

淀川河川水からのリン供給が麻痺性貝毒原因渦鞭毛藻 *Alexandrium tamarense* および  
珪藻 *Skeletonema* sp. の種間競合に及ぼす影響について

夏池真史

北海道大学大学院水産科学院博士課程

**【背景と目的】**

大阪湾東部海域において、近年、麻痺性貝毒原因渦鞭毛藻の一種 *Alexandrium tamarense* の大規模発生と二枚貝類の高毒化がほぼ毎年春季に発生し、大きな環境問題となっている（山本ら 2009）。しかしながら、大阪湾における本種の増殖機構に関する知見は乏しい。我々は、大阪湾における3カ年に亘って継続した *A. tamarense* のモニタリングの結果、本種ブルーム形成時に①本種ブルームと同時に珪藻 *Skeletonema* spp. のブルームが出現すること②河川水の出水によると考えられる塩分躍層が存在すること、③塩分躍層上層において無機栄養塩類の枯渇、とりわけリンの枯渇が著しいことを明らかにした（白石ら 2009）。

瀬戸内海域では富栄養化の著しかった1970～80年代に比べて、近年、法規制や浄化努力による陸域起源のリンの流入負荷量の減少によって、栄養塩濃度と赤潮件数の減少が報告されている（Imai et al., 2006）。他方、1990年代以降になって *A. tamarense* を原因とする二枚貝類の高毒化が広島湾や大阪湾において認められるようになった。元来、大阪湾は淀川を通じて供給される豊富な栄養塩類によって富栄養化が著しく、周年に亘って *Skeletonema* 属を中心とする珪藻類が卓越することが知られていた（城, 1980）。しかし、近年の陸域からの栄養塩類供給の変質、特にリン供給の減少による「貧栄養化」が、植物プランクトン組成や出現量を変化させ、*A. tamarense* の出現という新しい環境問題を引き起こしている可能性がある。そこで本研究では、大阪湾における *A. tamarense* とその競合種と考えられる珪藻類の種間競合に及ぼすリンの役割を評価することを目的とし、リンの増殖応答に関する培養実験を行った。本研究では特に、① *A. tamarense* 出現時の大阪湾の環境条件を考慮した低濃度条件下での無機態リン（Dissolved Inorganic phosphorous; DIP）および有機態リン（Dissolved Organic Phosphorous; DOP）の増殖応答、②淀川出水時の河川水に含まれるリンが植物プランクトンの増殖に及ぼす影響の2点に着目して研究を行った。

**【材料と方法】**

大阪湾および噴火湾から単離した *Alexandrium tamarense*、および大阪湾から単離された珪藻 *Skeletonema toropicum* および播磨灘から単離された *Ditylum brightwellii* それぞれ1株ずつの計3種4株の無菌クローン藻類株を実験に用いた。

各藻類株は人工合成培地のIHN培地で独立に維持され、実験前にリン濃度を通常100分の1（1 μM）、その他の栄養物質濃度を通常20分の1に調製したIHN培地で前培養され、リン欠乏状態の藻類前培養を得た。リン以外の栄養物質濃度を通常20分の1添加したIHN培地3.5 ml および0.4 ml のDIP溶液、DOP溶液もしくは淀川水系から採水した河川水サンプルを8 ml 容量のポリプロピレン製滅菌プラスチック試験管にそれぞれ添加したものを培地とし、各藻類の前培養0.1 ml を接種した。DIP溶液の濃度段階を0, 0.8, 1, 1.6, 2, 3, 4, 5, 10 μM の

9種類（培地中の終濃度はこれより、10分の1小さい値）、 $\beta$ -グロセロリン酸をDOP源としたDOP溶液は、1, 2, 3, 5, 10  $\mu\text{M}$ の5種類用意した。淀川水系の河川水サンプルは、2009年4月13日（非出水時）と4月26（出水時）に淀川に合流直前の桂川・宇治川・木津川および、大阪府枚方大橋直下の淀川の計4地点から採水され、GF/Fフィルターでろ過した後に実験まで凍結保存した。これら培地およびリン溶液と河川水は、使用前に0.1  $\mu\text{m}$ のフィルターによって濾過滅菌されたのちに実験に用い、各添加区は3本立てで行われた。また、河川水サンプルは、オートアナライザーを用いて溶存無機態および有機態リン濃度を測定した。

培養は、15°C、光条件 110 - 130  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、12:12時間明暗周期の条件で行われ、培養開始から隔日で蛍光光度計を用いて In vivo クロロフィル a 蛍光値を測定し、蛍光値から最大増殖量および増殖速度を得た。また無機態リン溶液および有機体リン溶液添加区から得られた増殖速度から、Monod (1949) の式に基づき、最大増殖速度および半飽和定数を推定した。

### 【結果および考察】

図1に藻類株ごと各リン濃度段階におけるDIP, DOPおよび河川水添加区における最大増殖量を、表1に各藻類のDOP利用能、最大増殖速度および半飽和定数を示した。河川水添加区のリン濃度はオートアナライザーによって測定したDIP, DOP濃度から決定した。また、表1に最大増殖速度から計算された最大増殖速度  $\mu_{\text{max}}$  ( $\text{day}^{-1}$ )およびDIPとDOPの半飽和定数  $K_{\text{DIP}}$ ,  $K_{\text{DOP}}$  ( $\mu\text{M}$ )を示す。使用藻類のうち *S. tropicum* のみDOP利用能が認められなかった。山口・松山(1993)は同属の *Skeletonema costatum* がDOPを利用できないことを報告しており、大阪湾で最も優占する珪藻類である *Skeletonema* 属の多くの種はDOPを利用できないことが示唆された。また *A. tamarense* 噴火湾株および *D. brightwellii* 株ではDIPとDOPの利用能に顕著な差は認められなかったが、*A. tamarense* 大阪湾株は、低濃度のDOP添加区において同濃度のDIP添加区より顕著に最大増殖量が高くなった。*A. tamarense* 大阪湾株は、同種の噴火湾株と比較してDOP利用能が高いと言え、大阪湾のリン制限が頻繁に発生する環境に適応している可能性が示唆された。一方で、最大増殖速度について他の藻類がDIP, DOPともに0.5前後で

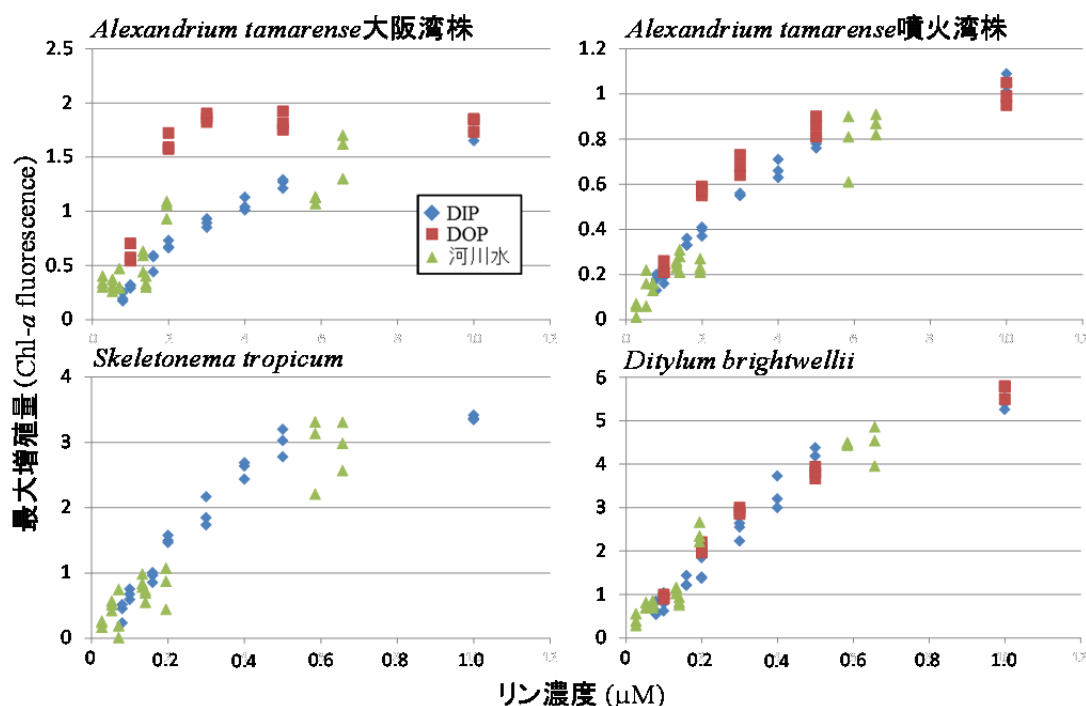


図1. 各藻類株におけるDIP, DOP, 河川水サンプル添加区のリン濃度と最大増殖量の関係性。

表1 各藻類株におけるDOP利用能, 最大増殖速度および半飽和定数.

	DOP 利用能	最大増殖速度 $\mu_{max}$ (day <sup>-1</sup> )	半飽和定数 $K_{DIP}$ ( $\mu$ M)	半飽和定数 $K_{DOP}$ ( $\mu$ M)
渦鞭毛藻				
<i>A. tamarensis</i> 大阪湾株	○	0.5	0.15	0.1
<i>A. tamarensis</i> 噴火湾株	○	0.4	0.15	0.15
珪藻				
<i>Skeletonema tropicum</i>	×	0.75	0.12	×
<i>Ditylum brightwellii</i>	○	0.5	0.23	0.23

あるのに対し, *S. toropicum* では DIP で 0.75 と顕著に高く  $K_{DIP}$  も他の藻類より低い濃度となった。このように DOP の利用能こそ認められなかったが, 増殖速度および半飽和定数の値は *S. toropicum* が最も優れていると言え, DIP が低濃度でも存在するときは本種が卓越すると考えられる。一方で, DIP が枯渇するとわずかに存在する DOP を有効に利用できる *A. tamarensis* が優占する可能性が示唆された。

表 2 にオートアナライザーによって測定された河川水サンプルの DIP および DIP と DOP の合計濃度を示す。河川水サンプル中のリンはほとんど DIP で占められており, DOP はほとんど認められなかったため, 河川水から供給される DOP は, *A. tamarensis* および珪藻類の増殖に寄与しないと言える。一方で, 淀川を構成する主な支流である宇治川, 木津川, 桂川のリン濃度には大きな差が見られた。特に宇治川のリン濃度は非常に低く, 大阪湾への河川からのリン供給の低下を引き起こす主要因と言える。大阪湾においては, *A. tamarensis* ブルームがリンの枯渇による「貧栄養化」によって引き起こされる可能性が高いことから, 「河川からの異常なリンの供給不足」という新たな環境問題が提起される。

図 2 は, 本研究において終濃度 1.0  $\mu$ M の DIP を添加したときの *A. tamarensis* 大阪湾株, *S. tropicum* および *D. brightwellii* の増殖曲線である。本研究のリン利用に関するパラメーターには反映できなかったが, 各藻類を培地へ接種した後, 対数増殖期を迎えるまでの誘導期の長さには, 珪藻類と *A. tamarensis* 大阪湾株で顕著な差が認められた。すなわち, *S. tropicum* および *D. brightwellii* では接種 2 日目には対数増殖期を迎えているのに対し, *A. tamarensis* は対数増殖に至るまで実に 2 週間以上の誘導期を要した。同様の傾向は他のリン源添加区においても認められた。この結果は, 大阪湾において淀川の出水によってリンが供給される際, 珪藻類が速やかにブルームを形成することを示唆している。その後, 河川スカラの栄養塩類の供給が一定期間, 滞ることに伴うリンの枯渇によって珪藻類のブルームが維持できなくなると, 本種ブルームが遅れて形成されると考えられる。このような, 河川水に含まれるリンの濃度だけでなく, 「河川からのリンの供給頻度不足」という問題が大阪湾

表2 培養実験に用いた河川水試料中のDIP およびDOP濃度.

河川水サンプル	DIP ( $\mu$ M)	DOP( $\mu$ M)
淀川	1.33	0.00
2009/4/13 宇治川	0.27	0.00
(非出水) 木津川	0.67	0.04
桂川	6.57	0.00
淀川	1.95	0.00
2009/4/26 宇治川	0.42	0.09
(出水) 木津川	1.36	0.05
桂川	5.77	0.08

において顕在化している可能性がある。

### 【結論】

本研究によって、大阪湾における麻痺性貝毒原因種の *Alexandrium tamarense* と珪藻類のリン制限下での競合関係および、この競合に及ぼす淀川河川水出水の影響の一端が明らかにされた。

すなわち、淀川からリンが十分に供給される場合、リンの取り込みに優れ、増殖速度の速い *Skeletonema* 属のような珪藻類が卓越す

ると考えられる。しかし、河川水から大阪湾へのリン供給量および供給頻度が低下することによって珪藻類の増殖が制限されると、DOP 利用能を持ち、リンを取り込んでからの誘導期の長い *A. tamarense* が珪藻類よりも増殖できる可能性がある。このような、大阪湾における淀川河川水供給の変質による「一時的な貧栄養化」が、新たな環境問題となっている可能性が示唆された。

### 【参考文献】

Imai, I., M. Yamaguchi & Y. Hori (2006) Eutrophication and occurrences of harmful algal blooms in the Seto Inland Sea, Japan. *Plankton Benthos Res.* 1: 71-84.

城久 (1980) 大阪湾における植物プランクトン群集. 月刊海洋科学 12: 778-790.

白石智孝・今井一郎・左子芳彦・石井健一郎・神川龍馬・山本圭吾・中嶋昌紀・長井敏 (2009) 大阪湾における有毒渦鞭毛藻 *Alexandrium* 属シストの動態に関する研究. 瀬戸内海 58: 48-50.

山口峰生・松山幸彦 (1993) 珪藻類と赤潮鞭毛藻類における栄養塩競合. 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, 平成4年度研究報告書, 南西海区水産研究所, pp19-28.

山本圭吾・中嶋昌紀・田淵敬一・濱野米一 (2009) 2007年春期に大阪湾で発生した *Alexandrium tamarense* 新奇赤潮と二枚貝の高毒化. 日本プランクトン学会報 56: 13-24.

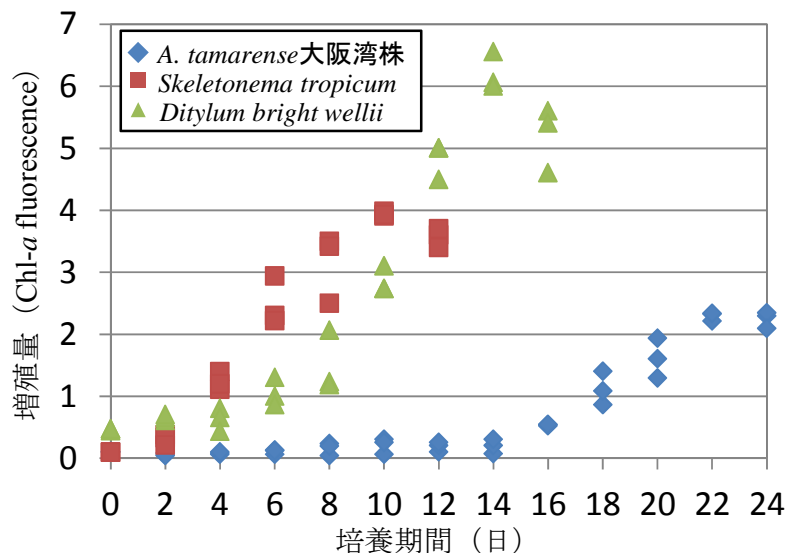


図2 *A. tamarense*大阪湾株, *Skeletonema tropicum*, *Ditylum brightwellii*のDIP1.0  $\mu$ M添加区における増殖曲線. 培養実験を通じて, *A. tamarense*培養は, 誘導期が長くなる傾向が見られた.