

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 12 日現在

機関番号：27401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24780191

研究課題名(和文) 有害赤潮プランクトン・シャトネラの摂餌による赤潮の発生・維持機構の解明

研究課題名(英文) An experimental study on mixotrophy of *Chattonella antiqua*, a harmful red-tide species

研究代表者

一宮 睦雄 (ICHINOMIYA, MUTSUO)

熊本県立大学・環境共生学部・准教授

研究者番号：30601918

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：ラフィド藻のシャトネラは富栄養化した大規模な赤潮を起こし養殖魚の大量斃死を招く植物プランクトンである。シャトネラ赤潮は富栄養化していない海域でも多発するようになってきた。近年、多くの赤潮形成種が他のプランクトンを捕食する混合栄養性生物であることが明らかとなっている。混合栄養性生物は他の生物から栄養を摂取できるため富栄養化していない海域で有利であると考えられるが、シャトネラの混合栄養性は不明である。本研究ではシャトネラ属の *Chattonella antiqua* による摂餌が、赤潮の発生、維持機構に果たす役割を解明することを目的とし、室内による摂餌実験および現場のシャトネラ細胞の観察を行った。

研究成果の概要(英文)：The raphidophytes *Chattonella* spp. are common red-tide organisms in the eutrophic waters. They are known to be harmful algae and have often caused large-scale fish mortality. While red-tides of *Chattonella* spp. are widely spreading even in non-eutrophic waters, mechanisms of their occurrence and maintenance are unclear. Recently many red-tide species, including raphidophytes, have been revealed to be mixotrophic. Some studies reported that the raphidophyte species, such as *Chattonella ovata*, *Chattonella subsalsa* and *Heterosigma akashio*, are capable of ingesting heterotrophic and autotrophic bacteria. Mixotrophy is thought to be advantageous in non-eutrophic waters. However, relationship between bloom forming and mixotrophy is unknown. In the present study, we have conducted feeding experiments of *Chattonella antiqua* in laboratory and observation of in situ *Chattonella* cells.

研究分野：生物海洋学

キーワード：シャトネラ 赤潮 混合栄養 八代海

1. 研究開始当初の背景

シャトネラ属(主に *Chattonella antiqua*)は富栄養化した瀬戸内海各海域で赤潮を形成し、養殖魚の大量斃死を伴う甚大な被害をもたらしてきた有害な植物プランクトンである。栄養塩類の海域への流入規制によって瀬戸内海域での被害件数は減少したものの、近年になり九州沿岸域でシャトネラ赤潮が多発するようになってきた。昨年度には八代海において大規模なシャトネラ赤潮が1カ月以上も発生し、56億円にのぼる漁業被害をもたらした。九州沿岸域では栄養塩類の顕著な流入負荷増はしておらず、富栄養化していない海域におけるシャトネラ赤潮の大規模化、長期化の機構は不明である。

近年、光合成によってのみ栄養を得る独立栄養性生物であると考えられていたラフィド藻類シャトネラ属の *Chattonella ovata* が 3 μm 以下の小型の植物プランクトンであるシアノバクテリアや従属栄養性のバクテリアを摂食し、他の生物から栄養を得ることができるようになった(図1)。現在、赤潮を形成する多くの植物プランクトンが混合栄養性であることが明らかにされており、しばしば特定の餌生物を選択的に摂食することが報告されている。また、渦鞭毛藻類では他の植物プランクトンを摂食することによって、増殖速度が約2倍高くなることが知られている。混合栄養生物は無機栄養塩類が不足するような貧栄養海域であっても、好適な餌生物が分布していれば摂餌によって栄養を得ることができる。したがって、*Chattonella antiqua* の混合栄養性の解明は、「富栄養化していない海域において、なぜシャトネラ赤潮が拡大しているのか?」という疑問に対する重要な手掛りになると考えられる。

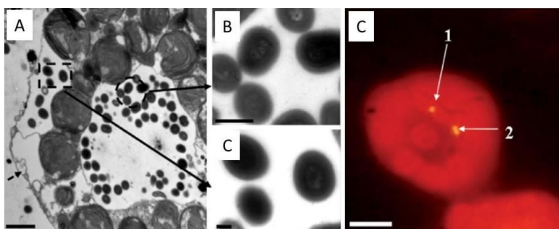


図1. *Chattonella ovata* の顕微鏡画像。(A-C) *C. ovata* 食胞内のピコ植物プランクトン。(D) *Fibrocapsa japonica* の蛍光顕微鏡画像(摂食されたピコ植物プランクトンの自家蛍光が観察される)。Jeong et al. (2010)より引用。

2. 研究の目的

シャトネラは大規模な赤潮を起こし養殖魚の大量斃死を招く植物プランクトンである。シャトネラ赤潮は富栄養化していない海域でも多発するようになってきており、赤潮拡大機構の解明が求められている。近年、シ

ャトネラは他のプランクトンを捕食する混合栄養性生物であることが判明した。混合栄養性生物は他の生物から栄養を摂取できるため貧栄養海域で有利であると考えられるが、シャトネラの混合栄養性と赤潮の発生・維持との関係は不明である。そこで本研究では、本邦の代表的な赤潮生物であるシャトネラ属の *Chattonella antiqua* による摂餌が、赤潮の発生、維持機構に果たす役割を解明することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) シャトネラの摂餌特性

シャトネラによる摂餌特性を明らかにするため、有明海産の *Chattonella antiqua* 培養株に、蛍光ビーズを添加した。*Chattonella ovata* では < 2 μm のビーズを摂食でき、> 3 μm では摂食できないことが知られている。そこで、1, 2 および 6 μm の蛍光ビーズを 1×10^7 beads mL⁻¹ になるように添加して、培養実験を行なった。培養後、蛍光顕微鏡を用いてシャトネラ細胞および各サイズの蛍光ビーズを観察した。

シャトネラによる摂食の影響を評価するため、八代海産の *C. antiqua* 培養株 (3.6×10^3 cells mL⁻¹) に、餌生物としてシアノバクテリア *Synechococcus* sp. 株を 2.4×10^4 (×500区) - 1.2×10^7 cells mL⁻¹ (×1区) になるよう添加して、培養実験を行った。培養後、各実験区における *Synechococcus* sp. の細胞密度と、*C. antiqua* を加えない各実験区のコントロール区における *Synechococcus* sp. の細胞密度を比較した。

(2) 現場シャトネラ赤潮の摂餌動態

シャトネラの出現動態および摂餌特性を把握するため、2013年5月から2015年3月にかけて八代海定点で現場調査を行なった(図2左下)。本研究期間中、八代海には大規模なシャトネラ赤潮が発生しなかったため、2013年5月から2015年1月にかけて有明海定点においても現場調査を行なった(図2左上)。

2012年9月12日には有明海の湾奥部で大規模なシャトネラ赤潮が発生した。そこで、シャトネラの水平および鉛直分布の調査を行なった(図2左上)。このとき、脆弱なシャトネラ細胞を観察するため、HEPES 緩衝剤を用いて自然シャトネラ群集を固定した。同時に、海水サンプルをグルタルアルデヒドで固定し、餌生物となりうるシアノバクテリアおよび従属栄養性のバクテリア現存量の定量を行った。

2013年5月、7月、9月、10月および11月に有明海の St. A もしくはその周辺海域において、長崎大学鶴洋丸および広島大学豊潮丸を用いて、昼夜観測を行なった(図2左上)。海水サンプルは HEPES 緩衝剤を用いて固定し、濾過を行ってシャトネラ細胞をフィルタ

ー上に捕集した。DAPI を用いて DNA を染色し、Green 励起光下および UV 励起光下でシヤトネラ細胞を観察した。

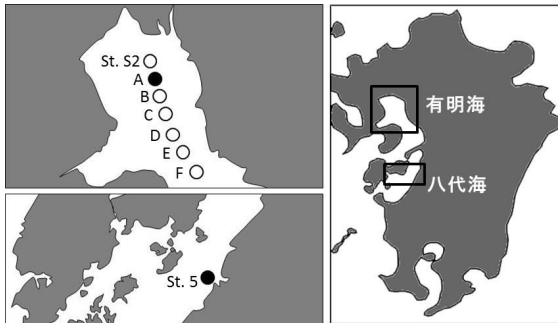


図 2. 有明海および八代海の調査地点。●は定期調査、○は 2012 年 9 月 12 日の赤潮発生時の調査地点を示す。

4. 研究成果

(1) シヤトネラの摂餌特性

蛍光ビーズを *Chattonella antiqua* 株に添加して観察したところ、1 μm および 6 μm の蛍光ビーズが *C. antiqua* 細胞表面に付着していたことが観察された (図 3B, D)。*Chattonella ovata* では、細胞表面にバクテリアを付着させた後、細胞内に取り込むことが知られている (Jeong et al. 2010)。しかしながら、本研究では細胞内に蛍光ビーズを取り込む様子は観察されなかった。

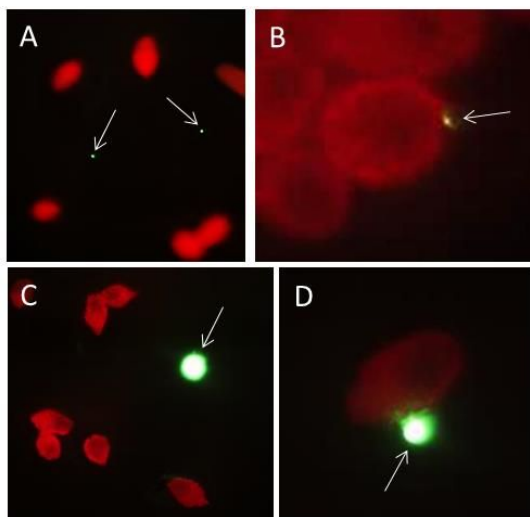


図 3. 蛍光ビーズを添加した *Chattonella antiqua* 株 (矢印は蛍光ビーズを示す)。

C. antiqua 株に *Synechococcus* sp. 株を添加して培養実験を行なった結果、×1 区および ×500 区は *C. antiqua* を加えないコントロール区と有意な差がみられなかった。しかしながら、×10 区および ×50 区ではコントロール区と比較して *Synechococcus* sp. の細胞密度が有意に低くなった。*C. antiqua* は他の植物プランクトンの増殖を抑制するアレロパシー様

物質を放出することが知られているため、*Synechococcus* sp. の増殖を抑制した可能性を検証する必要もあると考えられた。

(2) 現場シヤトネラ赤潮の摂餌動態

研究期間中、八代海ではシヤトネラは主に 7-9 月の高水温期に出現した (図 4 上)。2014 年 8 月 21 日の 5 m 層で最高値 (8.4×10^2 cells L^{-1}) であったが、 10^6 cells L^{-1} を超えるような赤潮とはならなかった。有明海では 2014 年 9 月前半に赤潮の報告がなされていたものの、調査を行った 9 月 18 日には終息しており、 $40-1.0 \times 10^2$ cells L^{-1} の密度であった。本定期調査では 10 月 18 日の 2 m 層の 6.2×10^2 cells L^{-1} が最高値であり、高密度のシヤトネラ赤潮を捉えることができなかった。

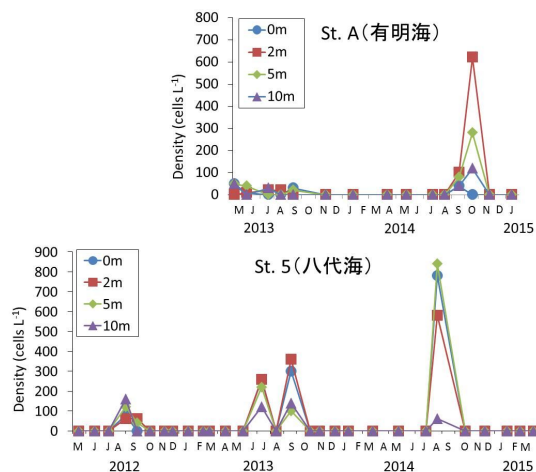


図 4. 有明海 (上図) および八代海 (下図) におけるシヤトネラ現存量の季節変化。

有明海において、2012 年 9 月 12 日のシヤトネラ赤潮 (*Chattonella antiqua*/*Chattonella marina* 混合) 発生時に調査した結果、多くの測点の 5 m 以浅で 10^6 cells L^{-1} を超え、St. C の 0 m 層で最高値 (3.8×10^6 cells L^{-1}) となった (図 5)。

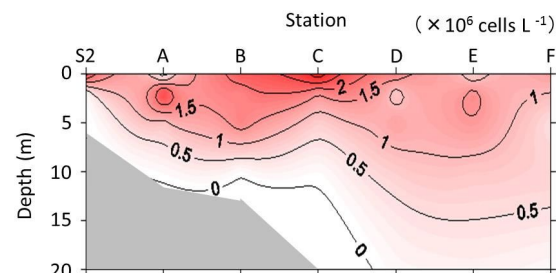


図 5. 有明海における赤潮発生時のシヤトネラ現存量。

この時、シヤトネラとバクテリア現存量およびシヤトネラとシアノバクテリア現存量には有意な相関関係がえられた (図 6)。

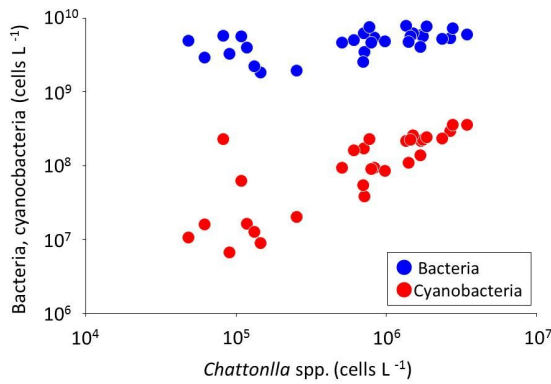


図 5. 赤潮発生時のシャトネラとバクテリアおよびシアノバクテリア現存量の関係。

一方、シャトネラ赤潮形成時に、シャトネラ細胞を観察した結果、シャトネラ細胞内にはシアノバクテリアやバクテリアなど摂食された他のプランクトンは観察されなかった(図 6 上)。

また、昼夜観測を行った期間の内、9 月 4 日 5:00 の 5 m 層で、シャトネラが 30 cells L^{-1} の密度で観察された。DNA を染色して観察した結果、10 個体のシャトネラの内、シャトネラ細胞表面や細胞内に他の餌生物を捕獲または摂食していると確認できる細胞は観察されなかった。このことから、夜間においてもシャトネラの摂餌は観察されなかった。

一方、9 月 3-4 日には渦鞭毛藻である *Akashiwo sanguinea* が赤潮を形成していた。*A. sanguinea* では、最大で 400 細胞中 16 細胞 (4%) が他の植物プランクトンを摂食しており(図 6 下)、赤潮生物による混合栄養性は現場の自然群集でも起こっていることが確認された。

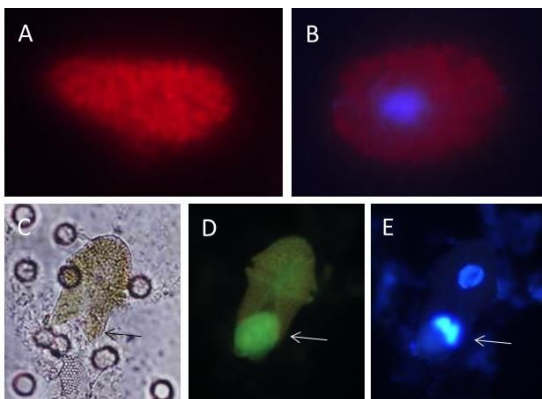


図 6. シャトネラの蛍光顕微鏡画像 (A: Green 励起光下, B: UV 励起光下). (C-E) *Akashiwo sanguinea* の顕微鏡画像 (C: 明視野, D: Blue 励起光下, E: UV 励起光下) (矢印は捕食したプランクトンを示す)。

< 引用文献 >

Hae Jin Jeong, Kyeong Ah Seong, Nam Seon Kang, Yeong Du Yoo, Seung Won Nam, Jae Yeon Park, Woongghi Shin, Patricia M. Glibert,

Desmond Johns, Feeding by raphidophytes on the cyanobacterium *Synechococcus* sp., *Aquatic Microbial Ecology* 58 巻、2010、181-195

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 1 件)

徳永 吉宏、原口 浩一、八里 政夫、堤 裕昭、一宮 睦雄、八代海佐敷干潟におけるアサリ個体群の季節変動、*不知火海・球磨川流域圏学会誌* 9 巻、2015、21-35

[学会発表](計 5 件)

原口 浩一、一宮 睦雄、大和田 紘一、八代海北部海域における珪藻および *Chattonella antiqua* 卓越時のリン、窒素、ケイ素及び淡水の滞留時間の違い、2012 年度日本プランクトン・ベントス学会合同大会、2012.10.7 東邦大学、千葉。

Koichi Haraguchi, Mutsuo Ichinomiya, Kouichi Ohwada, Residence times of phosphorous, nitrogen, silicon and water during blooms of diatoms and *Chattonella antiqua* in northern Yatsushiro Bay, Japan, First Asian Marine Biology Symposium, 2012.12.15 Cape Panwa Hotel, Phuket, Thailand

徳永 吉弘、原口 浩一、一宮 睦雄、八代海佐敷干潟における二枚貝浮遊幼生およびアサリ現存量の季節変動、2013 年 9 月 28 日、2013 年度日本プランクトン・ベントス学会合同大会、東北大学、仙台

諸熊 孝典、多治見 誠亮、高日 新也、一宮 睦雄、川崎 信司、八代海湾奥部ノリ漁場における栄養塩動態とノリ色落ち原因プランクトンの動態、2014 年 5 月 31 日、不知火海・球磨川流域圏学会 平成 26 年度研究発表会、人吉市中小企業大学校、人吉市

徳永 吉弘、原口 浩一、一宮 睦雄、堤 裕昭、八里政夫、八代海佐敷干潟のアサリ個体群動態と餌生物の推定、2014 年 9 月 15 日、2014 年度日本海洋学会秋季大会、長崎大学、長崎

6. 研究組織

(1) 研究代表者

一宮 睦雄 (MUTSUO ICHINOMIYA)
熊本県立大学・環境共生学部・准教授
研究者番号：30601918