expressed as percent of maximum growth in the medium containing 500 μ M nitrate.

Fig. 6 Utilization of a variety of phosphorus compounds by *C. walesii*, expressed as percent of maximum growth in the medium containing 50 μ M orthophosphate.

さいと考えられた。これに対してリン酸態リンと珪酸態珪素濃度の月平均値は、12月にピークを示した後、4月にかけて経月的に減少する。²¹⁾ その間、*C. walesii* の半飽和定数は2月までの月平均値 (最低値は無機態リンが2月の0.52 μ M, 珪酸が2月の7.60 μ M²¹⁾) は下回るものの、3月には月平均値 (リン酸態リンが0.31 μ M, 珪酸態珪素が3.04 μ M²¹⁾) を上回る。また、9°C 下において3月のリン酸態リンおよび珪酸態珪素濃度の月平均値から推算される増殖速度はそれぞれ0.20および0.15 分裂/日である。これは同温度下の最大増殖速

度の1/2 および1/3 以下の値であることから、本種は3月の播磨灘において低水温によって増殖の制限を受け、さらにこれら栄養塩濃度の制限も受けていることが示唆された。栄養塩濃度の高い海域では大型の植物プランクトンの分裂速度が大きくなる傾向があり、鉛直混合が起こりやすい海域ではより大型種が卓越できることが実験的に示されている。²²⁾ 播磨灘でも冬季に *C. wailesii* が生物量的に主要な構成種となり、最高細胞密度で3120細胞/L となることが報告されている。⁵⁾ *C. wailesii* の最小細胞内含量から、本種が3120細胞/L に達した海域では、少なく見積もっても窒素, リンおよび珪素をそれぞれ1.4, 0.09~0.12, 4.4 μM 消費すると試算された。

これまでノリの色落ち原因藻の栄養塩に対する増殖応答については、珪藻類の *Eucampia zodiacus* で同様の実験が行われている。²³⁾ *E. zodiacus* と比較した場合、*C. wailesii* はどの栄養塩に対しても最大増殖速度は低く、半飽和定数は高かった。一般に半飽和定数が大きく、増殖速度の低い種は他種との競合に不利である。²⁴⁾ そのため、*C. wailesii* は *E. zodiacus* との栄養塩をめぐる競合に不利な増殖特性であることが明らかとなった。特に *C. wailesii* は *E. zodiacus* に比べて珪素の要求量が高く、*C. wailesii* の半飽和定数は20°C および9°C 下でそれぞれ *E. zodiacus* (半飽和定数がそれぞれ0.88, 0.91 μM ²³⁾) の6.5 および6.8 倍の値であった。また *C. wailesii* の最小細胞内含量は、*E. zodiacus* に比べて窒素が275~440倍、リンが167~188倍、珪素が368~538倍であった。これらのことから、*C. wailesii* はその高い栄養要求性のため他種との競合には不利なものの、比較的低密度な出現でもその海域の栄養塩濃度を大きく低下させることが示唆された。

C. wailesii は各種窒素, リン源のうちアミノ酸態窒素12種類、有機態リン7種類を増殖にほとんど、または全く利用できないことが明らかとなった。植物プランクトンの形態別窒素, リン源の利用特性は、複数種の有害・有毒種で調べられており、その利用特性から大きく2つのグループに分類することができる。1つは広範な有機態リンを有効に増殖に利用できるタイプ、もう1つは数種類の有機態リンしか利用できないタイプである。前者には渦鞭毛藻類の *Karenia* (= *Gymnodinium*) *mikimotoi*²⁵⁾ や *Heterocapsa circularisquama*²⁶⁾ 等が該当し、後者にはラフィド藻の *Chattonella antiqua*²⁷⁾ や珪藻の *Skeletonema costatum*²⁸⁾ 等が該当する。今回の実験結果から、*C. wailesii* は後者、有機態リンを有効利用できない種であると考えられた。一方で、同じノリの色落ち原因藻である *E. zodiacus* は、今回の実験に用いた14種類の有機態リンを全て増殖に利用できる。²³⁾ 広範なリン源を利用する種は、リン酸態リンが枯渇した環境下でも有機態リンを利用して増殖することができるため、^{29,30)}

それが不可能な種に比べて現場海域での増殖に有利である。そのため有機態栄養塩の利用特性の差異は、海域のプランクトン種組成を変化させる要因となりうる。²⁴⁾ 播磨灘では冬季から春季にかけてリン酸態リン濃度が低下する。そのような環境下では、*E. zodiacus* は有機態リンを利用して増殖することが可能であるが、*C. wailesii* は増殖できないと考えられる。今後、現場海域における有機態リンの挙動を把握することによって、より詳細な種遷移のメカニズムを解明できる可能性がある。

播磨灘において *C. wailesii* は、2月上旬に春季の出現ピークを示す傾向がある。これに対して、*E. zodiacus* は *C. wailesii* よりもやや遅れて2月中旬~3月上旬に細胞密度が最大となる(西川未発表)。このように *E. zodiacus* は、2~3月に光環境が好転することに伴って細胞密度が増大するのに対し、*C. wailesii* の細胞密度は減少に向かう。^{5,7)} 本実験結果から、*C. wailesii* は2~3月のリン酸態リンおよび珪酸態珪素濃度の低下によって、低水温に加えそれら栄養塩濃度による制限も受け、増殖速度が大きく低下する。これに対して *E. zodiacus* は、3月のリン酸態リンおよび珪酸態珪素濃度の月平均値よりも半飽和定数の値が低く、²³⁾ 有機態リンも増殖に有効利用できることから、²³⁾ それら栄養塩濃度による制限を受けにくく、3月の環境下でも増殖速度が比較的高いままであると考えられる。以上のことから、播磨灘における両種の出現ピークのずれは、栄養塩濃度に対する増殖応答の差によって生じる現象と推察され、播磨灘における *C. wailesii* の春季ブルーム終息には栄養塩濃度、特にリン酸態リンと珪酸態珪素濃度の低下が大きく関与していることが示唆された。

これまでにノリの色落ち原因藻 *C. wailesii* および *E. zodiacus* に対しておこなってきた種々の培養実験^{13,20,23,31)} および現場海域でのモニタリング調査^{5,7,32)} から、近年の播磨灘におけるノリの色落ち被害は以下のようなメカニズムで発生すると考えられる。まず *C. wailesii* は、栄養塩濃度が上昇する10~11月、および2月に出現のピークを示す。^{5,7)} 本種は栄養塩が比較的高濃度の時期に出現し、海域の栄養塩を大量に消費する。栄養塩が低濃度となった海域では、*C. wailesii* のブルームは終息し、代わって *E. zodiacus* が大量発生する。*E. zodiacus* は増殖速度が高く、^{23,31)} 栄養塩濃度に対する半飽和定数や最小細胞内含量が低いため、²³⁾ 海域に残った栄養塩を全て消費し尽くすまで増殖を繰り返す。このように播磨灘のノリ養殖は、栄養塩に対して増殖応答の異なる2種類の珪藻によって、二重のダメージを受けていると考えられる。加えて、近年はノリ養殖漁期の大部分がこれら珪藻と栄養塩をめぐる競合関係にあるため、色落ちが頻発し、被害が深刻化、長期化するようになったのではないかと考えられた。今後は、ノリの色落ち原

因藻の栄養塩の取り込み速度等を培養実験から明らかにすることによって、色落ちのメカニズムをさらに詳細に解明していきたい。

謝 辞

本研究を取りまとめるにあたり、実験データの解析手法について御指導賜りました熊本市保健所松田篤志氏に深謝いたします。また本研究に対して多くの有益な御教示、御助言を賜りまし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山口峰生博士、財団法人ひょうご豊かな海づくり協会眞鍋武彦博士、兵庫県立農林水産技術総合センター反田實主幹並びに宮原一隆主任研究員に感謝いたします。

文 献

- 1) 近畿農政局兵庫統計情報事務所. 第 51 次兵庫農林水産統計年報. 兵庫農林統計協会, 神戸. 2003; 183-215.
- 2) 眞鍋武彦, 長井 敏, 堀 豊. 厳しさを増す沿岸漁業「水産学会シリーズ 103 水産と環境」(清水 誠編) 恒星社厚生閣, 東京. 1994; 9-18.
- 3) 眞鍋武彦, 二羽恭介, 岡本繁好, 西川哲也, 堀 豊, 上田隆敏. ジョイントシンポジウム「ノリ養殖と沿岸環境」3-2) 瀬戸内海. 日水誌 2003; **69**: 424-425.
- 4) 長井 敏, 堀 豊, 眞鍋武彦, 今井一郎. 播磨灘海底泥中から見いだされた大型珪藻 *Coscinodiscus wailesii* Gran 休眠細胞の形態と復活過程. 日水誌 1994; **61**: 179-185.
- 5) 長井 敏. 播磨灘産の大型珪藻 *Coscinodiscus wailesii* Gran の生活環と生態に関する研究. 博士論文, 京都大学, 京都. 1995.
- 6) Nagai S, Hori Y, Miyahara K, Manabe T, Imai I. Population dynamics of *Coscinodiscus wailesii* Gran (Bacillariophyceae) in Harima-nada, Seto Inland Sea, Japan. Harmful and Toxic Algal Blooms. In: Yasumoto T, Oshima Y, Fukuyo Y (eds) Harmful and Toxic Algal Blooms, Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, Sendai. 1996; 239-242.
- 7) 長井 敏. 第 4 章 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. 「水産研究叢書 48・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.
- 8) 西川哲也, 堀 豊, 長井 敏, 宮原一隆, 吉田陽一, 小玉一哉, 酒井康彦. 播磨灘における *Coscinodiscus wailesii* の発生と水質, 気象要因等との関係. 日水誌 2000; **66**: 388-394.
- 9) Tada K, Pithakpol S, Ichimi K, Montani S. Carbon, nitrogen, phosphorus, and chlorophyll a content of the large diatom, *Coscinodiscus wailesii* and its abundance in the Seto Inland Sea, Japan. *Fish. Sci.* 2000; **66**: 509-514.
- 10) 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; 1-55.
- 11) Nagai S, Imai I, Manabe T. A simple and quick technique for establishing axenic cultures of the centric diatom *Coscinodiscus wailesii* Gran. *Journal of Plankton Research* 1998; **20**: 1417-1420.
- 12) 長井 敏, 眞鍋武彦. 培養条件下における大型の珪藻類の *Coscinodiscus wailesii* の増大胞子形成. 日本プランクトン学会報 1993; **40**: 151-167.
- 13) 西川哲也, 宮原一隆, 長井 敏. 播磨灘産大型珪藻 *Coscinodiscus wailesii* の増殖に及ぼす水温, 塩分の影響. 日水誌 2000; **66**: 993-998.
- 14) 眞鍋武彦, 反田 實. 海水中に含まれる微量の反応性珪酸, 反応性リン酸, アンモニア, 亜硝酸および硝酸の同時自動分析法について. 海と空 1986; **62**: 25-37.
- 15) Monod J. The growth of bacterial cultures. *Ann. Rev. Microbiol.* 1949; **3**: 371-394.
- 16) 東海 正. MS-Excel のソルバーによる曳網の網目選択性 Logistic 式パラメータの最尤推定. 水産海洋研究 1997; **61**: 288-298.
- 17) 渡辺 信. 8 水の華, 赤潮の微生物実験法. 「環境微生物実験法」(須藤隆一編) 講談社サイエンティフィク, 東京. 1988; 201-203.
- 18) 松田篤志, 西島敏隆, 深見公雄. 有毒渦鞭毛藻 *Alexandrium catenella* の増殖に及ぼす窒素・リン栄養塩の影響. 日水誌 1999; **65**: 847-855.
- 19) 松田篤志, 西島敏隆, 深見公雄, 足立真佐雄. 有毒渦鞭毛藻 *Alexandrium catenella* の増殖に及ぼす B 群ビタミンの影響. 日水誌 2001; **67**: 658-663.
- 20) 西川哲也, 宮原一隆, 長井 敏. 播磨灘産大型珪藻 *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 2002; **49**: 1-8.
- 21) 眞鍋武彦, 反田 實, 堀 豊, 長井 敏, 中村行延. 播磨灘の漁場環境と植物プランクトンの変動—20 年間のモニタリングの成果—. 沿岸海洋研究ノート 1994; **31**: 169-181.
- 22) Persons TR, Takahashi M. Environmental control of phytoplankton cell size. *Limnol. Oceanogr.* 1973; **18**: 511-515.
- 23) 西川哲也, 堀 豊. ノリの色落ち原因藻 *Eucampia zodiacus* の増殖に及ぼす窒素, リンおよび珪素の影響. 日水誌 2004; **70**: 31-38.
- 24) 山口峰生. 赤潮原因プランクトンの増殖生理「月刊海洋海洋植物プランクトンⅡ—その分類・生理・生態—」海洋出版株式会社, 東京. 2000; 107-115.
- 25) Yamaguchi M, Itakura S. Nutrition and growth kinetics in nitrogen- or phosphorus-limited cultures of the noxious red tide dinoflagellate *Gymnodinium mikimotoi*. *Fish. Sci.* 1999; **65**: 367-373.
- 26) Yamaguchi M, Itakura S, Uchida T. Nutrition and growth kinetics in nitrogen- or phosphorus-limited cultures of the 'novel red tide' dinoflagellate *Heterocapsa circularisquama* (Dinophyceae). *Phycologia* 2001; **40**: 313-318.
- 27) Nakamura Y, Watanabe MM. Growth characteristics of *Chattonella antiqua* Part 2. Effects of nutrients on growth. *J. Oceanogr. Soc. Japan* 1983; **39**: 151-155.
- 28) 山口峰生, 松山幸彦. 珪藻類における栄養塩の利用特性および *Chattonella* との栄養塩競合. 有害赤潮の生態学的制御による被害防除技術の開発に関する研究・5 カ年の研究報告書, 南海海区水産研究所, 広島. 1994; 77-91.
- 29) Kuenzler EJ, Perras JP. Phosphatases of marine algae. *Biological Bulletin* 1965; **128**: 271-284.
- 30) Flynn KJ, Opik H, Syrett PJ. Localization of the alkaline phosphatase and 5'-nucleotidase activities of the diatom *Phaeodactylum tricornutum*. *J. Gen. Microbiol.* 1986; **132**: 289-298.
- 31) 西川哲也. ノリの色落ち原因藻 *Eucampia zodiacus* の増殖に及ぼす水温, 塩分および光強度の影響. 日水誌 2002; **68**: 356-361.
- 32) 永田誠一, 名角辰郎, 中谷明泰, 鷲尾圭司, 眞鍋武彦. 近年の播磨灘主要ノリ漁場の環境調査結果. 兵庫水試研報 2001; **36**: 59-73.