五ヶ所湾における *Gymnodinium mikimotoi* の増殖ポテンシャル岩田友三, 菅原 庸, 木村俊夫, コムシラバジャン, 佐野元宏
水口忠久, 西村昭史, 井上美佐, 竹内俊博

(1996年9月4日受付)

Growth Potential of *Gymnodinium mikimotoi* in Gokasho BayYuzo Iwata,^{*1} Isao Sugahara,^{*1} Toshio Kimura,^{*1}
Kom Silapajarn,^{*1} Motohiro Sano,^{*1} Tadahisa Mizuguchi,^{*2}
Akifumi Nishimura,^{*2} Misa Inoue,^{*2} and Toshihiro Takeuchi^{*2}

Algal growth potential (AGP) of *Gymnodinium mikimotoi* was examined at a sampling station situated in Gokasho Bay during a red tide period from 1991 to 1994. In the year 1991, 1992 and 1994 when the bloom of *G. mikimotoi* occurred, the high AGP of seawater at the depth of 1.0 m above bottom (B-1 m) was observed at the order of 10^3 cells/ml before the peak of the algae. But the AGP did not increase during the period from June to August in 1993, the year of no development of *G. mikimotoi*. These results indicate the possibility of predicting red tide by AGP of seawater at the depth of B-1 m.

The growth limiting nutrients in Gokasho Bay were also studied using AGP assay. The growth yield of *G. mikimotoi* was enhanced by the addition of phosphorus to filtered seawater prior to development of the algae. When the bloom of *G. mikimotoi* occurred, the lack of phosphorus was not found. Therefore, it was suggested that the nutrient factor which control development of *G. mikimotoi* red tide was phosphorus.

キーワード: *Gymnodinium mikimotoi*, AGP, 五ヶ所湾, 赤潮

数十年来, 富栄養化に伴う赤潮の頻発は水産養殖に大きな被害を与えている。環境問題に関する意識の高まった近年, 赤潮発生件数は減少しているが, 新種の赤潮が発見されるなど水産学上重大な課題であることに変わりはない。¹⁾

三重県五ヶ所湾は富栄養化しており, *G. mikimotoi* 赤潮がしばしば認められ, 時には大きな被害をもたらしている。飯塚, 入江²⁾は大村湾で *G. mikimotoi* 赤潮の発生と環境状況の関連性を検討し, *G. mikimotoi* 赤潮に関して降水性赤潮と無酸素化関連赤潮の2つの型に大別した。しかし, 五ヶ所湾では1984年の夏季の赤潮形成は塩分低下と無関係に生じ, また, 1986年における *G. mikimotoi* の細胞密度の増大と底層の溶存酸素低下との間に対応がみられず, 五ヶ所湾での *G. mikimotoi* 赤潮の発生は, 大村湾で類別された発生型のいずれにも該当しないと報告されている。³⁾ そこで, 五ヶ所湾で *G. mikimotoi* の Algal growth potential (AGP) を測定し,

AGP と現場の環境状況より *G. mikimotoi* 赤潮の発生機構を検討した。また, 赤潮の被害を最小限にとどめるには赤潮発生を予察することは有用な手段であると考えられている。Honjo *et al.*⁴⁾ は五ヶ所湾において *G. mikimotoi* 赤潮の発生時期と冬季の平均水温との間に強い関連性を示し, 赤潮の出現時期を予察できる可能性を報告した。このことは, 冬季に生残できる *G. mikimotoi* の遊泳細胞数は水温に依存し, 越冬した栄養細胞数の違いにより赤潮発生に時差が生じたのではないかと推測された。⁵⁾ しかし, 赤潮発生の予察に関する知見はほとんど得られていない。そこで, 本研究では AGP による赤潮発生の予察の可能性も検討した。

方 法

海洋観測 海洋観測は1991年から1994年の赤潮発生前後に, 三重県五ヶ所湾迫間浦の観測定点(水深19 m)で実施した (Fig. 1)。調査間隔は基本的に1カ月

^{*1} 三重大学生物資源学部 (Faculty of Bioresources, Mie University, Kamihama, Tsu, Mie, 514, Japan).

^{*2} 三重県水産技術センター (Mie-Hamajima Fisheries Technological Center, Hamajima, Shima, Mie 517-04, Japan).

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

に1回として(1991年の6月から8月の間は1カ月に2回)水温、塩分および溶存酸素を観測した。また、観測定点で0.5 m, 2.0 m, 5.0 m層および海底直上1 m層(B-1 m)の海水を採取し、その海水試料を4°Cに冷蔵して研究室に持ち帰り、AGP試験に供した。また、0.5 m, 2.0 m, 5.0 m, 10 mおよびB-1 m層の海水について無機態窒素、無機態リンおよび植物プランクトンの分布を測定した。⁶⁾

AGP試験方法 海水試料をWhatman GF/Cフィルター(450°Cで1時間灰化処理)でろ過し、続いて0.2 μm nucleopore フィルターでろ過して無細菌区海水を調製し、その海水を、100 ml容フラスコ(450°Cで1時間灰化処理)に40 mlづつ分注した。1/10 改変 SWM-Ⅲ培地で前培養した *G. mikimotoi* 懸濁液0.1 mlを各々のフラスコに接種し(初期細胞数11~36 cells/ml)、20~23°C, 50.4 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ の照度で14時間明期10時間暗期の周期にて培養を行った。なお、前培養の培地成分は1/400に希釈されて本培養へ添加され、持ち込まれた NaNO_3 および NaH_2PO_4 の本培養液中の終濃度はそれぞれ0.5 μM および0.025 μM であった(硝酸および無機リン酸における *G. mikimotoi* の最小細胞内含量はそれぞれ3.95 pmol/cell および0.35 pmol/cellと報告されており、⁷⁾持ち込まれる培地成分で増殖できる *G. mikimotoi* の細胞数はそれぞれ0.13 cells/ml および0.07 cells/mlと極めて小さく、持ち込まれる培地成分がAGPに与える影響はほとんどないと考えられる)。 *G. mikimotoi* の増殖は、隔日ごとに光学顕微鏡で直接計数して最大増殖量を測定し、最大増殖量から初期接種量を引いたものをAGPとした。1991年および1994年のAGP試験は3本立てで、1992年および1993年のAGP試験は5本立てで実験を行った。また、供試微細藻類として使用した渦鞭毛藻 *G. mikimotoi* は水産庁南西海区水産研究所山口峰生博士によって分離された無菌クローン株(G303株)を用いた。

栄養塩添加試験 1994年の赤潮発生前後における海水試料(0.5 m層)をGF/Cフィルター、続いて、0.2 μm nucleopore フィルターでろ過して無細菌区海水を調製した。その海水に栄養塩(終濃度として2 mM NaNO_3 と0.1 mM NaH_2PO_4)を添加して窒素添加海水、リン添加海水および窒素・リン添加海水を調製した。さらに、1/10 改変 SWM-Ⅲ培地で前培養した *G. mikimotoi* 懸濁液0.1 mlをそれぞれの画分に接種し(初期細胞数11~36 cells/ml)、20~23°C, 50.4 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ の照度で14時間明期10時間暗期の周期にて培養した。 *G. mikimotoi* の増殖は、隔日ごとに光学顕微鏡で直接計数し、最大増殖量を測定し、最大増殖量から初期接種量を引いたものをAGPとした。なお、栄養塩添加試験は3本立てで実験を行った。

結 果

五ヶ所湾における *G. mikimotoi* 赤潮発生状況 五ヶ所湾迫間浦定点における *G. mikimotoi* 細胞の季節的・鉛直的分布をFig. 2に示した。1991年では7月下旬から8月中旬にかけて2~5 m層を中心に中規模な *G. mikimotoi* 赤潮の発生がみられ、その最高細胞密度は750 cells/ml程度であった。1992年も、7月中旬から表層部に *G. mikimotoi* 赤潮の発生がみられ、その最高細胞密度は640 cells/ml程度であり、中規模な赤潮であった。1993年には、 *G. mikimotoi* はほとんどみられず、赤潮を形成するにはいたらなかった。しかし、1994年には大規模な *G. mikimotoi* 赤潮が7月中旬から9月初旬にかけて観察され、その最高細胞密度は3,100 cells/mlに達した。

五ヶ所湾における *G. mikimotoi* のAGP Fig. 3に示したように、1991年では、4月17日から7月4日にかけて、海水のAGPは各層で低い値(0~150 cells/ml)を示したが、赤潮形成初期の7月23日に、特にB-1 m層でAGPの増大がみられ、1,150 cells/mlに達

Fig. 2. Seasonal and vertical distribution of *G. mikimotoi* in Gokasho Bay in 1991, 1992, 1993 and 1994.

した。続いて、赤潮最盛期には表層を除く各層で高い AGP を示したが、その後、赤潮の消滅に伴い AGP は減少した。1992 年も同様に、4 月 21 日から 5 月 20 日にかけて、AGP は各層で低い値 (60~350 cells/ml) を示したが、赤潮発生直前の 6 月 16 日に、AGP は B-1 m 層で 860 cells/ml まで増加して赤潮発生時にも高い値を示した。しかし、赤潮形成に至らなかった 1993 年では、9 月に B-1 m 層で AGP の増加がみられたが、五ヶ所湾で *G. mikimotoi* 赤潮が観察される 7 月から 8 月またはそれ以前に B-1 m 層で AGP の増大は認められなかった。赤潮の大規模な発生がみられた 1994 年では、赤潮発生前に B-1 m 層の AGP は顕著な増加がみられ、6 月 15 日に 2,690 cells/ml に達した。その後、赤潮形成時には B-1 m 層の AGP も最大になったが、赤潮の消滅に伴い B-1 m 層 AGP は減少傾向を示した。以上のことから、*G. mikimotoi* 赤潮発生と底層水の増殖ポテンシャルとの間に何らかの関連があることが示唆された。

大規模な赤潮が発生した 1994 年における、B-1 m 層の AGP と底層における水質環境の変動を Fig. 4.d に示

Fig. 3. Changes in AGP and cell number of *G. mikimotoi* at station in Gokasho Bay.

AGP at each depth; □, 0.5 m; ▨, 2.0 m; ▩, 5.0 m; ■, B-1 m

—●—, number of *G. mikimotoi* cell in the water at the depth of 2 m

*, Growth potential was less than 10^4 cells/ml

した。*G. mikimotoi* 赤潮が発生した 7 月中旬から 9 月初旬にかけて、底層で溶存酸素の低下がみられ、それに伴うアンモニア態窒素およびリン酸態リンの溶出が観察された。また、溶存酸素と AGP との間に負の相関関係がみられ、底層の貧酸素化により栄養塩溶出して AGP の増大をもたらした。*G. mikimotoi* 赤潮発生を引き起こしたと示唆された。同様に、1991 年および 1992 年の赤潮形成時に、B-1 m 層で溶存酸素の低下に伴う AGP の増大が認められた (Fig. 4.a, b)。1993 年、*G. mikimotoi* は赤潮を形成するには至らなかったが B-1 m 層の溶存酸素が低下した 9 月中旬に AGP の増大がみられた (Fig. 4.c)。しかし、Fig. 4.a, c に示したように、溶存酸素が低下した時に AGP が増大しない場合もあり、貧酸素化が必ず AGP の増大を引き起こすことはないようである。

五ヶ所湾における *G. mikimotoi* の制限因子 五ヶ所

Fig. 4.a Seasonal changes in AGP, DO, $\text{NH}_4\text{-N}$ and $\text{PO}_4\text{-P}$ at B-1 m at the station in Gokasho Bay in 1991.

■, *G. mikimotoi* bloom at a level of more than 10^2 cells/ml

*, Growth potential was less than 10^1 cells/ml

Fig. 4.c Seasonal changes in AGP, DO, $\text{NH}_4\text{-N}$ and $\text{PO}_4\text{-P}$ at B-1 m at the station in Gokasho Bay in 1993.

Fig. 4.b Seasonal changes in AGP, DO, $\text{NH}_4\text{-N}$ and $\text{PO}_4\text{-P}$ at B-1 m at the station in Gokasho Bay in 1992.

■, *G. mikimotoi* bloom at a level of more than 10^2 cells/ml

Fig. 4.d Seasonal changes in AGP, DO, $\text{NH}_4\text{-N}$ and $\text{PO}_4\text{-P}$ at B-1 m at the station in Gokasho Bay in 1994.

■, *G. mikimotoi* bloom at a level of more than 10^2 cells/ml

Fig. 5. Effects of various nutrient addition on AGP for *G. mikimotoi*.

The seawater sample collected from Gokasho Bay (0.5 m) in 1994. $\text{NO}_3\text{-N}$ and $\text{PO}_4\text{-P}$ was added to filtered seawater to final concentration of 2 mM $\text{NO}_3\text{-N}$ and 0.1 mM $\text{PO}_4\text{-P}$, respectively.

湾における赤潮発生前後の *G. mikimotoi* 増殖制限因子を明らかにするため、1994 年の 0.5 m 層の海水にリン酸塩、硝酸塩を添加して AGP を測定した。Fig. 5 に示したように赤潮発生前の 6 月 15 日および 7 月 12 日で、リン酸塩の添加により増殖促進効果がみられ、リン酸塩が *G. mikimotoi* の制限因子となっていることが示唆された。赤潮発生時である 8 月 12 日では栄養塩無添加海水で AGP が増大し、リン酸塩添加海水と同程度の増殖がみられ、リン酸塩制限は解除されたものと思われた。その後、赤潮の消滅した 9 月 7 日では、硝酸塩の添加により増殖促進効果がみられ、硝酸塩による *G. mikimotoi* の増殖制限が示唆された。また、硝酸塩とリン酸塩を添加した海水で、AGP は赤潮発生以前で 10^3 レベルであったが、赤潮発生以降では 10^4 レベルに増大した。このことは、赤潮発生前に *G. mikimotoi* 増殖阻害物質の存在の可能性が考えられる。

考 察

Fig. 3 で示したように、五ヶ所湾において *G. mikimotoi* 赤潮の形成時および形成以前に B-1 m 層の AGP がおよそ 10^3 cells/ml のレベルに増大することが観察された。すなわち、*G. mikimotoi* の赤潮が発生した 1991 年、1992 年および 1994 年では、6 月から 7 月に B-1 m 層で AGP の増大がみられ、その 2 週間から 1 カ月半後に *G. mikimotoi* 赤潮は最高細胞密度に達した。しかも、大規模な赤潮となった 1994 年の B-1 m 層の

AGP は、中規模赤潮であった 1991 年および 1992 年のそれと比較して高い値を示し、赤潮の消長と B-1 m 層の AGP はより明瞭に関連していた。一方、*G. mikimotoi* 赤潮が発生しなかった 1993 年は、7 月から 8 月またはそれ以前に AGP の増加は観察されず、赤潮発生年とは異なった変動パターンを示した。以上のことから、五ヶ所湾において赤潮発生と B-1 m 層の AGP との間に関連があることが示唆された。

山口⁸⁾は福岡県宇島港で *G. mikimotoi* の鉛直分布の経時変化を調べ、*G. mikimotoi* は日没後に分布の中心が底層へ移行することを示し、本種は昼夜鉛直移動している可能性を示唆した。また、Honjo *et al.*⁹⁾ は五ヶ所湾に発生した *G. mikimotoi* 赤潮の明瞭な日周鉛直移動を観察し、遊泳速度は 1.3 mh^{-1} と算出した。Koizumi *et al.*¹⁰⁾ は *G. mikimotoi* の最高移動速度は 2.2 mh^{-1} で、20 m の鉛直移動が可能であると報告した。また、本城³⁾は最高到達水深を 16 m 付近と推定した場合、五ヶ所湾において夜間に底泥へ到達できる水深が占める面積は 2/3 に相当すると報告した。つまり、五ヶ所湾で発生する *G. mikimotoi* は湧昇した栄養塩を摂取するだけでなく、底層の栄養塩を直接利用できると考えられ、このため、底層の増殖ポテンシャルと赤潮発生に強い関連がみられたと考えられる。

飯塚・入江²⁾は大村湾で *G. mikimotoi* の発生と環境要因を検討したところ降水性赤潮と無酸素化関連赤潮の 2 つに類別できるとした。また、山口⁸⁾は周防灘で、*G.*

mikimotoi 赤潮発生年 (1985 年, 1986 年) と赤潮非発生年 (1987 年) との海況的差異を比較し, 赤潮発生機構を考察したところ, 赤潮が発生した 1985 年および 1986 年は, 表層塩分は全域で 30% 以下に低下し, そのため, 密度躍層が形成されて溶存酸素の低下が認められた。すなわち, 降雨と貧酸素水塊の形成とが関連して周防灘における *G. mikimotoi* 赤潮の発生に影響を及ぼしたと推察された。五ヶ所湾では, 1991 年 (赤潮発生年) および 1993 年 (赤潮非発生年) の 7 月から 8 月にかけて 30% 以下の塩分低下が観察されたが, 赤潮発生と低塩分化との間に対応はみられなかった。しかし, 1991 年から 1994 年に五ヶ所湾で *G. mikimotoi* 赤潮発生時に底層で溶存酸素の低下が観察された (Fig. 4)。また, 赤潮発生時に各層における AGP は底層で最も高い値を示し, 貧酸素化による底泥からの栄養塩の溶出が赤潮発生に寄与したと考えられた。そのため, 1991 年, 1992 年および 1994 年に五ヶ所湾で発生した *G. mikimotoi* 赤潮は無酸素化関連赤潮に類別されると思われる。五ヶ所湾で *G. mikimotoi* 赤潮の発生時に低酸素化が観察されたという報告はわずかななされているが,⁴³ 増殖ポテンシャルを含めて述べた報告は本論文がはじめてである。

1994 年の赤潮発生以前, 五ヶ所湾の表層における *G. mikimotoi* 増殖制限因子はリン酸塩であることが明らかとなった (Fig. 5)。そのため, 貧酸素化により底泥から供給された栄養源はリン酸塩であると推察された。西島, 深見⁴⁴は高知県浦の内湾で *G. mikimotoi* の増殖はリン酸塩によって制限されたという同様な結果を報告している。また, 山口⁷は, *G. mikimotoi* は他の海産植物プランクトンと比べ最適 N:P 比が低いことを示し, 海域で進行している N:P 比の増大により, *G. mikimotoi* の増殖はリンによって制限されやすいと報告した。播磨灘では, リン酸塩の添加により *Skeletonema costatum* および *Peridinium* sp. に増殖促進効果がみられ,¹¹⁾ また, 大阪湾でも, リン酸塩を添加することにより *Heterosigma akashiwo* の増殖が促進され,¹²⁾ 内湾海域の植物プランクトンにとってリンは主要な増殖制限因子であると考えられる。一方, キレート鉄やビタミンが植物プランクトンの増殖を制限することも知られている。^{13), 14)}

G. mikimotoi 赤潮最盛期の 2 週間から 1 カ月半前に, B-1 m 層で AGP の増大が観察されたため, B-1 m 層の AGP を測定することにより赤潮発生の予察の可能性が示唆された。しかし, AGP 試験を完了するまでに約 2 週間を必要とし, 1991 年の赤潮発生時と同様な AGP

変動パターンを示した場合, 赤潮発生を予察することは難しいと思われる。しかしながら, 1992 年および 1994 年と同様な AGP 変動パターンを示した場合, 6 月中旬に底層の AGP を測定することにより赤潮の発生を予知することは可能であると考えられる。今後, 赤潮発生の予察の可能性を探るため, AGP の変動パターンを蓄積する必要があるように思われる。また, AGP 試験の短縮法¹⁵⁾などを検討することも今後の課題である。

謝 辞

G. mikimotoi を提供して頂いた水産庁南西海区水産研究所山口峰生博士に深く感謝の意を表します。また, 三重大学水産微生物学研究室の笹岡克行氏, 松林玲子氏, 中村美穂氏に心よりお礼申し上げる。本研究の一部は, 水産庁漁場保全課の赤潮対策事業の研究費補助金によって行われた。

文 献

- 1) 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死の特徴について。日本誌, 61, 35-41 (1995)。
- 2) 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, 16, 99-115 (1969)。
- 3) 本城凡夫: 赤潮種と発生環境 ギムノディニウム, 「赤潮の科学」(岡市友利編), 恒星社厚生閣, 東京, 1987, pp. 228-237。
- 4) T. Honjo, M. Yamaguchi, O. Nakamura, S. Yamamoto, A. Ouchi, and K. Ohwada: A relationship between winter water temperature and the timing of summer *Gymnodinium nagasakiense* red tides in Gokasho Bay. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57, 1679-1682 (1991)。
- 5) T. Honjo: The biology and prediction of representative red tides associated with fish kills in Japan. *Fisheries Sci.*, 2, 225-253 (1994)。
- 6) J. D. H. Strickland and T. R. Parsons: A practical handbook of seawater Analysis, Fish. Res. Bd., Canada, 1972, pp. 310。
- 7) 山口峰生: 植物プランクトンの増殖に及ぼす N:P 比の影響 渦鞭毛藻類, 「水域の窒素: リン比と水産生物」(吉田陽一編), 恒星社厚生閣, 東京, 1993, pp. 11-19。
- 8) 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。南西海区水産研究所研究報告, 27, 251-394 (1994)。
- 9) T. Honjo, S. Yamamoto, O. Nakamura, and M. Yamaguchi: Annual cycle of motile cells of *Gymnodinium nagasakiense* and ecological features during the period of red tide development, in "Toxic Marine Phytoplankton" (ed. by Edna Graneli et al.) Elsevier Science Publishing Co., Inc., New York, 1990, pp. 165-170。
- 10) Y. Koizumi, T. Uchida, and T. Honjo: Diurnal vertical migration of *Gymnodinium mikimotoi* during a red tide in Hoketsu Bay, Japan. *J. Plankton Research*, 18, 289-294

⁴³ 三重大水産技術センター: 五ヶ所湾および英虞湾における環境特性と生理特性に関する研究。赤潮調査事業報告書, 1-39 (1986)。

⁴⁴ 西島敏隆, 深見公雄: 栄養塩濃度制限下における赤潮プランクトンの AGP 試験。赤潮対策技術開発試験報告書, 91-97 (1993)。

- (1996).
- 11) 遠藤拓郎, 西島敏隆, 畑 幸彦, 門谷 茂, 岡市友利: 赤潮発生の物理・化学 化学環境, 「赤潮の科学」(岡市友利編), 恒星社厚生閣, 東京, 1987, pp. 159-210.
 - 12) T. Nishijima and Y. Hata: Growth potentials of red tide phytoplankters in coastal seawater by AGP assay. *Mar. Pol. Bull.*, **23**, 175-179 (1991).
 - 13) S. Yamochi: Mechanisms for outbreak of *Heterosigma akashiwo* red tide in Osaka Bay, Japan. *J. Oceanogr. Soc. Japan*, **39**, 310-316 (1983).
 - 14) 矢持 進: 大阪湾に出現する赤潮鞭毛藻 *Prorocentrum micans*, *Eutreptiella* sp. および *Chattonella marina* の増殖制限栄養因子について. 日本プランクトン学会報, **31**, 97-106 (1984).
 - 15) D. A. Schultz, R. Raschke, and J. Roxanne: Shortened algal growth potential test. *Environmental Monitoring and Assessment*, **32**, 201-205 (1994).