

令和元年5月16日現在

機関番号：14101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K07823

研究課題名(和文) 有害赤潮ラフィド藻シャットネラの個体群形成機構の解明

研究課題名(英文) Studies on the mechanism for bloom formation of the red tide causing flagellates *Chattonella* (Raphidophyceae)

研究代表者

石川 輝 (Ishikawa, Akira)

三重大学・生物資源学研究所・教授

研究者番号：00273350

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：英虞湾内の湾奥において、2016年6月から2018年1月にかけて有害赤潮ラフィド藻シャットネラ・シストの現場海底からの発芽量を季節的に実測するとともに、栄養細胞の季節消長を調べた。シストの現場発芽量実測にはPETチャンバーを用いた。

現場海底上におけるシストは春季に底泥温度が発芽可能域に達すると直ちに発芽を開始して栄養細胞を水柱中に供給し、次いで夏季に水温が増殖に適した時期になると栄養細胞が大きな個体群を形成した。このことから、シストは栄養細胞増殖のタネとして寄与している一方、個体群の形成にはシストの発芽量の大小ではなく栄養細胞自身の増殖の程度が大きく関与するものと結論づけられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ラフィド藻類のシャットネラは国内外の各地で赤潮を起こし魚類の大量斃死を引き起こす有害鞭毛藻であるため、その個体群形成機構を解明することは水産学的に重要な課題である。本研究課題で取り組んだ研究手法により、栄養細胞増殖のタネとなるシストの現場における発芽と栄養細胞の増殖において温度が大きく関わっていることを示し得た。このことは、各海域におけるシャットネラの個体群形成機構を解明するために重要な基礎的知見となるものであり、またシャットネラの増殖を予知する上でも大きく貢献するものである。

研究成果の概要(英文)：Temporal changes in the in situ germination flux of cysts and the abundance of vegetative cells of *Chattonella* (Raphidophyceae) were investigated in Ago Bay, central Japan from June 2016 to January 2018. The in situ germination flux was measured using 'plankton Emergence Trap Chambers (PET Chamber)'.

The cysts started to germinate in spring when the sediment temperature reached the value that enables the cyst to germinate. The vegetative cells, in turn, built a large population in summer when the water temperature became favorable for their growth. From these, it was concluded that, although cysts play an important role as seeds in the initiation of vegetative growth, the vegetative population size cannot be determined by the extent of the germination flux but determined by that of the growth rate itself.

研究分野：浮遊生物学

キーワード：有害赤潮ラフィド藻 シャットネラ シスト 発芽 栄養細胞 英虞湾

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

ラフィド藻 *Chattonella* 属 (以下、シャットネラと呼ぶ) は、国内外の各地で大規模な赤潮を起こし魚類の大量斃死を引き起こす有害鞭毛藻であるため、その個体群形成機構を明らかにすることは水産学的に極めて重要な課題である。シャットネラは、生活史の一時期に休眠して不適な環境を海底上で生残するステージ (シスト) を形成する。シストは、プランクトン群を構成する栄養細胞増殖のタネとして重要な役割を果たしている。従って、シャットネラの発生機構ならびに個体群動態を明らかにするためには、栄養細胞の研究だけでなく、シストの生理生態に関する研究が必須である。

これまで、シストの発芽については室内培養実験に基づいてそのメカニズムが詳細に解明されてきた。しかし、その発芽に影響を及ぼす水温や光強度、日長、酸素濃度、栄養塩などの様々な環境要因が刻々と変化する現場の海底から、実際にいつ、どの程度発芽してくるものなのか、という点については、現場の環境を室内で再現することが不可能なために全くわかっていなかった。水柱中におけるシャットネラの発生を予知するためには、この点を明らかにすることが早急な課題であった。

### 2. 研究の目的

三重県英虞湾では、シャットネラの大規模な赤潮が時として発生する海域である。そこで、本研究課題では同湾を研究対象海域として、現場海底上における発芽細胞を直接捉えるために研究代表者が以前開発した器具 (Plankton Emergence Trap/Chamber: PET チャンバー) を用いてシャットネラシストの発芽量を実測した。また、シャットネラ栄養細胞群集の季節消長を調べた。さらに、栄養細胞の増殖とシストの発芽に及ぼす温度の影響についても調べた。

本研究課題は、以上の調査・実験により得られた成果を基に、シャットネラの個体群形成機構を解明することを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### (1) 現場調査

英虞湾の湾奥に調査定点 (水深約 11m) を設け、2016 年 6 月～2018 年 1 月にかけて月に 1 回程度の頻度で、海洋観測、シスト発芽実測調査ならびに採水を行った。シスト実測調査では、PET チャンバー (上述) を 3～5 本海底に設置した。この PET チャンバーは設置してから 24 時間後に回収した。採水はヴァンドーン採水器を用いて行い、水柱中 0, 2.5, 5, 7.5m ならびに海底から 1m 上 (B-1m) の各層から試水を得た。得られたチャンバー内の試水と水柱中の試水を実験室に持ち帰り直ちに検鏡に供した。水柱中に出現した栄養細胞数は水柱積算値 ( $\text{cells m}^{-2}$ ) とした。また、チャンバー内に出現した発芽細胞数は、1 日当たりの発芽細胞フラックス ( $\text{cells m}^{-2} \text{ day}^{-1}$ ) に換算した。

#### (2) 室内実験

英虞湾から単離して作成したシャットネラ株 (*Chattonella marina*) を、4 段階の温度条件 (15, 20, 25, 30) で培養した。培地には IMK 培地を用い、塩分 30、光強度  $120 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 、12hL:12hD の明暗周期を設定した。栄養細胞を試験管に接種し、各温度条件下における細胞の増加を、ターナー蛍光光度計で *in vivo* クロロフィルを測定することによって追跡した。得られた増殖曲線から対数増殖期について比増殖速度を求め、最終的に 1 日当たりの分裂速度 ( $\text{divisions day}^{-1}$ ) を算出し、これを増殖速度とした。

英虞湾湾奥の調査点において採取した海底泥を用いて、8 段階の温度条件 (10, 15, 20, 23, 25, 27, 30, 35) におけるシストの発芽可能温度域と適温域を終点希釈法にて調べた。培養海水には  $\text{GeO}_2$  を添加し、塩分 30、光強度  $30 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 、12hL:12hD の明暗周期のもとで実験を行った。

### 4. 研究成果

#### (1) 発芽と栄養細胞季節消長

現場シスト発芽実測調査を行った期間 (2016 年 9～11 月、2017 年 3 月、2017 年 5～7 月、2017 年 9～12 月) のうち、発芽細胞がみられたのは、2017 年 5 月、7 月、10 月、11 月のみであり、それぞれの発芽フラックスは、622, 207, 726, 104  $\text{cells m}^{-2} \text{ day}^{-1}$  であった (図 1)。なお、シストが発芽を開始した 5 月の底泥温度は 18 度であった (図 2)。

水柱中で栄養細胞は 2016 年では 7 月、8 月、12 月に、2017 年では 8 月、9 月に出現した (図 3)。2016 年の出現量は最大でも 8 月の  $1.75 \times 10^5 \text{ cells m}^{-2}$  であったのに対して、2017 年は 8 月に  $1.34 \times 10^7 \text{ cells m}^{-2}$  と大きな個体群を形成した。

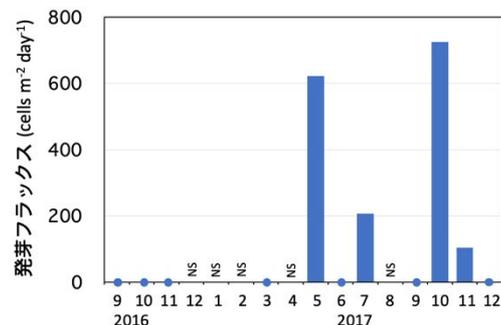


図1. 英虞湾湾奥定点におけるシャットネラ・シスト発芽フラックスの季節変化。

●は値が0であること、NSはサンプルないことをそれぞれ示す。

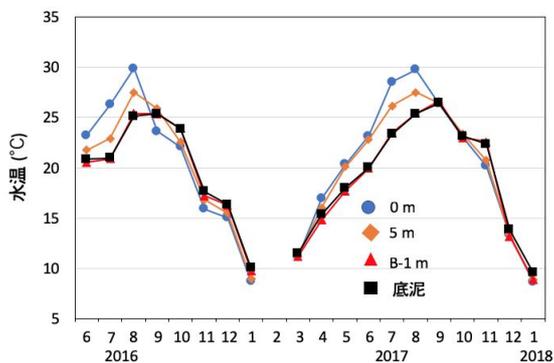


図2. 英虞湾湾奥定点における水温と底泥温度の季節変化。

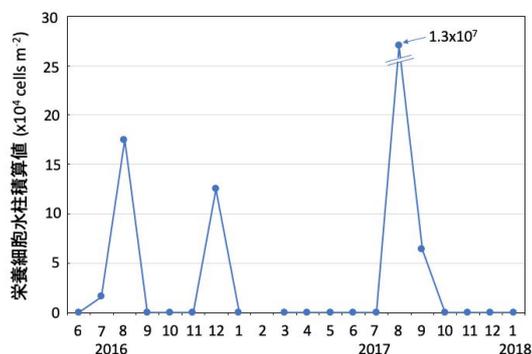


図3. 英虞湾湾奥定点におけるシャットネラ栄養細胞水柱積算値の季節変化。

調査期間を通して栄養細胞がみられた時の水柱水温は 15~30 温の範囲にあった。また、2016 年と 2017 年ともに最も大きな個体群が形成された 8 月の水柱鉛直水温は 25~30 の範囲にあった。

### (2) 増殖とシストの発芽に及ぼす水温の影響

増殖実験の結果、英虞湾産シャットネラは、15 では増殖速度は低い ( $0.12 \text{ divisions day}^{-1}$ ) もの、20~30 では活発に増殖することが明らかとなった (図 4)。20、25、30 におけるそれぞれの増殖速度は  $1.02$ 、 $1.09$ 、 $0.84 \text{ divisions day}^{-1}$  であった。シストの培養実験では、20~30 が発芽可能温度域であり、また発芽の最適温度は 25 であることが判明した (図 5)。

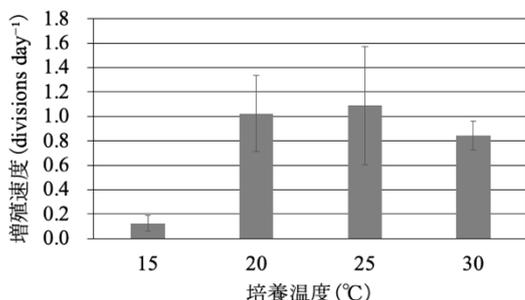


図4. 各温度条件下における英虞湾産シャットネラ栄養細胞の増殖速度。縦棒は標準偏差 (±SD) を示す。

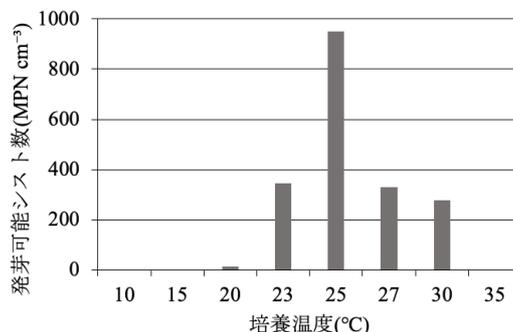


図5. 各温度条件下における英虞湾産シャットネラシストの発芽可能細胞数。

### (3) 個体群形成機構

シストの発芽は 20 から可能であることが上述の通り判明した。2017 年 5 月の底泥温度はそれに近い 18 であったことから、おそらくはこの温度になってシストは発芽できるようになったものと考えられる。ただし、栄養細胞は 5 月には水柱中にみられなかった。また、海底からの発芽が確認された 2017 年 7 月、10 月と 11 月にも水柱中に栄養細胞はみられなかった。一方、2017 年に水柱中で大規模な個体群が形成されたのは 8 月であり、この時の水中鉛直水温は 25~30 と、栄養細胞にとって増殖好適水温の範囲にあった。

以上のことから、現場海底上におけるシストは春季に底泥温度が発芽可能域に達すると直ちに発芽を開始して栄養細胞を水柱中に供給し、次いで夏季に水温が増殖に適した時期になると栄養細胞が大きな個体群を形成するということが明らかとなった。すなわち、本研究課題により、シストは栄養細胞増殖のタネとして寄与しているのであって、個体群の形成にはシストの発芽量の大小ではなく栄養細胞自身の増殖の程度が大きく関与するというシャットネラの個体群形成機構が解明された。この成果は、各海域において、シストが発芽するタイミングと栄養細胞が増殖するタイミングを温度の観点から監視することの重要性を示すものであり、将来シャットネラの発生予知を行う上で大きな礎になるものと期待される。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 9 件)

Ishii, K., Imai, I., Natsuike, M., Sawayama, S., Ishino, R., Liu, W., Fukkusaki, K., Ishikawa, A. (2018) A simple technique for establishing axenic cultures of centric diatoms from resting stage cells in the bottom sediments. *Phycologia*, 57: 674-679. 査読有 DOI: 10.2216/17-73.1

Nishitani, G., Kosaka, Y., Nagai, S., Takano, Y., Kim, Y.O., Ishikawa, A. (2018) An effective method for detecting prey DNA from marine dinoflagellates belonging to the

genera *Dinophysis* and *Phalacroma* using a combination of PCR and restriction technique. Plankton and Benthos Research, 13:90-94. 査読有  
[https://www.jstage.jst.go.jp/article/pbr/13/2/13\\_P130203/\\_article/-char/en](https://www.jstage.jst.go.jp/article/pbr/13/2/13_P130203/_article/-char/en)

Nakada, M., Hatayama, Y., Ishikawa, A., Ajisaka, T., Sawayama, S., Imai, I. (2018) Seasonal distribution of *Gambierdiscus* spp. in Wakayama Bay, the Sea of Japan, and antagonistic relationships with epiphytic pennate diatoms. Harmful Algae, 76: 58-65. 査読有 DOI: 10.1016/j.hal.2018.05.002

Natsuike, M., Yokoyama, K., Nishitani, G., Yamada, Y., Yoshinaga, I., Ishikawa, A. (2017) Germination fluctuation of toxic *Alexandrium fundyense* and *A. pacificum* cysts and the relationship with bloom occurrences in Kesennuma Bay, Japan. Harmful Algae, 62: 52-59. 査読有 DOI: 10.1016/j.hal.2016.11.018

〔学会発表〕(計 10 件)

石川 輝、舟橋花奈、奥村順哉、西谷 豪：伊勢湾および三河湾の海底泥表層における *Skeletonema* 属休眠細胞の現存量と種組成. 日本プランクトン・ベントス学会合同大会、2018 年

宮嶋優里、松岡数充、石井健一郎、石川 輝：伊勢湾奥部海底表層堆積物中における渦鞭毛藻シストと *Chaetoceros* 属休眠胞子の鉛直分布. 日本プランクトン・ベントス学会合同大会、2018 年

石川 輝、若林大晃、田口和典、山本圭吾、Hyeon-Ho Shin、Young-Ok Kim：渦鞭毛藻 *Scrippsiella trochoidea* のシストを利用した内湾の貧酸素環境評価の試み. 日本プランクトン・ベントス学会合同大会、2017 年

Nishitani, G., Takagi, N., Takano, Y., Nagai, S., Kim, Y.-O., Kosaka, Y., Ishikawa, A.: Development of new primer sets to detect prey DNA from marine dinoflagellate, *Dinophysis* spp. 10<sup>th</sup> EASTHAB Symposium, 2017

Ishii, K., Ishikawa, A., Imai, I., Matsuoka, K.: Horizontal distribution of diatom resting cells and dinoflagellate cysts in surface sediment of Osaka Bay, West Japan. 10<sup>th</sup> EASTHAB Symposium, 2017

〔図書〕(計 3 件)

石川 輝・石井健一郎、恒星社厚生閣、有害有毒プランクトンの科学、2016 年、340 ページ (290-298 ページ)

石井健一郎・石川 輝・今井一郎、恒星社厚生閣、有害有毒プランクトンの科学、2016 年、340 ページ (258-270 ページ)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等：なし

## 6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：なし

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。