

大阪湾圏域における微量金属の分布と有害有毒プランクトン発生への寄与（その2）

内藤佳奈子 公立大学法人県立広島大学生命環境学部准教授

1. 研究目的

瀬戸内海東部海域において、養殖ノリと栄養塩類を競合する珪藻類の赤潮は、播磨灘を中心にほぼ毎年発生している。近年では、麻痺性貝毒を引き起す *Alexandrium tamarense* の大量発生が、大阪湾において広域で確認されている。これらの大阪湾圏域で起こっている有害有毒プランクトンによる赤潮の発生メカニズムの解明は、喫緊の課題である。赤潮の原因となる植物プランクトンの増殖や生存には、鉄をはじめとする微量金属が必須である。しかしながら、その利用特性および海域における分布は、ほとんど明らかにされていない。本研究では、化学的要因として窒素などの栄養塩類のみでは説明できなくなってきた現在の海域環境に対して、鉄などの生物活性な微量金属に着目し、有害有毒プランクトン種の生理・生態学的特性の解明を目的として、近年の大阪湾圏域における微量金属の分布動態について検討した。

2. 研究方法

大阪湾圏域における有害有毒プランクトンの出現状況、微量金属および栄養塩の濃度など生物、化学的環境について調査した。神戸大学内海域環境教育研究センター・マリンサイト「調査船おのころ HG2-8521」を利用し、大阪湾北西部1定点（定点 MS）、播磨灘の北部沿岸5定点（定点 HN-1～-5）と中央部1定点（定点 HN-6）における表層（0 m）と底層（B-1 m）の水質調査および海水サンプリングを行った（Fig. 1）。各層の採水は、金属コンタミネーションを防ぐため塩酸洗浄したテフロンコート仕様のニスキン-X 採水器（GO-1010X 型）を用いて行い、採取した海水は塩酸洗浄済みのポリカーボネート製容器に保存した。水温、塩分、溶存酸素量（DO）は、多成分水質計（AAQ1186-PT, JFE アドバンテック）を用いて測定した。採水翌日に研究室内でサンプル処理を行った。

微量金属測定用の海水は、クリーンブース（AI 型, ASONE）内で、酸炊き洗い済 0.2 μm フィルターろ過および酸処理をした。溶存鉄（DFe）濃度については、ろ過海水試料にフェロジンを比色試薬として加え、長光路フローセル（光路長 1 m）を搭載した分光光度計（Ocean Optics）にて測定した。他の微量金属（Ni, Cu, Mo, Mn, Zn, Al）の

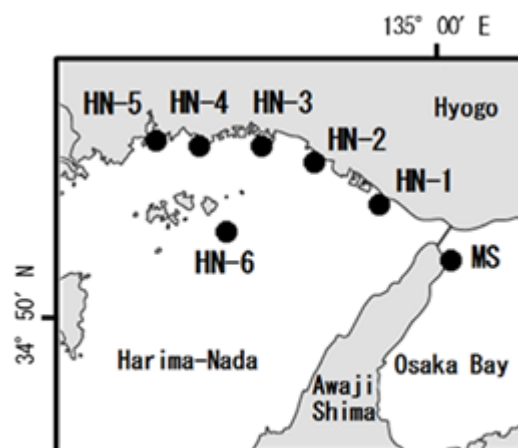


Fig. 1 調査定点図（大阪湾圏域）.

濃度分析は、平沼自動固相抽出装置 SPE-100（日立ハイテック）を用いてポリアミノポリカルボン酸型キレート樹脂固相抽出カラム（NOBIAS, CHELATE-PA1）により、海水の脱塩濃縮後、ICP-OES（Optima8300, Perkin Elmer）により溶存態の濃度を測定した。また、栄養塩（DIN; $\text{NH}_4\text{-N}+\text{NO}_3\text{-N}+\text{NO}_2\text{-N}$, $\text{PO}_4\text{-P}$, $\text{Si(OH)}_4\text{-Si}$ ）濃度は、0.2 μm フィルターろ過海水をオートアナライザー（TRACCS2000, BRAN+LUEBBE）により測定した。鉄に関しては、海水中の存在形態を調査するため、全鉄（TFe）濃度測定サンプルとして 50 mL メタルフリー遠沈管（labcon）に試料海水を 50 mL 入れ、硝酸（超高純度分析用試薬 TAMAPURE-AA-100）1 mL を添加後、冷凍保存した。後日、冷凍試料を解凍後、酸で炊き洗いした石英管に入れ、UV 分解装置にて 2 時間かけて有機物を分解後、長光路フローセル搭載の分光光度計にて TFe 濃度を測定した。海水の pH は、pH 計（C-73, AS ONE）を用いて測定した。

クロロフィル *a*（CHL*a*）濃度は、海水試料 100 mL をガラス繊維濾紙（GF/F）でろ過し、ろ過試料を 10 mL の *N,N*-ジメチルホルムアミドで浸漬抽出した後、蛍光光度計（Au-10, Turner Design）で測定し、Holm-Hansen 法により算出した。有害有毒プランクトン種組成については、倒立顕微鏡（TMD300, NIKON）を用いて計数観察をした。珪藻類についてはグルタルアルデヒド固定試料（終濃度 1%）を必要に応じて 2–7 倍に濃縮し、試料 100 μl ずつ 2 回顕微鏡観察を行い、平均値から細胞密度を算出した。鞭毛藻類については、採水日の翌日に生海水 1 mL 試料を 1 回観察した。

3. 結果と考察

2017 年 5 月～2018 年 12 月の各調査定点において、水温は 6.0～28.8 $^{\circ}\text{C}$ 、塩分は 27.4～32.9、DO は 4.3～11.8 mg l^{-1} 、pH は 7.68～8.15、クロロフィル *a* 量は 0.39～34.3 $\mu\text{g l}^{-1}$ の範囲で推移した。調査期間を通して、小型珪藻の *Skeletonema* spp. と *Chaetoceros* spp. が多く発生しており、*Skeletonema* spp. は 2018 年 9 月（8,970 cells ml^{-1} ）、*Chaetoceros* spp. は 2018 年 5 月（6,795 cells ml^{-1} ）に最も高い細胞密度を示した。大型珪藻の *Eucampia zodiacus* は、2017 年 11 月から発生し、12 月に高い細胞密度を示したが、2018 年 1 月に減少した。2、3 月に再び増加し、定点 HN-4 の底層において、調査期間における最高細胞密度（470 cells ml^{-1} ）が確認された。2018 年 11 月、12 月では、2017 年とは対照的に *E. zodiacus* の発生をほとんど確認できなかった。*Coscinodiscus* spp. は、2017 年 11 月と 2018 年 12 月に比較的高い細胞密度を示した（4.29、5.71 cells ml^{-1} ）。珪藻類の総細胞密度について、2017 年 5 月および 2018 年 11 月、12 月において低密度であり、2018 年 9 月に最も高い総細胞密度（28,271 cells ml^{-1} ）を示した。また、2018 年 11 月の定点 HN-5 において、渦鞭毛藻の *Karenia mikimotoi* が多く発生していた（880 cells ml^{-1} ）。

2017 年 5 月～2018 年 12 月の栄養塩濃度変化を Fig. 2 に示す。DIN 濃度は 0.14～9.57 μM 、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 濃度は < 0.01～2.11 μM 、 $\text{Si(OH)}_4\text{-Si}$ 濃度は < 0.01～27.9 μM の範囲で推移した。ほとんどの調査月および定点において、DIN 濃度はノリの色落ちが起こるとされる 3 μM を下回っていた。また、各栄養塩の元素比を算出し、レッドフィールド比と

比較した場合、2017年5月の定点HN-3、-4の表層、2018年2月の定点HN-2の表層、3月の定点HN-3、-4、-5の表層と定点HN-4、-5の底層、5月の定点HN-4、-5、-6の表層以外すべての調査月採水層でDIN不足（DIN : DIP < 16）であったことが分かった。

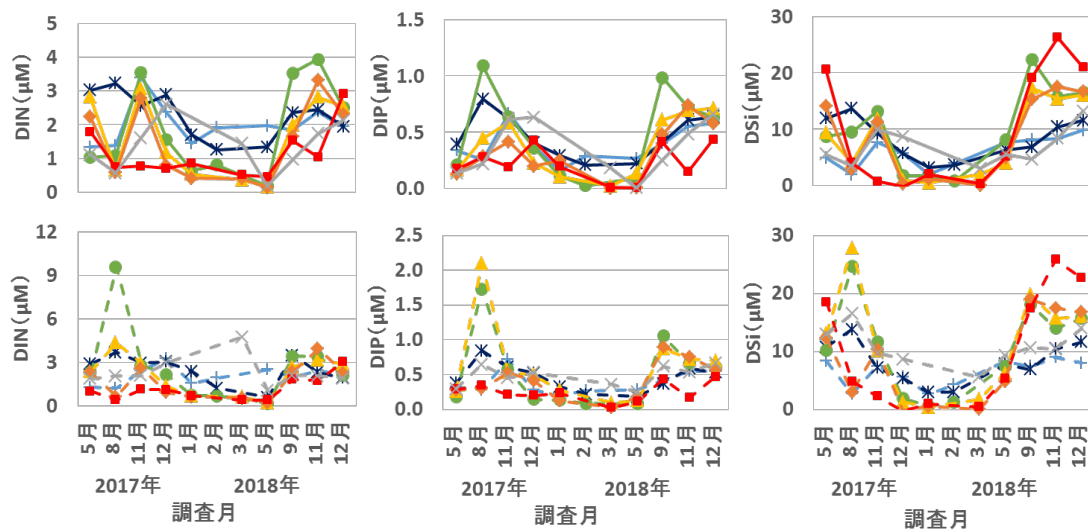


Fig. 2 大阪湾圏域における栄養塩濃度の変化(2017年5月~2018年12月). 上段: 表層、下段: 底層. 定点MS(+), HN-1(*), HN-2(●), HN-3(▲), HN-4(◆), HN-5(■), HN-6(×).

2017年5月~2018年12月のDFe濃度は、表層において< 0.3~31.8 nM、底層において< 0.1~56.2 nMの範囲で推移した (Fig. 3)。拡張レッドフィールド比と比較した場合、2017年度では定点HN-6の5月表層底層、11月底層、12月表層底層、定点HN-3の8月底層、定点MSとHN-1の11月表層底層、および12月のほとんど全ての定点の表層底層においてDFe不足を示したが、2018年度においては定点HN-6の5月表層底層以外DFe不足の傾向を示さなかった。TFeは、表層で22~7,089 nM、底層で119~7,355 nMの濃度範囲で存在していた。粒子態鉄(PFe; TFe-DFe)濃度を見積ると、2017年5月の定点HN-2、8月の定点HN-4、11月の定点HN-1、2018年1月の定点HN-5および11月の定点HN-4以外は全て表層に比べて底層において高い濃度傾向を示した。よって、増殖に鉄源として粒子態鉄を利用できる植物プランクトン種に対して、本海域における鉄の存在状態は制限要因とはなりにくいと考えられる。

2017年5月~2018年12月において、DNiは< 0.4~102 nM、DCuは< 0.1~56.0 nM (Fig. 3)、DMoは0.6~157 nM (Fig. 3)、DMnは0.51~2675 nM、DZnは4.7~656 nM、DAIは3.8~480 nMの濃度範囲で推移した。拡張レッドフィールド比が報告されているNi, Cu, Mn, Znの4元素(C : N : P : Fe : Zn : (Ni, Cu, Mn) = 106 : 16 : 1 : 0.005 : 0.002 : 0.0004)について、元素比を算出し比較した場合、2018年度では、9月の定点HN-1底層でMnが、11月の定点MS表層と12月の定点HN-6表層でNiが、それぞれ植物プランクトン増殖に対して不足していたことがわかった。

ノリ漁期(2017年11月~2018年5月)における主要な有害珪藻類の細胞密度と微量元素7種類の溶存濃度との関係について、ピアソンの積率相関分析を用いて検討した。その結果、*Eucampia zodiacus*はFe, Cu, Znとの間に高い負の相関($0.7 < |r| < 1.0$)が認められた。Feは定点HN-1, -2, -3の表層($r = -0.71, -0.77, -0.79$)で、Cuは定点

HN-2, HN-3, HN-4, HN-5, HN-6 の底層 ($r = -0.94, -0.94, -0.81, -0.86, -0.91$) および定点 HN-4 の表層 ($r = -0.84$) で、Zn は定点 HN-3 の表層 ($r = -0.76$) で、溶存濃度の変化が *E. zodiacus* の出現と大きく関連していたものといえる。とくに、播磨灘北部域の姫路より東側沿岸の表層においては Fe の挙動が、また播磨灘沿岸域 (相生～高砂) から中央域にかけての底層では Cu の挙動が、*E. zodiacus* の発生に重要や役割を果たしているのではないかと考えられる。*Coscinodiscus* spp. は Fe, Ni, Mo, Mn, Zn, Al との間に高い負の相関を認めることができた。Fe は定点 HN-5 の表層 ($r = -0.70$) で、Ni は定点 MS の底層 ($r = -0.66$) で、Mo は定点 MS, HN-6 の底層 ($r = -0.93, -0.77$) および定点 HN-3 の表層 ($r = -0.70$) で、Mn は定点 HN-1, HN-4 の底層 ($r = -0.71, -0.77$) および定点 HN-3 の表層 ($r = -0.67$) で、Zn は定点 HN-6 の底層 ($r = -0.81$) で、Al は定点 MS, HN-6 の底層 ($r = -0.84, -0.92$) で、溶存濃度の変化が *Coscinodiscus* spp. の出現と大きく関連していたものといえる。とくに大阪湾北西部域の底層における Mo と Al の挙動が、*Coscinodiscus* spp. の発生に大きく関与しているのではないかと考えられる。以上より、調査期間における大阪湾圏域のノリ漁期での大型珪藻類の赤潮発生には、とくに Fe, Cu, Mo の挙動の重要性が示唆された。

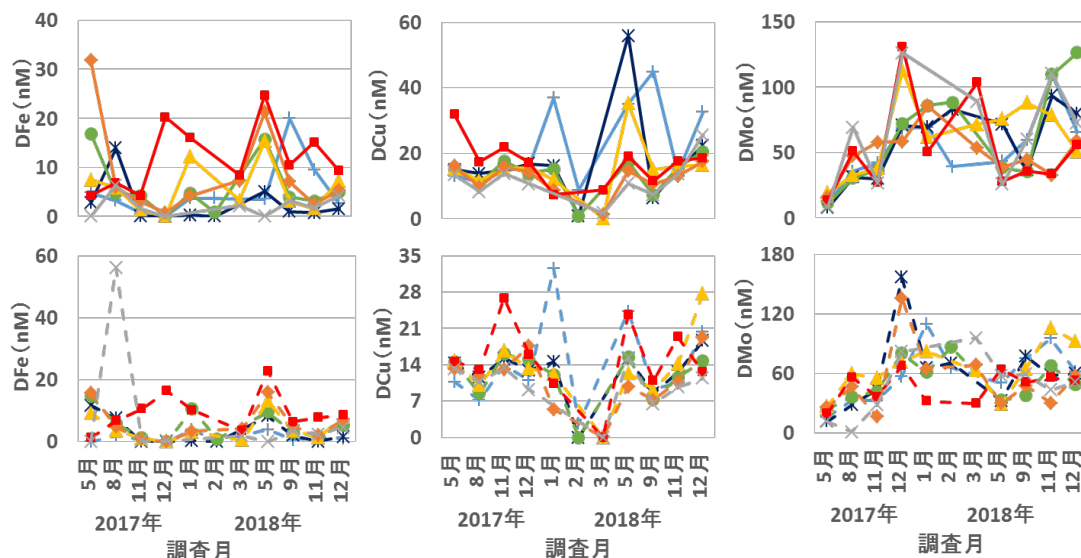


Fig. 3 大阪湾圏域における微量金属 (DFe, DCu, DMo) 濃度の変化 (2017年5月～2018年12月). 上段: 表層、下段: 底層. 定点MS(+), HN-1(*), HN-2(●), HN-3(▲), HN-4(◆), HN-5(■), HN-6(×).

4. 結論

2017年度から継続した2年間の調査分析によって、大阪湾圏域7定点における微量金属7種 Fe, Ni, Cu, Mo, Mn, Zn, Al の濃度分布および季節変化を明らかとし、ノリ漁期である秋季から春季における主要な有害珪藻類の発生状況との関連性を示すことができた。今後、これらの微量金属にも注視しながら調査を進めていく必要がある。

発表時には、2018年11月の播磨灘 (定点 HN-4) 沿岸海水および広島湾 (大野瀬戸) 沿岸海水を用いた *Coscinodiscus wailesii* の増殖ポテンシャル (AGP) 試験の結果についても併せて報告する予定である。