

内藤佳奈子

県立広島大学生命環境学部助教

[研究目的] 瀬戸内海東部海域は、我が国有数のノリ生産海域であり、その生産量は全国の約 35 %を占めている。しかし近年、ノリ養殖漁期に栄養塩を競合し、奪い去る珪藻類が大量発生し、海域の栄養塩類を大量消費することから、養殖ノリに「色落ち」が発生し、生産量の減少や品質の低下による単価の下落が大きな問題となっている。さらに近年では、*Eucampia zodiacus* 等の特定の有害珪藻類の台頭や瀬戸内海における栄養塩濃度の減少等、他の内湾ノリ漁業では見られない新たな海況、生物学的な海洋環境の変化がノリ不作の原因と推察されるに至っている。本研究では、平成 22 年度の播磨灘における主要有害珪藻類、栄養塩類の動態把握、ノリの色落ち原因藻として最も問題視されている *Eucampia zodiacus* の生理・生態学的特性の解明を目的とし、本種の無菌株に対する人工合成培地の開発、および沿岸域に溶存しうる有機酸の利用・摂取特性の定量的及び定性的把握を行った。

[研究方法] ノリの色落ち原因珪藻類を中心に、平成 22 年度の播磨灘における赤潮プランクトンの出現状況、栄養塩濃度などの生物、化学的環境について調査すると共に、大阪湾圏域より *Eucampia zodiacus* を単離・無菌化し、本種の無菌株に対して完全に組成と濃度を決定できる化学合成培地の開発に取り組んだ。また、海水中に過剰に存在しているフリーリガンドである有機酸のノリの色落ち原因珪藻類の増殖への影響を培養実験にて検討した。

a) 大阪湾圏域の赤潮プランクトンの分布調査

対象圏域に設けた調査定点（図 1）において、H22 年 6 月～H23 年 3 月にかけて、各月上旬に表層水中における有害赤潮プランクトンの出現状況の調査、および海水中の栄養塩濃度の分析を行い、平成 22 年度の播磨灘における主要有害藻類、栄養塩類の動態を把握した。

b) *Eucampia zodiacus* に対する人工合成培地の開発

平成 22 年 3 月に播磨灘 H30（明石市南二見地先）より単離した *E. zodiacus* を無菌化し、本種の無菌株に対して、維持培養が可能であり良好な増殖が得られる基本培地（天然海水）を選定した。次に、選定した培地組成を基に、人工海水をベースとした IHN 培地（Imai et al. 2004）と改変 ESAW 培地（Berges et al. 2001）、MP1 培地（長井・眞鍋 1993）との組成比較から、微量元素および栄養塩の濃度比に注目して、増殖を良好とする組成に改変し、これまで困難であった本種無菌株に対する人工合成培地の開発に取り組んだ。これにより、現場調査の結果を反映させた低濃度域における栄養素について、組成を把握した上での培養実験における増殖特性の解明を実現させることができる。

c) ノリの色落ち原因珪藻の増殖への有機酸の影響

播磨灘より単離・無菌化した *E. zodiacus* について、一定の光量と温度条件下における 7 種の有機酸（酢酸、クエン酸、乳酸、リンゴ酸、EDTA、フミン酸、フルボ酸）などを添加した培地での培養実験を行い、有機酸の本種の増殖への影響を検討した。また、平成 22 年 11 月、平

成 23 年 1 月の播磨灘海水を用いて、有機酸による種組成変化について検討した。

#### [結果と考察]

##### a) 大阪湾圏域の赤潮プランクトンの分布調査

植物プランクトンの細胞密度は、平成 22 年度 6 月～3 月にかけて H7(灘央)では 1,000 cells/mL を下回る低密度傾向、H30(灘奥)においては 6 月に 10,000 cells/mL を上回る高密度傾向で推移した(図 2)。

両定点において 6～9 月では *Skeletonema* 属や *Chaetoceros* 属珪藻が大部分を占め、10 月、11 月には *Coscinodiscus wailesii* が高密度に発生した(図 3)。H7 では 11～1 月に *Thalassiosira* 属、2 月に *Eucampia zodiacus* が増加傾向を示したが、低密度であった(図 3)。H30 では 10 月に *Thalassiosira* 属、1～3 月に *Eucampia zodiacus* が増加傾向を示したが低密度であり、1 月には *Skeletonema* や *Chaetoceros* 属珪藻が優占し、2～3 月は *Chaetoceros* 属が増加傾向であった(図 3)。H22 年度における播磨灘での *Eucampia zodiacus* の発生は低密度であった。

DIN 濃度は、H7 において 6～9 月、2～3 月に 1 $\mu$ M を、11 月と 1 月に 3 $\mu$ M を下回り、H30 においては 6～9 月、11～2 月に 1.1 $\mu$ M 以下と低い状態が続いた(兵庫県水産技術センター資料)。

平成 22 年度における播磨灘での DIN 濃度は低位で推移した。

##### b) *Eucampia zodiacus* に対する人工合成培地の開発

本種の無菌株に対して、培養容器、空気量、栄養塩濃度、N/P 比、および Fe 源に注目し、良好な増殖が得られる基本培地を検討した結果、低濃度の栄養塩(通常培地の 1/10 量の N, P 源)を含む改変 SWM3 培地において良好な増殖を得ることができた。また、維持培養も可能であることから、これを基本培地として選定した。

次に、改変 SWM3 培地を基に人工海水ベースとした改変 IHN 培地(1/10 N, P)について、微量元素類など(Ni, Sr, HCO<sub>3</sub>, F, Br, V)に注目して多種の種組成の組み合わせを検討した結果、Ni と炭酸源を添加することによって良好な増殖を得ることができた。他の多くの赤潮形成種は IHN 培地で増殖を示していることから、微量元素 Ni が *E. zodiacus* の重要な増殖因子となっていることが示唆された。

この改変 IHN 培地を用いて、平成 22 年 6 月に大阪湾(兵庫県芦屋市沖)、平成 23 年 2 月に播磨灘 H30 より新たに単離・無菌化した *E. zodiacus* についても同様に良好な増殖を得ることができており、*E. zodiacus* 無菌株に対する人工合成培地の開発に成功したといえる。本種の増殖速度と栄養塩濃度の解析は、近年、意欲的に進められている(西川・堀 2004; Nishikawa et al. 2009)。今回の人工合成培地の開発は、低濃度域の検討も実現可能となり、本種の生理学的特性の解明への更なる飛躍になると期待できる。

##### c) ノリの色落ち原因珪藻の増殖への有機酸の影響

有機キレーターとして検討した有機酸 7 種(酢酸, クエン酸, 乳酸, リンゴ酸, EDTA, フミン酸, フルボ酸)の存在下において、供試藻の増殖を確認することができた。一方、3 価の鉄との高い錯生成能を持つ微生物シデロホアであるフェリオギザミン B を添加した培地では、増殖は認められなかった。これらの結果から、沿岸海域に溶存しうる有機酸は、Fe スペシエーションに影響を与え、*E. zodiacus* の増殖を左右しうることが示唆された。

また、播磨灘海水への栄養塩、鉄キレート、有機酸添加による影響実験によって、平成 22 年

11月の播磨灘では、DIN不足となっていることを確かめることができ、添加する有機酸の種類によって、優占する珪藻種に変化があることが分かった。

[結論] ノリの色落ち原因種として重要視されている *Eucampia zodiacus* の無菌株における人工培地での培養は極めて困難であり、これまで本種に対する栄養塩などの取り込み、物理的要因である光量、温度についての報告例は数少なく、海域に過剰に存在しており微量栄養素の有用性を左右する有機酸のノリの色落ち原因珪藻の増殖への影響に関する報告はなかった。今回開発した完全合成培地を用いることによって、組成と濃度を把握した上で、海域を想定した低濃度の栄養物質における増殖のパラメーターを求めることができ、得られたパラメーターから他の鞭毛藻類や珪藻類、ノリの場合の値との比較が可能となる。将来的には、ノリ色落ち原因珪藻類の出現予測のための生態系モデルに必要なパラメーターとして活用することも可能になると期待される。

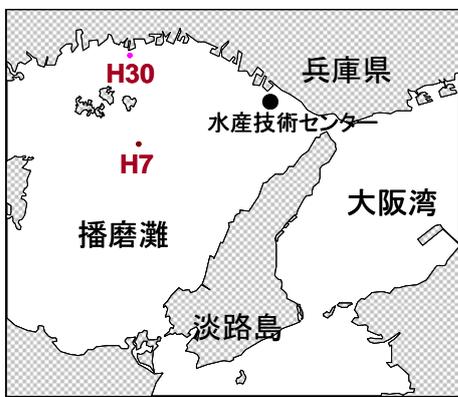


図1 調査定点位置図

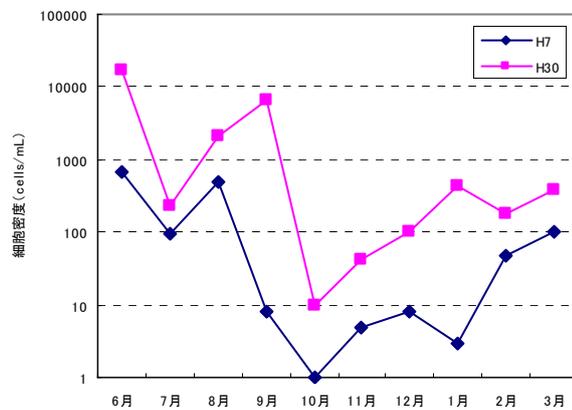


図2 植物プランクトンの細胞密度変化

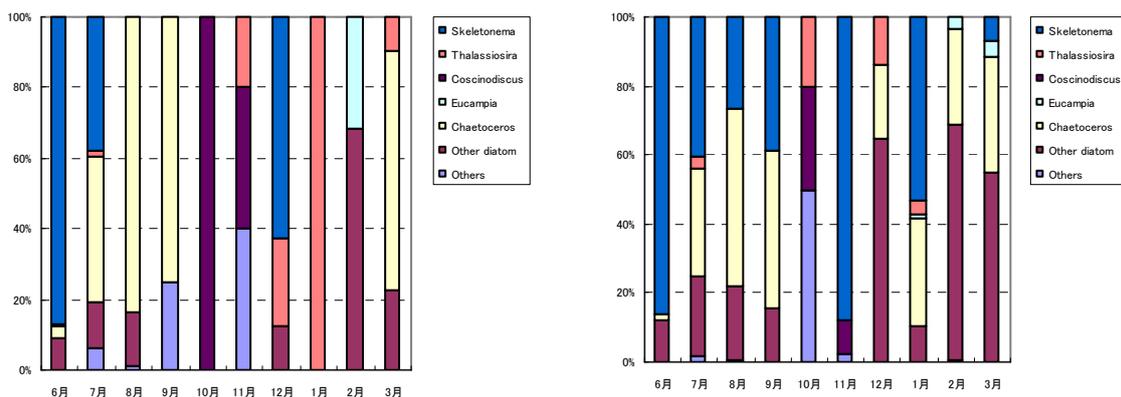


図3 植物プランクトンの組成変化 (左: H7, 右: H30)