



Title	和歌山県田辺湾と大阪湾における赤潮藻殺藻微生物の分布
Author(s)	今井, 一郎; 西垣, 友和; 岡本, 悟 他
Citation	北海道大学水産科学研究彙報, 63(3), 23-31
Issue Date	2013-12-10
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/53986
Type	departmental bulletin paper
File Information	23-31.pdf



和歌山県田辺湾と大阪湾における赤潮藻殺藻微生物の分布

今井 一郎¹⁾・西垣 友和²⁾・岡本 悟³⁾・山本 圭吾⁴⁾
竹内 照文⁵⁾・吉永 郁生⁶⁾・平田 八郎⁷⁾

(2013 年 9 月 3 日受付, 2013 年 10 月 2 日受理)

Distributions of the Algicidal Microorganisms against the Harmful Phytoflagellates in Tanabe Bay (Wakayama Prefecture) and Osaka Bay, Japan

Ichiro IMAI¹⁾, Tomokazu NISHIGAKI²⁾, Satoru OKAMOTO³⁾, Keigo YAMAMOTO⁴⁾,
Terufumi TAKEUCHI⁵⁾, Ikuo YOSHINAGA⁶⁾ and Hachiro HIRATA⁷⁾

Abstract

Seasonal fluctuations of killer microorganisms (substantially algicidal bacteria) were investigated with the microplate MPN method in surface seawater and on the surface of the green alga *Ulva pertusa* in Osaka Bay and Tanabe Bay of Wakayama Prefecture. Main species of target red tide organisms were the raphidophyte *Chattonella antiqua* and the dinoflagellate *Karenia mikimotoi*. On the surface of *U. pertusa*, *K. mikimotoi* killers (*Km*-killers) were most abundantly detected with a maximum value of 1.38×10^6 MPN g⁻¹ (wet weight) and *C. antiqua* killers (*Ca*-killers) also showed a high value of 3.60×10^5 MPN g⁻¹ (wet weight). In seawater, most part of killer microorganisms was substantially algicidal bacteria, and *Km*-killers showed the maximum values of 10^3 – 10^4 MPN mL⁻¹ at intertidal seaweed bed and aquaculture pond with abundant *U. pertusa*. *Km*-killers were less abundant in offshore seawater ($< 10^1$ MPN mL⁻¹ in Osaka Bay and $< 10^2$ MPN mL⁻¹ in Tanabe Bay). *Ca*-killers also tended to be a little bit more abundant in seawaters of the coastal seaweed bed. It is suggested that seaweed beds composed of such as *Ulva pertusa* play an important role for harboring and supplying killer microorganisms to adjacent coastal environments, and contribute to prevent massive developments of harmful algal blooms in the coastal sea.

Key words : Red tide, Prevention, Killer microorganisms, Algicidal bacteria, *Ulva pertusa*, Seaweed beds, *Karenia mikimotoi*, *Chattonella*, *Heterosigma*

緒 言

植物プランクトンは光合成を通じ、基礎生産者として海洋生態系において根幹的に重要な役割を演じている。しかしながら植物プランクトンの内ある種は増殖や集積によって赤潮を形成し、養殖のものを中心として魚介類を大量斃死させる等、我々人類にとって大きな問題の原

因となっている(今井, 2012a)。

我が国沿岸域における赤潮の発生件数は、高度経済成長時代の始まった 1960 年代頃から沿岸海域の著しい富栄養化に伴って急激に増加した。瀬戸内海を例にとると、戦後しばらくは瀬戸内海全域において年間 50 件以下の赤潮発生件数であったのが、1960～1970 年代に急激な増加を示し 1976 年に最高値の 299 件を記録した(今井,

¹⁾ 北海道大学大学院水産科学研究院海洋生物資源科学部門海洋生物学分野浮遊生物学領域 (E-mail : imai1ro@fish.hokudai.ac.jp)
(Plankton Laboratory, Chair of Marine Biology and Biodiversity, Division of Marine Bioresource and Environmental Science, Graduate School of Fisheries Sciences, Hokkaido University)

²⁾ 京都府農林水産技術センター海洋センター
(Fisheries Technology Department, Kyoto Prefectural Agriculture, Forestry and Fisheries Technology Center)

³⁾ 山口県農林水産振興部
(Fisheries Promotion Division, Yamaguchi Prefecture)

⁴⁾ 大阪府環境農林水産総合研究所・水産技術センター
(Marine Fisheries Research Center, Research Institute of Environment, Agriculture and Fisheries, Osaka Prefecture)

⁵⁾ 和歌山県農林水産総合技術センター水産試験場
(Fisheries Experimental Station, Wakayama Research Center of Agriculture, Forestry and Fisheries)

⁶⁾ 鳥取環境大学環境学部
(Faculty of Environmental Studies, Tottori University of Environmental Studies)

⁷⁾ 近畿大学農学部
(Faculty of Agriculture, Kinki University)

2012a)。1972 年夏季に発生したラフィド藻 *Chattonella antiqua* を主体とするシャットネラ赤潮により、史上最多の 1,428 万尾もの養殖ハマチが斃死し(被害額約 71 億円)、これを契機に有名な「播磨灘赤潮訴訟」が提訴された(村上, 1976)。この赤潮を背景として 1973 年に「瀬戸内海環境保全臨時措置法」が制定され、汚濁負荷の削減が図られるようになり、5 年後には赤潮等による被害に対する富栄養化対策を含む新たな施策が加えられた特別措置法として恒久法化された。1973 年末からのオイルショックの影響と相まって、その後赤潮の発生件数は減少に転じ 1980 年代後半には年間約 100 件前後となった。しかし以後、発生件数は下げ止まり状態で現在に至っている。赤潮発生が最盛期の時期には、大阪湾、播磨灘、あるいは周防灘等の海域全体を覆う大規模赤潮も希ではなかったが、近年は赤潮発生の規模と期間が縮小傾向にある(瀬戸内海環境保全協会, 2011)。赤潮による漁業被害額は、瀬戸内海全体で年平均 10 億円を優に超えるとされている。

赤潮対策を整理すると、赤潮の発生予知、予防、駆除の 3 通りとなる。赤潮問題への対策を考える場合、対象となる赤潮生物種の発生機構を解明することが先ず基本となる。赤潮の発生機構は、種毎、発生水域毎に異なるため、調査研究には多大な労力と時間を要するが、シャットネラ、カレニア、ヘテロカプサなどではその発生機構が概ね解明されて来たといえよう(今井, 1990; 山口, 1994; 松山, 2003; Imai and Yamaguchi, 2012)。赤潮被害の軽減を図る上で赤潮の発生予知は重要であるが、そのためには科学的な調査結果に基づく発生機構の解明が前提となる。とくにシャットネラ赤潮の発生予知は社会的に必要性が高いので、綿密なモニタリングを基礎として精力的に発生予知が試みられてきており、先行指標に基づく予知予察を含めて様々な検討がなされてきている(今井, 2012b)。

養殖魚介類の斃死による赤潮被害を軽減抑止することを目指し、様々な対策がこれまでに施行され、あるいは提案されてきた。その中で、直接的な赤潮の防除対策として種々の物理化学的手法が試みられてきたが、実施規模やコスト、生態系への影響等の観点から殆ど実用に耐えるものはないのが実情である。緊急対策として、粘土散布が九州西岸の八代海においてコクロディニウム赤潮を主対象に実施されている。また韓国において粘土散布は、コクロディニウム赤潮を対象として普通に行われている対策である。しかしながら、いったん有害赤潮が発生すると最も普通に行われている緊急対策は餌止めであり、消極的な手法ではあるが養殖魚類の斃死抑制に貢献している(今井, 2012b)。また大型生け簀の活用や、生け簀の沈下も行われている。

以上のような背景から、有効で安全な赤潮対策が強く望まれている。特に赤潮の発生予防に貢献する対策は、被害軽減とコストの観点から価値が大きいと想定される。そのような状況から、環境にやさしい生物的防除が注目

されている。生物を用いた赤潮防除として、植物プランクトンの捕食者であるカイアシ類や二枚貝類が試験されたが、実際の現場では捕食者による赤潮のコントロールは、赤潮の規模や捕食能力の点から困難と結論されている(日本水産資源保護協会, 1994)。一方で水産庁の赤潮対策事業により、細菌やウイルス等の殺藻微生物を用いた赤潮の防除対策に関する基礎的研究が精力的になされ、殺藻ウイルスと殺藻細菌に関して研究成果が蓄積されている(今井・吉永, 2002)。これら殺藻微生物の活用が、解決すべき問題点はあるものの、将来の赤潮防除対策として有望と期待される。

殺藻細菌の生態研究の過程において、莫大な数の殺藻細菌が緑藻のアオサや紅藻のマクサ、褐藻類(ウミトラノオとタマハハキモク)の表面に生息している事実が発見された(Imai et al., 2002)。その数は、海藻 1 g 当たり 10 万～100 万にも上った。また藻場の海水中にも、当該種の赤潮は発生していないにもかかわらず、様々な種類の有害有毒プランクトンを標的とする殺藻微生物が大量に生息していることが判明した。

本研究では、沿岸域で最も普遍的に生息するアオサを主対象として、大阪湾の岬公園沿岸ならびに和歌山県田辺湾において、岸辺と沖合の海水中における殺藻微生物の動態を調査し、比較検討を行った。また関西国際空港の周囲に設置された緩傾斜護岸の海水中の殺藻微生物についても、生息密度等について検討を加えた。

材料及び方法

試料の採取

海水試料の採取は、大阪府の岬公園から沖合に向けての 3 点(順に Stns. M, MO, 2'), 及び和歌山県田辺湾の近畿大学水産実験所の養殖筏(Stn. R)と養魚池(Stn. P)ならびに田辺湾中央部(Stn. TC)の 3 定点(Fig. 1)において、2001 年 8 月 20 日、9 月 17 日、10 月 15 日、ならびに 11 月 19 日に月 1 回の頻度で行った。さらに関西空港の緩傾斜護岸(Stn. K)においても、8 月 23 日と 9 月～11 月は上記と同じ日に計 4 回、海水試料(表層水)を採取した。また岬公園と近畿大学養魚池では、緑藻アオサ(*Ulva pertusa*)について滅菌した 500 mL 容メディウム瓶に、外観から健康に見える物と状態の良くない物とをそれぞれ採集した。岬公園の潮間帯では、2001 年 7 月 19 日からサンプリングを開始した。試料採取は原則として大潮の日に行い、田辺湾では午前 9 時頃に、同日の正午過ぎ(最干潮時近く)には大阪湾で表層から採水を行った。

田辺湾の定点である近畿大学養魚池(Stn. P)は、和歌山県西牟婁郡白浜町の近畿大学水産実験所前に位置する池であり、干満に応じて田辺湾と海水の交換があり、調査期間を通して緑藻アオサ(*Ulva pertusa*)の繁茂が確認された。採水は、池の北部にある栈橋(干潮時の水深 3 m, 満潮時 5 m)にて行った。近畿大学養殖筏(Stn. R)は小割り

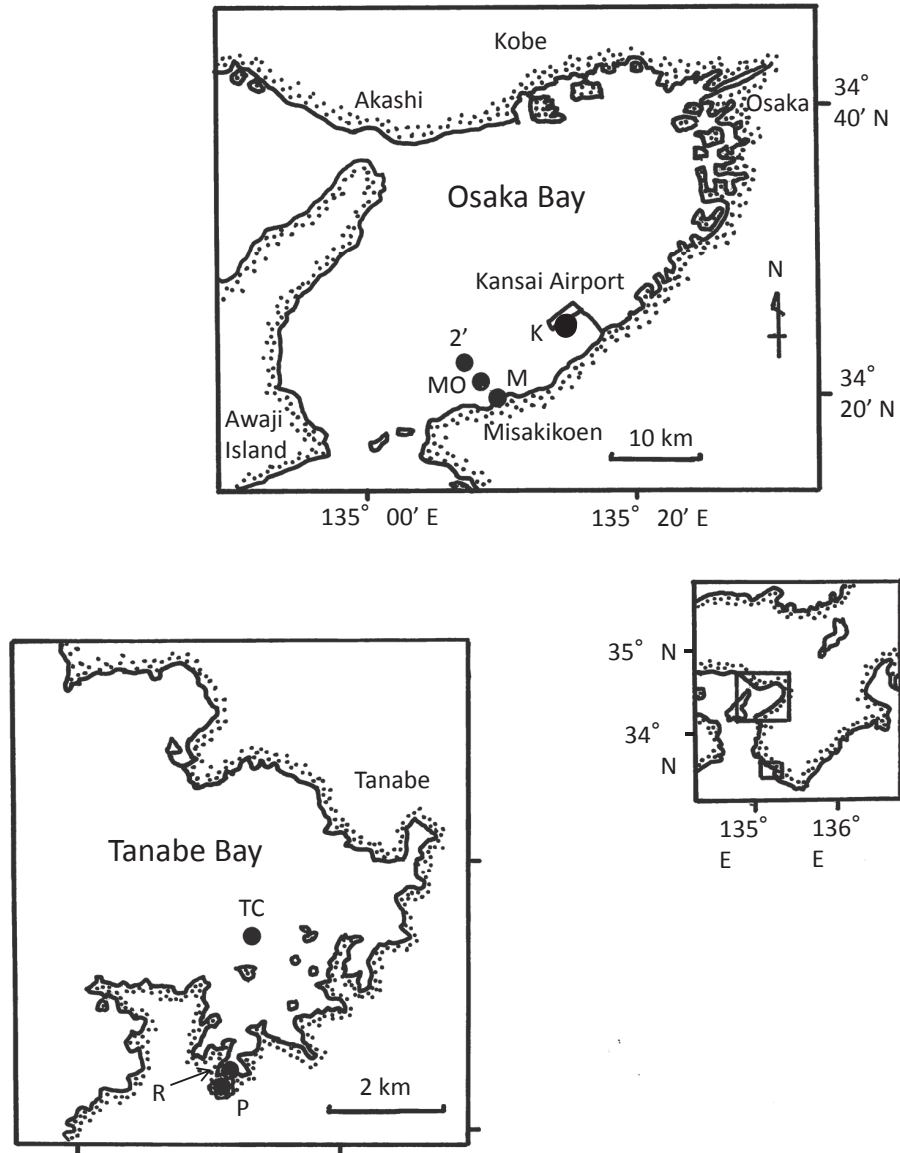


Fig. 1. Location of the sampling stations in Osaka Bay (upper panel) and Tanabe Bay (lower left panel).

式養殖生け簀であり、生け簀を係留しているロープ等にアオサが付着しているのが確認された。採水は岸近くの生け簀(干潮時の水深5 m, 満潮時7 m)で行った。因みに、近畿大学の養魚池と養殖筏は直線距離で100 m程度の距離であった。また、田辺沖定点(Stn. TC)は田辺湾中央部に位置し、水深約28 mで、500 m×300 mの小割り式養殖生け簀から数10 m離れた場所である。

大阪湾における岬町地先の岬公園定点(Stn. M)は、大阪湾の湾口部に位置し、1999年に殺藻細菌の調査を行った大阪府泉南郡岬町の岬公園藻場と同一の場所である(Imai et al., 2002, 2006)。この定点は潮間帯にあり、調査期間中には緑藻アナアオサ(*Ulva pertusa*)や紅藻マクサ(*Gelidium* sp.), 及び褐藻類が繁茂していた。大阪湾沖合の定点(Stn. 2')は、大阪府立水産試験場によって定期的に水質監視調査の行われている定点(水深35 m)であり、岬公

園藻場から約5 km 沖合である。また公園沖(Stn. MO)は岬公園藻場(Stn. M)と Stn. 2'のほぼ中間地点であり、水深は約17 mであった。

全ての調査において、予めオートクレーブ処理した容量500 mlのメディウム瓶を用いて採水を行った。全て表層から海水を採水した。採水と同時に水温と塩分を測定した。採水後の試料は、クーラーボックスに収容して研究室に持ち帰った。

有害鞭毛藻の計数

持ち帰った試料0.5 mLをSedgewick-rafter counting chamberにのせ、倒立顕微鏡(Nikon TE300)を用いて、*C. antiqua*及び*K. mikimotoi*の細胞数の計数を行った。試料は3回取って計数した。

殺藻微生物の計数

得られた海水試料は、まず 30 秒間の弱い超音波処理を行った。その後、細菌よりも大きい生物を除去するために、孔径 $1.0\ \mu\text{m}$ の Nuclepore フィルターで濾過した。殺藻微生物の計数は、Fig. 2 に示したマイクロプレート MPN 法を用いて行った (Imai et al., 1998b; 今井ら, 2012)。アッセイ生物としては、ラフィド藻 *Chattonella antiqua* (NIES-1 株) と渦鞭毛藻 *Karenia mikimotoi* (G303 株) の 2 種を基本的に用いた。

メディウム瓶中の海藻 (アオサ) 試料に滅菌海水 300 mL を加え、手で 100 回強く振盪して細菌を海藻表面から剥離させた。海水試料、および海藻から剥離させた試料は、共に孔径 $1\ \mu\text{m}$ の滅菌したニュクレポアフィルターで濾過して、細菌よりも大きい生物やデトリタスを除去した。濾過した試料を 10^0 希釈とし、滅菌海水を用いて順次 10 倍希釈を行った。対象赤潮生物を前培養しておき、新しい

培養液 (改変 SWM3: Chen et al., 1969; 今井, 2000) で適宜希釈して、48 ウェル組織培養用マイクロプレートの各ウェルに予め 0.5 mL ずつ接種した後、それらのウェルに各希釈段階の試料を 0.5 mL ずつ接種した。実験試料は、各希釈段階で 5 ウェルずつ設定した。またコントロールとして希釈試料を接種する代わりに、孔径 $0.1\ \mu\text{m}$ の滅菌フィルターで濾過した海水、ならびに希釈用滅菌海水を接種したウェルを設けた。蒸発防止のため、メンディングテープを用いてマイクロプレートを密封した後、温度 22°C 、光強度約 $100\ \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{sec}^{-1}$ 、明暗周期 14 hL : 10 hD の条件下で培養を行った。適宜マイクロプレートの各ウェルの観察を倒立型落射蛍光顕微鏡を用いて行い、大部分の赤潮プランクトンが死滅したウェルを陽性として記録した。各希釈段階における陽性ウェル数の組み合わせから、最確数 (MPN) 表を参照して MPN (Most Probable Number: 最確数) を算出し (西原ら, 1986; Koch, 1994)、実験試料中の殺藻微生物密度を求めた。また、海藻試料については湿重量を

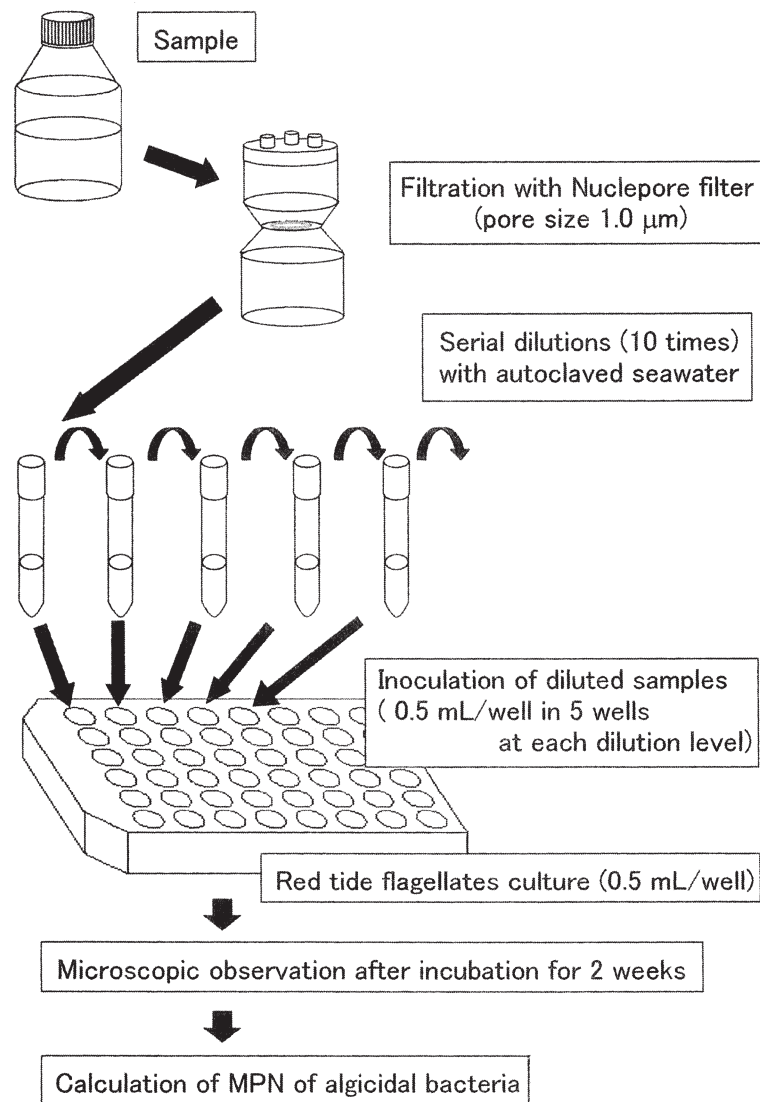


Fig. 2. Procedure of the microplate MPN method for enumeration of algicidal microorganisms (substantially algicidal bacteria).

計測し、滅菌海水に剥離させた殺藻微生物密度を元に、海藻 1 g 当たりの殺藻微生物数を算出した。

関西空港緩傾斜護岸のサンプルについては、上記 2 種に加え、有害ラフィド藻の *Chattonella marina* (MS-3-P 株), *C. ovata* (HA93-P 株), *Fibrocapsa japonica* (Fib-1 株), *Heterosigma akashiwo* (893 株), *H. akashiwo* (IWA 株), 二枚貝を殺す有害渦鞭毛藻の *Heterocapsa circularisquama* (UB-P 株), 計 7 種 8 株の有害プランクトンを用いて、殺藻微生物の計数をマイクロプレート MPN 法により実施した。

結果及び考察

アオサによるアレロパシーの検討

岬公園 (Stn. M) の潮間帯藻場のアオサと近畿大学養魚池 (Stn. P) のアオサにおいては、微生物を振盪処理で剥離させた試料を孔径 0.1 μm のフィルターで濾過したものを *C. antiqua* 及び *K. mikimotoi* に加えたコントロール区で、死滅や増殖阻害は観察されなかった。このことから、アオサ表面のバイオフィルムに起因したアレロパシーによる、これら 2 種の有害鞭毛藻の阻害はないと考えられた。アオサと *C. antiqua* や *C. marina* を共培養すると、これら赤潮プランクトンの増殖が抑制され、その抑制作用はアレロパシーによるものではないかという報告があるが (平田ら, 1986), 無菌的な条件下での実験でないため、現時点ではアオサ表面の殺藻細菌の作用の結果であろうと考えられる。また、試料の濾過に用いたフィルターの孔径が 1 μm 以下なので、対象となる殺藻微生物は殺藻細菌とウイルスということになる。孔径 0.1 μm 以下の試料画分から殺藻活性が検出されなかったことから、これより小さいウイルスの可能性は無いと考えられる。ラフィド藻 *Heterosigma akashiwo* や渦鞭毛藻 *Heterocapsa circularisquama* に感染するウイルスには、径 0.1 μm 以下の小型の物 (RNA ウィルス) が報じられている (長崎・外丸, 2009; Nagasaki and Bratbak, 2010)。

大阪湾における殺藻微生物の動態

本研究の調査期間を通して、大阪湾の 3 定点の海水試料中からは、有害鞭毛藻の *C. antiqua* 及び *K. mikimotoi* は検出されなかった。

岬公園のアオサから検出された殺藻微生物密度の変化を Fig. 3 に示した。殺藻微生物は、*K. mikimotoi* に活性を示すものが *C. antiqua* に対するものよりも高い値で検出される傾向が認められた。*K. mikimotoi* の殺藻微生物 (*Km*-killers) が最高 1.38×10^6 MPN g^{-1} (湿重) の値で、状態の良いアオサから 2001 年 10 月 15 日に検出された。しかしながら全体的な傾向として、*Km*-killers は状態の悪いアオサの表面により高い密度で付着生息している様に見受けられた。*C. antiqua* に対して殺藻活性を示す殺藻微生物 (*Ca*-killers) は健康に見えるアオサからは検出されなかったが、2001 年 9 月 17 日に状態の悪いアオサから 1.65×10^4 MPN

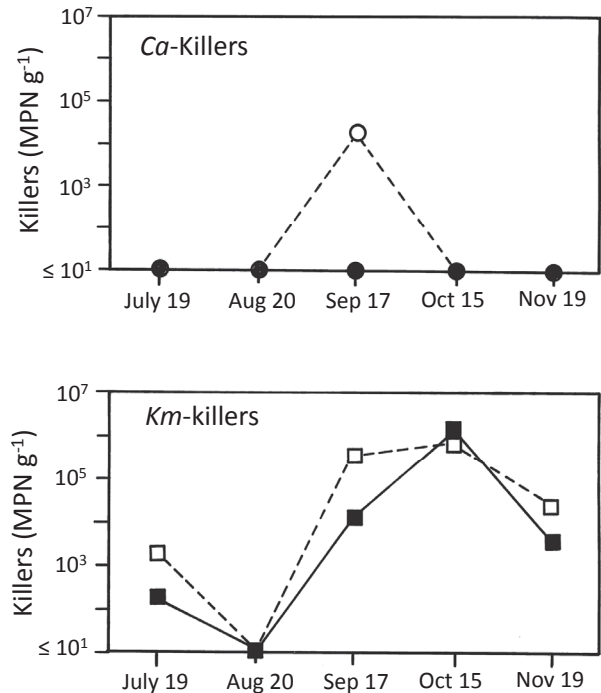


Fig. 3. Fluctuations in densities of killer microorganisms against the raphidophyte *Chattonella antiqua* (*Ca*-killers) and the dinoflagellate *Karenia mikimotoi* (*Km*-killers), associated with the healthy thalli (filled symbols) and deteriorating thalli (open symbols) of the green alga *Ulva pertusa* at the sampling station in macroalgal bed in the intertidal coast of Misakikouen during the period of July to November of 2001. Samplings were made once a month.

g^{-1} (湿重) の比較的高い密度で、1 回だけ検出された。このことから、*C. antiqua* は *K. mikimotoi* よりもアオサに付着している殺藻細菌の影響を受けにくいものと考えられる。あるいは、*Km*-killer はアオサから剥離された時に細胞が何物にも付着していない単独の浮遊状態になる傾向があり、一方 *Ca*-killer はアオサ表面のバイオフィルムと密接に関係しておりバイオフィルムと共にアオサ表面から剥離され、孔径 1 μm のフィルター処理によって大部分が除去されてしまい、マイクロプレート MPN 法で検出されなかった可能性が考えられる。ただし場合により、バイオフィルムとの関連が薄い *Ca*-killer が卓越する事も想定されよう (Figs. 3, 5)。

岬公園 (Stn. M) の潮間帯の藻場海中において、*C. antiqua* 殺藻微生物密度は期間を通して 10^1 MPN mL^{-1} より低い値であった (Fig. 4)。一方、*K. mikimotoi* 殺藻微生物密度は 8 月に 1.1×10^4 MPN mL^{-1} の最高値を示した後、徐々に減少し 10 月までは 10^2 MPN mL^{-1} 以上の密度であったが、11 月に最小値 3.3×10^0 MPN mL^{-1} を示した。岬公園 (Stn. M) と約 5 km 沖合の Stn. 2' との中間点である Stn. MO から得られた表層海中では、*C. antiqua* 殺藻微生物は検出限界以下 ($\leq 10^1$ MPN mL^{-1}) ~ 1.3×10^0 MPN mL^{-1} , *K. mikimotoi* 殺藻微生物は 0.39×10^0 ~ 6.5×10^0 MPN mL^{-1} で検出され、調

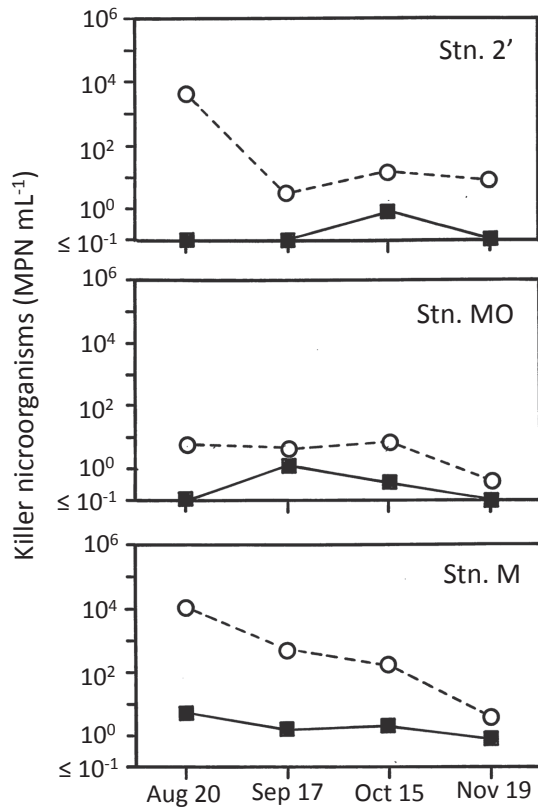


Fig. 4. Fluctuations in densities of killer microorganisms against the raphidophyte *Chattonella antiqua* (Ca-killers: filled squares) and the dinoflagellate *Karenia mikimotoi* (Km-killers: open circles) in seawater samples collected at three stations (Stns. 2', MO and M) in Osaka Bay during the period of August to November of 2001. Samplings were made once a month.

査期間を通して 10^1 MPN mL⁻¹ より低い値で推移した (Fig. 4)。最も沖合の Stn. 2' においては、*K. mikimotoi* 殺藻微生物は 8 月に 4.4×10^3 MPN mL⁻¹ の高い値を示した以外は、 10^1 MPN mL⁻¹ より低い値 (最小値 3.3×10^0 MPN mL⁻¹) であった。

C. antiqua 殺藻微生物に関して、岬公園地先の潮間帯における定点では期間を通して低密度ながらも検出されたが、沖合の定点 (Stn. MO と Stn. 2') では検出限界以下であることが多かった。*K. mikimotoi* 殺藻微生物については、沖合の Stn. 2' で 8 月に高い値を示す事があったが、沖合の 2 定点よりも潮間帯藻場である岬公園側 (Stn. M) の方で *Km*-killers は高密度に存在する傾向が認められた。潮間帯には大型藻が繁茂しており、その大型藻の表面には殺藻微生物が大量に付着生息している (今井, 2002; Imai et al., 2002, 2006; 今井ら, 2012)。また Fig. 3 に示されたように、アナアオサの表面に最高値で 10^6 MPN g⁻¹ (湿重) を超える高密度の *Km*-killers が確認されていることから、海藻起源の殺藻微生物が海水中に供給され、このような状況が生じたと考えられる。沖合の Stn. 2' で比較的高い *Km*-killers が検出されたが、これは関西空港周辺の緩傾斜護岸の藻

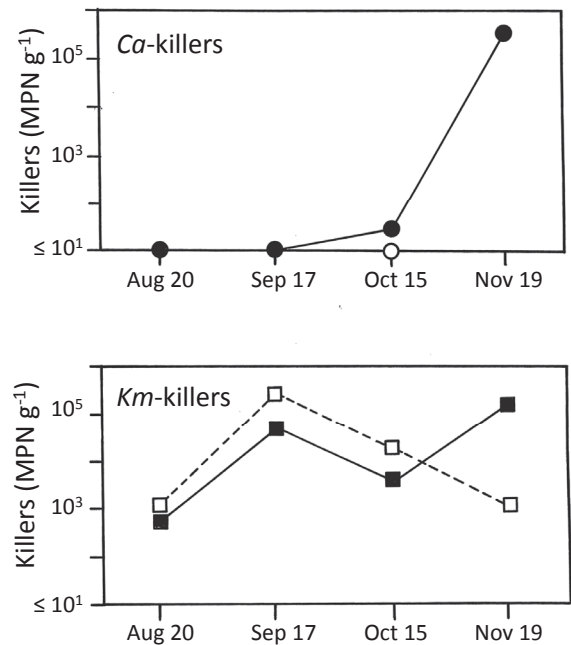


Fig. 5. Fluctuations in densities of killer microorganisms against the raphidophyte *Chattonella antiqua* (Ca-killers) and the dinoflagellate *Karenia mikimotoi* (Km-killers), associated with the healthy thalli (filled symbols) and deteriorating thalli (open symbols) of the green alga *Ulva pertusa* at the sampling station in aquaculture pond of the Experimental Station of Kinki University during the period of August to November of 2001. Samplings were made once a month.

場に生息する殺藻微生物が比較的高密度である事 (Fig. 7, 後述) に起因する可能性が考えられる。すなわち、関西空港緩傾斜護岸の水域起源の殺藻微生物が、潮流の影響で南西方向にある Stn. 2' へと運ばれている可能性である。もしこれが正しければ、新たに造成した藻場が周辺水域に殺藻微生物を供給する事を示唆しており、将来的に有害赤潮 (特に *K. mikimotoi* 赤潮) の発生予防に向けて大きな役割を果たす可能性があることを意味する。

田辺湾における殺藻微生物の動態

田辺湾の海水試料中からも本研究の調査期間を通して、*C. antiqua* 及び *K. mikimotoi* は共に検出されなかった。

近畿大学の養魚池 (Stn. P) のアナアオサから検出された、*C. antiqua* と *K. mikimotoi* に対して作用する殺藻微生物の密度の変化を Fig. 5 に示した。*Km*-killers は概ね $10^3 \sim 10^5$ MPN g⁻¹ (湿重) の密度で検出され、*Ca*-killers よりも高い値で検出される傾向が認められた。また、*Km*-killers は状態の悪いアオサの表面に、より高い密度で付着生息している様に見受けられた。*C. antiqua* に対して活性を示す殺藻微生物 (*Ca*-killers) は、基本的に検出限界以下か 10^0 MPN g⁻¹ (湿重) 以下の低密度であったが、2001 年 11 月 19 日に状態の良いアオサから 3.60×10^5 MPN g⁻¹ (湿重) の高い密度で検出された。*Ca*-killers は、*Km*-killers よりもアナアオ

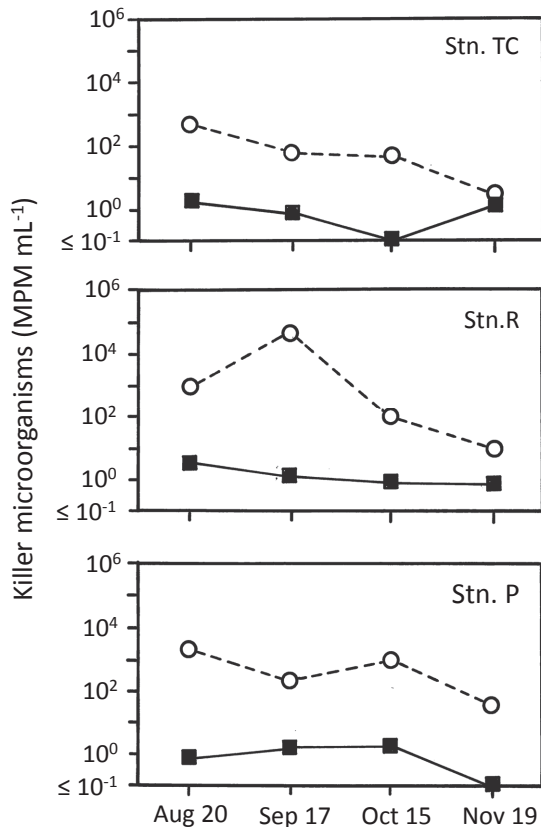


Fig. 6. Fluctuations in densities of killer microorganisms against the raphidophyte *Chattonella antiqua* (*Ca*-killers: filled squares) and the dinoflagellate *Karenia mikimotoi* (*Km*-killers: open circles) in seawater samples collected at three stations (Stns. TC, R and P) in Tanabe Bay, Wakayama Prefecture, during the period of August to November of 2001. Samplings were made once a month.

サへの付着状況が相対的に局在的であると考えられる。あるいは岬公園の場合と同様に、*Ca*-killers はバイオフィームへの付着で計数のための濾過処理により除去された可能性がある。田辺湾の支湾である下芳養湾の養殖筏においてアナアオサに付着している殺藻微生物の計数が、寒天平板培地上に形成されたコロニーを分離し *C. antiqua* との二者培養実験で計数された結果、 $3.8 \times 10^4 \sim 9.4 \times 10^4$ g⁻¹ (湿重) の値で検出されている (今井ら, 2012)。したがって、マイクロプレート MPN 法による *Ca*-killers の計数値は過小評価が著しく、実際は相当数の殺藻細菌 (*Ca*-killers) がアオサの表面に生息していると考えられる。

近畿大学養魚池 (Stn. P)、同養殖筏 (Stn. R) ならびに田辺湾中央部の養殖水域 (Stn. TC) の海水中における *Ca*-killers と *Km*-killers の変動を Fig. 6 に示した。*Ca*-killers は、調査期間を通して 3 つの定点で 10^1 MPN mL⁻¹ より低い値を示した。*Km*-killers は期間を通して概ね 10^1 MPN mL⁻¹ 以上で確認され、Stn. P で 3.4×10^1 MPN mL⁻¹ ~ 2.1×10^3 MPN mL⁻¹、Stn. R では 9.2×10^0 ~ 4.6×10^4 MPN mL⁻¹ の値を示し、Stn. TC においては 2.5×10^0 MPN mL⁻¹ ~ 4.6×10^2 MPN mL⁻¹ の密

度で推移した。全体的な傾向として、養魚池や養殖筏のように岸辺付近で *Km*-killers は多く、沖合の田辺湾中央 Stn. TC ではより低密度で生息している。また夏から秋に向かって減少傾向を示した (11 月に最小値, Fig. 6)。

田辺湾において 1990~1992 年に *Km*-killers の変動が MPN 法によって調べられたが、*K. mikimotoi* の赤潮の発生前や衰退後では $10^3 \sim 10^4$ MPN mL⁻¹ で検出され、赤潮の最盛期には *Km*-killers はそれより 1~2 桁少なく検出されたという報告がある (Yoshinaga et al., 19965)。本研究で得られた結果と値の範囲は概ね良く一致していると言える。

田辺湾においては大阪湾に比べて、沖合域における *Km*-killers の密度が 1 桁以上高い傾向が認められた。

関西空港緩傾斜護岸における海水中的殺藻微生物の動態

Chattonella 属 3 種 (*C. antiqua*, *C. marina*, *C. ovata*) に対する殺藻微生物 (*Ca*-killers, *Cm*-killers, *Co*-killers) の変動について見ると、*Ca*-killers と *Cm*-killers は 10^1 MPN 以下で推移したが、*Co*-killers は 9 月に最大値 5×10^1 MPN mL⁻¹ を示した (Fig. 7-A)。*Ca*-killers に関しては、岬公園や近畿大学水産実験所沿岸と同様の低い値である傾向 (Figs. 3~6) を示した。*Chattonella* 赤潮が発生していない場合 (1992 年と 1993 年) は播磨灘の海水中で *Ca*-killers は 10^0 MPN mL⁻¹ 以下で推移したが (Imai et al., 1998a)、小規模ながら *Chattonella* 赤潮 (最大 213 細胞 mL⁻¹) が発生した 1999 年夏季には同じ播磨灘で、*Ca*-killers が 10 MPN mL⁻¹ で検出されており (今井, 2011)、*Chattonella* においてもブルームの発生と殺藻微生物の挙動に関係が有ると言えよう。

Chattonella 属以外のラフィド藻に対する殺藻微生物は、*Fibrocapsa japonica* を対象とする *Fj*-killers が最も高い密度で推移しており (Fig. 7-B)、Imai et al. (2002) の報告と傾向が一致した。*Heterosigma akashiwo* に関しては、*Ha*WAK-killers が *Ha*893-killers よりも常に 1 桁近く高い値を示しており、同種であっても株によって殺藻微生物 (実質的に殺藻細菌) に対する感受性が異なっていた。

渦鞭毛藻 2 種 (*K. mikimotoi* と *Heterocapsa circularisquama*) に対する殺藻微生物の挙動は特徴的であり、*Km*-killers が高い値 (最高値は 2001 年 10 月に 4.2×10^2 MPN mL⁻¹) を示した一方で、*Hc*-killers は常に検出限界以下であった (Fig. 7-C)。*H. circularisquama* は分離された殺藻細菌との共培養試験において殺藻細菌に対する驚異的な耐性を示し (今井, 1997)、三重県英虞湾においても低い値での検出が報告されている (今井ほか, 1999)。また Figs. 3~6 に示されたように、*Cm*-killers よりも *Km*-killers は高い密度で生息しているのが明らかである。

上述のように、人工的に造成された関西空港の緩傾斜護岸の藻場が、赤潮種によっては、その殺藻細菌を多く生息させ周辺水域に供給出来る可能性が考えられ、今後検討を深めて行く必要がある。

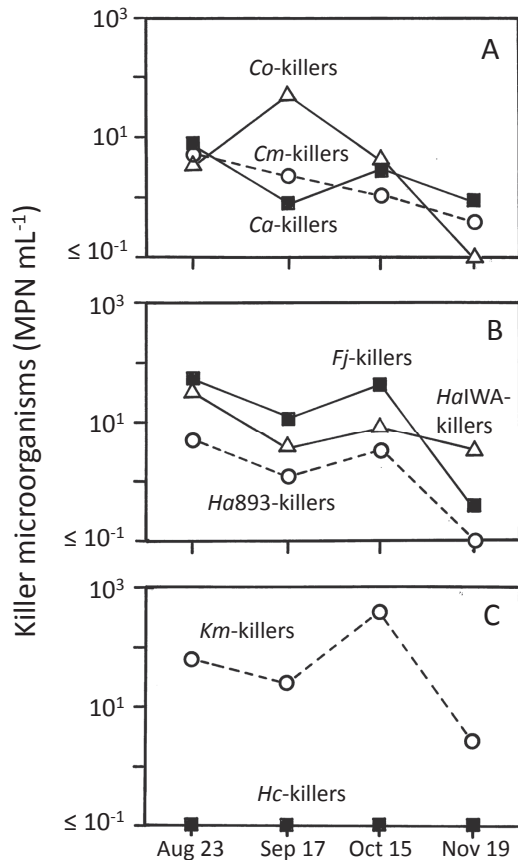


Fig. 7. Fluctuations in densities of killer microorganisms against 8 microalgae in seawater samples collected at the station on the gentle slope revetments surrounding the Kansai Airport Island during the period of August to November of 2001. Samplings were made once a month.

A: Densities of killer microorganisms against three raphidophyte species of *Chattonella* (*C. antiqua* = Ca, *C. marina* = Cm, *C. ovata* = Co); B: Densities of killer microorganisms against three other raphidophytes (*F. japonica* = Fj, *H. akashiwo* strain IWA = HalWA, *H. akashiwo* strain 893 = Ha893); C: Densities of killer microorganisms against two dinoflagellate species (*Heterocapsa circularisquama* = Hc, *Karenia mikimotoi* = Km).

殺藻微生物の生態について

Doucette et al. (1999) は、メキシコ湾における *Karenia brevis* 赤潮と *K. brevis* 殺藻細菌 (*Kb*-killers) の関わりを示すモデルを提唱している。*K. brevis* 殺藻細菌は、*K. brevis* の赤潮が発生していない期間に細々と海水中の溶存態有機物を利用して生活しているが、ブルームの発達に伴って急激に増殖し、水中の細菌群集の中で優占するというものである。田辺湾や豊後水道を始めとし赤潮の発生する内湾において、*K. mikimotoi* と *K. mikimotoi* 殺藻微生物 (*Km*-killers) も同様の関係を有していると予想される。さらに、*H. akashiwo* や *C. antiqua* 等、他の赤潮プランクトンにおいても同様な殺藻細菌の挙動が観察されており (Imai

et al., 1998a, 2001), 赤潮の発生から崩壊にかけて殺藻細菌を中心とする殺藻微生物は、重要な役割を演じていると考えられる。

本研究の結果、アオサの表面に膨大な密度で殺藻微生物 (実質的に殺藻細菌) が付着している事が判明した。そして藻場の海水の中にそれを反映して、沖合の海水中よりも1~2桁以上高い密度で殺藻微生物が検出された。特に、*K. mikimotoi* を対象とする殺藻細菌の密度が高かった。すなわち、藻場の殺藻細菌が沖合に供給されて行っており、藻場が殺藻細菌の供給源として有害赤潮の発生予防にとって重要な役割を演じていると考えられる。

今後の課題としては、殺藻細菌の種や株の組成を明らかにし、沖合と沿岸の殺藻細菌群の関係を詳細に明らかにして行く必要がある。また、播磨灘における研究結果によると、殺藻細菌はデトライタス等の粒子画分に大部分が付着して生息するという (Park et al., 2010)。特に本研究ではアオサ上の *Ca*-killers が MPN 法に必要な濾過処理で失われる可能性が示唆されており、より正確な殺藻微生物 (実質的に殺藻細菌) の生息密度を海藻や海水について把握する必要がある。

何れにしても、藻場を涵養する事は水産資源の養成や水質の浄化を通じて水域環境の向上にも貢献するであろうし、有害有毒赤潮の発生予防に役立てば、里海の観点から積極的に推進して行く価値があると言えよう。

謝 辞

本研究の推進において、サンプリング等に全面的なご協力を戴いた和歌山県農林水産総合技術センター水産試験場増養殖研究所 (当時) ならびに大阪府立水産試験場 (当時) の関係職員の皆様に心から感謝申し上げます。

文 献

- Chen, L.C.M., Edelman, T. and McLachlan, J. (1969) *Bonnemaisonia hamefera* Hariot in nature and in culture. *J. Phycol.*, **5**, 211-220.
- Doucette, G.J., McGovern, E.R. and Babinchak, J.A. (1999) Algicidal bacteria active against *Gymnodinium breve* (Dinophyceae). I. Bacterial isolation and characterization of killing activity. *J. Phycol.*, **35**, 1447-1454.
- 平田八郎・末原裕幸・川口智治 (1986) 赤潮生物の繁殖抑制に関する試み. 水産増殖, **34**, 61-68.
- 今井一郎 (1990) 有害赤潮ラフィド藻 *Chattonella* のシストに関する生理生態学的研究. 南西水研研報, **23**, 63-166.
- 今井一郎 (1997) 直接接合攻撃型殺藻細菌による海産植物プランクトンの殺藻様式. 日本プランクトン学会報, **44**, 3-9.
- 今井一郎 (2000) 赤潮微細藻類の計数と無菌培養法. pp. 85-90, 石田祐三郎・杉田治男 (編), 海洋環境アセスメントのための微生物実験法, 恒星社厚生閣, 東京.
- 今井一郎 (2002) 大型藻類と魚類の混合養殖による赤潮の発生予防. pp. 19-29, 広石伸互・今井一郎・石丸隆 (編), 有害有毒藻類ブルームの予防と駆除, 恒星社厚生閣,

- 東京.
- 今井一郎 (2011) 有害有毒赤潮の生物学 (17) 現場海域における殺藻細菌と赤潮プランクトンの関係-I. 海洋と生物, **33**, 457-466.
- 今井一郎 (2012a) 有害有毒赤潮の発生から沿岸域を守る. pp. 29-48, 日本農学会 (編), シリーズ 21 世紀の農学 環境の保全と修復に貢献する農学研究, 養賢堂, 東京.
- 今井一郎 (2012b) シャットネラ赤潮の生物学. 184 p, 生物研究社, 東京.
- Imai, I. and Yamaguchi, M. (2012) Life cycle, physiology, ecology and red tide occurrences of the fish-killing raphidophyte *Chattonella*. *Harmful Algae*, **14**, 46-70.
- 今井一郎・吉永都生 (2002) 赤潮の予防と駆除. pp. 881-888, 今中忠行・加藤千明・加藤暢夫・倉根隆一郎・西山徹・矢木修身 (編), 微生物利用の大展開, エス・ティー・エス, 東京.
- Imai, I., Kim, M.C., Nagasaki, K., Itakura, S. and Ishida, Y. (1998a) Relationships between dynamics of red tide-causing raphidophycean flagellates and algicidal micro-organisms in the coastal sea of Japan. *Phycol. Res.*, **46**, 139-146.
- Imai, I., Kim, M.C., Nagasaki, K., Itakura, S. and Ishida, Y. (1998b) Detection and enumeration of microorganisms that are lethal to harmful phytoplankton in coastal waters. *Plankton Biol. Ecol.*, **45**, 19-29.
- 今井一郎・中桐 栄・牧 輝弥 (1999) *Heterocapsa circularisquama* と海洋細菌との関係. 日本プランクトン学会報, **46**, 172-177.
- Imai, I., Sunahara, T., Nishikawa, T., Hori, Y., Kondo, R. and Hiroishi, S. (2001) Fluctuations of the red tide flagellates *Chattonella* spp. (Raphidophyceae) and algicidal bacterium *Cytophaga* sp. in the Seto Inland Sea. *Mar. Biol.*, **138**, 1043-1049.
- Imai, I., Fujimaru, D. and Nishigaki, T. (2002) Co-culture of fish with macroalgae and associated bacteria: A possible mitigation strategy for noxious red tides in enclosed coastal sea. *Fish. Sci.*, **68** (Supplement), 493-496.
- Imai, I., Fujimaru, D., Nishigaki, T., Kurosaki, M. and Sugita, H. (2006) Algicidal bacteria isolated from the surface of seaweeds from the coast of Osaka Bay in the Seto Inland sea, Japan. *Afr. J. Mar. Sci.*, **28**, 319-323.
- 今井一郎・岡本 悟・西垣友和・吉永都生・竹内照文 (2012) 和歌山県下芳養湾における海水中およびアオサに付着する赤潮藻殺藻細菌の分布. 北大水産彙報, **62**, 21-28.
- Koch, A.L. (1994) Growth measurement. pp. 248-277, Gerhardt, P., Murray, R.G.E., Wood, W.S. and Krieg, N.R. (eds.), *Methods for General and Molecular Bacteriology*, Am. Soc. Microbiol., Washington.
- 松山幸彦 (2003) 有害渦鞭毛藻 *Heterocapsa circularisquama* に関する生理生態学的研究-I. *H. circularisquama* 赤潮の発生および分布拡大機構に影響する環境要因等の解明. 水研センター研報, **7**, 24-105.
- 村上彰男 (1976) 赤潮と富栄養化. 207 p, 公害対策技術同友会, 東京.
- Nagasaki, K. and Bratbak, G. (2010) Isolation of viruses infecting photosynthetic and nonphotosynthetic protists. pp. 92-101, Wilhelm, S.W., Weinbauer, M.G. and Suttle, C.A. (eds.), *Manual of Aquatic Viral Ecology*, ASLO, USA.
- 長崎慶三・外丸裕司 (2009) 近年の原生生物ウイルス研究がもたらした新しい知見 — 分子生態学・分類学から分子進化学まで —. ウイルス, **59**, 31-36.
- 日本水産資源保護協会 (1994) 赤潮対策技術開発試験等の成果の要約. 282 p, 有害藻類等対策支援検討事業, 技術の向上, 国際情報化対策事業報告書, 水産庁, 東京.
- 西原 力・蔵野憲秀・篠田純男 (1986) マイクロコンピュータによる最確数の計算. 衛生化学, **32**, 226-228.
- Park, J.H., Yoshinaga, I., Nishikawa, T. and Imai, I. (2010) Algicidal bacteria in particle-associated form and in free-living form during a diatom bloom in the Seto Inland Sea, Japan. *Aquat. Microb. Ecol.*, **60**, 151-161.
- 瀬戸内海環境保全協会 (2011) 平成 22 年度瀬戸内海の環境保全. 102 p + 80 p, 瀬戸内海環境保全協会, 神戸.
- 上出貴士 (2001) 近畿圏における赤潮・貝毒・アオコの問題 (和歌山県沿岸域). 平成 13 年度日本水産学会近畿支部後期例会シンポジウム講演要旨集.
- 山口峰生 (1994) *Gymnodinium nagasakiense* の赤潮発生機構と発生予知に関する生理生態学的研究. 南西水研研報, **27**, 251-394.
- Yoshinaga, I., Kawai, T., Takeuchi, T. and Ishida, Y. (1995) Distribution and fluctuation of bacteria inhibiting the growth of a marine red tide phytoplankton *Gymnodinium mikimoi* in Tanabe Bay (Wakayama Pref., Japan). *Fish. Sci.*, **61**, 780-786.