

平成 22 年 4 月 21 日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007～2009
 課題番号：19510031
 研究課題名（和文） 汽水域，宍道湖・中海における植物プランクトン群集の長期動態解析
 研究課題名（英文） Long-term dynamics of phytoplankton communities in brackish Lakes Shinji and Nakaumi.

研究代表者

大谷 修司（OHTANI SHUJI）
 島根大学・教育学部・教授
 研究者番号：50185295

研究成果の概要（和文）：1）研究室に保存されていた 1960 年代からの宍道湖，中海の植物プランクトン試料を整理し，標本箱に納めた。2）これらの試料について分類学的検討を進め，種名を改めたり，出現時期を修正した。中海で赤潮を引き起こす *Prorocentrum minimum* が 2005 年以降，優占することが少なくなった。中海の微小珪藻について SEM 観察を行い，その中の一種は *Chaetoceros minimus* であることを明らかにした。3）本水系で出現に季節性のある種として，*M. contortum* 他数種が抽出された。4）宍道湖のカビ臭の研究のため，4 種類を培養株として保存した。5）出現種約 180 種についてホームページで公開の準備を進めた。

研究成果の概要（英文）：1) Samples of Lakes Shinji and Nakaumi from 1960's stored in the laboratory were arranged and put in the specimen boxes. 2) I taxonomically examined these samples, and changed species names and occurrences for several species. Cell number of *Prorocentrum minimum* causing red tides in Lake Nakaumi gradually decreased after 2005. A minute diatom, *Chaetoceros minimus* was firstly identified by SEM observation. 3) *M. contortum* and other several species showed seasonal changes of occurrence. 4) Four culture strains were isolated for a research of mold smells in Lake Shinji. 5) I prepared to show photos and descriptions about 180 species of phytoplankton of Lakes Shinji and Nakaumi in a homepage.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	800,000	240,000	1040,000
2008 年度	700,000	210,000	910,000
2009 年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	2100,000	630,000	2730,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：環境学・環境影響評価・環境政策

キーワード：生態系影響評価，汽水域，宍道湖・中海，植物プランクトン，群集，長期動態

1. 研究開始当初の背景

宍道湖・中海は両湖をあわせると全国一の面積を有する汽水域である。全国の湖沼と同様、1970年頃から水質の富栄養化がおり、アオコや赤潮がたびたび起こるようになった。水域に対する人間活動の影響を把握する為、本水系における水質や植物プランクトンのモニタリングが島根県や島根大学などによって1970年頃よりなされてきた。

2005年11月には宍道湖・中海はラムサール条約の登録湿地に指定された。本条約では湿地を「広く生態系として重要な湿地」と捉えるとともに湿地の「賢明な利用」が課題とされている。そのためのひとつのアプローチとして本水系の長期蓄積されてきた貴重な水質や植物プランクトンの試料を整理し、その長期変動の解析結果から、今後の両湖の水質保全計画や実際の活動に役立てていくことが考えられる。

宍道湖の植物プランクトンの種組成と現存量に関しては島根大学教育学部故秋山教授によって1969年から継続してなされており、その時に採集された宍道湖の試料の多くが島根大学教育学部大谷研究室に保管されている。申請者は、1994年以降、この15年間、島根県保健環境科学研究所と共同して宍道湖・中海において、植物プランクトンの種組成と現存量のモニタリングを実施している(大谷他、1996-2008 島根保環研所報)。また、同じ地点の水質は島根県保健環境科学研究所が測定を行っており、水温、塩分、栄養塩等の水質データと合わせて植物プランクトンのデータが蓄積されている。

故秋山教授が収集した膨大な宍道湖の試料を有効に活用するために、平成17-18年度は研究室に保管されている1968-69年度及び1981-82年度の試料整理を行った。これらのホルマリン固定試料はほとんどが乾燥して

いたので再び5%ホルマリン溶液にもどし、一部の試料について顕微鏡観察を行った。中には乾燥のため変形した細胞が認められたが、珪藻(*Cyclotella*属, *Diploneis*属)、渦鞭毛藻(*Protoperidinium*属)、藍藻(*Synechocystis*属)、緑藻(*Monoraphidium*属, *Oocystis*属)は原形のままの細胞が確認された。乾燥した試料であっても、ホルマリン溶液に再度保存された試料は、珪藻類や被殻のある渦鞭毛藻類はそのまま分解されることなく残っていることが確認できた。その他の藍藻や緑藻などの分類群も原形を留めた細胞があることから部分的に分類学的再検討が可能である。また、乾燥を免れたホルマリン固定試料は十分に本研究の目的に利用できる。

2. 研究の目的

1) 保管試料の整理

第一の目的は、保管された資料は分類学的研究やモニタリング研究等にすぐに供することができるように、整理、保管することである。1964年以降の山木や秋山の研究試料は大まかに年代ごとにダンボール箱に保管されているため、すぐに研究に供したい試料を取り出すことができない状態にあり、また、試料は20~50ml程度の様々な大きさのプラスチックやスチロール管びんに保管されており、このままでは整理しにくい状態にある。さらに、1960年代から1980年代の試料は時間の経過とともに大部分が乾燥してしまったため、再度ホルマリン固定液に戻す必要がある。大谷研究室に保管された植物プランクトンの試料をこの3年間に10mlの小型ガラス管ビンに移し変え、利用しやすい様に引き出し型のプラスチックコンテナに保管する。

2) 出現種の分類学的再検討

第二の目的は、保管試料を再度顕微鏡観察することで、分類学的知見の蓄積による種名

の修正や、明らかな誤同定の修正を行い、より実体を繁栄した種の経年変化を明にすることである。

過去約 40 年間の種組成の調査の結果、宍道湖の植物プランクトンの種組成には経年変化が認められ、近年明らかに現在出現しなくなった種類や、新たに最近出現した種類がある。しかし、出現種の交代が、分類学的な知見が蓄積し、種の概念が変更されたり新種が報告され、以前に比べ正確な同定が行えるようになったために、種名を変更する必要があったことに由来する場合もある。また、明らかな誤同定も一部含まれている。

例えば、宍道湖では、単細胞性の緑藻 *Monoraphidium contortum* が 1994 年以降に報告されている。一方、本種と形態が良く似た群体性の *Ankistrodesmus falcatus* がそれ以前には出現していたが、本種と変わって 1994 年以降は出現しなくなった。 *A. falcatus* が報告されている 1982 年の乾燥した試料を、ホルマリン溶液に浸し、検鏡したところ *M. contortum* に同定される細胞が確認された。これら 2 種に関しては保管資料で形態の観察を行ない再同定を試みる。

近年、細胞の大きさが 1-2 μm 程度の微小な藍藻類 (*Synechocystis* 属, *Synechococcus* 属) が優占することが多くなった。しかし、これらは非常に小さい為、光学顕微鏡では 1000 倍でも小さな点にしか観察されず、その存在を見逃してしまう可能性がある。これらの種類に関してもいつ頃から宍道湖に出現したのかを整理された試料を用いて検証する。また、幅が 3 μm 程度の微小な珪藻が宍道湖、中海共に出現することが以前から報告されていたが、微小なため種の同定はされていなかった。そこで SEM 観察を行い、種の同定を試みる。

3) 生物指標種の抽出

第三の目的は、宍道湖や中海の植物プランクトンの種組成に影響をあたえる環境要因を抽出することである。宍道湖・中海の植物プランクトン群集に大きい影響を与える要因は湖水の塩分であることが明らかにされているが、それ以外の要因に関しての報告は少ない。中海に出現する珪藻の *Neodelphineis pelagica* や *Asterionella glacialis* は 9 月~10 月に出現することが多く、その出現時期は水温との関連が予測される。今回は、季節性をもって出現する種類を長期モニタリングデータより抽出する。

4) 優占種の培養株の確立

第四の目的は、宍道湖の優占種の培養株の確立である。宍道湖では 2007 年から 2009 年にかけて湖水のカビ臭が問題となった。カビ臭の原因生物は植物プランクトンである可能性があり、カビ臭が発生した時期に出現する植物プランクトンの単離培養を試みた。

5) ホームページによる優占種の公開

第五の目的は宍道湖や中海の植物プランクトンの優占種のホームページによる公開である。宍道湖・中海水系の藻類 (1996) を出版し 10 数年が経過したが、その間、本書の入手方法についてたびたび問い合わせがあったが、在庫はなく、すでに絶版となってしまった。これらの要求にこたえるために、本水系の植物プランクトンの優占種については、デジタル化した写真を用いてその記載文とともに、島根大学教育学部ホームページにて公開する。

3. 研究の方法

1) 試料整理

研究室に保管されている宍道湖の 1964 年以降の試料に関して試料整理を行った。10ml のガラス管ビンに試料の沈殿物をパスツールピペットを用いて移し、5%ホルマリン溶

液で満たした。乾燥してしまった試料は、藻類の形態が変形することから、乾燥したことを示す表示 (D) の文字をラベルに記した。

2) 顕微鏡観察

整理した宍道湖中海の試料について、管瓶の底の沈殿物を 18 μ l 取り出し、プレパラートを作成した。その後、微分干渉光学顕微鏡 (Olympus, BX60) を用いて 1000 倍で、出現種の細胞の形、大きさ、葉緑体の形、数、ピレノイドの有無、鞭毛の有無や数等について観察を行った。細胞数は、非常に多い、多い、普通、少ない、非常に少ないの相対出現頻度で表した。観察した種についてはデジタル顕微鏡写真撮影装置 (Olympus, DP12) で写真撮影を行い、ハードディスクに保存した。

スライドグラスにて観察した試料は、グリセリン：ホルマリン：水の 1 : 1 : 1 混液によりグリセリンに置換し、永久プレパラートとしてスライドグラス保管箱に年代順に整理した。

微細な珪藻の SEM 観察では、酸処理をすると殻が溶ける可能性があり、未処理の試料を自然乾燥させ、白金にて蒸着を行った後、SEM (HITACHIS-3000N) にて観察した。

3) 培養方法

希釈平板法 (寒天 1.5%) では、CT 培地 (0 または 3%) または IMK-SP 培地 (6%) を用いた。接種後しばらくして寒天上に生育したコロニーを柄付き針で分離した。藍藻 *Coelosphaerium kuetzingianum* の分離にはピペット洗浄法を用いた。

藍藻類の培養には宍道湖湖水を濾過し、その濾液を蒸留水の代わりとして M11 培地を作成し用いた。培養条件はいずれも 20 $^{\circ}$ C, 1500 lux, 12 時間, 12 時間明暗周期とした。分離に用いた湖水は宍道湖湖心にて 2008 年 4 月, 30 日, 5 月 7 日, 2009 年 9 月 30 日に採水された。

4. 研究成果

1) 保管試料の整理

研究室の段ボール等に保存されていた 1960 年代から 1980 年代の宍道湖, 中海の試料を整理し, 標本箱に納め, いつでも顕微鏡観察に利用できるようにした。

宍道湖のプランクトン試料で最も古い試料は 1964 年, 中海のプランクトン試料で最も古いものは 1969 年であった。

2) 出現種の分類学的再検討および出現状況

①宍道湖

秋山が 1969-1985 年に報告した *Ankistrodesmus falcatus* について分類学的再検討を行った。宍道湖試料の 1964 年 (月不明), 1966 年 1 月, 1978 年 3 月, 1981 年 6 月, 1982 年 5 月のからは, 単細胞で, 先の細い紡錘形で, 螺旋が 1.5 回, 細胞の長さは 15-22 μ m, 幅 1-2 μ m の細胞が観察された。これらの形質は *Monoraphidium contortum* のものであった。1990 年代からは, *Monoraphidium contortum* が宍道湖に毎年のように出現していたが, 本種は 1990 年代からではなく, 1964 年から宍道湖に出現していたことが明らかとなった。

近年, 細胞の大きさが 1-2 μ m 程度の微小なピコプランクトンの藍藻類 (*Synechocystis* 属, *Synechococcus* 属) が優占することが多くなった。これらは微小なため, 見逃されていた可能性があり, 1960 年代の試料からいくつかを選び観察した。その結果 *Synechocystis* sp. (径約 1 μ m) が, 山木または秋山が採集した試料のうち, 1966 年 6 月, 1978 年 7 月, 1981 年 4 月からも相対出現頻度で, 非常に多い, 多いで出現した。また, 大谷自身がこれまで *Synechocystis* sp. (径 1 μ m) を報告していなかった 1994 年 8 月, 1995 年 5 月の試料からも本種が確認できた。本種の出現頻度の経年変化は明らかで

ないが、1966年から現在までたびたび出現していたことが明らかとなった。

②中海

中海では1974年以来、渦鞭毛藻類の *Prorocentrum minimum* の赤潮が毎年のように発生してきた。今回の保存試料を観察した結果、1969年の米子湾出口の保存試料から本種の出現が認められた。佐川・秋山(1971)は1969-1970年の調査では、本種による中海での赤潮は報告していないが、本種の出現時期をこれまでの報告よりもさらに5年遡ることができた。なお、宍道湖では1969年から本種の出現の記録がある。本種はこの15年では、1994年から1999年頃に細胞密度がピークを迎え、1995年1月には 150×10^6 cells/L に達した。しかし、2005年ごろから細胞密度は低くなり、2005年は 2×10^6 cells/L、2006年は 15.3×10^6 cells/L、2007年 7.6×10^6 cells/L、2008年は 0.1×10^6 cells/L にとどまった。なお、2008年は本種の赤潮は発生していない。1974年から2000年代途中までの約30年間中海で優占した本種が2005年以降優占することが少なくなり、2008年度のように赤潮をひき起こさない年があったことは、本水系のプランクトンの動態の中で特に注目すべき点である。

幅が $3\mu\text{m}$ 程度の微小な珪藻が数種類出現することが以前から報告されていたが、微小なため種の同定はされていなかった。そこでSEM観察を行い、その中の一種は、細胞両端に長い棘を有す *Chaetoceros minimus* であることが判明した。なお、本種は佐竹・秋山(1971)によって1969年に中海の米子湾から *Rhizosolenia minima* の種名で報告されているがその後の報告はなく、微細なため見逃されていた可能性が高い。その他所属がはっきりしない弓形の一種もSEM観察を行い、形態の特徴を把握したので、今後分類学

的検討をすすめ、所属を明らかにする。

以上のように、今回は、保存試料を用いて、過去に遡り種の同定や出現時期の再検討を行うことができ、また、微小なため観察を見逃していた種類について分類学的検討を進めることができた。このように長期モニタリングを実施する場合、採集した試料を保存しておくことはきわめて重要である。

3) 生物指標種の抽出

塩分以外の要因から出現傾向が認められる種類を抽出するために、長期モニタリングデータをもとに出現状況と季節が関連する種類を調べた。

①宍道湖

藍藻 *Synechocystis* sp. (径 $1\mu\text{m}$) は6月～11月に優占する傾向があり、12月から5月は細胞密度が低い場合が多いことが明らかとなった。本種が優占したときの電気伝導度は 12 mS/cm 以下であった。

緑藻 *Monoraphidium contortum* が1998年頃からは、4月～6月に出現する傾向があった。そのときの電気伝導度はほとんどの場合、 10 mS/cm 以下であった。本種は2008年3月～5月に優占種となり、5月には細胞密度が 3.4×10^7 cells/L となった。

緑藻 *Pseudodictyosphaerium minusculum* が1999年頃から、3月～5月に出現する傾向があった。そのときの電気伝導度は 10 mS/cm 以下であった。本種は1999年以前の報告はなく、これ以前に出現したかどうか今後、固定試料を用いて確認する必要がある。また、本種は2008年3月～5月に優占種となった。

②中海

珪藻の *Neodelphineis pelagica* が1994年頃より、9月～11月にしばしば出現すること傾向があった。本種は中海で優占種となることはなかった。

4) 優占種の培養株の確立

宍道湖湖心試料より、藍藻 *Coelosphaerium kuetszingianum* , 藍藻 *Synechocystis* sp. (径 1 μ m), 緑藻 *Pseudodictyosphaerium minusculum*, 緑藻 *Oocystis* sp.を単離し、培養株として保存した。藍藻 *C. kuetszingianum* はクローン培養株であり、無菌であることを確認した。

5) ホームページによる優占種の公開

宍道湖・中海水系及び松江堀川の藍藻、渦鞭毛藻、珪藻、緑虫藻、黄緑藻、緑藻について約180種類をスキャナーで取り込みデジタル化した。種類ごとに、学名、和名、分類群、形状、大きさ、生育環境、コメント、採集場所、採集日、撮影条件を記した。

これらのデータを2010年5月中に下記のURLで公開する予定である。

<http://rikal.edu.shimane-u.ac.jp/algae/database/>

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計5件)

①大谷修司, 崎 幸子, 神門利之, 宍道湖・中海の植物プランクトン水質調査結果(2008年度), 島根保環研所報 50(2008), 104-110頁 査読無.

②大谷修司, 北脇悠平, 崎 幸子, 福田俊治, 神谷宏, 吉岡勝廣, 後藤宗彦, 石飛裕, 宍道湖・中海の植物プランクトン水質調査結果(2007年度), (2008), 島根保環研所報 49, 118-125, 査読無.

③秦明德, 大谷修司, 草田和美, 品川明, 汽水域をもつ水系の環境教育教材の開発Ⅰ. ヤマトシジミの摂餌・消化・排泄活動に関する基礎的研究. (2007), 島根大学教育学部紀要 4:27-34, 査読無.

④秦明德, 大谷修司, 草田和美, 品川明, 汽水域をもつ水系の環境教育教材の開発Ⅱ, 宍道湖の自然を生かした環境学習教材の開発. (2007). 島根大学教育学部紀要 4:41-47, 査

読無.

⑤大谷修司, 北脇悠平, 崎 幸子, 狩野好宏, 福田俊治, 神谷宏, 吉岡勝廣, 後藤宗彦, 石飛裕, 宍道湖・中海の植物プランクトン水質調査結果(2006). (2007), 島根保環研所報 48, 108-115. 査読無.

[学会発表] (計2)

①廣瀬孝太郎, 大谷修司, 後藤敏一, 香月興太, 瀬戸浩二, 中海における過去100年間の藻類群集の変化—プランクトンデータおよび堆積物中の遺骸群集から—, 日本藻類学会第34回大会, 2010年3月21日, 筑波大学

②神門 利之, 崎 幸子, 石飛 裕, 大谷修司, 宍道湖で発生したカビ臭について, 第43回日本水環境学会年会, 2009年3月17日, 山口大学

[図書] (計0件)

[その他]

宍道湖・中海の藻類の公開ホームページ (2010年5月公開予定)

<http://rikal.edu.shimane-u.ac.jp/algae/database/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大谷 修司 (OHTANI SHUJI)

島根大学・教育学部・教授

研究者番号: 50185295

(2) 研究分担者

該当無し

(3) 連携研究者

該当無し