

短報

***in vivo* クロロフィル蛍光による有害珪藻 *Eucampia zodiacus* の増殖速度の測定**

西川 哲也*

(2000年12月21日受理)

Measuring the Growth Rate of the Harmful Diatom *Eucampia zodiacus* by *in vivo* Chlorophyll Fluorescence

Tetsuya NISHIKAWA*

キーワード: *Eucampia zodiacus*, *in vivo*, クロロフィル蛍光, ノリ養殖, 珪藻

本県瀬戸内海海域では、秋季から翌年の春季にかけてノリ養殖が盛んに行われており、ノリ養殖は本県水産業にとって重要な漁業種類となっている。しかし当該海域では、ノリ養殖時に珪藻が大量発生し、栄養塩を大量に消費するためノリが色落ちし、商品価値の低下や生産量の減少がしばしば問題となっている。¹⁾ かつて本県海域のノリ養殖に悪影響を及ぼしてきた有害珪藻は、そのほとんどが *Coscinodiscus wailesii* であった。*C. wailesii* については本県のこれまでの調査、研究によってその生活環が明らかにされ、播磨灘における *C. wailesii* 秋季発生群の予察手法が確立された。²⁾ しかし1990年代以降、播磨灘では *C. wailesii* 以外の珪藻も大量発生するようになり^{3,4)}、それらがノリ養殖に対して *C. wailesii* と同様の被害を及ぼしている。⁵⁾ そのため、新たな有害珪藻についてその大量発生機構の解明が急がれるところであるが、多様化する全ての有害種に対して十分な研究がおこなわれていないのが現状である。

近年、植物プランクトンの生物量の測定法として *in vivo* クロロフィル蛍光を利用する方法⁶⁾ が主に有害・有毒プランクトンを対象とした室内培養実験で実施されている。^{7,10)} この方法は、従来の方法のように試験管や三角フラスコから少量の培地を抜き取り、その中の細胞数を直接計数する必要がなく、培養容器中のサンプルを容器

ごと測定するため、大量のサンプルを迅速かつ簡便に測定することが可能であり、また培養容器のふたを開けることがないため、実験中のコンタミネーションを防止できるといった利点がある。⁶⁾ しかし本方法で実験が行われてきた種は *Gymnodinium mikimotoi*¹¹⁾ や *Alexandrium tamarence*¹⁰⁾ など比較的小型で単体の鞭毛藻類が大部分であり、ノリに被害を及ぼす大型の珪藻や群体を形成する種に本方法が利用できるかはほとんど検討されていない。そこで本稿では、ノリ養殖に有害とされる珪藻のうち、らせん状に群体を形成する *E. zodiacus* を用い、本種の細胞密度の測定が本方法で可能かどうか検討した。

実験には播磨灘から採集し、マイクロピペット洗浄法¹⁰⁾ および Nagai et al.¹⁰⁾ の方法を併用して単離・無菌化した *E. zodiacus* の培養株 (H2-1株) を用いた。まずキューベット (25×150mm, TURNER DESIGNS社製) にMP1培地¹⁰⁾ 27.5mlを分注し、その中に初期接種細胞が50cells/mlとなるように *E. zodiacus* を接種した。培養条件は温度20℃、明暗周期10hL:14hDとし、光強度は30, 70, 120, 150および185 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の5段階とした。*E. zodiacus* の蛍光値は蛍光光度計 (TURNER DESIGNS社製 TD-700) を用いて、また細胞数はよく攪拌した0.1~1mlの培地をピペットで抜き取り、光学顕微鏡を用いて直接計数することによって、それぞれ日毎に測定した。

* 兵庫県立水産試験場 (Hyogo Prefectural Fisheries Experimental Station, Minami-Futami, Akashi 674-0093)

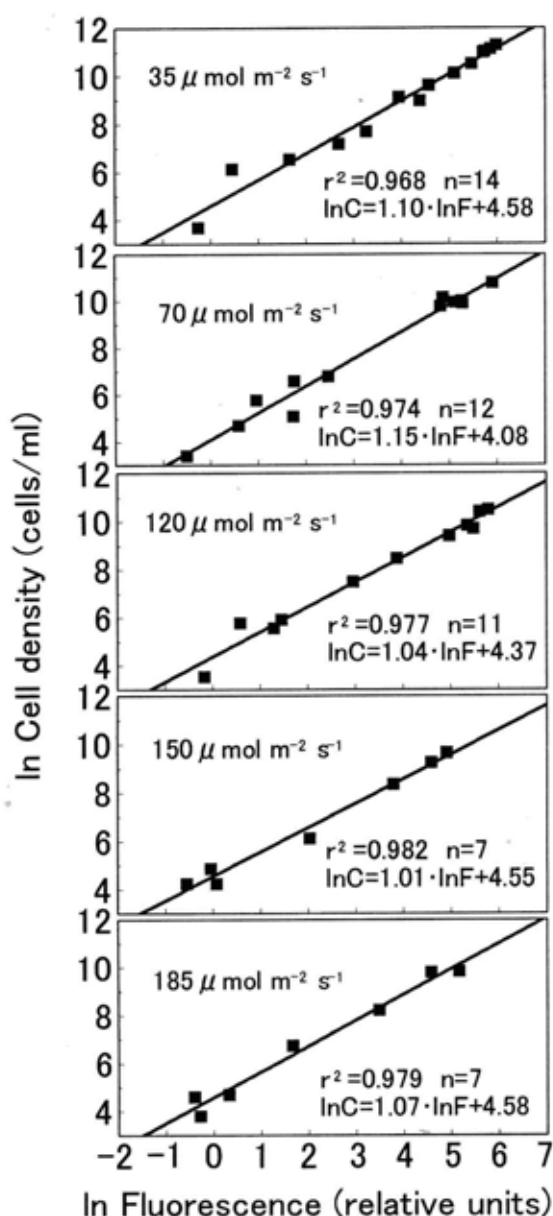


Fig. 1. Relationship between cell density (C) and *in vivo* chlorophyll fluorescence (F) in *E. zodiacus*.

*E. zodiacus*の細胞密度とクロロフィル蛍光値の変化をFig. 1. に示す。全ての光強度条件下において、*E. zodiacus*の増殖に伴い蛍光値も増大し、*E. zodiacus*の細胞密度と蛍光値には高い相関関係が認められた (Fig. 1.)。また、蛍光値と*E. zodiacus*細胞密度の関係に光強度による差がないかも併せて検討した。各光条件下における蛍光値と*E. zodiacus*栄養細胞の回帰直線について、回帰係

数の差を検定した結果、各光条件の全ての組み合わせにおいて傾きおよび切片に有意な差は検出されなかった ($p < 0.05$)。植物プランクトンは実験室の培養条件下で与えられた光条件に対して細胞当たりのクロロフィル含量を調整し、効率よく光エネルギーを利用することが報告されている。¹⁰ しかし今回実験に設定した光強度の範囲では、光強度の差による1細胞当たりの蛍光値には有意差は見られなかった。これらのことから、あらかじめ*E. zodiacus*の細胞密度と蛍光値の関係式を求めておけば、培養実験時には細胞数の直接計数の代わりに蛍光値を測定するだけで*E. zodiacus*の細胞密度が求められることが判明した。これは、有害珪藻にも本方法を用いて大規模な培養実験が簡便にかつ迅速に実施できることを意味する。今後は、本方法を用いた*E. zodiacus*の生理生態学的特性解明のための室内培養実験を早急に実施するとともに、他の有害珪藻に対しても本方法の利用可能性について検討したい。

最後に、統計学的解析に有益なご助言をいただきました兵庫県立水産試験場反田實主任研究員に感謝いたします。

文 献

- 1) 眞鍋武彦, 長井敏, 堀豊: 厳しさを増す沿岸漁業, 「水産と環境」(清水誠編), 恒星社厚生閣, 東京, 1994, pp.13-15.
- 2) 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. 学位論文, 京都大学, 京都, 1995, pp.1-177
- 3) 長井敏, 宮原一隆, 堀豊: 1994-1995年冬期播磨灘に大量発生した *Thalassiosira sp.* について. 兵庫水試研報, (32), 9-18(1995.)
- 4) K. Miyahara, S. Nagai, S. Itakura, K. Yamamoto, K. Fujisawa, T. Iwamoto, S. Yoshimatsu, S. Matsuoka, A. Yuasa, K. Makino, Y. Hori, S. Nagata, K. Nagasaki, M. Yamaguchi, and T. Honjo: First record of a bloom of *Thalassiosira diporocyclus* in the eastern Seto Inland Sea. *Fisheries Science*, 62(6), 878-882(1996).

- 1) 永田誠一, 中筋昭夫, 中谷明泰, 井川直人, 堀豊:
1995,1996年度漁期後半に播磨灘ノリ漁場において
観測された珪藻プランクトンについて. 兵庫水試研
報,(34), 41-48(1998).
- 6) Brand, L. E., Guillard, R. R., and Murphy, L. S.
: A method for the rapid and precise determina-
tion of acclimated phytoplankton reproduction
rates. *J. Plankton Res.*, 3, 193-201(1981).
- 7) 山口峰生, 本城凡夫: 有害赤潮鞭毛藻 *Gymnodinium*
nagasakiense の増殖におよぼす水温, 塩分および光強
度の影響. 日水誌, 55(11), 2029-2036(1989).
- 8) 山口峰生, 今井一郎, 本城凡夫: 有害赤潮ラフィド
藻 *Chattonella antiqua* と *C. marina* の増殖速度におよ
ぼす水温, 塩分および光強度の影響. 日水誌, 57(7),
1277-1284(1991).
- 9) M. Yamaguchi, S.Itakura, K. Nagasaki, Y.
Matsuyama, T. Uchida and I. Imai: Effects of
temperature and salinity on the growth of the
red tide flagellates *Heterocapsa circularisquama*
(Dinophyceae) and *Chattonella verruculosa*
(Raphidophyceae). *J. Plankton Res.*, 19, 1167-
1174(1997).
- 10) 山本民次, 樽谷賢治: 広島湾産有害渦鞭毛藻
Alexandrium tamarense の増殖に及ぼす水温, 塩分及
び光強度の影響. 藻類, 45, 95-101(1997).
- 11) 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, pp.1-55.
- 12) S. Nagai, I. Imai and T. Manabe: A simple and
quick technique for establishing axenic cultures
of the centric diatom *Coscinodiscus wailesii* Gran.
J. Plankton Res., 20, 1417-1420(1998).
- 13) 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, 40, 151-167(1993).
- 14) W. M. Darley: 藻類の生理生態学 (手塚泰彦, 渡
辺泰徳, 渡辺真利代訳), 培風館, 東京, 1987, pp.
31-34.